

図1 B細胞におけるIL-4/IL-13シグナルと芳香族化合物代謝のクロストーク

IL-4刺激により発現誘導されたAhRの一部は核内へ移行し、CYP1A1の転写活性化を起こす。またTCDDとIL-4の共刺激によりCYP1A1誘導が相乗的に増強されたことから、生体内でもIL-4、IL-13といったサイトカイン優位な状況においてTCDDに対する感受性が增大している可能性が示唆される。

少ない。さらにダイオキシンやディーゼル排気がB細胞におけるIgE産生を増強し、アレルギー疾患を増悪させる<sup>45)</sup>という報告がある一方で、ダイオキシン曝露によってアレルギー性免疫反応が抑制された<sup>46)</sup>という報告もあるなど、ダイオキシンがB細胞に与える影響についても見解の一致をみていない。そこでわれわれはヒトやマウスのB細胞を用いてIL-4/IL-13によるAhR発現誘導および活性化に関する検討を行い、さらにAhR活性化がB細胞の機能に及ぼす影響について調べた<sup>3)</sup>。

#### IL-4/IL-13によるAhRの誘導

リアルタイムPCRやウェスタンブロッティングによる検討を行い、DND39においてAhRはIL-4刺激によりmRNAおよび蛋白質レベルで発現誘導されることがわかった。またマウス脾臓B細胞やヒトB細胞でも同様にIL-4刺激によりAhR発現が誘導されることが確認された。またSTAT6ノックアウトマウスの脾臓B細胞ではこのような誘

導を認めなかったことから、IL-4によるAhR発現誘導はSTAT6依存性であることがわかった。

#### IL-4によるAhRの活性化

IL-4により発現誘導されたAhRが転写因子として機能しているかどうか検討するため、まずDND39を用いて細胞分画を行った。その結果IL-4刺激により発現誘導されたAhRの一部は核へ移行していることがわかった。この結果と一致してDND39およびマウス脾臓B細胞において、IL-4刺激によりAhRの標的遺伝子のひとつであるCYP1A1の発現が4~5倍誘導されることがリアルタイムPCRで確認された。これらの結果からIL-4はAhRの発現を誘導するだけでなく、AhRを活性化することが示された。これまでAhRはダイオキシンをはじめとするリガンド結合により活性化し、標的遺伝子の転写に働くと考えられてきたが、今回の知見からIL-4はリガンド非存在下でもAhRの発現を誘導しさらに活性化することが明らかになった。またDND39およびマ

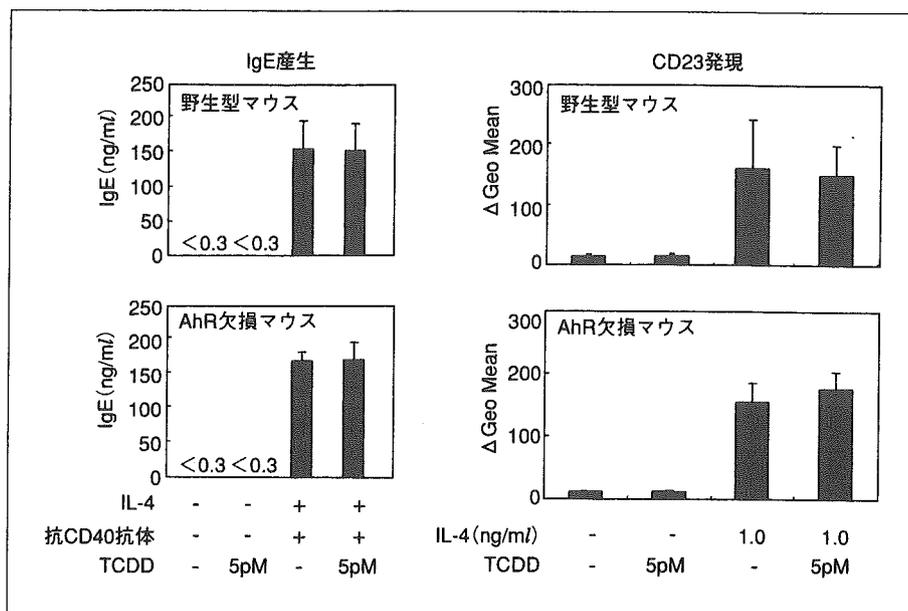


図2 AhRのIgE産生, CD23発現への影響

TCDDがIgE産生やCD23発現に及ぼす影響をELISAおよびフローサイトメトリーにて検討した。野生型マウスとAhR欠損マウスでIL-4によるIgE産生やCD23発現誘導に有意差を認めなかった。またTCDDによる共刺激を行ってもIgE産生やCD23発現誘導に変動を認めなかった。

ウス脾臓 B 細胞において 5 pM の TCDD 刺激では 2 倍程度のわずかな CYP1A1 誘導しか起こらないが, TCDD と IL-4 を共存させることにより CYP1A1 の誘導活性は DND39 の場合 9 倍, マウス脾臓 B 細胞の場合 18 倍に増強され, 明らかな相乗効果が認められた。このことはアレルギー疾患のような IL-4 や IL-13 優位な状況ではダイオキシン感受性が増大している可能性を示唆している (図 1)。

### IgE に対する AhR の影響

IL-4 による AhR 活性化が B 細胞の機能に及ぼす影響について調べるため, マウス B 細胞を TCDD 刺激した場合の IgE の産生能や CD23 発現を検討した。その結果, 野生型マウスと AhR 欠損マウスで IL-4 刺激による IgE の産生能に有意差はなく, 5 pM TCDD で共刺激しても IgE 産生が増強あるいは抑制されることはなかった (図 2)。CD23 発現についても同様の結果が得られたことから, われわれの実験系において TCDD 刺激による AhR 活性化は CD23, germline  $\epsilon$  などの転写活性には影響を与えないことがわかった。

### おわりに

AhR は薬物代謝酵素の発現を誘導するだけでなく, 細胞周期や細胞増殖にも影響を及ぼすことが知られている。IL-4 により発現誘導および活性化した AhR の B 細胞における機能に関しては今後の検討が望まれる。

### 文 献

- 1) Mimura J, Fujii-Kuriyama Y. Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochim Biophys Acta* 2003 ; 1619 : 263.
- 2) Mimura J, Yamashita K, Nakamura K, et al. Loss of teratogenic response to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in mice lacking the Ah (dioxin) receptor. *Genes Cells* 1997 ; 2 : 645.
- 3) Tanaka G, Kanaji S, Hirano A, et al. Induction and activation of aryl hydrocarbon receptor by interleukin-4 in B cells. *Int Immunol*. In press 2005.
- 4) Takenaka H, Zhang K, Diaz-Sanchez D, et al. Enhanced human IgE production results from exposure to the aromatic hydrocarbons from diesel ex-

- haust : direct effects on B-cell IgE production. J Allergy Clin Immunol 1995 ; 95 : 103.
- 5) Kimata H. 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin selectively enhances spontaneous IgE production in B cells from atopic patients. Int J Hyg Environ Health 2003 ; 206 : 601.
- 6) Luebke RW, Copeland CB, Daniels M, et al. Suppression of allergic immune responses to house dust mite (HDM) in rats exposed to 2, 3, 7, 8-TCDD. Toxicol Sci 2001 ; 62 : 71.

\* \* \*

## 特集I | アレルギー反応の制御

# プロテアーゼ阻害因子による アレルギー反応の制御\*

坂田 資尚\*\*  
有馬 和彦\*\*  
出原 賢治\*\*

**Key Words :** allergen, Der p 1, SCCA, IL-13, bronchial asthma

### はじめに

近年, 先進諸国を中心にアレルギー疾患が急増しており, その治療法を確立することは社会的に大きな課題となっている。現在のアレルギー疾患に対する治療薬は, 抗ヒスタミン薬やロイコトリエン受容体拮抗薬などのメディエーター作用を抑制する薬剤と広範な免疫抑制効果を狙った副腎皮質ステロイド薬が中心である。アレルギー疾患の分子レベルでの発症機序が明らかになるに従い, Th2型サイトカイン作用の抑制薬など新たな治療薬の開発が進められている。一方で, アレルギー疾患の原因となるさまざまなアレルゲンの解析も進んでいるが, アレルゲンそのものを標的とした治療薬というものはほとんど開発されていない。多くのアレルゲンの特徴として, なんらかの酵素活性を有しているという点があり, 主要なアレルゲンであるダニ由来抗原Der p 1 もそのひとつである。われわれは最近, 気管支上皮細胞においてTh2型サイトカインであるインターロイキン(IL)-4, IL-13刺激により内因性プロテアーゼ阻害因子の一種であるsquamous cell carcinoma antigen (SCCA)が誘導され, Der p 1 のもつシステインプロテアーゼ活性を阻

