

分子呼吸器病 ARCHIVES 2002 基礎編

脂質メディエーターと気道炎症

長瀬隆英*

Lecture key notes

- ① 脂質メディエーターであるプロスタグランジン，トロンボキサン，ロイコトリエンなどはエイコサノイドと総称され，アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。
- ② これらの脂質メディエーターは，ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。
- ③ 呼吸器系においても，気管支喘息における気道炎症など重要な病態生理的意義を有している。
- ④ 最近の研究により，アラキドン酸カスケードの起点となる cPLA₂ が，ARDS や肺線維症の発症機序に重要であることが明らかとなり，治療標的となる可能性が示唆されている。

はじめに

脂質メディエーターであるプロスタグランジン，トロンボキサン，ロイコトリエンなどはエイコサノイドと総称され，アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。アラキドン酸は，炭素数 20 よりなる構造をもち，生体ではリン脂質から細胞質ホスホリパーゼ A₂ (cytosolic phospholipase A₂ : cPLA₂) によって切り出される。この際に，同時にリゾ PAF (lyso-PAF) が生成され，リゾ PAF から血小板活性化因子 (platelet-activating factor : PAF) がつくられる。アラキドン酸は，図①に示すように，アラキドン酸カスケードとよばれる代謝経路を経てさまざまなエイコサノイドを生成する。その 2 つの大きな経路が，シクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase : COX) 系および，5-リポキシゲナーゼ (5-lipoxygenase : 5-LO) 系である。プロスタグランジン，トロンボキサンはシクロオキシナー

ゼ系の代謝物であり，ロイコトリエンは 5-リポキシゲナーゼ系の代謝物である。

アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドおよび PAF は，ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても，エイコサノイドはきわめて重要な生理的意義を有することが示唆されている^{1)~5)}。たとえば気管支喘息は，気道炎症，気道平滑筋収縮を主体とする病態であり，種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが，近年，とくにトロンボキサン，ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ，有効な治療標的となりつつある。

1. cPLA₂ 遺伝子ノックアウトマウス

前述のように，PAF，プロスタグランジン，トロンボキサン，ロイコトリエンなどは，多彩な生理活性作用を有するメディエーターであり，呼吸器系炎症性疾患の発症メカニズムに寄与している可能性が

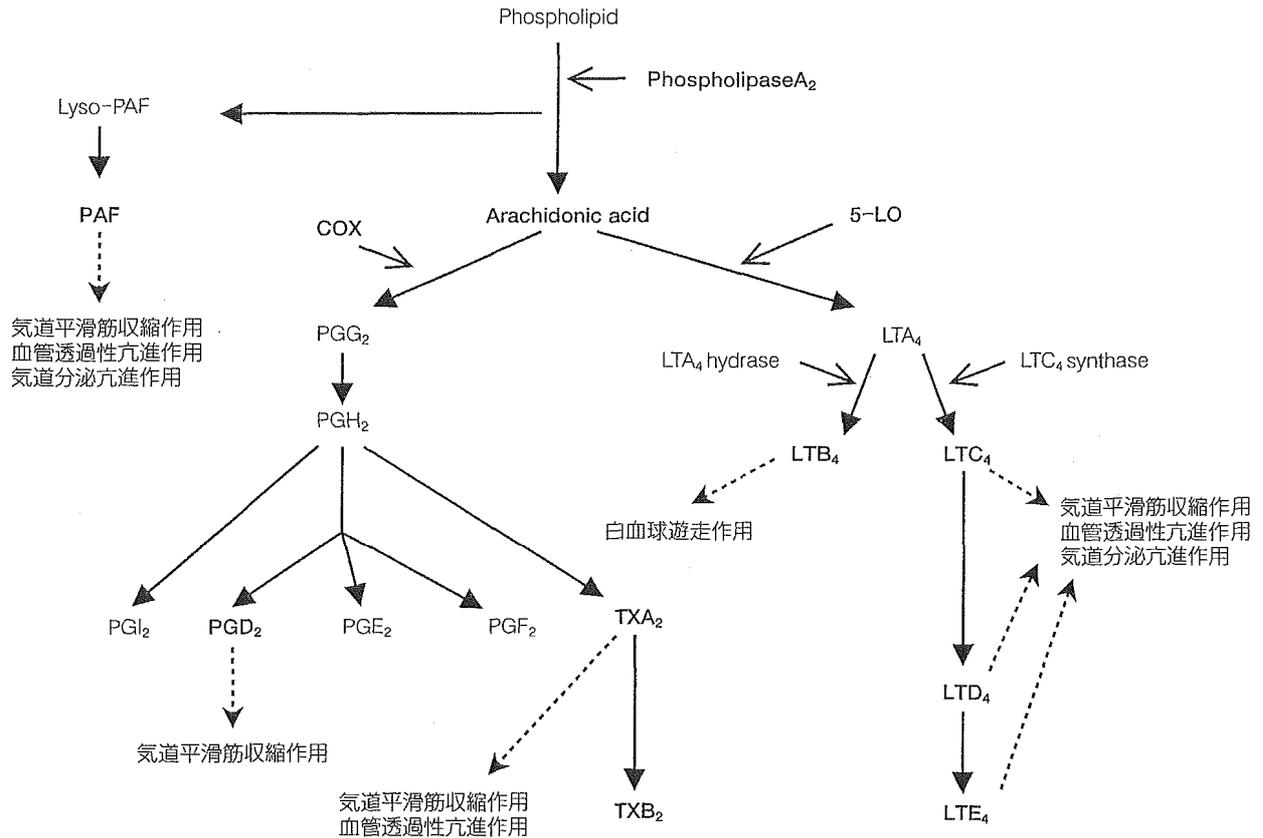
キーワード

エイコサノイド，アラキドン酸カスケード，cPLA₂，気管支喘息，肺線維症

※本文中のキーワードは図①にて示しています。

* NAGASE Takahide/東京大学医学部老年病科

☆ アラキドン酸カスケードの代謝産物は、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈する。
 ☆ 呼吸器系においても、エイコサノイドはきわめて重要な生理的意義をもつ。



図① アラキドン酸カスケード

きわめて高い。とくに、cPLA₂は、治療薬開発のターゲットとして有望であることが期待される。このcPLA₂遺伝子を破壊したノックアウトマウス(cPLA₂-KOマウス)が、Uozumiら⁶⁾により報告された。このcPLA₂-KOマウスは、エイコサノイドおよびPAFをほとんど産生せず、感作後の抗原暴露時に出現するべき気道過敏性が消失していることが示された。なお、雌cPLA₂-KOマウスにおいては分娩時に陣痛が出現しないことが観察された。一方、出生時形態的奇形を呈しておらず、発育・成長においてもコントロールの野性型マウスとくらべまったく差を認めていない。すなわち、cPLA₂の遺伝子-酵

素系を完全に抑制し、アラキドン酸カスケードの産生を阻害しても、生体の発生・発育に重大な支障をきたさない可能性を呈示する。この知見は、治療薬の開発・実用化の見通しに寄与すると考えられる。また、cPLA₂-KOマウスを用いて、敗血症(LPS投与)および胃液吸引(塩酸気管内投与)モデルを作成したところ、いずれのモデルにおいても、ノックアウトマウスでは肺水腫、呼吸不全、好中球浸潤が抑制され、生存率が改善することが観察された⁷⁾。したがって、ARDS分子機序におけるcPLA₂の重要な関与が示され、新治療法への展望が期待されている。

2. プレオマイシン肺線維症モデルにおける知見

肺線維症の発症分子機構においても、アラキドン酸カスケードの代謝産物が重要な役割を演じている可能性が推察される。2002年には、cPLA₂の肺線維症発症機構への関与について検討した研究が報告された。

野生型マウスに、プレオマイシンを気管内投与したところ、生理学的な肺の硬化、肺線維症に合致する病理組織所見（肺胞壁の肥厚、炎症性細胞浸潤、コラーゲン沈着）が認められた。また、気管支肺胞洗浄液中のトロンボキサン、ロイコトリエンが増加していた。一方、同様にプレオマイシンを投与されたcPLA₂-KOマウスでは、生理学的にも病理組織学的にも肺線維症様の諸症状が著しく軽減していた。気管支肺胞洗浄液中のトロンボキサン、ロイコトリエンは、ほとんど検出されなかった。以上の所見より、cPLA₂が肺線維症の発症機序において決定的な役割を果たしている可能性が示唆された⁸⁾。

おわりに

肺線維症、気管支喘息などの炎症性肺疾患発症機序において、脂質メディエーターはきわめて重要な生理的意義を有することが推察されている。今後、それぞれのエイコサノイドがもつ生理的意義・重要性が解明されることにより、肺線維症をはじめとする難治性呼吸器疾患に対する有効な治療法・治療薬の開発および実用化が期待される。



- 1) Ishii S *et al*: Bronchial hyperreactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic

tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. *EMBO J* 16: 133-142, 1997

