

論文の要旨

氏名 亀井 力哉

論文題目 **Exploration of novel mast cell-targeted preventive and therapeutic molecules for allergic disorders**
(肥満細胞を標的としたアレルギー疾患の新規予防および治療分子の探索)

緒言

世界的な疾患であるアレルギーのうち、肥満細胞とアレルギー特異的 IgE 抗体により引き起こされる即時型 (I 型) アレルギーでは、侵入アレルギーによる IgE 抗体の架橋により肥満細胞が脱顆粒反応を起こし、当該顆粒内容物により症状が誘発される。これまでにアレルギーの根治治療技術は確立されておらず、現行の治療選択肢である対症療法剤や特異的免疫療法も継続的処方による医療費負担や副作用の面での課題を抱えている。これらの現状から、より安全でかつ効果的なアレルギーの治療および予防技術の開発が強く求められている。本研究では、肥満細胞を標的とした I 型アレルギー疾患の新たな予防および治療標的分子を探索することを目的とした。

第一章：内在性ヒストン H1 はアレルギー増悪の新たな danger signal 分子として働く

細胞死等により細胞外に遊離されたヒストン等の核タンパク質が起炎症応答を惹起する DAMPs (damage-associated molecular patterns) としても機能しうることが解明されつつあるが、そのアレルギー炎症進展への関与については全く不明である。本章では、内因性のヒストン H1 が肥満細胞からの脱顆粒反応およびアレルギー炎症を増悪させることを発見した。まず、卵白アルブミン (OVA) の腹腔内投与と経鼻感作を基調とするアレルギー性鼻炎モデルマウスにおいて、血中のヒストン H1 レベルが有意に上昇することを見出した。また、本モデルにおいて経鼻感作時に OVA の代わりにヒストン H1 のみを点鼻した場合においても鼻炎症状の増悪が観察された。更に、ヒストン H1 は *in vitro* においてアレルギー非存在下の IgE 抗体感作肥満細胞に作用して脱顆粒ならびにオートクライン因子 IL-6 の産生を惹起すること、また、本分子は *in vivo* においても肥満細胞の直接的な活性化を介して受動皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応を増強することが判明した。以上の結果から、内在性ヒストン H1 が IgE 感作肥満細胞を標的としてアレルギー炎症を惹起・増悪させる新たな DAMP として機能しうることが示唆された。

第二章：ヒストン H1 中和抗体の I 型アレルギー治療薬としてのポテンシャル

本章では、前章で明らかとなったヒストン H1 による新規 I 型アレルギー増悪機構に着目し、ヒストン H1 中和モノクローナル抗体 (抗 H1 抗体) による本疾患の治療効果を検討することを目的とした。はじめに、本抗体がラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 の IgE 依存性脱顆粒反応を抑制することを確認した。本系において RBL-2H3 細胞は脱顆粒と共にヒストン H1 を細胞外に分泌しており、抗 H1 抗体は活性化肥満細胞由来ヒス

トン H1 によるアレルギー増悪のポジティブフィードバックループを遮断することにより抗アレルギー活性を発揮していることが示唆された。また抗 H1 抗体は、*in vivo*においても PCA 反応を抑制するのみならず、OVA を感作アレルゲンとするアレルギー性鼻炎モデルマウスの病態進展をも著明に抑制した。以上の結果から、I 型アレルギー炎症で誘導されるヒストン H1 の中和が本疾患の新たな治療戦略として有望であることが示唆された。

第三章：シソからの新規 I 型アレルギー反応抑制因子の発見と作用機序の解明

本章では、食によるアレルギー予防の一環として、シソ (*Perilla frutescens*) からの I 型アレルギー抑制作用を担う新たな活性本体を単離・同定すると共に、その作用機構を解明することを目的とした。まず、シソ熱水抽出物がラット好塩基球細胞株 RBL-2H3 の I 型アレルギー反応を著明に抑制すること、また、この活性本体が既知のシソ由来抗アレルギー因子とは異なる新規物質である証拠を得た。本活性本体を単離・精製して構造解析に供したところ、8-hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone であると同定された。本分子はシソ由来の既知抗アレルギー因子よりも強力な脱顆粒抑制能を発揮したことから *Perilla-derived methoxyflavanone* (PDMF) と命名し、更なる解析を進めた。PDMF は PCA 反応のみならず、スギ花粉を感作アレルゲンとする花粉症モデルマウスにおいてもその病態進行を抑制した。更に PDMF は、肥満細胞の脱顆粒を惹起する高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) シグナル伝達経路上において、SNARE 複合体依存的な顆粒の開口放出に必須の細胞内 Ca²⁺流入、および、顆粒の微小管輸送に重要な Akt のリン酸化を共に抑制する一方、上流の FcεRI-膜近傍シグナリング分子群のリン酸化には影響を及ぼしていないことが明らかとなった。

総括

本研究では、肥満細胞を標的とした I 型アレルギー疾患の新たな予防および治療分子を探索することを目的とした。第一章では内因性ヒストン H1 が IgE 存在下において肥満細胞の脱顆粒反応およびアレルギー炎症の増悪を引き起こす新規 danger signal 分子として機能しうることを発見した。第二章では、内在性ヒストン H1 を標的とした中和抗体治療が肥満細胞を作用点として顕著にアレルギー炎症を抑制しうることを証明した。更に第三章では、食用ハーブであるシソから新規の I 型アレルギー反応抑制フラバノン PDMF を単離・同定し、本分子の経口摂取が肥満細胞を標的としたアレルギー疾患の予防に有効であることを証明すると共に、その脱顆粒シグナル伝達経路上の作用点も明らかにした。本研究において得られた一連の知見は、難治性疾患であるアレルギーのより安全でかつ有効な治療および予防技術の開発に極めて有用な指針を与えることが期待される。