

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 高 井 敏 朗

本論文は、ダニ主要アレルゲンDer f 2をモデルアレルゲンとした、次世代の治療用アレルゲンワクチンの開発に関するもので、6章よりなる。アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどのI型アレルギーの原因となる抗原はハウスダスト、花粉、食物などであり、アレルゲンと呼ばれる。アレルゲン特異的免疫療法（以下、免疫療法）はアレルゲンを長期間繰り返し患者に投与するアレルギー治療法であり、今世紀初頭より効果的な治療法として実施されてきた。その主要な問題点はアレルゲン投与によるアナフィラキシー反応の危険性である。よって、次世代のアレルゲンワクチンに望まれる第一の条件はアナフィラキシー反応を起こしにくいことである。免疫療法の作用機序として、効果的治療におけるアレルゲン特異的T細胞の性質変化の重要性が指摘されている。よって、標的細胞であるT細胞に対する刺激活性が保持されていることが第二の条件である。ハウスダストは、様々なアレルギー疾患に関わる重要なアレルゲンであり、その実体は*Dermatophagoides*属のダニである。ほとんどのダニアレルギー患者がダニ主要アレルゲンDer f 2に強く感作されていることが知られている。申請者はDer f 2をモデルアレルゲンとして選択し、その欠失体および部位特異的変異体を作製してアレルギー患者の血清と末梢血細胞を用いた解析および皮膚テストを行い、それらの結果を指標に次世代のアレルゲンワクチンに望まれる上記の二つの条件を満たした改変アレルゲンを創製した。

まず第1章で研究の背景を概説した後、第2章と第3章では、大腸菌で融合タンパク質として発現させたDer f 2の欠失体を用いた解析について述べている。第2章では、数多くの欠失体とアレルギー患者血清中のIgEとの反応性の解析を行った。その結果、Der f 2のIgE結合能が、その立体構造に大きく依存することが明らかとなり、IgE結合能の保持に必要なN末端およびC末端領域の配列を同定した。第3章では、第2章で作製したいくつかの欠失体を研究材料として、N末端およびC末端配列の相互作用により生成するIgE結合部位の存在を確認すると共に、アレルゲン活性の評価（血清中IgE結合能および皮膚テスト）および末梢血T細胞刺激試験を行うことにより、免疫療法への応用の可能性を探った。その結果にもとづき、比較的長い配列を有し、配列が互いにオーバーラップした組換えアレルゲンの欠失体の、免疫療法への応用を提案した。

第2章と第3章の結果より、分子内ジスルフィド結合がDer f 2の立体構造保持に大きく貢献していると考えられたので、第4章では、分子内ジスルフィド結合に着目して、IgE反応性が大幅に低減した部位特異的変異体を創製することを試みた。融合タンパク質としてではなく、直接発現させたDer f 2の

システイン変異体を実験に用いた。アレルゲン活性の評価（血清中IgE結合能、末梢血好塩基球のヒスタミン遊離刺激試験、および皮膚テスト）および末梢血T細胞刺激試験を行うことにより、免疫療法への応用可能性を探った。その結果、N末端領域とC末端領域を架橋するジスルフィド結合を破壊した変異体C8/119Sは、次世代のアレルゲンワクチンに望まれる二つの必要条件－アレルゲン活性は低下しているがT細胞結合部位は保持している－を満たしていることが明らかになった。

第5章では、3種類のマウス抗Der f 2モノクローナル抗体の結合部位の解析を行い、第2章から第4章におけるアレルギー患者IgEの認識する結合部位の解析の結果と比較し、考察を行った。

第6章では、本研究の成果をまとめるとともに、関連分野の今後の研究について展望した。

以上、本論文では、安全かつ効果的な免疫療法のための次世代のアレルゲンワクチンを開発することを目指し、ダニ主要アレルゲンDer f 2をモデルアレルゲンとしてその抗原構造を明らかにし、アレルゲン活性は低下しているがT細胞結合部位は保持している改変アレルゲンとして、1. 部位特異的変異によりアレルゲン活性を低減した変異体、および2. オーバーラップした二種の非アナフィラキシー性欠失体の組み合わせ、の有効性を示した。部位特異的変異体C8/119Sは動物実験でもアナフィラキシー反応を起こしにくく、かつ高い治療効果を有することが証明されており、臨床への応用が期待される。本論文で得られた知見は学術と応用の両面において重要である。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。