アスピリンによるマスト細胞活性化調節機構

落 合 豊 子

日本大学医学部皮膚科学系皮膚科学分野

I. 研究の背景と目的

Bayer 社がアセチルサリチル酸に“アスピリン”という商標をつけて登録し、販売を開始して 100 年以上が過ぎた。アスピリンは非ステロイド系消炎鎮痛薬として多用されているばかりでなく、低用量の内服が脳血管障害、虚血性心疾患の予防に有効であるとして近年ますます使用量が増加している。さらに 2007 年 Flossmann ら¹⁾ は約 5 年間の 300 mg/日以上の内服が結腸直腸癌の一次予防に有効であることを示している。このようにアスピリンは入れ替わりの激しい医薬品の中で珍しく“長寿”の薬の 1 つである。

アスピリンの作用機序については 1971 年 Vane のグループによって cyclooxygenase (COX) 阻害理論が提唱された²⁾。アラキドン酸代謝では、細胞膜のリン脂質から遊離されたアラキドン酸からプロスタグランジン (PG) が生合成されるが、COX はそこに関わる律速酵素として働く。PG は強力な炎症を引き起こす chemical mediator であるため、COX を阻害することによってアスピリンは抗炎症作用を示すと考える説である。しかし、アスピリンの作用機序を考えていく上で、COX の阻害では説明のつかない様々な病態があることがわかってきた。その 1 つがアスピリン不耐症^{3,4)} である。本疾患ではア

スピリンを投与することによって気管支喘息や発疹などの過敏症状が誘発され、cysteinyl-leukotriene (cys-LTs) が生体内に過剰産生される。この現象については、マスト細胞が中心的な役割を果たしていることが示唆されており、アスピリンが COX 活性を阻害することによってアラキドン酸代謝反応のうち PG 産生経路が選択的に抑制され、lipoxygenase を介する cys-LTs 産生に傾くためと説明されている。しかしアスピリン不耐症患者ではアスピリンを内服しない時にも尿中の LTE4 値が高いことが示されており、アスピリン不耐症の病態は COX 阻害では説明のつかない研究課題となっている。

さらに皮膚科領域では食物依存性アスピリン誘発性アナフィラキシー^{5,6)} の発症機序が未解決の問題となっている。これは患者が特異的 IgE を持つ食物 (特に小麦や甲殻類) を摂取する前後にアスピリンを内服するとアナフィラキシーを起こす疾患で、アスピリン単独に対する特異的 IgE は陰性である。本症では、アスピリンの作用機序として COX 阻害とは異なる機序が考えられ、IgE 非依存的なアスピリンがマスト細胞に働き、即時型アレルギーの増強因子として作用することが推測されている。

今回著者は、日本大学大学院分子細胞免疫・アレルギー分野と共同研究を行い、IgE 非依存的なアスピリンが、マスト細胞の抗原に対する応答をどのように修飾す

低濃度のアスピリン (0.1-0.3 mM) は IgE 依存症 LTC₄ 産生を増強させ
高濃度のアスピリン (>1 mM) は LTC₄ 産生を抑制する

Togo K, Ochiai T et al. *Clinical Immunology* 2009 in press

Fig. 1 マスト細胞の抗原刺激による LTC₄ 産生に対するアスピリンの効果

るかについての研究を 2005 年から開始し、アスピリンのマスト細胞に対する新たな作用機序を解明したので、ここにその概要を述べる。

II. アスピリンの新たな作用機序^{7,8)}

マスト細胞(ラットマスト細胞株 RBL-2H3 細胞, マウス骨髄由来マスト細胞 BMMCc) の抗原刺激による leukotriene (LT) 産生に対するアスピリンの影響を調べた (Fig. 1) . その結果, 低濃度のアスピリン (0.1–0.3 mM) によって IgE 依存性の LT 産生が増強されることをみ出した. このアスピリン濃度はアスピリン不耐症や食物依存性アスピリン誘発性アナフィラキシーを発症する血中濃度とほぼ等しいと考えられる. また細胞毒性を示さない高濃度のアスピリン (>1 mM) は, 濃度依存的に LT 産生を抑制するという 2 相性の効果を示した. アセチル基をもたないアスピリンの代謝産物であるサリチル酸でも同様の結果を示したことから, マスト細胞に対するアスピリンの効果は COX 活性の阻害によるものではないことが推察された.

