

1. 原 著

- (1) 川畠雅樹, 馬越瑞夫, 松元隼人, 永野広海, 大堀純一郎, 黒野祐一
下極型扁桃周囲膿瘍の臨床的特徴
日本口腔・咽頭科学会 31(2): 187-192, 2018
- (2) 宮本佑美, 永野広海, 黒野祐一
上咽頭に発生した多形腺腫例
耳鼻臨床 111(7): 469-476, 2018
- (3) 井内寛之, 宮下圭一, 大堀純一郎, 黒野祐一
中咽頭小細胞癌の1例
頭頸部癌 44(3): 300-304, 2018
- (4) 井内寛之, 伊東小都子, 松元隼人, 花牟禮 豊, 松崎 勉, 黒野祐一
3-Weekly 高用量シスプラチン併用放射線化学療法の臨床的検討
- 2 回目のシスプラチン投与に注目して -
頭頸部癌 44(3): 305-309, 2018
- (5) 大堀純一郎, 黒野祐一
口腔底類皮嚢胞
耳鼻臨床 111(12): 804-805, 2018
- (6) M Kobayashi, M Miyagawa, S Nishio, H Moteki, T Fujikawa, K Ohyama, H Sakaguchi,
I Miyanohara, A Sugaya, Y Naito, S Morita, Y Kanda, M Takahashi, K Ishikawa,
Y Nagano, T Tono, C Oshikawa, C Kihara, H Takahashi, Y Noguchi, Usami S.
WFS1 mutation screening in a large series of Japanese hearing loss patients: Massively
parallel DNA sequencing-based analysis.
PLoS One. 13(3):e0193359, 2018

- (7) 久徳貴之, 永野広海, 井内寛之, 地村友宏, 黒野祐一
咽後膿瘍を合併した不全型川崎病例
耳鼻咽喉科臨床 112(2): 103-108, 2019
- (8) J Ohori, T Jimura, Y Kurono
The role of phosphorylcholine-specific immune responses in the tonsils and peripheral blood on IgA nephropathy
Acta Otolaryngologica 138(12): 1099-1104, 2018
- (9) Y Maseda, J Ohori, N Tanaka, H Nagano, K Miyashita, Y Kurono
Mucosal and systemic immune response to sublingual or intranasal immunization with phosphorylcholine
Auris Nasus Larynx 45(2): 273-280, 2018

2. 総 説

- (1) 黒野祐一
特集・ネブライザー療法－治療効果を高めるコツ－
「急性鼻副鼻腔炎に対するネブライザー療法の手引き」について
MB ENT 219: 49-54, 2018
- (2) 大堀純一郎
特集・あなどれない扁桃・扁桃周囲病変の診断と治療
急性扁桃炎とその鑑別
MB ENT 220: 13-19, 2018
- (3) 黒野祐一
生涯教育シリーズ－94
わかりやすい感覚器疾患 II 感覚器症候のみかた 味覚・嗅覚
2 嗅覚障害
日本医師会雑誌 147特(2): 112-113, 2018

(4) 大堀純一郎

降下性縦隔炎の現状と課題 耳鼻咽喉科領域（臨床）
日本気管食道科学会「専門医通信」56：15-20, 2018

(5) 黒野祐一

特集 これだけは知っておきたい医療安全と感染制御
耳鼻咽喉科診療における感染対策の特徴
JOHNS 34 (10): 1451-1453, 2018

(6) 黒野祐一

特集 今さら聞けないかぜの診療の ABC
《かぜを治す》高齢者のかぜと肺炎球菌ワクチン
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 90(11): 964-967, 2018

3. 国内学会発表

(1) 特別講演

第86回奈良県耳鼻咽喉科講習会 平成30年4月21日（奈良市）
「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」
黒野祐一

アレルギー Update 2018 in 九州－抗ヒスタミン薬を考える－
平成30年5月26日（福岡市）
「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」
黒野祐一

