

に C allele 頻度が多かった背景として、C allele を持つとステロイド投与後にも MIF 濃度が上昇しにくいことが関連している可能性が示唆されたが、その機構の詳細な解析は今後の検討課題である。

E. 結論

MIF G-173C SNP において GG (野生型) では吸入ステロイド抵抗性患者が多かったことから、吸入ステロイドの治療反応性予測において、MIF G-173C SNP の検討が有用である可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Meng J, Thongngarm T, Nakajima M, Yamashita N, Ohta K, Bates CA, Grunwald GK, Rosenwasser LJ. Association of Transforming Growth Factor-beta1 Single Nucleotide Polymorphism C-509T with Allergy and Immunological Activities. *Int Arch Allergy Immunol.* 138(2): 151-160, 2005
2. Yamashita N, Tashimo H, Matsuo Y, Ishida H, Yoshiura K, Sato K, Yamashita N, Kakiuchi T, Ohta K.: Role of CCL21 and CCL19 in allergic inflammation in the ovalbumin-specific murine asthmatic model. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 May;117(5):1040-6.

2. 学会発表

1. 長瀬洋之, 山下直美, 檜澤伸之, 足立哲也, 山口正雄, 小林信之, 庄司俊輔, 塩原哲夫, 棟方 充, 西村正治, 近藤直美, 大田 健: 喘息管理に要する吸入ステロイド容量と

MIF G-173C 多型との関連. 第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2006. 11.

2. 長瀬洋之、大田 健: シンポジウム 9: アレルギー性炎症病態の多様性: Toll-like receptor によるアレルギー性炎症の調節 第 18 回日本アレルギー学会春期臨床大会、東京、2006. 6.
3. Nagase H, Yamashita N, Adachi T, Nakano J, Ohta K: Toll-like Receptor 3 (TLR3) Ligand Exacerbates Pre-existing Allergic Airway Inflammation in Murine Asthma Model, 63rd AAAAI, Miami, USA, March, 2006.
4. Nakajima M, Yamamoto T, Yamashita N, Kuwabara M, Nagase H, Adachi T, Ishii A, Uehara Y, Rosenwasser LJ, Ohta K. Outgrow of Asthma May Relate to the Genotype for TGF- β Promotor, -509 C/T American Thoracic Society (ATS) International Conference, San Diego, USA, May, 2005
5. 中島幹夫, 長瀬洋之, 足立哲也, 中野純一, 山下直美, 関谷剛, 山本寿子, 松尾由起子, 木原令夫, 平井浩一, 大田健. ミニシンポジウム 6 呼吸器疾患と遺伝子多型 2 気管支喘息の寛解と TGF- β 1 の遺伝子多型 第 45 回日本呼吸器学会学術講演会 幕張 2005 年 4 月

H. 知的財産権の出願、登録状況

- 1、特許出願 特になし
- 2、実用新案登録 特になし
- 3、その他 特になし

分担課題名:小児喘息における吸入ステロイド薬の治療反応性に及ぼす
生体因子・環境因子の解析に関する研究

分担研究者 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

研究要旨

吸入ステロイド薬(ICS)によって治療され一定期間無症状となった喘息患者での治療ステップダウンの基準は明確ではない。本研究では気道過敏性、環境因子、遺伝因子等を検討することにより症状および気道過敏性に及ぼす影響を検討した。112名の小児気管支喘息患者を対象として、メサコリン気道過敏性試験を実施してPC20が0.5mg/ml以上の者が75%であり、吸入ステロイド薬を中止して16ヶ月後に全く症状がなかったのは71%、間欠型まで維持できたのは91.8%であった。予後を予測する因子は見つからないが吸入ステロイド薬は適切に使用されれば中止することができることがわかった。3年間の研究期間を通しての一連の研究であり最終的な結論は3年間の研究報告書にまとめ、本年度終了報告書は最終年度のまとめであるが内容は重複する。

研究協力者

明石真幸 (同第1専門診療部アレルギー科)
大矢幸弘 (同第1専門診療部アレルギー科医長)
斎藤暁美 (同第1専門診療部アレルギー科)
斎藤博久 (同免疫アレルギー研究部部長)
須田友子 (同第1専門診療部アレルギー科)
成田雅美 (同第1専門診療部アレルギー科)
野村伊知郎 (同第1専門診療部アレルギー科)
松本健治 (同免疫アレルギー研究部室長)
渡辺博子 (独 神奈川病院小児科)

症を沈静化して症状が改善しているのか、気道過敏性まで低下させているのか、さらにこの気道過敏性の沈静化は一時的なものなのかは議論のあるところである。これまでもICS使用により臨床症状の沈静化した場合のICSの減量中止(治療ステップダウン)に関しては、明確な指標、基準がない。この研究では、ICSを導入し、一定期間臨床的に発作が無い状態が続いた場合にICSのステップダウンが可能かどうかを気道過敏性、肺機能をはじめ遺伝的要因も含めて様々な危険因子との関係を分析し、ステップダウンの条件を見いだすことを目的として実施した。

A. 研究目的

吸入ステロイド薬(ICS)は、多くの気管支喘息患者の気道過敏性を低下させる作用があり現在の喘息治療の中心的薬剤である。小児気管支喘息治療管理ガイドライン2005においても気管支喘息発症早期からICSを導入し適切に使用することにより、発作頻度の減少、入院を要する重症発作の減少、日常生活(QOL)の改善がえられることが明らかになった。しかし、こうした改善効果は、ICS導入中は明かであるが臨床的に症状が無くなった場合に、ICSが一時的に気道炎

B. 研究方法

対象患者は、スパイロメータによる呼吸機能検査が実施できること、アレルギー専門医による環境調整指導、日常生活指導を受けていて、登録時点でICSとしてプロピオン酸フルチカゾン(FP)単独で100 μ g/日以下で治療

して3ヶ月以上喘息発作がないこと、1秒量が70%以上あること、今後の治療、検査に同意することを条件に6~26歳の計112名（男73名、女39名）、平均年齢11.6±3.9歳の喘息患者が登録された（表1）。

総数	112名	
男性:女性	73:39	
平均年齢	11.6 ± 3.9 歳	
重症度 (小児気管支喘息治療 管理外ドライ2005に 基づいた分類)	軽症持続型	56名
	中等症持続型	50名
	重症持続型	6名
喘息発症年齢	3.9 ± 2.7 歳	

表1 対象患者の年齢、性別、重症度

対象患者が過去最も重症だった時期の重症度で年齢別に分類すると、重症持続型が5.4%、中等症持続型44.6%、軽症持続型50%であった（図1）。

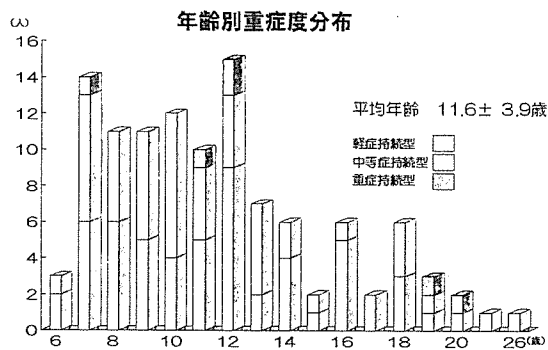


図1 年齢別重症度分布

対象患者は、24時間以上ICSを中止してからメサコリン吸入気道過敏性試験（MCT）を実施して、PC20（FEV1が20%以上低下したメサコリン吸入薬濃度）が0.5mg/ml未満の場合は、ICSによる治療を継続とし、それ以上の場合は患者および保護者にICSを中止する事を説明し同意がとれた場合にICSを中

止した。ICS中止後は7ヶ月まで、16ヶ月までの主要評価項目として定期的肺機能検査、MCT検査、臨床症状調査を実施した。付加的評価小目として、血清総IgE抗体、ダニ特異IgE抗体、家庭環境中のダニアレルゲン測定を行った（図2）。また、将来的な予後因子の判定基準作成のために遺伝子変異（SNPs）の測定を行うための採血を実施した。

