

(1) 気管支ぜん息の発症、増悪予防に関する調査研究

②アレルギー疾患の進展予防・管理によるぜん息の発症、増悪の予防、改善効果  
新生児からの皮膚および腸管環境の整備に基づく吸入アレルギー感作・  
ぜん鳴・ぜん息発症の予防に関する研究

研究代表者：下 条 直 樹

【研究課題の概要・目的】

乳幼児期のアレルギー感作／ぜん鳴・ぜん息発症に対する、新生児からのシンバイオティクス投与ならびにスキンケアの予防効果を検討する。産院で出生した新生児を無作為にシンバイオティクス(SB)投与＋保湿薬(Emo)塗布群、SB投与群、Emo塗布群、非介入群の4群に割り付け生直後から6か月までの介入を行う。各群の乳児期の食物、吸入アレルギー感作を9か月での採血にて評価し、追跡調査により幼児期までのぜん鳴・ぜん息発症率を解析する。また、皮膚および腸の細菌叢を培養法および分子生物学的手法により解析し、これらの介入の効果と細菌叢の関連から介入の効果の機序の解明を進める。以上の研究に基づき、吸入アレルギー感作／ぜん鳴・気管支ぜん息発症の予防に有効な方法を検証、確立し、健康相談事業・健康診査事業等に有用な情報を提供する。

1 研究従事者(○印は研究リーダー)

○下条直樹(千葉大学大学院医学研究院)  
三石知左子(葛飾赤十字産院)  
佐藤泰憲(千葉大学医学部附属病院臨床試験部)  
大野博司(理化学研究所統合生命医科学研究センター)  
鈴木洋一(東北メディカルメガバンク人材育成部門)

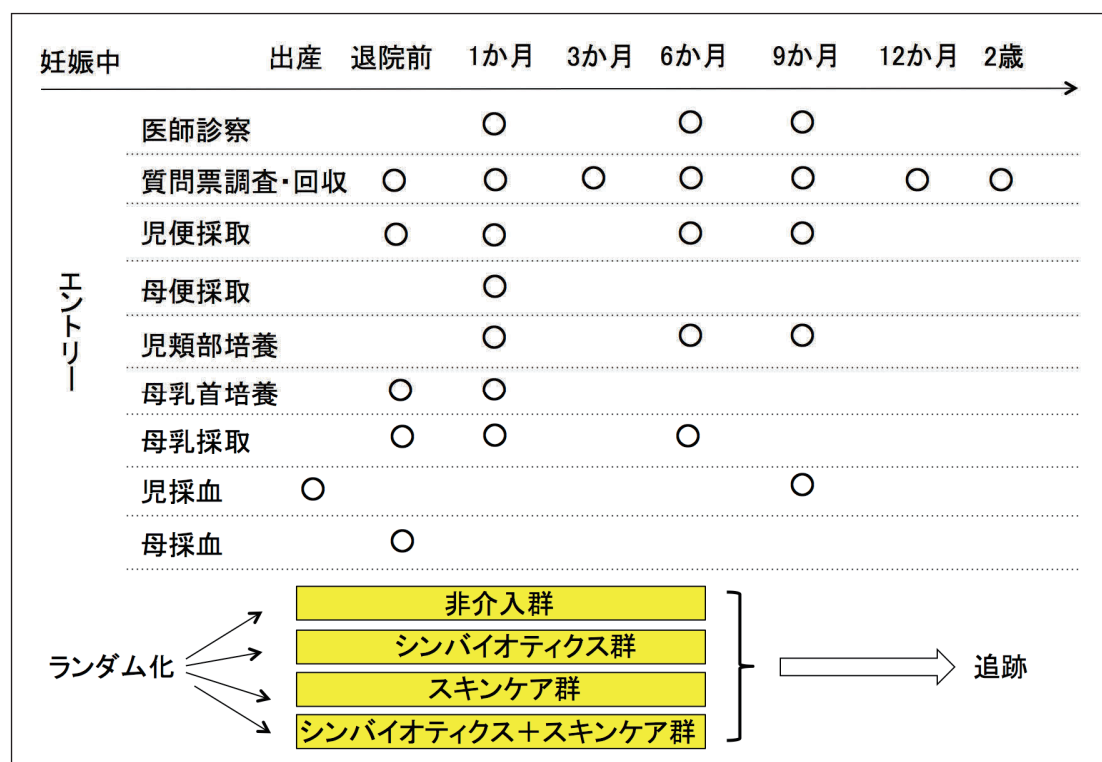
2 平成27年度の研究目的

葛飾赤十字産院にて平成24年10月から開始したリクルートを平成26年9月まで継続し、600名のエントリー数を目標とする。出生した新生児を無作為にSB+Emo群、SB群、Emo群、非介入群の4群にランダムに割り付け生直後から6か月までの介入を行う。使用するシンバイオティクス、保湿薬としては、新生児への投与経験がすでにあり安全性が担保されているものを用いる。乳児健診は生後1か月、6か月、9か月で行い、乳児湿疹、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、ぜん鳴・ぜん息の有無を評価する。9か月で採血を施行し、食物・吸入アレルギー感作を評価する。産院入院中に助産師に、生後1か月、3か月、6か月、9か月、12か月時に保護者に栄養法、ぜん鳴等についての調査票を記入してもらう。ぜん鳴・ぜん息の評価のために2歳時に調査票での調査を行う。

