

—平成14年度 岐阜薬科大学特別研究費（奨励）—

アレルギー性気道炎症におけるプロスタノイドの役割 —ヘルパーT細胞の分化および機能に及ぼす影響—

田中宏幸

1. 緒言

気管支喘息は、気道閉塞、気道炎症および気道過敏性を特徴とする慢性呼吸器疾患である。これまでの基礎および臨床研究から、気道内好酸球増多を特徴とする気道炎症がその病態形成に深く関与することが知られている。アレルギー性気道炎症は、種々の炎症性細胞から遊離・産生されるサイトカインやメディエーターにより生ずると考えられており、特にヘルパー2型T細胞(Th2)から産生されるIL-4、IL-5およびIL-13などのTh2サイトカインについては、動物モデルを用いた検討からその重要性が指摘されている¹⁾。一方、メディエーターに関しては、近年、thromboxane A₂およびleukotriene C₄/D₄/E₄の受容体拮抗薬が開発され、臨床においてその有効性が認められたことから、気管支喘息の病態形成における両者の関与が明らかとなった。しかし、その他の脂質メディエーターの役割に関しては、受容体刺激薬あるいは拮抗薬の選択性などの問題から十分に解明されていない。

教室では、これまでにマウス抗原誘発気道過敏性モデル²⁾および気道リモデリングモデル³⁾を作成し、種々の検討を行ってきた。本研究では、特にcyclooxygenase代謝産物であるプロスタノイドのうち、プロスタグランジンI₂(PGI₂)に注目し、アレルギー性気道炎症における役割を、その受容体欠損マウスを用いて検討した。

2. 実験方法

1) マウス抗原誘発気道過敏性モデル

実験方法は、既報²⁾に従った。すなわち、PGI₂受容体であるIP遺伝子欠損マウス⁴⁾および野生型マウスを、卵白アルブミン(OA)およびアラムを用いて能動的に感作し、その後、抗原を4日おきに計3回暴露し、反応を惹起した。最終抗原暴露24時間後にアセチルコリンによる気道収縮反応を測定後、左肺は結紮し病理組織標本作製し、右肺は気管支肺胞洗浄液(BALF)を採取し、炎症性細胞数の計数およびサイトカインの定量に用いた。なお、BALF中のサイトカイン量および血清中の免疫グロブリン量はELISAにより定量した。

2) マウス抗原誘発気道リモデリングモデル

実験方法は、既報³⁾に従った。すなわち、上述のモデルと同様に能動的に感作したマウスに3週間抗原を連日暴露し反応を惹起した。最終抗原暴露24時間後に種々の検討を行った。

3) 脾臓由来CD4⁺T細胞の精製と刺激方法

OAおよびアラムを用いて能動的に感作したマウスあるいは無処置マウスの脾臓から白血球を分離し、磁気ビーズ分離システムを用いてCD4⁺T細胞を回収した。その後、抗原提示細胞共存下あるいは非共存下にて、抗原あるいは抗CD3抗体および抗CD28抗体によりCD4⁺T細胞を刺激し、培養液中のTh1サイトカインであるIFN- γ およびTh2サイトカインであるIL-4の産生量をELISAにより定量した。

3. 結果・考察

1. マウス気道過敏性モデル

野生型マウスでは、抗原反復暴露によりアセチルコリンに対する気道過敏性、BALF中好酸球増多、Th2サイトカイン産生量の増加、Th1サイトカインであるIFN- γ 産生量の低下ならびに血清中抗原特異的IgE値の上昇が観察された。一方、IP欠損マウスでは、アセチルコリンに対する気道過敏性は野生型マウスと統計学的な有意差は認められなかったが、気道内好酸球増多(Fig. 1)、Th2サイトカイン産生および抗原特異的IgE産生は、野生型マウスに比しいずれも有意に亢進した。

2. マウス気道リモデリングモデル

野生型マウスでは、長期抗原反復吸入により、上述の気道過敏性モデルで認められた変化に加え、気道上皮における杯細胞の過増生および基底膜下の膠原繊維の沈着が認められた。これらの変化は、重症喘息患者においても認められ⁵⁾、喘息の難治化および重症化の一因であると考え

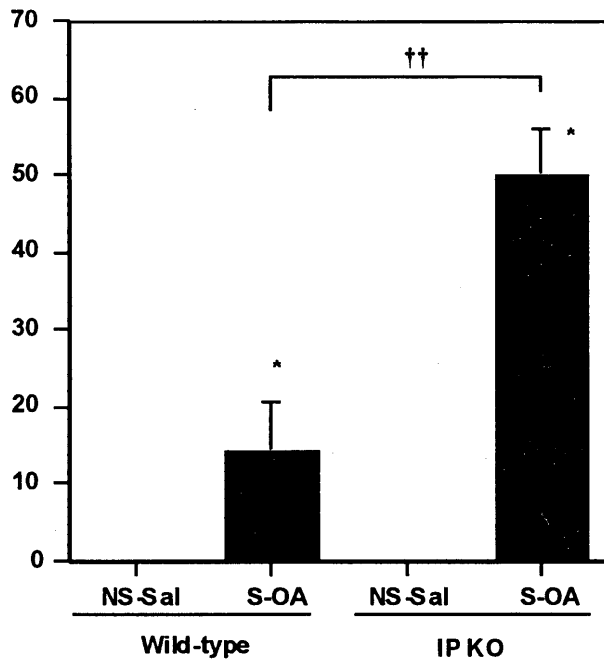


Fig. 1 Antigen-induced eosinophil accumulation ($\times 10^5$) in bronchoalveolar lavage fluid 24 h after the final antigen challenge in IP gene deficient mice. NS, non-sensitized; OA, ovalbumin-exposed; S, sensitized; Sal, saline-exposed; * $p < 0.05$ (vs NS-Sal); †† $p < 0.01$ (vs wild-type).

