

4-2-5 免疫アレルギー研究部（アレルギー研究室、免疫療法研究室）

1. 免疫アレルギー研究部の研究目的・概要

乳幼児期は、病原・非病原微生物の侵入や、食物の摂取、物理的・精神的ストレスへの暴露など種々の成育環境に適応しながら、生体調節システムとしての免疫系が確立される重要な時期である。本研究室では、免疫系が成育環境の中で形成される過程において、個体としての恒常性維持のために働く機序と、恒常性の破綻によって生じる障害の機序を明らかにすることにより、小児期の難治性免疫アレルギー疾患に対する有効な予防制御方法を開発することを目的とする。当研究部は部長の斎藤博久、免疫療法研究室長の阿部淳、アレルギー研究室長の松本健治、流動研究員の月館利治の4名の常勤研究員のほか、ミレニアム・プロジェクト等の派遣研究員・研究補助員十数名より構成されている。アレルギー研究室は喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどのIgE抗体に依存したアレルギー疾患を主な研究対象とし、免疫療法研究室では、川崎病などの炎症性疾患や免疫不全症などの疾患を研究対象としているという違いはあるものの、緊密な連携のもと共同研究を展開しているため、以下、免疫アレルギー研究部としての活動として記載する。

2. 研究活動

2.1 難治性血管炎症候群の病態解明と治療法の開発

原因不明の血管炎症候群の一つである川崎病は、5才未満の乳児に好発する急性熱性疾患である。国内の発生数は年間8千例と年々増加傾向にあり、全患者の約7%に冠動脈瘤などの心後遺症が発生する。急性期の治療法としては免疫グロブリン大量静注療法の有効性が実証されているが、その作用機序は未だ不明であり、治療不応例も少なからず存在する。本研究室では川崎病の原因究明とともに、免疫グロブリン大量静注療法の作用機序を解明し、さらに有効な治療法を開発することを目指して研究をすすめている。

本年度は、DNAチップを用いて免疫グロブリン療法前後での川崎病患者の遺伝子発現プロファイルの変化を解析した。免疫グロブリン療法後に末梢血単核球中での発現が有意に低下する、多数の遺伝子が見出された。免疫グロブリン療法の直接標的となっている分子をさらに絞り込むこと、および血球細胞の量的な変動による影響を排除することを目的として、精製したモノサイト分画を用いてさらに遺伝子発現プロファイル解析を行った。この結果、両方の実験で共通して発現低下していた遺伝子が17個同定された。

2.2 感染に続発する免疫異常の病態解明と治療法の開発

近年、スーパー抗原毒素などの分泌性蛋白やLPS、ペプチドグリカンなどの細菌細胞膜の構成分子、CpGオリゴマーやdsRNAなどの微生物由来分子が、一次免疫応答を担う細胞群によって認識され宿主の生体防御反応に参加することが明らかになった。これらの微生物由来分子は、炎症性サイトカインの産生を通じて免疫系を賦活化する一方で、過剰反応によるトキシックショック症候群や免疫不応答状態（アナジー）を誘導することが知られている。本研究室では、細菌由来分子に起因する免疫異常の病態解明と、免疫系の過剰反応を抑制しつつ、これらの物質を免疫療法に利用する方法を開発することを目的として、*in vivo*あるいは*ex vivo*で解析可能な動物実験モデルの作成を試みている。

本年度は、トキシックショック症候群（TSS）や新生児TSS様発疹症（NTED）の発症機序を明らかにする目的で、エルシニア菌由来スーパー抗原YPMによるトキシックショック実験動物モデルの解析を行った。BALB/cマウスを用いた場合、致死率は86%であり、病理組織学的には肝細胞の広範なアポトーシスや諸臓器でのうっ血を認めた。また、YPMによって活性化された末梢血中のT細胞が速やかに肝臓などの組織へ移行し炎症性サイトカインを過剰産生することが、ショック

死の誘導に最も重要な因子であることを明らかにし、論文報告した。トキシックショック誘導の分子機序をさらに明らかにする目的で、DNA チップを用いて各種の臓器に浸潤した単核球の遺伝子発現プロファイルを作成し、解析を進めている。

2.3 乳幼児期の免疫系の発達と障害

小児を対象とした免疫制御療法を開発するためには、免疫系の発達過程において小児期がどのような特徴と役割をもつのかを知る必要がある。小児期の免疫細胞の分化と成熟過程にはどのような特徴があるのか、それが感染防御や免疫寛容の獲得などの免疫応答にどのように影響するのか、などの観点から基礎的な検討を行うことを目指している。

本年度は、乳児肝炎の原因として大きな比重を占めるサイトメガロウイルス (CMV) 感染について、CMV 特異的細胞傷害性 T 細胞の分化・発達の過程を解析する共同研究を開始した。乳児期に CMV が感染しても不顕性感染の状態で持続したまま成人期に達することが多い。健全な成人キャリアーにおいては、CMV 特異的な CD8T 細胞が、実際に細胞傷害活性をもつエフェクター/メモリー細胞として末梢血中に常在することが示されている。新たに CMV に感染した乳児において、CMV 特異的な CD8T 細胞がどのように誘導されるかは未知である。共同研究を通じて、乳児期の細胞性免疫の分化過程についての基礎的な検討を行う予定である。

2.4 小児アレルギー疾患の予防制御方法の開発

疫学研究の結果は何らかの自然免疫系の刺激がアレルギー疾患の発症に影響を与えることを強く示唆する。その機序を解明することはアレルギーの発症を予防するアレルギーワクチンの開発に繋がる重要な課題である。そこで、末梢血単核細胞を各種の細菌やウイルス由来産物で刺激した際に発現誘導される遺伝子群を GeneChip を用いて網羅的に解析した。その結果、各種の自然免疫系の刺激物質によって特異的に誘導される遺伝子群と、これらによって共通に誘導される遺伝子群とが同定された。今後はこれらの遺伝子解析を元に、どの遺伝子の発現増強がアレルギー疾患の発症予防に繋がるかをさらに検討するとともに、臨床応用する際に副反応となりうる遺伝子の活性化の抑制などを含めた研究を進める予定である。

そのほかの主な成果として、アレルギー炎症細胞として最も重要な好酸球の細胞表面の CD30 をある種の抗体で架橋することにより非常に迅速かつ強力にアポトーシスが誘導されることを見いだした(Matsumoto K, et al. J. Immunol. 2004)。このメカニズムを介した好酸球の生存の制御はアレルギー疾患の治療薬として臨床応用できる可能性があることから臨床応用、実用化を旨とし、特許出願を行った。

理研横浜研究所免疫アレルギー科学総合研究センター派遣研究員を中心にヒトのマスト細胞は、インターフェロン 処理により Toll 様受容体 4 を強く発現すること、その受容体を介した細菌由来エンドトキシン刺激による遺伝子発現パターンは、アレルギー反応で見られる IgE 受容体を介した刺激による遺伝子発現パターンとは大きく異なること、Toll 様受容体 4 を介した刺激により多くの抗ウイルス蛋白が産生されることを見いだした(Okumura S, et al. Blood 2003)。

2.5 ゲノム情報に基づく免疫アレルギー疾患解析研究

ジェノックス創薬研究所等との共同研究の結果、アレルギー疾患関連新規診断方法や新薬開発に応用可能な遺伝子について、6 個の特許を申請した。その成果の一つは、アレルギー疾患患者では、ウイルスなどに対する Th1 免疫能を抑制する SOCS3 遺伝子が著しく増加していることを発見したことである (Seki Y, et al. Nat. Med. 2003)。

理研遺伝子多型研究センターとの共同研究において、ゲノムワイドに喘息発症に関連する一塩基多型 SNPs 約 10 万ヶ所を調査している。平成 15 年 12 月現在 9 万ヶ所の一次スクリーニングが終了し、平成 16 年より二次スクリーニングを開始する。ミレニアム・プロジェクトにおける主な成

果としては、カナダ・モントリオール大学 Sarfati 教授との共同で、活性化樹状細胞に特異的に発現され、樹状細胞の機能を抑制する新規免疫調節物質 thrombospondin の発見(Doyen V, et al. J. Exp. Med. 2003)、慈恵医大浦島充佳講師との共同研究において、食道癌組織の網羅的遺伝子発現解析パターンと予後の関連の発見 (Ishibashi Y, et al. Cancer Res. 2003)、国立医薬品食品衛生研究所との共同研究でアレルギー治療薬グルココルチコイドの代謝酵素における新規 SNPs の発見 (Saeki M, et al. Hum. Mutat. 2003) 等があげられる。また、アレルギー炎症に関わる個々の細胞種 (8 種類の白血球、マスト細胞、各種上皮細胞) の 3 万種類の遺伝子発現量の正常値を設定し、そのデータをもとにアレルギー疾患治療薬候補遺伝子を 22 個発見した(Nakajima T, et al. J. Allergy Clin. Immunol. 2004、日本経済新聞に掲載)。

ジェノックス創薬研究所は 1996 年度より 7 年計画で国立小児病院との共同研究を中心にアレルギー疾患関連遺伝子発現解析研究を開始した。2003 年 3 月に計画が終了 770 の新規遺伝子を発見できた。これらの遺伝子により新規診断法の確立や新薬の開発が期待される。ミレニアム・プロジェクトでは、省庁の枠組みを越えて 11 の大学病院、国立病院と共同事業を展開している。研究支援のためのデータベース公開準備作りを行う一方で、喘息発症に強く関与する遺伝子群をすでに見いだしており、それらの遺伝子の機能解析を急いでいる。

3. 業績

3.1 英文論文インパクトファクターによる業績点数

詳しくは、当研究部のホームページ(<http://www.nch.go.jp/imal/>)を参照いただきたいが、2003(平成 14)年 4 月 1 日から 2004(平成 15)年 3 月 31 日にまでに国立成育医療センター研究所免疫アレルギー研究部として国際雑誌に発表した英文原著・総説 21 件のインパクトファクター合計値は 132.895 に達した。単一研究部・教室による業績としては、我が国の全ての大学・研究所の中でも最高の部類に属する。その他数多くの和文論文も発表した。

3.2 学会活動

当研究部では数多くの学会の特別講演・シンポジウムにおいて演題発表を行ってきたが、特記すべきこととしては、2004(平成 15)年 2 月 28 日より 3 月 4 日まで米国で行われた世界で最も権威のある学会の一つである Keystone symposium において斎藤部長が招待され特別講演を行ったことであろう。

4. 社会的活動・メディア活動

4.1 テレビ出演

2003 年 4 月 23 日 NHK ためしてガッテン「食物アレルギー」「アレルギー予備軍大調査」に斎藤部長が出演した。

2003 年 5 月 19 日 日本テレビ きょうの出来事 「特集食物アレルギー」に斎藤部長、松本室長が出演した。

4.2 新聞掲載

日本経済新聞 2004 年 2 月 17 日(小児ぜんそく、止まらぬ増勢 発作繰り返すほど治りにくく) など 3 件。