

2. アレルギー炎症とケモカイン

平井 浩一*

アレルギー疾患の根底に炎症機転が存在することが明らかになっている。抗原曝露後数時間後に起こる遅発相反応では、好酸球、および好塩基球の局所流入がおり、それらはエフェクター細胞としてアレルギー炎症を形成している。また、アレルギー炎症の成立、進展には炎症局所に集積する Th2 リンパ球が産生するサイトカインが関わっている。

ケモカインは白血球の遊走と活性化に関わっているサイトカインである。古典的走化性因子と異なり、比較的特定の血球に作用するため、浸潤細胞のサブセットの決定にも関与している。また一部のケモカインは組織に構築的に発現しているが、多くは炎症性刺激また免疫学的刺激に応じ、転写制御を経て産生が誘導されるという特徴がある。好酸球、好塩基球には CC ケモカイン受容体(CCR) β が発現しており、特異的リガンドであるエオタキシンサブファミリーは強力な遊走を両者に誘導する。CCR3 は一部の Th2、マスト細胞にも発現しているが、好中球、単球には発現しておらず、アレルギー炎症局所における集積細胞の選択性をケモカイン受容体の側からよく説明している。また Th2 には CCR3、CCR4、CCR8 が選択的に発現されている。TARC と MDC を特異的リガンドとする CCR4 は特に強く発現しており、抗原負荷後に喘息患者の気道に浸潤する T細胞に CCR4 の発現が報告されている。

これらケモカイン、ケモカイン受容体を標的とした特異的な免疫制御がアレルギー疾患においても可能になることが期待されている。本稿では、アレルギー炎症におけるケモカイン動態、その作用の阻害効果について概説する。

Chemokines involved in allergic inflammation

KOICHI HIRAI Department of Bioregulatory Function, University of Tokyo Graduate School of Medicine



*ひらいこういち：東京大学大学院医学系研究科生体防御機能学客員助教授。昭和51年東京大学医学部卒業。平成元年山梨県立中央病院アレルギー科医長。平成2年東京大学医学部附属病院物療内科文部教官助手。平成8年現職。主研究領域/内科学。アレルギー学。

Key words

好酸球
Th2
CCケモカイン受容体
3(CCR3)
CCケモカイン受容体
4(CCR4)

はじめに

白血球の組織集積には、接着分子と炎症局所にて生成される走化性因子が重要な働きを演じている。ケモカイン(chemokine)は内因性走化性因子に分類されるが、古典的走化性因子と異なり、その多くは炎症性刺激また免疫学的刺激に応じ、転写を経て産生が誘導される¹⁾。ケモカインは比較的特定のタイプの白血球に作用するため、浸潤白血球のサブセットの決定に関与している。また、ケモカインは白血球に対し、遊走と接着分子発現を通じ白血球の集積にかかわるのみならず、活性化にも働き、メディエーター遊離を誘導する。ケモカインは約40種が同定されており、その大部分はCXCケモカイン、CCケモカインに属している。また、CケモカインとCX₃C

ケモカインがマイナーファミリーとして同定されている。

ケモカイン受容体はGTP結合蛋白が共役している7回膜貫通型受容体であり、CXCケモカイン受容体(CXCR)6種、CCケモカイン受容体(CCR)11種、およびCケモカイン受容体(XCR)、CX₃Cケモカイン受容体(CX₃CR)各1種が同定されている¹⁾。ケモカイン受容体の多くは複数のケモカインと結合可能である。また逆にケモカインの多くが結合する受容体は単一でなく、個々のケモカインは複数の受容体と結合可能である¹⁾。アレルギー疾患の根底には炎症機転が存在し、局所にはエフェクターである好酸球、好塩基球とレギュレーターであるTh2の集積が認められる。これら細胞の集積、活性化を通じ、ある種のケモカインがアレルギー疾患の病態

