様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２６ 年　 ６ 月 ２０ 日現在

機関番号：３４４０１
研究種目：基盤研究(C)
研究期間：2011～2013
課題番号：２３５９２５１６
研究課題名（和文）スギ花粉症に対する表皮免疫療法の開発についてーＴＳＬＰの機能解析を中心にー

研究課題名（英文）Effect of Transcutaneous immunotherapy in Allergic Rhinitis

研究代表者
寺田　哲也（Terada, Tetsuya）

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：６０３４３６７０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　4,200,000円、（間接経費）　　1,260,000円

研究成果の概要（和文）：スギ花粉症に対する新規の免疫療法として、経皮的に抗原を投与するパッチ免疫療法の開発を目的とした。その際の重要なサイトカインと考えられるTh2タイプのアレルギー性炎症を誘導するTSLPの機能解析を初期目標とした。手術検体として得られた慢性副鼻腔炎の鼻茸、または下鼻甲介粘膜を用いて鼻繊維芽細胞を培養し、種々の刺激に対するＴＳＬＰの発現を検討した。線維芽細胞から産生されるTSLPはTh2型炎症に重要な役割を持ち、ステロイド薬によるTSLP産生抑制がその抗炎症作用の一部である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Subcutaneous allergen-specific immunotherapy is an effective treatment of IgE-mediated allergies, but it requires repeated allergen injections with a risk of systemic allergic reactions. Transcutaneous immunotherapy may improve patient compliance and safety. Our first aim is to investigate the effect of transcutaneous immunotherapy in Allergic Rhinitis.
And also, we investigated the expression of TSLP in cytokine-treated nasal polyp fibroblasts. Nasal polyp fibroblasts have the capacity to produce TSLP in response to stimulation by tumor necrosis factor (TNF) alpha. Combined stimulation with TNF-alpha a Th2 cytokine (IL-4) was synergistic for TSLP production by the nasal polyp fibroblasts. TSLP production was strongly inhibited by interferon gamma but not by IL-10.

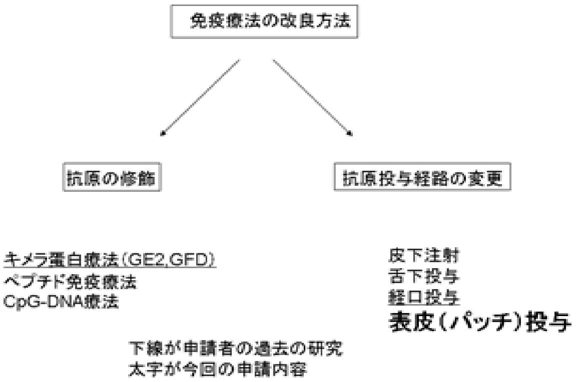
研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：スギ花粉症　経皮的免疫療法　TSLP

１．研究開始当初の背景

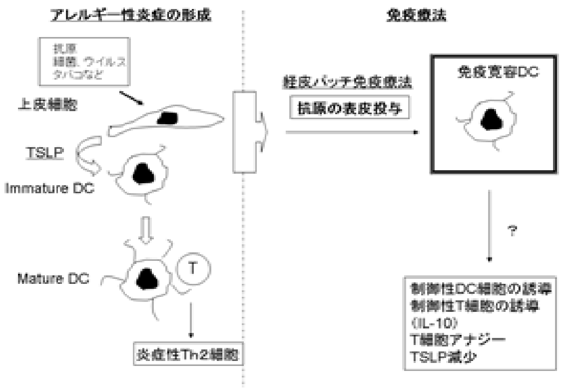
アレルギー疾患に対して唯一の根治療法となりうる免疫療法に対する改良は抗原の修飾と抗原の投与経路の変更に大別される（図）。



現行の免疫療法の主流は皮下注射によるものであるが、非侵襲性の抗原投与経路として舌下投与が施行されるようになってきている。しかし、舌下免疫療法は副反応としての口腔アレルギーをきたしうること、大量の抗原投与が必要なため費用が高くつくこと、同時に多種類の抗原投与が困難なことなどが欠点として挙げられ、加えて作用メカニズムも明らかではない。

