

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K16898

研究課題名(和文) 機能性リンパ球を標的としたシラカバ花粉症の新規治療戦略

研究課題名(英文) Novel Therapeutic Strategies for Birch Pollinosis by Targeting Functional Lymphocytes

研究代表者

山本 圭佑 (Yamamoto, Keisuke)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：50738515

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)：シラカバ花粉症患者では健常者と比較して Tfh2 細胞が増加していること、アレルゲン免疫療法 (allergen immunotherapy, AIT) が患者末梢血中の Tfh2 シフトを是正し、免疫反応のブレーキである制御性リンパ球を増加させていることが明らかになった。AITの長期継続例の観察では、患者末梢血中の Tfh2 シフトの是正が 12 か月目に明らかに観察されること、アレルゲン免疫療法の継続によって免疫反応のブレーキである制御性 T 細胞を増加させていること、制御性 B 細胞が抗原特異的 IgE 産生を制御している可能性があることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シラカバ花粉症の病態において Tfh2 細胞や制御性リンパ球がどのようにシラカバ特異的 IgE 抗体の産生を制御しているかという、本研究課題の目的を達成する上で重要な知見が得られた。これらの結果は、シラカバ花粉症の病態解明と新規診断・治療法の開発に向けて重要な知見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：It was found that Tfh2 cells are increased in patients with birch pollinosis compared to healthy controls, and that allergen immunotherapy (AIT) corrects the Tfh2 shift in the peripheral blood of patients and increases regulatory lymphocytes, the brake of the immune response. Observations of long-term AIT patients revealed that correction of Tfh2 shift in patients' peripheral blood is clearly observed at 12 months, that continuous allergen immunotherapy increases regulatory T cells, the brake of immune response, and that regulatory B cells may regulate antigen-specific IgE production. The results of the study revealed that the regulatory B cells may regulate the production of antigen-specific IgE.

研究分野：鼻科学

キーワード：シラカバ花粉症 アレルギー性鼻炎 濾胞ヘルパー T (Tfh) 細胞

1. 研究開始当初の背景

シラカバ花粉症をはじめとするアレルギー性鼻炎は国民の約半数が罹患しているとされ、国民病といっても過言でない状況となっている。そのため、その予防法や治療法の開発は解決すべき喫緊の課題となっている。北海道では気候・植生が本州とは異なり、花粉症ではシラカバ花粉症が最多を占め、増加傾向にある(朝倉 1993, 安部 2005)。シラカバ花粉症では、その共通抗原性のため、リンゴなどの果物や野菜を食べた時に口腔咽頭の過敏症(口腔アレルギー症候群, oral allergy syndrome, OAS)を示す例が問題になる。OAS は口腔に局限した IgE 関与の即時型アレルギー反応と定義されるが、現時点で、OAS に対し施行可能な治療は原因食物の除去のみである。皮下や舌下を投与経路とするアレルゲン免疫療法 (allergen immunotherapy, AIT) の進歩に伴いアレルギー性鼻炎の一部は根治可能となっている一方、シラカバ花粉症の治療は依然として抗ヒスタミン薬等による対症療法が中心であるため、シラカバ花粉症の完全克服に向けたより簡便・安全で根治が期待できる治療法の実用化のため研究開発が望まれている。

2. 研究の目的

我々は以前にアレルギー性疾患の病態形成には CD4 陽性ヘルパー T 細胞サブセットの一つである濾胞ヘルパー T (Tfh) 細胞が抗体産生細胞からの抗原特異的 IgE 抗体の産生制御と制御性 B (Breg) 細胞による免疫反応の制御が重要な役割を担っていることを世界に先駆けて報告した(参考文献 1, 2)。Tfh 細胞による抗原特異的 IgE 抗体の産生機構や制御性 B (Breg) 細胞との関係は未だ不明な点が多い。本研究課題ではこれまでの研究成果に基づき、シラカバ花粉症の症例やアレルギー性鼻炎に対して AIT を行っている症例の臨床検体を用いて、Tfh 細胞や Breg 細胞などの末梢血リンパ球サブセットの解析を行い、それらの細胞の役割を明らかにする。免疫反応のブレーキの役割を担う Breg 細胞の減少を防ぐことで Tfh2 細胞機能を抑制し、活性化 Tfh2 細胞が花粉飛散期に増加するのを抑制するメカニズムを発見することができれば、従来にはない発想、新規理論に基づいた治療法の実用化のための基礎データとなる。つまり、シラカバ花粉症の病態病理と機能性リンパ球との関連を今回の研究課題で見出し、抜本的な予防法や治療法の実用化につなげたい。

【参考文献】

1. Kamekura R, et al. Alteration of circulating type 2 follicular helper T cells and regulatory B cells underlies the comorbid association of allergic rhinitis with bronchial asthma. Clin Immunol. 158:204-211, 2015.
2. Ichimiya S, et al. Functional RNAs control T follicular helper cells. J Hum Genet. 62:81-86, 2017.