### 3 平成27年度の研究対象及び方法

平成24年度10月から開始しているプロトコールに則り、葛飾赤十字産院にて出産予定の妊娠24～32週の妊婦を対象に本研究の説明とリクルートを行う。出産後、参加者をアレルギーの家族歴、帝王切開、性別を割り付け調整因子としてランダムに4群（SB+Emo群、SB群、Emo群、非介入群）に振り分け、生後数日以内から生後6か月まで介入を行う（図1）。シンバイオティクスとして、*Bifidobacterium bifidum*10<sup>9</sup>個/日（明治（株）から供与）とフラクトオリゴ糖1g/日を生直後から6か月まで投与する。保湿薬として、0歳児を対象にしてすでに安全性・有効性が示されている市販のセラミド・コレステロール・必須脂肪酸を含む化粧品（ロコベース®）（第一三共ヘルスケア（株）より供与）を一日2回顔面および乾燥の見られる部位に塗布する。家族歴、環境因子、出産時の状況については出産後から入院中に、児の栄養法、抗生剤使用、栄養法、排便状況、湿疹の有無、ぜん鳴の有無などについては、毎日日記をつけてもらい、1か月健診、6か月健診、9か月健診、1歳時に母から回収する。1か月健診、6か月健診、9か月健診にて湿疹、ぜん鳴の有無、副作用の有無、プロトコールの遵守状況等について医師が評価する。児の腸内細菌叢（ビフィズス菌、乳酸菌、黄色ブドウ球菌など）については、退院前、1か月、6か月、9か月健診時に便を持参してもらい凍結保存後、後にPCRで評価する。また母の腸内細菌叢については生後1か月時に母の便も持参してもらい解析する。皮膚黄色ブドウ球菌の定着については、1か月、6か月、9か月健診時に児の両側頬部からスタンプ培養法により確認する。また母の皮膚における黄色ブドウ球菌定着について乳首付近の皮膚のスタンプ培養を行い解析する。また、母乳中の免疫活性物質の測定を行うために、退院前、1か月、6か月の母乳を健診時に採取し凍結保存しておく。母のアトピー素因の客観的評価のために退院前に母の採血を行い、総IgE、特異的IgEを測定する。児の感作については、臍帯血の総IgEおよび生後9か月時の総IgE、卵白、オボムコイド、牛乳、ダニ、ネコ特異的IgE、TARC（thymus and activation-regulated chemokine）を測定する。2歳時に質問票にてぜん鳴の有無、回数等を評価する。

図1 研究プロトコール



## 4 平成27年度の研究成果

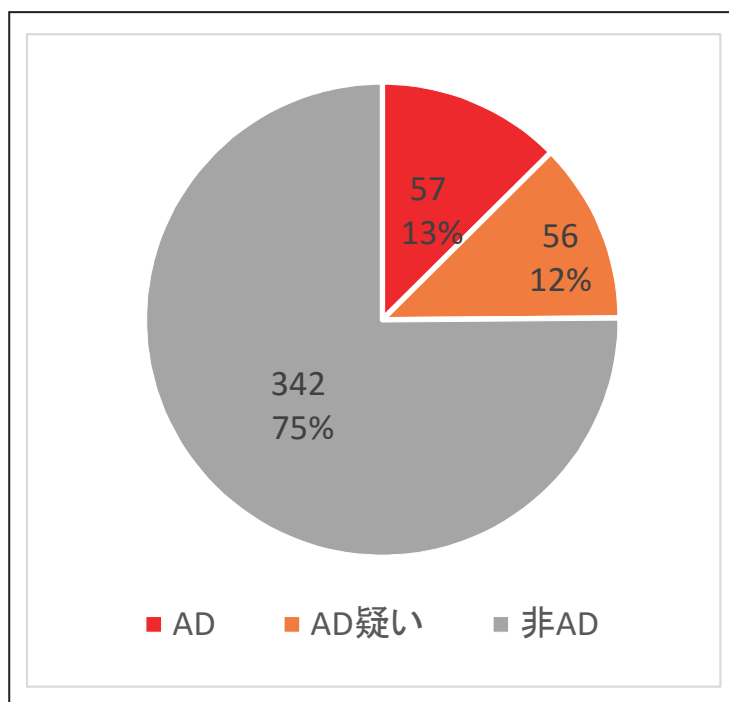
### (1) リクルート等について

第9期研究でのリクルートの方法に、土曜日におけるリクルート、本研究の意義の周知方法の改善、より簡便な施行などを加え、平成26年9月までに合計1730名に本研究の説明と参加を依頼した。平成26年9月末までに605名の一次エントリーを行なった。出産時に本研究の参加基準を満たす児は549名であり、これらの児を4群にランダムに振り分けた。途中脱落を除いた459名（SB+Emo群120名、SB群108名、Emo群116名、非介入群115名）が9か月までフォロー可能であった。

### (2) 9か月におけるアトピー性皮膚炎の頻度

455名の9か月児での医師診断によるAD確診は57名（12.6%）、疑診を含めて113名（24.9%）であった（図2）。この頻度は従来の我が国の調査とほぼ同じであった。

図2 9か月でのアトピー性皮膚炎の頻度(n=455)



介入の影響については、9か月でのアトピー性皮膚炎の有病率は、非介入群で11%（疑いを含む25%）、スキンケア群で13%（疑いを含む25%）、シンバイオティクス群で12%（疑いを含む26%）、シンバイオティクス＋スキンケア群で14%（疑いを含む24%）と有意な差異はなかった。

(3) 9 か月における免疫学的パラメーター（総 IgE、TARC、アレルゲン感作）

総 IgE および TARC についての 4 群での結果を図 3 および図 4 に示した。血清総 IgE 値および TARC は介入により低値になることはなかった。

