

論文要旨

Concordance of CAP-RAST responses for food and indoor allergens between sibling pairs with atopic dermatitis.

アトピー性皮膚炎罹患同胞対における
食物と室内抗原 CAP-RAST の関係の検討

辻 真弓

【序論および目的】

近年の疫学研究において、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、アレルギー性鼻炎、喘息、アレルギー性結膜炎といったアレルギー患者は、特に小児や若年層において近年増加傾向にあり、先進国の20%の小児が罹患しているといわれている。アレルギー疾患患者の家族の50-75%が何らかのアレルギー疾患に対して既往歴があり、双生児の研究においては、二卵性双生児より一卵性双生児の方がお互いに同じアレルギー疾患に罹患する率が高いという報告がある。これらはアレルギー疾患の発症に対する遺伝的要因の関与を示唆している。しかしアレルギー発症のメカニズムに関しては未だはっきりと解明されていない。また近年のアトピー性皮膚炎の genome-wide screens において、アトピー性皮膚炎と喘息の患者に同様のゲノム領域が発見された。アトピー性皮膚炎と乾癬、その他の慢性的な皮膚疾患に共通したゲノム領域が発見され、皮膚疾患に共通する遺伝子の存在も明らかになってきた。しかしながらこれらの遺伝子要因だけでは、ここ30年にアレルギー疾患が増加している理由を完全に説明することは難しい。アレルギーは遺伝-環境の相互作用で発症するといわれており、近年の食生活の変化、エンドトキシン、ウイルス、喫煙、大気汚染などの環境の変化がアレルギー疾患の増加に関与しているのではないかと推測されている。

アトピー性皮膚炎は、アレルギーマーチの初期に罹患する疾患である。特にアトピー性皮膚炎と食物アレルギーの関係は深く、日本ではアトピー性皮膚炎に罹患している小児の80%(米国70%)が食物アレルギーにも罹患していると報告されている。またアトピー性皮膚炎と食物アレルギーの両方に罹患している子供達は、室内アレルギーにも罹患しやすく、アレルギーマーチが進行しやすいという報告もある。よってアトピー性皮膚炎患者において、食物アレルギーに対する risk factor を明らかにする事はアレルギーマーチを予防するためには重要なことだと考えられる。

アレルギー疾患が体質として遺伝することは広く知られている。しかしピーナツのような一部の食物ではアレルギー発症に関与する遺伝子多型が報告されている。同胞間で抗原特異的な反応が遺伝するのかどうかははっきりとわかっていない。また食物特異的な抗原反応が同胞間で共通するか否かを詳細に調べた研究は日本では行われていない。よって、本研究では、アトピー性皮膚炎に罹患している同胞対を対象に、食物・ハウスダスト・ダニに対するアレルギー反応を個人ならびに同胞間で検討することとした。

【材料および方法】

本研究では、2004年4月から2006年6月の間に熊本県の皮膚科専門病院を受診したアトピー性皮膚炎に罹患している同胞(二人兄弟・姉妹限定)218組436人のうち、2006年6月から7月の間に同院を受診し、かつ保護者の質問票への記載の協力を得られた168組336人を対象とした。アトピー性

皮膚炎の診断は、日本皮膚科学会が規定する診断基準に従った。対象者のうち 36%は既に他院でアトピー性皮膚炎の診断をなされていた。解析に使用した CAP-RAST の結果は、最初にアトピー性皮膚炎と診断された際に行われたものを使用した。対象者の CAP-RAST の項目数にばらつきがあるが、8つの食物（卵、牛乳、大豆、ピーナツ、ゴマ、小麦、そば、米）とハウスダスト、ダニの 10 抗原のうち、少なくとも 2つの項目に対し CAP-RAST が行われている。また 85%の対象者が 7項目以上検査している。質問票の内容は、両親のアレルギーの既往歴、母親の授乳期の除去食の有無、対象者の出生時体重、授乳形態、離乳食開始時期、ペットの有無、両親の喫煙・飲酒状況である。統計学的検定は、spearman の順位相関と 多変量ロジスティック回帰モデルを用いた。尚、本研究は、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科の倫理委員会の承認を得て行われたものである。

