

マスト細胞生物学における脂質代謝ネットワーク

武富芳隆,* 村上 誠

Lipid Networks in Mast Cell Biology

Yoshitaka TAKETOMI* and Makoto MURAKAMI

Lipid Metabolism Project, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, 2-1-6 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8506, Japan

(Received September 7, 2010)

Tissue-resident mast cells are derived from circulating committed progenitors, which are originated from pluri-potential hematopoietic stem cells in bone marrow. These progenitors migrate into extravascular tissues, where they undergo differentiation and maturation into tissue-specific mature phenotypes. When activated by IgE/antigen, stem cell factor, neuropeptides, or other stimuli, mature mast cells release three classes of biologically active products, including pre-formed mediators stored in secretory granules, newly transcribed cytokines and chemokines, and *de novo* synthesized lipid mediators. Therefore, these cells have been implicated as major effector cells in acute and chronic inflammatory diseases. In recent years, it has become clear that lipid mediators including arachidonic acid metabolites (prostaglandins and leukotrienes) and lysophospholipid-derived products play crucial roles in mast cell-associated pathology. In this article, we will provide an overview of the roles of various lipid mediators in allergic diseases fueled by studies of their biosynthetic enzymes or receptors. In the latter part, we will make a particular focus on phospholipase A₂ enzymes, which are placed at the bottleneck (rate-limiting) step of the lipid mediator-biosynthetic pathways.

Key words—mast cell; allergic disease; lipid mediator; phospholipase A₂

1. はじめに

マスト細胞は全身のあらゆる組織に存在するが、特に花粉のような外来抗原、ダニのような外部寄生虫、ウイルスや細菌のような病原体などの外界と接触する鼻粘膜や気道、皮膚などに分布する。また、喘息やアトピー性皮膚炎などアレルギー性疾患の局所ではマスト細胞の著しい集積と活性化が顕著である。このようなマスト細胞の特徴的な分布やアレルギー性炎症に伴う集積は、マスト細胞が生理的に感染防御としての役割を果たすための、そしてアレルギー性炎症のコンダクターとして働くための戦略であると解釈できる。アレルギー応答は即時相と遅発相の二相性の反応によって構成されるが、どちらの反応にもマスト細胞は積極的に係わる。マスト細胞は表面上の高親和性 IgE 受容体 FcεRI に結合した

IgE が抗原で架橋されると活性化し、脱顆粒によりヒスタミンやプロテアーゼなどを放出するとともに、プロスタグランジン (PG) やロイコトリエン (LT)などを産生することにより即時相の反応を誘起する。さらに、活性化したマスト細胞が時間単位で産生したサイトカイン (IL-5, TNF-α など)、ケモカイン (IL-8, MIP-1α, I-309 など) と走化性因子 (ECF-A, C5a など) によって血管内皮細胞の細胞間接着因子 (VCAM-1, ICAM-1 など) の発現が誘導され、血中を流れていたリンパ球や好酸球などがそこに結合して炎症局所に浸潤し、遅発相の反応が誘起されて炎症が増悪化する。また、活性化マスト細胞は IL-4 や IL-13 など IgE 産生を促進する Th2 サイトカインを産生する一方で、細胞表面上に CD40L を発現し、B 細胞表面上の CD40 と相互作用して協調的に IgE へのクラススイッチを促進する。このように、マスト細胞は IgE 依存的な即時型アレルギーのエフェクターとして機能するだけでなく、自然免疫や獲得免疫にも深く係わる multifunctional な役割を持つ。気管支喘息の慢性気道

東京都臨床医学総合研究所脂質代謝プロジェクト (〒156-8506 東京都世田谷区上北沢 2 丁目 1 番 6 号)

*e-mail: taketomi-ys@igakuken.or.jp

本総説は、日本薬学会第 130 年会シンポジウム S53 で発表したものを中心に記述したものである。

炎症には Th2 リンパ球, 好酸球, マスト細胞などの免疫細胞が関与し, 局所の炎症を基盤に気道過敏性亢進や気道閉塞が生じる. マスト細胞欠損マウス *Kit^{W/W^v}* 及び *Kit^{W-sh/W-sh}* では経気道的抗原感作・暴露モデルにより誘起される慢性気道炎症や気道過敏性の亢進が顕著に緩解することから,¹⁾ マスト細胞の喘息病態形成に対する寄与は大きい.

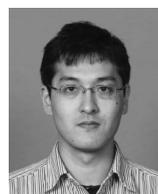
脂質は膜構成成分, エネルギー源, シグナル分子の大きく3つの基本的機能を持つ. このうち, 局所で一過的に産生され生理活性を發揮する脂質シグナル分子は脂質メディエーターと呼ばれ, 免疫・アレルギーを始めとする多くの高次機能に深く関与する. PG や LT に代表されるアラキドン酸代謝物を始め数多くの脂質メディエーターがこれまでに同定されているが, どの脂質メディエーターも固有の生合成経路を経て産生され, 特異的な受容体 (主に G タンパク質共役型) を介して標的細胞に特有の応答を引き起こす. 脂質メディエーターの機能は古くは薬理学的見知から推測されてきたが, 今日では代謝経路のマッピングとその諸反応を触媒する酵素分子の単離, 個々の脂質メディエーターの作用を仲介する受容体の同定, 代謝酵素や受容体の遺伝子操作マウスの解析, ヒトにおける遺伝子型解析, 酵素や受容体を選択的にブロックする薬物の開発など最新の分子生物学的研究によりその全貌が明らかとされつつある. 本稿では, マスト細胞の脂質メディエーター産生やアレルギー性疾患における脂質関連分子の機能, マスト細胞に対する脂質関連分子の作用などこれまでに蓄積されてきた多くの情報を整理し, マスト細胞生物学における脂質ネットワークの重要性について概観してみたい.

2. 脂質メディエーターとアレルギー

PG や LT などのエイコサノイドの産生は生体膜リン脂質からエイコサノイドの前駆体であるアラキドン酸を生成するホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) の加水分解反応より始動する. PLA₂ の反応生成物の1つであるアラキドン酸はシクロオキシゲナーゼ (COX) により PGH₂ を経て, 最終合成酵素 (PGDS, PGES, PGIS など) により各種 PG 類に代謝される. 一方, アラキドン酸は5-リポキシゲナーゼ活性化因子 (FLAP) の協調作用を受けて5-リポキシゲナーゼ (5-LO) により LTA₄ を経て, 最終合成酵素 [LTC₄S (LTC₄ 合成酵素), LTA₄H (LTA₄ 水解

酵素)] により各種 LT 類に代謝される. これらの脂質メディエーターのうちマスト細胞が産生する主要なメディエーターとして PGD₂, LTB₄, LTC₄ がよく知られている. これらのアレルギー性疾患における役割については, 脂質メディエーターの合成酵素や受容体の欠損マウスを用いた喘息モデルによりよく解析されている.

PGD₂ はマスト細胞から最も大量に産生される COX 代謝産物で, 2種の PGD₂ 受容体 DP1 及び CRTH2 (DP2) を介して作用する. マスト細胞が産生する PGD₂ は2種の PGDS のうち主に H-PGDS (造血器型 PGDS) により合成される. 従来, PGD₂ は気管支喘息患者の肺において抗原暴露後の即時相で気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中に高濃度検出されることが知られていた. PGD₂ をマウスの気管内に投与すると, 抗原暴露による好酸球浸潤が増多し,²⁾ また別の PGDS である L-PGDS (リポカイン型 PGDS) の過剰発現トランスジェニックマウスの肺では, 野生型マウスと比べ抗原暴露による好酸球浸潤の増多や Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5) 産生の亢進がみられる.³⁾ したがって, 局所で産生される PGD₂ は気道炎症を促進させる方向に働くことが解釈できる. PGD₂ 受容体のうち DP1 の全身性欠損マウスでは, アレルギー性喘息モデルによる慢性気道炎症や抗原暴露による気道過敏性の亢進が野生型と比べ顕著に軽減する.⁴⁾ またモルモットの喘息モデルにおいて, 抗原暴露による肺への好酸球浸潤は DP1 特異的アンタゴニスト S-5751 の前処理により抑制される.⁵⁾ PGD₂ 及び DP1 特異的アゴニスト BW-245C は樹状細胞からの Th1 サイトカイン IL-12 の産生を抑制し, ナイーブ T 細胞の Th2 リンパ球への分化増殖を促進させる.⁶⁾ これらの知見は DP1 を介する PGD₂ シグナルが Th2 依存的気道炎症を促進させることを支持するものであるが, 反対に PGD₂-DP1 シグナルが抑制的に作用すること



武富芳隆

1999-2001 年昭和大学大学院薬学研究科修士課程修了. '01-'03 年同博士課程中退. '03-'09 年同大学遺伝子組換え実験室・助教, '07 年博士 (薬学) 取得. '09-現在, 東京都臨床医学総合研究所脂質代謝プロジェクト (村上 誠研究室)・主任研究員. 研究テーマ: アレルギーにおける脂質代謝ネットワークの解明.

