

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 25 年 4 月 12 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22790970

研究課題名（和文） 食物アレルギーにおけるオートファジーの役割

研究課題名（英文） Analysis for the role of autophagy in food allergy

研究代表者 Yasutomi Motoko

（安富 素子）

福井大学・医学部・助教

研究者番号：80554526

研究成果の概要（和文）：

我々はオートファジーが食物アレルギーにおいて何らかの役割を果たしていると考え、新規治療法を開発するために、食物アレルギーのマウスモデルを用いて、オートファジー機能の修飾が下痢や低体温などのアレルギー症状に与える影響を検討した。その結果、オートファジー機能の修飾により即時型の食物アレルギー症状が軽減することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Autophagy may have a role in allergic immune responses.

We sought to test the hypothesis that modulation of autophagy affects provocation of anaphylaxis on oral allergen challenge. It is suggested that the modulation of autophagy ameliorates IgE-mediated anaphylaxis on oral allergen challenge in food allergic mouse model.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：食物アレルギー、オートファジー、免疫学、経口免疫寛容

1. 研究開始当初の背景

オートファジーとは細胞構成成分を二重膜のオートファゴソームと呼ばれる食胞に閉じ込めてライソゾームへ運搬し、ライソゾームと融合して内部物質を分解する機能であり、細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしている。近年オートファジーが細胞内に侵入したウイルスや細菌の排除、抗原提示など免疫応

答においても重要な役割を持つことが明らかになってきた。さらに動物実験モデルでは、オートファジー関連遺伝子欠損は炎症性腸疾患の重症化をきたし、ヒトにおいては、オートファジー関連遺伝子の遺伝子変異がクローン病の疾患リスク遺伝子であるとの報告があるなど、オートファジーが腸管免疫応答や免

疫寛容の成立に重要な役割を持つことが推測される。

近年、食物アレルギーの増加と重症化は社会的に問題となっている。抗原を食べる行為は通常免疫寛容を誘導し、食物に対する反応を起こしにくくするが、何らかの原因で免疫寛容が不成立あるいは破綻した状態が食物アレルギーの発症に繋がると考えられ、IL-4、IL-13などのサイトカインを産生するTh2細胞が重要な役割を果たしていると考えられている。オートファジーは細胞内寄生菌感染防御に働くTh1サイトカインIFN- γ により増強され、Th2サイトカインであるIL-4、IL-13により抑制される。Th1反応とTh2反応は互いに拮抗しバランスをとっていることより、オートファジー機能を調節することで、アレルギー免疫応答を抑制することができるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

食物アレルギーの治療は原因食物の除去が基本となるため、多種類にわたる長期の食物除去は患児の成長・発育を妨げ、家族の精神的・社会的負担となっている。このような既に発症している患者に治療として応用するために、すでに感作が成立した食物アレルギーの動物モデルにおいてアレルギー症状を抑制する治療法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

【動物実験モデル】

Balb/c マウスに卵白アルブミン(OVA)を水酸化アルミニウムゲルとともに腹腔内に投与し感作を成立させた後、複数回 OVA を経口投与して下痢、低体温などを来す即時型の食物アレルギーマウスモデルを用いた。

【方法】

- 1) 上記のごとく感作が成立したマウスに OVA を投与する際に、オートファジー機能を修飾する試薬 (mTOR 阻害剤・PI3K 阻害剤) を併用することで下痢や低体温などのアレルギー症状の変化を確認する。
- 2) 上記マウスにおける感作後、OVA 最終投与後の血清中 OVA 特異的抗体(IgE、IgG2a、IgG1)値変化を ELISA 法で評価した。
- 3) アレルギー症状の調節が免疫寛容を誘導しているのかどうかを確認するために脾臓より遠心比重法で単核球を分離し、in vitro での OVA 刺激による抗原特異的な T 細胞の増殖、IL-10 などのサイトカイン

産生を MTT assay の変法、ELISA 法で評価した。

4. 研究成果

食物アレルギー症状 (下痢、低体温) は、OVA 経口負荷の際に、オートファジーを増強する mTOR 阻害剤を同時投与することにより増強することが示唆された。また血清中 OVA 特異的 IgE、IgG2a 産生にも変化がみられた。しかし脾細胞単核球の in vitro OVA 刺激による抗原特異的 T 細胞増殖やサイトカイン産生パターンには影響を及ぼさず、全身的な免疫寛容誘導作用による影響ではないと考えられた。さらに OVA 感作後マウスに OVA を経口投与する際、逆にオートファジー抑制作用を持つ PI3K 阻害剤を併用すると、本来アレルギー症状が強く発現するはずの OVA 特異的 IgE が高値のマウスにおいても食物アレルギー症状 (下痢/低体温) の軽減がみられた。本研究の結果により食物アレルギーモデルにおいてオートファジー機能が何らかの役割を果たしていることが示唆され、病因究明につながることを期待される。またその調節を介した食物アレルギーの新規治療法開発につながることを期待される。

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 5 件)

1) Hayashi H, Kawakita A, Okazaki S, Yasutomi M, Murai H, Ohshima Y. Paroxysmal cold hemoglobinuria caused by an IgM-class Donath-Landsteiner antibody of anti-P specificity following pneumococcal conjugate vaccine administration. (in press) (査読有)

2) Hayashi H, Kawakita A, Okazaki S, Yasutomi M, Murai H, Ohshima Y. IL-17A/F Modulates Fibrocyte Functions in Cooperation with CD40-Mediated signaling. Inflammation. 2013 Feb 12. [Epub ahead of print] (査読有)

URL:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23400328>

3) Kawakita A, Shirasaki H, Yasutomi M, Tokuriki S, Mayumi M, Naiki H, Ohshima Y. Immunotherapy with oligomannose-coated liposomes ameliorates allergic symptoms in a murine food allergy model. Allergy 2012;67:371 (査読有)

DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02777.x

4) 安富素子 胎内感作とアレルギー アレルギー・免疫 2012:10:86 (査読無)

5) 白崎仁幸子、河北亜希子、吉川利英、安富素子、畑郁江、重松陽介、眞弓光文、大嶋勇成。厳格な食物除去によりクレアチンキナーゼ高値と低カルニチン血症を呈した食物アレルギーの1例。日本小児アレルギー学会誌 2011:25:133 (査読有)

[学会発表] (計 19 件)

1) Murai H, Yasutomi M, Hayashi H, Kawakita A, Suzuki K, Boldogh I, Sur S, Ohshima Y. Autophagy Contributes to Release of IL-18 From Epithelial Cells in Alternaria Exposure. annual meeting of American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. 2013. 2. 22-26. san antonio(USA)

2) 安富素子、岡崎新太郎、河北亜紀子、林仁幸子、眞弓光文、和田泰三、東馬智子、大嶋勇成。漢方薬により加療され電解質異常、低アルブミン血症、低ガンマグロブリン血症をきたしたアトピー性皮膚炎の乳児例。第 39 回北陸アレルギー研究会。2012. 12. 15. 金沢

3) 安富素子、岡崎新太郎、河北亜紀子、林仁幸子、眞弓光文、大嶋勇成。アトピー性皮膚炎治療に用いた漢方薬により下痢、体重減少、高 K 血症をきたした乳児例。第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会。2012. 11. 29-12. 1. 大阪

4) 林仁幸子、徳力周子、岡崎新太郎、河北亜希子、安富素子、重松陽介、眞弓光文、大嶋勇成。牛乳アレルギー除去調整粉乳によるカルニチン、ピオチン欠乏の検討。第 49 回日本小児アレルギー学会。2012. 09. 15-16. 大阪

5) 安富素子、河北亜紀子、林仁幸子、大嶋勇成、眞弓光文、住本真一、福井徹哉、清益巧浩、桶垣泰伸、南部光彦、谷口義弘。乳児喘息の予後と遷延化に関するリスク因子の解析。第 24 回日本アレルギー学会春季臨床大会。2012. 5. 12-13. 大阪

