

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16879

研究課題名（和文）モデルマウスを用いた花粉-食物アレルギーの病態解明

研究課題名（英文）Th2-IgE immune response in pollen-food allergy syndrome in a novel murine model

研究代表者

加藤 幸宣 (Kato, Yukinori)

福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・助教

研究者番号：00748981

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：シラカンバ花粉の腹腔内投与による全身感作後に同抗原を経鼻感作させた後、リンゴを経口投与することで新規PFASモデルマウスを作製した。PFASモデルマウスではリンゴ経口投与後に口かき動作を認める。シラカンバ感作陽性マウスに、リンゴエキスを耳介に皮下注射すると、耳介の発赤・耳介厚上昇を認め、血管が透見できなくなった。食物ブリックテスト陽性所見は、PFAS診断基準の一つであり、PFASモデルマウスはこれを満たしていた。Fc γ R1欠損マウスや肥満細胞欠損マウスでは口かき回数が抑制され、PFASにおけるIgEシグナリングの重要性、特に肥満細胞の関与を強く示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

種々のアレルギー疾患ではモデルマウスが存在し、マウスによる様々な報告がなされている。一方、PFASに関するモデルマウスは存在しない。そのためにPFASの研究は他のアレルギー疾患の分野に比べて、未解明で遅れをとっている部分が多い。発症を防ぐには原因食物摂取の回避が唯一の方法というのが現状であり、これは複数の食物摂取が制限されるPFAS患者にとっては深刻な問題である。PFASモデルマウスを作製してその発症機序を解明することは、非常に重要な課題である。PFASの病態が解明されれば、原因食物の特定法や花粉症患者に対するPFAS発症予防策、PFAS患者に対する治療方法を確立することが期待される。

研究成果の概要（英文）：The birch-pollen-immunized mice orally challenged with apple extract exhibited PFAS-like symptoms, including oral rubbing without systemic symptoms, and positive reaction on swelling by the prick test. The oral rubbing frequency was significantly reduced in the immunized Fc γ R1 α ^{-/-} and mast cell-deficient mice compared with the immunized control mice. The pathogenesis of allergic diseases includes various factors such as Th2 cells, B cells, dendritic cells, and ILC2s, among others. Future studies using our novel murine model might clarify the pathogenesis of PFAS and provide a useful therapeutic platform for PFAS.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：cross-reaction early phase IgE signaling oral rubbing PFAS

1. 研究開始当初の背景

OASは原因食物摂取後、数分以内に口唇・口腔の掻痒感、しびれ、粘膜浮腫をきたす疾患である。時に鼻炎症状、消化器症状、呼吸器症状をきたすことや、重症例では喘鳴、嘔吐、皮疹などの全身症状、アナフィラキシーを生じることもある。近年罹患率は上昇傾向にあり、生活の質に多大な影響を与えることから注目されている疾患である。

OASは、食物抗原により口腔粘膜症状を呈するIgE依存性即時型アレルギーであるが、感作抗原と誘発抗原が同一である食物アレルギーとは異なり、花粉抗原感作陽性者やラテックス経皮感作陽性者において食物アレルギーが交差反応することで惹起される。欧米では、シラカンバ花粉(感作抗原)感作陽性者の約半数が、リンゴ(誘発抗原)を食べるとOAS症状を認めると言われる。この反応は、シラカンバ花粉の主要抗原であるBet v1とリンゴに含まれるMal d1との交差反応であり、感作抗原が花粉のケースは特に花粉-食物アレルギー(Pollen-Food Allergy Syndrome: PFAS)と呼ばれる。一方で、シラカンバ花粉症患者の半数はリンゴを食べても無症状である。また、PFAS症状を認めてもリンゴ特異的IgEが陰性となる症例も存在する。花粉症が感作未発症でもPFASを発症し得る。花粉症の感作発症とPFASの発症は必ずしも同期せず、様々なケースが存在するため、アレルギー疾患の中でもPFASの病態は複雑である。

2. 研究の目的

PFASに関する疫学調査・基礎的研究は、他のアレルギー疾患に比べて報告が乏しい。アトピー性皮膚炎やアレルギー性鼻炎、気管支喘息、食物アレルギーといった種々のアレルギー疾患ではモデルマウスが存在し、マウスによる様々な報告がなされている。一方、PFASに関するモデルマウスは存在しない。そのためにPFASの研究は他のアレルギー疾患の分野に比べて、未解明で遅れをとっている部分が多い。発症を防ぐには原因食物摂取の回避が唯一の方法というのが現状であり、これは複数の食物摂取が制限されるPFAS患者にとっては深刻な問題である。PFASモデルマウスを作製してその発症機序を解明することは、非常に重要な課題である。PFASの病態が解明されれば、PFASの原因食物の特定法や花粉症患者に対するPFAS発症予防策、PFAS患者に対する治療方法を確立することが期待される。

