

# セリアック病 (CD) の将来の研究テーマ

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)

Key Words: 複雑な病気, グルテン, 治療, グルテンフリー製品

本論文「セリアック病 (CD) の将来の研究テーマ」は“Celiac Disease and Gluten” (by Herbert Wieser, Peter Koehler and Katharina Konitzer) 2014 の Future Tasks を翻訳紹介するものである。

集中的な学際的研究は、過去数十年にわたってセリアック病 (CD) の複雑な特徴を綿密に理解する上であらゆる進歩に貢献してきた。ただし、多くの問題は未解決のままであり、将来の研究で対処する必要がある。

## 定義

定義に関して、科学文献は、「セリアック病」およびトリガー因子「グルテンタンパク質」に関連する用語の使用に関するコンセンサスの欠如に苦しんできた。CD に関与するすべての人が同じ用語を使用することを保証するために、「オスロの定義」や「NICE ガイダンス」などに対応する取り組みを継続することが望ましい。見方によっては、CD は一部は食物過敏症として、また一部は自己免疫疾患として認識されている。両方の側面を含む妥協案として、CD は自己免疫成分を伴う免疫介在性食物不耐性として定義される可能性がある。

## 1. 複雑な病気セリアック病

### 疫学

CD の有病率に関する多くの疫学研究が発表されているが、診断ツールや参加者の数が異なるため、比較が難しいことがよくある。場合によっては、まったく異なる定義を持つ2つの用語の有病率と発生率が混ざり合ったり、同じ意味で使用された

りする。有病率の決定基準の標準化と、アクティブ、サイレント、および潜在的な CD のケースへの区別は、より正確な疫学的ピクチャを確立するのに役立つ。CD の認識の欠如と疑惑の低さのために、CD の有病率は発展途上国で過小評価されている可能性が最も高い。有病率、臨床経過、治療の有効性、患者のコンプライアンス、および疾患の合併症に関する前向き研究は、医師のより良い教育、リスクのあるグループでのスクリーニング、および開発途上国でのグルテンフリー製品の入手可能性の改善とともに必要である。血族関係の高い地域での研究は、CD の遺伝子型と表現型の相関関係を見つけ、特定の遺伝子マーカーを特定し、CD と他の自己免疫疾患との関連を明らかにするのに役立つ可能性がある。

### 遺伝学と環境要因

ヒト白血球抗原 (HLA) クラス II 対立遺伝子 DQ2/8 と CD の発生との強い関連性は、決定的に証明されている。しかし、これらの対立遺伝子は CD に対する遺伝的感受性の約 40% しか説明していないため、CD に関連する非 HLA 遺伝子はまだそれらの同定を待っている。さらに、どの要因が病気を予防するかを解明するために、CD のない DQ2/8 陽性の個人におけるグルテンペプチドへの反応を研究する必要がある。感受性変異体はジェノタイプング

(遺伝子型決定, 遺伝子型判定)の進歩によって決定されているが, これらの変異体の機能的結果と疾患の病因へのそれぞれの寄与はまだ不明である。エピジェネティクス (メチル化, ヒストン修飾など)の役割は, これらの遺伝的变化がCD感受性に重要な役割を果たす可能性があるとしても, CDでは十分に研究されていない。ダウン症やターナー症候群などの他の遺伝病との関連によるCDの未知の遺伝的欠陥の発生は, まだ十分に調査されていない。最後に, 臨床診療における遺伝子発見の適用可能性を評価する必要がある。遺伝的要因に加えて, 感染症, 帝王切開による出産, 乳児への母乳育児の影響, 乳児の食事へのグルテン導入のタイミング, 衛生基準などの環境要因が, CDを誘発する潜在的な要因として議論されている。これらの関連性の強さを研究する必要があり, CDの予防の可能性についての推奨事項を提供する必要がある。共生および病原性微生物の変化が少なくとも部分的に原因であるか, むしろCDの結果であるかどうかについては, 議論の余地がある。この難問の解決は, マイクロバイーム(微生物叢)を調節するための可能な方法を探求する前に重要である。特に, ウイルスや真菌の役割は今のところ十分な注目を集めていない。CDの開発につながる遺伝的要因と環境要因の複雑な相互作用についてはほとんど知られておらず, それぞれの貢献を理解し, 可能な予防戦略を開発することが主要な研究分野となるであろう。

