

「第18回日本臨床環境医学会学術集会特別講演」

(臨床環境18:68~74, 2009)

アレルギー疾患発症機序における環境要因の役割

出原賢治

佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野

Environmental factors affecting the pathogenesis of allergic diseases

Kenji Izuhara

Division of Medical Chemistry, Department of Biomolecular Sciences,
Saga Medical School

要約

免疫学の進歩によりアレルギー性炎症の主体は Th2型炎症であることが明らかとなっている。また、近年のアレルギー疾患の有症率の増加は衛生状態の改善などの環境因子の影響によると考えられている。つまり、衛生状態の改善が Th2型免疫反応を増強し、アレルギー疾患の増加につながっていると考えられているが、その免疫学的機序については不明な点が多い。衛生状態の改善につながる環境因子として、リポポリサッカライド (LPS) への曝露の減少が注目されている。最近我々は、LPS 受容体である Toll 様受容体 4 を介したシグナルが Th2型免疫反応を抑制することで喘息発症を阻害することを明らかにした。このようなアレルギー疾患発症に関与する環境因子の同定とその作用機序の解明は、アレルギー疾患増加の原因の解明のみならず、アレルギー疾患の治療・予防のための戦略の構築につながると期待されている。

《キーワード》アレルギー疾患、Th2型免疫反応、衛生状態、リポポリサッカライド、Toll 様受容体 4

Abstract

It is known that Th2 type immune responses are dominant in allergic inflammation. The increased prevalence of allergic diseases is due to environmental factors including improved hygiene; however, it remains unclear how improved hygiene upregulates Th2 type immune responses, leading to the increased prevalence of allergic diseases. A lot of attentions have been paid to decreased exposure to lipopolysaccharide as an environmental factor to improve hygiene. We recently found that the signals through toll-like receptor 4, a receptor for lipopolysaccharide, inhibit Th2 type responses, followed by downregulation of the onset of bronchial asthma. Such identification of environmental factors correlated with allergic diseases and clarification of their actions will lead to not only elucidation of the

別刷請求宛先：出原賢治

〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1 佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野

Reprint Requests to Kenji Izuhara, Division of Medical Chemistry, Department of Biomolecular Sciences, Saga Medical School, 5-1-1 Nabeshima, Saga-shi, Saga 849-8501, Japan

mechanism of the increases prevalence of allergic diseases, but also development of strategies for treatment and prevention of these diseases.

《Key words》 allergic diseases, Th2 type immune response, hygiene, lipopolysaccharide, toll-like receptor 4

I. はじめに

気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎などを代表とするアレルギー疾患の有症率は先進諸国を中心にこの数十年の間に飛躍的に増大している。わが国においても同じ傾向を示しており、小児での気管支喘息の有症率は6-7%¹⁾、アトピー性皮膚炎の有症率は10%を超えている²⁾。このようなアレルギー疾患の増大は環境因子による影響であると考えられており、アレルギー疾患の発症機序の解明とその機序に影響を与える環境要因の同定は、アレルギー疾患の治療、ならびに予防を行う上で非常に重要となっている。本稿では、アレルギー疾患の発症機序とその機序に影響を与える環境要因について現在までに知られている知見について我々の最近の解析結果を交えて説

明したい。

II. アレルギー疾患の発症機序

アレルギー疾患とは、ダニやスギ花粉といった生体に危害を加えることがない一般的な環境アレルゲンに対し、生体が過剰に免疫反応を起こした結果であると定義することができる。このため、免疫学の進歩に伴って、アレルギー疾患の発症機序についての理解が広がってきた。現在、免疫反応を亢進させるエフェクターT細胞には、Th1、Th2、Th17型の3種類が存在し、Th1型はIFN- γ 、Th2型はIL-4, 5, 13、Th17型はIL-17Aといったそれぞれのサブセットに特徴的なサイトカインを産生し、生体防御機構において異なる役割を果たすと同時に、関連する疾患も異なっていると考

