

平成10年度

厚生科学研究費補助金

免疫・アレルギー等研究事業

(免疫・アレルギー部門)

アレルギー疾患の予知と予防班  
(感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子)

研 究 報 告 書

大阪医科大学小児科学教室 小児科アレルギー研究室

主任研究者 佐々木 聖

## アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）

主任研究者 佐々木 聖

大阪医科大学小児科講師

乳幼児アレルギー疾患においては出生前の胎児への母体からの影響が大きいと考えられる。胎児に影響を及ぼす胎内環境についての検討は、内外の研究においても稀有なので羊水中免疫グロブリン、サイトカインについて検討し、出生後のアレルギー疾患発症との関係について検討した。

胎児に影響を及ぼす胎内環境において、母親の摂取する食物抗原、特に鶏卵、牛乳の関与が強く示唆された。

出生後の乳児には食物アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎が最も多く、関与する免疫アレルギー反応はIgE抗体によるI型アレルギー反応以前に、細胞性免疫反応、またIgG抗体の関与も考えられた。

吸入性抗原のチリダニの感作はアトピー素因陽性児では乳児期初期より始まる。

臍帯血におけるサイトカイン産生Tリンパ球の解析でも interleukin 4産生CD3陽性Tリンパ球はアレルギーの家族歴のある児、健常小児に比し高く認められた。

分担研究者:古川 漸(山口大学医学部小児科教授)  
山本和子(島根医科大学医療情報学教授)  
藤本 昭(大阪友誼会病院産婦人科部長)  
谷口恭治(済生会茨木病院小児科部長)

吸器系への母体からの血行を介しての経胎盤感作の機会は胎児消化器系、皮膚に比べ極めて少ないと考えられる。

羊水循環の羊水は羊膜を介して母体血液からの滲出物であり、羊水と母体血漿との間で速やかに水分が移行される。

胎児は羊水を胎生15週頃より嚥下し、その量は胎生末期には1時間20ml、1日500mlにも達する。したがって羊水が直接胎児の皮膚、消化管に与える影響は極めて大きい。しかし羊水が胎児に及ぼす影響を免疫アレルギー学的に検討した研究は内外共に稀有である。

したがって筆者らは羊水、母体血、臍帯血を組で採取し、同時に同一の質問表を作成して妊娠中の母親のライフスタイルと共に、これが胎児に及ぼす影響を調査し、更にATS-DLT改訂版にて出生後のアレルギー疾患を年余にわたり追跡した。

さらに羊水、母体血、臍帯血についてIgE、IgG抗体、食物とチリダニ特異IgE、IgG抗体とそのsubclass、CD23、soluble IgE receptor、IL-4、IL-5、IFN- $\gamma$ 、IL-10、IL-13などを測定して、アレルギー発症との関係を検討して、予知と予防の指標を確立したいと考えている。さらに現在、実行し効果をj得ているアレルギー発症予防対策として、環境抗原として最も重要なチリダニ抗原除去を目的とした掃除メニューを実行して気管支喘息児への二次予防を行い、発作減少による医療費の減少効果をみて

### A. 研究目的と方法

小児アレルギー疾患の発症要因は、アトピー素因(遺伝因子)と環境因子に大別され、複雑な相互作用によって発症する。従来よりいわれている環境因子に加え、小児アレルギー疾患では母親のもつ胎内環境因子が重要である。特にアレルギー疾患の発症と予防を考える場合、約10カ月に及ぶ母体内の胎内環境は無視しえぬ要因である。

新生児から乳児期に認められるアトピー疾患の発症機序には経胎盤感作が考えられる。その成立機序として、母体から抗原の経胎盤移行による抗原の直接感作とIgG抗体や免疫伝達細胞、免疫伝達因子の経胎盤移行がある。

さらに胎児は成人循環とは異なり、胎盤-臍帯-胎児の連結血行路をもつ胎児循環により、羊水中で発育する。したがって羊水は直接胎児を包みこむ直接的な生活環境であり、羊水の影響は非常に大きいと考える。

胎児のガス交換は胎盤で行われ、肺では行われない点、成人とは異なる。したがって胎児循環の特徴として肺への血行は不完全であり、肺の発育に必要な血液を供給するにすぎない。したがって胎児の呼

いる。さらに未発症アトピー素因陽性児にも実行して一次予防の効果も得つつある。

## B. 研究結果

- 1) 母体血, 羊水, 臍帯血におけるサイトカインの測定ではアレルギー歴陽性の母親の血清, 羊水, 臍帯血において IL-13が共に高値を示す例が多く, 次いでIL-4陽性例も少数認められた。IL-5は検出しえなかったが, 乳児アレルギー疾患発症に好酸球性炎症が強く関与されていることが示唆された。
- 2) 1)の成績より母体血, 臍帯血より分離した単核球を培養し, 卵白アルブミンとチリダニ (Der I) 抗原で刺激すると, IL-5, IL-13 が共に検出される例が, IL-4検出例よりも多く認められたので, アレルギー歴陽性, 陰性の症例を増やし検討している。
- 3) 細胞内サイトカイン染色法により, アレルギーの家族歴のある児と胎内感染児の臍帯血におけるサイトカイン産生Tリンパ球を解析した。アレルギーのない健常小児の末梢血についても比較検討した。interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生CD3 陽性Tリンパ球は, 健常小児の末梢血が最も高く, 以下胎内感染児の臍帯血, 胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血, 胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血の順だった。interleukin 4 (IL-4) 産生CD3 陽性Tリンパ球は, 高い順に胎内感染児1例の臍帯血, 胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血, 健常小児の末梢血, 胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血だった。少数例の検討であるが, 臍帯血におけるサイトカイン産生Tリンパ球の解析は, 胎内感染の示標およびアレルギー疾患の予知に有用である可能性が示唆された。
- 4) 新生児より乳児期のアトピー素因陽性例にチリダニ特異IgE抗体が陰性であるが, チリダニ特異IgG抗体の上昇例がみられ, また次第にリンパ球幼若化反応も陽性になり, 次にチリダニ特異IgE抗体陽性を示すようになる。チリダニ抗原の自然暴露が出生時より始まることを示唆する成績をえた。
- 5) 乳児期早期の卵白アレルギー児において卵白特異IgGとそのsubclassの推移を検討した。  
出生直後の乳児期早期より卵白アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎児10例について卵白アルブミン特異IgG抗体 (以下0A-spec IgG) と卵白ムコイド特異IgG抗体 (0M-spec IgG) を測定し,

4カ月に1回の採血で約2年間その推移を検討した。

0A-spec IgGとその subclass では 20~1,000 GRU/mlに分布し, 症状改善例にはIgG, IgG<sub>1</sub> と IgG<sub>2</sub> が低下する症例が10例中6例に認められた。

0M-spec IgGとそのsubclassの検討でも同様に症状改善例はIgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> の低下例10例中7例に認められた。IgG<sub>4</sub> は一定の傾向は認められなかった。

- 6) アトピー素因の有無による母体血, 臍帯血, 羊水における免疫学的背景を検討するためIgG, IgA, IgM, C3, C4, CH50を測定した。

母体血IgE値は高値群 100 IU/ml以上, 低値群 100 IU/ml以下とした。

母体血IgG値 (mg/dl) 幾何平均値は高値群 794.4mg/dl, 低値群 759.9mg/dl  $F=1.20$ で有意差は認めなかった。

母体血IgA値は高値群 165.7mg/dl, 低値群 129.7mg/dl  $F=3.26$ で有意差を認めた。

母体血IgM値は高値群 144.5mg/dl, 低値群 154.3mg/dl  $F=1.04$ で差がなかった。

母体血C3, C4, CH50ではいずれも両群間に有意差は認めなかった。

臍帯血IgGは $F=3.60$ , IgMも $F=4.16$ でいずれも高値群が高く有意差を認めたが, IgAは $F=1.07$ , そしてC3, C4, CH50はいずれも両群間に差が認められなかった。

