



Title	Nasal vaccination induces the ability to eliminate <i>Candida</i> colonization without influencing the pre-existing antigen-specific IgE Abs : a possibility for the control of <i>Candida</i> -related atopic dermatitis
Author(s)	末延, 則子
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44515
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	末延則子
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17998 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Nasal vaccination induces the ability to eliminate <i>Candida</i> colonization without influencing the pre-existing antigen-specific IgE Abs : a possibility for the control of <i>Candida</i> -related atopic dermatitis (経鼻ワクチンは病態の血中 IgE 濃度を上昇させることなく、常在化カンジダ除去能を誘導できる。～カンジダが関与するアトピー性皮膚炎病態調節の可能性について～)
論文審査委員	(主査) 教授 清野 宏 (副査) 教授 宮坂 昌之 教授 本田 武司

論文内容の要旨

〔目的〕

近年、アトピー性皮膚炎（以下 AD と略記）患者の重症度と *Candida albicans* (*C. albicans*) に対する IgE 値に強い相関が認められること、抗真菌剤の投与により一時的な AD 改善作用が認められること、更に重症 AD 患者では *C. albicans* 特異的 S-IgA が低下していることなどが報告されており、AD 患者の重症化には、*C. albicans* に対する粘膜免疫機構の破綻が大きく関与していることが示唆されている。そこで我々は、これらの臨床知見をもとに AD 重症化改善法の開発を目指し、宿主腸管内粘膜免疫機構を活性化することにより安全かつ有効に生体内 *C. albicans* バランスを調節することを目的としたカンジダ粘膜ワクチン開発の可能性について検討を行っている。

粘膜ワクチンは粘膜系、全身系の両方の免疫を活性化し、二段構えの生体防御機構を確立することができるためカンジダ粘膜ワクチンは、ヒト粘膜の常在真菌である *C. albicans* の除去および共存の調節に対して有効であることが示唆される。しかしながら、重症 AD 患者はカンジダ抗原特異的 IgE 抗体陽性率が高く、このように予め抗原に全身感作された状態においても IgE 抗体の更なる上昇やアレルギー増悪、ショック等の副作用発現を生ずることなく、粘膜免疫の賦活化により S-IgA 抗体産生を誘導できるか否かについては不明であった。そこで *C. albicans* 抗原感作マウスモデルを用いて経鼻カンジダ粘膜ワクチン投与後の粘膜免疫の誘導および IgE 抗体産生への影響について検討した。

次に、腸管内 *C. albicans* 常在化モデルを用いて、経鼻カンジダ粘膜ワクチン投与による *C. albicans* 除去能について糞中 *C. albicans* 菌数を観察し粘膜系での防御機構を検討すると共に、全身感染時における生存率を観察することによる全身系での防御機構を検討した。

〔方法ならびに成績〕

①カンジダアレルギー感作マウスにおける粘膜免疫誘導能の検討

方法：*C. albicans* の構成成分である manganese superoxide dismutase (MnSOD) 又は secreted aspartic proteases 2 (SAP2) をカンジダアレルギー感作マウスとして Alum と共に Balb/c マウスに腹腔内投与し、カンジダアレルギー感作マウス

スを作製した。このマウスにカンジダアレルゲンと共に粘膜アジュバントである CT を鼻粘膜投与し、血清中および各粘膜組織における抗原特異的 IgG、A、E 抗体、抗体産生細胞数について検討した。

結果：カンジダ抗原を Alum と共に腹腔内投与することにより、いずれの抗原においても血清中総 IgE 抗体、抗原特異的 IgG、E 抗体の産生が認められ、全身感作が成立した。次にこのマウスにカンジダアレルゲンと共に CT を経鼻投与したところ血清中、鼻腔洗浄液、唾液、糞便抽出物における抗原特異的 IgA 抗体量および脾臓、鼻粘膜、唾液腺、腸粘膜固有層における抗原特異的 IgA 抗体産生細胞数の上昇が確認された。更に、経鼻ワクチン投与による血清中総 IgE、抗原特異的 IgE 量の上昇は認められず、鼻汁、下痢といったアレルギー症状も観察されなかった。

②腸管 *C. albicans* 常在化モデルにおける経鼻カンジダ粘膜ワクチンによる *C. albicans* 除去効果

方法：アンピシリン、カナマイシンを飲料水とともに摂取し、消化管内正常細菌叢を攪乱した Balb/c マウスに、*C. albicans* を経口投与し消化管内に定着させた。粘膜アジュバントである CT と共にカンジダアレルゲンを経鼻粘膜投与し経時的に糞中 *C. albicans* 菌数を観察した後、酢酸コルチゾン、シクロホスファミド投与により全身感染を誘発しマウス生存率を測定した。

