

・ Adrenomedullin (ADM)	52 amino acids
・ CGRP	37 amino acids
・ Amylin	37 amino acids
・ Calcitonin	32 amino acids
ADM	YRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKLAHQIQFTDKDKDNVAPRSKISPOQGY
CGRP1	ACDTATCVTHRLAGLLSRSGGVVKNNFVPTNVGSKAF
CGRP2	ACNTATCVTHRLAGLLSRSGGMVKSINFVPTNVGSKAF
AMYLIN	KCNTATCATQRLANFLVHSSNFGAIISSSTNVGSNTY
CALCITONIN	CGNLSTCMLGTYTQD-----FNKFHTFPQTAIGVGAP

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<sup>9)</sup>。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<sup>10)11)</sup>。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)などのタキキニンや、vasoactive intestinal peptide (VIP)などがある。タキ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<sup>12)</sup>。これらの作用は、主にtachykinin NK<sub>1</sub>, NK<sub>2</sub> receptorを介して発現している。また、tachykinin NK<sub>3</sub> 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<sup>13)</sup>。VIPは、気管支収縮を抑制することや<sup>14)</sup>、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<sup>15)</sup>。このように、タキキニンや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<sup>16)</sup>。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

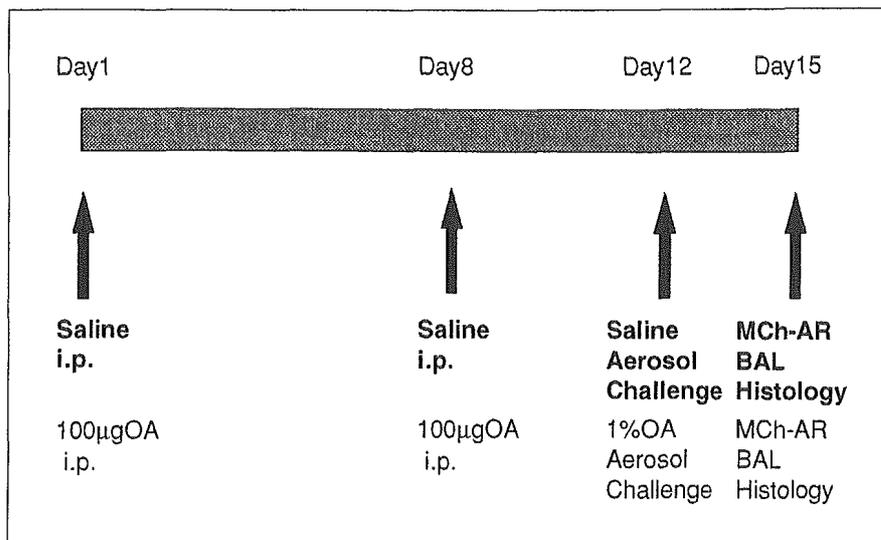


図2 アレルギー性気管支喘息モデルの実験プロトコール

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<sup>17)</sup>。

### 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 (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)に関しては, 感作された野生型群で, saline群に比べ有意に上

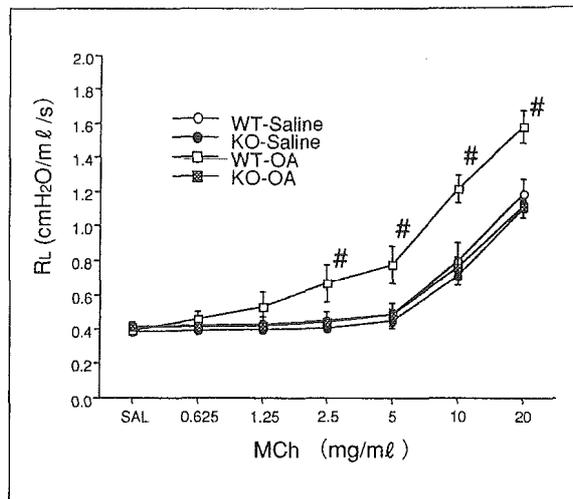


図3 メサコリン(MCh)気道反応性

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(LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)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(LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)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<sup>18)~23)</sup>, 結論は出ていな

