

IgG 抗体の値を他の抗体に関係なく正確に測定することが可能な capture 法を確立した。この方法を用いて急速飽和療法治療群での経時的な解析した結果、OVA、および OMC に対する IgE 抗体価は治療前から維持期にかけて一定値を示し、IgG4a 抗体価は治療前から維持期に欠けて約 100 倍上昇した。この結果は飽和療法治療群での治癒が少なくとも OVA および OMC 特異的な IgE 抗体価と無関係である可能性が示唆される。また治療過程に置ける IgG4a 抗体の上昇がアレルギー-治癒のメカニズムに何らかの関連を有する可能性が推察される。しかし今回の計測は定量性を担保せず、IgE および IgG4a 抗体量の差を考察することは不可能である。我々は確立した計測系をさらに進化させるためにキメラ抗体の作製を行なっている。

アレルギー-患者での経時的かつ段階的に増量したアレルゲンの投与により IgG 陽性 B 細胞は刺激され抗体産生細胞へ分化するが、この増加がいわゆる T 細胞 Th1 亜群に依存するか、あるいは Th2 亜群に依存するか興味のある点である。IgG4a の経時的な増加はおそらく親和性の増加を伴うことが予想され、今後の検討課題である。半減期が極めて短い IgE 抗体が一見アレルゲン刺激非依存性に一定レベルで維持される機構は不明であるが一旦確立した免疫反応後のアレルゲン特異的記憶 B 細胞の動態に依存する可能性もあり今後の検討課題となる。

急速飽和療法の過程での細胞免疫の動態を解析するのに必要なアレルギー-病態を反映する biomarker の網羅的な検索を行なう目的で、梢血有核細胞あるいは CD4 陽性 T 細胞がアレルゲン刺激後に産生するサイトカイン、ケモカイン、および発現増強する遺伝子群の検索を行なった。現在いくつかの biomarker 候補が同定されているがこれらの確立を次年度目指す。Biomarker が確立された際に治療経過に置けるこのマーカーの推移が免疫動態の指標となる。

#### E. 結論

卵アレルギー-飽和療法治療群での治癒が血清中の OVA および OMC 特異的な IgE 抗体のレベルと無関係である可能性が示唆された。一方治療開始前から治療後の維持期にかけて血中 IgG4a 抗体のレベルが約 100 倍に増強し、アレルギー-発症改善との相関関係が推察された。アレルギー-反応における幾つかの biomarker 候補が同定された。

#### F. 研究発表

該当なし

#### G. 知的所有権の取得状況

該当なし

平成23年度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  
食物アレルギーにおける経口免疫療法の確立と治癒メカニズムの解明に関する研究  
研究代表者東京家政大学家政学部児童学科 岩田 力

「経口免疫療法の安全性確立」

研究分担者 荒川 浩一 (群馬大学大学院医学系研究科小児科学分野教授)  
研究協力者 小山晴美、八木久子、萩原里美、中嶋直樹、滝沢琢己  
(群馬大学大学院医学系研究科小児科学分野)

研究要旨

食物アレルギーを持つ小児に対し、1)本経口免疫療法の安全性・有効性の評価を行うこと 2)本療法中における臨床検体を確保し、本療法における治癒メカニズムの解明や、耐性獲得の指標となる新規免疫学的マーカーの開発、本療法の適応基準の確立を目指した臨床検体解析を行う。このうち、経口免疫療法中に生じた副反応に注目し、安全性確立について検討した。二重盲検負荷試験、急速免疫療法期、維持期のすべてにおいて副反応の出現を考慮した事前の対応や体調不良時の対処を重視する必要性が示唆された。

A. 研究目的

食物アレルギーを持つ小児に対し 1)本経口免疫療法の有効性・安全性の評価を行うこと 2)本療法中における臨床検体より本療法における治癒メカニズムの解明や耐性獲得の指標となる新規免疫学的マーカーの開発、3)本療法の適応基準の確立を目指した臨床検体解析を行う。本年度は、経口免疫療法の副反応を調査し安全性確立について検討する。

B. 研究方法

エントリーした 46 症例 (男 33 : 女 13) を対象に、二重盲検負荷試験 (DBPCFC)、急速免疫療法期 (以下、急速期) 及び維持期での副反応出現率とそれに伴う医療機関受診の有無、また脱落症例 (登録時 3 例、急速期以降 5 例) について解析する。副反応については、Sampson のアナフィラキシー分類を参考にした。

C. 結果

1. DBPCFC での副反応(対象 45 例) (図 1) 登録時 DBPCFC では、アナフィラキシー (以下 An) grade (以下、G) 5 が 2 例(4.4%) (アドレナリン筋注 4 回、持続注射→試験中止)、G4 が 5 例(11%)、G3 が 33 例(73.3%)、G2 が 7 例(15.6%)で認められた。維持期 2 ヶ月での DBPCFC で An G4 が 1 例(2.2%)に認められた。

2. 急速期の副反応 (対象 44 例) (図 2) 皮膚 G2 : 28 例(63.6%)、消化管 G3 : 22 例(50%)、G2 : 10 例(22.7%)、呼吸器 G5 : 1 例(2.2%) (アドレナリン筋注、静注→試験中止)、G4 : 1 例、G3 : 13 例(29.5%)、G2 :

10 例(22.7%)、心血管系 G5 : 1 例(呼吸器 G5 と同じ症例→試験中止)で認められた。

3. 維持期の副反応 (各評価時での副反応出現日数) (図 3)

①4 週後 (39 例) : 皮膚 :  $5.3 \pm 4.3$  日 (19 例:48.8%)、呼吸器 :  $3.5 \pm 2.5$  日 (15 例:38.4%)、消化管 :  $5.5 \pm 5.7$  日 (17 例:43.6%)。

②2 ヶ月後 (39 例) : 皮膚 :  $5.5 \pm 6.0$  日 (26 例:66.7%)、呼吸器 :  $3.3 \pm 3.1$  日 (16 例:41%)、消化管 :  $6.1 \pm 6.9$  日 (16 例:41%)。

③6 ヶ月後 (35 例) : 皮膚 :  $4.0 \pm 3.5$  日 (24 例:68.6%)、呼吸器 :  $5.9 \pm 3.4$  日 (10 例:28.6%)、消化管 :  $5.1 \pm 4.0$  日 (12 例:34.3%)。

④12 ヶ月後 (11 例) : 皮膚 :  $7 \pm 4.0$  日 (5 例:45.5%)、呼吸器 :  $18.3 \pm 6.4$  日 (3 例:27.3%)、消化管 :  $4.8 \pm 1.7$  日 (4 例:36.4%)。

維持期 4 週～6 ヶ月の間で皮膚・消化管・呼吸器などの副反応を認めなかったのは 3 例(8.1%)、副反応を認めたが医療機関受診を要さなかったのは 24 例(64.9%)、4 週・2 ヶ月・6 ヶ月の間いずれかで受診したのは 10 例(27%) (皮膚 G2、消化管 G2、3、呼吸 G2、3、4) であった。12 ヶ月評価に到達した 11 例のうち、1 例が 12 ヶ月評価時点で医療機関受診していた (皮膚 G2、消化管 G3、呼吸器 G4)。 (図 4)

4.脱落症例 (登録時 3 例、急速期以降 5 例) (図 5) 本試験より脱落したのは、登録時 DBPCFC で An G5

を生じた2例(1例はアドレナリン筋注4回および持続注射を施行、1例はアドレナリン筋注)、急速期にAn G5を生じた1例(アドレナリン筋注・静注)、急速期にアレルギー腸炎を生じ全身ステロイド投与した1例、アレルギー性腸炎の疑い1例、急速期に少量で症状あり、入院期間が長期に及び被検者より中止希望のあった1例、維持期に誘発症状強くアドレナリン筋注、入院後減量摂取を試みるもG3の呼吸器症状あり試験中止した1例、同意撤回の1例の計8例である。試験継続38例と急速期以降脱落した5例の間において、登録時年齢、登録時DBPCFCでのAn grade及び閾値では有意差を認めなかったが、登録時卵白特異的IgE抗体価には有意差が認められた(p=0.004、それぞれ、中央値25.5UA/ml (IQR 7.3-40.4)、86.4UA/ml (IQR 69.9- $\geq$ 100))。(図6)

#### D. 考察

DBPCFCではG4以上のAnが約15%認められ、重篤な副反応が出現する可能性が示唆された。急速期の副反応はG2,3が約20-60%と高頻度、G4,5は約2%程度ではあるが副反応に対する十分な対応の必要性を確認した。また、即時型反応だけではなくアレルギー性腸炎の発症にも注意すべきである。維持期(自宅での維持量鶏卵摂取)において副反応のために医療機関を受診したのは約27%であり、体調不良時や副反応出現時の対応を被検者及び保護者に明確に指導することが必要である。限られた症例での解析ではあるが、登録時卵白特異的IgE抗体価は試験継続可能か否かを予想するのに有用である可能性が示唆された。

また、判断に難渋する他覚的な腹部症状の判定基準に、フェイススケールを設け(図7)、副反応の判定が全施設で適格に施行できるようにプロトコルに追加した。

#### E. 結論

重篤な副反応を含め、本試験において副反応は少なからず出現する。従って、安全に本試験を施行する為には、副反応に対する十分な準備(ベッドサイドの緊急薬剤準備・医療体制を始め、自宅での摂取に対する注意点の指導や医療機関との緊急連絡体制など)を行いながら、Sampsonのアナフィラキシー分類や腹痛のフェイススケールなどを十分に活用し、副反応を冷静に判断し対応することが最重要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 小山晴美、荒川浩一. 特集 周産期のアレルギー

—生後早期の問題と小児アレルギー疾患の発症— アトピー素因を持つ両親から出生した児に対する対応方法. 周産期医学 2011, 41:625-627.

2) 荒川浩一. シンポジウム10 気管支喘息の発症・増悪を修飾する因子. 日本小児アレルギー学会誌 2011. 25:75-80.

3) 荒川浩一. 小児アレルギー疾患の最近の話題 ~気管支喘息の発症・増悪を修飾する因子~. 鼻アレルギーフロンティア 2011, 11:18-23.

4) Nakajima N, Mochizuki H, Muramatsu R, Hagiwara S, Mizuno T, Arakawa H. Relationship between exhaled nitric oxide and small airway lung function in normal and asthmatic children. Allergol Int. 2011 60:53-9.

5) 荒川浩一. 第57回日本小児保健学会ランチョンセミナー 喘息児のQuality of Life向上を目指して学校のアレルギー疾患に対する取り組みガイドラインを含む. 小児保健研究 2011, 70(2):221-224.

##### 2. 学会発表

1) 荒川浩一. シンポジウム12 増加するアレルギー疾患への対策を考える 小児科医の立場から. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会 2011年5月14~15日 千葉

2) 小山晴美、八木久子、石毛崇、荒川浩一、伊藤浩明、漢人直之、岩田力. ミニシンポジウム8-4 鶏卵の急速免疫療法中に腸管症状により治療継続困難となった2症例. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会 2011年5月14~15日 千葉

3) 中嶋直樹、杉山幹雄、萩原里実、八木久子、村松礼子、小山晴美、森川昭廣、荒川浩一. ポスター5-7 6歳時のアトピー性皮膚炎発症に関わる因子の前方視的検討. 第48回日本小児アレルギー学会 2011年10月28~30日 福岡

4) 八木久子、小山晴美、中嶋直樹、石毛崇、萩原里実、小柳貴人、荒川浩一、金子真理、佐藤幸一郎. ポスター10-4 ミルクによる消化管アレルギーが蔓延した4歳女児に対する緩徐経口免疫療法. 第48回日本小児アレルギー学会 2011年10月28~30日 福岡

5) 石毛崇、龍城真衣子、宮沢麗子、八木久子、友政剛、荒川浩一. ポスター10-6 好酸球性胃腸炎に伴う十二指腸潰瘍の3小児例の検討. 第48回日本小児アレルギー学会 2011年10月28~30日 福岡

6) 村松礼子、萩原里実、荒川浩一. シンポジウム4-3 乳幼児喘息における呼気NO. 第48回日本小児アレルギー学会 2011年10月28~30日 福岡

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他

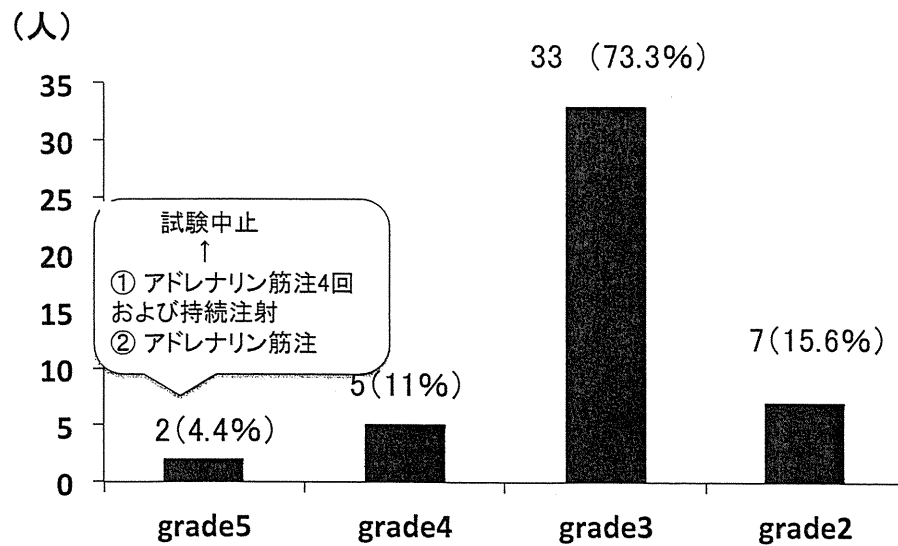


図1. DBPCFCでの副反応(対象45例)

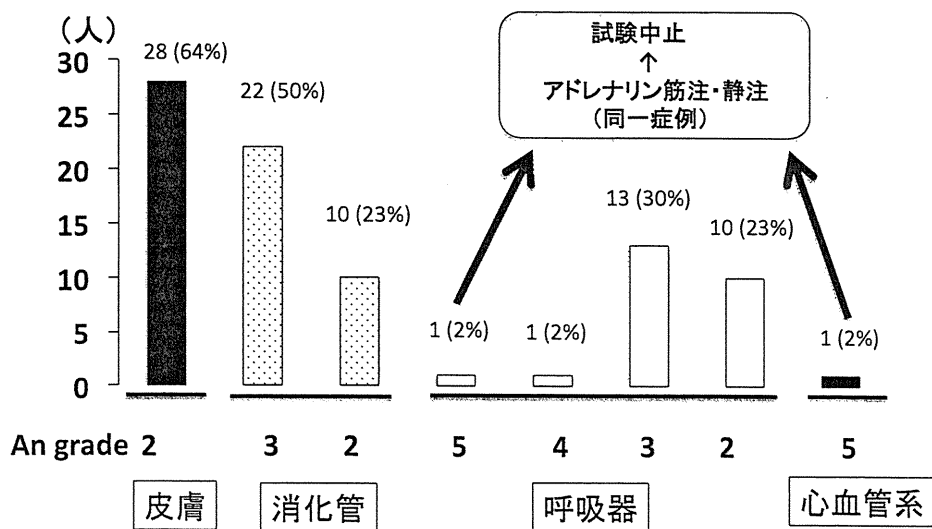


図2. 急速期の副反応(対象44症例)

(平均日数)

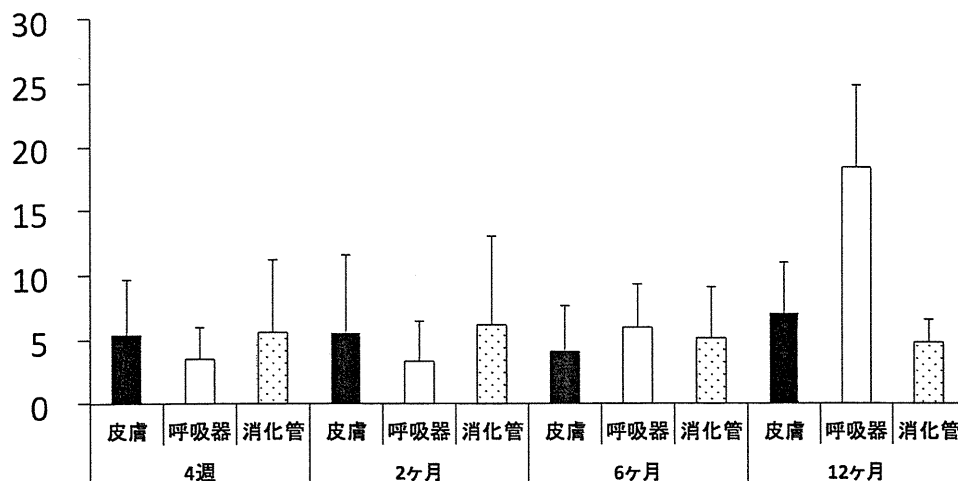
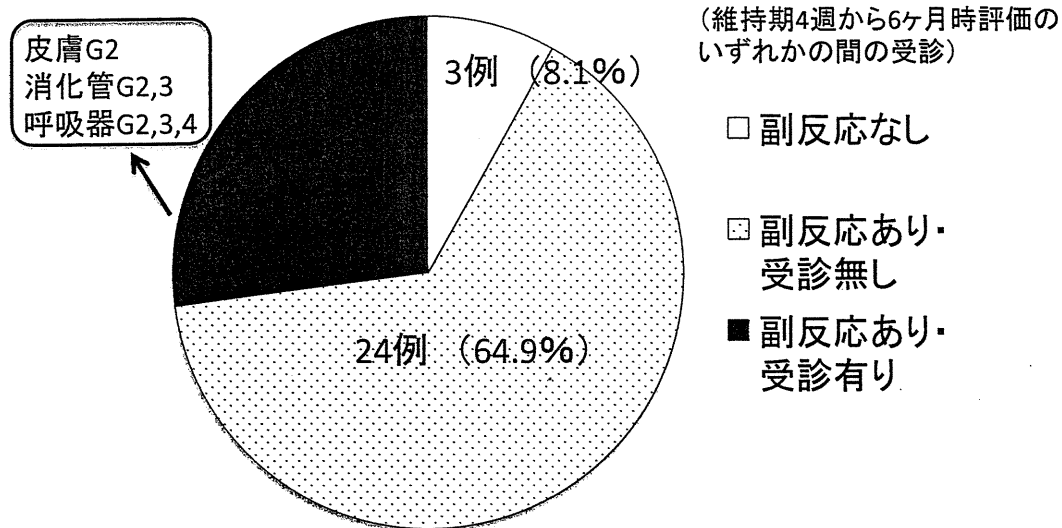


図3. 維持期での副反応



\* 12ヶ月評価到達11例のうち、12ヶ月評価時点で1例が医療機関受診あり  
 (皮膚G2、消化管G3、呼吸器G4)

図4. 維持期副反応と医療機関受診

図5 脱落症例 (8例)

1. 登録時 DBPCFC で AnG5 (アドレナリン筋注 4回・持続注射)
2. 登録時 DBPCFC で AnG5 (アドレナリン筋注)
3. 急速期に An G5 (アドレナリン筋注・静注)
4. 急速期にアレルギー性腸炎 (全身ステロイド投与)
5. 急速期にアレルギー性腸炎の疑い
6. 急速期に少量接種で誘発症状継続
7. 維持期に強い誘発症状ありアドレナリン筋注、入院し減量  
 摂取にても G3 の呼吸器症状あり
8. 同意撤回

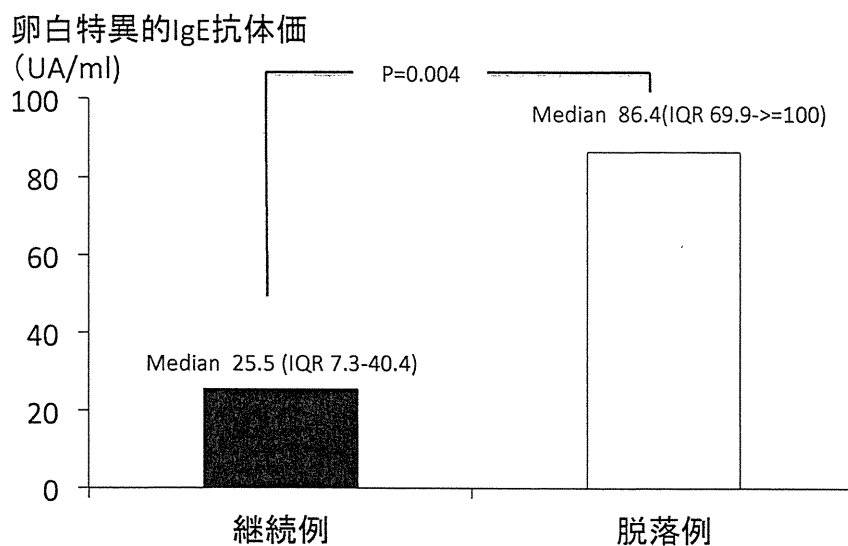


図6. 試験継続38症例と急速期以後脱落した5例の比較

腹痛の場合；下記のフェイススケール（0-5）を使用する。

下記の5の場合、または、4に理学的所見を伴う場合は、陽性と判定し、摂取を中止する。  
3の場合は、60分間の観察時間を取った後に判断する。  
摂取中止の目安となる理学的所見としては、グル音亢進、冷汗、顔色不良などとする。

【腹痛のフェイススケール】

いまのおなかのいたみについて おしえてください

0	1	2	3	4	5
いたくない	ちょっといたいけれどへいさ	いたいけれどがまんできる	しんどいつらい	だいぶんしんどいかなりつらい	もうがまんできない

図7. 腹痛のフェイススケール

## ガラクトマンナン修飾による食物アレルギーの低アレルギー化に関する研究

分担研究者 下条直樹（千葉大学大学院医学研究院小児病態学准教授）  
研究協力者 齊藤章（和興フィルタテクノロジー（株）バイオ事業推進グループ）  
森田慶紀（千葉大学大学院医学研究院小児病態学）

### 研究要旨

牛乳アレルギーの主要なアレルギーである $\alpha$ -カゼインをメイラード反応によりガラクトマンナンで被覆することにより IgE 抗体の結合能を低下させた低アレルギー化 $\alpha$ -カゼインの調製を試みた。 $\alpha$ -カゼイン：ガラクトマンナン比 1：4、1：12、1：24 の3種の混合比で反応させたところ、1：24 の混合比で可溶性のガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインが得られた。この複合体は SDS-PAGE でガラクトマンナンが未結合の $\alpha$ -カゼインのバンドは検出されず、ほぼ全ての $\alpha$ -カゼイン分子にガラクトマンナンが結合していると考えられた。

$\alpha$ -カゼインを主たるアレルギーとする5名の牛乳アレルギー患者を対象とした皮膚プリックテストでは3名で膨疹の有意な低下が認められた。以上から、ガラクトマンナン化により $\alpha$ -カゼインの IgE 抗体結合性を低下させることが可能であることが示された。今後症例数を増やして検討を進める予定である。

### A. 研究目的

近年食物アレルギーに対する経口免疫療法が新たな治療法として注目されている。経口免疫療法の作用機序はまだ不明な点が多いが、アレルギー特異的な調節性 T 細胞の誘導が関与することが明らかとされている。現在わが国も含めて世界で行われている経口免疫療法の大部分は、未変性の食物アレルギーを症状誘発閾値以下の量から増量して投与方法である。未変性のアレルギーは抗原構造が保たれているので T 細胞エピトープも分子上に維持されているが、アレルギー特異的 IgE 抗体のエピトープも存在する。このため、閾値を超える量のアレルギー摂取によりしばしば即時型のアレルギー反応が惹起され、経口免疫療法が速やかに進まないことが少なくない。この問題は、IgE 結合エピトープを除いて T 細胞エピトープを残したりコンビナントアレルギーや T 細胞エピトープのみを含む合成ペプチドにより克服できる。しかしながらアレルギーとなる食物由来タンパクは多岐にわたりすべてのアレルギーについて遺伝子工学的にリコンビナントアレルギーを作成する

ことは多大な費用がかかること、また合成ペプチドは個々の HLA により認識が異なるために一部の患者にしか使用できない、などの欠点がある。そこで、本研究ではアレルギー分子をガラクトマンナンで被覆し、IgE は結合できないが、抗原提示細胞に取り込まれた後には T 細胞エピトープが T 細胞に提示されて調節性 T 細胞を誘導しうる低アレルギー化食物アレルギーの調製を目的とした。

### B. 研究方法

今年度は、牛乳アレルギーの主要アレルギーである $\alpha$ -カゼインの $\epsilon$ -アミノ基と多糖であるガラクトマンナンの還元末端カルボニル基をメイラード反応により共有結合をさせ、 $\alpha$ -カゼイン分子を複数のガラクトマンナン分子で被覆することにより低アレルギー化を試みた。 $\alpha$ -カゼイン（シグマ社）とガラクトマンナンを蒸留水に溶解させ、十分に攪拌し凍結乾燥を行った。凍結乾燥で得られた固体を恒温恒湿器で 60 °C、65 %RH で2週間メイラード反応させた。メイラード反応における $\alpha$ -カゼインとガラクトマンナンの最適な混合比は不

明である為、1:0 (コントロール)、1:4、1:12、1:24 の3種の混合比で調製した。 $\alpha$ -カゼインの純度は市販品のため不明であるが、100%と仮定してモル比を決定した。

(倫理面への配慮)

本研究ではアレルギー性の評価を皮膚テストにより行っているのみで、安全性には問題ないものと考えられる。

### C. 研究結果

#### 1) ガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインの作成とその解析

メイラード反応後、 $\alpha$ -カゼイン/ガラクトマンナン比 1:4、1:12 のサンプルは蒸留水、PBS、PBS + 10 %SDS 溶液に不溶であったが、1:24 のモル比での反応物は可溶性であり、SDS-PAGE による解析が可能であった。図1に、左から、分子量マーカー、 $\alpha$ -カゼイン 3.4  $\mu$ g、2.6  $\mu$ g、1.8  $\mu$ g、1.0  $\mu$ g、0.2  $\mu$ g、ガラクトマンナン、モル比 1:24 サンプル、モル比 1:0 サンプルの SDS-PAGE 像を示す。モル比 1:24 サンプルはほとんど $\alpha$ -カゼインのバンドが検出されずカゼイン分子の大部分がガラクトマンナンで被覆されたものと考えられた。

#### 2) ガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインのアレルゲン性の評価

現在、即時型牛乳アレルギーの患者を対象に皮膚テストによりガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインのアレルゲン性を評価中である。現在までに行った6名の牛乳アレルギー患者の皮膚プリックテスト (SPT) の結果を表1に示す。 $\alpha$ -カゼインと $\alpha$ -カゼイン・ガラクトマンナン (モル比 1:24) は共に $\alpha$ -カゼインとして 1 mg/ml の濃度とした。症例#4 は牛乳に対する SPT は陽性でありながら $\alpha$ -カゼインに対する SPT が非常に弱いことから主たるアレルゲンは $\alpha$ -カゼインでない可能性がある。その他の5名の患者については、 $\alpha$ -カゼインに対する SPT は明確に陽性であり (膨疹 3mm 以上)、 $\alpha$ -カゼインが主たるアレルゲンであると考えられた。これら5名の患者での $\alpha$ -カゼイン・ガラクトマンナンと $\alpha$ -カ

ゼインの SPT 膨疹径を比較すると、症例#5,6 の2名では膨疹径の差異は認めなかったが、症例#1,2,3 では明らかにガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインによる膨疹径が $\alpha$ -カゼインに比して小さくなっていた。

### D. 考察

$\alpha$ -カゼインを主なアレルゲンとする5名の牛乳アレルギー患者中3名で、皮膚テストによりガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインの低アレルゲン性が明らかとなった。この5名は牛乳に対する強いアレルギー反応があり、厚労省研究班での経口免疫療法に参加した患者である。このような患者でも IgE 結合性が低下したことは、より軽度の牛乳アレルギー患者ではガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインに対する反応性はより低い可能性がある。今後軽度の牛乳アレルギー患者も対象とした皮膚テストも行い、ガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインの低アレルゲン性を評価したい。また今後、in vitro での T 細胞増殖能によりガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインが T 細胞エピソードを保持することを確認する必要がある。

### E. 結論

IgE 抗体の結合性が低下したガラクトマンナン化 $\alpha$ -カゼインの作成に成功した。

### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

### G. 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  
なし



図1 カゼインのガラクトマンナン化の SDS PAGE による解析

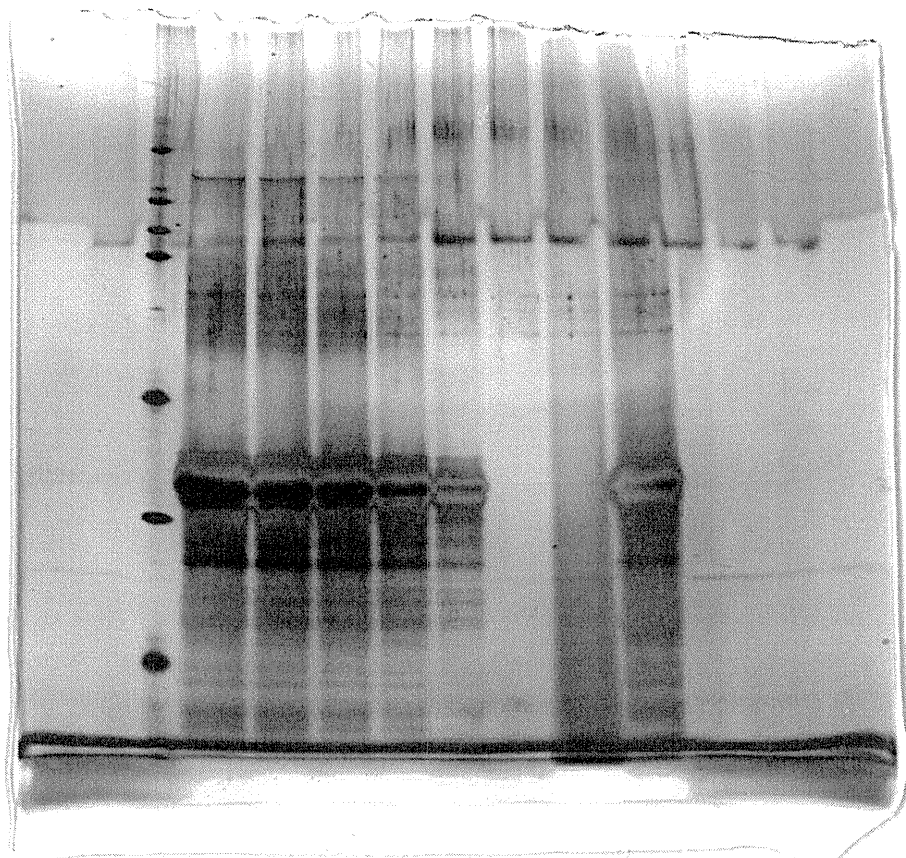


表1 ガラクトマンナン化カゼインに対する皮膚プリックテストの結果（膨疹／紅斑(mm)を示す）

番号	性別 (M/F)	牛乳RAST 値	PC (ヒスタミン)	NC (対照液)	牛乳	$\alpha$ カゼイン	$\alpha$ -カゼイン・ ガラクトマンナン
1	M	846	6/8	0/2	15/25	12/15	5/10
2	M	24.2	5/7	0/0	8/15	7/9	2/3
3	M	2.16	10/12	0/2	20/25	5/10	1/2
4	M	878	2/3	0/2	12/14	3/4	2/2
5	M	50.3	5/10	0/2	9/15	8/10	10/15
6	M	35.1	5/16	0/2	10/22	5/12	7/9

厚生科学研究費補助（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）総括研究報告書  
厚生労働科学研究費補助金（食物アレルギーにおける経口免疫療法の確立と治癒メカニズムの解明に関する研究）分担研究報告書

### 急速経口免疫療法の副反応としてのアナフィラキシー発現予知マーカーに関する検討

研究分担者 吉原重美（獨協医科大学医学部小児科学）  
研究協力者 福島啓太郎（獨協医科大学医学部小児科学）  
福田啓伸（獨協医科大学医学部小児科学）  
山田裕美（土屋小児病院小児科）

研究要旨：鶏卵摂取時に2臓器以上でアレルギー症状が発現したアナフィラキシー群と症状が発現しなかった群を対象として、鶏卵摂取前24時間以内に採血を行い血清中トリプターゼ値およびECP値を比較した。アナフィラキシー群ではトリプターゼ値が症状を発現しなかった群に比較して高値を示した。したがって、血清中トリプターゼの測定はその後のアナフィラキシー症状発現の予想するマーカーとなることが示唆された。これにより、より安全な急速経口免疫療法実施に役立つと考えられた。

#### A. 研究目的

近年実施されている急速経口免疫療法（Rush-SOTI）は、顕著な有効性が脚光を浴びているが、特殊な治療法であり、患者にも治療側にも多大な労力と緊張を強いるものである。解決すべき課題として、適応患者の選定、有効性の改善と副反応軽減、脱感作と真の耐性獲得の判別などがある。これらの課題を解決すべく、肥満細胞の顆粒に含まれるタンパク分解酵素であるトリプターゼおよび好酸球に含まれる強い組織障害作用を持つECPについて検討を行った。トリプターゼは、ハチ毒アレルギー患者でベースラインの血清中トリプターゼ量が高いほどハチ毒刺傷後の症状が重症となることが報告されている。またECPは、気管支喘息の発作時に特異的に血清中ECPが上昇し、病態を良く反映することが報告

されている。以上から本研究においては、これらの指標が免疫療法の適応患児の選択や副反応として問題とされるアナフィラキシーの予知に有用であるかを検討した。

#### B. 研究方法

##### 1. 対象

鶏卵摂取時に2臓器以上でアレルギー症状が発現したアナフィラキシー5症例（症状内訳：皮膚・呼吸器症状3名、皮膚・胃腸症状1名、皮膚・呼吸器・胃腸症状1名）と症状が発現しなかった18症例において、鶏卵摂取前24時間以内に採血を行った。その検体の血清中トリプターゼおよびECPの測定を行った。また、鶏卵のrush-SOTI開始前から経時的に観察できた症例を対象に、鶏卵摂取時の症状の有無と血清中トリプターゼ、ECPの関連性を検討した。

## 2. 方法

上記対象から得た血清中のトリプターゼおよび ECP は、ImmunoCAP(酵素免疫測定法、Phadia AB, Uppsala, Sweden)を用いて測定した。なお、統計的解析法は Mann-Whitney 法を用いて検定を行い、 $P < 0.05$  を有意差ありと判定した。

## C. 研究結果

1. 鶏卵摂取後にアナフィラキシー症状を呈したアナフィラキシー群では、症状を発現しなかったコントロール群に比べ、有意差をもって鶏卵摂取前の血清中トリプターゼ量が高い傾向が認められた(アナフィラキシー群 中央値  $4.16 \mu\text{g/L}$ ; 範囲  $2.92\text{-}4.40 \mu\text{g/L}$ 、コントロール群 中央値  $2.34 \mu\text{g/L}$ ; 範囲  $1.07\text{-}4.29 \mu\text{g/L}$ 、 $P=0.017$ ) (図 1)。

2. ECP については両群間で有意差は認められなかった(アナフィラキシー群 中央値  $21.6 \mu\text{g/L}$ ; 範囲  $7.81\text{-}49.1 \mu\text{g/L}$ 、コントロール群中央値  $12.35 \mu\text{g/L}$ ; 範囲  $4.21\text{-}53.3 \mu\text{g/L}$ ) (図 2)。

3. 免疫療法を実施した同一症例において、アナフィラキシー症状発現時にトリプターゼが高値を認めたが、ECP は高値を示さなかった(図 3, 4)。

## D. 考察

鶏卵摂取後にアナフィラキシー症状を呈した群では、症状を発現しなかった群に比べ、有意差をもって鶏卵摂取前の血清中トリプターゼが高値を示した。

ハチ毒アレルギーにおいて、ベースラインの血清中トリプターゼ値と副反応の重篤度は正相関するとの報告(ClinExp Allergy 2003;33:1216-1220)やベースラインの血清中トリプターゼ値が  $10 \mu\text{g/L}$  以上の場合、

ハチ毒アレルギーの原因となるアレルゲンの刺激によって重篤な副反応を引き起こすリスクファクターになるという報告(J Invest Allergol Clin Immunol 2007;17(2):65-69)がある。今回の結果においても、鶏卵摂取後にアナフィラキシー症状を呈した群では、症状を発現しなかった群に比べて摂取前 24 時間以内の血清トリプターゼが有意差をもって高値を示した。

また、食物アレルギー患者の負荷試験前と負荷試験後の血清中トリプターゼ値を比較したところ、アナフィラキシー群では負荷試験後にトリプターゼ値の上昇がみられたという報告(第 17 回日本アレルギー学会春季臨床大会抄録)もある。本研究において、鶏卵免疫療法を実施した同一症例におけるアナフィラキシー症状発現と鶏卵摂取前の血清トリプターゼ値を検討したところ、摂取前の血清トリプターゼ値が上昇している時期において症状発現が認められた。

以上より、ベースラインの血清中トリプターゼ値とアナフィラキシー症状発現について、過去の報告と一致する結果になった。

## E. 結論

本研究において、鶏卵摂取前に採血した血清中のトリプターゼ量を測定することにより、アナフィラキシー症状発現の予知が可能であることが示唆された。これにより、安全な食物負荷試験や経口免疫療法実施に役立つ可能性があると考えられる。今後はさらに症例を蓄積し、検討を行う予定である。

## F. 健康危険情報

特に無し。

## G. 研究

未発表

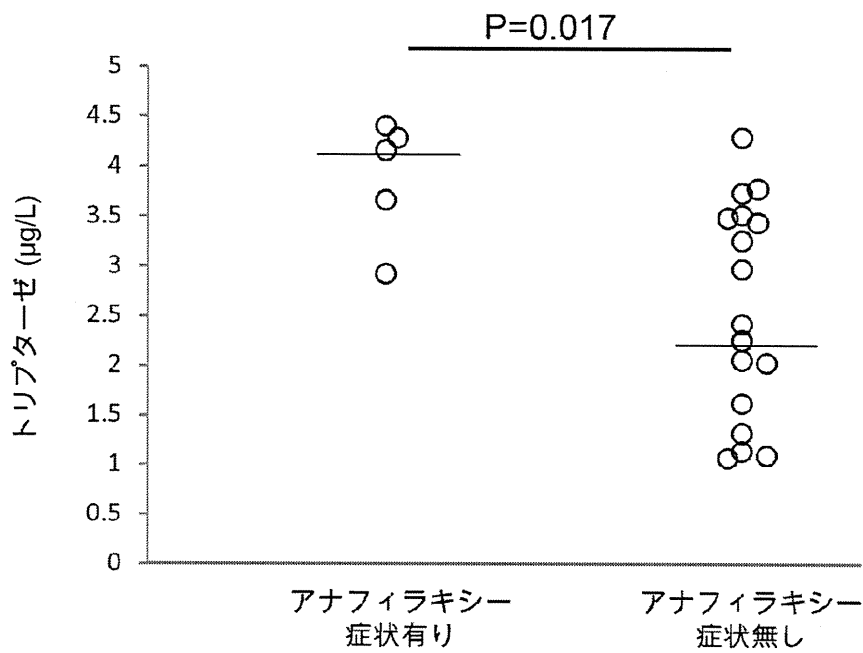


図1 アナフィラキシー症状発現とトリプターゼ値の関係

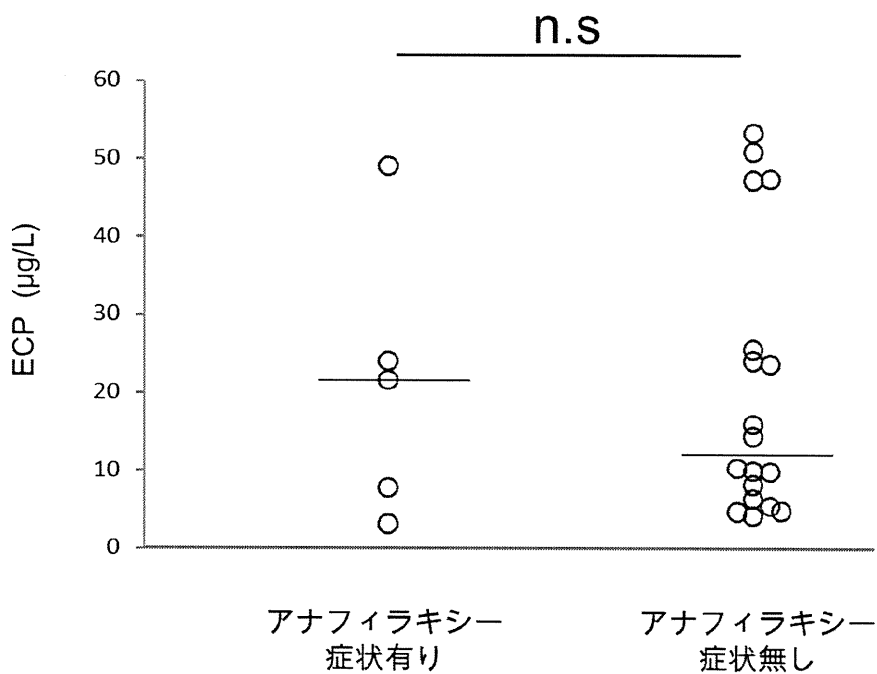


図2 アナフィラキシー症状発現とECP値の関係

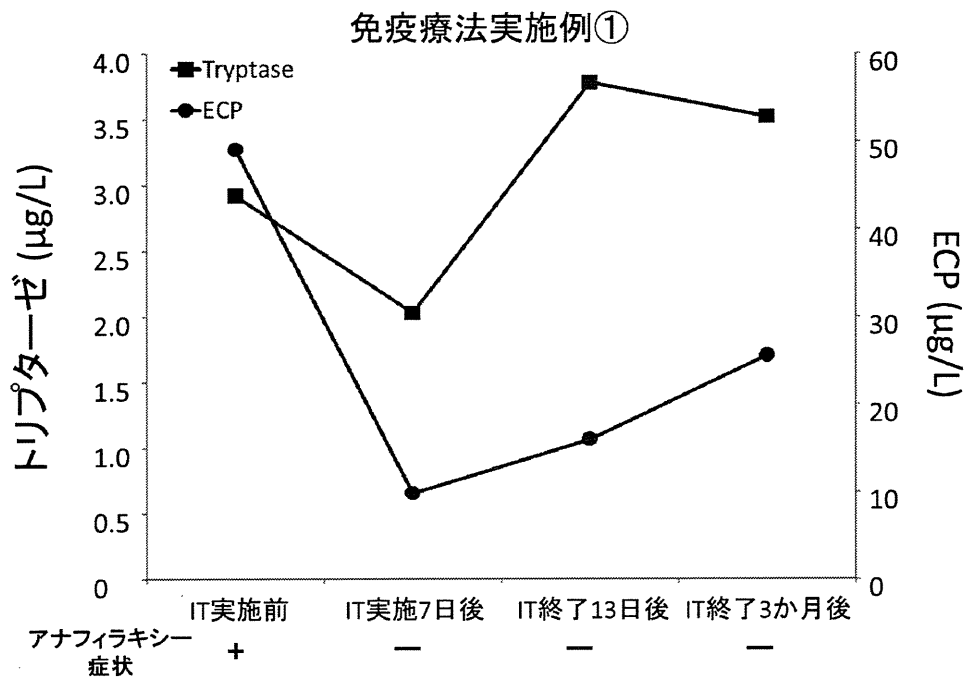


図3 免疫療法におけるアナフィラキシー症状発現とトリプターゼ値の変動①

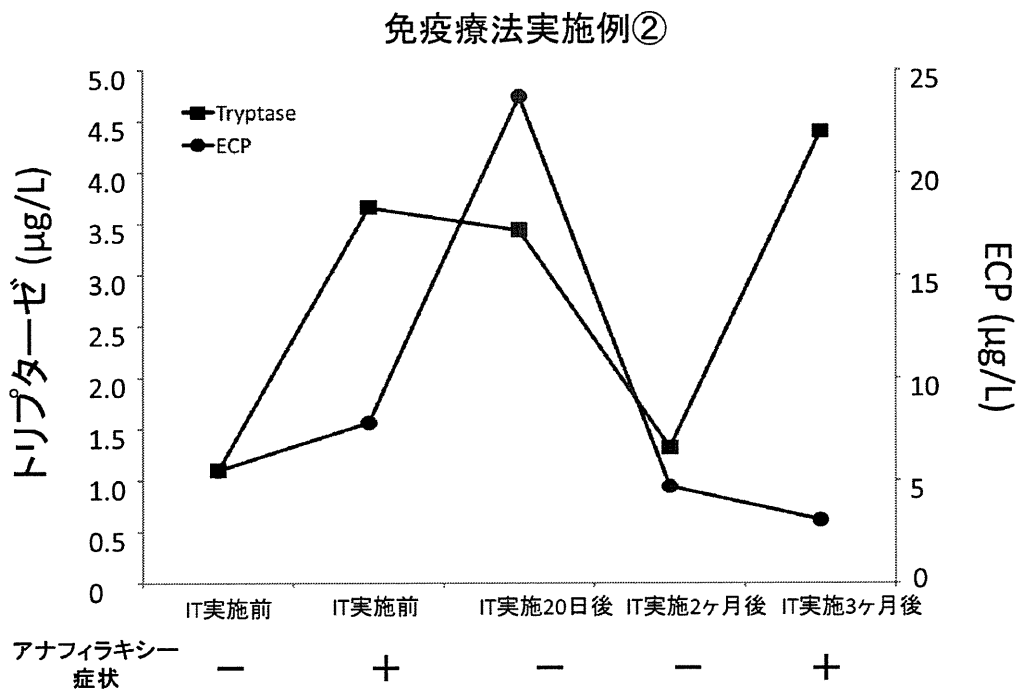


図4 免疫療法におけるアナフィラキシー症状発現とトリプターゼ値の変動②

## 牛乳急速経口免疫療法における好塩基球ヒスタミン遊離反応の解析

研究分担者 伊藤節子 同志社女子大学 生活科学部 食物栄養科学科  
研究協力者 矢寺路代 同志社女子大学 臨床栄養学研究室  
明石真未 同志社女子大学 臨床栄養学研究室

### 研究要旨

臨床検査である HRT シオノギ®による好塩基球ヒスタミン遊離試験（以下 HRT）は、卵、牛乳、小麦に関して IgE-mediated food allergy の原因抗原診断と耐性の獲得の確認のための負荷試験を安全に行うための指標として有用性が最も高い臨床検査である。診断時の検査としてはこの 3 抗原に関しては感度が 97~100%と高い。最重症例において超緩徐法による経口免疫療法の経過を数年かけて追跡すると、耐性の獲得に伴い、HRT 陽性となる抗原濃度の閾値が上がっていくことを確認できた。このように HRT は抗原診断や耐性獲得のよい指標となる *in vitro* の検査である。

牛乳急速経口免疫療法の各期において経時的に行っている HRT に関しては、まだプロトコールが進行中であり、十分な解析を行う段階ではないが、これまでの解析から食物アレルギーの経口免疫療法を安全に行うための指標としての有用性が示唆された。詳細な検討は耐性の獲得のメカニズムの解明や耐性獲得のための食事療法のあり方の提案にも結びつく可能性が高いと考える。

### A. 研究目的

食物アレルギーの治療における経過の指標として好塩基球ヒスタミン遊離試験（以下 HRT）が有用であることを卵アレルギーに関して明らかにしてきた。牛乳アレルギーの経口免疫療法においても同様に HRT が治療や耐性の獲得の指標となりうるかどうかを検討する。

### B. 研究方法

末梢血中好塩基球からのヒスタミン遊離試験は、HRT シオノギ®のキットを利用し、一部方法を変えて行った。抗白血球モノクローナル抗体 BA312 をつけたマグネットビーズと磁石を用いて末梢血から好塩基球を取り出し、アビジンプレート上で抗原と反応させ、遊離したヒスタミンを競合 ELISA 法にて測定した。HRT シオノギ®では抗原があらかじめセットされているが、今回行った変法では用意した抗原をマニュアルでアビジンプレートの各ウェルに入れることにより抗原が自由に選択できるという点が相違点であり、検査の原理は HRT シオノギ®と同じである。抗原としては牛乳（HRT シオノギ®）の他、牛乳の主要抗原コンポーネントタンパク質と考えられている  $\beta$ -ラクトグロブリン（以下  $\beta$ -LG, Sigma 社）、カゼイン（三重病院よりの供与）を用いた。分離した好塩基球を各抗原を 10 倍希釈系列により作製した 5 濃度（0.4, 4, 40, 400, 4000ng/mL）の抗

原液で刺激した。

結果は、各抗原濃度別に以下に示す計算式によりヒスタミン遊離率を算出し、横軸に抗原濃度を縦軸にヒスタミン遊離率にとったヒスタミン遊離曲線で表した。

$$\text{ヒスタミン遊離率(\%)} = \left\{ \frac{\text{抗原特異的ヒスタミン遊離量} - \text{非特異的ヒスタミン遊離量}}{\text{総ヒスタミン量} - \text{非特異的ヒスタミン遊離量}} \right\} \times 100$$

採血は治療群では、①登録時、①治療開始前（急速期の開始が割付日より 4 週間以上あいた場合のみ）、②急速期 7 日目前後、③急速期終了時、④維持期 2 ヶ月後、⑤維持期 12 ヶ月後の 5 回（条件によっては 6 回）、対照群ではこれに割付 3 ヶ月後が加わるため、6 回（条件によっては 7 回）となる。検体は採血後輸送され、翌朝 10 時より検査を行った。

### C. 研究結果

基礎検討として、HRT シオノギ®の変法によりヒスタミン遊離が評価できることを確認した。

2 月 24 日までに治療群 12 例中 9 例が維持期 2 ヶ月後までの検査を終了している。

抗原濃度 4~40ng/mL にヒスタミン遊離率のピークがある症例が最も多く、400~4,000ng/mL では同等または低下する傾向が認められた。このことから血中の抗原濃度として起こりうる濃度（数

ng/mL) をピークとして牛乳およびコンポーネント抗原である  $\beta$ -LG とカゼインが末梢血好塩基球からヒスタミンを遊離することが明らかとなった。一部の症例では非特異的ヒスタミン遊離量が総ヒスタミン量と大差ないほど高いため、ヒスタミン遊離量が多くても、ヒスタミン遊離率を計算すると低くなった。そのため、総ヒスタミン量と非特異的ヒスタミン遊離量の差が少ないときにはヒスタミン遊離率ではなく、ヒスタミン遊離量の絶対値で評価する必要があると考える。

抗原別に見るとカゼインによるヒスタミン遊離曲線のパターンは牛乳抗原と同様であり、カゼインが牛乳タンパク質の 80%を占めていることを反映していると考えられた。 $\beta$ -LG とカゼインによるヒスタミン遊離曲線を比較すると、 $\beta$ -LG もカゼインと同じパターンを示すが、カゼインよりも全体にヒスタミン遊離率が高い症例やより低濃度域に反応のピークがある症例が認められた。カゼイン優位パターンとカゼインよりも低濃度域に反応のピークがある  $\beta$ -LG 優位パターンを示す代表的な症例を以下の図に示す。

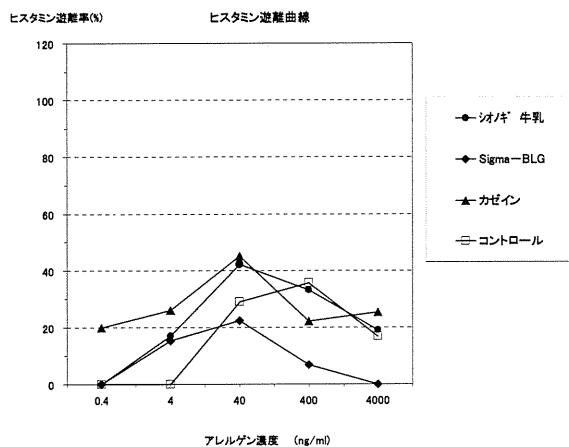


図1 カゼイン優位パターン

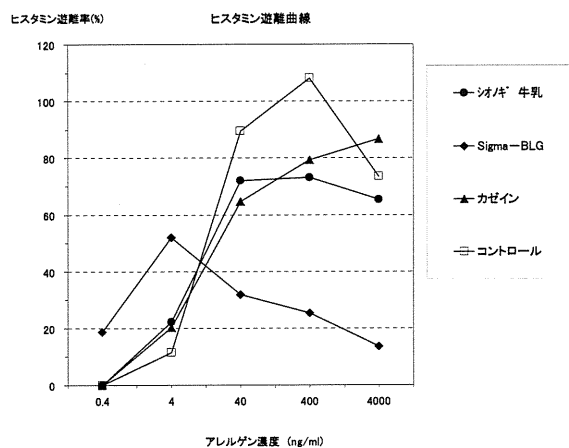


図2  $\beta$ -LG 優位パターン

経時的に HRT を行うことにより、①経口免疫療法の経過によるヒスタミン遊離曲線の変化、②コンポーネント抗原に対する反応性の違いと経過との関係、③HRT による経口免疫療法の安全性の予測、④安全性を重視した耐性獲得のための食事療法の方法の提案が可能になると考えられる。

維持期 2 ヶ月に達し、維持量である牛乳 200mL を規定通り摂取できている症例のうち、カゼイン優位パターンを示す症例として図 1 に示した症例の牛乳 HRT ヒスタミン遊離曲線を経時的に行った結果を重ねがきしたデータを図 3 に示す。登録時のみ陽性を示し、その後は陰性化した。

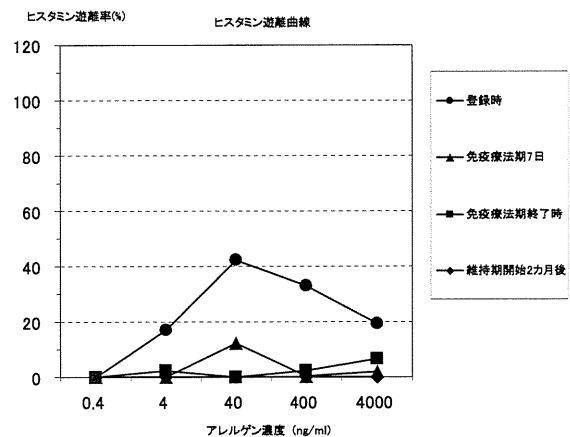


図3 図1の症例における経時的牛乳HRT

一方、2 ヶ月の維持期になっても増量困難で 1 ~ 2 mL でも症状が惹起されることのある症例について、牛乳抗原コンポーネント別に検討したヒスタミン遊離曲線を図 4、図 5 に示す。図 3 に示した維持期に達し 200mL の牛乳摂取中の症例のヒスタミン遊離曲線の推移とは異なり、維持期

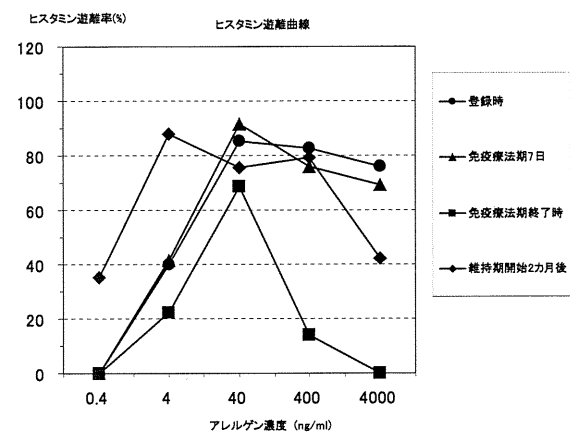


図4 経時的に検討したカゼインHRT

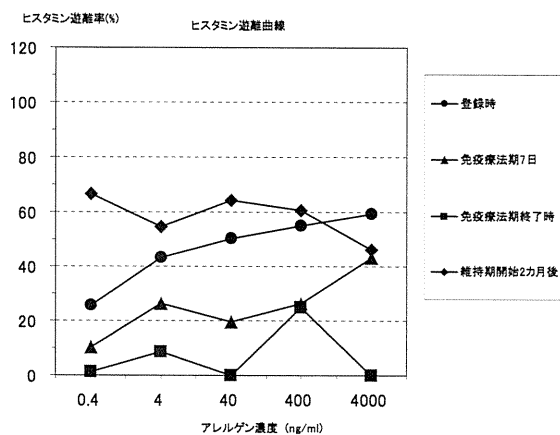


図5 経時的に検討したβ-LG HRT

のヒスタミン遊離率が登録時よりも高くなっていった。抗原コンポーネント別にみると最も抗原濃度の低い0.4ng/mLにおけるヒスタミン遊離率がカゼインについては20%を、β-LGについては60%を超えていた。ここにはデータは示さないが、牛乳HRTもカゼインHRTと同様のパターンを示した。この症例も急速期終了時までにはカゼインHRTは大きな変動がなく、β-LG HRTも各抗原濃度において順調にヒスタミン遊離率が低下していた。維持期開始後2ヵ月のヒスタミン遊離率の増加の結果から維持期になっても微量の抗原によりヒスタミンが遊離される状態が持続しており、経口負荷試験により重篤な症状が誘発される可能性が高いことが示唆された。実際に検査後に行われたDBPCFCにてGrade4のアナフィラキシーが誘発された。HRTの結果から負荷試験の結果の予測の可能性が示唆された。

#### D. 考察

まだプロトコールに基づいた研究の途上であるため、臨床症状との関連の検討ができていないが、経時的にHRTを検討することにより、免疫療法を安全に行うための有用な情報が得られる可能性が示唆された。とくに急速経口免疫療法の適応の有無の決定、あるいはプロトコール各期における経口負荷試験における症状誘発の危険性の予知においてHRTの結果を活用できる可能性を示唆するデータが得られた。今後、症例数をふやし、長期に経過観察することにより、食物アレルギーにおける経口免疫療法を安全に行うための指標、あるいは耐性獲得の指標としてのHRTの臨床応用の方法を明らかにすることができると考える。

#### E. 結論

経時的に行うHRTの結果の解析は、食物アレルギーにおける経口免疫療法を安全に行うための指標および耐性の獲得の指標として活用できるばかりではなく、耐性の獲得のメカニズムの解明や耐性獲得のための食事療法のあり方の提案にも結びつくものである。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 伊藤節子. 「食べる」側から見た食品の抗原性の評価と調理による低アレルゲン化：抗原コンポーネントレベルにおける検討と臨床応用. 日小ア誌 2011;25:63-7
- 2) 伊藤節子. 食物アレルギーと治療. 小児科 2011;52:175-82
- 3) 伊藤節子. 食物アレルギー：治療の基本と早期治療介入の重要性. アレルギー 2011;60:1495-503
- 4) 伊藤節子. IgE-mediated food allergyの原因抗原診断におけるピットフォール. 日小ア誌 2011;25:665-73
- 5) 伊藤節子. 乳汁栄養は将来のアレルギー疾患発症に関連するか？ 周産期医学 2011;41:633-7
- 6) 伊藤節子. 卵アレルギー. 小林陽之助監修「保護者と学校の先生に伝えたい食物アレルギーの基礎知識」p.11-14 診断と治療社, 2011年4月
- 7) 伊藤節子. 食物経口負荷試験により適切な診断・食事療法を行うことができた小児食物アレルギー症例. 田中清、松末智、本田佳子編「ケースで学ぶ栄養管理の思考プロセス第4巻」p.59-69、文光堂、2011年6月

##### 2. 学会発表

- 1) 伊藤節子. アナフィラキシーの病態から見た予防と対策. 第8回京都小児救急疾患研究会. 京都国際ホテル、2011年5月14日
- 2) 伊藤節子. 食品中のアレルゲン評価システム. 第23回日本アレルギー学会春季臨床大会テーマ館セミナー. 幕張メッセ国際会議場 2011年5月15日
- 3) Ito S. Evaluation of modified basophil



histamine release test at the antigen component level in the management of patients with egg allergy. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2011, 2011/6/14 Istanbul, Turkey

- 4) 伊藤節子. 食物アレルギーの栄養指導の方向性～食品のアレルゲン交換表の活用を含めて～第 114 回日本小児科学会学術集会分野別シンポジウム「食物アレルギー」、グランドプリンスホテル新高輪、2011 年 8 月 12 日
- 5) 伊藤節子. 耐性獲得を目指した治療における卵抗原量に基づく食事療法の有用性と安全性：卵白 Immuno CAP クラス 6 の卵アレルギー児における検討、第 48 回日本小児アレルギー学会、福岡国際会議場、2011 年 10 月 30 日
- 6) 伊藤節子. 「食べること」を目指した食物アレルギーの治療における好塩基球ヒスタミン遊離試験の活用. イブニングシンポジウム「I 型アレルギーとアレルギー検査(ヒスタミン遊離試験を中心に)」、第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会、グランドプリンスホテル新高輪、2011 年 11 月 10 日
- 7) 伊藤節子. 抗原量に基づく漸増法による食事療法の安全性と耐性獲得からみた有用性：重症卵アレルギー児における検討. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会、グランドプリンスホテル新高輪、2011 年 11 月 12 日
- 8) 伊藤節子. 食物アレルギーの治療. 第 12 回食物アレルギー研究会. 昭和大学上條講堂. 2012 年 2 月 18 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）  
食物アレルギーにおける経口免疫療法の確立と治癒メカニズムの解明に関する研究  
分担研究報告書

牛乳アレルギーに対する 急速経口免疫療法（多施設共同ランダム化比較試験）の  
プロトコールと症例登録状況

研究分担者 五十嵐 隆 東京大学医学部小児科 教授  
研究協力者 伊藤 直香 東京大学医学部小児科

### 研究要旨

食物アレルギーは小児の約 5 %を占める重要な疾患であるが、まだその発症・治癒メカニズムは不明であり、根本的治療法も確立されていない。不自由であっても除去食を続ける他、方法のない重症食物アレルギー患者は、根本的治療法の確立を待ち望んでいる。本研究では、現時点では各施設で適応や方法が異なり、未確立であるものの、根本的治癒を得られる可能性のある経口免疫療法について、全国の小児アレルギー基幹病院が共同でランダム化比較試験を行うことにより、本療法の安全性と有効性を客観的に評価し、より良い治療法の開発につなげること、また、本療法中の患者検体を解析することにより食物アレルギーの発症、治癒メカニズムを明らかにすることを目的として研究が遂行されている。

23年度は、22年度7月より行っている鶏卵アレルギー症例を対象とした本研究の結果や最新の知見に基づき、新たな牛乳アレルギー症例用のプロトコールを作成し、23年7月より牛乳アレルギー症例を対象とした経口免疫療法の多施設共同ランダム化比較試験を開始した。現時点で、目標症例数の半数以上の二次登録を得ている。本年5月には牛乳アレルギー症例においても中間解析が可能となる予定である。

本研究により、個体や食物の種類による誘発症状、治療効果の違いなど、本療法における問題点・改善点が明らかになりつつある。今後も、より安全性と有効性の高い根本的治療法の検索とメカニズムの解析を進め、食物アレルギーに対する根本的治療法の確立を目指す。

### A. 研究目的

食物アレルギーは小児の約 5 %を占める重要な疾患であるが、まだその発症・治癒メカニズムは不明であり、根本的治療法も確立されていないのが現状である。このメカニズムの解明や根本的治療法の確立を目的として、本研究を遂行する。

### B. 研究方法

食物アレルギーに対する新規根本的治療法となり得る可能性を持つ、経口免疫療法について、安全性と有効性の客観的評価、改善点検索と、治癒メカニズム解明を目指し、本療法の多施設共同ランダム化比較試験を行う。

昨年度は、鶏卵アレルギー症例を対象とし、経口免疫療法の多施設共同ランダム化比較試験を開始した。その結果、感作アレルゲンを投与するという治療の性質上、安全に耐性誘導することを目指しても、治療過程で誘発症状が起こるリスクは常に残ることが判明した。また、近年、牛乳ア

レルギー症例では、鶏卵、小麦、ピーナツなどと比べ、誘発症状が多く生じることが報告されてきている。そのため、本研究では、安全性確保を最優先として、牛乳アレルギー症例に対する経口免疫療法を開始する前に、昨年度より開始している鶏卵アレルギー症例に対する経口免疫療法中の誘発症状の解析結果とこれまでに報告されている牛乳アレルギーのリスクに基づき、プロトコールの改訂を行い、その後、牛乳アレルギー症例の登録を開始した。改訂にあたっては、安全性を高めるとともに、治療の有効性、科学的な視点も損なわれないよう配慮した。

本研究はヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針等を遵守し、各施設における倫理審査委員会の承認を得た後に実施された。

### C. 研究結果

昨年度より鶏卵アレルギー症例45症例（目標症例数40症例）に対して経口免疫療法を行っている。

プロトコルは、症状誘発閾値決定のための二重盲検食物負荷試験と、その後、閾値より少ない量から1日3~5回、漸増した鶏卵を摂取し、維持量に到達させる急速免疫療法期（入院）、続いて、同量の摂取を続ける維持期（自宅）からなるものであった。誘発症状に関しては、判定基準（Grade 1~5）とそれぞれに対する具体的な対応方法をプロトコルに記載してあった。現時点で、鶏卵アレルギー全例が急速免疫療法期を終え、維持期に入っており、実際に出現した誘発症状について、判定基準による評価や行った治療、および、経過の解析を行った。また、牛乳アレルギーのリスクについての報告を収集した。これらの情報を基に牛乳アレルギー用のプロトコルを作成し、その後より牛乳アレルギー症例の登録を開始した。

鶏卵アレルギー症例における本試験での、食物負荷試験、急速免疫療法期、維持期それぞれの誘発症状を解析した結果、経口免疫療法を多施設共同でより安全に行うためには、誘発症状の判定基準（Grade 1~5）をより具体的かつ広範囲にわたって記載すること、誘発症状のGradeに対する対応方法をより詳細に規定すること、1日の摂取回数や摂取量を減らすことが望ましいと考えられた。また、牛乳アレルギーのリスクについての報告では、他の食品と比べ、食物依存性運動誘発アナフィラキシー（FEIAn）などの重篤な誘発症状を生じやすいという報告が多くみられた。

これらのことから、誘発症状の判定基準においては、フェイススケールを新たに設けるなど、多彩な症状においても対応できるよう、より具体的な記載とした。さらに、24時間365日対応の連絡先を設け、アドレナリン使用時は研究本部へ報告を行うなど、いつでも早急に本部に直接連絡・相談して最適な対応を行うことのできるシステムを構築した。また、1日の摂取回数を最大で3回までとし、1日の合計摂取量の上限を200mlと規定した。さらに、退院前には、病院内で医師の管理のもと、運動・入浴負荷試験を行い、自宅でFEIAnが起こるリスクを最小限とするよう努めた。これらの検討を重ねて作成した牛乳アレルギー症例用プロトコルを23年7月までに完成させ、23年7月末より牛乳アレルギー症例のエントリーを開始した。

以下に、その牛乳症例用の経口免疫療法プロトコルの要旨を示す。

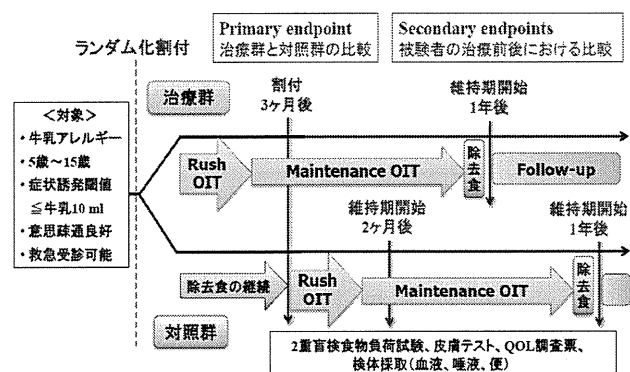
### 対象症例：

今後自然寛解する可能性が低いと考えられる、5歳以上15歳以下の男女。二重盲検食物負荷試験にて実食物でのみ他覚的症状が出現することを確認し、症状誘発閾値を判定後、登録を行った。積極的介入が必要と考えられる重症症例を対象とするため、症状誘発閾値の上限を設け、10ml以下の牛乳摂取にてアナフィラキシー等の他覚的症状が起こることを確認した症例のみを対象とした。また、安全性を考え、救急時に受診可能な医療機関が確保できた後に試験登録を行うこととした。

### 対象食物：

食物側因子により異なる免疫応答となる、すなわち、本療法の有効性は食物によって異なる可能性が考えられたため、22年度の鶏卵アレルギー症例に加え、23年度より、新たに牛乳アレルギー症例を対象として症例登録を開始した。

### シエーマ：



### 基本デザイン：

年齢、性別、特異的IgE抗体価、治療該当食物摂取状況、負荷試験結果（症状誘発閾値、誘発症状重症度）、実施医療機関を調整因子とした動的ランダム化割付により、治療群、対照群に分けて比較するランダム化比較試験とした。対照群としては除去食症例を設定した。本試験に参加される症例は全例、本療法を受けることを希望されていること、また、統計学的見地により、delayed control trialとした。

メカニズム解明を目指すための臨床検体採取は、登録時、治療開始前、急速免疫療法開始後7日目、急速免疫療法終了時、割り付け3ヵ月後、維持期開始2ヵ月後、12ヵ月後、以後1年毎に、経過観

察とともに行うこととした。鶏卵アレルギー症例では、血液、唾液検体のみの採取であったが、腸内環境を解析するため、牛乳アレルギー症例からは新たに便検体も採取し、解析を行うこととした。

**主要評価項目：**

治療群（免疫療法群）と対照群（除去食群）の比較。割り付け時と割り付け3ヵ月後での2重盲検食物負荷試験の結果を比較。（シエーマにて「Primary endpoint」）

**副次評価項目：**

- 1) 各症例における治療前後での2重盲検負荷試験結果の比較。維持期開始から2ヵ月後、12ヵ月後（シエーマにて「Secondary endpoints」）を評価時点とした。脱感作（desensitization）と耐性獲得（tolerance）を区別するため、12ヵ月後には、2週間以上の該当食物の除去を行い、その後、2重盲検食物負荷試験を行う形式とした。
- 2) 全経過中における有害事象。
- 3) 検査結果（血液、唾液、便検体採取、皮膚プリック検査を施行。特異的IgE、IgA、IgG抗体価、好塩基球反応、リンパ球反応、皮膚膨疹径の変化等）。
- 4) QOL 調査票のスコア変化。

**目標症例数：**

牛乳アレルギー症例：40症例

食物アレルギーの自然治癒率（除去食時治癒率）は食物により異なり明確でないため、目標症例数の半数の時点で中間解析を行い、必要症例数を見直すadaptive designを用いた。Fisher検定（有意水準：片側5%）を行い、検出力80%以上を確保するために必要な症例数を設定し、半数を超えた時点で条件付検出力が80%以上となるよう追加症例数を再設定し、30%以下であれば中止とすることとした。

主要評価項目である割り付け3ヵ月後時点での治癒率を、治療群：75%、対照群：20%と仮定。これらがともに検出率80%以上を満たすのは、各群13症例であり、若干の不適合例を見込み、目標症例数を各群20症例と設定した。

**治療：**

急速経口免疫療法を行う急速免疫療法期（シエーマにて「Rush OIT」）と、その後より開始する維持期（シエーマにて「Maintenance OIT」）がある。急速免疫療法期では、入院の上、該当食物を症状が起きない少量から漸増しながら連日最大3回摂取していく急速経口免疫療法を行う。1回摂取量で牛乳200mlを目標量とする。目標量に到達、または、増量が不可能な場合は、自宅で維持量を定期的に摂取する維持期に移行する。自宅でFEIAnが起るリスクを最小限とするため、自宅での維持期開始前に、入院下で医師の管理のもと、入浴・運動負荷試験を行う。

**二次登録完了症例数：**

本年3月現在、9施設から症例登録され、二次登録症例数は25症例（目標数40症例）に達した。本年5月には中間解析が可能となる予定である。また、中止症例を除いた全症例からスケジュール通りに検体採取が行われており、順調に検体の保存、解析が進行している。

登録症例についてのまとめを以下に示す。

計25症例（目標40症例）（平成24年3月現在）  
 治療群：13症例  
 対照群：12症例

**牛乳登録症例 群別背景：**

二次登録症例	治療群 (n=13)	対照群 (n=12)	
平均年齢（歳）	7.5 (5-11)	8.3 (5-12)	
性別(男：女)	11：2	10：2	
症状誘発閾値 (ml)	0.1	0	2
	0.3	0	1
	1	5	3
	3	3	1
	10	5	5
症状重症度 (Grade)	1b	1	1
	2	2	2
	3	7	8
	4	3	1
	5	0	0
牛乳 IgE (UA/mL)	Average	54.3	59.6
	Median	49.5	58.1