【結果】

47%の対象者が何らかのアレルゲンに RAST 陽性であった。RAST 陽性の割合は卵が 46%と最も高く、続いて牛乳 21%、小麦 14%、ゴマ 14%、ピーナツ 10%、大豆 8%であった。全体として男児の方が女児より RAST 陽性になる傾向が認められた。Spearman の順位相関で第一子、第二子それぞれで CAP-RAST スコアと抗原間の関係をみた場合、第一子において、oil seeds(大豆・ピーナツ・ゴマ)間で相関係数 0.700 以上の強い相関がみられた。また oil seeds と grain foods(小麦・そば・米)間でも強い相関がみられた。第二子も同様の傾向がみられたが、第一子に比べて相関係数は低い傾向にあった。次に同胞間の関係を Spearman の順位相関を用いて検討した。牛乳(相関係数 0.178)、大豆(相関係数 0.227)、ピーナツ(相関係数 0.166)、ゴマ(相関係数 0.186)、小麦(相関係数 0.192)において有意に同胞間で相関が認められた。

CAP-RAST 陽性反応に関係すると思われる要因と抗原との関係を、多変量ロジスティック回帰モデルを用いて検討した。男児(オッズ比 2.05、95%信頼区間 1.09-3.86)が卵 CAP-RAST 陽性反応のリスクとなっていた。ハウスダストにおいては年齢が高いほど CAP-RAST 陽性を示しやすい傾向にあった(P for trend=0.070)。第一子、第二子それぞれでロジスティック解析を行った場合、第一子では男児(オッズ比 2.08、95%信頼区間 1.09-4.00)、両親のアレルギー既往歴(両親共にアレルギー既往あり オッズ比 3.51、95%信頼区間 1.10-11.2)が卵アレルギー反応のリスクとなっていた。ハウスダストにおいては第二子で年齢(P for trend=0.001)と男児(オッズ比 6.22 95%信頼区間 1.66-23.3)がリスクとなっていた。

【結論及び考察】

本研究の結果より、アトピー性皮膚炎罹患児の CAP-RAST スコアにおいて特に oil seeds 間で強い相関が認められた。この傾向は第一子に強くみられた。また oil seeds に RAST 陽性の小児の同胞は、多くの食物、特に oil seeds で RAST 陽性になる傾向があった。一方 RAST 陽性になる頻度の高い卵は、同胞間で関連はみられなかった。oil seeds が自己・同胞間で関係が認められた原因は不明であるが、Howell らがピーナツアレルギー患者に HLA class II の遺伝子多型が認められることを報告している。よって oil seed ように一部の食物特異的抗原反応には遺伝因子が関与しているのかもしれない。また n-6,n-3 系脂肪酸のバランスの崩壊がアレルギー反応の起因になりうるといわれている。Oil seeds は n-6 系脂肪酸を多く含んでおり、また n-6 系脂肪酸を代謝するアラキドン酸カスケードの代謝産物の prostaglandin E2, leukotriene B4 は免疫反応を促進させる物質である。アラキドン酸カスケードの酵素に遺伝子多型が知られており、これらのことが AD 罹患同胞間で oil seeds に共通して強いアレルギー反応を示した説明になるかもしれない。Oil seeds が同胞間で共通して RAST 陽性反応を示した原因が、遺伝的な要因なのか、それとも生後の環境因子によるものなのか、今後はアトピー性皮膚炎に罹患していない小児も対象として、遺伝子多型を含めた更なる研究が必要である。

論文審査の要旨

報告番号	総研第 22 号	学位申請者	辻 真弓
審査委員	主査	竹内 亨	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	金蔵 拓郎	副査 河野 嘉文
	副査	坂本 泰二	副査 松山 隆美

Concordance of CAP-RAST responses for food and indoor allergens between sibling pairs with atopic dermatitis

〔 アトピー性皮膚炎罹患同胞対における
食物と室内抗原 CAP-RAST の関係の検討 〕

アレルギー疾患が体質として遺伝することは広く知られている。しかし、ピーナツのような一部の食物でアレルギー発症に関与する遺伝子多型が報告されているものの、同胞間で抗原特異的な反応が遺伝するか否か、また食物特異的抗原反応が同胞間で共通するか否かを詳細に調べた研究は日本では行われていない。そのため学位申請者は、アトピー性皮膚炎に罹患している同胞対を対象に、食物と室内抗原に対するアレルギー反応を個人及び同胞間で検討することを目的として疫学研究を行った。

