

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 燕木 由紀子

本論文は、スギ花粉アレルゲンに特異的な免疫反応を利用した基礎的研究成果から、スギ花粉症の新しい治療および予防法について論じている。スギ花粉症はアレルギー疾患の一つであるが、現在の治療の中心は薬物療法である。唯一の根治的な治療法として、スギ花粉アレルゲン抽出液を注射する減感作療法がある。しかしこの減感作療法は長期にわたる頻回の注射が必要であること、投与後アナフィラキシーショックのような全身性のアレルギー副反応が起こることなどの欠点がある。そのため、簡便かつ安全な新しい治療用ワクチンの開発が望まれている。Th1 型の免疫応答を誘導する CpG DNA に着目し、これをスギ花粉の主要アレルゲンタンパク質、Cry j 1 および Cry j 2 に結合させたワクチンの有効性について主に検討している。論文は序論に続き、四章で構成されている。

序論では、我が国におけるスギ花粉症の現状、その発症メカニズム、現在行なわれている治療法の有効性と限界について論じている。アレルギーが T 細胞の機能に依存し、Th1 および Th2 細胞のバランスが最も重要な点としている。アレルギー抑制には Th1 型免疫反応の誘導が大切で、スギ花粉アレルゲンに Th1 型の免疫応答を誘導する CpG DNA を直接結合したワクチンの可能性を論じ、本研究の目的を明確にしている。

第1章では、CpG DNA にスギ花粉アレルゲンを結合したワクチンの有効性をマウスを用いて検討し、その有効性を示した。CpG DNA-Cry j 1 でナイーブマウスの脾臓細胞刺激すると顕著に IL-12 の産生が誘導された。このワクチンのアレルゲン性は Cry j 1 と比較したところ、約 1/50 であった。CpG DNA を結合させることにより、Cry j 1 のアレルゲン性が著しく低下した。このワクチンを接種したマウスは、有意に Cry j 1 特異的に IgE 産生を抑制し、IgG2a 産生を誘導した。さらに Cry j 1 特異的に脾臓細胞の IL-5 産生の抑制と IFN- γ の産生の誘導が認められた。これらの結果は、Cry j 1 特異的に Th1 型の免疫反応が誘導されることを示している。CpG DNA にアレルゲンを結合させたワクチンは、Th1 型の免疫応答を誘導することや Cry j 1 アレルゲンと比較して、アレルゲン性が大幅に減弱していることから、有効な治療法および予防法への可能性を示した。

第2章では、T 細胞エピトープに CpG DNA を結合させたワクチンの開発を行った。一般的にアレルゲン性のない T 細胞エピトープをワクチンとして使用することにより、接種による副反応の危険性も小さくなると考えられている。Cry j 1 の T 細胞エピトープペプチドに CpG DNA を結合させたワクチンを作製し、マウスを用いて有効性を検討した。このペプチドワクチン接種したマウスは、Cry j 1 特異的に IgE 産生を抑制し、IgG2a 産生を誘導した。また、IFN- γ 産生を誘導するが、IL-4 産生には影響がなかった。これらの結果は Th1 型免疫反応の誘導を示している。これまでに、ペプチドに CpG DNA を結合させたワクチンの報告はない。本研究で初めて CpG DNA 結合ペプチドワクチンが Th1 型免疫反応の誘導能のあることを示した。副反応が起こりにくいワクチンとしてスギ花粉症の

治療への有効性が示唆された。

第3章では、スギ花粉症感作犬を用いて、Cry j 1 と Cry j 2 の B 細胞エピトープについて論じている。イヌはスギ花粉症を自然発症するが、ヒト特有の鼻炎症状を示すことは少なく、アレルギー性皮膚炎が主な症状である。マウスはスギ花粉症症状を伴わず、花粉特異的な IgE 抗体およびサイトカイン産生でその治療法を評価してきた。そのため、イヌはスギ花粉症の治療研究のモデルとして期待されている。しかし、イヌにおける Cry j 1 および Cry j 2 のシークエンシャルな B 細胞エピトープについてはまだ明らかになっていない。スギ花粉感作犬におけるアレルゲンのシークエンシャルな B 細胞エピトープを解析した。Cry j 1 および Cry j 2 アレルゲンのオーバーラッピングペプチドを作製し、スギ花粉感作犬の血清中 IgE との反応性を検討した。実験的スギ花粉感作犬 12 頭の血清中 IgE はいずれのペプチドにおいて、IgE 反応性を示さなかった。イヌにおける Cry j 1 および Cry j 2 のシークエンシャル B 細胞エピトープは存在しない可能性が示された。

第4章で本研究を総括し、CpG DNA 結合スギ花粉アレルゲンおよびペプチド接種が、Th1 型の免疫反応を誘導し、Th2 型の免疫応答を抑制する機構についてまとめている。また、治療法および予防法としての本ワクチンの有効性について論じている。さらに、犬における Cry j 1 および Cry j 2 の B 細胞エピトープ解析の結果を踏まえ、動物種によるアレルギー反応の多様性と今後の研究の問題点を提示している。

以上、本論文は CpG DNA 結合スギ花粉アレルゲンのワクチン有効性を明らかにし、新しい免疫療法の可能性を示している。学術上および応用上の貢献は少なくない。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。