

総合討論

(司会) 小川 秀興 (順天堂大・学長)
奥村 康 (順天堂大・免疫学)
山本 一彦 (東大・アレルギー・リウマチ学)



小川 秀興



奥村 康



山本 一彦

奥村 私は今日のシンポジウムを聞きまして、日本アレルギー学会でもこういう会を開催していただきたいと思いました。今日の演者の先生方はみなさん生物学のバックグラウンドが広く、それを基にアレルギーとアトピーに絞ってお話し下さいました。医師でもあり、また研究者でもある方々にお集まりいただきまして、大変深遠なお話をうかがうことができました。厚くお礼申し上げます。

私自身が勉強をさせていただいたのですが、斎藤先生のお話の中で、アレルギーやアトピーに関連してさまざまな遺伝子が話題となりました。今日はお話が出ませんでした。anti-cancer(制癌)の話になりますと、今一番の流行はRNA干渉(RNAi)です。RNAiを行うためには、横綱的な遺伝子から、大関、小結と順番をつけて、まず横綱的な遺伝子からと誰もが考えるわけですが、先生がお考えの遺伝子群の中で、横綱的なもの、大関、小結、あるいはそれら同士のinteractionについて、簡単に要約していただきますでしょうか。

斎藤博久(国立成育医療セ研) ちょっとずれるかもしれませんが、私がいま興味を持っていますのは、1年ほど前の論文にありました、妊娠する前のマウスにどんどん抗原チャ

レンジを行い、そして赤ちゃんが生まれると、またその赤ちゃんマウスにもどんどん抗原チャレンジを行うというものです。そうすると、抗原チャレンジを行ったマウスは、行わなかったマウスに比べて気道の過敏性が非常に亢進していました。遺伝子配列はそうすぐには変化しないと思いますが、三次元構造を含めたDNAのstructureは、お母さんマウスに抗原チャレンジを行うことによって変化し、それが子供に伝わる、それも卵子の遺伝子の三次元構造の変化が子供に伝わるのではないかと考えられ、これは一部の人たちの間でトピックスになっています。

私はこれに非常に興味を持ちまして、そういう遺伝子を追いかけておりました。それが細胞の分化を調節したり、アレルギー単独、あるいは癌を抑制したりなど、深いところに関係しているので、どうもそういうものをいじると、癌になったり、不老不死ではなく逆に早老症になってしまったりなど、そういうところにも関係しているようです。こうなるとアレルギーもなかなか奥の深いものだ、しみじみ思っております。一つ、二つ挙げるのもなかなかむずかしいのですが、たとえばBMI-1のような分化に關係す

る、DNAの三次元構造に関係するような遺伝子が面白いのではないかと思います。

実際に、アレルギーの患者さんとそうでない患者さんでDNAの比較をしますと、やはりクロマチンのリモデリングに関係するような遺伝子群が喘息発症に関係していた、という報告もつい最近出ています(オックスフォード大学のCocksonらの発表)。そういったところが面白いのかなとも思いますが、実際に生物学的には面白くても、治療にはほとんど結びつかないのではないかと考えます。

奥村 続いて大田先生にうかがいます。アレルギー、アトピーといいますと、学生に教えるときには、クームスの分野などがいまだに国家試験などにも出ていますので、I型として教えるのですが、今日のお話を聞いてみますと、I型だけでは説明がつかず、Th1やTh2タイプに分類すると、どちらかというTh1が重要な働きをしていること、またそれに関連してTGFの重要性を示唆していただきました。先生の実験から、今後の方向性などをお聞かせ願えればと思います。

大田 健(帝京大) 今日いただいたテーマの、気道壁のリモデリングという点は、アレルギーの結果として起きた生体反応の部分なのですが、これはさまざまな分野で共通性を持ったものではないかととらえています。私自身も、呼吸器疾患の中で肺線維症にも興味がありまして、線維化ということに関して申しますと、動脈硬化も含めて、非常に幅広い範囲の中でレギュレーションすべき一つの生体内のできごとであるという考え方を持っております。そういったことに結びつくかということが一つの大きな関心事であります。

技術的には、治療に結びつくための一つの方法として、現在ヒト化抗体の作成が可能、かつ容易になっているという側面がありますので、そういった背景を利用して、今までに

得られている基礎での知見を基にそのターゲットングをして一つ一つ検討するということがあります。今実際にいわれていますのがIL-4やIL-5、それからIL-12です。それらの臨床結果はあまり芳しくはありませんでした。ただ、今は製品化されたものとしては抗IgE抗体もありますから、やはりその特定のターゲットよりも少し広げた形で、さまざまな抑制を多面的に起こすような、そういう分子標的がさらにみつかってくれば、より喘息の制御につながってくるのではないかと考えています。

奥村 先生はマウスの実験で最先端の仕事をしておられますが、斎藤先生の、マウスとヒトの相関性の図は、大変役に立ちました。マウスでわかったことをそのまま応用できるものと、マウスとヒトで全然違うものということで、私は大変感銘しました。

大田 私も同感でして、ヒトのサンプルで、同じようなup-regulationやdown-regulationが実際に起きているかということは、常に自分たちのできる範囲のことは行うようにしています。それから他の人のデータであれば、それをしっかり検証した上で、自分たちのマウスのデータがどういう位置づけにあるかということは、常に意識しなければいけないと思っております。

山本 第2のセッションでは、その原因の遺伝子を背景としながら、病態としてどういうものが関与しているか、とくにサイトカイン、ケモカインについてお話いただきました。善本先生は、今までのTh1、Th2のパラダイムとはまったく違うものがあるかもしれない、それはIL-18を中心としたものであり、そしてIL-18が中心となって働くものが自然型のアレルギーであるという、新しいお考えを提唱されたわけですが、その先生の提唱されるIL-18が、喘息の中でどれほどのメジャーを占めていて、たとえばIL-18を潰したらど

うなるか、簡単にお話しただけですか。

善本知広 (兵庫医大) 今日のお話では喘息モデルマウスを提唱させていただきましたが、これは喘息患者さんの生理的病態に非常に近いメモリー Th1 / Th2 細胞を移入したマウスを使った系です。今回は卵白アルブミン (OVA) と IL-18 を吸入させましたが、現在メモリー Th1 マウスに OVA と病原体 (実際には微生物の成分) を吸入させ、内因性の IL-18 を誘導して喘息を起こすモデルを作製し、そこに IL-18 の抗体を入れると抑制するか否か実験中です。おそらく病原体によって誘導される内因性の IL-18 が Th1 型の喘息発症に関係しているのであろうと考えています。

それと、これがヒトに応用できるかが非常に大事なことです。今日お話しした Th1 細胞に抗原とともに IL-18 を振りかけると、IL-13 と IL-9 とケモカインを誘導するという結果は、実はヒトの Th1 細胞を使いましても確認しています。ヒトの Th1 細胞を抗原と IL-18 で刺激しますと、インターフェロンと同時に IL-13 とケモカインの IL-8 を著明に誘導します。ヒトへの応用はなかなかむずかしいのですが、実験レベルで IL-18 のそういう新しい作用を確認しています (論文印刷中)。

山本 caspase-1 は IL-18 に特異的と考えてよろしいのでしょうか。

善本 IL-1 も誘導します。

山本 そうすると、caspase-1 の阻害薬は IL-18 に特異的とはならないということですね。

久保允人 (理研) もともと IL-18 は、IL-12 との synergy で γ -インターフェロンの産生をコントロールするかたちでスタートしたサイトカインだと思うのですが、実質的に IL-18 単独と、IL-18 プラス IL-12 というかたちで働いたとき、生体ではどちらがメジャーに働くとお考えでしょうか。

善本 メジャーに働くというよりも大事な

ことは、ある病原菌が入ったときに、IL-12 も IL-18 も同時に産生されるのか、あるいは IL-12 は出なくて IL-18 だけが産出されるかということではないでしょうか。私たちの教室は免疫・寄生虫の教室ですので、そういうサイトカインの産生パターンに住み分けがあるかについて、さまざまな *in vivo* のモデルを使って検証しています。IL-12 は出なくて IL-18 だけが出るという系があれば、これはまさにアレルギーといえるのではないのでしょうか。

ただ大事なことは、今日はお話ししませんでした。T 細胞も好塩基球から IL-18 で誘導されます。IL-13 や IL-4 の産生ですが、これは IL-12 が存在しても抑制されないのです。その系は逆にインターフェロンと Th2 サイトカインの両方が出れば、今日お話しした Th1 型喘息のように、非常に悪いアレルギーを誘導する可能性もあるのではないかと考えています。

