

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18～20年度 総合研究報告書

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	
海老澤 元宏	7
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	14
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	18
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	22
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ゲン特異的T細胞応答の解析—	
宇理須 厚雄	26
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—	
礪山 浩	30
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	36
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	39
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	44
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

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(FA)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、関係諸学会、全国の医師会等に冊子としても1万部以上配布した。相模原コホート研究の3歳時調査で気管支喘息(BA)の診断を受けていた児は14.7%で、4ヶ月の湿疹の保有と8ヶ月、1歳、3歳時のアトピー性皮膚炎(AD)とFAの存在、そしてアレルギー性疾患の家族歴と同居者の喫煙がBA発症の危険因子であることが判明した。5歳児調査ではADの診断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%とADの診断と湿疹の保有率に乖離が認められた。FAの診断率4.2%に対して実際にFAにより食物除去をしている者は3.4%と近似していた。5歳時調査のBAの診断は14.3%、喘鳴の既往は31.3%と3歳児調査からいずれも5%以上増加し、スギ花粉症の診断も3歳児の3.0%から10.6%と著増し低年齢化が進んでいた。5歳児の各疾患の重なり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。国立病院機構相模原病院にてFA患者からBAを発症する危険因子を明らかにし進展予防法の確立を目的として、前向きに2006年10月以降1歳未満のFA児でBA未発症な患者71名を対象として環境抗原と上気道感染症の罹患回数と呼吸器ウイルス(Rhino virus (RV)、RSV)感染症のモニターを行っている。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。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、BA発症までの上気道感染症ではRSVは検出されずにRV感染が多かった。岐阜コホート研究にては6ヶ月、1歳2ヶ月において卵や牛乳の感作率と実際のFAの診断との間に大きな乖離を認め、遺伝子多型の解析では反復性喘鳴とTGF-βプロモーター多型やLTC4Sのプロモーター多型の関連性が示唆され、卵白感作とIL-12 C3757T多型に関連性が認められた。食物負荷試験ネットワーク研究は8年目を迎え鶏卵(全卵)、鶏卵(卵黄)、鶏卵(加熱卵白)、牛乳、小麦、大豆について平成18年度~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。これらが2006年と2008年の食物負荷試験に関する診療報酬化の決めでとなった。その食物負荷試験用食品である全卵KKFC-E、牛乳KKFC-M、小麦KKFC-W中の抗原量を基準として、加熱条件を変えた卵、牛乳、小麦を含む食品中当該抗原の定量結果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した。その結果、生活の質を高められる治療・栄養指導が可能となった。遺伝子多型を用いた症例対照相関解析の手法を用い、主に自然免疫系に関連する遺伝子を中心に発症や重症度との相関について検討した。TGFB2遺伝子多型と成人喘息発症、またTSLPの機能亢進の遺伝子多型と小児気管支喘息発症との関連を見いだした。食物アレルギーについてもLTC4S、IFNAR1、IL-21の多型と病態との相関を見いだした。その他の各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・重症化に関する重要な知見、今後継続して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元種徳徳会病院小児科教授
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
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学研究センター チームリーダー
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
田知本 寛	国立病院機構相模原病院小児科医員

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

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。



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、田知本)

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と各疾患の発症の危険因子を明らかにするために、相模原市の出生コホート調査を行っている。3歳時調査では医師からBAの診断を受けていた児は14.7%で、4ヶ月の湿疹と8ヶ月、1歳、3歳時のAD、FAの存在、アレルギー性疾患の家族歴と同居者の喫煙がBA発症の危険因子であることが明らかになった。5歳児調査では対象ADの診断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%とADの診断と湿疹の保有率に乖離が認められた。FAの診断率4.2%と実際にFAにより食物除去をしている者は3.4%と近似していた。5歳時調査においてはBAの診断は14.3%、喘鳴の既往は31.3%と3歳児調査からいずれも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重なり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。

FA患者からBAを発症する危険因子を明らかにし進展予防法の確立を目的として、前向きに2006年10月以降国立病院機構相模原病院において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(Rhinovirus (RV)、RSV)感染のモニターを行っている。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。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いて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)

岐阜コホート研究では、臍帯血を採取し、出生前の母体環境を調べ、以後、経時的にアンケート調査およびアレルギー専門医による診察(健康相談会)および血液採取を生後6ヶ月、1歳2ヶ月に行った。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。遺伝子解析の同意を得られた児については、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。生後6ヶ月、生後1歳2ヶ月において24.7%, 19.1%がADと診断され、0%, 7.6%が反復性喘鳴(RW)と診断された。食物抗原感作については特異的IgE RAST class2以上を陽性としてと両年齢とも卵白で約33%程度、牛乳で11%程度であった。しかし明らかにFAと診断されたのは1歳2か月で3.2%に過ぎなかった。臍帯血、生後6ヶ月、生後1歳2ヶ月の各種検査の経時変化を追跡し、IgE, Th1, Th2, Tc1は年齢とともに値が増加し、血清TGF-β値は生後6ヶ月が臍帯血や1歳2ヶ月より高く山型の変化が認められた。臍帯血のCD25+CD4+細胞は生後6ヶ月のAD児で高い傾向にはあったが、臍帯血のデータから、生後6ヶ月や1歳2ヶ月のAD, RWを予知予測するものは今回の検討では認められなかった。遺伝子多型の検討において、RWとTGF-βプロモーター多型やLTC4Sのプロモーター多型の関連性が示唆され、卵白感作とIL-12 C3757T多型に関連性が認められた。

