

2024 年度研究助成事業

成果報告会 要旨集



2025 年 10 月 14 日（火）

公益財団法人ニッポンハム食の未来財団

2024年度研究助成事業 成果報告会

第一部 個人研究助成 ポスター報告会 プログラム

日 時：2025年10月14日（火）13時30分から14時30分

場 所：品川東急ビル 8階 AP品川 Fルーム

発 表 者：2024年度研究助成事業 個人研究採択者

コ ア タ イ ム：偶数演題番号13時30分～14時00分、奇数演題番号14時00分～14時30分

演題 番号	課題名	所属機関・氏名	頁
01	水溶性食物繊維（イヌリン）を用いた重症心身障がい児の腸内細菌叢改善によるアレルギー予防戦略の開発	関西医科大学 医学部 小児科学講座 講師 赤川 翔平	6
02	IgE 交差抗原による食物アレルギーの病態解明と予防法開発	順天堂大学大学院医学研究科 アトピー疾患研究センター 特任助教 貝谷 綾子	7
03	獣肉アレルギーとセツキシマブ過敏症の関連性に関する前向きな検討及びセツキシマブ過敏症のスクリーニング法の考案	高知大学大学院 総合人間自然科学研究科（博士課程） 医学専攻 医療学コース 臨床腫瘍学(臨床腫瘍専門医) 大学院生 佐藤 拓弥	8
04	上皮細胞傷害性を示すナノ粒子が皮膚感作と食物アレルギーに及ぼす影響の解析と予防対策の創出	大阪大学大学院薬学研究科 生体応答免疫分野 准教授 武村 直紀	9
05	胃食道逆流を背景とした牛乳アレルギーモデルマウスの感作初期の自然免疫の解明	名古屋市立大学医学部附属 東部医療センター 助教 谷田 寿志	10
06	アニサキスアレルギー患者のアニサキスアレルギーコンポーネントと病態の解析	兵庫医科大学 医学部 糖尿病内分泌・免疫内科 助教 田村 誠朗	11
07	状態の異なる鶏卵アレルギーのアレルゲン性の解析	名古屋学芸大学 管理栄養学部 助教 内藤 宙大	12
08	アレルゲン性を基盤とした IgE 受容体の脱感作メカニズムの解明と食物アレルギー治療への応用	金沢大学 医薬保健研究域薬学系 助教 長田 夕佳	13
09	成人に持ち越した小児発症食物アレルギー患者の社会的自立度に関する実態調査：Web を介した population-based study	独立行政法人国立病院機構 相模原病院 臨床研究センター 臨床研究推進部長 福富 友馬	14
10	種々の環境物質への対策を通じた経皮感作食物アレルギー予防の可能性	京都府立医科大学大学院 医学研究科 免疫内科学 病院助教 藤岡 数記	15
11	食物アレルギーに対する舌下免疫療法の予防効果と作用機序の解明	宮崎大学 医学部 医学科 感染症学講座 免疫学分野 助教 三苫 修也	16
12	超重症牛乳アレルギー患者に対する極微量牛乳経口負荷試験が耐性誘導に与える有効性を検証する前向き観察研究	昭和医科大学 医学部 小児科学講座 助教 山下 恒聖	17
13	小児牛乳アレルギー患者における重症化メカニズム解明とビタミンD併用による新規経口免疫療法の開発	千葉大学医学部附属病院 小児科 助教 山本 健	18

演題 番号	課題名	所属機関・氏名	頁
14	低アレルゲン化食用 1BS-18 小麦系統を利用した安全性の高い小麦アレルギーの減感作療法の開発	広島大学大学院 医系科学研究科（薬） 准教授 横大路 智治	19
15	樹状細胞の TGF- β シグナルによる食物アレルギーの制御機構	東京大学医学部附属病院 消化器内科 助教 井原 聡三郎	20
16	新生児・乳児早期に発症する消化管アレルギーの病態解明	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 共同研究員 松岡 諒	21

※ 敬称略

2024年度研究助成事業 成果報告会

第二部 共同研究助成 口頭成果報告会 プログラム

日 時：2025年10月14日（火） 15時00分より

場 所：品川東急ビル 8階 AP品川 Aルーム

発表者：2024年度研究助成事業 共同研究採択者

15:00 開会挨拶

15:10～15:30

野菜摂取と学童期の食物アレルギー：腸内細菌を含む網羅的コホート研究・・・・・・・・・・23
楠 隆
龍谷大学 農学部 食品栄養学科 小児保健栄養学研究室 教授

15:30～15:50

重症果物およびナッツ類アレルギー診断における GRP の有用性・・・・・・・・・・31
近藤 康人
藤田医科大学ばんだね病院小児科 教授

15:50～16:10

食物アレルギーの治療における D-アミノ酸含有ビオチニル化ペプチドの有用性の検証・・・・・・・・34
佐藤 陽
宮城学院女子大学 生活科学部 食品栄養学科 教授

-----（休憩）16：10～16：25-----

16:25～16:45

小麦アレルギー予防経口酵素剤の高効能化を実現する、第二世代グルテン分解酵素の創生・・・・・・・・41
田中 俊一
京都府立大学 生命理工情報学部 准教授

16:45～17:05

ポリフェノール代謝物による樹状細胞遊走調節を介した食物アレルギーの制御・・・・・・・・50
早坂 晴子
近畿大学 理工学部 教授

17:05～17:25

食物蛋白誘発胃腸症(FPIES)患者の尿中脂質バイオマーカーの探索・・・・・・・・58
山本 貴和子
国立成育医療研究センター・アレルギーセンター 診療部長

17:25 閉会挨拶

17:30 写真撮影

※敬称略

評議員・役員・研究助成委員名簿・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 66

財団案内・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 68

2024年度研究助成事業 個人研究助成

〈ポスター報告〉

要旨

※報告書全文は当財団Webサイトに掲載予定

【演題番号 01】

研究課題名	水溶性食物繊維（イヌリン）を用いた重症心身障がい児の腸内細菌叢改善によるアレルギー予防戦略の開発
フリガナ	アカガワ ショウヘイ
代表者名	赤川 翔平
所属機関（機関名） （役職名）	関西医科大学医学部小児科学講座 講師
本助成金による 発表論文、学会発表	<学会発表> 第 69 回 日本透析医学会学術集会・総会 シンポジウム 20（2024 年 6 月、横浜） タイトル：新生児・小児の腸内環境に影響を及ぼす因子 発表者：赤川翔平、金子一成

研究結果要約

重症心身障がい児はアレルギー疾患有病率が健常児より高く、食物アレルギーや気管支喘息などを合併しやすい。その一因として、経腸栄養剤の使用に伴う食物繊維摂取不足があり、申請者らは重症心身障がい児の腸内細菌叢が酪酸産生菌の減少を特徴とする著しい *dysbiosis*（腸内細菌叢の乱れ）を呈していることを報告した。酪酸産生菌が腸管内で産生する酪酸は、過剰な免疫応答を抑制する制御性 T 細胞の分化を誘導するため、酪酸産生菌の減少はアレルギー発症に関与する可能性がある。一方で、申請者らは食物繊維を豊富に含む大麦の継続摂取により、健康成人において腸内細菌叢の酪酸産生菌割合と便中酪酸濃度が増加することも見出している。これらの知見から、重症心身障がい児への食物繊維投与は *dysbiosis* を是正し、アレルギー予防につながる可能性があると考えられた。

本研究では、申請者らが過去に取り組んだ小児腸内細菌叢の解析手法をもとに、「水溶性食物繊維であるイヌリンの継続的な摂取が、重症心身障がい児の酪酸産生菌減少に特徴づけられる *dysbiosis* を改善し、アレルギー疾患予防戦略になり得る」という仮説をプラセボ対照二重盲検クロスオーバー試験を用いて検証することを目的とした。対象は関西医科大学附属病院小児科に通院する 15 歳未満の重症心身障がい児（経腸栄養剤使用者）25 名を目標とした。イヌリン粉末（またはプラセボ）2g/日を 4 週間摂取させ、6 週間のウォッシュアウト期間後にクロスオーバーする計画で、期間中に計 5 回採便し、腸内細菌叢（16S rRNA 解析）および便中有機酸濃度を評価することとした。

しかし、プラセボ製作の遅延やアドヒアランス低下による脱落があり、2025 年 3 月末時点でのリクルートは 7 名、試験完遂は 4 名に留まり、計画に大幅な遅延が生じている。4 名のデータを用いた中間解析では、イヌリン摂取後に酪酸産生菌を多く含む *Clostridiales* 目に属する細菌が大きく増加する傾向が認められた。今後は関連病院を含めた多施設共同研究に移行し、研究の完遂を目指す。

【演題番号 02】

研究課題名	IgE 交差抗原による食物アレルギーの病態解明と予防法開発
フリガナ	カイトニ アヤコ
代表者名	貝谷 綾子
所属機関（機関名） （役職名）	順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター 特任助教
本助成金による 発表論文，学会発表	なし

研究結果要約

近年、IgE 交差抗原が原因となる食物アレルギーが増加している。IgE 交差抗原性を示す動植物の組み合わせは、患者の問診などから少しずつ解明されてきた。しかし、体内に侵入する抗原を含む環境物質の中には IgE 交差抗原性を示す未知の組み合わせがまだ多数存在すると考えられる。これまでに申請者の研究グループは、マウスモデルとタンパクアレイを利用して IgE 交差抗原を同定する手法を確立した。本助成研究の目的は、この手法を利用して、環境物質内で IgE 交差抗原性を示す組み合わせを明らかにし、可能な限り未知の IgE 交差抗原を同定することである。ラテックスと IgE 交差抗原性を示す食材を明らかにするため、ラテックスとアジュバント Alum あるいは Alum だけを腹腔投与したマウスの血清とタンパクアレイ（さまざまな動植物抽出物が固相化された）を利用し、ラテックスで感作されたマウス血清 IgE が強く結合する食材を明らかにし、その中でオーツ麦に着目した。実際、ラテックスで感作された血清 IgE がオーツミルクに強く結合することを ELISA で確認し、ラテックスで感作されたマウスの耳介にオーツミルクを皮下注射すると血管透過性が強く亢進することを示した。つまり、ラテックスとオーツ麦に IgE 交差抗原がある可能性が示唆された。現在、その IgE 交差抗原の同定を進めている。今後、IgE 交差抗原による食物アレルギー発症機序の一端が明らかになると予想される。

【演題番号 03】

研究課題名	獣肉アレルギーとセツキシマブ過敏症の関連性に関する前向きな検討及びセツキシマブ過敏症のスクリーニング法の考案
フリガナ	サトウ タクヤ
代表者名	佐藤 拓弥
所属機関（機関名） （役職名）	高知大学 大学院 総合人間自然科学研究科（博士課程） 医学専攻 医療学コース 臨床腫瘍学(臨床腫瘍専門医) 大学院生
本助成金による 発表論文，学会発表	なし

研究結果要約

抗がん剤セツキシマブは有効性が確認されているが、インフュージョンリアクション（IR）の頻発が臨床応用の障壁となっている。IR には α -Gal アレルギー（代表例：獣肉アレルギー）の関連が示唆されている。本研究では、臨床実装可能な項目での特異的 IgE 検査と問診票を用いたスクリーニング法を探索した。

既存研究ではセツキシマブ投与後の特異的 IgE 検査のみ実施されていたが、スクリーニングには投与前検査が必要であり、セツキシマブによる感作の影響を明らかにする必要がある。

2024 年 6 月～2025 年 4 月に 27 例を登録し、投与前 33 項目・投与後 23 項目の特異的 IgE 検査と問診票による臨床因子収集を実施。感作の検討では、Wilcoxon 符号付順位検定と Benjamini-Hochberg 法による多重検定補正を用いた。23 項目全てで投与前後の中央値差分は 0.00 UA/mL ($p=0.036$ -1.000, $q=0.560$ -1.000) であり、感作の頻度は極めて低いことが示された。

スクリーニング項目選定では、牛肉 IgE のみ探索的有意 ($p=0.003$, $q=0.088$) を示したが、他項目では統計的差異はなかった。

問診票では獣肉の曝露歴やマダニ咬傷歴などの臨床的因子を収集したが、報告時点(2025 年 4 月末)で 1 例が未回収であり、本格的な解析を実施できていない。

本研究は国内初の前後比較デザインによるパイロットスタディとして、スクリーニングアルゴリズム構築や予防法開発の基礎を築くものである。今後は症例数確保のため、多施設共同研究による長期観察で、牛肉 IgE を中心としたマーカーの予測性能向上と IR 発症予防戦略の確立を目指す。

【演題番号 04】

研究課題名	上皮細胞傷害性を示すナノ粒子が皮膚感作と食物アレルギーに及ぼす影響の解析と予防対策の創出
フリガナ	タケムラ ナオキ
代表者名	武村 直紀
所属機関（機関名） （役職名）	大阪大学 大学院薬学研究科 生体応答制御学分野 准教授
本助成金による 発表論文，学会発表	齋しおり，難波龍之，武村直紀，高濱充寛，齊藤達哉 皮膚傷害に伴い放出される免疫制御分子のプロテオーム解析 第 74 回日本薬学会関西支部総会・大会，一般学術発表（口頭），西宮，2024 年 10 月 5 日

研究結果要約

アレルギーの初期感作に関する学説の 1 つに、皮膚などのバリア組織の上皮細胞が何らかの要因によって傷害されることで、抗原が体内に入りやすくなり、感作が促進される、という「上皮バリア仮説」がある。近代化に伴う生活環境の変化は、バリア組織が接触する環境要因の変化を意味し、アレルギー発症の潜在的脅威となる要因の特定と解析は、今後ますます重要な課題となる。ポリスチレンやシリカを材質とする一部の工業用微粒子は、ナノサイズになると上皮細胞に対して強い傷害性を示すことが分かっている。本研究では、これらナノ粒子による皮膚組織傷害が抗原感作を亢進する可能性を評価するとともに、予防対策に資する分子標的や薬剤を探索した。トランズウェルで培養した角化上皮細胞をナノ粒子で刺激すると、細胞が損傷し、40 kDa の FITC 標識デキストランの透過が亢進した。さらに、NC/Nga マウスの耳介にナノ粒子とダニ抗原を塗布する操作を繰り返すと、皮膚炎の悪化に伴って上皮組織が損傷し、FITC 標識デキストランの透過が亢進した。この際、ダニ抗原特異的な IgE 抗体産生の亢進も認められた。また、ナノ粒子で刺激した角化上皮細胞から放出されるタンパク質を質量分析し、抗原感作と関わりうる候補分子を複数得た。ナノ粒子による角化上皮細胞の傷害を有意に抑える化合物も 1 つ見出した。今後これらの解析を通じて抗原感作を誘導する環境要因の理解を深め、食物アレルギー対策の構築に貢献したい。

【演題番号 05】

研究課題名	胃食道逆流を背景とした牛乳アレルギーモデルマウスの感作初期の自然免疫の解明
フリガナ	タニダ ヒサシ
代表者名	谷田 寿志
所属機関（機関名） （役職名）	名古屋市立大学医学部附属 東部医療センター 助教
本助成金による 発表論文，学会発表	Nakaoka A, Nomura T, Suzuki A, Ozeki K, Kita H, Saitoh S. Aspiration of acidified milk induces milk allergy by activating alveolar macrophages in mice. Allergol Int 2025;74:97-104. ※2020 年度から 2023 年度の野村孝泰（研究代表者）による報告ですが、本研究課題（野村孝泰は本研究課題の研究指導者）の研究背景となっているものです

研究結果要約

乳児期の食物アレルギーは、初めての経口摂取で発症することも少なくなく、最近ではアトピー性皮膚炎などで障害を受けた皮膚を介した経皮感作が注目される。我々は、乳児期の胃食道逆流による経気道感作が牛乳アレルギーの発症機序の一端を担っていると仮説を立て、塩酸の気道暴露をアジュバントとした牛乳アレルギー気道感作モデルを報告した（Nakaoka A. Allergol Int 2025）。その機序に TLR4 が決定的な役割を果たすことを発見し、single cell RNA-seq 解析で、ROS 産生に関わる経路の関与を疑った。

今回の研究では、これらの経路に関わる蛋白レベルの解析に注目し、抗原の単回曝露後に肺胞洗浄液から分離した肺胞マクロファージを対象に、プロテーム解析を行った。T 検定でコントロールに比して増加する 26 タンパクと減少する 39 タンパクを抽出し、多重性に対する調整を行うとそれぞれ 2 タンパクが抽出された。これらのタンパクに注目し、すでに single cell RNA-seq 解析で得られている結果とあわせて病態を引き続き解析中である。引き続き本研究の解析をすすめることで、牛乳アレルギー発症予防方法の探求を行っていく。

【演題番号 06】

研究課題名	アニサキスアレルギー患者のアニサキスアレルギーコンポーネントと病態の解析
フリガナ	タムラ マサオ
代表者名	田村 誠朗
所属機関（機関名） （役職名）	兵庫医科大学 医学部 糖尿病内分泌・免疫内科 助教
本助成金による 発表論文，学会発表	< 発表論文 > 1. Clinical & Translational Allergy (CTA) に投稿予定 < 学会発表 > 1. 「アニサキスアレルギー 17 例の臨床的特徴とアレルギーコンポーネント解析」2024 年 10 月日本アレルギー学会 2. 「Component-Resolved Diagnosis and Clinical Profiles of Anisakis Allergy in Japan」2025 年 6 月 European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) 3. 「アニサキスアレルギーの臨床像と IgE 応答の特徴 ～食生活との関連も含めて～」2025 年 10 月 日本アレルギー学会

研究結果要約

アニサキスアレルギーでは魚介類除去による生活の質(QOL)低下が問題となっており、これを背景に本研究を開始した。40 例のアニサキスアレルギー症例を検討した結果、Ani s 4(アニサキスのアレルゲン)への感作が認められたのは 2 例のみであった。これら 2 例はいずれも重度のアナフィラキシーを呈し、総 IgE 値が非重症群より有意に高かった。

アニサキス由来の分泌抗原(excreted/secreted fraction : ES)および虫体抗原(somatic extract : S)を、それぞれ非加熱(non-heated)および加熱(heated)条件で調製し、非加熱分泌抗原(NHES)、加熱分泌抗原(HES)、非加熱虫体抗原(NHS)、加熱虫体抗原(HS)として用いた。100℃で 10 分間の加熱処理により ES および S の IgE 反応性は有意に低下した。なお、養殖魚およびマグロ(アニサキス寄生リスクの低い魚)を摂取していた 12 例ではアレルギー症状が認められなかったことから、アニサキスが寄生していない魚介類であれば安全に摂取可能であることが示唆された。経口負荷試験は倫理的に困難であるため、今後は好塩基球活性化試験(basophil activation test : BAT)によりアレルギー反応性を評価する方針である。

【演題番号 07】

研究課題名	状態の異なる鶏卵アレルギーのアレルゲン性の解析
フリガナ	ナイトウ ミチヒロ
代表者名	内藤 宙大
所属機関（機関名） （役職名）	名古屋学芸大学 管理栄養学部 助教
本助成金による 発表論文、学会発表	< 発表論文 > 1. Differences in solubility of egg white proteins in baked eggs prepared with wheat flour or potato starch. Journal of Cookery Science of Japan（日本調理科学会英文誌）. Accept. < 学会発表 > 1. 内藤宙大, 松井照明, 伊藤浩明, 和泉秀彦. 「鶏卵アレルギーの加熱による変化について」 第 61 回日本小児アレルギー学会学術大会, 2024 年 11 月（シンポジウム）. 2. 大津亜衣, 内藤宙大, 松井照明, 伊藤浩明, 和泉秀彦. 「加熱により状態が変化したオボアルブミンの IgE 結合能の解析」 第 61 回日本小児アレルギー学会学術大会, 2024 年 11 月.

