

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19139

研究課題名（和文）微小粒子状物質PM2.5によるアレルギー性鼻炎の増悪メカニズムの解明

研究課題名（英文）Study on the mechanism of the exacerbation of allergic rhinitis by PM2.5

研究代表者

福岡 あゆみ（Fukuoka, Ayumi）

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：30709754

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：大気中に浮遊する微小粒子状物質PM2.5は喘息などのアレルギー疾患の増悪因子として考えられてきた。PM2.5と喘息の関係性については多くの実験的な解析により明らかになってきた。しかし、PM2.5が花粉症などのアレルギー性鼻炎の増悪に関与するのか、どのようなメカニズムでアレルギー性鼻炎の症状を悪化させるのかは、未だ不明な点が多い。

本研究では、花粉症モデルマウスを用いて、PM2.5が鼻粘膜上皮細胞のバリア機能に重要なタイトジャンクションの構造を破壊し、抗原の組織内への透過性を高めることによりアレルギー症状を悪化させるとことを発見した。

研究成果の概要（英文）：It has been considered that PM2.5 is associated with the exacerbation of allergic diseases. The effect of PM2.5 on asthma has been revealed by experimental analysis using mouse models. However, whether PM2.5 exacerbate allergic rhinitis and the mechanism of the exacerbation of allergic rhinitis by PM2.5 is poorly understood. In this study, we revealed that PM2.5 disrupts tight junction between epithelial cells and increases paracellular permeability, resulting in exacerbation of allergic rhinitis.

研究分野：免疫学

キーワード：アレルギー性鼻炎 微小粒子状物質 鼻粘膜上皮細胞 タイトジャンクション

1. 研究開始当初の背景

近年、日本各地において大気汚染物質である微小粒子状物質 (Particle Matter; PM2.5) が高濃度で検出されている。PM2.5 は喘息等のアレルギー疾患の増悪因子であると考えられてきた。PM2.5 と喘息の関係性については実験動物を用いた実験により示されてきた。しかし、PM2.5 のアレルギー性鼻炎に対する影響についてはマウスモデルを用いた実験的な解析は少なく、実際に PM2.5 がアレルギー性鼻炎の増悪因子であるのか、そしてどのような機序でアレルギー性鼻炎を増悪させるのかは不明である。

2. 研究の目的

本研究では、ブタクサ花粉症のモデルマウスを用いて、(1)PM2.5 がアレルギー性鼻炎の増悪因子であることを明らかにする。次に(2)PM2.5 がどのようなメカニズムでその増悪に働くかを解明する。

3. 研究の方法

ブタクサ花粉を腹腔内投与し、ブタクサ花粉を点鼻することでヒトの花粉症と酷似した症状を呈する花粉症モデルマウスを用いて解析を行った。花粉症モデルマウスに、ブタクサ花粉と PM2.5 の構成成分であるディーゼル排気微粒子 (Diesel exhaust particles; DEP) を 4 日間、同時に点鼻した (Fig.1)。点鼻直後、10 分間のくしゃみ回数を測定し、最終点鼻後に鼻粘膜組織に浸潤する好酸球数や頸部リンパ節細胞からの Th2 サイトカイン産生、血中 IgE 抗体濃度を評価した。また、DEP が鼻粘膜上皮細胞のバリア機能への影響を検討するために、マウスに点鼻後、鼻粘膜上皮細胞のタイトジャンクション構造の解析を行った。さらに、ヒト鼻粘膜上皮細胞 (RPMI2650 細胞) を用いて DEP が上皮細胞のバリア機能や抗原の透過性に影響を与えるかを示すために、細胞に DEP を処理し、経上皮電気抵抗 (TER) および FITC-Dextran の透過性を検討した (Fig.2)。