③アレルギー疾患の発症因子の前方視的研究 (荒川)

アレルギー疾患発症に関わる因子の解明を目的に出生コホート研究を行った。

1) 生後1年目の医師の診断によるBA, AD, FAの発症頻度は16.4%, 12.7%, 7.0%であり、生後3年目は、それぞれ18.6%, 16.7%, 7.4%であった。

2) 1歳でのFA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では有意に発症率は少なかった。妊娠中の細菌感染症の既往

と関連し、出生後では兄弟の有無、ADと有意な関連を認めた。臍帯血血清中サイトカインではIL-7は有意に低値であった。

3) 3歳でのADでは生後1か月の頬部の皮膚水分量と関連していた。臍帯血IL-6, IL-10, IL-12が関連した。

4) 3歳でのBAは、妊娠中の細菌・ウイルス感染症の既往と関連した。出生後では、兄弟の有無、下気道感染の既往、1歳での喘鳴やADの既往と関連していた。乳幼児期のアレルギー性疾患発症には、疾患ごとに胎内および胎外因子で関与するものが異なり、同じアレルギー疾患でもその発症にはそれぞれ多様性があると考えられた。BAの進展・重症化の機序解析を目的にウイルス感染における粘液の過剰分泌の機序を解明した。さらにステロイド長期暴露により肺線維芽細胞からのエオタキシン産生亢進の機序を解明した。

2. 食物アレルギーに関する研究 (海老澤、田知本、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、田知本)

食物負荷試験ネットワーク研究は8年目を迎える鶏卵(全卵)、鶏卵(卵黄)、鶏卵(加熱卵白)、牛乳、小麦、大豆について平成18年度~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。これらが2006年と2008年の食物負荷試験に関する診療報酬化の決めてとなった。

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%)

国立病院機構相模原病院通院中のFA児84名を対象に好塩基球上の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い、鶏

卵・牛乳抗原刺激による好塩基球 CD203c 発現上昇が MFI として 1000 を越える場合は該当食物摂取で症状を呈する例が多いことが明らかになった。FA の診断に好塩基球上の CD203c の検査を加えることにより鶏卵と牛乳に対する不必要な食物負荷試験を減らせる可能性が示された。

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)

乳児期発症の FA の一部の過敏な状態に陥った症例では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。それらに対して適切な食事指導を行い寛解を誘導するためには、摂取する調理食品中の抗原量の評価と標準化が必要である。抗原抽出を生理学的条件下で行う従来法による定量結果は、臨床的な抗原性の強さを反映することが明らかとなり、調理による影響も加味した食品中のアレルギー物質の量を評価することが可能となった。前述の負荷試験ネットワーク研究の食物負荷試験用食品である全卵 KKFC-E、牛乳 KKFC-M、小麦 KKFC-W 中の抗原量を基準にし、加熱条件を変えた卵、牛乳、小麦を含む食品中当該抗原の定量結果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した。これを治療に応用した結果、抗原特異的 IgG4 抗体が寛解に関わる免疫学的指標となりうる可能性が示唆された。

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)

近年、FA に対するアレルギー特異的免疫療法が注目され、有効性を示す報告が集積されつつある。我々もこれまで、低アレルギー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、さらに味、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ギー特異的免疫療法を開始した。併せて、治療前後でのアレルギー特異的 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。DNA microarray を用いた検討では、非アレルギー児と比較し、鶏卵アレルギー児で抗原刺激後に発現 cytokine inducible SH2-containing protein(CISH) が有意に増加することを示した。また、preliminary ながら寛容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、こうした検討が免疫療法の機序解明に寄与しうると期待された。

④食品成分による食物アレルギーの制御に関する研究 (穂山)

(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。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。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 α 4 β 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 主に成人における果実・種実類などの植物性 FA の原因抗原の探索を行った結果、成人における果実・種実アレルギーは花粉症と関連するクラス 2 食物アレルギーに属することが多く、特に Bet v 1 ホモログや Bet v 2 ホモログ、ソーマチンライクプロテインなどの汎アレルギーが重要と考えられた。モモでは OAS 患者ではプロフィリンや Betv1 ホモログと思われる 14-18kDa 付近の多くのバンドが 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。セリ科スパ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。大豆においてもこのクラス 2 が発症しており、新しいタイプの大豆(豆乳)アレルギーであると考えられた。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ギーの 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、ハチのアレルギー