- 2) Ishii S *et al*: Impaired anaphylactic responses but intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J Exp Med* 187: 1779-1788, 1998
- 3) Nagase T *et al*: Platelet-activating factor mediates acid-induced lung injury in genetically engineered mice. *J Clin Invest* 104: 1071-1076, 1999
- 4) Shindou H *et al*: Roles of cytosolic phospholipase A₂ and platelet-activating factor receptor in the Ca-induced biosynthesis of PAF. *Biochem Biophys Res Commun* 271: 812-817, 2000
- 5) Nagase T *et al*: Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated by an atropine-sensitive pathway. *Am J Respir Crit Care Med* 165: 200-205, 2002
- 6) Uozumi N *et al*: Role of cytosolic phospholipase A₂ in allergic response and parturition. *Nature* 390: 618-622, 1997
- 7) Nagase T *et al*: Acute lung injury by sepsis and acid aspiration: a key role for cytosolic phospholipase A₂. *Nat Immunol* 1: 42-46, 2000
- 8) Nagase T *et al*: A pivotal role of cytosolic phospholipase A₂ in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nat Med* 8: 480-484, 2002

長瀬隆英: NAGASE Takahide

1958年生まれ

専門:呼吸器学, 老年医学

研究テーマ:高齢者肺炎,

ARDS, 肺線維症,

気管支喘息など,

炎症性呼吸器疾患

の病態解明および

治療法開発

Nagase, T. et al. : *Nature Med.*, 8 : 480-484, 2002

肺線維症における cPLA₂ の役割

長瀬隆英

肺線維症は、呼吸不全をきたす難病であり、現在有効な薬剤が開発されていない。その発症分子機構は不明であるが、炎症性メディエーターの関与が推察されている。本研究により、アラキドン酸カスケードの起点となる cPLA₂ が肺線維症の発症機序に重要であることが明らかとなり、治療標的となる可能性が示唆された。

肺線維症（特発性間質性肺炎）は、特定疾患に指定されている難病である。病理学的には肺胞壁における炎症性細胞浸潤、線維芽細胞増生、コラーゲン沈着を呈する。また病態生理学的には、肺胞気と肺毛細血管の間のガス交換障害により、進行性の呼吸不全をきたすのが特徴である¹⁾。わが国における肺線維症の有病率は10万人中2～3人とされているが、米国での疫学的研究では10万人中20～30人程度（75歳以上では10万人中250人）という報告もある²⁾。平均生存年数は発症から約3年とされ、予後はきわめて不良である。肺線維症に対して根本的に有効な治療薬剤は開発されておらず、治療としては保存的治療（酸素療法）が行われている。外科的には肺移植の選択肢もあるが、実施はきわめて困難であるのが実情である。肺線維症の発症分子機構は不明であるが、肺胞壁における炎症促進機序が基盤に存在しており、炎症性メディエーターの関与が推察されている。

アラキドン酸カスケードの起点となる cPLA₂

脂質性のメディエーターであるプロスタグランジン (PG)、トロンボキサン (TX)、ロイコトリエン (LT)

などはエイコサノイドと総称され、アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。アラキドン酸は、炭素数20よりなる構造をもち、生体ではリン脂質から細胞質型ホスホリパーゼ A₂ (cytosolic phospholipase A₂ : cPLA₂) によって切り出される。この際に同時にリゾPAF (lyso-PAF) が生成され、リゾPAF から血小板活性化因子 (platelet-activating factor : PAF) がつくられる。アラキドン酸は、図1に示すように、アラキドン酸カスケードとよばれる代謝経路を経てさまざまなエイコサノイドを生成する。その2つの大きな経路が、シクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase : COX) 系および5-リポキシゲナーゼ (5-lipoxygenase : 5-LO) 系である。プロスタグランジン、トロンボキサンはシクロオキシゲナーゼ系の代謝物であり、ロイコトリエンは5-リポキシゲナーゼ系の代謝物である。

アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドおよびPAFは、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても、エイコサノイドはきわめて重要な生理的意義を有することが示唆されている^{3)~7)}。例えば気管支喘息は、気道平滑筋収縮、血管透過性亢進、血管拡張などによる

A pivotal role of cPLA₂ in pulmonary fibrosis

Takahide Nagase : Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, University of Tokyo (東京大学医学部老年病科)

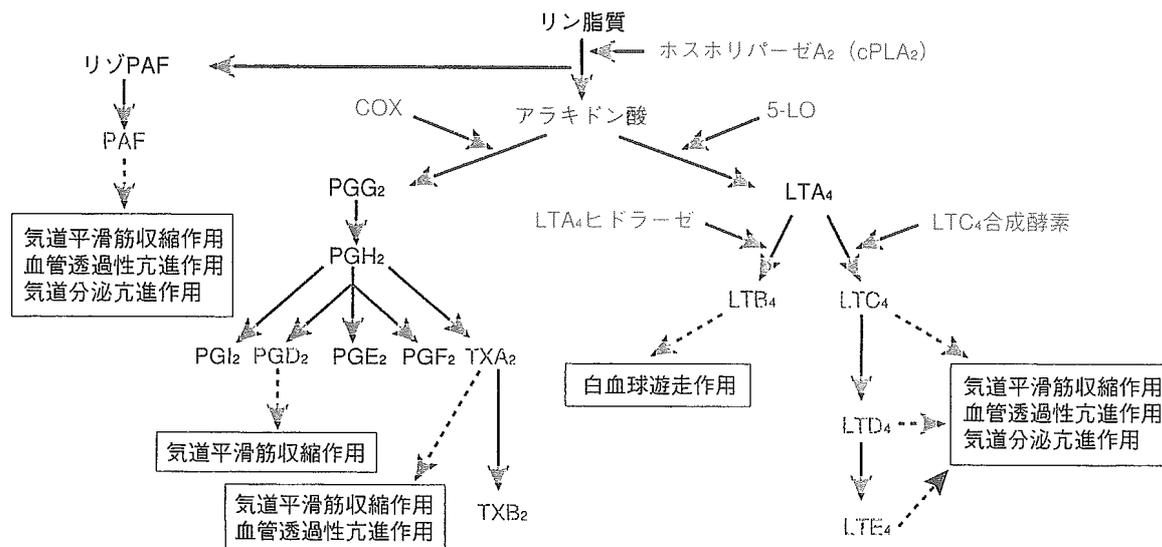


図1 アラキドン酸カスケードの模式図
 ピンク：酵素，緑：炎症促進メディエーター

気管支収縮を主体とする病態であり、種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが、近年、特にトロンボキサン、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ、有効な治療標的となりつつある。なお肺線維症の発症分子機構においても、アラキドン酸カスケードの代謝産物が重要な役割を演じている可能性が推察されるが、未だ十分な検討がなされていない。そこでわれわれは、アラキドン酸カスケードの起点となる $cPLA_2$ に着目し、肺線維症の発症機構への関与について検討した。

$cPLA_2$ 遺伝子のノックアウトマウスが作製される

前述のように、PAF、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどは、多彩な生理活性作用を有するメディエーターであり、呼吸器系炎症性疾患の発症メカニズムに寄与している可能性がきわめて高い。特に $cPLA_2$ は、治療薬開発のターゲットとして有望であることが期待される。この $cPLA_2$ 遺伝子を破壊したノックアウトマウス ($cPLA_2$ -KO マウス) が、魚住らにより報告された⁸⁾。この $cPLA_2$ -KO マウスは、エイコサノイドおよび PAF をほとんど産生せず、感作後の抗原暴露時に出現するべき気道過敏性が消失していることが示された。なお、雌 $cPLA_2$ -KO マウスにおいては分娩時に陣痛が出現しないことが観察された。一方、出生時形態の奇形を呈しておらず、発育・成長

においてもコントロールの野性型マウスと比べ全く差を認めていない。すなわち、 $cPLA_2$ の遺伝子-酵素系を完全に抑制し、アラキドン酸カスケードの産生を阻害しても、生体の発生・発育に重大な支障をきたさない可能性を呈示する。この知見は、治療薬の開発・実用化の見通しに寄与すると考えられる。また、 $cPLA_2$ -KO マウスを用いて、敗血症 [リポ多糖 (LPS) 投与] および胃液吸引 (塩酸気管内投与) モデルを作製したところ、いずれのモデルにおいてもノックアウトマウスでは肺水腫、呼吸不全、好中球浸潤が抑制され、生存率が改善することが観察された⁹⁾。したがって、成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome: ARDS) 分子機構における $cPLA_2$ の重要な関与が示され、新治療法への展望が期待されている。

ブレオマイシン投与による肺線維症が $cPLA_2$ -KO マウスでは軽減する

ブレオマイシンは、悪性腫瘍 (特に精巣腫瘍など) に対する化学療法薬として臨床的に使用されているが、重大な副作用として薬剤性の肺線維症をきたすことが知られている。このことより肺線維症の動物実験モデルを作製する手法として、ブレオマイシン投与が頻用されている。今回われわれは、ブレオマイシン投与による肺線維症マウスモデルを確立し、 $cPLA_2$ -KO マウス (ホモ接合体) を用いて、肺線維症成立機構における $cPLA_2$ の役割を検討した。

