

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ならず、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つようになる。

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。

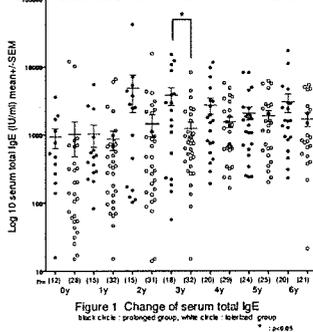
2. 環境因子

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。

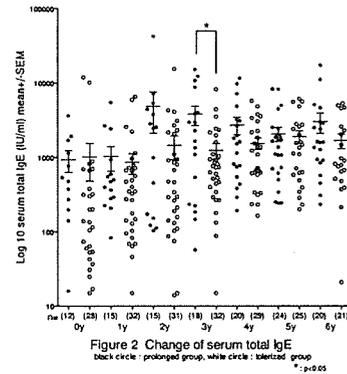


2) 末梢血好酸球数

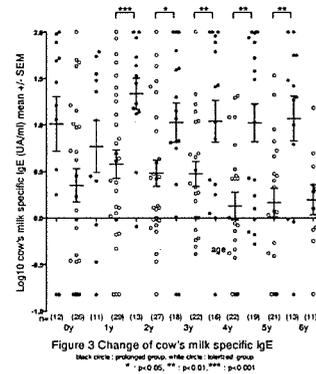
両群とも0歳時をピークに1歳までに急激に低下し、以降は横ばいで推移した。全年齢で群間に有意差を認めなかった。

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。

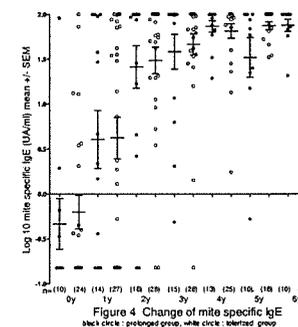


ミルク (Figure 3) は2歳以降で耐性獲得群は低下傾向となり、遷延群との間に有意差を認めた。一方で遷延群は通して明らかな低下傾向を示さなかった。



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。

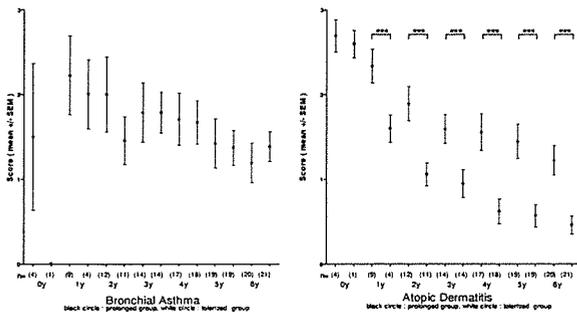


Figure 5 course of atopic dermatitis and bronchial asthma

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、ランパ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」—, 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」—, 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, 古庄巻史,

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、現在ほとんどの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)。

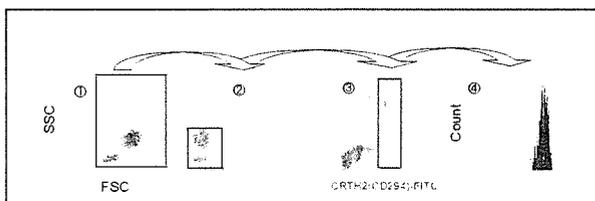


図1 3カラー解析による好塩基球 CD203c 定量

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)。

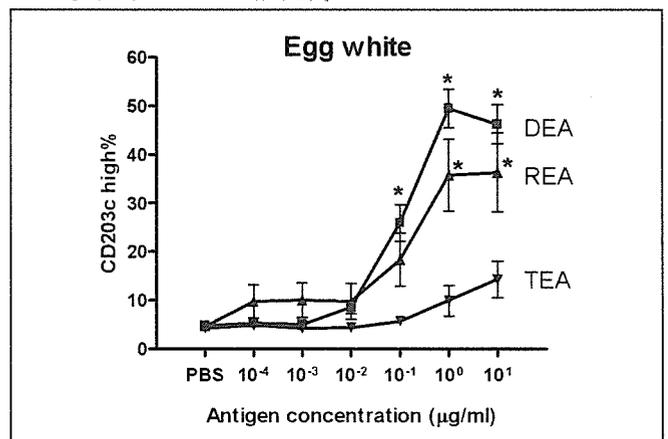


図2 卵白抗原によるCD203c発現

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)。

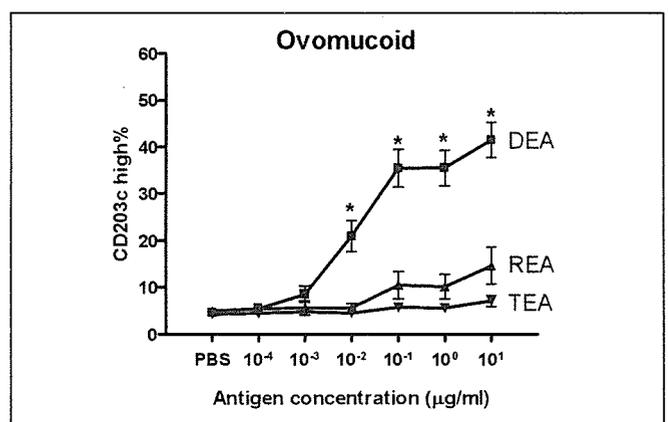


図3 オボムコイド抗原による CD203c 発現

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。

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 RAST-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 RAST-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%

