

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09837

研究課題名（和文）口腔樹状細胞を標的とした舌下免疫療法の効果増強法の開発

研究課題名（英文）Development of new strategies to enhance the efficacy of sublingual immunotherapy by targeting oral dendritic cells

研究代表者

田中 志典（Tanaka, Yukinori）

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：60637958

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、卵白アルブミンをモデル抗原とするマウスアレルギーモデルを用いて、舌下免疫療法の効果を増強させる手法の開発を目指した。まず、舌下免疫療法の作用機序として重要な制御性 T 細胞の誘導効率を上げる免疫賦活剤候補としてレチノイン酸やナイアシン、酪酸、ラパマイシンを検討したところ、ラパマイシンの投与により舌下免疫療法での制御性 T 細胞誘導効率の向上が認められた。舌下免疫療法による食物アレルギー治療モデルでは、舌下免疫療法が治療効果を発揮するために 10 週を要した。そこで上候補物質の投与により治療期間を 3 週間に短縮可能か検討したが、良好な結果は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

舌下免疫療法は抗原（アレルゲン）を舌下粘膜から吸収させ、体質の改善を図る根本的なアレルギー治療法である。花粉症などアレルギー性鼻炎の治療法として普及しているが、現行のプロトコールでは数年に渡り毎日の舌下投与が必要である。舌下免疫療法の治療効果を増強する免疫賦活剤を発見できれば、治療期間の短縮や、食物アレルギーなど適応症の拡大につながる可能性があり、社会的意義は大きい。ラパマイシンは舌下免疫療法による食物アレルギー治療モデルでの有効性は示されなかったが、制御性 T 細胞誘導効率は明確に向上させたため、有望な候補物質として今後さらなる研究が期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop a method to enhance the efficacy of sublingual immunotherapy using a mouse allergy model with ovalbumin as a model antigen. Toward this goal, retinoic acid, niacin, butyrate, and rapamycin were examined as candidate adjuvants that are able to increase the induction efficiency of regulatory T cells, which are an important cellular mediator of sublingual immunotherapy. The administration of rapamycin increased the induction efficiency of regulatory T cells by sublingual immunotherapy. It took 10 weeks for sublingual immunotherapy to exert its therapeutic effect for established food allergy. Therefore, above candidate adjuvants were combined with sublingual immunotherapy to shorten the treatment period to 3 weeks. However, favorable results were not obtained.

研究分野：免疫学

キーワード：舌下免疫療法 樹状細胞 制御性T細胞 免疫寛容

1. 研究開始当初の背景

我が国では現在、国民の 2 人に 1 人が花粉症や食物アレルギーなどのアレルギー疾患を有しているとされ、社会問題となっている。これまでのアレルギー疾患に対する治療は対症療法が主であった。これに対しアレルギー免疫療法は、抗原(アレルギー)を少しずつ体内に吸収させアレルギー反応の起こらない脱感作状態にし、最終的に耐性獲得を目指す根本的な治療法である。アレルギー免疫療法の一つで、抗原を舌下粘膜から吸収させる舌下免疫療法は、花粉症などアレルギー性鼻炎の一般的な治療法として普及しており、我が国でも 2014 年から公的保険の対象となっている。舌下免疫療法は抗原投与量が少なく、アレルギー免疫療法の重篤な副作用である全身性アナフィラキシーのリスクがほとんどない点で優れている。しかし、現行のプロトコールでは数年に渡り連日の舌下投与が必要であるのにも関わらず、約 2 割の患者では治療効果が得られない。これらの問題を解決するためには、舌下免疫療法の効果を增強・持続させる手法の開発が不可欠である。

舌下免疫療法によりアレルギー症状が抑えられる主要なメカニズムとして、抗原特異的に過剰な免疫反応を抑制する制御性 T 細胞 (Treg) の誘導が挙げられる。代表者らは口腔粘膜の樹状細胞が舌下投与された抗原を顎下リンパ節に運搬し、舌下抗原特異的 Treg を誘導することを報告した (Tanaka Y et al. Mucosal Immunol 10: 79-90, 2017)。そこで、口腔樹状細胞の機能を向上させる免疫賦活剤の使用により舌下免疫療法の効果を高められると考えた。

舌下免疫療法の効果増強の試みはまだ数えるほどしかない。舌下免疫療法の作用機序として、Th2 抑制および Th1 促進、また Treg 誘導が考えられている。したがって、免疫バランスを Th1/Treg 優位にするような免疫調節剤が動物実験や臨床試験で試されてきた。これまでに活性化型ビタミン D3、プロバイオティクス、菌体成分、Galectin-9 が試され、アレルギー性鼻炎や喘息に対する舌下免疫療法の治療効果を改善した (Int Immunopharmacol 101: 108350, 2021)。