3. 研究の方法

- (1) シラカバ花粉症の末梢血リンパ球サブセットの解析
非飛散期と飛散期に得られたシラカバ花粉症患者の末梢血からリンパ球を分離し、フローサイトメトリーにて Tfh 細胞サブセット (Tfh1, Tfh2, Tfh17)、活性化マーカー (ICOS, PD-1) と Breg 細胞の解析を行った。解析結果と臨床パラメータとの関係を検討した。また、花粉暴露によるシラカバ抗原特異的 Tfh 細胞の変化を検出するため、シラカバ抗原特異的 HLA クラス II テトラマーを用いて陽性細胞を同定した。
- (2) アレルゲン免疫療法の末梢血リンパ球サブセットの解析
ダニ IgE 陽性を示すアレルギー性鼻炎併発患者から治療前、3、6、12 か月時に血液を採取してリンパ球を分離し、フローサイトメトリーにて Tfh 細胞サブセット (Tfh1, Tfh2, Tfh17) と Breg 細胞の解析を行った。また解析結果と臨床パラメータとの関係を検討した。

4. 研究成果

- (1) シラカバ花粉症患者では末梢血中で Tfh 細胞サブセットの一つである Tfh2 細胞が健常者と比較して増加していた。一方 Breg 細胞は 2 群間で有意差は認めなかった。
- (2) シラカバ花粉飛散期には患者群で健常者群と比較して ICOS 陽性 Tfh 細胞の割合が増加しており、ICOS 陽性 Tfh 細胞の割合は飛散期で増加し、非飛散期には減少していた。さらには、ICOS 陽性 Tfh 細胞の割合は患者群において、症状スコア (total symptom score)、シラカバ特異的 IgE 値と正の相関を認めた。
- (3) シラカバ抗原の Bet v1 を結合した HLA クラス II テトラマーを用いた検討で、記憶 Tfh 細胞の中に反応する集団が検出された。
- (4) ダニアレルギーに対する AIT を行うと、患者血液中の Tfh2 細胞が減少し Tfh1 細胞が増加した。
- (5) AIT を行うと 3 か月目で患者血液中の制御性 B 細胞が有意に増加した。

- (6) AIT 12 か月目でダニ特異的 IgE 抗体価の変化率と血液中の制御性 B 細胞の割合の変化率の間に負の相関を認めた。
- (7) AIT 12 か月目で血液 Tfh 細胞と血液 Breg 細胞の割合の比 (%Tfh2/%Breg) は有意に低下していた。

上記の研究成果により、シラカバ花粉症患者では健常者と比較して Tfh2 細胞が増加していること、さらに AIT が患者末梢血中の Tfh2 シフトを是正し、免疫反応のブレーキである制御性リンパ球を増加させていることが明らかになった。これらの結果は、シラカバ花粉症の病態において Tfh2 細胞や制御性リンパ球がどのようにシラカバ特異的 IgE 抗体の産生を制御しているかという、本研究課題の目的を達成する上で重要な知見と考えられる。AIT の長期継続例の観察では、患者末梢血中の Tfh2 シフトの是正が 12 か月目に明らかに観察されること、アレルゲン免疫療法の継続によって免疫反応のブレーキである制御性 T 細胞を増加させていること、制御性 B 細胞が抗原特異的 IgE 産生を制御している可能性があることを明らかにした。これらの結果は、シラカバ花粉症の病態解明と新規診断・治療法の開発に向けて重要な知見と考えられる。