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)

経口トレ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 FA モデルを用い、抗原感作が既に成立状態からトレランスを誘導する方法を検討した。その結果、OVA 感作マウス脾臓中には OVA 経口投与による即時型下痢症状の発症を抑制し、好酸球や肥満細胞の腸管局所への集積を抑制する調節性 CD8 陽性 T 細胞が存在しており、その抑制機序は OVA 特異的 IgE の抑制によるものでなく、CD8 陽性 T 細胞自身が産生する IL-10 と IL-10 非依存性の機序の両者が関与することが示唆された。また、CD8 陽性 T 細胞を輸注する代わりに OVA 抗原封入マンノース結合リポゾームの口腔粘膜投与により、OVA 経口投与による即時型アレルギー性下痢症状誘発を抑制することが可能であり、感作成立後の FA 患者の治療として抗原特異的調節性 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、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)

アレルギー性疾患の発症・重症化因子を明らかにするために、遺伝子多型を用いた症例対照相関解析の手法を用い、主に自然免疫系に関連する遺伝子を中心に発症や重症度との相関について検討した。TGFB2 遺伝子多型と成人喘息発症、また TSLP の機能亢進の遺伝子多型と小児気管支喘息発症との関連を見いだした。FA についても LTC4S、IFNAR1、IL-21 の多型と病態との相関を見いだした。

②アレルギー性疾患の発症と環境アレルゲンに関する研究 (安枝)

ダニアレルゲン曝露の指標としてダニ抗原の従来法によるサンプリングは新たなテープ法やシャーレ法とともにさまざまな疫学調査への応用が期待される。

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)

本研究では獲得免疫および自然免疫に関わる分子の多型と機能の解析から RSV 細気管支炎発

症に関わる免疫・炎症因子の同定を試み、以下のことを明らかにした。

1) 成人の気道アレルギー患者、非アトピー健康成人の末梢血単核球から RSV 特異的 CD4 陽性 T 細胞株を樹立し、サイトカイン産生能を比較した。その結果、RSV F タンパクに対する反応性には両群間で差はないが、RSV G タンパクに対する反応性が気道アレルギー患者と健康人の間で異なる可能性が示唆された。

2) overlapping ペプチドの刺激に対する末梢血単核球からの IFN- γ 産生を指標にして CD4 陽性 T 細胞が認識する RSV の G タンパクの T 細胞エピトープを明らかとした。

3) RSV 細気管支炎発症に特定の HLA-DRB1 および DQB1 分子が関与することを明らかとした。

4) GSTP1、RANTES、IL-17F 遺伝子の多型が、RSV 細気管支炎発症に関連することを明らかとした。これらの遺伝子多型は RSV 細気管支炎発症リスクの予測にも有用と考えられる。

5) RSV 細気管支炎発症に重要な関与があると考えられる γ δ T 細胞からの IFN- γ 産生に関して臍帯血を用いて検討を行い、臍帯血 γ δ T 細胞の IFN- γ 低産生が、IL-2 レセプターおよび IL-12 レセプターの低発現と関連する可能性を示した。

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月にホームページにて公開し(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配布予定した。各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、今後継続して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

分担研究報告書 参照

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

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 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
	小俣 貴嗣	国立病院機構相模原病院 小児科
	安枝 浩	国立病院機構相模原病院 臨床研究センター
	田知本 寛	東京慈恵会医科大学附属第三病院 小児科
	増田 泰伸	キュービー株式会社研究所 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)

赤澤 晃	国立成育医療センター	藤沢 隆夫	国立病院機構三重病院
西牟田 敏之	国立病院機構下志津病院	森川 みき	J R 仙台病院
野々村 和男	守山市民病院	河野 陽一	千葉大学医学部
篠原 示和	高知大学医学部	木村 光一	久留米大学医学部
柴田 瑠美子	国立病院機構福岡病院	長谷川 俊史	山口大学医学部
眞弓 光文	福井大学医学部	足立 雄一	富山大学医学部
北林 耐	昭和大学医学部	吉原 重美	獨協医科大学医学部
谷内 昇一郎	関西医科大学滝井病院	渡辺 博子	国立病院機構神奈川病院
相原 雄幸	横浜市大附属市民総合医療センター	寺田 明彦	大同病院
三浦 克志	宮城県立こども病院		

