

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：34517

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350137

研究課題名(和文) アレルギーモデルマウスにおけるアレルゲン経口投与による経口免疫寛容の誘導効果

研究課題名(英文) Instruction effect of the oral immunization generosity with the allergenic oral administration in the allergic model mouse

研究代表者

高橋 享子 (Takahashi, Kyoko)

武庫川女子大学・生活環境学部・教授

研究者番号：50175428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：平成26年度では、アレルギーモデルマウスに急速免疫寛容を施した結果、アレルギー症状は改善されず、いくつかのバイオマーカーにおいては悪化傾向を示した。平成27-28年度では、アレルギーモデルマウスに抗原添加飼料を用いた長期経口免疫療法を施した結果、1%抗原添加飼料がアレルギー症状を緩和させた。低アレルゲン化卵ボーロを用いた長期経口免疫療法を重篤卵アレルギー患児に実施した結果(研究期間を通じて実施していた)、低容量であっても抗原を継続して摂取すると免疫寛容が誘導されることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：As a result of having made rapid acquired tolerance on an allergic model mouse in 2014, the allergic symptom was not improved and showed a tendency to aggravation in some biomarker. As a result of having taken long-term oral immunization therapy using the antigen addition feed to an allergic model mouse in 2015-2016, 1% antigen addition feed made an allergy symptom relieved. Acquired tolerance determined what was induced as a result that children with serious egg allergy received the egg bolo long-term oral immunization therapy that we used a low allergen (they performed it through study period) when we continued an antigen even if it was low capacity and took it in.

研究分野：食生活

キーワード：食物アレルギー 卵アレルギー 低減化ボーロ アレルギーモデルマウス

1. 研究開始当初の背景

現在、我が国の食物アレルギー有病率は、乳児で約 10%、3 歳児で約 5%、保育所児が 5.1%、学童期以降が 1.3~4.5%であり、その割合は年々増加している（食物アレルギーの診療の手引き 2014）。そのため、食物アレルギーの治療法の確立は、今後より一層重要視される分野である。

食物アレルギーの治療法は、原因アレルゲンの除去が基本であるが、最近では、経口免疫療法(Oral Immunotherapy) が注目されている。本療法は食物アレルギー患者に対して、閾値量以下の抗原を投与し、次第に摂取量を増やすことで積極的に耐性を獲得させるという方法である。しかし、この治療法の治療メカニズムは、一部の先進的な病院で試験的に実施されているだけである。また、治療プロトコルが確立されておらず、医師の経験を元に実施されている。

2. 研究の目的

本研究では、食物アレルギー治療で注目されている経口免疫寛容 (Oral Immunotherapy Tolerance:OIT) について効果的な方法を検討することが目的である。本治療は、アレルゲン閾値内のアレルゲン喫食によるアレルギー応答性の低下を誘導する方法である。我々は、すでに、大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター小児科との共同研究により重篤な卵アレルギー患者でOITが困難な乳幼児に低アレルゲン化卵ボーロを提供している。しかし、アレルゲン喫食量や投与期間については、全く情報がなく、経験のみの方法で行なっている。従って、ヒトでは喫食量や喫食期間を検討することは、危険性が高く問題が多い為に、アレル

ギーモデルマウスを用いてOITの効果的な方法を明らかにした。

3. 研究方法

アレルギーモデルマウスにおけるアレルゲン経口投与によるOIT の誘導

OITの問題は、ヒト介入試験では、非常に危険性が高く検証するには問題である。従って、アレルギーモデルマウスにおけるOIT試験を検討することにより、アレルゲン喫食の方法や期間について検証を行なうことが可能である。さらに、OITの効果を確認する目的で、血液中の抗体価（総IgE, IgG1, IgG2a）やサイトカイン（IL-4, IL10, TNF- α , IFN- γ ）、脾臓細胞中の抗体価（総IgE, IgG1, IgG2a）やサイトカイン（IL-4, IL10, TNF- α , IFN- γ ）などを測定し、免疫寛容の誘導として局所免疫応答（Th1/Th2）について検討する。これらの一連の動物実験は、武庫川女子大学動物研究倫理委員会の審査を受けて実施した。

4. 研究成果

近年、食物アレルギー患者の増加が社会的な問題となっているなかで、微量の抗原投与によるOITは、食物アレルギー治療法として注目されている。しかしながら、その治療法のエビデンスや生体内の免疫機構については、十分に明らかにされていない。また経口免疫治療法は近年注目をあびているが、『食事を利用した経口免疫療法』に関する研究は国内外をとおしてなされていない。食事を利用することの利点は、抗原の急激な吸収の抑制、他食品に含まれる生理活性物質の活用、低アレルゲン化抗原の活用にあり、さらに将来的に、安全で効果的なアレルギー治療法の提言に繋がられる可能性を有している点にある。そこで、

本研究では、卵白主要アレルゲン OM によるアレルギーを惹起させたアレルギーモデルマウスにおいて、4 週間の食餌による OIT を行い、OIT がアレルギー指標の兆候スコア、血管透過性、抗体価及び脾リンパ球培養上清中のサイトカイン産生量に及ぼす影響を検討した。

本研究では、20.0mg/100 μ L の OM を経口投与し、30 分間持続してアレルギー兆候を観察する兆候スコアと血漿漏出量から、アレルギーの測定を行った。結果として、経口負荷試験による兆候スコアと血漿漏出量ともに治療群で非治療群よりも有意な低下を示した(Fig.1)。このことより、非治療群では脱顆粒が生じ、放出されたヒスタミンにより血管透過性が上昇し、血漿漏出量が増加したと考え、治療群ではアレルギー症状の軽減が示された。経口負荷試験での兆候スコアでは、開始 16 日目から OIT による効果を示しており、16 日という期間はヒトに換算すると 1 年 8 か月になる。これは 1 歳半からはじめて、幼稚園入学に間に合う期間となり、幼稚園給食を食べることが出来るが、アレルギー症状をより良好にするためには 3 年 6 ヶ月の期間がかかる。

現在、一般的に Th1/Th2 バランスは免疫調節に重要であるといわれている。細胞性免疫に関与する Th1 細胞の免疫反応が優位になると、Th1 細胞から産生される IFN- γ は IgG2a の抗体産生を誘導する。一方、体液性免疫に関与する Th2 細胞の免疫反応が優位になると、Th2 細胞から産生される IL-4 は IgE、IgG1 の抗体産生を誘導する。Th2 細胞が Th1 細胞よりの免疫反応が優位になるとアレルギー疾患の発症に繋がることから、アレルギー疾患の治療や予防には Th1 細胞の分化を誘発し、Th2 細胞の分化を抑制することで治療できる

と考えられている。

抗体価の結果より、治療群の総 IgE、OM 特異 IgE は 3 群間において有意差は認められなかった。また IgG2a、IgG1 は治療開始 15 日目では治療群は非治療群より有意に上昇したが、解剖時は有意な差はみられなかった。その結果 IgG1、IgG2a で OIT による Th1/Th2 バランスで有意差は見られず、OIT の指標として検討する必要がある。脾リンパ球サイトカイン産生量の結果より、Th2 細胞の産生サイトカインである IL-4 は、非治療群と比較して治療群で有意に 4.0 倍増加し、IFN- γ は、非治療群と比較して治療群で有意に 8.9 倍増加した(Fig.2)。このことより、OIT は IFN- γ 産生を IL-4 より多く増加したと考えられた。IFN- γ 産生量が IL-4 産生量より多くなったことから、Th1 細胞への分化誘導が高くなったと考えられた。その結果よりアレルギー寛容が誘導された。ConA の脾リンパ球サイトカイン産生量で非アレルギー群の値が高かったのは、ConA はアレルギーに関係なく細胞を刺激するためであり非アレルギー群がアレルギーになっている訳ではない。

これら結果より、アレルギーモデルマウスでは食餌による長期 OIT は、OIT による血漿抗体価との指標を今後検討していく必要はあるが、経口負荷試験、脾リンパ球培養上清の測定結果より免疫寛容を誘導することが出来た。

本研究の OIT では 1%OM 含有食を食餌として経口摂取し治療をおこなった。これは、動物実験において、ゾンデによる経口摂取を行わないため、マウスへのストレスを軽減することができた。また、ヒトの治療で考えると、アレルギー患者で多いのは乳幼児であるため、1~2 歳児の 1 日に必要なたんぱく質量で考えると、1 日に 20 g のうち

1gをアレルゲンに変更することで、OITを行うことができる。これは、3回の食事で分散することも可能であるため、1回に摂取する抗原量を少なくすることができ、アナフィラキシーを起こす確率も低くなる。食事の中でOITを行うため、OITを飽きずに行うことができることや、低減化したアレルゲンを使用することが可能になり安心してOITを実施することができる。

今後、食事による長期OITがアレルゲン解除の治療法として確立されると、食物アレルギー患者の食生活QOL向上に繋がり、さらに患者や家族の生活QOLの向上に貢献できるものと期待される。