### 臨床的特徴

今日, 多くのCD患者は, 主に腸外症状と非特異的所見を示すか, 無症候性である。これは, 医師の意識を高め, 教育を改善することによってのみ克服できる正しい診断のためのかなりの課題を提起する。少数のCD患者も, 吸収不良だけでは説明できない神経学的または精神医学的症状を示す。しかし, これらの関連する神経障害の根底にある正確なメカニズム, およびCDと統合失調症または自閉症との関係は不明である。難治性腹腔疾患 (RCD) I および II の病因を解明する上で最近の進歩があったが, 顕性リンパ腫の治療および予防のための新しい標的戦略を開発するために, より多くの研究が必要である。症状と非特異的所見は患者で類似している可能性があるため, CD, 非セリアックグルテン

過敏症 (NCGS), 過敏性腸症候群 (IBS) をより適切に診断できるようにするには, さらなる研究が必要である。患者は比較的貧弱な健康関連の生活の質に苦しんでいるため, IBS患者に対するルーチンのHLA遺伝子型決定の考えられる利点を評価する必要がある。現時点では, NCGSの一般人口の有病率がCDの有病率よりもはるかに高いと推定されていることを除いて, NCGSのことではほとんど知られていない。現在, NCGSの血清学的マーカーやバイオマーカーはなく, 診断は主にCD, 小麦アレルギー, IBSを除外し, 食事からグルテンを除去した後の症状の改善を監視することによって行われる。病態メカニズム, 潜在的な遺伝的および環境的要因, および代替治療の選択肢と同様に, NCGSを引き起こす穀物成分はまだ特定されていない。自己免疫成分 (トランスグルタミナーゼ [TG]2) を伴う疾患として, CDは他の自己免疫疾患を伴う可能性があり, その逆もある。いくつかの共有遺伝子座が特定されているが, より良いリスク評価のためにはさらに多くの研究が必要である。別の自己免疫疾患を発症するリスクの低減に対するグルテンフリーダイエット (GFD) の効果については議論の余地がある。さまざまな自己免疫疾患の関連についての理解が深まると, 予防戦略の開発が可能になる。CDでは, 外因性因子 (グルテン) が自己抗体や組織破壊などの自己免疫機能の誘発につながる可能性がある。したがって, 自己免疫疾患における適応免疫応答は, 自己免疫プロセスの標的である抗原に向けられる必要がない場合がある。そのため, 外因性の要因が他の自己免疫疾患の原因となる可能性がある。モデルとしてCDを使用して, これらの推定される外因性因子の存在を検証し, 他の自己免疫プロセスを促進するためのそれらの相対的な寄与を評価する必要がある。

### 診断

IgA/IgG TGA, IgA/IgG DGPA, IgG AGA, およびIgA EMA アッセイ用の臨床酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) キットの要件は, 最大の感度と特異性である。これは1つのテストでは達成できないため, できるだけ多くの偽陰性と偽陽性を除外するために, テストの最適な組み合わせを決定する必要がある。臨床検査では, 抗原の質やカットオフ値が異

なるため、パフォーマンスが異なることがよくある。共同研究は、さまざまなテストキットで測定された結果の精度を評価するのに役立つ。新しい診断キットを評価するために、分析の特異性、感度、取り扱い、時間、およびコストのパフォーマンス基準も確立する必要がある。同様に、最近開発された免疫センサーの信頼性を判断する必要がある。

