

氏 名	やす え まさ あき 安 江 正 明
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 2197 号
学位授与の日付	平 成 10 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Studies on the induction and suppression of allergic reactions with purified and recombinant mite allergens in experimental animals (実験動物を用いた、精製および組換えダニアレルゲンによるアレルギー反応の誘発並びに減感作に関する研究)
	(主査)
論文調査委員	教 授 佐々木義之 教 授 宮 本 元 教 授 矢 野 秀 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

近年、先進国を中心に多数の人々がアレルギーの症状を訴えるようになっており、治療を必要とするアレルギー患者の数も急増している。中でも室内塵中のヒョウヒダニ類によって引き起こされるダニアレルギーは、その症状の重篤さ故に予防、治療法確立に対する社会の関心は強い。これまでダニアレルギーの基礎研究、診断、減感作療法において、ヒョウヒダニの粗抽出物が広く用いられてきた。しかし、ダニ粗抽出物には数多くの抗原性物質、起炎性物質が様々な濃度で含まれており、抽出物の供給元が違えば試験結果が変わってくるなどの問題があった。一方、免疫学、生化学の発展は幾つかの临床上重要なダニアレルゲンの単離精製、遺伝子のクローニング、さらには微生物による組換えアレルギーの生産を可能とし、1994年には天然Der f 1 (nDerf 1) と組換えDer f 2 (rDer f 2) が試薬化されるに至った。本研究では特にrDer f 2の有用性を明らかにすることを目的として、精製ダニアレルゲンによるダニアレルギーモデルの作製と、このモデルを用いたrDer f 2およびその変異体であるC8/119Sの減感作作用の評価を行った。

得られた結果の概要は以下の通りである。

1. rDer f 2およびnDerf 1で4系統の近交系マウスとハートレイ系モルモットを能動感作し、その免疫応答を検索した。マウスに関してはA/J系がrDer f 2, nDerf 1の両方に対して高いIgE産生を示し、感作抗原刺激後の皮膚および気道の反応性も最も高かった。また、モルモットも能動感作により両アレルギーに対して高いIgE産生、皮膚および気道の過敏性を示すようになり、齧歯類においてrDer f 2とnDerf 1が高い免疫原性とIgE反応性を有することが確認された。さらに、霊長類においても高いアレルギー性を保持していることが確認された。
2. ダニ粗抽出物を初めとするアレルギーはアレルギーの診断だけでなく、原因アレルギーをごく少量ずつ患者に投与して症状を緩和するという減感作療法にも用いられている。そこで、rDer f 2で感作したマウスとモルモットのダニアレルギーモデルを用いて、rDer f 2の減感作作用を評価した結果、rDer f 2にはダニアレルギーに対する減感作作用があるが、高いアレルギー性を保持しているが故に副作用をも起こしうることが示された。
3. アレルギーの減感作療法における副作用は投与したアレルギーとIgEの反応により引き起こされる一方、その効果はアレルギーとT細胞の反応により誘導されると考えられている。IgEはアレルギーの3次構造を認識する傾向が強いが、T細胞は5~20残基のアミノ酸一次配列を認識すると言われている。したがってアレルギーのアミノ酸配列をできるだけ保存しながらその高次構造を変えることができれば、副作用を誘発しにくい減感作治療用アレルギーとして開発することができると期待される。そこでrDer f 2の8番目と119番目のシステイン残基をセリン残基に換えることで、分子内S-S結合の数を3から2に減らしたC8/119Sを作製し、そのIgE、T細胞との反応性を検索した。rDer f 2感作マウスにおけるC8/119SのIgEとの反応性はrDer f 2の1/30~1/10であった。一方、T細胞との反応性はそれとほぼ同等であった。この性質はモルモットでも共有されていた。C8/119Sの減感作作用を評価するため、rDer f 2で免疫したマウスに1回2 $\mu$ gのC8/119S

を4週間で12回点鼻したところ、rDer f 2の刺激による気道収縮反応と白血球のアレルギー表現型が有意に改善された。さらに、感作モルモットに0.2mgのC8/119Sを4週間で12回皮下投与したところ、副作用は一切見られず、アレルギー性の鼻炎はrDer f 2投与時と同等に有意に抑制された。C8/119Sが副作用を誘発しにくい治療用精製ダニアレルゲンとしての可能性を備えていることが動物実験で証明された。

## 論文審査の結果の要旨

近年、先進国を中心に多数の人々がアレルギーの症状を訴えるようになっており、治療を必要とするアレルギー患者の数も急増している。中でも室内塵中のヒョウヒダニ類によって引き起こされるダニアレルギーは、その症状の重篤さ故に予防、治療法確立に対する社会の関心は強い。一方、免疫学、生化学の発展は幾つかの臨床上重要なダニアレルゲンの単離精製、遺伝子のクローニング、さらには微生物による組換えアレルゲンの生産を可能とし、1994年には天然Der f 1 (nDer f 1)と組換えDer f 2 (rDer f 2)が試薬化されるに至った。このような背景を踏まえて、本論文では遺伝子組換えにより作製した主要ダニアレルゲンrDer f 2の免疫アレルギー分野における有用性を評価するための基礎的研究を、マウス、モルモットおよびアカゲザルを用いて実施している。

得られた主要な結果は以下の通りである。

1. rDer f 2およびnDer f 1で4系統の近交系マウスとハートレイ系モルモットを能動感作し、その免疫応答を検索した結果、齧歯類においてrDer f 2とnDer f 1が高い免疫原性とIgE反応性を有することを確認した。さらに霊長類においても高いアレルゲン性を保持していることを確認している。

2. ダニ粗抽出物を初めとするアレルゲンはアレルギーの診断だけでなく、原因アレルゲンをごく少量ずつ患者に投与して、症状を緩和するという減感作療法にも用いられている。そこで、rDer f 2で感作したマウスとモルモットのダニアレルギー実験動物モデルを用いて、rDer f 2の減感作作用を評価し、rDer f 2にもダニアレルギーに対する減感作作用はあるが、高いアレルゲン性を保持しているが故に副作用をも起こしうることを明らかにしている。

3. アレルギーの減感作療法における副作用は投与したアレルゲンとIgEの反応により引き起こされる一方、その効果はアレルゲンとT細胞の反応により誘導されると考えられている。IgEはアレルゲンの3次構造を認識する傾向が強いが、T細胞は5～20残基のアミノ酸一次配列を認識すると言われている。したがってアレルゲンのアミノ酸配列をできるだけ保存しながらその高次構造を変えることができれば、副作用を誘発しにくい減感作治療用アレルゲンとして開発することができると期待された。そこで、rDer f 2の8番目と119番目のシステイン残基をセリン残基に換えることで、分子内S-S結合の数を3から2に減らしたC8/119Sを作製し、そのIgE、T細胞との反応性を検索した結果、rDer f 2感作マウスにおけるC8/119SのIgEとの反応性はrDer f 2の1/30～1/10であった。一方、T細胞との反応性はそれとほぼ同等であったとしている。このようにC8/119Sが副作用を誘発しにくいダニアレルゲンとしての可能性を備えていることを証明している。

以上のように本論文は精製および組換えダニアレルゲン、さらにその誘導体を利用することにより、免疫原性および減感作作用を損なわずに、しかも副作用の少ないダニアレルゲンが創製できることを実験動物モデルにより示したものであり、免疫学、実験動物学、応用動物科学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成10年5月21日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。