害することを見出した<sup>1)</sup>。本稿では, アレルゲンのもつプロテアーゼ活性を阻害することが生体にとってどのような影響を与えるのかについて説明し, IL-4/IL-13とSCCA, Der p 1 を軸にしてわれわれが考えるプロテアーゼ阻害因子によるアレルギー反応の制御の可能性について述べてみたい。

### アレルゲンとプロテアーゼ活性

現時点ではアレルゲンをアレルゲンたらしめる要素がなんであるのかという古典的な問いに対して, 免疫学ははまだ明確な答えを出していない。この問いに答えるために, これまで種々のアレルゲン蛋白質が同定され, アレルゲン分子の構造や機能が解析されてきた。そのなかにはダニ由来抗原Der p 1 (システインプロテアーゼ), Der p 3/6/9(セリンプロテアーゼ)やゴキブリ由来抗原Bla g 2 (アスパラギン酸プロテアーゼ)などのように種々のプロテアーゼ活性をもつものが存在することが見出された(表1)。その結果, アレルゲンはその蛋白質としての抗原性に加えて, 内在する酵素活性がアレルギー反応を修飾しているのではないかと考えられるようになってきた<sup>2)</sup>。たとえば, ダニ抗原Der p 3, Der p 9 はさまざまな細胞表面に発現するプロテアーゼ活性化受容体(protease activated receptor; PARs)を切断・活性化し, 炎症性サイトカインの

\* Control of allergic reactions by protease inhibitors.

\*\* Yasuhisa SAKATA, M.D., Kazuhiko ARIMA, M.D. & Kenji IZUHARA, M.D.: 佐賀大学医学部分子生命科学講座 分子医化学分野(☎849-8501 佐賀市鍋島5-1-1); Division of Medical Biochemistry, Department of Biomolecular Sciences, Saga Medical School, Saga 849-8501, JAPAN

表1 アレルゲンと内在する機能

Cockroach(ゴキブリ)		House dust mite(ダニ)	
アレルゲン名	機能	アレルゲン名	機能
Bla g 1	?	Der 1	cysteine protease
Bla g 2	aspartic protease	Der 2	?
Bla g 4	metalloprotease inhibitor/calysin	Der 3	trypsin
Bla g 5	glutathione transferase	Der 4	amylase
Bla g 6	troponin C	Der 5	?
Honey bee(ハチ)		Der 6	chymotrypsin
アレルゲン名	機能	Der 7	?
Api m 1	phospholipase A2	Der 8	glutathione transferase
Api m 2	hyaluronidase	Der 9	serine protease
Api m 4	melittin	Der 10	tropomyosin
Api m 6	?	Der 11	paramyosin
Api m 7	serine protease	Der 14	apolipoprotein
		Der 15	chitinase
		Der 16	gelsolin/villin
		Der 17	Ca binding EF protein
		Der 18	chitinase

現在同定されているゴキブリ、ミツバチ、ダニ由来アレルゲンと内在する機能を示す。酵素活性を有するものが多い。

分泌を誘導することが示されている。Der p 1 は、上皮バリアを越えて生体内に進入する際、システインプロテアーゼ活性により上皮細胞間の接着分子を切断すると考えられている<sup>3)</sup>。また、B細胞上のCD23分子を切断しIgEを介した免疫反応を促進することや、T細胞上のCD25分子を切断することでTh1反応を抑制することが示されている<sup>4)</sup>。さらに、Der p 1による肥満細胞からのヒスタミン脱顆粒促進、好塩基球からのIL-4、IL-5、IL-13といったTh2サイトカインの産生誘導や同じグループ1ダニ抗原Der f 1による好酸球の活性化および脱顆粒も報告されている(図1)。これらの作用により生体はTh2環境に傾くと考えられ、よりアレルギー反応を起こしやすい状態となる。また、Der p 1と相同性の高いソパインは、パパイヤの実から抽出されるシステインプロテアーゼであり食肉を柔らかくするために用いられるが、この作業に従事する人のアレルギーの原因となっている。活性化パパインをマウスに投与するとIgE応答が起こるが、非活性化したパパインではこれが起こらないことから、プロテアーゼ作用の重要性が示唆されている。一方で、アレルゲンがもつ修飾効果はプロテアーゼ活性ばかりではない。蜂毒はホスホリパーゼA2活性をもちその酵素活性依存的に肥満細胞を活性化

し、IL-4の産生を誘導することが知られている。このようにアレルゲンが有する酵素活性がアレルギー反応を修飾していると考えられ、この酵素活性を阻害することはアレルギー疾患の治療および予防に結びつくのではないかと期待される。

#### 気管支上皮細胞における プロテアーゼ阻害因子の発現誘導

気道はもっとも一般的なアレルゲンの侵入経路であり、気道へのアレルゲンの曝露は気管支喘息の発症に深くかかわっている。まず、これまで考えられてきた気管支喘息の発症機序を概説する。アレルゲンが体内に侵入するとマクロファージなどの抗原提示細胞によりプロセッシングを受けて抗原ペプチドが提示される。それをT細胞が認識してTh2型細胞が誘導され、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13といったTh2型のサイトカインが分泌される。このうちIL-4とIL-13はB細胞に作用してIgE産生を誘導し、IgEが肥満細胞上に結合する。次に活性化相において再び侵入してきたアレルゲンが肥満細胞上のIgEに結合すると、それが引き金になって肥満細胞が脱顆粒しヒスタミンやロイコトリエンなどの化学物質を放出する。これが即時型のアレルギー反応をひき起こす。これとは別に、IL-5、IL-3、GM-CSFは好酸

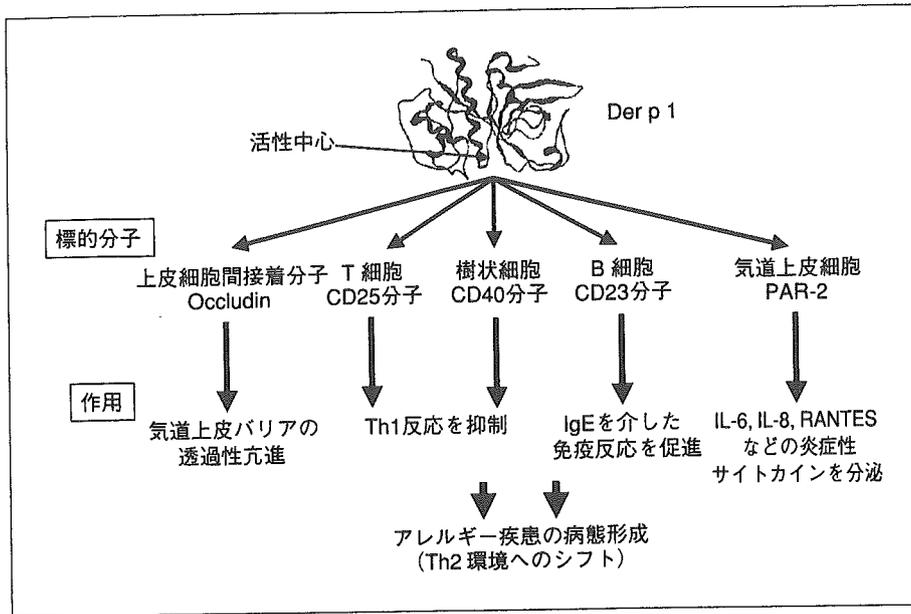


図1 ダニ抗原由来プロテアーゼとその作用

Der p 1は、特徴的な活性中心残基Cys34, His170, Asn190が保存されたシステインプロテアーゼである。Der p 1が基質として切断する生体内分子およびそれにより惹起される生体反応を示す。これらの作用により生体はTh2環境に傾くと考えられる。