IgGおよびIgMが有意差 ( $P \leq 0.05$ ) を認め, 抗原特異抗体との関連性について示唆される成績であった。

羊水においてはIgGには有意差を認めず, IgA, IgMが有意差 ( $P \leq 0.05$ ) を認めた。

- 7) アトピー素因と出生後の環境因子と気管支喘息と喘鳴との発症に加え, アトピー性皮膚炎, アレルギー性鼻炎についても検討した。

郵送した ATS-DLT日本改訂版に対して全項目についてもれなく解答した 189例を今回は対象とした。対象 189例中気管支喘息児4例 (2.2%), 喘鳴児16例 (8.47%) が認められた。189例中7例 (喘息児4例を含む) において臍帯血IgE値が 3.0 u/ml以上, 母親の血清IgE値も400 u/ml以上の高値を示した。

性差と気管支喘息児および喘鳴児の発症頻度をみると気管支喘息児は男児92例中3例 (3.26%), 女児は97例中1例 (1.03%) と男児に発症例が多く認められた。喘鳴発症児は男児92例中8例

(8.70%)，女児97例中同じく8例(8.25%)で差がみられなかった。

乳児期栄養と気管支喘息児および喘鳴児の発症頻度では母乳群95例中気管支喘息の発症は0，人工栄養児32例中2例(6.45%)，混合栄養児61例中2例(3.28%)で人工栄養児群に発症頻度が高く認められた。喘鳴児はこの反対で母乳栄養児群10.53%，人工栄養児群9.38%で差がなく，混合栄養児群4.92%の発症頻度であった。

次に二親等までの家族の major allergic diseases 既往歴とその児の気管支喘息発症の検討では，既往歴陽性群に発症頻度の高い成績をえ，喘息発症に関わるアトピー素因の重要性が示された。

出生後2年間の環境因子として，呼吸器感染症，dirty typeの暖房器具使用，乳児期の栄養，同居家族の喫煙歴が喘息発症群に有意に高く，加えて喘鳴群では乳児期の呼吸器感染既往歴が有意に高く，喘息発症における遺伝要因に加えて環境要因の関わりが乳幼児期早期より認められる成績をえた。

次にアトピー性皮膚炎，アレルギー性鼻炎の発症について調査した。

19例のアトピー性皮膚炎児はすべて二親等までの家族に major allergic diseases 既往歴が陽性であった。

アレルギー性鼻炎が8例(この中1例は喘鳴，アトピー性皮膚炎合併)認められ，いずれも家族のアレルギー歴陽性であった。

これら2疾患の乳幼児期の発症にはアトピー素因が強く関わっていることが示された。

### C. まとめ

- 1) 胎児に影響を及ぼす胎内環境においては，食物抗原の関与が強く示唆された。
- 2) 出生後の乳児には食物アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎が最も多く，関与する免疫アレルギー反応はIgEによるI型アレルギー反応以前に，細胞性免疫反応またIgGの関与も考えられる。
- 3) 吸入性抗原のチリダニの感作はアトピー素因陽性児では乳児期初期より始まる。

# アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）

主任研究者 佐々木 聖

大阪医科大学小児科講師

胎児は成人循環とは異なる胎児循環系をもち成長する。そして羊膜を介した母体血液からの滲出物である羊水中で発育し、これを1日 500ml以上も嚥下して成長する。

従って羊水中における免疫グロブリン、サイトカイン等の免疫伝達物質の胎児への影響は大きいと考えられるのでこれを検討した。

アレルギー歴陽性の母親の血清、羊水、臍帯血において IL-13が共に高値を示す例が多く、乳児アレルギー疾患の発症にはIL-5、IL-13好酸球性炎症が強く示唆された。sCD30もアトピー素因陽性母親血、臍帯血において相関を認めた。

気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎に対する最重要な抗原であるチリダニの感作はアトピー素因陽性児では出生時より始まることが示唆される成績をえた。

## A. 研究目的と方法

小児アレルギー疾患はアトピー素因といわれる遺伝因子と環境因子に大別され、これらの複雑な相互作用によって発症する。

従来の環境因子に加え、小児アレルギー疾患では母親の胎内環境因子が重要であり、特に小児アレルギー疾患の予防を考える場合無視しえぬ要因である。胎児は成人循環と異なる胎児の循環系をもち成長する（表1）。

### 胎児の循環系

#### 1. 胎盤血行

胎盤-臍帯-胎児の連結血行路をもつ。  
胎児循環系路により羊水中で発育する。

#### 2. 胎児・胎盤循環

胎児のガス交換は胎盤で行われる。  
胎児循環の特徴として肺への血行は不完全。

#### 3. 羊水循環

羊水は羊膜を介して母体血液からの滲出物である。  
胎児は胎生15週頃より羊水を嚥下し、胎生末期には1日500mlにも達する。

#### 4. 胎盤の物質通過

抗原  
同種抗体

胎児は羊水中で発育しこれを1日 500ml以上も嚥下しており、羊水の胎児皮膚、消化管に与える影響は大きい。しかし、羊水が胎児に及ぼす影響を免疫アレルギー学的に検討した研究は内外共に稀有である。

筆者らは羊水、母親血、臍帯血を採取し、妊娠中の母親のライフスタイルと共に児に及ぼす影響を調査し、更に質問表にてアレルギー発症を年余にわたり追跡調査し、羊水中のIgE、IgG抗体、CD23、

soluble IgEε receptor, IL-4, IL-5, IFN-γ, IL-10, IL-13などとアレルギー発症との関係を検討し予知と予防の指標を確立したい。さらに現在実行し効果を得られているアレルギー発症予防対策として、環境抗原として最も重要なチリダニ抗原の新生児・乳児期における感作状態を検討した。

## B. 研究結果

1) 母体血、羊水、臍帯血におけるサイトカインの測定では、アレルギー歴陽性の母親の血清、羊水、臍帯血において IL-13が共に高値を示す例が多く、次いでIL-4陽性例も少数認められた。IL-5は検出しえなかったが、乳児アレルギー疾患発症に好酸球炎症が強く関与されていることが示唆された（表2）。

### ◆ 羊水中より検出しえた免疫グロブリン・サイトカイン

免疫グロブリン	サイトカイン
IgG	IL-4
IgA	IL-10
IgM	IL-13
IgE	IL-12
オボアルブミン特異IgG抗体	IFN-γ
オボムコイド特異IgG抗体	sCD23
βラクトグロブリン特異IgG抗体	sCD30
カゼイン特異IgG抗体	
αラクトアルブミン特異IgG抗体	

### ◆ 羊水中より検出しえなかったもの

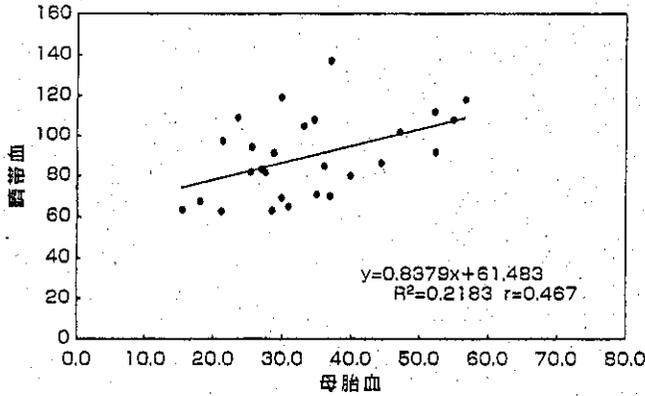
免疫グロブリン	サイトカイン
Dp 特異IgG及び特異IgE抗体	IL-5
スギ花粉特異IgG及び特異IgE抗体	sFceRα1
ブタクサ花粉特異IgG及び特異IgE抗体	

