

(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

【第10期環境保健調査研究の概要・目的】

気管支喘息はアトピー性皮膚炎・食物感作から始まるアレルギーマーチの終点である。喘息を予防するには、乳児期のアトピー性皮膚炎・アレルギー感作・食物アレルギーを予防する必要がある。近年、新生児期からのプロ・プレバイオティクスやスキンケアのアトピー性皮膚炎発症予防効果が海外を中心に報告されている。そこで本研究では、乳幼児期のアレルギー感作／喘鳴・喘息発症に対する、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投与＋スキンケア（保湿薬塗布）群（SB+Emo 群）、SB 群、Emo 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喘鳴・喘息発症率を解析する。吸入アレルギー感作／喘鳴・気管支喘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28年度の研究目的

幼児期のアレルギー感作／喘鳴・喘息発症に対する、新生児から生後6か月まで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。平成24年度から開始している介入研究参加者に対して2歳、3歳時での質問票による追跡調査を行い、各年齢での気管支喘息を含むアレルギー疾患罹患率を調査する。また、28年度は、収集データをスクリーニング・固定した後統計解析を行い、4群での乳幼児期アレルギー疾患、感作について結論を出す。以上により、新生児からの介入による吸入アレルギー感作／喘鳴・気管支喘息発症の予防の有効性を検証し、健康相談事業・健康診査事業等に有用な情報を提供する。

3 平成28年度の研究対象及び方法

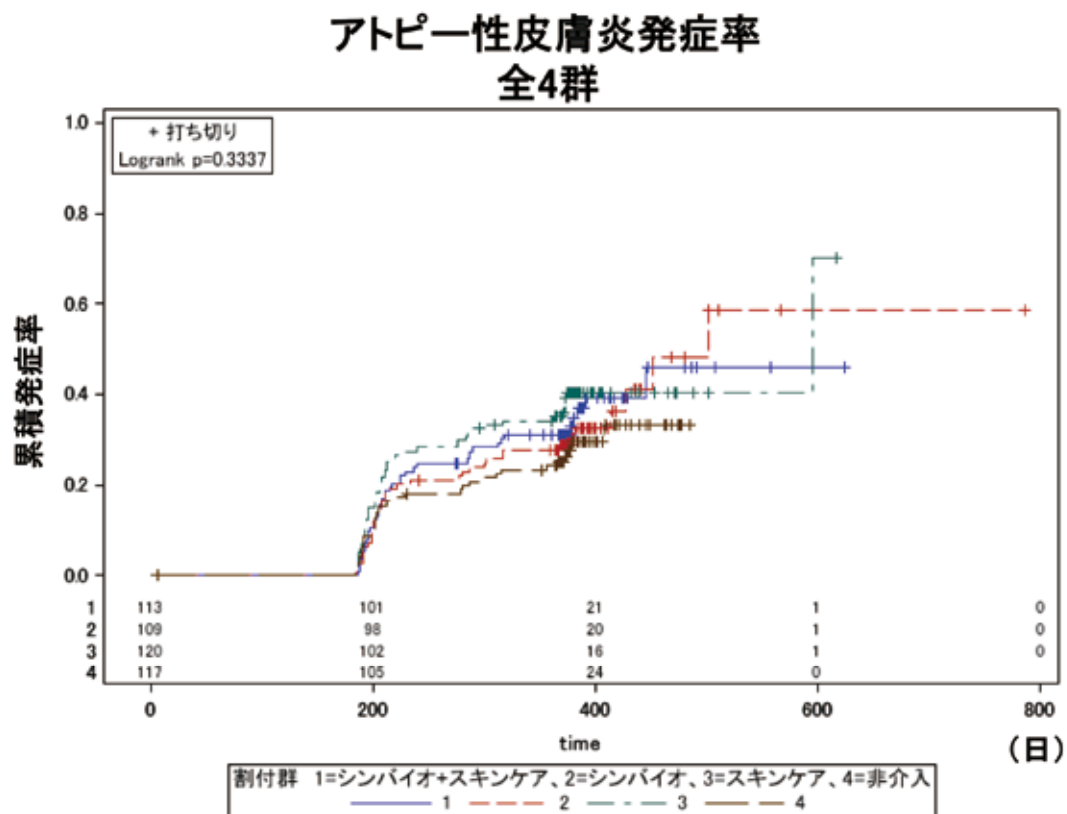
平成24年10月から26年9月までのエントリー数605名を、シンバイオティクス摂取＋保湿薬群（SB+Emo）群、SB 群、Emo 群、非介入群の4群について無作為割り付けを行った児を対象とする。本コホートでは、すでに、生後1か月、6か月、9か月で行い、乳児湿疹、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、喘鳴・喘息の有無について情報が得られている。また、9か

