

ウイルス・免疫応答

樹状細胞とCD4陽性T細胞による抗原特異的免疫応答に対するマクロライドの影響

安部裕介 石田芳也 原淵保明

はじめに

慢性副鼻腔炎、び慢性汎細気管支炎等の慢性気道炎症性疾患においては、病原微生物の感染と生体の免疫応答の間で悪循環が起こっているとされている。病原微生物が局所の防御機構を障害し、局所に定着すると、それによって宿主の免疫応答が誘導される。特にIL-8と好中球を中心とした炎症では、エラスターゼや活性酸素により更なる局所の防御機構の傷害が起こり、病原微生物のクリアランスが障害され、悪循環に陥っていくとされている¹⁾。

14員環マクロライド系抗生剤は、免疫調整作用を有する薬剤として、慢性副鼻腔炎、副鼻腔気管支症候群、びまん性汎細気管支炎等の慢性気道炎症性疾患の治療に使用され、その有用性が報告されている^{2,3)}。これら慢性気道炎症性疾患に対して、マクロライド系薬剤を少量長期投与することにより宿主の過剰な免疫応答を断ち切り、この悪循環を解消することができるとされている。しかし、その作用機序に関しては十分に解明されていない部分が多い。

生体内の種々の組織に分布する樹状細胞は、強力な抗原提示細胞として重要な細胞であるばかりか、近年、免疫寛容にも関与していることが示されており免疫制御細胞としての側面も注目されている。しかしながら、マクロライドのヒト樹状細胞、CD4陽性T細胞による抗原特異的な免疫応答に対する影響を検討した報告は少ない。

上述の気道炎症性疾患の重要な起炎菌の一つであるインフルエンザ菌の外膜蛋白であるP6は、全てのインフルエンザ菌に共通であり、感染防御抗体の標的抗原となっていることから、ワクチン候補として注目されている⁴⁻⁷⁾。

今回我々は、P6蛋白を用いて、健常人末梢血より誘導した樹状細胞、CD4陽性T細胞による抗原特異的な免疫応答に対するマクロライドの影響について、CD4陽性T細胞の増殖反応、種々のサイトカン産生の点から検討を行った。

方法

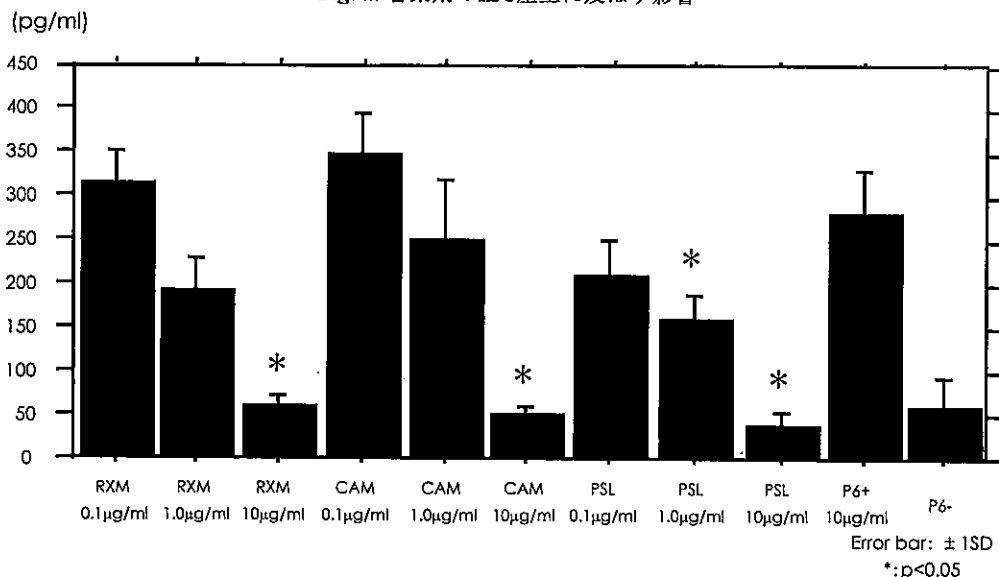
末梢血単核球よりCD14陽性細胞を分離、IL-4とGM-CSFの存在下に7日間培養することで樹状細胞を分化誘導した。マクロライド系薬剤としてクラリスロマイシン (CAM) とロキシスロマイシン (RXM) を用い、免疫抑制の指標としてプレドニゾン (PSL) を用いた。4000rad照射後、樹状細胞に各薬剤を10.0 $\mu\text{g/ml}$ 、1.0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.1 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で添加し、P6蛋白を10.0 $\mu\text{g/ml}$ で加え、約2時間培養した。その後、分離したCD4陽性T細胞を加え48時間培養した後、上清を回収、IFN- γ 、IL-4、IL-5、IL-8をELISA法を用いて測定した。さらに7日間培養し、³H-thymidineの取込み (CPM) を測定、各条件での増殖反応を検討した。また、樹状細胞にのみ薬剤を48時間作用させ、薬剤をwash outした後、CD4陽性T細胞を加え同様の検討を行った。

