

201024/21A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）の
疾患概念確立、実態把握、
診断治療指針作成に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野村 伊知郎

平成 23（2011）年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）の
疾患概念確立、実態把握、
診断治療指針作成に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野村 伊知郎

平成 23（2011）年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- 新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）の疾患概念確立、実態把握、
診断治療指針作成に関する研究----- 1
国立成育医療研究センター アレルギー科 野村伊知郎

II. 分担研究報告

1. 新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）病型分類のためのクラスター分析
に関する研究----- 13
国立成育医療研究センター アレルギー科 野村伊知郎
国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部 松本健治
国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部 森田英明
2. 診断法開発、末梢血リンパ球刺激試験の有用性に関する研究----- 21
国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部 松本健治
3. 新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）の好酸球体内動態末梢血好酸球、
消化管組織、便中EDNの特徴----- 27
国立成育医療研究センター 新生児科 伊藤裕司
4. 新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）の消化管組織に関する研究- 33
国立成育医療研究センター 消化器科 新井勝大
5. 新生児・乳児消化管アレルギーと好酸球性胃腸疾患に関する研究- 39
群馬県立小児医療センター アレルギー感染免疫科 山田佳之
6. 負荷試験のサイトカイン動態に関する研究----- 41
国立成育医療研究センター アレルギー科 正田哲雄

III. 研究成果の刊行に関する一覧表----- 45

IV. 研究成果の刊行物・別刷----- 49

難治性疾患克服研究事業(H22-難治-一般-066)

研究班名簿

区 分	氏 名	所属等	職 名
研究代表者	野村伊知郎	国立成育医療研究センター アレルギー科	医師
研究分担者	松本健治	国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部	室長
	新井勝大	国立成育医療研究センター 消化器科	医長
	伊藤裕司	国立成育医療研究センター 新生児科	医長
	山田佳之	群馬県立小児医療センター アレルギー感染免疫科	部長
研究協力者 (五十音順)	青田明子	東京慈恵会医科大学 小児科	医師
	赤澤 晃	東京都立小児総合医療センター アレルギー科	医長
	虻川大樹	宮城県立こども病院 総合診療科	科長
	安藤枝里子	川崎市市立川崎病院 小児科	医員
	磯崎 淳	横浜市立みなと赤十字病院 小児科	医長
	伊藤浩明	あいち小児保健医療総合センター アレルギー科	中央検査部長
	伊藤直樹	東京大学医学部附属病院 小児科	助教
	池上 香	日本医大千葉北総病院 小児科	医師
	井上徳浩	近畿大学医学部 小児科	講師
	大石 拓	高知大学医学部小児思春期医学教室	助教
	大塚宜一	順天堂大学 小児科	准教授
	角田文彦	宮城県立こども病院 総合診療科	医師
	勝沼俊雄	東京慈恵会医科大学 小児科	准教授
	木村光明	静岡県立こども病院 感染免疫アレルギー科	医長
	木許 泉	愛知県春日井市民病院 小児科	医長
	後藤志歩	名古屋記念病院 小児科	医師
	近藤 應	岐阜県総合医療センター 新生児内科	医師
	佐野博之	大阪府立母子保健総合医療センター 新生児科	医長
	下条直樹	千葉大学大学院医学研究院 小児病態学	准教授
	杉浦至郎	豊橋市民病院 小児科	医長
	杉浦時雄	名古屋市立大学 小児科	助教
	高増哲也	神奈川県立こども医療センター アレルギー科	医長
	田知本寛	東京慈恵会医科大学 小児科	講師
	竹内 幸	豊橋市民病院 小児科	副部長
	竹中 学	岐阜県総合医療センター 小児科	医師

研究協力者 (五十音順)	寺田明彦	てらだアレルギーこどもクリニック	院長
	林 大輔	筑波メディカルセンター病院 小児科	医長
	坂野公彦	大阪府立母子保健総合医療センター 新生児科	医員
	福家辰樹	浜松医科大学 小児科	助教
	保科弘明	杏林大学 小児科	助教
	細川真一	国立国際医療研究センター 小児科	医員
	松井照明	名古屋大学医学部附属病院	医員
	萬木 晋	国立病院機構神奈川病院 小児科	医員
	三浦克志	宮城県立こども病院 総合診療科	部長
	森田慶紀	千葉大学大学院医学研究院 小児病態学	専属大学院生
	渡辺博子	国立病院機構神奈川病院 小児科	医員
	渡邊美砂	東邦大学 小児科学第一講座	助教
	阿部 淳	国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部	室長
	大矢幸弘	国立成育医療研究センター アレルギー科	医長
	垣内五月	国立成育医療研究センター 新生児科	医師
	斎藤博久	国立成育医療研究センター 研究所	副所長
	正田哲雄	国立成育医療研究センター アレルギー科	フェロー
	津村由紀	国立成育医療研究センター アレルギー科	フェロー
	成田雅美	国立成育医療研究センター アレルギー科	医員
	西 凜	国立成育医療研究センター アレルギー科	併任医員
	二村昌樹	国立成育医療研究センター アレルギー科	医員
	堀向健太	国立成育医療研究センター アレルギー科	医員
	萬木暁美	国立成育医療研究センター アレルギー科	併任医師
	森田英明	国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部	研究員
	山本貴和子	国立成育医療研究センター アレルギー科	フェロー
	吉田幸一	国立成育医療研究センター アレルギー科	フェロー

新生児食物蛋白誘発胃腸炎(N-FPIES)の疾患概念確立、

実態把握、診断治療指針作成に関する研究

平成 22 年度

I . 総括研究報告

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）の疾患概念確立、実態把握、診断治療指針作成に関する研究

研究代表者	野村 伊知郎	国立成育医療研究センター	アレルギー科	医師
分担研究者	松本 健治	国立成育医療研究センター	免疫アレルギー研究部	室長
	伊藤 裕司	国立成育医療研究センター	新生児科	医長
	新井 勝大	国立成育医療研究センター	消化器科	医長
	山田 佳之	群馬県立小児医療センター	アレルギー・感染免疫科	
研究協力者	別紙			

