

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00938

研究課題名(和文)小麦依存性運動誘発アナフィラキシーの原因遺伝子解析とそれに対応する小麦品種の探索

研究課題名(英文) Analysis of causative genes of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis and search for corresponding wheat species

研究代表者

矢上 晶子 (Yagami, Akiko)

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：90367699

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：小麦依存性運動誘発アナフィラキシー(WDEIA)は小麦含有食品摂取後に運動等によりアナフィラキシーショックなど生命の危険にさらされることがあり、治癒が難しく、患者らは長期的に食生活に注意をお払わなければならない。本研究では発症予測マーカーを探索し、患者らが摂取可能な小麦種を探索することを目的とする。申請者らは既に全ゲノム関連解析により世界発となる加水分解小麦アレルギー疾患感受性遺伝子の同定に成功しており、WDEIAについても同様に前ゲノム関連解析により疾患感受性遺伝子を同定することが可能と考える。疾患感受性遺伝子が同定された場合には、遺伝子型による発症リスク予測法の開発を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小麦タンパク質を分離し臨床検体サンプルを使用した免疫ブロットによって様々な品種についてタンパク質の組成や免疫応答に違いがあることを確認した。今回得られた結果や用いた手法を応用することで将来的にはWDEIA患者のための“テラーメード小麦”が選択できる可能性があり、さらにWDEIAについて網羅的な遺伝要因探索で加水分解小麦アレルギーと共通するHLAアレルと非加水分解型小麦アレルギーに特徴的なHLAアレルを同定した。今後WDEIAの主要小麦アレルゲンのT細胞エピトープの同定を行えば将来的な免疫療法開発に繋がる可能性を示唆しており本研究は、難治性の成人食物アレルギー治療法の第一歩になり得ると考える

研究成果の概要(英文)：-5 gliadin is commonly used for the diagnosis of WDEIA, but its sensitivity is reported to be about 80%. Despite the severe WDEIA symptoms, the problem was that there were cases in which WDEIA could not be diagnosed only by examination using -5 gliadin. In addition, there are various varieties of wheat, and the components contained also differ depending on each variety. In this study, we performed detailed separation of wheat proteins by two-dimensional electrophoresis and confirmed that there were differences in protein composition and immune response among various wheat varieties by immunoblot using clinical sample (Fig)

研究分野：アレルギー

キーワード：小麦依存性運動誘発アナフィラキシー 発症予測マーカー 小麦アレルゲン分子種 低アレルゲン小麦

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食物アレルギーの有病率は、本邦の乳児で約 5 ~ 10%、幼児で約 5%、学童期以降が 1.5 ~ 3%と報告されている(食物アレルギー診療ガイドライン 2012)。全世界的にみても、先進国を中心に食物アレルギーは近年増加傾向にある。

小麦は食物アレルギーの原因として鶏卵、牛乳に次ぎ第 3 位であり(平成 20 年厚生労働省化学研究)小麦の消費量の増加にともない増加傾向にある。小麦アレルギーの中でも、WDEIA は小麦含有食品摂取後に運動をすることによりアナフィラキシーショックを呈し、生命の危険にさらされることもある重篤な疾患である。特に、今まで症状が全くなかった成人、高齢者においてもある日突然発症することからその対応は緊喫の課題である。WDEIA 患者においては小麦アレルゲンのコンポーネントの一つである α -5 グリアジンに対する特異 IgE 抗体値の上昇が多く、多くの患者で認められ、臨床的感度・特異度が 78%、96%と報告されている(Matsuo et al., Allergy 2008)。しかしながら、**現在、本疾患に対する治療法は存在せず、一度罹患すると患者は小麦摂取について生涯注意していかなければならず、患者の QOL は著しく下がるため、発症リスク予測、発症後にも安心して摂取できる小麦製品への要望は強い。**

アレルギー疾患は複数の遺伝子と環境要因が関与して発症する多因子疾患である。近年、全染色体に存在する数十万 ~ 数百万の遺伝子多型を決定することにより、疾患と関連する遺伝子を同定する手法である全ゲノム関連解析(GWAS)が行われ、喘息、アトピー性皮膚炎、自己免疫疾患等、多くの多因子疾患の新規疾患感受性遺伝子同定に貢献している。喘息、アトピー性皮膚炎については多くの GWAS の報告があるが、食物アレルギーについては 2015 年に Hong らが食物アレルギーの GWAS を行い、HLA-DR と DQ 領域の SNP とピーナツアレルギーとの関連を報告した(Nat Commun,2015)のみである。

