

## 研究成果報告書（研究要旨）

研究課題名	食品に対する乳児期のアレルギー性反応獲得メカニズムと発症リスク評価（課題番号：1505） （研究期間：平成27年度～平成28年度）
主任研究者名	研究者名：木戸 博 所属機関：国立大学法人徳島大学先端酵素学研究所

本研究では、IgE の抗原親和性測定法、母乳、血液、環境中のアレルゲン定量法、乳児食物アレルギーの発症機序の解析研究が実施された。研究には、微量検体で定量解析が可能な densely carboxylated protein (DCP) アレイが用いられた。

IgE のアレルゲン親和性解析では、抗原の競合的結合阻害による IC50 値で親和性を表す方法が選択された。他の抗原親和性解析方法として、蛋白質の立体構造修飾試薬を用いる方法が知られているが、IgE 抗体以外に抗原の立体構造にも影響するため、適切な方法ではないと判定した。母乳や環境中のアレルゲン濃度測定は、DCP アレイを用いた ELISA 法が確立された。しかし、血清中のアレルゲンは、IgG との複合体形成が強固でアレルゲンの解離が困難なため定量測定が困難であった。食物アレルギーの発症機序解析では、2013-2014 年に生まれた乳児 84 名がプロジェクトに参加した。これらの乳児を対象に、卵白 (EW) や牛乳 (CM) 抗原に対する抗体産生を出生時から生後 6 か月まで、イムノグロブリンクラススイッチの視点で解析した。その結果、出生後から大量の CM 抗原を摂取する人工栄養児では、生後 2 か月の早期に CM 特異的 IgG1 と IgA の高濃度増加と、生後 4 か月の IgE と IgG2 の増加を特徴とするクラススイッチ成熟過程 (Type 1) が観察された。Type1 では、低い IgE/IgG1 比と IgG2 産生を伴う低親和性 IgE 産生をバイオマーカーとして、経口免疫寛容に進むと示唆された。一方、母乳に微量に含まれる EW の感作を受ける母乳栄養児の場合、多くはゆっくりとしたクラススイッチ成熟で Type 1 が進むが、IgG1 増加が不十分な時に一部の乳児で湿疹による経皮感作を受けると、IgG2 産生を伴わない高度 IgE 産生のクラススイッチ成熟過程 (Type 2) が観察され、高い IgE/IgG1 比と高抗原親和性 IgE バイオマーカーとした食物アレルギーへのハイリスク者と推定された。

## 研究成果報告書（本体）

研究課題名	食品に対する乳児期のアレルギー性反応獲得メカニズムと発症リスク評価 (研究期間：平成27年度～平成28年度)
主任研究者名	所属：国立大学法人徳島大学先端酵素学研究所 氏名：木戸 博（研究課題番号：1505）

### I 研究期間及び研究目的等

#### 1 研究期間

平成27年度～28年度

#### 2 研究目的

多くのアレルギーは乳児期の食物アレルギー、アトピーから始まる。我々は臍帯血の抗原特異的IgEを高感度検出するマイクロチップを開発し(Anal Chim Acta 706: 321-327, 2011)、胎児は胎盤を介する母体のIgG-抗原複合体由来の抗原感作を受けて、食品抗原特異的IgEを体内で産生することを証明した(J Allergy Clin Immunol 130(1):113-21, 2012)。胎児は体内に抗原とIgE抗体を持ちながらアレルギーの発症報告は無い。その理由として、胎児期の抗原特異的IgEは、抗原認識部位のsomatic mutation頻度の低い未熟な低親和性抗体のため抗原架橋反応が弱くアレルギー反応を起こさない事、生後6か月までの繰り返される母乳と環境からの抗原感作で高親和性IgEに成熟して、食物アレルギー、アトピーを発症することを明らかにした(J Allergy Clin Immunol 133:904-5, 2014)。抗原侵入を防御する皮膚のバリアー機能の増進で、アトピーを有意に抑制できることを最近明らかにした(J Allergy Clin Immunol 134:824-830, 2014)。以上から次の3項目を本研究で明らかにする。

- ① アレルギー性反応獲得メカニズムの観点から、乳児 IgE 抗体の低親和性から高親和性への変換機序を明らかにする。また低親和性と高親和性 IgE 抗体の分別定量法を開発する。
- ② 乳児がさらされる母乳と環境中の抗原量、血液の抗原量を測定する。なお、母乳中の抗原量測定法は確立しているが、血中の IgG-抗原複合体からの抗原解離については未だ効果的な方法が無い。これら抗原量測定の技術開発を実施する。
- ③ 生後 6 か月までの乳児の抗原特異的・低親和性と高親和性 IgE 抗体を分別定量して、高親和性獲得の変換点を調査して、アレルギー発症のリスク評価を実施する。

#### 3 研究体制

研究項目名	個別課題名	研究担当者名 (所属機関名)
①食品に対するアレルギー性反応獲得メカニズムに関する研究	低親和性IgE抗体と高親和性IgE抗体の分別定量法の開発	木戸 博（徳島大学）

①食品に対するアレルギー性反応獲得メカニズムに関する研究	母乳、血液、環境中の抗原定量法の確立	木戸 博 (徳島大学)
①食品に対するアレルギー性反応獲得メカニズムに関する研究	低親和性IgEから高親和性IgEに変換する時期の同定と発症リスク評価	大矢 幸弘 (国立成育医療研究センター)
	親和性測定	木戸 博 (徳島大学)

#### 4 倫理面への配慮について

本プロジェクトは、患者の血液を検体に用いることから、「食物アレルギー原因成分の蛋白チップによる迅速エピトープ解析」のタイトルで、徳島大学の臨床研究倫理審査委員会の承認を得、患者のプライバシー保護に当たっている。

承認番号：3060、承認日：2013年8月26日

## II 研究内容及び成果等

(1) 研究項目名：①食品に対するアレルギー性反応獲得メカニズムに関する研究

1) 個別課題名：低親和性 IgE 抗体と高親和性 IgE 抗体の分別定量法の開発 (研究担当人名：木戸 博 (所属機関名：徳島大学))

これまでの研究から低親和性 IgE 抗体と高親和性 IgE 抗体の分別定量法には、①caotropic 試薬 diethylamine による結合親和性修飾の受け易さの違いによる測定法と、②我々が開発した Densely carboxylated Protein (DCP) microarray に固相化した抗原と可溶性抗原との競合結合阻害で抗原親和性を評価する測定方法がある。①の caotropic 試薬 diethylamine の場合、diethylamine が抗体以外に抗原にも影響すること、揮発性に富む試薬のためインキュベーション中の揮発により濃度変化が起きる等の不安定性要因が考えられる事から、図 1 a に示す②の競合結合阻害法が適切な測定法と判定した。競合結合阻害の場合、50%結合阻害を引き起こす抗原の濃度 (IC<sub>50</sub> 値) (図 1b) で表記することで、抗原の種類による結合親和性を客観的に比較評価が可能となる優位性がある。以後の解析は、抗原の競合結合阻害法で実施した。

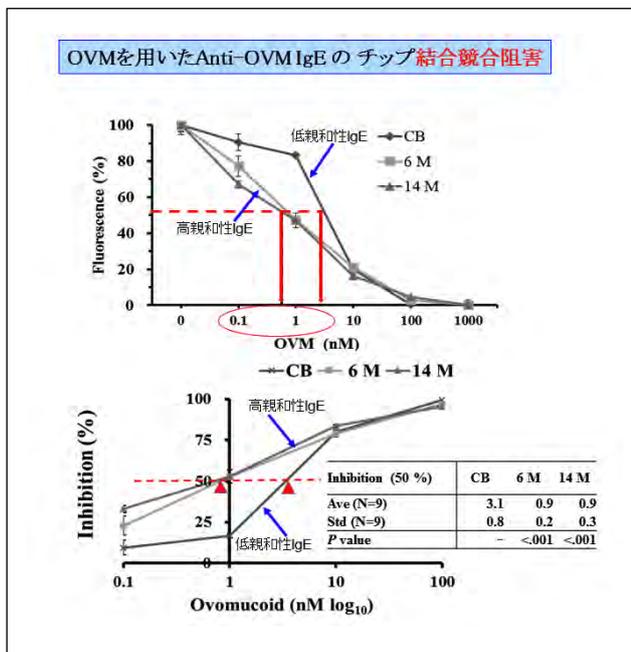


図 1 a. 結合競合阻害による IgE の親和性の測定

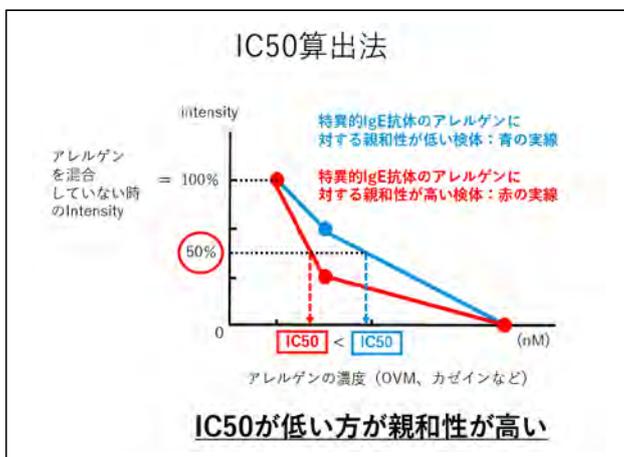


図1b. IC<sub>50</sub> 算出法

臨床検体を用いた抗原親和性の解析では、徳島大学病院と健康保険鳴門病院の臨床研究倫理審査委員会の承認の基に、2016年5月までに収集できた合計84名の母体血、臍帯血、2, 4, 6か月齢の乳児の血液（微量採取）を用いて実施した。従来、抗原特異的IgEは、イムグロブリンクラススイッチの機序に従ってアレルギー発症時に産生される高抗原親和性IgEのみであると考えられてきた。しかし、高感度DCPチップを使用した最近の研究から、上記の考えは大幅な修正が必要で、高い抗原親和性を示すIgE以外に、経口抗原摂取によって体内で産生されるIgEには、これまで検出することのできなかつた低抗原親和性IgEで、この低親和性IgEが経口免疫寛容の成立に関与すると推定している。即ちこれまでのIgE抗体の測定系は、高親和性IgE抗体しか測定できなかつたため、低親和性IgE抗体の存在に気付くことができなかつたと考えられる。図2に示すように、母乳に微量に含まれる鶏卵抗原のovalbumin (OVA)によって経口感作され、生後6か月目にIgG1が1400 BUg1/mL以上に蓄積した後で緩やかにIgEが増加した乳児群は、IgG1とIgEの分散図から $Y(\text{IgE})=0.1086X(\text{IgG1})-160.2$ , ( $X \geq 1400 \text{ BUg1/mL}$ )の1次関数【1】を示した。一方で、IgG1が1400 BUg1/mLまで増加しないうちにIgEが急速に増加する乳児群は、IgG1とIgEの分散図から $Y(\text{IgE})=1.372X(\text{IgG1})-47.619$ , ( $X < 1400 \text{ BUg1/mL}$ )の1次関数【2】を示した。両群のIgEの抗原親和性を測定したところ、下記に示す違いが明らかになった。

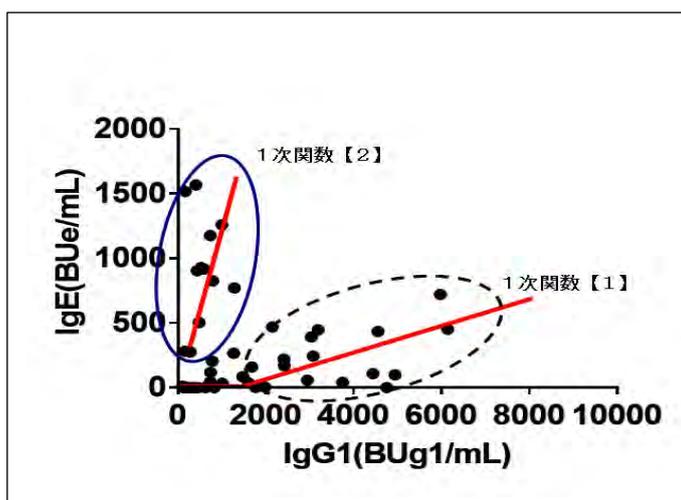


図2. 生後6か月目の乳児のOVAに対するIgG1とIgE相関関係分散図に見られた2群の異なる相関関係（湿疹が誘発する異なるIgG1→IgEクラススイッチの2型）

1次関数【2】を示す群の乳児は、湿疹の発症が84.6%と高頻度で、1次関数【1】を示す乳児の湿疹の発症は43.7%と低かった。1次関数【1】を示す乳児で、IC<sub>50</sub>値の測定が可能な100 BUe/mL以上を示した10名と、1次関数【2】を示す乳児で、IC<sub>50</sub>値の測定が可能な500 BUe/mL以上を示した10名を選択して、OVAに対する親和性を測定した。具体的な測定例を表1に、両群間のIC<sub>50</sub>値の違いを図3に示す。湿疹による経皮抗原感作を受けて、1次関数【2】を示す群では高親和性IgEが検出され、食物アレルギーのハイリスク者と推定された。一方で、1次関数【1】を示す群では低親和性IgEが検出され、経口免疫寛容に発展すると推定された。今後、生後6か月以後の解析を進めて、経口免疫寛容での低親和性IgEの存在と、高親和性IgEによるアレルギーの発症を検証する。

乳児 No	栄養	OVA特異抗体		
		IgE (BUe/mL)	IgE IC <sub>50</sub>	IgG1 (BUg1/mL)
2	混合乳	434.94	25.36	4552.76
5	混合乳	243.75	57.21	3081.66
9	混合乳	108.74	90.33	4439.77
10	混合乳	771.02	9.24	1287.6
12	混合乳	169.68	6.97	2417.21
13	混合乳	720.1	75.29	5975.7
24	混合乳	159.09	7.77	1680.21
34	混合乳	1258.83	6.53	1002.23
45	混合乳	221.61	61.26	2415.57
47	混合乳	825.15	1.85	790.77
49	母乳	446.78	8.69	3189.44
64	母乳	452.37	78.03	6142.96
71	母乳	1176.2	8.28	737.87
73	混合乳	469.79	47.33	2145
74	混合乳	916.93	15.41	593.76
76	混合乳	928.63	4.64	522.47
80	母乳	1567.23	6.68	410.28
81	母乳	603.95	5.29	480.41
82	母乳	903.92	6.31	434.81
83	母乳	1517.27	18.81	168.12

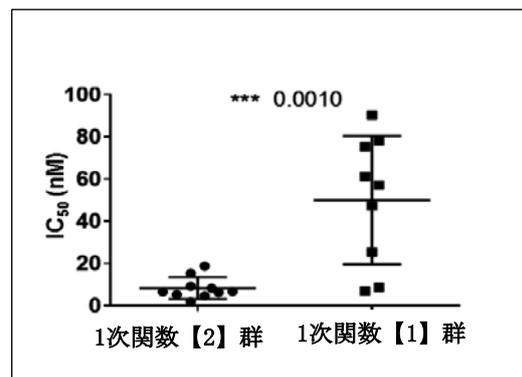


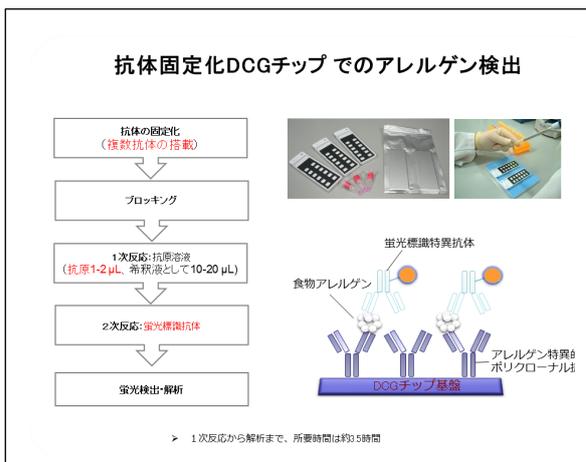
表1. 乳児の抗卵白アルブミン(OVA)-IgE抗体の IC<sub>50</sub> 抗原親和性測定例      図3. 湿疹発症・鶏卵アレルギーハイリスク群と経口免疫寛容群のIC<sub>50</sub> 値

2) 個別課題名：母乳、血液、環境中の抗原定量法の確立（研究担当者名：木戸 博（所属機関名：徳島大学））

近年、アレルギーの発症と抗原感作ルート、抗原感作量への関心が高まり、母乳、血液、環境中の抗原定量法の確立が望まれているが、正確な測定方法は未だ無い。これらの背景から、本プロジェクトでは、DCP マイクロチップを用いて、母乳、血液、環境中の抗原定量法の開発を目指した。

DCP microarray 基盤上に食物抗原特異的抗体を共有結合で高密度に搭載し、サンドイッチ ELISA により母乳、血液、環境中の抗原定量を行った（図4）。作製した DCP microarray は、スポット間差、アレイ間差の CV 値は 15% 以下で、現状で信頼性のある測定法であることを確認した。またこの方法による抗原定量可能な濃度を表 2 に示す。この方法を用いて、部屋の隅においたシャーレから採取

した環境中アレルゲンの濃度の検討、児の頬からテープ法で採取した検体中のアレルゲン量の検討、母乳中のアレルゲン量の検討、血液中のアレルゲン量の検討を実施した。その結果、シャーレから採取した環境中のアレルゲンや、児の頬からテープ法で採取したアレルゲンの最適測定方法が明らかになり、定量が可能となった。具体的な実施例として、乳児の頬からテープ法で採取した抽出液に含まれるOVAの濃度を抗OVA抗体固定化DCP microarrayでの測定した結果と既存のEILSA法で測定した結果を示した。なお市販のEILSAにはOVA測定キットがないため、卵白抗原の約80%がOVAであることから、代わりに卵白ELISAキット(モリナガ)を用いて測定することで、類似の結果が得られるか否かを検討した(図5a,b)。両者間でほぼ類似の傾向が観察された。なお母乳中の抗原定量は、母乳中に含まれる抗体が比較的抗原親和性の低いIgAであるため、抗原の多くは解離しているか、ゆるく結合しているため、DC microarray上に固相化されたIgG抗体で抗原を捕捉して定量測定できることが明らかになった。しかし、血中抗原の多くは親和性の高いIgG抗体と結合しているため、様々な方法で抗原を抗体から遊離させて測定する方法を実施してみたが、これまで満足すべき遊離抗原の回収に成功していない。なお国際的にもこの問題は未だ解決されていない。今後も、引き続き検討を進める。



測定抗原	測定可能な範囲
ovalbumin	0.39~50 ng/mL
beta-lactoglobulin	0.39~50 ng/mL
gliadin	1.56~50 ng/mL
Der p1	0.39~50 ng/mL

図 4. 抗アレルゲン特異抗体固定化 DCP チップによるアレルゲンの定量の方法

表 2. DCP チップ法によるアレルゲンの測定可能範囲

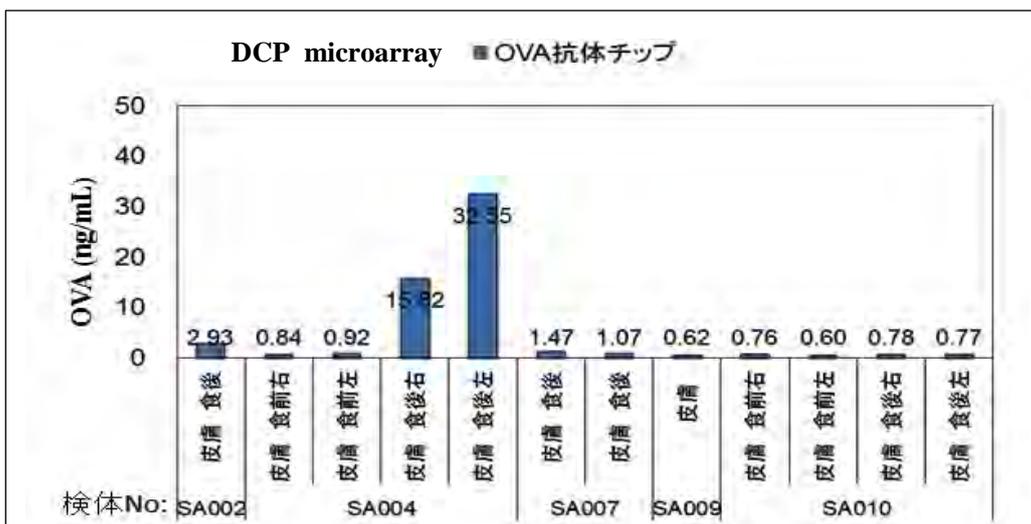


図 5a. DCP microarray 法による児の頬からテープ法で採取した抽出液中の OVA の定量

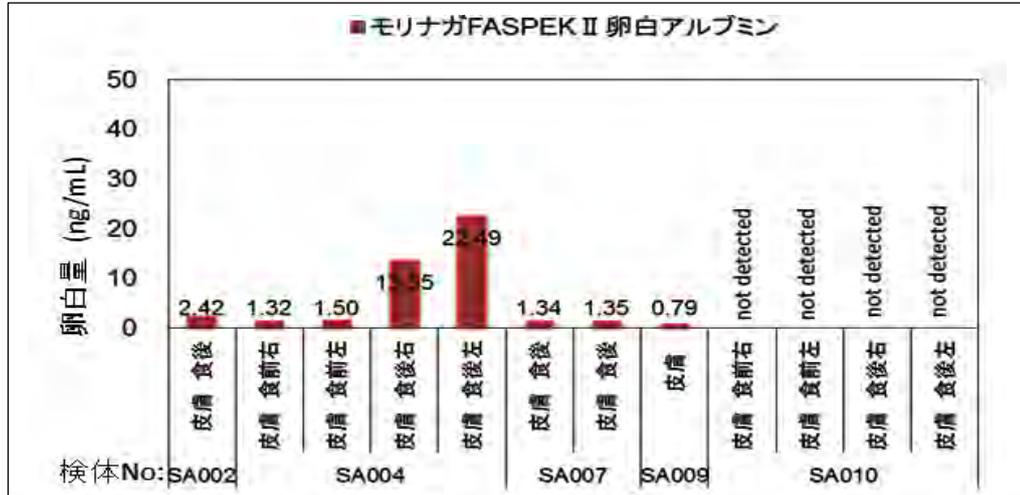


図 5b. ELISA 法による児の頬からテープ法で採取した抽出液中の卵白の定量

3) 個別課題名: 低親和性 IgE から高親和性 IgE に変換する時期の同定と発症リスク評価 (研究担当者氏名: 大矢 幸弘 (国立成育医療研究センター)、木戸 博 (徳島大学))  
 胎児期に抗原感作されて出生した乳児が持つ低親和性 IgE 抗体は、どのような経過で高親和性 IgE 抗体に変化するかの機序を明らかにするため、生後より 2 か月間隔で 6 か月までの検体を採取した。経口免疫寛容と食物アレルギー発症の免疫学的基盤が、乳児期に決定されると仮定して、収集した検体の抗原特異的イムノグロブリンクラススイッチ解析を実施した。

アレルギー発症に関与する IgE の産生は、イムノグロブリンクラススイッチによって起きる。これまでに知られているイムノグロブリンクラススイッチリコンビネーションによるイムノグロブリンの産生機序について、図 6. に示す。

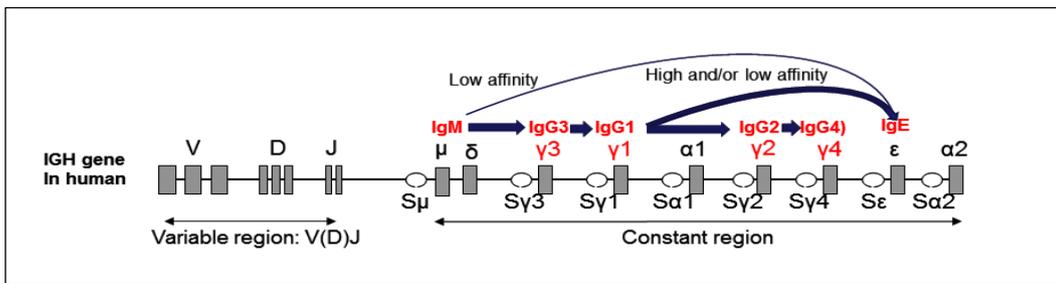


図 6. イムノグロブリンクラススイッチリコンビネーションによるイムノグロブリンの産生機序

収集した検体の背景を表 3 に示す。母乳栄養児は 37%、混合栄養児は 56%、人工乳

養児は 7%で、この期間の乳児における鶏卵摂取歴はない。生後 6 か月までに約 2 週間以上持続した湿疹の罹患は、50%確認され、残りの 50%は湿疹が無いが、あったとしても速やかに消退した乳児が 50%認められた。男女比は各 50%であった。

	number of subjects(%)
<b>Gender of infants</b>	
boy	42 (50%)
girl	42 (50%)
<b>Feeding until 6-month-old</b>	
only breast	31 (37%)
mixed with breast and milk	47 (56%)
only milk	6 (7%)
<b>Allergic family histories* of parents</b>	
only mother	20 (24%)
only father	20 (24%)
both parents	29 (35%)
no family histroy	11 (13%)
we can't check history of eather parent	4 (5%)
<b>Experience of eczema until 6-month old</b>	
experient	42 (50%)
no experient	42 (50%)
<b>Experience of symptoms by egg or milk injetion at one-year-old**</b>	
experient by egg allergy	5 (6 %)
experient by milk allergy	0 (0 %)
didn't experient by egg neither milk	61 (73 %)
we can't follow-up untill 1-year-old	8 (9 %)

\* Family histories include food allergy, atopic dermatitis, bronchial asthma, pollen allergy, allergic rhinitis, allergic conjunctivitis.  
 \*\*Experient of symptoms include symptoms when oral food challenge test.

表 3. 調査した 84 名の乳児の背景

出生直後から大量の牛乳アレルゲンに経口感作される人工栄養と混合栄養児では、イム生後2か月の早い時期に、ノグロブリンクラススイッチパターンにおいて抗原特異的IgG1とIgAがピークに達し、続いてIgG2とIgE産生が4か月目からほぼ同時に増加するパターンを示した(図7a, b)。一般にIgMからIgG3, IgG1へのクラススイッチとIgMからIgAへのクラススイッチは、速やかに進むと言われている。体内で最も多量に産生される抗体がIgG1で、その後IgG2とIgG4へクラススイッチされる経路と、IgG1からIgEが産生される経路に、IgG1を分岐点として分かれる。出生直後から大量の牛乳アレルゲンに経口感作される場合は、上記のクラススイッチが生後6か月までに急速に進み、最後に産生されるIgG4ができ始めていることが分かる。このような経過を辿る場合、IgE/IgG1比

は低値を示し、IgEは低抗原親和性を示し、経口免疫寛容に発展して行くと推定された。一方母乳中の微量卵白の経口アレルギーに感作される母乳栄養と混合栄養児では、前者に比較して卵白アレルギー特異抗体の産生のクラススイッチは約2月遅れ、しかも緩やかな産生経過を辿り、抗原摂取量の違いによるアレルギー特異的免疫系の成熟過程に大きな違いのあることが明らかになった。経口摂取アレルギー摂取量の違いによるイムノグロブリンクラススイッチパターンの違いが明らかになった。

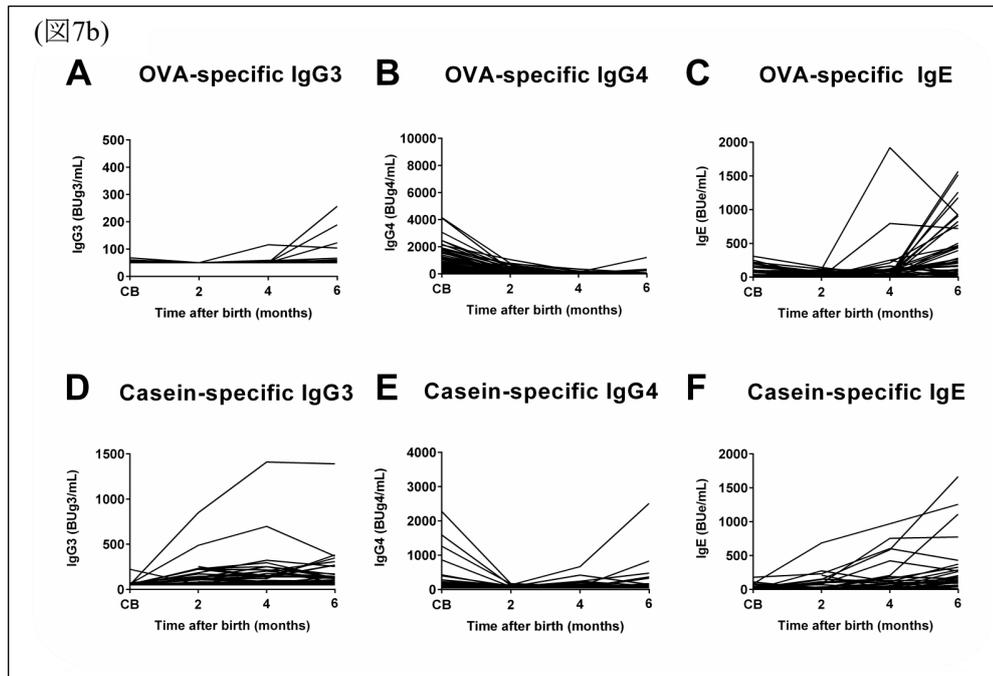
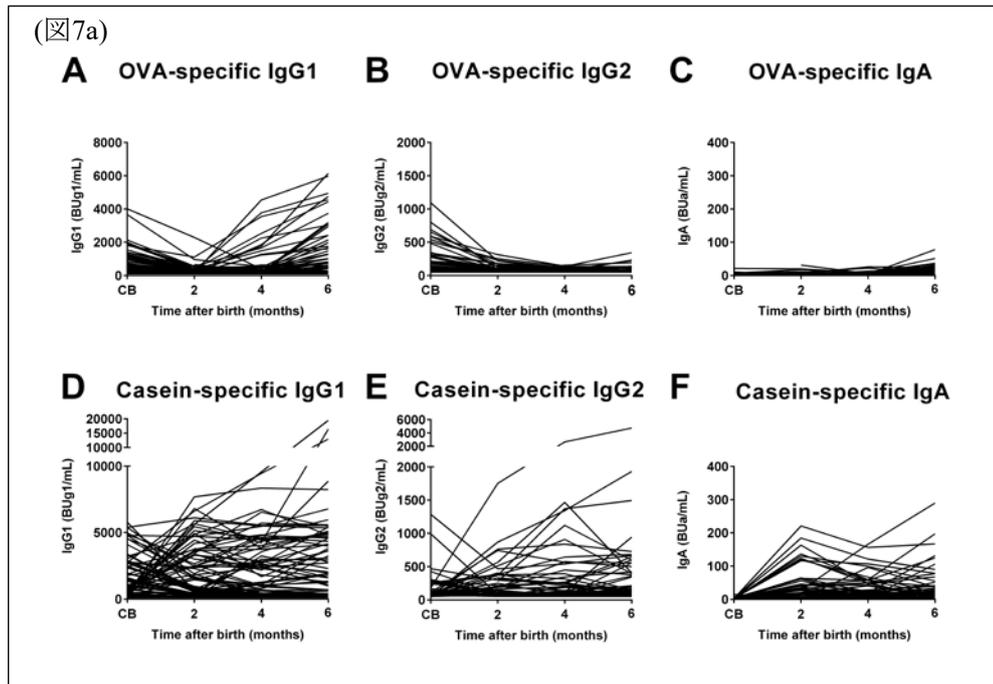
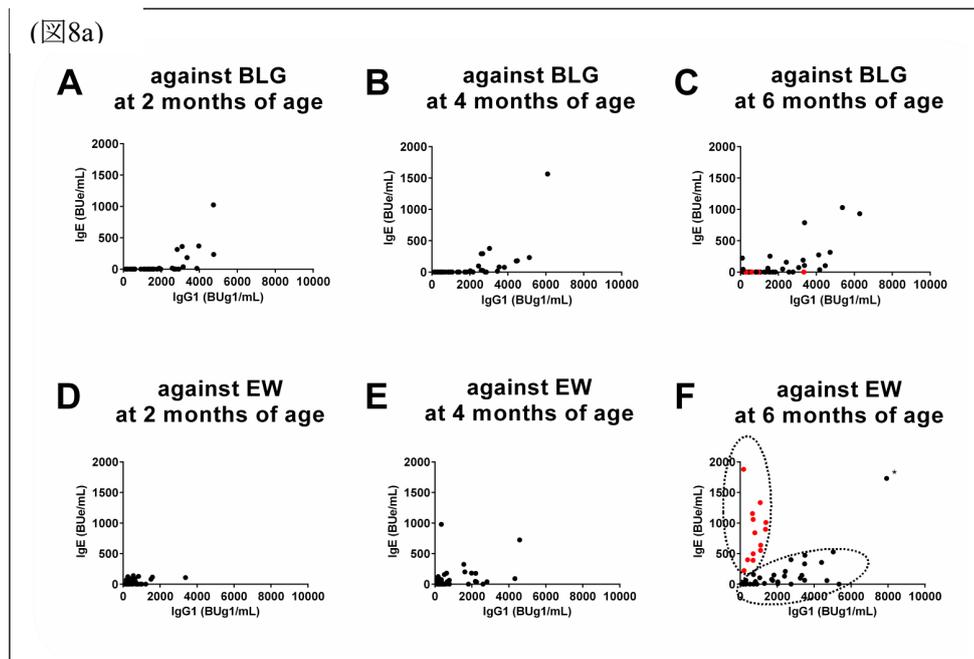


図7.母乳栄養、混合栄養児による微量鶏卵抗原OVAの感作と、人工栄養と混合栄養児

による大量のミルク抗原、casein感作による特異的抗体 (IgG1、IgG2、IgA:図7a)、(IgG3、IgG4、IgE:図7b)の産生経過

- ・経口感作と経皮感作で異なるIgE産生イムノグロブリンクラススイッチ ( $\gamma 1 \rightarrow \epsilon$ と $\gamma 1 \rightarrow \gamma 2$ )のパターンの違いの発見

図8に牛乳の主要抗原の $\beta$ -lactoglobulin (BLG)と卵白抗原のegg white (EW)に対するIgE産生イムノグロブリンクラススイッチ ( $\gamma 1 \rightarrow \epsilon$ )に焦点を当てたIgG1とIgEとの経時的相関図(図8a)と、( $\gamma 1 \rightarrow \gamma 2$ )に焦点を当てたIgG1とIgG2との経時的相関図(図8b)を示す。微量鶏卵抗原感作により、上記の遅いイムノグロブリンクラススイッチパターンを示す場合、そのままゆっくり抗体産生過程が成熟するケース(図8a,F、黒丸でラベルした群)(図2,3における1次関数【1】の群)と、その間に湿疹による経皮抗原感作を伴った場合(図8a,F、図8b,F、赤丸でラベルした群)(図2,3における1次関数【2】の群)で見られるIgG2産生を伴わない高いIgE産生を特徴とするクラススイッチパターンが明らかになった。赤丸でラベルした群のIgEは、図2、3に示すように高親和性IgEを示し、この群の中から1歳児の鶏卵食物アレルギーが発症した。



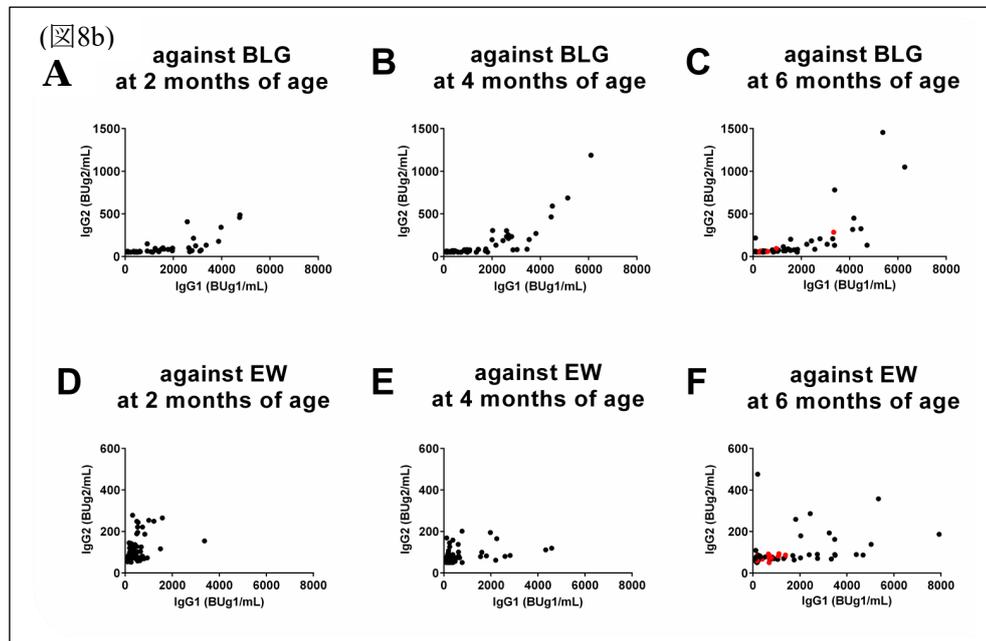


図8. BLGとEW抗原に対する経時的IgE産生イムグロブリンクラススイッチ( $\gamma 1 \rightarrow \epsilon$ ) (図8)と、IgG2産生イムグロブリンクラススイッチ( $\gamma 1 \rightarrow \gamma 2$ )の違い(図8b)。黒丸でラベルした群の乳児はIgG2の産生を伴いながら、イムグロブリンクラススイッチは進み、経口免疫寛容を獲得すると予想された。

・経口免疫寛容と食物アレルギーの発症を示唆するIgE/IgG1比

赤丸でラベルした群の湿疹者は、84.6%で高率であるが、黒丸でラベルした群の乳児の湿疹者は43.7%を占め、両群間の湿疹の発症率に有意差が認められるが、図9が示すように、湿疹の有無だけによって食物アレルギーの発症が決まるわけではないことが判明した。即ち、湿疹を発症した乳児でも早期にイムグロブリンクラススイッチが進み、抗体産生成熟の経過を辿っている抗原(この場合CM関連抗原)の場合には、赤丸でラベルしたようなIgEの産生が全く見られていない。この点に注目して抗原感作の違いによる湿疹の影響をIgE/IgG1比で調べた結果を図9に示す。

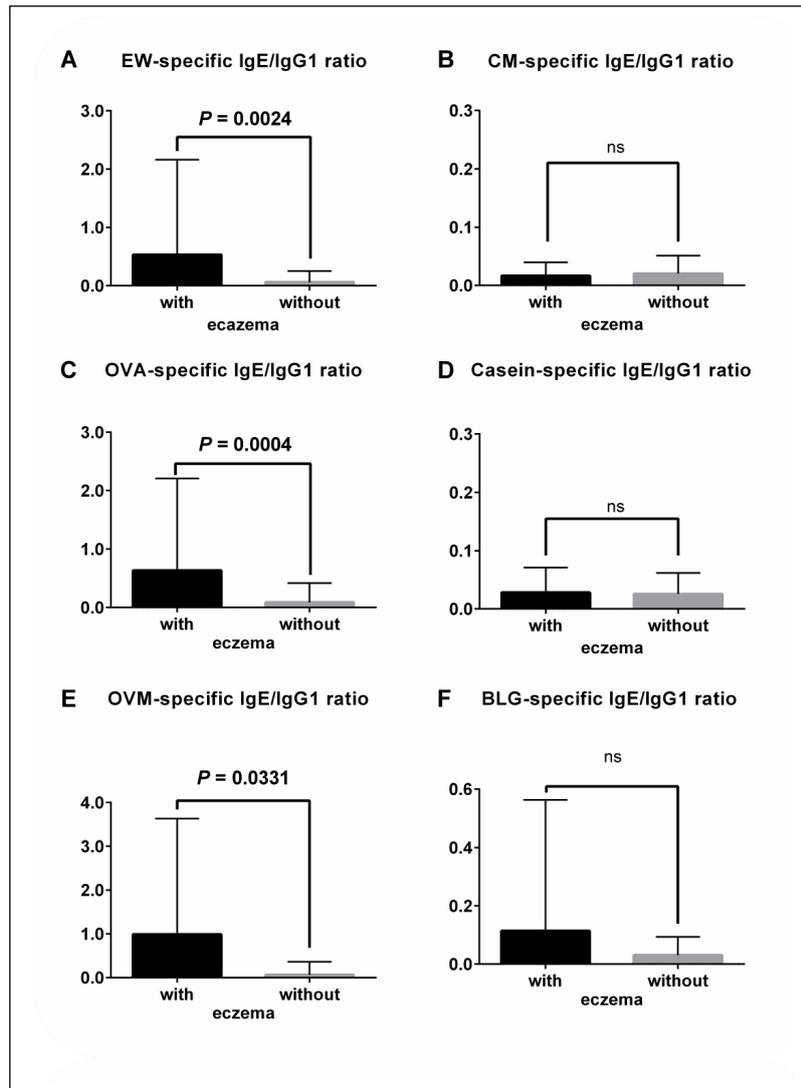


図9. 乳児期のアレルゲン経口摂取量の違いが誘導する湿疹による経皮抗原感作感受性の違い

微量抗原感作のEW抗原が示すように、ゆっくりと進展する抗体産生成熟経過を辿る乳児のみで、湿疹によって有意に高値のIgE/IgG1比となり、食物アレルギーのハイリスク者になるが、出生直後から高用量のアレルゲンを摂取して、早期の抗体産生成熟経過を辿る乳児では、湿疹によるアレルゲン特異的IgE/IgG1比の有意な増加は見られなかった。

## (2) 研究全体の成果、考察及び結論

低抗原親和性 IgE 抗体と高抗原親和性 IgE 抗体の分別定量法の開発では、抗原によって親和性は大きく異なると予想されることから、低親和性 IgE 抗体と高親和性 IgE 抗体を論じる際に、抗原親和性の客観的相互比較が可能な 50%競合阻害の抗原濃度

(IC<sub>50</sub> 値)で表示する方法を提示したことは、今後の発展を考えると大きな意義がある。その上で、出生直後から比較的大量の経口抗原摂取例で見られるような IgG2 産生と同時に低親和性 IgE の産生されるイムノグロブリンクラススイッチは、経口免疫寛容の成立に至ることを見出したことは、新しい知見を提示しており大変意義深い。さらに、未だ不明な経口免疫寛容成立機序の本質に迫る研究の糸口として期待される。一方微量の経口抗原摂取の場合のように、ゆっくりとイムノグロブリンクラススイッチが進む経過を取ることで未だ免疫寛容状態に至らない段階で、湿疹等による経皮抗原感作が生じると、IgG2 産生を伴わない急速な IgE 産生が始まるが、この場合に産生される IgE は高親和性 IgE の特徴を示し、その後食物アレルギーが発症していることから、食物アレルギー発症のリスク評価因子になると推定された。このことは、近年経皮抗原感作が食物アレルギーの原因となるとの仮説を高親和性 IgE の特徴から支持している。

さらに、本研究では環境中の抗原を定量する方法を開発しており、抗原感作リスクを定量化する試みとして意義深い。環境中の抗原量や乳児の頬に付着した抗原量、母乳中の抗原量の定量は、これまでの研究から目途が付いたが、血液中の抗原量の定量には未だ困難を伴っている。しかし、母乳中の抗原量、母乳が乳児の頬に付着することによって起きる経皮感作のリスクを、感作抗原量で示せる可能性がでてきており、今後アレルギーの発症予防、発症リスクを考える上で重要な知見を提示する方法として意義深い。以上、これらの研究は食品に対する乳児期のアレルギー性反応獲得メカニズムを解明し、アレルギーの発症リスクを定量的に示す評価法を提示している。

### III 本研究を基に発表した論文等

- 1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト
  - 1) Kawamoto N, Kamemura N, Kido H, Fukao T. Detection of ovomucoid-specific low-affinity IgE in infants and its relationship to eczema. *Pediatr Allergy Immunol*. 2017, <http://dx.doi.org/10.1111/pai.12702>.
  - 2) 木戸博. 予防と治療に役立つクラススイッチと抗原親和性を測定する高性能タンパクチップ. *アレルギーの臨床*. 2017, 37, 248-51.
  - 3) 木戸博, 杉本真弓. クラススイッチを基盤に免疫応答をモニターする高性能タンパクチップの臨床応用. *アレルギー*. 2016, 65, 764-9.
  - 4) 木戸博, 杉本真弓, 亀村典生, 窪田賢治司, 鈴木宏一. クラススイッチを基盤に免疫環境と免疫応答をモニターする高性能タンパクチップの臨床応用. *臨床免疫・アレルギー科*. 2015, 64, 488-94.
- 2 本研究を基にした学会発表の実績
  - 1) 0-6 ヶ月乳児のアレルゲン特異的抗体価イムノグロブリンクラススイッチの検討、ポスター、苛原誠、佐々木陽平、品原和加子、杉本真弓、香美祥二、木戸博、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016/6/17-19、国内。
  - 2) アレルギーモデルマウスにおける微量検体の継続的抗原特異的 IgE 測定、ポスター、佐々木陽平、吉田裕亮、品原和加子、多田仁美、鈴木宏一、木戸博、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016/6/17-19、国内。

- 3) 保湿剤塗布によるアトピー性皮膚炎の発症予防、口頭、大矢幸弘、堀向健太、森田久美子、成田雅美、山本貴和子、木戸博、松本健治、斎藤博久、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016/6/17-19、国内。
- 4) 乳児期の卵白アレルギー特異的 IgE 抗体の低から高親和性変化の検討、苛原誠、佐々木陽平、品原和加子、杉本真弓、香美祥二、木戸博、第65回日本アレルギー学会学術大会、2016/6/17-19、国内。
- 5) Early exposure is necessary for inducing cow's milk specific IgG4 during the infancy. Oral. Kawamoto N, Kamemura N, Kawamoto M, Kido H, Fukako T. 第 53 回日本小児アレルギー学会学術集会、2016/11/8-9、国内。
- 6) クラススイッチを基盤に免疫応答をモニターする高性能タンパクチップの臨床応用、木戸博、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/26、国内。
- 7) 急速経口免疫療法における抗原特異的 IgG および IgA と予後に関する検討、杉本真弓、木戸博 等、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/27、国内。
- 8) 新生児、乳児便中の抗原特異的 SIgA の新測定法、亀村典生、木戸博 等、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/27、国内。
- 9) 食物特異的 IgG は食物アレルギーの診断に有用か、夏目統、木戸博、大矢幸弘、等 第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/27、国内。
- 10) 乳児アトピー性皮膚炎に対する保湿スキンケアの重要性、大矢幸弘、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/27、国内。
- 11) アトピー性皮膚炎は保湿剤塗布により予防できるのか、森田久美子、大矢幸弘、等、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/26、国内。
- 12) アトピー性皮膚炎の発症に関する乳児スキンケア介入の影響、大矢幸弘、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/27、国内。
- 13) 乳児アトピー性皮膚炎の発症予防、大矢幸弘、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/28、国内。
- 14) 小児アトピー性皮膚炎患者のステロイド不安と治療経過および湿疹重症度との関係、斎藤麻耶子、大矢幸弘、等、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/26、国内。
- 15) 卵乳経口免疫療法における維持量の違いによる安全性・効果の検討、明石眞幸、大矢幸弘、等、第 64 回日本アレルギー学会学術大会、2015/5/27、国内。
- 16) 小児医療現場におけるアトピー性皮膚炎のプロアクティブ療法、大矢幸弘、第 114 回日本皮膚科学会総会、2015/5/31、国内。

### 3 特許及び特許出願の数と概要

該当なし

### 4 その他（各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等）

該当なし

#### IV 主任研究者による申請時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

##### 1 申請時に申告した達成目標

達成目標	評価結果	自己評価コメント
(1)低親和性 IgE 抗体と高親和性 IgE 抗体の分別定量法の開発	5	達成目標の中で、特に新規に見出した低親和性 IgE の意義を、経口免疫寛容の成立に見出したことは意義深い。今後、各抗原毎に、低親和性と高親和性 IgE の親和性の範囲を定めて行く重要な研究に進むことになるが、その指標として競合阻害法による IC50 値の測定システムを確立したことは意義がある。
(2)母乳、血液、環境中の抗原定量法の確立	4	達成目標である母乳、血液、環境中の抗原定量の中で、母乳と環境中の抗原定量については、定量評価が可能である事を示す知見を得た。昨年度からの課題であった血液の抗原定量は、抗原・IgG 抗体複合体の効果的な分離法を見出すことができなかった(国際的にも有効な手立てが報告されていない)。しかし、乳児で問題となる母乳中の抗原量測定を確立したことは評価に値する。
(3)低親和性 IgE から高親和性 IgE に変換する時期の同定と発症リスク評価	5	予想外に進展した研究項目で、IgE に対する従来の概念を根底から変えるパラダイムシフトを予感させる。具体的には、低親和性 IgE が経口免疫寛容の成立に関与し、高親和性 IgE が経皮感作に伴うアレルギーの発症に関与する事、これら低親和性 IgE と高親和性 IgE の産生には、異なるクラススイッチのパターンが関与していることを明らかにしている。アレルギーの発症に関するリスク管理にも直結しており、今後の展開が多いに期待される。

## 2 研究全体の自己評価

項目	評価結果	自己評価コメント
(1) 研究目標の達成度	5	予想外に進展しており、アレルギーの発症機序に関して、従来からあいまいであった経口免疫寛容とアレルギー発症との違いを、経口免疫寛容の成立に関与する低親和性 IgE と、アレルギーの発症に関与する高親和性 IgE で説明し、その発症機序を IgG1→IgE と IgG1→IgG2 クラススイッチで見事に説明した点は高い評価に値する。これらのエビデンスは、これまで明確でなかった乳児期のアレルギー発症のリスク管理に応用できることが期待される。今後、主要アレルゲンを対象に低親和性と高親和性 IgE の IC50 値が定まると、アレルギーの発症予防と治療に大きく貢献すると期待される。
(2) 研究成果の有用性	5	アレルギー性反応獲得メカニズムと発症リスク評価を、これまでにない高感度 DCP マイクロチップで進めている研究である。これまで見ることのできなかつた低親和性 IgE の扉を最初に開いたことから、これまで不明な点の多かったアレルギーの発症機序の解明、経口免疫寛容とアレルギー発症との違いの分野で、大きく貢献すると期待される。さらに、アレルギーの予防、アレルギーの進行度評価、発症リスク評価に関する的確な数値情報を提供することとなり、国民の安全と安心に資する有用な研究成果と考える。
<p>総合コメント</p> <p>乳児期におけるイムノグロブリンのクラススイッチをこれまでにない高感度 DCP マイクロチップでモニターして、経口免疫寛容の成立に低親和性 IgE が関与していることを明らかにした世界初の研究成果である。これらの研究成果は、アレルギーの予防とアレルギーの進行度評価、発症リスク評価に関するよりの確な数値情報を提供することとなり、国民の安全と安心に資する有用な研究と考える。</p>		

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。

ありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。