6) 安富素子、徳力周子、林仁幸子、岡崎新太郎、河北亜希子、畑郁江、大嶋勇成、重松陽介。新生児ミルクアレルギーの診断と治療における問題点(当院での経験)。第 38 回北陸アレルギー研究会。2011. 12. 03. 金沢

7) 徳力周子、林仁幸子、岡崎新太郎、河北亜希子、安富素子、畑郁江、大嶋勇成、重松

陽介。当院において過去 5 年間に新生児ミルクアレルギーを疑われた 6 症例。第 4 回日本小児科学会福井地方会。2011. 11. 福井

8) 林仁幸子、河北亜希子、岡崎新太郎、徳力周子、安富素子、眞弓光文、大嶋勇成。IL-33 の線維細胞に及ぼす影響。第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会。2011. 11. 10-12. 東京

9) Ohshima Y, Yasutomi M, Shirsaki H, Kawakita A, Naiki H, Mayumi M. Immunotherapy with oligomannose-coated liposomes ameliorates allergic symptoms in a murine food allergy model. 16th Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respiriology and Immunology. 2011. 10. 28-30. Fukuoka.

10) 安富素子、白崎仁幸子、河北亜希子、大嶋勇成、眞弓光文。福井県における学校生活管理指導表(アレルギー疾患用)の使用状況と問題点。第 6 回北陸小児喘息治療研究会。2011. 6. 18. 金沢

11) 安富素子、河北亜紀子、白崎仁幸子、大嶋勇成、眞弓光文、住本真一、福井徹哉、清益巧浩、桶垣泰伸、南部光彦、谷口義弘。JPGL の乳児喘息診断・治療基準の妥当性と問題点の検証(第 4 報):大発作反復要因の解析。第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会 ミニシンポジウム。2011. 05. 14-15. 幕張

12) 白崎仁幸子、河北亜希子、安富素子、大嶋勇成、眞弓光文。IL-17・IL-17F の線維細胞機能に及ぼす影響。第 47 回日本小児アレルギー学会。2010. 12. 4-5. 横浜

13) 安富素子、河北亜希子、白崎仁幸子、大嶋勇成、眞弓光文。乳児喘息アンケート調査における発作反復要因の解析。第 37 回北陸アレルギー研究会。2010. 11. 20. 金沢

14) 白崎仁幸子、河北亜希子、安富素子、大嶋勇成、眞弓光文。食物アレルギーに対する食事制限中に CK 値上昇を認めた 1 例。第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会。2010. 11. 25-27. 東京

15) 大嶋勇成、安富素子。食物アレルギーモデルを用いた食物アレルギー耐性獲得機序の解析。第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会 workshop。2010. 11. 25-27. 東京

16) 安富素子、河北亜希子、白崎仁幸子、大嶋勇成、眞弓光文。エリスロマイシンは PGN+CD40L 刺激による IL-23/IL-17 pathway

を選択的に抑制する. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2010. 11. 25-27. 東京.

17) Yasutomi M, Ohshima Y, Shirasaki H, Kawakita A, Mayumi M. Erythromycin modulates IL-23 production by human monocyte-derived dendritic cells. 14th International Congress of immunology. 2010. 8. 22-27. Kobe.

18) Ohshima T, Yasutomi M, Shirasaki H, Kawakita A, Mayumi M. Intranasal administration of antigen entrapped into oligomannose-coated liposome impedes development of oral antigen-induced allergic diarrhea. 14th International Congress of Immunology. 2010. 8. 22-27. Kobe

19) 安富素子、大嶋勇成、眞弓光文. JPGL の乳児喘息診断・治療基準の妥当性と問題点の検証 (第 3 報). 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2010. 5. 8-9. 京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安富 素子 (Yasutomi Motoko)
福井大学・医学部・助教
研究者番号 : 80554526