

II. 急速経口免疫療法と葛根湯の併用による食物アレルギー疾患に対する根本的治療法の創出

—東西医薬学の融合によるトランスレーショナルリサーチ—

富山大学・和漢医薬学総合研究所・消化管生理学分野	教授	門脇	真
(同)	助教	山本	武
富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学) 小児科学	教授	足立	雄一
(同)	助教	伊藤	靖典

【研究背景, 目的, 概要】

わが国における食物アレルギー有症率は、乳児が約 10%、3 歳児が約 5%、保育所児が 5.1%、学童以降が 1.3~4.5%とされている。全年齢を通して、わが国では推定 1~2%程度の有症率であると考えられており、近年さらに増加傾向にあると報告されている(日本医療研究開発機構 (AMED) 研究班 食物アレルギーの診療の手引き 2017)。現在食物アレルギーの治療法は、食物アレルゲン (原因抗原) を除去する除去食療法及び発症した症状を抑制する薬剤による対症療法に限られており、原因食物に対する耐性を獲得するような根本的な治療法は確立されていない。また除去食療法には、原因抗原となる食品には卵や牛乳、小麦等といった高栄養の食品が多いことから特に小児では栄養面での偏りによる成長・発達への影響や、加工食品や外食など原材料の把握が難しい場合における誤食による死亡事故の発生等の多くの問題が報告されている。従って、耐性獲得 (根本的治癒) に至る治療法や治療薬の開発が強く望まれている。

現在、一部の専門医施設では、食物アレルギー患者に対し免疫寛容を誘導し耐性獲得 (根本的治癒) の可能性がある新規治療法として原因抗原の経口摂取による経口免疫療法 (OIT) が行なわれており、一部の患者での耐性獲得 (根本的治癒) も報告されている。OIT の定義は、「自然経過では早期に耐性獲得が期待できない症例に対して、事前の食物経口負荷試験で症状誘発閾値を確認した後に原因食物を医師の指導のもとで経口摂取させ、閾値上昇または脱感作状態とした上で、究極的には耐性獲得を目指す治療法」とされている(日本小児アレルギー学会の「食物アレルギー診療ガイドライン 2016」)。

本研究グループの研究者が所属する本学付属病院小児科でも、食物アレルギー児に対して、倫理委員会の承認を得て、2010 年より OIT を実施している (臨認 22-138 「重症食物アレルギー児に対する

原因食物を用いた急速経口免疫療法の有用性に関する研究」)。

しかし、OIT の治療上の問題点は、

- 一部の症例には治療効果はあるがエビデンスレベルは低い。
- 経過中の症状誘発は必発である。
- 予期せずアナフィラキシーを引き起こすことがある。
- OIT 終了後に、治療対象食物の摂取により症状が誘発される場合がある。

とされ、我が国での問題点は、

- 倫理委員会での承認を受けずに研究的診療として実施している施設がある。
- 治療経過中の安全対策の不備が見受けられる。
- 発症閾値が不明の症例に対し、自宅での摂取量の増量を安易に指導する。

とされている（日本小児アレルギー学会の「食物アレルギー診療ガイドライン 2016」）。

また、OIT の治療機序に関しては不明な点が多く、これまでに動物モデルで OIT の治療効果を示す報告も殆どない。従って、OIT は未だ研究段階の治療法であり、日本小児アレルギー学会の「食物アレルギー診療ガイドライン 2016」及び日本医療研究開発機構（AMED）研究班「食物アレルギーの診療の手引き 2017」では、OIT を食物アレルギーの一般診療として推奨していないため、OIT は現時点では一般診療として厚生労働省に認可されていない。しかし、OIT は、現状では食物アレルギーに対する唯一の耐性獲得（根本的治癒）に至る可能性がある治療法として期待されているため、多くの様々な基礎研究及び臨床研究が試みられているが、未だ十分な安全かつ治療効果が期待できる OIT の開発は報告されていない。

OIT は、主に制御性 T 細胞を誘導して免疫寛容を導くことにより、食物アレルギー疾患を根本的に治癒させる可能性が最も高いと考えられているが、有効性及び安全性の面で未だ多くの未解決の問題が残されている。従って、現在の OIT に改良を加えて十分に制御性 T 細胞を安全に誘導することができれば、OIT を研究段階の治療法から一般的治療法へ発展させることが出来ると考えられる。しかし、現在まで制御性 T 細胞を確実に誘導することが出来る薬剤は報告されていない。これまでに本研究グループは、漢方薬・葛根湯が、主に腸管において制御性 T 細胞を誘導することにより、食物アレルギー病態モデルで有効性を示すことを報告している (Int Arch Allergy Immunol. 169:146-156. 2016)。従って、OIT に葛根湯の投与を併用することにより、食物アレルギーに対する安全性及び有効性が高い根本的治療法の開発が可能であると考えている。

そこで本研究では、基礎研究から臨床研究へのトランスレーショナルリサーチにより、東西医薬学を融合した安全かつ効果的な食物アレルギー疾患の根本的治療法の確立を目指している。すなわち本

研究では、OIT の主な治療機序であると推定されている制御性 T 細胞の誘導作用等により食物アレルギー病態モデルで有効性を示した葛根湯を、免疫寛容を誘導し耐性獲得（根本的治癒）に至る可能性がある OIT に併用することにより、安全性及び有効性の高い OIT を確立すると共にその治療機序の詳細を明らかにすることを目的としている。そのために、基礎研究として抗原摂取によりアレルギー症状を呈する食物アレルギー病態モデルマウスに対して OIT を行い、さらに葛根湯を併用することによる治療効果の亢進とその治療機序を検討する。さらに、臨床研究として食物アレルギー患者に対して急速 OIT を施行し、葛根湯併用の有無による治療効果及び安全性をランダム化比較試験にて評価する。

「OIT と制御性 T 細胞誘導剤の併用療法」、「OIT と免疫寛容を誘導する漢方薬の併用療法」というアレルギー疾患に対する治療コンセプトは今まで報告されておらず、本研究はアレルギー治療における対症療法から根本的治療法へのパラダイムシフトを実現するための有用な治療法を提示する独創的な研究となると考えられる。すなわち、本研究は食物アレルギーの安全かつ効果的な根本的治療法の確立に繋がると考えられる。

和漢医薬学総合研究所消化管生理学分野の研究グループ（門脇真、山本武）は、研究課題「病態モデルを用いた OIT と葛根湯の併用療法の科学的根拠の解明」を遂行した。これまでに、OIT と葛根湯の併用療法が腸管に制御性 T 細胞をより多く誘導し、OIT の治療効果を亢進させることを明らかにしている（PLoS One. 12, e0170577, 2017）。

