

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 26 日現在

機関番号：82603

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15325

研究課題名(和文) 衛生仮説における乳幼児RSV感染の意義の検討

研究課題名(英文) The effect of RSV infection in infancy on hygiene hypothesis

研究代表者

柴田 岳彦 (Shibata, Takehiko)

国立感染症研究所・免疫部・研究員

研究者番号：00739196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：衛生仮説とは、乳幼児期に多くの感染を経験することでType 1 helper T (Th1) 細胞が増え、以降の過剰なTh2免疫応答であるアレルギーの発症を抑制するという概念である。我々は、Th2免疫応答を誘導する乳幼児期のrespiratory syncytial virus (RSV) 感染も衛生仮説の要素となり、後のアレルギー反応の制御に関与するという仮説を立て、検証した。結果、1週齢時にRSVを感染させたマウスではRSV非感染マウスと比較して、8週齢の時点でより強いイエダニ抗原誘導アレルギー反応がみられた。すなわち、乳児期のRSV感染が後のアレルギー反応に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The hygiene hypothesis is a hypothesis that states a lack of early childhood exposure to infectious agents increases susceptibility to allergic diseases by suppressing the development of Th1-based immunity. In this study, we investigated whether respiratory syncytial virus (RSV) infection in infancy affects allergic responses in adult mice. As a result, mice that infected with RSV at a week old significantly increased susceptibility to house dust mite-induced allergic responses at 8 weeks old. These results suggest that RSV infection in infancy leads to enhanced susceptibility to allergic diseases.

研究分野：免疫学

キーワード：衛生仮説 RSV アレルギー

1. 研究開始当初の背景

近年世界的にアレルギー患者が増加し、“アレルギー体質”という言葉をよく耳にする。特に先進国や都市部にその数が多いとされる。大きな原因のひとつは、大気汚染や気密化した建物の増加によりアレルギーをひき起こすアレルゲンに触れる機会が増えたことにあるとされる。一方このような要因とは別に、乳幼児期の生活環境が将来的なアレルギー体質の原因になるという概念が提唱された。これは“衛生仮説 (hygiene hypothesis)”と呼ばれ、幼少期をあまりにも清潔な環境で過ごすアレルギーをひき起こしやすくなり、反対に多くの兄弟やペットなどの動物と過ごす様々な病原体に触れる機会が増えアレルギーになりにくいというものである。免疫学的機構は、病原体に感染することで、1型ヘルパーT (Th1)細胞が増加しTh1免疫応答が増強され、アレルギーの原因となる2型ヘルパーT (Th2) 応答を抑制するというものである。一方Th1を育てる環境が少ないと、Th2優位のまま成長し過剰なTh2免疫応答であるアレルギーがひき起されやすくなる。なお、2歳くらいまではこのTh2優位な環境が維持される。実はこのことが乳幼児における重篤な食物アレルギーや元々皮膚が弱い場合のアトピー性皮膚炎や乳児湿疹の発症の多さを説明する。大抵は成長とともに症状が軽減されたり発症回数が減少したりするが、これは多くの病原体感染を経験しTh1免疫を発達させるためであると考えられている。このように衛生仮説はTh1免疫応答に焦点を合わせ、Th1/Th2バランスの崩壊がアレルギーを起こしやすくなることを説いている。これに対して我々は、衛生仮説はTh1側からの制御だけでなく、Th2側からの積極的な制御もあると考える。それを担うものが、乳幼児RSV感染である。我々のグループを含め多くのグループによってRSV感染が強いTh2免疫応答を誘導することが報告されている。そして、ほぼ100%の乳幼

児が2歳になるまでにRSV感染を経験することを考慮すると、衛生仮説に与える影響を無視できない。しかし、これまでに衛生仮説における乳幼児期RSV感染の意義を調べた研究は存在しなかった。

2. 研究の目的

本研究では、乳幼児期RSV感染が後のアレルギー(RSVとは異なるアレルゲンによるもの)に関与するか、すなわち、乳幼児RSV感染が衛生仮説の要因になるか検討することを目的とした。そのために、(1)マウス乳児期RSV感染モデルの作製、(2)ハウスダストダニ抗原(HDM)誘導気道アレルギーモデルの作製、(3)乳幼児期RSV感染による後のアレルギー応答への影響の検討を遂行した。

3. 研究の方法

(1) マウス乳児期RSV感染モデルの作製

1、2、3週齢マウスにRSV(3.3×10⁴PFU/10μl)を経鼻投与(i.n.)により感染させ、それぞれの週齢で非致死性RSV量と容量を検討した。

(2) HDM誘導気道アレルギーモデルの作製

6週齢のマウスにイエダニ抗原(HDM; 10μg/30μL)を1回経鼻投与した。その1週間後からHDM(1μg/30μL)を5日連続で経鼻投与した。HDM最終投与4日後に免疫学的解析を行った。具体的にはflexiVent(emka & SCIREQ)によりマウスの気道抵抗性(AHR)を測定し、気管支肺胞洗浄液(BALF)を回収した。その後肺を採取し、病理学的解析とELISAによるタンパク質レベルの測定を行った。なお、病理学的解析として、炎症応答である気道への細胞浸潤を観察するためにヘマトキシリンエオジン(H&E)染色、粘液産生を観察するためにPeriodic acid-Schiff stain (PAS)染色を行った。これをHDM誘導アレルギーモデルとした。

