

201023028A

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

食物アレルギーの発症要因の解明および耐性化に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 海老澤 元宏

平成23(2011)年4月

## —目次—

はじめに

### I. 総括研究報告書

食物アレルギーの発症要因の解明および耐性化に関する研究

海老澤 元宏 ..... 1

### II. 分担研究報告

#### 1. 食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究

— 1. 急速経口免疫（減感作）療法 (ROIT) の治療経過に関する検討 — ..... 5

— 2. 急速経口免疫（減感作）療法の作用機序の解明 — ..... 9

— 3. 食物経口負荷試験 (OFC) ネットワーク研究・食物経口負荷試験実態調査 — ..... 11

海老澤 元宏

#### 2. 食物アレルギーに対する経口減感作療法の作用機序の検討

松本 健治 ..... 13

#### 3. 食物アレルギー患者の管理の改善に関する研究

今井 孝成 ..... 16

#### 4. 食物アレルギーの耐性化と食事指導に関する研究

伊藤 浩明 ..... 19

#### 5. 食物アレルギーの感作発症予知と免疫療法の開発

近藤 直実 ..... 22

#### 6. 低アレルゲン化食品を用いた免疫療法の開発

宇理須 厚雄 ..... 25

#### 7. 加工食品中の原因抗原量と耐性化に関する研究

伊藤 節子 ..... 29

#### 8. 遺伝子多型を用いた食物アレルギー関連遺伝子の同定

玉利 真由美 ..... 32

#### 9. 新生児ミルクアレルギーの前方視的検討

板橋 家頭夫 ..... 35

#### 10. 食物アレルギー発症予防と抗原低減化に関する研究

穂山 浩 ..... 39

#### 11. 食物アレルギーの免疫療法の開発とその臨床応用

大嶋 勇成 ..... 42

はじめに

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「食物アレルギーの発症要因の解明および耐性化に関する研究」の3年計画の2年目にあたる平成22年度の報告書を研究分担者・研究協力者の先生方のご協力のもとにここにまとめることができた。

平成12年度から通算4期に渡り厚生労働科学研究費補助金・免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業の食物アレルギー関係の研究代表（主任研究）者を務めさせて頂いている。その間、研究班において食物アレルギー、アナフィラキシーに関する様々な取り組み、施策を行ってきた。平成20年度、21年度と調査してきた全国での食物負荷試験の普及状況を例にとっても、10年前と比較して我が国の食物アレルギーの診療レベルは世界のトップクラスになっている。今回の4期目にはアナフィラキシー対策、耐性化誘導のために、食物アレルギーの積極的な治療（経口免疫療法）の開発とその適応を中心テーマとしている。経口免疫療法の症例集積も進み原因食物を毎日摂取する経口免疫療法により減感作状態を誘導しアナフィラキシー対策としての有効性が明らかになった。しかし、経口免疫療法による耐性誘導というところまでにはさらに道程も長いことが明らかになった。鶏卵・牛乳・小麦と治療対象を増やして検討してみると抗原毎に経口免疫療法の有効性や副作用発現頻度も異なることも明らかになった。最終年度には経口免疫療法の我が国における実態調査も施行して、3年間の研究成果を取り込み“食物アレルギーの診療の手引き2011”として情報発信する予定である。

平成22年度研究報告書を刊行するにあたり、研究分担者・研究協力者の皆様のご尽力に心より感謝する次第である。

平成23年4月

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 海老澤 元宏

# I. 総括研究報告書

## 食物アレルギーの発症要因の解明および耐性化に関する研究

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

昨年度から3年間にわたり食物によるアナフィラキシーを含めた食物アレルギー患者に対して耐性化をより積極的に進める治療法の開発とその効果を検証することを中心課題とした研究班を立ち上げ2年目の報告書をまとめた。今年度までに国立病院機構相模原病院において260症例に対して経口免疫療法の検討を加えた。最重症のアナフィラキシータイプの鶏卵・牛乳・小麦・ピーナッツアレルギーに対して急速法と緩徐法の組み合わせによる経口免疫療法の方法論を確立し、すでに132例(鶏卵44名、牛乳71名、小麦13名、ピーナッツ4名)に対して実施した。ほとんどの症例を減感作状態に誘導可能だが、1年以上経過した症例の中で耐性化していたのは半数に満たなかった。減感作・耐性化の機序としては抗原特異的IgG4抗体の上昇、抗原特異的IgE抗体の低下により生体内でのマスト細胞・好塩基球の反応性の低下が示唆された。より軽症の鶏卵・牛乳・小麦による即時型食物アレルギー81例を対象に外来にて緩徐法により免疫療法による効果は無治療群(47例)と比較検討した。小麦において明らかな有用性が認められたが、鶏卵においては認めなかった。あいち小児保健医療総合センターでは負荷試験で陽性の患者に対する積極的な食事指導の有用性が示された。岐阜大学では牛乳アレルギー患者におけるエピトープ改変ミルクを開発しその免疫療法の有効性が示された。藤田保健衛生大学では鶏卵の主要抗原であるオボムコイドを低減化した食品による免疫療法がプラセボと比較して有用性が示された。経口免疫療法の適応、方法などをこれらのデータを元に検討したいと考えている。動物モデルにおいてはカロテンの発症抑制効果、抗原を封入したマンノース結合リポゾームの粘膜投与の効果などの検証を継続している。新生児ミルクアレルギー患者に関して標準化された負荷試験による正確な診断に基づいた前方視的な疫学調査開始し、49例の報告があった。抗原負荷試験は23例に対して実施され、11例で陽性症状が認められた。陰性症例では早期に不必要な治療乳を中止できていた。

食物負荷試験ネットワークでの昨年度までの2419例と合わせた累計のブラインド負荷試験数は2890例に到達した。全国の日本小児科学会研修施設522施設中入院または外来のいずれかで負荷試験を行っている施設は310か所(71.3%)に上っていた。本調査結果を食物アレルギー研究会ホームページ上で公開し、患者への情報提供ならびに病診連携に役立つ情報を発信している。

### 研究分担者

板橋 家頭夫	昭和大学医学部小児科教授
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 浩明	あいち小児保健医療総合センター 内科部長
伊藤 節子	同志社女子大学生生活科学部食物栄養科学科教授
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
今井 孝成	国立病院機構相模原病院小児科医師
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
亀山 浩	国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部室長
大嶋 勇成	福井大学医学部小児科教授
松本 健治	国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部 室長

社会環境整備)研究の発展に寄与し、国民への正確なFAの情報提供を行うことを目的とした。

### ■発症要因に関する研究

遺伝子多型に関しては玉利、近藤、疫学調査は海老澤、板橋、今井が分担した。

### ■積極的な治療方法(経口減感作療法:OIT)の開発研究

安全性の高いOITの開発によりFAの管理は劇的な変化を遂げ患者の生活の質(QOL)は飛躍的に改善する。基礎分野(亀山、大嶋)、臨床分野(海老澤、近藤、宇理須、伊藤浩明)で研究を行った。