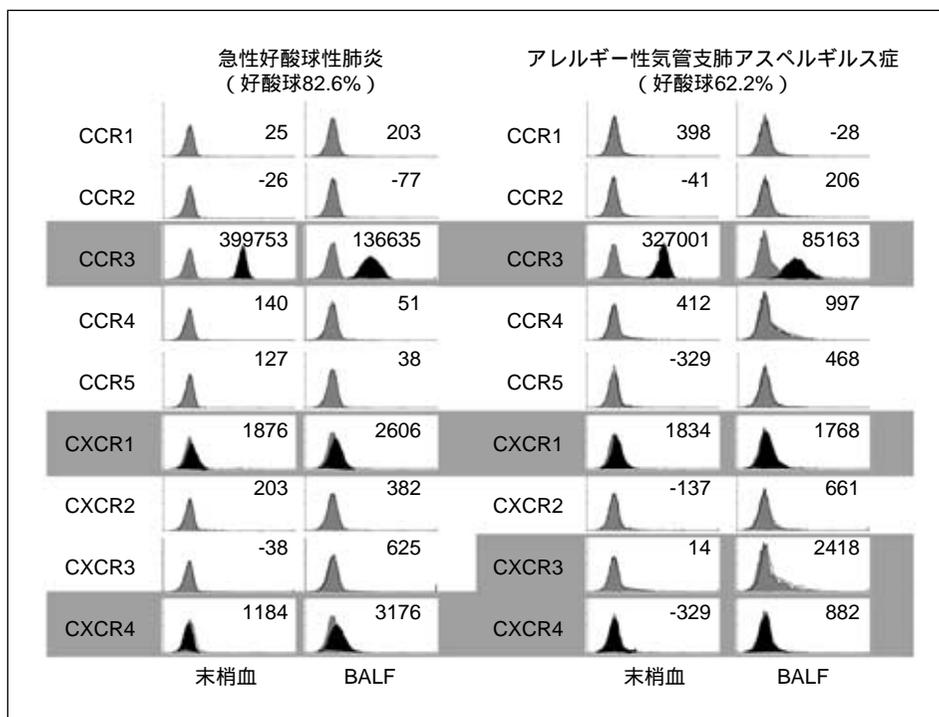


図1 末梢血好酸球、炎症組織中好酸球のケモカイン受容体発現(文献3)
末梢血、気管支肺胞洗浄液(BALF)中の好酸球の受容体発現をFACSにて解析した。

形成に深くかかわっている。

1. 好酸球・好塩基球とケモカイン

末梢の好酸球には CCR3, CXCR4 の mRNA が強く発現されている。蛋白レベルでも CCR3 の強い表面発現が認められるが, CXCR4 の表面発現は認めない²⁾。好酸球性肺炎患者の気管支肺胞洗浄液(BALF)中の, 好酸球のケモカイン受容体の表面発現パターンも末梢血と基本的に同一であり, 炎症局所の好酸球に新規の受容体発現は認められない(図1)³⁾。好酸球の遊走, 脱顆粒は CCR3 のリガンドが最も強力に誘導する⁴⁾。一方, 好塩基球は CCR1, CCR2, CCR3, CCR5 など好酸球に比べ多種のケモカイン受容体を発現している⁵⁾。

遊走については, 好酸球と同様に CCR3 の

リガンドが強力に誘導するが, 脱顆粒については CCR3 でなく CCR2 が統御しており, そのリガンドである MCP (monocyte chemoattractant protein)-1/CCL2 などは, 強力なヒスタミン遊離作用を持っている⁵⁾。CCR3 は好酸球, 好塩基球以外にも, 一部のマスト細胞や Th2 にも発現が示されている。また, CCR3 は共有型受容体でありエオタキシン (eotaxin: エオタキシン-1)/CCL11, エオタキシン-2/CCL24, エオタキシン-3/CCL26, RANTES (regulated upon activation, normal T expressed and secreted)/CCL5, MCP-3/CCL7, MCP-4/CCL13 などを結合する。これらのうち, エオタキシンサブファミリー (エオタキシン-1, -2, -3) は CCR3 のみに結合する特異的リガンドである。エオタキシンサブファミリーの産生は Th2 サイトカインである IL-4, IL-13 により誘導され, Th1 サイトカイン