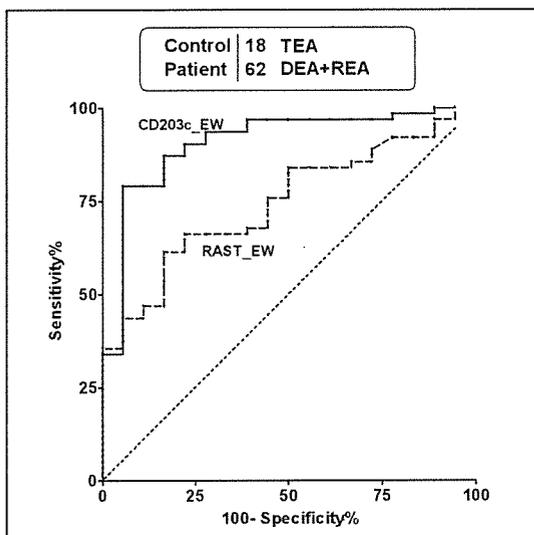


図4 卵白 (EW) による CD203c 発現と RAST 値の ROC 曲線解析

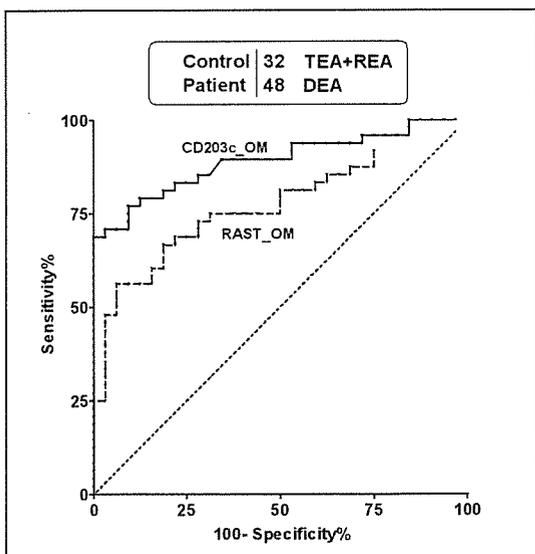


図5 オボムコイド (OM) による CD203c 発現と

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。

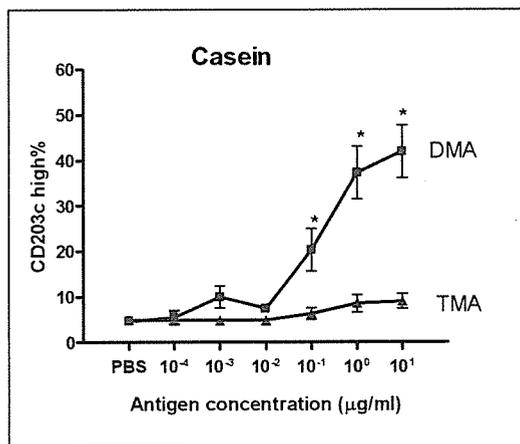


図6 カゼイン抗原による CD203c 発現

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。

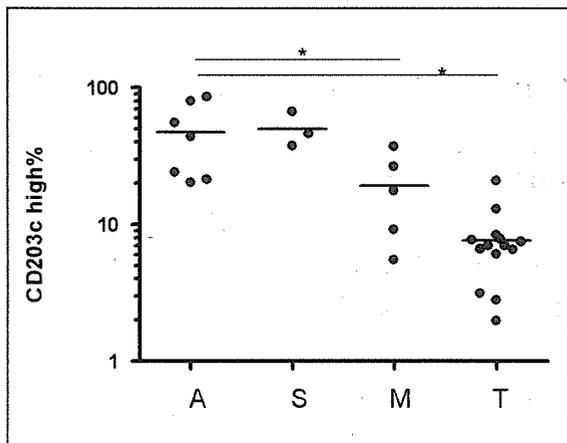


図 7 牛乳摂取による症状とカゼイン誘発 CD203c 発現

- 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

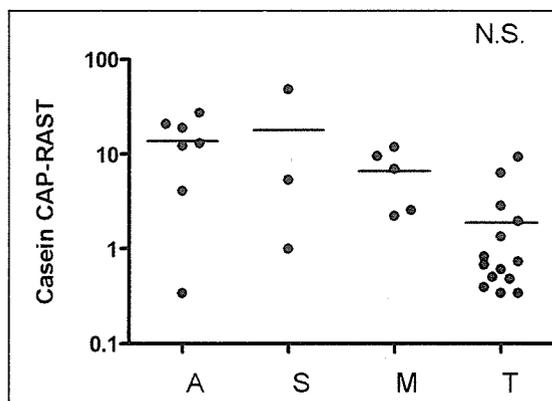


図 8 牛乳摂取による症状とカゼイン CAP-RAST

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 kDa 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)。

