

## 総説：気管支喘息の病態解明とその治療応用

### 好酸球・リンパ球の動向とその治療への応用

秋田大学臨床検査医学講座

茆原 順一 山口 一考

**要旨** アレルギー性炎症には好酸球、肥満細胞といった細胞が非常に重要な役割を果たしている。その一方で、免疫反応をつかさどる細胞として、リンパ球、とりわけT細胞やB細胞といったものがアレルギー反応では重要な役割を果たしている。

近年、Th1/Th2という概念が提唱されその研究はめざましく進歩している。Th細胞は産生するサイトカインという物質の違いでTh1細胞とTh2細胞の二つに分けられている。とりわけTh2細胞がアレルギー性炎症には重要であるとされている。Th2サイトカインはオートクライン、パラクラインの経路でリンパ球自身に作用しTh2へのシフトを誘導する。また上皮細胞、内皮細胞に作用し好酸球を誘導するため、ケモカイン産生接着分子の発現を行う。

従って、アレルギーの治療ターゲットとしては①ケモカイン、ケモカインレセプター②好酸球表面接着分子(特にβインテグリン)③Th1の誘導、というものが考えられる。

今回、好酸球・リンパ球の動向をTh1/Th2という観点から示し、その治療への展開を最近の見知をふまえて紹介する。

**キーワード**：好酸球、リンパ球、ケモカイン、サイトカイン

Th1, Th2, PPAR-gamma

#### アレルギーにおける好酸球の役割

好酸球は発見された当初、ヒスタミンを分解する酵素などを含む炎症局所でlate phaseに出現することからアレルギー・炎症反応を抑制する火消し役として働くと考えられていた。しかし、1970年代以降、好酸球を特徴づける強力な細胞障害作用を持つ顆粒蛋白の役割が明らかとなり、好酸球はアレルギー・炎症反応を促進・惹起する火付け役と考えられるようになった<sup>1)</sup>。顆粒蛋白は寄生虫排除に重要な役割を果たす一方、気管支喘息では炎症局所で増加しており、気道上皮の剝離を引き起こし気道過敏性を惹起させることが明らかになっている。また、活性化好酸球は血小板活性化因子(PAF)や強力な平滑筋収縮作用を持つロイコトリエン(LT)C4といった脂質メディエーターを産生する。さらに、活性化酸素や気道のリモデリングに関与する変換増殖因子(TGF)をはじめとしたサイトカイン・ケモカインの産生能をもち、好酸球自身が様々なレセプターを発現する(図1)。こうして、アレルギー性疾患は炎症性疾患であるという概念とともに、その主たる炎症細胞は好酸球との認識が主流となった。近年、Th1/Th2細胞の概念が提唱され、Th2細胞から産生されるサイトカインに加え、ケモカインや接着分子が好酸球の遊走・活性化においても重要であり、これらはアレルギー疾患の治療のターゲットと考えられるようになってきている。

#### 好酸球の遊走と活性化

肺という臓器は生理的状態でも好酸球の分布が多く、好酸球との関連の強い臓器である。好酸球が血管内から局所に遊走するには主として4つのステップがある(図2)。以下その説明に入る。

##### 1. 血管壁接着

骨髄で幹細胞から分化した好酸球は流血中に入り、まず血管内皮細胞へ接着する。この過程はセレクトリン分子を介したローリングにより速度を落とすことで始まる。好酸球は血管内皮細胞上にプロテオグリカンとの結合を介して固相化されたケモカインなどにより活性化を受ける。そしてローリングに続いて、firm adhesion(しっかりとした接着)が形成される。これはTNFα・IL-1・PAF・RANTES等により活性化された血管内皮細胞上に発現したVCAM-1・ICAM-1と、好酸球表面βインテグリンの結合によるものである<sup>2)</sup>。

##### 2. 経血管内皮細胞間移行

接着分子により血管壁に結合した好酸球は次に血管内皮細胞間を移行する。ここでは血管内皮細胞に発現しているICAM-1が重要である。eotaxin-2は、好酸球が血管内皮を移行する際、β1インテグリンからβ2インテグリン優位にシフトするdetachmentに働くとされる<sup>3)</sup>。

