

い。終末回腸や上行結腸は健常者でも粘膜固有層に多数の好酸球浸潤をみる。


コラーゲン形成大腸炎:病理組織学的検討から鑑別は可能である。

その他:薬剤性腸炎,特発性好酸球増多症候群,セリアック病,リンパ腫,強皮症,Churg-Strauss syndrome, Henoch-Schönlein紫斑病,などをあげることができる。

## 5)リンク集

\* <http://cc.shimane-u-internal2.jp/23.html>

\* <https://www.egid.jp>

情報提供者	
研究班名	新生児期から高年期まで対応した、好酸球性消化管疾患および稀少消化管持続炎症症候群の診断治療指針、検査治療法開発に関する研究  研究班名簿
情報更新日	新規掲載日:平成27年1月30日

Copyright(C) 公益財団法人 難病医学研究財団/難病情報センター

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Yamada Y, Cancelas J. A, Rothenberg M. E.	Murine Models of Eosinophilic Leukemia: A Model of FIP1L1-PDGFR $\alpha$ Initiated Chronic Eosinophilic Leukemia/Systemic Mastocytosis.	John M. Walker	Methods in Molecular Biology – eosinophils	Springer	Heidelberg, Germany	2014	1178: 309-20
木下芳一	好酸球性食道炎・胃腸炎の診断と治療	友田幸一編	第24回気管食道科専門医大会テキスト	日本気管食道科学会,	東京	2014	20-23
木下芳一	序文	木下芳一編	好酸球性消化管疾患診療ガイドライン	南江堂	東京	2014	III
山田佳之	好酸球性食道炎、好酸球性胃腸炎.	監修：山口徹/北原光夫 総編集：福井次矢/高木誠/小室一成	今日の治療指針	医学書院	東京	2014	777-778
山田佳之	好酸球性食道炎.	日本小児栄養消化器肝臓学会編集	小児栄養消化器肝臓病学	診断と治療社	東京	2014	189-191
石川智士、二宮風夫、松井敏幸、平井郁仁	診断・鑑別	木下芳一	好酸球性消化管疾患診療ガイド	南江堂	東京	2014	51-55, 60-63
新井勝大	小児IBD患者～診療上の注意点～	渡辺守総編集、久松理一・渡辺憲治編著	現場のエキスパートが教える実践！IBD診療	医学出版	東京	2014	206-213
野村伊知郎	新生児-乳児消化管アレルギー、好酸球性胃腸炎	日本小児栄養消化器肝臓病学会	小児栄養消化器肝臓病学、日本小児栄養消化器肝臓病学会編	診断と治療社	東京	2014	341-346
野村伊知郎	好酸球性消化管疾患とは	木下芳一編	好酸球性消化管疾患診療ガイドライン	南江堂	東京	2014	12-17

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版 年
Oka A, Ishihara S, Mishima Y, Tada Y, Kusunoki R, Fukuba N, Yuki T, Kawashima K, Matsumoto S, <u>Kinoshita Y</u>	Role of Regulatory B Cells in Chronic Intestinal Inflammation: Association with Pathogenesis of Crohn's Disease	Inflamm Bowel Dis.	20	315-328	2014
Hida N, Nakamura S, Hahn KB, Sollano J, Zhu Q, Rani AA, Syam AF, Kachintonn Ueno F, Joh T, naito Y, Suzuki H, Takahashi S, Fukuda S, Fujiwara Y, <u>Kinoshita Y</u> , Uchiyama K, Yamaguchi Y, Yoshida A, Arakawa T, Matsumoto T, The IGICS Study Group	A Questionnaire-based survey on the diagnosis and management of inflammatory bowel disease in East Asian countries in 2012	Digestion	89	88-103	2014
Shimura S, Ishimura N, Tanimura T, Yuki T, Miyake T, Kushiyama Y, Sato S, Fujishiro H, Ishihara S, Komatsu T, Kaneto E, Izumi A, Ishikawa N, Maruyama R, <u>Kinoshita Y</u>	Reliability of symptoms and endoscopic findings for diagnosis of esophageal eosinophilia in a Japanese population	Digestion	90	49-57	2014
Mishima Y, Ishihara S, Hansen JJ, <u>Kinoshita Y</u>	TGF- $\beta$ detection and measurement in murine B cells: pros and cons of the different techniques	Methods Mol Biol.	1190	71-80	2014
Ansary Md. Mu, Ishihara S, Oka A, Kusunoki R, Oshima N, Yuki T, Kawashima K, Maegawa H, Kashiwagi N, <u>Kinoshita Y</u>	Apoptotic cells ameliorate chronic intestinal inflammation by enhancing regulatory B cell function.	Inflamm Bowel Dis.	20	2308-2320	2014
Ishimura N, Shimura S, Jiao DJ, Mikami H, Okimoto E, Uno G, Aimi M, Oshima N, Ishihara S, <u>Kinoshita Y</u>	Clinical features of eosinophilic esophagitis: Differences between Asian and Western populations.	J. Gastroenterol Hepatol		in press	
Matsushita T, Maruyama R, Ishikawa N, Harada Y, Araki A, Chen D, Tauchi-Nishi P, Yuki T, <u>Kinoshita Y</u>	The number and distribution of eosinophils in the adult human gastrointestinal tract: a study and comparison of racial and environmental factors	Am J. Surg Pathol		in press	
Kusunoki R, Ishihara S, Tada Y, Oka A, Sonoyama H, Fukuba N, Oshima N, Moriyama I, Yuki T, Kawashima K, Md. Mesbah Uddin Ansary, Tajima Y, Maruyama R, Nabika T, <u>Kinoshita Y</u>	Role of milk fat globule-epidermal growth factor 8 in colonic inflammation and carcinogenesis	J. Gastroenterol		in press	