を示唆する報告もある。PGD₂ 又は BW-245C アゴニストをマウスの気管内に投与すると、抗原暴露による樹状細胞のリンパ節への遊走が抑制される。⁷⁾ 抗原特異的 T 細胞受容体 (OVA-TCR) トランスジェニックマウス由来のナイーブ T 細胞を移植再構成したマウスの喘息モデルにおいて、抗原暴露によるリンパ節 T 細胞のサイトカイン産生 (IL-4, INF- γ) は BW-245 の投与によって減弱する。さらに PGD₂ や BW-245C をマウスの気管内に投与すると、樹状細胞に発現する DP1 を介して免疫応答を負に制御する Foxp3⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞 (T_{reg}) の増多が認められ、抗炎症性サイトカインである IL-10 依存的に気道炎症が軽減する。⁸⁾ DP1 欠損マウス由来の樹状細胞を移植再構成した野生型マウスに喘息モデルを誘起すると、全身性 DP1 欠損マウスとは逆に喘息病態が顕著に増悪する。また DP1 欠損樹状細胞を胸腺 CD4⁺ T 細胞と共培養すると T_{reg} への分化が抑制される。T_{reg} はマスト細胞の Fc ϵ RI 依存的な脱顆粒並びに LTC₄ 産生も抑制するので、⁹⁾ 樹状細胞の DP1 依存的に T_{reg} が増加すれば、喘息病態は必然的に改善するように思われる。以上より、PGD₂-DP1 シグナルは喘息病態の促進と抑制の相反する作用を伝達すると推察され、樹状細胞に発現する DP1 は喘息病態に対して抑制的に、樹状細胞以外の気道組織細胞の DP1 は促進的に作用すると考えられる。

もう 1 つの PGD₂ 受容体 CRTH2 はマスト細胞、Th2 リンパ球、好酸球、好塩基球などに発現し、これらの炎症細胞の遊走や Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-13) の産生の促進に関与すると考えられている。これと合致して、抗原暴露による気道への好酸球浸潤や粘液分泌細胞 (杯細胞) の過形成は CRTH2 の選択的アンタゴニスト TM30089 の投与により改善する。¹⁰⁾ しかしながら、予想外なことに CRTH2 欠損マウスでは野生型マウスと比べ経気道抗原感作・暴露モデルによる好酸球浸潤の増多や Th2 サイトカイン (IL-5) の産生亢進が認められ、慢性気道炎症が増悪する。¹¹⁾ 一方、別の喘息モデルである RNA ウイルス感染による喘息の悪化は CRTH2 欠損マウスで緩解がみられる。¹²⁾ これらの相反する作用の詳細は不明であるが、DP1 と同様、CRTH2 を介する PGD₂ シグナルにおいても局面によっては喘息病態を促進にも抑制にも導き得ると推

察される。喘息と PGD₂ の関連についてはヒトの遺伝子型解析からも示唆されており、H-PGDS, DP1, CRTH2 の遺伝子多型とヒト喘息患者の重症度の間には相関関係が認められる。したがって、PGD₂ 合成並びに PGD₂-DP1, PGD₂-CRTH2 シグナルを抑制する戦略は喘息治療に有効であると思われる。しかしながら、現段階では DP1, CRTH2 の役割は実験モデルにより結果が異なっており、いまだ未解決な点も多いので、今後の展開が注目される。PGD₂ 合成及び作用について Fig. 1 に示す。

LT は LTA₄H により産生される LTB₄ と LTC₄S により産生される LTC₄ に大別される。このうち LTB₄ は主にマスト細胞や好中球などが産生する主要な脂質メディエーターで、2 種の受容体 BLT1 及び BLT2 を介して作用する。LTB₄ は BLT1 への親和性が高く、BLT2 への結合は高濃度でしか認められない。ごく最近、BLT2 に高い親和性を持つ内因性リガンドとして 12-HHT が同定された。¹³⁾ 従来、LTB₄ は気管支喘息患者の BALF 中に高濃度検出されることが知られ、白血球の遊走を通じて炎症を促進すると考えられてきた。しかし、近年盛んに行われた遺伝子欠損マウスの解析から、LTB₄ は単なる炎症細胞の浸潤に留まらず、免疫反応を亢進させることにより免疫・アレルギー疾患の発症及び増悪化

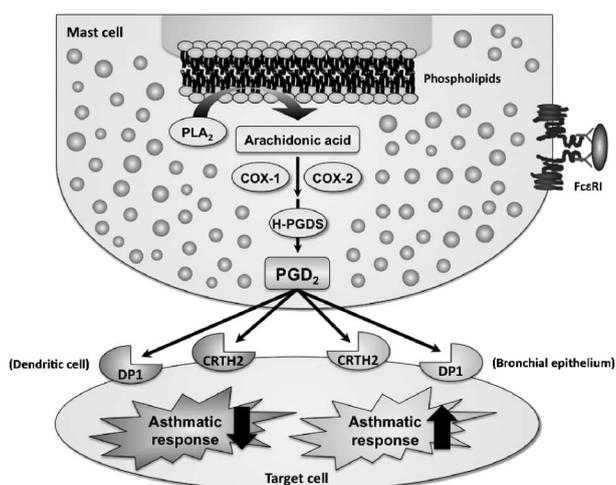


Fig. 1. Biological Roles of Mast Cell-derived PGD₂

PGD₂ is a major lipid mediator synthesized from arachidonic acid via the sequential action of COX-1 or COX-2 and H-PGDS in mast cells. PGD₂ appears to exert a dual function during the asthmatic response, acting either as a pro-inflammatory mediator or as an anti-inflammatory mediator of airway inflammation in the context of physiological or pathological conditions. These biological roles for PGD₂ are regulated through the two plasma membrane G protein-coupled receptors, DP1 and CRTH2, on target cells. For details, please see the text.

