炎症反応における好酸球反応の調節機構

平島光臣・田代和弘・坂田研明*

Regulation of eosinophilotaxis in allergic inflammation
 Mitsuomi Hirasima・Kazuhiro Tashiro・
 Kemmei Sakata*

好酸球は多くのアレルギー性疾患において末梢血や病変局所に増加することがよく知られている。さて、好酸球がその機能を発揮するためには、病変局所に動員される必要がある。炎症局所における白血球の動員（遊出）は、血管透過性亢進より遅れて出現し、作用物質、すなわち遊走因子は血管透過因子とは異なると予想される。さて、今回はアレルギー炎症局所から抽出された好酸球遊走因子を中心として、アレルギー炎症における好酸球反応、特にその遅延反応の調節機構について解析をすすめたい。

アレルギー炎症局所から抽出された好酸球遊走因子

好酸球反応のモデルとしてDNP-回虫エキ免疫モデルに惹起した皮膚アレルギー炎症局所の好酸球反応を経時的に観察すると、好酸球反応は2相性、すなわち、6時間にピークを示す弱く短時間の早期反応と、24時間にピークを示す強く長く持続する遅延反応を示した（図1）。早期反応局所抽出液からは分子量約300の耐熱性透析性の遊走因子、早期因子が分離された。この因子はカラムクロマト上の性質や細胞肥満細胞の減少と早期反応の経時変化が一致することから、肥満細胞由来のペプチド、ECF-Aと酷似する物質と考えられた¹⁾。

一方、遅延反応局所皮膚抽出液からは、2つの分子量は約7万と類似するが明らかに抗原性の異なる好酸球遊走因子、すなわちA因子、B因子が分離された^{2,3)}。また、これら2つの遊走因子の生成機構は異なっていると予想された。すなわち、上記抗原で感作した動物の腹腔滲出細胞をトランスファー後、同一抗原で惹起した炎症局所からはA因子が、一方、抗血清をトランスファー後、惹起した炎症局所からはB因子が、それぞれ分離された。さらに、DNP-回虫エキ感作動物の腹腔滲出細胞を*in vitro*で抗原刺激すると分子量約7万の好酸球遊走因子が生成、遊離された。この遊走活性は抗A因子抗体で完全に吸収されることから炎症局所から分離されたA

図1 好酸球反応におけるアジュバントの影響

DNP-回虫エキス惹起アレルギー性炎症における好酸球反応。

用いたアジュバントによって好酸球反応は影響を受ける。

○完全フロイントアジュバント、●百日咳死菌ワクチン、■完全フロイントアジュバント+百日咳死菌ワクチン

因子と同一か、少なくとも酷似する物質と考えられた。この遊走因子の産生細胞は滲出細胞中のリンパ球、おそらくはT細胞と予想され、A因子はT細胞から産生されるリンホカインと考えられた⁴⁾。また、A因子は抗原刺激のみならずマイトゲン、たとえばコンカナバリン刺激によっても産生されることが明らかにされた⁵⁾。

一方、B因子の生成は抗血清のトランスファーに引き続き抗原刺激によって惹起されるが、抗血清中のトランスファー活性物質は抗ハプテンカラム、および抗IgG1抗体カラムによって吸収されることから抗ハプテンIgG1抗体と考えられた。さらに、B因子の産生はトランスファーの条件に左右されると考えられた。すなわち、血清を経静脈的にトランスファー後、抗原を皮内注射して惹起された炎症局所からはB因子が分離されたが、抗血清を皮内にトランスファー後、抗原を静脈注射して惹起された炎症局所からはB因子は分離されず、補体第5成分と共通抗原性を示す分子量1.5万の遊走因子が分離された。このことから、いままで同じ炎症として認識されてきた受身皮膚アナフィラキシー反応は少なくとも好酸球反応に関しては、トランスファーの条件により異なった炎症であると考えられた⁶⁾。

