

【要約】

Role of CD69 in the pathogenesis of elastase-induced pulmonary
inflammation and emphysema

(エラスターゼ誘導肺炎症・肺気腫の病態形成における CD69 の役
割)

千葉大学大学院医学薬学府

先端生命科学専攻

(主任：巽 浩一郎 教授)

藤田 哲雄

【目的】CD69 分子は C タイプレクチンに属する II 型の膜分子でリンパ球を刺激すると数時間以内に発現が上昇することから、リンパ球の早期活性化マーカーとして広く用いられている。リンパ球以外にも、好中球や単球などの他の血球細胞にも発現していることが知られている。CD69 は炎症局所に浸潤する多くの炎症細胞に発現することから、炎症反応の誘導・制御に重要な役割を果たしていると考えられている。一方、慢性閉塞性肺疾患（COPD）患者の肺組織・気管支肺胞洗浄液（BALF）においてリンパ球の CD69 の発現率が高いことが報告されている。しかしながら、現在まで COPD の病態形成における CD69 の役割に関しては明らかにされていない。今回、我々は、エラスターゼ誘導肺気腫モデルマウスを用いて、CD69 と肺気腫の病態形成の関わりについて検討した。

【方法】野生型（WT）マウスに豚膵エラスターゼ 0.2 U/g を気管内投与し、day1 に BALF の解析と肺組織の免疫染色にて肺炎症の評価を行い、day21 に気腫性変化について組織学的解析（mean linear intercept; MLI）を行った。同様の実験を CD69 ノックアウト（CD69KO）マウスでも実施し、WT マウスと比較した。

【結果・考察】WT マウスと比較し、CD69KO マウスでは BALF 中

の総細胞数、ならびに、好中球数・マクロファージ数・リンパ球数は高値を示し、MLI の増加として確認される気腔の拡大も顕著であった。エラスターゼ障害初期 (day1) の WT マウス肺組織の免疫染色では、特にマクロファージとリンパ球に CD69 の発現が確認された。次に炎症の原因を検討するために、COPD の炎症に関与するとされる Th1 サイトカインの代表である IFN- γ と Th17 サイトカインの代表である IL-17 について、day1 の BALF を用いて測定した。その結果、IFN- γ はエラスターゼ刺激では変化を認めず、本モデルでは Th1 レスポンスの関与は乏しいことが判明した。一方、IL-17 はエラスターゼ刺激により増加を認めた。さらに、WT マウスと比較して CD69KO マウスにおいて IL-17 値は有意に高値を示した。そこで、Th17 の分化に関与するサイトカインである IL-6 と IL-23 についても測定した。IL-6 は、IL-17 同様にエラスターゼ刺激によって増加し、さらに、WT マウスと比較して CD69KO マウスにおいて IL-6 値は有意に高値を示した。一方、IL-23 に関しては、エラスターゼ刺激により産生量の変化を認めなかった。ゆえに、CD69 欠損は、炎症性サイトカインである IL-17 と IL-6 の産生を増加させることにより肺炎症を悪化させたと考えられた。尚、最近の報告にて、IL-17 欠損あるいは

は IL-6 欠損によりエラスターゼ誘導肺気腫が抑制されるなど、肺気腫形成における IL-17 と IL-6 の関与が指摘されている。したがって、CD69 欠損に伴う IL-17 と IL-6 の産生の増加は、CD69KO マウスにおける肺炎症の悪化のみならず肺気腫の増悪にも関与している可能性が示唆される。

次に、IL-17 と IL-6 の産生細胞を同定するために、エラスターゼ障害初期 (day1) の WT マウス肺組織を用いて、CD69 を発現する血球系細胞と、CD69 を発現しない上皮細胞や内皮細胞などの肺構成細胞に対して免疫染色を実施した。その結果、エラスターゼ刺激により IL-17 は CD4T⁺細胞と $\gamma\delta$ T 細胞に多く発現を認め、IL-6 は主にマクロファージに発現を認めた。同様の免疫染色をエラスターゼ障害初期 (day1) の CD69KO マウス肺組織においても実施したところ、WT マウス肺組織と同様の結果を認め、さらに、これら IL-17 陽性 CD4⁺T 細胞、IL-17 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞および IL-6 陽性マクロファージの細胞数は WT マウス肺組織と比較していずれも有意に高値を示した。

最後に、肺気腫の病態形成における CD69 シグナルと IL-17 あるいは IL-6 との関連性を検証するために、IL-17 と IL-6 の中和抗体が CD69KO マウスにおける気腫化を抑制するかどうか検討した。エラ

スターゼ投与後の CD69KO マウスに対して、抗 IL-17 抗体と抗 IL-6 抗体を気管内投与 (day1) したところ、WT マウスでは、抗 IL-17 抗体あるいは抗 IL-6 抗体単独の投与では気腫化の抑制は認めなかったが、両方の中和抗体の同時投与により有意に気腫化を抑制した。一方、CD69KO マウスでは、両方の抗体の同時投与のみならず単一の中和抗体の投与においても気腫化の抑制を認めた。すなわち、IL-17 と IL-6 の中和抗体による気腫化抑制効果は CD69KO マウスにおいて顕著に認められた。以上より、CD69 欠損に伴う IL-17 と IL-6 の産生増加は、CD69KO マウスにおける気腫化の増悪に深く関与していると考えられた。

【結論】 CD69 欠損によりエラスターゼ誘導肺炎症・肺気腫の悪化を認めた。CD69 シグナルは肺気腫の病態形成に抑制的に作用するため、CD69 のアゴニスト治療は COPD 治療につながる可能性があると考えられた。