に關与することが明らかとなった。LTA₄H¹⁴ 及び BLT1¹⁵⁻¹⁷ の欠損マウスでは、野生型マウスと比べ喘息モデルによる気道へのエフェクター T 細胞及び好酸球浸潤が著明に減少し、IgE 産生の低下、気道過敏性亢進の減弱、そして気道周囲のリンパ節における Th2 サイトカイン (IL-5, IL-13) 産生が低下する。さらに BLT1 欠損マウスに抗原感作した野生型マウス由来の CD8⁺ T 細胞を移入すると、欠損マウスの気道過敏性亢進は野生型マウスと同等に認められるようになる。^{18,19} したがって、LTB₄ は CD8⁺ T 細胞に発現する BLT1 を介して喘息病態を促進させる方向に働くと考えられる。また、BLT1 は樹状細胞にも発現しており、LTB₄-BLT1 シグナルが樹状細胞の気道周囲のリンパ節への遊走を促進させ、Th2 型免疫応答の亢進に協調的に作用する。²⁰ 興味深いことに、LTA₄H 欠損マウスに野生型マウス由来のマスト細胞 (BMCC) を移入すると、LTB₄ 産生、好酸球浸潤、気道過敏性亢進が部分的に回復する。¹⁴ また、FcεRI 架橋刺激依存的にマスト細胞から産生される CD8⁺ T 細胞の走化性因子は LTB₄ であることも明らかとされている。²¹ したがって、マスト細胞は抗原刺激依存的に LTB₄ を産生して免疫細胞の遊走を促進し、Th2 型免疫応答を亢進させることで喘息病態を促進させると考えられる。LTB₄ の合成及び作用について Fig. 2 に示す。

LTC₄ とその代謝物である LTD₄, LTE₄ (いわゆる cysteinyl LTs: cys-LTs) はマスト細胞の FcεRI 架橋刺激により放出される炎症性メディエーターで、アナフィラキシー遅延反応性物質 SRS-A との本体として古くからよく知られている。LTC₄ は細胞外の γ グルタミルペプチダーゼによって LTD₄ へ、さらにジペプチダーゼによって LTE₄ へと変換され、少なくとも CysLT1 と CysLT2 の 2 種の受容体を介して作用する。LTC₄ は CysLT1 と CysLT2 に同等の親和性を示すが、LTD₄ は CysLT1 に高い親和性を示す。LTE₄ はどちらの受容体にもほとんど親和性を示さない。cys-LTs は気管支平滑筋収縮、気道粘液分泌、血管透過性亢進、炎症細胞の遊走・活性化などの生理活性を持ち、気管支喘息の病態形成に寄与する。LTC₄ 合成に關与する 5-LO²² 及び LTC₄S²³ の欠損マウスでは、野生型マウスと比べ喘息モデルによる好酸球浸潤の減少や IgE 産

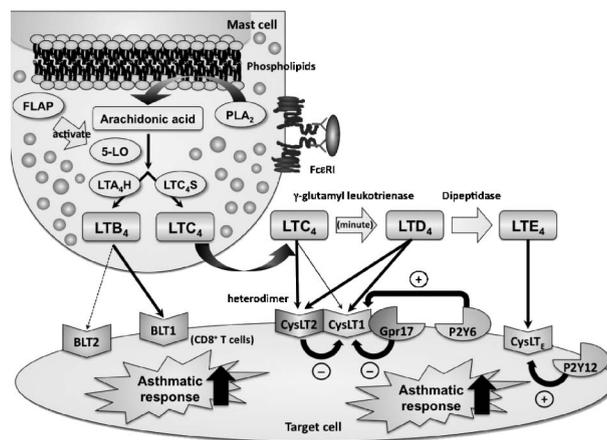


Fig. 2. Functional Properties of Mast Cell-derived LTs

LTs, a family of pro-inflammatory lipid mediators, play important roles in the pathogenesis of allergic inflammation such as asthma, and are divided into two classes: LTB₄ and cys-LTs. These molecules are generated from arachidonic acid through the sequential action of 5-LO and terminal LTA₄H or LTC₄S in mast cells and other innate immune cells. LTB₄ serves as a potent chemoattractant through binding to its high affinity receptor BLT1 on target cells. Mast cell activation results in the biosynthesis and export of LTC₄, which then undergoes extracellular metabolism to LTD₄ and then to LTE₄. These cys-LTs exert diverse effects through their cognate G protein-coupled receptors CysLT1, CysLT2, and unknown CysLT_E on target cells. For details, please see the text.

生の低下、気道過敏性亢進の減弱が認められる。さらに、LTC₄S 欠損マウスの肺では病態進行に伴う平滑筋層から粘膜層へのマスト細胞の移動が少ない。²⁴ cys-LTs の受容体である CysLT1 と CysLT2 は気道炎症においてそれぞれ別の役割を持つ。CysLT1 は特に LTD₄ によるシグナルを伝達して気道病態を促進させる。実際、CysLT1 を欠損したマウスはダニ抗原誘発喘息モデルに強い抵抗性を示し、この表現型は CysLT1 欠損マウス由来樹状細胞を野生型マウスに移植再構成することによって「部分的」に再現できることから、CysLT1 の作用点には樹状細胞活性化のフェーズと、それ以降の気道炎症のフェーズがあることが示された。²⁵ またヒトの遺伝子型解析において、CysLT1 と LTC₄S の遺伝子多型は喘息の重症度と相関関係を持ち、臨床の場で CysLT1 拮抗薬は喘息治療薬として汎用されている。しかしながら、意外なことに CysLT1 の欠損マウス²⁶ では肺線維症モデルによる気道炎症が野生型マウスと比べ増悪し、CysLT2 欠損マウス²⁷ では逆に緩解が認められる。最近の報告によると、マウスの耳介に LTC₄ 又は LTD₄ を投与した際に生じる即時の耳介浮腫は CysLT1, CysLT2 の各欠損マウスでは野生型と比べ軽減するが、両受容体のダブル欠

損マウスでは軽減せず、 LTE_4 投与による耳介浮腫とともに著しく増悪することから、最終代謝物である LTE_4 に親和性の高い未知の受容体 (CysLT_E) が存在する可能性が浮上してきた。²⁸⁾ これまで LTE_4 は CysLT1 , CysLT2 の両受容体にほとんど親和性を示さないことから、 cys-LTs の単なる不活性代謝物であるとされてきたが、 LTE_4 は LTD_4 と同等又はそれ以上の生理活性を持ち、気道炎症を増悪させることが最近明らかとされた。²⁹⁾ さらに、 ADP 受容体 P2Y12 は LTE_4 には直接結合しないが、未知の CysLT_E 依存性のシグナルを正に制御するという。²⁹⁾ P2Y12 の欠損マウスでは、 LTE_4 並びにダニ抗原で誘起される気道炎症が著しく軽減する。よって、先の CysLT1 欠損マウスにおける肺線維症増悪の表現型は、 LTC_4 並びに LTD_4 が CysLT1 に作用できないため、最終代謝物である LTE_4 量が増大して気道炎症が増悪したためと考察できる。 CysLT1 拮抗薬は喘息治療薬として有効であるもののその治療効果は 40% 程度であるとも言われており、未知の CysLT_E が同定されれば喘息治療の新たな創薬ターゲットになる可能性がある。

最近、 cys-LTs のマスト細胞に対する作用やマスト細胞の CysLT 受容体の制御について、興味深い研究結果がいくつか発表されている。ヒト LAD2 マスト細胞株を LTD_4 で刺激すると、 ERK の活性化に伴う PGD_2 産生の亢進やケモカイン $\text{CCL2/MIP-1}\beta$ 発現の上昇がみられる。^{30,31)} これらの機能亢進は LTE_4 刺激の方がより強く認められ、核内受容体 $\text{PPAR}\gamma$ を介する COX-2 発現が一部関与するらしい。³¹⁾ またヒト臍帯血由来マスト細胞の CysLT1 を CysLT1 アンタゴニスト MK571 又は MK886 で阻害すると、 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 架橋刺激に伴うサイトカイン (IL-5 , $\text{TNF-}\alpha$) 産生が低下する。³⁰⁾ したがって、 cys-LTs はマスト細胞から産生・放出されエフェクター機能を発揮するのみならず、マスト細胞自身にも作用して機能を亢進させることが明らかとなった。さらに、マスト細胞において CysLT1 と CysLT2 は共発現してヘテロ二量体を形成し、 CysLT2 は CysLT1 依存性のシグナルを抑制する。³²⁾ また、 UDP 受容体 P2Y6 は CysLT1 と共発現し、 CysLT1 依存性のシグナルを促進する。³³⁾ オーフアン受容体 GPR17 は CysLT1 と相互作用して CysLT1 依存性のシグナルを抑制する。²⁵⁾ GPR17 の欠損マウスで

は CysLT1 の抑制が解除されるため、マスト細胞介在性の皮膚受身アナフィラキシーによる耳介浮腫が野生型マウスと比べ増悪する。これらの結果は、 CysLT1 を介した cys-LTs シグナルは予想以上に複雑に制御されていることを示している。 cys-LTs の合成及び作用について Fig. 2 に示す。