そこで、OIT と葛根湯の併用療法の腸管の粘膜型マスト細胞に対する効果を検討したところ、粘膜型マスト細胞の活性化は優位に抑制されていた。

OIT と葛根湯の併用療法は OIT の治療効果を有意に亢進させたが、その効果は充分ではない。治療効果を上げるためには制御性 T 細胞をさらに持続的に誘導する必要があるが、OIT を長期間続けることは副作用を誘発する可能性が高くなる。そこで、OIT と葛根湯の併用療法後に、葛根湯のみの長期投与による治療効果の検討を行ったが、有意な治療効果の亢進は認められなかった。

また、OIT の問題点の 1 つである低い脱感作維持率さらには耐性獲得率の改善を目指して、OIT および OIT と葛根湯の併用療法による脱感作状態が維持されるかどうか検討した。その結果、OIT と葛根湯の併用療法群では、3 週間後にも治療効果が維持され、未治療群および OIT 単独群と比較して発症率は有為に低かった。従って、OIT への葛根湯の併用は治療効果を上げるだけでなく、脱感作維持、さらには耐性獲得の誘導効果もある可能性が示唆された。

また、医学部小児科学講座の研究グループ（足立雄一、伊藤靖典）は、和漢医薬学総合研究所消化管生理学分野の研究グループの基礎研究結果を基に、「食物アレルギー児に対する急速経口免疫療法に

おける葛根湯併用のランダム化比較試験による効果の検討（臨 28-100）」を開始した。具体的な方法としては、重症の食物アレルギー児に対して、入院した上で、誘発される原因食物を摂取させることで徐々に症状が出にくくなる状態（減感作状態）を誘導し、その後自宅でその量を維持し耐性獲得（根本的治癒）させるという治療であった。しかしながら、2017年11月の神奈川こども医療センターでのOIT中の児のアナフィラキシーショックによる低酸素脳症の発症という重篤な有害事象により、危険性や社会的世論の影響を配慮した計画の変更が必要となった。そこで、より安全性の高い臨床研究に変更し、負荷試験の閾値、誘発された症状の重症度から、摂取しても症状が誘発されない安全な量を設定し、摂取させることとした。そして、臨床試験対象者を、葛根湯の無作為化を行い、6ヶ月間安全な量での摂取を継続しながら、葛根湯を併用するグループと併用しないグループの2群間で、6ヶ月後の食物負荷試験での摂取できる閾値の変化を主要評価項目とする臨床試験に変更し、富山大学倫理委員会にて承認を受け、臨床試験を開始した（臨 29-77 食物アレルギー児の食事指導における葛根湯併用の耐性獲得誘導効果の検討 —ランダム化比較試験—）。

2019年1月24日時点で、6ヶ月の臨床研究が終了したのは葛根湯内服群7名、非内服群9名であり、脱落者はなく、自宅での誘発症状 Grade3（重度）の有害事象は認めなかった。また、臨床的な有害事象や、総蛋白や肝機能などの一般生化学検査の明らかな異常は一人も見られなかった。食物経口負荷試験による閾値評価では、閾値上昇したのは葛根湯内服群で7名中6名、非内服群で9名6名であった。血中の特異的 IgE 抗体価は、症例が少なく、統計解析ができないが、葛根湯内服群では IgE 抗体が低下している症例が多く、今後も症例を蓄積し解析する予定である。本研究は、葛根湯の保険適用外治療に該当するため、特定臨床研究に該当すると判断されたため、現在、特定臨床研究の手続きを開始している。今後も症例を蓄積し、目標症例 60 名（葛根湯 30 名、対照 30 名程度）を目標に臨床研究を継続する予定である。

以上により、世界に先駆けて作製した OIT モデルを用いた基礎研究とそのトランスレーショナルリサーチである臨床研究を行うことにより、経験的な治療法の探索ではなく、科学的根拠が明らかで、安全性と有効性を兼ね備えた新規根本的治療法を創出することが可能であると考えられる。このように、西洋医薬学（OIT）と東洋医薬学（葛根湯）のそれぞれの利点を生かして問題点を補完的に解決することにより、食物アレルギー疾患を安全かつ効果的に根治に導くことが出来ると考える。また、OIT と免疫寛容を誘導する漢方薬の併用療法の治療機序を明らかにすることにより、他のアレルギー疾患や自己免疫疾患の治療に対しても、漢方薬のドラッグ・リポジショニングによる新たな治療戦略、創薬戦略を提示できると考える。

このような東西医薬学が融合した新規根本的治療法を開発し発信していくことは、薬の富山・和漢薬の富山としての特徴をさらに発展させることが出来ると考える。

Ⅱ-1 病態モデルを用いた経口免疫療法と 葛根湯の併用療法の科学的根拠の解明

富山大学・和漢医薬学総合研究所 消化管生理学分野 教授 門 脇 真
(同) 助 教 山 本 武

【研究の背景と目的】

食物アレルギーは原因食物を摂取した後に免疫学的機序を介して蕁麻疹や下痢などの生体にとって不利益な症状が惹起される現象であり、現在、日本を含め先進国では小児を中心に増加傾向にある。しかし、未だ根本的な治療法が存在しておらず、原因食物を除去する除去食療法のような消極的な治療法が行われており、摂取食物の制限による栄養不足や誤食に対する不安などが患者の QOL の低下に繋がっている。また、不慮の原因食物摂取による重篤な症状の発症や死亡事故も報告されている。従って、食物アレルギーの根本的治癒に繋がる積極的な治療法の開発が望まれている。

経口免疫療法 (OIT) は原因食物を少量から投与し続けることによって、原因食物による症状発症の閾値の上昇や原因食物に対する脱感作状態を誘導し、最終的に耐性獲得 (寛解維持) に導く、食物アレルギーを根本的に治癒する治療法であると考えられている。実際に、OIT を実施した患者の一部に耐性が獲得されたことが報告されている。しかし、原因食物投与により治療を行うため、重篤な副作用を発症する可能性があることや必ずしも高くない治療成績、原因食物による耐性獲得効率の差、治療機序が十分に解明されていないこと等により、未だ研究段階の治療法とされている。

