

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 5 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791572

研究課題名（和文）アレルギー病態惹起における長期生存型抗体産生細胞の形成および維持機構の解明

研究課題名（英文）The maintenance of the IgE antibody secreting cells

研究代表者

稲嶺 絢子（INAMINE AYAKO）

千葉大学・大学院医学研究院・特任研究員

研究者番号：70466720

研究成果の概要（和文）：IgE 抗体を介して病態が惹起される気管支喘息やアレルギー性鼻炎などの新しい治療戦略として抗 IgE 抗体療法が期待され、各臨床試験におけるその有効性についても高く評価されている。その一方で、アレルゲン感作後の抗原特異的 IgE 陽性細胞の分化経路や感作発症後の長期に及ぶ抗原特異的 IgE 抗体価の維持機構についての詳細は明らかになっていない。本研究において、これまでの長期生存型抗体産生細胞の維持に関する研究と IgE 産生細胞に関する研究成果を踏まえ、抗原免疫後に誘導される抗原特異的 IgE 産生細胞の分化経路および IgE 産生細胞の局在を明らかにし、長期生存型 IgE 産生細胞を直接抑制する新しい免疫療法の確立を目指した。

研究成果の概要（英文）：In seasonal allergy (such as Japanese cedar pollinosis), pollen specific IgE Ab production has been persistent even in the absent season of allergens. Since long-lived plasma cells (LL-PCs) in bone marrow (BM) are important for the maintenance of serum Ab titers, the persistent production of IgE Abs in Allergic patients may be due to IgE-LL-PCs in BM. However, IgE-LL-PCs in murine BMs have never been detected. Moreover, high concentration of IgE Abs was detected in serum of nasal polyposis patients and IgE-PCs were accumulated in the nasal polyposis tissue. In this study, we investigated the mechanism of IgE-LL-PCs generation using IL-21R-KO mice which have high concentration of serum IgE titers. When the number of IgE-PCs was examined in IL-21R-KO mice by ELISPOT assay, no IgE-PCs were detected in BM, despite of the high serum IgE concentration. Then, we have established the culture system to generate LL-PCs from naive B cells using IL-21, and those IgE-PCs were transferred into mice to examine the generation of IgE-LL-PCs in BMs. Since LL-PCs are derived from germinal center (GC) B cells was impaired in IL-21R-KO mice, we will discuss the role of IL-21 in the generation of LL-PCs including IgE-LL-PCs. These results suggested that IgE-LL-PCs would provide a new target for immunotherapy in Allergic diseases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
23 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
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：鼻科学・免疫学

1. 研究開始当初の背景

スギ花粉症は IgE 抗体を介して誘導される季節性の I 型アレルギー疾患である。スギ花粉がアレルゲンとして体内で認識されると体液性免疫応答によりスギ花粉特異的 IgE 抗体が誘導される。このスギ花粉特異的 IgE 抗体は血中や粘膜上のマスト細胞や好塩基球上の Fcε レセプターに結合し、さらにその抗体上にスギ花粉が結合することで、アレルギー性鼻炎などの症状が誘発される。実際に、抗 IgE 抗体を用いた新しい治療法は、対症療法としてその有効性が高く評価され、欧米諸国ではすでに喘息治療薬として販売されている。このような発症機序に深く関与する抗原特異的 IgE 抗体は血清中での半減期が 2-3 日と他のサブクラス抗体に比べても短いにも関わらず、スギ花粉症患者では花粉飛散期以外の時期においても血清中にスギ花粉特異的 IgE 抗体価が高値で維持されている。この抗原非存在下における特異的 IgE 抗体価の維持には、骨髄にいる長期生存型抗体産生 (Long-lived Plasma) 細胞が中心的な役割を担っていると考えられている。

2. 研究の目的

Long-lived (LL-) Plasma 細胞の分化経路についての詳細はまだ完全には明らかになっていない。特に、IgE 抗体産生の LL-Plasma 細胞については、その存在さえも不明である。この IgE 抗体産生の LL-Plasma 細胞の形成機構を明らかにし、その機構を阻害する事ができれば、抗 IgE 抗体療法に代替する新たな I 型アレルギー疾患の根治免疫療法が確立できると考えられる。