対象は、2004年4月から2006年6月の間に熊本県内の皮膚科専門クリニックを受診しアトピー性皮膚炎と診断された218組(436人)の同胞対のうち、2006年6月～7月の間に同クリニックを受診した10歳未満の同胞対169組(338人)である。患児の保護者に、外来にて自記式質問票による調査を行った。質問票では患児の性、年齢、出生時体重、離乳食の開始時期、授乳形態、両親のアレルギー既往歴、妊娠中・授乳期の両親の喫煙習慣、妊娠中・授乳期の母親の飲酒習慣、ペットの有無などについて質問した。8つの食物抗原(卵白、牛乳、大豆、ピーナツ、ゴマ、小麦、そば、米)と2つの室内抗原(ハウスダスト、ダニ)のCAP radio-allergosorbent test (CAP-RAST)の結果を解析に使用した。解析に使用したCAP-RASTの結果は、最初に測定を行った際の結果であり、いずれの対象者も食物アレルギー等の臨床症状を呈していない時期の値である。統計学的解析は、Spearmanの順位相関、並びにロジスティック回帰分析を用いた。尚、本研究は、鹿児島大学医歯学総合研究科の疫学研究等倫理委員会の承認を得て行われたものである。

本研究で得られた知見は以下のとおりである。1) CAP-RAST陽性の割合は卵が48%と最も高く、続いて牛乳21%、小麦14%、ゴマ14%、ピーナツ10%、大豆8%、そば5%、米5%であった。従来の研究と比べ、ゴマ、ピーナツが上位となり、近年の食生活の変化を示唆する結果であった。2) 出生順位別に各抗原間のCAP-RASTスコアの相関をみると、第一子において、特にoil seeds(大豆・ピーナツ・ゴマ)間で相関係数0.700以上の強い相関がみられた。3) 同胞間における各抗原のCAP-RASTスコアの相関では、牛乳、大豆、ピーナツ、ゴマ、小麦において有意な相関が認められた。また第一子の大豆と第二子のゴマ、第一子のピーナツと第二子の大豆、ゴマとの相関係数はいずれも0.25以上で、その他の抗原の相関係数と比べ高く、特に第一子のピーナツと第二子のゴマの相関係数は0.341と最も強い相関を示した。4) oil seedsに対するアレルギー反応と関連する環境要因は認められなかった。

oil seedsの一つであるピーナツのアレルギーとHLA class IIの遺伝子多型との関連は海外で報告されているが、本研究の結果は、ピーナツのみならず、ゴマ、大豆といったその他のoil seedsでも食物特異的抗原反応に遺伝要因が強く関与している可能性を示唆するものである。アレルギー発症に、遺伝因子、環境因子どちらが強く関与するのか現在まで結論は得られていないが、少なくとも抗原によって優位となる因子が異なることを示唆しているものと考えられる。アトピー性皮膚炎罹患同胞対を対象に、多抗原CAP-RASTの関係を検討した研究は本邦では少なく、本研究の結果はアトピー性皮膚炎の発生病序の解明及びその予防対策に資する可能性があるものと考えられる。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 22 号	学位申請者	辻 真弓
審査委員	主査	竹内 亨	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	金蔵 拓郎	副査 河野 嘉文
	副査	坂本 泰二	副査 松山 隆美
<p>主査および副査の5名は、平成 19 年 9 月 21 日、学位申請者 辻 真弓君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問 1) 室内抗原では同胞間で有意な相関が認められなかったが、第 1 子と第 2 子の年齢差によるものではないか？ (回答) 今回の対象者の平均年齢は、第 1 子は 3 歳、第 2 子は 1 歳であり、その可能性は否定できない。第 2 子が第 1 子と同年齢になった際に再度ハウスダスト、ダニ CAP-RAST を行うと、相関関係がみられる可能性がある。また食物抗原では、抗原によって CAP-RAST の値が年齢と共に変化することが報告されている。現在、生後 6~11 ヶ月時点で卵白単独陽性児群と、複数の食物抗原の CAP-RAST 陽性児群を 3 歳まで追跡しているが、複数食物抗原 CAP-RAST 陽性児は 3 歳までに CAP-RAST が陰性化する率は非常に低い。よって、今回の研究の同胞間の年齢差は、食物抗原の結果に関しては、大きな影響を及ぼしていないと考えている。しかしながら第 2 子が第 1 子と同年齢になった際に、再度同様の研究を行う必要があると考えており、今回の研究の対象者も引き続き追跡する予定である。</p> <p>質問 2) 同胞でない第 1 子と第 2 子をペアにしても、oil seeds 間で相関がみられるのではないかと？ (回答) 全体の oil seeds 陽性頻度が高くなると同胞間の一致率は高くなるが、統計学的に有意になるとは限らない。念のため、ランダムな同胞対を作成して同様の解析を行った。その結果、oil seeds 間の相関関係は全く認められなくなった。よって今回の結果は同胞対特有の結果であると考えられる。この解析結果は thesis に追加する。</p> <p>質問 3) 質問票による調査では、不確かな要素がはいっているのではないかと？ (回答) 親の思い出しバイアスがかかると考えられるが、離乳食開始時期といった大きなイベントに関しては、ほぼ 100% の回答を得られた。一方、各々の食物を与えた時期など細かい質問事項に関する回答欄には、多くの空白が認められた。質問票で得られた情報はすべて解析を施行したが、その際、オッズ比の信頼区間に幅がありすぎるものは信頼性に欠けるデータとして thesis の結果には含めていない。</p> <p>質問 4) CAP-RAST 陽性頻度で、卵、牛乳、小麦が上位を占めていた。なぜ最近小麦が上位に上がってきているのか？ (回答) 食生活の変化が考えられる。離乳食でパンを食べさせる機会の増加傾向が近年みられる。同様に大豆食品を摂食する機会が減少したからか、従来上位を占めていた大豆が、食物アレルギー原因食物において下位になっている。</p> <p>質問 5) ピーナッツが上位にあがってきている理由は？乳幼児がピーナッツそのものを摂食する機会は少ないと思うが？ (回答) ピーナッツとして積極的に与えているわけではないが、落花生を含む菓子類の摂食回数の増加が原因であると考えられる。また対象者がアトピー性皮膚炎に罹患している児であることも理由の一つかもしれない。</p> <p>質問 6) 研究期間は 6-7 月の 2 ヶ月だが季節によって結果が変わり得るか？サンプルサイズをどのように決めたのか？ (回答) 対象病院のアトピー性皮膚炎患者フォローアップ周期は 1 ヶ月であり、2 ヶ月間の調査期間を設定すれば、ほぼ全対象者の質問票調査が可能であると考えた。また CAP-RAST の結果は最初にアトピー性皮膚炎と診断された際の結果であり、この 2 ヶ月に測定した値ではないので対象期間の季節による影響はないと考える。サンプルサイズを決定して研究を開始したのではなく、調査可能であったすべての 2 人兄弟・姉妹を対象とした。</p> <p>質問 7) CAP-RAST の再現性は？年齢、食品によって左右されるのか？ (回答) CAP-RAST の再現性が常にあるとは考えられない。しかしながら CAP-RAST がすぐに陰性化してしまうことはなく、短期間内の再現性はあると予想される。現在までの国内外の研究によると、卵や大豆 CAP-RAST は年齢と共に陰性化しやすいが、ピーナッツは陰性化しにくいといった報告があるかと思えば、卵は陰性化しにくいという報告もあり、食品によって異なるようである。</p> <p>質問 8) oil seeds に CAP-RAST 陽性の小児は、将来特別な疾患になりやすいということがあるのか？ (回答) 現時点では不明である。今後、今回の対象者の追跡調査をおこなっていきたいと考えている。</p>			

最終試験の結果の要旨

質問9) 衛生仮説と今回の研究の関連性についてどう考えるか？

(回答) 今回の質問票でも、ペットの有無や住居内の衛生環境等について質問した。しかしながら CAP-RAST との有意な関係はいずれの抗原においても認められず、衛生仮説を支持する結果は得られなかった。

質問10) アトピー性皮膚炎と食物アレルギーはあまり関係がないという説がある。また健常児でも CAP-RAST 陽性になる小児もいる。よってアトピー性皮膚炎ではない児を対照とした研究が必要ではないか？