起炎反応が炎症性細胞の集積及び活性化、炎症性メディエーターによる炎症の増悪化など連鎖的に増幅されるのと同様に、炎症の収束過程も積極的なクリアランス、組織再構築など一連の修復反応により成り立っている。最近、炎症の緩解に係わる新しい脂質メディエーターが注目されている。アラキドン酸から 5-LO と $12/15\text{-LO}$ の協調作用により産生されるリポキシン (LXA_4) は、 LXA_4 受容体 ALX を介して抗炎症作用を及ぼす脂質メディエーターとして知られている。白血球特異的に ALX を過剰発現するトランスジェニックマウスでは、野生型マウスと比べ腹膜炎や喘息モデルによる好中球、好酸球などの浸潤が抑制され、炎症病態が大幅に改善する。³⁴⁾ 一方、代謝酵素 $12/15\text{-LO}$ の欠損マウスではリンパ球や好酸球の浸潤、 BALF 中の Th2 サイトカイン (IL-4 , IL-5 , IL-13) の減弱が認められており、³⁵⁾ $12/15\text{-LO}$ 依存的に生成される脂質メディエーターには炎症性と抗炎症性のものがあることが想定される。最近、 $12/15\text{-LO}$ 由来の炎症性脂質メディエーターとしてエオキシシン ($14,15\text{-LTC}_4$) が同定された。³⁶⁾ エオキシシンはアラキドン酸から $12/15\text{-LO}$, LTC_4S の経路を通じてマスト細胞や好酸球によって産生され、 LTC_4 に匹敵する血管透過性亢進作用を持つ。

従来、魚の油脂成分であるエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などの $\omega 3$ 系列脂肪酸には抗炎症作用があることが知られていた。近年急速に発展した脂質代謝物の網羅的メタボローム解析により、 $\omega 3$ 系列脂肪酸由来の脂質メディエーターとして EPA 由来のリゾルピン E1 (RvE1)、 DHA 由来のプロテクチン D1 (PD1) が同定された。³⁷⁾ これらの脂質メディエーターはいずれもゼイモザン誘発腹膜炎モデルにおいて好中球の浸潤を抑制し、さらに炎症組織からのクリアランスを促進する。また、 RvE1 は炎症性サイトカインの抑制、樹状細胞の遊走と活性化の抑制などの活性を持ち、気道炎症を緩解に導く。³⁸⁾ PD1 は腎虚血再権

流における組織保護作用や、喘息発作時に産生されて気道炎症や気道過敏性を抑制すること³⁹⁾などが報じられている。喘息病態の悪化が著しい患者では PD1 量が減少することも知られており、PD1 の抗炎症作用は生理下において重要な役割を果たしているものと思われる。

生体内で存在量は少ないが、極めて明確かつ強力な作用を示すリゾリン脂質群がある。リゾリン脂質由来脂質メディエーターの代表格である血小板活性化因子 (PAF) は PLA₂ の作用によりリゾ PAF を経て、リゾ PAF アセチルトランスフェラーゼ LPCAT2 の作用により合成される。PAF は様々な炎症細胞や血管内皮細胞で産生され、血小板の活性化を始め、白血球のローリングや接着の活性化、活性酸素の産生、エンドトキシン障害時における微小環境障害などに関与する。PAF は PAF 受容体 (PAFR) を介して作用するが、PAFR の欠損マウスでは喘息モデルによる気道過敏性亢進⁴⁰⁾や細菌感染による急性肺障害⁴¹⁾などの気道炎症が改善することが報告されている。マスト細胞に作用するリゾリン脂質性メディエーターとしてリゾホスファチジルセリン (LysoPS) とリゾホスファチジン酸 (LPA) がある。LysoPS は PS-PLA₁ (PS 特異的 PLA₁) 又は PLA₂ の作用を受けてホスファチジルセリン (PS) から切り出され、FcεRI 架橋刺激によるマスト細胞の脱顆粒反応を促進することが古典的に知られている。PS-PLA₁ はマクロファージなどの炎症細胞に発現しており、分泌によりアポトーシス細胞表面上の PS を加水分解して LysoPS を産生する。⁴²⁾ FcεRI 架橋刺激によるラット腹腔マスト細胞の脱顆粒反応の亢進は、PS-PLA₁ リコンビナントタンパク質で処理した PS、又はアポトーシス細胞とマスト細胞を混合すると顕著に認められることから、^{42,43)} PS-PLA₁ は炎症局所で LysoPS を産生し、近傍のマスト細胞の脱顆粒を増強することでアレルギー性炎症を増悪させるものと考えられる。近年、LysoPS 受容体として GPR34 や P2Y10 が同定されており (私信)、LPS の脱顆粒亢進作用を仲介するか興味を持たれる。LPA は細胞外で前駆体の生成を経て LPA 産生酵素オートタキシンにより産生される経路が主であるが、PLA₁ 又は PLA₂ の作用によるホスファチジン酸の脱アシル化により産生される経路も想定されている。産生された LPA は少な

くともこれまでに同定されている 6 種の LPA 受容体 (LPA₁₋₆) を介して作用する。LPA 存在下でヒト臍帯血由来マスト細胞を数週間培養すると、トリプラーゼ陽性細胞の増多、トリプターゼ及び Kit 発現の上昇がみられ、⁴⁴⁾ LPA がマスト細胞の分化増殖に係わることが指摘されている。また、LPA をマウスに投与すると、ヒスタミンを投与した場合と同程度の浮腫 (血管透過性の亢進) が認められる。⁴⁵⁾ これはマスト細胞ケミカルメディエーター遊離抑制薬ケトチフェンで抑制され、かつ百日咳毒素 PTX に感受性である。したがって、LPA はマスト細胞に発現するいずれかの LPA 受容体を介して作用を伝達し、脱顆粒を介して血管透過性を亢進させるものと推察される。

3. アレルギーに係わる PLA₂

脂質メディエーター産生の初発段階を制御する PLA₂ は生体膜グリセロリン脂質の 2 位のエステル結合を加水分解して脂肪酸とリゾリン脂質を生成する酵素群の総称である。基質となるリン脂質の 2 位のアシル鎖にアラキドン酸が含まれる場合、遊離脂肪酸としてアラキドン酸が生成される。PLA₂ にはこれまでに多数の分子種が同定されているが、本稿ではアレルギー性疾患との係わりについて主に報告のある細胞質型 PLA₂ (cPLA₂) 群と細胞外分泌性 PLA₂ (sPLA₂) 群について述べる。cPLA₂ 群の中でも cPLA₂α はアラキドン酸代謝と最も密接に関連した PLA₂ 分子種と言える。cPLA₂α はほとんどすべての細胞に構成的に発現し、様々な受容体刺激に伴い速やかに活性化され、膜リン脂質からアラキドン酸を選択的に生成する。本酵素はマイクロモル範囲の Ca²⁺ 濃度の上昇に応じて C2 ドメイン (カルシウム結合ドメイン) 依存的に細胞質から核膜周縁部へと移行する。cPLA₂α の酵素活性は MAP キナーゼにより 505 番目のセリンがリン酸化されると数倍に上昇する。またホスファチジルイノシトール 2 リン酸とセラミド 1 リン酸はそれぞれ cPLA₂α の膜への結合を高める。核膜系にはアラキドン酸代謝系の下流に位置する一連の酵素群 (COX, 5-LO, FLAP など) が局在しており、効率的に酵素間の基質の受け渡しが行われる。cPLA₂α がエイコサノイドの産生に必要不可欠な役割を持つことは cPLA₂α 欠損マウスの解析より明らかとなった。cPLA₂α 欠損マウスでは慢性の抗原感作・暴露による喘息モデ