3. 研究の方法

アレルゲン感作成立後のアレルギー疾患発症予備軍およびアレルギー患者では高親和性 IgE 抗体を産生する LL-Plasma 細胞が優先的に分化誘導されることがアレルギー疾患の病因の一つではないかと推察した。しかし、IgE 抗体産生 LL-Plasma 細胞の存在やその分化経路については未だ解明されていない。これまでの IgE 抗体産生 Plasma 細胞に関する報告では、副鼻腔炎患者の鼻茸などの局所には多数検出されたが、末梢血単核球 (PBMC) からはその前駆細胞も含めても高頻度には検出できていない。さらに、野生型 (WT) マウスを用いたアレルギー性鼻炎モデルにおいて、鼻炎発症時の局所リンパ節では抗原特異的 IgE 抗体産生 LL-Plasma 細胞が検出されたが、骨髄中には IgE 抗体産生 Plasma 細胞

がほとんど認められなかった。このことから、IgE 抗体産生 LL-Plasma 細胞は、これまでに報告されている IgG 抗体産生 LL-Plasma 細胞の分化経路とは異なった経路を経て分化している可能性が示唆された。

4. 研究成果

本研究期間において、胚中心に局在する GC-Tfh 細胞から大量に産生される IL-21 が、胚中心 B 細胞の LL-Plasma 細胞への分化に重要な役割を果たしている可能性があると考え、IL-21 レセプター (IL-21R) 欠損 (KO) マウスを免疫して、IgG クラスの抗体産生能を詳細に解析した。その結果、免疫後 2 週以降の抗原特異的 IgG 抗体産生が WT マウスと比べて著しく低下していた。さらに、免疫 9 週後の骨髄における IgG 抗体産生 LL-Plasma 細胞を ELISPOT 法により解析したところ、全く検出されなかった。この結果から、IL-21 が抗原特異的 IgG 抗体産生 LL-Plasma 細胞の分化に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。そこで in vitro において WT および IL-21R-KO マウスの B 細胞を IL-4 と抗 CD40 抗体等を用いて 3 日間活性化させた後、さらに IL-21 のみで刺激して 3 日後に CFSE でラベルして正常マウスに静注して移植した。100 日を経過しても移植されたマウスの骨髄および脾臓細胞からは WT 由来の IgG1 抗体を産生する Plasma 細胞が検出できたことから、この培養系で LL-Plasma 細胞が分化誘導されることを見出した。しかし、IL-21R-KO マウス由来の活性化 B 細胞を移入した群では IgG1 抗体を産生する Plasma 細胞が検出されなかった。この結果から、成熟 B 細胞が活性化されてから 3 日後の IL-21 の刺激が LL-Plasma 細胞の分化に必須であることを明らかにし、IL-21 刺激を用いた培養系における IgG 抗体産生 LL-Plasma 細胞の分化誘導系を確立した。

<受賞>

- ① 第 29 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会若手研究者奨励賞受賞、**稲嶺絢子**、日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2011、2 月
- ② 平成 23 年度千葉大学優秀発明賞受賞 **稲嶺絢子**

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 6 件)

- ① **Ayako Inamine**, Daiju Sakurai, Shigetoshi Horiguchi, Syu-ji Yonekura, Toyoyuki Hanazawa, Hiroyuki Hosakawa, Asaka Matuura-Suzuki, Toshinori Nakayama, Yoshitaka Okamoto, Sublingual administration of *Lactobacillus paracasei* KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells.、Clin Immunol.、査読有、2012、143 (2)、170-179
- ② Yasuhiro Uekusa, **Ayako Inamine**, Syu-ji Yonekura, Shigetoshi Horiguchi, Takashi Fujimura, Daiju Sakurai, Heizaburo Yamamoto, Homare Suzuki, Toyoyuki Hanazawa, Yoshitaka Okamoto、Immunological parameters associated with the development of allergic rhinitis: A preliminary prospective study.、査読有、2012、26、1-5
- ③ Yoshida, N., Kitayama, D., Arima, M., Sakamoto, A., **Inamine, A.**, Takano, H., Hatano, M., Koike, T., and Tokuhisa, T.、CXCR4 expression on activated B cells is down-regulated by CD63 and IL-21.、J. Immunol.、査読有、2011、186、2800-2808
- ④ Fujimura, T., Yonekura, S., Horiguchi, S., Taniguchi, Y., Saito, A., Yasueda, H., **Inamine, A.**, Nakayama, T., Takemori, T., Taniguchi, M., Sakaguchi, M., and Okamoto, Y.、Increase of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring or prognostic biomarkers in two-year sublingual immunotherapy (SLIT) for Japanese cedar pollinosis. Clin. Immunol.、査読有、2011、139 (1)、65-74
- ⑤ **稲嶺絢子**、岡本美孝、有馬雅史、徳久剛史、アレルギー病態惹起における長期生存型抗体産生細胞の形成機構の解明、耳鼻咽喉科免疫アレルギー、査読有、2011、29 (3)、215-220
- ⑥ 岡本美孝、米倉修二、**稲嶺絢子**、アレルギー性鼻炎に対する代替医療、JOHNS、査読有、2011、27、838-842

