

遺伝子改変動物を用いたアレルギー性炎症の解析

永井博式*

review article

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION

Allergic inflammation in gene engineering mice

Recent extensive biotechnological studies produced many kinds of gene engineering mice. In the present article, the alternations of the genes of T helper 2 cytokines and of the receptors for allergic inflammatory mediators were described. So far, we have demonstrated an important role of IL-4, IL-5, 5-lipoxygenase, prostaglandin D₂ and prostaglandin I₂ in the development of allergic airway inflammation by using their corresponding gene deficient mice. Simultaneously, we have indicated the role of IL-4, IL-5, 5-lipoxygenase, prostaglandin D₂ and thromboxane A₂ in the onset of airway hypersensitivity by examining above gene deficient mice. In addition, we have also indicated the role of IL-4, IL-5, IL-10, prostaglandin I₂ and thromboxane A₂ in the onset and development of allergic contact dermatitis. Therefore, gene engineered mice are useful for investigating the role of certain kind of mediator in the pathological condition. But many discrepancies are pointed out in the results obtained from the experiments using gene-engineered mice. We have discussed about the problems in the studies using gene-engineered mice.

Rec. 10/3/1999, pp 297~306

Hiroichi Nagai*

**key words : gene engineering mice, allergic inflammation
mediator, interleukin, prostanoid**

近年、代表的アレルギー性疾患である気管支喘息は、好酸球性上皮細胞剝離性気道炎症と位置づけられている。また、他のアレルギー性疾患であるアレルギー性鼻炎およびアトピー性皮膚炎は、その名が示すとおり炎症性疾患である。さらにこれらのアレルギー性疾患の治療には、抗炎症薬であるグルココルチコイド薬(ステロイド薬)が著効を呈し、アレルギー性疾患の根底には炎症機序が関与することが明らかにされてきている。また、最近の遺伝子工学の発展から種々の蛋白性機能分子に対する遺伝子がクローニングされ、蛋白性機能分子を標的としたピンポイントの研究が可能となった。すなわち、遺伝子改変動物、モノクロー

ナル抗体、あるいは可溶性受容体などが作成され、それらを用いた研究から機能分子の役割の検討が進んでいる。

以上のような背景をふまえて、本稿ではアレルギー性炎症とは従来の炎症とどのような点が異なるのかを述べ、そのようなアレルギー性炎症の機能分子の研究に応用されている遺伝子改変動物の現状と問題点について述べる。なお、筆者らの教室では、アレルギー性疾患発症に関与するT細胞に関連するサイトカインとアラキドン酸代謝産物に関する遺伝子改変動物についての経験が少なく、ここに述べる知見もそれらに限られることをお許しいただきたい。

*Department of Pharmacology, Gifu Pharmaceutical University 岐阜薬科大学薬理学教室
Offprint requests to : Hiroichi Nagai, Department of Pharmacology, Gifu Pharmaceutical University, 5-6-1 Mitahorahigashi, Gifu 502-8585, Japan

アレルギー性炎症と非アレルギー性炎症^{1~5)}

周知のごとく、アレルギー性疾患は免疫学的機序による誘導期と、アレルギー性炎症機序による

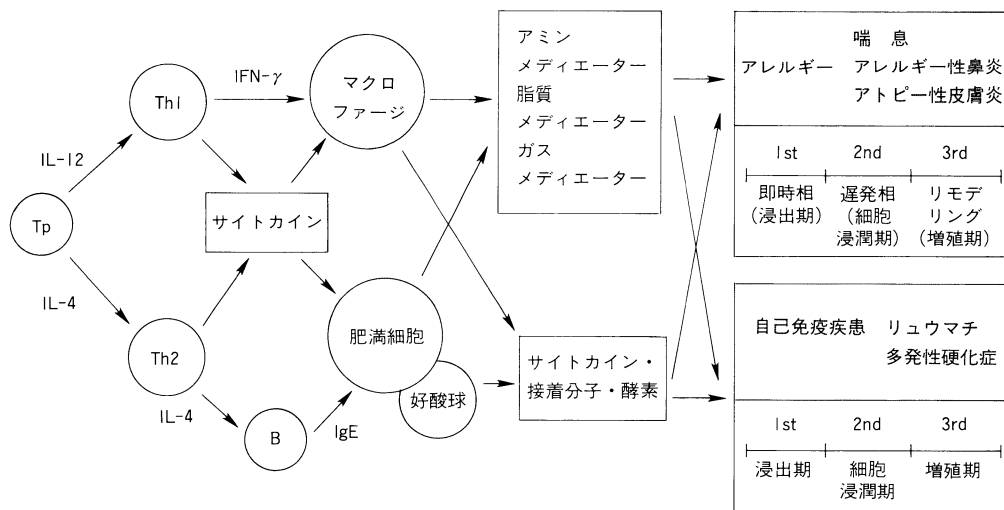


図 1 アレルギー性炎症に関する機能分子と細胞

表 1 アレルギー性炎症と非アレルギー性炎症の比較

項目	アレルギー性炎症	非アレルギー性炎症
原因	抗原	一次原因：感染，物理化学的刺激 二次原因：抗原
免疫学的	免疫機序 I～IV型機序(複合機序))	初発は感染や物理化学的刺激であるが 進行に応じてアレルギー機序が加わる
病理学的	主に，発赤，腫脹 機能障害 浸出期—細胞浸潤期 —組織修復期	発赤，腫脹，発熱，疼痛 機能障害 浸出期—細胞浸潤期 —組織修復期
薬理学的	ステロイド性抗炎症薬 抗アレルギー薬 免疫療法	ステロイド性抗炎症薬 いわゆる非ステロイド性抗炎症薬 変調刺激療法