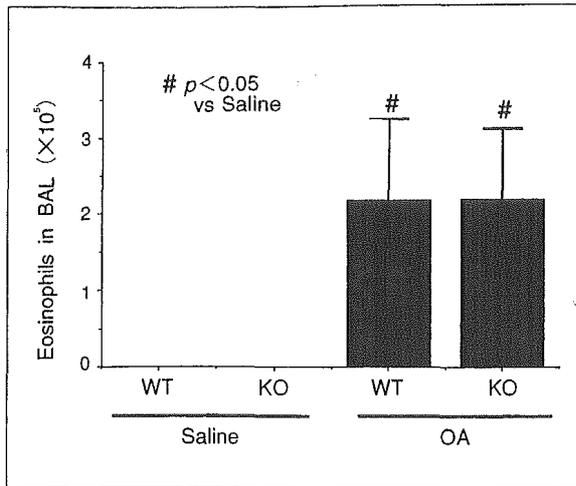


図4 BALF好酸球数

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が気道収縮を引き起こす機序として、CysLTs (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)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<sup>24)</sup>、βCGRPは腸管神経叢にかなり特異的に存在する<sup>25)</sup>。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<sup>26)</sup>。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

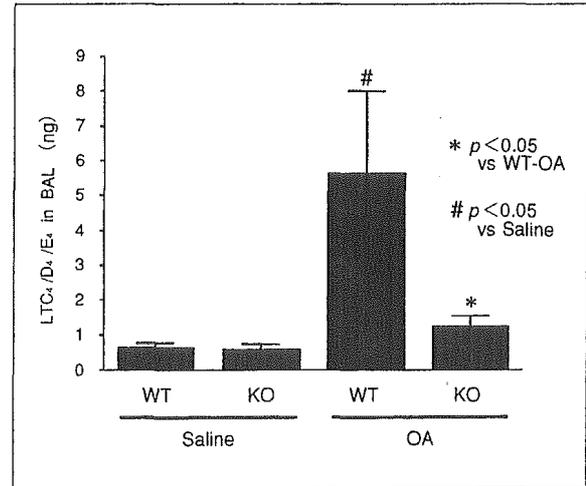


図5 BALF CysLTs (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>) 濃度の測定結果  
BALF CysLTs (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)は、ovalbumin (OA)感作・野生型群で、saline群に比べ有意に上昇していた。一方、感作ノックアウトマウス群は、対照となる感作・野生型群と比べて有意にCysLTs (LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)が低下していた。

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<sup>21)22)</sup>。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<sup>27)28)</sup>。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<sup>18)20)</sup>、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(LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)の重要性が指摘されている。CysLTs(LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)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CysLT<sub>1</sub> receptorが必要である。このCysLT<sub>1</sub> 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CysLT<sub>1</sub> 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(LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)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(LTC<sub>4</sub>/D<sub>4</sub>/E<sub>4</sub>)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<sup>29)</sup>。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<sup>18)</sup>。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すでにいくつかの報告もなされている<sup>5)~8)</sup>。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<sup>30)</sup>。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 A<sub>2</sub> 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 NK<sub>3</sub> 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, Absood 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  $\alpha$ 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A<sub>2</sub>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A<sub>2</sub> (cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>, cPLA<sub>2</sub>)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<sup>1)</sup>。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 ; cPLA<sub>2</sub> cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> ; 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-tky@umin.ac.jp

