

サトウ ノリオ

氏名(本籍)	佐藤 知雄(神奈川県)
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	論博第47号
学位授与年月日	2021年9月29日
学位授与の条件	学位規程第3条第2項該当者
学位論文の題名	Immunoglobulin Eによるマスト細胞の機能亢進・活性化作用を標的とした抗アレルギー薬の開発研究
論文審査委員	主査 教授 長谷川 潤 副査 教授 北川 裕之 副査 教授 力武 良行 副査 教授 小山 豊

## 論文内容の要旨

### 緒論

マスト細胞は粘膜下組織や結合組織に存在し、炎症、免疫反応等の生体防御に重要な役割を果たす細胞である [1, 2]。マスト細胞の起源は骨髄の造血幹細胞であり、前駆細胞として循環血中から組織に移行し、組織において、主に腸管膜等に存在する“粘膜型”や皮膚、腹腔に存在する“結合組織型”といった成熟したマスト細胞へ最終分化する。

マスト細胞の代表的な活性化機構に、I型アレルギー応答での抗原・immunoglobulin E (IgE) を介した抗原抗体反応がある(図1)。生体内に侵入した花粉等の抗原は、抗原提示細胞(Dendritic cell)に取り込まれてナイーブ T 細胞に提示され T helper (Th) 2 細胞への分化を誘導し、Th2 細胞は B 細胞を活性化し、抗原特異的 IgE 産生を誘導する。産生された IgE が、マスト細胞膜上の高親和性受容体 (FcεRI) に結合し、感作が成立する。次に、FcεRI に結合した IgE に抗原が結合し架橋されると、マスト細胞が活性化される(=抗原抗体反応)。

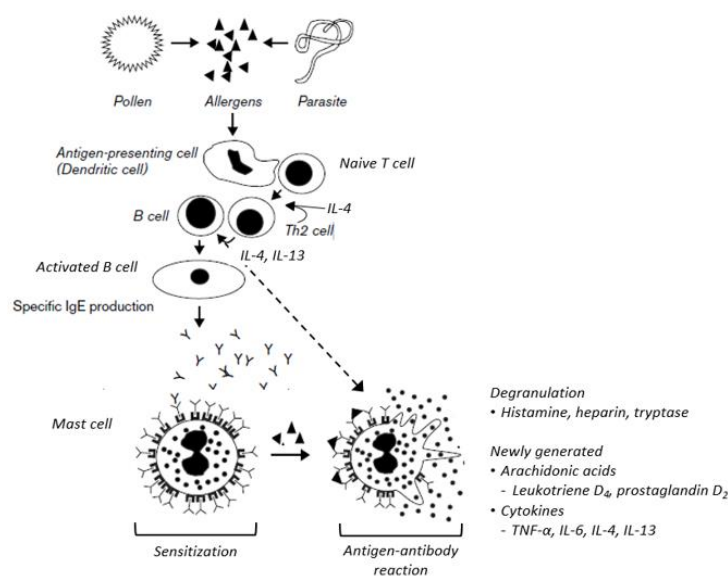


図1. I型アレルギー応答におけるマスト細胞の活性化(文献2より引用、一部改変)

活性化されたマスト細胞では、ヒスタミン等の顆粒内容物の放出(=脱顆粒反応)、アラキドン酸代謝物の新規合成、炎症性サイトカインの産生誘導が引き起こされ、これら炎症性メディエーターにより炎症が惹起される。

ヒスタミンは分子式  $C_5H_9N_3$ 、分子量 111.14 の生体内アミンであり、マスト細胞から放出される主要な炎症性メディエーターの 1 つである。ヒスタミンは、L-ヒスチジンを特異的な基質とするヒスチジン脱炭酸酵素 (histidine decarboxylase, HDC) により生合成され [3]、通常は細胞内顆粒に貯留される。活性化されたマスト細胞より放出されたヒスタミンは、ヒスタミン  $H_1$  受容体を介して、血管透過性亢進、血管拡張、平滑筋収縮、腺分泌促進等の生理作用を発揮し、炎症を惹起する [4]。

アレルギー性鼻炎、喘息等の I 型アレルギー疾患は、花粉、ハウスダスト等を原因抗原としたマスト細胞での抗原抗体反応が病態の根本にあり、その治療薬としてはヒスタミン  $H_1$  受容体拮抗薬をはじめ、マスト細胞より放出される炎症性メディエーターを標的とした薬剤が開発されている。しかし、いずれも標的が I 型アレルギー応答カスケードの末端に位置するため、もう 1 つの抗炎症治療の柱である局所ステロイド薬と併用したとしても、特に慢性化した重度の病態では有効性が限定され、治療上の大きな問題点となっている [5, 6]。そこで、マスト細胞を標的とした新たなアレルギー疾患治療薬を開発することを最終目的として、本研究を行った。