大分大学医学部臨床講義 平成30年6月11日（大分市）
「口腔・咽頭癌」
黒野祐一

第93回日耳鼻千葉県地方部会学術講演会 平成30年7月29日（千葉市）
「上気道炎症の粘膜ワクチンによる制御」
黒野祐一

島根大学医学部講義 平成30年8月29日（出雲市）

「鼻科領域の疾患と治療」

黒野祐一

第301回筑豊小児科医会勉強会 平成30年9月20日（飯塚市）

「アレルギー性鼻炎の診療における留意点」

黒野祐一

第8回江戸川・葛飾感染症ワークショップ 平成30年10月27日（東京都）

「急性重症上気道感染症の診療における留意点」

黒野祐一

第10回沖縄 Airway Conference 平成30年11月21日（那覇市）

「アレルギー性鼻炎の薬物療法における留意点と最新の話題」

黒野祐一

石川県耳鼻咽喉科医会学術講演会 平成30年11月29日（金沢市）

「アレルギー性鼻炎における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

HN seminar in Kagoshima 平成30年12月6日（鹿児島市）

「頭頸部がん治療の最適な治療戦略について」

宮下圭一

第10回日本高気圧環境・潜水医学会 中国四国地方会 平成30年12月15日（福山市）

「耳鼻咽喉科領域における高気圧酸素療法の位置づけ」

黒野祐一

東三学術講演会 平成31年1月16日（豊橋市）

「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

第2回北九州眼科アレルギー研究会 平成31年1月25日（小倉市）

「アレルギー性鼻炎診療に役立つ鼻の知識」

黒野祐一

第58回京滋臨床アレルギー懇話会 平成31年2月2日（京都市）

「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

角膜カンファランス2019

アレルギー疾患・最前線～診療科の枠を超えて～ 平成31年2月9日（京都市）

「上気道炎症の粘膜ワクチンによる制御－耳鼻咽喉科の立場から－」

黒野祐一

第27回九州アレルギー講習会 平成31年2月17日（福岡市）

「アレルギー性鼻炎の最近の話題」

黒野祐一

アレルギー Update セミナー in 九州 平成31年3月3日（福岡市）

「アレルギー性鼻炎に対する抗ヒスタミン薬の使い方」

黒野祐一

八幡耳鼻科医会講演会 平成31年3月7日（北九州市）

「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

熊本 AR（allergic rhinitis）学術講演会 平成31年3月23日（熊本市）

「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

宮崎市郡内科医会学術講演会 平成31年3月25日（宮崎市）

「アレルギー性鼻炎の治療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

(2) 教育講演

第67回日本アレルギー学会学術大会 平成30年6月22日～24日（千葉市）

「アレルギー専門制度を考える－耳鼻咽喉科の立場から－」

黒野祐一

第57回日本鼻科学会総会・学術講演会 平成30年9月27日～29日（旭川市）
 鼻科学会診療指針・ガイドラインセミナー
 「アレルゲン免疫療法診療指針」

宮之原 郁代

(3) ランチョンセミナー

第70回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会
 平成30年11月8日～9日（東京都）
 「アレルギー性鼻炎の診療における抗ヒスタミン薬の位置づけ」

黒野祐一

(4) パネルディスカッション

第57回日本鼻科学会総会・学術講演会 平成30年9月27日～29日（旭川市）
 「高齢マウスにおける複合 DNA アジュバントによる免疫応答の再活性化」

川島雅樹

(5) 一般

第37回気道分泌研究会 平成30年4月7日（札幌市）
 「肺炎球菌およびインフルエンザ菌の上皮接着におけるホスホリルコリンの役割」
 井内寛之

第119回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
 平成30年5月30日～6月2日（横浜市）

「肺炎球菌ワクチン接種後のホスホリルコリン経鼻追加免疫の効果（第2報）」

大堀純一郎，井内寛之，地村友宏，川島雅樹，永野広海，黒野祐一

「PspA 経皮ワクチンによる免疫応答の誘導」

永野広海，川島雅樹，大堀純一郎，牧瀬高穂，地村友宏，黒野祐一

「ホスホリルコリン（PC）とPC重合体（リピジュア）によるバイオフィルム形成の抑制」

川島雅樹，井内寛之，黒野祐一

第42回日本頭頸部癌学会 平成30年6月14日～15日（東京都）
 「咽喉食摘をおこない表在癌と診断された下咽頭癌症例の検討」（第2報）

大堀純一郎，宮下圭一，川島雅樹，永野広海，牧瀬高穂，馬越瑞夫，井内寛之

地村友宏, 黒野祐一

「上顎骨骨折部に生じた扁平上皮癌の2例」

川畠雅樹, 永野広海, 馬越瑞夫, 黒野祐一

第80回耳鼻咽喉科臨床学会総会・学術講演会 平成30年6月29日～30日(横浜市)

