

3. 気道のリモデリングと遺伝子多型

大田 健*

気道リモデリングは、気道の傷害に対する修復の過程として位置づけられる。気道上皮の傷害に伴い誘導される基底膜部の線維化、粘膜下腺の過形成および平滑筋の肥大からなり、気道壁の肥厚に結びつく。基底膜部の線維化は、細胞外マトリックス (ECM) が沈着したものである。喘息では ECM を分解するプロテアーゼ (MMP) とそのインヒビター (TIMP) のバランスが TIMP 優位になっている。また、PDGF や TGF- β が線維化と平滑筋の肥大に重要な役割を演じていると考えられている。そこでわれわれは、気道リモデリングで重要な役割を演じている TGF- β について、プロモーター領域 (-509) の遺伝子多型、すなわち SNP (Single Nucleotide Polymorphism) を成人喘息群 (成人発症および小児喘息成人持ち越し例)、小児喘息寛解群、健常群とで検討した。その結果、小児喘息寛解群では TGF- β の産生が少ない SNP の頻度が多く、喘息群では TGF- β の産生が多い SNP の頻度が多いことが明らかとなった。また喘息と高い関連性を示唆する第 20 番染色体にある *ADAM33* は、機能的には気道リモデリングに関与し注目されている。

今後気道リモデリングについて、遺伝子レベルでの研究が進めば、喘息の難治化を防止する治療戦略の開発が期待される。

Gene polymorphism in airway remodeling of asthma

KEN OHTA Department of Medicine, Teikyo University School of Medicine



*おおた・けん：帝京大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー学教授。昭和50年東京大学医学部卒業。平成元年聖マリアンナ医科大学臨床検査学講師。平成4年帝京大学医学部第二内科助教授。平成9年現職。主研究領域 / 呼吸器・アレルギー学 (特に喘息、COPD および肺線維症の病因・病態、治療に関する研究、肺癌の臨床研究)。

Key words

気道リモデリング
基底膜部の線維化
腫瘍化成長因子 (TGF β)
遺伝子多型

はじめに

本来、リモデリング(remodeling)とは、組織が傷害(injury)され、壊されたことに対して起きる組織の再構築である¹⁾。したがって、リモデリングの先にあるのは修復(repair)であり、生体は病気を発症するためにリモデリングを惹起するわけではない。喘息の基本的な病態においては、慢性の気道炎症が重要な役割を演じており、その結果として惹起される気道の傷害により気道リモデリングが誘導される。気道リモデリングは、傷害された気道組織を修復するための反応であるが、その過程において、喘息に不利な影響を及ぼすことが明らかになってきた。本稿では、喘息の気道リモデリングについて、分子メカニズムと機能的な検討結果から、われわれが重要だと考える TGF- β のプロモーター領域での遺伝子多型に関する検討結果を概説する。

1. 喘息の気道にみられるリモデリング

1) 喘息の病態と気道リモデリング

喘息では、これまで可逆性の気道閉塞や気

道過敏性が強調されてきたが、最近になって慢性の気道炎症の存在が認識され、重視されている。この慢性の気道炎症こそが、気道の傷害を惹起する大きな原因であり、組織へのリモデリングの誘導につながるわけである。気道壁における炎症とリモデリングがどのような形で起こっているかを示したのが図1である²⁾。炎症により気道を覆う線毛上皮細胞は剥離するが、欠落した部分を線毛細胞への分化能をもつ基底細胞、杯細胞、クララ細胞などが代わりに覆うようになる。そして、上皮細胞の底部に相当する基底膜の直下にはコラーゲン線維の沈着が起こり、基底膜部の線維化による肥厚をもたらす。さらに粘膜下では、粘膜下腺の過形成および平滑筋の肥大が誘導され、気道壁の肥厚に結びつく。

2) 気道リモデリングの臨床への関与

では気道リモデリングでみられる一連の変化は、喘息の病態にどのように関与するのだろうか。粘膜下の線維化による気道壁の肥厚は、気道の弾性を低下させ、気道抵抗(Raw)の変化率を上昇させる(図2)³⁾。気道過敏性の測定は、気道収縮作用のあるアセチルコリン(Ach; acetylcholine)、メサコリン、ヒスタ