そこで我々は、OIT による治療効果の向上や副作用の軽減などを目的とした新たな治療法を検討するために、原因食物の摂取によりアレルギー症状を発症する食物アレルギーモデルマウスに対して、臨床と同様に加熱した原因食物抗原を摂取させて OIT を行う実験的 OIT モデルを作製した。この実験的 OIT モデルを用いて、腸管に制御性 T 細胞を誘導することを明らかにした葛根湯 (Int Arch Allergy Immunol.148:175-85.2009. ; Int Arch Allergy Immunol.169:146-56. 2016) を併用する治療法を検討し、OIT と葛根湯の併用療法が腸管に制御性 T 細胞を増加させて、OIT の治療効率 (脱感作誘導率) を上げることを明らかにしている (PLoS One. 12, e0170577, 2017. ; 平成 29 年度「和漢薬・バイオテクノロジー委託研究」報告書)。

そこで本研究では、この併用療法が食物アレルギーの脱感作誘導率を上げるのみではなく、耐性獲得に繋がるかどうか検討するとともに、耐性獲得誘導率を上げる検討を行った。

【方法】

動物実験

BALB/c マウスを使用し、国立大学法人富山大学動物実験取扱規則に基づき、動物実験委員会の承認のもと動物倫理に配慮して動物実験を行った。

食物アレルギー病態モデルの作製と経口免疫療法および葛根湯併用療法

昨年度と同様に、5週齢のBALB/c マウスを鶏卵白アルブミン (OVA) /水酸化アルミニウムで全身感作し、その2週間後から粗精製 OVA 粉末を1日おきに経口投与し消化器症状を発症する食物アレルギー (FA) マウスを作製した。この FA マウスに対して、実験的 OIT として加熱処理した OVA を1日1回、0.5 mg、1 mg、2 mg、4 mg、8 mg、12 mg、18 mg、20 mg (/日) と段階的に漸増させて投与した。OIT への葛根湯の併用は OVA 投与の1時間前に葛根湯 (500 mg/kg) を投与した。各治療後に食物抗原の経口負荷試験として粗精製 OVA を経口投与し、1時間後にアレルギー症状の発症を糞便の状態で評価した。また、耐性獲得の検討として、各治療後に OVA 除去期間を設け、1週間ごとに OVA 経口負荷試験による症状の評価を行った。さらに、耐性獲得を誘導するために治療後に葛根湯 (500 mg/kg) のみを2日に1回投与した。FA 病態モデルおよび治療モデルの詳細を図1に示す。

粘膜固有層細胞の単離および解析

摘出した結腸を EDTA 処置し粘膜上皮細胞層を除去した後、酵素処理により単離細胞を分取した。さらに、Percoll (Sigma) を用いた密度勾配法により細胞精製を行い、結腸の粘膜固有層細胞 (LP 細胞) を得た。

得られた LP 細胞を PE 標識抗マウス ckit 抗体 (BioLegend)、FITC 標識抗マウス IgE 抗体 (BD Biosciences) および APC 標識抗マウス CD63 抗体 (BioLegend) を用いて染色し、フローサイトメーターFACS CantoII (BD Biosciences) を用いて測定および解析を行った。また、単離 LP 細胞を Staining Buffer Set (eBioscience) を用いて固定と透過処理を行い、PE 標識抗マウス CD4 抗体 (clone RM4-5; BD Biosciences) と APC 標識抗マウス/ラット Foxp3 抗体 (clone FJK-16s; eBioscience) により染色し、フローサイトメーターFACS CantoIIを使用して、制御性 T 細胞の割合を測定した。

免疫組織化学的染色

摘出した近位結腸を4%パラホルムアルデヒド溶液で固定し凍結包埋した。クリオスタット (Leica) により 30 μ m の薄切切片を作製し、ヒツジ抗マウス mouse mast cell protease-1 (mMCP-1) 抗体 (Moredun Scientific) と Alexa488 標識ロバ抗ヒツジ IgG 抗体 (Jackson Immuno-research Laboratories) を順次反応させた。蛍光画像は蛍光顕微鏡 (キーエンス BZ-8000) を用いて取得し、蛍光画像を ImageJ で数値化

した。

統計学的解析

データは平均値±標準誤差で示した。統計学的有意差は Mann-Whitney 検定または Bonferroni/Dunn 型多重比較検定で行い、相関の有意差の検定には Pearson の相関係数の検定を用い、P 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした。

【結果と考察】

消化器症状を発症する食物アレルギー病態モデルマウスを作製し、食物抗原として OVA の投与によりアレルギー性消化器症状を発症するマウスに対して、OVA の漸増投与による実験的 OIT を行った (図 1)。

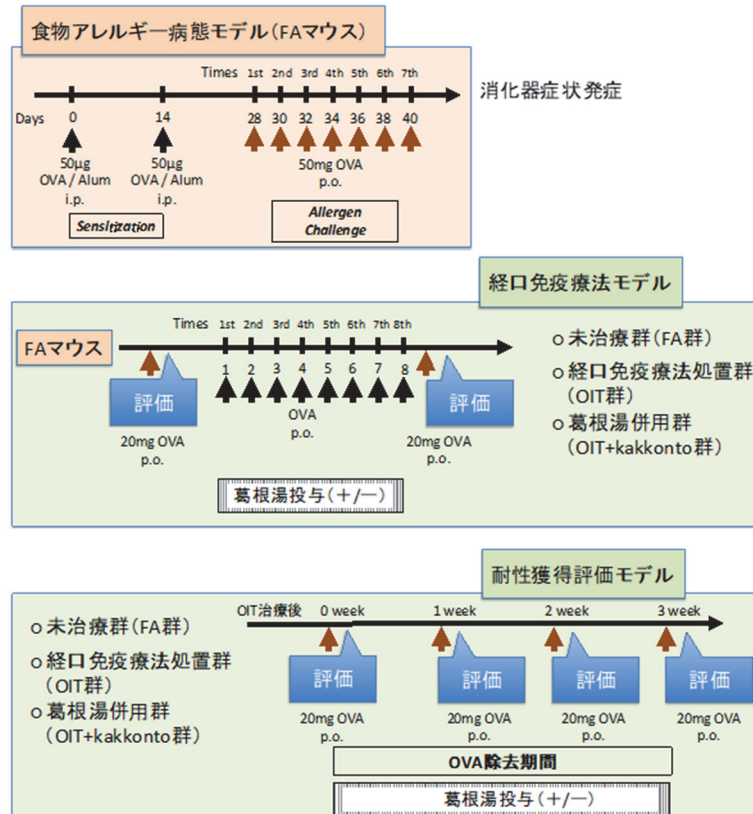


図 1. モデル作製

FA モデル、OIT モデルおよび耐性評価モデルの作製のプロトコルを示す。

葛根湯併用 OIT による粘膜型マスト細胞の活性化への影響を検討するために、葛根湯併用 OIT 後に消化器症状評価を行い、LP 細胞の $Fc\epsilon RI^{+}ckit^{+}$ 粘膜型マスト細胞における CD63 発現について解析した。 $Fc\epsilon RI^{+}ckit^{+}$ 粘膜型マスト細胞の CD63 発現をフローサイトメトリーにより解析した典型例を示す (図 2

