

セリアック病の治療

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)

Key Words: セリアック病, セリアック病の治療, グルテンフリーダイエット (GFD), 代替療法,

本論文「セリアック病の治療」は“Celiac Disease and Gluten” (by Herbert Wieser, Peter Koehler and Katharina Konitzer) 2014 の第 3 章 Treatment of Celiac Disease を翻訳紹介するものである

概要

理想的なグルテンフリーダイエット (GFD) は、現在セリアック病 (CD) 患者の健康を完全に回復させる唯一の安全で効率的な治療法である。したがって小麦、ライ麦、大麦、場合によってはオート麦に基づく製品はすべて避ける必要がある。これらの製品をグルテンフリーの代替品に置き換えるか、グルテンフリー穀物からの製品を消費することによって管理できる。診断された CD 患者を、臨床的改善、食事療法の順守、および栄養状態を監視する医師と栄養士を含む医療チームに紹介する必要がある。グルテンフリーの代替品の入手可能性が制限され、コストが高く、品質が悪く、「隠れた」グルテンによる汚染があるため、生涯にわたる GFD を維持することは困難である。したがって、食事療法へのコンプライアンス (法令遵守) は、ほとんどの場合不十分である。多くの CD 患者は、GFD を生活の質を低下させる実質的な負担と見なしているため、彼らの最も顕著な要望は、グルテンを含む食品を食べることを可能にするピルまたはワクチンの開発である。

近年、代替療法のための多くの新しい戦略が開発されている。それらには、グルテンの酵素分解、腸透過性の阻害、免疫応答の調節、およびワクチン接種が含まれる。いくつかの新薬や栄養補助食品に関する研究は、すでに臨床試験のステータスに達して

いる。入手可能になる最初の医薬品は、代替品ではなく、GFD のサプリメントとして販売される可能性が最も高い。

1. 従来の治療法

1-1. グルテンフリーダイエット

グルテンフリーダイエット (GFD) の永続的な生涯の遵守は、セリアック病 (CD) の現在の不可欠な治療法である。長年のグルテン回避の後でも、CD 患者はグルテンに対する耐性を獲得することはなく、グルテンへの再曝露は病気を再活性化する。GFD の導入は、CD の診断スペクトルに基づく必要がある。原則として、GFD は現在、症候性 CD、疱疹状皮膚炎、非セリアックグルテン過敏症、グルテン失調症、および下痢型過敏性腸症候群のすべての症例に適応されている¹⁾。小麦依存性の運動誘発性アナフィラキシーの場合、GFD が適応となる。ただし、患者はライ麦、大麦、オート麦の消費を制限する必要はない。無症候性の CD を患っている個人が、それによって生じる可能性のある生活の質の低下を考慮して、GFD の恩恵を受けるかどうかは不明である。

未治療の CD の患者は、血清学が陽性であるが小腸組織学が正常な患者でさえ、死亡リスクが高いと考えられている。ただし、死亡率の増加は、治療を受けた CD 患者でも報告されている。したがって、

GFD が死亡率に及ぼす真の影響は不確かである²⁾。同様に、初期の研究では、未治療の患者は一般集団よりも悪性腫瘍のリスクが高いことが示された。治療を受けた患者では、このリスクは未治療の患者のリスクよりも小さかったが、それでも一般集団よりも高かった。しかし、その後の研究では、特に絶対リスクの観点から、リスクはより控えめであることが示された³⁾。骨粗鬆症や骨折などの他のリスク状態は、認識されていない CD の実体の全体像を把握するために、将来の研究で評価する必要がある。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の患者が GFD に従うべきかどうかは疑わしいままである⁴⁾。サイレント CD の場合には GFD が推奨されているが、潜在的な場合には推奨されていない⁵⁾。GFD は、ますます「流行」の食事療法になっている。その人気は 2008 年以來着実に増加しており、さらに増加すると予想されている。

グルテンフリー食品は今や至る所にある。グルテンフリー製品をオンライン、スーパーマーケット、健康食品店に供給することは、数十億ドル規模の産業である。しかし、現在のデータは、一般の人々がグルテンフリーのライフスタイルを維持する必要があることを示唆していない。最近の一般的な概念 - 小麦の摂取は脂肪と病気を引き起こし、一般の人々は避けるべきである - という概念⁶⁾ は、科学的に根拠がない⁷⁾。小麦は炭水化物、ビタミン B 群、ミネラル、微量元素の重要な供給源であり、世界人口の栄養補給の主要な基盤の 1 つを構成していることを考慮に入れる必要がある。

厳密な GFD は、グルテンの 1 日摂取量が 20mg 未満であることを意味する。これは、パンのスライスの約 100 分の 1 に相当する。比較すると、欧米の人口の普通の人々は、平均して約 20,000mg (1000 倍!) のグルテンを摂取している。CD 患者は、2 つのカテゴリーのグルテンフリー食品を摂取する可能性がある。まず、肉、魚、乳製品、野菜、果物など、さまざまな一般的な食品を食べることが許可されている。小麦ベースのデンプン加水分解物、ブドウ糖シロップ、およびマルトデキストリンの摂取は、プラセボと比較して、寛解期の CD 患者の組織学または炎症に有害な影響を及ぼさない⁸⁾。ただし、患者は、濃厚なソースやスープ、プリン、ソーセージな

ど、グルテンの「隠れた」供給源を含む多数の複合食品に注意する必要がある。「第二に、グルテンフリー食品のコーデックス基準によれば、CD 患者はグルテンフリーの食事療法食品を摂取する可能性がある。

ほとんどの食事療法のグルテンフリー食品は、パンやその他の焼き菓子、パスタ、朝食用シリアル、ビールなどの伝統的なシリアルベースの商品の代替品である。それらは、米やトウモロコシ、擬穀穀物類 (アマランサス、ソバ、キノアなど) などの無毒の穀物や小麦粉から作られている。CD 患者は、グルテンフリーと認定されていない製品に注意する必要がある。これらの製品は、生産ラインに沿って (つまり、フィールドで、輸送、保管、または処理中に) CD 毒性シリアルによって汚染されている可能性があるためである。GFD を厳守している患者は、グルテン汚染の結果として、毎日平均 5 ~ 50mg のグルテンを消費すると推定されている⁹⁾。製品にグルテンが含まれているかどうかについて患者が疑問を持っている場合は、それを使用しないで欲しい。相互汚染のリスクがある可能性があるため、Academy of Nutrition and Dietetics Celiac Disease Tool kit は、CD をもつ方には、グルテンフリーのラベルが付いたグルテンフリーの穀物や粉を自然に購入することを勧める¹⁰⁾。家庭では、グルテンフリー食品は常にグルテン含有食品とは別に準備、保管、取り扱いが必要がある。個別のエリアが利用できない場合は、他の食事の前にグルテンフリーの食事を準備することを勧める。

ダイエットグルテンフリー食品は、かつてはニッチ市場の製品であり、健康食品店、薬局、および通信販売会社を通じてほぼ独占的に入手可能であった。過去 10 年間で、グルテンフリー製品の市場は、診断された CD 患者だけでなく、食事からグルテンを排除したい非 CD 個人の数の増加により、非常に成長した。今日では、グルテンフリー製品も多くのスーパーマーケット、レストラン、ホテルで提供されており、商品の品揃えは急速に増加している。ヨーロッパの 4 か国で市販されているグルテンフリー製品に関する研究では、ほとんどの製品 (99.5%) がグルテンのしきい値である 20mg/kg を満たしていることが示されている¹¹⁾。残念ながら、グルテンフリーと表示された市販の製品は、対応する従来の食品よ

りも大幅に高価である。このため、一部の国の CD 患者は、この高い費用を補うために経済援助を受けている。

1-2. フォローアップ管理

患者の反応と GFD へのコンプライアンスを客観的に評価して診断を確認するには、フォローアップが必要である。医学的観点から、症候性 CD 患者における GFD の利点は明らかである。ほとんどの患者は急速な臨床的改善を示し、GFD を開始してから約 2 週間で症状が消える。CD 特異的血清抗体価は、正常化するまでに 6~12 週間かかる場合があり、最終的には、GFD を 2 年間追跡するまで、完全な組織学的解決が得られない場合がある¹²⁾。CD 患者の約 5% は GFD に反応しない。失敗の主な原因は、意図的または意図的でないグルテンの継続的な摂取である¹³⁾。

