

博士学位論文内容の要旨

学位申請者氏名

松永 安由

論文題目

外分泌液中の食品タンパク質・IgA 免疫複合体

論文審査担当者

主査	成田 宏史	㊞
審査委員	河村 幸雄	㊞
審査委員	八田 一	㊞

母乳や唾液などの外分泌液には二量体の分泌型 IgA (sIgA) が含まれている。申請者は、母乳や唾液に含まれる食品タンパク質と特異的 IgA との免疫複合体 (IgA Immune complex : IgA-IC) が「アレルギー予防の天然の飲むワクチン」として機能する事を明確にする事で母乳哺育の新たな機能を提唱し、妊娠中・授乳中の母親が偏りのない食生活を送る事の意義の普及に貢献するとともに、新しい食物アレルギーの予防および治療法を確立したいと考え本研究を行った。以下にその成果を要約する。

第1章 アレルギー感作母マウスによる母乳を介した経口免疫寛容の誘導

雌マウスをカゼイン餌で飼育し、オボアルブミン (OVA) と Alum で腹腔免疫してアレルギー感作させた後交配し、授乳期間中のみ卵白餌を与えた母親を Allergy Egg (AE) 母とした。OVA で感作せずに交配し、授乳期間中のみ卵白餌を与えた母親を Egg (E) 母、授乳中もカゼイン餌を与え続けた母親を Milk (M) 母とした。各々の母親に母乳哺育された仔を離乳後 OVA と Alum で腹腔免疫し、OVA の経口投与によるアレルギー性下痢誘発試験を行ったところ、AE・E 仔では M 仔に比べて下痢が抑制された。更に、血清中 OVA 特異的 IgE、脾臓細胞培養液中 IL-4 も有意に低かった。また、AE 母乳中に IgA および IgG1 と OVA との免疫複合体が有意に増加していた。

以上の結果から、母親がアレルギー感作を受けていても、母親の摂取タンパク質特異的に母乳を介した免疫寛容が仔に誘導される事、その過程に母乳中の OVA 免疫複合体が関与している事が明らかとなった。

第2章 唾液中の食品タンパク質 IgA 免疫複合体

IgA-IC が経口免疫寛容の誘導因子である事を立証する為に、唾液から得た OVA・IgA-IC を直接マウスに投与後、OVA を免疫して血清中 OVA 特異的 IgG1 を評価したところ、対照群に比べて産生が抑制されていた。またその応用として、マウスモノクローナル IgA にスギ花粉抗原の Cry j1 を化学結合させた仮性 IgA-IC を作製してマウスに投与した結果、対照群と比べて仮性 IgA-IC 投与群で Cry j1 特異的 IgG1 と Cry j1 依存 IL-4 の産生が低下していた。

以上の結果から、IgA-IC がアレルギー治療のワクチンとして利用できる可能性を示した。

第3章 不完全 IgA 欠損症の発見

女子大生の唾液中の IgA を個別解析した中で、総 IgA 濃度が特別低値を示す被験者を見出した。そこで本被験者の血中 IgA を測定した結果、IgA 欠損症ではなかったものの、健常人の 95%が該当する基準値は下回っており、本被験者は不完全 IgA 欠損症であった。さらに父親と父方の祖母において同様に血中 IgA の低値傾向が見られ、遺伝要因の関与が疑われた。そこで、IgA のクラススイッチに関与する遺伝子を中心に遺伝子解析を委託したが、本被験者と父親に共通する変異は見られなかった。現在さらに全ゲノム解析により本被験者と父親、父方の祖母に共通するミスセンス変異の検索を行っている。

本研究より、血液検査ではなく、無痛無侵襲で誰でも採取できる唾液中 IgA 測定によって IgA 欠損症のスクリーニングや検査ができる可能性が示唆された。

第4章 ヒト IgA に対するイムノクロマトグラフィーの開発

唾液中 IgA の簡易検査法としてイムノクロマトグラフィーの開発を目指した。まず、抗ヒト IgA モノクローナル抗体 6 種を作製し、その中で固相化抗体および金コロイド標識抗体に適したものをそれぞれ検討した。目標検出感度は、これまで本研究室で唾液中 IgA を測定した中で最低値であった唾液 ($17\mu\text{g/mL}$; 3 章の不完全 IgA 欠損症の被験者の唾液) を目安にした。その結果、サンドイッチ ELISA での唾液中 IgA 測定の結果を反映する濃度依存的なバンドが検出でき、かつ感度の目安に用いた唾液ではバンドがほとんど目視できない、10 分間で反応が終了するイムノクロマト試薬を作製できた。今後応用として、食物抗原特異的 IgA や IgA-IC のイムノクロマト試薬を開発すれば、経口免疫寛容獲得の評価の為の新たな簡易検査法として利用できるかもしれない。