

148. エンドトキシンによる IgE 非依存性アレルギー応答の研究

松下 一史

兵庫医科大学 先端医学研究所 アレルギー疾患研究部門

Key words : エンドトキシン, アレルギー性鼻炎, Th2 細胞, 単球・マクロファージ

緒言

I 型過敏症はアレルギー疾患の病態において中心となる反応である¹⁾。抗原に感作されることで産生された抗原特異的 IgE が肥満細胞および好塩基球の IgE 受容体 (Fc ϵ RI) に結合し、この IgE に抗原が結合することにより肥満細胞・好塩基球の脱顆粒が誘導される。肥満細胞・好塩基球の脱顆粒により放出されたヒスタミンをはじめとするケミカルメディエーターによって、アレルギー性鼻炎であればくしゃみや水様性鼻漏といった即時型反応が誘導される。このようにアレルギー疾患における IgE の重要性は明らかであるが、様々なアレルギー様症状が IgE 非依存性に誘導されることも知られている^{2,3)}。抗 IgE 抗体療法は本邦では重症喘息に適應であり、アレルギー性鼻炎の治療においても奏功を示す。しかし、アレルギー性鼻炎と診断される患者のすべてに抗 IgE 抗体が有効なわけではなく⁴⁾、IgE 以外のアレルギー性鼻炎誘導因子の存在が示唆される。また、鼻炎症状を示すが血中もしくは鼻局所においてアレルギー特異的 IgE が検出されない場合は非アレルギー性鼻炎と診断され、多くの場合その原因は特定されない²⁾。この非アレルギー性鼻炎患者の中には鼻粘膜への好酸球や肥満細胞の集積が認められ、Th2 応答の活性化が疑われるケースも報告されている⁵⁾。我々はこのような IgE を介さないアレルギー様症状誘導因子ならびにそのメカニズムについての研究を行った⁶⁾。

リポポリサッカライド (LPS; エンドトキシンとも呼ばれる) はグラム陰性菌の細胞壁成分であり TLR4 を受容体として免疫応答を惹起する⁷⁾。LPS はアジュバントとしてアレルギーへの感作を誘導するほか、アレルギー疾患の効果相においてもその関与が示唆されている。本研究において我々は、アレルギーに含まれるエンドトキシンが IgE 非依存性アレルギー症状誘導因子となりうる可能性について検討を行った⁶⁾。

方法

本研究では能動免疫および受動免疫の二つのアレルギー性鼻炎モデルを用いて研究を行った。

1. 能動免疫モデル

マウスに卵白アルブミン (OVA) /アラムを腹腔内投与することで免疫し、OVA を点鼻することで鼻炎症状を誘発した。

2. 受動免疫モデル

OVA 特異的 Th2 細胞を *in vitro* で培養し、マウスに静脈注射により移入した。このマウスに OVA を点鼻することで鼻炎症状を誘発した。

3. 鼻炎症状の測定

いずれのモデルにおいても OVA 点鼻後 10 分間のくしゃみ反応の回数を計測し、鼻炎症状の強さを測定した。点鼻した OVA はエンドトキシンを含む OVA もしくはエンドトキシンを含まない OVA を用いることでくしゃみ反応の誘導におけるエンドトキシンの役割を検討した。

結果

まず能動免疫モデルを用いてエンドトキシンを含む OVA が IgE 非依存性に鼻炎症状を誘発できるかを検討した。エンドトキシンを含まない OVA は野生型マウスではくしゃみ反応を誘導したのに対して、IgE の受容体である $Fc\epsilon RI$ を欠損したマウスではくしゃみ反応を誘導できなかった。一方でマウスにエンドトキシンを含む OVA を点鼻した場合、野生型マウスと $Fc\epsilon RI$ 欠損マウスは同様にくしゃみ反応が誘導された (図 1)。したがってエンドトキシンを含む抗原は IgE 依存的な応答に加え IgE 非依存的なアレルギー様応答を引き起こすことがわかった。このエンドトキシンを介した反応を誘導するのに Th2 細胞の活性化が必要なのか検討する目的で、受動免疫モデルでの検討を行った。OVA 特異的 Th2 細胞を移入したマウスではエンドトキシンを含む OVA の点鼻でくしゃみ反応が誘導されたのに対して、Th2 細胞を移入しなかったマウスまたは OVA 特異的ナイーブ CD4 陽性 T 細胞を移入したマウスではくしゃみ反応は誘導されなかった (図 2)。この受動免疫モデルでのくしゃみ反応はレシピエントマウスとして $Fc\epsilon RI$ 欠損マウスや Rag2 欠損マウスを用いても誘導されたことから IgE を含む抗原特異的な抗体産生は関与しないことを確認している。

