

氏名（本籍）	永井 恵（茨城県）
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 7048 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	ヒト Allergin-1 の発現および機能の解析

主査	筑波大学教授	医学博士	長田 道夫
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	上杉 憲子
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	坂田 麻実子
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	松本 功

## 論文の内容の要旨

### （目的）

免疫応答は外来抗原を認識して活性化し生体防御に働くが、活性化の制御機構が破綻するとアレルギーや自己免疫疾患発症の一因となる。これらの疾患を人為的に制御するためには、免疫応答の活性化を抑制するシステムを明らかにすることが重要となる。本研究は、新たに同定されたマウス肥満細胞に強く発現する抑制性免疫受容体“Allergy inhibitory receptor 1 (Allergin-1)”を標的とした、ヒトアレルギー疾患に対する新規治療法の確立を目的として、ヒト Allergin-1 バリエントの発現様式およびヒトプライマリ細胞における Allergin-1 の機能を解析した。

### （対象と方法）

ヒト肥満細胞は、臍帯血または末梢血の前駆細胞から誘導した培養肥満細胞と、気管支肺胞洗浄液 (n=28) またはボランティアから得た鼻腔擦過細胞 (n=14) に含まれるプライマリ肥満細胞を用いた。花粉症患者および健常コントロールを対象とし (n=21)、ヒト末梢血細胞および鼻腔擦過細胞を、花粉の飛散前後で採取して用いた。末梢血好塩基球および B 細胞の機能解析には、健常ボランティアサンプルを用いた。ヒト Allergin-1 バリエントの発現を解析するために、ヒト Allergin-1 の各 Ig ドメインをそれぞれ認識する 2 クロンのモノクローナル抗体を用いて二重染色することで、蛋白レベルのバリエント発現を検出する方法を確立した。肥満細胞および好塩基球の脱顆粒反応の解析はフローサイトメトリ法を用いて、CD107a の発現を指標にして評価した。B 細胞の機能解析は、B 細胞受容体 (BCR) を刺激した時の細胞内カルシウム濃度変化をフローサイトメトリ法により評価した。

### （結果）

ヒト肥満細胞、末梢血細胞の各細胞分画、鼻腔細胞のいずれにおいても、マウス Allergin-1 と相同的な

## 審査様式 2 - 1

バリエーションである Allergin-1S1 が主に発現した。また、花粉症患者の Allergin-1 の発現は、花粉飛散後では、飛散前と比較して、末梢血細胞において上昇、鼻腔細胞において低下した。ヒト肥満細胞または好塩基球に対して、IgE 刺激と共に、抗 Allergin-1S1 抗体で Allergin-1 を刺激した場合、Allergin-1 を刺激しない場合に比べて IgE 誘導性の脱顆粒反応が抑制された。B 細胞の Allergin-1 発現は、クラススイッチを経ないナイーブ B 細胞で強いことが明らかとなり、ナイーブ B 細胞に発現する B 細胞受容体を刺激した場合、Allergin-1 を同時に抗体刺激する事で、B 細胞受容体のシグナルが減弱することが明らかとなった。

### (考察)

マウス Allergin-1 の Ig ドメインは、ヒト Allergin-1 の N 末端の Ig ドメイン (-S1) とアミノ酸レベルで 50% の相同性を持つ。本研究の結果から、マウス Allergin-1 と相同性を有するヒト Allergin-1S1 が主たるバリエーションであることが示された。Allergin-1 のリガンドは未だ同定されていないが、予備実験からヒト Allergin-1 の S1 および S2 ドメインにはそれぞれ異なる分子が結合し、さらにマウス Allergin-1 とヒト Allergin-1S1 には同じ分子が結合する結果を得ていることなどから、ヒトにおいてもマウスと同様に Allergin-1 が I 型アレルギーの発症抑制に働く可能性が示唆され、Allergin-1 の S1 ドメインが I 型アレルギー疾患の治療標的となると考えられる。また、本研究ではマウス Allergin-1 と異なりヒト Allergin-1 が強く発現する好塩基球は肥満細胞と同様にアレルギー疾患に関わる細胞であり、Allergin-1 はヒトプライマリ肥満細胞および好塩基球において、Fc $\epsilon$ RI を介したシグナルを抑制することが示した。さらに、Allergin-1 の発現が花粉症発症に関わる可能性を検討した結果、花粉症患者では花粉曝露後に Allergin-1 の発現が低下する結果を得た。一方、ヒト Allergin-1 は B 細胞にも発現するが、その発現様式は一樣ではなくナイーブ B 細胞で最も高く発現しており、Allergin-1 は B 細胞受容体シグナルを抑制する働きがあることが示唆された。

以上から、本研究は、ヒトプライマリ細胞において、マウス Allergin-1 と相同性のあるヒト Allergin-1S1 が主たるスプライシングバリエーションであることを明らかにした。また、ヒト Allergin-1 は肥満細胞および好塩基球においては Fc $\epsilon$ RI を介した活性化シグナルを抑制し、B 細胞においては BCR 受容体を介した活性化シグナルを抑制する機能を持つことを示した。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

ヒト I 型アレルギー疾患に対する分子標的の検索は、同疾患の新規治療法の開発に重要な課題である。本研究は、新規に発見されたマウス Allergin-1 の機能解析を詳細に行いかつヒト Allergin-1 との相同性について検討を行った結果、ヒト Allergin-1 の S1 ドメインが I 型アレルギー疾患の治療標的となることを初めて示した大変意義のある論文である。

平成 25 年 12 月 27 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。