

ニッポンハム食の未来財団 2020 年度個人研究助成 研究完了報告書

研究課題名	複数の重症食物アレルギーを有する児に対する同時緩徐微量経口免疫療法 Simultaneously slow low dose oral immunotherapy: double-S LOIT (wSLOIT)
フリガナ	スギウラ シロウ
代表者名	杉浦 至郎
所属機関 (機関名) (役職名)	あいち小児保健医療総合センター アレルギー科医長 兼 保健室長
本助成金による 発表論文, 学会発表	なし

研究結果要約

我々はこれまでに 1 種類の抗原を対象とした緩徐微量経口免疫療法 (slow low dose oral immunotherapy: SLOIT) の高い安全性と十分な効果を報告している (Allergology International 2020)。今回は複数の重症食物アレルギーを有する児を対象に複数抗原同時 SLOIT の効果と安全性を評価する臨床研究を行った。

本研究の対象はそれぞれの食物経口負荷試験 (OFC) により鶏卵・牛乳・小麦のうち 2 つ以上に対して重症アレルギーを有すると診断された児であり、2020 年 8 月から 2021 年 7 月の間に 9 人が参加した。対象者の原因抗原の内訳は鶏卵 8 人、牛乳 7 人、小麦 3 人 (全て延べ数) であり、OFC での総摂取量 (茹で卵白、牛乳、茹でうどん) は 1.5g [or mL] (interquartile range: 0.7-1.7) であった。

院内調整抗原ミックス粉 (一定量の鶏卵、牛乳、小麦を含む) を用いた米粉クッキーの作成は全ての保護者が可能であった。病院でのクッキー初回摂取における症状誘発は認められず、自宅では延べ 1132 回 (摂取予定の 96.0%) の摂取が行われ、症状誘発は 5 回 (0.44%)、薬物を必要とする症状誘発は 2 回 (0.18%) 認められた。1 例が症状誘発後 (咳と蕁麻疹) の本人の摂取拒否により治療を中断したが、誘発された全て症状は自宅で改善し、病院受診やアドレナリン自己注射器の使用は認められなかった。現在のところ研究実施、安全性に大きな問題は認められないと判断しており、治療群 20 症例を目標にエントリーを継続、治療開始から 1 年経過後の採血と OFC により、免疫学的な変化 (特異的

IgE、IgG4)及び症状の改善を評価、単抗原 SLOIT との比較を行う予定である。

研究目的

近年食物アレルギーの根本的治療として、経口免疫療法(Oral Immunotherapy : OIT)の効果が多数報告され特に安全性を重視した舌下免疫療法、経皮免疫療法、少量経口免疫療法の有効性を示す報告が増えてきている。当科では 2015 年から鶏卵、牛乳、小麦に対する重症アレルギーを有する児に対し緩徐微量経口免疫療法(slow low dose OIT: SLOIT)を行い非常に高い安全性(約半数は無症状で 1 年間の治療を終了)と効果を確認した (n=228, Allergology International 2020)。また 2017 年 4 月からは対象年齢や対象抗原を拡大し評価を継続してきた(n>300)。しかしこの SLOIT は同時に 1 つの抗原のみを対象としており、複数の重症アレルギーを有する児は、SLOIT 対象抗原以外の抗原の完全除去を継続する必要性があった。このような除去期間に症状が悪化した症例も存在する。

今回の研究の主要目的は鶏卵、牛乳、小麦のうち複数の重症食物アレルギーを有する児に対し、複数の微量抗原摂取を 1 年間継続しその後 OFC による評価を行うことで、有効性及び安全性を単抗原に対する SLOIT 治療と比較することである。

また、治療に伴う免疫学的変化として治療前後の抗原特異的 IgE、IgG4 の変化を評価、これらの変化を臨床症状の変化と合わせて単抗原 SLOIT と比較することにより複数抗原同時 OIT の際に生体内で起きている反応に関して考察を行うことを副次目的とする。