結果

RXM, CAMともに濃度依存性に、1.0 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度では統計学的に有意に増殖反応を抑制した ($p < 0.05$)。PSLも濃度依存性に、各濃度で統計学的に有意に増殖反応を抑制した ($p < 0.05$)。

P6の刺激下ではIFN- γ の産生を認めるが、RXMは各濃度で、CAMでは10 $\mu\text{g/ml}$ でのみIFN- γ の産生を統計学的に有意に抑制した ($p < 0.05$) ($p < 0.05$)。PSLも濃度依存性に、各濃度で統計学的に有意にIFN- γ の産生を抑制した ($p < 0.05$)。

Fig. 1. 各薬剤のIL-8産生に及ぼす影響



P6の刺激下において、IL-4産生はほとんど認められないが、CAM10µg/mlとPSL10µg/mlでIL-4産生が統計学的に有意に増加した ($p < 0.05$)。RXMでは有意差は得られなかったが、濃度とともに増加する傾向は認められた。

P6刺激下では、IL-5産生が認められるが、RXM10µg/ml、CAM10µg/mlではIL-5産生が抑制され、測定感度以下であった。PSLではいずれの濃度でもIL-5産生が測定感度以下に抑制されていた。

P6刺激下では、IL-8産生が認められるが、RXMとCAMでは濃度依存性に、ともに10µg/mlにて統計学的な有意差をもって抑制されていた。PSLでは1.0µg/ml以上の濃度で統計学的に有意にIL-8産生が抑制されていた (Fig. 1)。

樹状細胞にのみマクロライドを作用させた場合、統計学的な有意差は得られなかったが、これまでの結果と同様に、薬剤の濃度に依存して増殖反応、IFN- γ 産生、IL-8産生の抑制傾向が認められた。

考 察

これまでの我々の検討から、健常人のP6に対する免疫応答において、IFN- γ 、IL-5産生が誘導さ

れ、IL-4は検出されないことが確認されている。今回、マクロライドのP6特異的な免疫応答における影響を検討したところ、CD4陽性T細胞の増殖反応においては抑制的に、サイトカイン産生においては、IFN- γ 、IL-5産生は抑制され、IL-4産生はむしろ増加する傾向が認められた。さらには、エラスターゼや活性酵素による局所の防御機構の傷害、病原微生物のクリアランスの障害、それに伴う過剰な炎症サイクルの悪循環において、好中球とともに中心的な役割を担うIL-8産生に関してもマクロライドは抑制的に働くことが認められた。これらの作用の多くは、臨床的に使われる半量投与に相当する濃度でも充分であることから、臨床的に有効性が報告されているマクロライド少量長期投与を支持する結果といえる。以上の作用は、抗原提示細胞である樹状細胞、およびCD4陽性T細胞いずれにも及んでいることが示唆された。