## 第 1 章 ヒスタミン合成を指標としたマスト細胞の機能亢進／抑制因子の検索

### 第 1 節 背景と目的

第 1 章では、主要な炎症性メディエーターの 1 つであるヒスタミンの生合成を指標にマスト細胞の機能亢進／抑制因子を検索した。具体的には、IgE 及びサイトカインを候補の因子と考え、検討を行った。

マスト細胞での抗原抗体反応の前段階である「感作」のステップ (図 1) は、これまで重要な生体反応が惹起されない静的な過程と考えられてきたが、「抗原非存在下、IgE 単独 (以下、抗原非結合 IgE)」により、FcεRI の細胞膜表面密度の増加やサイトカインの産生亢進、アポトーシス抵抗性の誘導等、マスト細胞が活性化されることが報告された [7-9]。しかし、抗原非結合 IgE のヒスタミン産生に対する作用は不明であることから、この点について検討した (第 2 節)。

また、上述のとおり、マスト細胞は骨髄の造血幹細胞を起源とし、組織において最終分化するが、その分化・増殖及び機能には、Stem cell factor (SCF)、Interleukin (IL)-3、IL-4 等の種々のサイトカインが関与する [1]。また、I 型アレルギー応答においても、Th2 細胞の分化や B 細胞の IgE 産生に IL-4、IL-13 等のサイトカインが重要な役割を果たしている (図 1)。しかし、これらサイトカインのヒスタミン産生に対する作用についてはほとんど報告がないことから、この点について検討した (第 3 節)。

### 第 2 節 マウス骨髄由来培養マスト細胞 (BMDC) を用いた、抗原非結合 IgE のヒスタミン合成に対する作用の検討

#### (1) 方法

マウス骨髄由来培養マスト細胞 (mouse bone marrow-derived mast cell, BMDC) は、マウス骨髄幹細胞を IL-3 存在下で長期培養して得られる一般的なマスト細胞モデルである [7-9]。この細胞に、市販マウス IgE クローンの中で最も汎用されているものの 1 つである SPE-7 を用いて、抗原非結合 IgE のヒスタミン産生に対する作用を検討した。

#### (2) 結果

BMDC を IgE (3  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で処理することにより、HDC 活性は処理後 6 時間をピークと

する一過性の増加（ベースラインの約 200 倍）を示した（図 2. A）。細胞内ヒスタミン量は時間依存的に増加し、処理後 12 時間でベースラインの約 4 倍となった。HDC mRNA の発現は処理後 2-3 時間をピークに一過性に増加した（図 2. B）。また、IgG による FcγRII/III 刺激では HDC 活性の増加は誘導されず、さらに IgE による HDC の増加は、抗 FcγRIIB/III 抗体による前処理に影響されなかったことから、FcεRI を介していると考えられた。

IgE 処理により細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度が増加するとの報告 [10] があるため、IgE による HDC 活性の増加に対する Ca<sup>2+</sup>の影響について検討したところ、IgE による HDC mRNA の増加は、buffer 中の Ca<sup>2+</sup>濃度を free にすることで完全に消失した（図 3）。既報と同様に、IgE により細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度は増加したが、その増加は抗原抗体反応時と比較して、程度は小さいものの持続的であった。

IgE による HDC 活性の増加に対する各 kinase 阻害剤の影響を検討した結果、PKC 阻害剤である staurosporine、H7 及び G6976 は、HDC 活性と HDC mRNA 発現の増加を有意に抑制した（図 4. A、B）。また、別の PKC 阻害剤である chelerythrine は HDC 活性の増加を部分的に抑制したが、HDC mRNA の発現増

加に対する抑制効果は認められなかった（図 4. B）。他の PKC 阻害剤では抑制効果は認められなかった。その他、Src family tyrosine kinase 阻害剤である herbimycin A 及び PP2 により、HDC 活性の部分的な抑制が認められた。

一方、抗原-IgE による抗原抗体反応においても HDC 活性の増加が認められたが、その程度は反応後 6 時間で抗原非結合 IgE の 50% 程度であった。抗原抗体反応時のシグナル伝達では、Src family tyrosine kinase の Lyn (53 kDa 及び 56 kDa) の活性化が重要な役割を果たすが、IgE 処理時では両分子種の Lyn とともに活性化は認められなかった。

