

研究課題名	食物アレルギーにおける免疫記憶の機序解明		
フリガナ	アダチ タカヒロ		
代表者名	安達 貴弘		
所属機関（機関名） （役職名）	東京医科歯科大学難治疾患研究所 准教授		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	戸村 道夫 （トムラ ミチオ）	大阪大谷大学・教授	免疫細胞のプロファイルイン グ
	中村 公則 （ナカムラキミノリ）	北海道大学 准教授	腸管バリア機能の解析
	高雄 啓三 （タカオ ケイゾウ）	富山大学 教授	行動学解析
本助成金による発 表論文，学会発表	Immunoglobulin A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum. Nagaishi T, Watabe T, Kotake K, Kumazawa T, Aida T, Tanaka K, Ono R, Ishino F, Usami T, Miura T, Hirakata S, Kawasaki H, Tsugawa N, Yamada D, Hirayama K, Yoshikawa S, Karasuyama H, Okamoto R, Watanabe M, Blumberg RS, Adachi T. Gut. 2021 May 7;gutjnl-2020-322873. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322873. Online ahead of print.PMID: 33963042		

研究結果要約

食物アレルギーの原因の1つは腸管バリア機能の低下（leaky gut）といわれており、腸管バリア機能に重要な IL-22 および IgA に着目し、食物抗原特異的な IgE 産生機序との関連についての研究を行った。2019 年度の研究助成の成果として、IgA が食物アレルギーに深く関わっていることを示唆する結果を得ており、独自に樹立した IgA 欠損マウスを用いて、IgA の機能のさらなる解析を行った。IgA 欠損マウスでは腸内細菌のゆがみに依存して回腸炎が起こるが、これにはグラム陽性、陰性の腸内細菌とも関与していること、また、炎症は回腸の上皮陰窩に起因していることを見出した。この微細な異常は、食物アレルギーの予防や診断をするうえで超早期の標的になると考えられる。さらに IgA 産生細胞の動態を詳細に解析するために、IgA 産生細胞可視化マウスを作製し、脾臓や小腸で検出できることを確認した。また、IgA 欠損マウスでは、野生型マウスに比べ、抗原感作によってより多くの抗原特異的 IgE 抗体が誘導されることを昨年度報告したが、皮膚感作アレルギーモデルで IgE 抗体産生細胞の検出方法を確認し、リンパ節に IgE 産生細胞が存在していることをつきとめた。一方、IL-22 に関しては、IL-22 欠損マウスを樹立し、腸管バリア機能の低下を確認後、食物アレルギーモデルで評価をしたが、それだけでは食物アレルギーは誘導できず、他の要因の関与が示唆された。

研究目的

食物アレルギーは食物抗原に一旦感作されて免疫記憶が成立してしまうと抗原を摂取するたびにアレルギー症状が惹起されてしまう。しかし、その治療方法としては、アレルギーの原因となる食物を避けるといった対処療法が、いまだ主流である。少量の抗原を投与する減感作療法も行われているが、根本的な解決には至っていない。通常は、食物抗原により、制御性 T 細胞が誘導されて経口免疫寛容がされるが、腸管や皮膚などのバリア機能が破綻すると、食物が体内に侵入し、免疫反応が惹起され、アレルギーを発症すると考えられる。これまでの研究から、独自に腸管、皮膚のバリア機能を低下せた食物アレルギーモデル系を複数構築し、IgA が Ig E の産生を抑制することを、IgA あるいは IgE を制御する食品成分も見出している。また、図 1 に示すとおり、IgA を欠損させると免疫細胞の過剰な活性化が起こり、回腸に炎症がみられることを明らかにしてきた¹⁾。

これらを基盤として、食物アレルギーにおける免疫記憶、さらには免疫グロブリンのクラススイッチを標的として食物抗原特異的に免疫記憶を

制御する根本的な治療法の開発ができるのではないかと考える。そこで本研究では、食物アレルギーにおいて免疫記憶が成立および維持される機序を明らかにすること、それをもとにした抗原特異的な免疫記憶およびクラススイッチの機序を明らかにするとともにその制御法の確立を目的とした。またアレルギーと発達障害の関連も指摘されており、アレルギー疾患と神経性疾患との因果関係についても多角的に調べ、アレルギーの治療による他の疾患の制御の可能性についても検討することとした。このことが解明できれば、アレルギー疾患にとどまらず、新たな医療の枠組みを創生する画期的なことである。

