

平成21年6月15日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18790796
 研究課題名（和文） 食物アレルギーにおけるアレルゲンの同定、
 アレルゲンの体内動態の解析についての検討
 研究課題名（英文） Identification of allergens and analysis of allergen kinetics in
 food allergy
 研究代表者
 猪又 直子（INOMATA NAOKO）
 横浜市立大学・附属病院・准教授
 研究者番号：20347313

研究成果の概要：近年注目される食物アレルギー（特に植物性食品による口腔アレルギー症候群、納豆による遅発性アナフィラキシー、小麦による食物依存性運動誘発アナフィラキシー）の抗原同定、及び抗原の体内動態について解析した。植物性食品による口腔アレルギー症候群では、バラ科食物が原因として頻度が高く、カバノキ科花粉感作と強い相関をみとめた。モモ抗原解析で、花粉との交差反応による場合は PR-10 や profilin による頻度が高いが、花粉と関連せず重症化に関わる抗原は海外既報告の抗原 LTP とは異なる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,200,000	0	1,200,000
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：皮膚診断学

1. 研究開始当初の背景

食物アレルギーの関与するアレルギー疾患は、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシー、慢性蕁麻疹、口腔アレルギー症候群など多彩であるが、食物アレルギーの診断のために、現在市販されている検査方法の感受性、特異性は十分とはいえず、また本症の根治療法は確立していない。

2. 研究の目的

本研究の目的は食物アレルギーの診断方法の開発に帰着することであり、そのための研究として大きく2つに分けて行う。

1) 未知の食物主要アレルゲンを同定し、国際アレルゲン登録やエピトープ解析を行う。

2) 食物摂取後の抗原の体内動態を解析する。体内動態を知るとはとりわけ食物アレルギーの治療や予防法の開発への応用が期待できる。

3. 研究の方法

1) 食物アレルゲンの同定

A) 花粉アレルギーに合併する、植物由来食品による口腔アレルギー症候群 (Oral allergy syndrome: OAS)

① OAS の特徴と検査毎の陽性率の検討：2000～2005年までの6年間に当院通院中のOAS症例の特徴を解析した。

② 植物由来食品によるOASに関与する

責任花粉の同定：当院通院中の OAS 患者の特徴を把握するとともに、本症に関連性の高い花粉感作を統計学的に解析した。

- ③ カバノキ科花粉（ハンノキ、シラカンバなど）主要な感作抗原の検索：既知の感染特異的蛋白質 PR-10 とプロフィリンに対する特異的 IgE 抗体測定を実施した。方法としてハンノキと同じカバノキ科に属すシラカンバ花粉 PR-10 (Bet v 1) とプロフィリン (Bet v 2) を抗原に用い CAP-FEIA 法で測定した。
- ④ OAS の原因食品別の責任花粉の同定：上位 4 品目について各責任抗原を統計学的に解析した。
- ⑤ モモアレルゲンの解析
モモによる OAS18 例（男女比＝5：13, 年齢 10～60 歳）について、花粉やモモのリコンビナント抗原 rPru p 1,3,4 に対する特異的 IgE 抗体測定 (CAP- FEIA 法) とモモのイムノブロットを施行した。

B) 納豆による遅発性アレルギー

当施設では、わが国の伝統的食品である、納豆による遅発性アレルギーを 2004 年に初めて報告した。本症 5 例の抗原解析を IgE-immunoblotting により施行した結果、4 例の血清 IgE は 38、28、26 k d の蛋白質に共通に反応を示した。N 末端アミノ酸配列解析による抗原解析および抗原精製を実施した。

C) そのほかの重症食物アレルギー

キュウリ、ダイズ、ソバ、ナッツ類等の抗原を、イムノブロットやリコンビナント抗原を用いた ELISA による抗原解析を実施した。

2) アレルゲンの体内動態の解析

小麦や卵白、他数種のアレルゲンの血清中抗原測定法 (ELISA) を確立した上で、健常者や患者の血清を用い血液中抗原濃度を測定し、アレルゲンの血液中動態の解析を実施する。

1. 研究成果





1 食物アレルゲンの同定

A) 花粉アレルギーに合併する、植物由来食品による口腔アレルギー症候群 (Oral allergy syndrome: OAS)

① OAS の特徴

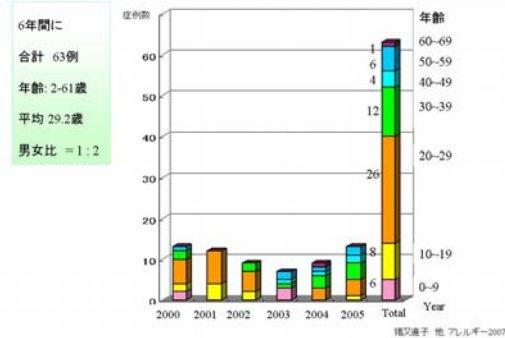
Summary of 63 cases diagnosed as having oral allergy syndrome In Yokohama City University Hospital

Age and sex	Complication	No. of cases
Age: 29 years (range, 2-61 years)	Pollinosis /allergic rhinitis	41 (66%)
male: female = 1 : 2	Atopic dermatitis	29 (46%)
	Bronchial asthma	13 (21%)
	Food allergy	7 (11%)

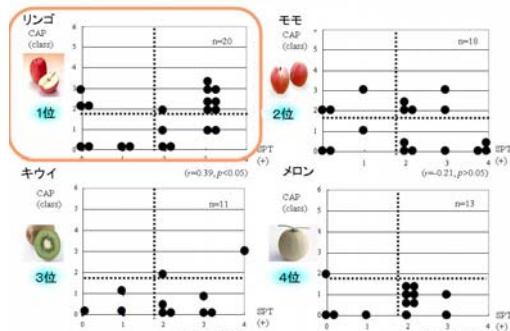
Causative foods	No. of cases
1. Apple 	13
2. Peach 	12
Kiwi 	12
3. Melon 	11

* No. of cases with a positive CAP response/ No. of patients underwent CAP measurement against each pollen (Ishimizu M et al. allergy 2007)

OASと診断された症例数の推移

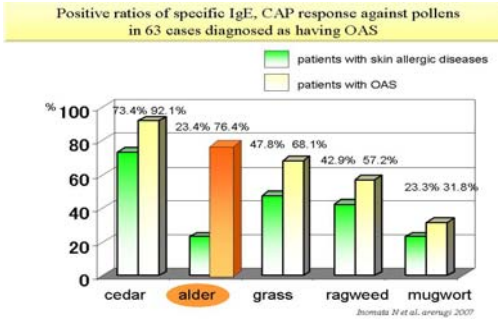


現行の検査の検証 ブリックテストと特異的IgE抗体測定CAPの相関について

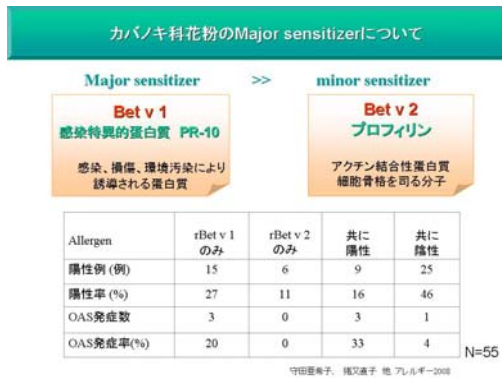


現行の *in vitro* 検査の信頼性について、skin prick test (SPT) と特異 IgE 抗体測定との相関を調べた。OAS が疑われる 118 例に、被疑食物に対する SPT と CAP を実施し、2つの検査結果の相関を解析した。明らかな病歴を有し、かつ SPT 陽性である診断例 63 例の主な原因食品はリンゴ、モモ、キウイ、メロンであった。4つの食物についてCAPとSPTの相関を調べた結果、リンゴでは両者の結果の間に有意な相関をみとめたが ($r = 0.39, p < 0.05$)、メロン、モモ、キウイではみとめられなかった。