### 第 3 節 マウス脾臓由来粘膜型マスト細胞株 BNu-2c13 細胞を用いた、IL-4 のヒスタミン合成に対する作用の検討

#### (1) 方法

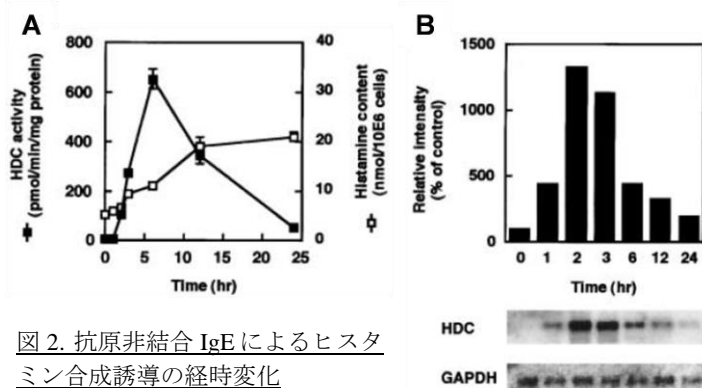


図 2. 抗原非結合 IgE によるヒスタミン合成誘導の経時変化

IgE (3 μg/ml) で 0, 1, 2, 3, 6, 12, 24 時間処理時の (A) HDC 活性 (■) と細胞内ヒスタミン量 (□) ; 平均値 ± 標準誤差 (n = 3)。 (B) HDC mRNA の発現 (northern blot analyses)。

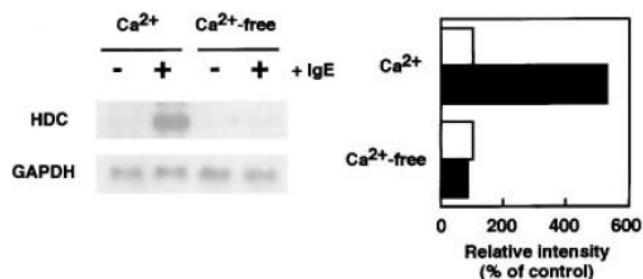


図 3. 抗原非結合 IgE による HDC 活性増加に対する細胞外 Ca<sup>2+</sup>の影響

Ca<sup>2+</sup>を含む/含まない (Ca<sup>2+</sup>/Ca<sup>2+</sup> free) PIPES buffer に IgE (3 μg/ml) を添加/無添加 (■/□) した場合の HDC mRNA の発現 (northern blot analyses)。

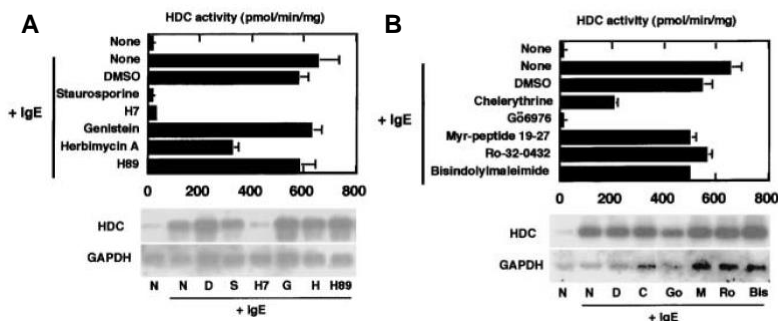


図 4. 抗原非結合 IgE による HDC 活性増加に対する kinase 阻害剤の影響  
各 kinase 阻害剤で前処理後の IgE (3 μg/ml) による HDC 活性 [上段: 平均値 ± 標準誤差 (n = 3)] 及び HDC mRNA (下段: northern blot analyses) の発現。

種々のサイトカインによるヒスタミン産生制御について、マウス脾臓由来粘膜型マスト細胞株 BNu-2c13 細胞 [11] を用いて検討した。

## (2) 結果

BNu-2c13 細胞を、マスト細胞の分化・増殖等に関与するサイトカインである IL-4、SCF、IL-9、IL-10、IL-13、interferon (IFN)  $\gamma$  で 12 時間処理し、HDC mRNA 発現について RT-PCR で検討した結果、IL-4 のみ HDC mRNA の発現を抑制した (図 5. A)。IL-4 による HDC 活性の抑制は濃度依存的であり、10 ng/mL で最大の抑制効果を示した。IL-4 (10 ng/mL) の 24 時間処理により、HDC 活性は約 80%、細胞内ヒスタミン量は約 50% 減少した (図 5. B)。また、IL-4 による HDC mRNA の抑制と並行して、マスト細胞の顆粒内に含まれ、マスト細胞のサブタイプによって特徴的な発現プロファイルを示す mast cell protease (MCP) [12] のうち、粘膜型に特徴的である MCP2 mRNA の発現が減少した。

