

200729017A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

アレルギー性疾患の発症・進展・重症化の予防に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 海老澤 元宏

平成20(2008)年3月

—目次—

I. 総括研究報告書

アレルギー性疾患の発症・進展・重症化の予防に関する研究（研究総括）

海老澤 元宏.....1

II. 分担研究報告

1. アレルギーマーチの進展因子と予防に関する研究

海老澤 元宏.....5

2. アレルギー性疾患の発症・重症化の予知に関する研究

近藤 直実.....12

3. アレルギー性疾患の発症因子の前方視的研究

荒川 浩一.....15

4. 食物アレルギーの発症・重症化の予防に関する研究

—重症化予防と寛解誘導をめざした食事指導のための抗原性の臨床的評価に関する研究—
伊藤 節子.....19

5. 食物アレルギーの病態解明と診断・治療の開発に関する研究

—鶏卵アレルギーの経口免疫療法とアレルギー特異的T細胞応答のトランスクリプトーム解析—
宇理須 厚雄.....22

6. 食品成分による食物アレルギーの制御に関する研究

穉山 浩.....25

7. 食物アレルギーの免疫学的制御に関する研究

大嶋 勇成.....29

8. アレルギー性疾患発症と自然免疫に関する研究

玉利 真由美.....32

9. アレルギー性疾患の発症と環境アレルギーに関する研究

安枝 浩.....35

10. RSウイルス感染と小児気管支喘息発症に関する研究

下条 直樹.....38

アレルギー性疾患の発症・進展・重症化の予防に関する研究

主任研究者 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

相模原のコホート調査で5歳児の約3人に1人が何らかのアレルギー性疾患を有していることが判明し、乳児期の食物アレルギー・アトピー性皮膚炎をリスクファクターとして3歳、5歳にかけて喘息、スギ花粉症の発症が急増し特にスギ花粉症の低年齢化が顕著であった。コホート研究の成果に基づいて相模原病院において呼吸器ウイルス感染症、ダニ抗原暴露をモニターしながらのAD/FAの乳児のBA発症前向き研究は51名がエントリーされ、呼吸器ウイルス感染症の事例の半数以上がライノウイルスでありRSV感染は非常に頻度が低い結果であった。喘鳴あり群において室内塵のダニ抗原量が有意に多かった。FAに関する遺伝子多型の症例は331名の即時型アレルギー患者のサンプリングが完了し最終年度に解析予定である。FAの診断に関して好塩基球上のCD203cの発現が鶏卵・牛乳アレルギーにおいて負荷試験の適応の判断の一助になる可能性が示された。食物負荷試験ネットワークも総症例数は1856例に到達しブラインド負荷試験陽性率は49%であった。食品栄養学の立場から検知法による加熱・調理による鶏卵抗原の変性の科学的データに基づいた鶏卵アレルゲンの評価が示された。我が国における小児(TGFβ1プロモーター、TGFβ2プロモーター、LTC4S)と成人BAの遺伝子多型(TLR6遺伝子)さらにRSV細気管支炎の遺伝子多型(GSTP1 Ile105Val多型、RANTES C(-28)G多型)も明らかにされた。ダニ抗原暴露のモニター法に関しても新たにシャーレ、テープを用いて行う方法の意義が明らかにされた。

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
近藤 直実	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学教授
伊藤 節子	同志社女子大学生活科学部臨床栄養学研究室教授
下条 直樹	千葉大学大学院医学研究院小児病態学准教授
荒川 浩一	群馬大学大学院医学系研究科小児生体防御学講師
大嶋 勇成	福井大学医学部小児科講師
安枝 浩	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 診断・治療薬開発研究室長
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部第二室長
玉利 真由美	理化学研究所遺伝子多型研究センター アレルギー体質関連遺伝子研究チーム リーダー

発症群、重症化群での症例比較研究で明らかにする。疾患別にはFAの発症・重症化予防のために乳児期早期の対応方法の検討、食物負荷試験を基準とした既存の検査方法の見直しや新しい診断方法の確立、FAの治療として免疫学的制御の可能性の追求、食品成分によるFAの感作抑制および機序の解析、FA患者への経口減感作療法的なアプローチの臨床応用研究を行う。BAへの進展因子に関して日常生活でのダニ抗原の曝露量を明らかにし、呼吸器ウイルス感染症から気道過敏性が獲得されるメカニズムを明らかにするとともに予防・対処方法を検証する。

A. 研究目的

わが国のアレルギー性疾患は年齢階層別に“食物アレルギー(FA)の関与する乳児アトピー性皮膚炎(AD)”で発症し“気管支喘息(BA)”、“アレルギー性鼻炎”と進展していく場合が多く、ベースにはIgE抗体が作られやすいアレルギー素因が関わっていると推定される。その素因を修飾するものとして生活習慣、生活環境に基づいた周産期・新生児期・乳児期・幼児期の各種因子が存在すると考えられている。厚生労働科学研究でサポートされてきた3カ所(相模原、岐阜、群馬)の出生コホート研究を維持・推進し周産期から幼児期の各種因子を各アレルギー性疾患の非発症群、

B. 研究方法, C. 研究結果, D. 考察

1. 出生コホート研究 (海老澤、近藤、荒川)
①アレルギーマーチの進展因子と予防に関する研究 (海老澤)

乳幼児期アレルギー性疾患の有病率と発症の危険因子を解明するために相模原市で2002年に4ヶ月健診を受け同意を得た5,247名から始まる出生コホート調査を継続中で今年度は5歳時の調査を行った。対象3,604名中2,696名より回答を得(回収率74.5%)、アレルギー性疾患の全体の罹病率は33.8%であり、5歳時の3人に1人が何らかのアレルギー性疾患に罹患しているこ

とが判明した。ADの診断は8.2%、ADを疑う湿疹の保有は15.9%とADの診断とADを疑う湿疹の保有率に乖離が認められた。FAの診断4.2%に対しFAのために食物除去を行っている者は3.4%にとどまっていた。BAは14.3%、喘鳴の既往は31.3%、スギ花粉症は10.6%と3歳時調査に比べて著増していた。次に相模原病院においてFA/AD患者からのBA発症の危険因子を明らかにし、予防法を確立するための前方視的検討を行っている。乳児期に外来を受診したFAの関与する乳児AD児51名を対象として1)遺伝子多型、2)上気道感染症の罹患回数と呼吸器ウイルス(Rhino virus、RSV)感染の有無、3)定期的な自宅のダニ、動物抗原量の測定を行っている。総ウイルス検査161件中RSV(3件)・Rhino virus感染(58件)が陽性であった。今年度までの調査で寝室塵において喘鳴あり群の方がダニ抗原量が高い結果が得られた。今後追跡症例はBA発症の好発年齢となり、経過とともに喘鳴出現例が増加することが予想されるので引き続き症例を増やし検討を加えていく。

②アレルギー性疾患の発症・重症化の予知に関する研究(近藤)

岐阜の出生コホート研究では生後6ヶ月で174名中24%がアトピー性皮膚炎(AD)と診断されたが、気管支喘息(BA)と診断されたものはいなかった。1歳2ヶ月では157名中18%がAD、6%がBAと診断された。生後6か月および1歳2ヶ月におけるAD、BAの有無、IgE、Th1、Th2、CD4⁺CD25⁺T細胞、各種サイトカイン分泌とIFN- γ R1、IL12R β 1、IL12R β 2、IL12、LTC4S、IL4R α 、IL13、TGF- β 1の遺伝子多型との関連を解析した。1歳2ヶ月におけるBA有病率とTGF- β 1プロモーター多型に相関が認められた、また、LTC4Sのプロモーター多型の間に関連が示唆されており、さらに解析を進めている。

③アレルギー疾患の発症因子の前方視的研究(荒川)

群馬県内の出生コホート研究では生後1年目と3年目に出生後の環境因子とともに喘息発症の有無について調査を行った。3歳時のアンケート調査から喘息発症と妊娠中のウイルス感染や細菌感染のエピソードと関連性を認め、出生後は感染曝露や肺炎や気管支炎の既往との関連が見られた。臍帯血中のサイトカインは、3歳での喘息発症とは関連性を認めなかった。3歳での喘

息発症に関しては、胎内環境によっては影響を及ぼさず、出生後の因子が関与するようになるのではないかと推察される。1歳でのアトピー性皮膚炎の既往や3歳でのアトピー性皮膚炎の合併が関連していたことよりアトピー素因の重要性も示唆された。

2. 食物アレルギーに関する研究(海老澤、伊藤、宇理須、穠山、大嶋)

①食物アレルギーの診断方法に関する研究(海老澤)

FA診断における好塩基球活性化マーカーCD203cの有用性を検討した。相模原病院通院中のFA児84名を対象にCD203cの発現と鶏卵・牛乳アレルギーの耐性獲得状況の検討を行った。CD203c基礎発現に関して鶏卵アレルギー、牛乳アレルギーの有無で有意差は認めず、抗原刺激後のCD203cの発現は鶏卵アレルギーも牛乳アレルギーも“あり群”で有意に高値を示していた。抗原刺激後のCD203c発現が1000以上の場合、原因抗原摂取により症状出現する例が多いが、CD203c発現が1000以下での場合予知は不可能であった。H13より維持している食物負荷試験ネットワーク7年目には入り参加施設は現在32施設で累計のブラインド負荷試験症例数も1856症例に達している。IgE CAP RAST陽性率や皮膚テスト陽性率に比べ、オープン負荷試験で診断できないような年長児の症例を対象として含めても負荷試験陽性率は49%にとどまり、食物アレルギー診断におけるブラインド負荷試験の重要性が再確認された。

