

201229040A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業  
(免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業)

小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と  
治療法の開発に関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 海老澤 元宏

平成25 (2013) 年4月

## —目次—

はじめに

### I. 総括研究報告書

小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究

海老澤 元宏 ..... 1

### II. 分担研究報告

#### 1. 新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究

— 1. 急速経口免疫（減感作）療法の有効性と問題点の検討— ..... 7

— 2. 急速経口免疫（減感作）療法の作用機序の解明— ..... 11

— 3. 乳児の感作成立・発症段階における管理法— ..... 13

海老澤 元宏

#### 2. 経口免疫療法の応答性の遺伝子レベルでの解析

松本 健治 ..... 15

#### 3. 緩徐経口免疫療法と栄養指導に関する研究

今井 孝成 ..... 18

#### 4. 診断・治療の標準化に関する研究

— 小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究—

伊藤 浩明 ..... 22

#### 5. 食物アレルギーの新規予知診断法と免疫学的改変食品による治療法の確立

近藤 直実 ..... 25

#### 6. 低アレルゲン化食品による経口免疫療法の確立

宇理須 厚雄 ..... 28

#### 7. アレルゲンコンポーネントを用いた新規診断法の開発

丸山 伸之 ..... 31

#### 8. 遺伝子多型を用いた病態解析

— 食物アレルギーの疾患感受性遺伝子解析—

玉利 真由美 ..... 34

はじめに

厚生労働科学研究費補助金・免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業「小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究」の3年計画の1年目にあたる平成24年度の報告書を研究分担者・研究協力者の先生方のご協力のもとにここにまとめることができた。

平成12年度から通算5期に渡り厚生労働科学研究費補助金・免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業の食物アレルギー関係の研究代表（主任研究）者を務めさせて頂いている。小児の食物アレルギーは患者数も成人（1%未満）に比べ圧倒的に多く、生活の質の悪化を招き、健全な発達や社会生活の障害になる。平成24年12月20日には調布市において学校給食でチーズの誤食によるアナフィラキシーショックによる死亡事故も発生した。小児の食物アレルギーの発症を抑え、アナフィラキシーへの進展等の重症化を防ぎ、自然寛解を加速させる対応が求められている。4期目にはアナフィラキシー対策、耐性化誘導のために、食物アレルギーの積極的な治療（経口免疫療法）の開発とその適応を中心テーマとして取り組み、経口免疫療法の症例集積も進み原因食物を毎日摂取する経口免疫療法により減感作状態を誘導しアナフィラキシー対策としての有効性が明らかになった。しかし、経口免疫療法による耐性誘導というところまでにはさらに道程も長いことが明らかになった。また、鶏卵・牛乳・小麦・ピーナッツと治療対象を増やして検討してみると抗原毎に経口免疫療法の有効性や副作用発現頻度も異なることも明らかになった。本研究班では研究テーマとして挙げたように“小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発”を行うことを目的とし、3年間で実施する診断と治療に関する多施設共同研究も開始した。

平成24年度研究報告書を刊行するにあたり、研究分担者・研究協力者の皆様のご尽力に心より感謝する次第である。

平成25年4月

国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部長 海老澤 元宏

# I. 総括研究報告書



## 小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究

研究代表者 海老澤 元宏 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部長

### 研究要旨

経口免疫療法(Oral Immunotherapy: OIT)により患者の多くは脱感作状態(連日経口摂取していれば無症状)に誘導できるが、耐性誘導率が自然耐性化率より優れているのかは不明である。初期導入を入院管理で行うアナフィラキシー対策の急速 OIT(鶏卵・牛乳・小麦・ピーナッツ)を 285 例(鶏卵 88 名、牛乳 118 名、小麦 47 名、ピーナッツ 32 名)に施行し(世界で最多)、長期経過をフォロー中である。脱感作状態に 8 割程度到達したが、副作用(即時・非即時)も認め、1~2 年での耐性化率は高いとは言えなかった。急速 OIT を実施しても抗原により違いはある(牛乳が最も困難)が、安定した脱感作には 1 年は必要で、さらに寛解には数年必要であることも明らかとなった。感冒・運動による症状誘発のリスクがあり脱感作状態にある患者の管理を慎重に行っていく必要があることも判明した。OIT のメカニズムの検討ではメディエーターの測定結果等よりエフェクターフェース(マスト細胞・好塩基球)の脱感作機構と制御性 T 細胞の誘導に伴う液性因子の変化(IgE 抗体の低下と IgG4 抗体の上昇)が主と考えられた。短期間に目標量まで到達させる急速 OIT は患者に負担がかかり将来の選択肢とは考え難いので、本研究班では緩徐 OIT がこれからの中心と位置づけ、鶏卵・牛乳・小麦に関して無介入群を対象としたプロトコル(目標量設定は 100%と 25%:寛解誘導に増量が必要かを検証)を準備し多施設共同研究を 9 施設で開始する体制を整え、2013 年 3 月現在、OIT 群 13 名(鶏卵 5 名、牛乳 2 名、小麦 6 名)、対照群 5 名(鶏卵 4 名、小麦 1 例)がエントリーされている。牛乳の急速 OIT において有効例と無効例の遺伝子発現の差を検討し、特異抗原刺激によって 2 倍以上遺伝子発現が増加した遺伝子群のうち 72 時間目で著効群でのみ誘導され、無効群では誘導されなかった遺伝子は 25 probe、22 遺伝子見いだされた。食物アレルギーの初期の至適管理法を確立するために鶏卵アレルギーをモデルに加熱鶏卵の部分摂取を早期(0-1 歳台)に開始した(完全除去期間を短くする)方が 5 歳時点での加熱全卵の耐性獲得率を高める可能性が示唆された。多施設共同研究として食物アレルギーに対する各種コンポーネントを用いた食物アレルギーの診断を京都大学の農学部と本研究班の臨床施設において開始し、ゴマおよびソバのコンポーネントについて 2S アルブミンが臨床診断において有効なコンポーネントである可能性が示唆された。理化学研究所との食物アレルギーに関する GWAS 研究も国内の第 2 施設と国外の米国の施設と検証を進めている。診断・治療の標準化に関する研究として食物アレルギー症状の誘発症状の評価システム、牛乳アレルギーをターゲットにした免疫学的改変食品による治療法、鶏卵、牛乳・魚アレルギーを対象に低アレルギー化食品による治療法の研究も進行中である。

### 研究分担者

近藤 直実	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授
宇理須 厚雄	藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科 教授
伊藤 浩明	あいち小児保健医療総合センター 内科部長
今井 孝成	昭和大学医学部小児科 講師
玉利 真由美	理化学研究所ゲノム医科学研究センター チームリーダー
松本 健治	国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部 部長
丸山 伸之	京都大学大学院 農学研究科 准教授

学童は約 2%に収斂する。小児の食物アレルギーは患者数も成人(1%未満)に比べ圧倒的に多く、生活の質の悪化を招き、健全な発達や社会生活の障害になる。小児の食物アレルギーの発症を抑え、アナフィラキシーへの進展等の重症化を防ぎ、自然寛解を加速させる対応が求められている。本研究班では研究テーマとして挙げたように“小児期の食物アレルギーの新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発”を行うことを目的とし、3 年間で診断と治療に関する多施設共同研究も実施する。

### A. 研究目的

小児の食物アレルギーの約 9 割は 1 歳未満に発症し、乳児の有病率は約 10%弱、幼児は約 5%、

## B. 研究方法, C. 研究結果, D. 考察

### ◆全体研究

#### —全国食物経口負荷試験実態調査・食物経口負荷試験ネットワーク—

日本小児科学会研修指導施設の 510 病院中で H23 年に施行された食物負荷試験 (OFC) の状況を調査し 387 施設より返信を得た (回収率 75.9%)。外来 OFC の実施は 204 か所 (52.7%)、入院 OFC の実施は 238 か所 (61.5%) で、外来・入院のいずれかで OFC を行っている施設は 288 か所 (74.4%) に上った。食物アレルギー研究会ホームページ上で実施施設とリンクを張り、患者および病診連携に活用してもらうべく情報提供に努めている。