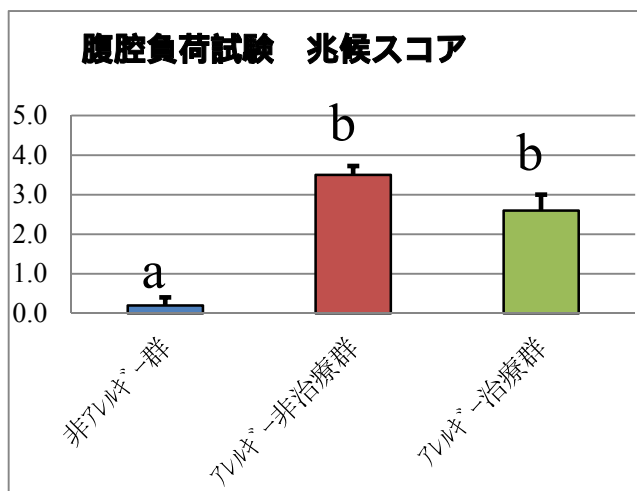


Fig.1 解剖時兆候スコア
異なるアルファベット間 p<0.05
mesn±SD (n=5~6)

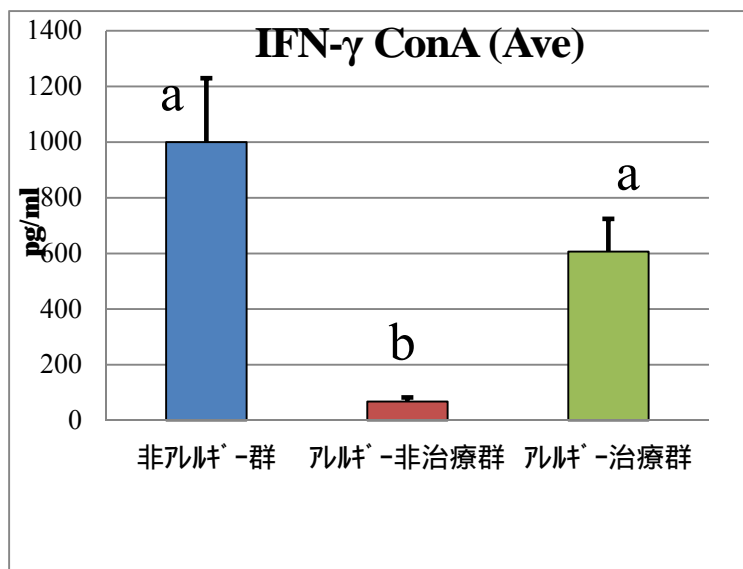


Fig.2 脾リンパ球培養上清中IFN- γ 産生量

mean \pm SD(n=5~6)

異なるアルファベット間 p<0.05

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Akihiro Maeta, Yoko Sakamoto, Sayo Yuki, and Kyoko Takahashi

Intake of diet including 1% ovomucoid for 4 weeks induces oral desensitization in ovomucoid specific allergic mouse model. *JNSV.in press* (2017)

[学会発表] (計 5 件)

松島麻鈴, 前田晃宏, 村木希実, 浅野真理子, 亀田誠, 高岡有理, 高橋享子

経口免疫療法における血清バイオマーカーの探索、第55回日本栄養・食糧学会 近畿支部大会、2016年10月22日、帝塚山学院大学 (大阪府堺市)

前田晃宏, 亀田誠, 高岡有里, 高橋享子

低アレルギー化卵ボーロを用いた経口免疫療法、
第38回 日本臨床栄養学会、2016年10月7日、大阪
国際会議場（大阪府大阪市）

高橋享子, 井上牧子, 筒井宏華, 前田晃宏, 亀田
誠, 高岡有理

低アレルギー化ボーロを用いた経口免疫寛容
、第70回日本栄養・食糧学会大会、2016年5月15
日、武庫川女子大学（兵庫県西宮市）

前田晃宏, 阪本陽子, 幸紗代, 高橋享子
抗原を含む食餌による長期経口免疫療法の効果、
第70回日本栄養・食糧学会大会、2016年5月15日、
武庫川女子大学（兵庫県西宮市）

Maeta A, Kaji M, Nagaishi M, Hirakawa A
and Takahashi K.

Short term oral immunotherapy does not
reduce allergic re sponse in mild allergy model
mice of ovomucoid in egg white.

12th Asian Congress of Nutrition. 2015年5月16
日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋享子（TAKAHASHI, Kyoko）

武庫川女子大学・生活環境学部・教授

研究者番号：50175428