免疫療法として表皮的に抗原を投与する場合、表皮中に高密度に存在する抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞が重要な役割を果たしていると思われ、上皮細胞から分泌される thymic stromal lymphopoietin (TSLP)を介するランゲルハンス細胞の分化成熟についての検討は経皮的パッチ免疫療法の作用機序を解明するための重要検討項目であると思われる。

アレルギー性鼻炎や好酸球性副鼻腔炎はTh2 細胞などの免疫細胞や好酸球などの炎症細胞の浸潤によって特徴づけられる炎症性疾患であり、その治療の主役は鼻噴霧用ステロイド薬である。マスト細胞や免疫担当細胞の活性化以外に、気道を構成する上皮間葉系システムの活性化もまた、上気道 Th2 型炎症性疾患の重要な要素であると認識されつつある。Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)などの上皮間葉系細胞に由来するサイトカインは、Th2 細胞などの免疫細胞や炎症細胞の発生や活性化に本質的な役割を演じている（図）。



２．研究の目的

抗原を表皮中に投与し安全かつ便利で非侵襲的な免疫療法を考えている。
経皮的パッチ免疫療法は特有の免疫寛容誘導機構を持つと考えられる。その Key となる細胞は表皮中に多数存在する樹状細胞(DC)：ランゲルハンス細胞である。この細胞は高い抗原提示能力を持ち、環境因子により免疫応答を誘導したり、逆に免疫寛容を誘導したりすることのできる多面性をもつ。

この経皮的免疫療法の効果とその作用機序について上皮細胞、マウス、ヒトと段階を踏んで検証することで樹状細胞の分化成熟に関連しT細胞誘導能をもつサイトカインである TSLP との関連性が見出せれば非常に特色のある研究になると思われる。
なお、最終目標であるヒトでの効果を評価する際には、均一な環境下で季節を問わずスギ花粉症状を誘起しうる花粉曝露室を用いる予定である。この抗原曝露室での症状誘発の基礎的実験はすでに終了しており（Ito K, Terada T et al. Allegology Int. 2010）研究期間内に経皮的パッチ免疫療法の効果に対する臨床試験を実施する計画である。

３．研究の方法

鼻茸、または鼻粘膜上皮細胞株を用いた TSLP 発現調節機構の解析

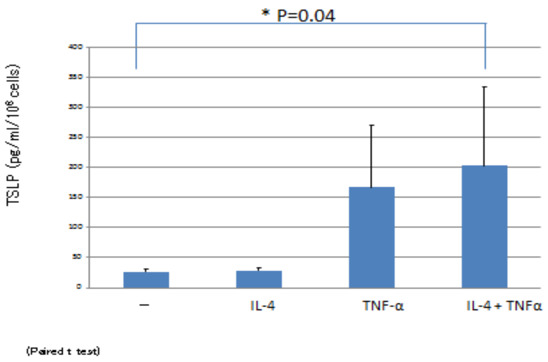
手術時に採取した鼻粘膜を用いて細切して組織片を 3～4 週間培養した線維芽細胞を分離培養し 5～6 継代した後実験に用いた。10ng/ml の TNF-α、IL-4 を単独および TNF-α＋IL-4 として添加し 72 時間培養後上清を回収し ELISA kit を用いて TSLP を測定した。

次いで TNF-α＋IL-4 により産生誘導された TSLP に 4ug/ml, 40ug/ml の Dexamethasone を加えその抑制効果を検討した。次いで TNF-α＋IL-4 により産生誘導された TSLP におよぼす IFN-γ, IL-10 の影響も検討した。

