

学位授与番号：甲 1110 号

氏 名：高石 慎也

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：令和 1 年 7 月 10 日

学位論文名：

**Evaluation of basophil activation caused by transgenic rice seeds expressing whole T cell epitopes of the major Japanese cedar pollen allergens.**

（スギ花粉主要アレルゲンの全ての T 細胞エピトープを発現させた遺伝子組み換え米により引き起こされる好塩基球活性化の評価）

学位論文審査委員長：教授 黒坂大太郎

学位論文審査委員：教授 石渡賢治 教授 朝比奈昭彦

# 論文要旨

氏名	高石 慎也	指導教授名	小島 博己
主論文			
Evaluation of basophil activation caused by transgenic rice seeds expressing whole T cell epitopes of the major Japanese cedar pollen allergens (スギ花粉主要アレルゲンの全ての T 細胞エピトープを発現させた遺伝子組み換え米により引き起こされる好塩基球活性化の評価)			
Shinya Takaishi, Saburo Saito, Minori Kamada, Nobuyoshi Otori, Hiromi Kojima, Kenjiro Ozawa, Fumio Takaiwa.			
Clinical and Translational Allergy. 2019; 9: 11. <a href="https://doi.org/10.1186/s13601-019-0249-8">https://doi.org/10.1186/s13601-019-0249-8</a>			
要旨			
【背景・目的】			
スギ花粉症は日本において深刻な I 型アレルギー疾患である。皮下免疫療法と舌下免疫療法がスギ花粉症に対する免疫療法として治療に適用されているが、IgE を介したアレルギー反応が起こる可能性があり、両者においてアナフィラキシーを含めた副反応が起こりうる。近年、スギ花粉の主要抗原である Cry j 1, Cry j 2 のアミノ酸配列を組み換え、T 細胞エピトープ全配列を発現させた遺伝子組み換え米が新たな免疫療法の候補として開発された。スギ花粉症治療米と呼ばれるこのコメに発現する抗原は、理論上は肥満細胞や好塩基球表面の IgE 抗体に結合しにくい、あるいは IgE 抗体同士を架橋しにくい構造をとり、IgE を介した副反応を減少させる可能性を持つ。しかし、スギ花粉症患者における改変抗原の IgE 抗体への結合能、IgE 抗体架橋能はまた検証されていない。本研究の目的は、Basophil Activation Test を用いてスギ花粉症治療米に発現する抗原刺激による活性化好塩基球の割合を定量することにより、IgE を介するアレルギーの観点からスギ花粉症治療米のスギ花粉症患者に対する安全性を検証することである。			
【方法】			
スギ花粉症患者 29 名から採血し、スギ花粉症治療米抽出抗原、非遺伝子組み換え米抽出抗原、Cry j 1 と Cry j 2 の混合物を各刺激抗原として血液サンプルに加え、Basophil Activation Test を行った。好塩基球活性化マーカーである CD203c の発現をフローサイトメトリーで測定し、各抗原刺激による活性化好塩基球の割合を評価した。			
【結果】			
Cry j 1 と Cry j 2 の混合物による活性化好塩基球の割合は $62.9 \pm 20.2\%$ (mean $\pm$ SD) であったのに対し、スギ花粉症治療米抽出抗原による活性化好塩基球の割合は $4.5 \pm 1.6\%$ であり、有意に低かった ( $P < 0.001$ )。一方、スギ花粉症治療米抽出抗原による活性化好塩基球の割合 ( $4.5 \pm 1.6\%$ ) と非遺伝子組み換え米抽出抗原による活性化好塩基球の割合 ( $4.6 \pm 1.2\%$ ) を比較すると、両者の間に有意差は認めなかった ( $P = 0.63$ )。			
【結論】			
この結果は、IgE を介するアレルギーの観点からみると、スギ花粉症治療米に発現する抗原はスギ花粉症患者にとって安全性が高いことを示している。			

## 学位論文審査結果の要旨

高石 慎也氏の学位請求論文は、主論文 1 編からなり、論文のタイトルは「Evaluation of basophil activation caused by transgenic rice seeds expressing whole T cell epitopes of the major Japanese cedar pollen allergens」で 2019 年に *Clinical and Translational Allergy* に発表された。Thesis のタイトルは「スギ花粉主要アレルゲンの全ての T 細胞エピトープを発現させた遺伝子組み換え米により引き起こされる好塩基球活性化の評価」である。

この論文は、スギ花粉症治療薬として期待されるスギ花粉症治療米の臨床試験に先立ち、その安全性を検証した論文である。スギ花粉症患者 29 名から採血をし、スギ花粉症治療米抽出抗原をサンプルに添加し Basophil Activation Test (BST) を行った。その結果、患者においては、スギ花粉症治療米抽出抗原による好塩基球の活性化が起きていないことが判明した。この結果はスギ花粉症治療米の安全性につながる結果であった。令和元年 5 月 23 日に朝比奈昭彦、石渡賢治両審査委員出席のもと公開学位審査を開催した。高石氏による研究概要の発表に続いて口頭審査を実施した。質疑は以下の点を中心になされた。

1. フローサイトメトリーの設定についての問題
2. サンプルングについての問題（時期、治療状況など）
3. BAT の結果と患者に状態（アレルギー症状、血清 IgE 値など）についての関連
4. マウスの実験データと本論文の結果の関連
5. BAT と臨床効果の関連
6. BAT とリンパ球刺激試験の関連

これらの質疑について高石氏は的確に答えた。

口頭審査後に、朝比奈、石渡両教授と慎重に審議した。本論文は、スギ花粉症治療米の臨床試験を行う上で重要な知見となると考えられ、学位を授与するのに十分価値があると認めた。なお、審査後に Thesis および論文要旨の一部の修正を指示したが、それについても高石氏は適切に修正を行った。