

総説：気管支喘息の病態解明とその治療応用**気管支喘息の病態解明とその治療への応用**

千葉大学医学部第二内科

岩本 逸夫

要旨 気管支喘息の病態であるアレルギー性気道炎症の惹起には Th2 細胞の選択的活性化が深く関与している。Th2 細胞から IL-4, IL-5, IL-13 が産生され、IL-4 は Th2 細胞の分化増殖に必須であり、IL-5 は好酸球の分化、成熟及び活性化、それによる気道好酸球性炎症を惹起し、IL-13 は気道上皮の粘液細胞増生、内皮細胞の VCAM-1 発現による T 細胞、好酸球の気道への動員に関与することにより喘息病態を形成する。一方 Th1 細胞は IFN- γ を産生し、Th2 細胞の分化及びサイトカイン産生を抑制することによりアレルギー性気道炎症を制御する。この Th2 細胞分化には IL-4 による転写因子 Stat6 の活性化とそれに引き続く GATA-3 の発現が重要であり、Th1 細胞分化には IL-12 による Stat4 の活性化と T-bet の発現が関与している。さらに制御性 T (Tr) 細胞は Th 細胞の活性化を抑制することによりアレルギー性気道炎症の発症を制御している。

キーワード：アレルギー性気道炎症，気管支喘息，Th2 細胞，転写因子，制御性 T 細胞

allergic airway inflammation, asthma, Th2 (T helper 2) cells, transcriptional factors, Tr (T regulatory) cells

はじめに

気管支喘息の病態であるアレルギー性気道炎症の惹起には Th2 細胞の選択的活性化が深く関与している¹⁾。すなわち、Th2 細胞から IL-4, IL-5, IL-13 が産生され、IL-4 は Th2 細胞の分化増殖に必須であり、さらに B 細胞の IgE 産生、肥満細胞の増殖及び活性化を惹起し、IL-5 は好酸球の分化、成熟及び活性化、それによる気道好酸球性炎症を惹起し、IL-13 は気道上皮の粘液細胞増生、内皮細胞の VCAM-1 発現による T 細胞、好酸球の気道への動員に関与することにより喘息病態を形成する。一方 Th1 細胞は IFN- γ を産生し、Th2 細胞の分化及びサイトカイン産生を抑制することによりアレルギー性気道炎症を制御する。さらに制御性 T (Tr) 細胞は Th 細胞の活性化を抑制することによりアレルギー性気道炎症の発症を制御している。本稿では、アレルギー性気道炎症における Th2 細胞の役割、Th2 細胞分化の分子機構、CD4 陽性制御性 T 細胞の役割につき述べる。

1. アレルギー性気道炎症における Th2 細胞の役割

気管支喘息は、アトピー型、非アトピー型を問わず、慢性のアレルギー性気道炎症がその病態の中心をなしている。それは後述するように Th2 細胞の活性化により惹起される。その結果、気道粘膜への好酸球及びリンパ球を中心とした炎症細胞の浸潤、上皮細胞の剝離、杯細胞の過形成、粘膜下の浮腫、粘膜下腺の肥大増生が生じ、気道過敏性、粘液分泌亢進、気道閉塞が起こる。さらに基底膜の肥厚、平滑筋肥大など気道壁のリモデリングが生じる。浸潤リンパ球の多くは、活性化 CD4 陽性 T 細胞であり、IL-5 mRNA の発現が認められる。そして、IL-

5 mRNA の発現と浸潤好酸球数との間に有意な正の相関が認められることより、活性化 CD4 陽性 T 細胞が IL-5 を産生し、気道好酸球浸潤を惹起することが示唆された²⁾。

