

氏名(本籍)	島倉秀勝(新潟県)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	甲第147号
学位授与年月日	平成28年9月30日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題名	イヌの食物アレルギーにおける免疫学的解析および免疫療法に関する研究
論文審査委員	(主査) 阪口雅弘 (副査) 佐原弘益 久末正晴

## 論文内容の要旨

イヌの食物アレルギーは重要なアレルギー疾患の一つである。食物アレルギーは環境要因と遺伝要因の両方が発症に関連していると考えられている。ヒトでは衛生環境の清浄化がアレルギー疾患の増加の一因だと考えられており、「衛生仮説」が提唱されている。近年、イヌもヒトと同じ環境で生活するようになっており、衛生環境の清浄化がイヌの食物アレルギーの発症にも影響を与えていると考えられる。また、食物アレルギーを発症しやすい犬種が報告されていることから、遺伝要因がイヌの食物アレルギーの発症に関わっていることも推測される。食物アレルギーの病態は大きく IgE 依存性と IgE 非依存性に分けられる。これらの病態が複雑に影響していることがアレルギーの機序の解明や診断方法・治療法の確立を困難にしている。現在、食物アレルギーの治療は原因食物の摂取を回避することが一般的に行われている。しかしながら、根本的な治療法は確立されていない。イヌの食物アレルギーを正確に診断し、有効な根治療法を適用できるようになれば、獣医療にとって大きなメリットがあると思われる。本研究の目的はイヌの食物アレルギーの免疫学的な解析を行い、それに対する治療法の研究開発を行うことである。

第1章では、高い頻度で食物アレルギーを発症する家系のイヌを調査した。本家系における食物アレルギーは常染色体優性遺伝が推定された。すべての食物アレルギーのイヌは IgE 非依存性の食物アレルギーを示した。一部の食物アレルギーのイヌに対して食物負荷試験を実施し、食物負荷試験の前後で抗原特異的リンパ球の増殖能を検討したところ、3頭中2頭は原因食物アレルギー特異的リンパ球の活性化が認められた。IgE 非依存性食物アレルギーについての研究を行う上で、モデル動物として本研究の家系のイヌを用いることは意義があると考えられる。ヒトにおいても IgE 非依存性食物アレルギーの免疫学的機序は未だに不明な点が多く、今後、イヌの分野でも研究を進めて行く必要があると思われる。

第 2 章では、IgE 依存性の食物アレルギーのイヌの血清学的解析を行った。一般的な食物アレルギーである卵白の粗抗原に対する IgE を測定したところ、食物有害反応犬 82 頭中 8 頭 (9.8%) が陽性を示した。ヒトにおいて調べられている 4 つの卵白精製抗原に対する IgE 反応性を卵白粗抗原特異的 IgE 陽性を示した 8 頭のイヌで調べた結果、8 頭中 6 頭 (75.0%) はオボムコイドとオボアルブミンに陽性を示し、8 頭中 3 頭 (37.5%) はオボトランスフェリンに陽性を示した。本研究において、ヒトと同様にオボムコイドとオボアルブミンがイヌの主要な卵白精製抗原だということが示唆された。本研究におけるイヌの卵アレルギーはヒトのモデルとしても有用であることが判った。

第 3 章では、マウスを用いてアレルギー発現組換え乳酸菌の経口免疫療法の基礎的検討を行った。食物アレルギーの根治療法の候補として研究されている経口免疫療法のさらなる治療効果向上を目的として、プロバイオティクスとして注目されている乳酸菌をアレルギーの輸送担体として用いて実験を行った。卵白精製抗原であるオボアルブミンを発現した *Lactobacillus casei* をマウスに経口投与し、オボアルブミン発現 *L. casei* の抗アレルギー効果を検討した。オボアルブミン発現 *L. casei* を投与した群のアナフィラキシー反応や血清中 IgE の結果は他の群と比較して違いがなく、抗アレルギー効果は認められなかった。今後、経口免疫寛容誘導に必要な抗原量の検討を行い、それらの情報を基にアレルギー発現 *L. casei* の改良を行う必要があると考えられる。

本研究では、イヌの IgE 依存性ならびに非依存性の食物アレルギーの免疫学的な解析を行った。さらにイヌの食物アレルギーの根治療法として、アレルギー発現組換え乳酸菌を用いた経口免疫療法の基礎的な研究を行った。イヌの卵アレルギーにおいて卵の各精製アレルギーに対する IgE 抗体の反応性を検討して、ヒトの卵アレルギーにおける IgE 反応性とよく似ていることを明らかにした。本研究のイヌの卵アレルギーはヒトのモデルとしても有用であることが判った。また、本研究における遺伝的に非依存性食物アレルギーを発症するイヌも食物アレルギーを研究する上で有用なモデルとなると思われる。アレルギー発現組換え乳酸菌を用いた経口免疫療法については今後さらなる研究を行い、有効な根治療法の開発をしていく予定である。