月で採血を施行し、食物・吸入アレルゲン感作についても情報が得られている。産院入院中には助産師から、生後1か月、3か月、6か月、9か月、12か月時には保護者から栄養法、喘鳴等についての情報を取得している。28年度では本コホート参加者を追跡して、2歳、3歳での喘息や他のアレルギー疾患の情報を質問票にて取得する。また、1歳までに得られた各種データをクリーニング・固定して、第三者による統計解析を行うとともに、2歳、3歳でのアレルギー疾患に与える早期介入の効果を評価する。

4 平成28年度の研究成果

605名の一次エントリーがあり、一次エントリー者から出産時に549名の児を4群に振り分け、脱落を除いた459名（SB+Emo群106名、SB群101名、Emo群117名、非介入群110名）が1歳までフォロー可能であり、解析対象とした。

(1) 4群における1歳までのアトピー性皮膚炎発症率（Kaplan-Meier）



4群間におけるアトピー性皮膚炎発症率に差異はみとめなかった。

*** 各群の解析対象症例数とAD発症症例数**

治療群	解析対象数	AD発症症例数 (%)
併用群	113	40 (35.4%)
シンバイオ群	109	37 (33.9%)
スキンケア群	120	48 (40.0%)
非介入群	117	33 (28.2%)

(2) 生後1、6か月時の黄色ブドウ球菌定着と9か月時アトピー性皮膚炎有病率

6Mo 皮膚類黄色ブドウ 球菌の有無	9Mo時のAD	
	なし	あり+疑い
なし	235/260 (90.4%)	25/260 (9.6%)
あり	152/196 (77.6%)	44/196 (22.4%)

OR 2.73 (95%CI 1.60-4.65) p=0.0002

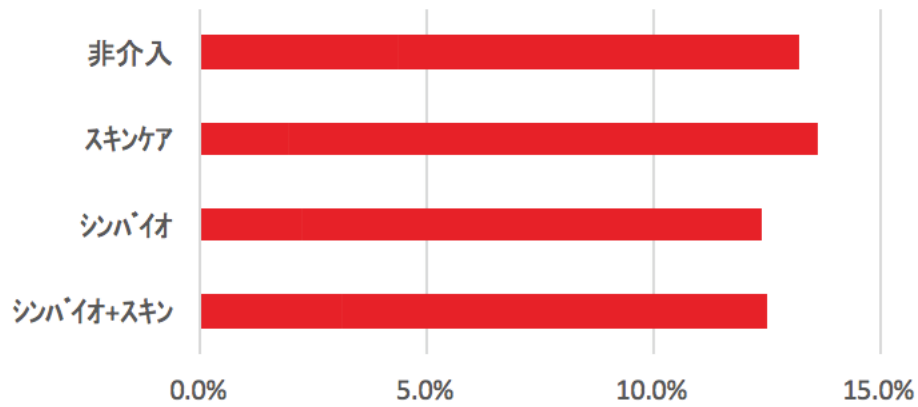
生後6か月時の黄色ブドウ球菌類部定着は9か月時のアトピー性皮膚炎のリスクであった。一方、生後1か月での定着はリスクではなかった (15.2% vs 15.0%)。

1Mo 皮膚類黄色ブドウ 球菌の有無	9Mo時のAD	
	なし	あり+疑い
なし	189/223 (84.8%)	34/223 (15.2%)
あり	198/233 (85.0%)	35/233 (15.0%)

