

〔シンポジウム：血漿蛋白機能の分子論〕

白血球走化活性化ポリペプチド—IL-8 と MCAF

松島 綱治

外傷、虚血後再かん流、悪性腫瘍、自己免疫反応、感染、異物の進入などに伴うさまざまな組織損傷に伴い局所の発赤、腫大、とう痛、発熱を特徴とする炎症反応が引き起こされる。この炎症反応には、白血球の浸潤が必要であり、白血球の遊走を中心的に制御する因子としての白血球走化性因子としては C5a (補体 C5a), LTB₄ (leukotriene B₄), fMLP (formyl-Met-Leu-Phe), サイトカインなどが従来より知られていた。近年私達は、1970 年初頭より生物活性として記載されていた活性化白血球由来好中球・リンパ球・単球走化性因子の精製・遺伝子クローニングに成功した文献¹⁻⁵⁾。好中球・リンパ球走化性因子は同一物質であることが判明し、IL-8 と命名した。単球走化性因子は IL-8 とアミノ酸配列上 21% 相同性を有し、単球活性化作用も有することより monocyte chemotactic and activating factor (MCAF) と命名した。両サイトカインは、塩基性・ヘパリン結合性の約 8 kDa の新しいサイトカインファミリーに属する。ヒト IL-8 サブファミリー遺伝子は第 4 番染色体 q12-21 領域に、ヒト MCAF サブファミリー遺伝子は第 17 番染色体 q11-21 領域に存在する。本稿では、IL-8, MCAF の産生細胞、構造と機能、遺伝子発現調節機構ならびに受容体について紹介する。

1. IL-8/MCAF の産生

IL-1 (interleukin 1), TNF (tumor necrosis factor), LPS (lipopolysaccharide), PHA (phytohemagglutinin) などの刺激を受けた種々の体細胞により、IL-8, MCAF の産生がみられる。図 1 に示すごとく全体としては、IL-8 MCAF の産生細胞、刺激物質、産生 kinetics は一致する。たとえば線維芽細胞を IL-1, TNF 刺激した場合、IL-8, MCAF mRNA は 30 分以内に誘導され、2 ~ 3 時間でピークに達し、その後漸次減少する。免疫ア

ジュバンド投与時や、種々の炎症疾患において IL-8/MCAF の *in vivo* における産生が証明されている (表 1)。

2. IL-8, MCAF の活性

IL-8 は、*in vitro* において好中球、Tリンパ球、好塩基球に走化性作用を示すだけでなく、好中球を活性化しリソゾーム酵素の放出、LTB₄ の産生を誘導する。白血球に対し強い priming 効果を有し、好中球は G, GM-CSF, TNF, fMLP などに反応し大量のスーパーオキシドを産生する。また細胞接着因子の発現を亢進し、末刺激血管内皮細胞への付着を増加させる。*in vivo* においては、IL-8 は好中球、リンパ球の IL-8 注入部位への浸潤、遊走をもたらす。さらに大量の好中球の組織への浸潤は、関節滑膜、肺胞などの破壊を生ずる。MCAF は、*in vitro* において単球、好塩基球に走化性作用を示すだけでなく、単球を活性化してリソゾーム酵素、H₂O₂ の放出をもたらす、また単球・マクロファージの腫瘍細胞への cytostatic activity をたかめる。MCAF をラットの耳皮内に注射すると単球・マクロファージの選択的浸潤がみられた。

3. IL-8, MCAF の構造

ヒト IL-8 前駆体は 99 アミノ酸よりなり立ち、成熟型 IL-8 は 72 アミノ酸よりなる。高濃度では水素結合を通じて 2 量体をつくる。IL-8 は、N 末端部分 (アミノ酸 1 ~ 6), triple-stranded antiparallel β -sheet からなる骨格の部分 (Cys 7-Cys 50) と、 α -ヘリックス構造をとる C 末端部分 (アミノ酸 56 ~ 72) からなり立つ。MCAF の 3 次元構造モデルも IL-8 と構造上重ね合わせられると考えられている。図 2 に X 線結晶回折にもとづく構造モデルを示す。

Leukocyte chemotactic and activating polypeptides, IL-8 and MCAF.