②植物由来食品による OAS における責任花粉抗原の同定：ハンノキ花粉感作と OAS 発症の間に有意な相関をみとめた。皮膚アレルギー337例を対象にスギとハンノキの特異 IgE 抗体測定 (CAP- FEIA : CAP) を測定した。



③カバノキ科花粉（ハンノキ、シラカンバなど）主要感作抗原：Bet v 1 に対する特異的 IgE 抗体陽性率は 43.7%、Bet v2 は 27.3% であった。よって、PR-10 はハンノキ花粉アレルギーに合併する OAS の主要な責任抗原である可能性が示唆された。



④OAS の原因食品別の責任花粉の同定：2006～2007 年に受診した皮膚アレルギー疾患患者 627 例を対象として解析を行った。果物別にみると、メロンの OAS と、カモガヤやブタクサ感作との間に相関をみとめた ($p<0.05$)。よって、メロンの OAS の発症は、カモガヤやブタクサのアレルギーに関連していることが示唆された。

⑤モモアレルゲンの解析：18 例中 5 例に蕁麻疹、2 例に呼吸苦、1 例は血圧低下をみとめた。蕁麻疹や血圧低下を伴った 5 例では rPru p 1,3,4 すべて陰性であったが、口腔症状のみの例は rPru p 1 は 93%、rPru p 3 は 0%、Pru p 4 は 43%が陽性であった。花粉はスギ 15/18 例、ハンノキ 11/17 例が陽性であった。イムノブロットは蕁麻疹やショックを伴う 8 例で約 10-18,20,54kd にバンドを検出した。口腔単独群では全例にハンノキ花粉感作あり、一方、重症群ではハンノキ時花粉感作はなく、複数の抗原が候補として検出されたが、Pru p 3 (LTP) は稀であることがわかった。

B) 納豆による遅発性アレルギー
本症 5 例の抗原解析を IgE-immunoblotting により施行した結果、4 例の血清 IgE は 38、

28、26 k d の蛋白質に共通に反応を示した。N 末端アミノ酸配列解析後抗原精製を行い、阻害試験にて反応性を確認中である。

C) そのほかの重症食物アレルギー
キウイ、キュウリ、ダイズ、ソバ、ナッツ類など複数の食物アレルゲン解析を実施した。今後、症例を蓄積したうえで主要アレルゲンを同定する予定である。

2) アレルゲンの体内動態の解析
小麦グリアジンを含め 4 種の食品由来蛋白質の血液中濃度測定系 (ELISA 法) を作成ないし試作した。本研究では、特に小麦による食物依存性運動誘発アナフィラキシーの主要抗原であるグリアジンの血液中濃度を測定し、運動や解熱鎮痛薬による抗原吸収への影響を解析した。4 例において解析した結果、運動やアスピリンによりグリアジン血液中濃度の上昇がみとめられた。さらに、解熱鎮痛薬の種類によって、グリアジン血液中濃度の上昇の程度や症状誘発率が異なることが示唆された。今後、食物アレルギーに及ぼす薬剤の影響をさらに解析し、本症に影響を及ぼしにくい薬剤について患者へ情報提供できるようにしていく予定である。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

