

20020822

別添2

厚生労働科学研究 研究費補助金
免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

食物アレルギーの実態及び誘発物質の解明に関する研究

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 海老澤 元宏

平成15（2003）年 3月

I. 総括研究報告	
食物アレルギーの実態及び誘発物質の解明に関する研究	1
海老澤 元宏	
II. 分担研究報告	
1. 食物アレルギーの診断に関する研究	4
海老澤 元宏	
2. 食物アレルギーの免疫学的発症機序の解明に関する研究	9
近藤 直実	
3. 食物アレルギーの成人発症機序の解明に関する研究	12
池澤 善郎	
4. 重篤な食物アレルギーの全国調査に関する研究	15
飯倉 洋治	
5. 食物アレルギーの小児期発症機序（非即時型）の解明に関する研究	18
小倉 英郎	
6. 食物アレルギーの小児期発症機序（即時型）の解明に関する研究	21
柴田 瑠美子	
7. 食物アレルゲンの見地からの発症機序の解明に関する研究	24
赤澤 晃	
8. 食物アレルギーのアウトグロウの機序の解明と寛容誘導	27
宇理須 厚雄	
9. 食品中アレルギー誘発物質とアレルギー疾患に関する文献調査研究	30
玉置 淳子	
10. 原因食品中アレルギー誘発物質の解明に関する研究	33
穂山 浩	
11. 食品低アレルゲン化法の開発による食物アレルギー治療に関する研究	36
眞弓 光文	

食物アレルギーの実態及び誘発物質の解明に関する研究

主任研究者 海老澤元宏

国立相模原病院臨床研究センター病態総合研究部長

研究要旨

食物アレルギーのモニタリングシステムにて即時型食物アレルギーにより平成 14 年に医療機関への受診を必要とした 1546 例の報告があり、1 歳以下の症例が 53.5%と過半数を占め原因抗原の順位も鶏卵>乳製品>小麦は昨年と同様であった。食物負荷試験ネットワークの 2002 年度の実績は全国 21 施設で 219 例の負荷試験が行われ累積症例数は 544 例となった。乳児期の食物アレルギーの有病率を求める基礎データとして 4 ヶ月健診時の湿疹の有症率が 28.5%であることと出生月により湿疹の有症率に 2 倍以上の差が認められた。即時型のアナフィラキシー患者に対する負荷試験方法が示され、鶏卵アレルギー患者に対して低アレルゲン化した加熱脱オボムコイド卵白を 2～4 週間連日経口投与して 60%の症例において寛解誘導可能なことが報告された。食物アレルギーの免疫学的認識機構に関してオーバーラップするペプチドにて解析し抗原のコア配列はアミノ酸 11 個のうち 4 個の配列が抗原特異的 T 細胞活性化に必須であることが明らかされた。オボアルブミン特異的 TCR/IgE トランスジェニックマウスが食物アレルギーの免疫学的寛解を解明するのに有用なモデルであることが示された。成人の口腔アレルギー症候群の受診割合は横浜より札幌で有症率が高いことと原因抗原が異なることが示された。

分担研究者

近藤 直実	岐阜大学医学部小児科 教授
池澤 善郎	横浜市立大学皮膚科 教授
飯倉 洋治	昭和大学医学部小児科 教授
小倉 英郎	国立高知病院 副院長
柴田瑠美子	国立療養所南福岡病院小児科 医長
赤澤 晃	国立成育医療センター総合診療部 小児期診療科 医長
宇理須厚雄	藤田保健衛生大学 坂文種報徳會病院小児科 教授
玉置 淳子	北海道大学医学部 公衆衛生学教室 助手
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所 食品室長
眞弓 光文	福井医科大学小児科学教室 教授

4) アレルギー物質を含む食品に関する表示に関する検討。# 1 (臨床系研究者)

5) 食物アレルギーの診断・治療ガイドラインを作成すること (臨床系研究者)

研究班としてのガイドラインの作成の可能性に関して研究班会議で議論したが、未解明なことが多いこと、現時点でコンセンサスを得ることが難しいのでガイドラインの作成は時期尚早という意見が大勢を占め本研究班でのガイドラインの作成は見送ることにした。

A.研究目的

以下の 5 項目を研究目的として 3 年計画の最終年度の研究を進め、各分担研究者は # 1～# 12 の各プロジェクト研究を遂行した。

1) 我が国における食物アレルギーの実態の継続的な把握。# 5 (飯倉)、# 9 (玉置)、# 2 (海老澤)

2) 食物アレルギーの発症・寛解機序の解明。
(小児即時型・小児非即時型・成人型に分類した病型分類上の観点から)

7 (柴田)、# 6 (小倉)、# 4 (池澤)、# 12 (宇理須) (免疫学的観点からの検討) # 3 (近藤)、(抗原学的観点からの検討) # 8 (赤澤)、# 10 (穂山)、# 11 (眞弓)

3) 食物アレルギーの診断方法の確立。# 2 (海老澤)

B.研究方法および C.研究結果

1 アレルギー物質を含む食品に関する表示に関する検討 (臨床系研究者)

当研究班の提言を基礎として平成 14 年 4 月よりアレルギー物質を含む食品の表示が開始された。

2 食物アレルギーの診断に関する研究 (海老澤)

全国 23 施設で共通のプロトコールで鶏卵(全卵・卵黄)・牛乳・小麦・大豆の食物負荷試験が施行され累計の負荷試験症例も 544 例に達した。陽性率は全体では 44%と IgECAPRAST の陽性率 79%に比べ低く負荷試験の重要性が確認され、陽性率は食物抗原ごとに異なり鶏卵(全卵)>牛乳>小麦>大豆の順であった。食物負荷試験の標準化と普及をはかり、負荷試験の適応を明確にした上で専門施設において保険診療として

認められるべきである。食物アレルギーの頻度が高く正確な調査が可能な対象として相模原市の協力のもと4ヶ月健診でアンケート調査を行い、経時的に1才まで経過観察する乳児期発症の食物アレルギーの実態を把握する疫学調査を開始した。4ヶ月の時点で湿疹は28.5%(1497/5247)の児が有し、湿疹の継続期間が1ヶ月以上の児が69%に上った。乳児期の母親の4.2%が授乳に関連して食物除去をしており、食物除去の判断基準の44.8%が母親であった。

＃3食物アレルギーの免疫学的発症機序の解明に関する研究(近藤)

牛乳アレルギー患者より樹立したBLG特異的TCC(YA4, HA5.7)が認識するペプチド(BLGp97-117: TDYKKYLLFCMENSEAEPEQSL)コア配列は、p102-112(YLLFCMENSEAE)であり、アラニンスキャニングによりE108Aの変更にTCCの増殖反応が消失し、C106Aの変更にTCCの増殖反応が減少した。アナログペプチドを用いた検討では、p105(F)からp108(E)までの残基の変更に増殖反応が消失していた。BLG特異的TCCはHLA-DRB1*0405で提示されたペプチドを認識し、今回同定されたコア配列(YLLFCMENSEAE)は、このHLA分子に結合する最小単位のペプチドであると考えられた。これらの結果を応用し、アレルギー反応に関与するT細胞をアナジーに導くペプチドを見出すことにより食物アレルギーの治療の可能性がある。

＃4食物アレルギーの成人発症機序の解明に関する研究(池澤)

カンジダ特異的IgE抗体価と分泌型IgA(sIgA)抗体価の関係を検討したところカンジダ特異的sIgA抗体価は、カンジダ-IgE-RASTのクラス0群では低く、健常人とほぼ同じレベルであったが、クラス1群と2/3群は4以上群に比べて有意に高く、クラスの上昇と共に段階的に低下していた。ラテックスアレルギー(LA)約半数には、交差反応によりバナナ・アボカド・クリ・キウイなどの食物アレルギーを呈することから、精製ヘパインの特異的IgE抗体測定によりLA発症の有無をある程度推測することが可能であると思われた。札幌と横浜で口腔アレルギー症候群(OAS)の調査をしたところ札幌における罹患率が高いことと札幌ではシラカバ花粉の主要抗原の交差反応による果物が原因としてあげられた。

＃5重篤な食物アレルギーの全国実態調査に関する研究(飯倉)

平成14年1月～12月に食物アレルギーモニ

タリング協力医約2,000名を対象とし3ヶ月毎にprospectiveに葉書による調査を行った。「何らかの食物摂取後60分以内に症状が出現し、医療機関を受診した患者」を対象とした。調査回収率は約50%で、総計1,546例(415例、495例、430例、206例)が分析対象となった。0歳と1歳児だけで全体の53.5%を占め、加齢とともに漸減する傾向が見られ、6歳までに79.0%が集積し、20歳以上の成人は8.3%を数えた。抗原別頻度では鶏卵38.6%、乳製品16.2%、小麦7.2%、フルーツ6.1%、ソバ4.7%、エビ4.1%、魚類4.1%、ピーナツ3.6%、魚卵2.8%、大豆2.1%で有り、ほぼ昨年のデータを確認するものであった。各年齢相により原因抗原も異なっていた。入院症例は182名(12.2%)で、ソバ、ピーナツ、tree nut、小麦の入院率が高く、重篤な症例が多いと類推された。

＃6食物アレルギーの小児期発症機序(非即時型)の解明に関する研究(小倉)

重症アトピー性皮膚炎6例に対して、経口誘発試験を10回行い、7回が陽性であった。フローサイトメトリーで負荷前、負荷2時間後および負荷4時間後のCD4陽性細胞中のIFN- γ 、IL-2、IL-4陽性細胞の比率を比較検討した。Th1細胞は、経口誘発試験の結果にかかわらず、食物負荷後活性化される場合があるが、Th2細胞は、経口誘発試験陽性の場合に負荷2～4時間後から著明に活性化され、陰性の場合には活性化されないことが示唆された。

＃7食物アレルギーの小児期発症機序(即時型)の解明に関する研究(柴田)

アナフィラキシーおよびIgECAPRAST4以上6までの症例を中心に、卵アレルギーで卵黄、牛乳アレルギーでペプチクッキー、小麦アレルギーで低アレルゲン小麦ケーキによる負荷を行った。誘発率は、卵黄82例中7%、ペプチクッキー45例中16%、低アレルゲン小麦43例中33%であった。魚介類のアレルギーでは、3歳までの解除率は、魚で6%程度であり、甲殻類は0%であった。今回検討した低アレルゲン食品は臨床的にアナフィラキシー児の過敏性および耐性化の判断に、負荷食品として利用可能であり、原因食物の摂取が困難な例でも、症状誘発率の少ない食品数を増やすことで食生活でのQOLを高め、各自の除去食解除の予測に役立つと思われる。

