総 説

特集：新しい生物学的製剤を用いた難治性免疫疾患の治療

生物学的製剤による喘息の治療

大 田 健

Treatment for asthma with biological agents

Ken OHTA

Teikyo University School of Medicine Division of Respiratory Medicine and Allergology

(Received January 10, 2004)

Key words——allergic response; airway inflammation; airway remodeling; cytokines; humanized anti-IgE antibody

はじめに

喘息は我が国の成人で約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。

本稿では喘息の病態と生物学的製剤による治療について最近の知見を踏まえて概説する。

I. 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。

a) 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¹⁾。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²⁾。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IFN- α 、IFN- γ 、TGF- β 、IL-8、IL-12、IL-18などが挙げられる³⁾。

b) 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上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⁴⁾。

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。例えば、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⁵⁾。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⁶⁾。

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気道上皮の剥離、②基底膜部の肥厚、③好酸

球の集簇であり（図1）、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分以内に始まり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時間で始まり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2）⁷⁾。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。我々は、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⁸⁾。抗原提示細胞（antigen presenting cells；APC）の1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、

図1 喘息の気道粘膜生検所見

図2 喘息の二相性反応と病態

IL-4, IL-5, IL-13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。

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。

a) 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おこり、③増殖した気道上皮細胞の線毛上皮細胞への分化が誘導されて気道の傷害に対する修復が完成する（図3）。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⁹⁾。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線毛上皮細胞への分化の過程には、TGF- β ¹⁰⁾やレチノイド（retinoids）¹¹⁾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

by Ken Ohta, M.D., Teikyo University School of Medicine, Tokyo, Japan

図3 気道リモデリングの分子機構

られている。

b) 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 (TIMP; tissue inhibitor of metalloproteinase) 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¹²⁾。

c) 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¹³⁾。

4. 好酸球の位置付け

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 (図 1)。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。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¹⁴⁾。そこで、IL-5 に対する中和抗体を喘息の治療薬として用いることが検討され、ヒト化抗 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のである¹⁵⁾。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、このモデルで観察される気道過敏性や気道炎症所見には変化を認めていない¹⁶⁾。すなわち、これまで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のである。

II. 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。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た。このなかで IL-5 についてはすでに言及したように、軽症の喘息患者を対象にヒト化抗 IL-5 抗体を投与した結果、好酸球は十分に抑制されたものの喘息に対する有効性がみられず、喘息における好酸球の役割について疑問を投げかけた¹⁵⁾。

a) 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-4R) 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-4R 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かとなり、有効性が証明された¹⁷⁾。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。

b) IL-12 を標的とする治療

IL-12 は Th1 細胞の分化を促し、Th2 細胞の分化を抑制するサイトカインである。Th2 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 Th1 と Th2 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¹⁸⁾。

2. ヒト化抗 IgE 抗体療法

a) ヒト化抗 IgE とは

米国の Genentech 社で 1991 年に作製されたヒト化抗 IgE 抗体 (抗 IgE) は, omalizumab と呼ばれる。ヒト IgE の受容体結合部位である Cε3 に特異性をも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 IgG1κ の分子構造に置換したものである (図 4)¹⁹⁾。抗 IgE は, Cε3 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 FcεRI に結合することを阻止する²⁰⁾。その結果, 抗原曝露が起こっても, IgE を介したマスト細胞や好塩基球での一連の反応が阻止され, アレルギー反応による症状の発現が抑制される (図 5)。

この抗 IgE は, すでにマスト細胞や好塩基球に固着している IgE および低親和性 IgE 受容体を介して好酸球などに結合している IgE とは反応しないため, 架橋形成してアレルギー反応を惹起する心配がないことが, 治療上有利な特徴である。さらに, B 細胞上の膜結合型 IgE とは反応し, IgE の産生を

抑制する。またフリーの IgE との反応では, IgE-抗 IgE 免疫複合体を産生するが, IgE-抗 IgE 複合体は少量で可溶性であり, 補体結合能がなく炎症や血清病を惹起しない。しかもフリーの IgE を介してアレルゲンを捕捉し, アレルゲンがマスト細胞上の IgE と反応するのを阻害する。受容体に未結合のフリーの IgE が抗 IgE と結合するために IgE と結合した状態の受容体が減少すると, 高親和性 IgE 受容体発現の抑制効果も期待できる²¹⁾。

b) 抗 IgE の臨床効果

喘息と季節性鼻炎について, 欧米で臨床治験が実施された。皮下注射で投与され, 現在までのところ第 III 相が終了し, 成人喘息の結果は論文として最近報告された。抗 IgE の投与量は体重と血清 IgE で決定し, 吸入ステロイド BDP を減量しながら, 2 週あるいは 4 週毎に 28 週間投与し, 喘息症状の悪化頻度を主評価項目として検討している。米国では 525 名, 欧州では 546 名の重症のアレルギー性喘息患者を対象に同一のプロトコ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得られた²²⁾。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った。