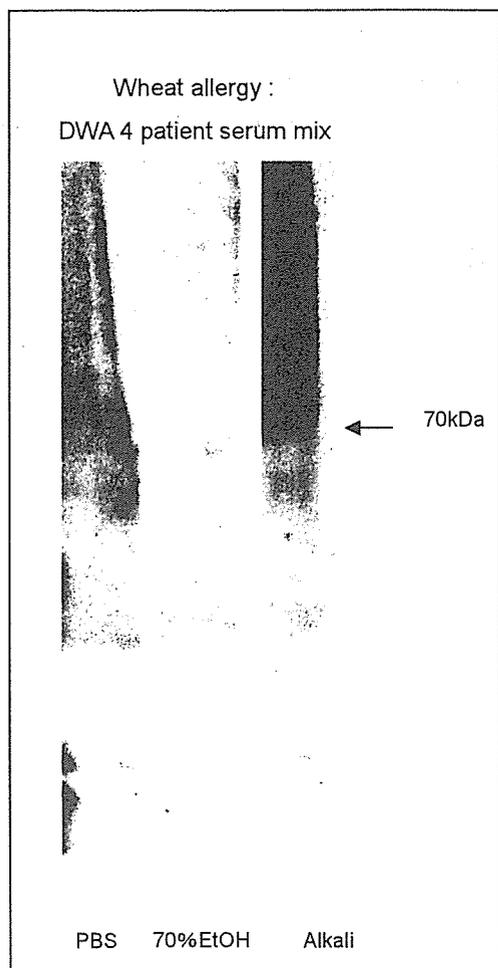


図9 小麦抽出抗原に対するDWA血清によるimmunoblot

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、nOG5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)。

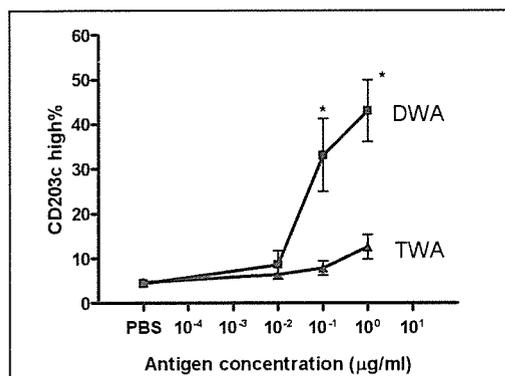


図10 nOG5抗原によるCD203c発現

診断検査としての性能をCAP-RASTと比較すると、nOG5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ピトープを含む適切な抗原を用いることが必須となる。現存の小麦 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くないであろう。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ことと考えられた。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. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

- 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(予定を含む)
- 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

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、遺伝子検出キットは、非常に有用であると考えられた。さらに、実際の臨床応用にむけて詳細な解析を行ない、治療への応用として、得られた遺伝子情報を活用し、より適切な治療薬を選択するための指針の作成を行った。

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、良好かつ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ーターアッセイ法を用いて開発した。
- ② 遺伝子検索キットには、IgE産生抑制系の

シグナル伝達系に存在するサイトカイン、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。

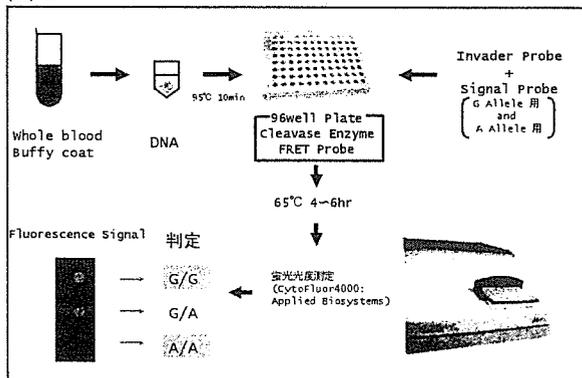
(倫理面への配慮)

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なわれた。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。

C. 研究結果

① 遺伝子検出キットをインベーターアッセイ法を利用して構築した (図1)。

図1



② ロイコトリエン受容体拮抗薬のうち、モンテルカスト投薬前後における尿中アラキドン酸代謝産物の変化について検討した。対象は、6歳以上の気管支喘息患者とした。尿中のLTE4排泄量をモンテルカスト投与前後に検討したところ、効果のみられた症例では、モンテルカスト内服4週後にLTE4排泄量が減少しておりLTE4排泄量の変化量は有効例と無効例の間に有意差を認めた (図2)。また、さらに、有効例では、無効例に比較して投与前の尿中TxB2の排泄量が低下していることがわかった (図3)。