### ■食物アレルギーの管理と患者のQOL向上に寄与する研究

加工食品中の原因抗原量と耐性化の研究を伊藤(節)が、FAの耐性化と栄養指導に関する研究を伊藤(浩)が担当した。

### A. 研究目的

本研究班では下記3課題を中心に食物アレルギー(FA)(発症要因の解明、予防や治療法の開発、

## B. 研究方法, C. 研究結果, D. 考察

### □食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究 (海老澤)

#### ー1. 急速経口免疫 (減感作) 療法 (ROIT) の治療経過に関する検討ー

食物アナフィラキシー (An) 患者への経口免疫 (減感作) 療法 (OIT) (急速法+緩徐法) の方法の確立を目的とした。OIT 施行患者数は計 132 名 (鶏卵 44 名、牛乳 71 名、小麦 13 名、ピーナッツ 4 名) となり、入院で行う急速法に関しては、いずれの抗原も退院までに半数以上が目標量に到達していた (鶏卵: 82%、牛乳: 85%、小麦: 85%、ピーナッツ: 50%)。長期経過について OIT 開始後 6 カ月以上経過した 43 名 (鶏卵 17 名、牛乳 26 名) について解析した。OIT 開始後 1 年で鶏卵 1 個を 80% の患者が、牛乳 200ml を 73% の患者が摂取可能となり (減感作状態)、An 対策として非常に有効であった。一方、1 年で耐性化 (除去・負荷試験にて判定) したのは、鶏卵、牛乳ともに半数に満たず、耐性獲得率は鶏卵で 29%、牛乳で 15% でしかなかった。An タイプの FA に対しては入院での急速法により摂取可能量を増加させてから外来で維持し摂取量を増量していくことが有効な手段であった。長期の治療反応性は 3 群【1: 耐性獲得群、2: 減感作成功群、3: 増量困難群】に分類され、各症例の治療反応性の違いと安全性を考慮した上で、最重症例で安全に増量可能でしかも治療経過が良好な例では速やかに増量できるようなプロトコルの開発が理想である。さらに OIT 施行前に治療反応性が予見できるようなマーカーの解析が急務である。今までに副作用として好酸球性胃腸炎、アトピー性皮膚炎の悪化が認められている。

#### ー2. 急速経口免疫 (減感作) 療法の作用機序の解明ー

食物 An 患者への OIT の作用機序の解明を目的として、種々のパラメーターを測定した。前述の 42 名 (鶏卵 16 名、牛乳 26 名) について解析を行った。ほとんどの症例で皮膚テストの膨疹径が OIT 後徐々に抑制され、全例において特異的 IgE 抗体の低下と特異的 IgG、IgG4 抗体の上昇が認められた。鶏卵 OIT の耐性獲得群では増量困難群と比べ、治療開始前の卵白特異的 IgE 値が低く、1 カ月後の好塩基球 CD203c 発現量が強く抑制され、6 カ月後の卵白 IgG4 値が高値であった。牛乳 OIT の耐性獲得群では増量困難群と比べ、治療開始前の牛乳特異的 IgE 値は低かったが、CD203c 発現

量の明らかな抑制とカゼイン特異的 IgG4 値の高値は認められなかった。マスト細胞、好塩基球の IgE 依存性反応の抑制が抗原特異的 IgE 抗体の低下に先行していた。

#### ー3. 食物経口負荷試験 (OFC) ネットワーク研究・食物経口負荷試験実態調査ー

OFC ネットワークでの昨年度までの 2419 例と合わせた累計のブラインド OFC 数は 2890 例となり、陽性症例は 1539 例で陽性率は 53% となっていた。

全国 522 か所の日本小児科学会研修施設を対象に H21 年度の OFC の実施の有無、症例数について郵送で調査票を送付し、522 施設中 435 施設より回答を得た (回収率 83.3%)。入院 OFC 実施施設は 253 か所 (58.1%)、外来 OFC 実施施設は 232 か所 (53.3%) であり、入院または外来のいずれかで OFC を行っている施設は 310 か所 (71.3%) であった。本調査結果を食物アレルギー研究会ホームページ上で公開し、患者への情報提供ならびに病診連携に役立つ情報を発信している。

### □食物アレルギーに対する経口減感作療法の作用機序の検討 (松本)

An 患者への OIT の有効性を、治療開始前に見分けるマーカーとなる分子を検索する事を目的として、抗原特異的に末梢血単核細胞分画に発現する分子群を Microarray を用いて網羅的に検索するため、本年度は刺激抗原の至適濃度、刺激時間および培養条件 (培養液、添加血清の種類、濃度) を決定した。基礎検討のデータを基に H23 年から相模原病院と OIT 症例の解析を開始予定である。

### □食物アレルギー患者の管理の改善に関する研究 (外来緩徐 OIT 研究) (今井)

鶏卵 (n=28)、牛乳 (n=28)、小麦アレルギー (n=25) の An リスクの高くない症例群に対し、外来において OIT を実施し、耐性を誘導できる可能性を検証した。OIT の実施を希望したものを更に無作為に経過中抗ヒスタミン薬を内服する群としない群に分けた。OIT の実施を希望しない群は対照群として、OFC 前の除去レベルで経過を追った。各抗原ともに比較的順調な経過であったが、軽い誘発症状を中心に、中等症の誘発症状も一定の割合で認められた。また一部の症例で経過中に An 症状を認めた。抗ヒスタミン薬の有無で OIT 経過の違いは認めなかった。また減感作状態に達していても必ずしも耐性獲得は得られていなかった。小麦は OIT 群と Ctrl 群に有意差を認めた

が、鶏卵と牛乳は2群間での有意差を認めなかった。OITは専門医の元で、十分なバックアップ体制を整え慎重に実施されるべきであると考え。□食物アレルギーの耐性化と食事指導に関する研究(伊藤浩明)

本研究では、負荷陰性者のみならず、陽性者に対しても安全性を確保した摂取を進めるための食事指導を確立することを目的とし、ゆで卵白、牛乳、小麦(うどん)経口負荷試験の結果に基づき、症状誘発閾値量と症状グレードによって摂取指示量を決定した。鶏卵は調理法を指示した卵料理、牛乳・小麦はタンパク量換算による乳・小麦製品の摂取を指導した。鶏卵、牛乳、小麦の合計74例に対して、1~2か月後の外来受診までに10回以上の摂取を目標として摂取記録を評価した。ほとんどの患者は指導した摂取が実施でき、延べ950摂取の中で51件の軽微な誘発症状が報告されたが、抗ヒスタミン薬を内服したのは3件のみであった。現在、各食品50症例を目指して指導を続けており、指導後6か月時の摂取量増加までフォローアップする計画で進行中である。

□食物アレルギーの感作発症予知と免疫療法の開発(近藤)

—食物アレルギーの感作発症予知—

出生コホート研究で追跡して食物感作状況とFA発症の有無について調査中でFAの感作発症と遺伝子多型について臍帯血、その後の採血を用いて特異的IgE抗体、各種の遺伝子の関連を追跡中である。

—免疫療法(経口免疫寛容誘導)の開発—

OITの方法として経口免疫寛容誘導改変食品(抗原エピトープを修飾した新規食材)を牛乳アレルギー患児に一定のプロトコールに従って投与し経過を追った。今年度はβラクトグロブリンを酵素で処理して作成した食品を現在までに17名の患児に投与し、3例ではβラクトグロブリンに対する反応もなく、かつ一定量の牛乳に対してもアレルギー反応を示さなくなった。2例では症状出現のため中止した。その他の症例は現在進行中である。

□低アレルゲン化食品を用いた免疫療法の開発(宇理須)

