

研究課題名	重症消化管アレルギーの病態解明
フリガナ	モリタ ヒデアキ
代表者名	森田 英明
所属機関 (機関名) (役職名)	国立成育医療研究センター研究所 免疫アレルギー・感染研究部 室長
本助成金による 発表論文, 学会発表	Toyama Y et al. J Allergy Clin Immunol Pract. 2021;9:547-549.

## 研究結果要約

近年、本邦において新生児・乳児消化管アレルギー（以下、消化管アレルギー）の症例報告が急激に増加している。消化管アレルギーは食物アレルギーの一種であるが、一般的な食物アレルギーとは病態が異なると考えられている。一般的な食物アレルギーとは異なり、消化管アレルギーは IgE 抗体を介さない機序（非 IgE 依存型アレルギー）が想定されているが、その病態の詳細はほとんど明らかになっていない。消化管アレルギーは、重篤な成長障害を認める症例が存在すること、原因抗原の同定が困難な症例が多いことから、その病態の解明及び新たな治療法の開発が期待されている。そこで本研究では、重症消化管アレルギー病態を明らかにすることを目的として、重症消化管アレルギーの動物モデルの作成と、原因抗原の検討を行った。その結果、2つの方法を用いて、体重増加不良や組織への異常好酸球浸潤を認める消化管アレルギー様の動物モデルを確立することに成功した。また、消化管アレルギーを誘発する食物の成分は、一般的な食物アレルギーとは異なる可能性を見出した。

## 研究目的

近年、本邦において新生児・乳児消化管アレルギー（以下、消化管アレルギー）の症例報告が急激に増加している。消化管アレルギーは食物アレルギーの一種であるが、一般的な食物アレルギーとは病態が異なると考えられている。一般的な食物アレルギーは、原因抗原摂取後、1時間以内に皮膚症状や呼吸器症状を認め、抗原特異的 IgE 抗体を介したマスト細胞・好塩基球の活性化により引き起こされていると考えられている。一方、消化管アレルギーは、原因抗原摂取後、数時間以降に主に消化器症状や体重増加不良を認め、IgE 依存型アレルギーと異なる症状の時間経過をとること、患者血清中から原因抗原特異的な IgE 抗体が検出されない症例が多いことから、IgE 抗体を介さない機序（非 IgE 依存型アレルギー）が想定されている<sup>1)</sup>が、その病態の詳細はほとんど明らかになっていない。消化管アレルギーには、複数の亜型が存在することが知られているが、重篤な成長障害を認める症例が存在すること、原因抗原の同定が困難な症例が多いことから、病態の解明及び新たな治療法の開発が期待されている<sup>2)</sup>。

本研究では、重症消化管アレルギー病態を明らかにすることを目的として、重症消化管アレルギーの動物モデルの作成と、原因抗原の検討を行った。

## 研究計画及び研究手法

### (1) 消化器症状を認める動物モデルの作製

種々の方法を用いて、消化管アレルギーのモデルマウスの確立を試みる。具体的には、マウスに食物抗原（Ovalbumin: OVA）と共に種々のバリア破壊/免疫賦活を誘導する分子を投与方法や、食物に含まれる蛋白以外の成分を経消化管投与し、症状及び消化管の炎症の程度を評価する。

具体的なモデル作製の方法として

- A. 水酸化アルミニウムと共に OVA を経消化管投与し、その後連続的に OVA を経消化管投与する方法
- B. 界面活性剤と共に OVA を経消化管投与する方法

- C. コレラトキシンと共に OVA を経消化管投与し、その後連続的に OVA を経消化管投与する方法
- D. 食物由来成分を飲水に混ぜて経口投与する方法

を試みた。

症状の有無を体重を用いて評価し、炎症の程度は消化管の病理像や消化管組織における mRMA 発現で評価した。

## (2) 消化管アレルギーの原因となる食物成分の検討

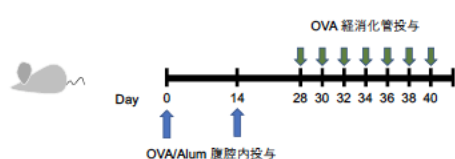
消化管アレルギーの中でも、繰り返す激しい嘔吐及びショック様症状を呈する疾患である食物蛋白誘発胃腸炎 (Food protein-induced enterocolitis syndrome) 患者を対象として、その原因となる食物抗原の成分に関して、後方視的に検討を行った。

