

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007 ～ 2009
 課題番号：19591268
 研究課題名 (和文) 鶏卵アレルギーの経口免疫療法用抗原の開発
 研究課題名 (英文) Development of food antigens for oral immunotherapy to hen' s egg allergy
 研究代表者
 宇理須 厚雄 (URISU ATSUO)
 藤田保健衛生大学・医学部・教授
 研究者番号：20193972

研究成果の概要 (和文)：

食物アレルギーに対する経口免疫療法の有効性は認められているが、アナフィラキシーのような副反応が問題であった。今回、低アレルゲン化したオボムコイド減量加熱全卵という改良版を作製し、経口免疫療法を行った結果、安全性ならびに有効性にも優れていることが証明された。末梢血単核球では免疫療法後 Th2 だけではなく Th1 タイプのサイトカイン産生の低下傾向が観察された。

研究成果の概要 (英文)：

The efficiency of oral immunotherapy for food allergy has been already approved in many articles. The IT is associated in varying degrees with side effects such as urticaria, abdominal pain and anaphylaxis. We have made heated and ovomucoid-reduced whole egg, upgraded hypoallergenic food antigens for IT. The IT using this egg antigen has been proved the safety and efficiency in this study. The response of Th2 cytokine (IL4) as well as Th1 cytokine (IFN-gamma) in peripheral mononuclear cells was decreased after the stimulation by egg white antigen in vitro.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：小児免疫・アレルギー・膠原病学

1. 研究開始当初の背景
 食物アレルギーの治療として、現時点では、

除去食療法のような食事療法が基本である。
 しかし、除去食療法は患者ならびにその家族

に種々の負担をかけることが多い。これに代わる治療法として、寛解を導く可能性がある抗原特異的免疫療法の開発が進んでいる。経口的に投与された抗原に対しては寛容が誘導されやすいことが知られており、食物アレルギーに対しても従来から経口的な免疫療法が試みられている。しかし、適正なコントロールをおいた検討が少なく結果も一定せず評価が困難であった。

また、経口免疫療法は、積極的に食物アレルギーの治療が期待できる治療ではあるが、そのアナフィラキシーのような重篤な副作用の恐れもあり、日常の診療で行うには危険性が高過ぎるので、現時点では、患者からの同意を得た上で、十分な体制がとれている施設で慎重に行うべき治療法である。免疫療法において安全性の確保は必須の課題であり、安全性をより高めた方法が開発されるべきである。

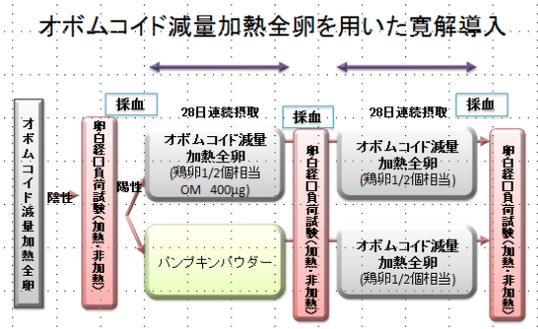
我々は低アレルゲン化卵白であるオボムコイド減量加熱卵白を用いた経口免疫療法を行い、2ヵ月約40%、さらに7ヵ月まで行うと約80%の患者で鶏卵経口負荷試験陰性を達成できることを示した。しかし、まだ満足いく成績ではないこと、味の点、製造工程の複雑さなどの点で改良の余地を残した。

2. 研究の目的

低アレルゲン化したオボムコイド減量加熱全卵を試作した。この経口免疫療法用抗原はこれまで使用してきたオボムコイド減量加熱卵白と比べると、オボムコイド含量が4倍に増加し、全卵を用いているため味の点で改良され、さらに製造過程が単純化された。この改良版オボムコイド減量加熱全卵の患者の食べやすさならびに経口免疫療法の有効性、安全性を評価した。さらに、オボムコイド減量加熱全卵を用いた経口免疫療法による耐性化の機序を明らかにするために、種々免疫学的検討を行った。

3. 研究の方法 (図)

最初に、免疫療法に用いるオボムコイド減量加熱全卵の安全性を確認するために2袋で経口負荷試験を行い陰性を確認した鶏卵アレルギー患者を対象とした。90°C、15分加熱全



卵で経口負荷試験で加熱全卵に対する陽性閾値を決定した。

		加熱脱オボムコイド卵白		オボムコイド減量加熱全卵			
		実薬群	プラセボ群	実薬群			プラセボ群
				1ヵ月	2ヵ月	延長	
加熱卵	陰性化(例数)	16	2	5	10	5	1
	不変(例数)	15	23	27	22	1	14
	陰性化率(%)	51.6	8.0	15.6	31.3	83.3	6.7

