

## 喫煙は肺での免疫反応を変えるか？

宮崎 泰成\*、吉澤 靖之\*

### はじめに

喫煙が免疫に与える影響は、*in vitro* では様々な報告があるが、*in vivo* や臨床での検討は比較的少ない。喫煙曝露は、夏型過敏性肺炎を中心とした急性症例では発病への負の因子<sup>1)</sup>であるが、我々の臨床研究では、鳥関連過敏性肺炎の慢性症例、ことに、潜在性発症型では喫煙者が多いという結果<sup>2)</sup>であった。喫煙が肺局所の免疫、特に、Th1/Th2 バランスを変化させていると考え、喫煙が肺局所の免疫をどのように変化させるか実際の臨床例と比較しながら、慢性鳥関連過敏性肺炎モデルを使い検討するプロジェクトを5年前より開始した。

### 方法

モデルとしては、PDE を用いた反復経鼻感作による過敏性肺炎（鳥関連過敏性肺炎）マウスモデルを使用している。以下、簡単にモデルの概要を説明する。生後8-12週令、体重19-21gのC57BL/6J雌マウスを用い、鳩糞をPBSにて抽出後凍結乾燥にて粉末状のPDEを作製した。PDE感作群（P群）では、エーテルによる軽麻酔下で、マウスの鼻先より経鼻的にPDE 8 µgを40 µlの蒸留水に溶解して注入、マウスに吸引させる。この経鼻感作を週3日、17週間施行。PDE感作+喫煙曝露併用群（P+S群）の場合、喫煙曝露を、PDEによる経鼻感作開始1週間前から、週5日連続して実施した。M. I. P. S. 社の喫煙曝露装置を用いて喫煙曝露を実施。1