- [雑誌論文] (計 24 件)
- ① Inomata N. Wheat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 9:238-43, 2009 査読有
 - ② Inomata N, et al. : Late-onset anaphylaxis to *Bacillus subtilis*-fermented soybeans (natto): clinical review of 7 patients. *Allergol Int* 2007 査読有
 - ③ Nakamura K, Inomata N, et al. : Dramatic augmentation of wheat allergy by aspirin in a dose-dependent manner." *Ann Allergy Asthma Immunol*. 97. 712-713, 2006 査読有
 - ④ Hasegawa M, Inomata N, et al.: Clinical features of four cases with cashew nut allergy and cross-reactivity between cashew nut and pistachio. *Allergol Int*. 58:209-15, 2009 査読有
 - ⑤ Maeda N, Inomata N, et al.: Correlation of oral allergy syndrome due to plant-derived foods with pollen sensitization in Japan. (submitted) 査読有
 - ⑥ Kumagai H, Suda A, Sakurai H, Kumagai H, Arai S, Inomata N, et al. Improvement of digestibility, reduction in allergenicity, and induction of oral tolerance of wheat gliadin by deamidation. *Biosci*

- Biotechnol Biochem. 71(4):977-85, 2007 査読有
- ⑦ 猪又直子『蕁麻疹と紅斑症』1. 蕁麻疹の診断と治療日本皮膚科学会雑誌 58: 2383-96, 2008. 査読無
- ⑧ 猪又直子他: アレルギー性蕁麻疹の見方・捉え方日本皮膚アレルギー学会誌 14: 73-80, 2006. 査読有
- ⑨ 猪又直子他: オフィスでの食物アレルギーの対応: Journal of Environmental Dermatology and Cutaneous Allergology, 2, 14-24, 2008. 査読有
- ⑩ 猪又直子他: 植物性食物による口腔アレルギー症候群 63 例の検討-原因食物ごとの皮膚試験と特異IgE測定における陽性率の比較及び花粉感作状況について. アレルギー, 56:1276-1284, 2007. 査読有
- ⑪ 守田亜希子, 猪又直子他: 横浜近郊における、ハンノキ花粉感作と植物性食物による口腔アレルギー症候群の関連について 57: 138-46, 2008. 査読有
- ⑫ 前田修子, 猪又直子他: モモのCAPが陰性であった、モモによるアナフィラキシーの 2 例: rPrup1、3、4 を含めた抗原解析アレルギー 58:140-7, 2009. 査読有
- ⑬ 猪又直子他: 小麦によるI型アレルギーに及ぼすNSAID s や抗アレルギー薬の効果 アレルギー 55: 1304-11, 2006. 査読有
- ⑭ 猪又直子他: 出産処置中のアナフィラキシーショックを契機に診断に至ったラテックス-フルーツ症候群の 1 例. 日本ラテックスアレルギー研究会誌 20: 25-31, 2008 査読無
- ⑮ 猪又直子他: 豆乳によるアナフィラキシーの 1 例 大豆とハンノキ花粉のプロフィリンとの交叉反応性の検討. アレルギーの臨床 27: 554-8, 2007. 査読無
- ⑯ 猪又直子 他: 納豆による late-onset anaphylaxis 28: 656-662, 2008. 査読無
- ⑰ 吹譚紀子, 猪又直子他: 納豆による遅発性アナフィラキシー アレルギーの臨床 28: 963-966, 2008. 査読無