耐性化率を向上する目的で、残留するオボムコイド(OVM)量を増加させたOVM減量加熱全卵を作成し、OITに用いた。80人を対象としてうち51名は封筒法により無作為に、25名は実薬群、26

名は偽薬群に割り振り、28日間の連続摂取を行った。実薬群の累積陰性化率は、1ヵ月で9/45(20.0%)、2ヵ月で13/38(34.2%)、3ヵ月で23/27(85.2%)であり、偽薬群では1/25(4.0%)であった。各種免疫学的検討を行い、①オボムコイド特異的IgG4の増加、②卵白刺激により誘導される患者末梢血単核球のIFN-γ、IL-4両者の産生の低下と、TGF-β、IL-10産生の増加、③好塩基球活性化試験での反応の低下の傾向をみとめた。

□加工食品中の原因抗原量と耐性化に関する研究(伊藤節子)

グリアジン以外の抗原コンポーネントの評価と寛解誘導を目標とした食事指導に使用可能な低アレルゲン化小麦食品の開発を目指した。小麦粉をパイナップル、キウイフルーツと反応させ、小麦タンパク質とコンポーネントをSDS-PAGEおよび免疫染色により検出した。キウイフルーツ中のプロテアーゼは小麦を強力に加水分解し、小麦の低アレルゲン化食品が作製可能である。パイナップル中のプロテアーゼはグリアジンの低アレルゲン化には有用であるが、ヒスタミン遊離を惹起する性質が残っており、別の抗原コンポーネントについての検討が必要である。

□遺伝子多型を用いた食物アレルギー関連遺伝子の同定(玉利)

我々はTSLPの遺伝子多型と食物アレルギーとの関連を検討した結果、rs2416258と食物誘発アナフィラキシーとの間に関連(P=0.0012)を認めた。我々は食物アレルギーのゲノムワイド関連解析も行った。1次解析の結果、食物アレルギーとの関連がP value<10<sup>-4</sup>を示した63個のSNPについて、2次解析を行なっている。

□新生児ミルクアレルギーの前方視的検討(板橋)

新生児ミルクアレルギー患者に関して標準化されたOFCによる正確な診断に基づいた前方視的な疫学調査を行った。126施設から84例の登録があり、内49例(58.3%)の調査票を回収した。患者背景は過去の報告と同様な傾向を認め、男児に多く、発症日齢は半数以上が日齢7の早期新生児期で、全例消化器症状を伴っていたが、それ以外の症状も認めた。抗原負荷試験は23例に対して実施され、11例で陽性症状が認められた。陰性症例では早期に不必要な治療乳を中止できた。陽性症状はいずれも軽症の消化器症状であり、軽症例に対する本調査のOFCプロトコールは新生

児に対しても安全に実施可能であった。抗原負荷試験の結果をもとに各検査の検査効率を算出すると、ALSTの感度は72.7%、特異度は41.7%、牛乳抗原特異的IgEの感度は0%、特異度は91.7%、便粘液中好酸球の感度は11.1%、特異度は63.6%であった。

□食物アレルギー発症予防と抗原低減化に関する研究  
(穂山)

**発症抑制:** β-カロテン強化摂取によってパイエル板(PP)におけるCD4+CD8-T細胞の比率の増加が観察されており、同時にCD4+CD28+T細胞の比率の増加も認められた。強化カロテン摂取は経口抗原感作による腸管免疫系のCD4+ T細胞活性化に影響していることが示唆された。

**魚卵解析:** イクラ・アレルギーであるリポビタリン(Lv)はペプシンで容易に低分子化され抗原性が低下した。これらの変化は消化耐性を有するβ'-cの挙動とは全く異なり、両者の間には抗原交差性は成立していない。イクラ中のLv含有量は、β'-cの約8倍に達するが、イクラアレルギー患者の両抗原に対する反応性は、β'-cに対して顕著に認められる。一方、Lvはトリプシンに対して高い消化耐性を有していた。in vivoにおいて胃中で消化できなかったLv断片は、顕著な消化を受けずに腸管中を移行する可能性がある。

**果実解析:** モモ含有医薬部外品による感作が成立している可能性を調べるために、化粧品用のモモエキスに対して患者血清IgEの結合性の有無をELISAやイムノブロットにて検討した。その結果、ELISAにて、モモアナフィラキシーの患者血清が健常人の場合と比べて有意に高いIgE結合性を示した。

□食物アレルギーの免疫療法の開発とその臨床応用  
(大嶋)

経口免疫寛容の誘導による食物アレルギーの治療法を確立するため、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動物モデルを用い、抗原感作成立状態から免疫寛容を誘導する方法を検討した。オボアルブミン(OVA)で感作が成立した後、オリゴマンノースを結合させたリポゾームにOVAを封入(OVA-OML)し、鼻腔粘膜投与を行うと、OVA経口チャレンジにより惹起されるIgE依存性の即時型下痢症状と血清OVA特異的IgE値の上昇は抑制された。

OVA-OML投与群の腸管膜リンパ節CD8陽性T細胞は即時型下痢症状を抑制する機能を有していた。食物抗原をオリゴマンノースを結合させたリポゾームに封入して経鼻粘膜投与する方法は、調節作用を持つCD8陽性T細胞を誘導し、食物アレルギーの新規治療法となる可能性が示唆された。

E. 結論

平成22年度の研究班の各分担の研究計画は2年目として順調に遂行されていた。Ana型のFAへの積極的治療としてROITの方法論はほぼ確立することができたが、急速期・維持期の治療反応性の違いが存在することが明らかになった。治療反応性を事前に予測可能な臨床的・免疫学的パラメーターの確立が急務である。緩徐OITに関しては必要最小限の除去+栄養指導との比較検討により真の有効性を明らかにする必要がある。

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

分担研究報告書 参照



## II. 分担研究報告

## 食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究 — 1. 急速経口免疫療法の有効性と問題点の検討 —

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 今井 孝成 国立病院機構相模原病院 小児科  
宇都宮 朋宏 国立病院機構相模原病院 小児科  
飯倉 克人 国立病院機構相模原病院 小児科  
後藤 真希子 国立病院機構相模原病院 小児科  
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

### 研究要旨

【目的】食物アナフィラキシー(An)患者への経口免疫療法(OIT)の有効性と問題点を検討する。

【方法】OITを施行した患者を対象に、急速法における最大摂取量及び誘発症状出現率、その症状に対するステロイド投与回数及びアドレナリン使用率を検討した。緩徐法については、日記をもとに誘発症状出現率、6か月後、12か月後の摂取量、耐性獲得の有無を評価する確認試験の結果、及び摂取困難となった児の検討を行った。

【結果】2011年3月までのOIT施行患者数は計132名(鶏卵44名、牛乳71名、小麦13名、ピーナッツ4名)であり、鶏卵、牛乳に関しては、OIT開始後6か月以上追跡可能であった43名(鶏卵17名、牛乳26名)を対象とした。

入院で行う急速法に関しては、いずれの抗原も退院までに半数以上が目標量に到達していた(鶏卵:82%、牛乳:85%、小麦:85%、ピーナッツ:50%)。急速法における全身症状出現回数は、鶏卵:4.8回/人、牛乳:3.1回/人、小麦:0.8回/人、ピーナッツ:0回/人と抗原毎にややばらつきが認められた。小麦、ピーナッツに関しては、アドレナリン使用例はなかった。