４．研究成果

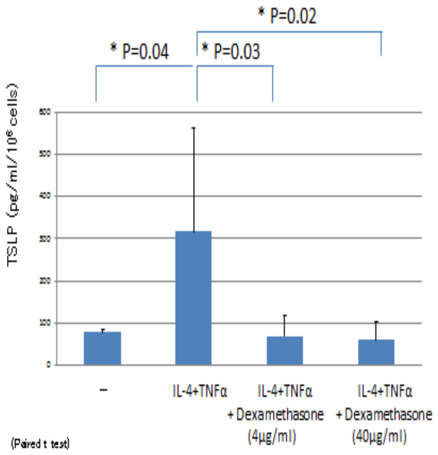
TNF-α＋Th2 サイトカイン（IL-4）により鼻茸由来線維芽細胞から TSLP の産生が誘導された。産生誘導された TSLP は IFN-γ、Dexamethasone にて抑制された。(考察とまとめ) 線維芽細胞から産生される TSLP は Th2 型炎症に重要な役割を持ち、ステロイド薬による TSLP 産生抑制がその抗炎症作用の一部である可能性が示唆された。

鼻茸由来線維芽細胞からのTSLP産生



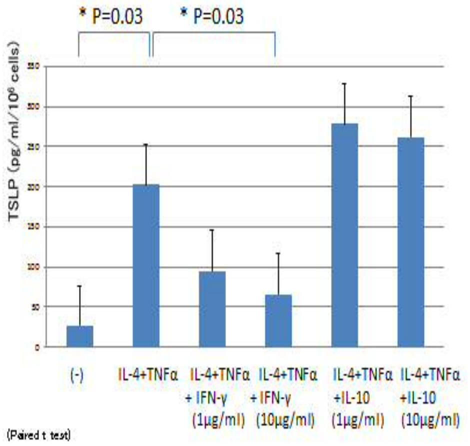
TSLP は IL-4 と TNFα の相互作用により繊維芽細胞から産生された。

TSLP産生に及ぼすステロイドの影響



TSLP の産生はステロイドホルモンにより容量依存的に抑制された。

TSLP産生に及ぼすIFN-γ, IL-10の影響



IFN-γにより TNF-αと IL-4 誘導性の TSLP は抑制されたが IL-10 では抑制されなかった

以上の解析を終了後に臨床応用にむけての検討を始める予定である。経皮的免疫療法が副反応なく効果を示すことが可能かどうかを、客観的に判断できる花粉曝露室を用いてスギ花粉症ボランティアに対し施行していく予定である。

（方法）

1　貼布部位にテープを貼り- 剥がす（tape-strippe）：６回

上記の部位に１回４８時間貼布

合計４回の貼布（１週間に１回、貼布前には tape-strippe）

２～４回目は自宅にて貼布

2　花粉曝露１日目、２日目（visit 2, 3）

花粉曝露室に２時間入室×２日

3　評価

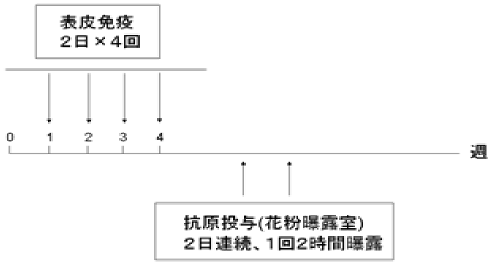
症状スコアの記載（曝露前から曝露終了後８時間）: VAS scale など

抗原曝露後のレスキュー薬の使用回数

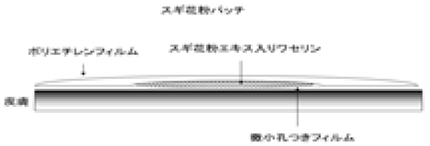
副反応の有無

a　皮膚貼布部位の発赤、硬結など

b　喘息、全身アナフィラキシー症状の誘発



花粉曝露室を用いた表皮免疫療法の検討



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０件）

〔学会発表〕（計２件）
1. 寺田哲也　鼻茸由来線維芽細胞から産生されるＴＳＬＰとそれにおよぼすステロイドの影響　日本鼻科学会総会　2013 9.29 福井

2. 寺田哲也　鼻茸由来線維芽細胞から産生されるＴＳＬＰとそれにおよぼすステロイドの影響　日本耳鼻咽喉科学会大阪地方連合会　2012 12.1 大阪

〔図書〕（計０件）

〔産業財産権〕
○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

６．研究組織
(1)研究代表者
寺田哲也（Terada Tetsuya）
大阪医科大学・医学部・講師
研究者番号：60343670