Moriyama K, Watanabe M, Yamada Y, Shiihara T.	Protein-losing enteropathy as a rare complication of the ketogenic diet. Pediatric Neurology.	Pediatric Neurology	in press			2015
Kato M, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y.	Age at Onset of Asthma and Allergen Sensitization Early in Life.	Allergology International	63 (Suppl 1)	23-28		2014
Yamada Y, Kato M, Isoda Y, Nishi A, Jinbo Y, Hayashi Y.	Eosinophilic Gastroenteritis Treated with a Multiple-Food Elimination Diet.	Allergology International	63 (Suppl 1)	53-56		2014
Takahashi H, Matsui T, Hisabe T et al.	Second peak in the distribution of age at onset of ulcerative colitis in relation to smoking cessation.	J Gastroenterol Hepatol	29(8)	1603-1608		2014
Hirai F, Beppu T, Takatsu N, Yano Y, Ninomiya K, Ono Y, Hisabe T, Matsui T.	Long-term outcome of endoscopic balloon dilation for small bowel strictures in patients with Crohn's disease.	Dig Endosc	26(4)	545-551		2014
Hisabe T, Hirai F, Matsui T, et al.	Evaluation of diagnostic criteria for Crohn's disease in Japan.	J Gastroenterol.	49	93-99		2014
Beppu T, Ono Y, Matsui T, et al.	Mucosal healing of ileal lesions is associated with long-term clinical remission after infliximab maintenance treatment in patients with Crohn's disease.	Dig Endosc	27(1)	73-81		2015
Shoda T, Morita H, Nomura I, Ishimura N, Ishihara S, Matsuda A, Matsumoto K, Kinoshita Y.	Comparison of Gene Expression Profiles in Eosinophilic Esophagitis (EoE) between Japan and Western Countries.	Allergol International		in press		2015
Ito J, Fujiwara T, Kojima R, Nomura I.	Racial differences in eosinophilic gastrointestinal disorders among Caucasian and Asian: a systematic review of published case reports and case series.	Allergol International		in press		2015
海老澤元宏, 木下芳一	食物アレルギー研究と診療の最前線	Frontiers in Gastroenterology	19	3-13		2014
木下芳一	好酸球性食道炎	日本医事新報	4707	52		2014
木下芳一	好酸球性食道炎・胃腸炎の診断と治療	日本気管食道科学会専門医通信	48	6-10		2014
木下芳一, 石村典久, 相見正史	消化器—30年と今後の展望. 食道領域の変遷と展望. (2) 炎症	臨牀消化器内科	30	15-21		2014
田中伸久, 市川萌美, 長井綾子, 中村雄策, 山田佳之	生化学的検査項目別に年齢区分を考慮した小児臨床参考範囲の設定.	小児科臨床	67: 8	1407-1411		2014
山田佳之	好酸球性胃腸炎 - 食道炎を含めて.	「小児疾患診療のための病態生理1」. 東京医学社 小児内科	Vol.46 増刊号	567-571		2014

多田 明良 新井 勝大	特集 小児の消化器内視鏡診療 乳幼児/学童期に多い消化器疾患	臨牀消化器 内科	30	291-298	2015. 3
野村伊知郎	新生児-乳児消化管アレルギーの食 物負荷試験とリンパ球刺激試験	日本小児ア レルギー学 会誌	第28巻 第5号	846-853	2014
千葉 剛史,野村伊知郎,大矢 幸弘	新生児・乳児消化管アレルギーに おける消化管組織診断の有用性	臨床免疫・ア レルギー科	62 巻 6	623-627	2014

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷

解 説  
手技編（検査）について

---

## 新生児—乳児消化管アレルギーの食物負荷試験とリンパ球刺激試験

野村伊知郎

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  
国立成育医療研究センター生体防御系内科部アレルギー科

# 日本小児アレルギー学会

Japanese Society of Pediatric Allergy and Clinical Immunology



## 新生児—乳児消化管アレルギーの食物負荷試験とリンパ球刺激試験

野村伊知郎

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  
国立成育医療研究センター生体防御系内科部アレルギー科

### 抄録：

新生児—乳児消化管アレルギーは、2000年前後から急増している。食物特異的 IgE 抗体が病態の中心ではないため、診断は難しい。確定診断である食物負荷試験は、即時型食物アレルギーと違って、反応が遅く現れること、3週間の連続負荷をおこなわないと診断できない場合があること、ショックに対して、細胞外液のローディングを行うとともに、エピネフリンの効果は低く、副腎皮質ステロイドが高い、ことなどの注意点がある。リンパ球刺激試験は、現状で唯一信頼できる *in vitro* での抗原特定法であるが、感度、特異度ともに高くはないため、責任 T 細胞サブセットを同定するなどして、より精度の高い検査へと改良を行う必要がある。

キーワード：新生児—乳児消化管アレルギー、食物負荷試験、リンパ球刺激試験、副腎皮質ステロイド、エピネフリン (アドレナリン)

略語：ALST；allergen specific lymphocyte stimulation test, CRP；c-reactive protein, FPIES；food protein induced enterocolitis syndrome, IgE；immunoglobulin-E, IL；interleukin, LPS；lipopolysaccharide, RAST；radioallergosorbent test, TARC；thymus and activation-regulated chemokine, Th；T helper, TNF $\alpha$ ；tumor-necrosis factor alpha  
(日小ア誌 2014;28:846-853)

### はじめに

新生児—乳児消化管アレルギーは、2000年前後から患者数が急増している。非 IgE 依存性アレルギー反応が病態の主体であり、アレルギー特異的 IgE 抗体は主体ではないため、診断は容易ではない。簡便な特異的診断法が開発されておらず、急性期の診断は主に、他疾患の鑑別と治療的診断に頼らざるを得ない。不完全ではあるが特異的診断法には、抗原特異的リンパ球刺激試験、末梢血好酸球、便粘液好酸球検出、血清 TARC (thymus and activation-regulated chemokine)、消化管内視鏡組織検査による消化管粘膜好酸球浸潤などがある。確定診断法は

原因食物の負荷試験であるが、即時型食物アレルギーの負荷試験とは異なる配慮が必要である。本稿ではこの食物負荷試験と抗原特異的リンパ球刺激試験に絞って解説する。

### 新生児—乳児消化管アレルギーの食物負荷試験

#### 適応

新生児—乳児消化管アレルギーの診断治療プロセスは、表 1 に示す 5 段階で進行してゆくが<sup>1)</sup>、負荷試験はこの Step 5 にあたり、確定診断をつけることができる。また、診断をはっきりさせることにより、今後の治療に気持ちを集中させることができる。ただし、危険も伴うため、実施については保護者とそ

のメリット, デメリットについて十分話し合った上で決める必要がある. 本症の約 10% に見られる重症者(重度のショック, 脱水, 消化管出血による貧血, 消化管穿孔, 消化管閉塞, 壊死性腸炎様症状, 深刻な体重減少などが見られた患者)と, 重大な基礎疾患を持つ患者では, 負荷試験を避けて, 95% が寛解するとされる 3 歳まで除去を継続することが勧められる.

負荷試験の実施時期

診断のための負荷試験は症状が改善し体重増加が得られてから行うことが理想である. 症状改善から最低 2 週間は間隔をあける. 改善後 5 ヶ月程度, 状況によってそれ以上間隔をおくことも考慮する.

表 1 新生児-乳児消化管アレルギーの診断治療プロセス

Step 1.	症状から本症を疑う
Step 2.	検査による他疾患との鑑別
Step 3.	治療乳へ変更し症状消失を確認
Step 4.	1 ヶ月ごとに体重増加の確認
Step 5.	確定診断および離乳食開始のための負荷試験

寛解確認のための負荷試験は, 半年~一年ごとに随時行う.