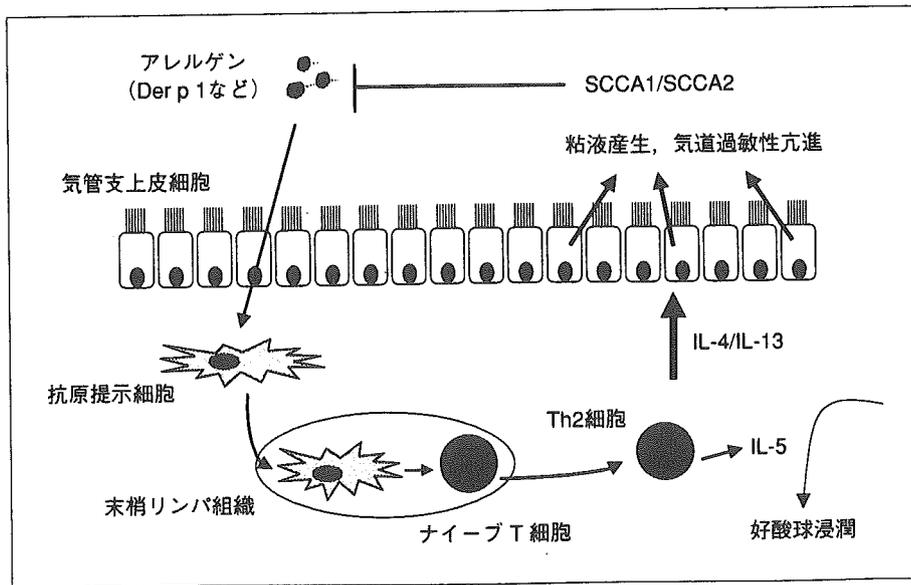


図2 気管支喘息の発症機序

上皮細胞を越えて侵入したアレルギーは抗原提示細胞によりT細胞へ提示されTh2細胞を誘導する。Th2細胞から分泌されるIL-4, IL-13は、気管支上皮細胞に直接作用しさまざまな遺伝子発現を介して、粘液産生や気道過敏性亢進をもたらす。誘導遺伝子のひとつであるSCCAはダニ抗原のプロテアーゼ活性を阻害し、アレルギーに対して生体防衛的に働いていると考えられた。

球に作用してPAFなどの化学物質の産生を誘導する。これは遅延型のアレルギー反応をひき起こ

す。このようにTh2型サイトカインが病態形成の中心を成しているが、そのなかでもとくにIL-13

が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた<sup>5)</sup>。マウスの気管支上皮細胞特異的にIL-13を発現させると気道過敏性の亢進や粘液産生増加といった気管支喘息様の症状を呈することが示され、また抗原誘発喘息モデルマウスに対し可溶性IL-13受容体を投与しIL-13の作用を阻害することで喘息症状が抑えられることが示されている<sup>6)</sup>。この作用はリンパ球非依存的であり、従来考えられてきたようなB細胞に作用してIgE産生を誘導するといったIL-13の生理活性によるものではなく、気管支上皮細胞を主体とする肺組織局所の細胞に対するIL-13の直接作用が気道過敏性の亢進をはじめとする喘息病態の形成に影響していると考えられている<sup>7)</sup>(図2)。

われわれはIL-4およびIL-13が気管支上皮細胞に対してどのような作用を示すのか明らかにするために、ヒト気管支上皮初代培養細胞をこれらのサイトカインで刺激した際の遺伝子プロファイルに関してDNAマイクロアレイを用いて解析した。その結果、12個の誘導遺伝子を同定した<sup>8)</sup>(表2)。これらの遺伝子を実際の気管支喘息患者の肺組織で発現している遺伝子と比較したところ、4個の遺伝子の発現が喘息患者の肺組織で増強していることが明らかとなり、そのなかでもっとも高い発現誘導を示したのがSCCA1およびSCCA2遺伝子であった。さらに、SCCAが実際の喘息患者の末梢血においても増悪期には緩解期に比し高値を示すことも見出した<sup>9)</sup>。またSCCAは気管支上皮細胞に限らず、皮膚の角化細胞においてもIL-4, IL-13刺激により誘導されることも見出している。

#### 内因性プロテアーゼ阻害因子による アレルギー由来プロテアーゼの阻害

SCCA1とSCCA2はオバルブミン-セルピンファミリー(serpin)に属するプロテアーゼ阻害因子であるが、両者の生体内における生理的役割については必ずしも明らかとなっていない。SCCA1とSCCA2はアミノ酸レベルで91%の高い相同性があるが、SCCA2はカテプシンGやヒト肥満細胞キマーゼといったセリンプロテアーゼを阻害し、SCCA1はカテプシンLやカテプシンK, カテプシンSといったシステインプロテアーゼを

表2 気管支上皮細胞におけるIL-4, IL-13による誘導遺伝子

Squamous cell carcinoma antigen(SCCA)1*
Squamous cell carcinoma antigen(SCCA)2*
DD96*
Kallmann syndrome protein (KAL)1*
Periostin
Tenascin C
Carboxypeptidase M
Interleukin-13 receptor $\alpha$ 2 chain
Cathepsin C
Dioxin-inducible cytochrome P450
Carbonic anhydrase II
Endothelin-A receptor

気管支上皮細胞をIL-4, IL-13で刺激した際に、mRNAの増加が認められた遺伝子を誘導率が高かったものから順に示す。\*を付した遺伝子は喘息患者の肺組織においても発現の増加が認められた。(文献<sup>8)</sup>より引用)

阻害し異なった特異性を示す<sup>10)</sup>。この特異性を決めているのはSCCA分子の反応ループ(reactive site loop; RSL)のアミノ酸配列であり、典型的なセルピンはRSLを介して標的酵素の活性中心と相互作用し酵素活性を阻害する。全体的にみれば高い相同性を示す両者であるが、RSL部の相同性は54%しかなく、個々のアミノ酸についての変異体の実験から標的酵素に応じて相互作用に重要なアミノ酸が異なることも明らかにされている。これらの分子がアレルギー反応の誘導因子であるTh2型サイトカインによって気道や皮膚などのアレルギーに曝露される部位において誘導されるという点にわれわれは注目し、SCCAがアレルギーのもつプロテアーゼ活性を阻害し得るか検討を行った。

既知のアレルゲンの中でも前述したダニ抗原Der p 1は主要なアレルゲンのひとつであり、システインプロテアーゼとしての活性を有している。抗ダニ抗体のうち半分以上はDer p 1に対する抗体であり、アレルギー患者の全IgE抗体の10~20%、さらに抗ダニ抗体の50%以上は抗Der p 1抗体である。このDer p 1に対するSCCA1, SCCA2の阻害効果を検討したところ、本来はセリンプロテアーゼを阻害すると考えられていたSCCA2によって強くDer p 1のプロテアーゼ活性が阻害された<sup>11)</sup>(図3)。詳細に阻害機序を解析したところ、SCCA2はDer p 1と相互作用すると基質のように

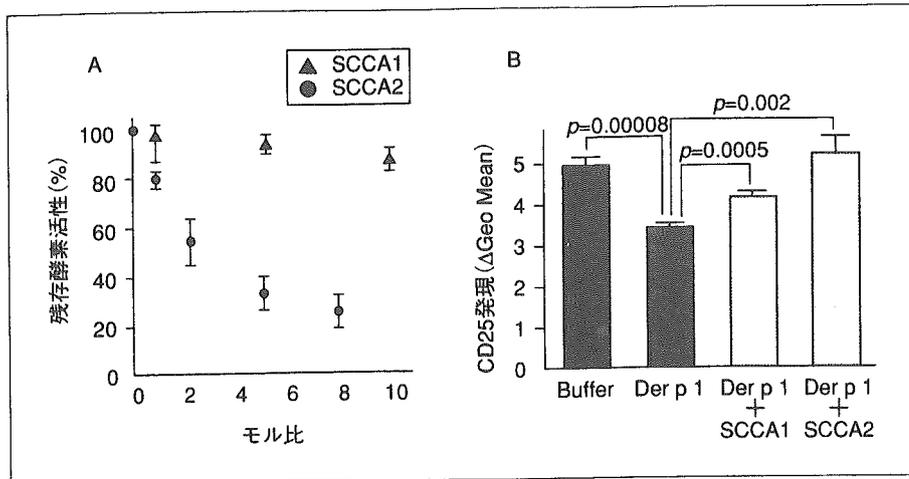
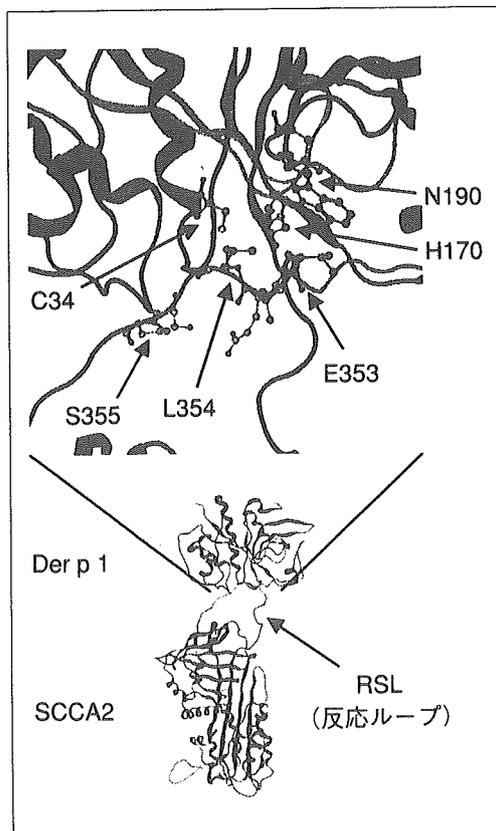