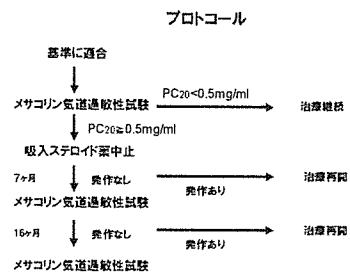


図2 研究のプロトコール

メサコリン吸入気道過敏性試験（MCT）は、米国胸部疾患学会の方法（ATS法）に準じて、メサコリン0.031mg/ml, 0.063mg/ml, 0.125mg/ml, 0.25mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml, 4mg/ml, 8mg/ml, 16mg/mlの溶液を、LCネブライザー（Pari）を使用して圧搾空気5L/min.で2分間吸入し、吸入後に2回スパイロメーターAS-300（ミナト医科機器、東京）で測定した。気道過敏性の判定は、ATS法に準じて、FEV1が、前値に比べて20%以上低下した場合あるいは明かな喘鳴、呼吸困難がある場合を陽性として判定し、PC20を図3の方法で計算し、気道過敏性の閾値とした。

$$PC20 = \text{antilog} \left[\log C_1 + \frac{(\log C_2 - \log C_1)(20 - R_1)}{R_2 - R_1} \right]$$

C1 = second-to-last methacholine concentration (concentration preceding C2).
 C2 = final concentration of methacholine (concentration resulting in a 20% or greater fall in FEV1)
 R1 = percent fall in FEV1 after C1
 R2 = percent fall in FEV1 after C2

Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing—1999
 Am J Respir Crit Care Med Vol 161, pp 309–328, 2000

図3 メサコリン気道過敏性閾値PC20の算出式

予後判定の基準として、今回の観察期間であるICS中止後7ヶ月、16ヶ月までの間の喘息症状の有無をガイドラインの重症度を基準に次のように評価した。観察期間に全く発作、喘鳴がなかった群(A)、通常的生活で制限できていた抗原との予期せぬ接触により発作を起こしてしまった群(B)、年に数回喘鳴、小発作を起こす間欠型の群(C)、間欠型で運動誘発喘息を起こす群(D)、軽症持続型以上の群(E)に分類した。

C. 研究結果

対象患者112名の初回MCT検査でのメサコリン閾値PC20の頻度では、全員が0.063mg/ml以上であった。重症度とPC20閾値の人数を図4に示した。

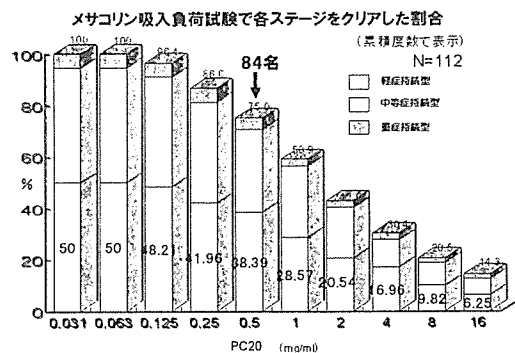


図4 重症度別のPC20の別の頻度

初回のPC20が16g/ml以上であったのは17名、0.5mg/ml以上が75%にあたる84名であった。このうちICSの継続を希望した12名をのぞいて、72名がICSを中止した。

ICS中止後16ヶ月までの経過

吸入ステロイドを中止した72名の経過を示す。

全く発作なし(A)が52名(72.2%)、間欠型(C)までで維持できたのが66名(91.7%)であった(図5)。

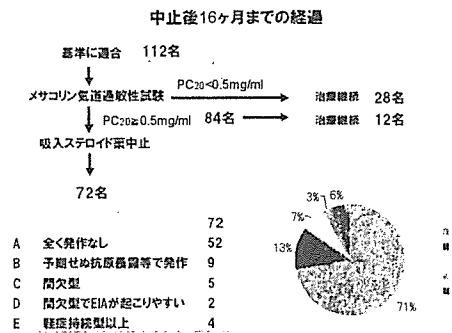


図5 ICS中止16ヶ月までの臨床症状の推移

ICSを中止した72名のうち16ヶ月の時点でMCT検査を実施した44名の経過ではMCT PC20が0.5mg/ml以下に低下した者が8名(18.2%)、PC20が0.5mg/mlに維持できて全く発作がなかった者が30名(68.2%)、間欠型以上に維持できた者が35名(79.5%)であった(図6)。

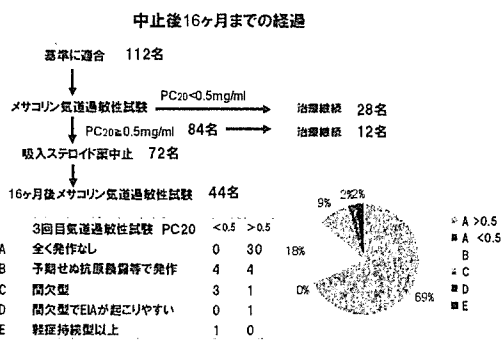


図6 ICS中止16ヶ月までの臨床症状、気道過敏性の変化

ICSを中止16ヶ月後の発作の有無と中止時の肺機能検査でも両群に差はなかった(図7)。

ICS中止後16ヶ月間での発作の有無を規定する因子

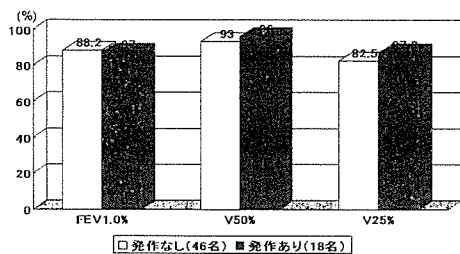


図7 ICS中止16ヶ月間の発作の有無と、中止時の肺機能の関係

同様にICS導入までの期間、罹病期間、最終の無発作期間での比較でも両群に差はない(図8)。

ICS中止後16ヶ月間での発作の有無を規定する因子

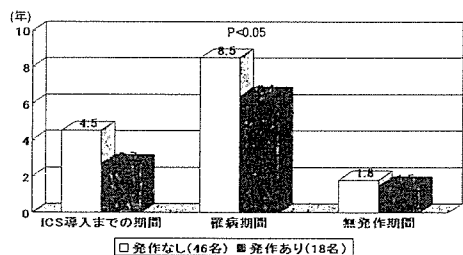


図8 ICS中止16ヶ月間の発作の有無と治療の経過

ICS中止後の気道過敏性PC20の変化を期間中の発作の有無別のグループで示したものが図9である。ICSを中止して16ヶ月間に発作がなかった群においてもICSを中止して7ヶ月までのメサコリン気道過敏性が一時的に亢進していた。その後16ヶ月時点で再び改善し、中止時点との差がなくなっている。発作群では、有意差はないものの過敏性が更新している例が多い傾向にあった。

吸入ステロイド薬中止7ヶ月・16ヶ月での気道過敏性の変化

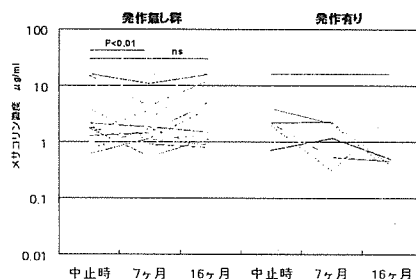


図9 ICS中止16ヶ月間のPC20の変化

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

1、特許出願 特になし

2、実用新案登録 特になし

3、その他 特になし

分担課題名:気管支拡張薬の代謝、効果、および副作用に関する遺伝学的研究

分担研究者 山口悦郎 愛知医科大学医学部呼吸器・アレルギー内科 教授

研究要旨

成人喘息治療において、気管支拡張薬であるテオフィリンを使用する機会は今日でも多い。本薬は一般的には安全かつ高い有効性が見込まれるが、低い確率で副作用が出現し、効果の程度には明らかな個体差が存在する。特に小児領域では催けいれん性を危惧するあまり、使用を制限する機運さえ存在する。そこで治療効果や副作用の予測を薬剤使用前に予知することが重要な課題のひとつである。効果や特に副作用は血中濃度と相関すると考えられる。我々は一昨年度の研究においてテオフィリンの代謝に関与する CYP1A2 の遺伝子多型と、喘息患者血中テオフィリン濃度との関連を検討し、既報の内容と概ね符合する結果を得た。そこで今年度は、さらに精度を高めて検証すべく他の薬物の影響を受けず被験者が比較的均一な非喫煙学生健常者 49 名を対象とする検討を行った。その結果、CYP1A2 遺伝子 5'プロモーター領域に位置する一塩基多型(SNP)である-3594 (G/T)は、血清テオフィリン濃度のクリアランス値および半減期と有意な相関を示した。また-3860(A/G)は半減期と有意な相関を示した。一方テオフィリン代謝の一部を担っている CYP3A4 の 3 つの SNP は、いずれのテオフィリン代謝指標とも相関を示さなかった。以上よりテオフィリン代謝は、確かに CYP1A2 の影響下にあることが示唆された。

A. 研究目的

成人喘息治療は、近年吸入ステロイドの普及や各種の新薬の上市により、中等症までの治療はほぼ完成の水準にある。しかし、それらの患者においても発作時には、あるいは重症患者においては、気管支拡張薬であるテオフィリンや β_2 刺激薬を頻回に使用する。両薬は使用に際してよく知られている注意点を遵守すれば、安全かつ高い有効性が見込まれるが、テオフィリンについては依然として一定の頻度で悪心、動悸、痙攣などの副作用が出現し、また効果の程度には個体差が存在する。今日喘息治療は、より完成度の高い方法の確立が望まれており、そのために治療効果と副作用の予測を薬剤使用前に予知することが重要な課題のひとつである。そこで今年度は、テオフィリンの代謝に関与する肝臓チトクローム P450 酵素群に含まれる CYP1A2 と CYP3A4 遺伝子多型とテオフィリン代謝諸指標との関連を検討した。

B. 研究方法

対象：20 歳以上の非喫煙健常者（学生ボランティア 49 名、男 31 名、女 18 名、年齢中央値 22 歳[21-25]）。
投与薬剤：テオフィリン（テオドリップ®、200 mg/200 ml 生食）を 3 mg/kg 体重の用量で、但し上限量を 200mg として、30 分かけて点滴静注した。

検査項目：点滴静注終了直後とその後経時的（点滴終了から 30 分、60 分、120 分、240 分）に血中テオフィリン濃度を測定し、PK Solutions®を用いて薬物代謝指標を計算した。テオフィリンの濃度は、ELISA 法により測定した。また同じ時間間隔で血清カリウム値を測定した。さらに全経過を通して動悸や胃腸症状などの副作用の有無を記録した。
遺伝子多型：肝チトクローム P450 分子種の中でテオフィリンは主として CYP1A2 により代謝・分解される。2005 年に Soyama らにより日本人におけるほぼすべての遺伝子多型が同定された。今回はそれらのうち比較的頻度の高い 7 つについて検討した。すなわち CYP1A2 については-3860 (A/G)、-3594 (T/G)、-163 (C/A)、2159 (G/A)、2321 (G/C)、5347 (C/T)、5521 (A/G) の 7 種についてタイピングをおこなった。各多型のうち 5 つについては TaqMan probe®を用いて、他の 2 つは SNP の各アリルに特異的なプライマーを用いた PCR 増幅を行い、増幅過程をリアルタイム PCR 法にてモニターし、増幅効率の差異から判定した (ARMS 法)。テオフィリンの一部は CYP3A4 によっても代謝を受ける。そこでその 3 つの SNP (rs4646437, rs2242480, rs2246709) についても TaqMan probe によりタイピングを行った。

各種薬物代謝指標は 49 名の被験者の中央値を境に、各個人を上群と下群に分類した。次いでその群別と各 SNP との相関を、 χ^2 検定で評価した。血清のカリウムイオン濃度は、テ

オフィリン静注後に多くの例で上昇するが、前値と最大値との差を求め、その差の中央値を求めた。次にその値を境にそれ以上の被験者とそれ以下の被験者の2群に分けた。次いでこのような群別と各 SNP 遺伝子型頻度およびアリル頻度との相関を検討した。

有意な相関を示した指標については、SNP によって分類した指標値を遺伝子型が3群の場合は Kruskal-Wallis 試験で、2群の場合は Mann-Whitney 試験で検定した。

(倫理面への配慮)

本研究は3省庁による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき研究計画を立て、本学の倫理委員会の承認を得た(本学倫理申請書受付番号261)。その際に作成した説明書を用いて被験者全員の同意を文書で得た。

C. 研究結果

テオフィリン点滴静注後の血清テオフィリン濃度中央値は、直後が 11.2 $\mu\text{g/ml}$ 、30分後 5.7 $\mu\text{g/ml}$ 、60分後 5.3 $\mu\text{g/ml}$ 、120分後 4.9 $\mu\text{g/ml}$ 、240分後 4.3 $\mu\text{g/ml}$ と推移した。血中濃度平均半減期は 731 分と製造社報告値の 510 分より長く、平均クリアランスは 0.483 ml/min/kg と製造社報告値の 0.633 より低かった。

血清テオフィリン濃度の半減期との関連では、-3860 (A/G) が共優性モデルで χ^2 検定により有意 ($p=0.019$) に相関していた。

一方、AUC(血漿薬物濃度曲線下面積)と各 SNP との間には有意な関連は認められなかった。

テオフィリンのクリアランス値との関連では、-3594 (T/G) は共優性モデル ($p=0.016$) および対立遺伝子頻度 ($p=0.019$) について、 χ^2 検定により有意な相関を示した。実際に遺伝子型 GG は GT に比べて、Mann-Whitney 試験でテオフィリンの半減期が有意に短く、クリアランスが有意に高かった(図1)。

血清のカリウムイオン濃度上昇値と有意な相関を示した SNP は存在しなかった。

テオフィリンによると考えられる副作用は、今回の検討では1例も出現せず、SNP との関連を検討し得なかった。

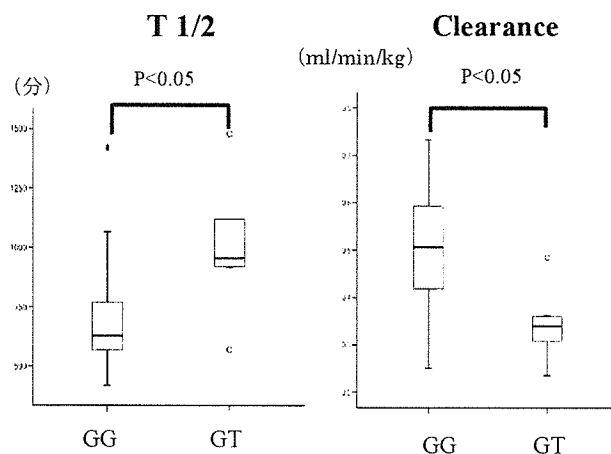


図1. CYP1A2 -3594 (T/G)とテオフィリン半減期とクリアランスとの相関

D. 考察

1999年に Nakajima らは、テオフィリンと同様な構造を有し代謝過程が類似しているカフェインの分解が、CYP1A2*1Cにより影響を受けることを喫煙者について報告した(Nakajima M, et al., J Biochem (Tokyo) 1999, 125(4):803-8)。その後 Obase らにより実際に同多型が喘息患者の推定テオフィリン血中濃度と相関することが報告された(Obase Y, et al., Clin Pharmacol Ther 2003, 73(5):468-74)。我々は一昨年の報告で、少数の自験喘息患者を対象に、Obase らの報告を大筋において追認できる結果を得た。本年の検討ではさらに詳細に検討すべく、さらに被験者を増やし、かつ代謝が競合するカフェイン含有物の摂取を12時間以上絶った状態でのテオフィリン代謝を解析した。テオフィリン投与量はほぼ体重当たり同量として、また消化管からの吸収効率の影響を除外するために、点滴静注法による。

その結果、CYP1A2 遺伝子5'領域に位置する-3594 (T/G)は、テオフィリンのクリアランス値や半減期と有意な相関を示した。-3594 (T/G)についてはこれまで報告がなく、新たにテオフィリン代謝を規定するSNPと考えられる。他のSNPとの連鎖不平衡は乏しく、独立した働きであると考えられる。一方既報のCYP1A2*1Cに相当する-3860 (A/G)は半減期と相関しており、従来の報告を部分的に追認することができた。今後両SNPに関してCYP1A2 遺伝子プロモーター活性や実際の酵素活性の測定など詳細な機序の検討が必要である。

E. 結論

-3594 (T/G)は、テオフィリンのクリアラ

ンス値や半減期と有意な相関を示した。一方既報の CYP1A2*1C に相当する-3860 (A/G) は半減期と相関している。

F. 健康危険情報
特記すべきことなし

G. 研究発表
<論文>

1. Role of macrophage migration inhibitory factor in ovalbumin-induced asthma in rats.

Kobayashi M, Nasuhara Y, Kamachi A, Tanino Y, Betsuyaku T, Yamaguchi E, Nishihira J, Nishimura M

Eur Respir J 27 (1): 1-9, 2006.

2. Polymorphisms in the muscarinic receptor 1 gene confer susceptibility to asthma in Japanese subjects.

Am J Respir Crit Care Med. 174(10):1119-24, 2006.