研究結果要約

我われは、当研究室のこれまでのベイクドエッグ（BE）の抗原性に関する研究から、鶏卵タンパク質の低アレルギー化には「変性」よりも「溶解性」の低下が重要ではないかと考えた。本研究では、鶏卵の主要アレルギーであるオボアルブミン（OVA）に着目し、性状の異なる OVA の IgE 結合能を明らかにすることを目的とした。

まず、小麦粉もしくは片栗粉に対して卵白の割合を変えて作製した BE から、溶解性ごとにタンパク質を抽出し、SDS-PAGE、Lowry 法、阻害 ELISA によって、卵白タンパク質の溶解性を解析した。その結果、試料中の PBS 画分の OVA 量は、小麦粉 BE よりも片栗粉 BE で多く、BE 作製時の卵白量が多くなるほど OVA 量は低下した。

次に、精製 OVA から未変性 OVA、変性 OVA、凝集 OVA を作製し、IgE 反応性、ペプシンに対する消化性、マウスを用いた消化動態を解析した。未変性 OVA 及び変性 OVA の阻害率は阻害抗原濃度が 10 µg/mL でそれぞれ 94.0%及び 83.3%と高い値を示したが、凝集 OVA の阻害率は 13.6%であり、前者 2 試料と比較して有意に低かった。ペプシン消化処理の結果、精製 OVA はある程度未分解の状態が保持された。もともと溶解性の低い変性 OVA 及び凝集 OVA における残渣中の OVA は、阻害 ELISA では消化処理後も変化しなかったが、ローリー法では消化処理により有意に増加した。OVA 感作マウスにこれらの試料を投与したところ、未変性 OVA、変性 OVA、凝集 OVA の順に症状が誘発（直腸温が低下）された。現在、消化動態は解析中である。

【演題番号 08】

研究課題名	アレルギー性を基盤とした IgE 受容体の脱感作メカニズムの解明と食物アレルギー治療への応用
フリガナ	ナガタ ユカ
代表者名	長田 夕佳
所属機関（機関名） （役職名）	金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 助教
本助成金による 発表論文、学会発表	なし

研究結果要約

本研究では、アレルギー性の違いによる IgE 受容体 (FcεRI) 応答を比較できる親和性の異なるアレルギー (高親和性、低親和性) を用いた。FcεRI 脱感作の成立には、マスト細胞の炎症性メディエータ分泌応答を伴わない FcεRI の細胞内移行 (内在化) が不可欠である。高親和性・低親和性アレルギーで刺激したマスト細胞の炎症性メディエータ分泌量と FcεRI 内在化レベルを評価したところ、低親和性アレルギーは、分泌応答は殆ど誘導しないが、FcεRI の内在化は十分に誘導できることが明らかとなった。この結果は、低親和性アレルギーを用いることで、非意図的なマスト細胞の炎症性メディエータ分泌応答を惹起することなく、安全に脱感作を誘導できる可能性を示した。さらに、脱感作メカニズムを解析したところ、低親和性アレルギーによる FcεRI の内在化は、アレルギーに対する不応答性だけでなく、能動的に抑制性応答を誘導している可能性が示唆された。低親和性アレルギーは、FcεRI の内在化に限らず、細胞内の抑制性シグナルの伝達も誘導している可能性が考えられた。以上のことから、アレルギーと IgE の親和性が、安全性かつ有効性が高い脱感作療法を確立する上で極めて重要な因子であることが示唆された。

【演題番号 09】

研究課題名	成人に持ち越した小児発症食物アレルギー患者の社会的自立度に関する 実態調査：Web を介した population-based study
フリガナ	フクトミ ユウマ
代表者名	福富 友馬
所属機関（機関名） （役職名）	独立行政法人国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 臨床研究推進部長
本助成金による 発表論文，学会発表	第 13 回日本アレルギー学会関東地方会（2025 年 6 月 28 日開催）にて発表予定 （採択済） 第 74 回日本アレルギー学会学術大会（2025 年 10 月 24－26 日開催）に対して抄 録投稿済（採択は未定） 今後、英語論文にて発表予定

研究結果要約

食物アレルギーを有する小児や青年期世代の患者は、誤食に伴う症状発現への恐れを感じるために心理的負担や不安を感じやすい。このような不安や心理的負担が思春期における心理・社会的自立の障壁になる可能性が指摘されている。

この研究では、小児発症食物アレルギーが、成人期での経済的・社会的自立（就業、就学など）の遅れに関連しているか否かを明らかにすることを目的にした。約 8 万人の 20－34 歳のネットリサーチモニターに対してスクリーニング調査を行い、小児発症鶏卵・牛乳・小麦アレルギーで成人になっても完解していない患者（非完解 FA 群、81 名）、完解した患者（完解 FA 群、313 名）、生涯食物アレルギーを有していない者（非 FA 群、512 名）を同定した。非完解 FA 群の経済的・社会的自立度をインターネット調査での構造化質問票で評価し、その結果を完解 FA 群、非 FA 群と比較した。

非完解 FA 群は、年齢、性別の影響を調整しても、1）小・中学校で不登校歴を有する、2）最終学歴が中学校卒である、3）現在生活費を保護者にすべて依存している、者が統計学的有意に多かった。この研究は、完解しない小児発症食物アレルギーが、成人期における経済的・社会的自立の遅れに影響を与える可能性を示した初めての報告である。この知見は、青年期世代の食物アレルギー患者に対して、より多くの医学的、社会的サポートを行うことの必要性を示唆している。

【演題番号 10】

研究課題名	種々の環境物質への対策を通じた経皮感作食物アレルギー予防の可能性
フリガナ	フジオカ カズキ
代表者名	藤岡 数記
所属機関（機関名） （役職名）	京都府立医科大学大学院 医療研究科 免疫内科学 病院助教
本助成金による 発表論文，学会発表	なし

研究結果要約

食物アレルギーの発症機序として、表皮バリア機能が破綻した皮膚部位への食物アレルギーの暴露による経皮感作が重要とされている。本研究では、環境物質である黄砂が経皮感作による食物アレルギー発症に与える影響を検証した。BALB/c マウスを用いた経皮感作食物アレルギーモデルにおいて、卵白アルブミン（OVA）感作時に黄砂を同時暴露させ、その影響を評価した。実験系の確立において、経口投与では安定したアナフィラキシー反応を得られなかったため、尾静脈投与に変更し、感作条件も最適化した。黄砂の用量検討（200 μ g、40 μ g、10 μ g/body）を行った結果、統計学的有意差は得られなかったものの、低濃度（10 μ g/body）の黄砂暴露群において、アナフィラキシー反応による直腸温低下が一部の個体で遷延する傾向が観察された。一方血清中の OVA 特異的 IgE 値や皮膚組織でのサイトカイン（IL-25、IL-33、TSLP）発現には黄砂暴露による明らかな影響は認められなかった。黄砂は既に気道アレルギーに関与することが知られているが、本研究では経皮感作に対する影響は明らかとはならなかった。今後さらに低濃度の黄砂の影響や、IgE 非依存性経路の関与を含めた精緻な解析が必要である。本成果は、環境要因を考慮したアレルギー予防の新たな知見となり得る。

【演題番号 11】

研究課題名	食物アレルギーに対する舌下免疫療法の予防効果と作用機序の解明
フリガナ	ミトマ シュウヤ
代表者名	三苦 修也
所属機関（機関名） （役職名）	宮崎大学医学部医学科感染症学講座免疫学分野 助教
本助成金による 発表論文，学会発表	なし

研究結果要約

食物アレルギー性抗原（アレルゲン）に対する経口免疫寛容の破綻に起因する食物アレルギーは消化管のみならず皮膚や呼吸器にも炎症病態を呈し、その劇症化では致死性のアナフィラキシーを引き起こす。現在、食物アレルギーの治療では他のアレルギー疾患と同様の対処療法に留まり、食物アレルギーによるアナフィラキシーの治療ではエピネフリンのみ有効である。このため、食物アレルギーに対する予防的な治療法の確立が急務である。また、食物アレルギーに対する経口免疫療法が、医師主導治験により展開されているが、十分な治療効果の判定には至っていない。

本研究は、食物アレルギーに対する安全性の高い食物アレルギーに対する安全性の高い根治的予防法の開発を目的として、舌下免疫療法（SLIT）の食物アレルゲン誘発性消化管炎症およびアナフィラキシーに対する予防効果を検証し、その作用機序について免疫の司令塔である樹状細胞(DCs)と食物アレルゲン特異的 CD4+Foxp3+Treg 細胞に着目し、検討を行なった。その結果、SLIT は食物アレルゲン誘発性消化管炎症及びアナフィラキシーに対して予防効果を示すこと、さらにその作用機序では粘膜免疫寛容の獲得に顎下リンパ節移動性 DCs が重要であり、誘導された食物アレルゲン特異的 CD4+Foxp3+Treg 細胞は腸管粘膜組織におけるアレルギー病源性 TH2 細胞の生成を抑制していることが明らかとなった。

【演題番号 12】

研究課題名	超重症牛乳アレルギー患者に対する極微量牛乳経口負荷試験が耐性誘導に与える有効性を検証する前向き観察研究
フリガナ	ヤマシタ コウセイ
代表者名	山下 恒聖
所属機関（機関名） （役職名）	昭和医科大学 医学部 小児科学講座 助教
本助成金による 発表論文、学会発表	論文：今後作成発表予定 学会発表：2026 年以降、国際学会・国内学会含めて適宜報告予定

研究結果要約

本研究の目的は超重症牛乳アレルギー患者を対象に、極微量（0.03mL）食物経口負荷試験（OFC）を実施し、陰性であれば同量の摂取を開始し、耐性誘導の道筋をつけられるかを検証する。

超重症牛乳アレルギー患者は、従来の OFC や経口免疫療法が困難な場合が多く、安全に摂取を開始する方法が限られている。本研究では、0.03mL という極めて少量の牛乳を用いた OFC を実施することで、「安全に摂取開始が可能か」「耐性獲得の第一歩となるか」を検証する新たな治療戦略を提示し、重症例における治療選択肢の拡大に貢献する。超重症牛乳アレルギー患者に対して、安全性と有効性の両立した治療戦略を早期に提示できれば、不要な除去を減らし、患者とその家族の生活の質（QOL）向上に直結する。

今回の結果として、微量 OFC は閾値の上昇には寄与得る可能性が低い結果が得られた。微量（0.3mL）以下に減らして摂取や食物経口負荷試験が必要ないと分かれば、不必要な負荷試験を減らすことが可能となる。また、自宅での継続摂取は症状誘発の不安などから保護者の QOL をより低下させるという報告もあり、不必要な QOL 低下を防ぐことができる。しかし、症例数も少ないため、今後対象患者が増えることで結果が変わる可能性もある。

【演題番号 13】

研究課題名	小児牛乳アレルギー患者における重症化メカニズム解明と ビタミン D 併用による新規経口免疫療法の開発
フリガナ	ヤマモト タケシ
代表者名	山本 健
所属機関（機関名） （役職名）	千葉大学医学部附属病院 小児科 助教
本助成金による 発表論文，学会発表	<発表論文> 1. 山本健, 「小児期の牛乳アレルギー患者における特徴と耐性を誘導する治療法の開発」アレルギーの臨床,2024 年 12 月臨時増刊号,2024,38-41 <学会発表> 1. 山本健, 小林俊幸, 伊藤ありさ, 早田衣里, 佐藤裕範, 中野泰至, 濱田洋通. 「食物アレルギー患者における抗原特異的 CD4 陽性細胞の同定方法の開発」,第 73 回日本アレルギー学会学術大会, 2024,10.18-20, 京都, 日本 2. Takeshi Yamamoto, Eri Hayata, Terumi Ikarashi, Toshiyuki Kobayashi, Hironori Sato, Taiji Nakano, Hiromichi Hamada. [Evaluation of the antigen-specific CD4+T cells among pediatric patients with food allergies in Japan : single-center analysis], AAAAI2025/WAO Joint Congress,2025, 2.28-3.3, San Diego, CA, USA

研究結果要約

本研究では、2023 年度に当院通院中の牛乳アレルギー患者検体を解析し、牛乳抗原特異的 T 細胞の同定方法を確立した。そのなかで 2 型ヘルパー T 細胞のマーカーである CCR4 陽細胞が約 8 割で、さらに約半数は IL-33 受容体である ST2 陽性の細胞であることを見出した。

上記細胞に着目し、2024 年度は小児牛乳アレルギー患者で過去に 12 か月間に及ぶ経口免疫療法を行った患者の末梢血単核球サンプル 16 例（治療前後 32 サンプル）の解析を行った。16 例は治療後に全例 200ml の牛乳摂取が可能となっていた。免疫療法開始前に牛乳摂取可能量が多い患者ほど抗原特異的 T 細胞数が少なかった。13 例は治療前後で著明な抗原特異的 T 細胞数の低下を認めた。中でも ST2 陽性細胞やプロスタグランジン受容体である CRTH2 陽性の T 細胞数は全例で低下を認めていた。以上より上記細胞亜集団は、牛乳アレルギー患者の経口免疫療法に対する治療反応性の指標となる新規バイオマーカーである可能性が示唆された。

ビタミン D 摂取併用の経口免疫療法の臨床研究組み入れ数は 2 名と少なく、ビタミン D 併用経口免疫療法の有用性についての解析は今後の課題である。

【演題番号 14】

研究課題名	低アレルゲン化食用 1BS-18 小麦系統を利用した安全性の高い小麦アレルギーの減感作療法の開発
フリガナ	ヨコオオジ トモハル
代表者名	横大路 智治
所属機関（機関名） （役職名）	広島大学大学院医系科学研究科（薬） 准教授
本助成金による 発表論文，学会発表	<発表論文> 1. Takizawa D, Yokooji T, Miyamoto C, Koga Y, Oda K, Ogino R, Taogoshi T, Matsuo H. Elucidation of Desensitization Mechanisms Induced by Oral Immunotherapy in a Rat Model of Ovalbumin Allergy. <i>Foods</i>. 2025;14(8):1424. <学会発表> 1. 横大路智治. 小麦のグルテン：グリアジンとグルテニンの高次構造及びエピトープ，第 73 回日本アレルギー学会学術大会，2024 年 10 月 2. 宮本知果，横大路智治，荻野龍平，埴越崇範，森信博，松尾裕彰. 卵白アルブミンを用いたアレルギー減感作モデルラットの作製と減感作機序の解明，日本薬学会・日本薬剤師会・日本病院薬剤師会 第 63 回中国四国支部学術大会，2024 年 11 月 3. Tomoharu Yokooji, Ryohei Ogino, Yuki Koga, Takanori Taogoshi, Eishin Morita, Hiroaki Matsuo. Evaluation of allergenicity of hypoallergenic wheat and its ability of oral tolerance induction to gluten proteins in a rat model of wheat allergy, 2025 AAAI/WAO Joint Congress, 2025 年 2 月

研究結果要約

小麦アレルギーの経口免疫療法（OIT）には抗原を含む小麦製品が使用されるため，アナフィラキシー発症のリスクが高い。本研究では，低アレルゲン化された食用小麦系統である 1BS-18 ホクシン小麦の安全性と OIT による減感作の誘導能を評価することを目的とした。プロテオーム解析により，1BS-18 ホクシン小麦は主要抗原である 1B 染色体由来 $\omega 5$ -グリアジンを欠失していることが確認された。グルテン感作ラットを用いた予備的検討では，感作後のグルテン連続経口投与でグルテン特異的 IgE 抗体価は低下しなかった。この原因を明らかにするため，卵白アルブミン（OVA）を用いて OIT ラットモデルを構築した。その結果，OIT 処置群では OVA の静脈内負荷によるアレルギー反応（直腸温低下やヒスタミンの遊離）が抑制された。また，OIT 処置は，OVA 特異的 IgE 抗体価を変化させなかったが，IgG1 抗体価を上昇させた。これらの結果は，OIT により誘導された OVA 特異的 IgG1 抗体が OVA に対する IgE 抗体の結合を競合的に阻害し，アレルギー症状の抑制に寄与する可能性を示唆している。現在，ヒト好塩基球活性化試験により 1BS-18 ホクシン小麦の低アレルゲン性を検証している。今後は臨床研究により 1BS-18 小麦系統の安全性と OIT 誘導能を解明し，1BS-18 小麦系統を用いた小麦アレルギーの発症予防・減感作療法の開発を目指す。

【演題番号 15】(2023 年研究助成課題)

研究課題名	樹状細胞の TGF- β シグナルによる食物アレルギーの制御機構
フリガナ	イハラ ソウザブロウ
代表者名	井原 聡三郎
所属機関 (機関名) (役職名)	東京大学医学部附属病院 消化器内科 助教
本助成金による 発表論文, 学会発表	<発表論文> 1. Murakami K, Arai J, <u>Ihara S</u>(責任著者), Tsuchida Y, Shoda H, Tsuboi M, Kurokawa K, Shiomi C, Suzuki N, Hayakawa Y, Fujio K, Fujishiro M. Upper gastrointestinal involvement of Behçet's disease in Japan: endoscopic findings and clinical features. J Gastroenterol Hepatol. 2024 Jan 7. Online ahead of print. <学会発表> 1. <u>井原 聡三郎</u>、平田 喜裕、藤城 光弘、樹状細胞の TGF-β シグナルによる感染性腸炎の制御、第 109 回 消化器病学会総会、東京 2023 年度 2. <u>Ihara S</u>, Hirata Y, Fujishiro M, Control of Intestinal Pathogens by TGF-β Signaling in Dendritic Cells, Digestive Disease Week 2024, 米国

研究結果要約

本研究では食物抗原に対する免疫寛容の形成において樹状細胞(DC)の TGF- β シグナルが果たす役割について検討を行った。食物抗原として ovalbumin (OVA) を用い、実験動物は DC 特異的 TGF- β シグナル欠損マウス (CD11c-Cre;tgfb β 2 fl/fl) および Cre 陰性コントロールマウスを用いた。OVA 感作後、コントロールマウスに比して CD11c-Cre;tgfb β 2 fl/fl マウスにおいて、下痢と体重減少がみられ、腸内細菌叢の乱れがみられた。小腸病理の HE 染色で絨毛長の短縮がみられ、免疫組織学的染色では粘膜固有層に CD11c 陽性 DC の浸潤がより多くみられた。OVA 感作後に誘発される OVA 特異的血清 IgG および IgE 抗体価はいずれもコントロールマウスに比して CD11c-Cre;tgfb β 2 fl/fl マウスにおいて高値であった。食物アレルギーに対する治療として経鼻的 OVA 脱感作、あるいは経口抗生剤治療を検討したが、いずれも CD11c-Cre;tgfb β 2 fl/fl マウスにおいてアレルギー性下痢および体重減少の緩和はみられなかった。本研究を通して、DC の TGF- β シグナルが食物アレルギーに対して抑制的に作用することが分かった。その抑制機序のさらなる解明と治療薬への応用が今後期待される。

【演題番号 16】(2023 年研究助成課題)

研究課題名	新生児・乳児早期に発症する消化管アレルギーの病態解明
フリガナ	マツオカ リョウ
代表者名	松岡 諒
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 共同研究員
本助成金による 発表論文，学会発表	なし

研究結果要約

消化管アレルギーは、食物成分に対する免疫応答によって嘔吐や下痢等の消化器症状と体重増加不良などを呈する疾患でその多くは新生児期もしくは乳児期に発症する¹⁾。一般的な食物アレルギーは食物抗原特異的 IgE 抗体を介した機序により症状が引き起こされるとされる一方で、消化管アレルギーは食物特異的 IgE 抗体が検出されないことが多いことから、IgE 抗体を介さない機序で誘導されていると考えられている。消化管アレルギーは、消化管粘膜内に好酸球浸潤を認めることも多いため、消化管局所に 2 型炎症が存在することが示唆されるが、その誘因・病態メカニズムはほとんど明らかにされていない。故に、詳細な発症メカニズムの理解と共に、それらに基づく有効な予防法/治療法の開発が望まれている。本研究では、母体が摂取する旨味成分に着目し、新生児/乳児期早期に発症する消化管アレルギーのメカニズムを解明することを目的とした。その結果、母体マウスに妊娠中から授乳期まで高濃度のコハク酸を投与すると、仔マウスにおいて体重増加不良を認めること、小腸組織のタフト細胞の増加、好酸球の増加が認められることが明らかとなった。妊娠中のみの投与では、仔マウスの体重増加不良を認めなかったことから、授乳中の摂取が関与している可能性を示唆している。また、小腸タフト細胞は消化管の成熟とともに増加する可能性が明らかとなった。

2024年度研究助成事業 共同研究助成

〈口頭成果報告〉

要旨

研究結果要約

研究目的

研究計画及び研究手法

結果と考察

今後の研究活動について

参考文献

研究課題名	野菜摂取と学童期の食物アレルギー：腸内細菌を含む網羅的コホート研究		
フリガナ	クスノキ タカシ		
代表者名	楠 隆		
所属機関（機関名） （役職名）	龍谷大学農学部食品栄養学科小児保健栄養学研究室 教授		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	塚原 隆充（ツカハラタカトシ）	栄養・病理学研究所代表	検体解析
	武内 治郎（タケウチジロウ）	奈良県立医科大学 臨床研究センター講師	統計解析
本助成金による 発表論文，学会発表	第 72 回日本栄養改善学会学術総会（2025 年 9 月 12～14 日、東京）一般演題		

研究結果要約

一般学童を対象に野菜摂取量や腸内細菌叢の構成が食物アレルギー（以下 FA）の発症、改善、予防に与える影響を明らかにする。野菜摂取量を数値化できる光学的皮膚カロテノイド量（ベジスコア）を年 3 回測定するとともに、腸内細菌叢（小 3 と小 5 の 2 回）や血中代謝物（小 5）の分析を網羅的に行なう。平行して食習慣、運動習慣、アレルギー症状、血清脂質、血中特異的 IgE 値などを調査する。本調査は小 3（2023 年度）から小 5（2025 年度）まで継続する予定であり、現在小 4（2024 年度）までのデータ収集が終了した。予備解析の結果を報告する。

