

## 食物アレルギーに対する新規免疫療法開発に関する研究

研究分担者 藤澤 隆夫 国立病院機構三重病院 副院長  
研究協力者 長門 直香 理化学研究所統合生命医科学研究センター  
長尾 みづほ 国立病院機構三重病院臨床研究部 室長  
下条 直樹 千葉大学大学院医学研究院小児病態学 教授  
岩田 力 東京家政大学家政学部 教授  
岡田 直樹 大阪大学大学院薬学研究科 准教授  
中川 晋作 大阪大学大学院薬学研究科 教授

### 研究要旨

鶏卵および牛乳に対するランダム化比較試験による経口免疫療法の長期経過を解析し、そこから得られた課題に基づき、新規免疫療法開発に着手した。まず、経口免疫療法の長期経過では、鶏卵は維持2年後に加熱卵1個以上の摂取ができていない例は67.5%であり、多くは副反応なく一定の有効性は示された。牛乳に関しては、維持2ヶ月の時点で副反応により維持量の減量が必要となった症例が多く、1年で200mlを維持できるのが45%であった。また、維持1年後の除去後負荷試験の結果では閾値の低下がみられなかったのは27%にまで減少しており、副反応への対策が必要であるとともに、真の耐性獲得には課題が残った。効果と安全性を高めることを目的に、KW乳酸菌3110株の摂取を牛乳の免疫療法に併用した経口免疫療法を施行したが、試験を終了した9名の結果からは、安全性は証明されたが症状誘発閾値の変化率や維持期の副反応回数などに対する有効性は確認できなかった。そこで新規免疫療法として、TGF- $\beta$ と経皮免疫療法に着目した。TGF- $\beta$ 高含有食品を開発し、プラセボとともに補助食品としての安全性を確認した。経皮免疫療法については、牛乳蛋白濃縮物を添加した親水性ゲルパッチを作成し、免疫誘導能をマウスモデルで検討した。ヒトにおいてはまずオープン法にて経皮免疫療法を開始し、有効性と安全性への検討を行っている。

### A. 研究目的

食物アレルギーはアナフィラキシーなど生命リスクを抱え、疾病負担は多大である。しかし有効な予防法、根治的治療法は確立されていない。我々は重症の鶏卵・牛乳アレルギーに対する経口免疫療法をわが国初のランダム化比較試験(RCT)で行い、その有効性を証明した(平成22-24年厚生労働科学研究;研究代表者 岩田力)が、一方で現状の経口免疫療法の限界(治療過程における副反応、脱感作到達は可能ながら耐性獲得は必ずしも容易でない)も明らかとした。そこで、より安全で有効な治療法を確立するため、本研究ではこの臨床試験に参加した児の長期経過を追って、予後とその予測因子の検討を進めるとともに、免疫調節物質併用による経口免疫療法および経皮免疫療法の開発に着手した。

### B. 研究方法

1)平成22-24年に行った急速経口免疫療法の多施設共同ランダム化比較試験について、鶏卵につ

認し、集計した。

### 2)乳酸菌 KW3110 株二重盲検プラセボ対照試験

経口負荷試験閾値 10ml 以下の牛乳アレルギー患者(5~15才)を対象に、牛乳の急速経口免疫療法の併用療法として、不活化乳酸菌 KW3110 またはプラセボを投与した。主要評価項目は維持量到達後2ヶ月での負荷試験閾値および1年後の除去後の負荷試験閾値とした。

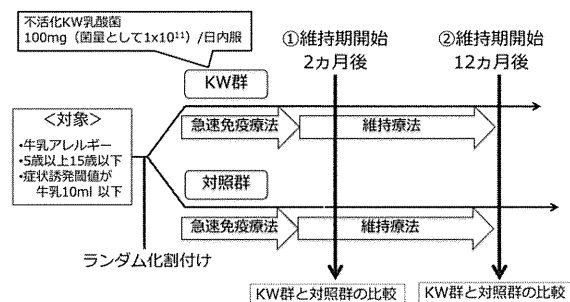


図1 KW3110株二重盲検プラセボ対照試験プロトコール

### 3) TGF- $\beta$ 高含有食品の開発

サイトカインの1種である TGF- $\beta$  は多様な作用をもつが、過剰な免疫反応を抑制、TGF- $\beta$  含有

量が多い母乳を摂取した乳児にアレルギー疾患発症が少ないことが報告されている。そこで本研究では、TGF- $\beta$ の免疫調節効果に期待して、牛乳の成分調整過程で得られる高濃度 TGF- $\beta$ を含有する食品（TGF 素材）をこれまでに確立した OIT に併用することで、より安全で高い治療効果が得られるかを検証する二重盲検プラセボ対照試験を立案した。

#### 4) 「貼るワクチン」としての親水性ゲルパッチデバイスの開発

新規経皮送達デバイス＝親水性ゲルパッチ（コスメディ製薬開発）に牛乳蛋白濃縮物（脱脂・脱糖処理）を保持させた食物アレルギー経皮ワクチンを作成（図 2）、経皮免疫療法として、健常皮膚に 1 日 12 時間、8 週間貼付、前後で負荷試験閾値を比較する二重盲検プラセボ対照試験を立案した。その基礎検討として、まず、ワクチンなどですでに用いられている手法を用いて牛乳蛋白濃縮物を滴下した親水性ゲルパッチを作成した。この親水性ゲルパッチの規格を外観、色調、匂い、溶出試験、粘着性、微生物学的品質において確認した。マウスで親水性ゲルパッチを用いた経皮免疫療法を行い、皮下注またはアジュバント入りの腹腔内注射を行ったものと特異的 IgG 抗体価を比較した。

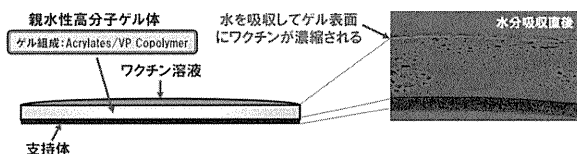


図 2 親水性ゲルパッチ

### C. 研究結果

1) 鶏卵はこれまでの結果では、維持 1 年後に 84% が鶏卵 1 個以上の摂取が可能であったが、2 週間以上の完全除去後の経口負荷試験では 53% に軽度または明らかな閾値の低下を認めた。今回、維持 2 年を経過した症例について、除去試験は行わず、現在の摂取状況を問診にて確認した。維持 1 年まで到達した 43 例の全例が 2 年後も維持療法を継続しており（脱落なし）、43 例中 16 例（37.2%）は加熱卵 1 個以上かつ、半熟欄を少量以上摂取しており、順調な経過であった。13 例（30.2%）は加熱卵 1 個以上摂取しているが、非加熱卵は摂取していなかった。14 例（32.6%）は加熱卵少量に留まっている状態であった。（図 3）いずれもエピネ

リン使用など重大な副反応はなく、軽微な副反応で維持量を減量しても、その後は副反応なく、経過していた。卵白とオボムコイドの特異的 IgE 抗体は、維持 1 年から維持 2 年にかけて、いずれも有意に低下していた。抗原刺激による活性化好塩基球試験においても、卵白、オボムコイド、オボムコイドドメイン 3 の刺激において維持 1 年の結果より 2 年では発現量が低下していた。しかし、維持 1 年後の負荷試験での閾値と 2 年後の維持摂取量の間には一定の傾向はなく、治療開始前の特異的 IgE 抗体や活性化好塩基球試験の結果で 2 年後の摂取量を予測するのは困難であった。

	加熱卵1個以上かつ、半熟卵を少量以上摂取	加熱卵1個以上	加熱卵少量
性別(男:女)	12:4	9:4	10:4
年齢	7.5±0.8	7.8±1.7	7.5±2.0

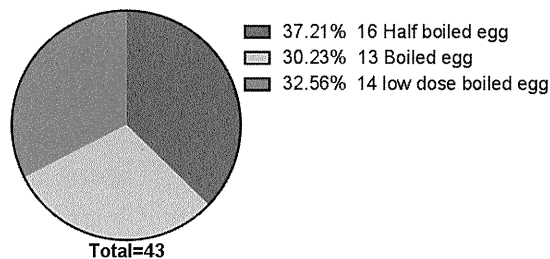


図 3 鶏卵 OIT 維持 2 年後の摂取状況

牛乳は、急速期は 32 例が終了し、28 例（88%）が 50ml 以上、27 例（84%）が 200ml の維持量に達した。また、維持量到達後、安静時の摂取では無症状であっても、摂取後の運動負荷を行ったところ、52% は何らかのアレルギー症状が誘発された。維持療法中に副反応で減量を余儀なくされ、200ml を維持できる例は 2 ヶ月までに 64%、1 年で 45% に減少した。維持 1 年後の除去後負荷試験が終了した 26 名のうち、7 例（27%）は閾値の低下が無かったが、12 例（46%）は軽度の閾値低下、7 例（27%）は明らかな閾値の低下がみられた。

#### 2) 乳酸菌 KW3110 株二重盲検プラセボ対照試験

パイロット試験として 9 名の患者が登録された。3 ヶ月後の負荷試験では KW 群、プラセボ群ともに閾値の有意な上昇がみられたが、主要評価項目である登録時と維持期開始後 2 ヶ月後の時点での症状誘発閾値の変化率、副次評価項目である、維持量到達日数、急速期および維持期での症状出現日数、維持期開始 12 ヶ月後での症状誘発閾値の変化率、制御性 T 細胞の比率など、いずれの評価項目についても両群間で有意差を認めな

かった。全例、KW3110 株によると考えられる有害事象は認められなかった。

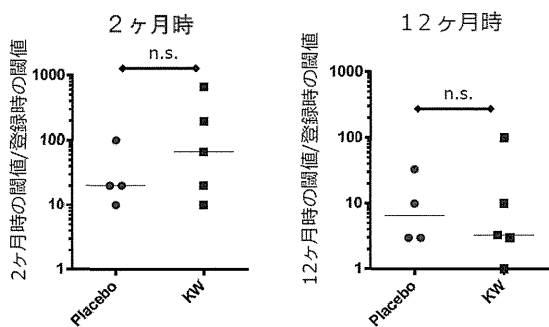


図4 KW3110 株二重盲検プラセボ対照試験における閾値の変化

### 3) TGF-β 高含有食品の開発

牛乳には免疫調節作用を有する TGF-β が含まれるが、これを高濃度に精製した TGF-β 高含有食品をビーンスタークスノー株式会社との共同研究で開発した。通常の乳製品の約 1000 倍の TGF-β 1, β 2 を含有する素材を作成し、デキストリン等を添加して、プラセボとともに補助食品としての安全性を確認した。二重盲検プラセボ対照試験の参加者募集を開始した。

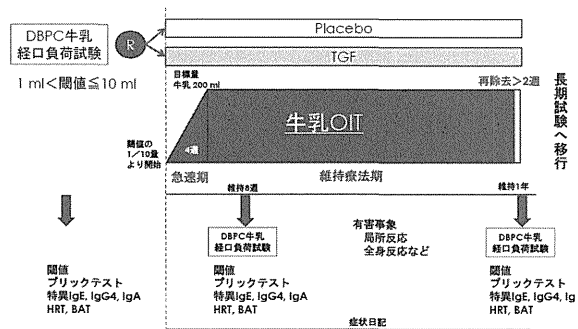


図5 TGF-β 高含有食品併用牛乳 OIT 試験

### 4) 親水性ゲルパッチデバイスの開発

牛乳蛋白濃縮物を滅菌水を加えてソニケーションをかけて溶解し、遠心分離してその上清をフィルターに通した。この溶液で 1mg 用 0.1mg 用に希釈し、パッチに滴下し乾燥させて親水性ゲルパッチを作成した。外観、色調、匂い、溶出試験、粘着性、微生物学的品質は製品として規格内として適合することが確認された。マウスにこのゲルパッチまたは、皮下注、アジュバント入りの腹腔内注射で 1 週間隔で 5 回免疫を行い、最終免疫から 1 週間後に血清中の抗原特異的 IgG 抗体を ELISA 法により検出したところ、抗体産生能力としては、皮下注やアジュバント入りの腹腔内注射

の方が高値であった。

臨床では、きわめて閾値の低い重症牛乳アレルギー患者を対象として、安全性と有効性を確認するオープン試験を開始した。引き続きプラセボ対照試験を予定している。

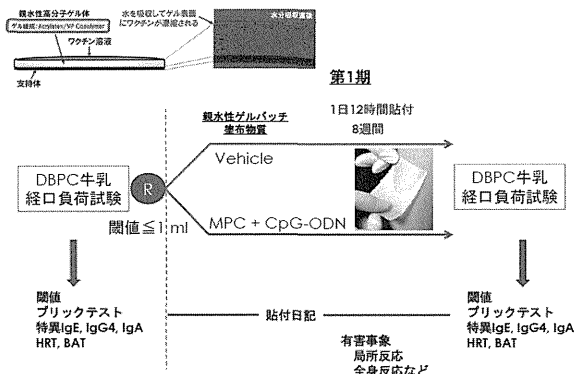


図6 牛乳経皮免疫療法プラセボ対照試験

### D. 考察

多施設共同臨床試験の維持経過から、鶏卵については、維持 2 年の時点で 67.5% が加熱卵 1 個以上の摂取ができていた。維持 1 年を経過してからは、日々の維持摂取については規定を設けておらず、加熱卵の少量摂取に留まっている症例の中には鶏卵の味が気に入らないために摂取量が多い症例が含まれること、維持 1 年から 2 年の間で完全除去に戻る症例はみられなかったことから、鶏卵の免疫療法は維持 1 年を過ぎれば摂取量の低下がみられることはあっても危険性は減少すると考えられた。一方牛乳に関しては、維持 2 ヶ月までに副反応により維持量の減量が必要となった症例が多く 200ml を維持できるのが 64% であった。維持 1 年後の除去後負荷試験の結果では閾値の低下がみられなかったのは 27% にまで減少した。副反応への対応と、再び摂取を続けることによって維持量に戻すことは可能であっても真の耐性獲得には課題が残る。

そこで、Th1 アジュバント効果が in vitro 動物実験で示されており、ヒトでの安全性も報告されている KW 乳酸菌 3110 株の摂取を牛乳の免疫療法に併用することで、より安全で有効性の高い経口免疫療法を施行した。試験を終了した 9 名の結果からは、安全性は証明されたが症状誘発閾値の変化率や維持期の副反応回数などに対する有効性は確認できなかった。しかし、安全性は確認することができたので、今後、投与方法の改良（舌下投与）、投与量の改良（増量）、投与期間の改良（長期）など新たな試験を行うための基礎となっ

た。

現時点で、乳酸菌では期待する効果が得られなかったが、TGF- $\beta$ はこれまでの母乳 TGF- $\beta$ 濃度とアレルギー発症に関する疫学研究や動物への経口投与モデルにおいて食物アレルギー予防効果が証明されており、経口免疫療法の副反応軽減および耐性誘導促進に効果が期待できると考えられる。親水性ゲルパッチでは研究協力者がすでにジフテリア・破傷風トキソイドワクチンの臨床試験で高い IgG 産生誘導作用を観察すると共に、動物モデルで IgE 産生誘導が極めて低いことも確認しており、食物アレルギーに対する新規治療ワクチンとしてこれまでとは全く異なる治療法となり得る。

#### E. 結論

鶏卵、牛乳の経口免疫療法の成績から食物アレルギーの新規免疫療法として実用化可能な 2 つの臨床試験開始の準備を整えた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 藤澤隆夫. 食物アレルギーに対する経口アレルギー免疫療法の展望. アレルギーの臨床 2014;34:96.
- 2) 藤澤隆夫. アレルギーマーチ up to date 小児から成人まで 食物アレルギーとアレルギーマーチ. アレルギー 2013;62:1196.
- 3) 杉本真弓, 長尾みづほ, 近藤真理, et al. 鶏卵アレルギー経口負荷試験結果を予測する因子について 病院とクリニックにおける負荷試験症例比較による解析. 日本小児アレルギー学会誌 2013;27:188-95.
- 4) 藤澤隆夫 抗 IgE 抗体オマリズマブの食物アレルギー治療への応用 薬局 64(3), 2013

##### 2. 学会発表

- 1) 長門 (伊藤) 直香. 食物アレルギーに対する急速経口免疫療法の効果と副作用～多施設共同ランダム化比較試験の結果から～. 東京小児アレルギーフォーラム 2013 2013年2月23日東京
- 2) 村尾潮保, 東岡史, 有瀧薫, 杉本真弓, 長尾みづほ, 藤澤隆夫. 経口免疫療法維持期に

おける母子アンケート調査. 第 30 回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会 2013 年 6 月 8-9 日 筑波

- 3) 近藤真理, 貝沼圭吾, 杉本真弓, 長尾みづほ, 藤澤隆夫. 成人の食物アレルギーに対する急速経口免疫療法. 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013 年 5 月 11, 12 日 横浜 長門直香, 下条直樹, 藤澤隆夫, 岩田力. 牛乳に対する急速経口免疫療法の 1 年後経過. 第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013 年 5 月 11, 12 日 横浜
- 4) 長門 (伊藤) 直香, 下条直樹, 藤澤隆夫, 岩田力. 牛乳に対する急速経口免疫療法の 1 年後経過. 第 25 回日本アレルギー学会学術春季臨床大会、第 25 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2013 年 5 月 11, 12 日 横浜
- 5) Itoh-Nagato N, Fujisawa T, Shimojo N, Nagao M, Iwata T, Japan Oral Immunotherapy Group (J-OIT). High rate of desensitization and tolerance induction by rush oral immunotherapy for anaphylactic children with egg allergy: a randomized controlled trial. EAACI-WAO Congress 2013 22-26 June, Milan, Italy
- 6) 長門 (伊藤) 直香. 食物アレルギーの免疫療法. 国際保健・感染・地域医療勉強会、2013 年 7 月 16 日 津
- 7) 徳田玲子, 長尾みづほ, 近藤真理, 貝沼圭吾, 藤澤隆夫. 食物アレルギー(疫学) 2013 年三重県の幼稚園・保育園における食物アレルギー実態調査 2006 年、2010 年との比較. 第 50 回日本小児アレルギー学会 2013 年 10 月 19-20 日 横浜
- 8) 杉本真弓, 長尾みづほ, 近藤真理, et al. 経口免疫療法 食物アレルギー急速経口免疫療法の長期経過. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013 年 11 月 28-30 日 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