図2

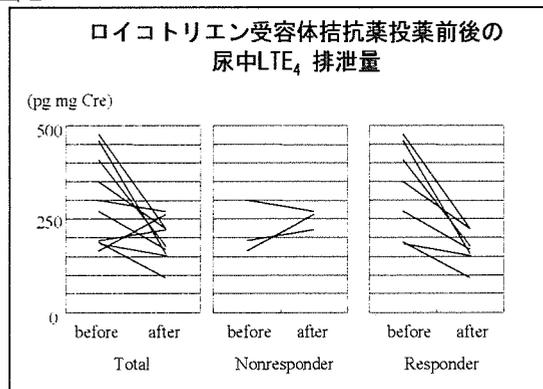
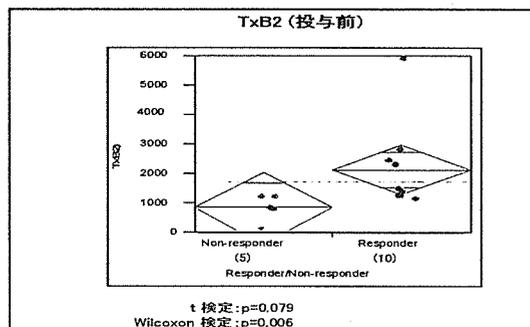


図3



③ 遺伝子多型とモンテルカストの有効性との関連を検討した (表1)。表1に示すように今回遺伝子検出キットを用いて解析したSNPsと有効性との間に有意差を認めたSNPsは見られなかった。そこで、比較的p値が低いLTC4S(-444)多型とIL-13多型を変異アリルを持つか否かで効果予測ができるか否かについて検討したが、いずれも有意差を認めることはなかったが、今後も症例数を増やして検討を行なう予定である。

表1

SNPsと効果との関連							
Gene	SNP	n	Genotypes	Non-responder	Responder	P value	
P4A-3A	P4A-3A	21	A/A	7 (33%)	10 (47%)	0.465	
			A/G	6 (29%)	1 (5%)		
			T/T	4 (19%)	4 (18%)		
IL13R2	IL13R2	21	T/T	2 (10%)	4 (18%)	0.545	
			C/C	6 (29%)	2 (9%)		
			T/T	2 (10%)	4 (18%)		
			C/T	4 (19%)	3 (14%)		
			C/C	6 (29%)	2 (9%)		
IL13	IL-12675T	21	C/C	6 (29%)	10 (47%)	0.524	
			C/T	1 (5%)	2 (9%)		
			T/T	1 (5%)	2 (9%)		
LTC4S	LTC4S(-444)	26	A/A	4 (15%)	10 (38%)	1.007	
			A/G	1 (4%)	4 (15%)		
			C/C	1 (4%)	4 (15%)		
LTRA	L-48A	26	G/G	1 (4%)	0 (0%)	0.271	
			G/A	1 (4%)	0 (0%)		
			A/A	1 (4%)	1 (4%)		
IL13	IL-13	21	G/A	2 (10%)	1 (5%)	0.551	
			G/A	1 (5%)	6 (29%)		
			A/A	2 (10%)	1 (5%)		

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 (表2)。GATA3などの免疫関連遺伝子領域に存在する22種の多型、IL-8, IL-19, TNFなどのサイトカイン関連遺伝子領域に存在する20種類の多型が、有効性と関連 (p<0.001) が認められた。

表 2

P < 0.001 で LTRA の有効性と関連のみられた免疫関連リストと一致した SNPs 一覧					
dSNP_RS ID	Chromosome	Cyto band	Transcript	Gene Relationship	Gene
rs3611821	3	d6p31	NAJ005910	inter.	TNFSF10
rs3774315	3	d6p31	NAJ005910	inter.	TNFSF10
rs11721801	4	d153	NAJ003264	upstream	IL6
rs955474	3	d151	NAJ007015	downstream	VAMP1
rs2416117	1	d14C	NAJ002956	downstream	VC1L
rs184914	1	d2C2	NAJ006147	upstream	IRF5
rs13136200	4	p15.31	NAJ005221	downstream	FCNBP4
rs1322236	17	p14	NAJ00100292	downstream	GATAD
rs11116662	3	d121	NAJ013371	inter.	IL15
rs4241497	3	d121	NAJ003326	upstream	TNFSF4
rs11116664	3	d121	NAJ013371	inter.	IL15
rs11116662	3	d121	NAJ013371	inter.	IL15
rs4254455	3	d121	NAJ003326	upstream	TNFSF4
rs2634578	3	d121	NAJ003326	upstream	TNFSF4
rs7520465	3	d121	NAJ003326	upstream	TNFSF4
rs12042285	3	d121	NAJ013371	inter.	IL15
rs10166295	2	d17D	NAJ046087	downstream	CD44
rs1716922	7	d3C	NAJ004827	inter.	PTX1
rs4721726	7	p21.1	NAJ005971	inter.	HMO2G
rs6977665	7	p14.1	NAJ002151	upstream	DHEA

