アレルギー性鼻炎と時計遺伝子

本間 あや

北海道大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室

Allergic rhinitis and clock gene

Aya Honma

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Faculty of Medicine and Graduate School of Medicine, Hokkaido University

キーワード：アレルギー性鼻炎，概日リズム，体内時計，時計遺伝子

Key words: allergic rhinitis, circadian rhythm, biological clock, clock gene

はじめに

血圧や体温，ホルモン分泌の変動といった生理機能にみられる概日リズムは，脳視床下部視交叉上核にある中枢時計と全身の組織に存在する末梢時計により制御されている¹⁾。アレルギー性鼻炎の症状にも日内変動が見られ，夜間から早朝にかけて増悪する。この鼻炎症状の日内変動も体内時計により制御されており，ホルモン分泌や自律神経系の概日リズムが，夜間の鼻腔抵抗増加やマスト細胞脱顆粒反応亢進など，アレルギー性鼻炎の病態に影響を及ぼすと考えられている^{2,3)}。一方で，炎症性ストレスや炎症性サイトカインが時計遺伝子発現に影響を及ぼすことが報告されており，慢性炎症が体内時計を狂わす可能性も示唆される^{4,5)}。このように，近年，慢性炎症性疾患の病態や免疫反応における時計遺伝子の関与が注目されつつある。

本稿では，筆者らが行ってきた鼻粘膜の時計遺伝子の研究成果を中心に，体内時計の役割と，体内時計の制御に着目したアレルギー性鼻炎の治療に対する展望について言及したい。なお，全ての実験は国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程第7条第1項の規定に基づき，総長より承認をうけた動物実験計画「概日振動の分子・細胞メカニ

ズム：中枢時計の同調と末梢時計の統合」(承認番号：13-0064) および「アレルギー性鼻炎に対するステロイド点鼻薬の時間治療法の開発」(承認番号：16-0098)の一環として行われた。

体内時計のメカニズム

バクテリアからヒトに至るまで地球上のほぼ全ての生物は，昼夜変化の環境周期に同調する内在性のリズムを持っている^{6,7)}。その周期は種によって若干異なるが，約24時間であることから概日リズムと呼ばれる。哺乳類における概日時計システムは，視床下部視交叉上核(suprachiasmatic nucleus: SCN)に存在する中枢時計と，SCN以外の脳内や全身の組織に存在する末梢時計で構成されている⁸⁾。中枢時計は網膜より光入力を受けて，24時間の明暗サイクルに同調したリズムを発振する。末梢時計は中枢時計からの神経伝達やホルモン分泌を介してシグナルを受けて周期をリセットし，適切な時刻に適切な生理機能が発揮されるよう生理機能のリズムが時間的に統合されている⁹⁾。

SCN細胞内のリズムは，時計遺伝子の転写とタンパク産物による転写抑制のフィードバックにより発現する。促進系であるClock, Bmal1および，抑制系であるPeriod(Per), Cryptochrome(Cry)の時計遺伝子が代表的である。転写因子であるCLOCK, BMAL1の二量体がPerおよびCryのプロモーター上にあるE-box領域に結合し，遺伝子転写を促進する。タンパク産物であるPERとCRYは二量体を形成し，核内に移行してE-box上のCLOCK, BMAL1

2019年10月31日受稿

別冊請求先：本間あや

〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目

北海道大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室

TEL: 011-706-5958, FAX: 011-717-7566

E-mail: aya-honma@med.hokudai.ac.jp

に結合し、転写を抑制する⁸⁾。この結果、PERやCRYの量に一サイクルが約24時間の明瞭なリズムが出現し、さらに、E-boxを上流にもつ下流の遺伝子の発現を周期的に調節して生理機能のリズムが生じる。

鼻粘膜時計遺伝子とアレルギー性鼻炎症状の日内変動

著者らはまず、鼻粘膜概日リズムの有無を検討するため、PER2とルシフェラーゼの融合タンパクを合成するPER2::LUCノックインマウスの鼻粘膜組織を基質ルシフェリンの存在下で培養し、発光量を連続計測して、そのパターンよりPER2リズムを解析した。その結果、鼻粘膜末梢時計の存在が明らかになり、マウス鼻粘膜は暗期（活動期）前半にピークを持つ安定した概日リズムを呈し、その周期は約22.7時間と24時間よりも短く（図1A）、下気道組織の概日リズムと類似していることが判明した^{10,11)}。Gibbsらは肺における抗炎症反応のリズムを作り出す肺末梢時計はクララ細胞にあり、クララ細胞由来のケモカインCXCL5の概日リズムにより炎症反応の日内変動が生じると報告している^{12,13)}。鼻粘膜においても上皮組織に強いPER2シグナルが観察できるが（図1B）、上皮組織は呼吸を介して受ける物理的・化学的刺激および病原体に対する防御機能の最前線であることから、生体が環境の周期性を予測して生体防御を行うにあたり、鼻粘膜末梢時計が存在するのは極めて合理的と考えられる。