## 結果と考察

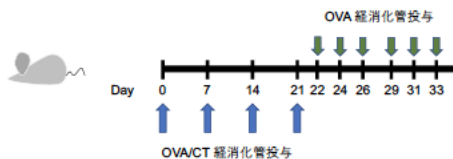
### (1) 消化器症状を認める動物モデルの作製

消化管アレルギー様の症状を誘発するために、前述した4つの方法を用いて、投与経路、投与量、投与頻度の予備的に検討し最適化を行った。その結果、4つの方法のプロトコールを図1の通り確定した。

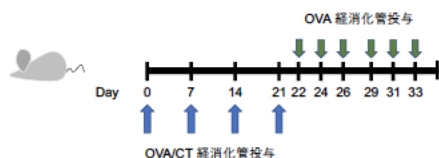
A. 水酸化アルミニウム (Alum) と共にOVAを投与する方法



B. 界面活性剤と共にOVAを投与する方法



C. コレラトキシン (CT) と共にOVAを投与する方法



D. 食物由来成分を飲水に混ぜて経口投与する方法

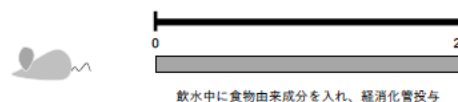
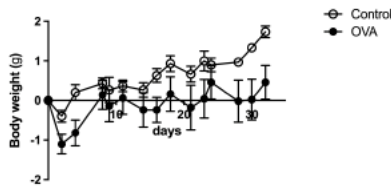


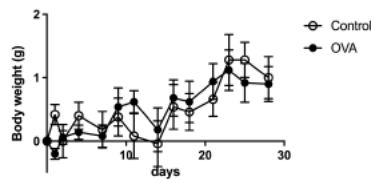
図1：最適化したプロトコール

次に各 A-D のプロトコールにおける、体重の推移を測定した。その結果、水酸化アルミニウムと共に OVA を経消化管投与し、その後連続的に OVA を経口投与する方法（プロトコール A）と、食物由来成分を飲水に混ぜることで経口投与する方法（プロトコール D）では、時間の経過と共に体重増加不良を認めることが明らかとなった（図2）。一方で、界面活性剤と共に OVA を経消化管投与する方法（プロトコール B）、コレラトキシンと共に OVA を経消化管投与し、その後連続的に OVA を経消化管投与する方法（プロトコール C）では、時間を経ても体重の増加がコントロール群と同等であることを明らかにした（図2）。

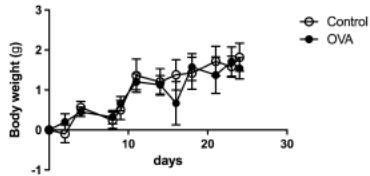
A. 水酸化アルミニウム (Alum) と共にOVAを投与する方法



B. 界面活性剤と共にOVAを投与する方法



C. コレラトキシン (CT) と共にOVAを投与する方法



D. 食物由来成分を飲水に混ぜて経口投与する方法

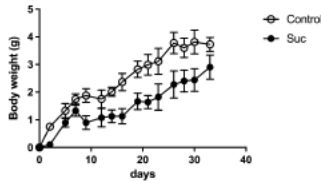
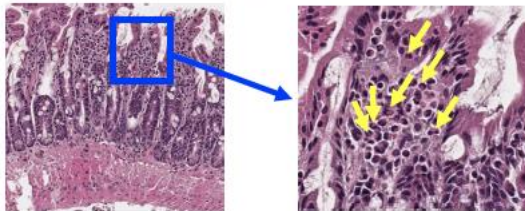


