

201414009A

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)

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26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 海老澤 元宏

平成27(2015)年3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. 食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究

—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. 小麦・牛乳を完全除去せざるを得ない食物アレルギー児への小麦・牛乳微量負荷試験の試み—..... 14

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..... 16

#### 3. 食物アレルギー患者の管理の改善に関する研究

—外来緩徐経口免疫療法（多施設経口免疫療法）の研究—

今井 孝成..... 19

#### 4. 診断・治療の標準化に関する研究

伊藤 浩明..... 23

#### 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..... 26

#### 6. 低アレルゲン化食品による経口免疫療法の確立

柘植 郁哉..... 29

#### 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..... 32

#### 8. 食物アレルギーの疾患感受性遺伝子解析

玉利 真由美..... 35

#### 9. 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

藤澤 隆夫..... 38

はじめに

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））「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3年目にあたる平成26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。

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年間に渡り研究に取り組んできた。診断に関しては大豆、ゴマ、ソバをはじめとして新しいアレルゲンコンポーネントの抗原特異的 IgE 抗体測定への応用により経口負荷試験に代わり得る成績が得られた。管理に関しては経口負荷試験を基に少量の摂取が可能な食物を摂ることで、またそれを在宅・外来で増やしていくことにより生活の質の改善や予後を改善する可能性を示すことができた。経口免疫療法に関して脱感作状態と真の耐性化の違いを認識して管理する重要性、抗原毎に治療成績が異なる可能性も得られた。特に牛乳では即時型の副作用、予期せぬ強い反応が惹起されることも明らかになった。また、必要抗原量に関して多施設にて検討を加え、また抗原改変食品を用いた経口免疫療法など研究分担者の先生方とともに成果をあげることができた。

平成26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27年3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

食物アレルギーの治療法として前研究班から継続検討している経口免疫療法 (Oral Immunotherapy: OIT) で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、その安全性と有効性に関しては長期にわたる検証が必要である。H26年度までに相模原病院単独でアナフィラキシーを呈する 327 名 (急速法: 鶏卵 87、牛乳 119、小麦 44、ピーナッツ 31、少量導入法: 鶏卵 13、牛乳 15、小麦 9、ピーナッツ 9) に OIT を実施し長期経過をフォロー中である。鶏卵と牛乳の急速法の国内多施設研究 (藤澤分担研究) の結果でも相模原単独の成績でも鶏卵は 2 年経過で 60% 以上の寛解率が得られたが、牛乳では副作用の頻度が高く相模原での検討では 3 年~4 年でも無症状になっている割合は 20% 台に留まった。牛乳に対するアナフィラキシー対策として短期間に目標量まで到達させる急速 OIT は患者に摂取や副作用の負担がかかるので、相模原病院では急速法の問題点を改良した少量導入法を、藤澤らは TGF- $\beta$  併用の牛乳急速 OIT と経皮免疫療法に着手した。少量導入法 (目標量: 加熱卵 3/128 個、牛乳 3ml、小麦〈うどん換算〉 2g、ピーナッツ 0.5g) で 1 年以上観察した 26 名 (鶏卵 6、牛乳 12、小麦 3、ピーナッツ 5) の 12 ヶ月後の目標量に対する 2 週間 OIT 中止後の閾値維持率 (%) はそれぞれ 50.0、58.3、66.7、100 で、興味深いことにそのうち 100、50、0、100% がより多い量 (鶏卵 1/2 個、牛乳 25ml、うどん 15g、ピーナッツ 3g) まで摂取可能となっていた。中等症以下の症例に対し外来で実施する緩徐 OIT (対象 3 歳以上、鶏卵・牛乳・小麦、目標量設定 100%・25% の 2 群) の多施設検討 (全国 9 施設) では、OIT 群の目標量到達率 (%) は、開始 1 年で鶏卵 67.5、牛乳 54.5、小麦 86.4 で、確認試験による耐性獲得率 (%) は鶏卵 27.5、牛乳 13.6、小麦 36.4 であった。摂取量の多少 (100% vs 25%) による耐性獲得率は中間解析の時点では統計学的有意差を認めなかった。OIT との境界を明らかにすることが難しいが、食物経口負荷試験 (Oral food challenge: OFC) 後の食事指導で摂取量を安全に増やせることも示された。少量の OFC で陽性になった牛乳/小麦に対して微量摂取することで予後が改善される可能性も示された。免疫学的修飾 (乳カゼイン) ・アレルギー性低減食品 (鶏卵・乳・魚) を用いた OIT も進行中である。遺伝的背景を理研との共同研究にて GWAS により発症リスク、重症化リスクの遺伝子多型を解析中で 4 箇所有意な領域を認めた。アレルギーコンポーネントを利用した新規診断技術の開発に関して多施設共同研究でゴマ、ソバ、大豆に関して有用なコンポーネントが見つかった。「食物アレルギーの診療の手引き 2014」の改訂作業に取り組み、Web に PDF として公開するとともに関係学会、医師会に配布した。

### 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 部長
今井 孝成	昭和大学医学部小児科 講師
伊藤 浩明	あいち小児保健医療総合センター 内科部長
近藤 直実	岐阜大学名誉教授/平成医療短期大学学長
柘植 郁哉	藤田保健衛生大学小児科 教授
丸山 伸之	京都大学大学院 農学研究科 准教授
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
藤澤 隆夫	国立病院機構三重病院 副院長

### 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%、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 (An) 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。

## B. 研究方法, C. 研究結果, D. 考察

### ◆全体研究

#### — 1. 食物アレルギーの診療の手引き 2014—

3年目に「食物アレルギーの診療の手引き 2011」を改訂する作業を行い、「食物アレルギーの診療の手引き 2014」としてWebにPDFを公開するとともに冊子を関係学会/医師会等に配布した。

#### — 2. 食物経口負荷試験実施施設全国調査—

日本小児科学会の専門医研修施設 521 施設を対象に食物経口負荷試験の実施状況を 2 年振りに調査した。回答のあった 381 施設中、外来または入院のいずれかで実施していたのは 85.6%であった。掲載許可のあった実施施設は食物アレルギー研究会 HP で公開した。

