

## ●ファイザーフェローシップ報告

## 気管支喘息患者における IL-18 の関与

今岡 治樹

## はじめに

2008年7月より2010年9月までの約2年間、カナダのOntarioにあるMcMaster Universityに、Postdoctoral Research Fellowとして留学した。主に、Paul M. O'Byrne教授の研究室で喘息患者を対象に臨床研究を行ったので報告する。

## 研究の概要

気管支喘息は、気道の慢性炎症、リモデリングに関連した気道可逆性、気道過敏性が特徴である<sup>1)</sup>。特に気道炎症は、IL-4、IL-5、IL-13を中心としたサイトカインを放出するT-helper 2 (Th2)細胞中心に起こると考えられている<sup>2)</sup>。IL-13に関しては、気道過敏性に対する関与が強いとされている<sup>3)</sup>。

IL-18は、Okamuraらによりクローニングされた炎症性サイトカインであり、Th1だけでなく、Th2を強力に誘導することが知られている<sup>4)~6)</sup>。また、IL-18は、さまざまな呼吸器疾患との関与が報告されている<sup>7)~10)</sup>。気管支喘息との関与については、IL-18の遺伝子多型が気管支喘息の重症度と相関した<sup>11)</sup>との報告がなされているが、その詳細はいまだにはっきりしていない。

本研究では、アレルギー喘息、アレルギー患者、および非アレルギー健常人の、血清IL-18およびTh2サイトカイン値を比較検討した。

## 対象および方法

18~50歳、気道過敏性の指標であるPC<sub>20</sub>値が16 mg/ml以下、吸入ステロイドを含めたステロイド使用なし、一般的な環境抗原によるスキンプリックテスト陽性のアレルギー喘息患者と、スキンプリックテスト陽性のみのアレルギー患者、および非アレルギー健常人を対象とした<sup>12)</sup>(表1)。

表1 患者背景

	非アレルギー 健常人	アレルギー 患者	アレルギー 喘息
Patients	10	11	15
Age (yrs)	23.3±0.9	22.6±0.9	26.9±2.8
Male	3	5	8
Female	7	6	7
FEV <sub>1</sub> % predicted	96.1±2.2	92.2±4.3	90.9±3.5
PC <sub>20</sub> (mg/ml)	>32	>32	2.39 (GSEM 1.38) <sup>†</sup>
Total IgE (IU/ml)	18.6±4.4	102.4±20.6*	166.1±33.6*

<sup>†</sup>p<0.01 vs. 非アレルギー健常人, アレルギー患者. \*p<0.05 vs. 非アレルギー健常人.

表2 IL-18 レセプター発現率

	非アレルギー 健常人	アレルギー 患者	アレルギー 喘息
CD3 (%)	37.94±2.34	39.83±2.15	38.97±1.50
CD4 (%)	38.68±2.41	37.67±2.51	38.82±1.99
CD8 (%)	36.32±2.93	37.45±2.34	38.48±2.44
CD56 (%)	83.84±3.01	84.87±3.21	82.65±3.74

各群より採血を行い、ELISA法を用いて血清中のIL-18、IL-4、IL-10、IL-12、IL-13、IFN- $\gamma$ 、総IgE値を測定した。CD3、CD4、CD8、CD56細胞におけるIL-18レセプター発現率に関しては、15-color LSR II flow cytometer equipped with 3 lasers (Becton Dickinson Instrument Systems)を使用して測定した(図1)。

4名のアレルギー喘息患者より気管支鏡生検で得られた組織<sup>13)</sup>を用いて、IL-18、IL-18レセプター発現を免疫染色法にて検討した<sup>8)9)</sup>。

## 結 果

## 1. 患者背景

アレルギー喘息患者15名、アレルギー患者11名、非アレルギー健常人10名の合計36名を対象とした。気道過敏性の指標であるメサコリンPC<sub>20</sub>値は、アレルギー喘息患者では、アレルギー患者、非アレルギー健常人と比較して、有意に低下していた。また、血中総IgE値は、アレルギー喘息患者、アレルギー患者が非アレルギー健