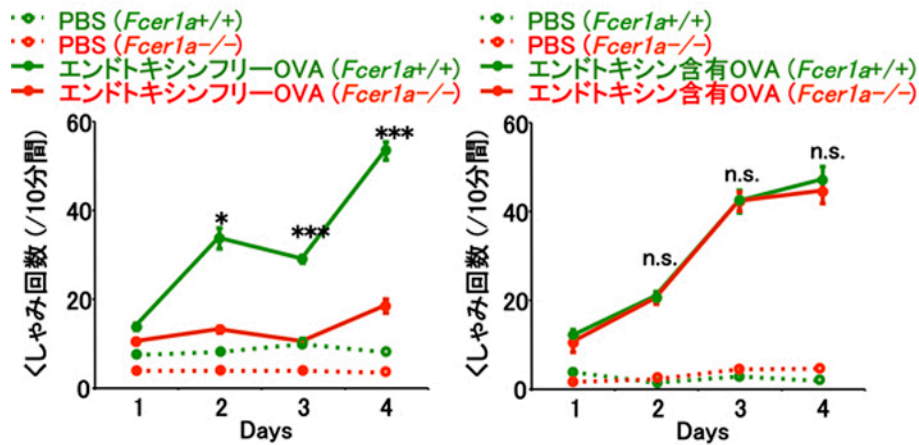


図 1. エンドトキシン含有抗原は IgE 非依存性にくしゃみ反応を誘導する

(左) 野生型マウスもしくは $Fc\epsilon RI$ 欠損マウスに OVA を感作した後、4 日間 PBS もしくはエンドトキシンを含まない OVA を点鼻した。(右) 野生型マウスもしくは $Fc\epsilon RI$ 欠損マウスに OVA を感作した後、4 日間 PBS もしくはエンドトキシンを含む OVA を点鼻した。いずれも OVA 点鼻後 10 分間のくしゃみ回数を測定した。

Two-way ANOVA. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, n.s.: not significant.

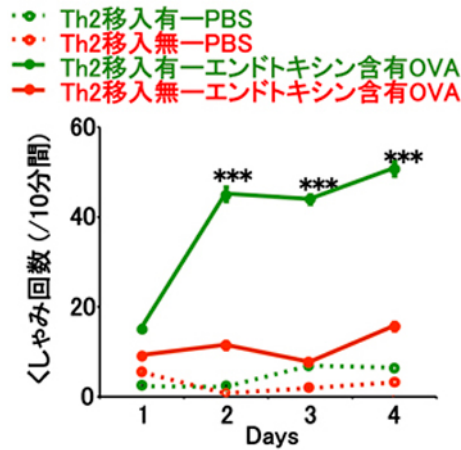


図2. エンドトキシン含有抗原によるくしゃみ反応の誘導には抗原特異的 Th2 細胞が必要である

野生型マウスに OVA 特異的 Th2 細胞を移入し、2 日後から 4 日間連続でエンドトキシンを含む OVA を点鼻した。OVA 点鼻後 10 分間のくしゃみ回数を測定した。Two-way ANOVA. ***P < 0.001.

