

84:1453-8 1999

- 5) Muramatsu Y, Fukushima K, Iino K,
Totsune K, Takahashi K, Suzuki T,
Hirasawa G, Takeyama J, Ito M, Nose M,
Tashiro A, Hongo M, Oki Y, Nagura H,
Sasano H. Urocortin and
corticotropin-releasing factor receptor
expression in the human colonic mucosa.
Endocrinology (投稿中)

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
（分担）研究報告書

ストレス・消化管運動とアレルギー・消化管免疫に関する研究

分担研究者 福土 審 東北大学大学院医学系研究科教授

研究協力者 半田昌子 東北大学医学部附属病院心療内科研究生
太田達郎 東北大学医学部附属病院心療内科大学院生
野村泰輔 東北大学医学部附属病院心療内科講師

研究要旨

過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome: IBS)は、腹痛あるいは腹部不快感と便秘・下痢などの便通異常が関連しながら一定期間持続する下部消化管の機能的疾患である。IBSは摂食後に消化器症状が増悪することが多く、食物アレルギーの潜在的役割が注目されている。IBSは頻度が高く、医療費に及ぼす影響が大きく、患者の quality of lifeを障害するため、IBSと食物アレルギーの関連を解明することは、わが国の厚生行政上、極めて重要である。IBS消化管粘膜では食物アレルギー類似の微小炎症が存在すると仮説づけ、これを検証した。対象はRome基準を満たすIBS患者8例であり、消化器症状のない健常者7例を対照とした。大腸前処置12時間後、colonoscopyにより、S状結腸より粘膜を生検した。検体をformaldehyde溶液にて素早く固定し、hematoxylin-eosin染色を施行した。また、macrophageと好酸球の免疫染色を行った。内視鏡所見では、対照群とIBS群の差異はなかった。HE染色像では、IBS群の粘膜固有層の細胞浸潤パターンは、対照群とは異なっていた。macrophage免疫染色では、対照群においてmacrophageが上皮下の粘膜固有層に整然と配列する像が認められた。しかし、IBS群では上皮下の配列が失われ、粘膜固有層内に散在していた。対照群の大腸粘膜固有層内macrophage数は 36.6 ± 4.7 であるのに対し、IBS群のmacrophage数は 13.2 ± 1.7 であり、有意な減少が見られた($p = 0.0012$)。好酸球免疫染色では、対照群の好酸球は粘膜固有層に散在していた。しかし、IBS群では、粘膜固有層内に散在する好酸球数が増加していた。対照群の大腸粘膜固有層内好酸球数は 1.7 ± 0.3 であるのに対し、IBS群の好酸球数は 4.9 ± 1.4 であり、有意な増加が見られた($p = 0.0163$)。食物アレルギーは消化管免疫異常であり、ストレスが脳腸相関により消化管運動と知覚に影響するIBSとは無関係と考えられて来たが、本研究より、両者の関連が示唆される。

A. 研究目的

過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome: IBS)は、腹痛あるいは腹部不快感と便秘・下痢などの便通異常が関連しながら一定期間持続する下部消化管の機能的疾患である¹⁾。IBSではストレス負荷とCRH投与で消化管運動とACTH分泌が亢進し¹⁾、脳腸関連の病態を呈する²⁾。更に、IBSは摂食後に消化器症状が増悪することが多く、食物アレルギーの潜在的役割が注目されている。IBSは頻度が高く、医療費に及ぼす影響が大きく、患者のquality of lifeを障害するため、IBSと食物アレルギーの関連を解明することは、わが国の厚生行政上、極めて重要である。前年度の本研究班においては食物抗原刺激を遮断する絶食療法でIBSの症状が改善することを明らかにした。本年度は、IBS消化管粘膜では食物アレルギー類似の微小炎症が存在すると仮説づけ、これを検証した。

B. 方法

対象はRome基準を満たすIBS患者8例である。消化器症状のない健常者7例を対照とした。大腸前処置12時間後、無投薬下にcolonoscopeを施行した。内視鏡操作は無痛的に行い、肛門縁より30cm口側のS状結腸より、内視鏡による擦搔・吸引の物理刺激を全く受けていない粘膜を生検した。検体をformaldehyde

溶液にて素早く固定し、paraffin包埋した後、薄切し、hematoxylin-eosin染色を施行した。また、trypsin処理後、一次抗体としてCD68あるいはBMK-13、二次抗体としてbiotin化抗rabbit IgG抗体を用い、horse radish peroxydase標識streptavidin法で発色させ、macrophageと好酸球の免疫染色を行った。内視鏡所見を定性評価し、組織標本は主任研究者がHE染色像を定性評価した後、免疫染色標本を用いて400倍率で1標本の5視野を無作為に選び、細胞数(count/high power field)を計測した。統計学的にはMann-Whitney U-検定で $p < 0.05$ を有意とした。

C. 結果

内視鏡所見では、対照群とIBS群の差異はなかった。HE染色像では、IBS群の粘膜固有層の細胞浸潤パターンは、対照群とは異なっていた。CD68抗体によるmacrophage免疫染色では、対照群においてmacrophageが上皮下の粘膜固有層に整然と配列する像が認められた。しかし、IBS群では上皮下の配列が失われ、粘膜固有層内に散在していた。対照群の大腸粘膜固有層内macrophage数は 36.6 ± 4.7 であるのに対し、IBS群のmacrophage数は 13.2 ± 1.7 であり、有意な減少が見られた($p = 0.0012$)。BMK-13抗体による好酸球免疫染色で

