

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、緊密な連携のもと研究を展開している。

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才未満の乳幼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（IVIG）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、さらにIVIG療法の治療ターゲットとなる分子を明らかにするために、末梢血から精製したモノサイトをを用いて遺伝子発現プロファイルを解析した。その結果、IVIG療法後に発現が低下する131個の遺伝子と発現が増強する67個の遺伝子が見出された。平成15年度の結果と合わせて、このうちの18個をIVIG療法で抑制的に制御される遺伝子として集中的に解析した。IVIG療法の治療効果の早期判定に有用と思われる分子としてS100カルシウム結合蛋白のメンバーを同定した。その他にも新しい治療ターゲットになりそうな分子を解析中である。将来的には、これらの蛋白を治療効果の判定に用い、これらの蛋白を標的として新たな治療法を開発する可能性を考えている。

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誘導の分子機序を明らかにするために、DNAチップを用いて、肝臓、脾臓、リンパ節における遺伝子発現プロファイルを解析した。前年度の実験結果から予測された通り、BALB/cマウスの肝臓ではYPM投与後早期から、IFN-gammaおよびIFN-gamma依

存性に誘導されるケモカイン (Mig、IP-10) の mRNA 産生が亢進していた。IFN-gamma ノックアウトマウスではこれらのケモカインの誘導はみられなかった。トキシックショックの病態に対して、IFN-gamma や、Mig・IP-10 などのケモカインをターゲットにした抗体療法が有効である可能性があると考えている。また、仏リール研究所の Dr. Carnoy とは、YPM 遺伝子をもつ/もたないエルシニア菌をマウスに感染させて in vivo での免疫修飾作用を解析する共同研究をすすめている。遺伝子発現プロファイル解析の結果、YPM 産生菌の感染により細胞傷害活性に関わる granzyme、perforin などの遺伝子発現が 10 倍以上に増強することを見出した。

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。

平成 15 年度から、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感染について、サイトメガロウイルス特異的細胞傷害性 T 細胞の分化・発達の過程を解析する共同研究を開始している。サイトメガロウイルス感染は必ずしも肝炎の発症に直結するものではなく、乳児期にウイルス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。健常な成人キャリアーにおいてはサイトメガロウイルスに特異的な CD8T 細胞が、実際に細胞傷害活性をもつエフェクター細胞として末梢血中に常在することが示されている。サイトメガロウイルスに対する IgM 抗体の上昇している乳児肝炎および先天性胆道閉鎖症の患者ではサイトメガロウイルス特異的なエフェクター T 細胞の割合が非常に少ないことが、また数例の解析結果ではあるが分かってきた。今後、エフェクター T 細胞がどのように分化していくか、あるいはメモリー T 細胞は有効に誘導されるのか、などについて検討する予定である。

2.4 小児アレルギー疾患の予防制御方法の開発

アレルギー疾患発症機序の解明に関して微生物由来各種 Toll 様受容体リガンドの免疫細胞に対する効果を網羅的に解析し、数十種類の抗ウイルスタンパク質が、臨床効果が大きく副作用の少ないことで知られる CpG oligonucleotide (CpG ODN) 刺激時に特異的に誘導されることを見出した。さらに、CpG ODN 刺激によって 3 種類の CXCR3 ケモカイン (Mig, I-TAC, IP-10) が産生分泌されることを見いだした。CXCR3 ケモカインは Th1 細胞を局所に遊走させるだけでなく、NK 細胞を遊走させ、感作初期段階での Th1 分化を促進することが極最近報告されており、これらの作用はアレルギー疾患の発症を抑制する機序として重要と考えられる。また、グラム陰性桿菌由来のエンドトキシン (LPS) は生体内で著しい炎症反応と Type I IFN 依存性蛋白質 (抗ウイルス蛋白など) を別々のシグナル伝達系を介して誘導することが知られているが、私達はこのうち、Type I IFN 依存性蛋白質の誘導にのみ血清中の蛋白質である LPS-binding protein が必須の分子であることを見いだした。また、気管支喘息治療薬として広く使用されている吸入ステロイドの新たな効果として、気道上皮細胞上の TLR2 の発現増強を誘導することを明らかにした。

2.5 ゲノム情報に基づく免疫アレルギー疾患解析研究

喘息等の重症アレルギー疾患患者に対するゲノム情報に基づく新しい診断法や治療方法の確立を目指し、網羅的な塩基多型 (SNP) 解析および網羅的遺伝子発現解析を実施した。多施設連携、共同研究体制のもと、理研遺伝子多型研究センターにて 10 万ヶ所の SNP について解析を行った。1 次スクリーニングにて同定された 3033SNPs について喘息症例約 900 例、対照約 700 例をもちいて 2 次スクリーニングを行った。その結果 $P < 0.01$ の相関を示す、17SNPs、15 遺伝子領域を同定した。また、国立医薬品食品衛生研究所との共同研究では、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 の発見等の成果があった。

網羅的遺伝子発現研究では、特に厳密な実験プロトコールに基づくこれらデータの質に関し、内外で高い評価を得ている。網羅的遺伝子解析に基づくデータは多くの研究成果に生かされ、平成 16 年度も多くの国際雑誌に論文を掲載し、Keystone Symposium などの国際的に評価の高い学会、日本医学会シンポジウムなどの公式学会にて招待され講演をおこなった。具体的には、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正常値の設定、および、マスト細胞などアレルギー炎症細胞のみに発現し、他の生命維持に重要な臓器・細胞には全く発現しないイオンチャンネルや受容体 GPCR などの薬剤標的分子発現についての同定や下記の記した amphiregulin の発見などがある。

吸入ステロイド薬は多くの喘息症状に有効で喘息治療の第一選択薬として知られている。ところが、喘息発作などの炎症反応が長年続き、気道平滑筋が増殖し、粘稠な粘液を分泌する杯細胞が増えるなど気道組織が変形した状態（気道リモデリング）に陥った患者では吸入ステロイド薬はあまり有効でなく、喀痰過多などの症状が続く。現在、喘息の組織リモデリングで最も重要な働きを演じているのはマスト細胞であると考えられている。われわれは GeneChip を使用して各種細胞の様々な刺激条件における網羅的遺伝子発現解析を行い、他の細胞にはほとんど存在しないマスト細胞特異的分子であり、アレルギー炎症で増加し、ステロイド薬でその増加が抑えられない分子を探したところ、アンフィレギュリンを発見した。そして、アンフィレギュリンの働きを調べたところ、気管支の杯細胞を増加させること、喘息患者の肺マスト細胞に大量に存在し、その量は喀痰の多さと比例していることをつきとめた。以上より、アンフィレギュリンはステロイド薬が効かない喀痰過多などの喘息症状をひきおこす責任分子であることが判明した。以上の研究成果は、多くの英文雑誌に掲載されており、今や、本研究に関する世界的な中核研究施設となっているが、これらの研究成果および付随する詳細をわかりやすく一般の方々に理解していただくためホームページ（<http://www.nch.go.jp/imal/>）で解説を加え公開している。

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

2004（平成 16）年 4 月 1 日から 2005（平成 17）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 18 件のインパクトファクター合計値は 64.334 であった（当研究部のホームページ；<http://www.nch.go.jp/imal/>に記載）。最近 2 年間の平均を計算すると約 99 となり成育発達過程における免疫アレルギー研究の国際的な研究拠点として役割を十分に果たしていると思われる。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 2004 年度も 6 月 24 日の第 126 回日本医学会シンポジウムでの講演や 11 月 12 日の 14th Annual Symposium of Johns Hopkins Asthma & Allergy Center など、数多くの国内外の学会において特別講演・シンポジウムにおいて演題発表を行ってきた。

4. 社会的活動・メディア活動

4.1 新聞掲載

日本経済新聞 2004 年 4 月 5 日（アレルギーの 22 遺伝子特定 日米研究グループ）など 4 件。