その他の理由は、CD を複雑にしたり共存させたりする状態である。応答しない CD の最も恐れられている原因は、難治性 CD である。無反応の理由が明確にできない場合は、CD の診断が正確であったかどうかを調べることを検討する必要がある。新たに診断された患者は、できるだけ早く医師と栄養士の専門家を含む医療チームに紹介されるべきである。患者は定期的に評価されるべきであり、生涯にわたるフォローアップが推奨される。GFD を開始する前に、患者は栄養不足、特に葉酸と鉄が不足していた可能性があり、一定期間サプリメントで修正する必要がある¹²⁾。小腸でのラクターゼ活性が低い場合、食事療法を開始した後、患者の乳糖の消費を制限する必要がある場合がある（乳製品など）。このような場合、カルシウムとビタミン D の補給を検討する必要がある。

激しい下痢がある場合、治療の最初の数日間に電解質サプリメントが必要になることがある。ほとんどの患者は、症状の解消、検査室の異常の改善、および血清抗体のレベルの低下に基づいてフォローアップできる。後者の分析は、トランスグルタミナーゼ 2 (TG2) および脱アミド化グリアジンペプチドに対する血清抗体を測定することによって行うことができる。抗体が上昇したままであるか、再び陽性になる場合は、生検を伴う内視鏡検査を検討する必要がある。GFD の回復と順守は、おそらく診断

後 6~12 か月で、その後は毎年管理する必要がある。CD 患者は、CD と GFD の専門知識を持つ管理栄養士が監視する必要がある。患者とその家族の教育は CD の管理の中心である¹³⁾。彼らは、CD の原因、不十分に管理された疾患の医学的合併症、家族が CD を発症するリスク、および厳格な GFD を生涯維持することの重要性を理解する必要がある。食事カウンセリングのトピックには、グルテンの隠れた供給源の特定、適切な栄養の確保、グルテンフリー製品のラベル付けが含まれる。

セリアック病協会は、CD 患者に正確で有用な情報を提供し、GFD に準拠した地域のサポートグループを推奨することができる。会議は、医学的アドバイスや情報や問題を交換する機会を提供する場合がある。また、GFD を始めたばかりの人を助ける機会も与えられる。特定の Web サイトには、グルテンフリー食品の入手可能性、一般的な患者情報、臨床およびケアの質のガイドライン、診断テストなどの役立つ情報が含まれている。

1-3. グルテンフリーダイエットの遵守

血清学、栄養士の面接、および再生検は通常、GFD の順守の評価に利用される。Leffler らは、臨床的に関連性があり簡単な「セリアック病の食事順守テスト」(CDAT)を開発した。これにより、TG2 抗体テストよりも優れたパフォーマンスで順守の標準化された評価が可能になる¹⁴⁾。CDAT は、症状、自己効力感、およびグルテン回避の習慣に関する一般的な質問に依存する 7 つの質問の調査である。5 点満点の回答スコアはそれぞれ加算的であり、高いはより悪い GFD 順守を示すスコアである。

別の研究では、食事療法のコンプライアンスを監視するための患者の面接は、GFD に準拠していない患者を特定する際に血清学よりも感度が高いことが証明されている¹⁵⁾。GFD への厳格な順守の程度は大きく変動する。系統的レビューでは、評価の定義と方法に応じて、42% から 91% の範囲が報告された¹⁶⁾。GFD への意図的な非遵守は、不注意による失効よりも頻度が低いことがわかった¹⁷⁾。コンプライアンスは、少数民族、青年、および小児期に診断された成人の中で最も低くなっている。理由には、知識の欠如、グルテンフリー製品の入手可能性とラベル付けの不足、外食時にグルテンフリー食品

を特定することが困難なことが含まれる¹⁸⁾。寛解期にある一部の患者は、古典的な症状がないことは、グルテンを含む食品が時々食べられる場合、グルテンが許容できることを示していると誤って信じている。アドヒアランス（服薬遵守）を高めるために、CD患者は、医師と患者のコミュニケーションの改善、より詳細なカウンセリング、およびグルテンフリー製品のより良い入手可能性とラベル付けを必要としている。GFDの不遵守は、特定の種類の癌および死亡のリスク増加と関連している可能性があることを患者に通知する必要がある¹⁹⁾。さらに、明らかな症状がなくても健康上のリスクが軽減されてはいないことを伝えておく必要がある。食事療法の順守を強化するには、永続的なフォローアップ管理が重要である。

1-4. 栄養状態

グルテンタンパク質の生物学的価値は、必須アミノ酸が不足しているため、かなり低くなっている。したがって、栄養学的な観点から、グルテンを含まない食事はCD患者にとって不利ではないかもしれない。それにもかかわらず、GFDは適切な栄養摂取を保証するものではなく、約8～12年間の長期GFDによる治療後にいくつかの栄養不足が報告されている¹³⁾。多くの研究は、炭水化物、タンパク質、脂肪の不均衡な摂取、および特定の必須栄養素の制限された摂取を示している。たとえば、CD患者では食物繊維の摂取が不十分である^{20,21)}。この不均衡は、グルテンフリーのパンがしばしば繊維の乏しいデンプンおよび/または精製された粉から作られているという事実によるものであると提案されている。擬似穀物類は通常、全粒穀物または全粒粉として消費されるため、一般的な穀物よりも栄養価と繊維含有量が高い。CD患者の食事にこれらの種子を組み込むことが推奨されている²²⁾。さらに、GFDで数年間注意深く治療された多くの成人CD患者は、ビタミン（葉酸、ビタミンB₆、およびB₁₂）とミネラル（鉄、カルシウム）の状態が悪い兆候を示している^{21, 23, 24)}。

この結果は、成人をCDでフォローアップする場合、ビタミンの状態を確認する必要があることを示唆している。二重盲検プラセボ対照多施設共同試験では、ビタミンB群を6か月間補給した後、患者

の全般的な健康状態に有意な改善が見られた²⁵⁾。de Palmaらの研究では、GFDの被験者における有益な腸内細菌の減少が報告されており、これは宿主に未知の病態生理学的結果をもたらす可能性がある²⁶⁾。一般的に、CD患者は、果物、野菜、豆類、ナッツなどの繊維とビタミンが豊富な自然グルテンフリー食品の摂取量を増やすことを勧める²⁰⁾。

1-5. 生活の質

グルテンフリー食品の代替品の入手可能性が制限され、コストが高い（ファクター2以上）、味、風味、食感、口当たりの質が低い、予期しないグルテン汚染が少ない、文化的慣行、かなりの社会的負担につながるため、生涯にわたるGFDを維持することは困難である。CDは、患者の健康関連の生活の質（HRQOL）に深刻な影響を与える可能性がある。CDのHRQOLに関するいくつかの研究が、ヨーロッパと北アメリカで実施された。少なくとも12か月間GFDを使用していた147人のCD患者は、質問票に次の回答をした²⁷⁾：68%が食事制限により食事の楽しみが減ったと報告し、46%が食事の費用が制限のない人々以上であると考えていた。21%がこれらのより高いコストが彼らにとって問題であると述べた。患者の約半数は、制限のために生活の楽しさを減らしたと報告した。原因になった最も一般的な活動は外食である。52%は他人との違いを感じ、65%は頻繁な欲求不満を報告し、56%は診断のために自分の健康についてもっと深刻に考えていた。

これらの発見にもかかわらず、ほとんどの患者は、身体的および心理的状态の改善に気づいたため、診断されたことに満足していると報告した。しかし、古典的な症状のない患者の27%は、この病気と診断されたことを後悔している。すべて医師によって診断され、GFDで診断された387人の米国の患者への質問票の結果を表3.1に示した²⁸⁾。

質問票には、4つの関連するサブスケール（制限、不快気分、健康への関心、および不適切な治療）にわたって20の項目があった。因子分析（ファクター>0.5は意味がある）は、4つのサブスケールすべてがGFDの患者に関連していることを示した。健康への懸念が最も重要であるように思われた。GFDの中年CD患者に関するスウェーデンの研究は、男性が女性よりも明らかに優れた生活の質のレベルを