野生型マウスに、プレオマイシンを気管内投与したところ、生理学的な肺の硬化、肺線維症に合致する病理組織所見（肺胞壁の肥厚、炎症性細胞浸潤、コラーゲン沈着）が認められた。また、気管支肺胞洗浄液中のトロンボキサン、ロイコトリエンが増加していた。一方、同様にプレオマイシンを投与された *cPLA₂-KO* マウスでは、生理学的にも病理組織学的にも肺線維症様の諸症状が著しく軽減していた（図2）。気管支肺胞洗浄液中のトロンボキサン、ロイコトリエンはほとんど検出されなかった。以上の所見より、*cPLA₂*が肺線維症の発症機序において決定的な役割を果たしている可能性が示唆された¹⁰⁾。

ちなみに、*cPLA₂*の下流のメディエーターであるPAFの関与についても、PAF受容体ノックアウトマウス（PAF receptor knockout mouse : *PAFR-KO* マウス）⁴⁾を用いて検討した。その結果、*PAFR-KO* マウスでは肺線維症様の諸症状が部分的に軽減していることが観察された。一方、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなど個別のエイコサノイドの関与については未だ明らかではなく今後の検討課題である。

肺線維症に対する治療薬開発への期待

肺線維症、気管支喘息やARDSなどの炎症性肺疾患は、社会的にもきわめて重大な疾患であり、治療薬の開発が切実に待たれている。これらの呼吸器疾患発症機序において、エイコサノイドはきわめて重要な生理的意義を有することが推察されている。今後、おのおのエイコサノイドがもつ生理的意義・重要性が解明されることにより、肺線維症をはじめとする難治性呼吸器疾患に対する有効な治療法・治療薬の開発および実用化が期待される。

文献

- 1) American Thoracic Society : Idiopathic pulmonary fibrosis : diagnosis and treatment ; international consensus statement. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 161 : 646-664, 2000
- 2) Coultas, D. B. et al. : The epidemiology of interstitial lung diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 150 : 967-972, 1994
- 3) Ishii, S. et al. : Bronchial hyperreactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor

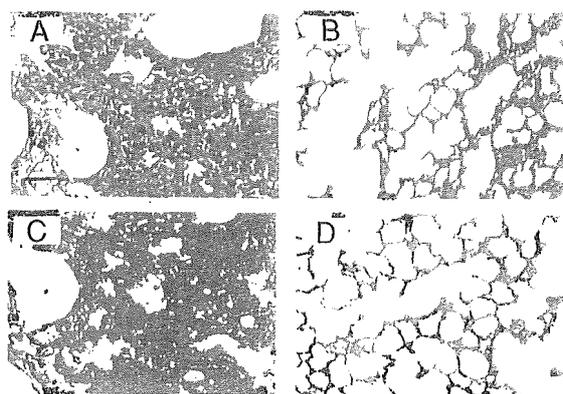


図2 プレオマイシン気管内投与後の野生型マウスおよび *cPLA₂-KO* マウスの肺組織所見
野生型マウス (A,C) では、肺胞壁の肥厚、炎症性細胞浸潤、コラーゲン沈着が認められるが、*cPLA₂-KO* マウス (B,D) では肺線維症様所見が著しく軽減している（染色は、A,Bがヘマトキシリンエオジン染色、C,Dがマッソントリクローム染色、スケールバー=50 μ m）（文献10より改変、引用）

receptor. *EMBO J.*, 16 : 133-142, 1997

- 4) Ishii, S. et al. : Impaired anaphylactic responses but intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J. Exp. Med.*, 187 : 1779-1788, 1998
- 5) Nagase, T. et al. : Platelet-activating factor mediates acid-induced lung injury in genetically engineered mice. *J. Clin. Invest.*, 104 : 1071-1076, 1999
- 6) Shindou, H. et al. : Roles of cytosolic phospholipase *A₂* and platelet-activating factor receptor in the Ca²⁺-induced biosynthesis of PAF. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 271 : 812-817, 2000
- 7) Nagase, T. et al. : Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated by an atropine-sensitive pathway. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 165 : 200-205, 2002
- 8) Uozumi, N. et al. : Role of cytosolic phospholipase *A₂* in allergic response and parturition. *Nature*, 390 : 618-622, 1997
- 9) Nagase, T. et al. : Acute lung injury by sepsis and acid aspiration : a key role for cytosolic phospholipase *A₂*. *Nature Immunol.*, 1 : 42-46, 2000
- 10) Nagase, T. et al. : A pivotal role of cytosolic phospholipase *A₂* in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nature Med.*, 8 : 480-484, 2002

● 著者プロフィール ●

長瀬隆英 : 1983年東京大学医学部医学科卒業、博士(医学)。'90~'93年、カナダ、マックギル大学ミーキンス・クリスチー研究所に留学。エイコサノイドに関しては、清水孝雄教授（東京大学医学部生化学教室）のご指導のもとに研究中。ARDS、肺線維症、気管支喘息など、炎症性呼吸器疾患の病態解明および治療法開発をめざしている。

総説

脂質メディエーターと肺疾患

長瀬 隆英

要旨 アラキドン酸を起点とする代謝産物であるPAF、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどは脂質メディエーターと総称されている。アラキドン酸は、リン脂質からホスホリパーゼA₂によって切り出され、アラキドン酸カスケードと呼ばれる経路を経て様々なエイコサノイドを生成する。エイコサノイドは、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴であり、呼吸器系においても重要な生理的意義を有することが示唆されている。また、脂質メディエーターは様々な肺疾患の発症機序に関与することが明らかになりつつあり、肺疾患の治療標的となることが期待される。

長瀬 隆英：脂質メディエーターと肺疾患，呼吸24(10)：875-879，2002

キーワード：エイコサノイド、アラキドン酸カスケード、ホスホリパーゼA₂、気管支喘息、肺線維症

はじめに

脂質性メディエーターであるプロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどはエイコサノイドと総称され、アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。アラキドン酸は、炭素数20よりなる構造を持ち、生体ではリン脂質から細胞質型ホスホリパーゼA₂(cytosolic phospholipase A₂; cPLA₂)によって切り出される。この際に、同時にリゾPAF(lyso-PAF)が生成され、リゾPAFから血小板活性化因子(platelet-activating factor; PAF)が作られる。アラキドン酸は、図1に示すように、アラキドン酸カスケードと呼ばれる代謝経路を経て様々なエイコサノイドを生成する。その2つの大きな経路が、シクロオキシゲナーゼ(cyclooxygenase; COX)系および、5-リポキシゲナーゼ(5-lipoxygenase; 5-LO)

系である。プロスタグランジン、トロンボキサンはCOX系の代謝物であり、ロイコトリエンは5-LO系の代謝物である。

アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドは、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが示唆されている。例えば気管支喘息は、気道平滑筋収縮、血管透過性亢進、血管拡張等による気管支収縮を主体とする病態であり、種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが、近年、特にトロンボキサン、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ、有効な治療標的となりつつある。本稿では、PAFおよび、アラキドン酸カスケードの起点となるホスホリパーゼを中心に、脂質メディエーターと肺疾患について概説する。

I. PAF

PAFはリン脂質性のメディエーターで、気管支平滑筋の収縮、サイトカインの産生刺激、神経伝達物質合成促進

Lipid mediators and lung diseases

東京大学医学部老年病科

Takahide Nagase

Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo 113-8655, Japan

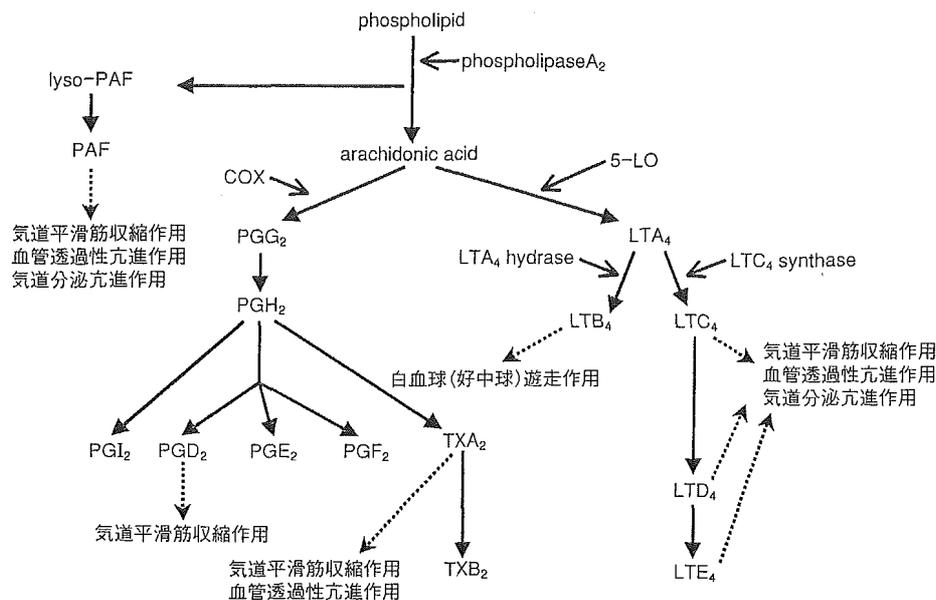


図1 アラキドン酸カスケード

などの作用を示し、従来より気管支喘息発症メカニズムにおける重要な起因为物質と想定されている¹⁾⁻³⁾。PAF 受容体遺伝子の構造は、アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた cDNA の発現クローニングから、Honda, Shimizu らにより解明された⁴⁾。本クローンは全長約 3 kb で 1,026 bp の翻訳領域を持ち、ペプチド配列はアミノ酸 342 個よりなっていることが明らかにされた。また近年、Ishii, Shimizu らによって PAF 受容体遺伝子を過剰発現もしくは欠損したマウス(トランスジェニックマウス、ノックアウトマウス)が開発され、PAF に関する研究は急速に進展しつつある。