ル、⁴⁶⁾ブレオマイシン誘発肺線維症モデル⁴⁷⁾並びに急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) モデル⁴⁸⁾による肺障害が野生型マウスと比べ著明に緩解する。これらの肺組織におけるトロンボキサン A₂ (TXA₂), LTB₄, cys-LTs などのアラキドン酸代謝物の産生は欠損マウスではほぼ完全に消失する。⁴⁸⁾ また, cPLA₂α 欠損マウスから単離したマクロファージを A23187 あるいはリポポリサッカライドで刺激した際の PGE₂, cys-LTs, PAF 産生や,⁴⁶⁾ cPLA₂α 欠損 BMMC を FcεRI 架橋刺激した際の PGD₂, LTC₄, PAF 産生^{49,50)} はほとんど認められない。このように, cPLA₂α の欠損は様々な細胞における脂質メディエーター産生を一括的に遮断することで気道病態を改善させるものと考えられる。最近開発された cPLA₂α 選択的阻害剤エフィプラジブと WAY-196025 はマスト細胞の LTC₄ 産生を抑制し, マウスの関節炎モデルやヒツジの喘息モデルを著明に緩解させることから, 臨床応用が期待されている。

細胞外分泌性 sPLA₂ は哺乳動物では 11 種のアイソザイムが同定されている。いずれも細胞外分泌のためのシグナル配列を持ち, 分子内スルフィド結合に富み, よく保存された Ca²⁺ 結合部位と His-Asp を活性中心とする触媒領域を持つ。活性発現にはミリモル濃度の Ca²⁺ を必要とすることから, 基本的には一度分泌されてから機能すると考えられている。sPLA₂ はアイソザイムによっては優先性があるものの, cPLA₂α のような厳密な基質脂肪酸選択性はなく, 様々な脂肪酸を切り出す。sPLA₂ 群は, 普遍的に分布する cPLA₂α とは異なり各アイソザイムが特徴的な組織発現又は細胞内局在を示し, 発現組織で特有のリン脂質代謝を通じて様々な生命応答に関与することが明らかとなりつつある。

sPLA₂ がマスト細胞の活性化となんらかの係わり合いを持つことは, 筆者らを含めたいくつかのグループにより示されてきた。ラット腹腔マスト細胞の分泌顆粒には sPLA₂-IIA が含まれ, FcεRI 架橋刺激により脱顆粒とともに放出される。^{51,52)} マウス BMMC には sPLA₂-IIA に加えて sPLA₂-V の発現も確認されており, sPLA₂-IIA が分泌顆粒に含まれるのに対して, sPLA₂-V はむしろ核膜周縁部 (恐らく小胞体若しくはゴルジ体内腔) に分布する。⁵³⁾ 最近, 筆者らは sPLA₂-III がヒト及びマウスの皮下マスト細胞の分泌顆粒に発現し, 脱顆粒と

もに分泌されることを見出した (未発表)。ヒトの臍帯血由来マスト細胞には sPLA₂-IID が, 肺マスト細胞にはほとんどの sPLA₂ アイソザイム (IIA, IID, IIE, IIF, III, V, X, XIIA, XIIB) が発現しており,⁵⁴⁾ マスト細胞は喘息などのアレルギー病態において sPLA₂ の供給源の 1 つとなっている可能性がある。腹腔マスト細胞に sPLA₂-IIA を添加する,^{55,56)} あるいは sPLA₂-IIA, -V, -X をマスト細胞株に過剰発現させると,⁵⁷⁻⁵⁹⁾ 刺激依存的な脱顆粒の亢進と PGD₂ 及び LTC₄ 産生の増強がみられる。また, ラット腹腔マスト細胞⁵¹⁾ 及びヒト肺マスト細胞⁵⁴⁾ に sPLA₂ 阻害剤を添加すると, 脱顆粒及び脂質メディエーター産生が抑制される。よって, マスト細胞において sPLA₂ は分泌顆粒に局在し, 活性化に伴い脱顆粒とともに細胞外へと分泌され, 脱顆粒及び脂質メディエーター産生を増強するものと想定される。しかしながら, 上述の結果はいずれも大過剰量の酵素を添加又は過剰発現させた解析, あるいは特異性の曖昧な抗体や阻害剤を用いた解析が多く, その妥当性については sPLA₂ 群の欠損マウスを用いた検証が待ち望まれていた。

近年 sPLA₂ アイソザイムの遺伝子改変マウスが続々と作出されるようになり, 各アイソザイムが関与する生命応答が明らかとされつつある。ここでは, アレルギー病態との関連が明らかとなってきた sPLA₂-V, sPLA₂-X, 並びに sPLA₂-III について触れる。sPLA₂ 遺伝子改変マウスの詳細については最新の Review を参照頂きたい。⁶⁰⁾ 従来, sPLA₂ の酵素活性が ARDS などの急性肺疾患や気管支喘息などの慢性肺疾患の罹患患者の BALF 中で特に高く認められることが知られていた。肺組織において sPLA₂-V 及び sPLA₂-X は主に気道上皮及び肺マクロファージに発現しており, 気道炎症に伴い発現レベルが上昇する。⁶¹⁻⁶³⁾ マウスの喘息モデルにおいて, sPLA₂-V リコンビナントタンパク質の投与により気道過敏性亢進は増悪するが, sPLA₂-V の酵素活性低下変異体の投与では増悪はみられない。⁶²⁾ さらに, sPLA₂-V 欠損マウスでは喘息モデルによる慢性気道炎症及び気道過敏性亢進が野生型マウスと比べ軽減する。また, sPLA₂-V 欠損マウスでは ARDS モデルによる急性肺障害においても改善がみられる。⁶⁴⁾ これらの報告では sPLA₂-V の作用機序については十分に言及されていないが, 筆者らは

sPLA₂-V を全身に過剰発現したトランスジェニックマウスにおいてこのメカニズムとリンクするような表現型を見出ししている。すなわち、sPLA₂-V トランスジェニックマウスは生後間もなく呼吸困難を起こして死亡するが、その肺組織では肺サーファクタント（肺胞を保護する膜リン脂質の層）の過剰分解が生じている。⁶⁵ 肺サーファクタントの減少は ARDS の直接の病因となることを踏まえると、sPLA₂-V 欠損マウスにおける肺傷害の改善は病態に伴う肺サーファクタントの分解が抑制されることが主要因である可能性がある。一方、sPLA₂-V 欠損 BMMC の FcεRI 刺激に伴う PGD₂, LTC₄ の産生レベルは野生型 BMMC と同等であることが別途示されており、⁶⁶ 欠損マウスの肺傷害の改善にはマスト細胞の脂質メディエーター産生は関与しないものと推察される。一方で、sPLA₂-V の欠損 BMMC では Toll 様受容体 TLR2 刺激に伴う PGD₂ 産生が部分的に抑制されることから、⁶⁶ マスト細胞において sPLA₂-V は病原体を感知して自然免疫を作動させる機能になんらかの関係があるかもしれない。

一方、sPLA₂-X の欠損マウスでは野生型マウスと比べて喘息モデルによる慢性気道炎症の緩解や気道過敏性亢進の減弱、好酸球浸潤の減少、IgE 産生の低下、Th2 サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-13) 産生の減弱、そして BALF 中の脂質メディエーター (PGD₂, LTB₄, cys-LTs など) の産生低下がみられる。⁶³ これらの脂質メディエーターは主に喘息病態を促進させる方向に働くので、sPLA₂-X 欠損マウスにおける喘息の緩解の 1 つの要因は脂質メディエーター産生の低下によると考えられる。しかしながら、先述の cPLA₂α 欠損マウスにおいても脂質メディエーターの産生量が大きく低下していることを考えると、2 種の異なる PLA₂ (cPLA₂α と sPLA₂-X) がどのように協調して気道の脂質メディエーターを制御するのかについて、説明が必要である。恐らく、細胞特異的に発現している sPLA₂-X は喘息病態のボトルネックとなるステップに関与しており、その結果欠損マウスでは病態の進行が遅れ、二次的に気道組織全体での cPLA₂α 依存的な脂質メディエーター産生が大きく低下するのであろう。一方で、マクロファージ特異的に活性化型 sPLA₂-X を発現させたトランスジェニックマウスは、生後約 3 週齢で著しい肺の異常により死亡することが報告され

