

令和元年6月12日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16929

研究課題名(和文)ホスホリルコリン舌下投与によるアレルギー性鼻炎の制御機構に関する研究

研究課題名(英文) Sublingual administration with phosphorylcholine controls allergic rhinitis in mice

研究代表者

牧瀬 高穂 (makise, takao)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：30585120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ホスホリルコリン(PC)による舌下免疫がアレルギー性鼻炎の免疫応答に与える影響について検討した。マウスを用い、PC舌下投与に続いて卵白アルブミン(OVA)を感作発症させるアレルギー性鼻炎モデルを作成した。OVA感作発症後に鼻症状(くしゃみ回数、鼻かき回数)、鼻粘膜好酸球浸潤、鼻粘膜上皮障害、血清中の総IgEおよびOVA特異的IgEの産生は、PC舌下投与群で有意に抑制された。抗原特異的サイトカイン産生は、頸部リンパ節および脾臓において、TGF- β 1の産生が有意に亢進していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、PC舌下投与がアレルギー性鼻炎の1次予防もしくは2次予防として有効であること、PC舌下投与により頸部リンパ節及び脾臓でTGF- β 1の産生が増加し、その後の免疫応答やIgEのクラススイッチが抑制され、その結果、PC舌下投与後のアレルギー性鼻炎感作発症が抑制されている可能性が示唆された。すなわち、PC舌下投与がワクチンとして有用であるのみならず、アレルギー性鼻炎の感作発症を抑制する可能性が示唆された。臨床応用するにはまだ程遠い研究段階ではあるが、根本的治療や予防法のないアレルギー性鼻炎を根治できる可能性が新しく示唆されたことは、学術的にも社会的にも意義のある研究結果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We examined the effect of sublingual immunization with phosphorylcholine on the immune response of allergic rhinitis. Using mice, the allergic rhinitis model in which ovalbumin was sensitized and challenged following sublingual administration with phosphorylcholine. After ovalbumin administration, nasal symptoms (number of sneezing, number of nasal rubbing), eosinophils infiltration into the nasal mucosa, epithelial damage in nasal mucosa, production of total IgE in serum and ovalbumin specific IgE in serum were significantly increased in the sublingual administration with phosphorylcholine group. Antigen-specific cytokine production was significantly enhanced in the production of TGF- β 1 in cervical lymph nodes and spleen.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：舌下免疫 ホスホリルコリン アレルギー性鼻炎 好酸球 粘膜障害 OVA IgE TGF- β 1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦では高齢者を対象とした肺炎球菌ワクチンが定期接種となっており、感染症重篤化の予防に役立っている。また、小児期に生じる細菌感染症に対するワクチン接種も積極的に行われており、肺炎球菌ワクチンや Hib ワクチンの接種により感染症重篤化を予防することが可能となっている。すなわち、免疫力の低い小児や高齢者に対するワクチン投与は、感染症対策として重要な位置を占めている。しかし、現在使用されているワクチンですべての細菌感染症に対応することは不可能であり、より多菌種の細菌感染に有効な広域ワクチンの開発が望まれている。我々は、多くの細菌の細胞膜構成成分であるホスホリルコリンに注目し、ホスホリルコリンをターゲットとしたワクチン研究を行ってきた。マウスの実験系において、ホスホリルコリンの経鼻投与および舌下投与により、上気道における肺炎球菌感染を有意に抑制することを報告し、ホスホリルコリンがワクチンとして有効である可能性を示した (Tanaka N et al. 2007. Hayamizu Y et al. 2018)。

ワクチン開発において、ワクチン投与による免疫応答が生体の免疫系に与える影響を検証する必要があるが、ホスホリルコリン経鼻投与による実験系においてアレルギー性炎症を検証したところ、血清中総 IgE はむしろ減少する傾向にあり、ホスホリルコリンの経鼻投与が IgE の産生を抑制することで 1 型アレルギー疾患を抑制する可能性が示唆された。他施設の実験において、肺炎球菌ワクチンの経鼻投与でアレルギー性鼻炎モデルマウスの Th2 系の反応抑制と Treg の誘導によってアレルギー性鼻炎の発症抑制を認めたと報告されている (Ji-Hyeon Shin et al. 2013)。肺炎球菌にもホスホリルコリンが含まれることから、ホスホリルコリンの経鼻投与においても同様の機序によって 1 型アレルギー性炎症が抑制される可能性が示唆される。しかし、経鼻ワクチンは稀ではあるが嗅上皮を介して脳へ逆行することに伴う重篤な副反応が報告されている (Mutsch M et al. 2004) ため、安全性の問題から臨床応用は困難である。

そこで我々は、ホスホリルコリン舌下投与がアレルギー性鼻炎モデルマウスの免疫応答に与える影響を予備的に検討したところ、経鼻投与と同様にアレルギー性鼻炎の鼻症状や IgE 産生を抑制し、抗原特異的 IgG1 の産生を抑制していることを見出した。しかし、脾臓 CD4 陽性 T 細胞の抗原特異的サイトカイン産生を測定したところ、IL-10、TGF- β 1 の産生に有意な変化を認めなかった。すなわち、ホスホリルコリンを舌下投与することでアレルギー性鼻炎の鼻症状抑制と Th2 系の抑制が観察されたが、脾臓 CD4 陽性 T 細胞の抗原特異的 IL-10 や TGF- β 1 の産生に変化を認めないことから Treg の誘導とは異なった機序によりアレルギー性炎症の抑制が生じたと推測された。以上のことから、より安全な投与経路と考えられる舌下投与が経鼻投与と同様にアレルギー性鼻炎の鼻症状や IgE 産生を抑制する可能性が示唆される。

本研究は、アレルギー性鼻炎の感作発症抑制につながる現象を解明する一助となる可能性が高いと思われるが、現時点でこの現象を検討した報告はないため、今回この様な研究を実施した。

2. 研究の目的

我々の実施した予備実験において、ホスホリルコリン舌下投与によって 1 型アレルギーが抑制され、経鼻ワクチンとは異なった脾臓 CD4 陽性 T 細胞の抗原特異的サイトカイン産生を示す結果が得られていた。そこで、ワクチン舌下投与とアレルギー性鼻炎の免疫応答の中心と考えられる頸部リンパ節および脾臓の T 細胞分画を検証することで、免疫の司令塔となる T 細胞のうち、どの T 細胞分画がこの現象の中心的役割を担っているかが明らかになると考えた。ま

た、実際のアレルギー炎症の場となる鼻粘膜中における炎症細胞分布を検証することで、どの炎症細胞が症状の発現や抑制に関与しているのか明らかにできると考えた。

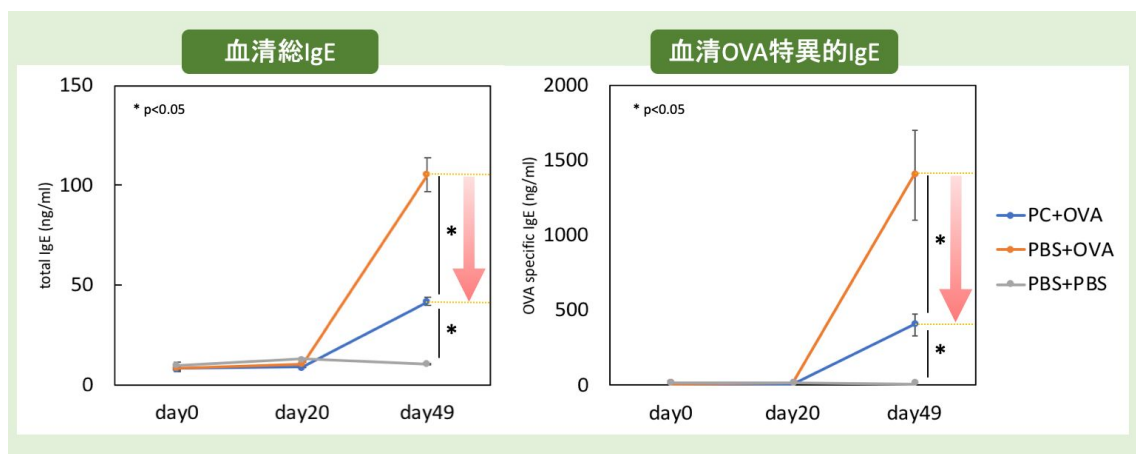
したがって、ホスホリルコリン舌下投与による1型アレルギー性炎症抑制の機序を、舌下組織の所属リンパ節である頸部リンパ節と全身系免疫の中心となる脾臓におけるT細胞の分化誘導と1型アレルギー炎症の関係性について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

