

論文の内容の要旨

論文題目 気道アレルギー性炎症に及ぼすスタチンの抑制効果の実験的研究

指導教員 山本 一彦 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 16 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

今村 充

スタチンは高脂血症に広く用いられる薬剤である。近年、疾患モデルの解析などを通じて、スタチンが抗原提示細胞、T 細胞、単球、マクロファージ、血管内皮細胞など、様々な免疫担当細胞に対して、免疫修飾作用を有することが明らかになってきた。特に T 細胞に対する作用として、スタチンは *in vitro* にて naïve CD4 陽性 T 細胞からの Th2 分化を促進し、Th1 分化を抑制することが知られている。また実験的自己免疫性脳脊髄炎 (Experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE), コラーゲン反応性関節炎 (collagen-induced arthritis ; CIA) などの Th1 型に偏移した動物疾患モデルにおいて、スタチンは疾患の重症度を改善し、Th1 から Th2 型にサイトカイン産生を変化させる。

一方、気管支喘息は Th2 型の免疫応答によって起こされる典型的な疾患の一つである。スタチンが Th2 型の免疫応答を優位にすることから、アレルギー性

気道炎症を増悪させる可能性が考えられる。だが実際には、これまでスタチンが Th2 型のアレルギー性気道炎症を改善させる、という報告が数例ある。しかし、スタチンがアレルギー性の免疫応答を抑制する詳細な機序については、まだ十分に解明されていない。

また近年、免疫応答における IL-17 の役割に注目が集まっているが、スタチンが IL-17 産生に及ぼす影響についてはこれまで報告がない。また炎症局所の抗原提示細胞に対するスタチンの効果についても報告が少ない。

そこで本研究では、気道アレルギー性炎症におけるプラバスタチンの効果について、IL-17 産生や肺抗原提示細胞に対する影響に焦点を当て、検討した。

まず初めに、BALB/c マウスを卵白アルブミン(ovalbumin ; OVA) で感作後に脾細胞を取り出し、OVA で再刺激する *ex vivo* 及び *in vitro* の系を用いて、抗原特異的免疫応答の初期(感作期)におけるスタチンの効果について検討した。

脾細胞を OVA で *in vitro* で再刺激した際に誘導される細胞増殖は、全身感作のみのマウス由来脾細胞(OVA)と比較し、プラバスタチン投与群由来脾細胞(PR)で、有意に抑制された(図 1A)。すなわち、OVA 全身感作後 *in vitro* での OVA 再刺激で誘導される T 細胞増殖反応が、プラバスタチン投与群では有意に抑制された。更に、OVA 群で誘導される Th2 サイトカインである IL-5(図 1B)の産生は、プラバスタチン群で有意に抑制された。一方、Th1 サイトカインである IFN- γ の産生は抑制されなかった。興味深いことに、IL-17 及び IL-10(図 1C-D)の産生も抑制された。以上から、感作期からプラバスタチンを投与すると、抗原によって誘導される Th2 型の免疫応答が、IL-17 産生の抑制と共に抑制されることが示された。

次に、OVA/alum で全身感作したマウス由来脾細胞を OVA で再刺激した際、

培養上清中にプラバスタチンを添加し、その効果を検討した。脾細胞の増殖及び IL-5 の産生は濃度依存性にプラバスタチンによって抑制された(図 2A-B)。プラバスタチン 10 μ M の添加により、IL-10、IL-17 の産生も抑制された(図 2C-D)が、IFN- γ 産生は変化しなかった。プラバスタチンの代わりにシンバスタチン 1 μ M の添加によっても同様の増殖抑制、サイトカイン産生抑制が認められ、これらはスタチンに共通の作用であることが示唆された。

以上から、*ex vivo* または *in vitro* でのスタチンの投与が、全身感作したマウス由来の脾細胞の抗原による免疫応答を抑制することが示された。これらの脾細胞の中でも、抗原に反応し増殖している主な細胞として、CD4⁺ T細胞が挙げられる。そこで次に、CD4⁺ T細胞に対するスタチンの直接的作用を検討した。CD4⁺ T細胞に対する抗 CD3 抗体刺激による細胞増殖反応、IL-4、IL-10、IL-17、IFN- γ 産生は、いずれもプラバスタチンにより抑制された。以上の結果から、CD3(T細胞受容体)を介した CD4⁺ T細胞の活性化を、プラバスタチンが直接抑制することが示唆された。

次に、抗原吸入期のプラバスタチン投与が抗原感作後、抗原吸入により誘導される好酸球性気道炎症に与える効果について検討した。BALF 中の総細胞数、好酸球数は、プラバスタチン群で有意に抑制された(図 3A)。組織所見では、気道周囲の好酸球浸潤は、プラバスタチン群で抑制傾向を示した(図 3B)。BALF 中の IL-13 濃度、TGF- β 濃度も、プラバスタチン群で有意に抑制された(図 3C-D)。即ち、抗原吸入期のプラバスタチン投与により、気道内における Th2 型の免疫応答が抑制された。また、血清の総 IgE、OVA 特異的 IgE、OVA 特異的 IgG1 も、プラバスタチン群で有意に抑制された(図 3E-F)が、総 IgG、OVA 特異的 IgG は抑制されなかった。血清のコレステロール値は、各群間で差を認めず、プラバスタチンのアレルギー性免疫応答の抑制効果は、コレステロール低下を介さ