研究要旨

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）は 1995 年頃から急激に報告数が増加してきた。診断が難しいことも多く、重い合併症を残すことがある。平成 21 年度の本研究で明らかにしたように、発症率は 0.21% であり、年間 2000 名程度が発症していると考えられる。実態に関しては謎が多く、診断検査法、病態などほとんど明らかになっていない。これを解決するために、①疾患コホートにより詳細、正確な疾患の臨床像を把握する。②医学情報公開により医師に正確な知識を持ていただくことで、患者を救う。③リンパ球刺激試験を診断検査として確立する。④そのほか急性期の確定診断法を開発、評価する。⑤消化管組織検査を行い、病態を明らかにする。⑥疾患概念を世界に発信、認知を得ること；以上を計画した。

以下、この①から⑥の項目に従って記載する。

研究デザインなど方法

- ① 疾患コホートにより詳細、正確な疾患の臨床像把握を行う；オンライン患者登録システムにより、全国の症例を集積し、臨床症状、検査所見、予後などを検討した。
- ② 医学情報公開により患者を救う；年 2 回の班会議をはじめ、さまざまな会議の議論を通じて、診断治療指針を改定、インターネットで一般公開して情報の普及につとめた。
- ③ リンパ球刺激試験を診断検査として確立する；全国から検体を受け付け、診断検査として寄与するとともに、上清のサイトカイン分析から、その原因サブセット推定を行った。
- ④ そのほか急性期の確定診断法を開発、評価する；好酸球の体内動態を明らかにするとともに、血清サイトカインの評価を行った。
- ⑤ 消化管組織検査を行い、病態を明らかにする；診断困難症例において、消化管組織検査を行い、N-FPIES の病理学的特徴を明らかにする。
- ⑥ 疾患概念を世界に発信、認知を得る；臨床研究結果を国際的な一流誌に投稿す

るとともに、国際会議で議論を重ねた。

結果

- ① 疾患コホート；詳細な臨床症状、検査所見をもとにクラスター分析を行い、4つの疾患サブグループが検出された。この分類は、実地臨床において有用であり、診断治療のより安全な遂行を可能にした。内容は Journal of Allergy and Immunology、2011 年 3 月号に掲載された。また American Academy of Asthma Allergy and Immunology 2011 にて欧米の専門家と議論をかわし、国際的なコンセンサスを得つつある（添付の論文および分担報告野村分参照）。
- ② 診断治療指針の改訂を繰り返し、一般公開を続けている（添付の診断治療指針最新版参照）。
- ③ リンパ球刺激試験のクラスターごとの特徴が明らかとなり、産生サイトカインのプロフィールから責任サブセットの特定に迫ることができつつある。結果は American Academy of Asthma Allergy and Immunology にて口頭発表され、高い評価を受けた（分担報告松本分参照）。
- ④ 末梢血、消化管組織、便を詳細に解析することにより、好酸球の動態が明らかとなった。臨床検査として高度な解釈が可能となった。また、特徴的なサイトカイン産生パターンも明らかとなった（分担報告伊藤分および正田分参照）。
- ⑤ 消化管組織検査を行い、その特徴が明らかとなった（分担報告新井分参照）。診断困難症例には必須の検査と考えられた。
- ⑥ 各種国際学会で議論を重ねており、2012 年度世界アレルギー学会(WAC)ではシンポジストに指名されている。

結語

研究の結果、N-FPIES の実態が徐々に明らかになりつつある。医学情報のインターネットによる公開などにより、全国で最善の診断治療が実施されつつある。診断検査法の開発、病態の解明も進んでおり、今後もこれを継続してより正確な診断治療が行える環境を整え、後遺症に苦しむ患者、保護者を一人でも減らしたいと願っている。

A. 研究目的

我が国において新生児の食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES；欧名にあたるのは Food Protein-Induced Enterocolitis, FPIES であるが、疾患概念に差があり、日本に特有という意味を込めて、N-FPIES を暫定的に使用させていただく）は、1995 年頃より急激に報告数が増加してきた。昨年度の本研究班の調査結果から発症率は 0.21%

と判明し、全国で年間 2000 名程度が新たに発症していると考えられている。N-FPIES は、多彩な症状を示し、検査所見も非特異的で、診断が非常に難しい場合が多い。そのため、死亡例、壊死性腸炎、消化管破裂、消化管閉鎖を起こした症例、また発熱、CRP 陽性から敗血症と誤診された症例など、数多く報告されてきた。不可逆の後遺症を残した例や死亡例は各都道府県数名ずつ存在し

ている。患者、家族にとり悲劇であり、かつ新生児科医を中心とした医療関係者にとっても大きな負担、不安の原因となっている。

不明な点が多い本症の実態を明らかにするとともに、信頼性の高い診断検査を確立すること、得られた情報をインターネットホームページで公開するなどして、本症を早期に診断し、患者を重篤な合併症から、家族を不安から救うことは急務である。具体的には主に、6項目の研究を行っている。以下、これに従って記述してゆく。

- ① 疾患コホートにより詳細、正確な疾患の臨床像把握を行う
- ② 医学情報公開により患者を救う
- ③ リンパ球刺激試験を診断検査として確立する；不耐を起こす食物の同定検査として、食物負荷テスト以外に現在唯一実行可能と考えられているのが、リンパ球刺激試験である。これを refine することが、治療、離乳食開始に必要な。同時に、炎症の主体となっているリンパ球サブセットを同定してゆく。
- ④ そのほか急性期の確定診断法を開発、評価する；急性期の診断検査法がないため、有望な検査法と予想された、便 Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN)、末梢血好酸球数、末梢血サイトカイン測定を開発する。各種の好酸球検査については、結果の解釈が難しいため、今回特に体内動態を明らかにして、考えかたの基本を構築する。特に、有望な便 EDN については、有用性が明らかになれば、保険収載を目指す。
- ⑤ 消化管組織検査を行い、病態を明らかにする；新たな疾患概念を構築する上で、病理組織の研究は重要である。Microarray によって発現解析を行い、炎症に関連した重要な分子を同定するとともに、浸潤している免疫細胞について、免疫組織染色、in situ hybridization によってその性質を見極めていく
- ⑥ 疾患概念を世界に発信、認知を得る

B. 研究方法

- ① 疾患コホート；全国から、経時的に正確なデータを得るために、インターネット上で行うオンライン患者情報登録システムを構築、完成 (<http://www.fpies.jp/>) した (図1)。年間 350 症例程度が登録されるとの予測をしている。今後全国に登録を募って、最終的に 1000 名以上（それ以上の拡張も可能）の登録、データ蓄積を想定している。現時点で約 400 名の登録が終了している。そのなかで、データ収集がほぼ完成している患者 176 名について、今回解析を行った。