BALB/c マウスを用い、ホスホリルコリンの舌下投与に続いて卵白アルブミン (OVA) を感作発症させるアレルギー性鼻炎モデルを作成した。ホスホリルコリン舌下投与群 (PC + OVA)、リン酸緩衝液舌下投与群 (コントロール群、PBS + OVA)、卵白アルブミン (OVA) 非投与群 (PBS + PBS) を作成し、OVA もしくは PBS の感作発症後に鼻症状、血清免疫グロブリン、鼻粘膜局所の炎症反応 (好酸球浸潤、粘膜上皮障害) について評価を行った。また、舌下組織の所属リンパ節である頸部リンパ節と脾臓の CD4 陽性 T 細胞から産生される抗原特異的サイトカインを測定した。

4. 研究成果

血清中ホスホリルコリン特異的 IgM、G、A の産生がホスホリルコリン舌下投与群で有意に亢進することを確認した。OVA 感作発症後は、鼻症状 (くしゃみ回数、鼻かき回数)、鼻粘膜好酸球浸潤、鼻粘膜上皮障害がホスホリルコリン舌下投与群において有意に抑制された。また、血清中の総 IgE および OVA 特異的 IgE の産生は、ホスホリルコリン舌下投与群で有意に抑制された。抗原特異的サイトカイン産生は、頸部リンパ節および脾臓において、TGF- β 1 の産生が有意に亢進していた。本研究では、ホスホリルコリンの舌下投与がアレルギー性鼻炎の1次予防もしくは2次予防として有効であること、ホスホリルコリン舌下投与により頸部リンパ節及び脾臓で TGF- β 1 の産生が増加し、その後の免疫応答や IgE のクラススイッチが抑制され、その結果、ホスホリルコリン舌下投与後のアレルギー性鼻炎感作発症が抑制されている可能性が示唆された。



本研究の結果、ワクチンとしてのホスホリルコリン舌下投与が上気道感染症の予防に有効であるのみならず、アレルギー性炎症の抑制を同時に行うことができる可能性が示唆された。ホ

ホスホリルコリン舌下投与による広域ワクチンは、注射器などのデバイスを必要としない投与経路であるため、先進国のみならず感染症対策が急務である途上国などの医療資源に乏しい地域での使用が期待される。具体例としては、ポリオワクチンのような使用例を想定している。また、1型アレルギーの代表であるアレルギー性鼻炎は先進国のみならず途上国でも今後問題となる可能性が考えられるが、ホスホリルコリンの舌下ワクチンによってアレルギー性炎症も抑制することが可能であると証明するにはまだ課題が山積しているが、もしホスホリルコリンの舌下投与によって感染症とアレルギー性疾患を同時に予防することが可能となるならば、公衆衛生と患者 QOL の改善に大きく寄与できるため、今後も研究を続ける必要があると考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計3件)

1) 牧瀬高穂

ホスホリルコリン舌下投与によるアレルギー性鼻炎の抑制効果
日本アレルギー学会第一回九州・沖縄支部地方部会 2019年

2) 牧瀬高穂

ホスホリルコリン舌下免疫によるアレルギー性鼻炎の抑制
第57回日本鼻科学会総会・学術講演会 2018年

3) 牧瀬高穂

ホスホリルコリン舌下投与による 1型アレルギー反応の抑制
第35回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2017年

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。