次に, マスト細胞における LT 産生シグナル伝達経路 (Fig. 2) に対するアスピリンの作用を解析した. 低濃度のアスピリンは, LT 産生に必要な細胞膜からのアラキドン酸遊離を調節する細胞質型 phospholipaseA2 (cPLA₂) の活性化を, LT 産生と同様に増強した. cPLA₂ の活性化に必要なシグナル経路 MAPKs の活性化に対するアスピリンの作用を調べたところ, ERK1/2 と p38MAPK の活性化は IgE を介する LT 産生には関与するが, アスピリンはどちらの活性も増強しないことがわかった. 以上から, アスピリンによる LT 産生の増強作用は MAPKs 活性によらない別の cPLA₂ の活性化経路を介することが示唆された.

マスト細胞の LT 産生に関するもう 1 つの重要な制御因子として細胞内カルシウム濃度の上昇があげられる (Fig. 2) . 細胞外カルシウムの涸渇が完全に LT 産生を抑制することから細胞外カルシウム流入が LT 産生に必須であることがわかる. 現在のところマスト細胞においては, 小胞体のカルシウムストアの涸渇によって活性化される CRAC チャンネルを介するカルシウム応答が LTC₄ 産生に必要であることが Chang ら⁹⁾ によって示されている. そこで抗原刺激によるカルシウム応答に対するアスピリンの作用を調べたところ, LT 産生と同様に低濃度のアスピリンはカルシウム流入を増強し, 高濃度では抑制した (Fig. 3) . ところがその他の実験結果から, アスピリンは小胞体からのカルシウム放出を低濃度から濃度依存的に抑制していること, 低濃度でも CRAC チャンネルの活性化を抑制することがわかり, アスピリンはマスト細胞において CRAC チャンネルとは別のカルシウム流入経路を増強して LT 産生を増強している可能性が推測された.

文献 8) より改変

Fig. 2 マスト細胞における LTC₄ 産生シグナル伝達経路

低濃度 (0.1–0.3 mM) のアスピリンはカルシウムの流入を増強する. 高濃度 (>1 mM) では抑制する

Togo K, Ochiai T et al. *Clinical Immunology* 2009 in press

Fig. 3 抗原刺激によるカルシウム応答に対するアスピリンの影響

2008 年, 共同研究者の Suzuki ら¹⁰⁾ は, マスト細胞を抗原刺激するとカルシウム非依存性カルシウム流入経路が活性化されることをみ出した. このカルシウム流入には複数のチャンネルの関与が示唆されるが, そのうちの 1 つは薬理学的に興奮性細胞に存在し, dihydropyridine (DHP) 感受性を示す L 型カルシウムチャンネル (L-type Ca²⁺ channels LTCCs) に類似することを明らかにした. LTCCs は電位依存性カルシウムチャンネルのなかで開口時間の長いタイプで CRAC チャンネルよりもはるかに大量のカルシウム流入をおこすことができる. またマスト細胞の LTCCs 類似チャンネルは IgE を介して活性化され, サイトカイン産生を制御することもわかった. そこでアスピリンによる DHP 感受性チャンネルを介した LT 産生経路の活性化を調べたところ, 低濃度のアスピリンは DHP 感受性チャンネルを選択的に活性化して

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

低濃度のアスピリンはDHP感受性チャネルを選択的に活性化しIgEを介するマスト細胞のLTC₄産生を増強する

Togo K, Ochiai T et al. *Clin Immunol* 2009 in press

Fig. 4 アスピリンによるDHP感受性チャネルを介したLTC₄産生経路の活性化

文献 11) より改変

Fig. 5 マスト細胞のLTC₄産生経路とアスピリンの作用機構

IgEを介するマスト細胞のLT産生を増強していることがわかった (Fig. 4) . Fig. 5 に Suzuki らによりマスト細胞にみつけれられた新しいLT産生経路と、今回の著者の研究で明らかになったこの産生経路に対するアスピリンの作用機構のシェーマを示す .

