

養成技術者の研究・研修成果等

1. 養成技術者氏名 : 古川 安津子

2. 養成カリキュラム名 : 反応性化学物質の免疫系への影響 : 新規評価法の確立

3. 養成カリキュラムの達成状況

ほぼ当初の計画通り、免疫細胞レポーターを大量に配列解析し、この結果を用いて、アミノ酸配列を基にした系統樹分析、及び変異や **gene usage** などの詳細な配列分析を行った。これら全ての分析結果をレポーターの経時変化を分子レベルで追跡し、さらにこれを可視化できるような評価法を構築した。また、この評価法の信頼性を確立するために、免疫細胞の様々な集団を分取してそのレポーターについても同様の解析を行った。

以上のように、本カリキュラムは当初予定通りに進捗しているものと考えている。

4. 成果 (A 4版3枚程度)

別紙

5. 成果の対外的発表等

(1) 論文発表 (論文掲載済、または査読済を対象。)

A Landscape for the Dynamic of an Immune Response

Atsuko Furukawa, Koji Furukawa, Takachika Azuma

Biochem. Biophys. Res. Commun., 2004, in press

(2) 口頭発表 (発表済を対象。)

単一胚中心における抗体多様性の解析

古川 安津子、古川 功治

第33回 日本免疫学会総会・学術集会

抗NP抗体の親和性成熟経路

久芳 弘義、古川 安津子、東 隆親、古川 功治

第33回 日本免疫学会総会・学術集会

(3) 特許等

2件

<目的>

シックハウス症候群や薬物アレルギーなどに代表される「化学物質アレルギー」は、近年の環境の変化に伴ってその発症者が増加しつつあることから、非常に大きな問題となっている。これらの治療及び予防に関しては、原因物質の除去が最も効果的な方法であるが、原因物質およびその候補物質は排気ガスや食品添加物、農薬、洗剤、化粧品などに亘って無数にあり、そのすべてを排除することは非常に困難である。また、これら無数の物質をひとつずつ評価していくには膨大な時間と労力を要すること、および、一つの物質のみがアレルギーの原因となることは少なく、いわゆる「複合汚染」によって発症する例が多いことから、化学物質側からこの疾患への影響を評価するには限界があると考えられる。そこで、本研究・研修ではこれを生体側から評価する方法を確立することを目的とし、この新規技術によって化学物質の環境及び生体への影響を予め迅速かつ正確に評価することを目指すものである。

<概要>

化学物質アレルギーは、現在その発症機構の全容が解明されているものではないが、自己免疫疾患のひとつと考えられている。すなわち、原因となる化学物質は、それ自体が無毒であっても体内に取り込まれて自己蛋白を修飾する場合があります。免疫系がそれを非自己と認識して攻撃するというものである。また、周知のように我々の体内で起こる反応は様々な因子が複雑に関連しあって生じるものであり、その応答は限られた因子のみで評価できるものではない。そこで本研究・研修では、あるひとつの物質に対するひとつの応答を観察するのではなく、生体内に発生している免疫応答を統合して捉え、その時に生じている免疫応答の全体像を可視化し、さらに経時的变化をも追跡できる方法を開発し、アレルギー原因物質の新規評価法への応用を試みるものである。

<成果>

周知の通り、免疫応答における抗体の役割は最も重要なもののひとつであり、そのレパートリーの変化は、応答の変遷や成熟を強く反映していると考えられている。そこでまず、免疫応答がよく研究されており、抗体（B細胞）レパートリーの変化を詳細に解析できるマウスモデル系を用いて、その配列解析と系統樹分析及び発現量の定量を試み、この方法が実際に機能することを確認した。

まず、得られた B 細胞レパートリーのアミノ酸配列を基に、系統樹分析を行い、さらにレパートリーの発現量や抗原親和性を有するモノクローナル抗体の配列を重ね合わせた。

この系統樹から得られた様々な知見を総合すると、抗原親和性を有すると思われるレパートリーが、抗原による暴露後にどのような経時的变化を辿るのか、またそれ以外の非親和性と思われるレパートリーはいかに影響を受けるのかなど、限られた一個の生体内で生じる免疫応答の「流動」する様子を窺い知ることができた。

また、本評価法の実用化に向けて、さらに詳細な解析を試みた。同じマウスモデル系を用いて、二次免疫応答における B 細胞レパートリーの変遷や抗原親和性を持つレパートリー、二次免疫器官の部位特異的なレパートリーなどについて同様の解析を行い、その結果を上述の系統樹に反映させて本法の成熟化を図っている。

これと同時に、免疫応答において非常に重要である T 細胞レパートリーに関しても同様の解析を試みようとしている。しかし、T 細胞においては、上述のような確立されたマウスモデル系はない。よって、まずモデル系の構築を行った。化学物質や抗腫瘍剤でマウスの自己蛋白を修飾した抗原を数種類作成し、これで数系統のマウスを免疫した。ターゲット遺伝子の検索も含め、さらに新規の抗原による応答も検討している。

<産業界への貢献>

生体内では常に免疫応答の発生と消失を繰り返しており、生命の維持に大きな役割を果たしている。免疫に関わる多くの細胞及び分子に関しては古くから多くの研究がなされており、個々については膨大なデータの蓄積がある。しかし、それらのデータはそれぞれ独立したものであり、免疫の全メカニズムのどの位置で機能するものなのかが把握されているケースは少ない。つまり、非常に重要であるはずの免疫の全体像やその変遷については、未だその多くが解明されていないと言える。

今回、我々が新たに開発したアレルギー原因物質の新規評価法は、生体内に発生している免疫応答を統合して捉え、その時に生じている免疫応答の全体像を可視化し、さらに経時的变化をも追跡できる方法であることから、免疫学的への貢献は大きいと考える。

また、近年大きな問題となっている化学物質アレルギーは、我々の生活環境下に無数に存在する化学物質が同時に生体に影響を及ぼし、その全てに対する免疫応答が統合して発症する疾患である。この疾患の患者数は近年増加傾向にあるが、その治療と予防に関しては対症療法と原因物質の排除という原始的な方法の枠を出ない。しかし、

本評価法が確立され、実用化されれば、生体側からの免疫応答の予測が可能となり、予防学的見地から非常に有用なものになり得ると思われる。さらに化学物質アレルギーだけでなく、他の様々な免疫疾患や薬剤の副作用など、発症のしやすさを個別に予測しうるような応用をも目指す。

以上のような貢献に加え、本評価法を構築するに当たって得られた多くの知見は、抗体医薬品の創製においても重要な情報をもたらしている。抗体はバイオツールや医薬品として広く利用されているが、実際の製品化に際してはそのクラスが重要な意味を持っている。一般には、小分子化や固定化が容易な **IgG1** が好まれるが、経験的に有用な **IgG1** 抗体取得が困難であることが知られていた。今回得られた知見から、これは **IgG1** 抗体特有の多様化機構によることが示唆され、有用な **IgG1** 抗体を効率良く取得するための方法論確立にも応用可能である。