今後はシラカバ花粉症の病態形成における Tfh2 細胞の役割を明らかにすべく、Tfh2 細胞の分化誘導機構の解明に向けて研究を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 山本圭佑	4. 巻 245
2. 論文標題 私の新しい耳鼻咽喉科診療スタンダードー10~20年前とどう変わったかーIgG4 関連疾患の診断と治療の進歩.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 MB ENT, 245	6. 最初と最後の頁 82, 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Keisuke Yamamoto, Makoto Kurose, Risa Yadamura, Ryoto Yajima, Tsuyoshi Okuni, Kenichi Takano	4. 巻 Jun 5;
2. 論文標題 Endoscopy-assisted transoral resection of a parapharyngeal space schwannoma without mandibular dissection.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx.	6. 最初と最後の頁 S0385, 8146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2020.04.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山本圭佑, 高野賢一	4. 巻 91
2. 論文標題 初診時に必要十分な問診・検査オーダー虎の巻 後鼻漏.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科・頭頸部外科	6. 最初と最後の頁 344-346
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1411201988	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山本 圭佑, 大國 毅, 黒瀬 誠, 萬 顕, 大和田 築, 矢島 諒人, 高橋 亜由美, 小幡 和史, 近藤 敦, 高野 賢一	4. 巻 112
2. 論文標題 コア針生検 (core needle biopsy : CNB) により診断し得た頭頸部悪性リンパ腫の検討.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床	6. 最初と最後の頁 609-617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5631/jibirin.112.609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山本圭佑, 近藤敦, 小幡和史, 黒瀬誠, 高野賢一, 水見徹夫	4. 巻 62
2. 論文標題 札幌医科大学における過去10年間の下咽頭癌症例の検討.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科展望	6. 最初と最後の頁 14-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 宮谷政江, 菅原由佳, 渡邊紗規子, 岩村美樹, 山本圭佑, 今信一郎	4. 巻 44
2. 論文標題 超音波検査による経過観察が診断に有用であった甲状腺原発悪性リンパ腫の1例.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 市立室蘭総合病院医誌	6. 最初と最後の頁 24-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamekura R, Takahashi H, Ichimiya S.	4. 巻 31
2. 論文標題 New insights into IgG4-related disease - emerging new CD4+ T cell subsets.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Curr Opin Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 9-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BOR.0000000000000558.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takano K, Okuni T, Yamamoto K, Kamekura R, Yajima R, Yamamoto M, Takahashi H, Himi T.	4. 巻 29
2. 論文標題 Potential utility of core needle biopsy in the diagnosis of IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 393-396
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2018.1465665.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamekura R, Yamamoto M, Takano K, Yabe H, Ito F, Ikegami I, Takaki H, Shigehara K, Suzuki C, Himi T, Takahashi H, Ichimiya S.	4. 巻 2
2. 論文標題 Circulating PD-1+CXCR5-CD4+ T cells underlying the immunological mechanisms of IgG4-related disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Rheumatol Adv Pract.	6. 最初と最後の頁 rky043
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/BOR.0000000000000558	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto M, Takano K, Kamekura R, Suzuki C, Tabeya T, Murakami R, Honda S, Mukai M, Nojima M, Ichimiya S, Himi T, Nakase H, Takahashi H.	4. 巻 41
2. 論文標題 Predicting therapeutic response in IgG4-related disease based on cluster analysis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Immunological Medicine.	6. 最初と最後の頁 30-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09114300.2018.1451613.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto M, Takano KI, Kamekura R, Aochi S, Suzuki C, Ichimiya S, Nakase H, Himi T, Takahashi H.	4. 巻 Oct 25
2. 論文標題 Interleukin 5-producing ST2+ memory Th2 cells in IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2018.1526357	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto M, Takano K, Kamekura R, Suzuki C, Ichimiya S, Himi T, Nakase H, Takahashi H.	4. 巻 28
2. 論文標題 Stage classification of IgG4-related dacryoadenitis and sialadenitis by the serum cytokine environment.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 1004-1008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2018.1436029.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito F, Kamekura R, Yamamoto M, Takano K, Takaki H, Yabe, H, Ikegami I, Shigehara K, Himi T, Takahashi H, Ichimiya S.	4. 巻 207
2. 論文標題 IL-10+ T follicular regulatory cells are associated with the pathogenesis of IgG4-related disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Immunol Lett.	6. 最初と最後の頁 56-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.imlet.2019.01.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto M, Takano KI, Kamekura R Aochi S, Suzuki C, Ichimiya S, Takahashi H.	4. 巻 24
2. 論文標題 Analysis of allergic reaction in IgG4-related disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2019.1572488.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto K, Fujiya Y, Kuronuma K, Ogasawara N, Ohkuni T, Yokota SI, Takahashi S, Takano K.	4. 巻 36
2. 論文標題 Self-reported Smell and Taste Disorders in Patients With COVID-19: A Japanese Single-center Study.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 In Vivo.	6. 最初と最後の頁 918-924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12781	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山本圭佑、黒瀬誠、大國毅、角木拓也、中野雅也、高野賢一
2. 発表標題 鼻中隔矯正術に対するNarrow Band Imaging (NBI) の応用
3. 学会等名 第 121 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本圭佑、黒瀬誠、大國毅、角木拓也、中野雅也、酒本博史、高野賢一
2. 発表標題 鼻中隔矯正術に対するNarrow Band Imaging (NBI) の応用
3. 学会等名 第 222 回日本耳鼻咽喉科学会北海道地方部会, 旭川
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本 圭佑, 黒瀬 誠, 宿村 莉沙, 大國 毅, 高野 賢一
2. 発表標題 ナビゲーションシステム下に NBI を併用し内視鏡下経口腔の被膜間摘出術を行った 副咽頭間隙神経鞘腫症例
3. 学会等名 第 29 回頭頸部外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本 圭佑, 黒瀬 誠, 小幡和史, 大國 毅, 近藤敦, 高野 賢一
2. 発表標題 耳下腺良性腫瘍に対する皮膚切開線の検討
3. 学会等名 第 32 回日本口腔・咽頭科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本圭佑, 大國毅, 村山公介, 宮田遼, 高野賢一
2. 発表標題 当科における Endoscopic modified medial maxillectomy (EMMM) 症例の検討
3. 学会等名 第58回日本鼻科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山本圭佑、小幡和史、中野雅也、佐々木 彩花、角木拓也、大國 毅、近藤 敦、黒瀬 誠、高野賢一
2. 発表標題 札幌医科大学における鼻副鼻腔粘膜原発 悪性黒色腫の治療成績の検討
3. 学会等名 第25回北日本頭頸部癌治療研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------