### ◆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—

An を起こす重症な食物アレルギー児への急速 OIT の有効性と問題点を検討し、重症例に対するより安全な OIT の開発を行った。事前の経口負荷試験 (Oral food challenge: OFC) にて強い全身症状を呈した 5 歳以上の重症児を対象とした。OIT は入院管理で導入し、外来でフォローした。急速法の問題点を改良した少量導入法 (目標設定量を低く、鶏卵: 加熱卵 3/128 個、牛乳: 牛乳 3ml、小麦: うどん 2g、ピーナッツ: ピーナッツ 0.5g) を 2013 年 7 月から施行し、1 年以上経過した症例 26 名 (鶏卵 6、牛乳 12、小麦 3、ピーナッツ 5) に対して検討を行った。入院中の中等症以上の症状誘発率 (%) は鶏卵 20.0、牛乳 19.5、小麦 21.4、ピーナッツ 8 で、アドレナリン使用例はなかった。入院中の目標到達率 (%) は鶏卵 25.0、牛乳 42.3、小麦 25.0、ピーナッツ 100 であり、6 ヶ月後はそれぞれ 50、50、66.6、100、12 ヶ月後はそれぞれ 50、58.3、75、100 であった。確認試験の結果、目標量に対する耐性獲得率 (%) はそれぞれ 50.0、58.3、66.7、100 であり、そのうち 100.0%、50.0%、0.0%、100.0% がより多い量 (鶏卵 1/2 個、牛乳 25ml、うどん 15g、ピーナッツ 3g) まで摂取可能となっていた。外来で中等症以上の症状の出現はほとんどなく、アドレナリンの投与は牛乳摂取後に 1 例認めた。

少量導入療法は入院中の誘発症状は従来の方

法と変わりなかった。1 例のみアドレナリンの使用があったものの、外来での誘発症状は軽微な症状がほとんどであった。遷延する重症食物アレルギー児に対する OIT は、多くの症例で減感作状態へ誘導可能であり、1 年後に多くの症例で目標量への耐性獲得を確認でき、An 対策の観点からは有効な治療と考えられた。少量導入法は急速法に比べ外来での症状誘発を減らすことができ、多くの症例でより安全に施行可能であった。

#### — 2. OIT 作用機序の解明—

OIT の作用機序解明を目的として OIT 施行患者を対象に、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 発現量の測定を経時的に行った。一部の患者では IgE エピトープ解析を行った。

2015 年 3 月までの OIT 施行患者数は計 386 名 (急速法: 鶏卵 87、牛乳 119、小麦 44、ピーナッツ 31、少量導入法: 鶏卵 27、牛乳 39、小麦 16、ピーナッツ 23) であった。

#### 1) 治療反応性予測因子の検索

急速法による OIT 施行患者のうち治療開始後 1 年半以上経過した 214 名を対象に治療反応性を予測し得る因子について検索した結果、治療開始後 1 年半までに耐性化した群 (耐性化群) では、治療開始前の卵白・オボムコイド・ミルク・カゼイン特異的 IgE 値は非耐性化群と比し有意に低かったが、小麦、ピーナッツでは同様の結果は得られなかった。

急速法による牛乳 OIT 施行患者 17 名 と 6 歳までに自然耐性化した即時型牛乳アレルギー患者 32 名を対象にペプチドアレイを用いた IgE エピトープ解析を行った。OIT 患者では  $\alpha$ -S1 カゼイン部に 2 つの特徴的な IgE 結合エピトープが存在したが、自然耐性化の患者では認められなかった。

#### 2) 少量導入法による免疫応答の変化

少量導入法による OIT 患者 25 名を対象に免疫応答の変化を解析した。抗原特異的 IgE 値は OIT 開始後 1 年で有意な低下を認めず、IgG4 値は OIT 開始後 3 ヶ月で有意な上昇を認めなかった。好塩基球 CD203c 発現量も治療開始後 1 年で有意な変化は認められなかった。

急速法による OIT では、治療開始前の卵白・ミルク特異的 IgE 値や、 $\alpha$ -S1 カゼイン部の IgE 結合エピトープに対する蛍光強度が高い症例は治療に難渋する可能性がある。少量導入法による OIT では、昨年度までに報告してきた急速法によ

る OIT と異なり、治療早期の好塩基球の活性化抑制は認められず、その後の治療継続による抗原特異的 IgE 値の低下、IgG4 値の有意な上昇も認めなかった。臨床経過では症状誘発閾値は上昇していることを考えると、症例数の追加・長期経過での変化を確認する必要が考えられた。

### — 3. 小麦・牛乳微量負荷試験の試み —

小麦・乳加工品の少量摂取にて即時症状既往がある症例(即時群)や抗原特異的 IgE 抗体価が高値で小麦・乳加工品未摂取の症例(未摂取群)は OFC が陽性になるため完全除去せざるを得ないことが多い。これら 2 群の完全除去症例に対して微量負荷試験を行い、微量の加工品を日常的に摂取させられるかを検討した。

2012 年 6 月～2014 年 3 月に微量負荷試験を施行した小麦 114 例および牛乳 224 例を対象とした。また、即時群のうち微量負荷試験後の経過を 1 年間追跡できた小麦 43 例、牛乳 76 例に対して、1 年後の摂取量を調査した。微量負荷試験の陽性率は小麦 40.4%、牛乳 47.8%であった。

小麦や牛乳の摂取で即時症状の既往があった症例の 1 年後の摂取量は、小麦微量負荷試験陰性 24 例中、25.0%がゆでうどん 15g 以上の摂取、37.5%が小麦を自由に摂取可能となった。小麦微量負荷試験陽性 19 例中 21.1%がゆでうどん 2-10g の摂取が可能になったが、残り 78.9%は小麦の完全除去を継続していた。牛乳微量負荷試験陰性 37 例中 29.7%が牛乳 25ml 以上の摂取、10.9%が牛乳を自由に摂取可能になった。牛乳微量負荷試験陽性 39 例中 12.8%が牛乳 1-3ml の摂取が可能になったが、残り 87.2%は牛乳の完全除去を継続していた。

小麦・牛乳の即時症状の既往がある患者が微量の加工品を 1 年間摂取することによって、小麦 3 割、牛乳 1 割で耐性獲得を認めた。微量摂取ができることによって、食物アレルギー児やその家族の QOL の改善やよりよい予後に繋がる可能性が考えられた。今後前向き試験で食物アレルギー患者への原因食物の早期導入が予後に与える影響を検討する必要がある。

