

研究課題名	食物アレルギー診断マーカーの探索と応用		
フリガナ	ムラタ タカヒサ		
代表者名	村田 幸久		
所属機関 (機関名) (役職名)	東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用動物科学専攻 准教授		
共同研究者	氏名 (フリガナ)	所属機関・役職名	役割分担
	大矢幸弘 (オオヤユキヒロ)	国立成育医療研究センター生体防御系内科部アレルギー科・医長	分担
本助成金による発表論文, 学会発表	添付①		

### 研究結果要約

小さな子供に多い食物アレルギーは、食品中に含まれる抗原を取り込むことで起こるアレルギー反応であり、下痢や嘔吐、皮膚炎などの症状が出る他、ショックを起こして死に至るケースもある。食物アレルギーを予防・治療するには、できる限り早期に診断し、抗原の除去や減感作療養を進める必要がある。しかし、現在簡単かつ安全な診断方法が無いため、その対策はなかなか進んでいない。我々は小さな子供でも、安全に採取できる尿の中に、食物アレルギーの症状を反映できるマーカー分子があることを発見した。この分子は、症状の悪化につながる肥満細胞という免疫細胞が産生する物質の代謝産物であり、他の疾患では検出されず、食物アレルギー特異的に、尿中での濃度が上昇することが分かった。本発見を、より安全かつ簡単、迅速に食物アレルギーを診断できる技術の確立につなげるべく、今後も開発を進めていきたい。

## 添付①

### 学会発表

- Epithelial cell-derived PGD2 inhibits airway inflammation. Maehara et al. 第 89 回日本薬理学会年回. 2016 年 3 月 9 日
- Mast cell-derived PGD2 attenuates anaphylaxis via DP receptor. Fujiwara et al. 第 16 回東京大学生命科学シンポジウム. 2016 年 4 月 23 日
- 食物アレルギーにおける新規バイオマーカーの発見. 中村達朗他. 第 65 回日本アレルギー学会学術大会 2016 年 6 月 18 日
- 食物経口負荷試験の重症度判定における尿中プロスタグランジン D2 代謝産物測定の有用性. 稲垣真一郎他. 第 65 回日本アレルギー学会学術大会 2016 年 6 月 18 日
- 気管支上皮細胞由来の PGD2 はアレルギー性肺炎を抑制する. 前原都有子他. 第 65 回日本アレルギー学会学術大会 2016 年 6 月 18 日
- 肥満細胞由来の PGD2 は DP 受容体に作用してアナフィラキシーを抑制する. 藤原祐樹他. 第 134 回日本薬理学会関東部会. 2016 年 7 月 9 日
- Bronchoepithelial cell-derived prostaglandin D2 inhibits allergic lung inflammation. Maehara et al. 16th INTERNATIONAL CONGRESS OF IMMUNOLOGY. Aug 22<sup>nd</sup> 2016.
- 肥満細胞由来の PGD2 は DP 受容体を介してアナフィラキシーを抑制する. 藤原祐樹他. 第 159 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月 6 日
- Urinary Prostaglandin D2 Metabolite is a Novel Biomarker of Food Allergy. Nakamura et al. March 5th 2017. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology.
- Urinary tetranor PGDM, a metabolite from prostaglandin D2, is a new marker to detect the severity of immediate allergic reactions evoked by the oral food challenge in children with food allergy. Inagaki et al. March 5th 2017. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology.

### 論文発表

- Mast cell-derived PGD2 attenuates anaphylactic reactions in mice. Nakamura et al. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 140(2):630-632.e9.2017.
- The role of mast cell in inflammation. Yamazaki et al. Nihon Yakurigaku Zasshi. 149(5):204-207.2017.
- Prostaglandin D2 Attenuates Bleomycin-Induced Lung Inflammation and Pulmonary Fibrosis. Kida et al. PLoS One. 11(12):e0167729.2016.

