

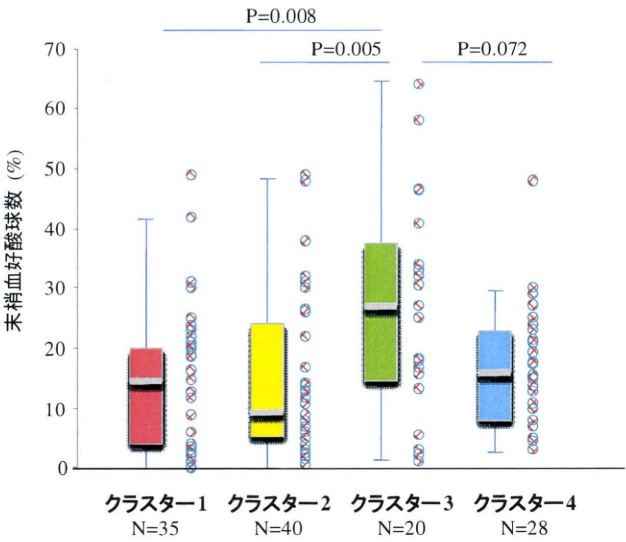


図 7. クラスターごとの末梢血好酸球数 クラスター3 が有意に高い。これは症状に乏しく、発見までに時間がかかり、炎症が持続することが理由としてあげられる。

表 3；重症と判断された 15 名の詳細

Patient No.	性別	クラスター	合併症	発症日令	合併症出現直前の栄養	注意すべき点
1	F	1	イレウス	8	普通ミルク7日	
2	M	1	イレウス	5	普通ミルク3日、母乳6日	手術による解除
3	F	1	イレウス	8	母乳9日	手術による解除
4	F	1	ショック	2	普通ミルク2-3回	血便著明、輸血
5	F	1	ショック	21	母乳18日	血便著明、DIC
6	F	2	イレウス	14	母乳2日	
7	F	2	ショック	36	母乳30日	無呼吸、嘔吐著明
8	M	2	ショック	30	普通ミルク50 ml 1回	嘔吐著明
9	M	2	ショック	241	大豆食品2-3回	嘔吐下痢著明、ICU 入院
10	M	3	イレウス	61	母乳45日	胆汁うっ滞
11	F	3	ショック	22	普通ミルク21日、母乳21日	ICU 入院
12	F	3	深刻な 体重減少	12	母乳数か月	発達障害
13	M	3	深刻な 体重減少	46	普通ミルク30日、母乳30日	発達障害
14	F	4	イレウス	2	普通ミルク6日、母乳3日	S状結腸狭窄
15	F	4	イレウス	7	普通ミルク10日	

今回の 176 名の分析のなかで、生命にかかわる合併症を起こし、重症と考えられた患者が 15 名存在した。これを表 3 にまとめたが、イレウス、急激な脱水などによるショック、brain atrophy を伴う体重減少などが見られた。約 10% の患者が重症という結果となった。

D. 考察

今回のクラスター分析により、4 つの特徴的なクラスターが検出された。

まず、疾患概念に差があるものの、それぞれのクラスターと欧米の疾患概念と異同をみてみよう。クラスター1 は、嘔吐と血便が同時に起こり、上部消化管から大腸に至る、全消化管に病変があると考えられる。負荷試験の反応時間は短く、欧米の FPIES に相当するとも考えられるが、通常 FPIES は血便はほとんど伴わないという報告が多数あり、この点が異なる。日本に特有の疾患である可能性もある。クラスター2 は、嘔吐と下痢がメインであり、負荷試験反応時間からも FPIES に近い。しかし、FPIES はミルク特異的 IgE は陽性とはならず、好酸球も正常範囲であることが多いため、クラスター2 と FPIES は検査値が異なると言える。クラスター3 は、嘔吐や血便がなく、下痢が見られない場合は、体重増加不良のみが症状となることがあり、消化器疾患を疑うことさえ困難な場合があり、特に注意を要するグループである。欧米の疾患概念の Enteropathy にあたり、臨床症状と病理の検査（好酸球の著明な浸潤）は近いと言える。しかし、クラスター3 は、60% に達するような異常な末梢血好酸球数が見られ、ほとんど上昇を見ない Enteropathy との違いがある。クラスター4 は、欧米の概念でいえば、Enteropathy、好酸球性胃腸炎の早期発症型、そして体重増加が正常で全身状態が良好であれば Proctocolitis と呼ぶことも可能であろう。しかし、欧米では白人男子に多い Proctocolitis がほとんどを占め、体重増加不良や大出血を伴うこともあるクラスター4 との違いは大きい。これらの国家間の違いについては、2011 年 3 月、サンフランシスコで開催された American Achademy of Asthma Allergy and Immunology でも議論となったが、それぞれの国で症例集積の研究を重ねて、実態に迫ろうとの結論であった。

発症時期の違い

クラスター1 と 4 は比較的早期に発症し、2 と 3 は遅い発症が多かった。このことから、これらク

ラスター間に発症メカニズムの違いがあることが想像される。

クラスター2と3は区別が難しい場合がある

クラスター2と3が場合によっては区別しがたいことがある。そのわけは Enteropathy に近いタイプであっても、長期に炎症が続いた場合、嘔吐が誘発される可能性があるからである。このときは、負荷試験が有用で、負荷試験の反応時間はクラスター2が数時間後と早いため、区別可能な場合がある。

消化管の解剖学的部位をある程度限局できる 患者も医師も安心感を得る

この分類によって消化管の解剖学的部位をある程度限局することができた。これにより鑑別疾患を絞り込み、障害部位に応じた治療を計画し、誤食や負荷試験時の注目すべき症状を予測して診療を行うことができるため、患者にとっても医療者にとっても、負担が減るとともに、精度の高い診療に集中することができるようになった。

早期診断が可能に

食物蛋白誘発胃腸炎が疑われた場合、これまでの欧米の疾患概念に無理に合わせる必要がなく、症状からすべての患者が、簡単に分類されるようになった。つまり早期の診断治療が行えるようになったといえる。

病因の探求の際に有用

今回、クラスターごとに biological な差があることが明らかとなった。病態生理や病因を探求する上で、クラスターの切り口を設けることにより、より正確な科学的評価を展開できると思われる。

重症例の警鐘

今回検討した 176 名のうち、15 名は重大な合併症を起こしていて、重症例と考えられた。通常このような研究への参加が保護者から同意を得られるケースはどちらかというと診断治療が速やかに進んだ場合である。それにもかかわらず、10%近くの

重症例があるということは、実際にはより多くの重症例が報告されずにいると考える必要がある。

クラスター3の診断治療の困難性

クラスター3は、嘔吐や血便が見られないことから、体重増加不良が唯一の症状という症例が多い。体重増加不良は、その鑑別疾患は多数に上り、稀少疾患や診断検査があいまいな疾患もあり、必ずしも完全な鑑別検査が行えるとは限らない。そのなかで、消化器疾患、特に本症を疑うことは簡単なことではない。しかも疑ったところで、診断検査としては、消化管内視鏡検査が必要となることが多く、これは新生児や乳児の高度の技能を持った消化管専門医と、鎮静を行う麻酔科医の存在が不可欠である。これを無理なく行うためには、地域における小児センター病院へのすみやかな紹介が必要である。これを促進するため、例えば成育医療研究センターでは関東一円からの紹介を受け付けたいと考えている。

