

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10067

研究課題名（和文）舌下免疫療法によるニッケルアレルギー治療効果の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the therapeutic effect of nickel allergy by sublingual immunotherapy

研究代表者

黒石 智誠 (Kuroishi, Toshinobu)

東北大学・歯学研究科・講師

研究者番号：30400261

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：金属から溶出した金属イオンは金属アレルギーを引き起こす。ニッケル（Ni）は主要な金属アレルギーの一つである。舌下免疫療法は、舌下粘膜からアレルギーを吸収させることにより免疫寛容を誘導するアレルギー治療法である。本研究では、舌下免疫療法によるNiアレルギーの治療効果を検討した。その結果、Ni結合タンパク質であるCXCL4とNiを用いた舌下免疫療法は、Niに対する免疫寛容を効率的に誘導した。さらに、ビタミンD誘導体は舌下免疫療法の治療効果を増強した。以上の結果から、金属イオン結合タンパク質とビタミンD誘導体を用いた舌下免疫療法が、金属アレルギーの有効な治療法であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、金属アレルギーの標準的な治療法は原因金属の除去である。ステロイド外用剤や抗炎症剤なども用いられるが、いずれも対症療法である。これに対して、舌下免疫療法はアレルギー特異的な免疫寛容を誘導するより根本的な治療法である。

本研究の特色は「金属イオン結合タンパク質とビタミンD誘導体の併用」であり、これにより、舌下免疫療法による金属アレルギーの治療効果を増強した。これらの知見は、金属アレルギーの根治を目指す新たな治療法の開発にとって非常に重要であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Metal allergies are classified as type-IV allergies and induced by metal ions eluted from various metal products. Nickel (Ni) is the most frequent metal allergen. Sublingual immunotherapy (SLIT) is an allergen-specific immunotherapy and used for the treatment of type-I allergies, such as allergic rhinitis. SLIT induces allergen-specific immunotolerance by allergens administration through sublingual mucosa. In this study, we investigated the treatment effects of SLIT on Ni allergy mouse model.

SLIT with Ni and a Ni-binding protein CXCL4 efficiently induced immunotolerance to Ni. Moreover, vitamin D3 derivative augmented the treatment effects of SLIT on Ni allergy. These results suggest that SLIT using metal-binding protein and vitamin D3 derivative is an effective treatment for metal allergies.

研究分野：免疫学

キーワード：金属アレルギー 舌下免疫療法

1. 研究開始当初の背景

金属から溶出した金属イオンは、細胞性免疫依存型の IV 型アレルギーに分類される金属アレルギーを引き起こす。様々な原因金属の内、ニッケル (Ni) は抗原性検査における陽性率の高さなどから最も重要視されている。現在、金属アレルギーの標準的な治療法は原因金属の除去であり、ステロイド外用剤や抗炎症剤などが用いられる場合もある。しかしながら、いずれも対症療法であり、より根本的な新しい治療法が望まれている。

アレルギーは、原因物質 (アレルゲン) に対する特異免疫が誘導される感作相と、アレルゲンの再曝露により特異免疫が活性化されアレルギー反応が誘導される惹起相に分けられる。金属イオンは、それ自身では免疫応答を誘導することができず、何らかの自己分子と結合することにより免疫システムに認識されるハプテンとして機能する。研究代表者らは、「ケモカインの 1 種である CXCL4 が新規 Ni 結合タンパク質であり、感作相および惹起相のいずれにおいても Ni アレルギーを増強すること」を発見した (Clin. Exp. Allergy. 2017; 47: 1069-78.)

抗原特異的免疫療法とは、積極的なアレルゲン投与により免疫寛容を誘導するアレルギー治療法であり、皮下免疫療法、経皮免疫療法、経口免疫療法、舌下免疫療法 (sublingual immunotherapy; SLIT) などがある。その作用機序としては、所属リンパ節で誘導された抗原特異的 Foxp3+制御性 T 細胞 (Treg) が全身に移行し、免疫寛容が成立すると考えられている。口腔粘膜は常在菌や食物抗原に常に曝露されているが、通常、アレルギーや炎症を生じない。この口腔粘膜の免疫寛容的特性を利用したのが SLIT であり、低用量で効果を発揮し、副反応も少ないとされている。

本研究課題の核心をなす学術的問いは「SLIT で金属アレルギーを治療できるか？」である。アレルゲンの除去がアレルギー治療に効果的であることは言うまでもないが、根本的な治療とはなりえない。このため、免疫寛容を誘導しアレルギーの根治を目指す SLIT (抗原特異的免疫療法) の適用が期待されるが、金属アレルギーに対する効果は明らかでない。

2. 研究の目的

上述した背景のもと、本研究は Ni アレルギーに対する SLIT の治療効果の解明を目的とした。特に、研究代表者らの発見した新規 Ni 結合タンパク質 CXCL4 を用いて、SLIT の治療効果改善を図った。さらに、その作用機序を明らかにし、SLIT による金属アレルギー治療に向けた学術的基盤の確立を目指した。

