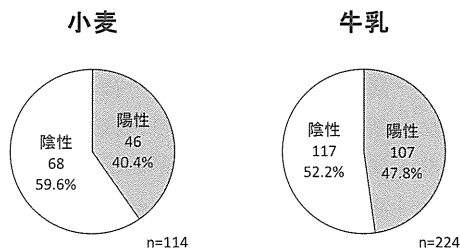
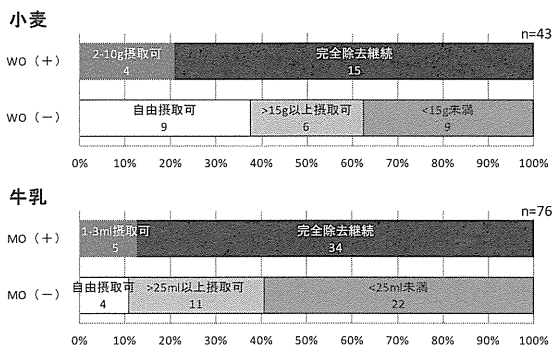


であった。微量負荷試験の陽性率は小麦 40.4%、牛乳 47.8%であった。



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

加熱鶏卵の早期部分摂取を試み、小麦・牛乳では微量負荷試験を経て微量の加工品を摂取できるように導き完全除去を中止できた。

いずれの抗原でも微量摂取することにより耐性獲得に繋がる可能性が示唆された。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・g/ml) および卵白アルブミン抗原(200・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。

国立相模原病院での経口免疫療法開始 6 カ月後の経過から、対象者を、急速期の増量の可否及び

緩徐期の減量の有無で4群に分類した。(表1参照)

表1 牛乳摂取量の推移からみた患児の免疫応答性の分類

	急速相	緩徐相	脱感作	寛容
A群	○	○	○	○
B群	×	○	×	○
C群	○	×	○	×
D群	×	×	×	×

C. 研究結果

今回、3年間の合計で7例が何らかの原因で中途脱落し、結果43例の臨床経過が明らかとなった。臨床経過は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(脱落を除いた有効率74.4%)。

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indoleamine 2,3-dioxygenase 1(IDO1)が抽出された。IDO1は主として樹状細胞、単球、マクロファージに発現し、D-トリプトファン、L-トリプトファン、5-ヒドロキシトリプトファン、トリプタミン、セロトニンといった複数のトリプトファン基質を強力に分解してキヌレニン合成し、微小環境からトリプトファンを枯渇させる。そのため、T細胞の活性化を抑制し、免疫調節作用を発揮するとされている。このことから、IDO1の抗原特異的な発現亢進は抗原特異的T細胞の活性化を抑制することで経口免疫療法の作用発現に関与する可能性が示唆された。

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。

D. 考察

急速期および緩徐期の経過から、4群に分類された症例の経口免疫療法の作用機序として図1に示すマスト細胞/好塩基球の脱感作および制御性T細胞応答の誘導が推察された。

著効群でのみ誘導された遺伝子群には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、①全症例を対照にこれらの遺伝子の発現量をqPCR法を用いて定量する、②抗原特異性を検討するために、抗原刺激と同時に作成したconcanavalin A(Con A)刺激サンプルを利用して候補遺伝子群の発現を検討する、③卵による経口免疫療法を行った患児の末梢血をLPS除去卵白抗原で刺激し、候補遺伝子群の変動が牛乳と同じような意義があるかを検討すると同時に、有効性を決定する機序についても考察する予定である。

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) Horimukai K, Hayashi K, Tsumura Y, Nomura I, Narita M, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Total serum IgE level influences oral food challenge tests for IgE-mediated food allergies. *Allergy* 2015;70:334-7.
- 2) Shoda T, Futamura K, Kobayashi F, Saito H, Matsumoto K, Matsuda A. Expression of thymus and activation-regulated chemokine (TARC) by human dermal cells, but not epidermal keratinocytes. *J Dermatol Sci* 2014;76:90-5.
- 3) Matsumoto K, Saito H. Eczematous sensitization, a novel pathway for allergic sensitization, can occur in an early stage of eczema. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:865-6.
- 4) Matsumoto K, Izuhara K. The "long and winding

- road” to our goal of primary prevention of allergic diseases. *Allergol Int* 2014;63:1-2.
- 5) Matsumoto K. [Antenatal exposure of several factors and development of allergic diseases in offspring]. *Arerugi* 2014;63:737-42.
 - 6) Horimukai K, Morita K, Narita M, Kondo M, Kitazawa H, Nozaki M, Shigematsu Y, Yoshida K, Niizeki H, Motomura K, Sago H, Takimoto T, Inoue E, Kamemura N, Kido H, Hisatsune J, Sugai M, Murota H, Katayama I, Sasaki T, Amagai M, Morita H, Matsuda A, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. Application of moisturizer to neonates prevents development of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2014;134:824-30.
 - 7) Ando T, Xiao W, Gao P, Namiranian S, Matsumoto K, Tomimori Y, Hong H, Yamashita H, Kimura M, Kashiwakura J, Hata TR, Izuhara K, Gurish MF, Roers A, Rafaels NM, Barnes KC, Jamora C, Kawakami Y, Kawakami T. Critical role for mast cell stat5 activity in skin inflammation. *Cell Rep* 2014;6:366-76.
 - 8) Shoda T, Futamura K, Kobayashi F, Saito H, Matsumoto K, Matsuda A. Cell type-dependent effects of corticosteroid on periostin production by primary human tissue cells. *Allergy* 2013;68:1467-70.
 - 9) Nakae S, Morita H, Ohno T, Arae K, Matsumoto K, Saito H. Role of interleukin-33 in innate-type immune cells in allergy. *Allergol Int* 2013;62:13-20.
 - 10) Morita H, Unno H, Arae K, Ohno T, Saito H, Matsumoto K, Nakae S. [Role of IL-25 and IL-33 in allergic diseases]. *Arerugi* 2013;62:924-35.
 - 11) 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 H, Matsumoto K. Antigen-specific T-cell responses in patients with non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy are predominantly skewed to T(H)2. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:590-2.
 - 12) Morita H, Nomura I, Matsuda A, Saito H, Matsumoto K. Gastrointestinal food allergy in infants. *Allergol Int* 2013;62:297-307.
 - 13) Matsumoto K, Saito H. Epicutaneous Immunity and onset of allergic diseases - Per-eczema-tous sensitization drives the allergy march. *Allergol Int* 2013;62:291-6.
 - 14) Kojima R, Matsuda A, Nomura I, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Salivary cortisol response to stress in young children with atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol* 2013;30:17-22.
 - 15) Kojima R, Fujiwara T, Matsuda A, Narita M, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Factors associated with steroid phobia in caregivers of children with atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol* 2013;30:29-35.
 - 16) Valent P, Klion AD, Rosenwasser LJ, Arock M, Bochner BS, Butterfield JH, Gotlib J, Haferlach T, Hellmann A, Horny HP, Leiferman KM, Metzgeroth G, Matsumoto K, Reiter A, Roufosse F, Rothenberg ME, Simon HU, Sotlar K, Vandenberghe P, Weller PF, Gleich GJ. ICON: Eosinophil Disorders. *World Allergy Organ J* 2012;5:174-81.
 - 17) Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. Interleukin-33 in allergy. *Allergy* 2012;67:1203-14.
 - 18) Nomura I, Morita H, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies: distinct differences in clinical phenotype between Western countries and Japan. *Curr Allergy Asthma Rep* 2012;12:297-303.
 - 19) Morita H, Arae K, Ohno T, Kajiwarana N, Oboki K, Matsuda A, Suto H, Okumura K, Sudo K, Takahashi T, Matsumoto K, Nakae S. ST2 requires Th2-, but not Th17-, type airway inflammation in epicutaneously antigen-sensitized mice. *Allergol Int* 2012;61:265-73.
 - 20) 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. Histamine-releasing factor has a proinflammatory role in mouse models of asthma and allergy. *J Clin Invest* 2012;122:218-28.
2. 学会発表
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

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（含む多施設経口免疫療法）の研究—

研究分担者 今井 孝成 昭和大学病院小児科

研究協力者

小倉 聖剛	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	藤澤 隆夫	国立病院機構三重病院
佐藤 さくら	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	近藤 康人	藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科
柳田 紀之	国立病院機構相模原病院小児科	村上 洋子	国立病院機構福岡病院小児科
海老澤 元宏	国立病院機構相模原病院臨床研究センター	内田 理	国立病院機構横浜医療センター小児科
川本 典生	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学講座	池田 政憲	国立病院機構福山医療センター小児科
伊藤 浩明	あいち小児保健医療総合センターアレルギー科		