②食物アレルギーの発症・重症化の予防に関する研究(伊藤)

卵の抗原性の評価法の検討を行い、臨床的に有用性の高い測定系の確立と抗原量を基に食事指導を行う食事療法の標準化を目指した。FASPEKは原材料中の抗原検出に優れた測定系であり、従来法OA、OMによる測定結果は、加熱調理による抗原性の低下をよく反映していた。加熱卵の従来法OAによる抗原量の低下はOAの凝固による見かけ上のものであり、OMは凝固しにくいため従来法OMにてもよく検出できた。実際の臨床現場における抗原性の強さは従来法による塩抽出液により抽出した測定結果とよく一致し、食品中の卵の低アレルゲン化の評価に用いるこ

とができると考えた。

③食物アレルギーの病態解明と診断・治療の開発に関する研究 (宇理須)

過去の検討により対照群と比べ卵アレルギー患者において転写レベルで cytokine inducible SH2-containing protein (CISH) 発現が増加しており、今回蛋白レベルでの発現を FACS にて検討した。CD4⁺, CD25⁺, CISH⁺細胞の頻度の抗原刺激時と非刺激時の差を抗原特異的な変化として比較すると、鶏卵アレルギー患者では対照群よりも有意に発現が増強していた。CISH の発現は IFN- γ 陽性細胞 (Th1) よりも IL-4 陽性細胞 (Th2) で有意に増加していた。転写レベルのみならず蛋白レベルでも鶏卵アレルギー児で CISH の反応が増強し、CISH が T 細胞において IFN- γ シグナルを抑制することで Th2 分化を促す可能性が示唆され Th2 細胞有意に発現していると推測された。CISH は鶏卵アレルギーの病態形勢に関与し、診断のマーカーとなる可能性が示唆された。

④食品成分による食物アレルギーの制御に関する研究 (穠山)

B10A マウスに OVA を 9 週間連日経口投与し、カロテノイドは標準粉末飼料に混合 (2 mg/100 g) し OVA 投与開始 2 週間前より自由摂取させた後、脾臓細胞のポピュレーションを FACS により解析した。カロテノイド投与群の脾臓細胞より CD4⁺T 細胞を単離し、GATA3 及び t-bet の mRNA を定量したところ対照群に比べ低い値を示したことから、カロテノイド強化食によって抗原感作の抑制が示唆された。また魚卵、果実、食用色素等に含まれる主要な食物アレルギーについて解析し、抗原性と交叉反応に関して検討を加えた。

⑤食物アレルギーの免疫学的制御に関する研究 (大嶋)

食物アレルギーモデルとして OVA 特異的 TCR 発現トランスジェニックマウスを OVA とアラムで腹腔感作し、OVA 経口投与後に下痢症状とアナフィラキシーを呈するモデルにおいて、rIL-10 を 2 μ g 腹腔内投与あるいは経静脈投与し、投与 2 時間後に OVA の経口負荷を行った。即時型下痢症状の抑制は認めず、むしろ、投与の反復により下痢症状の悪化を認めた。輸注に用いた CD8 陽性細胞中には、CTLA-4 陽性細胞や LAG-3 陽性細胞、CD28 陰性細胞はほとんど検出されず、CD122 陽性細胞は 10%以下、CD103 陽性細胞は 30%前後存在していた。陽性細胞の割合からは、OVA 非感作マ

ウスと OVA 感作マウスでは陽性細胞の比率には有意な差を見出せなかった。CD8 陽性細胞を CD103 陽性細胞と陰性細胞に分離し、それぞれを輸注した後、OVA 経口負荷を行ったが、陽性細胞を輸注したマウスと陰性細胞を輸注したマウスのどちらもアレルギー症状発現抑制効果を認めた。即時型アレルギー性下痢症状を IL-10 投与により抑制することは出来ず、即時型食物アレルギーの治療には、抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の誘導法を確立することが重要と考えられた。

3. 気管支喘息への進展に関連した遺伝・環境因子に関する研究 (玉利、安枝、下条)

①アレルギー性疾患と自然免疫に関する研究 (玉利)

サンプルはコントロール (非喘息 745 例)、小児喘息 548 例、成人喘息 468 例である。TGF β 2 遺伝子プロモーター領域にある多型 (rs10482719, P=0.0037) 3'UTR 上にある多型 (rs900, P=0.00041) と小児アトピー性喘息との相関を見いだした。TLR6 遺伝子上に 37 個 (エクソン上に 10 個、アミノ酸の変化する多型 3 個を含む) の遺伝子多型を認め、頻度が 10%以上、連鎖不平衡を加味し 5 つの SNPs で検討した結果、エクソン上の SNP (K421K, rs3775073, P=0.0060) と成人喘息発症との相関を認めた。食物アレルギーについて 331 例を収集しタイピングに向け、DNA 抽出、大量タイピングに向けたサンプルの Quality control 等の準備を進めている。

②アレルギー性疾患の発症と環境アレルギーに関する研究 (安枝)

ダニ抗原曝露の実態を反映する測定法の確立を目的に掃除機法以外の 2 種類のサンプリング方法としてテープ法、シャーレ法に関して検討を加えた。初診後 1 年間に喘鳴を認めた群のテープ法 Der 1 量は、対照群よりも有意に高値であった。同一室内の高さの異なる位置に設置したシャーレに堆積する Der 1 量は、設置位置が高いほど低値になった。寝室におけるシャーレ法 Der 1 量と寝具表面からのテープ法 Der 1 量との間には有意な正の相関が見られた。さらに、発塵時のエアサンプリング法 Der 1 量とシャーレ法 Der 1 量、テープ法 Der 1 量はよく相関した。また、フローリングが主体の居間とカーペットが主体の居間の各種 Der 1 量を比較した場合、掃除機法ではカーペットの方が 10 倍以上高値であったが、シャー

レ法, エアサンプリング法では両方の居間の間に有意な差は認められなかった。シャーレ法 Der 1 量, テープ法 Der 1 量は掃除機法 Der 1 量とは関係せず, エアサンプリング法 Der 1 量とよく相関した。シャーレ法, テープ法による測定は掃除機法とは異なり, 室内空気中のダニアレルゲン濃度を反映し, 曝露の指標となり得ることを示し, テープ法, シャーレ法によるサンプリングは掃除機法よりもはるかに簡便で, ダニアレルゲン曝露の指標として有用であることが示された。

③RS ウイルス感染と小児気管支喘息発症に関する研究 (下条)

Respiratory syncytial virus (RSV) に対する応答性の個体差を検討するために RSV 細気管支炎発症における炎症・免疫分子の遺伝子多型に着目して検討した。RSV 細気管支炎患者群と対照群で遺伝子多型解析を行った結果、いくつかの遺伝子多型と RSV 細気管支炎発症に関連が認められた。GSTP1 Ile105Val 多型: RSV 細気管支炎患者では Val/Val が対照群と比較し有意に高値であった。RANTES C(-28)G 多型: 患者群において CC が有意に高値であった。RANTES A(-403)G 多型: 患者群において GG が有意に高値であった。IL-17F His161Arg 多型: 患者群において His/His が有意に低値であった。

E. 結論

相模原のコホート調査で5歳児の約3人に1人が何らかのアレルギー性疾患を有していることが判明し、乳児期の食物アレルギー・アトピー性皮膚炎をリスクファクターとして3歳、5歳にかけて喘息、スギ花粉症の発症が急増し特にスギ花粉症の低年齢化が顕著であった。コホート研究の成果に基づいて相模原病院においてウイルス感染症、ダニ抗原暴露をモニターしながらのAD/FAの乳児のBA発症前向き研究は51名がエントリーされ、呼吸器感染症の半数以上がライノウイルスでRSV感染は非常に頻度が低く、喘鳴出現群で室内塵のダニ抗原量が多かった。FAに関する遺伝子多型の症例も331名のエントリーが完了し、最終年度に解析予定である。FAの診断に関して好塩基球上のCD203cが鶏卵・牛乳アレルギーにおいて負荷試験の適応の判断の一助になる可能性が示された。食物負荷試験ネットワークも総症例数は1856例に到達し負荷試験陽性率は49%であった。食品栄養学の立場から検知法によ

る加熱・調理による鶏卵抗原の変性の科学的データに基づいた鶏卵アレルゲンの評価が示された。喘息の発症に関して小児(TGFβ1プロモーター、TGFβ2プロモーター、LTC4S)と成人BAの遺伝子多型(TLR6遺伝子)さらにRSV細気管支炎の遺伝子多型(GSTP1 Ile105Val多型、RANTES C(-28)G多型)も明らかにされた。アトピー型喘息においてダニ抗原暴露のモニター法に関する新たなシャーレ、テープを用いて行う方法の意義が明らかにされた。最終年度に向けて「食物アレルギーの診療の手引き」の改訂ならびに研究成果のまとめを行い乳児期の食物アレルギー・アトピー性皮膚炎から始まるアレルギー性疾患の発症、進展、重症化の予防のポイントに関して明らかにする。

F. 健康危険情報

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

なし

アレルギーマーチの進展因子と予防に関する研究

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
研究協力者 杉崎 千鶴子 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
佐藤 さくら 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
田知本 寛 国立病院機構相模原病院 小児科医師
小俣 貴嗣 国立病院機構相模原病院 小児科医師
安枝 浩 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 診断・治療薬開発研究室長
増田 泰伸 キューピー株式会社研究所 健康・医療 R&D センター

