医研 237

（別紙様式第３号）

論　文　要　旨

論文題目

INTRANASAL SENSITIZATION WITH *Blomia tropicalis* ANTIGENS INDUCES ALLERGIC RESPONSES IN MICE CHARACTERIZED BY ELEVATED ANTIGEN-SPECIFIC AND NON-SPECIFIC SERUM IgE AND PERIPHERAL BLOOD EOSINOPHIL COUNTS

（ネッタイタマニクダニ抗原の鼻腔内感作によるマウスの血中 IgE および好酸球上昇）

氏　名　武田富美子

【目的】気管支喘息やアトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患の誘因として，室内塵に含まれるコナダニ類アレルゲンの関与が知られている。ネッタイタマニクダニ(*Blomia tropicalis* : Bt)は，熱帯・亜熱帯地方の室内塵からヤケヒョウヒダニと共に偏在的に検出され，本邦では唯一沖縄地方に分布している。熱帯・亜熱帯地方では，気管支喘息などのアレルゲンとして本種も重視されているが，アレルギー誘発因子としての性質，すなわちアレルゲン性に関する実験的検討は殆どなされていない。本研究では，本種の粗抽出液（Bt抗原）をマウスの鼻腔内に滴下投与し，Bt特異的IgE抗体の実験的誘導を試みた。さらに、特異的IgE抗体を含む感作血清を用いて，ダニ抗原粗抽出液に含まれる主要アレルゲンの特定を試みた。

【方法】Btは沖縄県内の家屋内から採取・飼養したものを用いた。燐酸緩衝液を用いて抗原粗抽出液を作製し，Bt抗原とした。これを種々のスケジュールでBALB/c雄マウス（4-6週

＊要旨は3枚（1200字以内）にまとめること。 (20×20)

齢）の鼻腔内に滴下して抗原感作を行った。Bt抗原特異的IgE抗体の検出には，PCA(passive cutaneous anaphylaxis)反応による定性的方法，及びmicro-ELISAによる定量的方法を用いた。さらに，血清総IgEの定量及び末梢血全白血球数に対する好酸球数比の算定を行い、抗原感作によりアレルギー様状態が惹起されるか否かを検討した。また，ウエスタンブロット法を用いて，誘導された特異的IgE抗体のBt抗原との反応性を解析し，Bt抗原分画中のアレルゲンを特定した。

【結果】Bt抗原のみをマウス鼻腔内に投与すると，投与後早期ではIgE抗体の産生を認めることができなかった。一方，Bt抗原をマウス皮下に前投与後，Bt抗原を鼻腔内に投与すると，Bt特異的IgE抗体の産生が早期に認められた。さらに，粘膜アジュバントとしてコレラ毒素を用い，Bt抗原と混合投与したマウスでは，Bt特異的IgE抗体量の著明な上昇が確認された。同処置後のマウスでは，Btのみを投与したマウスに比較して，血清総IgE量及び末梢

血好酸球数の何れも増加を示した。これらの結果より、Bt抗原が強いアレルギー反応を誘導するのが確認された。ウエスタンブロット法による抗原解析では，8本以上のバンドがIgE抗体との反応性を示した。バンドの発色の程度より，44-64kDaに相当する複数成分がアレルゲンとして重要であると判断された。

【考察】本研究により，ネッタイタマニクダニが熱帯・亜熱帯地域におけるアレルギー疾患発症の原因となる可能性が実験的に示された。経鼻腔粘膜アレルゲン感作によるIgE抗体の誘導には，抗原の有するアレルゲン性の他に抗原の投与方法や投与期間などが重要な因子になるのが明らかにされた。特に短期間の抗原暴露によるアレルギー反応の誘導には，粘膜アジュバント様活性をもつ物質の存在が重要であると考えられた。本研究により，Bt抗原のうち44-64kDaの蛋白質が主要なアレルゲンであると示唆され，診断用抗原作製への応用も可能であると考えられた。

＊要旨は3枚（1200字以内）にまとめること。 (20×20)

（別紙様式第７号）

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	＊ 課程博 ~~論文博~~ 第　　号	氏名	武田　富美子

論文審査委員		
	平成 16 年 3 月 3 日	
	主査教授	小杉 忠誠 印
	副査教授	東野 哲也 印
	副査教授	渡部 久実 印

（論　文　題　目）

INTRANASAL SENSITIZATION WITH *Blomia tropicalis* ANTIGENS INDUCES ALLERGIC RESPONSES IN MICE CHARACTERIZED BY ELEVATED ANTIGEN-SPECIFIC AND NON-SPECIFIC SERUM IgE AND PERIPHERAL BLOOD EOSINOPHIL COUNTS

（論文審査結果の要旨）

上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。

1．研究の背景と目的

アレルギー疾患の原因種としてヒョウヒダニ属ダニ種がよく知られているが、熱帯・亜熱帯地方ではアレルギー患者のネッタイタマニクダニに対する高い抗体陽性率が報告されている。沖縄県内家庭からもこのダニ種は高頻度に検出されている。しかしながら、このダニ抽出物を用いた動物実験によるアレルギー反応の誘導に関する基礎的研究は行われていない。本研究は、ネッタイタマニクダニ粗抗原（Bt 抗原）をマウスに鼻腔内投与することにより、抗原特異的 IgE の誘導がみられるかを検討した。また感作されたマウス血清を用いて、ネッタイタマニクダニのアレルゲンの特定を行うのを目的とした。

備　考　1　用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書きとすること。
　　2　要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。
　　3　＊印は記入しないこと。

（別紙様式第７号）

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

２．研究内容

実験方法：種々の感作スケジュールでマウスの鼻腔内にBt抗原を投与し、誘導されるBt特異的IgE抗体をPCA反応およびELISA法で検討した。さらに総IgE値および末梢血好酸球数も測定した。また、感作されたマウス血清を用いて、ウエスタンブロット法によりネッタイタマニクダニ抗原分画中のアレルゲンを解析した。

実験結果：①Bt抗原の鼻腔内投与によって早期（50日）には特異的IgE抗体は誘導されなかった。②Bt抗原とコンプリートフロインドアジュバントの混合皮下注射による抗原の前投与によって特異的IgE抗体が誘導されたが、さらにBt抗原を鼻腔内投与することによって増強された。③Bt抗原とコレラトキシンアジュバントの混合液の鼻腔内投与によって、特異的IgEが誘導され、高値を示した。これにともなって、総IgE量および好酸球数にも増加が見られた。④Bt抗原の長期（24週間）投与によって、アジュバントなしでも特異的IgE値の上昇が見られた。これらの結果から、経鼻腔粘膜感作によるIgE抗体の誘導には、Bt抗原のアレルゲン性の強弱の他に抗原の投与方法が重要な因子となることが明らかにされた。また、感作動物の血清を用いたアレルゲンの解析から、44-64kDaの蛋白質が主要なアレルゲンであるのが示唆された。

３．研究成果の意義と学術的水準

Bt抗原のマウスへの鼻腔内投与によって特異的IgE抗体が誘導されることを実験的に示し、アレルギー疾患におけるBt抗原の重要性を示唆した。また、特定には至らなかったものの、アレルゲンの候補蛋白質を示した。これらの研究成果は、Ｉ型アレルギー疾患の原因として、ネッタイタマニクダニの確定に必要な基礎的結果を提供した。また熱帯・亜熱帯地方におけるヒトＩ型アレルギー疾患の診断・治療にも多くの寄与をするものとして期待され、国際的にも高く評価されるものであると判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。