<学会発表>
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願 なし
2. 実用新案 なし
3. その他 なし

分担課題名:食物アレルギー児の解析に基づくテラーメイド医療開発

分担研究者 海老澤 元宏 国立病院機構相模原病院 臨床研究センターアレルギー性疾患研究部長

研究要旨

乳幼児期発症の食物アレルギーは6歳までに80~90%が耐性化を獲得することが知られている。しかし中には6歳になっても除去食が解除できない患児もいる。そうした耐性化を獲得できない患児のプロフィールや血清学的検討はこれまでになく、その特徴がわからなかった。

本研究では本症例群の後ろ向き対象研究をデザインし、検討した。

結果、遷延化する危険因子として、アナフィラキシーショック既往歴、アトピー性皮膚炎の遷延、抗原特異的 IgE 値高値、総除去品目数が多い事が挙げられた。これは不十分な食物除去が共通因子として考えられ、今後さらに本項目を検証することで、テラーメイド的な食物アレルギー医療が提供できる可能性が示唆された。

研究協力者

今井孝成 (国立病院機構相模原病院 小児科)

A. 研究目的

食物アレルギーの有病率は乳幼児期の5-10%をピークに、小中学生では1.3%まで減少する¹⁾。これは乳幼児期発症の食物アレルギーが加齢とともに耐性を獲得してゆくからに他ならない。その耐性化のタイミングは症例ごとに異なり、なかには耐性を獲得出来ず、生涯除去が必要な患者も少なからずいる。耐性の獲得誘導へ向けて様々な取り組みが行われてきたが、これまでに決定的な方法は見つかっていない²⁾。そもそもそのメカニズムすら未だ良く判ってはおらず、結果として現在我々は耐性獲得へ向けた適切な指導や助言を患者に与えることが出来ない。

そこで今回我々は6歳までに主要食品抗原が耐性を獲得した群と、獲得できなかった群に分け、その臨床像およびアレルギー検査所見を検討することで、耐性獲得因子を明らかにすることを目的に検討を行った。

その結果をもとに、将来的に個別の遺伝的背景を明らかにすることで、食物アレルギーの診療にテラーメイド的な治療スタンスを持てるようにする。

B. 研究方法

対象

1991年から独立行政法人国立病院機構相模原病院小児科を受診し、調査時点で6歳以上で

あり、乳児期に鶏卵、乳製品、小麦のいずれか、もしくは複数の食物アレルギーが明らかな陽性症状、もしくは除去試験および負荷試験(オープン試験)によって診断されたものを対象とした。このうち6歳の時点で、鶏卵、乳製品、小麦のいずれかの食物が、過去1年以内に負荷試験(シングルブラインドまたはオープン試験)または誤食事故で陽性症状を認め、原因食物の除去制限が遷延しているもの27名を遷延群とした。一方で6歳までに鶏卵、乳製品、小麦のいずれの原因食物も制限が解除となっているもの37名を耐性獲得群とした。

今回検討した臨床的背景因子は、性別、患児のアレルギー病歴、アレルギー家族歴、6年間の最大除去品目数、出生時体重、帝王切開歴とした。

環境因子としてペット飼育歴、家庭内の受動喫煙歴、完全母乳授乳歴を検討した。

血液検査因子として末梢血好酸球数、血清総IgE値、特異的IgE値(ファディア株式会社ImmunoCAP法)を0から6歳まで1年毎に抽出した。特異的IgE値は原因食物だけでなく、それ以外の食物や環境抗原に対する値も検討した。

臨床経過因子は、アトピー性皮膚炎および気管支喘息の臨床経過をTable 1のようにスコア化し、1年毎に評価検討した。

結果は平均±標準偏差で表記し、統計分析は連続変数の検定にはt検定を用い、非連続変数の群間検定にはPearsonの χ^2 検定を用い、 $p<0.05$ を統計学的に有意と判断した。

Table 1: 気管支喘息とアトピー性皮膚炎のスコア

スコア	気管支喘息	アトピー性皮膚炎
0	寛解もしくは無治療	ときどき保湿薬のみを使用する
1	間歇型	ときどきIV群ステロイド外用薬を使用する
2	軽症持続型	常にステロイド外用薬を必要とする (主に20%希釈のIV群)
3	中等症持続型	常にステロイド外用薬を必要とする (主に50%希釈のIV群)
4	重症持続型	常にステロイド外用薬を必要とする (III群以上もしくは入院加療を要する)

C. 研究結果

1. 臨床背景

性別、家族歴に有意差を認めなかった。患児のアレルギー病歴のうち、アトピー性皮膚炎とアナフィラキシーショック既往歴が有意差をもって食物アレルギー遷延化の危険因子となった。

遷延群の総アナフィラキシーショック回数は17名で42回、平均2.5回であった。一方で非遷延群の回数は2名で2回であった。遷延群のアナフィラキシーショックは初発症状時が15回、誤食時が19回で、原因不明が6回、負荷試験時が3回であった。非遷延群の2回はいずれも初発症状時であった。

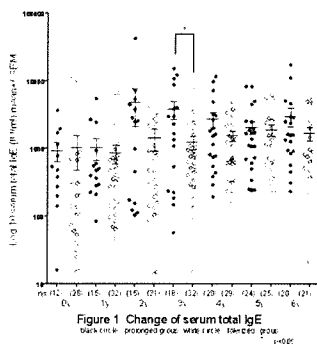
2. 環境因子

6年間の最大除去品目数が多いほど有意に遷延化の危険因子となった。

3. 血液検査値の推移

1) 血清総IgE値 (Figure1)

両群ともに0歳から徐々に上昇傾向を示した。群間では3歳で有意差を認めただけで総じて大きな差を認めなかった。

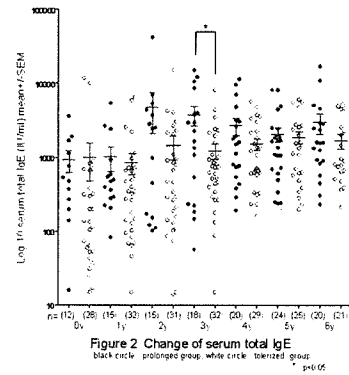


2) 末梢血好酸球数

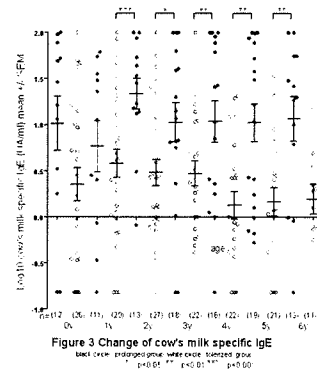
両群とも0歳時をピークに1歳までに急激に低下し、以降は横ばいで推移した。全年齢で群間に有意差を認めなかった。

3) 特異的IgE値

ランパク (Figure2) は両群とも加齢と共に徐々に低下傾向を示し、2歳以降で有意差をもって耐性獲得群が遷延群に比べ低値を示した。

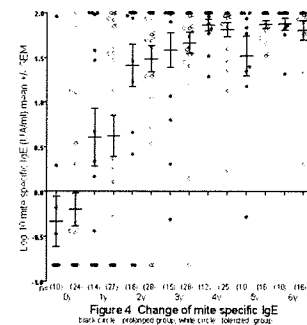


ミルク (Figure 3) は2歳以降で耐性獲得群は低下傾向となり、遷延群との間に有意差を認めた。一方で遷延群は通して明らかな低下傾向を示さなかった。



コムギは両群とも明らかな低下傾向は示さず、遷延群はむしろ増加傾向を示した。5歳以降で遷延群は耐性獲得群に比べ有意に高値を示した。

ヤケヒョウヒダニ (Figure4) は両群とも0歳が経過中の最低値であり、2歳にかけて急激に増加し、3歳以降で頭打ちになった。全年齢を通じ、両群間に有意差を認めなかった。



4) 臨床経過 (Figure 5)

気管支喘息の臨床経過は両群間で有意差を認めず、アトピー性皮膚炎の臨床経過においては1歳から6歳で有意な差を認めた。全対象の

うち気管支喘息と診断されたものは65.6%(42/64)であり、1歳で20.3%(13/64)、3歳までに42.1%(27/64)が診断されていた。

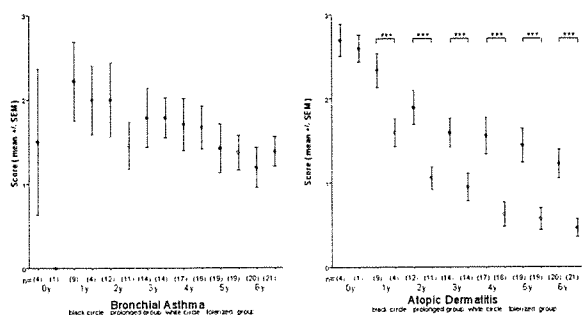


Figure 5 course of atopic dermatitis and bronchial asthma

D. 考察

臨床的背景因子の検討において、2群間で有意差を認めたのはアナフィラキシーショック既往歴、患児のアトピー性皮膚炎合併の有無、総除去品目数であった。

血液検査の検討においては、ランバクおよびミルクの抗原特異的 IgE 値が耐性獲得群で有意に低く推移した。またランオウ、コムギも有意差を認めないまでも同様の傾向であった。このことから特異的 IgE 値が低値であり、また低下する傾向は主要原因食物の耐性獲得の指標となるといえ、負荷試験の適応を考慮する上で重要な情報である。これまで原因抗原特異的 IgE 値のカットオフ値の検討は幾つかされており、その有用性が示されている。しかし、これらは特異的 IgE 値のある時点における評価であって、その経過に関しては言及されていない。特異的 IgE 値の低下傾向をカットオフ値と組み合わせて除去食解除のタイミングを探ると、診断率がさらに向上するものと考えられる。

アトピー性皮膚炎と気管支喘息の臨床経過において、アトピー性皮膚炎の遷延化が食物アレルギー遷延の危険因子となった。不十分な除去に伴う持続的感作や誤食事故による大量の抗原曝露は特異的もしくは非特異的に IgE の産生を刺激し、その低下を阻害していると考えられる。

今回の検討で、乳児期発症の食物アレルギーが6歳以降も遷延化する危険因子として、アナフィラキシーショック既往歴、アトピー性皮膚炎の遷延、抗原特異的 IgE 値高値、総除去品目数が多い事が挙げられた。これら4因子は原因食物の“不十分な除去”が一因と考えられ、耐性獲得への指導指針として特異的 IgE 値の推移を見守りながら、一定期間の最低限必要で十分な原因食物の除去とアトピー性皮膚炎の管理に重点を置いた経過観察が

肝要であるといえる。今後症例数を増やしてさらなる分析が必要である。

E. 結論

今回の結果から両群の遺伝的背景の差異を明らかにすることで、将来的に食物アレルギーの遷延化予防に向けた積極的なテーラーメイド医療の提供が出来る可能性がでてきた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Motohiro Ebisawa: Management of Food Allergy: "Food Allergy Management Guideline 2005" by National Food Allergy Research Group Supported by the Ministry of Health, Welfare, and Labor: Korea Journal of Asthma, Allergy and Clinical Immunology 26(3), 177-185, 2006
- 2) 海老澤元宏: 食物アレルギーへの対応について—厚生労働科学研究班による「食物アレルギーの診療の手引き 2005」一, アレルギー55(2) 107-114 (2006)
- 3) 池松かおり, 田知本寛, 杉崎千鶴子, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 乳児期発症食物アレルギーに関する検討(第1報)—乳児アトピー性皮膚炎と食物アレルギーの関係—, アレルギー55(2) 140-150 (2006)
- 4) 池松かおり, 田知本寛, 杉崎千鶴子, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 乳児期発症食物アレルギーに関する検討(第2報)—卵・牛乳・小麦・大豆アレルギーの3歳までの経年的変化—, アレルギー55(5) 533-541 (2006)
- 5) 池田有希子, 今井孝成, 杉崎千鶴子, 田知本寛, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 食物アレルギー除去食中の保護者に対する食生活のQOL調査および食物アレルギー児の栄養評価, 日本小児アレルギー学会誌 20(1) 119-126 (2006)
- 6) 海老澤元宏: 誤解されやすい子どものアレルギー—食物アレルギーの正しい診断に向けて—厚生労働科学研究班による「食物アレルギーの診療の手引き 2005」一, 小児保健研究 65(2) 165-170 (2006)
- 7) 海老澤元宏, 今井孝成: 食物アレルギー診療ガイドライン 2005 解説(1), 日本小児アレルギー学会誌 20(2) 178-180 (2006)
- 8) 向山徳子, 西間三馨, 有田昌彦, 伊藤節子, 宇理須厚雄, 海老澤元宏, 小倉英郎, 河野陽一, 近藤直実, 柴田瑠美子, 古庄卷史,

眞弓光文（日本小児アレルギー学会食物アレルギー委員会）：食物アレルギー診療ガイドライン，日本小児科学会雑誌 110(7) 904-911 (2006)

- 9) 井口正道, 宿谷明紀, 小俣貴嗣, 田知本寛, 海老澤元宏：入院加療した食物アレルギー合併乳児重症アトピー性皮膚炎患者に関する検討（第1報），日本小児科学会雑誌 110(11) 1534-1539 (2006)
- 10) 井口正道, 宿谷明紀, 小俣貴嗣, 田知本寛, 海老澤元宏：入院加療した食物アレルギー合併乳児重症アトピー性皮膚炎患者に関する検討（第2報），日本小児科学会雑誌 110(11) 1540-1544 (2006)
- 11) 杉井京子, 田知本寛, 宿谷明紀, 鈴木誠, 海老澤元宏：小児の口腔アレルギー症候群（Oral Allergy Syndrome）と、小児アレルギー疾患患児の各種花粉への感作状況，アレルギー55(11) 1400-1408 (2006)
- 12) 富川盛光, 鈴木直仁, 宇理須厚雄, 粒来崇博, 伊藤節子, 柴田瑠美子, 伊藤浩明, 海老澤元宏：日本における小児から成人のエビアレルギーの臨床像に関する検討，アレルギー55(12) 1536-1542 (2006)

H. 知的財産権の出願、登録状況

- 1、特許出願 特になし
- 2、実用新案登録 特になし
- 3、その他 特になし

分担課題名:細胞反応性に基づく食物アレルギー管理のテラーメイド化に関する研究

分担研究者 藤澤隆夫 国立病院機構三重病院 臨床研究部長

研究要旨

食物アレルギーの管理においては、原因抗原の同定、アナフィラキシーなど重篤な症状の予防と治療、必要最小限の除去食療法の指導、耐性獲得の診断と適切な時期での除去解除など留意すべき点が多い。本研究ではその基礎となる新たな診断法の確立をめざして、好塩基球活性化マーカーCD203cの抗原特異的発現定量を行った。鶏卵、牛乳、小麦に対する特異IgE抗体が陽性で食物アレルギーが疑われる患者に対して、現在の最終診断法である経口負荷試験を行って診断を確定するとともに、それぞれの抗原添加による好塩基球CD203c発現の変化をフローサイトメトリーにて解析した。その結果、鶏卵アレルギーでは耐性獲得の程度(非耐性、加熱卵のみの耐性、非加熱を含む完全耐性)によって、好塩基球の反応性が異なることを明らかとした。すなわち、非耐性患者では卵白およびオボムコイド双方によるCD203cの有意な発現が誘導される(陽性)のに対して、加熱卵のみの耐性患者では卵白で陽性、オボムコイドで陰性、完全耐性獲得者では両抗原に対して陰性であった。牛乳アレルギーでもカゼインによるCD203c誘導は負荷テストによる耐性獲得の有無に一致していた。小麦アレルギーでは小麦抗原の種々の画分で検討を行い、ωグリアジン5によるCD203c誘導と負荷試験の結果が最もよく一致していた。以上より、食物抗原誘発の好塩基球CD203c発現定量は即時型食物アレルギーの診断に有用であり、テラーメイド化した食物アレルギー管理に応用できると考えられた。

研究協力者

長尾みづほ(国立病院機構三重病院臨床研究部)
徳田玲子(国立病院機構三重病院臨床研究部)
野間雪子(国立病院機構三重病院臨床研究部)

A. 研究目的

食物アレルギーの管理に際しては、原因抗原の同定、アナフィラキシーなど重篤な症状の予防と治療、必要最小限の除去食療法の指導、耐性獲得の診断と適切な時期での除去解除など留意すべき点が多いが、いずれにおいても的確な診断に基づくことが必須となる。しかしながら、現在とはときに重篤な反応も伴う経口負荷試験以外には有用な検査法が存在しない。in vitroの検査として頻用される血清中特異IgE抗体価が感度・特異度ともに高くないため、よりの確で、かつ安全な検査法が求められているのである。

好塩基球は即時型アレルギー反応においては

最も重要なエフェクター細胞のひとつであり、細胞表面の高親和性IgE受容体に結合したIgE抗体を介して活性化され、症状発現に関与する多くのメディエーターを遊離する。すなわち、好塩基球のアレルゲンに対する反応性はin vivoの生体反応をよく反映する可能性がある。最近同定された細胞活性化マーカーCD203cは好塩基球と肥満細胞に発現し、IgEを介する活性化過程でヒスタミン遊離よりも早期に発現増強することが報告されている。そこで本研究では食物アレルゲンによる好塩基球CD203c発現が、食物アレルギーの新しい診断法として応用可能であるかを検討することとした。その結果、CD203cを指標とする好塩基球反応性が経口負荷試験の結果とたいへんよく一致することをみいだしたので、報告する。

