

## □講 座□

## ARDSにおける接着分子の役割

上 出 利 光\* 田 宮 幸 彦\*\*

## はじめに

ARDS (adult respiratory distress syndrome) は、ショック、敗血症、外傷、熱傷、肺炎など様々な原因によって発生する低酸素血症を主徴とする急性呼吸不全の一病態である。その基本的な病態は、肺毛細血管内皮細胞障害と血管透過性亢進によって引き起こされる肺水腫である。近年、ARDSにおいて好中球やマクロファージを中心とする炎症細胞とサイトカインをはじめとする様々な mediator が密接に関連して肺傷害の発症に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた<sup>1)</sup>。このようにARDSの病態が明らかになってきたなかで、肺傷害の初期変化や初期因子を解明する立場から、急性肺障害という言葉が用いられるようになってきた。すなわち急性肺障害は、肺毛細血管内皮傷害とそれに伴う肺実質傷害を意味し、その典型的な severe lung injury がARDSという考えである。

好中球などの炎症細胞が臓器障害を引き起こすには、臓器に集積し浸潤する必要がある。これらの細胞の臓器への集積や浸潤には血管内皮細胞と接着分子を介した接着が必要であることがわかってきた<sup>2)~4)</sup>。最近、接着分子の研究が進むにつれ、急性肺傷害の発生機序における接着分子の関与について検討した報告も増加してきており、急性肺傷害における接着分子の役割が次第に解明されつつある。

本稿では、接着分子における最近の知見とともに、ARDS、急性肺傷害の発生機序と接着分子の関与について最近の報告をまとめてみたい。

## 1. ARDSの発生機序 (図1)

ARDSは血管内皮細胞障害と血管透過性亢進による肺水腫から始まり肺繊維化にいたる一連の経過をたどる。現在ARDSは全身の炎症反応により放出されたサイトカイン、蛋白融解酵素、血小板活性化因子 (PAF) や補体の活性化などの chemical mediator により、肺毛細管内の好中球や肺胞内に存在する肺胞マクロファージなどの炎症細胞が刺激を受け活性化されることにより引き起こされる過剰な炎症反応と考えられている<sup>5)</sup>。

ARDSの発生初期には、炎症細胞の中でも特に好中球が中心的役割を果たしている<sup>6)7)</sup>。このことに関しては、ARDSの肺病理所見で好中球の肺毛細血管内への集積、間質内や肺胞内への浸潤が認められること、また白血球を人工的に減少させた動物において肺傷害が少なくなる<sup>8)</sup>、などの報告からも明白である。

それでは、好中球などの炎症細胞は実際にどのように肺傷害を引き起こすのであろうか。まず、chemical mediatorの発生により、好中球が局所に集積し活性化する。活性化された好中球はTNF- $\alpha$  やIL-1などのサイトカイン、PAF、ロイコトリエンなどのアラキドン酸代謝産物、蛋白融解酵素、活性酸素などの cytotoxic product を産生し、血管内皮細胞と結合織マトリックスを破壊するとともに炎症細胞をさらに集積、活性化させる。このように chemical mediator や cytotoxic product の産生は、自己崩壊的に増幅され局所の炎症はさらに助長される。ついで好中球は間質に遊走し、好中球が産生する protease (たんぱく分解酵素) や活性酸素などが間質浮腫を引き起こし、さらに肺胞上皮細胞を破壊し肺水腫を引き起こす。また、肺胞内に入った様々な chemical mediator や cytotoxic product により

\* 北海道大学免疫科学研究所免疫病態部門 (〒060 札幌市北区北15西7)