〈食物負荷試験ネットワーク参加施設〉

藤沢隆夫	国立病院機構三重病院臨床研究部	篠原示和	高知大学医学部小児科
佐藤一樹	国立病院機構下志津病院小児科	森川みき	J R 仙台病院小児科
木村光一	久留米大学医学部小児科	足立雄一	富山大学医学部小児科
眞弓光文	福井大学医学部小児科	松原和代	山口大学医学部小児科
谷内昇一郎	関西医科大学滝井病院小児科	吉原重美	獨協医科大学小児科
赤澤 晃	国立成育医療センター総合診療部		

研究要旨

相模原コホート研究（5歳児調査）では対象3604名中2686名より回答を得て（回収率74.5%）、ADの診断は8.2%に対して「6ヶ月以上のかゆみを伴った湿疹」の保有率は15.9%で、ADの診断と湿疹の保有率に乖離が認められた。FAの診断は4.2%であったが実際にFAにより食物除去を行っている者は3.4%にとどまった。BAの診断は14.3%、喘鳴の既往は31.3%、3歳児からいずれも5%以上増加していた。スギ花粉症の診断も3歳児の3.0%から10.6%と著増していた。5歳児において各疾患のオーバーラップを考慮し何らかのアレルギー性疾患を有していたのは33.8%と約3人に1人であることが明らかになった。相模原病院において“食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎児”で、BA未発症の患者48例（男:32例、女:16例）をプロスペクティブに喘息発症を呼吸器ウイルス感染症と室内アレルゲンに着目して追跡している。感冒症状時のウイルス検査は121件施行し、RSV陽性:3件、Rhino virus陽性:58件、検査中:49件であった。喘鳴出現の有無で比較検討したところ、寝室塵において喘鳴あり群においてダニ抗原量が高い結果であった。食物負荷試験ネットワーク研究は丸7年目を迎え今回266例の新規症例が追加され累計1856例の鶏卵（全卵）、鶏卵（卵黄）、鶏卵（加熱卵白）、牛乳、小麦、大豆の負荷試験が行われている。これらのデータを元に2006年の入院負荷試験の保険診療点数化に引き続いて2008年には外来食物負荷試験が施設基準を満たす施設において算定可能になった。当科通院中のFA児84名を対象に好塩基球活性化マーカーであるCD203cの発現と鶏卵・牛乳アレルギーの耐性獲得状況に関する検討を行った。鶏卵・牛乳抗原刺激による好塩基球CD203c発現上昇に関してMFIが1000を越える例では該当食物摂取にて症状を呈する例が多く食物負荷試験を行う必要はほとんどないが、抗原刺激後のCD203cの発現が比較的低値の場合には食物負荷試験が最終判断に欠かすことはできない。FAの診断に好塩基球のCD203cの検査を加えることにより鶏卵と牛乳に関しては不必要な食物負荷試験を減らせることは可能性が示された。

【相模原コホート研究（5歳児調査結果）】

A. 研究目的

乳幼児期のアトピー性皮膚炎(AD)、食物アレルギー(FA)、気管支喘息(BA)、スギ花粉症の有病率ならびに各疾患の発症の危険因子を明らかにするために神奈川県相模原市において2002年1月～12月に4ヶ月健康診査を受けた児のうち同意

を得た5247名を調査対象にして出生コホート調査を行っている。

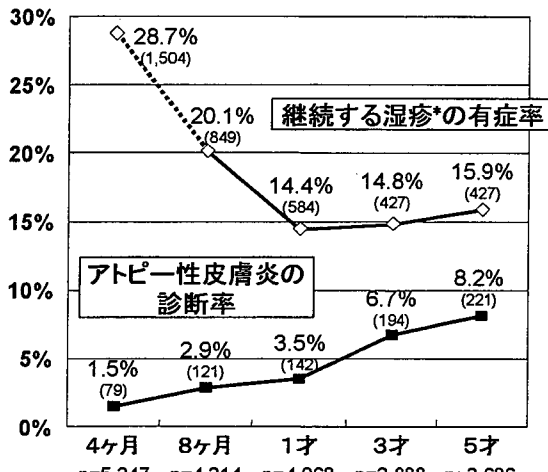
B. 研究方法

2006年9月から2007年8月にかけて5歳児を対象とした調査を行った。住所が確認でき同意が得られた3604名に往復ハガキの調査票を送付し

回答を得た。

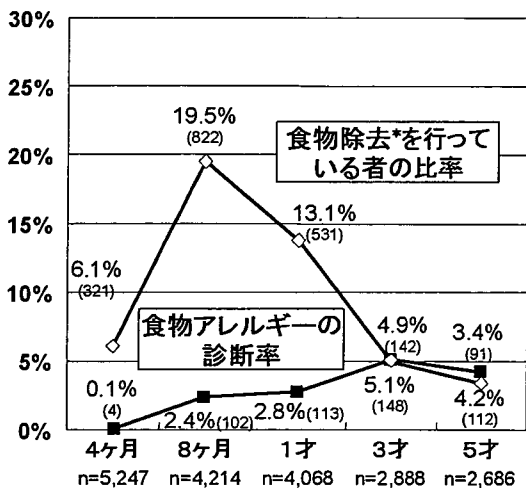
C. 研究結果

調査対象 3604 名中 2686 名より回答を得て(回収率 74.5%)、AD と診断されていたのは 221 名(8.2%)で、「6ヶ月以上のかゆみを伴った湿疹」の保有率は 427 名(15.9%)で、AD の診断と湿疹の保有率に乖離が認められた(図1)。FA と診断された者は 112 名(4.2%)、FA のために食物除去を行っている者 91 名(3.4%)にとどまった(図2)。BA と診断されていたのは 384 名(14.3%)、喘鳴の既往は 840 名(31.3%)で3歳児の調査から両者とも5%以上増加していた。スギ花粉症と診断されていた児も3歳児の3.0%から285名(10.6%)と著増していた(図3)。各疾患のオーバーラップを考慮したアレルギー性疾患の罹患率を図4に



*継続する湿疹(ADを疑う湿疹) :
4ヶ月時は湿疹保有者、8ヶ月・1才時は2ヶ月以上継続したかゆみを伴う湿疹保有者、3才・5才時は6ヶ月以上継続したかゆみを伴う湿疹の保有者。

図1 湿疹の有症率とADの診断率の推移



*食物除去 :
医師の指導の下または保護者の判断による除去。
乳児期は母親自身の除去も含む。

図2 食物除去率とFA診断率の推移

示す。5歳児において何らかのアレルギー性疾患を有していたのは約3人に1人であることが判明した。

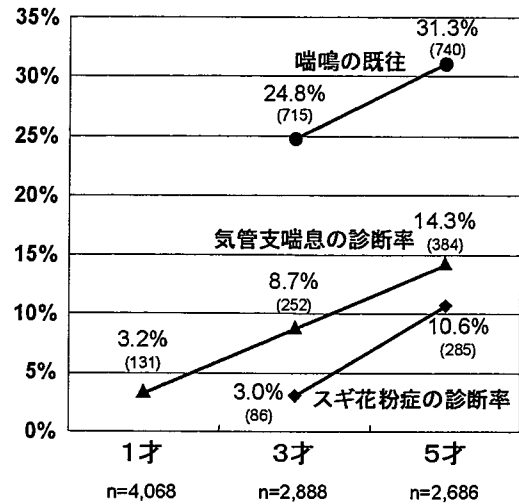


図3 喘鳴の既往歴と気管支喘息および花粉症の診断率の推移

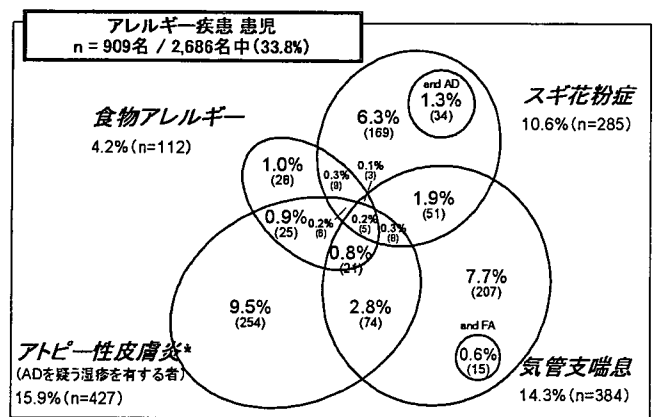


図4 5才児アレルギー疾患の罹患率

D. 考察およびE. 結論

ある地域(相模原市)の母集団数が明らかな対象において乳児期から乳児期の食物アレルギーとアトピー性皮膚炎から始まる5歳までのアレルギーマーチの進展が確認され、5歳時の約3人に1人が何らかのアレルギー性疾患に罹患していることが明らかになった。

【FA/AD 前向き研究】

A. 研究目的

小児アレルギー疾患はアレルギーマーチを呈することが多く、当科での検討では、重症のFAの関与する乳児AD患者はBA発症のリスクが高いことを報告している。FA/AD患者からのBA発症の危険因子を明らかにし、予防法を確立するための前方視的検討を行うことを目的とする。

B. 研究方法

2006年10月より1歳未満で当科を受診した“食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎児”で、BA未発症の患者を対象に、1)遺伝子多型、2)上気道感染症の罹患回数とウイルス(Rhino virus、RSV)感染の有無、3)定期的な自宅のダニ、動物抗原量(犬、猫)の測定を開始した。自宅のダニ、動物抗原量採取は異なる5通りの方法をとっている。第1に室内塵の採取であり、自宅掃除機のゴミパックを回収し各抗原量の測定を行なっている。第2に寝室塵の測定を行なっている。これはハンディタイプの掃除機を貸し出し、寝具の周囲の床(約2m²)を約2分間掃除機をかけて採取している。第3に寝具塵の採取であり、ハンディタイプの掃除機を用い布団に掃除機をかけてもらっている(布団の端から端まで2分間)。第4に敷き布団の上部、中央部、下部の3点にテガダームを貼り、寝具より抗原を採取している。第5の方法として入浴前、左右の頬部にテガダームを貼り、皮膚に付着している各抗原量を測定している。

