

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08802

研究課題名(和文) -5グリアジン欠失1BS-18小麦の継続摂取による免疫寛容誘導の基礎的検討

研究課題名(英文) Basic study for tolerance induction using 1BS-18 wheat in the patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis

研究代表者

森田 栄伸 (Morita, Eishin)

島根大学・医学部・客員研究員

研究者番号：90182237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：成人の小麦アレルギーの根治療法を開発するための基礎研究として、主要小麦アレルゲン -5グリアジンを欠失した小麦系統1BS-18パンを3カ月継続摂取し、摂取前後で小麦アレルゲン特異IgE及び好塩基球活性化率を調査した。その結果、両者ともに有意な低下は見られなかった。しかし、ラット小麦アレルギーモデルにおいて予め1BS-18ホクシン小麦のグルテンを継続摂取させておくこと通常小麦のグルテンや5-gliadin投与で感作が成立しないことを明らかにした。これにより1BS-18ホクシンに含まれる5-gliadin T細胞エピトープは耐性獲得に十分であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小麦は成人の食物アレルギーでは頻度の高い原因食品で、多くが重篤な小麦依存性運動誘発アナフィラキシーとなる。小麦アレルギー患者は小麦摂取制限や食後の運動制限を強いられることになり、QOLが著しく低下している。申請者らは、小麦依存性運動誘発アナフィラキシーの主要アレルゲンである -5グリアジンを欠失した Chinese Spring 1BS-18小麦系統を見出し、小麦依存性運動誘発アナフィラキシー患者が1BS-18系統の小麦を一定量継続摂取できることを確認した。さらにラットの小麦アレルギーモデルで、1BS-18小麦を継続摂取することで耐性を獲得する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：As a basic study to develop a tolerance for wheat allergy in adults, wheat allergen-specific IgE test and basophil activation test were investigated before and after continuous consumption of wheat strain 1 BS -18 bread lacking major wheat allergen omega 5-gliadin for 3 months. There was no significant reduction in either test. However, in a rat wheat allergy model, it was found that continuous intake of 1 BS -18 gluten in advance prevented sensitization by the administration of gluten of normal wheat or omega 5-gliadin. This indicates that T cell epitope of omega 5-gliadin in 1 BS -18 gluten is sufficient for the induction of tolerance.

研究分野：アレルギー学

キーワード：小麦依存性運動誘発アナフィラキシー オメガ5-グリアジン 低アレルゲン小麦 耐性獲得 根治療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小麦は学童期以降の食物アレルギーでは頻度の高い原因食品で、多くが重篤な小麦依存性運動誘発アナフィラキシーとなる。小麦アレルギー患者は小麦摂取制限や食後の運動制限を強いられることになり、QOL が著しく低下している。応募者らの調査では、島根県内における成人の小麦アレルギーの有病率は 0.2% である。小児期の食物アレルギーでは、特定の医療施設で原因食物を使用した経口減感作療法が行われているが、成人の食物アレルギーについては、根治療法は確立されていない。申請者らは、-5 グリアジンの遺伝子座 *Gli-B1* が染色体 1B にあることに着目し、ナショナルバイオリソースプロジェクト KOMUGI に登録された 12,000 株の小麦の中から *Gli-B1* を欠失した Chinese Spring 1BS-18 小麦系統を選出した。モルモットを用いた経口感作試験にて Chinese Spring 1BS-18 のアレルギー性を評価したところ、市販小麦と比較して感作されにくいことが示された。さらに、市販小麦で感作したラットに 1BS-18 小麦系統を摂取させた場合、市販小麦を摂取させた場合と比較して、アレルギー症状が軽微であることを確認した。申請者らは、1BS-18 小麦系統は主要 IgE エピトープが欠如するが、T 細胞エピトープは保たれていると考え、-5 グリアジン感作型成人小麦アレルギー患者を対象として、1BS-18 ホクシンパンの摂取量を確認し、継続摂取することによる減感作療法の確立を検証する臨床研究を多施設共同研究として実施中である。

2. 研究の目的

小麦アレルギー患者に対する 1BS-18 ホクシンパンによる経口減感作の成立を基礎的に裏付ける根拠を得ることを目的とする。主要 IgE エピトープを含まないアレルギーによる経口減感作療法の成否を免疫担当細胞の動態と比較検討することにより、減感作療法の成立機序を明らかにする。

3. 研究の方法

1) 経口減感作療法の実施

対象：成人 -5 グリアジン感作型小麦アレルギー患者 20 例

方法：

(1) 摂取可能量評価 (ステップ1): 通常小麦製品の摂取は禁止し、1BS-18ホクシンパンを以下の手順で摂取する。

1 週目：10g / 日を毎日朝食時摂取、2 週目：20g / 日を毎日朝食時摂取

3 週目：30g / 日を毎日朝食時摂取、4 週目：40g / 日を毎日朝食時摂取

5 週目：50g / 日を毎日朝食時摂取、6 週目：60g / 日を毎日朝食時摂取

蕁麻疹など即時型アレルギー症状が見られた時点で中止とし、アレルギー症状を示さない最大量を摂取可能量とする。

(2) 減感作療法 (ステップ2): 通常小麦製品の摂取は禁止し、ステップ1にて評価した摂取可能量を 12 週間毎日朝食時摂取する。期間中、即時型アレルギー症状を評価する。