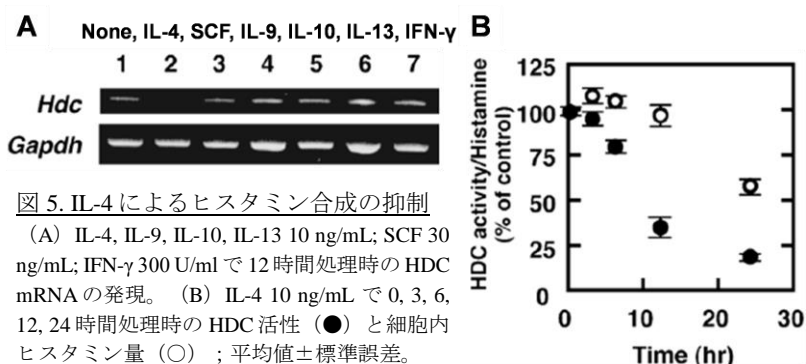


図 5. IL-4 によるヒスタミン合成の抑制  
 (A) IL-4, IL-9, IL-10, IL-13 10 ng/mL; SCF 30 ng/mL; IFN- $\gamma$  300 U/ml で 12 時間処理時の HDC mRNA の発現。(B) IL-4 10 ng/mL で 0, 3, 6, 12, 24 時間処理時の HDC 活性 (●) と細胞内ヒスタミン量 (○) ; 平均値±標準誤差。

## 第 4 節 考察

本研究により、抗原非結合 IgE が BMMC においてヒスタミン合成を一過性に誘導することが明らかとなった。このヒスタミン合成の誘導は HDC の転写レベルでの制御によるものであり、抗原非結合 IgE により活性化された Fc $\epsilon$ RI が、細胞外 Ca<sup>2+</sup>の細胞内への持続的な流入と PKC の活性化を促すことによるものであると考えられた。PKC については、Ca<sup>2+</sup>依存的 PKC 阻害薬である Gö6976 により誘導が阻害されたことから、Ca<sup>2+</sup>依存的 PKC である conventional 型 ( $\alpha$ ,  $\beta$ I,  $\beta$ II,  $\gamma$ ) の関与が推察された。一方、抗原抗体反応時にもヒスタミン合成が促進されたが、抗原非結合 IgE とは、「合成促進の程度」、「Ca<sup>2+</sup>の細胞内への流入パターン」及び「Lyn の活性化の有無」が異なり、両者は異なるシグナル伝達経路を介していると考えられた。

抗原非結合 IgE による HDC 活性の増加に伴い、細胞内ヒスタミン量は増加した。その結果、その後の抗原刺激による抗原抗体反応によりマスト細胞が放出し得るヒスタミン量が増加することで、I 型アレルギー応答が増強されると考えられた。また、既報の抗原非結合 IgE による Fc $\epsilon$ RI の細胞膜表面密度の増加による反応性の充進 [7] とアポトーシス抵抗性の誘導 [8, 9] と併せて、特に I 型アレルギー疾患や寄生虫感染等の高 IgE の環境下では、抗原非結合 IgE によりマスト細胞の抗原応答性が効果的に増強されていることが考えられた。抗原非結合 IgE によるマスト細胞活性化の分子メカニズムについては、本研究より後に行われた研究により、抗原非結合 IgE が Fc $\epsilon$ RI の凝集を引き起こすことでマスト細胞を活性化し、その凝集の程度が IgE クローンにより異なること [13]、conventional 型 PKC のうち、PKC $\beta$ II が重要な役割を果たしていること [14] が報告されたが、更に詳細な検討が必要である。

一方で、マスト細胞でのヒスタミン産生を抑制する因子として IL-4 を特定した。IL-4 は、BNu-2c13 細胞において HDC mRNA の発現を抑制し、ヒスタミン合成を抑制したが、同時に MCP2 mRNA の発現にも変化が認められたことから、それは BNu-2c13 細胞のフェノタ

イプの変化に伴うものである可能性が考えられた。また、IL-4 によるヒスタミン合成の抑制は、未成熟なマスト細胞である BMMC では認められなかった。従って、IL-4 が粘膜型マスト細胞でのヒスタミン産生抑制に重要な役割を果たしていることが考えられたが、そのサブタイプの特定については、更なる検討が必要と考えられた。

第 1 章での検討の結果、マスト細胞でのヒスタミン合成を制御する因子として IgE と IL-4 を特定したが、これらが新たなアレルギー疾患治療薬開発のターゲットとなり得るか、考察した。抗原非結合 IgE については、本研究で見出したヒスタミン合成の誘導に加えて、FcεRI の細胞膜表面密度の増加、サイトカインの産生亢進、アポトーシス抵抗性の誘導が報告されていることから [7-9]、感作の過程で IgE はマスト細胞の抗原応答性を亢進させている可能性が考えられる。さらに、IgE は I 型アレルギー応答カスケードの上流に位置し中心的な役割を果たすことから (図 1)、IgE の機能を抑制することで、マスト細胞の感作と抗原抗体反応の過程を包括的に抑制することが可能となり、新たな治療薬の開発に結び付くと考えた。一方 IL-4 については、Th2 細胞の分化誘導、IgE 産生の誘導等、全体として I 型アレルギー応答に促進的に働くことが知られており (図 1)、本研究で明らかとなったヒスタミン合成の抑制は、IL-4 による複雑な I 型アレルギー応答制御機構の抑制的な側面のみを示していると考えられる。従って、IL-4 の機能を促進することで新たな治療薬を開発することは困難であると考えた。