我々は、喘息モデルマウスを用いて、アレルギー性気道炎症が Th2 細胞による IL-5 産生により惹起されることをはじめて明らかにした³⁾。すなわち、マウスのアレルギー性好酸球性気道炎症は抗 CD4 抗体或いは抗 IL-5 抗体を抗原吸入チャレンジ前に投与することにより強く抑制される(図 1)。一方 CD8 陽性 T 細胞或いは肥満細胞の不活化はアレルギー性好酸球性気道炎症の発症に影響しない。さらに IL-5 欠損マウスではアレルギー性好酸球性気道炎症と気道過敏性が起こらないことが示された⁴⁾。そしてアレルギー性気道炎症は Th2 細胞移入により惹起される。Th2 細胞の感作・誘導には IL-4 が必須であるが、その後の抗原吸入チャレンジによるアレルギー性気道炎症の惹起には IL-4 は必要ではない。Th2 細胞からの IL-5 と IL-13 が気道好酸球性炎症、粘液分泌亢進、気道過敏性など喘息病態を引き起こす。

一方我々は、アレルギー性気道炎症における好酸球浸潤は、Th1 細胞の産生する IFN- γ により制御されていることも明らかにした⁵⁾。実際マウスのアレルギー性気道炎症モデルに IFN- γ を抗原吸入チャレンジ前に投与すると、気道好酸球浸潤は用量依存的に抑制される。それと同時に CD4 陽性 T 細胞浸潤も著明に抑制される。逆に抗 IFN- γ 抗体を投与し内因性の IFN- γ を中和すると気道好酸球浸潤と CD4 陽性 T 細胞浸潤は増強される。したがって、アレルギー性好酸球性気道炎症は、Th2 細

胞により産生される IL-5 により正の方向に、一方 Th1 細胞により産生される IFN- γ により負の方向に制御されている。さらに IFN- γ とともに Th1 細胞分化に重要である IL-12 もアレルギー性気道炎症の抑制に重要な役割を果たしている⁶⁾。そして IL-12 によるアレルギー性好酸球性気道炎症の抑制には IFN- γ が必須であることよ

り、単球から産生された IL-12 は NK 細胞の IFN- γ 産生を介してアレルギー性気道炎症を抑制していることが推測される。

これらのことから、喘息のアレルギー性気道炎症の Th1/Th2 バランスを Th1 側にシフトさせることにより治療する試みがなされている。しかし、IFN- γ 或いは IL-12 投与はいまだ有用な結果が得られていない⁷⁾。実際動物実験では、Th2 細胞によるアレルギー性気道炎症は Th1 細胞移入により抑制されず、逆に増強させるという報告もされている⁸⁾。また既報の抗 IL-5 抗体による喘息の臨床試験は喘息症状の十分な改善を認めていない⁹⁾。抗 IL-5 抗体による好酸球性炎症の阻止による喘息治療の可能性についても、今後気道組織における好酸球の減少効果、気道リモデリングによる影響など慎重な検討を要する¹⁰⁾。

2. Th2 細胞の分化機構

近年 Th1 細胞と Th2 細胞の分化制御機構が転写因子のレベルで明らかとなってきた(図 2)。Th0 細胞から Th1 細胞への分化には、IL-12 による Signal transducers and activators of transcription(Stat 4) 及び IFN- γ による Stat1 の活性化が、一方 Th0 細胞から Th2 細胞への分化には、IL-4 による Stat6 の活性化が重要な役割を果たしていることが示された¹¹⁾。さらに近年、Th1 細胞/Th2 細胞分化における Stat 下流分子の役割も明らかになりつつある。Szabo らは、Th1 細胞特異的に IL-2 の発現を誘導する分子を検索する過程で、T box タイプの転写因子 T-bet を単離し、T-bet を T 細胞に発現させると IL-2 のみでなく IFN- γ の発現が増強すること、さらに本来 Th1 細胞にしか発現していない T-bet を Th2 細胞に強制的に発現させると IL-4 と IL-5 の産生を抑制すること