(a)。LP 細胞の $Fc\epsilon RI^{+}ckit^{+}$ 粘膜型マスト細胞における CD63 発現を示す平均蛍光強度は、OIT に葛根湯を併用した群 (OIT+kakkonto 群) で未治療群 (FA 群) に対して有意に低かった (図 2 (b))。また、CD63 発現を示す平均蛍光強度は、マウスの消化器症状と正に相関する傾向を示した ($P = 0.15$; 図 2 (c))。

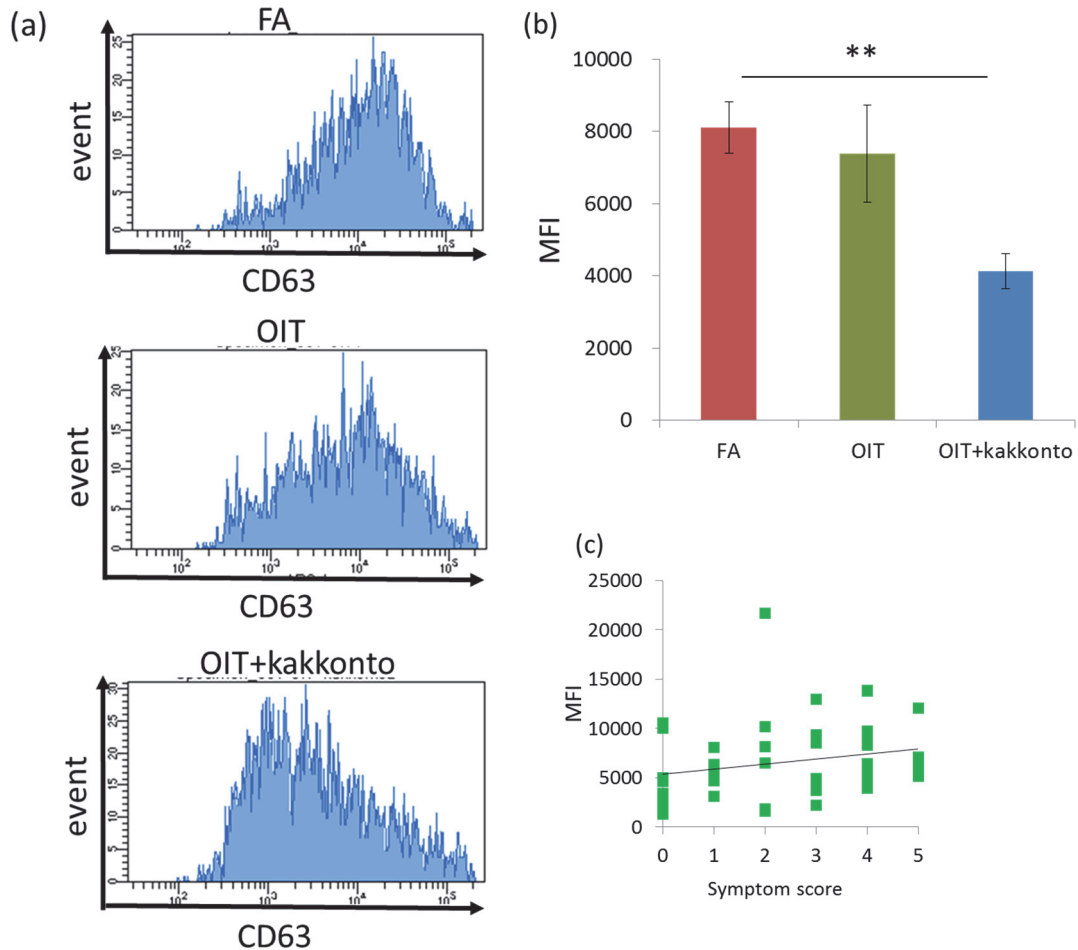


図 2. 各治療後の LP 細胞における $Fc\epsilon RI^{+}c-kit^{+}$ 粘膜型マスト細胞の CD63 発現

FA マウスおよび OIT マウス、葛根湯併用 OIT マウスの LP 細胞において、 $Fc\epsilon RI^{+}ckit^{+}$ 粘膜型マスト細胞における CD63 発現を測定した。フローサイトメトリーによる CD63 発現解析の蛍光強度の典型例を示す (a)。 $Fc\epsilon RI^{+}ckit^{+}$ 粘膜型マスト細胞における CD63 の発現を平均蛍光強度で示した (b)。LP 細胞の $Fc\epsilon RI^{+}ckit^{+}$ 粘膜型マスト細胞における CD63 発現は、FA 群に対して OIT+kakkonto 群で有意に低かった。(FA n=19, OIT n=14, OIT+kakkonto n=14, $**P < 0.01$) CD63 発現の測定に使用した 3 群のマウスの消化器症状を 6 段階で評価し、0 を Normal, 1 を Soft stool, 2 を Loose stool, 3 を Middle diarrhea, 4 を Severe diarrhea, 5 を Fluid stool とした。消化器症状と CD63 発現の平均蛍光強度の相関を示す (c)。CD63 の蛍光強度は、マウスの消化器症状と正に相関する傾向を示した。(P = 0.15 ; n=45)

脱感作維持、耐性獲得を検討した結果を図 3 に示す。FA 群では、OVA 投与により 93.3% のマウスが症状を発症した。OIT 群では 66.7% のマウスが症状を発症し、FA 群と比較して症状発症率が低下し、食物アレルギーに対する治療効果が認められた。OIT+kakkonto 群では症状発症率は 26.7% にまで低下し FA 群および OIT 群と比較して有意であり、OIT 群と比較して高い治療効果 (脱感作誘導率) を示

した。この OIT および OIT と葛根湯の併用療法による脱感作状態が維持されるかどうか、3 週間の OVA 除去期間を設け 1 週間ごとに OVA 投与を行い治療効果の維持を評価した。治療後 1 週間および 2 週間では OIT による治療効果は維持されたが、3 週間目にはすべてのマウスが再び症状を発症した。一方、OIT+kakkonto 群では、3 週間後にも治療効果が維持され、FA 群および OIT 群と比較して発症率は有為に低かった。従って、OIT への葛根湯の併用は、脱感作効誘導率を上げるだけでなく、脱感作維持、さらには耐性獲得の誘導効果もある可能性が示唆された。