抗原特異的な免疫応答に対するマクロライドの影響に関して、NOMAらは気管支喘息患者のリンパ球を用いて、ダニ抗原に対する免疫応答におけるRXMの影響を報告している⁸⁾。彼らの検討において、増殖反応、IL-4、IL-5産生は抑制され、IFN- γ 産生は増加している。以上および我々の検討から、マクロライドは、Th1、Th2のどちらかに免疫

応答を誘導するという作用よりは、過剰となり、バランスを失った免疫応答を調整する作用があることが示唆される。一方、インフルエンザ菌が関わる反復性の急性疾患では、抗原特異的な免疫応答が低下していることが報告されており^{7,9)}、その免疫応答を高めるための工夫が研究されている。マクロライド投与はこれらの疾患群では不利になることも考えられ、これらの疾患群におけるマクロライドの影響を検討する必要があると同時に、急性疾患と過剰炎症が悪循環に陥った慢性疾患とでは病態が異なる可能性があり、それぞれに応じた対応が必要であることが示唆された。

まとめ

(1) 健常成人より誘導した樹状細胞とCD4陽性T細胞の、マクロライド存在下におけるP6に対する免疫応答を解析した。

(2) CAM, RXMいずれも、PSLと同様に、CD4陽性T細胞のP6に対する増殖反応を抑制した。

(3) CAM, RXMいずれも、IFN- γ , IL-5, IL-8産生を濃度依存性に抑制したが、IL-4産生は濃度依存性に亢進した。

(4) 樹状細胞のみに薬剤を作用させた場合も同様に、免疫応答を抑制する傾向が認められた。

文 献

- 1) 杉山幸比古：マクロライドによる呼吸器疾患へのアプローチ 14員環マクロライドによる検証 びまん性汎細気管支炎及びその類縁疾患に対するマクロライド療法の有用性 びまん性汎細気管支炎及びその類縁疾患における感染と炎症の関連。分子呼吸器病 5：431～436, 2001
- 2) 吾妻安良太：気道病変をめぐる最近の進歩。DPB マクロライドの作用機序。THE LUNG-perspectives 10：179～187, 2002
- 3) 羽柴基之：慢性耳鼻科疾患の治療戦略。慢性耳鼻科疾患の治療におけるマクロライド療法の位置づけ 慢性鼻腔炎, 感染と抗菌薬 4:177～180, 2001
- 4) HARABUCHI Y., FADEN H., YAMANAKA N., *et al.* : Human milk secretory IgA antibody to nontypeable *Haemophilus influenzae*: possible protective effects against nasopharyngeal colonization. *J. Pediatr.* 124 : 193～198, 1994
- 5) HARABUCHI Y., FADEN H., YAMANAKA N., *et al.* : Nasopharyngeal colonization with nontypeable *Haemophilus influenzae* and recurrent otitis media. *J. Infect. Dis.* 170 : 862～866, 1994
- 6) KODAMA H., FADEN H., HARABUCHI Y., *et al.* : Cellular immune response of adenoidal and tonsillar lymphocytes to the P6 outer membrane protein of nontypeable *Haemophilus influenzae* and its relation to otitis media. *Acta. Otolaryngol.* 119 : 377～383, 1999
- 7) ABE Y., MURPHY T. F., SETHI S., *et al.* : Lymphocyte proliferative response to P6 of *Haemophilus influenzae* is associated with relative protection from exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 165 : 967～971, 2002
- 8) NOMA T., AOKI K., HAYASHI M., *et al.* : Effect of roxithromycin on T lymphocyte proliferation and cytokine production elicited by mite antigen. *Int. Immunopharmacol.* 1 : 201～210, 2001
- 9) YAMANAKA N., FADEN H. : Antibody response to outer membrane protein of nontypeable *Haemophilus influenzae* in otitis-prone children. *J. Pediatr.* 122 : 212～218, 1993