研究計画及び研究手法

腸管・皮膚のバリア機能に重要な IL-22 欠損マウスにおける食物アレルギーの解析

CRISPR/Cas9 によるゲノム編集により IL-22 欠損マウスを作製し、正常マウスとの交配により IL-22 欠損マウスのライン化を行い、IL-22 遺伝子部分の欠失をシーケンスにより確認した。腸管および皮膚のバリア機能を、皮膚については、経皮水分蒸散量 (transepidermal water loss; TEWL) により評価した²⁾。また腸管バリア機能は FITC 標識したデキストランを経口投与し、小腸での透過性を血液中の FITC の蛍光を測定することによって評価した。

昨年度、確立した C57BL/6 マウスを用いた食物アレルギーモデル系を用い、IL-22 欠損マウスにニワトリオボアルブミン (OVA) 50 μ g を抗原として水酸化アルミニウムをアジュバンドとし

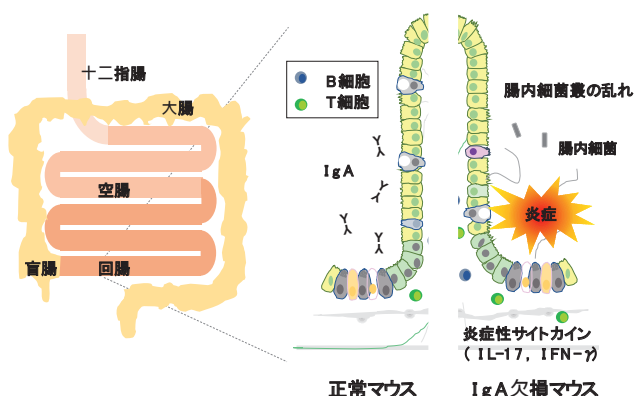


図1. IgA欠損による回腸での炎症
小腸は上部から十二指腸、空腸、および回腸からなるが（左）、IgA欠損により特に回腸での腸内細菌叢の歪みが大きく、それに応じてT細胞からの炎症の原因となるサイトカインの分泌が増え、炎症が起こることにより回腸の組織が損傷を受ける（右）。

てゲル化したもの (OVA/Alum) を腹腔に投与して免疫した。2 週間後に追加免疫した後、さらに 1 週間後にゾンデにより 30 μ g の OVA を 0.3ml のリン酸化バッファーに溶解したものを投与した。投与後の体温測定を行い、アナフィラキシー反応を検討した。また、IgA 欠損マウスと比較した。腸管のバリア機能に重要な IgA あるいは IL-22 を欠失したマウスの糞便より腸内細菌叢について、DNA を抽出し、16S rRNA の次世代シーケンシス解析により調べた。

IgA 産生細胞の動態の可視化解析

IgA のクラススイッチを機序、さらに IgA 産生細胞の動態を解明するために、CRISPR/Cas9 によるゲノム編集により IgA 産生細胞可視化マウスの構築を行った。IgA 産生細胞で、同時に Cre リコンビナーゼを発現させ、これまでに確立してきた LoxP によるカルシウムバイオセンサー YC3.60 マウス^{3, 4)}との交配により IgA 産生細胞特異的に YC3.60 を発現するマウスを用いた生体イメージングにより IgA 産生細胞の動態を明らかにすることにした。

IgE 産生プラズマ細胞分化の詳細な検出系の確立

光変換蛍光タンパク質 KikGR を発現する KikGR マウス⁵⁾を用い、IgE 産生プラズマ細胞、および抗原特異的 IgE 産生プラズマ細胞の前駆細胞の生体内動態を明らかにすることで、IgE 産生プラズマ細胞の誘導および維持機構を明らかにすることを目指した。前年度には、IgA 欠損マウス⁶⁾では IgE 産生が増強される特徴を生かし、OVA/Alum 感作した IgA 欠損 B6 マウスを用い、フローサイトメトリーにより IgE 陽性細胞を、さらに Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISPOT) アッセイにより、抗原特異的 IgE 産生プラズマ細胞の検出法を確立した。プラズマ細胞分化では、B220 (あるいは CD19 など)⁺ 細胞表面 Ig⁻ $\rightarrow$ B220⁺細胞表面 Ig⁺ $\rightarrow$ B220⁻細胞表面 Ig⁺ $\rightarrow$ B220⁻細胞表面 Ig⁻ (形質細胞)と、分化が進むにつれて細胞表面 Ig が陰性となる。そこで、今年度は、OVA/Alum 感作 KikGR 発現 IgA 欠損 C57BL/6 マウスを用いて、細胞内および細胞表面 IgE を分けて同時に分けて染色して検出し、IgE 産生細胞分化過程の詳細を、フローサイトメトリー解析による B220⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)検出と同時に ELISPOT アッセイによる抗原特異的 IgE 産生細胞検出により明らかにすることにした。

