

IL-33 遺伝子発現の抑制が鼻粘膜の好酸球性炎症に与える影響

徳島大学医学部 耳鼻咽喉科

神村 盛一郎

1.緒言

アレルギー性鼻炎は国民の約 1/3 が罹患する国民病であり、その有病率は今も増加している。アレルギー性鼻炎は I 型アレルギー疾患であり、抗ヒスタミン薬を中心とした薬物療法は水様性鼻漏やくしゃみには効果を認めるものの、患者が最も苦痛を訴える鼻閉症状への効果が乏しい。鼻閉症状はアレルギー性炎症の遅発相における好酸球性炎症の関与が大きいことが知られており、好酸球性炎症の病態の解明とその治療法の開発が求められている。われわれの以前の研究では、スギ花粉症患者において、鼻粘膜のヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現レベルとくしゃみ、鼻汁スコアには有意の相関を認め、さらにスギ花粉症患者に対して抗ヒスタミン薬を用いた初期療法を行うと、水様性鼻漏とくしゃみ、また鼻粘膜のヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現の亢進が有意に抑制されることを明らかにしてきた¹⁾。しかし鼻閉や鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現亢進の抑制効果を認めなかった²⁾。われわれは、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現の亢進が末梢血好酸球数の増加と相関することを見出し、好酸球性炎症には IL-33 遺伝子発現の亢進が関与していることが示唆された。

2.方法

鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現亢進を抑制することで、鼻粘膜の好酸球性炎症が抑制され、アレルギー性鼻炎症状が抑制されるとの作業仮説を立て、IL-33 遺伝子発現の亢進機構と小青竜湯の抑制効果について研究を行った。IL-33 遺伝子発現の測定にはマウス線維芽細胞である Swiss 3T3 細胞を、ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現の測定には HeLa 細胞を用いた。小青竜湯を Swiss3T3 細胞および HeLa 細胞に処置し、ホルボールエステル刺激を行い IL-33 およびヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進に対する抑制効果を検討した。さらに小青竜湯を構成する 8 つの生薬の IL-33 およびヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進に対する抑制効果も検討した。また、漢方薬の苦参の有効成分 Maackiain やフラボノイドの一種である Quercetin をプロテインキナーゼ C δ 抑制薬として用い、ヒートショック蛋白 90 の抑制薬とともに IL-33 遺伝子発現亢進に対する抑制効果を検討した。

3.結果

小青竜湯はホルボールエステル刺激による IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現の亢進を両者とも濃度依存的に有意に抑制した (図 1、2)。また、小青竜湯を構成する 8 つの生薬のうち半夏を除く 7 つの生薬で IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現の亢進を有意に抑制する効果を認めた。この各生薬の IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現に対する IC₅₀ 値 (50%阻害濃度) を比較したところ、両者には有意な正の相関を認めた (図 3)。さらにプロテインキナーゼ Cδ 抑制薬である Maackiain³⁾や Quercetin⁴⁾、そしてプロテインキナーゼ Cδ の活性化に必要なヒートショック蛋白 90 の抑制薬も IL-33 の遺伝子発現の亢進を濃度依存的に有意に抑制した。

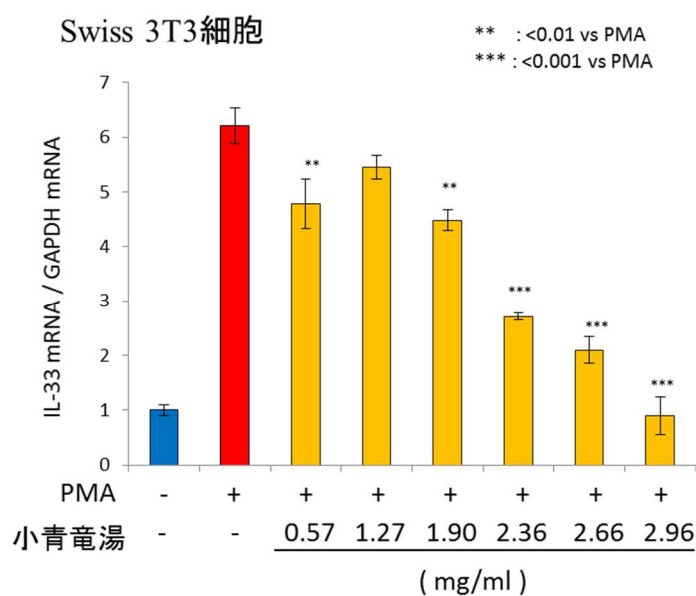


図 1 ホルボールエステル刺激による IL-33 遺伝子発現亢進に対する
小青竜湯の抑制効果

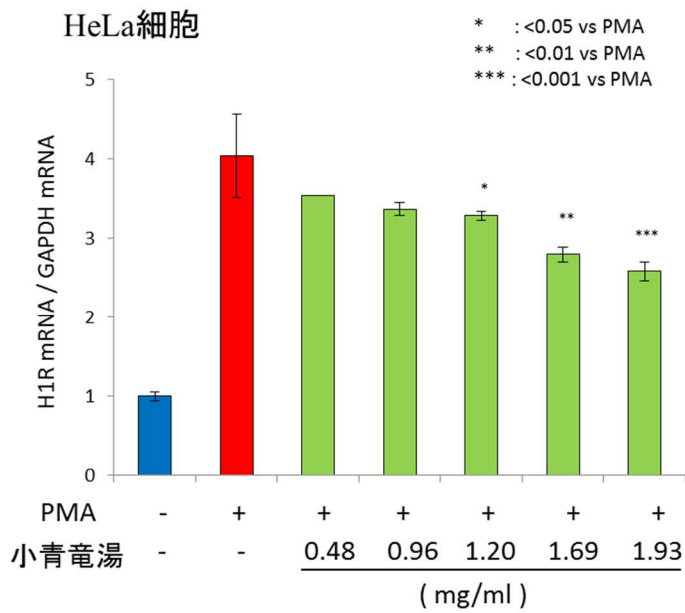


図2 ホルボールエステル刺激によるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進に対する小青竜湯の抑制効果

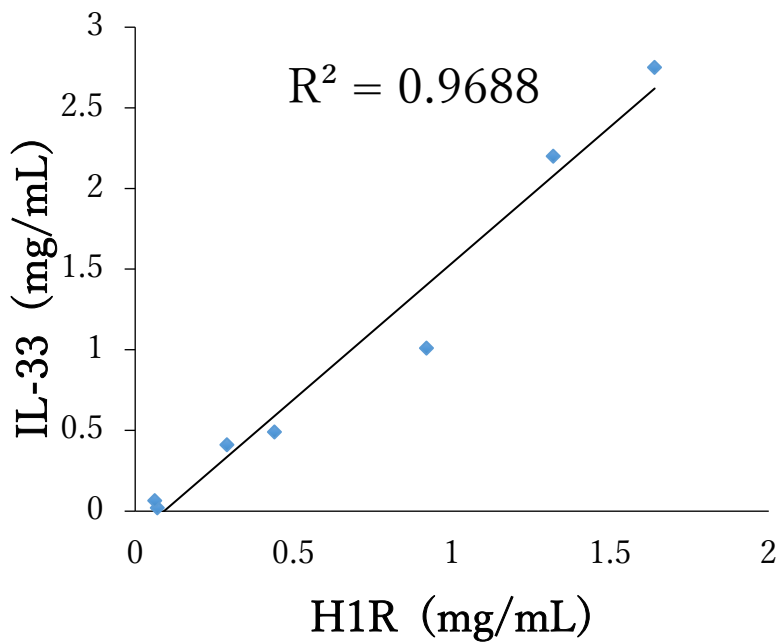


図3 IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現に対する小青竜湯の7つの生薬の IC₅₀ 値の相関関係

4.考察

小青竜湯はホルボールエステル刺激による IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現亢進

を共に抑制する効果を認めたことから、ヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現亢進のみを抑制する抗ヒスタミン薬では効果不十分なアレルギー性鼻炎の治療に有効である可能性が示唆された。さらに、小青竜湯の 8 つの生薬のうち半夏を除く 7 つの生薬で IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現の亢進を抑制する効果を認め、各生薬の IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現に対する IC₅₀ 値が正の相関が認められたことから、小青竜湯の 7 つの生薬は IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の両遺伝子発現シグナルの共通分子を標的としていると考えられた。