### ◆急速 OIT の応答性の遺伝子レベルでの解析 (松本)

OIT 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 OIT 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 にて網羅的に検索し、OIT 有効例と無効例の遺伝子発現の差を検討した。国立病院機構相模原病院での OIT 開始 6 カ月後の経過から、A 群 (11 症例) は急速相でも維持相でも全く問題なく増量可、B 群 (16 症例) は急速相は問題なかったが維持相で負荷量低下、C 群 (10 症例) は急速相で上げられなかったが維持相で目標到達、D 群 (6 症例) は急速相でも緩徐法でも上げられなかった(脱落を除いた有効率 74.4%)。A 群 (8 症例) の内、特に確認試験陰性の S 群 (4 症例) と、D 群 (6 症例) の検体を用いて、遺伝子発現量の比較を行った所、抗原刺激後 18 時間目の検体で S 群全員が 2 倍以上発現上昇 (vehicle control に比して) し、D 群で誰も 2 倍以上上昇しない遺伝子は 12 見いだされ、SH3-domain を持つ分子 X が最も発現レベルが高かった。一方、5 日間培養後の検体の解析では、S 群全員が 2 倍以上発現上昇し、D 群で誰も 2 倍以上上昇しない遺伝子として IDO-1 が抽出された。今回抽出された遺伝子群の中に OIT 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。

### ◆緩徐 OIT と栄養指導に関する研究 (今井)

事前の OFC で明らかな症状を認めた鶏卵、牛乳、小麦の中等症以下の食物アレルギー児に対し、無介入群を設け外来診療における緩徐 OIT の効果を多施設共同研究にて検討した。2012 年 12 月から 2014 年 3 月までに OIT 群 114 名 (鶏卵 60、牛乳 28、小麦 26) が解析対象として登録された。一方、OIT を希望しなかった児 8 名 (鶏卵 5、牛乳 2、小麦 1) は無介入群として自然経過での耐性獲得状況を評価した。OIT 群の目標量到達率 (%) は、開始 1 年で鶏卵 67.5、牛乳 54.5%、小麦 86.4 で、確認試験による耐性獲得率 (%) は鶏卵 27.5、牛乳 13.6、小麦 36.4 であった。中等症の FA 児に対する緩徐 OIT は、重篤な誘発症状の頻度も低く、多くの症例で脱感作状態へ誘導可能であり、誤食対策および耐性獲得誘導として有効と考えられた。摂取量の違い (A 群 100%量 : B 群 25%量) による耐性獲得率の比較は、中間解析の時点では統計学的有意差を認めなかった。従来の OIT では耐性化目標量と同等の量まで増量することが基本であったが、少量摂取でも同等の耐性獲得を誘導でき、かつ、症状誘発率や治療中止状況に差が無いとなれば、摂取の負担が軽い少量で維持しても十分な効果が期待できる。今後、症例を追加して、耐性獲得に必要な抗原別の用量依存性の

有無を明らかにする必要がある。

◆診断・治療の標準化に関する研究（伊藤）

食物経口負荷試験の結果に基づく除去解除の食事指導について、2年以上経過した長期成績を検討した。対象は2011年8月～2013年7月に経口負荷試験が陽性であった患児のうち、2g以上の摂取開始基準を満たした鶏卵129人、牛乳83人、小麦59人。食事指導の方法は、アレルゲン食品を定量的に摂取して安全を確認しながら10～20%ずつ増量することを原則として、患児保護者の状況に応じて加工食品などに応用するものである。指導開始2年後に鶏卵1個、牛乳200ml、うどん200gに到達した患者の割合はそれぞれ53.5%、49.2%、83.0%であった。目標量の計画的な摂取に伴う誘発症状で緊急受診を要した症例は認めなかった。しかし、十分な到達量を確認して完全解除を許可した症例の食事調査から、実際にはその摂取量を維持していない患者が多いという結果が得られ、食物アレルギーの真の耐性獲得には患児保護者の嗜好や心理的な不安感の解消も視野に入れた指導の必要性が明らかとなった。

◆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防と治療を独創的に進める。昨年度に引き続き、食物アレルギーの感作発症に関連する家族歴等の項目を検討した。平成26年度は、特に、牛乳アレルギーに対する抗原改変食品（抗原エピトープを修飾した新規食材）を用いて牛乳アレルギー患児に投与した。参加を表明した15人のうち13人にプロトコルを実施し、8人で一定期間後に閾値の上昇が確認でき、5人が最大量の抗原改変食品を摂取できたため、ミルクに変更して継続している。2例において口腔違和感で中止となり、2例でFDEIAを認めた。さらに、そのOIT中の免疫学的因子の変化についても追跡し、一定の結果を得た。

◆低アレルゲン化食品による治療法の確立（柘植）

低アレルゲン化食品を用いたOIT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。

鶏卵アレルギーに対しては、前年度、オボムコイド減量鶏卵を含むベビーフートの鶏卵アレルギーハイリスクの乳児に対する安全性を確認し、

本年度は、本製品の継続摂取による予防、治療効果を検討する予定であったが、準備段階にとどまった。

牛乳アレルギーに対しては、現在20例を対象として、加水分解乳（E赤ちゃん）を用いた免疫療法のプラセボ対照試験を続行中であり、安全性は確認され、重症者でも安全に家庭での継続が可能であった。

魚アレルギーに対しては、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、4例が5-12か月の継続摂取により、目標量の魚肉20g摂取に到達している。うち2例では酵素処理サケエキスを用いた免疫療法により、アジの耐性も獲得しており、特筆される。

低アレルゲン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、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。

◆アレルゲン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ゲンのコンポーネントに対する評価を多施設で実施し、新規診断法を開発する。本年度は、ゴマのコンポーネントについて、負荷試験により診断がなされた陽性及び陰性の患者血清について、昨年度より検体数を増やして評価を行った。また、ソバおよび大豆のアレルゲンコンポーネントについても、リコンビナントタンパク質を用いて比較解析を行った。得られたデータより、ゴマの2SアルブミンであるSes i 1およびソバのビシリタンパク質であるFag e 3の診断効率が高いことが示された。さらに、大豆において診断効率が高くなるリコンビナントコンポーネントの組み合わせについても示唆された。

◆遺伝子多型を用いた病態解析（玉利）

食物アレルギーにアトピー性皮膚炎が合併していることは多く、近年、食物アレルギーにおける皮膚バリア破綻部位からの経皮感作の重要性が示唆されている。また好酸球性食道炎は上皮内好酸球浸潤を特徴としアレルギー疾患を高率に合併する。これまで大規模なゲノムワイド関連解



析が行われアトピー性皮膚炎や好酸球性食道炎の疾患関連領域が多数同定されてきている。今回、これまでに GWAS で同定されたアトピー性皮膚炎（計 19 領域）および好酸球性食道炎（計 4 領域）の関連領域の SNP と食物アレルギー発症との関連解析を独立に収集した 2 つの集団で行った。その結果 C11orf30 ( $P=5.2 \times 10^{-5}$ )、KIF3A/IL4/IL13 ( $P=3.6 \times 10^{-8}$ )、GLBI ( $P=3.6 \times 10^{-6}$ )、ZNF365 ( $P=3.2 \times 10^{-5}$ ) の 4 つの領域で  $P < 1 \times 10^{-4}$  の強い関連を認めた。好酸球性食道炎に関しては TSLP ( $P=0.012$ ) の領域で最も強い関連を認めたが、多重比較検定後に有意な関連は認められなかった。