Kouji Matsushima; 金沢大学がん研薬理部

Correspondence address: Kouji Matsushima, Department of Pharmacology, Cancer Research Institute, Kanazawa University, 13-1 Takaramachi, Kanazawa 920, Japan.

第 42 回電気泳動学会総会・シンポジウム

(40) 生物物理化学

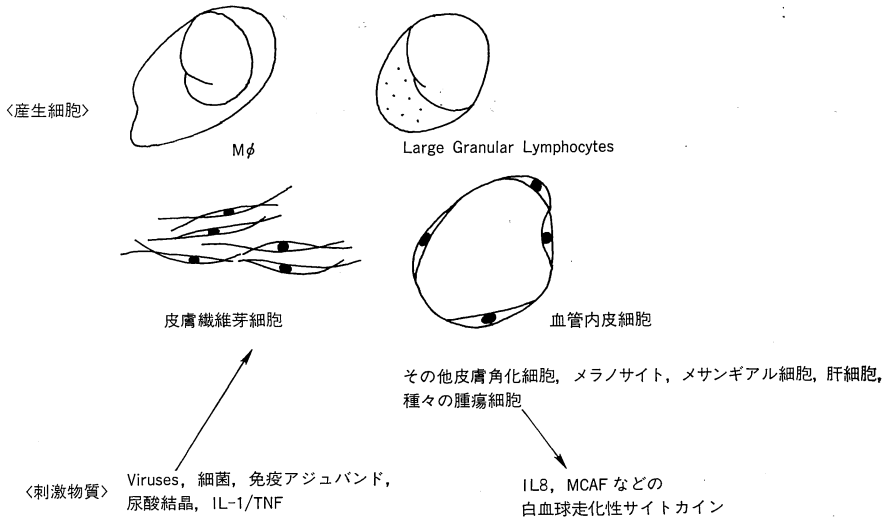


図 1. IL-8/MCAF の産生

表 1. 現在まで *in vivo* における IL8, MCAF の産生が証明されている疾患

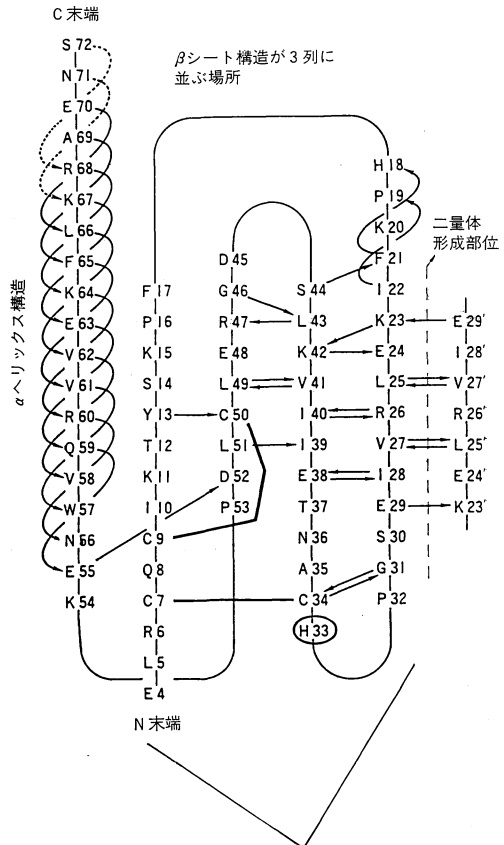
IL-8	MCAF
リウマチ性関節炎	動脈硬化症
痛風性関節炎	肉芽症
乾癬症	リウマチ性関節炎
成人呼吸窮迫症候群	など
クローン病, 潰瘍性大腸炎	
敗血症	
心筋梗塞	
尿路感染症	
など	

4. IL-8 遺伝子の IL-1, TNF による発現調節機構

IL-8 遺伝子の IL-1, TNF PMA (phorbol myristate acetate) による活性化は新しいタンパク合成を介さず急速に, 転写レベルで起こる. IL-1 は少なくともまた IL-8 mRNA の半減期を著しく増加させる. IL-8 染色体遺伝子は, 4エクソンと3イントロンからなり立ち, 5'-上流域には, IL-1, TNF, PMA 共通に反応する C/EBP と NFκB 様核内タンパクが結合しうるエンハンサーが -94-71 bp に存在する. 線維芽細胞では -94-71 bp のエンハンサーのみで十分に IL-1, TNF, PMA, B型肝炎ウイルス X蛋白に反応するが, Tリンパ球, 胃癌細胞, 肝細胞では -126-120 の AP-1 領域がさらに重要な役割をなす. 図3にこれらの領域の構造を示す(7,8).

