

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591281

研究課題名（和文） アレルギー性気道反応における経口免疫寛容の効果

研究課題名（英文） Effects of oral tolerance in allergen-induced airway responses

研究代表者

宮原 信明 (MIYAHARA NOBUAKI)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：70335610

研究成果の概要（和文）：アレルギーなどの免疫反応を引き起こす物質（抗原）を経口摂取することにより、免疫反応が抑制されることを経口免疫寛容と呼ぶ。経口免疫寛容の導入によりアレルギー性気道反応の抑制が得られるかどうかをマウス喘息モデルを用いて検証した。経口免疫寛容導入により、アレルギー性気道反応の著明な抑制効果が得られ、導入が早期であるほど効果が強く、高用量ほど著明な抑制効果がえられることが明らかとなった。高用量の抗原経口投与により、感作後や発症後においてもアレルギー性気道反応の抑制効果が得られ、気管支喘息の新たな治療となる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Oral administration of soluble antigen before immunization induces peripheral tolerance and is effective in suppressing animal models of autoimmune diseases. However, few studies have focused on effects on Th-2 type diseases. Mice were sensitized to ovalbumin (OVA) and subsequently challenged with OVA via the airways, eliciting airway hyperresponsiveness (AHR) and airway inflammation. The feeding effects of OVA at different phases of the immune response were evaluated. Mice exposed to both multiple high dose feeding and multiple low dose feeding before sensitization with OVA failed to develop AHR or airway inflammation. High dose feeding of OVA also abrogated AHR and partially suppressed airway inflammation when initiated after sensitization with OVA, but prior to challenge; low dose feeding partially suppressed AHR but did not affect the development of airway inflammation. High dose but not low dose feeding was effective on AHR when initiated even after challenge with OVA. These data indicate that the dose and phase of the response may be critical in dictating the effect of inducing oral tolerance on allergen-induced AHR and airway inflammation

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：呼吸器・アレルギー内科

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：気管支喘息、免疫寛容、気道過敏性、気道炎症

1. 研究開始当初の背景

経口免疫寛容は、抗原の経口摂取により抗原特異的免疫応答が低下することである。膠原病や多発性硬化症などへの有効性が近年報告されているが、気管支喘息に対する有効性は不明である。

2. 研究の目的

マウス喘息モデルを用いて、経口免疫寛容のアレルギー性気道反応への抑制効果を明らかにする。まず、抗原による感作の成立前、感作成立後、さらには発症後とタイミングを変えて経口免疫寛容の導入を行い、タイミングの違いによる免疫寛容の効果の違い、気道過敏性やアレルギー性気道炎症への効果の違いを検討する。さらには免疫寛容導入における抑制性T細胞 (regulatory T cell:Treg) の作用を明らかにする。経口免疫寛容は、今後さらに増加すると予想される気管支喘息の根本的な治療法となり得る可能性がある。

3. 研究の方法

経口免疫寛容の導入およびアレルギー性気道反応の抑制効果の検討

1. 経口抗原投与のdose (high dose および low dose) 、タイミングの違いによる気道過敏性および気道炎症への効果の検討

既に申請者らのグループにより確立された喘息モデル (J Exp Med 1997;186:449-454) を用いる。OVAの2回にわたる腹腔内感作 (day1, day14) の後、OVAを3日間吸入暴露 (day28-30) し、48時間後 (day32) に気道反応を評価する。気道過敏性は吸入メサコリンに対する気道抵抗の上昇をdose-dependentに測定する。このモデルにおいて、OVAの感作、暴露を受けたマウスは気道過敏性の亢進、気道の好酸球数の増加および杯細胞の過形成、BAL中のTh2サイトカインの上昇を認める。

経口免疫寛容の導入<1>low dose: OVA 1mgを隔日で5回、ゾンデを用いて胃内に投与する。<2>high dose: OVA100mgを隔日で5回、ゾンデを用いて経口投与し、コントロール群には同量のBSAの投与を行う (Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91:6688-92, modified)。感作前の経口免疫寛容の導入: 上記のlow doseあるいはhigh doseの抗原投与をOVAの腹腔内感作の前に行う。経口免疫寛容導入後にOVAの感作、吸入暴露を行い、吸入暴露後48時間後に気道反応の評価を行う。感作中の経口免疫寛容の導入: 第1回目のOVAの腹腔内感作の後に上記抗原投与を行い、その後、第2回目の感作を行い、OVA吸入暴露の後、気道反応の評価を行う。感作後の経口免疫寛容の導入: 上記抗原投与をOVA感作終了後に行い、OVA吸入暴露の後48時間後に気道反応の評価を行う。感作、暴露後の経口免疫寛容の導入: 抗原感作、吸入暴露の後に上記抗原投与を開始し、経口免疫寛容導入後にOVAの吸入 (secondary OVA challenge) 、その後に気道反応の評価を行う。

