アレルギー疾患とDDS

特集 バイオ医薬によるターゲティング治療

大田 健*

DDS in treatment for allergic diseases

Pathogenesis of asthma involves various cytokines, which could be a target for asthma therapy. So far, biological agents targeting IL-4, IL-5 and IL-12 have not been successful, while treatment with humanized anti-IgE antibody has been shown to be beneficial for severe asthmatics.

アレルギー疾患として喘息に焦点を絞り、喘息の病態とバイオ医薬による標的治療について概説した。喘息の病態には多くのサイトカインが関与しており、いずれも喘息治療の標的となりうる。これまでに IL-4, IL-5, IL-12 を標的とする治療が検討されたが、よい結果が得られていない。一方、ヒト化抗 IgE 抗体療法は重症の喘息で有用であることが示され、欧米では実用化されている。

Ken Ohta*

key words : airway inflammation, airway remodeling, cytokines, humanized anti-IgE therapy, inhaled corticosteroids

気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー疾患は、近年増加の一途をたどっている。一方では、1966年、石坂らにより IgE が発見されて以来、それまで混沌としていたアレルギーの研究が、免疫学の進歩とともに飛躍的に進展した。そして、アレルギー疾患の病態解明が進み、根本療法としてそのプロセスを特異的に阻害する抗サイトカイン療法、抗 IgE 抗体療法など種々の治療法が開発され研究されている。

アレルギー疾患のなかでも喘息は、わが国の成人で約3~4%の罹患率を呈する比較的頻度の高い呼吸器疾患である。疾患の歴史は古く、ヒポクラテスの時代にまでさかのぼるが、喘息の病態と発症機構の解明に大きな進展をみせたのは最近のことである。すなわち、喘息の病態が、気管支鏡検査手技の確立と免疫学や細胞・分子生物学の進歩により、呼吸生理学的な側面だけでなく、組織・細胞レベルさらには分子レベルにまで掘り下げて研究されるようになったのである。

本稿では、アレルギー疾患の代表として喘息に焦

点を絞り、喘息の病態とバイオ医薬による治療について最近の知見を踏まえて概説する。

喘息の病態

1. アレルギー反応

喘息患者の約70%でチリダニに対するIgE抗体が陽性であるという事実は、喘息では気道を標的とするアレルギー反応が、気道炎症や喘息症状の発現に重要な役割を演じていることを示唆している。

(1) IgE 抗体産生の調節

B細胞がIgE抗体産生細胞へと分化するためには、2種類のシグナルが必要である。まず第1のシグナルは、Th2由来のIL-4やIL-13によるもので、IgE抗体の遺伝子転写活性を促進する。第2のシグナルは、活性化Th細胞やマスト細胞・好塩基球の表面に発現しているCD40リガンド(CD40L)とB細胞表面のCD40との結合によるもので、B細胞上でのICAM-1やLFA-1などの接着分子の発現や親和性も亢進し、IgE産生が誘導される。

IgEの産生は、種々のサイトカインによって調節されている。IgE産生を促進するものにはIL-5、IL-6、IL-9、TNF- α などがあり、抑制するものには

* Division of Respiratory Medicine and Allergology, Teikyo University School of Medicine 帝京大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー学

図 1 Pathogenesis of asthma

Asthmatic response is induced by allergen exposure, and consists of early and late asthmatic responses (EAR and LAR, respectively), resulting in the chronic state of asthma. Mast cells play a pivotal role in EAR, and various proinflammatory cells including eosinophils could be involved in LAR. Soluble factors such as cytokines and chemical mediators also play important roles in asthma.