[学会発表] (計 8 件)

- ① **稲嶺絢子**、有馬雅史、吉田修也、坂本明美、幡野雅彦、岡本美孝、徳久剛史、長期生存型抗体産生細胞分化における IL-21 シグナルの役割、第 40 回日本免疫学会学術集会、千葉、2011 年 11 月 14、

15 日、口頭発表

- ② 櫻井利興、**稲嶺絢子**、櫻井大樹、飯沼智久、石井保之、中山俊憲、岡本美孝、 α -GalCer パルス DC の口腔粘膜投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明、第 40 回日本免疫学会学術集会、千葉、2011 年 11 月 14、15 日、口頭発表
- ③ 飯沼智久、**稲嶺絢子**、櫻井大樹、櫻井利興、山本陸三朗、中山俊憲、岡本美孝、好酸性慢性鼻副鼻腔炎に伴う鼻茸の病理学的形成機序の解明、第 40 回日本免疫学会学術集会、千葉、2011 年 11 月 14、15 日、口頭発表
- ④ **稲嶺絢子**、有馬雅史、徳久剛史、岡本美孝、IL-21 における長期生存型 IgE 産生細胞の形成機構の解析、第 61 回日本アレルギー秋季学術大会、東京都、2011 年 11 月 10 日-12 日、ミニシンポジウム
- ⑤ 櫻井大樹、米倉修二、山本陸三朗、**稲嶺絢子**、中山俊憲、岡本美孝、アレルギー性鼻炎に対する免疫療法、最新の知見と展望、第 61 回日本アレルギー秋季学術大会、東京都、2011 年 11 月 10 日-12 日、ミニシンポジウム
- ⑥ 櫻井利興、**稲嶺絢子**、櫻井大樹、飯沼智久、米倉修二、石井保之、中山俊憲、岡本美孝、 α -GalCer-Ag pulsed DC の口腔粘膜下投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明、第 61 回日本アレルギー秋季学術大会、東京都、2011 年 11 月 10 日-12 日、ミニシンポジウム
- ⑦ 飯沼智久、**稲嶺絢子**、山本陸三朗、櫻井大樹、米倉修二、櫻井利興、中山俊憲、岡本美孝、好酸球性副鼻腔炎鼻茸に浸潤するリンパ球の機能解析、第 61 回日本アレルギー秋季学術大会、東京都、2011 年 11 月 10 日-12 日、ミニシンポジウム
- ⑧ **稲嶺絢子**、堀口茂俊、米倉修二、櫻井大樹、岡本美孝、アレルギー惹起における長期生存型抗体産生細胞の形成機構の解明、第 29 回日耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、大分、2011 年 2 月 10-12 日、ミニシンポジウム

[図書] (計 1 件)

- 稲嶺絢子**、岡本美孝、花粉症、食品免疫・アレルギーの事典、朝倉書店、査読有、2011、319- 322

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：スギ花粉症の治療効果を予測するバイオマーカー

発明者：岡本美孝、稲嶺絢子、櫻井大樹、堀口茂俊、中山俊憲

権利者：岡本美孝、稲嶺絢子、櫻井大樹、堀口茂俊、中山俊憲

種類：特許

番号：特願 20-19857

出願年月日：2011年3月30日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

稲嶺 絢子 (INAMINE AYAKO)

千葉大学・大学院医学研究院・特任研究員

研究者番号：70466720

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：