D. 考察

増加を続けるアレルギー疾患患者の個々の病態を遺伝子レベルで整理し、分類することは、テーラーメイド医療を考える上で、非常に重要なことであると考えられる。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り、これを実現するために、遺伝子検出キットは、非常に有用であると考えられた。

E. 結論

アレルギー疾患の遺伝子診断キットを開発した。臨床へ応用するため、診断、治療に着目した感受性、特異性の向上、薬理遺伝学的見地からのさらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

<論文発表>

1. Kondo N, Matsui E, Kaneko H, Aoki M, Kato Z, Fukao T, Kasahara K, Morimoto N. RNA editing of interleukin-12 receptor beta2, 2451 C-to-U(Ala 604 Val) conversion, associated with atopy. Clin Exp Allergy 34:363-368(2004)

2. Kondo N, Matsui E, Kaneko H, Kato Z,

Teramoto T, Shikano H, Aoki M, Ohnishi H, Tatebayashi K, Omoya K, Kondo M, Matsukuma E, Kasahara K, Morimoto N. Genetic defects in downregulation of IgE production and a new genetic classification of atopy. Allergology International. 53:77-85(2004)

3. Yoshikawa K, Matsui E, Inoue R, Kaneko H, Teramoto T, Aoki M, Kasahara K, Shinoda S, Fukutomi O, Kondo N. Urinary leukotriene E4 and 11-dehydro-tromboxane B2 excretion in children with bronchial asthma. Allergology International. 53:127-134(2004)

4. Tatebayashi K, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Kondo N. IL-12B promoter polymorphism associated with asthma and IL-12B transcriptional activity. Allergology International. 54: 345-349 (2005)

5. Yoshikawa K, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Inoue R, Teramoto T, Shinoda S, Fukutomi O, Aoki M, Kasahara K, Kondo N. A novel single-nucleotide substitution, Glu 4 Lys, in the leukotriene C4 synthase gene associated with allergic diseases. Int J Mol Med. 16: 827-831 (2005)

6. Kaneko H, Matsui E, Shinoda S, Kawamoto N, Nakamura Y, Uehara R, Matsuura, Morita M Tada H, Kondo N. Effects of dioxins on the quantitative levels of immune components in infants Tox Ind. Health. 22:131-136(2006).

7. Kaneko H, Matsui E, Asano T, Kato Z, Teramoto T, Aoki M, Kawamoto N, Lian LA, Kasahara K, Kondo N. Suppression of IFN-gamma production in atopic group at the acute phase of RSV infection. Pediatr Allergy Immunol. 17:370-375(2006)

8. Teramoto T, Fukao T, Tomita Y, Terauchi Y, Hosoi K, Matsui E, Aoki M, Kondo N, Mikawa H. Pharmacokinetics of Beclomethasone Dipropionate in an Hydrofluoroalkane-134a Propellant System in Japanese Children with Bronchial Asthma. Allergology

International 55: 317-320(2006)

<学会発表>

1. 松井永子、金子英雄、深尾敏幸、加藤善一郎、寺本貴英、長尾みづほ、青木美奈子、吉川かおり、館林宏治、近藤直実：シンポジウム2：アレルギーにおけるゲノム解析と診断への応用—小児を中心に—。日本アレルギー学会春季臨床大会（第16回）（2004年5月12日、群馬）
2. 松井永子、寺本貴英、金子英雄、深尾敏幸、加藤善一郎、近藤直実：アレルギー克服へ向けての新たな治療薬開発の展望—薬物療法のpin point化—。小児臨床薬理・アレルギー・免疫研究会（第13回）（2005年2月20日、群馬）
3. 近藤直実、松井永子、篠田紳司、寺本貴英、深尾敏幸、金子英雄、加藤善一郎、川本典生、平山耕一郎：イブニングシンポジウム2：講演：小児気管支喘息のQOLと評価。日本アレルギー学会春季臨床大会（第17回）（2005年6月2日、岡山）
4. 松井永子、青木美奈子、近藤應、金子英雄、寺本貴英、篠田紳司、近藤直実：トシル酸スプラスタによるサイトカインの動向とオーダーメイド医療への応用。日本小児アレルギー学会（第42回）（2005年11月19日、福井）
5. 松井永子、寺本貴英、金子英雄、深尾敏幸、加藤善一郎、近藤直実：薬物療法のpin point化。小児臨床薬理・アレルギー・免疫研究会（第13回）（2005年2月19日、群馬）
6. 松井永子、寺本貴英、金子英雄、深尾敏幸、加藤善一郎、近藤直実：トランスレーショナルリサーチに基づくアレルギー診療・診断への応用。小児臨床薬理・アレルギー・免疫研究会（第14回）（2005年12月11日、岐阜）
7. 松井永子、青木美奈子、川本典生、金子英雄、深尾敏幸、近藤直実：シンポジウム12：発症に及ぼすウイルス感染の影響と胎内因子。日本アレルギー学会（第56回）（2006年11月4日、東京）
8. 金子英雄、近藤應、川本典生、深尾敏幸、松井永子、寺本貴英、青木美奈子、篠田紳司、中埜拓、近藤直実：牛乳アレルギーの基礎的解