(回答) アトピー性皮膚炎に罹患していない児も対象とした研究は必要であると考え、今後は、そのようなコントロールを設定した研究を行いたい。私自身もアトピー性皮膚炎と食物アレルギーとの間に必ずしも関係があるとは思わない。だが乳幼児の食物アレルギー有病率は、乳幼児全体の10%弱、アトピー性皮膚炎罹患乳児では80%であり、国内外の報告は同様である。乳幼児期においては、同じアレルギー疾患として両者は深い関係があると考えられる。

質問11) 今回の結果を臨床の場合へどのように反映できると考えるか？

(回答) 第1子または第2子に oil seeds に対する食物アレルギーがある場合、その兄弟も oil seeds アレルギーに罹患する可能性が示唆される。よって同胞の食物アレルギーの予測、予防につなげることが可能ではないのかと考えている。

質問12) 食物アレルギーの定義は？CAP-RAST 陽性であるならば食物アレルギーと診断できるのか？

(回答) 食物アレルギーの定義は、原因食物を摂食した後に免疫学的機序を介して、生体内にとって不利益な症状が皮膚、粘膜、消化器、呼吸器、などに惹起されることである。CAP-RAST 陽性=食物アレルギーではない。診断方法の一つではある。厚生労働省科学研究班による食物アレルギー診療の手引き記載の診断フローチャートによると、食物アレルギーは、CAP-RAST、皮膚テスト、食物負荷・除去試験などにより診断される。

質問13) なぜ沖縄ではアトピー性皮膚炎有病率が低いのか？紫外線との関係はあるのか？

(回答) 沖縄でアトピー性皮膚炎有病率が低い理由を検討した論文なく、詳細は不明であるが、沖縄は県別合計特殊出生率が高く、同胞数が多いことも予想される。衛生仮説の点から、沖縄でアトピー性皮膚炎有病率が低いことが説明可能かもしれない。

質問14) ハウスダストとダニの相関が高いのは、抗原が同じではないからか？

(回答) 確かにハウスダストにはダニ抗原も含まれる。またその他ネコ、イヌ、ゴキブリ、カビの抗原も含んでいるので、全く同じ抗原とは言えず、今回は両方共に解析対象抗原とした。

質問15) Spearman 相関係数とロジスティック回帰分析を使い分けた理由は？

(回答) Spearman 相関係数は、各抗原間の CAP-RAST スコアの関係を明確にするための解析手段として使用した。一方ロジスティック解析は、CAP-RAST に対する共変数の影響を明確に見る目的で使用した。

質問16) ポリコリック相関係数とは何か？

(回答) 易罹患性を考慮した解析方法である。今回はポリコリック相関係数でも oil seeds 間で相関関係がみられた。

質問17) 母親の妊娠中の食事制限の結果はどう解釈するか？結果と考えるかそれとも原因であるか？

(回答) 今回の研究に関しては、結果だと考える。母親の食事制限が食物アレルギーの原因になるか否かの結論はいまだ得られておらず、母親が制限食をとった方が、子供が食物アレルギーに罹患しやすいという報告もあるので、今回の結果は矛盾しないと考えられる。

質問18) 乳幼児期では、どれくらいの大きさの抗原がアレルゲンとなりやすいのか？

(回答) 分子量が1~7万くらいがアレルゲンとなりやすいといわれている。その他、食物がアレルゲンとして働く条件には、加熱、酸、酵素処理などに安定でアレルゲン性を有したまま腸管で吸収されることがあげられる。

質問19) 別の医療機関で CAP-RAST を測定した対象者を除いて解析した場合も同様の結果が得られたのか？

(回答) その解析は行ってみたが、やはり同様の結果が得られた。

質問20) アトピー性皮膚炎と関連している遺伝因子は一つか、それとも複数か？

(回答) はっきりとした原因因子は分かっていないが、候補遺伝子は複数あげられている。

質問21) 双子は今回の研究対象にはいつているか？

(回答) 2卵生双生児が3例はいつている。

質問22) oil seeds に共通抗原があるのか？

(回答) 交叉抗原性はアミノ酸配列の3次元的構造の類似性に起因するといわれている。oil seeds 同士のアミノ酸組成に相似性はある。しかしながらピーナツの epitope と大豆、ゴマの epitope が一致するという報告はなく、豆類の交叉抗原性については、はっきりと解明されていない。この旨を thesis に追加する。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。