効果期より成り立つ。すなわち，誘導期には免疫機構の活性化の結果産生された免疫グロブリン，あるいは効果 T 細胞がトリガーとして働き，疾患が発症する。したがって，アレルギー性疾患の診断時には，本来この抗原に対応する抗原特異的免疫グロブリンや効果 T 細胞が証明される。

この免疫機構には，抗原呈示細胞，T 細胞および B 細胞などの免疫担当細胞が働くが，抗原の曝露を反復させると炎症性細胞の肥満細胞，好塩基球および好酸球も免疫機構の活性化に参加し，明確に誘導期および効果期と区別することはできなくなる。さらに，反応の成立には，サイトカインおよび接着分子などの多くのメディエーター(機能分子)がそれぞれの局面で関与する。また，病理

学的観点からアレルギー性炎症をみると，従来非アレルギー性炎症の概念でとらえられていたように，発赤，発熱，腫脹，疼痛および機能障害の五大特徴のいずれもがアレルギー性炎症で見られるが，発熱および疼痛は特殊な場合にのみみられる。また，炎症反応の進行と非アレルギー性炎症の場合と同様，浸出期，細胞浸潤期および組織修復期の三段階を経て進行する。ただし，細胞浸潤期は，非アレルギー性炎症では好中球性であるのに対し，アレルギー性炎症では好酸球性炎症である点が異なる。さらに組織修復期は，非アレルギー性炎症では肉芽の形成やリウマチ性増殖性変化など比較的高頻度に見られるが，アレルギー性炎症では重症化や慢性化した場合のリモデリングとして

表 2 抗アレルギー薬と非ステロイド性抗炎症薬の抗炎症作用の比較

抗アレルギー薬	非ステロイド性抗炎症薬
① 肥満細胞からのメディエーター遊離抑制 クロモグリク酸ナトリウム, トラニラスト, レピクナスト, タザノラスト, ペミロラスト	① シクロオキシゲナーゼ I, II 抑制 アスピリン, インドメタシン
② ヒスタミン受容体拮抗 ジフェンヒドラミン, クロルフェニラミン, オキサトミド, アゼラスチン, テルフェナジン, メキタジン, エピナスジン, セチリジン	② シクロオキシゲナーゼ II 選択的抑制 エトドラグ, NS-398
③ ロイコトリエン抑制薬 受容体拮抗, プランルカスト, 産生抑制	③ ホスホリパーゼ A ₂ 抑制 マノアライド, クエルセチン
④ トロンボキサン抑制薬 産生抑制, オザグレル	④ ガス状ラジカル (O ₂ , H ₂ O ₂) 産生抑制 多くの NSAID
⑤ サイトカイン産生抑制 スプラタスト, アゼラスチン, トラニラスト, テルフェナジン	
⑥ 抗サブスタンス P 作用 オキサトミド, エメダスチン	
⑦ ガス状ラジカル (O ₂) 産生抑制 レピリナスト, ペミロラスト, ケトチフェン, オキサトミド, アゼラスチン, メキタジン	

とらえられている。図 1 にアレルギー性炎症に関する機能分子と細胞を示す。

いずれも、組織修復期にはマクロファージ系細胞が増殖性因子を産生して主役をつとめるが、アレルギー性炎症では肥満細胞、好酸球および上皮細胞が関与することも想定される。また、薬理的にはステロイド性抗炎症薬が有用性を示す点は類似するが、いわゆる非ステロイド性抗炎症薬は、非アレルギー性炎症に有効であってもアレルギー性炎症には無効であることが多い。この点では、アレルギー性炎症には抗アレルギー薬とよばれる一連の薬物が有効性を示す。ただし、抗アレルギー薬の多くは非アレルギー性炎症には無効である。

以上のように、アレルギー性炎症と非アレルギー性炎症は、類似点もあるが相違点も多い。表 1 にその比較を示し、表 2 に非ステロイド性抗炎症薬と抗アレルギー薬の抗炎症作用の比較を示す。

いずれにしても、筆者らの研究の最終目標がアレルギー疾患の治療であることから考えると、アレルギー性炎症、特に機能分子の特徴を明らかにし、その分子に作用する薬物の開発研究を行うことが重要であると考えている。

アレルギー性炎症機能分子の遺伝子改変動物

アレルギー性炎症機能分子と、その受容体の種

類およびそれらに関連する遺伝子改変マウスについて、表 3 に示す。

アレルギー性機能分子としてもっとも重要なものは抗体である。むろん、抗体の中でアレルギー性炎症と直接関連するのは IgE 抗体である^{6~10)}。IgE 抗体は FcεR₁ と R₂ の 2 種の受容体が存在する。近年、IgE、FcεR I α 鎖、FcεR I β 鎖の遺伝子欠損(ノックアウトマウス)が報告され、アレルギーにおける役割が明らかにされている。また、IgE 抗体の中和活性を示す抗 IgE 抗体は FcεR I の発現を制禦するとの報告がなされ、IgE 抗体を標的とした治療の有用性が示唆されている。

さらに、機能分子のなかでケミカルメディエーターとよばれる一連の低分子物質(アミンおよびリピッドメディエーター)のレセプターの種類と構造が明らかにされ、その受容体や産生酵素の遺伝子改変マウスも作成されている¹¹⁾。すなわち、ヒスタミン H₁, H₂, H₃ の 3 種の受容体が存在している。H₁ および H₂ はロドプシンタイプの 7 回膜貫通型 G 蛋白共役型の構造であり、これら 2 種の受容体の遺伝子欠損マウスが作成されている。しかし、これまでこの受容体欠損マウスにおけるアレルギー性炎症の報告には接しない。さらに、他のアミンとしてセロトニンがあげられるが、セロトニンの受容体は 5HT₁, 5HT₂ および 5HT₃ の 3