IFN- α , IFN- γ , TGF- β , IL-8, IL-12, IL-18 などがあげられる。

(2) マスト細胞の活性化

マスト細胞は、IgE 抗体が機能を発揮するうえで不可欠の細胞である。IgE 抗体は、マスト細胞上の高親和性受容体 (Fc ϵ RI) のリガンドとして細胞膜上に存在し、アレルゲンとの結合により Fc ϵ RI の架橋を起こし、マスト細胞内へのシグナル伝達を誘導して、マスト細胞を活性化する。マスト細胞には、炎症性メディエーターだけでなく種々のサイトカインを産生遊離する機能もあり、喘息への多様な関与が推察されている¹⁾。

マスト細胞がアレルギーで重要であることを示す結果は、途絶えることなく報告されている。たとえば、抗原吸入誘発後 7 時間と 24 時間の時点での誘発

痰中のメタクロマチン陽性細胞 (マスト細胞と好塩基球) を数えると、即時型と遅発型の 2 相性の喘息反応を示した群でのみ両方の時点でマスト細胞が増加し、24 時間で気道過敏性を認めた²⁾。また、マスト細胞欠損マウス W/W^v を用いた実験では、抗原吸入後の気道過敏性が抑制された³⁾。

2. 気道の炎症

喘息の病態で重要な位置を占める気道炎症の特徴は、① 気道上皮の剝離、② 基底膜部の肥厚、③ 好酸球の集簇であり、種々の炎症細胞とサイトカインにより誘導される。しかも非アレルギー性喘息でも同様の所見を認める。

アレルギーによる喘息では、感作抗原 (アレルゲン) を吸入すると、吸入後 10 分以内にはじまり

20～30分でピークとなる即時型反応(IAR: immediate asthmatic response)と、吸入後4～6時間ではじまり8～12時間でピークに達する遅発型反応(LAR: late asthmatic response)からなる2相性の喘息反応を呈する(図1)⁴⁾。

では、IgE抗体を介したアレルギー反応による喘息にはどのようなサイトカインが関与するのであろうか。筆者らは、卵白アルブミン(OA)を抗原とするマウスの喘息モデルを確立し、基礎的な検討を加えた。そして、アレルギー性気道炎症にはGM-CSFが重要であることを明らかにした⁵⁾。

GM-CSFは、粒子状大気汚染物質の代表であるディーゼル排気微粒子(DEP: diesel exhaust particulates)による気道過敏性の亢進でも重要な役割を演じている⁶⁾。抗原提示細胞(APC: antigen presenting cells)の一つである樹状細胞の増殖分化因子としての役割も考慮すると、さらに追求すべきサイトカインであると考えられる。同様のマウスモデルで別のグループは、IL-4⁷⁾、IL-5⁸⁾、IL-13⁹⁾などのTh2サイトカインが重要であることを報告している。

また、サイトカインのなかで特定の白血球に対して走化活性(白血球走化能)を持つケモカインは、これまでに約40種類が同定され、システイン間に一つのアミノ酸があるかどうかでCXCケモカインとCCケモカインとに分類されている。喘息の病態でも関与するケモカインについての検討が進んでおり、今後、治療の標的とされることが予測される。

3. 気道リモデリング

喘息の気道では、慢性の気道炎症により気道の傷害が惹起され、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。

(1) 気道上皮の傷害と修復

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起こり、③増殖した気道上皮細胞の線毛上皮細胞への分化

図2 The process of remodeling for airway epithelial damage

が誘導されて気道の傷害に対する修復が完成する(図2)。

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¹⁰⁾。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の線毛上皮細胞への分化の過程には、TGF- β やレチノイド(retinoids)が重要な役割を演じている。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(TIMF: tissue inhibitor of metallo-

proteinase)のバランスにより調節されている。

また、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。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により線維化が促進された状態にあると考えられている¹¹⁾。

(3) 平滑筋の肥大

平滑筋の肥大は、平滑筋細胞の増殖と個々の細胞の大きさの増加からなる。平滑筋の増殖にはPDGF、TGF- β と上皮成長因子(EGF: epidermal growth factor)の関与が考えられる。さらに、炎症性メディエーターのロイコトリエンC₄(LTC₄: leukotriene C₄)、LTD₄、LTE₄すなわちcysteinyl LTにはEGFによる平滑筋の増殖作用を高める効果が認められる。