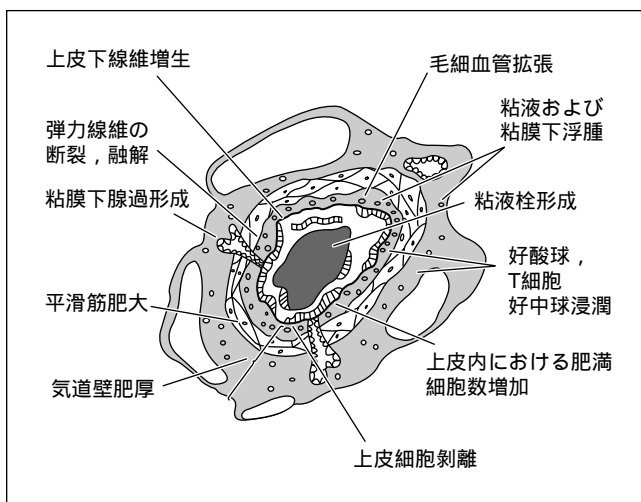


図1 喘息の気道断面図 炎症とリモデリングによる変化²⁾

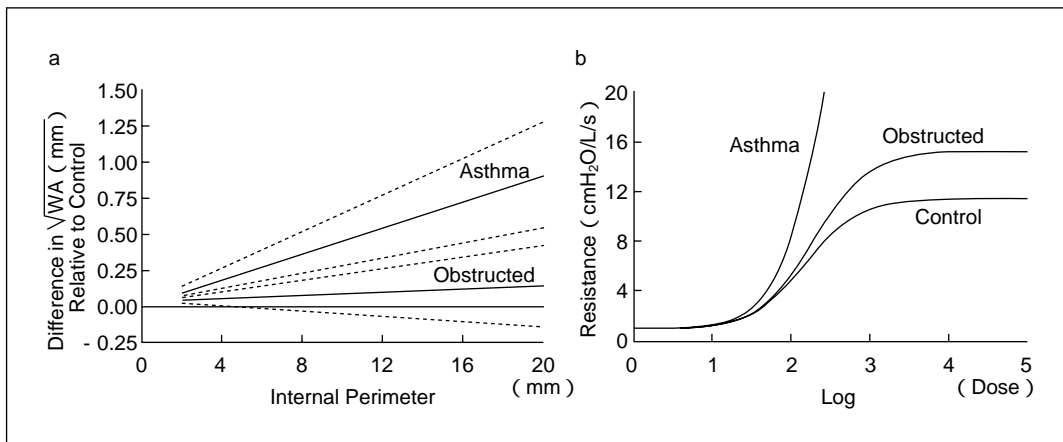


図2 気道リモデリングと気道過敏性³⁾

喘息の気道では、気道壁の肥厚が末梢から中枢まで認められ(a)、気道抵抗の変化率を上昇させる(b)。

ミンなどを用いて行われ、たとえば1秒量が20%低下するときのAch濃度(PC₂₀)により評価されている。したがって、気道過敏性の測定のように気道収縮の変化率に依存する検査では、気道壁の肥厚によりみられるRawの変化率の上昇が、気道過敏性をより高く評価する方向に作用する。基底膜直下の線維化は、炎症の比較的早期からみられる変化であり、気道過敏性の発現に寄与することがそれほど稀ではないと考えられる。さらに、炎症が長期化し傷害が重症化すれば、気道リモデリングにより気道内腔の狭小化が誘導され、不可逆性の気道狭窄をきたすことになる。