図1. オンライン登録システム、表紙

- ② 医学情報公開；年2回の班会議および各種学会において議論を重ね、診断治療指針を改定する。
- ③ リンパ球刺激試験；推定される病態からは、末梢血単核球を特異抗原で刺激し増殖反応を見るリンパ球刺激試験が診断に有用と考えられるが、現在までの報告では有効性について一定の見解が得られていなかった。今回我々は特に刺激するアレルゲン製剤に含まれるリポ多糖 (LPS) を測定、除去した上で行った。
- ④ 診断検査法開発； 発症急性期の、末梢血好酸球数、消化管組織の好酸球浸潤、便の EDN、および発症急性期や食物負荷試験に際し血清中のサイトカインの測定を行った。
- ⑤ 病理組織研究 新生児用の消化管内視鏡を整備し、消化管粘膜の採取を行った。
- ⑥ American Academy of Asthma, Allergy and Immunology をはじめ、国際学会や国際誌にて議論を重ねた。

（倫理面への配慮）

1. 医学的研究及び医療行為の対象となる個人への人権の擁護
検査、各種データおよび評価結果などは個人情報である。この情報によって個人への不利益が派生することがないように、取り扱いと管理を厳重に行う。検査、各種データならびに評価結果は、解析する前に無作為に4桁からなるコード番号をつけ、その番号によって管理し、氏名、生年月日などは削除され、診断名に関してもコード化する。個人とこの符号を結び付ける対応表は、個人情報識別管理者（指定医師）において厳重に保管し個人情報を特定不可能な形式をとり、プライバシーの保護を確実に遂行する。このような管理を厳重に遂行することにより個人の解析結果は、分析を行う研究者にも誰のものか特定できなくなる。

2. 医学的研究及び医療行為の対象となる個人への利益と不利益
今回の研究は通常の治療、診断でおこなっているものであり、これに伴う新たな苦痛、危険はない。その他の調査に関しても患者への時間制限もないため、不利益はないと思われる。利益についても発生しない。

また、結果は集計結果として解析、公表することを予定しており、個人データとしての公表することはないため、個人の不利益になることはない。しかしながら、研究者と対象者が治療をする側とされる側という特殊性から治療、診療に対する理解と共に結果の解析への利用と公表への同意は自由意志でおこなう。協力、同意をしないからといって不利益な扱いを受けないことなど十分なインフォームド・コンセントを行い、強要にあたらないよう十分な配慮をおこなう。

3. 医学的研究及び医療行為の対象となる個人に理解を求め同意を得る方法
本研究の対象患者が新生児、乳児であることから、被験者本人が十分な判断能力又は判断が困難であるため、近親者（両親）に対して以下の説明、同意（代諾）を頂く。対象者となる実施医師には、

本研究の代表者および研究協力者が、本研究の目的と概要、プライバシーの保護と人権の尊重を患者説明文書などに従って詳細に説明する。同意（代諾）も同様に、同意（代諾）文書に署名をして頂くことで同意を得る。

本研究のすべての研究計画は、国立成育医療センター倫理委員会の承認を得ている（2009年9月）。

C. 研究結果

1. 詳細、正確な疾患の臨床像把握を行う

病型分類をクラスター解析によって行い、4つのクラスターを同定した。

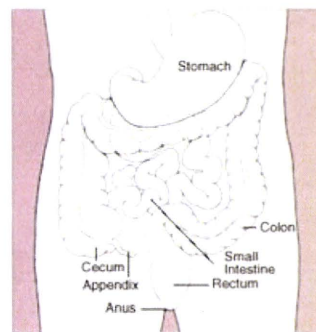


図2；消化管は食道～直腸と広範囲にわたるが、N-FPIESでは患者によって症状が違っており、侵される部位に差があることが予想されていた。

本症は多彩な消化器症状を示す。図2の如く消化管は食道、胃、小腸、大腸と広範囲にわたるが、本症がいくつかの病型に分けられないか、これまでに負荷試験を行い、確定診断できた患者に絞って、臨床情報をもとにクラスター分析を行った。

すると、図3のように4つのクラスターに分かれた。判別分析を行ったところ、嘔吐と血便をもとに分かれていることが明らかとなった。

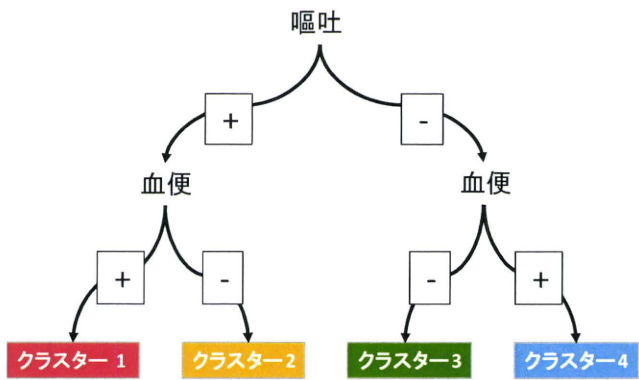


図 3； クラスター分析に引き続き、判別分析を行ったところ、嘔吐、血便の有無によって 4 つに分かれたことが判明した。

これらのクラスターは、それぞれ出生体重の違い、発症日令の違い、便中好酸球の陽性率の違いなど、明らかに biological な特徴を有していた。

最も驚かされたことは、治療寛解後 5-6 か月がたつて行われた負荷試験で嘔吐、血便などの初期症状はそのまま再現されていたことである（図 4）。つまり、炎症細胞の消化管における浸潤部位は各患者で決まっていて、変化しないことがわかった。これらの結果を総合して、各クラスターの消化管の病変部位の存在を予想した。この結果は Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms の題で *Journal of Allergy and Clinical Immunology* に投稿され 2011 年 3 月に発行された。

また、現在オンライン登録も順調に患者数を伸ばしており、疾患コホートは 400 名を数えている。1000 名を目標とし、より正確、精密な臨床像を把握するよう研究を続ける。

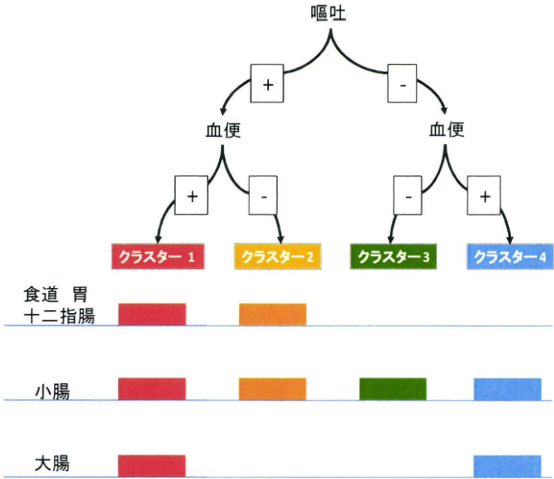


図 4； 4 つのクラスターの炎症の主座となる消化管部位の推定と、クラスターごとの負荷試験の結果を示す。負荷試験は初期症状を高率に再現していることが判明した。

②医学情報公開により患者を救う

年 2 回の班会議を開催し、診断治療指針を作成、年に 1-2 回改訂を行っている。掲載したホームページは多くのアクセスを得て、全国の医師から診断治療法を相談されている。日本アレルギー学会、日本小児アレルギー学会などでシンポジウムを担当し、医師向けの情報を公開、議論を重ねてきた。

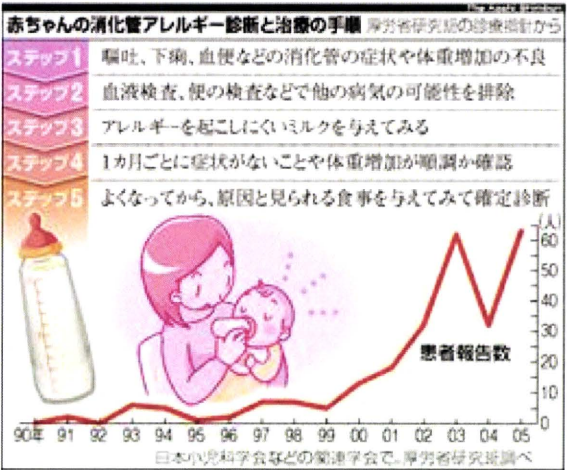


図 5； 2010 年 10 月 27 日、朝日新聞朝刊、本症の概要と本研究班の活動、罹患率が 0.21% であることが報道された

診断治療指針は添付されているので、ご参照いただきたい。また、本研究班の活動内容が朝日新聞朝刊一面トップで報道された(図 5)。

③リンパ球刺激試験

詳細は分担報告書（松本分）にゆずるが、リンパ球刺激に使用される牛乳蛋白は市販の製品は LPS (Lipopolysaccharide) の含有濃度が高いことが判明し、これを除去する必要があることがわかった。これまでの欧米をはじめとする報告が、FPIES についてリンパ球刺激試験が有用でないとしてきた理由がおそらくこれにある。LPS 除去以降は、非常にクリアーカットなデータが得られ始めた。

刺激試験の増殖反応はクラスターごとに陽性率が違い、クラスター1,2 は非常に高く、クラスター3,4 は軽度の増殖であった。反応液の上清サイトカインも、非常に特徴的なパターンを示した。N-FPIES では TNF-alpha や IL-6 が特に高く、これまで判別が不能とされていた、即時型食物アレルギーのリンパ球増殖反応では上昇が見られなかった。そのほかのサイトカインについても、さまざまな知見が得られた。

④ そのほかの有力な診断検査の開発として、各種好酸球検査(末梢血好酸球、消化管組織好酸球、便 Eosinophil-Derived Neurotoxin; EDN) と、血清サイトカイン検査を行った。詳細は分担報告書にゆずるが、いずれも有用であることが判明した。好酸球については、結果解釈が困難であると考えられてきたが、その体内動態を明らかにすることで、精密な解釈が可能となった。

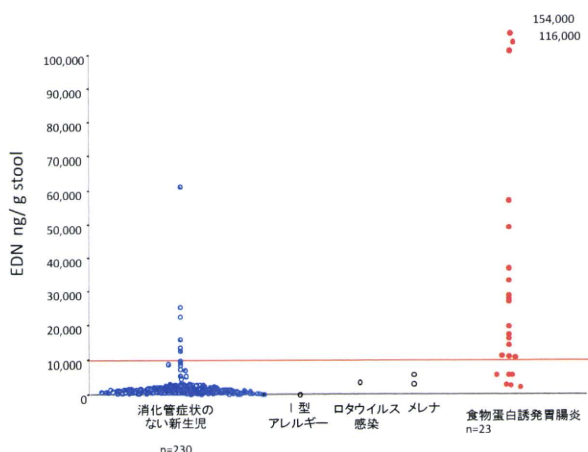


図6；便に含有される EDN (Eosinophil Derived Neurotoxin) の測定結果。対照新生児はほとんどが 4000 以下を示し、N-FPIES では高値を示した。カットオフを 10,000 とすると、尤度比は 28 となり、非常に優れた検査となる可能性が高い。

便における EDN の測定を行い、消化器症状のない新生児コントロールとの比較が行われた。図のように尤度比 28.3 と優れた検査法になることが判明した。また、前述のクラスターによって、値の高低があることも発見された。今後症例数を増やして論文化し、保険収載を求めてゆく。

⑤ 消化管組織検査

これまでに 12 名の本症患者の組織検査を行った。組織上の特徴は、

1. 消化管の炎症は 4 つのクラスターにかかわらず、広い範囲に存在する。
2. 好酸球の浸潤が著明で、多彩な炎症細胞の浸潤が見られる。
3. 上皮細胞層は比較的保たれていて、粘膜固有層に著明な浮腫や炎症細胞浸潤が見られる。(2011 年 5 月、日本アレルギー学会にて野村発表予定)

これらの組織は、潰瘍性大腸炎、クローン病、外科手術で得られた正常コントロールサンプルなどとマイクロアレイにて比較中である。

⑥ 疾患概念を世界に発信、認知を得る

臨床症状、疾患概念、検査法開発について国際学会での発表を重ね、論文発表を行っている。

D. 考察

① 疾患コホート

本症のサブグループ（図 3,4）については、欧米の疾患概念にあてはまる部分もあるが、半数は新たな疾患概念でとらえる必要がある。そのため、N-FPIES としてまずは一括して診断し、その後サブグループ分けをすると、診断治療がスムーズに行えると考ええる。

② 医学情報公開により患者を救う；診断治療指針は全国で使用されつつあり、患者の診断と治療に成果を上げていていると考えられる。ゆくゆくは様々な疾患の診断治療指針作成時に欧米で標準となりつつある GRADE システムなどを導入し、よりエビデンス、使い勝手ともにレベルアップを図る予定