は、対照群の好酸球は粘膜固有層に散在していた。しかし、IBS群では、粘膜固有層内に散在する好酸球数が増加していた。対照群の大腸粘膜固有層内好酸球数は 1.7 ± 0.3 であるのに対し、IBS群の好酸球数は 4.9 ± 1.4 であり、有意な増加が見られた ($p = 0.0163$)。両群を合わせた回帰分析ではmacrophage数と好酸球数は $r = -0.52$, $p = 0.0555$ であり、逆相関傾向を示した。

D. 考察

ストレス関連疾患であるIBSの大腸粘膜において、macrophage barrierが破綻し、好酸球が増加している本研究の結果は、Th1/Th2バランスがTh2優位型の微小炎症が存在することを示唆している。観察された現象の原因として考えられるのは、IBS消化管粘膜内で増加していることが既に報告されているmast cellの役割である。mast cellはCRHを中心とする脳由来の信号によって脱顆粒し、条件付けされ、筋層間神経叢機能に影響するhistamine、5-HT、好酸球浸潤を招くcytokine、chemokineを放出する。ストレスと末梢血でのCRH上昇は上皮透過性を亢進させる。これらはいずれも抗原の生体内侵入を容易にする要因となるものであり、IBSの病態における食物アレルギー、もしくは消化管粘膜微小炎症の役割³⁾が示唆される。

E. 結論

食物アレルギーは消化管免疫異常であり、ストレスが脳腸相関により消化管運動と知覚に影響するIBSとは無関係と考えられて来た。しかし、本研究からは両者の関連が示唆される。ストレスが明瞭な食物アレルギーの発症や増悪に影響するか否かは、今後検証すべき重要な課題である。

F. 業績・文献

- 1) Fukudo S, Nomura T, Hongo M. Impact of corticotropin-releasing hormone on gastrointestinal motility in normal subjects and patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 42: 845-849, 1998
- 2) Nomura T, Fukudo T, Matsuoka H, Hongo M. Abnormal electroencephalogram in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 34: 478-484, 1999
- 3) Kano M, Fukudo S, Hongo M. Changes in gastrointestinal motility, visceral perception and minor mucosal inflammation by fasting therapy in a patient with irritable bowel syndrome. *Psychosom Med* 61: 99, 1999

鶏卵アレルギー患者末梢血単核球IL-4産生のペプシン処理オボムコイドによる修飾

宇理須厚雄

藤田保健衛生大学医学部小児科 助教授

研究要旨； I型アレルギーである鶏卵アレルギーとIV型アレルギーである金属アレルギーを合併した症例の末梢血単核球からのサイトカイン産生は、オボムコイド(OM)ではTH2サイトカインであるIL-4が、金属ではTH1サイトカインであるIFN- γ が産生された。これは、鶏卵アレルギーのTH2優位を是正するためには、抗原特異的なアプローチの重要性を示唆している。そこで、IgE結合能が有意に減弱するまで低分子化したpepsin-OMによる鶏卵アレルギー患児末梢血単核球からのサイトカイン産生を検討した結果、未処理のOMと比べるとIFN- γ の産生には差がなかったが、IL-4産生は有意に低下した。以上から、pepsin-OMが鶏卵アレルギーの寛解導入に有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

鶏卵アレルギー患者の末梢血単核球は鶏卵中の主要アレルゲンの1つであるオボムコイド(OM)の刺激によるサイトカインの産生パターンはTH2サイトカインであるIL-4の産生がTH1サイトカインであるIFN- γ の産生よりも優位である。TH2優位のサイトカイン産生パターンを正常化できれば鶏卵アレルギーの寛解導入が期待できる。鶏卵アレルギー患児末梢血単核球細胞からのIL-4とIFN- γ の産生をペプシン処理によって低分子化したオボムコイド(pepsin-OM)が未処理OMと比べてどのように修飾するか検討した。

B. 研究方法

(1)対象；

鶏卵アレルギーと金属(ニッケル、コバルト)アレルギーを合併した小児1名(年齢10歳、男)と鶏卵アレルギー児7名(年齢；4歳~14歳、男：女=4：3)(表1)。

(2)pepsin-OMの作製；

OM(10mg/ml)をinsoluble typeのpepsin(Sigma Co)(濃度5、25、50、250、500Units/ml)で37°C、5時間処理後、遠心して上清を回収することによってinsoluble typeのpepsinを分離除去することによって作製した。pepsin-OMの低分子化の程度はWide-PAGE miniゲルによるSDS-PAGEで確認した。pepsin-OMのIgE結合能は上記鶏卵アレルギー症例の血清を用いて未処理OMを固相としたRAST inhibitionによって検討した。

(3)末梢血単核球培養と培養上清中サイトカイン測定；

鶏卵アレルギーと金属アレルギーを合併した患

児末梢血単核球とOM(抗原濃度0.05、0.5、5.0、50、500 μ g/ml)を10%FCS加RPMI 1640中で7日間、37°C、5%CO₂の条件下で培養した。金属抗原(コバルト、ニッケル、クロム；抗原濃度；0.5、5.0、50 μ M/L)の場合は20%自己血漿加RPMI 1640中で4日間培養した。7名の鶏卵アレルギー患児末梢血単核球はOMあるいはpepsin-OMで刺激した。培養上清中のIL-4、IFN- γ の測定はELISA法で測定した。