表 3 アレルギー性機能分子の遺伝子改変動物

リガンド	レセプター	構造	遺伝子改変	文献
IgE	FcεR I	α , β , γ - γ	IgE 欠損	7
			FcεR I α 欠損	8
			FcεR I β 欠損	10
	FcεR II	CD23		
ヒスタミン	H ₁ , H ₂ , H ₃	7TMGC	H ₁ R 欠損	11
セロトニン	5HT ₁ (1 _A , 1 _B , 1 _D)	7TMGC		
	5HT ₂ (2, 1 _A)			
	5HT ₃	イオンチャネル		
プロスタノイド	PGE(EP ₁ , EP ₂ , EP ₃ , EP ₄)	7TMGC	EP, FP, IP	12~15
	PGF(FP)PGI(IP)		DP, TP 欠損	
	PGD(DP)TxA(TP)			
血小板活性化因子	PAF・R	7TMGC	PAFR 過剰・欠損	16~19
ロイコトリエン	LTC ₄ , D ₄ ・R	7TMGC		20
	LTB ₄ ・R	7TMGC	5LPO 欠損 LTB ₄ R 過剰	21~23 25
	—		IL-4 過剰・欠損	26~46
IL-4	IL-4・R	IL-2R β 類似		
IL-5	—		IL-5 過剰・欠損	47~51
	IL-5・R	α , β	IL-5R α 欠損	52
IL-10	—		IL-10 欠損	53~55
IL-13	—		IL-13 欠損	56
IFN- γ	—		IFN- γ 過剰	57~60
	—		IFN- γ 欠損	
	IFN- γ ・R	90~103 KDa	IFN- γ R 欠損	

種に大別される。セロトニン受容体のうち 5HT₁ と 5HT₂ は 7 回膜貫通型 G 蛋白共役型の構造であるが、5HT₃ のみはイオンチャネル内蔵型である。これらの受容体欠損動物およびそれらを用いたアレルギー性炎症についての報告も未だ見出されない。

プロスタノイドについては、京都大学の成宮教授のグループにより受容体のクローニングが行われ、EP₁, EP₂, EP₃, EP₄, FP, IP, DP および TP の 8 種の受容体すべての構造と、それぞれの受容体ノックアウトマウスが作成された^{12~15)}。アレルギー性炎症におけるこれら受容体の役割について、筆者らの研究室で成宮教授から提供されたマウスを用いて研究を行っている。その結果、おおまかには DP および IP がアレルギー性炎症に重要な働きをし、DP および TP はアレルギー性気道過敏性発症と関連する成績を得ている。しかし、免疫応答で重要な働きをする EP 系および FP については未だ検討が完了しておらず、今後の検討が必要である。さらに、血小板活性化因子(PAF)については、受容体の過剰発現(トランスジェニッ

ク)マウスとノックアウトマウスの成績が報告され^{16~19)}、PAF のアレルギー反応の促進因子としての可能性が示唆された。このことを裏づけるかのように、PAF の受容体拮抗薬は臨床的に気管支喘息の治療に有用性を示すことが明らかにされている。

さらにごく最近、ペプチドロイコトリエンの受容体構造が明らかにされた²⁰⁾。しかしまだ、その遺伝子改変動物についての成績は明らかにされておらず、今後の研究に負うところが多い。これまでに、ロイコトリエンの産生酵素である 5-リポキシゲナーゼ(5 LPO)のノックアウトマウスが報告されている^{21~23)}。筆者らも 5 LPO ノックアウトマウスを用いてアレルギー性気道炎症の検討を行ったところ、5 LPO 欠損マウスは抗原による好酸球性炎症には影響を与えなかったが、気道過敏性および遅発型喘息様症状は低下がみられた。これらの成績は、ロイコトリエン拮抗薬で得られた成績とは一部一致しないが、5 LPO は LTB₄ の産生にも関与するので、LTB₄ の影響も考慮しなければならないと思われる。さらに、LTB₄ については

LTB₄ 受容体のトランスジェニックマウスが報告され^{24,25)}, LTB₄ もアレルギー性炎症に大きく関与することが報告された。これら低分子ケミカルメディエーターは、分子自身は低分子であるので、その受容体や産生酵素が遺伝子改変の標的となる。

この点サイトカインは、分子自身が蛋白であり、分子そのものおよび受容体が遺伝子改変の標的である。サイトカインは、アレルギー反応が Th 2 細胞を中心とした反応であることにより、いわゆる Th 2 サイトカインである IL-4, IL-5, IL-10 および IL-13 についての研究を進めている。また、アレルギー反応は Th 2 優位ではあるが、その原因は Th 1 細胞の機能の低下が原因であるとする考え方もあり、IFN- γ 欠損マウスは Th 1/Th 2 バランスを研究するうえで重要である。

IL-4 は周知のごとく、B 細胞増殖因子として B 細胞での IgG 1 産生誘導因子として見出された。その後 IL-4 は、Th 2 型 CD 4⁺T 細胞の分化誘導、IgE 抗体産生細胞誘導およびマクロファージ系細胞を介する抗炎症あるいは抗腫瘍因子としての作用が報告された。IL-4 に関する遺伝子改変動物は、IL-4 遺伝子そのもののノックアウトとトランスジェニックマウスが報告されている^{26~46)}。しかし、後述するように、IL-4 遺伝子欠損マウスを用いたアレルギー性炎症の成績は相反するデータが多く、一定した見解は得られていない。