表 3.1 グルテンフリーダイエット (GFD) を行っているセリアック病 (CD) 患者の生活の質の因子分析²⁸⁾

質のパラメーター	ファクター ^a
制限	
・私の病気のために社交の問題	0.73
同僚との食事は限られています	0.65
旅行や長旅中の困難	0.63
社会的に汚名を着せられた	0.58
外食するのが怖い	0.58
いつも食べ物について考えている	0.54
パースデーケーキなどの特別な食べ物を食べることができない	0.51
通常の生活を送ることはできません	0.51
不快気分	
CD を持っていることに圧倒された	0.73
CD を持っていることでおびえた	0.71
CD のために落ち込んでいる	0.70
CD について十分に知らない	0.61
健康への関心	
CD が他の健康上の問題を引き起こすことを懸念している	0.80
私の長期的な健康に影響が出るのではないかと心配しています	0.79
癌のリスクの増加について心配している	0.78
家族のメンバーのリスクの増加について心配している	0.55
不適切な治療	
食事療法は不十分な治療法です	0.72
十分な治療がない	0.67
CD は不治です	0.62
0.5 より高いファクター ^a は意味があります	

報告したことを明らかにした²⁹⁾。成人 CD 患者における 1 型糖尿病の追加診断は、特に女性において、生活の質にさらに顕著な悪影響を及ぼした³⁰⁾。患者が自分の希望について尋ねられたとき、彼らは通常、彼らの店がより多くのグルテンフリー食品を運び、彼らのレストランがより多くのグルテンフリーの選択肢を提供することを望んでいた。その他の頻繁に言及される問題には、CD に関するより多くの研究、強化されたスクリーニング、早期診断、医師に提供される GFD に関するより多くの知識、および内視鏡検査なしの診断が含まれる¹⁸⁾。患者の最も顕著な欲求は、グルテンを含む食品を食べることを可能にする錠剤またはワクチンの開発である^{31,32)}。

1-6. セリアック病協会

CD 患者の関心は、世界中の 100 を超える全国セリアック病協会によって示された。それらは CD の人々を助けることを目的としたボランティア組織である。セリアック病の協会は、特に病気の最初の段階で非常に重要な役割を果たしている。患者は、実

際的、社会的、法的な問題や他の患者との接触についてのアドバイスを必要としている。多くの協会が、市場で入手可能なグルテンフリーの食品や医薬品をリストしたハンドブックを発行している。外食や旅行に関する最新情報へのアクセスを提供している。セリアック病協会のもう 1 つの使命は、CD に対する一般の認識を高め、法的および政治的問題に立ち向かうことである。

一部の協会は、さまざまな研究プロジェクトをサポートしている。さらに、グルテンフリー製品を製造する企業に「グルテンフリー」記号を使用するライセンスを付与する。独立した非営利団体である欧州セリアック病協会 (AOECS) は、ヨーロッパの 33 国からの 39 の全国協会の包括的な組織である³³⁾。AOECS は 1988 年に設立され、科学者や消化器病専門医と協力して、CD 患者に GFD を維持するための情報と支援を提供している。1992 年以来、AOECS は、世界的なコーデックス委員会で「オブザーバー」のステータスを持ち、委員会のすべてのセッションと一部のコーデックス委員会に参加し

ている。AOECSは、通常消費用の食品、遺伝子組み換え食品、および特別食用食品のラベル付けに関するすべてのコーデックス基準およびガイドラインの作成を非常に積極的に支援してきた。AOECSは、CDやGFDを含む国際的に重要なテーマに取り組むことに加えて、国際的な活動やメンバーの共通の関心事を調整し、メンバー間で情報を広め、小規模または最近形成されたセリアック病社会やロビーに必要なアドバイスやグルテン不耐性の認識支援を提供する。最近、禁止されている使用材料を避けるために、「Crossed Grain」シンボルのライセンスを取得するための登録システムが開発された。

2. 代替療法

生涯にわたる厳格なGFDであるCDの従来の治療は、CD患者にとって大きな課題であり、コンプライアンスの低下やグルテンの不注意な摂取につながる可能性がある。したがって、安全で効果的な代替案を開発する緊急の必要性がある。ただし、代替治療は、GFDと競合する安全性プロファイルを備えている必要がある³⁴⁾。新しい治療法はまだ開発

の初期段階にあり、効果的な物質や治療法がヒトに使用される前に、広範な毒性試験が必要になるであろう。過去数十年の間にCDの病態メカニズムに関する知識が大幅に増加したため、CDの予防と治療のための多くの新しい戦略が開発された。それらのほとんどは、消化過程と粘膜透過性への介入、酵素とサイトカインの阻害、および受容体の遮断で構成されている。CDの新しい非食事療法のリストは、いくつかの総説³⁵⁻³⁸⁾に示されている。可能な治療のための病原性標的の簡略化されたスキームを図3.1に示した。CDの新しい代替治療の有効性をテストするための第II相臨床試験はすでに進行中である。ただし、治療候補者を第III相試験に入れる前に、研究者は、患者に関連する結果を正確に反映する、腸の損傷および疾患活動性の新しい信頼できる非侵襲的代理マーカーを開発する必要がある³⁸⁾。

2-1. 経口酵素療法

通常、食品タンパク質は、胃、膵臓、刷子縁の酵素によって小さなペプチドと遊離アミノ酸に分解される。ただし、特にアミノ酸配列の反復セクション

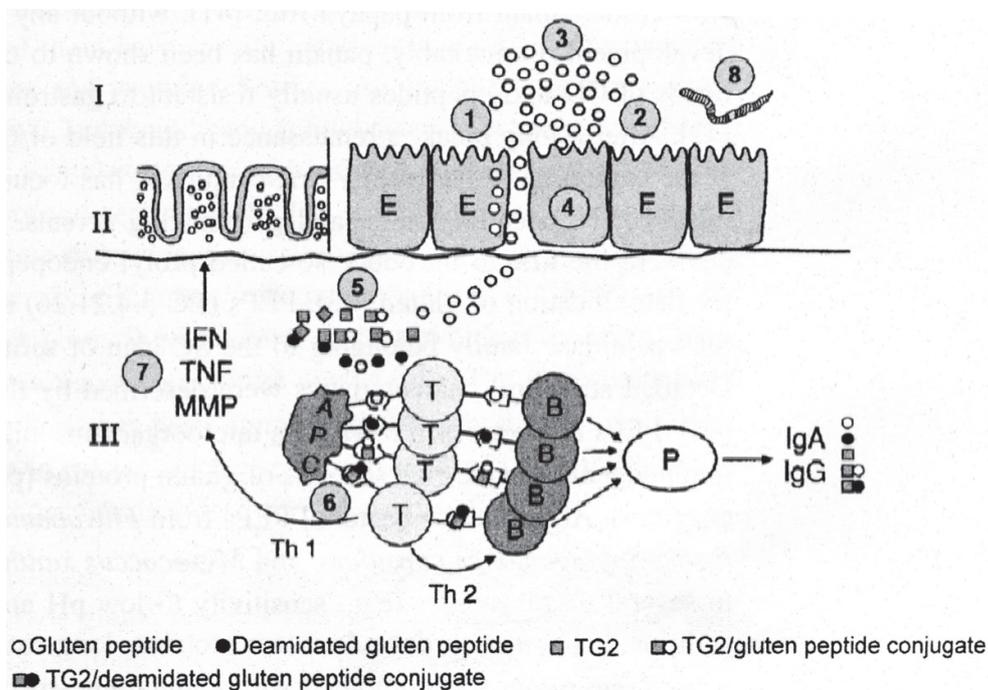


図3.1 セリアック病 (CD) の病態メカニズムにおける免疫応答のスキームと CD の将来の治療の可能性。

(1) 経口酵素療法; (2) グルテンを誘引するポリマー; (3) プロバイオティクス細菌; (4) 透過性阻害剤; (5) トランスグルタミナーゼ 2 (TG2) の阻害; (6) ヒト白血球抗原 (HLA) -DQ ブロッキング; (7) 炎症の調節; と (8) HOOKWORM THERAPY。

I = 腸管腔; II = 上皮; III = 固有層; APC = 抗原提示細胞; B = B 細胞;

E = ENTROCYTE; IFN = INTERFERON- γ ; Ig = 免疫グロブリン; MMP = マトリックスメタロプロテアーゼ;

P = 形質細胞; T = CD4 + T 細胞; TG = 組織トランスグルタミナーゼ; Th = T ヘルパー; TNF = 腫瘍壊死因子。

でのプロリン含有量が高いと、グルテンタンパク質は完全なタンパク質分解消化に対して非常に耐性がある。グルテンタンパク質の免疫原性および毒性活性を無効にする酵素分解は、経口療法への魅力的なアプローチである (図 3.1 の 1 番)。グルテンの解毒のための戦略は、CD 毒性タンパク質を 9 未満のアミノ酸残基を含むべき非毒性フラグメントに加水分解する特別なペプチダーゼによる経口治療に基づいている。他の治療法と比較した場合の経口酵素療法利点の利点は、外因性グルテンが内因性エフェクターではなく治療の標的となることである³⁹⁾。