気道リモデリングが気道過敏性の亢進と不可逆性の気道狭窄の原因になることを踏まえて、気道リモデリングは喘息の難治化をもたらす重要な因子として位置づけられている。

2. 気道リモデリングの分子機構

1) 気道上皮の傷害と修復

気道上皮の傷害に焦点を絞ると、以下のような分子機構により気道リモデリングが誘導されると考えられる(図3)。気道上皮の傷害

により線毛上皮細胞が剥離すると、①剥離した部位に向かって分化能のある気道上皮細胞(基底細胞、杯細胞、クララ細胞など)が遊走し、②遊走した気道上皮細胞の分裂増殖がおり、③増殖した気道上皮細胞の線毛上皮細胞への分化が誘導されて気道の傷害に対する修復が完成する。①の気道上皮細胞の遊走には、フィブロネクチン(fibronectin)やインスリン様成長因子I(IGF-I; insulin-like growth factor-I)が関与すると考えられている⁴⁾。これらの因子は、いずれも活性化されたマクロファージや線維芽細胞、さらに気道上皮細胞自身からも産生される。そしてこの場合の刺激としては、腫瘍化成長因子β(TGF-β; transforming growth factor-β)がautocrineおよびparacrineの形式で関与している。②の分裂・増殖は、IGF-I、ケラチン細胞成長因子(KGF; keratinocyte growth factor)、TGF-αが主に関与しており、TGF-βは抑制する方向に作用する。KGFは主として線維芽細胞により産生され、TGF-αは活性化されたマクロファージとともに気道上皮細胞自身からも産生遊離される。③線毛上皮細胞への分化の過程には、TGF-βやレチノイド(retinoids)が重要な役割

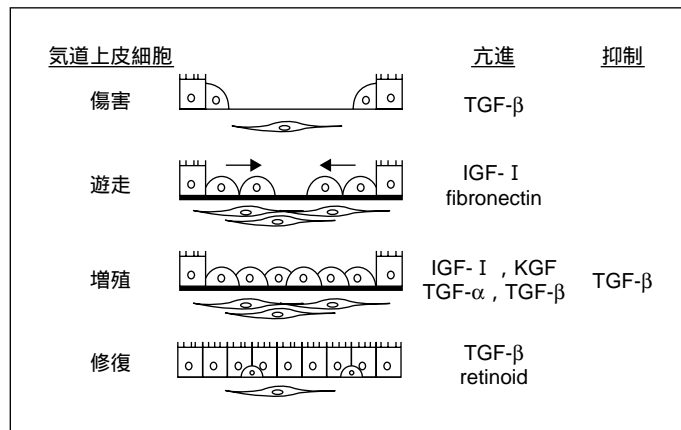


図3 気道の傷害とその修復のためのリモデリングの過程

を演じている^{5,6)}。そして、同時に気流への曝露という生理的な環境も関与して、線毛上皮細胞への分化が完成すると考えられている。

2) 基底膜部の線維化

喘息の気道リモデリングでみられる基底膜部の線維化は、基底膜 (basal lamina) 直下の lamina reticularis とその下層に I 型、III 型、V 型のコラーゲンとフィブロネクチンなどからなる細胞外マトリックス (ECM; extracellular matrix) が沈着したものである。そして ECM の沈着は、ECM を分解するプロテアーゼ (MMP; matrix metalloproteinase) とそのインヒビター (TIMP; tissue inhibitor of metalloproteinase) のバランスにより調節されている。喘息では MMP-9 と TIMP-1 が増加しており、しかも MMP-9 より TIMP-1 が相対的に増加した状態にあることで線維化が促進された状態にあると考えられている⁷⁾。

ECM の産生には線維芽細胞 (fibroblast) と筋線維芽細胞 (myelofibroblast) が重要な役割を演じている。線維芽細胞の増殖因子は、細胞周期を G₀ 期から G₁ 早期まで動かす competence factor と、G₁ 早期から S 期へと動かす progression factor に分類される。そして前者の代表が血小板由来成長因子 (PDGF;

platelet-derived growth factor) とフィブロネクチンであり、後者の代表が IGF-I である。また、TGF-β も強力な線維芽細胞の刺激因子として位置づけられている。

3. 実験的な検証

われわれはマウスの喘息モデルを確立し、気道リモデリングに関与すると考えられるサイトカインが実際に *in vivo* で機能していることを検討してきた。卵白アルブミン (OVA; ovalbumin) で感作したマウスに OVA を曝露して気道に抗原特異的な刺激を与えると、ヒトのアトピー型喘息のモデルができる。このモデルに各種サイトカインに対する中和抗体を加えて検討すると、気道のアレルギー性炎症には GM-CSF が必須であり⁸⁾、気道のリモデリングには TGF-β が関与していることが明らかになった⁹⁾。すなわち、TGF-β の機能を中和する抗体を投与することにより、OVA 曝露による基底膜部の線維化が抑制され、気道壁の厚さも正常化することを観察した。また気道過敏性を測定すると、低濃度のアセチルコリンに対する反応性が抑制され、気道の弾性が正常化していることを示唆する結果が