ウス⁶⁾では IgE 産生が増強される特徴を生かし、OVA/Alum 感作した IgA 欠損 B6 マウスを用い、フローサイトメトリーにより IgE 陽性細胞を、さらに Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISPOT) アッセイにより、抗原特異的 IgE 産生プラズマ細胞の検出法を確立した。プラズマ細胞分化では、B220 (あるいは CD19 など)⁺ 細胞表面 Ig⁻ $\rightarrow$ B220⁺細胞表面 Ig⁺ $\rightarrow$ B220⁻細胞表面 Ig⁺ $\rightarrow$ B220⁻細胞表面 Ig⁻ (形質細胞)と、分化が進むにつれて細胞表面 Ig が陰性となる。そこで、今年度は、OVA/Alum 感作 KikGR 発現 IgA 欠損 C57BL/6 マウスを用いて、細胞内および細胞表面 IgE を分けて同時に分けて染色して検出し、IgE 産生細胞分化過程の詳細を、フローサイトメトリー解析による B220⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)検出と同時に ELISPOT アッセイによる抗原特異的 IgE 産生細胞検出により明らかにすることにした。

IgE 陽性細胞の生体内動態解析

昨年度に報告したように、IgA 欠損 C57BL/6 マウスへの OVA/Alum 感作により、血液中 IgE 上昇と OVA 特異的 IgE⁺形質芽細胞の誘導を確認出来た。そこで、今年度は IgA 欠損マウスと KikGR マウスとを掛け合わせて作製した KikGR IgA 欠損 C57BL/6 マウスに OVA/Alum 感作して IgE⁺細胞を誘導し、IgE⁺細胞の生体内動態を検出することにした。

皮膚感作 I 型アレルギーモデルの確立と解析

小麦加水分解物を含む石鹼による小麦粉アレ

ルギーや英国の乳児へのピーナッツオイル塗布によるピーナッツアレルギーなどが典型的な例として挙げられるが、食物アレルギーは皮膚感作により誘導された食物と同一抗原に対する抗 IgE 状態下における食物摂取により惹起される。従って、皮膚感作時に誘導される IgE 産生細胞の誘導メカニズムの解明、特に、皮膚感作により誘導された IgE 産生細胞にコミットした細胞の検出と臓器間移動、そして、皮膚からの再感作および食物アレルギー惹起時における IgE 産生細胞にコミットした細胞から IgE 産生細胞への分化誘導と生体内動態の解明は、食物アレルギーの感作機序の解明を大きく推し進める。しかし、皮膚感作時に IgE 産生細胞がどの臓器でコミットし、その後、骨髄などに移動するのかについては、ほとんど分かっていない。

昨年度確立した OVA/Alum 感作による食物アレルギーモデルは、誘導された抗原特異的 IgE 産生細胞と食物アレルギーの発症解析にはとても有用なツールであるが、前述の生体内での IgE 産生細胞誘導過程の解明には、抗原皮膚感作 IgE 誘導モデルが必須である。そこで本年度は、C57BL/6 系 IgA 欠損マウス、および皮膚持続感作によるアトピー性皮膚炎モデルとして用いられる BALB/c 系マウスを用いて、腹部皮膚をテープストリッピング後、OVA 塗布感作を繰り返す、抗原反復塗布感作アトピー性皮膚炎モデルの確立を試みた。