さて、アジュバントによる好酸球反応、特にA因子に対する特異的抑制因子の産生とA因子産生増強因子の産

* Department of Pathology, Kumamoto University
 Medical School 熊本大学医学部第一病理学教室

生による調節について述べていきたい。

好酸球遊走抑制因子

百日咳死菌ワクチン (Bp) をアジュバントとして感作した動物の炎症における好酸球反応は増強されたのに反し、完全フロイントアジュバント (CFA) 単独をアジュバントとして用いると、好酸球反応、特に遅延反応は著明に抑制された (図 1)。この遅延反応の抑制は、遊走因子産生の抑制によらず、遊走抑制因子が局所に遊走因子とともに共存することによって証明された。すなわち、皮膚抽出液は遊走活性は示さなかったが、Con A-セファロースカラムで非吸着、および吸着分画に分別後、それぞれの分画の遊走活性を測定すると、吸着分画に好酸球遊走活性が出現し、さらに非吸着分画で好酸球をあらかじめ処置すると吸着分画に対して好酸球は遊走を示さなくなることから、この非吸着分画には好酸球に作用し、好酸球の吸着分画に対する遊走を抑制する物質が存在すると考えられた。なお、この抑制は分子量約 7 万と約 1～2 万の物質によることが明らかにされた⁷⁾。この抑制因子は、炎症局所に限らず、CFA を処置した動物の血清中にも処置後 5 日目をピークとして抑制因子が出現する。さらに、A 因子、B 因子に対する好酸球の遊走能に及ぼす影響を調べると、B 因子に対する遊走はまったく影響を受けなかったのに対し、A 因子に対するそれは強く抑制されたこと、さらに、この抑制因子の活性は好中球やマクロファージによっては吸収されず、好酸球によってのみ吸収されたことから、この抑制因子のレセプターは好酸球膜上に存在し、A 因子による遊走を選択的に抑制すると考えられた⁸⁾。さらに、この物質は T 細胞から産生されるリンホカインの一種と予想された。すなわち、CFA 処置動物の脾細胞、または、その T 細胞分画を血清の非存在下で培養するとその培養上清中に抑制因子が産生、遊離され、さらにその産生は細胞を蛋白合成阻害剤で処置すると抑制される。しかしながら、通常のリンホカインとは異なり、その産生には二次的な抗原刺激は必要とされない⁹⁾。さて、これら 2 つの抑制因子はクロマトフォーカシングカラム上でも異なった分画に溶出されたが、ともにトリプシンやニューラミニダーゼ処理により失活することから、おそらく糖蛋白と考えられた。また、PNA および LPA レクチンカラムにこの活性物質が吸着されること、さらには好酸球をあらかじめガラクトースまたは、シアル酸で前処理するとこれらの抑制効果が阻害されることから、抑制因子はガラクトースやシアル酸を多く含み、さらにこれらの糖鎖が抑制物質による生物活性に非常に重要な役割を果たしていると予想された¹⁰⁾。

A 因子産生の増強因子

これまで遊走抑制因子と遊走因子による好酸球反応の

調節機構についてわれわれの研究成果を中心に話をすすめてきたが、この項では遊走因子、特に遊走性リンホカインである A 因子の産生の制御による好酸球反応の調節について述べていきたい。すなわち、好酸球反応の惹起に適したアジュバント、たとえば Bp や Alum 処置動物の脾細胞を Con A で刺激すると、培養上清中に、正常動物脾細胞に比較して著明な好酸球遊走因子を産生する。この遊走因子産生の増強は同脾細胞マクロファージから産生される、それ自体は遊走活性を示さないが、Con A 刺激リンパ球に作用し、リンパ球による好酸球遊走因子産生を増強する物質によると考えられた。すなわち、上記培養上清で脾細胞を前処置後、Con A で刺激すると細胞による A 因子の産生が選択的に増強される。事実、この増強因子はリンパ球によるマクロファージ遊走因子の産生にはなんら影響を与えなかった。この活性は分子量 1～2 万と 5～7 万の分画に認められた¹¹⁾。なお、この物質はマクロファージを Con A で刺激することによっても産生されることが明らかにされた¹²⁾。現在、この増強因子による好酸球遊走因子選択的増強作用について解析をすすめている。