(4)統計処理；

統計処理は、ANOVA、Fisher's Protected Least Significant Differenceで行った。

C. 研究結果

鶏卵アレルギーと金属アレルギーの患者単核球からのサイトカイン産生はOM刺激ではIL-4がIFN- γ と比べると優位であった(表2)。一方、48時間貼布試験で陽性であったニッケルとコバルトに対してはIFN- γ が優位に産生されたが、陰性であるクロムに対してはIL-4とIFN- γ 両者とも産生されなかった(表3)。

pepsin-OMのIgE結合能は、pepsin濃度が増加するに従い有意な低下を示した(表4)。SDS-PAGEでもpepsin-OMは低分子化していることが証明された。

鶏卵アレルギー児7名(表1)からのpepsin-OMによるIL-4産生は未処理OMで刺激した時と比較するとpepsin濃度が増加するに従い有意に低下したが(表5)、IFN- γ の産生は変化しなかった(表6)。

抗原濃度とサイトカインの産生との関連を見ると、患者によってその好適条件は異なっており、抗原濃度でIL-4とIFN- γ の産生に差はなかった

(表7、表8)。

D, 考察

IV型(遅延型)アレルギーが関与する金属アレルギーではTH1サイトカインであるIFN- γ が優位に産生されるが、IgE抗体が関与するI型アレルギーが主たる役割をなす鶏卵アレルギーではTH2サイトカインであるIL-4が優位に産生されることが両者のアレルギーを同時発症した症例で示めされた。

TH2優位の状態にある鶏卵アレルギーの治療を考える場合、全体のTH1/TH2バランスをTH1側へ偏倚させるのではなく、抗原特異的な修正が必要であることを示唆する。pepsin-OMによってTH1サイトカインであるIFN- γ 産生に対しては影響を与えず、TH2サイトカインであるIL-4産生だけを低下させることはpepsin-OMを用いた寛容誘導あるいはその維持の可能性が示唆された。

ペプシンは胃で産生される消化酵素の1つである。食物タンパク質はペプシンなど消化酵素によって分解され低分子化された後、体内に吸収され栄養源となる。食物アレルギーの観点では、消化酵素は食物抗原を低分子化することによって、そのアレルギー性を低減することができる。今回、ペプシンによって低分子化したOMがIFN- γ 産生には影響しないが、IL-4産生能は低下したことは、ペプシンのもう1つの役割として、鶏卵アレルギーにおいて特異的IgE抗体の低下、つまり、寛解誘導や誘導後の維持に役立っている可能性が示唆された。

本研究は末梢血単核球を用いた研究である。実際の腸管粘膜の免疫機構である腸管関連リンパ組織でも起こり得る現象なのか検討が必要である。

E. 結論

IgE結合能が有意に減弱するまで低分子化したpepsin-OMによる鶏卵アレルギー患児末梢血単核球からのサイトカイン産生を検討した結果、未処理のオボムコイドと比べるとTH1サイトカインであるIFN- γ の産生には差がなかったが、TH2サイトカインであるIL-4の産生は低下した。

F, 研究発表

1、論文発表

1, Nakase M, Usui Y, Alvarez-Nakase AM, Adachi T, Urisu A, et al; Cereal allergens: rice-seed allergens with structural similarity to wheat and barley allergens. Allergy. 53(46 Suppl):55-7,

1998.

2, 宇理須厚雄; 鶏卵、編著; 上田伸男、食物アレルギーがわかる本、日本評論社、69-74, 1999.

3, 安藤仁志、徳田玲子、森田豊、和田映子、近藤康人、宇理須厚雄、他; 鶏卵即時型過敏反応における卵白 ovomucoid domain 3 特異的 IgE 抗体価の診断的意義、日小児アレルギー会誌 13, 1, 43-49, 1999.

4, 山田一恵、宇理須厚雄、和田映子、他; 卵白による接触性蕁麻疹が出現するにもかかわらず卵白経口摂取による過敏反応が陰性の症例の検討。小児科臨床, 52, 8, 1635-1640, 1999.

5, 和田映子、増田進、近藤康人、安藤仁志、徳田玲子、森田豊、山田一恵、宇理須厚雄; 卵白凍結乾燥粉末経口負荷試験と20分間パッチテスト、ブリックテストの比較、日小児アレルギー会誌, 13, 2, 7-14, 1999.

6, Urisu A, Yamada K, Tokuda R, et al; Clinical significance of IgE-binding activity to enzymatic digests of ovomucoid in diagnosis and prediction of outgrow of egg white hypersensitivity, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 120, 192-198, 1999

7, 安藤仁志、徳田玲子、森田豊、和田映子、近藤康人、山田一恵、堀場史也、増田進、松田幹、宇理須厚雄; 鶏卵白 ovomucoid domain 3 特異 IgE 抗体測定の鶏卵即時型過敏反応の予後予知における意義、日小児アレルギー会誌, 13, 4, 32-37, 1999.

8, 宇理須厚雄、各務美智子、小山晴美、他; 鶏卵アレルギーの診断と治療におけるオボムコイドの臨床応用。小児科 41, 1, 116-122, 2000.

9, 宇理須厚雄、各務美智子、小山晴美、他; 鶏卵アレルギーの診断と予後予知。アレルギー科、9, 1, 80-88, 2000.