「レンパチニブが奏功した甲状腺乳頭癌の5症例」

地村友宏, 永野広海, 井内寛之, 馬越瑞夫, 原田みずえ, 牧瀬高穂, 川畠雅樹

宮下圭一, 大堀純一郎, 黒野祐一

「不全型川崎病に併発した咽後膿瘍の1例」

久徳貴之, 永野広海, 地村友宏, 黒野祐一

「びまん性大細胞型B細胞リンパ腫を合併した耳下腺 Warthin 腫瘍の1例」

松元隼人, 永野広海, 馬越瑞夫, 川畠雅樹, 宮下圭一, 黒野祐一

第13回日本小児耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会

平成30年7月12日～13日(横浜市)

「小児睡眠時無呼吸症候群に対するアデノイド口蓋扁桃摘出術の治療効果」

宮下圭一, 黒野祐一

第33回日耳鼻九州連合地方部会学術講演会 平成30年7月14日～15日(別府市)

「下顎骨腫瘍として紹介された薬剤関連顎骨壊死の1例」

松元隼人, 吉福孝介, 西元謙吾, 松崎 勉, 黒野祐一

「菊池病の2例」

松崎尚寛, 吉福孝介, 西元謙吾, 松崎 勉, 黒野祐一

第6回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会総会・学術講演会

平成30年9月7日～8日(金沢市)

