

## 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  
 准教授：黒坂 大太郎 臨床免疫学  
 (兼任)  
 講師：大野 裕治 免疫薬理学  
 (兼任)

### 教育・研究概要

#### I. インターロイキン 31 の機能解析

インターロイキン 31 (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である。IL-31 単回投与の掻痒行動に及ぼす影響を自然にできた皮膚障害あるいはセロトニン誘導による掻痒行動と比較した。IL-31 の皮下投与は 1.5 秒以上の長持続掻痒行動が投与後 3 時間くらい徐々に増加し 24 時間過ぎまで徐々に減弱した。IL-31 の皮下投与は 24 時間あたりの長持続掻痒行動回数を増加させるが、0.3 から 1.5 秒の短持続掻痒行動回数には影響なかった。皮膚障害のある NC/Nga マウスでは長持続掻痒行動でなく短持続掻痒行動回数が皮膚障害のないマウスと比較して有意に高かった。セロトニン誘導による掻痒行動回数は、BALB/c マウスにおいて投与後すぐに伴う IL-31 の長持続掻痒行動でなく短持続掻痒行動回数が増強し 20 分で基に戻った。これらの結果は、アトピー性皮膚炎のモデルマウスである皮膚炎症を伴った NC/Nga マウスでは IL-31 がかゆみの感覚器に関与し掻痒行動を促進していると示唆している。

#### II. ヒノキ花粉アレルゲン Cha o 2 の精製の試み

ヒノキ花粉の主要なアレルゲンとして Cha o 1 と Cha o 2 (*Chamaecyparis obtuse japonica* 1, 2) が同定されている。しかしながら、ヒノキ花粉アレルゲンは市販されていないので自ら精製する必要がある。そこで、スギ花粉アレルゲンとヒノキ花粉アレルゲンはアミノ酸配列が類似しており、それぞれを認識する抗体が交叉反応することを利用して Cha o 2 の精製を試みた。最初に、ウサギに繰り返し免疫し Cry j 2 に対するポリクローナル抗体を得た。この抗体を用いて抗 Cry j 2 アフィニティカラムを作成しヒノキ花粉抽出液から結合するアレルゲンの精製を試みた。その結果、ヒノキ花粉抽出液から分子量が約 44kDa に位置する Cha o 2 と予想される単一なバンドが溶出された。ポリクローナル抗体の

交叉反応を利用したカラムでは回収量が少ないので、精製した Cha o 2 をマウスに免疫して親和性の高い Cha o 2 特異的なモノクローナル抗体 (mAb) を 7 種類樹立した。その中にはスギ花粉アレルゲン Cry j 2 を交叉認識する mAb も含まれており、Cha o 2 ばかりでなく Cry j 2 の精製にも有用となることが示唆された。

#### III. スギ花粉症緩和米を用いた第二相臨床研究

第一相臨床試験でスギ花粉症緩和米経口摂取の安全性を確認できたので、スギ花粉症患者を対象とした第二相臨床研究「スギ花粉症緩和米の安全性と有効性の評価」を開始した。この臨床研究は Step1, Step2 と 2 段階にわけて安全性および有効性を評価している。

Step1 では、3 人の被験者に対して 2 泊 3 日の入院とその後の経過観察を行なった。被験者にスギ花粉症緩和米 80g を摂取させ、48 時間の監視を入院中に実施した。有害事象などの出現を認めなかったので退院とし、引き続きスギ花粉症緩和米 80g を 4 週間摂取させた。Step1 のスギ花粉症緩和米摂取 4 週間で報告された有害事象について安全性が評価できたので Step2 の比較試験を開始した。

Step2 の比較試験では、被験者をプラセボ米 80g 摂取群 15 名、スギ花粉症緩和米 80g 摂取群 15 名の 2 群に無作為に割付し、試験医薬品を 5 ヶ月間 (20 週間) 経口摂取させてスギ花粉症緩和米を経口摂取した際の安全性およびスギ花粉症症状の発現抑制についての有効性のプロファイルを検討している。

#### IV. リポソームベースの細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導ワクチン

腫瘍や病原体に対して特異的な細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導ワクチンはこれらの病気を征服するために魅力的なアプローチである。これまでに抗原と投与する前に単に混合するだけでリポソームに吸着される、新しいリポソームベースのアジュバントを開発した。このアジュバントと抗原としてオプアルブミンを用いると、抗原特異的 CTL が誘導されることが判明している。そこで、メラノーマを移植したマウスにメラノーマ細胞抽出液を抗原としてこのアジュバントの抗腫瘍効果を調べた。その結果、メラノーマの肺転移数が有意に抑制されることが判明した。

#### 「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インターロイキン 31 (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ゲンの精製法の確立、さらには細胞傷害性 T 細胞 (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考え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剤の経口投与による安全性と有効性の評価は、健常人を対象とした第一相試験に引き続いてスギ花粉症患者を対象とした第二相臨床試験を実施している。この医師主導型臨床研究は、大学外の機関ばかりでなく、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、円滑に実施するための体制作りに十分時間をかける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、他の講座や研究室および学外の多くの教員のご支援を受けて行っている。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、前もって実施している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いるので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今年度も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の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) Arai I, Tsuji M<sup>1)</sup>, Takeda H<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>International Univ of Health and Welfare), Akiyama N, Saito S. A single dose of interleukin-31 (IL-31) causes continuous itch-associated scratching behaviour in mice. *Exp Dermatol* 2013; 22(10): 669-71.
- 2) 斎藤三郎, 油井直子, 青木菊麿, 夏山と紫外線. 日本山岳文化学会論集 2013; 11: 47-52.

### III. 学会発表

- 1) Akiyama N, Saito S. CTL induction with liposome based adjuvants. 第42回日本免疫学会学術集会. 千葉, 12月.
- 2) 村山大輔, 澤木賢司, 松下嵩之, 斎藤三郎. (口演1: 花粉症1) 大量花粉飛散によるスギ花粉アレルゲン特異的IgE抗体価の推移. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京, 11月.
- 3) 名竹洋子, 秋山暢丈, 斎藤三郎. (口演21: 花粉症3) ヒノキ花粉アレルゲン Cha o 2 精製の試み. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会. 東京, 11月.
- 4) 斎藤三郎. (シンポジウム: 山での体と心) 山を想う心-檜ヶ岳でのアンケートから-. 第11回日本山岳文化学会大会. 東京, 11月.