

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：15201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659796

研究課題名(和文)なぜ舌下免疫療法は有効なのか？ - マウスモデルでの免疫学的解析 -

研究課題名(英文)Mechanism of sublingual immunotherapy -experimental approach in murine model-

研究代表者

川内 秀之 (Kawauchi, Hideyuki)

島根大学・医学部・教授

研究者番号：50161279

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：舌下免疫療法の有用性とその機序を検討するため、Ovalbumin(OVA)とスギ花粉を抗原とした鼻症状の評価が可能なマウスアレルギー性鼻炎モデルを作成した。OVAならびにスギ花粉アレルゲンのT細胞エピートプを遺伝子導入したスギ花粉治療米を舌下投与したマウスでは、くしゃみ、鼻かきの回数は有意に減少した。血清中のアレルゲン特異的IgE価も低下した。頸部リンパ節のリンパ球におけるIL-10 mRNAの発現は有意に上昇し、IL-10の産生量も有意に増加していた。以上より、舌下免疫療法は頸部リンパ節のリンパ球における制御性T細胞のIL-10の産生能を亢進し、アレルギー反応を制御することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the mechanism of sublingual immunotherapy for allergic rhinitis, we have successfully constructed murine allergic rhinitis model with ovalbumin or cedar pollen as allergens. In this murine model, we demonstrated that sublingual immunotherapy at an induction phase actually attenuates nasal symptoms such as sneezing and nasal rubbing by downregulating allergen-specific IgE in sera. Moreover, allergen-specific regulatory T cells were induced in the cervical lymph node of mice sublingually immunized and these cells significantly produced IL-10 in an antigen-specific fashion.

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：耳鼻咽喉科学

キーワード：アレルギー性鼻炎 スギ花粉症 スギ花粉症治療米 舌下免疫療法 regulatory T cells IgE抗体

1. 研究開始当初の背景

鼻粘膜における型アレルギーであるアレルギー性鼻炎の新たな治療法として、舌下免疫療法が欧米ですでに臨床応用されており、日本でも現在治験の段階にある。舌下免疫療法では抗原を舌下粘膜組織へ滴下投与するため無痛で患者への負担が少なく、従来の注射型の減感作療法と比較してアナフィラキシーの発生頻度が低い点で優れている。また、制御性T細胞の誘導などを介して (Bohle. J. Allergy Clin. Immunol. 2007)、従来の注射型と遜色ないアレルギー治療効果が得られることが確認されている。しかし、舌下免疫療法は注射型に比べて約50~100倍もの抗原量を必要とし、現時点では安全性、経済性に問題点が残る。また、その作用メカニズムに関してもいまだ一定の見解は得られておらず、その一因として詳細な解析のための動物モデルが十分に確立していないことがあげられる。

2. 研究の目的

本研究では、抗原として卵白アルブミン(OVA)を用いたマウスアレルギー性鼻炎モデルに対する舌下免疫療法のマウスモデルを用いて、舌下免疫療法の有効性と機序に関する詳細な検討を行う。さらにスギ花粉アレルゲンのT細胞エピトープを遺伝子導入した花粉症治療米を用いて、スギ花粉症に対する舌下免疫療法の開発に向けた基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

3-1: 通年性アレルギー性鼻炎マウスモデル(OVA)での舌下免疫療法の症状抑制効果の証明とその機序の解析: 臨床応用に向けた検討課題として、舌下免疫療法の鼻症状抑制効果の証明と機序の解析を、1日2回のOVA点鼻のモデルにおいて行った。感作前と感作後での舌下投与の効果を検討するために、OVAをアレルゲンとした反応相における実験プロトコールを作成し、鼻症状抑制効果と鼻粘膜の病理学的検討を行

った。経口投与の実験結果と比較検討しながら、脾臓や頸部リンパ節さらには鼻粘膜の免疫担当細胞のアレルゲン特異的サイトカイン産生プロファイルについて検討した。

3-2: マウス用スギ花粉症治療米を用いた経口免疫療法あるいは舌下免疫療法の有効性の検討: 農水省生物資源研究所の高岩文雄氏より供与を受けたマウス用スギ花粉症治療米を用いて、上記のスギ花粉症マウスモデルでの経口免疫療法あるいは舌下免疫療法の有効性の検討を着手した。方法: Balb/cマウスを用いて、スギ花粉抽出物で全身感作を行う前に、2種類(3C7Cと99-3C)の治療米をは経口投与もしくは舌下投与する実験系を組み、誘導相における経口免疫療法と舌下免疫療法の有効性を検討した。点鼻局所投与後の観察項目としては、臨床症状としては、くしゃみ、鼻掻きをカウントした。

4. 研究成果

4-1: 通年性アレルギー性鼻炎マウスモデル(OVA)での舌下免疫療法の症状抑制効果の証明とその機序の解析: その結果、感作前に舌下投与を行った群のBALB/cマウスにおいて、舌下投与を行っていない対照群と比較して、鼻症状の抑制効果が著明となった。また、舌下投与を行った群においては、対照群に比べ、血清中の特異的IgE抗体価の低下と頸部リンパ節細胞のIL-10特異的mRNAレベルでの遺伝子発現の上昇が認められた。一方、Foxp3あるいはTGF-特異的mRNAレベルでの遺伝子発現には有意差は認めなかった。脾臓細胞では、IL-10特異的mRNAレベルでの遺伝子発現上昇は認められなかった。さらに、今回行った鼻粘膜の病理組織学的検討では、舌下投与を行っていな

い対照群に比べ、舌下投与を行い鼻症状の抑制効果の認められた群において、好酸球の浸潤の程度が低下していた。

4-2: マウス用スギ花粉症治療米を用いた経口免疫療法あるいは舌下免疫療法の有効性の検討: その結果、2種類の治療米を舌下投与した群のマウスでは、経口投与の群と同様に、誘導相でのくしゃみや鼻掻きの回数が有意に低下した。さらに、Glu-3Cpに cholera toxin -subunit (CTB)を結合したマウス用スギ花粉症治療米を用いて、CTBを結合していない米との間で、経口免疫あるいは舌下免疫療法の有効性を比較検討した。CTBを結合することにより、経口あるいは舌下で使用する治療米の濃度を少なくすることができることが証明された。

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 14 件)

1. Ichiro Morikura, Akemichi Murata, Hisashi Ohga, Kaoru Goda, Noriaki Aoi, Shingo Kataoka, Hideyuki Kawauchi: Japanese traditional medicine, Senn-kinn-naidaku-sann up-regulates Toll-like receptor 4 and reduces murine allergic rhinitis. *Rhinology, in press*
2. Emmanuel P. Prokopakis, Ioannis M. Vlastos, Berrylin J. Ferguson, Glenis Scadding, Hideyuki Kawauchi, Christos Georgalas, Nikolaos Papadopoulos, Peter W. Hellings : SCUAD and chronic rhinosinusitis. Reinforcing hypothesis driven research in difficult cases. *Rhinology* 52: 3-8, 2014
3. 屈銀斐、頓宮美樹、田村優希江、山田高也、青井典明、森倉一朗、淵脇貴史、川内秀之 : マウス舌下免疫療法モデルにおける頸部リンパ節IL-10産生制御性T細胞の誘導
耳鼻免疫アレルギー31(2) : 49-50, 2013
4. Noriaki Aoi, Yasuhiko SHIMIZU, Ichiro MORIKURA, Knanako SHIMIZU, Takafumi FUCHIWAKI, Yukie TAMURA, Keisuke SANO, Mitsuhiro KIMURA, Akemichi MURATA, Hideyuki KAWAUCHI: Oral Administration of Fexofenadine Hydrochloride can Attenuate Nasal Symptoms and Restore the Impaired Cognitive Function in School-Age Patients With Japanese Cedar Pollinosis. *Shimane J. Med. Sci.*, Vol.29 pp.79-86, 2013
5. Miki Tongu, Nanae Harashima, Hiroyuki Monma, Touko Inao, Takaya Yamada, Hideyuki Kawauchi, Mamoru Harada : Metronomic chemotherapy with low-dose cyclophosphamide plus gemcitabine can induce anti-tumor T cell immunity in vivo. *Cancer Immunology and Immunotherapy* 62:383-391, 2013
6. Emmanuel Prokopakis, Alexios Vardouniotis, Hideyuki Kawauchi, Glenis Scadding, Christos Georgalas, Peter Hellings, George Velegarakis, Livije Kalogjera : The pathophysiology of the hygiene hypothesis, *International Journal of Pediatric otorhinolaryngology* 77(2013)1065-1071
7. Yasuhiko Shimizu, Noriaki Aoi, Ichiro Morikura, Takafumi Fuchiwaki, Hideyuki Kawauchi: Effects of the Japanese traditional medicine Bu-zhong-yi-qi-tang on Th2 responses via up-regulation of

