

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・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20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 海老澤 元宏

平成21（2009）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	
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	
— FA/AD 前向き研究 —	
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	8
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	12
4. 食物アレルギーの発症・重症化の予防に関する研究	
伊藤 節子	16
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細胞応答の解析 —	
宇理須 厚雄	19
6. 食品成分による食物アレルギーの制御に関する研究	
— 食物アレルギー発症抑制及び抗原解析に関する研究 —	
穂山 浩	22
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	26
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	29
9. 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	32

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

研究代表者 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

3年間の研究班の食物アレルギーに関する研究成果を「食物アレルギーの診療の手引き 2008」に反映させて改訂作業を終了し 11月にHPにて公開し(PDFファイルとして無料ダウンロード可能)、関係諸学会、医師会、多方面に冊子としても1万部以上配布した。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てのアトピー性皮膚炎(AD)/食物アレルギー(FA)の乳児の気管支喘息(BA)発症前向き研究は71名を追跡調査中である。FA患者からのBA発症例では、好酸球数、血清総IgE値の高値が持続し、早期にダニ抗原に感作されており、BA発症までの上気道感染症ではRSVは検出されず、RV感染が圧倒的に多かった。継続して追跡しBA発症例が増えることより明確な結果が得られると想定される。食物負荷試験ネットワーク研究は8年目を迎え全卵、卵黄、加熱卵白、牛乳、小麦、大豆について平成18~20年度の3年間で新規に計834例の負荷試験が施行され、累計の症例数は2092例となった。この活動が2006年と2008年の食物負荷試験に関する診療報酬化の基礎データとなった。岐阜のコホート研究では生後6ヶ月で食物抗原に対する特異的IgE RAST陽性者(抗原感作)の頻度は、Class2以上を陽性とする卵白、牛乳で34%、11%に認め1歳2ヶ月でもほぼ同様であった。しかし1歳2ヶ月の時点で明らかなFAと診断されたのは5名(3.2%)にとどまった。卵白感作を受けた人の方が、生後6ヶ月、1歳2ヶ月でIgEやTh2%が高い傾向にあり、卵白抗原感作と遺伝子多型の検討ではIL-12 C375Tの遺伝子多型においてCのアレルを持つ方が高頻度に感作を受けることが明らかとなった。小児BAの遺伝子多型に関する検討ではTSLP機能亢進に作用する遺伝子多型が小児BA発症と相関することを見いだした。その他の分担研究者の研究も3年間の計画をほぼ達成し、小児アレルギー疾患の発症・進展・重症化に関連する重要な知見と今後継続研究すべき研究の萌芽が多数得られた。

研究分担者

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衛学講師
大嶋 勇成	福井大学医学部小児科講師
滝山 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	理化学研究所ゲノム医科学研究センター チームリーダー

A. 研究目的

わが国のアレルギー性疾患は年齢階層別に“食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎”で発症し“気管支喘息”、“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、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。全体研究として食物アレルギーの診療の手引きの改訂作業を行う。

B. 研究方法, C. 研究結果, D. 考察

全体研究:食物アレルギーの診療の手引きの改訂
研究班の3年間にわたるFAに関連する研究成果を「食物アレルギーの診療の手引き 2008」に反映させて改訂を終了し4カ所のHPにて公開し

(PDF ファイルとして無料ダウンロード可能)、関係諸学会、医師会、多方面に冊子としても1万部配布した。



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5247名から始まる出生コホート調査を継続中で7歳時の調査を2008年9月より開始した。2009年8月までの1年間で3474名を対象に調査票を送付する予定である。次に相模原病院にてFA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ではFAの関与する乳児AD児を対象として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、を行った。71名を追跡中で登録時の平均年齢は0.9歳、現在の平均年齢は2.3歳である。現在までにBA発症は9名、喘鳴を認めた症例は7名であった。初診時と2歳時を比較では原因食物数はBA発症例、未発症例ともに減少していたが、末梢血好酸球数、血清総IgE値はBA発症例で高値を持続していた。室内塵のダニ抗原量は、BA発症例とBA未発症で比較するとDer1量46.3($\mu\text{g/g dust}$)に対して11.3で、その結果BA発症例では

早期にダニ抗原に感作されていた。呼吸器ウイルス検査は312件(50名)行いRSV陽性8件、RV陽性133件で、RV陽性率が40%以上の月は21ヶ月、18ヶ月あった。今後継続して追跡しBA発症例が増えるとより明確な結果が得られると思われる。

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)

アレルギー疾患の発症、重症化に関与する遺伝因子、環境因子を明らかにするため、協力産科病院において出生した児についての出生コホート研究を行っており、本年度は特にFA、食物感作について検討した。生後6ヶ月において、食物抗原に対する特異的IgE RAST陽性者(抗原感作)の頻度は、Class2以上を陽性とする卵白、牛乳で34%、11%であり、1歳2ヶ月でもほぼ同様であった。1歳2ヶ月の時点で明らかなFAをもつと診断されたのは5名(3.2%)であった。卵白感作を受けた人の方が、生後6ヶ月、1歳2ヶ月においてIgEやTh2%が高い傾向にあることがわかった。卵白抗原感作と遺伝子多型の検討ではIL-12 C3757Tの遺伝子多型においてCのアレルをもつほうが高頻度に感作を受けることが明らかとなった。

③アレルギー疾患の発症因子の前方視的研究 (荒川)

乳児期のFA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。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1年目と3年目にアレルギー疾患の有無について、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、FAと診断されたのは、生後1歳では15名(7.0%)、3歳では16名(7.4%)であった。1歳時のFA発症には、家族歴としては父親の花粉症あるいはアレルギー疾患歴とは負の関連が見られた。また、兄弟の有無とも有意な関連を認めなかった。妊娠周産期の諸因子では、妊娠中の細菌感染と関連した。1か月の乳児湿疹とは関連を認めなかったが、1歳時でのADの合併は関連した。28種類の臍帯血サイトカイン、ケモカインの中でIL-7が有意に低値を示した。また、3歳では、TARCが関連していた。

2. 食物アレルギーに関する研究 (海老澤、伊藤、宇理須、穂山、大嶋)

①食物アレルギーの診断方法に関する研究 (海老澤)

H13 より維持している食物負荷試験ネットワーク 8 年目には入り参加施設は現在 37 施設で累計のブラインド負荷試験症例数も新規に 236 例加わり、累計 2092 試験となった。陽性症例は 1025 で陽性率は 49%であった(表)。抗原別での陽性率は鶏卵(加熱卵白) > 鶏卵(全卵) > 牛乳 > 小麦 > 鶏卵(卵黄) > 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。負荷試験症状は皮膚症状が 62.0%、消化器症状が 33.3%、呼吸症状が 30.3%、全身症状が 3.7%、その他の症状が 3.1%であった。全卵と大豆では皮膚症状 > 消化器症状 > 呼吸器症状の順でみられたが、卵黄、牛乳、小麦では皮膚症状 > 呼吸器症状 > 消化器症状の順であった。ネットワーク研究が 2006 年と 2008 年の食物負荷試験に関する診療報酬化の基礎データとして活用された。