「肺炎球菌およびインフルエンザ菌の上皮細胞接着に対するホスホリルコリン重合体の阻害効果」

井内寛之, 久徳貴之, 川畠雅樹, 黒野祐一

「菌原性深頸部膿瘍の臨床的検討」

久徳貴之, 井内寛之, 川畠雅樹, 大堀純一郎, 黒野祐一

第31回日本口腔・咽頭科学会総会ならびに学術講演会

平成30年9月13日～14日（名古屋市）

「良悪性の術前および術中診断を誤った耳下腺腫瘍の臨床的特徴」

川畠雅樹, 井内寛之, 永野広海, 黒野祐一

「高用量シスプラチン併用放射線治療における臨床的検討」

井内寛之, 馬越瑞夫, 牧瀬高穂, 川畠雅樹, 永野広海, 大堀純一郎, 黒野祐一

伊東小都子, 花牟禮 豊

第57回日本鼻科学会総会・学術講演会 平成30年9月27日～29日（旭川市）

「小児眼窩骨膜下膿瘍の1例」

積山幸祐, 黒野祐一

「ホスホリルコリン舌下免疫によるアレルギー性鼻炎の抑制」

牧瀬高穂, 大堀純一郎, 黒野祐一

「ホスホリルコリン経鼻免疫応答におけるコレラトキシン poly (I:C) のアジュバント効果の相違」

地村友宏, 大堀純一郎, 永野広海, 川畠雅樹, 牧瀬高穂, 黒野祐一

第28回日本耳科学会総会・学術講演会 平成30年10月3日～6日（大阪市）

「PCV13全身免疫後のホスホリルコリン経鼻追加免疫の効果」

大堀純一郎, 黒野祐一

第63回聴覚医学会総会・学術講演会 平成30年10月17日～19日（神戸市）

「MYH14遺伝子変異による難聴症例の検討」

平松 憲, 茂木英明, 西尾信哉, 荒井康裕, 宮崎浩充, 宮之原郁代, 宇佐美真一

第70回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会

平成30年11月8日～9日（東京都）

「小児睡眠時無呼吸症候群に対するアデノイド・口蓋扁桃摘出術の効果」

宮下圭一, 黒野祐一

第29回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会

平成31年1月24日～25日（仙台市）

「副咽頭間隙膿瘍に進展した扁桃周囲膿瘍に対する即時扁桃摘の有用性」

大堀純一郎, 井内寛之, 川畠雅樹, 永野広海, 黒野祐一

「Inflammation based prognostic score を用いた下咽頭癌の予後因子の検討」

井内寛之, 黒野祐一

第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 平成31年2月7日～9日（大阪市）

「PCV13接種後のホスホリルコリン経鼻投与による免疫増強効果」

大堀純一郎, 川島雅樹, 永野広海, 黒野祐一

「再発性多発軟骨炎9症例の検討」

永野広海, 地村友宏, 川島雅樹, 大堀純一郎, 黒野祐一

「結合化ホスホリルコリン重合体の粘膜アジュバント効果」

地村友宏, 川島雅樹, 永野広海, 大堀純一郎, 黒野祐一

第1回日本アレルギー学会九州・沖縄支部地方会 平成31年2月16日（福岡市）

「ホスホリルコリンに対する血清中抗体活性とアレルギー性鼻炎の感作・発症リスクの関連性についての検討」

宮之原郁代, 大堀純一郎, 牧瀬高穂, 黒野祐一

「ホスホリルコリン舌下投与によるアレルギー性鼻炎の抑制効果」

牧瀬高穂, 大堀純一郎, 黒野祐一

第31回日本喉頭科学会総会・学術講演会

第42回日本嚥下医学会総会ならびに学術講演会

平成31年3月7日～9日（久留米市）

「咽喉頭脱分化型脂肪肉腫の経口的切除を施行した一例」

宮本佑美, 松元隼人, 永野広海, 黒野祐一

4. 国際学会発表

The 17th Japan-Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery

Gwangju, Korea April. 6-8, 2018

「Transcutaneous immunization with pneumococcal surface protein A in mice」

H. Nagano, M. Kawabata, J. Otori, K. Miyashita, Y. Kurono, K. Fujihashi

「The clinical characteristics of inferior pole peritonsillar abscess」

M. Kawabata, H. Nagano, Y. Kurono

5. 学位論文要旨

総研第463号

Transcutaneous immunization with phosphorylcholine induces antigen-specific mucosal and systemic immune responses in BALB/c mice

（ホスホリルコリン経皮投与における全身および粘膜面にあたえる影響に関するマウスを用いた検討）

永野 広海

はじめに：近年、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌や多剤耐性緑膿菌などの薬剤耐性菌が蔓延し、また高病原性鳥インフルエンザの広域感染など、その予防と医療経済の観点からもワクチンの開発は急務である。ワクチンの投与経路には皮下注射などの全身投与と経鼻ワクチンや舌下ワクチンなどの経粘膜投与の2つが代表的であるが、期待されていた経粘膜投与の経鼻ワクチンでは顔面神経麻痺の有害事象が報告された。有害事象の少ない投与経路が模索されており、近年新たな投与方法として経皮ワクチンが注目されている。その特徴として、他の粘膜ワクチンと同様に接種時に痛みを伴わないこと、また血管が分布していない皮膚の表皮に限局して抗原を投与するため発熱やアナフィラキシーのような副作用が起こらないなどの特徴がある。我々も以前、他誌にCTを抗原とした経皮免疫による粘膜免疫応答に関して報告した。今回使用した抗原であるホスホリルコリン（以下PC）は、様々な細菌の細胞膜の表面に発現している構成成分であり、これに対する抗体産生を誘導できれば粘膜面において幅広い細菌感染を制御できるのではないかと考える。またワクチンは摂取後どの程度の期間抗体価維持できるかを知ることは、実地臨床での応用を見据えると必要となる。今回我々は、PCを用いた経皮免疫における血清や粘膜面における粘膜免疫応答に関して経時的な変化も踏まえ若干の文献的考察を踏まえて報告する。

対象と方法：実験動物として6週齢のBALB/cマウスを用いた。経皮投与群における抗原はPC（200 μ g/回）を用いて、除毛した背部皮膚に滴下した。コントロール群は、リン酸緩衝生理食塩水（Phosphate buffered saline：以下PBS）とCT（2 μ g/回）を背部皮膚に滴下した。免疫は、1回/週の頻度で6回施行した。最終免疫から1回/月ごとに6カ月後まで、血清中PC特異的IgM、IgG、IgA、唾液中のPC特異的IgAをELISA法にて測定し、経時的変化を追跡した。また最終免疫から6カ月後に血清中PC特異的IgGサブクラスの測定と摘出した脾臓よりCD4陽性細胞を分離72時間培養し上清中の