最新の ESPGHAN ガイドラインでは、IgA TGA 力価が正常値の上限の 10 倍を超えている場合、医師の裁量で小児の腸生検を省略できることが示唆されている。力価レベルを含むこの勧告の影響は、将来監視する必要がある。さらなる研究は、十二指腸生検が消耗する可能性のある症例を決定することに焦点を当てるべきである。テンプレート（雛型的）病理報告と病理学者間のコミュニケーションを通じて、観察者間のばらつきを減らす。消化器病専門医と臨床医は、軽度の粘膜損傷と、CD の非定型的な症状を含む組織病理学的変化の全範囲の認識を改善することができる。比較的非侵襲的で安全な手順としてのビデオカプセル内視鏡検査 (VCE) の使用は、現在、生検を取得できないこと、関心領域が見落とされる可能性、および VCE 画像の主観的で労働集約的な分析によって制限されている。したがって、コンピュータ化された定量的画像処理は、VCE 記録を分析するための強力なツールになる可能性がある。CD の活動を検出、定量化、および監視するための他の非侵襲的な方法論を開発する必要がある。

### 病理機構

大量のプロリンおよびグルタミン残基により、グルテンタンパク質およびペプチドは、胃、膵臓、および刷子縁酵素による切断に対してかなり耐性がある。小麦、ライ麦、大麦、またはオート麦製品を経口摂取した後、グルテンタンパク質は胃腸管でタンパク質分解されるが、腸のブラシボーダーに到達するグルテンペプチドの実際の構造と量に関する情報は少ない。次に、上皮バリアを通過するペプチドの通過は、経細胞経路または傍細胞経路のいずれかに従うが、いずれかの経路のそれぞれの寄与を明らかにする必要がある。経細胞経路が優勢であるように思われるが、エンドソーム/リソソームコンパートメントでのペプチド分解の速度に取り組んだ研究はほとんどない。密着結合のバリア機能は健康な人では

無傷であるが、活動性 CD の患者は、ゾヌリンのアップレギュレーションにより腸透過性の増加を示す。これが、グルテンペプチドが未修飾の固有層に到達する可能性がある理由である。しかし、この高い透過性が CD の原因なのか、それとも絨毛萎縮と炎症性サイトカインの分泌の結果なのかはまだ明らかではない。適応免疫応答に関しては、細胞外環境への TG2 の分泌につながるカスケードは行われていない。しかし、この高い透過性が CD の原因なのか、それとも絨毛萎縮と炎症性サイトカインの分泌の結果なのかはまだ明らかではない。獲得免疫応答に関しては、細胞外環境への TG2 の分泌につながるカスケードは特定されておらず、TG2 の活性と炎症のどちらが先かという問題を解決する必要がある。

CD 特異的抗体は、この疾患の重要なマーカーであり、血清学的検査に役立つが、CD の病因におけるそれらの役割はまだ明らかにされていない。自然免疫応答に関しては、毒性ペプチドの作用機序を解明する必要がある。これまでのところ、グルテンペプチドの受容体は腸上皮細胞で同定されていない。さらに、CD 患者の上皮における TCR $\gamma\delta$ + 上皮内リンパ球 (IEL) の役割は、GFD で何年も経過した後でもそのレベルが高いままであるため、議論されている。自然免疫応答の開始における、遺伝的および環境的要因、特にグルテンペプチドまたはアミラーゼトリプシン阻害剤 (ATI) のような他の穀物成分のそれぞれの寄与を評価するために、さらなる研究も必要である。適応免疫応答と自然免疫応答の両方が CD に関与しているが、それらの相互依存性はほとんど知られていない。適応免疫応答におけるグルテンペプチドの役割は十分に特徴付けられているが、自然免疫応答に関してはほとんど知られていない。

自然免疫応答のメカニズムを解明することは、CD の病態メカニズム、CD における適応免疫応答との相互作用、および一般的な炎症反応と組織破壊反応の理解を深めるのに役立つ。これにより、予防戦略を設計し、代替治療法を開発するための新しい可能性が開かれる。