図 3 生後 9 か月での血清総 IgE 値への介入の効果（平均値 IU/ml）

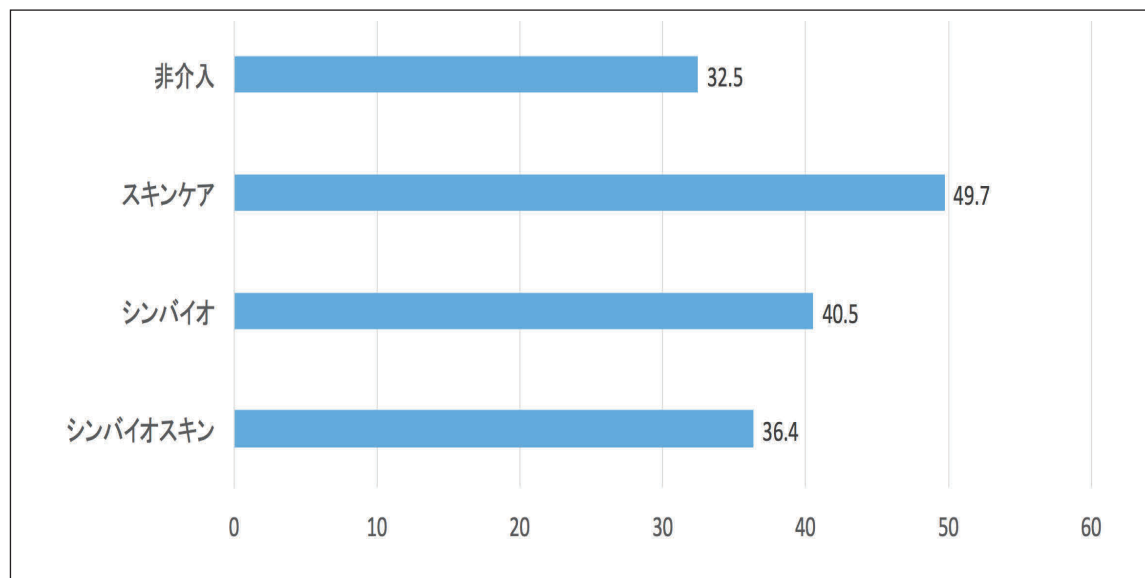
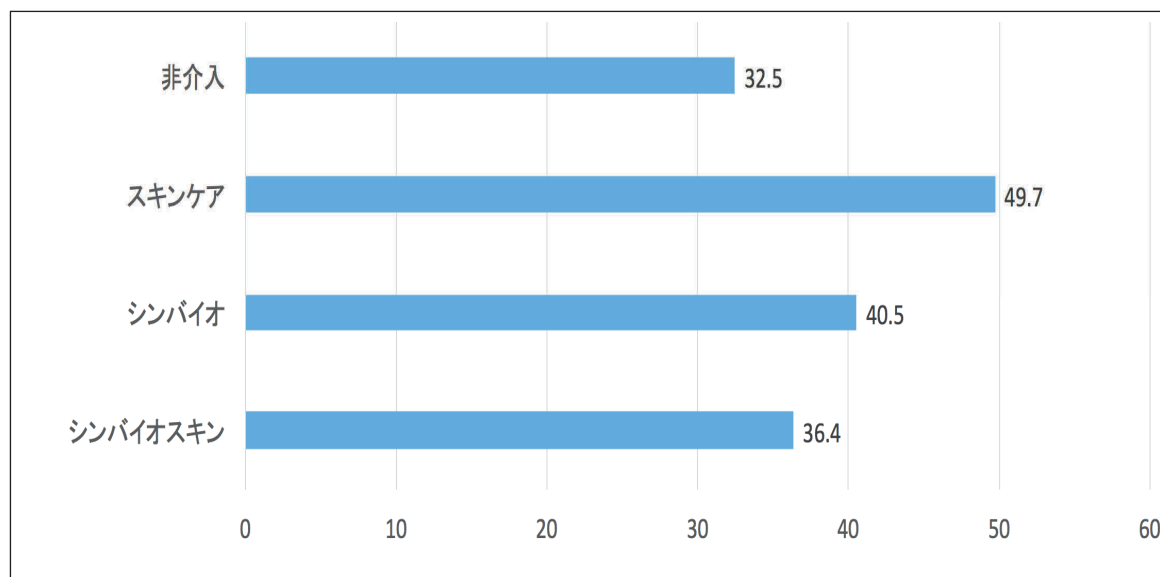
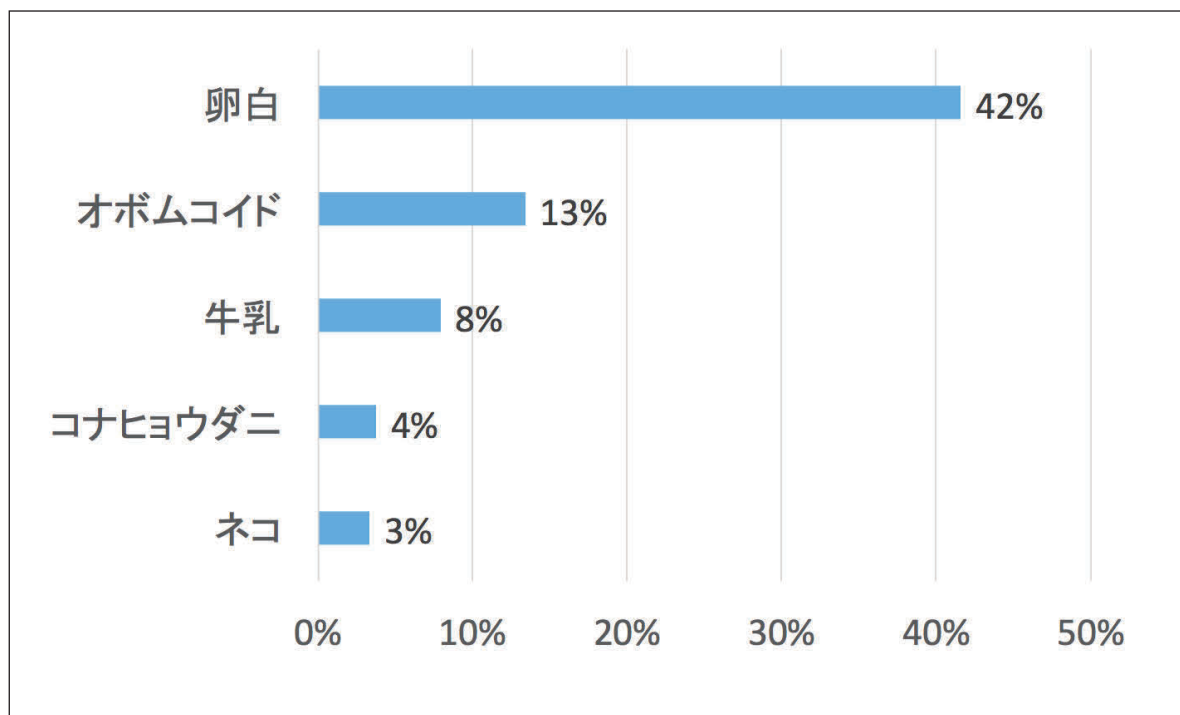