1) ベジスコアと腸内細菌叢の関連

小 3 便検体の解析により、ベジスコアが高くなるほど短鎖脂肪酸（short chain fatty acid、SCFA）産生菌が有意に増加し、またベジスコア上位と下位で細菌叢構成が有意に異なっていた。

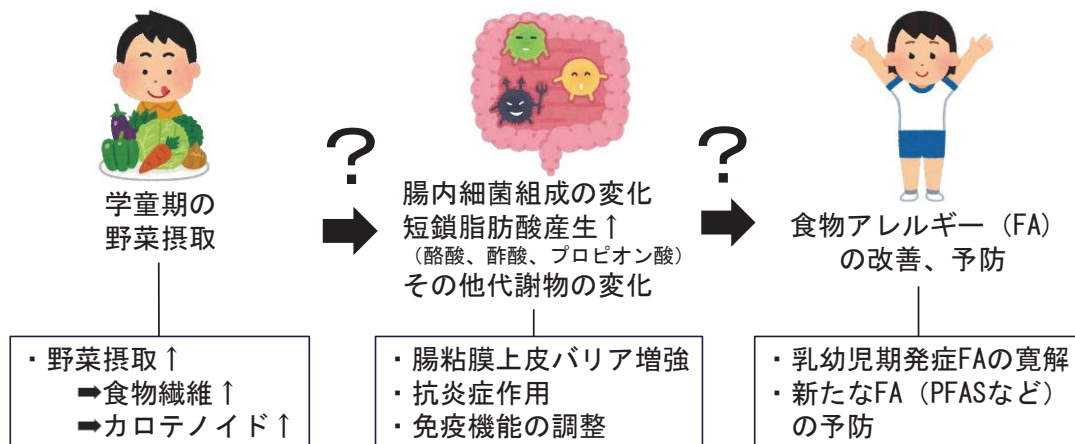
2) ベジスコアと FA の関連

即時型 FA 児では非アレルギー対照群と比べてベジスコアが高値であった。

3) FA と腸内細菌叢の関連

FA 児の腸内細菌叢を非アレルギー対照児と比較すると、即時型 FA 児では SCFA 産生菌が有意に多かった。一方、口腔アレルギー症候群（OAS）や花粉食物アレルギー症候群（PFAS）現症児では α 多様性が低下しており、OAS 現症児では SCFA 産生菌が有意に少なかった。

現在、ショットガンメタゲノム解析による腸内細菌の機能解析を進めている。



Vegetable-Microbiome-FA Axisのイメージ

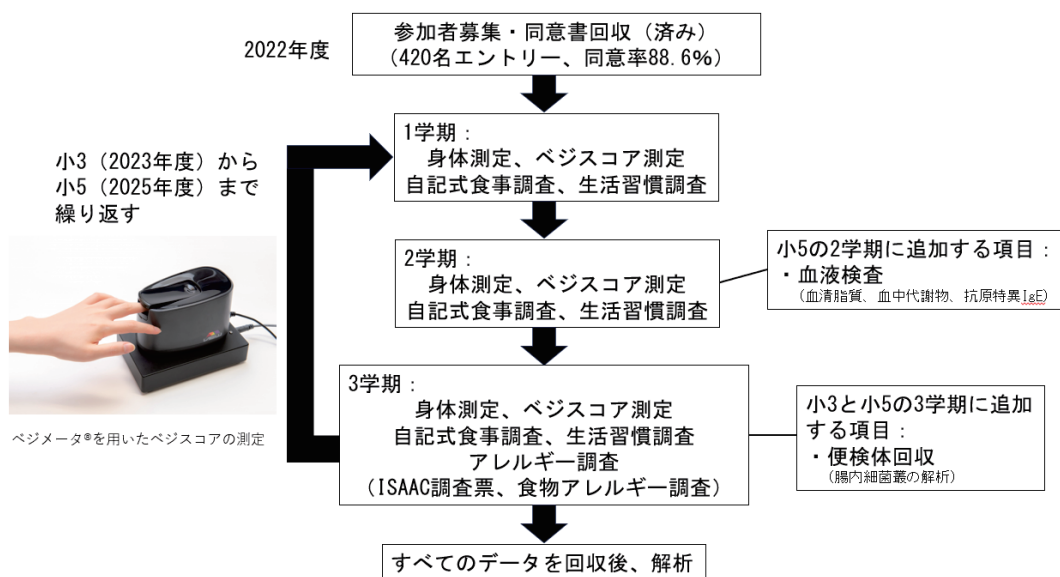


図1 研究計画のフローチャート

研究目的

次世代シーケンサーを用いた網羅的な分子生物学的解析方法の発展により、ヒトの腸内細菌叢が細かく分析できるようになり、その構成がヒトの健康に大きな影響を与えていることが次々と明らかになっている。腸内細菌叢は食事内容による影響を受け、野菜摂取の多い食習慣が腸内細菌叢を整えることで健康に好ましい影響を与えること¹⁾、また学童期から思春期にかけても変化し得ること²⁾、などが示されているが、野菜摂取や腸内細菌の小児での検討はまだ少ない。また、食物アレルギー（food allergy、FA）発症と新生児期の特定のエンテロタイプが関連していることや³⁾、小児アレルギー疾患予防のために食生活への介入が有効であること⁴⁾、などが報告されているが、主に注目されているのは周産期や乳幼児期からの早期介入の検討であり、学童では検討されていない。しかしながら、学童期～思春期は、乳幼児期からの即時型FAが寛解していく一方で、口腔アレルギー症候群（oral allergy syndrome、OAS）や花粉食物アレルギー症候群（pollen-food allergy syndrome、PFAS）の発症、など様々な食物アレルギー（food allergy、FA）の経過にとって重要な節目となる時期である⁵⁾。この時期にこそ、FAの改善と新たなFA発症予防のために、食への介入の効果について検証することが重要である。

本研究では、学童期における野菜摂取がFAの改善や予防に対してどれほど有効であるのか、また食生活の影響を受ける腸内細菌叢の構成がFAの発症や経過とどのように関連しているのか、小

3から小5までの3年間に渡るコホート研究で明らかにする。野菜摂取の客観的指標として近年注目されているベジメータ®を用いた光学的皮膚カロテノイド量（ベジスコア）の測定（小3～小5にかけて年3回）、腸内細菌叢（小3と小5の2回）、血中代謝物（小5）の解析を行ない、FAの経過や新たに発症するFAとの関連を検討する。これらの指標を通じて、野菜摂取—腸内細菌叢・血中代謝物—FA、という枢軸（Vegetable-Microbiome-FA Axis）における相互の関連性を学童で明らかにする。そして、学童期における食生活がFAの進展にとっていかなる影響を与えるのかを客観的にとらえ、より効果的な学童の食への介入、食育指導へつなげる。

研究計画及び研究手法

2022年11月に、滋賀県近江八幡市の公立小学校4校（A～D校）の小学2年生保護者に対して本研究の目的及び方法を説明した。全例に対して、学期毎に食事調査、年1回アレルギー疾患調査、小3と小5の3学期に便検体を回収して腸内細菌叢メタゲノム解析を行う。さらに、A～C校については、学期毎にベジスコア測定を行う。小5の2学期には、A～D校で実施される血清脂質検査の残血清を回収して、抗原特異的IgE抗体や血中代謝産物の測定を行う。3年間の追跡期間を経て得られた結果を集約し、野菜摂取、腸内細菌叢及び血中代謝物と、即時型FAやOAS、PFASの経過との関連を、対照群と比較して網羅的に解析する。本調査の概要を図1に示す。

α多様性、β多様性、構成菌目、ビフィズス菌・

乳酸桿菌保有状況などの腸内細菌叢分析を行うとともに、便検体を用いたショットガンメタゲノム解析を追加し、腸内細菌の機能的な側面からも比較検討していく。小5の2学期に学校健診の一環として全学校で実施する血清脂質検査の残血清を用いて、花粉抗原（スギ、ハンノキ、カモガヤ、ブタクサ）及び大豆抗原（Glym4）に対する特異IgE抗体を測定するとともに、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）などを用いた血中代謝物の分析を行なう。統計解析は、二変量解析（クロス集計）を行い各変数間の相関を確認した後に多変量解析を行う。多変量解析では、一般的な重回帰分析、ロジスティック解析に加えて一般化推定方程式を採用することで、野菜摂取が腸内細菌叢に影響を与える結果、FAやPFASの寛解や予防につながるかを検証する。

本調査は小3（2023年度）から小5（2025年度）まで継続する予定であり、現在小4（2024年度）までのデータ収集が終了した。今年度は現時点での予備解析の結果を報告する。

結果と考察

【結果】

本調査は各学校及び近江八幡市教育委員会の全面的協力の下で小3（2023年度）から開始し、2024年度からはニッポンハム食の未来財団共同研究助成を受けて現在小4（2024年度）までの調査が終了した。2024年1月（小4の3学期）までの対象者数まとめを図2に示す。このうち、以

下の1)と2)は、ベジスコアと腸内細菌叢のデータがともに得られた179名を対象として、3)は腸内細菌叢のデータが得られた251名を対象として分析した。

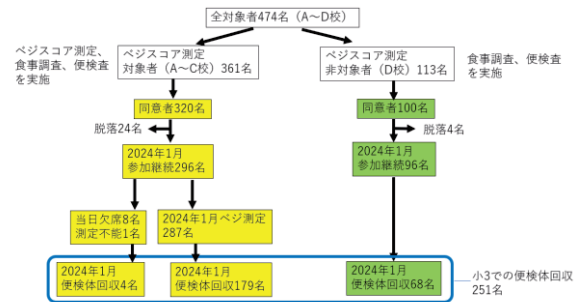


図2 2024年1月（小3の3学期）までの対象者数まとめ

1) ベジスコアと腸内細菌叢の関連

ベジスコアと緑黄色野菜摂取頻度には有意な正の相関がみられた($r=0.20$, $p=0.01$)。

16SrRNA 遺伝子解析によると、ベジスコアが高いほど *Faecalibacterium* 属（低値群 8.5%(95%CI:7.2-9.7%)、中間群 9.6%(95%CI:8.0-11.1%)、高値群 10.5%(95%CI:9.2-11.8%)、 $p=0.04$ ）、*Lachnospira* 属（低値群 0.6%(95%CI:0.4-0.9%)、中間群 1.6%(95%CI:1.1-2.2%)、高値群 1.5%(95%CI:1.0-2.1%)、 $p<0.01$ ）、*Anaerostipes* 属（低値群 0.3%(95%CI:0.2-0.4%)、中間群 0.4%(95%CI:0.3-0.5%)、高値群 0.5%(95%CI:0.3-0.7%)、 $p=0.045$ ）など、SCFAの中でも特に酪酸を産生する菌の占有率が有意に上昇する傾向がみられた。

ショットガンメタゲノム予備解析を行うと、ベジスコア上位20名（H群）と下位20名（L群）で属レベルの細菌叢構成が有意に異なっていた（図3）。各群に特徴的に多い細菌属の探索（LEfSe

解析)を行うと、H群で酪酸産生菌が多く、先に述べた 16SrRNA 遺伝子解析の結果と一致した(図4)。eggNOG 分類に基づく機能遺伝子構成を比較すると H群では細菌の増殖に関わる遺伝子が多く、L群では栄養素の代謝・エネルギー生産に関わる遺伝子が多かった(図5)。糖質関連酵素遺伝子構成を比較すると、H群では不溶性食物繊維の分類に関わる遺伝子が特徴的に多く、L群ではムチンやオリゴ糖の分解に関わる遺伝子が特徴的に多かった(図6)。

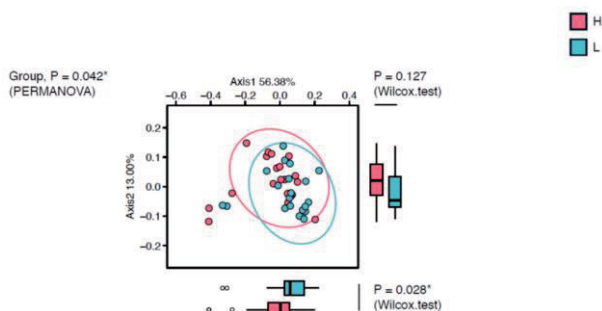


図3 属レベルの細菌叢構成の比較 (PCoA解析)
H: ベジスコア上位20名 L: ベジスコア下位20名

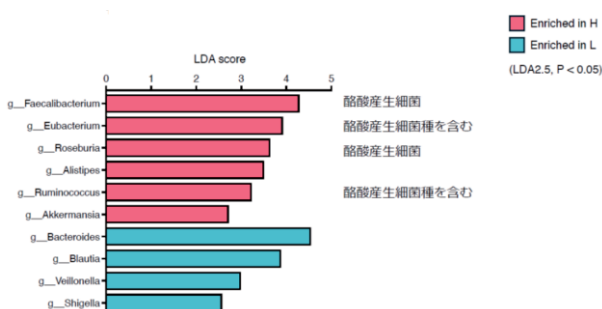


図4 各群に特徴的に多い細菌属の探索 (LEfSe解析)
H: ベジスコア上位20名 L: ベジスコア下位20名

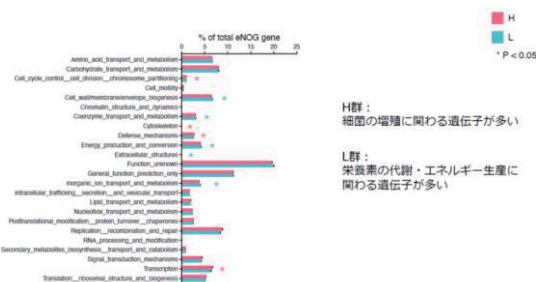


図5 eggNOG分類に基づく機能遺伝子のカテゴリ別分布量の比較
H: ベジスコア上位20名 L: ベジスコア下位20名

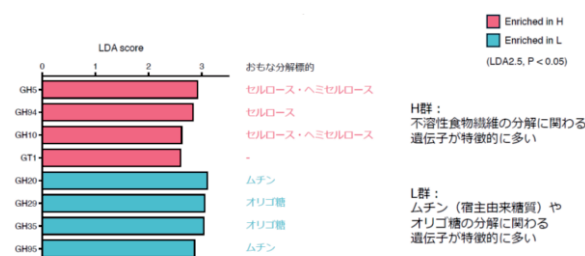


図6 各群に特徴的に多い糖質関連酵素遺伝子の探索 (LEfSe解析)
H: ベジスコア上位20名 L: ベジスコア下位20名

2) ベジスコアと即時型 FA、OAS、PFAS の関連
アレルギー疾患のない非アレルギー対照群（65 例）のベジスコア平均値は 277 であった。即時型 FA、OAS、PFAS を含む FA 群（33 例）のベジスコア平均値は 279 であり、対照群とほぼ同じであったが、即時型 FA 群（7 例）に限定すると 299 であり、対照群より高値となった。

3) 即時型 FA、OAS、PFAS と腸内細菌叢の関連
FA 現症 10 名の腸内細菌叢を非アレルギー対照
93 名と比較すると、即時型 FA 現症群では
Faecalibacterium 属、Blautia 属などの SCFA 産
生菌が有意に多かった。一方 OAS 現症群 37 名
では、SCFA 産生菌 (Ruminococcus 属) が有意

に少なく、 α 多様性（Shannon index）が低下していた。PFAS 現症群 12 名では、明確な機能が不明であるが *Sutterella* 属や *Turicibacter* 属の菌が有意に少なく、OAS 現症群と同様に α 多様性（Shannon index）が低下していた。

【考察】

アレルギーと食事摂取との関連を見た報告では、妊娠中の母親や児自身の野菜摂取がアレルギー予防に役立つとの報告が多くみられる^{6)・10)}。また、腸内の酪酸産生菌の増加が食物アレルギーの予防や改善と関連しているのと報告も多い^{11)・15)}。今回、野菜摂取の指標であるベジスコアと腸内の酪酸産生菌の占有率に有意な正の関連がみられたことは、野菜摂取がアレルギーの発症予防や改善につながる可能性を、客観的指標をもとに示したデータと言える。今後は、さらに本コホートを追跡して、即時型 FA の寛解や OAS、PFAS の新規発症とベジスコアの経時的変化との関連を検討していく予定である。

FA 現症と腸内細菌叢の横断的検討では、予想に反して即時型 FA 症例ではむしろ SCFA 産生菌が増加している、との結果であった。また、即時型 FA 群のベジスコア平均値は対照群と比べて高値となった。この年代での即時型 FA は乳幼児期に発症して継続している症例が多いため、保護者が食物除去を含め食生活に対する関心が高く、結果的に家庭で食物繊維を含む好ましい食事を摂取している結果の現れかもしれない。即時型 FA 児が健康的な食生活を送っていることは、牛乳アレルギー児について調査した我々の既報において

も観察されている¹⁶⁾。逆に OAS や PFAS など学童期に増加する FA 現症群では腸内細菌の多様性が低く、SCFA 産生菌が低い傾向にあった。これらの疾患は今後の縦断的解析でさらに新規発症が見込まれることから、腸内環境との因果関係にも注目して追跡していく予定である。

今回ショットガンメタゲノム解析はベジスコアと腸内細菌の関連に関してのみ検討した。その結果、ベジスコア高値群と低値群で明らかな機能的相違が観察できた。今後は本解析を FA と腸内細菌との関連にも広げ、網羅的に検討していく予定である。なお、今回提示したショットガンメタゲノム解析の結果は、1 検体当たり 200 万リードのサブサンプリングを行って実施した予備的なものであり、本解析ではさらにデータ取得数を増やして解析する予定である。

本研究における腸内細菌叢の解析は、大橋快先生（栄養・病理学研究所）、三浦広卓先生（北海道大学）、井上亮先生（摂南大学）の協力のもとに行われた。

現時点での解析結果の一部は、第 72 回日本栄養改善学会学術総会（2025 年 9 月 12～14 日、東京）で発表した。

今後の研究活動について

本研究では小 5（2025 年度）まで 3 年間追跡調査を行ない、さらに小 5 では 2 回目の便検体採取に加えて採血も行う予定である。その間に即時型 FA 児の耐性獲得や、逆に OAS、PFAS も含めた新たな FA の発症が見込まれる。例えば我々が

行った同地区における 2019 年度の横断調査¹⁷⁾によると、小学校低学年から高学年にかけて OAS の有症率はおよそ 1.3 倍に増加することが分かっている。小 3 で便検体を回収し得た 251 例中 OAS 児は 38 例いたので、小 5 にかけて 10 例以上の新規 OAS 発症が見込まれる。そのため、今後は学童期の FA 発症や耐性獲得と腸内細菌叢やベジスコアの変化との関連、血液検査による PFAS に関連した花粉抗原特異的 IgE 測定、血中代謝物測定などの解析を通じて FA 耐性獲得例、新規発症例の特徴を明らかにしたいと考えている。

今回の調査を通じて、偏りのない日本人小学生一般集団の便検体を収集できたため、そのデータは日本人小児に特化した独自の腸内細菌叢遺伝子カタログとして活用できる。今後は FA の経過に野菜摂取や腸内細菌叢の構成がどのような影響を及ぼすかをより詳細に検討するために、医療機関に通院中の FA 小児をリクルートし、ベジスコア、血清検体、便検体の経時的な収集を行って網羅的に解析するとともに、独自の腸内細菌叢遺伝子カタログとのマッピングを行って、FA 症例の特徴を検討していくことを計画中である。

参考文献

- 1) Dong TS, Gupta A. Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the Microbiome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019 Jan;17(2):231-242.
- 2) Hollister EB, Riehle K, Luna RA, et al. Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome. *Microbiome* 2015 Aug 26;3:36.
- 3) Shibata R, Nakanishi Y, Suda W, et al. Neonatal gut microbiota and risk of developing food sensitization and allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2025 Mar;155(3):932-946.
- 4) Venter C, Meyer RW, Greenhawt M, et al. Role of dietary fiber in promoting immune health-An EAACI position paper. *Allergy* 2022 Nov;77(11):3185-3198.
- 5) Yasudo H, Yamamoto-Hanada K, Yang L, et al. Pollen Food Allergy Syndrome in Allergic March. *Nutrients* 2022 Jun 27;14(13):2658.
- 6) Grimshaw KEC, Maskell J, Oliver EM, et al. Diet and food allergy development during infancy: birth cohort study findings using prospective food diary data. *J Allergy Clin Immunol* 2014 Feb;133(2):511-9.
- 7) de Castro Menes F, Paciência E, Rufo JC, et al. Higher diversity of vegetable consumption is associated with less airway inflammation and prevalence of asthma in school-aged children. *Pediatr Allergy Immunol* 2021 Jul;32(5):925-936.
- 8) Venter C, Palumbo MP, Glueck DH, et al. The maternal diet index in pregnancy is associated with offspring allergic diseases: the Healthy Start Study. *Allergy* 2022 Jan;77(1):162-172.
- 9) Sdoná E, Ekström S, Andersson N, et al. Fruit, vegetable and dietary antioxidant intake in school age, respiratory health up to young adulthood. *Clin Exp Allergy* 2022

- Jan;52(1):104-114.
- 10) Metsälä J, Vuorinen AL, Takkinen HM, et al. Longitudinal consumption of fruits and vegetables and risk of asthma by 5 years of age. *Pediatr Allergy Immunol* 2023 Mar;34(3):e13932.
 - 11) Roduit C, Frei R, Ferstl R, et al. High levels of butyrate and propionate in early life are associated with protection against atopy. *Allergy* 2019 Apr;74(4):799-809.
 - 12) Depner M, Taft DH, Kirjavainen PV, et al. Maturation of the gut microbiome during the first year of life contributes to the protective farm effect on childhood asthma. *Nat Med* 2020 Nov;26(11):1766-1775.
 - 13) Yamagishi M, Akagawa S, Akagawa Y, et al. Decreased butyric acid-producing bacteria in gut microbiota of children with egg allergy. *Allergy* 2021 Jul;76(7):2279-2282.
 - 14) Chun Y, Grishin A, Rose R, et al. Longitudinal dynamics of the gut microbiome and metabolome in peanut allergy development. *J Allergy Clin Immunol* 2023 Dec;152(6):1569-1580.
 - 15) Akagawa S, Tsuji S, Nakai Y, et al. Faecalibacterium in the Gut Microbiota Predicts Tolerance Acquisition in Pediatric Hen's Egg Allergy. *Allergy* 2025 Apr 10. doi: 10.1111/all.16556. Online ahead of print.
 - 16) Motoyama Y, Tanaka Y, Kawabata A, et al. Higher Intake of Nutrients with Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects among Children with Cow's Milk Allergy According to the Degree of Elimination. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2023; 69(4): 275-283.
 - 17) Fukao N, Matsumoto A, Motoyama Y, et al. Oral symptoms suggestive of oral allergy syndrome in Japanese schoolchildren according to causative food families. *Asia Pacific Allergy* (in press).