(3) 乳児期RSV感染による後のアレルギー

応答への影響の検討

RSV 感染から 6 週後に上記 HDM 誘導アレルギーモデルを作製し、乳児期 RSV 感染によるアレルギー応答への影響を検討した。また、Th1 免疫応答を誘導する LPS (10 μ g/10 μ L) 経鼻投与グループを RSV 感染に対するコントロールとした。さらに、RSV 感染と LPS 投与の両方の処置をしたグループも作製した。HDM 最終投与 4 日後の免疫学的解析は上記同様に行った。

4. 研究成果

(1) 乳児期 RSV 感染モデルを確立した。RSV (3.3 $\times 10^4$ PFU/10 μ l) を 1、2、3 週齢時に投与したところ、生存に影響がないことが確認できた。

(2) HDM 誘導アレルギーモデルを作製した。まず、HDM の反復投与により気道抵抗、気道炎症、粘液産生の亢進を確認した。すなわち、HDM 誘導アレルギー性気道炎症モデルの作製に成功した。さらに、1 週齢時に RSV を感染させたときのアレルギー応答について調べた (図 1)。

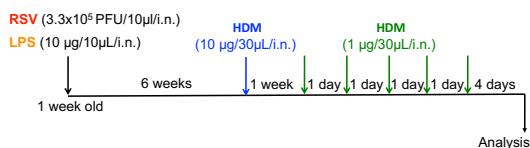


図1 乳児期RSV感染後のHDM誘導気道アレルギーモデル

結果、生後 1 週時に RSV に感染したマウスは、非感染マウスと比較して AHR、気道炎症、粘液産生の亢進がみられた (図 2、図 3)。なお、生後 2 週、3 週齢時の RSV 感染は後のアレルギー反応にほとんど影響を与えなかった。

一方予想に反し、RSV 感染の対照群として生後 1 週のマウスに細菌感染をミミックする LPS を投与すると、後の HDM 誘導アレルギー性気道炎症が LPS 非投与群と比較してかえって悪化した。さらに、LPS 投与ととも

に RSV を感染させると、アレルギー応答による病態が改善したのである。これら結果は、従来の概念に反するようだが、再現性があることより何らかの意味を持つことが予想された。しかし、これまでの結果は、用いた病原体やアレルゲン特異的現象ある可能性がある。そこで、病原体の種類、容量、処理タイミングなどの条件を場合分けし、一般的な現象であるか検証し、新たな概念の正当性を証明する必要がある。

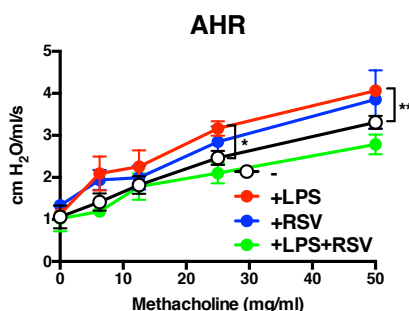


図2 乳児期RSV感染がHDM誘導アレルギー性気道炎症 (AHR) に与える影響

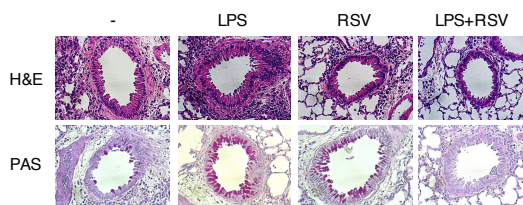


図3 乳児期RSV感染がHDM誘導アレルギー性気道炎症 (細胞浸潤と粘液産生の亢進) に与える影響

以上の結果より、乳児期の RSV 感染が後のアレルギー応答を亢進する可能性が見出された。すなわち 2 歳までにはほぼ 100% の乳幼児が経験する RSV 感染は、衛生仮説の概念の一部を構成することが示唆された。一方、LPS のような Th1 免疫応答を誘導する刺激でも後のアレルギー反応を亢進した。さらに RSV と LPS の両方の刺激ではアレルギーが強く抑制されることから、乳児期のバランスのとれた免疫機構の発達がその後のアレルギーの発症や程度に影響を与えている可能性が示唆された。今後、これら一般性の検討と、その機構の解明が課題となるが、将来的に新たな衛生仮説の概念の提唱が期待される。

引用文献

Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989, 299, 1259-60

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 岳彦 (SHIBATA, Takehiko)

国立感染症研究所・免疫部・研究員

研究者番号 : 00739196

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

()