図 2：体重の推移

次に、各 A-D のプロトコールにおける消化管の炎症の程度を、組織学的に検討した。その結果、体重増加不良を認めなかったプロトコール B 及びプロトコール C を用いた実験群では、コントロール群と比較して組織学的な変化は認めなかった。一方で、体重増加不良を認めたプロコール A 及びプロトコール D では、消化管組織、特に小腸において、著名な好酸球の浸潤を認めることを明らかにした (図 3)。

A. 水酸化アルミニウム (Alum) と共にOVAを投与する方法



D. 食物由来成分を飲水に混ぜて経口投与する方法

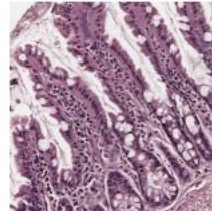


図 3：消化管組織像

体重の推移及び、組織学的な所見から、プロトコール A 及び D を用いた方法では、小腸を中心とした消化管炎症と体重増加不良を認める消化管アレルギー様のモデルが作製できることが明らかとなった。

## (2) 消化管アレルギーの原因となる食物成分の検討

一般的な食物アレルギーは、食物に含まれる蛋白質が原因抗原となり、抗原特異的な IgE 抗体を介したメカニズムで症状が誘発されることが明らかにされている。一方で消化管アレルギーは、必ずしも抗原特異的な IgE 抗体が産生誘導されないことから、抗原特異的 IgE 抗体を介さないメカニズムで誘導されていると考えられているが詳細は不明なままである。そこで、消化管アレルギーを誘導する食物由来成分を推定するために、消化管アレルギーのうち鶏卵が原因で食物蛋白誘発胃腸炎を発症した患者を対象として、その原因となる成分を後方視的に検討した。

その結果、調査を行った鶏卵が原因の食物蛋白誘発胃腸炎患者では、26 名中 23 名が卵黄により症状が誘発されていたことを明らかになった。更に、そのうちの 3 名は卵黄に加えて卵白にも反応したが、卵白のみに反応する患者は 1 人もいないことも明らかになった。

鶏卵によって症状が誘発される一般的な食物

アレルギーでは、卵黄よりも卵白で症状が誘発されることが多い。また、卵白に豊富に存在するタンパク質である、オボアルブミンやオボムコイドが一般的な食物アレルギー症状を誘発する成分であるとしられている。しかし、これ



らの蛋白は卵黄には少量しか存在しないため、食物蛋白誘発胃腸炎において症状を誘発する成分は、オボアルブミンやオボムコイドではない可能性が示唆された。本研究成果は、*Journal of Allergy and Clinical Immunology in Practice* 誌に掲載された。

## 今後の研究活動について

本研究により、消化管アレルギー様の症状、炎症が誘導される 2 つのモデルマウスの作製に成功した。これまで消化管アレルギーの病態解明が進まなかった大きな要因として、適切なモデルマウスが存在しなかったことが挙げられる。今後は、確立した動物モデルを用いて、発症に至る詳細なメカニズムを明らかにする必要があると考える。また、消化管アレルギーの症状を誘発する食物成

分は、一般的な食物アレルギーのものとは異なる可能性を明らかにした。今後は、食物中の蛋白成分以外が症状を誘発している可能性を視野に入れ、検討を進めていく必要があると考える。

低アレルゲン化の手法が確立できれば、同様の手法での他の食品への応用を行うことで、安全で有効な食物アレルギー治療の開発を進めることができる。

#### 参考文献

- 1) Morita H, Nomura I, Matsuda A, Saito H, Matsumoto K. Gastrointestinal food allergy in infants. 2013 Sep;62(3):297-307.
- 2) Nomura I, Morita H, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies: distinct differences in clinical phenotype between Western countries and Japan. Curr Allergy Asthma Rep. 2012 Aug;12(4):297-303.

以上