

花粉症治療に向けたスギ・ブタクサ花粉アレルゲン生産系に関する研究

岡澤 梨沙 (筑波大学 生物学類)

指導教員：三浦 謙治 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

アレルギー疾患の中でも花粉症はメジャーである。特に日本で最も多いスギ花粉の花粉症患者は2500万人にも及ぶ。抗ヒスタミン剤や抗ロイコトリエン剤などの薬があるが、これらは一時的に症状を緩和するにすぎない。そこで近年、減感作による根治治療が提案されている。減感作療法とはアレルギーの原因物質(アレルゲン)を体に徐々に与え、免疫グロブリンの反応性を弱めていく免疫寛容という方法である。花粉症の場合、花粉アレルゲンを投与する。この方法では従来注射によってアレルゲンエキスが投与されてきたが、何年も投与し続けなくてはならず痛みを伴う注射は患者への負担が大きく副作用などの問題もあった。そこで舌下減感作療法という方法が提案された。この方法では花粉アレルゲンを直接舌下に投与するため、注射よりも患者への負担も少ない。また舌下はリンパ腺に近い部位であり、粘膜への効率的な吸収が可能となる。WHO(世界保健機関)もこの舌下減感作療法が有効かつ安全な治療法として推奨している。

しかし、この方法を適用するには、注射に比べて5~10倍のアレルゲンを必要とする。現在の治療法では花粉エキスをを用いている。治療に必要な花粉アレルゲンを計算すると、患者10万人に対して1年間処方する場合、花粉量に換算して2tも必要とする。しかし実際にその量の花粉を集めるのは難しい。

この問題を解決するため、花粉アレルゲンの大量調製はこれまでも研究されてきた。しかし、大腸菌や酵母などから得られたタンパク質はアレルギー活性がなく、不溶化してしまい、精製が困難であった。そこでタンパク修飾が植物由来であればアレルギー性をもつ花粉アレルゲンの大量調製が可能となるのではないかと考えられた。植物体での花粉アレルゲンの調整の研究はすでにイネで行われている。ただし、イネの場合植物の上層部にしか米が実らないため、全体のバイオマスを考慮すると効率が悪い。またイネ由来のアレルギーが発生する可能性がある。これに対しレタスは植物工場で大量に生産することが可能であり、レタス由来のアレルギー症状はほとんどない。そこで本研究ではレタスを使ってアレルゲンを調製していくことを目的とした。

【材料・方法】

本研究では花粉アレルゲンを発現するレタス形質転換体の作製、レタスでの花粉アレルゲンの一過性発現と精製方法の検討を行った。

形質転換体の作製では、まず標的タンパク質を発現する導入ベクターを作製し、アグロバクテリウムに形質転換を行った。アグロバクテリウムを含む培地を作製し、発芽したレタスの子葉の先端を切って培地に入れて感染させた。子葉切片を約1ヶ月培養し続け、カルスが出たものを選抜し、次に不定芽・不定根が出るまで培養を継続した。不定芽や不定根が大きくなったものは土に植え替え、低湿度の環境にゆっくりと馴らした。その後も種子が採取できるまで形質転換体の育成を続けた。

レタスでの花粉アレルゲンの一過性発現の方法は、まず同様に標的タンパク質を発現する導入ベクターを作製し、アグロバクテリウムへの形質転換を行った。アグロバクテリウムを含む培地にレタスを漬け、バキュームで減圧し感染させ、3日間培養した。このレタスの葉をすりつぶして硫酸沈殿を行い、透析にかけた。その後、各種クロマトグラフィーによるタンパク質の精製を行った。

【今後の予定】

スギ・ブタクサ由来花粉アレルゲンの精製純度を上げるため、様々なクロマトグラフィーを組み合わせる予定である。