本研究では、ほとんど研究されていなかったPFASの病態を解明し、感作・発症への早期介入に有効的な分子を同定することで、新規治療薬・根治治療の可能性を追求し、原因食物の摂取が可能となることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、シラカンバ花粉で全身感作させたマウスにリンゴを経口投与することで、全く報告例のない新規花粉-食物アレルギー症候群(PFAS)モデルマウスを作製する。そして、このモデルマウスを用いてPFASの発症機序・病態解明を行う。遺伝子組換えマウスを使用し、発症に関わる誘導因子・抑制因子を解明する。

4. 研究成果

PFASモデルマウスを作製するために、シラカンバ花粉で全身感作させたアレルギー性鼻炎モデルマウスを作製した。シラカンバ花粉で免疫したマウスでは、シラカンバ花粉点鼻後のくしゃみ回数上昇、血清特異的IgE上昇、鼻組織への好酸球浸潤、頸部リンパ節におけるTh2サイトカイン産生能上昇を認めた。これらの変化はアレルギー性鼻炎モデルマウスに特徴的である。PFASモデルマウスでは、シラカンバ花粉の腹腔内投与による全身感作後に同抗原を経鼻感作させた。その後、リンゴを経口投与した。

リンゴはシラカンバ花粉と交差反応を示す代表的な食物である。PFASモデルマウスではリンゴ経口投与後に、アレルギー性鼻炎モデルでみられる鼻かきとは全く異なる口かき動作を認める。リンゴ経口投与後10分間の口かき回数では、「シラカンバ免疫+リンゴ経口投与群」のみ、明らかに口かき回数が増加した。口かき動作はPFAS症状と酷似しており、ナイーブマウスにリンゴを投与しても決して認められない。抗原特異的な交差反応はPFASの病態に必須であり、シラカンバ感作陽性マウスではリンゴ特異的IgEの上昇を認めた。また、ブタクサ花粉症モデルマウスやスギ花粉症モデルマウスにリンゴを経口投与しても口かき回数は上昇せず、この反応は抗原特異的である。シラカンバ感作陽性マウスに、リンゴエキスを耳介に皮下注射すると、耳介

の発赤・耳介厚上昇を認め、血管が透見できなくなった。食物プリックテスト陽性所見は、PFAS 診断基準の一つであり、PFAS モデルマウスはこれを満たしている。Fc R1 欠損マウスや肥満細胞欠損マウスでは口かき回数が抑制され、PFAS における IgE シグナリングの重要性、特に肥満細胞の関与を強く示唆した。

