

ニッポンハム食の未来財団 2021 年度個人研究助成 研究完了報告書

研究課題名	固形物による食物誘発性胃腸症（FPIES）の機序解明
フリガナ	タカサト ヨシヒロ
代表者名	高里 良宏
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
本助成金による 発表論文, 学会発表	現時点で決定ではありませんが 2023 年度日本アレルギー学会または日本小児アレルギー学会で 発表予定です。

研究結果要約

目的：近年増加している固形物による消化管アレルギー（固形物 FPIES）の機序は不明な点が多く、有用な補助診断法も確立していない。本研究は固形物 FPIES 患者に対して皮膚プリックテスト（SPT）, 特異的 IgE 評価, 好塩基球活性化試験（BAT）, 皮膚パッチテスト（PP）, リンパ球刺激試験（LST）に同一抗原を用いて実施, 解析することで検査の有用性及び限界を明らかにすることとした。

結果：全体として 23 件（卵黄 13 件〔陽性 9 件, 陰性 4 件〕, 小麦 7 件〔陽性 2 件, 陰性 4 件〕, 大豆 3 件〔陽性 1 件, 陰性 2 件〕）の解析を行った。全体を対象とすると特異的抗体価（UA/mL）の中央値（四分位）は陽性群（P 群）：陰性群（n 群）で 0.1（0.1-0.19）：0.1（0.1-0.29）であった。SPT 陽性者は p 群 8 名中 0 名, n 群 10 名中で 1 名/10 名, BAT 陽性者は p 群 10 名中 1 名, n 群 10 名中 2 名であった。PP 陽性者は p 群 9 名中 1 名, n 群 11 名中 1 名であった。LST 陽性者は p 群 12 名中 10 名, n 群 9 名中 8 名であった。今回実施した 5 つの検査はすべてに両群での有意差はなく, 抗原別に解析を行った場合にも傾向に変化はなかった。

考察, 結論：塩可溶性抗原を用いた今回の解析では診断補助に有用な検査は見られなかった。症例数が不足している抗原もあることから, 更なる症例集積が必要である。また塩不溶性抗原の抽出及び臨床応用も課題として挙げられる。

研究目的

新生児・乳児食物蛋白誘発胃腸症は、食物蛋白誘発胃腸炎(food protein-induced enterocolitis syndrome, FPIES)、及び大腸炎(allergic proctocolitis, FPIAP)、胃腸症(enteropathy, FPE)に分類される。これらは抗原依存性に嘔吐、血便、下痢などの消化器症状のみを引き起こす疾患である。皮膚・呼吸器症状を伴わず、症状発現時間も摂取後数時間以降であることから、即時型アレルギーとは異なる疾患群と考えられる。強い誘発症状の中では頻回の嘔吐やハイポボレミックショックに陥るが、アドレナリンに対する反応性は低く、アナフィラキシーとは異なる病像を呈する。

原因抗原としては牛乳が95%、米、大豆10%、鶏卵5%、それ以外は各1%以下と言われている。疾患頻度の高さから、我が国では乳児期発症でミルクを抗原とする疾患が広く研究されており、抗原特異的T細胞の存在を証明するリンパ球刺激試験が補助診断として有用であるとされている。単一のミルク抗原に対して上記のように多彩な表現型を持つ。

一方固形食物による新生児・乳児食物蛋白誘発胃腸症の臨床症状は、抗原の種類に関わらず摂取後数時間で嘔吐のみを来す、いわゆるFPIES（固形物FPIESと呼称する）に分類されることがほとんどである。発症年齢は様々で、乳児期発症例においても比較的寛解が得られにくく、海外からの報告で3歳までの寛解率が鶏卵で12.5%、魚類で25%等と述べられている。こうした特徴は牛乳とは異なることから、牛乳で得られた知見をそのまま固形物FPIESに当てはめることは必ずしも正しくないと考えられる。その中で本研究は、まだ系統的な知見に乏しい固形物に対するFPIESに焦点を当てることとした。研究の目的は、経口負荷試験によって臨床的に確定診断した固形物FPIES症例において、IgE依存性・非IgE依存性反応を評価する検査を網羅的に行って、各症例における両者の関与の程度を明らかにすることである。その結果から、各抗原に対して暫定的に行われているALSTの診断的位置づけを評価して、その有用性及び限界を明らかにすることで、本症に対する一般診療に資するものとした。

研究計画及び研究手法

【対象者】

対象患者は、我が国の「新生児・乳児食物蛋白誘発胃腸症診療ガイドライン（2019年2月6日改訂）」及びAAAAIのPosition paperに基づいて、経口負荷試験または明らかな病歴が確認され、他の疾患が除外された固形物を抗原とするFPIES患者。過去に診断歴があり、改めて経口負荷試験を実施して症状が再現された患者も含まれた。

対照群は診断のための経口負荷試験が陰性で、その後の摂取によっても誘発症状を認めない患者とした。

【方法】

最終症状確認（経口負荷試験又は病歴）から前後3カ月以内に採血を行い、①抗原特異的IgE検査②リンパ球刺激試験③好塩基球活性化試験④パッチテスト⑤皮膚プリックテストを併せて実施した。②、③に関しては臨床検査会社（BML）に委託して実施した。②～⑤の検査には共通の抗原抽出液（臨床検査用試薬、研究用試薬又は自家製造）を用い、SDS-PAGE及びIgE immunoblottingを用いてIgE抗体との反応性を検証した。またリンパ球刺激試験培養上清中のサイトカイン測定を行った。

負荷試験は全例入院（2泊3日以上）で行った（研究の流れ参照）。負荷試験前に採血を行い、症状出現時にはトリプターゼ、血球分画を測定した。負荷試験陰性症例に対しても最終負荷3時間後に陰性コントロールとしての採血を実施した。負荷試験における初回摂取量は0.05～0.15 g protein/kgを目安とし、基本的に2倍量ずつの増量を行い、最終負荷量は当該年齢における1回摂取量の半量以上とした。卵黄、大豆、小麦の3食材が対象となったが

卵黄は抗原試薬（トリアレルゲンエキス）中に卵白成分が多く混入していることが

事前のSDSPAGE, Immunoblotで判明したため、注射器で生卵黄より抗原を吸い出し、PBSにて抽出した溶液を検査抗原として使用した。また混入する可能性のあるLPSを除去するためにLPS除去カラムを使用し、且つ使用抗原のLPS濃度の評価を合わせて実施した。

Day 0	Day1	Day2	Day3
入院 点滴確保 採血	午前 初回摂取	午前 3回目摂取	午前 5回目摂取
パッチ テスト貼付	午後 2回目摂取	午後 4回目摂取 パッチテスト判定 (48時間後)	午後 退院 パッチテスト判定 (72時間後)

結果と考察

当該研究期間中 23 件の検査を実施した。

そのうち卵黄は 13 件（陽性 9 件、陰性 4 件）、小麦は 7 件（陽性 2 件、陰性 4 件）、大豆は 3 件（陽性 1 件、陰性 2 件）であった。これは当初予定していた検査数の約半分であった。

全体（陽性 12 例、陰性 11 例）を対象とすると特異的抗体価（UA/mL）の中央値（四分位）は陽性群：陰性群で 0.1（0.1-0.19）：0.1（0.1-0.29）であった。一般的に IgE 依存性の即時型検査としていられている皮膚プリックテスト（SPT）は陽性群で 0%（0 名/8 名）、陰性群で 10%（1 名/10 名）の反応が見られた。好塩基球活性化試験（BAT）は陽性群で 10%（1 名/10 名）、陰性群で 20%（2 名/10 名）であった。これら 3 つの検査は共に両群間で有意差はなかった。

遅延型反応の検査である皮膚パッチテスト（PP）は 48 時間後の判定で陽性群 11%（1 名/9 名）、陰性群 9.1%（1 名/11 名）と両群間の有意差は認めなかった。

リンパ球刺激試験（LST）は陽性群で 83%（10 名/12 名）、陰性群で 89%（8 名/9 名）、SI 値の各群の中央値（四分位）は陽性群：陰性群で 3.75（2.7-5.7）：3.4（2.4-6.7）と有意差を認めなかった。抗原別に解析を行った場合にもこれらの傾向に変化はなかった。

リンパ球刺激の際の培養上清中のサイトカインを両群で比較したところ IL1 α 、IL1 β 、IL2、IL4、IL6、IL8、IL10、TNF α 、IFN γ で差は認めなかった。

肥満細胞の脱顆粒にて血中に検出されるトリプターゼ値を負荷試験の前後で測定した。陽性 2 例（共に卵黄）、陰性 2 例（小麦 1 例、大豆 1 例）は全例前後値の差を認めなかった。

今回の結果から塩可溶性抗原を用いた解析は 4 種の検査でどれも固形物 FPIES 診断に有用ではなかった。

先行研究での報告^{1,2)}と同じく、抗原特異的 IgE 値が陰性の症例が多く、即時型反応の検査である SPT、BAT は両群でほとんどの症例が陰性であった。また即時型反応のエフェクター細胞である肥満細胞の脱顆粒時に認められるトリプターゼ値が固形物 FPIES の陽性例においても前後値で差がなかったことから、IgE を介した肥満細胞の脱顆粒は固形物 FPIES の病態には関与していないと考えられた。

LST は牛乳成分による新生児・乳児食物蛋白誘発胃腸症の診断に有用とされている。今回の我々の検討では両群共に陽性反応が 80%以上に認められた。

先行研究の多くは固形物 FPIES の陽性者のみを対象として有用性を評価しているが^{3,6)}陰性群においても同検査が陽性を示した点は非常に興味深い。OFC 陰性例においても LST が陽性になった結果は抗原液中に微量に残存している LPS の影響を考える。また今回の対象者はすべて FPIES を疑う症状を呈した例であることも影響している可能性がある。

今後は FPIES を疑う病歴のない健常者での検討が必要と考えている。さらに FPIES 患者で得られた LST の陽性所見が、今後の患者の経過とともに変化していくのかを継続的に見ていくことで今回の結果が抗原特異的な反応を含んでいるのかを間接的に評価できる可能性はある。

今回の研究は患者への倫理的な配慮から、人体に無害である PBS での抽出または SPT 用の試薬を用いた。各抗原中には塩不溶性の成分もあることから同成分中に固形物 FPIES の原因抗原が含まれている可能性はある。

LPS と同じく、リンパ球の抗原特異的反応を見られると言われている PP が両群でほとんどが陰性であった点もこれを支持する所見と考える。

今後の研究活動について

今回の解析は当初の予定の半分程度の症例数であったこと、抗原別に検討すると小麦、大豆は症例数が少ないことを考慮し、同検討の症例数をさらに集めて後に論文報告を行いたいと考えている。

また固形物 FPIES 患者の経時的な経口負荷試験および LST の実施により症状の推移との相関関係の評価を進めていく必要があると考える。

参考文献

1. Toyama Y, Ishii T, Morita K, Tsumura Y, Takahashi T, Akashi M, et al. Multicenter retrospective study of patients with food protein-induced enterocolitis syndrome provoked by hen's egg. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9:547-9 e1.
2. Akashi M, Hayashi D, Kajita N, Kinoshita M, Ishii T, Tsumura Y, et al. Recent dramatic increase in patients with food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES) provoked by hen's egg in Japan. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2022; 10:1110-2 e2.
3. Van Sickle GJ, Powell GK, McDonald PJ, Goldblum RM. Milk- and soy protein-induced enterocolitis: evidence for lymphocyte sensitization to specific food proteins. *Gastroenterology* 1985; 88:1915-21.
4. 楠目和代, 八木悠一郎, 浅見経之, 小泉宗光, 吉田安友子. 貝類の消化管アレルギー(Food-Protein induced Enterocolitis Syndrome:FPIES)4 例とリンパ球刺激試験. *日本小児アレルギー学会誌* 2019; 33:591.
5. 渡邊庸平, 酒井秀行, 石田智之, 久間木悟, 二瓶真人, 佐藤大記. 新生児乳児消化管アレルギー・好酸球性消化管疾患 卵黄による Food protein-induced enterocolitis syndrome(FPIES)の特徴と診療方針に関する検討. *アレルギー* 2019; 68:519.
6. 梶田直樹, 平尾恵子, 吉田幸一, 成田雅美. ALST が原因食物の推定に有用であった、小麦による Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome(FPIES)の 1 例. *日本小児アレルギー学会誌* 2019; 33:628.

以上