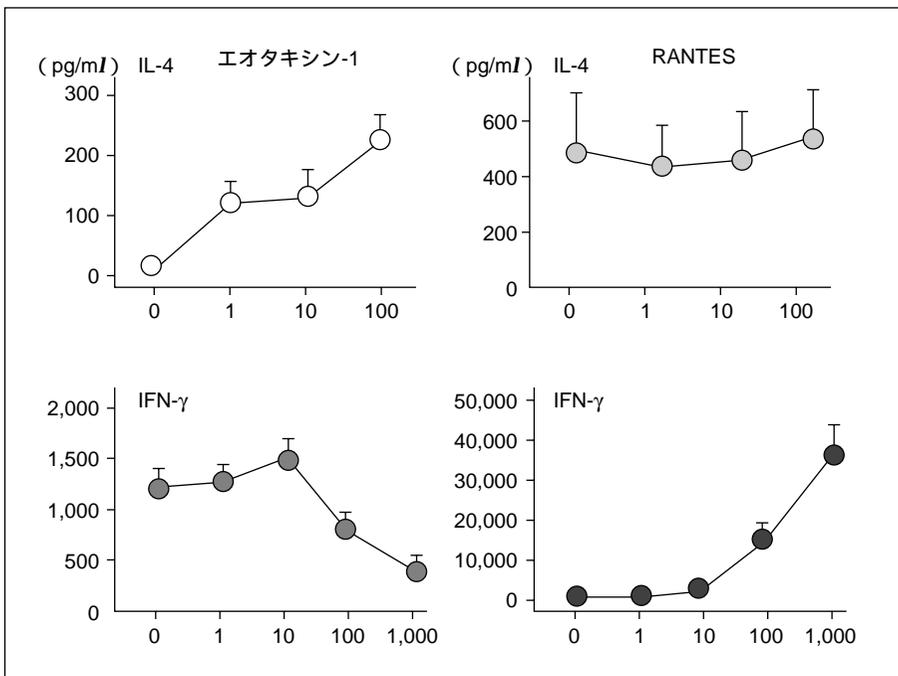


図2 Th1, Th2 サイトカインによるエオタキシン-1, RANTES 産生 (文献6)
気道上皮細胞株 (BEAS-2B) を Th1 サイトカイン (IFN- γ) もしくは Th2 サイトカイン (IL-4) にて刺激し上清中のエオタキシン-1, RANTES を ELISA にて測定した。

