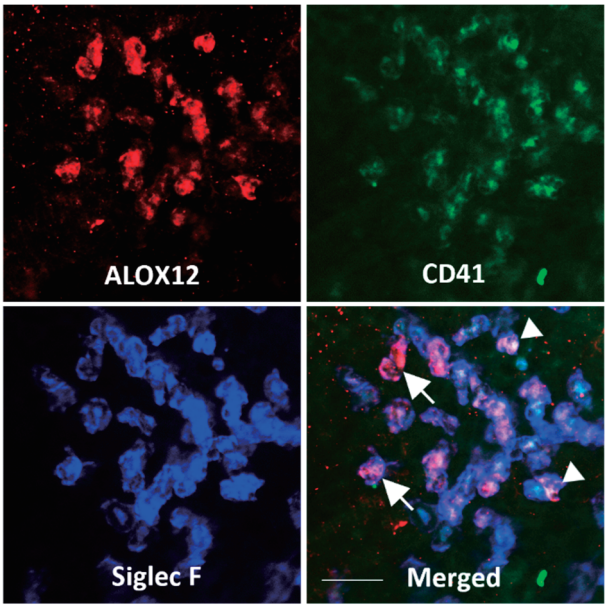
132　アレルギー性鼻炎の重症化機構の解明	中村　達朗

【目的】アレルギー性鼻炎は、花粉やハウスダストなどの環境抗原が原因で鼻腔内にアレルギー性炎症が生じる疾患である。即時相炎症反応とその数時間後に引き起こされる遅発相炎症反応により病態が進行する。特に、遅発相の増強・遷延化が病態の重症化に大きく寄与する。脂質メディエーターは、免疫細胞を連鎖的に活性化して増幅し、炎症の極性やその強度を規定する役割をもつ。アレルギー性鼻炎においては主にマスト細胞から産生されるプロスタグランジン D_2やロイコトリエン C_4が血管透過性の亢進や好酸球浸潤を誘発して病態の悪化に寄与することはよく知られている。近年、遅発相の鼻粘膜に浸潤するマスト細胞以外の免疫細胞も脂質メディエーターを産生することが明らかになってきた。実際、それらの免疫細胞に由来する脂質メディエーターの代謝物がアレルギー性鼻炎患者の鼻汁や尿中で検出されることが報告されている。しかし、遅発相を機能的に促進するメディエーターの種類と役割は未だ不明である。本研究は、遅発相で病態を進行させる脂質メディエーターを特定してその役割を検討することを目的とした。

【方法】卵白由来アルブミンを腹腔内投与および経鼻投与することでアレルギー性鼻炎モデルマウスを作製した。鼻炎モデルマウスの鼻粘膜組織を用いて鼻粘膜に浸潤する好酸球およびT細胞、粘液の過剰分泌などの遅発相反応を評価した。また、所属リンパ節における2型T細胞（Th2）分化程度をフローサイトメトリーにて検討した。一部の検討では12-ヒドロキシエイコサテトラ酸（12-HETE）合成酵素（ALOX12）の阻害薬（40 mg/kg）および抗CD41抗体（1 mg/kg）を腹腔内投与した。

【結果】遅発相症状を発症したアレルギー性鼻炎モデルマウスの鼻腔洗浄液中では12-HETEの濃度が著しく上昇していた。ALOX12の阻害は、遅発相反応をほぼ完全に抑制した。ここに12-HETEを経鼻投与すると遅発相反応の抑制がほぼ完全に解除された。加えて、アレルギー性鼻炎の増悪と維持を担う所属リンパ節におけるTh2分化もALOX12阻害薬により抑制され、その抑制は12-HETEの経鼻投与により解除された。遅発相の鼻粘膜では、好酸球もしくは血小板がALOX12を発現していた（下図）。最後に、血小板数を減少させた状態で遅発相反応を検討したところ、好酸球およびT細胞の鼻粘膜浸潤が抑制された。以上の結果から、アレルギー性鼻炎の遅発相では好酸球もしくは血小板から産生された12-HETEが鼻粘膜への免疫細胞浸潤や粘液の過剰分泌、さらには所属リンパ節におけるTh2分化を促進することで炎症反応を増悪していることが示唆された。