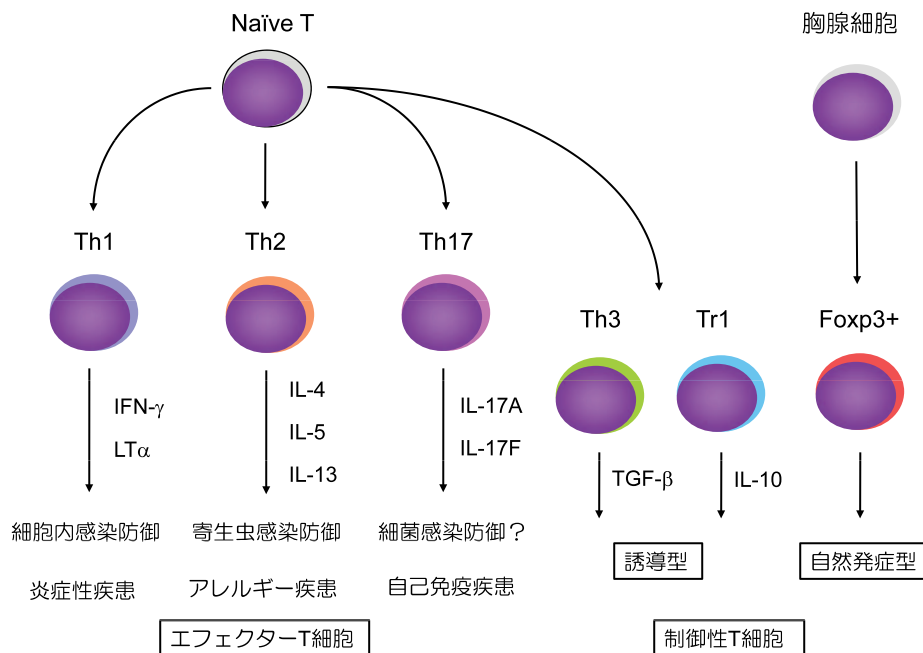


図1 T細胞の多様性

免疫反応を亢進させるエフェクターT細胞には、Th1、Th2、Th17型の3種類が存在し、産生するサイトカイン、生体防御機構における役割、関与する疾患が異なっている。また、免疫反応を抑制する制御性T細胞には、Foxp3陽性の自然発症型とTh3やTr1などの誘導型が存在する。

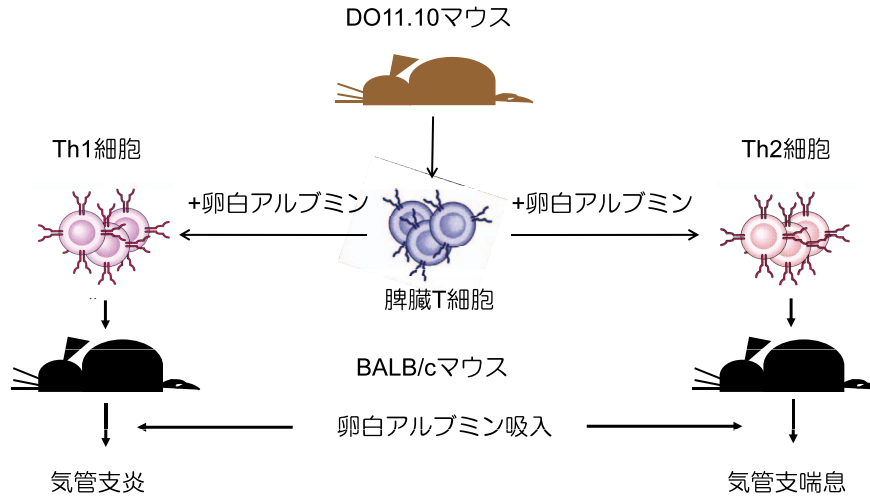


図2 気管支喘息におけるTh2型細胞の重要性を示した実験

卵白アルブミンを認識するT細胞受容体を強制的にT細胞に発現させたDO11.10マウスからT細胞を取り出し、試験内において卵白アルブミンで刺激するとともにTh1型細胞とTh2型細胞にそれぞれ分化させる。このTh1型細胞とTh2型細胞をマウスに戻し、卵白アルブミンを経気管的に曝露すると、Th1型細胞をマウスに戻した場合には好中球浸潤を主体とした気管支炎に類似した炎症所見を示し、Th2型細胞をマウスに戻した場合には好酸球浸潤を主体とした気管支喘息に類似した炎症所見を示す。

えられている(図1)。一方で、免疫反応を抑制する制御性T細胞も存在し、これらのエフェクターT細胞と制御性T細胞との間のバランスによって免疫反応の強さが調節されていると考えられている。アレルギー性炎症においては、Th2型免疫反応がその主体をなすことが、動物モデル、患者の病変部位におけるサイトカイン発現プロフィール、遺伝的相関などの解析より明らかになっている。その代表的な実験としては、卵白アルブミンを認識するT細胞受容体を強制的にT細胞に発現させたDO11.10マウスを用いた解析があげられる³⁾(図2)。このマウスからT細胞を取り出し、試験内において卵白アルブミンで刺激するとT細胞が活性化し増殖する。その際に、培養の条件を調節してTh1型細胞とTh2型細胞にそれぞれ分化させることができる。卵白アルブミンを認識するTh2型細胞をマウスに戻し、卵白アルブミンを曝露するとヒトの気管支喘息に類似した炎症所見を示す。一方で、Th2型細胞の代わりにTh1型細胞をマウスに戻した場合には好中球浸潤を主体とした気管支炎に類似した炎症所見を示し、このことからTh2型細胞の重要性が示された。こ