2) 1)の成績より、母体血、臍帯血より分離した単核球を培養し、卵白アルブミンやチリダニ(Der I)抗原で刺激すると、IL-5、IL-13が共に

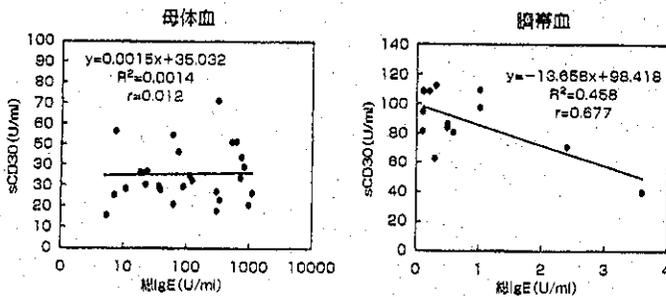
検出される例が、IL-4検出例よりも多く認められたので、アレルギー歴陽性、陰性の症例を増やし検討している。

3) 1) の成績より、アレルギー性炎症への関与が最近示唆された sCD30 について母体血と臍帯血との相関をさらに総IgE値、IFN- $\gamma$ 、IL-13 との相関を検討し、母体血と臍帯血との間に強い相関をえた(図1, 図2, 図3, 図4)。

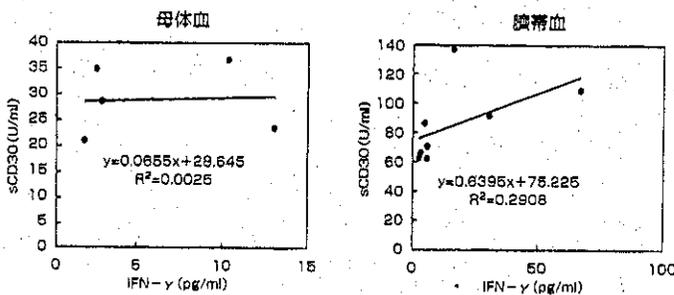
### 母体血と臍帯血の相関 (sCD30)



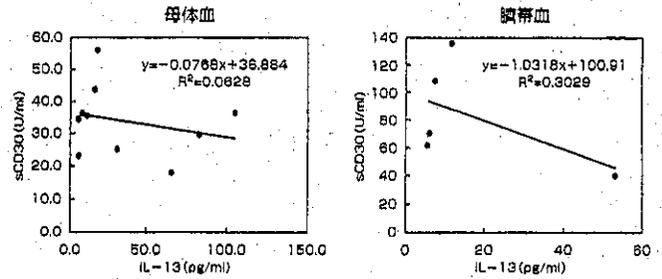
### 総IgEとsCD30の相関



### IFN- $\gamma$ とsCD30の相関



### IL-13とsCD30の相関



4) 新生児より乳児期のアトピー素因陽性例にチリダニ特異IgE抗体が陰性であるが、チリダニ特異IgG抗体の上昇例がみられ、また次第にリンパ球幼若化反応も陽性になり、次にチリダニ特異IgE抗体が陽性化するようになる。この成績はチリダニ抗原の自然暴露が出生時より始まることを示唆する(図5)。

食物アレルギー乳児におけるチリダニ抗原リンパ球幼若化反応陽性化とチリダニ(Df)特異IgE抗体陽性への推移

(n=21)

Df特異IgE抗体	陽性	1	1	3	5	5	2	3	1		
	陰性	21									
Df抗原によるLST	陽性	1	1	3	1	4	5	1	2	1	1
	陰性	21									
月齢	1~4 5 6 7 8 9 10 11 12 15 18										

## 課題 アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）

### ー 臍帯血Tリンパ球内サイトカインの解析 ー

分担研究者 古川 漸

所属機関 山口大学医学部小児科教授

研究要旨 細胞内サイトカイン染色法により、アレルギーの家族歴のある児と胎内感染児の臍帯血におけるサイトカイン産生Tリンパ球を解析した。アレルギーのない健常小児の末梢血についても比較検討した。interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 産生CD3陽性Tリンパ球は、健常小児の末梢血が最も高く、以下胎内感染児の臍帯血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血の順だった。interleukin 4 (IL-4) 産生CD3陽性Tリンパ球は、高い順に胎内感染例1例の臍帯血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血、健常小児の末梢血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血だった。少数例の検討であるが、臍帯血におけるサイトカイン産生Tリンパ球の解析は、胎内感染の示標およびアレルギー疾患の予知に有用である可能性が示唆された。

#### A 研究目的

アレルギー疾患は遺伝的素因と環境因子から発症する疾患である。その発症を予知し、早期のインターベンションはその後のアレルギー疾患の減少につながると思われる。アレルギー発症の予知は、臍帯血、新生児血および濾紙血のIgE値が用いられてきた<sup>1),2)</sup>。しかし、胎児のIgE産生に至るまでのリンパ球レベルでの研究は少ない。

Tリンパ球はその産生するサイトカインによってIFN- $\gamma$ などを産生するTh1タイプとIL-4などを産生するTh2タイプに分類される。アレルギー疾患では、IL-4はIgE産生を促進することから、Th2タイプの反応が優位と考えられている<sup>3)</sup>。アレルギーの家族歴のある児の臍帯血について、細胞内サイトカインを染色しフローサイトメトリーを用いて<sup>4)</sup> Th1/Th2バランスを検討した。

#### B 研究方法

対象は、1) 胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血12例：在胎36w3d-40w0d (平均37w4d)、出生体重1,962-3,180g (平均2,613g)、2) 胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血2例：在胎39w5d 出生体重

3,015g、在胎40w6d 出生体重2,960g、3) 胎内感染児の臍帯血2例：在胎26w4d 出生体重1,030g、在胎32w4d 出生体重1,951g、4) アレルギーのない健常小児の末梢血14例：7M-1Y7M (平均1Y7M) である。

ヘパリン採血した臍帯血または末梢血をBrefeldin A(BFA, 0.5mg/ml) 存在下に、Phorbol 12 Myristate 13 Acetate (PMA, 25ng/ml) と Ionomycin(1mg/ml) で刺激し37℃、7%CO<sub>2</sub> incubator内で4時間培養する。刺激後のリンパ球を"FASTIMMUNEサイトカインシステム" (日本ベクトンディッキンソン社) を用いて細胞内サイトカインを染色しフローサイトメトリーで3カラー解析した。細胞膜表面抗体としてPerCP標識抗CD3抗体を、細胞内サイトカインとしてFITC標識抗IFN- $\gamma$ 抗体およびPE標識抗IL-4抗体を用いた。

#### C 研究結果

1) IFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球 (図1)

①胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血IFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球は、健常小児の末梢血に比し著明に減少していた。

②胎内感染児の臍帯血IFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリン

パ球の増加がみられた。

③胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血IFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球は、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血に比しやや増加していた。

## 2) IL-4産生CD3陽性Tリンパ球 (図2)

①胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血のIL-4産生CD3陽性Tリンパ球は、健常小児の末梢血に比しやや減少していた。

②胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血のIL-4産生CD3陽性Tリンパ球は、胎内感染がなくアレルギーに家族歴のない児の臍帯血に比し増加していた。

③胎内感染児の臍帯血では、重症例1例のみ高値を示した。

## D 考察

Tリンパ球はその産生するサイトカインによってIFN- $\gamma$ などを産生するTh1タイプとIL-4などを産生するTh2タイプに分類され、このTh1/Th2バランスの面から疾患ないし病態の分類がなされている<sup>3)</sup>。アトピー性皮膚炎患者の末梢血ではIFN- $\gamma$ 産生Tリンパ球の減少がみられたとの報告<sup>5)</sup>や、IL-4産生

CD4陽性Tリンパ球とCD8陽性Tリンパ球が共に増加していたとの報告<sup>6)</sup>がみられる。一方気管支喘息患者では、末梢血Tリンパ球のサイトカイン産生Tリンパ球は健常者と同様にIL-4産生Tリンパ球は少数で、気管支肺胞洗浄液中のIFN- $\gamma$ 産生Tリンパ球は増加していたとの報告もある<sup>7)</sup>。このようにアレルギー疾患ではTh2タイプの反応が優位と考えられているが、それらの報告は必ずしも一致しない。