ている。⁶⁷ したがって、sPLA₂-X 欠損マウスにおける喘息の緩解にも sPLA₂-V 欠損マウスと同様に肺サーファクタント分解の減少が関係している可能性が考えられる。

ハチの刺傷によるアレルギーは重篤な全身症状 (アナフィラキシー) を起こして高い確率で死亡する。1 回目の刺傷では局所のマスト細胞が活性化して激しい浮腫を起こすが、2 回目の刺傷では IgE を介した抗原抗体反応により全身のマスト細胞が活性化してショック症状を引き起こす。ハチ毒の成分は大きくアミン類、低分子ペプチド、酵素類の 3 つに分類されるが、この中に sPLA₂ が大量に含まれている。特徴的な構造を持つハチ毒 sPLA₂ は III 型に分類されるが、ヒトゲノム上にはホモログが 1 つだけ存在する。⁶⁸ それが sPLA₂-III である。sPLA₂-III は N 末端と C 末端領域に固有のドメインを持ち、酵素活性の発現に必要な sPLA₂ ドメインは他の哺乳動物 sPLA₂ よりもハチ毒 sPLA₂ と高い相同性があり、他の sPLA₂ とは大きく異なっている。従来、ハチ毒 PLA₂ はアナフィラキシーを惹起することや、マスト細胞を直接活性化させることが知られていた。⁶⁹ 筆者らは sPLA₂-III が内因性のハチ毒、すなわちアレルギー応答の調節因子として機能するのではないかと仮説を立て、これを検証した (未発表)。既述のように、sPLA₂-III はマスト細胞の分泌顆粒に含まれ、マスト細胞の活性化に伴い分泌される。マウスの耳介に sPLA₂-III リコンビナントタンパク質を直接投与すると、浮腫が増悪する。さらに、sPLA₂-III の欠損マウスでは皮膚受身アナフィラキシー及び能動アナフィラキシーによる耳介浮腫が野生型マウスと比べ著しく軽減する。また、欠損マウス由来の BMMC を FcεRI 架橋刺激すると、野生型細胞と比較して脱顆粒並びにエイコサノイド産生が顕著に減弱する。一方で、sPLA₂-III の過剰発現トランスジェニックマウスでは皮膚受身アナフィラキシーが増悪し、また本マウス由来の BMMC では FcεRI 架橋刺激に伴う PGD₂, LTC₄ 産生が野生型細胞と比べ顕著に亢進する。本マウスは加齢に伴い全身性の炎症を自然発症するが、皮膚における炎症像はアトピー性皮膚炎の病理像と類似しており、炎症に特有な PGE₂ の産生亢進や炎症性サイトカイン (IL-1β, IL-6, TNF-α) の発現増強、及びアトピー性皮膚炎に特有な Th2 サイトカインの発現増強

(IL-4) や好中球・マクロファージの浸潤がみられる。⁷⁰⁾ これらの一連の解析により、sPLA₂-III はマスト細胞のエフェクター機能を亢進させることでアナフィラキシーを亢進するものと思われる。

マスト細胞は骨髄由来の前駆細胞が組織に定着した後、固有の亜群へと最終成熟するが、脂質メディエーターの産生様式は成熟した亜群により大きく異なる。粘膜下組織や結合組織では、SCF による制御を受けて成熟した結合組織型マスト細胞 (CTMC: 主に皮膚や気道のアレルギーなどに係わる) は主に PGD₂ を産生する。消化管粘膜の粘膜型マスト細胞 (MMC: 主に消化管などへの寄生虫感染防御などに係わる) は SCF に加えて IL-3 の影響を強く受けて主に LTC₄ を産生する。筆者らは未成熟な BMMC を SCF 存在下、3T3 線維芽細胞と数日間共培養することにより CTMC への分化成熟を再現し、⁷¹⁾ BMMC の分化成熟過程において脂質メディエーター合成系酵素の発現の再編成が起こることを見出ししている。すなわち、BMMC の分化成熟に伴い、cPLA₂α、COX-2、H-PGDS などの PGD₂ 合成系酵素の発現が一括的に誘導され、反対に cys-LTs 合成系酵素の発現の低下や LTB₄ 分解酵素の発現の増加など LT の量が相対的に下がる方向へとシフトする。興味深いことに、sPLA₂-III の欠損はマスト細胞の活性化だけでなく、マスト細胞分化成熟そのものにも影響を与える (未発表)。すなわち、sPLA₂-III 欠損マウスの皮下マスト細胞は低ヒスタミンを特徴とする未熟な顆粒を含有し、刺激に対して不応答性を示す。また、未成熟な BMMC を *in vitro* で皮下マスト細胞に類似の細胞へと最終成熟させた際にみられる顆粒の育成は sPLA₂-III 欠損細胞では乏しく、脂質メディエーター合成系酵素の発現の再編成も正常に起こらない。したがって、sPLA₂-III はマスト細胞機能を分化成熟レベルで制御することが明らかとなった。sPLA₂-III がどのようなメカニズムでマスト細胞の分化成熟を制御するかについては現在解析中である。PLA₂ の作用について Fig. 3 に示す。

4. おわりに

以上、脂質メディエーターの産生からその作用に至るまでの様々な制御について、マスト細胞を中心に紹介した。マスト細胞は IgE と抗原などの刺激により脱顆粒やサイトカイン、ケモカイン産生と

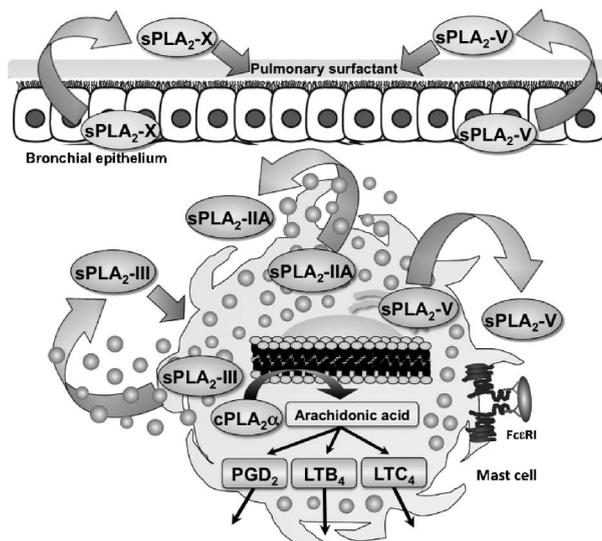


Fig. 3. PLA₂ Network in the Pathogenesis of Allergic Inflammation

Mast cell activation induces intracellular signals that lead to the release of preformed mediators (histamine and proteases) as well as sPLA₂s and to the generation of *de novo* synthesized eicosanoids (PGD₂, LTB₄, and LTC₄) via cPLA₂α. Once released, sPLA₂s may participate in the pathogenesis of allergic diseases such as asthma and anaphylaxis through the exocytotic degranulation and the eicosanoid generation by autocrine or paracrine fashion. Furthermore, sPLA₂-III can contribute to mast cell maturation. sPLA₂-V and -X are also expressed in bronchial epithelial cells and alveolar macrophages and may participate in surfactant degradation as well as in lipid mediator generation.