これまでの治験の結果は, ヒト化抗 IgE 抗体療法が, アレルギー疾患の新しい治療法として非常に有望であることを示唆している。ヒト化抗 IgE 抗体療法は, オーストラリアではすでに認可されており, 今後わが国でも導入される可能性が高い。

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ろう。そこで, 喘息の治療における位置付けを明らかにするために, これまでに共通のプロトコルで組まれた 3 つの臨床治験の結果を集めてメタアナリシスが行われ報告されている²³⁾。解析された症例は, 1412 例の中等症あるいは重症のアレルギー性喘息である。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喘息のハイリスクグループに, 254 例が該当した。解析の結果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に改善した。したがって, 抗 IgE 抗体療法は, ハイリスクグループに属する重症の患者群で有用であることが示唆された。

図 4 Omalizumab Characteristics

図 5 Mechanisms of Action of anti-IgE

3. その他の動向

サイトカインとしては、IL-10、IL-13 や TNF- α を標的とする治療法の検討が進められている。また、アレルギー性喘息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、変異抗原や修飾抗原による減感作療法などにも注目が集まり、その開発に精力が注がれている。基礎研究の結果を踏まえると、それぞれ成功することが期待されるが、これまでの IL-4、IL-5、IL-12 などの結果をみると楽観視できない状況にある。

おわりに

喘息の分野における病態の解明はめざましいものがあり、生物学的製剤療法の標的候補が次々と出現している。しかし、少なくともこれまでの検討では、ヒト化抗 IgE 抗体を用いた抗 IgE 療法が臨床的に有効性を示し、製品化されたに止まっている。いずれにせよ、生物学的製剤を用いた治療戦略は、根治につながる治療法を開発する可能性を秘めており、今後の発展が期待される。本稿が、喘息における新しい生物学的製剤治療の動向を理解する上で、少しでもお役に立てば幸いである。

文 献

- 1) Emson C, et al. : Interleukin (IL)-4-independent induction of immunoglobulin (Ig) E, and perturbation of T cell development in transgenic mice expressing IL-13. *J Exp Med* **188** : 399-404, 1998.
- 2) Iciek LA, et al. : CD40 cross-linking induces Ig epsilon germline transcripts in B cells via activation of NF-kappaB : synergy with IL-4 induction. *J Immunol* **158** : 4769-4779, 1997.
- 3) Romagnani S : The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today* **18** : 263-266, 1997.
- 4) 大田 健 : マスト細胞と好塩基球. 分子呼吸器病 **4** : 229-233, 2000.
- 5) Gauvreau GM, 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.
- 6) Kobayashi T, 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.
- 7) Kay AB : Asthma and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* **87** : 893-913, 1991.
- 8) Yamashita N, 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.
- 9) Shoji S, 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.
- 10) Masui T, et al. : Type β transforming growth factor is the primary differentiation inducing serum factor for normal human bronchial epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **83** : 2438-2442, 1986.
- 11) Jetten AM : Multi-step process of squamous differentiation of tracheobronchial epithelial cells in vitro. Analogy with epidermal differentiation. *Environ Health Perspect* **80** : 149-160, 1989.
- 12) Vignola AM, et al. : Sputum MP-9/tissue IMP-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* **158** : 1945-1950, 1998.
- 13) Panettieri RA, et al. : Effects of LTD4 on human airway smooth muscle cell proliferation, matrix expression, and contraction In vitro : differential sensitivity to cysteinyl leukotriene receptor antagonists. *Am J Respir Cell Mol Biol* **19** : 453-461, 1998.
- 14) Foster P, et al. : Interleukin-5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. *J Exp Med* **183** : 195-201, 1996.
- 15) Leckie MJ, et al. : Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* **356** : 2144-2148, 2000.
- 16) Denzler KL, et al. : Eosinophil major protein-1 does not contribute to antigen-induced airway pathologies in mouse models of asthma. *J Immunol* **165** : 5509-5517, 2000.
- 17) Borish LC, 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.
- 18) Bryan S, et al. : Effects of recombinant human interleukin-12 on eosinophils, airway hyperresponsiveness, and the late asthmatics response. *Lancet* **356** : 2149-2153, 2000.

- 19) Presta LG, et al. Humanization of an antibody directed against IgE. *J Immunol* **151** : 2623–2632, 1993.
- 20) Shields RL, et al. : Inhibition of allergic reactions with antibodies to IgE. *Int Arch Allergy Immunol* **107** : 308–312, 1995.
- 21) MacGlashan DWJ, et al. : Down-regulation of FcεRI expression on human basophils during in vivo treatment of atopic patients with anti-IgE antibody. *J Immunol* **158** : 1438–1445, 1997.
- 22) Busse W, et al. : Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* **108** : 184–190, 2001.
- 23) Holgate S, et al. : Efficacy of omalizumab, an anti-immunoglobulin E antibody, in patients with allergic asthma at high risk of serious asthma-related morbidity and mortality. *Curr Med Res Opin* **17** : 233–240, 2001.