(3) 2歳での医師診断アトピー性皮膚炎 (疑い含む)、喘鳴、食物アレルギー

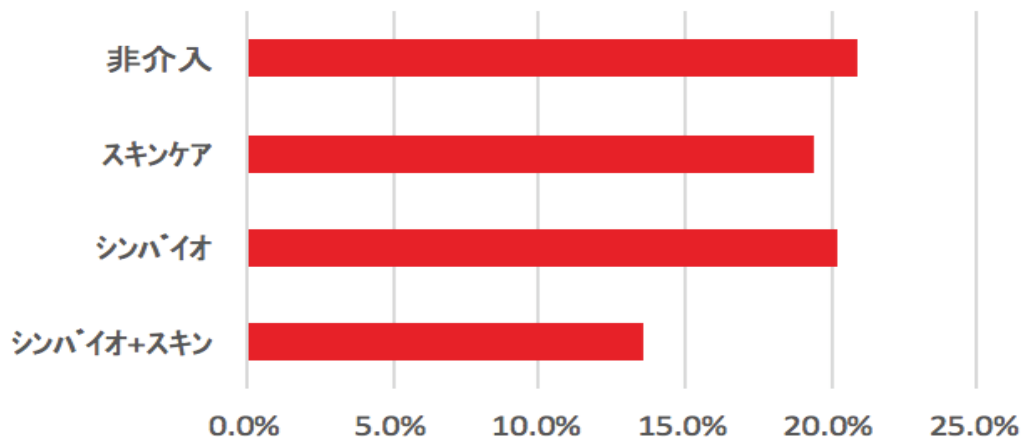
2歳までフォローが可能であった参加者 379 名を解析対象とした。以下に2歳の時点での累積アレルギー疾患有病率を示す。