研究協力の同意状況により対象を2群に分け、I群は1)、2)、3)について、II群は1)、3)について経年的にデータを集積し検討している。

C. 研究結果

現在までの登録患者数は、I群40例、II群11例の計51例で、I群のうち3例は追跡中止となり計48例(男:32例、女:16例)を追跡中である(図5-a)。登録時の平均年齢はI群0.9歳、II群0.8歳であった。I群37例の平均観察期間7.8±4.1ヶ月の間、感冒症状による受診は33例、のべ161回であった。感冒症状時のウイルス検査は121件施行し、RSV陽性:3件、Rhino virus陽性:58件、検査中:49件である(図5-b,c)。現在までBA発症例は認められていないが、喘鳴を来した例は7名存在し、1名は2回の喘鳴を呈している。喘鳴あり群のウイルス検査は25件施行し、RSVはすべて陰性で、Rhino virusは、陽性:6件、陰性:5件、14件は検査中であった。このうち喘鳴出現時のRhino virusは、陽性:1件、陰性:1件、検査中:4件、喘鳴が無いときのRhino virusは、陽性:5件、陰性:4件、検査中:10件であった。また、喘鳴出現までのRhino virus陽性回数は、0回が3例、1回が1例、2回が1例で

登録患者数の推移
~2007年12月20日現在~

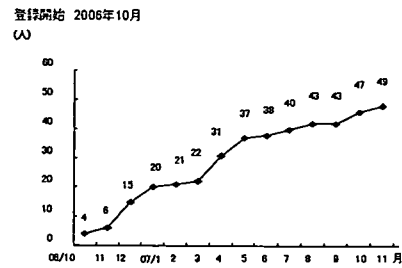


図 5-a

RSV検査結果

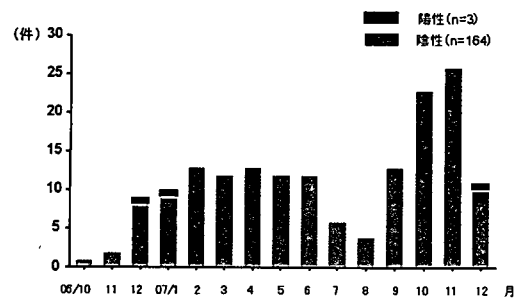


図 5-b

Rhino virus検査結果

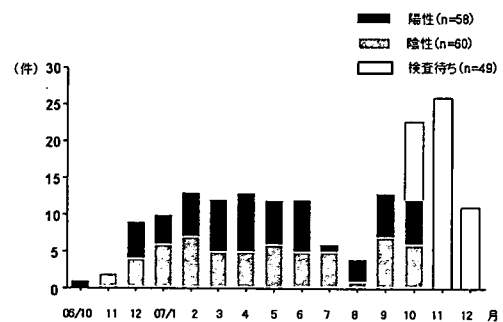


図 5-c

あった。これに対して、喘鳴を来していない32例中、ウイルス検査を施行したのは28例、96回で、Rhino virus陽性回数は0回:11例、1回:10例、2回:1例、3回:3例、4回:2例、5回:0例、6回:1例であった。

ダニ、動物抗原量の測定は、I群29例、II群8例で第1回目の測定が終了した。ダニ抗原量は室内塵*14.3、寝室塵*14.8、寝具塵**11.7、寝具テープ***548.6、皮膚テープ***24.6 (*μg/g dust, **ng/m²)であった。抗原特異的ダニ抗体価と室内塵、寝具塵の関係では相関は認めなかった(図6)。しかし喘鳴出現の有無で両群を比較

抗原特異的ダニ抗体価とDer 1量(室内塵・寝室塵)の関係

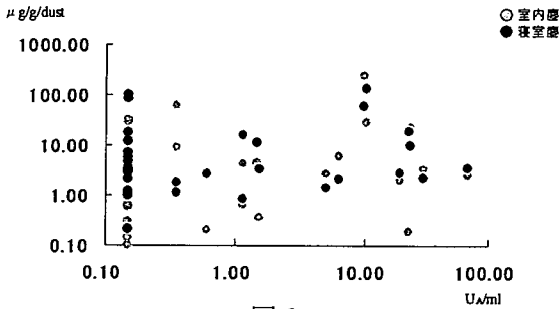
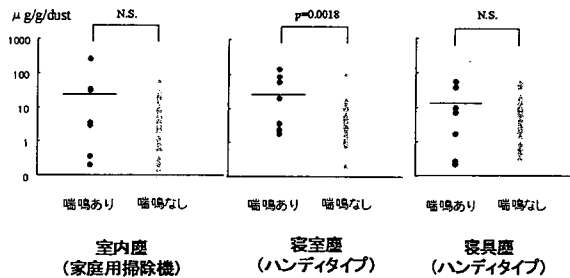


図 6

喘鳴の有無によるDer1量の比較



ペット(猫)の有無によるFel d 1量の比較

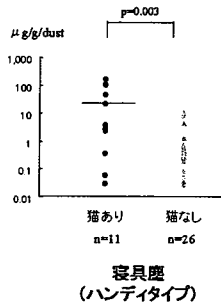


図 8

検討したところ、寝室塵において喘鳴あり群においてダニ抗原量が高い結果であった($p < 0.01$)。他の4方法での採取においては有意差は認めなかった(図7)。猫を飼育している家庭としていない家庭では寝具塵のFel d1量に差を認めたが($p < 0.01$ 、図8)、喘鳴出現の有無によるFel d1、Can f1量の比較では両群間に有意差は認めなかった。

D. 考察およびE. 結論

これまでのところ、RSV及びRhino virus感染、ダニ・動物抗原量は、喘鳴あり群と喘鳴なし群の間に一定の傾向を示していない。今回特筆すべき

ことは寝室塵において喘鳴あり群の方がダニ抗原量が高い結果が得られたことである。今後、追跡症例はBA発症の好発年齢となり、経過とともに喘鳴出現例が増加することが予想される。またダニ、動物抗原も半年ごとに測定を行なっているため、今後はより詳細なデータが集まると思われる。このように発症早期よりプロスペクティブにデータを集積し、BAの発症危険因子を明らかにすることでBAの発症予防の対策が得られると期待している。

【食物負荷試験ネットワーク研究】

A. 研究目的

平成13年度より標準的な食物負荷試験の確立と食物負荷試験の普及を目的に食物負荷試験ネットワークを立ち上げ今年度で7年目を迎えた。全国32主要小児アレルギー専門施設における累積結果を報告する。

B. 研究方法

キューピー(株)研究所と共同開発した鶏卵(全卵・卵黄)・牛乳・小麦・大豆の乾燥食品粉末に酸化防止を施し、負荷試験食のマスキング用にイチゴピューレをセットとした負荷試験食を研究協力施設に提供し、文書同意を得た上で適応患者を対象にして共通プロトコールで食物負荷試験を行ってきた。昨年度から新たに開発した加熱鶏卵卵白の粉末を加えて計6種の抗原を用いて負荷試験を施行した。

C. 研究結果

平成20年2月末現在、新規に計266例の負荷試験が施行され、抗原別内訳は、鶏卵(全卵)100例、鶏卵(卵黄)21例、鶏卵(加熱卵白)11例、牛乳98例、小麦24例、大豆12例であった。昨年度までの1590例と合わせた累計の食物負荷試験1856例の概要を表1にまとめた。

食物負荷試験を行った平均年齢は 4.8 ± 0.1 才であり、1才児が最も多かった(14.9%)。

全体での陽性率は49%(915/1856)であったが抗原別での陽性率は鶏卵>牛乳>小麦>大豆の順であった。負荷試験結果をIgE CAPRASTスコア別に検討したところ、全卵、牛乳および小麦ではCAPRASTスコアに比例して陽性率が高くなったが、卵黄および大豆では相関が認められなかった。

負荷試験陽性者に認められた臨床症状は皮膚

症状が 61.7%、消化器症状が 35.3%、呼吸症状が 31.6%、全身症状が 5.3%、その他の症状が 3.1%であった。抗原別には全卵と大豆では皮膚症状>消化器症状>呼吸症状>全身症状>その他の症状の順でみられたが、卵黄、牛乳および小麦では皮膚症状>呼吸症状>消化器症状>全身症状>その他の症状の順であった。

表 1

	食物負荷試験陽性	IgE CAPRAST陽性	皮膚テスト陽性
鶏卵 (全卵)	461/744 (62%)	610/738 (83%)	347/400 (87%)
鶏卵 (卵黄)	48/173 (28%)	134/163 (82%)	115/127 (91%)
鶏卵 (加熱卵白)	11/11 (100%)	7/11 (64%)	11/11 (100%)
牛乳	269/540 (50%)	411/534 (77%)	241/294 (82%)
小麦	102/262 (39%)	219/259 (85%)	107/134 (80%)
大豆	24/126 (19%)	92/123 (75%)	41/67 (61%)
合計	915/1856 (49%)	1473/1828 (81%)	862/1033 (83%)