グルテンを酵素で解毒する最初の試みは、ブタの腸粘膜の新鮮な抽出物⁴⁰⁾ またはパパイヤ果実からの粗パパイン⁴¹⁾ とのインキュベーションによって行われ、さらなる開発は進んでなかった。注目すべきことに、パパインは通常胃腸ペプチダーゼに耐性のある CD 毒性ペプチドの Q-Q ペプチド結合を切断することが示されている⁴²⁾。長い休憩の後、この CD 研究分野のルネッサンスは、21 世紀の初めに始まった。それは主に細菌、菌類、発芽中の穀物からのペプチダーゼに焦点を合わせてきた。Shan らは、グルテンの解毒のためにいわゆるプロリルエンドペプチダーゼ (PEP) を最初に導入した⁴³⁾。PEP (EC3.4.21.26) は、セリン型ペプチダーゼの SC クランに属する S9A ペプチダーゼファミリーに分類される。詳細な構造的特徴は、Osorio のグループによって説明された⁴⁴⁾。

PEP はさまざまな微生物で発現し、グルテンタンパク質の免疫原性プロリンリッチセクションを切断することができる (プロリン切断後酵素)。最初に、*Flavobacterium meningosepticum*, *Sphingomonas capsulata*, および *Myxococcus xanthus* からの 3 つの細菌 PEP が使用された。いくつかの欠点 (例えば、低 pH およびペプシンに対する感受性、無傷のタンパク質を分解するための追加の酵素の必要性、長い反応時間) のために、*S. capsulata* からの PEP は大麦粒⁴⁵⁾ からのグルタミン特異的システインエンドプロテアーゼ (EP-B2) と組み合わせられた。この 2 酵素カクテルは、中性培地と酸性培地の両方で活性があり、ペプシンに耐性があり、シミュレートされた十二指腸状態から数分以内にグルテンを分解した。PEP と EP-B2 を組み合わせた準備は ALV003 と呼ばれ、3 つの第 I 相および第 IIa 相臨床試験で

評価された。一般に、それは安全で忍容性が高く、用量制限毒性がないことがわかった。さらに、この製剤は、十二指腸コンパートメントに到達する前に、主に胃でグルテンを分解するのに非常に効果的である。ALV003 は現在、20 人の患者を対象としたさらなる第 II 相試験で調査されている。Gordon らは、酸性条件下で非常に活性の高い好酸性細菌 *Alicyclobacillus sendaiensis* からクマモリシン -As というエンドペプチダーゼを同定した⁴⁶⁾。

初期の酵素特異性は、CD で免疫原性のペプチドで頻繁に発生するペプチド結合 P-Q に向けた計算設計によって変更された。操作された酵素 (Kuma Max) は、モデルグルテンテトラペプチド (PQLP) で野生型酵素よりも 116 倍高いタンパク質分解活性を示し、グルテンペプチドの免疫原性部分に対する基質特異性が 800 倍以上切り替えられた。Kuma Max とインキュベートしたグリアジンペプチド $\alpha 9/57-68$ (QLQPFQPQLPY) の半減期は 8.5 分と計算された。この酵素は酸性条件下で非常に活性が高く、ペプシン (pH4) およびトリプシン (pH7) に耐性がある。

これらの組み合わせられた特性により、操作されたペプチダーゼは経口剤として有望な候補になる。乳酸菌も複雑なペプチダーゼシステムを持っていることが知られている。小麦とライ麦のサワードウは特に乳酸菌が豊富で、それらのいくつかはプロリンが豊富なタンパク質とペプチドを加水分解することができる特定のペプチダーゼを持っている。サワードウ乳酸菌とビフィズス菌の混合物 (単一株ではない) を使用した研究 (調製 VSL#3) は、プロリンに富むタンパク質とペプチドを分解するために複雑なパターンのペプチダーゼが必要であることを示している⁴⁷⁾。乳酸菌と真菌ペプチダーゼの組み合わせは、グルテン毒性の排除に新しい視点をもたらすものとして提案されている⁴⁸⁾。さらに、グルテンの毒性作用を低減する別個のプロバイオティクスビフィズス菌種の能力は、細胞培養アッセイを使用して示された⁴⁹⁾。

これらの影響に対処する最初の臨床試験が発表された。ヒトの口腔内の菌垢に由来する微生物酵素も、グルテン由来のプロリンに富むペプチドを加水分解することが示された⁵⁰⁾。真菌ペプチダーゼの中で、*Aspergillus niger* (AN-PEP) の PEP は、グルテンタンパク質とペプチドを非常に効率的に分解すること

が示されている⁵¹⁾。この酵素は、pH4～5で最適に機能し、pH2で安定した状態を保ち、ペプシンによる消化に対して完全に耐性がある。バクテリアのPEPよりもはるかに速く無傷のグルテンタンパク質とT細胞刺激ペプチドを分解する。

もう1つの利点は、アスペルギルス属の菌株が食品グレードのステータスを持ち、組換えAN-PEPを工業環境下、低コストで製造できることである。AN-PEPは、胃や小腸に見られる状態を模倣した動的な胃腸モデルを使用して、パンのスライスや食事全体でグルテンを消化することが示されている。グルテンの消化はすでに胃で起こり、免疫原性エピトープはほとんど小腸に到達しない⁵²⁾。AN-PEP製剤の臨床試験は広く進んでいる。A. niger (アスペルギルスペプシン) と A. oryzae (ジペプチジルペプチダーゼIV) からの他の2つの食品グレードのペプチダーゼの組み合わせも、適度な量のグルテンを無害化することができる⁵³⁾。両方の酵素からなる酵素製剤 (STAN1) は、現在CD患者を対象に臨床試験が行われている。発芽中の穀物の内因性ペプチダーゼは、貯蔵タンパク質を広範囲に分解できることが長い間知られている。

発芽したライ麦ふすまから抽出されたペプチダーゼは、無傷の小麦、ライ麦、大麦のプロラミンとグルテリン、およびCD毒性グリアジンペプチドを高度に分解することが示された⁵⁴⁾。エンドペプチダーゼとエキソペプチダーゼの複雑な組み合わせである酵素は、pH3から9の間で活性があり、pH4.5から50°C、およびpH6.5で50°Cから60°Cの間で最適に達する。CD毒性のグリアジンペプチドは、9アミノ酸残基未満の断片に切断される。グリアジンからの消化性トリプシン消化物を発芽小麦粒から単離されたペプチダーゼで処理すると、T細胞増殖および器官培養試験によって示されるように、CD毒性が失われた⁵⁵⁾。発芽穀物ペプチダーゼを用いたヒトの生体内研究はまだ行われていないが、酵素は自然に安全な食物源に由来し、遺伝子工学は必要ないという明確な利点があるため、この潜在的なタイプの治療法をさらに発展させることができる。それらの生産は、確立された技術プロセス (穀物の麦芽製造、ビールの醸造) の一部であるため、シンプルで安価である。

以前の研究⁴⁰⁾の続きとして、ブタ十二指腸粘膜からのペプチダーゼを使用する酵素療法が提案され

ている⁵⁶⁾。CD患者は毎日適度な量のグルテンでチャレンジされた。酵素製剤 (「グルテニン」のカプセル) をグループの半分に投与し、プラセボを残りの半分に投与した。CD症状、血清抗体、および十二指腸粘膜の組織学は、プラセボ群と比較して酵素療法中に改善されることが見出された。コムギ虫 (sunpest, *Eurygaster* spp) のペプチダーゼも、グルテンタンパク質の広範な分解の可能性があることが示された⁵⁷⁾。これらすべての酵素療法に関して対処しなければならない重要な問題は、特定の酵素用量によって生体内で効果的に無害化できるグルテン用量である³⁷⁾。経口酵素療法はおそらく、通常の毎日の摂取であるグルテンのグラムを十分に分解することはできないが、GFDに存在するグルテン汚染の有害な影響を排除することができる。対処する必要のある2番目のポイントは、酵素療法の効率に対する他の潜在的に競合する食事性タンパク質の影響である。最後に、酵素送達の代替法 (経口カプセルを介した食事ごとに1回) は、改善された投与スケジュールと送達経路を使用して調査することができる。