B. 研究方法

1) 対象

卵白に対する CAP-RAST 陽性で鶏卵アレルギーが疑われた 80 例、牛乳に対する CAP-RAST 陽性で牛乳アレルギーが疑われた 39 例、小麦に対する CAP-RAST 陽性で小麦アレルギーが疑われた 26 例を対象とした。それぞれの患者に対して、該当アレルゲンの経口負荷試験を行い、診断を確定した。被検者とその保護者に対しては文書による説明を行い、同意を取得した。

2) 好塩基球 CD203c 発現の解析

Beckman Coulter 社製の Allergenecity kit を用いてフローサイトメトリーにて解析した。簡略に述べると、被検者より採取した EDTA 加血液にそれぞれの抗原、すなわち、卵白抽出物、オボムコイド、牛乳抽出物、βラクトグロブリン、カゼイン、小麦蛋白 PBS 抽出画分、小麦蛋白エタノール抽出画分、小麦蛋白アルカリ抽出画分、ネイティブ ω5 グリアジン (nOG5)、リコンビナント ω5 グリアジン (c 末端より約 1/2 のアミノ酸配列: rOG5c) を各種濃度で添加、キット添付の活性化液 (EDTA でキレートされたカルシウムを補充する)、PC7 標識抗 CD3 抗体、FITC 標識抗 CRTH2 抗体、及び PE 標識抗 CD203c 抗体と 15 分反応させた後、溶血、洗浄、0.1%ホルムアルデヒド固定を経て、フローサイトメリーにて解析した。散乱光によって分画した単核球中、CD3(-)CRTH2(+) 細胞を好塩基球として同定、この細胞群に発現する CD203c の蛍光強度を定量した (図 1)。

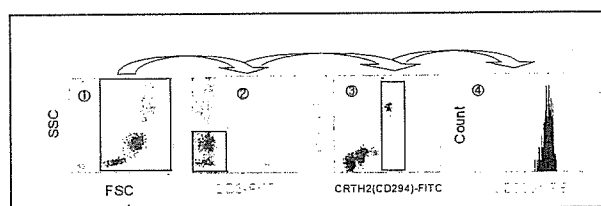


図 1 3カラー解析による好塩基球 CD203c 定量

3) その他のマーカー

血清総 IgE、特異 IgE (CAP-RAST; 卵白、オボムコイド、牛乳、βラクトグロブリン、カゼイン、小麦、rOG5c) を同時に測定した。

C. 研究結果

1. 鶏卵アレルギーの解析

負荷試験の結果により、非耐性 (definitive egg allergy: DEA)、加熱卵のみに耐性で非加熱卵に不耐性 (raw egg allergy: REA)、加熱卵と非加熱卵ともに耐性 (tolerant egg allergy; TEA) の 3 群に分けた (表 1)

表 1 負荷試験による鶏卵アレルギー診断

	N	男/女	平均月齢 ± SD
Definitive egg allergy (DEA)	48	31/17	43.2 ± 25.7
Row egg allergy (REA)	14	8/6	32.7 ± 33.4
Tolerant egg allergy (TEA)	18	11/7	32.1 ± 13.9

3 群間に年齢、血清総 IgE 値に有意差はなかった。卵白抗原による CD203c 発現は DEA、REA 群で濃度依存的に誘導されたが、TEA では明らかな上昇はみられなかった (図 2)。

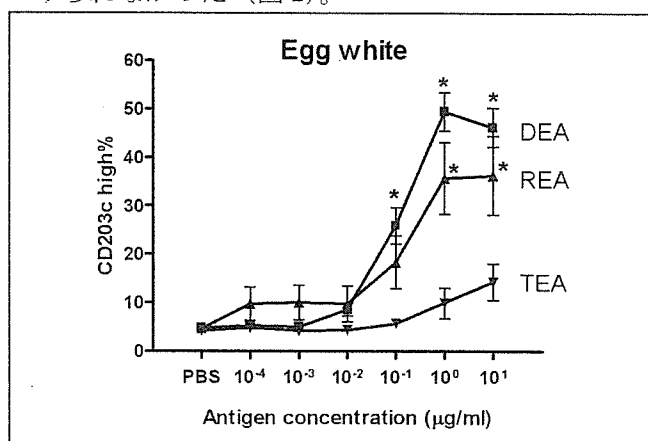


図 2 卵白抗原による CD203c 発現

一方、オボムコイドによる CD203c 発現は DEA 群でのみ濃度依存的に誘導されたが、REA と TEA 群では明らかな上昇はみられなかった (図 3)。

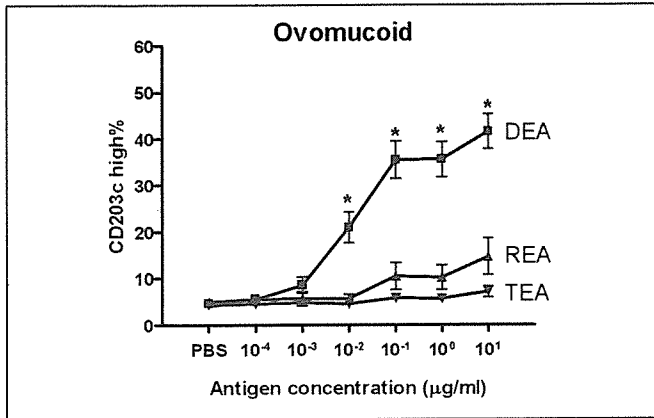


図3 オボムコイド抗原による CD203c 発現

すなわち、これら2つの抗原に対する反応性の違いにより、鶏卵に対する耐性獲得の程度が予測できることが示された。

ROC 曲線解析により、CAP-RAST 値と診断性能を比較すると、卵白に対する反応は非耐性と部分耐性を含む耐性獲得の鑑別に (図4)、オボムコイドに対する反応性は完全な耐性獲得の判定に (図5)、高い診断性能をもつことが明らかとなった。

表2に示すように、CD203c 発現定量は鶏卵アレルギー診断に高い感度と特異度を有していた。

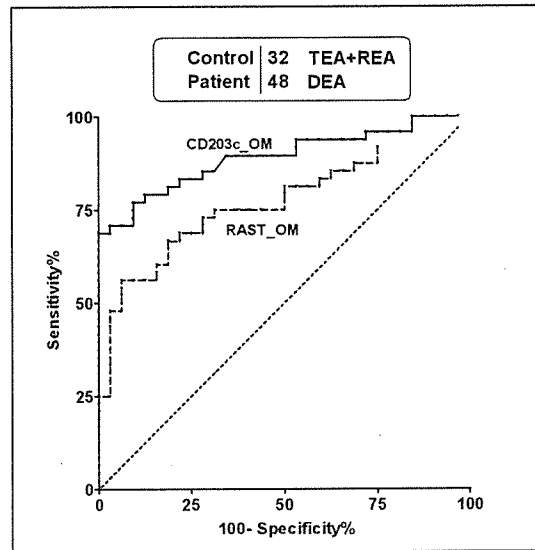


図5 オボムコイド (OM) による CD203c 発現と RAST 値の ROC 曲線解析

表2 鶏卵アレルギー診断検査としての感度・特異度

検査法	診断	カットオフ値	感度	特異度
CD203c-EW	卵アレルギー (加熱卵含む)	19.4%	79.0%	94.4%
		18.1 U/ml	43.6%	94.4%
CD203c-OM	非加熱卵アレ ルギー(加熱卵 摂取可)	18.0%	70.8%	96.9%
		10.4 U/ml	47.9%	96.7%

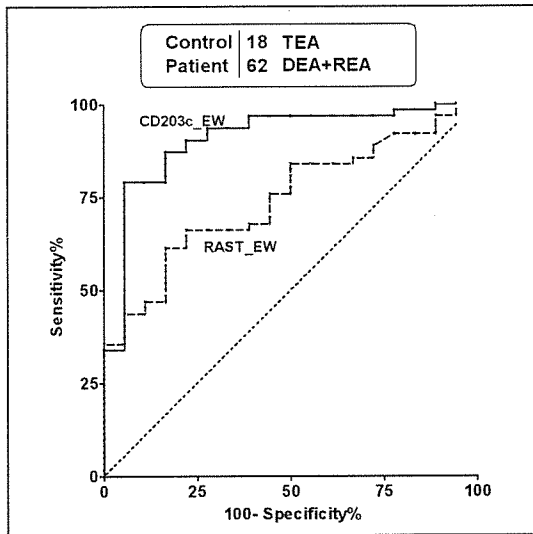


図4 卵白 (EW) による CD203c 発現と RAST 値の ROC 曲線解析

2. 牛乳アレルギーの解析

39名の患者のうち、22名は負荷試験陽性 (Definitive milk allergy:DMA)、17名は負荷試験陰性 (Tolerant milk allergy:TMA) であった。2群間で年齢、血清総 IgE 値に差は認められなかった。各種牛乳抗原 (牛乳抽出物、βラクトグロブリン、カゼイン) による CD203c 発現はそれぞれ DMA 群で濃度依存的に誘導され、TMA 群では有意な上昇が認められなかった (図6)。3種の抗原の中ではカゼインが最も特異性が高かった。

