

平成 22 年 4 月 5 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20791213

研究課題名（和文） 制御性樹状細胞を用いた新しいアレルギー性鼻炎治療の開発

研究課題名（英文） Development of a new method for the assessment of allergic rhinitis by Using regulatory dendritic cells.

研究代表者

大野 伸晃 (OONO NOBUAKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：20381816

研究成果の概要（和文）：

分離したマウス単核球の培養により成熟した樹状細胞の樹立を行った。培養時に投与する物質により成熟細胞の性質は変化することが共刺激分子の発現パターンにより示された。さらに制御性サイトカインの産生能誘導、およびT細胞を介した免疫応答の違いがELISA等の免疫学的方法により確認された。さらに疾患モデルの作製のため、マウスに抗原を点鼻投与することでアレルギー性鼻炎症状を発現することが確認された。鼻炎症状としての鼻かきやくしゃみの回数、各血清抗体価の上昇および鼻粘膜のアレルギー性変化を認め、鼻炎モデルとしての有用性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We could establish regulatory dendritic cells separated from splenocytes in vitro .
Immune responses in this experiment were examined by several immunological methods such as ELISA.
Allergic rhinitis-like symptoms were confirmed in antigen-sensitized mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総 計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：アレルギー、免疫、樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性鼻炎に対する本治療法の有益性は、抗原そのものはもちろんのこと免疫活性物質等も投与することなく自己の免疫バランスを制御することにより、より安全な治療が目指せることと考えている。本研究では、まず制御性樹状細胞を実際に樹立し、機能解析を行う。さらに培養系にて実際の免疫応答や細胞増殖能にどのような影響を及ぼすかを検討する。到達点としては、アレルギー性鼻炎モデルマウスに対し投与することでサイトカインや抗体などの免疫応答制御だけでなく、実際の臨床症状に対する制御が可能かを検討したい。

2. 研究の目的

アレルギー性鼻炎に対する免疫療法は、現在抗原エキスを直接患者に注射で投与する減感作療法が主流であるが長期間通院が必要であることやアナフィラキシーの危険性があるため普及していない。減感作療法の免疫学的機序としては制御性 T 細胞の関与が考えられており、この細胞を効率よく安全に誘導することが新しい免疫療法として必要と考えられる。そこで制御性樹状細胞に注目し、この細胞を培養によって誘導し直接体内に戻すことで、より効率よく安全な免疫療法を確立できるのではと考え実験を行う予定である。すでに制御性樹状細胞の確立には着手しており、実際にアレルギー性鼻炎マウスモデルに投与することで免疫応答にどのような影響を及ぼ

すのかを検討する。

3. 研究の方法

制御性樹状細胞の樹立のため、マウスの脾臓より単核球を分離し、各サイトカインおよび刺激因子とともに培養を行った。樹立した成熟樹状細胞は、T細胞と共培養することにより産生されるサイトカインの違いや共刺激分子の発現パターンにより機能解析を行った。アレルギー性鼻炎のモデルをマウスで作製するためにマウスに抗原をアジュバントとともに腹腔内投与することで感作を行った後、抗原を連日点鼻した後の症状を観察・測定した。血清中の抗体価の変化をELISAで検討した。鼻粘膜はホルマリン固定した後切片を作成、染色し好酸球数を測定した。

4. 研究成果

制御性樹状細胞の樹立のために細胞培養実

験を行った。初めにメスBALB/cマウスの脾臓由来単核球より未熟な樹状細胞を磁器ビーズを用いた細胞分離装置にて分離し、これをサイトカイン、G-CSFなどの成長因子および抗原と共に培養することで成熟した樹状細胞を樹立できた。次いで異なるサイトカインを使用して培養した樹状細胞を用意し、発現する表面抗原の違いをフローサイトメトリーで、サイトカイン産生能をELISAにて確認した。通常の成熟樹状細胞と比べ、共刺激分子の発現パターンは異なっていた。さらに同じ種のマウス単核球より分離培養したT細胞をこれらの樹状細胞とともに共培養し細胞免疫応答をサイトカイン産生能で検討した。制御性樹状細胞は、通常の樹状細胞の場合と異なりIL-10などの制御性サイトカインを誘導することが確認された。

ついで感作を行ったBALB/cマウスに抗原を1週間連日点鼻投与することによりアレ

アレルギー性鼻炎症状（くしゃみ、鼻かき）の発
現、鼻粘膜の好酸球浸潤、および抗原特異的
I g E などの抗体が産生されることを確認し
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 0 件）

〔学会発表〕（計 1 件）

大野伸晃、喉頭蓋嚢胞に対するファイバースコープ

下手術の工夫、第 71 回耳鼻咽喉科臨床学会、

2009 年 7 月 2～3 日、北海道

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大野 伸晃（OONO NOBUAKI）

名古屋市立大学・大学院医学研究科

・研究員

研究者番号：20381816