おわりに

好酸球反応に関与した好酸球遊走因子、特に遊走性リンホカイン (A 因子) を中心としてアレルギー炎症における好酸球反応の調節について話題をすすめてきた。炎症はその種類によって浸潤する細胞や、形態または機能的な面でそれぞれ規定されることはよく知られているが、その決定要因として最初にどのような刺激がマクロファージに加わったかということが非常に重要であると考えられる。これからの研究方向として、炎症における遊走因子の多様性や、それぞれの遊走因子の生成に関する調節機構など、すべての面から考察を加えるという立体的な立場から炎症を解明することが重要であると思われる。

文 献

- 1) Hirashima, M., Hayashi, H.: The mediation of tissue eosinophilia in hypersensitivity reaction. I. Isolation of two different chemotactic factors from DNP-ascaris extract-induced skin lesion in guinea-pig. *Immunology* 30: 203-212, 1976.
- 2) Hirashima, M., Honda, M., Hayashi, H.: The mediation of tissue eosinophilia in hypersensitivity reaction. II. Separation of a delayed eosinophil chemotactic factor from macrophage chemotactic factors. *Immunology* 31: 263-271, 1976.
- 3) Hirotsu, Y., Hirashima, M., Hayashi, H.: The mediation of tissue eosinophilia in hypersensitivity reaction. III. Separation of two different eosinophil chemotactic factors and transfer of

- those factors by serum or cells from sensitized guinea pig. *Immunology* 48: 59-67, 1983.
- 4) Hirashima, M., Hirotsu, Y., Hayashi, H.: The mediation of tissue eosinophilia in hypersensitivity reaction. IV. Production of delayed eosinophil chemotactic factor- α by peritoneal exudate cells from sensitized guinea pigs *in vitro*. *Immunology* 48: 69-77, 1983.
 - 5) Hirashima, M., Tashiro, K., Sakata, K., Hirashima, M.: Isolation of an eosinophil chemotactic lymphokine as a natural mediator from concanavalin A-induced skin reaction sites in guinea pigs. *Clin. Exp. Immunol.* 1984. (in press)
 - 6) Hirashima, M., Hirotsu, Y., Tashiro, K., Hayashi, H.: The mediation of tissue eosinophilia in hypersensitivity reaction. V. Comparative study of tissue eosinophilia in the skin lesions of local and systemic passive cutaneous anaphylactic reactions. *Immunology* 50: 85-91, 1983.
 - 7) Hirashima, M., Tashiro, K., Hayashi, H.: The regulation of tissue eosinophilia. I. Coexistence of eosinophil chemotactic factor and inhibitor in allergic skin lesions of complete Freund's adjuvant treated guinea pigs. *Immunology* 51: 441-450, 1984.
 - 8) Hirashima, M., Tashiro, K., Hayashi, H.: The appearance of eosinophil-directed chemotactic inhibitory factor in the serum of complete Freund's adjuvant-treated guinea pigs. *Cell. Immunol.* 1984. (in press)
 - 9) Tashiro, K., Sakata, K., Hirashima, M., Hayashi, H.: The regulation of tissue eosinophilia. III. *In vitro* production of eosinophil-directed chemotactic inhibitor factor by T lymphocytes of complete Freund's adjuvant-treated guinea pigs. *Immunology* 1984(submitted)
 - 10) Tashiro, K., Sakata, K., Hirashima, M., Hayashi, H.: The regulation of tissue eosinophilia. IV. Partial characterization of T lymphocyte-derived eosinophil-directed chemotactic inhibitory factor (ECIF) from complete Freund's adjuvant-treated guinea pigs. *Immunology* 1984. (submitted)
 - 11) Sakata, K., Tashiro, K., Hirashima, M., Hayashi, H.: The regulatory role of adjuvants on inflammatory leucocyte reaction. I. Selective potentiation of eosinophil chemotactic lymphokine production by a macrophage product of alum hydroxy gel-treated guinea-pigs. *Immunology* 1984. (submitted)
 - 12) Hirashima, M., Tashiro, K., Sakata, K., Yoshimura, T., Hayashi, H.: Difference in requirement of macrophage products for Concanavalin A-induced production of eosinophil chemotactic factor and macrophage chemotactic factor from guinea pig lymphocytes *in vitro*. *J. Immunol.* 1984. (in press)