のようなTh2型免疫反応の重要性は1990年代にほぼ確立された。

Ⅲ. アレルギー疾患発症に関連する環境因子

アレルギー疾患も他の多くの疾患と同様に遺伝要因と環境要因の組み合わせによって生じるが、アレルギー疾患の発症に関連する環境因子の解析が主に疫学的アプローチによりなされてきた。その結果、衛生状態の改善がアレルギー疾患の増大につながっていると「衛生仮説(hygiene hypothesis)」が提唱され、異論もあるが多くの解析結果により支持されている。この説は最初、アレルギー性鼻炎の一種である枯草熱の出現頻度が大家族ほど低い結果より提唱された⁴⁾。その後、家族の規模のみならず、先進国、都市生活、安定した腸内細菌叢、抗生物質の多使用、低頻度の寄生虫感染、良好な公衆設備といった要素がその対立する要素に比べてアレルギー疾患の出現頻度を高くすることが示された⁵⁾(図3)。

しかしながら、この仮説自体に対する批判が存在するとともに、衛生状態の改善がどのようにしてアレルギー疾患を増大させるのか、つまりTh2

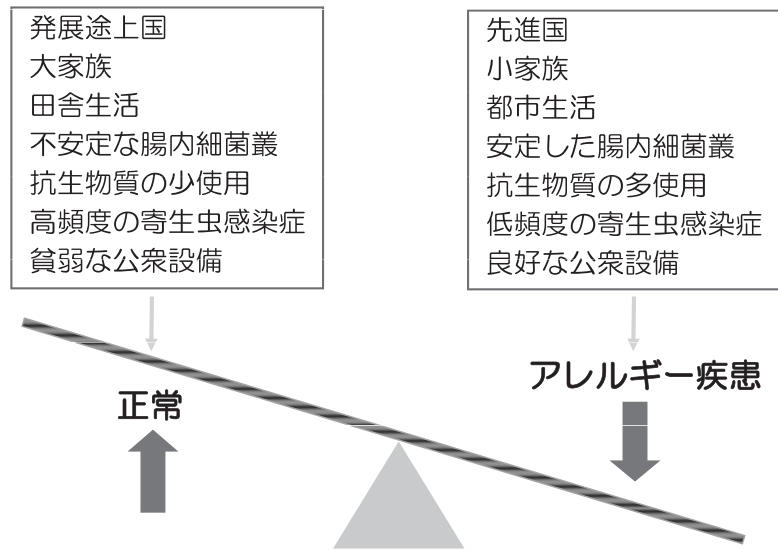


図3 衛生仮説 (hygiene hypothesis)

家族の規模、先進国、都市生活、安定した腸内細菌叢、抗生物質の多使用、低頻度の寄生虫感染、良好な公衆設備といった衛生状態の改善となる要素は、その対立する要素に比べてアレルギー疾患の出現頻度を高くすることを意味する。(文献5を改変)

型免疫反応を増強させるのかという免疫学的説明は未だなされていない。それを説明する一つの可能性として、Th1型細胞とTh2型細胞はお互いに制御しており、衛生状態の改善はTh1型免疫反応の減弱を引き起こし、それが結果的にTh2型免疫反応の増強につながっているのではないかと、Th1/Th2バランスの変化により説明しようと考えられていた。しかし、Th1型免疫反応を誘導するサイトカインであるIL-12の投与や典型的Th1型サイトカインであるIFN- γ の投与によってアレルギー性炎症は改善せず、むしろ増悪するという実験結果や⁶⁾、Th1型免疫反応によって引き起こされるI型糖尿病、多発性硬化症、クローン病といった自己免疫性疾患もアレルギー疾患と同様に近年増加しているという疫学的知見より⁷⁾、Th1/Th2バランスによるTh2型免疫反応の増強の可能性については現在では否定的となっている。このため、衛生仮説に対する疫学的見地からの検証とともに、免疫学見地からの機序解明が必要とされている。