◆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（藤澤）

鶏卵および牛乳に対するランダム化比較試験による OIT 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、OIT 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た例は 69.0% であり、多くは副反応なく一定の有効性は示された。新規免疫療法としては、TGF- $\beta$  併用の OIT と経皮免疫療法に着手した。前者では、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後にランダム化比較試験を開始した。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、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た。現時点では 8 週の治療終了した 5 例において、微量ではあるが、全員において閾値の上昇がダブルブラインドの経口負荷試験にて確認できている。治療期間や安全性の検討を継続中である。

E. 結論

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 3 年目も予定通り研究成果を得ることができた。OIT に関しては今後も引き続き安全性/有効性の追跡調査が必須である。多施設共同研究（緩徐 OIT・アレルギーコンポーネントを用いた新規診断法）についても有意義な結論が得られた。

3 年間の研究班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もできた。

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 なし

## II. 分担研究報告

## 食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究

### － 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長  
研究協力者 柳田 紀之 国立病院機構相模原病院 小児科  
飯倉 克人 国立病院機構相模原病院 小児科  
江村 重仁 国立病院機構相模原病院 小児科  
永倉 顕一 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 病態総合研究部

#### 研究要旨

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。2013年3月までは急速経口免疫療法によるOITを行っていたが、改善には長期の治療が必要であり、症状が誘発されることも多かったため、新規治療法である少量導入療法を2013年7月から開始した。その有効性、安全性を検討する。

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は入院管理で導入しその後外来でフォローした。症例数は鶏卵28名、牛乳38名、小麦16名、ピーナッツ23名であった。

少量導入療法として2013年7月から重症例に対して従来よりも少ない目標量(鶏卵：加熱卵3/128個、牛乳：牛乳3ml、小麦：うどん2g、ピーナッツ：ピーナッツ0.5g)に設定した少量導入療法を開始した。5日間の入院で漸増後に、自宅で徐々に目標量まで増量した。開始1年後に2週間の除去後に目標量に対する確認試験を行った。

少量導入療法は1年以上経過した鶏卵6名、牛乳12名、小麦3名、ピーナッツ5名の計26名に対して検討を行った。入院中の中等症以上の症状誘発率は鶏卵20.0%、牛乳19.5%、小麦21.4%、ピーナッツ8%で、アドレナリン使用例はなかった。入院中に鶏卵25%、牛乳42.3%、小麦25.0%、ピーナッツ100%が目標量に到達し、6ヵ月後にはそれぞれ50%、50%、66.6%、100%が目標量に到達し、12ヵ月後にはそれぞれ50.0%、58.3%、75.0%、100%であった。確認試験の結果、それぞれ目標量に対して50.0%、58.3%、66.7%、100%が耐性獲得しており、そのうち100.0%、50.0%、0.0%、100.0%がより多い量(鶏卵1/2個、牛乳25ml、うどん15g、ピーナッツ3g)まで摂取可能となっていた。外来で中等症以上の症状の出現はほとんどなく、アドレナリンの投与は牛乳摂取後に1例認められた。

少量導入療法は入院中の誘発症状は従来の方法と変わりなかった。1例のみアドレナリンの使用があったものの、外来での誘発症状は軽微な症状がほとんどであった。遷延する重症食物アレルギー児に対するOITは、多くの症例で減感作状態へ誘導可能であり、1年後に多くの症例で目標量への耐性獲得を確認でき、An対策の観点からは有効な治療と考えられた。少量導入法は急速法に比べ外来での症状誘発を減らすことができ、多くの症例でより安全に施行可能であった。

#### A. 研究目的

##### 【背景】

##### (1) 経口免疫療法の治療効果に関する背景

食物アレルギーに対する治療として経口免疫療法が行われるようになってきた。数多くの文献で有効性が報告されているが、一般に長期に亘る治療が必要となる。我々は抗原別に検討し、牛乳は特に治療成績が悪く症状誘発リスクが高いこ

とを報告した。従来の経口免疫療法は症状が誘発されつつ長期に治療を続けるため結果として脱落例も多かった。

##### (2) 経口免疫療法の安全性に関する背景

経口免疫療法において急速法は急速期のみならず維持期にも強い全身症状が誘発されることがあり、現在のところ治療反応性の予見因子は不明である。また、経口免疫療法を行う対象は重篤

な症状が誘発されやすい対象である。治療効果および安全面から考えると、短期の入院期間に摂取量を増量することよりむしろ長期間の治療継続の方が重要であると考えられ、効率的で安全性の高い従来の経口免疫療法に代わる治療法の開発が求められていた。

### (3) 摂取量に関する背景

食物アレルギーにおいて、少量を解除することができるだけでも大幅な生活の質の改善につながる。

極微量を摂取して症状が誘発される対象が従来の免疫療法の目標量を症状なく摂取できるように治療するためには長期に渡る治療が必要になる上、症状誘発リスクや摂取自体が患児に対してストレスになり、経口免疫療法の問題点であった。

### 【目的】

遷延するアナフィラキシー(An)タイプの鶏卵、食物アレルギーに対する新規治療法である少量導入経口免疫療法(少量導入療法)の有用性と安全性を検証する。

## B. 研究方法

### 【研究デザイン】

#### (1) 試験デザイン

単群・非ランダム化・オープン・介入試験

#### (2) 主要評価項目

治療開始1年後の目標量(加熱全卵 1/32 個, 加熱牛乳 3ml, うどん 2g, ピーナッツ 0.5g)に対する耐性獲得率

#### (3) 副次的評価項目

治療中の1回摂取あたりの症状誘発率

治療1年後の目標量以上の量に対する耐性獲得率

### 【対象】

#### (1) 症例選択基準

事前の食物経口負荷試験で加熱全卵 1/32 個, 加熱牛乳 3ml, うどん 2g, ピーナッツ 0.5g 以下で重症の明らかな陽性症状を呈した6歳以上の食物アレルギー児