PAF は、好中球、好酸球、単球などで多量に産生される。PAF は以下の経路により合成される。まず第 1 に、リン脂質を基質として cPLA₂ によりリゾ PAF が生成され、さらに、アセチル転移酵素の作用により PAF が作られる。産生された PAF は、アセチルヒドラーゼにより速やかに分解される。PAF はリガンドとして PAF 受容体に結合することにより、その作用を発揮する⁵⁾⁻¹⁰⁾。

喘息治療薬としての PAF 受容体拮抗薬については、気道収縮および気道過敏性に対し顕著な効果が認められないとの報告が英国よりなされたが¹¹⁾、本邦の Hozawa らは、PAF 受容体拮抗薬 Y-24180 が、喘息患者における気道過敏性を有意に抑制することを示し、PAF 受容体拮抗薬が将来、喘息治療薬として使用される可能性を提示した¹²⁾。このように臨床研究成績が異なる背景には、プロトコル(投与量、投与期間)の差異や PAF 受容体拮抗薬の薬理的

特性の相違が考えられる。

従来より、日本人の 4% に PAF 分解酵素(アセチルヒドラーゼ)欠損症例が認められ、小児において酵素欠損と重症喘息に関連が認められることが報告されている¹³⁾。このアセチルヒドラーゼ欠損は、第 6 染色体、第 9 エクソンの点突然変異によるものであることが報告された¹⁴⁾。さらに、アセチルヒドラーゼ完全欠損はホモ型で出現すること(4%)、部分欠損はヘテロ型で日本人の 27% に存在することが示唆された。一方、北米の 108 例の検体の検討では、すべて野性型で、アセチルヒドラーゼ欠損は認めていない。この報告は、本邦における PAF と喘息の関連を明らかにする際、非常に重要なものと思われる。同時に、本邦と欧米各国の喘息有病率を考慮すると、アセチルヒドラーゼ欠損のみで、喘息発症を説明するのは困難であり、喘息発症メカニズムと遺伝的背景の複雑さを示すものとも考えられる¹⁵⁾¹⁶⁾。

1997 年、Ishii らは、PAF 受容体遺伝子を過剰発現するトランスジェニックマウス(PAF receptor overexpression transgenic mouse, 以下 PAFR-Tg マウス)の作製に成功し報告した¹⁷⁾。本マウスは、特に気管・気管支において PAF 受容体遺伝子を過剰発現させることが解明されつつあり、PAF 投与により著明な気道収縮を呈した¹⁸⁾。また、気管支喘息の特徴である気道過敏性と PAF 受容体遺伝子過剰発現との関係を検討したところ、PAFR-Tg マウスにおいて、メサコリン気道過敏性が認められた。喘息における PAF の意義については、気道・

肺胞系における PAF 受容体の分布、ロイコトリエンなど他のメディエーターとの相互作用が重要であることが示唆されたが、いまだ不明の点が多い^{19)~22)}。例えば、PAF は、細胞増殖を司る細胞調節因子であり、気管支喘息に認められる気管支平滑筋増殖に関与している可能性が示唆されているが、いまだ十分な検討がなされていない^{23)~25)}。PAFR-Tg マウスは、気管支喘息や ARDS など炎症性メディエーターが関連する疾患の動物モデルとなり得る可能性があり^{26)~29)}、今後、気管支喘息発症の病態解明に重要な寄与をなすものと考えられる。

一方、1998 年には、やはり Ishii らにより PAF 受容体遺伝子を破壊したノックアウトマウス (PAF receptor knockout mouse, 以下 PAFR-KO マウス) の作製が報告されている³⁰⁾。このノックアウトマウスおよびトランスジェニックマウスを用いて、塩酸気管内投与により ARDS モデルを作製したところ、PAF 受容体ノックアウトマウスでは肺水腫、呼吸不全が抑制され、トランスジェニックマウスでは肺水腫、呼吸不全が増悪することが観察された³¹⁾。この結果は、PAF が ARDS 発症分子機序に強く関与することを示唆するものであり、治療薬の開発候補となる可能性を提示している。

II. cPLA₂

上述のように、PAF、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどは、多彩な生理活性作用を有するメディエーターであり、気管支喘息や ARDS など呼吸器系炎症性疾患の発症メカニズムに寄与している可能性が極めて高い。特に、アラキドン酸カスケードの起点となる酵素である cPLA₂ は、治療薬開発のターゲットとして有望であることが期待される。この cPLA₂ 遺伝子を破壊したノックアウトマウス (cPLA₂-KO マウス) が、Uozumi らにより報告された³²⁾。この cPLA₂-KO マウスは、エイコサノイドおよび PAF を殆ど産生せず、感作後の抗原曝露時に出現するべき気道過敏性が消失していることが示された。本マウスは、出生時、形態的奇形を呈しておらず、発育・成長においてもコントロールの野性型マウスと比べ全く差を認めていない。即ち、cPLA₂ の遺伝子一酵素系を完全に抑制し、アラキドン酸カスケードの産生を阻害しても、生体の発育・発育に重大な支障を来さない可能性を呈示する。この知見は、治療薬の開発・実用化の見通しに寄与すると考えられる。

また、cPLA₂-KO マウスを用いて、敗血症 (LPS 投与) および胃液吸引 (塩酸気管内投与) モデルを作製したと

ころ、いずれのモデルにおいても、ノックアウトマウスでは肺水腫、呼吸不全、好中球浸潤が抑制され、生存率が改善することが観察された³³⁾。したがって、ARDS 分子機序における cPLA₂ の重要な関与が示され、新治療法への展望が期待されている。

III. 肺線維症モデルに関する最近の知見

プレオマイシンは、悪性腫瘍 (特に精巣腫瘍など) に対する化学療法薬として臨床的に使用されているが、重大な副作用として薬剤性の肺線維症を来すことが知られている。このことより肺線維症の動物実験モデルを作製する手法として、プレオマイシン投与が頻用されている。この肺線維症モデルを用いて、肺線維症成立機序における cPLA₂ の役割を検討した最近の知見を紹介する。

Nagase らによれば、野生型マウスに、プレオマイシンを気管内投与したところ、生理学的な肺の硬化、肺線維症に合致する病理組織所見 (肺胞壁の肥厚、炎症性細胞浸潤、コラーゲン沈着) が認められた。また、気管支肺胞洗浄液中のトロンボキサン、ロイコトリエンが増加していた。一方、同様にプレオマイシンを投与された cPLA₂-KO マウスでは、生理学的にも病理組織学的にも肺線維症様の諸症状が著しく軽減していた。気管支肺胞洗浄液中のトロンボキサン、ロイコトリエンは、殆ど検出されなかった。以上の所見より、cPLA₂ が肺線維症の発症機序において決定的な役割を果たしている可能性が示唆された³⁴⁾。

ちなみに、cPLA₂ の下流のメディエーターである PAF の関与についても、PAFR-KO マウスを用いて検討した。その結果、PAFR-KO マウスでは、肺線維症様の諸症状が部分的に軽減していることが観察された。一方、プロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなど個別のエイコサノイドの関与については、いまだ詳細ではなく今後の検討課題である。

おわりに

気管支喘息、ARDS、肺線維症など炎症性肺疾患は、社会的に極めて重大な疾患であり、治療薬の開発が切実に待たれている。これらの呼吸器疾患発症機序において、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが推察されている。今後、各々のエイコサノイドが持つ生理的意義・重要性が解明されることにより、難治性呼吸器疾患に対する有効な治療法・治療薬の開発および実用化が期待される。