本鼻炎症状誘導の直接的なトリガーがエンドトキシンであるかどうかを検討するために、OVA 特異的 Th2 細胞を移入したマウスに①LPS を 3 日間点鼻、②エンドトキシンを含む OVA を 3 日間点鼻、③エンドトキシンを含まない OVA を 2 日間点鼻し、3 日目は LPS を点鼻する群に分け、3 日目のくしゃみ反応を検討した。その結果、①LPS を 3 日間点鼻してもくしゃみ反応は誘導されなかったが③エンドトキシンを含まない OVA を 2 日間点鼻したマウスは、3 日目に LPS の点鼻によって②エンドトキシンを含む OVA を 3 日間点鼻したマウスと同等にくしゃみ反応が誘導された (図 3)。したがって、本鼻炎反応の直接的なトリガーはエンドトキシンであり、鼻局所での抗原特異的な Th2 細胞の活性化とそれに続くエンドトキシンの曝露によって IgE 非依存的な鼻炎症状が誘導されることがわかった。

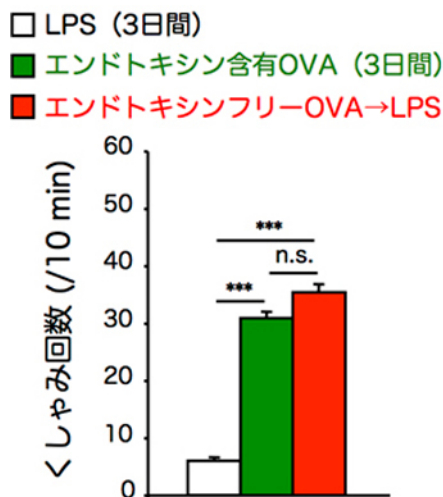


図3. エンドトキシン含有抗原によるくしゃみ反応はLPSが引き金となって誘導される

野生型マウスに OVA 特異的 Th2 細胞を移入し、3 日間連続で LPS を点鼻する群、3 日間連続でエンドトキシンを含む OVA を点鼻する群、2 日間エンドトキシンを含まない OVA を点鼻し 3 日目に LPS を点鼻する群に分けた。3 日目の OVA もしくは LPS 点鼻 10 分間のくしゃみ回数を測定した。One-way ANOVA. ***P < 0.001, n.s.: not significant.

エンドトキシン誘導性の鼻炎が IgE 依存性の鼻炎同様に肥満細胞-ヒスタミンを介して誘導されているのか検討を行った。抗ヒスタミン薬であるジフェンヒドラミンならびにフェキソフェナジンをマウスに投与したところ、エンドトキシンを含む OVA の点鼻によって誘導されるくしゃみ反応が抑制されたことから、エンドトキシン誘導性の鼻炎にもヒスタミンの産生が必須であることが示された。本鼻炎症状への肥満細胞の関与を検討するために、Mas-TRECK マウス（ジフテリアトキシンの投与により肥満細胞および好塩基球を除去できる）を用いて検討したところ、Mas-TRECK マウスでも野生型マウスと同様に、エンドトキシンを含む OVA の点鼻によってくしゃみ反応が誘導された（図 4）。単球・マクロファージもヒスタミンを生成しうることが知られている。そこでエンドトキシン誘導性の鼻炎における単球・マクロファージの関与を調べるために、クロドロン酸内胞リポソームを用いて単球・マクロファージを除去したマウスで検討を行った。その結果、クロドロン酸内胞リポソームを投与することでエンドトキシンを含む OVA によって誘導されるくしゃみ反応が著しく低下し、本反応には単球・マクロファージが重要な役割を果たしていることが明らかとなった（図 4）。