炎症細胞の推定

本症は細胞性免疫が主体でおきる炎症であり、中心となるリンパ球サブセットはヘルパーT細胞が想定される。好酸球が異常に上昇することからは Th2 が、発熱や CRP 陽性が見られることから、Th17 などが参加しているのではないと思われる。ただ、証明されたわけではなく、想定されるサイトカイン；IL-13, 5, 17, 6, TNF-alpha などが単一のサブセットから放出されている可能性もある。新たな免疫学のパラダイムを提供することになるかもしれない。今後の重要な研究課題である。

E. 結論

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。

また、この結果に満足せず、今後は、現在 400 例に達した本研究班の疾患コホートの患者について、詳細な検討を行い、より正確で深みのある実態把握を行おうと考えている。

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、十分な準備の上行いたい。また、心疾患や遺伝疾患など handicap を持った児、初期症状が重症と考えられる児では、負荷試験を行わずに、ほとんどが寛解すると考えられている 3 歳まで除去を続けることも正しい選択と考える。

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.
1. 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
2. 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

3. 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)
4. 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 Academy of Allergy and Immunology, Annual meeting, March 20th, 2011 in San Francisco CA.
- 2) 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
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 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.
- 6) 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
- 7) 野村伊知郎ほか、新生児-乳児消化管アレルギー、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.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

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。

「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」

分担内容；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

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

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

斎藤博久 国立成育医療研究センター 免疫アレルギー研究部

木村光明 静岡こども病院 感染免疫アレルギー科

新生児乳児アレルギー研究会所属医師

研究要旨

背景、目的

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（以下 N-FPIES とする）の発症には、非 IgE 依存性の何らかの免疫学的機序が関与すると考えられている。しかし、これまでの報告では、細胞性免疫検査であるリンパ球刺激試験の診断や病態解明における有用性は定まっていない。今回、N-FPIES とコントロール患者の末梢血を用いて、リンパ球刺激試験の有用性を確かめるとともに IgE 依存型の機序で起きる疾患との違いを明らかにすることを目的として研究を開始した。

方法

リンパ球刺激試験；末梢血もしくは臍帯血を採取し、単核球を分離、Lipopolysaccharide (LPS) 除去牛乳蛋白抗原（ α -カゼイン、 β -カゼイン、 κ -カゼイン、 α -ラクトアルブミン、 β -ラクトグロブリン）とそれぞれ培養を行った。5 日間の培養後に ^3H -thymidine の取り込みが測定した。また、6 日間培養後の培養上清を用いてサイトカイン測定を行った。

患者および対照児；N-FPIES 患者は、除去試験陽性で診断した患者 29 名（負荷試験での確定診断 11 名含む）、IgE 依存型食物アレルギー患者 6 名、対照として正常分娩で採取された臍帯血とアトピー性皮膚炎児 16 名で行った。N-FPIES 患者は、今年度我々が報告した Cluster 分類に準じて分類し、Cluster 別に解析を行った。

結果

LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いたリンパ球刺激試験では、対照群で増殖反応を示さなかったが、N-FPIES 患者の一部と IgE 依存型食物アレルギー患者で増殖反応を示すことが明らかとなった。N-FPIES 患者では、IgE 依存型食物アレルギー患者と異なり、抗原特異的な TNF- α の産生が高い傾向があることが明らかになった。また、特に Cluster 1 において IL-4 や IL-5、IL-13 といった Th2 サイトカインの産生が高い事が明らかになった。

結語

LPS 除去リンパ球刺激試験は N-FPIES の一部の病型において診断に有用であると考えられる。また N-FPIES が疾患機序の面からも IgE 依存型食物アレルギーとは異なることが明らかになった。また、これまで N-FPIES の疾患機序は細胞性免疫とされてきたが、N-FPIES においても Th2 細胞が関与していることが示唆された。

A. 研究目的

N-FPIES は食物摂取に誘発されて新生児期、もしくは乳児期に嘔吐、血便、下痢をはじめとする消化器症状を示す疾患である。重症者はショック、アシドーシス、低体温、メトヘモグロビン血症、イレウス、消化管破裂などが見られることがある。ほとんどの患者は皮膚プリックテストが陰性で、食物蛋白特異的 IgE 抗体も見られないことが多い。そのため、現時点では、問題となる食物蛋白の同定法は、食物負荷試験などによる症状再現を観察するしかないのが現状である。食物負荷試験は危険を伴い、重症者では施行が困難であるため In vitro での原因抗原同定法が熱望されている。高精度のリンパ球刺激試験は想定される疾患機序からは診断に有用である可能性があるが、これまでの報告では有用性に関して議論が分かれている。我々は昨年度、リンパ球刺激試験で用いる牛乳抗原中に多量の lipopolysaccharide (LPS) が混入しており、非特異的な増殖反応を誘導することにより、精度が低下することを明らかにした。そのため LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いて、リンパ球刺激試験を行うこととした。

また本症は IgE 依存型アレルギーと違い、細胞性免疫が主体となっていると考えられているが、病態に関してはほとんど明らかになっていない。そこで LPS 除去牛乳蛋白抗原によるリンパ球刺激試験を用いて、抗原特異的なサイトカイン産生を検討し、IgE 依存型アレルギーとの違いを検討することとした。

B. 研究方法

N-FPIES 患者；29 名、月令 1-60 か月、少なくとも食物除去試験が陽性である患者 29 名（負荷試験での確定診断 11 名含む）である。対照；IgE 依存型牛乳アレルギー 6 名、アトピー性皮膚炎 6 名、月令 6-60 か月であり、牛乳に対するアレルギーをもたない児。健康新生児由来の臍帯血も 10 名から得た。食物抗原について、牛乳蛋白； α -Lactalbumin

(Sigma, L-6010), β -Lactoglobulin (Sigma, L-3908), α -Casein (Sigma, C-6780), β -Casein (Sigma, C-6905) and κ -Casein (Sigma, C-0406) が使用された。

LPS の除去；食物抗原は Detoxigel columns (Pierce, Rockford, USA) で精製された。その後 LPS が測定され、10 pg/ml 以下しか含有されないことが確かめられた。

末梢血単核球と臍帯血単核球は lymphocyte separation medium (Wako, Osaka, Japan) で分離され、増殖試験は無血清培地 (AIM-V with L-glutamine, penicillin and streptomycin, all GIBCO laboratories, Grand Island, NY)、サイトカイン測定では、5% 自己血漿入り 5RPMI-1640 (Sigma, U.S.A.) で培養された。

増殖の測定；細胞は一穴あたり、 1×10^5 cells (100 μ l) で 96 穴 round-bottom plate に静置され、牛乳蛋白、または LPS (*E coli* O26:B6, sigma) の存在下で 5 日間培養された。牛乳蛋白は LPS 除去されて、100 mg/ml の濃度で培養液に加えられた。1 mCi of tritiated thymidine (Perkinelmer, MA, USA) でパルスを行い、16 時間更に培養された後、UniFilter-96 (Perkinelmer, MA, USA) に回収された。Thymidine 取り込みは、Top Count (Perkinelmer, MA, USA) を使用して測定され、結果は抗原刺激/抗原非刺激の stimulation index (SI) であらわされた。

サイトカイン測定；細胞は一穴あたり、 2×10^5 cells (200 μ l) で 96 穴 round-bottom plate に静置され、牛乳蛋白、または LPS (*E coli* O26:B6, sigma) の存在下で 6 日間培養された。培養上清を回収後、凍結保存し、マルチプレックス分析法 (Millipore) で測定された。

（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、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、診療に対しての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

