

氏名（本籍）	丸田 友香（長野県）		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 7012 号		
学位授与年月	平成26年 3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	プロテオーム解析による花粉症治療関連分子 Apolipoprotein AIV の同定とその機能解析		
主査	筑波大学教授	医学博士	川上 康
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	川内 康弘
副査	筑波大学准教授	医学博士	坂本 透
副査	筑波大学助教	博士（医学）	田原 聡子

論文の内容の要旨

（目的）

花粉症は罹患率が高いが、病態解明と治療は十分でない。長期緩解が期待できる治療法である舌下免疫療法によって半価する生体分子を同定できれば、花粉症の病態を理解し効果的治療法を確立できる。スギ花粉症患者において舌下免疫療法前後のプロテオーム解析報告がないことから新たな疾患関連タンパク質が見つかる可能性が高い。本研究では、スギ花粉症患者の舌下免疫療法前後の血清タンパク質解析をおこない特異的変動タンパク質を探索し、変動したタンパク質について患者由来の好塩基球とノックアウトマウスを用いた解析を行なうことで、病態の解明と治療法の確立を目指した。

（対象と方法）

24例の舌下免疫療法施行スギ花粉症患者（実薬投与15名、プラセボ投与9名）を対象としてプロテオーム解析を行なった。血清をディファレンシャル二次元電気泳動し、得られた画像をデジタル化して治療前後で発現に有意差のあるタンパク質スポットを検出した。タンパク質の同定は二次元電気泳動後にスポットを切り出し、抽出したペプチドをMALDI-TOF/TOF型質量分析機で分析し、得られたペプチドスペクトルをデータベースと比較して行なった。実薬投与群で特異的に増加したタンパク質はウエスタンブロット解析、Pathway analysisを行なった。好塩基球を用いた解析ではヒスタミン遊離率を、ノックアウトマウスを用いた解析ではアレルギー反応、血清IgEおよびサイトカイン測定を行なった。Human recombinant ApoA-IVの精製は、大腸菌で効率的に発現するベク

審査様式 2 - 1

ターを構築し、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーで精製した。

(結果)

プロテオーム解析により、治療前後で有意な変化を示した 16 個のタンパク質スポットを検出し、質量分析により 15 スポット、7 種類のタンパク質スポットを検出した。実薬投与群で特異的に増加したタンパク質として、Acidic complement component 4(C4A)、ApoA-IV、Transthyretin が確認された。Pathway analysis で共通の転写因子である HNF4A により、これらのタンパク質が制御されていることが示唆された。ApoA-IV はウエスタンブロットで治療後に増加し、症状緩和との相関が認められた ($P < 0.05$)。また、ApoA-IV を添加した好塩基球のヒスタミン遊離率は抑制され、po A-4 ノックアウトマウスではアレルギー症状が多く誘発された。血清総 IgE、OVA 特異的 IgE、サイトカイン量、鼻組織好酸球浸潤に有意差はなかった。Human recombinant ApoA-IV の発現精製を行い、活性能をもつタンパク質の精製法を確立した。

(考察)

ApoA-IV はスギ花粉症患者の舌下免疫療法により変動し、治療に有用な抗炎症作用のあるタンパク質である可能性が考えられた。ApoA-IV ノックアウトマウスを用いたアレルギー性鼻炎誘導実験では、症状に有意差が認められたことから、アレルギー性鼻炎症状の軽減に ApoA-IV が関与している可能性が示された。

審査の結果の要旨

(批評)

スギ花粉症患者の舌下免疫療法治療前後の血清を用いたプロテオーム解析により 3 種類のタンパク質を同定し、共通の転写因子 HNF4A によって制御される可能性を示した。さらに、ApoA-IV が好塩基球ヒスタミン遊離を抑制し、ノックアウトマウスではアレルギー症状が緩和されたことからスギ花粉症において、抗炎症性タンパク質として作用することを示した論文である。花粉症の病態解明および治療法開発において、重要な知見を提供した優れた業績と判断した。

平成 25 年 12 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。