生物学的製剤による喘息の治療

1. サイトカインを標的にした治療

喘息の病態に関与するサイトカインは、主に気道過敏性を指標にした動物実験から推察されている(表1)。そして、これまでに成人喘息を対象にIL-4、IL-5、IL-12が治療の標的として選択され臨床研究が行われている。

サイトカインをはじめとする分子標的に対する治療戦略において重要な役割を演じているのが、ヒト化中和抗体である。ヒト化抗体とは、遺伝子組換え技術により、抗原特異的な結合部位のみ残して、あとはヒトの免疫グロブリンの分子構造に置換したものであり、理論的にはヒトに投与しても異種蛋白として認識されない。よって、ヒト化抗体による治療は、異種蛋白であることによる副作用が出現せず、病態メカニズムに即した根本療法として期待されている。また、サイトカインそのものの補充療法は、遺伝子工学的手法により産生されるリコンビナントのサイトカインが用いられている。

(1) IL-4を標的とする治療

IL-4の中和抗体はマウスの喘息モデルで抗原吸入で誘発される気道収縮を抑制し、喘息治療に有効であると考えられた。IL-5の場合と同様に、ヒト化

表1 Cytokines involved in airway hyperresponsiveness

Enhancement
GM-CSF: 炎症細胞(好酸球, 好塩基球, 好中球, マクロファージ, 樹状細胞, 気道上皮細胞を含む)の活性化
IL-4, IL-5, IL-13: アレルギー性炎症の誘導
IL-1, TNF- α : 炎症反応の促進
TGF- β , IGF-I, PDGF: リモデリングの誘導
Inhibition
IL-12: Th1細胞の分化誘導
IL-10: アレルギー性炎症の抑制

図3 Humanized anti-IgE monoclonal antibody, i. e. omalizumab

抗IL-4抗体によるIL-4の抑制も考慮されているが、まだヒト化抗体による検討結果は報告されていない。

抗体の代わりに最初に試みられたのは、可溶性IL-4受容体(IL-4 R)で、吸入ステロイドを要する中等症の患者を対象に週1回の吸入投与が行われた。そして投与開始翌日から吸入ステロイドを中止し、喘息症状点数を指標に治療の効果を評価した。その結果、IL-4 Rを高用量投与された群で吸入ステロイド投与中と同じ点数を維持することが明らかとなり、有効性が証明された¹²⁾。将来性を示す結果と考えられたが、その後の検討では十分な効果が得られていないようである。

(2) IL-5を標的とする治療

成人喘息で欠かせないのが好酸球の集簇を特徴とする気道の炎症である。これまでの動物実験では、好酸球を活性化するサイトカインであるinterleukin-5(IL-5)の機能を中和抗体を投与して抑制する

図 4 Mechanisms of action of anti-IgE in allergic response

と、好酸球の増多と浸潤が抑制され、気道過敏性の亢進も抑制されることが報告された。また、IL-5 ノックアウトマウスでも同様の抑制がみられ、しかも IL-5 の機能が欠落するだけで他の形質発現には異常がみられなかった⁸⁾。

そこで、IL-5 に対する中和抗体を成人喘息の治療薬として用いることが検討され、ヒト化抗ヒト IL-5 抗体による臨床治験が実施された。その結果は予想に反するもので、好酸球は抑制されるが抗原吸入試験での 2 相性の喘息反応や気道過敏性の亢進は抑制されなかった¹³⁾。少なくともこの結果から、好酸球が 2 相性の喘息反応における遅発型反応を直接惹起している可能性はないことが示唆される。

好酸球のアレルギー疾患への関与には、炎症性の顆粒蛋白が大きな役割を演じていると考えられている。しかし、マウスの OA 感作の喘息モデルによる検討では、major basic protein (MBP) を欠損させても、気道過敏性や気道炎症所見には変化を認めていない¹⁴⁾。

すなわち、ヒト化抗ヒト IL-5 抗体による臨床治験の結果をきっかけに、好酸球が喘息の気道炎症を誘導する重要な炎症細胞であるという仮説に対する反証が示された。しかし、マウスの喘息モデルに IL-5 の antisense oligonucleotide を投与して好酸球性

