

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 森永 真実子

食物アレルギーの治療として、原因食物の摂取を避ける除去法や薬物療法が主に行われているが、これらは対症療法にすぎず、根本的な治療にはならない。そこで、アレルゲンを生体に曝露することで、アレルゲンへの免疫応答を変化させ、アレルギー症状を寛解させる、アレルゲン免疫療法 (allergen immunotherapy; AIT) の研究が進んでおり、皮膚における投与によりアレルギー症状を緩和する、経皮免疫療法 (epicutaneous immunotherapy; EPIT) が報告され始めている。本論文は、新規 EPIT モデルの確立とその作用機序の解析を行い、経皮および経口のアレルゲン曝露に対する免疫応答を制御する機構の解明およびその応用に有用な科学的知見を得ることを目的としており、緒言と続く第 1 章から第 3 章および総合討論からなる。

背景と目的について論じた緒言に続き、第 1 章では BALB/c マウスを用いた食物アレルギーモデルに対して、抗原感作後に継続的に卵白アルブミン (OVA) を経皮投与することで、卵白食摂食時のアレルギー症状を抑制する EPIT モデルを確立している。まず、前処理を行わない、健全な皮膚からのアレルゲン投与法を検討している。マウスを OVA に感作した後、耳皮膚に蛍光標識 OVA 溶液を塗布したところ、蛍光標識 OVA が健全な皮膚において CD11c⁺ 細胞へと取り込まれ、所属リンパ節 (DLN) へと輸送されることが示唆された。続いて、EPIT によるアレルギー症状への効果を検討した。BALB/c マウスを同様に抗原に感作し、EPIT として、マウスの耳皮膚に OVA 溶液を繰り返し経皮投与した。EPIT 期間終了後、卵白食を自由摂食させて食物アレルギー症状を誘導した。OVA 溶液で EPIT を行なった群では、溶媒のみを塗布した対照群に比べ、卵白食摂食時の体重減少および直腸温の降下が有意に緩和された。また、T 細胞媒介性腸炎において、絨毛長の短縮が有意に緩和され、OVA 特異的 IgE の産生は EPIT によって有意に抑制された。また、免疫反応の抑制には Foxp3 分子を発現する制御性 T 細胞 (Treg) が機能することが知られているが、EPIT 群では、脾臓 (SPL)、腸間膜リンパ節 (MLN) において CD4⁺T 細胞の Foxp3 発現頻度が有意に上昇した。EPIT 期間直後の DLN 由来 CD4⁺T 細胞を OVA 刺激下で培養すると、インターロイキン-4 の産生が誘導され、このとき同時に、OVA 特異的な Treg が誘導されることが示唆された。以上、本章では、健全な皮膚への OVA 投与によって、卵白食摂食時のアレルギー症状が改善する、新しい EPIT モデルを確立することに成功している。本 EPIT モデルでは、OVA に感作したマウスへの OVA

経皮投与により、DLNにおいて局所的にOVA特異的Th2細胞応答が誘導され、それに伴って、OVA特異的Tregが誘導された。続いて、卵白食を自由摂食させて食物アレルギー症状を誘導すると、SPLおよびMLNにおいてTregの割合が増加し、腸炎症を含む全身のアレルギー症状がEPITにより緩和することが示唆された。

第2章では、局所的な免疫応答が全身の反応に影響する機構の解析を行っている。皮膚DLN局所における免疫応答が全身性のアレルギー症状の緩和に必要であるか解析するため、EPIT期間後に、DLNを切除し、続いて卵白食を摂食させてアレルギー症状を誘導した。DLNを切除しても、体重減少の緩和、卵白食摂食時のOVA特異的IgEレベルの低下は維持された。一方で、DLNを切除すると、T細胞媒介性腸炎の改善、SPL、MLNにおけるFoxp3発現頻度の上昇が失われた。このことから、T細胞による症状の抑制には、DLN由来のT細胞の寄与が大きいことが示唆された。

第3章では、EPITによりDLN局所に誘導された免疫応答が全身のアレルギー症状に影響するメカニズムを細胞動態から解明するため、KikGRマウスを用いて検討している。KikGRマウスは、紫色光を照射することで波長が変化する蛍光タンパク質 Kikume Green-Red (KikGR)を全身の細胞で発現しており、生体内における細胞の移動を追跡することができる。このKikGRマウスとBALB/cマウスを交配し作製したマウスをOVAに感作し、EPIT操作を行い、DLNに紫色光照射してDLN細胞を標識した後、卵白食を摂食させて、DLN細胞の動態と表現型を解析している。その結果、EPITによりDLN局所で誘導されたFoxp3⁺CD62L^{low}細胞が、卵白食摂食時に炎症を起こしたMLN、腸管組織へと移動し、過剰応答を抑制するTregとして機能することを示唆する結果が得られている。

続いて総合討論では、本研究の意義と展望について論じている。

以上、本論文では、食物アレルギーを抑制するEPITモデルを作製し、本モデルにおいて、この局所応答-全身症状の関係に着目して機構を解析し、アレルギー経皮投与により局所応答を誘導されたT細胞が食物アレルギー発症時にMLNへと移動し症状の抑制に寄与している可能性を示した。本研究で得られた知見は、AITにおけるアレルギー投与部位の免疫応答とアレルギー発症部位の免疫応答をつなぐシステムの解明に寄与しうるもので、これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。