

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791781

研究課題名（和文）

肥満による免疫異常と舌下免疫療法への影響 - 共刺激分子の役割 -

研究課題名（英文）

Effect of diet-induced obesity and its immuno-defect on sublingual immunotherapy.

研究代表者

永井 康裕 (NAGAI YASUHIRO)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：90508962

研究成果の概要（和文）：肥満は現代病とも言える解決されなければならない重要な課題の一つである。本研究では、肥満が引き起こす免疫異常が、金属アレルギーやアナフィラキシーショックにどのような影響を与えるかを解析し、以下の結果を得た。1. 食事性肥満はニッケルアレルギーを有為に低下させる。2. 舌下免疫療法は、ニッケルアレルギーを有為に低下させるが、差は見られなかった。3. 肥満個体ではアナフィラキシーショックがおこらないことが示された。

研究成果の概要（英文）：Evidence from population studies shows that obesity clearly exacerbates a health risk. In this study we investigated the effects of diet-induced obesity on nickel allergy and anaphylactic shock and obtained the results below; 1. Diet-induced obesity significantly reduced nickel allergy reaction. 2. Sublingual immunotherapy significantly reduces nickel allergy in normal mice, but there is no difference in obesity mice. OVA-induced anaphylactic shock did not occur in obesity mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・形態系基礎歯科学

キーワード：免疫、肥満、アレルギー、舌下免疫

1. 研究開始当初の背景

肥満は、現代社会において解決されなければならない重要な課題の一つである。WHOによると、世界全体で4億人が肥満であり、16億人が肥満傾向であるとされており、さらに現在も増加傾向にある。肥満は、さまざまな疾病と因果関係にあることが知られているが、肥満と喘息症状は正の相関関係にあることが知られている。アレルギー性の喘息は、IgEおよびTh2型T細胞によって引き起こされることが知られているが、近年のleptin欠

損性肥満モデルマウスを用いた研究によって、肥満が引き起こす喘息は主としてIgEを介すものであることが明らかとなった（Johnston et al., 2007）。この肥満モデルマウスでは、普通のマウスと比較して、通常状態でも血液中のIgE濃度が高い傾向にあり、Ovalbumin (OVA) による感作によって、普通マウスよりも有意にIgE濃度が上昇した。このことは、肥満が引き起こす喘息は、抗原特異的なIgEが、普通マウスよりも大量に合成されてしまうことが一因であることを示

している。また、このような肥満モデルマウスでは、TNF α や IL-1 などの炎症性サイトカインの発現が通常状態で高い状態にあり、慢性的に低い炎症状態にあることが知られている。以上のことは、肥満状態が、さまざまな免疫異常を引き起こし、アレルギー反応を増悪させることを示している。

肥満は、細菌感染の際にも悪影響を及ぼすことが明らかとなっている。食事性肥満を誘導したマウスでは、インフルエンザウイルスに対する感受性が増加し、死期が早まることが知られている (Smith et al., 2007)。また、肥満は歯周病の発症に関連することも知られている。食事性肥満を誘導したマウスでは、歯周病原菌の一種である *Porphyromonas gingivalis* に対する感受性が増大し、歯槽骨損失の割合が普通のマウスよりも高いことが明らかとなった (Amar et al., 2007)。このようなマウスでは、LPS などの外来微生物由来抗原に対する炎症性サイトカインの上昇が起こらないこと、すなわち外来病原菌に対して正常な免疫反応が起こっていないことが明らかにされている。以上のことから、肥満が引き起こす免疫異常が、アレルギー性喘息から病原菌感染など様々な疾患を引き起こすことがモデルマウスなどでも明らかとなり、その詳細な分子機構が明らかとされつつあるが、一方で、アレルギー症状とは、免疫反応が亢進しすぎた症状であり、病原菌感染の際の免疫不応答の症状とは反するものである。また、肥満によるアレルギー症状の増悪も、喘息以外のアレルギー症状は、関連性は示唆されているものの、未だ確定的な証明はなされていない。

抗原特異的免疫応答は、B7 ファミリーと呼ばれる共刺激分子によって制御されていることが知られている。B7 ファミリーは、抗原提示細胞が主として発現し、T 細胞などのレセプターに作用することで、その活動を制御している。中でも、B7-H1、B7-H2、B7-H3 は、T 細胞を抑制的に制御することで知られ、口腔内の抗原提示細胞は、LPS 刺激に反応して B7-H1 と B7-H3 の発現が上昇すること (Allam et al., 2007) や、B7-H3 分子の阻害がアレルギー性腸炎に関与する (Fukushima et al., 2007) ことから、肥満における免疫反応低下およびアレルギー症状の増悪に関与している可能性が高い。しかし、肥満における共刺激分子の発現変化や免疫不全への関与は明らかにされていない。