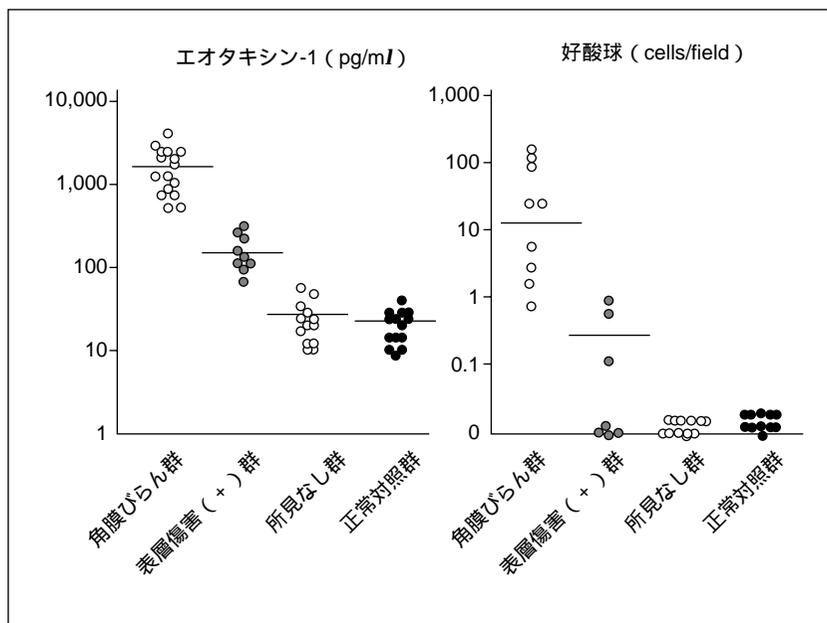


図3 アレルギー性角結膜炎患者涙液中のエオタキシン-1濃度(文献8)
アレルギー性角結膜炎患者および正常人涙液中のエオタキシン-1濃度と好酸球数を示す。

であるIFN (interferon) γ により抑制される⁶⁾。このようにエオタキシンサブファミリーの発現は, Th2 優位状況下で誘導される。

一方, 同じCCR3のリガンドであるRANTESの発現はIFN- γ により誘導され, RANTESについては逆にTh1 優位状況下で機能すると考えられている(図2⁶⁾)。喘息患者気道上皮ではエオタキシン-1とともにエオタキシン-2, エオタキシン-3の発現が増加している⁷⁾。またアレルギー性角結膜炎患者の涙液中(図3⁸⁾)、喘息患者の誘発痰中のエオタキシン-1は健康人に比べ増加している。喘息患者については血中エオタキシン-1の増加も報告されている。

2. Th2 とケモカイン

Th1/Th2のパラダイムから, アレルギー疾患はTh2 優位と考えられ, 事実, 局所に集積するリンパ球のサイトカイン産生パターンは

Th2 と一致していることが示されている。Th1 とTh2 を区別する表面マーカーとしてIL-12 受容体 β , また prostaglandin D₂ 受容体であるCRTh2 (chemoattractant receptor-homologous molecule expressed on Th2 cells)などの分子が報告されているが, ケモカイン受容体についても, 特定の受容体がTh1, Th2 に発現されていることが明らかとなっている。Th1 にはCXCR3, CCR5 が優位に, 一方, Th2 には, CCR3, CCR4, CCR8 が優位に発現されている(図4)。Th2 特異的なケモカイン受容体は, これら炎症局所におけるTh2の選択的集積に関与している可能性が強い。特にCCR4 陽性T細胞は, アレルギー疾患で局所的, とくに全身的に増加していることが示されている。喘息患者でも末梢血中のCCR4 陽性T細胞は健康人に比べ増加しており, 抗原負荷後に気道に浸潤するT細胞のほとんどはCCR4 を発現しているとされている。