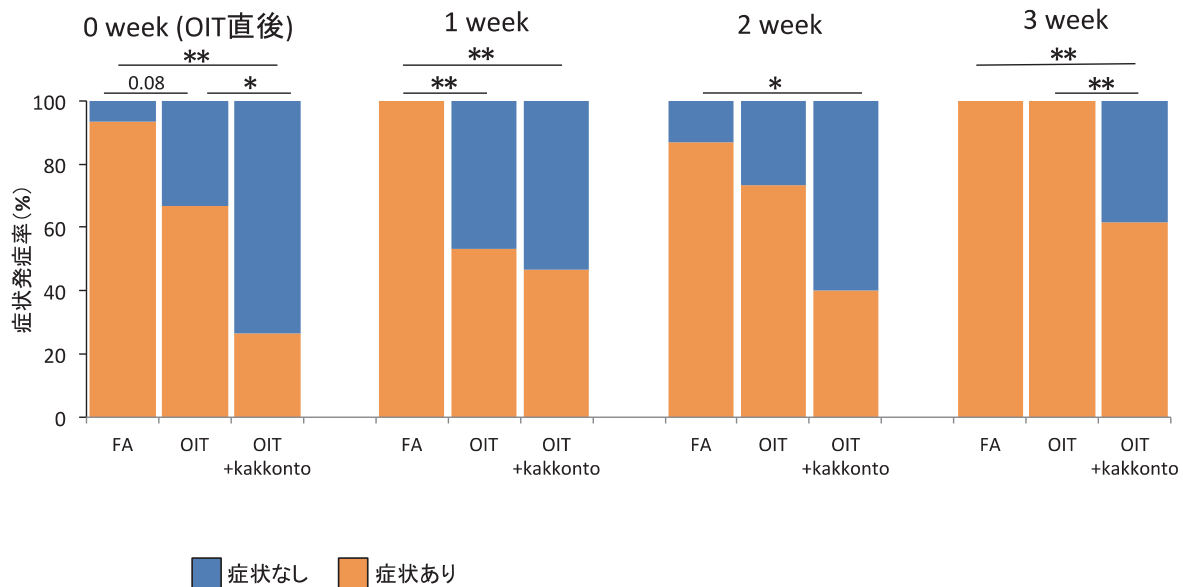


図3. FA に対する脱感作維持の検討

OIT または葛根湯との併用療法を行った後 OVA 除去期間を設け、各除去期間の FA の発症率を示す。n = 13-15、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

これまでに OIT のひとつの治療機序として、免疫系を抑制的に制御する制御性 T 細胞の増加が報告されている (J Allergy Clin Immunol. 124: 292-300. 2009)。我々も、これまでに葛根湯と OIT との併用療法が結腸の粘膜固有層に制御性 T 細胞を増加させ、食物アレルギーの発症を抑制することを報告している (PLoS One. 12, e0170577, 2017.;平成 29 年度「和漢薬・バイオテクノロジー委託研究」報告書)。そこで、OIT と葛根湯併用による耐性獲得の誘導効果に制御性 T 細胞が関与するか検討するために、治療 3 週間後に結腸の LP 細胞における制御性 T 細胞の割合を測定した。OIT と葛根湯の併用療法で結腸 CD4⁺T 細胞中の制御性 T 細胞 (CD4⁺Foxp3⁺細胞) の割合が OIT 治療直後には有意に高かったにもかかわらず (PLoS One. 12, e0170577, 2017.;平成 29 年度「和漢薬・バイオテクノロジー委託研究」報告書)、3 週間後には FA 群、OIT 群、OIT+kakkonto 群で有意な差はなかった (図 4)。

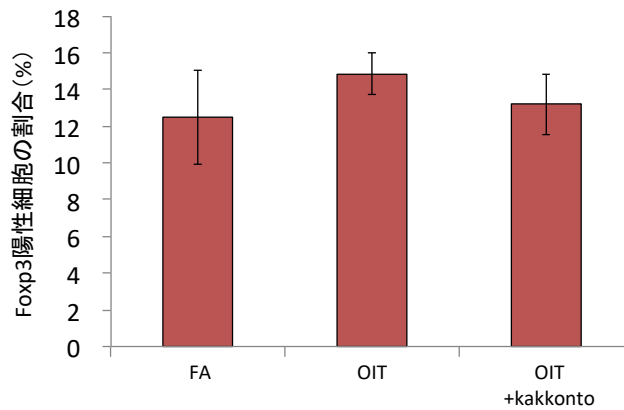


図4. LP細胞における制御性T細胞の割合
フローサイトメトリーによる腸管粘膜層CD4⁺T細胞中の制御性T細胞(CD4⁺Foxp3⁺細胞)の割合の解析結果を示す。n=8

また、食物アレルギーのエフェクター細胞である粘膜型マスト細胞は、FA群と比較しOIT群とOIT+kakkonto群で結腸に増多が確認され、OITでの抗原投与による副作用と推測された(PLoS One. 12, e0170577, 2017.;平成29年度「和漢薬・バイオテクノロジー委託研究」報告書)。しかし、3週間後にはOIT+kakkonto群の結腸の粘膜型マスト細胞の分布数はOIT群と比較して有意に減少しFA群と同程度であった(図5)。さらに、血漿中mMCP1量もOIT+kakkonto群でOIT群やFA群と比較し有意に減少した。