研究要旨

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と各疾患の発症の危険因子を明らかにするために、相模原市の出生コホート調査を行っている。3歳時調査では医師からBAの診断を受けていた児は14.7%で、4ヶ月の湿疹と8ヶ月、1歳、3歳時のAD、FAの存在、アレルギー性疾患の家族歴と同居者の喫煙がBA発症の危険因子であることが明らかになった。5歳児調査では対象ADの診断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%とADの診断と湿疹の保有率に乖離が認められた。FAの診断率4.2%と実際にFAにより食物除去をしている者は3.4%と近似していた。5歳時調査においてはBAの診断は14.3%、喘鳴の既往は31.3%と3歳児調査からいずれも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重なり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。食物負荷試験ネットワーク研究は8年目を迎え鶏卵(全卵)、鶏卵(卵黄)、鶏卵(加熱卵白)、牛乳、小麦、大豆について平成18年度～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。これらが2006年と2008年の食物負荷試験に関する診療報酬化の決めてとなった。当科通院中のFA児84名を対象に好塩基球上の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い、鶏卵・牛乳抗原刺激による好塩基球CD203c発現上昇がMFIとして1000を越える場合は該当食物摂取で症状を呈する例が多いことが明らかになった。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対する不必要な食物負荷試験を減らせること可能性が示された。FA患者からBAを発症する危険因子を明らかにし進展予防法の確立を目的として、前向きに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呼吸器ウイルス(Rhino virus (RV)、RSV)感染症のモニターを行っている。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Der 1量46.3(μg/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。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いて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発症例が増えるにより明確な結果が得られると思われる。

【相模原コホート研究】

A. 研究目的, B. 研究方法

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と各疾患の発症の危険因子を明らかにするために相模原市で2002年1月~12月に4ヶ月健康診査を受け同意を得た5247名を調査対象にして出生コホート調査を施行している。2004年~2005年に行った3歳時調査結果について喘息発症の危険因子の解析を行い、2006年~2007年に5歳児を対象とした調査を行った。

C. 研究結果

3歳時調査では調査対象4505名中2888名より回答を得た。3歳時で医師からBAの診断を受けていた児は427名(14.7%)であった。図1, 2, 3に示すように4ヶ月の湿疹と8ヶ月、1歳、3歳のADとFAの保有、そしてアレルギー性疾患の家族歴と同居者の喫煙がBA発症の危険因子であった。

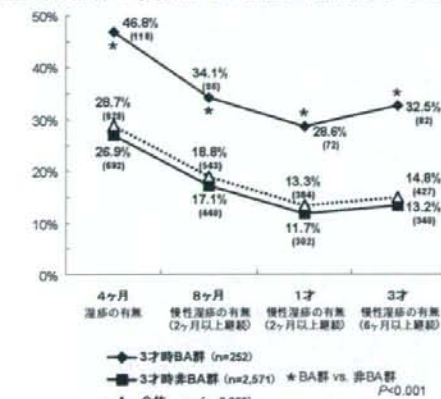


図1 3歳時の喘息の有無と湿疹の保有率

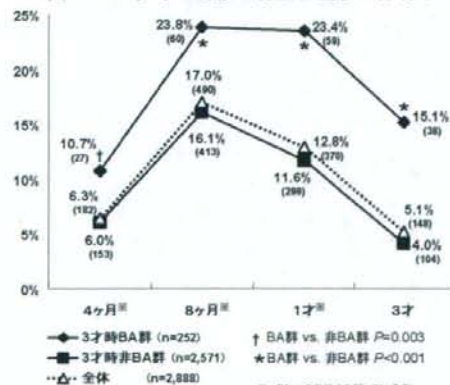


図2 3歳時の喘息の有無と食物アレルギーの罹患率

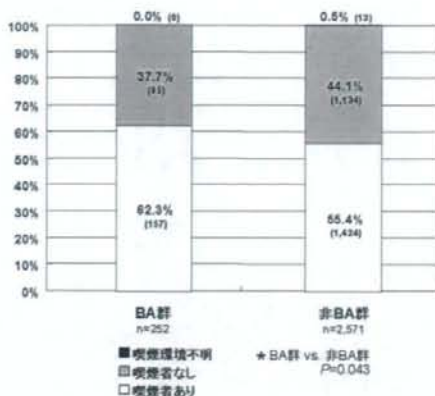


図3 3歳時の喘息の有無と喫煙環境

5歳時調査では調査対象3604名中2686名より回答を得て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4)。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%)とほぼ一致していた(図5)。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6)。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7に示す。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人であることが明らかになった。

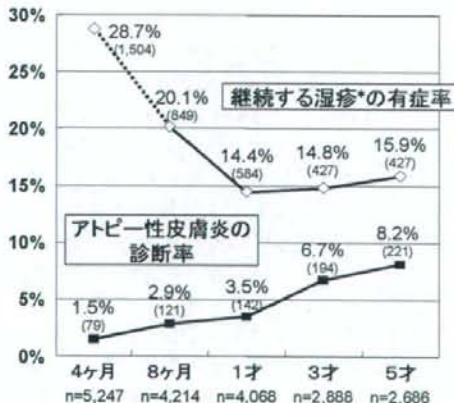
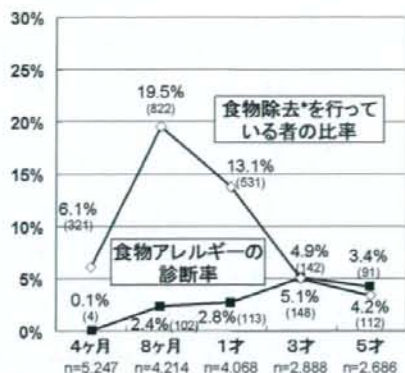