研究者は、臍帯血のサイトカイン産生Tリンパ球について検討した。IFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球は、健常小児の末梢血で最も高く、以下胎内感染児の臍帯血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血の順だった。また、IL-4産生CD3陽性Tリンパ球は、高い順に胎内感染例1例の臍帯血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のある児の臍帯血、健常小児の末梢血、胎内感染がなくアレルギーの家族歴のない児の臍帯血だった。少数例の検討であるが、臍帯血におけるサイトカイン産生Tリンパ球の解析は、胎内感染の示標およびアレルギー疾患の予知に有用である可能性が示唆された。現在、臍帯血を検査しえた児のその後のアレルギー

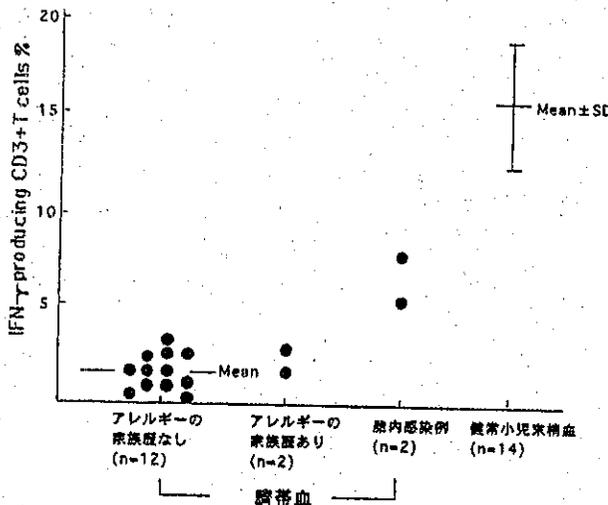


図1 臍帯血および健常小児末梢血のIFN- $\gamma$ 産生CD3+Tリンパ球  
数値はCD3+Tリンパ球におけるIFN- $\gamma$ 産生CD3+Tリンパ球の  
パーセンテージを示す。

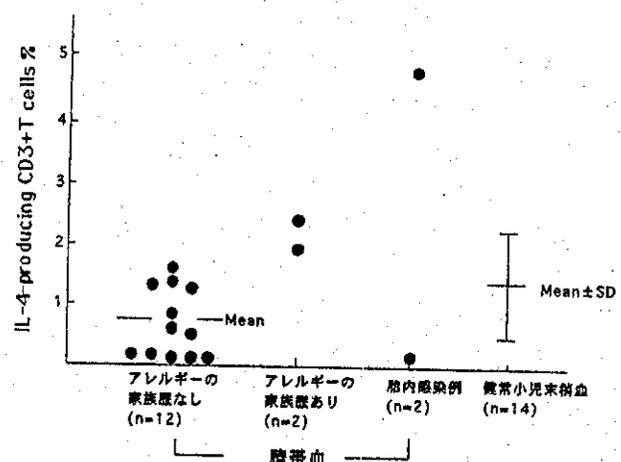


図2 臍帯血および健常小児末梢血のIL-4産生CD3+Tリンパ球  
数値はCD3+Tリンパ球におけるIL-4産生CD3+Tリンパ球の  
パーセンテージを示す。

疾患の発症について追跡中である。

臍帯血では、成人の末梢血に比し、IL-4およびIFN- $\gamma$ 産生Tリンパ球の減少がみられる<sup>8)</sup>。今回の検討においても、乳幼児の末梢血に比して、胎内感染のない児の臍帯血のIFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球の減少がみられた。しかし胎内感染児ではIFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球は明らかに増加しており、本法により胎内感染の示標としての有用性は高い。しかしながら、アレルギーの家族歴のある児の臍帯血IL-4産生CD3陽性Tリンパ球は、アレルギーの家族歴のない児の臍帯血に比しやや増加していたが、その差は顕著ではない。この点についてはアレルギーの家族歴があっても胎内感染が不十分の症例と考えるべきか、あるいは、IL-4産生CD3陽性Tリンパ球はIFN- $\gamma$ 産生CD3陽性Tリンパ球に比し少数で検出しにくいと考えられる。さらに多数例での解析が必要である。

ついで、アレルゲン特異的Tリンパ球の解析として、ダニ刺激による抗原特異的サイトカイン産生Tリンパ球について検討した。ダニ刺激は数日間のリンパ球培養が必要である。細胞内サイトカイン染色法では、細胞内に産生されたサイトカインをとどめるBFAの効果は数時間のため、ダニ刺激によるサイトカイン産生Tリンパ球の解析は行えなかった。

成人のTリンパ球ではCD45RO抗原を有するメモリーTリンパ球が多くのサイトカインを産生する。臍帯血では逆にCD45RA抗原を有するナイーブTリンパ球が多くのサイトカインを産生する<sup>8)</sup>。今後はCD3、CD4、CD8陽性メモリーないしナイーブTリンパ球の各サブセットについてのサイトカイン産生細胞の検討も必要となろう。

E 文献

- 1) Zeiger RS: Development and prevention of allergic disease in childhood. *Allergy, principles and practice*, p1137-1171, Mosby-Year book Inc, St. Louis, 1993
- 2) Furukawa S et al: Neonatal blood IgE levels on filter paper as indicators of atopic disease. *Allergy* 45: 375-381, 1990
- 3) Mosman TR et al: The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 17: 138-146, 1996
- 4) Jason J et al: Single-cell cytokine profiles in normal humans: comparison of flow cytometric reagents and stimulation protocols. *J Immunol Methods* 207: 13-22, 1997
- 5) Jung T et al: Decreased frequency of interferon- $\gamma$ - and interleukin-2-producing cells in patients with atopic diseases measured at the single cell level. *J Allergy Clin Immunol* 96: 515-527, 1995
- 6) Nakazawa M et al: Predominance of type 2 cytokine-producing CD4+ and CD8+ cells in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 99: 673-682, 1997
- 7) Krug N et al: T-cell cytokine profile evaluated at the single cell level in BAL and blood in allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14: 319-326, 1996
- 8) Chalmers IMH et al: Intracellular cytokine profile of cord and adult blood lymphocytes. *Blood* 92: 11-18, 1998

# アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）

—母胎血、臍帯血、羊水における免疫学的背景の検討—

分担研究者 山本 和子

島根医科大学医療情報学教授

小児、特に乳幼児のアレルギー疾患の発症予防を検討するにあたり、アトピー疾患を有する母親と有しない母親とにおいて免疫アレルギー学的背景にどのような差異があるか否かを検討し、これらの母親が妊娠した場合、その母親の胎内環境が胎児にどのような影響を与えるか重要であるので調査した。

IgE高値群 ( $\geq 100$  IU/ml) と低値群 ( $< 100$  IU/ml) との間で母体血ではIgAのみが有意差 ( $P \leq 0.05$ ) を認めた。臍帯血ではIgGとIgMに有意差 ( $P \leq 0.05$ ) を認め、抗原特異抗体との関連性を示唆する成績をえた。

## A. 研究目的と研究方法

従来の体外環境因子に加え、小児アレルギー疾患では母親の胎内環境因子が重要であり、特に小児アレルギー疾患の予防を考える場合無視しえぬ要因である。胎児は羊水中で発育しこれを1日 500ml以上も嚥下しており、羊水の胎児皮膚、消化管に与える影響は大きい。しかし、羊水が胎児に及ぼす影響を免疫アレルギー学的に検討した研究は内外共に稀有である。そこで本年度はアトピー素因を有する母体血IgE高値群とアトピー素因を有しない母体血IgE低値群において、母体血とその児の臍帯血、その分娩時の羊水においてIgG、IgA、IgM、C3、C4、CH50を測定し、これらがアトピー素因の有無によ

って差異があるか否かを検討した。

対象はアトピー素因陽性の母体血、その羊水とその児の臍帯血12組、アトピー素因陰性の同様の18組である。

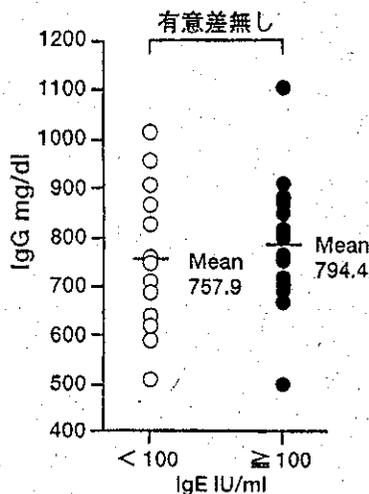
## B. 研究結果

母体血IgE値は高値群 100 IU/ml以上、低値群 100 IU/ml以下とした。

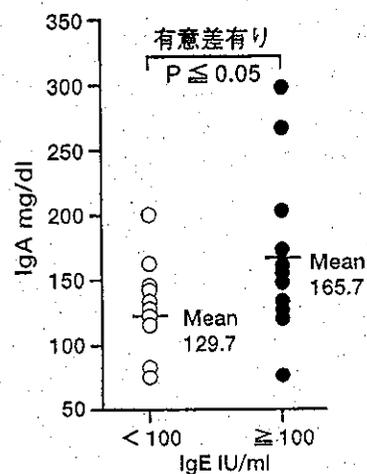
母体血IgG値 (mg/dl) 幾何平均値は高値群794.4 mg/dl, 低値群759.9mg/dl  $F = 1.20$ で有意差は認めなかった(図1)。

母体血IgA値は高値群165.7mg/dl, 低値群129.7 mg/dl  $F = 3.26$ で有意差を認めた(図2)。

IgE高値群と低値群における母体血中IgGの有意差検定

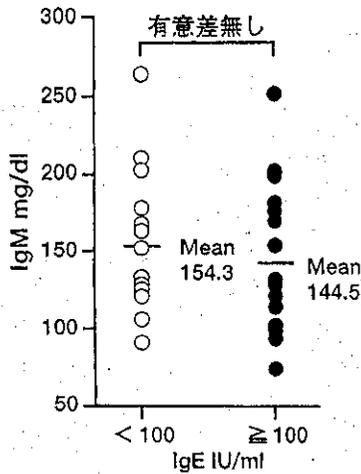


IgE高値群と低値群における母体血中IgAの有意差検定



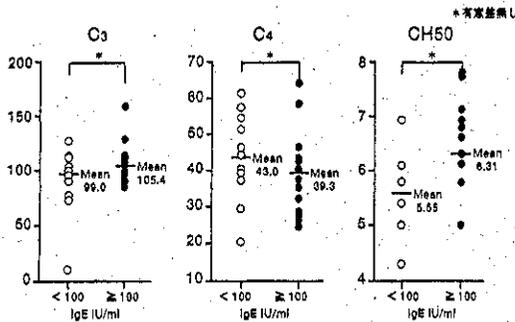
母体血IgM値は高値群144.5mg/dl, 低値群154.3 mg/dl F = 1.04で差がなかった(図3)。

IgE 高値群と低値群における母体血中IgMの有差検定



母体血C3, C4, CH50ではいずれも両群間に有意差は認めなかった(図4)。

IgE 高値群と低値群における母体血中C3, C4, CH50の有差検定

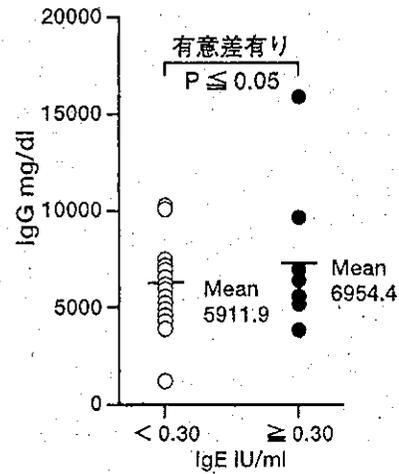


臍帯血IgGはF = 3.60(図5), IgMもF = 4.16(図6)でいずれも高値群が高く有意差を認めたが, IgAはF = 1.07(図7), そしてC3, C4, CH50はいずれも両群間に差が認められなかった(図8)。

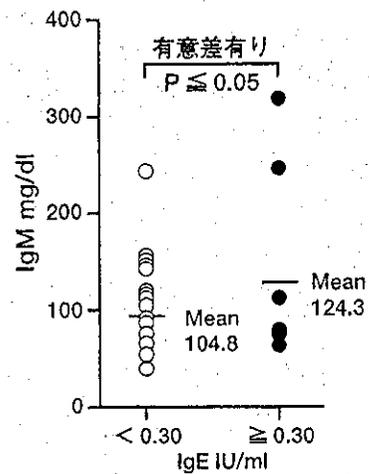
IgGおよびIgMが有意差(P ≤ 0.05)を認め, 抗原特異抗体との関連性について示唆される成績であった。

羊水においてはIgGには有意差を認めず, IgA, IgMが有意差(P ≤ 0.05)を認めた(図9)。

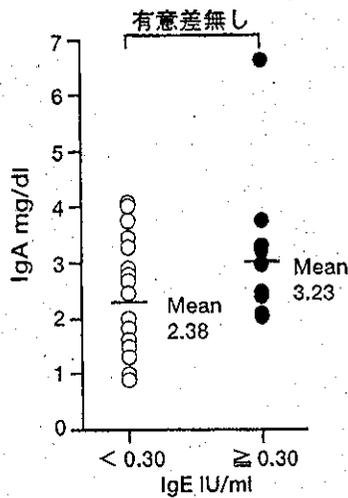
IgE 高値群と低値群における臍帯血中IgGの有差検定



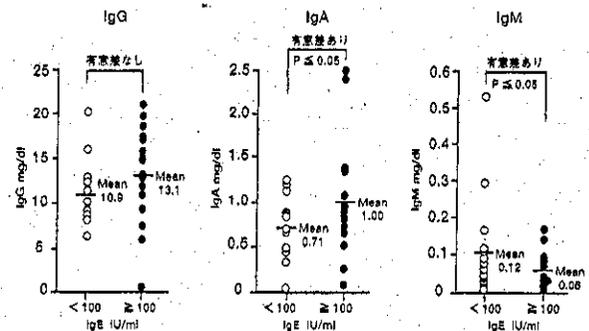
IgE 高値群と低値群における臍帯血中IgMの有差検定



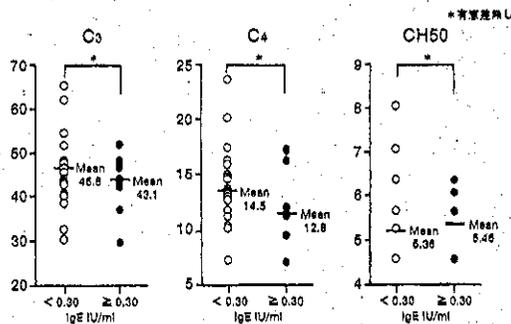
IgE 高値群と低値群における  
臍帯血中 IgA の有意差検定



IgE 高値群と低値群における  
羊水名中の IgG, IgA, IgM の有意差検定



IgE 高値群と低値群における  
臍帯血中 C3, C4, CH50 の有意差検定



C. まとめ

胎内環境因子の検討を、臍帯血と羊水中の免疫グロブリンおよび補体と、母体血総IgEとの関係から有意差検定 (F検定) を用いて行った。

- 母体血の総IgE高値群 (≥100 IU/ml) と低値群 (<100 IU/ml) との間において母体血中のIgG, IgM, C3, C4, CH50には有意差を認めず, IgAのみが有意差 (P ≤ 0.05) を認めた。
- 臍帯血の総IgE高値群 (≥0.30 IU/ml) と低値群 (<0.30 IU/ml) との間において、臍帯血中のIgA, C3, C4, CH50には有意差を認めず, IgGおよびIgMが有意差 (P ≤ 0.05) を認め、抗原特異抗体との関連性について示唆される成績であった。
- 母体血の総IgE高値群 (≥100 IU/ml) と低値群 (<100 IU/ml) との間において、羊水中のIgGには有意差を認めず, IgA, IgMが有意差 (P ≤ 0.05) を認め、抗原特異抗体との関連性が示唆された。

アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）  
—乳児期早期卵白アレルギー児における卵白特異IgGと subclass の推移—

分担研究者 藤本 昭

大阪友誼会病院産婦人科部長

母児免疫を考える場合、IgGは胎盤を経由して母親より胎児に移行する唯一の抗体である。母親血清について筆者らの検討では、吸入抗原であるチリダニ、鶏卵、牛乳などの特異IgG抗体はほぼ100%の母親がこれを保有している。しかし羊水中にはこれら食物特異IgG抗体は検出される例があるが、チリダニ特異IgG抗体は一例も検出されていない。これらの成績は母親より移行した食物IgG抗体による好酸球などのFcR II保有細胞への感作の成立、その後の乳幼児の摂取する経口経母乳食物抗原による発症が考えられる。

この見地から乳児期早期よりの卵白アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎児について卵白アルブミンと卵白ムコイドの特異IgG抗体について測定し、1～2年にわたりその推移を検討した。

卵白アレルギー発症乳児では発症時OA-Spec IgG, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, とOM-Spec IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> 高値例が多く、症状改善と共に低下する症例が過半数を占めた。

A. 研究目的

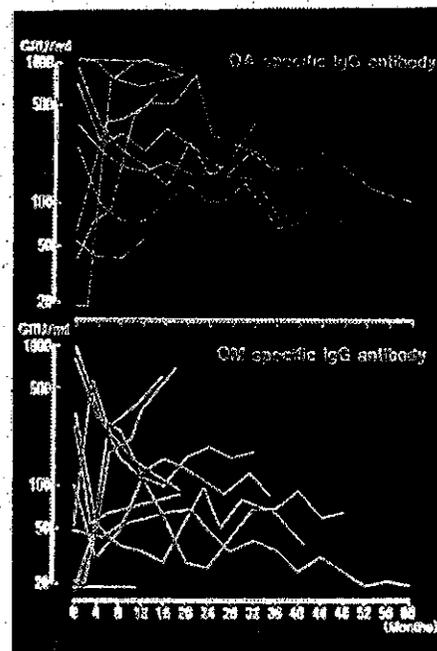
アレルギー疾患の発症予防は出来るだけ早期に新生児期より行うのが最も効果があると考えられる。新生児血、臍帯血、両親のアレルギー歴よりの検討で、著者らは母親にアレルギー歴があり、新生児血IgE値が0.5 u/ml以上の場合、high allergic risk newbornであり、3 u/ml以上の場合6歳までに85%がアレルギー疾患を発症するので、この値をアレルギー疾患発症の予測値として発表した。しかし臍帯血からは食物抗原特異IgE抗体は検出されず、特異IgG抗体は検出される。そして羊水中からは食物抗原特異IgG抗体は検出されているが、吸入抗原（チリダニ）特異IgG抗体は母親血からは全例検出されているにも関わらず1例も見出されていない。これらの成績は胎児期に成人とは異なりFcR IIの関与したIgG抗体による経胎盤感作が示唆され、出生早期よりみられる食物アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎の発症機序の解明と予防に役立つと考える。

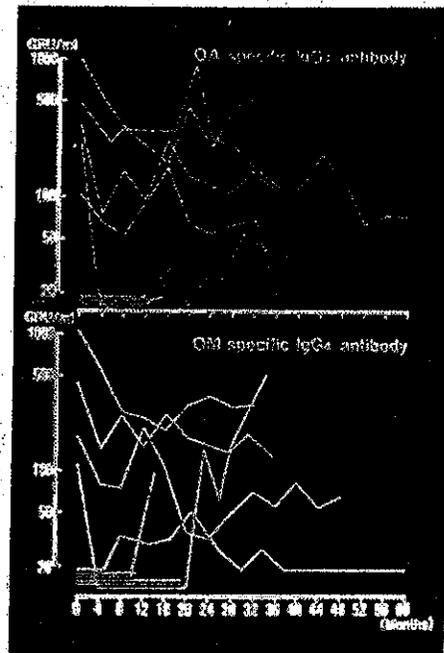
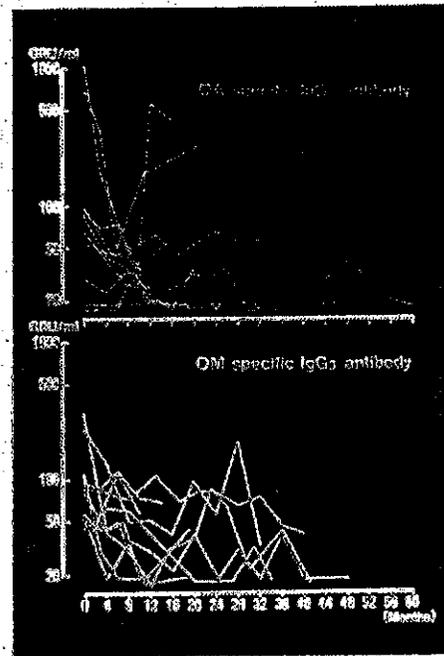
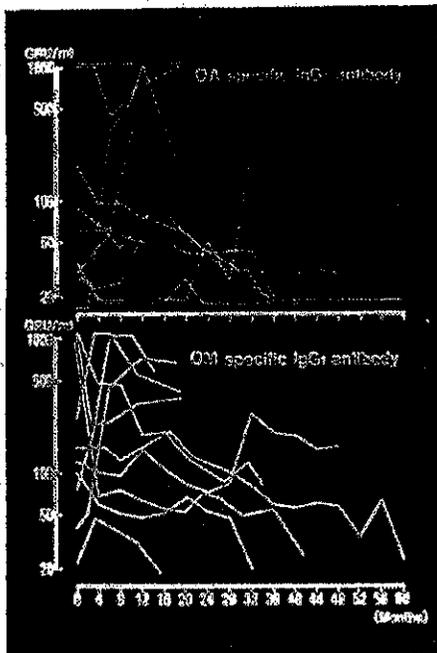
B. 研究方法と結果

このような見地から出生直後の乳児期早期より卵白アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎児10例について卵白アルブミン特異IgG抗体（以下 OA-spec IgG）と卵白ムコイド特異IgG抗体（OM-spec IgG）を測定し、4カ月に1回の採血で約2年間その推移を検討した。

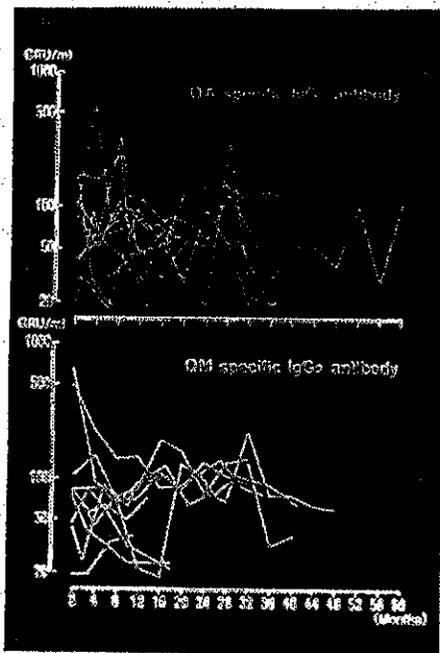
OA-spec IgGとそのsubclassでは20～1,000 GRU/

mlに分布し、症状改善例にはIgG, IgG<sub>1</sub>とIgG<sub>2</sub>が低下する症例が10例中6例に認められた（図1, 図2, 図3, 図4, 図5の各図上段）。





OM-spec IgGとそのsubclassの検討でも同様に症状改善例はIgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>の低下例が10例中7例に認められた。IgG<sub>4</sub>は一定の傾向は認められなかった(図1, 図2, 図3, 図4, 図5の各図下段)。



以上の成績は出生早期よりみられる食物アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎の発症に食物特異IgG抗体の関与が強く示唆された。

### C. まとめ(表1)

出生後早くより認められる乳幼児期の食物アレルギーに基づくアトピー性皮膚炎では、IgG抗体関与の免疫アレルギー反応に基づく発症が示唆された。

表 之 4

OA-spec. IgG	57	25	12
IgG	3	1	0
IgG1	7	0	0
IgG2	7	0	0
IgG3	0	0	0
IgG4	0	0	0
OM-spec. IgG			
IgG	7	1	2
IgG1	7	0	0
IgG2	7	0	0
IgG3	8	0	0
IgG4	4	0	0
DP-spec. IgG			
IgG	0		2
IgG1	0		2
IgG2	5		5
IgG3	0		4
IgG4			

一定傾向に乏しい

## アレルギー疾患の予知と予防（感作発症に及ぼす胎内環境因子と体外環境因子）

—アトピー素因と出生後の環境因子とアレルギー疾患の発症について—

分担研究者 谷口 恭治

済生会茨木病院小児科部長

最近の小児アレルギー疾患の増加の原因はアトピー素因をもつ家族において、環境因子の変化がこれまで発症しなかったアトピー素因をもつ児においても発症するようになったのではないかと考えられる。

母体血、臍帯血のIgEを測定し、母親の妊娠中のライフスタイル、環境因子などを調査した母児の中で2年以上を経過した症例を対象として、出生後の環境因子と気管支喘息と喘鳴の発症について、ATS-DLT日本改訂版を用いて調査し、さらに喘息と共に Major Allergic Diseasesといわれるアレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎について調査を行った。対象189例中気管支喘息4例(2.2%)、喘鳴児16例(8.47%)が認められ、この中7例において臍帯血IgEが3.0 u/ml以上、母親の血清IgE値も400 u/ml以上の高値を示した。

児の2歳までの呼吸器感染歴、同居家族の喫煙、ダート型暖房器具使用、母親を含め家族のアトピー疾患歴陽性などが喘息児群、喘鳴発症群に多く、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎も同様で、乳幼児期アトピー疾患発症における遺伝要因と環境要因の相互作用の中で出生後の環境要因の影響が乳幼児期早期より認められることが判明した。

### A. 研究目的

小児アレルギー疾患は、アトピー素因といわれる遺伝因子と環境因子に大別される。そしてこの二大要因の複雑な相互作用によって発症すると考える。

そして最近の小児アレルギー疾患の増加は、アトピー素因をもつ家族の増加のみでは説明は不可能であり、これらの家族に対する環境因子の変化が、これまで発症しなかったアトピー素因をもつ小児においても発症するようになったのではないかと考えられるので、アトピー素因の有無と出生後の環境因子と気管支喘息および気管支喘息前段階と考えられる喘鳴児の発症との関係を明らかにするため次の検討を行った。

### B. 研究方法

1995年以降に出生した新生児の臍帯血IgE値と母親のIgE値を測定した。そして妊娠中の母親のライフスタイル、環境因子などを調査用紙を用いて調査した（藤本昭班員が用いたのと同じの調査用紙を用いた）。次にこれらの母児の中で2年以上を経過した症例を対象としてATS-DLT日本改訂版を郵送し、出生後2歳までの気管支喘息と喘鳴の発症と環境因子とアトピー素因との関係について調査し、次いでアレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎についても検討した。

### C. 研究結果

郵送したATS-DLT日本改訂版に対して全項目についてもれなく解答した189例を今回は対象とした。

対象189例中気管支喘息児4例(2.2%)、喘鳴児16例(8.47%)が認められた。

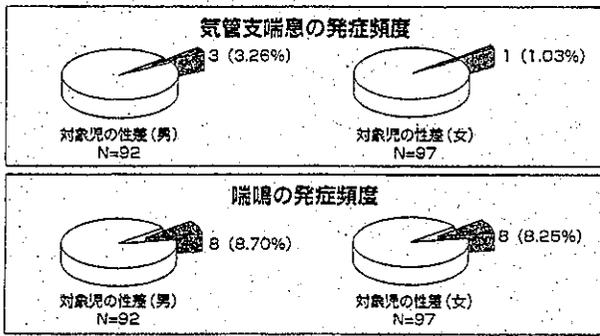
189例中7例(喘息児4例を含む)において臍帯血IgE値が3.0 u/ml以上、母親の血清IgE値も400 u/ml以上の高値を示した。

性差と気管支喘息児および喘鳴児の発症頻度をみると気管支喘息児は男児92例中3例(3.26%)、女児は97例中1例(1.03%)と男児に発症例が多く認められた。喘鳴発症児は男児92例中8例(8.70%)、女児97例中同じく8例(8.25%)で差がみられなかった(図1)。

乳幼児期栄養と気管支喘息児および喘鳴児の発症頻度では母乳群95例中気管支喘息の発症は0、人工栄養児32例中2例(6.45%)、混合栄養児61例中2例(3.28%)で人工栄養児群に発症頻度が高く認められた。喘鳴児はこの反対で母乳栄養児群10.53%、人工栄養児群9.38%、混合栄養児群4.92%の発症頻度であり、これらの喘鳴群から今後気管支喘息の発症がどのようにみられるか、更なる追跡調査を行う予定である(図2)。

二親等までの家族のアトピー歴の有無と気管支喘息児および喘鳴児の発症頻度では(図3)、気管支

性差と気管支喘息および喘鳴の発症頻度



栄養と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

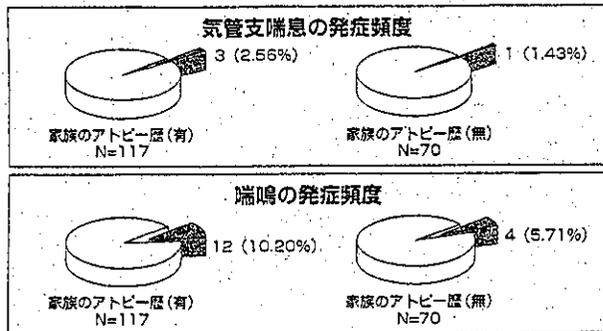
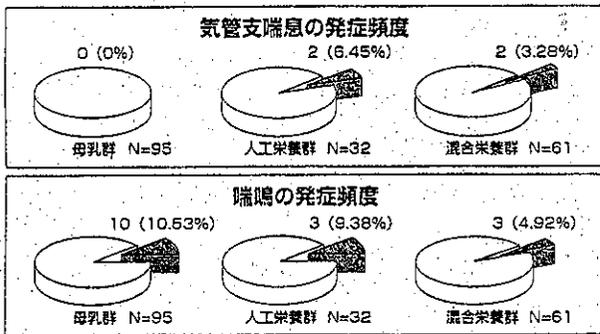


図3 家族のアトピー歴と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

喘息児はアトピー素因陽性群 117例中 3例 (2.56%)、アトピー素因陰性群 70例中 1例 (1.49%) であり、喘鳴児もアトピー素因陽性群 117例中 12例 (10.20%)、アトピー素因陰性群 70例中 4例 (5.71%) でいずれもアトピー素因陽性群に高い発症頻度を示した。

家族の major allergic diseases (気管支喘息, アレルギー性鼻炎, アトピー性皮膚炎) の発症歴と気管支喘息児, 喘鳴児の発症頻度を検討した。家族

の気管支喘息既往歴陽性者は 31例が認められ, この中から気管喘息児は 1例 (3.23%), 喘鳴児は 2例 (6.45%) であり, 家族の気管支喘息既往歴陰性者 158例中の気管支喘息児発症 3例 (1.90%), 喘鳴児発症 14例 (8.88%) であり有意差は認められなかった (図 4)。

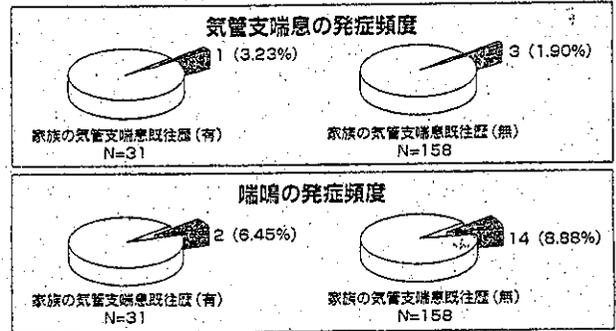


図4 家族の気管支喘息既往歴と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

家族のアレルギー性鼻炎既往歴陽性者は 84例, 陰性者は 105例であった。この中から陽性群からの喘息児の発症は 2例 (2.38%), 陰性群からは 2例 (1.90%) と差は認められなかったが, 喘鳴児の発症では陽性群 10例 (11.90%) で, 陰性群 6例 (5.71%) に比し高い発症率を示した (図 5)。

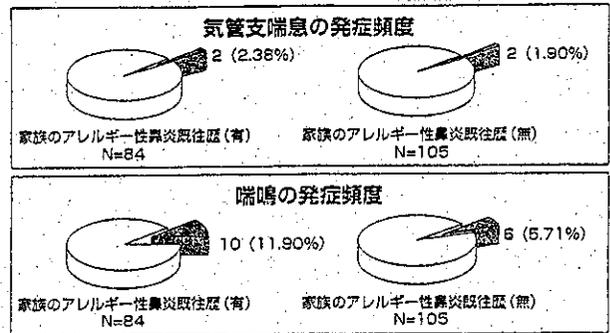


図5 家族のアレルギー性鼻炎既往歴と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

家族のアトピー性皮膚炎既往歴陽性者は 43例, 陰性者は 146例であった。喘息児の発症は陽性群 43例より 2例 (4.65%) と陰性群 146例より 2例 (1.37%) より高く, 喘鳴児発症も陽性群より 5例 (11.63%) で陰性群 11例 (7.53%) よりも高い発症率を示した (図 6)。

これは IgE 抗体の関与する I 型アレルギー反応に基づく疾患である急性じんま疹においても, 二親等

までの急性じんま疹既往歴陽性者の児に気管支喘息、喘鳴発症が有意に高い成績より首肯される(図7)。

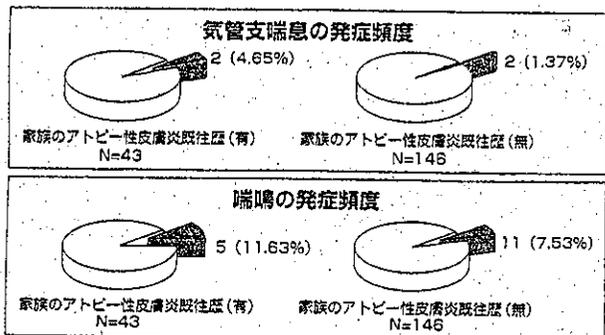


図6 家族のアトピー性皮膚炎既往歴と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

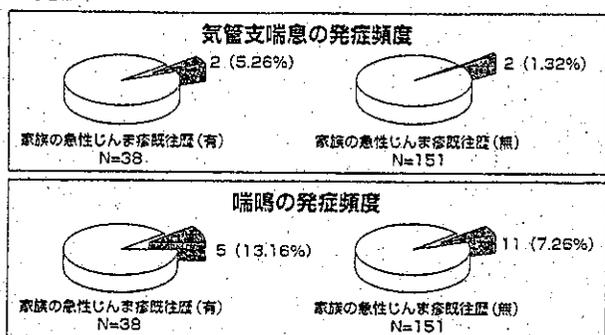


図7 家族の急性じんま疹既往歴と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

次に出生後の環境因子と気管支喘息、喘鳴発症との関係を検討した。出生後2年間の環境因子の影響であるが、最も注目されるのは2歳迄の呼吸器疾患既往歴で、既往歴陽性児31例中気管支喘息発症3例(9.68%)、喘鳴発症9例(29.03%)と既往歴陰性群での喘息発症1例(0.65%)、喘鳴発症3例(4.56%)に比して各々有意に高い頻度を示した。乳幼児期の呼吸器感染症が気管支喘息と喘鳴発症に密接に関わっていることが示された(図8)。

暖房器具では dirty type 使用家庭の小児に喘鳴発症頻度が有意に高い成績がえられ、家庭内環境因子として暖房器具より発生するCO, CO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>などの高い関与が示唆された(図9)。

家族内の喫煙では気管支喘息発症群では喫煙有の家庭より3例(2.83%)、喫煙無の家庭では1例(1.19%)と喫煙有家庭に高い頻度がみられたが、喘鳴群では反対の成績であり、更なる追跡調査を行いたい(図10)。

次にアトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎の発症

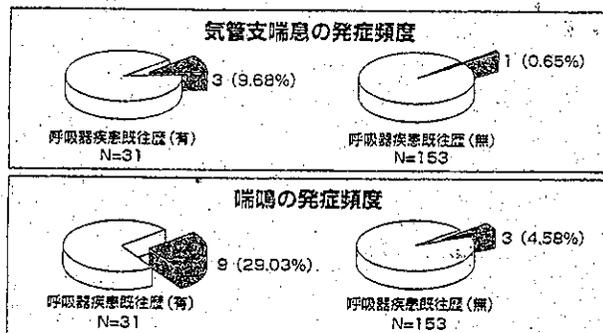


図8 呼吸器疾患既往歴と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

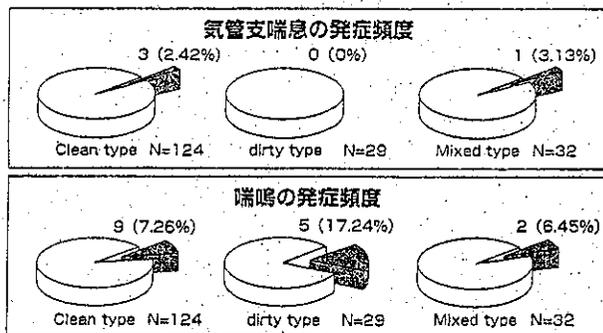


図9 暖房器具の種類と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

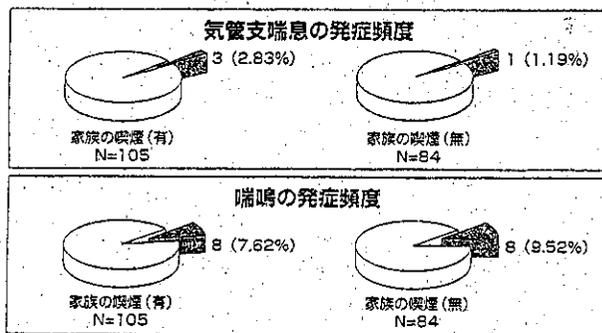


図10 家族の喫煙と気管支喘息および喘鳴の発症頻度

について調査した。

19例のアトピー性皮膚炎児はすべて二親等までの家族に major allergic diseases 既往歴が陽性であった。

アレルギー性鼻炎が8例(この内1例は喘鳴、アトピー性皮膚炎合併)認められ、いずれも家族のアレルギー歴陽性であった。

これら2疾患の乳幼児期の発症にはアトピー素因が関わっていることが示された。

#### D. 結 論

臍帯血IgE値と母体血IgE値を測定し、次にアトピー素因の有無（二親等までの家族のアレルギー疾患発症歴）をATS-DLT日本改訂版にて調査し、2歳児における気管支喘息、喘鳴（喘息予備群と考えられる）およびアレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎の発症を検討した。発症にはアトピー素因が強く関わっているが、出生後2年間の環境因子として、呼吸器感染症、dirty typeの暖房器具使用、乳児期の栄養、同居家族の喫煙歴が喘息発症群に有意に高く、加えて喘鳴群では乳児期の呼吸器感染既往歴が有意に高く、喘息発症における遺伝要因に加えて環境要因の関わりが乳幼児期早期より認められる成績をえた。