

氏 名 岩崎 成仁

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 博士甲第761号

学位授与の要件 学位規則第4条第1項

学位授与年月日 平成28年 9月14日

学位論文題目 Allergen endotoxins induce T cell-dependent and non-IgE-mediated nasal hypersensitivity in mice

(抗原中のエンドトキシンはT細胞依存性・IgE非依存性の鼻炎症状を誘導する)

審査委員 主査 教授 杉原 洋行

副査 教授 平田 多佳子

副査 教授 後藤 敏

論文内容要旨

*整理番号	768	氏名 (ふりがな)	いわさき なるひと 岩崎 成仁
学位論文題目	Allergen endotoxins induce T cell-dependent and non-IgE-mediated nasal hypersensitivity in mice. (抗原中のエンドトキシンはT細胞依存性・IgE非依存性の鼻炎症状を誘導する。)		
<p>研究目的</p> <p>アレルギー性鼻炎では抗原特異的 IgE 抗体が産生され、肥満細胞・好塩基球上の IgE 抗体が抗原を介して架橋されることによりヒスタミンが放出され、くしゃみ、水様性鼻漏などの即時型反応が誘導される。しかし、アレルギー性鼻炎様症状を示す患者の中には、血清や鼻粘膜局所に抗原特異的 IgE 抗体が検出されない症例が存在する。本研究では、このような IgE 非依存性鼻炎症状の誘発機序について、抗原中に混入しアレルギー疾患との関連が報告されているエンドトキシン(LPS)の役割に着目して検討した。</p> <p>方法</p> <p>1) マウスモデル</p> <p>①卵白アルブミン(OVA)特異的アレルギー性鼻炎モデルと、②抗原特異的 Th2 細胞移入モデルの2種類のマウスモデルを用いた。</p> <p>①OVA 特異的アレルギー性鼻炎モデル</p> <p>マウスを OVA と水酸化アルミニウムにて感作後、4 日間 OVA 点鼻を行い、点鼻直後 10 分間のくしゃみ回数を測定した。</p> <p>②抗原特異的 Th2 細胞移入モデル</p> <p>OVA 特異的 T 細胞受容体(TCR)を発現する DO11. 10 マウスの脾臓からナイーブ CD4+T 細胞を採取し、<i>in vitro</i>において Th2 細胞への分化を誘導する条件で培養した。Th2 細胞へ分化後、マウスに移入し、移入 2 日目から 4 日間 OVA 点鼻を行い、点鼻直後 10 分間のくしゃみ回数を測定した。最終点鼻 24 時間後に、鼻粘膜組織をフローサイトメトリーにより解析した。</p> <p>2) 抗原</p> <p>抗原に混入したエンドトキシンの役割を検討するために、一定量のエンドトキシンを含有している Ec-OVA(100-207 EU/mg)とエンドトキシンを除去した Ef-OVA(1.74 EU/mg)の2種類を点鼻して比較検討した。</p> <p>3) マウス</p> <p>野生型(WT)、DO11. 10、IgE 受容体欠損(Fcεr1aKO)、TLR4 欠損(TLR4KO)、MyD88 欠損(Myd88KO) 肥満細胞・好塩基球欠損(Mas-TRECK)マウスを用いて実験を行った。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

結果

1) OVA 特異的アレルギー性鼻炎モデルを用いた検討において、Ef-OVA 点鼻は野生型マウスにおけるくしゃみ症状を誘発したが、IgE 受容体欠損マウスでは誘発されなかった。一方、Ec-OVA 点鼻は、IgE 受容体欠損マウスでも野生型マウスと同様のくしゃみ症状を誘発した。

2) IgE 非依存性くしゃみにおける、抗原特異的 Th2 細胞の役割を検討するため、抗原特異的 Th2 細胞移入モデルを用いた。野生型マウスに Th2 細胞を移入し Ec-OVA 点鼻を行うと、点鼻 2 日目よりくしゃみ症状が誘発された。鼻粘膜組織の解析では、DO11.10TCR を発現した移入 Th2 細胞の浸潤が確認された。また、IgE 受容体欠損マウスに Th2 細胞を移入し、Ec-OVA 点鼻を行うと、野生型マウスと同様のくしゃみ症状が誘発された。しかし、野生型マウスに Th2 細胞を移入し、Ef-OVA 点鼻を行ってもくしゃみ症状は誘発されなかった。