交差反応を標的とした PFAS モデルマウスは世界初であり、画期的なモデルである。この方法は、シラカンバ-モモ、ブタクサ-メロン、スギ-トマトといった、他の花粉-食物にも応用できる。また、感作抗原・誘発抗原を様々に設定することで、まだ知られていない種類の花粉-食物アレルギーを見出すことも可能となる。アレルギー疾患の病態は、Th2 細胞、B 細胞、樹状細胞、ILC2s など様々な細胞が関与する。PFAS モデルマウスを用いた更なる研究によって PFAS の病態が明らかにされ、有用な治療法を供給することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kato Yukinori, Takabayashi Tetsuji, Sakashita Masafumi, Imoto Yoshimasa, Tokunaga Takahiro, Ninomiya Takahiro, Morikawa Taiyo, Yoshida Kanako, Noguchi Emiko, Fujieda Shigeharu	4. 巻 59
2. 論文標題 Expression and Functional Analysis of CST1 in Intractable Nasal Polyps	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 448 ~ 457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1165/rcmb.2017-03250C	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kidoguchi Masanori, Noguchi Emiko, Nakamura Takako, Ninomiya Takahiro, Morii Wataru, Yoshida Kanako, Morikawa Taiyo, Kato Yukinori, Imoto Yoshimasa, Sakashita Masafumi, Takabayashi Tetsuji, Fujieda Shigeharu	4. 巻 32
2. 論文標題 DNA Methylation of Proximal PLAT Promoter in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Rhinology & Allergy	6. 最初と最後の頁 374 ~ 379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1945892418782236	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takabayashi Tetsuji, Tanaka Yukie, Susuki Dai, Yoshida Kanako, Tomita Kaori, Sakashita Masafumi, Imoto Yoshimasa, Kato Yukinori, Narita Norihiko, Nakayama Tsugihisa, Haruna Shinichi, Schleimer Robert P., Fujieda Shigeharu	4. 巻 74
2. 論文標題 Increased expression of L-plastin in nasal polyp of patients with nonsteroidal anti-inflammatory drug exacerbated respiratory disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 1307-1316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.13677	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamada Takechiyo, Miyabe Yui, Ueki Shigeharu, Fujieda Shigeharu, Tokunaga Takahiro, Sakashita Masafumi, Kato Yukinori, Ninomiya Takahiro, Kawasaki Yohei, Suzuki Shinsuke, Saito Hidekazu	4. 巻 10
2. 論文標題 Eotaxin-3 as a Plasma Biomarker for Mucosal Eosinophil Infiltration in Chronic Rhinosinusitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.00074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 加藤 幸宣, 高林 哲司, 坂下 雅文, 意元 義政, 徳永 貴広, 二之宮貴裕, 森川 太洋, 吉田加奈子, 野口恵美子, 藤枝 重治	4. 巻 36
2. 論文標題 好酸球性副鼻腔炎におけるCST1の発現と機能的解析	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 耳鼻免疫アレルギー (JJIAO)	6. 最初と最後の頁 261 ~ 266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤枝重治, 加藤幸宣, 二之宮貴裕	4. 巻 67
2. 論文標題 アレルギー性鼻炎・副鼻腔炎	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アレルギー	6. 最初と最後の頁 1379-1386
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujieda Shigeharu, Imoto Yoshimasa, Kato Yukinori, Ninomiya Takahiro, Tokunaga Takahiro, Tsutsumiuchi Toshiki, Yoshida Kanano, Kidoguchi Masanori, Takabayashi Tetsuji	4. 巻 68
2. 論文標題 Eosinophilic chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergol International	6. 最初と最後の頁 403-412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.07.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Osawa Yoko, Ito Yumi, Takahashi Noboru, Sugimoto Chizuru, Kohno Yoko, Mori Shigehito, Morikawa Taiyo, Kato Yukinori, Okamoto Masayuki, Kanno Masafumi, Takabayashi Tetsuji, Fujieda Shigeharu	4. 巻 69
2. 論文標題 Epidemiological study of oral allergy syndrome in birch pollen dispersal-free regions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergol International	6. 最初と最後の頁 246-252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2019.09.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Yuki, Kidoguchi Masanori, Yata Akira, Nakamura Takako, Yoshida Hideki, Kato Yukinori, Masuko Hironori, Hizawa Nobuyuki, Fujieda Shigeharu, Noguchi Emiko, Miura Kenji	4. 巻 11
2. 論文標題 High-Yield Production of the Major Birch Pollen Allergen Bet v 1 With Allergen Immunogenicity in <i>Nicotiana benthamiana</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.00344.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計9件(うち招待講演 2件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 加藤 幸宣、高林 哲司、坂下 雅文、意元 義政、徳永 貴広、二之宮 貴裕、森川 太洋、吉田 加奈子、野口 恵美子、藤枝 重治
2. 発表標題 好酸球性副鼻腔炎におけるCST 1の発現と機能的解析
3. 学会等名 第17回 Kinki Hokuriku Airway disease Conference
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤 幸宣、大澤 陽子、藤枝 重治
2. 発表標題 モデルマウスを用いた花粉-食物アレルギー-症候群の基礎研究
3. 学会等名 第31回 日本口腔・咽頭科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤幸宣、高林哲司、二之宮貴広、吉田加奈子、森川太洋、意元義政、藤枝重治
2. 発表標題 好酸球性副鼻腔炎におけるTRPチャネルの発現
3. 学会等名 第57回 日本鼻科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤幸宣、森川太洋、大澤陽子、意元義政、高林哲司、藤枝重治
2. 発表標題 モデルマウスを用いた花粉-食物アレルギー症候群の基礎研究
3. 学会等名 第37回 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukinori Kato, Tetsuji Takabayashi, Masafumi Sakashita, Yoshimasa Imoto, Takahiro Tokunaga, Takahiro Ninomiya, Taiyo Morikawa, Kanako Yoshida, Emiko Noguchi, Shigeharu Fujieda
2. 発表標題 Expression and Functional Analysis of CST1 in Intractable Nasal Polyps
3. 学会等名 American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤 幸宣
2. 発表標題 鼻粘膜感作メカニズムの検討
3. 学会等名 第23回 那須ティーチン (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yukinori Kato
2. 発表標題 Expression and Functional Analysis of CST1 in Intractable Nasal Polyps
3. 学会等名 第120回 日本耳鼻咽喉科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤幸宣、大澤陽子、藤枝重治
2. 発表標題 モデルマウスを用いた花粉-食物アレルギー症候群の基礎研究
3. 学会等名 第32回 日本口腔・咽頭科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤幸宣、高林哲司、坂下雅文、意元義政、吉田加奈子、藤枝重治
2. 発表標題 鼻副鼻腔のTh2/好酸球性炎症におけるTRPチャネルの役割
3. 学会等名 第58回 日本鼻科学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考