

201126043A

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

成人独自のアナフィラキシーの
実態と病態に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 福富 友馬

平成24(2012)年3月

目次

I. 総括研究報告書

成人独自のアナフィラキシーの実態と病態に関する研究

福富友馬 1

II. 分担研究報告書

1. 加水分解小麦関連経口小麦アレルギーに関する普及啓発活動と
診療体制確立に関する研究

福富友馬 11

2. 加水分解小麦の感作性・惹起性に関する研究

手島玲子 15

3. 食物タンパク質由来化粧品添加物の抗原解析

板垣康治 37

4. 加水分解小麦を含有する石鹸・シャンプーその他の化粧品の使用と
成人小麦アレルギーとの疫学的な関係

中村裕之 41

5. 洗顔石鹸中の加水分解小麦による接触感作が発症要因と考えられた
小麦アナフィラキシーと小麦運動誘発アナフィラキシーの成人例の
臨床的検討

相原道子 45

6. 加水分解小麦含有洗顔石鹸に関連した経口小麦アレルギー症例に
おける石鹸使用中止後の小麦タンパク特異的 IgE 抗体価の
経年的変化

福富友馬 49

7. ピーナッツアレルギー診断におけるアレルゲンコンポーネントの
有用性に関する研究

海老澤元宏 51

8. 成人大豆アレルギーにおける感作アレルゲンコンポーネント:
カバノキ科花粉症との関連性

福富友馬 57

9. 成人薬剤アレルギーの疫学調査

谷口正実 61

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

..... 67

I. 総括研究報告書

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）
総合研究報告書

成人独自のアナフィラキシーの実態と病態に関する研究

研究代表者 福 富 友 馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員

研究分担者 相 原 道 子 横浜市立大医学研究科環境免疫病態皮膚科学 教授
板 垣 康 治 北海道文教大学人間科学部健康栄養学科 教授
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

谷 口 正 実 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 病態総合研究部部長
手 島 玲 子 国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部 部長
中 村 裕 之 金沢大学医薬保健研究域医学系 環境生態医学・公衆衛生学 教授

研究協力者 秋 山 一 男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター長
池 澤 善 郎 国際医療福祉大学熱海病院
岸 川 禮 子 国立病院機構福岡病院 アレルギー科医長
千 貫 祐 子 島根大学医学部皮膚科学教室 助教
古 川 福 実 和歌山県立医科大学 医学部皮膚科学 教授
松 永 佳 世 子 藤田保健衛生大学 医学部皮膚科学 教授
森 田 栄 伸 島根大学医学部皮膚科学教室 教授
田 中 宏 幸 岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学研究室
安 達 玲 子 国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部 室長
中 村 亮 介 国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部 主任研究官
酒 井 信 夫 国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部 主任研究官
中 村 里 香 国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部 研究助手
松 倉 節 子 横浜市立大学市民総合医療センター皮膚科 講師
蒲 原 毅 横浜市立大学市民総合医療センター皮膚科 部長・准教授
白 田 阿 美 子 横浜市立大医学研究科環境免疫病態皮膚科学 指導診療医
池 澤 優 子 茅ヶ崎市立病院 皮膚科部長
小 俣 貴 嗣 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

中 澤 卓 也 国立病院機構相模原病院臨床研究センター
石 井 豊 太 国立病院機構相模原病院臨床研究センター
斎 藤 明 美 国立病院機構相模原病院臨床研究センター
安 枝 浩 国立病院機構相模原病院臨床研究センター

研究要旨：

成人の食物アレルギーやアナフィラキシーは小児のそれと大きくその臨床像と病態が異なるにも関わらず、その病態に関しては十分に検討されてきていない。成人においても食物アレルギーなどが稀でないことを考えると、成人独特の病態にもっと多くの関心が払われるべきである。

今年度は、第一に現在社会問題になっている加水分解小麦に対するアレルギーの実態把握と病態解明を目的とした。さらに、その他の小児・成人の食物アレルギーに関する臨床研究、成人の薬剤アレルギーに関する疫学研究を行った。

加水分解小麦への経皮経粘膜感作によって発症した小麦アレルギー（主に（旧）茶のしずく石鹼による小麦アレルギー）に関して、本年度の研究で明らかになったことを要約すると以下のとおりである。

- 1) 当該疾患による小麦アレルギーは、小麦の経口摂取により発症した小麦アレルギーと臨床像が大きく異なる。
- 2) 臨床的観察から、当該疾患の患者の大部分が加水分解小麦を含有する「（旧）茶のしずく石鹼」を使用していた。
- 3) この石鹼の使用と小麦アレルギーの流行の疫学的な関係も証明された。
- 4) この石鹼に含有されていたグルパール19Sという加水分解小麦は、天然の小麦にはない独自の抗原性を有している。
- 5) グルパール19Sは、天然小麦に比べて新規の感作能力という意味でも、抗原性が高い。
- 6) 当該疾患は石鹼の使用の中止（加水分解小麦への暴露の消失）により、病態が改善傾向に向かう患者が多いようである。

今後は、その他の市販されている加水分解小麦の安全性の評価、なぜグルパール19Sが抗原性が高くなってしまったかなどの基礎検討が求められると考えている。さらに、加水分解小麦以外にも食品由来化粧品原材料は多くあり、これらのうち食物アレルギーの発症に関与しているものがないかは評価してゆく必要がある。

その他、大豆アレルギーに関する研究では、成人大豆アレルギーは小児のそれに比べて、花粉症関連の花粉アレルギーに対する経粘膜感作が、その発症に重要であることが示された。この知見は、上述の化粧品関連食物アレルギーと合わせて、成人食物アレルギーの発症において腸管外感作ルートに特に留意しなければいけないことを示していると考察する。

薬剤アレルギーの一般集団における有病率も明らかになった。この知見は、今後のこの領域の研究の基礎的な情報となる重要な知見であると考えている。

A. 研究目的

アナフィラキシーは、最重症型の致死性の即時型アレルギー反応であり、死の恐怖と隣り合わせで日常生活を送る患者のみならず、患者を抱える社会に対しても重大な負担を強いる原因となっている疾患である。

成人の食物アレルギーやアナフィラキシーは小児のそれと大きくその臨床像と病態が異なるにも関わらず、その病態に関しては十分に検討されてきていない。成人においても食物アレルギーなどが稀でないことを考えると、成人独特の病態にもっと多くの関心が払われるべきである。さらに、成人の食物アレルギーやアナフィラキシーは、成人の一般人口のアトピー体質を持つものの割合の増加に従って、その有病率が今後増加してくることが推測される。小児の食物アレルギーと同様に、今後は、成人の食物アレルギーも今よりもっと大きな社会的インパクトを持ってくるようになると考えられる。

これまで多くの研究が、花粉など吸入性抗原に対する、経気道粘膜的感作が、成人の食物アレルギーの発症原因として非常に重要であることを示してきている。最近になって私たちは美容石鹸中の加水分解小麦に対する接触性感作により発症した小麦アレルギーの大流行を経験した。この事件は結果的に、成人における食物アレルギーの腸管以外の感作ルート的重要性を再認識させるものとなってしまった。さらに、この疾患は、我々が何気なく使用している化粧品・医薬部外品などに含有される食物タンパク質由来の添加物が、我々のアナフィラキシーの発症やその流行に関与している可能性を示唆しており、公衆衛生上の重大な問題であると考えている。

今年度は、第一に現在社会問題になっている加水分解小麦に対するアレルギーの実態把握と病態解明を目的とした。さらに、その他の小児・成人の食物アレルギーに関する臨床研究、成人の薬剤アレルギーに関する疫学研究を行った。

B. 研究方法

<加水分解小麦含有洗顔石鹸関連の小麦アレルギーに関する普及啓発活動、診療体制整備>

① 福富（研究代表者）らは、インターネット上に情報ページを立ち上げることにより、一般市民、医療従事者を対象に、加水分解小麦の経皮経粘膜感作による小麦アレルギーという疾患・病態に関する正しい情報の普及啓発活動を行った。

<加水分解小麦関連小麦アレルギーの病態解明>

② 手島（国立医薬品食品衛生研究所）らは、動物実験モデルにおいて、加水分解小麦の感作能を評価した。さらに独自に開発した細胞を用いる *in vitro* 惹起試験を用いて、加水分解小麦の惹起能を検討した。

③ 板垣（北海道文教大学）らは、ウェスタンブロッティング、クロマトグラフィ、グルテンの酵素分解と逆相クロマトグラフィによるペプチドマッピングにより、加水分解小麦の抗原性に関して検討した。

＜加水分解小麦関連小麦アレルギーの実態調査＞

④ 中村（金沢大学）らインターネットを介して、加水分解小麦アレルギーの大規模疫学調査を行った。

＜加水分解小麦関連小麦アレルギーの臨床的検討＞

⑤ 相原（横浜市立大学）らは、加水分解小麦関連小麦アレルギーと通常的小麦アレルギー症例の臨床像の比較を行った。

⑥ 福富（研究代表者）らは、加水分解小麦関連経口小麦アレルギー症例の、小麦タンパク特異的 IgE 抗体価の経年変化により、長期予後に関して検討した。

＜成人小児の食物アレルギーのアレルゲンコンポーネント解析＞

⑦ 海老澤（相模原病院）らは、小児ピーナッツアレルギー患者の診断におけるアレルゲンコンポーネント解析を行った。

⑧ 福富（研究代表者）らは、成人大豆アレルギー患者の臨床的検討とアレルゲンコンポーネント解析を行った。

＜成人薬剤アレルギーの実態調査＞

⑨ 谷口（相模原病院）らは、インターネットを介して薬剤アレルギーの疫学調査・実態調査を行った。

（倫理面への配慮）

研究対象となる患者、特に検体提供者となる患

者に対しては十分な説明と同意の上（文書説明と文書同意）遂行した。

実験動物に関しては動物愛護上の配慮を十分に行った。すべての研究過程や結果において匿名化を行い、個人情報の保護に十分配慮した。

C. 研究結果

① 迅速は情報ページの立ち上げにより、効果的な普及啓発活動を行うことができた。

② マウス経皮感作実験から、(旧) 茶のしずく石鹼に含有されていた酸加水分解小麦、グルパール19Sは、感作能が非常に強いことが判明した。また、加水分解が進み、より低分子のタンパク質が主体になっても惹起能は有していることが明らかになった（投稿中）。

③ 抗原性解析の結果、(旧) 茶のしずく石鹼に含有されていたグルパール19Sは、他の小麦加水分解物素材とは、その物理化学的性質が大きく異なり、重合などによって生じた新たなアレルゲンの存在が示唆された。

④ 大規模なインターネット疫学調査により、(旧) 茶のしずく石鹼の使用が、成人小麦アレルギーの流行に関与していることが明らかになった（投稿準備中）。

⑤ 加水分解小麦への経皮経粘膜感作によって発症した小麦アレルギーと、通常的小麦アレルギーの臨床像の差異が明瞭になった。

⑥ 加水分解小麦関連経口小麦アレルギー症例の多くにおいて、石鹼使用中止後、小麦タンパクに対する IgE 抗体価が低下を認め、このような病態においては石鹼使用の中止で経年的に病態が改善傾向に向かう可能性が示唆された。

⑦ 小児ピーナッツアレルギーにおいては、

rAra h 2 の対する IgE 抗体価が診断能力に優れていることが明らかになった。

⑧ 成人大豆アレルギーにおいては、PR-10 タンパクである Gly m 4 に対する感作が重要であることが明らかになった。経口摂取による成人大豆アレルギーの発症は稀であることが明らかになった (JACI2012 in press)。

⑨ 成人の薬剤アレルギーの有病率は 8.4% であり、そのうちアナフィラキシーショックを疑う症状を有しているものも 10-20% に認め、重篤な薬剤アレルギーは一般集団で比較的稀ではない可能性が示唆された。また原因薬剤は抗生剤と解熱鎮痛剤の占める割合が高いことも明らかになった (投稿準備中)。

D. 考察

加水分解小麦への経皮経粘膜感作によって発症した小麦アレルギー (主に (旧) 茶のしずく石鹼による小麦アレルギー) に関して、本年度の研究で明らかになったことを要約すると以下のとおりである。

1) 当該疾患による小麦アレルギーは、小麦の経口摂取により発症した小麦アレルギーと臨床像が大きく異なる。

2) 臨床的観察から、当該疾患の患者の大部分が加水分解小麦を含有する「(旧) 茶のしずく石鹼」を使用していた。

3) この石鹼の使用と小麦アレルギーの流行の疫学的な関係も証明された。

4) この石鹼に含有されていたグルパール 19S という加水分解小麦は、天然の小麦にはない独自の抗原性を有している。

5) グルパール 19S は、天然小麦に比べて新

規の感作能力という意味でも、抗原性が高い。

6) 当該疾患は石鹼の使用の中止 (加水分解小麦への暴露の消失) により、病態が改善傾向に向かう患者が多いようである。

今後は、その他の市販されている加水分解小麦の安全性の評価、なぜグルパール 19S が抗原性が高くなってしまったかなどの基礎検討が求められると考えている。さらに、加水分解小麦以外にも食品由来化粧品原材料は多くあり、これらのうち食物アレルギーの発症に関与しているものがないかは評価してゆく必要がある。

その他、大豆アレルギーに関する研究では、成人大豆アレルギーは小児のそれに比べて、花粉症関連の花粉アレルギーに対する経粘膜感作が、その発症に重要であることが示された。この知見は、上述の化粧品関連食物アレルギーと合わせて、成人食物アレルギーの発症において腸管外感作ルートに特に留意しなければいけないことを示していると考察する。

薬剤アレルギーの一般集団における有病率も明らかになった。この知見は、今後のこの領域の研究の基礎的な情報となる重要な知見であると考えられる。

E. 結論

今年度は、現在社会問題になっている加水分解小麦に対するアレルギーの実態把握と病態解明、さらには正確な情報の普及啓発活動を最重要課題とし、研究を進めてきた。来年度以降も加水分解小麦アレルギーに関する知見を早急に集積し、その結果を行政に還元、一般市民

に普及啓発してゆくとともに、その他の原因による成人アナフィラキシーの実態解明、病態解明に関する研究を進めてゆく。

F. 健康危険情報

茶のしずく石鹸の使用により発症した経口小麦アレルギー症例については、すでに PMDA を介してすでに報告済みである。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fukutomi Y, Sjölander S, Nakazawa T, Borres P M, Ishii T, Nakayama S, Tanaka S, Taniguchi M, Saito A, Yasueda H, Nakamura H, Akiyama K. Clinical relevance of IgE to rGly m 4 in diagnosis of adult soybean allergy: J Allergy Clin Immunol.[in press]
- 2) Fukutomi Y, Kawakami Y, Taniguchi M, Saito A, Fukuda A, Yasueda H, Nakazawa T, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Allergenicity and Cross-Reactivity of Booklice (*Liposcelis bostrichophila*): A Common Household Insect Pest in Japan.: Int Arch Allergy Immunol. 2011 Nov 23;157(4):339-348.
- 3) Fukutomi Y, Taniguchi M, Tsuburai T, Tanimoto H, Oshikata C, Ono E, Sekiya K, Higashi N, Mori A, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Obesity and aspirin intolerance are risk factors for

difficult-to-treat asthma in Japanese non-atopic women: Clin Exp Allergy. [in press]

4) Fukutomi Y, Taniguchi M, Nakamura H, Konno S, Nishimura M, Kawagishi Y, Okada C, Tanimoto Y, Takahashi K, Akasawa A, Akiyama K. Association between Body Mass Index and Asthma among Japanese Adults: Risk within the Normal Weight Range: Int Arch Allergy Immunol. 2011 Oct 28;157(3):281-287.

5) Higashi N, Mita H, Yamaguchi H, Fukutomi Y, Akiyama K, Taniguchi M. Urinary tetranor-PGDM concentrations in aspirin-intolerant asthma and anaphylaxis: J Allergy Clin Immunol. 2011 Oct 22.

6) Tanaka T, Hitomi Y, Kambayashi Y, Hibino Y, Fukutomi Y, Shibata A, Sugimoto N, Hatta K, Eboshida A, Konoshita T, Nakamura H. The Differences in the Involvements of Loci of Promoter Region and Ile50Val in Interleukin-4 Receptor α Chain Gene between Atopic Dermatitis and Japanese Cedar Pollinosis: Allergol Int. 2011 Sep 25.

7) Sekiya K, Taniguchi M, Fukutomi Y, Tsuburai T, Mitsui C, Tanimoto H, Oshikata C, Tsurikisawa N, Hasegawa M, Akiyama K. Actual control state of intermittent asthma classified on the basis of subjective

- symptoms; Intern Med. 2011;50(15):1545-51.
- 8) Fukutomi Y, Taniguchi M, Watanabe J, Nakamura H, Komase Y, Ohta K, Akasawa A, Nakagawa T, Miyamoto T, Akiyama K. Time trend in the prevalence of adult asthma in Japan: findings from population-based surveys in fujieda city in 1985, 1999, and 2006; Allergol Int. 2011 Nov;60(4):443-8.
- 9) Sekiya K, Watai K, Taniguchi M, Mitsui C, Fukutomi Y, Tanimoto H, Kawaura N, Akiyama K. Latex anaphylaxis caused by a Swan-Ganz catheter; Intern Med. 2011;50(4):355-7.
- 10) Ono E, Taniguchi M, Higashi N, Mita H, Yamaguchi H, Tatsuno S, Fukutomi Y, Tanimoto H, Sekiya K, Oshikata C, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Otomo M, Maeda Y, Hasegawa M, Miyazaki E, Kumamoto T, Akiyama K. Increase in salivary cysteinyl-leukotriene concentration in patients with aspirin-intolerant asthma. Allergol Int. 2011 Mar;60(1):37-43.
- 11) Fukutomi Y, Itagaki Y, Taniguchi M, Saito A, Yasueda H, Nakazawa T, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K. Rhinoconjunctival sensitization to hydrolyzed wheat protein in facial soap can induce wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol. 2011 Feb;127(2): 531-533.e1-3.
- 12) 福富友馬. アレルゲンとしての食品 化粧品に含まれる食物アレルゲン 経皮感作による食物アレルギーについて: 日本小児アレルギー学会誌; 25 巻 1 号 p50-56, 2011
- 13) 福富友馬 安枝 浩. 室内環境中のダニ・昆虫とアレルギー疾患: 都市有害生物管理; 1 (1) p32-42, 2011
- 14) 福富友馬 谷口正実 秋山一男. 本邦の成人気管支喘息患者の実態;国立病院機構ネットワーク共同研究からの知見: IgE practice in asthma, Oct-11 19-22 2011 メディカルレビュー社 東京
- 15) Fukutomi Y, Nakamura H, Kobayashi F, Taniguchi M, Konno S, Nishimura M, Kawagishi Y, Watanabe J, Komase Y, Akamatsu Y, Okada C, Tanimoto Y, Takahashi K, Kimura T, Eboshida A, Hirota R, Ikei J, Odajima H, Nakagawa T, Akasawa A, Akiyama K. Nationwide cross-sectional population-based study on the prevalences of asthma and asthma symptoms among Japanese adults. Int Arch Allergy Immunol. 2010;153(3):280-7.
- 16) Higashi N, Mita H, Ono E, Fukutomi Y, Yamaguchi H, Kajiwara K, Tanimoto H, Sekiya K, Akiyama K, Taniguchi M. Profile of eicosanoid generation in aspirin-intolerant asthma and anaphylaxis

assessed by new biomarkers. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 May;125(5):1084-1091.e6.

17) Fukutomi Y, Taniguchi M, Tsuburai T, Okada C, Shimoda T, Onaka A, Saka H, Sadakane A, Nakamura K, Akiyama K; National Hospital Organization Research Network for Asthma. [Survey of asthma control and anti-asthma medication use among Japanese adult patients]. *Arerugi.* 2010 Jan;59(1):37-46. *Japanes*

18) 福富友馬 安枝 浩 秋山一男. 花粉症診療におけるアレルゲンコンポーネント解析の重要性: アレルギーの臨床 30 (7) p38-42 2010

19) 福富友馬. 成人アナフィラキシーの現状と対応: 内科 105 (4), p586-588, 2010

20) 福富友馬 秋山一男. 高齢者の食物・薬物アレルギー: アレルギー・免疫; 17 (3), p80-85, 2010

21) Ono E, Taniguchi M, Mita H, Fukutomi Y, Higashi N, Miyazaki E, Kumamoto T, Akiyama K. Increased production of cysteinyl leukotrienes and prostaglandin D2 during human anaphylaxis. *Clin Exp Allergy.* 2009 Jan;39(1):72-80.

2. 学会発表

1) Yuma Fukutomi, Yasuharu Itagaki, Masami Taniguchi, Akemi Saito, Hiroshi Yasueda, Takuya Nakazawa, Maki

Hasegawa, Hiroyuki Nakamura, Kazuo Akiyama. Rhinoconjunctival sensitization to hydrolyzed wheat protein in facial soap can induce wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. Food allergy and anaphylaxis meeting. 2011.2.17. Venice, Italy

2) Yuma Fukutomi, Sigrid Sjölander, Magnus P Borres, Takuya Nakazawa, Toyota Ishii, Satoshi Nakayama, Akira Tanaka, Masami Taniguchi, Akemi Saito, Hiroshi Yasueda, Hiroyuki Nakamura, and Kazuo Akiyama. Soybean allergy in a population with a low prevalence of Betulaceae pollen allergy and a high soybean consumption: Food allergy and anaphylaxis meeting. 2011.2.18. Venice, Italy

3) Y. Fukutomi, M. Taniguchi, S. Nakayama, A. Tanaka, A. Saito, H. Yasueda, T. Nakazawa, M. Hasegawa, H. Nakamura, K. Akiyama. Sensitization to Profilin in Japanese Patients with Pollen-Food Allergy Syndrome: Its Source of Sensitization and Clinical Relevance. *American Academy of Allergy, Asthma and Immunology: AAAAI 2011 - 67th Annual Meeting.* 2011.3.22. San Francisco, USA

4) 福富友馬 中村裕之 谷口正実 千貫祐子 森田栄伸 岸川禮子 西間三馨 秋山一男. 加水分解小麦を含有する石鹸・シャンプーその他の化粧品の使用と成人小麦アレルギーとの

疫学的な関係: 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011.11.10 東京

5) 福富友馬 千貫祐子 森田栄伸 高橋健太郎 谷口正実 秋山一男. 茶のしずく関連経口小麦アレルギー症例における石鹼使用中止後の小麦タンパク特異的 IgE 抗体価の経年的変化. 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2011.11.10 東京

6) 福富友馬. 本邦成人喘息患者の難治化因子: アスピリン不耐症・難治性喘息研究会 2011. 2011.11.12 東京

7) 福富友馬 谷口正実 赤澤晃 秋山一男. アレルギー性鼻炎の ARIA による重症度と喘息症状との関係. 第 21 回国際喘息学会 日本・北アジア部会 2011.7.2.岐阜

8) 福富友馬 川上裕司 谷口正実 齋藤明美 福田安住 安枝 浩 中澤卓也 長谷川眞紀 秋山一男. アレルギー性喘息における昆虫アレルギー感作: 室内塵中に最も普遍的に認められる微小昆虫・ヒラタチャタテの抗原性. 第 51 回日本呼吸器学会学術講演会 2011.4.22 東京

9) 福富友馬 谷口正実 今野 哲 西村正治 大矢幸弘 吉田幸一 岡田千春 高橋 清 中村裕之 秋山一男 赤澤 晃. インターネット調査による本邦の喘息の ecological study: 有病率の地域差とその規定因子. 第 51 回 日本呼吸器学会学術講演会 2011.4.24 東京

講演 1) 福富友馬. 成人における食物アレルギーの実態: 第 48 回日本小児アレルギー学会 2011.10.29 福岡.

講演 2) 福富友馬. 成人の食物アレルギー. 第 5 回相模原臨床アレルギーセミナー 2011.8.5 横浜

講演 3) 福富友馬. 昆虫アレルギー: 第 5 回相模原臨床アレルギーセミナー 2011.8.6 横浜

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

なし

II. 分担研究報告書

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）
分担研究報告書

加水分解小麦関連経口小麦アレルギーに関する普及啓発活動と診療体制確立に関する研究

研究代表者 福 富 友 馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員
研究協力者 秋 山 一 男 国立病院機構相模原病院臨床研究センター長
相 原 道 子 横浜市立大医学研究科環境免疫病態皮膚科学 教授
池 澤 善 郎 国際医療福祉大学熱海病院
岸 川 禮 子 国立病院機構福岡病院 アレルギー科医長
千 貫 祐 子 島根大学医学部皮膚科学教室 助教
古 川 福 実 和歌山県立医科大学 医学部皮膚科学 教授
松 永 佳 世 子 藤田保健衛生大学 医学部皮膚科学 教授
森 田 栄 伸 島根大学医学部皮膚科学教室 教授

研究要旨：

本研究班設立当初から加水分解小麦関連の小麦アレルギーの問題は、本研究班で解決すべき最重要課題であったが、2011年に入ってから当該疾患が全国のアレルギー専門施設から多数報告されるようになり、同年5月20日に「(旧)茶のしずく石鹼」(悠香)の自主回収が決定してから、この問題が急速に社会問題化した。一般市民と医療機関へのこの問題に関する正確な情報の早急な普及啓発活動と、診療体制の確立が必要となり、緊急でこの問題に対処するための情報ページをリウマチ・アレルギー情報センターのホームページ内に設立すべく準備を開始した。本研究は、日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会のバックアップのもとに行った。

我々研究班と両学会の有志の先生方のご協力により、緊急に情報ページを設立し、2011年6月8日にホームページを公開できた。同時に日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会を介して、両学会・学会員に対して、当該疾患の診療への協力を募った。

迅速な情報ページの立ち上げによる、この問題に関する正確な情報の普及啓発効果は非常に大きかったと考えた。

A. 研究目的

本研究班設立当初から加水分解小麦関連の小麦アレルギーの問題は、本研究班で解決すべき最重要課題であったが、2011年に入ってから当該疾患が全国のアレルギー専門施設から多数報告されるようになり、5月20日に「(旧)茶のしずく石鹼」(悠香)の自主回収が決定してから、この問題が急速に社会問題化した。一般市民と医療機関へのこの問題に関する正確な情報の早急な普及啓発活動と、診療体制の確立が必要となり、緊急でこの問題に対処す

るための情報ページをリウマチ・アレルギー情報センターのホームページ内に設立すべく準備を開始した。本研究は、日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会のバックアップのもとに行った。

B. 研究方法

我々研究班と両学会の有志の先生方により、緊急に以下の内容からなる情報ページを設立した。

日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会を介して、両学会・学会員に対して、当該疾患の診療への協力を募った。

(倫理面への配慮)

本研究は、情報公開のみをその目的としており、個別の患者の臨床情報や検体の採取を必要としなかった。

C. 研究結果

以下のような内容の情報ページの立ち上げを、2011年6月8日に行うことができた。当該研究成果は現在も以下のホームページアドレスにて一般に公開されている

<http://www.allergy.go.jp/allergy/flour/index.html>

小麦加水分解物含有石鹼「茶のしずく」を使用したことにより発症する小麦アレルギーに関する情報センター

当該ホームページは以下の4つのセクションからなる。

1."茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギーについてのFAQ (一般の方向け)

このセクションでは、一般の方を対象に、茶のしずく石鹼を使用して小麦アレルギーが発症する機序に関して、現在までの研究・検討で明らかになった知見に基づき、わかりやすく記載した。

2."茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギーについて疾患概念と診断の目安 (医療従事者向け)

このセクションでは、主に医療従事者を対象に当該石鹼の使用により発症した経口小麦アレルギーと、経口的な小麦タンパクの感作によって発症したと思われる小麦アレルギー症例について、その病態の違いと鑑別の方法を中心に記載した。

3.全国の"茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギー診療可能施設

このセクションでは、当該疾患の診療可能施設の一覧を公開した。日本アレルギー学会、日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会を介して、両学会・学会員に対して、当該疾患の診療への協力を募った。

4."茶のしずく石鹼"を使用したことにより発症する小麦アレルギーと診断された患者さんへ

このセクションでは、当該疾患の患者に対する日常生活の注意点に関してわかりやすく記載した。

D. 考察

本情報ページの迅速な立ち上げは、一般市民と医療従事者のこの問題に関する正確な情報の普及啓発に大きく寄与したと考えられる。我々の情報ページの立ち上げは、2011年7月からの日本アレルギー学会の“化粧品中のタンパク

加水分解物の安全性に関する特別委員会”の活動への橋渡しの重要な役割があったと考えている。

E. 結論

迅速な情報ページの立ち上げによる、この問題に関する正確な情報の普及啓発効果は非常に大きかったと考えた。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照のこと

G. 研究発表

1. 論文発表

総括研究報告書

G 研究発表 1. 論文発表 参照のこと

2. 学会発表

総括研究報告書

G 研究発表 2. 学会発表 参照のこと

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

なし

加水分解小麦の感作性・惹起性に関する研究

研究分担者	手島玲子	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部	部長
研究協力者	安達玲子	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部	第3室室長
	中村亮介	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部	主任研究官
	酒井信夫	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部	主任研究官
	中村里香	国立医薬品食品衛生研究所	代謝生化学部	研究助手

研究要旨：

加水分解小麦（Hydrolyzed wheat protein; HWP）と小麦のアレルゲン性を比較するため、感作能をマウスを用いた経皮感作モデルで、交叉惹起能を細胞の活性化試験で検討した。感作能の検討には、BALB/c マウスの背面皮膚に繰り返し貼付して経皮感作を行い、HWP 特異的 IgE 抗体等の産生、抗原の腹腔内投与によるアナフィラキシー反応惹起後の体温低下、血中ヒスタミン濃度測定、および脾臓細胞再刺激 72 時間後の Th1/Th2 サイトカイン産生量の測定を行った。対照には未分解グルテンを用い、SDS 添加の有無、経皮感作前の腹腔感作の影響も検討した。また、グルテンを 0.1N 塩酸中 100℃で加水分解し、グルテンの酸加水分解の処理時間による感作能の変化を検討した。その結果、SDS を添加し HWP 500 μg を経皮感作した群では、感作後の IgE 抗体価の上昇、惹起後の直腸温度低下及び血中ヒスタミン濃度の上昇が見られたが、SDS を添加していない HWP を感作した群ではこのような変化はなかった。一方、グルテンでは SDS 添加群で感作後の抗体価および血中ヒスタミン濃度がやや上昇したが、惹起後の直腸温度低下は見られなかった。

また、HWP の交叉惹起能の検討として、酸加水分解時間の異なる HWP を用いて HWP 感作および従来型的小麦アレルギー患者血清による免疫血清学的試験ならびに *in vitro* 細胞活性化試験を行ったところ、HWP 感作血清では酸加水分解によりグルテンの惹起能が増大し、酸加水分解が進んでもその惹起能は減弱しにくい傾向にあった。一方、従来型小麦アレルギー患者血清では、グルテンの酸加水分解の処理時間に応じて惹起能は速やかに減弱した。

A. 研究目的

近年、加水分解小麦（HWP）を含有する洗顔石鹸の長期使用により、小麦製品を摂取した際にアレルギー症状を呈する事例が数多く報告されている。これらの患者には重篤な症例も多く、社会的に大きな問題となっている。洗顔石鹸の成分により感作される経路としては、皮膚から吸収される経皮感作、あるいは目や鼻の粘膜から吸収される経粘膜感作が考えられる。本研究では、より抗原性の低い食物タンパク質由来成分が化粧品、並びに医薬部外品の原料と

なるような加工方法、濃度、使用方法の提唱を大きな目的とし、本年度は動物および細胞モデルを用いた加水分解小麦の感作性並びに惹起能に関する研究を担当した。特に、多くのアレルギー症状を引き起こした株式会社悠香（福岡）の茶のしづく石鹸に含まれていた酸加水分解小麦であるグルパール 19S（片山化学工業株式会社）と未分解のグルテンとの感作性の違いを、マウスを用いた経皮感作試験で比較することを第一の目標とした。次いで、グルパール 19S の感作性に関する用量依存性の検討、グル

テンの酸加水分解の経時的な感作能の変化の検討を第二の目標とし、市販の各種加水分解小麦の感作性をグルパール 19S と比較することを第三の目標とした。さらに、我々が独自に開発したヒト型マスト細胞を用いる *in vitro* 惹起試験により、グルパール 19S とグルテン、および酸加水分解が進んだグルテンの惹起能についても検討することを第四の目標とした。

B. 研究方法

加水分解小麦 (HWP) 懸濁液の調製およびグルテンの酸加水分解

HWP には、片山化学工業株式会社より入手したグルパール 19S を用いた。グルテン (Sigma) およびグルパール 19S 粉末を乾燥重量で 100 mg/ml となるよう 1M Tris (pH11.4) に加えて懸濁し、終夜室温に静置してストック懸濁液を作製した。経皮感作には、ストック懸濁液を PBS で 10 倍希釈し、pH を 8 付近に調整したものを用いた。

グルテンの酸加水分解には、0.1N 塩酸中にストック懸濁液を 1 mg/ml となるよう加え、100°C のヒートブロック上で 0.5、1、3、6、9、12、24 時間加熱した。所定の時間経過後、0.1N 水酸化ナトリウム水溶液で中和し、加水分解反応を停止した。0hr は、0.1 N 塩酸を予め中和した溶液中にグルテンスストック懸濁液を 1 mg/ml 加え、加熱は行わなかった。作製した酸加水分解グルテンの一部に 2×Laemmli sample buffer (Bio-Rad) および 5% 2-mercaptoethanol を加えて 95°C で 5 分間加熱し、15-25% アクリルアミドゲル (D.R.C 株式会社) 中で SDS 電気泳動により分離した。

マウスを用いた経皮感作試験

動物は、7 週齢の雌性 BALB/c マウスを日本エスエルシーより購入し、MF 飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社) を給餌した。1 群中の匹数は 5 匹とし、8 週齢時に背面片側を剃毛し (Day 0)、翌日より 3 日間 HWP 懸濁液を剃毛部に貼付して経皮感作を行った (Day 1-3)。HWP 懸濁液の貼付には、パッチテスター「トリイ」(鳥居薬品株式会社) を 2 cm 角に切り取ったものを用い、パッド部に 50 µl の抗原溶液 (500 µg of protein) を浸潤させ剃毛部に貼付した。パッチテスターの上からサージカルテープを巻いてパッチを保護し、さらにマウスの首にエリザベスカラーを装着してパッチの剥脱を防いだ。3 日間の感作後にパッチを外し (Day 4)、その後 4 日間休ませるという操作を 1 クールとし、3 クール (実験 1,2) あるいは 4 クール (実験 3) の感作後、抗原特異的 IgE/IgG1/IgG2a 抗体を ELISA 法で測定した。アレルギー反応の惹起は Day 18 (実験 2) あるいは Day 25 (実験 1,3) に、感作抗原 1 mg/100 µl を腹腔内投与 (i.p.) して行った。i.p. 後 30 分間のマウスの直腸内体温変化およびアナフィラキシー症状を観察し、Table 3 の基準に従ってスコアリングした (実験 3)。また、惹起 30 分後に麻酔下で全血および脾臓を採取し、血清あるいは血漿中のヒスタミン濃度を、Histamine EIA Kit (SPI-BIO) にて測定した。また、脾臓は孔径 70 µm のメッシュに通し、5 × 10⁶ cells/well で 24 well プレート (Corning) に播種し、10% FCS を含む RPMI1640 培地 (Life technologies, Coop.) 中で抗原 100 µg/ml の濃度で 3 日間再刺激を行った。3 日後の培養上清を回収し、上清中の Th1/Th2 サイトカイン量を Bio-Plex Pro Mouse Cytokine

Th1/Th2 Panel (Bio-Rad) にて測定した。

【実験 1】

感作抗原および感作方法は Table 1 に示した。感作スケジュールは Fig. 1 に示した。グルテンとグルパール 19S について、i.p.感作と経皮感作の併用、SDS の有無で感作効率が異なるかを検討した。また、貼付 1 回あたりのグルパール 19S の貼付量を、20 (HS20), 100 (HS100), 500 (HS500) μg と変化させた際のアレルギー反応の用量依存性を検討した。

【実験 2】

酸加水分解時間を変化させた酸加水分解グルテンを抗原に用いた。グルテンの酸加水分解は、40 mg のグルテンを 0.1 N 塩酸中で上述と同様に行った。中和した溶液に Tris および SDS をそれぞれ、100 mM, 0.5% となるよう添加し、貼付抗原とした。未分解グルテン (A0hr)、グルパール 19S と同様の SDS-PAGE パターンを示したもの (A0.5hr)、および加水分解が進み、SDS-PAGE で 30 kDa 以上のタンパク質バンドがほぼ消失しているもの (A9hr) の経皮感作性を比較した。

【実験 3】

感作抗原は、Table 2 に列記した。日本化粧品工業連合会や各メーカーより入手した 11 種類 (グルパール 19S を含む) を 0.5%SDS と共に経皮感作に用い、加水分解小麦の経皮感作性を比較した。

統計解析

データは Microsoft Excel により集計し、Kaleida Graph (Hulinks Inc.) を用いて V 群を基準とした Dunnett の検定を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。アナフィラキシー症状のスコアデータは、V 群と各群の Wilcoxon 順位和検定

の結果を Bonferroni 法で補正し、 $p < 0.05$ を有意とした。

患者血清を用いたドットプロットおよび Western blot

ドットプロットでは、抗原 1 μg をニトロセルロース膜にプロットし、風乾した後、0.1% casein/PBS 中で 30 min ブロッキングした。Western blot では抗原を 10-20% アクリルアミドゲル (D.R.C.株式会社) 中で SDS 電気泳動により分離した後、ニトロセルロース膜 (Protran BA83, GE Healthcare) に電氣的に転写し、0.5% casein/PBS 中で室温 2 時間のブロッキングを行った。5-10 倍に希釈した HWP 感作または従来型の小麦アレルギー患者血清溶液中にて終夜 4°C でインキュベートした後、HRP 標識抗ヒト IgE 抗体 (500 倍希釈、Nordic Immunology 社) と 1.5 hr 反応させ、Konica Immunostain (生化学工業株式会社) を用いて HRP 発色反応を行った。

ヒト化マスト細胞を用いた *in vitro* アレルギー反応惹起試験

ヒト化マスト細胞として、ヒト Fc ϵ RI 遺伝子および転写因子 NF-AT の制御下に Luciferase を発現するレポーター遺伝子を安定的に導入したラット培養マスト細胞株 (RS-ATL8 細胞) を用いた⁵⁾。同細胞を 96 ウェルプレートに 5×10^4 cells/50 μl ずつ播種し、100 倍希釈した HWP 感作または従来型の小麦アレルギー患者血清を添加して終夜培養した。滅菌 PBS によりウェルを洗浄後、10% の非働化ウシ胎児血清を含む MEM 培地に懸濁した各 HWP (100 ng/ml) 抗原溶液 で 3 h 細胞を刺激し、One-GLO™ (Promega) を添加して発光

量を EnVision (PerkinElmer) により測定した。細胞の活性化は、抗原未刺激時の発光量を 1 とする相対値で表し、2 倍をカットオフとした。

(倫理面への配慮)

マウスへの経皮感作においては、動物の苦痛を最小限に留めるよう努め、動物飼育・管理に当たっては研究所の利用規程に従った。本実験は、国立医薬品食品衛生研究所動物倫理審査委員会の承認を得てから行った。

また、ヒト血清の使用にあたっては、各機関において事前にインフォームド・コンセントを取得し、研究使用に同意の得られた血清を使用し、国立医薬品食品衛生研究所研究倫理委員会の承認を得てから行った。

C. 研究結果

マウスを用いた経皮感作試験

【実験 1】

グルパール 19S の経皮感作が成立する条件を検討するため、Fig. 1 に示した経皮感作スケジュールにて、i.p. による事前感作および 0.5%SDS の添加の有無による感作効率を検討した。感作後の抗原特異的抗体産生量を測定した結果、グルパール 19S 500 μg +0.5% SDS を 3 クール貼付した群 (HS) および、貼付の 1 週間前に i.p. 投与による感作を行った群 (HS i) において、グルパール 19S 特異的 IgE 抗体および IgG1 抗体の産生が V 群と比較して有意に増大していた (Fig. 2A, B)。しかし、SDS を添加せずグルパール 19S のみを貼付した群 (H) では、グルパール 19S 特異的抗体の産生はみられなかった。

一方、HS i 群および、グルテン 500 μg +0.5% SDS を 3 クール貼付した群 (GS) および、貼付の 1 週間前に i.p. 投与による感作を行った群 (GS i) においては、グルテン特異的 IgG1 抗体の産生が V 群と比較して有意に増大したが、IgE 抗体の産生は有意な変化がみられなかった (Fig. 2C, D)。またグルパール 19S の場合と同様、グルテンでも、SDS を添加せずグルテンのみを貼付した群 (G) では、グルテン特異的 IgG1 抗体産生の有意な増大はみられなかった。

貼付に用いた抗原 1 mg を i.p. 投与してアナフィラキシー反応を惹起し、30 分間の体温変動を測定したところ、HS i 群と HS 群では惹起 30 分後には惹起前と比べて 2°C 近い体温の低下がみられた (Fig. 3A)。GS i 群、GS 群、H 群、G 群は V 群と同様の体温変動を示した。また、惹起 30 分後の血漿中ヒスタミン濃度を測定したところ、V 群と比較して HS i 群、HS 群が有意なヒスタミン濃度の上昇をみとめた (Fig. 3B)。GS 群ではヒスタミン濃度が上昇する個体もあるものの、V 群との有意差は認めなかった。

次に、グルパール 19S 貼付 1 回量を 500 μg (HS500), 100 μg (HS100), 20 μg (HS20) とした群間で、用量依存性を検討した。3 回貼付後のグルパール 19S 特異的 IgE 抗体および IgG1 抗体の産生は、20 μg , 100 μg , 500 μg と用量依存的に増大し、HS500 群では V 群と比較した際に有意な差を示した (Fig. 4)。また、i.p. 投与によるアナフィラキシー反応惹起を行ったところ、HS20 群では V 群と同様の体温変動を示したが、HS100 群、HS500 群では用量依存的な体温の低下がみられた (Fig. 5A)。惹起 30 分後の血漿中ヒスタミン濃度についても、用量