＃8食物アレルギーの見地からの発症機序の解明に関する研究(赤澤)

ピーナツ、アーモンド、カシューナツの交差抗原性に関して検討し、対象17名中ピーナツ

ツに対しては 10 名が Ara h 2 (分子量 17kDa) を含む 15~18kDa の複数のタンパクに反応を示し、Ara h 2 (分子量 63.5kDa) には 7 名が反応を示した。アーモンドに対しては、13 名が反応を示し、35kDa 以上のタンパクに反応を示すものが多かった。カシューナッツに対しては、10 名が反応を示し、反応するタンパクは患者個人により異なっていた。重篤な反応を呈する特定原材料として表示義務のある落花生が他のナッツ類とどの程度交差抗原性があるのかを明らかにしていく必要がある。

＃9 食品中アレルギー誘発物質とアレルギー疾患に関する文献調査研究 (橋本)

わが国の人口動態統計によると有害食物反応によるアナフィラキシーショック(T78.0)による死亡例が 1995 年~2000 年の 6 年間で計 16 例報告されているが、該当期間での我が国における文献収集では死亡例報告は 2 例 (食餌依存性運動誘発アナフィラキシーが推測された 1 例を含む) である。我が国の食物アレルギーによる死亡例の把握には、症例報告の文献収集のみでは不十分である。諸外国の報告は、食物アレルギーの登録制度もしくは臨床医への調査を活用したものであった。食物アレルギーによる死亡を把握するわが国での実現可能な研究デザインのひとつとして医療機関ベースでの能動的サーベイランスが有用と思われた。

＃10 原因食品中アレルギー誘発物質の解明に関する研究 (穂山)

豚肉抽出物中の 74kDa 成分が主要アレルゲンであることが示唆され、小麦グルテン中グリアジン・グルテニンの全ての画分において抗原性が確認された。相関係数 0.9 以上である魚種同士の組み合わせをまとめ、代表魚種を選択した。穀物の 33kDa アレルゲンは免疫交差反応性を示し、穀物アレルギーにおける共通のアレルゲンと考えられる。魚卵: *In vivo* において、 β' がサケ魚卵の即時型アレルギーのアレルゲンである可能性が強く示された。複合アレルギーが疑われる食物アレルギー患者血清を用い、マルチプロット法による植物性食品素材中の IgE 抗体認識タンパク質成分のスクリーニングを行った結果、種々の食品間にかなり多くのパンアレルゲンの存在・分布が認められた。

＃11 食品低アレルゲン化法の開発による食物アレルギーの治療に関する研究 (眞弓)

2 種類のトランスジェニックマウスを交配させて得られる OVA 特異的 IgE と OVA 特異的 TCR の両者のトランスジェニックマウス (TCR/IgE-Tg 群) と OVA 特異的 TCR のト

ランスジェニックマウス (TCR-Tg 群) の両方において、OVA の high dose の経口投与群は PBS 投与群と比較して、脾細胞の OVA 特異的 T 細胞の割合には変化がないにも関わらず、細胞増殖や IL-4, IFN- γ の産生が低下していた。抗原特異 IgE の存在下においても大量の抗原が経口投与されると、脾細胞で評価した全身免疫系にトレランスが誘導されてくると考えられた。また腸管の局所の免疫系のレベルでは抗原特異 IgE の存在がより強力なトレランスを誘導することが示され、既に特異 IgE 抗体の存在する食物アレルギー患者においても経口免疫寛容を誘導することが可能であることが示唆された。

＃12 食物アレルギーアウトグロウの機序の解明と寛容誘導 (宇理須)

加熱脱オボムコイド卵白連日摂取後の経口負荷試験で、凍結乾燥卵白陽性群は 13 例中 8 例 (61.5%)、加熱卵白陽性群は 9 例中 5 例 (55.6%) で陰性化した。低アレルゲン化された加熱脱オボムコイド卵白は、1 回の経口負荷試験で陰性を確認できた鶏卵アレルギー患児なら、2 週間から 4 週間の連日摂取でも安全であり、しかも約 60% の患児に対して寛解誘導できることが示唆された。

D. 考察 および E. 結論

3 年間の食物アレルギーに関する研究班活動を通してアレルギー物質を含む食品表示が始まり、全国食物アレルギーのモニタリング調査、食物負荷試験ネットワーク、食物アレルギーの疫学調査など新しい取り組みが行われた。さらに食物アレルギーの発症のメカニズム・寛解のメカニズムの解析、抗原的、免疫学的解析も進んだが、ガイドラインを作成するだけのエビデンスの集積・コンセンサスの形成にまでは到らなかった。来年度以降に継続すべきプロジェクトと食物アレルギー診療ガイドラインの作成など最重要課題に関して研究体制を継続する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

分担研究報告書参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

食物アレルギーの診断に関する研究

主任研究者 海老澤元宏 国立相模原病院臨床研究センター病態総合研究部長

研究協力者

藤沢隆夫	国立療養所三重病院	小倉英郎	国立高知病院
柴田瑠美子	国立療養所南福岡病院	赤澤 晃	国立成育医療センター
河野陽一	千葉大学医学部	宇理須厚雄	藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院
野々村和男	守山市民病院	足立雄一	富山医科薬科大学
相原雄幸	横浜市立大学市民総合医療センター	西牟田敏之	国立療養所下志津病院
飯倉洋治	昭和大学医学部	栗原和幸	神奈川県立こども医療センター
近藤直実	岐阜大学医学部	吉原重美	獨協医科大学
木村光一	久留米大学附属病院	森澤 豊	高知医科大学
田代 実	津軽保健生活協同組合健生病院	橋本光司	日大練馬光が丘病院
森川みき	J R 仙台病院	田知本寛	国立相模原病院
池松かおり	国立相模原病院	杉崎千鶴子	国立相模原病院
増田泰伸	キュービー(株)研究所基盤研究部	松岡亮輔	キュービー(株)研究所基盤研究部
池田有希子	国立相模原病院	神奈川県相模原市地域保健課	

研究要旨

1. 食物負荷試験ネットワークの確立

食物負荷試験の普及と標準的な方法の確立を目的とし平成14年度は全卵・卵黄・牛乳・小麦・大豆の乾燥食品粉末と媒体としてイチゴピューレをセットとした負荷試験食を研究協力者のいる21施設に提供し、各施設において文書による同意が得られた患者を対象にして共通のプロトコールにしたがって負荷試験を施行した。平成14年4月から平成15年3月までの12ヶ月間に食物負荷試験は合計219試験が行われた。パイロットスタディー、平成13年度、平成14年度を合計すると食物負荷試験は544試験行われ、抗原別内訳は、全卵：220例（40%）、卵黄：21例（4%）、牛乳：154例（28%）、小麦：75例（14%）、大豆：54例（10%）であった。食物負荷試験の抗原別陽性率では全卵63%（138/220）、卵黄14%（3/21）牛乳41%（63/154）、小麦32%（24/75）、大豆15%（8/54）であった。食物負荷試験の陽性率はわが国での各食物抗原の耐性の獲得の順番を全体として反映していると考えられた（大豆＞小麦＞牛乳＞卵）。過去3年間にわたり行われた負荷試験ネットワークの研究によりわが国における非常に貴重な食物負荷試験のデータを集積することができた。各地域に食物負荷試験を行える施設を配置することは非常に重要であり、患者の生活の質の向上につながる。今後、専門施設において負荷試験食を用いた食物アレルギーの診断が保険診療（包括医療）として認められる様に働きかけていくことが重要である。

2. 乳児期食物アレルギーの有病率に関する疫学調査—第1報—

相模原市において地域保健課の協力のもと乳児期の湿疹の有病率・アトピー性皮膚炎の有病率・食物アレルギーの有病率を開始した。4ヶ月検診で解析の基礎となる湿疹・栄養・環境・家族歴のデータを得て、8ヶ月・12ヶ月と追跡調査し乳児期アトピー性皮膚炎・食物アレルギーの有病率を求めようという試みである。今回4ヶ月健診時の基礎データを平成14年1月から12月までの間で5247名の保護者より回収することができた。4ヶ月時での湿疹の有病率は28.5%（1497/5247）であり、出生月による著しい湿疹の有病率の差を認めた。つまり秋から冬生まれの児は春から夏生まれの児に比べ約2倍近くの湿疹の有病率であった。また4ヶ月の時点ですでに医療機関でアトピー性皮膚炎と診断されている児は7.6%、アレルゲン検査を受けている児も5.3%存在しており、湿疹の罹病期間などを考えると乳児湿疹と診断されている児の中にも多くのアトピー性皮膚炎あるいは食物アレルギーと診断される予備軍が存在しているものと考えられた。今後の8ヶ月・12ヶ月での追跡調査のデータに非常に興味を持たれ、最終的には乳児期アトピー性皮膚炎および食物アレルギーの有病率が求められると考えられる。

1. 食物負荷試験ネットワークの確立

A. 研究目的

食物アレルギーの診断方法として食物負荷試験が最も信頼できるが、保険診療として未認可で手間がかかり実際には限られた施設で研究的に行われているのが現状である。平成13年度より食物負荷試験の普及と標準的な食物負荷試験の確立を目的に負荷試験食の提供により食物負荷試験ネットワークを確立し共同研究を開始し、今年度で2年目を迎え卵黄の負荷試験食も追加し合計5診断食に関して多数症例を積み重ね有用性を確認したので累積結果を報告する。

B. 研究方法

キューピー食品研究所と共同で開発した鶏卵（全卵・卵黄）・牛乳・小麦・大豆の乾燥食品粉末を酸化防止の処理を施し、媒体としてイチゴピューレとセットとした負荷試験食として研究協力と呼びかけ同意が得られた施設に提供し、各施設において文書による同意が得られた患者を対象にして共通プロトコールに従って食物負荷試験を施行した。

（倫理面への配慮）

各施設の倫理委員会において承認を得た上で、患者および保護者の文書による同意を得て負荷試験を行った。

C. 研究結果

平成14年度に食物負荷試験は表1に示すように全国21施設において施行され、平成14年1月～平成15年3月までに合計219負荷試験が行われた。その抗原別内訳は、鶏卵（全卵）：84例、鶏卵（卵黄）：21例、牛乳：56例、小麦：27例、大豆：23例であった。

