

審査の結果の要旨

氏名 田村 幸子

本研究は、スギ花粉症の根治療法開発のため、その主要アレルゲンCry j 1、Cry j 2のIgEおよびIgG-B細胞エピトープの解析をスギ花粉症患者、花粉症ザル、免疫マウスで試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Cry j 1を腹腔内投与したCry j 1免疫マウスを用いて、Cry j 1特異的B細胞エピトープを解析した。Cry j 1の合成ペプチドを作成し、マウスのCry j 1特異的IgEおよびIgG抗体とペプチドの反応を、ELISA法を用いて解析したところ、特異的IgEおよびIgG抗体はどちらもペプチドno.15 ¹¹¹GVEPVHPQDGDALTLRTATN¹⁶⁰ に強く反応した。
2. ペプチドno.15のN末端とC末端側からアミノ酸を1つずつ減らしたペプチドを用いたELISA阻止法により、抗体結合に必要な最小のエピトープ ¹⁴⁵VHPQDGDA¹⁵² を同定した。
3. Cry j 1 特異的マウスモノクローナル抗体を用いた解析により、これまでに5つのエピトープの存在が確認されているが、これらのモノクローナル抗体はペプチドno.15に反応しなかった。ペプチドno.15は、6つ目のシーケンシャルなエピトープと考えられた。
4. Cry j 2の合成ペプチドを用いて、スギ花粉症患者と自然発症のスギ花粉症ザル、Cry j 2免疫マウスにおけるB細胞エピトープの解析をELISA法を用いて行った。ヒトスギ花粉症患者20人中、16人が1つ以上のペプチドに反応した。10人がペプチドno.13 ¹²¹GQCKWVNGREICNDRDRPTA¹⁴⁰ に反応し、8人がペプチドno.31 ³⁰¹YCTSASACQNQR

SAVQIQDV³²⁰に反応した。

5. スギ花粉症ザルは、7匹中5匹がペプチドno.13に反応し、その他のペプチドには反応しなかった。
6. Cry j 2免疫マウス血清中の特異的IgE、IgG抗体もペプチドno.13に強く反応し、その他のペプチドには反応しなかった。さらに、異なる2つのエピトープを認識することが確認されている3つのCry j 2特異的マウスモノクローナル抗体のうち、2つがペプチドno.13に反応した。
7. ペプチドno.13のN末端とC末端側からアミノ酸を1つずつ減らしたペプチドを用いたELISA阻止法により、ヒトとサルの主要なエピトープno.13の抗体結合に必要な最小のエピトープ¹²¹KWVNGREI¹³¹を同定した。
8. ペプチドno.13とヒト血清アルブミンをEDCにて結合した蛋白を用いて、ヒトスギ花粉症患者の好塩基球を刺激したところ、ヒスタミン遊離が確認された。ペプチドno.13はIgE抗体を介してアレルギー反応をひき起こす機能的なエピトープであることが明らかになった。

以上、本論文は、スギ花粉症主要アレルゲンCry j 1において、免疫マウスにおけるIgE、IgG-B細胞エピトープを合成ペプチドを用いて同定した。また、Cry j 2において、スギ花粉症患者、スギ花粉症サル、Cry j 2免疫マウスにおけるIgE、IgG-B細胞エピトープを解析し、患者とサル、免疫マウスに共通したエピトープの存在を明らかにした。本研究は、スギ花粉症動物モデルとしてのマウスとサルにおける治療法開発、さらにスギ花粉症患者治療法の開発に繋がる重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。