図 4 生後 9 か月での血清 TARC 値への介入の効果（平均値）



食物アレルゲンとして、鶏卵、オボムコイド、牛乳、吸入アレルゲンとして、コナヒョウヒダニ、ネコのフケに対する特異的 IgE 抗体を ImmunoCap®にて 9 か月時に測定した（図 5）。全体では、卵白感作が 42%（190 名/457 名）、オボムコイドが 13%（61 名/456 名）、牛乳が 8%（36 名/456 名）、コナヒョウヒダニが 4%（17 名/458 名）、ネコのフケが 3%（15 名/456 名）であった。

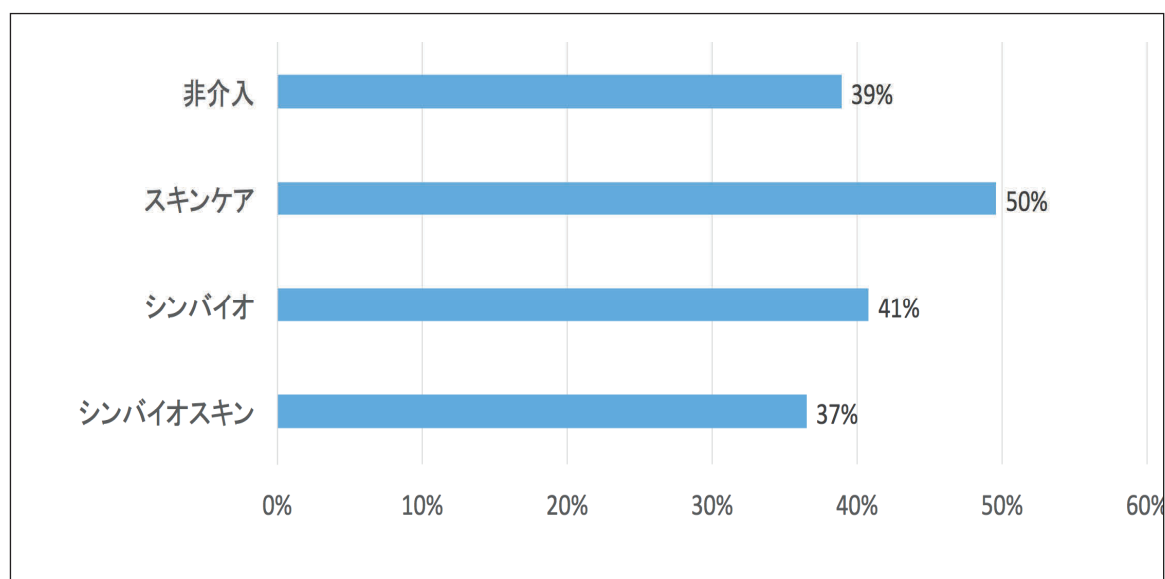
図5 9か月時のアレルギー感作率（クラス2以上）



クラス1以上を陽性とした場合の感作率は、卵白感作が51%、オボムコイドが18%、牛乳が13%、コナヒョウダニが5%、ネコのフケが4%であった。

9か月で感作率のもっとも高かった卵白に対する感作率（クラス2以上）に対する介入の影響を図6に示した。非介入に比して介入群で感作率が低い傾向はなかった。