表

	食物負荷試験 陽性	IgE CAPRAST 陽性	皮膚テスト 陽性
鶏卵 (全卵)	483/788 (61%)	617/746 (83%)	359/416 (86%)
鶏卵 (加熱卵白)	32/45 (71%)	28/30 (93%)	37/41 (90%)
鶏卵 (卵黄)	55/194 (28%)	133/162 (82%)	136/147 (93%)
牛乳	313/624 (50%)	441/564 (78%)	277/335 (83%)
小麦	116/304 (38%)	244/293 (83%)	117/151 (77%)
大豆	26/137 (19%)	97/128 (76%)	41/67 (61%)
合計	1025/2092 (49%)	1560/1923 (81%)	963/1156 (83%)

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)

FA 児の一部の過敏な状態に陥った症例では数 mg 以下の微量の抗原を含む食品によりアナフィラキシー反応が惹起されることがある。このような重症例に対して安全に、かつ的確な食事指導を行い寛解誘導するために有用な食品側および生体側の条件について検討した。食品側の条件としては、食品中の抗原量の標準品として、厚生労働科学研究班による二重盲検食物負荷試験用食品である全卵 KKFC-E、牛乳 KKFC-M、小麦 KKFC-W 中の抗原量を測定し、卵、牛乳、小麦を含む食品中の当該抗原の定量結果と対比させることによりアレルギー物質抗原量食品交換表を作成する

ことができた。生体側の条件として好塩基球活性化のための抗原閾値について検討した結果、アナフィラキシー反応をおこす症例では抗原濃度 1-10ng/ml における検討が有用であることを確認した。

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)

これまで、低アレルゲン化された加熱脱オボムコイド卵白を用いた経口免疫療法を試み、約 50% の症例で卵白経口負荷試験の陰性化を認めている。本研究では、味、作製方法などの点で改良したオボムコイド減量加熱全卵を用いたアレルゲン特異的免疫療法を試み、併せて、治療前後でのアレルゲン特異的 T 細胞応答を解析して、寛容導入のメカニズムを検討した。これまでの行い得た症例は 8 例にとどまるが、4 例の寛解導入に成功し、安全に検討を遂行中である。アレルゲン特異的 T 細胞応答の解析では、preliminary ながら寛解導入に至った群と不応群で TH1/TH2 バランスや抑制性サイトカイン応答の相違を認めており、免疫療法の機序解明に寄与しうると期待される。

④食品成分による食物アレルギーの制御に関する研究 (橋山)

(1) 実験動物を用いた食品成分の感作抑制に関する研究 α -カロテン摂取群、 β -カロテン摂取群では対照群と比較して IgE、IgG1 抗体価の有意な抑制が確認された。FCM を用いてパイエル版 (PP)、腸管膜リンパ節 (MLN) 中のリンパ球サブセット構成を調べたところ、 α -カロテン摂取群、 β -カロテン摂取群ともに Foxp3 陽性 $\alpha 4\beta 7$ インテグリン陽性細胞の割合に対照群と有意な差はみられなかった。

(2) 魚卵抗原解析 イクラ(シロザケ卵)の主要抗原であるピテロジェニン断片(いわゆる β' -c)のアミノ酸一次配列について、未決定領域を調査した。ニジマス-ピテロジェニン分子内の演繹アミノ酸配列を鋳型として、 β' -c の一次構造を検討したところ、分子量 16 kDa 成分の N 末端配列から 104-113、115-126、130-137 を明らかにした。これらの配列は、ニジマス・ピテロジェニンのアミノ酸内部配列とほぼ一致した。

(3) その他の食品抗原解析 モモでは昨年報告したように OAS 患者ではプロフィリンや Betv1 ホモログと思われる 14-18kDa 付近の多くのパン

ドが IgE 結合性を示したが、アナフィラキシー患者ではこれらのバンドはほとんど見られず、そのほかに 25kDa 付近やその他のバンドを検出した。セリ科スバイスアレルギーの原因抗原候補として 10-12kDa, 20kDa, 60kDa 付近のバンドを認めた。大豆(豆乳)の原因抗原と推定される Glym4 (Betv1 ホモログ)の発現に成功し、抗体も得られたのでサンドイッチ ELISA 定量系の構築を試みている。虫害被害を受けた大豆では Glym4 レベルが増加していた。コチニール色素主要アレルゲンの cDNA より予測されたタンパク質のアミノ酸一次構造は NCBI データベースには存在しないため新規であると考えられるが、ハチのアレルゲンであるホスホリパーゼと一部相同性を示した。

⑤食物アレルギーの免疫学的制御に関する研究 (大嶋)

経口トランスの誘導により FA のアウトグロウを計る方法を検討するため、OVA の経口投与で即時型アレルギー性下痢症状を呈する食物アレルギーモデルを用い、抗原感作が既に成立状態からトランスを誘導する方法を検討した。OVA 感作マウスの脾臓中の CD8 陽性 T 細胞を、OVA 感作が成立した OVA 特異的 TCR 発現トランスジェニックマウス (TCR-tg) に輸注するとアレルギー症状が抑制された。IL-10 欠損 CD8 陽性 T 細胞の輸注では、抑制効果が部分的であったため、抑制機序に IL-10 依存性の機序と IL-10 非依存性の機序の関与が示唆された。また、CD8 陽性 T 細胞輸注の代わりに抗原封入マンノース結合リポソームの口腔粘膜投与を行うことで、OVA 感作野生型マウスでも OVA 経口投与によるアレルギー症状誘発を抑制することが可能であり、感作成立後の FA 患者の治療には抗原特異的調節性 T 細胞を誘導する方法が有用と考えられた。

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、下条)

①アレルギー性疾患と自然免疫に関する研究 (玉利)

自然免疫に関連する遺伝子の多型とアレルギー性疾患の発症との相関を検討するため、本年度は polyI:C 刺激により気道上皮細胞から分泌される TSLP 遺伝子多型について検討し、TSLP 機能亢進に作用する遺伝子多型が小児 BA 発症と関連することを見いだした。

②RS ウイルス感染と小児 BA 発症に関する研究 (下条)

1) 昨年度は IL-17F His161Arg 多型が RSV 細気管支炎発症と関連することを見いだしたので、本年は日本人で報告されている IL-17E の 2 つの SNPs、IL-17RB の 8 つの SNPs、IL-18 の 3 つの SNPs について、RSV 細気管支炎患者 60 名と対照小児 197 名について解析した。3 つの遺伝子とも個々の SNPs ならびにハプロタイプ頻度に差異が認められなかった。

2) RSV 細気管支炎患者 HLA-DRB1 および DQB1 のタイピングを行ない、一般日本人の HLA 頻度と比較を行った。DRB1*0701, 1301 および DQB1*0201, 0603 の頻度が RSV 細気管支炎患者で一般日本人集団に比較して高かった。また、RSV 細気管支炎患者では DRB1, DQB1 ともホモ接合体の頻度が一般日本人集団に比べて有意に高かった。

3) 出生コホートにおける臍帯血 sCD14 値と RSV 細気管支炎発症の関連では、統計学的有意差はないが臍帯血 sCD14 は RSV 細気管支炎患者では健康児に比べて高値であった。