## 研究目的

食物アレルギーは食品中に含まれる抗原を取り込むことで起こるアレルギー反応であり、下痢や嘔吐、皮膚炎などの症状が出る他、ショックを起こして死に至るケースもある。その患者数は年々増加傾向にあり、特に乳幼児に重症例が多く罹患率も高い。

食物アレルギーの予防や治療には、抗原の特定と摂食回避、減感作療法しか方法はない。減感作療法を成功させるには、できる限り早期に急性蕁麻疹などの類似疾患との鑑別診断をつけ治療を開始する必要がある。しかし、その確定診断は医師による厳重な病態管理の下、抗原を食べさせて症状の有無を観察する（経

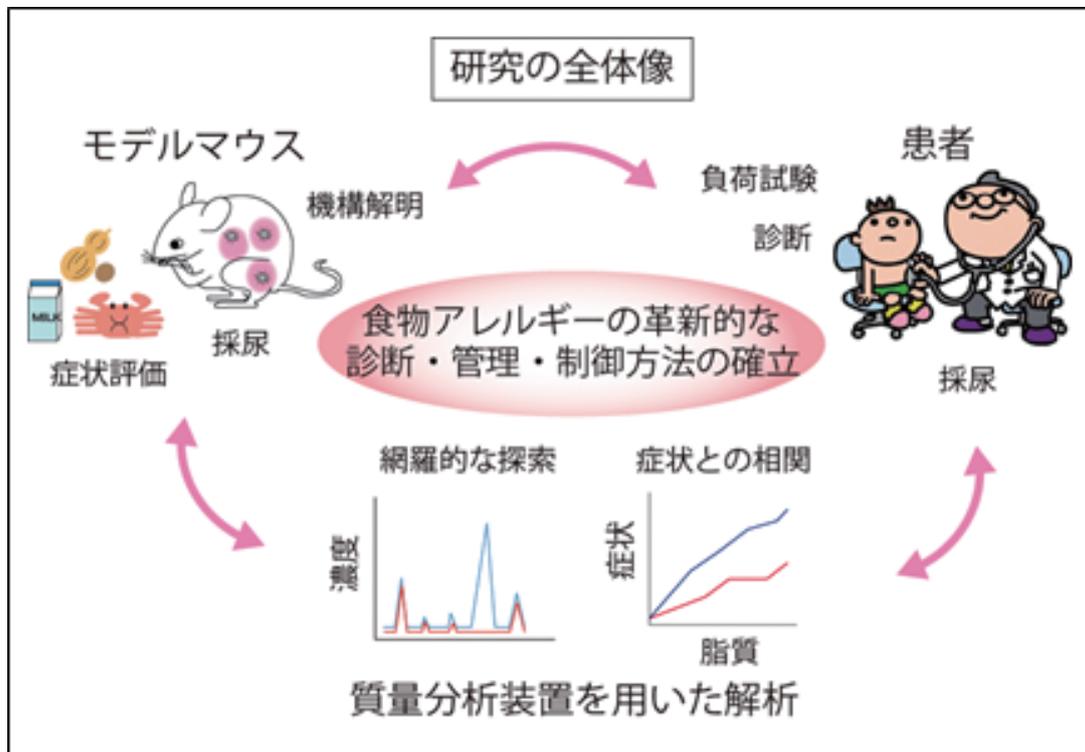
口抗原負荷試験）しか方法がなく、非常に手間がかかる。さらに現在行われている負荷試験の評価も、医師の主観（観察）によるところが多く、客観的な数値指標がない。

食物アレルギーの制御や治療法の開発には、簡便で制度の高い病態マーカーの探索が必須である。これらの背景を基に、本研究では、乳幼児でも採取が簡単な“尿中に排泄される食物アレルギーマーカーの探索と応用”を目的に研究を行った。

## 研究計画及び研究手法

添付②に概要図を示す。

添付②



①尿中脂質の抽出方法の確立と網羅的解析

マウスとヒトの尿を対象に、質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いて、尿中脂質の高感度かつ網羅的な測定を可能とする抽出条件の決定を行った。その後、卵白アルブミンと牛乳カゼインの投与により作成した食物アレルギーモデルマウスの消化管組織や尿、ヒトの食物アレルギー患者の尿を用いて、脂質 200 種類を対象とした網羅的な測定と解析を行った。

②候補物質に対する評価と解析

予備知見において、i) PGD2 と LTE4 という脂質の代謝産物が食物アレルギー特異的に、その症状の悪化に伴って増える消化管の肥満細胞数に比例して増加すること、ii) 同じ脂質の PGE2 の代謝産物は、食物アレルギー以外の他疾患で多く排泄されることが分かっていた。これらの病態や症状特異性の評価、治療に対する反応性についてモデルマウスを用いて評価し、その産生や代謝を明らかにした。

