

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19648

研究課題名(和文) 経口免疫療法が抗原特異的免疫グロブリンのクラススイッチと質変化に与える影響と予後

研究課題名(英文) The effect of oral immunotherapy on class switching and change in avidity of allergen-specific immunoglobulin

研究代表者

杉本 真弓 (SUGIMOTO, Mayumi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・助教

研究者番号：20771314

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は鶏卵アレルギーに対する経口免疫療法において、患者血清中の抗原特異的免疫グロブリンの測定による、治療効果予測因子の同定ならびに本治療の奏功機序の解明を目的としたものである。治療奏功群では、治療前の抗原特異的IgA値および増量期終了時の抗原特異的IgG1の上昇率が高値であり、これらは経口免疫療法の治療早期に予後予測を可能にするバイオマーカーとなることが示唆された。また、治療奏功群では治療後の抗原特異的IgEの抗原親和性が低下しており、経口免疫療法の奏功機序に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aims to identify the factors which predict the therapeutic effects and to elucidate the mechanism of oral immunotherapy (OIT) by measuring serum allergen-specific immunoglobulins. The response to OIT was associated with significant increases in serum allergen-specific IgG1 levels after up-dosing phase and high baseline IgA levels, compared with small changes in immunoglobulin response in low-responders. The characteristic IgG1 changes and IgA levels in the responders could be potentially useful biomarkers for the prediction of positive clinical response to OIT. The avidity of allergen-specific IgE after OIT was also significantly decreased in high-responders, suggesting that it might be involved in the mechanism of OIT.

研究分野：アレルギー学

キーワード：食物アレルギー 経口免疫療法 抗原特異的免疫グロブリン

1. 研究開始当初の背景

(1) 乳幼児期に発症する鶏卵、牛乳、小麦、大豆のアレルギーは自然耐性獲得率が高いと考えられているが、学童期以降まで遷延する症例も少なく存在する。自然経過では早期に耐性獲得が期待出来ない食物アレルギーの症例に対し、近年、経口免疫療法により閾値上昇あるいは脱感作状態とした上で、最終的には耐性獲得を目指す試みが国内外から報告されている。しかし、経口免疫療法は全ての症例に対し有効な治療ではなく、時にアナフィラキシーを含む重篤な副反応を来すこともあるため、有効性や安全性において解決すべき課題があり、一般診療としては推奨されていない。

(2) アレルゲン免疫療法の奏功機序として、多量のアレルゲン投与による肥満細胞や好塩基球の脱感作、制御性T細胞や制御性B細胞の誘導ならびにこれらから産生される抑制性サイトカイン(IL-10やTGF- β)によるTh2細胞の抑制、抗原特異的IgEの低下および遮断抗体の役割を担うとされるIgG4の産生誘導などが報告されている。経口免疫療法により誘導される抗原特異的免疫応答に関して、血清中の抗原特異的IgG4以外のIgGサブクラスやIgAに関する検討は乏しい。また、経口免疫療法におけるこのような免疫学的変化と治療効果との関連についての一致した見解はない。したがって、経口免疫療法の安全性および有効性の向上のために、経口免疫療法の奏功機序の解明ならびに治療前あるいは治療早期に治療効果を予測しうる因子の同定が必要である。

(3) 抗原刺激による抗原特異的免疫グロブリンのクラススイッチに関して、sequential class switchingによる高親和性抗体の産生が報告されている(Collins et al. Front Immunol. 2013)。経口免疫療法における多量かつ持続的な抗原刺激は、抗原特異的免疫グロブリンの量的変化とともに抗原親和性にも影響を与えることが推測される。

2. 研究の目的

(1) 経口免疫療法における抗原特異的免疫グロブリン各アイソタイプの網羅的測定による経時変化パターンの解析

(2) 経口免疫療法における抗原特異的免疫グロブリンの抗原親和性の変化の解析

(3) 経口免疫療法の治療効果により対象を2群に分け、上記(1)(2)の比較検討による、治療効果予測因子の探索

(1)~(3)により、経口免疫療法における抗原特異的免疫グロブリンの量的・質的变化の観点から、奏功機序ならびに予後予測因子の解明を試みることを目的とした。

3. 研究の方法

事前の経口負荷試験で陽性であった鶏卵アレルギー児のうち、鶏卵の経口免疫療法を実施した26症例を対象とし、治療前、増量期終了時、維持期3、6、12ヶ月に採取した検体(血清)を用いて本研究を実施した。