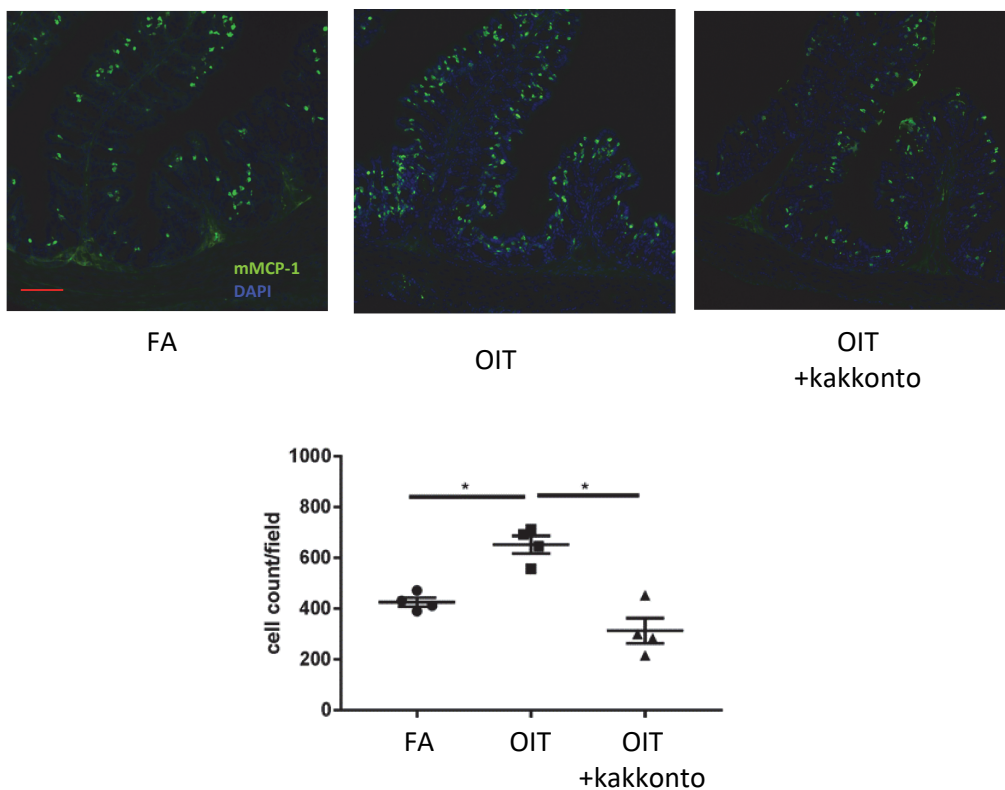


図5. 結腸における粘膜型マスト細胞の分布
粘膜型マスト細胞を抗mMCP-1抗体で染色した典型例とmMCP-1陽性細胞を計測した結果を示す。n=4、*P<0.05、緑:mMCP-1、青:核(DAPI)、スケールバー:100μm

従って、OIT と葛根湯併用療法が、結腸の制御性 T 細胞の誘導や粘膜型マスト細胞の浸潤抑制や脱顆粒の抑制を含めた腸管粘膜免疫系を改善し、脱感作状態の誘導や耐性獲得に繋がる可能性があることが示唆された。

OIT と葛根湯の併用療法は OIT の治療効率を有意に亢進させたが、その効果は充分ではない。治療効果を上げるためには制御性 T 細胞をさらに持続的に誘導する必要があるが、OIT を長期間続けることは副作用を誘発する可能性が高くなる。そこで、さらに治療効果を上げるために葛根湯の併用療法後に、葛根湯の長期投与による治療効率の変化を検討した。しかし、3 週間後の OVA 負荷試験による症状発症率は、葛根湯長期投与の有無によらず差は認められなかった (図 6)。

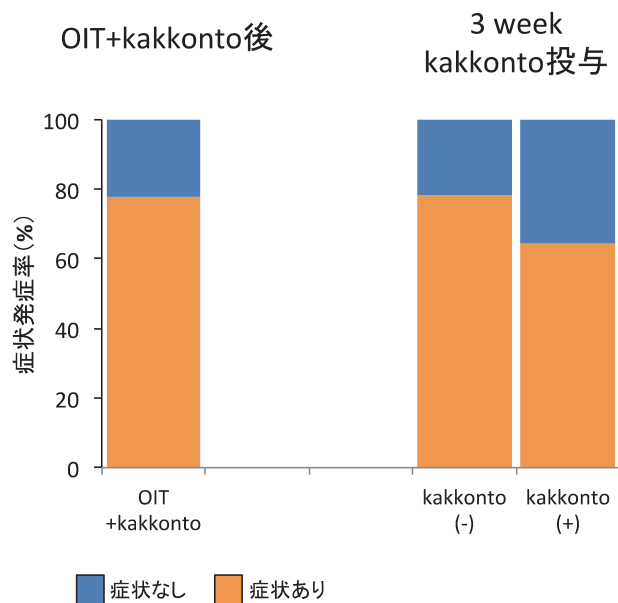


図 6. OIT と葛根湯の併用療法後の脱感作維持のための葛根湯持続投与の効果
OIT と葛根湯の併用療法後の OVA 除去期間に、葛根湯の投与の有無による FA の発症率を示す。
3 week 葛根湯投与 n = 31、3 week 葛根湯未投与 n = 23

【まとめ】

葛根湯の併用は OIT の治療効果を亢進し脱感作誘導率を上げ、食物アレルギーの治療に有効であった。また、その治療効果は OIT 単独治療よりも維持され耐性獲得を誘導する可能性がある。

Ⅱ-2 食物アレルギー児に対する急速経口免疫療法における 葛根湯併用のランダム化比較試験による効果の検討

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学） 小児科学 教授 足立 雄一
（同） 助教 伊藤 靖典

【研究の背景と目的】

近年、食物アレルギーに罹患する子どもたちの数が増加傾向にある。食物アレルギー診療ガイドライン 2016 では、食物アレルギーの管理・治療としては、必要最小限度の除去を行い、自然な耐性獲得（寛解）を待つのが主たる方針である。近年では、食物負荷試験が普及し、負荷試験の結果を踏まえた食事指導をおこなうことで、耐性獲得誘導を目指しているが、摂取可能（耐性獲得）となる児もいる中で、耐性獲得できない児も存在する。また、安全な量での摂取を指導しても時にアレルギー症状を生じることもあり、必要最低限の食事摂取の有効性・安全性については未解決な問題が多く存在している。

経口的免疫寛容を適正に誘導することができれば、将来の耐性獲得を期待できる。漢方薬は複数の治療標的に作用することによって、生体の三大調節機構（神経系、免疫系、内分泌系）の病的なバランスの偏りを改善することを目的にしている方剤が多く、アレルギー疾患のような多因子性疾患の治療に対する多成分系である漢方薬の基礎的及び臨床的有効性が示されている。葛根湯は、感冒症状で使用される代表的な漢方薬であるが、共同研究者の和漢医薬学総合研究所の山本、門脇らにより、マウス食物アレルギー病態モデルにおける葛根湯の食物アレルギーの発症抑制効果が報告され、食物アレルギー患者に対して、耐性獲得誘導を促す補助的治療手段となりえる可能性が示され、本研究ではヒトの食物アレルギー児に対して葛根湯を併用することで耐性獲得誘導への効果・安全性をランダム化比較試験にて評価することを目的とした。