文 献

- 1) Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. Platelet-activating factor. *J Biol Chem* 265 : 17381—17384, 1990
- 2) Chao W, Olson MS. Platelet-activating factor : receptors and signal transduction. *Biochem J* 292 : 617—629, 1993
- 3) Izumi T, Shimizu T. Platelet-activating factor receptor : gene expression and signal transduction. *Biochim Biophys Acta* 1259 : 317—333, 1995
- 4) Honda Z, Nakamura M, Miki I, *et al.* Cloning by functional expression of platelet-activating factor receptor from guinea-pig lung. *Nature* 349 : 342—346, 1991
- 5) Nakamura M, Honda Z, Izumi T, *et al.* Molecular cloning and expression of platelet-activating factor receptor from human leukocytes. *J Biol Chem* 266 : 20400—20405, 1991
- 6) Ye RD, Prossnitz ER, Zou AH, *et al.* Characterization of a human cDNA that encodes a functional receptor for platelet activating factor. *Biochem Biophys Res Commun* 180 : 105—111, 1991
- 7) Kunz D, Gerard NP, Gerard C. The human leukocyte platelet-activating factor receptor. cDNA cloning, cell surface expression, and construction of a novel epitope-bearing analog. *J Biol Chem* 267 : 9101—9106, 1992
- 8) Sugimoto T, Tsuchimochi H, McGregor CG, *et al.* Molecular cloning and characterization of the platelet-activating factor receptor gene expressed in the human heart. *Biochem Biophys Res Commun* 189 : 617—624, 1992
- 9) Bito H, Honda Z, Nakamura M, *et al.* Cloning, expression and tissue distribution of rat platelet-activating-factor-receptor cDNA. *Eur J Biochem* 221 : 211—218, 1994
- 10) Mutoh H, Bito H, Minami M, *et al.* Two different promoters direct expression of two distinct forms of mRNAs of human platelet-activating factor receptor. *FEBS Lett* 322 : 129—134, 1993
- 11) Spence DPS, Johnston SL, Calverley PMA, *et al.* The effect of the orally active platelet-activating factor antagonist WEB 2086 in the treatment of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 149 : 1142—1148, 1994
- 12) Hozawa S, Haruta Y, Ishioka S, *et al.* Effects of a PAF antagonist, Y-24180, on bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 152 : 1198—1202, 1995
- 13) Miwa M, Miyake T, Yamanaka T, *et al.* Characterization of serum platelet-activating factor (PAF) acetylhydrolase : correlation between deficiency of serum PAF acetylhydrolase and respiratory symptoms in asthmatic children. *J Clin Invest* 82 : 1983—1991, 1988
- 14) Stafforini DM, Satoh K, Atkinson DL, *et al.* Platelet-activating factor acetylhydrolase deficiency : a missense mutation near the active site of an anti-inflammatory phospholipase. *J Clin Invest* 97 : 2784—2791, 1996
- 15) Sandford A, Weir T, Paré P. The genetics of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 153 : 1749—1765, 1996
- 16) Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, *et al.* Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 374 : 549—553, 1995
- 17) Ishii S, Nagase T, Tashiro F, *et al.* Bronchial hyper-reactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. *EMBO J* 16 : 133—142, 1997
- 18) Nagase T, Ishii S, Katayama H, *et al.* Airway responsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor : roles of thromboxanes and leukotrienes. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 1621—1627, 1997
- 19) Cuss FM, Dixon CM, Barnes PJ. Effects of inhaled platelet activating factor on pulmonary function and bronchial responsiveness in man. *Lancet* 2 : 189—192, 1986
- 20) Solway J, Fredberg JJ. Perhaps airway smooth muscle dysfunction contributes to asthmatic bronchial hyperresponsiveness after all. *Am J Respir Cell Mol Biol* 17 : 144—146, 1997
- 21) Lambert RK, Paré PD. Lung parenchymal shear modulus, airway wall remodeling, and bronchial hyperresponsiveness. *J Appl Physiol* 83 : 140—147, 1997
- 22) Stewart AG, Dubbin PN, Harris T, *et al.* Platelet-activating factor may act as a second messenger in the release of eicosanoids and superoxide anions from leukocytes and endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 3215—3219, 1990
- 23) Nagase T, Ishii S, Shindou H, Ouchi Y, Shimizu T. Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated by an atropine-sensitive pathway. *Am J Respir Crit Care Med* 165 : 200—205, 2002
- 24) Shirasaki H, Nishikawa M, Adcock IM, *et al.* Expression of platelet-activating factor receptor mRNA in human and guinea pig lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 10 : 533—537, 1994
- 25) Wang CG, Du T, Xu LJ, *et al.* Role of leukotriene D₄ in allergen-induced increases in airway smooth muscle in the rat. *Am Rev Respir Dis* 148 : 413—417, 1993
- 26) Hattori M, Adachi H, Tsujimoto M, *et al.* Miller-Dieker lissencephalopathy gene encodes a subunit of brain platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature* 370 : 216—218, 1994
- 27) DeSanctis GT, Merchant M, Beier DR, *et al.* Quantitative locus analysis of airway hyperresponsiveness in A/J and C57 BL/6 J mice. *Nat Genet* 11 : 150—154, 1995
- 28) Ishii S, Matsuda Y, Nakamura M, *et al.* A murine platelet-activating factor receptor gene : cloning, chromosomal localization and up-regulation of expression by lipopolysaccharide in peritoneal resident macrophages. *Biochem J* 314 : 671—678, 1996
- 29) Nagase T, Kurihara H, Kurihara Y, *et al.* Airway hyperresponsiveness to methacholine in mutant mice deficient in endothelin-1. *Am J Respir Crit Care Med* 157 : 560—564, 1998
- 30) Ishii S, Kuwaki T, Nagase T, *et al.* Impaired anaphylactic responses but intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J Exp Med* 187 : 1779—1788, 1998
- 31) Nagase T, Ishii S, Kume K, *et al.* Platelet-activating factor mediates acid-induced lung injury in genetically engineered mice. *J Clin Invest* 104 : 1071—1076, 1999
- 32) Uozumi N, Kume K, Nagase T, *et al.* Role of cytosolic

- phospholipase A₂ in allergic response and parturition. *Nature* 390 : 618–622, 1997
- 33) Nagase T, Uozumi N, Ishii S, *et al.* Acute lung injury by sepsis and acid aspiration : a key role for cytosolic phospholipase A₂. *Nature Immunol* 1 : 42–46, 2000
- 34) Nagase T, Uozumi N, Ishii S, *et al.* A pivotal role of cytosolic phospholipase A₂ in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nature Med* 8 : 480–484, 2002



話題

CGRPノックアウトマウスと 気管支喘息*

長瀬 隆 英**

Key Words : calcitonin gene-related peptide(CGRP), neuropeptide, asthma, airway hyper-responsiveness, knockout mouse

はじめに

気管支喘息は、乳幼児から高齢者に至る発達・加齢のいずれのプロセスにおいても発症しうる呼吸器疾患である。近年、わが国において、治療法の進歩にもかかわらず、気管支喘息の発症頻度および死亡率の増加が指摘されている。また世界においても喘息の発症頻度および重症度が増加している¹⁾。とくに、治療を施す間もなく急激な経過で死亡する例が増加していることも報告されている。

気管支喘息はきわめて多数の因子から病像が形成されており、その発症機序についてはまだ解明されていないことも多い。気管支喘息の病態的・生理学的特徴として、慢性的な気道炎症・気道過敏性・可逆的な気流制限の3つがあげられる。気道炎症・気道過敏性がいまって気流制限が生じ、気管支喘息の症状が発生する。また、炎症が繰り返して起こった結果、上皮化生(杯細胞化)・上皮下線維増生・平滑筋肥厚・粘膜下腺過形成などが生じ、気道壁リモデリングが進展する。これによって喘息症状の重症化・不可逆化が進むと考えられる。

気道過敏性は、気管支喘息のもっとも重要な病態生理学的特徴であり、喘息の発症にとって不可欠なものである。気道過敏性の機序はこれまで不明の部分が多かったが、好酸球浸潤を特徴とする喘息特有の気道炎症に起因していることが明らかになってきた。近年吸入ステロイド

表1 気道過敏性関連候補mediator

1. 脂質mediator	エイコサノイド, PAF
2. アミン	ヒスタミン・セロトニンなど
3. サイトカイン	IL-4・5・9・13など(Th2サイトカイン)
4. ケモカイン	エオタキシン・RANTES・MCPなど
5. 神経ペプチド	タキキニン, CGRPなど

療法の普及により、気道炎症はほぼ完全に制御することも可能になってきた。しかしながら、炎症が完全に鎮まっても気道過敏性は健常人よりかなり高い状態が続くことが多いことから、炎症に起因しない気道過敏性の存在も考えられており、そのメカニズムはまだ明らかではない。したがって、気道過敏性を特異的に抑制する薬は現時点ではないのが実状である。気道過敏性にかかわる生理活性物質として表1に示すものが想定され、研究が進められている^{2)~8)}。

しかしながら、気管支喘息の発症機序については未解明の部分が多く、その解明には関連遺伝子の探索を含めた研究が必須と考えられる。一方、近年、遺伝子改変マウスが次々と開発されており、疾患関連遺伝子の解明に有用であることが報告されている。気管支喘息の発症分子機序の解明についても、実験動物としての遺伝子改変マウスを用いた研究が重要であることが考えられる。

* Bronchial asthma : lessons from CGRP knockout mice.