次にOvalbumin (OVA)の腹腔内投与および点鼻にてアレルギー性鼻炎を発症させたモデルマウスを用いて、アレルギー性鼻炎の鼻粘膜末梢時計への影響を検討したところ、モデルマウスの鼻粘膜においても安定した概日リズムを認め、PBSを腹腔内投与・点鼻した対照群との間でリズムパラメーターに有意差を認めなかった（表1）¹⁴⁾。しかしながら、モデルマウスのアレルギー性鼻炎症状は昼夜差を認め、二群間で血中OVA特異的IgE値に有意差は認めな

表1 アレルギー性鼻炎モデルマウスの鼻粘膜PER2リズム

	control	AR	student's <i>t</i> -test
ピーク位相 (時)	19.2±0.1	19.7±0.2	N.S.
周期 (時間)	22.8±0.2	22.8±0.1	N.S.
標準化振幅	1.6±0.02	1.7±0.02	N.S.

いものの、明期（休息期）での抗原暴露の方が暗期（活動期）での暴露に比較して症状が強いことが確認された（図2）¹⁴⁾。中村らによると、IgE依存性アレルギー反応の日内変動には時計遺伝子Per2が関与しており、Per2がIgE受容体FcεR1の発現を制御して、マスト細胞脱顆粒反応の概日リズムを形成している³⁾。さらには、PER2分解酵素であるCasein kinase 1δ/εの阻害剤を投与しPER2を増加させることで、マスト細胞脱顆粒反応が制御できると報告している¹⁵⁾。鼻粘膜組織においても、PER2レベルが高い時刻ではアレルギー性鼻炎症状が弱いことから、PER2が鼻粘膜における免疫反応の制御に関与していることが示唆された。

グルココルチコイドの影響と時間治療への応用

アレルギー性鼻炎の治療には鼻噴霧用ステロイド薬が使用される。しかしながら、グルココルチコイドは多くの末梢時計にとってリズムを同期させる同調因子であることから、鼻粘膜時計遺伝子発現に影響を及ぼし、強いては治療効果にも何らかの影響をきたす可能性も否定できない。そこで、培養鼻粘膜にDexamethasone (DEX)を投与し、鼻粘膜概日リズムの変化を検討したところ、DEX投与時刻に依存したPER2リズムの位相変化を示すことが明らかとなった。暗期（活動期）開始のDEX投与ではリズム位相が約11時間後退し、暗期中間点の投与では約7時間の位相前進を呈した。一方で、明期（休息期）開始の投与では位相変化を示さなかった¹⁰⁾。DEX投与により位相後退を

図1 マウス鼻粘膜における時計遺伝子発現（文献10より改変引用）。A: マウス鼻粘膜のPER2リズムは暗期前半にピーク位相を持つ、約23時間周期の安定した概日リズムを呈す。データは24時間移動平均値によるトレンド除去後であり、グラフ横軸の白黒バーは6–18時を明期とする明暗サイクルを示す。B: マウス鼻粘膜のPER2陽性細胞。6時と比較し18時においてPER2が強く発現しており、上皮細胞で強い発現を認める。18時には血管内皮や神経終末にも発現を認める。

図2 アレルギー性鼻炎モデルマウスの鼻炎症状。アレルギー性鼻炎 (AR) モデルと対照群におけるアレルギー性鼻炎症状の昼夜差。18 時と比較し 6 時での抗原暴露では鼻炎症状が強い。

図3 鼻噴霧用ステロイド薬投与による鼻粘膜時計の脱同調の模式図 (文献 14 より改変引用)。

認める時刻は、血中グルココルチコイド値が高い時刻と一致しており、グルココルチコイドが 24 時間より短い周期の鼻粘膜末梢時計の位相を後退させることで 24 時間周期に調整している同調因子である可能性が示唆された。

以上の結果から、グルココルチコイドの投与時刻によっては、鼻粘膜末梢時計のリズム位相が半日近くもシフトすることが判明した。つまり、ステロイドの局所投与によって鼻粘膜末梢時計が中枢時計や他の末梢時計のリズムから乖離し、脱同調する可能性が示唆された。脱同調では、生理機能にいわゆる「時差ボケ」症状が現れ、脱同調を繰り返すと生命予後にも深刻な影響が生じることが報告されている^{16,17)}。鼻粘膜末梢時計は、外界からの物理的・化学的刺激や微生物感染からの予防が必要となる活動期に粘液分泌や免疫活性化により生体防御機能を上昇させ、休息期には細胞修復を行うなど、鼻粘膜の生理機能の維持に作用していると考えられる。したがって、鼻粘膜のリズムが個体の体内時計のリズムから乖離することは、生体防御の

観点からも好ましくないだろう。時間医学の観点からは、鼻噴霧用ステロイド薬を使用する際も、鼻粘膜の概日リズムを乱さない時刻での投与が望ましく、夜行性のマウスの場合、明期 (休息期) 前半が至適時刻となる。これを昼行性のヒトに置き換えると、至適投与時刻は夕方に相当する (図 3)。この結果は、気管支喘息の治療に効果的である吸入ステロイド投与時刻と一致しており^{18,19)}、鼻粘膜の概日リズムが下気道粘膜の概日リズムと類似することから、アレルギー性鼻炎に対しても効果が期待できる。

鼻粘膜末梢時計の脱同調を防ぎ、生体の時間的統合を維持しながらアレルギー性鼻炎の治療効果を得るためにも、適切な時刻に鼻噴霧用ステロイド薬を使用することが望ましい。今後の臨床診療において、アレルギー性鼻炎に対する時間治療法の更なる研究展開が期待される。

本論文に関して、開示すべき利益相反状態は存在しない。

文 献

- 1) Reinberg A, Gervais P, et al. Circadian and circannual rhythms of allergic rhinitis: an epidemiologic study involving chronobiologic methods. *J Allergy Clin Immunol.* 1988; 81(1): 51–62.
- 2) Smolensky MH, Lemmer B, et al. Chronobiology and chronotherapy of allergic rhinitis and bronchial asthma. *Adv Drug Deliv Rev.* 2007; 59(9–10): 852–82.
- 3) Nakamura Y, Nakano N, et al. Circadian regulation of allergic reaction by the mast cell clock in mice. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(2): 568–75.
- 4) Takahashi S, Yokota S, et al. Physical and inflammatory stressors elevate circadian clock gene *mPer1* mRNA levels in the paraventricular nucleus of the mouse. *Endocrinology.* 2001; 142(11): 4910–7.
- 5) Cavadini G, Petrzilka S, et al. TNF- α suppresses the expression of clock genes by interfering with E-box-mediated transcription. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007; 104(31): 12843–8.
- 6) Dunlap JC. Molecular bases for circadian clocks. *Cell.* 1999; 96(2): 271–90.
- 7) Young MW and Kay SA. Time zones; a comparative genetics of circadian clocks. *Nat Rev Genet.* 2001; 2(9): 702–15.
- 8) Reppert SM and Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature.* 2002; 418(6901): 935–41.
- 9) Barclay JL, Tsang AH, et al. Interaction of central and peripheral clocks in physiological regulation. *Prog Brain Res.* 2012; 199: 163–81.
- 10) Honma A, Yamada Y, et al. Glucocorticoids Reset the Nasal Circadian Clock in Mice. *Endocrinology.* 2015; 156(11): 4302–11.
- 11) Yoo SH, Yamazaki S, et al. *PERIOD2::LUCIFERASE* real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(15): 5339–46.
- 12) Gibbs JE, Beesley S, et al. Circadian timing in the lung: a specific role for bronchiolar epithelial cells. *Endocrinology.* 2009; 150(1): 268–76.
- 13) Gibbs J, Ince L, et al. An epithelial circadian clock controls pulmonary inflammation and glucocorticoid action. *Nat Med.* 2014; 20(8): 919–26.
- 14) Honma A. Circadian rhythm in the nasal mucosa and chronotherapy for allergic rhinitis. In: Honma K and Honma S, editors. *Biological Clocks—with reference to suprachiasmatic nucleus—*. Sapporo: Hokkaido University Press; 2017. p. 195–8.
- 15) Nakamura Y, Nakano N, et al. Inhibition of IgE-mediated allergic reactions by pharmacologically targeting the circadian clock. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137(4): 1226–35.
- 16) Davidson AJ, Sellix MT, et al. Chronic jet-lag increases mortality in aged mice. *Curr Biol.* 2006; 16(21): R914–6.
- 17) Kettner NM, Voicu H, et al. Circadian Homeostasis of Liver Metabolism Suppresses Hepatocarcinogenesis. *Cancer Cell.* 2016; 30(6): 909–24.
- 18) Pincus DJ, Szefer SJ, et al. Chronotherapy of asthma with inhaled steroids: the effect of dosage timing on drug efficacy. *J Allergy Clin Immunol.* 1995; 95(6): 1172–8.
- 19) Noonan M, Karpel JP, et al. Comparison of once-daily to twice-daily treatment with mometasone furoate dry powder inhaler. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2001; 86(1): 36–43.