石川博通 (慶大) 先生が提唱された“自然型アトピー”という概念は画期的ですね。LPS が B 細胞 mitogen であることや PHA や concanavalin A が T 細胞 mitogen であることはよく知られていますよね。さらにそれぞれは polyclonal に抗体産生 B 細胞やキラー T 細胞まで分化させますよね。自然型アトピー発症において中心的な役割を演ずる IL-18 は誰がどうやって産生するのですか。最初の引き金としてアレルゲンなどによる抗原特異的炎症があり、その結果 IL-18 がつくり出されるのでしょうか。

善本 先ほどお話ししたように、LPS 刺激によって活性化した caspase-1 によって IL-18 は誘導されます。抗原特異的ではなく、まさに微生物を介した刺激によって caspase-1 を活性化して IL-18 が出てくるというのが、IL-18 産生のパターンの第一歩です。抗原はまったくいらぬといつてよいと思います。

石川 たたとえばさまざまな specificity の IgE がマスト細胞や好塩基球に結合しているとします。そこにたとえばダニが入ってきて、ダニ特異的な IgE が結合しているマスト細胞を中心とした炎症が起きると、何らかの機序で IL-18 が分泌されて、すべてのマスト細胞や好塩基球からもヒスタミンその他が分泌されるというようなストーリーでしょうか。

善本 マスト細胞からダニ特異的な IL-18 が出るような物質ということでしょうか。

石川 そうではなく、マスト細胞や好塩基球上の IgE 抗体が特異抗原によって cross-link されると、各種の mediator が放出されて炎症が引き起こされますよね。その結果として、IL-18 が産生されて IgE 抗体の抗原特異性の如何にかかわらず、大多数のマスト細胞や好塩基球からの脱顆粒が誘導されるのでしょうか。自然型アトピーが近年増加傾向にあるとしても、IL-18 の供給源や産生機序はよくわかっていませんよね。

山本 IgE の濃度を上げれば IgE のレセプターも上がってくるという、positive feedback もありますので、おそらくそういうところにも効いているかもしれませんし、今回善本先生が抗原非特異的なアレルギー状態を提唱されたことは、ある意味では免疫学にとって非常にインパクトがあると考えてよいと思います。

平井先生にはケモカインのお話をいただきました。ケモカインは最終的な effector phase に非常によく効いておりますが、将来的な治療のターゲットとして、平井先生はケモカインについてどのようにお考えですか

平井浩一(東大) 標的ケモカイン受容体として好酸球、好塩基球は CCR3、Th2 には CCR4 という同意は得られているようです。その blockade に関しては、やはり有効なのは上流にある Th2 のもつ CCR4 だろうと思います。ただ上流になりますと、副作用がさまざまに

出る可能性がありますので、やはり末梢の CCR3 がまず試みられるべきではないでしょうか。

山本 先ほど、レセプターを発現している細胞をトキシンで殺すことをいっておられました。

平井 それは松島先生のところですよ。

山本 一般的には、サイトカインであれば空中戦で中和してしまうこともあると思うのですが、ケモカインの場合はそういう手法はあまり有効ではないのでしょうか。

平井 CCR3 に関しては低分子アンタゴニストによる blockade なのですが、CCR4 に関しては、リジンをつけた、toxin-binding 抗体です。

山本 久保先生のお話は細胞内シグナル伝達とアレルギー疾患ですが、これが最終的には SOCS3 というものがまた Th1、Th2 に関与しているという、今までのわれわれの考えを一段進めたシグナル伝達であったかと思えます。やはり最終的には治療まで持って行きたいとお考えだと思うのですが、SOCS3 は治療のターゲットとなりうるとお考えですか。

久保 基本的には治療のターゲットになり得ればと考えています。私たちが考えているコンセプトとしては、あまり極端に免疫反応を Th1、Th2 に傾けたりすることは、必ずしも生体にとってよくはないだろう、というものがあります。その意味では、SOCS3 などが発現して Th のほうに坂道をどんどん転がってきたものを、SOCS3 のその働きを抑えるような手段があれば、それによって止めることはできるだろう、そして最終的には治療に導けるだろう、ある程度マイルドな治療として使えるのではないかと考えております。この場合、抗原特異性などはまったく無視した状態で治療に向かえるのではと考えています。