結果：*C. albicans* 定着後、MnSOD および SAP2 に対する血清中抗原特異的 IgG、A のわずかな上昇が認められたが唾液および糞中の抗原特異的 IgG、A は認められなかった。次にこのマウスにカンジダアレルゲンと共に CT を経鼻投与したところ唾液および糞中の抗原特異的 IgG、A の誘導が確認できた。経鼻ワクチン投与後、糞中 *C. albicans* 菌数を測定し消化管内からの除去作用を検討した結果、MnSOD、SAP2 いずれの投与群においても糞中菌数の減少が確認された。更に、免疫抑制剤投与により *C. albicans* の全身感染を誘導したところ、非投与または、卵白アルブミン/CT 投与群において全例が死亡したのに対し、MnSOD 又は SAP2/CT 粘膜ワクチン投与群では生存率の改善が認められた。

〔総括〕

これらの結果により、経鼻カンジダ粘膜ワクチンは、カンジダ抗原に全身感作されている宿主に対しても血清中総 IgE 抗体もしくは抗原特異的 IgE 抗体の増加やアレルギー症状を増悪することなく、腸管内粘膜免疫機構を活性化し、腸管内常在化 *C. albicans* バランスを調節し、安全かつ有効に AD 重症化改善効果に寄与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者である末延則子は、アトピー性皮膚炎 (AD) 重症化改善における腸管内 *C. albicans* バランス調節の重要性に着目し、粘膜ワクチンを応用した新規アトピー性皮膚炎改善法を提案し、動物モデルを用いて本法の有用性について検討を行った。

近年、AD の増加および重症化が注目されている。特に成人型 AD の重症化には、ダニなどの環境因子、食生活、ストレスなど多数の因子が関与していると考えられている。中でも、AD 発症後の症状の悪化に、ヒトの粘膜の常在菌である *C. albicans* の増加が関与していると報告されている。

カンジダ粘膜ワクチンは、粘膜系、全身系の両方の免疫を活性化し、二段構えの生体防御機構を確立することができるため、ヒト粘膜の常在真菌である *C. albicans* の除去およびバランスの調節に対して有効であることが示唆される。

しかしながら、重症 AD 患者はカンジダ抗原特異的 IgE 抗体陽性率が高く、このように予め抗原に全身感作された状態においても IgE 抗体の更なる上昇やアレルギー増悪、ショック等の副作用発現を生ずることなく、粘膜免疫系を活性化できるか否かについては不明であった。そこで申請者は、*C. albicans* 抗原感作マウスモデルを用いて経鼻カンジダ粘膜ワクチン投与後の粘膜免疫の誘導および IgE 抗体産生への影響について検討した。この結果、ワクチン投与により、血清中、鼻腔洗浄液、唾液、糞便抽出物における抗原特異的 IgA 抗体量および脾臓、鼻粘膜、唾液腺、腸粘膜固有層における抗原特異的 IgA 抗体産生細胞の上昇が確認された。更には血清中総 IgE、抗原特異的 IgE 量の上昇

は認められず、鼻汁、下痢といったアレルギー症状も観察されなかった。

次に、腸管内 *C. albicans* 常在化モデルを用いて、経鼻カンジダ粘膜ワクチン投与による *C. albicans* 除去能について糞中 *C. albicans* 菌数を観察した。経鼻ワクチン投与後、糞中 *C. albicans* 菌数を測定し消化管内からの除去作用を検討した結果、MnSOD、SAP2 を抗原とした両投与群において糞中菌数の減少が確認された。更に、免疫抑制剤投与により *C. albicans* の全身感染を誘導したところ、非投与群において全例が死亡したのに対し、MnSOD 又は SAP2/CT 粘膜ワクチン投与群では生存率の改善が認められた。

これらの結果により、経鼻カンジダ粘膜ワクチンは、腸管内粘膜免疫機構を活性化し、腸管内常在化 *C. albicans* バランスを調節し、安全かつ有効に AD 重症化改善効果に寄与する可能性が示唆された。本研究は、独創性に富み、開発に非常に期待のもたれる内容であると考えられる。以上のことより、本研究は学位の授与に値するものと認める。