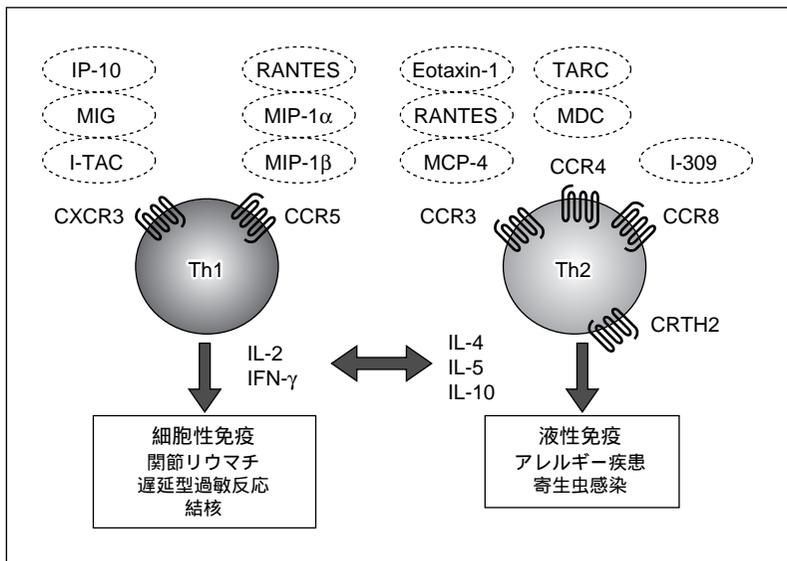


図4 Th1, Th2 に発現するケモカイン受容体とそのリガンド

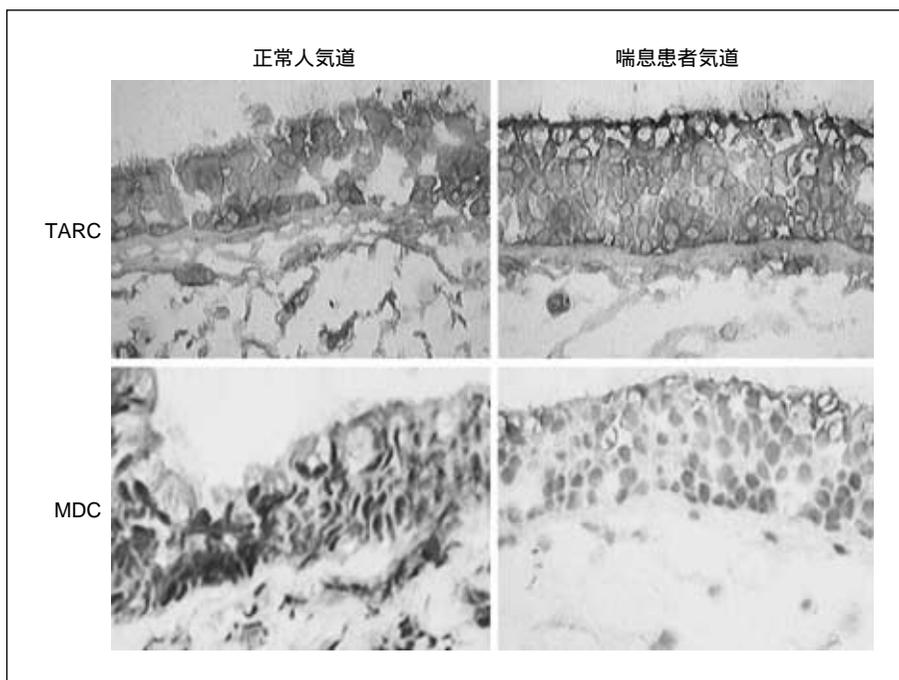


図5 気管支喘息気道におけるCCR4リガンドの発現(文献9)

喘息患者および正常人の気道生検組織におけるTARC, MDCの免疫染色を示す。

(カラー 89 ページ)

CCR4 には, TARC (thymus and activation-regulated chemokine/CCL17) と MDC (macrophage-derived chemokine/CCL22) が高親和性に結合する. 両者の産生細胞種は異なっており, 気道の構成細胞では MDC はマクロファージにより, また TARC は上皮細胞により大量に産生される. 気道粘膜生検組織における検討では, 健常人に比べ有意に強い TARC 蛋白の発現を喘息患者の気道上皮細胞に認めている(図 5)⁹⁾. また喘息, アトピー性皮膚炎では局所的, また全身的に TARC の発現が増加している. 特にアトピー性皮膚炎の血中 TARC 濃度は著増しており, 重症例では健常人の 1,000 倍に増加していることが示されている¹⁰⁾. 気道上皮による TARC 産生は IL-4 により誘導されることから, 喘息では集積した Th2 がその産生する IL-4 を介して, 気道上皮に TARC 産生を始動せしめ, さらに Th2 集積を誘導するという positive feedback 機構の存在が考えられる⁹⁾.

一方, IFN- γ も TARC 産生に促進的に働いている⁹⁾. 臨床的に, ウイルス感染はアレルギー性炎症を促進することが知られており, また感作マウスをウイルスに感染させた後, 対応抗原に曝露すると, 強い Th2 反応を伴うアレルギー反応の増大が生じることも示されている. ウイルス感染による Th2 反応の増大には IFN- γ による TARC の発現誘導がかかわっている可能性が考えられる.