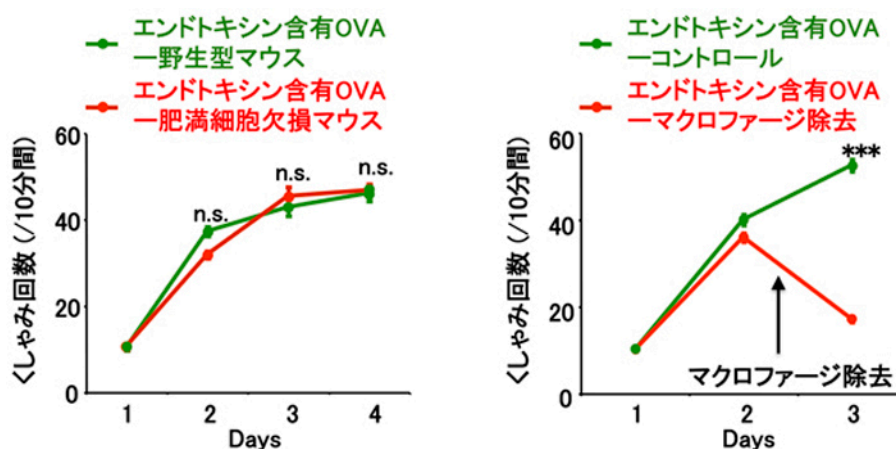


図 4. エンドトキシン誘導性のくしゃみ反応には単球・マクロファージが関与する

(左) 野生型マウスもしくは Mas-TRECK マウスにジフテリアトキシンを注射し、OVA 特異的 Th2 細胞を移入、エンドトキシンを含む OVA を 4 日間連続で点鼻した。(右) 野生型マウスに OVA 特異的 Th2 細胞を移入しエンドトキシンを含む OVA を 3 日間連続で点鼻した。2 日目の点鼻 6 時間後にクロドロン酸内胞リポソームを投与することで単球・マクロファージを除去した。いずれも OVA 点鼻後 10 分間のくしゃみ回数を測定した。Two-way ANOVA. ***P < 0.001, n.s.: not significant.

考 察

以上の結果より、抗原特異的に活性化された Th2 細胞は IgE-肥満細胞を介したアレルギー症状の誘導に関与するのに加え、単球・マクロファージを活性化しエンドトキシン誘導性にヒスタミンを放出させることでもアレルギー症状の誘導に関与しているのではないかと考えられる⁶⁾。本反応はこれまでに全く知られていなかった新規の I 型過敏症様症状であり、アレルギー性鼻炎における IgE 非依存性の鼻炎症状誘導機構ならびに非アレルギー性鼻炎の中の鼻炎症状誘導機構の一つとなっているのではないかと考えられる。さらに、新生児消化管アレルギーをはじめ³⁾、IgE 非依存性アレルギー様症状は鼻以外の臓器でも起こることが知られており、そのようなアレルギー様症状も類似の機構で誘導されるのか今後検討していきたい。

共同研究者

本研究は兵庫医科大学先端医学研究所アレルギー疾患研究部門の岩崎成仁ならびに善本知広教授とともに行った研究である。

文 献

- 1) Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med.* 2012 May 4;18(5):693-704. doi: 10.1038/nm.2755.
- 2) Bernstein JA. Nonallergic rhinitis: therapeutic options. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013 Aug;13(4):410-6. doi: 10.1097/ACI.0b013e3283630cd8.
- 3) Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Mar;127(3):685-8.e1-8. doi: 10.1016/j.jaci.2011.01.019.
- 4) Humbert M, Boulet LP, Niven RM, Panahloo Z, Blogg M, Ayre G. Omalizumab therapy: patients who achieve greatest benefit for their asthma experience greatest benefit for rhinitis. *Allergy.* 2009 Jan;64(1):81-4. doi: 10.1111/j.1398-9995.2008.01846.x. Epub 2008 Nov 28.
- 5) de Corso E, Battista M, Pandolfini M, Liberati L, Baroni S, Romanello M, Passali GC, Fetoni AR, Sergi B, Di Nardo W, Paludetti G. Role of inflammation in non-allergic rhinitis. *Rhinology.* 2014 Jun;52(2):142-9. doi: 10.4193/Rhin.
- 6) Iwasaki N, Matsushita K, Fukuoka A, Nakahira M, Matsumoto M, Akasaki S, Yasuda K, Shimizu T, Yoshimoto T. Allergen endotoxins induce T-cell-dependent and non-IgE-mediated nasal hypersensitivity in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Jan;139(1):258-268.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.023.
- 7) Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, Ogawa T, Takeda Y, Takeda K, Akira S. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol.* 1999 Apr 1;162(7):3749-52.