気道杯細胞分泌に対する IL-8 の 影響と好中球エラスターゼの関与

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION
rapid communication

玉置 淳・武山 廉・多賀谷悦子・
千代谷厚・金野公郎*

Effect of IL-8 on airway goblet cell secretion : a role of neutrophil elastase

To determine the effect of the cytokine interleukin-8 (IL-8) on goblet cell secretion and a possible involvement of neutrophil elastase, we studied guinea pig trachea by a semi-quantitative method. Intravenously administered IL-8 decreased mucus score in a dose-dependent manner, indicating an increase in goblet cell secretion. Pretreatment of animals with ONO-5046, a specific inhibitor of neutrophil elastase, dose-dependently inhibited IL-8-induced goblet cell secretion.

These results suggest that IL-8 stimulates airway goblet cell secretion and that neutrophil elastase may play a role in this effect.

Jun Tamaoki・Kiyoshi Takeyama・
Etsuko Tagaya・Atsushi Chiyotani・
Kimio Konno

key words : goblet cell, IL-8, neutrophil elastase

近年、気道炎症病態の形成におけるサイトカインの役割が指摘されている¹⁾。特に血管内皮細胞や気道上皮細胞より産生されるインターロイキン-8 (IL-8) は、好中球を遊走させ多彩なメディエーターを遊離させるが²⁾、気道分泌系に対する効果は不明である。よって本研究では、気道杯細胞の分泌に対する IL-8 の影響とその作用機序を明らかにすることを目的とし、以下の実験を行った。

方 法

(1) プロトコール

Dunkin-Hartley 系雄モルモット (体重 250 ~ 300 g) を麻酔し、外頸静脈より IL-8 (human

図 1 Time course of the effect of IL-8 on goblet cell secretion in guinea pig trachea

IL-8 (5 µg/kg, closed circles) or saline (open circles) was intravenously administered at time 0, and mucus score was assessed subsequently. Data are means ± SE; n = 12 for each point. *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, significantly different from corresponding control values.

recombinant, 5 µg/kg, 金沢大学がん研究所, 松島綱治先生より供与) を投与したあと、経時的に気管を摘出した。また、IL-8 の用量依存性を検討するため、0.1 ~ 10 µg/kg の各量を静注し、15 分後に組織を摘出し杯細胞分泌の解析に供した。

さらに、以上の効果における好中球エラスターゼの関与を検討するため、好中球エラスターゼ選択的阻害薬である ONO-5046³⁾ を投与し (1 ~ 30 mg/kg, i. v.), 5 分後に IL-8 (5 µg/kg, i. v.) を投与した際の杯細胞分泌を評価した。

(2) 杯細胞分泌の評価

気管粘膜切片に PAS/Alcian blue の二重染色を施し、mucus score を用いて分泌能を評価した。すなわち、杯細胞内で染色された顆粒の縦径が管腔内から基底膜までの距離の 1/3 以内のものを grade 1, 1/3 を超えるものを grade 2 とし、各個体とも気管分岐部から頭側にかけて、光学顕微鏡下に 400 倍の倍率で 20 視野にわたり左右両側について計測した。ついで、grade 1, grade 2 の数をそれぞれ n_1 , n_2 とし、 $(1 \times n_1) + (2 \times n_2)$ の計算式により mucus score を算定した⁴⁾。

成 績

IL-8 (5 µg/kg) 投与群では、生理食塩水を投与

* First Department of Medicine, Tokyo Women's Medical College 東京女子医科大学第一内科学教室

図2 Dose-dependent effect of IL-8 on goblet cell secretion

Various dose of IL-8 was administered and, 15 min later, mucus score was determined. Data are means $\pm$ SE; n=9 for each column. *P<0.05, ***P<0.001, significantly different from saline-injected control response(C).

図3 Effect of ONO-5046 on the IL-8(5 µg/kg)-induced stimulation of goblet cell secretion

Data are means $\pm$ SE; n=9 for each point. ***P<0.001, significantly different from saline-injected control response (C). †P<0.05, ††P<0.01, significantly different from the response to IL-8 alone.

した対照群に比して、投与5分後に mucus score の低下が認められ(599 $\pm$ 48 $\rightarrow$ 261 $\pm$ 102, P<0.05, n=12), 10分後にプラトーに達した(図1)。また、以上の効果は用量依存的であった(図2)。

IL-8 による mucus score の低下は、ONO-5046 の前投与により用量依存的に抑制された。最大抑制率は、30 mg/kg の ONO-5046 投与時におよそ50%であった(図3)。

考 察

近年、気道炎症病態の形成における IL-8 の関与が指摘されており¹⁾、その機序として好中球の集積と活性化が想定されている²⁾。本研究では、IL-8 の投与により mucus score は急速にかつ用量依存的に低下したことより、本サイトカインによる杯分泌亢進が示唆された。また、以上の効果が ONO-5046 により抑制されたことから、少なくとも好中球エラスターゼが関与しているものと思われた。従来、IL-8 は、好中球遊走活性のみならず同細胞からの多彩なメディエーターの遊離を促進させることが知られており²⁾、また、好中球エラスターゼは気道分泌を刺激することも報告されている⁵⁾。

したがって、本実験系においても同様の機序の存在が推察されたが、ONO-5046 の抑制効果が部分的であったことより、活性酸素やアラキドン酸代謝産物など好中球由来で気道分泌を促進させる他のメディエーターの関与も否定できず、今後の検討課題と思われた。

文 献

- 1) Richman-Eisenstat, J., Jorens, P. G., Ueki, I., Nadel, J. A.: Interleukin-8 and neutrophil elastase levels in cystic fibrosis and bronchiectasis sputum. *Circ. Res.* 40: 237A, 1992.
- 2) Baggiolini, M., Walz, A., Kunkel, S. L.: Neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J. Clin. Invest.* 84: 1045-1049, 1989.
- 3) Kawabata, K., Suzuki, M., Sugitani, M., Imaki, K., Toda, M., Miyamoto, T.: ONO-5046, a novel inhibitor of human neutrophil elastase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 177: 814-820, 1991.
- 4) Tokuyama, K., Kuo, H.-P., Rohde, J. A. L., Barnes, P. J., Rogers, D. F.: Neural control of goblet cell secretion in guinea pig airways. *Am. J. Physiol.* 259: L108-L115, 1990.
- 5) Schuster, A., Ueki, I., Nadel, J. A.: Neutrophil elastase stimulates submucosal gland secretion that is inhibited by ICI 200, 355. *Am. J. Physiol.* 262: L86-L91, 1992.