2. 研究の目的

本研究では舌下免疫療法の免疫賦活剤候補として樹状細胞による Treg 誘導・増殖を促進する作用をもつことが報告されている以下の物質を、マウス食物アレルギーに対する治療モデルにおいて検討した (図 1)。

- レチノイン酸 (ビタミン A 代謝産物) (Mucosal Immunol 2: 340-350, 2009)
- ナイアシン (ビタミン B3) (Immunity 40: 128-139, 2014)
- 酪酸 (Nature 504: 446-450, 2013)
- ラパマイシン (Int Immunopharmacol 7: 1819-1824, 2007)

本研究は舌下免疫療法の新たな可能性を開拓し、臨床応用に向けての基盤を提供することを目的とした。

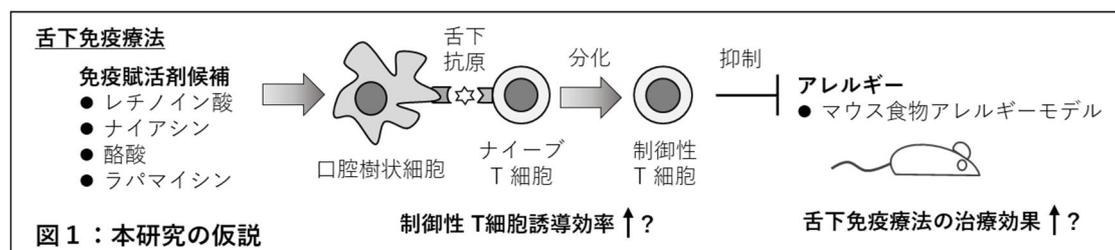


図 1 : 本研究の仮説

3. 研究の方法

(1) In vivo Treg 誘導実験

本研究では卵白アルブミン (OVA) をモデル抗原 (アレルギー) として用いた。まず、OVA に特異的な T 細胞受容体を発現する OT-II ナイーブ CD4⁺ T 細胞を OT-II マウス (CD45.1⁺) の脾臓やリンパ節から磁気ビーズ法により精製し、レシピエントマウス (CD45.2⁺) に養子移入した (day 0)。続いて OVA を舌下投与した (day 1, 2)。ドナー OT-II T 細胞の Foxp3⁺ Treg への分化誘導と、その後の体内分布を検討するために、リンパ節や脾臓を採取し、フローサイトメトリ解析を行った (day 5, 12)。ドナー OT-II 由来 T 細胞は、CD45.1 発現によりレシピエント T 細胞と区別された。

(2) 舌下免疫療法による食物アレルギー治療モデル

以前の研究で、週 2 回の舌下免疫療法で既に確立された皮膚の遅延型過敏症に対して治療効果を得るには、8 週間以上を要することが分かった。舌下液に活性化型ビタミン D3 を添加することにより、治療期間を 3 週間に短縮することができた (未発表データ)。

これを元に、食物アレルギーに対する治療モデルを検討した。マウスに OVA と水酸化アルミニウム (アラム) の混合物を 2 週間間隔で 2 回腹腔内投与して感作し (week 0, 2)。続いて OVA を週 3 回、2 週間胃内投与することで食物アレルギーを確立した (week 3~4)。その後、週 2 回の舌下免疫療法を 10 週間に渡って行った (week 6~15)。そして、舌下免疫療法の治療効果を

確かめるために OVA を再度胃内投与し、引き続き起こる全身性アナフィラキシーを直腸温の低下により評価した (week 17)。

(3) 免疫賦活剤の使用による舌下免疫療法の治療期間短縮の検討

上記の食物アレルギー治療モデルにおいて、舌下免疫療法の期間を 3 週間とあえて短くし、舌下免疫療法の効果を高める免疫賦活剤の候補物質を舌下液や飲料水への添加、腹腔内注射などの方法によりマウスに投与した (week 6~8)。この場合、治療期間が短いため、通常の舌下免疫療法では OVA 胃内投与により誘導される全身性アナフィラキシーは抑制されない (week 10)。舌下免疫療法と候補物質の投与の組み合わせで治療効果が得られるのであれば、その物質は舌下免疫療法の治療効果を向上させるものと考えられる。

4. 研究成果

(1) 舌下免疫療法による Treg 誘導効率を向上させる免疫賦活剤の検討

舌下免疫療法の作用機序として抗原特異的な Treg の誘導が重要であるため、in vivo Treg 誘導実験で、OVA 舌下投与後の OVA 特異的 Treg の体内動態を解析したところ、口腔粘膜の所属リンパ節である顎下リンパ節で誘導された後、脾臓や全身のリンパ節に広がること示された。In vivo Treg 誘導実験で、口腔樹状細胞による Treg の誘導効率を上げる免疫賦活剤候補としてレチノイン酸やナイアシン、酪酸、ラパマイシンを検討したところ、ラパマイシンの投与により誘導効率の向上が認められた。