図4 湿疹の有症率とADの診断率の推移



「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。乳児期は自発的除去も含む。

図5 食物除去率とFA診断率の推移



図6 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

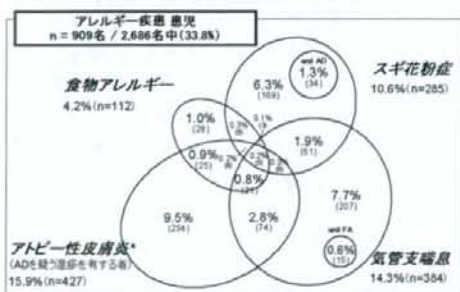


図7 5才児アレルギー疾患の罹病率

D. 考察, E. 結論

母集団数が不明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。

【負荷試験ネットワーク研究】

A. 研究目的, B. 研究方法

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8年目を迎えた。全国37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。キュービー(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、負荷試験食のマスクング用にイチゴビュウ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。上記抗原に試験的に実施している加熱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18年度から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。抗原別内訳は、鶏卵(全卵)788例、鶏卵(加熱卵白)45例、鶏卵(卵黄)194例、牛乳624例、小麦304例、大豆137例であった。概要を表1にまとめた。

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)	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%)

食物負荷試験を行った平均年齢は5.0±0.1才であり、1才児が最も多かった(14.6%)。

全体での陽性率は49%(1025/2092)であったが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。

D. 考察

共通プロトコールによる食物負荷試験は累計2092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研究の果たしてきた役割は非常に大きなものであった。

【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, B. 研究方法

食物負荷試験に代わる有効な検査方法の新たな開発を目的に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。

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)を対象に抗原刺激後の好塩基球上の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。FAの診断は食物負荷試験結果及び過去の食物摂取時の状況にて判断した。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FACS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 μg/mlの全卵とオボムコイド(OVM)、牛乳、カゼインに行い15分間反応させた。

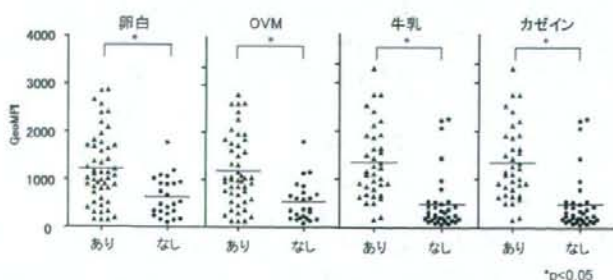


図9 鶏卵あるいは牛乳アレルギーの診断と抗原刺激後の好塩基球CD203c

C. 研究結果

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 1216±105 vs 615±86, OVM 1177±107 vs 529±85, 牛乳アレルギーあり群 vs なし群: 牛乳 1341±125 vs 485±97, カゼイン 1015±129 vs 444±444)。鶏卵、OVM、牛乳、カゼインの刺激後の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)。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以下での場合は参考にならなかった。

D. 考察, E. 結論

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と考えられる。

【FA/AD 前向き研究】

A. 研究目的, B. 研究方法

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を行っている。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

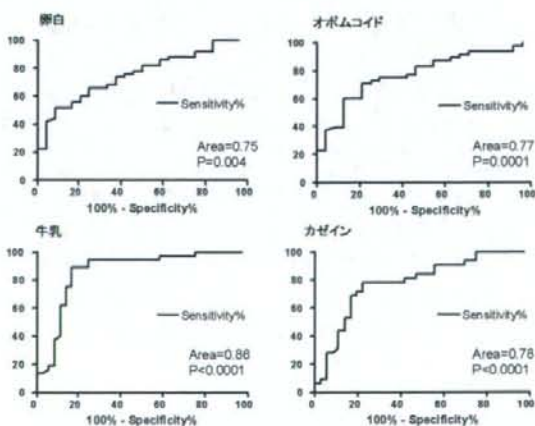


図10 ROC曲線

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計71名(男:49名、女:22)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。初診時、6ヶ月時、1.6歳時、2歳時の経時的にみるとFAの原因食物数は、BA発症例で2.7(品目、以下同様)、2.4、2.2、1.8、未発症例で2.5、2.3、2.0、1.7へといずれも減少していた。また末梢血好酸球数はBA発症例で $2938.6/\mu\text{l}$ (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)。

ダニ、動物抗原量の測定は、1回目が68名、2回目が47名、3回目が36名で行った。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Der 1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。