古来より、ヨーロッパ地方において、アレルギー物質を舌下口腔粘膜に投与することでアレルギー症状を改善する舌下免疫療法がおこなわれてきた。この舌下免疫療法は、皮下免疫療法と比較して、アナフィラキシーショックを起こす危険性が低いことが知られ、安全な免疫療法として 着目されている。そ

の詳細なメカニズムは当初よく解明されていなかったが、近年、口腔粘膜に存在する口腔ランゲルハンス細胞が、制御性 T 細胞の分化を促進することが、舌下免疫療法の際の免疫寛容に関与することを示唆する報告がなされた (Akdis et al., 2006; Dahl et al., 2006)。また、Allam らの報告より、口腔由来樹状細胞が抑制性共刺激分子を発現することが免疫寛容に役立っていることが示唆される。我々のこれまでの研究からも、口腔歯肉由来間葉系幹細胞が抑制性共刺激分子を強く発現していることを明らかとした。しかし、肥満が舌下免疫療法に与える影響およびそのことに共刺激分子がどう関与するかについては明らかとなっていない。

2. 研究の目的

本研究では、食事性肥満が、アレルギー症状の改善法として欧米で着目されている舌下免疫療法に対してどのような影響を与えるかを、当研究室で確立されている、ニッケルアレルギーマウスモデルと、OVA 誘導性アナフィラキシーショックマウスモデルで解析した。また、抑制性共刺激分子である B7H ファミリーの発現を指標として使用できるかを検討すること目的とした。

3. 研究の方法

C57BL/6 6-8 週齢マウスに HFD32(CLEA)を二ヶ月間給仕し、食事性肥満を誘導した。その後 当研究室で既にモデルが確立されている金属アレルギーモデルマウス (Sato et al., 2007) についても、肥満による影響を解析した。1mM の NiCl₂と 1 μ g の LPS を等量混合し、0.25ml を肥満及び普通マウスに注射し、10 日後に 20 μ l の 1-5mM NiCl₂を耳介皮下に注射し、耳介の膨張を確認した。

続いて舌下免疫療法を施し、症状の改善を試みた。療法の確立と、その肥満における影響を解析した。ニッケルアレルギー誘導マウスに、10mM、100mM のニッケル溶液に 1-5%の carboxy-methyl-cellulose (Ni-CMC)で粘性を持たせたものを 10 ml/mice の量で 2 カ月間週三回舌下投与し、脱感作終了後、抗原の耳介部皮内チャレンジを行い、ニッケルアレルギーによる耳介腫脹を計測し、口腔免疫寛容の誘導効果を評価した。また、高カロリー食である High fat 32 (CLEA, Japan)を 2 カ月与えて食事性肥満状態にし、その後金属アレルギーを感作した。その後 100mM Ni-CMC による脱感作を行った。

同様に、肥満及び普通マウスに OVA 感作を行い、続いて尾静脈に OVA を投与し、アナフィラキシーショックに対する肥満の影響を解析した。ショックの測定については、直腸温を測定し、その低下をもとに評価した。

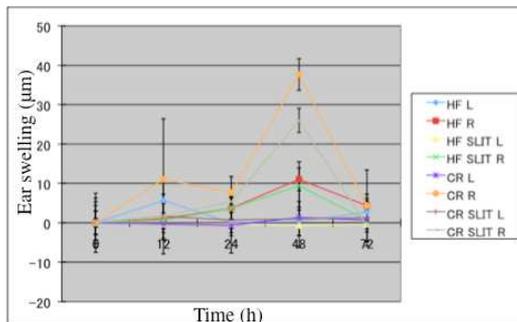
4. 研究成果

(1) ニッケルアレルギーモデルでの舌下免疫療法の効果

金属アレルギーを誘導したマウスに、100mM NiCl₂ 溶液に粘性剤として Carboxy-methyl-cellulose を加えたものを 10 μ l 舌下投与を週三回、2ヶ月間行うことで、金属アレルギーの症状を低下させることに成功した。

(2) 食事性肥満の誘導と舌下免疫の効果

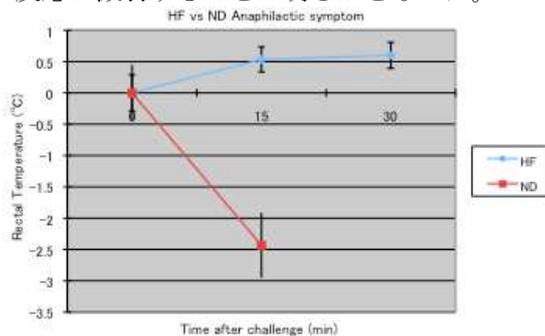
食事性肥満の誘導によって体重は増加したが、血糖値に大きな変化は見られなかった。肥満個体ではニッケルに対する応答が有為に減少し、舌下免疫による低下も有為な差はなかった。