そこで、第 2 章では、IgE の機能を抑制する目的で創製された抗 IgE 抗体製剤であるオマリズマブ (omalizumab) の臨床応用について検討した。

## 第 2 章 スギ花粉による季節性アレルギー性鼻炎 (スギ花粉症) に対するオマリズマブ (抗 IgE 抗体) の臨床効果の検討

### 第 1 節 背景と目的

第 2 章では、オマリズマブの臨床応用について、スギ花粉による季節性アレルギー性鼻炎 (以下、スギ花粉症) を対象に検討した。

オマリズマブは IgE と FcεRI との結合を競合的に阻害する抗体製剤であり (図 6)、I 型アレルギー疾患に対する治療薬として開発された [15]。オマリズマブは既に、日米欧を含む主要な国々で、重症気管支喘息及び慢性の特発性蕁麻疹の治療薬として使用されている [15]。

一方、国内での I 型アレルギー疾患としては、その有病率の高さ (26.5%、2008 年) と症状の激しさからスギ花粉症が大きな問題となっている [5]。そこで、スギ花粉症に対する新たな治療薬に対する医療ニーズは高いと考え、オマリズマブのスギ花粉症に対する臨床効果について検討した。

筆者及び筆者が所属するノバルティス ファーマ株式会社は 2002 年のスギ花粉シーズンにプラセボ対照比較試験 [16]、2003 年にトシル酸スプラタストを実薬対照とした比較試験 [17] 及び 2 シーズン連続してオマリズマブを投与する非対照の再投与試験 [18] を実施し、オマリズマブのスギ花粉症に対する有効性と安全性を確認した。一方、オマリズマブの投与対象となる患者集団について、オマリズマブは抗体医薬品であることから、他の適応症と同様に、既存治療で効果不十分な重症又は最重症のスギ花粉症患者に限定することが適切と筆者らは考えた。しかし、これまでに実施した臨床試験では、対象が重症患者

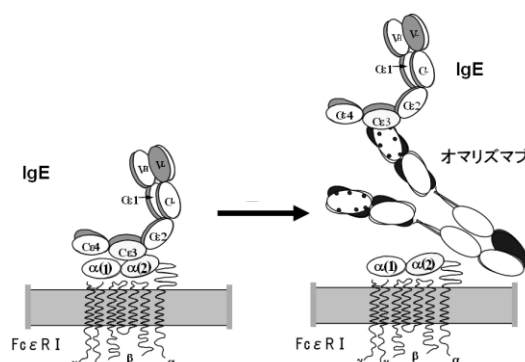


図 6. オマリズマブの作用機序 (文献 15 より引用)

に限定されておらず、また鼻噴霧用ステロイド薬を含む標準治療薬の併用も禁止されていた。そこで、筆者らは 2018 年のスギ花粉シーズンに新たな第 III 相試験を計画・実施した。

## 第 2 節 既存治療でコントロール不十分な重症スギ花粉症に対し、オマリズマブの上乗せ効果を検討した多施設共同、無作為化、プラセボ対照、二重盲検比較、第 III 相臨床試験

### (1) 方法

本試験は、直近のスギ花粉 2 シーズンに既存治療（鼻噴霧用ステロイド薬と 1 剤以上の経口アレルギー薬）でコントロール不十分な重症又は最重症のスギ花粉症患者（12 歳以上 75 歳未満）を対象に、オマリズマブを標準治療に上乗せ投与した際の有効性及び安全性を検証することを目的とし、東京近郊の 22 施設で実施された（図 7）。

試験は、観察期、治験薬投与期、後観察期で構成され、適格な被験者は、オマリズマブ群又はプラセボ群に 1 : 1 の比で層別ランダム化された。治験薬投与は、2018 年 1 月 19 日～2 月 10 日の間に開始し、投与量換算表 [15] に従い 12 週間投与した。標準治療として、治験薬投与期間を通じてフェキソフェナジン塩酸塩（経

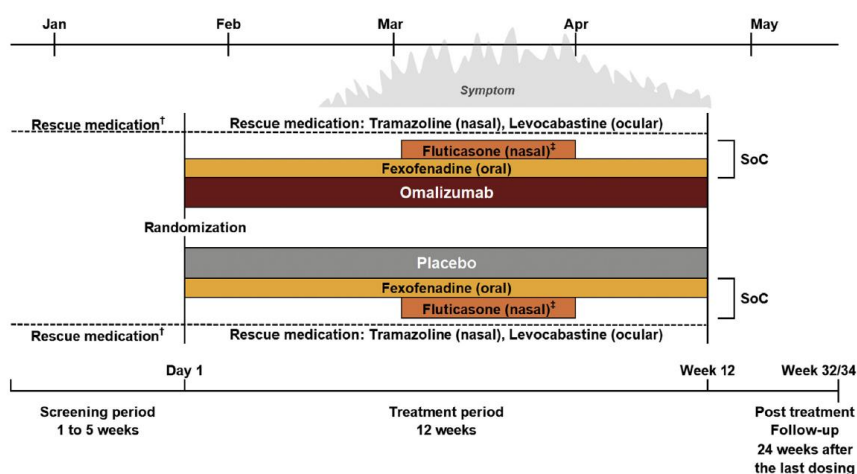


図 7. 試験デザイン (ClinicalTrials.gov identifier: NCT03369704)

