

次世代のスギ花粉症診断および治療技術の開発

研究成果活用プラザ広島における育成研究
平成14年度採択課題

「次世代のスギ花粉症診断および治療技術の開発」



代表研究者：広島大学 大学院先端物質科学研究科
教授 小埜 和久

スギ花粉症患者が花粉中のどの成分に感作しているかを分子レベルで判定する次世代型の診断法を開発を目指した。本開発成果は、他起源成分との交差反応の可能性について情報提示や、診断結果をもとにした患者毎に効果的なテーラーメイド治療にもつながる。

■ 研究内容、研究成果

本プロジェクトでは、現行の生物種レベルでの診断法に代わる、交差反応情報を伴うアレルゲン分子レベルでの新規診断法を開発をめざした。スギ花粉症の主要アレルゲン分子としては、従来Cry j 1 (ペクテートリアーゼ), Cry j 2 (ポリメチルガラクトナーゼ) の2種類が知られていた。我々はこれまでに、スギ花粉アレルゲンの網羅的解析(アレルゲノーム解析)を通じて、これら既知の2種類のアレルゲン以外に、スギ花粉症患者の血清IgEと高頻度で反応する複数の新規アレルゲンの存在を明らかにしてきた。これらの中で診断用アレルゲンとして特に重要性の高いいくつかについて、2次元電気泳動ゲル上のスポットから質量分析によって部分アミノ酸配列を決定し、これをもとにスギcDNAライブラリから全長遺伝子を単離・同定した。

これらの単離された遺伝子から、バキュロウイルス-昆虫細胞系などを用いて組換えアレルゲンを作製した。得られた組換えアレルゲンは、ELISAにおいて患者血清IgEとの反応性が示された。これら新規アレルゲンは、いずれも他の生物種由来のアレルゲンと相同性のあるタンパク質であり、スギ花粉症の診断のみならず、他起源成分との交差反応の可能性についても情報を提示できることが示唆される。新規アレルゲンおよびCry j 1, Cry j 2をそれぞれ異なる色に着色されたポリスチレンマイクロビーズ表面にコートし、フローメトリーの原理によってビーズ識別と表面蛍光値測定を高速に行うLuminexシステムを用いて、これらのアレルゲン固定ビーズと患者血清IgEとの反応パターンを複数項目同時解析できるようにした。得られた反応パターンは患者毎に異なり、我々が見出した新規アレルゲンが患者毎のアレルゲン感作プロファイルを提供しうることが示された。患者毎に異なるアレルゲン感作の全体像が診断において定量的に把握できるようになれば、その情報に基づいた安全確実に奏効するテーラーメイドなアレルギー治療法の確立にもつながる。

■ 今後の展開、将来の展望

本研究で見出した複数の新規アレルゲンについて特許を出願した。多くの患者で精度良く診断を行うためには、これらに加えて、さらにいくつかのアレルゲンを加えることが必要と考えており、それらの遺伝子の単離や組換え体の発現をすすめている。一方、臨床用微量高感度診断システムについて、マイクロビーズ法の有用性を示すことができたが、これを医療現場での評価を受けるレベルにまですることが課題である。これらに取り組むため、今後も企業と共同研究を継続する予定である。今後、新規アレルゲンの研究用試薬としての販売や、動物用検査試薬および治療薬としての特許のライセンスが計画されている。

また、さらなる研究によって診断用アレルゲンとしての必要条件を満たし、かつ高感度診断技術を実用化させることによって、将来的には、ヒト用精製アレルゲンの商品化、診断用キットの製造ならびに治療用ワクチンの創成を果たし、本格的な事業化に結びつけたいと考えている。

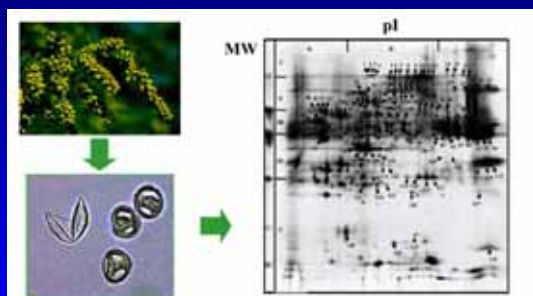


図1 スギ花粉アレルゲンの網羅的解析 (アレルゲノーム解析)

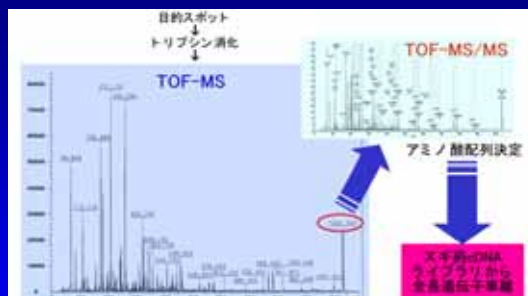


図2 質量分析によるアレルゲンフラグメントの同定

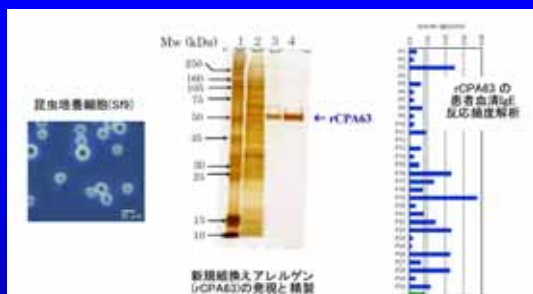


図3 昆虫細胞による新規組換えアレルゲンの発現とその評価



図4 アレルゲン固定化マイクロビーズを用いた患者血清の多重解析 (概念図)

研究体制

代表研究者

広島大学 大学院先端物質科学研究科 教授 小埜 和久

研究者

島田 弥生 (科学技術振興機構)

重田 征子 (広島大学) 秋 庸裕 (広島大学) 河本 正次 (広島大学)

橋本 邦彦 (西川ゴム工業) 大磯 勲 (西川ゴム工業) 大西 伸和 (西川ゴム工業)

平川 雄三 (西川ゴム工業) 中島 克則 (西川ゴム工業) 力丸 智史 (西川ゴム工業)

研究期間

平成15年3月 ~ 平成17年9月