

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 元年 6 月 18 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09920

研究課題名(和文)花粉食物アレルギー症候群の抗原毎の病態解析に基づく新規診断法の開発

研究課題名(英文)Allergen analysis of pollen-food allergy syndrome and development of the new allergen-specific IgE test

研究代表者

森田 栄伸(Morita, Eishin)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授

研究者番号：90182237

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)：イネ科花粉症に罹患した患者の中には、小麦製品を摂取して蕁麻疹などのアレルギー症状をきたす人がいます。この研究では、イネ科花粉症に合併した小麦アレルギー患者の血清を用いて、小麦中の原因アレルゲンを探索した結果、peroxidase Iと同定されました。そこでPeroxidase Iを利用した抗原特異的IgE検査を確立し、種々の食物アレルギー患者で調査したところ、イネ科花粉症に合併する小麦アレルギー患者を感度50%、特異度100%の精度で診断できることがわかりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究にて確立されたperoxidase I特異的IgE検査は、イネ科花粉症にみられる小麦アレルギーの診断に有用です。今後、保険適用されれば、一般医療施設で小麦アレルギーの診断精度が時向上することになります。

研究成果の概要(英文)：We have identified peroxidase I as a causative allergen for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis developed as pollen food allergy syndrome(PFAS-WDEIA) due to cross-reaction between wheat proteins and grass pollen allergens. The purpose of this study is to establish peroxidase I-specific IgE test. Serum were obtained from 6 patients with PFAS-WDEIA, 62 patients with other food allergies. Peroxidase I was purified upon chromatography steps, and peroxidase I-specific IgE test was established by CAP-FEIA system. Sensitivity of peroxidase I-specific IgE test was 50% and its specificity was 100%. Wheat peroxidase I-specific IgE test is useful to identify patients with wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis developed by sensitization to grass pollen.

研究分野：皮膚アレルギー

キーワード：小麦アレルギー イネ科花粉症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔アレルギー症候群 (oral allergy syndrome: OAS) は、食物アレルギーの特殊型に区分されている。OAS は、感作抗原に相同性を有する複数の食物に対して抗原特異的 IgE が交差反応し、これらの食物を摂取した際に口腔粘膜の過敏症状を示すことが特徴で、近年増加傾向にある。診断には、食物摂取後に口腔・咽頭粘膜の過敏症状を示し、プリックテストあるいは抗原特異的 IgE 検査で感作を確認する。原因食品では、リンゴ、モモ、キウイ、メロン、大豆の順に多く、その他多彩な食品が原因となる。本邦では、カバノキ科花粉に感作され、その主要抗原である生体防御蛋白やプロフィリンと相同性の高い交差抗原を含有するバラ科果物、セリ科野菜、ウリ科果物、キウイ、大豆、ナッツ類に対してアレルギー症状を示す場合が多いためである。

花粉抗原への経粘膜的感作に伴い野菜・果物アレルギーになることはよく知られ、花粉-食物アレルギー症候群 (Pollen-Food Allergy Syndrome: PFAS) と呼ばれている。花粉抗原に感作されると、花粉抗原と交差反応をする複数の野菜、果物の摂取時に口腔内アレルギー症状をきたすが、複数の花粉抗原が知られ、その交差反応は極めて複雑である。血清中抗原特異的 IgE 検査は簡便で花粉症や食物アレルギーの診断に広く用いられているが、粗抗原が用いられているため精度が低く、花粉症患者がどの野菜・果物にアレルギーを示すか個々の症例での予測が困難である。

2. 研究の目的

本研究は、精製花粉抗原への感作状態から実際に症状をきたす野菜・果物を高精度で特定できる Multiple IgE Detection System を確立するための基礎データを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

花粉抗原に感作され野菜・果物摂取にて口腔アレルギー症状を示し、プリックテストにて感作を確認した症例約 50 名の血清を使用して、カバノキ花粉、イネ科花粉、ヨモギ花粉、ブタクサ花粉と種々の野菜・果物の PR-10、LTP、Profilin などの既知の精製抗原に対する抗原特異的 IgE を IgE 免疫ブロット法および Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法を用いて系統的に解析する。

4. 研究成果

オオアワガエリやカモガヤなどのイネ科花粉に感作され、小麦製品の摂取によりアレルギー症状をきたす患者 6 名から血清を収集して、小麦抗原に対する免疫ブロットを行い、小麦水溶性分画に反応する IgE を保有していることを見出した。患者血清をあらかじめオオアワガエリ花粉抗原と混合処理をした後免疫ブロットを行ったところ、オオアワガエリ花粉抗原の濃度に依存して、小麦水溶性分画に反応する IgE 量は減少したことから、患者 IgE が認識する小麦アレルゲンはイネ科花粉との交差反応することが確認された。電気泳動による免疫ブロットを行い、患者 IgE が認識する 25kDa と 35kDa のタンパク質を同定した。質量分析によりそれぞれチオールレダクターゼとペルオキシダーゼ I と確認した。精製ペルオキシダーゼ I を用いて CAP-FEIA を作成し、イネ科花粉による小麦アレルギー患者 6 名、小麦依存性運動誘発アナフィラキシー患者 18 名、加水分解コムギアレルギー患者 11 名、イネ科花粉症患者 11 名、牛肉あるいは甲殻類アレルギー患者 22 名の反応を検討した結果、ペルオキシダーゼ CAP-FEIA のイネ科花粉小麦アレルギー患者の検出感度 50%、特異度 100%であった。このことから、ペルオキシダーゼ I 特異的 CAP-FEIA はイネ科花粉による小麦アレルギーの診断に有用であると結論した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