4) 成人に比較して、臍帯血 $\gamma\delta$ 2T 細胞は IFN- γ 産生能が低下しており、それは IL-2R β 鎖低発現に基づくものであることが示唆された。その基盤に IL-12R の発現低値であることが示唆された。RSV 細気管支炎発症の予知マーカーとなるか今後の解析が必要である。

E. 結論

研究班の 3 年間にわたる FA に関連する研究成果を「食物アレルギーの診療の手引き 2008」に反映させるべく検討会を開催し改訂作業を終了し 11 月に Web 上に公開し、関係諸学会、医師会、多方面に冊子としても配布予定した。分担研究者の研究も 3 年間の計画をほぼ達成し、小児アレルギー疾患の発症・進展・重症化に関連する重要な知見、今後継続研究すべき研究の萌芽が多数得られた。

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

II. 分担研究報告

アレルギーマーチの進展因子と予防に関する研究
— FA/AD 前向き研究 —

研究分担者 海老澤 元宏 国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター
研究協力者 佐藤 さくら 国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター
小保 貴嗣 国立病院機構 相模原病院 小児科

研究要旨

【目的】食物アレルギー (FA) 患者から気管支喘息 (BA) を発症する危険因子を明らかにするとともに進展予防法の確立を目的に前方視的に検討を行っている。

【方法】2006年10月以降1歳未満のFA児でBA未発症な患者を対象に、1)アレルギー病歴・検査所見および遺伝子多型、2)定期的な自宅のダニ、動物抗原量の測定、3)上気道感染症の罹患回数とウイルス (Rhino virus (RV)、RSV) 感染の検査を行っている。

【結果】2009年2月までの登録患者83名のうち12名が追跡中止となり現在71名を追跡中である。登録時の平均年齢は0.9歳で、現在の平均年齢は2.3歳である。現在までにBA発症は9名、喘鳴を認めた症例は7名であった。初診時と2歳時を比較すると、原因食物数はBA発症例、未発症例ともに減少していたが、末梢血好酸球数、血清総IgE値はBA発症例で高値を維持していた。室内塵のダニ抗原量は、BA発症例とBA未発症で比較するとDer1量46.3 ($\mu\text{g/g dust}$)に対して11.3で、その結果BA発症例では早期にダニ抗原に感作されていた。呼吸器ウイルス検査は312件(50名)行いRSV陽性8件、RV陽性133件で、RV陽性率が40%以上の月は21ヶ月中18ヶ月あった。

【結論】FA患者からのBA発症例では、好酸球数、血清総IgE値の高値が持続し、早期にダニ抗原に感作されており、BA発症までの上気道感染症ではRSVは検出されず、RV感染が多かった。これから更に継続して追跡しBA発症例が増えるとより明確な結果が得られると思われる。

A. 研究目的

食物アレルギー (FA) 患者からの気管支喘息 (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。

B. 研究方法

2006年10月より1歳未満で当科を受診したFA児で、BA未発症な患者を対象にし、1)アレルギー病歴の記録 (食物除去状況、アトピー性皮膚炎重症度、血液検査結果)、2)定期的な自宅のダニ、動物抗原量の測定、3)上気道感染症の罹患回数とウイルス (Rhino virus (RV)、RSV) 感染の検査を行う。研究協力の同意状況により、I群は1)、2)、3)について、II群は1)、2)について経年的にデータを集積する。また遺伝子多型の解析は他のFA児を含めて行う予定である。

C. 研究結果

2009年2月までの登録患者数は、I群56名、II群27名の計83名で、I群のうち10名、II群のうち2名の計12名は追跡中止、I群から4名がII群へ移行し、計71名 (男:49名、女:22) を

追跡中である。登録時の平均年齢は0.9歳、平均好酸球数は $620.7/\mu\text{l}$ 、平均血清総IgE値は 211.8IU/L 、FAの原因食物は鶏卵、乳製品、小麦、大豆の順に多く、平均原因食物数は2.5品目であった。現在の平均年齢は2.3歳で、現在までにBA発症は9名、喘鳴を認めた症例は7名であった。

FAの臨床経過は、初診時及び6ヶ月時、1.6歳時、2歳時の経時的な変化をみると、平均原因食物数はBA発症例では2.7(品目、以下同様)、2.4、2.2、1.8、未発症例では2.5、2.3、2.0、1.7へと共に減少していた。また平均末梢血好酸球数はBA発症例では $2938.6/\mu\text{l}$ (以下同様)、882.0、913.9、891.9と高値が持続したが、BA未発症例では1424.9、330.7、250.9、272.5と低下傾向であった。平均血清総IgE値はBA発症例では 249.2IU/L (以下同様)、411.8、1282.6、2478.0と上昇傾向にあったが、BA未発症例では259.4、174.1、125.1、275.4と上昇傾向は認めなかった (図1-3)。

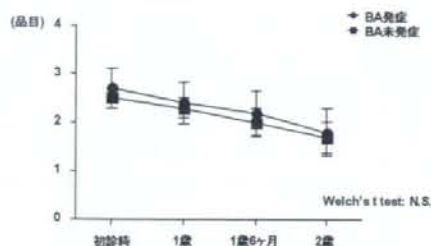


図1. 原因食物抗原数の経時的変化

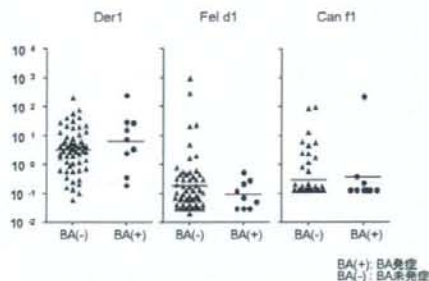


図4. ダニ、動物抗原量とBA発症の有無

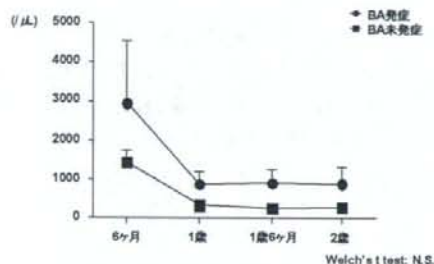


図2. 末梢血好酸球数の経時的変化

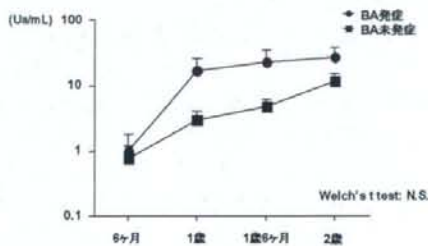


図5. ダニ特異的IgE値の経時的変化

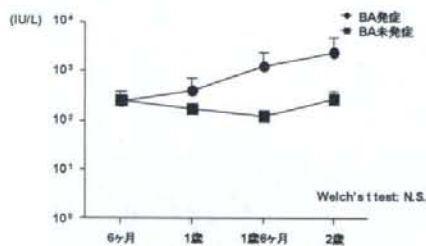


図3. 血清総IgE値の経時的変化

ダニ、動物抗原量の測定は、第1回目が68名、第2回目が47名、3回目が36名で終了した。室内塵は、BA発症例 vs. BA未発症例で Der 1: 46.3 $\mu\text{g/g}$ dust (以下同様) vs. 11.3、Fel d1: 0.2 vs. 25.7、Can f1: 32.3 vs. 4.4であった(図4)。ダニ抗原への感作では1.5歳までのDer1量は1歳時の抗原特異的ダニ抗体価と相関を認め($r=0.4205$, $n=64$, $p<0.01$)、ダニ特異的IgE抗体価は、BA発症例では生後6ヶ月は $0.99 \pm 0.8 \text{ Ua/ml}$ (以下同様)、1歳は 17.39 ± 9.3 、2歳は 26.9 ± 11.1 、BA未発症例では、 0.8 ± 0.4 、 3.0 ± 1.0 、 11.5 ± 3.9 で、BA発症例では早期にダニ抗原に感作されていた(図5)。