《2002年》	総症例数	全卵	卵黄	牛乳	小麦	大豆	プラセボ
国立療養所三重病院	34	21	0	8	3	2	0
国立高知病院	30	16	0	11	1	2	0
国立福岡病院	26	3	10	5	4	1	3
国立療養所南福岡病院	17	6	1	6	0	4	0
国立成育医療センター	16	4	0	4	2	0	5
千葉大学医学部	13	5	0	3	2	0	0
慶田保健衛生大学文部科学省病院	11	1	0	3	4	3	0
守山市長病院	10	1	6	2	0	1	0
富山医科大学	10	3	0	2	3	2	0
横浜国立大学市民総合医療センター	9	5	2	1	0	1	0
国立療養所下志津病院	8	4	0	1	3	0	0
神奈川県立こども医療センター	7	3	0	2	1	1	0
昭和大学医学部	6	3	0	1	1	1	0
JR仙台病院	6	1	0	3	1	1	0
岐阜大学医学部	3	2	0	1	0	0	0
高知医科大学	3	1	0	1	0	1	0
山口大学医学部	3	0	0	1	1	1	0
岡山医科大学	2	0	0	0	1	1	0
久留米大学医学部	2	1	1	0	0	0	0
津軽保健生活協同組合養生病院	2	1	0	0	0	1	0
日大藤沢光が丘病院	2	0	1	1	0	0	0
合計	219	84	21	56	27	23	8

表1：2002年度食物負荷試験実績

昨年度までのデータ325例と合わせた合計23施設の累計の食物負荷試験の544例の各施設の内訳ならびに抗原別内訳を以下の表2にまとめた。

《総合実績》	総症例数	全卵	卵黄	牛乳	小麦	大豆	プラセボ
国立福岡病院	173	81	10	47	28	12	15
国立成育医療センター	80	32	0	25	9	8	5
国立療養所三重病院	46	29	0	10	4	3	0
国立高知病院	37	16	0	15	1	3	0
国立療養所南福岡病院	34	16	1	13	0	5	0
慶田保健衛生大学文部科学省病院	25	1	0	8	9	7	0
岐阜大学医学部	23	11	0	6	5	1	0
千葉大学医学部	21	13	0	5	3	0	0
横浜国立大学市民総合医療センター	14	9	2	2	0	1	0
富山医科大学	12	4	0	3	3	2	0
国立療養所下志津病院	11	5	0	2	4	0	0
昭和大学医学部	11	5	0	4	1	1	0
守山市長病院	10	1	6	2	0	1	0
神奈川県立こども医療センター	9	5	0	2	1	1	0
岡山医科大学	7	1	0	1	3	2	0
久留米大学医学部	7	3	1	1	1	1	0
JR仙台病院	6	1	0	3	1	1	0
津軽保健生活協同組合養生病院	5	2	0	1	1	1	0
高知医科大学	3	1	0	1	0	1	0
山口大学医学部	3	0	0	1	1	1	0
日大藤沢光が丘病院	3	0	1	2	0	0	0
千葉こども病院	3	3	0	0	0	0	0
横浜国立大学医学部	1	0	0	0	0	1	0
合計	544	220	21	164	75	54	20

表2：総合食物負荷試験実績

D. 考察

全国23施設で共通のプロトコールで同じ負荷試験食にて鶏卵（全卵・卵黄）・牛乳・小麦・大豆の食物負荷試験が施行され累計の負荷試験も544例に達した。陽性率は全体では43%とIgECAPRASTの陽性率79%に比べるとはるかに低く負荷試験の重要性が確認され、陽性率は食物抗原ごとに異なり鶏卵（全卵）＞牛乳＞小麦＞大豆の順であった。これらはわが国での各抗原の耐性化の平均的傾向を反映していると考えられる。

アレルギー	食物負荷試験	Prick skin test	IgE CAPRAST
全卵	138/220 (63%)	127/140 (91%)	177/211 (84%)
卵黄	3/ 21 (14%)	9/ 9 (100%)	13/ 21 (62%)
牛乳	63/154 (41%)	77/100 (77%)	110/147 (75%)
小麦	24/ 75 (32%)	39/ 48 (81%)	63/ 75 (84%)
大豆	8/ 54 (15%)	12/ 29 (41%)	42/ 53 (79%)
Total	236/544 (43%)	264/329 (80%)	405/515 (79%)

表3：総合食物負荷試験抗原別陽性率

E. 結論

今後食物負荷試験の適応を見極めた上で入院での二重盲検食物負荷試験が可能な方法・抗原を標準化し普及につとめ、食物負荷試験の適応を明確にした上で診断方法として確立し、専門施設において保険診療行為として認められるよう働きかけていく必要がある。

2. 乳児期食物アレルギーの有病率に関する

疫学調査—第1報—

A. 研究目的

わが国には食物アレルギーの有病率のデータがなく、本研究班においても求められているところである。小児から成人までの全年齢を通しての有病率の調査は非常に困難なので最も食物アレルギーの頻度が高く正確な調査が可能な乳児期に対象を絞り相模原市の協力のもと4ヶ月健診でアンケート調査を行い、経時的に8ヶ月と12ヶ月時まで経過観察し乳児期発症の食物アレルギーの実態を把握する疫学調査を開始した。

B. 研究方法

相模原市地域保健課の協力のもとに相模原市医師会の上の了承を得た上で平成14年1月から12月までの1年間に相模原市にて4ヶ月健診を受けた乳児の保護者の中で文書同意が得られた方を対象として次に示すようなアンケート調査を行った。乳児期発症の食物アレルギーのほとんどがアトピー性皮膚炎を伴っているので、調査内容は、①湿疹に関する調査（湿疹の有無、部位、継続期間、医療機関の受診の有無、診断、検査の有無）、②栄養に関する調査（栄養状況、食物除去の有無、低アレルギーミルクの使用）、③家族歴（アレルギー性疾患、喫煙状況、ペット飼育状況）に関して行った。4ヶ月の時点ではまだ大部分はアトピー性皮膚炎あるいは食物アレルギーと診断されていないので、経時的な追跡調査として8ヶ月時と1才時に往復葉書による湿疹および食物アレルギーに関する追跡調査を行っている。

（倫理面への配慮）

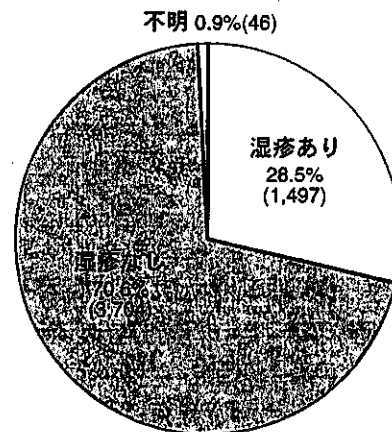
4ヶ月健診時に研究目的および方法を保護者に説明し文書により保護者の同意を得た上で本研究を行った。

C. 研究結果

平成14年1月から12月までに行われた4ヶ月健診でのアンケートの集計結果を以下に示す。調査対象はインフォームドコンセントが得られた相模原市にて出生し4ヶ月健診を受けた5247名の4ヶ月児の保護者からの回答である。

図1に示すように4ヶ月の時点で湿疹は

28.5% (1497/5247)の児が有し、湿疹の継続期間は1ヶ月未満が26.0%、1～2ヶ月が24.8%、2ヶ月以上が44.2%であった。興味深いことに図2に示すように誕生月により湿疹の有病率が5月生の18.3%に対して9月生の38%と2倍以上の差を認めたことである。秋から冬にかけて生まれた子は春から夏に生まれた子に比べて湿疹の有病率が極めて高かった。



回答者数5,247名

図1：4ヶ月児での湿疹保有率

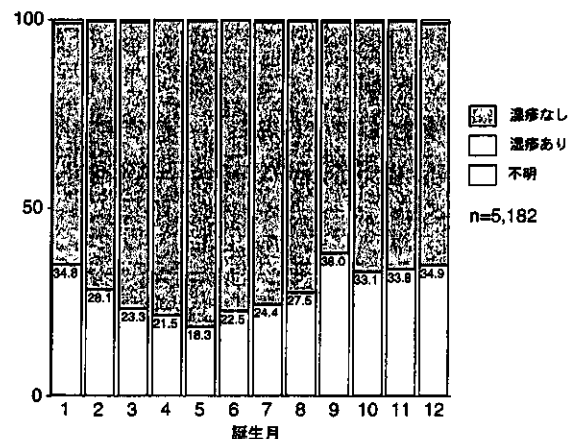
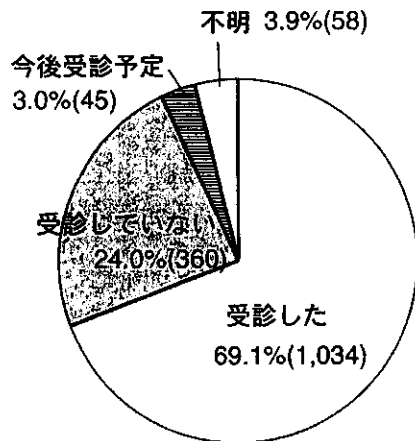


図2：誕生月による4ヶ月児湿疹保有率の差

図3に示すように湿疹保有している69.1%の児は湿疹に関して医療機関を受診しており、図4のようにその内訳は小児科が55.6%、皮膚科が30.0%であった。診断としては乳児湿疹が79.7%、アトピー性皮膚炎が7.6%であった。アレルギーに関する検査を受けていたのはIgE抗体の血液検査が36名、皮膚テストが19名であり、そのうちすでに卵20例、牛乳12例、小麦6例、大豆6例、イヌ2例、ネコ2例、ダニ3例にIgE抗体による感作が認められていた（図5）。