連絡先：今岡 治樹

〒830-0011 福岡県久留米市旭町67

久留米大学医学部内科学講座呼吸器・神経・膠原病内科部門(第一内科)

(E-mail: haruki@med.kurume-u.ac.jp)

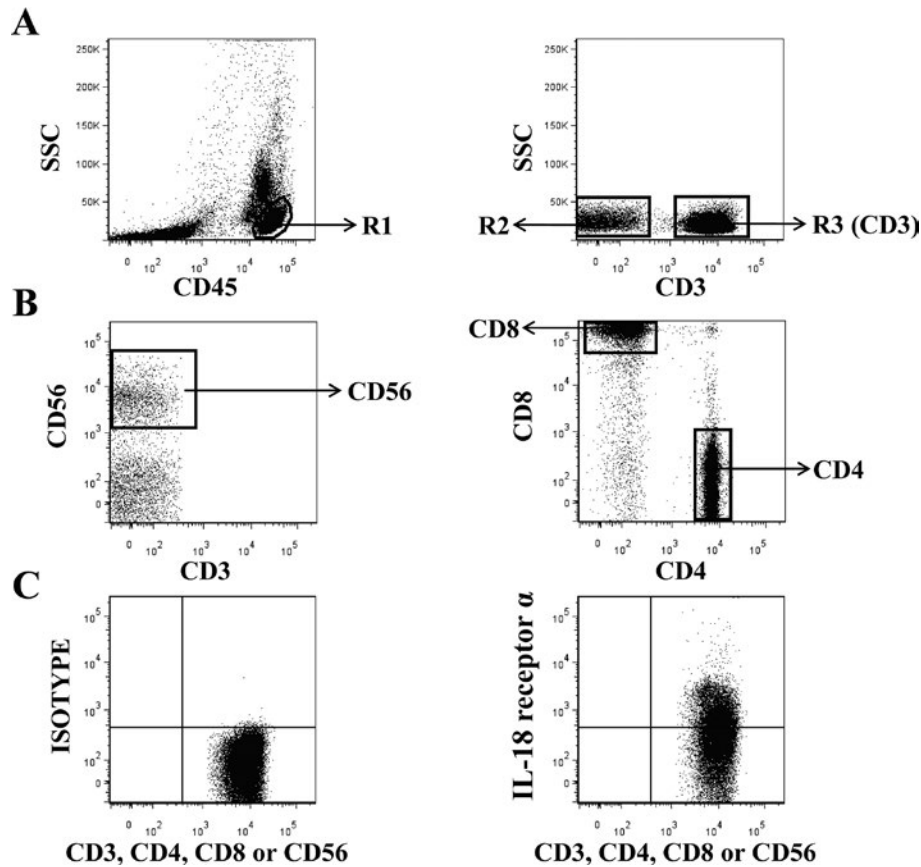


図1 IL-18 レセプター発現検出方法. (A) SSC, CD45にて, リンパ球を検出し R1 とする. 次に R1 を SSC, CD3にて CD3 (-) 細胞を R2, CD3 (+) 細胞を R3 に分離する. (B) R2 を CD56, CD3にて, CD56 (+) 細胞を分離. R3 を CD8, CD4にて, CD8 (+) 細胞と CD4 (+) 細胞に分離する. (C) CD3 (+), CD4 (+), CD8 (+) または CD56 (+) にて, IL-18 レセプターの発現率を isotype control を用いて測定する.

常人と比較して有意に高値であった (表1).

## 2. 血清中のサイトカイン値

血清 IL-18 値は, アレルギー喘息患者において, アレルギー患者, 非アレルギー健常人より有意に高値であった ( $p < 0.05$ ) (図2). また, その値は, メサコリン PC<sub>20</sub> 値と有意な負の相関を示し ( $r = -0.517, p < 0.05$ ) (図3), 総 IgE 値とは, 正の相関を示す傾向があった ( $r = 0.33, p = 0.053$ ) (図4). その他の炎症性サイトカイン (IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 または IFN- $\gamma$ ) に関しては, 各群において有意な差を認めなかった (図2).