本研究の意義

葛根湯の併用による重症食物アレルギー患者への食事指導を施行することの安全性、有効性が立証されれば、これまで食物アレルギーで自然耐性化の見込めないような患者に対しても、積極的な食事指導を検討することができ、患者の QOL の向上が期待できると考える。

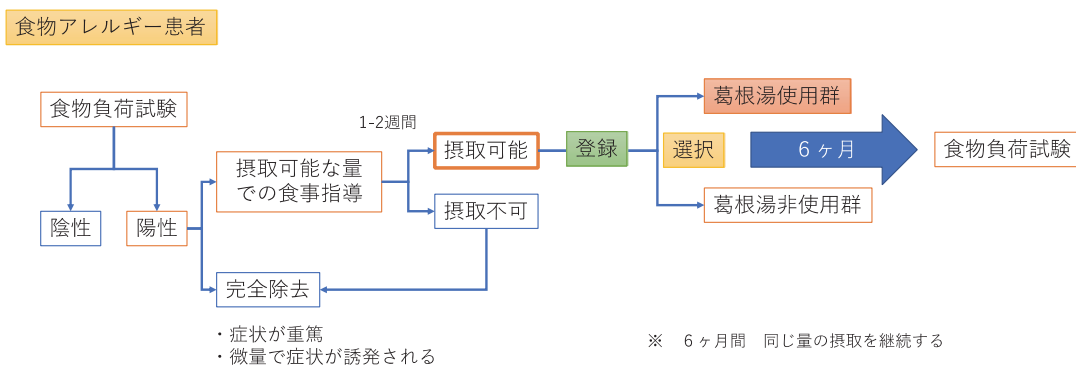
【現在の進捗状況】

① 臨床試験の開始

2017年11月27日富山大学倫理委員会にて承認を受け、臨床試験を開始した。（臨 29-77 食物アレルギー児の食事指導における葛根湯併用の耐性獲得誘導効果の検討 —ランダム化比較試験—）

- ・臨床研究を開始したが、葛根湯が飲めない児も多く、ランダム化ができない状況となり、臨床研究の遂行が困難となったため、2018年6月に研究計画を一部変更し、葛根湯を内服できる児とできない児に振り替わる非ランダム化比較試験に変更した。

研究の流れ



② 2018年1月現在の進捗状況

登録症例数： 21名（うち、6ヶ月後評価終了 16名）

登録平均年齢は6.8歳（男児11名、女児10名）であり、原因食品は鶏卵11名、牛乳6名、コムギ3名であった。

登録症例背景

葛根湯内服群・非内服群において、年齢・男女比・合併症・総IgE・末梢血好酸球数に群間有意差は認められなかった。

登録総数 n=21		内服群 n = 11	非内服群 n=10
年齢(歳) 中央値(min-max)		6(5-10)	7.5(5-9)
男/女		6 / 5	5 / 5
原因食品	鶏卵	5	6
	牛乳	3	3
	小麦	2	1
合併症	気管支喘息	2	1
	アトピー性皮膚炎	3	2
検査	総IgE(平均±SD) IU/ml	1690±751	1678±1415
	好酸球数(平均±SD) / μl	682±428	485±335

※各群で有意差なし

登録前食物経口負荷試験結果

群間登録前の食物経口負荷試験において原因食品の誘発閾値タンパク量・誘発症状重症度、負荷試験に基づく摂取指導量においても群間有意差はみられなかった。

	内服群 n = 11	非内服群 n=10	
登録時閾値 (タンパク量:mg) 中央値(min-max)	22 (3.3 - 1320)	66 (44 - 342)	p=0.171
誘発症状Grade	Grade1: 5 Grade2: 6	Grade1: 4 Grade2: 6	
摂取維持量(タンパク量:mg) 中央値(min-max)	6.6 (1.1 - 308)	14.3 (2.2 - 190)	p=0.432

6ヶ月後評価終了児の経過

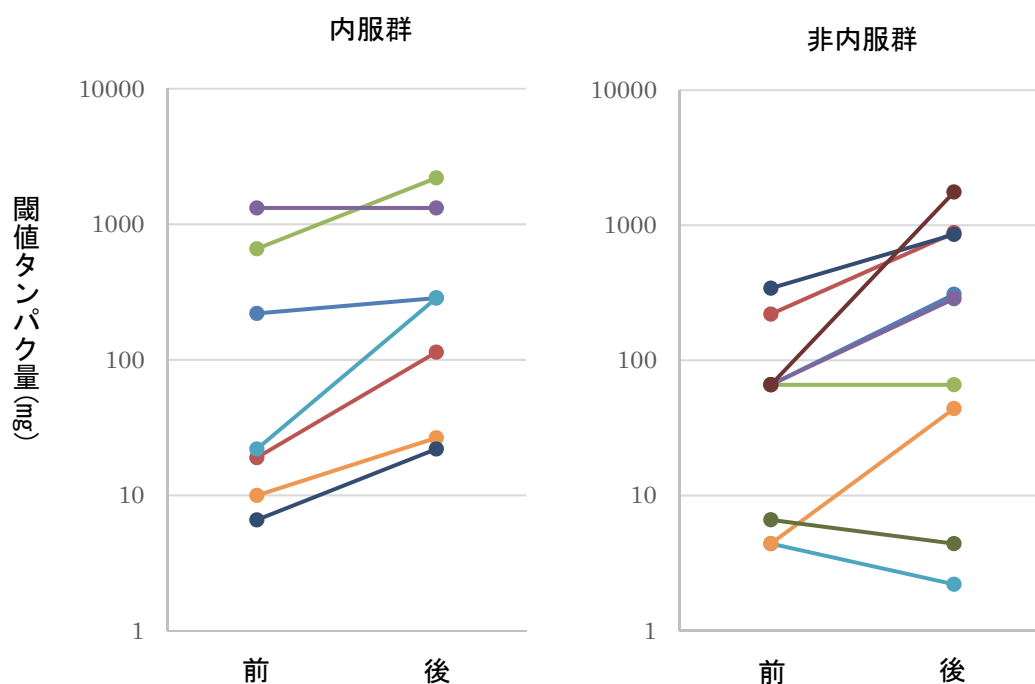
2019年1月24日時点で、6ヶ月の臨床研究が終了したのは葛根湯内服群7名、非内服群9名であり、脱落者はなく、自宅での誘発症状 Grade3（重度）の有害事象は認めなかった。また、臨床的な有害事象や、総蛋白や肝機能などの一般生化学検査の明らかな異常は一人も見られなかった。

