

別添様式

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 免疫アレルギー研究分野）事後評価資料

研究課題：アレルギー疾患におけるダニ抗原標準化の研究

課題番号：H25-難治等(免)-一般-007

研究代表者：所属機関 日本医科大学大学院医学研究科

氏名 大久保公裕

研究分担者：所属機関 千葉大学大学院医学研究院

氏名 岡本美孝

所属機関 永田真

氏名 埼玉医科大学

所属機関 増山敬祐

氏名 山梨大学医学工学研究部

所属機関 高井敏朗

氏名 順天堂大学

所属機関 阪口雅弘

氏名 麻布大学

所属機関 永田真

氏名 国立相模原病院臨床研究センター

## 1 研究目的

アレルギー疾患は喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎とも増加している疾患である。花粉症のような季節性アレルギーも存在するが、共通するのは通年性アレルギーが多い。これらアレルギー疾患の診断（皮膚テスト）、治療（アレルギー免疫療法）において原因物質の同定は欠かせない診療項目である。原因物質、アレルギーは主要アレルギーmajor allergenが適切に含まれ、標準化されたものが疾患の標準的診断、治療に求められるべきであることが国際的ガイドラインであるAllergic Rhinitis and its Impact on Asthmaや国内の鼻アレルギー診療ガイドラインにも記載されている。通年性抗原で喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎すべてに共通するアレルギーのダニがあるが、日本でこれらの診断、治療に使用されているものは混在アレルギーであるハウスダストHDである。もちろん混在物質であるためHDは標準化できず、アレルギー疾患において診断、治療に使用している現状は国際的にみても問題がある。このため、日本人のアレルギー疾患におけるダニの標準化が求められている。アレルギー標準化にはいくつかの方法があるが、実際にヒトでの試験が必須である。喘息、アレルギー性鼻炎患者に対する皮膚テストにより標準的な反応閾値を求め、その標準化されたアレルギーに対し主要アレルギー活性あるいはIgE結合活性をもとめ、標準アレルギーを決定し、アレルギー標準化とするものである。このアレルギー標準化は皮内テスト、スクラッチテストなどの診断、皮下注射によるアレルギー免疫療法、さらにこれから出現してくるであろう舌下免疫療法にも重要な役割を担うものである。これら標準化アレルギーは正しい診断、適正なアレルギー免疫療法による確実な患者治療を実践させる重要な課題であり、今後種々のアレルギーに対しての標準化の指標となり得るものである。この標準化は臨床医学、基礎医学の共同での日本独自で特色ある研究であり、前述のとおり今後につながる研究

と考えられ、日本で増加するアレルギー疾患診療において欠かせないものであり、国民への正しい診療を可能にするものと考えられる。実際の臨床医学での研究ではその倫理性は各診療施設での倫理委員会の審理を受けるが、実際に行われている皮膚テストを行うものであり、安全に施行可能である。

## 2 研究方法

アレルギーの標準化にはin vivoの試験とin vitroの試験が組み合わせて行われる。しかし各国で行われている標準化は多くはin vitroの試験のみであり、主として製薬会社によって行われているのが現状である(Standardization of house dust mite extracts in Korea. Allergy Asthma Immunol Rs 4: 456-50, 2012.)。日本においては国内での初めての標準化を日本アレルギー学会主導で行われ、「特異的減感作療法のための標準化スギ花粉エキス(TO-194)アレルギー活性における現有製品との比較・耳鼻と臨床45: 245-250, 1999」にて報告された。この方法論は日本独自であり、日本アレルギー学会によりJapanese Allergology Unit(JAU)と力価の単位が決定された。標準化されたアレルギーを標準品と定め、以降この標準品との一致性により抗原エキスが作成されるのである。一般的には標準品の力価は皮膚テストによって決定されるが、前述のとおり国際的にみるとin vitro試験のみで、皮膚テストが行われていないことが多い。我々は以前にも行ったこの標準化手法を用いて、ダニの抗原エキスを標準化しようと試みている。現有の二つのダニ抗原エキスをを用いた皮膚テストを行い、標準品の候補を挙げて、in vitro試験で検証を行う。皮膚テストでは3倍希釈の細かい希釈倍率の抗原エキスでの閾値検査であり、患者の閾値を同定し、その濃度を1 JAUとおく。一方、標準品でないエキスの力価はin vitro試験による標準品との比較により決定される。in vitro試験として、主要アレルギー含量を指標とする方式とIgE結合活性を指標とする方式の2方式があり、それぞれ一長一短がある。主要アレルギー方式は、血清が不要かつ高い再

現性が期待できるが、我が国の患者血清を用いた場合のIgE結合活性との整合性は不明である。我々は基礎的な検討として両方の研究を行い、標準品の品質を決定する。

平成25年度の検討

多施設における皮膚閾値テストによる数種のダニアレルゲンエキスからの標準品の決定とJAUの単位を決定する。

各種ダニ抗原エキスに対し、主要アレルゲン含量を指標とする標準化とIgE結合活性を指標とする標準化を行う。そしてどちらがダニアレルゲン標準化にふさわしいか決定し、最終的な基礎的標準化とする。以上、臨床的、そして基礎的なダニ抗原エキスの標準化を単年度で行うものである。

(倫理面への配慮)

アトピー性喘息、アレルギー性鼻炎を対象とする臨床的研究では目的・方法を十分に説明して同意を得る。またこれは各施設の倫理委員会の承認を得て行うものとする。特に今まで皮膚閾値検査を施行していない施設の場合には治療内容を十分に納得したボランティアを対象とする。また患者の個人情報に関してはケースカード上からは個人が特定できないように配慮し、臨床データとの関連性には匿名連結方式で管理する。

### 3 研究結果

in vivo試験

検査実施症例は52症例で、51症例が解析対象者となった。平均のRASTスコアはコナヒョウヒダニ3.31、ヤケヒョウヒダニ3.18だった。Standardized Mite Extracts Mixed Miteに対する皮膚反応閾値検査は平均閾値-13.22であった。この結果-13~-15までは標準品100,000JAU/mlが同定された。結果として閾値である100,000JAU/mlの-13.22乗は0.049JAU/mlとなった。

in vitro試験

9月中に回収できた血清(10例)を用いて作製したプール血清と、8種のダニエキスを用いた試験を行った。IgE結合阻害試験により算出したエキスの相対力価とグループ1主要アレルゲン(Der 1量=Der f 1+Der p 1)との相関は極めて高かった。Der 1+Der 2量との相関係数とほとんど変わらず、Der 1量のみで相対力価が説明可能。よってDer 1量によってエキス力価を標準化するという当初方針の正当性が担保された。Der 1量測定のためのELISAの測定系としては、相模原の測定系を用いても、Indoor社のものを用いても大きな差は無かった。

### 4 考察

日本において増加するアレルギー疾患の正しい診断、確実な治療をすることは国民の健康に対して重要なことである。花粉症のような季節性アレルギーも存在するが、それぞれのアレルギー疾患で共通するのは通年性アレルギーが多い。この診断(皮膚テスト)、治療(アレルゲン免疫療法)において原因物質の同定は欠かせない診療項目である。原因物質、アレルゲンは主要アレルゲンmajor allergenが適切に含まれ、標準化されたものが疾患の標準的診断、治療に求められるべきであることが国際的ガイドラ

インであるAllergic Rhinitis and its Impact on Asthmaや国内の鼻アレルギー診療ガイドラインにも記載されている。通年性抗原で喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎すべてに共通するアレルゲンのダニがあるが、日本でこれらの診断、治療に使用されているものは混在アレルゲンであるハウスダストHDである。このアレルゲン標準化は皮内テスト、スクラッチテストなどの診断、皮下注射によるアレルゲン免疫療法、さらにこれから出現してきであろう舌下免疫療法にも重要な役割を担うものである。混在物では主要アレルゲン濃度などの規定がなく、各ロットにおける濃度の違いがアナフィラキシーなどの重大な問題を生じさせるものである。このように今回のダニアレルゲンの標準化は正しい診断、適正なアレルゲン免疫療法による確実な患者治療を実践させうる重要な課題であり、今後種々のアレルゲンに対しての標準化の指標となり得るものである。

### 5 評価

#### 1) 達成度について

ダニの標準化が日本独自の方法として患者での皮膚反応閾値を用いたin vivo試験と患者血清を用いたIgE結合阻害試験でのin vitro試験の両方が行われた。この結果、ダニ抗原を標準化できたので、試験の達成度は100%であると考える。

#### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

アレルギー疾患診療における抗原の標準化は適正な医療を考えるうえで、診断、治療において重要である。ダニアレルギー診断、皮下注射や舌下によるアレルゲン免疫療法においても重要な検討であった。またこの標準化の方法論は日本独自のものであり、国際的にもみても独特な患者立脚型の標準化と言える。

#### 3) 今後の展望について

このアレルゲン標準化の方法論を持って、今後の新たなアレルゲンに関しても標準化していきたい。

#### 4) 研究内容の効率性について

日本アレルギー学会主導の試験としてin vivo試験とin vitro試験が6か月以内という非常に速いスピードで行われた。これを考えると非常に効率的に試験が終了したと言える。

### 6 結論

アレルギー疾患診療における抗原の標準化は適正な医療を考えるうえで、診断、治療において重要である。今回、我々は通年性アレルギー性鼻炎や喘息、アトピー性皮膚炎などアレルギー疾患共通の通年性アレルゲンであるダニの標準化を行った。その結果Standardized Mite Extracts Mixed Miteは日本において100,000 JAU (Japanese Allergology Unit)と診断され、その結果はin vitroの研究でも支持された。これからのアレルギー診断、皮下注射や舌下によるアレルゲン免疫療法においても重要な検討であり、どのような抗原が日本に輸入されても標準品があれば、新しい抗原エキスもJAUに読み替える事が可能になり、診療の幅が広がった。

### 7 研究発表

#### 1) 国内

口頭発表 0件  
原著論文による発表 0件  
それ以外（レビュー等）の発表 0件  
そのうち主なもの  
論文発表  
すべてが未発表です  
学会発表  
すべてが未発表です  
2) 海外  
口頭発表 0件  
原著論文による発表 0件  
それ以外（レビュー等）の発表 0件  
そのうち主なもの

論文発表  
すべてが未発表です  
学会発表  
すべてが未発表です

- 8 知的所有権の出願・取得状況（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