

## 自然免疫異常による生体防御能の低下と炎症の誘発

----好中球ミエロペルオキシダーゼ欠損を中心に----

Contribution of innate immunity to the host defense and inflammation

---How does myeloperoxidase work?---

荒 谷 康 昭

(横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科)

### 1) はじめに

免疫は自然免疫系と獲得免疫系に大別されている。前者は、好中球やマクロファージと呼ばれる白血球(図1)が活性酸素などを病原体に暴露して殺菌し、感染初期の生体防御を担っている。後者は、リンパ球が作り出す抗体などによって殺菌するシステムであり、感染後期に発動して自然免疫系を免れた病原体を殺菌する。これらの免疫系が正常に機能することで我々の日々の健康が保たれているが、そのシステムのどこかに異常が生じるとさまざまな疾病が発症する。筆者は主に自然免疫に注目し、好中球の機能異常によって発症する疾患とその発症機構を探っている。本稿では、好中球だけに存在しているミエロペルオキシダーゼ(MPO)(1)という酵素に関わる疾患について、マウスモデルを使って得られた知見を中心に紹介する。

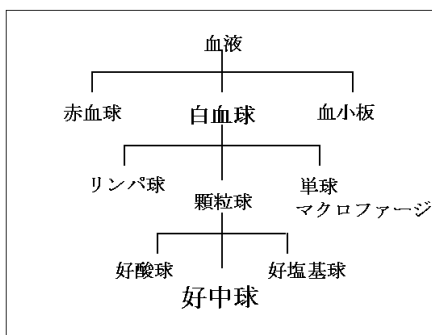


図1 血液の分類

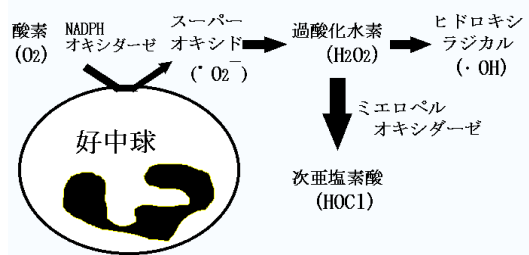


図2 好中球が産生する活性酸素

### 2) 好中球が産生する活性酸素

血液中の白血球のほとんどは好中球であり、ヒトでは全白血球の6～7割を占めている。病原体が体内に感染すると、血液中を循環している好中球が血管外組織の感染局所に浸潤し、活性酸素を放出して速やかに病原体を殺菌する。好中球には好中球特有の活

性酸素産生系が備わっている。すなわち、食細胞 NADPH オキシダーゼにより酸素からスーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) を、次いで自発的あるいはスーパーオキシドディスムターゼにより  $O_2^{\cdot-}$  から過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) を産生する。MPO は、 $H_2O_2$  と塩化物イオン ( $Cl^-$ ) から次亜塩素酸 ( $HOCl$ ) が作られる反応を触媒する酵素である (図 2)。生体内のほとんどの組織では、活性酸素はミトコンドリアの電子伝達系の漏れとして発生しているが、好中球だけは殺菌のために積極的に活性酸素を産生している。MPO 欠損症の発症頻度は、欧米では 2,000 ~ 4,000 人に 1 人、本邦では 57,135 人に 1 人と報告されている。

### 3) MPO 欠損による感染抵抗性の低下

MPO 活性を完全欠損または部分欠損している人は、正常な活性を持つ人よりも感染症に罹患する頻度が有意に高く、特にカンジダ感染が多く報告されている。ただし、健康な生活を営んでいる人も少なくない。筆者は感染に対する MPO 欠損のリスクを知るために、MPO のノックアウトマウス (MPO-KO マウス) を作製して (2)、このマウスの感染抵抗性を解析した。まず、真菌の一種であるカンジダ菌を肺感染させると、MPO-KO マウスは感染した肺中の菌の殺菌能が著しく低下していることが原因で、野生型マウスよりも重篤な肺炎を発症して呼吸困難により数日で死亡した (2)。カンジダ菌に限らずさまざまな真菌、細菌、ウイルスに対する抵抗性も低下しているが、真菌感染に対する抵抗性の低下が最も顕著であった (3-6)。このことから、MPO 欠損という自然免疫系の異常が種々の病原体に対する感染初期の生体防御能の低下を導いていることがわかる。さらに興味深いことに、自然免疫系よりもむしろ獲得免疫系が重要とされているクリプトコッカス菌に対する抵抗性も低下したことから、MPO の欠損は単に自然免疫系の低下に留まらず、獲得免疫系の低下をも導くことが強く示唆された (7)。

### 4) 各種炎症性疾患における MPO の関与

上記のように、好中球が産生する活性酸素は感染防御のために重要な役割を担っている。一方、活性酸素はタンパク質、脂質 (8)、DNA (9) の修飾活性や切断活性を有するだけでなく、細胞内セカンドメッセンジャーとしても作用するので、生体組織が活性酸素に曝されると著しい傷害を受けたり、細胞変異を生じる可能性が十分にあると考えられている。活性酸素が諸刃の剣と称される所以がここにある。事実として、腎炎、皮膚炎、動脈硬化、肺炎、肺がんなどの炎症性疾患の一因として MPO が関わっていることが多数報告されている。

#### (a)腎炎とMPO

血管に炎症の主症状がみられる疾患は血管炎と総称されており、糸球体腎炎などもこれに含まれる。発症メカニズムは不明であるが、血管炎患者では高いMPO活性やMPO抗体価の上昇が認められている。そこで、腎炎とMPOとの因果関係をMPO-KOマウスを用いて調べたところ、MPO-KOマウスでは虚血再灌流性の腎障害が軽減したことから、MPOによって産生されたHOClが腎障害を誘発していることが示された(10)。また、MPO抗体の結合によって活性化した好中球が活性酸素を放出して腎内皮細胞を刺激してサイトカイン産生を促し、このサイトカインによって腎臓の炎症が惹起されている可能性も示唆された(11)。

#### (b)皮膚炎とMPO

皮膚が紫外線に過度に曝されると皮膚炎が起こり、極度の場合は皮膚組織がダメージを受けて深刻な皮膚傷害を発症する。炎症患部には多数の好中球が集積しているので、ここから放出される活性酸素やタンパク質分解酵素による細胞破壊が組織傷害の一因であると考えられている。筆者らは、紫外線(UVB)をマウスの背部に照射して実験的皮膚炎を誘発させると、MPO-KOマウスの方が野生型マウスよりも好中球やマクロファージが早期に集積して皮膚炎を起こすという興味深い現象を観察した(図3)。また、集積したこれらの炎症細胞がタンパク質分解酵素を産生していることによって皮膚傷害が進行している可能性も示した(12)。

