

分子免疫学研究部

准教授：斎藤 三郎	免疫学, アレルギー学
講師：秋山 暢丈	免疫学, 分子生物学
教授：黒坂大太郎 (兼任)	臨床免疫学
講師：大野 裕治 (兼任)	免疫薬理学

教育・研究概要

I. インターロイキン 31 (IL-31) の機能解析

IL-31は、T細胞から産生され、かゆみや脱毛を誘発しアトピー性皮膚炎や気管支炎などのアレルギー疾患に関与するサイトカインとして知られている。IL-31レセプター (IL-31RA) は、表皮ケラチノサイト、気管支上皮細胞、活性化マクロファージ、肥満細胞や後根神経節などに発現していることから、IL-31シグナルは多様な生理的機能を担っている。これまでの報告からIL-31はTh2免疫応答をポジティブに調節すると考えられる。しかし、IL-31RA欠損 (KO) マウスを用いた寄生虫感染の研究では野生マウス (WT) に比べて、より強い炎症反応やTh2サイトカイン発現が誘導されることから、IL-31のシグナルはTh2反応を促進するよりもむしろ抑制的に働いていることが明らかになった。

そこで、これらのIL-31機能の矛盾した結果はIL-31の標的となる組織特異的IL-31RA発現細胞によるのか検証するため、当研究室で作製したIL-31RA KOおよびWTマウスにCryj2アレルゲンを点鼻あるいは腹腔内投与してTh2免疫応答を調べた。その結果、点鼻投与によるIL-31RA KOマウスの特異的Th2免疫応答能は抑制されるが、腹腔内投与では増強することがWTマウスとの比較から判明した。この結果は、Th2免疫反応がIL-31レセプター発現細胞によって制御されることを示唆している。

II. スギ花粉症緩和米を用いた第二相臨床研究

スギ花粉アレルゲンの主要なT細胞エピトープ・ペプチドを発現したスギ花粉症緩和米の経口摂取は副作用がなく有効な経口免疫療法になることをこれまで明らかにした。さらに、スギ花粉症緩和米5gの低用量経口摂取においてもプラセボ米投与群に比較して有意にスギ花粉アレルゲン特異的免疫応答が抑制されることを明らかにした。これは、スギ花粉症緩和米の有効成分の発現量はコメ1粒あたり

50 μ gと非常に高いためと考えられた。そこで、低用量経口摂取の臨床学的有効性を評価するためにプラセボ対象二重盲検試験を複数年にわたり実施している。

III. パラフェニレンジアミン (*p*-phenylenediamine: PPD) 特異的T細胞株の抗原認識機構

染毛剤PPDは分子量が約108で抗原性はあるが免疫原性はないハプテンである。しかしながら、近年PPDを含む染毛剤による接触性皮膚炎の報告が増加している。特に美容師の職業性接触性皮膚炎の原因として注目されている。PPDのように分子量が小さい感作物質は自己タンパク質と反応して免疫原性のある新エピトープ neoepitope または新抗原 neoantigen を形成し接触性皮膚炎を起こすと推測されている。そこで、PPD特異的T細胞株を樹立してどのような形の新抗原が提示されT細胞に認識されるのか解析を試みている。C57BL/6マウスにPPDを繰り返し皮内投与後、脾臓細胞をPPDと共培養しT細胞増殖因子の存在下でT細胞を増殖させ、さらにin vitroでPPD刺激を繰り返して特異的T細胞株を樹立した。その結果、特異的T細胞株は自己蛋白のCysteineに結合してneoantigenを形成し非自己蛋白として提示されることが明らかになった。現在、この仮説が正しいのか、予想されるneoepitopeを合成しT細胞との反応性から検証している。

III. 蛋白質抗原を用いた細胞障害性T細胞 (CTL) 誘導法の改良について

蛋白質抗原を用いて効率的にCTLを誘導する為の技術開発を陽カチオン性リポソームをベースに研究を進めている。この中でOVA蛋白質をモデルにして行った所、5日間で効率良くCTLが誘導できる事を認めた。更に、各種発現系を用いてOVA蛋白質を作成し、CTL誘導能を比較した所、トりに特異的な糖鎖構造を持つ蛋白質抗原を用いると誘導能が高い事が見出された。そのため、ニワトリ由来細胞であるDT40細胞とモデル抗原を発現させた細胞を融合する手法の改善を行い、細胞融合した細胞の抽出液がCTL誘導能を持つ事が判明し、現在、癌治療への応用法を検討している所である。

「点検・評価」

分子免疫学研究部は開かれた研究室を目指している。免疫学の基礎研究としては免疫応答の調節機構の解明を、応用研究としてはアレルギー疾患や自己

免疫疾患の病態ならびに治療法の開発を進めている。

基礎研究では、アトピー性疾患に関与する IL-31 の多面的機能、経口免疫寛容のメカニズム、多核巨細胞形成のメカニズム、スギおよびヒノキ花粉アレルギーの精製法の確立、さらには CTL を誘導する新しい抗癌戦略の構築などについて検討を進めている。それぞれについて結果は得られてはいるが、どこまでを出口とするのか再考する時期にあると思われる。

応用研究においては、学内外の多くの研究者との共同研究により、花粉症、関節リウマチ、SLE や葡萄膜炎などの病態および発症機構の解明などの研究を進展させている。特にスギ花粉症緩和米の経口投与による安全性と免疫学的有効性は、スギ花粉症患者を対象とした用量検定の第二相臨床試験により明らかになっている。この医師主導型臨床研究は、大学および病院の各部署からたくさんのご支援を受けており現在も進行中である。今後はスギ花粉症緩和米を社会に普及させるための体制作りを急ぐ必要があると思われる。

教育では3年生の「免疫と生体防御」のユニットを主に担当している。免疫と生体防御の講義および実習は、他の講座、研究室および学外からの教員のご支援を受けている。特に実習では、教員1人あたり約10人(2班)の学生を受け持って実施するため、前もっての予備実習は教員の理解を深めるために不可欠と思われた。さらに、教員2名で研究室配属や選択実習等も担当しており教育と研究をいかに両立させながら成果発表に導けるかが大きな課題として残った。様々な課題に挑戦するのは素晴らしいことではあるが、成果をまとめるために課題を絞ることの重要性を痛感している。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Ito H, Noda K, Yoshida K, Otani K, Yoshiga M, Oto Y, Saito S, Kurosawa D. Prokineticin 2 antagonist, PKRA7 suppresses arthritis in mice with collagen-induced arthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 2016; 17: 387.

II. 総説

- 1) 斎藤 三郎. 【遺伝子組換えの新しい風】スギ花粉症緩和米の効果 米の特性を生かして開発し臨床効果を確認. *遺伝：生物の科* 2016; 70(4): 307-10.
- 2) 斎藤 三郎. 今日も山日和：雲の上の診療所 第6

座：檜ヶ岳山岳診療所. *LiSA* 2016; 23(6): 582-3.

III. 学会発表

- 1) Saito S, Akiyama N, Asaka D, Endo T, Takaiwa F. Evaluation of the safety and efficacy of oral immunotherapy with transgenic rice containing major T cell epitopes of Japanese cedar pollen allergens. *EAACI (European Academy of Allergy and Clinical Immunology) Congress 2016*. Vienna, June.
- 2) Saito S, Akiyama N. Opposite effects of intranasal and intraperitoneal route of administration on antigen-specific Th2 responses in IL-31 receptor deficient mice. 第45回日本免疫学会学術集会. 宜野湾, 12月.