

氏名	田中健一
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1071号
学位授与の日付	平成27年3月12日
学位論文題名	Allergen Analysis of Sea Urchin Roe Using Sera from Five Patients 「ウニアレルギー5名の血清を用いたウニアレルゲン解析」 International Archives of Allergy and Immunology 164(3): 222-227. 2014. 9
指導教授	吉川哲史
論文審査委員	主査教授 松永佳世子 副査教授 内藤健晴 教授 原田信広

論文内容の要旨

【緒言】

ウニは初回摂取時にもアナフィラキシーを起こす可能性があるため、臨床的に注意が必要な食品である。これまでにウニアレルギーの1例報告が3報あり、2報でアレルゲン解析が行われている。1報は、Rodriguezらにより118kDaの蛋白質がアレルゲンと報告され、もう1報では、Yamasakiらにより152kDaのmajor yolk protein(MYP)が主要なアレルゲンであると報告されている。しかし、複数の患者血清を用いて同時に同じ条件下でアレルゲンを解析した報告はない。また、過去に我々はイクラとウニの共通アレルゲンについて症例報告を行った。

【目的】

複数例の患者血清を用いてウニアレルゲンを同定することと、イクラアレルギー合併例において交差抗原性とその感作源を明らかにすることを目的とした。

【対象】

藤田保健衛生大学病院並びに関連施設を受診した5名(小児3名、成人2名)のウニアレルギー患者を対象とした。これら5名中2名がイクラアレルギーを合併していた。食物アレルギーの診断根拠は、摂取後の明らかな即時型アレルギー症状を有し、皮膚テスト陽性あるいは特異的IgE抗体を認めること、またはウニの経口負荷試験陽性であることとした。

【方法】

アレルゲン同定に使用したウニ蛋白質は、ムササキウニ(*Strongylocentrotus nudus*)より抽出し、その後真空凍結乾燥し-30℃で保存した。皮膚テストは、この抽出液もしくはウニそのものを使用した。抽出液を用いた場合、陽性対照の膨疹径の50%以上を陽性とし、ウニそのものを用いた場合、3mm以上の膨疹径を陽性と判定した。ウニ特異的IgE抗体の存在は、ELISA法によりoptical densityを求め陰性対照の平均より明らかな上昇を認めることとした。SDS-PAGEはLaemmli methodに準じて行い、患者血清を用いてimmunoblotを行った。2名以上の患者血清中IgE抗体と反応のあった蛋白バンドを切り出し、N末端アミノ酸

配列を解析した。ウニ抗原に対する特異性はウニ抽出液の添加によるinhibition immunoblotにて証明した。また、交差抗原性は、inhibition immunoblotとinhibition ELISAを用いて証明した。

【結果】

5名のウニアレルギー患者血清を用いたimmunoblotにおいて、2名以上が反応を示した蛋白バンドは170、107、90、74、47、42、36、30、20、18kDaと10バンドあり、N末端アミノ酸配列解析により蛋白が同定できたのは、170kDa major yolk protein(MYP) (*Strongylocentrotus nudus*)と、30kDa yolk granule protein Y(*Strongylocentrotus purpuratus*)、20kDa sperm-activating peptides(*Strongylocentrotus purpuratus*)、18kDa egg cortical vesicle protein (*Strongylocentrotus purpuratus*)の4バンドであった。170kDaの蛋白バンドには5名中4名が反応した。20と30kDaの蛋白バンドは非特異的な反応の結果であった。イクラのアレルギーを合併していた患者2、3のプール血清を用いたinhibition immunoblotの結果、egg cortical vesicle protein(18kDa)の蛋白バンドがイクラ抽出液の添加によって抑制された。また、inhibition ELISAでは、患者2ではウニ抗原よりもイクラ抗原で強く抑制されたが、患者3ではウニ抗原で強く抑制された。

【考察】

ウニアレルギーの正確な頻度は明らかになっていないが、ウニを世界で最も消費している日本においても、その報告は少ない。過去の症例報告からウニアレルゲンの可能性が示唆されていたMYPは、今回の検討において、5名中4名に反応を示しており、ウニアレルゲンとして重要な蛋白質であることが証明された。日本において、イクラは乳幼児のアナフィラキシーの原因としてよく知られ、臨床的に重要な食品である。本研究結果から、egg cortical vesicle protein(18kDa)はウニとイクラとの交差反応性を有する重要な蛋白質であると考えられた。また、患者2では、イクラがウニアレルギーの感作源となっていたが、患者3ではイクラ以外の感作源も考えられ、今後の検討課題である。

【結語】

ウニのアレルゲンは複数あり、その中でMYPはウニの主要なアレルゲンであると考えられた。2名のイクラアレルギー合併例があり、egg cortical vesicle protein(18kDa)はイクラとの交差抗原性に関わる重要なタンパクであった。両者の感作源は各患者によって異なっていた。

論文審査結果の要旨

本論文は、ウニ摂取後即時型臨床症状を呈し、プリックテスト陽性かつウニ特異IgE抗体を証明できた5症例を対象に、immunoblot法、ウニ抽出液によるinhibition immunoblot法を用いて、原因抗原を解析した結果、170kDaの蛋白バンドに5例中4例が反応するIgE抗体を持つこと、この蛋白のN末端アミノ酸解析の結果、major yolk protein(MYP)であることを明らかにした。これまでウニアレルギーではMYPが抗原であることは報告されていたが、1例報告に過ぎず、症例の50%以上が陽性を示すことを証明できておらず、本論文ではじめてMYPが主要抗原と同定したことは食物アレルギーの抗原解析として独創性を有する研究である。さらに、この5例のなかで、イクラによる即時型食物アレルギーの既往があった2例の血清を用いて、イクラ抽出液によるinhibition immunoblot法を施行した結果、ウニ抽出液に含まれる18kDaの蛋白であるegg cortical vesicle proteinが交差抗原であることを確認した。さらに、イクラとウニに反応するIgE抗体を両者の抽出液でinhibition ELISA法を行い検討した結果、1例はイクラが感作源であるが、イクラの交差反応では説明できない症例があることを明らかにした。以上より、本論文は、学位論文として十分な内容を有すると評価した。