の気道炎症と抗原吸入後の遅発型気道反応が抑制され、その効果は 17 日目まで持続したという報告もあり¹⁵⁾、今後の動向が注目される。

(3) IL-12 を標的とする治療

IL-12 は Th 1 細胞の分化を促し、Th 2 細胞の分化を抑制するサイトカインである。Th 2 が優位な喘息をはじめとするアレルギー疾患においては、IL-12 の投与が Th 1 と Th 2 の不均衡を是正するものと期待され、臨床治験が施行された。しかし、臨床的な効果として気道過敏性の改善はみられず、しかも IL-12 によるインターフェロン (interferon: IFN)- γ の遊離に由来するインフルエンザ様の症状が副作用としてみられ不成功に終わった¹⁶⁾。

2. ヒト化抗 IgE 抗体療法

IgE 抗体はアレルギー反応で中心的な役割を演じているが、IgE 抗体がマスト細胞をはじめとする細胞表面上の受容体に結合することを中和抗体により阻止すると、アレルギー反応が抑制されることが明らかとなった。

抗ヒト IgE 抗体 (抗 IgE) は、omalizumab とよばれ、ヒト IgE の C ϵ 3 に特異性を持つマウス単クローン抗体をベースとして、遺伝子組換え技術により抗原特異的な結合部位のみ残して、あとの 95% は

ヒトの IgG1 κ の分子構造に置換したものである (図 3). 抗 IgE は, C ϵ 3 と結合することにより, IgE がマスト細胞や好塩基球の表面にある Fc ϵ R1 に結合することをブロックする (図 4).

これまでに, 喘息と季節性鼻炎について, 欧米で臨床試験が実施された. 皮下注射で投与され, 抗 IgE の投与量は体重と血清 IgE 値とで決定される. 吸入ステロイドのベクロメタゾン (BDP: beclomethasone dipropionate) を減量しながら, 2 週あるいは 4 週ごとに 28 週間投与し, 喘息症状の悪化頻度を主評価項目として, 米国では 525 名, 欧州では 546 名の中等症～重症のアレルギー性喘息患者を対象に, 同一のプロトコールに従って実施された. その結果, 発作回数, β_2 刺激薬の頓用回数, 吸入ステロイドの用量いずれもが減少し, 有効と評価できる結果が米国¹⁷⁾と欧州¹⁸⁾の両方で得られた. また, 重要なことであるが, 副作用として重篤なものはみられず, その頻度はプラセボ群と同等であり, その有用性が示された.

しかし医療経済の観点からは, ヒト化抗 IgE 抗体は高価な薬物となるだけに, 投与の適応を十分に考えることが必要である. これまでの三つの臨床試験の結果を集めたメタアナリシスの結果では, 重症の喘息で有効性が高いことが示唆された¹⁹⁾. すなわち 1,412 例の中等症～重症のアレルギー性喘息が解析された. そのうち気管内挿管の既往や過去 1 年間に救急外来の受診, 入院, 集中治療室での治療などの経験がある 254 例のハイリスクグループでは, 症例全体での解析よりもさらに有意な改善効果を示した. 抗 IgE 抗体療法は, 現在わが国でも検討中であり, 欧米と同様に有効性が明らかとなれば, 新しい治療法として導入されるであろう.

3. その他のバイオ医薬

病態の分子レベルでの解明により, まだまだ多くのサイトカインや細胞表面分子を標的に, バイオ医薬の開発が進められている.

さらに, アレルギー疾患の根治を目指した免疫療法として, Th1 の活性化を視野に入れた DNA ワクチン療法や変異抗原や修飾抗原による減感作療法にも注目が集まり, その開発に精力が注がれている.

おわりに

アレルギー性疾患として成人喘息に焦点を絞り, 病態の解明とバイオ医薬について概説した. 本稿が成人喘息のバイオ医薬による標的療法の現状と今後の動向に関する情報源としてお役に立てば幸いである.