今までの医師のAD診断



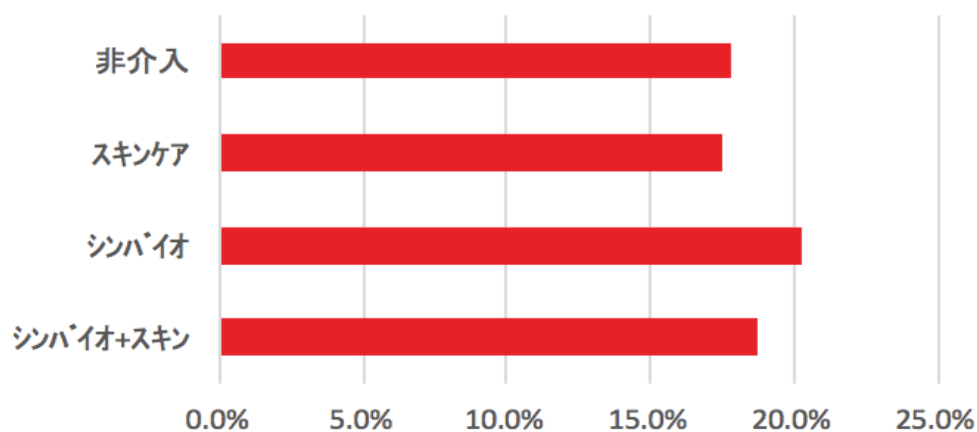
2歳での累積の医師によるアトピー性皮膚炎の診断に4群で差異はなかった。

今までの喘鳴



喘鳴については、併用群で低値の傾向はあったが、非介入と保湿群、シンバイオ群には差異はなかった。

今までの食物アレルギー診断

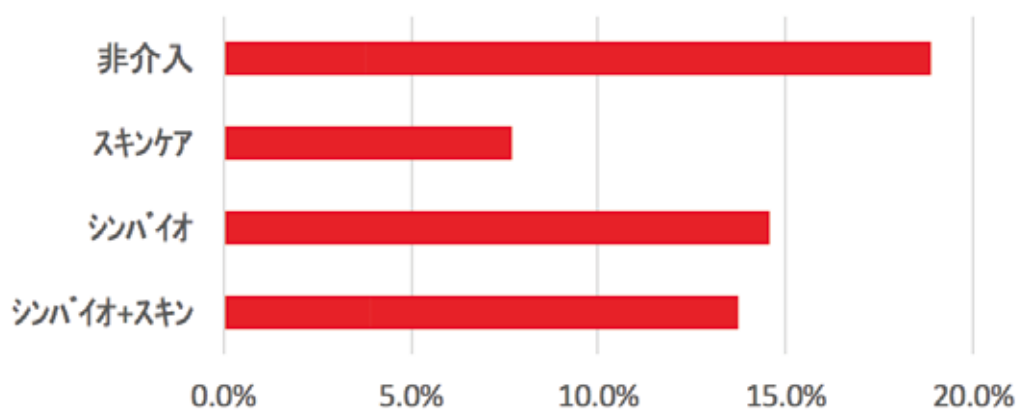


食物アレルギーについては、4群間で差異はなかった。

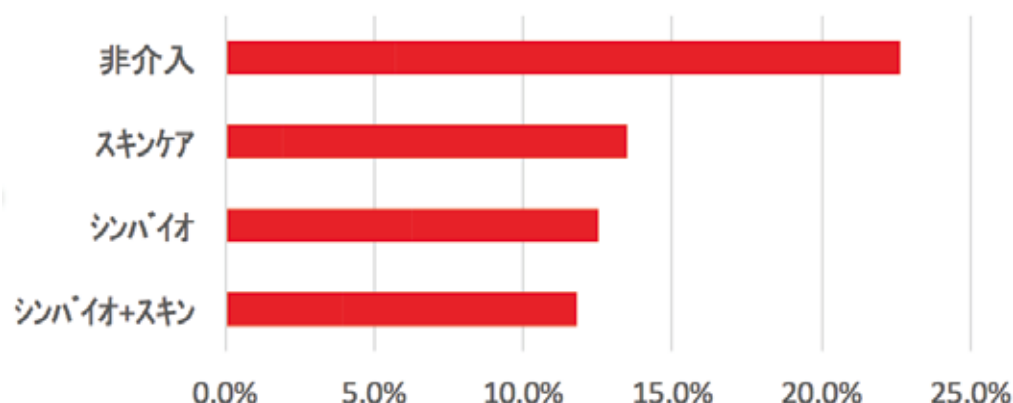
(4) 3歳での医師診断喘息、アレルギー性鼻炎、食物アレルギー

3歳での調査は、244名を対象とする中間解析結果であるが、下記に示す。この段階での結果では、非介入群に比して、アレルギー性鼻炎、食物アレルギーについては介入群で低値の傾向が見られた。

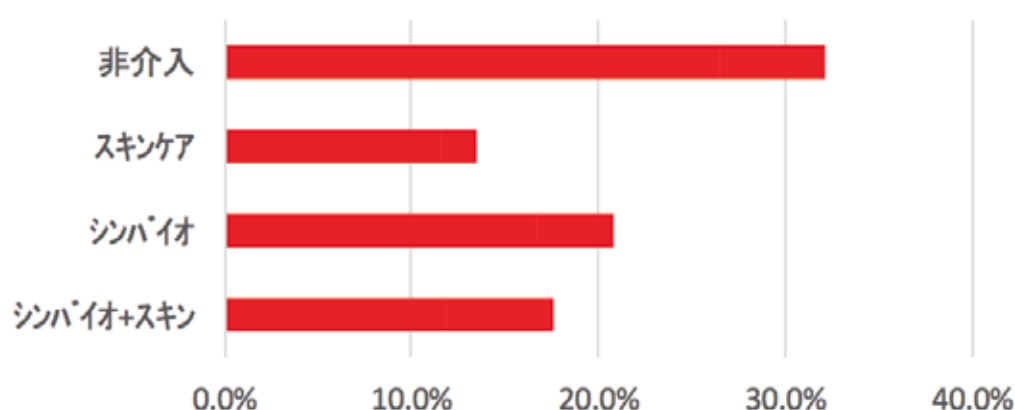
今までの喘息診断



今までのAR診断



今までの食物アレルギー診断



5 第10期環境保健調査研究の総括

(1) 第10期環境保健調査研究における各年度の目標（計画）

【平成26年度】

葛飾赤十字産院において平成24年10月からの合計でエントリー数600名程度となるまでリクルートを行なう。リクルートした児を、SB+Emo群、SB群、Emo群、非介入群の4群について無作為割り付けを行う。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、喘鳴・喘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、喘鳴等についての調査票を記入してもらう。

【平成27年度】

上記介入研究参加者を追跡し、1歳までのデータを解析する。またその後のぜん鳴・ぜ

ん息の評価のために2歳時に調査票での調査を行う。

【平成28年度】

上記介入研究参加者を追跡し、3歳までの喘鳴・喘息発症率についての調査を開始する。また、基本データのクリーニングと固定を行い、詳細な統計解析を行い、4群での乳幼児期アレルギー疾患、感作について結論を出す。