\*\* 札幌医科大学医学部外科学第2講座

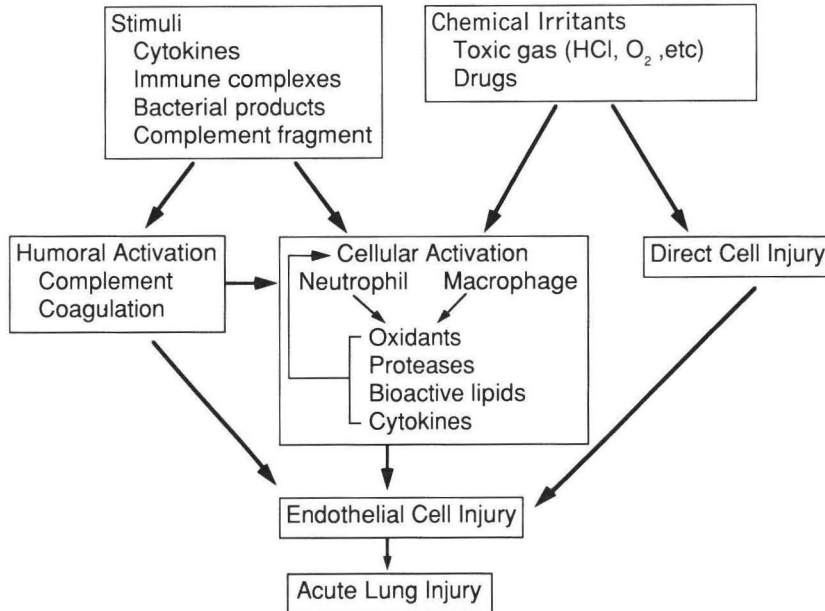


図 1 急性肺傷害の発生機序

活性化された肺胞マクロファージからも同様な物質が産生され、これらによっても肺胞隔壁は傷害される<sup>7)</sup>。また肺胞マクロファージは ARDS による肺病変の後期の局所の炎症や肺の繊維化の進行に強く関与しているといわれている。このような ARDS の一連の発生過程において炎症細胞の集積、浸潤に関与しているのが様々な接着分子である。

## 2. 接着分子を介した白血球と血管内皮細胞の相互作用 (図 2)

好中球が肺傷害を引き起こすには、まず最初に肺血管内皮細胞への接着が重要である。その接着機構には免疫グロブリンスーパーファミリーに属する ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) などとインテグリンファミリーに属する LFA-1 (CD 11 a/18), Mac-1 (CD 11 b/18) などとの接着分子を介した経路と、ELAM-1 (endothelial-leucocyte adhesion molecule-1) や GMP-140 (granular membrane protein-140) など LECAM (lectin type cell adhesion molecule) ファミリーに属する接着分子を介する経路との、2 つが知られている。

インテグリンファミリーに属する接着分子は  $\alpha\beta$  ヘテロダイマーで、このうち白血球と血管内皮細胞の接着に関与するのは  $\beta 2$  インテグリンに属している LFA-1, Mac-1 などである<sup>9)</sup>。LFA-1 は、リンパ球, 単球, 好中球など白血球全般に発現する。一方 Mac-1 は単球, 好中球, NK 細胞に発現する。好中球上の LFA-1, Mac-1 は, PMA, f-MLP, LTB<sub>4</sub> などの炎症性物質や IL-8, TNF- $\alpha$ , PAF などの炎症性サイトカインで刺激されると、数分でその発現量の増加あるいは質的变化を来して、好中球の血管内皮細胞への接着を促進する<sup>10)</sup>。このときの血管内皮上のリガンドが免疫グロブリンスーパーファミリーに属する ICAM-1, ICAM-2 などである<sup>10)11)</sup>。ICAM-1 は血管内皮細胞, 繊維芽細胞, 上皮細胞, リンパ球など様々な細胞に発現する<sup>11)</sup>。ICAM-1 は炎症性物質や IL-1 や TNF- $\alpha$  などのサイトカインの刺激によって量的に発現が調節されているが、ICAM-2 は構成的に発現しているといわれている<sup>12)13)</sup>。好中球—血管内皮細胞接着の抗体阻止実験で、未刺激好中球は主として LFA-1 依存性の細胞接着を、活性化好中球は主として Mac-1 依存性の細胞接着をすること<sup>10)</sup>,

