

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号	2021B-12				
研究開発課題名	尿中 PGDM を用いた経口免疫療法の安全性モニタリングシステムの開発				
分類※	<input type="checkbox"/> ①	<input type="checkbox"/> ②	<input type="checkbox"/> ③	<input checked="" type="checkbox"/> ④	<input type="checkbox"/> ⑤ <input type="checkbox"/> ⑥ <input type="checkbox"/> ⑦
区分	<input type="checkbox"/> A	<input checked="" type="checkbox"/> B	<input type="checkbox"/> C	<input type="checkbox"/> E	<input type="checkbox"/> S
主任研究者	所属	アレルギーセンター行動機能評価支援室			
	役職	室長			
	氏名	山本貴和子			
実施期間	2023年 4月 1日 ~ 2024年 3月 31日				

※分類は下記①～⑦より選択

- ① 日本の成育分野の疾患の研究の基盤となる研究
- ② 診断、治療及び予防法の開発に関する研究
- ③ 発症機序や病態の解明等を行う研究
- ④ 診断や治療のための基準の開発等に関する研究
- ⑤ 患児・者の QOL 向上に結びつく研究
- ⑥ 研究的視点や技術をもつ医療従事者を育てるための研究
(プロトコル作成のフェージビリティ研究)
- ⑦ 政策提言に結びつく研究

成果の概要

(基礎研究)

食物アレルギー患者を対象とした尿中 PGDM 濃度の測定は、採取した尿を、C18 カラムを用いて固相抽出して質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いて測定している。経口免疫療法 (OIT) を行っている患者の尿を用いた濃度測定を最適化する目的で、健常人尿を用いて測定の再現性、客観性をより担保すべく、抽出や測定の最適化と精度検証 (validation) を行ってきた。これまでに、固相抽出条件 (カラム素材や溶媒、Ph、洗浄・再溶解方法) と質量分析装置の測定条件 (カラム、測定溶媒、測定圧、測定モード、クロマトの確認等) の最適化・高速化を行ってきた。また、これらの方法を用いて OIT 患者尿 264 検体の PGMD 濃度評価を行うとともに、OFC 患者の尿のオミクス解析も進めた。これにより PGDM 以外の脂質代謝についても新たに検討した。

各項目について以下に記述する。

① 抽出と測定の条件最適化

2021 年度には健常人の尿を用いて、PGDM の抽出条件の最適化と、質量分析装置による濃度測定条件お最適化、高速化を進めた。2022/2023 年度には、決定された条件を用いて、添加回収試験と希釈直線性を検証し、尿中 PGDM 濃度測定の、感度特異度を算出した。加え

て2023年度には、再溶解時の有機溶媒の条件設定をさらに細かく行い、PGDMの抽出条件をより最適なものとした。この結果測定 of 再生に障害となる尿中夾雑物の濃度を大幅に低減することに成功した。

② OIT患者尿中のPGDM濃度測定

OITを行っている患者から収集した尿中のPGDM濃度測定を測定した。2023年度は、449検体の測定を終えた。

③ 食物アレルギー患者の尿中脂質解析

OFC4時間後の患者尿を採取し、質量分析を用いて脂質代謝物の網羅的な濃度測定を行った。その結果PGDM以外にも、患者体内の炎症状態を反映する主要な炎症性生理活性脂質の代謝物やイソプラスタンなどが検出された。

(臨床研究)

食物アレルギーにおいて、医療機関での食物経口負荷試験で確認した陰性閾値以下の量で自宅での経口免疫療法を実施しても症状が誘発されることある。自宅で経口免疫療法を安全に実施するにあたり、客観的な指標が必要とされており、今回我々は尿中プロスタグランジンD2 (PGDM) の自宅採取時の動きについて検証した。

1. 方法

国立成育医療研究センターアレルギーセンターで実施した食物経口負荷試験が陰性であった児を対象とした。負荷試験後、対象を2群にわけ、閾値量に対する自宅での原因食物の摂取量をA群1日目1/50、2日目1/2、B群1日目1/10、2日目1/2とし、症状の有無を記録し、摂取前、4時間後の尿中PGDMを測定した。

2. 結果

対象者は8名、平均8.8歳であった。自宅摂取1日目は全員無症状であった。2日目は2名で軽度の口腔症状、1名で軽度の腹痛と下痢を認め、その3名とも摂取4時間後の尿中PGDMの上昇を認めた。しかし、症状のなかった1名でも2日目の摂取後の尿中PGDMの上昇を認めた。

3. まとめ

負荷試験で確認した閾値以下の食物の摂取前後の尿中PGDM変動は個人個人で異なり、原因食物摂取量やアレルギー症状と一貫した関連性がなかった。アレルギー反応を示さなかった児でもPGDMの上昇があることから、表現型(客観的症狀)は食物アレルギー反応のエンド型(代謝産物などの生物学的マーカー)と一致しない可能性がある。今後自宅での経口免疫療法の摂取量を適切に設定する一助となることが期待される。