気道局所において免疫寛容が誘導されたかどうかを評価するため、肺組織内および気道リンパ節中のリンパ球を分離し、Th2サイトカインの産生能を評価する。全身性の免疫寛容誘導の有無を、血清中のOVA抗原特異的IgE、脾臓の単核球のOVA刺激に対する芽球化反応やTh2サイトカインの産生能の評価などで行う。また、経口免疫寛容によるregulatory T cells (Treg) の数をモニターする

4. 研究成果

感作前、感作中の経口免疫寛容の導入ではlow doseあるいはhigh doseの抗原投与ともに著明にアレルギー性気道炎症および気道過敏性の抑制が認められた。感作、暴露後の経口免疫寛容の導入ではlow doseの抗原投与ではアレルギー性気道反応の抑制効果は得られず、

high doseでは抑制が認められた。気管支肺胞洗淨液中のTh2サイトカインの抑制効果も high doseの抗原投与により強くみられた。一方、制御性T細胞数はlow doseの抗原投与により増加を認めた。またIL-17産生CD4T細胞 (Th17) 数もlow doseの抗原投与により増加した。低用量の経口免疫寛容導入へのTregおよびTh17の関与が示唆された。以上より、経口免疫寛容導入により、アレルギー性気道反応の著明な抑制効果が得られ、導入が早期であるほど効果が強く、高用量ほど著明な抑制効果がえられることが明らかとなった。高用量の抗原経口投与により、感作後や発症後においてもアレルギー性気道反応の抑制効果が得られ、気管支喘息の新たな治療となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計10件)

1. Fuchimoto Y, Kanehiro A, Miyahara N, Koga H, Ikeda G, Waseda K, Tanimoto Y, Ueha S, Kataoka M, Gelfand EW, Tanimoto M. Requirement for CCR5 in the development of allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 査読有 2011;45(6):1248-55
2. Waseda K, Miyahara N, Kanehiro A, Ikeda G, Koga H, Fuchimoto Y, Kurimoto E, Tanimoto Y, Kataoka M, Tanimoto M, Gelfand EW. Blocking the leukotriene B4 receptor 1 inhibits late phase airway responses in established disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 査読有 2011;45:851-7.
3. 宮原聡子、松原茂樹、宮原信明。マウスアレルギー性鼻炎における抗原特異的即時相、遅発相および抗原非特異的過敏性反応の測定と鼻反応における IgE, 肥満細胞, IL-13 の役割。アレルギーの臨床。査読有 2011. 31(11):986-993.
4. 宮原聡子、宮原信明、松原茂樹。Whole Body Plethysmograph 法を用いたマウスアレルギー性鼻炎モデルにおける抗原特異的即時相、遅発相および抗原非特異的鼻過敏性反応の測定 日本薬理学会雑誌。査読有 2011;137(3):141-145
5. Takeda K, Shiraishi Y, Matsubara S, Miyahara N, Matsuda H, Okamoto M, Joetham A, Gelfand EW. Effects of combination therapy with montelukast and carbocysteine in allergen-induced airway hyperresponsiveness and airway inflammation. *Br J Pharmacol*. 査読有 2010;160:1399-407
6. Matsuda H, Takeda K, Koya T, Okamoto M, Shiraishi Y, Miyahara N, Dakhama A, Matsuda JL, Gapin L, Gelfand EW. Plasticity of Invariant NKT Cell Regulation of Allergic Airway Disease Is Dependent on IFN-g Production. *J Immunol*. 査読有 2010;185:253-62
7. 宮原信明 アレルギー疾患と脂質メディエーター。ロコイトリエン B4。臨床免疫・アレルギー科 査読有 54(1):51-57, 2010
8. Takeda K, Dow SW, Miyahara N, Kodama T, Koya T, Taube C, Joetham A, Park JW, Dakhama A, Kedl RM, Gelfand EW. Vaccine-induced CD8+ T cell-dependent suppression of airway hyperresponsiveness and inflammation. *J Immunol*. 査読有 2009;183:181-90.
9. Miyahara N, Ohnishi H, Miyahara S, Takeda K, Matsubara S, Matsuda H, Okamoto M, Loader JE, Joetham A, Tanimoto M, Dakhama A, Gelfand EW.

Leukotriene B4 Release from Mast Cells
in IgE-Mediated Airway

Hyperresponsiveness and Inflammation.

Am J Respir Cell Mol Biol. 査読有
2009 ;40:672-82.