IFN- γ , IL-5, IL-4, IL-10, IL-12, IL-13をELISA法にて測定した。

結果：経皮投与群は、コントロール群と比較して最終免疫から6カ月後も血清中PC特異的IgGは有意 ($p < 0.01$) に高値を維持した。一方で血清中PC特異的IgAは、5カ月後までは有意 ($p < 0.01$) に高値であったものの、6カ月後には有意差 ($p > 0.05$) はなくなった。唾液中のPC特異的IgAは、経皮投与群は6ヶ月後も有意差 ($p < 0.01$) を認めた。血清中PC特異的IgGサブクラスの検討では、経皮投与群 ($p < 0.01$) とコントロール群 ($p < 0.01$) ともIgG1がIgG2aより有意に高値であった。またIgG1 ($p < 0.01$), IgG2a ($p < 0.01$) ともに経皮投与群が有意に高値であった。IL-4は、経皮投与群 (53.3 ± 3.11 pg/ml) がコントロール群 (6.4 ± 0.58 pg/ml) と比較して有意 ($p < 0.01$) に高値であった。IL-10は両群間で有意差は認めなかった。IFN- γ , IL-5, IL-12, IL-13は検出されなかった。

まとめ：本研究より、背部の皮膚も用いた経皮免疫は、簡単な投与方法であるが一定期間血清中や唾液中に抗原特異的免疫グロブリンを確認でき、新たな投与経路としての可能性を示唆することができた。この実験系ではTh2型へシフトしていた。

(Auris Nasus Larynx Vol.42 (6) : 478-82, 2015 掲載)

総論第33号

Intranasal Immunization with Phosphorylcholine Suppresses Allergic Rhinitis in Mice

(ホスホリルコリン経鼻免疫によるアレルギー性鼻炎発症の抑制)

宮下 圭一

【序論及び目的】

急性中耳炎など上気道細菌感染症の発生率は依然として高く、さらに薬剤耐性菌が増加している。1990年代半ば以降、多くの国々で蛋白結合型肺炎球菌ワクチンが使用され、侵襲性肺炎球菌感染症の発生率は劇的に減少したが、非ワクチン肺炎球菌株やインフルエンザ菌などによる急性中耳炎が増加し、上気道感染症に有効な広域スペクトラムワクチンの開発が必要とされている。その一つとして一般的な病原体関連分子パターンを持ち、グラム陽性菌と陰性菌の両方の細胞外膜に存在するホスホリルコリン (PC) が注目されている。そこで我々はPCにKeyhole limpet hemocyanin (KLH) を結合させたPC-KLHをマウスに経鼻投与し、それによってPC特異的IgAならびに全身免疫答が誘導され、肺炎球菌およびインフルエンザ菌のクリアランスが亢進することを証明した。さらにPC-KLHによる経鼻免疫では、IgE産生が上昇しなかったことから、PCは特異的IgA

粘膜免疫応答の誘導と同時に、IgE 産生を抑制する可能性も示唆された。これを支持する研究として、PC を保有する肺炎球菌ワクチンが急性喘息発作の頻度を低下させ、喘息の動物モデルにおけるアレルギー性炎症を抑制させることが報告されており、アレルギー特異的 IgE 産生およびアレルギー性炎症の抑制に関連していると推測される。最近の研究では、PC を高発現する肺炎球菌に幼齢マウスを暴露させると、成長後にハウスダスト・ダニ特異的 IgE 産生および気道の過敏性が有意に低下することが示されている。しかし、PC が直接アレルギー特異的 IgE 産生を低下させ、アレルギー性炎症を抑制させるか否かについては、これまで知られていない。PC がアレルギー性炎症を抑制することが示されれば、PC は上気道細菌感染症とアレルギー性疾患の両方の予防に応用できる可能性がある。

そこで、本研究では、PC 経鼻ワクチンが I 型アレルギー疾患であるアレルギー性鼻炎の発症に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、卵白アルブミン (OVA) アレルギー性鼻炎モデルに対して、OVA 感作前に PC 経鼻免疫を行い、OVA 経鼻誘発後のアレルギー性鼻炎症状ならびにアレルギー性炎症に対する抑制効果を検討した。