2-2. グルテン封鎖ポリマー

生体内でグルテンを解毒するための代替戦略は、グルテンの高分子樹脂への結合に基づいている (図3.1の2番)。*in vitro* 研究では、ヒドロキシエチルメタクリレートとナトリウム4-スチレンスルホネートの線状高分子量コポリマー、P (HEMA-co-SS) が、シミュレートされた胃および腸の条件下でグルテンタンパク質に結合することが示されている。また、培養中の細胞に対するグリアジンの有害な影響を無効にした⁵⁸⁾。ただし、グルテン以外の多くの他の栄養タンパク質はポリマーと相互作用し、CD患者でのその活性を制限した。将来の臨床試験では、生体内でのポリマーの安全性と、特定の用量のポリマーによって効果的に無害化できるグルテンの用量を確立する必要がある。

2-3. プロバイオティクスバクテリア

CDは、疾患の炎症誘発性環境に寄与する腸内細菌叢の変化に関連している。異なるビフィズス菌はグルテンの毒性作用を減らすことがわかっている⁵⁹⁾。これらの発見は、ビフィズス菌の既知の免疫調節特性とともに、これらのプロバイオティクスをCDの

代替療法に発展させる可能性を開いた (図 3.1 の 3 番)。これらの細菌の正確な作用機序は不明なままであるが、未処理の CD におけるビフィズス菌の影響に対処する最初の臨床試験が発表された。

2-4. 透過性阻害剤

活動性 CD の患者は、密着結合 (tight junction) 構造分析によって測定されるように腸透過性が増加している。ゾヌリンは、上皮透過性の重要な調節因子として同定されている。グルテンペプチドがケモカイン受容体 CXCR3 に結合した後、ゾヌリンが放出され、腸透過性が増加する。この観察により、ゾヌリンの阻害に基づく CD の新しい治療オプションがもたらされた (図 3.1 の 4 番)。目的は、傍細胞透過性を低下させることにより、免疫原性ペプチドが腸細胞層を通過するのを防ぐことである。候補の 1 つは、ゾヌリンの受容体結合モチーフによって共有されるアミノ酸配列を含むオクタペプチドである酢酸ララゾチド (AT-1001) である。AT-1001 は、受容体遮断を介してゾヌリン作用に拮抗するため、粘膜機能障害を予防する。この治療薬は、寛解期にある 14 人の CD 患者でテストされた。

これらの患者はすべて、グルテンチャレンジ後もサイトカイン産生を増加させることなく腸透過性を維持していた⁶⁰⁾。フォローアップのランダム化二重盲検プラセボ対照第 II 相試験では、AT-1001 は、プラセボと比較した場合、安全で忍容性が高く、炎症性サイトカイン産生が減少し、毎日 2.5- グルテンの g 用量 (ドース) を投与された患者の胃腸症状が減少したことが示された⁶¹⁾。ただし、グルテン由来ペプチドの経細胞経路に対する AT-1001 の影響は調査されていない。

2-5. トランスグルタミナーゼ 2 の阻害

TG2 は CD の適応免疫応答において重要な役割を果たす。TG2 によって触媒される特定のグルタミン残基のグルタミン酸残基への変換は、ヒト白血球抗原 (HLA) -DQ 分子に対するグルテンペプチドの親和性の増加をもたらす。したがって、T 細胞刺激の増加をもたらす。したがって、TG2 の選択的阻害は、CD の効果的な治療アプローチとなる可能性がある (図 3.1 の 5 番)。TG2 のいくつかのタイプの競合的、可逆的および不可逆的阻害剤

が、CD および他の疾患 (例えば、癌) の治療のための潜在的な薬剤として提案されている⁶²⁻⁶⁴⁾。これらには、チアジアゾール、エポキシド、 α 、 β -不飽和アミド、およびジヒドロイソオキサゾールなどの不可逆的阻害剤、ならびにチエノピリミジン、シナモイル化合物、 β -アミノエチルケトン、およびアシリデンオキシインドールなどの可逆的阻害剤が含まれる。それらのいくつかは、動物およびヒトの生検検査を使用して CD の特異性について研究されている。たとえば、シスタミンは、CD 患者からの小腸生検グルテンのチャレンジ後の T 細胞応答の低下につながる⁶⁵⁾。2- [(2-オキソプロピル) チオ] イミダゾリウム誘導体 (L-682777, R-283) は、ヒト TG2 を阻害し、病原性グルテン感受性 T 細胞の活性化をブロックする⁶⁶⁾。概念実証研究では、2 つの TG2 阻害剤、細胞不透過性 R281 と細胞透過性 R283 が、*in vitro* でグリアジンの毒性作用を防ぐことができるかどうかを調査した⁶⁷⁾。結果は、阻害剤が特定のグリアジン誘発効果を低減できることを示唆した。

ジヒドロイソキサゾール化合物 (例えば、KCC009) は、忍容性が高く、TG2 を効果的に阻害することが示されている⁶⁸⁾。それらは血清半減期が短く、他の臓器のそれらへの曝露を制限する。用量依存的に TG2 の活性化を不可逆的に遮断するチオレドキシンは、別の興味深い治療選択肢となる可能性もある⁶⁹⁾。ただし、TG2 阻害は、適応応答でアクティブなすべての免疫原性エピトープを完全に排除するわけではなく、自然免疫応答はまったく防止されない。さらに、TG2 は体内で遍在的に発現するため、TG2 阻害に基づく新薬は、小腸で選択的に作用するように設計する必要がある。今日、臨床試験は計画段階にある。

2-6. HLA-DQ ブロッキング

免疫原性グルテンペプチドは、抗原提示細胞の表面にある HLA-DQ 分子に結合し、T 細胞の活性化を促進し、その後、適応免疫応答を促進する。HLA-DQ2/8 の結合部位をブロックすると、提示プロセスが抑制され、CD 処理への別のアプローチが提供される (図 3.1 の 6 番)⁷⁰⁾。デュラムコムギ由来のデカペプチド (QQPQDAVQPF) は、CD 患者の小腸粘膜を使用して *in vitro* でグリアジンに拮抗

作用を及ぼすことが示された⁷¹⁾。末梢血単核細胞に関する研究は、ペプチドの効果が免疫刺激剤 Th1 から Th2 表現型への T 細胞応答のシフトに基づくことを提案した⁷²⁾。適応免疫を活性化するグリアジンペプチドに基づいて、さまざまなタイプのペプチドブロッカーが開発されている。それらは、ネイティブのグリアジンペプチドよりも DQ 分子に対してはるかに高い親和性 (最大 200 倍) を持っているが、T 細胞受容体によって認識されない。これらのアンタゴニストには、環状および二量体ペプチド類似体、プロリン残基がアジドプロリン残基で置き換えられたペプチド、および結合を増強する N 末端および C 末端配列に隣接するノナペプチド類似体が含まれる^{73,74)}。アルデヒド含有グルテンペプチド類似体も、緊密に結合する HLA-DQ2 リガンドとして設計された⁷⁵⁾。アルデヒド基は、シッフ塩基の形成を通じて、DQ2 結合ポケット内の活性リジンをブロックすることができる。DQ2 ブロッキングは、残基 L11 と L18 が立体的にかさばる基で置き換えられた 33mer のペプチド類似体によっても達成された⁷⁶⁾。ポジショナルスキニングノナペプチドライブラリー使用により、DQ2 結合フレームの各位置に最適なアミノ酸残基を組み合わせることにより、新しい高親和性ペプチドリガンドが設計された⁷⁷⁾。新しいペプチドライブラリーベースの方法が提示され、HLA-DQ2.5 に結合する高親和性リガンドの同定とペプチド結合モチーフの洗練された定義が可能になった⁷⁸⁾。

これらの化合物が非毒性、非免疫原性であり、免疫応答を完全に抑制できるかどうかはまだ確立されていない。また、管腔の免疫原性グルテンペプチドと競合しながら、修飾ペプチドが固有層の標的細胞にどのように到達するかについての懸念が存在する。さらに、特定の免疫応答を調節するためにペプチド類似体を使用することに成功する可能性は、グルテン感受性 T 細胞エピトープの幅広い不均一性によって妨げられる可能性がある^{79,80)}。

2-7. 炎症の調節

T 細胞の活性化は、CD の病因の基礎の 1 つと見なされている。グルテン感受性エフェクター T 細胞の血液から小腸粘膜への移動は、ケモカイン CCL25 とその受容体 CCR9 によって誘導される。