鼻粘膜におけるALOX12発現



132. アレルギー性鼻炎の重症化機構の解明

中村　達朗

*東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用動物科学専攻 放射線動物科学研究室

Key words：アレルギー性鼻炎，遅発相，脂質メディエーター

緒　言

アレルギー性鼻炎は、花粉やハウスダストなどの環境中抗原が原因で鼻腔内にアレルギー性炎症が生じる疾患である。日本では国民の約 4 割が、世界でも人口の約 3 割が罹患すると推定されている。病態の慢性・重症化は睡眠障害などにより労働生産性の低下を招き、その経済損失は年間 4 兆 5,000 億円を超えると試算されている。

アレルギー性鼻炎は、抗原刺激直後にマスト細胞依存的に生じる即時相炎症反応とその数時間後に好酸球により引き起こされる遅発相炎症反応により発症する。特に、遅発相で起こる所属リンパ節および鼻粘膜局所の 2 型 T 細胞（Th2）の分化・成熟は、好酸球浸潤を促進して遅発相の炎症反応を増強・遷延化することで、病態の重症化に大きく寄与する。

脂質メディエーターは、細胞膜成分である多価不飽和脂肪酸を基質に、シクロオキシゲナーゼやリポキシゲナーゼなどの酸化酵素により合成される生理活性分子である。刺激後数分の間に種々のメディエーターが局所で分泌され、それぞれに特異的な受容体を介して近傍にある細胞を連鎖的に活性化もしくは沈静化していく。すなわち、脂質メディエーターは炎症の極性やその強度を規定する役割をもつ分子といえる。アレルギー性鼻炎では、マスト細胞から分泌されるプスタグランジン D_2（PGD_2）とロイコトリエン C_4（LTC_4）が T 細胞や好酸球の浸潤を促すことが報告されており、脂質メディエーターはこれまで“遅発相炎症反応の準備を整える分子”として認識されてきた。

近年、質量分析装置を用いた脂質解析技術の発達から、遅発相炎症反応を誘起する好酸球や T 細胞などの免疫細胞も脂質メディエーターを産生することがわかってきた。したがって、脂質メディエーターは遅発相においても炎症反応の開始と増幅を担う上流のシグナル分子であり、その質と量を規定している可能性がある。しかし、その種類と役割は未だ明らかになっていない。

本研究は、遅発相炎症の増悪を担う脂質メディエーターを探索してその産生源と役割を解明することで、アレルギーの重症化における新規機構を見出すこと、また、その産生源を標的とした新しい治療法を提案することを目的とした［1］。

方法および結果

1. 遅発相に増加する脂質メディエーターの探索

（1）遅発相反応をともなうアレルギー性鼻炎マウスモデルの作製

卵白由来アルブミン（Ovalbumin：OVA）を 2 週間おきに 2 回腹腔内投与して感作し、さらに 2 週間後から OVA を連日経鼻投与して鼻炎症状を惹起した。経鼻投与直後から 10 分間、即時反応の典型的な症状であるくしゃみの回数を計測した結果、くしゃみ回数は経鼻投与の回数に依存して増加した。一方、遅発相反応で生じる鼻粘膜への好酸球浸潤は、OVA の経鼻投与 5 回目に投与前と比較して有意に増加した。以上の結果から、感作後に OVA を 5 回点鼻することにより遅発相反応を伴うアレルギー性鼻炎モデルマウスを作製できた。

*現在の所属：酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医薬理学ユニット

（2）遅発相反応に増加する脂質メディエーターの探索

OVA を点鼻する前と 5 回点鼻した 6 時間後に鼻腔洗浄液を回収した。158 種類の脂質メディエーターを測定可能な質量分析装置の解析プログラム（メソッドパッケージ脂質メディエーターver.2、島津）を用いて、鼻腔洗浄液中に含まれる脂質メディエーターを測定した。その結果、12-ヒドロキシエイコサテトラサン酸（12-HETE）が遅発相において顕著に増加していることがわかった。これ以降、12-HETE に着目して検討を進めることとした。

