

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K05523

研究課題名（和文）鶏卵経口免疫療法におけるビフィズス菌摂取介入効果に関する無作為二重盲検比較試験

研究課題名（英文）Randomized double-blind comparative study on the effect of bifidobacteria on the induction of tolerance to egg allergy oral immunotherapy

研究代表者

今井 孝成（IMAI, TAKANORI）

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：60365731

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：鶏卵経口免疫療法（以下OIT）を実施する患者に対して、無作為二重盲検比較試験を実施した。介入群をビフィズス菌、非介入群を食物繊維としてそれぞれOIT経過中に投与した。対象の登録は41名、介入群が21名、非介入群が20名となった。年齢は6(5-9)歳、鶏卵閾値は1/32個であった。31例が48週目の食物経口負荷試験を実施することができた。陰性は20例、介入群10例(63%)、非介入群10例(75%)であり、有意差を認めなかった。また持続的無反応は介入群が6例、非介入群が3例であり、有意差を認めなかった。結論としては、OITにおけるビフィズス菌投与は、OITの結果に明らかな有益性を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

経口免疫療法は、現在食物アレルギー患者において唯一の治癒を期待できる取り組みである。一方で、経過中のアナフィラキシーを含めた症状誘発や、真の治癒の獲得（耐性獲得）が困難であるなどの課題を有している。様々な観点でこうした課題の解決に向けた取り組みが行われてきたが、その一つに腸内細菌の調整効果が期待されてきた。従来の報告では、その評価は定まっていなかったことが、本研究実施のきっかけとなった。本研究はランダム化二重盲検比較試験であり、研究の質はもっと高い。本研究の成果として、経口免疫療法に対する乳酸菌製剤の介入は効果的でないことが示され、今後の本研究分野の進展に大きく寄与することができた。

研究成果の概要（英文）：We conducted a randomised, double-blind, comparative study of patients undergoing hen's egg oral immunotherapy (OIT). Bifidobacteria and dietary fibre were administered to the intervention and non-intervention groups, respectively, during the course of OIT. Forty-one subjects were enrolled, 21 in the intervention group and 20 in the non-intervention group. Age was 6 (5-9) years, egg threshold was 1/32 of a hen's egg 31 patients were able to perform a food oral challenge test at week 48. Twenty were negative, 10 (63%) in the intervention group and 10 (75%) in the non-intervention group, with no significant differences. There were also 6 persistent non-responses in the intervention group and 3 in the non-intervention group, which did not differ significantly. In conclusion, bifidobacteria administration in OIT showed no apparent benefit in OIT outcomes.

研究分野：アレルギー

キーワード：食物アレルギー 経口免疫療法 腸内細菌 マイクロバイオーム 鶏卵アレルギー ビフィズス菌

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)



### 1. 研究開始当初の背景

食物アレルギー患者は100-150万人おり、なかでも鶏卵アレルギーは半数を占め最も多い。鶏卵は食生活で頻用されるため、除去生活は著しい生活の質の低下を招く。鶏卵アレルギーの70%は就学前に自然治癒するが、30%は治らない。

自然治癒を見込めない患者を対象に、2008年頃から世界的に経口免疫療法(専門医が管理しながら、少量ずつ原因食物を食べて耐性誘導を導く治療)が取り組まれはじめた(Longoら、2008)。その効果は明らかであるが、一方でアナフィラキシーなど強い副反応が出現する問題や、減感作(食べ続ければ症状が誘発されない)状態には達するが、耐性誘導が困難であることが明らかになってきた(Brozekら、2012)。このため食物アレルギー研究の潮流は、経口免疫療法において、どのように耐性を効率的に誘導するかに移行している。

一方で腸内マイクロバイームはヒトの様々な疾病の病態形成や調整に関与していることが近年示されてきており(Baumler AJら、2016)、アレルギー疾患への関与も複数報告されている(Muir ABら、2016)。中でも腸管免疫において、プロバイオティクスを介した腸内マイクロバイームの変化が調節性Tリンパ球を誘導する効果(Furusawaら、2013)が明らかとなり、プロバイオティクスが経口免疫療法における耐性誘導に重要な働きをもつことが示された。本研究で使用するビフィズス菌(*Bifidobacterium breve M-16V*)は、すでにアレルギー発症予防効果が報告され(Enomotoら、2014)、またマウスの研究ではTh2免疫応答とIgE産生を抑制する報告がある(Inoueら、2009)。

