

令和元年6月19日現在

機関番号：84420

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19656

研究課題名（和文）眼を介した新規アレルギー性炎症発症機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of allergic inflammation triggered by eyes.

研究代表者

黒田 悦史（Kuroda, Etsushi）

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研究所 ワクチン・アジュバント研究センター・上級
研究員

研究者番号：10299604

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：アレルギー感作における「眼」の重要性について解析したところ、アレルギーの「点眼」後に同じアレルギーを吸入曝露することで非常に高いレベルのIgEが誘導された。また好酸球の浸潤や肺の炎症などが認められ、典型的なアレルギー性喘息の症状を呈することが明らかとなった。さらに眼のリンパ節である涙道関連リンパ組織（TALT）も活性化され、活性化の指標となる胚中心の形成が認められた。これらの結果より、アレルギーの眼への曝露により眼免疫が活性化され、リンパ節の活性化を通してIgE誘導などのアレルギー性炎症を引き起こすことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性炎症ではアレルギー特異的な免疫応答によって引き起こされるが、そのためには免疫細胞が最初にアレルギーに曝露される「アレルギー感作」のステップが重要である。しかしながら、アレルギー感作の詳細な機序は十分には明らかにされていない。一般にアレルギーは吸入や皮膚への接触により感作されると考えられているが、本研究では「眼」への曝露もアレルギー感作において重要であることを明らかにした。これにより、眼保護がアレルギーの予防に重要であることが実験的に示された。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the role of ocular immune systems in allergic inflammation in mice. Mice were administered to allergen by eye drops and then exposed intranasally to allergen. We observed strong elevation of allergen-specific IgE after allergen exposure. In addition, infiltration of eosinophils and lung inflammation were observed in mice sensitized allergen by eye drops and intranasally exposure. Tear duct-associated lymphoid tissue (TALT) was activated and induced germinal center formation by eye drops of allergen, suggesting that eye drops of allergen stimulate ocular immune systems to induce allergic responses through activation of TALT.

研究分野：免疫学

キーワード：眼免疫 アレルギー性炎症 IgE

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性疾患の患者数は近年増加の一途をたどっている。アレルギー疾患では、最初にアレルゲンの曝露を受ける「アレルゲン感作」のステップを経ることで、アレルゲン特異的な免疫応答が成立し、再度アレルゲンの曝露を受けることでアレルギー性炎症が誘導されると考えられている。しかしながらアレルゲン感作の詳細な機序は未だ明らかにされていない。そのためアレルギー性疾患発症の予防に関する効果的な方策はいまだ確立されていないと言える。最近になり食物アレルギーにおいてはアレルゲンの皮膚感作が重要であることが明らかにされており、疾患が発症する臓器とは異なる部位でのアレルゲン感作が重要であることが示された。本研究では、点眼により眼への抗原感作を行い、その後抗原を吸入曝露する新規アレルギー性喘息モデルを作成したところ、血清中に非常に高い抗原特異的 IgE 誘導が誘導されることを予備的実験において見出した。これまでは呼吸器系のアレルギー性炎症では吸入によりアレルゲンに感作されると考えられていたが、「眼」もアレルゲンの感作部位として重要であることが明らかとなった。

2. 研究の目的

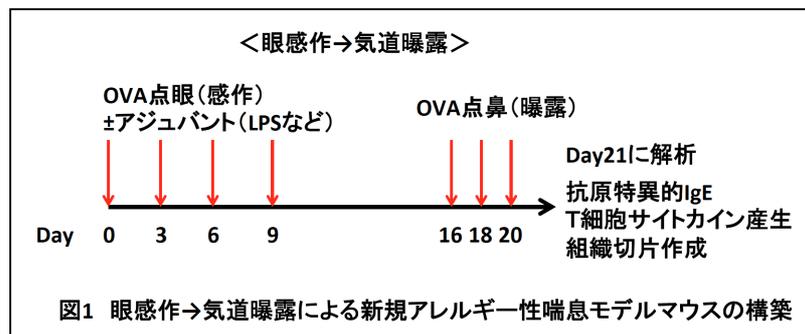
前述したように、アレルギー性疾患発症の発端と考えられているアレルゲン感作の機序はいまだ不明な点が多い。本研究ではアレルゲン感作部位として「眼」が重要であると仮説を立て予備実験を行ったところ、眼への抗原感作により非常に高い抗原特異的 IgE が誘導されることを認めた。このことから、最初に「眼」でアレルゲン感作を受けた場合、その後同じアレルゲンに曝露されることで、アレルゲン特異的 IgE 誘導を伴った重度のアレルギー性炎症が引き起こされることが示唆された。

そこで本研究では眼へのアレルゲン感作によるアレルギー性炎症発症機序の解析として、1) 点眼感作によるアレルギー性疾患モデルマウスの構築と病態解明、2) 遺伝子欠損マウスや眼組織の解析による IgE 誘導のメカニズム解析 を中心に研究を進める。さらに、「眼」への感作によるアレルギー性炎症発症の免疫学的機序を明らかにすることで、アレルギー性疾患の新規予防法および治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 実験1 眼への感作によるアレルギー性炎症モデルの構築と抗原特異的 IgE 誘導のメカニズム解析

眼への抗原感作とその後の抗原の吸入曝露により誘導される、新規アレルギー喘息モデルを構築する。抗原として OVA を用い、3日おきに4回 (day0, 3, 6, 9) 点眼による眼感作を行う。その後吸入曝露として、最初の点眼から16日後に2日おきに3回 (day16, 18, 20) 点鼻による抗原曝露を行い、21日目に採血を行った。抗原特異的 IgE の測定、肺泡洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid: BALF) 中の好酸球数の評価、リンパ節・脾細胞の抗原特異的サイトカイン産生の評価を行った。また、涙道関連リンパ組織 (tear duct associated lymphoid tissue: TALT) を中心に組織切片を作成しリンパ組織を HE 染色や免疫染色にて解析した。特に点眼後の TALT の解析として、リンパ節の胚中心 (germinal center: GC) 形成などを指標として、リンパ節の活性化を評価した。実験スケジュールを下の図1に示す。



眼感作時には、必要に応じてアジュバントを添加した。アジュバントとして LPS、Poly I:C、cGAMP などを使用した。また、肺の炎症に関しては HE および PAS 染色により炎症状態を評価した。

さらに、同様の実験を種々の遺伝子欠損マウスを用いることで、どのような因子が IgE の誘導と炎症の惹起に関与しているかを評価した。遺伝子欠損マウスとして、自然免疫活性化に関与する遺伝子 (パターン認識受容体など)、アレルギーや炎症に関与するサイトカイン (TSLP や IL-33) の欠損マウスを用いて実験を行なった。