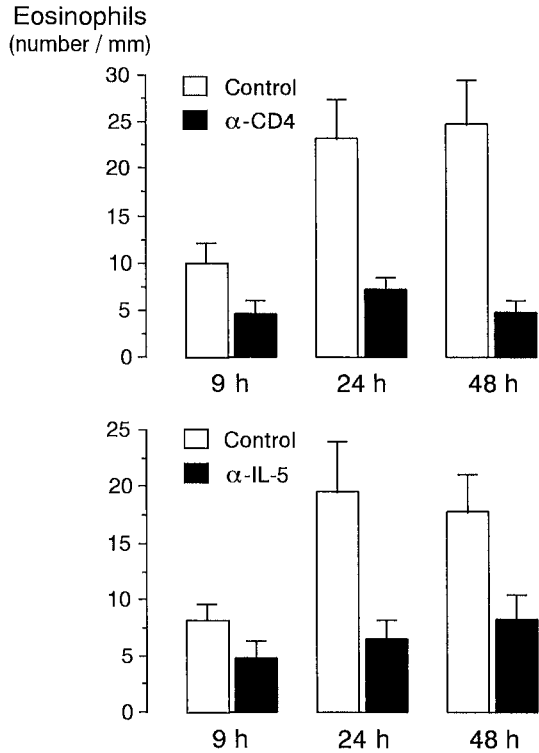


Fig. 1 Antigen-induced eosinophilic airway inflammation is mediated by CD4 + T cells and IL-5.

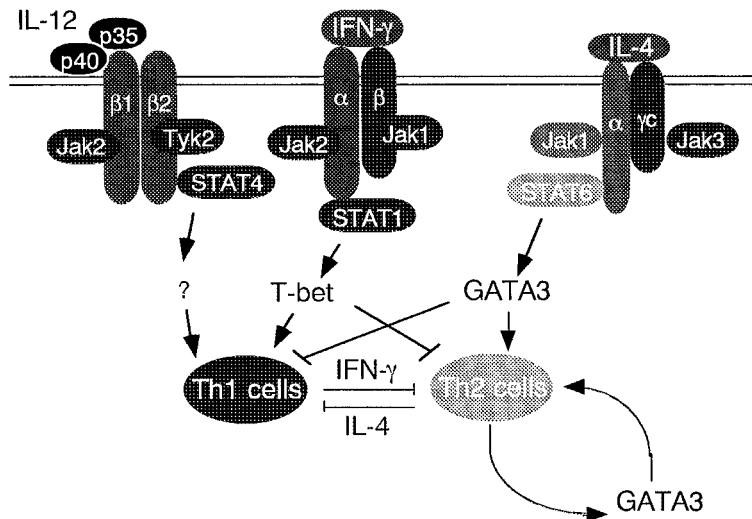


Fig. 2 Molecular mechanisms of Th1 and Th2 cell differentiation.

を示した¹²⁾。すなわち、T-bet は、Th1 細胞特異的に発現し、Th1 細胞としての性質の維持に極めて重要な役割を果たす転写因子と考えられる。

一方、Th2 細胞分化を誘導する Stat6 下流分子としては、GATA-3 が重要であると考えられている。GATA-3 は、zinc-finger 型の転写因子で、Th2 細胞に特異的に発現し、Th1 細胞では発現していない¹³⁾。そして本来 GATA-3 を発現していない Th1 細胞に GATA-3 を強制的に発現させると IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 の転写が誘導されることが示された¹³⁾。逆に、GATA-3 は、IL-12 R β 2 の発現を低下させ、IL-12 による IFN- γ の産生増強及び Th1 細胞分化を抑制することも明らかとなった¹⁴⁾。すなわち、GATA-3 は、Th2 サイトカインの産生と Th1 細胞分化抑制の二つのメカニズムを介して Th2 細胞分化を誘導していると考えられる。さらに GATA-3 の発現制御は、Stat6 依存的な機構と Stat6 非依存的な GATA-3 依存的な機構の両者が存在することが示されている。したがって、Th1 細胞と Th2 細胞の分化は、IL-12 (IFN- γ) と IL-4, Stat4 (Stat1) と Stat6, T-bet と GATA-3 の各段階で相互に制御されている。