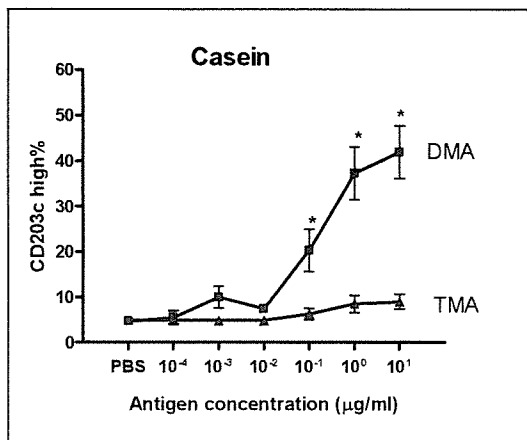


図6 カゼイン抗原による CD203c 発現

さらに、牛乳摂取によるアナフィラキシー誘発の有無にて分類して解析すると、アナフィラキシー誘発例でカゼインによる CD203c 発現がより高値であった (図7)。カゼイン CAP-RAST では有意な差が認められなかった。

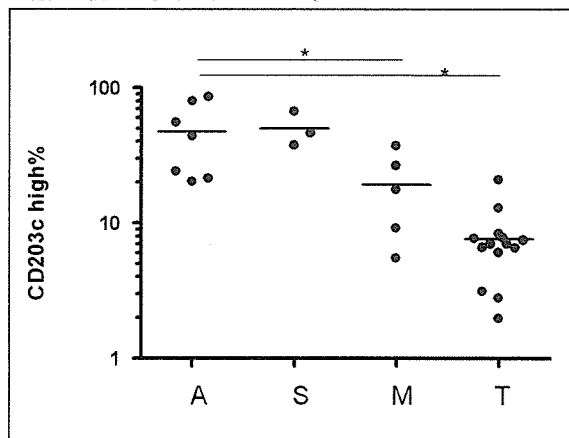


図7 牛乳摂取による症状とカゼイン誘発 CD203c 発現

A: 負荷試験によりアナフィラキシーを起こした例

S: 牛乳摂取によるアナフィラキシーの病歴を有する例

M: 負荷試験で軽度の誘発症状のみ認められた例

T: 負荷試験陰性

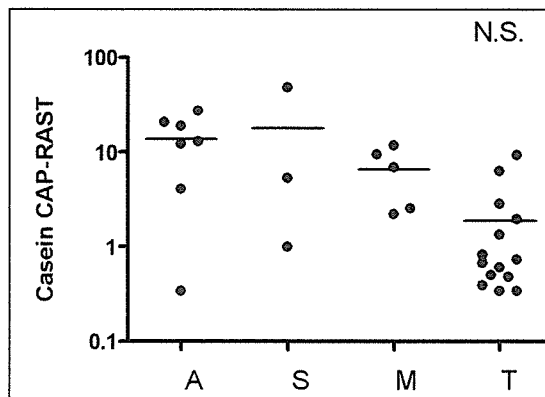


図8 牛乳摂取による症状とカゼイン CAP-RAST

診断検査としての性能を CAP-RAST と比較すると、カゼインによる CD203c 発現定量は牛乳アレルギーにおいても、高い感度と特異度を有することが確認された (表3)。

表3 牛乳アレルギー診断検査としての感度・特異度

検査法	診断	カットオフ値	感度	特異度
CD203c-casein	牛乳アレルギー	8.8 %	85.7 %	93.3 %
RAST-casein		2.1 U/ml	78.6 %	86.7 %
CD203c-casein	牛乳摂取によるアナフィラキシー	21.1 %	89.5 %	85.7 %
RAST-casein		3.4 U/ml	73.7 %	85.7 %

3. 小麦アレルギーの解析

26名の患者のうち、14名は負荷試験陽性 (Definitive wheat allergy:DWA)、12名は負荷試験陰性 (Tolerant wheat allergy:TWA) であった。2群間で年齢、血清総 IgE 値に差は認められなかった。小麦抽出各分画 (PBS, 70%エタノール、アルカリ) による CD203c 発現を検討すると、3分画とも DWA で濃度依存性に上昇する一方、TWA では上昇が認められなかった。3分画のうち、アルカリ分画の反応が最も高かった。小麦即時型アレルギー患者血清を用いた Immunoblot では、アルカリ分画の約 70 k Da の蛋白に反応が強く認められ、ネイティブ ω 5 グリアジン (nOG5) の分子量に一致していた (図9)。

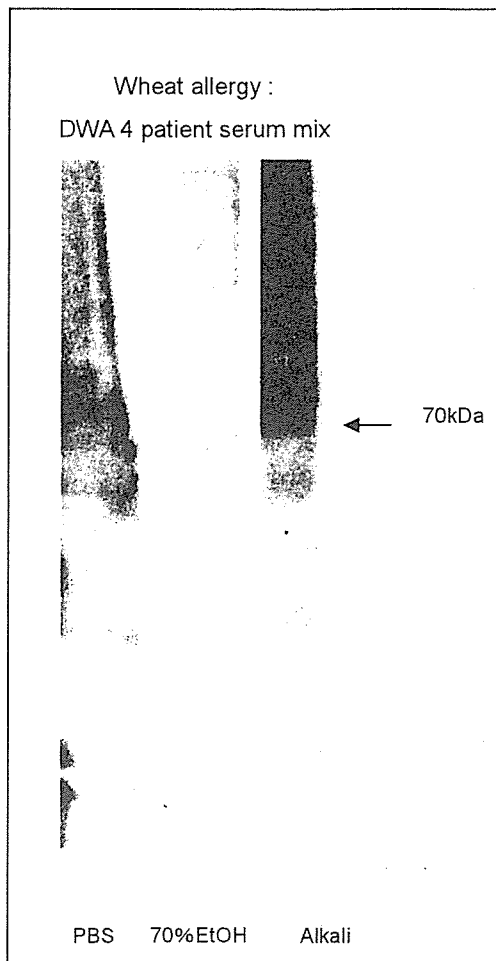


図9 小麦抽出抗原に対するDWA血清によるimmunoblot

次に、ネイティブとリコンビナントのグリアジン蛋白によるCD203c発現を検討したところ、n0G5がもっとも精度良くDWAとTWAを分別し得ると思われた(図10)。

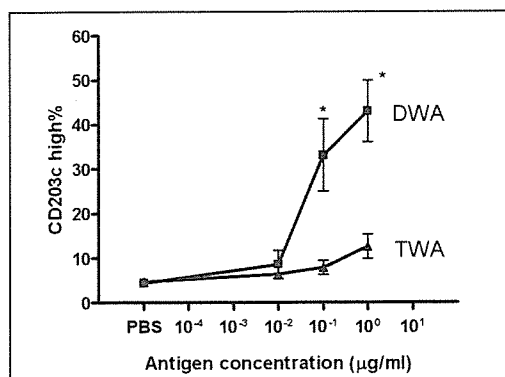


図10 n0G5抗原によるCD203c発現

診断検査としての性能をCAP-RASTと比較すると、n0G5によるCD203c発現定量は小麦アレルギーに

おいても、非常に高い感度と特異度を有することが確認された(表4)。

表4 小麦アレルギー診断検査としての感度・特異度

検査法	カットオフ値	感度	特異度
CD203c-Native- ω -5	19.6%	100.0%	87.5%
RAST-Recombinant- ω -5	1.5 U/ml	53.9%	90.0%
RAST-Wheat	31.3%	28.6%	91.7%