選択的アンタゴニストによる CCL25/CCR9 相互作用の遮断は、T 細胞の腸固有層への移動を防ぎ、CD の治療戦略と見なされてきた。T 細胞の CCR9 受容体を阻害する拮抗薬 CCX2282B (Traficet-EN[®]) および CCX025 は、クローン病および CD 用に開発されており、現在、臨床試験が実施または計画されている。サイトカインに対する抗体は、CD を治療するための将来のアプローチである可能性があることも示唆されている (図 3.1 の 7 番)。グルテン感受性 T 細胞の活性化が多くの異なるサイトカインの分泌につながることはよく知られている。

次に、炎症反応のカスケード (連鎖反応) が引き起こされ、粘膜損傷と絨毛萎縮を引き起こす。したがって、特定のモノクローナル抗体によるサイトカインの遮断は、それらの活性化を妨げる可能性がある。いくつかの抗体 (例えば、インターフェロン (IFN-) γ (フォントリズマブ), (ビシリズマブ, テプリズマブ, オテリキシズマブ), CD20 (リツキシマブ, トシツモマブ, イブリツモマブ), およびインターロイキン (IL-) 15 (AMG714)) は、さまざまな自己免疫疾患および CD の治療のために臨床評価を受けている^{36,37)}。腫瘍壊死因子 (TNF) - α (インフリキシマブ) に対する抗体の使用は、過敏性腸症候群および難治性 CD の患者に有益であることが示されている。IL-15 またはそのシグナル伝達経路を遮断すると、特に難治性 CDII を制御し、進行性 T 細胞リンパ腫への進展を防ぐのに役立つ可能性がある。

2-8. ワクチン

CD の代替療法の最も求められている目標の 1 つは、ほとんどの免疫優勢グルテンエピトープのパネルで構築された治療ワクチンの開発である。この戦略は現在、アレルギーと自己免疫疾患の両方について評価されており、有望な結果が得られている^{81,82)}。CD 患者に「寛容原性」反応を誘発することを目的として、 α - および γ - グリアジンとホルデインから選択された 3 つの免疫原性 16-mer ペプチドの混合物に基づいて、脱感作ワクチンまたは治療ワクチン (Nex Vax2) が開発された。ペプチドは HLA-DQ2 によってのみ提示されるため、ワクチンは HLA-DQ2 ハプロタイプの患者にのみ適している。この方法による皮下免疫は、忍容性が高く、かなり安全であることが示され、患者のボランティア

に深刻な悪影響を及ぼしたことはない⁸³⁾。さらなる臨床試験では、小麦、ライ麦、大麦のタンパク質に含まれる多数の異なる免疫原性エピトープを考慮して、このワクチン接種アプローチの有効性を評価する。ワクチン療法は、免疫系の活性化とその結果としての病気の再燃のリスクに関連している可能性があることに注意する必要がある。

2-9. フックワーム療法

自己免疫疾患とCDの治療法として、アメリカ鉤虫の蔓延が示唆されている(図3.1の8番)。この寄生虫は、宿主の免疫系を調節する上で重要な役割を果たしていると考えられている。たとえば、炎症性Th1応答を攻撃性の低いTh2応答に偏らせることによってである。プラセボ対照臨床試験では、CD患者にアメリカ鉤虫を接種した後、高用量のグルテンを投与した⁸⁴⁾。残念ながら、感染は腸粘膜の劣化やグルテンに対する免疫応答を防ぐことができなかった。将来の試験では、この治療法が過去の治療法よりも少量のグルテンに対してよりよく保護できるかどうかを示される可能性がある。

2-10. 治療効果のモニタリング

CDの代替治療の有効性を評価するには、特定の感度の高い方法が必要である³⁷⁾。CDの真正な動物モデルは発見も設計もされていない。したがって、治療効果のアッセイは、*in vivo* および *in vitro* 試験、および代理動物モデルによって実施される³⁹⁾。グルテンチャレンジ後の腸生検の組織学的変化は、CD毒性を評価するための「ゴールドスタンダード」となる。ただし、この手順は主観的であり、侵襲的で費用のかかる内視鏡検査が必要なため、臨床試験での実装は非常に困難である。CDに関連する症状は非常に多様であるため、症状スコアもこの目的には適していない。おそらく、短期間のグルテンチャレンジ後に血流に入るCD特異的T細胞の測定^{85,86)}は、新薬候補の初期の臨床試験に採用することができる⁸⁷⁾。小腸器官培養法がCDの病因を明らかにすることを目的とした研究で広く使用されていることを考えると、この方法が新しい治療形態に関連するいくつかの研究でのみ使用されていることは驚くべきことである⁸⁸⁾。血清抗体の感度は不十分であり、腸透過性の測定は、特に低から

中程度のグルテンチャレンジの影響を監視する場合に特異的ではない。動物モデルのより良い利用可能性は、新しい治療戦略を開発している研究者によって高く評価されるであろう。ただし、最も顕著な制限は、機能的なCD固有の動物モデルの欠如である⁸⁸⁾。したがって、薬剤開発は現在、疾患活動性を測定するための特定の感度の高い方法の欠如によって妨げられている。

おわりに

現在、CDの唯一の治療法は、GFDを生涯にわたって厳守することである。これにより、有害な副作用を引き起こすことなく、病気を明確に防ぐことができる。ただし、GFDは保守が難しく、費用がかかる。そして食事療法へのコンプライアンスが悪い場合がある。したがって、CD患者は、厳密なGFDよりも負担の少ない代替治療または補完治療への要望を表明している。CDの病因に関する知識の向上により、研究者は障害を治療するための代替戦略を開発することができた。新規治療の有効性をテストするための第II相臨床試験はすでに進行中である。現在の多くの臨床研究は有望な結果を示しているが、これらの研究は期間が短く、重要性が低い⁸⁹⁾。したがって、すべてのアプローチの有効性と長期的な安全性の両方を評価するには、より長い期間とより重要な研究が必要になる。治療候補者が第III相試験に参加することを許可する前に、研究者は、臨床試験の結果を正確に反映する、腸の損傷および疾患活動性の新規で信頼性の高い非侵襲的代理マーカーを開発する必要がある³⁸⁾。

取り組むべき重要なポイントは、生体内で無害化できるグルテンの量である。これにより、各治療により、患者がグルテンを自由に摂取できるのか、控えめな量だけ摂取できるのか、あるいは微量のグルテンに不注意で遭遇した場合に単に炎症を回避できるのかが決まる³⁹⁾。最初に入手可能になった医薬品は、代替品ではなく、GFDのサプリメントとして販売される可能性が最も高いであろう。代替療法のリスク、利益、およびコストを慎重に比較検討し、そのような新しい治療法がどのような条件および適応症の下で正当化されるかを定義する必要がある³⁴⁾。