図3 SCCAによるDer p 1の酵素活性阻害

- A: Der p 1の濃度を10nMに固定しSCCA1またはSCCA2と反応後、残存する酵素活性をプロットした。反応させるモル比を横軸に示す。
- B: Jurkat T細胞上のCD25分子の発現をフローサイトメーターにて解析した。Der p 1で処理するとCD25分子は切断され、発現が低下する。そこにSCCA2を共存させるとCD25分子の切断が抑えられる。このように基質として合成基質およびCD25どちらを用いた場合もSCCA2がDer p 1の酵素活性を阻害することが明らかになった。(文献より引用改変)



切断されるが、その際、Der p 1に構造変化をもたらし不可逆的に酵素活性を低下させることが示唆された。さらに、SCCA2とDer p 1の相互作用様式を解析するためにRSL部位の変異体を作成したところ、SCCA2より効率よくDer p 1を阻害できるSCCA2変異体を得ることができた。また、その変異体のRSL部分に相当する13merの合成ペプチドでも、Der p 1を阻害することができた。このことは、SCCA2そのものやSCCA2類似物がDer p 1によって引き起こされるアレルギー反応を抑制する新規の抗アレルギー薬となりえる可能性を示唆している。このような生化学的手法に加え、今後結晶構造解析を用いて構造生物学的にSCCA2とDer p 1の相互作用様式が明らかになれば、より効果的な阻害薬の創出が可能となると考えられる(図4)。Th2型サイトカインによ

図4 SCCA2とDer p 1の複合体モデル図

SCCA2/Der p 1複合体のホモロジーモデリング図を示す。SCCA2はRSLを介してDer p 1と相互作用している。Der p 1の活性中心にある34番目のシステイン残基が、SCCA2の353番目のグルタミン酸残基に対し求核反応を起こし、353番目のグルタミン酸残基と354番目のロイシン残基の間で切断する(理化学研究所 櫻井 濟博士, 松尾 洋博士より供与)。

り誘導されるSCCAの生理的役割は、本来アレルギーに対する阻害作用とは異なったものかもしれない。しかし、このようなアレルギーに反応し生体で誘導される分子を同定し機能解析を行うことによって、酵素活性をもつほかのアレルギーに対する阻害剤を開発していく上でのヒントが得られるものと期待される。

### おわりに

われわれが最近見出した知見をもとに、アレルギー疾患に対する治療の可能性について述べた。一般にアレルギー反応の誘導にかかわっていると考えられるIL-4/IL-13が、気管支上皮細胞や皮膚角化細胞などに直接作用してsquamous cell carcinoma antigen (SCCA)分子を誘導しアレルギーが有するプロテアーゼ活性を阻害することで、アレルギー反応が抑制される可能性が示された。これは生体にとってTh2型免疫応答を介したアレルギーに対する新規の生体防御機構と考えることができる。アレルギー疾患の分子レベルでの発症機序の解析が進むにつれ、治療の標的となり得る種々の分子が明らかにされつつある。アレルギー罹患患者が急増する現在、効果的で特異的な効果をもたらす標的分子の同定、治療薬の開発が期待される。

### 文 献

- 1) Sakata Y, Arima K, Takai T, et al. The squamous cell carcinoma antigen 2 inhibits the cysteine protease activity of a major mite allergen, Der p1. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 5081.
- 2) Hewitt CRA, Foster S, Phillips C, et al. Mite allergens : significance of enzymatic activity. *Allergy* 1998 ; 53 : 60.
- 3) Wan H, Winton HL, Soeller C, et al. Der p 1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J Clin Invest* 1999 ; 104 : 123.
- 4) Shakib F, Schulz O, Sewell H. A mite subversive : cleavage of CD23 and CD25 by Der p 1 enhances allergenicity. *Immunol Today* 1998 ; 19 : 313.
- 5) Izuhara K, Umeshita-Suyama R, Akaiwa M, et al. Recent advances in understanding how interleukin 13 signals are involved in the pathogenesis of bronchial asthma. *Arch Immunol Therap Exp* 2000 ; 48 : 505.
- 6) Grunig G, Warnock M, Wakil AE, et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* 1998 ; 282 : 2261.
- 7) Kuperman DA, Huang X, Koth LL, et al. Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperreactivity and mucus overproduction in asthma. *Nat Med* 2002 ; 8 : 885.
- 8) Yuyama N, Davies DE, Akaiwa M, et al. Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* 2002 ; 19 : 287.
- 9) Nishi N, Miyazaki M, Tsuji K, et al. Squamous cell carcinoma-related antigen (SCCA) in children with acute asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. In press 2005.
- 10) Masumoto K, Sakata Y, Arima K, et al. Inhibitory mechanism of a cross-class serpin, the squamous cell carcinoma antigen 1. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 45296.

\* \* \*



## 話題

# Th2型サイトカインを標的としたアレルギー疾患に対する治療\*

出原 賢治\*\*

Key Words : allergy, Th2-type cytokine, antagonist, drug, interleukin

### はじめに

アレルギー疾患は遺伝要因と環境要因とが組み合わさってアレルゲンに対する感受性が亢進した状態が形成され、種々のアレルゲンの曝露によってその病態が形成される複雑な疾患である。アレルギー疾患の病態形成には多くの細胞、メディエーターが関与していることが知られているが、その中でTh2型サイトカインの重要性がモデルマウスあるいはアレルギー疾患患者の解析から明らかになっている。そのため、現在のアレルギー治療はステロイド剤などの広範な免疫抑制を目的とした薬剤やヒスタミン受容体拮抗薬や $\beta_2$ 受容体刺激薬といった、アレルギー反応のエフェクター相における作用薬が中心となっているが、Th2型サイトカインを分子標的とした治療薬の開発も進められている。本稿においては、Th2型サイトカインの制御を中心とした治療薬の開発に関する現況と将来への展望について述べてみたい。

### IL-4/IL-13拮抗薬

Th2型サイトカインの中でIL-4とIL-13は受容体を共有し、類似したシグナルを伝達することが知られている<sup>1)2)</sup>。当初IL-4とIL-13は、B細胞に対するIgE産生といった免疫系細胞に対する作用によってアレルギー疾患の病態に関与していると考えられていた。しかし、これらのサイトカイン、とく

にIL-13がリンパ球を介さないで気管支喘息の発症において中心的な役割を果たしていることが<sup>3)</sup>、モデルマウスの実験で示された<sup>3)4)</sup>。また、その後IL-13が気管支上皮細胞に作用するだけで気道過敏性の亢進がモデルマウスにおいて生じることも示された<sup>5)</sup>。一方で、気管支喘息患者の病変部位においてIL-4やIL-13の発現が増強されていること<sup>1)2)</sup>、IL-4/IL-13シグナル関連遺伝子上のSNPがアレルギー疾患と相関することから<sup>6)7)</sup>、マウスのみならずヒトにおいてもこれらのサイトカインのアレルギー疾患における重要性が示唆されている。このため、IL-4とIL-13、とくに後者に対する拮抗薬が気管支喘息の治療薬になりうると考えられ、いくつかの拮抗薬が主に気管支喘息治療薬として開発されている(表1)。

#### 1. 可溶性IL-4レセプター $\alpha$ 鎖

可溶性サイトカインレセプターの投与によるサイトカイン作用の阻害を疾患の治療に結びつけようとする試みとして、慢性関節リウマチに対する可溶性TNFレセプター(Enbrel<sup>TM</sup>)の投与が知られている。可溶性IL-4レセプター $\alpha$ 鎖は生理的にもスプライシング産物として血中に存在しているため、ほかのIL-4シグナルの阻害薬である抗IL-4抗体や変異型IL-4蛋白質(IL-4 mutein)と違って免疫原性をもたない利点をもつ。そこで、可溶性IL-4レセプター $\alpha$ 鎖を人工的に作製して、気管支喘息の治療薬として用いる試みが行われた(図1)。まず最初の試みとして、中程度の喘息

\* Development of new treatments for allergic diseases targeting Th2-type cytokines.