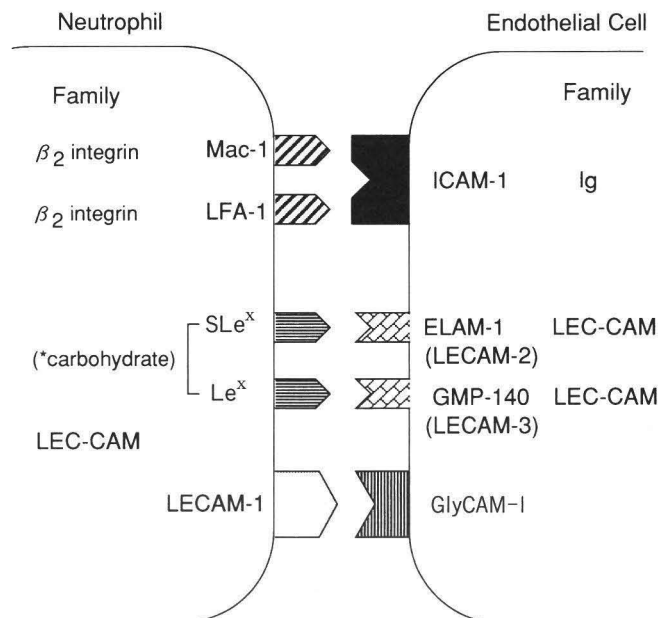


図 2 接着分子を介した好中球と血管内皮細胞の相互作用

また LFA-1 は ICAM-1, ICAM-2 と結合するが Mac-1 は ICAM-2 とは結合しないことが報告されている<sup>12)13)</sup>。

LECAM ファミリーに属する接着分子で好中球と血管内皮細胞の接着に関わっているのは、好中球上の LECAM-1 (Mel-14) と血管内皮上の ELAM-1, GMP-140 などである。ELAM-1 は、炎症性サイトカインなどで刺激した血管内皮細胞上に、4 時間目をピークとして発現する分子で、炎症反応急性期の活性化内皮細胞への好中球の結合に重要な働きをしていると考えられている<sup>14)</sup>。この分子のリガンドは好中球や単球、リンパ球などに発現している SLe<sup>a</sup>, SLe<sup>x</sup> という糖鎖であることがわかっている<sup>15)</sup>。GMP-140 は刺激前より血管内皮細胞の Wiebel-Pallade 小体に存在する糖蛋白で、ヒスタミン、トロンビン、PAF などの刺激に伴い急速に細胞表面上に移動する<sup>16)</sup>。この分子のリガンドは SLe<sup>a</sup>, SLe<sup>x</sup>, Le<sup>x</sup> という糖鎖で、この経路もまた好中球の炎症部位への接着、特に炎症急性期における好中球の rolling に重要な役割を果たしている。また LECAM-1 は、白血球全体に発現がみられ、このリガンドは血管内皮細胞上の GlyCAM-1, SLe<sup>x</sup> などである。こ

れらの LECAM-1 分子の糖鎖結合特異性は、完全に同一ではないが非常に似通っている。実際にこれらの接着経路がどのように役割分担しているかはまだ不明な点が多い。

このように多数の接着分子が好中球と血管内皮細胞の接着に関与している。しかし、これらの接着分子は細胞接着においてそれぞれが無関係に働いているわけではない。様々な刺激によって発現する接着分子は、それぞれが異なる時間経過で発現し、好中球が血管内皮細胞に接着、遊走という過程において異なった役割を果たしている。

現在までに好中球が血管内皮細胞に接着し、さらに間質へと浸潤していく過程において接着分子が段階的に機能していることがわかってきている<sup>17)</sup>。まず組織が障害を受けると、血中を循環している好中球は血管内皮上を転がるようになり (rolling), 初期接着が起こる。この段階で機能するのが LECAM-1 と ELAM-1, GMP-140 などの LECAM 分子である。次に好中球は内皮細胞へより強固に接着する (sticking)。この現象には、さきに示したインテグリン分子と ICAM-1 の経路が重要な役割を果たす。好中球上のインテグリン分子は、LECAM 分子を介しての刺激や、