である。

- ③ リンパ球刺激試験 世界的に研究が滞っていたこの検査法について、3つの大きなブレークスルーが得られた。特徴的なサイトカイン産生パターンが明らかとなり、4つのサブグループによって大きく異なることなどが判明した。病態の差、責任リンパ球サブセットが明らかとなる可能性が高まってきた。

④ 診断検査法開発

データの解釈に困難性があった各種好酸球のデータから、その体内動態を明らかにすることができた。このため、結果の解釈がこれら確実な背景をもって行えるようになった。つまり末梢血好酸球、消化管組織、便 EDN の組み合わせによって、正確な診断検査へと発展しつつある。特に EDN は保険収載を目指している。

また、血清サイトカインは、病態を説明できる結果となり、興味深い。症例を増やして診断的価値の有無をはっきりとさせたい。

- ⑤ 病理組織研究；主に、診断困難症例で消化管内視鏡が行われた。クラスター3の患者が多かった。クラスター3,4に関しては、消化管組織検査において好酸球や単核球など多彩な炎症細胞の浸潤が多くみられた。しかし、内視鏡を行った段階のマクロ所見の段階では、表面のダメージが目立たないために、見逃しが起きる可能性がある。必ず組織を評価することが重要と考えられた。

同時に消化管組織はマイクロアレイ、シーケンサーなど最新の検査を行うことによって病態の根本を明らかにすることができる可能性が高い。今後研究を進め、新たな診断治療法の開発を行いたい。

- ⑥ N-FPIES の概念や臨床所見について、世界的な学術誌に掲載され、かつリンパ球刺激試験をはじめとする診断検査についても、報告を進めている。2011年度は、世界アレルギー学

会でのこの分野のシンポジウムにも招待されており、より深い議論が行えると思われる。我々の知見、診断治療指針が世界で使用され、苦しむ患児を救うことを目標に研究を進めたいと考えている。

E. 結論

研究の結果、N-FPIES の実態が徐々に明らかになりつつある。臨床現場で注目すべきポイント、考え方のコツが次々とみつき、整理されつつあると感じる。医学情報のインターネットによる公開、学会での討議を通じて、全国で最善の診断治療が実施され、医学情報によって患者を救えているという評価に至る所でいただいている。

国際的にも、reviewer との厳しい議論を重ねた上で、アメリカのアレルギー学会誌に掲載され、国際学会でも賛同が得られ始めている。

今後は更なる診断検査法の改善、病態の解明を進めてゆく必要がある。

今後ともこれを継続してより正確な診断治療が行える環境を整え、後遺症に苦しむ患者、保護者を一人でも減らしたいと願っている。

F. 健康危険情報

本症は、診断が難しい場合も多く、治療開始の遅れから、重大な合併症を起こす例、死亡例もある。急激な進行をとる場合もあるため、ある程度鑑別診断が済んだら、確定診断にこだわらずに、栄養変更などを行う治療的診断へ移行することが重要である（診断治療指針参照）。

また、負荷試験を行う場合はショックが起きること、重症下痢により脱水が起きることなどを念頭に、十分な準備の上、行う必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms
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, J Allergy Clin Immunol. 2011 Mar;127(3):685-688.e8.

2. 野村伊知郎、森田英明 新生児-乳児消化管アレルギー 小児科診療 2010 年 4 月 30 日発刊 第 73 巻増刊号 小児の治療指針 263-267
3. 野村伊知郎、森田英明 新生児-乳児消化管アレルギー 特集 食物アレルギー最新情報、I V 注意が必要な食物アレルギー 小児科診療 第 73 巻 7 号 2010 年
4. 野村伊知郎、新たな疾患・病態の概念 新生児-乳児消化管アレルギー 小児科診療 72 巻 7 号、1225-1236 (2009.07)
5. 野村伊知郎、Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome (FPIES), 臨床、病態のまとめと診断治療指針作成、小児アレルギー学会雑誌、2009、第 23 巻第一号、34-47.

2. 学会発表

- 1) Four clusters were identified in abruptly-increasing neonates and infants with food protein-induced gastrointestinal syndrome, Nomura I et al. American Achademy of Athma Allergy and Immunology, Annual meeting, March 20th, 2011 in Sanfrancisco CA.
- 2) Morita H, Nomura I et al. Milk protein-specific cytokine secretion profiles in infant patients with FPIES and proctocolitis. American Achademy of Athma Allergy and Immunology, Annual meeting, March 21th, 2011 in Sanfrancisco CA. (Oral presentation was done by Nomura I, because of earthquake)
- 3) 新生児・乳児消化管アレルギーの病型分類、森田英明、野村伊知郎、松本健治、斎藤博久 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2010 年 5 月 8 日、国立京都国際会館
- 4) 新生児・乳児消化管アレルギーにおける便中 Eosinophilic-Derived Neurotoxin 測定の有効性 野村伊知郎、森田英明、伊藤直樹、正田哲雄、渡邊美砂、新井勝大、松本健治、斎藤博久、大矢幸弘：第 60 回 日本アレルギー学会秋季学術大会、2010 年 11 月 27 日、場所；東京国際フォーラム
- 5) シンポジウム 新生児・乳児消化管アレルギー 新生児 乳児消化管アレルギーの病態、森田英明、野村伊知郎、斎藤博久、松本健治、第 47 回日本小児アレルギー学会、2010 年 12 月 4 日 場所；パシフィコ横浜
- 6) シンポジウム 新生児・乳児消化管アレルギー 新生児 乳児消化管アレルギー 最近の動向 小児アレルギー科医の立場から、野村伊知郎、第 47 回日本小児アレルギー学会、2010 年 12 月 4 日、場所；パシフィコ横浜
- 7) 小児消化管アレルギー Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome(FPIES)における LPS 除去乳抗原を用いたリンパ球幼若化試験、森田英明、野村伊知郎、松田明生、斎藤博久、松本健治 第 60 回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2010 年 11 月 26 日 場所；東京国際フォーラム
- 8) Nomura I et al. Elevation of Fecal Eosinophil-Derived Neurotoxin in Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome American Achademy of Asthma, Allergy and Immunology Meeting, March 2010, New Orleans
- 9) Morita H et al. Food protein-specific lymphocyte proliferation assay for the diagnosis of Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome American Achademy of Asthma, Allergy and Immunology, March, 2010, New Orleans
- 10) 2009 年 12 月 小児アレルギー学会シンポジウムを運営
- 11) 森田英明ほか、新生児・乳児消化管アレルギーの診断法について アレルゲン特異的リンパ球刺激試験 新生児乳児消化管アレルギーの診断と病態解明を目指して 日本小児アレルギー学会、2009.12.
- 12) 野村伊知郎、新生児・乳児消化管アレルギーの診断法について 好酸球関連物質について 日

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

本小児アレルギー学会, 2009.12.