ないことが示された。以上の様に、抗原吸入期のプラバスタチン投与により、アレルギー性の気道炎症と、全身性の IgE、IgG1 産生が抑制されることが確認された。

次に、胸腔リンパ節細胞の *in vitro* での抗原再刺激に対する免疫応答を検討した。プラバスタチン群では OVA 群に比べ、IL-5 および IL-17 の産生が低下した(図 4A-B)。即ち、抗原吸入期のプラバスタチン投与により、胸腔リンパ節において、抗原により誘導される Th2 型の免疫応答が抑制されると共に、IL-17 産生も抑制された。

次に、肺局所における抗原提示細胞の中で、CD11c 陽性細胞(主に樹状細胞と考えられる)に対するスタチンの効果を検討した。*in vivo* でのプラバスタチン投与は肺の CD11c 陽性細胞の抗原提示能を抑制した(図 5)。一方、肺抗原提示細胞のリンパ節への移動に対して、プラバスタチンは影響を及ぼさなかった。これらの結果から、プラバスタチンによるアレルギー性気道炎症の抑制効果の少なくとも一部は、肺樹状細胞の抗原提示能抑制によるものと考えられた。

本研究において、プラバスタチンは OVA 抗原による感作を抑制し、同時に IL-17 産生を抑制した。また、プラバスタチンは気道における免疫応答、肺局所における CD11c 陽性細胞に対する抗原提示能を抑制した。検索した範囲では、本研究は IL-17 産生および肺局所における抗原提示細胞に対するスタチンの影響を示した初めての研究である。

IL-17 は、従来の Th1/Th2 細胞とは独立した、Th17 細胞と呼ばれる CD4⁺T 細胞によって主に産生されることが考えられている。IL-17 はグラム陰性桿菌や真菌、抗酸菌など様々な病原体の除去に重要と考えられ、好中球の遊出や CXCL ケモカインの発現に重要な役割を果たしている。喘息患者の喀痰中では IL-17 濃度が

上昇しており、その濃度が喘息の重症度と相関することが報告されている。本研究では、プラバスタチンは抗原刺激により誘導される脾細胞の IL-17 産生を *ex vivo* 及び *in vitro* の投与により、共に抑制した(図 1-2)。

IL-17 欠損マウスや IL-17 受容体欠損マウスを用いた報告から、感作期においては、IL-17 が抗原感作に必須の役割を果たしていると考えられている。本研究では、感作期のプラバスタチン投与は脾細胞からの Th2 型サイトカインの産生抑制に加えて IL-17 の抑制効果も示したが(図 1)、これはアレルギー性炎症の発症予防に有用な効果と考えられる。

一方、抗原吸入期において、気道局所では、IL-17 は好酸球性炎症を改善させる可能性が報告されている。本研究では、抗原吸入期のプラバスタチン投与は、リンパ節における IL-17 産生を抑制すると共に、IL-5 産生も抑制した(図 4)。IL-17 により誘導される免疫応答と、Th1 あるいは Th2 型免疫応答との関係は、現時点では十分に解明されていない。本研究においても、IL-17 の抑制と、Th2 型免疫応答の抑制との因果関係は明らかでない。今後、IL-17 と Th1/Th2 型反応との相互関係の更なる解明が必要である。

今まで、様々な抗原提示細胞に対するスタチンの影響が *in vitro* で調べられている。これらの研究では、スタチンは MHC class II や共刺激分子(*co-stimulatory molecule*)の発現を抑制し、炎症性サイトカイン産生を抑制する。一方、*in vivo* で抗原提示細胞に対するスタチンの影響を調べた報告はわずかであり、特に肺局所の樹状細胞に対するスタチンの効果を調べた報告はこれまでない。本研究では、プラバスタチンが肺局所の樹状細胞の抗原提示能を抑制することを初めて確認した。

本研究と、以前のシンバスタチンを用いた実験的研究から、気管支喘息患者の気道炎症の進行をスタチンが抑制する可能性が考えられる。今までのところ、

喘息に対するスタチンの効果を調べた臨床試験はシンバスタチンを用いた一つの報告だけであり、呼気中の一酸化窒素(NO)や喀痰中の好酸球、気道過敏性や呼吸機能などの指標はシンバスタチンにより改善しなかった。今後、スタチンの喘息治療への効果を結論づける為には、更なる臨床研究が必要と考えられる。