研究計画及び研究手法

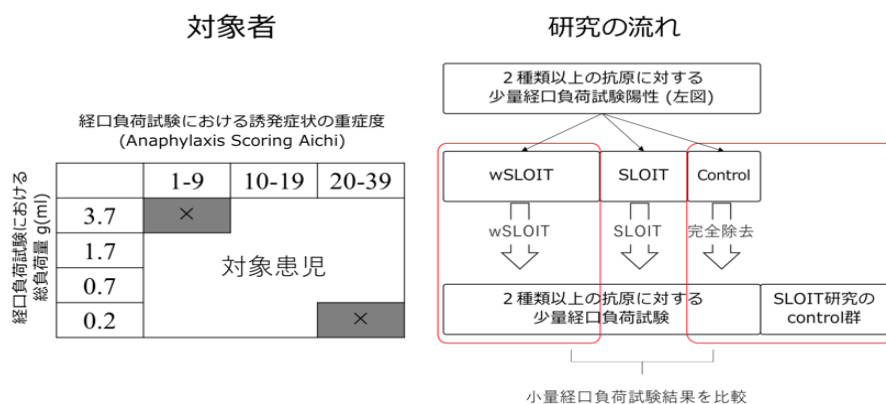
対象者は鶏卵、牛乳、小麦複数の重症食物アレルギーを有する児のうち、エピペン®の所持、管理が可能な児とする。条件を満たすと予想される児に対し 0.2 – 0.5 – 1.0 – 2.0 g (mL) 40 分間隔の食物経口負荷試験(OFC: Oral Food Challenge)を行い、当科で開発した ASCA 総合スコアを用いて誘発症状の程度を判定する。2 つ以上の抗原に対する OFC の結果が下表の一定の部分(「対象患児」の部分)に該当する保護者に研究の説明を行い、希望者に対してのみ同時緩徐微量経口免疫療法(Simultaneously SLOIT: double-S LOIT)を施行する(wSLOIT 群)。希望がなかった患児にはい

ずれかの単抗原による SLOIT(SLOIT 群)もしくは除去の継続を指導した (除去群)。下表×に該当する児は、軽症 (左上) もしくは重症 (右下) のため本研究の対象外とした。

wSLOIT を希望した保護者には児のアレルギーを問わず一定の鶏卵・牛乳・小麦を含有する抗原ミックス粉及び米粉を定期的に提供、保護者は自宅でその抗原と米粉を用いてクッキーを作成した。クッキー作成に自信のない保護者には院内で作り方の実習を定期的に開催した。また自宅で摂取しているクッキーは後日含有抗原量の測定を行う為に定期的に回収した。

wSLOIT 群は病院で作成したクッキー(初回量は一律茹で卵白 0.05g 牛乳 0.05mL 茹でうどん 0.025g 相当)の摂取を院内で行い、無症状を確認後に自宅での連日摂取を開始した。摂取前 1 時間後 2 時間の運動制限を指示した。30 日間ほぼ無症状で摂取できた場合は、1.5 倍を超えない範囲で増量を行い、治療開始 1 年後に摂取開始量の 10 倍の抗原(ゆで卵白 0.5g 牛乳 0.5mL ゆでうどん 0.25g 相当)を摂取可能となることを目標とした (増量ペースは SLOIT⁽¹⁾ 同様)。1 年後に再度エントリー時と同様の OFC を行い、結果を比較することで有効性を評価する予定とした。主要な評価項目は OFC 陰性者の割合であるが、症状誘発閾値の変化、閾値量を加味した誘発症状の重症度の変化も比較する。対照群には SLOIT 研究参加者で完全除去を選択した児の 1 年後の結果を historical control として用いる。また治療の安全性に関しても同様の対象で評価し、中等症以上の症状誘発時は電話連絡をいただき研究の継続に関して検討した。

治療前後で抗原特異的 IgE 及び IgG4 を測定することで免疫学的な変化を評価する予定である。



2020 年 4 月 7 日、7 都府県に対して、4 月 16 日全国を対象に緊急事態宣言が発出された。その後 5 月 14 日に 8 都道府県を除く、39 県で緊急事態宣言が解除されたが、5 月末まで愛知県独自の

宣言が継続され当センターの診療も大きく影響された。当科でも食物傾向負荷試験の入院を半数以下に制限し、新たな経口免疫療法の開始を控えるなどの対策が実施された。それに伴い本研究の実施開始も困難となり、宣言解除後に日常診療が軌道に乗り始めた 2021 年 8 月より正式に実施されることとなった。

また免疫学的評価としてサーモフィッシャー社に抗原特異的 IgG4 の測定を依頼する予定であったが緊急事態宣言発出に伴いサーモフィッシャー社が検体受け入れを中止、その後一時的に再開した時期もあったが、現在は再び受け入れを停止しており再開の目処は立っていない。またクッキー中の抗原量測定に関しても同様の事象が認められた。その為、これらの評価を院内で行うように計画を変更、必要な試薬、機器を揃えることができ、それぞれ近日中の測定開始を予定している。