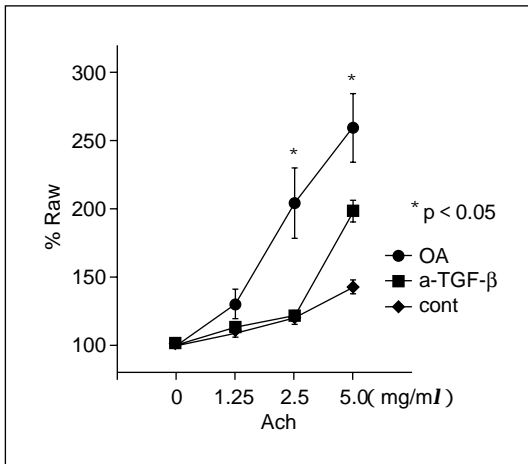


図4 気道リモデリングにおけるTGF-βの機能的な関与

得られた(図4)。

4. 気道リモデリングと遺伝子多型

1) TGF-β プロモーター領域の遺伝子多型

気道リモデリングに関与するサイトカインとしてTGF-βが重要であることが示唆されたことから、TGF-βのプロモーター領域での遺伝子多型と喘息の表現型について検討を加えた。喘息は小児発症例の60~70%は寛解(outgrow)するといわれている。そこで、喘息の小児寛解例では気道リモデリングが成人発症喘息例あるいは小児喘息成人持ち越し例に比べて軽度である可能性を仮説とし、健常者とともに解析した。まずTGF-βのプロモーター領域のSNP(-509 C/T)と血漿中のTGF-β蛋白の量との関係を検討した。その結果、SNP(-509 C/T)がワイルドタイプ(C,C)のものは、ホモの変異(T,T)のものよりも有意に血漿中TGF-βが低値であることが明らかとなった。そこで-509のSNPを喘息、喘息寛解、健常者の3つの表現型について解析した。採血にあたっては、帝京大学の遺伝子研究倫理委員会の承認を得たうえで、「ヒトゲノ

ム遺伝子解析研究に関する倫理指針(3省共通指針)に基づいて血液提供者から同意書を取り、分離したDNAを適切な管理のもとで研究に用いた。SNP(-509 C/T)の解析結果は非常に興味深いもので、喘息の小児寛解群ではTGF-βの産生が低値となるワイルドタイプ(C,C)の頻度が喘息群よりも有意に高く、喘息群ではTGF-βの産生が高値となるホモ変異タイプ(T,T)の頻度が健常群よりも有意に高いことが明らかとなった。すなわち、喘息で寛解する群はTGF-βの産生が少なく、喘息発症後の気道リモデリングが軽度であり、喘息が寛解しやすくなっているという可能性が考えられた。一方、成人で喘息の状態にある群はTGF-βの産生が多く、気道リモデリングが強く誘導され、喘息が寛解し難くなっているという可能性が考えられた。また寛解群も健常者に近く、喘息群よりホモタイプが少ない傾向を示し、われわれの解釈に矛盾しない結果であった。結論を出すにはさらに検討を要するが、示唆に富む結果であった。

2) 喘息関連遺伝子

喘息に関連する遺伝子の研究は、表現型との連鎖解析により多くの候補遺伝子が報告されてきた。とくに第5染色体はTh2サイトカインやGM-CSFの遺伝子があり注目されている。最近とくに注目されているのは、第20染色体にあるADAM33(a disintegrin and metalloprotease)遺伝子で、英国と米国の白人460家族について、喘息の診断と気道過敏性の両方を満たす表現型と高い関連性を示した¹⁰⁾。機能的には、線維芽細胞、筋線維芽細胞、平滑筋などの増殖、分化、遊走に関連した遺伝子群が存在し、気道リモデリングとの関連性が想定されている。現在他のグループにより追試が試みられており、今後の展開に興味を持たれる。