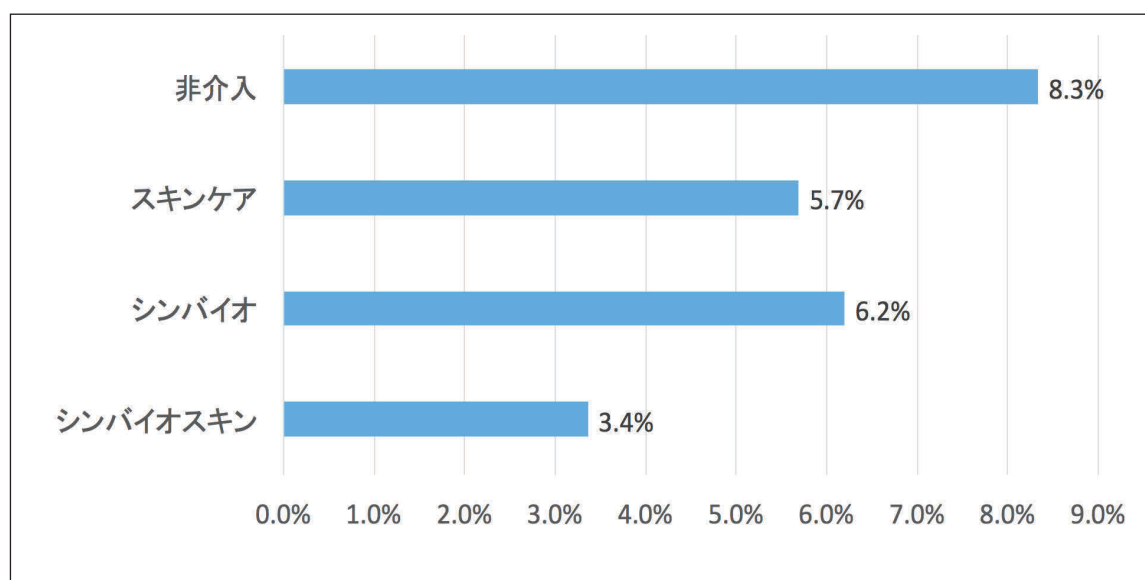
図6 生後9か月での卵白感作率（クラス2以上）に対する介入の効果



#### (4) 9か月での食物アレルギー有病率に対する介入の効果

生後9か月の時点での、医師の確定診断あるいは疑診を含む食物アレルギーの有病率を4群ごとに図7に示した。非介入群に比して、介入群で低値の傾向があり、シンバイオティクス＋スキンケア群でもっとも低値であった。

図7 医師の診断による（疑いを含む）食物アレルギーと介入の関連



#### (5) ぜん鳴・ぜん息に与える介入の効果

生後1歳の時点でのアンケートによるぜん鳴頻度と医師の診断によるぜん息の頻度を図8、9に示す。

図8 各群におけるアンケートによる1歳時ぜん鳴頻度

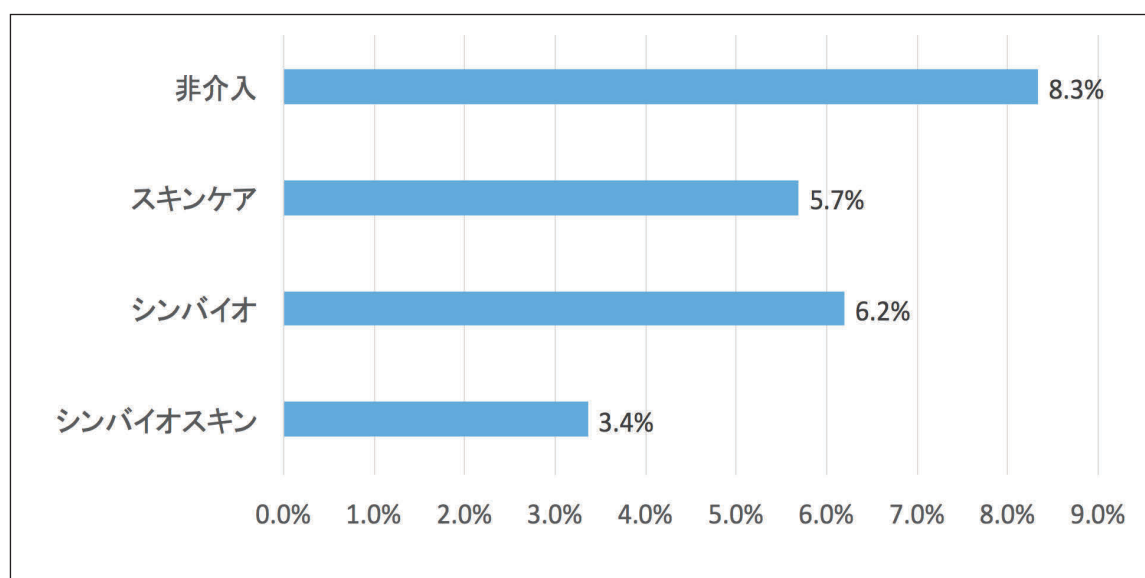
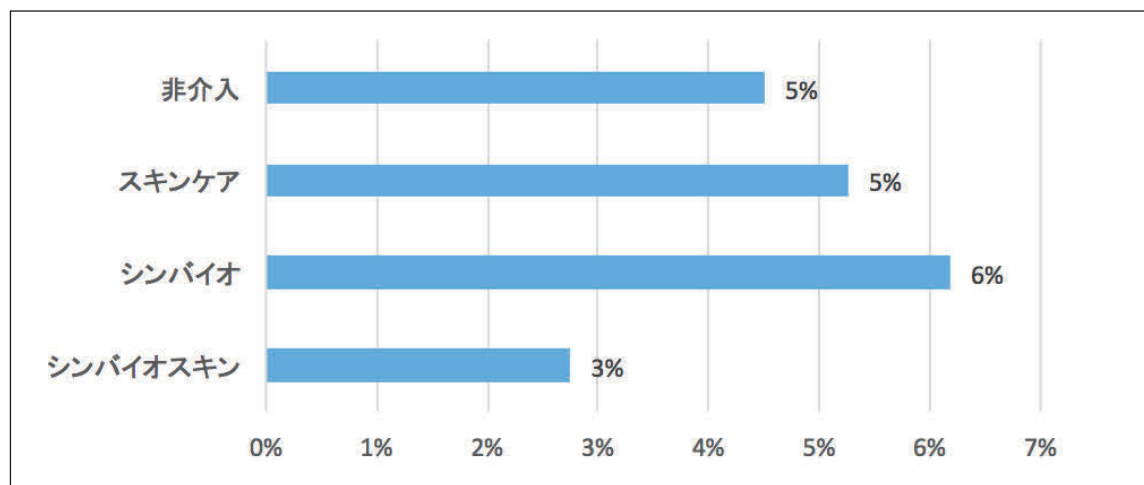