IL-4 についてアレルギー性炎症に重要な働きをするのが IL-5 である。IL-5 はアレルギー性炎症の特徴である好酸球性炎症の誘導因子として重要である。IL-5 は最初、B 細胞分化増殖因子として発見されたが、アレルギー反応のもっとも重要な効果細胞である好酸球の増殖因子としての役割が明らかにされて以来、アレルギー性炎症の中心的サイトカインとして注目されている。IL-5 は IL-5 のトランスジェニックおよび欠損マウスが報告され、ついで IL-5 受容体 α 鎖欠損マウスが作成された^{47~52)}。筆者らは IL-5 トランスジェニックおよび受容体 α 鎖欠損マウスを東大医科学研究所、高津教授より供与していただき、アレルギー性炎症における役割を検討した。その結果、

IL-5 トランスジェニックマウスはアレルギー性接触性皮膚炎を増悪し、その主な原因は異常な好酸球増多と IgE 産生の亢進であることを見出した。さらに、IL-5 受容体 α 鎖欠損マウスでは、抗原の反復吸入により生じる気道炎症および気道過敏性の発症が非常に軽度になることを見出した。しかし、IL-5 トランスジェニックマウスにおける抗原反復吸入による気道炎症は好酸球増多が観察されるものの、気道反応性の著明な亢進はみられなかった。これらのことから、IL-5 はアレルギー反応の部位により、それぞれの役割の重要性が異なるものと思われた。

IL-10 は Th 1/Th 2 バランス研究の産物といえるサイトカインである。生物活性は、Th 1 細胞からのインターフェロン γ (IFN- γ) 産生を抑制する作用、胸腺細胞、肥満細胞の増殖促進作用などが知られている。その後、Th 1 に対する作用はマクロファージを介する作用であることが明らかとなり、作用する細胞は多様である。IL-10 ノックアウトマウス^{53~55)}では、マクロファージからの炎症性サイトカイン産生の抑制がはざれるため、多くの炎症反応の促進がみられている。すなわち、IL-10 ノックアウトマウスでは慢性小腸炎、bowel disease、脾炎後の肺炎、シュワルツマン現象、接触性皮膚炎およびエンドトキシンショックなどの発症が促進する。筆者らも IL-10 ノックアウトを用いて、アレルギー性皮膚炎の検討を行っているが、やはり炎症の促進が確認されている。

IL-13 は IL-4 と多くの点で性質が類似している。IL-13 の細胞内へのシグナルは、IL-4 レセプターの一部を使って行われている。しかし、IL-13 は IL-4 と異なり、Th 2 細胞の分化には関与しない IgE 産生の誘導因子である。加えて IL-13 は、マクロファージ系細胞に相反する作用を示し、CD 11 b, CD11c, CD18, CD29, VLA 4 などの接着分子の発現を増強し、プロインフラマトリーサイトカインやケモカイン NO, O₂ および PGE 2 など起炎症物質の産生を抑制する。さらに IL-13 は、マクロファージ系細胞に作用して 5 LPO や IL-1R α などの抗炎症性蛋白を生成し、強い抗炎症作用を示す。このように IL-13 は、アレルギー

表 4 遺伝子改変動物を用いた研究の問題点と今後の検討点

問題点
① 遺伝子を改変することによって生じる他の遺伝子の代償機能
② 用いた動物のバックグラウンドの遺伝的背景
③ 交配の繰り返しによる遺伝子の変異
④ 中和抗体，可溶性受容体による中和，アンチセンスによる発現あるいは特異的阻害薬を用いた場合には影響を受けないが，遺伝子改変により影響される因子
検討点
① F ₁ 動物と両親のそれぞれの系に純系化した遺伝子改変動物の成績の一致
② 遺伝子改変動物での成績と中和抗体，可溶性受容体，アンチセンスあるいは特異的薬物の成績の一致
③ マウス以外の動物での成績の一致

性炎症に IgE 産生を促進因子として作用すると同時に，マクロファージを中心とした炎症性細胞に対して抗炎症作用を示し，炎症の調節因子として働く．1998 年に Wills-Karp ら⁵⁶⁾は IL-13 ノックアウトマウスを用いアレルギー性気道炎症や喘息様病態が発症しないことから，“Central mediator of allergic asthma”と題した論文を発表したが，IL-13 がどの程度 central mediator としての役割を担うかは今後の基礎および臨床での検討に負うものと思われる．

IFN- γ は，1954 年に長野と小島によって発見された．IFN- γ は感染時に誘導され，種々の免疫応答を修飾する物質である．これまでに IFN- γ のトランスジェニックマウス，ノックアウトマウスおよび受容体ノックアウトマウスのいずれもが報告されている^{57~60)}．トランスジェニックマウスでは肺炎あるいは肺炎を自発発症する．IFN- γ のノックアウトマウスは感染に対する感受性が高くなるが，アレルギー性炎症に関する研究は未だ見当たらない．IFN- γ トランスジェニックおよびノックアウトマウスで Th 1/Th 2 バランスがどのように変化し，さらにアレルギー発症とどのようにかわるかは，今後の検討課題である．

IFN- γ 受容体ノックアウトマウスでは，やはり感染に対する感受性が亢進している．しかし，この状態でのアレルギー性炎症についての研究はなく，今後の検討課題であるといえる．