IV. 環境因子としてのリポポリサッカライド (LPS) の重要性

衛生仮説に基づいたさまざまな環境因子の中で、LPSの重要性が取り上げられている。LPSはグラム陰性桿菌の細胞壁の構成成分の一つであり、生体においては、CD14がLPSと結合し、さらにそれをToll様受容体(TLR)4に受け渡して生体の免疫機構を活性化し、外界からの微生物侵入についての危険シグナルとして伝達する仕組みを備えている。疫学的研究により、居住周囲環境のエンドトキシン(LPS)レベルとアトピー性疾患の罹患率は逆相関を示すことが報告された⁸⁾。ここでのアトピー性疾患とは、環境アレルゲンに対しIgEが高値を示す状態を指す。つまり、LPSに曝露されやすい環境であればIgEが高くない傾向にあり、その結果、アレルギー疾患が発症しにくいことを意味しており、衛生仮説にまさに合致する結果となった。また、遺伝学解析により、LPSの受容体であるCD14遺伝子やTLR4遺伝子上の一塩基多型(SNP)とIgEレベルや喘息罹患率が相関することが示されていることもアレルギー疾患の発症に関わる環境因子としての

LPSの重要性を支持している^{9,10}。LPS曝露とアレルギー疾患発症との相関についてはその後賛否両論あるが、衛生仮説を説明する具体的な環境因子として注目されている。

V. LPSのアレルギー性炎症に対する影響

LPSがアレルギー性疾患の発症に対して抑制的に働くのではないかという疫学的知見に基づいて、LPSを喘息モデルマウスに投与した際の影響について数多くの解析がなされている。しかし、その結果は一定せず、LPSは喘息病態を改善するという報告がなされている一方で^{11,12}、かえって喘息病態を悪化させるという報告もなされている^{13,14}。このような解析間での違いの原因は明確とはなっていないが、LPSの種類や投与量、あるいはLPS投与の時期や投与経路による違いではないかと考えられている。

LPSがアレルギー性疾患の発症に対して抑制的に働くかを解析するために、我々は刺激型抗TLR4抗体(UT12)を作製して、喘息モデルマウスに投与した際の影響を解析した。このUT12はLPSと同様に細胞内の転写因子であるNF- κ Bを活性化して、炎症性サイトカインであるTNF- α やIL-6の産生を誘導し、エンドトキシンショックを起こすことをすでに確認している¹⁵

(図4)。UT12は生体内においてLPSと違ってLPS結合タンパク質(LBP)やCD14を介さずにTLR4にシグナルを伝達し、また、LPSに比べて生体内での半減期が長い(7日対8分)といった特徴を持つため、LPSの喘息発症機序への影響についての解析においてLPS自体より利点を持つと考えられた。解析の結果、アレルギー感作前にUT12を投与すると、アレルギー特異的Th2型免疫反応が起こらず、そのためアレルギー曝露に対して喘息病態を起こさないことが明らかとなった(Matsushita投稿中、図5)。その際に、Th1型免疫反応の亢進は見られず、Th2型免疫反応の抑制はTh1/Th2バランスの変化によるものではなかった。さらに、UT12投与により脾臓内の樹状細胞数が減少するとともに、樹状細胞上の共刺激分子の発現が低下することを観察しており、UT12によるこれらの作用の結果としてTh2型免疫反応が抑制されているものと考えられた。このように、LPS刺激、あるいはそれ以外の環境因子によるTh2型免疫反応に対する作用機序を明らかにすることは、近年のアレルギー疾患増大の原因の解明につながるとともに、アレルギー疾患の治療・予防に向けての戦略の構築にもつながると期待される。

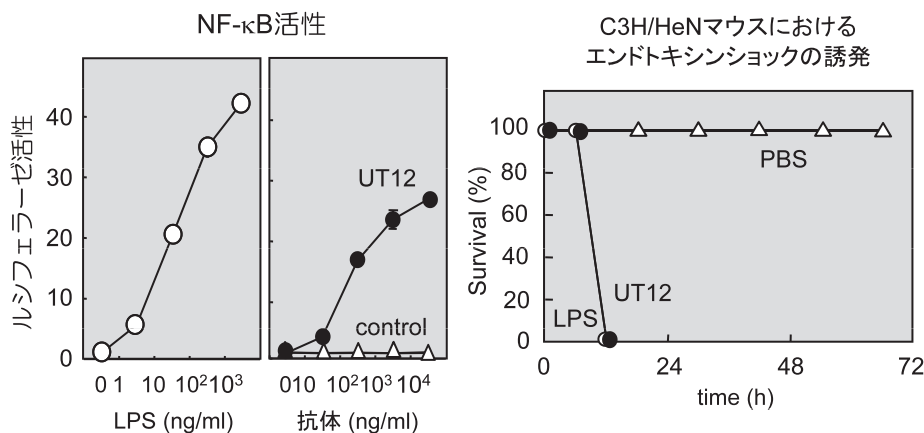


図4 刺激型抗TLR4抗体(UT12)の特徴

刺激型抗TLR4抗体(UT12)はLPSと同様に、転写因子であるNF- κ Bを活性化するとともに、マウスにおいてエンドトキシンショックを起こす特徴を持っている。(文献15を改変)