腸管バリア機能低下モデルマウスにおける行動異常の解析

腸管バリア機能に重要な IgA を欠失させた IgA 欠損マウス³⁾において網羅的な行動学解析を行い⁶⁾、脳について組織切片を染色し、病理解析を行った。

結果と考察

腸管・皮膚のバリア機能に重要な IL-22 欠損、IgA 欠損マウス、IgE 過剰発現マウスにおける食物アレルギーの解析

CRISPR/Cas9 により IL-22 を欠損したマウスを作製し、IL-22 を欠失した複数の系統を樹立した。そのうちの 1 系統について皮膚、腸管のバリア機能を評価したところ、経皮での TWEL が亢進しており、また FITC-デキストランの腸管での透過性の更新も見られ、それぞれの機能に低下があることが確認された。この IL-22 欠損マウス、IgA 欠損マウス、IgE 過剰発現マウスを用いて OVA で免疫後、OVA を経口投与した食物アレルギーモデルにおいて、OVA に対する特異抗体価を評価したところ、IL-22 欠損マウスでは腸管の透過性が上がっているにもかかわらず、正常マウスに比べて、明らかな差異は見られなかった（図 2）。IL-22 欠損マウスについて、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、NK 細胞、制御性 T 細胞、濾胞性ヘルパー T 細胞、B 細胞などの免疫細胞についても、正常マウスと比較したがいずれも明らかな差異はなかった。糞便による腸内細菌叢の解析では、正常マウスと異なっていることが明らかとなった（図 3）。

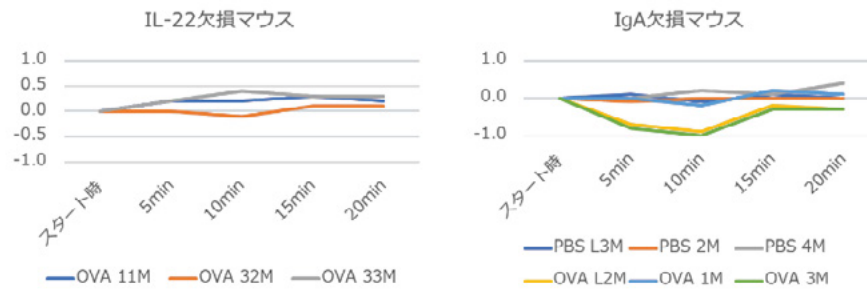


図2. IL-22欠損マウスにおける食物アレルギーの評価

IL-22欠損マウスをOVAで免疫後、OVAを経口投与した食物アレルギーモデル系で、アナフィラキシー反応について評価した。OVA投与後の体温を測定した（左）。（右）IgA欠損マウスについて免疫後、OVAを投与、あるいはコントロールとしてPBSのみを投与後、体温を測定した。

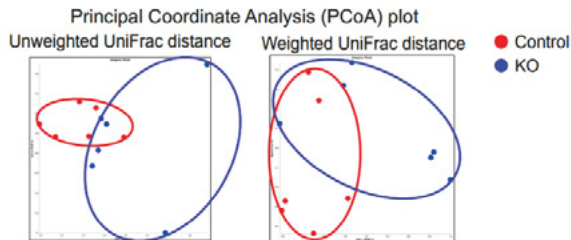


図3. IL-22欠損マウスの腸内細菌叢の解析

IL-22欠損マウス（青）と正常マウス（赤）の糞便の腸内細菌叢について16S RNAの配列を基にしたベータ多様性解析の結果を示す。

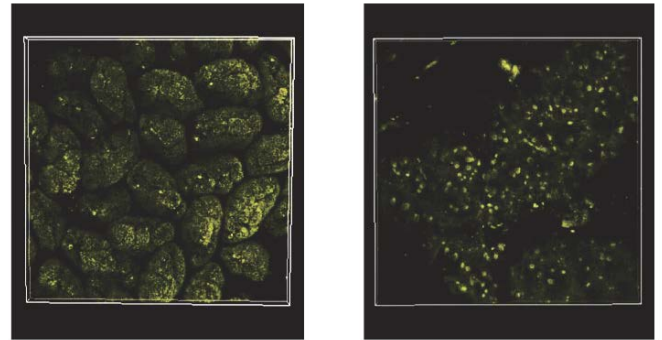


図4. IgA産生細胞可視化マウスにおける腸管のIgA陽性細胞

IgA-Cre/YC3.60マウスの小腸（左）および大腸（右）におけるIgA産生細胞。

IgA 産生細胞可視化マウスの動態解析

CRISPR/Cas9 の系を用いて IgA の H 鎖の遺伝子座に Cre リコンビナーゼ遺伝子を導入し、IgA を産生する細胞で Cre リコンビナーゼを発現するマウスを作製した。Cre リコンビナーゼにより発現誘導できる細胞系譜特異的カルシウムバイオセンサー (YC3.60) マウスとの交配により、IgA を産生する細胞を可視化できるマウスを樹立した。このマウスについて生体イメージングにより IgA 産生細胞の動態を解析したところ、脾臓では、広く散在していたが、小腸パイエル板では 2 次濾胞に集積していることが明らかになった（図 4）。

腸管での IgA の機能解析

IgA 欠損マウスの腸管の切片を調製し、HE 染色したところ、小腸の陰窩の上皮細胞に異常があることがわかった。この結果は小腸炎のモデルマウスで、小腸での炎症は陰窩のパネート細胞の異常から始まるという結果⁷⁾とよく一致しており、食物アレルギーにおいても陰窩の小腸上皮に異常がある可能性が示され、食物アレルギーにおける下痢などの原因となっていると推測された。

IgE 産生プラズマ細胞分化の詳細な検出系の確立

IgA 欠損 C57BL/6 マウスに 1 週間感覚で OVA/Alum を 4 回感作して IgE⁺細胞を誘導した。脾臓細胞について、B220、Alexa647-OVA および細胞表面 IgE を Phycoerythrin 標識抗 IgE 抗体で染色後、permeabilize し細胞内 IgE を Brilliant Violet241 標識抗 IgE 抗体で染色して検出した。そして、細胞内 IgE⁺細胞(細胞内 IgE は、細胞内および細胞表面 IgE⁺細胞で陽性のため)、さらに Alexa647-OVA⁺細胞(OVA に結合する抗体を産生している)に gating した。そして、B220⁺、B220⁻細胞について調べてみると、いずれの細胞でも細胞表面 IgE⁺細胞は、1%程度であった(図5)。

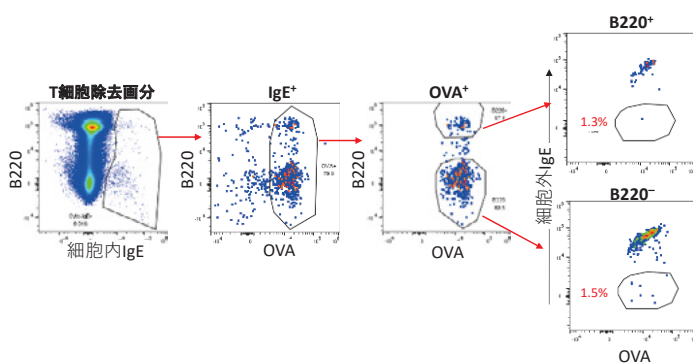


図5. 感作抗原特異的IgE産生プラズマ細胞分化過程の検出

また、他の染色パネルでも再現のある結果が得られた。また、脾臓細胞 100 万個当たり CD19⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)は約 4 個であった。一方、ELISPOT アッセイで、同じサンプルについて解析すると、OVA 特異的 IgE 産生細胞は 100 万個当たり約 5.5 個であった。フローサイトメトリと ELISPOT 評価系では検出感度の差を考える必要もあるが、ほぼ同数との結果が得られた。以上の結果をまとめると、当モデルでの IgE 産生

プラズマ細胞分化は、B220⁺細胞表面 IgE⁻細胞 → B220⁺細胞表面 IgE⁺細胞 → B220⁻細胞表面 IgE⁺ → CD19⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)と進行するが、B220⁻細胞表面 IgE⁺細胞に比べて、CD19⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)の割合が当初想定していた頻度よりも低かった。これは、B220⁻細胞表面 IgE⁺細胞のうちごく一部の細胞が CD19⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)に分化していく、あるいは、CD19⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)の寿命が B220⁻細胞表面 IgE⁺細胞に比べてとても短いためである可能性を考えている。

食物抗原摂取時における腸間膜リンパ節、脾臓、骨髄での B220⁺細胞表面 IgE⁺細胞、B220⁻細胞表面 IgE⁺細胞、CD19⁻細胞表面 IgE⁻ (形質細胞)の頻度変化の解析は、食物抗原による IgE 産生細胞分化のタイミングと分化臓器、そして分化の場を明らかにするための有用な情報となると考えている。

IgE 陽性細胞の生体内動態解析

当研究の IgE 産生プラズマ細胞の生成を、その前駆細胞の生成と維持機構を解明して制御するという目的から、IgE⁺プラズマプラスト細胞(B220⁻細胞表面 IgE⁺)、およびその前駆細胞で IgE⁺細胞にコミット直後の B220⁺細胞表面 IgE⁺細胞の臓器間移行について解析した。昨年度の OVA/Alum 感作 IgA 欠損 B6 マウスの検討において、腸間膜リンパ節、脾臓、骨髄で IgE⁺細胞を検出出来ている。そこでまず、OVA 特異的 IgE⁺細胞の腸間膜リンパ節から脾臓、骨髄への移動を解析した。KikGR 発現 IgA 欠損 B6 マウスに