これら転写因子の遺伝子欠損マウスにおけるアレルギー性気道炎症の解析が行われている。Stat は細胞質内に存在する転写因子であり、各種サイトカインにより活性化され核内に移行し転写を調節することが示されている。これらの中で IL-4 と IL-13 からのシグナルに關与する Stat6 は、IgE 産生やアレルギー性好酸球性気道炎症の惹起に必須であることが示された¹⁵⁾⁻¹⁸⁾。さらに Th2 細胞に特異的に発現する GATA-3 の阻害マウスでは Th2 サイトカイン IL-4, IL-5, IL-13 全ての産生が抑制され、気道の好酸球性炎症と粘液分泌が著明に抑制された¹⁹⁾。そして喘息患者気道で GATA-3 mRNA 発現が増加していることが明らかにされ、GATA-3 mRNA 発現と IL-5 mRNA 発現及び気道過敏性との相関も示された。逆に、T-bet 欠損マウスでは、喘息様の気道病変を

自然発症することが明らかにされた²⁰⁾。

最近我々は、好酸球の分化増殖に重要なサイトカインである IL-5 により活性化される Stat5a がアレルギー性炎症の惹起に必須であることを見いだした²¹⁾。前述のように気道のアレルギー性好酸球性炎症は Th2 細胞からの IL-5 により惹起される。IL-5 は、好酸球への分化成熟を誘導し、さらに活性化と生存延長作用を持ち、好酸球にとって非常に重要かつ特異的なサイトカインである。IL-5 シグナルは、IL-5 レセプター α 鎖と common β 鎖から成るレセプターから Jak2 の活性化を介し Stat5 の活性化へ至ると考えられている。Stat5a 欠損マウスでは抗原誘発気道好酸球浸潤はコントロールマウスに比し著明に減少していた。さらに予期に反して、Stat5a 欠損マウスでは IL-4, IL-5 産生が著明に低下しており、Stat5a が好酸球の分化活性化とともに、Th2 細胞分化にも関与して、アレルギー性気道炎症を制御していることが明らかとなった²²⁾。

さらに我々は、IL-12, IL-13 等多くのシグナルの下流に位置することが示されている Jak キナーゼの 1 つである Tyk2 のアレルギー性気道炎症への関与について、Tyk2 欠損マウスを用いて解析した²³⁾。その結果、Tyk2 欠損マウスでは、抗原吸入による気道での Th2 サイトカイン産生が増強し、さらに気道への好酸球及び CD4 陽性 T 細胞浸潤が増強した。すなわち Tyk2 は、Th2 細胞依存性アレルギー性気道炎症に対して抑制性に機能していると考えられる。そして、この気道好酸球浸潤の増強効果は、Tyk2 欠損 CD4 陽性 T 細胞を SCID マウスに移入しても再現できることより、CD4 陽性 T 細胞における Tyk2 の発現が気道好酸球浸潤の抑制に重要であることが明らかとなった。一方、興味深いことに Tyk2 欠損マウスでは、抗原吸入後の IL-13 産生が増強されているにもかかわらず、杯細胞分化およびムチン遺伝子 Muc5AC の発現が減弱していた。これらの結果は、Tyk2 は IL-12 シグナルの構成因子としてアレルギー性

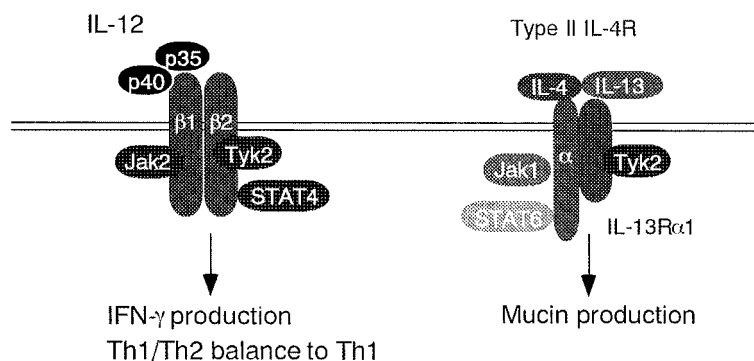


Fig. 3 Role of Tyk2 kinase in Th2 cell-mediated allergic airway inflammation.