## 2. グルテン - 沈殿要因

### 穀物タンパク質

穀物の貯蔵タンパク質は、単一のタンパク質の非常に複雑な混合物で構成されている。これらの貯蔵



タンパク質の多数の総アミノ酸配列は、配列決定技術によって DNA および RNA から翻訳され、データベースに入力された。ただし、多くのエントリはレビューされていないか不完全であるか、タンパク質の存在の証拠が不確実であるか、予測されているか、または相同性から推測されている。エントリのごく一部のみが、転写レベルまたは実際のタンパク質レベルでのタンパク質の存在の証拠を持っている。したがって、貯蔵タンパク質のアミノ酸配列を完成させるには、さらに多くの作業を行う必要がある。

### セリアック病の毒性

実際の毒性試験の前に、試験に使用する材料を注意深く特性評価し、純度、タンパク質/ペプチド含有量、および組成について分析する必要がある。*In vivo* 検査は通常、穀物タンパク質の CD 毒性を評価するための「ゴールドスタンダード」と見なされているが、必要なサンプル量が多く、CD 患者の負担が大きいため、生体外検査に大きく取って代わられている。*In vitro* 試験は、CD 患者の腸組織の器官培養または非常に頻繁に使用される T 細胞増殖アッセイを使用して行うことができる。グルテン感受性 T 細胞アッセイは、免疫原性効果のレベルを比較するために使用されているが、T 細胞検査によって測定された免疫原性は、*in vivo* または臓器培養検査によって明らかにされた毒性に必ずしも対応していない。これが、確認方法として器官培養による毒性について免疫原性薬剤を試験することが興味深い理由である。器官培養の利点は、自然免疫と獲得免疫の両方のモデルであり、それらの相互依存性を研究するために使用できることである。動物モデルは、CD の病態メカニズムの新しい側面を理解するのに役立つが、現時点では、満足のいく動物モデルはない。トランスジェニックマウスを使用していくつかの有望な試みがなされたが、病気のすべての側面を網羅するモデルを見つける必要がある。1つの仮説は、2倍体または4倍体コムギの古代の株は、D ゲノムがないため、CD 刺激エピトープが少ない可能性があるというものである。ただし、穀物種内のさまざまなレベルの CD 毒性の実験的証拠はない。オーツ麦に関しては、2つの既知の免疫原性アベニンエピトープの含有量が品種間で異なるため、免疫

原性に違いがある可能性がある。これらのエピトープを欠くオーツ麦品種を見つける可能性については議論の余地があるが、完全に安全なオーツ麦品種が存在する可能性がある。CD 患者が消費するオーツ麦にグルテン汚染がないことを保証する厳格な品質基準と同様に、GFD のオーツ麦の長期評価が依然として必要である。トウモロコシゼインの消化性トリプシン消化物の最近のインシリコ分析により、CD 患者の非常に限られたサブグループに有害である可能性のあるいくつかの免疫反応性  $\alpha$ -ゼインペプチドが得られた。免疫原性と毒性に関する包括的な *in vivo* および *in vitro* 研究が欠落しているため、CD 患者に対するトウモロコシの安全性を疑問視する前に注意を払う必要がある。同様に穀物種のそれと同様に、異なるプロラミンまたはグルテリン画分および異なるタンパク質タイプの CD 毒性のレベルを比較することはほぼ不可能である。調査の大部分はグリアジンを使用して実施されたが、他のタンパク質画分とタイプ、特にライ麦と大麦からのデータが欠落している。同様に、グルテンペプチドの CD 毒性に関する研究は、ほとんどが  $\alpha$ -グリアジン由来のペプチドに焦点を合わせている。 $\gamma$ - および  $\omega$ -グリアジン、グルテニン、セカリン、およびホルデインからの対応する配列は、器官培養または生体内チャレンジによってまだテストされていない。 $\omega$ -グリアジンを調べた場合、グルタミンとプロリンの含有量は大きく異なるが、ほとんどの場合、 $\omega 5$ -グリアジンと  $\omega 1,2$ -グリアジンではその区別はなかった。

