

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：経皮感作による重篤な小麦アレルギーの病態解明ならびに予防法の確立
2. 研究開発代表者：松永佳世子（藤田保健衛生大学 医学部 皮膚科学 教授）
3. 研究開発の成果

本研究では、小麦の加水分解産物グルパール(GP)19Sによる食物アレルギー確定例の患者のゲノムDNAを使用して全ゲノム関連解析を行うこと、ならびに原因蛋白質を詳細に解析することにより、食物アレルギーの病態解明につなげることを目指した。

1. 経皮感作による重篤な小麦アレルギーの発症要因の解明

480例の小麦の加水分解産物であるGP19Sによる食物アレルギー確定患者の臨床検査学的所見の検討を行った。平成26年度は、GP19Sにより小麦アレルギーを発症した患者480例、一般集団528例のゲノムを使用して、フィラグリン機能喪失変異との関連解析を行ったが、関連は認められなかった。GP19Sによる食物アレルギー患者471名、コントロール7971名について、これまで報告されたアトピー性皮膚炎に関連する19領域のうち、日本人でも多型性が認められる17領域、22個の遺伝子多型について関連解析を行なった。その結果、いずれの多型ともGP19Sによる食物アレルギー発症との有意な関連は認められなかった。

2. 経皮感作による重篤な小麦アレルギー難治化の遺伝要因の解明

当該患者では、治癒症例が徐々に増えてきている一方で、小麦を摂取し運動やアスピリンを負荷することで症状の再燃が繰り返され、難治化を示す症例が散見されていた。よって、本研究課題である「経皮感作による重篤な小麦アレルギー難治化の遺伝要因の解明」の実施を計画した。その後、難治症例についての情報提供を医療施設に広く呼びかけたが難治症例を収集することは困難であった。

3. GP19S（旧茶のしずく抗原）によるアレルギー反応に関連する遺伝要因の探索

GP19Sによる食物アレルギーの症例468例、および2700例のコントロールを用いてゲノムワイド関連解析(GWAS)を行った。GWASのチップはillumina HumanOmniExpress Exome BeadChipを用い、532,838 SNPsについて検討を行った。フィルタリングおよびPCA解析を行い、本土集団に限定して解析を行った。集団構造化の影響については $\lambda_{gc}=1.045$ であり、構造化の影響は少ないと考えられた。GWASの結果、HLA-class II領域の遺伝子多型と疾患発症との間にゲノムワイド水準($P < 5 \times 10^{-8}$)を満たす強い関連($P=3.51 \times 10^{-23}$, OR=2.21)を認めた。

4. 経皮感作による重篤な小麦アレルギーの疾患感受性遺伝子の検討

全ゲノム関連解析の結果ではHLA class II領域に強い関連が認められた。疾患感受性アレルが複数同定されているが、連鎖不平衡が認められるためconditional解析を行い、疾患感受性アレルと抵抗性アレルを同定した。平成27年度に新たに収集した独立したサンプル（患者47名と日本人一般集団358名）を使用した追認研究においても一次解析で得られた疾患感受性アレルと抵抗性アレルは $P < 0.05$ で追認可能であった。

5. タンパク立体構造解析

ペプチドによる免疫寛容誘導による治療は、症状が軽快しない難治例患者に対する有効な治療法となる可能性があり、今後の新規治療法の確立にむけて、B細胞エピトープの立体構造、T細胞エピトープの立体構造解析を目的とした。今回、グルパール19Sのエピトープ候補の解析とそれに必要なHLAの立体構造解析を、遺伝子解析の結果から導き出す研究を行い、その特徴を解明した。

6. ELISPOT法によるT細胞エピトープ同定法の開発

加水分解小麦に対するアレルギー患者の多くは自然寛解に至る一方、長期にわたり寛解を得られない患者もあり、問題になっている。今回は加水分解小麦のT細胞エピトープ解析を通じて、小麦のアレルゲンのうちのT細胞を刺激する条件を検討し、発症メカニズムに迫るとともに、治療用食品の開発を目指すものである。現在、研究は継続されている。