12 年目となる OFC ネットワークの累計の共通プロトコールによる食物負荷試験数は 3210 例となった。

### ◆新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究 (海老澤)

#### —1. 急速 OIT の有効性と問題点の検討—

2013 年 3 月までの OIT 施行患者数は延べ 285 名 (鶏卵 88 名、牛乳 118 名、小麦 47 名、ピーナッツ 32 名) であったが、急速法中に 5 名、外来フォロー中に 13 名が治療中止となった。

急速法における中等症以上の症状出現率は、鶏卵 17.6%、牛乳 18.2%、小麦 11.3%、ピーナッツ 6.9% であった。アドレナリン投与率は、鶏卵 1.4%、牛乳 1.6%、小麦 0.4%、ピーナッツ 0.7% であった。また、退院時に目標量が摂取可能であったのは、鶏卵 58.2%、牛乳 57.2%、小麦 55.5%、ピーナッツ 50.0% であった。外来フォロー中の中等症以上の症状出現率は、鶏卵 1.7%、牛乳 2.6%、小麦 3.2%、ピーナッツ 2.2% であった。アドレナリン投与率は、鶏卵 0.1%、牛乳 0.4%、小麦 0.3%、ピーナッツ 0.1% であった。治療開始 1 年後の目標量維持率は、鶏卵 97.2%、牛乳 60.1%、小麦 93.3%、ピーナッツ 100% であったが、確認試験による耐性獲得率は、鶏卵 40.5%、牛乳 10.8%、小麦 46.7%、ピーナッツ 55.6% にとどまった。また、1 名が鶏卵の OIT 中に好酸球性胃腸炎を発症し治療を中止した。

遷延する重症食物アレルギー児に対する OIT は、多くの症例で脱感作状態へ誘導可能であり、An 対策の観点からは有効な治療と考えられた。一方で、治療中に強い全身症状が誘発されることがあるため、各自にあったプロトコール作成が求められるが、現在のところ治療反応性の予見因子は不明である。OIT 開始 1 年後の耐性獲得率は抗原間

に差があり、ピーナッツ、小麦が比較的良好で、牛乳は不良であった。脱感作状態 (食べていれば症状が出ない状態) にある患者の管理を慎重に行っていく必要がある。

#### —2. 急速 OIT の作用機序の解明—

牛乳 19 名では、尿中 LTE4 は治療開始 3 日目で日内最大値が抑制され、急速期に目標量まで到達できる例では増量困難例と比べて尿中 LTE4 値が低値であったが、血清トリプターゼ値は治療開始前と 5 日目で有意な変化は認めなかった。OIT 開始後 3 年以上経過した 25 名 (鶏卵 10 名、牛乳 15 名) について OIT による免疫学的パラメータの変化を解析した。皮膚テストの膨疹径は早期から縮小し、抗原特異的 IgE 値は 1 年後に卵白で約 1/3、ミルクで約 1/2、3 年後に卵白・ミルクともに約 1/4 に低下した。抗原特異的 IgG4 値は急速期終了時から上昇し、1 年後には卵白では約 30 倍、カゼインでは約 5 倍に上昇したが、その後は低下していた。抗原刺激による好塩基球 CD203c 発現量 (血清+) は 1 ヶ月後には卵白・牛乳刺激ともに低濃度 (0.1、1、10ng/ml) でのみ低下し、HRT (血清-) では 2 年後以降で低濃度の抗原刺激によるヒスタミン遊離率 (HR%) で低下が認められた。OIT 患者血清存在下で濃度依存的に卵白刺激による CD203c 発現量は有意に抑制され、抗原特異的 IgG4 値は CD203c 発現量と逆相関した。OIT 開始後 2 年以上経過した 71 名 (鶏卵 31 名、牛乳 40 名) および 1 年以上経過した小麦 20 名について治療予測因子の検討をした。耐性化群 (2 年以内に耐性化) では非耐性化群と比べ、牛乳では治療開始前の抗原特異的 IgE 値が有意に低く、その差は 12 ヶ月後まで持続し、鶏卵では治療 1 ヶ月後の CD203c 発現量が強く抑制されていた。一方、小麦ではこれらの因子に有意な差を認めなかった。

OIT による免疫学的な変化は、急速期には局所のマスト細胞や末梢血好塩基球の活性化が抑制され、治療の継続とともに抗原特異的 IgE 値の低下 (一部に一過性の上昇を伴うこともある)、抗原特異的 IgG4 値の上昇が誘導される。これらの変化が減感作状態を維持し、一部の例では耐性獲得を誘導すると考えられた。抗原特異的 IgG4 値の耐性獲得維持への関与については現時点では不明である。

#### —3. 乳児の感作成立・発症段階における管理法—

対象は即時型鶏卵アレルギーと診断され、2005 年～2010 年に国立病院機構相模原病院小児科で

加熱卵黄 1 個のつなぎの食物経口負荷試験 (E1) 陰性であった 197 例とした。6 例を除外し、E1 陰性となった年齢が 0-1 歳台の群を早期群 (59 例)、2-3 歳台の群を後期群 (132 例) とし、経年的に即時型鶏卵アレルギーの耐性獲得率を比較した。解析は、早期群と後期群の加熱全卵 1/2 個の 4、5、6 歳時点の耐性獲得率を比較した。耐性獲得率の割合は、4 歳で早期群 84%、後期群 38% ( $p < 0.01$ )、5 歳で早期群 97%、後期群 67% ( $p < 0.01$ )、6 歳で早期群 100%、後期群 83% ( $p < 0.05$ ) であった。5 歳時点の加熱全卵 1/2 個の耐性獲得率に対して卵白特異的 IgE で補正を行ったところ、早期群の方が後期群よりも 10.3 倍耐性獲得しやすかった ( $p < 0.05$ )。加熱鶏卵の摂取を早期に開始したほうが 5 歳時点での加熱全卵の耐性獲得率を高める可能性が示唆された。

#### ◆急速 OIT の応答性の遺伝子レベルでの解析 (松本)

経口減感作療法の有効性を、治療開始前に見分けるマーカーとなる分子を探索する事を目的として、経口免疫療法施行前に末梢血単核細胞を採取し、特異抗原刺激によって末梢血単核細胞分画に発現する分子群を Microarray を用いて網羅的に検索し、経口免疫療法有効例と無効例の遺伝子発現の差を検討した。その結果、特異抗原刺激によって 2 倍以上遺伝子発現が増加した遺伝子群のうち 72 時間目で著効群でのみ誘導され、無効群では誘導されなかった遺伝子は 25 probe、22 遺伝子見いだされ、一方無効群のみに誘導された遺伝子は認められなかった。今回抽出された遺伝子群の中に経口免疫療法の有効性を事前に予測する事ができるマーカーが含まれている可能性が期待される。今後は症例数を増やして同様の検討をすると共に、qPCR による遺伝子発現量の確認、卵による傾向減感作療法例での再現性の検討などを行い、さらにこれらの分子群の機能解析を順次行う予定である。

#### ◆緩徐 OIT と栄養指導に関する研究 (今井)

中等症以下の食物アレルギー児を対象に、対照群を設け OIT の効果を検証した。事前の食物経口負荷試験で明らかな誘発症状を認めた鶏卵、牛乳、小麦アレルギー児を対象とし、重篤な症状を認めたものは本研究から除外とした。対象は保護者の希望により経口免疫療法を実施する群 (OIT)、または実施しない対照群 (Ctrl) に分かれ経過を追った。OIT は自宅で連日行い、連続 3 日間無症状を条件に摂取量を漸増した。目標量到達後は、3