緩徐法に関しては、1年後に鶏卵1個、牛乳200ml摂取可能であったのは、それぞれ80%、73%であったが、耐性獲得が確認されたのは、29%、15%であった。緩徐法における全身症状出現回数は、鶏卵が2.1回/人/6ヶ月に対し、牛乳は6.6回/人/6か月と多かった。鶏卵では、1名が好酸球性胃腸炎の発症に伴い、OITを中止した。牛乳では、4名が症状出現に伴う増量困難などにより、OITを中止した。

【結論】遷延する重症食物アレルギー児に対する経口免疫療法は、An対策の観点から、非常に有効な治療と考えられた。一方、OIT開始1年後の耐性獲得率は鶏卵で29%、牛乳で15%であり、長期予後に関しては未だ不明である。引き続き、外来経過を観察する必要がある。

一方、OITの治療反応性という観点からは、耐性獲得群、減感作成功群(増量可能・耐性未獲得群)、増量困難群、摂取困難群(drop out)の4群に分類可能であった。これらを予見する因子について、今後、検討が必要である。

### A. 研究目的

遷延するアナフィラキシー(An)タイプの鶏卵、牛乳の食物アレルギー(FA)児に対する急速経口免疫(減感作)療法(OIT)の方法の確立と有効性、問題点を検証する。

### B. 研究方法

食物負荷試験にて鶏卵36.8g、牛乳27.1ml、うどん(小麦)50g、ピーナッツ3g以下でAnを来した6歳以上のFA児を対象にした。

OITは図1に示す通り、急速法(入院)と緩徐法(自宅)を組み合わせで行った(図1)。急速に増

量したあとは、鶏卵1個/日、牛乳200ml/日、うどん200g/日、ピーナッツ3g/日を目標量にして維持継続している。

経過が順調であれば最終的に確認試験により耐性獲得の有無を確認している。

外来経過に関しては、全員に日記を渡し、摂取量、出現症状、投薬状況等を毎日記載することを義務付けている。外来受診時に、日記の回収を行い、評価を行っている。

また、ROITは当院倫理委員会で承認され、本人・保護者に説明し、文書同意を得て施行した。

C. 研究結果

2011年3月までのOIT施行患者数は計132名(鶏卵44名、牛乳71名、小麦13名、ピーナッツ4名)であり、このうち、鶏卵、牛乳についてはOIT開始後6か月間、追跡可能であったそれぞれ17名、26名、小麦は13名、ピーナッツは4名を対象とした。

(1) 鶏卵

対象は17名(男/女=9/8)で平均年齢は9.0±2.5(mean±SD、以下同)歳であった。気管支喘息(BA)、アトピー性皮膚炎(AD)の合併率はそれぞれ64.7%、58.8%であり、OIT開始前の卵白特異的IgE値は40.1±33.3Ua/ml、負荷試験の全身症状誘発閾値は鶏卵13.4g相当であった。

ROIT中の最大摂取量が鶏卵1個(60g)であったのは14名(82.4%)であり、平均全身症状出現回数は4.8回、ステロイド投与は2.3回、アドレナリン投与は0.6回であった。

一方、開始後6か月の摂取量は、1個:9/17名(53%)、1/2個以上1個未満:7/17名(41%)、1/2個以下:1/17名(6%)で、開始後1年の摂取量は、鶏卵では1個:8/10名(80%)、1/2個以上1個未満:2/10名(20%)であった。

6か月間での平均全身症状回数は2.1回であり、臓器別では呼吸器症状(1.4回)、消化器症状(0.7回)の順に多かった。

10名に確認試験を施行し、5名の耐性獲得を確認した。一方で、1名が好酸球性胃腸炎によりOITを中止した。

(2) 牛乳

対象は26名(男/女=20/6)で平均年齢は9.2±2.3歳であったBA、ADの合併率はそれぞれ80.8%、61.5%であり、OIT開始前の牛乳特異的IgE値は99.4±162.6Ua/ml、負荷試験での全身症状誘発閾値は牛乳11.2ml相当であった。

ROIT中の最大摂取量が牛乳200mlであったのは22名(85%)であり、平均全身症状出現回数は3.1回、ステロイド投与は1.4回、アドレナリン投与は0.7回であった。

一方、開始後6か月の摂取量は、200ml:11/26名(42%)、100ml以上200ml未満:10/26名(39%)、100ml未満:5/26名(19%)であり、開始後1年の摂取量は、200ml:11/15名(73%)、100ml以上200ml未満:2/15名(13%)、100ml未満:2/15名(13%)であった。

6か月間の平均全身症状出現回数は6.6回で

あり、臓器別では皮膚症状(2.7回)、呼吸器症状(2.4回)の順に多かった。

10名に確認試験を施行し、4名の耐性獲得を確認した。一方で4名が摂取困難となりOITを中止した。

(3) 小麦

対象は13名(男/女=10/3)で平均年齢は9.1±2.9歳であった。BA、ADの合併率はそれぞれ38.5%、30.8%であり、OIT開始前の小麦特異的IgE値は67.8±41.5Ua/ml、負荷試験での全身症状誘発閾値はうどん21.5g相当であった。

ROIT中の最大摂取量がうどん200gであったのは11名(84.6%)であり、平均全身症状出現回数は0.8回、ステロイド投与は0回、アドレナリン投与は0回であった。

(4) ピーナッツ

対象は4名(男/女=2/2)で平均年齢は13.5±4.2歳であった。BA、ADの合併はともになく、OIT開始前のピーナッツ特異的IgE値は13.4±9.3Ua/ml、負荷試験での全身症状誘発閾値はピーナッツ1.2±1.0g相当であった。

ROIT中の最大摂取量がピーナッツ3gであったのは2名(50%)であり、平均全身症状出現回数は0回、ステロイド投与は0回、アドレナリン投与は0回であった。

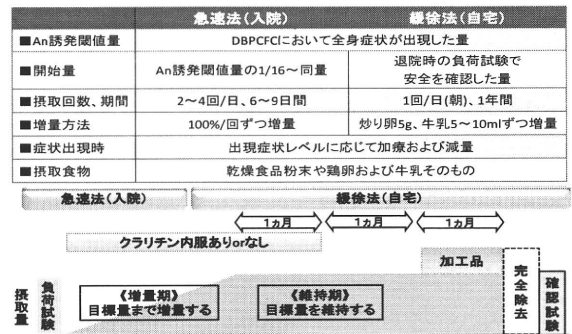


図1: 鶏卵、牛乳のOIT施行法

Grade	Grade1 (局所症状)	Grade2 (全身症状)	Grade3 (強い全身症状)
皮膚症状	痒疹、発赤、紅斑、蕁麻疹	部分的 全身性、強い痒疹	—
粘膜症状	口腔や喉頭違和感	部分的 顔全体の腫脹	—
消化器症状	腹痛、嘔吐、下痢	腹痛、嘔気	単回嘔吐
呼吸器症状	鼻汁、鼻閉、くしゃみ	認めず	—
循環器症状	脈拍、血圧	頻脈(15回/分)、蒼白	不整脈、血圧低下、心停止
神経症状	意識状態	元気がない	—
			大規模 喘鳴、呼吸困難、チアノーゼ、呼吸停止
			繰り返す嘔吐、下痢
			ぐったり、不穏、恐怖感、失禁、意識喪失