られている。一方、IP 遺伝子欠損マウスでは野生型マウスに比し、上述のいずれの反応についても著明な亢進が認められた。

3. CD4⁺T細胞からのサイトカイン産生

上述のように、野生型マウスに比しIP 遺伝子欠損マウスでは、特に初回免疫後に抗原特異的IgE値が有意に亢進したことから、その要因としてCD4⁺T細胞の機能亢進が考えられた。そこで、naïveマウスの脾臓から単離したCD4⁺T細胞をT細胞受容体および補助分子を介し活性化させ、その際に産生されるTh1およびTh2サイトカイン産生を検討した。その結果、IL-4産生に関しては両マウス間で差は認められなかったが、IFN- γ 産生は野生型マウスに比しIP 遺伝子欠損マウスで有意な低下が観察された(Fig. 2)。次いで、上述のように感作マウスの脾細胞を抗原刺激した際のサイトカイン産生を検討した。その結果、IFN- γ 産生に関しては両マウス間で差は認められなかったが、IL-4産生は野生型マウスに比しIP 遺伝子欠損マウスで有意な亢進が認められた。

これまでにアレルギー性炎症の発症には、Th2サイトカインが重要な役割を有することが明らかにされ、naïve CD4⁺T細胞からTh2への分化には主としてIL-4の刺激が、Th1への分化にはIL-12の刺激が重要であることが報告されている⁹⁾。また、Th1から産生されるIFN- γ あるいはTh2から産生されるIL-4は、お互いにそれらの細胞の分化お

よび機能を制御することも知られている⁹⁾。今回の検討からは、PGI₂がIP受容体を介し、Th2への分化あるいはTh2の活性化を制御している可能性が推察され、PGI₂がアレルギー性炎症の惹起ならびに進展の制御に重要な役割を有することが示唆された。

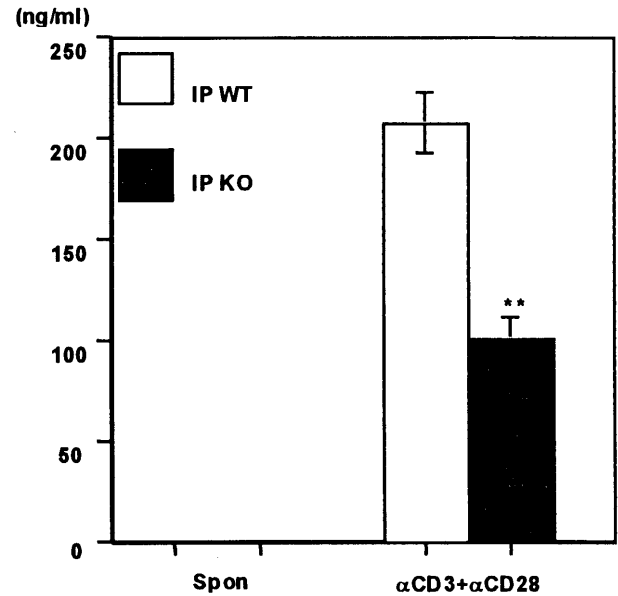


Fig. 2 Anti-CD3 (α CD3) and anti-CD28 (α CD28) antibody induced IFN- γ production by splenic CD4⁺T cells from IP gene knockout (KO) mice. Spon, spontaneous production; ** $p < 0.01$ (vs wild-type (WT)).

4. 結論

本研究では、アレルギー性気道炎症における内因性PGI₂の役割をその受容体であるIP 遺伝子欠損マウスを用いて解析した。その結果、PGI₂はアレルギー性気道炎症に対し制御的に機能する内因性のプロスタノイドであることが明らかとなった。

5. 引用文献

- 1) Robinson, D. S., *Br. Med. Bull.* **2000**, *58*, 956.
- 2) Yamaguchi, S.; Nagai, H.; Tanaka, H.; Tsujimoto, M.; Tsuruoka, N., *Life Sci.* **1994**, *54*, PL471.
- 3) Tanaka, H.; Masuda, T.; Tokuoka, S.; Komai, M.; Nagao, K.; Takahashi, Y.; Nagai, H., *Inflamm. Res.* **2001**, *50*, 616.
- 4) Murata, T.; Ushikubi, F.; Matsuoka, T.; Hirata, M.; Yamasaki, A.; Sugimoto, Y.; Ichikawa, A.; Aze, Y.; Tanaka, T.; Yoshida, N.; Ueno, A.; Oh-ishi, S.; Narumiya, S., *Nature* **1997**, *388*, 678.
- 5) Minshall, E. M.; Leung, D. Y.; Martin, R. J.; Song, Y. L.; Cameron, L.; Ernst, P.; , *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **1997**, *17*, 326.
- 6) Rengarajan, J.; Szabo, S. J.; Glimcher, L. H., *Immunol. Today* **2000**, *21*, 479.