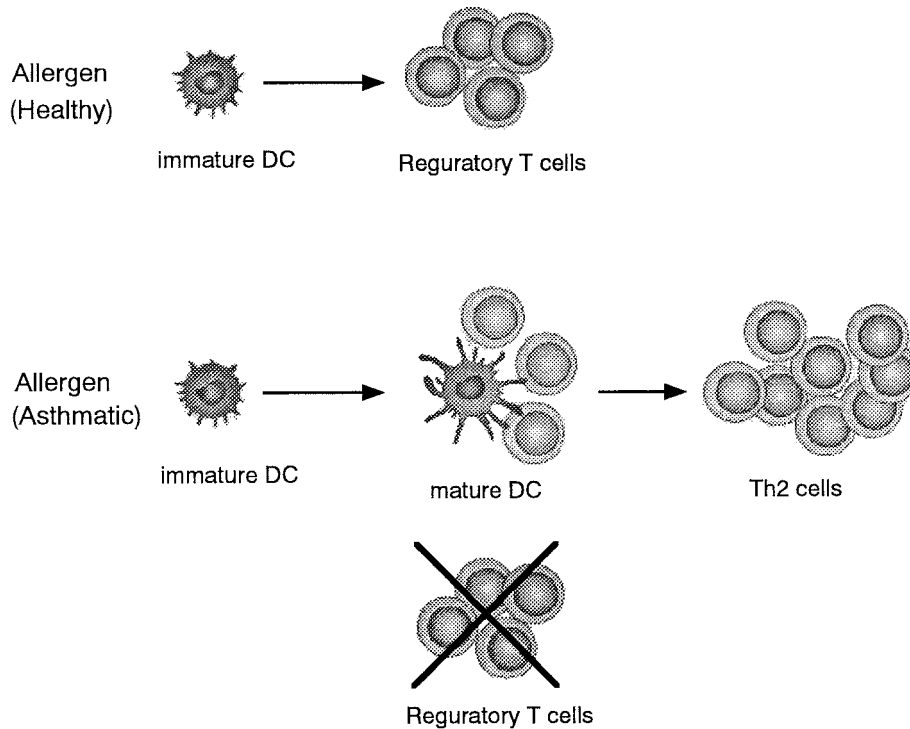


Fig. 4 Distinct activation of T_r cells and Th2 cells by allergens.

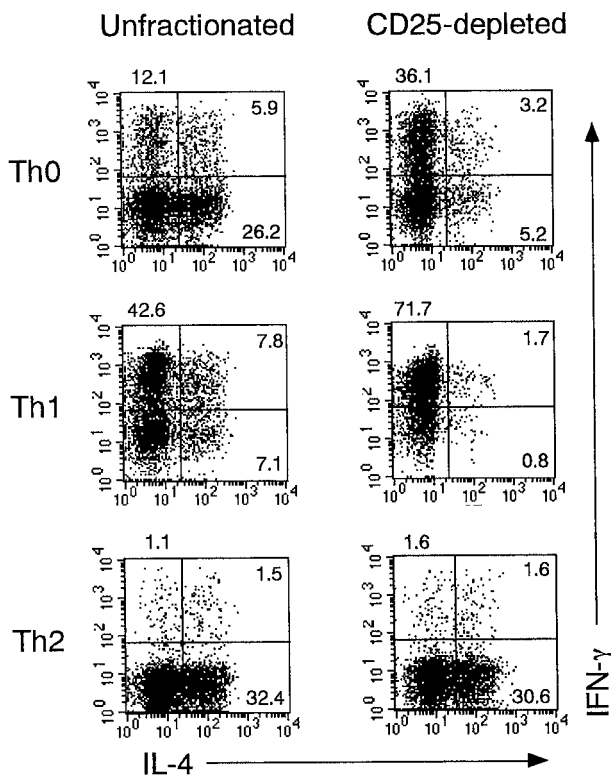


Fig. 5 Th1 cell differentiation is inhibited by CD25 + CD4 + T cells.