おわりに

CCR3, CCR4, CCR8 などの受容体/リガンドの阻害は実験的アレルギー反応の抑制につながる事がマウスにて示されている. ケモカイン受容体の操作による局所的な免疫制

御の可能性が高まり, ヒトにおいても CCR3, CCR4 を標的とした, 新しいアレルギー治療・予防の試みが模索されている.

[文献]

- 1) Yoshie O, Imai T, Nomiyama H : Chemokines in immunity. *Adv Immunol* 2001 ; 78 : 57 - 110.
- 2) Nagase H, Miyamasu M, Yamaguchi M, *et al* : Expression of CXCR4 in eosinophils : functional analyses and cytokine-mediated regulation. *J Immunol* 2000 ; 164 : 5935 - 5943.
- 3) Nagase H, Kudo K, Izumi S, *et al* : Chemokine receptor expression profile of eosinophils at inflamed tissue sites : decreased CCR3 and increased CXCR4 expression by lung eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2001 ; 108 : 563 - 569.
- 4) Fujisawa T, Kato Y, Nagase H, *et al* : Chemokines induce eosinophil degranulation through CCR3. *J Allergy Clin Immunol* 2000 ; 106 : 507 - 513.
- 5) Iikura M, Miyamasu M, Yamaguchi M, *et al* : Chemokine receptors in human basophils : inducible expression of functional CXCR4. *J Leukoc Biol* 2001 ; 70 : 113 - 120.
- 6) Fujisawa T, Kato Y, Atsuta J, *et al* : Chemokine production from the BEAS-2B human bronchial epithelial cells : Differential regulation of eotaxin and IL-8 by Th2 cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2000 ; 105 : 126 - 133.
- 7) Komiya A, Nagase H, Yamada H, *et al* : Concerted expression of eotaxin-1, eotaxin-2 and eotaxin-3 in human bronchial epithelial cells. *Cell Immunol* 2003 ; 225 : 91 - 100.
- 8) Fukagawa K, Nakajima T, Tsubota K, *et al* : Presence of eotaxin in tears of atopic keratoconjunctivitis patients with severe corneal damage. *J Allergy Clin Immunol* 1999 ; 103 : 1220 - 1221.
- 9) Sekiya T, Miyamasu M, Imanishi M, *et al* : Inducible expression of a Th2-type CC chemokine thymus- and activation-regulated chemokine by human bronchial epithelial cells. *J Immunol* 2000 ; 165 : 2205 - 2213.
- 10) Kakinuma T, Nakamura K, Wakugawa M, *et al* : Thymus and activation-regulated chemokine in atopic dermatitis : Serum thymus and activation-regulated chemokine level is closely related with disease activity. *J Allergy Clin Immunol* 2001 ; 107 : 535 - 541.

質 疑 応 答

座長 (山本) どうもありがとうございました。ケモカインについて、特に喘息に関係してお話しいただきました。喘息を含めたアレルギー性疾患の標的とする分子について、近く治験が始められるというお話でしたが、どのようなものが今俎上に上がっているのでしょうか。

平井 エオタキシン単独の抑制では、アレルギー炎症は抑えられないことが、マウスの実験でもわかっています。しかし、CCR3の抑制については、臨床応用に向けてのアプローチがかなり進んでいます。CCR4抑制については、ロックアウトマウスではなかなかうまくいかないのですが、サルを対象としたCCR4抗体の場合はうまくいっているという報告があります。

座長 これはモノクローナル抗体で中和するという手法ですか。

平井 CCR4抗体による中和ではなく、cytotoxicな薬物をつけて結合した細胞を殺すというタイプだと思います。

座長 つまり、リガンドにtoxinをつけるということですね。

斎藤博久(国立成育医療セ研) 先ほど私は、マスト細胞の発現する遺伝子の中で、I-309がCCR8のリガンドが一番強いと発表しました。CCR8-positiveな細胞が活性化されたTh2細胞、あるいは好酸球という報告、最近になるとregulatory T細胞がCCR8を発現しているという報告があるのですが、それぞれ報告者が違います。それで非常に混乱していますが、先生のデータが一番信用できると思っております。先生はどのようにお考えですか。