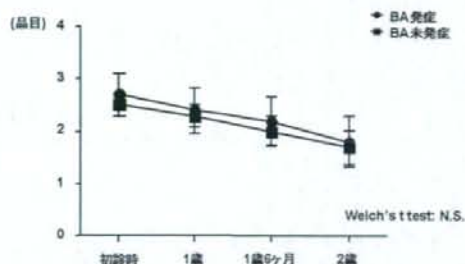


図1. 原因食物抗原数の経時的変化

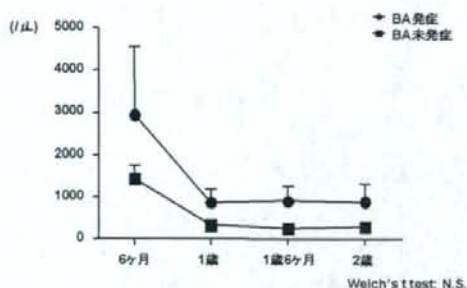


図2. 末梢血好酸球数の経時的変化

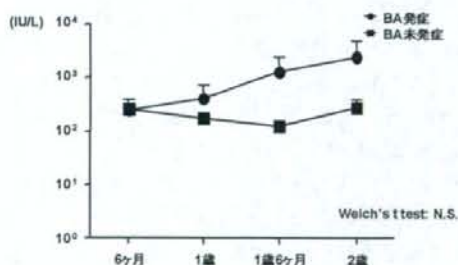


図3. 血清総IgE値の経時的変化

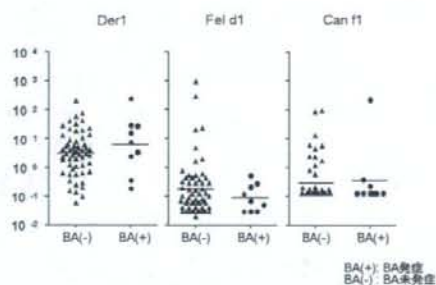


図4.ダニ、動物抗原量とBA発症の有無

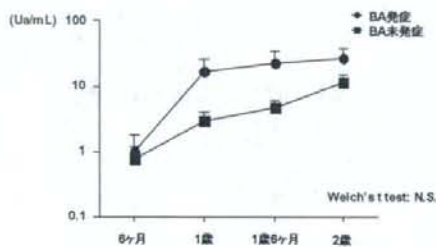


図5.ダニ特異的IgE値の経時的変化

D. 考察, E. 結論

FA から BA 発症例では、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 がはるかに多かったこと、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 は下気道感染症の入院例では多いが上気道感染でモニターすると流行期であってもほとんど検出されないことが明らかとなった。現在、BA 発症の好発年齢となった道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る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, Shigemitsu 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 を用いた皮膚プ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) 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
- 7) 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(suppl) : 33-7
- 8) 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
- 9) 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
- 10) 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ビベン[®]処方症例の検討, 日本小児アレルギー学会誌. 2007 ; 21(2) : 187-95
- 11) 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
- 12) 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.* 2006 ; 26(3) : 177-185
- 13) 海老澤元宏 : 食物アレルギーへの対応について - 厚生労働科学研究班による「食物アレルギーの診療の手引き 2005」一. *アレルギー*. 2006 ; 55(2) : 107-114
- 14) 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*. 2006 ; 55(2) : 140-150
- 15) 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*. 2006 ; 55(5) : 533-541
- 16) 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.* 2006 ; 20(1) : 119-126
- 17) 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.* 2006 ; 110(11) : 1534-1539
- 18) 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

肺炎患者に関する検討 (第2報), 日本小児科学会雑誌, 2006; 110(11): 1540-1544

- 19) 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, 2006; 55(11): 1400-1408
 - 20) 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, 2006; 55(12): 1536-1542
- ## 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 Allergy and Clinical Immunology, Barcelona, Spain, 2008年6月
 - 2) Ebisawa M: Establishment of food provocation network in Japan. Colloquium Internationale Allergologica 27th Symposium, Curacao, 2008年5月
 - 3) 海老澤元宏, 西間三肇: エビ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
 - 4) 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
 - 5) 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
 - 6) 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
 - 7) 佐藤さくら, 田知本寛, 小俣貴嗣, 杉崎千鶴子, 黒坂了正, 井口元道, 今井孝成, 富川盛光, 齋藤明美, 安枝 浩, 海老澤元宏: 105. アレルギーマーカー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
 - 8) Ebisawa M: Infantile atopic dermatitis associated with food allergy, World Allergy Congress 2007 (Symposium), Bangkok, Thailand, 2007.12
 - 9) Ebisawa M: Natural history of food allergy, World Allergy Congress 2007 (Symposium), Bangkok, Thailand, 2007.12
 - 10) 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
 - 11) 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 (プロバビリティアープの確立). 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
 - 12) 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
 - 13) Sugizaki C, Ebisawa M: Prevalence of pediatric allergic diseases in the first three years of life, World Allergy Congress 2007, Bangkok, Thailand, 2007.12
 - 14) 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
 - 15) Ogata M, Shukuya A, Sugizaki 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
 - 16) 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
 - 17) Imai T, Sugizaki C, Ebisawa M: Nationwide survey of immediate type food allergy in Japan, World Allergy Congress 2007, Bangkok, Thailand, 2007.12
 - 18) 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