- Toll-like receptor 4, ARSR Journal 2013, 2013
8. Takaya Yamada, Miki Tongu, Kaoru Goda, Noriaki Aoi, Ichiro Morikura, Takafumi Fuchiwaki and Hideyuki Kawauchi: Sublingual immunotherapy induces regulatory function of IL-10 expressing CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells of cervical lymph nodes in murine allergic rhinitis model. J Allergy, 2012 Article ID 490905, 11 page doi:10.1155/2012/490905
 9. Miki Tongu, Nanae Harashima, Hiroyuki Monma, Touko Inao, Takaya Yamada, Hideyuki Kawauchi, Mamoru Harada: Metronomic chemotherapy with low-dose cyclophosphamide plus gemcitabine can induce anti-tumor T cell immunity in vivo. Cancer Immunol Immunother 2012 DOI:10.1007/s00262-012-1343-0
 10. Tsuyoshi Umehara, Kosuke Kato, Yong Sung Park, Erik P Lillehoj, Hideyuki Kawauchi, Kwang Chul Kim : Prevention of lung injury by Muc1 mucin in a mouse model of repetitive Pseudomonas aeruginosa infection. Inflammation research , 2012 DOI:10.1007/s00011-012-0494-y
 11. Yuichi Kurono, Kimihiro Okubo, Keiichi Ichimura, Tadao Enomoto, Hideyuki Kawauchi, Keisuke Masuyama, Minoru Goto, Harumi Suzaki, Yoshitaka Okamoto, Hiroshi Takenaka: Examination, diagnosis and classification for Japanese allergic rhinitis: Japanese guideline. Auris, nasus, larynx, 39(6) : 553-556, 2012
 12. Prokopakis E, Vlatos IM, Tsagournisakis M, Christodoulou P, Kawauchi H, Velegarakis G: Canalith repositioning procedures among 965 patients with benign paroxysmal positional vertigo. Audiol Neurotol, 2012 DOI: 10.1159/000343579
 13. Hideyuki Kawauchi, Kaoru Goda, Miki Tongu, Takaya Yamada, Noriaki Aoi , Ichiro Morikura, Takashi Fuchiwaki: Short review on sublingual immunotherapy for patients with allergic rhinitis: from bench to bedside. Advances in Oto-Rhino-Laryngology 01/2011; 72:103-6.
 14. Takafumi Fuchiwaki, Xun Sun, Kenjiro Fujimura, Hisakata Yamada, Kensuke Shibata, Hiromi Muta, Eckhard R Podack, Hideyuki Kawauchi, Yasunobu Yoshikai: The central role of CD30L/CD30 interactions in allergic rhinitis pathogenesis in mice. Eur J Immunol 2011.41:2947-2954.
- 〔学会発表〕(計 18 件)
1. 屈銀斐、田村優希江、山田高也、青井典明、森倉一朗、淵脇貴史、川内秀之 : マウスアレルギー性鼻炎モデルにおける舌下免疫療法の有用性と機序の検討 . 第 52 回日本鼻科学会総会・学術講演会 . 福井市,. 2013 年 9 月 28 日
 2. Hideyuki Kawauchi :Sublingual immunotherapy with a rice-based vaccine expressing cedar pollen multiple Tcell epitopes attenuates nasal symptoms in murine allergic rhinitis model with pollinosis.16th Asian Research Symposium in Rhinology, Tokyo, Japan August 29-31 , 2013.