今後気道リモデリングについて、遺伝子レベルでの研究が進めば、喘息の難治化を防止

する治療戦略の開発が期待される。そして、さらに動脈硬化を初めとする組織・臓器の線維化に対する新しい治療法の確立にもつながるものであり、今後の発展が強く望まれる。

〔文献〕

- 1) 大田 健: II 病態・生理 2. リモデリング. in Medical Topics Series 喘息 94. メディカルレビュー社 東京, 1994; 34-41.
- 2) 厚生省免疫・アレルギー研究班: 喘息予防・管理ガイドライン 2003 JGL 1998 改訂第 2 版. 協和企画, 東京, 2003; 37.
- 3) Wiggs BR, Bosken C, Pare PD, *et al*: A model of airway thickening in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1251-1258.
- 4) Shoji S, Ertl RF, Linder J, *et al*: Bronchial epithelial cells respond to insulin and insulin-like growth factor-I as a chemoattractant. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990; 2: 553-557.
- 5) Masui T, Wakefield LM, Lechner JF, *et al*: Type β transforming growth factor is the primary differentiation inducing serum factor for normal human bronchial epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2438-2442.
- 6) Jetten AM: Multi-step process of squamous differentiation of tracheobronchial epithelial cells in vitro. Analogy with epidermal differentiation. *Environ Health Perspect* 1989; 80: 149-160.
- 7) Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, *et al*: Sputum MP-9/tissue IMP-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1945-1950.
- 8) Yamashita N, Tashimo H, Ishida H, *et al*: Attenuation of airway hyperresponsiveness in a murine asthma model by neutralization of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). *Cellular Immunol* 2002; 219: 92-97.
- 9) Ohta K *et al*: *Allergy Clin Immunol Int* 2003 (in press).
- 10) Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, *et al*: Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002; 418: 426-430.

質 疑 応 答

座長(奥村) どうもありがとうございました。

齋藤博久(国立成育医療セ研) 大変興味深いご発表をありがとうございました。特に TGF- β のお話が面白かったのですが、TGF- β が IgE の産生に関しては抑制的に働く、ところがリモデリングに対しては促進的に働くというお話についてもう少しご説明いただけますでしょうか。

大田 IgE の産生とリモデリングを結びつけて考えるのは非常に難しいと思います。ご承知のように TGF- β 自体は、さまざまな細胞に対する活性、あるいは増殖をみますと、試験管内では非常に強い抑制効果を持ったサイトカインとして位置づけられますから、炎症に対して抑制的に働くという点も、中には期待できることもあります。しかしながら、特にリモデリングをパラメーターとしてみますと今日お示したようになりますので、炎症という部分では、TGF- β より重要なものがさまざまに関与している、すなわち TGF- β だけで IgE の regulation が行われているわけではない、あるいは炎症細胞の活性化、炎症そのものの増幅、抑制といったものが関係しているだけではなく、これはトータルでみるということです。それからリモデリングに関しては、TGF- β は非常に critical な可能性があるので、重みづけの違いをわれわれは認識する必要があろうかと考えます。

齋藤 たとえば TGF- β の産生の低い genotype の、子供のころの喘息の phenotype としては高 IgE であるかなどは実際には観察されていないわけですね。

大田 残念ながらそこまでの解析結果は出ておりません。

磯辺善成(いそベクリニック) 私は遺伝子

はまったく研究していませんから、遺伝子多型の話はなかなか理解できませんが、histology のことで一言申し上げさせていただきます。ホルマリン固定の組織はかなり崩れますが、グルタルアルデヒドで固定しますと、非常に固定のよい組織ができます。それから光学顕微鏡および電子顕微鏡の試料ができますので、それでご覧になるとよいと思います。また、好酸球や多核白血球、赤血球はペルオキシダーゼ活性を持っていますので、ペルオキシダーゼ反応を行っておき、光学顕微鏡用の切片を作製して、パラゴン染色を行いますと多染色の標本ができますので、ご参考になるのではと思います、申し上げます。ありがとうございました。

大田 われわれも、少なくとも電顕はみておりまして、光学顕微鏡下で観察したことを

確認するという点で、コラーゲンの沈着が粘膜下にあること、それから筋原線維を中心とした筋肉の要素がどのあたりから出現するかも含めて実際に観察しています。いま先生のいわれたペルオキシダーゼに関しては、今後検討してみたいと思います。

座長 先生はマウスを使われて、さまざまなノックアウトマウス等々で、関与する分子の解析を非常に精力的に行っておられますし、またヒトの方からも研究を進めておられますが、そこでTGF- β のレセプターの polymorphism についてご覧になったことはありますか。

大田 まだみておりませんが、そちらも非常に大事で、間違いなくそちらからもアプローチしなければいけないと思っています。

座長 ありがとうございます。