

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17803

研究課題名（和文）in vitro検査を用いたアナフィラキシー原因物質の同定と発症メカニズムの特定

研究課題名（英文）Identification of anaphylaxis-causing agents and identification of pathogenesis mechanisms using in vitro tests

研究代表者

堀内 辰男（Horiuchi, Tatsuo）

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：10814212

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の実施期間中に、おおよそ計画通りBATおよびMATを行い、研究を遂行することができた。しかし、さらなる研究が必要な部分も存在する。今後も、MATおよびBATを行うことで、アナフィラキシーの発症メカニズムの解明を行っていく予定である。結果として、アナフィラキシーの新たな治療方法および予防薬の開発につながると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

周術期アナフィラキシーの原因検索にこれまでほとんど行われてこなかったBATやMATに、本研究では取り組むことができた。本研究により、アナフィラキシーの発症メカニズムを検討することができた。今後のアナフィラキシーの予防や治療薬の開発につながると私達は考えている。

研究成果の概要（英文）：The basophil activation tests (BATs) and mast cell activation tests (MATs) were performed approximately as planned during this study, and the study could be carried out. However, some areas require further research. We plan to continue to elucidate the pathogenesis of anaphylaxis by conducting MAT and BAT in the future. The results may lead to developing new treatments and prophylactic agents for anaphylaxis.

研究分野：麻酔科学

キーワード：アナフィラキシー

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1. アナフィラキシーは、肥満細胞と好塩基球が発症に關与する重篤な病態である。アナフィラキシーの既往がある患者に対しては、原因物質の再投与を避ければ、発症を予防することが可能である。アナフィラキシー発症後に原因物質を同定しておくことが重要である。

2. アナフィラキシーの原因物質を同定するためのゴールドスタンダードは皮膚テストである(図1)。皮膚テストはアレルゲンを患者体内に注入する検査のため、アナフィラキシーが再発する可能性がある。そのため、*in vitro* で実施可能な検査の開発が求められている。その候補として近年、BAT が着目されている。好塩基球がアレルゲンにより活性化されると、CD203c などのマーカーの発現が増加する。BAT は、患者の血液中の好塩基球を被疑物質と反応させ、活性化マーカーの発現をフローサイトメータで解析する検査である(図2)。これまでに、多くのアナフィラキシーの原因物質の同定に BAT が有用であると報告されている。

3. BAT はアナフィラキシーの原因物質の同定に有用であるが、一部の患者では被疑物質に対して好塩基球の活性化が弱く、診断が難しい場合がある。アナフィラキシーの発症には肥満細胞と好塩基球の両者が関わるが、このような症例では肥満細胞の活性化が優位であることが示唆される。

4. アナフィラキシー発生時の好塩基球活性化には、IgE を介した経路と、fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine) レセプターや MRGPRX2 (Mas-related G protein coupled receptor member X2) が介在するオルタナティブ経路の存在が知られている(図3)。しかし、個々の症例で両者を区別することは困難である。発症メカニズムの特定は疾患の治療・予防に不可欠であるが、症例ごとに調べた研究はほとんど存在しない。

5. *in vitro* で実施する検査の診断精度を向上させるにはどうすればよいか

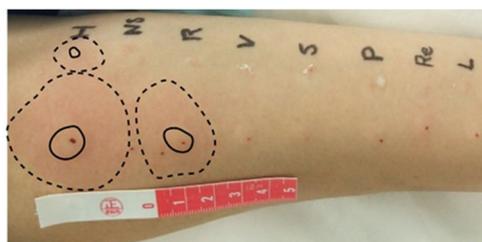


図1. 皮膚テスト. 陽性コントロールのヒスタミン(H)と被疑薬のロクロニウム(R)に対して紅斑(点線)、膨疹(実線)が出現しロクロニウムが原因物質と同定した。

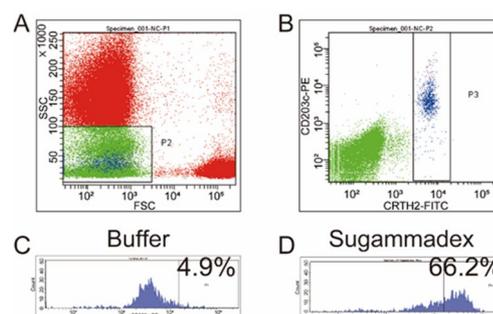


図2. スガマデクスによるアナフィラキシー患者に実施したBAT好塩基球抽出過程(A, B). Bufferによる好塩基球の活性化は少ないが(C)スガマデクスによって好塩基球が活性化した(D).