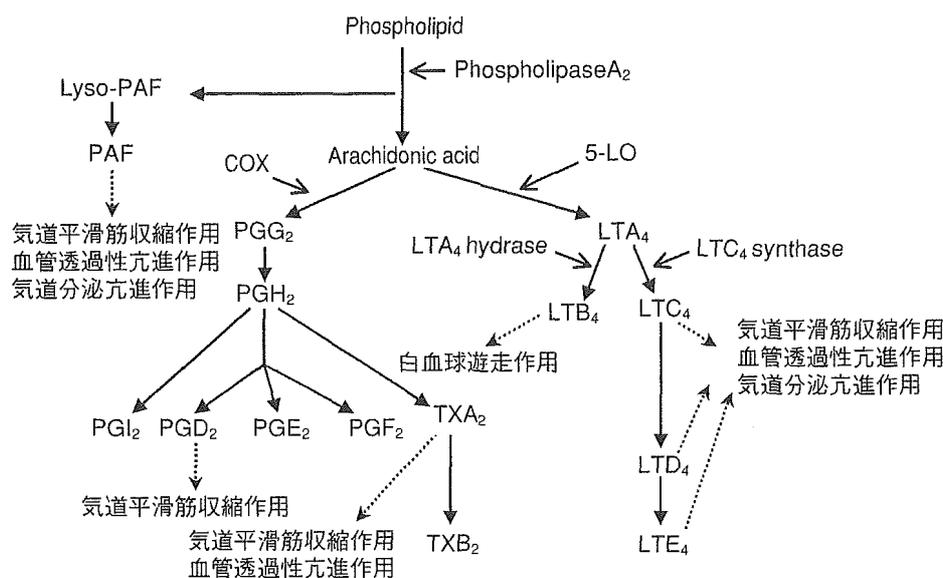


図1. アラキドン酸カスケード.

いて考察を加える。

cPLA<sub>2</sub> 遺伝子ノックアウトマウスの作成

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、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、cPLA<sub>2</sub>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<sub>2</sub>遺伝子を破壊したノックアウトマウス(cPLA<sub>2</sub>-KOマウス)が、魚住らにより報告された<sup>2)</sup>。このcPLA<sub>2</sub>-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<sub>2</sub>-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<sub>2</sub>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<sub>2</sub>-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<sup>3)</sup>。従って、ARDS分子機序におけるcPLA<sub>2</sub>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。

肺線維症モデルでの検討

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。平均生存年数は発症から約3年とされ、予後は極めて不良である。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、実施は極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、ロイコトリエンなどの炎症性メディエーターの関与が推察されている。

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成する手法として、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<sub>2</sub>-KOマウ

ス（ホモ接合体）を用いて、肺線維症成立機序における cPLA<sub>2</sub> 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 cPLA<sub>2</sub>-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、cPLA<sub>2</sub> 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<sup>4)</sup>。

ちなみに Peters-Golden らは、5-リボキシゲナーゼのノックアウトマウスを用いて同様の検討を行っており、ノックアウトマウスにおいて肺線維症様の諸症状が著明に軽減していることを報告している<sup>5)</sup>。これは、個別のエイコサノイドの中でも特にロイコトリエンが肺線維症発症機序に重要であることを示唆するものであり、今後の臨床応用に発展する可能性がある。

#### 肺線維症に対する治療薬開発への期待

肺線維症は、社会的にも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、ロイコトリエンを筆頭とする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) Nagase, T., et al. : Platelet-activating factor mediates acid-induced lung injury in genetically engineered mice. *J. Clin. Invest.* **104**, 1071-1076, 1999.
- 2) Uozumi, N., et al. : Role of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> in allergic response and parturition. *Nature* **390**, 618-622, 1997.
- 3) Nagase, T., et al. : Acute lung injury by sepsis and acid aspiration ; a key role for cytosolic phospholipase A<sub>2</sub>. *Nature Immunol.* **1**, 42-46, 2000.
- 4) Nagase, T., et al. : A pivotal role of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Nature Med.* **8**, 480-484, 2002.
- 5) Peters-Golden, M., et al. : Protection from pulmonary fibrosis in leukotriene-deficient mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **165**, 229-235, 2002.

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

高齢者炎症性・難治性肺疾患における病態分子機序の解明  
および新治療法開発の戦略的展開に関する研究

平成14年度～16年度 総合研究報告書

発行 平成17年3月31日

発行者 「高齢者炎症性・難治性肺疾患における病態分子機序の解明  
および新治療法開発の戦略的展開に関する研究」

主任研究者 長瀬 隆英

〒113-8655

東京都文京区本郷 7-3-1

東京大学大学院医学系研究科 呼吸器内科学