研究要旨

事前の食物経口負荷試験(OFC)で明らかな症状を認めた軽症～中等症の鶏卵、牛乳、小麦、食物アレルギー(FA)児に、自宅で摂取量を漸増する緩徐法にて経口免疫療法(OIT)を実施した。目標量の加熱全卵1個、牛乳100-200ml、うどん100-200gまで漸増後に維持期間を経て、原因食物を2週間除去した上でのOFC(確認試験)で耐性獲得状況を判定した。一方、OIT希望がない児は対照群として自然経過での耐性獲得を追跡した。相模原病院において2009～2012年までに鶏卵86名、牛乳76名、小麦59名の計221名がOITを実施した。誘発症状の頻度は中等症以上が鶏卵1.03%、牛乳2.66%、小麦2.05%で、摂取回数辺りのアドレナリン(ADR)投与率は鶏卵0.02%、牛乳0.04%、小麦0.01%であった。1～3年後までの耐性獲得率は鶏卵60.5/76.5/83.3%、牛乳26.3/58.3/65.7%、小麦52.5/72.7/88.0%であった。対照群では鶏卵48.1/75.0/79.2%、牛乳20.0/29.4/35.3%、小麦9.1/37.5/53.8%で、OIT群と対照群の比較では牛乳の2-3年目と小麦の1-3年目において、耐性獲得率に統計学的有意差($p<0.05$)を認めた。

このエビデンスを元に2013年1月より対象を中等症のFA児に限定して、多施設共同研究として緩徐OITを開始した。さらにOITの摂取量と治療効果の関連性を明らかにするために、耐性化目標量を加熱全卵1個、牛乳100ml、うどん100gとし、OIT群の自宅摂取量の上限を耐性化目標量の100%量(A群)と25%量(B群)の2群に無作為化して割り付けた。2012年12月～2014年3月までにOIT群114名(鶏卵60名、牛乳28名、小麦26名)が解析対象として登録された。OITを希望しなかった児8名(鶏卵5名、牛乳2名、小麦1名)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。登録から1年が経過した多施設OIT群84名(鶏卵40名、牛乳22名、小麦22名)を中間解析した結果、1年間の治療終了が69名(鶏卵33名、牛乳16名、小麦20名)、中止が15名(鶏卵7名、牛乳6名、小麦2名)であった。OIT群における中等症以上の症状出現率は、鶏卵0.89%、牛乳1.13%、小麦1.65%で、ADR投与率は鶏卵0.00%、牛乳0.06%、小麦0.00%であった。目標量到達率は開始1年で鶏卵67.5%(27/40名)、牛乳54.5%(12/22名)、小麦86.4%(19/22名)、耐性獲得率は鶏卵27.5%(11/40名)、牛乳13.6%(3/22名)、小麦36.4%(8/22名)であった。一方、無介入群で1年経過を終えた5名は全例1年後のOFCが陽性で、多施設OIT群67.0%(58/84名)と比較し、1年目時点の目標到達率(脱感作+耐性獲得)は統計学的有意差を認めた($p=0.004$)。最も重要な検討項目であるA群・B群間の比較では1年目の耐性獲得率、症状誘発率や治療中止割合に統計学的有意差($p<0.05$)を認めなかった。

中等症以下のFA児に対する緩徐OITは、重篤な誘発症状の頻度も低く、無介入に比べ多くの症例で脱感作や耐性獲得を誘導する可能性が示された。しかし稀にOIT中(特に牛乳)の症状誘発のリスクがあるため専門施設で症状出現時の対応も万全に安全に実施すべき研究的な治療と捉えるべきである。多施設研究の中間解析からは、耐性化目標量の1/4程度の摂取でも一定の耐性獲得を誘導できる可能性が示唆された。あと一年で最終的な解析が可能となるので結論を確定できると考えている。

A. 研究目的

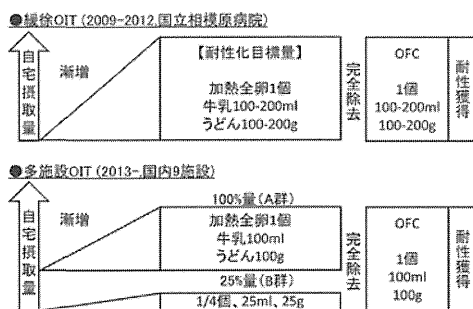
2009 より中等症以下の鶏卵、牛乳、小麦の食物アレルギー (FA) 児に対し、緩徐法で経口免疫療法 (OIT) を行い耐性獲得誘導の可能性を検証した。また、2013 年からは多施設研究として、自宅摂取量を 2 群に分け、摂取量と治療効果の関連性も検証している。

B. 研究方法

食物経口負荷試験 (OFC) にて明らかな陽性症状を呈した FA 児を対象に緩徐法の OIT を実施した。OIT 群の耐性獲得は原因食物を 2 週間除去した上での OFC (確認試験) で判定した。

1) 2009~2012 年には国立相模原病院で適応のあった軽症~中等症の FA 児 290 名のうち、OIT を希望した 221 名 (鶏卵 86 名、牛乳 76 名、小麦 59 名) が目標量を加熱全卵 1 個、牛乳 100-200ml、うどん 100-200g とした従来法 (自宅摂取量の上限と耐性化目標量が等しい) による OIT を実施した。OIT を希望しなかった児 69 名 (鶏卵 27 名、牛乳 20 名、小麦 22 名) は対照群として自然経過での耐性獲得状況を追跡した。

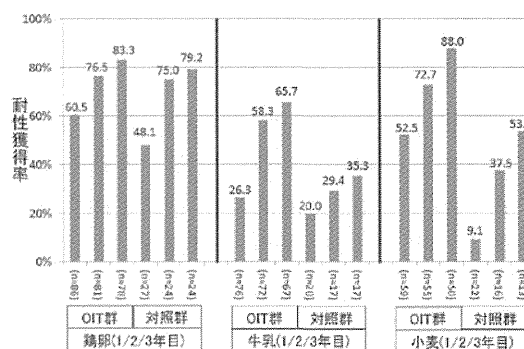
2) 2013 年からは中等症の FA 児のみを対象とし、国内 9 施設の多施設共同研究にて OIT を実施した。適応のあった児 122 名のうち、114 名 (鶏卵 60 名、牛乳 28 名、小麦 26 名) が耐性化目標量を加熱全卵 1 個、牛乳 100ml、うどん 100g とする多施設 OIT を希望した。残りの 8 名 (鶏卵 5 名、牛乳 2 名、小麦 1 名) は無介入群として自然経過での耐性獲得を確認した。多施設 OIT では、自宅摂取量の上限を耐性化目標量の 100% 量 (A 群) と 25% 量 (B 群) に無作為化して割り付けた。



C. 研究結果

1) 2012 年までの緩徐 OIT 群の患者背景 (中央値) は、平均年齢: 鶏卵 7 歳、牛乳 7 歳、小麦 5 歳、抗原特異的 IgE 値 (Ua/ml): 卵白 25.1、牛

乳 21.7、小麦 28.1 で、OFC での客観症状誘発閾値: 29.7g、牛乳 43.8ml、小麦 (うどん換算) 28.1g であった。中等症以上の症状誘発率は鶏卵 1.03%、牛乳 2.66%、小麦 2.05% で、アドレナリン (ADR) 投与率は鶏卵 0.02%、牛乳 0.04%、小麦 0.01% であった。1~3 年後までの耐性獲得率は、OIT 群で鶏卵 60.5/76.5/83.3%、牛乳 26.3/58.3/65.7%、小麦 52.5/72.7/88.0% であった。一方、対照群は鶏卵 48.1/75.0/79.2%、牛乳 20.0/29.4/35.3%、小麦 9.1/37.5/53.8% で、OIT 群と対照群の比較については牛乳の 2-3 年目と小麦の 1-3 年目において、耐性獲得率に統計学的有意差 ($p < 0.05$) を認められた。



2-1) 2013 年以降の多施設 OIT は現在進行中であり、登録から 1 年が経過した OIT 群の児 84 名 (鶏卵 40 名、牛乳 22 名、小麦 22 名) を中間解析した結果、1 年間の治療終了が 69 名 (鶏卵 33 名、牛乳 16 名、小麦 20 名)、中止が 15 名 (鶏卵 7 名、牛乳 6 名、小麦 2 名) であった。多施設 OIT 群の患者背景 (中央値) は、平均年齢: 鶏卵 6 歳、牛乳 6 歳、小麦 5 歳、抗原特異的 IgE 値 (Ua/ml): 卵白 26.9、牛乳 29.9、小麦 29.9 で、OFC での症状誘発閾値は 15.0g、牛乳 13.8ml、小麦 (うどん換算) 13.0g であった。多施設 OIT 群の 1 年後の耐性獲得率を下表に示す。