## 3. セリアック病の治療

### 従来の治療法

GFD は一般に、CD 患者の死亡および悪性腫瘍のリスクの低下と関連しているが、一部の研究では矛盾する結果が見つかっているため、より長期的なモニタリングが必要である。診断されていない CD の場合の死亡、悪性腫瘍、骨粗鬆症、およびその他の状態のリスクの包括的で長期的な評価も利用できない。

現在、GFD はサイレント CD には推奨されているが、潜在的な CD には推奨されておらず、リスクのあるグループでのスクリーニングによって検出された無症候性 CD には一貫性のない推奨が示されて

いる。これらの推奨事項を再評価するには、リスクとメリットを慎重に比較検討するより長期的な研究が必要である。GFDを実施している患者は、1日あたり20mg未満のグルテンを摂取することを勧めるが、CDと比較した食事のグルテンの真の安全な曝露しきい値は今後も定義する必要がある。診断後、合併症を防ぐためのフォローアップ管理のための標準的なガイダンスはない。別の生検を行う必要がある期間を定義し、この繰り返しの生検を省略して、血清学のみに基づいてモニタリングを行うことができるかどうかを定義することは有益である。特に、少数民族、青年、およびコンプライアンスが低い小児期に診断された成人の患者にとって、既存のリスクを低減するためのGFDへの食事順守の重要性についてのより良いコミュニケーションが不可欠である。GFDへのコンプライアンスを評価するための記述的な患者調査のような非侵襲的（患者を傷つけない）ツールとコンプライアンスを改善するための要因の特定が必要である。GFDのCD患者の健康関連の生活の質（HRQOL）に関するさらなる調査も、HRQOLを改善する可能性のある要因を特定するために望ましいだろう。長期的な研究では、GFDが全体的な栄養状態、特にビタミンやミネラルの状態に及ぼす影響を監視し、サプリメントが必要かどうかについてのガイダンスを提供する必要がある。

#### 代替療法

CD患者は、CDに対するワクチン、またはグルテンを含む食品を時折食べることができる錠剤を利用したいという希望を表明している。このような代替療法はまだ開発の初期段階にあり、有効な物質が市場に出る前に、安全性と毒物学に関する厳しい基準に準拠する必要がある。フェーズIIの臨床試験はすでに進行中であるが、フェーズIIIの試験は、CDの活動を監視し、患者に関連する結果を反映するための非侵襲的な方法論の欠如によって妨げられている。経口酵素療法に関しては、生体内で効果的に解毒できるグルテンの量を実験的に決定する必要がある。グルテンの量に影響を与える重要なパラメーターは、酵素の投与量、グルテンが作用するのに利用できる時間、および他のタンパク質やその他の食品成分の存在である。主な用途は、GFDのグルテン汚染を解毒し、不注意によるグルテン摂取を

防ぐことである。経口カプセルを介した食事ごとに1回の酵素送達の代替として、改善された投与スケジュールおよび送達経路を開発することができた。それぞれの治療オプションを適用した後、悪影響なしに許容できるグルテンの量は、すべての新しい治療アプローチについて回答する必要がある。

#### 4. グルテンフリー製品について グルテンフリーの原材料からの製品

グルテンフリー製品の市場は急速に成長しており、多くの製品が改良された処方が開発されている。しかし、グルテンフリー製品の香り、味、質感の質は、多くの場合、従来の製品よりも劣っている。特にグルテンフリーのパンやビールの製造では、風味と口当たりの向上が継続的な課題である。プロセスと配合を改善するためのさらなる可能性を探求する必要がある。