2. 遅発相に増加する脂質メディエーターの役割解明

12-HETE はアラキドン酸から 12-リポキシゲナーゼ（ALOX12）により合成される。ALOX12 の阻害薬を OVA 誘導性鼻炎モデルマウスに腹腔内投与して遅発相反応に与える影響を検討した。遅発相の鼻粘膜における好酸球および T 細胞浸潤、粘液分泌の亢進、鼻粘膜の肥厚（図 1）を強く抑制したことから、ALOX12 代謝物が遅発相炎症を促進することが示唆された。ALOX12 は、12-HETE だけでなく 12-HEPE など他の脂質メディエーターも合成する。そこで、ALOX12 阻害薬により抑制された遅発相反応に対する 12-HETE の影響を検討した。12-HETE は質量分析による解析結果から計算された遅発相反応時に鼻腔内で産生される平均濃度を点鼻投与した。12-HETE は ALOX12 により抑制された鼻粘膜への好酸球および T 細胞浸潤、粘液の過剰分泌、鼻粘膜の肥厚（図 1）をほぼ完全に解除した。以上の結果から、12-HETE は遅発相に合成され炎症反応を促進する脂質メディエーターであることが明らかとなった。

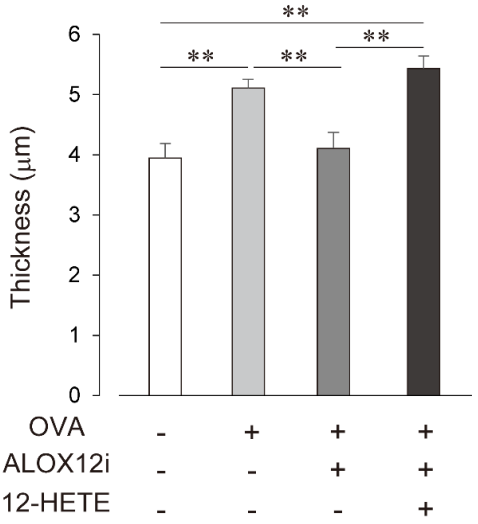


図 1. 12-HETE が鼻粘膜の厚さに与える影響

OVA 経鼻投与後に生じる遅発相反応である鼻粘膜の厚さをヘマトキシリン&エオジン染色した鼻組織の薄切切片を用いて計測した。ALOX12i：ALOX12 阻害薬。**P＜0.01（Turkey の検定）。

鼻粘膜局所や所属リンパ節において、インターロイキン 4（IL-4）を代表とする Th2 サイトカインを産生する T 細胞が増加する Th2 分化の促進もアレルギー性鼻炎を重症化する。そこで、12-HETE が所属リンパ節における Th2 分化に与える影響を検討した。OVA の 5 回点鼻投与後に所属リンパ節から磁気細胞分離により T 細胞を単離して、フローサイトメトリーを用いて IL-4 を産生する CD4 陽性の T 細胞（IL-4$^+$CD4$^+$T cell）数を計測した（図 2）。OVA の点鼻はリンパ節における IL-4$^+$CD4$^+$T cell の数を増加し（図 2、2 列目）、ALOX12 の阻害薬はこの増加を有意に抑制した（図 2、3 列名）。12-HETE の追加投与はこの抑制をほぼ完全に解除した（図 2、4 列目）。以上の結果から、12-HETE は遅発相反応に加えて、所属リンパ節における Th2 分化も促進することが明らかとなった。

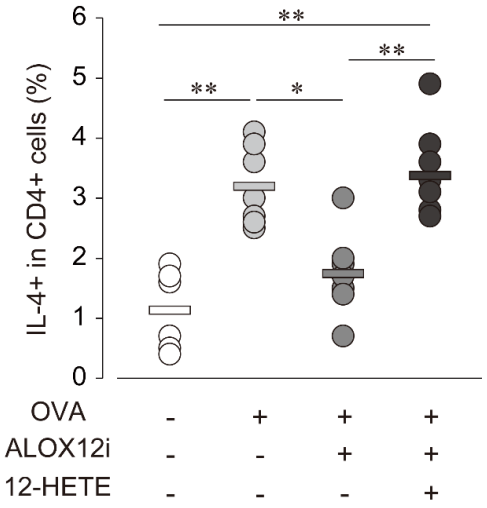


図 2. 12-HETE が所属リンパ節の Th2 分化に与える影響

OVA 経鼻投与後のマウス頸部リンパ節における CD4 陽性細胞に占める IL-4 陽性細胞の割合を示している。ALOX12i：ALOX12 阻害薬。*P＜0.05、**P＜0.01（Turkey の検定）。