負荷試験方法の選択

病型によって, 負荷試験への反応が異なるため, ここでは, 図 1 に示す初期症状において, 嘔吐と血便の有無によって分けられた 4 つの病型<sup>2)</sup>に基づいて解説する. 筆者らは, 厚生労働省難治性疾患研究班の研究において, 5 つの臨床パラメータを使用してクラスター分析を行ったが, 46 名の負荷試験で診断確定された本症患者がこれにより, 4 つのクラスターに分けられた. すなわち, クラスタ-1(嘔吐+血便+), クラスタ-2(嘔吐+血便-), クラスタ-3(嘔吐-血便-), クラスタ-4(嘔吐-血便+)である.

クラスター 1 と 2 は比較的早期に(中央値 6, 10 時間)嘔吐をはじめ, 場合によっては発熱, ショックの症状が誘発されるため, 入院で厳重に監視しながら行う負荷試験が適している. 症状が, 食物摂取後 4-8 時間を中心として起こることが多いため, 必ず朝に負荷を行う. 夜間にショックを起こした場合, 発見が遅れる可能性がある.

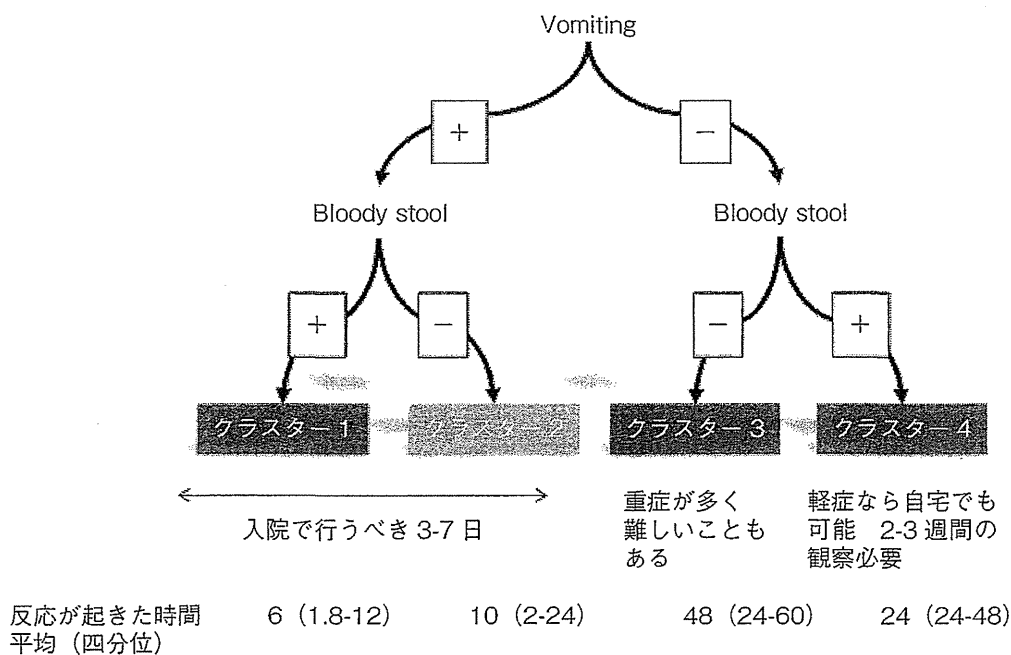


図 1 各クラスターと負荷試験の適応, 負荷後の誘発時間<sup>1)2)</sup>

クラスター 1 と 2 は, 嘔吐が比較的早期(平均 6-10 時間)で誘発されるため, 入院して行うとよい. クラスタ-3 は重症者では行うべきでないこともある. 行う場合は 2-3 週間かける長期耐性テストで判定する. クラスタ-4 は軽度の血便のみの患者では自宅で行う場合もある. この場合も 2-3 週間見る必要がある. 逆に言えば, 連日 3 週間摂取して大丈夫なら, その食物は耐性を獲得した, 寛解したと考えて良い.

表2 ミルクなどの負荷スケジュール案

	月	火	水	木	金	土	日
1週目	0.5ml/kg	1ml/kg	2ml/kg	4ml/kg	4ml/kg	4ml/kg	4ml/kg
2週目	8ml/kg	16ml/kg	20ml/kg	20ml/kg	20ml/kg	20ml/kg	20ml/kg

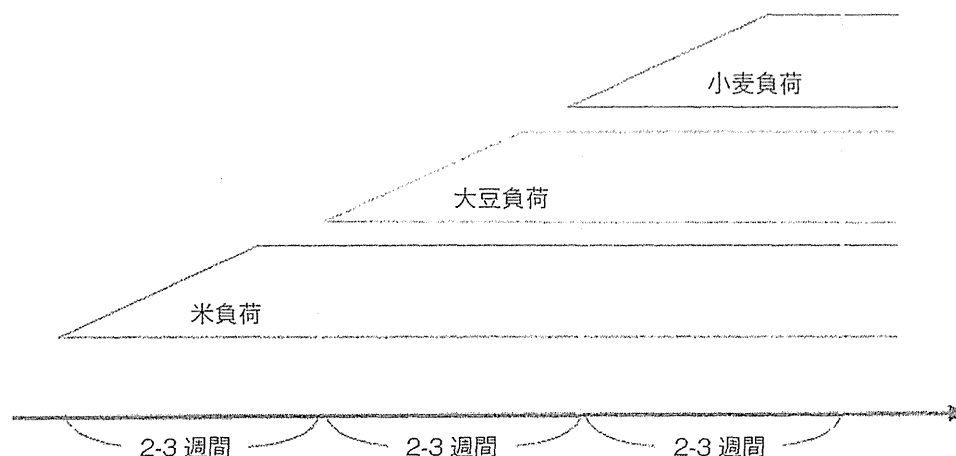


図2 離乳食開始に際して行う負荷試験

新生児—乳児消化管アレルギーでは米,大豆でも症状を認めることがある。そこで特に米,大豆については,自宅でそれぞれ3週間程度かけて,症状出現がないかどうかを確認する。3週間連続摂取して症状が出なければ,その食物はアレルギーを起こさないと考えてよい。図は小麦も書かれているが,陽性となる頻度は1%に満たない。

クラスター3は,嘔吐や血便などが見られないため,症状から陽性を判定することが難しい。3週間程度連続負荷して,腹部膨満や下痢の症状,血液検査(TARCなど)で正確に判定できる患者も多く存在するが,臨床的にサイレントに病状が進行し,腸穿孔などを起こす可能性があれば負荷試験を行うべきではない。

クラスター4は血便が主な症状である。クラスター4は,血便のみが見られ,下痢や体重増加不良がないProctocolitisのタイプと,下痢や体重増加不良を伴うタイプとに分けられる。Proctocolitisであり,大出血の危険が少ないタイプであれば,自宅で行う場合もある。その時は,症状が出現して,不測の事態が起きた時に,主治医に連絡がつながるようにしておく必要がある。この場合も,負荷は朝行うことが必須である。下痢や体重増加不良を伴うタイプであれば,入院の方が安全である。