10. Ohnishi H, Takeda K, Domenico J, Lucas JJ, Miyahara N, Swasy CH, Dakhama A, Gelfand EW Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinases 1/2-dependent pathways are essential for CD8+ T cell-mediated airway hyperresponsiveness and inflammation. J Allergy Clin Immunol. 査読有
2009;123:249-57

[学会発表] (計 13 件)

1. Waseda K, Miyahara N, Kanehiro A, Ikeda G, Koga H, Kurimoto E, Fuchimoto E, Taniguchi A, Tanimoto Y, Kataoka M, Gelfand EW, Tanimoto M. Importance of receptor for advanced glycation end products (RAGE) to the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema in mice. ATS International Conference. 2011. 5. 18. Denver, CO, USA.
2. Ohnishi H, Miyahara Y, Takeda K, Joetham A, Yokoyama A, Gelfand EW. Synergistic effects of CD4+ and CD8+ T cells for the full development of allergen-induced airway hyperresponsiveness requires leukotriene B4 receptor-1. ATS International Conference. 2011. 5. 18. Denver, CO, USA.
3. Joetham A, Ohnishi H, Takeda K, Matsubara S, Miyahara N, Schedel M, Domenico J, Gelfand EW. C-jun N-terminal kinase mediates glucocorticoid-induced TNF receptor family-related protein (GTIR)-induced loss of suppression by naturally occurring T regulatory cells. ATS International Conference. 2011. 5. 18. Denver, CO, USA.
4. Ohnishi H, Miyahara N, Takeda K, Joetham A, Yokoyama A, Gelfand EW. Synergistic effects of CD4+ and CD8+ T cells for the full development of allergen-induced airway hyperresponsiveness requires leukotriene B4 receptor-1 expression. ATS International Conference. 2011年 5月 18日。Denver, CO, USA.
5. Joetham A, Ohnishi H, Takeda K, Matsubara S, Miyahara N, Schedel M, Domenico J, Gelfand EW. C-jun N-terminal kinase mediates glucocorticoid-induced TNF receptor family-related protein (GTIR)-induced loss of suppression by naturally occurring T regulatory cells. ATS International Conference. 2011年 5月 18日。Denver, CO, USA.
6. Waseda K, Miyahara N, Kanehiro A, Ikeda G, Koga H, Kurimoto E, Fuchimoto E, Taniguchi A, Tanimoto Y, Kataoka M, Gelfand EW, Tanimoto M. Importance of receptor for advanced glycation end products (RAGE) to the development of elastase-induced pulmonary inflammation and emphysema in mice. ATS International Conference. 2011年 5月 18日。Denver, CO, USA.
7. 宮原信明, 武田勝行, 宮原聡子, 早稲田公一, 栗本悦子, 池田元洋, 古賀光, 谷口暁彦, 能島大輔, 淵本康子, 谷本安, 金廣有彦, 片岡幹男, Gelfand EW, 谷本光音. アレルギー性気道反応における経口免疫寛容の効果. 第60回日本アレルギー学会秋期学術大会. 2010. 11. 25. 東京。
8. 大西広志, 宮原信明, 武田勝行, 横山彰仁, Gelfand EW. アレルギー誘発性気道過敏性亢進における CD4T 細胞、CD8T 細胞両方の BLT1 発現の必要性. 第60回日本アレルギー学会秋期学術大会. 2010. 11. 25. 東京。
9. 能島大輔, 谷本安, 栗本悦子, 早稲田公一, 宮原信明, 金廣有彦, 岸本卓巳, 片岡幹男, 高橋清, 谷本光音. ヒト好塩基球の抗原提示能に関する検討-IL-3 で活性化された好塩基球は HLA-DR を発現する. 第60回日本アレルギー学会秋期学術大会. 2010. 11. 25. 東京。
10. Waseda K, Miyahara N, Kanehiro A, Ikeda G, Fuchimoto Y, Koga H, Kurimoto E, Tanimoto Y, Kataoka M, Yanimoto M, Gelfand EW. Blockade of the leukotriene B4 receptor 1 suppresses allergen-induced late phase airway development of AHR and inflammation in established asthma. ATS International Conference. 2010. 4. 14. New Orleans, USA.

11. Ikeda G, Kanehiro A, Miyahara N, Koga H, Fuchimoto Y, Waseda K, Kurimoto E, Ono K, Hirano A, Tanimoto Y, Kataoka M, Tanimoto M. Effect of cysteiny leukotriene receptor antagonist on airway hyperresponsiveness, airway inflammation, and the development of emphysematous change in a murine model of COPD combined with bronchial asthma. ATS International Conference. 2010. 4. 14. New Orleans, USA.
12. 宮原信明. ワークショップ：アレルギー性疾患と脂質メディエーター -最近の知見- ロイコトリエン B4. 第 51 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2009/10/31. 秋田.
13. Nobuaki Miyahara. Requirement for Leukotriene B4 in Mast-cell independent and dependent allergic airway responses. 第 49 回日本呼吸器学会学術講演会. 2009/6/14. 東京.

[図書] (計 1 件)

Miyahara N, Gelfand EW. CD8+ T cells play a key role in development of allergic lung inflammation. Allergy frontiers: Classification and Pathomechanisms. Springer Japan. 2009 p167-178

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮原 信明 (MIYAHARA NOBUAKI)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：70335610

(2) 研究分担者

金廣 有彦 (KANEHIRO ARIHIKO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：20243503

(4) 研究協力者

Erwin W Gelfand
Department of Pediatrics, National Jewish Health, Denver, CO, USA.