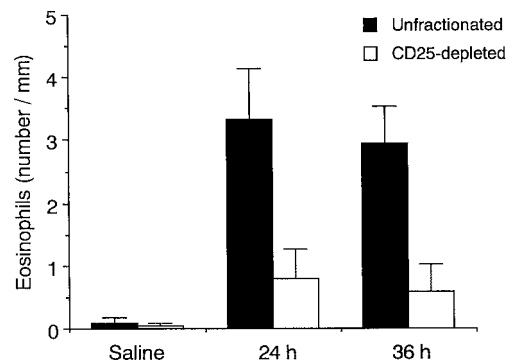


Fig. 6 Antigen-induced eosinophilic airway inflammation is inhibited by CD25 + CD4 + T cell depletion.

炎症における Th2 細胞活性化を抑制する一方で、IL-13 シグナルの構成因子として杯細胞分化及びムチンの産生に関与していることを示唆している (図 3)。

3. CD4 陽性制御性 T 細胞によるアレルギー性気道炎症の制御

CD4 陽性制御性 T 細胞はサイトカイン産生能などによりいくつかの亜集団が示されている。T_r 細胞は主に IL-10 を産生し、気道粘膜における Th 細胞の活性化を制御している。すなわち、アレルギーの気道粘膜からの侵入は通常 T_r 細胞のみを誘導し、Th 細胞は活性化しない。しかし、喘息では生体側或いはアレルギーの性状

など何らかの要因により Tr 細胞の誘導が起こらず, Th2 細胞活性化が起こりアレルギー性気道炎症が惹起されると考えられる²⁴⁾(図4).

CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞は, 非感作マウス CD4 陽性 T 細胞の約 10% を占め, CD25 陰性 CD4 陽性 T 細胞により惹起される臓器特異的自己免疫疾患を抑制する細胞として報告された²⁵⁾²⁶⁾. その抑制機構の詳細は不明であるが, IL-4, IL-10 などの抑制性サイトカインは産生せず, 細胞接着による相互作用の機序が示唆されている. しかし, CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞の Th1 細胞/Th2 細胞分化やアレルギー性気道炎症における役割は不明であった.

そこで我々は, CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞が Th1 細胞/Th2 細胞の分化及びアレルギー性気道炎症を制御しているか否かを検討した²⁷⁾. 卵白アルブミン(OVA)特異的 T 細胞レセプタートランスジェニックマウス(DO10マウス)の脾細胞から CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞を除去すると Th1 細胞は増加し, 一方 Th2 細胞は減少した(図5). すなわち, CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞は Th1 細胞/Th2 細胞バランスを Th2 細胞側に制御していることが示唆された.

次に CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞のアレルギー性気道炎症制御における役割を解析した. DO10 マウスの脾細胞から CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞を除去した群と除去しない群を内因性の免疫応答を欠く Rag-2 欠損マウスに経静脈的に移入し, これらのマウスを OVA で腹腔内感作後, OVA を吸入投与し, アレルギー性気道炎症を惹起した. その結果, CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞を除去すると抗原吸入による気道好酸球浸潤は, 有意に低下した(図6). 一方, 興味深いことに抗原吸入による好中球及びリンパ球浸潤は, CD25 除去群で有意に増加していた. さらに *in vivo* における T 細胞の分化状態を調べるために肺胞洗浄液中のサイトカインレベルを測定したところ, CD25 除去群で IL-4 と IL-5 の産生が著明に低下し, 一方 IFN- γ の産生は低下していなかった. すなわち CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞は, *in vivo* においても Th1 細胞/Th2 細胞バランスを Th2 側に傾けることによりアレルギー性気道炎症を増強する方向に制御していることが示唆された. 近年, ヒトにおいても CD25 陽性 CD4 陽性 T 細胞の存在が示されており²⁸⁾⁻³⁰⁾, アレルギー性気道炎症の制御に関与していると考えられる.