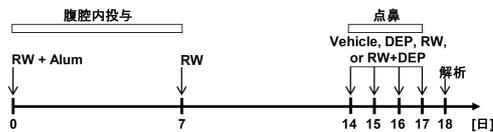


Fig.1 ブタクサ花粉 (RW) 症モデルマウスを用いた実験

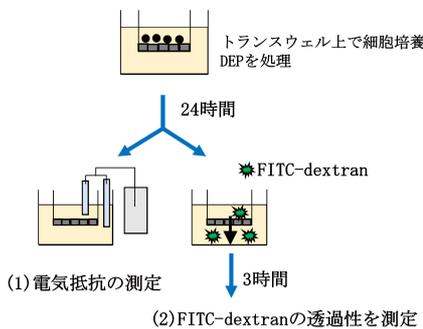


Fig.2 RPMI2650細胞を用いた実験

4. 研究成果

ブタクサ花粉と DEP を同時点鼻したマウスでは、ブタクサ花粉のみを点鼻したマウスと比較し顕著にくしゃみ回数が増加していた (Fig.3)。

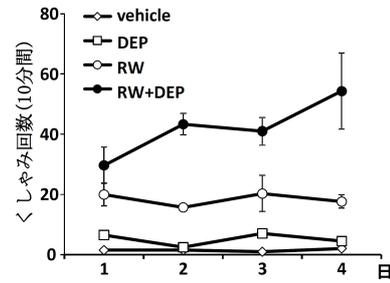


Fig.3 ブタクサ花粉 (RW) と DEP の点鼻によるくしゃみ回数の変化。

一方で、鼻粘膜組織の好酸球数、頸部リンパ節細胞の Th2 サイトカイン産生および血中 IgE 濃度に差は認められなかった。また、DEP のみの点鼻により鼻粘膜上皮細胞間のタイトジャンクションが破壊されていた (Fig.4)。

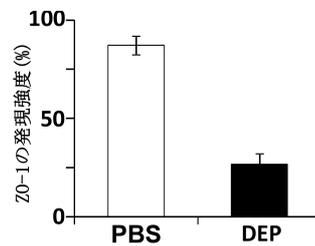


Fig.4 DEP点鼻後のタイトジャンクション構成タンパク質 (ZO-1) の発現。

また、4 日間 PBS または DEP を点鼻した後ブタクサ花粉を点鼻した場合、PBS 点鼻群と比較し、DEP 点鼻群においてくしゃみ回数の増加が認められた。加えて、タイトジャンクション破壊とくしゃみ回数の増加に関係があるのかを証明するために、DEP を事前に 4 日間点鼻し、その後 2、4、6、8 日目にタイトジャンクションの解析およびブタクサ花粉の点鼻を行った。その結果、DEP 点鼻による鼻粘膜上皮細胞のタイトジャンクション破壊は、DEP 点鼻後 6 日で回復し、それに伴いくしゃみ回数もコントロールレベルまで減少した (Fig.5)。

