



Title	Needleless intranasal administration of HVJ-E containing allergen attenuates experimental allergic rhinitis
Author(s)	安岡, 絵理
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47540
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	やすおかえり 安 岡 絵 理
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 20991 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 19 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	Needleless intranasal administration of HVJ-E containing allergen attenuates experimental allergic rhinitis (アレルゲン封入 HVJ-E の鼻腔内投与はマウスアレルギー性鼻炎モデルにおけるアレルギー反応を抑制する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 久 保 武 (副査) 教 授 川 瀬 一 郎 教 授 片 山 一 朗

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

ヘルパーT細胞は分泌するサイトカインの種類により Th1 (IFN- γ などを分泌) と Th2 (IL-4、IL-5などを分泌) の2つのタイプに分類される。健康状態ではこれらのT細胞から分泌されるサイトカインは、お互いの細胞の機能を抑制しあい、Th1/Th2のバランスを平衡に保っている。ところがアレルギー性鼻炎などのI型アレルギーでは、Th2反応が有意におこり、免疫状態のアンバランスが認められる。Th2はB細胞を活性化し、免疫グロブリンE (IgE) の産生を促す。IgEはアレルギー性鼻炎の鍵となる mediator でその産生を抑えることは臨床的に非常に意義がある。

HVJ-EはHVJ (hemagglutinating virus of Japan) の強い膜融合能を利用した非ウィルス性遺伝子導入ベクターとして開発された。紫外線照射によりHVJのウィルス活性を不活化した後、遺伝子発現プラスミドなどの治療分子を封入し、培養細胞や生体組織に投与することにより、膜融合による細胞質内への高効率分子導入が可能である。

今回われわれはHVJ-Eシステムをもちいて ovalbumin (OVA) をBALB/Cマウスの鼻腔内に投与した。健常マウスの脾細胞から分泌されるサイトカインを測定することで、この処置が全身の免疫状態にどのような影響を及ぼすかを分析する。またOVA感受性のアレルギー性鼻炎モデルマウスを作製し、HVJ-E/OVAを鼻腔内投与することで、脾細胞からのサイトカイン分泌量や血清中のOVA特異的IgEがどのように変化するかについて分析する。

〔方法と成績〕

まずHVJ-Eシステムにより鼻腔粘膜への蛋白導入を確認した。Alexa488標識BSAをHVJ-Eに封入し、BALB/Cマウスの鼻腔内に投与後、鼻粘膜の組織を蛍光顕微鏡で観察した。その結果標識蛋白がマウスの鼻粘膜に導入されていることが確認された。

次に5~6週齢のBALB/Cマウスに1週間おきに計3回、OVAを封入したHVJ-E (HVJ-E/OVA)、HVJ-E、OVA、HVJ-EとOVAを混ぜたもの (MIX)、PBS (negative control として) を鼻腔内投与した。最終投与から1週間後脾臓を採取し脾細胞にOVAを添加し96時間培養した。ELISA法により培養上清中のIFN- γ 、IL-5の濃度を測定した。HVJ-E/OVA群ではOVAに反応してIFN- γ の産生量が有意に上昇していた。またOVA、MIX群ではOVAに反応し

て IL-5 の産生量が有意に上昇していた。このように HVJ-E システムによる OVA の鼻腔内への導入は OVA 刺激後の脾細胞から IFN- γ の産生を促すことがわかった。

次にアレルギーモデルマウスへの HVJ-E/OVA の鼻腔内投与の影響を調べた。まず OVA に反応するアレルギーモデルマウスを作製した。1 週間おきに計 3 回 alum と OVA を腹腔内投与し、最終投与時には鼻腔内への OVA 投与も行った。このモデルマウスでは脾細胞より有意な Th2 サイトカイン (IL-4、IL-5) の分泌と血清中の OVA 特異的 IgE の産生がみられた。このモデルマウスに 1 週間おきに計 3 回 HVJ-E/OVA、HVJ-E、OVA、MIX、PBS (未治療) を鼻腔内投与し、OVA 刺激後の脾細胞から分泌されるサイトカインの量や OVA 特異的 IgE の量を測定した。その結果、HVJ-E/OVA 群では未治療群や HVJ-E 群に比べ IFN- γ の産生量が有意に増加していた。また HVJ-E 群では未治療群に比べ IFN- γ の産生量が増加していた。HVJ-E/OVA 群と HVJ-E 群では IL-4、IL-5 の分泌量が未治療群に比べ減少していた。HVJ-E/OVA 投与群では治療後再度鼻粘膜を OVA に暴露した後の血清中の OVA 特異的 IgE 量が未治療群の約 10 分の 1 であることがわかった。

〔総括〕

HVJ-E システムをもちいてマウスの鼻腔内に OVA を導入することにより、OVA 刺激後に脾細胞からの IFN- γ 産生が誘導された。アレルギーモデルにおいては、Th2 サイトカイン (IL-4、IL-5) の分泌抑制、抗原特異的 IgE の産生抑制を認めた。今後 HVJ-E システムを用いた鼻腔内へのアレルギー投与によりアレルギー反応を抑える新たな治療法の開発が期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は非ウィルス性遺伝子導入ベクターとして開発された Hemagglutinating virus of Japan envelope vector (HVJ-E) を利用し、マウスの鼻粘膜にタンパク導入できることを明らかにした。またこのシステムを用いてアレルギーの抗原蛋白として実験的に広く用いられている OVA を鼻粘膜に導入することで、健康なマウスの脾臓細胞から IFN- γ という I 型アレルギー反応を抑制するサイトカインが分泌されることを示した。続いて OVA に感受性をもつアレルギーモデルマウスを作製し、このマウスの鼻腔に HVJ-E システムにより OVA を投与したところ、OVA に対する特異的抗体の産生抑制など、アレルギー反応を抑制するような結果を示した。今後 HVJ-E システムを用いた鼻腔内へのアレルギー投与によりアレルギー反応を抑える新たな治療法の開発が期待されることから、本研究が学位の授与に値すると考えられる。