3. 遅発相に増加する脂質メディエーターの産生源の特定

遅発相にある鼻粘膜を摘出し、ホールマウント蛍光免疫染色で ALOX12 の発現を検討した。ALOX12 は主に Siglec F 陽性好酸球に陽性を示した（図 3 矢印）。また、CD41 に陽性を示す部位でも ALOX12 陽性像が観察され、それは Siglec F 陽性細胞上で観察された（図 3 矢頭）。以上の結果は、ALOX12 は好酸球もしくは血小板に発現しており、これら両細胞から 12-HETE が産生されている可能性がある。また、鼻粘膜では血小板と好酸球が結合して存在している可能性も示された。

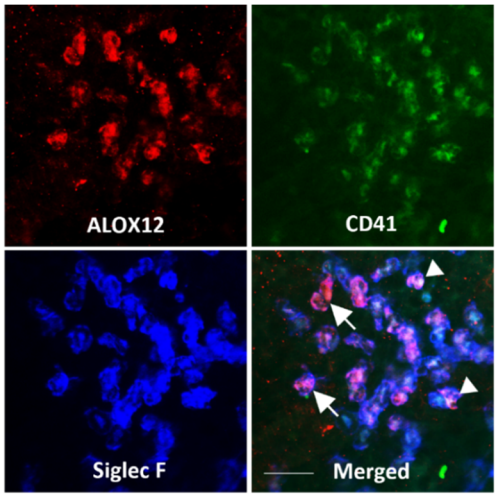


図 3. 鼻粘膜における ALOX12 の発現

OVA 経鼻投与後の鼻粘膜のホールマウント標本を用いて、ALOX12、Siglec F、CD41 に対する蛍光免疫を行った。矢印：ALOX12 と Siglec F との共染部位、矢頭：ALOX12 と Siglec F と CD41 との共染部位。Scale bar：20 μm。

4. 血小板枯渇が遅発相に与える影響の検討

最後に血小板の枯渇が遅発相に与える影響を検討した。抗 CD41 抗体は血中の血小板数を正常時の約 10%にまで減少させた。このとき、くしゃみ回数には影響がなかったが、好酸球および T 細胞の鼻粘膜浸潤を強く抑制した。

考　察

アレルギー性鼻炎モデルマウスを用いた本研究から、好酸球もしくは血小板から産生される 12-HETE が遅発相を促進すること、12-HETE の合成酵素である ALOX12 の阻害が病態進行を抑制することが明らかになった。現在、舌下免疫療法が、アレルギー性鼻炎の根本的な治療が期待できる治療法として実施されている。加えて、非常に強く症状を抑える IgE 中和抗体や抗 IL-4／IL-13 受容体抗体が治療薬として新たなに使用が開始され、舌下免疫療法と併用して使用されることも少なくない。ヒトアレルギー性鼻炎患者の鼻腔洗浄液中でも 12-HETE の産生が報告されている［2］。今後、ALOX12 阻害薬もアレルギー性鼻炎の重症化を予防する手段として期待できる。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり、上原記念生命科学財団様より助成賜りましたことを感謝申し上げます。

文　献

1） Nakamura T, Tachibana Y, Murata T. 12-HETE promotes late-phase responses in a murine model of allergic rhinitis. *Allergy.* 2023 Feb;78(2):574-577. PMID: 36208108. DOI: 10.1111/all.15547.

2） Knapp HR. Reduced allergen-induced nasal congestion and leukotriene synthesis with an orally active 5-lipoxygenase inhibitor. *N Engl J Med*. PMID: 1701029 DOI: 10.1056/NEJM199012203232506. 1990;323(25):1745-1748.