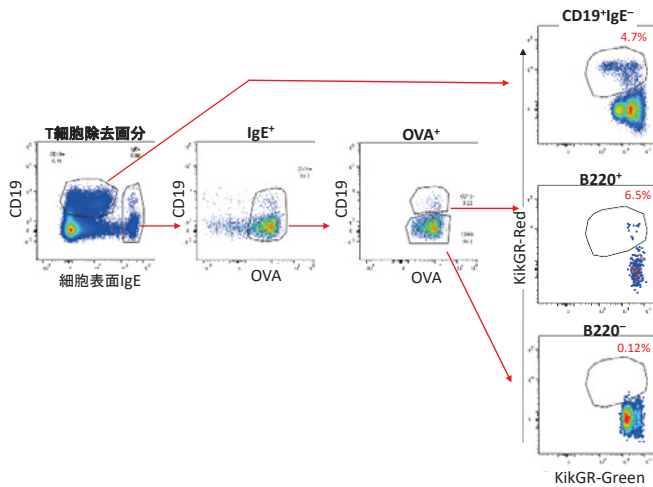


図6. 腸間膜リンパ節から骨髄への抗原特異的IgE⁺細胞の移動

OVA/Alum を感作して 3 回感作して 1 週間日後に、腸間膜リンパ節に紫色光を照射して腸間膜リンパ節に存在する細胞を赤色(KikGR-Red)にマークした。24 時間後に骨髄および脾臓細胞を分離して解析した。当検討では、B220 の代わりに CD19 を使用した。腸間膜リンパ節から 24 時間の間に移動してきた KikGR-Red の CD19⁺ IgE⁺ 細胞、および IgE⁺ プラズマブラスト(CD19⁺ 細胞表面 IgE⁺)は、それぞれ骨髄では 6.1%と 0.06%、脾臓では 2.4%と 0.17%であった(図 6)。

この結果から我々は、頻度は低い、細胞表面 IgE⁺ 産生細胞は腸間膜リンパ節、脾臓、骨髄間を移動していると考えている。IgE 産生にコミットして直後の CD19⁺ IgE⁺ 細胞が骨髄および脾臓に移動して IgE⁺ 形質芽細胞(IgE⁺ CD19⁻)に分化し、IgE⁺ 形質芽細胞に分化後は、その臓器からほとんど動かずにいる可能性を考えている。今後、脾臓、あるいは、骨髄を光照射して解析する事で、生体内動態が明らかになると考えている。

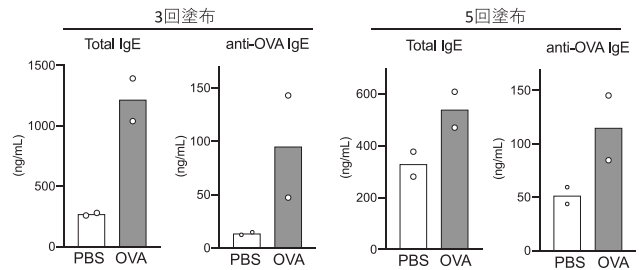


図7. IgA欠損C57BL/6マウスにおけるOVA皮膚感作による抗原特異的IgE誘導

皮膚感作 I 型アレルギーモデルの確立と解析

C57BL/6 系 IgA 欠損マウス、および皮膚持続感作によるアトピー性皮膚炎モデルとして用いられる BALB/c 系マウスを用いて、腹部皮膚をテープストリッピング後 OVA あるいは PBS を週に 1 回塗布感作して繰り返す、抗原反復塗布感作アトピー性皮膚炎モデルの確立を試みた。

1 回/週 × 3 回実施して 3 日後、および 1 回/週 × 5 回実施して 3 日後に、血中 IgE を測定しところ、n=2 であるが OVA 感作群では PBS 群に比べ、血中総 IgE および抗 OVA IgE 抗体濃度が増加していた(図 7)。

そこで ELISPOT アッセイにて OVA 特異的 IgE 産生細胞の検出を試みたが皮膚感作 3 回および 5 回のいずれでも骨髄細胞、脾臓細胞でも OVA 特異的 IgE 産生細胞を検出出来なかった。そこでさらに、IgA 欠損 C57BL/6 マウスと、IgE が誘導されやすい BALB/c マウスを用いて、腹部皮膚をテープストリッピング後 OVA 塗布/1 回/週 × 3 回、および 5 回で追加実験を実施した。その結果、IgA 欠損 C57BL/6 マウスでは血中抗 OVA IgE 抗