析に基づく新規治療法の開発。日本アレルギー学会（第56回）（2006年11月4日、東京）

9. 青木美奈子、松井永子、川本典生、金子英雄、深尾敏幸、笠原貴美子、近藤直実：RSウイルス感染による気管支喘息発症の遺伝的要因に関する検討。日本アレルギー学会（第56回）（2006年11月3日、東京）

10. 川本典生、深尾敏幸、櫻井里美、金子英雄、新井隆広、青木美奈子、近藤應、松井永子、白春英、張改秀、岩砂眞一、近藤直実：出生コホート研究による小児アレルギー疾患の評価—乳児アレルギー疾患発症に関わる免疫学的因子の解析—。日本アレルギー学会（第56回）（2006年11月4日、東京）

11. 金子英雄、近藤應、川本典生、深尾敏幸、松井永子、寺本貴英、青木美奈子、中埜拓、近藤直実：ワークショップ1：牛乳アレルギーの基礎的解析と免疫寛容誘導による新規治療法。日本小児アレルギー学会（第43回）（2006年11月25日、東京）

H. 知的財産権の出願、登録状況

1 特許出願

近藤直実、松井永子、金子英雄、青木美奈子、近藤應：遺伝子多型を利用した抗アレルギー薬の感受性予測方法（特許出願中）：平成17年度

2、実用新案登録 特になし

3、その他 特になし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表（平成 16 年度）

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kondo, N., Matsui, E., Kaneko, H., Aoki, M., Kato, Z., Fukao, T., Kasahara, K., Morimoto, N.	RNA editing of interleukin-12 receptor beta2, 2451 C-to-U (Ala 604 Val) conversion, associated with atopy.	Clin Exp Allergy	34	363-368	2004
Kondo, N., Matsui, E., Kaneko, H., Kato, Z., Teramoto T., Shikano, H., Aoki, M., Ohnishi, H., Tatebayashi, K., Omoya, K., Kondo, M., Matsukuma, E., Kasahara, K., Morimoto, N.	Genetic defects in downregulation of IgE production and a new genetic classification of atopy.	Allergology International.	53	77-85	2004
Yoshikawa K., Matsui, E., Inoue R., Kaneko H., Teramoto T., Aoki M., Kasahara K., Shinoda S., Fukutomi O., Kondo, N.	Urinary leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 excretion in children with bronchial asthma.	Allergology International.	53	127-134	2004
Yamamoto, Y., Kato, Z., Matsukuma, E., Li A, Omoya, K., Hashimoto, K., Ohnishi, H., Kondo, N.	Generation of highly stable IL-18 based on a ligand-receptor complex structure.	Biochem Biophys Res Commun.	317	181-186	2004
Omoya, K., Kato, Z., Kato, Z., Matsukuma, E., Li, A., Hashimoto, K., Yamamoto, Y., Ohnishi, H., Kondo, N.	Systematic optimization of active protein expression using GFP as a folding reporter.	Protein Expr Purif. 36	36	327-332	2004
Asano T, Kaneko H, Terada T, Kasahara Y, Fukao T, Kasahara K, Kondo N.	Molecular analysis of B-cell differentiation in selective or partial IgA deficiency.	Clin Exp Immunol.	136	284-290	2004
Jiang, M., Tsukahara, H., Ohshima, Y., Zou, C., Ohta, N., Sato, S., Todoroki, Y., Hiraoka, M., Nambu, M., Tanaka, T., Yamaguchi, E., Kondo, N., Mayumi, M.	Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism in Patients with Bronchial Asthma.	International Medical Journal	11	119-123	2004
Kondo M., Suzuki K., Inoue R., Sakaguchi H., Matsukuma E., Kato Z., Kaneko H., Fukao T., Kondo, N.	Characterization of T-cell clones specific to ovomucoid from patients with egg-white allergy.	J Invest Allergol Clin Immunol.			in press
Tatebayashi K., Matui E., Kaneko H., Fukao T., Kasahara K., Kondo N.	IL-12B promoter polymorphism associated with asthma and IL-12B transcriptional activity.	Allergology International			in press
Ohta, K., Yamashita N, Arai H, Tashimo H, Kuramochi M, Ohbayashi O, Ishida H, Kawashima R, Nakano J, Ishii A, Hirai K, Horiuchi T, Miyamoto T.	Inhibition of airway remodeling, cell infiltration, and airway hyperresponsiveness.	Allergy Clin Immunol Int			in press
Iikura M, Ebisawa M, Yamaguchi, Tachimoto H, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K.	Transendothelial Migration of Human Basophil.	J Immunol	15;173(8)	5189-5195	2004
Adachi T, Cui C-H, kanda A, Kayaba H, Ohta K, Chihara J.	Activation of epidermal growth factor receptor via CCR3 in bronchial epithelial cells.	Biochem Biophys Res Commun	23;320(2)	292-296	2004
Hizawa N, Yamaguchi E, Takahashi D, Nishihira N, Nishimura M.	Functional Polymorphisms in the Promoter Region of Macrophage Migration Inhibitory Factor and Atopy.	Am J Respir Crit Care Med	169	1014-1018	2004
Tomita Y, Tomida S, Hasegawa Y, Suzuki Y, Shirakawa T, Kobayashi T, Honda H.	Artificial neural network approach for selection of susceptible single nucleotide polymorphisms and construction of prediction model on childhood allergic asthma.	BMC Bioinformatics	5(1)	120	2004
Kamada F, Suzuki Y, Shao C, Tamari M, Hasegawa K, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Chiba Y, Aoki Y, Kure S, Tamura G, Shirakawa T, Maysubara Y.	Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma.	Genes Immun.	5(7)	540-547	2004
Cheng L, Enomoto T, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Dake Y, Doi S, Enomoto K, Yamasaki A, Fukuda S, Mao XQ, Hopkin JM, Tamari M, Shirakawa T.	Polymorphisms in ADAM33 are associated with allergic rhinitis due to Japanese cedar pollen.	Clin Exp Allergy.	34(8)	1192-1201	2004

Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kameda F, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Tamura G, Matsubara Y, Shirakawa T, Suzuki Y.	Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility bronchial asthma.	Hum Genet	115(4)	295-301	2004
Fukuda S, Ishikawa H, Koga Y, Aiba Y, Nakashima K, Cheng L, Shirakawa T.	Allergic symptoms and microflora in schoolchildren.	J Adolesc Health	35(2)	156-158	2004
Kiyohara C, Yoshimasu K, Shirakawa T, Hopkin JM.	Genetic polymorphisms and environmental risk of lung cancer: a review.	Rev Environ Health	19(1)	15-38	2004
Hirota T, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Kishi F, Suzuki Y, Saito H, Nakamura Y, Shirakawa T, Tamari M.	Association between genetic variation in the gene for death-associated protein-3(DAP3) and adult asthma.	J Hum Genet	49(7)	370-375	2004
Shao C, Suzuki Y, Kamada F, Kanno K, Tamari M, Hasegawa K, Aoki Y, Kure S, Yang X, Endo H, Takayanagi R, Nakazawa C, Morikawa T, Morikawa M, Miyabayashi S, Chiba Y, Karahashi M, Saito S, Tamura G, Shirakawa T, Matsubara Y.	Linkage and association of childhood asthma with the chromosome 12 genes.	J Hum. Genet	49	115-122	2004
Nakajima T, Iikura M, Okayama I, Matsumoto K, Uchiyama C, Shirakawa T, Yang X, Adra CN, Hirai K, Saito H.	Identification of granulocyte subtype-selective receptors and channels by high-density oligonucleotide probe array.	J Allergy Clin Immunol	113	528-535	2004
Akahoshi M, Ishihara M, Remus N, Uno K, Miyake K, Hirota T, Nakashima K, Matsuda A, Kanda M, Enomoto T, Ohno S, Nakashima H, Casanova JL, Hopkin JM, Tamari M, Mao XQ, Shirakawa T.	Association between IFNA genotype and the risk of sarcoidosis.	Hum Genet	114	503-509	2004
Peisong G, Mao XQ, Enomoto T, Feng Z, Gloria-Bottini F, Bottini E, Shirakawa T, Sun D, Hopkin JM.	An asthma-associated genetic variant of STAT6 predicts low burden of ascaris worm infestation.	Genes Immun	5	58-62	2004
Shimada T, Cheng L, Enomoto T, Yang X, Miyoshi A, Shirakawa T.	Lysed enterococcus faecalis FK-23 oral administration reveals inverse association between tuberculin responses and clinical manifestations in perennial allergic rhinitis: a pilot study.	J Invest Allergol Clin Immunol	14(3)	187-192	2004
Shimada T, Cheng L, Yamasaki A, Ide M, Motonaga C, Yasueda H, Enomoto K, Enomoto T, Shirakawa T.	Effects of lysed enterococcus faecalis FK-23 on allergen-induced serum antibody responses and active cutaneous anaphylaxis in mice.	Clin Exp Allergy	34(11)	1784-1788	2004
Chinami M, Yano Y, Yang X, Salahuddin S, Turner H, Shirakawa T, Barford D, Adra CN.	Binding of HTm4 to KAP/CDK2/Cyclin A complex enhances the phosphatase activity of KAP, dissociates cyclin A, and facilitates KAP dephosphorylation of CDK2.	J Bio Chem			in press
Akamatsu R, Maeda Y, Hagihara A, Shirakawa T.	Interpretations and attitudes toward healthy eating among Japanese workers.	Appetit			in press
福居嘉信, 山口悦郎, 檜澤伸之, 前田由紀子, 高橋大輔, 今野 哲, 小林基子, 細川 剛, 地主英世, 高村 圭, 南須原康行, 西村正治	喘息患者と若年成人無症候者におけるアストグラフ法 [®] による気道過敏性の検討	アレルギー	53(6)	565-574	2004
山口悦郎	目で見るバイオサイエンス 気管支喘息の遺伝子多型	内科	93(5)	965-967	2004
山口悦郎, 周 艶秋	気管支喘息の遺伝子多型	現代医学	52(2)	263-269	2005

研究成果の刊行に関する一覧表（平成17年度）

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsukuma E, Kato Z, Omoya K, Hashimoto K, Li A, Yamamoto Y, Ohnishi H, Hiranuma H, Komine H, <u>Kondo N</u>	Development of fluorescence linked immunosorbent assay (FLISA) for high throughput screening (HTS) of interferon- γ .	Allergol Int	55	49-54	2006
Kobayashi M, Nasuhara Y, Kamachi A, Tanino Y, Betsuyaku T, <u>Yamaguchi E</u> , Nishihira J, Nishimura M	Role of macrophage migration inhibitory factor in ovalbumin-induced asthma in rats.	Eur Respir J	27 (1)	1-9	2006
<u>Kondo N</u> , Kraft M, Kaminogawa S	Hygiene Hypothesis -Significance and Verification in Asthma/Allergy-	International Review of Asthma	7	8-25	2005
Tatebayasi K, <u>Matsui E</u> , Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, <u>Kondo N</u>	<i>IL-12B</i> promoter polymorphism associated with asthma and <i>IL-12B</i> transcriptional activity.	Allergol Int	54	451-459	2005
Yoshikawa K, <u>Matsui E</u> , Kaneko H, Fukao T, Inoue R, Teramoto T, Shinoda S, Fukutomi O, Aoki M, Kasahara K, <u>Kondo N</u>	A novel single-nucleotide substitution, Glu 4 Lys, in the leukotriene C4 synthase gene associated with allergic diseases.	Int J Mol Med	16	827-831	2005
Kondo M, Suzuki K, Inoue R, Sakaguchi H, Matsukuma E, Kato Z, Kaneko H, Fukao T, <u>Kondo N</u>	Characterization of T-cell clones specific to ovomucoid from patients with egg-white allergy.	J Investig Allergol Clin Immunol	15	107-111	2005
Kutok JL, Yang X, Folkert RD, Imitola J, Raddassi K, Yano Y, Salahuddin S, Lawitts J, Imboden H, Chinami M, <u>Shirakawa T</u> , Turner H, Khoury S, Sayegh MH, Scadden D, Adra C	The cell cycle associated protein, HTm4, is expressed in differentiating cells of the hematopoietic and central nervous system in mice.	J Mol Histol	36(1-2)	77-87	2005
Songjinda P, Nakayama J, Kuroki Y, Tanaka S, Fukuda S, Kiyohara C, Yamamoto T, Izuchi K, <u>Shirakawa T</u> , Sonomoto K	Molecular monitoring of the developmental bacterial community in the gastrointestinal tract of Japanese infants.	Biosci Biotechnol Biochem	69(3)	638-41	2005

Akahashi M, Obara K, Hirota T, Matsuda A, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Nakashima K, Cheng L, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Higashi N, Taniguchi M, Enomoto T, Mao XQ, Nakashima H, Adra CN, Nakamura Y, Tamari M, <u>Shirakawa T</u>	Functional promoter polymorphism in the <i>TBX21</i> gene associated with aspirin-induced asthma.	Hum Genet.	117(1)	16-26	2005
Noguchi E, Yokouchi Y, Zhang J, Shibuya K, Shibuya A, Bannai M, Tokunaga K, Doi H, Tamari M, Shimizu M, <u>Shirakawa T</u> , Shibusaki M, Ichikawa K, Arinami T	Positional identification of an asthma susceptibility gene on human chromosome 5q33.	Am J Respir Crit Care Med.	172(2)	183-8	2005
Hirota T, Suzuki Y, Hasegawa K, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Cheng L, Takahashi N, Shimizu M, Doi S, Fujita K, Enomoto T, Ebisawa M, Yoshihara S, Nakamura Y, Kishi F, <u>Shirakawa T</u> , Tamari M	Functional haplotypes of <i>IL-12B</i> are associated with childhood atopic asthma.	J Allergy Clin Immunol.	116(4)	789-95	2005
Cheng L, Hirota T, Enomoto T, Tamari M, Akahoshi M, Matsuda A, Shimizu M, Takahashi N, Enomoto K, Yamasaki A, Mao XQ, Hopkin JM, <u>Shirakawa T</u>	Lack of association between the <i>IL13</i> variant Arg110Gln and susceptibility to cedar pollinosis in a Japanese population.	Int Arch Allergy Immunol.	139(1)	25-30	2005
Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Ebe K, Inomata N, Obara K, Hirota T, Nakashima K, Shimizu M, Tamari M, Doi S, Miyatake A, Enomoto T, Nakashima H, Ikezawa Z, <u>Shirakawa T</u>	Association of the <i>IL12RB1</i> promoter polymorphisms with increased risk of atopic dermatitis and other allergic phenotypes.	Hum Mol Genet.	14(21)	3149-59	2005