3. 屈銀斐、田村優希江、青井典明、森倉一朗、淵脇貴史、川内秀之：マウス舌下免疫療法モデルにおける頸部リンパ節 IL-10 産生制御性 T 細胞の誘導 . 日本耳鼻咽喉科学会第 39 回中国四国地方部会連合学会，高知，2013 年 5 月 25 日
4. Yin Fei Qu, Miki Tongu, Yukie Tamura, Takaya Yamada, Noriaki Aoi, Ichiro Morikura, Takafumi Fuchiwaki, Hideyuki Kawauchi : Sublingual immunotherapy induces regulatory function of IL-10 expressing CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ T cells of cervical lymph nodes and actually attenuates nasal symptoms upon allergen exposure in murine allergic rhinitis model. 第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会，倉敷市，2013 年 2 月 8 日
5. 川内秀之，屈銀斐，頓宮美樹，山田高也，田村優希江，青井典明，淵脇貴史：スギ花粉症治療米の舌下投与によるマウススギ花粉症モデルでの症状抑制効果の検討 . 第 51 回日本鼻科学会総会・学術講演会，千葉市，2012 年 9 月 29 日
6. Kawauchi, H, Yamada T, Tongu M, Aoi, N, Takagi H, Takaiwa F: Sublingual immunotherapy with a rice-based edible vaccine expressing cedar pollen multiple T cell epitopes attenuates the nasal symptoms in murine allergic rhinitis model with pollinosis. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2012 Geneve, Switzerland, 17 June, 2012(poster)
7. Hideyuki Kawauchi: Sublingual immunotherapy with a rice-based edible vaccine expressing cedar pollen multiple T cell epitopes attenuates the nasal symptoms in murine allergic rhinitis model with pollinosis. 24th ERS – 31st ISIAN, Toulouse, France, 19 June, 2012 (poster)
8. Hideyuki Kawauchi: Mucosal immunity of the nasopharynx and its clinical application for downregulating allergic rhinitis. 24th ERS – 31st ISIAN, Toulouse, France, 19 June, 2012
9. Hideyuki Kawauchi: Mucosa immunity of nasopharynx and its clinical impact. 15th ASIAN RESEARCH SYMPOSIUM IN RHINOLOGY. Singapore, May 25, 2012
10. 淵脇貴史，孫遜，吉開泰信，川内秀之：アレルギー性鼻炎における CD30 ligand の役割 . 第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会，新潟市，2012 年 5 月 12 日
11. 淵脇貴史，森倉一朗，青井典明，吉開泰信，川内秀之：アレルギー性鼻炎における CD30 ligand の役割 . 第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会，大津市，2012 年 2 月 18 日
12. 川内秀之，山田高也，頓宮美樹，青井典明，森倉一朗，淵脇貴史，高岩文雄：マウス用スギ花粉治療米を用いた舌下免疫療法の有効性の検討 . 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会，東京都，2011 年 11 月 12 日
13. Hideyuki Kawauchi: Eosinophilic Rhinosinusitis in Japan. 6th International Consensus Conference

on Nasal Polyposis, Kiev, Ukraina,
2011.9.26

14. Hideyuki Kawauchi: The Role of Toll-like Receptors in the Sinonasal Allergic and Infective Inflammation. 6th International Consensus Conference on Nasal Polyposis, Kiev, 2011.9.26 (panel)
15. Hideyuki Kawauchi: Nasal Mucosal Immunology and its Clinical Impact –Experimental Skills for Rhinologists-. IRS & ISIAN 2011, Tokyo, 2011.9.22
16. Hideyuki Kawauchi: Mucosal Immunity of Nasopharynx and its Clinical Application for AR & Infections Disease. IRS & ISIAN 2011, Tokyo, 2011.9.21
17. Takafumi Fuchiwaki, Xun Sun, Noriaki Aoi, Yasunobu Yoshikai, Hideyuki Kawauchi: The Central Role of CD30L/CD30 Interactions in Allergic Rhinitis Pathogenesis in Mice. IRS & ISIAN 2011, Tokyo, 2011.9.21
18. 川内秀之, 青井典明: マウスアレルギー性鼻炎モデルを用いた舌下免疫療法の有効性と作用機序の検討. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会, 千葉市, 2011年5月14日(ポスター)

〔図書〕(計 2 件)

1. Hideyuki Kawauchi: Macrophage, Nasal Physiology and pathophysiology of Nasal Disorders, p77-88, Edited by Metin Onerci, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013
2. Hideyuki Kawauchi : Nasal Defensive Proteins: Distribution and a Biological Function, Nasal Physiology and pathophysiology of Nasal Disorders,

pp395-402, Edited by Metin Onerci,
Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川内 秀之 (KAWAUCHI Hideyuki)
島根大学・医学部・教授
研究者番号: 50161279

(2) 研究分担者

森倉 一郎 (MORIKURA Ichiro)
島根大学・医学部・助教
研究者番号: 00362939

(3) 研究分担者

青井 典明 (AOI Noriaki)
島根大学・医学部・講師
研究者番号: 80452556