#### (2) 除外基準

基礎疾患やアトピー性皮膚炎や気管支喘息の管理不良例

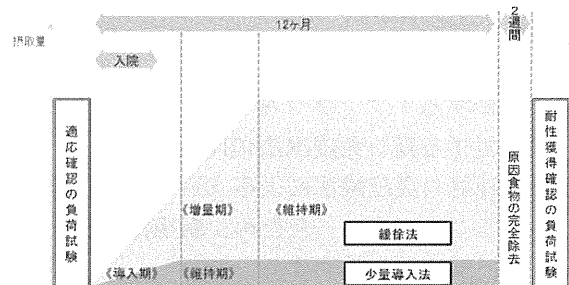
その他、医師が不適当と判断した例

### 【方法】

#### (1) 摂取方法

食物アレルギー児に対して目標量設定を少量として、入院で5日間の経口免疫療法を実施し、その耐性化目標量を、加熱全卵 1/32 個, 牛乳 3ml, うどん 2g, ピーナッツ 0.5g に設定する。

患者は入院で少量の原因食物を摂取し、誘発症状に応じて徐々にその量を目標量まで増量する。退院後、自宅で少量の原因食物の摂取を1年間継続する。(図参照)



#### (2) 耐性獲得の評価方法

少量導入療法開始1年後に2週間の当該食物の完全除去後に食物経口負荷試験を行った結果で評価する。

少量耐性獲得は1年後の負荷試験で加熱卵 3/100 個、加熱牛乳 3ml、うどん 2g、ピーナッツ 0.5g を摂取可能かつそれ以上で症状が誘発される状態、中等量耐性獲得は鶏卵 1/2 個以上、加熱牛乳 25ml 以上、うどん 15g 以上、ピーナッツ 3g 以上摂取可能な状態を指す。

#### (3) 倫理的配慮

本研究は、相模原病院倫理委員会の承認を得た上、患者の保護者の文書による同意の下で、世界医師会「ヘルシンキ宣言」および厚生労働省の臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)を遵守して行われた。本研究開始前に研究登録を行った(UMIN000011202)。

## C. 研究結果

鶏卵 28 名、牛乳 38 名、小麦 16 名、ピーナッツ 23 名に対して少量導入療法が行われた。少量導入療法を行い、1年以上経過した鶏卵 6 名、牛乳 12 名、小麦 3 名、ピーナッツ 5 名の計 26 名に対して検討を行った。

	鶏卵 n = 6	牛乳 n = 12	小麦 n = 3	ピーナッツ n = 5
対象者数 (男:女) (名)	2 : 4	6 : 6	1 : 2	5 : 0
年齢 (歳)	9.4 (6.5-13.1)	8.3 (6.7-12.8)	7.6 (6.8-8.3)	8.4 (6.7-11.8)
合併症				
気管支喘息 (%)	16.7	33.3	33.3	40.0
アトピー性皮膚炎 (%)	33.3	50.0	33.3	60.0
抗原特異的IgE値(IU/l)	44.1 (5.4-210)	38.2 (1.7-278)	386 (151-999)	56.0 (17-328)
負荷試験における全身症状誘発閾値 (g)	0.7 (0.5-1.8)	1.6 (0.8-3.0)	1.0 (0.8-2.0)	0.5 (0.1-0.5)

(1) 主要評価項目結果(1年後の目標量に対する耐性獲得率)

治療開始1年後の目標量(加熱全卵 1/32 個, 加熱牛乳 3ml, うどん 2g, ピーナッツ 0.5g)に対する耐性獲得率は鶏卵 50%、牛乳 58.3%、小麦 66.7%、ピーナッツ 100%であった。(図参照)

(2) 副次的評価項目結果(治療中の1回摂取あたりの症状誘発率)

入院中の中等症以上の症状誘発率は鶏卵 20.0%、牛乳 19.5%、小麦 21.4%、ピーナッツ 8%で、アドレナリンを投与した例はなかった。外来で中等症以上の症状の出現はほとんどなく、アドレナリンの投与は牛乳摂取後の激しい運動により症状が誘発された1例のみであった。(図参照)

		鶏卵	牛乳	小麦	ピーナッツ
中等症以上の症状 (%)	急速期	20.0	19.5	21.4	8.0
	緩徐期	0.74	2.3	2.4	0.15
アドレナリン投与 (%)	急速期	0.00	0.00	0.00	0.00
	緩徐期	0.00	0.03	0.00	0.00

摂取1回当たり

(3) 副次的評価項目結果(治療1年後の目標量以上に対する耐性獲得率)

鶏卵、小麦では目標量以上の負荷試験により全例で症状が誘発されたが、牛乳は7名中4名(57.1%)が加熱牛乳 25ml の摂取で無症状であり、ピーナッツは5名中5名(100%)が3gのピーナッツを症状なく摂取可能であった。(図参照)

#### D. 考察, E. 結論

鶏卵、牛乳、小麦、ピーナッツそれぞれ、50%、58.3%、55.7%、100%の症例で1年後に目標量の耐性化を確認でき、牛乳、ピーナッツでは多くが目標量以上の量まで耐性化を確認でき、治療効果は高かった。

少量導入療法の外来での誘発症状は軽微な症状が多く、中等症以上の症状の出現頻度は従来行っていた急速法の1/10程度と安全であった。少量導入法は急速法に比べ外来での症状誘発を減らすことができ、より安全に施行可能であったことから、特に重症例に対して安全な治療と考えられた。

以上より、少量導入療法は、有用性および安全性が高い画期的な新規治療法と考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Takanori Imai, Noriyuki Yanagida, Mika Ogata, Takatsugu Komata, Morimitsu Tomikawa, Motohiro Ebisawa: The Skin Prick Test is Not Useful in the Diagnosis of the Immediate Type Food Allergy Tolerance Acquisition. *Allergology International*. 63(2). 205-10. 2014
- 2) Shimizu Y, Kishimura H, Kanno G, Nakamura A, Adachi R, Akiyama H, Watanabe K, Hara A, Ebisawa M, Saeki H.: Molecular and immunological characterization of  $\beta'$ -component (Onc k 5), a major IgE-binding protein in chum salmon roe. *Int Immunol*. 26(3). 139-47. 2014
- 3) Sakura Sato, Noriyuki Yanagida, Kiyotake Ogura, Takanori Imai, Tomohiro Utsunomiya, Katsuhito Iikura, Makiko Goto, Tomoyuki Asaumi, Yu Okada, Yumi Koike, Akinori Shukuya, Motohiro Ebisawa: Clinical Studies in Oral Allergen-Specific Immunotherapy: Differences among Allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 164. 1-9. 2014
- 4) Ebisawa M, Movérare R, Sato S, Magnus P. Borres, Komei Ito: The predictive relationship of peanut- and Ara h 2-specific serum IgE concentrations to peanut allergy. *JACI In Practice*. in press. 2014
- 5) Sakura Sato, Noriyuki Yanagida, Kiyotake Ogura, Tomoyuki Asaumi, Yu Okada, Yumi Koike, Katsuhito Iikura, Akinori Syukuya, Motohiro Ebisawa: Immunotherapy in food allergy: towards new strategies. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 32. 195-202. 2014
- 6) Yu Okada, Noriyuki Yanagida, Sakura Sato, Ayako Ogawa, Kanako Ogura, Kenichi Nagakura, Sigehito Emura, Tomoyuki Asaumi, Hirotohi Unno, Tetsuharu Manabe, Kiyotake Ogura, Katsuhito Iikura, Motohiro Ebisawa: Oral immunotherapy initiation for multi-nut allergy: a case report. *Allergol Int*. in press. 2014