SoC, standard of care: fexofenadine (oral) and fluticasone (nasal); †Rescue medication: Fexofenadine (oral), tramazoline (nasal), and levocabastine (ocular); ‡March 5 to April 1.

口) を、3 月 5 日～4 月 1 日の間にフルチカゾンプロピオン酸エステル（点鼻）を症状に関わらず使用した。主要評価は、症状ピーク期の鼻症状スコア（くしゃみ、鼻汁、鼻閉の複合スコア、0～12 点、点数が大きいほど重症）の平均値とした。症状ピーク期は、「鼻症状スコアの 1 日平均値の累計が最大となる 3 週間。ただし、鼻噴霧用ステロイド薬の併用期間との重複がいずれかの期間の 70% 以上を占めない場合には占めるまで延長」と定義し、full analysis set のうち鼻症状の記録日数が 50% 以上である被験者を対象に、投与群及びランダム化層別因子をモデルに含めた分散分析を用いて、投与群間差（最小二乗平均の差）を算出した。また副次／探索評価として、眼症状スコア（眼のかゆみ、涙目の複合スコア、0～8 点）、quality of life [QOL ; Japanese Rhinoconjunctivitis Quality of Life Questionnaire (JRQLQ) No.1 part II] [5]、労働生産性 (Work Productivity and Activity Impairment Questionnaire-Allergy Specific、WPAI-AS) [19]、安全性を評価した。

### (2) 結果

ランダム化された 337 名のうち、336 名に治験薬が投与された（標準治療+オマリズマブ群 161 名、標準治療+プラセボ群 175 名）。被験者背景は投与群間で同様であった。

症状ピーク期（2 月 23 日～3 月 24 日）を通して、「標準治療+オマリズマブ群」の鼻症状スコア（図 8. A）及び眼症状スコア（図 8. B）の 1 日平均値は、「標準治療+プラセボ群」に比べて一貫して低かった。主要評価である症状ピーク期の鼻症状スコアは「標準治療+オマリズマブ群」で有意に低く、投与群間差 (-1.03) は臨床的に意義があると判断される変

化量 (0.87) [20] を超えていた (図 8. C)。眼症状スコアも「標準治療+オマリズマブ群」で有意に低く、改善が示された (図 8. D)。また、JRQLQ No.1 の総合スコアは、「標準治療+プラセボ群」に比べ「標準治療+オマリズマブ群」で低く [差 (95% 信頼区間)、-0.51 (-0.69、-0.33)]、投与群間差 (-0.51) は臨床的に意義があると判断される変化量 (0.5) [20] を超えていた。さらに、構成要素の 6 ドメイン (日常生活、戸外活動、社会生活、睡眠、身体、精神生活) のスコアも一貫して改善した。WPAI-AS の各ドメイン (労働時間損失率、労働能率低下率、全般労働障害率及び日常生活障害率) のスコアは、「標準治療+オマリズマブ群」で低く、労働生産性の改善が示された。

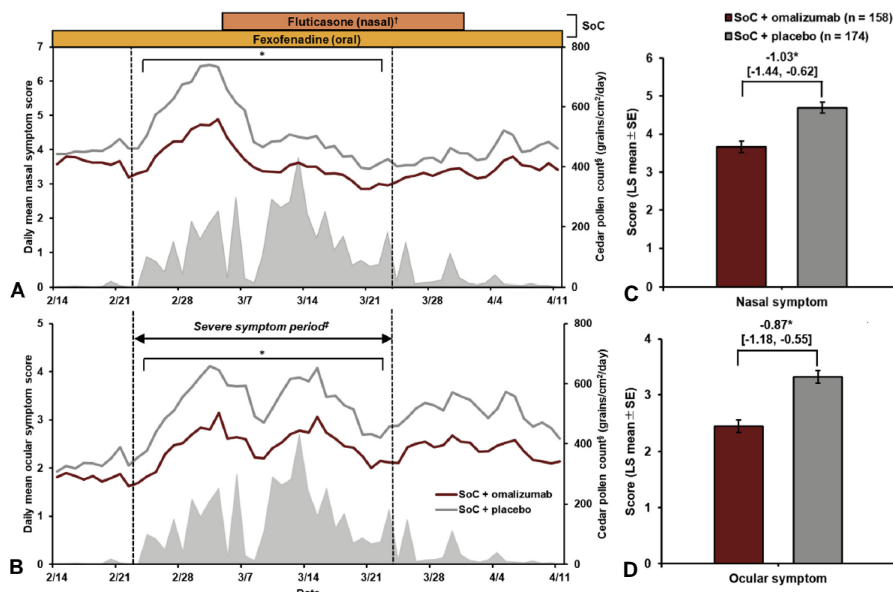


図 8. (A) 鼻症状スコア及び (B) 眼症状スコアの 1 日平均値の推移。症状ピーク期の (C) 鼻症状スコア 及び (D) 眼症状スコアの最小二乗平均値; 群間差 (95% 信頼区間) (FAS)  
 †併用期間: 3 月 5 日~4 月 1 日、‡症状ピーク期: 2 月 23 日~3 月 24 日、\* $p < 0.001$ 、§スギ花粉飛散数: 計 5023 grains/cm<sup>2</sup> (東京都千代田区)。  
 FAS, full analysis set; LS, least squares; SE, standard error; SoC, standard of care: fexofenadine (oral) and fluticasone (nasal).

安全性プロファイルは投与群間で同様であった (表 1)。重篤な有害事象として、「標準治療+オマリズマブ群」の 1 名に精巣新生物が報告され、治験薬投与を中止したが、治験薬との関連は否定された。また、「標準治療+オマリズマブ群」の 1 名が急性副鼻腔炎と中耳炎により治験薬投与を中止したが、治験薬との関連は否定された。治験薬投与後に抗オマリズマブ抗体は検出されなかった。

### 第 3 節 考察

本試験は、既存治療でコントロール不十分な重症スギ花粉症患者に対して、オマリズマブの標準治療 (経口抗ヒスタミン薬と鼻噴霧用ステロイド薬) への上乗せ投与が臨床的に有効で、かつ忍容性が良好であることを示した初めての試験である。

本試験では、鼻及び眼症状、QOL 並びに労働生産性が一貫して改善するといった有効性が認められ、これは重症スギ花粉症治療におけるオマリズマブの利点を示すものである。また、オマリズマブが IgE を標的として、マスト細胞の機能及び I 型アレルギー応答カスケードを幅広く効果的に抑制したことが、従来の抗アレルギー薬では認められなかった、「重症患者における標準治療への上乗せ効果」の発揮に繋がったと考えられた。オマリズマブの忍容性は良好であり、新たな安全性の懸念は認められなかった。今後の課題として、「オマリズマブのレスポンドの特定」、「費用対効果の検討」等が考えられた。

以上のことより、オマリズマブが新たなスギ花粉症治療薬として有用であることが明ら

表 1. 治験薬投与中に発現した有害事象

	SoC + omalizumab (n = 161)	SoC + placebo (n = 175)
Death	0	0
SAEs	1 (0.6)	0
AEs leading to discontinuation	2 (1.2)	0
Any AEs	44 (27.3)	48 (27.4)
Most frequently occurring AEs (≥2% in either group)		
Nasopharyngitis	15 (9.3)	8 (4.6)
Pharyngitis	7 (4.3)	5 (2.9)
Influenza	4 (2.5)	8 (4.6)

データは n (%) で提示した。

AE, adverse event; SAE, serious adverse event; SoC, standard of care: fexofenadine (oral) and fluticasone (nasal).

かとなった。なお、本試験成績に基づき、2019年12月にオマリズマブは、「重症の季節性アレルギー性鼻炎に対する治療薬」として承認された。

## 総括・結語

筆者は、「IgEによるマスト細胞の機能亢進・活性化作用を標的とした抗アレルギー薬の開発研究」を行い、以下の結論を得た。

1. マスト細胞から放出される主要な炎症性メディエーターの1つであるヒスタミンの生合成を指標にマスト細胞の機能亢進/抑制因子を検索し、BMMCにおいて、抗原非結合IgEにより抗原抗体反応時とは異なるシグナル伝達経路を介してヒスタミン合成が誘導され、その誘導には細胞外Ca<sup>2+</sup>の流入とPKCが関与することを見出した。一方で、BNu-2c13細胞において、IL-4がヒスタミン合成を抑制することを明らかにし、粘膜型マスト細胞でのヒスタミン産生抑制にIL-4が重要な役割を果たしていることを示した。
2. IgEが重症スギ花粉症に対する新たな薬剤ターゲットとなり得ると考え、IgEの機能を抑制する抗体製剤であるオマリズマブの臨床的有用性を明らかにするために、「既存治療でコントロール不十分な重症スギ花粉症に対し、オマリズマブの上乗せ効果を検討した多施設共同、無作為化、プラセボ対照、二重盲検比較、第III相臨床試験」を実施し、オマリズマブが新たなスギ花粉症治療薬として有用であることを見出した。