- 19) 今井孝成, 海老澤元宏: アナフィラキシー症状に対するエビ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
- 20) 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: 経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
- 21) 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
- 22) 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
- 23) 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: iAnet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
- 24) 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
- 25) 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
- 26) 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
- 27) Sato S., Tachimoto H., Komata T., Ogata M., Imai T., Tomikawa M., Shukuya A., Ebisawa M.: Usefulness of basophil histamine release test in the diagnosis of food allergy, XXV Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Vienna, Austria, 2006.6
- 28) 今井孝成, 杉崎千鶴子, 海老澤元宏: 平成17年即時型食物アレルギー全国調査, 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2006.5
- 29) 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: 食物アレルギーの耐性獲得の診断におけるヒスタミン遊離試験の有用性, 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京, 2006.5
- 30) 今井孝成, 杉崎千鶴子, 海老澤元宏: アレルギー表示の妥当性と原因抗原別症状の特徴—平成17年即時型食物アレルギー全国モニタリング調査より—, 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2006.11
- 31) 玉置淳子, 海老澤元宏: 食物によるアナフィラキシーショック例調査, 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2006.11
- 32) 小俣貴嗣, 田知本寛, 黒坂了正, 緒方美佳, 今井孝成, 富川盛光, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 離乳食開始前に食物アレルギーを診断された患児の臨床的検討, 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2006.11
- 33) 小俣貴嗣, 田知本寛, 緒方美佳, 今井孝成, 富川盛光, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 乾燥食品粉末による食物負荷試験結果とオープン負荷結果・日常的摂取との整合性について, 第43回日本小児アレルギー学会, 千葉市, 2006.11
- 34) 緒方美佳, 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: 乳児におけるBifurcated needle (BF針) によるskinprick test (SPT) の陽性判定基準についての検討, 第43回日本小児アレルギー学会, 千葉市, 2006.11
- 35) 佐藤さくら, 小俣貴嗣, 緒方美佳, 今井孝成, 富川盛光, 田知本寛, 宿谷明紀, 海老澤元宏: 小麦アレルギー診断におけるω-5 gliadin 特異的IgE測定の有効性, 第43回日本小児アレルギー学会, 千葉市, 2006.11
- 36) 杉崎千鶴子, 今井孝成, 田知本寛, 海老澤元宏: 3才時の喘息発症に関わる危険因子の検討 (相模原コホート研究第5報), 第43回日本小児アレルギー学会, 千葉市, 2006.11

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出生コホート研究 (Gifu Allergy Immunology Cohort Study) を行った。研究への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調査およびアレルギー専門医による診察 (健康相談会) および血液採取を生後6ヶ月および1歳2ヶ月に行った。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。また、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。生後6ヶ月、生後1歳2ヶ月において24.7%、19.1%がアトピー性皮膚炎 (AD) と診断され、0%、7.6%が反復性喘鳴 (RW) と診断された。また食物抗原感作については特異的 IgE RAST class2 以上を陽性とすると同年齢とも卵白で約33%程度、牛乳で11%程度であった。明らかに食物アレルギーと診断されたのは1歳2か月で3.2%であった。臍帯血、生後6ヶ月、生後1歳2ヶ月の各種検査の経時変化を追うことができたが、IgE、Th1、Th2、Tc1は年齢とともに値が増加し、血清TGF-β値は生後6ヶ月が臍帯血や1歳2ヶ月より高く山型の変化が認められた。臍帯血のCD25+CD4+細胞は生後6ヶ月のAD児で高い傾向にはあったが、臍帯血のデータにて、生後6ヶ月や1歳2ヶ月のAD、RWを予知予測するものは今回の検討では認められなかった。遺伝子多型の検討において、RWとTGF-βプロモーター多型やLTC4Sのプロモーター多型の関連性が示唆され、卵白感作とIL-12 C3757T多型に関連性が認められた。

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。

(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。

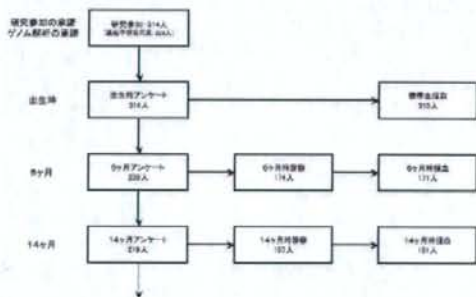
C. 研究結果

1) アトピー性皮膚炎(AD)と反復性喘鳴(RW)の有症率

6ヶ月の健康相談会に参加した174名中43名(24.7%)が、専門医によりADと診断されたが、RWと診断されたものはなかった。1歳2ヶ月では157名中30名(19.1%)がAD、12名(7.6%)がRWと診断された(図1)。

2) 食物感作を受けた児の頻度

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。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。



