

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K08879

研究課題名(和文) 局所性アレルギー性鼻炎に関わるIgEクラススイッチ機序の解明と治療への展開

研究課題名(英文) Elucidation of the IgE class switch mechanism involved in localized allergic rhinitis and its therapeutic implications

研究代表者

板澤 寿子 (Itazawa, Toshiko)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70361970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：アレルギー性鼻炎(AR)には、アトピー型ARと局所性アレルギー性鼻炎(LAR)の2つの病型がある。LARは、抗原特異的IgEが鼻粘膜でのみ確認されるARであるが、その病態は不明な点が多い。本研究では、鼻粘膜でのみ抗原特異的IgEが産生される機序を解明するため、ヒトのナイーブB細胞を用いて、抗原刺激によってIgE産生が誘導される培養系を構築したが、遺伝子レベルでのIgEへクラススイッチ組換え(CSR)の評価はできなかった。アトピー型AR患者では、CSRに関与するBAFFと上皮細胞由来サイトカインであるIL-25の鼻汁中の濃度が鼻炎の重症度と関連していたが、LAR患者については検討できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、LARという新しい概念が注目されているが、病態は不明な点が多い。鼻粘膜局所でのみ抗原特異的IgEが産生されるLARの発症機序を解明するために、抗原刺激によりIgEへのCSRが誘導されるヒトB細胞を用いた培養系の確立が必要である。また、鼻汁中のIgEおよびIgE産生に関与する蛋白やサイトカインの評価は、LARを含めたARの病態解明につながり、診断、重症度、治療効果判定などのバイオマーカーとなる可能性がある。LARの診断としては、鼻粘膜局所における抗原特異的IgEの証明や鼻誘発試験が陽性であることを確認する必要があるが、日常診療では容易ではないため、今後は簡便な診断方法の確立が課題である。

研究成果の概要(英文)：There are two types of allergic rhinitis (AR), namely, atopic AR and localized allergic rhinitis (LAR). In LAR, antigen-specific IgE is only detected in the nasal mucosa and not in the blood. However, the pathogenesis of LAR remains unclear. In this study, to elucidate the mechanism by which IgE is produced only in the nasal mucosa, we established a culture system in which IgE production was induced by antigen stimulation using human naive B cells, but we were unable to evaluate class switching recombination (CSR) to IgE at the gene level. In patients with atopic AR, the levels of B-cell activating factor (BAFF), which are involved in CSR, and IL-25, an epithelium-derived cytokine, in nasal secretions were associated with the severity of rhinitis. However, the levels of BAFF and IL-25 in the nasal secretions of patients with LAR remain unknown.

研究分野：アレルギー

キーワード：局所性アレルギー性鼻炎 アレルギー性鼻炎 IgE クラススイッチ BAFF IL-25

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎 (allergic rhinitis; AR) は、「くしゃみ、水性鼻汁、鼻閉」を 3 主徴とする疾患である。本邦での AR の有病率は約 50% で、増加傾向にあり、発症の低年齢化も進んでいる (鼻アレルギー診療ガイドライン 2020 年度版)。今後、AR の有病率のさらなる増加が予想される中、近年、新しい病型として『局所性アレルギー性鼻炎 (local allergic rhinitis; LAR)』という概念が注目されている。

従来の AR は、『アトピー型 AR』であり、血液中に抗原特異的 IgE が認められるが、LAR は、鼻粘膜局所でのみ抗原特異的 IgE を認め、鼻誘発試験が陽性の AR である (J Allergy Clin Immunol. 2012; 129: 1460-1467.)。LAR の病態に関しては、ヒトの鼻粘膜への抗原の直接刺激やヒトの鼻粘膜を用いた *ex vivo* の抗原刺激によって、B 細胞における IgE へのクラススイッチ組換え (class switch recombination: CSR) が誘導されることが報告されている (Ert J Immunol. 1997; 27: 2899-2906., J Immunol. 2003; 171: 3816-3822.)。しかし、「なぜ、鼻粘膜局所のみで IgE が産生されるのか」、「どのようにして IgE への CSR が起きるか」に関する機序は不明である。