症例集積研究と診断検査法について、日本小児
栄養消化器肝臓学会、2009.10.

- 13) 伊藤直樹ほか、新生児乳児消化管アレルギー
(FPIES)は胎児期から発症する 日本未熟児新生
児学会、2009.10.

- 14) 正田哲雄ほか、敗血症様の症状を呈した乳児消
化管アレルギーの一例 日本小児アレルギー学
会、2009.12

- 15) 近藤應ほか、当施設における新生児の便中 EDN
の検討と新生児乳児消化管アレルギーの診断へ
の応用、日本小児アレルギー学会、2009.12.

- 16) 野村伊知郎ほか、新生児-乳児消化管アレルギー、

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 便 EDN 測定は、保険収載を目指している。

平成 22 年度

Ⅱ．分担研究報告

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）病型分類のためのクラスター分析に関する研究

研究代表者 野村 伊知郎 国立成育医療研究センター アレルギー科 医師
分担研究者 松本 健治 国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部 室長
研究協力者 森田 英明 国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部
新生児乳児アレルギー疾患研究会の先生方

研究要旨

目的；新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）は 1990 年台終わり頃から急激に報告数が増加してきた。診断が難しいことも多く、重い合併症を残すことがある。欧米の類縁疾患の疾患概念は、部分的に合致するものの、臨床症状や検査所見が合わない患者も多く、診断に至らず、臨床現場を混乱させている。このため、我々は一旦すべての患者をを N-FPIES として一括し、臨床症状や検査所見から科学的な手法を用いて分類を行い、もれなく適切な病型を与え、治療や検査を行えることをねらい、研究を行った。

研究デザインなど方法

全国から研究班に報告された 176 名の患者のうち、負荷試験を行い、確定診断できた 46 名について、出生体重、発症日令、初期症状における嘔吐の重症度、同じく血便の重症度、ミルク特異的 IgE 抗体の 5 つの変数を用いてクラスター分析を行った。また、分析の結果生じた 4 つのクラスターについてそれぞれの臨床的特徴、検査所見などを調査した。

結果

クラスター分析の結果、4 つのクラスターがあることがわかった。判別分析によると、初期症状における嘔吐の有無、血便の有無によって分かれていることが明らかとなった。病変が存在すると予想される消化管の部位も記す。

クラスター1 は嘔吐（+）、血便（+）；全消化管にわたると予想

クラスター2 は嘔吐（+）、血便（-）；上部消化管と予想

クラスター3 は嘔吐（-）、血便（-）；小腸が中心と予想

クラスター4 は嘔吐（-）、血便（+）；大腸が中心と予想

それぞれが、臨床症状、検査所見の特徴をもち、かつ半数の患者は、現存する欧米の疾患概念にも対応させることができる。また、負荷試験の誘発症状が、初期症状とほぼ同じであった。

結語

クラスター分析により、4 つのクラスターがあることが発見された。数ヶ月後に行われた負荷試験においても同様の症状が誘発されたことから、食道から直腸に至る消化管という広い範囲の中で、クラスターごとに部位がある程度特定でき、その性質が数カ月保存されることから、診断治療が行いやすくなった。なお内容は、Journal of Allergy and Clinical Immunology に掲載され、国際学会で議論された。国

際的にも評価され、認知されつつあると考えている。この病型分類は臨床的にも研究を進める上でも非常に有用であると考えられた。

A. 研究目的

我が国における新生児の食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）について、欧米の疾患概念で近いものとして、Food Protein-Induced Enterocolitis, (FPIES), Food Protein-Induced Enteropathy (Enteropathy), Food Protein-Induced Proctocolitis (Proctocolitis) がある。しかし、我が国の患者はこれら疾患概念のどれにもあてはまらないことが多く、早期診断の妨げになっている。FPIES は摂取後数時間で嘔吐や下痢の症状をきたし、かつ好酸球の上昇はほとんどない。しかし我が国の同タイプの患者は、これに加えて血便を見ることが多く、またしばしば好酸球は高値を示す。Proctocolitis は、白人の男児に多いが、血便のみが見られ、体重増加などは影響を受けない、非常に軽症の疾患である、しかし我が国の同タイプの患者は、体重増加不良も多く、大出血を起こしたり、結腸全体が侵されていることも多い。これら欧米の診断名に我が国の患者を当てはめようとすると、合わない部分があるため、主治医は苦悩したり、指導医から更なる診断名の探索を求められることがあり、臨床現場は混乱することになる。

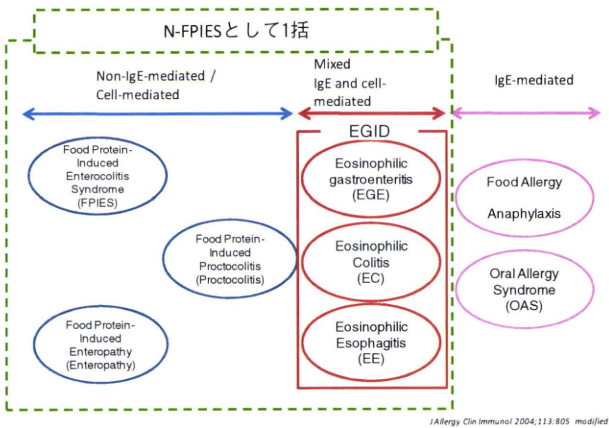


図1；食物が原因となる食物蛋白誘発胃腸炎類縁疾患は、IgE mediated, non-IgE mediated とそれらの混合型に分類される。我々は消化管を場とする疾患を総称して N-FPIES と呼ぶことにしている。

これを解決するため、一旦すべての患者を N-FPIES として一括し（図1）、科学的手法を用いて分類することで、明瞭な診断システムを構築したいと考えた。これにより、診断治療の迅速化が期待できる。