(2) 舌下免疫療法による食物アレルギー治療モデル

舌下免疫療法による食物アレルギー治療モデルを検討したところ、週 2 回、10 週間にわたる舌下免疫療法により治療効果 (全身性アナフィラキシーの抑制) が得られることが示された。

(3) 免疫賦活剤の使用による舌下免疫療法の治療期間短縮の検討

舌下免疫療法による食物アレルギー治療モデルで、免疫賦活剤の使用により治療期間を 3 週間に短縮できるか検討した。舌下免疫療法による Treg 誘導効率を向上させたラパマイシンだけでなく、レチノイン酸やナイアシン、酪酸についても検討したが、いずれの候補物質でも良好な結果は得られなかった。これらの効果的な投与方法や、新たな候補物質の選定は今後の研究課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yasuda Makoto, Tanaka Yukinori, Bando Kanan, Sugawara Shunji, Mizuta Kentaro	4. 巻 46
2. 論文標題 Lipopolysaccharide Priming Exacerbates Anaphylatoxin C5a-Induced Anaphylaxis in Mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 432 ~ 439
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b22-00766	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 Bando Kanan, Tanaka Yukinori, Winias Saka, Sugawara Shunji, Mizoguchi Itaru, Endo Yasuo	4. 巻 72
2. 論文標題 IL-33 induces histidine decarboxylase, especially in c-kit+ cells and mast cells, and roles of histamine include negative regulation of IL-33-induced eosinophilia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Inflammation Research	6. 最初と最後の頁 651 ~ 667
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00011-023-01699-y	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 Bando Kanan, Tanaka Yukinori, Takahashi Tetsu, Sugawara Shunji, Mizoguchi Itaru, Endo Yasuo	4. 巻 71
2. 論文標題 Histamine acts via H4-receptor stimulation to cause augmented inflammation when lipopolysaccharide is co-administered with a nitrogen-containing bisphosphonate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Inflammation Research	6. 最初と最後の頁 1603 ~ 1617
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00011-022-01650-7	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 Kanan Bando, Toshinobu Kuroishi, Hiroyuki Tada, Takefumi Oizumi, Yukinori Tanaka, Tetsu Takahashi, Itaru Mizoguchi, Shunji Sugawara, Yasuo Endo	4. 巻 36
2. 論文標題 Nitrogen-containing bisphosphonates and lipopolysaccharide mutually augment inflammation via adenosine triphosphate (ATP)-mediated and interleukin 1 (IL-1)-mediated production of neutrophil extracellular traps (NETs)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 1866-1878
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jbmr.4384	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 Lu Lu, Toshinobu Kuroishi, Yukinori Tanaka, Mutsumi Furukawa, Tomonori Nochi, Shunji Sugawara	4. 巻 12
2. 論文標題 Differential expression of CD11c defines two types of tissue-resident macrophages with different origins in steady-state salivary glands	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-04941-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Adya Pramusita, Hideki Kitaura, Fumitoshi Ohori, Takahiro Noguchi, Aseel Marahleh, Yasuhiko Nara, Ria Kinjo, Jinghan Ma, Kayoko Kanou, Yukinori Tanaka, Itaru Mizoguchi	4. 巻 10
2. 論文標題 Salt-Sensitive Hypertension Induces Osteoclastogenesis and Bone Resorption via Upregulation of Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Osteoblasts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 816764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2022.816764	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Yukinori, Yokoyama Yuichi, Kambayashi Taku	4. 巻 53
2. 論文標題 Skin derived TSLP stimulates skin migratory dendritic cells to promote the expansion of regulatory T cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 e2350390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.202350390	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Singh Brenal K., Yokoyama Yuichi, Tanaka Yukinori, Laczk? Dorotya, Deshpande Deepak A., Kambayashi Taku	4. 巻 393-394
2. 論文標題 Diacylglycerol kinase zeta deficiency attenuates papain-induced type 2 airway inflammation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cellular Immunology	6. 最初と最後の頁 104780 ~ 104780
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cellimm.2023.104780	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Saka Winias, Toshinobu Kuroishi, Shunji Sugawara, Yukinori Tanaka
2. 発表標題 舌下免疫療法における制御性T細胞動態の解析
3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田中志典、水田健太郎
2. 発表標題 TSLPによる制御性T細胞拡大機構
3. 学会等名 第51 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会
4. 発表年 2023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
研究分担者	水田 健太郎 (Mizuta Kentaro) (40455796)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	

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
---------	---------