3. 研究の方法

(1) Ni アレルギーマウスモデル

グラム陰性菌の菌体成分であるリポポリサッカライド (LPS) を含む Ni 溶液を腹腔内投与し、Ni 感作を行った。感作 2 週間後、耳介に Ni 溶液を皮下接種し (チャレンジ) 48 時間後の耳介部の腫脹を指標として Ni アレルギーの程度を測定した。

(2) 舌下免疫療法 (SLIT)

麻酔下のマウス舌下に抗原溶液を滴下した。抗原溶液には増粘剤として 3% カルボキシメチルセルロース (CMC) を添加した。

(3) 細胞調整

マウス脾臓もしくは顎下リンパ節を細切し細胞を調整した。さらに、磁気ビーズ法により各種細胞を精製した。

4. 研究成果

(1) CXCL4 による Ni-SLIT の増強

ナイーブ (Ni 非感作) マウスに SLIT を施した後、Ni 感作を行うことにより、SLIT による Ni アレルギーの予防効果を検討した。その結果、Ni 単独の SLIT は Ni アレルギーの発症を抑制しなかったが、Ni 結合タンパク質である CXCL4 を添加することにより Ni アレルギーの発症が有意に抑制された (図 1)。CXCL4 単独の SLIT においても Ni アレルギーの発症は抑制されなかった。

さらに、SLIT 処理の後 Ni 感作を行ったドナーマウスから精製した脾臓由来 CD4 陽性 T 細胞をナイーブマウスに移入し、レシピエントマウスでの Ni アレルギー発症を解析した。その結果、[Ni 単独] SLIT 処理マウス由来の CD4 陽性 T 細胞を移入したマウスでは、Ni アレルギーを発症したのに対し、[Ni + CXCL4] SLIT 処理マウス由来 CD4 陽性 T 細胞を移入したマウスでは、Ni アレルギーを発症しなかった (図 2)。この結果から、[Ni + CXCL4] SLIT は Ni 溶液の腹腔内投与による Ni 感作を抑制することが明らかとなった。

(2) Treg による Ni アレルギー発症の抑制

[Ni + CXCL4] SLIT 処理マウスの顎下リンパ節から精製した Treg を移入することにより、レシピエントマウスにおける Ni 感作が抑制された (図 3)。この結果から、顎下リンパ節で誘導された Treg が [Ni + CXCL4] SLIT による Ni アレルギーの予防効果に重要であることが明らかとなった。