以上のように，アレルギー性炎症に関与する機能分子の遺伝子改変動物は，重要な分子がほとんど作成され研究に用いられている．

表 5 IL-4 遺伝子改変マウスにおけるアレルギー性炎症

アレルギー性炎症	IL-4 ノックアウトマウス	文献
IgE 産生	抑制 影響なし	27~29 30~32
気道炎症	抑制 影響なし	33, 34 35, 36
気道過敏性	抑制 影響なし	33~35 36
皮膚炎	抑制 影響なし	37~39 40
アレルギー性脳髄膜炎	影響なし	41

遺伝子改変動物によるアレルギー性炎症解析の問題点

前述のごとく，現在，非常に多くの遺伝子改変動物が入手できるようになり，アレルギー性炎症におけるそれぞれの機能分子の役割の解析が可能になった．しかし当初，該当する遺伝子を過剰発現させたり欠損させることで候補分子の特異的働きを検索できると大きな期待が寄せられたが，遺伝子改変動物を用いた成績が集積されるにつれ，必ずしも一致したデータが得られるわけではなく，混乱が生じている．

表 4 に示すように，遺伝子改変動物を用いて得られたデータは，

- ① 遺伝子を改変することによって生じる他の遺伝子の代償機能
- ② 用いた動物のバックグラウンドの遺伝的背景
- ③ 交配の繰り返しによる遺伝子の変異
- ④ 中和抗体，可溶性受容体による中和，アンチセンスなどによる発現阻害あるいは特異的阻害薬

を用いた場合には影響を受けないが、遺伝子改変動物により影響される因子

などの影響を受け、遺伝子改変動物の成績はその分子の機能分子としての可能性を示すことにより、候補分子がただちに治療薬の標的分子となったり、診断の決定的因子となるわけではないようである。

たとえば、IL-4 ノックアウトマウスにおいて、感染症の発症には相反する成績が報告されている。同様に、アレルギー性炎症に関しても表5に示すように、相反する成績が示された。すなわち、IgE 抗体産生について IL-4 ノックアウトマウスは抗原の種類によって産生が完全に抑制される場合と影響を受けない場合がある。さらに、アレルギー性皮膚炎については、急性の皮膚炎は発症しないとする報告があるが⁴⁰⁾、接触性皮膚炎は用いる抗原やマウスの系統によって違いが生じることが明らかにされた。すなわち、Weigmann ら³⁸⁾は DNFB を用いた接触性皮膚炎は IL-4 ノックアウトマウスによって影響を受けないとしている。IL-4 の接触性皮膚炎などの遅延型アレルギー反応における役割は、抗 IL-4 抗体や IL-4 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドの成績などから発症因子としての意義が明らかにされているので、筆者らも IL-4 ノックアウトマウスを用いて DNFB の反復塗布による接触性過敏性の発症を検討した。

筆者らの成績では、DNFB による皮膚炎発症は C 57 BL/6 バックグラウンドマウスでは IL-4 ノックアウトの影響は全くみられないが、BALB/c 系ノックアウトマウスでは明らかな接触性過敏性の低下がみられた³⁹⁾。

筆者らの成績では、IL-4 ノックアウトの影響は用いるマウスのバックグラウンドの系統が大きく左右することを示している。この点は他の遺伝子改変動物を用いた多くの疾患モデル研究でも指摘されている。

また、近年気管支喘息のモデル動物として、抗原吸入による気道炎症、および気道過敏性発症における IL-4 の意義について、ノックアウトマウスを用いた研究が報告されている。この場合も全

く相反する成績が報告され混乱を招いている。すなわち、Hogan ら³⁶⁾は IL-4 ノックアウトマウスに抗原を吸入させるとワイルドタイプマウスと同様に好酸球性気道炎症、および気道過敏性が発症することを明らかにした。また、彼らはこの時、抗 IL-5 抗体を投与することによって、症状が抑制されることから、抗原を吸入したマウスでは IL-4 非依存的に IL-5 が産生され、その IL-5 が喘息様症状発症に重要な働きをしているものと考えた。これに対し、Corry ら³⁵⁾や Brusselle ら^{33,34)}は、IL-4 ノックアウトマウスでは抗原吸入によってワイルドタイプマウスに生じる気道炎症や過敏性はみられず、IL-4 が発症に重要であることを示した。このように、アレルギー反応による気道炎症や気道過敏性における IL-4 の役割について相反する成績が報告されたので、筆者らも C 57 BL/6 系と BALB/c 系の IL-4 ノックアウトマウスを用いて気道炎症と気道過敏性の炎症を検討した。結果的には、気道におけるアレルギー性炎症は皮膚の場合と異なり、マウスのバックグラウンドの系統により影響を受けず、C 57 BL/6 および BALB/c のいずれの系統でもワイルドタイプマウスでは喘息様症状が発現するが、IL-4 ノックアウトにより発症は完全に抑制された。この点を抗 IL-4 抗体を用いて検討したが、IgE 産生を抑制することができる十分量の抗 IL-4 抗体を用いても喘息様症状は抑制できなかった。この点は遺伝的に出生時より完全に IL-4 を欠損する動物と、後天的に確立した病態を示す動物に抗体を投与して抑制される反応には違いがあり、後天的な治療には限界があることを示している。

一方で筆者らは、IL-5 レセプター α 鎖の欠損マウスを用いて同様な気道炎症と喘息様病態の発現を観察したところ、IL-5 レセプター α 鎖の遺伝的欠損により喘息様病態は完全に抑制されたが、抗 IL-5 抗体および可溶性 IL-5 レセプター α 鎖では、喘息様病態には影響がみられなかった。この場合も、後天的な IL-5 の中和では病態の発症を抑制することはできなかった。そこで、最終的に抗 IL-4 抗体と抗 IL-5 抗体の同時併用投与を行ったところ、気道過敏性を指標にした喘息様病

態は明らかに抑制され、両サイトカインの同時抑制が後天的な喘息の治療には有用であることが示された。このように、ノックアウトマウスで得られた成績は、その物質の重要性を確かに示しているが、治療薬などの標的分子としてただちに実用化できない場合も考慮しなければならない。

おわりに

以上のごとく、現在アレルギー性炎症の解析に用いられている遺伝子改変動物の現状について概説し、これまでの筆者らの教室での研究から得られたデータを紹介し、さらにその研究から考えられる問題点について述べた。最後の項で述べたように、遺伝子改変動物には多くの問題点がある。しかし、このような問題点の解決のために、表4に示したように、① 遺伝子改変動物 F_1 での成績とそれぞれの両親にバッククロスを繰り返した遺伝子改変動物を用いて得られた成績が一致すること、② 現時点では遺伝子改変動物によって得られた成績と、中和抗体、可溶性受容体による中和、アンチセンスなどによる発現阻害および特異的抑制薬を用いた場合の成績が一致すること、③ さらにマウス以外の動物種での種々の方法で検討された成績が一致することなどの研究を根気よく積み重ねていくことにより、その機能分子の正確な定義づけができるものと思われる。

しかし、すべてのデータがそろそろまで遺伝子改変動物の示す成績が無意味であるかというところではなく、遺伝子改変動物を用いて得られた成績は貴重な情報を提供している。すなわち、われわれの分野でいえば、遺伝子改変動物でみられた現象は候補分子の意義を明らかに示しており、その成績をベースに次の段階への研究へと進展すべき基礎データとしてとらえられている。まだまだ問題点はあるが、遺伝子改変動物を用いた研究について述べた。

文 献

- 1) International consensus report on diagnosis and treatment of asthma. National Heart, Lung and Blood Institute, NIH, Bethesda, Maryland, 20892, 1992.

- 2) 永井博式：抗アレルギー薬開発の問題点—アレルギー性機能分子の制御によるアレルギー治療へのアプローチ、アレルギー 47：475-483, 1998.
- 3) Holgate ST：The immunopharmacology of mild asthma. J Allergy Clin Immunol 98：S7-16, 1996.
- 4) 永井博式：抗アレルギー薬の展望. Molecular Medicine 34：775-781, 1997.
- 5) 永井博式：アレルギー疾患におけるサイトカインの関与とその制御. 治療 81：789-794, 1999.
- 6) Pawarkar R, Ra C：IgE Fc ϵ R1-mast cell axis in the allergic cycle. Clin Exp Allergy S3：6-14, 1998.
- 7) Oettgen HC, Martin TR, Wynshaw Boris A, Deng C, Drazen JM, Leder P：Active anaphylaxis in IgE-deficient mice. Nature 370：367-370, 1994.
- 8) Dombrowicz D, Lin S, Flamand V, Brini AT, Koller BH, Kinet JP：Allergy-associated FcRbeta is molecular amplifier of IgE-and IgG-mediated in vivo responses. Immunity 8：517-529, 1998.
- 9) Hazenbos WL, Gessner JE, Hofhuis FM, Kuipers H, Meyer D, Heijnen IA, Achmidt RE, Sandor M, Capel PJ, Daeron M, van de Winkel JG, Verbeek JS：Impaired IgG-dependent anaphylaxis and Arthus reaction in Fc gamma R III (CD16) deficient mice. Immunity 5：181-188, 1996.
- 10) Hiraoka S, Furumoto Y, Koseki H, Takagaki Y, Taniguchi M, Okumura K, Ra C：Fc receptor β submit in required for full activation of mast cells through Fc receptor engagement. Int Immunol 11：199-207, 1999.
- 11) Inoue I, Yanai K, Kitamura D, Taniuchi I, Kobayashi T, Niura K, Watanabe T：Impaired locomotor activity and exploratory behavior in mice lacking histamine H₁ receptors. Proc Natl Acad Sci USA 93：13316-13320, 1996.
- 12) Narumiya S, Hirata N, Namba T, Hayashi Y, Ushikubi F, Sugimoto Y, Negishi M, Ichikawa A：Structure and function of prostanoideceptors. J Lipid Med 6：155-161, 1993.
- 13) Sugimoto Y, Yamasaki A, Segi E, Tsuboi K, Aze Y：Failure of parturition in mice lacking the prostaglandin F receptor. Science 277：681-683, 1997.
- 14) Murata T, Ushikubi F, Matsuoka F, Hirata M, Yamasaki A：Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacycline receptor. Nature 388：678-682, 1992.
- 15) Ushikubi F, Segi E, Sugimoto Y, Murata T, Matsuoka T, Kobayashi T, Hizaki H, Tsuboi K, Katayama M, Ichikawa A, Tanaka T, Yoshida N, Narumiya S：Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP₃. Nature 395：281-284, 1998.
- 16) Ishii S, Nagase T, Tashiro F, Ikuta K, Sato S, Waga I, Kume K, Miyazaki J, Shimizu T：Bronchial hyperreactivity, increased endotoxin lethality and melanocytic tumorigenesis in transgenic mice overexpressing platelet-activating factor receptor. Embo J 16：133-142, 1997.
- 17) Nagase T, Ishii S, Katayama H, Fukuchi Y, Ouchi Y, Shimizu T：Airway responsiveness in transgenic mice overexpressing platelet-activating fac-

- tor receptor. Roles of thromboxanes and leukotrienes. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 1621-1627, 1997.
- 18) Ishii S, Kuwaki T, Nagase T, Maki K, Tashiro F, Sunaga S, Cao WH, Kume K, Fukuchi Y, Ikuta K, Miyazaki J, Kumada M, Shimizu T : Impaired anaphylactic responses with intact sensitivity to endotoxin in mice lacking a platelet-activating factor receptor. *J Exp Med* 187 : 1779-1788, 1998.
 - 19) Kobayashi K, Ishii S, Kume K, Takahashi T, Shimizu T, Manabe T : Platelet-activating factor receptor is not required for long-term potentiation in the hippocampal CA1 region. *Eur J Neurosci* 11 : 1313-1316, 1999.
 - 20) Lynch KR, O'Neil GP, Liu Q, Im DS, Sawyer N, Metters KM, Coulombe N, Abramovitz M, Figueroa DJ, Hosfield E, Williams DL Jr, Ford Hutchinson AW, Caskey CT, Evans JF : Characterization of the human cysteinyl leukotriene Cys LT1 receptor. *Nature* 399 : 789-793, 1999.
 - 21) Chen XS, Sheller JR, Johnson ER, Funk CD : Role of leukotrienes revealed by targeted disruption of the 5 lipoxygenase gene. *Nature* 372 : 179-181, 1994.
 - 22) Goulet JL, Snouwaert JN, Latour AM, Cottman TM, Koller BH : Altered inflammatory response in leukotriene deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 15852-15856, 1994.
 - 23) Boone DL, Currie WD, Leung PCK : Arachidonic acid and cell signaling in the ovary and placenta. *Prostaglandins Leukotriene Essential Fatty Acids* 48 : 79-87, 1993.
 - 24) Stenke L, Mansour M, Reizenstein P, Lindgren JA : Stimulation of human myelopoiesis by leukotrienes B₄ and C₄ : interactions with GM-CSF. *Blood* 8 : 352-356, 1993.
 - 25) Chiang N, Gronert K, Clish CB, O'Brien JA, Freeman MW, Serhan CW : Leukotriene B₄ receptor transgenic mice reveal novel protective roles for lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in reperfusion. *J Clin Invest* 104 : 309-316, 1994.
 - 26) Kuhn R, Rajewsky K, Mülle W : Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. *Science* 254 : 707-710, 1991.
 - 27) Kopf M, Le Gros G, Bachmann M, Lamers MC, Bluethmann H, Kohler G : Disruption of the murine IL-4 gene blocks Th2 cytokine responses. *Nature* 362 : 245-248, 1993.
 - 28) Noben-Trauth N, Kopf P, Müller I : Susceptibility to Leishmania major infection in interleukin-4-deficient mice. *Science* 271 : 987-990, 1996.
 - 29) Kopf M, Brombacher F, Kohler G, Kienzle G, Wideman KH, Lefrang K, Humbong C, Ledermann B, Solbach W : IL-4-deficient Balb/c mice resist infection with Leishmania major. *J Exp Med* 184 : 1127-1136, 1996.
 - 30) von der Weid, Kopf M, Kohler G, Langhorne J : The immune response to Plasmodium chabaudi malaria in interleukin-4-deficient mice. *Eur J Immunol* 24 : 2285-2293, 1996.
 - 31) Morawetz RA, Gabriele L, Rizzo LV, Noben N, Kuhn R, Rajewsky K, Müller W, Doherty TM, Finkelman F, Goffman RL, Morse HC : Interleukin (IL)-4-independent immunoglobulin class switch to immunoglobulin (Ig) E in the mouse. *J Exp Med* 184 : 1651-1661, 1996.
 - 32) Ferlin WG, Severinson E, Strom L, Heath AW, Coffman RL : CD40 signaling induces interleukin-4-independent IgE switching in vivo. *Eur J Immunol* 26 : 2911-2915, 1996.
 - 33) Brusselle G, Kips JC, Joos G, Bluethmann H, Pauwels R : Allergen-induced airway inflammation and bronchial responsiveness in wild-type and interleukin-4 deficient mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 12 : 254-259, 1995.
 - 34) Brusselle GG, Kips JC, Tavernier JH, van der Heyden JG, Cuvelier CA, Pauwels RA, Bluethmann H : Attenuation of allergic airway inflammation in IL-4 deficient mice. *Clin Exp Allergy* 24 : 73-80, 1994.
 - 35) Corry DB, Folkesson HG, Warnock ML, Erle DJ, Matihay MA, Wiener JP, Locksley RM : Interleukin 5 or eosinophil is required in a murine model of acute airway hyperreactivity. *J Exp Med* 183 : 109-117, 1996.
 - 36) Hogan SP, Mould A, Kikutani H, Ramsay AJ, Foster PS : Aeroallergen-induced eosinophilic inflammation, lung damage, and airways hyperreactivity in mice can occur independently of IL-4 and allergen-specific immunoglobulins. *J Clin Invest* 99 : 1329-1339, 1997.
 - 37) Grunewald SM, Werthmann A, Schnarr B, Klein CE, Brocher EB, Mohus M, Brombacher F, Sebold W, Duschl A : An antagonistic IL-4 mutant prevents type I allergy in the mouse : inhibition of the IL-4/IL-13 receptor system completely abrogates humoral immune response to allergen and development of allergic symptom in vivo. *J Immunol* 160 : 4004-4009, 1998.
 - 38) Weigmann B, Schwing J, Huber H, Ross R, Mossman H, Knop J, Reske-Kunz AB : Diminished contact hypersensitivity response in IL-4 deficient mice at a late phase of the elicitation reaction. *Scand J Immunol* 45 : 308-314, 1997.
 - 39) 平野洋介, 植田嘉文, 田中宏幸, 稲垣直樹, 永井博之 : IL-4 ノックアウトマウス (IL-4-KO) におけるアレルギー性皮膚炎. *アレルギー* 47 : 972, 1998.
 - 40) Berg DJ, Leach MW, Kuhn R, Rajewsky K, Müller W, Davidson NJ, Rennich D : Interleukin 10 but not interleukin 4 is a natural suppressant of cutaneous inflammatory responses. *J Exp Med* 182 : 99-108, 1995.
 - 41) Liblau R, Steinman L, Brocke S : Experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-4-deficient mice. *Int Immunol* 9 : 799-803, 1997.
 - 42) Tepper RI, Levinson DA, Stanger BZ, Campos Torres J, Abbas AK, Leder P : IL-4 induces allergic-like inflammatory disease and alters T cell development in transgenic mice. *Cell* 62 : 457-467, 1990.
 - 43) Burstein HJ, Tepper RI, Leder P, Abbas AK : Humoral immune functions in IL-4 transgenic