I群56名の平均観察期間 19.6 ± 7.1 ヶ月の間、感冒症状による受診は50名、呼吸器ウイルス検査は312件施行し、RSVは陽性:8件、陰性:300件、不明:4件で、RVは陽性:133件、陰性:123件、検査中:56件であった。RV陽性率は21ヶ月中18ヶ月で40%以上であり、年間を通して高い陽性率であった。追跡中のI群42名のうち、BA発症例では、BA発症までの平均観察期間13.5ヶ月に呼吸器ウイルス検査を59件(8名)施行した。RSVはすべて陰性であり、RV陽性率は40%以上が6/8名であった。これに対して、BA未発症例では、呼吸器ウイルス検査は218件(34名)施行し、RSVは陽性:5件(2.3%)、陰性:156件、不明:4件、RVは、陽性:88件(40.4%)、陰性:66件、検査中:39件であった。

D. 考察, E. 結論

これまでの検討で、FA患者からのBA発症例ではFAの耐性獲得はBA未発症例と異ならず、末梢血好酸球数、血清総IgE値は高値が持続すること、早期にダニ抗原に感作されていることが明らかとなった。さらに、BA発症までの呼吸器ウイルス検査ではRSVは検出されず、RVが遙かに多かったこと、乳幼児の上気道感染症では年間

を通して RV の占める割合が高く、RSV は流行期であってもほとんど検出されることが明らかとなった。現在、BA 発症の好発年齢となった追跡症例は増加しており、経過とともに喘鳴出現例が増加することが予想される。今後、遺伝的背景、乳幼児期の抗原暴露と感作の関係、早期のダニ特異的 IgE 抗体価上昇の意義、FA の臨床経過や上気道感染症と BA 発症の関係を組み合わせて解析する予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Richard E Goodman, Stefan Vieths, Hugh A Sampson, David Hill, Motohiro Ebisawa, Steve L Taylor & Ronald van Ree : Allergenicity assessment of genetically modified crops—what makes sense?. *nature biotechnology* 26(1) 73-81, 2008
- 2) Imamura T, Kanagawa Y, Ebisawa M. : A survey of patients with self-reported severe food allergies in Japan. *Pediatr Allergy Immunol.* 19(3) 270-4, 2008
- 3) Michishige Harada, Tomomitsu Hirota, Aya I Jodo, Satoru Doi, Makoto Kameda, Kimie Fujita, Akihiko Miyatake, Tadao Enomoto, Emiko Noguchi, Shigemi Yoshihara, Motohiro Ebisawa, Hirohisa Saito, Kenji Matsumoto, Yusuke Nakamura, Steven F Ziegler, and Mayumi Tamari : Functional analysis of the Thymic Stromal Lymphopoietin Variants in Human Bronchial Epithelial Cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* , 2008
- 4) 今井孝成, 杉崎千鶴子, 海老澤元宏 : アナフィラキシーおよびアドレナリン投与の適応に関する意識調査. *アレルギー* 57(6) 722-727, 2008
- 5) 緒方美佳, 宿谷明紀, 杉崎千鶴子, 池松かおり 1), 今井孝成, 田知本寛, 海老澤元宏 : 乳児アトピー性皮膚炎における Bifurcated Needle を用いた皮膚ブリックテストの食物アレルギーの診断における有用性 (第 1 報) —鶏卵アレルギー—. *アレルギー* 57(7) 843-852, 2008
- 6) 海老澤元宏 : シンポジウム 学校におけるアレルギー疾患の管理と支援 今後の具体的取り組みの方向を探る—小児アレルギー科医の立場から—. *日本医師会雑誌* 137(4) 42-44, 2008
- 7) 海老澤元宏, 今井孝成 : 食物アレルギーによるアナフィラキシーとその対応. *日本薬剤師会雑誌* 60(10) 63-66, 2008

2. 学会発表

- 1) Ebisawa M, Imai T, Komata T, Yanagida N, Kurosaka N, Tomikawa M, Hasegawa M, Tachimoto H : Natural history of pediatric food allergy in Japan. XXVII Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology, Barcelona, Spain, 2008 年 6 月
- 2) Ebisawa M : Establishment of food provocation network in Japan. *Collegium Internationale Allergologicum* 27th Symposium, Curaçao, 2008 年 5 月
- 3) 海老澤元宏 : 乳幼児喘息治療の最前線. 第 111 回日本小児科学会学術集会, 東京, 2008 年 4 月
- 4) 海老澤元宏, 西間三馨 : エピベン注射液の使用例の検討. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008 年 6 月
- 5) 海老澤元宏, 長谷川実穂, 今井孝成, 小俣貴嗣, 富川盛光, 柳田紀之, 田知本寛 : 小児期食物アレルギーの自然歴. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008 年 6 月
- 6) 小俣貴嗣, 今井孝成, 黒坂了正, 柳田紀之, 井口正道, 佐藤さくら, 富川盛光, 田知本寛, 宿谷明紀, 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おける早期診断の重要性. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2008 年 6 月
- 7) 海老澤元宏 : 小児アレルギー疾患の発症・進展・重症化の予防対策について. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2008 年 11 月
- 8) 海老澤元宏 : 食物アレルギーの自然歴. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2008 年 11 月
- 9) 小俣貴嗣, 黒坂了正, 柳田紀之, 井口正道, 佐藤さくら, 今井孝成, 富川盛光, 宿谷明紀, 海老澤元宏 : ビーナッツアレルギー診断におけるビーナッツ抗原 (Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 8) の意義. 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2008 年 11 月
- 10) 佐藤さくら, 田知本寛, 小俣貴嗣, 杉崎千鶴子, 黒坂了正, 井口正道, 今井孝成, 富川盛光, 齋藤明美, 安枝 浩, 海老澤元宏 : 105. アレルギーマーチの進展因子と予防に関する研究 (第 1 報). 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2008 年 11 月
- 11) 海老澤元宏 : アナフィラキシーへの対策について. 第 45 回日本小児アレルギー学会, 横浜, 2008 年 12 月

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・重症化の予知に関する研究

研究分担者	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	川本 典生	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 非常勤講師
	深尾 敏幸	岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科医療情報学専攻 教授
	松井 永子	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 臨床講師
	金子 英雄	岐阜大学大学院医学系研究科地域医療医学センター 地域医学部門 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
	近藤 應	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 非常勤講師
	岩砂 眞一	岩砂マタニティ 副理事長
	白木 誠	岩砂マタニティ 院長