(1) 抗原特異的免疫グロブリンの量的変化の解析

抗原特異的免疫グロブリン(IgE、IgG1-4、IgA)の測定には、DCPチップを用いたアレルゲンマイクロアレイを使用した。DCPチップは、基板表面をダイヤモンドライクカーボン処理した表面を化学修飾するか、ガラス表面をポリカチオン処理後にポリアニオン処理することで、高密度にカルボキシル化と活性化を実施し、高密度に抗原を固定化することを可能としたものである。DCPチップ上に抗原(卵白、オボムコイド、オボアルブミン)をスポットして固定後、血清を反応させ、蛍光色素を標識した二次抗体を用いて抗原特異的免疫グロブリンを検出し、3D gene Scanner 3000にて蛍光強度を測定した。複数スポットの蛍光強度を平均し、内部標準スタンダードで定量化したものを測定値とした。

(2) 抗原特異的免疫グロブリンの抗原親和性の解析

オボムコイド添加競合阻害法を用いて、治療前後における抗原親和性の変化を検討した。抗体量すなわち蛍光強度が一定となるように希釈調整した血清に異なる濃度のオボムコイドを添加し、血清中の抗体と反応させた後、DCPチップ法によりオボムコイド特異的IgE、IgG1、IgG4の各蛍光強度を測定した。オボムコイド未添加時の蛍光強度を100%とした場合の、50% inhibitionに必要なオボムコイド量を検討した。50% inhibitionに必要なオボムコイドが少量であるほど、その抗体が高親和性を示すことになる。

(3) 治療効果予測因子の探索

維持期12ヶ月における鶏卵摂取量により対象を2群に分け(鶏卵1個以上を摂取しているものを高脱感作群、鶏卵1個未満もしくは完全除去のものを低脱感作/完全除去群)2群における(1)と(2)の相違について検討した。

4. 研究成果

(1) 抗原特異的免疫グロブリンの量的変化

高脱感作群(n=21)では低脱感作/完全除去群(n=5)に比較して、治療前のIgA値および増量期終了時のIgG1上昇率が有意に高値であった。経時変化においては、IgEは経時的に低下する傾向を示した。遺伝子座の隣接するIgG3とIgG1は増量期に治療前よりも有意に上昇し、その後の維持期には持続的に低下する山型のパターンを示した。同じく遺伝子座の隣接するIgG2とIgG4は、増量期および維持期を通して持続的に上昇するパターン

を示した。高脱感作群では低脱感作/完全除去群と比較して、これらの経時変化が顕著であった(図1)。この経時変化は sequential class switching (μ 3 1 2 4) による抗原特異的免疫グロブリンの産生順序に一致するものであった。

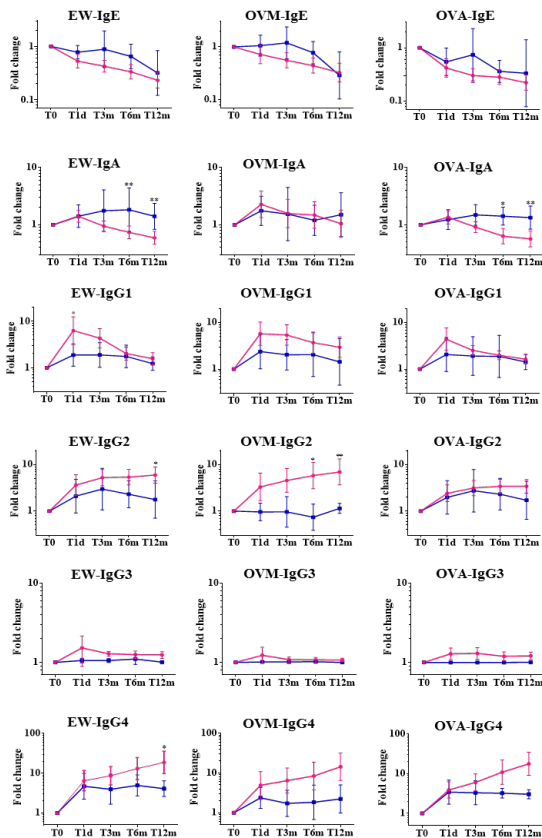


図1. 抗原特異的免疫グロブリンの経時変化率

赤色: 高脱感作群, 青色: 低脱感作/完全除去群
EW(卵白), OVM(オボムコイド), OVA(オボアルブミン)
T0: 経口免疫療法前, T1d: 維持期初日, T3m: 維持期3ヶ月, T6m: 維持期6ヶ月, T12m: 維持期12ヶ月

また、増量期終了時の IgG1/IgE 比は、高脱感作群において低脱感作/完全除去群よりも有意に高値であった。IgG1 からクラススイッチする IgE (アレルギー促進) と IgG2-IgG4 (アレルギー抑制) との間で、高脱感作群では IgG2-IgG4 の流れが強く、そのクラススイッチの基となる増量期終了時の IgG1 の高い増加率が、その後のクラススイッチの推進力に影響している可能性が示唆され、経口免疫療法の治療早期の予後予測に有用な指標となりうると考えられた。また、維持期1年における IgG2/IgE 比と IgG4/IgE 比は、低脱感作/完全除去群に比べ高脱感作群で有意に高く、脱感作状態の持続を示唆するものと考えられた。