図9 各群における医師診断による1歳時でのぜん息（疑いを含む）罹患率

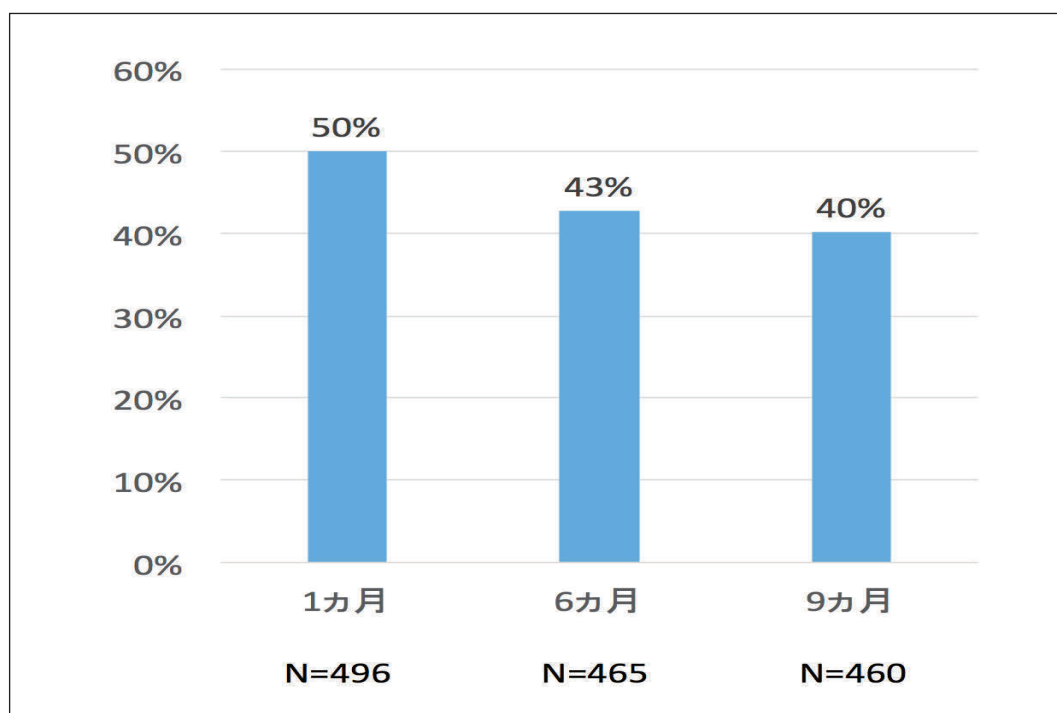


非介入に対してシンバイオティクス＋スキンケア群ではぜん鳴ならびに医師診断（疑いを含む）ぜん息の有病率が低値であった。

#### （6）黄色ブドウ球菌定着とアトピー性皮膚炎発症

我々が千葉市で行ってきた観察出生コホート研究では、生後1か月の黄色ブドウ球菌定着は1歳でのアトピー性皮膚炎発症のリスクでなかったが、生後6か月での黄色ブドウ球菌定着は発症リスクであった。そこで本研究でも、1か月および6か月における黄色ブドウ球菌の検出を行っている。千葉市での観察研究と同様にほぼ半数の乳児の頬部に黄色ブドウ球菌が検出された（図10）。

図10 本研究参加児における頬部黄色ブドウ球菌出頻度



生後1か月の黄色ブドウ球菌陽性の有無は9か月のアトピー性皮膚炎発症と関連がなかったが（図11）、生後6か月での黄色ブドウ球菌定着は9か月のアトピー性皮膚炎に関連が認められた（図12）。