われわれは以前の研究から、ヒスタミン刺激によるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現レベルの上昇には、プロテインキナーゼ C δ が強く関与していることを明らかにしてきた。さらに、このヒスタミンシグナルにおいて主要な働きをするプロテインキナーゼ C δ はヒートショックプロテイン 90 との複合体を形成することで、さらに下流にシグナルが伝達されることも明らかにしている⁵⁾。以上の結果から、IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現の亢進には、共通分子としてプロテインキナーゼ C δ とヒートショックプロテイン 90 との複合体が関与しており、小青竜湯はその共通分子を抑制することによって、IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体遺伝子の両者の発現亢進を抑制し、くしゃみ、鼻汁だけでなく好酸球性炎症による鼻閉にも効果を発現していることが示唆された。

5. 結語

IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の遺伝子発現の亢進には、共通分子としてプロテインキナーゼ C δ とヒートショックプロテイン 90 複合体が関与しており、小青竜湯の有効成分はプロテインキナーゼ C δ とヒートショックプロテイン 90 複合体の抑制によって IL-33 とヒスタミン H₁ 受容体の両者の遺伝子発現亢進を抑制することで、くしゃみ、鼻汁だけでなく好酸球性炎症による鼻閉にも効果があることが示唆された。

今後は、われわれが現在開発中で鼻粘膜の好酸球性炎症が確認されたダニ抗原アレルギー性鼻炎モデルマウスに対する、上記の IL-33 遺伝子発現抑制薬のアレルギー性鼻炎症状や鼻粘膜の IL-33 遺伝子発現に対する効果を検討する予定である。

6. 文献

- 1) Mizuguchi H, Kitamura Y, Kondo Y, Kuroda W, Yoshida H, Miyamoto Y, Hattori M, Fukui H, Takeda N. Preseasonal prophylactic treatment with antihistamines suppresses nasal symptoms and expression of histamine H₁ receptor mRNA in the nasal mucosa of patients with pollinosis. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2010; 32: 745-8.
- 2) Kitamura Y, Mizuguchi H, Ogishi H, Kuroda W, Hattori M, Fukui H, Takeda N. Preseasonal prophylactic treatment with antihistamines suppresses IL-5 but not IL-33 mRNA expression in the nasal mucosa of patients with seasonal allergic rhinitis caused by Japanese cedar pollen. *Acta Otolaryngol.* 2012; 132: 434-8.

- 3) Mizuguchi H, Nariai Y, Kato S, Nakano T, Kanayama T, Kashiwada Y, Nemoto H, Kawazoe K, Takaishi Y, Kitamura Y, Takeda N, Fukui H. Maackiain is a novel antiallergic compound that suppresses transcriptional upregulation of the histamine H1 receptor and interleukin-4 genes. *Pharmacol Res Perspect.* 2015; 3: e00166.
- 4) Hattori M, Mizuguchi H, Baba Y, Ono S, Nakano T, Zhang Q, Sasaki Y, Kobayashi M, Kitamura Y, Takeda N, Fukui H. Quercetin inhibits transcriptional up-regulation of histamine H1 receptor via suppressing protein kinase C- δ /extracellular signal-regulated kinase/poly(ADP-ribose) polymerase-1 signaling pathway in HeLa cells. *Int Immunopharmacol.* 15: 232-9, 2013.
- 5) Nariai Y, Mizuguchi H, Ogasawara T, Nagai H, Sasaki Y, Okamoto Y, Yoshimura Y, Kitamura Y, Nemoto H, Takeda N, Fukui H. Distribution Heat Shock Protein 90 (Hsp90)-Protein Kinase C δ (PKC δ) Interaction by (-)-Maackiain Suppresses Histamine H1 Receptor Gene Transcription in HeLa Cells. *J Biol Chem.* 2015; 290: 2739