5. IL-8, MCAF 受容体の性状

ヒト IL-8, 受容体は分子量 60 kDa でヒト好中球には



His33 を中心としたアミノ酸末端部位とループの部位が受容体への結合, 活性に關与するものと推定

図 2. ヒト IL-8 の X線結晶回析に基づく構造

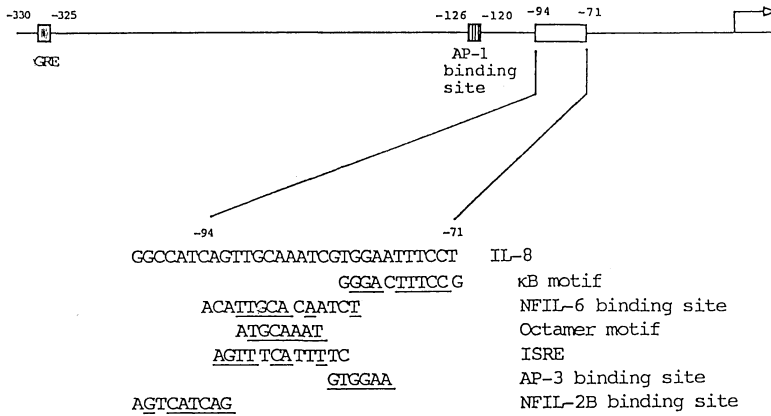


図 3. IL-8 遺伝子 5' 領域と既知の転写因子結合部位との同定性
下線は IL-8 遺伝子と一致する配列

20,000 個/細胞表現されており、親和常数 K_d は $8 \times 10^{-10}M$ と算出されている⁹⁾。MCAF 受容体は 40k Da でヒト単球上に 13,000 個/細胞表現されており、 K_d は 25 nM と算出されている (未発表)。IL-8 受容体の表現は、IL-8 自身のみならず、TNF などの他のサイトカインによっても down-regulate される¹⁰⁾。IL-8 受容体 cDNA が最近クローニングされ、 β -アドレナージック受容体タイプの G 蛋白結合性受容体であることが判明した^{11,12)}。

結 論

白血球の炎症組織への浸潤を中心的に制御すると考えられる二つのサイトカイン (IL-8 と MCAF) がクローニングされた。IL-8 受容体 cDNA もクローニングされた。今後種々の炎症疾患における IL-8, MCAF の産生の検索と炎症反応形成におけるこれらのサイトカインの役割を確立することが重要である。

文 献

- 1) Yoshimura, T. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **84** : 9233, 1987.
- 2) Matsushima, K. et al. : J. Exp. Med., **167** : 1983, 1988.
- 3) Lasen, C. G. et al. : Science, **243** : 1464, 1989.
- 4) Matsushima, K. et al. : J. Exp. Med., **169** : 1485, 1989.
- 5) Furutani, Y. et al. : Biophys. Res. Commun., **159** : 249, 1989.
- 6) Baldwin, E. T. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **88** : 502, 1991.
- 7) Mukaida, N. et al. : J. Immunol., **143** : 1366, 1989.
- 8) Mukaida, N. et al. : J. Biol. Chem., **265** : 21128, 1990.
- 9) Samanta, A. K. et al. : J. Exp. Med., **169** : 1185, 1989.
- 10) Samanta, A. K. et al. : J. Biol. Chem., **265** : 183, 1989.
- 11) Holmes, N. E. et al. : Science, **253** : 1280, 1991.
- 12) Murphy, P. M. and Tiffany, H. L. : Science, **253** : 1280, 1991.