③ヒトにおける病態マーカーの有用性評価：上

で得られる尿中マーカーを実際のヒト患者へ応用する。国立成育医療研究センター・大矢幸弘医長の共同研究協力の下、食物アレルギー患者を対象とした臨床試験を開始してデータを収集・解析し、症状とマーカー濃度に相関が確認されるか評価した。尿中マーカーが高値の患者や、高値であるに関わらず症状が観察されない患者を対象に後追い調査を行い、本技術が患者の予後予測や潜在的な患者の発見に用いることができるか検討

した。

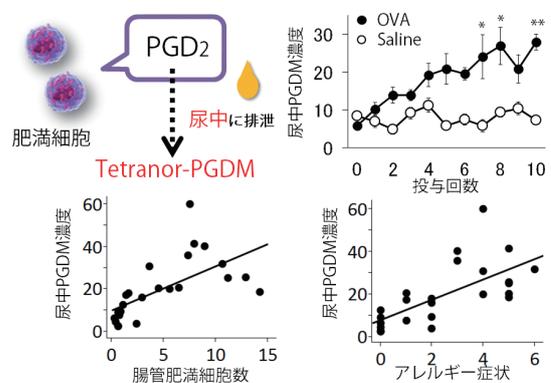
結果と考察

①卵白アルブミン (OVA) の腹腔内感作と経口投与により、マウスに下痢や粘膜紅潮、立毛、不動などの食物アレルギー症状が観察された。その症状は抗原の投与回数に比例して悪化した。

②上記マウスの尿を採取し、排泄された脂質濃度を、質量分析装置を用いて網羅的に測定した。その結果、抗原の投与回数の増加、つまり病状の悪化に伴って尿への排泄量が増加する数種類の脂質を発見した。

③上記脂質の中で、症状の悪化に伴い最も顕著に増加した PGD2 代謝産物 tetranor-PGDM に注目して以降の解析を行った。その結果、PGD2 の合成酵素が食物アレルギーを起こしたマウスの結腸の肥満細胞に強く発現していることや、尿中 tetranor-PGDM の濃度は、抗原 (OVA) の投与回数や消化管の肥満細胞数、症状の程度に比例して上昇していることを明らかにした (添付③)。

添付③



- ④菌体外成分の投与による急性肺障害やデキストラン硫酸ナトリウム投与による腸炎、OVAの気管内投与による喘息のモデルマウスの尿中には、tetranor-PGDMの排泄が観察されなかった。つまり、尿中に排泄されるtetranor-PGDMは食物アレルギーに特異的な病態マーカーとなりうる可能性が示された。
- ⑤マウスで得られた結果を基に、ヒト患者において尿中tetranor-PGDMの食物アレルギーマーカーとしての有用性評価を行った。その結果、尿中に排泄されるtetranor-PGDMの濃度は、患者の病態スコアに比例して上昇することが分かった。
- ⑥ヒト患者で得られた結果を基に、受信者動作特性曲線を策定し、診断基準値を計算することができた。

以上の結果のように、本研究ではマウスモデルとヒト患者における食物アレルギー病態マーカーを発見することができた。このマーカーは、小さな子供から採血する必要が無く採取が簡単であり、食物アレルギーに特異的で、症状の程度を反映できる非常に優れた病態マーカーである可能性が示された。

現在 tetranor-PGDM の濃度測定が、食物アレルギーの予後評価や治療反応性の予測に用

いることができるか、検討を現在進めている。また、すでに見出している他の候補物質の有用性についても詳細な評価と解析を進めていき、より安全、よりの確に食物アレルギーの症状評価ができる検査技術の確立に繋げたい。

#### 今後の研究活動について

- ①今後ヒトへの臨床応用をめざして、本方法の有用性をさらに評価するとともに、複数の評価項目によるより確実な食物アレルギーの診断法を確立していく。
- ②本研究で得られた知見をもとに、将来的には特異的な抗体を用いた診断キットの開発にも繋げる。これにより、労力と時間、費用、安全性すべての面で優れた診断法を確立し、最寄りの病院でも食物アレルギーの確定診断を行えるようにしたい。
- ③診断方法の確立は、病態の機構解明と治療方法の開発に直結する。つまり本提案の成功は、新しい予防・管理・治療方法の開発にもつながり、患者数の増加に歯止めをかけ、減少させることにつながると期待される。

#### 参考文献

該当なし