References

1. Pietzak M. Celiac disease, wheat allergy, and gluten sensitivity: when gluten free is not a fad. *J Parenter Enteral Nutr.* 2012; **36**: 68S-75S.
2. West J., Logan R.F.A., Smith C.J., Hubbard R.B., Card T.R. Malignancy and mortality in people with coeliac disease: population based cohort study. *BMJ.* 2004; **329**: 716-719.
3. Goldacre M.J., Wotton C.J., Yeates D., Seagroatt V., Jewell D. Cancer in patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and coeliac disease: record linkage study. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008; **20**: 297-304.
4. Mubarak A., Houwen R.H.J., Wolters V.M. Celiac disease: an overview from pathophysiology to treatment. *Minerva Pediatr.* 2012; **64**: 271-287.
5. Stern M. Current therapy. In: Fasano A., Troncone R., Branski D., eds. *Frontiers in celiac disease. Basel (Switzerland): Karger;* 2008:114-122.
6. Davis W. *Wheat belly. Emmaus (USA): Rodale Press;* 2011.
7. Jones J. Wheat belly - an analysis of selected statements and basis theses from the book. *Cereal Foods World.* 2012; **57**: 177-189.
8. Kaukinen K., Salmi T., Collin P., Huhtala H., Kaerjæ-Lahdensuu T., Maeki M. Clinical trial: gluten microchallenge with wheat-based starch hydrolysates in coeliac disease patients - a randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate safety. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; **28**: 1240-1248.
9. Catassi C., Fabiani E., Iacono G., D'Agate C., Francavilla R., Biagi F. *et al.* A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2007; **85**: 160-166.
10. Academy of Nutrition and Dietetics. *Celiac disease toolkit. Chicago: American Dietetic Association;* 2011.
11. Gibert A., Kruizinga A.G., Neuhold S., Houben G.F., Canela M.A., Fasano A. *et al.* Might gluten traces in wheat substitutes pose a risk in patients with celiac disease? A population-based probabilistic approach to risk estimation. *Am J Clin Nutr.* 2013; **97**: 109-116.
12. Garcia-Manzanares A., Lucendo A.J. Nutritional and dietary aspects of celiac disease. *Nutr Clin Pract.* 2011; **26**: 163-173.
13. Saturni L., Ferretti G., Bacchetti T. The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients.* 2010; **2**: 16-34.
14. Leffler D.A., Dennis M., Edwards-George J.B., Jamma S., Magge S., Cook E.F. *et al.* A simple validated gluten-free diet adherence survey for adults with celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009; **7**: 530-536.
15. Zanchi C., Ventura A., Martelossi S., di Leo G., di Toro N., Not T. Rapid anti-transglutaminase assay and patient interview for monitoring dietary compliance in celiac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2013; **48**: 764-766.
16. Hall N.J., Rubin G., Charnock A. Systematic review: adherence to a gluten-free diet in adult patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; **30**: 315-330.
17. Hall N.J., Rubin G.P., Charnock A. Intentional and inadvertent non-adherence in adult coeliac disease. A cross-sectional survey. *Appetite.* 2013; **68**: 56-62.
18. Ukkola A., Maeki M., Kurppa K., Collin P., Huhtala H., Kekkonen L. *et al.* Patients' experiences and perceptions of living with coeliac disease-implications for optimizing care. *J Gastrointest Liver Dis.* 2012; **21**: 17-22.
19. Cotton D., Taichman D., Williams S., Crowe S.E. Celiac disease. *Ann Intern Med.* 2011 ITC5-1-16.
20. Hager A.S., Axel C., Arendt E.K. Status of carbohydrates and dietary fiber in gluten-free diet. *Cereal Foods World.* 2011; **56**: 109-114.
21. Shepherd S.J., Gibson P.R. Nutritional inadequacies of the gluten-free diet in both recently-diagnosed and long-term patients with coeliac disease. *J Hum Nutr Diet.* 2013; **26**: 349-358.
22. Alvarez-Jubete L., Arendt E.K., Gallagher E. Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *Int J Food Sci Nutr.* 2009; **60**: 240-257.
23. Hallert C., Grant C., Grehn S., Graennoe C., Huhtala S., Midhagen G. *et al.* Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002; **16**: 1333-1339.
24. Thompson T., Dennis M., Higgins L.A., Lee A.R., Sharrett M.K. Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet.* 2005; **18**: 163-169.
25. Hallert C., Svensson M., Tholstrup J., Hultberg B. Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; **29**: 811-816.
26. de Palma G., Nadal I., Collado M.C., Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *Br J Nutr.* 2009; **102**: 1154-1160.
27. Hallert C., Graennoe C., Hulten S., Midhagen G., Stroem M., Svensson H. *et al.* Quality of life of adult coeliac patients treated for 10 years. *Scand J Gastroenterol.* 1998; **33**: 933-938.
28. Whitaker J.K.H., West J., Holmes G.K.T., Logan R.F.A. Patient perceptions of the burden of coeliac disease and its treatment in the UK. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009; **29**: 1131-1136.
29. Dorn S.D., Hernandez L., Minaya M.T., Morris C.B., Hu Y., Leserman J. *et al.* The development and validation of a new coeliac disease quality of life survey (CD-QoL). *Aliment Pharmacol Ther.* 2010; **31**: 666-675.
30. Bakker S.F., Pouwer F., Tushuizen M.E., Hoogma R.P., Mulder C.J., Simsek S. Compromised quality of life in patients with both Type 1 diabetes mellitus and coeliac disease. *Diabet Med.* 2013; 835-839.
31. Aziz I., Evans K.E., Papageorgiou V., Sanders D.S. Are patients with coeliac disease seeking alternative therapies to a gluten-free diet? *J Gastrointest Liver Dis.* 2011; **20**: 27-31.
32. Tennyson C.A., Simpson S., Lebowitz B., Lewis S., Green P.H.R. Interest in medical therapy for celiac disease. *Ther Adv Gastroenterol.* 2013; **6**: 358-364.
33. Deutsch H. 20 years AOECS. In: Stern M., ed. *Proceedings of the 23rd meeting working group on prolamin analysis and toxicity. Zwickau (Germany): Verlag Wissenschaftliche Scripten;* 2009: 125-137.
34. Kagnoff M.F. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *J Clin Invest.* 2007; **117**: 41-49.
35. McAllister C., Kagnoff M.F. The immunopathogenesis of celiac disease reveals possible therapies beyond the gluten-free diet. *Semin Immunopathol.* 2012; **34**: 581-600.

36. Rashtak S., Murray J.A. Review article: coeliac disease, new approaches to therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012; **35**: 768-781.
37. Sollid L.M., Khosla C. Novel therapies for coeliac disease. *J Intern Med.* 2011; **269**: 604-613.
38. Lindfors K., Laehdeaho M.L., Kalliokoski S., Kurppa K., Collin P., Maeki M. *et al.* Future treatment strategies for celiac disease. *Expert Opin Ther Targets.* 2012; **16**: 665-675.
39. Bethune M.T., Khosla C. Oral enzyme therapy for celiac disease. *Methods Enzymol.* 2012; **502**: 241-271.
40. Frazer A.C., Fletcher R.F., Ross C.A., Shaw B., Sammons H.G., Schneider R. Gluten-induced enteropathy: the effect of partially digested gluten. *Lancet.* 1959; **2**: 252-255.
41. Messer M., Anderson C.M., Hubbard L. Studies on the mechanism of destruction of the toxic action of wheat gluten in coeliac disease by crude papain. *Gut.* 1964; **5**: 295-303.
42. Wieser H., Belitz H.D. Isolation and enzymatic fragmentation of the coeliac-active gliadin peptide CT-1. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1992; **195**: 22-26.
43. Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F., Fili z F., Gray G.M. *et al.* Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science.* 2002; **297**: 2275-2279.
44. Osorio C., Wen N., Gemini R., Zemetra R., Wetts tein D., Rustgi S. Targeted modification of wheat grain protein to reduce the content of celiac causing epitopes. *Funct Integr Genomics.* 2012; **12**: 417-438.
45. Gass J., Bethune M.T., Siegel M., Spencer A., Khosla C. Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue. *Gastroenterology.* 2007; **133**: 472-480.
46. Gordon S.R., Stanley E.J., Wolf S., Toland A., Wu S.J., Hadidi D. *et al.* Computational design of an α -gliadin peptidase. *J Am Chem Soc.* 2012; **134**: 20513-20520.
47. deAngelis M., Rizzello C.G., Fasano A., Clement e M.G., de Simone C., Silano M. *et al.* VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for celiac sprue. *Biochim Biophys Acta.* 2006; **1762**: 80-93.
48. Rizzello C.G., de Angelis M., di Cagno R., Camarca A., Silano M., Losito I. *et al.* Highly efficient gluten degradation by Lactobacilli and fungal proteases during food processing: new perspectives for celiac disease. *Appl Environ Microbiol.* 2007; **73**: 4499-4507.
49. Lindfors K., Blomqvist T., Juuti-Uusitalo K., Stenman S., Venaelaainen J., Maeki M. *et al.* Live probiotic *Bifidobacterium lactis* bacteria inhibit the toxic effects induced by wheat gliadin in epithelial cell cultures. *Clin Exp Immunol.* 2008; **152**: 552-558.
50. Helmerhorst E.J., Zamakhchari M., Schuppan D., Oppenheim F.G. Discovery of a novel and rich source of gluten-degrading microbial enzymes in the oral cavity. *PLoS One.* 2010; **5**: e13264.
51. Stepniak D., Spaenij-Dekking L., Mitea C., Moes ter M., de Ru A., Baak-Pablo R. *et al.* Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *Am J Physiol.* 2006; **291**: G621-G629.
52. Mitea C., Havenaar R., Drijfhout J.W., Edens L., Dekking L., Koning F. Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for coeliac disease. *Gut.* 2008; **57**: 25-32.
53. Ehren J., Moron B., Martin E., Bethune M.T., Gray G.M., Khosla C. A food-grade enzyme preparation with modest gluten detoxification properties. *PLoS One.* 2009; **4**: e6313.
54. Hartmann G., Koehler P., Wieser H. Rapid degradation of gliadin peptides toxic for coeliac disease patients by proteases from germinating cereals. *J Cereal Sci.* 2006; **44**: 368-371.
55. Stenman S.M., Lindfors K., Venalainen J.I., Hautala A., Maennistoe P.T., Garcia-Horsman J.A. *et al.* Degradation of coeliac disease - inducing rye secalin by germinating cereal enzymes: diminishing toxic effects in intestinal epithelial cells. *ClinExp Immunol.* 2010; **161**: 242-249.
56. Cornell H.J., MacRae F.A., Melny J., Pizzey C.J., Cook F., Mason S. *et al.* Enzyme therapy for management of coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2005; **40**: 1304-1312.
57. Olanca B., Oezay D.S. Preparation and functional properties of gluten hydrolysates with wheat-bug (*Eurygaster spp.*) protease. *Cereal Chem.* 2010; **87**: 518-523.
58. Pinier M., Fuhrmann G., Galipeau H., Rivard N., Murray J.A., David C.S. *et al.* The copolymer P(HEMA-co-SS) binds gluten and reduces immune response in gluten-sensitized mice and human tissue. *Gastroenterology.* 2012; **142**: 316-325.
59. Medina M., de Palma G., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y. Bifidobacterium strains suppress *in vitro* the pro-inflammatory milieu triggered by the large intestinal microbiota of coeliac patients. *J Inflamm.* 2008; **5**: 19.
60. Paterson B.M., Lammers K.M., Arrieta M.C., Fasano A., Meddings J.B. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; **26**: 757-766.
61. Kelly C.P., Green P.H.R., Murray J.A., di Marino A., Colatrella A., Leffler D.A. *et al.* Larazotide acetate in patients with coeliac disease undergoing a gluten challenge: a randomised placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; **37**: 252-262.
62. Siegel M., Khosla C. Transglutaminase 2 inhibitors and their therapeutic role in disease states. *Pharmacol Ther.* 2007; **115**: 232-245.
63. Caccamo D., Curro M., Ientile R. Potential of transglutaminase 2 as a therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets.* 2010; **14**: 989-1003.
64. Badarau E., Collighan R.J., Griffin M. Recent advances in the development of tissue transglutaminase (TG2) inhibitors. *Amino Acids.* 2013; **44**: 119-127.
65. Molberg O., McAdam S., Lundin K.E.A., Kristiansen C., Arentz-Hansen H., Kett K. *et al.* T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated *in situ* by endogenous tissue transglutaminase. *Eur J Immunol.* 2001; **31**: 1317-1323.
66. Freund K.F., Doshi K.P., Gaul S.L., Claremon D.A., Remy D.C., Baldwin J.J. *et al.* Transglutaminase inhibition by 2-[(2-oxopropyl)thio]imidazolium derivatives: mechanism of factor XIIIa inactivation. *Biochemistry.* 1994; **33**: 10109-10119.
67. Rauhavirta T., Oittinen M., Kivistoe R., Maennistoe P.T., Garcia-Horsman J.A., Wang Z. *et al.* Are transglutaminase 2 inhibitors able to reduce gliadin-induced toxicity related to celiac disease? A proof-of-concept study. *J Clin Immunol.* 2013; **33**: 134-142.
68. Watts R.E., Siegel M., Khosla C. Structure-activity relationship analysis of the selective inhibition of transglutaminase 2 by dihydroisoxazoles. *J Med Chem.* 2006; **49**: 7493-7501.
69. Jin X., Stamnaes J., Kloeck C., di Raimondo T.R., Sollid L.M., Khosla C. Activation of extracellular transglutaminase 2 by thioredoxin. *J Biol Chem.* 2011; **286**: 37866-37873.