齋藤 先生がおっしゃいました、SOCS3 のノックアウトマウスが胎生致死になること

ですが、私が興味を持っていますのは、それはどのような具合で胎生致死になるかということです。SOCS3 か SOCS1 でしょうか、stem cell の self-renewal を抑制することがいわれていますが、分化の系統が抑制されてしまい、self-renewal ばかりどんどん起こして、手足のない胎児ができたりなどが起きたのかなと思ったりもしたのですが、それはどのように死んでしまうのでしょうか。

久保 SOCS3 の場合は、一般的には GP-130 と呼ばれる、LIF(白血球抑制因子)や IL-6 受容体のコンポーネントと特異的にかなり強い affinity で結合して抑制活性を示しました。そのために LIF シグナルを抑制してしまいます。その結果、手足がなくなるというものでなく、それ以前の生まれる前の段階で死に至ります。

山本 久保先生のお話は転写因子の側でしたが、西山先生は転写因子がつく DNA 側、特に IgE 受容体についてお話しいただき、特にアレルギーの原因遺伝子を単離したといえるほどのデータをご紹介いただきました。これを治療のターゲットとしてどのように考えたらよいか、一言お願いいたします。

西山千春(順天堂大アトピー疾患研セ) 発表の中でも申しましたが、非常に特異的なプロモーターですので、それをスクリーニング系で使って、たとえばプロモーター活性を抑えるような天然物、あるいは化合物をみつけるといったアプローチがあると思います。また、これもお話ししましたが、転写調節因子の立体構造、さらにはそれが DNA に結合した状態の全体の構造が決定されることによって、人工的にこうした物質を設計することも可能かと考えております。

久保 西山先生はプロモーターに着目されて解析をしておられますが、私たちも同じようなアプローチで、IL-4 遺伝子などに対して行っています。IL-4 遺伝子の場合はたまたま

プロモーターでは組織特異性や Th specific な発現、マスト細胞の発現などは、コントロールされていない、特異性は決まっていないことがわかっていますので、おそらくマスト細胞での IgE 受容体の発現なども、そのプロモーター以外の部分での組織特異的発現コントロールを考えられるのではないかと思うのですが、何かご意見がありましたらお聞かせ下さい。

西山 今日お話ししたようなごく短いプロモーター領域だけでは転写は決まらないことはよく報告されており、私どもも IgE 受容体に関して遺伝子を広範囲にわたって調べ、プロモーター外にも制御領域を同定しております。また、今度はゲノムを直接 integrate するような細胞や個体レベルでの解析も必要だと思います。ただ GATA-1 と PU.1 に関しましては、最近ノックアウトマウスのマスト細胞の解析で、PU.1 も GATA-1 もマスト細胞への分化や特異的遺伝子発現に非常に重要だという報告が出てきておりますので、これら 2 つの因子が特異的遺伝子発現を制御していることは、さまざまな角度から確認されつつあるといえます。

小川 このたび日本医学会でこのアレルギーとアトピー性疾患を取り上げていただき、本当にありがたかったです。これは医学の分野、あるいは学際領域としても進歩の著しい部門ですので、山本先生と奥村先生と 3 人で、どう organize するか、かなりの知恵を絞りました。まず遺伝子の問題、そしてサイトカイン、転写因子、そして最後に治療の展望という流れを考えました。そして遺伝子の話、あるいはサイトカインや転写因子の話をしながらか、それぞれの頭の中でイメージネーションされるであろうと思っていましたが、その通りになったと大変うれしく思っております。

治療の将来展望は最も話しくいところ

で、議論百出するところです。まずバリア機能ですが、周りはいくら汚くても、侵入する門戸がしっかりしていれば大丈夫ではないかという考えに基づいて、光石先生にあえて非常に有名なダニ抗原について、免疫学的な側面はあまり述べないで欲しいとお願いしました。そして、抗原の、免疫学的な展開よりも、なぜこのように汚いもの、抗原、ハプテン類が皮内そして体内に入るのか、外界にはもともと沢山いるのになぜ近年バリア機能が落ちてきたのかを少し論及していただきました。これは皮膚科の領域では、スキンケアのやりすぎ、また石川先生のお話にも続いてくるのですが、あまりにも生活環境が違って、きれいにしすぎているのではないかということもあるようです。多くのダニの抗原がプロテアーゼである、そしてこれが入ってきたら、その次のパターンとして、これが chemo-attractant、あるいは何かを呼び寄せる、このプロテアーゼが免疫細胞を呼び寄せるというようなデータはあるのですか。