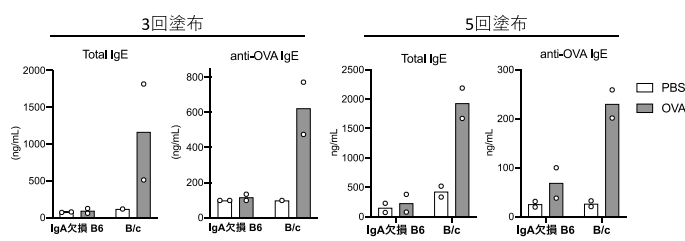


図8. IgA欠損C57BL/6マウスとBALB/cマウスにおけるOVA皮膚感作による抗原特異的IgE誘導
B6: C57BL/6, B/c: BALB/c

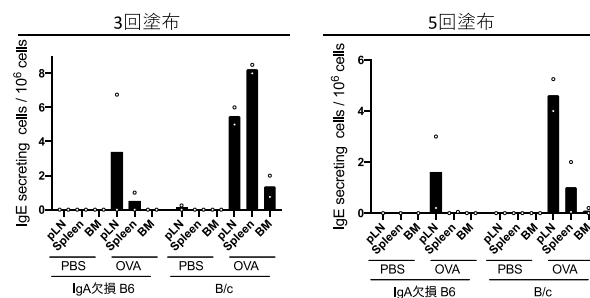


図9. IgA欠損C57BL/6マウスとBALB/cマウスにおけるOVA皮膚感作によるOVA特異的IgE産生細胞誘導
B6: C57BL/6, B/c: BALB/c

体誘導は検出される個体も認められたが不確実であり、誘導された濃度も低値に留まった。それに対し、BALB/c マウスでは、総 IgE と抗 OVA IgE 抗体が有意に誘導された (図 8)。ELISPOT アッセイによる OVA 特異的 IgE 産生細胞の検出においても IgA 欠損 C57BL/6 マウスでは誘導は安定しなかったが BALB/c マウスでは安定して検出された (図 9)。以上の結果から、皮膚感作 I 型アレルギーモデルでは、IgA 欠損 C57BL/6 マウスによる解析は難しく、BALB/c マウスバックグラウンドであることが必要で有ることが分かった。そこで、皮膚感作 I 型アレルギーモデルにおいて、IgE⁺細胞の生体内動態を解析するために、KikGR マウス(C57BL/6 バックグラウンド)を BALB/c マウスと交配し、現在、ほぼ BALB/c バックグラウンドに置き換わるとされる 6 世代目の KikGR 発現 B/c マウスを作成した。今後、OVA の経口摂取により食物アレルギーの発症の有無を確認する。さらに、KikGR 発現 B/c マウスにて皮膚感作 I 型アレルギーを誘導し、皮膚所属リンパ節、脾臓、骨髄、そして、腸間膜リンパ節間の IgE⁺細胞の動態と、IgE⁺プラズマ細胞の局在を明らかにしていく。

さらに BALB/c マウスを用いて検討を進めると、OVA 感作した皮膚の所属リンパ節では

CD19-OVA⁺IgE⁺産生細胞は検出されなかったが、ELISPOT アッセイでは OVA 特異的 IgE 産生細胞検出されたことから、所属リンパ節では形質細胞のみが存在している可能性がある。以上の結果から、所属リンパ節は IgE 産生細胞分化の場というよりもむしろ産生の場として機能している可能性を我々は考えている。

皮膚感作時および経口摂取時における骨髄および脾臓に存在する B220⁺IgE⁺細胞および IgE⁺プラズマブラストの生体内動態変化と、IgE 産生プラズマ細胞の局在の詳細の解明は、IgE 産生プラズマ細胞の誘導と維持のメカニズム解明に繋がると考えている。

腸管バリア機能低下モデルマウスにおける行動異常の解析

IgA 欠損マウスにおいて網羅的な行動学解析を行い、オープンフィールドテストで不安行動の増加が見られた。腸管に炎症があると行動にも異常が見られ、食物アレルギーを発症した状態では脳神経にも影響を及ぼすことが示唆された。