#### グルテンフリーでレンダリング（使用）された製品

グルテンフリーの小麦デンプンは、その好ましいテクスチャー特性のために、多くのヨーロッパ諸国でグルテンフリー食品の製造に使用されている。これらの国々では一般的に広く受け入れられており、小麦デンプンベースのGFDに対する食事の反応は、天然のGFDに対する反応と同じくらい良好であった。ただし、特に米国とカナダでは、CD患者に対する安全性について疑問が残り、長期的な影響に関するさらなる研究が推奨される。グルテン含有食品のペプチダーゼ処理は、グルテンを検出できないレベルに分解することに成功している。食品生産に適用する前に、この処理が成分に及ぼす機能的影響に対処し、最初の食品と比較する必要がある。グルテンが不足している株をもたらず小麦と大麦の遺伝子組み換えにより、これらの穀物のCD毒性が低下する可能性がある。しかし、このCD毒性の低下が、これらの株をCD患者にとって安全にするのに十分であるかどうかは明らかではない。他の未解決の質問は、経済性、そのような株から作られた製品の品質、遺伝子組み換えの安定性、そして消費者の受容である。

#### 立法

世界的な移動と旅行により、グルテンフリー食品

に関する規制がコーデックス委員会に基づいてすべての国で調和されていれば、CD患者にとってより簡単になるであろう。現在、オーストラリアとニュージーランドでは、ヨーロッパ、米国、カナダよりも厳しい基準がグルテンフリー製品に適用されている。その上、製品ラベルには多くの異なるグルテンフリーのシンボルがある。これらのいくつかは信頼できるグルテンフリーの認証機関によって割り当てられているが、他の製品はマーケティング目的の人目を引くシンボルであり、製品が本当にグルテンフリーで安全かどうかについての信頼できる情報を提供していない。統一された基準に基づいてメーカーと製品に割り当てられた普遍的なグルテンフリーのロゴは、グルテンフリーと表示された製品の安全性に関する混乱と懸念を防ぐ。

### グルテン分析

多くのグルテンフリーと思われる食品のグルテン含有量を正確に測定することは、依然としてかなりの課題である。適切なサンプル前処理では、事前の熱処理、加水分解、または発酵とは関係なく、干渉物質を除去し、すべてのグルテンタンパク質またはペプチドをマトリックスから可溶化する必要がある。プロラミン分析と毒性に関するワーキンググループによって提供されたPWG-グリアジンを除いて、グルテンの一般的に受け入れられているレファレンス資料は今のところ利用できない。グルテンのレファレンス物質を提供することは、さまざまなグ

ルテン定量法の結果を評価、検証、および比較するために不可欠である。ELISAのような免疫学的手法は広く使用されている高感度の方法であるが、レファレンス物質、抽出プロトコル、およびプロラミンにのみ特異的な抗体が異なるため、制限がある。新しいELISAは、すべてのCD毒性穀物からプロラミンとグルテリンの両方を同等の感度で検出できるはずである。免疫センサーは、従来のELISAの有望な代替手段となる可能性があるが、最初にその性能を検証する必要がある。定量的ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)は、ELISAを補完する高感度の非免疫学的手法として使用できる。特定の加工シリアル製品にはDNAが含まれていないため、将来、すべての食品および添加物に含まれるCD毒性シリアルの検出への適用が制限される可能性がある。質量分析は、グルテンタンパク質およびペプチドを高感度かつ正確に検出するための最も有望な非免疫学的アプローチである。重要な考慮事項は、関連するグルテンマーカーパープチドの選択、ペプチド含有量からグルテン含有量への変換、および可能な限り多くのタンパク質配列のバリエーションをカバーする信頼性の高いデータベースの確立である。より多くの研究は、レファレンス資料の開発、タンパク質データベースの編集、分析方法の比較、およびグルテンの安全性を確保するためのグルテン定量のための正確で再現性のある一般的に適用可能なプロトコルを生成するためのさまざまなマトリックスの影響に焦点を当てる必要がある。