B 細胞が IgE 抗体産生細胞に分化する過程には、IgM から IgE への CSR が関与し、IL-4 もしくは IL-13 の刺激と CD40 を介した刺激が必要であるが、樹状細胞や気道上皮が産生する BAFF (B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family) が B 細胞上のそのレセプターに結合することにより CD40 への刺激と同様の効果を示すことがわかっている。研究者らは、野生型 wild type (WT) マウスの脾臓から分離したナイーブ B 細胞を BAFF と IL-4 で培養し、ネコ皮膚抗原 (CDE) との共培養により IgE 産生が増加する培養系を構築した。また、CSR に必須である *Aicda*、IgE への CSR を誘導する postswitch transcripts (*PST*)、germline (*GL*) の遺伝子発現も CDE との共培養によって増加を認めた。さらに、この培養系において、抗原や病原体を最初に認識する Toll 様受容体シグナル伝達経路のシグナル伝達物質である *Myd88* が欠損した (*Myd88* KO) マウスのナイーブ B 細胞では IgE 産生や上記の遺伝子発現がほとんど認められないことを報告した (American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting, 2018 にて発表)。

以上の結果から、LAR の発症機序として、抗原刺激によりヒトの鼻粘膜で産生される BAFF による作用と鼻粘膜局所の B 細胞における *Myd88* 依存性の CSR によって抗原特異的 IgE 産生が誘導されると仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究では、上記の仮説の解明の第一歩として、ヒトのナイーブ B 細胞を用いて、抗原刺激による B 細胞における IgE への CSR を評価することにより、鼻粘膜局所でのみ IgE 産生が認められる LAR の発症機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

研究 1)

上記のマウスのナイーブ B 細胞の培養系を用いて、ヒトの末梢血のナイーブ B 細胞における抗原の刺激による IgE の産生量を ELISA 法にて評価し、IgE への CSR に関与する遺伝子発現を解析した。

抗原は、日本のARの主要抗原であるスギやブタクサなどの花粉、ダニ、ネコなどのペットの皮膚を用いた。

研究2)

鼻粘膜局所でのIgEへのCSRにおけるBAFFの関与を検討するため、アトピー型ARおよびLARの患者、健常者のそれぞれの鼻汁中のBAFF濃度、総IgE値、抗原特異的IgE値を評価した。また、2型免疫応答を誘導する上皮細胞由来サイトカインであるIL-25、IL-33、TSLP(thymic stromal lymphopoietin)の鼻粘膜における役割を検討するため、これらのサイトカインの鼻汁中の濃度を評価した。

4. 研究成果

本研究期間は、COVID-19感染拡大中であったため、患者への研究協力、とくに、鼻汁検体採取が困難な状況であり、研究の遂行が大幅に遅れたが、下記の研究成果が得られた。

研究1)

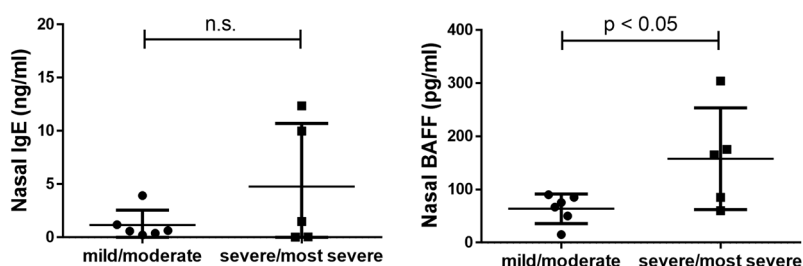
健常成人の末梢血から分離したナイーブB細胞を、BAFFとIL-4の存在下で培養することによりIgE産生を誘導する培養系を構築した。さらに、この培養系において、ネコ皮膚抗原との共培養によってIgE産生の増加が認められた。しかし、ダニや花粉(スギやブタクサなど)との共培養ではIgE産生の増加は認められず、抗原による違いが示唆された。今回の培養系では、回収できる細胞数が少なく、IgEへのCSRに関わる遺伝子発現の評価はできなかった。

研究2)

まず、アトピー型ARにおけるBAFFの臨床的意義を検討した。

埼玉医科大学病院小児科外来を受診し、アトピー型ARと診断した6歳以上の小児患者11例を対象に、鼻汁と血液中の総IgE値、BAFF濃度、好酸球数を評価し、鼻アレルギー診療ガイドラインに基づく鼻炎の重症度との関係を検討した。その結果、鼻汁のBAFF濃度は、軽症・中等症患者(6例)に比較し、重症・最重症患者(5例)において有意な上昇が認められた($p < 0.05$)。しかし、鼻汁の総IgE値、好酸球数、血清のBAFF、総IgE値、末梢血好酸球数は、軽症・中等症患者と重症・最重症患者には有意差は認められなかった(図1)。また、鼻汁および血清のBAFF濃度は各指標との相関は認められなかった。