10, Yamada K, Urisu A, Kakami M, et al; IgE-binding activity to enzyme-digested ovomucoid distinguishes between patients with contact urticaria to egg with and without overt symptoms on ingestion. Allergy (in press)

2、学会発表

1, 安藤仁志、徳田玲子、森田豊、和田映子、近藤康人、山田一恵、宇理須厚雄; ovomucoid domain 3 特異的 IgE 抗体による鶏卵即時型過敏反応の寛解予知、第102回、日本小児科学会学術集会、東京、1999、4月23日~25日

2、宇理須厚雄；小児アレルギー疾患発症予防策
鶏卵アレルギーの診断と予後予知. 第11回、日
本アレルギー学会春季臨床集会, 大阪、1999, 5月
13日~15日、

3、山田一恵、森田豊、安藤仁志、徳田玲子、和
田映子、近藤康人、宇理須厚雄、他；アレルギー
治療における食事療法の意義—小児と老人— 家
庭で作れる低アレルゲン化卵白—加熱脱ovom
ucoid卵白—使用の実際、第11回、日本ア
レルギー学会春季臨床集会, 大阪、1999, 5月13
日~15日、

4、安藤仁志、徳田玲子、和田映子、近藤康人、
宇理須厚雄、他；凍結乾燥卵白および加熱卵白経
口負荷試験による即時型過敏反応におけるオボアル
ブミン、オボムコイド特異的IgE抗体価測定
の意義、第11回、日本アレルギー学会春季臨床
集会, 大阪、1999, 5月13日~15日、

5、宇理須厚雄、徳田玲子、和田映子、他；食物
アレルギー診断の標準化をめざして—食物除去・
負荷試験の意義とその評価、第36回、日本小児
アレルギー学会幕張、1999, 10/14-10/15、

6、宇理須厚雄；腸管免疫と食物アレルギー—食
品アレルゲン構造とIgE抗体—、第49回、日本
アレルギー学会総会, 広島、1999, 10/18-10/20、

表1；対象

Case	Sex	Age(y)	Allergic disease	Oral challenge test Egg white
1	f	12	Urti.	Outgrow
2	f	14	AD	Outgrow
6	f	4	AD	Positive
4	m	6	BA	Positive
3	m	10	AD	Positive
5	m	10	AD	Positive
7	m	10	BA, AD, Urti	Positive

表2；鶏卵アレルギーと金属アレルギー合併症例の検討

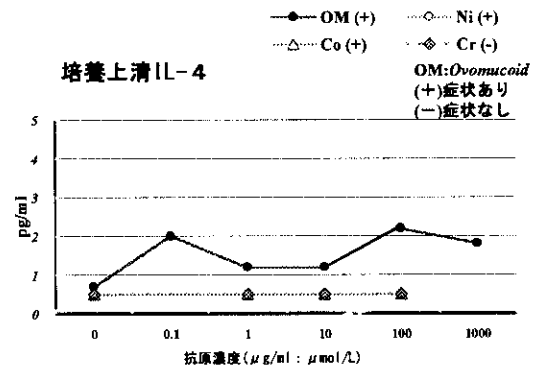


表3；鶏卵アレルギーと金属アレルギー合併症例の検討

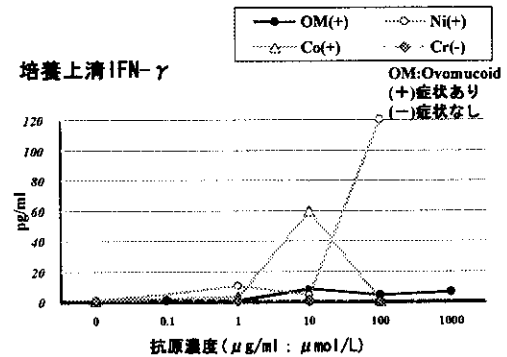


表4: ペプシン処理オボムコイド ペプチドのIgE結合能

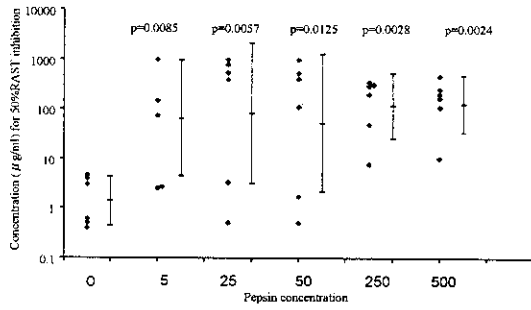
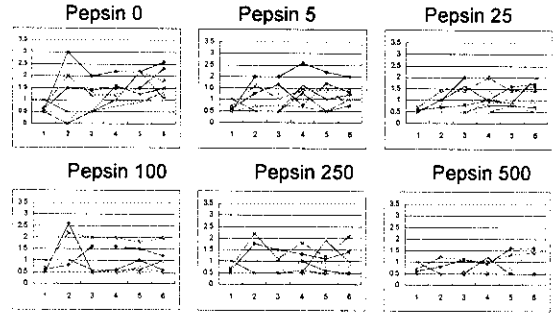