【材料及び方法】

①アレルギー性鼻炎モデルの作成と PC 経鼻免疫の方法

実験には生後 6 週齢の雌性 BALB/c マウスを使用し、PC-KLH 経鼻投与後 OVA 感作群 (PC-KLH+OVA 群)、PBS (Phosphate buffered saline) 経鼻投与後 OVA 感作群 (PBS+OVA 群)、PBS 経鼻投与後 OVA 感作なし群 (対照) の 3 群に分け、アレルギー性鼻炎に対する PC 経鼻免疫の影響を検討した。PC-KLH もしくは PBS の経鼻投与は 1 週毎に 3 回、OVA 腹腔内投与による全身感作も 1 週毎に 3 回行った。

②アレルギー性鼻炎症状の評価と免疫学的観察

OVA 全身感作を 3 回行った後 7 日目 (42日目) から OVA を連日経鼻投与し、8 日目 (49日目) の OVA 経鼻投与直後から 5 分間の鼻かき、くしゃみの回数をそれぞれ計測した。また同日に採血し、血清中の総 IgE および OVA 特異的 IgE 値を ELISA 法で測定した。さらに鼻腔粘膜を採取し、ホルマリン固定後に HE 染色を行い、鼻粘膜に浸潤した好酸球数および鼻粘膜浮腫の程度を評価した。脾臓および NALT (Naso-Associated Lymphoid Tissue: 鼻咽腔関連リンパ組織) も同様に採取し、単核球を分離したのちに CD4⁺ T 細胞を分離し、これを抗原呈示細胞、OVA とともに培養し、上清中の IL-4、IFN- γ を ELISA 法で測定した。また、脾臓から樹状細胞 (Dendritic Cell: DC) を分離し、これを LPS または PC-KLH で刺激し、培養上清中の IL-12p40 の濃度を ELISA 法で測定した。

【結 果】

①アレルギー性鼻炎症状

49日目のOVA経鼻投与後5分間アレルギー症状を観察した。鼻かき・くしゃみの回数は、いずれもPC-KLH+OVA群でPBS+OVA群と比較して有意に減少したが、対照と比較すると有意に高かった。

②血清中の総IgEおよびOVA特異的IgE

血清中総IgEおよびOVA特異的IgE値は、OVAによる全身感作およびOVA経鼻投与後に著明に上昇した。PC-KLH+OVA群では対照より有意に高いがPBS+OVA群と比較して有意に低値であった。

③鼻粘膜組織中の好酸球浸潤と鼻粘膜の肥厚

組織中の好酸球数はPC-KLH+OVA群の方がPBS+OVA群より有意に少なく、対照と同程度であった。鼻粘膜の厚さもPC-KLH+OVA群の方がPBA+OVA群より低値であり、対照と同程度であった。

④CD4⁺T細胞によるIL-4の産生

NALTおよび脾臓から分離されたCD4⁺T細胞によるIL-4産生は、PC-KLH+OVA群がPBA+OVA群と比較して有意に低値であった。なおIFN- γ の産生は、いずれの群でも認められなかった。

⑤LPSおよびPC-KLH刺激による脾臓DCからのIL-12p40産生

ナイーブマウスの脾臓からDC (CD11c⁺細胞) を分離し、LPSおよびPC-KLHでこれを刺激すると、用量依存性にIL-12p40産生が増加した。

【考察・結語】

I型アレルギー性炎症の発症に必須のIgE産生は、Th2型の免疫応答によって亢進し、アレルギー性鼻炎ではNALTにおけるTh2サイトカインであるIL-4やIL-13の産生がその発症に関与する。本研究でNALTから分離されたCD4⁺T細胞におけるIL-4産生を測定したところ、PC前投与群ではPC非投与群と比較して、その産生が有意に抑制され、対照とほぼ同程度であった。一方、脾臓のCD4⁺T細胞からのIL-4産生もPC前投与群で抑制されたが、対照と比較してやや高値であった。以上の結果から、アレルギー性鼻炎の発症には脾臓よりもNALTにおけるTh2型の免疫応答が重要であり、これによりIgE産生や局所の好酸球浸潤が抑制されたと考えられた。またDCは免疫応答の誘導に重要な役割を担う細胞であり、脾臓から分離したDCをPCおよびLPSで刺激したところ、DCからTh1型細胞の分化に関与するIL-12p40の産生が用量依存性に増加した。LPSはDCのTLR-4と結合し、MyD88シグナル伝達経路を介してIL-12の産生を誘導することが知られており、PCを含む糖タンパクであるES-62もTLR-4と結合することから、PC刺激においてもLPSと同様の機序でIL-12p40の産生が亢進したと考えられた。以上の結果から、アレルゲン感作前のPC経鼻免疫が、アレルゲンによるTh2型免疫応答の誘導を阻止し、鼻粘膜におけるアレルギー性炎症およびアレルギー性鼻炎症状の発

症を抑制することが示唆された。

(The Laryngoscope July 2018年掲載)

総論第34号

Mucosal and systemic immune response to sublingual or intranasal immunization with phosphorylcholine

(ホスホリルコリン舌下ならびに経鼻免疫に対する粘膜および全身免疫応答)

問世田 佳子

【序論及び目的】

肺炎球菌ワクチンは、侵襲性肺炎球菌感染症の発症を著しく抑制した。しかし、ワクチン株以外の肺炎球菌やインフルエンザ菌による急性中耳炎に対しては、あまり効果がない。それゆえ、肺炎球菌やインフルエンザ菌の多くの株に対して効果的な広域スペクトラムワクチンの開発が求められている。ホスホリルコリン (PC) は、肺炎球菌やインフルエンザ菌を含む多くの病原菌の構成成分であり、我々はこれまでPCとコレラトキシン (CT) の経鼻投与により粘膜および全身免疫応答が誘導され、複数株の肺炎球菌とインフルエンザ菌のクリアランスが亢進することから、PCが広域スペクトラムワクチンとなり得ることを報告した。その一方で、経鼻投与された抗原やアジュバントが中枢神経系に入り、不活化経鼻インフルエンザワクチンの臨床試験ではベル麻痺が高頻度に発症することが報告されている。したがって経鼻以外のワクチン接種経路を確立する必要がある。その一つの方法として舌下免疫が注目されている。しかし、ワクチンが舌下と経鼻で投与された際の免疫応答誘導の機序の違いは十分に理解されていない。そこで、本研究ではマウスにPCを舌下および経鼻投与し、PC特異的免疫応答を比較し、舌下免疫の有効性と安全性を評価した。

【材料及び方法】

①免疫と検体採取とPC特異的免疫応答の測定

6週齢の雌性BALB/cマウスにPCを舌下および経鼻投与した。さらにそれぞれをCT単独投与群 (CT群) とPC-keyhole limpet hemocyanin + CT投与群 (PC-KLH+CT群) に分け、4群で比較した。舌下および経鼻免疫は1週間毎に3回行い、最終免疫から1週間後に、唾液、鼻腔洗浄液、膺洗浄液、血清を採取しELISA法でPC特異的抗体価を測定した。

② CD⁴ T 細胞からのサイトカイン産生の測定

免疫後に脾臓から CD⁴ T 細胞を分離し、抗原提示細胞としてマイトマイシン処理した脾臓単核細胞を使用した。CD⁴ T 細胞と抗原提示細胞を PC とともに 37℃、5% CO₂ で 72 時間培養し、その上清を回収し、Interferon (IFN)- γ 、interleukin (IL)-4 の濃度を ELISA 法で測定した。

③ 血清総 IgE、CT および PC、KLH 特異的 IgE の測定

血清総 IgE はマウス IgE 測定キットを用いて測定した。CT および PC、KLH 特異的 IgE は、サンドイッチ ELISA 法を用いて定量した。

④ 鼻腔洗浄液中 IgA の肺炎球菌およびインフルエンザ菌に対する反応性

肺炎球菌ならびにインフルエンザ菌それぞれ 10 株の細胞膜溶解液を作成し、それぞれを PC で舌下および経鼻免疫したマウスの鼻腔洗浄液そして PC 特異的マウスモノクローナル IgA と反応させ、その抗体価を ELISA 法で測定した。