\*\* Kenji IZUHARA, M.D., Ph.D.: 佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野(☎849-8501 佐賀市鍋島市5-1-1); Division of Medical Biochemistry, Department of Biomolecular Sciences, Saga Medical School, Saga 849-8501, JAPAN

表1 IL-4/IL-13拮抗薬一覧表

試薬	製造会社	IL-4阻害作用	IL-13阻害作用
可溶性IL-4受容体	Immunex (Nuvance™) →開発中止	+	-
可溶性IL-13受容体	Genetic Institute/Wyeth	-	+
IL-4/IL-13トラップ	Regeneron	+	+
IL-4 mutein	Bayer	+	+
抗IL-13 $\alpha$ 1抗体	AMRAD	?	+
IL-13E13K	?	+	+

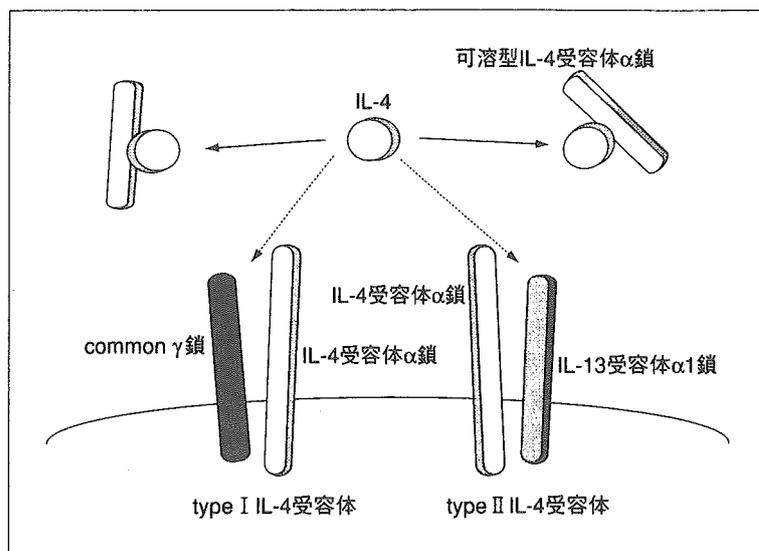


図1 可溶性IL-4レセプターの作用機序

可溶性IL-4レセプターはIL-4と結合し、IL-4の細胞膜表面上のIL-4レセプターへの結合を阻害する。

患者を対象にステロイド吸入剤投与を中止した後、精製された可溶性IL-4レセプター $\alpha$ 鎖の吸入による1回投与を行って約2週間経過を観察した<sup>8)</sup>。その後の試みとして、精製された可溶性IL-4レセプター $\alpha$ 鎖の1週間に1回投与を12週間継続した<sup>9)</sup>。どちらの試みにおいても気管支喘息の症状、所見において改善がみられたが、示された効果が期待ほどではないことから開発は中止された。

## 2. 可溶性IL-13レセプター

モデルマウスなどの実験から、IL-13はIL-4に比べて気管支喘息の発症において、より重要な役割を果たしていると考えられるようになった。このため、IL-4と同様に可溶性IL-13レセプターを人工的に作製して、気管支喘息の治療に用いる試みがなされている。候補として可溶性IL-13レ

セプター $\alpha$ 1鎖と可溶性IL-13レセプター $\alpha$ 2鎖の2つが存在する。しかし、IL-13との親和性がIL-13レセプター $\alpha$ 1鎖(kDa=1~数nM)よりもIL-13レセプター $\alpha$ 2鎖(kDa=100~数百pM)の方が約100倍程度高いため、可溶性IL-13レセプター $\alpha$ 2鎖の方が治療薬として有望だと考えられる(図2)。Genetic Institute/Wyeth社が可溶性IL-13レセプター $\alpha$ 2鎖を開発しており、現時点ではマウスやモルモットの喘息誘発モデルに対して効果を示したことを報告している<sup>4)10)</sup>。患者に対する治験結果はまだ報告されていないが、この点についての今後の解析が期待される。また、Regeneron社は、複数の可溶性サイトカイン受容体をFc融合蛋白質を介して重合させてサイトカインシグナルを阻害する系を開発しており<sup>11)</sup>、この系を用いて可溶性IL-4レセプター $\alpha$ 鎖と可溶性IL-13レ

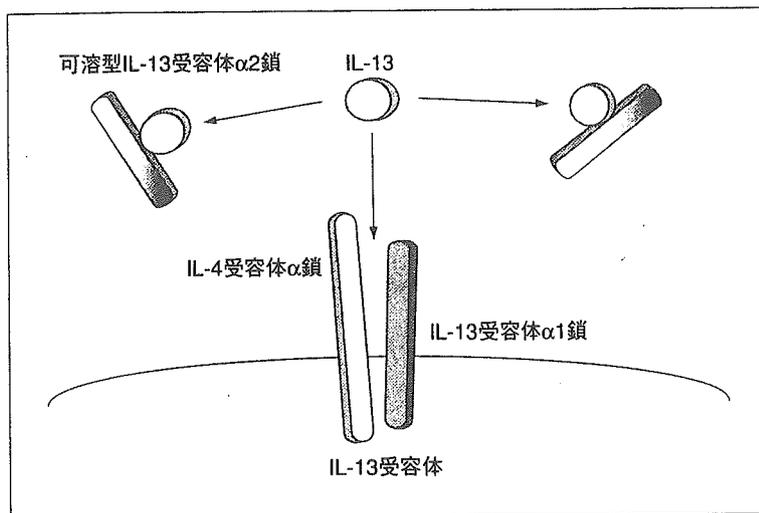


図2 可溶性IL-13レセプターの作用機序  
可溶性IL-13レセプター $\alpha$ 2はIL-13と結合し、IL-13の細胞膜表面上のIL-13レセプターへの結合を阻害する。

セプター $\alpha$ 1鎖を重合させたIL-4/IL-13トラップを作製し、患者に投与してその効果を検討している。

### 3. IL-4 muteinあるいはIL-4受容体アンタゴニスト(IL-4RA)

Bayer社がIL-4 muteinあるいはIL-4受容体アンタゴニスト(IL-4RA)を、アレルギー疾患に対する治療薬として開発している。これはIL-4の124番目のアミノ酸残基であるチロシンをアスパラギン酸に置換した変異体(Y124D)<sup>12)</sup>、さらに121番目のアミノ酸残基であるアルギニンをアスパラギン酸に置換した変異体(R121D/Y124D)を指す<sup>13)</sup>。IL-4 muteinはIL-4レセプターに結合するが、シグナルを伝達できないため拮抗薬として働く(図3)。また、IL-4レセプター $\alpha$ 鎖と可溶性IL-13レセプター $\alpha$ 1鎖から成るtype II IL-4レセプターはIL-13レセプターでもあるため、IL-13シグナルも阻害する。このヒトのIL-4 muteinに相当するマウスのIL-4 muteinとしてQ116D/Y119Dが存在するが<sup>14)</sup>、これをアデノ関連ウイルスベクターを用いてマウスの気道発現あるいは骨格筋発現すると、好酸球浸潤、粘液産生、気道過敏性亢進といった気管支喘息の病態形成が阻害された<sup>15)</sup>。この結果はIL-4 mutein自身の薬理効果の点でのみならず、投与方法の点においても注目される。

### 4. その他のIL-4/IL-13拮抗薬

上記の拮抗薬以外に、AMRAD社が抗IL-13レセプター $\alpha$ 1鎖抗体を治療薬として開発中である。また、IL-13の13番目のアミノ酸残基であるグルタミン酸をリジンに置換した変異体(IL-13E13K)がIL-13レセプター/type II IL-4レセプターに結合する一方でシグナルを伝達しないことから、IL-13とIL-4の両方のシグナルの阻害剤となることが示されている<sup>16)</sup>。これらの薬剤のアレルギー病態への影響に関する今後の検討が期待される。

### IL-5拮抗薬

IL-5は好酸球の増殖、分化に重要なサイトカインであることから、アレルギー治療の分子標的として注目されていた。このため、IL-5の拮抗薬としてヒト化抗IL-5抗体が開発され、喘息患者への投与が試みられた。しかし、血中好酸球数や気道への好酸球浸潤は改善したものの、気道過敏性の亢進には変化が認められなかった<sup>17)18)</sup>(表2)。これらの結果を受けて、一時期IL-5拮抗薬のアレルギー治療薬としての可能性は疑問視されていた。しかし、ヒト化抗IL-5抗体の気管支喘息患者への3回投与によりTGF- $\beta$ の発現が減少し、おそらくそれを介してテネシン、ルミカン、プロコラーゲンIIIといった細胞外マトリックス蛋白質の気道組