III. 結語と今後の展望

今回の研究から著者とその研究グループは、COX 活性阻害とは全く異なった、新しいアスピリンのマスト細胞に対する作用機構— IgE 非依存性アスピリンがカルシウム応答を調節することにより IgE を介するマスト細胞の活性化を修飾する— ことをみいだした . 今後これらの

研究をさらに発展させ、アスピリン不耐症や食物依存性アスピリン誘発性アナフィラキシーなど、アスピリンが即時型アレルギー反応を増悪化させる分子機構を解明していく予定である .

謝辞 稿を終えるに当たり共同研究者の日本大学大学院分子細胞免疫・アレルギー分野 鈴木良弘博士、吉丸哲郎博士、井上寿男先生、羅 智靖教授、日本大学医学部皮膚科学系 (駿河台) 東郷香奈先生に深謝いたします .

本研究の一部は、平成 19-20 年度科学研究費補助金基盤研究 C (課題番号 19591330 研究代表 落合豊子) と平成 18-19 年度日本大学医学部創立 50 周年記念研究奨励金共同研究の補助を受けた .

文 献

- 1) Flossmann E, Rothwell PM. Effect of aspirin on long-term risk of colorectal cancer: consistent evidence from randomized and observational studies. *Lancet* 2007; **369**: 60747-60748.
- 2) Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971; **231**: 232-235.
- 3) Mastalerz L, Setkowicz M, Sanak M, et al. Hypersensitivity to aspirin: Common eicosanoid alterations in urticaria and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; **113**: 771-775.
- 4) Stevenson DD, Szczeklik A. Clinical and pathologic perspectives on aspirin sensitivity and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; **118**: 773-786.
- 5) Harada S, Horikawa T, Ashida M, et al. Aspirin enhances the induction of type I allergic symptoms when combined with food and exercise in patients with food-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Br J Dermatol* 2001; **145**: 336-339.
- 6) Aihara M, Miyazawa M, Osuna H, et al. Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: influence of concurrent aspirin administration on skin testing and provocation. *Br J Dermatol* 2002; **146**: 466-472.
- 7) Togo K, Suzuki Y, Yoshimaru T, et al. Aspirin and salicylates modulate IgE-mediated leukotriene secretion in mast cells through a dihydropyridine receptor-mediated Ca²⁺ influx. *Clin Immunol* 2009 In press.
- 8) 東郷香奈, 鈴木良弘, 落合豊子, 他 . アスピリンによるマスト細胞ロイコトリエン生成亢進の機構 . 臨床免疫・アレルギー, 2008; **49** (6): 633-637.
- 9) Chang WC, Nelson C, Parekh AB. Ca²⁺ influx through CRAC channels activates cytosolic phospholipase A₂, Leukotriene C₄ secretion, and expression of c-fos through ERK-dependent and independent pathways in mast cells. *FASEB J* 2006; **20**: 2381-2383.
- 10) Suzuki Y, Yoshimaru T, Inoue T, et al. The high-affinity immunoglobulin E receptor (Fcε RI) regulates mitochondrial calcium influx in mast cells: role of the Fcε RIβ chain immunoreceptor tyrosine-based activation motif. *Biochem Pharmacol* 2008; **75**: 1492-1503.
- 11) 鈴木良弘, 羅 智靖 . マスト細胞によるアレルギー性炎症の増悪化—カルシウムシグナルから見てきたマスト細胞活性化機構の新たな視点— . 炎症と免疫, 2008; **16** (5): 487-492.

氏名：落合 豊子（おちあい とよこ）

所属：日本大学医学部皮膚科学系皮膚科学分野

専門領域：皮膚アレルギー学，皮膚腫瘍学，皮膚病理組織学

抱負：このたび日本大学教授を拝命し，皮膚科学分野で駿河台病院を担当することになりました．今後の教室の発展のためにも病院再建の実現に向けても，優れた人材育成こそ皮膚科学分野の最重要課題です．何よりもまず患者の悩みを理解し患者をよく診る医師を育て，同時に大学病院において必要とされる，幅広く質の高い臨床能力を身につけた specialist (皮膚科専門医) を育てていきたいと思ひます．さらに臨床から研究課題を見つけて，問題を解明できる先端的な技法をもつ基礎医学講座や学内外の研究機関と学際的な共同研究を推進していきたいと考えています．