まず、LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いて、対照群、N-FPIES 患者から分離した末梢血単核球を刺激し増殖試験を行った。その結果、対照群では増殖反応を認めなかったが、IgE 依存型牛乳アレルギー患者ではこれまでの報告と同様に増殖反応を認めることが明らかになった。また、N-FPIES 患者では、Cluster 毎に増殖反応の強さが違うことが明らかになった。特に従来欧米で Food Protein Induced Enterocolitis Syndrome (FPIES)とされてきた Cluster1 及び2において増殖反応が強いことがわかった（図1）。

次に LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いて刺激培養した培養上清中のサイトカインをマルチプレックス分析法で測定した。その結果、正常対照群や IgE 依存型牛乳アレルギーと違い N-FPIES では、TNF- α が高値であることがわかった（図2）。また、IL-4 や IL-5、IL-13 といった Th2 サイトカインも N-FPIES の中で特に Cluster 1 で高値であることを明らかになった（図3）。

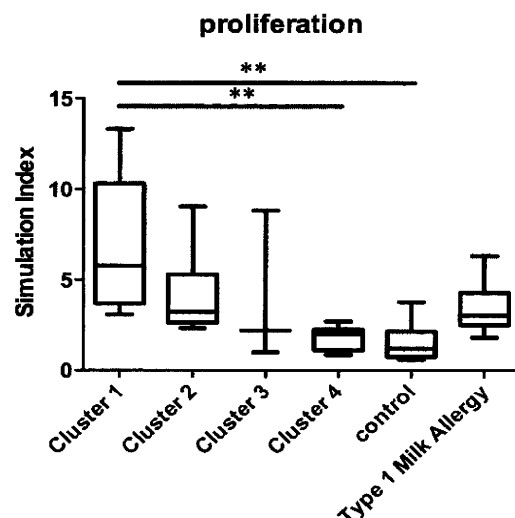


図1. LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いて末梢血単核球を刺激し増殖試験を行った。正常対照では増殖反応を認めなかったが、IgE 依存型牛乳アレルギー患者では増殖反応を認めた。また、N-FPIES 群では Cluster によって増殖反応の程度が違っていた。

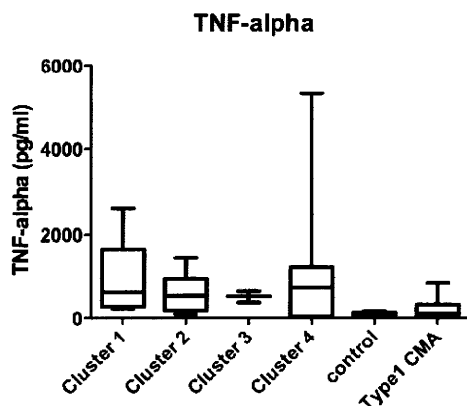


図 2. LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いて末梢血単核球を刺激し、培養上清中のサイトカインを測定した。正常対照や IgE 依存型牛乳アレルギー患者と比較して、N-FPIES 患者ではどの Cluster でも TNF- α が高値となる傾向が見られた。

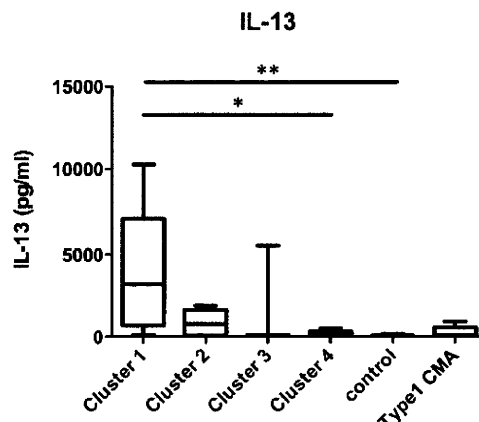


図 3；N-FPIES の中で特に Cluster 1 では、正常対照と比較して IL-4 や IL-5、IL-13 といった Th2 サイトカインが有意に高値であった。

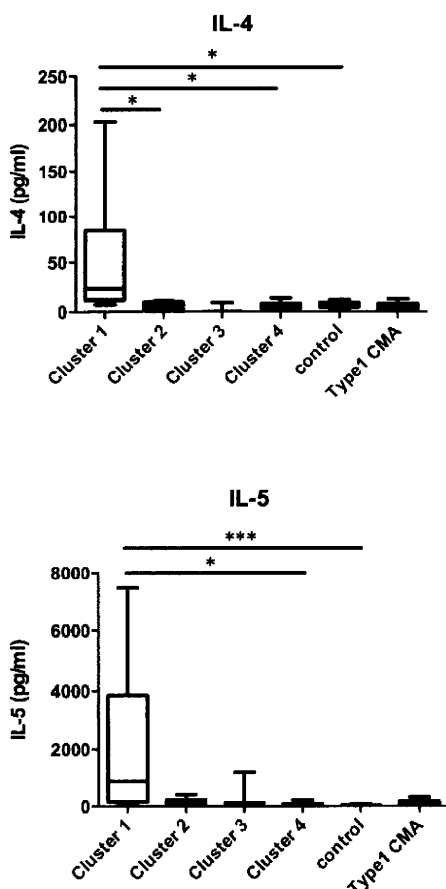
D. 考察

FPIES 患者でのリンパ球刺激試験の診断における有用性についてはこれまで意見が分かれていたが、牛乳抗原中の LPS を除去することで診断に有用な検査とすることができると可能性が示唆された。更に各 Cluster 毎に増殖反応の程度も違うことがわかり、これら Cluster 間で疾患機序が違う可能性も示唆された。

また N-FPIES では IgE 依存型アレルギーと違い TNF- α が高値であり、N-FPIES は疾患機序の面からも IgE 依存型アレルギーと違うことが明らかとなった。更に、これまで N-FPIES の疾患機序は細胞性免疫とされてきたが、N-FPIES においても Th2 細胞が関与していることが示唆された。

E. 結論

1. LPS 除去牛乳蛋白抗原を用いたリンパ球刺激試験では、正常対照と比較して N-FPIES の中の Cluster 1 で有意に増殖反応を認め、診断に有用である可能性が示唆された。
2. N-FPIES では、IgE 依存型牛乳アレルギーと違って TNF- α が高値であり、これらの疾患では疾患機序が異なる事が明らかとなった。
3. これまで N-FPIES の疾患機序は細胞性免疫とされてきたが、N-FPIES においても Th2 細胞が関与していることが示唆された。



<参考文献>

1. Fogg MI, Brown-Whitehorn TA, Pawlowski NA, Spergel JM. Atopy patch test for the diagnosis of food protein-induced enterocolitis syndrome. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17:351-5.
2. Van Sickle GJ, Powell GK, McDonald PJ, Goldblum RM. Milk- and soy protein-induced enterocolitis: evidence for lymphocyte sensitization to specific food proteins. *Gastroenterology* 1985; 88:1915-21.
3. Hoffman KM, Ho DG, Sampson HA. Evaluation of the usefulness of lymphocyte proliferation assays in the diagnosis of allergy to cow's milk. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:360-6.
4. Nadia B et al. The time-course of milk antigen-induced TNF- α secretion differs according to the clinical symptoms in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 863-9

Enterocolitis Syndrome (FPIES)の診断における
LPS 除去ミルク抗原を用いたリンパ球幼若化試験の有用性 第 60 回日本アレルギー学会
2010.11.

- 5) 森田英明ほか, 新生児・乳児消化管アレルギーの病態 第 47 回日本小児アレルギー学会 2010.12.

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

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nomura I et al. 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

2. 学会発表

- 1) Morita H et al. Milk protein-specific cytokine secretion profiles in infant patients with FPIES and proctocolitis American Academy of Asthma, Allergy and Immunology, March, 2011, San Francisco
- 2) 森田英明ほか, 新生児・乳児消化管アレルギーの病型分類 第 22 回日本アレルギー学会, 2010.5.
- 3) 森田英明ほか, 新生児・乳児消化管アレルギーの診断と病型分類 未熟児新生児学会 2010.11.
- 4) 森田英明ほか, Food Protein-Induced

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

分担研究者 伊藤裕司 国立成育医療研究センター 新生児科 医長

研究協力者 別紙

研究要旨

目的；新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）は、診断が困難な場合が多い。中でも変動の大きい好酸球の検査は、しばしば解釈が困難で、医師らを悩ませている。しかし詳細な体内動態が理解できれば、強力な診断検査となる可能性が高い。そこで最も有用と思われる末梢血好酸球、消化管組織の浸潤好酸球、便で検出可能な好酸球蛋白である Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN)について研究することにした。

研究デザインなど方法

いずれもケースコントロール研究である。

病勢が持続している時期の末梢血好酸球、消化管組織の浸潤好酸球、便 EDN を測定した。それぞれの適切なコントロールについても同様に測定した。また、これらのデータを4つのクラスター間で比較した。

結果

末梢血好酸球は30%を超えた場合、本症を強く疑う必要があると考えられた。クラスター3の病理像をみると、小腸のみならず、食道から直腸まで広範囲に炎症細胞の浸潤が見られた。ただし、消化管の上皮細胞が保たれており、嘔吐や血便に結びつかず、繊細な機能を必要とする吸収障害の症状が前面にたつのであろう。便 EDN は尤度比 28 と非常に有用な検査であると考えられた。ただし、クラスター間で差があることを知っておくべきである。

結語

各種好酸球のデータからその動態に特徴があることが判明した。消化管粘膜においては、好酸球の浸潤が強い。末梢血においては、患者によって非常に高値を示すこともあれば、全く正常な場合もある。便 EDN はクラスターごとに違い、クラスター1,4では高値、クラスター3は正常か軽度の増加を示すことが多かった。この理由も病理像から解明されつつある。好酸球の動態をつかんだ上で、検査結果を解釈することは、診断にとり、非常に有用である。

A. 研究目的

N-FPIES は、新生児や乳児が罹患する消化管の炎症性疾患であるが、診断が非常に難しい場合が多い。その理由の一つが、本症が疑われたとしても、診断

を適切に行える検査法が確立していないということがある。現時点では原因食物を除去して、臨床症状を寛解させ、その後数か月を経てから負荷試験を行うことが診断の Gold-standard である。しかし、嘔吐や血便、体重増加不良などの鑑別疾患は多数あ

り、その中から N-FPIES を疑って、診断的治療を行うためには、何らかの有用な検査法の開発が求められている。これまでの研究で、血液中や組織、便中の好酸球が増加する場合が多く報告されている。ただ、全く上昇しない場合もあるため、診断に寄与しないのではないかという意見さえある。しかし、末梢血中で 60% という高値を示すことさえあり、有用な場合とそうでない場合があるのであろう。N-FPIES における好酸球の動態について、詳細に知ることにより、この検査法の有用な点、気をつけて解釈すべき点が明らかになると思われる。そして最も有望と考えられる 3 つの検査、すなわち末梢血好酸球、消化管組織の好酸球、便中の好酸球由来蛋白質である Eosinophil-Derived Neurotoxin の研究を行うことにした。

B. 研究方法

1. 末梢血好酸球；疾患コホートで得られた、発症急性期の、123 名の末梢血好酸球数について、クラスターごとの比較を行った。成育医療センターNICU で出生した対照新生児との比較を行った。
2. 病理組織における好酸球浸潤の評価
12 名の N-FPIES 患者（うち 7 名はクラスター 3）について、消化管内視鏡検査を行い、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸から組織を採取、染色を行って、5 つの項目について病理医が評価を行った。
3. 便 Eosinophil-Derived Neurotoxin（EDN）の測定；N-FPIES 患者 23 名と、新生児の疾患対照コントロールのべ 230 名で比較するとともに N-FPIES については、4 つのクラスター間で違いがないかを比較した。

（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

まず、末梢血の好酸球であるが、非常な高値を示す患者が多かった。最高では 60% を越えていた。一方、正常範囲の患者も多く存在していた。クラスターごとに比較したところ、すべてのクラスターで上昇がみられたが、特にクラスター 3 では有意の上昇をみた(図 1)。

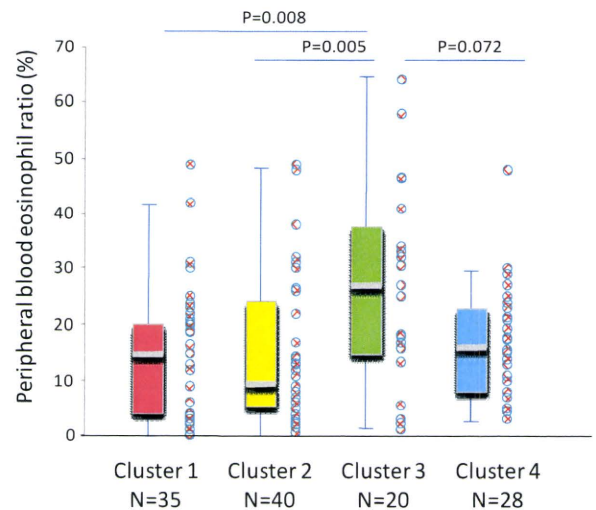


Figure E5.

図 1；クラスターごとの末梢血好酸球数 60% を超える患者も存在する。一方、全く正常の患者も多い。クラスター 3 が有意に高い。これは症状に乏しく、発見までに時間がかかり、炎症が持続することが理由としてあげられる。

新生児期には、特に低出生体重児、チアノーゼ性心疾患を持つ患者、エリスロポイエチン製剤を使用している児では、末梢血好酸球が上昇することが知られている。成育医療センターNICU に入院中の疾患対照患者と比較した。対照の平均+3SD をカットオフポイントとすると、図 2 のような高い尤度比が得られた。

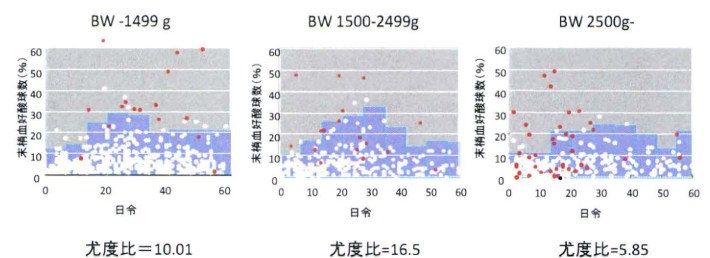


図 2；白丸で対照新生児の好酸球数と日令をプロットし、赤丸で N-FPIES をプロットした。やはり 20% を越える場合は本症を疑い、30% を越えれば、必ず本症を疑うべきであると言っても過言ではない。

表 1; 消化管組織検査を行った 12 名の N-FPIES 患者臨床情報

Patients' No	sex	onset	age at fiberscope	birth weight	symptoms at onset		Cluster
					vomiting	bloody stool	
1	M	7d	10d	3232	++++	++	1
2	M	7d	8mo	2230	++	-	2
3	M	8mo	1y 2mo	-	++	-	3
4	M	5mo	1y 3mo	2800	-	-	3
5	F	3mo	11mo	2330	-	-	3
6	F	2mo	7mo	3165	-	-	3
7	M	3mo	8mo	2652	-	-	3
8	M	1y?	2y 0mo	2508	-	-	3
8	M		2y 11mo		-	-	3
9	F	4mo	4mo	-	-	-	3
10	F	2y	2y	-	-	++++	4
11	M	28d	1mo 3d	2176	-	++++	4
12	M	2mo	4mo	2548	-	+++	4

3の患者は嘔吐を示しているにもかかわらず、クラスター3に分類されている。この理由は、最初の数ヶ月の症状が体重増加のみであり、病態の本質はクラスター3と考えたからである。

12 名が成育医療センターにて診断治療目的で入院し、消化管内視鏡検査を施行された。患者の臨床情報を表に示す。12 人中 7 名がクラスター 3 であった。このクラスター 3 について、浸潤好酸球の評価を行ったところ、7 人中 6 名で、中等度以上の浸潤を見た。特に 80/HPF を超える場合もあった。一方、上皮の障害は少なく、3 名でそれも消化管のごく一部で認めたにとどまった。

表 2； クラスター 3 の 7 名の（patient number 8 のみは原因食物の有無で 2 回採取されている）食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸それぞれについて好酸球、単核球、リンパ濾胞、組織の浮腫、上皮障害の 5 項目を 3 段階で評価した。この図は好酸球、単核球、リンパ濾胞、組織の浮腫、上皮障害の項目ごとに分けて表示したものである。上皮障害が少ないことは特徴であり、血便などが見られにくい原因であろう。

Eosinophils							
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum
3	yes	0	0	1	1	1	1
4	yes	3	2	2	2	2	1
5	yes	3	0	1	1	1	2
6	yes	0	1	1		3	3
7	yes	1	2	3	2	2	2
8	yes	0	0	2	3		2
8	no	0	0	0		1	1
9	yes				2	1	1

Epithelial damage							
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum
3	yes	0	1	1	0	0	0
4	yes	0	0	0	0	0	0
5	yes	3	0	0	0	0	3
6	yes	0	0			0	0
7	yes	0	0	3	0	0	0
8	yes	0	0	0		0	0
8	no	0	0	0		0	0
9	yes				2	1	1

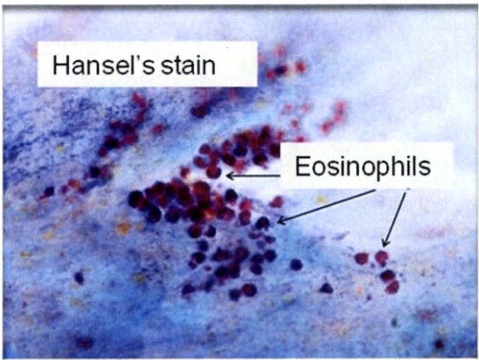


図 3；便粘液中に見られる好酸球、染色と細胞の搜索は時間がかかり、かつすべての病院で行えるわけではない。EDN 定量などより簡便かつ判定しやすい検査法の発達が望まれている。

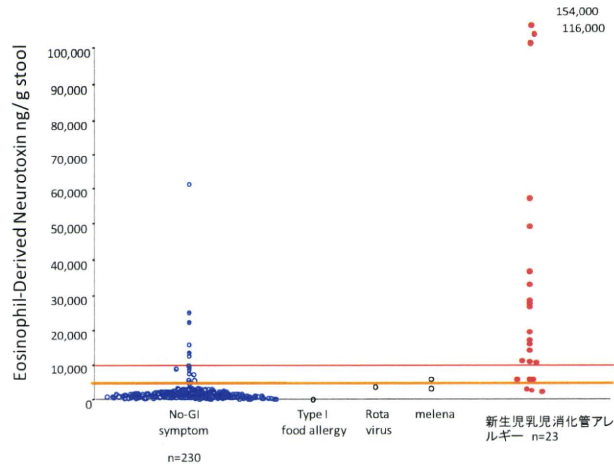


図 4； 便 EDN の結果、N-FPIES では高値をとることが多く、尤度比 28 と高い診断的価値を示した。

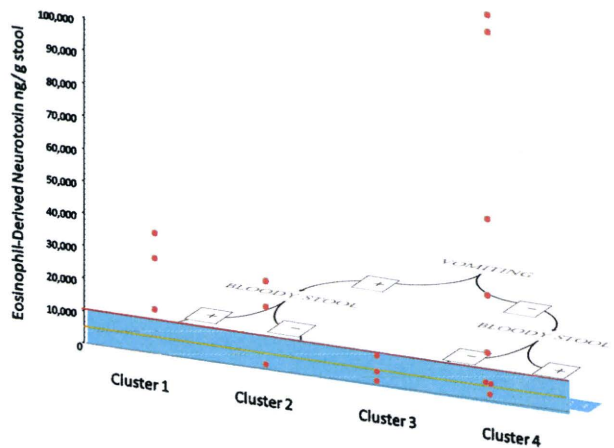


図 5；便 EDN のクラスターごとの比較、血便を見るクラスター 1, 4 では高値を示した。ただ、クラスター 3 は軽度上昇しか見られなかった。この理由は、消化管組織において、炎症は著明であるにもかかわらず、上皮細胞の障害が小さいことが原因としてあげられる

便の EDN の検討では、一万をカットオフとした場合、20 を超える尤度比が算出され、有望な検査法となることが期待された。クラスターごとの分析では、クラスター 1, 2, 4 では上昇が認められたにも関わらず、クラスター 3 では低値にとどまっていた。

D. 考察

好酸球を末梢血、消化管組織、便において測定してきたが、それぞれにおいて特徴的な増減を見せていた。

末梢血好酸球については局所の炎症が長期に続いた場合に高値をとる傾向にあった。最高値は60%を超えるが、全く正常の患者も多かった。診断的治療を開始し、炎症が改善しつつあるときに上昇するケースが多く、診断の妨げになる可能性もあった。また、新生児期、特に低出生体重児において、生後3週頃をピークに上昇が見られるため、注意が必要である。しかし、それでも末梢血好酸球 20%を越えた場合は高値と言えるし、30%を越えた場合には消化管アレルギーを鑑別疾患のトップに持ってくることは、適切と思われる。

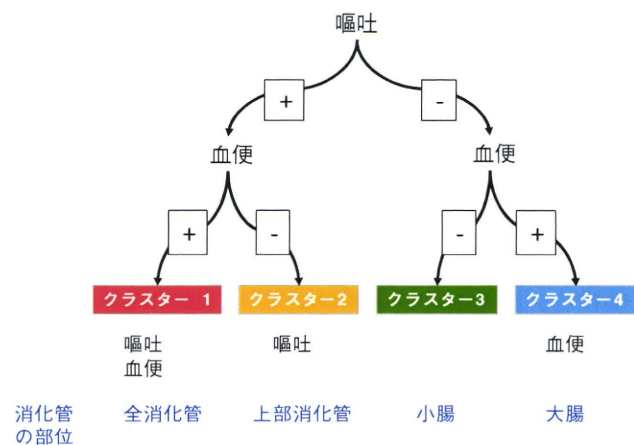


図6；クラスター分類により検出された4つのクラスターと、その予想された消化管の部位

クラスター分類に当てはめた場合、クラスター3では有意に高いという結果であったが、理由としては、クラスター3は嘔吐や血便などの目立つ臨床症状に乏しく、発見が遅れ、ために炎症が持続しているからとも考えられる。特に診断の困難なクラスター3では、重要な検査に位置づけられる。ただし、クラスター3であっても、末梢血好酸球が全く上昇しないこともある。この場合は消化管内視鏡検査による診断が重要となる。

消化管組織検査では、今回クラスター3の患者が多かったが、いずれも食道から直腸に至る消化管の範囲で好酸球の浸潤が見られた。クラスター4については、血便がメインの症状であるため下部消化管内視鏡が行われているが、これも好酸球の浸潤が見られた。クラスター1と2についてはまだ検査が集まっておらず、議論はできない。

便の EDN の測定は非常に興味深い結果となった。血便の見られるクラスター1,4では高値を示し、嘔吐と下痢がメインのクラスター2では軽度の上昇、クラスター3では上昇が見られなかった。

以上の結果を表3にまとめた。炎症がある程度の期間にわたっている場合は好酸球は上昇が見られ、それは消化管の粘膜を中心として起きている可能性が高い。もちろん抗原が最も高濃度に免疫細胞と接触する部位であるからである。ここからサイトカインやケモカインの影響で骨髄からの好酸球動員がおきるのであろう。便 EDN は興味深い結果であった。組織に高度の好酸球浸潤を示しているにもかかわらず、低値を示していたのである。この理由は病理像にその結果を求めることができる。クラスター3の消化管粘膜上皮は、破られることがほとんどなく保たれているからであろう。炎症の割に消化管表面はダメージが少なく、そのために、好酸球が消化管管腔に出てゆかないのであろうと考えられる。

表3；4つのクラスターごとの好酸球体内動態のまとめ

Cluster	Circulating blood	GI mucosa	Stool EDN
1	--+++	ND	++
2	--+++	ND	+
3	--+++	+++	-
4	--+++	+++	+++

今回の研究により、好酸球の動態が大筋において説明可能となった。患者を目の前にしたときに、これらの好酸球動態を思い浮かべながら検査を読み解

くことは、診断治療に貢献するであろうと信じている。

E. 結論

末梢血好酸球は 30% を越えていた場合、この結果のみから消化管アレルギーを疑うべきと考えられた。便 EDN 検査は高い尤度比を得、優れた検査法となることが期待される。早急に論文化し保険収載を求めてゆきたい。クラスターごとに、末梢血、消化管組織、便の好酸球の動態が明らかとなり、診断治療を行う上で有力な指標になると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

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 Academy of Allergy and Immunology, Annual meeting, March 20th, 2011 in San Francisco CA.
- 2) 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
- 3) 新生児・乳児消化管アレルギーにおける便中 Eosinophil-Derived Neurotoxin 測定の有用性 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
- 4) 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
- 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 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
- 6) Nomura I et al. Elevation of Fecal Eosinophil-Derived Neurotoxin in Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome American Academy of Allergy and Immunology Meeting, March 2010, New Orleans
- 7) 2009 年 12 月 小児アレルギー学会シンポジウムを運営
- 8) 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 日本小児アレルギー学会、2009.12.
- 9) 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.

- 10) 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
- 11) 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.
- 12) 野村伊知郎ほか、新生児-乳児消化管アレルギー、
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.

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。

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

分担研究者 新井 勝大 国立成育医療研究センター 消化器科 医長

研究協力者 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、消化管を主座とした炎症性疾患である。さまざまな症状を呈するが、消化管は食道～直腸と広範囲にわたり、患者によって侵される部位に差があることが予想される。クラスター解析から得られた疾患サブグループごとに病理組織像の差を観察した。

研究デザインなど方法

12名の患者で、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、S状結腸の粘膜組織を採取し、組織染色後、光学顕微鏡にて評価を行った。同時にマイクロアレイ用の検体として、RNAを抽出した。

結果

クラスター別の患者数は、クラスター1；1名、クラスター2；1名、クラスター3；7名、クラスター4；3名であった。病理像は、炎症の強い部分はクラスターから想像された主座部位とあるていど一致し、好酸球はじめ多彩な炎症細胞の浸潤が見られた。その他、組織の浮腫、リンパ濾胞形成が目立つ所見であった。

クラスター3の病理像をみると、欧米における、類縁疾患である Food protein-induced enteropathy の主座とされている小腸のみならず、食道から直腸まで広範囲に炎症細胞の浸潤が見られ、疾患概念の違いが検出された。一方、クラスター3の消化管上皮細胞は保たれており、嘔吐や血便に結びつかず、繊細な機能が必要とする吸収障害の症状が前面にたつのであろうと考えられた。

結語

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。

A. 研究目的

新生児食物蛋白誘発胃腸炎（N-FPIES）は、消化管を主座とした炎症性疾患である。さまざまな症状を呈するが、消化管は食道～直腸と広範囲にわたり、患者によって侵される部位に差があることが予想される。これまでに欧米で類縁疾患において、いく

つかの報告がある。FPIES については、好酸球の浸潤はなく、単核球が粘膜固有層に増加しており、免疫染色を行って、腸上皮細胞、単核球ともに TNF-alpha を産生していることが報告されている。Enteropathy では、小腸を中心とした粘膜固有層に好酸球の浸潤があるとされている。Proctocolitis においても Enteropathy と同様の好酸球浸潤が観察

されている。

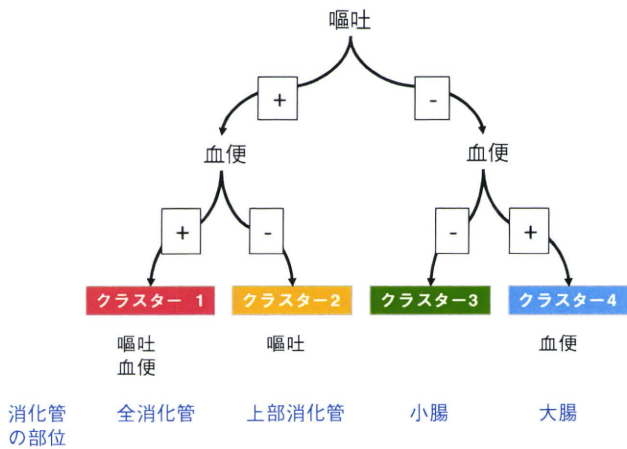


図 1；今年度の研究で得られた N-FPIES の 4 つのクラスター、それぞれの症状から推定された消化管部位を青字で記載している。

今回臨床症状から N-FPIES が 4 つのクラスターに分かれることが明らかになったが、それぞれのクラスターは図のように症状から消化管の障害部位が推定される。この推定が正しいか否かを検証する。

N-FPIES の特異的な病理所見がないか探索するという目的もある。

また、組織採取のもう一つの目的であるマイクロアレイ研究を正しく行うために、存在する炎症組織をできるだけ詳細に分析しておく必要がある。

以上の目的のためにクラスター解析による病型分類の結果と病理組織像の差を観察した。

B. 研究方法

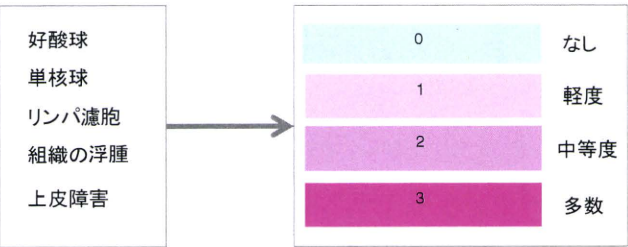


図 2；病理組織の評価方法、好酸球など 5 つの項目について、病理医が 4 段階で評価を行った。

12 名の消化管アレルギー患者について、消化管内視鏡検査を行い、食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸から組織を採取、染色を行って、5 つの項目について病理医が評価を行った。

(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)。

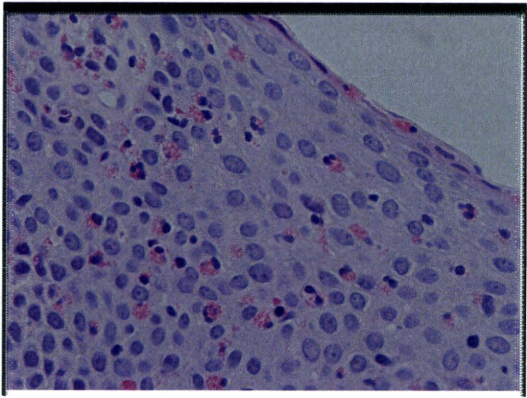
C. 研究結果

表 1；12 名の N-FPIES 患者、臨床情報

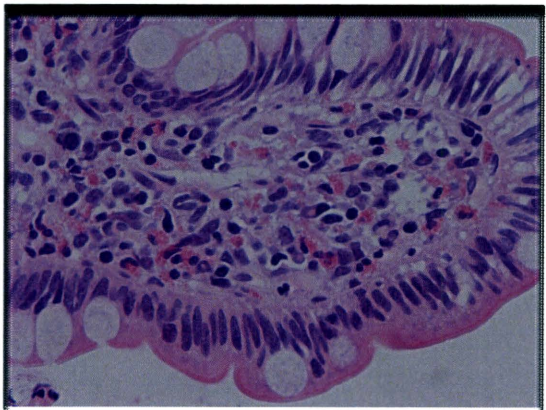
Patients' No	sex	onset	age at fiberoscope	birth weight	symptoms at onset		Cluster
					vomiting	bloody stool	
1	M	7d	10d	3232	++++	++	1
2	M	7d	8mo	2230	++	-	2
3	M	8mo	1y 2mo	-	++	-	3
4	M	5mo	1y 3mo	2800	-	-	3
5	F	3mo	11mo	2330	-	-	3
6	F	2mo	7mo	3165	-	-	3
7	M	3mo	8mo	2652	-	-	3
8	M	1y?	2y 0mo	2508	-	-	3
8	M		2y 11mo		-	-	3
9	F	4mo	4mo	-	-	-	3
10	F	2y	2y	-	-	++++	4
11	M	28d	1mo 3d	2176	-	++++	4
12	M	2mo	4mo	2548	-	+++	4

3 の患者は嘔吐を示しているにもかかわらず、クラスター 3 に分類されている。この理由は、最初の数か月の症状が体重増加のみであり、病態の本質はクラスター 3 と考えたからである。

12 名が成育医療センターにて診断治療目的で入院し、消化管内視鏡検査を施行された。患者の臨床情報を表 1 に示す。12 人中 7 名がクラスター 3 であった。この理由は、クラスター 3 は嘔吐や血便、頻回の下痢などの明らかな消化器症状に乏しく、診断が非常に困難であり、消化管内視鏡が診断の鍵を握る検査だからである。事実、これらの 7 名は組織検査で、粘膜への好酸球の著明な浸潤、単核球の浸潤などが観察され、N-FPIES の診断に至り、治療後、体重増加不良や発達遅滞が改善された。



Esophagus, stratified squamous layer



Duodenum, mucosa

図3； Patient's number 4の患者消化管組織検査、上は食道粘膜であり、重層扁平上皮の中に多数の好酸球が浸潤しているのがわかる。下は十二指腸粘膜であるが、粘膜固有層に好酸球と単核球の浸潤が見られる。その割には上皮は保たれている。

表2； クラスター3の7名の（patient number 8のみは原因食物の有無で2回採取されている）食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸それぞれについて好酸球、単核球、リンパ濾胞、組織の浮腫、上皮障害の5項目を3段階で評価した。一見して、小腸のみならず、全消化管に病変が分布していることがわかる。

No	antigen		esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum
3	yes	Eosinophils	0	0	1	1	1	1
		Mononuclear cells	0	1	2	1	1	1
		Lymph follicle	0		2			
		tissue edema	0	2	1	3	3	3
		epithelial damage	0	1	1	0	0	0
4	yes	Eosinophils	2	2	2	2	2	1
		Mononuclear cells	2	1	2	2	2	3
		Lymph follicle	0	0	0	2	2	2
		tissue edema	0	1	1	1	2	3
		epithelial damage	0	0	0	0	0	0
5	yes	Eosinophils	3	0	1	1	1	2
		Mononuclear cells	2	1	2	2	2	3
		Lymph follicle	2	0	0	2	2	2
		tissue edema	2	2	0	1	2	3
		epithelial damage	3	0	0	0	0	3
6	yes	Eosinophils	0	1	1		3	3
		Mononuclear cells, plasma cells	0	1	2		3	3
		Lymph follicle	0	0	0	0	2	2
		tissue edema	0	0	0	0	2	2
		epithelial damage	0	0	0	0	0	0
7	yes	Eosinophils	1	2	3	2	2	2
		Mononuclear cells	1	2	3	2	2	2
		Lymph follicle				0	2	2
		tissue edema	0	1	2	1	3	3
		epithelial damage	0	0	3	0	0	0
8	yes	Eosinophils	0	0	2	3	2	2
		Mononuclear cells	0	1	2	3	2	2
		Lymph follicle	0	2	0	2	1	1
		tissue edema	0	2	1	2	2	2
		epithelial damage	0	0	0	0	0	0
8	no	Eosinophils	0	0	0		1	1
		Mononuclear cells	0	0	1		1	1
		Lymph follicle	0	0	0		?	?
		tissue edema	0	0	0		?	?
		epithelial damage	0	0	0		?	?
9	yes	Eosinophils				2	1	1
		Mononuclear cells				3	2	2
		Lymph follicle				3	2	2
		tissue edema				?	?	?
		epithelial damage				2	1	1

表3； クラスター3の7名の（patient number 8のみは原因食物の有無で2回採取されている）食道、胃、十二指腸、回腸、結腸、直腸それぞれについて好酸球、単核球、リンパ濾胞、組織の浮腫、上皮障害の5項目を3段階で評価した。この図は好酸球、単核球、リンパ濾胞、組織の浮腫、上皮障害の項目ごとに分けて表示したものである。上皮障害が少ないことは特徴であり、血便などが見られにくい原因であろう。

Eosinophils								
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum	
3	yes	0	0	1	1	1	1	
4	yes	3	2	2	2	2	1	
5	yes	3	0	1	1	1	2	
6	yes	0	1	1		3	3	
7	yes	1	2	3	2	2	2	
8	yes	0	0	2	3	2	2	
8	no	0	0	0		1	1	
9	yes				2	1	1	

Mononuclear cells								
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum	
3	yes	0	1	2	1	1	1	
4	yes	2	1	2	2	2	3	
5	yes	2	1	2	2	2	3	
6	yes	0	1	2		3	3	
7	yes	1	2	3	2	2	2	
8	yes	0	1	2	3	2	2	
8	no	0	0	1		1	1	
9	yes				3	2	2	

Lymph follicle								
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum	
3	yes	0		2				
4	yes	0	0	0	2	2	2	
5	yes	2	0	0	2	2	2	
6	yes	0	0	0		2	2	
7	yes				0	2	2	
8	yes	0	2	0	2	1	1	
8	no	0	0	0		?	?	
9	yes				3	2	2	

Tissue edema								
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum	
3	yes	0	2	1	3	3	3	
4	yes	0	1	1	1	2	3	
5	yes	2	2	0	1	2	3	
6	yes	0	0	0		2	2	
7	yes	0	1	2	1	3	3	
8	yes	0	2	1	2	2	2	
8	no	0	0	0		?	?	
9	yes				?	?	?	

Epithelial damage								
No	antigen	esophagus	stomach	duodenum	ileum	colon	rectum	
3	yes	0		1	0	0	0	
4	yes	0	0	0	0	0	0	
5	yes	3		0	0	0	3	
6	yes	0	0	0		0	0	
7	yes	0	0	3	0	0	0	
8	yes	0	0	0		0	0	
8	no	0	0	0		0	0	
9	yes				2	1	1	

クラスター1と2は、今回1人ずつしか検討され
ておらず、大勢を論ずることは難しい。

クラスター3では食道から直腸まで広い範囲に
異常が分布していた。これは、欧米などからの報告
と異なり、小腸以外にも病変が存在することを示唆
している。好酸球と単核球の浸潤が目立つ。リンパ
濾胞は回腸～直腸にかけて多数観察されたが、患者
によっては食道、胃、十二指腸にも見られた。組織
の浮腫は強い場合も多かった。反面、上皮障害は一
部にとどまっていた。番号8の患者では、原因食物

の有無で比較が可能であったが、炎症細胞は原因食物が除去されていると減少し、好酸球にその傾向が強かった。

クラスター4は3名いたが、クラスター3と同じく、好酸球と単核球の浸潤が著明であった。リンパ濾胞、浮腫もともにみられた。上皮障害は見られ、血便がみられることを説明していた。

D. 考察

浸潤細胞は、好酸球、リンパ球、形質細胞など多彩である Cluster 3 では臨床症状、検査から消化管アレルギーを疑い、診断することは困難であり、この検査が必須と思われた Cluster 3 はいずれも消化管の広い範囲に炎症が見られた。欧米の enteropathy は十二指腸～空腸に主座があるとされ、差があるのではないかと考えられた。

Enteropathy は、Sampson らが指摘しているように、1970 年台-2000 年ころまでは活発な論文報告があったのだが、この 10 年程度はなぜか報告が途絶えている状況である。Enteropathy の以下の代表的論文からも、病変は小腸に局限しているとの記述がある。

1. Vitoria JC, Camarero C, Sojo A, Ruiz A, Rodriguez-Soriano J. Enteropathy related to fish, rice, and chicken. *Arch Dis Child* 1982; 57:44-8.
2. Walker-Smith J, Harrison M, Kilby A, Phillips A, France N. Cow's milk-sensitive enteropathy. *Arch Dis Child* 1978; 53:375-80.
3. Maluenda C, Phillips AD, Bridson A, Walker-Smith JA. Quantitative analysis of small intestinal mucosa in cow's milk-sensitive enteropathy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984; 3:349-56.
4. McCalla R, Savilahti E, Perkkio M, Kuitunen P, Backman A. Morphology of the jejunum in children with eczema due to food allergy. *Allergy* 1980; 35:563-71.
5. Perkkio M, Savilahti E, Kuitunen P. Morphometric and immunohistochemical study of jejunal biopsies from children with soy allergy. *Eur J Pediatr* 1981; 137:63-9.
6. Savidge TC, Shmakov AN, Walker-Smith JA, Phillips AD. Epithelial cell proliferation in childhood enteropathies. *Gut* 1996; 39:185-93.
7. Nagata S, Yamashiro Y, Ohtsuka Y, et al. Quantitative analysis and immunohistochemical studies on small intestinal mucosa of food-sensitive enteropathy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20:44-8.
8. Chan K, Phillips A, Walker-Smith J, Koskimies S, Spencer J. Density of γ/δ T cells in small bowel mucosa related to HLA-DQ status without coeliac disease. *Lancet* 1993; 342:492-3.
9. Cuenod B, Brousse N, Goulet O, et al. Classification of intractable diarrhea in infancy using clinical and immunohistological criteria. *Gastroenterology* 1990; 99:1037-43.
10. Holm K, Maki M, Savilahti E, Lipsanen V, Laippala P, Koskimies S.

Intraepithelial γ/δ T-cell-receptor lymphocytes and genetic susceptibility to coeliac disease. *Lancet* 1992; 339:1500-3.

11. Shiner M, Ballard J, Brook CGD, Herman S. Intestinal biopsy in the diagnosis of cow's milk protein intolerance without acute symptoms. *Lancet* 1979; 29:1060-3.
12. Savilahti E. Immunochemical study of the malabsorption syndrome with cow's milk intolerance. *Gut* 1973; 14:491-501.
13. Maffei HVL, Kingston D, Hill ID, Shiner M. Histopathologic changes and the immune response within the jejunal mucosa in infants and children. *Pediatr Res* 1979; 13:733-6.
14. Goulet OJ, Brousse N, Canioni D, Walker-Smith JA, Schmitz J, Phillips AD. Syndrome of intractable diarrhoea with persistent villous atrophy in early childhood: A clinicopathological survey of 47 cases. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 26:151-61.

以上から本邦の N-FPIES クラスター3は、新たな clinical entity である可能性が出てきた。クラスター1,4については、臨床症状から欧米の概念との相違があるが、クラスター3については、組織像からこれが発見されたことになる。

クラスター3はその組織病変が全消化管にわたるにもかかわらず、症状は体重増加不良が前面に立っている。この理由は上皮障害が少ないことも一因であろう。消化管の機能中、最も繊細な作業と言える吸収という部分が最初に症状として出現するのだと考えられる。

また、クラスター3は、消化管内視鏡検査を行って、マクロを観察している段階では炎症を想像することは困難である場合が多かった。組織を採取して初めて診断できた。これは術者に注意喚起する必要がある。

リンパ濾胞が目立つ症例が多かった、同様の増加を見せるクローン、潰瘍性大腸炎らと比較する必要がある。その機能はなんだろうか、炎症を抑制するための機能、炎症を補助する機能の双方について、調査研究する必要がある。

1名のみを観察ではあるが、好酸球は offending food が除去されると、減少する傾向が示唆された。負荷試験で数ヶ月後にも同じ症状が誘発されること、そしてリンパ球刺激試験の研究からも明らかであるが、食物アレルギー特異的リンパ球が病変部位に数ヶ月間存在し、食物アレルギーが過剰に消化管に到達した場合に、抗原提示細胞の助けも借りてリンパ球が反応すると考えられる。

組織の強い浮腫も見られた。腸閉塞は、比較的多

い合併症であるが、中には機械的イレウスとなる患者も存在する。これはその理由を説明している。

今後行うべきこととしては、病理像のみで新生児クローン、UC との比較も行う（いずれも 10-20 名の組織標本あり）、マイクロアレイを行う。クローン、潰瘍性大腸炎との比較、クラスター間の比較、クラスター 3 VS 4、AEG、EoE など。マイクロアレイの結果を受けて、リアルタイム PCR や免疫組織染色を行う。

E. 結論

特に診断が困難であるクラスター 3 について、消化管内視鏡と組織検査は患者の運命を決める診断検査である。この検査には体重の小さい小児の内視鏡検査に習熟した術者と、小児外科医、麻酔科医の連携が必要である。検査可能な中核病院に患者を誘導できるように情報を繰り返し伝達する必要がある。

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。今後研究を進め、新たな診断治療法の開発を行いたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 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.
 - 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 日発行 第 73 巻増刊号 小児の治療指針 263-267
 - 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
 - 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)
 - 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
- Four clusters were identified in abruptly-increasing neonates and infants with food protein-induced gastrointestinal syndrome, Nomura I et al. American Academy of Allergy and Immunology, Annual meeting, March 20th, 2011 in San Francisco CA.
 - 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
 - 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
 - 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
 - 2009 年 12 月 小児アレルギー学会シンポジウムを運営
 - 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 日本小児アレルギー学会、2009.12.
 - 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.