OIT群(A・B)	鶏卵	牛乳	小麦
耐性獲得	27.5% (11/40)	13.6% (3/22)	36.4% (8/22)
脱感作状態	40.0% (16/40)	40.9% (9/22)	50.0% (11/22)
少量摂取	12.5% (5/40)	18.2% (4/22)	4.5% (1/22)
中止	20.0% (8/40)	27.3% (6/22)	9.1% (2/22)

鶏卵の総摂取回数辺りの症状出現率は中等症以上 0.89% で、ADR は 0.00% であった。1 年後の

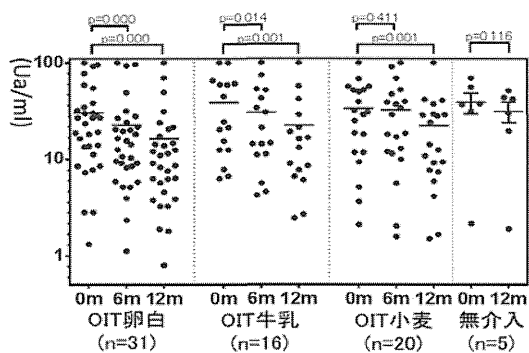
摂取状況は、耐性獲得 27.5%(11/40 名)、脱感作 40.0%(16/40 名)、少量摂取 12.5%(5/40 名)、中止 20.0%(8/40 名)であった。

牛乳の中等症以上の症状出現率は 1.13%で、治療は ADR0.06%であった。1年後の摂取状況は、耐性獲得 13.6%(3/22 名)、脱感作 40.9%(9/22 名)、少量摂取 18.2%(4/22 名)、中止 27.3%(6/22 名)であった。ADR 4 例のうち 2 例がアナフィラキシーであった。

小麦の中等症以上の症状出現率は 1.65%で、治療は ADR0.00%であった。1年後の摂取状況は耐性獲得 36.4%(8/22 名)、脱感作 50.0%(11/22 名)、少量摂取 4.5%(1/22 名)、中止 9.1%(2/22 名)であった。

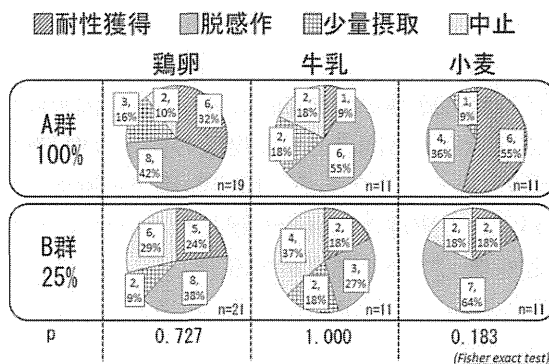
2-2) 多施設 OIT 群と無介入群の比較

中間解析の時点で1年後のOFCを実施した無介入群の児は 5 名(鶏卵 2 名/牛乳 2 名/小麦 1 名)すべてが 1 年後の OFC 陽性であった。多施設 OIT 群 84 名との比較では、目標到達率(脱感作+耐性獲得)67.0%(58/84 名, $p=0.004$)、耐性獲得率 26.2%(22/84 名 $p=0.327$)であった。また、1年後の特異的 IgE 値は無介入群で有意差を認めなかったが、OIT 群では有意な低下を認めた。



2-3) 多施設 OIT : A・B 群間の比較

多施設 OIT、1 年後の耐性獲得率に関する A・B 群間の検討では、鶏卵が A 群 32%(6/19 名) : B 群 24%(5/21 名), ($p=0.727$)、牛乳が A 群 9%(1/11 名) : B 群 18%(2/11 名), ($p=1.000$)、小麦が A 群 55%(6/11 名) : B 群 18%(2/11 名), ($p=0.183$)、合計で A 群 31.7%(13/41 名) : B 群 20.9%(9/43 名), ($p=0.324$)であった。



症状誘発・摂取困難による中止率の検討(FA と関連しない中止 3 件を除く)では、3 抗原合計で A 群 9.8%(4/41 名) : B 群 20.9%(9/43 名), ($p=0.229$) と統計学的有意差は認めなかった。また、OIT 中の症状誘発率・治療状況についても中等症以上が A 群 1.2%(153/12939 回) : B 群 1.1%(130/11498 名), ($p=0.379$)、治療率が A 群 2.8%(359/12939 回) : B 群 1.8%(209/11498 回), ($p=0.362$)で、統計学的有意差を認めなかった。

D. 考察

軽症または中等症の鶏卵、牛乳、小麦 FA 児に対する緩徐 OIT は、多くの児で目標量の原因食物を症状なく摂取できる脱感作状態に誘導できた。また、年単位の治療経過では自然経過と比べて早期に耐性獲得を誘導する可能性も示唆された。抗原別には小麦>鶏卵>牛乳の順で耐性獲得率が高かった。中等症以上の症状誘発の頻度は少ないものの、ADR 投与率は牛乳が他と比べて高い結果であった。また、従来の OIT 手法では耐性化目標量と同量まで摂取量を増量することが耐性獲得に必要と考えられていたが、多施設研究の中間解析からは少量摂取の維持でも一定の耐性獲得を誘導する可能性が示唆された。

E. 結論

今回、耐性化目標量の 1/4 量を上限として自宅摂取を行った多施設 B 群の手法においても A 群と同等の耐性獲得が期待できたことは興味深い結果である。少ない摂取量で一定の耐性獲得誘導が期待でき、かつ治療中止や症状誘発のリスクに差が無いとなれば、少量で維持した方が自宅摂取での負担低減に繋がるメリットがある。多施設 OIT については今後、症例を追加して最終報告をまとめる。

また、OIT では稀に重篤な症状を誘発する可能

性が否定できず、専門医や救急医療機関での対応が不可欠である。脱感作状態と確認試験陰性（暫定的な耐性獲得）は臨床的に異なり、原因食物の除去を解除する際は必ず安全性の検証（例：確認試験）も行うべきである。臨床の場で不適切な手法が安易に実施され事故を起こさないよう、注意喚起を促していく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 負荷試験結果に基づく摂取開始量の設定

最終負荷量	摂取を開始する量				
	陰性 0	グレード 1 TS 1~9	グレード 2 TS 10~19	グレード 3 TS 20~29	グレード 4 TS 30~
20 g	20 g	10 g	5 g	2 g	
10 g	10 g	5 g	2 g		
5 g	5 g	2 g	除去の継続		
2 g	2 g	除去の継続 (経口免疫療法)			

表 2. 対象者の背景

人数	鶏卵 129人	牛乳 83人	小麦 59人	
年齢 中央値(幅)	3.2 (0.9-18.8)	3.7 (0.5-16.3)	2.2 (1.0-10.7)	
性別 (男 : 女)	85:44	57:26	36 : 23	
特異的IgE抗体価 中央値(幅)U/ml	卵白:7.07 (0.38-100)	牛乳:7.24 (0.44-89.4)	小麦:8.42 (0.36-100)	
	OVm: 3.24 (0.34-100)	カゼイン:6.87 (0.34-100)	ω-5 G:0.66 (0.34-43.5)	
合併食物 アレルギー	牛乳:30.2%	鶏卵:69.9%	鶏卵:81.4%	
	小麦:13.2%	小麦:16.9%	牛乳:64.4%	
	その他:13.2%	その他:12.0%	その他:13.5%	
AD合併	86人	52人	46人	
BA合併	19人	12人	11人	
摂取開始 指示量	2 g	66人	44人	20人
	5 g	45人	22人	21人
	10 g	18人	17人	18人

C. 研究結果

ASCA を用いた誘発症状の評価は、観察者の主観が比較的入りにくく、経口負荷試験の現場で使用しやすいものであった。

各食品において、フルドーズ（鶏卵 1 個、牛乳 200ml、うどん 200g、3 歳未満はその半量）に到達した人数割合を評価した（図 2）。2 年後におけるフルドーズ到達率は、鶏卵 53.5%、牛乳 49.2%、小麦 83.0%であった。一方、定量摂取の中断、又は鶏卵 1/10 個、牛乳・うどん 5g 以下の摂取に留まっている「脱落」率は、2 年後で鶏卵 31.4%、牛乳 19.7%、小麦 6.4%であった。鶏卵と牛乳において、脱落例の多くは 2g 摂取開始者であった。

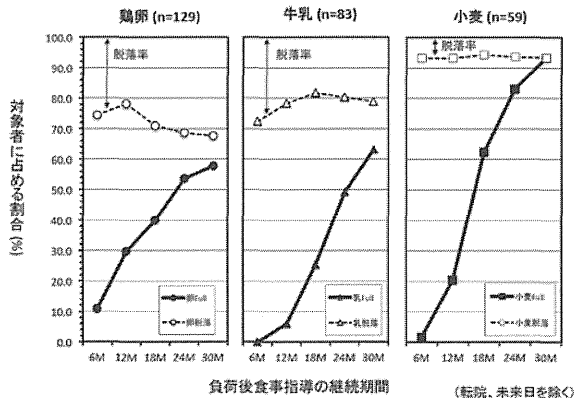


図 2. フルドーズ到達率

D. 考察

経口負荷試験の評価から、アレルゲン食品を定量的に摂取開始して、安全性を確認しながら解除に導く食事指導の方法を確立した。その結果、指導対象者のうち鶏卵と牛乳で約半数、小麦は 80%以上の症例が 2 年後にはフルドーズに到達した。しかし、鶏卵と牛乳の 2g 摂取開始者では、フルドーズ到達率の低さと脱落率の高さが明らかとなり、摂取開始量 2g という基準は、「食事指導」で解除を進める限界であることが示唆された。

この指導において、安全な定量摂取量が確認できれば、それを超えない量のアレルゲンを含有する加工食品を許可する方針とした（図 3）。これを用いることによって、医師が摂取可能なアレルゲンの量を指示し、管理栄養士が摂取可能な加工食品を指導するチーム医療が実現できた。



図 3 定量摂取基準に基づく加工食品の解除

定量摂取ができない患児保護者に対しては、加工食品の摂取に頼るオプションを選択せざるを得ない。しかし、それだけでは鶏卵 1/4 個、牛乳 50ml を超える摂取は不可能であり、結果的に 2 年経過しても少量摂取に留まって、除去解除を確認するには至らないことも明らかとなった。

この結果は、より重症者を対象とした経口免疫療法のフルドーズ到達率と比較すると、むしろ劣

っている。それは、経口免疫療法は厳しいプロトコールを遂行する強い意志と能力を持つ対象者を厳選して行っているのに対し、食事指導は症例を選択しないリアルな臨床現場の成績を示したものの、という点に決定的な違いがある。

E. 結論

食物アレルギーの診療ツールとして、経口負荷試験における重症度評価基準、及び除去解除を進める食事指導の適応基準と、その方法を確立した。

この食事指導を実施するための具体的な指導書「おいしく治す食物アレルギー攻略法」を、第31回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会の記念誌として出版した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ito K. Diagnosis of food allergies: the impact of oral food challenge testing. *Asia Pacific Allergy* 3; 59-69, 2013.
- 2) 小林貴江、漢人直之、羽根田泰宏、安井正宏、前田徹、榎村春江、小田奈穂、伊藤浩明：食物経口負荷試験の結果に基づくアレルゲン食品摂取指導（第1報），日本小児アレルギー学会誌，27(2)，179-187，2013
- 3) 日野明日香、前田徹、安井正弘、漢人直之、伊藤浩明：食物経口負荷試験における新たなスコアリングシート”Anaphylaxis Scoring Aichi (ASCA)”の提案と検討，アレルギー，62(8)，968-979，2013
- 4) 小林貴江、漢人直之、羽根田泰宏、安井正宏、前田徹、日野明日香、榎村春江、小田奈穂、伊藤浩明：鶏卵経口負荷試験陽性者に対する除去解除を目指した食事指導（第2報）．日本小児アレルギー学会誌，27(5)，692-700，2013
- 5) 小田奈穂、榎村春江、小林貴江、漢人直之、伊藤浩明：牛乳アレルギーにおける除去解除のための食事指導（第3報）．日本小児アレルギー学会誌，27(5)，701-709，2013
- 6) 榎村春江、小田奈穂、小林貴江、漢人直之、和泉秀彦、伊藤浩明：タンパク質換算を用いた小麦アレルギー患者への除去解除指導（第4報）．日本小児アレルギー学会誌，27(5)，710-720，2013
- 7) 伊藤浩明監修：おいしく治す食物アレルギー攻略法．第31回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会記念出版

2. 学会発表

- 1) Ito K, Hino A, Kando N et al. Establishment of a new symptom scoring system to use in an oral food challenge or oral immunotherapy. EAACI 2012, Geneva, 2012. 6. 18
- 2) Kobayashi T, Kando N, Ito K. Diet instructions

to increase the tolerated dose of an allergenic food for patients with non-anaphylactic food allergy. EAACI 2012, Geneva, 2012. 6. 17

- 3) Ito K, Kando N, Hino A. Quantitative evaluation of the provoked symptoms during oral food challenge using Anaphylaxis Scoring Aichi (ASCA). Food Allergy and Anaphylaxis Meeting 2013. Nice, 2013. 2. 7-9
- 4) 松井照明、伊藤浩明他：食物負荷試験陰性例における最終負荷量の自宅摂取での安全性について．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) 中川朋子、伊藤浩明他：食物経口負荷試験後1g摂取開始指導の検討．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) Sugiura A, Ito K et al: Development of a prediction model of severe reaction in oral food challenge. FAAM 2014. Dublin, 2014. 10. 9-11.
- 7) 杉浦至郎、伊藤浩明他：牛乳経口負荷試験の誘発リスクに影響する因子の検討．第51回日本小児アレルギー学会．四日市、2014. 11. 8
- 8) 榎村春江：除去食解除のための食事指導．第51回日本小児アレルギー学会．四日市、2014. 11. 8
- 9) Ito K: Management of food allergies: Dietary instruction and oral immunotherapy. International Pediatric Allergy Symposia. 四日市、2014. 11. 8.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

研究分担者 近藤 直実 岐阜大学 名誉教授 / 平成医療短期大学 学長
 研究協力者 川本 典生 岐阜大学医学部附属病院小児科 併任講師
 松井 永子 岐阜大学医学部附属病院小児科 臨床准教授
 金子 英雄 国立病院機構長良医療センター臨床研究部 部長
 大西 秀典 岐阜大学医学部附属病院小児科 講師
 加藤 善一郎 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 教授

研究要旨

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。平成 24 年度から 26 年度にかけて、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。家族歴のうち、アトピー性皮膚炎の家族歴と食物アレルギーの家族歴が、本人の食物アレルギーと関連することが多かった。また、平成 24 年度から 26 年度にかけて、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、その経口免疫療法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。

A. 研究目的

免疫学的改変食品による治療法を確立することと、食物アレルギーの新規予知診断法の開発を目的とする。

B. 研究方法

(1) 免疫療法（経口免疫寛容誘導）の開発

食物アレルギーの免疫学的改変食品による治療法の検討をすすめた。免疫学的改変食品を用いて、食物アレルギーに対して経口免疫寛容を誘導する免疫療法を行った。牛乳のβラクトグロブリンにおいて、抗原エピトープを修飾した新規食材を作成し、経口免疫療法を行った経験から、カゼインについても、抗原エピトープを修飾した新規食材を作成して、牛乳アレルギー患者に投与して、その前後の臨床データと経過を追跡した。(図 1) (倫理面への配慮)

本研究は倫理審査委員会で承認を得て、患者あるいは保護者の同意を得て、個人情報保護などに十分配慮して行った。

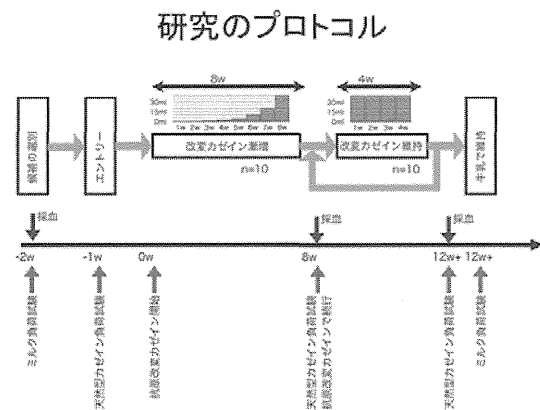
(2) 食物アレルギーの感作発症予知

健診の参加者を対象に、追跡して食物アレルギー発症の有無について調査し、家族歴と食物アレルギーの関係を検討した。

C. 研究結果

(1) 免疫療法（経口免疫療法）の開発

経口免疫療法について平成 24 年度から平成 26 年度にかけて免疫学的改変食品（抗原エピトープを修飾した新規食材）を投与して経過を追った。カゼインの抗原改変食品については B 細胞反応性を検証し、反応しないもののうち、T 細胞の反応が強いものを作成した。牛乳アレルギー患者について、天然型カゼインに反応した者に対して、経口免疫療法を施行した (図 1)。



<図 1> 経口免疫療法のプロトコル

現在のところ抗原改変カゼインを 13 例に使用を開始し、現時点で、8 例においてカゼイン負荷試験の閾値が上昇した。(表 1) また、5 例で

は、その後、負荷を継続することができ、牛乳に切り替えて継続ができています。2例が口腔違和感で脱落し、2例が食物依存性運動誘発アナフィラキシー (FDEIA) 様の症状を呈したが、いずれも保存的治療にて軽快した。残り2例が現在も漸増期のプロトコルを実施中である。

やアレルギー性鼻炎の家族歴のほとんどは有意な関連を認めなかった。3歳の食物アレルギーについても同様の結果を示した。

<表2> 家族歴と3歳のFAの関係

○: 有意に関連有り / : 有意な関連なし

診察FA有 vs 無_3Y	アレルギー_3Y	BA歴_3Y	AD歴_3Y	FA歴_3Y	AR歴_3Y
家族	/	/	○	○	/
父母	○	○	○	○	/
父	/	/	○	○	/
母	/	/	○	○	/
兄弟	/	/	○	○	/
祖父母	/	/	○	/	/
父母兄弟	/	/	○	○	/
父母祖父母	○	○	○	○	/
父and母	/	/	○	○	/

<表1>

研究参加者の背景と現在の状況

ID	Age at entry	Threshold before escalation (mg)	Total IgE	MIU-RAST U/ml	MIU-RAST class	Threshold after escalation (mg)	Final dose of hydrolyzed casein	Current stage of OIT	Comment
1	6 yo	0.75 ml	1320	71.5	4	<5ml	>45ml	M45ml Milk 50mg	Allowed daily consumption of cow's milk
3	6 yo	0.75 ml	685	45.2	4	>5ml	>45ml	>45ml Milk 50mg	Allowed daily consumption of cow's milk
4	6 yo	3.75 ml	869	4.76	3	>15ml	>45ml	>45ml Milk 50mg	Allowed daily consumption of cow's milk
5	4 yo	0.75 ml	6100	>100	6	0.7ml	>420ml	M420ml Milk 20mg	Allowed daily consumption of cow's milk
6	4 yo	11 ml	1420	34.4	4	15ml	*		
7	5 yo	<0.25ml	804	88.8	5				FDEIA(+)
8	4 yo	1.75 ml	587	4.68	3	2.5ml	>120ml	M120ml Milk 35ml	Accepted oral dose in 100% of mouth at 4 months
9	6 yo	1.0 ml	650	5.18	3	3.0ml	*	2.0ml	Accepted oral dose in 100% of mouth at 4 months
11	7 yo	3.75 ml	666	59.00	5		*		Accepted oral dose in 100% of mouth at 4 months
12	14 yo	11 ml	721	16.10	3	15ml			FDEIA(+)
13	10 yo	0.25 ml	563	6.16	3	>3.75ml	7ml		History of anaphylaxis after entry
14	6 yo	5 ml	565	70.2	5	On going			
15	10 yo	9 ml	530	3.39	2	On going	7ml		History of anaphylaxis

FAの発症にはAD, AR, FAの家族歴が関係する。

検査では、Treg, Th1, Th2, IgE, IgG4、好酸球数などを投与前後で測定しているが、現在のところ、投与開始前に比して、漸増期の後または維持期の後では、4例でTregの増加、5例でTh1の増加の傾向がみられた。好酸球数は減少を示す症例が多かった。2例で特異的IgEが低下し、別の2例で特異的IgG4が上昇した(図2)。

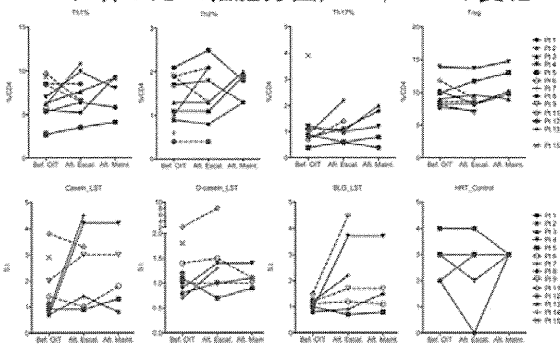
D. 考察, E. 結論

家族歴の検討においては、食物アレルギーと関連する項目として、家族のアトピー性皮膚炎と家族の食物アレルギーがあり、家族の気管支喘息は有意に関連する項目が少なかった。

免疫療法(経口免疫寛容誘導)については、牛乳アレルギーに対して、カゼインの免疫学的改変食品(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、一定の成績を得た。カゼインの免疫学的改変食品の漸増期の後または維持期の後に制御性T細胞の一つの重要な指標であるTregの比率や、Th1が増加傾向を示した症例があったこと、好酸球数が減少傾向を示したことなどは免疫寛容誘導の点から重要な意味を持つ。さらに即時型のアレルギー反応を示したと考えられる症例もみられており、HLAの違いやIgEエピトープの違いの有無など今後詳細な検討が必要であると考えている。

なお、食物アレルギー感作発症予知に関しては、遺伝子の分析も続けており、現在までのところ、IL-12, IL-4R, ADR β2, TGF βの遺伝子が関連の候補として挙がっており、さらに検討をすすめている。

OITに伴ったTh細胞分画, LST, HRTの変化



<図2> 経口免疫療法に伴った免疫学的変化

(2) 食物アレルギーの感作発症予知

健診で家族歴について調査を行い、食物アレルギーの発症と家族歴の関係についてロジスティック解析を行った(表2)。1歳半の食物アレルギーには食物アレルギーとアトピー性皮膚炎の家族歴の多くが有意な関連を認めた。気管支喘息

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kubota K, Ohnishi H, Teramoto T, Kawamoto N, Kasahara K, Ohara O, Kondo N. Clinical and