図2: 誘発症状の評価法

#### D. 考察, E. 結論

小麦、ピーナッツに関しては急速法を、鶏卵、牛乳に関しては緩徐法に関する検討を行った。急速法に関しては、どの抗原も半数以上が目標量に達していたが、小麦、ピーナッツと比べて、鶏卵、牛乳では全身症状の出現回数が多い傾向にあった。

緩徐法に関しては、牛乳と比較して鶏卵では、ほとんど強い症状は認められなかった。開始後1年で8割が鶏卵1個、7割以上が牛乳200mlの摂取が可能となり、An対策としては有効な治療と考えられた。

一方で、耐性獲得率は鶏卵で29%、牛乳で15%にとどまり、更なる長期経過観察が必要である。

また、治療反応性に関しては、耐性獲得群、減感作成功群(増量可能・耐性未獲得群)、増量困難群、摂取困難群(drop out)の4群に分類可能であった。これらを予見する因子については、現在不明であるが、予見が可能であれば、各群に治療プロトコルを設定することで、より安全にOITを施行する事が出来ると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sato S, Tachimoto H, Shukuya A, Kurosaka N, Yanagida N, Utsunomiya T, Iguchi M, Komata T, Imai T, Tomikawa M, Ebisawa M : Basophil Activation Marker CD203c Is Useful in the Diagnosis of Hen's Egg and Cow's Milk Allergies in Children , International Archives of Allergy and Immunology. 152(1) ; 54-61. 2010
- 2) Sato Y, Akiyama H, Matsuoka H, Sakata K, Nakamura R, Ishikawa S, Inakuma T, Totsuka M, Sugita-Konishi Y, Ebisawa M, Teshima R. : Dietary carotenoids inhibit oral sensitization and the development of food allergy. , J Agric Food Chem. 58(12) ; 7180-6. 2010
- 3) Fiocchi A (Chair), Brozek J, Schünemann HJ (Chair), Bahna SL, Berg A, Beyer K, Bozzola M, Bradsher J, Compalati E, Ebisawa M, Guzman MA, Li H, Heine RG, Keith P, Lack G, Landi M, Martelli A, Ranc F, Sampson H,

Stein A, Terracciano L and Vieths S : World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines , *Pediatr Allergy Immunol.* 21 (Suppl. 21) ; 1-125. 2010

- 4) Fiocchi A, Schünemann HJ, Brozek J, Restani P, Beyer K, Troncone R, Martelli A, Terracciano L, Bahna SL, Rancé F, Ebisawa M, Heine RG, Assa'ad A, Sampson H, Verduci E, Bouygue GR, Baena-Cagnani C, Canonica W, Lockey RF. : Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) : A summary report. , *J Allergy Clin Immunol.* 126(6) ; 1119-1128. e12. 2010
- 5) 緒方美香, 宿谷明紀, 杉崎千鶴子, 池松かおり, 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2報) - 牛乳アレルギー-, *アレルギー.* 59(7) ; 839-846. 2010

##### 2. 学会発表

- 1) M. Ebisawa, C. Sugizaki : Prevalence Of Allergic Diseases During First 7 Years Of Life In Japan, 2010 AAAAI Annual Meeting. 2010. 2. 26-3. 2. New Orleans, LA
- 2) N. Yanagida, T. Utsunomiya, S. Sato, M. Iguchi, T. Komata, T. Imai, M. Tomikawa, M. Ebisawa : Treatment of Hen's Egg- and Cow's Milk-induced Anaphylaxis by Rash Oral Immunotherapy, 2010 AAAAI Annual Meeting. 2010. 2. 26-3. 2. New Orleans, LA
- 3) S. Sjolander, F. Bernhardsson, P. Brostedt, M. Borres, A. Tanaka, K. Ito, M. Ebisawa, S. Utsumi, M. Poorafshar : High IgE Reactivity to Subunit G5 from the Soybean Legumin Allergen Gly m 6 in Sera from Soy Allergic Japanese Children, 2010 AAAAI Annual Meeting. 2010. 2. 26-3. 2. New Orleans, LA
- 4) K. Ito, M. Ebisawa, S. Sato, S. Sjolander, M. Borres : Specific IgE to Gly m 5 and Gly m 6 in Children with Soybean Allergy in Japan , 2010 AAAAI Annual Meeting . 2010. 2. 26-3. 2. New Orleans, LA

- 5) Ebisawa M, Yanagida N, Sato S, Imai T :  
Rush oral immunotherapy for the treatment  
of hen's egg- and cow's milk-induced  
anaphylaxis , 28th Symposium Collegium  
Internationale Allergologicm. 2010. 4. 29.  
Ischia, Italy
- 6) Ebisawa M : Patterns of allergy in Japan,  
Symposium on Frontiers in Food Allergen  
Risk Assessment . 2010. 10. 20-22 . Nice,  
France
- 7) Motohiro Ebisawa : FOOD CHALLENGES -GETTING  
IT RIGHT, APCAACI 2010. 2010. 11. 7. Singapore
- 8) Motohiro Ebisawa : Food allergy; Diagnosis  
and treatment , WAO International  
Scientific Conference 2010. 2010. 12. 5.  
Dubai, UAE
- 9) Motohiro Ebisawa : Diagnosis of Food  
Allergy; Probability curves, CRD, and Food  
provocation tests, 第60回日本アレルギー  
学会秋季学術大会. 2010. 11. 25. 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

## 食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究 — 2. 急速経口免疫（減感作）療法の作用機序の解明 —

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 今井 孝成 国立病院機構相模原病院 小児科  
宇都宮 朋宏 国立病院機構相模原病院 小児科  
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

### 研究要旨

【目的】食物アナフィラキシー(An)患者への経口免疫(減感作)療法(OIT)の作用機序を解明する。

【方法】前述の方法にてOITを施行した患者を対象に、皮膚テスト(SPT)、末梢血好酸球数、血清総IgE値、抗原特異的IgE値、IgG、IgG4値、末梢血好塩基球ヒスタミン遊離試験(HRT)、好塩基球CD203c発現量の測定を経時的に行っている。

【結果】2011年3月までのOIT施行患者数は計132名(鶏卵44名、牛乳71名、小麦13名、ピーナッツ4名)で、このうちOIT開始後12カ月以上経過した42名(鶏卵16名、牛乳26名)について解析を行った。OIT開始前vs.6か月後で、皮膚テストの膨疹径は卵白:100(%変化率、以下同様)vs.63.5、牛乳:100vs.60.9、OIT開始前vs.12か月後で、抗原特異的IgE値(Ua/ml)は、卵白:31.4vs.11.8、牛乳:99.4vs.30.0で有意に低下していた。抗原特異的IgG、IgG4値(mgA/ml)は、卵白IgG:6.3vs.54.2、カゼインIgG:9.0vs.22.6、卵白IgG4:0.9vs.43.7、カゼインIgG4:2.2vs.9.1で有意に上昇していた。抗原刺激によるCD203c発現量は卵白・牛乳刺激ともに0.1、1、10ng/mlで1か月後に有意に低下したが、%HRは有意な変化を認めなかった。OITの治療反応性が良好な例(responder)では増量困難な例(partial responder)と比べ、治療による特異的IgE値の明らかな低下を認めたが、牛乳での変化は鶏卵より緩徐であった。また“responder”では抗原刺激(卵白、牛乳ともに10ng/ml)によるCD203c発現の抑制もより顕著であった。

【結論】OITによる免疫学的な変化は、IgE依存性反応では皮膚局所のマスト細胞や末梢血好塩基球の活性化抑制、抗原特異的IgE値の低下の順に認められ、その変化は治療反応性により異なる可能性が示唆された。抗原特異的IgG、IgG4値は減感作食物の摂取量増加に伴って上昇が認められたが、耐性獲得誘導への関与については現時点では不明である。

### A. 研究目的

食物アナフィラキシー(An)患者への経口免疫(減感作)療法(OIT)の作用機序を解明する。

### B. 研究方法

前述の方法にてOITを施行した患者を対象に、皮膚テスト(SPT)、末梢血好酸球数、血清総IgE値、抗原特異的IgE値、IgG、IgG4値、末梢血好塩基球ヒスタミン遊離試験(HRT)、好塩基球CD203c発現量の測定を経時的に行っている。

### C. 研究結果

2011年3月までのOIT施行患者数は計132名(鶏卵44名、牛乳71名、小麦13名、ピーナッツ4名)で、うち摂取困難により牛乳4名が、好酸球胃腸炎の併発により鶏卵1名が治療中止となった。OIT開始後12カ月以上経過した42名(鶏卵16名、牛乳26名、平均年齢9.2歳、男児28

名、女児14名)について解析を行った。SPTの膨疹径(%変化率)は卵白刺激で100/76.0/63.5(開始時/1か月/6か月後の平均値)、牛乳刺激で100/79.8/60.9と低下傾向であった。抗原特異的IgE値(Ua/ml)は卵白では31.4/14.7/11.8/10.2(開始時/6か月/12か月/18か月後の平均値)で開始時と比べ約1/3に、牛乳では99.4/38.3/30.0/18.4で開始時と比べ約1/5に低下していた。抗原特異的IgG値(mgA/ml)は卵白では6.3/52.7/54.2(開始時/1か月/12か月後の平均値)、カゼインでは9.0/28.1/22.6、抗原特異的IgG4値(mgA/ml)は卵白では0.9/13.4/43.7、カゼインでは2.2/10.7/9.1で1か月後に有意に上昇していた。抗原刺激によるCD203c発現量は卵白・牛乳刺激ともに0.1、1、10ng/mlで1か月後に有意に低下したが、%HRは有意な変化を認めなかった。OIT開始後1年までに目標量を無症状で1か月以上摂取できた例を

“responder”、そこまで到達できなかった例を“partial responder”と分類し、これらの免疫学的パラメーターの治療反応性予測について検討した。鶏卵 OIT の“responder”では“partial responder”と比べ、開始時の卵白特異的 IgE 値には有意差がなく、1 ヶ月後に抗体価の低下を認めた (responder/ partial responder の平均値; 開始時 27.9 vs. 1 ヶ月後 16.5/44.9 vs. 17.9)。

“responder”では 1 ヶ月後の卵白刺激 (10ng/ml) による CD203c 発現の抑制 (図参照)、卵白 IgG4 値の上昇 (1.0 vs. 14.9/0.9 vs. 11.6) も有意であった。これに対し、牛乳 OIT の“responder”では“partial responder”と比べ、開始時の牛乳特異的 IgE 値は有意に低く、6 ヶ月後に抗体価の低下が認められ (41.0 vs. 24.7/230.9 vs. 68.3)、鶏卵 OIT より緩徐な変化であった。さらに“responder”では 1 ヶ月後の牛乳刺激 (10ng/ml) による CD203c 発現の抑制 (図参照)、カゼイン IgG4 値の上昇 (1.0 vs. 6.0/4.7 vs. 21.1) を認めた。

#### D. 考察, E. 結論

OIT による免疫学的な変化として、IgE 依存性反応では治療早期から皮膚局所のマスト細胞や末梢血好塩基球の活性化は抑制され、治療の継続とともに抗原特異的 IgE 値が低下した。一方で抗

原特異的 IgG4 値は減感作食物の摂取量増加とともに上昇したが、耐性獲得誘導への関与についてはさらなる検討が必要である。治療前の抗原特異的 IgE 低値例や治療早期より抗原特異的 IgE 値の低下、CD203c 発現量の抑制がより顕著な例では、OIT の治療反応性は良好な可能性があり、今後の症例の蓄積により明らかになると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

海老澤分担研究報告書 (1. 急速経口免疫療法の有効性と問題点の検討) 参照

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

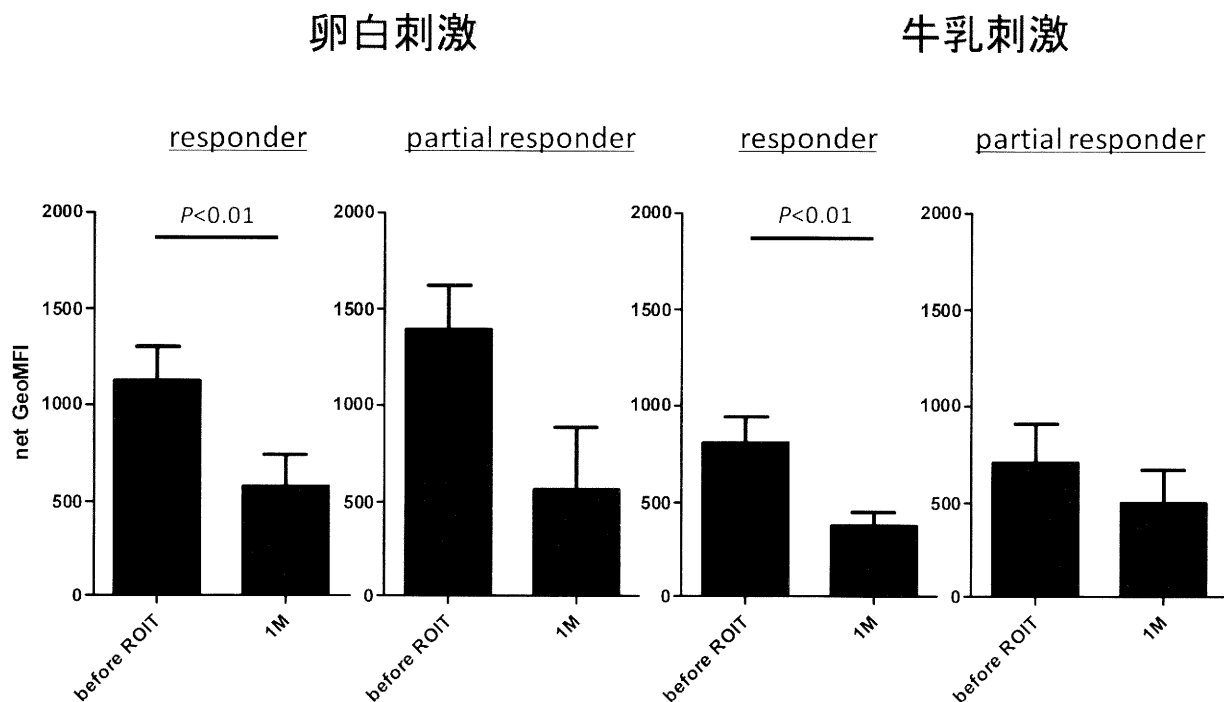


図 治療反応性と抗原刺激による CD203c 発現量の変化

**食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究**  
**— 3. 食物負荷試験ネットワーク研究・食物負荷試験実態調査 —**

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 増田 泰伸 キューピー(株)研究所健康・医療 R&D センター  
 今井 孝成 国立病院機構相模原病院 小児科  
 林 典子 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  
 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  
 食物負荷試験ネットワーク参加 39 施設

**研究要旨**

食物負荷試験ネットワーク研究は丸 10 年目を迎え、今回 471 例の新規症例が追加され、共通の  
 プロトコールによる食物負荷試験実施数は鶏卵（非加熱全卵・加熱全卵・加熱卵白・卵黄）、牛  
 乳、小麦、大豆において累計 2890 例となった。

全国 522 か所の日本小児科学会研修施設を対象に、H20 年度に引き続き H21 年度の食物負荷試験  
 の実施数および施設規模について調査し、435 施設より回答を得た（回収率 83.3%）。その結果、  
 回答施設の 7 割以上の 310 施設において外来あるいは入院で食物負荷試験が行われていることが  
 明らかとなった。

—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  
 ットワークを組織し今年度で 10 年目を迎え、参  
 加施設は現在 39 施設となった。

**B. 研究方法**

キューピー(株)研究所と共同開発した冷凍乾燥  
 食品粉末にマスキング用の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た。今年度か  
 ら提供する抗原を鶏卵（加熱全卵、非加熱全卵）、  
 牛乳、プラセボに変更した。

**C. 研究結果**

平成 23 年 3 月末現在、新規に計 471 例の負荷  
 試験が 11 施設において施行され、抗原別内訳は、  
 鶏卵（非加熱全卵）104 例、鶏卵（加熱全卵/加  
 熱卵白）137 例、鶏卵（卵黄）7 例、牛乳 192 例、  
 小麦 22 例、大豆 9 例であった。昨年度までの 2419  
 例と合わせた累計の食物負荷試験 2890 例となり  
 陽性症例は 1539 例で陽性率は 53%であった。

表 1 2010年度 症例数内訳

2010年度	総症例数	非加熱 全卵	加熱全卵 (加熱卵白)	卵黄	牛乳	小麦	大豆
1 国立病院機構相模原病院	262	2	120	0	133	6	1
2 久留米大学医学部	108	49	14	6	24	8	7
3 国立病院機構三重病院	48	30	0	0	15	2	1
4 聖西医科大学滝井病院	14	8	0	0	4	2	0
5 JF仙台病院	10	0	0	0	10	0	0
6 昭和大学医学部	10	4	0	1	3	2	0
7 康天堂大浦安病院	9	6	0	0	1	2	0
8 富山大学医学部	3	1	1	0	1	0	0
9 宮城県立こども病院	3	3	0	0	0	0	0
10 大阪府済生会中津病院	2	0	2	0	0	0	0
11 かわはら医院(静岡)	2	1	0	0	1	0	0
合計	471	104	137	7	192	22	9

表 2 負荷試験結果

	食物負荷試験 陽性	IgE CAPRAST 陽性	皮膚テスト 陽性
鶏卵 (非加熱全卵)	62% (600 / 974)	82% (760 / 927)	86% (429 / 501)
鶏卵 (加熱全卵/加熱卵白)	67% (167 / 248)	95% (212 / 224)	91% (74 / 81)
鶏卵 (卵黄)	30% (67 / 224)	80% (153 / 192)	89% (154 / 173)
牛乳	57% (533 / 941)	82% (693 / 847)	78% (342 / 436)
小麦	40% (139 / 350)	83% (274 / 330)	75% (128 / 170)
大豆	22% (33 / 153)	75% (106 / 142)	62% (47 / 76)
合計	53% (1539 / 2890)	83% (2197 / 2661)	81% (1170 / 1436)

**D. 考察, E. 結論**

共通プロトコールによる食物負荷試験は累計  
 2890 例に達した。



—食物負荷試験実態調査—

A. 研究目的

入院食物負荷試験に加えて外来食物負荷試験にも診療報酬点数が認められ、食物アレルギー患者に対して「食物負荷試験を受けられる施設」の情報提供が望まれている。そこで全国の食物負荷試験実施状況についてインターネットを活用して公開し、医療機関のみならず患者および保護者へ情報提供することを目的とした。

B. 研究方法

昨年度、全国の小児科学会研修施設を対象に平成20年度の食物負荷試験の実施状況について郵送で調査票を送付した。今年度も前回の方法を踏襲し、全国522施設の平成21年度の食物負荷試験の実施状況について調査した。

C. 研究結果

522施設中435施設より回答を得た（回収率83.3%）。入院負荷試験を実施している施設は253か所（58.1%）、外来における負荷試験を実施している施設は232か所（53.3%）であり、入院または外来いずれかの負荷試験を実施している施設は310か所（71.3%）であった（図1）。昨年度の調査と比較すると、入院実施施設数33か所増、外来実施施設数は40か所増、入院または外来いずれかで実施している施設は46か所増であったことから、実施施設数は増加傾向にあると考えられた。

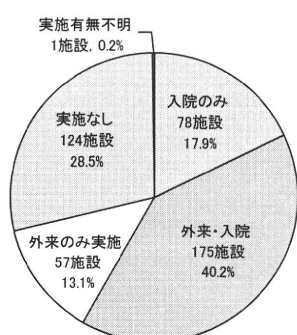


図1 負荷試験実施施設の割合

年間の入院負荷試験実施数は501件以上5施設（1.1%、前年比+2施設）、201-500件7施設（1.6%、前年比±0）、101-200件10施設（2.3%、前年比+4）、51-100件16施設（3.7%、前年比+6）、50件以下213施設（49.0%、前年比+19）であった。年間の外来負荷試験実施数は501件以

上2施設（0.5%、前年比±0）、201-500件10施設（2.3%、前年比+5）、101-200件18施設（4.1%、前年比+14）、51-100件29施設（6.7%、前年比+3）、50件以下171施設（39.3%、前年比+23）であった（図2）。

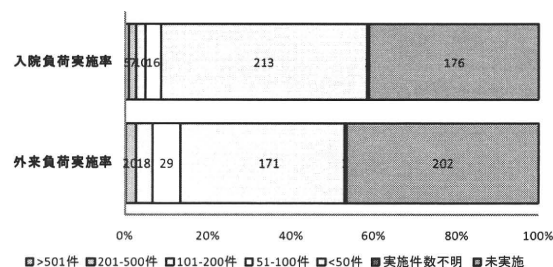


図2 負荷試験実施数の割合

D. 考察, E. 結論

平成20年度および21年度の食物負荷試験の実施状況について調査し現状を把握することができた。対象を日本小児科学会研修施設に限定したが、その中でも7割以上の施設で食物負荷試験を実施していた。

本調査結果を食物アレルギー研究会ホームページ上 (<http://foodallergy.jp/>) に実施施設一覧として公開し、各々の施設のホームページに施設の了解の下リンクさせた。食物負荷試験の実施施設を検索する手段として非常に有用であり、患者および病診連携に役立つ情報を発信することができた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

海老澤分担研究報告書（1. 急速経口免疫療法の有効性と問題点の検討）参照

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

## 食物アレルギーに対する経口減感作療法の作用機序の検討

研究分担者 松本 健治 国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部  
研究協力者 森田 英明 国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部  
伊藤 良子 国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部

### 研究要旨

近年、食物アレルギー児に対して、ごく微量の抗原食物を経口的に摂取させ、次第に漸増させることによって積極的に治療する方法「経口減感作療法」が行われており、これまでに約8～9割の症例で有効である事が知られてきている。しかし、残る1～2割の症例では、経口的に摂取する食物抗原量の漸増が困難である場合や、全く増量出来ない場合が認められる。この「不応例」を事前に予知することが出来れば、より効果的に「経口減感作療法」が行えるだけでなく、不必要な副反応を避けることが出来る可能性がある。本研究では経口減感作療法の有効性を、治療開始前に見分けるマーカーとなる分子を検索する事を目的として、抗原特異的に末梢血単核細胞分画に発現する分子群を Microarray を用いて網羅的に検索する。本年度は刺激抗原の至適濃度、刺激時間および培養条件（培養液、添加血清の種類、濃度）を決定するために、予備検討を行い、至適培養条件を決定した。

### A. 研究目的

近年、食物アレルギー児に対して、ごく微量の抗原食物を経口的に摂取させ、次第に漸増させることによって積極的に治療する方法「経口減感作療法」が行われており、これまでに約8～9割の症例で有効である事が知られてきている。しかし、残る1～2割の症例では、経口的に摂取する食物抗原量の漸増が困難である場合や、全く増量出来ない場合が認められる。この「不応例」を事前に予知することが出来れば、より効果的に「経口減感作療法」が行えるだけでなく、不必要な副反応を避けることが出来る可能性がある。本研究では経口減感作療法の有効性を、治療開始前に見分けるマーカーとなる分子を検索する事を目的として、抗原特異的に末梢血単核細胞分画に発現する分子群を Microarray を用いて網羅的に検索する。本年度は刺激抗原の至適濃度、刺激時間および培養条件（培養液、添加血清の種類、濃度）を決定するために、予備検討を行った。

### B. 研究方法

市販の食物抗原には 100 pg～200 ng/mg の lipopolysaccharide (LPS) の混入が認められることから、LPS を除去したミルク抗原および卵白アルブミン抗原を準備した。次いで、国立相模原病院を受診した経口減感作療法開始前の食物アレルギー症例（合計 23 症例）のヘパリン加末梢血を採取し、各種濃度の抗原刺激後

(Concanavalin A を陽性コントロールとして) の CD80、CD86、IL-2 および IL-2R の mRNA 発現を経時的に Real-time PCR にて測定した。

### C. 研究結果

CD80、CD86、IL-2 および IL-2R の発現変化を指標として見たところ、抗原濃度はミルク抗原および卵白アルブミン抗原とも 200  $\mu$ g/ml で 24 時間および 120 時間で最大の刺激が入る事が明らかとなった。また、培地についても自己血漿 5% 添加 RPMI1640 培地に 2 x 10<sup>6</sup>/ml の細胞濃度で検討できることが明らかとなった。

### D. 考察

食物アレルギー患児のリンパ球刺激試験はミルク抗原 (200  $\mu$ g/ml) および卵白アルブミン抗原 (200  $\mu$ g/ml) で自己血漿 5% 添加 RPMI1640 培地で 24 時間および 120 時間刺激を行い、培養細胞における網羅的な遺伝子発現解析を行うのが適切であると考えられた。

### E. 結論

抗原特異的に末梢血単核細胞分画に発現する分子群を Microarray を用いて網羅的に検索するための培養条件を決定した。

### F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ebihara T, Azuma M, Oshiumi H, Kasamatsu J, Iwabuchi K, Matsumoto K, Saito H, Taniguchi T, Matsumoto M, Seya T. Identification of a polyI:C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J Exp Med* 2010 ;207:2675-2687.
- 2) Miyamoto T, Muneta T, Tabuchi T, Matsumoto K, Saito H, Tsuji K, Sekiya I. Intradiscal transplantation of synovial mesenchymal stem cells prevents intervertebral disc degeneration through suppression of matrix metalloproteinase-related genes in nucleus pulposus cells in rabbits. *Arthritis Res Ther* 2010;12: R206.
- 3) Oboki K, Ohno T, Kajiwarra N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107: 18581-18586.
- 4) Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, Saito H, Matsuda A. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol* 2010;185: 5743-5750.
- 5) Yamada Y, Matsumoto K, Hashimoto N, Saikusa M, Homma T, Yoshihara S, Saito H. Effect of Th1/Th2 Cytokine Pretreatment on RSV-Induced Gene Expression in Airway Epithelial Cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;154: 185-194.
- 6) Toyoda M, Hamatani T, Okada H, Matsumoto K, Saito H, Umezawa A. Defining cell identity by comprehensive gene expression profiling. *Curr Med Chem* 2010;17: 3245-3252.
- 7) Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. TSLP Promoter Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010 In Press.
- 8) Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, Kaminuma O, Hashimoto N, Shimoyama Y, Saito H, Tomita Y. Overexpression of LEDGF/DFS70 Induces IL-6 via p38 Activation in HaCaT Cells, Similar to that Seen in the Psoriatic Condition. *J Invest Dermatol* 2010;130: 2760-2767.
- 9) Fukuie T, Nomura I, Horimukai K, Manki A, Masuko I, Futamura M, Narita M, Ohzeki T, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. Proactive treatment appears to decrease serum immunoglobulin-E levels in patients with severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2010;163: 1127-1129.
- 10) Matsumoto K, Terakawa M, Fukuda S, Saito H. Analysis of signal transduction pathways involved in anti-CD30 mAb-induced human eosinophil apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152 Suppl 1: 2-8.
- 11) Futamura K, Orihara K, Hashimoto N, Morita H, Fukuda S, Sagara H, Matsumoto K, Tomita Y, Saito H, Matsuda A. beta2-Adrenoceptor agonists enhance cytokine-induced release of thymic stromal lymphopoietin by lung tissue cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152: 353-361.
- 12) Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, Matsumoto K, Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A. Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy. *J Cell Physiol* 2010;223: 695-702.
- 13) Tsubota A, Matsumoto K, Mogushi K, Nariyai K, Namiki Y, Hoshina S, Hano H, Tanaka H, Saito H, Tada N. IQGAP1 and vimentin are key regulator genes in naturally occurring hepatotumorigenesis induced by oxidative

- stress. *Carcinogenesis* 2010;31: 504-511.
- 14) Watanabe K, Penfold ME, Matsuda A, Ohyanagi N, Kaneko K, Miyabe Y, Matsumoto K, Schall TJ, Miyasaka N, Nanki T. Pathogenic role of cxcr7 in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62: 3211-3220.
- 15) Iikura K, Katsunuma T, Saika S, Saito S, Ichinose S, Ida H, Saito H, Matsumoto K. Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; Accepted.
- 16) Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127: 685-688.
- 17) Matsumoto K, Fukuda S, Hashimoto N, Saito H. Human eosinophils produce and release a novel chemokine, CCL23, in vitro. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; Accepted.
- 18) Oboki K, Nakae S, Matsumoto K, Saito H. IL-33 and Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2011; 3: 81-88.

## 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

- 1) W003/000286 好酸球増多性疾患治療薬
- 2) 特許公開 2010-207200 アトピー素因判定マーカー、アレルギー性皮膚疾患素因判定マーカー及びそれらの使用法
- 3) 特許公開 2009-014524 アレルギー疾患推定マーカー及び治療効果判定マーカー、並びに、それらの利用方法
- 4) 特許公開 2007-143544 乳酸菌のスクリーニング方法

### 2. 実用新案登録

なし

## 3. その他

なし