- ⑱ 猪又直子他: 【蕁麻疹の分類と臨床 アップデート】 I型アレルギーによる蕁麻疹のトピックス アレルギー・免疫 14: 1424-35, 2007. 査読無
- ⑲ 猪又直子他: 【皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか? 検査方法と生活指導】 即時型アレルギー 原因物質=食物 ナッツ類 Visual Dermatology7: 268-270, 2008 査読無
- ⑳ 猪又直子他: 皮膚科領域における食物アレルギー臨床免疫・アレルギー科 49: 549-556, 2008. 査読無
- 21 猪又直子他: クラス 2 食物アレルギーと
 してのラテックスアレルギー アレルギーの臨床 26: 42-48, 2006.. 査読無
- 22 長谷川美紀, 猪又直子他: 初回摂取時に発症したカシューナッツアレルギーの小児例 アレルギーの臨床 27:636-639, 2007. 査読無
- 23 猪又直子他: 花粉症を合併しないカシューナッツによる口腔アレルギー症候群の 1 例 猪又直子他. アレルギー 55:38-42, 2006. 査読の有
- 24 廣門未知子, 猪又直子他. ライチによる口腔アレルギー症候群の 1 例日本ラテックスアレルギー研究会会誌 10: 94-96, 2006. 査読無
- [学会発表] (計 34 件)
- ① Inomata N, et al. Novel clinical course of IgE-mediated, late-onset anaphylaxis after ingestion of Bcillus subtilis-fermented soybeans (natto) The 2008 Annual meeting of American Academy of Allergy, Asthma and Immunology 2007, 3 San Diego, US
- ② Morita A., Inomata N., et al Occupational contact urticaria syndrome caused by handling lettuce and chicory: cross-reactivity between lettuce and chicory The 2008 Annual meeting of American Academy of Allergy, Asthma and Immunology 2007, 3 San Diego, US
- ③ Inomata N, et al. Oral allergy syndrome due to plant-derived foods: a clinical review of 63 patients over a period of 6 years The World Allergy Congress 2007 2007, 12 Bangkok, Thailand
- ④ Hirokada M., Inomata N., et al Sensitization to parvalbumin and collagen in 6 Japanese patient with fish allergy The World Allergy Congress 2007 2007, 12 Bangkok, Thailand
- ⑤ Inomata N, et al. Oral allergy syndrome in Japan. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2007, 11 横浜
- ⑥ 河野克之, 猪又直子他: 納豆による遅発性アナフィラキシーショックの 1 例 日本皮膚科学会東京地方会 2007 年 4 月横浜
- ⑦ 守田亜希子, 猪又直子他: ハンノキ花粉感作を伴う口腔アレルギー症候群診断例についての検討 第 19 回アレルギー学会春季臨床大会 2007, 7 横浜
- ⑧ 廣門未知子, 猪又直子他: 魚アレルギー 6 例の臨床的特徴と原因抗原についての検討 第 19 回アレルギー学会春季臨床大会 2007, 7 横浜
- ⑨ 猪又直子他: モモアレルギー 20 例における臨床的特徴と原因抗原の検索: Pru p 1、3、4 の感作率 第 20 回アレルギー学会春季臨床大会 2008, 6 東京
- ⑩ 猪又直子他: 大豆の口腔アレルギー症候