研究要旨

アレルギー疾患の発症、重症化に関与する遺伝因子、環境因子を明らかにするため、協力産科病院において出生した児についての出生コホート研究を行っており、本年度は特に食物アレルギー、食物感作について検討した。生後6ヶ月において、食物抗原に対する特異的IgE RAST陽性者（抗原感作）の頻度は、Class2以上を陽性とする卵白、牛乳で34%、11%であり、1歳2ヶ月でもほぼ同様であった。1歳2ヶ月の時点で明確な食物アレルギーをもつと診断されたのは5名（3.2%）であった。卵白感作を受けた人のほうが、生後6ヶ月、1歳2ヶ月においてIgEやTh2%が高い傾向にある事がわかった。卵白抗原感作と遺伝子多型の検討ではIL-12 C3757Tの遺伝子多型においてCのアレルをもつほうが高頻度に感作を受けることが明らかとなった。

A. 研究目的

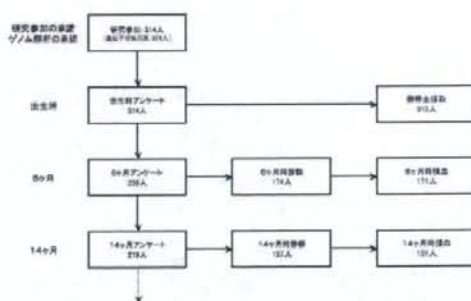
アレルギー疾患は多因子遺伝をとると考えられており、そのアレルギー素因としての遺伝因子とそれに影響を与える環境因子の相互作用によって発症、重症化をきたすと考えられる。本研究の目的は、アレルギー疾患の発症や重症化に関与する遺伝因子や環境因子を出生コホート研究によって明らかにする事である。

B. 研究方法

岐阜大学医学研究倫理審査委員会の承認を得て、研究協力産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。図1のフローチャートの通り、同意を得て臍帯血を採取し、出生前の母体の環境についてアンケートを行った。その後、経時的にアンケート調査を行い、健康相談会を開催して小児アレルギー専門医による診察を行い、さらに同意を得た人からは採血も行った。血液からはIgE、白血球数、血液像（好酸球を含む）、抗原特異的IgEや、Th1、T2、Tc1、Tc2、CD4+CD25+細胞の割合、PBMCsを刺激した時の各種サイトカインの分泌を調べた。又、遺伝子解析の同意を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関連遺伝子多型を迅速に解析

する診断キットを用いて解析した。統計学的手法としては、Mann-Whitney U-test、カイ2乗検定、Fisher's exact testを用いた。

アレルギー疾患の発症・重症化の予知に関する出生コホート研究概略



<図1>

（倫理面への配慮）

本研究は岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会において承認を得て実施している。また、ヒトゲノム・遺伝子解析研究についても同委員会の承認を得て、十分に個人情報保護等に配慮し実施している。

C. 研究結果

1) 食物感作を受けた児の頻度

生後6ヶ月時と1歳2ヶ月時に採血を受けたのはそれぞれ171人と151人であった(図1)。卵白、牛乳、小麦、大豆の4項目の食物抗原特異的IgEを測定した。生後6ヶ月時と1歳2ヶ月時のそれら食物抗原特異的IgEの陽性率を検討した(表1)。卵白RAST陽性の頻度が最も多く、全体の30~40%程度であった。さらに、感作のパターンを卵白のみ(+)のタイプ(いわゆるシングルアレルゲンタイプで卵白に反応するもの)と卵白(+)でかつ牛乳、小麦、大豆のうち一つ以上が(+)であるタイプ(いわゆるマルチアレルゲンタイプ)などに分類した。卵白のみ(+)のタイプが最も多く、次いで、卵白が(+)でかつ牛乳、小麦、大豆のうち一つ以上(+)のものが多かった。

<表1>食物抗原特異的IgE陽性の人の数と割合

年齢(月)	抗原	Class 1以上(+) (%)		Class 2以上(+) (%)	
		人数	割合	人数	割合
生後6ヶ月	卵白	67人/171人	39.2%	59人/171人	34.5%
	牛乳	18人/171人	10.5%	18人/171人	10.5%
	小麦	9人/121人	7.4%	5人/121人	4.1%
	大豆	1人/171人	0.6%	1人/171人	0.6%
1歳2ヶ月	卵白	67人/151人	44.4%	59人/151人	39.1%
	牛乳	31人/151人	20.5%	17人/151人	11.3%
	小麦	14人/151人	9.3%	5人/151人	3.3%
	大豆	8人/151人	5.3%	4人/151人	2.6%

2) 家族歴と食物抗原感作の関係

出生時のアンケートにて確認した両親のアレルギー歴の有無と、生後6ヶ月、1歳2ヶ月の種々の抗原感作(特異的IgE陽性)との関連と比較した。抗原特異的IgE陽性の定義をCAP-RAST法でClass 1以上またはClass 2以上と定義した。表2にはClass 1以上を陽性とした場合の結果を示した。食物抗原を含めてほとんどの項目においてFisher's exact testで有意差を認めなかった。(Class 1以上と定義した場合、父のアレルギー歴と1歳2ヶ月時の小麦の特異的IgE陽性が有意と表2ではなっているが、Class 2以上と定義すると有意とならなかった。また、Class 2以上と定義した場合、両親のアレルギー歴と1歳2ヶ月時のイヌのフケの特異的IgEが有意に関係を認めたが、Class 1以上と定義した場合には有意とならなかった。)

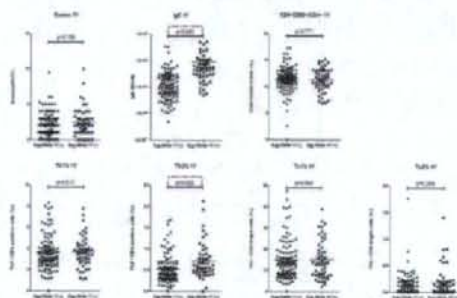
<表2>両親のアレルギー歴と抗原感作

抗原(検査項目)	RAST	父のアレルギー歴		母のアレルギー歴		両親のアレルギー歴	
		人数	%	人数	%	人数	%
卵白	Class 1以上	21	60	27	76	41	54
	Class 2以上	18	50	24	66	35	45
牛乳	Class 1以上	8	22	10	28	12	16
	Class 2以上	6	17	8	22	10	13
小麦	Class 1以上	3	8	4	11	5	7
	Class 2以上	2	6	3	8	3	4
大豆	Class 1以上	1	3	1	3	1	1
	Class 2以上	0	0	0	0	0	0
イヌのフケ	Class 1以上	9	25	12	33	15	20
	Class 2以上	7	19	10	28	13	17
ネコダニ	Class 1以上	11	30	15	42	18	24
	Class 2以上	8	22	11	30	14	18
アレルゲン不明	Class 1以上	19	52	25	69	32	42
	Class 2以上	15	41	20	56	25	33
卵白+牛乳	Class 1以上	27	73	35	97	44	58
	Class 2以上	22	60	29	80	35	46
卵白+小麦	Class 1以上	6	17	8	22	10	13
	Class 2以上	5	14	7	19	9	12
卵白+大豆	Class 1以上	1	3	1	3	1	1
	Class 2以上	0	0	0	0	0	0
卵白+牛乳+小麦	Class 1以上	11	30	15	42	18	24
	Class 2以上	8	22	11	30	14	18
卵白+牛乳+大豆	Class 1以上	2	6	3	8	4	5
	Class 2以上	1	3	2	6	3	4
卵白+小麦+大豆	Class 1以上	2	6	3	8	4	5
	Class 2以上	1	3	2	6	3	4
卵白+牛乳+小麦+大豆	Class 1以上	4	11	6	17	8	11
	Class 2以上	3	8	4	11	5	7

3) 各種検査項目と食物抗原感作の関係

WBC, RBC, Hgb, Hct, Plt, Neutrophil, Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil, IgE, Th1%, Th2%, Tc1%, Tc2%, CD3%, CD19%, CD4+, CD8%, CD8Bright%, CD16+56+, CD4+CD25+/CD4+ (%), PHA-induced IFN- γ Production from P(C) BMCs, PHA-induced IL-4 Production from P(C) BMCsの各項目について特異的IgE陽性と陰性で比較した。生後6ヶ月、1歳2ヶ月の卵白、牛乳の特異的IgEがCAP-RAST法にてクラス1以上あるいはクラス2以上を陽性として検討した。臍帯血においては、陽性群と陰性群の比較で有意差を認める項目はなかったが、生後6ヶ月においては、EosinophilやIgE, Th2%が、1歳2ヶ月ではIgEやTh2%がそれぞれ陽性群と陰性群の間で有意差を認めた。代表的な例として、1歳2ヶ月時の卵白特異的IgEの陽性群と陰性群の比較を図に示す(図2)。

各種検査項目と1歳2ヶ月時の卵白感作(特異的IgE陽性)の関係



<図2>

4) 遺伝子多型と食物感作との関係

遺伝子多型として IFN- γ R1 L467P, IL-12

C1607T, IL-12 C3757T, IL-12Rβ1 M365T, IL-12Rβ1 R361W, IL-12Rβ2 A604V, L-12Rβ2 H720R, L-12Rβ2 R313G, IL-13 R110Q, IL-4Rα V50I, LTC4S -444A/C, LTC4S E4K について解析したところ、生後6ヶ月時の卵白が Class 1 または 2 以上を陽性とした場合のどちらにおいても、IL-12 C3757T については統計学的に有意な差を認め、Cのアレルを持つものが生後6ヶ月においては感作されやすい事が示唆された(表3)。

＜表3＞ 6ヶ月の卵白感作および1歳2ヶ月のFAの確定診断と遺伝子多型

IL-12 C3757T				IL-12Rβ1 M365T				IL-12Rβ2 A604V				
年齢	陽性	陰性	不明	陽性	陰性	不明	陽性	陰性	不明	陽性	陰性	不明
6ヶ月	4/12	1/12	0	1/12	1/12	0	1/12	1/12	0	1/12	1/12	0
1歳2ヶ月	1/12	1/12	0	1/12	1/12	0	1/12	1/12	0	1/12	1/12	0
合計	5/24	2/24	0	2/24	2/24	0	2/24	2/24	0	2/24	2/24	0

5) 食物アレルギーの有病率

生後6ヶ月時と1歳2ヶ月時に医師の直接の診察を受けたのは、それぞれ174人と157人であった(図1)。1歳2ヶ月時の診察により確実に食物アレルギーをもつと診断できたのは5名(3.2%)であった(表4)。その他に、食品との因果関係は確実ではないが、何らかの症状を生じたと訴えた者は20名であった。確実例5名のうち、同意を得て遺伝子多型を検査できたのは4名であった。6ヶ月の卵白の感作と関連が有ったIL-12 C3757Tの変異においては、2名がT/Tで2名がT/Cであり、1歳までに確実に食物アレルギーと診断できた例では、全てTのアレルを持つ事が明らかとなった。

＜表4＞食物アレルギーと確実に診断できた5例のまとめ

No.	年齢	アレルギー疾患	診断時期	診断方法	食物アレルギー確定診断	食物アレルギー確定診断				IL-12 C3757T
						確定診断	IL-12 C3757T	IL-12Rβ1 M365T	IL-12Rβ2 A604V	
1	6ヶ月	卵白アレルギー	確定診断	皮膚テスト	確定	+	-	-	T/T	0.05
2	1歳2ヶ月	卵白アレルギー	確定診断	血液検査	確定	-	-	-	T/T	0.05
3	1歳2ヶ月	卵白アレルギー	確定診断	血液検査	確定	-	-	-	T/C	0.05
4	1歳2ヶ月	卵白アレルギー	確定診断	血液検査	確定	-	-	-	T/T	0.05

D. 考察

食物抗原感作及び食物アレルギーに関与する遺伝因子と環境因子の検討は、重要な課題である。特に食物感作に対してはIL-12 C3757Tの遺伝子多型において、Cのアレルをもつ方が生後6ヶ月の卵白の感作率が有意に高かった。ところが、実際に1歳2ヶ月で診断された食物アレルギーについてみると、Tのアレルを持つ人が多かった。すなわち、Cのアレルは感作を受けやすいが、発症しやすいのはTのアレルである可能性も示唆され、今後、食物アレルギーが確定している人の間でこの多型について再検討してみる必要が有ると思われた。

E. 結論

出生コホート研究が、臍帯血の採取以降、定期的なアンケート調査と診察、採血等を含めて進行中である。今回は、1歳2ヶ月までの食物アレルギーについて解析した。食物抗原感作を受けている群ではIgE、Th2%が非感作群より有意に高かった。また一部の遺伝子多型と食物抗原感作、食物アレルギー発症の間の関連が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 松井永子, 川本典生, 深尾敏幸, 近藤直実. 【アレルギー疾患発症の胎内・胎外因子 遺伝、環境とエピジェネティクスを中心に】胎内因子 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(1344-6932)15 巻 2 号 Page170-174(2008.01)
- 2) Morimoto M, Matsui E, Kawamoto N, Sakurai S, Kaneko H, Fukao T, Iwasa S, Shiraki M, Kasahara K, Kondo N. : Age-Related Changes of Transforming Growth Factor beta1 in Japanese Children. Allergol Int. 2009;58(1):97-102.
- 3) 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.* 2008; 21: 233-238.
- 4) 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.* 2008; 21: 139-144.
 - 5) 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.* 2008; 19: 592-598
 - 6) Kondo N, Hae Sim Park, Soo Jong Hong. Round Table Discussion-clinical application of molecular genetics of allergy. *Int Rev Asthma.* 2008; 10: 5-21.
 - 7) Arai T, Kaneko H, Ohnishi H, Matsui E, Fukao T, Kawamoto N, Kasahara K, Kondo N. Hypothermia augments NF-kappa B activity and the production of IL-12 and IFN-gamma. *Allergol Int.* 2008; 57: 331-338.
 - 8) Kimura T, Kato Z, Ohnishi H, Tochio H, Shirakawa M, Kondo N. Expression, purification and structural analysis of human IL-18 binding protein: a potent therapeutic molecule for allergy. *Allergol Int.* 2008; 57: 367-376.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