自宅で開始する場合は初期量を極端に少なくして,徐々に増やすのも良策である(経口減感作の原理)。

#### 負荷試験の手順

負荷試験の同意書(各病院で作成したもの)を取得しカルテに貼付する。もしくは主治医が嚴重に保管する。先行してIgE CAP-RASTを測定もしくはプリックテストを行い,即時型反応の危険性を評価する。負荷は原則として表記の量を1日1回摂取とするが,IgE陽性等即時型反応が予測される場合は,3分割し15分毎に摂取する。

表2は初回量を0.5ml/kgとしているが,0.5~4ml/kgいずれの量で行うかは,初発症状があったときの摂取量から決定する。これよりも少量で誘発されたのであれば,もちろん,その量もしくはそれ以下を選択すべきである。表は負荷後14日間までの記載となっているが,ここままで症状が出現しなければ,既にほぼ寛解している,もしくは消化管アレルギーではなかったと考えると,14日目以降も量を増やしてゆき,通常摂取量まで増量する。酸素飽和度モニターによる観察が望ましい。症状については嘔吐,下痢,血便,活気,体温,血圧,発疹,四肢の動きなどに注目して記載を行う。摂取後6時間は特に注

意して観察する。症状が夜間や休日に起きることをなるべく避けるため、負荷は週の前半に開始し、朝に負荷することが望ましい。週末は増量しない方がよい。

重症は原則入院とし輸液ラインを留置した上で行う。負荷量に関しては、初発時に摂取していた量等を考慮し主治医が適切な量を決定する。中等症は最初の4日間程度は入院で（可能なら輸液ラインを留置）、症状を観察することが望ましい。5日目以降は自宅で行う場合もある。軽症は自宅で開始する場合は少量から（例：0.1mlから）開始しゆっくりと増量して2週間程度かけて行う。そのときも急変時に対応できるよう、主治医への連絡方法を決めておく必要がある。

#### Acute tolerance test と Chronic tolerance test

非即時型アレルギーの負荷試験は数日の反応を見る acute tolerance test に加えて、(自宅などで) 2-3週間程度摂取し続ける chronic tolerance test を行う必要がある。chronic tolerance test で反応が見られなかった場合、陰性もしくは寛解したと判断できる。

#### 離乳食開始に際して行う負荷試験

新生児一乳児消化管アレルギーは米、大豆でも症状を認めることが少なくない(どちらも10%程度)。そこで特に米、大豆についてはそれぞれ2-3週間程度かけて、症状出現がないかどうかを確認する(chronic tolerance test, 図2)。自宅で行うことが多い。最初のごく少量から開始し、徐々に増やして、児が食べることでできる量まで増量する。3週間連続摂取して症状が出なければ、その食物はアレルギーを起こさないと考えてよい。

#### 陽性の判定

病的な嘔吐、血便、下痢、発熱、血圧低下等の症状が再現された場合陽性とする。

湿疹が誘発される場合もある。即時型反応で見られる、膨疹などの蕁麻疹、呼吸苦、鼻汁、結膜充血などは見られない(合併することはある)。

#### 欧米の Food-Protein Induced Enterocolitis Syndrome 負荷試験判定基準

欧米の Food-Protein Induced Enterocolitis Syndrome (FPIES; 図1のクラスター2にあたる)の診断基準は以下の通りである<sup>3)~5)</sup>。症状誘発時の末梢血の好中球の増加に重点が置かれている。日本の患者でもこの好中球増加が見られることがあり、有用

である(図3)。血中好酸球は組織に移動するためか、減少することが多い。翌日CRPが陽転することもある。多核好中球は嘔吐を繰り返すウイルス性胃腸炎などの患者でも増加を見ることが多いが、本症の負荷試験では、非常に早期からみられる点が特徴的である。嘔吐開始後数時間にわたって38℃程度の発熱が見られることもある。

1. 嘔吐・下痢
2. 便潜血(負荷前陰性⇒負荷後陽性)
3. 便中好酸球(負荷前陰性⇒負荷後陽性)
4. 便中好中球(負荷前陰性⇒負荷後陽性)
5. 多核白血球数(好中球+好酸球+好塩基球)が負荷前より3500/ $\mu$ l以上増加

以上5項目の内、3項目以上を満たすものをFPIESと定義しているが、この基準にこだわることなく、症状が出たか否かで判定すべきであろう。クラスター3,4では負荷前と、数日後、3週間後のデータを比較する。

#### 負荷テスト誘発症状への対応

嘔吐下痢；絶飲食とし、細胞外液補充液の輸液を行う。

ショック、血圧低下；細胞外液補充液を15ml/kg、ボラス注射を行う。血圧が回復しなければ、ボラスの繰り返しとステロイド静脈注射、エピネフリン筋肉注射などを行う。即時型食物アレルギーと違って、エピネフリン筋肉注射よりも、ステロイド静脈注射の有効性が高いと考えている。腎前性腎不全を起こすことがあり、生命の危険を伴うこともある。きめ細やかな種々のlife supportを行う。

血便；おさまるまで観察。貧血に注意。

#### 副作用、注意すべき点

本症の重症度は患者によって千差万別であることを考慮する必要がある。原因食物摂取により重大な症状を起こすことがある。また、一週間の負荷では症状が出ず、退院してchronic tolerance test中に出現することも少なくない。

#### リンパ球刺激試験

##### 理論的背景

本症は、消化管に存在する、抗原特異的リンパ球が抗原提示細胞とともに、消化管に流入してきた抗原を認識し、免疫反応を起こすことで炎症が成立すると考えられている。この抗原特異的リンパ球の一

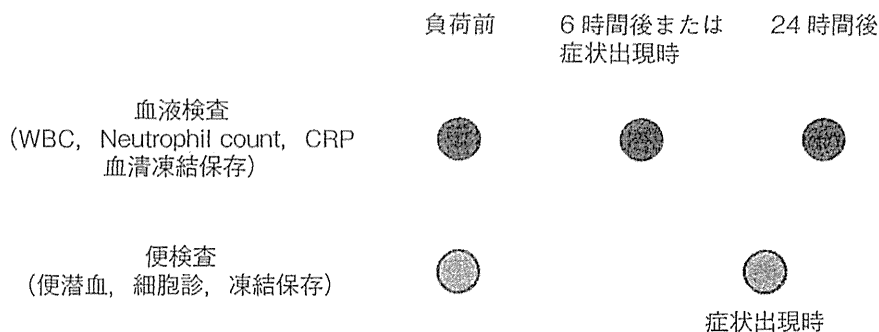


図3 クラスタ1, 2の負荷試験時の検査; 血液と便を採取して検査をおこなうと, 有力な診断の助けとなる場合がある. クラスタ3, 4では負荷前と, 連続負荷した数日後, 数週間後のデータを比較する.

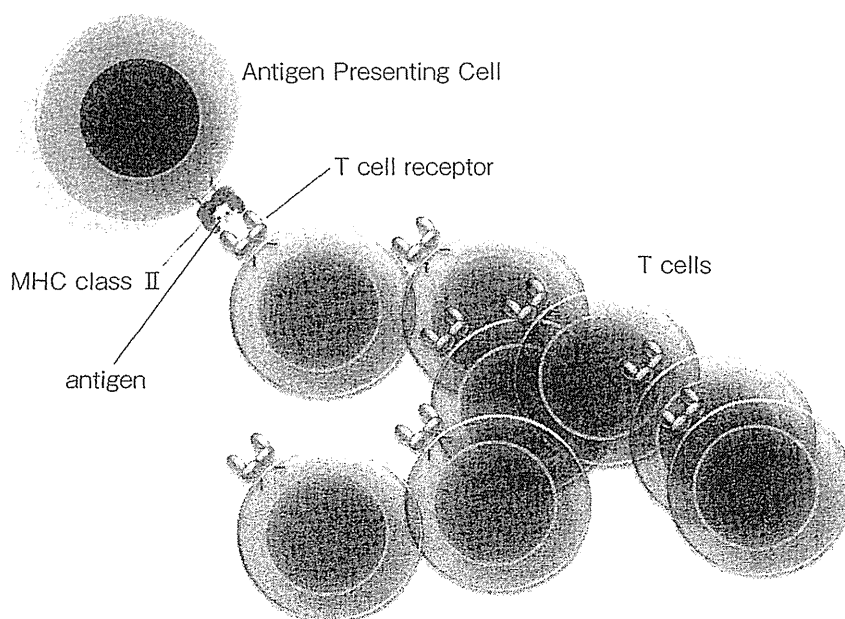


図4 採取した末梢血の中に, 問題のアレルゲンに対して特異的なTリンパ球が存在した場合, そのアレルゲンとともに培養すると, アレルゲンは10個程度のアミノ酸鎖に切られて, 抗原提示細胞からMHC class II抗原に挟まれた形で提示される. アレルゲン特異的Tリンパ球はT cell receptorによって, この配列を認識し, 増殖を開始する.

部は流血中にも存在し, これが, 採血した血液中に数個でも存在すれば, *in vitro*でアレルゲンとともに数日間培養を行うと増殖し, これを観察することができる(図4). しかし, 本症であっても, たまたま採血された血液中に, 抗原特異的リンパ球が含まれなかった場合は, 陽性とはならない.

欧米では行われていない

ALST (allergen specific lymphocyte stimulation test)は, 新生児—乳児消化管アレルギーにおいては

有用である<sup>6)</sup>が, 即時型アレルギーでも陽性になることから<sup>7)</sup>, 現行の方法では陽性であったとしても, 両者を区別することはできない. 特異的IgE値, 負荷試験の結果を合わせて判断するしかない.

我が国では, 新生児や乳児期早期の消化管アレルギー患者が多いため, 本検査が盛んとなったが, 本症が多くない欧米では, 一部の研究室レベルでしか行われていない. 本検査の改良は我が国の研究者に課せられた使命であろう.

### 検査方法

末梢血をヘパリン管に1-3mL採取する(この中に数個以上の原因アレルゲン反応性T細胞が存在していることを期待している)。これは検査機関に送られて、単核球が分離され、食物アレルゲンを付与され、5日間培養される。トリチウムサイミジンの取り込みを測定して、増殖の程度を定量する。抗原を添加していない対照と比べて、何倍の増殖が見られたかを stimulation index で表す。正常対象で得られた正常値をある程度上回る場合に陽性と判断する。

#### LPSのコンタミネーション

食物抗原は、ごく微量の細菌菌体膜 Lipopolysaccharide (LPS) を含有していることが多い。これはT細胞の増殖を刺激するため、できるだけ低濃度にする必要がある。この作業を丁寧に行えば、カットオフ値が低くなる。国立成育医療研究センターで行っているALSTでは、牛乳抗原からLPSを可能な限り除去したうえで行っているため、カットオフが2.0倍程度に抑えられている<sup>7)</sup>。

植物に含まれるレシチンもT細胞の増殖を刺激する。このため、大豆や米、小麦でALSTを行う場合には、結果の解釈は慎重にすべきである。なんらかの工夫が必要となる。

#### 検体の提出方法

ビーエムエル(株)で行われている<sup>8)</sup>。詳細は [http://www.bml.co.jp/r\\_and\\_d/article/article10.html](http://www.bml.co.jp/r_and_d/article/article10.html) を参照していただきたい。ミルクアレルゲン以外にダニ、杉など17項目の検査を受け付けている。

抗原一項目あたり0.5mLを採血する。採取後血液は速やかにヘパリン管に入れる。

国立成育医療研究センター、免疫アレルギー研究部でも検査を行っているが、人手の問題があり、厚労省難治性疾患研究班の関連病院などに限って受け入れを行っている。

採取後は冷蔵庫で冷やしてしまうとリンパ球の生命力が衰えるため、室温で保存する。24時間は室温保存可能である。ただし、夏季の運搬は注意が必要で、運搬車の内部室温は、60-70℃に上昇することもある。次善の策としてクール宅急便を利用する場合がある。

現時点では、保険収載されておらず、費用は実費または施設の研究費で行われる。

#### 感度と特異度

基礎疾患や合併症のない本症患者31名では、感度

71.4%、特異度70.6%との報告がある。基礎疾患のある患者群では、出生体重1,500g以上の13名で感度60%、特異度100%、生下時体重1,500g未満の8名で感度50%、特異度50%であった。

陽性率は、前述のクラスターごとに異なっているとの報告もある。上述の診断治療のステップ4もしくは5を満たした患者において、クラスター1と2は約70%、クラスター3および4は約50%であった<sup>9)</sup>。

#### 結果の解釈

注意すべきは、抗原特異的リンパ球にも、調節性T細胞、Th1細胞、Th2細胞、Th17細胞などがあるが、現時点ではこれらのサブセットを判別することはできない。増殖が陽性であっても、調節性T細胞が主に増殖しているのなら、病的とは言えない。今後は何らかの方法で、どのT細胞サブセットが増加しているかを判定する必要がある。また即時型食物アレルギーでも陽性となることに注意してほしい。

嘔吐タイプの場合、臨床的には早ければ1時間後に嘔吐が始まるが、この反応が、どの細胞がどのような分子メカニズムでアレルゲンを認識し、始まっているのか、今のところ謎である。IgE抗体が関与することなく、通常のアレルゲン提示細胞とT細胞による認識では、このような短時間で症状が誘発されるとは考えにくい。どのようなメカニズムで起きているのだろうか。

#### 上清サイトカインの値

上清のサイトカインを測定すると、即時型牛乳アレルギーではIL5、13といったTh2サイトカインが上昇しており、新生児一乳児消化管アレルギーでは、Th2サイトカインに加えて、TNF-alpha、IL6などのpro-inflammatory cytokineが同時に上昇している点が異なる<sup>7)</sup>。

#### おわりに

負荷試験は、危険な事象が稀に起こるために、場合によっては慎重にならざるを得ないが、クラスター1などでは、当初予想していたよりも、早期に寛解していることが明らかとなりつつあり、今後はより積極的に行うべきではないかと考えている。リンパ球刺激試験については検証コホートを行って、精度の高い陽性的中率、陰性的中率、即時型アレルギー患者での陽性率などを明らかにするとともに、

反応の責任サブセットを特定して, より信頼性の高い検査へと改良することが必要である.