<図1>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

<表1>食物抗原特異的IgE陽性の人の数と割合

		Class 1以上(+)	Class 2以上(+)
生後6ヶ月	卵白	67人/171人	58人/171人
	牛乳	18人/171人	18人/171人
	小麦	9人/121人	5人/121人
	大豆	1人/171人	1人/171人
1歳2ヶ月	卵白	67人/151人	50人/151人
	牛乳	31人/151人	17人/151人
	小麦	14人/151人	5人/151人
	大豆	8人/151人	4人/151人

3) 食物アレルギーの有病率

6ヶ月時の診察により確定できた食物アレルギーの児はいなかった。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3)。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。

4) IgE、T細胞の経時的変化

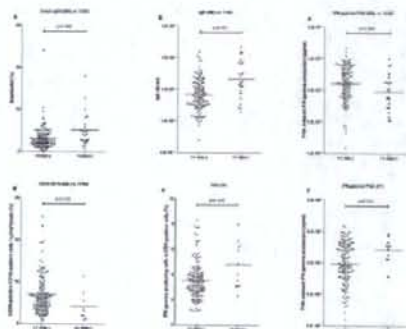
臍帯血、6ヶ月、1歳2ヶ月の経時的採血により様々な免疫学的因子の発達を観察できた。IgE、Th1、Th2、Tc1はその値が順次増加した。CD25⁺CD4⁺細胞は出生時に比べ6ヶ月で一旦低下し、その後再び上昇する経過を示した。血清のTGF-βは、臍帯血に比べて6ヶ月で一旦上昇し、1歳2ヶ月で元に戻る傾向を示した。

5) AD群、RW群の特徴

6ヶ月のAD(+)群では、IgE、Eosinophil、CD4⁺CD25⁺細胞においてAD(-)群に比べて有意に高値を示した。1歳2ヶ月のAD(+)群では、IgEがAD(-)群に比べて有意に高値を示した。1歳2ヶ月のRW(+)群ではTh1、PHA刺激によるPBMCsからのIFN-γ産生がRW(-)群に比べて有意に高値を示した。

6) 遺伝子多型と6ヶ月および1歳2ヶ月時のAD、RW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、LTC4S A-444Cの変異においてA/C+C/C群でA/A群に比べて有意に1歳2ヶ月のRWの有病率が高かった。また、TGF-β1 C-509Tの変異においてT/T群でC/C+C/T群に比べて有意に1歳2ヶ月のRWの有病率が高かった。



<図2>

- 6) Kawamoto N, Kaneko H, Takemura M, Seishima M, Sakurai S, Fukao T, Kasahara K, Iwasa S, Kondo N. Age-related changes in intracellular cytokine profiles and Th2 dominance in allergic children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006;17:125-133.
- 7) Kondo M, Fukao T, Shinoda S, Kawamoto N, Kaneko H, Kato Z, Matsui E, Teramoto T, Nakano T, Kondo N. Lymphocyte responses to chymotrypsin- or trypsin V-digested β -lactoglobulin in patients with cow's milk allergy. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology.* 2007; 3:1-9.
- 8) Kondo N, Matsui E, Nishimura A. A genetic classification and a tailor-made medicine in allergic disorders. *Korean Journal of Asthma, Allergy and Clinical Immunology.* 2007;27: 83-86.
- 9) Kondo N, Munakata M, Rosenwasser LJ. Round table discussion, tailor-made (personalized) medicine for asthma-current situation and future vision. *Int Rev Asthma.* 2007;9: 7-29.
- 10) Kondo N. Current position of Japanese and Chinese medicine in regard to tailor-made medicine -From the viewpoint of allergic disorders-. *J Tradit Med.* 2007;24:43-46.
- 11) Kondo N, Matsui E, Nishimura A. A genetic classification and a tailor-made medicine in allergic disorders. *Korean J Asthma, Allergy and Clin Immunol.* 2007;27:83-86.
- 12) Ohya Y, Watanabe H, Kojima N, Katsunuma T, Kondo N, Akasawa A. Impact of Pediatric Asthma and treatment on care-givers visiting specialist clinics in Japan. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2007; 119:S41-S42.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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. *Pediatr Allergy and Immunology.* 2008; 19: 592-598
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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年)
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, 松井永子, 白春英, 張改秀, 岩砂眞一, 近藤直実: アトピー性皮膚炎と関連疾患 出生コホート研究による小児アレルギー疾患の評価 発症予測に向けた臍帯血解析. 日本アレルギー学会春季臨床大会(第18回) (2006年5月30日~6月1日, 東京)
- 2) 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秋季学術大会(第56回) (2006年11月2日~4日, 東京)
- 3) 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: ミニシノンボジウム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)
- 4) 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-. 日本アレルギー学会秋季学術大会(第57回) (2007年11月1日~3日, 横浜)
- 5) 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, 平山耕一郎, 岩砂眞一, 近藤直実: 臍帯血を用いた出生コホート研究 6ヵ月時のアトピー性皮膚炎の予後因子についての検討. 日本アレルギー学会春季臨床大会(第120回) (2008年6月12日~14日, 東京)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし