

大阪科学・大学記者クラブ 御中

(同時資料提供先：文部科学記者会、科学記者会、道修町薬業記者クラブ)

2021年11月8日14時

大阪府立大学

世界初

主要イヌアレルギー Can f 1 の立体構造が明らかに！

イヌアレルギーに対する 低アレルギー化ワクチン開発に向けた大きな一歩！！

<本研究のポイント>

- ◇ 主要イヌアレルギー *Canis familiaris allergen 1* (Can f 1) の X 線結晶構造解析
- ◇ Can f 1 におけるヒト IgE 抗体エピトープの予測とアミノ酸変異導入 (変異型 Can f 1 の作製)
- ◇ 様々なアレルギー治療に適用可能な変異型 Can f 1 のヒト IgE 抗体に対する低い結合親和性を利用した「低アレルギー化ワクチン」開発に向けた基盤データの収集

大阪府立大学 (学長：辰巳砂 昌弘) 生命環境科学研究科 乾隆 教授 (21 世紀科学研究センター創薬科学研究所所長、研究推進本部副本部長、研究推進機構副機構長、学長補佐)、中辻 匡俊 さん (2017 年度博士後期課程修了)、および杉浦 慶亮さん (2017 年度博士前期課程修了)らの研究グループは、独立行政法人国立病院機構 相模原病院 臨床研究センターの福富 友馬 医師との共同研究により、近年増加傾向にあるイヌアレルギーにおける主要アレルギーである *Canis familiaris allergen 1* (Can f 1) の立体構造を X 線結晶構造解析により、世界で初めて明らかにすることに成功しました。

また、この Can f 1 の構造を用いて、アレルギーの原因であるヒト IgE 抗体^{注1)} が結合する Can f 1 内のエピトープ^{注2)} を予測し、その予測部位にアミノ酸変異を導入することにより、ヒト IgE 抗体との結合能を低下させた変異型 Can f 1 の作製に成功しました。

この変異型タンパク質は、イヌアレルギーの治療において、アナフィラキシー誘発活性を低減させた「低アレルギー化ワクチン」開発の候補タンパク質となる可能性があります。

なお、本研究の成果は、出版社 Wiley が刊行する学術雑誌「The FEBS Journal」にて、2021 年 10 月 26 日にオンライン掲載されました。

<研究者からのコメント>



イヌ・ネコアレルギーの治療法開発に向けた
今後の研究にご期待ください。

イヌアレルギー

イヌ唾液中のアレルギー

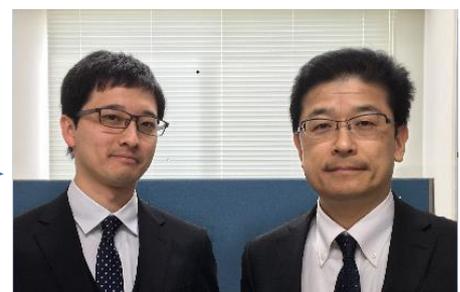


小さな粒子として拡散
長い空中滞留性
衣服等への付着性

アレルギー症状
アトピー性皮膚炎
気管支喘息など

- イヌの飼育頭数の増加
- 身体障害者補助犬法の施行
- セラピードッグの普及

→ 全人口の約10%がイヌアレルギーに感作



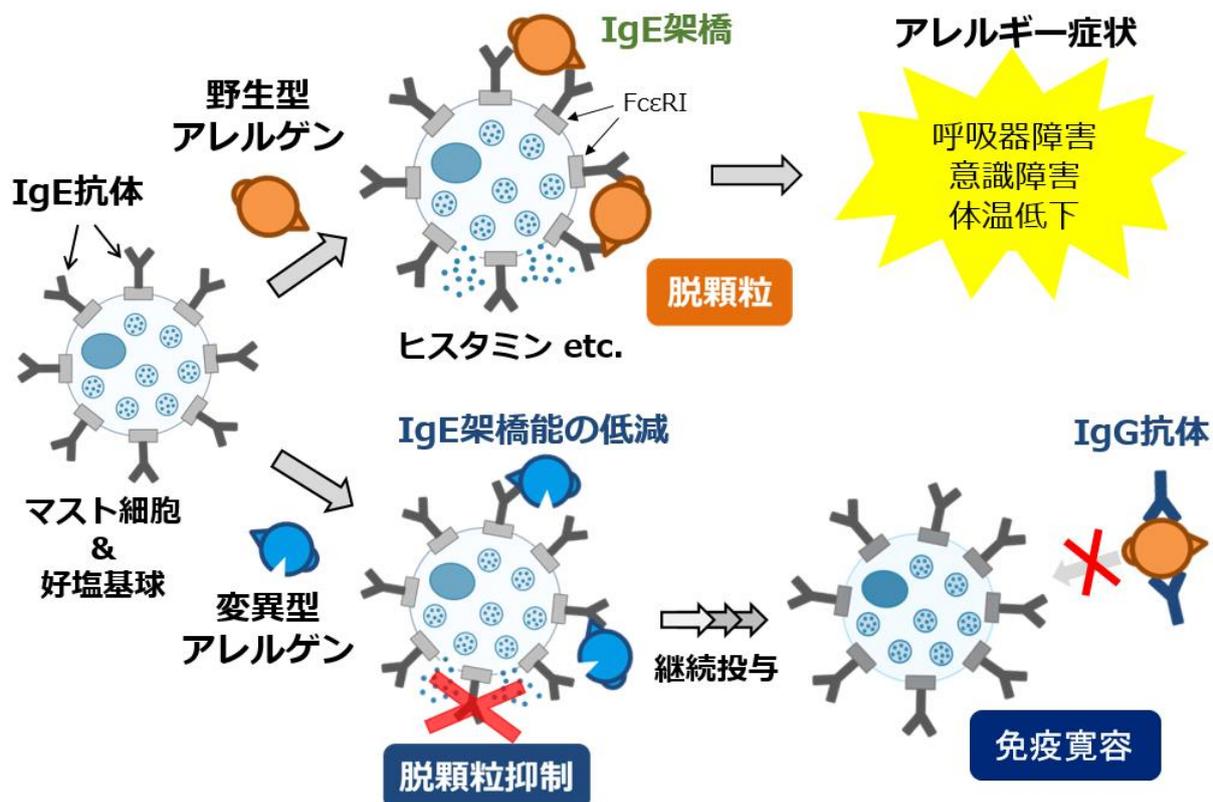
中辻 匡俊 博士(左)、乾隆 教授(右)

＜研究背景＞

伴侶動物としてのイヌの飼育頭数の増加や身体障害者補助犬法の整備に伴い、イヌとヒトが直接的に接触する機会が増加しています。その結果、イヌが産生・分泌するタンパク質がアレルゲンとなって惹起されるイヌアレルギーが大きな社会問題となっています。イヌアレルギーは、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、およびアレルギー性鼻炎等を引き起こすI型アレルギーです。I型アレルギーの根治療法として、アレルゲンの継続投与により免疫寛容を導くアレルゲン免疫療法が実施されていますが、アレルゲン自体の投与は副作用として重篤なアナフィラキシー反応を引き起こす危険性があるため、アナフィラキシー誘発活性を低下させた「低アレルゲン化ワクチン」の開発が望まれています。一般に、アナフィラキシー反応は、アレルゲンが肥満細胞や好塩基球上のIgE抗体と結合し、IgE抗体受容体であるFcεRIが架橋することにより放出されるヒスタミン等が原因となり惹起されます（図1上）。そこで、IgE抗体との結合親和性を低下させた変異型アレルゲンを継続投与すれば、脱顆粒を起こすことなくヒトIgG抗体^{注3)}の産生が惹起され、このIgG抗体が体内に侵入したアレルゲンと結合することによって、IgE抗体とアレルゲンとの結合が阻害され、結果として免疫寛容に導かれます（図1下）。

これまでに、イヌアレルゲンとして7種類のタンパク質が同定されていますが、イヌアレルギー患者血清中のIgE抗体との反応性から、唾液腺で産生・分泌される *Canis familiaris allergen 1* (Can f 1) が主要イヌアレルゲンであることが判明しています (*J. Allergy Clin. Immunol.*, **87**, 1056-1065, 1991)。そこで、Can f 1におけるIgE抗体エピトープを予測し、アミノ酸置換することにより、ヒトIgE抗体に対する結合親和性を低下した「低アレルゲン化ワクチン」の開発を目指しました。

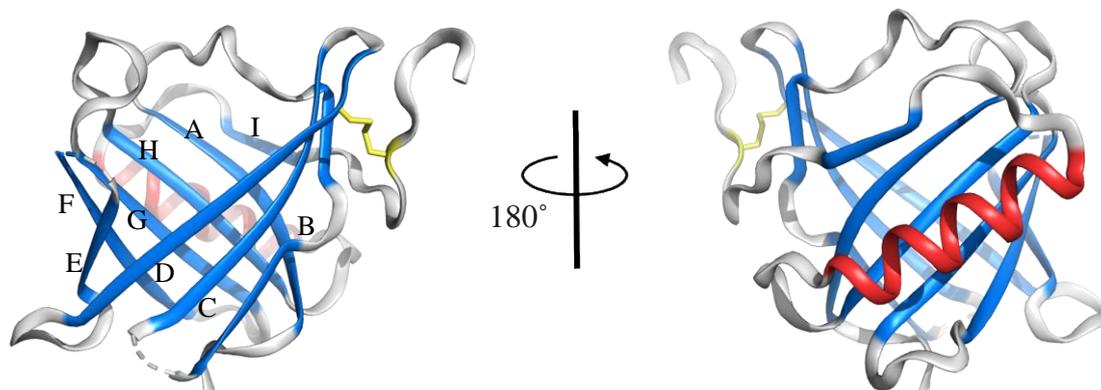
図1. アレルギー反応と免疫寛容機構



<研究内容>

アレルゲンの立体構造は、ヒト IgE 抗体との結合部位を予測、および同定する上で重要な情報となります。これまでに、イヌアレルゲン (Can f1 ~ Can f7) の構造解析が世界中で活発に行われてきましたが、Can f1 は主要イヌアレルゲンにも関わらず構造決定されていませんでした。私たちは、イヌアレルギーに対する「低アレルゲン化ワクチン」の開発には、本アレルゲンの構造解析が必須であると考え、長らくその構造解析に取り組んできました。

図2. Can f1の結晶構造

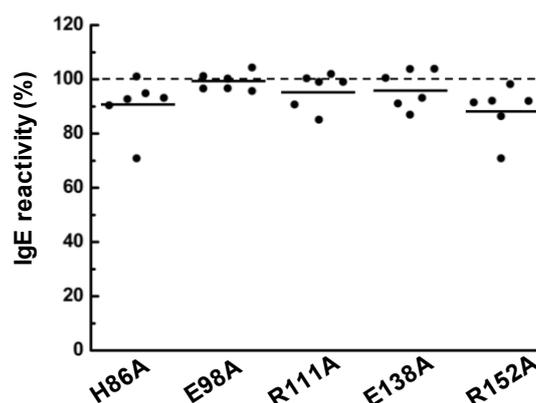


X線結晶構造解析により Can f1 の構造解析を実施した結果、Can f1 は生体内輸送タンパク質群であるリポカリンファミリー^{注4)}に属し、8本の逆平行βストランドからなるβ-バレル構造(樽状の構造)を有するタンパク質であることがわかりました(図2)。本構造は他のイヌアレルゲンである Can f2、Can f4、および Can f6 と同様の構造(リポカリンファミリーに属する)をしていましたが、その表面電荷は大きく異なっていました。

さらに、Can f1 の IgE エピトープを予測するためにヒトの涙に豊富に含まれており、非アレルゲンリポカリンタンパク質である Tear lipocalin とのアミノ酸配列情報、立体構造情報、および表面電荷情報の比較を行いました。その結果、両者のアミノ酸配列、および立体構造は一部違いがあるものの高い相同性を示した一方で、構造上の表面電荷は異なっていることが明らかとなりました。そこで両方で保存されていないアミノ酸のうち、表面電荷の異なる5つのアミノ酸残基(H86, E98, R111, E138, および R152)を Can f1 の IgE エピトープとして予測しました。上記5つのアミノ酸をアラニンに置換した変異型 Can f1 を作製し、Can f1 と反応性を示すイヌアレルギー患者血清6症例を用いて IgE 抗体反応性を評価したところ、H86A、および R152A において有意な IgE 抗体反応性の低下が確認されました(図3)。また、IgE 抗体反応性の低下は患者ごとに大きく異なっていることから、Can f1 が複数のエピトープを持つ多価アレルゲンであり、個々のエピトープの IgE 抗体認識の程度が各患者で異なることが示唆されました。

以上より、これまで長く決定されてこなかった主要イヌアレルゲン Can f1 の立体構造を世界で初めて明らかにし、得られた構造情報を基に IgE 抗体の結合に関連するアミノ酸残基を同定することに成功しました。

図3. イヌアレルギー患者血清中IgEとの反応性評価 (Can f1を100%とした相対反応性)



<社会的意義、今後の予定>

イヌアレルギー等のI型アレルギーの発症メカニズムに関する研究報告は数多く存在しますが、人為的に免疫寛容を誘導し、根治を目指す応用研究は極めて少ないと言えます。特に、IgE抗体のエピトープ変異を導入した「低アレルゲン化ワクチン」の開発という試みは世界的にも稀有であり、学術的価値は高いと思われます。

全人口の約3人に1人が何らかのアレルギー疾患に罹患している我が国において、得られた変異型アレルゲンにさらなる改良を加えることにより、ワクチンとして有用であることが示されれば、本手法を応用することにより、イヌアレルギーのみならず、様々なアレルギーの治療にも適応可能と考えられます。

<発表雑誌>

本研究成果は2021年10月26日に、出版社Wiley誌「The FEBS Journal」のオンライン速報版で公開されました。

<雑誌名>

The FEBS Journal

<論文タイトル>

Structure-based prediction of the IgE epitopes of the major dog allergen Can f 1

<著者>

中辻匡俊、杉浦慶亮、須田圭亮、櫻井光智子、姥谷美樹、室屋陽香、大久保理奈、野口 峻、鎌田洋一、福富友馬、石橋 宰、西村重徳、乾 隆

<DOI番号>

10.1111/febs.16252

<SDGs 達成への貢献>

大阪府立大学は研究・教育活動を通じてSDGs（持続可能な開発目標）の達成に貢献をしています。

本研究はSDGs17のうち、「3：すべての人に健康と福祉を」「9：産業と技術革新の基盤をつくろう」「11：住み続けられるまちづくりを」等に貢献しています。



<研究助成資金等>

本研究の一部は、科学研究費助成事業（科研費）挑戦的研究（萌芽）（17K19329）からの支援を受けて行われました。

<用語解説>

注 1) IgE 抗体 (免疫グロブリン E)

抗体の種類の一つであり、肥満細胞や好塩基球の表面に保持されている。外部から体内に侵入したアレルギーの原因物質であるアレルゲンに結合し、細胞に対してヒスタミン等の産生を促すことでアレルギー反応を引き起こす。

注 2) エピトープ

抗体が特異的に認識して結合する抗原の特定アミノ酸領域のこと。

注 3) IgG 抗体 (免疫グロブリン G)

抗体の種類の一つであり、ヒト血清中の免疫グロブリンの 75% を占める。特定のアレルゲンが肥満細胞の $Fc\epsilon$ 受容体に保持された IgE 抗体に結合する前にこれを阻止することで、IgE 抗体を介したアナフィラキシー反応を防ぐことができる。

注 4) リポカリンファミリー

ビタミン A 誘導体のレチノイン酸や脂肪酸などの疎水性低分子を結合し、それらの輸送や貯蔵に関わる輸送タンパク質群であると考えられている。また、昆虫類、甲殻類、両生類、鳥類、哺乳類などに存在し、レチノール結合タンパク質、 β -ラクトグロブリン、臭物質結合タンパク質、ビリリン結合タンパク質、主要尿タンパク質などを含めた 100 種類以上のメンバーが既に報告されている。

<参考 URL 等>

大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 生体高分子機能学研究室 Web サイト

<http://www.biosci.osakafu-u.ac.jp/biol-macromol/>

【研究内容に関するお問合せ】

大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科
教授 乾 隆 (いぬい たかし)
TEL : 072-254-9473
E-mail: inuit[at]bioinfo.osakafu-u.ac.jp
[at] の部分を@と変えてください。

【ご取材に関するお問合せ】

大阪府立大学 広報課
担当: 荒岸 奈緒子 (あらぎし なおこ)
TEL : 072-254-9103
E-mail: opu-koho[at]ao.osakafu-u.ac.jp
[at] の部分を@と変えてください。