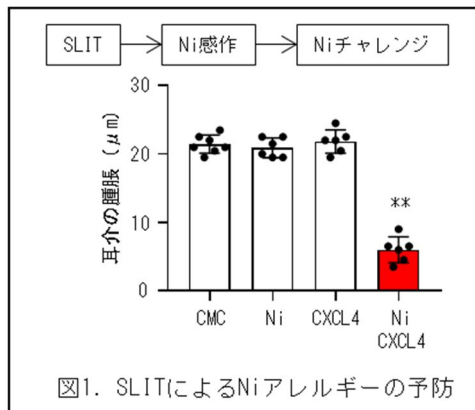


図1. SLITによるNiアレルギーの予防

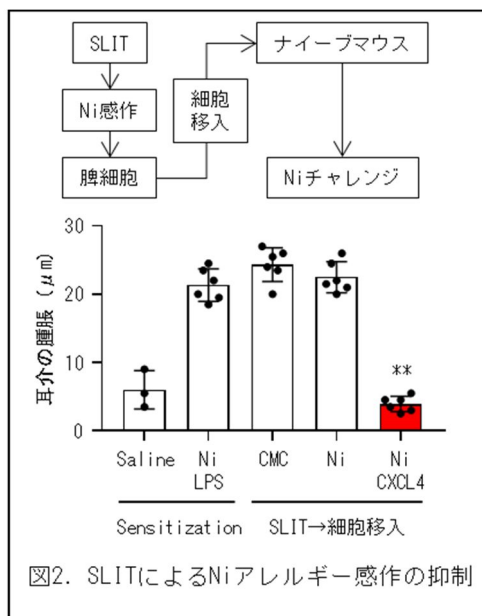


図2. SLITによるNiアレルギー感作の抑制

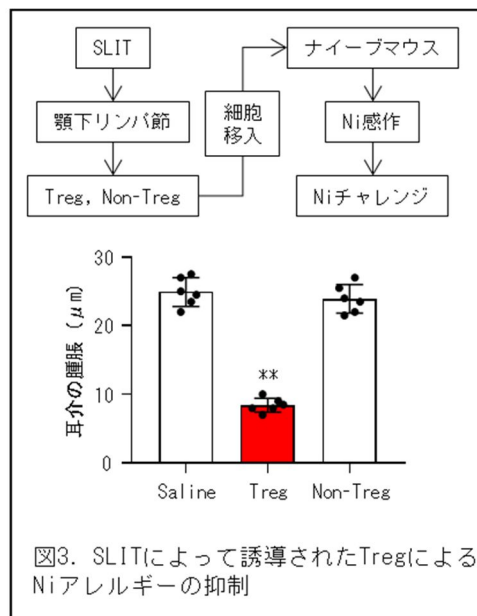


図3. SLITによって誘導されたTregによるNiアレルギーの抑制

(3) [Ni + CXCL4] SLIT による Ni アレルギーの治療

Ni 感作マウスに SLIT を施した後、Ni チャレンジを行い、Ni アレルギーに対する治療効果を検討した。その結果、[Ni + CXCL4] にビタミン D3 誘導体 (VD3) を添加することにより、その後の Ni チャレンジによるアレルギーの発症が有意に抑制された (図 4)。さらに、[Ni + CXCL4 + VD3] SLIT には治療 (SLIT) 後 6 カ月でも治療効果が認められた。この結果から、[Ni + CXCL4 + VD3] SLIT は一時的な脱感作ではなく永続的な免疫寛容を誘導したことが示唆された。

以上の結果から、金属イオン結合タンパク質とビタミン D 誘導体を用いた舌下免疫療法が、金属アレルギーの有効な治療法であることが示唆された。

本研究の特色は「金属イオン結合タンパク質とビタミン D 誘導体の併用」であり、これにより、舌下免疫療法による金属アレルギーの治療効果を増強した。これらの知見は、金属アレルギーの根治を目指す新たな治療法の開発にとって非常に重要であると考えられる。

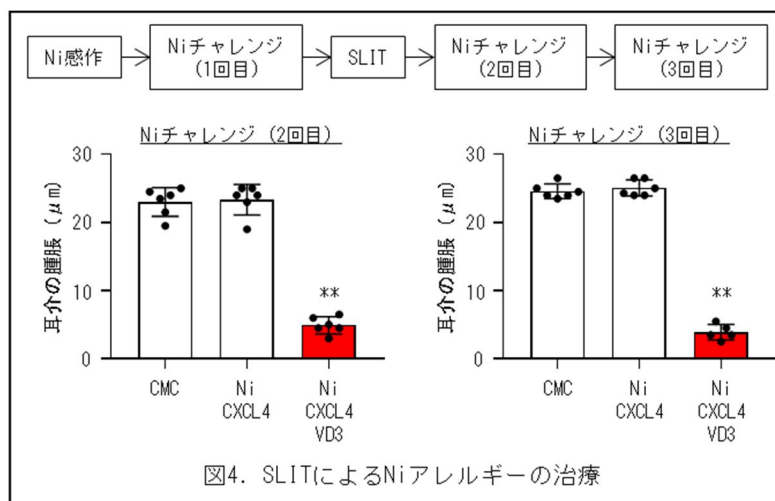


図4. SLITによるNiアレルギーの治療

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Lu Lu, Toshinobu Kuroishi, Yukinori Tanaka, Mutsumi Furukawa, Tomonori Nochi, Shunji Sugawara.	4. 巻 12
2. 論文標題 Differential expression of CD11c defines two types of tissue-resident macrophages with different origins in steady-state salivary glands.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-04941-5.	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 Shishido Kaori, Kuroishi Toshinobu, Sugawara Shunji	4. 巻 63
2. 論文標題 P2 purinergic receptor signaling and interleukin-1 synergistically induce interleukin-6 production in a human oral squamous carcinoma cell line	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 80 ~ 90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2021.01.004	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 Toshinobu KUROISHI, Kanan BANDO, Reiska Kumala BAKTI, Gaku OUCHI, Yukinori TANAKA, Shunji SUGAWARA.	4. 巻 10
2. 論文標題 Migratory dendritic cells in skin-draining lymph nodes have nickel-binding capabilities.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-61875-6	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 Toshinobu KUROISHI, Shunji SUGAWARA.	4. 巻 66
2. 論文標題 Metabolomic analysis of liver from dietary biotin deficient mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 82-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.66.82	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 黒石智誠, 梶 恭大, 坂東加南, 菅原俊二
2. 発表標題 レジンモノマー 2-Hydroxyethyl methacrylate はマウスセラチノサイトからの IL-1 産生を誘導する
3. 学会等名 第27回日本免疫毒性学会学術年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒石智誠, 坂東加南, 菅原俊二
2. 発表標題 皮膚所属リンパ節の遊走性樹状細胞はNi結合能を示しNiアレルギーを惹起する .
3. 学会等名 第26回日本免疫毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒石智誠
2. 発表標題 金属アレルギー：金属イオンに対する免疫応答
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Toshinobu Kuroishi
2. 発表標題 Metal allergy: lessons from mouse models
3. 学会等名 Tohoku Airlangga Dental Seminar (TADS) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梶 恭大, 黒石智誠, 坂東加南, 高橋正敏, 菅原俊二
2. 発表標題 レジンモノマー2-Hydroxyethylmethacrylatelはマウスケラチノサイトからの IL-1 放出を誘導する
3. 学会等名 第24回日本歯科医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Bakti, R.K., Kuroishi, T., Sugawara, S., Tanaka, Y.
2. 発表標題 Calcipotriol potentiates sublingual immunotherapy in murine delayed type hypersensitivity via Treg-mediated suppression.
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021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	菅原 俊二 (Sugawara Shunji) (10241639)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------