

ニッポンハム食の未来財団 設立記念研究助成 研究完了報告書（1）

平成 28 年 4 月 27 日

一般財団法人ニッポンハム食の未来財団
理事長 山田良司 殿

研究課題名	低アレルギー化食品による経口免疫療法：安全性と効果の検討		
フリガナ	コンドウヤスト		
代表者名	近 藤 康 人		
所属機関	（機関名）藤田保健衛生大学医学部小児科 坂文種報徳會病院 （役職名）教授		
所属機関住所	〒454-8509 愛知県名古屋市中川区尾頭橋 3-6-10		
連絡先	Tel: 052-323-5649 Fax: 052-323-5776 E-mail: ykondo@fujita-hu.ac.jp		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	中島陽一（ナカジマ ヨウイチ）	藤田保健衛生大学・講師	
	犬尾千聡（イヌオチカズ）	藤田保健衛生大学・助教	
本助成金による発表論文、学会発表	学会発表：Nakajima Y, Kondo Y et al. Oral immunotherapy for fish allergy using a hypoallergenic decomposed fish meat. American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Annual Meeting, Feb 20-24, 2015 Houston, TX, USA 論文：C. Inuo, Y. Kondo, K., A. Urisu., et al. Japanese Cedar Pollen-Based Subcutaneous Immunotherapy Decreases Tomato Fruit-Specific Basophil Activation. Int Arch Allergy Immunol;167:137-145, 2015		

代表者名	近藤康人
------	------

1. 研究結果概要

本研究は、5歳以上で耐性獲得が望みにくい重症多魚種アレルギー患者に対し、以前の研究で作成検討した低アレルゲン化サケ魚肉粉末を毎日摂取させ、サケ魚肉 20g 以上、もしくは1年間（最大 15 か月）毎日経口摂取させ、安全性と効果について検討したものである。

現在、耐性獲得が困難と予測される食物アレルギー患者に対して、一部の施設で研究的に経口免疫療法が行われており、その効果は実感されている。しかし、最大の問題点はアレルゲン食品摂取継続中にアレルギー反応を生じることであり、アナフィラキシー反応を伴うこともある。

我々はこれまで、加熱処理や酵素処理などにより IgE 結合能を低下させた低アレルゲン化食品を利用した経口免疫療法で、有害なアレルギー反応を惹起することなく寛解を導入することに成功してきている。今回は、サケ魚肉としての摂取可能閾値が 2g 未満（平均 0.6g）の小児 5 例と病悩期間の長い成人例を対象に、サケ魚肉として 20g 以上に達するまで、もしくは1年間、低アレルゲン化魚肉粉末 1g を毎日継続摂取させて検討した。研究期間中に副作用もなく、小児例では 5 例中 4 名、成人例においても半年～1 年の間にサケおよびアジ魚肉 20g 摂取に到達できた。目標摂取量に到達できなかった小児 1 症例においても各魚に対する IgE 値の低下がみられた。今回の研究により低アレルゲン化サケ魚肉粉末による免疫療法の安全性と効果が証明された。

2. 研究目的

本研究は、耐性獲得が望みにくい食物アレルギー患者に対し低アレルゲン化食品を利用して経口免疫療法を行い、安全性の評価およびその効果を見ることである。

現在、耐性獲得が困難と予測される食物アレルギー患者に対して、一部の施設で研究的に経口免疫療法が行われている。その方法は、急速もしくは緩徐にアレルゲン食品そのものを増量して与えていくもので、それによりある程度の患者がアレルゲン食品を日常的に摂取することが可能になる。つまり経口免疫療法の機序は明らかにされていないが、その効果は実感されている。しかし、この治療の最大の問題点はアレルゲン食品の増量中もしくは維持療法中にアレルギー反応を生じることであり、アナフィラキシー反応を伴うこともある。

我々はこれまで、加熱処理や酵素処理などにより IgE 結合能を低下させた低アレルゲン化食品を利用し、患者に経口免疫療法を行うことで有害なアレルギー反応を惹起することなく寛解を導入することに成功してきている。

今回は、5歳以上で耐性獲得が望みにくい多魚種にアレルギーを有する重症（少量摂取でアレルギーを誘発する小児例と病悩期間の長い成人例（24歳）の魚アレルギーを有する患者 5 名を対象に、以前の研究で低アレルゲン化が証明されたサケ魚肉粉末 1g（サケ魚肉 6g から得られる量）を 1 年間毎日経口摂取させ、安全性と効果をみた研究である。

低アレルゲン化食品による経口免疫療法は従来の方法に比べ安全性に優れており、その上、臨床効果が認められれば、今後の食物アレルギー治療の新しい戦略になることが期待できる。

代表者名

近藤康人

3. 研究計画及び研究手法

【本研究についてこれまでにわかったこと】

本研究の前にサケ魚肉粉末が酵素処理で低アレルゲン化されたことは以下のように証明された。

1. 5 歳以上のサケを含む多魚種にアレルギーを有する患者で低アレルゲン化食品(魚)を利用した経口免疫療法の研究に同意した患者 10 名から採血を行った。
2. サケ魚肉粉末が低アレルゲン化されたことの証明は、in vitro 検査の後、in vivo 検査を実施して確認した。具体的には低アレルゲン化食品に対する IgE 結合の低下は、イムノブロット法やプレートコーティング法(ELISA)などで評価した後(図 1、2)、皮膚試験を経て最終的には経口負荷試験によって確認した。
3. また、経口負荷試験での摂取閾値の変化を定期的に調べるため、アレルゲン量を均質化した 2 魚種(サケとアジ)の魚肉サンプルを作成した。サケ魚肉サンプルの抗原性は、サケ抽出抗原と相違なかった。

【経口免疫療法プロトコール】

1. 本研究の趣旨に賛同し同意した患者に対し、事前採血を実施し、約 40 魚種に対する IgE 抗体価を ELISA 法で確認。適宜イムノブロットも実施し IgE 結合の有無について確認した。
2. 2 魚種の魚肉サンプルで研究前の閾値を確認後、市販のサケフレーク 2g 摂取で陽性となった患者を重症魚アレルギーと考え今回の対象とした。また病悩期間の長い成人例も対象に加えた。
3. 対象者に、まずサケ魚肉粉末の皮膚試験で陰性を確認し、引き続き経口負荷試験で安全性を確認した。
4. 安全性を確認した後、自宅でサケ魚肉粉末を毎日 1g 摂取させた。
5. 摂取を開始後、魚肉サンプルの経口負荷試験と血液検査を 3~6 か月間隔で実施し、摂取量と副作用、IgE 抗体価の推移を観察した。
6. 今回は研究期間が 1 年間であったため、サケ魚肉サンプルが 20g まで摂取でききるようになった時点为目标として設定した(サケ魚肉サンプルが 20g 以上達した患者は引き続き市販のサケフレークによる治療に移行した)。目標量に達成しなかったものは 1 年間の摂取を継続させた。

代表者名	近藤康人
------	------

4. 結果について

1、事前研究として実施した経口負荷試験用に作成した魚肉サンプルと治療用に開発したサケ魚肉粉末に対する IgE 結合能に関する ELISA および Immunoblot の結果を示す。

各サンプルに対するIgE結合能（ELISA）

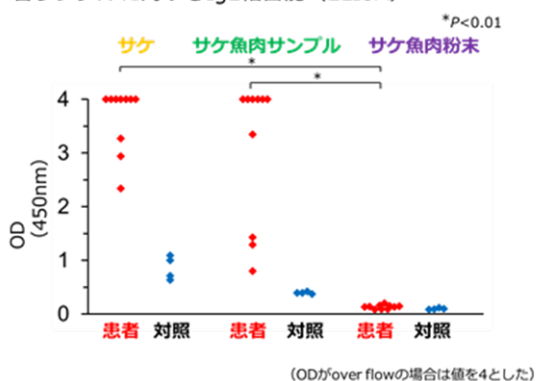


図1 ELISA による IgE 結合能の評価

サケアレルギー患者でのImmunoblotの結果

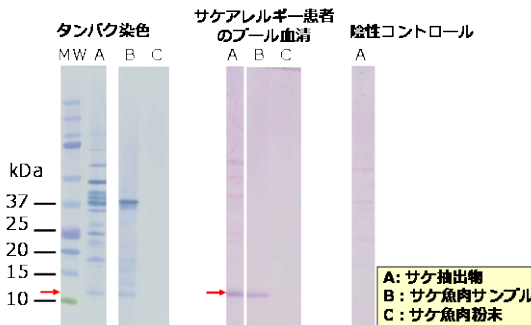


図2 Immunoblot による IgE 結合の評価

図1で当院通院中のサケアレルギー10名の血清を用いて、サケ抽出抗原と経口負荷試験用に作成した魚肉サンプル、治療用に作成したサケ魚肉粉末抗原に対する IgE 値を測定した。サケ抽出物とサケ魚肉サンプル間には差がなかったが、サケ魚肉粉末では有意差をもって IgE 結合能が低下していた。

図2で、サケ魚肉サンプルではいくつか消失しているタンパクバンドがみられたが、主要アレルゲンであるパルブアルブミン (PA) への結合は強く認められた。その一方、サケ魚肉粉末に対する反応は PA への反応を含め消失していた。

以上の結果から、魚肉サンプルはサケ抽出抗原とほぼ同等であるのに対して、サケ魚肉粉末は低アレルゲン化されていることが証明された。

2、本研究での魚肉摂取量の変化

表1 低アレルゲン化サケ魚肉粉末を用いて経口免疫療法を行った魚アレルギー5例

症例	年齢 (年)	性	治療期間 (月)	治療前の安全積算量 (g)		治療後の安全積算量 (g)	
				サケ魚肉 サンプル	アジ魚肉 サンプル	サケ魚肉 サンプル	アジ魚肉 サンプル
1	11	F	10	0.1	0.9	20	20
2	5	F	5	0.1		20	20
3	11	F	6	1.9	0.9	20	20
4	24	F	7	10	20	20	
5	6	M	15	0.1	0.1	6	7

症例1は約1年で、症例2,3,4は約半年で今回の目標であるサケ魚肉サンプルの摂取量が20gに到達した。一方、症例5は1年後にサケ魚肉サンプルは6gまでしか達成しなかったが、各魚に対する IgE 抗体の低下がみられた(図3右)。

代表者名	近藤康人
------	------

4. 結果について（続き）

サケ魚肉サンプルが 20g まで摂取できるようになった症例では、始めにアジ摂取量を確認してなかった症例 2 と、初めからアジ魚肉サンプルが 20g 食べられた症例 4 とを除き、アジ魚肉サンプル摂取量も 20g 食べられるようになっていた。
 また本研究中、サケ魚肉粉末の摂取による副反応は一度も見られなかった。

3、血中の魚抗原に対する IgE 値の推移を図 3 に示す

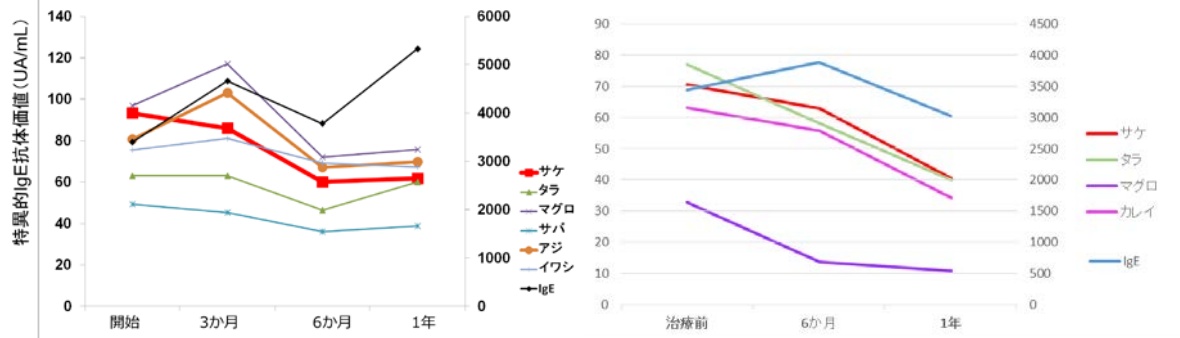


図 3 典型的な IgE の推移 左：症例 1 右：症例 5

症例 1 開始 6 か月ごろから各魚種に対する IgE 値の低下がみられた

症例 5 開始時から各魚種に対する IgE 値の低下がみられた(本症例では 4 魚種のみ測定)

以上の結果から、酵素処理で低アレルゲン化して作製したサケ魚肉粉末は、半年～1 年間の摂取で、副反応もなく、IgE 値を減少させ、重症のサケアレルギー患者に効果があることがわかった。

今後の課題は、

- 1、今回のパイロットスタディーの効果をより明らかにするために、今後はプラセボを使用した前向きランダムイズ研究が必要と考えた。
- 2、また効果の機序を明らかにするために、今後は血中 IgG4 や、唾液中の免疫物質にも着目していきたい。

今回の内容は、2016 年 6 月に東京国際フォーラムで開催される第 65 回日本アレルギー学会のシンポジウムで発表する予定である。

代表者名	近藤康人
------	------

5. 今後の研究活動について

1. 効果の機序を解明するため、アレルゲンに対する血中 IgE 抗体の変化に加えて、血中 IgG 抗体やサイトカイン産生、唾液中の免疫複合体の測定についても適宜行う必要がある。
2. 現在、プラセボを作成中であるが、プラセボが完成したら他施設と共同での、ダブルブラインドコントロールスタディーを立ち上げる予定である。

以上