1週間あたりの原因食品の平均摂取回数

葛根湯内服群は中央値 6.25/週（2.25-7）、非内服群は 5/週（0.75-7）であり、群間有意差は認められなかった（ $p=0.117$ ）

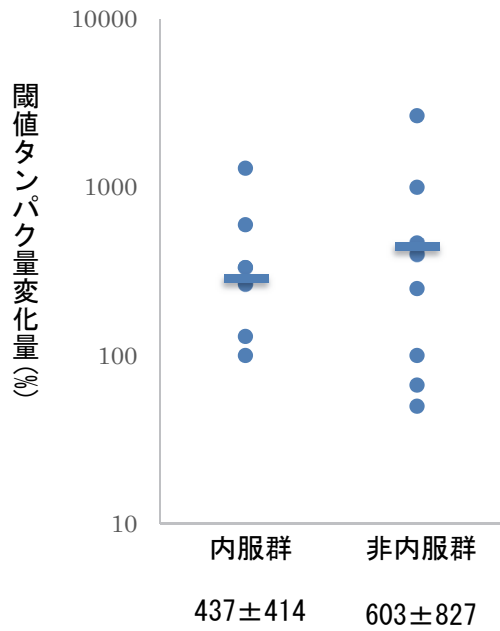
閾値の変化

食物経口負荷試験による閾値評価では、葛根湯内服群（ $n=7$ ）では平均閾値タンパク量が登録時 $322\pm 499\text{mg}$ が、 $607\pm 834\text{mg}$ に有意に上昇し（ $p=0.01$ 、wilcoxon 検定）、非内服群においても平均閾値タンパク量は $93\pm 114\text{mg}$ から、 $467\pm 593\text{mg}$ に有意に上昇していた（ $p=0.01$ ）。



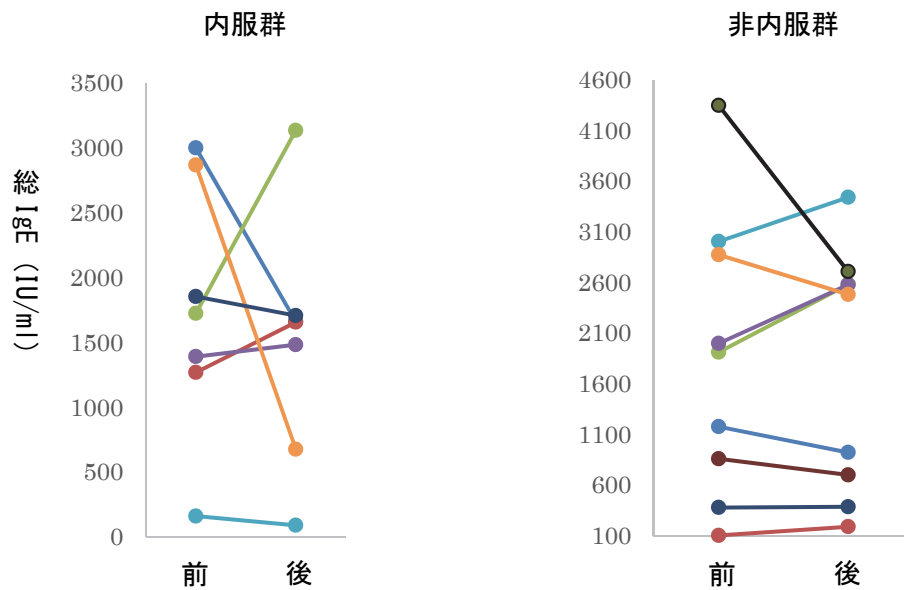
閾値上昇したのは葛根湯内服群6名、非内服群6名、閾値の上昇がなかったのは内服群1名、非内服群3名であり有意差は見られなかった（ χ^2 検定： $p=0.38$ ）。

閾値変化量（6ヶ月後／登録時*100%）は、葛根湯内服群は 437 ± 414 （%）であり、非内服群は 603 ± 827 （%）であった。統計学的な群間有意差は見られなかった（ $p=0.31$ ）。



総 IgE 抗体価および特異的 IgE 抗体価の変化

総 IgE 抗体価



総 IgE については 葛根湯内服群は上昇 3 名、低下 4 名、非内服群で上昇 5 名、低下 4 名であり有意差は見られなかった。

特異的 IgE 抗体価

N が少ないため、表にて全症例表示する(単位: IU/ml)。

内服群

牛乳

牛乳		前	6ヶ月後
P2	牛乳	100	100
	カゼイン	100	95.4
	β ラクトグロブリン	0.51	0.21
P5	牛乳	18.3	11.4
	カゼイン	26.7	17.2
	β ラクトグロブリン	0.27	0.36

非内服群

牛乳		前	6ヶ月後
C2	牛乳	64	54.6
	カゼイン	44	36.9
	β ラクトグロブリン	32.7	27.3
C5	牛乳	9.15	4.33
	カゼイン	0.82	0.49
	β ラクトグロブリン	4.03	1.6

鶏卵

鶏卵		前	6ヶ月後
P8	卵白	24.3	16.7
	オホムコイト	15.1	11.5
P12	卵白	12.7	5.75
	オホムコイト	8.56	3.37
P17	卵白	100	100
	オホムコイト	100	100

鶏卵		前	6ヶ月後
C1	卵白	49.5	27.7
	オホムコイト	20.3	10.1
C6	卵白	1.71	2.86
	オホムコイト	1.72	3.47
C9	卵白	28.8	19.2
	オホムコイト	23.7	15.7
C11	卵白	41.8	41.2
	オホムコイト	34	28.8
C13	卵白	62.3	47.9
	オホムコイト	30.8	27.3
C16	卵白	100	100
	オホムコイト	100	97.2

小麦

小麦		前	6ヶ月後
P4	コムギ	30.8	28.1
	グルテン	45.9	25
	ω 5G	3.68	1.63
P15	コムギ	100	100
	グルテン	100	100
	ω 5G	8.18	2.82

小麦		前	6ヶ月後
C14	コムギ	4.39	4.89
	グルテン	5.31	5.58
	ω 5G	0.13	0.1

まだ症例が少なく、統計解析ができないが、内服群では IgE 抗体価が低下している症例が多く（ただし、>100 の場合には評価困難）、今後も症例を蓄積し解析する予定である。

③ 今後の予定

本研究は、葛根湯の保険適用外治療に該当するため、特定臨床研究に該当すると判断されたため、現在、特定臨床研究の手続きを開始している。

今後も症例を蓄積し、目標症例 60 名（葛根湯 30 名、対照 30 名程度）を目標に臨床研究を継続する予定である。