ヶ月連続無症状を条件に、原因食物を 14 日間完全除去の上で、耐性獲得確認のための食物負荷試験 (確認試験) を実施した。

2012 年 11 月までに緩徐 OIT の適応ありと判定した児は延べ 216 名 (鶏卵 83 名、牛乳 61 名、小麦 72 名) であった。その後、174 名 (鶏卵 72 名、牛乳 53 名、小麦 49 名) に緩徐 OIT を実施した。一方、鶏卵 11 名、牛乳 8 名、小麦 23 名は OIT を希望されなかったため、対照群として自然経過での耐性獲得状況を評価した。OIT 群で解析対象となったのは、延べ 141 名 (鶏卵 48 名、牛乳 44 名、小麦 49 名) で、外来フォロー中の中等症以上の症状出現率は、鶏卵 0.3%、牛乳 1.3%、小麦 0.3% であった。また、摂取回数辺りのアドレナリン投与率は、鶏卵 0.01%、牛乳 0.02%、小麦 0.0% であった。治療開始 1 年以降の目標量維持率は、OIT 群で鶏卵 78% ( $n=18$ )、牛乳 79% ( $n=36$ )、小麦 82% ( $n=33$ )、確認試験による耐性獲得率は、鶏卵 67%、牛乳 45%、小麦 64% であった。一方、対照群については、鶏卵 45%、牛乳 37%、小麦 23% であった。

中等症以下の食物アレルギー児に対する緩徐 OIT は、多くの症例で減感作状態へ誘導可能であり、誤食対策の観点からは有効な治療と考えられた。しかし、脱 (減) 感作状態 (食べていれば症状が出ない状態) に至っても、耐性獲得した症例は一部にとどまり、耐性化には年単位の治療期間を要すると考えられた。また、稀ではあるが治療中に強い全身症状が誘発されることがあるため、OIT の実施は専門施設で十分な管理下で実施すべきと考えられた。

本経験に基づき有効性の高い統一された手法確立を目的として、2013 年 1 月より外来経口免疫療法を多施設共同研究 (全国 9 施設) にて開始した。2013 年 3 月現在、OIT 群 13 名 (鶏卵 5 名、牛乳 2 名、小麦 6 名)、対照群 5 名 (鶏卵 4 名、小麦 1 例) がエントリーしている。今後、OIT の標準法確立および食物アレルギーの管理向上を目指して質の高い研究を継続する必要がある。

#### ◆診断・治療の標準化に関する研究 (伊藤)

食物経口負荷試験や経口免疫療法中に観察される誘発症状を定量的に評価する新たなスコアリングシート Anaphylaxis Scoreing Aichi (ASCA) を提唱し、当科の経口負荷試験において評価した。ASCA は誘発症状を 5 臓器に区分して、所見の重症度似応じて 1~60 点を配分し、その合計を総合スコア (最高 240 点) とした。経口負荷

試験陽性 253 例の検討では、総合スコアは Sampson グレード分類 (改訂版) と相関するもののグレード 2 と 3 では点数のオーバーラップが多く、ASCA がより詳細に重症度を評価できることが示唆された。症例数を増やした負荷陽性 723 例の検討では、牛乳の総合スコアが鶏卵・小麦よりも低く、小麦では呼吸器スコアが高値を示すこと、総合スコアを累積負荷量 (タンパク質 g) で除した TS/Pro は特異的 IgE 抗体価と軽度の相関を認めるものの、抗体価はアレルギーの重症度を反映しないことが示された。以上のように、このスコアリングシステムは、食物アレルギーの臨床・研究における指標として利用できる可能性を確認した。

#### ◆免疫学的改変食品による治療法の確立 (近藤)

食物アレルギーの感作発症予知と経口免疫寛容誘導の開発を進め、食物アレルギーの予知と治療を独創的に進める。食物アレルギーの感作発症と遺伝子多型などについての関連を検討した。昨年度までに、免疫療法 (経口免疫寛容誘導) のうち、牛乳アレルギーに対する経口免疫寛容誘導改変食品 ( $\beta$  ラクトグロブリンの抗原エピトープを修飾した新規食材) を作成して、これを用いて牛乳アレルギー患児に投与し、良好な結果が見られた。平成 24 年度には、牛乳アレルギー患児の多くが反応するカゼインを用いた経口免疫寛容誘導改変食品 (抗原エピトープを修飾した新規食材) を作成し、臨床検討を進めたところ、多くの患者で、カゼインの閾値が上昇し、一部には牛乳そのものを飲むことができるようになった患者も存在し、一定の成果が得られた。

#### ◆低アレルギー化食品による治療法の確立 (宇理須)

低アレルギー化食品を用いた経口免疫療法を試みるとともに、作用機序を明らかにして改良に役立てるべく、各種免疫学的解析を行った。

①鶏卵アレルギーに対して 8 週間のオボムコイド減量加熱鶏卵継続摂取を行い、トシル酸スプラタスト併用の効果を、フマル酸ケトチフェン併用と比較検討した。これまでの 8 例の検討では、トシル酸スプラタスト群の 6 例中 6 例、フマル酸ケトチフェン群の 2 例中 1 例が陽性にとどまったが、それぞれ安全閾値は低下していた。また、トシル酸スプラタスト単独に比し、免疫療法の併用により好塩基球活性化試験の有意な低下が認められた。

②牛乳アレルギーの 3 例を対象として、加水分解乳を用いた緩徐漸増免疫療法を行い、制限解除に

は至らないものの閾値が上昇した。また、安全性は顕著で、重症者でも安全に家庭での継続が可能であった。

③魚アレルギーの 5 例を対象に、12 週間単位の酵素処理魚エキス継続摂取を行い、9 ヶ月継続し得た 1 例では、魚肉の安全閾値が、0.3g から 20g に増加した。特記すべき副反応は認められていない。

低アレルギー化食品を用いた免疫療法の改良を試み安全性を確認したが、本年度は、未だ症例数や観察期間が少なく、今後も更なる検討が必要であると考えられた。

#### ◆アレルギーコンポーネントを用いた新規診断法の開発 (丸山)

食物アレルギー患者の生活の質の悪化を防ぐためには正確な診断に基づく適切な指導および治療が必要である。本課題では、既存の検査法にて診断に苦慮している食物アレルギーについて、臨床診断におけるアレルギーのコンポーネンに対する評価を多施設で実施し、新規な診断法を開発する。本年度は、ゴマ (rSes i 1, rSes i 2, rSes I LTP-1, rSes I LTP-2)、ソバ (rFag e 1, rFag e 2-10k, rFag e 2-16k)、コムギ ( $\alpha/\beta$ -グリアジン、 $\gamma$ -グリアジン、 $\omega$ 1/2-グリアジン、LMW-グルテニン、HMW-グルテニン)、ナッツ類 (rJur r 1, rAna o 3) の調製を行った。ゴマおよびソバのコンポーネンについて負荷試験により診断がなされている患者血清を用いて評価を行ったところ、ゴマおよびソバの 2S アルブミンが臨床診断において有効なコンポーネンである可能性が示唆された。今後より多くの患者血清を用いて評価を行うとともに、包括的なコンポーネンの評価を進める。

#### ◆遺伝子多型を用いた病態解析 (玉利)

本研究は遺伝子多型解析により食物アレルギーの発症に関連する遺伝子群を同定し病態の科学的な解明を目指すものである。近年、食物アレルギーにおいて経皮感作の重要性が注目されている。今回、我々はピーナッツアレルギーとの関連が報告されているフィラグリン遺伝子変異について検討した。人種によりフィラグリン遺伝子上の頻度の高い変異部位は異なるが、今回、日本人においてフィラグリン遺伝子上の機能喪失変異 (S2889X) と食物アレルギー発症との間に有意な関連を認めた ( $P=0.0042$ )。この変異 (S2889X) については日本人においてアトピー性皮膚炎発症との関連がすでに報告されている。今後、独立



した他集団において結果の検証が待たれる。

#### E. 結論

研究班として食物アレルギーの初期対応、管理、診断、治療に関する各分担研究はほぼ予定通り研究成果を得ることができた。多施設共同研究（緩徐 OIT・アレルゲンコンポーネントを用いた新規診断法）に関しても研究体制ならびにプロトコルを確立することができた。2年後に研究班での研究成果を取り込んで“食物アレルギーの診療の手引き 2014”として改訂することに向けて取り組んでいきたい。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

分担研究報告書 参照

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

分担研究報告書 参照

## II. 分担研究報告

新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究  
— 1. 急速経口免疫（減感作）療法の有効性と問題点の検討 —

研究分担者 海老澤 元宏 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部  
研究協力者 柳田 紀之 国立病院機構相模原病院 小児科  
今井 孝成 昭和大学医学部 小児科  
飯倉 克人 国立病院機構相模原病院 小児科  
佐藤 さくら 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部

研究要旨

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

【方法】事前の経口負荷試験にて強い全身症状を呈した5歳以上の重症食物アレルギー児を対象とした。OITは入院管理による急速法で導入しその後外来でフォローした。目標量は、鶏卵は加熱卵1個、牛乳は牛乳200ml、小麦はうどん200gまたは6枚切り食パン1枚、ピーナッツは3gとした。確認試験(2週間の抗原の完全除去後の負荷試験)を施行し耐性獲得の評価を行った。

【結果】2013年3月までのOIT施行患者数は延べ285名(鶏卵88名、牛乳118名、小麦47名、ピーナッツ32名)であったが、急速法中に5名、外来フォロー中に13名が治療中止となった。

急速法における中等症以上の症状出現率は、鶏卵17.6%、牛乳18.2%、小麦11.3%、ピーナッツ6.9%であった。アドレナリン投与率は、鶏卵1.4%、牛乳1.6%、小麦0.4%、ピーナッツ0.7%であった。また、退院時に目標量が摂取可能であったのは、鶏卵58.2%、牛乳57.2%、小麦55.5%、ピーナッツ50.0%であった。外来フォロー中の中等症以上の症状出現率は、鶏卵1.7%、牛乳2.6%、小麦3.2%、ピーナッツ2.2%であった。アドレナリン投与率は、鶏卵0.1%、乳0.4%、小麦0.3%、ピーナッツ0.1%であった。治療開始1年後の目標量維持率は、鶏卵97.2%、牛乳60.1%、小麦93.3%、ピーナッツ100%であったが、確認試験による耐性獲得率は、鶏卵40.5%、牛乳10.8%、小麦46.7%、ピーナッツ55.6%にとどまった。また、1名が鶏卵のOIT中に好酸球性胃腸炎を発症し治療を中止した。

【結論】遷延する重症食物アレルギー児に対するOITは、多くの症例で脱感作状態へ誘導可能であり、An対策の観点からは有効な治療と考えられた。一方で、治療中に強い全身症状が誘発されることがあるため、各自にあったプロトコル作成が求められるが、現在のところ治療反応性の予見因子は不明である。OIT開始1年後の耐性獲得率は抗原間に差があり、ピーナッツ、小麦が比較的良好で、牛乳は不良であった。脱(減)感作状態(食べていけば症状が出ない状態)にある患者の管理を慎重に行っていく必要がある。

A. 研究目的

遷延するアナフィラキシー(An)タイプの鶏卵、牛乳、小麦、ピーナッツの食物アレルギー(FA)児に対する急速経口免疫療法(OIT)の有効性、問題点を検証し、方法の確立を目指す。

B. 研究方法

事前の食物負荷試験にて強い全身症状を呈した5歳以上のFA児を対象にした。

OITは、急速法(入院5-12日間)と緩徐法(自宅)を組み合わせで行った(図)。入院3日前より抗ヒスタミン薬とロイコトリエン受容体拮抗薬の内服を開始し、入院中は目標量(加熱卵1個、牛

乳200ml、うどん200g、ピーナッツ3g)まで誘発症状を参考にしながら、積極的に増量した。自宅では毎日1回の摂取とし、退院時に目標量に到達していない場合には緩徐に増量した。目標量到達後は同量を維持継続し、経過が順調(3ヶ月無症状)であれば確認試験(2週間の抗原の完全除去後の負荷試験)を施行し、耐性獲得の有無を評価した。

自宅での経過に関しては、全員に記録用日記を配布し、摂取量、副反応の有無、投薬状況等を毎日記載させ、外来受診時に回収し解析した。

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

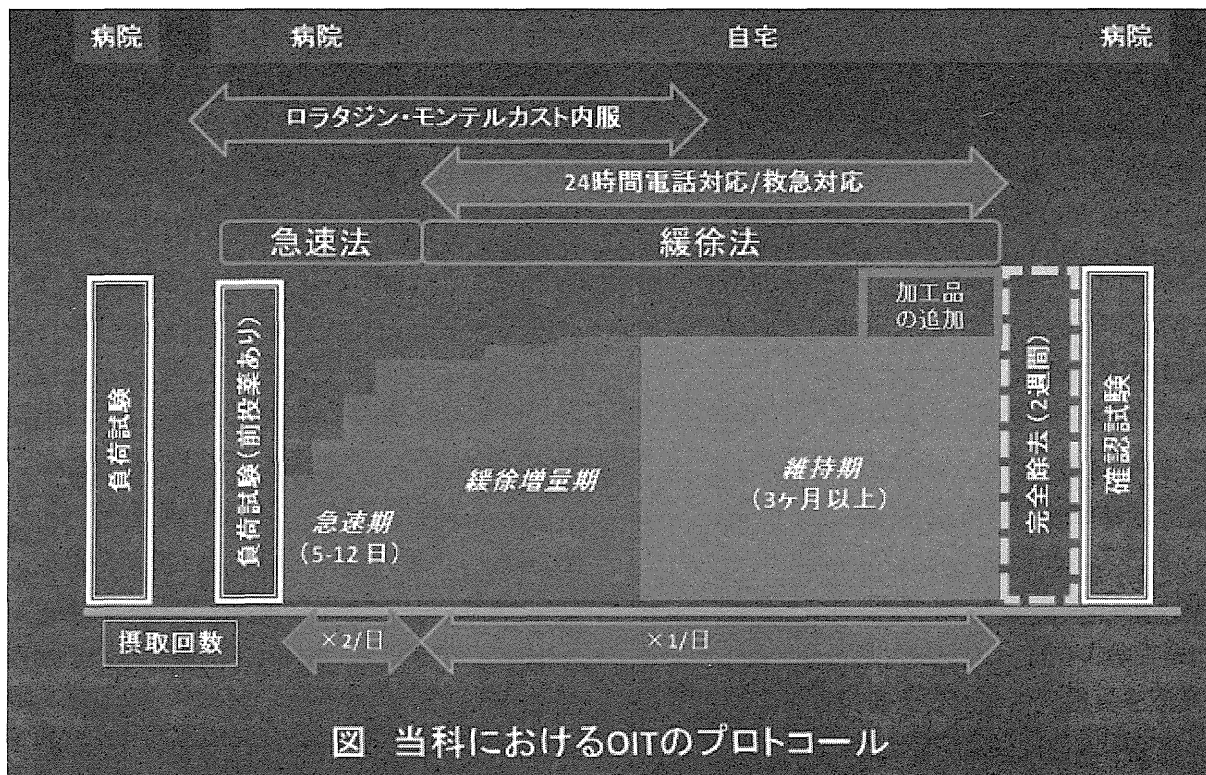


図 当科におけるOITのプロトコール

C. 研究結果

2013年3月までの当院のRush OIT施行患者数は延べ285名(鶏卵88名、牛乳118名、小麦47名、ピーナッツ32名)であった。このうち5名が急速法施行中に、13名が緩徐法施行中にそれぞれ治療中止となった。

急速法について解析可能であったのは、延べ237名(鶏卵76名、牛乳106名、小麦31名、ピーナッツ24名)であった。患者背景を表1に示す。鶏卵と牛乳で気管支喘息、アトピー性皮膚炎の合併率が高かった。

緩徐法について解析可能であったのは、1年経過が75名(鶏卵24名、牛乳74名、小麦15名、ピーナッツ9名)であり、2年経過が25名(鶏卵10名、牛乳48名、小麦6名)であった。

また出現症状の重症度の評価法を表2に示す。

表2 出現症状の重症度の評価法

	軽症	中等症	重症
皮膚症状	赤み・じん疙瘩・腫脹 かゆみ	部分的・慢性性 軽度のかゆみ	全身性 強いかゆみ
粘膜症状	口唇・目・鼻の腫れ	口唇・まぶた全体の腫れ	眼全体の腫れ
消化器症状	腹痛 嘔吐・下痢 鼻汁・鼻閉、くしゃみ	口・喉のかゆみ・違和感 強い腹痛(がまんできる) 嘔気・単回の嘔吐	飲み込みづらい 明らかな腹痛 複数回の嘔吐・下痢
呼吸器症状	咳 喘鳴・呼吸困難	喘息 連続、痰込み β吸入で改善する	大の遠吠え状の痰 β吸入で改善しない喘鳴 呼吸困難、チアノーゼ
全身症状	血圧低下 意識状態	— 明らかに元気がない、 横になりたがる	— — 意識消失、死

表1 患者背景

	鶏卵	牛乳	小麦	ピーナッツ
対象者数(男/女)(名)	76(51/25)	106(72/34)	31(23/8)	24(17/7)
平均年齢(歳)	8.6	8.9	8.9	9.5
原因抗原によるAnの既往(回)	1.2	1.8	1.7	1.2
合併症				
BA	67.1%	90%	58.1%	29.2%
AD	71.1%	67.7%	41.9%	29.2%
抗原特異的IgE値(Ua/ml)	38.5	58.8	251.1	82.1
負荷試験における全身症状誘発閾値(g)	28.2	24.4	16.2	1.8

## (2) 牛乳

急速法における中等症以上の症状出現率は18.2%であり、皮膚症状(12.1%)が最も多かった。治療はAH17.6%、吸入10.0%、ステロイド5.6%、ADR1.6%であった。また退院時に牛乳200mlを摂取可能であったのは57.2%であった。

一方、緩徐法における中等症以上の症状出現率は2.6%であり、呼吸器症状(1.5%)、皮膚症状(1.4%)が多かった。治療はAH5.2%、吸入5.0%、ステロイド1.4%、ADR0.4%であった。また1年/2年後に牛乳200mlを維持摂取可能であったのは60.1%/75.0%で、確認試験が陰性で耐性獲得と判断したのは10.8%/27.1%であった。

## (3) 小麦

急速法における中等症以上の症状出現率は11.3%であり、呼吸器症状(7.8%)が最も多かった。治療はAH6.8%、吸入6.3%、ステロイド0.4%、ADR0.4%であった。また退院時にうどん200gを摂取可能であったのは55.5%であった。

一方、緩徐法における中等症以上の症状出現率は3.2%であり、呼吸器症状(1.7%)が最も多かった。治療はAH2.6%、吸入2.6%、ステロイド1.3%、ADR0.3%であった。また1年後/2年後にうどん200g(または食パン1枚)を維持摂取可能であったのは93.3%/100%で、確認試験陰性で耐性獲得と判断したのは46.7%/83.3%であった。

## (4) ピーナッツ

急速法における中等症以上の症状出現率は6.9%であり、皮膚症状(3.7%)が最も多かった。治療はAH6.6%、吸入1.5%、ステロイド1.1%、ADR0.7%であった。また退院時にピーナッツ3gを摂取可能であったのは37.5%であった。

一方、緩徐法における中等症以上の症状出現率は2.2%であり、皮膚症状1.5%が最も多く、治療はAH1.5%、ステロイド0.7%、吸入0.2%、ADR0.1%であった。また1年後にピーナッツ3g(希望者は10g)を維持摂取可能であったのは100%であり、確認試験が陰性で耐性獲得と判断したのは55.6%であった。ピーナッツ3gの確認試験陰性であった5名のうち2名がピーナッツ10gの確認試験を受けたが、2名とも陰性であった。

## D. 考察, E. 結論

鶏卵(3年経過)、小麦(2年経過)、ピーナッツ(同)は全例、牛乳(3年経過)でも8割の症例で目標量に到達しており、多くの症例においてOITにより脱感作状態(目標量の維持摂取可能、確認試験陽性)へ誘導することが可能であった。一方で、耐性獲得率(確認試験陰性)に関しては1年後で鶏卵40.5%、牛乳10.8%、小麦46.7%、ピーナッツ55.6%にとどまった。耐性獲得までには長期に渡る治療が必要と考えられた。また、確認試験陰性で耐性獲得と判断した症例も運動・感染等で症状誘発を起こす例もあり、長期に観察し、真の耐性獲得の評価を行うことが必須と考えられた。

治療成績は抗原毎に差を認め、ピーナッツ・小麦・加熱鶏卵は比較的良好であったが、牛乳は他抗原に比べて副反応の出現が多く困難であった。また同一抗原であっても、症例毎で治療反応性に差が認められた。今後、治療反応性を予見することが出来れば、各自にあった治療プロトコールを設定することで、より安全にOITを施行する事が出来ると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ebisawa M, Shibata R, Sato S, Borres MP, Ito K. : Clinical Utility of IgE Antibodies to  $\omega$ -5 Gliadin in the Diagnosis of Wheat Allergy: A Pediatric Multicenter Challenge Study, *Int Arch Allergy Immunol.* 2012; 158(1) : 71-6
- 2) Burks AW, Tang M, Sicherer S, Muraro A, Eigenmann PA, Ebisawa M, Fiocchi A, Chiang W, Beyer K, Wood R, Hourihane J, Jones SM, Lack G, Sampson HA : ICON: Food allergy, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2012; 129(4) : 906-20
- 3) Ebisawa M, Moverare R, Sato S, Maruyama N, Borres MP, Komata T : Measurement of Ara h 1-, 2-, and 3-specific IgE antibodies is useful in diagnosis of peanut allergy in Japanese children, *Pediatric Allergy and Immunology.* 2012; 23(6) : 573-81
- 4) Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB, Dimov V, Ebisawa M, El-Gamal YM, Ledford DK, Lockey RF, Ring J, Sanchez-Borges M, Senna GE, Sheikh A, Thong BY, Worm M : 2012 Update: World Allergy Organization Guidelines for the assessment and management of anaphylaxis., *Current opinion in allergy and clinical immunology.* 2012; 12(4) : 389-99
- 5) Nakano T, Shimojo N, Okamoto Y, Ebisawa M,



- Kurihara K, Hoshioka A, Yamaguchi K, Ito K, Fujisawa T, Kameda M, Suehiro Y, Ogura H, Shibata R, Suzuki S, Takahashi Y, Ikeda M, Kohno Y : The Use of Complementary and Alternative Medicine by Pediatric Food-Allergic Patients in Japan., International archives of allergy and immunology. 2012 ; 159(4) : 410-5
- 6) Ebisawa M, Sato S, Utsunomiya T, Hayashi N, Imai T, Yanagida T : Rush oral immunotherapy for the treatment of hen's egg- and cow's milk-induced anaphylaxis , Translational Science:from Basic to Clinical Immunology and Allergy. 2012 : 359-64
- 7) Ito Y, Moritsugu N, Matsue T, Mitsukoshi K, Ayame H, Okochi N, Hattori H, Tashiro H, Sato S, Ebisawa M : An automated multiplex specific IgE assay system using a photoimmobilized microarray, Journal of biotechnology. 2012 ; 161(4) : 414-21
- 8) 小俣貴嗣, 海老澤元宏 : 抗原特異的 IgE 抗体測定による食物アレルギーの診断の進歩 (プロバビリティーカーブ、アレルギーコンポーネントの活用), アレルギー. 2012 61(5) : 599-606
- 9) 海老澤元宏, 杉崎千鶴子, 林典子, 佐藤さくら, 今井孝成 : わが国における経口免疫 (減感作) 療法の実態, 日本小児アレルギー学会誌. 2012 ; 26(1) : 158-66
2. 学会発表
- 1) Ebisawa M : OIT worldwide; Oral Immuno-therapy in Japan, Eradiation of Food Allergy: Fantasy or Reality?. Tel Aviv, Israel. 2012.1
- 2) Ebisawa M : Oral Immunotherapy in Japan , University of South Florida. Tampa, Florida, USA. 2012.2
- 3) Ebisawa M : Oral Immunotherapy in Japan, The Johns Hopkins Asthma and Allergy Center . Baltimore, USA. 2012.3
- 4) Ebisawa M : 25th Anniversary Congress of The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease: New Horizon in Food Allergy/Japan Food Allergen Labeling Regulation History and Evaluation, The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research. Seoul, Korea. 2012.5
- 5) Ebisawa M : 25th Anniversary Congress of The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease: New Horizon in Food Allergy/Advances in Management of Food Allergy, The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research. Seoul, Korea. 2012.5
- 6) Ebisawa M : Therapeutic approaches of wheat anaphylaxis, European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2012. Geneva, Switzerland. 2012.6
- 7) Ebisawa M : Food Challenge when and how to do it, 6th International Summit on Allergic Diseases. Beijing, China. 2012.9
- 8) Ebisawa M : Countermeasures against Anaphylaxis, Joint Congress of APAPARI 2012 & 16th TAPAAI & 34th TCSI. Taipei, Taiwan. 2012.10
- 9) Ebisawa M : Recent Advances in Management of Food Allergy, Joint Congress of APAPARI 2012 & 16th TAPAAI & 34th TCSI. Taipei, Taiwan. 2012.10
- 10) Ebisawa M : Component Resolved Diagnostic(CRD) , 2012 WAO International Scientific Conference . Hyderabad, India . 2012.12
- 11) Ebisawa M : Practical Management of Food Allergy, 2012 WAO International Scientific Conference. Hyderabad, India. 2012.12
- 12) Ebisawa M : Component Analysis for Diagnosis, 2012 WAO International Scientific Conference. Hyderabad, India. 2012.12
- 13) Ebisawa M : Prevention of Food Allergy: Is it Feasible?, 2012 WAO International Scientific Conference. Hyderabad, India. 2012.12
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究

### 一 2. 急速経口免疫（減感作）療法の作用機序の解明一

研究分担者 海老澤 元宏 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部  
研究協力者 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  
柳田 紀之 国立病院機構相模原病院 小児科  
小倉 聖剛 国立病院機構相模原病院 小児科

#### 研究要旨

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

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

【結果】牛乳19名では、尿中LTE4は治療開始3日目で日内最大値が抑制され、急速期に目標量まで到達できる例では増量困難例と比べて尿中LTE4値が低値であったが、血清トリプターゼ値は治療開始前と5日目で有意な変化は認めなかった。OIT開始後3年以上経過した25名(鶏卵10名、牛乳15名)についてOITによる免疫学的パラメータの変化を解析した。皮膚テストの膨疹径は早期から縮小し、抗原特異的IgE値は1年後に卵白で約1/3、ミルクで約1/2、3年後に卵白・ミルクともに約1/4に低下した。抗原特異的IgG4値は急速期終了時から上昇し、1年後には卵白では約30倍、カゼインでは約5倍に上昇したが、その後は低下していた。抗原刺激による好塩基球CD203c発現量(血清+)は1ヵ月後には卵白・牛乳刺激ともに低濃度(0.1、1、10ng/ml)でのみ低下し、HRT(血清-)では2年後以降で低濃度の抗原刺激によるヒスタミン遊離率(HR%)で低下が認められた。OIT患者血清存在下で濃度依存的に卵白刺激によるCD203c発現量は有意に抑制され、抗原特異的IgG4値はCD203c発現量と逆相関した。OIT開始後2年以上経過した71名(鶏卵31名、牛乳40名)および1年以上経過した小麦20名について治療予測因子の検討をした。耐性化群(2年以内に耐性化)では非耐性化群と比べ、牛乳では治療開始前の抗原特異的IgE値が有意に低く、その差は12ヵ月後まで持続し、鶏卵では治療1ヵ月後のCD203c発現量が強く抑制されていた。一方、小麦ではこれらの因子に有意な差を認めなかった。

【結論】OITによる免疫学的な変化は、急速期には局所のマスト細胞や末梢血好塩基球の活性化が抑制され、治療の継続とともに抗原特異的IgE値の低下(一部に一過性の上昇を伴うこともある)、抗原特異的IgG4値の上昇が誘導される。これらの変化が脱感作状態を維持し、一部の例では耐性獲得を誘導すると考えられた。抗原特異的IgG4値の耐性獲得維持への関与については現時点では不明である。

#### A. 研究目的

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

球CD203c発現量、尿中メディエーター(急速期)、血清トリプターゼ値(急速期)の測定を経時的に行っている。

#### B. 研究方法

2013年2月までのOIT施行患者数は計265名(鶏卵84名、牛乳112名、小麦41名、ピーナッツ28名)である。前述の方法にてOITを施行した患者を対象に、皮膚テスト(SPT)、末梢血好酸球数、血清総IgE値、抗原特異的IgE値、IgG、IgG4値、好塩基球ヒスタミン遊離試験(HRT)、好塩基

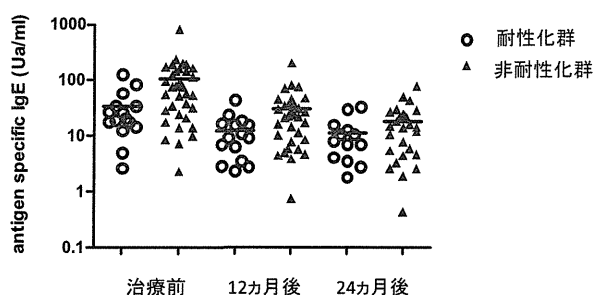
#### C. 研究結果

牛乳19名では、HPLC+ELISA法にて測定した尿中LTE4は抗原摂取後2-3時間で尿中LTE4が上昇し、日内最大値は治療開始3日目で抑制され、急速期に目標量まで到達できる例では増量困難例と比べ、治療3、5日目の尿中LTE4値が低値であった。一方、血清トリプターゼ値は治療開始前と

5日目で有意な変化は認めず、急速期の治療反応性との関連はなかった。

OIT開始後3年以上経過した25名（鶏卵10名、牛乳15名）についてOITによる免疫学的パラメータの長期的な変化を解析した。皮膚テストの膨疹径は1ヵ月後から有意に縮小し、6ヵ月で約60%に抑制された。抗原特異的IgE値は1年後に卵白で約1/3、ミルクで約1/2、3年後に卵白・ミルクともに約1/4に低下した。一方、抗原特異的IgG4値は急速期終了時から上昇し、1年後には卵白では約30倍、カゼインでは約5倍に上昇したが、2年後には卵白では約20倍、カゼインでは約4倍と低下していた。抗原刺激による好塩基球CD203c発現量（血清+）は1ヵ月後には卵白・牛乳刺激ともに低濃度（0.1、1、10ng/ml）でのみ低下したが、3年後には高濃度（100、1000ng/ml）においても低下していた。一方、HRT（血清-）では2年後以降で低濃度の抗原刺激によるヒスタミン遊離率（HR%）のみ低下が認められた。またHR%は抗原特異的IgG4値と相関しなかったが、CD203c発現量とは逆相関した。さらにOIT患者血清添加（+）または（-）の条件で、OIT未施行の鶏卵アレルギー患者検体のCD203c発現量を測定したところ、添加血清の濃度依存的にCD203c発現量は抑制された。

OIT開始後2年以上経過した71名（鶏卵31名、牛乳40名）および1年以上経過した小麦20名について治療予測因子の検討をした。耐性化群（2年以内に耐性化）では非耐性化群と比べ、牛乳では治療開始前の抗原特異的IgE値が有意に低く（ $p < 0.01$ ）、その差は12ヵ月後まで持続し（図）、鶏卵では治療1ヵ月後のCD203c発現量が強く抑制されていた。一方、小麦ではこれらの因子に有意な差を認めなかった。



牛乳特異的IgE値の経時的変化と治療反応性

D. 考察, E. 結論

急速期には、OITにより局所のマスト細胞の活性化抑制が起き、さらに好塩基球の活性化も抑制され、脱感作状態に到達できると考えられた。これら初期の反応抑制には、血漿中に存在する因子（特異的IgG4など）の関与も考えられ、さらなる検討が必要である。

長期的には、OITの継続によりTregなどの細胞性免疫を介した液性因子の変化が誘導され、抗原特異的IgG4値が上昇・維持され、抗原特異的IgE値が持続的に低下する（一過性の上昇を伴う症例もある）ことで脱感作状態が維持され、このうちの一部の症例では耐性化すると考えられた。早期に耐性化できない例でも同様の免疫学的変化が誘導され、治療の継続により脱感作状態に到達できる可能性が考えられた。抗原特異的IgG4値の耐性獲得維持への関与については現時点では不明である。

一部の抗原では、急速期の尿中LTE産生が低く推移し、原因食品の摂取の増量が早く進み、治療前の抗原特異的IgE低値、早期の抗原刺激による好塩基球CD203c発現量が抑制される例は治療経過が良好であり、治療反応性の予見に有用である可能性が示された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

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

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 新しい診断法・管理法の確立と治療法の開発に関する研究

### — 3. 乳児の感作成立・発症段階における管理法 —

研究分担者 海老澤 元宏 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部  
 研究協力者 岡田 悠 国立病院機構相模原病院 小児科  
 柳田 紀之 国立病院機構相模原病院 小児科  
 佐藤 さくら 国立病院機構相模原病院 臨床研究センター アレルギー性疾患研究部

#### 研究要旨

対象は即時型鶏卵アレルギーと診断され、2005年～2010年に国立病院機構相模原病院小児科で加熱卵黄1個のつなぎの食物経口負荷試験(E1)を受け陰性であった197例とした。6例を除外し、E1を受け陰性となった年齢が0-1歳台の群を早期群(59例)、2-3歳台の群を後期群(132例)とし、経年的に即時型鶏卵アレルギーの耐性獲得率を比較した。解析は、早期群と後期群の加熱全卵1/2個の4、5、6歳時点の耐性獲得率を比較した。耐性獲得率の割合は、4歳で早期群84%、後期群38%( $p < 0.01$ )、5歳で早期群97%、後期群67%( $p < 0.01$ )、6歳で早期群100%、後期群83%( $p < 0.05$ )であった。5歳時点の加熱全卵1/2個の耐性獲得率に対して卵白特異的IgEで補正を行ったところ、早期群の方が後期群よりも10.3倍耐性獲得しやすかった( $p < 0.05$ )。加熱鶏卵の摂取を早期に開始したほうが5歳時点での加熱全卵の耐性獲得率を高める可能性が示唆された。

#### A. 研究目的

食物アレルギーと診断されると、原因となる食物は完全除去の指導を受けることが多い。しかし、原因食物であっても少量であれば摂取可能であることも多く、可能な範囲で定期的に摂取を行うことで耐性化が進むという報告も散見される。本研究では鶏卵アレルギーと診断された児に対して、卵黄つなぎを用いた加熱鶏卵の部分摂取を日常的に行うことで耐性化に与える影響を検討する。

#### B. 研究方法

対象は即時型鶏卵アレルギーと診断され、2005年～2010年に国立病院機構相模原病院小児科で加熱卵黄1個のつなぎの食物経口負荷試験(E1)を受け陰性であった197例とした。6例を除外し、E1負荷試験を受けて陰性となった年齢が0-1歳

台の群を早期群(59例)、2-3歳台の群を後期群(132例)とし、経年的に即時型鶏卵アレルギーの耐性獲得率を比較した(図1)。

E1施行以前では当院あるいは他院において鶏卵の完全除去を指導されており、E1陰性を確認後日常的に卵黄つなぎを摂取するように指導した。その後、加熱全卵1/2個の経口食物負荷試験を施行し、陰性であれば自宅にて繰り返し摂取することとした。加熱全卵1/2個を自宅で摂取しても症状がなければ、耐性獲得とした(図2)。

解析は、早期群と後期群の加熱全卵1/2個の4、5、6歳時点の耐性獲得率を比較した。また、5歳時点の加熱全卵1/2個の耐性獲得率に対して、早期群と後期群、1歳時の卵白特異的IgE10UA/mL未満と10UA/mL以上を独立変数としロジスティック回帰分析を行った。

図1 対象患者

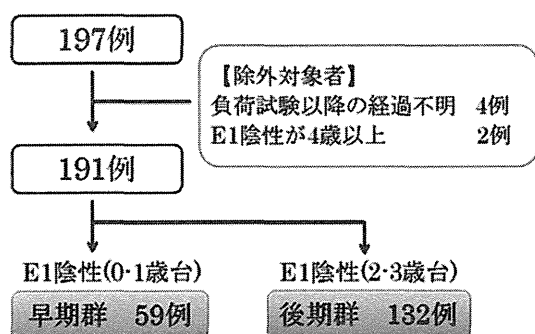
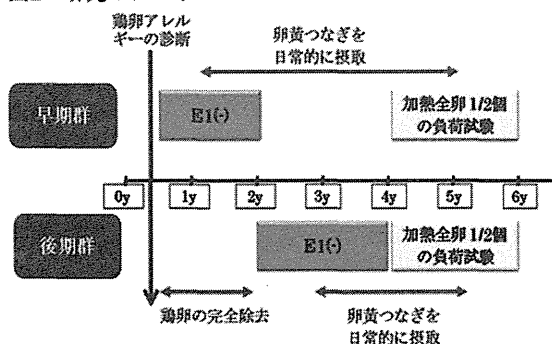


図2 研究のプロトコール



### C. 研究結果

早期群よりも後期群の1歳時の血液検査結果が、血清総IgE、卵白特異的IgE、オボムコイド特異的IgEで有意に高かった。耐性獲得率の割合は、4歳で早期群84%、後期群38%( $p<0.01$ )、5歳で早期群97%、後期群67%( $p<0.01$ )、6歳で早期群100%、後期群83%( $p<0.05$ )であった。5歳時点の加熱全卵1/2個の耐性獲得率に対して卵白特異的IgEで補正を行ったところ、早期群のほうが後期群よりも10.3倍耐性獲得しやすかった( $p<0.05$ ) (表1)。

表1 5歳時点の加熱全卵1/2個の耐性獲得率に対するロジスティック回帰分析

	偏回帰係数	有意確率	オッズ比	オッズ比の95%信頼区間	
				下限	上限
早期群と後期群	2.330	0.026	10.274	1.314	80.342
1歳時の卵白特異的IgE 10 UA/mL未満と以上	0.933	0.042	2.542	1.034	6.246
定数	0.441	0.056			
			モデル $\chi^2$ 検定	0.000	
			判別的中率	73.1%	

### D. 考察

加熱鶏卵の部分的摂取を早期に開始した(鶏卵の完全除去の期間を短くする)方が5歳時点での加熱全卵の耐性獲得率を高める可能性が示唆された。6歳以降の耐性獲得率への影響は症例数が少なく検討が困難であった。このため、今後さらなる症例の蓄積が必要と考えられた。

### E. 結論

加熱鶏卵を早期に部分摂取することで即時型鶏卵アレルギーの耐性獲得を早める可能性が示唆された。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

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

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## 経口免疫療法の応答性の遺伝子レベルでの解析

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

### 研究要旨

食物アレルギー児に対する「経口免疫療法」は約8～9割の症例で有効である事が知られているが、残る1～2割の症例では、強い副反応のために経口的に摂取する食物抗原量の漸増が出来ない。この「不応例」を事前に予知することが出来れば、より効果的に「経口免疫療法」が行えるだけでなく、不必要な副反応のリスクを避けることが出来る可能性がある。本研究では経口減感作療法の有効性を、治療開始前に見分けるマーカーとなる分子を探索する事を目的として、経口免疫療法施行前に末梢血単核細胞を採取し、特異抗原刺激によって末梢血単核細胞分画に発現する分子群をMicroarrayを用いて網羅的に検索し、経口免疫療法有効例と無効例の遺伝子発現の差を検討した。その結果、特異抗原刺激によって2倍以上遺伝子発現が増加した遺伝子群のうち72時間目で著効群でのみ誘導され、無効群では誘導されなかった遺伝子は25 probe、22遺伝子見いだされ、一方無効群のみに誘導された遺伝子は認められなかった。今回抽出された遺伝子群の中に経口免疫療法の有効性を事前に予測する事ができるマーカーが含まれている可能性が期待される。今後は症例数を増やして同様の検討をすると共に、qPCRによる遺伝子発現量の確認、卵による傾向減感作療法例での再現性の検討などを行い、さらにこれらの分子群の機能解析を順次行う予定である。

### A. 研究目的

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

### B. 研究方法

国立相模原病院を受診した経口免疫療法開始前の食物アレルギー症例（ミルク合計32症例、卵合計19症例）の末梢血単核細胞を自己血漿5%添加RPMI1640培地に浮遊させ、lipopolysaccharide (LPS)を除去したミルク抗原(200・g/ml)および卵白アルブミン抗原(200・g/ml)を添加し、24時間もしくは120時間培養した。培養後、細胞分画を回収してTotal RNAを抽出した。

次いで、国立相模原病院にて経口免疫療法を行い、開始6カ月後の経過から、対象者を、ミルクによる経口免疫療法が著効した3例（著効群）と、急速期の増量はできたがその後の増量が順調でなかった3例（中間群）、急速期の増量が困難で、その後の緩除期にも増量ができなかった4例（無効群）に分類した。

末梢血単核細胞のコントロール刺激（培養液単独）とミルク刺激検体について網羅的な遺伝子発現解析によって、抗原特異的に誘導された遺伝子群を抽出した。

## C. 研究結果

著効群と無効群でそれぞれ、18時間目および5日目に特異抗原刺激によって2倍以上遺伝子発現が増加する遺伝子群を抽出した。その上で、特異抗原刺激によって2倍以上遺伝子発現が増加した遺伝子群のうち72時間目で著効群でのみ誘導され、無効群では誘導されなかった遺伝子は25 probe、22 遺伝子見いだされ、一方無効群のみに誘導された遺伝子は認められなかった。

## D. 考察

今回抽出された遺伝子群の中に経口免疫療法の有効性を事前に予測する事ができるマーカーが含まれている可能性が期待される。今後は症例数を増やして同様の検討をすると共に、qPCR による遺伝子発現量の確認、卵による傾向減感作療法例での再現性の検討などを行い、さらにこれらの分子群の機能解析を順次行う予定である。

## E. 結論

経口免疫療法の有効性を事前に判定するマーカーの候補となる分子群を同定した。これらの分子群は臨床的に有用なマーカーとなるだけでなく、有効性を決定する機序の解明にも役立つ可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Activation of human synovial mast cells from rheumatoid arthritis or osteoarthritis patients in response to aggregated IgG through FcεRI and FcγRII. Lee H, Kashiwakura J, Matsuda A, Watanabe Y, Sakamoto-Sasaki T, Matsumoto K, Hashimoto N, Saito S, Ohmori K, Nagaoka M, Tokuhashi Y, Ra C, Okayama Y. *Arthritis Rheum.* 65: 109-19, 2013.
- 2) Interleukin-33 in allergy. Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. *Allergy.* 67: 1203-14. 2012.
- 3) Antigen-specific T-cell responses in patients with non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy are predominantly skewed to TH2. Morita H, Nomura I, Orihara K, Yoshida K, Akasawa A, Tachimoto H, Ohtsuka Y, Namai Y, Futamura M, Shoda T, Matsuda A, Kamemura N, Kido H, Takahashi T, Ohya Y, Saito S, Matsumoto K. *J Allergy Clin Immunol* 131: 590-592, 2013.

- 4) Epithelial cell-derived IL-25, but not Th17 cell-derived IL-17 or IL-17F, is crucial for murine asthma. Suzukawa M, Morita H, Nambu A, Arae K, Shimura E, Shibui A, Yamaguchi S, Suzukawa K, Nakanishi W, Oboki K, Kajiwara N, Ohno T, Ishii A, Korner H, Cua DJ, Suto H, Yoshimoto T, Iwakura Y, Yamasoba T, Ohta K, Sudo K, Saito H, Okumura K, Broide DH, Matsumoto K, Nakae S. *J Immunol.* 189: 3641-3652, 2012.
- 5) Omalizumab inhibits acceleration of FcεRI-mediated responsiveness of immature human mast cells by immunoglobulin E. Okayama Y, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Matsumoto K, Hashimoto N, Ohmori K, Kawakami T, Saito H, Ra C. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 108: 188-194 e182, 2012.
- 6) Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies: distinct differences in clinical phenotype between Western countries and Japan. Nomura I, Morita H, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. *Curr Allergy Asthma Rep.* 12: 297-303, 2012.
- 7) ST2 requires Th2-, but not Th17-, type airway inflammation in epicutaneously antigen-sensitized mice. Morita H, Arae K, Ohno T, Kajiwara N, Oboki K, Matsuda A, Suto H, Okumura K, Sudo K, Takahashi T, Matsumoto K, Nakae S. *Allergol Int.* 61:265-73, 2012.
- 8) Anti-inflammatory effects of high-dose IgG on TNF-alpha-activated human coronary artery endothelial cells. Matsuda A, Morita H, Unno H, Saito H, Matsumoto K, Hirao Y, Munechika K, Abe J. *Eur J Immunol.* 42: 2121-31, 2012.
- 9) Salivary cortisol response to stress in young children with atopic dermatitis. Kojima R, Matsuda A, Nomura I, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. *Pediatr Dermatol.* 30: 17-22, 2013.
- 10) Factors associated with steroid phobia in caregivers of children with atopic dermatitis. Kojima R, Fujiwara T, Matsuda A, Narita M, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. *Pediatr Dermatol.* 30: 29-35, 2012.
- 11) Histamine-releasing factor has a proinflammatory role in mouse models of asthma and allergy. Kashiwakura JC, Ando T, Matsumoto K, Kimura M, Kitaura J, Matho MH, Zajonc DM, Ozeki T, Ra C, MacDonald SM, Siraganian RP, Broide DH, Kawakami Y, Kawakami T. *J Clin Invest.* 122: 218-228, 2012.
- 12) The role of Staphylococcal enterotoxin in atopic keratoconjunctivitis and corneal ulceration. Fujishima H, Okada N, Dogru M, Baba F, Tomita M, Abe J, Matsumoto K, Saito H. *Allergy.* 67: 799-803, 2012.
- 13) Effects of diesel exhaust particles on primary cultured healthy human conjunctival epithelium. Fujishima H, Satake Y, Okada N, Kawashima S, Matsumoto K, Saito H. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 110: 39-43, 2013
- 14) The association between oxytocin and social