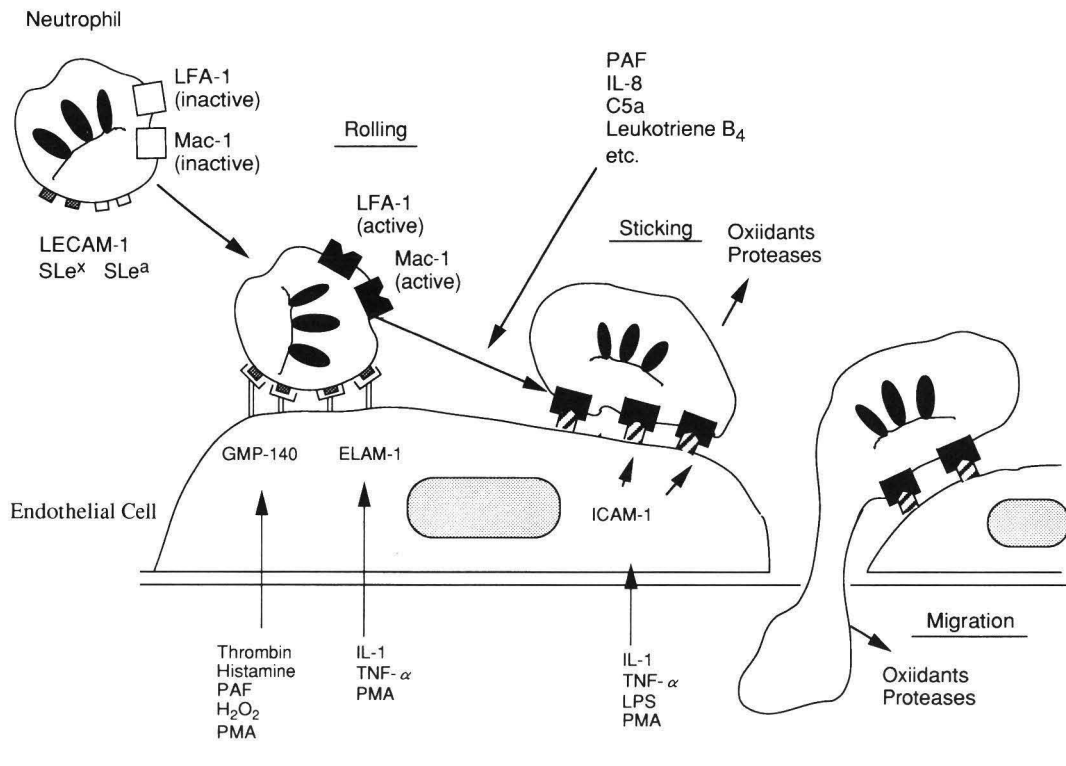


図 3 接着分子を介する好中球の肺傷害過程

PAF や IL-8 などのサイトカインにより活性化される。また同時に好中球上の LECAM-1 分子は速やかに消失し、インテグリン分子と ICAM-1 による強い安定した接着が起こる<sup>18)</sup>。さらに ICAM-1 依存性の経路により好中球は血管内皮細胞の間隙を通り、組織に浸潤する。このように白血球—血管内皮細胞接着は、各段階で機能する分子の違いにより多数の組み合わせが考えられるため、白血球浸潤の組織特異性は接着分子により規定されているものと考えられる。

### 3. ARDS あるいは急性肺傷害実験モデルにおける接着分子の関与 (図 3)

これまでにいくつかの急性肺傷害モデルにおいてサイトカインや接着分子の役割が検討されている。Barton らは、PMA により誘導されたウサギの急性肺傷害モデルにおいて抗 CD 11 b 抗体、抗 CD 18 抗体や抗 ICAM-1 抗体の前投与により好中球の肺への集積が 60% 以上減少したことを

報告している<sup>19)</sup>。Lo らはモルモットの摘出肺に TNF- $\alpha$  を灌流すると著明な肺血管抵抗の上昇と肺水腫がみられることを報告した<sup>20)</sup>。この反応は抗 CD 18 抗体あるいは抗 ICAM-1 抗体投与により減少した。TNF- $\alpha$  により肺血管内皮細胞上に ICAM-1 の発現が増強していることより、この肺傷害過程には CD 18/ICAM-1 による好中球血管内皮細胞相互作用が重要な役割を果たしていることが示された。また同時に、抗 CD 18 抗体の好中球集積阻止率が抗 ICAM-1 抗体よりも高率なことから、CD 18 に対するリガンドは ICAM-1 以外にもあることが示唆された。