図11 生後1か月での黄色ブドウ球菌定着の有無と9か月時のアトピー性皮膚炎の有病率

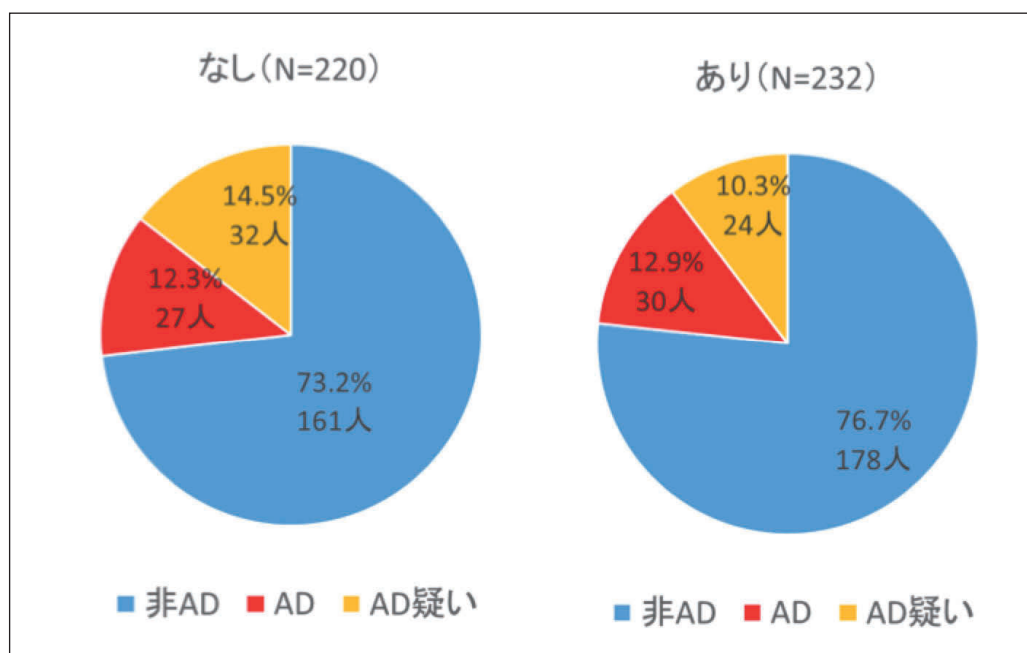
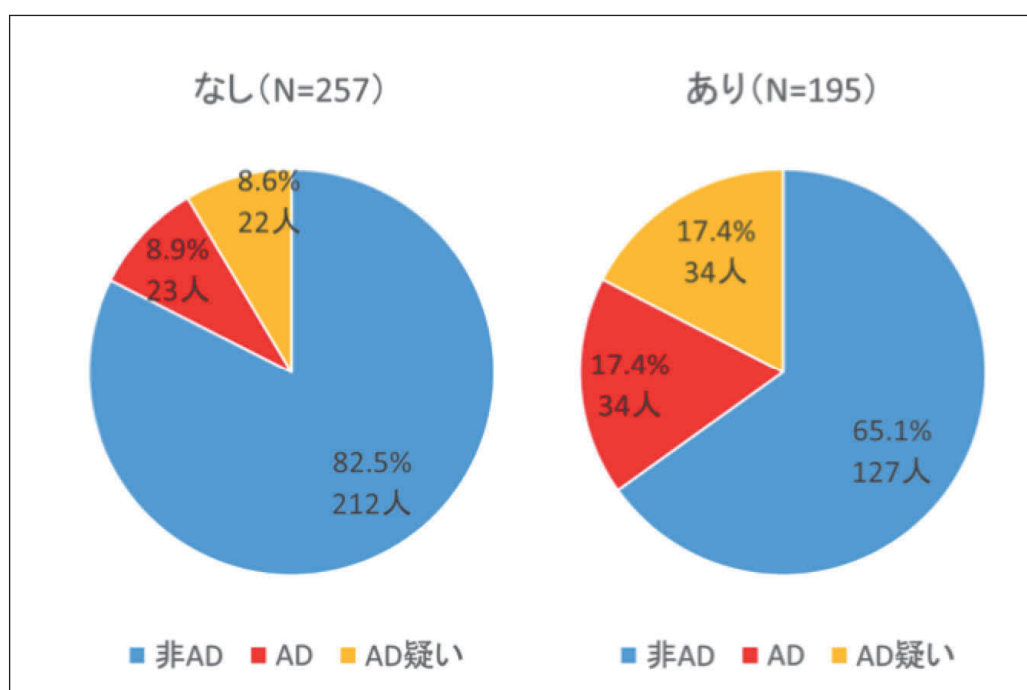
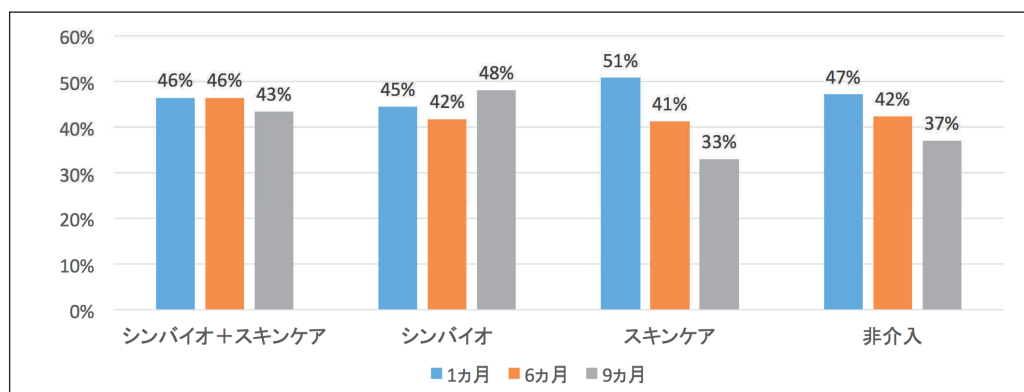


図12 生後6か月での黄色ブドウ球菌定着の有無と9か月時のアトピー性皮膚炎の有病率



生後1、6、9か月での頬部黄色ブドウ球菌定着率を群別に図13に示した。

図13 各群における生後1、6、9か月での頬部黄色ブドウ球菌検出率



非介入に比して、介入群での定着率の低下は認められなかった。

## 5 考察

本研究は、皮膚バリア機能と腸管免疫環境の2つの因子を生直後から至適に維持することにより乳児期のアトピー性皮膚炎、アレルギー感作、食物アレルギー、さらにこれらに引き続く気管支ぜん息などの気道アレルギーの予防を試みた、国内外で初めての介入研究である。現在までの研究結果を参考にして、本研究では生後6か月までスキンケア、シンバイオティクス、あるいはその両者を継続するプロトコルを採用した。アドヒアランスの評価を行うために6か月間にわたり日記の記載も行ってもらった。本研究はこのような手間がかかることもあり、参加者を確保するために、葛飾赤十字産院を受診し、特に大きな疾患を持たない妊婦の大部分に本研究の説明を行った。平成24年10月から平成26年9月までの2年間で、1700名を超える妊婦に参加を依頼した。一次エントリー率は35%であった。エントリー率が1/3であった理由としては、軟膏塗布やシンバイオティクス内服の確認のための日記の記載等の煩雑さがあったがこれは必須のものであり、簡便化しすぎることはできないと考えた。また、本研究はランダム化研究であり、希望する介入に参加できないこともエントリー率に影響した。研究期間の期限もあり、エントリーは2年間で終了し、605名の妊婦のエントリーがあった。その中で満期産、正常分娩（帝王切開は含む）での出生児をランダムに4群に振り分けた。新生児期の疾患などでの脱落もあり、9か月まで試験を遂行できたのは、459名であった。

9か月での解析結果では、アトピー性皮膚炎、アレルギー感作、黄色ブドウ球菌定着率などには介入の効果は認められなかった。成育医療センターの大矢らは生後早期からの保湿によって8か月でのアトピー性皮膚炎が対照群に比して有意に減少したことを報告している。我々の今回の試験結果はこの結果と異なっている。その理由としては、使用した保湿薬の違いも考えられるが、我々が使用したロコベース®の保湿作用はすでに証明されており、保湿薬が原因とは考えづらい。葛飾赤十字産院では、すべての乳児に対してスキンケア指導を行っているので、対照群でも保湿を定期的に行っている児が存在する。対照群でも保湿をきちんと行う児が多かった可能性がある。この可能性については詳細に保湿薬の塗布について日記での評価を行う必要があると考えている。また、本研究では皮疹の写真をとっており、皮疹の強さをEASIスコア

で評価しているので、皮疹の重症度に対する介入の効果を解析する予定である。

生後6か月の時点での黄色ブドウ球菌定着がその後のアトピー性皮膚炎の発症リスクであることは、我々が過去に行った2回のコホート調査から明らかとなったが、本試験でも同様の結果が得られた。介入によって黄色ブドウ球菌の定着が阻止されなかったことは、保湿のみでは黄色ブドウ球菌の定着阻止には不十分なことを示しているのかもしれない。なんらかの保湿薬を定期的に塗布した児とそうでない児の黄色ブドウ球菌定着を解析することで保湿薬の黄色ブドウ球菌定着阻止効果をより明確に評価できると考えている。

シンバイオティクス+スキンケア群でもっとも有病率が低かったのは、医師の診断による(疑いを含む)9か月での食物アレルギーと1歳での保護者申告によるぜん息・医師診断による(疑いを含む)ぜん息であった。アレルギー疾患の発症には、感作に加えて臓器の過敏性が必要とされている。感作に変わりはなく、食物アレルギーとぜん息・ぜん息という粘膜を場とする症状に対する抑制作用がシンバイオティクス+スキンケアに見られるとすれば、この組み合わせが臓器過敏性の亢進を抑制した可能性がある。今後のフォローにおいて食物アレルギー、気道アレルギーの有病率を評価していく予定である。

## 6 次年度に向けた課題

まず、各群における保湿薬塗布、シンバイオティクス内服のアドヒアランスについて、日記を詳細に解析して、今回の介入の効果を詳細に評価したい。また、2歳になった児についてアンケート調査を継続して行い各種アレルギー疾患の有無等を調査する。さらに、糞便中のビフィズス菌、黄色ブドウ球菌の測定を行う予定である。

## 7 期待される成果及び活用の方向性

今回の介入試験で、保湿薬とシンバイオティクス(ビフィズス菌+オリゴ糖)のアレルギー予防効果についてのエビデンスが得られれば、今後のぜん息予防事業においてきわめて重要な情報を与えると考えられる。特に妊婦健診の時期からアレルギー・気管支ぜん息発症高リスク児に対して適切なアレルギー・ぜん息発症予防の信頼性が高く、適切な指導が可能となることが期待される。

## 【学会発表・論文】

### <論文>

1. Sakurai K, et al. Chiba study of Mother and Children's Health (C-MACH): cohort study with omics analyses. Chiba study of Mother and Children's Health group. BMJ Open. 2016;6(1):e010531.
2. Dissanayake E, et al. Asthma, Atopy, and Intestinal Microbiota. J Pediatr Biochem. 2015;5:71-76.
3. Suzuki Y, et al. Induction of the Matrix Metalloproteinase 13 Gene in Bronchial Epithelial Cells by Interferon and Identification of its Novel Functional Polymorphism. Inflammation. 2015 in press.
4. Kuroda M, et al. Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C. Sci Rep. 2015;5:8185.

5. Inoue Y, Shimojo N. Semin Immunopathol. Microbiome/microbiota and allergies. 2015;37(1):57-64.

<学会発表>

1. 藤田雄治, 他. 乳幼児期の湿疹およびアトピー性皮膚炎の発症と関連する血清サイトカインの検討. 第64回日本アレルギー学会学術大会 平成27年5月26-28日 東京
2. 藤田雄治, 他. 妊婦のプレバイオティクス摂取は腸内ビフィズス菌および母乳中 IL-27を増加させる. 第52日本小児アレルギー学会 平成27年10月7-9日 奈良