光石幸市(順天堂大) 今はまだまとめているところなのですが、ダニ抗原をはじめとする、先ほどから話の出ています detergent であったり、実験系では tapestripping によって、いくつかのサイトカインが、形態学的にはおそらく keatinocyte から発現しているであろうことは確認中です。具体的には、いま興味を持たれています IL-18 はバリアの破壊によって出ていますので、今日は私自身が興味を持って話をうかがいました。

小川 *Candida albicans* のプロテアーゼ、そしてそれが抗原として働いて、それが chemo-attractant になる、あるいは *Malassezia furfur* (癬風菌)も環境抗原として定番で出てくるものですが、これもまた chemo-attractant であるというデータが最近出ています。それらのパターン認識ですが、今日の話はとにかく皮膚の表面をあまり荒らさない

という予防的なことにもなるということですか。

光石 はい。ベースはそうです。そして今日の話のエッセンスは、アレルゲン自体が、アレルギーになりやすさを助長するということです。やはりアレルゲンの制御が臨床的に大事であるというお話をしたつもりです。

小川 私は皮膚科の学者として常々疑問に思っていることがあります。ステロイド軟膏を多量に使うこと目的は、ステロイドをとにかく皮膚の中に押し込もうとすることですが、これは治療薬も抗原も一緒に押し込んでいるのではないかという思いがあり、そういうアプローチもあるかなと考えました。

腸管粘膜の免疫といえば石川先生ですが、大変むずかしい分野をわかりやすくお話しいただきました。常在菌が狂うことによって、さまざまなアレルギー性の疾患、またはそれに限らずさまざまな病気が起こってくるというお話でした。将来の夢として、食べ物をうまく工夫する、腸内細菌をうまくコントロールするような治療の展開について、一言お願いいたします。

石川 大変難しいご質問です。腸内フローラの多くは培養できませんが、最近、16s liposomal RNA を使った腸内細菌の網羅的な解析などがみえてきましたので、そういうことである程度パターンがわかれば、あるアレルギー疾患を起こす方と起こさない方の腸内細菌のパターンがわかるのではないかと、そこでそれを是正する方向に持って行くような strategy が見つければ、アレルギー・アトピー性疾患の将来的な治療法、あるいは予防もできる程度できるようになるのではないかと、抽象的ですが、そのように考えています。

小川 私はあえてここで、皮膚の表面のバリアの話と、食物によってアレルギーを制御するという話を持ってきました。免疫反応を

抑える、高めるという話は大変なことになると思いましたが、新しい治療として刮目すべきものは、DNA 免疫法によるアレルギー疾患の治療ということで、佐野先生に明快なお話をいただきました。これはたとえばひどい喘息で QOL が非常に損なわれる、あるいは花粉症で大変なことになっている人に対して非常にチャーミングなアプローチだと思うのですが、これのデメリットや注意すべき点についてはいかがでしょうか。

佐野公仁夫 (東北大) 先ほども申し上げましたように、この CpG はもともとは細菌が持っている DNA で、生体は細菌が入ったからがんばろうと反応を起こすわけです。そこをうまく利用できればよいですが、逆にいえば生体はそれだけ強い反応を起こすわけですから、一つ間違えると、Th1 は自己免疫になったりします。その微妙な、量的な安全性についてのチェックが非常に重要なポイントになってくると思います。ただ実際、CpG DNA は、ちょっと風邪を引いても絶えず入ってき

ているのです。たとえばインフルエンザウイルスや腸内細菌も多く持っていますし、安全性に関しては、危惧するほどでもないという考えもあります。実際に米国でも、ヒトはマウス以上に安全というデータがあるそうです。その点今後は楽しみだなと思っています。弱点は、抗原がはっきりしないと使いにくいところです。そこで抗原がはっきりしているアレルギー性鼻炎から治験が始まったのではと考えています。

小川 細菌の研究で抗原が isolation, characterization されてきたので、先生の治療の方向性もこれから伸びて行くのではないかと期待しております。

今日は、アレルギー・アトピー性疾患の、遺伝子、サイトカイン、転写因子、そして治療のさまざまなアプローチの仕方を、現在の時点での進歩を総括し、また将来の夢を語り合った会であったと思います。今日はどうもありがとうございました。