D. 考察および E. 結論

共通プロトコールによる食物負荷試験は累計 1856 例に達した。IgE CAP RAST 陽性率や皮膚テスト陽性率に比べ、オープン負荷試験で診断できないような年長児の症例を対象として含めても負荷試験陽性率は 49%にとどまり、食物アレルギー診断におけるブラインド負荷試験の重要性が再確認された。

E. 結論

食物負荷試験が保険適用 (入院・外来) となりその基本データとして本ネットワークの果たしている役割は非常に大きなものである。研究班において日本小児アレルギー学会食物アレルギー委員会と協力しながら食物負荷試験の標準化と普及を目指し、食物負荷試験の適応を明確にした上で入院と外来で行う負荷試験方法を選択する基準も明確にしていきたいと考えている。

【食物アレルギーの診断における好塩基球活性化マーカー CD203c の有用性】

A. 研究目的

FA の診断には食物負荷試験が必要であるが重篤な反応を示すこともある。食物負荷試験に代わる有効な検査方法の新たな開発は FA 児の負担を軽減することが期待される。末梢血好塩基球を

用いて、FA の診断における好塩基球ヒスタミン遊離反応 (HRT) の意義について昨年は報告した。今年度は FA 診断における好塩基球活性化マーカー CD203c の有用性を検討した。

B. 研究方法

当科通院中の FA 児 84 名 (男児 58 名、女児 26 名、平均年齢 6.1 ± 3.2 歳) を対象に好塩基球活性化マーカーである CD203c の発現と鶏卵・牛乳アレルギーの耐性獲得状況に関する検討を行った。FA の診断は食物負荷試験結果及び過去の食物摂取時のエピソードにより判定した。食物負荷試験は、鶏卵アレルギーに関して加熱全卵 1/2 個、牛乳アレルギーについてはヨーグルト 35g または加熱牛乳の負荷による誘発症状の有無を検討した。好塩基球上 CD203c 測定は、Allergenicity Kit (Beckman Coulter) の方法により、基礎発現と抗原刺激後の発現をフローサイトメトリーにて測定し mean fluorescence intensity (MFI) で表現した。好塩基球への刺激は 0.1、10、1000 $\mu\text{g/ml}$ の全卵、オボムコイド (OVM)、牛乳、カゼインを用いて 15 分後に反応停止した。

C. 研究結果

好塩基球 CD203c 基礎発現に関して食物アレルギーの有無で有意差は認めなかった。抗原刺激後の CD203c の発現は鶏卵アレルギーも牛乳アレルギーも“あり群”で有意に高値を示した (図 9、鶏卵アレルギーあり群 vs なし群: 卵白刺激 1216 ± 105 vs 615 ± 86 、OVM 刺激 1177 ± 107 vs 529 ± 85 、牛乳アレルギーあり群 vs なし群: 牛乳刺激 1341 ± 125 vs 485 ± 97 、カゼイン刺激 1015 ± 129 vs 444 ± 444)。鶏卵刺激、OVM 刺激、牛乳刺激、カゼイン刺激後の CD203c 発現と鶏卵あるいは牛乳アレルギーについて Receiver Operator Characteristic (ROC) 曲線を示す (図 10)。いずれも有用な検査であることを示す結果となった。抗原刺激後の CD203c 発現が 1000 以上の場合、原因抗原摂取により症状発現する例が多いが、CD203c 発現が 1000 以下での場合、症状を有する例とない例両者が混在する結果であった。データは示さないが好塩基球 CD203c の発現と血清総 IgE 値、特異的 IgE 値との間に相関関係は認めなかった。

D. 考察および E. 結論

鶏卵・牛乳抗原刺激による好塩基球 CD203c 発現上昇に関して、MFI が 1000 を越える例では、該当食物摂食により症状を呈する例が多く食物負荷試験を行う必要はほとんどない。しかし、抗原刺激後の CD203c の発現が比較的低値である場合には、食物負荷試験が最終判断に欠かすことはできない。好塩基球の CD203c の検査を行うことにより鶏卵と牛乳に関しては不必要な食物負荷試験を減らせることは可能になる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Komata T, Söderström L, Borres MP, Tachimoto H, Ebisawa M : The predictive relationship of food-specific serum IgE concentrations to challenge outcomes for egg and milk varies by patient age, *J Allergy Clin Immunol.* 2007 ; 119(5) : 1272-4
- 2) Tachimoto H, Ebisawa M : Effect of Interleukin-13 or TNF- α on Eosinophil Adhesion to Endothelial Cells under Physiological Flow Conditions, *Int Arch Allergy Immunol.* 2007 ; 143(suppl1) : 33-7
- 3) Tachimoto H, Ebisawa M, Bochner BS : CCR3-active chemokines influence eosinophil adhesion to endothelial cells under static and flow conditions, *Clinical and Experimental Allergy Reviews.* 2007 ; 7(1) : 1-4
- 4) K. Hatsushika, T. Hirota, M. Harada, M. Sakashita, M. Kanzaki, S. Takano, S. Doi, K. Fujita, T. Enomoto, M. Ebisawa, S. Yoshihara, H. Sagara, T. Fukuda, K. Masuyama, R. Katoh, K. Matsumoto, H. Saito, H. Ogawa, M. Tamari, and A. Nakao : Transforming growth factor- β 2 polymorphisms are associated with childhood atopic asthma, *Clinical and Experimental Allergy.* 2007 ; 37(8) : 1165-74
- 5) 佐藤さくら, 田知本寛, 小俣貴嗣, 緒方美佳, 今井孝成, 富川盛光, 宿谷明紀, 海老澤元宏 : 食物アレルギー患者へのエピペン®処方症例の検討, *日本小児アレルギー学会誌.* 2007 ; 21(2) : 187-95
- 6) 今井孝成, 小俣貴嗣, 緒方美佳, 富川盛光, 田知本寛, 宿谷明紀, 海老澤元宏 : 遷延する食物アレルギーの検討, *アレルギー.* 2007 ; 56(10) : 1285-92
- 7) 海老澤元宏 : 〈食物アレルギーの診断〉食物負荷試験とその実際, *小児内科.* 2007 :

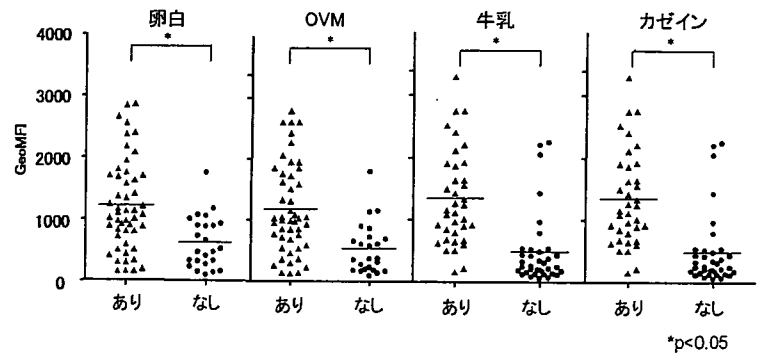


図9 鶏卵あるいは牛乳アレルギーの診断と抗原刺激後の好塩基球 CD203c 発現

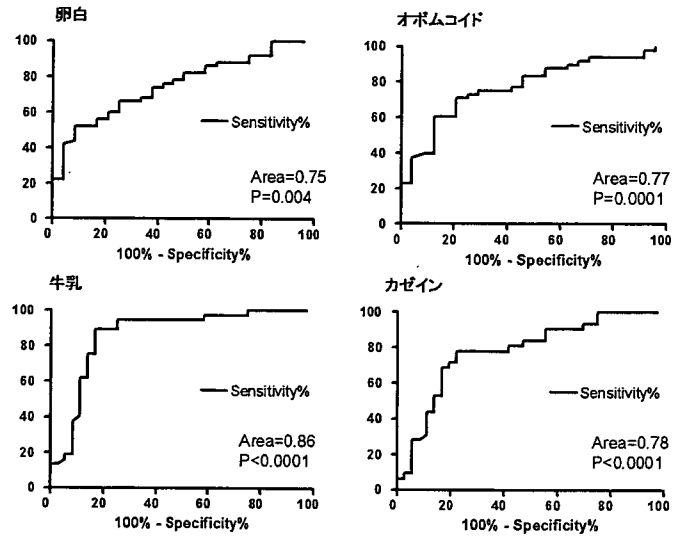


図10 ROC 曲線

39(4) ; 572-7

- 8) 海老澤元宏 : 「ガイドラインを知ろう」食物アレルギーの診療の手引き 2005, *日本小児科医会会報.* 2007 ; 34 : 43-51
- 9) 海老澤元宏 : 食物アレルギーへの対応, *日本小児科皮膚科学会雑誌.* 2007 ; 26(2) : 28-36
- 10) 海老澤元宏, 今井孝成 : 食物によるアナフィラキシー, *皮膚アレルギーフロンティア.* 2007 ; 5(3) : 9-13

2. 学会発表

- 1) Ebisawa M : Infantile atopic dermatitis associated with food allergy, *World Allergy Congress 2007 (Symposium).* Bangkok, Thailand. 2007.12
- 2) Ebisawa M : Natural history of food allergy, *World Allergy Congress 2007 (Symposium).* Bangkok, Thailand. 2007.12
- 3) 海老澤元宏 : 食物アレルギーの診断と治療の進歩, 第 110 回日本小児科学会学術集会 (教育セミナー 4). 京都市. 2007.
- 4) 海老澤元宏 : 食物アレルギーの現状, 第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会 (教育講演 3). 横浜市. 2007.6
- 5) 海老澤元宏 : 食物アレルギーの診療の手引き 2005, 第 18 回日本小児科医会セミナー (教育講演 4 ガイドラインを知ろう). 千葉市. 2007.6