また、様々な原因により引き起こされる急性肺傷害において、誘因の違いによって CD 18/ICAM-1 以外の経路が主体をなすことも報告された。Doerschuk らは、ウサギの肺に経気道的に肺炎球菌、塩酸、エンドトキシン、PMA などを投与し肺傷害を惹起する系において、抗 CD 18 抗体はエンドトキシン、PMA の刺激による急性

炎症を著明に減少したが、肺炎球菌、塩酸による場合は変化がみられなかったことを報告した<sup>21)</sup>。このことは、肺傷害の種類により関与している接着分子が異なっている可能性を示している。

最近、LECAM分子の経路を介した反応に対する報告もみられる。Mulliganらはコブラ毒による急性肺傷害において、抗GMP-140 (P-selectin) 抗体が肺血管透過性亢進や肺出血を抑制し、また好中球の肺血管内皮細胞への接着を抑制することを示した<sup>22)</sup>。また、彼らはラットのIgG免疫複合体による急性肺傷害において肺胞、間質のマクロファージ由来のTNF- $\alpha$ により肺血管内皮細胞上にELAM-1の発現を認めたことを報告している<sup>23)</sup>。また、抗ELAM-1抗体の投与により肺血管透過性、肺胞出血、好中球の集積を抑制したことを報告した。したがってこの系における肺傷害に関しては、TNF- $\alpha$ により発現した肺血管内皮細胞上のELAM-1を介した反応が重要な役割を果たしていることが考えられた。またIgA免疫複合体による肺傷害には抗ELAM-1抗体はほとんど効果を示さず、この系に関してはELAM-1ではなく異なる接着分子が関与している可能性を示唆した。

また、CrosnsteinらはLPSによる血管内皮細胞のELAM-1、ICAM-1の発現をdexamethasoneが抑制し、さらに好中球の血管内皮細胞への接着を抑制することを報告した<sup>24)</sup>。このことは、急性肺傷害に対するステロイドの作用機序の一つとして、これら接着分子の発現抑制による可能性が示唆された。

### おわりに

これまでの研究により、ARDSをはじめとする急性肺傷害の細胞生物学的、分子生物学的な理解が進展するにつれ、免疫学的方法によって急性肺傷害の発症を抑える治療の可能性が検討されてきている。前述のごとく、様々な動物実験モデルにおいて接着分子に対する抗体を用いて白血球の浸潤を抑えることで、急性肺傷害の治療効果が認められることより、その臨床応用が期待される。しかし、肺傷害では多数の因子が複雑に関与しており、肺傷害において接着分子の機能する機

構や、障害の種類による接着分子の調節機構や関与する接着分子の違いなど、まだまだ不明な点が多く、さらに詳細な検討が必要と考えられる。また、肺では肺胞や間質に存在するマクロファージが肺傷害に大きく関与しているため、この炎症進展過程でのマクロファージの役割も同様に検討されなければならない。

このように解決されるべき問題は多数存在するが、急性肺傷害に対する免疫学的治療の研究は始まったばかりであり、接着分子の発現調節が肺傷害の治療に応用される可能性は十分に高く、今後さらに、急性肺傷害における接着分子の発現や、活性化を引き起こす情報伝達経路の細胞分子学的検討、またそれらを阻止する方法の開発などの新たな展開が期待される。

### 参考文献

- 1) Strieter RM, Lynch JP, Basha MA, et al : Host responses in mediating sepsis and adult respiratory distress syndrome. *Sem Respir Infect* 5 : 233, 1990
- 2) Wang W, Kobayashi S, Uede T : Dysregulated expression of cellular adhesion molecules in autoimmune-prone mice. *J Dermatol* 19 : 119, 1992
- 3) Kawaguchi S, Kikuchi K, Ishii S, et al : VLA-4 molecules on tumor cells initiate an adhesive interaction with VCAM-1 molecules on endothelial cell surface. *Jpn J Cancer Res* 83 : 1304, 1992
- 4) Yamamoto N, Tamiya Y, Uede T : Prevention of cardiac reperfusion injury following global ischemia by a monoclonal antibody R 2-1 A 6. *Immunopharmacology* 27 : 181, 1994
- 5) Spragg RG, Smith RM : Biology of acute lung injury. Crystal RG, et al, ed. *The lung : Scientific Foundation*. Ravan Press Ltd New York, 1991, p 2003
- 6) Swank DW, Moore SB : Roles of neutrophil and other mediators in adult respiratory distress syndrome. *Mayo Clin Proc* 64 : 118, 1989
- 7) Sibille Y, Reynolds HY : Macrophages and

- polymorphonuclear neutrophils in lung defence and injury. *Am Rev Respir Dis* 141 : 471 1990
- 8) Stephens KE, Ishizaka A, Wu Z, et al : Granulocyte depletion prevents tumor necrosis factor-mediated acute lung injury in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 138 : 1300, 1988
  - 9) Kishimoto TK, Larson RS, Corbi AL, et al : The leukocyte integrins. *Adv Immunol* 46 : 149, 1989
  - 10) Smith CW, Marlin SD, Rotherin R, et al : Cooperative interactions of LFA-1 and Mac-1 with intercellular adhesion molecule-1 in facilitating adherence and transendothelial migration. *J Clin Invest* 82 : 2008, 1989
  - 11) Marlin SD, Springer TA : Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1). *Cell* 51 : 813, 1987
  - 12) Staunton DE, Dustin ML, Springer TA : Functional cloning of ICAM-2 a cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1. *Nature* 339 : 61, 1989
  - 13) Nortamo P, Salcedo R, Timonen T, et al : A monoclonal antibody to the human leukocyte adhesion molecule intercellular adhesion molecule 2 ; Cellular distribution and molecular characterization of the antigen. *J Immunol* 146 : 2530, 1991
  - 14) Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA Jr, et al : Endothelial leukocyte adhesion molecule 1 ; an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. *Cell* 63 : 861, 1990
  - 15) Walt G, Aruffo A, Kolanus W, et al : Recognition by ELAM-1 of the sialyl-Le<sup>x</sup> determinant on myeloid and tumor cells. *Science* 250 : 1132, 1990
  - 16) Geng JG, Bevilacqua MP, Moore KL, et al : Rapid neutrophil adhesion to activated endothelium by GMP-140. *Nature* 343 : 757, 1990
  - 17) Butcher EC : Leukocyte-endothelial cell recognition ; Three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 67 : 1033, 1991
  - 18) Smith CW, Kisimoto TK, Abbass O, et al : Chemotactic factor regulate lectin adhesion molecule (LECAM-1) dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated endothelial cells in vitro. *J Clin Invest* 87 : 609, 1991
  - 19) Barton RW, Rothlein R, Kiziazek J, et al : The effect of anti-intercellular adhesion molecule-1 on phorbol-ester-induced rabbit lung inflammation. *J Immunol* 143 : 1278, 1989
  - 20) Lo SK, Everitt J, Gu J, et al : Tumor necrosis factor mediated experimental pulmonary edema by ICAM-1 and CD-18-dependent mechanisms. *J Clin Invest* 89 : 981, 1992
  - 21) Doerschuk CM, Winn RK, Coxon HO, et al : CD-18-dependent and -independent mechanisms of neutrophil emigration in the pulmonary and systemic microcirculation of rabbits. *J Immunol* 144 : 2327, 1990
  - 22) Mulligan MS, Polley MJ, Bayer RJ, et al : Neutrophil-dependent acute lung injury. Requirement for P-selectin (GMP-140). *J Clin Invest* 90 : 1600-1607, 1992
  - 23) Mulligan MS, Varani J, Dame MK, et al : Roles of endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) in neutrophil mediated lung injury in rats. *J Clin Invest* 88 : 1396, 1991
  - 24) Cronstein BN, Kimmel SC, Levin RI, et al : A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids ; The glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1. and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 9991, 1992