

審査の結果の要旨

氏名 李旭陽

小麦依存性運動誘発アナフィラキシー (WDEIA) は、小麦を摂取した後に運動することによって引き起こされるアレルギーである。WDEIA 患者においては、運動あるいはアセチルサリチル酸 (ASA) により、十分消化作用を受けていない小麦アレルゲンの腸管からの吸収が促進されることが示唆されている。しかしながら、運動または ASA により腸管の免疫・アレルギー反応がどのように影響を受け、全身性のアナフィラキシーに関係するかについては不明な点が多い。本論文は、運動および ASA による腸管の免疫・アレルギー反応への影響を、WDEIA のマウスおよび細胞モデルを用いて検討したものである。

背景を述べた序論につづいて、第 1 章では、異なる用量のグリアジンを用いて BALB/c マウスを免疫し、感作の程度を特異抗体の産生によって評価している。50 μg の用量で 4 回免疫を行った場合に、特異的 IgE 抗体および IgG1 抗体の産生が他の用量より有意に高いことが示された。この結果をもとに、50 μg のグリアジンで 4 回免疫することによりマウスを感作し、さらに 10 mg のグリアジンを経口チャレンジしたマウスを解析したところ、直腸温は対照群より有意に低かった。グリアジン感作・経口チャレンジ群の脾臓および腸間膜リンパ節 (MLN) 由来の CD4⁺ T 細胞をグリアジンで刺激したところ、強いインターロイキン (IL) -4 および IL-5 産生が認められた。これらの結果から、高用量のグリアジン感作と経口チャレンジの組み合わせにより、即時型小麦アレルギーが誘発されたことが確認された。

第 2 章では、WDEIA において運動の腸管への影響を明らかにするために、第 1 章の結果をもとに、グリアジンで感作させたマウスに 1 mg のグリアジンを経口投与し、その後 30 分間運動させる群と運動しない群を設定することにより、WDEIA モデルの構築を試みた。直腸温は運動または休憩させたマウスの両方で低下した。MLN の CD4⁺ T 細胞及び小腸組織における免疫応答を解析したところ、MLN の Th2 応答は運動の影響を受けなかったが、Th17 応答は運動により増強される傾向が認められた。グリアジン経口チャレンジ・運動群では、空腸における IL-6, IL-9, mouse mast cell protease-1 (mMCP-1) およびトランスグルタミナーゼの mRNA 発現量が他群と比較して上昇していた。さらに、空腸のヒスタミン産生量が対照群に比べて増加した。以上の結果から、本マウスモデルにおいて、運動により、腸管組織におけるマスト細胞の活性化と炎症が促進されていることが示唆された。本実験系は、WDEIA のモデルとして、腸管におけるアレルギー反応における運動の役割を解明するために有用と考えられた。

第3章では、分解されたグリアジンのアレルゲン性および免疫寛容誘導能を評価した。グリアジンのペプシン分解物、ペプシントリプシン分解物 (PT-GLI) および塩酸処理ペプシントリプシン分解物 (HCl-PT GLI) は IgE 結合能がグリアジンと比較して低下していた。このことは、グリアジンの分解により、マスト細胞に結合した IgE 抗体の架橋の程度が低下する可能性を示している。さらに、WDEIA マウスモデルにおいて、グリアジンの代わりに HCl-PT GLI の経口チャレンジを用いて検討したところ、HCl-PT GLI は小腸のアレルギー反応を誘導できず、IgE 抗体の架橋の程度が低下したことが示唆された。また、*in vivo* の経口免疫寛容モデルにおいて、分解されたグリアジンの免疫寛容の誘導能を調べた。感作前に分解されたグリアジンを経口投与することによって Th2 サイトカイン応答が抑制され、分解されたグリアジンが Th2 細胞の免疫寛容を誘導することが示唆された。分解グリアジンは、アレルゲン性が低下する上、免疫寛容誘導能を有し、小麦アレルギー患者の発症予防および治療に貢献できると期待された。

第4章では、腸管上皮細胞株 Caco-2 細胞の上皮バリアに対する ASA およびグリアジンおよび PT-GLI の影響を検討している。Caco-2 細胞において、ASA によって誘導された MAPK 経路の活性化が経上皮抵抗の低下に関係することが確認された。また、ASA によって上皮を介したグリアジンの透過が増強されることが本細胞モデルで示された。グリアジンまたは PT-GLI は Caco-2 細胞の上皮バリアに影響を及ぼさなかった。以上の結果から、ASA によって透過が促進された小麦タンパク質によって WDEIA のアレルギー反応が誘導される可能性が示された。

最後の章は総合討論となっており、今後の展望についても述べている。

これらの研究成果は、マウスモデルおよび細胞モデルによって、WDEIA 誘導における運動および ASA の役割の解明したものであり、学術上応用上寄与するところが少なくない。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認めた。