- 6) 海老澤元宏：食物アレルギーへの対処，第 31 回日本小児皮膚科学会学術大会（シンポジウム 乳幼児アトピー性皮膚炎をめぐって）．福岡市．2007.7
- 7) 小俣貴嗣，田知本寛，海老澤元宏：食物アレルギーの診断における IgE 抗体の意義（プロバビリティカーブの確立），第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会（シンポジウム 3 食物アレルギーの最近の動向）．横浜市．2007.11
- 8) 小俣貴嗣，今井孝成，海老澤元宏：入院で行う食物負荷試験について（オープン試験 vs. ブラインド試験），第 44 回日本小児アレルギー学会（ワークショップ 2 食物経口負荷試験の標準化を目指して）．名古屋市．2007.12
- 9) Sugizaki C, Ebisawa M : Prevalence of pediatric allergic diseases in the first three years of life, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 10) Ebisawa M, Soderstrom L, Ito K, Shibata R, Sato S, Tanaka A, Borres MP, Morita E : Omega-5-gliadin allergen specific IgE antibodies are clinically useful in the diagnosis of food allergy, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 11) Ogata M, Shukuya A, Sugisaki C, Ikematsu K, Komata T, Imai T, Tomikawa M, Tachimoto H, Ebisawa M : Usefulness of skin prick test using bifurcated needle for the diagnosis of food allergy among infantile atopic dermatitis, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 12) Goodman R, Ebisawa M, Sampson H, R van Ree, Vieths S, Wise J, Taylor S : Allergen Online, a peer-reviewed protein sequence database for assessing the potential allergenicity of genetically modified organisms and novel food proteins, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 13) Komata T, Imai T, Ogata M, Sato S, Tomikawa M, Tachimoto H, Shukuya A, Ebisawa M : Summary of blinded-food challenges against hen's egg and cow's milk allergies in the past 11 years, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 14) Imai T, Sugizaki C, Ebisawa M : Nationwide survey of immediate type food allergy in Japan, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 15) Minamitani N, Imai T, Komata T, Ogata M, Sugizaki C, Tomikawa M, Tachimoto H, Ebisawa M : Assessment of quality of life in children with food allergy, World Allergy Congress 2007. Bangkok, Thailand. 2007.12
- 16) 今井孝成，海老澤元宏：アナフィラキシー症状に対するエピネフリン使用および処方に関する調査，第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会．横浜市．2007.6
- 17) 小俣貴嗣，今井孝成，黒坂了正，佐藤さくら，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，海老澤元宏：母乳にて食物アレルギーが発症した患児の臨床的検討（第 2 報），第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会．横浜市．2007.6
- 18) 佐藤さくら，黒坂了正，小俣貴嗣，今井孝成，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，海老澤元宏：小麦負荷試験 78 例における結果予測因子の検討，第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会．横浜市．2007.6
- 19) 南谷典子，今井孝成，小俣貴嗣，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，岡田由美子，海老澤元宏：食物アレルギー患者およびその保護者の食の QOL は障害されている，第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会．横浜市．2007.6
- 20) 柳田紀之，黒坂了正，佐藤さくら，小俣貴嗣，今井孝成，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，海老澤元宏：当院における入院食物負荷試験の検討—食物負荷試験の標準化に向けて—，第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 21) 佐藤さくら，田知本寛，黒坂了正，小俣貴嗣，今井孝成，富川盛光，宿谷明紀，海老澤元宏：食物アレルギー耐性獲得の診断における好塩基球活性化マーカー CD203c の有用性，第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 22) 田知本寛，佐藤さくら，小俣貴嗣，今井孝成，富川盛光，宿谷明紀，海老澤元宏：iA net システムを用いた小児食物アレルギー患者の実態調査，第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 23) 杉崎千鶴子，海老澤元宏：5 才児アレルギー性疾患の有病率調査（相模原コホート研究第 6 報），第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 24) 小俣貴嗣，今井孝成，黒坂了正，柳田紀之，佐藤さくら，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，海老澤元宏：当科におけるピーナッツアレルギー患者の検討，第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 25) 緒方美佳，今井孝成，田知本寛，海老澤元宏：食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎に成長発育と精神運動発達遅滞を伴った 1 例，第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 26) 今井孝成，黒坂了正，柳田紀之，佐藤さくら，小俣貴嗣，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，海老澤元宏：プリックテストは，食物負荷試験結果の予測因子になりうるか？，第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会．横浜市．2007.11
- 27) 柳田紀之，今井孝成，黒坂了正，佐藤さくら，小俣貴嗣，富川盛光，田知本寛，宿谷明紀，海老澤元宏：当院における鶏卵物負荷試験の検討～食物負荷試験の標準化に向けて～，第 44 回日本小児アレルギー学会．名古屋市．2007.12

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

「アレルギー性疾患の発症・進展・重症化の予防に関する研究」

アレルギー性疾患の発症・重症化の予知に関する研究

分担研究者 近藤直実 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授
研究協力者 深尾敏幸 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科ゲノム創薬医療学 教授
松井永子 岐阜大学医学部附属病院小児科 講師
金子英雄 岐阜大学医学部地域医療医学センター小児系分野 教授
川本美奈子 岐阜大学医学部附属病院小児科 臨床講師
川本典生 岐阜大学医学部附属病院小児科 医員

研究要旨

アレルギー性疾患の発症、重症化に関与する遺伝因子、環境因子を出生コホート研究によって明らかにするため、協力産婦人科病院において出生した児について出生コホート研究を行った。同意を得て臍帯血を採取し、出生前の母体環境についてアンケートを行い、以後経時的にアンケートおよびアレルギー専門医による診察（健康相談会）および血液採取を行っている。血液においてはIgE、抗原特異的IgE、Th1、Th2、Tc1、Tc2、CD4⁺CD25⁺ T細胞、各種サイトカイン分泌を調べ、また遺伝子解析の同意の得られた児については、分担研究者が開発したアレルギー診断キットによりアレルギー関連遺伝子多型について解析している。これまでの解析では、遺伝子多型と6ヶ月のアトピー性皮膚炎、1歳2ヶ月のアトピー性皮膚炎、気管支喘息の有病率において、1歳2ヶ月におけるBA有病率とTGF-β1プロモーター多型、LTC4Sのプロモーター多型の間に関連が示唆されており、さらに解析を進めている。

A. 研究目的

アレルギー性疾患は多因子遺伝をとると考えられており、そのアレルギー素因としての遺伝因子と、それに影響を与える環境因子の相互作用によって発症、重症化をきたすと考えられる。本研究の目的はアレルギー性疾患の発症、重症化に関与する遺伝因子、環境因子を出生コホート研究によって明らかにすることである。

B. 研究方法

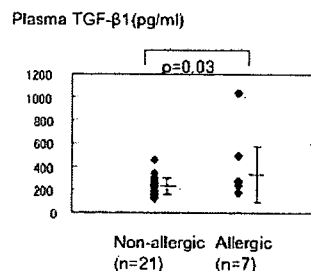
岐阜大学医学研究倫理委員会の承認を得て協力産婦人科病院において出生した児について出生コホート研究を進行中である。同意を得て臍帯血を採取し、出生前の母体環境についてアンケートを行い、以後経時的にアンケートおよびアレルギー専門医による診察（健康相談会）および血液採取を行っている。また1歳2ヶ月時には児のベッドからの家塵を採取し、ダニ抗原などの計測もおこなった。血液においてはIgE、抗原特異的IgE、Th1、Th2、Tc1、Tc2、CD4⁺CD25⁺ T細胞、各種サイトカイン分泌を調べた。また遺伝子解析の同意の得られた児については、分担研究者が開発したアレルギー診断キットによりアレルギー関連遺伝子多型について解析している。

C. 研究結果

生後6ヶ月の健康相談会に参加した174名中2.4%がアトピー性皮膚炎(AD)と診断されたが、気管支喘息(BA)と診断されたものはいなかった。1歳2ヶ月では157名中1.8%がAD、6%がBAと診断された。経時的採血により出生後の様々な免疫学的因子の発達を観察した(昨年報告)。生後6か月および1歳2ヶ月におけるAD、BAの有無、IgE、Th1、Th2、CD4⁺CD25⁺ T細胞、各種サイトカイン分泌(IL-4、IFN-γ、IL-10、TGF-β1など)とIFN-γR1、IL12Rβ1、IL12Rβ2、IL12、LTC4S、IL4Rα、IL13、TGF-β1の遺伝子多型の関連を解析した。TGF-β1とアレルギー疾患との関連

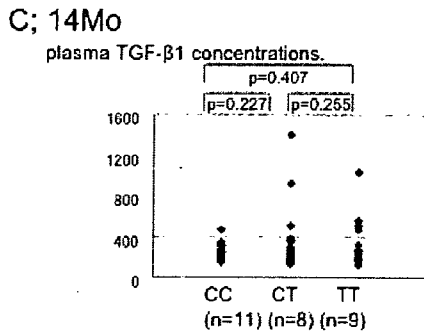
図 1

C; 14Mo



1歳2ヶ月でアトピー性皮膚炎, 気管支喘息をもつ症例(アレルギー群)とその他にわけて臍帯血, 生後6ヶ月, 1歳2ヶ月時の血漿 TGF-β1 値を比較した。臍帯血, 生後6ヶ月の時点では差はなく, 1歳2ヶ月時ではアレルギー群のほうが血漿 TGF-β1 は高値を示す傾向がみられた(図1)。一方 TGF-β1 遺伝子には-509C>Tの多型が知られておりその多型間で血漿 TGF-β1 値には明らかな相関は認められなかった(図2)。

