

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 安田 恭子

安田恭子の水産無脊椎動物ヘモリンフによる炎症誘発機構に関する研究は、成人の罹患者数が多く、寛解しにくいことで知られる水産無脊椎動物の食物アレルギーに関連して、ヘモリンフの炎症誘発機構を詳細に検討したものである。概要を以下に示す。

アレルギーは長い間、Th2 が主要な役割を担った IgE 依存性の反応であるというメカニズムで説明されてきたが、多種多様なアレルゲンが同定され、アレルギー反応のメカニズムについても新しい解釈が求められるようになった。特に自然免疫系の受容体が次々と同定されてからは、アレルギー反応と自然免疫システムとの関わりについての知見が蓄積されつつある。食物アレルギーについては、2001年4月より特にアレルギーを起こしやすい食品や重篤な症状を引き起こしやすい食品について容器包装に入った全ての加工品に表示をすることが義務付けられ、海に囲まれた日本国民にとって身近な食材の魚介類の一部もその対象となっている。エビ、カニは表示義務、アワビ、イカ、イクラ、サケ、サバは表示努力が推奨されている（消費者庁，2014）。これらの水産物に対するアレルギーは細胞傷害性の反応など、これまでの IgE を介するとされる食物アレルギーとは性格を異にし、その他の機構の関与が疑われる。また、エビのヘモリンフ中のヘモシアニンがアナフィラキシーショックを誘発すると報告されたことから、本研究においては、エビを含む魚介類（クルマエビ、ケガニ、ウバガイ、アワビ及びギンサケ）のヘモリンフ及び血清について検討を加えた。

NF- κ B / AP-1 誘導性のレポーター遺伝子を発現するように改変したヒト単球細胞（THP1 - XBlue™-MD2 -CD14）を用いることによって、水産無脊椎動物クルマエビ、ケガニ、ウバガイ、アワビのヘモリンフに炎症関連転写因子（NF- κ B）の活性化を誘導する成分が含まれることが明らかとなった。一方、水産脊椎動物のギンサケの血清は炎症関連転写因子を活性化しなかった。さらに、ウバガイのヘモリンフを 5,000 MW で分画し、NF- κ B / AP-1 活性をみたところ、5,000MW 以上の高分子量成分が NF- κ B の活性化を誘導するものと推察された。

NF- κ B を活性化させたのは水産無脊椎動物ヘモリンフの主要な成分であり、5 KDa 以上の分子量をもつヘモシアニンとする仮説を提唱し、ヘモシアニンのうち抗体作製時の担体として実績の多い keyhole limpet hemocyanin (KLH)を用いて検討を加えた。まず、1) KLH 刺激が NF- κ B の活性化を誘導する、2) KLH がエンドサイトーシスを誘導し、細胞内情報伝達機構を介して NF- κ B を活性化させることなどが明らかとなった。さらに、KLH 誘導性の NF- κ B 活性化には Syk や Erk が関わるものと推定された。ただし、Syk 阻害剤の効果が部分的なものであったことから、KLH 誘導性 NF- κ B の活性化には Syk 以外の分子も関わる複数

の経路の存在が予想された。

以上の経路をまとめると、KLH は、未同定の受容体に認識され、一部はこの受容体と相互作用すると考えられる Syk を介して細胞膜を内側に陥入させ、エンドサイトーシスによって取り込まれる。エンドサイトーシスされた KLH は、Erk を介して多くのシグナル伝達分子をリン酸化し、最終的に NF- κ B を活性化して TNF α や interleukin 1 β などの炎症性サイトカインの産生・分泌が活性化される。また、エンドサイトーシスされた KLH が NOD 様受容体 (NLR) などを活性化してインフラマゾームを形成し、NF- κ B を活性化する可能性もある炎症性サイトカインは血管内皮細胞や気道上皮細胞などを活性化するとともに、ケモカインの放出を誘導し、炎症を引き起こす。また、これらの炎症性サイトカインはすでに確立された獲得免疫系の活性化も引き起こし、通常食物アレルギーである IgE 介在型アレルギー反応を増悪する可能性も考えられる。このように、アレルギーの原因となる食物原料生物に含まれる異なるタンパク質 (ヘモシアニン+アレルゲンなど) によって異なる経路が活性化され、結果的にアレルギー反応が増強される機構がこれまで見過ごされてきた可能性は高い。また、異なる生物種原料由来のタンパク質等が同様にアレルギー反応を引き起こして過剰な反応となる、いわゆる「食べ合わせ」が起こる可能性も否定できない。このような観点から、これまで報告されている食物アレルギーの発生状況を再度検証する必要があるものと考えられる。

以上、本研究は水産無脊椎動物による食物アレルギーの発症機序について詳細に検討を加え、新たな機序を提唱するとともに、これまでの食物アレルギー症例分析に再考の余地があることを示した。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものとした。