

便中蛋白による小児消化管アレルギーの非侵襲的評価

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科小児科

和田 泰三

1. はじめに

新生児乳児消化管アレルギーとは、新生児～乳児期に食物抗原が原因で消化器症状を認める疾患の総称である。IgE に依存する通常食物アレルギーと異なり、IgE 非依存性で細胞性免疫が関与すると考えられている。欧米では、Food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES) や好酸球性胃腸炎などに細分化されている。代表的な病型である FPIES では、原因食物を摂取して数時間後に嘔吐、嗜眠傾向、下痢などを示す。近年本邦において報告数が急増しているが、その診断は容易ではなく、病態生理にも不明な点が多い。厚生労働省難治性疾患研究班を中心に新生児乳児消化管アレルギーの診断治療指針が 2010 年（改訂 2014 年）に示されたが、確定診断に有用な検査が乏しいことが臨床上的問題となっている。実際、指針には「現時点では有症状期の確定診断が難しいため、とりあえず治療を開始（栄養の変更）して症状改善を観察すべきと思われる」と記載されている。

我々は従来、腸管における反応を直接反映する可能性のある便中蛋白に注目し、小児の腸管炎症の評価を試みてきた。本研究では、FPIES における便中蛋白の推移を解析し、その病態を非侵襲的に評価することが可能か否かを検討した。さらに、便中の好酸球顆粒蛋白である EDN (Eosinophil-derived neurotoxin) が原因食物摂取に上昇したことから、末梢血の好酸球の活性化状態を合わせて解析した。

2. 方法

便検体は、自然排便により得られた便を基本とした。ただし、新生児乳児消化管アレルギーで原因食物摂取後 24 時間以内に自然排便が得られない場合、浣腸を行った。採便は、原因食物摂取の前後、特に摂取後は排便毎に 2～3 日間行った。症例によっては、寛解・治癒期など様々な病期において可能な限り採便した。得られた便は、リン酸緩衝生理食塩水を加えよく攪拌し、遠心した。得られた上清を試料として、ELISA 法にて①好酸球性炎症マーカーとしての EDN、②好中球性炎症マーカーとしてのカルプロテクチン、③蛋白漏出マーカーとしての免疫グロブリン G (IgG)、④腸管免疫マーカーとしての IgA の測定を行った。

また、原因食物の負荷前および負荷後症状を発現した際に採血を行い、好酸球数ならびにフローサイトメトリーを用いて好酸球の活性化状態を評価した。好酸球は、顆粒球領域の CD16 陰性細胞とし、細胞表面の活性化マーカー CD69 の発現を検討した。

3. 結果 研究成果

FPIES 患児 8 例において、原因食物を摂取した前後での便中蛋白を比較した。発症年齢の平均は 5.4 ± 3.5 か月、診断までに要した期間は平均 3.0 ± 2.1 か月であった。ほとんどの症例で、摂取 2 時間後に嘔吐、下痢、傾眠が共通して認められた。原因食物は牛乳が最も多く、次が小麦であった。蕁麻疹や喘鳴などの即時型反応を示した症例はなく、原因食物を除去後は、全例で FPIES のエピソードを認めなくなった。原因食物の摂取前に便中 EDN が軽度上昇していた症例を 3 例認めたが、診断までの期間とは関連は認められなかった。必ずしも FPIES の全例でベースラインの便中 EDN の高値が認められない点は、以前の報告と同様であり、症例により以前のエピソードが引き起こした腸管炎症の残存の程度が異なる

ためと考えられた。一方、原因食物を摂取後に、FPIES の症状が出現した後の便における EDN は全例で著しい上昇を認めた（平均 33,244 ng/mL）。カルプロテクチンや IgA も上昇したが、その程度は EDN に比べ軽度であった。便中 IgG は変化を認めなかった。また便中 EDN は、下痢便でなくても高値を示した。便中 EDN は原因食物を摂取して半日後より上昇し、約 24 時間後に最高値となる場合が多かった。

FPIES 患児の好酸球数は、負荷前・負荷後ともに増加していなかった。好酸球の CD69 発現は、正常対照と同様に、負荷前には認められなかった。一方、負荷後症状が発現した際には全例で好酸球の CD69 発現は増強していた。

4. 考察 まとめ

新生児乳児消化管アレルギーの診断においては、便粘液細胞診にて「好酸球が石垣状に見られる」ことが他疾患との鑑別に役立つと記載されている。このことから、便中の EDN など、好酸球由来蛋白を測定している研究はこれまでも散見されていた。しかし明確な結論は得られていなかった。我々は、原因食物摂取後の便中 EDN のダイナミックな変化を捉えることが FPIES の診断に役立つという、まったく新しい観点から研究を行うことで、便中 EDN の有用性を証明した。FPIES では、原因食物抗原の摂取数時間後に嘔吐などの症状を呈するが、消化管における便の通過時間の関係で、便中 EDN は摂取後 24 時間前後で最高値となることを初めて明らかにした。この所見は、「細胞と好酸球の破片は原因食物負荷時には認められないものの、負荷後 6 時間より認められ、遅くても翌日には認められる」と記載されている Powell の診断基準とよく一致する。このような kinetics はおそらく、便の消化管の通過時間を単純に反映していると考えられる。FPIES では 2~3 歳までに大部分の患児が寛解に至るとされる。寛解期には原因食物を摂取しても症状は示さず、便中 EDN の上昇もみられなくなる。寛解に至る前には、症状を示さないにもかかわらず便中 EDN のみが中等度に上昇することが観察されており、寛解に至るプロセスに特有の現象と考えられた。

好酸球は腸管に常在する細胞であり、FPIES において原因食物摂取後に便中 EDN が増加する機序として、腸管上皮の透過性亢進、好酸球の活性化、その両者の 3 つの可能性が考えられる。そこで、末梢血好酸球の活性化状態について CD69 発現を指標に検討した。好酸球は、原因食物摂取前には活性化されていないものの、FPIES の症状が発現した直後では強く活性化していることが判明した。このことは、腸管でも好酸球が活性化していることを示唆しており、便中 EDN の増加は、腸管上皮の透過性亢進のみならず、好酸球の活性化も関与していることが明らかになった。

以上、本研究による便中蛋白の解析は、FPIES の診断だけでなく寛解状態の評価にも適用できること、内視鏡などと異なり非侵襲的であること、また誤食など予定されていない状態で原因食物の負荷がなされた場合でも便さえ得られれば検査可能であることより、小児 FPIES 患者にとって非常に有用な検査と考えられた。便中 EDN やカルプロテクチンの上昇は FPIES に特異的なものではないものの、原因食物摂取後の便中 EDN の特徴的な変化をとらえることで、他の炎症病態から FPIES を鑑別することが可能であると考えられた。便中蛋白等の解析により FPIES の消化管における炎症状態の理解がさらに進むことで、新生児乳児消化管アレルギーを含む小児の多様な腸管炎症を非侵襲的に評価できるようになれば、子どもにやさしい医療の提供が可能になると考えられる。

5. 発表論文、参考文献

1. Wada T, Toma T, Muraoka M, Matsuda Y, Yachie A. Elevation of fecal eosinophil-derived neurotoxin in infants with food protein-induced enterocolitis syndrome. *Pediatr Allergy Immunol.* 2014;25(6):617-9.
2. Wada T, Matsuda Y, Toma T, Koizumi E, Okamoto H, Yachie A. Increased CD69 Expression on Peripheral Eosinophils from Patients with Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome. *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;170(3):201-5.
3. 和田泰三. Food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES) における便中 EDN の増加. 臨床免疫・

アレルギー科. 65 : 136-139, 2016.

4. 和田泰三. FEDN (便中). 日本小児アレルギー学会雑誌. 30 : 206-207, 2016.