表7: ペプシン処理オボムコイド ペプシンによる鶏卵アレルギー患者末梢血単核球からのIL-4産生



1; 0, 2; 0.053; 0.5, 4; 55; 506; 500 μg/ml

表5: ペプシン処理オボムコイド ペプチドによる鶏卵アレルギー患者末梢血単核球からのIL-4産生

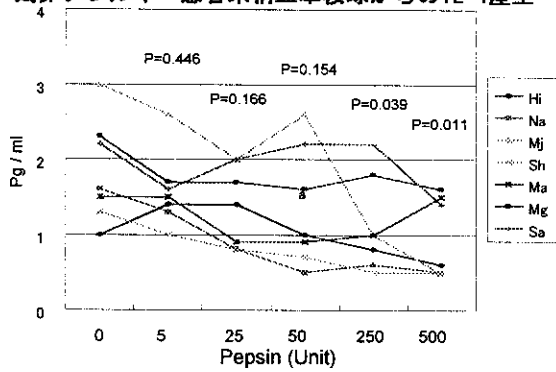
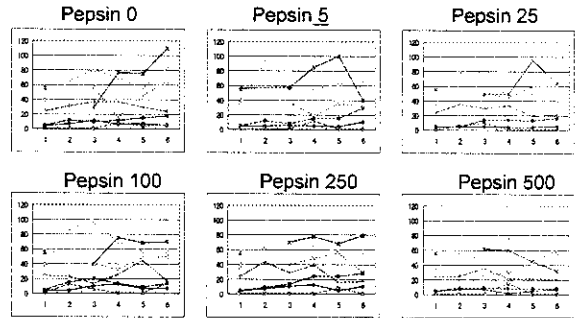
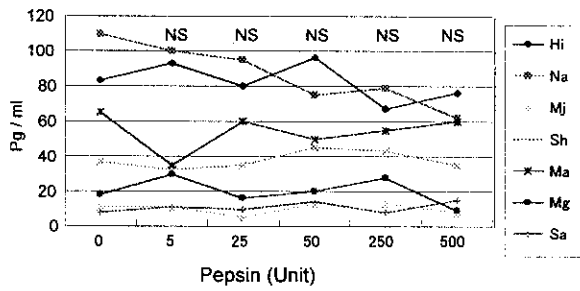


表8: ペプシン処理オボムコイド ペプシンによる鶏卵アレルギー患者末梢血単核球からのIFN-γ産生



1; 0, 2; 0.053; 0.5, 4; 55; 506; 500 μg/ml

表6: ペプシン処理オボムコイド ペプチドによる鶏卵アレルギー患者末梢血単核球からのIFN-γ産生



食物アレルギー用血清保存システムの構築に関する調査研究

豊田正武、澤田純一、手島玲子、合田幸広、亀山浩
国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨：当事業(食物アレルギー研究用血清収集事業)への協力を、食物アレルギーの患者の方々をお願いするためのインフォームドコンセント案の作成を行い、協力医療機関の医師6名に回示し意見を求めたところ、6つの医療機関とも協力が得られるとの回答が得られた。当研究所においては所内倫理委員会の審議の結果、当初は、collectionのみで、delivery機能は有さないこと、各医療機関における倫理委員会でも当研究事業の承認を受けること等を条件にして承認された。一方、協力医療機関においては、6機関のうち4箇所承認が得られており、近いうちに、他の機関でも承認が得られる見通しで、血清収集に関する準備は、順調に進んできている。また、新規食品成分のうち、CP4-EPSPS(CP4-エノールピルピルキ酸 3 リン酸合成酵素)の大量調製に成功し、モデルトリアルとして、食物アレルギーをもつ約40名の患者血清と反応させ、ウェスタンブロット法で、IgE抗体の確認を行ったが、陽性を示す血清は、見られなかった。今後、上記6機関より提供される予定の新たに収集した食物アレルギー患者血清を用いて、新規食品成分と反応するIgE抗体の存在について解析を加えてゆく。

A.研究目的

近年バイオテクノロジー技術を応用した食品が開発され、既に数品目の食品が輸入されている現状にある。消費食品のかなりの部分を輸入に依存している我が国では、食料確保の面から遺伝子組換え食品の消費が不可避免に増加するものと考えられる。この様に従来食経験の少ない新規食品等が、摂取する側であるヒトに対して何らかの免疫反応を惹起しているか否かを確認することは重要であり、また長期間保存された血清を用いれば、将来遡及的に新たなアレルギーの発生時期等を予知することも可能ではないかと考えられる。我々は、食物アレルギーに対する国民の不安に答えるための食物アレルギー用血清保存システムの構築の準備を押し進めている。昨年までの調査研究において、1)諸外国の血清バンク設立並びに準備状況のアンケート調査、2)国内の医療関係者への血清バンク構築にむけたアンケート調査を実施し、新規食品に対するアレルギー反応を検討するための患者血清収集のあり方、拠点施設及び地区別拠点医療機関について検討した。本年度は、昨年度までの調査研究結果をふまえ、具体的に血清を収集するために必要となるインフォームドコンセントの作成、倫理委員会への資料の作成を中心に食物アレルギー用血清保存シス

テムの構築に関する調査研究を行った。また、血清と反応させるために用いる抗原の調製にも着手した。

B.方法：1)血清収集に関する準備；当事業(食物アレルギー研究用血液収集事業)への協力を、食物アレルギーの患者の方々をお願いするためのインフォームドコンセント案の作成を行い、厚生省食品保健課による確認を受けた後、協力医療機関の医師6名に回示し意見を求めた。次いで、国立医薬品食品衛生研究所内倫理委員会に提出するための説明文の準備を行い、所内倫理委員会での審議を受けると同時に、各協力医療機関においても倫理委員会での審査、承認を受けるように依頼した。2)抗原の調製並びにモデルトリアル；遺伝子組換え大豆に組み込まれている除草剤 glyphosate 耐性 CP4-EPSPS (5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase)¹⁾の大量調製を行うため、遺伝子組換え大豆から、EPSPS 遺伝子の PCR 増幅を行い(図1)、pGEM-T Easy Vector に組み込んで、大腸菌 JM109 株の中で増殖させた。ついで、EPSPS 遺伝子を、発現系ベクター pET23b(+)に組み込み、大腸菌 BL21 株に導入し、EPSPS 蛋白質(分子量 48kDa)の発現を確認した(図2)。菌を超音波処理で破碎後、上清を回収し、食物アレルギー患者血清と反応させる EPSPS 抗原液とし