以上、本研究は、IgEによる抗原非依存的なマスト細胞の機能制御における新しい現象と分子機構を明らかにするとともに、アレルギーの病態やその制御におけるIgEの臨床的な重要性を明らかにしたものであり、IgEを標的とする医療の発展に寄与するものである。

## 参考文献

1. Metcalfe DD, et al. *Physiol Rev* 1997;77:1033-79.
2. Wedemeyer J, et al. *Curr Opin Immunol* 2000;12:624-31.
3. Ohmori E, et al. *J Biochem* 1990;107:834-9.
4. Jutel M, et al. *Clin Exp Allergy* 2009;39:1786-800.
5. Okubo K, et al. *Allergol Int* 2017;66:205-19.
6. Ichinose M, et al. *Allergol Int* 2017;66:163-89.
7. Yamaguchi M, et al. *J Exp Med* 1997;185:663-72.
8. Asai K, et al. *Immunity* 2001;14:791-800.
9. Kalesnikoff J, et al. *Immunity* 2001;14:801-11.
10. Huber M, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:11330-5.
11. Nishigaki N, et al. *Biochem Pharmacol* 1993;46:863-9.
12. Pejler G, et al. *Adv Immunol* 2007;95:167-255.
13. Kawakami T, et al. *J Immunol* 2005;175:4167-73.
14. Liu Y, et al. *J Biol Chem* 2005;280:38976-81.
15. ノバルティスファーマ株式会社. ゾレア医薬品インタビューフォーム (改訂第16版、2019年12月改訂)
16. Okubo K, et al. *Allergol Int* 2006;55:379-86.
17. Nagakura T, et al. *Clin Exp Allergy* 2008;38:329-37.
18. Ogino S, et al. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;149:239-45.
19. Reilly MC, et al. *Clin Drug Investig* 1996;11:278-88.
20. Higaki T, et al. *Allergol Int* 2013;62:487-93.



## 論文審査の結果の要旨

I 型アレルギー疾患は、花粉、ハウスダスト等を原因抗原とした抗原抗体反応が病態の根本であるが、これまでの治療薬は、ヒスタミン H1 受容体拮抗薬を始めとしたマスト細胞から放出される炎症性メディエーターを標的とした薬剤に限られていた。しかしこれらの薬剤の標的は I 型アレルギー応答カスケードの末端に位置するため、特に慢性化した重度の病態では有効性が限定され、局所ステロイド薬と併用したとしても症状をコントロールできない場合が少なくない。そこで、マスト細胞の活性化そのものを標的とすることで I 型アレルギー応答カスケードを効果的に抑制できると考え、新しいアレルギー疾患治療薬の開発を目的として、本研究を行った。

第 1 章においては、マスト細胞の機能を制御する分泌性因子を同定するために、Immunoglobulin E (IgE) と Interleukin (IL)-4 を候補として取り上げ、マスト細胞の機能に対するこれらの影響を検討した。マウス骨髄由来培養マスト細胞 (BMNC) に対して、IgE は、抗原非存在下、ヒスタミン脱炭酸酵素 (HDC) の発現を誘導することでヒスタミンの蓄積量を増加させた。この抗原非結合 IgE による効果は、細胞内カルシウム濃度の上昇とそれに伴う phospholipase C の活性化が必要であることを見出した。また、protein kinase C 及び Src family kinase の関与も示唆された。一方、IL-4 はマウス脾臓由来粘膜型マスト細胞株 BNU-2cl3 細胞においてヒスタミン産生を抑制し、この作用はヒスタミン産生を亢進させる IL-3 の作用と拮抗した。同時に、mast cell protease である MCP2 の発現変化が見られたことから、IL-4 の作用は BNU-2cl3 細胞の性状の変化によるものであることが示唆された。

第 2 章においては、第 1 章の結果をもとに新たなアレルギー疾患治療薬の標的として IgE に焦点を絞り、重症のスギ花粉症を対象とした抗 IgE 抗体薬オマリズマブの臨床検討を行った。オマリズマブがスギ花粉症に対して有効であることは既に報告されているが、これまでの検討は軽症患者も含んでおり、臨床的に抗体医薬を投薬されると期待される重症例に絞った検討はなされていなかった。そこで本研究では、既存治療薬ではコントロール不十分な患者を対象として、標準治療薬との併用条件下で、オマリズマブの上乗せ効果を検討した。その結果、「標準治療+オマリズマブ群」では「標準治療+プラセボ群」に対して、鼻症状と眼症状の全ての検査項目において改善効果を示し、また患者の QOL や労働生産性も向上させた。

以上、本研究は、マスト細胞の機能制御機構を解明するとともに、IgE を標的とすることで I 型アレルギー疾患の治療に対して効果的な薬剤を開発することが可能であることを示したものである。

上記の論文は博士 (薬学) 論文として、適当と判定する。