オボムコイド減量加熱全卵を用いた経口免疫療法(1袋; 鶏卵1/2個相当)を2ヵ月、希望者にはさらに延長して行った。プラセボ群にはパンキンパウダーを用いた。前者をA群、後者をB群としたが、グループの選択は封筒法で行い、無作為性を確保した。免疫療法1ヵ月ごとに加熱全卵で経口負荷試験を行い、耐性獲得を評価した。さらに、in vitro 卵白抗原刺激後の末梢血単核球サイトカイン産生能(IL-4、INF- γ 、IL-10、TGF- β mRNA、IP-10mRNA)、細胞内サイトカイン(IL-4、INF- γ)、血清中卵白ならびにオボムコイド特異的IgE、IgG、IgG4、IgA測定を行った。

4. 研究成果

経口免疫療法に用いたオボムコイド減量加熱全卵の食べやすさは、全員摂取可能であり、患者の意見も好評であった。安全性も、治療開始後はどの症例でも無症状で経過した。

実薬(オボムコイド減量加熱全卵)群の耐性化率は、1ヵ月で5/32(15.6%)、2ヵ月で10/32(31.3%)であり、延長群では1/6(83.3%)、偽薬(パンキンデンプン)群では1/15(6.7%)であった(表)。

免疫療法に伴う卵白特異的IgG、IgG4、IgA、IgE及び血清総IgE値の検討では、卵白特異的IgG4だけが、免疫療法前(1.6 \pm 2.1 mg/L)に比べ、耐性が成立すると、増加する(3.9 \pm 3.1 mg/L)傾向が認められた(p=0.046)。

INF- γ は、細胞質内サイトカイン陽性細胞(%)が、治療前に比べ治療1ヵ月後、2ヵ月後で低下する傾向を認めた。これを反映して、INF- γ によって誘導されるIP-10mRNAも、治療によって耐性化すると、発現が低下していた(p=0.002)。IL-4も、mRNA発現が治療後3ヵ月で低下する傾向が認められた。

抑制性サイトカインでは、細胞質内IL-10陽性細胞(%)および培養上清のIL-10が、治療前に比べ治療1ヵ月後、2ヵ月後で低下する傾向を認めた。TGF- β mRNAは治療後1ヵ月に比較して、治療後3ヵ月で増加する傾向が認められた。Th1/Th2の両者の抑制が見られ、これに関与する抑制性サイトカインでは、IL-10が免疫療法によりむしろ低下するのに

対し、TGF- β が増加する傾向を認め、本治療法でのTh1/Th2の両者の抑制に、TGF- β が関与する可能性が示唆された。ただし、再現性よく検出される卵白特異的IgG4の増加とIL-10の低下は、相反する結果であり、今回の検討では初期のTh1の増強が認められなかった点も含め、さらに症例を増やし検討する必要があると考えられた。

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 14 件)

- 1, Nakamura R, Uchida Y, Higuchi M, Nakamura R, Tsuge I, Urisu A, Teshima R, A convenient and sensitive allergy test: IgE crosslinking induced luciferase expression in cultured mast cells, *Allergy*, 査読有, 2010 (in press).
- 2, Sakai S, Adachi R, Akiyama H, Teshima R, Morishita N, Matsumoto T, Urisu A, Enzyme-linked immunosorbent assay kit for the determination of soybean protein in processed foods: Interlaboratory evaluation, *J AOAC International*, 査読有, 93, 243-248, 2010.
- 3, Benhamou AH, Caubet JC, Eigenmann PA, Nowak-Węgrzyn A, Marcos CP, Reche M, Urisu A, State of the art and new horizons in the diagnosis and management of egg allergy, *Allergy*, 査読有, 65, 283-289, 2010.
- 4, Ito K, Urisu A, Diagnosis of Food Allergy Based on Oral Food Challenge Test. *Allergol Int*, 査読有, 58, 467-474, 2009.
- 5, Kondo Y, Ahn J, Komatsubara R, Terada A, Yasuda T, Tsuge I, Urisu A, Comparison of allergen properties in salmon (*Oncorhynchus nerka*) from landlocked and anadromous species, *Allergology International*, 査読有, 58, 295-299, 2009.
- 6, Hino S, Matsubara T, Urisu A, Aoki N, Sato C, Okajima T, Nadano D, Matsuda T, Periodate-resistant carbohydrate epitopes recognized by IgG and IgE antibodies from some of the immunized mice and patients with allergy, *Biochem Biophys Res Commun*, 査読有, 380, 632-7, 2009.
- 7, Kondo Y, Urisu A, Oral Allergy Syndrome, *Allergol Int*, 査読有, 58, 485-491, 2009.
- 8, Yamakawa H, Akiyama H, Endo Y, Miyatake K, Sakai S, Kondo K, Toyoda M, Urisu A, Teshima R, Specific detection of buckwheat residues in processed foods by polymerase chain reaction, *Biosci Biotechnol Biochem*, 査読有, 72, 2228-2231, 2008.

9, Morishita N, Kamiya K, Matsumoto T, Sakai S, Teshima R, Urisu A, Moriyama T, Ogawa T, Akiyama H, Morimatshu F, Reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of soybean proteins in processed foods, *J. Agric. Food Chem*, 査読有, 56, 6818-6824, 2008.

10, Doi H, Touhata Y, Shibata H, Sakai S, Urisu A, Akiyama H, Teshima R, Reliable enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of walnut proteins in processed foods, *J Agri Food Chem*, 査読有, 56, 7625-7630, 2008.

11, Ando H, Movérare R, Kondo Y, Tsuge I, Tanaka A, Borres M, Urisu A, Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy, *J Allergy Clin Immunol*, 査読有, 122, 583-588, 2008.

12, Nakajima Y, Tsuge I, Kondo Y, Komatsubara R, Hirata N, Kakami M, Kato M, Kurahashi H, Urisu A, Asano Y, Up-regulated cytokine inducible SH2-containing protein expression in allergen-stimulated T cells from hen's egg-allergic patients. *Clin Exp Allergy*, 査読有, 38, 1499-1506, 2008.

13, Sakai S, Matsuda, R, Adachi R, Akiyama H, Maitani T, Ohno, Y., Oka, M., Abe, A., Seiki, K., Oda, H., Shiomi, K., Urisu A, Interlaboratory evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay kits for the determination of crustacean protein in processed foods, *J AOAC Int*, 査読有, 91, 123-129, 2008.

14, Tsuge I, Okumura A, Kondo Y, Itomi S, Kakami M, Kawamura M, Nakajima Y, Komatsubara R, Urisu A, Allergen-specific T-cell response in patients with phenytoin hypersensitivity; simultaneous analysis of proliferation and cytokine production by carboxyfluorescein Allergol Int, 査読有, 56, 149-155, 2007.

[学会発表] (計 10 件)

- 1, 柘植郁哉、近藤康人、安在根、湯川牧子、成瀬徳彦、小松原亮、平田典子、鈴木聖子、安藤仁志、山田一恵、小林幸子、木村守、宇理須厚雄, 低アレルギー化鶏卵を用いた経口免疫療法の検討. 第22回, 日本アレルギー学会春季臨床大会, 京都, 平成22年5月8日、9日.
- 2, Urisu A, Naruse N, Ahn J, Komatsubara R, Hirata N, Yukawa M, Suzuki S, Ando H, Kondo Y, Tsuge I, Yamada K, Kobayashi S, Kimura, Long-term oral immunotherapy by hypoallergenic heated and ovomucoid-reduced egg white in subjects

with hen's egg allergy. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Pediatric Allergy & Asthma Meeting, Venice Italy, 2009, Nov 12-14.

3, 宇理須厚雄, 小児アレルギー研究の方向性を探る 食物アレルギー 経口免疫療法の今後. 第46回, 日本小児アレルギー学会, 福岡, 平成21年12月5日、6日.

4, 宇理須厚雄, 食物アレルギー経口負荷試験の標準化. 第21回日本アレルギー学会春季臨床大会, 岐阜, 平成21年6月5日、6日.

5, Urisu A, Komatsubara R, Hirata N, Kakami M, Kawada Yasusuke Nakajima Y, Yukawa M, Kondo Y, Tsuge I, Tokuda R, Yamada K, Kimura M, Oral immunotherapy by heated and ovomucoid-reduced egg white to children with hen's egg hypersensitivity. Congress of European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI) 2008, June 5-12.

6, Kondo Y, Nakajima Y, Komatsubara R, Tsuge I, Yasuda T, Urisu A, Allergen analysis of canned tuna using patient's sera. Congress of European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI), Barcelona, Spain, 2008 June 5-12.

7, Urisu A, Nakajima Y, Komatsubara R, Hirata N, Yukawa M, Kakami M, Kondo Y, Tsuge I, Food Labeling and the Epidemiology of Food Allergy, Food Labeling in Japan and Food Allergen Purification, Pediatric Academic Societies and Asian Society for Pediatric Research 2008 Joint Meeting, Honolulu, Hawaii, USA, 2008, May 3-6.

8, 山田一恵、平田典子、小松原亮、湯川牧子、各務美智子、鈴木聖子、安在根、近藤康人、柘植郁哉、木村守、宇理須厚雄、オボムコイド減量加熱全卵を含む全粥のアレルゲン性の評価, 第58回, 日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 平成20年11月27日-29日.

[図書] (計1件)

宇理須厚雄, やさしい食物アレルギーの自己管理 (改訂版) 編集 馬場実, 医薬ジャーナル社, 6-16 (全71), 2009.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇理須 厚雄 (URISU ATSUO)

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号:

20193972