もに、脂質メディエーターの産生を通じて局所のアレルギー性炎症を制御する一方で、マスト細胞自身 (オートクリン) 又は他の組織細胞 (パラクリン) から放出されたこれらの脂質性分子の作用を受けてさらに機能を亢進させる。マスト細胞は他の炎症・免疫細胞とは異なり、活性化した後も増殖し続け、また組織間の移動によって自らの表現型を変化させるが、分化成熟そのものにも脂質メディエーターは関与する。このように、マスト細胞は分化成熟から活性化まで脂質ネットワークにより巧妙に制御されており、これらの制御機構を解明することはマスト細胞生物学、ひいてはアレルギー性疾患発症の分子メカニズムを解明する上でも重要であるように思う。

免疫応答における脂質ネットワークの制御機構を解明する上で免疫細胞の移植再構成実験は大変有効な手法となる。近年の脂質研究では、主に脂質メディエーターの代謝酵素、受容体の全身性欠損マウスの表現型をもとにその作用が類推されてきたが、実験系によってアレルギーの改善と増悪の相反する実験結果が得られるケースもしばしばみられ、個々のメディエーターの機能を正確に捉えることが困難で

あった。今回紹介したように、DP1 欠損マウス,⁸⁾ LTA₄H 欠損マウス,¹⁴⁾ BLT1 欠損マウス,^{18,19)} Cys-LT1 欠損マウス²⁵⁾の解析においては、マスト細胞、T細胞、樹状細胞などの移植再構成を通じて脂質メディエーターがどの細胞に発現する受容体を介してどのような作用を伝達するかを見事に説明しており、このような解析が代謝系すべての酵素、受容体の欠損マウスで行われるようになれば、各脂質性分子がいつどこで産生され、どのステップでどのように係わるかの詳細が明確になるに違いない。しかしながら、非免疫系細胞における時空間的な脂質メディエーターの産生と機能も含めて正確に判定するためには、移植再構成だけでは不十分であり、細胞特異的なコンディショナルノックアウトマウスの解析が望まれることは言うまでもない。今後の解析に期待したい。

REFERENCES

- 1) Yu M., Tsai M., Tam S. Y., Jones C., Zehnder J., Galli S. J., *J. Clin. Invest.*, **116**, 1633–1641 (2006).
- 2) Honda K., Arima M., Cheng G., Taki S., Hirata H., Eda F., Fukushima F., Yamaguchi B., Hatano M., Tokuhisa T., Fukuda T., *J. Exp. Med.*, **198**, 533–543 (2003).
- 3) Fujitani Y., Kanaoka Y., Aritake K., Uodome N., Okazaki-Hatake K., Urade Y., *J. Immunol.*, **168**, 443–449 (2002).
- 4) Matsuoka T., Hirata M., Tanaka H., Takahashi Y., Murata T., Kabashima K., Sugimoto Y., Kobayashi T., Ushikubi F., Aze Y., Eguchi N., Urade Y., Yoshida N., Kimura K., Mizoguchi A., Honda Y., Nagai H., Narumiya S., *Science*, **287**, 2013–2017 (2000).
- 5) Arimura A., Yasui K., Kishino J., Asanuma F., Hasegawa H., Kakudo S., Ohtani M., Arita H., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **298**, 411–419 (2001).
- 6) Gosset P., Bureau F., Angeli V., Pichavant M., Faveeuw C., Tonnel A. B., Trottein F., *J. Immunol.*, **170**, 4943–4952 (2003).
- 7) Hammad H., de Heer H. J., Soullie T., Hoogsteden H. C., Trottein F., Lambrecht B. N., *J. Immunol.*, **171**, 3936–3940 (2003).
- 8) Hammad H., Kool M., Soullie T., Narumiya S., Trottein F., Hoogsteden H. C., Lambrecht B. N., *J. Exp. Med.*, **204**, 357–367 (2007).
- 9) Gri G., Piconese S., Frossi B., Manfroi V., Merluzzi S., Tripodo C., Viola A., Odom S., Rivera J., Colombo M. P., Pucillo C. E., *Immunity*, **29**, 771–781 (2008).
- 10) Uller L., Mathiesen J. M., Alenmyr L., Korsgren M., Ulven T., Hogberg T., Andersson G., Persson C. G., Kostenis E., *Respir. Res.*, **8**, 16 (2007).
- 11) Chevalier E., Stock J., Fisher T., Dupont M., Fric M., Fargeau H., Leport M., Soler S., Fabien S., Pruniaux M. P., Fink M., Bertrand C. P., McNeish J., Li B., *J. Immunol.*, **175**, 2056–2060 (2005).
- 12) Shiraishi Y., Asano K., Niimi K., Fukunaga K., Wakaki M., Kagyo J., Takihara T., Ueda S., Nakajima T., Oguma T., Suzuki Y., Shio-mi T., Sayama K., Kagawa S., Ikeda E., Hirai H., Nagata K., Nakamura M., Miyasho T., Ishizaka A., *J. Immunol.*, **180**, 541–549 (2008).
- 13) Okuno T., Iizuka Y., Okazaki H., Yokomizo T., Taguchi R., Shimizu T., *J. Exp. Med.*, **205**, 759–766 (2008).
- 14) Miyahara N., Ohnishi H., Miyahara S., Takeda K., Matsubara S., Matsuda H., Okamoto M., Loader J. E., Joetham A., Tanimoto M., Dakhama A., Gelfand E. W., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **40**, 672–682 (2009).
- 15) Tager A. M., Bromley S. K., Medoff B. D., Islam S. A., Bercury S. D., Friedrich E. B., Carafone A. D., Gerszten R. E., Luster A. D., *Nat. Immunol.*, **4**, 982–990 (2003).
- 16) Miyahara N., Takeda K., Miyahara S., Matsubara S., Koya T., Joetham A., Krishnan E., Dakhama A., Haribabu B., Gelfand E. W., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **172**, 161–167 (2005).
- 17) Terawaki K., Yokomizo T., Nagase T., Toda A., Taniguchi M., Hashizume K., Yagi T., Shimizu T., *J. Immunol.*, **175**, 4217–4225 (2005).
- 18) Medoff B. D., Seung E., Wain J. C., Means T. K., Campanella G. S., Islam S. A., Thomas S. Y., Ginns L. C., Grabie N., Lichtman A. H., Tager A. M., Luster A. D., *J. Exp. Med.*, **202**, 97–110 (2005).
- 19) Miyahara N., Takeda K., Miyahara S., Taube C., Joetham A., Koya T., Matsubara S., Dak-