文 献

- 1) Wills-Karp M: Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 255-281.
- 2) Corrigan CJ, et al: T cells and eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Immunol Today* 1992; 13: 501-507.
- 3) Nakajima H, et al: CD4+ T lymphocytes and interleukin-5 mediate antigen-induced eosinophil infiltration into the mouse trachea. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 374-377.
- 4) Foster PS, et al: Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. *J Exp Med* 1996; 183: 195-201.
- 5) Iwamoto I, et al: Interferon γ regulates antigen-induced eosinophil recruitment into the mouse airways by inhibiting the infiltration of CD4+ T cells. *J Exp Med* 1993; 177: 573-576.
- 6) Iwamoto I, et al: Interleukin-12 prevents antigen-induced eosinophil recruitment into mouse airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1257-1260.
- 7) Bryan SA, et al: Effects of recombinant human interleukin-12 on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000; 356: 2149-2153.
- 8) Randolph DA, et al: Cooperation between Th1 and Th2 cells in a murine model of eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 1999; 104: 1021-1029.
- 9) Leckie MJ, et al: Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000; 356: 2144-2148.
- 10) Flood-Page PT, et al: Eosinophil's role remains uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 199-204.
- 11) Wurster AL, et al: The biology of Stat4 and Stat6. *Oncogene* 2000; 19: 2577-2584.
- 12) Szabo SJ, et al: A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-669.
- 13) Zheng W, et al: The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell* 1997; 89: 587-596.
- 14) Ouyang W, et al: Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4-independent mechanism. *Immunity* 1998; 9: 745-755.
- 15) Takeda K, et al: Essential role of Stat6 in IL-4 signaling. *Nature* 1996; 380: 627-630.
- 16) Shimoda K, et al: Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene. *Nature* 1996; 380: 630-633.
- 17) Kaplan MH, et al: Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for development of Th2 cells. *Immunity* 1996; 3: 313-319.
- 18) Akimoto T, et al: Abrogation of bronchial eosinophilic inflammation and airway hyperreactivity in signal transducers and activators of transcription(STAT) β -deficient mice. *J Exp Med* 1998; 187: 1537-1542.
- 19) Zhang DH, et al: Inhibition of allergic inflammation in a murine model of asthma by expression of a dominant-negative mutant of GATA-3. *Immunity* 1999; 11: 473-482.
- 20) Finotto S, et al: Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet. *Science* 2002; 295: 336-338.

- 21) Kagami S, et al : Both Stat5a and Stat5b are required for antigen-induced eosinophil and T cell recruitment into the tissue. *Blood* 2000 ; 95 : 1370 1377.
 - 22) Kagami S, et al : Stat5a regulates T helper cell differentiation by several distinct mechanisms. *Blood* 2001 ; 97 : 2358 2365.
 - 23) Seto Y, et al : Enhanced Th2 cell-mediated allergic inflammation in Tyk2-deficient mice. *J Immunol* 2003 ; 170 : 1077 1083.
 - 24) Tsitoura DC, et al : Intranasal exposure to protein antigen induces immunological tolerance mediated by functionally disabled CD4 + T cells. *J Immunol* 1999 ; 163 : 2592 2600.
 - 25) Sakaguchi S, et al : Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains(CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995 ; 155 : 1151 1164.
 - 26) Sakaguchi S : Regulatory T cells : key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell* 2000 ; 101 : 455 458.
 - 27) Suto A, et al : Role of CD4 + CD25 + regulatory T cells in T helper 2 cell-mediated allergic inflammation in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 164 : 680 687.
 - 28) Levings MK, et al : Human CD25 + CD4 + T regulatory cells suppress naive and memory T cell proliferation and can be expanded in vitro without loss of function. *J Exp Med* 2001 ; 193 : 1295 1302.
 - 29) Dieckmann D, et al : Ex vivo isolation and characterization of CD4 + CD25 + T cells with regulatory properties from human blood. *J Exp Med* 2001 ; 193 : 1303 1310.
 - 30) Jonuleit H, et al : Identification and functional characterization of human CD4 + CD25 + T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. *J Exp Med* 2001 ; 193 : 1285 1294.
-