平井 われわれはCCR8の発現とfunction

の両方をみています。Regulatory T細胞は存じませんが、好酸球にはCCR8が出ていませんし、作用もまったくありません。CCR8のロックアウトに関しては、最初の論文では非常に効いたというのですが、後から2つ出たものでは全然効かないということでした。なおヒトの場合でも、CCR8陽性の細胞は、抗原をチャレンジしたあとでも20%くらいは出てくるのですが、やはりCCR4陽性細胞に比べると少しパーセンテージが低いので、ちょっとむずかしいかと思います。

座長 そうすると治験が進んでいるのは、抗受容体モノクローナル抗体にtoxinをつけて、受容体を出している細胞を殺すということですか。

平井 そういうことです。CCR4陽性の血液のmalignantなものにはかなりよいし、また喘息に関してもかなりよいということです。

座長 それはサルを使ったものですね。

海老原伸行(順天堂大) CCR3の受容体の発現なのですが、眼の、たとえば結膜上皮細胞や結膜線維芽細胞などの細胞にも発現していますが、そのfunctionについてはどのように考えたらよいのでしょうか。

平井 確かに気道上皮にもCCRは出ていますし、気道上皮についてはエオタキシンがMAP kinaseの系まで活性化するという報告はあります。私は角膜上皮や線維芽細胞はみていませんが、気道上皮についてはoutputのfunction、たとえばサイトカインの産生などはみております。しかしながらそういったものは出ないので、シグナルが仮に入っても弱いのではないかと思っています。ただ病的な状況の気道上皮は、また別の話だろうと思います。

座長 どうもありがとうございました。

アレルギー炎症とケモカイン（平井浩一）

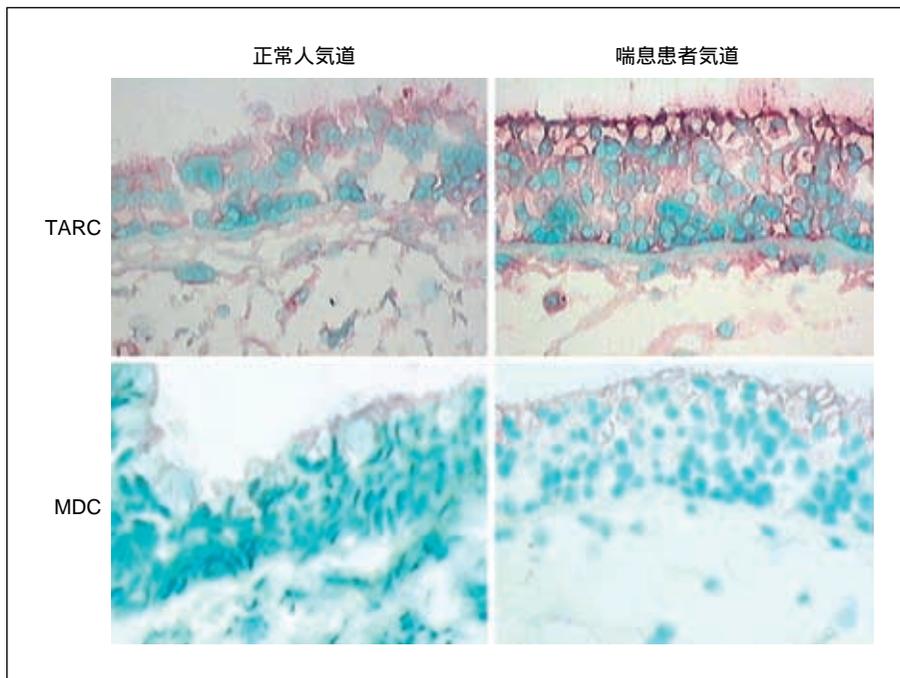


図5 気管支喘息気道における CCR4 リガンドの発現（文献9）
喘息患者および正常人の気道生検組織における TARC, MDC の免疫染色を示す。
（本文は 38～44 ページ）