B. 研究方法

患者について

図2に示すように、2007年から2010年3月までに研究班に登録された176名のうち、パウエルの簡単な診断ステップ（①治療乳の導入で症状が消失、②鑑別診断により他の疾患が否定され、③治療開始後体重増加が得られる）を満たした患者が136名あった。このうち、負荷試験を行うことができ、陽性が確認された患者46名について分析を行った。

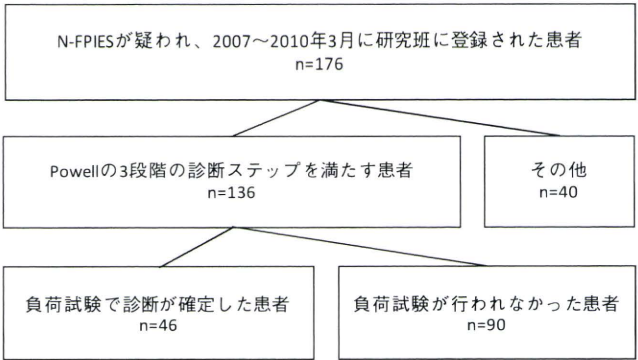


図2. 解析された患者のアルゴリズム

クラスター分析

研究班で収集したデータのうち、欠損値のあるデータや、判定があいまいなデータなどを除外していくと、出生体重、発症日令、嘔吐の重症度、血便の重症度、ミルク特異的IgE抗体の5つの変数が残った。上部消化管を代表する症状として嘔吐を、下部を代表して血便を採用した。これらの症状は、評価が厳密に行えることから、クラスター分析に適していた。分析ソフトは SPSS version

18 を使用した。Wald minimum-variance hierarchic clustering method, 平方ユークリッド距離を採用し、変数は最大値を 1 とする変換を行った。ANOVA, Tukey-Kramer test、カイ二乗検定も使用された。

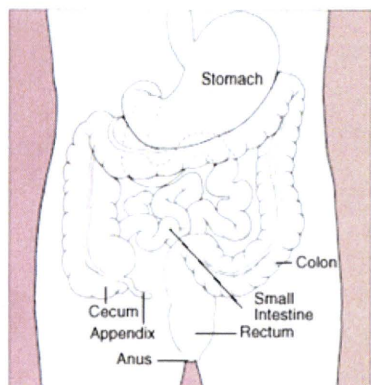


図 3；消化管は食道～直腸と広範囲にわたるが、本症は、患者によって侵される部位に違いがあることが予想されていた。クラスター分析に当たっては、上部消化管を代表する症状として嘔吐を、下部を代表して血便を採用した。

（倫理面への配慮）

詳細を総括のページに記載している。

本研究のすべての研究計画は、国立成育医療センター倫理委員会の承認を得ている（2009 年 9 月）。

C. 研究結果

46 名の患者はクラスター分析により、4 つのクラスターに分かれた。クラスター 1 は 14 人、クラスター 2 が 16 人、クラスター 3 が 6 人、クラスター 4 が 10 人であった（図 4）。これらのクラスターがどの変数によって分類されたのかを、判別分析を用いて検討したところ、嘔吐と血便という臨床症状によって分かれていることが判明した（図 5）。

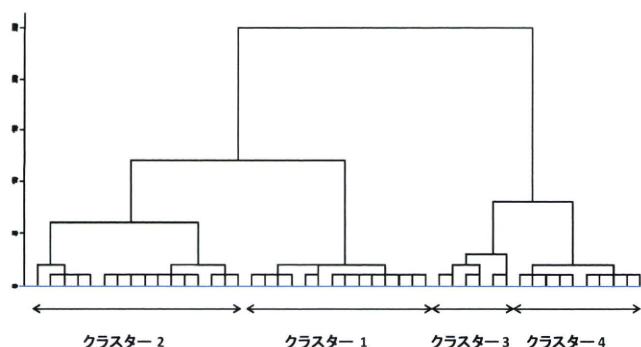


図 4；5 つの臨床パラメーターを変数として、負荷テストで診断確定済みの 46 例で、クラスター解析を行ったところ、4 つのクラ

スターが検出された。

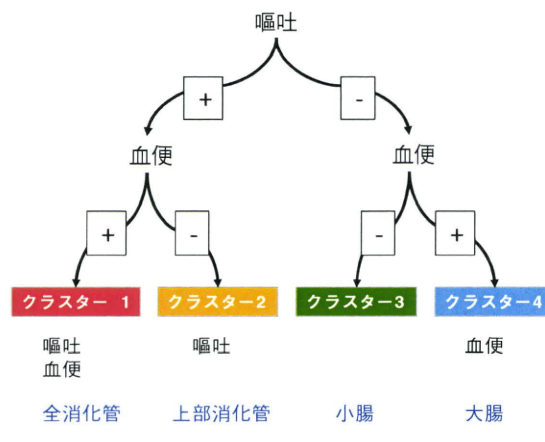


図 5； クラスター分析に引き続き、判別分析を行ったところ、嘔吐、血便の有無によって、4 つに分かれたことが明らかになった。また、それぞれの症状から、推定される主たる病変部位を青字で示した。

クラスター 1；嘔吐（+）、血便（+）

クラスター 2；嘔吐（+）、血便（-）

クラスター 3；嘔吐（-）、血便（-）

クラスター 4；嘔吐（-）、血便（+）

となる。ここで、クラスター 3 に分類されていた 1 名は、明らかに血便があったため図 5 をもとに、クラスター 4 に再分類した。これにより、最終的にクラスター 1 は 14 人、クラスター 2 が 16 人、クラスター 3 が 5 人、クラスター 4 が 11 人となった。

臨床症状から消化管の主たる病変部位を推定すると、嘔吐と血便が両方あるクラスター 1 は全消化管に病変が及ぶと考えられ、嘔吐がメインのクラスター 2 は上部消化管が中心で下痢が強ければ小腸も含まれると考えられる。嘔吐も血便もなく、下痢や体重増加不良のみのクラスター 3 は、吸収不良が前面に立ち、小腸に主病変があることを想像させる。血便が主のクラスター 4 は、大腸が主たる病変部位であろう。

表 1. クラスターごとの患者臨床データ(計 46 人)