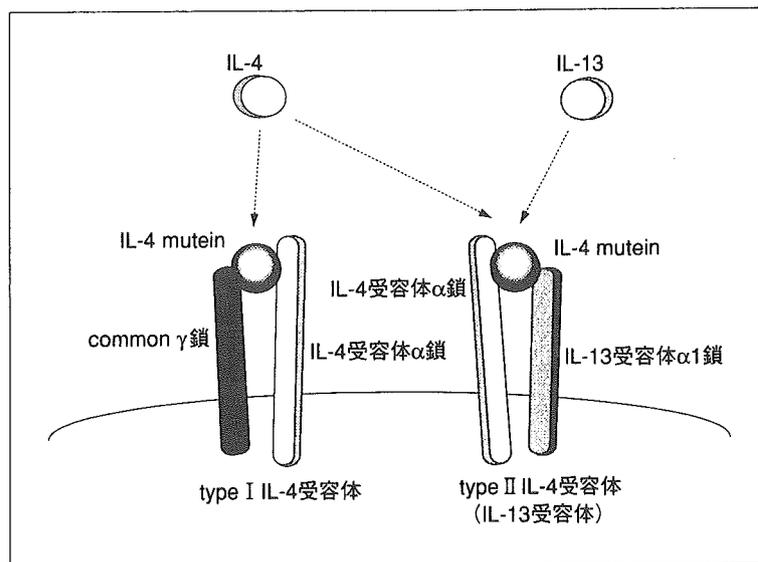


図3 IL-4 muteinの作用機序

IL-4 muteinは細胞膜表面上のIL-4レセプターα鎖とcommon γ鎖あるいはIL-13レセプターα1鎖から成るIL-4あるいはIL-13レセプターに結合するが、シグナルを伝達しない。このため、IL-4とIL-13の両方のシグナルが阻害される。

表2 ヒト化抗IL-5抗体の作用

投与方法	好酸球数		気道過敏性亢進	基底膜肥厚
	末梢血	気道組織		
1回投与	↓	↓	→	?
3回投与	↓	↓	?	↓

織への沈着が減少することが示された<sup>19)</sup>(表2)。このことは、気管支喘息における粘膜下組織の変化に対してIL-5作用の阻害が有効であることを示している。また、この結果はIL-5欠損マウスを用いた“chronic asthma model”において気管支周囲の線維化が減少した結果とも一致している<sup>20)</sup>。さらに、ヒト化抗IL-5抗体はアトピー性皮膚炎患者の皮膚におけるテネシン沈着を減少させ、アトピー性皮膚炎治療薬としての可能性をもっていることも示されている<sup>21)</sup>。

IL-5欠損マウスで残存する気道過敏性の亢進、好酸球浸潤はeotaxin(CCL-11)とIL-5のダブル欠損マウスで完全に消失する<sup>22)</sup>。このことから、IL-5拮抗薬とeotaxin拮抗薬との組み合わせはヒト化抗IL-5抗体単独では改善しなかった喘息症状を阻害することができる可能性が考えられる。eotaxinはeotaxin2(CCL-24), MCP3(CCL-7), MCP4(CCL-13), RANTES(CCL-5)とともにCCR3に結

合して好酸球やTh2型リンパ球の遊走に関与しているため、CCR3拮抗薬はeotaxin拮抗薬にもなりうる。現在、CCR3阻害薬は有望なアレルギー治療薬として考えられており、低分子化合物<sup>23)24)</sup>、Met-RANTES<sup>25)</sup>、Met-Ckβ<sup>26)</sup>、vMIP-II<sup>27)</sup>といった蛋白質化合物などがCCR3拮抗薬として開発されている。これらの拮抗薬の単独投与だけでなく、ヒト化抗IL-5抗体と組み合わせた投与なども今後の検討課題だと思われる。

### IL-9拮抗薬

別のTh2型サイトカインであるIL-9はムチン産生、杯細胞への分化などの作用をもっており、IL-9をマウスの肺組織に過剰発現させると気管支喘息の病態が生じることが示されている<sup>28)</sup>。また、気道反応性において高反応性を示すDBA/2と低反応性を示すC57BL/6との間の比較による遺伝子解析により、IL9遺伝子が差異を起こす原因遺

伝子であることも示されている<sup>29)</sup>。これらの結果から、IL-9もアレルギー治療における分子標的候補のひとつにあげられている。抗IL-9抗体がモデルマウスにおける喘息病態の阻害に有効であることが示されており<sup>30)</sup>、喘息患者における今後の解析が期待されている。

### おわりに

以上、IL-4/IL-13, IL-5, IL-9シグナルの制御を中心に、Th2サイトカインを標的とした新規のアレルギー薬の開発に関する現況と将来への展望について述べた。このような分子標的治療の開発にとって、アレルギー疾患の病態形成機序の解明といった基礎的研究が重要であることはいうまでもない。今後、Th2サイトカインを標的としたアレルギー疾患に対する新規の治療法が開発されることによって、21世紀医療の重要課題である「テラーメイド医療」への道がアレルギー疾患の領域においても開けていくことが期待される。

### 文 献

- 1) Izuhara K, Arima K, Yasunaga S. IL-4 and IL-13 : their pathological roles in allergic diseases and their potential in developing new therapies. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002 ; 1 : 263.
- 2) Izuhara K, Arima K. Signal transduction of IL-13 and its role in the pathogenesis of bronchial asthma. *Drug News Perspect* 2004 ; 17 : 91.
- 3) Grunig G, Warnock M, Wakil AE, et al. Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* 1998 ; 282 : 2261.
- 4) Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, et al. Interleukin-13 : central mediator of allergic asthma. *Science* 1998 ; 282 : 2258.
- 5) Kuperman DA, Huang X, Koth LL, et al. Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperreactivity and mucus overproduction in asthma. *Nat Med* 2002 ; 8 : 885.
- 6) Izuhara K, Shirakawa T. The signal transduction via the interleukin-4 receptor and its correlation with atopy. *Int J Mol Med* 1999 ; 3 : 3.
- 7) Shirakawa T, Deichmann KA, Izuhara K, et al. Atopy and asthma : genetic variants of IL-4 and IL-13 signalling. *Immunol Today* 2000 ; 21 : 60.
- 8) Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, et al. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 1999 ; 160 : 1816.
- 9) Borish LC, Nelson HS, Corren J, et al. Efficacy of soluble IL-4 receptor for the treatment of adults with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001 ; 107 : 963.
- 10) Morse B, Sypek JP, Donaldson DD, et al. Effects of IL-13 on airway responses in the guinea pig. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002 ; 282 : L44.
- 11) Economides AN, Carpenter LR, Rudge JS, et al. Cytokine traps : multi-component, high-affinity blockers of cytokine action. *Nat Med* 2003 ; 9 : 47.
- 12) Kruse N, Tony HP, Sebald W. Conversion of human interleukin-4 into a high affinity antagonist by a single amino acid replacement. *EMBO J* 1992 ; 11 : 3237.
- 13) Tony HP, Shen BJ, Reusch P, et al. Design of human interleukin-4 antagonists inhibiting interleukin-4-dependent and interleukin-13-dependent responses in T-cells and B-cells with high efficiency. *Eur J Immunol* 1994 ; 225 : 659.
- 14) Grunewald SM, Kunzmann S, Schnarr B, et al. A murine interleukin-4 antagonistic mutant protein completely inhibits interleukin-4-induced cell proliferation, differentiation, and signal transduction. *J Biol Chem* 1997 ; 272 : 1480.
- 15) Zavorotinskaya T, Tomkinson A, Murphy JE. Treatment of experimental asthma by long-term gene therapy directed against IL-4 and IL-13. *Mol Ther* 2003 ; 7 : 155.
- 16) Oshima Y, Puri RK. Characterization of a powerful high affinity antagonist that inhibits biological activities of human interleukin-13. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 15185.
- 17) Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000 ; 356 : 2144.
- 18) Kips JC, O'Connor BJ, Langley SJ, et al. Effect of SCH55700, a humanized anti-human interleukin-5

- antibody, in severe persistent asthma : a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 167 : 1655.
- 19) Flood-Page P, Menzies-Gow A, Phipps S, et al. Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic asthmatics. *J Clin Invest* 2003 ; 112 : 1029.
- 20) Cho JY, Miller M, Baek KJ, et al. Inhibition of airway remodeling in IL-5-deficient mice. *J Clin Invest* 2004 ; 113 : 551.
- 21) Phipps S, Flood-Page P, Menzies-Gow A, et al. Intravenous anti-IL-5 monoclonal antibody reduces eosinophils and tenascin deposition in allergen-challenged human atopic skin. *J Invest Dermatol* 2004 ; 122 : 1406.
- 22) Mattes J, Yang M, Mahalingam S, et al. Intrinsic defect in T cell production of interleukin (IL)-13 in the absence of both IL-5 and eotaxin precludes the development of eosinophilia and airways hyperactivity in experimental asthma. *J Exp Med* 2002 ; 195 : 1433.
- 23) Sabroe I, Peck MJ, Van Keulen BJ, et al. A small molecule antagonist of chemokine receptors CCR1 and CCR3. Potent inhibition of eosinophil function and CCR3-mediated HIV-1 entry. *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 25985.
- 24) White JR, Lee JM, Dede K, et al. Identification of potent, selective non-peptide CC chemokine receptor-3 antagonist that inhibits eotaxin-, eotaxin-2-, and monocyte chemotactic protein-4-induced eosinophil migration. *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 36626.
- 25) Proudfoot AE, Power CA, Hoogewerf AJ, et al. Extension of recombinant human RANTES by the retention of the initiating methionine produces a potent antagonist. *J Biol Chem* 1996 ; 271 : 2599.
- 26) 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.
- 27) Kledal TN, Rosenkilde MM, Coulin F, et al. A broad-spectrum chemokine antagonist encoded by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Science* 1997 ; 277 : 1656.
- 28) Temann UA, Geba GP, Rankin JA, et al. Expression of interleukin 9 in the lungs of transgenic mice causes airway inflammation, mast cell hyperplasia, and bronchial hyperresponsiveness. *J Exp Med* 1998 ; 188 : 1307.
- 29) Nicolaides NC, Holroyd KJ, Ewart SL, et al. Interleukin 9 : a candidate gene for asthma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 13175.
- 30) Cheng G, Arima M, Honda K, et al. Anti-interleukin-9 antibody treatment inhibits airway inflammation and hyperreactivity in mouse asthma model. *Am J Respir Crit Care Med* 2002 ; 166 : 409.

\* \* \*

## I. アレルギー用語解説

## 気道上皮細胞

出原 賢治

佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野

佐賀大学医学部附属地域医療科学教育研究センター重点医療研究部門

## 要旨

気道上皮細胞は、外界と気道組織との間の物理的な障壁として働いているだけではなく、さまざまな分子を分泌する機能をもっている。そのような分子として、アラキドン酸代謝物、増殖因子、サイトカイン、ペプチド、ケモカイン、一酸化窒素などがある。また、気管支喘息の発症に重要なIL-4あるいはIL-13による誘導産物も明らかになってきている。これらの分子が組み合さって、気管支喘息の病態形成に大きな役割を果たしていると考えられている。

## はじめに

気道上皮細胞の重要な役割として、まず外界と気道組織との間において、イオンや小分子などの行き来を制限する物理的な障壁 (physical barrier) としての働きがあげられる。しかし、現在ではこのような機能のみならず、外界あるいは生体内部の刺激に応じて、さまざまな分子を分泌する機能 (secretory function) をもっていることが知られている。気管支喘息のようなアレルギー状態においても、これらの気道上皮細胞で産生、分泌される分子は、その病態形成に大きな役割をもっていることが明らかとなってきた。

本稿では、気道上皮細胞の構造的特徴、分泌機能について、おもに気管支喘息と関連させながら述べていきたい。

## 気道上皮細胞の構造的特徴

## 1. 構成細胞

一般的に超微細構造的、機能的、生化学的観点から気道上皮細胞は円柱線毛上皮細胞、分泌細胞、基底細胞の三つに分類される<sup>1)2)</sup>(図)。これ以外に、上皮組織に移行あるいは浸潤する免疫細胞、炎症細胞、貪食細胞が存在する。また、神経細胞の末端突起も存在する。

## Key Words

気道上皮細胞  
気管支喘息  
分泌機能

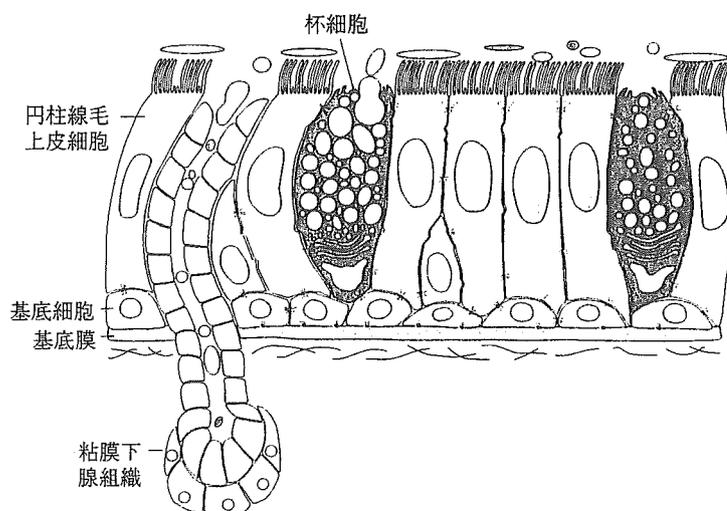


図 近位気道における多列円柱上皮の模式図

1) 円柱線毛上皮細胞 (columnar ciliated epithelial cell)

円柱線毛上皮細胞は、気道組織におけるもっとも多く存在する細胞であり、上皮細胞全体の50%以上を占める。この細胞は管腔側に細胞当たり約300個の線毛 (cilia) と多数の微絨毛 (microvilli) を有する。この細胞は粘液を喉頭側に追いやることによって、気道に侵入した不要物を排除する役目をもっている。

2) 分泌細胞 (secretory cell)

分泌細胞は、さらに粘液分泌細胞 (mucous cell) と、漿液分泌細胞 (serous cell) に分類される。これらは、ともに粘膜下腺組織に存在している。粘液分泌細胞は、電子顕微鏡的に低電子密度の顆粒を有しているのに対し、漿液分泌細胞は高電子密度の顆粒を有しているのが特徴である。これら以外に、クララ細胞 (Clara cell) も分泌細胞に含まれ、電子顕微鏡的に高電子密度の顆粒を保有しており、サーファクタント蛋白質、プロテアーゼインヒビターなどを産生、分泌するとともに、円柱上皮細胞や粘液分泌細胞の前駆細胞となっている可能性が示唆されている。

3) 杯細胞 (goblet cell)

杯細胞は上皮表面に存在し、粘液分泌細胞とともに気道組織におけるムチンの主要な産生細胞である。正常な状態でも存在するが、喘息状態では数倍に増加し、杯細胞過形成 (goblet cell hyperplasia) は気管支喘息の病理的特徴となっている<sup>3)</sup>。杯細胞過形成は気道閉塞の重要な要因となっており、多くの喘息死患者において、粘液塞栓による気道閉塞が観察される。

ムチンは、MUC 遺伝子産物に糖鎖が結合したものをさし、アルシヤンブルー染色あるいはPAS染色で陽性となる。ヒトの気道組織において、もっとも優位に発現しているMUC遺伝子はMUC5ACであり、喘息患者ではその発現が60%程増加する。

喘息患者における杯細胞過形成は、患者の気道組織で発現が増加しているTh2型サイトカインにより引き起こされることがTh2型細胞の導入実験により明らかとなっている<sup>4)</sup>。Th2型サイトカインの中のどのサイトカインが杯細胞過形成をおこすのかについては定まっていない。IL-9はマウス気道組織に発現されると杯細胞過形成が生じるとともに<sup>5)</sup>、培養気道上皮細胞においてもMUC遺伝子の発現を誘導すること

から<sup>6)</sup>、杯細胞過形成の原因となる有力なサイトカインだと考えられている。IL-13については、マウスの杯細胞過形成にはかかわっているもの<sup>7)8)</sup>、培養気道上皮細胞については両論が存在する<sup>6)9)</sup>。このため、IL-13の直接的な作用か、IL-9産生誘導を介した間接的な作用かは、まだ確定していない。

#### 4) 基底細胞 (basal cell)

基底細胞とは、ヘミデスモゾームを介して基底膜と接着し、管腔側には露出していない比較的小型の細胞をさす。円柱上皮細胞は直接基底膜とは接しておらず、基底細胞とデスモゾームを介して接着している。基底細胞は分泌細胞や円柱線毛上皮細胞に分化する幹細胞とも考えられている。

#### 5) 上皮剥離 (epithelial desquamation)

気管支生検も、所見などから気道上皮細胞の剥離は気管支喘息の病理学的特徴だと考えられてきた。喘息患者の喀痰中に上皮細胞の固まり (Creola bodies) が観察されることもこの考えを支持してきた。しかし、近年この剥離はサンプリングの際のアーチファクトではないかと考えられるようになってきている。

#### 2. 細胞の接着

気道上皮細胞と細胞外マトリックス蛋白質との結合は、上皮細胞表面に発現しているインテグリン分子を介して行われる<sup>1)2)</sup>。基底膜と、おもに結合するのは $\alpha_3\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_4$ であり、気管支喘息の際に生じる気道リモデリングに関連するのは $\alpha V\beta_3$ 、 $\alpha V\beta_5$ 、 $\alpha V\beta_6$ などである。また、CD44も上皮細胞に発現しており、グルコサミノグリカン、ヒアルロン酸、フィブロネクチン、コラーゲンなどとの接着にかかわっている。

## 気道上皮細胞の分泌機能

気道上皮細胞は、アラキドン酸代謝産物、増

表 気道上皮細胞からの分泌物質

1. アラキドン酸代謝産物	15-HETE, PGE <sub>2</sub> , PGI <sub>2</sub> , PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub> , TXA <sub>2</sub>
2. 増殖因子	EGF, TGF- $\beta$ , インスリン様成長因子 (IGF), PDGF
3. サイトカイン	IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-16, GM-CSF
4. ペプチド	エンドセリン
5. ケモカイン	RANTES, MCP-1, 3, 4, MIP1 $\alpha$ , Eotaxin-1, 2, 3, IL-8
6. 一酸化窒素	
7. IL-4/IL-13誘導産物	IL-6, MCP-1, 3, Eotaxin, SCCA1, SCCA2