利益相反 (conflict of interest) に関する開示: 著者全員は本論文の研究内容について他者との利害関係を有しません.

## 文 献

- 1) 厚生労働省難治性疾患研究班作成. 新生児乳児消化管アレルギー診断治療指針 2014年1月7日改訂, Webホームページ, <http://nrchd.ncchd.go.jp/imal/FPIES/icho/index.html>
- 2) Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:685-688.
- 3) Powell GK. Food protein-induced enterocolitis of infancy: differential diagnosis and management. *Compr Ther* 1986;12:28-37.
- 4) Powell GK. Milk- and soy-induced enterocolitis of infancy. Clinical features and standardization of challenge. *J Pediatr* 1978;93:553-560.
- 5) Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:S116-125.
- 6) Kimura M, Oh S, Narabayashi S, Taguchi T. Usefulness of lymphocyte stimulation test for the diagnosis of intestinal cow's milk allergy in infants. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:58-64.
- 7) Morita H, Nomura I, Orihara K, Yoshida K, Akasawa A, Tachimoto H, Ohtsuka Y, Namai Y, Futamura M, Shoda T, Matsuda A, Kame-mura 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; 131:590-592.
- 8) 木村光明. 新生児・乳児消化管アレルギーの診断について. *日本小児アレルギー学会誌* 2013; 27:67-72.
- 9) Shoda T, Nomura I, Morita H, Matsuda A, Saito H, Matsumoto K. Comprehensive analysis of offending milk protein components in non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies by antigen-specific lymphocyte proliferation test. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2014;133:AB258 (abstract of presentation in the international conference).

## Food challenge test and allergen-specific lymphocyte proliferation test in non-IgE mediated gastrointestinal food allergy in neonates and infants

Ichiro Nomura

*Department of Allergy and Immunology, National Research Institute for Child Health and Development  
Division of Allergy, Department of Medical Specialties, National Center for Child Health and Development*

### Summary:

Non-IgE mediated gastrointestinal food allergy in neonates and infants increases rapidly since around 2000. Because food-specific IgE antibodies are not the center of pathogenic mechanism, diagnosis is not easy.

Food challenge test is the only one test that provides a definitive diagnosis. Unlike IgE-mediated food allergy, the reaction starts several hours or days after the challenge. There are cases that require everyday challenge of the allergen for 3 weeks before the start of the response. To rescue hypotensive reaction, glucocorticoids are more effective than epinephrine.

Allergen-specific lymphocyte proliferation test is the only test which provide in-vitro allergen-specifying method in the present condition. Since neither sensitivity nor specificity is high, it is necessary to identify responsible T cell subsets and to improve to more effective diagnostic test.

**Key words:** Non-IgE mediated gastrointestinal food allergy in neonates and infants,  
Food challenge test, Allergen-specific lymphocyte proliferation test, glucocorticoids,  
epinephrine

(JJACI 2014;28:846-853)



# Reliability of Symptoms and Endoscopic Findings for Diagnosis of Esophageal Eosinophilia in a Japanese Population

Shino Shimura<sup>a</sup> Norihisa Ishimura<sup>a</sup> Takashi Tanimura<sup>f</sup> Takafumi Yuki<sup>a</sup>  
Tatsuya Miyake<sup>a</sup> Yoshinori Kushiya<sup>g</sup> Shuichi Sato<sup>a</sup> Hirofumi Fujishiro<sup>c</sup>  
Shunji Ishihara<sup>a</sup> Taisuke Komatsu<sup>d</sup> Eiji Kaneto<sup>e</sup> Akio Izumi<sup>h</sup>  
Noriyoshi Ishikawa<sup>b</sup> Riruke Maruyama<sup>b</sup> Yoshikazu Kinoshita<sup>a</sup>

Departments of <sup>a</sup>Gastroenterology and Hepatology, and <sup>b</sup>Pathology, Shimane University School of Medicine, <sup>c</sup>Division of Endoscopy, Shimane Prefectural Central Hospital, and <sup>d</sup>Division of General Internal Medicine, Izumo Citizens Hospital, Izumo, <sup>e</sup>Division of Gastroenterology, Ohda Municipal Hospital, Ohda, <sup>f</sup>Division of Gastroenterology, Matsue City Hospital, <sup>g</sup>Division of Gastroenterology, Matsue Red Cross Hospital, and <sup>h</sup>Izumi Gastrointestinal Clinic, Matsue, Japan

## Key Words

Esophageal eosinophilia · Eosinophilic esophagitis · Endoscopy · Diagnostic utility

## Abstract

**Background/Aims:** The clinical characteristics of esophageal eosinophilia (EE), which is essential for diagnosis of eosinophilic esophagitis (EoE), have not been fully clarified in a Japanese population. The aim of this study was to analyze the reliability of symptoms and endoscopic findings for diagnosing EE in Japanese individuals. **Methods:** We prospectively enrolled subjects who complained of esophageal symptoms suggesting EoE and/or those with endoscopic findings of suspected EoE at the outpatient clinics of 12 hospitals. Diagnostic utility was compared between the EE and non-EE groups using logistic regression analysis. **Results:** A total of 349 patients, including 319 with symptoms and 30 with no symptoms but endoscopic findings suggesting EoE were enrolled. Of those with symptoms, 8 (2.5%) had EE, and

3 were finally diagnosed with EoE. Of those without symptoms but endoscopic findings, 4 had EE. Among 8 symptomatic patients, 7 had abnormal endoscopic findings suspicious of EoE. Although dysphagia was a major symptom in EE, none of the presenting symptoms was useful for diagnosis of EE. Among the endoscopic findings, linear furrow was the most reliable (OR = 41.583). **Conclusion:** EE is uncommon among patients with esophageal symptoms in Japanese individuals. The most useful endoscopic finding for diagnosis of EE was linear furrow, whereas subjective symptoms were not supportive.

© 2014 S. Karger AG, Basel

## Introduction

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a chronic inflammatory immune-mediated disease characterized by esophageal dysfunction and eosinophil-predominant infiltration in the esophageal epithelium [1, 2]. EoE has become

increasingly prevalent over the past decade, especially in Western countries [3, 4]. While the epidemiology of EoE has not been fully evaluated, it appears that the incidence and prevalence of EoE and esophageal eosinophilia (EE) are also increasing in Asian countries, including Japan [5–8]. Pathologically, the hallmark of EoE is EE, commonly defined by more than 15 eosinophils per high power field (HPF) in at least 1 esophageal biopsy specimen. EE is predominantly found in patients with the following clinical conditions: gastroesophageal reflux disease (GERD), EoE, and proton-pump inhibitor-responsive EE (PPI-REE). According to the current clinical consensus and guidelines [9, 10], histological suspicion of EoE should be confirmed by unresponsiveness to high-dose PPI therapy. However, the clinical significance of this diagnostic requirement, based on the response to PPI administration, remains controversial [11–14]. PPIs are reported to have immunosuppressive effects and improve the inflammatory process in patients with EoE [15, 16]. Therefore, at present, pathological identification of EE is considered to be the most important and critical step for diagnosis of EoE.

Multiple studies have found that EoE is 3–4 times more common in men than women, and affected individuals are more likely to be Caucasian than other racial groups [17, 18]. Moreover, race may influence the clinical presentation and have a role in the phenotypic expression of EoE. As compared with Caucasian patients, African-Americans are less likely to have typical symptoms, such as food impaction and endoscopic findings (concentric rings, strictures) associated with EoE [19, 20]. Even though the variety of clinical features distinguished by racial differences remains controversial [21, 22], it is important to evaluate such features including symptoms and endoscopic findings in Asian populations for usefulness in diagnosis of EoE. Therefore, we sought to investigate the diagnostic utility of EE, which contains the main histological features of EoE, based on symptoms and endoscopic findings in a Japanese population. A multicenter prospective study was performed to determine the most reliable symptom and endoscopic finding for diagnosis of EE in Japanese individuals.

## Materials and Methods

### Patients

We prospectively enrolled subjects who complained of chest or epigastric symptoms suggesting EoE, such as heartburn, dysphagia, epigastric pain, chest pain, acid regurgitation, food impaction, and vomiting at least once during the last week when esophago-

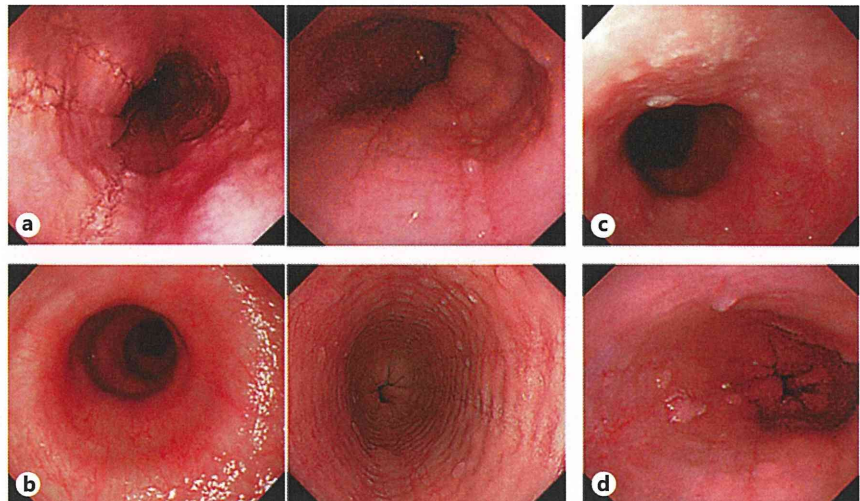
gastroduodenoscopy (EGD) was scheduled, and/or those with endoscopic findings of suspected EoE at the outpatient clinics of 12 hospitals in the western part of Japan between August 2011 and August 2012. We used a specific questionnaire to evaluate the frequency and severity of esophageal symptoms for the enrollment, which comprised of the questions including patient demographics (age, sex), concurrent allergic disease, frequency and severity of esophageal symptoms (number of days with episodes during the last 7 days), and information on medications, including PPIs and steroids, prior to each endoscopic examination. With regard to the severity of the symptoms, those with moderate symptoms, which was defined as discomfort sufficient to cause interference with normal activities, or more severe symptoms were enrolled. Those less than 15 years of age who received glucocorticoid administration and had a high risk of bleeding from a biopsy were excluded. The patients who had organic causes of the symptoms, such as endoscopically proven reflux esophagitis, gastroduodenal ulcers, and upper gastrointestinal malignant tumors, were also excluded. Reflux esophagitis was diagnosed when esophageal mucosal breaks of grade A, B, C, or D (Los Angeles classification) were found [23]. The protocol of this study was evaluated and approved by the ethical committee of Shimane University School of Medicine, and written informed consent was obtained from all subjects prior to enrollment.

### Endoscopic Assessment and Biopsy Examination

All subjects underwent EGD performed by experienced endoscopists at each medical center. All examinations were done with high-resolution endoscope (GIF-H260 or GIF-H260Z; Olympus Medical Systems Co, Tokyo, Japan). During the endoscopy procedures, findings were recorded in patient charts. Endoscopic findings suspicious of EoE included longitudinal linear furrows, multiple concentric rings (ringed esophagus, corrugated esophagus), whitish exudates, and reddening, as well as others (edema, pallor, decreased vascularity, and mucosal fragility) as previously described [24, 25]. Representative endoscopic images with each finding suspicious of EoE were shown in figure 1. At least 2–4 biopsy samples were taken from the upper and lower esophagus, as well as the area of EoE shown in endoscopic findings as recommended by current clinical guideline [9]. In addition, biopsy samples were taken from the gastric and duodenal mucosa, irrespective of the mucosal appearance, in all the enrolled cases, to exclude eosinophilic gastroenteritis, as that exclusion is essential for diagnosis of EoE [10].

### Histological Assessment

Biopsy specimens were fixed in 10% formalin, and samples were stained with hematoxylin and eosin, and then the numbers of eosinophils that infiltrated the esophageal epithelial layer were counted under an Olympus BX50 microscope. Histological diagnosis of EE was defined as the presence of more than 15 eosinophils per HPF discovered in biopsy samples taken with endoscopy. In addition, degree of inflammatory cell infiltration (mild, moderate, or severe), presence or absence of basal layer hyperplasia and dilated intracellular spaces, were also evaluated in cases with EE, according to the consensus guidelines for the recognition and assessment of microscopic lesion related to GERD [26, 27]. All biopsies were reviewed by an experienced team of pathologists in the Pathology Department of Shimane University Hospital.



**Fig. 1.** Representative endoscopic images suspicious of EoE. **a** Linear furrows. **b** Rings including ringed esophagus (left) and corrugated esophagus (right). **c** Whitish exudate. **d** Reddening.