文 献

- 1) 大田 健: マスト細胞と好塩基球. 分子呼吸器病 4: 229-233, 2000.
- 2) Gauvreau GM, Lee JM, Watson RM, Irani AM, Schwartz LB et al.: Increased numbers of both airway basophils and mast cells in sputum after allergen inhalation challenge of atopic asthmatics. Am J Respir Crit Care Med 161: 1473-1478, 2000.
- 3) Kobayashi T, Miura T, Haba T, Sato M, Serizawa I et al.: An essential role of mast cells in the development of airway hyperresponsiveness in a murine asthma model. J Immunol 164: 3855-3861, 2000.
- 4) Kay AB: Asthma and inflammation. J Allergy Clin Immunol 87: 893-913, 1991.
- 5) Yamashita N, Tashimo H, Ishida H, Kaneko F, Nakano J et al.: Attenuation of airway hyperresponsiveness in a murine asthma model by neutralization of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). Cellular Immunol 219: 92-97, 2002.
- 6) Ohta K, Yamashita N, Tajima M, Miyasaka T, Nakano J et al.: Diesel exhaust particulate induces airway hyperresponsiveness in a murine model: Essential role of GM-CSF. J Allergy Clin Immunol 104: 1024-1030, 1999.
- 7) Corry DB, Folkesson HG, Warnock ML, Earle DJ, Matthay MA et al.: Interleukin 4, but not interleukin 5 or eosinophils is required in a murine model of acute airway hyperreactivity. J Exp Med 183: 109-117, 1996.
- 8) Foster PS, Hogan SP, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG: Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. J Exp Med 183: 195-201, 1996.
- 9) Grunig G, Warnock M, Wakil AE, Venkayya R, Brombacher F et al.: Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. Science 282: 2261-2263, 1998.
- 10) Shoji S, Ertl RF, Linder J, Koizumi S, Duckworth WC et al.: Bronchial epithelial cells respond to insulin and insulin-like growth factor-I as a chemoattractant. Am J Respir Cell Mol Biol 2: 553-557, 1990.
- 11) Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, Profita M, Chané P et al.: Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. Am J Respir Crit Care Med 158: 1945-1950, 1998.
- 12) Borish LC, Nelson HS, Lanz MJ, Claussen L, Whitmore JB et al.: Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized placebo-controlled trial. Am J Respir Crit Care Med 160: 1816-1823, 1999.
- 13) Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ et al.: Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatic response. Lancet 356: 2144-2148, 2000.

- 14) Denzler KL, Farmer SC, Crosby JR, Borchers M, Ciesl-
ewicz G et al. : Eosinophil major protein-1 does not con-
tribute to antigen-induced airway pathologies in mouse
models of asthma. *J Immunol* 165 : 5509-5517, 2000.
- 15) Karras JG, McGraw K, McKay RA, Cooper SR, Lerner D
et al. : Inhibition of antigen-induced eosinophilia and late
phase airway hyperresponsiveness by an IL-5 antisense
oligonucleotide in mouse models of asthma. *J Immunol*
164 : 5409-5415, 2000.
- 16) Bryan S, O'Connor B, Matti S, Leckie MJ, Kanabar V et
al. : Effects of recombinant human interleukin-12 on
eosinophils, airway hyperresponsive-ness, and the late
asthmatics response. *Lancet* 356 : 2149-2153, 2000.
- 17) Busse W, Corren J, Lanier BQ, McAlary M, Fowler-
Taylor A et al. : Omalizumab, anti-IgE recombinant
humanized monoclonal antibody, for the treatment of
severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 108 :
184-190, 2001.
- 18) Soler M, Matz J, Townley R, Buhl R, O'Brien J et al. :
The anti-IgE antibody omalizumab reduces exacerba-
tions and steroid requirement in allergic asthmatics. *Eur
Respir J* 18 : 254-261, 2001.
- 19) Holgate S, Bousquet J, Wenzel S, Fox H, Liu J et al. :
Efficacy of omalizumab, an anti-immunoglobulin E anti-
body, in patients with allergic asthma at high risk of
serious asthma-related morbidity and mortality. *Curr Med
Res Opin* 17 : 233-240, 2001.