(2) 第10期環境保健調査研究における研究成果

【平成26年度】

(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。対象となる妊婦のおよそ90%に本研究への参加を説明依頼したことになる。説明を受けた妊婦の本研究への参加率はおよそ1/3であった。参加率は平成26年度以降と以前で大きく差異がなかった。その理由としては、参加しやすさを進めたものの、日記の記載等本研究の信頼性評価のために必須の項目が多くあったためと考えられた。

(2) 9か月における4群別の湿疹の頻度

平成24年度からのエントリーを含め、平成27年1月までに、9か月におけるかゆみのある湿疹（健診時医師調査票）を評価した合計298名についてのデータを解析した。非介入群で25%、スキンケア群で31%、シンバイオティクス群で26%、シンバイオティクス+スキンケア群で20%であった。

(3) 9か月における免疫学的パラメーター（アレルゲン感作率、総IgE）

食物アレルゲンとして、鶏卵、オボムコイド、牛乳に対する特異的IgE抗体をImmunoCap®にて9か月時に測定した。298名の解析では、感作率が最も高かった卵白の各群での感作率は、非介入群で41%、スキンケア群で48%、シンバイオティクス群で41%、シンバイオティクス+スキンケア群で39%であった。吸入アレルゲンではコナヒョウヒダニ、ネコのフケに対する特異的IgE抗体を測定した。ダニ感作率は、非介入群で5%、スキンケア群で8%、シンバイオティクス群で1%、シンバイオティクス+スキンケア群で1%であった。

【平成27年度】

(1) リクルート等について

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106名、SB群101名、Emo群117名、非介入群110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。この頻度は従来の我が国の調査とほぼ同じであった。介入の影響に

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)

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。

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。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。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%、コナヒョウヒダニが 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) では、非介入に比して介入群で感作率が低い傾向はなかった。特異的 IgE 値の絶対値の比較でも介入群で低いという結果は得られなかった (データは示さず)。

(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では、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。

【平成 28 年度】

(1) 1 歳までのアトピー性皮膚炎発症の生存曲線解析

459 名を対象とした 4 群の 1 歳までの累積アトピー性皮膚炎の発症数は、非介入群 28.2%、スキンケア群 40.0%、シンバイオ群 33.9%、併用群 35.4%と、介入群の予防効果は認められなかった。

(2) 生後 1、6 か月時の黄色ブドウ球菌定着と 9 か月時アトピー性皮膚炎有病率

生後 1 か月黄色ブドウ球菌、6 か月黄色ブドウ球菌の定着率に 4 群で差異はなかった。生後 1 か月黄色ブドウ球菌定着の有無は、9 か月の医師診断によるアトピー性皮膚炎の有病率との関係はなかった。一方、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と有意に関連していた (オッズ比 2.73 (95%CI 1.60-4.65) $p=0.0002$)。

(3) 2 歳での医師診断アトピー性皮膚炎 (疑い含む)、喘鳴、食物アレルギー

2 歳での質問票での、医師診断による累積アトピー性皮膚炎、喘鳴、食物アレルギーの頻度には 4 群で差異が認められなかった。

(4) 3 歳での医師診断喘息、アレルギー性鼻炎、食物アレルギー

3 歳での質問票での、医師診断による 244 名の中間解析では、累積喘息率には 4 群で差異がなかったが、アレルギー性鼻炎、食物アレルギーの頻度について、非介入群に比して介入群で低値であった。

6 期待される活用の方向性

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、アレルゲン感作、食物アレルギー、さらにこれらに

引き続き気管支喘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。

今回の介入研究では、新生児期早期からのシンバイオティクスあるいは保湿薬の投与には2歳までのアトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー感作の予防効果が認められなかった。シンバイオティクスとしてはビフィズス菌を使用した、本菌以外の乳酸菌では予防効果がある可能性はある。しかしながら、最近のメタ解析では出生後のプロバイオティクスのみで効果はなく、妊娠母体への投与が必要であることから、出産後のシンバイオティクスの投与の効果は少ないと考えられた。今回の研究では研究費などから、菌叢の比較を4群で行うことはできなかった。今後、シンバイオティクス投与群での腸内細菌叢の解析も可能な限り行う方向で考えている。