今後の研究活動について

IgA 欠損マウスでは IgE 陽性細胞が増えていることが明らかになり、IgE 抗体産生細胞の局在

については一部明らかとなったが、それらの局在性、維持に関する機序については、まだまだ不明である。また、本年度の研究から、マウスのバックグランドを BALB/c にした方が、実験の検出感度が上がり、より詳細な解析が可能であることも明らかとなった。このことより IgA 欠損マウス、および IL-22 欠損マウスについても C57BL/6 のバックグランドのものを BALB/c に戻し交配させ、食物アレルギーにおける IgE 陽性細胞の検出感度を上げたシステムを取り入れる予定である。これらのマウスを利用して、IgE 陽性細胞の動態、活性化、抗体産生細胞への分化についてさらなる解析を行い、食物アレルギー発症時の IgE を継続的に供給するメカニズムの解明が必要である。アナフィラキシー反応の検出には C57BL/6 バックグランドの IgA 欠損マウスでも十分に高い感度で検出できるので、このマウスに IgA 抗体の投与や IgA 産生細胞を移入するなどで、食物アレルギーが回避できるか、確かめる必要がある。また、IgA 産生細胞可視化マウスが樹立されたので、食物アレルギー誘導時の、クラススイッチ、また IgA 産生細胞への活性化・維持についての動態を詳細に調べ、トレランスの誘導機序を明らかにする。IgA の産生を高めるプロバイオティクスなどが実際に食物抗原による IgA の産生を高め、トレランスに寄与するか、またそれが食物アレルギーの抑制効果を発揮するか、検討する。これらのことが検証できれば、食物アレルギーにおける治療の標的を突止め、具体的な治療法が確立できると考えられる。

食物アレルギー誘導系での行動学解析につい

ては継続中であり、食物アレルギー発症時の脳の炎症や海馬でのニューロン新生を調べることや、腸脳相関⁸⁾を調べることにより神経性疾患への影響を明らかにすることができると考えられる。

参考文献

- 1) Nagaishi T, Watabe T, Kotake K, Kumazawa T, Aida T, Tanaka K, Ono R, Ishino F, Usami T, Miura T, Hirakata S, Kawasaki H, Tsugawa N, Yamada D, Hirayama K, Yoshikawa S, Karasuyama H, Okamoto R, Watanabe M, Blumberg RS, Adachi T. Immunoglobulin A-specific deficiency induces spontaneous inflammation specifically in the ileum. *Gut* 2021
- 2) Kumazawa T, Kotake K, Nishimura A, Asai N, Ugajin T, Yokozeki H, Adachi T. Isolation of food-derived bacteria inducing interleukin-22 in B cells. *Biosci Microbiota Food Health* 2020 39:1-9,
- 3) Nagai T, Yamada S, Tominaga T, Ichikawa M, Miyawaki A. Expanded dynamic range of fluorescent indicators for Ca(2+) by circularly permuted yellow fluorescent proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 101:10554-9,
- 4) Yoshikawa S, Usami T, Kikuta J, Ishii M, Sasano T, Sugiyama K, Furukawa T, Nakasho E, Takayanagi H, Tedder TF, Karasuyama H, Miyawaki A, Adachi T. Intravital imaging of Ca(2+) signals in lymphocytes of Ca(2+) biosensor

- transgenic mice: indication of autoimmune diseases before the pathological onset. *Sci Rep* 2016 6:18738,
- 5) Tomura M. New Tools for Imaging of Immune Systems: Visualization of Cell Cycle, Cell Death, and Cell Movement by Using the Mice Lines Expressing Fucci, SCAT3.1, and Kaede and KikGR. *Methods Mol Biol* 2018 1763:165-74,
- 6) Fujii K, Koshidaka Y, Adachi M, Takao K. Effects of chronic fentanyl administration on behavioral characteristics of mice. *Neuropsychopharmacol Rep* 2019 39:17-35,
- 7) Adolph TE, Tomczak MF, Niederreiter L, Ko HJ, Bock J, Martinez-Naves E, Glickman JN, Tschurtschenthaler M, Hartwig J, Hosomi S, Flak MB, Cusick JL, Kohno K, Iwawaki T, Billmann-Born S, Raine T, Bharti R, Lucius R, Kweon MN, Marciniak SJ, Choi A, Hagen SJ, Schreiber S, Rosenstiel P, Kaser A, Blumberg RS. Paneth cells as a site of origin for intestinal inflammation. *Nature* 2013 503:272-6,
- 8) Nishimura Y, Fukuda Y, Okonogi T, Yoshikawa S, Karasuyama H, Osakabe N, Ikegaya Y, Sasaki T, Adachi T. Dual real-time in vivo monitoring system of the brain-gut axis. *Biochem Biophys Res Commun* 2020 524:340-5,