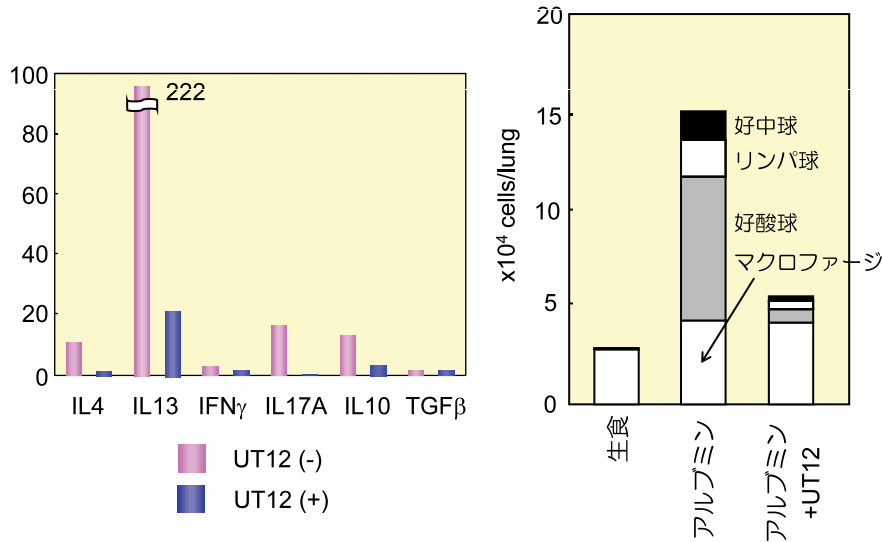


図5 刺激型抗TLR4抗体(UT12)の喘息モデルマウスへの影響

野生型マウスではアレルゲン感作により脾臓 CD4陽性細胞においてアレルゲン刺激によるIL-13などのサイトカイン刺激が亢進し(左)、アレルゲン曝露により気管支洗浄液中での好酸球浸潤などの喘息様症状が出現するが(右)、アレルゲン感作前にUT12を投与すると、これらの反応が抑制される。(Matsushita 他未発表データを改変)

文献

- Masoli M, Fabian D, et al: The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 59: 469-478, 2004
- Williams H, Robertson C, et al: Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *J Allergy Clin Immunol* 103: 125-138, 1999
- Cohn L, Homer RJ, et al: Induction of airway mucus production By T helper 2 (Th2) cells: a critical role for interleukin 4 in cell recruitment but not mucus production. *J Exp Med* 186: 1737-1747, 1997
- Strachan DP: Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 299: 1259-1260, 1989
- Wills-Karp M, Santeliz J, et al: The germless theory of allergic disease: revisiting the hygiene hypothesis. *Nat Rev Immunol* 1: 69-75, 2001
- O'Byrne PM: Cytokines or their antagonists for the treatment of asthma. *Chest* 130: 244-250, 2006
- Bach JF: The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *N Engl J Med* 347: 911-920, 2002
- Braun-Fahrlander C, Riedler J, et al: Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 347: 869-877, 2002
- Baldini M, Lohman IC, et al: A Polymorphism* in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20: 976-983, 1999
- Fageras Bottcher M, Hmani-Aifa M, et al: A TLR4 polymorphism is associated with asthma and reduced lipopolysaccharide-induced interleukin-12(p70) responses in Swedish children. *J Allergy Clin Immunol*

- 114: 561-567, 2004
- 11) Gerhold K, Blumchen K, et al: Endotoxins prevent murine IgE production, T(H)2 immune responses, and development of airway eosinophilia but not airway hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 110: 110-116, 2002
 - 12) Hollingsworth HC, Kohn EC, et al: Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 147: 33-41, 1995
 - 13) Eisenbarth SC, Piggott DA, et al: Lipopolysaccharide-enhanced, toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J Exp Med* 196: 1645-1651, 2002
 - 14) Murakami D, Yamada H, et al: Lipopolysaccharide inhalation exacerbates allergic airway inflammation by activating mast cells and promoting Th2 responses. *Clin Exp Allergy* 37: 339-347, 2007
 - 15) Ohta S, Bahrin U, et al: Induction of long-term lipopolysaccharide tolerance by an agonistic monoclonal antibody to the toll-like receptor 4/MD-2 complex. *Clin Vaccine Immunol* 13: 1131-1136, 2006