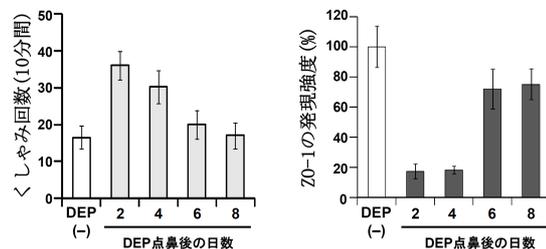


Fig.5 DEP点鼻後くしゃみ回数の変化とタイトジャンクションの回復について

これらの結果から、DEP は Th2 応答を促進するのではなく、上皮細胞のバリア機能を破壊することで、くしゃみ回数が増加する可能性が示唆された。次に、DEP が鼻粘膜上皮細胞のバリア機能を破壊し抗原透過性を高めるのかを示すために、トランスウェルに培養した RPMI2650 細胞に DEP を処理し、TER および FITC-Dextran の透過性を検討した。その結果、DEP を処理した RPMI2650 細胞ではタイトジャンクションが破壊されており、TER が減少し、FITC-dextran の透過性が亢進した。最後に、どのようなメカニズムで DEP がタイトジャンクションを破壊するのかを明らかにした。肺での報告から DEP は活性酸素 (reactive oxygen species; ROS) を産生する可能性が示唆されていた。このことから ROS に注目し、抗酸化剤である N-アセチル-L-システイン (NAC) を DEP と共に点鼻する実験を行った。その結果、NAC 点鼻により DEP によるタイトジャンクション破壊およびくしゃみ回数の増加が抑制された。以上の結果から、DEP は (1) アレルギー性鼻炎の増悪因子であること、(2) 鼻粘膜上皮細胞のタイトジャンクションを破壊し、抗原の透過性を高めること、(3) DEP は ROS の産生によりタイトジャンクションを破壊することが示された。

#### 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 5 件)

1. Iwasaki, N., Matsushita, K., Fukuoka, A., Nakahira, M., Matsumoto, M., Akasaki, S., Yasuda, K., Shimizu, T., Yoshimoto, T. "Allergen endotoxins induce T cell-dependent and non-IgE-mediated nasal hypersensitivity in mice." *J. Allergy Clin. Immunol.* 139, 258-268, 2017. 査読有
2. Akasaki, S., Matsushita, K., Kato, Y., Fukuoka, A., Iwasaki, N., Nakahira, M., Fujieda, S., Yasuda, K., Yoshimoto, T. "Murine allergic rhinitis and nasal Th2 activation are mediated via TSLP- and IL-33-signaling pathways." *Int. Immunol.* 28, 65-76, 2016. 査読有
3. Fukuoka, A., Matsushita, K., Morikawa, T., Takano, H., Yoshimoto, T. "Diesel exhaust particles exacerbate allergic rhinitis in mice by disrupting the nasal epithelial barrier." *Clin. Exp. Allergy* 46, 142-52, 2016. 査読有

4. 福岡あゆみ "新規 2 型自然リンパ球 'Fas-expressing natural helper 細胞'" *アレルギー* 65, 186-192, 2016. Review article 査読有
5. 福岡あゆみ, 善本知広 "バリア機能とアレルギー性鼻炎" *アレルギー* 64, 1196-203, 2015. 査読なし

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Morikawa, T., Fukuoka, A., Matsushita, K., Fujieda, S., Yoshimoto, T. "ILC2-Activation Aggravates Th2-Dependent Nasal Inflammation In Mice" SELIN 2017, Germany, 2017, 30 Mar-1 Jun. Oral presentation
2. Fukuoka, A., Matsushita, K., Morikawa, T., Takano, H., Yoshimoto, T. "Diesel exhaust particles exacerbate allergic rhinitis in mice by disrupting the nasal epithelial barrier." 第44回日本免疫学会学術大会, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市), 2015年11月18日-20日
3. Fukuoka, A., Matsushita, K., Morikawa, T., Takano, H., Yoshimoto, T. "Diesel exhaust particles exacerbate allergic rhinitis in mice by disrupting the nasal epithelial barrier." 第64回日本アレルギー学会学術大会, グランドプリンスホテル新高輪(東京都・品川区), 2015年5月26日-28日
4. Fukuoka, A., Matsushita, K., and Yoshimoto, T. "Diesel exhaust particles exacerbate allergic rhinitis in mice by disrupting the nasal epithelial barrier." The American Academy of Allergy, Asthma&Immunology 2015, Huston, USA, 2015, 20-24 Feb. Oral presentation

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: タイトジャンクション機能低下に起因する疾患の予防及び/又は治療剤

発明者：善本知広、福岡あゆみ、松下一史  
権利者：学校法人兵庫医科大学  
種類：特許権  
番号：特願 2015-026712 号  
出願年月日：2015 年 2 月 13 日  
国内外の別： 国内

取得状況（計 0 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

福岡 あゆみ (FUKUOKA, AYUMI)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：30709754

##### (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

善本 知広 (YOSHIMOTO, TOMOHIRO)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：60241171