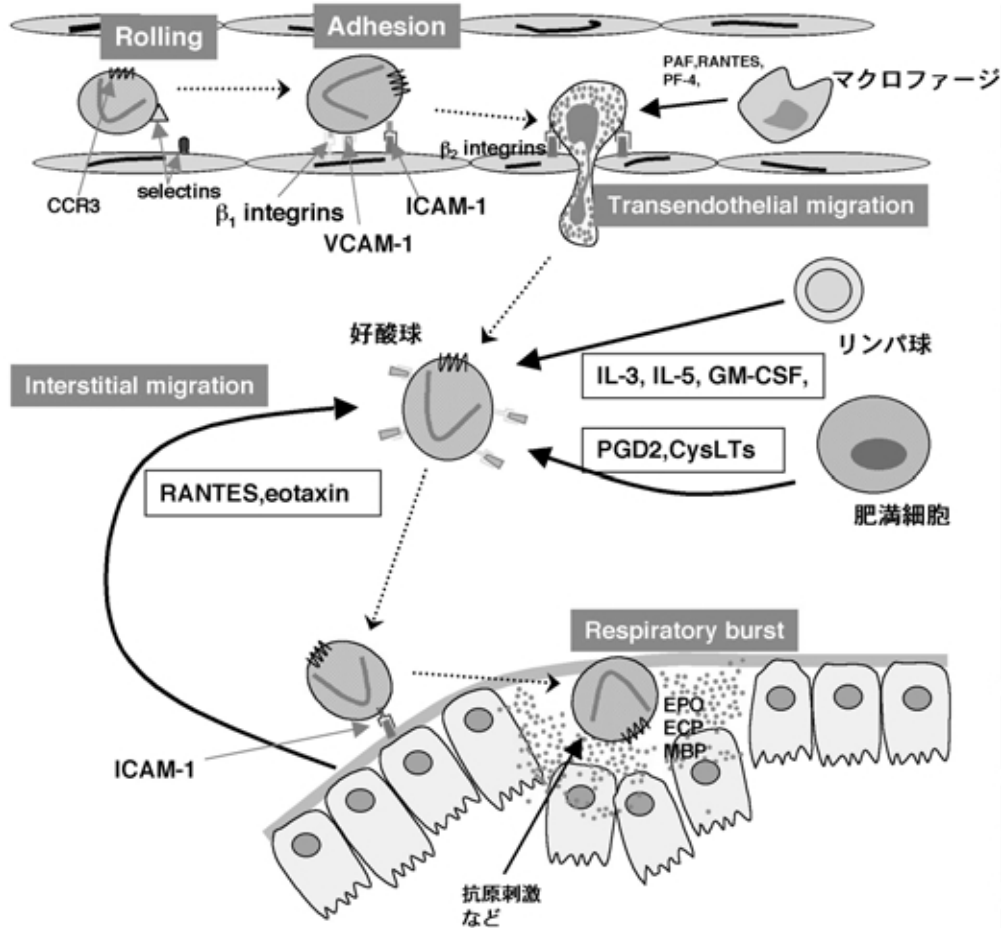


図1 好酸球によるアレルギー・炎症反応の促進

好酸球は種々の細胞からの情報に対し様々なレセプターを発現している。これらにより活性化された好酸球が、サイトカイン・ケモカインの産生を行って他の免疫細胞に情報を発したり、細胞障害を発揮する。

### 3. 間質内遊走

好酸球は血管外に移行し、 $\beta 1$ インテグリンであるVLA-4とファイブネクチン(FN)の接着を使って間質内を上皮側に向かい移行していく。その際、IL-5, GM-CSFなどにより生存が延長し、またRANTESなどの刺激も受けて好酸球は活性化する<sup>4)</sup>。

### 4. 気道障害惹起

気道に到達した好酸球は気道上皮ICAM-1を介して接着し、抗原や免疫グロブリンなどに刺激を受けて、顆粒蛋白、活性酸素などを放出し、気道上皮剥離など傷害性に作用する。また気道上皮細胞はeotaxinの重要な産生細胞でありながらそのレセプターCCR3を発現している。気道上皮CCR3からのシグナルによりIL-8, GM-CSFが産生され<sup>5)6)</sup>、IL-8もGM-CSF存在下では好酸球に作用する。これらの作用によって好酸球はさらに遊走され集積する。

### リンパ球の役割

前述したようにアレルギー性炎症には好酸球、肥満細胞

胞といった細胞が非常に重要な役割を果たしている。その一方で、免疫反応をつかさどる細胞として、リンパ球、とりわけT細胞やB細胞といったものがアレルギー反応では重要な役割を果たしている。そのような背景のもとで近年、Th1/Th2という概念が提唱された。

### Th1/Th2セオリー

Th細胞は産生するサイトカインという物質の違いでTh1細胞とTh2細胞の二つに分けられている。このサイトカインはいわゆる連絡物質のようなもので、T細胞、B細胞、肥満細胞、すべての細胞に刺激を送る伝令物質のようなものである。Th1細胞はインターフェロン $\gamma$ 、IL-2、IL-12というサイトカインを出し、Th2細胞はIL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13といったサイトカインを出すことが知られている。このTh2細胞がアレルギー反応の過程で刺激を受けると、サイトカインを放出して、B細胞をとりわけIgE抗体を産生する細胞に形質転換させる。IgE産生が過剰になるとアレルギーの起きやすい状態となる(図3)。

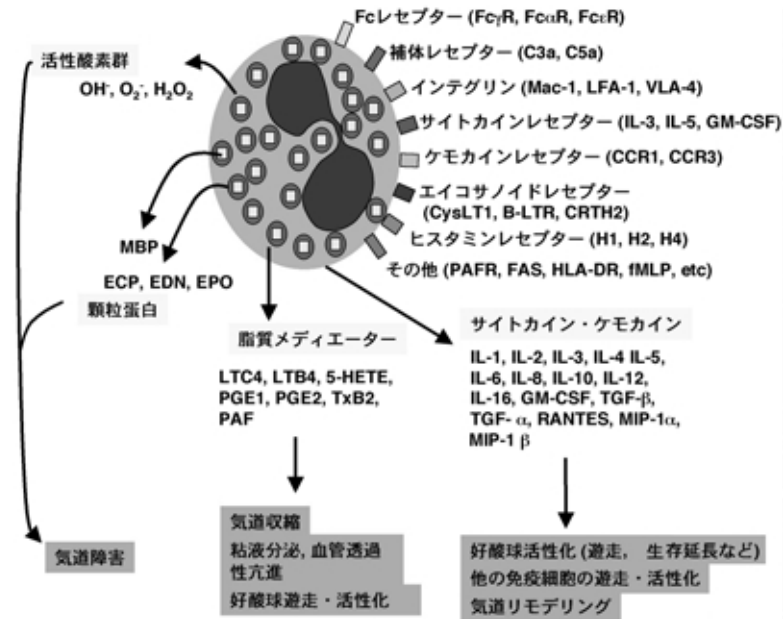


図2 好酸球遊走活性のメカニズム

好酸球がアレルギー性炎症の場面に集積するメカニズムをサイトカイン・ケモカイン・接着分子を中心に示す。

ウイルス感染や細菌感染では単球・マクロファージが反応し、マクロファージから IL-12 が分泌される。その IL-12 は Th 1 細胞に作用して INF- $\gamma$  を産生し、Th 2 細胞からの IL-4, IL-5 の分泌を抑える。なお、形質細胞が反応する場合は、IgG 抗体が作られ免疫の働きをする。健康人は Th 1 細胞と Th 2 細胞のバランスが保たれているが、アレルギー患者は Th 2 細胞へ分化しやすい (Th 1/Th 2 細胞のアンバランス) 素因を持つ。すなわちダニ、スギなどが感作 T リンパ球に作用すると、Th 1 細胞ではなく Th 2 細胞から IL-4 が作られると IL-5 が分泌される。

#### Th 2 細胞の活性化

喘息やアレルギー性鼻炎などのアレルギー性疾患において Th 2 細胞中心的役割を果たしていることは、もはや周知の事実であるが、その重要な初期ステップは抗原特異的 T-cell が APC (antigen presenting cell) から提示を受けることである。APC により感作された Th 0 細胞は Th 2 細胞へ分化する。その際 IL-4 は Th 2 細胞の分化に必須である。その Th 2 細胞からも IL-4 が放出され B 細胞を活性化、この B 細胞から IgE が産生され、それが肥満細胞の Fc $\epsilon$ R1 に結合し、ヒスタミンなどが遊離されて炎症が起こる。一方で肥満細胞自身も IL-4 を出すので、IL-4 が Th 2 を刺激し相乗的にアレルギー性炎症が増悪する。IL-4 の重要な役割は次の 3 つである。

- ① IL-4 は B 細胞に作用して IgE などを産生する。
- ② T 細胞を Th 2 にシフトさせる。
- ③ T 細胞に作用すると、IFN $\gamma$  といったような Th 1 のサイトカインの産生を抑

制させる。

同様に Th 2 細胞から放出される IL-13 は気道上皮の粘液細胞増生、内皮細胞の VCAM-1 発現増強による T 細胞、好酸球の気道への動員に関わっており、IL-5 は好酸球の分化・成熟・活性化を促し、それによる気道の好酸球性炎症を惹起する<sup>7)</sup> (図 4)。

#### 治療への展開

1. ケモカイン、ケモカインレセプターを標的としてまずケモカインの好酸球への作用の抑制が考えられる。前述の遊走ステップから考えると、一つは血管内皮細胞へのケモカインの固相化の抑制が考えられる。例えば血小板由来の好酸球活性化ケモカインである PF 4 は血小板から放出後すぐに血管内皮細胞上のヘパリン様物質と結合することが知られている。しかしヘパリンの経静脈的投与により血管内皮細胞上のヘパリンから血中のヘパリンに結合が移行することが言われている。RANTES などのケモカインも同様のことと思われる<sup>9)</sup>。また血管内皮細胞から産生された eotaxin-3 が固相化され好酸球に対して作用するとの報告<sup>10)</sup>からも、ケモカインのヘパリン結合性が治療ターゲットとなると考えられる。

また一方ではケモカインレセプターに対する低分子量コンパウンドのアンタゴニストが開発されている。好酸球は RANTES, eotaxin のレセプターである CCR 3 と CCR 1 を発現していることから CCR 3 アンタゴニスト、CCR 1, CCR 3 アンタゴニストが好酸球を標的とした場合には有効と考えられる<sup>11)12)</sup>。またケモカインの構造の一部を変化させたアンタゴニストが報告されている。

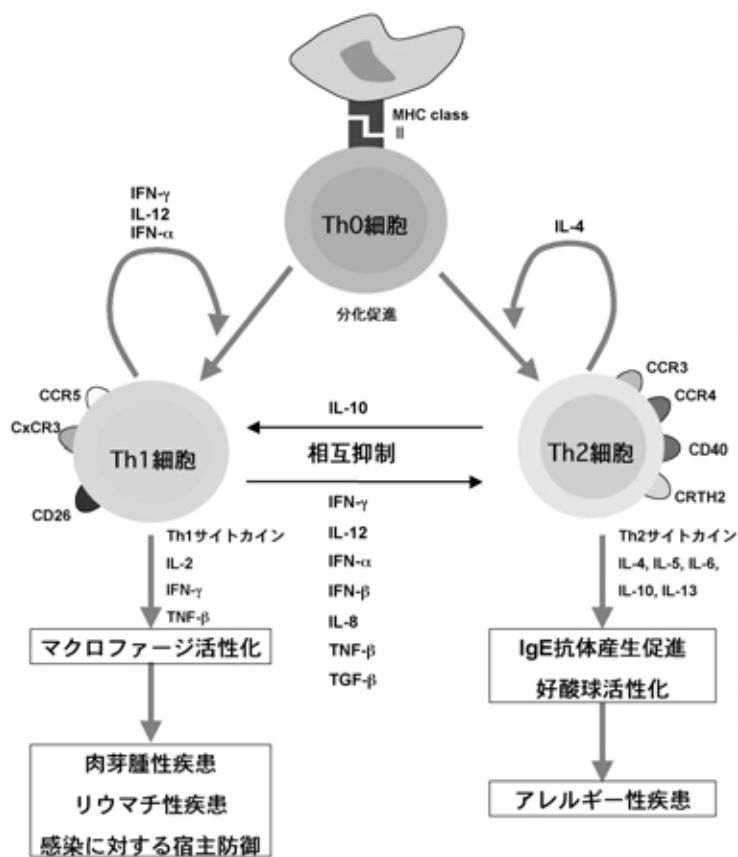


図3 Th1/Th2バランスの概要  
Th1/Th2バランスの概要をサイトカインを中心に示す

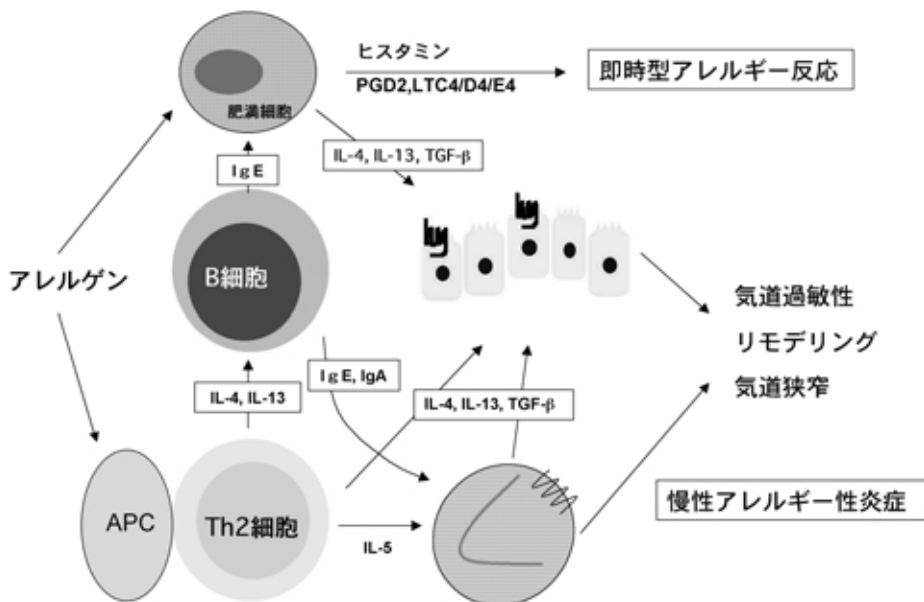


図4 アレルギー性炎症におけるリンパ球, 好酸球, 肥満細胞の関わり  
文献4)を改変

Met-RANTES は RANTES の N 末端にメチオニンを付加した化合物で *in vivo* においても好酸球浸潤を抑制することが報告されている<sup>13)</sup>。また MIP-4 の N 末端のアラニンをメチオニンに変換した Met-CK $\beta$ 7 もより選択的な CCR3 拮抗作用があるとされている<sup>14)</sup>。

2. 好酸球表面接着分子 (特に  $\beta$  インテグリン) を標的として

我々はこれまでに遺伝子組み替え可溶性 ICAM-1 (r-sICAM-1) を用いた検討から、 $\beta$ 2 インテグリン/ICAM-1 を介して好酸球は単に接着するだけでなく活性化を受け脱顆粒、活性酸素産生、RANTES 産生が惹起されること、また GM-CSF を中心としたサイトカイン産生を介して好酸球生存を延長することを確認している<sup>8)</sup>。また  $\beta$ 2 インテグリン  $\alpha$  鎖である CD11b (CR3) の発現はケモカイン (むしろ作用は弱いか機能的)、PAF、IL-3、IL-5、GM-CSF、TNF- $\alpha$ 、LPS、C5a などにより増加、あるいは接着として機能的に増強すること、インテグリン相互のシグナルの伝達は  $\beta$ 1 インテグリンから  $\beta$ 2 インテグリンへとなされていると考えられることから<sup>15)</sup>、 $\beta$ 2 インテグリンはある意味で終末的炎症性分子と考えられ治療標的として重要である。戦略的实际としてはサル喘息モデルにおいて抗 ICAM-1 抗体投与により改善するとの報告が 1990 年に Wegner らによってなされた<sup>16)</sup>。我々は  $\beta$ 2 インテグリン/ICAM-1 結合部位を含んだもっと低分子のペプチドが  $\beta$ 2 インテグリン/ICAM-1 からのシグナルをおさえることを観察しており今後の治療戦略として考えている<sup>8)</sup>。一方、 $\beta$ 1 インテグリン VLA-4 は好酸球に発現しているが、好中球では敗血症患者好中球などの特別なもの以外では発現しておらず好酸球選択的治療を考える上で重要である。接着のみならず VCAM-1 や FN との結合によりサイトカイン産生を介した好酸球生存延長をおこす<sup>17)</sup>。VLA-4/FN からのシグナルも RANTES や eotaxin により増強する。 $\beta$ 1 インテグリンにおいては VLA-4 低分子アンタゴニストによる検討がなされており、気道好酸球浸潤抑制がおこると報告されている<sup>18)</sup>。

### 3. Th1 の誘導

好酸球は遊走の過程で主として IL-5 や GM-CSF によりその生存が延長する。そのため局所に長く集積することとなる。そこで様々な方法での好酸球アポトーシス誘導が好酸球標的戦略として有用である。最近の報告としては IL-12 投与のトライアルがある<sup>19)</sup>。IL-12 投与のトライアルは Th1 の誘導によるアレルギーの制御を目的としてなされているが、その後 IL-12 の好酸球アポトーシス誘導作用が報告されたことからその作用点は少なからず好酸球に向いていると考えられる<sup>20)</sup>。事実、IL-12 投与により喀痰中好酸球は減少した。しかし気道過敏性

は改善せず抗 IL-5 抗体の検討と同様の結果となったが、どちらも同じグループにより報告されたものであり、今後のさらなる検討が必要と思われる。

### 4. アレルギー性炎症における PPAR $\gamma$

近年、ステロイドレセプターファミリーの核内受容体である peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) が脂質・糖代謝において中心的な役割を持つことが明らかになっているが、このサブタイプのうちの一つである PPAR $\gamma$  が炎症を制御する可能性が注目されている。PPAR $\gamma$  は単球・マクロファージ、リンパ球にも発現しており炎症性サイトカインを抑制する。ごく最近、PPAR $\gamma$  は樹状細胞の抗原提示能を抑制すること<sup>21)</sup>や、B 細胞株 DND 39 において IL-4 による IgE クラススイッチを阻害すること<sup>22)</sup>が報告されている。さらに ICAM-1 といった血管内皮細胞の接着分子の発現にも関与する可能性も示唆されている<sup>23)</sup>。我々は好酸球においても PPAR $\gamma$  の発現を確認し、さらに PPAR $\gamma$  アゴニストは、好酸球の IL-5 による生存延長と eotaxin に対する遊走を濃度依存性に抑制することを見いだした<sup>24)</sup>。これらの知見は PPAR $\gamma$  が好酸球の活性化をはじめアレルギーの免疫反応に抑制的に働くことを示唆し、新しい治療のターゲットとなる可能性が考えられる。実際、気管支喘息患者の気道において PPAR $\gamma$  の発現は一秒率と逆相関し、ステロイド治療後発現低下が観察される<sup>25)</sup>が、これは自己修復作用とも考えられ興味深い。

### 参考文献

- 1) Gleich GJ: Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 651.
- 2) 荏原順一: 接着分子とアレルギー。メディカルレビュー社, 1996, 10-19
- 3) Tachimoto H, Burdick MM, Hudson SA, et al: CCR3-active chemokines promote rapid detachment of eosinophils from VCAM-1 *in vitro*. *J Immunol* 2000; 165: 2748-2754.
- 4) Chihara J, et al: Signaling through the beta 2 integrin prolongs eosinophil survival. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 99-103.
- 5) Cui CH, Adachi T, Oyamada H, et al: The role of mitogen-activated protein kinases in eotaxin-induced cytokine production bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27: 329-335.
- 6) Oyamada H, Chihara J, et al: CCR3 mRNA expression in bronchial epithelial cells and various cells in allergic inflammation. *Int Arch Clin Immunol* 1999; 120: 45-47.
- 7) Mark L, S. Robinson, A. Barry Kay, et al: The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J ALLERGY CLIN IMMUNOL* 2003; 111, 3: 450-463.
- 8) 荏原順一, 山田佳之: 接着分子とその障害。免疫・Immunology Frontier. 1999; 9: 47-50.
- 9) 荏原順一, 安場広高, 中島重徳: 血小板のアレルギー性炎症への関与。アレルギーの領域。1994; 1: 46-55.

- 10) Cuvelier SL, Patel KD : Shear-dependent eosinophil transmigration on interleukin 4-stimulated endothelial cells : a role for endothelium-associated eotaxin-3. *J Exp Med* 2001 ; 194 : 1699 1709.
  - 11) Saunders J, Tarby CM : Opportunities for novel therapeutic agents acting at chemokine receptors. *Drug Discov Today* 1999 ; 4 : 80 92.
  - 12) Kakazu T, Chihara J, et al : Effect of RANTES on intercellular expression of EG 2 antigen in eosinophils. *Int Arch Clin Immunol* 1995 ; 108 : 43 44.
  - 13) Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, et al : The coordinated action of CC chemokines in the lung orchestrates allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *J Exp Med* 1998 ; 188 : 157 167.
  - 14) Nibbs RJ, Salcedo TW, Campbell JD, et al : C-C chemokine receptor 3 antagonism by the beta-chemokine macrophage inflammatory protein 4, a property strongly enhanced by an amino-terminal alanine-methionine swap. *J Immunol* 2000 ; 164 : 1488 1497.
  - 15) May AE, Neumann FJ, Schomig A, Preissner KT : VLA-4 ( alpha ( 4 ) beta ( 1 ) ) engagement defines a novel activation pathway for beta ( 2 ) integrin-dependent leukocyte adhesion involving the urokinase receptor. *Blood* 2000 ; 96 : 506 513.
  - 16) Wegner CD, Gundel RH, Reilly P, et al : Intercellular adhesion molecule-1 ( ICAM-1 ) in the pathogenesis of asthma. *Science* 1990 ; 247 : 456 459.
  - 17) Meerschaert J, Vrtis RF, Shikama Y, et al : Engagement of alpha 4 beta 7 integrins by monoclonal antibodies or ligands enhances survival of human eosinophils in vitro. *J Immunol* 1999 ; 163 : 6217 6227.
  - 18) Abraham WM, Gill A, Ahmed A, et al : A small-molecule, tight-binding inhibitor of the integrin alpha ( 4 ) beta ( 1 ) blocks antigen-induced airway responses and inflammation in experimental asthma in sheep. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 ; 162 : 603 611.
  - 19) Bryan SA, O'Connor BJ, Matti S, et al : Effects of recombinant human interleukin-12 on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000 ; 356 : 2149 2153.
  - 20) Nutku E, Zhuang Q, Soussi-Gounni A, et al : Functional expression of IL-12 receptor by human eosinophils : IL-12 promotes eosinophil apoptosis. *J Immunol* 2001 ; 167 : 1039 1046.
  - 21) Nencioni A, Grunebach F, Zobywalski A, et al : Dendritic cell immunogenicity is regulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Immunol* 2002 ; 169 : 1228 1235.
  - 22) Miyazaki Y, Tachibana H, Yamada K : Inhibitory effect of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands on the expression of IgE heavy chain germline transcripts in the human B cell line DND 39. *Biochem Biophys Res Commun* 2002 ; 295 : 547 552.
  - 23) Wang N, Verna L, Chen NG, et al : Constitutive activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma suppresses pro-inflammatory adhesion molecules in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 34176 34181.
  - 24) Ueki S, Adachi T, Chihara J et al : Expression of PPAR-gamma in eosinophils and its functional role in survival and chemotaxis. *Immunol Lett* 2003 ; 86 : 183 189.
  - 25) Benayoun L, Letuve S, Druilhe A et al : Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in human asthmatic airways : relationship with proliferation, apoptosis, and airway remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 164 ( 8 Pt 1 ) : 1487 1494.
-