- mice. *J Immunol* 147 : 2950-2956, 1991.
- 44) Lewis DB, Yu CC, Forbush KA, Carpenter J, Sato TA, Grossman A, Liggitt DH, Perlmutter RM : Interleukin 4 expressed in situ selectively alters thymocyte development. *J Exp Med* 173 : 89-100, 1991.
 - 45) Leal LM, Moss DW, Kuhn R, Muller W, Liew FY : Interleukin-4 transgenic mice of resistant background are susceptible to *Leishmania major* infection. *Eur J Immunol* 23 : 566-569, 1993.
 - 46) Platzer C, Richter G, Uberla K, Muller W, Blocker H, Diamantstein T, Blankenstein T : Analysis of cytokine mRNA levels in interleukin-4-transgenic mice by quantitative polymerase chain reaction. *Eur J Immunol* 22 : 1179-1184, 1992.
 - 47) Dent LA, Strath M, Mellor AL, Sanderson CJ : Eosinophilia in transgenic mice expressing interleukin 5. *J Exp Med* 172 : 1425-1431, 1990.
 - 48) Tominaga A, Takaki S, Koyama N, Katoh S, Matsumoto R, Migita M, Hitoshi Y, Hosoya Y, Yamauchi S, Kanai Y : Transgenic mice expressing a B cell growth and differentiation factor gene (interleukin 5) develop eosinophilia and autoantibody production. *J Exp Med* 173 : 429-437, 1991.
 - 49) Kopf M, Brombacher F, Hodgkin PD, Ramsay AJ, Milbourne EA, Dai WJ, Ovington KS, Behm CA, Kohler G, Young IG, Matthaei KI : IL-5-deficient mice have a developmental defect in CD5+B1 cells and lack eosinophilia but have normal antibody and cytotoxic T cell responses. *Immunity* 4 : 15-24, 1996.
 - 50) Iwamoto T, Takatsu K : Evaluation of airway hyperreactivity in interleukin 5 transgenic mice. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 108 : 28-30, 1995.
 - 51) Nagai H, Ueda Y, Tanaka H, Hirano Y, Nakamura N, Inagaki N, Takatsu K, Kawada K : Effect of overproduction of interleukin 5 on dinitrofluorobenzene-induced allergic cutaneous response in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 288 : 43-50, 1999.
 - 52) Yoshida T, Ikuta T, Sugaya H, Maki K, Takagi M, Kanazawa H, Sunaga S, Kinashi T, Yoshimura K, Miyazaki J, Takaki S, Takatsu K : Defective B-1 cell development and impaired immunity against *angiostrongylus cantonensis* in IL-5R alpha deficient mice. *Immunity* 4 : 483-494, 1996.
 - 53) Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, Muller W : Interleukin 10 deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 75 : 263-274, 1993.
 - 54) Berg DJ, Kuhn R, Rajewsky K, Muller W, Menon S, Davidson W, Gruning G, Rennick D : Interleukin-10 is a central regulator of the response to LPS in murine models of endotoxin shock and the Schwartzman reaction but not endotoxin tolerance. *J Clin Invest* 96 : 2339-2347, 1995.
 - 55) De Vries JE : Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10. *Ann-Med* 27 : 537-541, 1995.
 - 56) Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, Donaldson DD : Interleukin 13 : central mediator of allergic asthma. *Science* 282 : 2258-2261, 1998.
 - 57) Sarventnick N, Liggitt D, Pitts SL, Hansen SE, Stewart TA : Insulin-dependent diabetes mellitus induced in transgenic mice by ectopic expression of class II MHC and interferon-gamma. *Cell* 5 : 773-782, 1988.
 - 58) Dalton DK, Pitts-Meek S, Keshav S, Figari IS, Bradley A, Stewart TA : Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes. *Science* 259 : 1739-1742, 1993.
 - 59) Kamijo R, Rhipiro D, Le J, Huang S, Aguet M, Vilcek J : Generation of nitric oxide and induction of major histocompatibility complex class II antigen in macrophages from mice lacking the interferon gamma receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 90 : 6626-6630, 1993.
 - 60) Sandberg JO, Benda B, Lycke N, Korsgren O : Xenograft rejection of porcine islet-like cell clusters in normal, interferon gamma, and interferon gamma receptor deficient mice. *Transplantation* 63 : 1446-1452, 1997.