湿疹保有者 1,497名中

図 3 : 医療機関受診状況

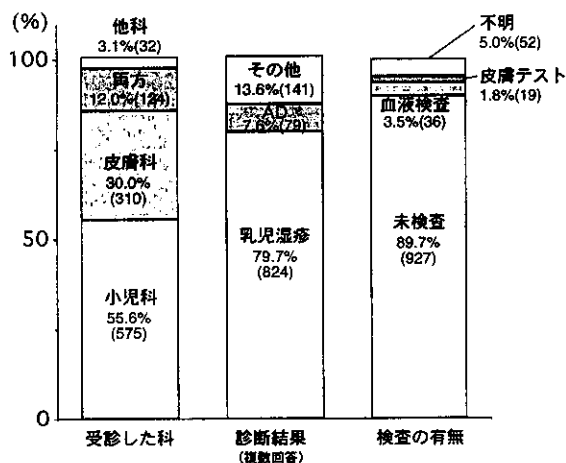


図 4 : 受診科・診断結果・検査受診状況

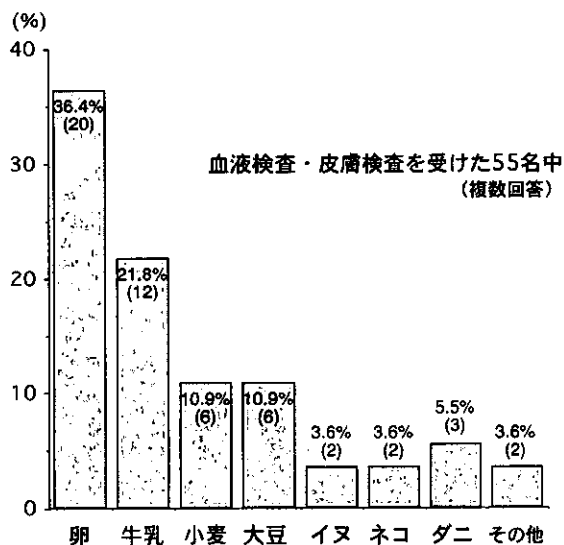


図 5 : アレルゲン感作状況

栄養状況は母乳のみが 27.9%、人工栄養が 10.4%、混合栄養が 60.8%であった。母乳栄養をしている母親(4652 名)のうち食物除去をしている割合は 4.2% (194/4652)で卵が 146 名、牛乳が

88 名、大豆が 33 名、小麦が 16 名であった。人工栄養をしている母親(3737 名)の中で低アレルギーミルクを使用しているのは 3.9% (145/3737)であった。食物除去ならびに低アレルギーミルクの導入の判断を自分でを行っている保護者の割合は 44.8% (87/194)、53.8% (78/145)であった。

家族内にアレルギー性疾患を保持している割合は 64.4% (3380/5247)に達しており、父親が 36.9%で母親が 40.7%であった。家族内の喫煙率は 60.9% (3197/5247)で父親が 50.5%、母親が 12.7%であった。自宅および実家でのペット (イヌ・ネコ) の飼育状況は 29.2% (1531/5247)に上り自宅・実家の屋内ペットの存在はそれぞれ 8.7% (454/5247)、15.5% (815/5247)であった。第 1 子は 51.6%、第 2 子は 36.3%、第 3 子は 9.5%であり、4 ヶ月時の湿疹の保有状況と兄弟の人数との関係は以下の通りである：本人が第 1 子で 30.5%、第 2 子で 26.4%、第 3 子で 27.9%、第 4 子以上で 24.7%

D. 考察

アンケート回収率は 88.4%で乳児期の食物アレルギーの有病率を調査する基礎のデータが得られた。

E. 結論

今回の調査でエントリーした約 5 0 0 0 名の乳児が 8 ヶ月時・12 ヶ月時にどのような経過をたどっていくのか非常に興味もたれる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hiroshi Tachimoto, Motohiro Ebisawa, Bruce S. Bochner : Cross-Talk between Integrins and Chemokines That Influences Eosinophil Adhesion and Migration, Int Arch Allergy Immunol. 2002 ; 128 (suppl 1) : 18-20
- 2) Motohiro Ebisawa, Kaori Ikematsu, Hiroshi Tachimoto : Utility of 10% Isodine Gel Containing Ointment for the Treatment of Acute Lesions in Atopic Dermatitis, Dermatology. 2002 ; 204(suppl 1) : 125
- 3) 池松かおり, 海老澤元宏 : 食物アレルギー

- の発症と耐性獲得, 日本小児アレルギー学会誌. 2002; 16(2): 144-148
- 4) 海老澤元宏, 池松かおり, 小松真紀, 田知本寛: 食物アレルギーの増加について, 日本小児科学会雑誌. 2002; 106(11): 1609-1615 海老澤元宏: 特集「食物アレルギー」2. 食物アレルギーはなぜ起こるの?—症状とメカニズム—, チャイルドヘルス, 診断と治療社. 2002; 5(1): 8-11
 - 5) 海老澤元宏, 池松かおり: 小児の治療指針 4. 免疫・アレルギー 食物アレルギー (長期管理を含む), 小児科診療, 診断と治療社. 2002; 65(Suppl.): 215-218
 - 6) 海老澤元宏, 今井孝成, 飯倉洋治: 特集: 食とアレルギーの最新動向 1. 食物アレルギーの疫学, アレルギーの臨床, 2002; 6(22): 17-21
 - 7) 海老澤元宏, 池松かおり: 食物負荷試験の適応と食物アレルギーの寛解について, 食物アレルギー研究会会誌, 食物アレルギー研究会. 2002; 2(1): 22-27
 - 8) 海老澤元宏, 池松かおり, 田知本寛: 多アレルギー陽性食物アレルギー児の管理について, 臨床と薬物療法, ミクス. 2002; 21(7): 22-27
 - 9) 海老澤元宏: わが国の食物アレルギーの現状について, 日本食品保全研究会報. 2002; 7(2): 5-9
- 2.学会発表
- 1) Motohiro Ebisawa, Chizuko Sugizaki, Hiroshi Tachimoto, Kaori Ikematsu, Takanari Imai, Yoji Iikura: Evening Symposium: Government Study on Food Allergy in Japan. 4th APAPARI / 9th TPAIS / 11th PSCAI. Tokyo. 2002.9
 - 2) 海老澤元宏: 食物アレルギーの現状と対策, 第 55 回小児アレルギー同好会. 千代田区. 2002.2
 - 3) 海老澤元宏: 食品とアレルギー, 健康事業総合財団・東京顕微鏡院 財団創立 110 周年記念シンポジウム 食の安全と健康を考える. 千代田区. 2002.3
 - 4) 海老澤元宏, 池松かおり, 小松真紀, 田知本寛: シンポジウム 4 アトピー性皮膚炎の難治化の病態とその対応 難治化要因としての食物アレルギーおよび環境因子, 第 14 回日本アレルギー大会春期臨床大会. 千葉市. 2002.3
 - 5) 海老澤元宏, 池松かおり, 小松真紀, 田知本寛: 分野別シンポジウム 1 乳児アレルギー疾患の変遷—アレルギー性疾患の増加と発症の低年齢化を考へて— 食物アレルギーの増加について, 第 105 回日本小児科学会学術集会. 名古屋市. 2002.4
 - 6) 海老澤元宏: 特別講演 難治化要因としての食物アレルギーおよび環境因子, 第 14 回アトピー性皮膚炎を考える会. 金沢市. 2002.5
 - 7) 海老澤元宏: 特別講演 II 食物アレルギーの実態及び対策, 第 17 回東北小児喘息アレルギー研究会. 山形市. 2002.6
 - 8) 海老澤元宏: 教育講演 2 (3) 食物アレルギーの現状と対策, 第 6 回日本医療保育学会. 港区. 2002.6
 - 9) 海老澤元宏: 特別講演「乳児期アトピー性皮膚炎における食物アレルギーの関与とその予後」, 第 20 回滋賀県小児アレルギー研究会. 草津市. 2002.9
 - 10) 海老澤元宏: シンポジウム 2-1 厚生科学研究における食物アレルギーに対する取り組み, 第 39 回日本小児アレルギー学会. 盛岡市. 2002.11
 - 11) 池松かおり, 田知本寛, 小松真紀, 海老澤元宏: 乳児アトピー性皮膚炎に関する検討, 第 14 回日本アレルギー大会春期臨床大会. 千葉市. 2002.3
 - 12) 池松かおり, 小松真紀, 田知本寛, 海老澤元宏: 小児期食物アレルギーにおける耐性獲得, 第 105 回日本小児科学会学術集会. 名古屋市. 2002.4
- H.知的財産権の出願・登録状況
特になし

食物アレルギーの免疫学的発症機序の解明に関する研究

分担研究者 近藤 直実 岐阜大学医学部小児科 教授

研究協力者 伊上良輔, 鈴木清高, 坂口平馬, 近藤 應, 松隈英治, 加藤善一郎
岐阜大学医学部小児科

研究要旨

beta-lactoglobulin(BLG)特異的 T 細胞クローン(TCC)を用い, 同細胞が認識するペプチド(BLGp97-117:TDYKKYLLFCMENSAEPEQSL)に関するアナログペプチドに対する反応の差異を検討した。BLG 特異的 TCC のコア配列は, p102-112(YLLFCMENSAE)であった。アラニンスキャニングでは, E108A の変更で TCC の増殖反応が消失し, C106A の変更で TCC の増殖反応が減少した。アナログペプチドを用いた検討では, p105(F)から p108(E)までの残基の変更で増殖反応が消失していた。これらの結果を応用し, T 細胞を anergy に導くペプチドを見だし, アレルギー疾患の治療に役立てるべく検討を進めていきたい。

A.研究目的

食物アレルギーをはじめとするアレルギー疾患の病態検索の一環として牛乳アレルギーに着目し, 以前我々が樹立した牛乳の主要抗原である beta-lactoglobulin(BLG)を特異的に認識する T 細胞クローン (TCC)を用い, 同クローンが認識するペプチドに関するアナログペプチドに対する反応の差異を検討し, アレルギー反応を解析することを目的とした。

B.研究方法

162 残基よりなる BLG の全アミノ酸配列に従い 22 個のオーバーラッピングペプチド (BLG ペプチド) を合成し抗原として用いた (図 1)。



図1 BLG overlapping peptides の作成デザイン

牛乳アレルギー患児の末梢血単核球(PBMC)を BLG ペプチドと共に培養し, 抗原ペプチドパルスした irradiated auto PBMC を feeder としてサイトカイン(IL-2,IL-4)を添加して feeding を繰り返して BLG 特異的 TCL を樹立, 限界希釈法により BLG 特異的 TCC を樹立。TCC により認識される peptide 断片を同定した。抗 HLAAb および alloPBMC を用いて抗原提示分子を同定した。

FACScan で細胞表面マーカーを検討した。

BLG 特異的 TCC の認識するペプチドのコア配列および同部位のアラニンスキャニングを検討し (図 2), 作成したアナログペプチド (図 3) を用いてそれぞれに対する TCC の増殖反応を検討した。