新型コロナウイルス感染症拡大の影響により研究計画の遅延を余儀なくされたが、方法を変更することで予定された研究計画は全て行うことが可能となった。

結果と考察

結果

2020 年 8 月から 2021 年 7 月の 12 ヶ月の間に合計 9 人の患児のエントリーが行われた。患児のアレルギー原因抗原は鶏卵がのべ 8 人、牛乳がのべ 7 人、小麦がのべ 3 人で 3 抗原全てにアレルギーを有する患児は存在しなかった。

治療に用いるクッキーの作成はまずは管理栄養士の作成した写真付きのレシピを用いて説明を行い、希望があった方にはクッキー作成の実習を案内した。実際には約半数の保護者がクッキー作成実習を希望したが全ての保護者で 1 回だけの希望であり、2 回目以降は自宅で作成することができた。

治療開始前の各抗原の特異的抗体価は以下のものであった。半数以上の患者で抗原特異的抗体価は class4 以上であり、特に小麦に関しては抗体価高値の症例が多くエントリーしていることが明らかになった。

検査項目	値(四分位範囲)
総 IgE (IU/mL), n=9	724.5 (294.8, 1330.8)
卵白 sIgE (U _A /mL), n=8	50.7 (16.0, 85.8)
オボムコイド sIgE (U _A /mL), n=8	35.2 (12.2, 44.6)
牛乳 sIgE (U _A /mL), n=7	30.9 (9.5, 70.7)
カゼイン sIgE (U _A /mL), n=7	29.5 (8.3, 53.0)
小麦 sIgE (U _A /mL), n=3	164.5 (117.3, 211.8)
ω5 グリアジン sIgE (U _A /mL), n=3	21.75 (17.8, 25.7)

また食物経口負荷試験の結果は以下のものであった

項目	値(四分位範囲)
茹で卵白負荷試験_負荷総量(g), n=8	1.7(0.7, 1.7)
茹で卵白負荷試験_誘発症状重症度(Total Score), n=8	25(20.5, 30)
牛乳負荷試験_負荷総量(mL), n=7	1.5(0.7, 2.7)
牛乳負荷試験_誘発症状重症度(Total Score), n=7	10(10, 20.5)
茹でうどん負荷試験_負荷総量(g), n=3	1.2(1.0, 1.5)
茹でうどん負荷試験_誘発症状重症度(Total Score), n=3	21(20.5, 23)

同意取得後、管理栄養士によりクッキー作成方の説明を行った。一部の希望者には管理栄養士によるクッキー作成の実技指導が行われ、全員がほぼ均一なクッキーを作成することができた。クッキーの初回摂取は院内で行い、慎重に症状を確認したが明らかな誘発症状は認められなかった。その後プロトコールに沿って1日1回の摂取を指示した。2021年7月の外来受診時までに確認できた

対象者の総摂取回数は 1132 回で対象期間の 96.0%の摂取ができていた。クッキーの味に関しては全員に感想が聞けているわけではないが、美味しいという意見がほとんどであった。口腔内の違和感などの軽度ではあるが、経口免疫療法の継続を阻害する症状もほとんど認められなかった。

治療に伴う誘発症状は 1132 回の摂取のうち 5 回に認められた。そのうち 2 回は抗ヒスタミン薬や気管支拡張剤などの薬物を必要とする症状であったが比較的速やかに症状は消失し、病院受診やエピペン®の使用は認められなかった。

効果判定の OFC は 1 例に対して、2 抗原のうち 1 抗原に対してのみ施行できており（2021/7/31: 茹でうどん OFC）、負荷総量（症状誘発閾値）には変化がなかったが、誘発された症状の軽症化が確認できた。

考察

a. Feasibility

本研究の実施前には自宅でクッキーを作成できる保護者がどの程度クッキーの作成ができるかはっきりしない部分があったが、管理栄養士によるわかりやすい作成方法の説明書の効果もあり、一部に実習の希望者がいたものの 2 回目以降は全員が可能であった。しかしそもそもクッキー作成ができそうにないという理由で研究参加を拒否、もしくは単抗原での SLOIT を選択した保護者が存在した可能性がある。今後は同様の目的の食品もしくは薬品等が販売されることを期待したい。

1 日 1 回摂取するというプロトコールはその前後の運動制限を含めて概ね受け入れられた。サンプル数は少ないが、指示の 96%の回数で摂取できていたという結果は SLOIT 研究の 92.9%と比較してやや高い値であった。大きな違いがなかったが、話を聞いた児は皆おいしくクッキー摂取ができており、茹で卵白、牛乳、茹でうどんそのものに比較して本人の拒否感は少ない印象であった。このことが高い摂取割合につながっている可能性も考えられた。

以上からこのプロトコールの feasibility は十分であると考えられた。

b. Safety

本研究にエントリーした児の多くは血液検査で抗体価が高値である症例が多く、OFCでの重症症状が予測される⁽²⁻⁴⁾のみだけでなく経口免疫療法の経過も困難な可能性が高い症例であった⁽⁵⁾。OFC結果も症状誘発閾値が低く、このことから経口免疫療法の経過も困難な可能性が高い症例であることが予測された⁽⁶⁾。また複数抗原同時に経口免疫療法を行った際の症状誘発の様式は予測できない部分もあった。

これらの不安事項があったものの、ほとんどの摂取で症状は誘発されなかった。SLOITと比較して少ない量の抗原摂取量となっている患者がいることも影響している可能性があるが、SLOITと同量の抗原量となっている患者もおり、サンプル数は少ないが、複数抗原を同時に治療することによる安全性への悪影響は、あったとしてもそれほど大きくないことが想定される。少数の患者に誘発された症状も危険性の大きなものではなかったが、不安のために摂取を中断した症例が1例認められた。本症例は半年以上無症状で治療継続ができており、本人の気持ち次第であるが、今後OFCによる再評価を提案しようと考えている。

以上から現在のところ安全性に関しても大きな問題はないと考えている。しかし経口免疫療法では不測の重症症状が誘発されることがあり、今後も慎重にモニターを行うことが必要と考えている。

c. Efficacy

効果に関してはまだほとんど評価ができていない。2021年7月31日に研究参加者初めての効果判定OFCが行われた。結果は誘発症状重症度の改善が認められており、治療の効果は認められると判断される。今後効果判定の負荷試験が多く予定されており、それぞれ単抗原のSLOITの結果と比較を行う予定である。

免疫学的な評価に関しても今後施行予定であり、抗原特異的IgE、IgG4の変化に関して複数抗原同時に治療を行う影響や、抗原摂取量との関係が明らかになる予定である。

今後の研究活動について

これまでの結果からは安全性を含め研究実施に大きな問題はないと考えられる。その為予定通り治療群20症例を目標にエントリーを継続する予定である。治療を行った患児に関しては治療開始か

ら1年経過後の採血とOFCにより、免疫学的な変化及び症状の改善を評価、単抗原の経口免疫療法と比較を行う予定である。免疫学的な変化に関しては抗原特異的IgE及びIgG4値をイムノキャップを用いて測定する。特に治療前に同じ重症度であった場合複数抗原同時に経口免疫療法を行った場合と単抗原で行なった場合で免疫学的な変化に違いが認められるかどうかに関して評価する。また保護者が作成したクッキー内の抗原量を本研究費で購入済であるELISAプレートリーダー及びFASTKIT エライザ Ver.IIIを用いて測定する予定である。

これらの評価により複数抗原同時経口免疫療法が有用であることが明らかになれば、今回の研究計画のような少量の摂取から日常摂取量（鶏卵1個、牛乳200mL、茹でうどん200g）まで同時に増量することに関する検討を行う。

参考文献

1. Sugiura S, Kitamura K, Makino A, Matsui T, Furuta T, Takasato Y, Kando N, Ito K. Slow Low-Dose Oral Immunotherapy: Threshold and Immunological Change. *Allergol Int.* 2020; 69: 601-609.
2. Sugiura S, Matsui T, Nakagawa T, et al. Development of a prediction model of severe reaction in boiled egg challenges. *Allergol Int.* 2016;65:293-299.
3. Sugiura S, Sasaki K, Matsui T, Nakagawa T, Kando N, Ito K. Development of a prediction model for a severe reaction in cow's milk challenges *Allergol Int.* 2017;66:493-494
4. Sugiura S, Matsui T, Furuta T, Sasaki K, Kando N, Ito K. Development of a prediction model for severe cases of wheat allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2018; 29: 93-96
5. Vazquez-Ortiz M, Alvaro-Lozano M, Alsina L, Garcia-Paba MB, Piquer-Gibert M, Giner-Munoz MT. Safety and predictors of adverse events during oral immunotherapy for milk allergy: severity of reaction at oral challenge, specific IgE and prick test. *Clin Exp Allergy* 2013;43:92e102.

以上