- Genetic Characterization of Japanese Sporadic Cases of Periodic Fever, Aphthous Stomatitis, Pharyngitis and Adenitis Syndrome from a Single Medical Center in Japan. *J Clin Immunol.* 34:584-593 (2014)
- 2) Yamamoto T, Tsutsumi N, Tochio H, Ohnishi H, Kubota K, Kato Z, Shirakawa M, Kondo N. Functional assessment of the mutational effects of human IRAK4 and MyD88 genes. *Mol Immunol.* 58: 66-76(2014)
 - 3) Tsutsumi N, Kimura T, Arita K, Ariyoshi M, Ohnishi H, Yamamoto T, Zuo X, Kondo N, Shirakawa M, Tochio H, Kato Z. The structural basis for receptor recognition of human interleukin-18. *Nat. Commun.* 5:5340 doi: 10.1038/ncomms6340 (2014)
 - 4) Kondo N, Kuwabara M, Matsui E, Kodama H, Kumada M, Kondo K, Nagata T, Toida S, Mishina H, Iwasaki J, Matsuno Y, Furuta Y, Shinoda A, Yoshizaki S, Tanaka C, Akita A, Taguchi K, Hirano K. Personalized Medicine for bronchial asthma and allergies. *Personalized Medicine Universe.* 3:11-14(2014)
 - 5) 近藤直実：食物アレルギー診療ガイドライン 2012. *日本医師会雑誌* 143：508-512 (2014)
 - 6) Kubota K, Ohnishi H, Teramoto T, Matsui E, Murase K, Kanoh H, Kato K, Kaneko H, Seishima M, Kondo N. In vitro analysis of the functional effects of an NLRP3 G809S variant with the co-existence of MEFV haplotype variants in atypical autoinflammatory syndrome. *J Clin Immunol.* 33: 325-334(2013)
 - 7) 近藤直実：IgE抗体産生のメカニズム：遺伝素因と環境の影響（特集 アレルギー疾患における特異抗体の意義）--（免疫学的側面）. *アレルギー・免疫* 20: 14-23 (2013)
 - 8) 近藤直実：アレルギー疾患に対する免疫療法の基礎的背景（特集 アレルギー疾患に対する免疫療法の効果と展望）. *臨床免疫・アレルギー科* 60: 161-168 (2013)
 - 9) 近藤直実, 小玉ひとみ, 熊田ますみ, 松野ゆかり：食物アレルギーの現状. *特集 日常生活とアレルギー*. *公衆衛生* 77：790-795 (2013)
 - 10) Ohnishi H, Teramoto T, Iwata H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Nishikomori R, Kaneko H, Seishima M, Kondo N. Characterization of NLRP3 variants in Japanese cryopyrin-associated periodic syndrome patients. *J Clin Immunol.* 32:221-229(2012)
 - 11) Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kubota K, Yamamoto T, Matsui E, Teramoto T, Fukao T, Kasahara K, Kondo N. Structural property of soybean protein P34 and specific IgE response to recombinant P34 in patients with soybean allergy. *Int J Mol Med.* 29:153-158(2012)
 - 12) Kawamoto N, Fukao T, Kaneko H, Hirayama K, Sakurai S, Arai T, Kondo M, Kawamoto M, Matsui E, Teramoto T, Kasahara K, Bai C, Zhang G, Omoya K, Matsukuma E, Morimoto M, Suzuki H, Aoki Y, Kimura T, Nada M, Morita H, Tokumi T, Takemura M, Seishima M, Shiraki M, Iwasa S, Kondo N. Risk factors for infantile atopic dermatitis and recurrent wheezing. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 22:116-125(2012)
 - 13) Nada M, Ohnishi H, Tochio H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Yamamoto T, Kamatari YO, Tsutsumi N, Shirakawa M, Kondo N. Molecular analysis of the binding mode of Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain proteins during TLR2 signaling. *Mol Immunol.* 52:108-116(2012)
 - 14) Ohnishi H, Tochio H, Kato Z, Kawamoto N, Kimura T, Kubota K, Yamamoto T, Funasaka T, Nakano H, Wong RW, Shirakawa M, Kondo N. TRAM is involved in IL-18 signaling and functions as a sorting adaptor for MyD88. *PLoS One* 7:e38423 (2012)
2. 学会発表
- 1) 木村 豪, 堤 尚孝, 有田恭平, 有吉眞理子, 大西秀典, 白川昌宏, 近藤直実, 朽尾豪人, 加藤善一郎：アレルギー、自己免疫、自己炎症疾患治療薬に向けた IL-18 受容体高次複合体の構造解析. *日本小児アレルギー学会（第 51 回）*（2014 年 11 月 9 日, 四日市）
 - 2) 近藤直実：SS7-2. 小児喘息の治癒を目指した新たな戦略—根治療法と対症療法の両輪療法. *日本アレルギー学会春季臨床大会（第 25 回）*（2013 年 5 月 11 日～12 日, 横浜）
 - 3) 金子英雄, 大西秀典, 川本典生, 寺本貴英, 松井永子, 加藤善一郎, 森田秀行, 加藤晴彦, 中埜拓, 近藤直実：P/0-203. 牛乳アレルギーにおける抗原改変 β -ラクトグロブリン作製と臨床応用の試み. *日本アレルギー学会春季臨床大会（第 25 回）*（2013 年 5 月 11 日～12 日, 横浜）
 - 4) 近藤直実：喘息・アレルギーのテーラーメイド医療. *日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会（第 30 回）*（2013 年 6 月 8 日～9 日, つくば市）
 - 5) 川本典生, 金子英雄, 大西秀典, 松井永子, 寺本貴英, 加藤善一郎, 上野 宏, 中埜 拓, 近藤直実：S5-4. 「食べて治す」免疫学的抗原改変食品の開発と治療法の確立. *日本アレルギー学会秋季学術大会（第 63 回）*（2013 年 11 月 28 日～30 日, 東京）
 - 6) 川本典生, 金子英雄, 桑原秀次, 大西秀典, 松井永子, 寺本貴英, 加藤善一郎, 上野 宏, 中埜拓, 近藤直実：MS15-4. 抗原改変カゼインを用いた牛乳アレルギーに対する経口免疫療法の免疫学的解析. *日本アレルギー学会秋季学術大会（第 63 回）*（2013 年 11 月 28 日～30 日, 東京）
 - 7) 川本典生, 金子英雄, 桑原秀次, 大西秀典, 松井永子, 寺本貴英, 加藤善一郎, 上野 宏, 中埜 拓, 近藤直実：O-90 牛乳アレルギーにおける, 抗原改変カゼインを用いた緩徐な経口免疫療法の開発その検討. *日本小児アレルギー学会（第 50 回）*（2013 年 10 月 19 日～20 日, 横浜）
 - 8) Norio Kawamoto, Hidenori Ohnishi, Naomi Kondo and Jack Strominger. The Role of Myeloid Cells in the Generation of Regulatory T cells Induced by Amino Acid Copolymers. *Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respiratory & Immunology* (2012 年 10 月 19 日～21 日, 台湾)
 - 9) Hidenori Ohnishi, Naotaka Tsutsumi, Takahiro

Yamamoto, Hidehito Tochio, Zenichiro Kato,
Kazuo Kubota, Masahiro Shirakawa and Naomi
Kondo. The Functional Assessments of
Mutational Effect of Human IRAK4 and MyD88 Gene
Asia Pacific Association of Pediatric Allergy,
Respirology & Immunology 2012 (2012年10月19
日～21日, 台湾)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

低アレルギー化食品による経口免疫療法の確立

研究分担者 宇理須 厚雄 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科
 柘植 郁哉 藤田保健衛生大学医学部小児科
 研究協力者 近藤 康人 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科
 中島 陽一 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科
 犬尾 千聡 藤田保健衛生大学医学部小児科

研究要旨

近年、食物アレルギーに対するアレルギー特異的経口免疫療法が注目され、有効性を示す報告が集積されつつあるが、安全性や効果の永続性など解決すべき課題は多い。我々は、より安全な経口免疫療法の確立を目指して、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。

鶏卵アレルギーに対しては、アトピー性皮膚炎乳幼児 51 例を対象にオボムコイド減量ベビーフードによる負荷試験を行って、オボムコイド減量加熱鶏卵のハイリスク乳児における安全性を確認した。結果は、48 例 (94%) が陰性で、陽性は 3 例 (6%) であったが、陽性例はいずれも顔面に紅斑が 1 個出現したのみと軽症であり、3 か月以内の再検により陰性化を確認している。さらに継続摂取による、鶏卵アレルギーの予防を検討中である。

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 20 g 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、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。

A. 研究目的

食物アレルギー患者に、安全かつ効率的にアレルギー特異的寛容を誘導することを目的に、以下①～③の低アレルギー化食品の経口摂取による免疫療法を試みる。

- ① 鶏卵アレルギーに対するオボムコイド減量加熱鶏卵
- ② 牛乳アレルギーに対する、ペプチドミルク
- ③ 魚アレルギーに対する、酵素処理魚エキス併せて、治療前後での各種免疫学的パラメータを解析して、成果を免疫療法の改良に供する。

B. 研究方法

- ① 鶏卵アレルギーに対するオボムコイド減量加熱鶏卵を用いた免疫療法

乳児におけるオボムコイド減量加熱鶏卵の鶏卵アレルギー発症予防効果を検討する前段階として、以下の方法で、ハイリスク乳児における安全性を確認した。

対象は、卵白未摂取で生後 9 ヶ月以降のアトピー

一性皮膚炎罹患乳幼児 51 名 (月齢 9-21 月中央値 11.5 月) を用いた。使用するベビーフードは、オボムコイド減量加熱全卵を含有する「すきやき風雑炊」(キューピー株式会社) を使用した。経口負荷試験はオープン法で、30 分毎に増量し、判定は、Sampson のグレード分類を使用した。

- ② 牛乳アレルギーに対する、ペプチドミルク (E 赤ちゃん) を用いた免疫療法

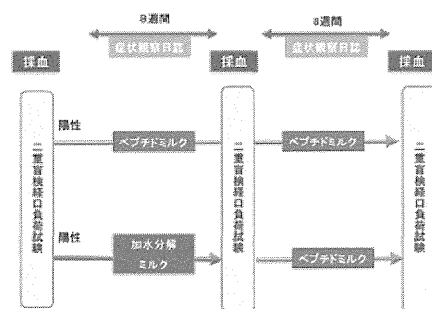


図1 牛乳アレルギー治療プロトコール

1 歳以上の、牛乳により即時反応が誘発される症例を対象に、加水分解乳 (MA-mi) をプラセボとする RTC を実施中である (図1)。併せて、経

口免疫療法施行前後に、アレルギー特異的 T 細胞の細胞質内サイトカインの測定、により寛容導入のメカニズムを検討した。

③ 魚アレルギーに対する、酵素処理魚エキスを
用いた免疫療法

魚肉の誘発域値が 20 g 以下の魚アレルギー患者を対象に、12 週間単位の酵素処理魚エキス 1 g の連続摂取を行い、安全性、有効性を確認した。すべての研究は藤田保健衛生大学倫理審査委員会承認され、文書で同意を得て行った。

C. 研究結果

① 鶏卵アレルギーに対するオボムコイド減量加熱鶏卵を用いた免疫療法

アトピー性皮膚炎乳幼児 51 例を対象にオボムコイド減量ベビーフードによる負荷試験を行った。結果は、48 例 (94%) が陰性で、陽性は 3 例 (6%) であったが、陽性例はいずれも顔面に紅斑が 1 個出現したのみと軽症であり、3 か月以内の再検により陰性化を確認している。

