

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））

アトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の病態解明と画期的治療法の開発

分担研究報告書

## アトピー素因が末梢組織に与える影響の解明

研究分担者：城戸 瑞穂 九州大学大学院歯学研究院

研究協力者：村田 直久 九州大学大学院歯学研究院

大内 雅博 九州大学大学院歯学研究院

### 研究要旨

アトピーに関連した中枢・末梢神経障害の病因・病態そして治療法を見出すためには、モデル動物の作出が重要である。喘息モデルに用いられる条件を改変し、末梢神経障害が表出される動物作製に成功し、解析を行った。このモデルでは高 IgE 血症を認め、末梢および中枢組織における炎症性細胞浸潤、炎症性サイトカイン、脂質メディエーターの上昇などを認めた。

### A. 研究目的

アトピーに関連した中枢・末梢神経障害の病因・病態そして治療法を見出すためには、モデル動物の作出が重要である。アレルギーモデルとしての過去の報告は、卵白アルブミンの投与による方法などが用いられているが、いずれも短期的なモデルである。そこで、中長期にわたりアレルギーを投与するモデルを評価することとした。

### B. 研究方法

動物実験計画については、九州大学動物実験委員会の承認を得た。実験は動物福祉に十分配慮して実施した。

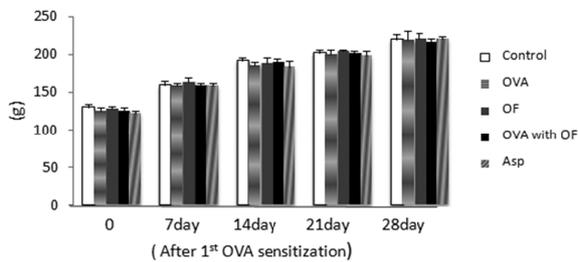
6週齢雄性的C57BL/6マウスの腹腔にアジュバントとしてアルミニウムゲルとアレルギーとして卵白アルブミンを投与した。投与は1週間毎行い、6週間継続した。対照群として、無

投与群、アジュバントのみ投与した群あるいはアレルギーのみ投与した群を用いた。薬剤投与3および6週間後に血清学的解析および組織学的観察を行った。

ラットは高IgE血症が惹起され喘息あるいは食物アレルギーモデルとして利用されているBrown-NorwayラットにOVA(1mg)を背部皮下投与し、同時にアジュバントとして不活性化百日咳菌( $1 \times 10^{10}$ )を投与し、1週間後にOVAの追加投与を行った。その1週間後および2週間後にラットを安楽死させ、採血および灌流固定を行った。そして、血清学的解析および組織学的観察を行った。

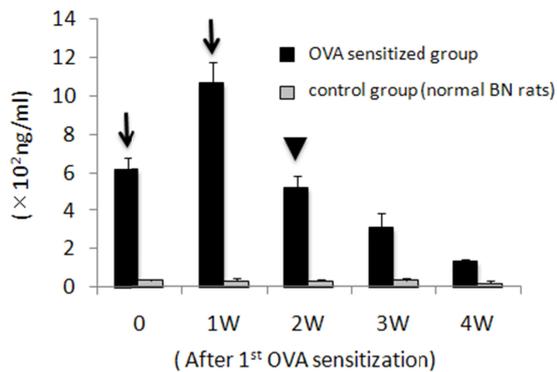
### C. 研究結果

マウス、ラット共に対照群と比較して体重には有意な変化は認められなかった。



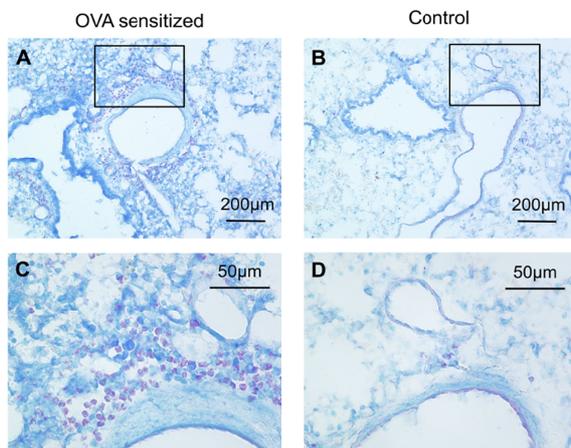
ラットの体重変化

血清中の総 IgE および OVA 特異的 IgE は OVA 投与群に於いて有意に上昇していた。



ラット血清中の OVA 特異的 IgE 濃度

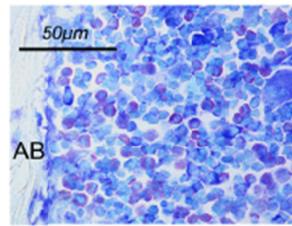
アレルギー反応が惹起されるかどうかを確認するため、OVA を吸入させ、肺および骨髄を組織学に観察した。肺組織には多数の好酸球の浸潤が認められた。また骨組織においても同様であった。



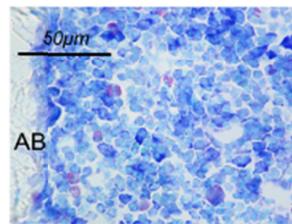
肺の顕微鏡写真

OVA 投与群では多量の赤紫色の好酸球浸潤が認められる。CD は AB の四角部分の拡大像を示す。

OVA sensitized



Control



骨髄においても OVA 投与により多数の好酸球浸潤が認められた。

次に、末梢神経および脊髄神経の変化を調べた。末梢組織、および脊髄のヘマトキシリンエオジン染色を施した切片においても OVA 投与群では炎症性細胞の浸潤が顕著に起こっていた。神経線維の分布や脊髄の構築は光学顕微鏡レベルでは変化は認められなかった。免疫学的な解析は進行中である。

#### D. 考察

アレルギー疾患罹患患者は世界的にも増加しており社会的にも経済的にも大きな課題の一つである。アトピー性皮膚炎や喘息等のアレルギー疾患関連の中枢・末梢神経障害の病因および病態解明のモデルとしてマウスおよびラットのアレルギー惹起を行い、好酸球性の炎症を起こすことが出来た。

これら動物を用い、痛み行動実験を行い、痛覚過敏が観察されたことで(吉良の項参照) このモデルがアトピー関連脳脊髄・末梢神経障害の

一つのモデルとして有用であることが考えられる。

## E. 結論

ラットおよびマウスにおいて卵白アルブミンをアジュバントと共に投与することで高 IgE 血症と末梢組織における好酸球浸潤を伴う病態を作出することができた。

## [参考文献]

[雑誌]著者名. 題名. 誌名. 発行年: 巻数; 頁-頁.

[書籍]著者名. 題名. In: 編集者名・編. 書籍名, 発行地, 発行所名, 発行年; 頁-頁.

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Akimoto N, Honda K, Uta D, Beppu K, Ushijima Y, Matsuzaki Y, Nakashima S, Kido MA, Imoto K, Takano Y, Noda M. CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury. *Cell Death Dis.*2013;4:e679.
2. Murata N, Ioi H, Ouchi M, Takao T, Oida H, Aijima R, Yamaza T, Kido MA. Effect of allergen sensitization on external root resorption. *J Dent Res.*2013;92;641-7.

### 2. 学会発表

1. 村田直久、五百井秀樹、大内雅博、城戸瑞穂、高橋一郎. 矯正的歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進メカニズムの解明. 第 73 回日本矯正歯科学会大会・第 5 回日韓ジョイントミーティング. 千葉, 2014.10.20-22. 優秀発表賞 受賞
2. 大内雅博、畠山純子、村田直久、良成正

雄、合島怜央奈、城戸瑞穂. アトピー素因が骨代謝に与える影響. 第 119 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 栃木, 2014.3.27-29.

3. 吉住潤子、宇都宮怜子、合島怜央奈、木附智子、城戸瑞穂. カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子多型と口腔痛み感覚. 第 55 回歯科基礎医学会学術大会. 岡山, 2013.9.20-22.
4. 村田直久、五百井秀樹、大内雅博、合島怜央奈、沖雄二、山座孝義、高橋一郎、城戸瑞穂. 矯正的歯の移動時におけるアレルギー誘導性歯根吸収促進機構. 第 55 回歯科基礎医学会学術大会. 岡山, 2013.9.20-22.
5. 宇都宮怜子、合島怜央奈、吉住潤子、木附智子、壇上敦、山下佳雄、城戸瑞穂. 口腔内乾燥を訴える患者に認められた口唇粘膜上皮のバリア機構の破綻. 第 55 回歯科基礎医学会学術大会. 岡山, 2013.9.20-22.
6. Kido MA, Ouchi N, Hatakeyama J, Murata M, Yoshinari M, Aijima R, Ioi H, Takahashi I. Novel insight into mechanisms of bone loss from allergic inflammation using experimental mouse model. 2nd Joint Meeting of the International Bone and Mineral Society and The Japanese Society for Bone and Mineral Research. 神戸, 2013.5.28-6.1.
7. 吉住潤子、合島怜央奈、大山順子、森悦秀、豊福明、木附智子、城戸瑞穂. 唐辛子辛味成分カプサイシン受容体 TRPV1 の遺伝子多型と口腔疼痛症候との関連. 第 67 回日本口腔科学会学術集会. 宇都宮, 2013.5.22-24.
8. Kido MA, Wang B, Aijima R, Takao T, Nishida M, Ohsaki Y, Zhang JQ, Mizuno A, Suzuki M, Noda M. Oral

9. epithelial cells are osmo-sensitive and regulate epithelial barrier via TRPV4. Neuroscience 2012. New Orleans, 2012.10.14.
10. 吉住潤子、大山順子、合島怜央奈、森悦秀、城戸瑞穂。ヒト口腔粘膜における TRPV1 チャンネルの発現と SNP 解析。第 66 回日本口腔科学学会・学術集会.広島,2012.5.17.

## **H. 知的財産権の出願・登録状況**

**1. 特許取得 なし**

**2. 実用新案登録 なし**

**3. その他**