2. 研究の目的

小麦依存性運動誘発アナフィラキシー(WDEIA)は小麦含有食品摂取後に運動等によりアナフィラキシーショックなど生命の危険にさらされることもある重篤な疾患であり、治療が難しく、患者らは長期的に食生活に注意を払わなければならない。本研究では発症予測マーカーを探索し、患者らが摂取可能な小麦種を探索することを目的とする。申請者は既に全ゲノム関連解析により世界初となる加水分解小麦アレルギー疾患感受性遺伝子の同定に成功しており、WDEIA についても同様に全ゲノム関連解析により疾患感受性遺伝子を同定することが可能であると考え。疾患感受性遺伝子が同定された場合には、遺伝子型による発症リスク予測法の開発を行う。さらに、HLA に特徴があった場合には、HLA と小麦遺伝子の結合性をコンピューターシミュレーションにより解析し、WDEIA 患者でも摂取可能な(発症前であれば発症予防に繋がる)小麦種の開発基盤を作る。

3. 研究の方法

平成 29 年度 : WDEIA 患者のサンプル収集と、single nucleotide polymorphism(SNP)アレイを使用した全ゲノム関連解析を行う。さらに患者血清とさまざまな小麦品種との IgE 免疫反応性をウェスタンブロット解析により検出し、各患者が反応するタンパク質について詳細な解析を行う。

平成 30 年度以降 : WDEIA 患者の全ゲノム関連解析のタイピングを平成 29 年度に終了し、インビュテーション法による HLA を含めた遺伝子型の推定と、WDEIA に関連する遺伝子型の同定を行う。WDEIA 患者の IgE 免疫応答性が強いタンパク質を探索し、アレルギー性が少ない、またはそれ自体が欠失した品種・系統の作成を行う。

4. 研究成果

本研究では、小麦タンパク質を詳細に分離し、臨床検体サンプルを使用した免疫プロットによって、様々な小麦品種についてタンパク質の組成や免疫応答に違いがあることを確認した。

今回得られた研究結果や用いた研究手法を応用することで、将来的には WDEIA 患者のための“オーダーメイド小麦”が選択できる可能性がある。さらに、WDEIA について網羅的な遺伝要因の探索を行ったところ、加水分解小麦アレルギーと共通する HLA アレルと、非加水分解型的小麦アレルギーに特徴的な HLA アレルを同定した。これらの結果を基に、今後、WDEIA の主要小麦アレルゲンの T 細胞エピトープの同定などを行えば、将来的な免疫療法開発に繋がられる可能性を示唆している。以上より、本研究は、重症かつ難治性の成人食物アレルギー-症例の治療法の第一歩になり得ると考える。

No.	accession No.	name	WDEIA (38.) Positive rate (%)
1	V9P767	LMW-m glutenin subunit 8	61
2	B2BZD1	LMW-GS	84
3	Q9SYX8	Gamma-gliadin	34
4	M9TG60	Gamma-gliadin 1	45
5	P10386	Low molecular weight glutenin 1D1	13
6	P08453	gamma-gliadin	24
7	Q40215	ω-5 gliadin	82
8	W5CCA9	Fructose-bisphosphate aldolase	11
9	Q1WA40	Alpha-gliadin Gli2-LM2-12	34
10	A0A0E3UR64	Alpha-gliadin (Fragment)	24
11	A0A0E3Z522	Alpha-gliadin (Fragment)	29
12	I0IT52	Alpha/beta-gliadin	29
13	I0IT53	Alpha/beta-gliadin	16
14	P18573	alpha/beta gliadin MM1	76

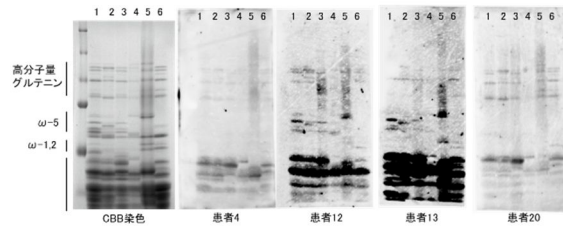


図1. 様々な小麦サンプルに対する患者IgE抗体の反応
 1. カメリア(バン用輸入小麦), 2. バイオレット(菓子用輸入小麦), 3. 春よ恋(国産バン用),
 4. きたほなみ(国産種用), 5. ゆめちから(国産バン用), 6. 17T140(ω-5欠失系統)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 政志 (NAKAMURA Masashi) (30449467)	藤田医科大学・医学部・客員准教授 (33916)	
研究分担者	野口 恵美子 (NOGUCHI Emiko) (40344882)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	
研究分担者	池田 達哉 (IKEDA Tatsuya) (60355138)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・西日本農業研究センター・上級研究員 (82111)	
研究分担者	下條 尚志 (SHIMOJOH Naoshi) (70410751)	藤田医科大学・医学部・客員准教授 (33916)	
研究分担者	松永 佳世子 (MATSUNAGA Kayoko) (80131192)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	