以上より、単なる抗原特異的免疫グロブリン値の変化だけではなく、これらのクラススイッチパターンの変化履歴が、経口免疫療法における脱感作状態の維持に関わっていることが推測された。

(2) 抗原特異的免疫グロブリンの抗原親和性の変化

オボムコイド添加競合阻害法による抗原特異的免疫グロブリンの抗原親和性の検討では、鶏卵経口免疫療法開始前と比較し、増量期終了時にはオボムコイド IgE の抗原親和性が有意に低下しており、維持期12ヶ月まで抗原親和性の低下が維持されていた。また、治療効果による2群間の比較においては、高脱感作群では増量期終了時にオボムコイド IgE の抗原親和性が低下していたのに対し、低脱感作/完全除去群では治療前後における親和性の変化に乏しく、高親和性を維持する傾向が認められた(図2)。

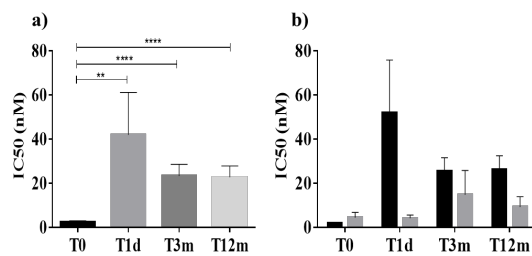


図2. オボムコイドIgEの抗原親和性の変化

a) 経口免疫療法前後における経時変化
b) 治療経過による比較(黒色: 高脱感作群, 灰色: 低脱感作/完全除去群)
T0: 経口免疫療法前, T1d: 維持期初日, T3m: 維持期3ヶ月, T12m: 維持期12ヶ月

オボムコイド IgG1 と IgG4 については、治療前後における抗原親和性の変化を認めたが、治療効果による一定の傾向は認められなかった。

以上より、抗原特異的 IgE の抗原親和性低下が、経口免疫療法の機序に関与している可能性が示唆された。一方で、sequential class switching の誘導を示唆する抗原特異的免疫グロブリンの量的変化から推測された IgG1 と IgG4 の親和性変化については、治療効果による相違を明らかにできなかった。研究方法を含め、今後のさらなる検討が必要である。

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2件)

木戸博、杉本真弓、クラススイッチを基盤に免疫応答をモニターする高性能タンパクチップの臨床応用、アレルギー、査読有、Vol.65, No.6, 2016, pp.764-769
DOI:10.15036/arerugi.65.764

Sugimoto M, Kamemura N, Nagao M, Irahara M, Kagami S, Fujisawa T, Kido H. Differential response in allergen-specific IgE, IgGs, and IgA levels for predicting outcome of oral immunotherapy. *Pediatr Allergy Immunol.*

〔学会発表〕(計8件)

木戸博、苛原誠、品原和加子、杉本真弓、香美祥二、生後6ヵ月までの母乳栄養児と人工乳栄養児の抗原摂取量の違いを背景とした湿疹誘発IgEクラススイッチパターンの違い、第54回日本小児アレルギー学会学術集会、2017年

佐々木亜由美、杉本真弓、戸梶成美、苛原誠、寺田知正、香美祥二、6種除去療法が有用であった好酸球性胃腸炎の1例、第54回日本小児アレルギー学会学術大会、2017年

杉本真弓、苛原誠、香美祥二、鶏卵少量負荷試験とその後の摂取状況に関する検討、第66回日本アレルギー学会学術大会、2017年

苛原誠、佐々木陽平、品原和加子、杉本真弓、香美祥二、木戸博、乳児期におけるイムノグロブリンクラススイッチの進展と抗原親和性、第66回日本アレルギー学会学術大会、2017年

苛原誠、杉本真弓、香美祥二、多抗原の食物除去が身体発育に与える影響、第53回日本小児アレルギー学会、2016年

桑原優、長尾みづほ、伊藤卓洋、平山淳也、貝沼圭吾、杉本真弓、藤澤隆夫、重症食物アレルギー児に対する経口免疫療法の長期経過について、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016年

苛原誠、佐々木陽平、品原和加子、杉本真弓、香美祥二、木戸博、0-6ヵ月乳児のアレルゲン特異的抗体価イムノグロブリンクラススイッチの検討、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016年

苛原誠、佐々木陽平、品原和加子、杉本真弓、香美祥二、木戸博：乳児期の卵白アレルギー特異的IgE抗体の低から高親和性変化の検討、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉本 真弓 (SUGIMOTO, Mayumi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・助教

研究者番号：20771314

(2) 研究協力者

木戸 博 (KIDO, Hiroshi)