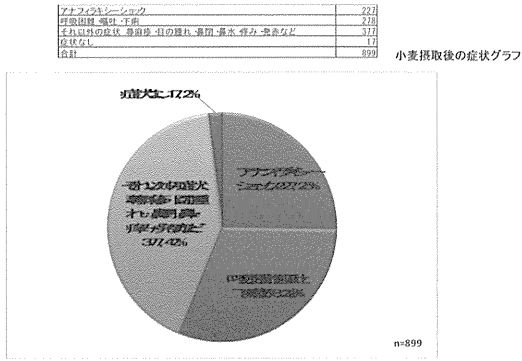


小麦摂取後の症状



(図7) 小麦摂取後の臨床症状の重症度別頻度

小麦摂取後の症状

症状	回答数 (%)
眼瞼の腫脹	694 (77.8%)
痒み	278 (30.9%)
蕁麻疹	537 (59.7%)
発赤	344 (38.3%)
呼吸困難	385 (38.3%)
アナフィラキシー	227 (25.3%)
鼻水	117 (13.0%)
鼻閉	95 (10.6%)
下痢	148 (16.5%)
吐き気	122 (13.6%)
嘔吐	103 (11.5%)
症状なし	17 (1.9%)
アンケート回答数	899 (100%)

2014年10月20日現在

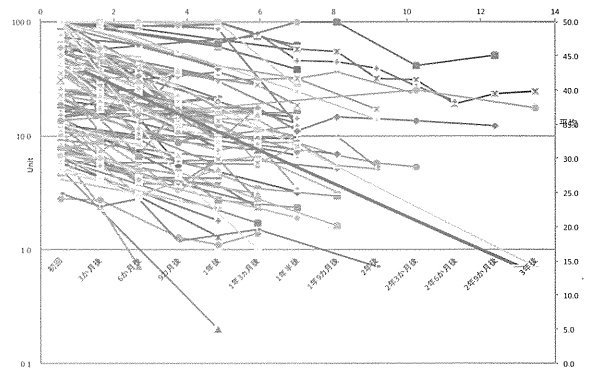
表1. 小麦摂取後の症状別発現頻度

アレルギー疾患の既往

合併疾患	症例数 (%)
アトピー性皮膚炎	107 (11.9%)
花粉症・アレルギー性鼻炎	297 (33.0%)
蕁麻疹	42 (4.7%)
かぶれ(接触皮膚炎)	8 (0.9%)
その他	34 (3.8%)
詳細記入なし・合併症ありと答える	8 (0.9%)
アレルギー疾患合併あり	488 (54.3%)
アレルギー疾患の合併なし	411 (45.7%)
全回答数	899(100%)

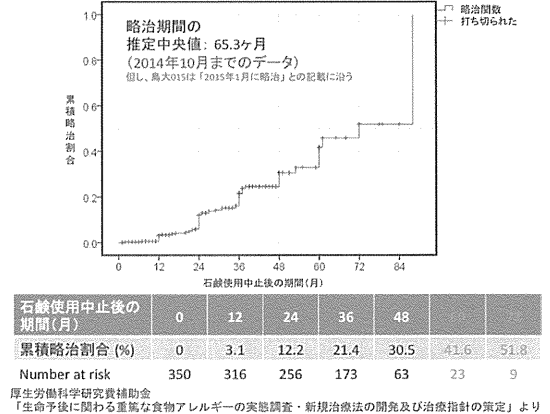
2014年10月20日現在

表2. GP19Sによる即時型コムギアレルギー患者のその他のアレルギー疾患の既往・合併頻度

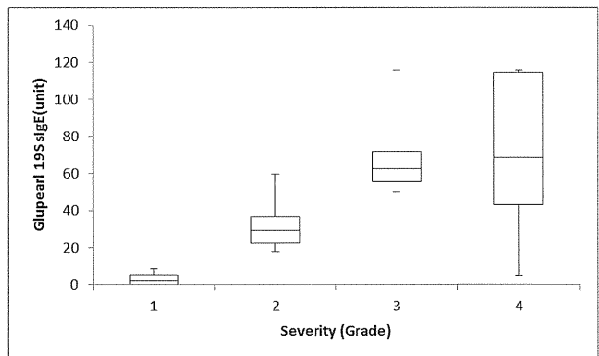


(図8) GP19Sによる即時型コムギアレルギー患者における特異IgE抗体の経時的変化(対象：確実例177症例)

2-1. Kaplan-Meier法を用いた略治曲線



(図9) GP10による即時型コムギアレルギーの予後調査 厚生労働科学研究「生命予後に関わる重篤な食物アレルギーの実態調査・新規治療法の開発及び治療指針の策定」より提供・引用



(図10) 特異 igE 抗体と臨床重症度レベルは相関した (p=0.001)。

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (免疫アレルギー疾患等実用
化研究事業 免疫アレルギー疾患実用化研究分野)))
分担研究報告書

茶のしずく石鹼等に含まれた加水分解コムギによる
即時型コムギアレルギー患者の経過調査
—アンケート調査による現状の把握—

研究分担者 秀 道広 広島大学大学院医歯薬保健学研究院統合健康科学部門皮膚
科学 教授
研究協力者 平郡 真記子 広島大学大学院医歯薬保健学研究院統合健康科学部門皮膚
科学 助教

研究要旨

我々は茶のしずく石鹼等に含まれた加水分解コムギによる即時型コムギアレルギーの予後について、診療記録を参考に治癒率を推定してきた。しかし、カルテベースの統計では通院中断後の患者の状態が不明であり、Kaplan-Meier 法を用いてもその推定値がどの程度現状を反映しているのかがわからなかった。そこで、H26 年度の研究として広島大学病院皮膚科外来を受診した茶のしずく石鹼等に含まれた加水分解コムギによる即時型コムギアレルギー患者にアンケートを行った。アンケートは 2014 年 8 月に郵送で返信用封筒を同封して発送し、9 月末を回収期限とし、46 人 (41.8%) から回収、56 人 (50.9%) は未回収、8 人 (7.3%) が住所不明であった。2011 年 5 月の旧茶のしずく®石鹼の自主回収からすでに 3 年半が経過しているが、アンケート調査の結果完全に治癒していると考えられた患者は 23.9%と限られていた。厳密な小麦制限を必要とする患者はごく少数であったが、条件つきでの小麦摂取を継続している患者が最も多かった。加水分解コムギによる経皮感作によってもたらされたコムギアレルギーは感作源である加水分解コムギ含有石鹼の使用中止により治癒する例が確認された。ただし、一部では症状が持続している患者がおり継続した調査が必要である。

A. 研究目的

2010 年から加水分解コムギ含有石鹼 (特に旧茶のしずく®石鹼) を使用後に非典型的な小麦依存性運動誘発アナフィラキシーをおこす症例が複数の施設で報告された。2011 年 7 月には日本アレルギー学会において特別委員会が設置され、「茶のしずく石鹼等に含まれた加水分解コムギ (グルパール 19S) による即時型コムギアレルギー (以降: 加水分解コムギアレルギーと略す)」の診断基準が設けられた。旧茶のしずく®等グルパール 19S を含む石鹼は自主回収され、

現在新たな患者の発症はない。この社会的現象から経皮感作の重要性について認識が高まったが、経皮感作によってもたらされたコムギアレルギーが石鹼の使用を中止することによってどのように変化していくのかということは不明であり、未だに重要な検討課題である。前年度我々は、当院皮膚科を通院中の患者についてグルパール 19S 刺激による末梢血好塩基球ヒスタミン遊離の陰性化率および治癒率を検討したが、その際石鹼中止から年月が経過するごとに通院を中断する人数が増え、Kaplan-Meier 法で解析を試

みたが、現状については確認することはできなかった。そこで、本年度は加水分解コムギアレルギー患者の旧茶のしずく石鹸使用中後の経過についてアンケートを用いて再調査することとした。

B. 研究方法

2010年から2013年に広島大学病院皮膚科を受診した加水分解コムギアレルギー患者110人にコムギアレルギーの診断後から現在に至るまでの小麦摂取および発作の状況をアンケートで調査した。アンケートは2014年8月に郵送で返信用封筒を同封して発送し、9月末を回収期限とした。

(倫理面への配慮)

本研究は広島大学疫学研究倫理委員会の承認を得た上で実施した。

C. 結果

アンケートは46人(41.8%)から回収、56人(50.9%)は未回収、8人(7.3%)が住所不明であった。

2014年8～9月の時点での小麦摂取状況	人 (割合:%)	2014年以降発作あり
①つなぎや調味料等への混入も含めてすべて除去している	2人 (4.3%)	0人
②つなぎや調味料等への混入のみなら摂取している	3人 (6.5%)	1人
③量を制限しながら摂取している	7人 (15.2%)	3人 (1人記入なし)
④鎮痛剤や運動との併用は制限している	15人 (32.6%)	5人
③+④	7人 (15.2%)	3人
⑤全く制限していないし、鎮痛剤や運動との併用も気にしていない。	12人 (26.1%)	1人

完全に小麦を制限していない12人のうち、1人のみ2014年7月に軽度の発作が出現したと回答していたが、その他の11人(23.9%)については最終発作が2013年11月以前であり治癒していると考えられた。発作の時期について、計13人(28.3%)が2014年以降発作の自覚があったと回答していた。

アンケートの情報からKaplan-Meier法で推定した治癒率は4年で17.4%であったのに対し、診療記録の情報から推定した治癒率は4年で27.0%と乖離があった。アンケート及び診療記録の両者の情報を合わせた治癒率は4年で21.4%であった。

D. 考察

2011年5月に旧茶のしずく[®]石鹸が自主回収されてからすでに3年半が経過しているが、アンケート調査の結果完全に治癒していると考えられた患者は23.9%と限られていた。条件つきでの小麦摂取を継続している患者が最も多く、少数の患者は厳密な小麦制限を続けていた。

今回のアンケート調査では、当科への通院中断後「治癒した」と回答した患者よりも、「何らかの小麦摂取制限を継続している」と回答した人数の方が多かったため、治癒率は診療記録のみの情報よりもやや低値であった。アンケート調査では、元来軽症で治癒した患者よりも、重症で症状が持続している患者がより協力的であった可能性も考えられる。

E. 結論

加水分解コムギによる経皮感作によってもたらされたコムギアレルギーは、感作源である加水分解コムギ含有石鹸の使用中止後一部の患者で治癒していること、また、多くの患者は無症状ではあるが、部分的な小麦摂取制限を続けていることが確認された。しか

し、未だ症状が持続している患者がおり、継続した調査が必要である。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. 平郡真記子、秀道広. 蕁麻疹・即時型アレルギーの血液検査. *Visual Dermatology*. 12(4), 368-372, 2013.
2. 小林紘子、大原直樹、秀道広. ダカルバジンによる光線過敏型蕁麻疹の1例. *臨床皮膚科*, 68; 493-497, 2014.
3. 平郡真記子、平郡隆明、石井香、秀道広. アトピー性皮膚炎と汗アレルギー. *アレルギーの臨床*, 34; 855-859, 2014.
4. 平郡真記子、平郡隆明、秀道広. アトピー性皮膚炎と汗抗原. *臨床皮膚科*, 68; 43-46, 2014.
5. 平郡真記子、秀道広. 蕁麻疹/接触皮膚炎. *イチから知りたいアレルギー診療*, 122-129, 2014.
6. 平郡真記子、秀道広. 加水分解コムギアレルギー. 63; 63-64, 2014.
7. 平郡真記子、秀道広. 汗とアレルギー. *Derma*, 220; 67-72, 2014
8. 平郡真記子、秀道広. 汗アレルギーとコリン性蕁麻疹. *皮膚病診療*, 36; 706-710, 2014.
9. 平郡隆明、平郡真記子、秀道広. アトピー性皮膚炎と汗抗原. *皮膚アレルギーフロンティア*, 12; 97-101, 2014.
10. 平郡真記子、平郡隆明、石井香、秀道広. アトピー性皮膚炎と汗アレルギー. *アレルギーの臨床*, 34; 855-859, 2014.
11. 平郡真記子、石井香、秀道広. 茶のしずく石鹼等に含まれた加水分解コムギによる即時型コムギアレルギー患者のグルパール19S刺激での末梢血好塩基球ヒスタミン遊離陰性化率の検討. *臨床皮膚科免疫・アレルギー科*, 62; 500-504, 2014.
12. 平郡真記子、石井香、平郡隆明、秀道広. 真菌による湿疹・皮膚炎. *小児内科*, 46(12); 1771-1775, 2014.
13. 森桶聡、秀道広. 頭頸部領域の血管性浮腫. *ENTONI*, 170; 48-53, 2014.
14. 森桶聡、秀道広. 慢性蕁麻疹の抗アレルギー薬増量療法. *臨床皮膚科*, 68; 84-88, 2014.
15. 秀道広. 皮疹の種類とその発症機序 膨疹. *Medicina*, 51; 802-807, 2014.
16. 柳瀬雄輝、秀道広. PAR-2. アレルギー, 63; 64, 2014.
17. 小原隆之、柳瀬雄輝、隈崎修孝、秀道広. SPRイメージングによるアレルギー検査法. *Bio Clinica*, 29; 68-7, 2014.
18. 小原隆之、柳瀬雄輝、隈崎修孝、秀道広. 好塩基球のSPRイメージングによるI型アレルギー原因抗原の同定法. *アレルギーの臨床*, 34; 173-178, 2014.
19. 秀道広. じんま疹. *臨床病態学* 3. 240-243, 2014.
20. 柳瀬雄輝、秀道広. SPRイメージングを利用した即時型アレルギー診断法. *化学工業*, 65; 582-587, 2014.
21. 平郡隆明、秀道広. アトピー性皮膚炎の汗：アトピー性皮膚炎増悪のメカニズム. *WHAT'S NEW 臨床皮膚科学*. 54-55, 2014.
22. 平郡隆明、秀道広. 汗がなぜADを悪化させるのか？その解決法は？. *苦手な外来皮膚疾患 100の解決法～そのとき達人達はどのように苦手皮膚科疾患を克服したか？～*. 46-47, 2014.
23. 秀道広. 抗ヒスタミン薬・抗アレルギー薬. *治療薬 Up-To-Date 2014*, 664-669, 2014.
24. Choi H, Tanaka M, Hiragun T, Hide M, Sugimoto K. Non-tumor mast cells cultured in vitro on a honeycomb-like structured film proliferate with multinucleated formation. *Nanomedicine*. 2014; 10(2):313-319.
25. Hiragun M, Hiragun T, Ishii K, Suzuki H,

- Tanaka A, Yanase Y, et al. Elevated serum IgE against MGL_1304 in patients with atopic dermatitis and cholinergic urticaria. *Allergol Int.* 2014;63(1):83-93.
26. Hiragun T, Yanase Y, Okabe T, Hiragun M, Kawai M, Hide M. Establishment of a mast cell line, NCL-2, without Kit mutation, derived from NC mouse bone marrow. *FEBS Open Bio.* 2014;4:342-346.
27. Iwamoto K, Morioka S, Yanase Y, Uchida K, Hide M. Tissue factor expression on the surface of monocytes from a patient with hereditary angioedema. *J Dermatol.* 2014;41(10):929-932.
28. Matsuo H, Yokooji T, Morita H, Ooi M, Urata K, Ishii K, et al. Aspirin augments IgE-mediated histamine release from human peripheral basophils via Syk kinase activation. *Allergol Int.* 2013;62(4):503-511.
29. Nakamura M, Yagami A, Hara K, Sano A, Kobayashi T, Aihara M, Hide M, et al. A new reliable method for detecting specific IgE antibodies in the patients with immediate type wheat allergy due to hydrolyzed wheat protein: correlation of its titer and clinical severity. *Allergol Int.* 2014;63(2):243-249.
30. Onitake T, Ueno Y, Tanaka S, Sagami S, Hayashi R, Nagai K, Hide M, et al. Pulverized konjac glucomannan ameliorates oxazolone-induced colitis in mice. *Eur J Nutr.* 2014.
31. Segawa R, Yamashita S, Mizuno N, Shiraki M, Hatayama T, Satou N, Hide M, et al. Identification of a cell line producing high levels of TSLP: advantages for screening of anti-allergic drugs. *J Immunol Methods.* 2014;402(1-2):9-14.
32. Shibuya M, Takahashi N, Yabe M, Iwamoto K, Hide M. Hereditary angioedema as the cause of death from asphyxia: postmortem computed tomography study. *Allergol Int.* 2014;63(3):493-494.
33. Leiding JW, Beakes D, Dreskin SC, Grumach A, Hide M, Reshef A, et al. Case Title: 45 year-old male with recurrent angioedema: WAO international case-based discussions. *World Allergy Organ. J* 2014;7(1):2.
34. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Canonica GW, Hide M, et al. Methods report on the development of the 2013 revision and update of the EAACI/GA2 LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy.* 2014;69(7):e1-29.
35. Hide M, Hiragun M, Hiragun T. Diagnostic tests for urticaria. *Immunol Allergy Clin North Am* 2014;34(1):53-72.
36. Yanase Y, Hiragun T, Ishii K, Kawaguchi T, Yanase T, Kawai M, Hide M, et al. Surface plasmon resonance for cell-based clinical diagnosis. *Sensors (Basel).* 2014;14(3):4948-4959.
- (2) 学会発表
1. 平郡真記子, 石井香, 平郡隆明, 秀道広. 加水分解コムギアレルギー患者のグルパール19S刺激での末梢血好塩基球ヒスタミン遊離陰性化率について. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会, 京都市, 2014年5月9-11日.
 2. 平郡真記子, 平郡隆明, 石井香, 秀道広. コリン性蕁麻疹におけるマラセチア抗原関与の可能性について. 第44回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 仙台, 2014年11月21-23日.
 3. 秀道広. 国際ガイドラインとなったEAACI版蕁麻疹診療ガイドラインの要点と我が国の現状. 第77回日本皮膚科学会東京支部学術大会. (ランチョンセミナー)

東京都, 2014年2月16日.

4. 秀道広. 自己免疫性蕁麻疹. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. (シンポジウム) 京都市, 2014年5月10日.
5. 秀道広. 蕁麻疹治療における薬物療法の意義と抗ヒスタミン薬の位置づけ. 第113回日本皮膚科学会総会. (教育講演) 京都市, 2014年5月30日.
6. 秀道広. 蕁麻疹・血管性浮腫における国際的コンセンサスと治療目標. 日本皮膚科学会第127回山陰・第23回島根合同開催地方会(記念特別講演) 松江市, 2014年8月31日.
7. 秀道広. 蕁麻疹診療ガイドライン. 日本アレルギー学会第1回総合アレルギー講習会. (講演). Yokohama, Dec 20, 2014.
8. Hiragun M, Hiragun T, Ishii K, Hide M. Remission rate of patients with wheat allergy sensitized to hydrolyzed wheat protein in facial soap. East Asia Allergy Symposium 2014. Kyoto, May 11, 2014.
9. Hide M. Application of SPR imaging for detection of individual living cell reaction and clinical diagnosis. 2014 4th Research Week-International Symposium of Oral Medicine. Taipei, May 24, 2014.
10. Hide M. Management of urticaria based on the international guideline and its adaptations: Tips from Japanese guideline for urticaria. 3rd Eastern Asia Dermatology Congress (EADC). Jeju, Korea, Sep 25, 2014.
11. Hide M. Chronic Urticaria and Atopic Dermatitis in the Elderly. WAO International Scientific Conference (WISC). Rio de Janeiro, Brazil, Dec 9, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし

H. 健康危険情報

該当なし

加水分解コムギアレルギー患者集団における臨床亜型

研究分担者 福富友馬 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 診断・治療薬開発研究室
研究協力者 南 崇史 国立病院機構相模原病院臨床研究センター
齋藤明美 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 診断・治療薬開発研究室

研究要旨

加水分解コムギが含有されていた「(旧) 茶のしずく石鹼」(悠香)の使用により発症したコムギアレルギー(以下、加水分解コムギアレルギー)の臨床像は、その重症度に関して必ずしも均質的ではない。すなわち、小麦摂取後運動したときのみに眼瞼浮腫のみが誘発される軽症例から、ごく少量の小麦摂取で運動の関与なくアナフィラキシーを来す重症例まで、その重症度は様々である。また、小麦摂取後の眼瞼腫脹は最も頻度の高い重要な症状であるが、アナフィラキシーを来しても眼瞼腫脹を来さない患者も存在する。本研究の目的は、当該疾患患者集団に対してクラスター解析を行い、当該疾患の臨床亜型の多様性を明らかにすることである。

カルテレビューにより、初診時までのアナフィラキシー症状回数、非運動時の小麦アレルギー症状の既往の有無、小麦摂取時の誘発症状の詳細に基づき階層的クラスター解析を行った。同定されたクラスターと血液特異的 IgE 抗体価の関係も評価した。

クラスター 1 (n=40) ; 眼瞼腫脹を伴うアナフィラキシーを頻回に繰り返す患者群、クラスター 2 (n=29) ; 眼瞼腫脹のみで全身性症状はないかあっても稀で軽微である患者群、クラスター 3 (n=14) ; 眼瞼腫脹を伴わない即時型症状をきたす患者群の三つのクラスターが同定された。理由は不明であるが、クラスター 3 は高い IgE 抗体価によって特徴づけられた。

本研究により、加水分解コムギアレルギー患者集団における臨床的多様性と臨床亜型が明らかになった。

A. 研究目的

加水分解コムギが含有されていた「(旧) 茶のしずく石鹼」(悠香)の使用により発症したコムギアレルギー(以下、加水分解コムギアレルギー)の臨床像は、その重症度に関して必ずしも均質的ではない。すなわち、小麦摂取後運動したときのみに眼瞼浮腫のみが誘発される軽症例から、ごく少量の小麦摂取で運動の関与なくアナフィラキシーを来す重症例まで、その重症度は様々である。また、小麦摂取後の眼瞼腫脹は最も頻度の高い

重要な症状であるが、アナフィラキシーを来しても眼瞼腫脹を来さない患者も存在する。本研究の目的は、当該疾患患者集団に対してクラスター解析を行い、当該疾患の臨床亜型の多様性を明らかにすることである。

B. 研究方法

当院の外来で 2012 年 8 月までに確定診断をした、加水分解小麦アレルギー症例 83 例を対象とする。カルテレビューにより、初診時における患者の年齢、性別、石鹼使用期間、

石鹼使用時の症状、合併症の有無、アレルギー検査の結果、小麦摂取時の誘発症状、これまでの症状回数、運動誘発と症状の関係などを調査した。初診時までのアナフィラキシー症状回数、非運動時の小麦アレルギー症状の既往の有無、小麦摂取時の誘発症状の詳細に基づき階層的クラスター解析を行った。同定されたクラスターと血液特異的 IgE 抗体価の関係も評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立病院機構相模原病院の倫理委員会の承認を得て行われた。

C. 結果

階層的クラスター解析により以下の三つのクラスターが同定された。

クラスター 1 (n=40); 眼瞼腫脹を伴うアナフィラキシーを頻回に繰り返す患者群

クラスター 2 (n=29); 眼瞼腫脹のみで全身性症状はないかあっても稀で軽微である患者群

クラスター 3 (n=14); 眼瞼腫脹を伴わない即時型症状をきたす患者群

三つのクラスターを分ける因子としては、小麦摂取時の症状としての眼瞼腫脹の有無、全身倦怠感、全身性皮膚症状の有無、これまでに経験したアナフィラキシーの回数などの因子が重要であることが示唆された。これらのクラスターと抗原特異的 IgE 抗体価の関係を下図に示す。3群のうちクラスター 3 が最も高いグルパール 19S 特異的 IgE 抗体価を示していた。

D. 考察

眼瞼腫脹を伴わないが重篤なアレルギー症状を示す 1 群 (クラスター 3) が存在することが明らかになった。理由は不明であるが、この群は高い IgE 抗体価によって特徴づけられた。統計学的有意差は無かったが、クラスター 3 は局所症状 + 頻回の全身症状で特徴づけられる

重症患者群であるクラスター 1 よりも IgE 抗体価が高値を示す傾向にあった。この知見の理由としては、クラスター 3 は、グルパール 19S に対して眼球結膜の局所的な感作ではなく、全身性の感作をうけて即時型アレルギー病態

図 1. 階層的クラスター解析におけるデンドログラム

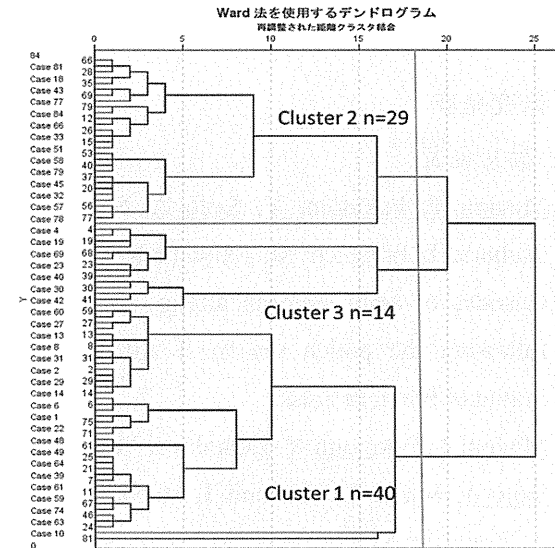
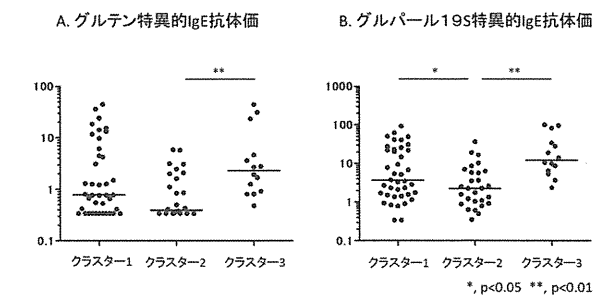


表 1. 各クラスターの特徴

	クラスター1	クラスター2	クラスター3	P value
N	40	29	14	
初診時年齢 (yrs, median)	39	41	40	n.s.
性別(女性, %)	100%	100%	100%	n.s.
石鹼使用期間(month, median)	26	24	24	n.s.
石鹼使用時の接触蕁麻疹症状あり (%)	75	55	86	n.s.
合併症 (%)				
AR	50	52	50	n.s.
AD	13	7	21	n.s.
BA	8	7	10	n.s.
何らかの精神疾患	0	3	21	0.005
初診までの小麦アレルギー発作回数が5回以上 (%)	65	62	50	n.s.
初診までの小麦アナフィラキシー回数が3回以上 (%)	58	10	21	<0.001
安静時誘発のエピソードあり (%)	73	45	64	n.s.
小麦摂取時の誘発症状(もっとも悪い時)				
眼瞼腫脹	100	100	29	<0.001
鼻症状	78	48	21	<0.001
顔面全体の発赤腫脹	83	38	57	<0.001
全身性蕁麻疹	90	14	79	<0.001
呼吸器症状	73	21	36	<0.001
消化器症状	45	4	43	<0.001
血圧低下とその関連症状	58	10	50	<0.001
全身倦怠感	0	0	36	<0.001

図 2. 小麦アレルギー症状クラスターと初診時における特異的 IgE 抗体価の関係



が形成されている一群であり、それが高 IgE 値と関係している可能性を考えている。同じ疾患群でも感作の機序とルートが患者により若干異なるためにこのような臨床亜型の差が生じている可能性があるかもしれない。

E. 結論

加水分解コムギアレルギー患者集団における臨床亜型が明らかになった。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. Minami T, Fukutomi Y, Saito A, Sekiya K, Tsuburai T, Taniguchi M, Akiyama K. Frequent episodes of adult soybean allergy during and following the pollen season. *J Allergy Clin Immunol Pract.* In press.
2. Minami T, Fukutomi Y, Lidholm J, Yasueda H, Saito A, Sekiya K, Tsuburai T, Maeda Y, Mori A, Taniguchi M, Hasegawa M, Akiyama K. IgE Abs to Der p 1 and Der p 2 as diagnostic markers of house dust mite allergy as defined by a bronchoprovocation test. *Allergol Int.* 2015;64(1):90-5.
3. Fukutomi Y, Taniguchi M, Nakamura H, Akiyama K. Epidemiological link between wheat allergy and exposure to hydrolyzed wheat protein in facial soap. *Allergy.* 2014;69(10):1405-11.
4. Takahashi K, Taniguchi M, Fukutomi Y, Sekiya K, Watai K, Mitsui C, Tanimoto H, Oshikata C, Tsuburai T, Tsurikisawa N, Minoguchi K, Nakajima H, Akiyama K. Oral Mite Anaphylaxis Caused by Mite-Contaminated Okonomiyaki/Pancake -Mix in Japan: 8 Case Reports and a Review of 28 Reported Cases. *Allergol Int.* 2014;63(1):51-6.

(2) 学会発表

1. 福富友馬, 谷口正実, 齋藤明美, 安枝 浩,

秋山一男. 日本における吸入アレルギー感作率の地域差. 第 24 回 国際喘息学会日本・北アジア部会. 名古屋. 2014 年 7 月 18-19 日.

2. 福富友馬, 谷口 正実, 入江 真理, 下田 照文, 岡田 千春, 中村 陽一, 秋山 一男. 中年期成人における肥満指標と喘息の関係: 2011 年特定健康診査からの知見. 第 24 回 国際喘息学会日本・北アジア部会. 名古屋. 2014 年 7 月 18-19 日.
3. Fukutomi Y, Kishikawa R, Sugiyama A, Minami T, Taniguchi M, Akiyama K. Risk factors for the development of wheat allergy among individuals who have used a facial soap containing hydrolyzed wheat protein: case-control study. *European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2014.* Copenhagen, Denmark. 2014 年 6 月 7-11 日.
4. 福富友馬, 谷口正実, 秋山一男. 成人喘息の有病率の動向に関する ecological study. 第 45 回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会. 福岡市. 2014 年 6 月 28-29 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

H. 健康危険情報

なし

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化研究事業 (免疫アレルギー疾患等実用
化研究事業 免疫アレルギー疾患実用化研究分野)))
分担研究報告書

小児 OAS と花粉症との関係

研究分担者 藤枝 重治 福井大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授
研究協力者 大澤 陽子 福井赤十字病院 耳鼻咽喉科 副部長
高橋 昇 福井総合病院 耳鼻咽喉科 医長

研究要旨：

(背景) 花粉と食物の交差感作による Pollen-food allergy syndrome (PFAS) は、口腔アレルギー症候群 (OAS) の代表疾患である。今回、OAS と花粉症の関係を花粉症の急増する小児において検討した。(方法) 福井大学および関連病院を受診した 10 歳以上 15 歳未満の患者を対象に、OAS 症状を記述式アンケートにて確認し、同意を得られた患者の血清を用いて、花粉抗原と相同性抗原を有する食物のアレルゲンコンポーネント IgE を測定し、OAS 症状との関係を検討した。(結果) 392 名の有効回答を得た。OAS を認めたのは、男児 11.3%、女児 11.6%であった。花粉症の既往と Class1 食物アレルギーの既往のある児に有意に多く OAS の症状が認められた。OAS 症状のある 45 名の発症時期の検討では、OAS 先行>同時期=花粉症先行=花粉症なしであった。(結語) 小児 OAS は、11%の有病率で性差はなく、花粉症と class1 食物アレルギーの既往のある児に多く認められた。PFAS において、OAS の発症は花粉症の発症と前後する可能性が示唆された。

A. 研究目的

口腔アレルギー症候群 (OAS) は食品 (野菜・果物など) が口腔粘膜に直接接触して IgE 依存性にアレルギー反応を惹起する病態であるとされている。狭義の OAS では、原因は花粉蛋白やラッセックスの中にある相同性蛋白抗原(pan-allergen)と食物抗原の交差感作 (交差反応) が介在するとされている。花粉蛋白と食物抗原の交差感作 (交差反応) によるものを pollen-food allergy syndrome (PFAS)と呼んでいる。我々は昨年、国内の OAS 様症状を有する患者に、どのような花粉抗原や食物の相同蛋白抗原の感作が関与しているかを調査した。今回は、花粉症が急増する (感作→発症が進行する) 学童期以上の小児において、OAS と花粉症との関係を検討した。

B. 研究方法

福井大学および関連病院を受診した 10 歳以上 15 歳未満の患者 (受診疾患は問わない) を対象に、記述式アンケート調査を実施した。アンケート内容としては、年齢、性別、OAS の有無、OAS の原因食物、OAS の発症時期、花粉症の有無、花粉症の症状発現部位、その他アレルギーの既往歴を調査した。アンケートにて OAS 症状を確認し、同意を得られた患者に対して採血を行い、血清中のアレルゲンコンポーネント IgE を測定した。アレルゲンコンポーネントは、PR-10 蛋白抗原 10 種類 : Bet v1 (シラカバ花粉)、Aln g1 (ハンノキ花粉)、Cor a1.0101 (ハシバミ花粉)、Act d8 (キウイ)、Api g1 (セロリ)、Ara h8 (ピーナッツ)、Cor a1.0401 (ヘーゼルナッツ)、Gly m4 (大豆)、Mal d1 (リンゴ)、Pur p1 (モモ) を測定した。さらにスギ、ヒノキ、ブタクサ、オオアワガエリのコンポー

ネット IgE も測定した。

(倫理面への配慮)

アンケートは無記名方式で行い、アンケートを拒否しても診療に影響が無いことを説明した上に実施した。検体は識別番号を付け、個人が特定できない形式で測定した。福井大学医学部倫理委員会の承認を得て本研究を行った。

C. 研究結果

392 名(男児 194 名; 12.0y±1.37, 女児 198 名; 11.6y±1.37)の有効回答を得た。OAS を認めたのは、男児 22 名(11.3%)、女児 23 名(11.6%)と男女差は認めなかった。原因食物として多いのは、メロン・キウイ・スイカ・パイナップル・トマトの順であった。既往歴としては、花粉症の既往 (OAS なし群, OAS あり群; 44.5%, 82.6%: $p < 0.0001$, オッズ比 5.29) と Class1 食物アレルギーの既往 (6.92%, 31.1%: $p < 0.0001$, オッズ比 6.08) のある児に有意に多く OAS の症状が認められた。一方、気管支喘息 (15.9%, 26.7%: $p = 0.0698$ オッズ比 1.93)、薬剤アレルギー (2.31%, 4.44%: $p = 0.3919$ オッズ比 1.97)、ゴム手袋過敏症の既往 (1.15%, 4.44%: $p = 0.0906$ オッズ比 3.99) との強い関連は認められなかった。また、花粉症がある児(192 名)の検討で、花粉症の症状発現部位 (鼻・喉・皮膚・眼) との比較をしたが、鼻症状のみ (OAS なし群, OAS あり群; 61.0%, 52.6%: $p = 0.3446$, オッズ比 0.71)、喉症状あり (20.8%, 31.6%: $p = 0.1560$ オッズ比 1.76)、皮膚症状あり (11.7%, 18.4%: $p = 0.2694$ オッズ比 0.71)、眼症状あり (14.3%, 13.2%: $p = 0.8579$ オッズ比 0.909) と特に有意差は認められなかった。OAS 症状のある 45 名の発症時期の検討では、花粉症既往なし 7 名(15.6%)・OAS 先行発症 19 名(42.2%)・同時期発症 7 名(15.6%)・花粉症先

行発症 7 名(15.6%)・発症時期不明 5 名(11.1%)であった。実際に、花粉と食物のアレルゲンコンポーネント IgE を測定し得た PFAS 確実例のなかでも、OAS 先行、同時期、花粉症先行発症がそれぞれ存在した。それぞれのコンポーネントに対する IgE は 10 名の児童で測定した。いずれも OAS 症状を有する。その結果、Bet v1 陽性は 3 名で、その 3 名はリンゴ(Mal d1)、モモ(Pru p1)、大豆(Gly m4) が陽性であった。そのうち 1 名はキウイ(Act d8)、セロリ(Api g1) も陽性であった。全員スギ(Cry j1) は陽性であった。Bet v1 陽性の 3 名以外、それぞれ果実・野菜に関連するコンポーネントはすべて陰性であった。シラカンバ陽性者にヨモギ、ブタクサ、オオアワガエリの陽性者を加えると計 8 名であった。すなわち OAS を認める小児において、確実にスギ花粉症と関連しているのは、80%であった。

D. 考察

花粉に対する感作は学童期以降に急増すると報告されている。従って、OAS の中でも花粉蛋白と食物抗原の交差感作(交差反応)による PFAS は、学童期以降に増加すると推測される。今回の調査では 10 歳から 15 歳に限定した解析を行った。平成 24 年度に報告した成人を含めた 8600 名のアンケート調査では、男女比は 1:2 であった。しかし、小児に限定して解析すると男女比はなく、それぞれ約 11%という結果であった。花粉症は小児期において男児に多く、成人は女性に多いと報告されている。今回ターゲットとした 10 歳から 15 歳はこの移行期に相当するのかもしれない。

既往歴との関係は予想通り、花粉症と強く関連し、昨年度報告した様に PR-10 等の花粉蛋白抗原との交差感作(交差反応)が強く関連していることと一致している。一方、ゴム手袋過敏症との関連は認められず、ラテッ

クスをはじめとした **profilin** による交差感作 (交差反応) の存在がまれである可能性が示唆される。また、気管支喘息の関連はなく、このことは、吸入抗原のなかでも花粉抗原のみが OAS と強く関連していることと一致している。昨年度、鎮痛剤に対する抗原特異的 IgG 感作と OAS 患者の強い関連を報告したが、薬剤アレルギーの既往と関連は示されなかった。

花粉症症状の発現部位と OAS 症状の関連は、特に認められず、臓器過敏性との関連は低いことが示唆された。

OAS 症状と花粉症症状の発現時期の調査では、OAS 先行、同時期、花粉症先行発症がそれぞれ存在した。小児期は花粉症の発症間もない患者が多く、発症時期の記憶が比較的鮮明であると推測される。このことから、PFAS において、花粉抗原の感作後、OAS と花粉症の発症は前後する可能性が示唆された。

E. 結論

福井県の小児 OAS は、11%の有病率で性差は認められなかった。花粉症と (従来型) 食物アレルギーの既往のある児に多く認められた。PFAS において、OAS の発症は花粉症の発症と前後する可能性が示唆された。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. Ogi K, Takabayashi T, Sakashita M, Susuki D, Yamada T, Manabe Y, Fujieda S. Effect of Asian sand dust on Japanese cedar pollinosis. *Auris Nasus Larynx*. 2014;41(6):518-22.
2. Yamada T, Saito H, Fujieda S. Present state of Japanese cedar pollinosis: the national affliction. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):632-9.e5.
3. Kato Y, Akasaki S, Muto-Haenuki Y, Fujieda S, Matsushita K, Yoshimoto T. Nasal

sensitization with ragweed pollen induces local-allergic-rhinitis-like symptoms in mice. *PLoS One*. 2014;9(8): e103540.

4. Kimura Y, Chihara K, Honjoh C, Takeuchi K, Yamauchi S, Yoshiki H, Fujieda S, Sada K. Dectin-1-mediated signaling leads to characteristic gene expressions and cytokine secretion via spleen tyrosine kinase (Syk) in rat mast cells. *J Biol Chem*. 2014; 289(45):31565-75.
5. Okamoto Y, Ohta N, Okano M, Kamijo A, Gotoh M, Suzuki M, Takeno S, Terada T, Hanazawa T, Horiguchi S, Honda K, Matsune S, Yamada T, Yuta A, Nakayama T, Fujieda S. Guiding principles of subcutaneous immunotherapy for allergic rhinitis in Japan. *Auris Nasus Larynx*. 2014;41(1): 1-5.

(2) 学会発表

1. 大澤陽子、森川太洋、伊藤有未、杉本千鶴、森 繁人、須長 寛、藤枝重治. OAS 様症状を有する患者の粗抗原およびアレルギーコンポーネントに対する感作の検討. 第 27 回日本口腔科・咽頭学会総会. 2014 年 9 月. 札幌.
2. 大澤陽子、伊藤有未、高橋 昇、杉本千鶴、森繁人、藤枝重治. 口腔アレルギー症候群の抗原成分解析. 第 32 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2014 年 2 月. 徳島.
3. 大澤陽子、伊藤有未、高橋 昇、杉本千鶴、森繁人、藤枝重治. アレルギーコンポーネント解析からみた口腔アレルギー症候群. 第 26 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2014 年 5 月. 京都.
4. 大澤陽子、杉本千鶴、河野陽子、森 繁人、藤枝重治. 小児 OAS と花粉症との関係. 第 8 回日本小児耳鼻咽喉科学会総会. 2014 年 6 月. 浜松.
5. 藤枝重治. 花粉症と口腔アレルギー症候群. 第 78 回日本皮膚科学会東京支部学

術大会. 2015年2月. 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし。
2. 実用新案登録 なし。
3. その他 なし。

H. 健康危険情報

報告なし。

食物アレルギーの病態に基づいた 新規好塩基球活性化試験の樹立

研究分担者 横関 博雄 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 教授
研究協力者 芝間 さやか 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 大学院生
宇賀神 つかさ 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 特任助教

研究要旨

従来の好塩基球活性化試験は、即時型アレルギーのアレルゲンの検索において、安全かつ有用な検査であるが、ノンレスポonder好塩基球へは対応できない等の問題がある。本研究では、ノンレスポonderにも対応した新規好塩基球活性化試験の樹立を目指す。近年、マウス好塩基球のメディエーター産生や活性化の制御因子として同定したメタロチオネイン (MT) に着目し、好塩基球活性化試験への応用の可能性を検討した。

MT はヒト好塩基球の活性化・メディエーター産生に重要であり、従来型好塩基球活性化マーカーである CD203c と高い相関性を示した。以上の結果より、MT は新規好塩基球活性化試験の新たな指標となりうると考えられた。ノンレスポonderへの適用の可否については、今後さらに症例数を蓄積して検討する必要がある。

A. 研究目的

我々はこれまでにマウス好塩基球を用いた検討で、メタロチオネイン (以下、MT と示す) という亜鉛結合性タンパクが好塩基球の活性化を制御することを見出した (Ugajin et al., *Molecular Immunology*, 2015)。本研究では、ヒト好塩基球においても、マウスと同様に MT が活性化を制御するのかを検証し、さらには MT を指標とした好塩基球活性化試験の有用性を、健常人や加水分解小麦アレルギー患者の好塩基球を用いて検証した。

B. 研究方法

7 名の健常人から末梢血好塩基球を分離し、まずは MT と IL-4 の発現を Real Time PCR により解析し、次に従来型好塩基球活性化マーカーである CD203c の発現 (定常状態、IgE 刺激下) をフローサイトメトリーにより解析し、これらの相関性を検討した。

さらに遺伝子干渉実験により末梢血好塩

基球における MT の発現をノックダウンし、IL-4 産生能について Real Time PCR にて検討した。

最後に「茶のしずく石鹼」により発症した加水分解コムギアレルギーの患者 7 名より、末梢血好塩基球を分離し、MT と小麦アレルギー重症度との相関性について検証した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京医科歯科大学の倫理審査委員会より承認された研究である (承認番号 1051,1315)。被検者には書面にてインフォームドコンセントを行った後、血液を提供いただいた。

C. 結果

健常人から末梢血好塩基球を分離し、各個体における MT、IL-4、CD203c の発現レベルを解析し、これらの相関性を検討した。MT は IL-4 と非常に高い相関性を示した。

一方、CD203cとは定常状態では相関性を認めなかったが、IgE刺激下では高い相関性を示した。7名の健常人の内、1名はノンレスポonderであったが、MTの発現は低かった。

次に、末梢血好塩基球において、MT遺伝子をノックダウンし、IgE刺激下におけるIL-4の産生について検討したところ、コントロールに比べてMT遺伝子をノックダウンした好塩基球ではIL-4産生の減弱を認めた。

最後に、実際の即時型アレルギー患者の検体を用い、MTがアレルギー症状の重症度の指標となりうるかどうかを検討した。当科を受診した加水分解コムギアレルギー患者7名を、アナフィラキシーのグレード分類

H. Sampson: *Pediatrics*. 2003; 111; 1601-8. (独立行政法人国立病院機構相模原病院により改変)に従い、軽症群(グレード1・2)3人と重症群(グレード3)4人にわけ、MTの発現を比較したところ、MTと小麦アレルギー症状の重症度とに相関性は見られなかった。

D. 考察

末梢血好塩基球において、MTとIL-4は高い相関性を示し、MTがIL-4の産生に関与する可能性が考えられた。そこでさらにMT遺伝子の干渉実験を行ったところ、MTがヒト好塩基球におけるIgE刺激依存性のIL-4産生に重要であることが確認された。

次に、MTがヒト好塩基球の活性化にも関与するかどうかを検証するために、MTとCD203cとの相関性について検討したところ、定常状態のCD203cとは相関性を示さなかったが、IgE刺激後のCD203cの発現誘導と高い相関性を示した。以上の結果より、MTがヒト好塩基球の活性化を制御する可能性、またMTが好塩基球活性化試験の指標となりうる可能性が示唆された。

また、ノンレスポonder好塩基球への適

用の可否についてであるが、本研究で検討をおこなった6名の内、1名がノンレスポonderであったが、MTの発現は低かった。今後さらに症例を蓄積し、検討していく必要があると考えられた。

最後に、MTが好塩基球のメディエーター産生や活性化を制御することから、即時型アレルギーの重症度と相関する可能性を考え、加水分解コムギアレルギー患者において、少数例での検討ではあるが、MTとアレルギー症状の重症度との相関性を解析したところ、明らかな相関は認めなかった。こちらも、今後さらに症例を蓄積して検討する必要があると考える。

E. 結論

MTは、ヒト好塩基球におけるIgE刺激依存性の活性化やメディエーター産生に必要な制御因子であることが分かった。さらにMTはCD203cの発現と高い相関性を示し、好塩基球活性化試験の新たな指標となりうる可能性が示唆された。ノンレスポonderへの適用の可否については今後さらに症例の蓄積が必要であると考ええる。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. Yokozeki H. A nucleic acid-based medication for allergic skin diseases. *J Dermatol Sci*. 2014; 75(2): 75-81.
2. Yamamoto T, Yokozeki H. Subcutaneous sarcoidal granuloma underlying porokeratosis in a patient with sarcoid-lymphoma syndrome. *Eur J Dermatol*. 2014 (in press).
3. Yamamoto T, Yokozeki H. Scalp sarcoidosis mimicking organoid nevus. *Eur J Dermatol*. 2014 (in press).
4. Ueno M, Aoto T, Mohri Y, Yokozeki H, Nishimura EK. Coupling of the radiosensitivity of melanocyte stem cells to

- their dormancy during the hair cycle. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014; 27(4): 540-551.
5. Shibama S, Igawa K, Munetsugu T, Fukuyama K, Nishizawa A, Takayama K, Yokozeki H. A case of sarcoidosis presenting as livedo. *Ann Dermatol.* 2014; 26(6): 773-774.
 6. Nishizawa A, Igawa K, Teraki H, Yokozeki H. Diffuse disseminated lichenoid-type cutaneous sarcoidosis mimicking erythroderma. *Int J Dermatol.* 2014; 53(8): e369-370.
 7. Inazawa M, Satoh T, Yokozeki H. Hyperkeratotic variant of inflammatory disseminated superficial porokeratosis with lichenoid reaction and extensive amyloid deposition. *Int J Dermatol.* 2014; 53(2): e94-95.
 8. Igawa K, Konishi M, Moriyama Y, Fukuyama K, Yokozeki H. Erythroderma as drug eruption induced by intravesical mitomycin C therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014 (in press).
 9. Igawa K, Kokubu C, Yusa K, Horie K, Yoshimura Y, Yamauchi K, Suemori H, Yokozeki H, Toyoda M, Kiyokawa N, Okita H, Miyagawa Y, Akutsu H, Umezawa A, Katayama I, Takeda J. Removal of reprogramming transgenes improves the tissue reconstitution potential of keratinocytes generated from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Transl Med.* 2014; 3(9): 992-1001.
 10. Hashimoto T, Satoh T, Furuya A, Kataoka N, Yokozeki H. Kimura's disease with prurigo lesions treated with systemic indomethacin. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014; 28(9): 1260-1262.
 11. Dobashi K, Akiyama K, Usami A, Yokozeki H, Ikezawa Z, Tsurikisawa N, Nakamura Y, Sato K, Okumura J. Japanese Guideline for Occupational Allergic Diseases 2014. *Allergol*

Int. 2014; 63(3): 421-442.

(2) 学会発表

1. 芝間 さやか, 宇賀神 つかさ, 横関 博雄. 化粧品による健康被害. 当科を受診した小麦アレルギー患者のまとめ. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 京都市. 2014年5月9-11日.
2. 端本 宇志, 佐藤 貴浩, 横関 博雄. 好塩基球とIgEにより誘発されるマウス痒疹反応におけるそう痒と病変部表皮内神経伸長. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 京都市. 2014年5月9-11日.
3. 宇賀神 つかさ, 横関 博雄. 好塩基球が関わる日常的な皮膚アレルギーを診る! 亜鉛は好塩基球を左右する. 第44回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 仙台市. 2014年11月22日.
4. 宇賀神つかさ. 亜鉛は好塩基球を抑制する. 第78回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 東京都. 2015年2月21日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

H. 健康危険情報

なし

食物依存性運動誘発アナフィラキシー検査における診断精度の向上に関する検討

研究分担者 松尾 裕彰 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 病態解析治療学
教授
研究協力者 横大路 智治 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 病態解析治療学
助教

研究要旨

食物依存性運動誘発アナフィラキシー (food-dependent exercise-induced anaphylaxis: FDEIA) は、抗原特異 IgE 抗体が関与する食物アレルギーである。症状誘発には原因食物摂取に加えて、運動負荷や非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) の服用などの二次的要因が必要である。これまでの研究で、小麦による FDEIA の主要抗原として γ -gliadin, ω 5-gliadin, 高分子量 glutenin を同定し、それらの抗原コンポーネントを用いた特異 IgE 検査が、成人小麦 FDEIA の診断に有効であることを明らかにした。本研究では、加水分解小麦による FDEIA 患者における、各種 gliadin 特異 IgE 抗体の保有率を明らかにするとともに、FDEIA の原因食物として 2 番目に多いエビの抗原解析を行い、2 種の新規抗原候補を同定した。

A. 研究目的

食物依存性運動誘発アナフィラキシー (FDEIA) は、抗原特異 IgE 抗体が関与する食物アレルギーであるが、症状誘発には原因食物の摂取に加えて、運動負荷や非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) の服用などの二次的要因が必要である。本邦における FDEIA の原因食物は、小麦、エビの順に多い。これまでの研究で、小麦による FDEIA に特異性の高い原因抗原として γ -gliadin, ω 5-gliadin, 高分子量 glutenin を同定し、それらの抗原コンポーネントを用いた抗原特異 IgE 検査が成人小麦 FDEIA の診断に有効であることを明らかにした。本研究では、加水分解小麦含有石鹼により発症した FDEIA 患者および小麦の経口摂取により発症した FDEIA 患者の血清中 α/β -, γ -, ω 1,2-, ω 5-gliadin 特異 IgE 抗体の保有率を調べた。さらに、エビ FDEIA の原因抗原

は解析されておらず未だ不明な点が多い。そこで、エビ FDEIA の原因抗原解析も行った。

B. 研究方法

各種 gliadin のリコンビナントタンパク質は、大腸菌を用いて発現させ精製した。精製 gliadin を ELISA プレートに固相化し、血清を加えインキュベートした。結合した IgE はガラクトシダーゼ標識抗ヒト IgE 抗体を用いて検出した。9 名の通常型小麦 FDEIA および 51 名の加水分解小麦型 FDEIA 患者血清を測定した。

エビ摂取と運動負荷を組み合わせた誘発試験の結果により確定診断された 2 名のエビ FDEIA 患者血清を抗原解析に用いた。

エビの外殻を除去したむき身に 40 mM Tris-HCl (pH 8.0)を加え氷上でホモジナイズすることによりエビタンパク質を抽出した。SDS-PAGE および 2 次元電気泳動にて分離後、患者血清 IgE を用いたウエスタンブロッ

ットを行い、IgE が結合するタンパク質を検出した。エビ抗原をゲルから切り出し、トリプシン消化後、質量分析計 (AB SCIEX TripleTOF® 5600+) を用いて解析した。得られたペプチド情報を ProteinPilot™ ソフトウェアを用いて甲殻類のタンパク質データベースを検索することにより抗原を同定した。

各種クロマトグラフィーを用いて粗精製したエビタンパク質を用いて、7 名のエビ FDEIA 患者血清 IgE の結合をウエスタンブロット法により調べた。

(倫理面への配慮)

本研究は本学疫学研究倫理審査委員会の承認を得て行った。

C. 結果

(1) 小麦 FDEIA 患者における各種 gliadin 特異 IgE 抗体の保有率

通常型小麦 FDEIA 患者 (CO-WDEIA) の α/β -、 γ -、 $\omega 1,2$ -、 $\omega 5$ -gliadin 特異 IgE の保有率は、それぞれ、33, 44, 33, 78%であった。加水分解小麦型 FDEIA (HWP-WDEIA) は、それぞれ 26, 47, 26, 14%であった (図 1)。

(2) エビ FDEIA の抗原解析

エビアレルギー患者の中には特定のエビにのみ反応し、アレルギー症状を示す患者が認められることから、今回クルマエビ、バナメイエビ、ブラックタイガー、タイショウエビの 4 種のエビを用いて解析した。その結果、4 種類のエビ全てにおいて、患者 1 の血清 IgE は 70 kDa の分子量を有するタンパク質に結合した。患者 2 の血清 IgE は、バナメイエビの 40 kDa のタンパク質に強く結合した。

IgE の結合が認められた 70 kDa および 40 kDa タンパク質の同定を行うために、2次元電気泳動を利用したプロテオーム解析を試みた。タンパク質のスポットを切り出し、

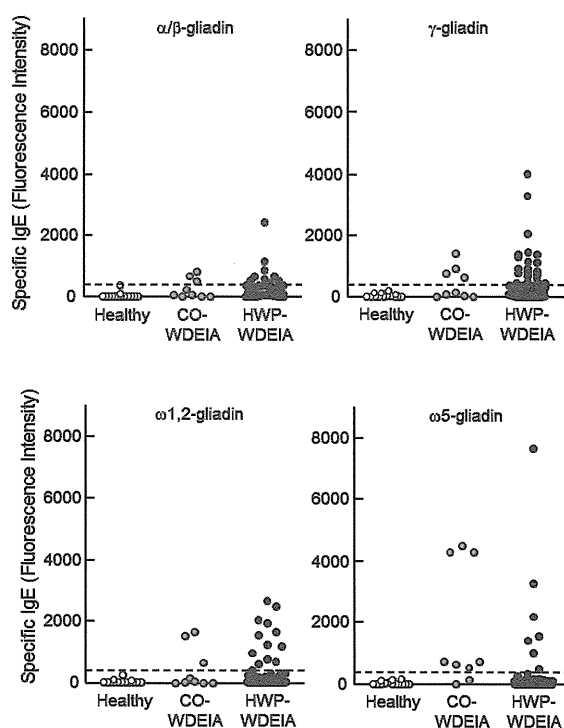


図 1 各種 gliadin 特異 IgE 抗体価

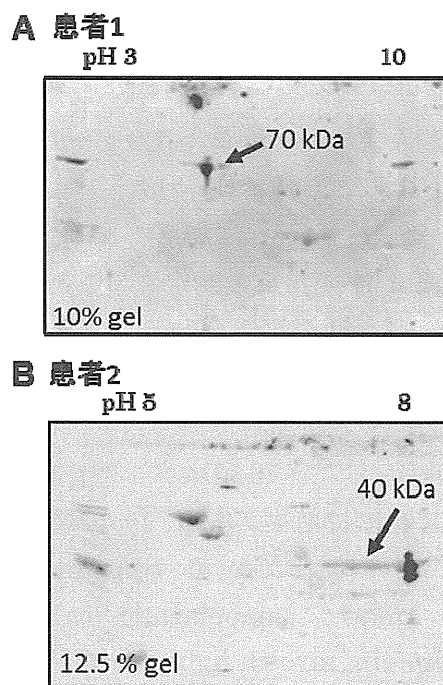


図 2 ウエスタンブロットによるエビ抗原解析

トリプシン消化した後、質量分析計にて MS/MS 解析を行った結果、70 kDa タンパク質は、コクヌストモドキ (*Tribolium castaneum*) の Muscle-specific protein 300 (Nesprin-1) と相同性の高いタンパク質であることが分かった。Nesprin-1 と相同性が高

い甲殻類のタンパク質をデータベース検索すると、アメリカンロブスター (*Homarus americanus*) の筋タンパク質である p75 protein がヒットした。この結果から、患者 1 の原因抗原はエビの p75 protein であると推測された。一方、患者 2 の血清 IgE が結合した 40 kDa タンパク質について同様の解析を行った結果、バナメイエビ(*Litopenaeus Vannamei*) の fructose 1,6-bisphosphate aldolase であることが明らかとなった。

D. 考察

通常型小麦 FDEIA においては、 ω 5-gliadin が主要抗原として報告されている。今回の結果においても、78%の患者が ω 5-gliadin 特異 IgE を保有しておりこれまでの報告と一致した。一方、加水分解型小麦 FDEIA では、 γ -gliadin が主要抗原として報告されているが、 γ -gliadin 特異 IgE の保有率は 47%であった。すなわち、加水分解小麦 WDEIA では、 α/β -や ω 1,2-gliadin も原因抗原となることが示唆された。これらの結果から、 ω 5-gliadin に加えて α/β -、 γ -、 ω 1,2-gliadin 特異 IgE の測定することでより精度の高い診断が可能となると考えられた。

エビ FDEIA の抗原解析について、今回同定した 40kDa および 70 kDa タンパク質は、これまでにエビ即時型アレルギーの原因抗原として同定されている tropomyosin, arginine kinase, sarcoplasmic calcium binding protein, myosin light chain とは異なっていた。この結果は、エビ FDEIA の原因抗原は通常 of 即時型エビアレルギーとは異なる抗原が原因で起こることを示唆するものである。したがって、これらの新規抗原特異 IgE の測定は、エビ FDEIA の特異的診断に応用できると期待される

E. 結論

小麦 FDEIA の gliadin 特異 IgE の保有率を明らかにした。さらに、エビ FDEIA 患者の原因抗原解析を行い、70 kDa Muscle-specific protein 300 (Nesprin-1)、および、40 kDa の fructose 1,6-bisphosphate aldolase を抗原候補として同定した。これらの抗原コンポーネントに対する特異 IgE 検査が、FDEIA 診断における有益な情報となると考えられた。

F. 研究発表

(1) 論文発表

1. Yokooji T, Nouma H, Matsuo H. Characterization of ovalbumin absorption pathways in the rat intestine, including the effects of aspirin. *Biol Pharm Bull*. 2014;37(8):1359-65.
2. Brockow K, Kneissl D, Valentini L, Zelger O, Grosber M, Kugler C, Werich M, Darsow U, Matsuo H, Morita E, Ring J. Using a gluten oral food challenge protocol to improve diagnosis of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. in press.
3. Yokooji T, Okamura Y, Chinuki Y, Morita E, Susumu H, Hiragun M, Hide M, Matsuo H. Prevalences of specific IgE to wheat gliadin components in patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergol Int*. in press.

(2) 学会発表

1. 松尾裕彰. 食品のプロが語る食物抗原小麦アレルギー。第 31 回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会。名古屋市。2014 年 6 月 28 日。
2. 横大路智治, 農間仁美, 松尾裕彰. 卵白アルブミンの消化管吸収機構の解明とアスピ

リンによる吸収増加機構の解明. 日本膜学会第 36 年会. 東京都. 2014 年 5 月 12-13 日.

3. 早瀬佑紀, 平野太暉, 農間仁美, 横大路智治, 松尾裕彰. 小麦グルテン感作における加水分解処理と感作経路の影響. 日本皮膚科学会第 128 回山陰・第 24 回島根合同地方会. 出雲市. 2014 年 8 月 30-31 日.
4. 平野太暉, 横大路智治, 松尾裕彰. 卵白アルブミン感作に及ぼすアスピリンの影響. 第 53 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中四国支部学術大会. 広島市. 2014 年 11 月 8-9 日
5. 羽村光, 横大路智治, 松尾裕彰. 小麦グリアジンの消化管吸収に及ぼすアスピリンの影響. 第 53 回日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会中四国支部学術大会. 広島市. 2014 年 11 月 8-9 日
6. 飯島茂子, 伊藤倫子, 真壁郁, 村上佳大, 横大路智治, 松尾裕彰. 梅干しによる食物依存性運動誘発アナフィラキシーの 1 例. 第 44 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会. 仙台市. 2014 年 11 月 21 日-11 月 23 日.
7. 横大路智治, 農間仁美, 松尾裕彰. 卵白アルブミンの消化管吸収機構とアスピリンの影響解析. 膜シンポジウム 2014. 神戸市. 2014 年 11 月 26-27 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

H. 健康危険情報

なし