##### 2. 学会発表

- 1) Motohiro Ebisawa: Meet the Expert Oral food challenges, European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress 2014. Copenhagen, Denmark. 2014. 6. 7-11
- 2) Motohiro Ebisawa: Lecture Food allergy from a molecular point of view, APAPARI Congress 2014. Yogyakarta, Indonesia. 2014. 10. 8-10
- 3) Motohiro Ebisawa: Lecture A prespective on immunotherapy for food allergies, APAPARI Congress 2014. Yogyakarta, Indonesia. 2014. 10. 8-10
- 4) 海老澤元宏: 教育講演 食物アレルギーに対する経口免疫療法の実践と問題点, 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 京都. 2014. 5. 9-11
- 5) 海老澤元宏, 小倉聖剛, 佐藤さくら: 教育セミナー 食物アレルギーの診断: プロバビリティカーブをどう用いるか?, 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会. 京都. 2014. 5. 9-11
- 6) Motohiro Ebisawa: symposium Novel diagnostic in food allergy: clinical utility of CRD, 第51

回日本小児アレルギー学会． 四日市市．  
2014. 11. 8-9

- 7) 海老澤元宏：シンポジウム 食物アレルギーの新しい診断法：CRD を中心として，第 51 回日本小児アレルギー学会． 四日市市． 2014. 11. 8-9

#### 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

### — 2. 経口免疫（減感作）療法の作用機序の解明 —

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長  
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病態総合研究部  
小倉 聖剛 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  
大河内 美奈 東京工業大学 大学院理工学研究科

#### 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】OITは前述の方法で行った。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発現量の測定を経時的に行っている。また一部の牛乳OIT患者では牛乳主要抗原6種のアミノ酸配列をもとに合成したペプチドアレイを用いてIgEエピトープ解析を行った。これらのデータを基に、急速法によるOITへの治療反応性予測因子の検索および少量導入法による免疫応答の変化について検討した。

【結果】2015年3月までのOIT施行患者数は計386名(急速法:鶏卵87名、牛乳119名、小麦44名、ピーナッツ31名、少量導入法:鶏卵27名、牛乳39名、小麦16名、ピーナッツ23名)であった。

#### 1) 治療反応性予測因子の検索

急速法によるOIT施行患者のうち治療開始後1年半以上経過した214名(鶏卵60名、牛乳87名、小麦38名、ピーナッツ29名)を対象に治療反応性を予測し得る因子について検索した。その結果、治療開始後1年半までに耐性化した群(耐性化群)では、治療開始前の卵白・オボムコイド・ミルク・カゼイン特異的IgE値は非耐性化群と比し有意に低かったが、小麦、ピーナッツでは同様の結果は得られなかった。

急速法による牛乳OIT施行患者17名と6歳までに自然耐性化した即時型牛乳アレルギー患者32名を対象にペプチドアレイを用いたIgEエピトープ解析を行った。OIT患者では $\alpha$ -S1カゼイン部に2つの特徴的なIgE結合エピトープが存在したが、自然耐性化の患者では認められなかった。

#### 2) 少量導入法による免疫応答の変化

少量導入法によるOIT患者25名(鶏卵5名、牛乳12名、小麦3名、ピーナッツ5名)を対象に免疫応答の変化を解析した。抗原特異的IgE値はOIT開始後1年で有意な低下を認めず、IgG4値はOIT開始後3ヵ月で有意な上昇を認めなかった。好塩基球CD203c発現量も治療開始後1年で有意な変化は認められなかった。

【結論】急速法によるOITでは、治療開始前の卵白・ミルク特異的IgE値や、 $\alpha$ -S1カゼイン部のIgE結合エピトープに対する蛍光強度が高い症例は治療に難渋する可能性がある。少量導入法によるOITでは、昨年度までに報告してきた急速法によるOITと異なり、治療早期の好塩基球の活性化抑制は認められず、その後の治療継続による抗原特異的IgE値の低下、IgG4値の有意な上昇も認めなかった。臨床経過では症状誘発閾値は上昇していることを考えると、症例数の追加・長期経過での変化を確認する必要があると考えられた。

#### 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。昨年度までに、食物アナフィラキシー(An)患者に対する急速法の経口免疫(減感作)療法では、治療早期のマスト細胞や末梢血好塩基球の活性化抑制

(脱感作)、その後、OITの継続により抗原特異的IgG4値上昇・維持、抗原特異的IgE値の長期間にわたる持続的な低下などの変化が誘導されることを明らかにした。今年度はOITの治療反応性予測因子および少量導入法によるOITの作用機序について解析する。

## B. 研究方法

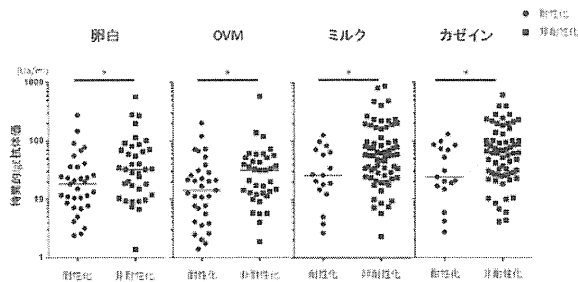
OITの方法は前述のように二つあり2013年3月までは急速法、同年7月からは少量導入法で施行している。OITを施行した患者を対象に、皮膚テスト(SPT)、末梢血好酸球数、血清総IgE値、抗原特異的IgE値、IgG、IgG4値、好塩基球ヒスタミン遊離試験(HRT)、好塩基球CD203c発現量の測定を経時的に行っている。また一部の牛乳OIT患者では牛乳主要抗原6種のアミノ酸配列をもとに合成したペプチドアレイを用いてIgEエピトープ解析を行った。これらのデータを基に、急速法によるOITへの治療反応性予測因子の検索および少量導入法による免疫応答の変化について検討した。

## C. 研究結果

### 1) 治療反応性予測因子の検索

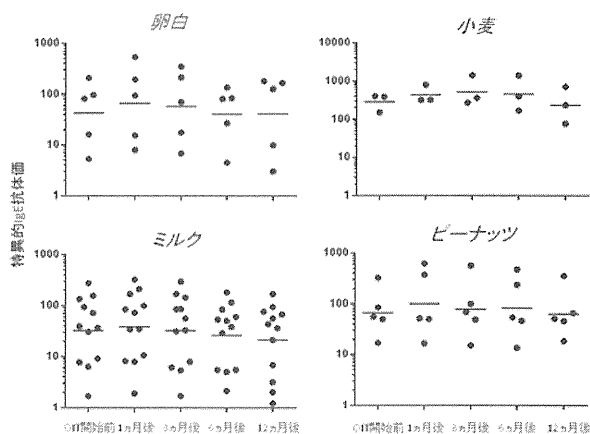
治療開始後1年半以上経過した急速法によるOIT施行患者214名(鶏卵60名、牛乳87名、小麦38名、ピーナッツ29名)を対象に治療反応性を予測し得る因子について検索した。その結果、治療開始後1年半までに耐性化した群(耐性化群)では、治療開始前の卵白・オボムコイド・ミルク・カゼイン特異的IgE値(Ua/ml)は非耐性化群と比し有意に低かった(卵白:耐性化群18.3 vs. 非耐性化群32.6、オボムコイド:14.3 vs. 31.8、ミルク:26.1 vs. 57.3、カゼイン:24.2 vs. 62.5)。しかし、小麦、ピーナッツでは同様の結果は得られなかった。

急速法による牛乳OIT施行患者17名と6歳までに自然耐性化した即時型牛乳アレルギー患者32名を対象にペプチドアレイを用いたIgEエピトープ解析を行った。OIT患者では $\alpha$ -S1カゼイン部に2つの特徴的なIgE結合エピトープが存在したが、自然耐性化の患者では認められなかった。OIT治療開始2年までに耐性化した患者では、これらのエピトープに対する蛍光強度の総和が低かった。



### 2) 少量導入法による免疫応答の変化

少量導入法によるOIT患者25名(鶏卵5名、牛乳12名、小麦3名、ピーナッツ5名)を対象に免疫応答の変化を解析した。抗原特異的IgE値はOIT開始後1年で有意な低下を認めず(卵白:OIT開始時81.2 vs. 1年後128.0、ミルク:38.2 vs. 40.2、小麦:386.0 vs. 236.0、ピーナッツ:56.0 vs. 51.0)、IgG4値はOIT開始後3ヵ月で有意な上昇を認めなかった(卵白:OIT開始時1.2 vs. 3ヵ月後2.5、カゼイン:0.5 vs. 1.4、小麦:2.7 vs. 3.5、ピーナッツ:0.6 vs. 2.7)。好塩基球CD203c発現量も治療開始後1年で有意な変化は認められなかった。



## D. 考察, E. 結論

昨年度までの結果と合わせると、食物An患者への急速法によるOITでは、抗原特異的IgE・IgG4値、マスト細胞や好塩基球の活性化抑制などにより症状誘発の閾値が上昇する。しかし治療開始前の卵白・ミルク特異的IgE値や、 $\alpha$ -S1カゼイン部のIgE結合エピトープに対する蛍光強度が高い症例は治療に難渋する可能性がある。一方、少量導入法によるOITでは急速法によるOITとは異なり、治療早期の好塩基球の活性化抑制は認められず、その後の治療継続による抗原特異的IgE値の低下、IgG4値の有意な上昇も認めなかった。臨床経過では症状誘発閾値は上昇していることを考えると、症例数の追加・長期経過での変化を確認する必要があると考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

分担研究報告 食物アレルギーの診断と積極的



治療に関する研究 — 1. 急速経口免疫(減感作)  
療法の有効性と問題点の検討— 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. 小麦・牛乳を完全除去せざるを得ない食物アレルギー児への小麦・牛乳微量負荷試験の試み —

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長  
 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

#### 研究要旨

小麦・乳加工品の少量摂取にて即時症状既往がある症例(即時群)や抗原特異的 IgE 抗体価が高値で小麦・乳加工品未摂取の症例(未摂取群)は食物経口負荷試験(OFC)が陽性になるため完全除去せざるを得ないことが多い。これら 2 群の完全除去症例に対して微量負荷試験を行い、微量の加工品を日常的に摂取させられるかを検討した。

2012年6月～2014年3月に微量負荷試験を施行した小麦114例および牛乳224例を対象とした。また、即時群のうち微量負荷試験後の経過を1年間追跡できた小麦43例、牛乳76例に対して、1年後の摂取量を調査した。微量負荷試験の陽性率は小麦40.4%、牛乳47.8%であった。陽性者に対する治療は抗ヒスタミン薬が小麦73.9%、牛乳93.5%、アドレナリンが小麦15.2%、牛乳10.3%であった。陰性であれば摂取量を決めて小麦を含む調味料、バターやマーガリン等の自宅での日常的な摂取を許可した。陰性となった症例は全例で自宅での摂取を安全に行うことができた。

小麦や牛乳の摂取で即時症状の既往があった症例の1年後の摂取量は、小麦微量負荷試験陰性例では24例中6例(25.0%)がゆでうどん15g以上の摂取、9例(37.5%)が小麦を自由に摂取できるようになった。小麦微量負荷試験陽性例では19例中4例(21.1%)がゆでうどん2-10gの摂取をできるようになったが、残りの15例(78.9%)は小麦の完全除去を継続していた。牛乳微量負荷試験陰性例では37例中11例(29.7%)が牛乳25ml以上の摂取、4例(10.9%)が牛乳を自由に摂取できるようになった。牛乳微量負荷試験陽性例では39例中5例(12.8%)が牛乳1-3mlの摂取をできるようになったが、残りの34例(87.2%)は牛乳の完全除去を継続していた。

小麦・牛乳の完全除去症例に対して微量負荷試験を行うことにより約半数の症例で微量の加工品を摂取できるようになり完全除去を中止することができた。即時症状の既往がある症例が微量の加工品を1年間摂取することによって、小麦3割、牛乳1割で耐性獲得を認めた。微量摂取ができることによって、食物アレルギー児やその家族のQOLの改善やよりよい予後に繋がる可能性が考えられた。今後前向き試験で食物アレルギー患者への原因食物の早期導入が予後に与える影響を検討する必要がある。

#### A. 研究目的

小麦・乳加工品の少量摂取にて即時症状既往がある症例(即時群)や抗原特異的 IgE 抗体価が高値のため小麦・乳加工品未摂取の症例(未摂取群)は食物経口負荷試験(OFC)が陽性になるため完全除去せざるを得ないことが多い。これら2群の完全除去症例に対して、小麦はゆでうどん2g(小麦蛋白として0.053g相当)の食物経口負荷試験(W0)、牛乳は3ml(牛乳蛋白として0.10g相当)をカボチャに混ぜ加熱した負荷食による試験(M0)を行い、微量の加工品を日常的に摂取させられるかを検討した。