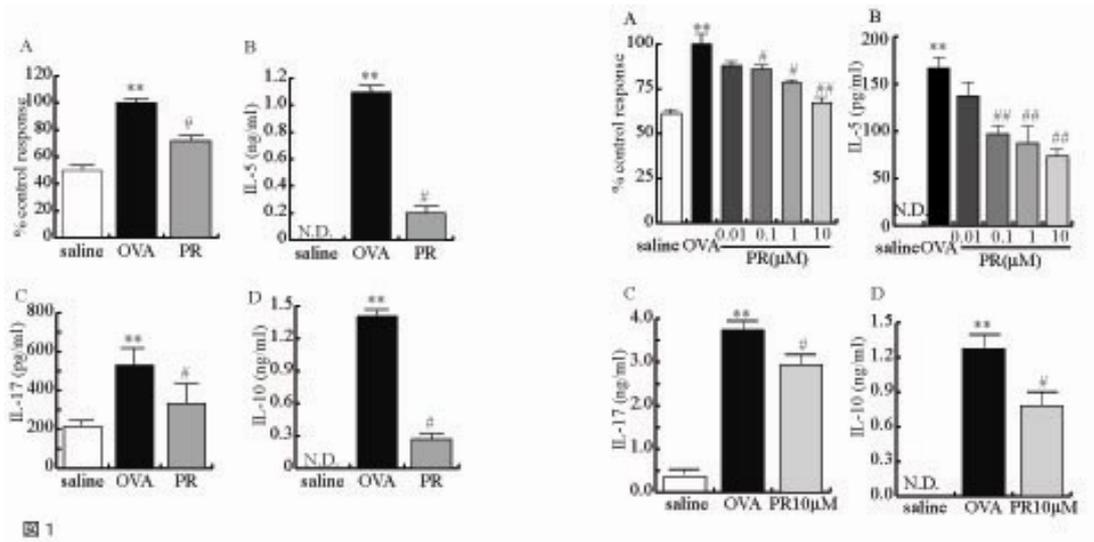


图 1

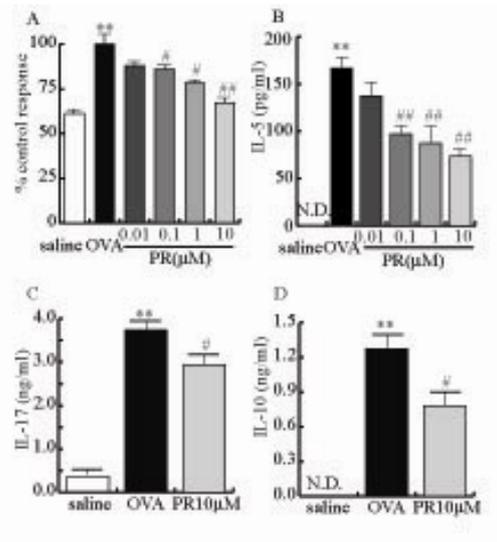


图 2

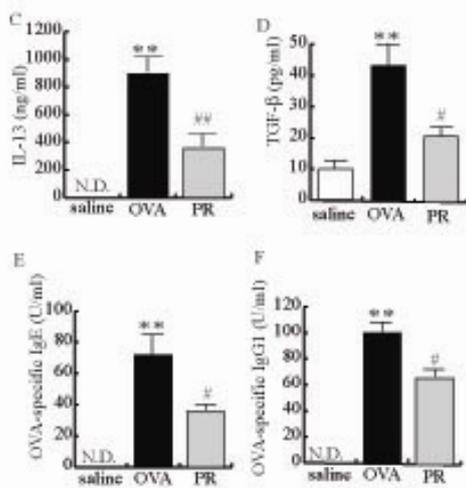
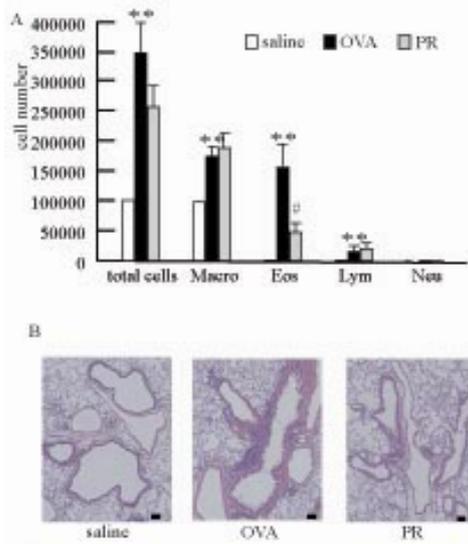


图 3

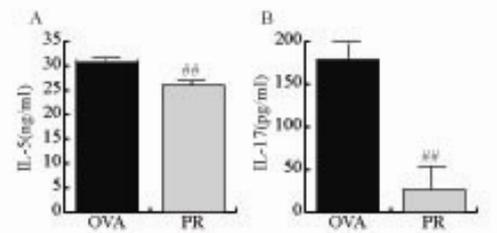


图 4

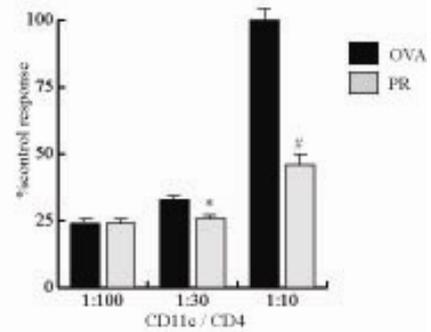


图 5