図2



実際に1歳2ヶ月で気管支喘息の有無と多型の関連をみると1歳2ヶ月における BA 有病率と TGF-β1 プロモーター多型の間には相関が認められた(図3)。

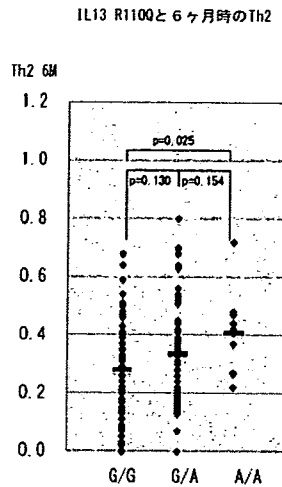
図3

1歳2ヶ月の気管支喘息の有無と遺伝子多型			
遺伝子多型	喘息	Fisher検定	
		あり	なし (p値)
TGF-β1 (C-509T)	C/C	0	22
	C/T	0	25
	T/T	3	15

遺伝子多型とその他の免疫学的因子との関連
 遺伝子多型と臍帯血, 生後6ヶ月, 生後1歳2ヶ月における各種免疫学的因子の関連についても検討をおこなっており, いくつかは統計学的に有意な関係が認められており, これらについても現在検討している。その1つを図4に示した。

遺伝子多型と6ヶ月, 1歳2ヶ月におけるアトピー性皮膚炎, 気管支喘息における有病率との関連
 上述した1歳2ヶ月における BA 有病率と TGF-β1 プロモーター多型以外にも LTC4S のプロモーター多型の間に関連が示唆されており, さらに解析を進めている

図4



D. 考察

アレルギー疾患発症の予知において, その遺伝因子としての遺伝子多型による発症予知は重要なテーマである。遺伝因子としての遺伝子多型と種々の環境因子についてアレルギー疾患発症, 各種検査結果の関連について検討してきた。今後1歳2ヶ月および3歳における食物アレルギーについてまとめ, 食物アレルギーの予知についても遺伝子多型と種々の環境因子について検討したい。

E. 結論

出生コホート研究を臍帯血, 経時的な診察, 採血を含めて進行中である。その遺伝, 環境因子の解析によりアレルギー疾患発症の予知の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Bai CY, Matsui E, Ohnishi H, Kimata K, Kasahara K, Kaneko H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. A Novel Polymorphism in the 5-lipoxygenase Gene Associated with Bronchial Asthma in Japanese Children. Int J Mol Med 21:139-144, 2008 (acknowledge あり)
- 2) Kondo M, Kaneko H, Fukao T, Suzuki K, Sakaguchi H, Shinoda S, Kato Z, Matsui E, Teramoto T, Nakano T, Kondo N. The response

of bovine beta-lactoglobulin-specific T-cell clones to single amino acid substitutions of T-cell core epitope. *Pediatric Allergy and Immunology*. in press. (acknowledge なし)

- 3) Kondo M, Fukao T, Omoya K, Kawamoto N, Aoki M, Teramoto T, Kaneko H, Kondo N. Protein-losing enteropathy associated with egg allergy in a 5-month-old boy. *J Invest Allergol Clin Immunol* in press (acknowledge なし)
- 4) Jin R, Kaneko H, Suzuki H, Arai T, Teramoto T, Fukao T, Kondo N. Age-related changes in BAFF and APRIL profiles and upregulation of BAFF and APRIL expression in patients with primary antibody deficiency. *Int J Mol Med* 21:233-238, 2008 (acknowledge あり)
- 5) 川本典生, 深尾敏幸, 松井永子, 川本美奈子, 金子英雄, 近藤直実: 臍帯血を用いた出生コホート研究による小児アレルギー疾患の評価. *アレルギーの臨床* 27:731-736, 2007 (acknowledge なし)
- 6) 近藤直実, 松井永子, 桑原愛美, 川本典生, 青木美奈子, 寺本貴英, 金子英雄, 深尾敏幸: 気管支喘息の発症予防. *日本小児科学会雑誌* 111:23-27, 2007 (acknowledge なし)
- 7) 近藤直実, 松井永子, 青木美奈子, 新井隆広, 金子英雄, 深尾敏幸, 桑原愛美: 環境が生体に及ぼす影響. *日本小児アレルギー学会誌* 21:92-95, 2007 (acknowledge なし)
- 8) 松井永子, 川本典生, 深尾敏幸, 近藤直実: 乳児期の免疫応答性の変遷とアレルギー疾患発症. *アレルギー・免疫* 15:170-174, 2007 (acknowledge なし)

2. 学会発表

- 1) 川本典生, 深尾敏幸, 櫻井里美, 金子英雄, 新井隆広, 近藤 應, 青木美奈子, 松井永子, 白 春英, 張 改秀, 岩砂眞一, 近藤直実: ミニシンポジウム 3: 出生コホート研究による小児アレルギー疾患の発症に関わる因子の検討. *日本アレルギー学会春季臨床大会* (第19回) (2007年6月10日~12日, 横浜)
- 2) 櫻井里美, 深尾敏幸, 川本典生, 金子英雄, 新井隆広, 松井永子, 白 春英, 張 改秀,

岩砂眞一, 近藤直実: イヌ・ネコの飼育が小児のアレルギー疾患の発症に与える影響の解析. *日本小児科学会学術集会* (第110回) (2007年4月20日~22日, 京都)

- 3) 川本典生, 深尾敏幸, 櫻井里美, 金子英雄, 新井隆広, 川本美奈子, 近藤 應, 松井永子, 白 春英, 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発症に関わる因子の検討—環境因子を中心に—. *日本アレルギー大会学会秋季学術大会* (第57回) (2007年11月1日~3日, 横浜)
- 4) 松井永子, 森本将敬, 金子英雄, 深尾敏幸, 近藤直実: TGF- β 1産生量とアレルギー疾患との関係についての検討. *日本アレルギー大会学会秋季学術大会* (第57回) (2007年11月1日~3日, 横浜)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

アレルギー性疾患の発症因子の前方視的研究

分担研究者 荒川 浩一 群馬大学大学院小児生体防御学講師
研究協力者 森川 昭廣 群馬大学大学院小児生体防御学教授
杉山 幹雄 群馬大学大学院小児生体防御学大学院生

研究要旨

乳幼児期の気管支喘息の発症に係わる因子を解明する目的で出生コホート研究を行った。健康新生児で同意の得られた 269 名を対象に、アレルギー疾患の家族歴、妊娠中の母体感染症の有無、臍帯血サイトカインの測定を行った。生後 3 年目にアレルギー疾患発症の有無について、郵送および電話によるアンケート調査を行った。その結果、生後 3 年目では医師の診断に基づく喘息の発症は 40 名 (18.6%) であった。家族歴との関連はなく、妊娠中の母親の細菌感染、ウイルス感染の既往と関連があった。出生後の因子としては、兄弟、下気道感染、1 歳時点の喘鳴やアトピー性皮膚炎の既往、3 歳時でのアトピー性皮膚炎や食物アレルギーの合併と関連していた。28 種類の臍帯血サイトカイン、ケモカインでは明らかな関連を認めなかった。乳幼児期の気管支喘息発症には、胎内および出生後の感染との関連が示唆された。一方、胎児胎盤機能を反映する臍帯血サイトカインは、3 歳での喘息発症の予知因子とはならない可能性が示唆された。

A. 研究目的

気管支喘息は、ここ数十年で世界的にも増加している。喘息は、その他のアレルギー疾患と同様、その発症に、遺伝的な背景に加え、胎児期の環境 (胎内因子)、出生後の栄養法、生活様式、感染 (胎外因子) など多様な因子が関与するとされている。しかし、どの因子の関与が大きいかなど十分には解明されていない。

今回、乳幼児期の喘息発症に係わる因子を解明する目的で、家族歴、妊娠中の母体感染症の有無、臍帯血サイトカインの測定を行い、3 歳時での喘息発症に関わる因子を検討した。

B. 研究方法

対象は、開業産婦人科一施設で 2002 年 6 月から 2003 年 5 月までに出生した健康新生児 297 名中、協力の同意が得られた 269 名である。性別は、男児 140 名、女児 129 名で、平均在胎週数 39.2 ± 1.6 週、平均出生体重 3051 ± 399 g であった。新生児仮死、新生児高ビリルビン血症などの病的新生児は、除外した。

検討内容：

- 1) 家族歴に関しては、対象児の父または母全員に対し、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、食物アレルギーの有無について、出産時の医院滞在期間中に、アンケートあるいは問診により調査を実施した。
- 2) 胎内環境に関しては、母体カルテの記載をも

とに、妊婦健診中の感染症罹患の有無 (上気道炎、胃腸炎、B 群溶血性連鎖球菌やクラミジアによる子宮付属器炎、尿路感染症) を調査した。

3) 臍帯血サイトカインに関しては、出生時に採血された臍帯血を、直ちに血清分離・凍結保存のうえ、バイオプレックス (バイオ・ラド) および ELISA キットにより 28 種類のサイトカイン、ケモカイン (IL-1RA, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IFN- γ , TNF- α , GM-CSF, G-CSF, FGF, PDGF, VEGF, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , MDC, TARC, Eotaxin, IP-10) を測定した。

4) 乳児期のアレルギー疾患発症に関しては、出生 3 年経過後に質問表を郵送し、返信ハガキに記入する方式で行った。回答が無かった家庭には、直接電話して回答を求めた。医師により喘息と診断されている者を喘息発症と判定した。また、発症に係わる出生後の諸因子として、兄弟数、喫煙者、ペットの飼育歴、保育園や託児所への通園、下気道疾患罹患の有無、栄養法についてアンケート調査した。

C. 研究結果

生後 3 年目のアンケート回答が得られたのは 269 名中 215 名 (回収率は 80.0%) であった。

1) 喘息の発症頻度

医師の診断による 3 歳での喘息発症は 40 名 (18.6%) であった。男女比では、40 名中 26 名

が男児であり、女児よりも多い傾向であった ($p=0.061$)。また、医師の診断かつ呼吸困難を伴うものと限定すると 23 名 (10.7%) であった。

2) 家族歴との関連

3 歳の喘息発症では、両親の喘息、アトピー性皮膚炎、花粉症とは有意な関連を認めなかった。

3) 胎内環境との関連

母親の妊娠中のウイルス感染症 (上気道炎、胃腸炎) ($p=0.0033$) や細菌感染症 (B 群溶連菌またはクラミジアによる子宮付属器炎、尿路感染症) ($p=0.024$) と有意な関連を認めた。一方、帝王切開、出生時体重、在胎週数に関しては関連は認められなかった。

4) 胎外環境因子との関連

3 歳の喘息発症と栄養法とは関連なかった。兄弟がなく一人っ子では、喘息の発症は有意に低かった ($p=0.004$)。また、妊娠中および出生後のペット飼育歴、喫煙者の有無とは関連を認めなかった。一方、保育園については 1 歳前よりの通園が関連する傾向であった ($p=0.061$)。また、肺炎や気管支炎の既往とは強い関連を認めた ($P<0.00001$)。

5) アレルギー疾患の既往および合併との関連としては、乳児湿疹とは関連なく、1 歳時での喘鳴やアトピー性皮膚炎を有した児では、3 歳での喘息発症と有意な関連を認めた。また、3 歳では、アトピー性皮膚炎や食物アレルギーを合併する児が有意に多かった。

6) 1 歳での喘鳴を認めた児では 32 名中 11 名が 3 歳で喘息を有していたが、21 名は改善していた。一方、新たに 24 名が 3 歳までに喘息を発症した。

7) 臍帯血サイトカインとの関連については、今回検討した 28 種類のサイトカインでは、3 歳での喘息発症とは関連を認めなかった。一方、喘鳴群 ($n=53$ 名) においては、IL-10、IL-15、IL-17、TNF- α 、GM-CSF が有意な関連をみとめた。

D. 考察

今回、乳幼児期の喘息発症に係わる危険因子を明らかにする目的で前方視的検討を行った。その結果、生後 3 年目では、医師の診断に基づく喘息の発症は 18.6% であった。3 歳での喘息は妊娠中の母親の細菌感染、ウイルス感染の既往と関連があった。出生後の因子としては、兄弟、下気道感染、1 歳時点の喘鳴やアトピー性

皮膚炎の既往、3 歳時でのアトピー性皮膚炎や食物アレルギーと関連していた。一方、28 種類の臍帯血サイトカイン、ケモカインでは明らかな関連を認めなかった。

Tuson の呼吸器研究では、乳幼児期の喘鳴に関して、一過性の喘鳴群、非アトピー型喘鳴群、アトピー型喘鳴群の 3 つのサブタイプが存在することを報告している。今回の調査では、医師により喘息の診断をうけたものと定義したが、その中には、これらの 3 つのサブタイプが存在すると思われる。その数は 40 名 (18.6%) であったが、さらに、診断を受けたときに呼吸が苦しうであったを加えると 23 名 10.7% となった。川田らが群馬県で行った大規模調査において、3 歳児での喘息は 8.5% であったことを考慮すると、アンケート調査での喘息の定義は、後者を選択すべきかもしれない。

今回、3 歳での喘息の発症に、家族歴は関連しなかったが、妊娠中のウイルス感染や細菌感染と有意な関連を認めた。Calvani らは周産期のインフルエンザ罹患や発熱のエピソードが 3 歳以上の喘息発症と関連することを報告している。この報告は、後方視的に検討されているものであり、アンケート調査で発熱、インフルエンザのエピソード、抗生剤の使用などを調査したものである。我々は、母親の診療録から感染症の有無を確認したものであり、より信頼性があるものと思われる。

このように胎内での感染症と児の喘息発症についての報告はいくつか存在するが、その機序については明らかではない。Strachen らは、感染症の減少が喘息などのアレルギー疾患発症を導くという衛生仮説を提唱している。この仮説は、アトピー型喘息の発症には当てはまるのかもしれない。今回の調査では、前述したように喘息としてアトピー型と非アトピー型あるいは一過性喘鳴群の区別をしていないために、反対の結果になった可能性がある。一方、Barker 仮説は、周産期の因子がアトピーの因子ではなく、気道組織、すなわち平滑筋や気道上皮の変化を引き起こし、それが喘息発症をきたすのではないかというものであるが、今回の結果はそれを指示しているのかもしれない。我々は、アトピー性皮膚炎の発症においては妊娠中の感染との関連は認めなかつことより、感染はアトピー素因への影響と言うよりは、別の因子として関

与していることが示唆された。

我々は、また出生後の肺炎や気管支炎などの下気道の感染症が喘息発症と非常に強く関連することを見いだした。また、1歳前の保育園の通園、あるいは兄弟の存在が喘息発症と有意な関連を認めている。これらは、児への感染曝露を増加させる因子であり、出生後の感染と喘息発症とは関連が深いと考えられる。これらの結果をまとめると、妊娠中および出生後の感染は、喘息発症における重要な危険因子であると考えられる。

3歳での喘息発症には、家族歴との関連は認められなかった。前述したように、3歳時の喘息には種々のサブタイプがあり、アトピー型喘息では家族歴が関連する可能性がある。しかしながら、今回の調査では、サブタイプに分類していなかったため家族歴との関連が認められなかった可能性があると思われる。

これまでの報告では、受動喫煙との関連を示唆する報告が多い。今回の調査においては、これらの関連を見いだせなかった。その理由として、喫煙率が非常に高いことが差を見いだせなかった理由とも考えられる。また、喫煙を家の中でしているか、外でしているかを確認していなかったこと、また、家屋の機密度についても調査していないため、それらが影響した可能性も否定できない。一方、複数の喫煙者との関連をみいだせなかったことより、日本の集団では喫煙が喘息発症には関連せず、増悪因子としてのみ関わっている可能性も示唆される。

臍帯血中のサイトカインは、3歳での喘息発症とは、関連性を認めなかった。我々は、すでに今回の研究調査において、1歳での喘鳴発症と臍帯血 IL-8 の高値との関連を認めた。今回は、さらに 28 種類のサイトカインについて検討したが、3歳の喘息発症とは関連がみられなかった。1歳時での喘鳴群と今回の喘息ではサブタイプが異なる可能性もある。実際に、1歳での喘鳴群の 11 名が3歳での喘鳴群に移行していたが、1歳時で喘鳴を来した児の 21 名は改善している。これらの症例は、Tuson の研究での一過性喘鳴群に当てはまるのかもしれない。そのために、一過性喘鳴群においてはその発症に IL-8 が関与している可能性が示唆される。反対に、3歳での喘息発症に関しては、胎内環境によっては影響を及ぼさず、出生後の因子が関与するように

なるのではないかと推察される。実際に、妊娠中のウイルス感染や細菌感染と臍帯血サイトカインやケモカインとの関連がみられなかったことも、これを指示する可能性もある。

我々は、1歳でアトピー性皮膚炎の発症群では、臍帯血血清中の MIP-1 β が低下していることを示した。すなわち、アトピー素因に関しては、胎内環境の影響を受ける可能性と、出生後1歳までの疾患発症には、関連するが、出生後時間が経過すると、その影響が減少するかもしれない。

E. 結論

幼児期の喘息発症に関して、妊娠中あるいは出生後の感染とは関与し、兄弟数や保育所への早期開始も関与していた。今後、7歳児におけるアンケート調査を行い、実際にアトピー型喘息との関連を検討していく予定である。

分娩歴、成育歴と喘息発症との関連

	喘息		p
	+	-	
	n=40	n=175	
母親の年齢	27.2 \pm 4.2	28.0 \pm 4.2	0.245
在胎週数	39.6 \pm 1.1	39.9 \pm 1.1	0.118
出生体重	3027 \pm 334	3112 \pm 322	0.137
男/女	26 / 14	85 / 90	0.061
妊娠中感染			
細菌	8	14	0.024
ウイルス	26	69	0.0033
発熱	6	13	0.128

出生後の因子と喘息発症との関連

	喘息		p
	+	-	
	n=40	n=175	
母乳栄養	20	83	0.769
兄弟			
兄・姉	24	83	0.151
弟・妹	16	55	0.298
一人っ子	3	51	0.004
ペット			
	12	38	0.263
出生前より	11	33	0.222
喫煙			
母	7	27	0.746
全員	28	110	0.395
保育園			
1歳前	10	23	0.061
1歳後	15	53	0.376
感染 肺炎・気管支炎	25	25	<0.00001

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugiyama M, Arakawa H, Ozawa K, Mizuno T, Mochizuki H, Tokuyama K, Morikawa A. Early-life risk factors for occurrence of atopic dermatitis during the first year. Pediatrics 2007;119:e716-23.

2. 学会発表

- 1) 荒川浩一、杉山幹雄、水野隆久、只木弘美、望月博之、徳山研一、森川昭廣：アレルギー性鼻炎発症因子に関する前方視的検討、第44回日本小児アレルギー学会（2007年12月8日、名古屋）

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし