

研究課題名	食物アレルギー診断マーカーの応用と診断キットの開発		
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 放射線動物科学研究室 准教授		
共同研究	氏名 (フリガナ)	所属機関・役職名	役割分担
	大矢幸弘	国立成育医療研究センターアレルギーセンター・センター長	患者の診断と採尿を担当
本助成金による発表論文, 学会発表	<p><u>発表論文</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Epithelial cell-derived prostaglandin D2 inhibits chronic allergic lung inflammation in mice. Maehara T, Nakamura T, Maeda S, Aritake K, Nakamura M, Murata T. <i>FASEB J.</i> 2019 Apr 24; fj201802817R. • Therapeutic potential of D prostanoid receptor 1 signal enhancement in a murine model of food allergy. Nakamura T, Hirai R, Tachibana Y, Masuko S, Nagata N, Murata T. <i>J Allergy Clin Immunol.</i> 2019 Jun; 143(6):2290-2293.e4. • L-PGDS-derived PGD2 attenuates acute lung injury by enhancing endothelial barrier formation. Horikami D, Toya N, Kobayashi K, Omori K, Nagata N, Murata T. <i>J Pathol.</i> 2019 Feb 8. doi: 10.1002/path.5253. <p><u>学会発表 (次ページへ続く)</u></p>		

研究結果要約

食物アレルギーは食物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。現在この疾患を予防・治療するには、抗原を特定して摂食回避するか、減感作療法を行うより方法はない。食物アレルギーは子供に多い疾患であるが、その患者数は近年急激に増加しており、的確かつ簡便な診断方法と治療・管理方法の開発が求められている。

現在、食物アレルギーを診断するには、医師が患者に抗原を食べさせて症状の有無を観察する「食物経口負荷試験」行う必要がある。しかし、体調の変化に依存して誘発される食物アレルギーもあり、その診断は容易ではない。減感作療法では、確定診断により決定された食べられる量以下の抗原を、毎日食することで食べられる量を増やしていくが、この方法も医師の経験と勘によるところが大きく、客観的な指標が無い。

申請者は子供でも採取が簡単な尿に、PGDM という物質が食物アレルギーに特異的かつ症状の程度に比例して排泄されることマウスモデルを用いて発見し¹⁾、このマーカーがヒトの経口抗原負荷試験の有用な診断指標になることも証明してきた²⁾。

本提案では、この尿中 PGDM を用いた食物アレルギーの診断法・治療法の標準化を目的に掲げ、尿中 PGDM が広く食物アレルギーの診断や、免疫療法の治療指標として利用できる可能性を、ヒト患者やマウスの尿を用いて示すことに成功した。

学会発表

- ・「尿中 PGD2 代謝産物は食物アレルギーの新規バイオマーカーである」村田幸久、稲垣真一郎、前田真吾、中村達朗、成田雅美、原田広顕、下澤達雄、矢富裕、大矢幸弘、第 121 回日本小児科学会学術集会、2018 年 4 月 21 日
- ・「食物アレルギー減感作マウスモデルにおける尿中 tetranor-PGDM の動態」中村達朗、平井里奈、橘侑里、村田幸久、第 60 回日本脂質生化学会、2018 年 5 月 31 日
- ・「PGD2 受容体 DP シグナル強化は食物アレルギーの進行を抑制する」益子櫻、中村達朗、平井里奈、村田幸久、第 60 回日本脂質生化学会、2018 年 5 月 31 日
- ・「The role of PGD2/CRTH2 signal in defense reaction to bee venom」 Misato Kida, Tatsuro Nakamura, Yuki Fujiwara, Takahisa Murata、東京大学生命科学シンポジウム、2018 年 6 月 9 日
- ・「アレルギー性鼻炎モデルマウスの鼻汁中における脂質メディエーターの産生量の変化」橘 侑里、中村達朗、村田 幸久、東京大学生命科学シンポジウム、2018 年 6 月 9 日
- ・「小児食物アレルギー患者の免疫療法効果予測としてのプロスタグランジン D₂ 尿中代謝産物の有用性」稲垣真一郎、成田雅美、中村達朗、石川史、苛原誠、佐藤未織、三井元子、齋藤麻耶子、宮田真貴子、宮地裕美子、山本貴和子、福家辰樹、野村伊知郎、村田幸久、大矢幸弘、第 67 回日本アレルギー学会、2018 年 6 月 22 日
- ・「 Urinary tetranor-PGDM predicts the change of oral food antigen-induced allergic symptom in mice」 Tatsuro Nakamura, Rina Hirai, Takahisa Murata.第 67 回日本アレルギー学会、2018 年 6 月 22 日
- ・「L-PGDS-derived PGD2 attenuated acute lung injury by protecting endothelial cells」 Horikami D, Naoki T, Kobayashi K, Omori K, Nakamura T, Aritake K, Murata T. 第 18 回 国際薬理学会、2018 年 7 月 2 日
- ・「Signal enhancement of D prostanoid receptor prevents the development of food allergy」 Tatsuro Nakamura, Rina Hirai, Takahisa Murata. 第 18 回 国際薬理学会、2018 年 7 月 2 日
- ・「マウス食物アレルギーモデルにおける DP1 作動薬の抑制効果」中村達朗、平井里奈、村田幸久、第 161 回日本獣医学会、2018 年 9 月 11 日
- ・「感染性およびアレルギー性結膜炎における涙液中の脂質産生量の比較」林亜佳音、中村達朗、永田奈々恵、村田幸久、第 161 回日本獣医学会、2018 年 9 月 11 日
- ・「アレルギー性結膜炎における涙液中脂質産生動態の解明および PGD₂ シグナル阻害の治療効果の検討」林亜佳音、中村達朗、永田奈々恵、村田幸久、薬理学会関東部会、2018 年 10 月 20 日
- ・「PGD₂ シグナルの欠損と強化で変わる食物アレルギー病態フェノタイプ」中村達朗、平井里奈、橘侑里、村田幸久、第 1 回日本比較薬理毒性学会春季研究会、2019 年 1 月 26 日

研究目的

食物アレルギーは食物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。現在この疾患を予防・治療するには、抗原を特定して摂食回避するか、減感作療法を行うより方法はない。

食物アレルギーを診断するには、医師が患者に抗原を食べさせて症状の有無を観察する「食物経口負荷試験」行う必要があり、非常に手間がかかる。また、食事後の運動によりや薬物投与により誘発される食物アレルギーもあり、その診断は困難を極める。減感作療法では、確定診断により決定された食べられる量以下の抗原を、毎日食することで食べられる量を増やしていく。この方法も医師の経験と勘によるところが大きく、寛解に数年を要す。アナフィラキシーを起こすなどして、治療を中断する患者も少なくない。つまり、安全かつ的確な食物アレルギーの診断や治療には、病状を反映できる病態マーカーの探索が必須である。

申請者は乳幼児でも採取が簡単な尿を対象に、脂質代謝産物の網羅的解析を行い、PGDM という物質が食物アレルギーに特異的かつ症状の程度に比例して排泄されることマウスを用いて発見した (Maeda *Scientific Reports* 2017)。また、成育医療研究センター大矢幸弘センター長に御協力いただき、このマーカーがヒトの食物経口負荷試験の有用な診断指標になることの証明に成功した (Inagaki *J Allergy Clin Immunol* 2018)。

これらの背景を本提案では、尿中 PGDM を用いた食物アレルギーの診断法・治療法の標準化を目的に掲げ、尿中 PGDM が様々な食物アレルギーの診断や、免疫療法の治療指標となりうるか否かを、ヒト患者とモデルマウスの尿を用いて明らかにすることを目的に研究を行った。

研究計画及び研究手法

- ① 尿中 PGDM のアレルギー診断への応用 (ヒト) : 成育医療研究センターにおいて、診断を行った患者の尿を採取し、質量分析装置を用いて PGDM の濃度を測定した。これにより症状と比例して PGDM が排泄されるか確認した。
- ② 尿中 PGDM の免疫寛容療法への応用 (マウス) : 食物アレルギーモデルマウスに対し、脱感作療法を行った。これらのマウスの尿中 PGDM 濃度が症状と共に推移し、治療指標となりうるか評価した。
- ③ 症状を抑える目的で処置される、薬剤の投与が、PGDM の排泄量に影響を与えるかを、マウスモデルを用いて確認した。
- ④ マウスのアナフィラキシーモデルを作製し、極度の症状を呈した場合にも尿中 PGDM の濃度が、診断の指標となるかを検証した。
- ⑤ 免疫寛容療法への応用 (ヒト) : 成育医療研究センターにて免疫療法を受けている患者の尿中の PGDM 濃度を測定し、食物アレルギー患

者の免疫療法時の症状とマーカー濃度の推移に相関が確認されるか検証した。

上記研究実施内容は、ほぼ申請時の研究計画通りに行った。

結果と考察

- ① 結果：成育医療研究センターにおいて、リクルートされた患者 11 名に対して、抗原摂取後の尿中 PGDM の濃度を測定した。その結果、症状を呈した患者では、尿中 PGDM 濃度が上昇する傾向が確認された。
- ② 結果：感作したマウスへ、卵白アルブミンを連続投与するとアレルギー症状が、発現・悪化した後、症状が改善した。これを脱感作モデルとした。これらのマウスの尿中 PGDM 濃度を測定したところ、症状の悪化や緩和に先んじて、尿中 PGDM 濃度の上昇や低下が観察されることが分かった。
- ③ 結果：卵白アルブミンによる感作と刺激による食物アレルギーモデルを作製し、上記と同様に症状の評価を行った。これらのマウスに、治療に用いられる薬物を投与した。その結果、尿中の PGDM 濃度の上昇に影響を与える薬物と、与えない薬物があることが分かった。
- ④ 結果：極度の血圧低下や体温低下を伴う、アナフィラキシーモデルをマウスで作製した。この時尿中の PGDM の濃度の上昇が確認できた。

- ⑤ 結果：免疫寛容療法への応用（ヒト）：成育医療研究センターにてリクルートされた、免疫療法を受けている患者の尿中の PGDM 濃度を測定した。その結果、尿中 PGDM 濃度が低下する傾向のある患者では、可食量が増える傾向が観察された。

今後の研究活動について

本研究では、尿中の PGDM 濃度が、食物アレルギーの診断や治療に有用な指標であることを実験動物とヒト患者を対象とした研究で明らかにした。安全な食物アレルギーの診断や管理ツールとして尿中 PGDM 濃度を応用・実用化していくこと目標とし、今後それぞれの研究における例数を増やし、より詳細な検討を行っていきたい。

参考文献

- 1) Prostaglandin D2 metabolite in urine is an index of food allergy. Maeda S, Nakamura T, Harada H, Tachibana Y, Aritake K, Shimosawa T, Yatomi Y, Murata T. *Sci Rep*. 2017 Dec 15;7(1):17687
- 2) Urinary PGDM, a prostaglandin D2 metabolite, is a novel biomarker for objectively detecting allergic reactions of food allergy. Inagaki S, Maeda S, Narita M, Nakamura T, Shimosawa T, Murata T, Ohya Y. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Nov;142(5):1634-1636.e10.