【結果】

① PC 特異的粘膜および全身免疫応答

唾液、鼻腔洗浄液、膣洗浄液中の PC 特異的 IgA 抗体価は、舌下、経鼻免疫ともに CT 群より PC-KLH+CT 群で有意に高かった。さらには PC-KLH+CT 群で比較すると、膣洗浄液中の PC 特異的 IgA 抗体価は、舌下が経鼻免疫より有意に高かった。血清中の PC 特異的 IgM、IgG、IgA 抗体価は、舌下、経鼻免疫ともに PC-KLH+CT 群で同程度の上昇を認めた。

② 特異的 Th1 および Th2 型免疫応答の観察

PC-KLH+CT 群では CT 群と比較して舌下、経鼻免疫ともに IFN- γ と IL-4 産生が有意に上昇した。しかし、IFN- γ は舌下が経鼻免疫より高く、IL-4 は経鼻が舌下免疫より有意に高かった。IgG サブクラス抗体価は、PC-KLH+CT 群では舌下、経鼻免疫ともに上昇し、IgG2a 抗体価は舌下が経鼻免疫群より有意に高かった。

③ 血清総 IgE、PC および CT 特異的 IgE

総 IgE は、CT 経鼻免疫群は著しく上昇したが、舌下免疫では上昇しなかった。一方、PC-KLH + CT 群では舌下、経鼻免疫ともに総 IgE は上昇しなかった。CT 特異的 IgE は、CT 経鼻免疫群では上昇したが、舌下免疫では上昇しなかった。また、PC-KLH+CT 群では舌下、経鼻免疫ともに CT 特異的 IgE は上昇しなかった。PC および KLH 特異的 IgE はいずれの群においても検出限界以下であった。

④ 鼻腔洗浄液中 IgA の肺炎球菌およびインフルエンザ菌に対する交差反応性

PC-KLH + CT 群から採取された鼻腔洗浄液中 IgA は殆どすべての肺炎球菌とインフルエンザ菌に反応し、TEPC15 の反応性と正の相関を認めた。

【考察および結論】

本研究により、PC-KLH+CTによる舌下免疫で誘導される粘膜及び全身免疫応答は、経鼻免疫のそれとほぼ同等であった。また腭洗浄液中におけるPC特異的IgAは、舌下が経鼻免疫より有意に上昇したことから、婦人科感染症を予防するには舌下免疫の方が有用と考えられた。IgGサブクラスの検討では、IgG2aは舌下が経鼻免疫より有意に上昇し、舌下免疫ではTh1型免疫応答が優位となることが示され、CD⁴T細胞からのIFN- γ 産生も舌下免疫の方が、IL-4産生は経鼻免疫の方が高値であった。こうしたTh1およびTh2型免疫応答のバランスが舌下と経鼻免疫応答の違いに関与しており、CT群の経鼻免疫では総IgEおよびCT特異的IgEが有意に上昇したが、舌下免疫ではこれらが上昇しなかったのはそのためと思われた。さらにPC-KLH+CT経鼻免疫群では、CT単独で誘導された総IgEを著しく減少させたことから、PC-KLHはIgE産生を抑制すると考えられた。またPC-KLH+CT群の鼻腔洗浄液中のIgAは、肺炎球菌およびインフルエンザ菌の細胞膜と交差反応し、TEPC15の反応性と正の相関があったことから、鼻腔洗浄液中のPC特異的IgAとTEPC15の結合部位がほぼ同一であると考えられた。なお、いくつかのインフルエンザ菌株では反応性が低かったが、これは細胞表面のPC発現の違いによると考えられた。肺炎球菌やインフルエンザ菌の気道上皮への侵入や上咽頭のコロニー形成はPC発現強度と関連していることから、舌下や経鼻免疫で誘導されたPC特異的IgA抗体は常在菌叢に影響を及ぼすことなく、毒性の強い肺炎球菌やインフルエンザ菌の侵入を防ぐと考えられた。

以上の結果から、舌下免疫は経鼻免疫と同様に上気道の粘膜免疫ならび全身免疫応答を誘導することが可能であり、I型アレルギー疾患を発症する危険性が少なく、経鼻免疫よりも安全な免疫経路であると考えられた。またPCは、細菌感染症に加えてI型アレルギー性炎症も抑制できるワクチンとなり得ることが示唆された。

(Auris Nasus Larynx. 2017 May4. 掲載)