BLG p97-117	97	117
	TDYKKYLLFCMENSAEPEQSL	
K 101 A	TDYKAYLLFCMENSAEPEQSL	
Y 102 A	TDYKALLFCMENSAEPEQSL	
L 103 A	TDYKYLALFCMENSAEPEQSL	
L 104 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
F 105 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
C 106 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
M 107 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
E 108 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
N 109 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
S 110 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	
E 112 A	TDYKYLAFMENSAEPEQSL	

図2 BLGp97-117のアラニンスキャニングペプチド

Y102A	: ALLFCMENSAE	C106G	: YLLFCMENSAE
Y102F	: ELLFCMENSAE	M107A	: YLLFCMENSAE
Y102W	: YLLFCMENSAE	M107T	: YLLFCMENSAE
Y102I	: ILLFCMENSAE	M107I	: YLLFCMENSAE
Y102L	: LLLFCMENSAE	M107V	: YLLFCMENSAE
Y102V	: YLLFCMENSAE	M107L	: YLLFCMENSAE
Y102H	: HLLFCMENSAE	M107C	: YLLFCMENSAE
Y102S	: SLLFCMENSAE	M107G	: YLLFCMENSAE
L103A	: YLLFCMENSAE	M107S	: YLLFCMENSAE
L103F	: YLLFCMENSAE	M107F	: YLLFCMENSAE
L103W	: YLLFCMENSAE	E108A	: YLLFCMENSAE
L103V	: YLLFCMENSAE	E108D	: YLLFCMENSAE
L103I	: YLLFCMENSAE	E108Q	: YLLFCMENSAE
L103G	: YLLFCMENSAE	E108V	: YLLFCMENSAE
L103S	: YLLFCMENSAE	E108S	: YLLFCMENSAE
L104A	: YLLFCMENSAE	E108R	: YLLFCMENSAE
L104F	: YLLFCMENSAE	E108K	: YLLFCMENSAE
L104W	: YLLFCMENSAE	N109A	: YLLFCMENSAE
L104V	: YLLFCMENSAE	N109Q	: YLLFCMENSAE
L104I	: YLLFCMENSAE	N109V	: YLLFCMENSAE
L104G	: YLLFCMENSAE	N109D	: YLLFCMENSAE
L104S	: YLLFCMENSAE	N108S	: YLLFCMENSAE
F105A	: YLLFCMENSAE	N109G	: YLLFCMENSAE
F105I	: YLLFCMENSAE	N109T	: YLLFCMENSAE
F105L	: YLLFCMENSAE	S110A	: YLLFCMENSAE
F105V	: YLLFCMENSAE	S110C	: YLLFCMENSAE
F105W	: YLLFCMENSAE	E112A	: YLLFCMENSAE
F105S	: YLLFCMENSAE	E112Q	: YLLFCMENSAE
C106A	: YLLFCMENSAE	E112D	: YLLFCMENSAE
C106S	: YLLFCMENSAE	E112S	: YLLFCMENSAE
C106L	: YLLFCMENSAE	E112R	: YLLFCMENSAE
C106V	: YLLFCMENSAE	E112V	: YLLFCMENSAE
		E112G	: YLLFCMENSAE

図3 BLGp102-112のアナログペプチド

C. 研究結果

細胞増殖反応結果より, BLG 特異的 TCC (YA4 および HA5.7) は, BLGp97-117 (TDYKKYLLFCM ENSAEPEQSL) を HLA-DRB1*0405 による抗原提示で認識していた。またこれらの TCC は, CD3 陽性, CD4 陽性, CD8 陰性, TCR $\alpha\beta$ 陽性, TCR $\gamma\delta$ 陰性であった。同ペプチドのコア配列は, BLGp102-112 (YLLFCM ENSAE) であり, アラニンスキャニングを実施したところ, E108A の変更で TCC の増殖反応が消失し, C106A の変更で TCC の増殖反応が減少した (図 4)。

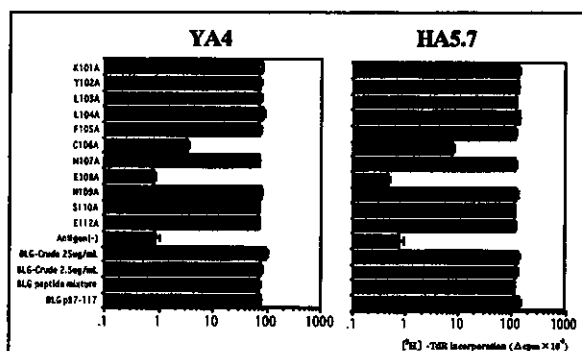


図 4 BLGp97-117 アラニンスキャニング

アナログペプチドを用いた検討では, p105(F) から p108(E) までの残基の変更で増殖反応が消失していた (図 5)。

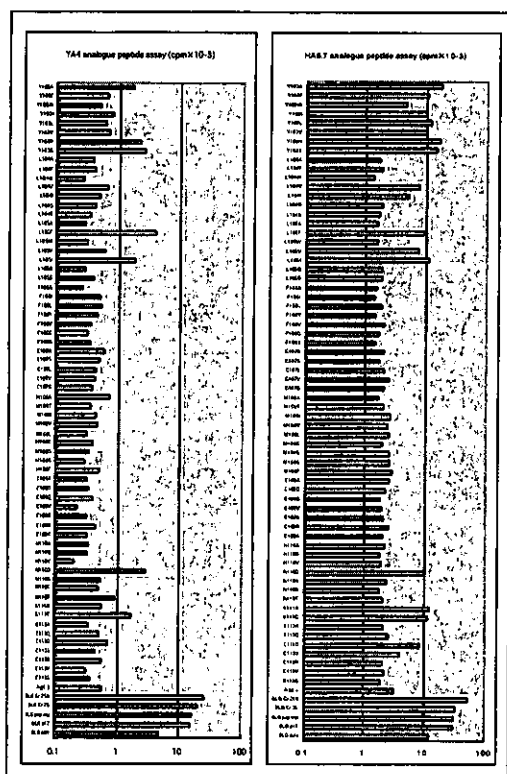


図 5 BLGp102-112 のアナログペプチドに対する細胞増殖反応結果

D. 考察

以前の実験結果より, BLG 特異的 TCC は HLA-DRB1*0405 で提示されたペプチドを認識するが, 今回同定されたコア配列 (YLLFCM ENSAE) は, この HLA 分子に結合する最小単位のペプチドであるものと考えられる。またアラニンスキャニングで E108A の変更で TCC の増殖反応が消失し, C106A の変更で TCC の増殖反応が減少し, アナログペプチドを用いた検討で p105(F) から p108(E) までの残基の変更で増殖反応が消失していた。立体構造学的考察を加味し, BLG ペプチド-HLA 複合体と T 細胞レセプターとの相互関係を考察すると, HLA-DRB1*0405 に結合した BLG ペプチドの配列のうち, p105(F) および p108(E) が T 細胞側に提示される可能性が考えられ, 陰性荷電を持つ p108(E) が, 陽性荷電を持つ T 細胞側の K と相互作用を持ち, また p105(F) と T 細胞側の V とがともに疎水性を持ち, 各々結合に関与しているものと考えられた (図 6)。p106(C) は T 細胞側に存在せず, この残基の変更によりペプチドの立体構造が変化し, T 細胞の反応が変化するものと推察された。

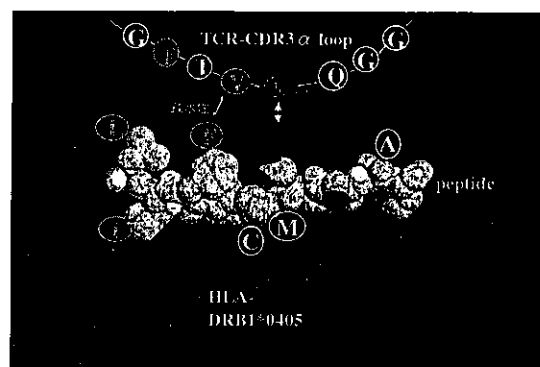


図 6 BLG ペプチド-HLA 複合体と T 細胞レセプターとの相互関連

E. 結論

- 1) BLG 特異的 TCC (YA4 および HA5.7) は, BLGp97-117 を HLA-DRB1*0405 による抗原提示で認識していた。またそれらのコア配列は, BLGp102-112 (YLLFCM ENSAE) であった。
- 2) アラニンスキャニングでは, E108A の変更で TCC の増殖反応が消失し, C106A の変更で TCC の増殖反応が減少した。アナログペプチドを用いた検討では, p105(F) から p108(E) までの残基の変更で TCC の増殖反応が消失

していた。

- 3) これらの結果を応用し、アレルギー反応に関与すると考えられる T 細胞を anergy に導くペプチドを見だし、アレルギー疾患の治療に役立てるべく検討を進めていきたい。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) R.Inoue, S.Matsushita, H.Kaneko, S.Shinoda, H.Sakaguchi, Y.Nishimura, N.Kondo.
Identification of β -lactoglobulin-derived peptides and class II HLA molecules recognized by T cells from the patients with milk allergy. Clin Exp Allergy 31;1126-1134,2001.
- 2) H.Sakaguchi, R.Inoue, H.Kaneko, M.Watanabe, K.Suzuki, Z.Kato, S.Matsushita, N.Kondo.
Interaction among HLA-peptide-TCR complexes in cow's milk allergy: significance of HLA and TCR-CDR3 loops. Clin Exp Allergy 32;762-770,2002.
- 3) K.Suzuki, R.Inoue, H.Sakaguchi, Z.Kato, H.Kaneko, S.Matsushita, N.Kondo. The correlation between ovomucoid-derived peptides, HLA class II molecules and TCR-CDR3 compositions in patients with egg-white allergy. Clin Exp Allergy 32;1223-1230,2002.

2.学会発表

- 1) 鈴木清高, 伊上良輔, 坂口平馬, 金子英雄, 加藤善一郎, 篠田紳司, 近藤直実: 卵白アレルギーにおけるオボムコイド特異的 T 細胞クローンの解析: 日本アレルギー学会春季臨床大会 (2002 年 3 月 22 日, 横浜)
- 2) 鈴木清高, 伊上良輔, 坂口平馬, 松隈英治, 金子英雄, 加藤善一郎, 篠田紳司, 近藤直実: Beta-lactoglobulin 特異的 T 細胞クローンの解析—アナログペプチドを用いた検討— (2002 年 11 月 28 日, 横浜)

H.知的財産権の出願・登録状況

特になし

食物アレルギーの成人発症機序の解明に関する研究

第3報 アトピー性皮膚炎の食物アレルギーにおける常在細菌真菌叢の病因論的研究

分担研究者 池澤 善郎 横浜市立大学医学部皮膚科 教授
研究協力者 嶋村香苗, 福永有希, 内田敬久, 松倉節子, 大砂博之
横浜市立大学医学部皮膚科

研究要旨

1) 食物アレルギーとの関連が示唆されているカンジダの反応性について、アトピー性皮膚炎 (AD) 患者を対象に IgE 抗体価に加え、腸管内のカンジダに対する粘膜免疫の低下があると考え、唾液中の分泌型 IgA (sIgA) 抗体価の測定を施行した。カンジダ-IgE-RAST 陽性例では、クラスの上昇と共にカンジダ特異的 sIgA 抗体価は低下する傾向がみられた。カンジダ-IgE-RAST 陰性例では、健常人とほぼ同様で低値であった。個々の症例における sIgA 抗体価の経時的変動幅は全体として小さく、その値はある程度患者の粘膜免疫能を示すことが示唆された。末梢血単核細胞をカンジダや β -グルカンにて刺激培養したところ、培養上清中に IgA 抗体が検出され、カンジダ-IgE-RAST 陽性例においては、抗体価と培養上清の sIgA 抗体価は正の相関を認めた。以上から、腸管におけるカンジダ特異的 sIgA 分泌低下と IgE 抗体の上昇に関与が認められた。

2) Ds-Nh マウスと NC/Nga マウスの脾細胞を SEB、Con A、CpG motifs を含む細菌性 DNA で刺激培養したところ、培養上清中に顕著な IFN γ ・IL-12・IL-13 の産生が Ds-Nh では誘導されたが、NC/Nga では誘導されず、前者は Th1 応答不全のないモデルマウスに対して、後者は Th1 応答不全に関係した Th2 優位なモデルマウスであることが示唆された。

3-1) ラテックスアレルギー患者では食物アレルギーを合併することが知られており、その主たる理由にはヘベイン蛋白との交差性が指摘されている。精製ヘベインの IgE 抗体価を、ラテックス CAP-RAST が陽性であるが、プリックテスト (SPT) が陰性であるラテックスアレルギー非発症例と、陽性で発症例である 2 群に分けて検討したところ、ラテックス CAP-RAST の抗体価では 2 群間に重なりが多いが、ヘベイン抗体価では、高値例はほぼ発症例であった。一方、食物アレルギーが無い症例でもヘベイン抗体価が高値を示す例があり、ヘベイン抗体価から食物アレルギーの有無を類推することは困難であった。

3-2) 口腔アレルギー症候群 (OAS) は成人の食物アレルギーの主たるものであり、花粉との交差性により発症することが多い。飛散花粉の異なる横浜と札幌で同時に皮膚科外来新患患者にアンケート調査を施行したところ、札幌の方が若干 OAS の罹患率が高かった (6.7%、9.2%)。横浜はキウイ・メロン・パイナップル・モモが多く、札幌ではリンゴ・モモ・サクランボ・メロンと差違がみられ、札幌の方がシラカバ花粉との関連が指摘されている食品による OAS が多く、誘発食品数も横浜の倍近くとなった。当科において、4 種類の花の感作率を SPT にて検討したところ、スギの SPT 陽性率は、シラカバ関連 OAS 非合併群 67%・合併群 60%と同程度あり、以下それぞれカモガヤ 43%・40%、ブタクサ 49%・40%、シラカバ 43%・80%とシラカバ関連 OAS 合併群のシラカバ感作率は高率であるとともに、非合併群においてもカモガヤと同程度の感作率を示し、今後の症例の増加が危惧された。

1) アトピー性皮膚炎 (AD) 患者の常在真菌

カンジダに対する粘膜免疫の検討

A. 研究目的

AD 患者において、特異的 IgE 抗体が陽性の食物項目数の増加に伴い、カンジダ特異的 IgE 抗体価が有意に上昇すること、穀物アレルギーを伴う難治性 AD が抗真菌剤内服療法によりしばしば改善することなどから、食物アレルギー発症の基礎に腸管内のカンジダに対する粘膜免疫の低下があると考え、平成 13 年度に引き続き、症例数を増やしてカンジダ特異的 IgE 抗体価と分泌型 IgA (sIgA) 抗体価の関係を検討すると共に、数カ月以上に渡る sIgA 抗体価の経時的変化、さらに AD 患者及び健常人の末梢血単核細胞を用いたカンジダや β -グルカンの刺激培養による IgA 抗体の産生誘導能を検討した。

B. 研究方法

これまでと同様に被験者から唾液を採取し、ELISA で総 sIgA 値・特異的 sIgA・蛋白量を測定して唾液量や日内変動に影響されない特異的 sIgA/総 sIgA の比を特異的 sIgA 抗体価とした。また末梢血から HISTOPAQUE-1077 (SIGMA) を用いて単核細胞を分離し、RPMI-1640 培地にて 24well プレートに、最終濃度 細胞: 4×10^6 cells/mL カンジダ、 β -グルカン抗原: $10 \mu\text{g/mL}$ または $50 \mu\text{g/mL}$ となるようにして、 37°C 、5% CO_2 環境下で 1 週間培養し、その培養上清中に産生分泌された sIgA 抗体量を ELISA で測定した。(倫理面への配慮) 口頭にて説明を行い、同意書に署名を頂いた。

C. 研究結果

1. カンジダ特異的 sIgA 抗体価は、カンジダ-IgE-RAST のクラス 0 群 (n=20) では低く、健常人 (n=13) とほぼ同じレベルであったが、クラス 1 群 (n=12) と 2/3 群 (n=156) は 4 以上群 (n=69)

に比べて有意に高く、クラス1群が平均最高値を示し、クラスの上昇と共に段階的に低下した。2. カンジダ-IgE-RAST のクラス4以上の7例、クラス3の6例、クラス2の3例、合計16例の患者についてカンジダ特異的 sIgA 抗体価を数カ月以上に渡って経時的に3点以上測定したところ、クラス2の3例では高い抗体価レベルで変動し、クラス4以上の7例では1例を除き低い抗体価レベルで変動するのに対して、クラス3の6例ではその中間の抗体価のレベルで変動したことから、個々の症例における変動幅は全体として小さく、その値はある程度患者の粘膜免疫能を示すことが示唆された。3. まだ検討症例が少なく予備的研究の段階であるが、カンジダ特異的 sIgA 抗体価の低い健康人だけでなく、カンジダ特異的 IgE 抗体価が高く sIgA 抗体価が低い AD 患者においても、その末梢血単核細胞を用いてカンジダやβ-グルカンを追加刺激培養したところ、培養上清中に IgA 抗体が有意に検出され、カンジダ-IgE-RAST 陽性例においては、抗体価と培養上清の sIgA 抗体価は正の相関を認めた。一方、カンジダ-IgE-RAST 陰性例は、一定の傾向を認めなかった。

D. 考察およびE. 結論

平成13年度に引き続き、症例数を増やし検討した。その結果、カンジダ-IgE-RAST 陽性例で検討すると、クラス1の群が1番カンジダ特異的 sIgA 抗体価が高く、クラスが高くなるにつれ、カンジダ特異的 sIgA 抗体価は低くなるという逆相関を示した。また、カンジダ特異的 sIgA 抗体価を最長22ヶ月まで経時的に測定を行ったところ、変動幅は狭く短期的に変動するものではないことが明らかとなった。唾液と末梢血による sIgA 抗体の産生の検討からは、カンジダやβ-グルカンは IgA 抗体産生誘導能を示すと共に、カンジダ特異的 sIgA 抗体の産生障害は少なくとも末梢血レベルにはなく、粘膜局所において産生障害があることが示唆された。以上の結果からは、カンジダ特異的 sIgA 抗体の分泌が何らかの理由で低い例は、腸管からのカンジダの防御機構が不十分で IgE 抗体の産生をきたし、その結果 AD が難治化する可能性も類推される。今後長期的な検討になるが、発症早期でカンジダ-IgE-RAST が陰性である AD 患者のうち、カンジダ特異的 sIgA 抗体が低い例が、高率にカンジダ-IgE-RAST が陽性になり AD が難治化しやすくなるのか、逆にカンジダ特異的 sIgA 抗体が高い例は、カンジダ-IgE-RAST が陰性のままで AD は軽症例が多いのか、経過を観察する予定である。また、経口抗真菌剤によって、皮疹の軽快と共にカンジダ-IgE-RAST が低下することは平成12年の検討でも報告したが、そのような群におけるカンジダ特異的 sIgA 抗体の経時測定も施工中である。

2) AD のモデルマウス Ds-Nh と NC/Nga における黄色ブドウ菌の検討

A. 研究目的

皮疹の自然発症に伴う血清 IgE 値の上昇に先立って黄色ブドウ菌が検出される Ds-Nh マウスと血清 IgE 値の上昇に伴う皮疹の自然発症後に黄色ブドウ菌が検出される NC/Nga マウスにおいて、これらのマウスは皮疹のみならず食物アレルギーを伴う腸管の免疫異常が示唆されるため、まず免疫応答に関する検討を行った。

B. 研究方法

脾細胞を Th1-inducer の黄ブドウ由来スーパー抗原の SEB、T 細

胞 mitogen の Con A、CpG motifs を含む細菌性 DNA で刺激培養して、培養上清中の IFN γ ・IL-12・IL-13 の産生を ELISA (BIOSOURCE 社) にて測定した。

C. 研究結果、D. 考察および E. 結論

培養上清中に顕著な IFN γ ・IL-12・IL-13 の産生が Ds-Nh では誘導されたが、NC/Nga では誘導されず、前者は Th1 応答不全のないモデルマウスに対して、後者は Th1 応答不全に関係した Th2 優位なモデルマウスであることが示唆され、両モデルマウスにおいて AD 様皮疹の発症とその病態に対する黄色ブドウ菌の関与に違いがあることが示された。

3) 果物アレルギーとラテックスアレルギーにおける交差反応性抗原分子の検討

3-1) ラテックスアレルギーにおけるヘベイン抗体の検討

A. 研究目的

ラテックスアレルギーの約半数には、ラテックス主要抗原のヘベインと類似の構造による交差反応により、バナナ・アボカド・クリ・キウイ・パッションフルーツ・パパイヤ・マンゴ・トマト・小麦などの食物アレルギーを呈することが知られている。また、リンゴ・アボカド・バナナ・トマトなどは、熟成を促進するためにエチレンを食物ホルモンとして使用する場合があります。このエチレン処理によってヘベイン蛋白を有するクラスキチナーゼ量が増加することが報告され、近年の latex-fruits syndrome の増加の一因に類推されている。そこで、精製ヘベインの特異的 IgE 抗体の測定を行い、ラテックスアレルギーの発症や食物アレルギーの合併との関連について検討した。

B. 研究方法

対象は、当科通院中の AD 患者で、ラテックスに対するプリックテスト (SPT)・CAP-RAST・保存血清が可能であった例の中から抽出した。ラテックス CAP-RAST がクラス1以上を示した43例のうち、ラテックス SPT陽性群(24名)、SPT陰性群(19名)とした。口腔アレルギー症候群の有無は病歴により診断した。ヘベインは、国立医薬品食品衛生研究所の矢上博士から供与されたものを使用し、EAST法で測定した。すなわち Ceska らの方法に従い CNBr で活性化したペーパーディスクに精製抗原を1枚につき1 μ g 相当を吸着させた。抗原ディスクを50 μ l の血清と室温で3時間反応後洗浄し、50 μ l の β -galactosidase-conjugated antihuman IgE (CAP RAST FEIA, Pharmacia) と1晩室温にて反応させた。5回洗浄後、比色法にて測定した(425nm)。測定値は、ダニアレルギー患者のプール血清を CAP-RAST (Der.f) の0.35、0.7、3.5、17.5U/ml に合わせたものを標準曲線として用いて、PRU/ml で表した。Pharmacia の推奨通り 0.35PRU/ml 以上を陽性とした。

(倫理面への配慮)

口頭にて説明を行い、プリックテスト・保存血清に対する同意書に署名を頂いた。

C. 研究結果および D. 考察

ラテックス CAP-RAST 陽性例を SPT の結果に分け、ラテックスとヘベイン IgE 抗体価を検討したところ、ラテックス IgE 抗体価は、SPT 陽性群に高値例を示す例が多かったものの、SPT 陰性群にも同程度の抗体価を示す例も多く、ラテックス IgE 抗体価によってラテックスアレルギーの発症有無を類推すること

は不可能であった。一方、ヘベイン IgE 抗体価は、SPT 陰性例では低値、SPT 陽性例では高値を示し、15PRU/ml 以上を陽性とする、SPT 陰性例では 1 例のみ陽性となり、SPT 陽性例では 1 例のみ陰性と、ある程度のラテックスアレルギーの発症を予測できることが示唆された。ついで、食物アレルギーの合併の有無と、上述したヘベイン関連の食物アレルギーと関連の無い食物アレルギーの合併例と分けたところ、ラテックス抗体価は 3 群に差が見られなかった。ヘベイン IgE 抗体価において、ヘベイン関連の食物アレルギー合併例は全例高値を示したが、非関連群や食物アレルギーの非合併例にも同程度の抗体価を示す例が一部存在し、ヘベイン IgE 抗体価から、臨床症状を推測することは不可能であった。

E. 結論

ラテックス CAP-RAST の測定からは、ラテックスアレルギーの発症の有無は予測できないが、ヘベイン IgE 抗体価が高値を示すと、ラテックスアレルギーである可能性が高いことが示された。しかし、食物アレルギーの合併の有無を予測することは出来なかった。

3-2) 口腔アレルギー症候群 (OAS) における地域差と花粉感作率の検討

A. 研究目的

1) 地域差の検討: OAS は、花粉アレルギーとの交差性により発症することが多いと考えられ、地域により飛散花粉の種類が異なるため、食物アレルギーの発症食物にも差があることが知られている。平成12年度の検討では、誘発食物の多い順にメロン・モモ・キウイ・リンゴ・パイナップルとなっていたが、有症状者によるアンケート調査であった。そのため、地域差と発症頻度の予想を行うため、当院とシラカバ花粉症が多い北海道の医院の 2 施設において、皮膚科初診患者にアンケート調査を行い検討した。

2) 感作率の検討: OAS の代表は、シラカバ花粉症患者におけるリンゴなどのバラ科食物によるものであるが、関東ではシラカバの飛散は少なく、高地に僅か生息するのみである。六甲山麓では同じハンノキ属のオオバヤシャブシによるリンゴ OAS が知られているが、関東では、以前の検討からハンノキ花粉によるものと類推している。また、リンゴなどのバラ科食物による OAS も神奈川の当科でも多いために、シラカバ等の花粉の感作の状況を調査するために、SPT を施行して検討した

B. 研究方法

1) 当科外来 (横浜) と札幌の西さっぽろ皮膚科・アレルギー科 (札幌) の 2 施設において同時期に、簡単なアンケート調査にて OAS 症状がありそうな方には、詳細なアンケートもお願いした。

2) 当科外来に通院し、ブリックテストを施行した 56 例の解析とした。陽性コントロールには二塩酸ヒスタミン 10mg/ml、陰性コントロールとスギ・カモガヤ・ブタクサ花粉は鳥居スクラッチエキスを、シラカバは Miles 社 (現 Hollister 社) の皮内テスト液を代用した。陰性コントロールより 3mm 以上の膨疹を形成した抗原を陽性とした。

(倫理面への配慮)

アンケート調査を行うにあたり、北海道では文書による説明を行った。SPT は口頭にて説明を行い、同意書に署名を頂いた。

C. 研究結果

1) 横浜の新患者は 616 名であったが、解析可能例は 312 名であり平均 40.8 歳と、札幌 (27.9 歳) よりは病院の機能上高齢となった。2 施設とも約 300 例の新患者において、アンケート上 OAS 罹患例は、横浜 21 例で 6.7%、札幌 28 例で 9.2%と、札幌の方が若干罹患率が高かった。また、両施設とも女性の方が、多く OAS を発症していた (横浜 6 倍、札幌 3.7 倍)。AD の有症者は、横浜 51 名、札幌 71 名で、AD における OAS の合併例は、横浜 7 例で 14%(7/51)、札幌 10 名で同じく 14%(10/71)となり、逆に OAS 患者における AD の合併率は、横浜 33%(7/21)、札幌 36%(10/28)であった。一方、OAS 患者におけるアレルギー性鼻炎の合併率は、横浜 69%、札幌 72%と高率であった。誘発食品については、横浜はキウイ・メロン・パイナップルが 6 名と多く、次いでモモの 4 名で、平均 2.9 食品であった。一方、札幌では、リンゴ 17 名、モモ・サクランボ 12 名、メロン 8 名、梨・ビワ 6 例となり食品に差が見られ、また、平均誘発食品数も 5.5 と多かった。AD の合併の有無で OAS の発症率を検討すると、2 施設とも AD 合併群の方が、2 倍程度発症率が高値であった。OAS の発症年齢を、AD の合併の有無により比較すると、AD を合併している群の方が、発症年齢が若年であった。

2) 56 例の中で、シラカバ花粉との交差性が指摘されているリンゴ・キウイの OAS 合併例が 5 例認められたので、OAS 非合併群 51 例と OAS 合併群 5 例に分類した。スギの SPT 陽性率は、非合併群 67%・合併群 60%と同程度あり、以下それぞれカモガヤ 43%・40%、ブタクサ 49%・40%、シラカバ 43%・80%とシラカバ関連 OAS 合併群のシラカバ感作率は高率であった。

D. 考察

北欧においては、シラカンバ花粉症の 2 割から 7 割に発症するといわれている。日本においては、北海道のシラカンバ RAST2 以上の花粉症患者のうち 16%に果実の OAS が出現したとの報告や、関東では気管支喘息患者 418 名を対象としたところ 9.7%に OAS がみられた報告があり、今回の検討でも同程度であった。平成 12 年度のアンケート調査で AD の合併率が高率であったのは、今回の検討から AD 患者が多く受診していたためと考えられたが、AD の合併は OAS 発症の危険因子ではありそうである。地域により OAS を呈する食品に差が見られ、これは飛散花粉の違いによるものと思われた。SPT は CAP-RAST 等の血清学的検査よりも、感度が良いことが知られているため、ブリックテストでの感作状況を検討したが、ハンノキの抗原液は無く、シラカバの抗原液で皮内テスト用を用いたので感度はやや低い可能性がある。それでも、横浜においてシラカバ感作率が、カモガヤと同程度にみられたことが判明し、今後の症例の増加が危惧された。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

1) 20th world congress of dermatology ; Decrease of secretory IgA levels to Candida in patients with severe type of atopic dermatitis.
Shimamura K et al

H. 知財財産権の出願・登録状況 特になし

重篤な食物アレルギーの全国調査に関する研究

分担研究者 飯倉 洋治 昭和大学小児科 教授
研究協力者 今井 孝成 昭和大学小児科 助手

研究要旨

本邦における食物アレルギー即時型の実態を明らかにするために、日本アレルギー学会認定・専門・指導医および日本小児アレルギー学会会員など約 2000 名の調査協力を得て、平成 13 年度に引き続き prospective に症例の集積を行った。結果 1546 症例を得ることが出来、その詳細を検討することができた。本結果が今後の本邦における食品表示のありかたを考える基礎データとなるものとする。

A.研究目的

旧厚生省の管轄で平成 8 年度から本邦における食物アレルギーの疫学調査が全国的に行われてきた。平成 10・11 年度は全国病院のうち、ベッド数 100 床以上で小児科を有する施設を対象に調査期間が 2 年間に渡ったアンケート調査を行ってきた。そのデータをもとに、平成 14 年度より特定原材料 24 品目の食品表示義務が施行された。

本年度調査は、昨年度に継続して行われ、協力者としてアレルギー診療に日頃携わる医師を対象とし 3 ヶ月毎のプロスペクティブな調査とすることで、本邦の即時型食物アレルギーの実態に迫り、特定原材料 24 品目の検討および今後の食物アレルギー診療および研究に役立つデータを提示する事を目標とする。

B.研究方法

日本アレルギー学会認定・専門・指導医、日本小児アレルギー学会会員を対象に平成 12 年度に本調査の主旨を説明し、参加意思を示した約 2000 名の医師を対象とした。調査票は葉書を用い、3 ヶ月毎にプロスペクティブな調査を行った。

調査項目は名前(イニシャル)、性別、年齢、原因抗原、臨床症状、該当抗原の特異的 IgE 値(CAP-RAST 法)(Class 表示)、ダニ特異的 IgE 値(CAP-RAST 法)(Class 表示)、転帰とした。

調査期間は第 5 回(平成 14 年 1 月～3 月)、第 6 回(同年 4 月～6 月)、第 7 回(同年 7 月～9 月)、第 8 回(同年 10 月～12 月)とした。

調査は、何らかの食物摂取後 60 分以内に症状

が出現し、医療機関を受診したものを対象とした。

昨年度の第 2 回調査における 2011 名の協力医師の詳細を以下に示す。専門科は小児科が 64.3% (1293 名)、内科が 18.1%(364 名)、皮膚科が 8.0% (161 名)、耳鼻咽喉科が 2.9%(59 名)、その他 6.7%(135 名)であった。判明したなかで、日本アレルギー学会認定・専門・指導医が 730 名、日本小児アレルギー学会会員が 978 名であった。勤務形態は無床開業医が 31%、100 床以上の病院勤務医が 62%、その他が 7%であり、対象医療機関は日本全国 46 都道府県に分布していた。

C.研究結果

調査協力医師は第 5 回が 1986 名、第 6 回が 1975 名、第 7 回が 1972 名、第 8 回が 1958 名であった。第 5 回調査は回答率 47.4% (942/1986) であり、症例ありが 251 名、総症例数は 415 症例であった。第 6 回調査は回答率 41.5%(820/1975) であり、症例ありが 292 名、総症例数は 495 症例であった。第 7 回は回答率 44.6% (880/1972)、症例ありが 254 名、総症例数は 430 症例であった。第 8 回は回答率 35.3% (691/1958) であり、症例ありが 125 名、総症例数は 206 症例であった。結果、総計 1546 症例が集積され、分析した(平成 15 年 2 月 18 日現在)。

症例を認めた医療機関の専門科は小児科が 86.1%(1331 例)、内科が 5.6%(87 例)、皮膚科が 3.2%(50 例)、耳鼻科が 2.1%(33 例)の順で多かった。

性別は男女比で 1.45(915/631 名)であった。年齢分布は 0 歳が最も多く 35.8%(553 例)、1 歳が

17.7%(274 例)であり、0 歳と 1 歳児だけで全体の 53.5%を占めた。以降加齢とともに漸減し、6 歳までに 79.0%(1221 例)が集積した。しかしながら 20 歳以上の成人も 8.3%(128 例)を数えた。

抗原別頻度では鶏卵 38.6%(597 例)、乳製品 16.2%(251 例)、小麦 7.2%(112 例)、果物類 6.1%(97 例)、ソバ 4.7%(72 例)、魚類 4.1%(64 例)、エビ 3.9%(60 例)、ピーナツ 3.6%(56 例)、魚卵 2.8%(43 例)、大豆 2.1%(32 例)、木の実類 1.7%(26 例)、肉類 1.4%(21 例)、貝類 1.1%(17 例)が頻度 1%以上認められた。

果物類の内訳はキウイ・バナナ・モモが多く、魚類の内訳は、サバ・サケ・マグロが多かった。魚卵はイクラ、肉類は鶏肉・豚肉・牛肉がほとんどであった。

即時型症状は、皮膚症状(蕁麻疹・掻痒・紅斑・紅斑)を認めるものが 89.8%(1389 例)であり、呼吸器症状(咳嗽、呼吸困難、喘鳴)を認めるものが 27.4%(423 例)であった。粘膜症状(口唇、浮腫、眼瞼浮腫、口咽頭掻痒感)を認めるものは 24.8%(384 例)で消化器症状(嘔吐、腹痛、下痢)を認めるものは 14.0%(216 例)であった。ショック症状(ぐったり、顔面蒼白、血圧低下、意識障害)は 10.8%(167 例)に認められた。

該当抗原に対する特異的 IgE 値(CAP-RAST 法)は 976 例で検討した。Class 表示で Class0 10.3%(101 例)、Class1 4.7%(72 例)、Class2 22.2%(217 例)、Class3 32.8%(320 例)、Class4 15.2%(148 例)、Class5 6.8%(66 例)、Class6 5.3%(52 例)であった。

臨床経過は 87.8%(1315 例)が外来治療にて改善し、12.2%(182 例)が入院を要した。

D. 考察

昨年度に続いて同様の形式で調査を継続した。総合的に鑑みて、昨年度と本年度の疫学データに差異は認められなかった。これは抗原頻度などに年単位での変化は認められないことをしめし、また本調査が示す即時型食物アレルギー疫学データの普遍性を示すものである。

性別・年齢分布ともこれまでの結果と同様であり、男性に多く 6 歳まででそのほとんどの症例をカバーした。また成人例も 8.3%認め、引き続き今後の成人食物アレルギー患者の対応が重

要な課題となることを示唆する。

抗原別の検討でも昨年同様、鶏卵・乳製品・小麦が 3 大原因食品であり、以下の頻度も昨年とほとんど変化はなかった。原因食品に関する特徴として、幼児早期のイクラアレルギーと全年齢に及ぶ果物類(特にキウイ・バナナ)の増加が特筆される。今後イクラの早期摂取を戒める指針を育児支援で打ち出す必要性を感じる。またラテックスアレルギーや口腔アレルギー症候群(OAS)と果物類アレルギーの相関が昨今注目され、今後の推移が興味深い。

食物アレルギー症状も昨年同様の結果となった。ショック症状は 10.8%に認められ、入院率は 12.2%であり、その症状の重篤度がうかがわれる。今後食物アレルギー即時型症状の重篤性を啓蒙し、実地臨床ではエピネフリン自己注射剤の早期処方開始と政策面での重要抗原の食品表示の工夫発展が期待される。

これまで食物アレルギーの診断において大きな拠り所となってきた特異的 IgE 測定(CAP-RAST 法)の検討において、本来陰性および疑陽性の Class0,1 が 17.7%を占めた。本来本調査症例は即時型食物アレルギー症例であり、CAP-RAST 法がその診断に鋭敏な検査であるならば高率に Class2 以上を示すはずである。今回の結果は、即時型食物アレルギーの診断における CAP-RAST 法の位置付けに示唆を与える結果といえる。

E. 結論

アレルギー診療に日頃携わる医師約 2000 名の協力を得て、即時型食物アレルギー症例をプロスペクティブな検討を行った。結果 1546 名(平成 15 年 2 月 18 日現在)の症例が集積した。今回の結果が今後の食品表示および基礎研究・臨床指針の礎となることを期する。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2.学会発表

- 1) 第3回 食物アレルギー研究会
- 2) 第15回 日本アレルギー学会春季臨床大会

H.知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし

食物アレルギーの小児期発症機序（非即時型）の解明に関する研究 —覆面型食物アレルギーの機序について—

分担研究者 小倉 英郎 国立高知病院小児科
研究協力者 小倉 由紀子 国立高知病院臨床研究部

研究要旨

覆面型食物アレルギーの病態解明のために、成人アトピー性皮膚炎 6 例を対象に経口誘発試験を行なった。負荷前、負荷 2 時間後、4 時間後に採血を行い、リンパ球表面抗原および細胞内サイトカイン産生細胞の陽性率を比較検討した。経口誘発試験は 10 回実施され、内 7 回が陽性（即時型；大豆 1 例、非即時型；鶏卵 2 例、牛乳 3 例、小麦 1 例）、残り 3 回が陰性（牛乳 2 例、小麦 1 例）であった。リンパ球表面抗原陽性細胞の比率は負荷前後で一定の傾向は見られなかった。IFN γ 陽性細胞および IL-2 陽性細胞の比率は誘発試験陽性の場合、約半数の例において増加したが、IL-2 陽性細胞は、誘発試験陰性の場合にも増加する症例が 1 例認められた。一方、IL-4 陽性細胞は、誘発試験陽性の場合、大部分の症例において負荷後増加し、著しい増加を認める症例も認められた。誘発試験陰性の場合、負荷後減少する傾向が認められた。

食物アレルギーに対するリンパ球の反応については遅延型反応以外はあまり知られていないが、負荷後 2～4 時間の早期から、Th2 細胞の活性化が見られることが示唆された。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎は小児および成人を通じて比較的頻度の高いアレルギー疾患である。また、近年、成人重症アトピー性皮膚炎の増加が社会問題化している。われわれは Rinkel が提唱する覆面型食物アレルギーの概念に基づいて、経口誘発試験を実施し、本症の 90.5% に一種以上の食物アレルギーが関与していることを報告した¹⁾。しかし、覆面型食物アレルギーの概念に基づいた経口誘発試験が広く普及するには至っていないため、本症のアレルゲン診断は、殆ど的確には行われていないのが現状である。この理由として、覆面型食物アレルギーの概念が難解であることおよびこの現象には何らかの免疫学的機序が関与していると考えられるが、殆ど解明されていない事があげられる。そこで、本研究では、アレルゲン除去後の過敏性亢進期に誘発試験を行い、その前後でリンパ球の細胞表面抗原およびサイトカイン陽性細胞の比較検討を試み、本症の病態に関する基礎的知見を得ることを目的とした。

B. 研究方法

アレルゲン診断のため当科に入院した重症～最重症アトピー性皮膚炎 6 例（14 歳～32 歳、男 2 例、女 4 例）に対して、鶏卵、牛乳、大豆および小麦の誘発試験を行い、負荷前、負荷 2 時間後および負荷 4 時間後のリンパ球表面抗原（CD3、CD4、CD8、CD19）および CD4 陽性細胞中の IFN- γ 、

IL-2、IL-4 陽性細胞の比率を比較検討した。

細胞内サイトカインの検出は、PMA（50ng/ml）およびイオノマイシン（500ng/ml）で細胞を活性化し、37℃、4 時間培養後、プレフェルディン A（10 μ g/ml）を添加、サイトカインを細胞内に蓄積させた。4%ホルムアルデヒドで細胞を固定後、0.5%サポニン含有バッファー処理で、細胞膜の透過性を高めた後、細胞内サイトカインを染色し、フローサイトメトリーで蛍光強度を解析した。

なお、細胞内サイトカイン陽性細胞の検討は、負荷前の陽性率を 1 とする指数でグラフ化し、負荷後と比較した。

（倫理面への配慮）

経口誘発試験、特異 IgE 抗体測定、プリックテストは臨床検査として、従来から、日常的に患者の了解のもとに実施している。誘発試験前後の採血については、研究の意義を説明して患者の了解を得た。

C. 研究結果

1) 経口誘発試験（表 1）

経口誘発試験は 10 回行われ、内 7 回が陽性（即時型；大豆 1 例、非即時型；鶏卵 2 例、牛乳 3 例小麦 1 例）、残り 3 回が陰性（牛乳 2 例、小麦 1 例）であった。