アレルギー疾患発症に係わる因子の解明：前方視的検討

研究分担者 荒川 浩一 群馬大学大学院小児科学 教授
研究協力者 杉山 幹雄 群馬大学大学院小児科学
高見 暁 群馬大学大学院小児科学・新潟大学小児科大学院

研究要旨

食物アレルギーは、気管支喘息の危険因子として報告されているが、食物アレルギーの発症に関わる因子の報告はほとんどなされていない。今回、乳児期の食物アレルギー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 1 年目と 3 年目にアレルギー疾患の有無について、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、食物アレルギーと医師から診断されたのは、生後 1 歳では 15 名 (7.0%)、3 歳では 16 名 (7.4%) であった。1 歳時の食物アレルギー発症には、家族歴としては父親の花粉症あるいはアレルギー疾患歴とは負の関連が見られた。また、兄弟の有無とも有意な関連を認めた。妊娠周産期の諸因子では、妊娠中の細菌感染と関連したが、ウイルス感染、帝王切開、母親の喫煙、ペットの飼育歴とは関連を認めなかった。また、母乳栄養とも関連を認めなかった。1 か月の乳児湿疹とは関連を認めなかったが、1 歳時でのアトピー性皮膚炎の合併は関連した。28 種類の臍帯血サイトカイン、ケモカインを検討したところ、臍帯血血清中の IL-7 が有意に低値を示した。また、3 歳では、TARC が関連していた。乳児期の食物アレルギー発症にはアトピー素因は関連せず、反対に父親のアレルギー疾患歴が防御的な作用を示した。胎児胎盤機能を反映する臍帯血サイトカインでは免疫系の発達の未熟性と関連する可能性が示唆された。

A. 研究目的

食物アレルギーは、気管支喘息の危険因子として報告されているが、食物アレルギーの発症に関わる因子の報告はほとんどなされていない。気管支喘息などのアレルギー疾患は、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、食物アレルギーに関しては、どの因子の関与が大きいかなどは十分には解明されていない。

今回、乳幼児期の食物アレルギー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、1 歳および 3 歳時での食物アレルギー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、出産時の入院滞り期間中に、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-1b, 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-1a, 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 1 年目と 3 年目に質問表を郵送し、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。医師により食物アレルギーと診断されている者を食物アレルギー

一と判定した。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、栄養法についてアンケート調査した。

C. 研究結果

生後1年目のアンケート回答が得られたのは269名中213名(回収率は79.2%)であった。また、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) 食物アレルギーの発症頻度

医師の診断による1歳での食物アレルギー発症は15名(7.0%)であった。男女比では、15名中8名が男児であった。一方、3歳での食物アレルギーは16名(7%)であった。

2) 家族歴との関連

1歳の食物アレルギーは、父親の花粉症($p=0.0437$)、あるいは父親で気管支喘息、アトピー性皮膚炎、花粉症のいずれかを持つと、その発症は有意に低かった($p=0.018$)。一方、母親のアレルギー歴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)は関連なく、一方、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)とは有意な関連を認めた($p=0.040$)。帝王切開に関しては、関連は認められなかった。

4) 胎外環境因子との関連

食物アレルギー発症と栄養法(母乳栄養、人工栄養)とは関連なかった。兄弟がなく一人っ子では、食物アレルギーの発症は有意に高かった($p=0.0127$)。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。

5) アレルギー疾患の既往および合併との関連としては、生後1ヶ月の乳児湿疹とは関連なく、1歳までのアトピー性皮膚炎を有した児では有意な関連を認めた。3歳での食物アレルギーは喘息($p=0.044$)やアトピー性皮膚炎(<0.001)を合併する児が有意に多かった。

6) 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においては、1歳での食物アレルギーでは、IL-7が有意に低値であった($p=0.028$)。また、3歳での食物アレルギーでは、TARCが有意に関連していた。

D. 考察

今回、乳幼児期の食物アレルギー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1年目では、医師の診断に基づく食物アレルギーの発症は7.0%であった。1歳での食物アレルギーは、遺伝的素因とは関連せず、父親の花粉症やその他のアレルギー疾患に罹患している方が有意に発症率は少なかった。妊娠中の母体細菌感染の既往と関連を認めたが、ウイルス感染や喫煙、ペットの飼育とは関連を認めなかった。出生後の因子としては、兄弟、1歳でのアトピー性皮膚炎と有意な関連を認めた。一方、栄養法や生後1ヶ月の乳児湿疹の有無とは関連を認めなかった。28種類の臍帯血サイトカイン、ケモカインでは食物アレルギー発症群ではIL-7は有意に低値であった。

今回、アンケート調査のため食物アレルギーの診断としては医師の診断を受けたものとした。乳児期の食物アレルギーについては、新生児期に血便を呈する非IgE依存型のミルクアレルギー、摂取後の数時間以内でおこる即時型反応、乳児アトピー性皮膚炎の増悪と関連した食物アレルギーが見られる。今回の調査では、後者2つのタイプの食物アレルギーが含まれていると考えられる。新生児期に血便を呈する食物アレルギーは、その頻度は非常に低く、特殊なタイプであるため含まれる可能性は非常に低いと思われる。乳児アトピー性皮膚炎の増悪と関連したものは、その診断が難しいこともある。一方、我が国では、検査や診療体制が整備されていることもあり、疑われる症例については食物特異IgEが測定される可能性が高く、医師の診断による食物アレルギーとしたのは、意義があるものと思われる。

食物アレルギーは、アトピー性皮膚炎や乳児期の喘息と異なり、1型アレルギーの側面が強い疾患である。しかしながら、今回の調査では、両親のアトピー素因とは関連しなかったのは興味深いと思われる。食物アレルギーは、自然軽快する傾向が強く、たとえ乳児期にアトピー性皮膚炎を合併していても軽快してしまう症例も多く見られる。これらのことは、食物アレルギーがアトピー素因を反映しないことの一つの説明になるかもしれない。一方、父親の花粉症やその他のアレルギー疾患を持つほど、食物アレルギーの発症

が低かった。これらの結果は、父親の素因は、防衛的に働く可能性を示唆するものと思われる。Kurzius-Spencerらは、乳幼児期のアトピー性皮膚炎発症の因子として、父親の喘息が防衛的に働くことを示している。我々の調査もこの結果をサポートしている可能性があると思われる。

今回、1歳での食物アレルギーの発症に、妊娠中の細菌感染と有意な関連を認めた。妊娠中の感染と出生後のアレルギー疾患発症との関連を示した報告がある。しかしながら、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。今回の結果は、この仮説とは相反するものであり、食物アレルギーの発症には衛生仮説は当てはまらないのかもしれない。

妊娠中からの母親の能動ないし受動喫煙とアレルギー疾患発症との関連を示唆する報告が多い。特に、気管支喘息発症との関連として、一次予防のなかで喫煙の曝露を避けることは唯一推奨される項目となっている。今回の調査においては、食物アレルギーと喫煙と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可能性とも考えられる。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、喫煙の因子は、気道アレルギーのみに関与し、食物アレルギーのようなIgEに関連したTh2免疫系への影響は少ないのかもしれない。