今回の研究では保湿薬によるアトピー性皮膚炎の発症ならびに感作予防はできなかった。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、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可能性があった。本研究では、詳細に保湿薬の塗布頻度について日記を記載してもらっており、使用頻度を解析した。その結果、保湿薬群では有意に対照群に比して保湿薬使用頻度は高く、使用頻度の差異が原因とは考えづらいことがわかった。ただ、非介入群での保湿薬使用頻度はかなり高く、そのため両群で差異が認められなかった可能性はある。また、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、本研究でもほとんど副作用の報告はなかったが、成育介入研究で用いられた2e®と効果が異なる可能性も考えられる。少なくとも、今後はどのような保湿薬を用いるのかの評価も必要であろう。

本研究では、生後1か月の黄色ブドウ球菌皮膚定着ではなく、生後6か月の黄色ブドウ球菌定着阻止がアトピー性皮膚炎発症に有意に関連することが確認された。我々は以前の観察研究で全く同じ結果を得ており、生後1か月以降の皮膚バリア機能異常が黄色ブ菌定着を促進している可能性が考えられる。4群間で1か月、6か月での黄色ブ菌定着率に差がなかったことは、保湿あるいはシンバイオティクス投与では黄色ブ菌定着阻止、すなわち皮膚バリア機能の維持が十分にはできないことを示している。今後は、皮膚バリア機能を維持する他の方法を探索・証明する必要がある。

2歳までの本研究の成果をまとめると、残念ながら、出生後のシンバイオティクス投与、保湿薬塗布では皮膚バリア機能の維持によるアレルギーマーチを十分に予防することは難しく、現在の段階では、アレルギーマーチ、喘息予防の可能性を期待して、プロバイオティクス投与の使用を勧めるまでのエビデンスはないと考えられる。保湿薬については、大矢らの報告から、アトピー性皮膚炎の予防効果はあると考えられるが、少なくとも今回の解析でもアレルギー感作の予防効果はなく、今後は、乳児期早期の湿疹の治療の効果の検証が必要であろう。さらに、現在まで顧みられることの少なかった新生児期からの入浴方法などの評価・介入試験が必要と思われる。近年、英国での大規模調査から水道水の硬度がアトピー性皮膚炎発症に関連する可能性が示されている。我々はすでに硬度0の軟水が小児アトピー性皮膚炎の症状緩和に有効であることを明らかにしており、今後、新生児期からの入浴・洗浄方法に改善、軟水使用などの効果が検証されるべきと考える。

【学会発表・論文】

<論文>

1. Dissanayake E, et al. A Probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of atopic dermatitis. *Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology*. 2016 in press.
2. 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.
3. Dissanayake E, et al. Asthma, Atopy, and Intestinal Microbiota. *J Pediatr Biochem*. 2015;5:71-76.
4. Inoue Y, Shimojo N. *Semin Immunopathol*. Microbiome/microbiota and allergies. 2015;37(1):57-64.
5. 下条直樹 腸内細菌叢と消化管アレルギー 小児内科 2016;48:1260-64.

<学会発表>

1. 佐藤裕範, 他. 乳児アトピー性皮膚炎における TARC の解析. 第 53 回日本小児アレルギー学会学術大会 平成 28 年 10 月 8-9 日 前橋
2. 山出史也, 他. 母乳中に含まれる食物抗原の解析 千葉市出生コホートでの検討 第 53 回日本小児アレルギー学会学術大会 平成 28 年 10 月 8-9 日 前橋
3. 山出史也, 他. 幼児における血清 Thymus and activation regulated chemokines 値の分布 千葉市出生コホートでの検討 第 65 回日本アレルギー学会学術大会 平成 28 年 6 月 17-19 日 東京
4. 菅野雅元, 他. アトピー性皮膚炎の自然経過と症状寛解に関わる要因 アトピー性皮膚炎・出生コホート解析 母乳中 DAMPs 活性物質の同定、免疫学的作用機序の検討 第 65 回日本アレルギー学会学術大会 平成 28 年 6 月 17-19 日 東京