(3) OVA 誘導性アナフィラキシーショックにおける食事性肥満の影響

食事性肥満を誘導したマウスでは、OVA によるアナフィラキシーショックがおこらないことが明らかとなった。

また、金属アレルギー、アナフィラキシーショックともに、すでにアレルギー感作が起きている個体を太らせることでも、アレルギー反応が减弱することが明らかとなった。



(4) 総合考察

本実験の結果より、肥満状態はニッケルアレルギー、OVA アナフィラキシーショックともに减弱させることが明らかとなった。肥満とアレルギーの研究は、喘息において正の相関関係があることが知られているが、ニッケルアレルギーおよびアナフィラキシーショックに関する報告は本研究が初めてである。この結果は、おそらく肥満からくる免疫不全症状が関与しているのではないかと思われる。今後は、それぞれのアレルギーを引き起こす

細胞集団 (T 細胞、肥満細胞、好塩基球など) について詳細に検討することで、肥満症状が引き起こす免疫異常のメカニズムがさらに明らかになることが予想され、アレルギーに関しては良い面の応用が、免疫不全に関しては改善方法が提示できるものと考えられる。

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 3 件)

1. Shikama Y, Nagai Y, Okada S1, Oizumi T, Shimauchi H, Sugawara S, Endo Y. Pro-IL-1 β accumulation in macrophages by alendronate and its prevention by clodronate. Toxicol Lett 199(2):123-128 (2010) 査読有り

2. Shikama Y, Kuroishi T, Nagai Y, Iwakura Y, Shimauchi H, Takada T, Sugawara S, Endo Y. Muramyl dipeptide augments the actions of lipopolysaccharide in mice by stimulating macrophages to produce pro-IL-1 and by down-regulation of the suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1). Innate Immunity, 17(1):3-15(2009) 査読有り

3. Kuroishi T, Kinbara M, Sato N, Tanaka Y, Nagai Y, Iwakura Y, Endo Y, Sugawara S. Biotin status affects nickel allergy via regulation of interleukin-1beta production in mice. Journal of Nutrition, 139: 1031-36 (2009) 査読有り

[学会発表] (計 8 件)

1. Shiraishi D., Nagai Y, Tanaka Y., Endo Y., Shimauchi H., Sugawara S. Analysis of antigen incorporating and processing cells in sublingual immunotherapy. 8th joint conference of the ICS and ISICR 2010 年 10 月 4 日 Chicago, USA

2. Nagai Y., Tanaka Y., Kuroishi T., Sato R., Endo Y. and Sugawara S. Histamine Reduces Susceptibility to NK Cells via Down-Regulation of NKG2D Ligand Expression on Human Monocytic Leukemia THP-1 Cells. 8th joint conference of the ICS and ISICR 2010 年 10 月 5 日 Chicago, USA

3. Nagai Y., Tanaka Y., Endo Y. and Sugawara S. Histamine Reduces Susceptibility to NK Cells via Down-Regulation of NKG2D Ligand Expression on Human Monocytic Leukemia THP-1 Cells. 14th International Congress of Immunology. 2010 年 8 月 24 日 神戸

4. 永井康裕、金原正敬、田中志典、遠藤康男、菅原俊二 マウス Ni アレルギーにおける免疫記憶型 CD3+NK1.1+細胞の関与 第 52 回歯科基礎医学会 2010 年 9 月 9 日 東京
5. Nagai Y., Shiraishi D., Ohki A., Tanaka Y., Aso H., Sugawara S. Induction of Treg from PBMC by interacting with immunosuppressive B7-H3 molecule on oral mesenchymal stem cells from human gingival fibroblasts. 第 39 回日本免疫学会総会、大阪、2009 年 12 月 3 日
6. Shiraishi D., Nagai Y., Tanaka Y., Endo Y., Shimauchi H., Sugawara S. Analysis of antigen incorporating and processing cells in sublingual immunotherapy, 第 39 回日本免疫学会総会、大阪、2009 年 12 月 3 日
7. 白石大祐、永井康裕、遠藤康男、島内英俊、菅原俊二 舌下粘膜の抗原取り込み機構と舌下粘膜免疫療法 第 51 回歯科基礎医学会、2009 年 9 月 9 日、新潟
8. 永井康裕、黒石智誠、白石大祐、大木亜紀子、島内英俊、菅原俊二 ヒト歯肉由来間葉系幹細胞が発現する B7-H3 分子による制御性 T 細胞誘導とその機能解析 第 51 回歯科基礎医学会、2009 年 9 月 9 日、新潟

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永井 康裕 (NAGAI YASUHIRO)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：90508962

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：