好塩基球が活性化しないタイプのアナフィラキシーでは、BAT によって原因物質を同定することは困難である。近年、活性化した肥満細胞をフローサイトメータで計測する MAT により、肥満細胞の活性化が優位のアナフィラキシー症例でも原因物質の同定が可能になる可能性が示唆された。そこで申請者は、BAT に加えて MAT を導入することにより、診断精度が向上すると考えた。

6. アナフィラキシーの発症メカニズムを特定するにはどうすればよいか

好塩基球の膜表面に IgE が結合する部位である FC RI の下流には、Phosphoinositide 3-kinase (PI 3-kin) に依存したシグナル伝達経路が存在する(図3)。PI 3-kin の阻害薬である wortmannin によって好塩基球の活性化が抑制されれば、その薬剤によるアナフィラキシーは IgE 依存性と予想される。(図3)。一方、BAT が陰性のケースでも、wortmannin を用いた MAT を行うことで発症メカニズムを推定できると考えた。

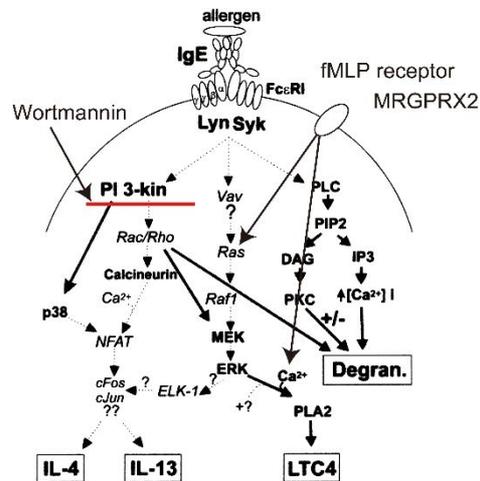


図3. 好塩基球活性化経路(Franco H, et al. Blood. 2000 などより改変).

2. 研究の目的

本研究は、アナフィラキシー症例の原因検索を目的として BAT と MAT を実施する。また、好塩基球や肥満細胞の細胞内シグナルを調節する薬剤を用いて、症例ごとにアナフィラキシーの発症メカニズムを特定することを目的とする。

3. 研究の方法

周術期アナフィラキシーを発症した患者に対して皮膚テストを行い、原因物質を推定する。そのうえで、BAT または MAT を行う。

4. 研究成果

アナフィラキシーの発症メカニズムを検討することができた。今後も同様の研究を継続する予定である。研究成果の一部は学術誌に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Orihara Masaki, Takazawa Tomonori, Horiuchi Tatsuo, Nagumo Kazuhiro, Maruyama Noboru, Tomioka Akihiro, Saito Shigeru	4. 巻 8
2. 論文標題 Intraoperative chlorhexidine-induced anaphylaxis suggesting an immunoglobulin-E-dependent mechanism indicated by basophil activation tests: two case reports	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JA Clinical Reports	6. 最初と最後の頁 91-91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40981-022-00581-w	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 Suigiyama Yuki, Takazawa Tomonori, Watanabe Natsuko, Bito Kiyoko, Fujiyoshi Tetsuhiro, Hamaguchi Shinsuke, Haraguchi Takashi, Horiuchi Tatsuo, et al.	4. 巻 in press
2. 論文標題 The Japanese Epidemiologic Study for Perioperative Anaphylaxis, a prospective nationwide study: clinical signs, severity, and therapeutic agents	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Anaesthesia	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bja.2023.02.023	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 Takazawa Tomonori, Horiuchi Tatsuo, Orihara Masaki, Nagumo Kazuhiro, Tomioka Akihiro, Ideno Yuki, Hayashi Kunihiro, Yashima Hideaki, Araki Takuya, Hatayama Kazuhisa, Terauchi Masanori, Ikeda Yoshio, Saito Shigeru	4. 巻 138
2. 論文標題 Prevention of Postoperative Cognitive Dysfunction by Minocycline in Elderly Patients after Total Knee Arthroplasty: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anesthesiology	6. 最初と最後の頁 172 ~ 183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ALN.0000000000004439	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 Takazawa Tomonori, Horiuchi Tatsuo, et al.	4. 巻 in press
2. 論文標題 The Japanese Epidemiologic Study for Perioperative Anaphylaxis, a prospective nationwide study: allergen exposure, epidemiology, and diagnosis of anaphylaxis during general anaesthesia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Anaesthesia	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bja.2023.02.018	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 Horiuchi Tatsuo, Takazawa Tomonori, Saito Shigeru	4. 巻 35
2. 論文標題 Reply to the letter	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 772 ~ 772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-021-02978-w	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 Horiuchi Tatsuo, Takazawa Tomonori, Sakamoto Shinya, Orihara Masaki, Yokohama Akihiko, Uchiyama Mutsumi, Saito Shigeru	4. 巻 15
2. 論文標題 Possible immunoglobulin-E-dependent sugammadex-induced anaphylaxis caused by an epitope other than α -cyclodextrin: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medical Case Reports	6. 最初と最後の頁 313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13256-021-02894-3	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 Orihara Masaki, Takazawa Tomonori, Horiuchi Tatsuo, Sakamoto Shinya, Uchiyama Mutsumi, Saito Shigeru	4. 巻 7
2. 論文標題 Intraoperative anaphylaxis due to aprotinin after local application of fibrin sealant diagnosed by skin tests and basophil activation tests: a case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JA Clinical Reports	6. 最初と最後の頁 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40981-021-00472-6	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 Horiuchi Tatsuo, Takazawa Tomonori, Orihara Masaki, Sakamoto Shinya, Nagumo Kazuhiro, Saito Shigeru	4. 巻 35
2. 論文標題 Drug-induced anaphylaxis during general anesthesia in 14 tertiary hospitals in Japan: a retrospective, multicenter, observational study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 154 ~ 160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-020-02886-5	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 Ebo Didier G., Elst Jessy, Houdt Michel, Pintelon Isabel, Timmermans Jean Pierre, Horiuchi Tatsuo, Faber Margaretha A., Hagendorens Margo M., Mertens Christel M., Sabato Vito	4. 巻 98
2. 論文標題 Flow cytometric basophil activation tests: Staining of exteriorized basophil granule matrix by fluorescent avidin versus appearance of CD63	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cytometry Part B: Clinical Cytometry	6. 最初と最後の頁 483 ~ 490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cyto.b.21868	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 該当する

1. 著者名 Orihara Masaki, Takazawa Tomonori, Nagumo Kazuhiro, Sakamoto Shinya, Horiuchi Tatsuo, Saito Shigeru	4. 巻 34
2. 論文標題 Interpreting the results of early skin tests after perioperative anaphylaxis requires special attention: a case report and review of literature	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 624 ~ 629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00540-020-02802-x	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 Ebo Didier G., Van der Poorten Marie-Line, Elst Jessy, Van Gasse Athina L., Mertens Christel, Bridts Chris, Garvey Lene H., Horiuchi Tatsuo, Sabato Vito	4. 巻 126
2. 論文標題 Immunoglobulin E cross-linking or MRGPRX2 activation: clinical insights from rocuronium hypersensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 British Journal of Anaesthesia	6. 最初と最後の頁 e27 ~ e29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bja.2020.10.006	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 該当する

1. 著者名 Orihara Masaki, Takazawa Tomonori, Horiuchi Tatsuo, Sakamoto Shinya, Nagumo Kazuhiro, Tomita Yukinari, Tomioka Akihiro, Yoshida Nagahide, Yokohama Akihiko, Saito Shigeru	4. 巻 124
2. 論文標題 Comparison of incidence of anaphylaxis between sugammadex and neostigmine: a retrospective multicentre observational study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Anaesthesia	6. 最初と最後の頁 154 ~ 163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bja.2019.10.016	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 Ebo Didier G., Van der Poorten Marie-Line, Elst Jessy, Van Gasse Athina L., Mertens Christel, Bridts Chris, Garvey Lene H., Horiuchi Tatsuo, Sabato Vito	4. 巻 126
2. 論文標題 Immunoglobulin E cross-linking or MRGPRX2 activation: clinical insights from rocuronium hypersensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 British Journal of Anaesthesia	6. 最初と最後の頁 e27 ~ e29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bja.2020.10.006	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 該当する

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 堀内辰男, 高澤知規, 折原雅紀, 南雲一洋, 原口崇, 齋藤繁
2. 発表標題 周術期アナフィラキシーを診断するためのヒスタミン採血時間の検討:多施設共同前向き観察研究 (JESPA)
3. 学会等名 日本麻酔科学会第69回年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀内辰男, 高澤知規, 折原雅紀, 南雲一洋, 原口崇, 齋藤繁
2. 発表標題 周術期アナフィラキシーの診断を目的とした血液中ヒスタミン濃度の閾値の検討
3. 学会等名 第71回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 堀内辰男, 折原雅紀, 坂本晋也, 南雲一洋, 高澤知規, 内山睦, 齋藤繁
2. 発表標題 好塩基球活性化試験により発症メカニズムが推定できた、スガマデクスによるアナフィラキシーの1症例
3. 学会等名 日本臨床麻酔学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 山蔭 道明	4. 発行年 2022年
2. 出版社 中外医薬社	5. 総ページ数 192
3. 書名 神経麻酔最前線 すべては患者の機能維持・向上のために	

1. 著者名 高崎真弓、河本昌志、白神豪太郎、松本美志也、廣田和美	4. 発行年 2022年
2. 出版社 文光堂	5. 総ページ数 656
3. 書名 麻酔科トラブルシューティングAtoZ	

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------