今回、兄弟がいる方が食物アレルギー発症は低いという結果であった。これに関しては、兄弟数が多いほど、喘息などのアレルギー疾患の発症は少なくなるという前述の衛生仮説と一致したものである。しかしながら、3歳までの喘鳴発症に関しては、兄弟数が多く、早期に保育園や託児所に通園するような環境にいるほうが多いという報告もある。

臍帯血血清中のサイトカインに関しては、1歳での食物アレルギー発症とIL-7の低値と関連していた。我々は、すでに1歳でのアトピー性皮膚炎発症に臍帯血血清中のMIP-1 β が有意に低値であることを報告した。さらに、IL-7も有意差は認めなかったが、低い傾向が認められた。1歳での食物アレルギーとアトピー性皮膚炎発症とは有意な関連を認めたことより、両者の発症にお

いてIL-7は重要な因子と考えられる。IL-7は新生児期のT細胞をCD4やCD8陽性細胞へ変移させる強力な刺激因子である。さらに、IL-4やIL-12をIL-7とともに刺激すると、抗原特異T細胞の増殖がより増強することが示されている。臍帯血中のIL-7の低値は、T細胞の活性化を低下させ、その結果としてTh2への偏向が解除されない可能性も示唆される。

我々は、1歳でのアトピー性皮膚炎発症群では、臍帯血血清中のMIP-1 β が低下していることを報告している。一方、食物アレルギーでは、関連を見いだせなかった。このことは、臍帯血血清中のMIP-1 β に関しては疾患特異性を示しているのかもしれない。今後、症例数を増やして追試が必要と思われる。

E. 結論

乳児期の食物アレルギー発症に関しては、遺伝的な背景、妊娠中の細菌感染や兄弟数が関与していた。今後、6歳児におけるアンケート調査を行い、食物アレルギーやその他のアレルギー疾患発症との関連を検討していく予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tadaki H, Arakawa H, Sugiyama M, Ozawa K, Mizuno T, Mochizuki H, Tokuyama K, Morikawa A. Association of cord blood cytokine production with wheezy infants in the first year of life. *Pediatr Allergy Immunol* 2009 in press.

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、森川昭廣：3歳時での喘息発症に係わる因子の前方視的検討。第20回日本アレルギー学会春季臨床大会、東京、2008年6月12-14日
- 2) 荒川浩一：アレルギー疾患の一次予防の現状。第58回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、2008年11月27-29日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表1. 1歳と3歳の食物アレルギーと臍帯血血清中サイトカインとの関係 (数字はp値)

	1歳 食物アレルギー	3歳 食物アレルギー
IL-7	0.028	0.275
TARC	0.208	0.037

食物アレルギーの発症・重症化の予防に関する研究

研究分担者 伊藤 節子 同志社女子大学生生活科学部食物栄養科学科
研究協力者 明石 真未 同志社女子大学生生活科学部食物栄養科学科
伊東 祐美 同志社女子大学生生活科学部食物栄養科学科

研究要旨

乳児期発症の食物アレルギー児の経過は一般に良好であるが、一部の過敏な状態に陥った症例では数 mg 以下の微量の抗原を含む食品によりアナフィラキシー反応が惹起されることがある。このような重症例に対して安全に、かつ的確な食事指導を行い寛解誘導するために有用な食品側および生体側の条件について検討した。食品側の条件としては、食品中の抗原量の標準品として、厚生労働科学研究班による二重盲検食物負荷試験用食品である全卵 KKFC-E、牛乳 KKFC-M、小麦 KKFC-W 中の抗原量を測定し、卵、牛乳、小麦を含む食品中の当該抗原の定量結果と対比させることによりアレルギー物質抗原量食品交換表を作成することができた。

生体側の条件として好塩基球活性化のための抗原閾値について検討した結果、アナフィラキシー反応をおこす症例では抗原濃度 1-10ng/ml における検討が有用であることを確認した。

A. 研究目的

乳児期発症の食物アレルギー児の経過は一般に良好であるが、一部の過敏な状態に陥った症例では数 mg 以下の微量の抗原を含む食品によりアナフィラキシー反応が惹起されることがある。このような重症例に対して安全に、かつ的確な食事指導を行い寛解誘導するために有用な生体側および食品側条件について検討し、食事指導に役立つ食品の評価のためのアレルギー物質抗原量食品交換表の作成を目指した。

B. 研究方法

食品中の抗原量の測定は、昨年度の報告書で臨床的有用性を明らかにした生理的条件下で抗原の抽出を行う従来法により、食事指導に利用できる食品中の卵(卵白アルブミン、オボムコイド)、牛乳(β -ラクトグロブリン、カゼイン)小麦(グリアジン)について実施した。その定量結果を食品中の抗原量の標準品として、厚生労働科学研究班(海老澤元宏班長)による二重盲検食物負荷試験用食品として用いられている全卵 KKFC-E、牛乳 KKFC-M、小麦 KKFC-W 中の抗原の定量結果と比較して、抗原量に基づくアレルギー物質抗原量食品交換表の作成を行った。

in vitro における生体側の反応の評価法の検討としては、検査前 1-2 ヶ月の間に、従来法による抗原量測定により数 mg 相当以下の抗原量を含む食品の誤食により即時型反応を起こしたことが確認されている症例のうち好塩基球ヒスタミン遊離試験(HRT シオノギ)および CD203c 発

現(Allergenicity Kit)の両者を検討できた 8 症例の抗原閾値について pilot study を行った。陽性と判定した場合の両方法における最低抗原濃度を比較することにより、食品除去を続ける必要のある児における好塩基球活性化に必要な抗原濃度閾値の検討を行った。

C. 研究結果

対象症例において卵白、牛乳、小麦のいずれが原因抗原である場合にも HRT シオノギはクラス 4 を示し、しかも最低濃度においても陽性であったため、卵白: 6ng/ml、牛乳: 4ng/ml、小麦: 5ng/ml の抗原濃度による刺激で 20%以上のヒスタミン遊離率を示すことが明らかとなった。これらの症例では CD203c も全例該当抗原に関して 1-10ng/ml の抗原濃度による刺激で 25%以上発現していた。

二重盲検食物負荷試験用食品である卵 KKFC-E、牛乳 KKFC-M、小麦 KKFC-W 中の抗原量を測定し、その結果と、卵に関しては生卵(全卵、卵黄、卵白)、マヨネーズ、固ゆで卵(12 分および 20 分)、加熱条件を変えて調理したハンバーグ、パン、焼き菓子類、牛乳に関してはアレルギー用ミルク、ペプチドミルク、各種牛乳(生および加熱)、ヨーグルト、パン、焼き菓子類、小麦については各種うどん、各種パンの中の該当抗原の量と対比させることにより食品中のアレルギー物質抗原量食品交換表を作成することができた。

全卵 KKFC-E と固ゆで卵、牛乳 KKFC-M と牛乳および育児用粉乳、小麦 KKFC-W とうどんおよびパ