#### B. 研究方法

2012年6月～2014年3月にW0を施行した114

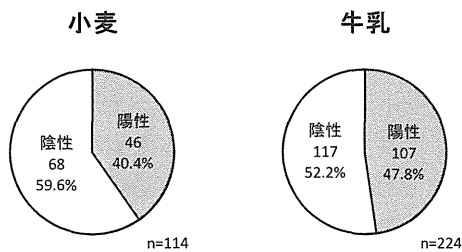
例およびM0を施行した224例を対象とした。年齢の中央値は小麦3.3歳、牛乳4.7歳で、即時群は小麦105例、牛乳198例、未摂取群は小麦9例、牛乳26例であった。また、即時群のうち微量負荷試験後の経過を1年間追跡できた小麦43例、牛乳76例に対して、1年後の摂取量を調査した。

対象	小麦(n=114)	牛乳(n=224)
性別(男:女)	1.7:1.0	1.8:1.0
負荷時年齢	3.3(0.8-18.9)	4.7(0.9-18.4)
即時歴あり	105(92.1%)	198(88.4%)
各抗原のAn歴	53(46.5%)	100(44.6%)
AD	68(59.6%)	152(67.9%)
BA	34(29.8%)	81(36.2%)
小麦/牛乳IgE(UA/mL)	25.6(0.6-1870)	28.3(0.13-805)

An:アナフィラキシー、AD:アトピー性皮膚炎、BA:気管支喘息 中央値(範囲)

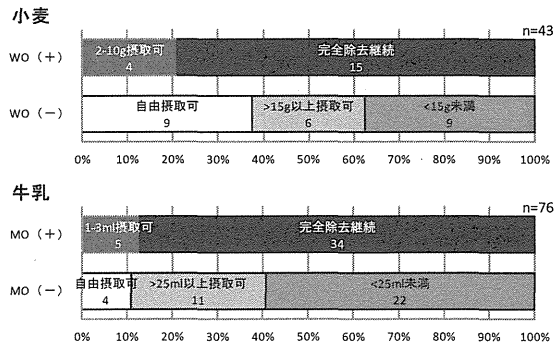
### C. 研究結果

即時群のうち小麦 47 例、牛乳 72 例の前回閾値は、ゆでうどん 2-50g、牛乳 2-50ml であった。残りの小麦 58 例、牛乳 126 例の前回閾値は明らかではないが、小麦・乳加工品を数口食べて症状が誘発された既往があった。全症例の抗原特異的 IgE 抗体価の中央値（範囲）は小麦 25.6 (0.60-1870) UA/ml、牛乳 28.3 (0.13-805) UA/ml であった。微量負荷試験の陽性率は小麦 40.4%、牛乳 47.8% であった。



陽性者に対する治療は抗ヒスタミン薬が小麦 73.9%、牛乳 93.5%、アドレナリンが小麦 15.2%、牛乳 10.3% であった。陰性であれば摂取量を決めて小麦を含む調味料、バターやマーガリン等の自宅での日常的な摂取を許可した。陰性となった症例は全例で自宅での摂取を安全に行うことができた。

小麦や牛乳の摂取で即時症状の既往があった症例の 1 年後の摂取量は、W0 陰性例では 24 例中 6 例 (25.0%) がゆでうどん 15g 以上の摂取、9 例 (37.5%) が小麦を自由に摂取できるようになった。W0 陽性例では 19 例中 4 例 (21.1%) がゆでうどん 2-10g の摂取をできるようになったが、残りの 15 例 (78.9%) は小麦の完全除去を継続していた。M0 陰性例では 37 例中 11 例 (29.7%) が牛乳 25ml 以上の摂取、4 例 (10.9%) が牛乳を自由に摂取できるようになった。M0 陽性例では 39 例中 5 例 (12.8%) が牛乳 1-3ml の摂取をできるようになったが、残りの 34 例 (87.2%) は牛乳の完全除去を継続していた。



### D. 考察

従来、完全除去の指示がされていた症例に対して、負荷量をゆでうどん 2g、牛乳 3ml と微量にした負荷試験を行うことによって、約半数の症例で微量の加工品の摂取が可能となった。微量の摂取ができることによって、食物アレルギー児やその家族の QOL の改善やよりよい予後に繋がる可能性が考えられた。

### E. 結論

小麦・牛乳の完全除去症例に対して微量負荷試験を行うことにより約半数の症例で微量の加工品を摂取できるようになり完全除去を中止できた。即時症状の既往がある症例が微量の加工品を 1 年間摂取することによって、小麦 3 割、牛乳 1 割で耐性獲得を認めた。今後前向き試験で食物アレルギー患者への原因食物の早期導入が予後に与える影響に関して検討する必要がある。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

分担研究報告 食物アレルギーの診断と積極的治療に関する研究 — 1. 急速経口免疫 (減感作) 療法の有効性と問題点の検討 — 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
	石川 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
	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
	海野 浩寿	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
	正田 哲雄	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割の症例で症状発現閾値が上昇す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。国立病院機構相模原病院での経口免疫療法開始6カ月後の経過から、患児の経過はA群：急速相でも維持相でも全く問題なく増量可(11症例)、B群：急速相は問題なかったが維持相で負荷量低下(16症例)、C群：急速相で増量できなかったが維持相で目標到達(10症例)、D群：急速相でも緩徐法でも増量できなかった(6症例)、に分類された。このうち、解析に十分な量と質の total RNA が抽出されたA群(8症例)の内、特に確認試験陰性のS群(4症例)と、D群(6症例)の検体を用いて、遺伝子発現量の比較を行った所、抗原刺激後18時間目の検体でS群全員が2倍以上発現上昇(vehicle control に比して)し、D群で誰も2倍以上上昇しない遺伝子は12見いだされ、SH3-domain を持つ分子Xが最も発現レベルが高かった。

一方、5日間培養後の検体の解析では、S群全員が2倍以上発現上昇し、D群で誰も2倍以上上昇しない遺伝子としてIDO-1が抽出された。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。

### 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

に検索した。

### B. 研究方法

国立病院機構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50症例)の末梢血単核細胞を採取し、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 $\mu$ g/ml)および卵白アルブミン抗原(200 $\mu$ g/ml)を添加し、18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。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120時間後の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、経口免疫療法の経過によって分類した群間での比較を行った。

国立病院機構相模原病院での経口免疫療法開