## 3. リンパ球における IL-18 レセプター発現率

CD3, CD4, CD8, CD56 細胞における IL-18 レセプター発現率を flow cytometer を用いて検討したが, 各群において有意な差を認めなかった (表2).

## 4. 組織における IL-18 と IL-18 レセプターの発現

IL-18 は, 喘息患者肺組織の気道上皮細胞, 気道平滑筋に強く発現していた. IL-18 レセプターに関しては, 気道上皮にのみ弱く発現していた (図5).

## 考 察

本研究において, アレルギー喘息患者の血清中 IL-18 値は, アレルギー患者, 非アレルギー健常人と比較して有意に高値であった. 加えて, 血清中 IL-18 値は, 気道過敏性と有意に相関し, 総 IgE 値とは相関を示す傾向があった. しかし, CD3, CD4, CD8, CD56 細胞における IL-18 レセプター発現率に関しては, 各群において有意な差を認めなかった. アレルギー喘息患者肺組織では, IL-18 が気道上皮細胞, 気道平滑筋にて強く発現していた. IL-18 レセプターに関しては, 気道上皮細胞にのみ弱く発現していた.

抗原曝露による気管支喘息マウスモデルにおいて, IL-18 の気道過敏性に対する作用は亢進させるといった報告<sup>14)~16)</sup>や, 逆に低下させるといった報告<sup>17)</sup>がありまだにはっきりしていない.

アレルギー喘息患者において血清 IL-18 値の増加に関しては, すでに報告がある<sup>18)</sup>. また, 喘息の急性増悪時

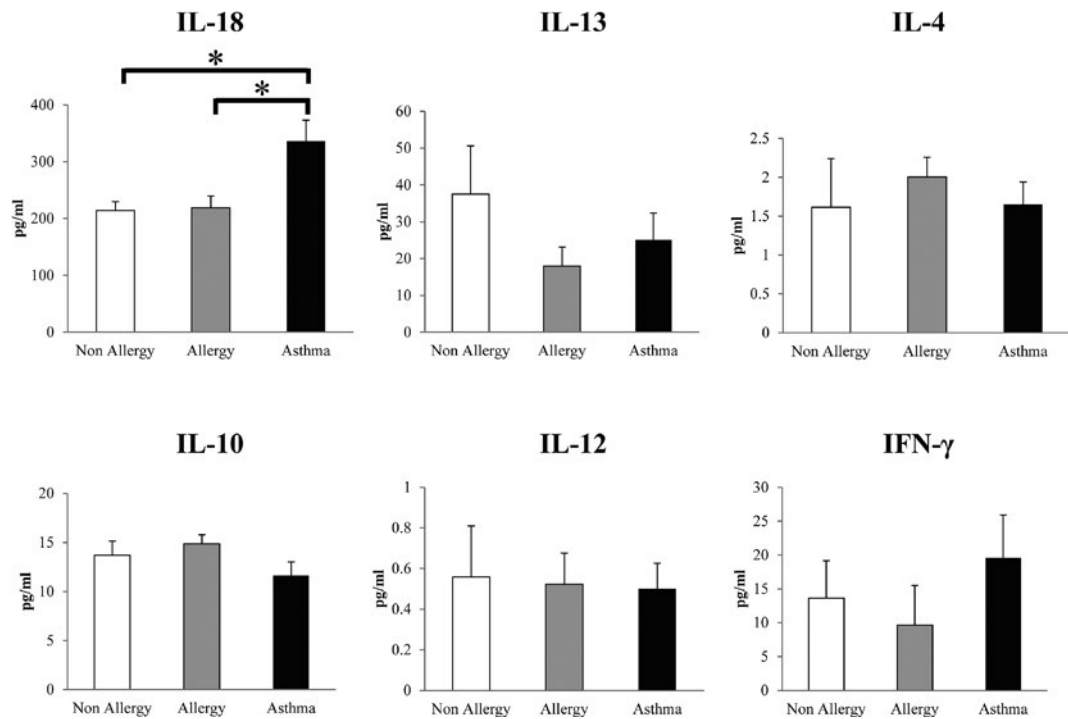


図2 血清中IL-18, IL-13, IL-4, IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$ 値. 健常人 (n=10), アレルギー患者 (n=11), アレルギー喘息 (n=15). \*p<0.05.

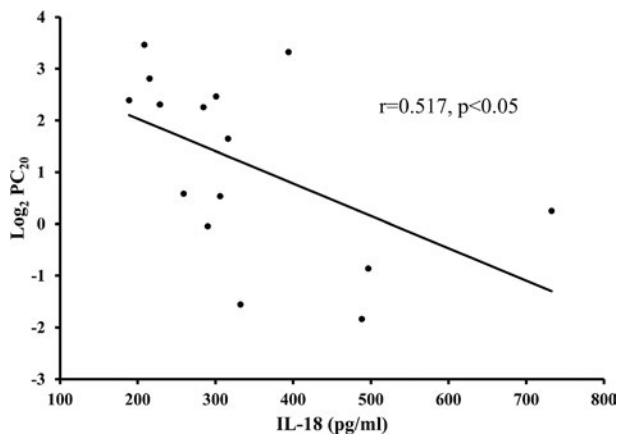


図3 血清中IL-18値とthe provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV<sub>1</sub> (PC<sub>20</sub>)との相関. アレルギー喘息 (n=15) (r = -0.517, p<0.05).

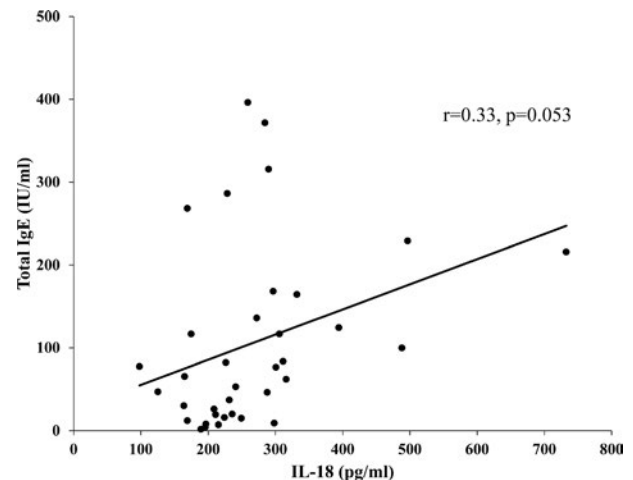


図4 血清中IL-18値と総IgE値との相関. n=36 (r = 0.33, p=0.053).

においても、増加することが報告されている<sup>19)</sup>。しかし、本実験のようにアレルギー喘息患者の血清中IL-18値が、気道過敏性と有意に相関し、また総IgE値と相関を示す傾向にあるといった内容の報告は過去にない。

喀痰上清中のIL-18値が、喘息患者にて増加していることが報告されている<sup>20)</sup>。本報告では示していないが、実際に我々も測定を試みたところほとんどの検体にて感度が低く測定できなかった。そのため、4名のアレルギー

喘息患者組織を用いてIL-18, IL-18レセプター発現を検討した。その結果、IL-18が気道上皮と気道平滑筋、IL-18レセプターが気道上皮に発現を認めたことは、それぞれの組織においてIL-18産生能力があることを示唆している。

本実験結果より、IL-18が気管支喘息の特徴である気道過敏性の病態に重要な役割を果たしていることが考えられた。今後、さらなる研究によって、IL-18が喘息の新

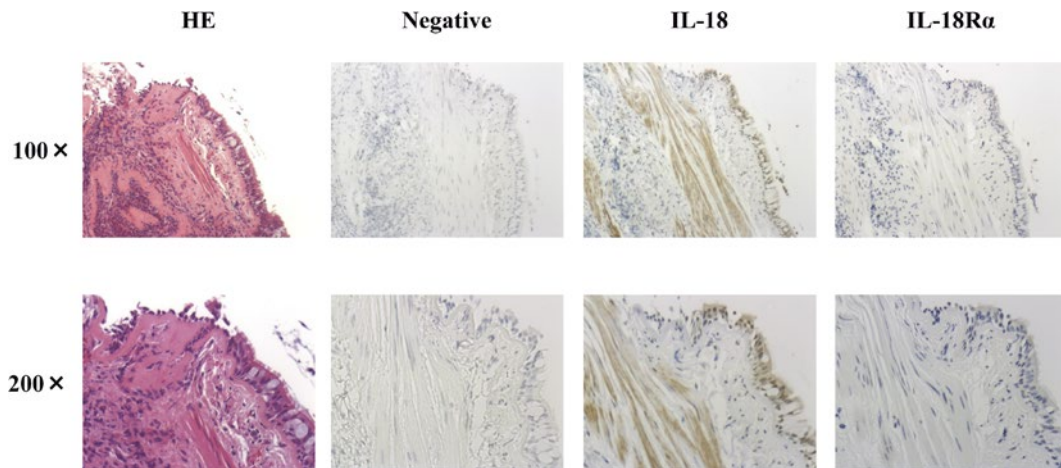


図5 抗IL-18抗体、IL-18レセプター抗体を使用したアレルギー喘息患者気道組織での免疫染色組織。

規治療に貢献することが期待される。

謝辞：本留学の機会を与えてくださった久留米大学医学部第一内科 相澤久道教授に謝意を表します。また、ファイザーフェローシップによる資金面での援助に誠に感謝いたします。

#### 引用文献

- 1) Busse WW, et al. Asthma. *N Engl J Med* 2001; 344: 350-62.
- 2) Cohn L, et al. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 789-815.
- 3) Wills-Karp M, et al. Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science* 1998; 282: 2258-61.
- 4) Okamura H, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature* 1995; 378: 88-91.
- 5) Nakanishi K, et al. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 423-74.
- 6) Hoshino T, et al. In vivo administration of IL-18 can induce IgE production through Th2 cytokine induction and up-regulation of CD40 ligand (CD154) expression on CD4+ T cells. *Eur J Immunol* 2000; 30: 1998-2006.
- 7) Okamoto M, et al. Interleukin 18 (IL-18) in synergy with IL-2 induces lethal lung injury in mice: a potential role for cytokines, chemokines, and natural killer cells in the pathogenesis of interstitial pneumonia. *Blood* 2002; 99: 1289-98.
- 8) Kitasato Y, et al. Enhanced expression of interleukin-18 and its receptor in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 619-25.
- 9) Imaoka H, et al. Interleukin-18 production and pulmonary function in COPD. *Eur Respir J* 2008; 31: 287-97.
- 10) Hoshino T, et al. Pulmonary inflammation and emphysema: role of the cytokines IL-18 and IL-13. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 49-62.
- 11) Harada M, et al. A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 1048-55.
- 12) Cockcroft DW, et al. Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method and clinical survey. *Clin Allergy* 1977; 7: 235-43.
- 13) Kelly MM, et al. Effects of budesonide and formoterol on allergen-induced airway responses, inflammation, and airway remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 349-56.
- 14) Sugimoto T, et al. Interleukin 18 acts on memory T helper cells type 1 to induce airway inflammation and hyperresponsiveness in a naive host mouse. *J Exp Med* 2004; 199: 535-45.
- 15) Ishikawa Y, et al. Contribution of IL-18-induced innate T cell activation to airway inflammation with mucus hypersecretion and airway hyperresponsiveness. *Int Immunol* 2006; 18: 847-55.
- 16) Yamagata S, et al. Interleukin-18-deficient mice exhibit diminished chronic inflammation and airway remodeling in ovalbumin-induced asthma model. *Clin Exp Immunol* 2008; 154: 295-304.
- 17) Matsubara S, et al. IL-2 and IL-18 attenuation of airway hyperresponsiveness requires STAT4, IFN-gamma, and natural killer cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 36: 324-32.

- 18) Wong CK, et al. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-gamma, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol* 2001; 125: 177-83.
- 19) Tanaka H, et al. IL-18 might reflect disease activity in mild and moderate asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 331-6.
- 20) Rovina N, et al. Interleukin-18 in induced sputum: association with lung function in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2009; 103: 1056-62.