

学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏 名 青石 邦秀

学位論文名

アレルギー性鼻炎モデルマウスに対するボツリヌス毒素 A 型を用いた治療効果について

学位論文の要約

1. Introduction

花粉症を含めアレルギー性鼻炎の患者数は、近年増加の一途をたどり社会的な問題となっている。治療法として、鼻アレルギー診療ガイドラインでは、抗原除去、回避を基本とし、薬物療法、手術療法、免疫療法などを推奨している。第 2 世代抗ヒスタミン薬や点鼻ステロイドを中心とした薬物療法は、初期治療を含め様々な臨床検討がなされており、鼻アレルギーに対する有用性は確立され外来で簡便に処方できることから汎用されている。一方、日常診療においては、個々の患者の病態、重症度、生活様式、年齢によって最適な治療法を選択することが求められ、薬物療法以外のこれまでにない新しい治療法の確立が検討されている。

近年臨床において、アレルギー性鼻炎患者に対しボツリヌス毒素を鼻内に投与し、その有効性を検討した報告が散見されるようになった。理論上、ボツリヌス毒素は単回投与で数ヶ月の鼻炎抑制効果を持つものと考えられているが、基礎的な研究の報告はほとんどない。そこで我々はアレルギー性鼻炎モデルマウスを使用し、ボツリヌス毒素を投与し、その有効性について検討した。

2. Materials and Methods

① アレルギー性鼻炎モデルの作成

アレルギー性鼻炎モデルマウスは Balb/c mouse ♀を使用し、卵白アルブミン(ovalbumin 以下 OVA)で感作させた。OVA(20 μ g)を抗原とし、アジュバントとして水酸化アルミニウム(100 μ g)を加えて、生理食塩水(0.2ml)を腹腔内投与した。これを 1 週間ごとに計 3 回行った。次の段階として、局所感作として 3 週間連日、片鼻につき 10%OVA 10 μ l を点鼻(ピペットを使用)した。感作させたマウスは OVA による抗原刺激後、すぐにくしゃみ、鼻掻きの症状を呈し、徐々に自然軽快した。ELISA 法を用いて、血中 OVA 特異的 IgE を測定したところ、正常マウスと比較し、アレルギー性鼻炎モデルマウスでは有意に上昇していた。

② 行動学的評価(症状の評価)

AR モデルは、抗原刺激後、くしゃみ、鼻掻きなどの症状を呈する。今回は、抗原刺激 20 分後に、

くしゃみ、鼻掻きの回数を 10 分間カウントした。評価する時期は投与前、翌日、3 日後、5 日後、7 日後、14 日後、21 日後、28 日後とした。

③ ボツリヌス毒素 A 型(以下 BTX-A)の投与方法

BTX-A はボトックス®注用 50 単位(GlaxoSmithKline 社)を使用した。BTX-A 2U をリン酸緩衝液 PBS 10 μ l で溶解し、マイクロピペットを用いてマウス鼻腔内に点鼻した。

④ 病理組織学的評価

薬剤投与後、3 日目および 28 日目にマウスを安楽死させ、経心還流固定を行った。断頭し、頭部に付着する皮膚、筋肉を除去し、EDTA を用いて脱灰した。脱灰後、パラフィン包埋固定を行い、鼻粘膜の切片を切り出した。

3. Results

① 行動学的評価

OVA 抗原刺激後、BTX-A 治療群は PBS コントロール群と比較し、くしゃみは 3 週間、鼻掻きは 3 週間にわたり、症状を有意に抑制していた。

② 病理組織学的評価

マウス鼻粘膜の呼吸部を観察した。H.E 染色では、BTX-A 治療群は PBS コントロール群と比較し、鼻粘膜下の好酸球浸潤、毛細血管の拡張が有意に抑制されていた。また、鼻粘膜の粘膜肥厚は有意に薄くなっていた。

4. Discussion

今回の研究では、OVA 感作アレルギー性鼻炎モデルマウスを用いて、BTX-A の有効性を検討した。OVA で感作させたマウスはアレルギー性鼻炎モデル動物として広く使用されており、人間におけるアレルギー性鼻炎と非常に似た症状を呈する。本研究において、BTX-A の鼻内への点鼻はくしゃみ、鼻掻きを有意に減少させていた。また、マウス呼吸部の鼻粘膜において、鼻粘膜下の好酸球の浸潤や毛細血管拡張の抑制がみられ、BTX-A の点鼻投与は、抗アレルギー作用を示すことが示唆された。BTX-A は副交感神経終末における神経伝達には、アセチルコリンを内包したシナプス小胞が細胞質膜に融合し放出されることで成立する。その融合の際の重要な因子として、SNARE(soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion attachment protein)としてシナプス小胞にシナプトブレビンが、細胞質膜に SNAP-25 とシンタキシンが存在する。BTX-A は SNAP-25 を切断し、アセチルコリンの放出を阻害する。このように、遠心性副交感神経終末からのアセチルコリン分泌抑制による鼻汁分泌量の低下、翼口蓋神経節でのアセチルコリンの放出が期待でき、抗アレルギー作用をもつと考えられる。

以上から、アレルギー性鼻炎に対する、ボツリヌス毒素 A 型は有効な治療法となりうることを明らかにした。

なお、この学位論文の内容は、以下の原著論文にすでに公表済みである。

主論文 : AOISHI K, Takahashi H: Treatment of allergic rhinitis with intranasal infusion of botulinum toxin type A in mice. Life Sciences 147:132-136, 2016 DOI:10.1016/j.lfs.2015.08.003