殖因子、サイトカイン、ケモカイン、一酸化窒素 (NO) など数多くの物質を産生、分泌することが知られており、これらは気管支喘息の病態形成に重要な役割を果している (表)。

#### 1. アラキドン酸代謝産物

ヒトの気道上皮細胞においては、15-リポキシゲナーゼ経路が優位となっており、アラキドン酸を15-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (15-HETE) などの代謝産物に変換する<sup>1)2)10)</sup>。実際、気管支喘息患者の気道組織では15-HETEレベルが上昇している。15-HETEはムチン産生を増大したり、ロイコトリエンを誘導して、気管支平滑筋の収縮を増強する作用があると考えられている。一方、シクロオキシゲナーゼ経路ではおもにPGE<sub>2</sub>が産生され、それ以外にPGI<sub>2</sub>、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 、TXA<sub>2</sub>も産生される<sup>1)2)10)</sup>。PGE<sub>2</sub>は気管支平滑筋弛緩作用やムチン産生抑制作用がある一方で、Th2方向への偏位をひきおこすといった気管支喘息の病態において、両面的な作用をもっている。

#### 2. 増殖因子・サイトカイン・ペプチド

気道上皮細胞はEGF, TGF- $\beta$ , インスリン様成長因子 (IGF), PDGFなどの増殖因子を産生する<sup>2)10)11)</sup>。この中でEGFは上皮細胞の増殖を

促すとともに、TGF- $\beta$ は線維芽細胞の増殖や基底膜の肥厚など気管支喘息における気道リモデリングの形成に重要な役割を果たしている。このように気管支喘息において、創傷治癒過程のように上皮細胞から増殖因子が分泌され、線維芽細胞にも作用を及ぼして、気道リモデリングを生じる一連の関連性を上皮-間葉関連性ユニット (epithelial-mesenchymal trophic unit) とよんでいる<sup>12)</sup>。

また、気管支喘息患者の気道上皮細胞から産生されるサイトカインとして、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-16、GM-CSFがあげられる<sup>2) 10) 11)</sup>。これらは気道組織における炎症反応に関与している。

エンドセリンは21個のアミノ酸から成るペプチドであり、気道上皮細胞から分泌される<sup>10)</sup>。気管支喘息においてその産生レベルは上昇している。エンドセリンは、気管支平滑筋の増殖と収縮、コラゲナーゼに対する阻害作用によるコラゲンの沈着作用、ムチン産生作用、炎症細胞の活性化などをひきおこす。

### 3. ケモカイン

気管支喘息患者の気道組織で発現が増強され、気道上皮細胞で産生されるケモカインとして、RANTES、MCP-1、3、4、MIP1 $\alpha$ 、Eotaxin-1、2、3、IL-8があげられる<sup>10) 11)</sup>。これらは受容体であるCCR1、2、3、4やCXCR1、2に結合して、細胞走化作用を発揮している。その結果、これらの受容体を発現している好酸球、好中球、好塩基球、T細胞 (とくにTh2細胞)、マクロファージ、マスト細胞の気道組織への浸潤が生じる。

### 4. 一酸化窒素

一酸化窒素を合成する一酸化窒素合成酵素 (NOS) には、神経性 NOS (nNOS)、内皮細胞性 NOS (eNOS)、誘導性 NOS (iNOS) の三つが存在するが、気管支喘息患者の上皮細胞ではiNOSの発現が増強しており、その結果、一酸化窒素の産生が上昇していると考えられる<sup>2) 10)</sup>。産生された一酸化窒素は粘液産生、気管支平滑

筋の弛緩、T細胞のTh2側への偏位などにかかわっていると考えられている。

### 5. IL-4/IL-13 誘導産物

気管支喘息の発症にはTh2サイトカインは重要であり、その気道組織には高発現している。Th2サイトカインの中でIL-13は中心的な役割をはたしていることがモデルマウスの実験より明らかとなった<sup>7) 8)</sup>。とくにIL-13は、気道上皮細胞に作用するだけで気道過敏性の亢進が生じることが示されている。このため、IL-13あるいはそれと同じような生物活性をもつIL-4が、気道上皮細胞に作用して、どのような遺伝子発現を誘導するのかは、高く関心のもたれているところであった。この点を明らかにするために、われわれを含めていくつかのグループが、マイクロアレイ法を用いて誘導遺伝子の同定を試みた<sup>13)</sup>。

その結果、LeeらはMCP-1やIL-6を、ZouらはMCP-1、3やEotaxinといった、これまでにも喘息患者の気道組織で発現が上昇しているケモカインやサイトカインを同定した<sup>14) 15)</sup>。

一方われわれは、プロテアーゼインヒビターであるSCCA1、SCCA2を同定した。血中のSCCAレベルは、気管支喘息小児患者の発作時に上昇し、発作緩解とともに速やかに低下した。また、血中のIL-13レベルとよく相関し、IL-13が関与した気管支喘息のよいバイオマーカーとなっていると考えられた<sup>16)</sup>。SCCA1、SCCA2の気管支喘息の発症機序における役割についてはまだ不明であるが、ダニ抗原であるDer p 1やDer f 1といった外来性のプロテアーゼに対して、阻害活性をもつことをすでに示している<sup>17)</sup>。

## おわりに

気道上皮細胞の構造的特徴、分泌機能について、おもに気管支喘息と関連して述べた。気道上皮細胞が分泌する分子の気管支喘息における

病的役割が明らかになれば、それに対する創薬を開発して、治療に結びつくと期待される。

◎文 献

- 1) D Proud: Biology of Epithelial Cells. Allergy Principles & Practice, Mosby, 306-313, 1998
- 2) DA Knight, ST Holgate: The airway epithelium: structural and functional properties in health and disease. *Respirology* 8:432-446, 2003
- 3) JV Fahy: Goblet cell and mucin gene abnormalities in asthma. *Chest* 122:320S-326S, 2002
- 4) L Cohn, RJ Homer, A Marinov et al.: Induction of airway mucus production By T helper 2 (Th2) cells: a critical role for interleukin 4 in cell recruitment but not mucus production. *J Exp Med* 186: 1737-1747, 1997
- 5) UA Temann, GP Geba, JA Rankin et al.: Expression of interleukin 9 in the lungs of transgenic mice causes airway inflammation, mast cell hyperplasia, and bronchial hyperresponsiveness. *J Exp Med* 188: 1307-1320, 1998
- 6) M Longphre, D Li, M Gallup et al.: Allergen-induced IL-9 directly stimulates mucin transcription in respiratory epithelial cells. *J Clin Invest* 104:1375-1382, 1999
- 7) G Grünig, M Warnock, AE Wakil et al.: Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* 282:2261-2263, 1998
- 8) M Wills-Karp, J Luyimbazi, X Xu et al.: Interleukin-13: central mediator of allergic asthma. *Science* 282: 2258-2261, 1998
- 9) M Kondo, J Tamaoki, K Takeyama et al.: Interleukin-13 induces goblet cell differentiation in primary cell culture from Guinea pig tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 27:536-541, 2002
- 10) VH Velden, HF Versnel: Bronchial epithelium: morphology, function and pathophysiology in asthma. *Eur Cytokine Netw* 9:585-597, 1998
- 11) KF Chung, PJ Barnes: Cytokines in asthma. *Thorax* 54:825-857, 1999
- 12) ST Holgate, DE Davies, PM Lackie et al.: Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 105:193-204, 2000
- 13) K Izuhara, K Arima, N Yuyama et al.: Application of functional genomics to bronchial asthma. *Curr Pharmacogenomics* 2:351-356, 2004
- 14) JH Lee, N Kaminski, G Dolganov et al.: Interleukin-13 induces dramatically different transcriptional programs in three human airway cell types. *Am J Respir Cell Mol Biol* 25:474-485, 2001
- 15) J Zou, S Young, F Zhu et al.: Microarray profile of differentially expressed genes in a monkey model of allergic asthma. *Genome Biol* 3:research 0020.1-0020.13, 2002
- 16) N Yuyama, DE Davies, M Akaiwa et al.: Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* 19:287-296, 2002
- 17) Y Sakata, K Arima, T Takai et al.: The squamous cell carcinoma antigen 2 inhibits the cysteine proteinase activity of a major mite allergen, Der p 1. *J Biol Chem* 279:5081-5087, 2004

著者連絡先

〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1  
佐賀大学医学部分子生命科学講座  
出原賢治