#### *Treatment and Definition of PPI Response*

Standard dose of PPI was prescribed for 4–8 weeks to symptomatic patients who were able to take them. Their symptoms, endoscopic findings, and histological abnormalities were reevaluated after the treatment with PPI. Positive response to PPI was defined as a case in which administration of PPI improved symptoms and intraepithelial eosinophilic infiltration (<5/HPF). PPI-resistant cases with EE were defined as cases with EoE.

#### *Statistical Analysis*

Fisher's exact probability test was used to compare 2 variables. The diagnostic utility of subjective symptoms and endoscopic findings was compared between the EE and non-EE groups using logistic regression analysis. All tests of significance were two-tailed, and *p* values less than 0.05 were considered to be significant. All analyses were done using SPSS 18.0 (IBM SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan).

## Results

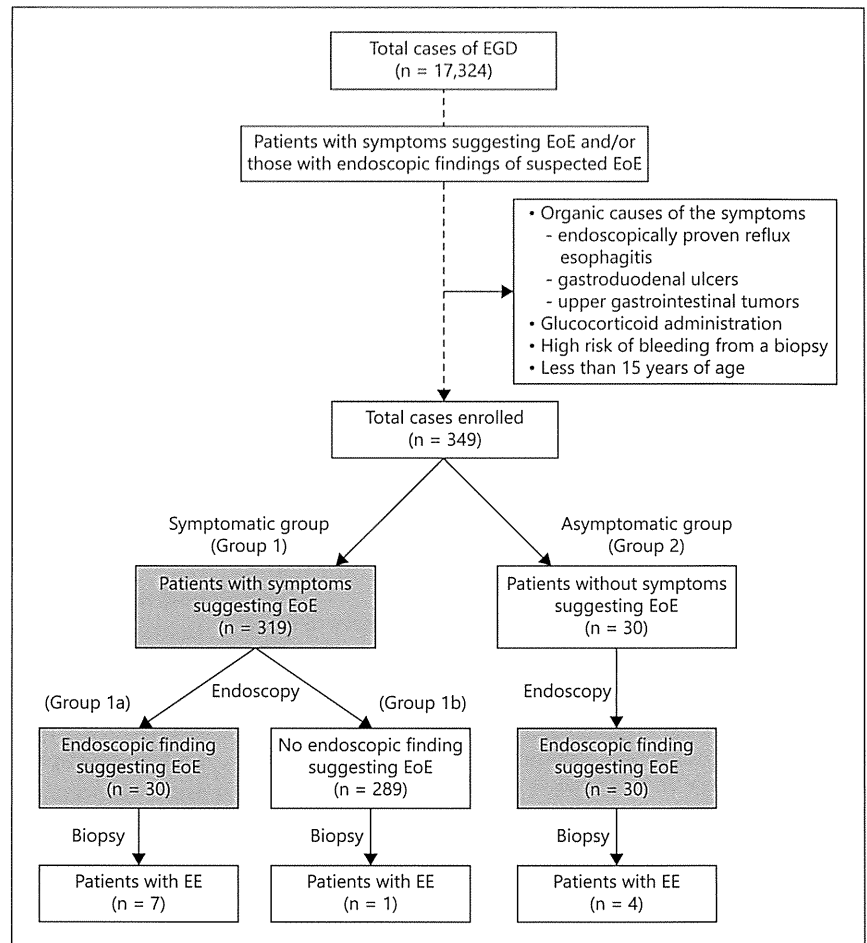
#### *Baseline Characteristics of Enrolled Patients*

During the study period of 13 months, EGD was performed in 17,324 patients at 12 medical centers, of whom 349 (163 men, 186 women; mean age 60.6 years) were enrolled in this study (fig. 2). Thirty-nine percent of enrolled subjects continued to take PPI when EGD was scheduled. Of the 349 enrolled patients, 319 complained of chest and/or epigastric symptoms suggesting EoE (symptomatic group, group 1), while 30 had no symptoms along with endoscopic findings suggesting EoE (asymptomatic group, group 2). We next subdivided group 1 into 2 groups; group 1a (*n* = 30), composed of patients with both symptoms and endoscopic findings suggesting EoE, and group 1b (*n* = 289), who had symptoms but no

endoscopic findings suggesting EoE (fig. 1). Twelve patients with EE were identified in this study, and 3 patients (No. 5, 7, 8) were finally diagnosed with EoE after PPI trial (table 1). Of 3 patients with EoE, 2 were treated by fluticasone swallowing and improved their symptoms and endoscopic findings, while 3 patients (No. 1, 4, 12) were responsive to PPI and diagnosed with PPI-REE. Other 6 patients were not treated by PPI because of mild or no symptom, drug allergy, and lactation. Baseline characteristics between EE-positive and -negative subjects are shown in table 2. The mean age of these 12 patients (7 men, 5 women) was 49.3 years, and significantly younger than EE negative patients (mean age; 62.9, *p* < 0.05). All of 3 patients with EoE had dysphagia, while none of 3 patients with PPI-REE had that, though the number was too small to compare statistically. As for histological findings, basal layer hyperplasia, dilated intracellular spaces, and mild to severe inflammatory infiltration (mainly lymphocyte infiltration) were found in all EE cases, and no histological findings independently distinguished EoE from EE patients (table 1). No cases with eosinophilic gastroenteritis were found in the enrolled subjects.

#### *Symptoms Not Useful for Predicting EE*

In the symptomatic group (group 1), 8 patients (2.5%) were finally diagnosed with EE. A total of 497 symptoms were reported in 319 patients, as shown in figure 3. Of the 8 patients with EE, 5 complained of dysphagia, 4 of heartburn, and 1 had both symptoms. None of the patients had a history of food impaction. Among the symptoms examined, dysphagia tended to be more common



**Fig. 2.** Flow diagram delineating enrolled patients for diagnosis of EE.

**Table 1.** Clinical characteristics of 12 patients with EE

No.	Age	Sex	Allergy	Symptoms				Endoscopic findings					Histology		PPI response
				heart-burn	dysphagia	epigastric pain	chest pain	linear furrows	rings	whitish exudates	reddening	others	eosinophil/HPF	lymphocyte infiltration	
1	33	M	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	48	moderate	Yes
2	26	F	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	95	moderate	NT
3	78	F	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+ decreased vascularity	44	moderate	NT
4	51	M	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	38	moderate	Yes
5	78	M	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+ edema	46	moderate	No
6	67	M	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	41	mild	NT
7	32	F	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	>20	mild	No
8	24	F	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	18	severe	No
9	42	M	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	168	moderate	NT
10	82	F	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	25	mild	NT
11	29	M	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	25	mild	NT
12	49	M	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	86	mild	Yes

Patients 5, 7, 8 were finally diagnosed with EoE after PPI trial. NT = Not treated.