

日本農芸化学会 2021 年度大会
2021/3/21 4E03-12

花粉関連食物アレルギー症候群における gibberellin-regulated protein の交差要因の解析

Analysis of the structural factors of gibberellin-regulated protein on a cross-reactivity of pollen-related food allergy syndrome.

蕭 喬丹, Cabanos Cerrone, *福富 友馬, 丸山 伸之

京都大学大学院農学研究科
*国立病院機構相模原病院

「花粉関連食物アレルギー症候群」は、花粉に対して感作された人が果物類などの食物を摂取したときにアレルゲンの交差反応によって症状を発症する疾患である。近年、スギなどのヒノキ科花粉についても原因となることが明らかになってきている。本研究では、スギ花粉 gibberellin-regulated protein (GRP) に感作されている果物アレルギー患者において、花粉と果物との交差反応に關与する GRP の構造要因を明らかにすることを目的とした。

モモとスギ花粉 GRP の共通するアミノ酸残基をグリシン残基に置換したスギ花粉 GRP 変異体を 4 種類構築した。これらの組換えタンパク質を *Pichia pastoris* を用いて発現させ、精製した。4 種類の変異体は、ゲル濾過クロマトグラフィーにおいて野生型 GRP (WT) とほぼ同一の溶出ピークを示し、サーマルシフトアッセイによる熱変性曲線も類似していた。WT に還元剤存在下で加熱処理を行うと、未変性時に見られた熱変性のピークがほぼ消失した。この条件で変性処理を行った WT では、ELISA での GRP と患者血清中の IgE 結合量が未変性の WT と比較して下がったことから WT のコンフォメーションがエピトープとして大きく寄与していることが示された。全ての変異体において IgE 結合量が WT より減少し、変異体間でその減少量にも違いがみられた。N 末端側のアミノ酸残基を置換した変異体では減少が大きかった為、その領域がエピトープとしての影響が大きい可能性が示唆された。

"Pollen-related food allergy syndrome" (PFAS) is a disease associated with allergic symptoms due to a cross-reactivity of homologous proteins between pollen and food. Recently, it has been suggested that a sensitization to Cupressaceae pollen is involved in PFAS. The purpose of this study is to clarify the structural factors of epitopes of cedar gibberellin-regulated protein (GRP), one of allergens related to PFAS. We designed four types of GRP mutants which are substituted to Gly about identical residues on a sequence alignment between peach and cedar GRPs. Gel filtration chromatography and thermal shift assay suggest that purified mutants show similar conformation to that of wild type of GRP (WT). Under a denatured condition, the IgE-binding of WT was reduced in ELISA assay, suggesting importance of conformational epitope. The IgE-binding of all four types of mutants were reduced compared to WT and the difference of a reduction between them was observed. The IgE-binding of the mutants substituted at N-terminal region was significantly reduced, suggesting that N-terminal region of GRP may influences antigenicity.