- 群における、microarray assay 法を用いた抗原特異 IgE 抗体スクリーニングの予備的検討 ラテックスアレルギー・OAS 研究会 2007, 7 広島
- ⑪ 前田修子, 猪又直子他: 多種の果物による口腔アレルギー症候群の小児例 ラテックスアレルギー・OAS 研究会 2007, 7 広島
 - ⑫ 猪又直子他: 「食物アレルギーの最近の動向」皮膚科領域における食物アレルギー 第57回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2007, 11 横浜
 - ⑬ Inomata N. et al.: 「Educational Session of APAACI」Oral allergy syndrome in Japan Toward prevention of a new class of food allergy in Asia 第57回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2007, 11 横浜
 - ⑭ 繁平有希, 猪又直子他: 幼児期より花粉症を認め、約10歳で多種果物による口腔アレルギー症候群を発症した小児2例 第57回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2007, 11 横浜
 - ⑮ 前田修子, 猪又直子他: モモのCAPが陰性であった、モモによるアナフィラキシーの2例 第57回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2007, 11 横浜
 - ⑯ 前田修子, 猪又直子他: 口腔アレルギー症候群に及ぼすカモガヤ、ブタクサ及びヨモギ花粉の影響 第20回アレルギー学会春季臨床大会 2008, 6 東京
 - ⑰ 吹譚紀子, 師井洋一, 猪又直子, 他: 納豆によるアレルギーの一例 第20回アレルギー学会春季臨床大会 2008, 6 東京
 - ⑱ 猪又直子他: シンポジウム「食物アレルギーからみた蕁麻疹」第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2007, 12 名古屋
 - ⑲ 猪又直子他: エピペンが処方されたアナフィラキシー例の臨床的検討 第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2007, 12 名古屋
 - ⑳ 長谷川美紀, 猪又直子他 初回摂取時に発症したカシューナッツアレルギーの小児例 第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2007, 12 名古屋
 - ㉑ 前田修子, 猪又直子他: 多種の果物による口腔アレルギー症候群の小児例 第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2007, 12 名古屋
 - ㉒ 猪又直子他: 出産処置中のアナフィラキシーショックを契機に診断に至ったラテックス-フルーツ症候群の1例 ラテックスアレルギー・OAS 研究会 2008, 7 長野
 - ㉓ 前田修子, 猪又直子他: 院内手術部を対象としたラテックスアレルギーに関するアンケート調査 ラテックスアレルギー・OAS 研究会 2008, 7 長野
 - 24 繁平有希, 猪又直子他: 小児期発症の、多種果物による口腔アレルギー症候群の2例 第32回 日本小児皮膚科学術大会 2008, 6 東京
 - 25 猪又直子他: アトピー性皮膚炎に合併する即時型食物アレルギーの変遷について: 20歳未満の年齢別合併率・臨床型・重症度 第58回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2008, 11 横浜
 - 26 繁平有希, 猪又直子他: アニサキスアレルギーにおける精製及び組み換えアレルゲン9種を用いたプリックテストの検討 第58回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2008, 11 横浜
 - 27 中村和子, 猪又直子他: アスピリン 1.5gの組み合わせ負荷試験により診断し得た、イカの食物依存性運動誘発アナフィラキシーの1例 第58回 日本アレルギー学会秋季学術大会 2008, 11 横浜
 - 28 猪又直子他: 韓国伝統美容キュウリパックによる接触蕁麻疹の1例 第38回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2008, 10 大阪
 - 29 繁平有希, 猪又直子他: リコンビナント抗原のプリックテストにより Ani s 3 が原因と考えられたアニサキスアレルギーの1例 第38回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2008, 10 大阪
 - 30 綾部原子, 猪又直子他: クルミによるアナフィラキシーの1例 第38回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2008, 10 大阪
 - 31 前田修子, 猪又直子他 ソバ粉入りクレープによって発症したソバアナフィラキシーの一例 第38回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 2008, 10 大阪
 - 32 猪又直子他: 食物アレルギーの診断の向上 乳児期に抗原特異的IgE検査陽性により食物除去となったアトピー性皮膚炎の検討 2008, 12 東京
 - 33 猪又直子他: NSAIDsによる増強効果をみとめた梅干によるアナフィラキシーの1例 日本皮膚科学会 東京支部総会 2009, 2 東京
 - 34 猪又直子: 口腔アレルギー症候群 第17回小児臨床薬理・免疫・アレルギー研究会 2009, 2 栃木
- [図書] (計5件)
- ① 猪又直子他: 最新皮膚科学大系 2008-2009 (玉置邦彦監修) 中山書店 2008
 - ② 猪又直子: Visual Dermatology 別冊ラテックスアレルギーのすべて (松永佳世子編) 芳潤社 2007
 - ③ 猪又直子: じんましん最前線 (秀道広,

宮地良樹編) メディカルレビュー社
2007

- ④ 猪又直子: 小児科臨床ピクシス5 年代別アレルギー疾患への対応 (五十嵐隆、海老澤元宏監修) アトピー性皮膚炎 幼児期, 食物アレルギー 成人期への移行
2009
- ⑤ 猪又直子: 小児科臨床ピクシス7 アトピー性皮膚炎と皮膚疾患 (五十嵐隆、大矢幸弘, 馬場直子監修) 総 IgE 値・特異的 IgE・好酸球数値, 食物負荷試験, 蕁麻疹
2009

6. 研究組織

(1) 研究代表者

猪又直子 (INOMATA NAKO)

横浜市立大学・附属病院・准教授

研究者番号: 20347313