② 牛乳アレルギーに対する、ペプチドミルク (E 赤ちゃん) を用いた免疫療法

20 例 (男/女比; 13/7、年齢; 1.0-5.3 歳、中央値 4.0 歳) がエントリーし、調乳用ミルク (はぐくみ)、ペプチドミルク (E 赤ちゃん)、加水分解ミルク (MA-mi) を用いた 2 重盲検プラセボ対照負荷試験をおこなったところ、摂取可能量は調乳用ミルクに比しペプチドミルクが有意に高値であり、症状スコアから判定する発現症状は有意に軽度であった。加水分解ミルク (MA-mi) は全例 20ml 摂取可能であった。現在、ペプチドミルクの摂取可能量を用いた免疫療法を続行中である。

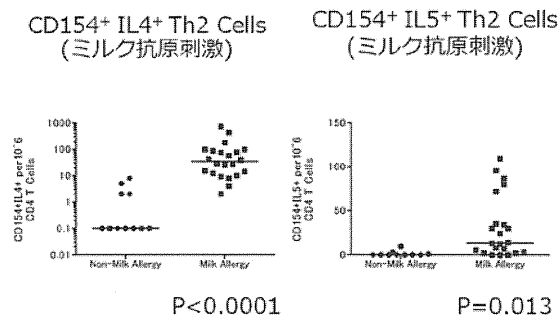


図 2 牛乳特異的 Th2 細胞がミルクアレルギーで増加する

免疫学的な解析では、活性化マーカー CD154 を用いた牛乳特異的 T 細胞の細胞質内サイトカイン

産生を検討し、牛乳アレルギー患者では、牛乳特異的 Th2 細胞が、非ミルクアレルギー対照に比し有意に増加すること (図 2)、IL-4 産生細胞と牛乳特異的 IgE との相関を認め (図 3)、現在免疫療法による推移を検討中である。

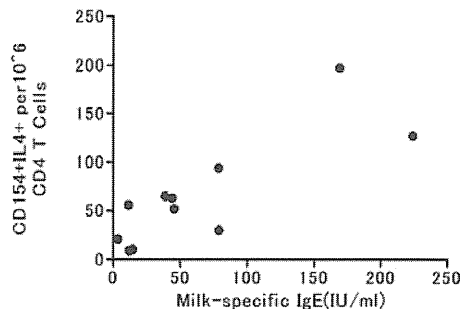


図 3 ミルク特異的 IL-4 産生細胞いと特異的 IgE との相関

③ 魚アレルギーに対する、酵素処理魚エキスを
用いた免疫療法

これまでに 5 例が免疫療法を終了し、5-12 か月の継続摂取により、目標量の魚肉 20 g の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。図 4 に症例 1 の経過を示した。

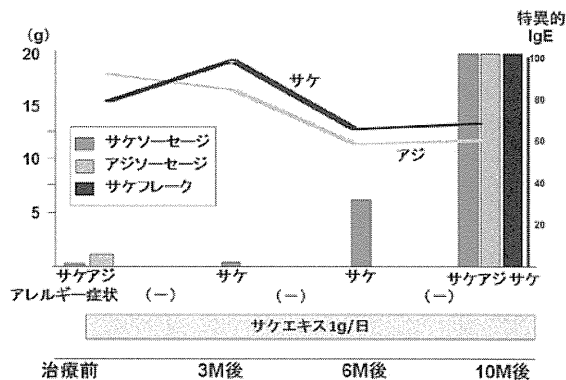


図 4 摂取可能積算量の推移 症例 1 11 歳女児

D. 考察

食物アレルギーの経口免疫療法は、通常、アレルギーをそのまま用いることが多く、副反応を避けるため少量より漸増させる方法がとられるが、緩徐に増量しても、稀ではあるが重篤な副反応を呈することがある。我々は数年来、低アレルギー化した鶏卵による免疫療法を行い、安全性、有効性を示してきたが、重症例での有効性に課題を残していた。

本研究では、低アレルギー化鶏卵を含む離乳食のハイリスク乳児における安全性を確認し、さらに、本製品の継続摂取による鶏卵アレルギー発症

予防効果を検討する予定であったが、研究開始には至らなかった。

また、本研究では、治療対象とするアレルゲンに牛乳、魚肉に拡大した。ペプチドミルク（E赤ちゃん）を用いた免疫療法のプラセボ対照試験では、20例がエントリーし継続中であるが、今年度中に終了し、効果を判定する予定である。酵素処理魚エキスをを用いた免疫療法は、症例数5例と少なく、有効性の証明には至っていないが、安全性はあきらかで、有効性も大いに期待できる結果であった。今後さらに症例数を増やし、また、治療期間を延長して、有効性を立証していく予定である。

E. 結論

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。未だ症例数や観察期間が少なく、有効性の証明には至っていないが、有望な結果が出始めている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura R, Ishiwatari A, Higuchi M, Uchida Y, Nakamura R, Kawakami H, Urisu A, Teshima R; Evaluation of the luciferase assay-based in vitro elicitation test for serum IgE. *Allergol Int.* 2012; 61: 431-7.
- 2) Watanabe S, Taguchi H, Temmei Y, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Urisu A, Teshima R; Specific detection of potentially allergenic peach and apple in foods using polymerase chain reaction. *J Agric Food Chem.* 2012; 7: 2108-15.
- 3) Urisu A, Tanaka K, Ogura K, Naruse N, Hirata N, Nakajima Y, Inuo C, Suzuki S, Ando H, Kondo Y, Tsuge I, Yamada K, Kimura, M. New approach for improving the safety of oral immunotherapy for food allergy. *Clin Exp Allergy Rev* 2012; 12:25-28.
- 4) Inuo C, Kondo Y, Itagaki Y, Kurihara K, Tsuge I, Yoshikawa T, Urisu A. Anaphylactic reaction to dietary oats. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013;110:305-6.
- 5) Nomura T, Tsuge I, Inuo C, Nakajima Y, Tanaka K, Naruse N, Suzuki S, Ando H, Kondo Y, Saitoh S, Urisu A. Effect of Japanese cedar specific immunotherapy on allergen-specific T(H)2 cells in peripheral blood. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013;110:380-385.
- 6) Nomura T, Tsuge I, Inuo C, Nakajima Y, Kondo Y,

Sugiura S, Murata H, Iguchi T, Terada A, Saitoh S, Hashimoto S, Urisu A. Food sensitization in Japanese infants is associated with a common Filaggrin variant. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013; 110:388-390.

- 7) Hirano K, Hino S, Oshima K, Okajima T, Nadano D, Urisu A, Takaiwa F, Matsuda T. Allergenic potential of rice-pollen proteins: expression, immuno-cross reactivity and IgE-binding. *J Biochem.* 2013;154:195-205.
- 8) Nakamura R, Nakamura R, Sakai S, Adachi R, Hachisuka A, Urisu A, Fukutomi Y, Teshima R. Tissue transglutaminase generates deamidated epitopes on gluten, increasing reactivity with hydrolyzed wheat protein-sensitized IgE. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 132:1436-8.
- 9) Tsuge I, Ito K, Ohye T, Kando N, Kondo Y, Nakajima Y, Inuo C, Kurahashi H, Urisu A. Acute eosinophilic pneumonia occurring in a dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) deficient patient. *Pediatr Pulmonol.* 2014 49:E52-5.
- 10) Tanaka K, Kondo Y, Inuo C, Nakajima Y, Tsuge I, Doi S, Yanagihara S, Yoshikawa T, Urisu A. Allergen analysis of sea urchin roe using sera from five patients. *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;164(3):222-7.

2. 学会発表

- 1) 小倉和郎、成瀬徳彦、平田典子、小松原亮、鈴木聖子、安藤仁志、近藤康人、宇理須厚雄、田中健一、中島陽一、犬尾千聡、柘植郁哉、漢人直之、伊藤浩明、エビアレルギーに対する経口負荷試験による検討. 第24回、日本アレルギー学会春季臨床大会、大阪、平成24年5月。
- 2) 野村孝泰、柘植郁哉、高松伸枝、田中健一、犬尾千聡、中島陽一、小倉和郎、成瀬徳彦、鈴木聖子、安藤仁志、近藤康人、宇理須厚雄、活性化マーカーCD154を指標とした牛乳アレルギー患者の抗原特異的T細胞解析. 第24回、日本アレルギー学会春季臨床大会、大阪、平成24年5月。
- 3) 宇理須厚雄、食物アレルギーの日常診療における特異的IgE検査の活用 食物アレルギーにおける抗原特異的IgE検査の種類と臨床応用. 第24回、日本アレルギー学会春季臨床大会、大阪、平成24年5月。
- 4) 中島陽一、近藤康人、大久保悠里子、田中健一、山脇一夫、成瀬徳彦、犬尾千聡、平田典子、鈴木聖子、柘植郁哉、宇理須厚雄、高松伸枝、箆島克裕、近藤智彦、板垣康治、低アレルゲン化した鮭エキスをを用いた魚アレルギーの経口免疫療法を行った一例. 第62回、日本アレルギー学会秋季学術大会、大阪、平成24年11月。
- 5) 成瀬徳彦、田中健一、平田典子、鈴木聖子、近藤康人、宇理須厚雄、大久保悠里子、山脇一夫、犬尾千聡、中島陽一、柘植郁哉、食物（鶏卵、牛乳、小麦、）アレルギーに対する緩徐漸増経口免疫療法の誘発反応の検討. 第62回、日本アレルギー学会秋季学術大会、大阪、平成24年11月。
- 6) 宇理須厚雄、総合アレルギー医育成コースー食物アレルギーガイドラインー、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会；横浜、平成25年5月。

