



Local ocular immunotherapy for experimental allergic conjunctivitis

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 町田, 拓幸 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1627

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 350号	学位授与年月日	平成13年11月 2日
氏 名	町 田 拓 幸		
論文題目	Local ocular immunotherapy for experimental allergic conjunctivitis (実験的アレルギー性結膜炎に対する眼局所減感作療法)		

博士(医学) 町 田 拓 幸

論文題目

Local ocular immunotherapy for experimental allergic conjunctivitis

(実験的アレルギー性結膜炎に対する限局所減感作療法)

論文の内容の要旨

[はじめに]

I型アレルギー疾患に対する多くの治療法が対症療法であるのに対して、抗原特異的減感作療法は根治療法に近いものである。減感作療法の有効性はすでに認知されているが、抗原の皮下注射による方法はアナフィラキシーショックの危険や、頻回の通院が必要な事など、患者への負担が大きく、眼科領域のアレルギー性結膜炎患者に対して行うことは困難であった。近年、耳鼻科領域で低濃度抗原を鼻内に噴霧して行う減感作療法が行われ、良好な結果を得ている。眼科領域では低濃度抗原の点眼による減感作療法の臨床報告が数件あるのみで、基礎実験のデータはない。そこで、点眼による減感作療法の有効性を実験的アレルギー性結膜炎モデルを用いて検討した。

[材料ならびに方法]

(1) 実験的アレルギー性結膜炎モデルの作製

8週齢雄性 Hartley モルモットを用いて、抗原として卵白アルブミン(1mg/mL)、アジュバントとして水酸化アルミニウム(20mg/mL)と百日咳死菌(10^{10} 個/mL)を用い、これらの混合液1 mLをモルモットの腹腔内に注射して感作した。感作は1週間の間隔をおいて2回行った。最終感作から3週間後に高濃度の卵白アルブミン(20mg/mL)を点眼し結膜アレルギー炎症が惹起されることを確認した。

(2) 点眼による限局所減感作療法

治療群：予備実験にて肉眼的にはアレルギー炎症を生じない事を確認した低濃度の卵白アルブミン(10 μ g/mL)を1日1回、3週間点眼した。

対照群：生理食塩水を同回数、同期間点眼した。

(3) 抗原チャレンジ及びアレルギー炎症の評価

3週間の点眼の後、両群ともに高濃度の卵白アルブミン(20mg/ml)を点眼し、アレルギー炎症を惹起した。

即時相の反応の評価：抗原チャレンジ30分後に結膜の肉眼的所見をスコア化して即時相の反応の指標とした(スコア：1、軽度の結膜充血；2、強度の結膜充血；3、結膜充血と軽度から中等度の結膜浮腫；4、強度の結膜浮腫)。

遅発相の反応の評価：抗原チャレンジ8時間後と24時間後に動物を屠殺し、眼瞼ごと眼球を摘出して、矢状断最大断面でヘマトキシリンエオジン染色標本を作製した。光学顕微鏡400倍の視野内で結膜内の炎症細胞数を数え、任意の3視野の値を平均した。8時間後にはリンパ球、好中球、好酸球の総炎症細胞数を、24時間後には好酸球数を計測し、遅発相の反応の指標とした。

〔結果〕

(1) 即時相の反応

抗原チャレンジ30分後の臨床スコアは、対照群では3から4の範囲(中央値4)で、治療群では2から4の範囲(中央値3)であった。治療群のスコアが対照群に比べてやや低かったが、統計学的に有意差はなかった($P=0.1429$)。

(2) 遅発相の反応

抗原チャレンジ8時間後の結膜の総炎症細胞数は、対照群では 199.1 ± 83.4 細胞/視野、治療群では 60.8 ± 23.2 細胞/視野で、治療群が有意に少なかった($P=0.0004$)。抗原チャレンジ24時間後の好酸球数は対照群では 50.3 ± 15.0 細胞/視野、治療群では 22.1 ± 15.5 細胞/視野で、同じく治療群が有意に少なかった($P=0.0092$)。

〔考察〕

減感作療法後には、即時相の反応には変化がないが、遅発相の反応が抑制されたとする報告が多くみられる。今回の我々の実験でも同様の結果であり、減感作療法は主に遅発相の反応を抑制すると考えられる。

アレルギー炎症においては好酸球浸潤を伴う遅発相の反応が疾患の重症度に関連していると考えられるので、治療にあたっては、この遅発相の反応をいかに抑制するかが重要である。この観点からみると、減感作療法はアレルギー炎症の治療に関して理想的な方法である。抗原の皮下注射による減感作療法はアナフィラキシーショックの危険性を常に念頭におかねばならないが、点眼で局所的に低濃度抗原を投与する今回の治療法はアナフィラキシーショックの危険性がより少ない安全な方法と考える。

〔結論〕

- (1) 点眼による限局所減感作療法は、実験的アレルギー性結膜炎に対して、抗原チャレンジ30分後の即時相の反応において、対照群と有意差がなかった。
- (2) 点眼による限局所減感作療法は、実験的アレルギー性結膜炎に対して、抗原チャレンジ8時間後、24時間後の遅発相の反応を対照群よりも有意に抑制した。

論文審査の結果の要旨

I型アレルギー炎症であるアレルギー性結膜炎に対する根治療法の1つに、抗原特異的減感作療法があるが、アナフィラキシーショックの危険性や、頻回の通院の必要性など、患者に対する負担が大きく、問題が多いのが現状である。そこで申請者は眼科領域における抗原特異的減感作療法に着目し、モルモットを用いて特異抗原である卵白アルブミンを点眼により接種し、実験的アレルギー性結膜炎モデルを確立し、減感作療法の有効性を検討した。

審査委員会において、申請者が本研究において用いた材料および方法は、本実験の目的に適切であると判断された。すなわち、雄 Hartley 系モルモットにおいて、低濃度の卵白アルブミン(1mg/mL)を抗原として腹腔内に投与し、アジュバントとして水酸化アルミニウム(20mg/mL)と百日咳死菌(10^{10} 個/mL)をそれぞれ用いて初回感作を行い、2回の追加感作ののち、最終感作後3週目に高濃度の卵白アルブミン

(20mg/mL)を点眼して、結膜に実験的アレルギー性炎症を惹起させた。なお前処置として、肉眼的にアレルギー炎症が認められない濃度の卵白アルブミン(10 μ g/mL)を1日1回3週間点眼し、対照群には生理的食塩水を同様に点眼した。

アレルギー炎症の評価として、即時相の反応は30分後の結膜のスコア化した肉眼的所見、遅発相の反応は8時間と24時間後の結膜局所の炎症細胞数を顕微鏡的に観察した。

得られた結果は次のとおりである。

- 1) 即時相の反応は、対照群と治療群の間で、有意の差がみられなかった。
- 2) 遅発相の反応としては、対照群と比べ治療群で8時間後の総炎症細胞数に有意の減少が認められた。また、24時間では好酸球の有意の減少が認められた。

以上の所見から、減感作療法により起こる変化は遅発相においてみられ、とくに好酸球の浸潤の減少が著しいことより、遅発相の反応をいかに抑制するかが重要であると、申請者は結論している。

審査委員会では、本研究は皮下注射によるのではなく、点眼により減感作療法を行い、アナフィラキシーショックを起こすことなく、安全に、かつ効果的にアレルギー炎症を抑制できる方法の基礎的情報を提供したとして、本研究に対し高い評価が与えられた。

以上の研究発表に際して、申請者に対して次のような質疑がなされた。

- 1) 実験動物としてモルモットを用いた理由
- 2) 抗原として卵白アルブミンを用いた理由
- 3) 用いた卵白アルブミンのdoseをどのようにして決定したか
- 4) 正常対照群の必要性について
- 5) スコアの算出法の評価と、その信憑性について
- 6) 即時相においてスコアに差が見られないにもかかわらず、細胞種が異なっていた理由
- 7) 即時相の抑制法について
- 8) 遅発相の後期(45～72時間後)の反応を検討したか
- 9) 涙液中の chemical mediator の変化について
- 10) 末梢血の eosinophilia を検討したか
- 11) 炎症局所の Th1 と Th2 の浸潤および inflammatory cytokines の変化について検討したか

これらの質疑に対する申請者の応答はおおむね適切であった。また、残された問題点については今後更に追求する旨の回答がなされた。

以上の審査の結果、本研究が学位(医学)の授与に値する十分な内容を備えているものと、審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	山下	昭	
	副査	平光	忠久	副査 三浦克敏