2) 耐性獲得の評価

ステップ1の実施前、ステップ2の実施前後に患者末梢血の免疫担当細胞の動態を観察するため、以下の項目を測定する。

(1) 血清 -5 グリアジン特異的 IgE: ImmunoCAP -5 グリアジン

(2) 血清 -5 グリアジン特異的 IgG4: 精製 -5 グリアジンを抗原とした ELISA 法

(3) 小麦抗原による末梢血好塩基球活性化試験: 小麦水溶性分画、小麦エタノール可溶性分画、小麦エタノール分画、小麦アルカリ分画を添加し、好塩基球の活性化を CD203c の発現を指標として FACS にて検出 (Allergenicity kit を使用) し、陰性、陽性コントロールとの % 比率で評価する。

(4) 末梢血単核球のサイトカイン産生プロファイル: 通常小麦及び 1BS-18 ホクシン小麦添加による末梢血単核球からの IL-4、IL-10、TGF- β の産生量を特異 ELISA で測定する。

(5) 末梢血中の Treg の割合: 末梢血中の Treg を特異抗体を用いて FACS 解析する。

4. 研究成果

1) 経口減感作療法の実施

対象：成人 -5 グリアジン感作型小麦アレルギー患者 16 例を登録した。

ステップ 1 の摂取可能量の判定では 16 例中 14 例が 60g、2 例が 40g であった。

ステップ 2 では 13 例が 60g、1 例が 40g 3 カ月摂取完了した。1 例が 40g、1 例が 60g でアレルギー症状が誘発され、中止した。

2) 耐性獲得の評価

ステップ 2 の前後で血清 -5 グリアジン特異的 IgE の有意な低下は観察されなかった。また、ステップ 2 の前後で小麦抗原による末梢血好塩基球活性化率の有意な低下は観察されなかった。以上の結果から、1BS-18 ホクシンパンの 60g 以下の 3 カ月継続摂取では小麦アレルギーに対する耐性獲得はできない、と判断した。

3) ラットの小麦アレルギー感作モデルによる 1BS-18 ホクシンの耐性獲得の評価

ラット小麦アレルギーモデルにおいて、予め 1BS-18 ホクシン小麦のグルテンを継続摂取させておくと通常小麦のグルテンや 5-gliadin 投与で感作が成立しないことを明らかにした。このことは 1BS-18 ホクシンに含まれる微量の 5-gliadin は耐性獲得に十分であることを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fukunaga K, Chinuki Y, Hamada Y, Fukutomi Y, Sugiyama A, Kishikawa R, Fukunaga A, Oda Y, Ugajin T, Yokozeiki H, Harada N, Suehiro M, Hide M, Nakagawa Y, Noguchi E, Nakamura M, Matsunaga K, Yagami A, Morita E, Mushiroda T.	4. 巻 108
2. 論文標題 Genome-wide association study reveals an association between the HLA-DPB1:02:01:02 allele and wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Hum Genet.	6. 最初と最後の頁 1540-1548.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajhg.2021.06.017.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogino R, Chinuki Y, Yokooji T, Takizawa D, Matsuo H, Morita E	4. 巻 70
2. 論文標題 Identification of peroxidase-1 and beta-glucosidase as cross-reactive wheat allergens in grass pollen-related wheat allergy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 215-222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2020.09.005.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Y, Yokooji T, Kunimoto K, Inoguchi K, Ogino R, Togoshi T, Morita E, Matsuo H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Hypoallergenic wheat line (1BS-18H) lacking w5-gliadin induces oral tolerance to wheat gluten protein in a rat model of wheat allergy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 2181-2193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods11152181.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Morita E, Chinuki Y, Kohno K, Matsuo H.	4. 巻 53
2. 論文標題 Cofactors of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis increase gastrointestinal gliadin absorption by an inhibition of prostaglandin production.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clin Exp Allergy.	6. 最初と最後の頁 359-361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cea.14265.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Eishin Morita, Hiroaki Matsuo, Kunie Kohno, Tomoharu Yokooji, Hiroyuki Yano, Takashi Endo.	4. 巻 12
2. 論文標題 A narrative mini review on current status of hypoallergenic wheat development for IgE-mediated wheat allergy, wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 954-968
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods12050954	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計10件(うち招待講演 7件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 感作経路から見える成人食物アレルギー
3. 学会等名 第120回日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 食物依存性運動誘発アナフィラキシーの病態に迫る.
3. 学会等名 第16回日本消化管学会総会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 荻野龍平、千貫祐子、森田栄伸、横大路智治、滝沢大吾、松尾裕彰
2. 発表標題 イネ科花粉に感作され発症したと考えられる花粉-小麦アレルギーの交差性抗原解析.
3. 学会等名 日本花粉学会第61回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 食物アレルギーの暗闇にひとすじの光を探せ！
3. 学会等名 第84回日本皮膚科学会東京支部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 大人の食物アレルギー最前線：食物依存性運動誘発アナフィラキシーと口腔アレルギー症候群．
3. 学会等名 第50回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 小麦依存性運動誘発アナフィラキシーにおける γ -5グリアジン特異的IgE値の推移．
3. 学会等名 第50回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 成人小麦アレルギーの最新知見．
3. 学会等名 第4回日本アレルギー学会中国・四国地方会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 岩おこしのような食物アレルギーのお話
3. 学会等名 令和3年度日本臨床皮膚科医会広島県支部総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Eishin Morita
2. 発表標題 Recent advances in clarifying the pathogenesis of urticaria and anaphylaxis.
3. 学会等名 The 12th Asian Dermatological Congress (ADC)（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森田栄伸
2. 発表標題 小麦アレルギーを克服する~リコンビナント小麦アレルギーによる診断から低アレルギー小麦の開発まで
3. 学会等名 第71回日本農村医学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 低アレルギー化小麦	発明者 森田栄伸、河野邦江、遠藤隆、松尾裕彰、横大路智治	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-004081	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------