

氏名（本籍）	水戸部 祐子
学位の種類	博 士（生物工学）
学位記番号	博 甲 第 7361 号
学位授与年月日	平成 27 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	生命環境科学研究科

学位論文題目 **Nonclinical Study on Allergen-Specific Sublingual Immunotherapy with Allergen Extract of Japanese Cedar Pollen**

（スギ花粉由来アレルゲンエキスをを用いたアレルゲン特異的舌下免疫療法に関する非臨床研究）

主査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授	博士（農学）	谷本 啓司
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	木村 圭志
副査	筑波大学講師	博士（学術）	加香 孝一郎

論 文 の 要 旨

アレルゲン免疫療法は、アレルギー・炎症の原因物質を用いて投与量を上げながら投与していくアレルギー疾患に対する治療方法であり、薬剤による対症療法とは異なり、根治が可能と期待される唯一の治療法として古くから行われてきた。近年、これまでの注射による治療（皮下免疫療法）の欠点を補う舌下免疫療法が注目され、今回、著者は日本で初めての舌下免疫療法薬として開発されたスギ花粉由来標準化アレルゲンエキス（スギ花粉アレルゲンエキス）の生物学的及び免疫学的解析を行い、その安全性を明らかにすることを目的として解析を行った。

アレルゲンエキスの特徴として、アレルギーを引き起こすアレルゲンとしての側面（アレルゲンプロフィール：特異的アレルギー反応）と、アレルゲン免疫療法薬として作用する抗原としての側面（抗原プロフィール：誘導特異的抗体の誘導；IgE、IgG、IgA）の 2 つの特徴について第二章で考察し、両側面からスギ花粉アレルゲンエキスを解析した。感作モデルラットを用いた受動皮膚アナフィラキシー反応（PCA）及び患者血清中 IgE との結合様式の解析によりアレルゲンプロフィールを示すと共に、長期投与動物における抗原特異的 IgG の解析により抗原プロフィールを示し、生物学的及び免疫学的特徴を明らかにした。第三章～第五章では、安全性評価として次のように解析を行った。

第三章では、スギ花粉アレルゲンエキスの免疫療法薬としての長期投与を考慮し、ラット 26 週間反復経口投与毒性試験により、長期投与動物における全身毒性を評価した。26 週間投与後の組織の病理学検査において、最高用量群で投与部位である胃において、前胃の境界縁扁平上皮の軽度な過形成及び腺胃の軽度な Globule leukocyte（球状白血球）の増加が一部の動物において確認された。発生頻度及び変化の程度共に、媒体群とスギ花粉アレルゲンエキス群に差はないことを示し、いずれの変化も媒体の刺激性に起因したものであり、スギ花粉由来ではなく、また 4 週間の回復期間終了時にはみられないことから軽度な変化と考察している。本試験から、臨床投与用量の約 300 倍のスギ花粉アレルゲンエキスを長期経口投与した際にも、全身毒性は認められないことを明らかにした。

第四章では、舌下に投与し 1-2 分保持した後に飲み込むという舌下免疫療法の特徴を考慮し、アレ

ルゲンエキスが最初に接触する部位として口腔内粘膜における局所刺激性の評価を試みた。陽性検体として刺激性の知られている 35% Sodium lauryl sulfate を用い、7 日間反復舌下投与によりウサギ口腔内に白苔が生じることを肉眼で確認し、病理組織学的検査で糜爛及び偽好酸球の浸潤をみとめた。一方、スギ花粉アレルゲンエキスにおいては、臨床使用の 10 倍の投与時間で 7 日間の反復投与を行った際に異常を認めないことを示した。次いで、飲み込んだ後に接触する部位として胃粘膜における刺激性の評価を試みた。臨床使用の 5 倍濃度のスギ花粉アレルゲンエキスをラットに 2 週間反復経口投与した際に、胃などの消化管粘膜に刺激性を認めないことを病理組織学的解析により示した。

第五章では、スギ花粉アレルゲンエキスが臨床で使用された際の遺伝毒性に及ぼす影響を検討するために、基本的な試験の組み合わせとして、2 つの *in vitro* 試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、チャイニーズハムスターの肺由来線維芽細胞を用いる染色体異常試験）及び臨床投与用量の 1,500 倍高い濃度で *in vivo* 試験（ラット骨髄を用いる小核試験）を行った結果から解析を行った。いずれの試験においても遺伝毒性は認められないことを示し、ラット小核試験スギ花粉由来アレルゲンエキスに遺伝毒性はないことを明らかにした。

著者は、*in vitro* 及び *in vivo* 試験によって、舌下免疫療法薬としてのスギ花粉アレルゲンエキスに関して、生物学的及び免疫学的特徴を示すと共に、舌下投与した場合の安全性を明らかにした。

審 査 の 要 旨

本研究で示した知見は、スギ花粉アレルゲンエキスのアレルゲンとしての特徴と抗原としての特徴を各々提示し、アレルギー原因物質がアレルギーの治療薬である免疫療法薬として作用する一端について明確に示した。全身毒性、局所刺激性試験及び遺伝毒性試験では、アレルゲンエキスの物性評価として、臨床投与条件に比べ極めて厳しい条件下でスギ花粉アレルゲンエキスの及ぼす影響を検討し、臨床使用において十分な安全性が担保されることを示した点は、非臨床研究として非常に有用であると思われる。局所刺激性試験においては、舌下投与というユニークな投与経路を考慮し、ウサギを用いた新たな投与方法の確立を行い、陽性検体により誘導される口腔内変化とともにスギ花粉エキスによる変化がみられない点を初めて明らかにした。また臨床試験の結果を踏まえた議論を行い、アレルギー患者への投与において、最も報告されている副作用が口腔内浮腫である点から、アレルギー患者で想定される副作用をより正確に評価するために、感作動物を用いた刺激性の検討及び解析により、本研究の更なる発展が期待される。

以上のように、著者は国内初の舌下免疫療法薬であるスギ花粉アレルゲンエキスの生物学的特徴を示すと同時に、*in vitro* 及び *in vivo* 試験によって安全性を明らかにした。これは同アレルゲンエキスの臨床での安全性を支持するものであり、本研究を行った意義は大きいと判断される。

平成 27 年 1 月 21 日、学位論文審査委員会において、加香副査を除く審査委員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、（加香副査から預かった質問も含め）関連事項について質疑応答を行った。平成 27 年 1 月 26 日、加香副査に論文の審査及び最終試験に関する説明と報告を行い、了承いただいた。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。