研究課題名	重症果物およびナッツ類アレルギー診断における GRP の有用性		
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） （役職名）	藤田医科大学ばんだね病院小児科 教授		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	成田 宏史（ナリタヒロシ）	京都女子大学名誉教授	モノクローナル抗体作製
	門間 敬子（モンマケイコ）	京都女子大学家政学部・教授	各種 GRP の純化・定量
本助成金による 発表論文，学会発表	1. Yuji Mori, Keiko Momma, Hikaru Sugita, Toya Kono, Nobuaki Okumura, Hiroshi Narita, and Yasuto Kondo. Case Report on the Involvement of Gibberellin-Regulated Protein as a Novel Allergen in Walnut Allergy. （投稿中） 2. 成田宏史 果物・野菜・花粉アレルギーの共通アレルゲンコンポーネント：ジベレリン制御タンパク質（GRP） 第 73 回日本アレルギー学会学術大会シンポジウム 11 2024 年 10 月 19 日 国立京都国際会館		

研究結果要約

近年、果物やナッツ類のアレルギー、および花粉症の増加が報告されている。我々は、これらに共通するアレルゲンとして Gibberellin Regulated Protein (GRP) が関与している可能性に着目し、保有するストック血清および今後全国から収集予定の患者血清を用いて、GRP に対する IgE 反応の解析を行っている。

ELISA inhibition 法や immunoblot inhibition 法により交差抗原性を評価し、さらに EXiLE inhibition 法にて IgE 架橋抑制能を検討した（GRP 抗原は京都女子大学で作製、inhibition assay は藤田医科大学ばんだね病院にて実施）。

本研究の契機は、花粉症を有する 12 歳男児がクルミ摂取によりアナフィラキシーを発症した症例である。クルミ粗抗原に対する IgE 結合能は Jug r 1 およびクルミ GRP 添加により約 50%抑制され、さらにクルミ GRP に対する IgE 結合能はモモ由来 GRP でも抑制された。また、EXiLE 法でもクルミ GRP 添加により、患者由来 IgE による架橋形成が確認された。

現在、血清収集に向けた専用ホームページの整備を進めており、クルミ GRP に関する知見は第 73 回日本アレルギー学会で報告、症例報告は投稿中である。本研究は、クルミ GRP とモモ、スギ花粉との関連を明らかにし、将来的な診断法・治療法の開発に貢献することを目的としている。

研究目的

本研究の目的は、GRP を介した果物およびナッツ類に対するアレルギーの診断法・予測法の確立と、交差反応性評価手法の開発である。

現在、GRP を標的とした診断キットはモモに限られているが、他の植物からも GRP を純化することで、さまざまなプリックテストキットの開発が可能となる。さらに、GRP に対するモノクローナル抗体を用いたエピトープ解析により、果物アレルギーやスギ花粉症患者における GRP 関連アレルゲンの交差反応を予測できると考えられる。EXiLE inhibition 法を用いれば、その臨床的意義の評価も可能である。

また、GRP は加工食品中に残存するアレルゲンの検出にも有用であり、応用範囲の広いマーカーとなり得る。

研究計画及び研究手法

現在、数例の患者血清がストックされており、測定に使用できる体制が整っている。研究情報の発信を目的とした専用ホームページは、当初 2024 年の完成を予定していたが、2025 年 3 月に完成（藤田医科大学ばんだね病院）し、現在はその効果的な運用方法を検討中である。

GRP 抗原については、果物由来のものは少量であれば随時純化可能であり、スギ花粉およびナッツ類についてはモノクローナル抗体を京都女子大学で作製済みである。今後、各種 GRP の純化・定量が可能となる見込みである。

ELISA や EXiLE 法に必要な測定機器は、すでに藤田医科大学ばんだね病院小児科にて整備さ

れている。

結果と考察

モモに加え、スギおよびクルミ GRP に対するモノクローナル抗体を確立し、ほとんどの植物由来 GRP の定量・純化が可能となった。これにより、GRP が panallergen として機能する実態が明らかになり、交差反応性解析の基盤が築かれた（京都女子大学）。

前述の 12 歳男児の症例では、ELISA inhibition 法によりクルミ GRP とモモ GRP 間の交差反応性が確認され、EXiLE 法ではクルミ GRP 添加による IgE 架橋形成が観察された。これにより、クルミ GRP が重症アレルギー発症に関与し、モモとの臨床的交差反応性の可能性が示唆された（藤田医科大学ばんだね病院）。

この知見は、ナッツ由来 GRP に関する初の報告として第 73 回日本アレルギー学会で発表し、現在症例報告として論文中中である（参考文献 3）。これらの結果は、GRP を介した果物・ナッツ・花粉間の交差反応の存在を裏付けるものであり、診断や予測への応用が期待される。

今後は症例数を増やし、複数の果物・ナッツ類・花粉に含まれる GRP 間の交差反応性を網羅的に整理し、あらためて学会発表および論文化を行う予定である。

<発表予定>

2025 年 5 月 23 日 第 79 回日本栄養・食糧学会大会「果物・野菜・花粉の重症アレルゲン Gibberellin Regulated Protein はクルミにも存

在する」

2025 年 6 月 22 日 第 12 回日本アレルギー学会
近畿地方会「交差反応性 ELISA による
Gibberellin Regulated Protein (GRP) の定量」

2025 年 10 月 4～5 日 第 62 回日本小児アレル
ギー学会学術大会 「Panallergen としての
Gibberellin Regulated Protein (GRP)」

2025 年 10 月 24～26 日 第 74 回日本アレル
ギー学会学術大会「種実アレルゲンとしての
Gibberellin Regulated Protein (GRP)」

今後の研究活動について

今後は、本助成により整備された専用ホームペ
ージを活用し、全国の医師と連携して症例を蓄積
するとともに、GRP のプリックテストの標準化
や交差反応性解析の拡大を図る。これにより、食
物アレルギー研究のさらなる進展と臨床応用へ
の貢献を目指す。

参考文献

- 1) Mori Y, Okamoto-Kawai N, Inuo C, Matsu-
moto S, Momma K, Sugiura S, Fukuie T, Na-
gao M, Yagami A, Matsunaga K, Fujisawa T,
Ito K, Narita H, Kondo Y; Fruits Allergy
Component Study Group, Japan. Useful-
ness of gibberellin-regulated protein specific
IgE measurement in patients with systemic
symptoms of apple allergy with exercise. J
Dermatol. 2025 Mar 12. doi: 10.1111/1346-
8138.17691.
- 2) Sugita H, Mori Y, Yoshikawa T, Kondo Y. En-
hancing the diagnostic accuracy of the IgE
crosslinking-induced luciferase expression
(EXiLE) method for walnut allergy. Aller-
gol Immunopathol (Madr). 2025 Mar
1;53(2):89-99.
- 3) Mori Y, Momma K, Sugita H, Kono T, Oku-
mura N, Momma K, Narita H, and Kondo Y.
Case Report on the Involvement of Gibber-
ellin-Regulated Protein as a Novel Allergen
in Walnut Allergy. (投稿中)

研究課題名	食物アレルギーの治療における D-アミノ酸含有ビオチニル化ペプチドの有用性の検証		
フリガナ	サトウ アキラ		
代表者名	佐藤 陽		
所属機関（機関名） （役職名）	宮城学院女子大学 生活科学部 食品栄養学科 教授		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	歌 大介（ウタダイスケ）	富山大院薬・准教授	動物実験
	大平 慎（オオヒラマコト）	医療創生大薬・助教	細胞、動物実験
本助成金による 発表論文，学会発表	1. Makoto Ohira, Akiharu Uwamizu, Keita Hori, Yumi Obinata, Daisuke Uta, Junken Aoki, Keiichi Ebina, Tsukasa Matsumoto, Akira Sato, Biotinylated heptapeptides with D-amino acids suppress allergic reactions by inhibiting mast cell activation and antagonizing the histamine receptor, <i>Int. J. Pept. Res. Ther.</i> 2024;31:9. 2. 佐藤 陽, 大平 慎, 松本 司, 蝦名 敬一, 食物アレルギーの予防・治療を目指したペプチド創薬, 宮城学院女子大学 生活環境科学研究所 研究報告 2025;57:45-48. 3. 大平 慎, 原田 広顕, 歌 大介, 蝦名 敬一, 松本 司, 佐藤 陽, D-アミノ酸含有ビオチン化ヘプタペプチドのロイコトリエン活性およびアレルギー性気道炎症活性に対する <i>in vivo</i> 抑制効果, 日本薬学会第 145 年会, 2025 年 3 月 27 日, 福岡.		

研究結果要約

食物アレルギーは、痒みやじんましんをはじめ、気道収縮、アナフィラキシーなどの症状を特徴とする即時型の疾患である。マスト細胞は、ヒスタミンや血小板活性化因子（PAF）、ロイコトリエンなどケミカルメディエーターを放出してアレルギー反応を誘発することが知られており、これらの活性を阻害することでアレルギー症状を改善できる。

最近私達は、優れた生体内安定性を有しており、動物試験において PAF 活性及びアナフィラキシーショックによる低体温を抑制する、3 種類の D-アミノ酸含有ビオチニル化ペプチド（peptide 1～3）を見出してきた。本研究では、特に peptide 2 が、①マスト細胞における脱顆粒ならびにロイコトリエン遊離を有意に阻害し、動物試験においてロイコトリエン活性を有意に抑制すること、②ヒスタミン H1 受容体拮抗作用を有すること、④気管支喘息モデルマウスにおいて、局所投与により気道炎症を抑制する傾向を示すこと、④アナフィラキシーモデルマウスを用いて、アレルギー誘発足蹠浮腫を有意に抑制すること、が解り、食物アレルギーの予防・治療に有用であると考えられた。

今後私達は、これらペプチドについて、マスト細胞活性化阻害作用メカニズム、アナフィラキシー症状に対する効果、接触性皮膚炎モデル動物を用いた掻き動作に対する効果などを明らかにして、食物アレルギーの治療におけるペプチドのさらなる有用性を検証し、最終的に実用化を目指したい。

研究目的

食物アレルギーは、痒みやじんましんをはじめ、気道収縮、アナフィラキシーなどの症状を特徴とする即時型の疾患である。マスト細胞は、ヒスタミンや血小板活性化因子（PAF）、ロイコトリエンなどケミカルメディエーターを放出することによって、食物によるアレルギー反応を誘発することが知られており、これらの活性を阻害することでアレルギー症状を改善できる。

最近私達は、D-アミノ酸含有ビオチニル化ペプチド（peptide 1～3、特に peptide 2、図 1）が、優れた生体内安定性を有しており、動物試験において、PAF の活性を劇的に抑制し、アナフィラキシーショックによる低体温を劇的に抑制することを明らかにした 1)2)。さらに、本ペプチドのメカニズムの詳細を調べた結果、以下の点が明らかとなった。

1. Peptide 1～3 はいずれも、マスト細胞において、IgE 依存性、非依存性による脱顆粒をいずれも阻害するとともに、ロイコトリエンの遊離を劇的に阻害した。

2. Peptide 2 は、動物試験において、PAF のみならずヒスタミンの活性を劇的に阻害するとともに、アナフィラキシーショックによる低体温を持続的に抑制した。

以上より、これらペプチド、特に peptide 2 の抗アナフィラキシー作用は、マスト細胞の活性化阻害や抗ヒスタミン作用、抗 PAF 作用によると考えられた。しかし、アナフィラキシーを含む食物アレルギーの治療における本ペプチドの実用化を進めていくためには、以下の点を検証し、臨

床試験につなげていく必要がある。

1. ペプチドによるマスト細胞活性化阻害作用のメカニズムの解明

2. PAF やヒスタミン、ロイコトリエンなど各種ケミカルメディエーターの受容体に対するペプチドの拮抗作用について

3. アナフィラキシーショックによる低体温以外の症状（血圧低下、血管透過性亢進、気道収縮など）に対するペプチドの効果およびその既知薬との効果の比較

4. アナフィラキシー以外の食物アレルギーの症状（痒み等）に対するペプチドの有効性の評価

4. については、富山大院薬・歌大介准教授との共同研究により、本ペプチドが食物アレルギーによって起こる痒みを抑える可能性があることが動物試験によって解りつつある。2. については、東大院薬・青木淳賢教授との共同研究により、本ペプチドがアレルギー反応に関与するヒスタミン H1 受容体に対して拮抗作用を有することが明らかとなった。そこで本研究では、食物アレルギー治療における D-アミノ酸含有ビオチニル化ペプチドの有用性を検証することを目的として、1～4 の研究を進めていくこととした。

【食物アレルギー治療におけるD-アミノ酸含有ビオチニル化ペプチドの有用性検証】

- ① ペプチドによるマスト細胞活性化阻害作用のメカニズムの解明
- ② PAFやヒスタミン、ロイコトリエンなど各種ケミカルメディエーターの受容体に対するペプチドの拮抗作用の有無について
- ③ アナフィラキシーショックによる低体温以外の症状（血圧低下、血管透過性亢進、気道収縮など）に対するペプチドの効果およびその既知薬との効果の比較
- ④ アナフィラキシー以外の食物アレルギーの症状（痒み等）に対するペプチドの有効性の評価

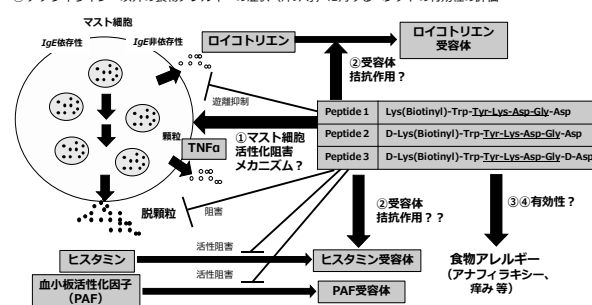


図1. 本研究の目的と内容

研究計画及び研究手法

1. ペプチドによるマスト細胞活性化に対する阻害作用とそのメカニズムの解明 (in vitro 試験)

本ペプチドは、マスト細胞において、脱顆粒を阻害すること、ロイコトリエンの遊離を阻害することが明らかとなっている。そこで本研究では、ペプチドのマスト細胞に対する作用をさらに明らかにするため、以下の実験を行った。

(1) TNF- α 産生に対するペプチドの効果

マスト細胞において、抗原刺激の数時間後に産生され、アレルギー症状の増悪や慢性化に関与する TNF- α の産生に対するペプチドの効果を ELISA 法を用いて調べることにした。しかし、先に行った実験で、TNF- α キットの中で使用されているアビジンが、ビオチニル化ペプチド中のビオチンと反応を起こしてしまったため、再検討を行うこととしている。

(2) ペプチドのマスト細胞の活性化阻害メカニズムの解明

マスト細胞において、脱顆粒に関わるシグナル上のタンパク質（リン酸化）をウェスタンブロット等を用いて解析し、ペプチドによるマスト活性化阻害のメカニズムを明らかにすることとした。しかし現在までに未だ予備検討を行っているところであり、今後本検討を進める予定である。

2. ロイコトリエンによる炎症に対するペプチドの効果 (in vivo 試験)

当初、ロイコトリエン D4 皮内投与による炎症モデル（ラット）を用いて、この炎症に対する本

ペプチドの効果をエバンスブルー（色素）による斑面積から評価する予定であった。しかし、マウスにおけるロイコトリエン C4 (LTC4) 誘発足浮腫評価法に関する論文を見つけたことから、こちらの手法を用いて LTC4 炎症に対するペプチドの効果を検討した。

また、ロイコトリエンは気道炎症を誘発して気管支喘息を引き起こすことが知られている。そこで、東京大学附属病院アレルギー・リウマチ内科（現 三井記念病院 膠原病リウマチ内科）の原田広顕先生にお願いし、モデルマウスを用いて気道炎症に対するペプチド（静脈内投与、局所投与等）の効果を検討した。

3. 各種ケミカルメディエーターの受容体に対するペプチドの拮抗作用の検討

私達はこれまでに、東大院薬・青木淳賢教授らが開発した TGF α shedding assay を用いて、ヒスタミン及び PAF の受容体に対するペプチドの拮抗作用を評価したが、ロイコトリエンの受容体に対する作用については未だ検討できていない状況である。

4. アナフィラキシーショックによる低体温以外の症状（血圧低下、血管透過性亢進、気道収縮など）に対するペプチドの効果およびその既知薬との効果の比較

アナフィラキシーモデル (OVA-IgE) マウスを用いて、アレルゲン (OVA) を注射し、全身性アナフィラキシーショックを誘導した。このマウスにペプチドを注射した後の血圧や血管透過性、気

道収縮を調べるとともに、現在のアナフィラキシー治療の第一選択薬（アドレナリン）との効果の比較を行う（血圧は非観血式血圧計、血管透過性はエバンスブルー色素を用いて測定する）予定であった。しかし、血圧計の不具合により、代替として OVA 誘発足蹠浮腫に対するペプチドの効果を検討した。血管透過性については、現在検討中である。

5. アナフィラキシー以外の食物アレルギーの症状（痒み等）に対するペプチドの有効性評価

マウスに起痒物質を投与して誘発される痒みに対するペプチドの効果を調べた。具体的には、起痒物質を投与し誘発される痒みに対し、ペプチドを腹腔内投与もしくは局所投与した際の効果を痒みの指標となる後肢による掻き動作回数などから評価した。

さらに、界面活性剤である硫酸ドデシルナトリウムを塗布することで接触性皮膚炎のモデルマウスを作製し、ペプチドを腹腔内投与した際の、自発的掻き動作や皮膚炎症スコアなどの効果について評価を行った。

結果と考察

1. ペプチドによるマスト細胞活性化に対する阻害作用とそのメカニズムの解明（in vitro 試験）

TNF- α 産生に対するペプチドの効果については、上記方法に記述した通り、現在検討中である。また、マスト細胞活性化阻害メカニズムについては、まず peptide 2 の添加時間について、①抗原刺激 30 分前、②抗原刺激と同時、③抗原刺激 30

分前に添加後に直前に除去、の 3 条件を設定して評価を行った。その結果、いずれの条件においても peptide 2 はマスト細胞の脱顆粒を有意に抑制した（①は $46.3 \pm 5.6\%$ 、②は $35.3 \pm 9.6\%$ 、③は $38.3 \pm 6.2\%$ の抑制がみられた）。現在、ウェスタンブロット法等を用いて、脱顆粒に関与するシグナル伝達経路上のタンパク質（リン酸化）の予備検討を行っており、今後、本検討を進める予定である。

2. ロイコトリエンによる炎症に対するペプチドの効果（in vivo 試験）

（1）マウスにおける LTC₄ 誘発足浮腫（炎症）に対するペプチドの効果

ddY 系雄性マウス（9 週齢）足蹠炎症浮腫モデルを用いて、各種ペプチドの LTC₄ 活性に対する効果を検討した。具体的には、各種ペプチドを腹腔内投与し、その 30 分後にマウス足蹠に LTC₄ を投与して後肢厚を測定した。その結果、peptide 2 は LTC₄ 誘発足浮腫を有意に抑制したが（ $18.9 \pm 6.4\%$ の減少）、peptide 1 および peptide 3 はいずれも抑制しなかった。さらに、peptide 2 は用量依存的に浮腫抑制作用を示した（最大で $39.5 \pm 5.7\%$ の抑制がみられた）。

（2）モデルマウスを用いた気道炎症に対するペプチドの効果

オボアルブミン（OVA）誘発アレルギー性気道炎症モデルマウス（C57BL/6J 系、雄性、8-12 週齢）を用いて、その炎症に対するペプチド（静脈および腹腔内投与または経鼻投与）の効果を評価した。評価指標として、気管支肺洗浄液（BALF）

中の総細胞数、マクロファージ数、好中球数、リンパ球数および好酸球数を用いた。

① ペプチド静脈内および腹腔内投与による気道炎症に対する効果

Peptide 1、2、3（静脈内および腹腔内投与）はいずれも、BALF 中の細胞数（総細胞（リンパ球 + 好酸球 + 好中球 + マクロファージ）数、リンパ球数、好酸球数）を有意に抑制しなかった。

② ペプチド経鼻投与による気道炎症に対する効果

上記(1)の LTC₄ 誘発足浮腫（炎症）実験において抑制効果が得られた peptide 2（10, 30, 100 nmol）を限定して、その経鼻投与の炎症への影響を調べた。その結果、peptide 2 は 30 nmol 以上の濃度において、BALF 中の総細胞数、リンパ球数、好酸球数を減少させる傾向にあった。しかし、低用量（0 nmol + 10 nmol）群と高用量（30 nmol + 100 nmol）群で比較した結果、高用量群は低用量群よりも、BALF 中の総細胞数、リンパ球数、好酸球数のいずれも有意に減少させることが解った。

以上の実験結果については、2025 年 3 月に開催された日本薬学会第 145 年会（福岡）で発表を行った（大平 慎，原田 広頭，歌 大介，蝦名 敬一，松本 司，佐藤 陽，D-アミノ酸含有ビオチニル化ヘプタペプチドのロイコトリエン活性およびアレルギー性気道炎症活性に対する in vivo 抑制効果，日本薬学会第 145 年会，2025 年 3 月 27 日，福岡）。

3. 各種ケミカルメディエーターの受容体に対するペプチドの拮抗作用の検討

ヒトヒスタミン受容体（H1、H2、H3、H4 受容体）およびヒト PAF 受容体に対するペプチドの拮抗作用を TGF α shedding assay により評価した結果、以下の点が明らかとなった。

（1）ヒスタミン H1 受容体に対する拮抗作用

Peptide 2 は、ヒスタミンによるヒスタミン H1 受容体の活性化を 34.3%抑制した。

（2）ヒスタミン H3 受容体に対する拮抗作用

Peptide 1、2、3 はいずれも、ヒスタミンによるヒスタミン H3 受容体の活性化を抑制し、特に peptide 2 において優れた抑制効果が得られた（peptide 1 は 41.6%、peptide 2 は 51.6%、peptide 3 は 28.7%の抑制効果）。

（3）ヒスタミン H2、H4 受容体および PAF 受容体に対する拮抗作用

Peptide 1、2、3 はいずれも、ヒスタミンのヒスタミン H2、H4 受容体に対する活性化、PAF の PAF 受容体に対する活性化を抑制しなかった。

なお、ペプチドのロイコトリエン受容体に対する拮抗作用については、現在検討中である。

また、上記（1）～（3）（ペプチドのヒスタミン受容体拮抗作用）の内容を含む論文が、2024 年 11 月に海外雑誌（Int. J. Pept. Sci.）に発表された（Makoto Ohira, Akiharu Uwamizu, Keita Hori, Yumi Obinata, Daisuke Uta, Junken Aoki, Keiichi Ebina, Tsukasa Matsumoto, Akira Sato, Biotinylated heptapeptides with D-amino acids suppress allergic reactions by inhibiting mast cell activation and antagonizing the histamine receptor, Int. J. Pept. Res. Ther. 2024;31:9）。

4. アナフィラキシーショックによる低体温以外の症状（血圧低下、血管透過性亢進、気道収縮など）に対するペプチドの効果およびその既知薬との効果の比較

アナフィラキシーモデル(OVA-IgE)マウス(雄性、8~12週齢)を用いて、OVA誘発足蹠浮腫に対するペプチドの効果を検討した(ペプチドの腹腔内投与から30分後にOVAを後足蹠に投与し、その30分後に後肢厚を測定した)。その結果、peptide 1, 2, 3はいずれもOVA誘発足浮腫を有意に抑制し(それぞれ $8.7 \pm 3.7\%$ 、 $32.7 \pm 5.9\%$ 、 $18.2 \pm 2.8\%$ の抑制効果)、特に peptide 2は最も優れた抑制効果が得られた。peptide 2は用量依存的な浮腫抑制作用を示した。現在、エバンスブルー色素を用いた血管透過性の評価を行っているところである。

5. アナフィラキシー以外の食物アレルギーの症状（痒み等）に対するペプチドの有効性評価

マウスに起痒物質を投与して誘発される痒みに対するペプチドの効果を調べた。具体的には、起痒物質を投与し誘発される痒みに対し、ペプチドを腹腔内投与もしくは局所投与した際の効果を痒みの指標となる後肢による掻き動作回数などから評価した。具体的な内容は以下の通りである。

①ペプチド腹腔内投与による起痒物質により誘発される掻き動作への影響

ペプチドを全身投与したときの、起痒物質により誘発される掻き動作への影響を検討した。起痒

物質にはマスト細胞からの脱顆粒による痒みメディエーター放出を促すコンパウンド 48/80 を用いた。ペプチドまたはPBS(溶媒)を腹腔内投与し、45分後にコンパウンド 48/80 または生理食塩水(溶媒)投与し掻き動作の計測を行った結果、PBS、ペプチドいずれの投与群においても、コンパウンド 48/80 投与による掻き動作が誘発された。生理食塩水ではほとんど掻き動作は起こらなかった。

②ペプチド皮内投与による起痒物質により誘発される掻き動作への影響

ペプチドを皮内投与したときの、局所での起痒物質により誘発される掻き動作への影響を検討した。①と同様、起痒物質にはコンパウンド 48/80 を用い、①と同様の用量になるように調整し検討を行った。しかし、ペプチド投与群における、コンパウンド 48/80 により誘発される掻き動作は、PBS投与群と差がなかった。さらに、ペプチドの用量を増やして同様の実験を行ったが、コンパウンド 48/80 により誘発される掻き動作の抑制作用は見られなかった。

③硫酸ドデシルナトリウム(SDS)塗布による接触性皮膚炎モデルマウスに対する影響

除毛した吻側背部に10% SDSを1日1回塗布することにより、接触性皮膚炎のモデルマウスを作製することが出来る。塗布3日目以降からSDS塗布による皮膚炎症が見られ始め、4日目以降では自発的な掻き動作が見られる。そこで、SDSモデル作製日よりPBSもしくはペプチドを

1 日一回投与し SDS 塗布による皮膚炎症や掻き動作への影響を解析した。その結果、皮膚炎症スコアについては、PBS 投与群、ペプチド投与群で有意な差は見られなかったものの、SDS 投与 4 日目でみられる自発的掻き動作について、ペプチド投与群で PBS 投与群に比べ減少傾向にあることが解った。現在、さらに詳細な検討を行っているところである。

今後の研究活動について

今後は、本研究において未だ実施していない、ペプチドによるマスト細胞における活性化阻害メカニズムの解明、ペプチドの TNF- α 遊離に対する効果、アナフィラキシーモデルマウスを用いたさらなる実験（アナフィラキシーショックによる血圧低下症状に対するペプチドの効果）、ペプチドによるロイコトリエン受容体拮抗作用、接触性皮膚炎モデル動物を用いた掻き動作に対するペプチドの効果について実施していく予定であ

る。以上の実験を通して、食物アレルギーの予防・治療におけるペプチドのさらなる有用性を評価して、早急に実用化を目指したい。

なお、本研究の成果については、前述の通り、その原著論文が海外雑誌に掲載され、総説が発表されるとともに、日本薬学会第 145 年会（福岡）で発表を行った。今後得られた成果については、その論文を海外雑誌に投稿し、学会発表も行う予定である。

参考文献

- 1) Sato A, Yokoyama I, Ebina K. Biotinylated heptapeptides substituted with a D-amino acid as platelet-activating factor inhibitors. *Eur J Pharmacol.* 2015 Oct;764(1-3):202-7.
- 2) Sato A, Fukase T, Ebina K. Biotinylated peptides substituted with D-amino acids with high stability as anti-anaphylactic agents targeting platelet-activating factor. *J Pept Sci.* 2022 Oct;28(10):e3412.

研究課題名	小麦アレルギー予防経口酵素剤の高効能化を実現する、第二世代グルテン分解酵素の創生		
フリガナ	タナカ シュンイチ		
代表者名	田中 俊一		
所属機関（機関名） （役職名）	京都府立大学 生命理工情報学部 准教授		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	松村 浩由（マツムラヒロヨシ）	立命館大学生命科学部・教授	結晶構造解析
	田代 有里（タシロユリ）	京都府立大学農学食科学部・講師	モデル食品設計
本助成金による 発表論文，学会発表	本研究成果は特許出願および実用化戦略に基づく機密保持を優先したため、助成期間中の論文投稿ならびに学会発表は控えました。知財手続き完了後、段階的に成果を公表する予定です。		

研究結果要約

本研究は、小麦アレルギーやセリアック病の予防を目的として、グルテンを選択的に分解する新たな経口酵素剤の開発を目指しました。既存の酵素製剤の主成分である *Aspergillus niger* 由来 prolyl endopeptidase (AnPEP) は、胃内での活性を有する一方で、グルテン以外のタンパク質にも非選択的に反応し、実際の食事条件下での有効性が限定されるという課題がありました。そこで本研究では、AnPEP の酵素基質特異性を改変するために、X 線結晶構造解析により基質認識機構を解明し、免疫原性グルテンペプチドを模倣した変異体を設計・解析しました。その結果、AnPEP の基質結合部位にグルテンペプチドが結合する様子を世界で初めて構造的に可視化することに成功しました。さらに、酵素安定性に寄与する N 型糖鎖やプロペプチド配列の機能も明らかとなり、グルテン特異性と分泌効率の向上に寄与する知見が得られました。これらの成果は、第二世代のグルテン分解酵素の設計に資するものであり、安全で効果的な食物アレルギー予防策としての応用が期待されます。今後は、得られた構造情報に基づきさらなる酵素改変を行い、実際の食品中で機能する高効能型 AnPEP の開発へと発展させる計画です。

研究目的

本研究の目的は、小麦アレルギー、セリアック病、ならびに非セリアック・グルテン感受性といったグルテン関連疾患の予防に資する、新規経口酵素剤の開発にある。特に、グルテンを選択的に分解する改変型プロリルエンドペプチダーゼの創出を通じて、基質特異性と分解効率の向上を実現することを目指す。

近年、食物アレルギー患者は世界的に増加しており、とりわけ小麦アレルギーは主要アレルゲンの一つとして重要視されている¹。セリアック病患者では、グルテン摂取によって腸粘膜に炎症や絨毛萎縮が生じ、栄養吸収障害や免疫異常を引き起こす²。現在、これら疾患に対する唯一の確立された治療法はグルテンフリー食であるが、製造工程中の微量混入や外食時の不確実性から、完全な除去は困難である³。ごく微量のグルテン曝露でも症状が誘発されるため、体内でグルテンを無毒化する手段として“経口酵素療法”が注目を集めている⁴。

現在市販されている経口酵素剤の一例に、*Aspergillus niger* 由来のプロリルエンドペプチダーゼ (AnPEP) を有効成分とする Tolerase®G があり、胃酸下でも活性を維持し、一定のグルテン分解能を有する^{5,6}。しかしながら、AnPEP はグルテンペプチドに対する選択性が必ずしも高くなく、他の栄養タンパク質にも作用してしまうため、全体としての分解効率が低下するという課題がある⁷。また、グルテン分解能を向上させようとすると、しばしば酵素の分泌効率や構造安定性が低下する”トレードオフ”も報告されている⁸。

そこで本研究では、これらの課題を克服すべく、我々が世界で初めて明らかにした AnPEP-グルテンペプチド複合体の X 線結晶構造を出発点とし、以下の 3 つの戦略的改変を行う：①グルテンペプチドに対する認識・分解能を高める部位特異的変異設計、②非標的タンパク質への反応性を低減する改変、③安定性および分泌効率に関与する糖鎖修飾部位およびプロペプチド配列の改良である。さらに、これらの改変型 AnPEP を酵母発現系で調製・精製し、*in vitro* 活性評価および食品モデルを用いた実用性検証を行う。

本研究が目指す「グルテン特異性と分解性能を両立した AnPEP」は、微量のグルテンを含む食品でも安全に摂取可能な環境の実現に貢献し、軽症の小麦アレルギー患者やグルテン感受性を有する消費者の QOL 向上に寄与する。また、酵素製剤としての工業的応用、素材特許による知財化、食品企業とのライセンス展開も視野に入れており、研究成果の実装化・社会還元に直結するポテンシャルを持つ。本研究は、予防医療の観点からも極めて意義が大きく、今後のアレルギー対応食品の高度化と、食の安心・安全を支える技術基盤の創出に資することが期待される。

研究計画及び研究手法

本研究は、小麦アレルギーの予防に資する経口酵素剤の高効能化を目的として、*Aspergillus niger* 由来 prolyl endopeptidase (AnPEP) を対象に、グルテン特異性および活性・安定性を向上させる合理的改変を実施するものである。本稿では、研究の実施において用いた実験的手法について、

実験系ごとに詳細に記述する。

1. 遺伝子構築と発現ベクターの作製

AnPEP の野生型遺伝子は、既報の配列情報 (UniProt: Q9UVT9) に基づき、C 末端に His₆ タグを付加した形で合成し、発現ベクター pPICZαA (Invitrogen) に挿入した。N 末端には酵母分泌シグナルとして α-factor を利用し、制限酵素 XhoI/NotI を用いてクローニングを行った。変異体作製には PCR ベースの部位特異的変異導入法 (QuikChange 法) を用い、プロペプチド部位や糖鎖結合部位 (N-X-S/T モチーフ) への置換、基質結合部位へのアミノ酸改変などを行った。遺伝子の増幅およびクローニングの成功は、大腸菌 JM109 を用いたプラスミド抽出後、制限酵素処理とサンガーシーケンシングにより確認した。

2. 異種発現系 (*Pichia pastoris*) による rAnPEP 発現

構築した発現プラスミドを *P. pastoris* X-33 株 (Invitrogen) にエレクトロポレーション法で導入し、Zeocin 耐性を指標に選抜した⁹⁾。形質転換体は YPD 寒天培地上で一次スクリーニングした後、小スケール液体培養 (BMGY/BMMY 培地) により誘導発現を行った。各変異体は 50 mL スケールの培養液から粗抽出し、分泌タンパク質の発現を SDS-PAGE と Western blot により確認した。分泌が確認された株については、500 mL ~2 L スケールで培養を行い、遠心により上清を回収後、酵素精製に供した。

3. 酵素の精製

回収した培養上清は、まず Ammonium sulfate による塩析と透析を行い、陰イオン交換クロマトグラフィー (DEAE セファロースまたは Mono Q カラム) により粗分離した。さらに His タグを利用した Ni-NTA アフィニティークロマトグラフィーにより精製し、最終的には Superdex 200 カラムによるゲルろ過クロマトグラフィーにて均一化を図った。精製されたタンパク質の濃度は Bradford 法または吸光度 (A280) により測定し、SDS-PAGE による純度評価とともに保存した。

4. 結晶化および X 線結晶構造解析

構造解析対象として、酵素活性を失活させた変異体 rAnPEP_S179A および、プロペプチド部位に免疫原性グルテンペプチド配列 (例: PQQQLPYPQ など) を組み込んだ rAnPEP_S23 ~S26 を調製した。結晶化には市販の結晶化溶液キットを用いたスクリーニングを実施し、sitting-drop vapor diffusion 法で微結晶を得た。得られた結晶は、リガンド結合の状態を保つために cryoprotectant 含有溶液に浸漬後、液体窒素下で凍結し、SPring-8 のビームラインにて X 線回折データを取得した。回折データは XDS で積分・スケーリングされ、Phenix および COOT を用いてモデル構築とリファインメントを実施した。S179A およびグルテンペプチド置換変異体では、基質模倣配列が酵素の S1 サイトおよび S'2 サイトに結合している様子が明確に観察され、基質認識機構の構造的根拠が得られた。

5. 酵素活性測定と基質特異性評価

酵素活性の定量には、蛍光標識ペプチド (AMC)、免疫原性グルテンペプチド (33-mer) および非標的ペプチド (BSA 由来ペプチド) を用いて分解速度を測定した⁵。標準的な測定条件は、pH4.0 酢酸緩衝液中、37℃、5～60 分間の反応である。蛍光標識ペプチドについては恒温蛍光測定分光器を用いて測定を行った。他の基質については、反応終了後、トリクロロ酢酸による反応停止および超遠心分離を行い、生成物を HPLC で分析した。比活性の変化から、各変異体の基質特異性を定量的に比較した。

6. 熱安定性および構造安定性評価

各精製タンパク質の熱安定性は、CD スペクトル (Jasco J-1500) による融解温度 (T_m) 測定を行った。波長 222 nm でモニターしながら 20℃～90℃で温度勾配を与え、変性曲線から T_m 値を算出した。糖鎖除去変異体 (N→Q 置換) やプロペプチド欠失変異体についても同様に評価した。また、AlphaFold3 を用いて N 末端領域の構造予測を行い、実際の結晶構造と比較したところ、プロペプチド部分における予測誤差が大きく、結晶構造の解析によってのみ信頼性ある立体情報が得られることを確認した¹⁰。

7. プロペプチドスキャンおよびフォールディング解析

AnPEP の N 末端プロペプチド (全 20 残基) のうち、基質結合に関与すると考えられる 9 残基について、アラニン置換 (Ala-scanning) および

複数アミノ酸置換 (Gly, Arg, Ser, Glu など) を行い、それぞれの変異体を発現・精製した。変異体の分泌量は SDS-PAGE と定量 Western blot により定量し、酵素活性と CD スペクトルを併用して、プロペプチドの役割を分子レベルで評価した。疎水性を保った 9A 変異体では活性・分泌ともに保持されたが、9E など極性・荷電性の置換では分泌が顕著に低下した。これにより、プロペプチドの機能は単なる酵素活性抑制ではなく、フォールディング補助因子として重要であることが明確になった。

8. 糖鎖修飾部位の機能解析

結晶構造から同定された糖鎖結合部位 (N100, N162, N226, N244, N328, N355, N446) について、Asn→Gln 変異体を単独または組み合わせて作成し、分泌量・活性・熱安定性を評価した。

糖鎖を除去した変異体では分泌量が若干低下したが、N328 および N355 変異体では顕著な熱安定性低下が確認されたことから、糖鎖が酵素構造の可溶化や分子安定性に寄与していることが示唆された。また、全糖鎖除去変異体においても酵素活性は一定程度保持されており、修飾パターンの最適化により結晶化や製剤化の合理化も見込まれる。

9. 食品モデルにおける簡易応用評価 (予備実験)

酵素の応用評価として、食パン中に含まれる小麦タンパクをモデルとし、模擬胃液条件 (pH2.5、ペプシン含有) 下における rAnPEP の分解挙動を検討した¹¹。グルテンペプチドの定量には

ELISA 法を利用し、分解率の指標とした。

10. 計画通りに実施できなかった内容および追加実施した内容

以下の点で計画に一部修正が生じた。

- ・計画通りに実施できた内容：上述の通り、概ね当初予定していた研究計画は遂行できた。とくに、グルテンペプチドと AnPEP との複合体の結晶構造解析に世界で初めて成功したことは特筆すべき成果であると申し添える。

- ・実施が遅れた内容：当初予定では AnPEP の Pro 残基以外への非特異的反応性の理由を調べるため、S1 サイトに Pro 以外のアミノ酸は配置するような変異体の設計、結晶構造解析を予定していたが、候補変異体の発現や結晶化が困難であったため、当該研究期間内での結晶構造解析には至らなかった。

- ・計画外で実施した内容：AlphaFold3 を用いた N 末端配列の構造予測と実際の結晶構造との比較により、AI 構造予測の限界を明示し、結晶構造解析の重要性を補強する新たな成果を得た。また、実験の過程で得られた AnPEP 糖鎖の構造的多様性（7 か所の糖鎖結合部位）の発見は、酵素工学に新たな知見を提供するものであり、当初の計画を超える成果といえる。

結果と考察

本研究では、小麦アレルギーの予防を目的として、*Aspergillus niger* 由来 prolyl endopeptidase (AnPEP) の基質特異性を向上させた変異体の

創出に取り組んだ。研究期間内に得られた主な成果とそれに基づく考察、所期目標の達成度、残された課題、および成果の発表計画について詳述する。

1. AnPEP とグルテンペプチドとの結合様式の構造的解明

本研究の最も重要な成果の一つは、AnPEP と免疫原性グルテンペプチドとの相互作用様式を、世界で初めて構造レベルで可視化した点にある。従来、AnPEP の結晶構造は基質非結合状態においてのみ報告されており¹²、基質認識の詳細なメカニズムは明らかにされていなかった。本研究では、活性中心残基である Ser179 を Ala に置換した触媒失活変異体 (rAnPEP_S179A) を用い、代表的なグルテンペプチド (PQPQLPYYPQ など) を模倣した基質ペプチドと複合体を形成させ、酵素－基質複合体様の構造の結晶化に成功した。

得られた結晶構造解析により、グルテンペプチド中のプロリン残基が AnPEP の S1 ポケットに深く嵌合し、隣接する疎水性残基との相互作用によって高い親和性で結合していることが明らかとなった。また、S'2 サイトにおいても芳香族残基の認識が確認され、AnPEP がプロリンを含む特定のペプチド配列を選択的に認識・分解するメカニズムが構造的に裏付けられた。さらに、グルテンペプチド中の特定部位においては、酵素との相互作用が弱く、反応性が低いと予想される部位も特定された。これらの知見により、AnPEP の基質特異性に基づいた精密な酵素設計の指針が確立され、今後の変異体設計に向けた構造基盤が

整備された。

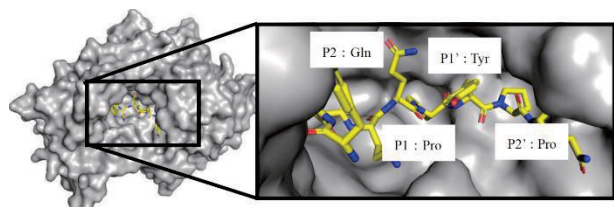


図1. グルテンペプチド置換変異体の結晶構造
rAnPEP を灰色の surface モデル、グルテンペプチド
FRPQQPYYPQ の一部を黄色 stick モデルで示す。

2. グルテン選択性を向上させる AnPEP 変異体の設計指針の獲得

第1節で得られた構造情報を基に、グルテンに対する分解選択性の向上を目的とした合理的なアミノ酸変異の設計を試みた。特に、S1 ポケットおよび S'2 サイトに位置する残基である Pro205 および Phe84 に着目し、これらの部位へのアミノ酸置換とグルテンペプチドとのドッキングシミュレーションを *in silico* で実施した。その結果、P205H、P205I、F84I、F84V、F84Q といった複数の変異体において、グルテンペプチドに対する選択的結合・分解の可能性が示唆され、特に F84Q 変異体では選択性の向上に加え、熱安定性のわずかな向上も確認された。これらの変異体は、グルテン分解に特化した酵素製剤としての実用性を高める有望な分子設計指針となり得る。

3. プロペプチドによる分泌およびフォールディング補助機能の解明

AnPEP の分泌や構造形成において、N 末端プロペプチド配列が重要な役割を果たすことも本研究により示された。特に、基質結合部位に侵入

する 9 残基に対し、Ala スキャニングおよび Gly/Arg/Ser/Glu 置換を行ったところ、9A 変異体では分泌・活性ともに保持された一方で、9G~9E 変異体では分泌量が著しく低下した。この結果は、プロペプチドが単なる活性抑制因子ではなく、疎水的相互作用を通じて酵素の正しいフォールディングを補助していることを示唆するものであり¹³、AnPEP の構造形成機構に対する新たな知見を提供した。

4. N 型糖鎖の構造安定性への寄与

我々の研究により、AnPEP には複数の N 型糖鎖修飾部位が存在することが明らかとなった。これらの糖鎖が構造安定性および分泌にどのように寄与するかを調べるため、7 か所の糖鎖結合部位 (N100, N162, N226, N244, N328, N355, N446) に Asn→Gln 変異を導入した。単独変異体の熱安定性評価 (CD スペクトル) により、特に N328 および N355 の除去により融解温度 (T_m) が 5~7℃低下することが確認された。これは糖鎖が酵素の立体構造を安定化させていることを意味し¹⁴、製剤化や長期保存を考慮するうえで重要な因子である。また、全糖鎖除去変異体では分泌量が約 50%に減少したが、活性自体は一定程度保持されており、酵素の構造的最適化の余地を示している。

5. 模擬食品中での分解性能の検証

酵素の実用性を評価するため、実際の食品条件を模した消化シミュレーションを実施した。pH 2.5 の模擬胃液中において、まずは野生型 AnPEP

を用いてグルテンペプチド (33-mer) の分解挙動を評価した。その結果、処理後にも約 60% のペプチドが未分解のまま残存していることが確認され、本評価系が機能していること、さらに野生型酵素の分解効率が十分でないことが明らかとなった。これは、酵素の改良が実用化に不可欠であることを示す有意義な知見であり、今後の変異体評価に向けた重要なステップである。今後は、第 2 節で設計した変異体酵素を同様の条件下で検証し、実食品環境下での有効性を比較評価していく予定である。

6. 所期の目的に対する達成度

本研究の所期目的は、「グルテンを選択的に分解する高効能型 AnPEP の設計と創出」であった。これに対し、以下の成果を達成した：

- ・グルテンペプチド結合様式の構造解析に世界で初めて成功
- ・比活性および基質選択性を向上させる複数の AnPEP 変異体の設計指針を獲得
- ・フォールディングにおけるプロペプチドと糖鎖の機能の解明
- ・消化モデル条件下での有効性を実証

これらの成果により、研究計画で掲げた主要な目標は達成されたと考えている。

7. 残された課題と今後の展望

一方で、以下の課題が残された：

- ・グルテン由来の全てのエピトープ (例：glia- γ 3 等) への分解特異性評価は未実施であり、より包括的な分解性能の検証が必要。

・食品加工条件下での酵素安定性・機能保持の検討は今後の課題である。

・動物モデルまたは細胞モデルを用いた免疫反応の抑制効果検証は未実施であり、アレルギー予防の「in vivo」エビデンス確立が求められる。

これらの課題に対しては、今後の科研費や産学連携による継続研究の中で対応していく方針である。

8. 成果の発信計画

本研究で得られた成果は、現在、以下の形での学術発信を予定している：

- ・学会発表：

第 77 回日本生物工学会大会 (2025 年 9 月・広島) にて口頭発表予定

日本農芸化学会 2026 年度大会 (2026 年 3 月・京都) にて口頭発表予定

- ・論文投稿予定：

"Structure-guided engineering of *Aspergillus niger* prolyl endopeptidase for enhanced gluten selectivity" (Journal of Agricultural and Food Chemistry に投稿予定)

また、京都府立大学と産業界とのマッチング機会において、技術移転・ライセンスの可能性についても探る準備を進めている。

今後の研究活動について

本助成研究により、AnPEP の基質認識機構を解明し、グルテンに対する分解選択性を高める変異体の設計指針の獲得に成功した。今後は、この成果をもとに、さらに実用性と汎用性を兼ね備えた「第三世代グルテン分解酵素」の設計を目指す。

具体的には、①グルテンの多様な免疫原性エピートープに対応する広域分解能の付与、②加熱加工や pH 変化など食品環境下における高安定性の付与¹⁵、③製剤化に適した酵素調製プロトコルの確立が次の目標である。また、構造改変と活性評価のループを加速させるために、AI と連携した *in silico* 設計を積極的に活用していく¹⁰。さらに、得られた改変酵素の有効性を生体モデルで実証することも不可欠である。今後は、動物モデルにおけるグルテン暴露実験や、免疫応答の抑制効果の評価を通じて、実際の予防効果を検証する。加えて、食品素材としての適用可能性について、製パン・製菓メーカーとの共同研究を進め、製品開発段階での酵素導入や製造工程への応用可能性を評価する。これにより、食品業界への社会実装を加速し、グルテン関連疾患患者の QOL 向上に直結することが期待される¹¹。本研究を契機として、構造生物学・酵素工学・食品科学の融合による基礎から応用へと展開する継続的な研究体制を構築していく。

参考文献

- 1) Taylor SL, Baumert JL. Food allergy: the basics. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020;20:261–267.
- 2) Lebowhl B, Sanders DS, Green PHR. Coeliac disease. *Lancet*. 2018;391:70–81.
- 3) Silvester JA, et al. Patients with celiac disease frequently consume gluten-containing foods. *J Hum Nutr Diet*. 2016;29:479–487.
- 4) Buhler S, et al. Therapeutic approaches in celiac disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019;57:262–271.
- 5) Stepniak D, et al. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endopeptidase: implications for coeliac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;291:G621–G629.
- 6) Tolerase®G Whitepaper. DSM-Firmenich. Accessed June 2025.
- 7) Salden BN, et al. Randomized clinical study on the effectiveness of *Aspergillus niger* prolyl endoprotease in gluten degradation. *World J Gastroenterol*. 2015;21:126–132.
- 8) Ehren J, et al. A Food-Grade Enzyme Preparation with Modest Gluten Detoxification Properties. *PLoS One* 2009;4:e6313.
- 9) Puxbaum V, Mattanovich D, Gasser B. The molecular basis of protein secretion by yeast: from mechanisms to engineering. *Curr Opin Biotechnol*. 2016;42:19–26.
- 10) Evans R, O'Neill M, Pritzel A, et al. Protein complex prediction with AlphaFold-Multimer. *Nature*. 2022;610:728–734.
- 11) Salden BN, Monserrat V, Troost FJ, et al. Randomized clinical study on the effectiveness of *Aspergillus niger* prolyl endoprotease in gluten degradation. *World J Gastroenterol*. 2015;21:126–132.
- 12) Miyazono KI, Kubota K, Takahashi K, Tanokura M. Crystal structure and substrate recognition mechanism of the prolyl endoprotease PEP from *Aspergillus niger*. *Biochemical and Biophysical Research Communications Journal*. 2022; 591:76–81.

- 13) Puxbaum V, Mattanovich D, Gasser B. The molecular basis of protein secretion by yeast: from mechanisms to engineering. *Curr Opin Biotechnol.* 2016;42:19–26.
- 14) Kukuruzinska MA, Lennon K, Li D, Puchkova M. Protein N-glycosylation: molecular genetics and functional significance. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15:219–244.
- 15) Tang H, Andrell J, Persson K. Improving enzyme thermostability for industrial applications: from structure-based design to artificial evolution. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2021;105:889–901.

研究課題名	ポリフェノール代謝物による樹状細胞遊走調節を介した食物アレルギーの制御		
フリガナ	ハヤサカ ハルコ		
代表者名	早坂 晴子		
所属機関（機関名） （役職名）	近畿大学 教授		
共同研究者	氏 名（フリガナ）	所属機関・役職名	役割分担
	室田 佳恵子（ムロタカエコ）	島根大学・教授	ポリフェノール代謝物の解析
	中村 俊之（ナカムラトシユキ）	岡山大学・准教授	代謝物構造の分析
本助成金による 発表論文，学会発表	1. 柳利咲，石崎永頌，四之宮紗菜，室田佳恵子，早坂晴子，フラボノイド代謝物による腸間膜リンパ節の免疫調節，日本分子生物学会年会 2. 室田佳恵子，四之宮紗菜，柳利咲，早坂晴子，吸収経路の異なるケルセチン関連化合物の摂取が腸間膜リンパ節の免疫応答に及ぼす影響，日本農芸化学会		

研究結果要約

食品中のフラボノイドは糖が付加された配糖体構造をとり、小腸に達すると糖が外れ、小腸吸収性のフラボノイドアグリコンに変化する。フラボノイドアグリコンは小腸上皮で吸収され、抱合代謝物として血液循環系およびリンパ系へ輸送される。リンパ系に入ったフラボノイド代謝物は、免疫応答を担う腸間膜リンパ節へ輸送されるが、リンパ系のフラボノイド代謝物の生体機能は解析されてこなかった。本研究グループは先行研究において、マウス骨髄細胞由来樹状細胞（DC）の分化誘導の際にケルセチン抱合代謝物 **Q3GA** を添加すると、DC 表面上の活性化分子 **CD86** の発現レベルが低下することを見出した。本研究ではこの知見を発展させ、ヒト免疫細胞においても **Q3GA** が抑制活性を示すかを解析した。ヒト単球性白血病株 **THP-1** 細胞を用いたところ、ケルセチン添加、**Q3GA** 添加のいずれにおいても **DC** 割合が濃度依存的に低下した。またマクロファージへの分化においては **Q3GA** の影響はみられなかった。マウスリンパ球活性化における作用を解析したところ、**Q3GA** 添加でやや低下がみられた。以上のことから、フラボノイド代謝物は **THP-1** から **DC** への分化とリンパ球活性化を抑制する可能性が示唆された。またケルセチン以外のフラボノイドについてリンパ輸送を解析したところ、アグリコンのグルクロン酸抱合代謝物がリンパ系に輸送されることが明らかになった。

研究目的

食物アレルギーは、食物に含まれる抗原が免疫細胞により異物として認識され、抗原特異的 IgE 抗体により生じる獲得免疫応答である。食物アレルギーの改善効果をもつ機能性関与成分として、食事性フラボノイドが注目されており、これまでに *in vivo*、*in vitro* の両面から検証されてきた。フラボノイドは植物が産生する C6-C3-C6（ジフェニルプロパン）の共通構造をもつポリフェノール化合物の一種で、部分構造の違いによってフラボン類、フラボノール類、イソフラボン類、フラバン類、フラバノン類、フラバノノール類、カルコン類、アントシアニン類に分類される。食品に含まれるフラボノイドは様々な種類の糖が付加された「配糖体構造」であり、様々な機能性表示食品にも利用されているが、そのままの構造で血中に検出されることは稀である。摂取されたフラボノイド配糖体は小腸に達すると、小腸上皮細胞内または腸内細菌叢で糖が外れ、脂溶性が高く小腸から吸収される「フラボノイドアグリコン」に変化する。小腸上皮で吸収されたフラボノイドアグリコンは、抱合代謝を受けることで水溶性の高い構造に変化し、「フラボノイド抱合体」として血液循環系を介して門脈系へ輸送される。しかしフラボノイド抱合体による生体機能は未だ十分な検証がおこなわれておらず、小腸から吸収されて生じた種々のフラボノイド抱合体が食物アレルギーの改善に寄与するかは不明である。本研究グループはこれまでに、ラットに経口に投与されたフラボノイドが腸管細胞内で抱合代謝を受けた後、血液循環系のみならず、リンパ系にも吸

収されることを明らかにした。リンパ系に入ったフラボノイド抱合体は、免疫応答を担う腸間膜リンパ節へと輸送される。一方、小腸で吸収された食物抗原をリンパ節に運搬する役割を担う樹状細胞も、小腸粘膜固有層で抗原を捕食したのち、ケモカインとその受容体シグナル依存的にリンパ管経由で腸間膜リンパ節に移動する。すなわちリンパ系は、小腸で産生されるフラボノイド代謝物と食物抗原を取り込んだ樹状細胞が初めて合流する場所であり、フラボノイド代謝物がリンパ管内で樹状細胞の活性を調節する可能性が考えられる。従来おこなわれてきたポリフェノール研究のほとんどは、免疫細胞の活性化関連分子や遺伝子発現に対する作用に焦点をあてたものであるが、リンパ管を経由した樹状細胞の移動に注目した研究はおこなわれていない。そこで本研究課題では、フラボノイド代謝物がリンパ管内で樹状細胞に作用し、腸間膜リンパ節への移動を調節することで、食物アレルギー調節に関与する可能性を検討した。

研究計画及び研究手法

1. ヒト単球性白血病細胞株からの DC 分化に対するケルセチン代謝物の影響

未熟 DC が抗原刺激をうけて成熟 DC (mDC) となる過程は、骨髓由来樹状細胞 (BMDC) のリポ多糖 (LPS) あるいは炎症性サイトカイン刺激により *in vitro* で再現できる。これまでの多くの研究報告から、細胞培養系では未熟 DC から mDC への活性化に LPS は必須ではないが、LPS 添加時における mDC 割合は非添加時と

比べて約 2 倍に増加することがわかっている。マウス BMDC に対するフラボノイドの影響を報告した先行研究では、ケルセチンが LPS 刺激による mDC への活性化を抑制し、mDC の炎症性サイトカイン産生や CD86 及び MHC class II 発現レベル低下させる¹⁾。また、研究代表者らが自ら行なった BMDC 分化誘導実験では、未成熟 DC から mDC への分化過程で発現誘導される MHC II および共刺激分子の発現レベルが、ケルセチン代謝物 Q3GA 存在下で低下した。そこで本研究では、ヒト DC においてもフラボノイド代謝物が同様の抑制活性を示すかを調べた。ヒト単球性白血病細胞株 THP-1 は多くの実験系で樹状細胞様細胞への分化誘導能が報告されており、GM-CSF と IL-4 の存在下で CD11c 陽性の DC 様細胞に分化し、さらに炎症応答に伴いケモカイン受容体 CCR7 と CD80 を高発現する mDC に活性化する。CCR7 の発現誘導は、mDC が輸入リンパ管経由でリンパ節に移動し、リンパ球に対して抗原提示をおこなうために必須のケモカイン受容体である。本研究では、以下の実験を行なった。

・THP-1 からの DC 分化誘導とフラボノイド処理

THP-1 細胞に IL-4、GM-CSF、TNF- α および Ionomycin を添加し、72 時間後の CD11c および CD80 発現をフローサイトメトリーで解析した。成熟過程における CD86 及び MHC class II の発現レベル、および CCR7 の発現誘導に対するポリフェノール代謝物の影響を解析した。フラボノイドアグリコンの一種であるケルセチン、

Q3GA、Q7GA を 0.1-10 μ M の濃度となるように 0.1 % DMSO 含有 10 % FCS 含有 RPMI-1640 培地に添加し、分化培養を行った。

2. ヒト単球性白血病細胞株からのマクロファージ分化に対するケルセチン代謝物の影響

THP-1 は、単球様細胞からマクロファージ様細胞の分化を再現する in vitro 実験系としても広く用いられている。THP-1 を PMA で刺激することで、CD11b 陽性の M0 型マクロファージ (M0) が誘導され、さらに IFN- γ や LPS などの刺激により炎症性の M1 型マクロファージ (M1)、IL-4 や IL-13 などの刺激により抗炎症性の M2 型マクロファージ (M2) に分極する。マクロファージ細胞株を用いた先行研究では、ケルセチンやアピゲニンが炎症性サイトカイン発現を低下させ、M1 の代謝経路に作用し炎症応答を抑制するという報告がある⁴⁾。また、フラボノイド抱合代謝物については、Q3GA が活性化マクロファージにより脱抱合され、アグリコンとして取り込まれることで、スカベンジャー受容体発現を抑制し、動脈硬化病巣の泡沫細胞形成を抑制するという報告がある⁵⁾。しかし、腸管免疫応答のマクロファージに対するフラボノイド抱合代謝物の影響については明らかになっていない。そこで本研究では、フラボノイドおよびその代謝物が M0 から M1 への活性化に与える可能性を以下の方法で検討した。

・THP-1 からのマクロファージ分化と M1 への活性化誘導

THP-1 細胞を FCS、PMA 含有 RPMI-1640

で播種し 1 晩培養後、培地を置換し、さらに 1 晩培養した。分化誘導 3 日目に 0.1-50 μM の濃度となるようにケルセチン、アピゲニン、Q3GA、Q7GA を希釈した 0.1 % DMSO 含有 10 % FCS 含有 RPMI-1640 で 1 晩処理し、CD11b および CD80 発現をフローサイトメトリーで解析した。

3. リンパ球活性化に対するケルセチン代謝物の影響

ケルセチンはヒト末梢血単核球の増殖と活性化を抑制することが報告されている⁶⁾。またフラボノイドの一種であるフィセチンが、コンカナバリン A で刺激後の脾臓 T 細胞の増殖を抑制し、Th1 および Th2 サイトカインの産生、T 細胞の CD4/CD8 比を著しく抑制する。そこで本研究では、フラボノイドおよびその代謝物が T 細胞活性化に与える可能性を以下の方法で検討した。

・T リンパ球の活性化とフラボノイド処理

T 細胞や B 細胞などのリンパ球は *in vitro* 培養系において、イオノマイシンなどのカルシウムイオノフォアと PMA などのホルボールエステルを同時に添加することで効果的に活性化されることが知られている。刺激を受けた T 細胞は活性化され、活性化分子マーカー CD69 を初期段階で発現するようになる。そこで、生後 6~9 週齢の BALB/c メスマウスの腸間膜リンパ節から得たリンパ球を、Q3GA 有無の条件下で PMA およびイオノマイシン含有あるいは非含有 10 % FCS 含有 RPMI-1640 培地で 1 晩培養した。Q3GA は、0.1-10 μM 、終濃度 0.1 % DMSO

の濃度となるように培地を希釈し、PMA およびイオノマイシンと同時に添加した。フローサイトメーターで CD69、CD3、CD62L の発現を解析した。

4. リンパ液に出現するポリフェノール代謝物の検出

フラボノイド代謝物による免疫細胞分化の活性化抑制効果を検証するため、セロリやパセリなど多くの植物に含まれるフラボノイドの一つであるアピゲニンについて、リンパ液中にみられる代謝物の同定を試みた。

・リンパ液中のアピゲニン代謝物の同定

以前の研究にて、10 mg/kg 体重となるようにアピゲニンを十二指腸に投与して採取し-30°C で保存していたリンパ液中アピゲニン濃度を HPLC-UV で定量した。フラボノイドは生体内でほとんどが抱合代謝物として存在していることから、リンパ液を β -グルクロニダーゼにより脱抱合処理したサンプルについても分析した。その後、最大濃度を示した投与後 0-0.5 h のリンパ液について、フラボノイド代謝物の抽出濃縮液をアセトニトリルを用いて調製し、LC-MS/MS を用いて代謝物分析を行った。代謝物分析は、先行研究⁷⁾を参考にアピゲニン代謝物を検出する MRM を設定した。分析条件は以下の通りである。

移動相：solvent A (0.1% formic acid), solvent B (methanol), カラム：ACQUITY UPLC BEH C18 column (1.7 μm , Waters), 流速：0.4 mL/min, グラジエントプログラム：0 min (A 95%), 0.5 min (A 95%), 5 min (A 5%), 5.5 min (A 5%), 5.6 min (A 95%), and 6.5 min (A 95%)。

結果と考察

1. ヒト単球性白血病細胞株 THP-1 からの DC 分化に対するケルセチン代謝物の影響

ケルセチン、Q3GA あるいは Q7GA 添加し分化培養をおこなった細胞について、顆粒球の SSC-A/FSC-A プロファイルをもつ細胞割合を解析したところ、いずれのフラボノイドについても、濃度依存的な減少がみられた。特にフラボノイドアグリコンであるケルセチン添加では、高濃度で著しい細胞数の減少がみられ、10 μ M では約 10% になった。Q3GA 添加もやや細胞数の減少がみられ、Q7GA 添加でも約 30% まで細胞数が減少した。生細胞中の CD11c 陽性 CCR7 陽性細胞割合は、ケルセチン添加では 0.1 から 10 μ M の間で約 30% 程度まで低下した。Q3GA 添加でも同様の傾向がみられ、生細胞中の CD11c 陽性 CCR7 陽性細胞割合は 0.1 から 10 μ M の間で約 70% 程度まで低下した。一方、Q7GA 添加では、濃度依存的な低下はほとんどみられなかった。ケルセチン添加では、生細胞中の CD11c 陽性 CD80 陽性細胞割合も濃度依存的に著しく低下し、95% 以上低下した。一方、Q3GA 添加ではやや低下したものの、濃度依存的な低下はみられず、Q7GA 添加でも濃度依存的な低下はみられなかった。以上のことから、ケルセチンは分化培養時に細胞数を著しく減少させ、CCR7 陽性 CD80 陽性 DC 割合を減少させると考えられた。ケルセチンは白血病細胞株や乳がん細胞株で細胞周期の進行中に S 期停止を誘導し、その後アポトーシスを引き起こすとの報告がある³⁾。本研究の解析が細胞障害を受けた状態下でおこ

なわれたと考えると、ケルセチン添加時の CCR7 陽性および CD80 陽性細胞割合は不正確である可能性が考えられる。

一方で、Q3GA、Q7GA 添加条件下で、THP-1 細胞由来 DC 様細胞の CCR7 および CD80 の発現レベルに変化はみられず、THP-1 由来 DC 様細胞の活性化に対するフラボノイド代謝物の抑制的作用は、検出限界以下のレベルであることが示唆された。Q3GA、Q7GA などのフラボノイド抱合体はアグリコンであるケルセチンよりも疎水性が低く、細胞に取り込まれにくいことがわかっている²⁾。このため、Q3GA、Q7GA による効果を検出できなかった要因として、細胞への吸収効率の低さが関係する可能性が考えられる。

2. ヒト単球性白血病細胞株からのマクロファージ分化に対するケルセチン代謝物の影響

M0 培養時に 0-10 μ M のフラボノイドアグリコンやフラボノイド抱合体代謝物を添加した細胞を解析したところ、いずれの条件でも単細胞中に CD11b 陽性 CD80 陽性の細胞集団 M1 が約 70% 程度検出された。M1 出現頻度、CD11b と CD80 の発現レベルを解析したところ、いずれのフラボノイド濃度でも非添加と比較して有意差はなかった。M1 活性化に対する影響については、ケルセチン添加時の CD80 発現レベルが、有意な差までは至らなかったものの、非添加と比較して減少する傾向がみられた。またアピゲニン添加時の CD11b 発現レベルについては、有意な差までは至らなかったものの、非添加と比較して減少する傾向がみられた。

一方、Q3GA あるいは Q7GA 添加では、いずれの条件でも違いが見られなかった。先行研究により、フラボノイドアグリコンがマクロファージによる炎症応答を抑制することが示唆されている。しかし本研究の実験条件では、アピゲニンの添加により CD11b 発現レベルがやや低下し、ケルセチンの添加により CD80 発現レベルがやや低下したものの、マクロファージの分化や M1 活性化に対してフラボノイドアグリコンが阻害作用を示すという結果は得られなかった。先行研究の多くは、炎症性サイトカイン発現の変化を qPCR や ELISA により解析していることを考えると、フローサイトメトリーによる細胞表面分子の検出で活性化状態を評価することは困難である可能性がある。また細胞への Q3GA の取り込み効率は極めて低いことがマクロファージ細胞株で報告されており、THP-1 由来マクロファージにおいても十分に取り込まれず、効果が検出できなかった可能性が考えられる。

3. リンパ球活性化に対するケルセチン代謝物の影響

PMA およびイオノマイシン添加時の T 細胞の活性化に対する Q3GA の影響を解析した。いずれの Q3GA 濃度でも T 細胞割合は 40-70 % であり、有意な差は見られなかった。ナイーブ T 細胞割合はいずれも 40-50 % であり、濃度間で有意な差は見られなかった。活性化 T 細胞は約 20 % であり、統計学的有意差にはいたらなかったものの、非添加時と比較すると 10 μ M の Q3GA 添加で減少傾向が見られた。以上より、

Q3GA は T 細胞の活性化を抑制する可能性が示唆された。T 細胞活性化抑制作用が 10 μ M 程度が最も効果的であるか、濃度依存的に変化するかについては、さらに高濃度条件で解析を行う必要がある。

4. リンパ液に出現するポリフェノール代謝物の検出

リンパニューレションラットの十二指腸にアピゲニンを投与すると、末梢血漿濃度と同様、投与後 0.5 h には速やかにリンパ液へアピゲニンが出現することが確認されている。輸送された分子について検討したところ、一部のアピゲニンはアグリコンのまま検出されるものの、脱抱合処理によりアピゲニン濃度が大きく上昇したことから、大部分は抱合代謝物としてリンパ液中に存在することが示された。そこで、LC-MS/MS を用いて代謝物の同定を行ったところ、少量のアグリコンに加えて、グルクロン酸抱合体のメジャーピークが 1 種とマイナーピークが 1 種検出された。富山県立大学 生城真一教授の協力のもと、ヒト由来 UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) の基質特異性を調べたところ、アピゲニンのグルクロン酸抱合体としては 7 位が優先的に抱合されることが示された。そのため、ラットリンパ液中のメジャーピークはアピゲニン-7-O-グルクロニド (A7GA) であると推測される。現在は抱合位置の同定を行うため、7-O-グルクロニドと 4'-O-グルクロニドの酵素合成を進めている。

また先行研究⁸⁾より、ケルセチンを投与後 0.5 時間後のラットリンパ液に見られる抱合体とし

て、Q3GAに加えて抱合位置の異なるQ7GAが検出された。そこで、培養細胞への作用を検討するためにQ7GAについても酵素合成をおこない、本実験の細胞培養実験で使用した。

今後の研究活動について

本研究では、先行研究で用いられたマウスBMDCの代わりに、ヒト白血病細胞株THP-1を用いてDC活性化に対するフラボノイド代謝物の影響を解析した。培養白血病細胞株を用いたことで、癌細胞に対する細胞障害性の問題が新たに生じた。ケルセチンの細胞毒性は特に白血病細胞株で顕著であり、正常細胞株に対してケルセチンは細胞生存率に影響せず、マウスBMDCでは50 μ Mケルセチンでも細胞生存率の低下はみられない。以上のことから、DC活性化に対するフラボノイドの影響を解析するためには、癌細胞株以外のDC細胞株を用いる必要があると考える。

ケルセチンがマクロファージ分化に直接的に関与する可能性は低いと考えるが、間接的に作用する可能性についてはさらに検討する必要がある。フラボノイド抱合代謝物は活性化マクロファージの脱抱合酵素である β グルクロニダーゼによって脱抱合され、アグリコンとなることで細胞に取り込まれ、抑制活性を発揮することが報告されている⁹⁾。本研究のTHP-1を用いた実験では、 β グルクロニダーゼの発現を確認しておらず、細胞外でのQ3GAの脱抱合の程度が低く取り込みが不十分であった可能性は否定できない。またアピゲニンの添加によりマクロファージのCD11b発現レベルがやや低下した。食物から摂

取したアピゲニンはA7GAとしてリンパ液中に運搬されることを示唆する知見が得られており、今後アピゲニンに注目して再解析をおこなう必要がある。

本研究では、PMAおよびイオノマイシンを用いて抗原非特異的にT細胞を活性化したが、フラボノイド抱合代謝物が抗原特異的T細胞活性化を抑制する可能性については不明である。この可能性は、抗原特異的T細胞受容体トランスジェニックマウス由来のT細胞を用いて、抗原依存的なT細胞活性化におけるQ3GAの影響を解析することで明らかにできると考えられる。さらにIL-33やthymic stromal lymphopoietin (TSLP)など炎症誘導作用をもつサイトカイン存在下での抗原提示細胞とT細胞の共培養により、Th2タイプのヘルパーT細胞分化に対するQ3GAの影響を明らかにできると考えられる。

参考文献

- 1) Huang, RY et al. (2010) Immunosuppressive effect of quercetin on dendritic cell activation and function. *Journal of Immunology* 184:6815-6821.
- 2) 寺尾 純二 (2005) ケルセチン配糖体の吸収代謝と活性発現機構. *ビタミン*. 79:3-11.
- 3) Srivastava S, et al., (2016) Quercetin, a natural flavonoid interacts with DNA, arrests cell cycle and causes tumor regression by activating mitochondrial pathway of apoptosis. *Scientific Reports*. 6:24049
- 4) X. Zhang, et al. (2014) Flavonoid apigenin

- inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through multiple mechanisms in macrophages. PLoS ONE 9:e107072.
- 5) Kawai Y, et al., (2005) Macrophage as a target of quercetin glucuronides in human atherosclerotic arteries: implication in the anti-atherosclerotic mechanism of dietary flavonoids. J Biol Chem 283:9424-943.
- 6) Lugli, et al. (2009) Quercetin inhibits lymphocyte activation and proliferation without inducing apoptosis in peripheral mononuclear cells. Leukemia Research 33:140-150.
- 7) L. Hanske, et al. (2009) The bioavailability of apigenin-7-glucoside is influenced by human intestinal microbiota in rats. J. Nutr., 139: 1095-1102.
- 8) T. Nakamura, et al. (2018) Lymphatic metabolites of quercetin after intestinal administration of quercetin-3-glucoside and its aglycone in rats. Arch. Biochem. Biophys. 645:126-136.
- 9) M. Nishikawa, et al. (2022) Comparison of metabolism and biological properties among positional isomers of quercetin glucuronide in LPS- and RANKL-challenged RAW264.7 cells. Biosci., Biotechnol., Biochem. 86:1670-1679.

研究課題名	食物蛋白誘発胃腸症(FPIES)患者の尿中脂質バイオマーカーの探索		
フリガナ	ヤマモト キワコ		
代表者名	山本 貴和子		
所属機関 (機関名) (役職名)	国立成育医療研究センター・アレルギーセンター 診療部長		
共同研究者	氏 名 (フリガナ)	所属機関・役職名	役割分担
	村田 幸久 (ムラタ タカヒサ)	東京大学大学院 農学生命科学研究科・准教授	脂質濃度の測定
本助成金による 発表論文, 学会発表	1. Umezawa K, Nagata N, Kabashima S, Inuzuka Y, Ogasawara H, Shimada M, Hamaguchi S, Natsume O, Fukuie T, Shimosawa T, Ohya Y, Murata T, Yamamoto-Hanada K. Urinary Prostaglandin Metabolites as Potential Biomarkers for Differentiating IgE-Mediated Food Allergy and Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome. Allergy. 2025 May 15. doi: 10.1111/all.16589. Epub ahead of print. PMID: 40371994. 2. Jimbo C, Hagino K, Suzuki D, Yaguchi T, Omori M, Harama D, Umezawa K, Hamaguchi S, Ishikawa F, Hirai S, Toyokuni K, Fukuie T, Ohya Y, Yamamoto-Hanada K: Hospital-based Introduction of Untested High-risk Foods for Down Syndrome Infant with Severe Food Protein-induced Enterocolitis Syndrome: A Case Report. JMA J 2025;8(1):306-309. 3. Umezawa K, Nagata N, Yamamoto-Hanada K, Kabashima S, Inuzuka Y, Ogasawara H, Fukuie T, Shimosawa T, Murata T, Ohya Y: Urinary PGDM is not elevated during oral food challenges for food protein-induced enterocolitis syndrome. EAACI Congress 2024, Valencia, 2024.6.1 4. Yamamoto-Hanada K: Symposium28 Raising Awareness: The Unmet Need in Understanding Non-IgE Mediated Food Allergies. APAAACI 2024 Congress, Kuala Lumpur, 2024.12.15 5. Jimbo C, Yamamoto-Hanada K, Hagino K, Yaguchi T, Omori M, Harama D, Suzuki D, Umezawa K, Hamaguchi S, Ishikawa F, Hirai S, Toyokuni K, Fukuie T, Ohya Y : Hospital-based Introduction of High-risk Foods for a Trisomy 21 Infant as High Risk of FPIES: Case Report. APAAACI 2024 Congress, Kuala Lumpur, 2024.12.15		

研究結果要約

食物蛋白誘発胃腸炎 (FPIES: Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome) は、主に乳児期に発症する IgE 非依存性食物アレルギーであるが、特異的な診断マーカーはない。一方で、症状が類似する即時型食物アレルギー (IgE-FA) では、肥満細胞の活性化によりプロスタグランジン D₂ (PGD₂) 尿中代謝物 PGDM が有意に上昇することを明らかにした。本研究では、PGDM と PGE₂代謝物 PGEM、PGF₂α 代謝物 PGFM の排泄比率が、FPIES と IgE-FA の病態の違いを反映する可能性を検討した。OFC 前後に採取した尿を LC-MS/MS で解析した結果、IgE-FA 群では PGDM が著明に上昇、PGDM/PGEM 比、PGDM/PGFM 比も高値を示した。一方、FPIES 群では PGDM の顕著な上昇はな

く、PGEM および PGFM が増加した。これは FPIES の病態における肥満細胞の関与が乏しく、IgE-FA とは異なる脂質代謝経路が関与することを示唆している。PGE₂は、IL-17 サイトカイン群と関連する炎症反応に関与しており、FPIES 症状発生機序に関連する可能性があり、本結果は FPIES の病態解明に新たな視点を提供するものである。本研究は、非侵襲的な尿検査による鑑別診断の実現に向けた第一歩となる成果であり、将来的には臨床応用や病型分類に貢献することが期待される。研究成果は、Allergy に掲載された (Urinary Prostaglandin Metabolites as Potential Biomarkers for Differentiating IgE-Mediated Food Allergy and Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome. Allergy, 2025, in press)

表 1

TABLE 1 | Details of urinary prostaglandins.

	PGDM		PGEM		PGFM		PGDM/PGEM ratio		PGDM/PGFM ratio	
	Before OFC, median (range)	After symptom, median (range)	Before OFC, median (range)	After symptom, median (range)	Before OFC, median (range)	After symptom, median (range)	Before OFC, median (range)	After symptom, median (range)	Before OFC, median (range)	After symptom, median (range)
FPIES	3.97 (0.83–8.71)	4.53 (0.62–19.27)	29.80 (2.05–127.12)	25.65 (11.55–1454.48)	8.43 (2.83–68.47)	26.67 (6.86–334.43)	0.14 (0.07–0.40)	0.04 (0.01–0.32)	0.29 (0.13–1.09)	0.06 (0.02–1.11)
IgE-mediated-FA	2.63 (0.81–15.19)	6.55 (1.57–46.34)	10.00 (2.90–74.36)	16.00 (2.63–83.31)	9.96 (1.08–33.15)	13.82 (1.31–73.65)	0.18 (0.04–2.84)	0.59 (0.08–3.40)	0.30 (0.05–2.44)	0.82 (0.10–4.69)

図 1

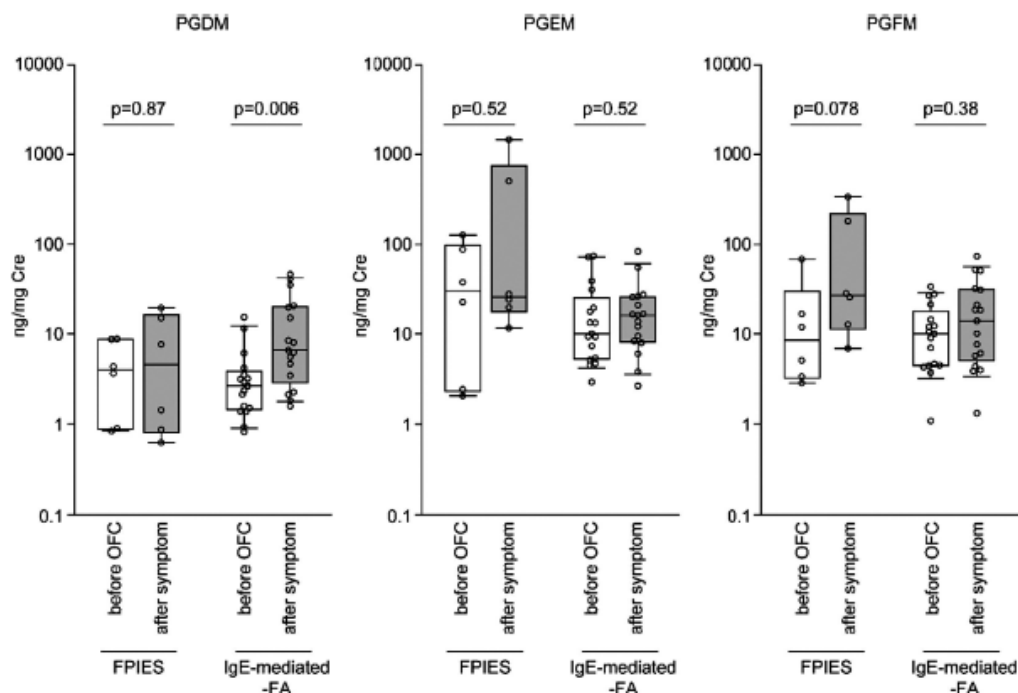


FIGURE 1 | PGDM, PGEM, and PGFM before OFC and after symptom. Each prostaglandin metabolite is shown corrected for urinary creatinine.

表 S1

Table S1 Characteristics of patients

Characteristic	All (n=23)	FPIES (n=6)	IgE (n= 17)	P value
Sex				
Male (%)	12 (52.2)	1 (16.7)	11(64.7)	0.069
Median age at OFC (month) [range]	94 [8-243]	22 [8-71]	126[59-243]	0.0009
Comorbidities				
Atopic dermatitis (%)	18 (78.3)	3 (50.0)	15 (88.2)	0.089
Food trigger				
Egg York (%)		3 (50.0)	0 (0)	
Egg White (%)		1 (16.7)	9 (52.9)	
Cow's Milk (%)		0 (0)	1 (5.9)	
Wheat (%)		0 (0)	1 (5.9)	
Peanuts & Tree Nuts (%)		0 (0)	4 (23.5)	
Fish (%)		2 (33.3)	0 (0)	

Data were analyzed by Fisher's exact test or Mann-Whitney U test

表 S2

Table S2 Details of FPIES OFCs															
Patient no.	Age (month)	Sex	Trigger food	slgE for trigger food (ku/L)	Time of symptom onset(min)	Severity in OFC	Number of vomiting episodes at OFC	Other minor criterias at OFC	Treatment	PGDM		PGEM		PGFM	
										Base	after symptom	Base	after symptom	Base	after symptom
1	71	F	Egg York	<0.10	211	Moderate	1	L, P	None	0.89	1.42	2.40	27.40	2.83	25.44
2	17	F	Egg York	6.93	143	Moderate	7	L, P	None	8.66	14.92	127.12	505.35	68.47	180.74
3	55	M	Swordfish	ND	195	Mild	1	None	IV, mPSL	0.83	0.86	2.05	11.55	5.04	12.66
4	9	F	Egg York	ND	150	Moderate	5	None	IV, mPSL	3.63	7.55	22.41	28.78	3.34	4.14
5	27	F	Egg White	<0.10	180	Moderate	6	L, P	IV, mPSL	4.30	0.62	37.19	19.54	16.51	27.91
6	8	F	Egg York	5.37	135	Moderate	16	L, P	IV, mPSL	8.71	19.27	87.87	1454.48	11.82	334.43

F, female; IV, intravenous maintenance infusion; L, lethargy; M, male; mPSL, intravenous methylprednisolone; ND, not determined; OFC, oral food challenge; P, pallor; slgE, specific IgE

F, female; IV, intravenous maintenance infusion; L, lethargy; M, male; mPSL, intravenous methylprednisolone; ND, not determined; OFC, oral food challenge; P, pallor; slgE, specific IgE

研究目的

食物タンパク質誘発性腸炎症候群 (FPIES) は、IgE を介さない食物アレルギーである。肥満細胞と腸管クロム親和性細胞が消化管におけるセロトニン産生に寄与することが知られているが、FPIES における症状発現後のセロトニン値の上昇、ならびにセロトニン受容体拮抗薬であるオンダンセトロンによる嘔吐症状の緩和効果は、セロトニンがその病態生理に関与していることを示唆している。しかしながら、FPIES の病態生理学的メカニズムは十分に解明されていない¹⁾。さらに、FPIES の診断のための決定的なバイオマーカーは現在のところ存在しない¹⁾。

全身性炎症においては、PGE₂、PGF₂α、PGI₂ などのプロスタグランジン (PG) が、主に上皮細胞および炎症細胞において、シクロオキシゲナーゼおよび特異的合成酵素を介して合成される。しかし、アレルギー性炎症においては、活性化肥満細胞がプロスタグランジン D (PGD) 合成酵素を強く発現し、大量の PGD₂ を産生する。

先行研究²⁻⁴⁾において、IgE 介在性食物アレルギー (IgE-FA) を有する小児における経口食物負荷試験 (OFC) 中の PGD₂ 代謝物であるテトラノール-PGDM の尿中濃度を、陽性群と陰性群で比較した。尿検体は両群とも OFC 前、および OFC 後 2、4、6、8、18 時間に採取した。陽性群では、PGDM 濃度は OFC 後 4 時間でピークに達し、症状の重症度と相関していた。PGDM は食物アレルギーのマウスモデルでも上昇していた。一方、PGE₂ 代謝物であるテトラノール-PGEM (PGEM) の尿中濃度に有意な変化は認められなかった⁵⁾。

これらの知見に基づき、尿中 PGDM、PGEM、PGFM が IgE-FA と FPIES を鑑別するためのバイオマーカーとなる可能性があるという仮説を立てた。本研究は、尿中プロスタグランジン代謝物の変化を IgE-FA と比較することにより、FPIES の病態における肥満細胞の役割を解明することを目的とした。

研究計画及び研究手法

(研究方法)

○対象者

国立成育医療研究センターまたは浜松医科大学を受診中の患者に対して本研究の説明し、保護者から同意を得られた方を対象とした。

OFC 中に症状があり、IgE-FA または急性 FPIES と診断された小児患者を対象とした。OFC の前後で採尿を実施した。IgE-FA 群では、OFC を実施し症状を発現した小児について、OFC 開始後 3~5 時間に採取された尿検体を解析対象とした。FPIES 群では、コンセンサスガイドラインに基づき FPIES が疑われる、または診断され、OFC を実施し嘔吐症状を発現した小児について、症状発現後 3~5 時間に採取された尿検体を解析対象とした。OFC 実施前に、患者の家族から研究への書面による同意を得た。

○OFC 方法

OFC はオープン法で実施した。IgE-FA に対する OFC は、日本の食物アレルギーガイドラインに基づいて実施した。急性 FPIES に対する OFC は、国際的な FPIES コンセンサスガイドライン

2017に基づいて実施した。OFC中は患者の症状に応じて、IgE-FAに対しては経口抗ヒスタミン薬と筋肉内アドレナリン注射、FPIESに対しては静脈内輸液とメチルプレドニゾロンの静脈内投与を行った。

○検体採取と測定

OFCの前と最中に尿サンプルを採取した。尿は、自律排尿困難児用に、使い捨ておむつにポリマーを入れて採取した。採取した尿は速やかに冷蔵し、24時間以内に凍結した。解凍後、液体クロマトグラフィ質量分析計(LC-MS/MS)を用いて尿中PGDM、PGEM、PGFMの濃度を測定し、尿中クレアチニン補正を行った。使い捨ておむつで採取した尿サンプルは、採取したポリマーに塩化カルシウムを加えて10分間振盪し、8060×gで5分間遠心分離することにより抽出した。サンプル(100 μ L)を1%ギ酸(700 μ L)および内部標準溶液(10 μ L)と混合した。混合溶液を固相抽出カートリッジ(OASIS HLB μ Elute、Waters、マサチューセッツ州ミルフォード、米国)に充填し、蒸留水およびヘキサンで洗浄した後、30%アセトニトリル(50 μ L)で溶出させ、質量分析計(LCMS-8060、島津製作所、京都、日本)を備えた高速液体クロマトグラフィー(Nexera 2、島津製作所、京都、日本)に注入し、製造元の指示通り、LC/MSMS Method Package for Lipid Mediators version 3およびLabSolutionsソフトウェア(島津製作所、京都、日本)を使用して分析した。尿中クレアチニン濃度は、LabAssay™ Creatinine キット(和光純薬工業、東京、日本)

を使用して測定した。

○統計解析

統計分析は、Excel ソフトウェアの Bell Curve (社会調査研究情報株式会社、東京、日本) および R (The R Foundation for Statistical Computing、オーストリア、ウィーン、バージョン 4.4.1) のグラフィカル ユーザー インターフェイスである EZR (自治医科大学さいたま医療センター、埼玉、日本、バージョン 1.68) を使用して実施した。

○当初の計画との差異

目標症例数 FPIES20 名、コントロール 10 名(合計 30 名)を予定していたが、期間中に対象となり FPIES 診断にいたった患者数が 6 名、IgE-FA の診断となった 17 名での解析とした。リクルートは通り実施したが、負荷試験で陰性になった対象者は、解析対象者から除外したため、FPIES 陽性例のみ解析対象者とした。

結果と考察

<結果>

年齢と性別を含む患者の詳細は別紙表 S1 に示し、FPIES OFC の詳細は表 S2 に示す。FPIES 群の参加者は、IgE-FA 群よりも根入れんが低かった。PGDM 値については(表 1、図 1)、IgE-FA 群(n=17)の OFC 前の中央値 2.63 ng/mgCre (範囲: 0.81~15.19 ng/mg)であったが、症状発現後には 6.55 ng/mgCre (範囲: 1.57~46.34 ng/mg)に増加した。対照的に、FPIES 群(n=6)では、OFC 前の中央値は 3.97 ng/mgCre (範

囲：0.83～8.71 ng/mg)、症状発症後は 4.53 ng/mgCre (範囲：0.62～19.27 ng/mg) であり、一部の症例でのみ上昇が見られた。

さらに、一部の FPIES 症例では PGDM、PGEM、PGFM 値が上昇した一方で、PGDM/PGEM 比および PGDM/PGFM 比は IgE-FA では顕著に上昇したのに対し、FPIES では上昇が見られなかった (表 1、図 S1)。これらの所見は、尿中 PGDM が FPIES で有意に上昇していないことを示唆しており、病態において肥満細胞の関与は IgE-FA ほど重要ではないことを示唆している。プロスタグランジン濃度の傾向は、ステロイド投与群と非投与群で同様であった。(図 S2)

<考察>

PGE2 の主な尿中代謝物である PGEM は、非特異的炎症を反映し、様々な細胞によって産生される。本研究では、FPIES 症例で PGEM の上昇を観察した。FPIES における IL-17 シグネチャーの上昇に関する過去の報告と一致して、本研究の結果は、PGE2 の上昇が IL-17 サイトカイン値の上昇と関連していることを示した⁶⁾。PGE2 と PGF2 α は、ヒスタミンやブラジキニンと並んで、炎症反応を誘発し、血管透過性を高めることが知られている⁷⁾。これらのメカニズムは、重症 FPIES 症例で観察される低血圧と腸浮腫の根底にある可能性がある。我々の以前の研究では、PGDM 値は若年層で高くなる傾向があることが示されている⁸⁾。本研究の FPIES 群は若年層であるにもかかわらず PGDM 値が低かったことを

考えると、PGDM は上昇していなかったことを示していると考えられる。

本研究の課題として、第一に、本研究は予備研究であり、尿中プロスタグランジン代謝物の臨床現場での有用性を確認するには、更なる臨床試験が必要である。小児集団の特性上、尿採取の正確なタイミングは厳密に統一されなかった。臨床現場では、周術期尿ドレナージなどの場合を除き、採取時間を常に正確に制御できるとは限らない。実際の適用においては、採取時間にはばらつきが生じる可能性があることを考慮し、本研究の結果に基づいて大規模な研究を実施し、将来の臨床性能評価において採取時間のばらつきが及ぼす影響をさらに調査する予定である。

第二に、尿中クレアチニン補正は尿濃度変動の影響を最小限に抑えるために適用されたが、排尿頻度は依然として代謝物レベルに影響を与える可能性がある。

第三に、プロスタグランジン濃度の傾向はステロイド投与群と非投与群で類似していたが、ステロイドは症状発現後に投与されたため、脂質産生への影響は最小限であったと考えられる。今後、より大規模なサンプル数で臨床試験を実施する予定である。さらに、尿中クレアチニン値は筋肉量や腎機能などの要因によって影響を受ける可能性があるため、今後の臨床性能試験では代替的な補正方法を検討したいと考えている。

結論として、本研究の結果は IgE-FA と FPIES に関連する異なる代謝経路を明らかにし、尿中プロスタグランジン代謝物は臨床鑑別のバイオマーカーとしての可能性を示唆している。尿検査な

どの非侵襲的な診断検査は、小児科診療において特に望ましいものである。

<学会・論文発表>

本研究の成果については、国際学会（ヨーロッパ臨床免疫アレルギー学会、アジア免疫アレルギー学会）で口頭発表やシンポジウムでは行った。また、論文については、Allergy 誌や JMA ジャーナルに投稿し、採択され、掲載されている。

学会発表

1. Umezawa K, Nagata N, Yamamoto-Hanada K, Kabashima S, Inuzuka Y, Ogasawara H, Fukuie T, Shimosawa T, Murata T, Ohya Y: Urinary PGDM is not elevated during oral food challenges for food protein-induced enterocolitis syndrome. EAACI Congress 2024, Valencia, 2024.6.1
2. Yamamoto-Hanada K: Symposium28 Raising Awareness: The Unmet Need in Understanding Non-IgE Mediated Food Allergies. APAAACI 2024 Congress, Kuala Lumpur, 2024.12.15
3. Jimbo C, Yamamoto-Hanada K, Hagino K, Yaguchi T, Omori M, Harama D, Suzuki D, Umezawa K, Hamaguchi S, Ishikawa F, Hirai S, Toyokuni K, Fukuie T, Ohya Y: Hospital-based Introduction of High-risk Foods for a Trisomy 21 Infant as High Risk of FPIES: Case Report. APAAACI 2024 Congress, Kuala Lumpur, 2024.12.15

論文報告

1. Umezawa K, Nagata N, Kabashima S, Inuzuka Y, Ogasawara H, Shimada M, Hamaguchi S, Natsume O, Fukuie T, Shimosawa T, Ohya Y, Murata T, Yamamoto-Hanada K. Urinary Prostaglandin Metabolites as Potential Biomarkers for Differentiating IgE-Mediated Food Allergy and Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome. Allergy. 2025 May 15. doi: 10.1111/all.16589. Epub ahead of print. PMID: 40371994.
2. Jimbo C, Hagino K, Suzuki D, Yaguchi T, Omori M, Harama D, Umezawa K, Hamaguchi S, Ishikawa F, Hirai S, Toyokuni K, Fukuie T, Ohya Y, Yamamoto-Hanada K: Hospital-based Introduction of Untested High-risk Foods for Down Syndrome Infant with Severe Food Protein-induced Enterocolitis Syndrome: A Case Report. JMA J 2025;8(1):306-309.

今後関連学会でも発表を行う予定である。

今後の研究活動について

本研究内で FPIES のメカニズムについて貴重な結果が得られた。今後はさらなる大規模な研究を実施し、メカニズムの解明および臨床現場において尿中プロスタグランジン代謝物の実用化に向けた測定の簡便化・精度向上を進めていく。

参考文献

- 1) A. Nowak-Węgrzyn, M. Chehade, M. E. Groetch, et al., “International Consensus

- Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome: Executive Summary-Workgroup Report of the Adverse Reactions to Foods Committee, American Academy of Allergy, Asthma & Immunology,” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 139, no. 4 (2017): 1111–1126.e4.
- 2) S. Inagaki, S. Maeda, M. Narita, et al., “Urinary PGDM, a Prostaglandin D2 Metabolite, Is a Novel Biomarker for Objectively Detecting Allergic Reactions of Food Allergy,” *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 142, no. 5 (2018): 1634 - 1636.e10
 - 3) Y. Inuzuka, K. Yamamoto-Hanada, T. Nakamura, T. Shimosawa, T. Murata, and Y. Ohya, “Detection of Allergic Reactions During Oral Food Challenge Using Noninvasive Urinary Prostaglandin D2 Metabolites,” *Clinical and Experimental Allergy* 52 (2022): 176-179.
 - 4) S. Inagaki, T. Nakamura, O. Natsume, et al., “Urinary Prostaglandin D(2) Metabolite Appears to Be a Useful Biomarker for Evaluating the Status of Egg Oral Immunotherapy in Children,” *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice* 9 (2021): 4164-4166.e2.
 - 5) S. Maeda, T. Nakamura, H. Harada, et al., “Prostaglandin D2 Metabolite in Urine Is an Index of Food Allergy,” *Scientific Reports* 7, no. 1 (2017): 1-8.
 - 6) C. Yao, D. Sakata, Y. Esaki, et al., “Prostaglandin E2-EP4 Signaling Promotes Immune Inflammation Through Th1 Cell Differentiation and Th17 Cell Expansion,” *Nature Medicine* 15, no. 6 (2009): 633-640, <https://doi.org/10.1038/nm.1968>.
 - 7) S. Basu, “Novel Cyclooxygenase-Catalyzed Bioactive Prostaglandin F2 α From Physiology to New Principles in Inflammation,” *Medical Research Reviews* 27, no. 4 (2007): 435-468.
 - 8) M. Shimada, K. Yamamoto-Hanada, Y. Inuzuka, et al., “Association of Age, Allergic Rhinitis, and Regular Food Intake With Urinary Tetranor-PGD Metabolite Levels,” *Journal of Laboratory and Precision Medicine* 7 (2022): 36.

役員・評議員・研究助成審査委員名簿

2025年9月30日現在

※敬称略、50音順

1.役員

理事長	井手 弘	常勤	元日本ハム北海道ファクトリー（株）代表取締役社長
副理事長	岩間 清	非常勤	日本ハム（株）中央研究所 所長
専務理事	高萩陽一	常勤	日本ハム（株）中央研究所より出向
理事	一色賢司	非常勤	（一財）日本食品分析センター 学術顧問、 北海道大学名誉教授
	伊藤節子	非常勤	同志社女子大学名誉教授
	宇理須厚雄	非常勤	藤田医科大学 医学部 客員教授
	高松伸枝	非常勤	別府大学 食物栄養科学部 教授
	畑江敬子	非常勤	お茶の水女子大学名誉教授
	村田容常	非常勤	東京農業大学 教授
監事	岡本 健	非常勤	日本ハム（株）経理財務部 次長

2.評議員

評議員	荒川 隆	非常勤	（一財）食品産業センター 理事長
	井川伸久	非常勤	日本ハム（株）代表取締役社長
	大石泰之	非常勤	日本ハム（株）執行役員 品質保証部、お客様志向推進部、中央研究所担当
	大社啓二	非常勤	社会福祉法人大寿庵 理事長
	大谷敏郎	非常勤	（公財）日本植物調節剤研究協会 理事長
	菊田行紘	非常勤	TMI 総合法律事務所 弁護士
	河野陽一	非常勤	（地独）東金九十九里地域医療センター 理事長 千葉大学名誉教授
	柴田瑠美子	非常勤	国立病院機構福岡病院アレルギーセンター 顧問・非常勤医師（小児科）
	清水 誠	非常勤	東京大学名誉教授 東京農業大学客員教授

3.研究助成審査委員

委員長	村田容常	東京農業大学 教授
副委員長	一色賢司	(一財) 日本食品分析センター 顧問 北海道大学名誉教授
委員	穂山 浩	星薬科大学 薬学部 教授
	五十部誠一郎	日本大学 生産工学部 特任教授
	伊藤浩明	あいち小児保健医療総合センター センター長
	川村 理	香川大学 農学部 教授
	楠 隆	龍谷大学 農学部 教授
	倉園久生	東京栄養専門学校 獣医師
	小西史子	女子栄養大学 栄養学部 実践栄養学科 教授
	下条直樹	千葉大学附属病院アレルギーセンター 客員教授
	白川 仁	東北大学大学院農学研究科 教授
	立花宏文	九州大学大学院農学研究院 主幹教授
	鍋谷浩志	東京家政大学 栄養学部 栄養学科 教授
	藤澤隆夫	国立病院機構三重病院名誉院長
	松本健治	国立成育医療研究センター研究所
	森山達哉	近畿大学 農学部 学部長
	好田 正	東京農工大学大学院農学研究院 教授

2024 年度事業の審査は以下の委員にもご担当いただきました。

三橋富子	元日本大学短期大学部 教授
------	---------------

公益財団法人ニッポンハム食の未来財団 案内

1. 目 的

食物アレルギーや食品分野における研究、研究支援及び啓発活動を行い、もって世界の人々においしさの感動と健康の喜びを提供することを目的とする。

2. 事業内容

本法人は、前条の目的を達成するため、次の事業を行います。

- (1) 食物アレルギーや食品分野に関する講演会等の開催
- (2) 食物アレルギーや食品分野に関する印刷物の刊行及び広報活動
- (3) 食物アレルギーや食品分野に関する試験研究及び調査
- (4) 食物アレルギーや食品分野に関する研究を行う者に対する助成
- (5) 食物アレルギーや食品分野に関する指導者の育成及び啓発活動への支援
- (6) 食物アレルギーや食品分野に関する研究及び啓発活動に関し功績のある者の表彰
- (7) その他この法人の目的を達成するために必要な事業

3. 沿 革

2015 年 1 月 27 日に日本ハム株式会社により「一般財団法人ニッポンハム食の未来財団」として設立されました。

内閣総理大臣より公益認定を受け、2017 年 4 月 1 日より「公益財団法人ニッポンハム食の未来財団」として活動しています。

4. 情報公開等

Website : <https://www.miraizaidan.or.jp/>

X : <https://x.com/syokunomirai/>

Instagram : <https://www.instagram.com/syokunomiraizaidan/>

YouTube : <https://www.youtube.com/channel/UCnJDGexmLgLr6betsgvYKUQ>



5. 2025 年度主な事業活動

- ・ 2025 年度研究助成の実施、2026 年度研究助成の公募及び 2024 年度研究助成の成果報告会の実施
- ・ 第 11 回食物アレルギー対応食 料理コンテストの実施
- ・ 主催セミナー（栄養士向け・保育者向け）の実施
- ・ 2025 年度団体活動支援助成（一般型・緊急支援型）の公募及び実施
- ・ 当財団 Web サイトからの情報発信

以上

2024 年度研究助成事業 成果報告会 要旨集

2025 年 9 月 30 日発行

公益財団法人ニッポンハム食の未来財団
理事長 井手 弘

〒305-0047 茨城県つくば市千現 2-1-6
つくば研究支援センターA-24

TEL 029-893-4466

FAX 029-893-4360

E-mail info@miraizaidan.or.jp

©公益財団法人ニッポンハム食の未来財団 2025