

学位論文審査結果の要旨

氏名	青石 邦秀
審査委員	主査 前山 一隆 副査 山下 政克 副査 白石 敦 副査 大上 史朗 副査 東 太地

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

審査結果の要旨

【緒言】 近年患者数の増加から社会的な問題となっている花粉症を含むアレルギー性鼻炎の治療法として、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が汎用されているが、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臨床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カ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ことから、申請者はアレルギー性鼻炎モデルマウスを作成し、ボツリヌス毒素の有効性について検討した。

【方法】 (1) アレルギー性鼻炎モデルマウスの作成：BALB/c マウス（雌性、6週齢）を使用し、卵白アルブミン(ovalbumin 以下 OVA)で感作した。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)を加えた生理食塩水(0.2ml)を、1週間ごとに計3回腹腔内投与した。さらに局所感作として3週間連日、片鼻につき10% OVA 10 μ lをマイクロピペットを用いて点鼻した。

(2) 行動学的評価(症状の評価) : アレルギー性鼻炎モデルマウスでは抗原刺激後、くしゃみ、鼻掻きなどの症状を呈することから、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。評価する時期はボツリヌス毒素投与前、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 2 単位をリン酸緩衝生理食塩水 10 μ l に溶解し、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 : BTX-A 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。

【結果・考察】(1) アレルギー性鼻炎モデルマウスの作成 : 感作したマウスは OVA による抗原刺激直後、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 : OVA 抗原刺激後、BTX-A 治療群は対照群と比較し、くしゃみ、鼻掻きの回数とともに 3 週間にわたり有意に抑制された。

(3) 病理組織学的評価 : マウス鼻粘膜呼吸部の H. E. 染色では、BTX-A 治療群は対照群と比較し、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。

BTX-A はシナプス小胞と細胞質膜との融合に関わる SNAP-25 を切断し神経伝達物質の放出を阻害することから、遠心性副交感神経終末や翼口蓋神経節でのアセチルコリン分泌や抗原刺激を介する三叉神経からの神経ペプチドの遊離を抑制し、抗アレルギー作用をもつと考えられている。OVA 感作アレルギー性鼻炎モデルマウスは人間におけるアレルギー性鼻炎と非常によく似た症状を呈することから、申請者は本モデルマウスを用いて BTX-A のアレルギー性鼻炎の治療における有効性を検討した。BTX-A の単回点鼻投与により、くしゃみ、鼻掻き回数が有意に減少し、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が抑制されたことから、BTX-A の点鼻投与がアレルギー性鼻炎の治療に有効であることが示された。

本学位審査は平成 27 年 1 月 21 日に開催され、申請者は BTX-A の点鼻単回投与によるアレルギー性鼻炎の治療効果について発表した。

本研究に用いた OVA 感作アレルギー性鼻炎モデルマウスに関しては(1)モデルの妥当性と *in vivo*における観察評価の信ぴょう性、(2)全身感作と局所感作の違い、BTX-A に関しては(3)抗アレルギー性をもたらす作用機序、(4)鼻炎症状抑制効果以外の作用ならびに副作用の有無、(5)点鼻投与の問題点、(6)アレルギー発症に対する予防効果、等について質疑応答があり、申請者は的確に回答した。BTX-A のアレルギー性鼻炎に対する治療効果を安全性も含め基礎研究レベルで検討し、さらに臨床試験への展開を提示し、BTX-A 単回点鼻投与が新規の効果的な治療法になる可能性を示した点を評価し、審査員は全員一致で本研究が学位(医学)に値すると判定した。