3) このくしゃみ症状が、LPS の受容体である Toll-like receptor 4 (TLR4) を介する反応であるか、TLR4 欠損マウスとその下流のアダプター分子である Myd88 欠損マウスを用いて検討した。野生型マウスと TLR4 欠損マウス、Myd88 欠損マウスに Th2 細胞を移入し、Ec-OVA 点鼻を行った。その結果、TLR4 欠損マウス、Myd88 欠損マウスではくしゃみ症状が誘発されなかった。

4) 抗原とエンドトキシンがどのように関連してくしゃみを誘導するか検討した。野生型マウスに Th2 細胞を移入し、LPS のみを 3 日間点鼻しても、くしゃみ症状は誘発されなかった。しかし、Ef-OVA を 2 日間点鼻し、鼻粘膜において Th2 細胞が抗原を介して活性化した状態で、3 日目に LPS のみを点鼻すると、Ec-OVA 点鼻と同様のくしゃみ症状が誘発された。

5) ヒスタミンの関与を検討するため、抗ヒスタミン薬であるジフェンヒドラミンを用いて検討した。野生型マウスに Th2 細胞を移入し、Ec-OVA 点鼻を行う 90 分前にジフェンヒドラミンを腹腔内に投与すると、くしゃみ症状の誘発が抑制された。

6) ヒスタミンの産生細胞として、肥満細胞・好塩基球の関与について検討した。肥満細胞・好塩基球欠損マウスに Th2 細胞を移入し、Ec-OVA 点鼻を行うと肥満細胞・好塩基球欠損マウスでも野生型マウスと同様のくしゃみが誘導された。

7) 次に、マクロファージの関与を検討した。野生型マウスに Th2 細胞を移入し、3 日目の点鼻 6 時間後にクロドロン酸内包リポソームを腹腔内に投与してマクロファージを除去し、4 日目のくしゃみ回数を検討した。マクロファージを除去したマウスではくしゃみ症状の誘発が抑制された。

考察

鼻粘膜において、抗原特異的 Th2 細胞が活性化した状態では、エンドトキシンを引き金とした IgE 非依存性即時型反応(くしゃみ)が誘導されることが明らかになった。この反応にはヒスタミンが関与するが、IgE を介した即時型反応とは異なり、肥満細胞・好塩基球ではなく、マクロファージが関与していることが示唆された。

結論

本研究から、エンドトキシンを引き金とした新たな I 型過敏症様反応の存在が示された。過去に報告されていない新規機序であり、鼻炎症状の病態の理解に寄与すると考えられる。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	768	氏名	岩崎 成仁
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) ※明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと</p> <p>本論文では、アレルギー性鼻炎の症状がありながら、IgE が検出できない、IgE 非依存性鼻炎の症状誘発機序を、抗原中に混入してアレルギーとの関連が注目されているエンドトキシンのかかわりの面から検討している。卵白アルブミン (OVA) を抗原とした能動免疫系と抗原特異的 Th2 細胞移入による受動免疫系に、エンドトキシン含有または除去 OVA の点鼻を行い、くしゃみの回数を計測する方法を、IgE 受容体欠損マウス、Toll-like receptor 4 またはその下流分子 MyD88 の欠損マウス、肥満細胞・好塩基球欠損マウスと野生型マウスに用いて、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) アレルギー性鼻炎症状 (くしゃみ) をきたす病態には、IgE 経路によるもの以外に非 IgE 経路によるものがある。2) 非 IgE 経路は、エンドトキシン受容体である TLR4 を介することと、抗原特異的活性化 T 細胞の存在が必要である。3) 非 IgE 経路でのくしゃみ症状もヒスタミンを介するが、その産生細胞は肥満細胞・好塩基球ではなくマクロファージであることが示唆された。 <p>本論文はエンドトキシンを引き金とした新たな I 型過敏症様反応の存在を初めて示し、鼻炎症状の背景にある病態について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 589字)</p> <p style="text-align: right;">(平成28年 8月30日)</p>			