

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 水町 功子

B細胞やT細胞によって認識される抗原分子の構造（エピトープ）に関する知見は、抗原分子の認識機構の解明や抗原構造を利用した免疫応答制御方法の開発に極めて重要である。しかし、免疫応答は抗原の性質や宿主側の因子によって影響されることから、認識エピトープに関するタンパク質に普遍的な共通構造は明確にされていない。

本論文では、食品抗原によって引き起こされる過剰な免疫応答である食品アレルギーの制御につながる基礎的知見を得るため、牛乳アレルギーの β -カゼイン（ β -CN）、 β -ラクトグロブリン（ β -LG）及び鶏卵アレルギーのオボムコイド（OVM）について、マウス、家兎及び山羊の3種の実験動物と合成部分ペプチドを用いて詳細な抗原構造解析を行い、抗原分子の認識における普遍性や差異について明らかにしようとした。

緒論において本研究の背景と意義について概説した後、第1章では、ウシ β -CNの抗原構造解析を行っている。 β -CNの全領域をカバーする20種の合成部分ペプチドとマウス、家兎および山羊から得た抗 β -CN抗血清を用いて、B細胞エピトープ領域を明らかにした。抗体の特異性は種に特徴的であったが、共通して認識される領域も存在した。すなわち、マウスは80-95、143-158及び195-209残基目、家兎は1-16残基目、ヤギは100-115残基目を最も強く認識し、1-16、100-115、121-136および143-158残基目は3種の動物に共通して認識された。また、抗体結合に重要なアミノ酸残基は7~9残基程度に限定化された。次に食品として摂取したときの免疫応答を明らかにするため、牛乳を飲水の代わりに自由摂取させ、 β -CNに対するB・T細胞認識について近交系マウスを用いて解析した。牛乳経口投与により β -CN特異抗体量は低下したが、ドミナントなB細胞エピトープ領域に対する抗体産生が低下すると同時に、抗体産生の抑制を免れる領域が存在した。一方、T細胞応答の十分な抑制には長期投与が必要であり、マウス β -CNとのホモロジー、 β -CNの消化性、牛乳中に存在する免疫賦活因子などが関係していると考えられた。

第2章では、ウシ β -LGの抗原構造解析を行っている。 β -LGの全領域をカバーする合成部分ペプチド16種とマウス、家兎及び山羊から得た抗 β -LG抗血清を用いた解析の結果、 β -CNと同様に個体差はあるが動物種に特徴的な認識パターンを示し、また種に共通する認識領域も存在することが明らかとなった。すなわち、マウスにおいては22-56、72-86、119-133及び149-162残基目、家兎においては22-56、72-95、100-113、119-143及び149-162残基目、山羊においては22-46、52-86、119-143及び149-162残基目がドミナントなB細胞エピトープ領域であった。また、加熱変性 β -LGに対するB細胞認識及び牛乳又は β -LG水溶液の経口投与が β -LGに対するB・T細胞認識に及ぼす影響についても調べた。その結果、加熱処理温度によって β -LG上のB細胞エピトープ領域は変化し、新た認識される領域が複数存在することが明らかとなった。さらに、牛乳、 β -LG水溶液の経口投与によって、

β -LG 特異的 B・T 細胞応答はともに顕著に抑制されたが、新たに認識される領域も認められた。また、 β -LG の B 細胞エピトープ情報を基に、161 残基目のヒスチジンをアスパラギン酸に置換した変異 β -LG を作製し、エピトープ領域の一部置換により、免疫応答を修飾できる可能性を示した。

第 3 章ではニワトリ OVM の抗原構造解析を行っている。OVM の全一次構造をカバーする 179 種の部分ペプチドを合成し、マウス、家兎及び山羊から得た抗 OVM 抗血清を用いて、OVM の一次構造依存型の B 細胞エピトープ領域を決定した。家兎は 11-19、43-54、83-96 及び 159-172 残基目、山羊は 7-14、82-96、160-172 及び 176-186 残基目を、マウスは 11-19、41-53、84-95 及び 160-172 残基目を認識し、 β -CN 及び β -LG と同様、種を超えて認識しやすい領域が存在した。また、近交系マウスの認識する T 細胞エピトープ領域も明らかにした。 β -CN 及び β -LG と同様に、OVM の経口投与により OVM 特異的免疫応答は顕著に抑制され、OVM が強力な寛容原であることがわかった。さらに、OVM のペプチド 45 種と卵アレルギー患者血清 IgE 抗体との結合性を調べ、ヒトの認識する B 細胞エピトープ領域の一部も明らかにした。

以上、本論文では代表的な食物アレルギーの β -CN、 β -LG 及び OVM の抗原構造について、実験動物と合成ペプチドを用いて解析し、また、実際の食品摂取を考慮して、加熱変性タンパク質に対する抗原認識及び経口投与された抗原に対する抗原認識についても検討し、抗原認識における共通性、差異を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。