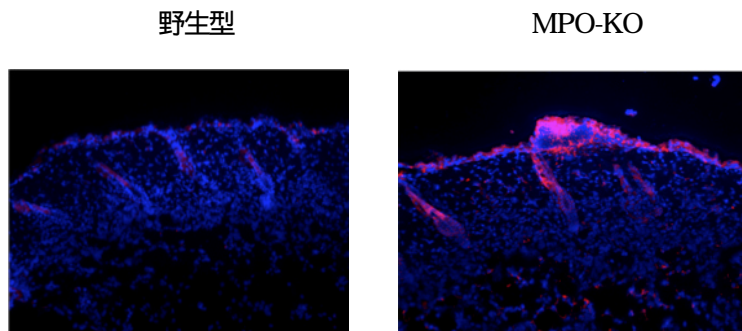


図3 紫外線照射48時間後の照射患部への好中球の集積  
皮膚組織切片を好中球マーカーであるGr-1で蛍光染色した。

#### (c)肺炎・肺がんとMPO

肺炎は、病原体や炎症起爆剤が肺に侵入することによって肺胞に白血球が集積している病態であり、発症初期に集積している白血球は主に好中球である。肺胞上皮細胞や肺

胞マクロファージが、サイトカインやケモカインを放出して好中球を呼び寄せることによって、好中球の集積が始まる。グラム陰性菌の菌体外成分であるリポ多糖(LPS)は炎症誘発剤として汎用されている。LPS は、マクロファージなどに存在する Toll 用受容体(TLR)4 とよばれる LPS 結合タンパク質に結合してマクロファージを活性化し、サイトカイン類を産生させることが知られている。さて、LPS の肺投与によって生じる肺炎は、MPO-KO マウスの方が野生型マウスよりも軽度であったことから、MPO が LPS 誘発性肺炎のリスク因子であることがわかった (13)。ところが、ザイモザンと称する酵母菌体成分で肺炎を誘発させると、LPS とは反対に MPO-KO マウスの方が重篤な肺炎を発症した (14)。具体的には、ザイモザン投与 7 日目には、肺胞が炎症細胞で充満した重篤な肺炎像が観察され (図 4 A) MPO-KO マウスの肺胞には、野生型マウスよりも有意に多数の炎症細胞が集積していた (図 4 B)。しかも、そのほとんどが好中球であった。LPS の受容体が TLR4 であるのに対して、ザイモザンの受容体は TLR2 である。このことは、受容体の違いによって MPO の関わり方が異なることを強く示唆している。MPO を欠損することによって好中球の集積が過剰になるメカニズムを探ったところ、MPO 欠損好中球の方が野生型好中球よりも好中球走化因子 (ケモカイン) の一種である MIP-2 を過剰に産生することを突き止めた (15)。この興味深い事実から筆者らは、ザイモザン刺激に応答して肺胞に浸潤した MPO 欠損好中球が、肺胞内で野生型好中球よりも過剰の MIP-2 を産生するため、これが更なる好中球の浸潤を加速し、その結果、野生型マウスよりも重篤な肺炎が進行していく、という仮説を提唱した。このように、MPO は単に HOCl の産生を触媒しているだけでなく、遺伝子発現のためのセカンドメッセンジャーとしても機能している可能性が高い。その遺伝子発現のための一連のシグナル伝達系のどのステップに HOCl が働いているのか、今後の解析に興味を持たれる。

また、アスベストの肺投与によって誘発される肺炎も MPO-KO マウスの方が軽度であることから、MPO が肺がんのリスク因子であることも報告されている (16)。

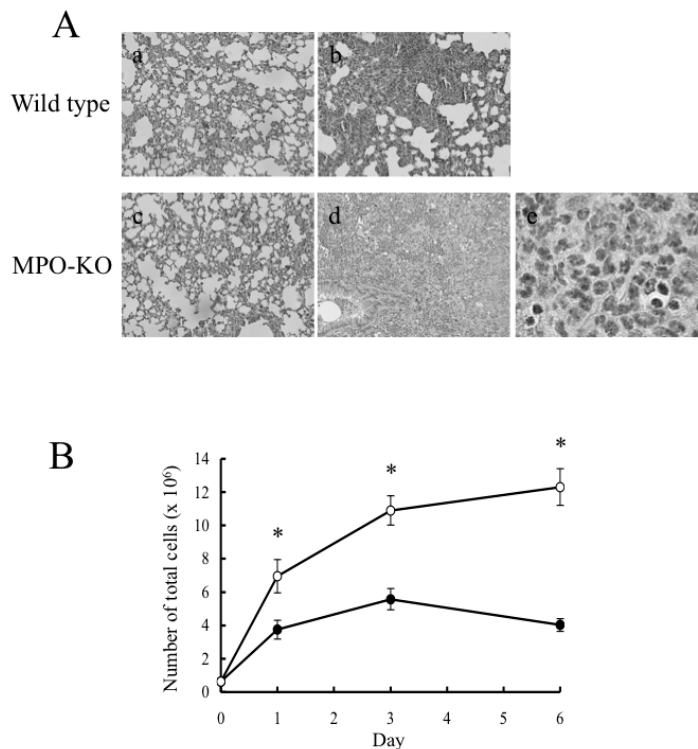


図4 ザイモザン誘発性肺炎

(A)ザイモザン投与6日目の肺組織像：(a,c)非投与、(b,d)投与6日目、(e)パネルdの拡大像  
 (B)肺胞洗浄によって回収された細胞数の経時的変化：● 野生型マウス ○ MPO-KO マウス

## 5) おわりに

食細胞 NADPH オキシダーゼ(図2)の欠損が原因である慢性肉芽腫症では、潰瘍性大腸炎や関節リウマチなどの炎症性疾患の発症頻度が高いといわれている。この臨床知見は、本稿で紹介した筆者らの研究成果と類似している。好中球機能異常の動物モデルを利用した基盤研究の蓄積によって、このような好中球機能異常に起因する炎症性疾患の発症メカニズムが徐々に解明されていくことを確信しつつ、筆者も引き続きその一翼を担っていく所存である。

本稿では、筆者の研究室所属の大学院生らの研究成果、および他機関との共同研究によって得られた成果を中心に紹介した。この研究過程で、特にタンパク質分解酵素の解析の際には、宮崎香教授から手厚い御指導を賜った。ここに深く感謝の意を表したい。

## 引用文献

1. Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J. Leukoc. Biol.* 93:185-193 (2013).
2. Aratani, Y., Koyama, H., Nyui, S., Suzuki, K., Kura, F., and Maeda, N: Severe impairment in early host defense against *Candida albicans* in mice deficient in myeloperoxidase. *Infect. Immun.* 67: 1828-1836 (1999).
3. Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H: Differential host susceptibility to pulmonary infection with bacteria and fungi in mice deficient in myeloperoxidase. *J. Infect. Dis.* 182: 1276-1279 (2000).
4. Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Suzuki, K., Dinanuer, M.C., Maeda, N., and Koyama, H: Critical role of myeloperoxidase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase in high-burden systemic infection of mice with *Candida albicans*. *J. Infect. Dis.* 185: 1833-1837 (2002).
5. Phung, T., Sugamata, R., Uno K, Aratani, Y., Ozato, K., Kawachi, S., Nguyen, L., Nakayama, T., and Suzuki, K: Key role of RANTES (regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted), nonstructural protein1 and myeloperoxidase in cytokine storm induced by influenza virus PR-8 (A/H1N1) infection in A549 bronchial epithelial cells. *Microbiol. Immunol.* 55:874-884 (2011).
6. Sugamata, R., Dobashi, H., Nagao, T., Yamamoto, K., Nakajima, N., Sato, Y., Aratani, Y., Oshima, M., Sata, T., Kobayashi, K., Kawachi, S., Nakayama, T., and Suzuki, K: The contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. *Microbiol. Immunol.* 56:171-182 (2012).
7. Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Takano, Y., Ishida-Okawara, A., Suzuki, K., Maeda, N., and Koyama, H: Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to host defense against *Cryptococcus neoformans*. *J. Med. Microbiol.* 55:1291-1299 (2006).
8. Tomono S, Miyoshi N, Shiokawa H, Iwabuchi T, Wakao Y, Suzuki A, Aratani Y, Higashi T, Nukaya H, Ohshima H: Formation of cholesterol ozonolysis products in vitro and in vivo through a myeloperoxidase-dependent pathway. *J. Lipid Res.* 52:87-97 (2011).
9. Asahi T, Kondo H, Masuda M, Nishino H, Aratani Y, Naito Y, Yoshikawa T, Hisaka S, Kato Y, Osawa T. Chemical and immunochemical detection of 8-halogenated deoxyguanosines at

- early stage inflammation. *J. Biol. Chem.* 285:9282-9291 (2010).
10. Matthijsen, R.A., Huugen, D., Hoebers, N.T., Vries, B., Peutz-Kootstra, C. J., Aratani, Y., Daha, M.R., Tervaert, J. W. C., Buurman, W. A., and Heeringa, P: Myeloperoxidase is critically involved in the induction of organ damage following renal ischemia reperfusion. *Am. J. Pathol.* 171:1743-1752 (2007).
  11. Nagao, T., Suzuki, K., Utsunomiya, K., Matsumura, M., Saiga, K., Wang, P., Minamitani, H., Aratani, Y., Nakayama, T., Suzuki, K: Direct activation of glomerular endothelial cells by anti-moesin activity of anti-myeloperoxidase antibody. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26:2752-60 (2011).
  12. Komatsu, J., Koyama, H., Maeda, N., and Aratani, Y: Earlier onset of neutrophil-mediated inflammation in the ultraviolet-exposed skin of mice deficient in myeloperoxidase and NADPH oxidase. *Inflamm. Res.* 55: 200-206 (2006).
  13. Haegens A, Heeringa P, van Suylen RJ, Steele C, Aratani Y, O'Donoghue RJ, Mutsaers SE, Mossman BT, Wouters EF, Vernooy JH: Myeloperoxidase deficiency attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation and subsequent cytokine and chemokine production. *J. Immunol.* 182:7990-7996 (2009).
  14. Takeuchi, K., Umeki, Y., Matsumoto, N., Yamamoto, K., Yoshida, M., Suzuki, K., and Aratani, Y: Severe neutrophil-mediated lung inflammation in myeloperoxidase-deficient mice exposed to zymosan. *Inflamm. Res.* 61:197-205 (2012).
  15. Tateno, N., Matsumoto, N., Motowaki, T., Suzuki, K., and Aratani, Y : Myeloperoxidase deficiency induces MIP-2 production via ERK activation in zymosan-stimulated mouse neutrophils. *Free Radic. Res.* in press (2013).
  16. Haegens A, van der Vliet A, Butnor KJ, Heintz N, Taatjes D, Hemenway D, Vacek P, Freeman BA, Hazen SL, Brennan ML, Mossman BT. Asbestos-induced lung inflammation and epithelial cell proliferation are altered in myeloperoxidase-null mice. *Cancer Res.* 65:9670-9677 (2005).