【図1】アトピー型AR患者の鼻汁中の総IgE値とBAFFの濃度

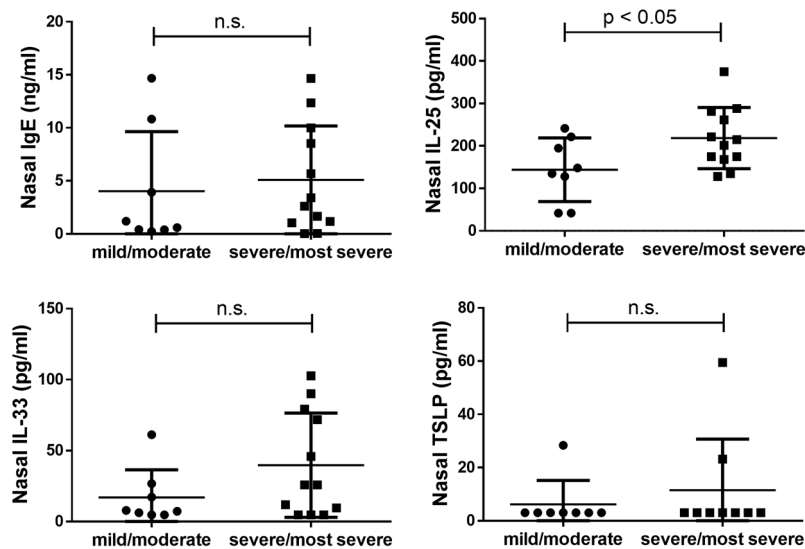


次に、アトピー型ARにおけるIL-25、IL-33、TSLPの臨床的意義を検討した。

埼玉医科大学病院小児科外来を受診し、アトピー型ARと診断した6歳以上の小児患者20例を対象に鼻汁、血液中の総IgE値、IL-25、IL-33、TSLP濃度、好酸球数を評価し、上記と同様に鼻炎

の重症度との関係性を評価した。その結果、鼻汁のIL-25濃度は、軽症・中等症患者(8例)に比較し、重症・最重症患者(12例)において有意な上昇が認められた($p < 0.05$)。しかし、鼻汁のIL-33、TSLP濃度、総IgE値、好酸球数、血清のIL-25、IL-33、TSLP濃度、総IgE値、末梢血好酸球数は、軽症・中等症患者と重症・最重症患者には有意差は認められなかった(図2)。また、鼻汁および血清のIL-25、IL-33、TSLPは各指標と相関は認められなかった。

【図2】アトピー型AR患者の鼻汁中の総IgE値とIL-25、IL-33、TSLPの濃度



以上の結果より、鼻汁中のBAFFとIL-25は、アトピー型AR患者の鼻炎症状の重症度を反映するバイオマーカーとなる可能性があると考えられた。しかし、鼻汁中におけるBAFFや2型免疫応答を誘導する上皮細胞由来サイトカインが、鼻粘膜局所のB細胞におけるIgEへのCSRに關与している可能性については、LARや非ARの患者数が少なく、評価はできなかつた。また、鼻汁中の抗原特異的IgE値については、検体量不足のため、一部の患者しか評価できなかつた。

LARの診断方法としては、鼻粘膜局所での抗原特異的IgEの証明や抗原による鼻誘発試験が陽性であることを確認する必要があるが、日常診療では容易ではないため、今後は簡便な診断方法の確立が課題である。本研究の成果および課題をもとに、さらに研究を進め、LARの病態解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Toshiko Itazawa, Yutaka Ueda, Takeshi Koga, Keisuke Okada, Takahiro Shimizu, Eiji Morita, Kenichi Tokuyama.
2. 発表標題 Potential of BAFF in Nasal Secretions as a Marker of Allergic Rhinitis Severity in Children
3. 学会等名 2022 American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 板澤寿子、植田 穰、盛田英司、古賀健史、岡田慶介、清水貴寛、上條 篤、徳山研一.
2. 発表標題 小児アレルギー性鼻炎における鼻汁と血清BAFF濃度の検討
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古賀健史、植田 穰、盛田英司、岡田慶介、清水貴寛、徳山研一、板澤寿子.
2. 発表標題 小児アレルギー性鼻炎の重症度マーカーとしての鼻汁中BAFFの可能性
3. 学会等名 第58回日本小児アレルギー学会学術大会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Toshiko Itazawa, Eiji Morita, Takeshi Koga, Keisuke Okada, Takahiro Shimizu, Yutaka Ueda.
2. 発表標題 The Value of IL-25, IL-33, and TSLP in Nasal Secretions as a Biomarker of Severity of Allergic Rhinitis in Children
3. 学会等名 2023 American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting. (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究 分担 者	足立 雄一 (Adachi Yuichi) (80184191)	富山大学・学術研究部医学系・教授 (13201)	削除：2022年2月21日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------