1. Ogino R, Yokooji T, Omoto A, Taogoshi T, Morita E, Matsuo H. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantification of the egg allergen ovalbumin in rat plasma. *Allergol Int.* 2019 Jan 30. pii: S1323-8930(19)30002-4. doi: 10.1016/j.alit.2018.12.005. [Epub ahead of print]
2. Yokooji T, Nouma H, Ogino R, Taogoshi T, Morita E, Matsuo H. Quantification of the 5- and -gliadin content in wheat flour and rat plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay using antibodies specific to their IgE-binding epitopes. *Allergol Int.* 2019 Jan; 68(1): 112-123
3. Tsendendorj O, Chinuki Y, Ueda K, Kohno K, Adachi A, Morita E. Tropomyosin is a minor but distinct allergen in patients with shrimp allergy in Japan. *J Cutan Immunology Allergy* 2018; 1: 100-108.
4. Yagami A, Aihara M, Ikezawa Z, Hide M, Kishikawa R, Morita E, Chinuki Y, Fukutomi Y, Urisu A, Fukushima A, Itagaki Y, Sugiura SI, Tanaka H, Teshima R, Kato Z, Noguchi E, Nakamura M, Saito H, Matsunaga K. Outbreak of immediate-type hydrolyzed wheat protein allergy due to a facial soap in Japan. *J Allergy Clin*

- Immunol. 2017 Sep;140(3):879-881.e7.
5. 森田栄伸：特集 食物依存性運動誘発アナフィラキシー2 発症メカニズム．小児科 58(3)：225-230, 2017
 6. 森田栄伸：食物依存性運動誘発アナフィラキシー (FDEIA)．診断と治療 105(5)：639-642, 2017
 7. 森田栄伸：序 ~ 口腔アレルギー症候群の臨床像と病態を理解するために ~ .アレルギー・免疫 24(8)：11-12, 2017
 8. 森田栄伸：食物依存性運動誘発アナフィラキシー．小児科臨床 70(12)：1925-1930, 2017
 9. 千貫祐子, 荻野龍平, 森田栄伸：イネ科花粉症に合併する PFAS．アレルギー・免疫 24(8)：49-54, 2017
 10. Kohno K, Takahashi H, Endo TR, Matsuo H, Shiwaku K, Morita E. Characterization of a hypoallergenic wheat line lacking γ -5 gliadin. Allergol Int. 2016; 65(4): 400-405.

〔学会発表〕(計 10件)

- 1) 森田栄伸：経皮感作からみた小児食物アレルギー．第 14 回日本小児科医会生涯研修セミナー．広島市, 2018 年 10 月 8 日
- 2) 森田栄伸：抗原特異的 IgE 抗体値からみた食物依存性運動誘発アナフィラキシーの病態と治療．第 69 回日本皮膚科学会中部支部学術大会ランチョンセミナー 8．大阪市, 2018 年 10 月 28 日
- 3) Tsendendorj O, Chinuki Y, Ueda K, Yamasaki K, Kikuchi K, Ito Y, Aiba S, Morita E: Different prevalence of sensitization against galactose- α -1,3-galactose between Shimane and Miyagi in Japan. International Investigative Dermatology 2018. Orlando, May 17, 2018
- 4) Chinuki Y, Ueda K, Morita E: Omalizumab improves CD203c expression-based basophil activation test in the patients with hydrolyzed wheat allergy. 13th Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology. Rottach-Egern, June 13-15, 2018
- 5) 千貫祐子, 秀道広, 鼻岡佳子, 福永 淳, 岡部貴裕, 森田栄伸：加水分解コムギ型小麦アレルギーに対する抗 IgE 抗体長期療法の効果 (医師主導多施設共同研究)．第 117 回日本皮膚科学会総会．広島市, 2018 年 5 月 31 日
- 6) ツェデンドルジ オノン, 千貫祐子, 上田清江, 河野邦江, 足立厚子, 森田栄伸：日本のエビアレルギー患者におけるトロポミオシンの抗原性解析．第 70 回日本皮膚科学会西部支部学術大会．松江市, 2018 年 11 月 11 日
- 7) 荻野龍平, 大本亜沙妃, 横大路智治, 埜越崇範, 森田栄伸, 松尾裕彰：質量分析装置を用いた血漿中抗原濃度測定法の開発．第 66 回日本アレルギー学会学術大会 ミニシンポジウム 11．東京都, 2017 年 6 月 16 日
- 8) 飛田礼子, 千貫祐子, 吉田暁子, 森田栄伸：豆乳アレルギー6 例における Gly m4 特異的 IgE 検査、好塩基球活性化試験、皮膚テストの有用性の検討．第 69 回日本皮膚科学会西部支部学術大会．熊本市, 2017 年 10 月 28 日 ~ 29 日
- 9) 荻野龍平, 大本亜沙妃, 横大路智治, 埜越崇範, 松尾裕彰, 森田栄伸：質量分析法による血中植物抗原濃度の開発．第 47 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 第 41 回皮膚脈管・膠原病研究会．鹿児島市, 2017 年 12 月 10 日
- 10) Tsendendorj O, Chinuki Y, Ueda K, Morita E: Prevalence of sensitization against alpha-Gal in the patients without complaining red meat allergy in Shimane University Hospital. The 42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. Kochi city, December 15, 2017

〔図書〕(計 1件)

1. 森田栄伸：食物依存性運動誘発アナフィラキシー．症例を通して学ぶ年代別食物アレルギーのすべて 改訂2版．海老澤 元宏 編．南山堂．pp276-277, 2018

〔産業財産権〕

出願状況(計 1件)

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、松尾博彰、横大路智治

権利者：島根大学

種類：特許

番号：P1KKA2332

出願年：2019年

国内外の別：国内

取得状況(計 0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：荻野 龍平

ローマ字氏名：(Ogino, Ryohei)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。