	クラスター 1 (n = 14)	クラスター 2 (n = 16)	クラスター 3 (n = 5)	クラスター 4 (n = 11)	P 値
出生体重 (g)	2,642 (2,410-3,030)	2,745 (2,223-3,079)	1,008 (907-2,491)	2,678 (2,512-3,170)	0.03*
男性/女性	6/8	9/7	2/3	5/6	0.95
初期症状					
発症日令	7.5 (3-23)	16.5 (9.5-33.5)	37 (8.5-132)	7 (2-56)	0.17
嘔吐 (%)	100	100	0	0	0.000*
血便 (%)	100	0	0	100	0.000*
発熱 (%)	7.1	18.8	20.0	0	0.45
(検査値)**	n	n	n	n	
末梢血好酸球 (%) §	13 15 (3.0-23)	14 7 (3.9-19.3)	5 27 (3.2-39.3)	11 14 (4.5-25)	0.63
WBC (x10 ⁹ /ml) ¶	13 18.4 (13.7-22.7)	14 15.7 (11.4-21.9)	5 21.8 (11.0-27.7)	11 13.1 (8.2-18.3)	0.64
総 IgE (IU/ml) #	14 5.2 (4.8-28.3)	16 11.4 (5.0-80.8)	5 7.4 (5.5-653.5)	10 5.0 (2.0-5.8)	0.36
Milk-specific					
IgE (class 1<) 陽性率 (%)	14 57	16 37.5	5 40	11 9	0.28
CRP (陽性率%, 0.5<)	13 46	14 50	5 40	10 30	0.47
便好酸球 陽性率 (%)	8 50	6 33	3 0	7 100	0.01*
摂取ミルク種類 (それぞれに対する反応率 %)					
牛乳由来ミルク	14 100	16 100	5 100	10 100	-
母乳	8 38	7 0	2 50	7 27	0.40
加水分解乳	9 0	10 20	2 0	8 63	0.02*
経口負荷試験					
摂取後症状出現 (h)	6 (1.8-12)	10 (2-24)	48 (24-60)	24 (24-48)	0.17
嘔吐 (%)	85.7	81.3	0	9.1	0.000*
血便 (%)	28.6	6.3	0	72.7	0.001*
下痢 (%)	21.4	31.3	60.0	18.2	0.33

データは中央値と四分位数範囲 (IQR) で示している
* p<0.05
** n は検査された患者数
§ 好酸球の正常値は 0-4%だが、新生児期にはそれよりも高いことが知られている。特に未熟児で顕著である (Pediatr Neonatol. 2010;51:116-23).
¶ 新生児期の正常値は 7.0-25.0 x 10⁹/ml.
乳児期の総 IgE 正常値は、20 IU/ml 以下

表 1 にそれぞれのクラスターの臨床情報を載せているが、それぞれのクラスターが興味深い特徴を持っていることがわかった。まず出生体重であるが、クラスター 3 は未熟児が多かった。発症日令は、クラスター 1 と 4 が中央値 7 日と、早期発症であり、クラスター 2 と 3 は遅い傾向があった。血液検査では、有意な差は認めなかったが、便の好酸球がやはり血便がみられるグループである、クラスター 1 と 4 で陽性率が高かった。摂取ミルクでは、加水分解乳に反応する患者がクラスター 4 で有意に多かった。最も驚かされたのは、経口負荷試験の結果である。嘔吐や血便などの誘発症状は、ほとんど初期症状と同じであった。また、症

状出現時間は、嘔吐があるクラスター 1 と 2 で中央値 6-10 時間と早く、クラスター 3, 4 では遅い傾向があった。初発時から半年程度寛解状態を維持してから行った負荷試験によって同様の症状が惹起されたことは、おそらく、本症の担当免疫細胞が、寛解後も消化管粘膜に残存し、反応したのではないだろうか。

46 名の確定診断児での結果を確認するために、136 名の診断がほぼ間違いないと考えられる児で同様の分析を行った。136 名に増やしても、同様の結果が得られた (表 2)。出生体重や、発症日令のクラスター間の差はより顕著となった。

表 2. クラスターごとの患者臨床データ(計 136 人)

	クラスター 1 (n = 38)	クラスター 2 (n = 43)	クラスター 3 (n = 24)	クラスター 4 (n = 31)	P 値
出生体重 (g)	2,823 (2,501-3,267)	2,581 (1,779-3,016)	1,363 (1,023-2,611)	2,778 (2,512-3,100)	0.000*
男性/女性	19/19	28/15	13/11	12/19	0.16
初発症状					
発症日令	6 (4-8)	29 (7.5-52)	16.5 (9.5-37.5)	7 (2-35)	0.01*
嘔吐 (%)	100	100	0	0	0.000*
血便 (%)	100	0	0	100	0.000*
(検査値)**	n	n	n	n	
末梢血好酸球 (%)	35 15 (3.5-21.0)	40 9 (5.3-25.0)	20 26 (14.1-39.3)	28 17 (8.5-23.8)	0.005*
WBC (x10 ⁹ /ml)	32 18.7 (14.5-23.5)	40 13.8 (10.4-22.1)	23 15.9 (13.9-24.4)	27 13.9 (11.4-19.5)	0.16
総 IgE (IU/ml)	32 5.2 (4.1-23.1)	40 5.8 (4.0-17.8)	22 13.2 (5.5-122.9)	28 5.0 (3.3-6.0)	0.001*
ミルク特異的 IgE (class 1<) 陽性率 (%)					
CRP 陽性率 (%)	31 41.9	38 23.7	20 50	27 19	0.24
	36 61	40 45	20 70	27 33	0.69

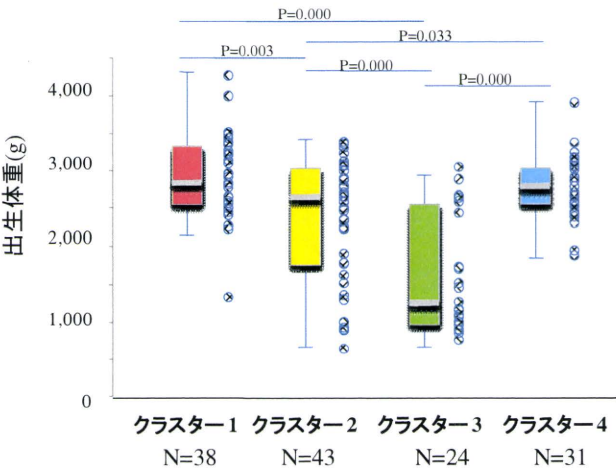


図 6; クラスターごとの出生体重の差 クラスター 3 は有意に出生体重が低い、さらに正常体重と低出生体重の 2 つのサブクラスターに分かれていることが見て取れる