D. 考察

食物アレルギーの適切な治療・管理を行うためには正確な診断が必須とある。しかし、現在利用されている検査はいずれも確定診断に用いることができないため、臨床の現場ではしばしば混乱がみられる。RAST陽性であることだけで不必要な除去食が指示されたり、あるいは原因食物アレルゲンを適切に除去していないためにアトピー性皮膚炎など原疾患のコントロールが悪化している例などが少なくないのである。最近、食物アレルギー診療ガイドラインも出版され、食物アレルギー管理の標準化が進もうとしているが、ガイドラインで示されている最終診断法である経口負荷試験も、アナフィラキシー誘発など危険も伴うことから専門施設以外では行い難いのが現状である。今、まさに日常臨床の現場で応用することができる的確かつ簡便な検査が求められているわけであるが、今回の研究ではそのニーズに応え得る検査法を確立することができた。すなわち、フローサイトメトリーを用いた好塩基球のCD203c発現定量法によって、鶏卵、牛乳、小麦アレルギーにおける経口負荷試験の結果を高い感度と特異度で予測することを可能としたのである。さらに、基礎検討において採血後1日以内であれば細胞反応性に問題がないことも確認しており、地域ごとの検査センターなどで受託する臨床検査として普及させることも可能と考えられた。

CD203c分子は好塩基球に恒常的に発現しており、膜型酵素の一種としてヌクレオチドの分解な

どを行うとされるが、その機能的意義は不明な点が多い。しかし、好塩基球に対する IgE を介する刺激で、短時間に発現が増強する性質より、最近ではアレルギーに対する細胞反応性を評価するマーカーとして注目されている。実際にこれまで蜂アレルギーの診断やアレルギー免疫療法の効果判定などへの応用が報告されている。今回の我々の研究は好塩基球 CD203c 発現定量を食物アレルギーの診断に応用した初めての試みである。

同様の検査法としては、好塩基球ヒスタミン遊離試験 (HRT シオノギ) がすでに臨床検査として応用されている。この検査法も CAP-RAST より高い精度で経口負荷試験の結果を予測できると報告されているが、今回の研究ではこれまで HRT で報告されている感度・特異度よりも高い結果が得られた。データは示さなかったが、CD203c と HRT を同一の検体で比較したところ、前者の方が優れた診断性能をもつことも観察した。この違いの要因として考えられることは、HRT では末梢血好塩基球を分離してから、好塩基球のみでアレルギー反応性を評価しているのに対して、我々の方法は全血でアレルギーを加えて反応させ、その後、フローサイトメトリーで好塩基球を分離している点である。つまり、後者の方法は好塩基球だけでなく、血漿成分やその他の細胞成分の影響も含めて測定していることになるため、より *in vivo* に近い *simulate* している可能性がある。食物アレルギーにおける耐性獲得のメカニズムはまだ明らかではないが、阻止抗体としての IgG4 の役割は重要と考えられる。我々の検討では CD203c 発現誘導の低下が耐性と強い関連をもつことが認められたが、これは本検査の反応系で IgG4 抗体が作用していた可能性を強く示唆するものである。今後、耐性獲得機構の解明のためにも、さらに検討していきたい。

アレルギーに対する特異抗体を免疫学的に検出するためには、症状発現に関与するエпитープを含む適切な抗原を用いることが必須となる。既存の小麦 CAP-RAST の診断性能が卵白や牛乳に比べてさらに劣ることはよく知られているとおりであるが、用いる抗原に起因する可能性は少ないであろう。我々は小麦抗原を抽出していく

つかの分画に分け、それぞれの CD203c 発現誘導を検討して、主要アレルギーを含む分画の同定を試みた。その結果、アルカリ分画に含まれていた $\omega 5$ グリアジンによる好塩基球の反応が最も小麦によるアレルギー症状を予測できると考えられた。リコンビナント $\omega 5$ グリアジン CAP-RAST が食物依存性運動誘発アナフィラキシーの診断に有用である可能性が報告されているが、この蛋白についてさらに詳細に解析されるべきであろう。

E. 結論

食物抗原誘発の好塩基球 CD203c 発現定量は即時型食物アレルギーの診断に有用であることを明らかとした。アレルギー反応で重要な役割を果たす好塩基球の抗原反応性を評価することで、テラーメイド化した食物アレルギーの管理が可能となると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文

- 1) Tamaki K, Kakinuma T, Saeki H, Horikawa T, Kataoka Y, Fujisawa T, et al. Serum levels of CCL17/TARC in various skin diseases. *J Dermatol* 2006; 33:300-2.
- 2) 藤澤隆夫: 乳幼児のケモカイン-アレルギー疾患発症メカニズムとのかかわり *アレルギー科* 21(6):612-616, 2006
- 3) 藤澤隆夫: 小児における上気道アレルギーと下気道アレルギー *三重県小児科医会報* 71(9):20-23, 2006
- 4) 長尾みづほ, 藤澤隆夫: DSCG の適応と使い方 *小児アレルギーシリーズ「喘息」* p106-110, 勝沼俊雄編 診断と治療社, 2006
- 5) 藤澤隆夫: 吸入ステロイド薬投与による局所副作用 *Pharma Medica* 24(Suppl):55-60, 2006
- 6) 藤澤隆夫: 乳幼児喘息治療の新しい展開 *大宮医師会報* 610(1):58-61, 2007

学会発表

- 1) M. Nagao, R. Tokuda, Y. Noma, S. Nakayama,

T. Fujisawa. Novel in vitro method for diagnosis of food allergy in children: utilization of CD203c expression in basophils. J Allergy Clin Immunol 117:s40, 2006 Annual Meeting of American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Miami Beach, USA, March 3-7, 2006

- 2) 徳田玲子、藤澤隆夫 他 鶏卵・牛乳アレルギー診断における好塩基球活性化マーカーCD203c 測定の有用性 ミニシンポジウム食物アレルギー. アレルギー 55:397, 2006 第18回日本アレルギー学会春期臨床大会 2006. 5. 30-6. 1 (東京)
- 3) 徳田玲子、長尾みづほ、野間雪子、松田幹、藤澤隆夫 ミニシンポジウム「食物アレルギー」好塩基球活性化マーカーCD203c 発現による小麦アレルギーの診断. アレルギー 55:887, 2006 第56回日本アレルギー学会秋期学術大会 2006. 11. 2-4 (東京)

H. 知的財産権の出願、登録状況

- 1、特許出願 特になし
- 2、実用新案登録 特になし
- 3、その他 特になし

分担課題名: 遺伝子情報の網羅的解析、および小児喘息におけるロイコトリエン受容体拮抗薬の
治療反応性予測遺伝子因子とテーラーメイド治療開発

分担研究者 松井永子 岐阜大学大学院医学研究科 小児病態学 兼任講師

研究要旨

近年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患の増加が大きな社会問題になっている。本研究の目的は、アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出できる遺伝子診断キットを中心とする診断システムを開発することおよび、その診断をもとにして各病因・病態に合致したテーラーメイド治療法を確立することである。多数報告のみられるアレルギー関連遺伝子多型情報を、臨床レベルで活用するためには、多くのサンプルを迅速に処理する必要がある。これを実現するために、遺伝子診断キットは、非常に有用であると考えられた。さらに、実際の臨床応用に向けて解析を行ない、治療への応用として、ロイコトリエン受容体拮抗薬の有効例、無効例の遺伝子情報の解析を行った。これらの研究成果を積み重ねることで、遺伝子診断キットをもとにした、各病因、病態に応じたテーラーメイド治療法の確立がなされると考える。

研究協力者

金子英雄 岐阜大学医学部附属病院小児科 講師

A. 研究目的

近年、気管支喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患の増加が大きな社会問題になっている。本研究の目的は、アレルギー疾患の病因・病態および治療反応性予測因子を系統的に検出できる遺伝子診断キットを中心とする診断システムを開発することおよび、その診断をもとにして各病因・病態に応じたテーラーメイド治療法を確立することである。このことにより、良好・適格な治療効果が得られることが期待され、さらには、患者およびその家族のQOLの向上につながると考えられる。

B. 研究方法

① アレルギー（アトピー）の病因遺伝子群の系統的、多角的な解明に基づいて、アレルギーの系統的遺伝子診断キットをインベダーアッセイ法を用いて開発した。

② 遺伝子診断キットには、IgE 産生に抑制的に働くサイトカイン、およびその受容体、メディエーター産生段階としてアラキドン酸カスケードに存在する酵素の遺伝子などの多型を組み合わせた。

③ アレルギーの系統的遺伝子診断キットによる解明をもとに、抗アレルギー薬の中で、ロイコトリエン受容体拮抗薬投薬前後における尿中アラキドン酸排泄量の検討、喘息日誌における症状改善度、QOL 票の記載による QOL の改善について検討を加えた。

④ ジーンチップ（500K Mapping assay）を用いて、ロイコトリエン受容体拮抗薬の有効例、無効例の間に違いのみられる多型についての検討を行った。

（倫理面への配慮）

研究対象者には本研究の内容、方法および予想される結果について十分に説明し十分な理解（インフォームドコンセント）を得た上で採血が行われた。また、倫理面でも、結果による不利益は全く生じないか、または配慮が充分になされることから問題がないと判断された。