た。患者血清中の EPSPS 蛋白反応性 IgE 抗体の存在の有無は、ウェスタンブロット法にて検討を行った。

図 1 CP4-EPSPS 遺伝子の調製

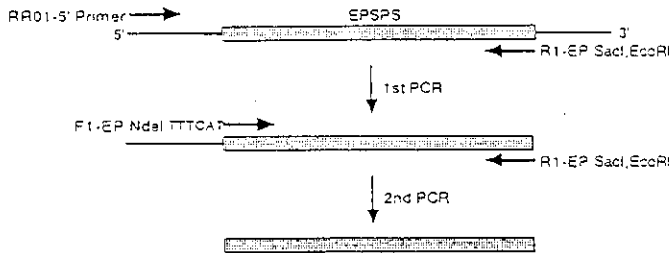
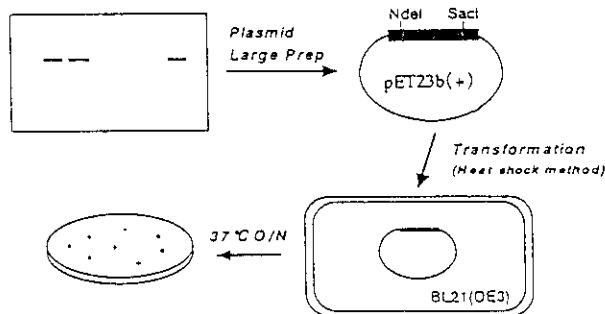


図 2 CP4-EPSPS 蛋白質の大腸菌での発現



C.結果：1)本年度の血清収集に関する倫理委員会提出用資料の準備を図3に示す手順ですすめた(図3)。以下具体的検討事項につき、2)～4)に示す。2)インフォームドコンセント案の協力医療機関の医師への回示の際、図4に示す留意すべき項目について確認を行った。また、意見をもとめた6つの医療機関(千葉大学医学部小児科、横浜市立大学医学部浦舟病院皮膚科、藤田保健衛生大学小児科、国立相模原病院臨床研究部、東京大学保健センター、昭和大学医学部小児科)から、協力が得られるとの回答が得られた(図5)。3)拠点施設としては、国立医薬品食品衛生研究所内に血清保存室を設け、血清の保存、及びアレルギーの長期保存を可能にするための超低温槽の設置及び血清を扱う際に必要となる安全キャビネットの設置を行った。4)国立医薬品食品衛生研究所内倫理委員会での審議で、以下に示すことが、議論になった。①患

者のプライバシーの保護；患者情報のコード化を行い、医療機関から、当研究所の血清保存室に血清が送られてくる際には、年齢、性別、アレルギー疾患の履歴の情報のみを提供していただき(図6)、個人を特定できるような情報は病院外へ出ないこと、また公表されることがないことを徹底する。②本事業が、血清収集(collection)のみか、分譲(delivery)機能もあわせ持つか。；本事業は、当初は、疫学調査を目的として血清を収集し、集められた血清に対し、当研究所で新規食品に対するアレルギーの有無について検討を行うことに限定する。従って、患者血清を利用できる者は、国立医薬品食品衛生研究所内に限定し、血清保存室管理責任者により許可された者のみとする。③患者からの同意を得る方法；食物アレルギーは、子供に多くみられるため、子供を対象にするケースが多く考えられ、18歳未満の場合には、保護者の方に同意書への記入をお願いするが、本人の判断が可能な場合は、本人の同意を得た後に記入するように徹底する。④患者への得られたデータのフィードバックについて；現在は、臨床検査的意味合いでなく、医療機関との共同研究の形であくまで研究レベルで検査を行うことを考えており、研究の一環として得られたデータについて協力医療機関担当医師へのフィードバックは行うが、原則として、患者本人へのフィードバックはしない。ただし、その情報を知ることが本人に有益であると医師あるいは医療機関の倫理委員会によって判断された場合に限り、担当医師から患者に情報がフィードバックされる。

図3 血清収集に関する倫理委員会提出用資料の準備

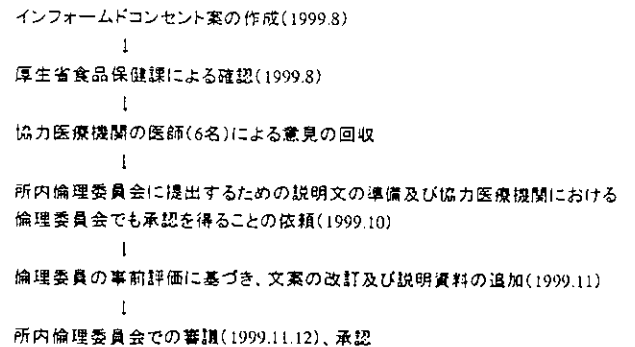


図 4 インフォームドコンセントについて考慮すべき事項

- 実施目的の明確化
- 利益と不利益の明確化
- 必要な署名(患者または保護者、担当医)
- 採血量(通常3-5 mLを限度とする)
- プライバシー及び収集データの守秘義務

図 5 食物アレルギー用血清保存システムの概要

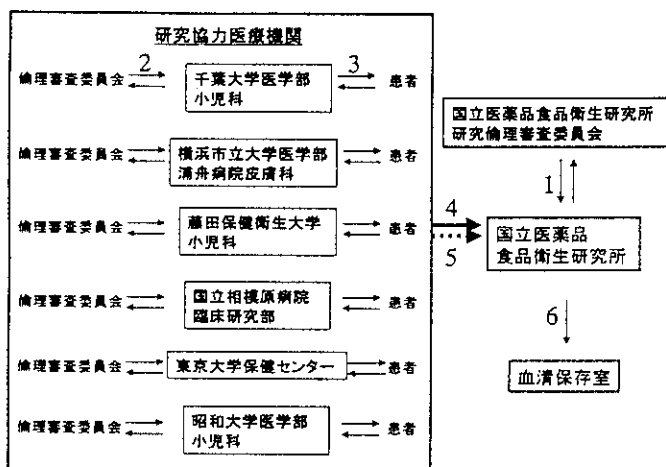


図 6 血清保存室保存用患者情報の内容

- 年齢、性別、人種
- 採血年月日
- 主病診断名
- 食物アレルギー以外のアレルギー並びに本人の合併症
- 臨床症状と食物との関連について
- Total IgE 値、IgG 値
- 主なアレルギーの特異的 IgE 抗体価
- 主なアレルギー皮内反応ないしプリックテスト結果
- 好酸球数(もしくは白血球数、好酸球%)
- 主要な投与薬剤(特にステロイド剤)
- その他
- 血清保存室登録番号

5)モデルトリアルの結果；大腸菌で調製した CP4-EPSPS 蛋白質に対する IgE 抗体が、食物アレルギー患者血清中に存在するか否かの検討のモデルトリアルを、すべて Plasma Lab 社(U.S.A.)より購入した大豆アレルギー患者血清 12 種、そばアレルギー患者血清 4

種、トウモロコシアレルギー患者血清 8 種、米アレルギー患者血清 9 種、卵白アレルギー患者血清 3 種、ミルクアレルギー患者血清 2 種を用いて、ウェスタンブロット法²⁾にて行った。具体的には、抗原をニトロセルロース膜に転写後、患者血清、ウサギ抗ヒト IgE 抗体、HRP 標識ロバ抗ウサギ IgE 抗体を順次反応させた後、コニカイムノステイン HRP-1000 の青色の発色で確認したが、当所で調製した CP4-EPSPS 蛋白質に対する IgE 抗体陽性の血清はみられなかった。

D.結論：本研究課題である食物アレルギー用血清収集事業に関して、国立医薬品食品衛生研究所の倫理委員会で、平成 11 年 11 月に承認が得られており、協力医療機関 6 機関の倫理委員会でも、すでに 4 箇所承認が得られており、近いうちに、他の機関でも承認が得られる見通しであり、血清収集に関する準備は、順調に進んできている。今後、今年実行できなかったコンピュータによる管理システム(データベース)の予備検討を行う予定である。また、新規食品抗原の調製も、大腸菌を用いた遺伝子操作により CP4-EPSPS については大量調製に成功しており、モデルトリアルを開始した。次いで、他の新規食品抗原³⁾の大量調製にも着手する予定である。

[参考文献]

- 1) Harrison L.A. et al.(1996) J.Nutr.126, 728-740
- 2) Teshima R. et. al. (1993) J.Allergy Clin. Immunol.,92, 698-706
- 3) Toyoda M. et al.(1996) J.Food Hyg.Soc.Japan, 37, 247-259

食物アレルギー対策検討委員会報告
主任研究者 飯倉 洋治 昭和大学医学部小児科教授

研究要旨 本検討委員会は食物による即時型反応の実態調査を検討する目的で平成 8 年度から実施し、年齢層での頻度を把握し、平成 10 年度からは 200 床以上の医療機関での実態調査を行った。しかし、昨年度は調査用紙配布に問題があり、回収率が 35%と低く、平成 11 年度は未回収施設に再調査を行い、60%の回収率となりその解析を行った。その結果、解析対象数は 1579 件となった。特徴は従来の本邦の 3 大食物アレルギーは卵、牛乳、大豆であったが、今回の結果は大豆に変わり小麦が 3 番目に上がってきた。症状の出現時間に関しては、78%が摂取 30 分以内に起こっていることから、患者への対応策が重要といえる。臨床症状では呼吸器症状 57.3%、ショック症状 37.4%と生命に危険が迫る症状がかなり多くみられた。その他、臨床症状別にどのような食物との関係が深いのかの検討も行った。

分担研究者

赤澤 晃 国立小児病院アレルギー科
今井 孝成 昭和大学医学部小児科
岩崎 栄作 同愛記念病院小児科
海老澤元宏 国立相模原病院小児科
奥平 博一 東京大学医学部アレルギー・リウマチ内科
上野川修一 東京大学大学院農学生命科学研究科
久能 昌朗 キューピー（株）研究所
小池麒一郎（社）日本医師会
河野 陽一 千葉大学医学部小児科
坂井堅太郎 徳島大学医学部実践栄養学
阪口 雅弘 国立感染症研究所
塩見 一雄 東京水産大学食品生産学科
豊田 正武 国立医薬品食品衛生研究所
名倉 宏 東北大学大学院医学系研究科病理学
星山 佳治 昭和大学医学部公衆衛生学
深山 和江 千葉県学校栄養士会（小倉小学校）
柳川 洋 自治医科大学公衆衛生学

A、研究目的

今年度は医療機関で扱った食物による即時型反応を示した患者の実態調査を行う。特に今年度は昨年未回収の医療機関に追加調査を行い、回収率を高めることも目的の一つにした。

B、研究方法

川崎病の全国調査を行った 200 床以上の病院に、食物を摂取して 60 分以内に症状を呈し、病院を受診した患者の実態調査のアンケート用紙を配布し調査した。特に今年度は昨年回収出来なかった施

設に、平成 10 年度の調査結果の一部を同時配布し調査協力を依頼する方法をとった。

調査結果の解析に関しては、昨年度の回収率が低かったので行わなかった臨床症状別食物抗原の検討等も行った。

調査期間は平成 10 年 12 月 1 日より平成 11 年 1 月 31 日迄とした。

C、研究結果

過去 2 年間に食物を摂取して 60 分以内に何らかの臨床症状が出現し、医療機関を受診した患者を対象にした調査は 2689 施設に調査用紙を配布し、1623 施設の返事があった（回収率 60.4%）。受診があった患者は 498 施設 1579 件で、昨年の 1057 件と比較し非常に多い解析対象となった。その主な検討結果を述べる。

- 1、男女比に関して：男子 61%、女子 39% で、男子が多い結果であった。
- 2、年齢別検討に関して：零歳がピークで漸減する傾向であったが、20 歳台にも一つのピークがあることが判明した。
- 3、原因抗原に関して：卵、牛乳、小麦が上位 3 つの抗原で、次いでソバ、エビ、ピーナツの順であった。上位 3 品目で全体の 55.3%を占めた。
- 4、摂取量に関して：半数近くが少量摂取で症状が惹起され、200 例以上が微量で症状が起こっていた。
- 5、症状発現時間に関して：78%が食物を摂取して 30 分以内に何らかの症状が起こっていた。

6、臨床症状の検討に関して：皮膚症状が85.1%、呼吸器症状57.3%、ショック症状37.4%であった。

7、特異抗原の検査結果に関して：一番多かったのはスコアー3で、即時型反応の調査でもスコアー6の者は決して多くなかった。またスコアーが0、1の者が30%近くで、臨床検査結果のみで食物抗原決定することは危険である結果であった。RASTスコアー4、5、6、の該当抗原で最も多かったのはチーズで60%を超えていた。次いでピーナツ、牛乳、小麦、ソバ、の順であった。

8、臨床症状と抗原別検討に関して

- ① ショック症状に関して：平均より高い割合を示した食物はキウイ、牛乳、ヨーグルト、ピーナツの順であった。
- ② 意識障害に関して：平均より高い割合を示した食物は小麦、エビ、ソバ、大豆であった。
- ③ 呼吸困難に関して：平均より高い割合を示した食物はソバ、エビ、キウイ、ピーナツの順であった。
- ④ 口咽頭掻痒感に関して：平均より高い割合を示した食物はエビ、ピーナツ、キウイ、ソバの順であった。

9、治療に関して：治療の全体的な検討では抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤、ステロイド剤が多いが、ボスミンの皮下注射もかなりの症例(150人)にみられ、重篤な即時型反応がかなりあったことが判る。

ボスミンの皮下注射が必要な症例の抗原別検討はチーズ、ソバ、キウイ、エビの順であった。

D、考案

平成10年度は調査用紙配布の施設をどこにするかの検討を行い、川崎病の全国調査機関に配布した。しかし、食物アレルギーの調査は小児に限定される川崎病の調査と非常に異なる調査の検討が足りず、配布された病院内での担当に悩み、回収が非常に悪かった。そこで、平成11年度は平成10年度の調査結果の一部を送り、調査の協力を依頼したところ60.4%の高い回収率になった。

2689 施設中 1623 施設より回答が得られ、有効

回答延べ症例数は1579症例となった。即時型食物アレルギーは小児の問題ばかりでなく、18歳以上でも10.2%にみられ、成人でも問題が大きい。しかも成人は自分で症状コントロールを十分に行い、病院に行く機会が小児より少ないことを考えると、成人はもっとたくさんの食物アレルギー患者が存在しているといえる。

原因抗原別の検討で新しいことが判明したことは、卵、牛乳は変わらぬが、小麦がだい3位に上がってきたことである。その後にソバ、エビ、ピーナツの順で、本邦の食物アレルギーの実態が以前と異なってきていることが判明した。

また、摂取量でも極少量で症状が惹起されている症例が非常に多いことは、日常生活での注意点として「陽性に出る食品の制限、対応」を如何にするか重要な問題が浮き彫りになった。さらに、食物抗原の検査を一般的な検査では不十分であることが判明した。すなわち、特異抗原の検索で0、1の結果を示す症例にはエビ、ヨーグルト、キウイ等が非常に多いことが分かり、今後の日常診療での指導が問題になる結果であった。特に保育園での病院に対する要求は、検査結果を持ってくるように親に指導し、親が「検査結果を下さい」と執拗に要求してくる現実を考えると、今回の結果は非常に興味ある結果で、今後食物アレルギー指導に重要な示唆を与える結果であると言える。

臨床症状別検討では入院を必要とした症例が34%で、約1/3が注意を要する結果であった。

呼吸困難、ショック症状を呈する頻度も多く、これら症状を呈する食物の検討を行うと、ソバ、エビ、チーズ、キウイ等、抗原性がなかなか変化しにくい食物に多くみられた。

E、結語

食物アレルギーの即時型反応の実態調査結果から、本邦は卵、牛乳、小麦が上位3を占め次いでソバ、エビ、ピーナツが続いた。摂取後の時間的検討で、78%が30分以内に起こっていた。また、呼吸器症状も非常に多く、即時型反応に対する検討が早急に必要と言える。

F、研究発表

1、学会発表

Imai T., Iikura Y., Akasawa A et al:
Food allergy in Japan. 23rd Collegium
International Allergologicum. 2000年5月
発表予定。