- hama A., Tager A. M., Luster A. D., Gelfand E. W., *J. Immunol.*, **174**, 4979–4984 (2005).
- 20) Miyahara N., Ohnishi H., Matsuda H., Miyahara S., Takeda K., Koya T., Matsubara S., Okamoto M., Dakhama A., Haribabu B., Gelfand E. W., *J. Immunol.*, **181**, 1170–1178 (2008).
- 21) Ott V. L., Cambier J. C., Kappler J., Marrack P., Swanson B. J., *Nat. Immunol.*, **4**, 974–981 (2003).
- 22) Irvin C. G., Tu Y. P., Sheller J. R., Funk C. D., *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **272**, L1053–L1058 (1997).
- 23) Kim D. C., Hsu F. I., Barrett N. A., Friend D. S., Grenningloh R., Ho I. C., Al-Garawi A., Lora J. M., Lam B. K., Austen K. F., Kanaoka Y., *J. Immunol.*, **176**, 4440–4448 (2006).
- 24) Jiang Y., Kanaoka Y., Feng C., Nocka K., Rao S., Boyce J. A., *J. Immunol.*, **177**, 2755–2759 (2006).
- 25) Maekawa A., Balestrieri B., Austen K. F., Kanaoka Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 11685–11690 (2009).
- 26) Beller T. C., Friend D. S., Maekawa A., Lam B. K., Austen K. F., Kanaoka Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 3047–3052 (2004).
- 27) Beller T. C., Maekawa A., Friend D. S., Austen K. F., Kanaoka Y., *J. Biol. Chem.*, **279**, 46129–46134 (2004).
- 28) Maekawa A., Kanaoka Y., Xing W., Austen K. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 16695–16700 (2008).
- 29) Paruchuri S., Tashimo H., Feng C., Maekawa A., Xing W., Jiang Y., Kanaoka Y., Conley P., Boyce J. A., *J. Exp. Med.*, **206**, 2543–2555 (2009).
- 30) Mellor E. A., Austen K. F., Boyce J. A., *J. Exp. Med.*, **195**, 583–592 (2002).
- 31) Paruchuri S., Jiang Y., Feng C., Francis S. A., Plutzky J., Boyce J. A., *J. Biol. Chem.*, **283**, 16477–16487 (2008).
- 32) Jiang Y., Borrelli L. A., Kanaoka Y., Bacskai B. J., Boyce J. A., *Blood*, **110**, 3263–3270 (2007).
- 33) Jiang Y., Borrelli L., Bacskai B. J., Kanaoka Y., Boyce J. A., *J. Immunol.*, **182**, 1129–1137 (2009).
- 34) Devchand P. R., Arita M., Hong S., Bannenberg G., Moussignac R. L., Gronert K., Serhan C. N., *FASEB J*, **17**, 652–659 (2003).
- 35) Andersson C. K., Claesson H. E., Rydell-Tormanen K., Swedmark S., Hallgren A., Erjefalt J. S., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **39**, 648–656 (2008).
- 36) Feltenmark S., Gautam N., Brunnstrom A., Griffiths W., Backman L., Edenius C., Lindbom L., Bjorkholm M., Claesson H. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 680–685 (2008).
- 37) Schwab J. M., Chiang N., Arita M., Serhan C. N., *Nature*, **447**, 869–874 (2007).
- 38) Haworth O., Cernadas M., Yang R., Serhan C. N., Levy B. D., *Nat. Immunol.*, **9**, 873–879 (2008).
- 39) Levy B. D., Kohli P., Gotlinger K., Haworth O., Hong S., Kazani S., Israel E., Haley K. J., Serhan C. N., *J. Immunol.*, **178**, 496–502 (2007).
- 40) Ishii S., Nagase T., Shindou H., Takizawa H., Ouchi Y., Shimizu T., *J. Immunol.*, **172**, 7095–7102 (2004).
- 41) Witzenrath M., Gutbier B., Owen J. S., Schmeck B., Mitchell T. J., Mayer K., Thomas M. J., Ishii S., Rosseau S., Suttorp N., Schutte H., *Crit. Care Med.*, **35**, 1756–1762 (2007).
- 42) Hosono H., Aoki J., Nagai Y., Bandoh K., Ishida M., Taguchi R., Arai H., Inoue K., *J. Biol. Chem.*, **276**, 29664–29670 (2001).
- 43) Kawamoto K., Aoki J., Tanaka A., Itakura A., Hosono H., Arai H., Kiso Y., Matsuda H., *J. Immunol.*, **168**, 6412–6419 (2002).
- 44) Bagga S., Price K. S., Lin D. A., Friend D. S., Austen K. F., Boyce J. A., *Blood*, **104**, 4080–4087 (2004).
- 45) Hashimoto T., Ohata H., Honda K., *J. Pharmacol. Sci.*, **100**, 82–87 (2006).
- 46) Uozumi N., Kume K., Nagase T., Nakatani N., Ishii S., Tashiro F., Komagata Y., Maki K., Ikuta K., Ouchi Y., Miyazaki J., Shimizu T., *Nature*, **390**, 618–622 (1997).
- 47) Nagase T., Uozumi N., Ishii S., Kita Y., Yamamoto H., Ohga E., Ouchi Y., Shimizu T., *Nat. Med.*, **8**, 480–484 (2002).
- 48) Nagase T., Uozumi N., Ishii S., Kume K., Izumi T., Ouchi Y., Shimizu T., *Nat. Immunol.*, **1**, 42–46 (2000).
- 49) Fujishima H., Sanchez Mejia R. O., Bingham

- C. O. 3rd, Lam B. K., Sapirstein A., Bonventre J. V., Austen K. F., Arm J. P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 4803–4807 (1999).
- 50) Nakatani N., Uozumi N., Kume K., Murakami M., Kudo I., Shimizu T., *Biochem. J.*, **352** (Pt 2), 311–317 (2000).
- 51) Murakami M., Kudo I., Suwa Y., Inoue K., *Eur. J. Biochem.*, **209**, 257–265 (1992).
- 52) Chock S. P., Schmauder-Chock E. A., Cordella-Miele E., Miele L., Mukherjee A. B., *Biochem. J.*, **300** (Pt 3), 619–622 (1994).
- 53) Bingham C. O. 3rd, Fijneman R. J., Friend D. S., Goddeau R. P., Rogers R. A., Austen K. F., Arm J. P., *J. Biol. Chem.*, **274**, 31476–31484 (1999).
- 54) Triggiani M., Giannattasio G., Calabrese C., Loffredo S., Granata F., Fiorello A., Santini M., Gelb M. H., Marone G., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **124**, 558–565.e3 (2009).
- 55) Murakami M., Kudo I., Inoue K., *FEBS Lett.*, **294**, 247–251 (1991).
- 56) Murakami M., Hara N., Kudo I., Inoue K., *J. Immunol.*, **151**, 5675–5684 (1993).
- 57) Bingham C. O. 3rd, Murakami M., Fujishima H., Hunt J. E., Austen K. F., Arm J. P., *J. Biol. Chem.*, **271**, 25936–25944 (1996).
- 58) Enomoto A., Murakami M., Valentin E., Lambeau G., Gelb M. H., Kudo I., *J. Immunol.*, **165**, 4007–4014 (2000).
- 59) Murakami M., Koduri R. S., Enomoto A., Shimbara S., Seki M., Yoshihara K., Singer A., Valentin E., Ghomashchi F., Lambeau G., Gelb M. H., Kudo I., *J. Biol. Chem.*, **276**, 10083–10096 (2001).
- 60) Murakami M., Taketomi Y., Girard C., Yamamoto K., Lambeau G., *Biochimie*, **92**, 561–582 (2010).
- 61) Masuda S., Murakami M., Mitsuishi M., Komiyama K., Ishikawa Y., Ishii T., Kudo I., *Biochem. J.*, **387**, 27–38 (2005).
- 62) Munoz N. M., Meliton A. Y., Arm J. P., Bonventre J. V., Cho W., Leff A. R., *J. Immunol.*, **179**, 4800–4807 (2007).
- 63) Henderson W. R. Jr., Chi E. Y., Bollinger J. G., Tien Y. T., Ye X., Castelli L., Rubtsov Y. P., Singer A. G., Chiang G. K., Nevalainen T., Rudensky A. Y., Gelb M. H., *J. Exp. Med.*, **204**, 865–877 (2007).
- 64) Munoz N. M., Meliton A. Y., Meliton L. N., Dudek S. M., Leff A. R., *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, **296**, L879–L887 (2009).
- 65) Ohtsuki M., Taketomi Y., Arata S., Masuda S., Ishikawa Y., Ishii T., Takanezawa Y., Aoki J., Arai H., Yamamoto K., Kudo I., Murakami M., *J. Biol. Chem.*, **281**, 36420–36433 (2006).
- 66) Kikawada E., Bonventre J. V., Arm J. P., *Blood*, **110**, 561–567 (2007).
- 67) Curfs D. M., Ghesquiere S. A., Vergouwe M. N., van der Made I., Gijbels M. J., Greaves D. R., Verbeek J. S., Hofker M. H., de Winther M. P., *J. Biol. Chem.*, **283**, 21640–21648 (2008).
- 68) Valentin E., Ghomashchi F., Gelb M. H., Lazdunski M., Lambeau G., *J. Biol. Chem.*, **275**, 7492–7496 (2000).
- 69) Dudler T., Machado D. C., Kolbe L., Annand R. R., Rhodes N., Gelb M. H., Koelsch K., Suter M., Helm B. A., *J. Immunol.*, **155**, 2605–2613 (1995).
- 70) Sato H., Taketomi Y., Isogai Y., Masuda S., Kobayashi T., Yamamoto K., Murakami M., *Biochem. J.*, **421**, 17–27 (2009).
- 71) Ogasawara T., Murakami M., Suzuki-Nishimura T., Uchida M. K., Kudo I., *J. Immunol.*, **158**, 393–404 (1997).