70. Anderson R.P., van Heel D.A., Tye-Din J.A., Jewell D.P., Hill A.V.S. Antagonists and non-toxic variants of the dominant wheat gliadin T cell epitope in coeliac disease. *Gut*. 2006; **55**: 485-491.
71. Silano M., Leonardi F., Trecca A., Mancini E., di Benedetto R., de Vincenzi M. Prevention by a decapeptide from durum wheat of in vitro gliadin peptide-induced apoptosis in small-bowel mucosa from coeliac patients. *Scand J Gastroenterol*. 2007; **42**: 786-787.
72. Silano M., di Benedetto R., Maialetti F., de Vincenzi A., Calcaterra R., Trecca A. *et al.* 10-residue peptide from durum wheat promotes a shift from a Th1-type response towards a Th2-type response in celiac disease. *Am J Clin Nutr*. 2008; **87**: 415-423.
73. Xia J., Bergseng E., Fleckenstein B., Siegel M., Kim C.Y., Khosla C. *et al.* Cyclic and dimeric gluten peptide analogues inhibiting DQ2-mediated antigen presentation in celiac disease. *Bioorg Med Chem*. 2007; **15**: 6565-6573.
74. Kapoerchan V.V., Wiesner M., Overhand M., van der Marel G.A., Koning F., Overkleeft H.S. Design of azidoproline containing gluten peptides to suppress CD4+ T-cell responses associated with celiac disease. *Bioorg Med Chem*. 2008; **16**: 2053-2062.
75. Siegel M., Xia J., Khosla C. Structure-based design of α -amido aldehyde containing gluten peptide analogues as modulators of HLA-DQ2 and transglutaminase 2. *Bioorg Med Chem*. 2007; **15**: 6253-6261.
76. Xia J., Siegel M., Bergseng E., Sollid L.M., Khosla C. Inhibition of HLA-DQ2-mediated antigen presentation by analogues of a high affinity 33-residue peptide from α 2-gliadin. *J Am Chem Soc*. 2006; **128**: 1859-1867.
77. Jues U., van Wal Y., Koning F., Sollid L.M., Fleckenstein B. Design of new high-affinity peptide ligands for human leukocyte antigen-DQ2 using a positional scanning peptide library. *Hum Immunol*. 2010; **71**: 475-481.
78. Jues U., Arntzen M., Hojrup P., Fleckenstein B., Sollid L.M. Assessing high affinity binding to HLA-DQ2.5 by a novel peptide library based approach. *Bioorg Med Chem*. 2011; **19**: 2470-2477.
79. Caputo I., Lepretti M., Martucciello S., Esposito C. Enzymatic strategies to detoxify gluten: the implications for celiac disease. *Enzyme Res*. 2010 Article ID 174354.
80. Camarca A., Anderson R.P., Mamone G., Fierro O., Facchiano A., Costantini S. *et al.* Intestinal T cell responses to gluten peptides are largely heterogeneous: implications for a peptide-based therapy in celiac disease. *J Immunol*. 2009; **182**: 4158-4166.
81. Larche M., Wraith D.C. Peptide-based therapeutic vaccines for allergic and autoimmune diseases. *Nat Med*. 2005; **11**: S69-S76.
82. Larche M. Immunotherapy with allergen peptides. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2007; **3**: 53-59.
83. Brown G.J., Daveson J., Marjason J.K., French R.A., Smith D., Sullivan M. *et al.* A phase I study to determine safety, tolerability and bioactivity of Nexvax2® in HLA DQ2+ volunteers with celiac disease following a long-term, strict gluten-free diet. *Gastroenterology*. 2011; **140**: S437-S438.
84. Daveson A.J., Jones D.M., Gaze S., McSorley H., Clouston A., Pascoe A. *et al.* Effect of hookworm infection on wheat challenge in celiac disease - a randomised double-blinded placebo controlled trial. *PLoS One*. 2011; **6**: e17366.
85. Anderson R.P., vanHeel D.A., Tye-Din J.A., Barnardo M., Salio M., Jewell D.P. *et al.* T cells in peripheral blood after gluten challenge in coeliac disease. *Gut*. 2005; **54**: 1217-1223.
86. Raki M., Fallang L.E., Brottveit M., Bergseng E., Quarsten H., Lundin K.E.A. *et al.* Tetramer visualization of gut-homing gluten-specific T cells in the peripheral blood of celiac patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; **104**: 2831-2836.
87. Tye-Din J.A., Anderson R.P., French R.A., Brown G.J., Hodsman P., Siegel M. *et al.* The effects of ALV003 pre-digestion of gluten on immune response and symptoms in celiac disease *in vivo*. *Clin Immunol*. 2010; **134**: 289-295.
88. Lindfors K., Rauhavirta T., Stenman S., Maeki M., Kaukinen K. *In vitro* models for gluten toxicity: relevance for celiac disease pathogenesis and development of novel treatment options. *Exp Biol Med*. 2012; **237**: 119-125.
89. Stoven S., Murray J.A., Marietta E. Celiac disease: advances in treatment via gluten modification. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012; **10**: 859-862.”