** Takahide NAGASE, M.D.: 東京大学大学院医学系研究科加齢医学[〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1]; Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo 113-8655, JAPAN

・ Adrenomedullin (ADM)	52 amino acids
・ CGRP	37 amino acids
・ Amylin	37 amino acids
・ Calcitonin	32 amino acids
ADM YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKLAHQIYQFTDKDKDNVAPRSKISPOGY	
CGRP1	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF
CGRP2	ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKS NFVPTNVGSKAF
AMYLIN	KCNTATCATQRLANFLVHSSNNFGA ILSSTNVGSNTY
CALCITONIN	CGNLSTCMLGTYTQD - - - - FNKFHTFPQTA IGVGAP

図1 カルシトニンファミリーに属するペプチド

本稿では、気管支喘息関連候補メディエーターのなかで、とくに重要と思われるが未解明の点が多いcalcitonin gene-related peptide (CGRP) に着目し、最近開発されたノックアウトマウスを用いた研究の知見を中心に概説する。

CGRP

CGRPは11番染色体上にあるcalcitonin geneよりRNA alternative processingによって生合成される生理活性ペプチドとして報告されたもので、37アミノ酸残基より構成されている⁹⁾。CGRPは、calcitonin, amylin, adrenomedullinとともにcalcitonin family peptidesに属している(図1)。CGRPの発現臓器としては、中枢神経系においては視床下部、脊髄後索に多くの分布がみられ、末梢神経系においては心血管系に分布する神経、消化管神経叢、気道の感覚神経C-fiber・感覚上皮・神経内分泌細胞、神経節などに分布していることが知られている(表2)。CGRPは循環器・神経系を中心に多彩な作用を有することが知られている。たとえば、CGRPは強力なvasodilatorであり、またsensory neuropeptideのひとつでもある¹⁰⁾¹¹⁾。呼吸器系に存在するneuropeptidesとしては、サブスタンスP(SP)、ニューロキニンA・B(NKA・B)などのタキニンや、vasoactive intestinal peptide(VIP)などがある。タキニンは気道の感覚神経や好酸球・マクロファージ・リンパ球などの炎症性細胞に存在し、アレルギー

表2 CGRPの分布

・ 中枢神経系	⇨	視床下部 脊髄後索
・ 末梢神経系	⇨	気道・鼻の神経系 消化管の神経叢 血管に分布する神経 神経節 感覚神経C-fiber 神経内分泌細胞 感覚上皮

ン・オゾン・炎症性mediatorなどのさまざまな刺激によって放出され、気管支収縮、気道分泌、気道血管の拡張、毛細血管漏出、炎症性細胞の浸潤などを促進することが知られている¹²⁾。これらの作用は、主にtachykinin NK₁, NK₂ receptorを介して発現している。また、tachykinin NK₃ receptorは気道収縮は引き起こさないが、気道過敏性を生じさせることが報告されている¹³⁾。VIPは、気管支収縮を抑制することや¹⁴⁾、ヒト気道平滑筋細胞の増殖を抑制することなどが報告されている¹⁵⁾。このように、タキニンやVIPなどは気管支喘息における生理学的機能が比較的明らかにされているのに対し、CGRPについては未解明な部分が多い。肺・気管支にはCGRPを含む感覚神経C-fiberが豊富に存在し、またreceptorも豊富に存在することが報告されている¹⁶⁾。したがって、CGRPが気道過敏性発症機序に関与する可能性が想定されるがまだ十分に検討されておらず、気管支喘息など呼吸器疾患発症機序におけるCGRP

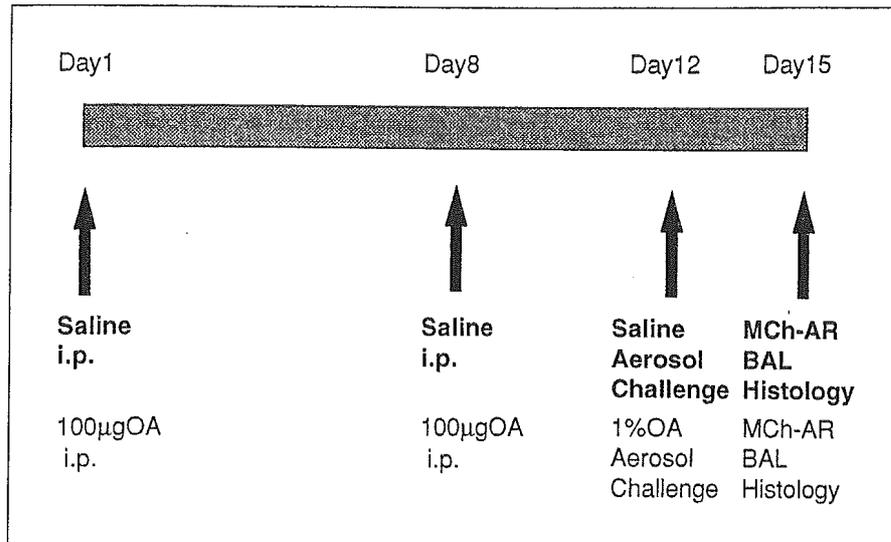


図2 アレルギー性気管支喘息モデルの実験プロトコール

の意義については明らかではない。最近, CGRP 遺伝子欠損マウスが作成され, CGRPが循環動態に重要であることが報告されている¹⁷⁾。

CGRPノックアウトマウスにおける気道反応性

最近このCGRP遺伝子欠損マウスを用いて, CGRPの気道過敏性発症機序への関与についての検討がなされた。

アレルギー性気管支喘息モデルとして, 図2に示すプロトコールを用いた。気道反応性は, コリン作動性アゴニストであるmethacholine (MCh) 吸入負荷による生理学的反応を検討した。MCh吸入後, 感作された野生型群では, saline群に比べ有意に肺抵抗が増加していた。一方, 感作されたノックアウトマウス群は, saline群と同様の気道反応性を呈しており, 感作・抗原負荷によって出現するMCh気道過敏性が野生型群と比べて低下していることが示唆された(図3)。また気管支肺胞洗浄液(BALF)の解析では, 図4に示すように感作によって著明なeosinophiliaが認められたが, 野生型・ノックアウトマウス両群間において有意差は認めなかった。また, BALF protein濃度, IgE濃度は感作によって増加したが, やはり野生型・ノックアウトマウス両群間において有意差は認めなかった。

なおBALF CysLTs (LTC₄/D₄/E₄)に関しては, 感作された野生型群で, saline群に比べ有意に上

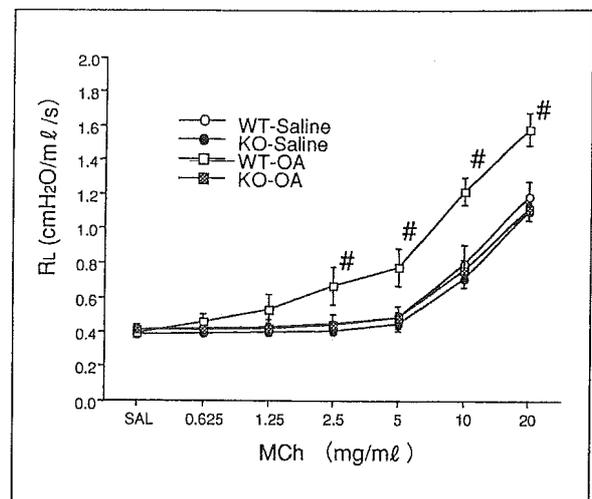


図3 メサコリン(MCh)気道反応性

MCh吸入投与において, ovalbumin(OA)感作・野生型群は, 肺抵抗(RL)が他群よりも有意に高い(# $p < 0.05$)。OA感作ノックアウトマウスは, saline(SAL)群と同様のMCh気道反応性を呈する。

昇しており, 本研究に用いたアレルギー性気管支喘息実験モデルにおいて肺内CysLTs(LTC₄/D₄/E₄)が増加することが示唆された(図5)。一方, 感作されたノックアウトマウス群は, 対照となる野生型群と比べて有意にCysLTs(LTC₄/D₄/E₄)が低下していた。

CGRPは気道収縮物質あるいは気道拡張物質のどちらであるか, また, 好酸球遊走能をもつかあるいはもたないか, ということに関してこれまで20年間にわたり議論が行われてきたが, さまざまな報告が呈示され^{18)~23)}, 結論は出ていな

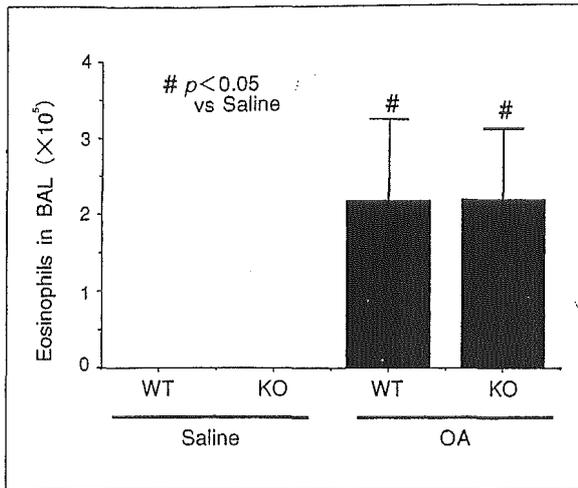


図4 BALF好酸球数

Ovalbumin(OA)感作群は、BALF好酸球数がsaline群よりも有意に高い。しかし、野生型・ノックアウトマウスの両群間において、有意差は認められない。

かった。気道における好酸球浸潤は気管支喘息特有の気道炎症を表すもので、気道炎症と気道収縮は気管支喘息のkey pointである。

今回の研究結果により、少なくとも内因性CGRPは気道過敏性に関与すること、また好酸球浸潤にかかわる可能性が低いことが示された。さらに、CGRPが気道収縮をひき起こす機序として、CysLTs(LTC₄/D₄/E₄)が関与する可能性が示唆された。

CGRPには、αCGRPおよびβCGRPという2つのisoformが知られている。このうちαCGRPは中枢・末梢神経に幅広く分布するが²⁴⁾、βCGRPは腸管神経叢にかなり特異的に存在する²⁵⁾。CGRPの機能発現には、calcitonin-receptor-like receptor(CRLR)およびreceptor-activity modifying protein(RAMP)1の存在が必要である²⁶⁾。CGRPは循環器・神経系を中心に多彩な生理活性作用を有することが知られている。たとえば、CGRPは強力なvasodilatorであり、またhypoxic pulmonary vasoconstrictionを制御している。最近では、αCGRP遺伝子欠損マウスにおいて血圧上昇・交感神経亢進が認められ、CGRPが循環動態に重要であることが報告されている。

一方、呼吸器においては、肺・気管支にCGRPを含む感覚神経C-fiberが豊富に存在し、またreceptorも豊富に存在することが報告されている。したがって、CGRPが気道過敏性発症機序に関与

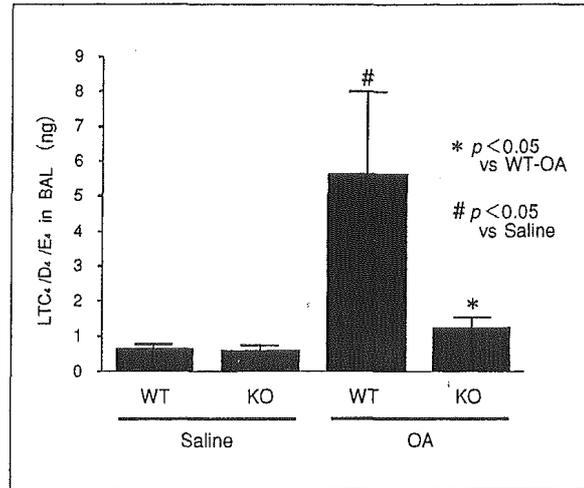


図5 BALF CysLTs(LTC₄/D₄/E₄)濃度の測定結果
BALF CysLTs(LTC₄/D₄/E₄)は、ovalbumin(OA)感作・野生型群で、saline群に比べ有意に上昇していた。一方、感作ノックアウトマウス群は、対照となる感作・野生型群と比べて有意にCysLTs(LTC₄/D₄/E₄)が低下していた。

する可能性が想定されるが、まだ十分に検討されておらず、気管支喘息など炎症性呼吸器疾患発症機序におけるCGRPの意義については明らかではない。本研究では、Oh-hashiraらによって作成されたαCGRP遺伝子欠損マウスを用いて、内因性CGRPの気道過敏性発症機序への関与について検討した。その結果、感作・抗原負荷されたαCGRP遺伝子欠損マウスは、対照となる感作・抗原負荷野生型マウスに比べて有意に気道過敏性が低下していることが観察された。これは、アレルギー性気管支喘息モデルにおいて、内因性CGRPの存在が気道過敏性発症に関与することを示唆している。

気管支喘息は、気道過敏性および慢性気道炎症を病態基盤としており、とくにeosinophiliaの炎症への関与が報告されている。CGRPがeosinophiliaにかかわる可能性について、文献的には賛否両論の報告がなされている²¹⁾²²⁾。本研究では、感作・抗原負荷によりeosinophiliaを認めたが、αCGRP遺伝子欠損マウスと野生型群の間に差を認めなかった。この結果は、少なくとも本モデルにおいては内因性CGRPがeosinophiliaにかかわる可能性が低いことを示すものと考えられる。

今回の研究におけるアレルギー性気管支喘息モデルでは、抗原感作・負荷を弱めにしており、また長期の罹患ではないので、ヒトにおいてし

ばしばみられる気道上皮の傷害や上皮下線維増生などは生じていないものと考えられる。したがってそれらの所見がみられるような重症の喘息モデルにおいて内因性CGRPの存在が気道過敏性発症に関与するかどうかは不明である。αCGRP遺伝子欠損マウスと野生型群の間で好酸球浸潤に有意差がないにもかかわらず、気道過敏性には有意差が認められたことから、気道炎症に起因しない気道過敏性の発症メカニズムにCGRPが関与していることが示唆された。ヒトにおいてIL-5のblockやIL-12の投与によりeosinophiliaが抑制されても、気道過敏性には変化が認められないという報告もある²⁷⁾²⁸⁾。しかし、これまでの報告はあくまで好酸球の数についてのものであり、好酸球のmediatorの産生能や表面受容体の発現など、その活性の強さに関しては不明な部分もある。活性型好酸球(hypodense eosinophil; Hypo Eo)に認められる分泌型ECPに対するEG2 monoclonal antibodyが開発され、EG2陽性好酸球を末梢血で測定することにより気管支喘息の有無や重症度の指標となり得ることが報告されており、今後の基礎研究および臨床への応用が期待される。

文献的には、CGRPがmacrophageの抗原呈示能を抑制することが報告されており¹⁸⁾²⁰⁾、内因性CGRPの存在が抗原感作レベルに影響を与える可能性も仮定される。本研究では、感作・抗原負荷によりBALF IgEの上昇を認めたが、αCGRP遺伝子欠損マウスと野生型群の間に差を認めなかった。この結果は、本実験モデルにおいて、内因性CGRPが抗原感作レベルに影響を与える可能性が低いことを示唆するものと思われる。

近年、気管支喘息における気道過敏性・気道炎症の発症機序において、とくにCysLTs(LTC₄/D₄/E₄)の重要性が指摘されている。CysLTs(LTC₄/D₄/E₄)は、気道において、気道収縮、粘液産生・分泌、炎症細胞浸潤などにかかわり、その機能発現にはCysLT₁ receptorが必要である。このCysLT₁ receptorは、気道平滑筋や肺胞macrophageに豊富に存在しており、気管支喘息に対する治療薬としてCysLT₁ receptor antagonistが臨床の現場ですでに用いられている。本研究では、内因性CGRPがCysLTs(LTC₄/D₄/E₄)産生・代謝

に関与することにより気道反応性を制御する可能性を示している。CysLTs(LTC₄/D₄/E₄)は、アラキドン酸カスケードにおいて5-lipoxygenase系のmediatorである。5-lipoxygenaseは肺胞マクロファージや気道上皮細胞に存在することが報告されている²⁹⁾。また、CGRPの受容体がマクロファージや気道上皮細胞に存在することも報告されている¹⁸⁾。これらのことから、マクロファージや気道上皮細胞などにおいてCGRPがなんらかの形で5-lipoxygenaseの活性化に関与している可能性が考えられる。

おわりに

気管支喘息の発症には、遺伝的背景が存在することが推定されており、気管支喘息関連遺伝子として多数の遺伝子が候補にあげられている。この候補遺伝子を評価する手段として、遺伝子改変マウスが有望とされずでいくつかの報告もなされている^{5)~8)}。calcitonin gene-related peptide (CGRP)に関しては、本実験による知見により、内因性CGRPの存在が気道過敏性発症に関与することが示された³⁰⁾。したがって今後、CGRP本体や、その機能発現にかかわるCRLR, RAMP1などが、気管支喘息の研究対象として拡がることが推察される。また、本研究で用いたCGRP遺伝子欠損マウスは、CGRPが関与する呼吸器疾患の病態メカニズムの解明に寄与することが期待される。

文 献

- 1) Holgate ST. The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 1999; 420 (6760 Suppl): B2-4.
- 2) Ishii S, Kuwaki T, Nagase T, et al. Impaired anaphylactic responses but intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J Exp Med* 1998; 187: 1779-88.
- 3) Ishii S, Nagase T, Tashiro F, et al. Bronchial hyperreactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. *EMBO J* 1997; 16: 133-42.
- 4) Nagase T, Fukuchi Y, Matsuse T, et al. Antagonism of ICAM-1 attenuates airway and tissue responses

- to antigen in sensitized rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1995 ; 151 : 1244-9.
- 5) Nagase T, Ishii S, Katayama H, et al. Airway responsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor : roles of thromboxanes and leukotrienes. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 ; 156 : 1621-7.
 - 6) Nagase T, Ishii S, Shindou H, et al. Airway hyperresponsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor is mediated by an atropine-sensitive pathway. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165 : 200-5.
 - 7) Nagase T, Kurihara H, Kurihara Y, et al. Airway hyperresponsiveness to methacholine in mutant mice deficient in endothelin-1. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 ; 157 : 560-4.
 - 8) Uozumi N, Kume K, Nagase T, et al. Role of cytosolic phospholipase A₂ in allergic response and parturition. *Nature* 1997 ; 390 : 618-22.
 - 9) Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, et al. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products. *Nature* 1982 ; 298 : 240-4.
 - 10) Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, et al. Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature* 1985 ; 313 : 54-6.
 - 11) Lu B, Fu WM, Greengard P, et al. Calcitonin gene-related peptide potentiates synaptic responses at developing neuromuscular junction. *Nature* 1993 ; 363 : 76-9.
 - 12) Van Rensen ELJ, Hiemstra PS, Rabe KF et al. Assessment of microvascular leakage via sputum induction. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165 : 1275-9.
 - 13) Daoui S, Naline E, Lagente V, et al. Neurokinin B and specific tachykinin NK₃ receptor agonists-induced airway hyperresponsiveness in the guinea-pig. *Br J Pharmacol* 2000 ; 130 : 49-56.
 - 14) Kanazawa H, Kawaguchi T, Shoji S, et al. Synergistic effect of nitric oxide and vasoactive intestinal peptide on bronchoprotection against histamine in anesthetized guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 1997 ; 155 : 747-50.
 - 15) Maruno K, Absoud A, Said SI. VIP inhibits basal and histamine-stimulated proliferation of human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1995 ; 268 : L1047-51.
 - 16) Terada M, Iwanaga T, Iwanaga HT, et al. Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive nerves in the tracheal epithelium of rats: an immunohistochemical study by means of whole mount preparations. *Arch Histol Cytol* 1992 ; 55 : 219-33.
 - 17) Oh-hashii Y, Shindo T, Kurihara Y, et al. Elevated sympathetic nervous activity in mice deficient in α CGRP. *Circ Res* 2001 ; 89 : 983-90.
 - 18) Hosoi J, Murphy GF, Egan CL, et al. Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin-gene related peptide. *Nature* 1993 ; 363 : 159-63.
 - 19) Nagase T, Ohga E, Katayama H, et al. Roles of calcitonin-gene related peptide (CGRP) in hyperpnea-induced constriction in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med* 1996 ; 154 : 1551-6.
 - 20) Nong YH, Titus RG, Ribeiro JMC, et al. Peptides encoded by the calcitonin gene inhibit macrophage function. *J Immunol* 1989 ; 143 : 45-9.
 - 21) Numao T, Agrawal DK. Neuropeptides modulate human eosinophil chemotaxis. *J Immunol* 1992 ; 149 : 3309-15.
 - 22) Teixeira MM, Williams TJ, Hellewell PG. E-type prostaglandins enhance local oedema formation and neutrophil accumulation but suppress eosinophil accumulation in guinea-pig skin. *Br J Pharmacol* 1993 ; 110 : 416-22.
 - 23) Dakhama A, Kanehiro A, Makela MJ, et al. Regulation of airway hyperresponsiveness by calcitonin gene-related peptide in allergen sensitized and challenged mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 165 : 1137-44.
 - 24) Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, et al. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature* 1983 ; 304 : 129-35.
 - 25) Amara SG, Arriza JL, Leff SE, et al. Expression in brain of a messenger RNA encoding a novel neuropeptide homologous to calcitonin gene-related

- peptide. *Science* 1985 ; 229 : 1094-7.
- 26) McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, et al. RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* 1998 ; 393 : 333-9.
- 27) Leckie MJ, Brinke AT, Khan J, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000 ; 356 : 2144-8.
- 28) 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 : 2149-53.
- 29) Coffey MJ, Phare SM, Peters-Golden M. Prolonged exposure to lipopolysaccharide inhibits macrophage 5-lipoxygenase metabolism via induction of nitric oxide synthesis. *J Immunol* 2000 ; 165 : 3592-8.
- 30) Aoki-Nagase T, Nagase T, Oh-hashii Y, et al. Attenuation of antigen-induced airway hyperresponsiveness in CGRP-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002 ; 283 : L963-70.

* * *

アレルギー 53 (12), 2004

ロイコトリエン研究—最近の進歩

東京大学医学部呼吸器内科

長瀬隆英

日本アレルギー学会

〔綜説〕

ロイコトリエン研究—最近の進歩

東京大学医学部呼吸器内科

長瀬隆英

Key words : eicosanoid — leukotriene — pulmonary fibrosis

はじめに

ロイコトリエンはアラキドン酸を起点とする代謝産物のひとつであり、近年、気管支喘息などアレルギー・炎症性疾患の発症機序において重要な役割を果たすことが報告されている。アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドは、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが示唆されている。例えば気管支喘息は、気道平滑筋収縮、血管透過性亢進、血管拡張等による気管支収縮を主体とする病態であり、種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが、近年、特にトロンボキサン、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ、有効な治療標的となりつつある。また、ARDSや肺線維症などの炎症性肺疾患においても、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが発症に関わる可能性が推察されている。近年、ロイコトリエン生合成系に関わる酵素（細胞質型ホスホリパーゼ A₂ など）やロイコトリエン受容体を標的とした遺伝子改変マウスが次々と作成され、ロイコトリエン研究は急速に進展しつつある。本稿では、これらの遺伝子改変マウスを用いた炎症性呼吸器疾患モデルにおける知見を提示し、ロイコトリエンなどの脂質メディエーターと肺疾患について考察する。気管支喘息、ARDS、肺線維症など炎症性肺疾患は、社会的に極めて重大な疾患

であり、治療薬の開発が切実に待たれている。これらの呼吸器疾患発症機序において、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが推察されている。

アラキドン酸カスケードとロイコトリエン

脂質性のメディエーターであるプロスタグランジン、トロンボキサン、ロイコトリエンなどはエイコサノイドと総称され、アラキドン酸を起点とする代謝経路の代謝産物である。アラキドン酸は、炭素数 20 よりなる構造をもち、生体ではリン脂質から細胞質型ホスホリパーゼ A₂ (cytosolic phospholipase A₂, cPLA₂) によって切り出される。アラキドン酸は、図 1 に示すように、アラキドン酸カスケードと呼ばれる代謝経路を経て様々なエイコサノイドを生成する。その 2 つの大きな経路が、シクロオキシナーゼ (cyclooxygenase, COX) 系および、5-リポキシゲナーゼ (5-lipoxygenase, 5-LO) 系である。プロスタグランジン、トロンボキサンはシクロオキシナーゼ系の代謝物であり、ロイコトリエンは 5-リポキシゲナーゼ系の代謝物である。

アラキドン酸カスケードの代謝産物であるエイコサノイドおよび PAF は、ごく微量で多彩な生理活性作用を呈するのが特徴である。呼吸器系においても、エイコサノイドは極めて重要な生理的意義を有することが示唆されている。例えば気管支喘息は、気道平滑筋収縮、血管透過性亢進、血管拡張等による気管支収縮を主体とする病態であり、種々の化学物質が複雑に関与していると考えられるが、近年、特にトロンボキサン、ロイコトリエンなどのエイコサノイドが重要な発症因子とされ、有効な治療標的となりつつある。肺線維症の発症分子機構においても、アラキドン酸カスケードの代謝産物が重要な役割を演じている可能性が推察されるが、未だ十分な検討がなされていない。本稿では、ロイコトリエンなどのアラキドン酸カスケード代謝物に着目し、肺線維症の発症機構への関与につ

RECENT PROGRESS IN LEUKOTRIENE RESEARCH

Takahide Nagase

Department of Respiratory Medicine, University of Tokyo

Abbreviations : ARDS adult respiratory distress syndrome ; COX cyclooxygenase ; cPLA₂ cytosolic phospholipase A₂ ; 5-LO 5-lipoxygenase

長瀬隆英：東京大学医学部呼吸器内科〔東京都文京区本郷 7-3-1〕

E-mail : takahide-ky@umin.ac.jp