## 論文審査の結果の要旨

イヌの食物アレルギーは重要なアレルギー疾患の一つである。ヒトにおいても食物アレルギーは重要なアレルギー疾患の 1 つでその患者数は増加しており、さらにアナフィラキシーショックなどの重篤なアレルギー反応が起こり、社会問題となっている。この食物アレルギーはヒトもイヌも環境要因と遺伝要因の両方が発症に関連していると考えられている。ヒトでは衛生環境の清浄化がアレルギー疾患の増加の一因だと考えられており、「衛生仮説」が提唱されている。近年、イヌもヒトと同じ環境で生活するようになっており、衛生環境の清浄化がイヌの食物アレルギーの発症にも影響を与えていると考えられる。食物アレルギーの病態は 2 つの免疫学的機序である IgE 依存性と IgE 非依存性に分けられる。現在、食物アレルギーにおける根本的な治療法は確立されていない。イヌの食物アレルギー

ギーを正確に診断し、有効な根治療法を適用できるようになれば、獣医療にとって有益であると思われる。ヒトでもアレルギーが増加の傾向があり、イヌの食物アレルギーはヒトのモデルとしても重要な研究課題と考えられる。本研究の目的はイヌの食物アレルギーの免疫学的な解析を行い、それに対する治療法を検討することである。

第 1 章では高い頻度で食物アレルギーを発症する家系のイヌを研究対象とした。この家系における食物アレルギーは常染色体優性遺伝が推定された。食物アレルギーのイヌは主な食物アレルゲンに対する IgE の反応性がないことから IgE 非依存性の食物アレルギーと考えられた。一部の食物アレルギーのイヌに対して食物負荷試験を実施し、食物負荷試験の前後で抗原特異的リンパ球の増殖能を検討したところ、3 頭中 2 頭は原因食物アレルゲン特異的リンパ球の活性化が認められた。IgE 非依存性食物アレルギーについての研究を行う上で、モデル動物として本研究の家系のイヌを用いることは意義があると考えられる。しかし、ヒトにおいてもアレルゲン特異的リンパ球の活性化による IgE 非依存性食物アレルギーの免疫学的機序は未だに不明な点が多く、今後、イヌの分野でも研究を進めて行く必要があると思われる。

第 2 章では IgE 依存性の食物アレルギーのイヌの IgE 抗体測定を行った。一般的な食物アレルゲンである卵白の粗抗原に対する IgE を測定したところ、食物有害反応犬 82 頭中 8 頭 (9.8%) が陽性を示した。この卵白粗抗原特異的 IgE 陽性を示した 8 頭においてヒトにおいて重要とされる 4 つ卵白精製抗原に対する IgE 反応性を調べた。8 頭中 6 頭はオボムコイドとオボアルブミンに陽性を示し、8 頭中 3 頭はオボトランスフェリンに陽性を示した。ウエスタンブロット法における特異 IgE 抗体の検出でも上記の結果が確認できた。本研究において、ヒトと同様にオボムコイドとオボアルブミンがイヌの主要な卵白精製抗原だということが示唆された。本研究におけるイヌの卵アレルギーはヒトのモデルとしても有用であることが判った。

第 3 章ではマウスを用いて、アレルゲン発現組換え乳酸菌の経口免疫療法の基礎的検討を行った。食物アレルギーの根治療法の候補として研究されている経口免疫療法の有効性および安全性を検討することを目的として、乳酸菌をアレルゲンの輸送担体として用いて実験を行った。卵白精製抗原であるオボアルブミンを発現した乳酸菌 (*Lactobacillus casei*) を作製し、マウスに経口投与し、オボアルブミン発現 *L. casei* の抗アレルギー効果を検討した。オボアルブミン発現 *L. casei* を投与した群のアナフィラキシー反応や血清中 IgE の結果は他の群と比較して違いがなく、抗アレルギー効果は認められなかった。今後、経口免疫寛容誘導に必要な抗原量の検討を行い、それらの情報を基にアレルゲン発現 *L. casei* の改良を行う必要があると考えられる。

本研究では、イヌの非依存性の食物アレルギーの免疫学的な解析を行った。その診断法として抗原特異的リンパ球の増殖能を検討したが、一部では原因アレルゲンと一致したものの、臨床検査として使用するにはまだ不十分な知見であった。しかし、本研究における遺伝的に非依存性食物アレルギーを発症するイヌは食物アレルギーを研究する上で有用なモデルとなると思われる。イヌの IgE 依存性食物アレルギーの免疫学的な解析を行った。イヌの卵アレルギーにおいて卵白の各精製アレルゲン

に対する IgE 抗体の反応性を検討して、ヒトの卵白アレルギーにおける IgE 反応性とよく似ていることを明らかにした。本研究のイヌの卵白アレルギーはヒトのモデルとしても有用であることが判った。イヌの食物アレルギーの根治療法として、アレルゲン発現組換え乳酸菌を用いた経口免疫療法の基礎的な研究をマウスで行った。投与群において抗アレルギー効果は認められなかった。このアレルゲン発現組換え乳酸菌を用いた経口免疫療法については今後さらなる研究を行い、有効な根治療法を検討していく予定である。

以上のように今後も継続した研究が必要なものもあるが、本研究はイヌの食物アレルギーについてまだ十分解明されていない免疫学的な解析を行い、新しい知見を提供し、獣医アレルギー学に貢献したと考えられる。このことから本研究は博士（獣医学）の学位を授与するにふさわしい業績と判断した。