- 7) 田中健一、成瀬徳彦、平田典子、鈴木聖子、近藤康人、宇理須厚雄、大久保悠里子、山脇一夫、犬尾千聡、中島陽一、柘植郁哉、小松原亮、百日咳を契機に発症したと考えられた咳喘息の1例、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、平成25年5月。
- 8) 中村亮介、中村里香、酒井信夫、安達 玲子、宇理須厚雄、福富友馬、手島玲子、小麦グルテンはトランスグルタミナーゼ処理により酸加水分解小麦と同様のIgE反応性を獲得する、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、平成25年5月。
- 9) 中島陽一、近藤康人、大久保悠里子、田中健一、山脇一夫、成瀬徳彦、犬尾千聡、平田典子、鈴木聖子、柘植郁哉、宇理須厚雄、高松伸枝、近藤智彦、中村厚、笹島克裕、板垣康治、低アレルゲン化した鮭エキスをを用いた魚アレルギーの経口免疫療法の試み、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、平成25年5月。
- 10) 犬尾千聡、近藤康人、田中健一、中島陽一、山脇一夫、大久保悠里子、柘植郁哉、鈴木聖子、宇理須厚雄、スギ花粉症児の花粉シーズン暴露による末梢血好塩基球活性化の変化、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、平成25年5月。
- 11) 宇理須厚雄、総合アレルギー医育成コースー食物アレルギーガイドライン、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、平成25年5月。
- 12) 田中健一、成瀬徳彦、平田典子、鈴木聖子、近藤康人、宇理須厚雄、大久保悠里子、山脇一夫、犬尾千聡、中島陽一、柘植郁哉、小松原亮、百日咳を契機に発症したと考えられた咳喘息の1例、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、平成25年5月。
- 13) 宇理須厚雄、食物アレルギーの最近の話題、第18回日本ラテックスアレルギー研究会ラテックス・OASフォーラム2013;横浜、平成25年7月。
- 14) 高松伸枝、近藤康人、成瀬徳彦、田中健一、犬尾千聡、柘植郁哉、宇理須厚雄、小林東、矢上晶子、松永佳世子、小野倫太郎、村上洋子、本村千華子、小田嶋 博、高岡有理、亀田誠、柑橘類アレルギーの抗原交差性、第18回日本ラテックスアレルギー研究会ラテックス・OASフォーラム2013;横浜、平成25年7月。
- 15) 田中健一、森 雄司、平田典子、鈴木聖子、近藤康人、宇理須厚雄、大久保悠里子、山脇一夫、犬尾千聡、中島陽一、柘植郁哉、ウニアレルゲン抗原解析と交差反応性の検討、第49回中部日本小児科学会;津、平成25年8月。
- 16) 宇理須厚雄、園・学校における食物アレルギーへの対応ー食物アレルギーの基礎知識ー、第60回日本小児保健協会学術集会、東京、平成25年9月。
- 17) 山田一恵、近藤康人、柘植郁哉、宇理須厚雄、木村守、オボムコイド加熱卵白入りクッキーを用いた経口免疫療法実施例における現在の鶏卵摂取状況、第50回日本小児アレルギー学会、横浜、平成25年10月
- 18) 森雄司、大久保悠里子、山脇一夫、田中健一、犬尾千聡、中島陽一、平田典子、鈴木聖子、近藤康人、柘植郁哉、木村守、宇理須厚雄、卵白未接種アトピー性皮膚炎児のオボムコイド減量ベビーフードに対するアレルギー反応誘発の検討、第50回日本小児アレルギー学会、横浜、平成25年10月
- 19) 宇理須厚雄、日本の食物アレルギー診療ガイドライン2012、第50回日本小児アレルギー学会、横浜、平成25年10月
- 20) 中島 陽一、森 雄司、大久保 悠里子、田中 健一、山脇 一夫、成瀬 徳彦、犬尾 千聡、鈴木 聖子、近藤 康人、柘植 郁哉、宇理須 厚雄、食物アレルギーに対する緩徐経口免疫療法における維持療法の間隔の検討、第63回、日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、平成25年11月
- 21) 田中 健一、森 雄司、平田 典子、鈴木 聖子、近藤 康人、宇理須 厚雄、大久保 悠里子、山脇 一夫、犬尾 千聡、中島 陽一、柘植 郁哉、ウニアレルゲン抗原解析と交差反応性の検討、第63回、日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、平成25年11月
- 22) 犬尾 千聡、近藤 康人、田中 健一、中島 陽一、柘植 郁哉、森 雄司、山脇 一夫、鈴木 聖子、大久保 悠里子、宇理須 厚雄、アレルゲンと免疫療法 スギ花粉症の抗原特異的急速免疫療法増量期の全身性副作用と好塩基球の活性化の相関、第63回、日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、平成25年11月
- 23) 宇理須 厚雄、アレルギー診療におけるコンポーネント特異的IgE測定の意義、第63回、日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、平成25年11月
- 24) 柘植 郁哉、野村 孝泰、近藤 康人、中島 陽一、森 雄司、大久保 悠里子、田中 健一、山脇 一夫、成瀬 徳彦、犬尾 千聡、平田 典子、鈴木 聖子、高松 伸枝、宇理須 厚雄、食物アレルギー最前線皮膚粘膜バリア機能と食物アレルギー、第63回、日本アレルギー学会秋季学術大会、東京、平成25年11月
- 25) 宇理須厚雄、子どもの食物アレルギーUO TO DATE、第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会;名古屋、平成25年11月。
- 26) 大久保 悠里子、中島 陽一、近藤 康人、森 雄司、田中 健一、山脇 一夫、犬尾 千聡、鈴木 聖子、柘植 郁哉、宇理須 厚雄 低アレルゲン化した鮭エキスをを用いた魚アレルギーの経口免疫療法第117回日本小児科学会;名古屋、平成26年4月。
- 27) 宇理須 厚雄、森 雄司、田中 健一、鈴木 聖子、近藤 康人、大久保 悠里子、山脇 一夫、中島 陽一、犬尾 千聡、柘植 郁哉 食物によるアナフィラキシーとその対応第117回日本小児科学会;名古屋、平成26年4月。
- 28) 田中 健一、森 雄司、平田 典子、鈴木 聖子、近藤 康人、宇理須 厚雄、遠藤 悠里子、山脇 一夫、犬尾 千聡、中島 陽一、柘植 郁哉、医師を対象とした学校生活管理指導表に関するアンケート調査 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会;京都、平成26年5月。
- 29) 犬尾 千聡、近藤 康人、田中 健一、中島 陽一、柘植 郁哉、森 雄司、山脇 一夫、鈴木 聖子、大久保 悠里子、宇理須 厚雄 花粉症免疫療法 スギ抗原特異的免疫療法誘導 IgG4による小児スギ花粉症患者の好塩基球活性化抑制 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会;京都、平成26年5月。

- 30) 高松 伸枝, 近藤 康人, 成瀬 徳彦, 柘植 郁哉, 宇理須 厚雄, 林 毅, 浅田 憲彦 ユズアレルギー患者血清を用いた特異的 IgE 結合タンパクの解析 第 68 回日本栄養・食糧学会大会 札幌, 平成 26 年 5 月
- 31) 中島 陽一, 近藤 康人, 大高 早希, 森 雄司, 田中 健一, 山脇 一夫, 犬尾 千聡, 平田 典子, 鈴木 聖子, 柘植 郁哉, 中村 厚, 近藤 智彦, 茂島 克裕, 板垣 康治, 宇理須 厚雄, 低アレルギー化食品を用いた経口免疫療法, 第 51 回日本小児アレルギー学会, 四日市, 平成 26 年 10 月
- 32) 大高 早希, 田中 健一, 平田 典子, 鈴木 聖子, 中島 陽一, 近藤 康人, 森 雄司, 大久保悠里子, 山脇 一夫, 犬尾 千聡, 柘植 郁哉, 宇理須 厚雄, ひやりはっとアンケートから見たエビペン使用の実態調査, 第 51 回日本小児アレルギー学会, 四日市, 平成 26 年 10 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし