

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：好酸球性消化管疾患の原因食物特定のための検査法の開発
2. 研究開発代表者：松本健治（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）
3. 研究開発の成果

好酸球性消化管疾患（Eosinophilic Gastro-intestinal Disorder：EGID）は、非特異的な消化器症状を呈し、生検組織中の好酸球数の増加で診断される疾患群である。近年、欧米を中心に好酸球性食道炎患者数の著増が報告されており、本邦においても新生児乳児期の症例の報告が増加している。

EGIDの一部の患者では明らかに特定の食物（特に乳幼児期の患者では牛乳由来タンパク）の摂取によって症状が惹起される。EGIDの原因となる食物が同定出来れば、これまでステロイド剤の内服が唯一の治療法であり、長期の服用によって慢性的なステロイドの副作用に苦しんできた患者に、多大な恩恵がもたらされる。しかし、通常食物アレルギーの診断に有用な特異的IgE抗体が、本症には全く役に立たない。我々はこれまでに、こうした患者では末梢血単核細胞を特異抗原（動物由来抗原ではLPS除去後）刺激した際に、抗原特異リンパ球の幼若化（Thymidine 取り込み）が観察され、培養上清中に各種のサイトカインが分泌される事を報告してきた（Morita et al. J Allergy Clin Immunol 2013）。本研究ではこの原理を応用し、純化した抗原を用いた *in vitro* 実験系で、乳以外の動物や植物由来抗原による患者の抗原特異的なリンパ球応答を指標とした抗原同定法の開発を目指す。本年度は米、大豆、小麦（2種）のタンパクの抽出を終了した。また、このタンパク画分には lipopolysaccharide が含まれていないことを確認した。予備検討として、健常者の末梢血単核細胞（PBMC）を用いて、これらのタンパクと共培養した際の細胞増殖をサイミジン取り込み法にて検討している。また、各種牛乳タンパク抗原を用いたリンパ球幼若化反応（Antigen-specific lympho- stimulation test: ALST）を、より厳密なLPS除去とプロトコール管理により、より高感度（疑陽性が最小）で再現性の高い実験系を構築した。この方法で学習コホートとして患者56名、IgE依存性牛乳アレルギー10名の結果を用いて、カットオフポイントをほぼ設定した。

EGIDで特に抗原が不明な場合や体重増加不良が症状の場合には病勢の把握が困難であったことから、腸管局所の好酸球性炎症の病勢評価に便中の好酸球顆粒蛋白 Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN)の測定を行う。本研究では、採取条件の最適化を目指すと同時に、EDNを経時的に測定することで病勢の評価が可能かどうかを検討する。本年度は、健常者からの230検体の結果を用いて正常値を決定した。また、一部のEGID症例での著明な上昇が明らかとなった。更に、便中のプロテアーゼによるEDNの分解について検討し、プロテアーゼ阻害剤の存在下に比して、通常の方法で採取した便では約70-50%程度のEDN濃度であることが明らかとなった。このことは、患者便中には消化酵素活性が残存しており、検体採取後の処理状況によってEDN濃度が変化するために注意が必要であることを意味する。

新生児・乳児期のEGID患者は、嘔吐と血便の有無によって4つの異なる病型に分類できることを見いだしている（J Allergy Clin Immunol 2011;127:685-8）。今回、採取した検体をこの病型別に分類したところ、血便を伴う病型（Cluster 1、Cluster 4）で高値となる傾向が見いだされた。今後更に症例を増やして検討を行うと共に、なぜ吸収障害や体重増加不良を呈し、病理学的に好酸球浸潤の著しいCluster 3で高値とならないのかについて検討を加える。