日1回、Marlboro 10本分の喫煙曝露を行った。このモデルを使用し、短期喫煙の肺内免疫反応での影響と長期喫煙による影響を比較検討した。

### 結果

4週間反復感作の過敏性肺炎モデルにおいて、短期喫煙曝露では、肺/体重比増加の抑制、気管支血管束周辺へのリンパ球集積の抑制効果を認

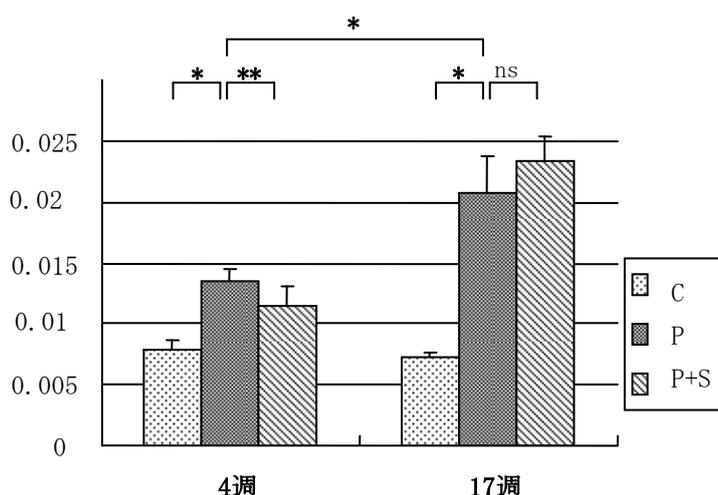


図-1 肺体重比（短期喫煙と長期喫煙の比較）

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01

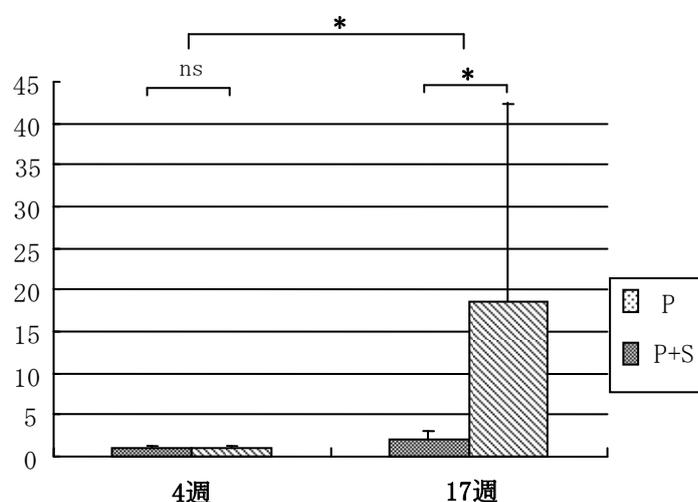
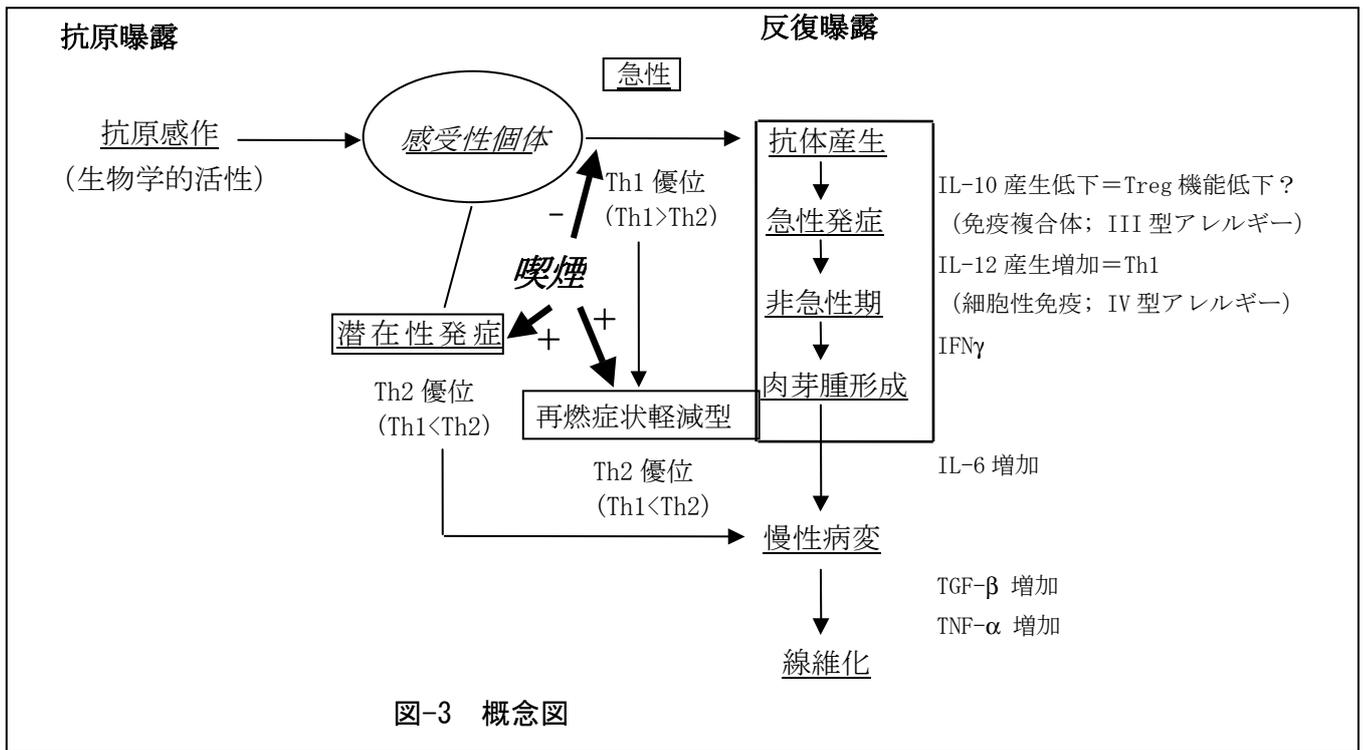


図-2 肺組織ハイドロキシプロリン量比（対コントロール）\*p < 0.05



め、その機序として T リンパ球、B リンパ球の機能抑制の可能性が示唆された (図-1)。さらに、PDE による反復経鼻感作の期間を 17 週間と延長し、長期間の抗原感作と喫煙曝露の併用、P+S 群では、PDE 抗体の産生はわずかに抑制されるが、喫煙曝露併用による肺/体重比増加の抑制は認めず (図-1)、肺洗浄液中の総細胞数も増加傾向であった。肺線維化の指標であるヒドロキシプロリン量は、17 週間感作の P 群でも有意に増加していたが、P+S 群ではさらに増量していた (図-2)。喫煙曝露は、夏型過敏性肺炎を中心とした急性症例では発病への負の因子<sup>1)</sup>であるが、鳥飼病の慢性症例、ことに、潜在性発症型では喫煙者が多いという我々の臨床研究結果<sup>2)</sup>を裏付ける結果であった (図-3)。急性過敏性肺炎においては、肺内には Th1 と Th2 の両者が観察されるが Th1 が主体<sup>3)</sup>である。一方、慢性過敏性肺炎では、抗体は約 50% で陽性であるが、抗原添加リンパ球増殖試験は 90% 以上で陽性であり、Th1 も重要であるが、Th1/Th2 バランスは Th2 が優位になると考えられている<sup>4)5)</sup> (図-3)。慢性過敏性肺炎を想定した、17 週間の PDE 反復経鼻感作モデルを用いて、肺内の Th1 および Th2 の病態への関与を検討するため、それぞ

れの代表的なサイトカインの発現を検討し、あわせて喫煙曝露併用の影響についても検討した (図-4)。IFN $\gamma$  mRNA は P 群で有意に増加していた。P+S 群では有意差は認めないが、P 群と比較してわずかに発現量が増加している傾向を認めた。IL-12 mRNA も有意差はないが、P 群で増加する傾向を認め、P+S 群でわずかながら P 群より増加傾向を認めた。IL-4 mRNA は P 群では増加していないが、P+S 群で有意に増加していた (図-4)。IL-10 mRNA も P+S 群で増加していた。

ケモカインとそのレセプターは、様々なサブセットの白血球が選択的に病変局所へ集積する際に、重要な分子であることが知られている。IP-10/CXCL10 は、Th1 に特異的に発現している CXCR3 の特異的リガンドであり、さらに、TARC/CCL17 は、Th2 に特異的に発現している CCR4 の特異的リガンドである。肺の線維化に関わるとされる Th2 ケモカイン<sup>6)</sup>を、Th1 ケモカインと対比して、喫煙曝露併用が及ぼす作用についても検討した (図-5)。P 群と P+S 群を比較すると、TARC の発現量は喫煙曝露により増強していた ( $p=0.009$ )、しかし、受容体であり、Th2 細胞表面に発現する CCR4 の増加は傾向を

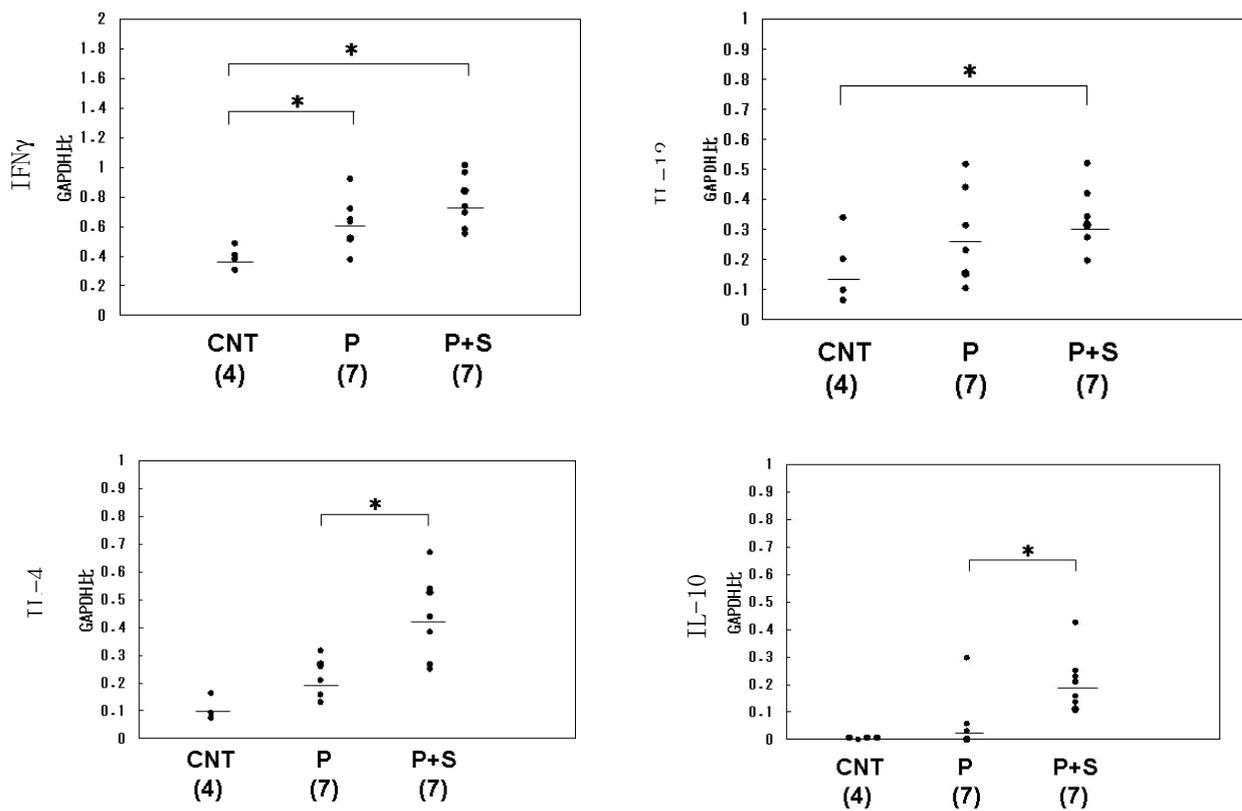


図-4 Th1/2 サイトカイン mRNA の発現量

CNT: 対照群、P: P 群、P+S: P+S 群、\* $p < 0.05$ 、括弧内の数字は検体数を示す。

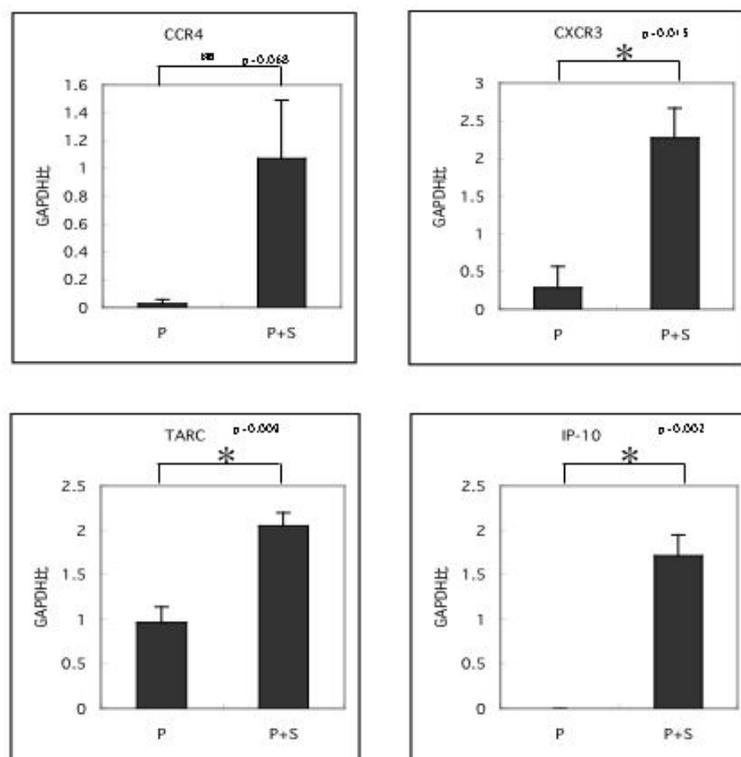


図-5 各種ケモカイン/ケモカインレセプター mRNA 発現に及ぼす喫煙曝露の影響

示すのみであった ( $p = 0.068$ )。Th1 反応を示す IP-10 は増加し ( $p = 0.002$ )、CXCR3 も増加していた ( $p = 0.015$ )。

過敏性肺炎において T リンパ球の中の Th1 と Th2 のバランスが病態に影響していると考えられる。Th1 は主に細胞性免疫に関与し、Th2 は主に体液性免疫に関与し、相互の抑制作用を有している。Th1 のサイトカインである IFN $\gamma$ 、IL-12 は急性過敏性肺炎の病因に深く関与していることが報告され<sup>3)7)8)</sup>、regulatory T cell (Treg) のサイトカインである IL-10 は過敏性肺炎の病態抑制に作用することが指摘されている<sup>9)10)</sup>。Th2 サイトカインに関しては、慢性過敏性肺炎での役割はまだあまり知られていないが、IL-4 が線維化早期に作用する可能性を示唆した報告もみられ<sup>11)</sup>、線維化一般については促進すると考えられている<sup>12)</sup>。PDE 感作により IFN $\gamma$  mRNA の発現は有意に増加し、IL-12 mRNA も増加傾向を認めた。これは、このモデルがまだ急性過敏性肺炎に近いことを示しているのかも知れない。一方、急性過敏性肺炎の発症を抑制する IL-10 mRNA の発現も PDE 感作で増加傾向を認めている。IL-4 mRNA はほとんど発現していなかった。喫煙曝露併用により、IL-10 mRNA 及び IL-4 mRNA の発現を有意に増加させていた。IFN $\gamma$  mRNA、IL-12 mRNA の発現に対しても抑制する傾向は認めず、わずかに増加させる傾向を認めた。Th1 サイトカインは残るものの、喫煙曝露により Th1/Th2 バランスは Th2 へシフトする傾向がみられた。

ケモカインの検討では、喫煙曝露併用は、Th2 ケモカインである TARC mRNA を発現させ、Th2 細胞で発現する CCR4 受容体の mRNA 発現は増加傾向にあった。Th1 ケモカインである IP-10 mRNA と受容体 CXCR3 mRNA の発現が増加しており、Th1 とともに喫煙の影響で、Th2 ケモカインの増加も認めた。

以上より、図-3 のように、喫煙は急性では抑制的に、慢性では促進的に働くと考えられるが、基礎実験では、ニコチンは Th1 のサイトカインである IL-2 を抑制し<sup>13)</sup>、糖尿病モデルで

は Th1 の抑制と Th2 の亢進作用<sup>14)</sup>が指摘されている。しかし、今回の結果では、喫煙はサイトカイン発現では IL-4 や IL-10 の mRNA 発現を増加させ、Th2 へシフトする一方で、病態進行に重要なサイトカインである IFN $\gamma$ 、IL-12 の mRNA 発現は抑制されていない。これは、今回モデルで使用した C57BL/6 が、Th1 prone であることが影響した可能性もあるが、一方、炎症の持続には Th1 が重要で、線維化については Th2 が優位とも考えられる。Th2 へのシフトは肺の線維化を促進すると考えられている<sup>14)</sup>。今後、Th2 prone のマウスを用いて同様の実験を行い、その仮説を確かめる予定である。

## 文 献

- 1) Arima K, Ando M, Ito K et al. Effect of cigarette smoking on prevalence of summer-type hypersensitivity pneumonitis caused by *Trichosporon cutaneum*. *Arch Environ Health* 1992; 47: 274-8.
- 2) Ohtani Y, Saiki S, Sumi Y et al. Clinical features of recurrent and insidious chronic bird fancier's lung. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90: 604-10.
- 3) Yamasaki H, Ando M, Brazer W et al. Polarized type 1 cytokine profile in bronchoalveolar lavage T cells of patients with hypersensitivity pneumonitis. *J Immunol* 1999; 163: 3516-23.
- 4) 宮崎泰成、吉澤靖之. 過敏性肺炎の炎症メカニズムとその制御. *呼吸と循環* 2006; 54: 255-67.
- 5) 宮崎泰成、岸雅人、仁多寅彦、大谷義夫、稲瀬直彦、吉澤靖之. 慢性鳥飼病における急性増悪の病態に関する検討 - Th1/2 タイプケモカインの役割について. 難治性疾患克服研究事業びまん性肺疾患調査研究班 平成 17 年度研究報告書.
- 6) Belperio JA, Dy M, Murray L et al. The role of the Th2 CC chemokine ligand CCL17 in pulmonary fibrosis. *J Immunol* 2004; 173: 4692-8.
- 7) Gudmundsson G, Hunninghake GW. Interferon- $\gamma$  is necessary for the expression of hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Invest* 1997; 99: 2386-90.
- 8) Gudmundsson G, Monick MM, Hunninghake GW. IL-12 modulates expression of hypersensitivity pneumonitis. *J Immunol* 1998; 161: 991-9.

- 9) Gudmundsson G, Bosch A, Davidson BL et al. Interleukin-10 modulates the severity of hypersensitivity pneumonitis in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19: 812-8.
- 10) Sumi Y, Kyi M, Miyazaki Y et al. Cytokine mRNA expression in isocyanate-induced hypersensitivity pneumonitis. *Respiration* 2003; 70: 284-91.
- 11) Fertin C, Nicolas JF, Gillery P et al. Interleukin-4 stimulates collagen synthesis by normal and scleroderma fibroblasts in dermal equivalents. *Cell Mol Biol* 1991, 37: 823-9.
- 12) Wynn TA. Fibrotic disease and the T(h)1/T(h)2 paradigm. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 583-94.
- 13) van Dijk AP, Meijssen MA, Brouwer AJ et al. Transdermal nicotine inhibits interleukin 2 synthesis by mononuclear cells derived from healthy volunteers. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 664-71.
- 14) Mabley JG, Pacher P, Southan GJ et al. Nicotine reduces the incidence of type 1 diabetes in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300: 876-81.