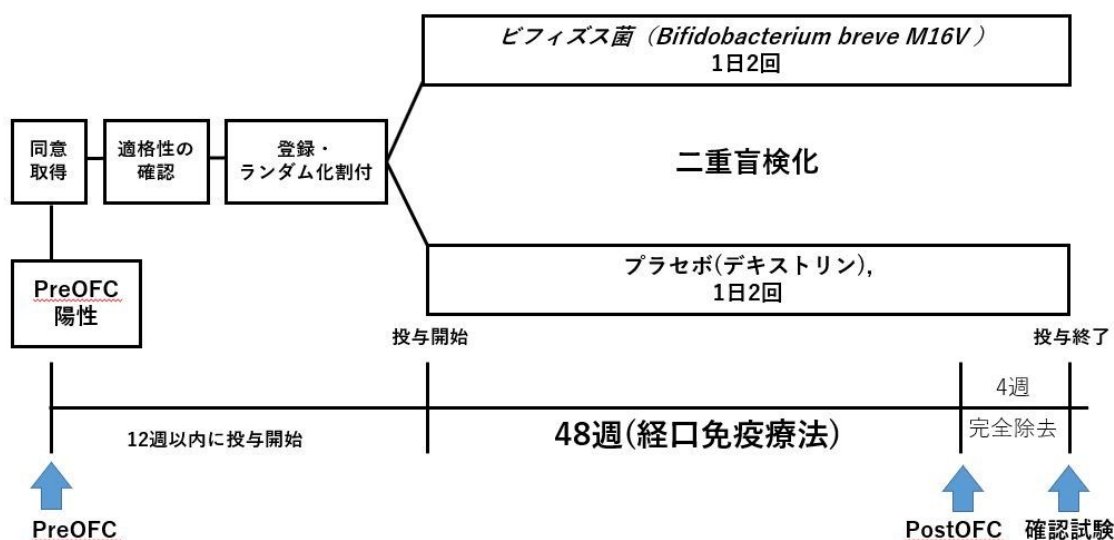
### 2. 研究の目的

自然治癒を望めない鶏卵アレルギー患者に、経口免疫療法においてプロバイオティクス介入することで、効率的な耐性誘導を目指す。また血清、糞便、皮膚の免疫および炎症指標(抗原特異的IgE、IgG<sub>4</sub>、腸内マイクロバイームの多様性、カルプロテクチンなど)を比較し、耐性誘導の適切な指標を明らかにする。

食物アレルギーの経口免疫療法における耐性誘導に関する研究のアプローチは、従来食べる量や増量方法、食べ続ける期間などの方法論が主であった。本研究は、無作為化したプロバイオティクス介入による検討であり、新しい切り口による取り組みである。また経口免疫療法の指標として、腸内マイクロバイームの多様性や腸管の炎症指標であるカルプロテクチンが研究されたことはない。

### 3. 研究の方法

本研究は初年度から最終年度まで同一プロトコルで行う。方法の概要を以下に示す。



※OFC (Oral Food Challenge:食物経口負荷試験)

#### 1) 対象の選択基準

以下の全ての基準を満たしたものを選択対象とする。a) 明らかな鶏卵アレルギー患者(明らかな鶏卵アレルギーとは、試験開始3ヶ月以内の食物経口負荷試験で閾値が加熱卵白1/8個以下で即時型の客観的陽性症状(広範囲の蕁麻疹、喘鳴、咳込み、呼吸困難、嘔吐、下痢、ショック等)を認めたもの。b) 研究開始時に5歳以上である患者

#### 2) 研究方法

##### 2-1) 介入(無作為二重盲検化)

対象を封筒法で無作為化し、介入群(ビフィズス菌)とプラセボ群(デキストリン 1.2g/回)に

分ける。介入は二重盲検化して研究終了(52週)まで続ける。二重盲検化は外観および容器包装を統一して実現する。

ビフィズス菌(*Bifidobacterium breve M-16V*)は100億個/回(1.2g)を用い、1日2回食べる。なお*Bifidobacterium breve M-16V*による副作用報告はなく、米国 Food and Drug Administration(FDA)から、一般食品等での利用について Generally Recognized Safe(GRAS)を取得しており、その安全性は担保されている。

### 2-2) 目標症例数

目標症例数は50名(ビフィズス菌投与群(B群)：25名、プラセボ投与群(P群)：25名)とし、統計学的に十分なパワーを有する設定をしている。

### 2-3) 経口免疫療法

食物経口負荷試験(以下負荷試験)、増量期、維持期段階に分けられる。負荷試験はさらに、経口免疫療法前(Pre)、48週(Post)、52週(確認試験)の3回、全て同じ方法で行う。

#### Pre 負荷試験

オープン法、40分不均等2分割法、沸騰後15分茹でた卵白を用いて行う。経口免疫療法はPre負荷試験で陽性判定されてから12週以内に開始する。

#### 増量期

増量期はレベル1(加熱卵白1/400個)からレベル8(加熱卵白1/4個)まで増量する期間とする(右上表)。

毎日2回指定量を食べ、条件(症状が誘発されず一定期間連続する)を満たした場合、増量する。レベル8(1/4個)に達したら、維持期に移行する。増量期間中に症状が誘発された場合、症状グレードに応じて食べるレベルを下げて増量期を継続する。

#### 維持期

維持期は卵白1/4個を毎日2回食べ続ける期間とする。但し症状が誘発された場合、症状グレードに応じて、食べるレベルを下げて継続する。

#### Post 負荷試験および確認試験

研究開始から48週に加熱卵白1個のPost負荷試験を行う。Post負荷試験が陰性の場合、鶏卵完全除去を4週行い、52週に加熱卵白1個の負荷試験(確認試験)を行う。

レベル	1	2	3	4	5	6	7	8
1日摂取回数	2回							
全卵摂取量	1/400	1/200	1/100	1/50	1/25	1/12	1/6	1/4
増量条件 (グレード0または無症状の持続期間)	連続28日間			連続14日間				

### 3) 評価項目

3-1) 主要評価項目：介入開始52週の加熱鶏卵の耐性獲得率

3-2) 副次評価項目：介入開始48週の加熱鶏卵の耐性獲得率、客観的指標の変化量(血液：好酸球数、総IgE値、鶏卵抗原特異的IgE値、抗原特異的IgG<sub>4</sub>値(オボムコイド)、糞便：腸内細菌叢(16S rRNA遺伝子配列に基づくパイロシークエンス法)、カルプロテクチン、皮膚：プリックテスト)、経口免疫療法中の副反応率、有害事象の発生率

### 4. 研究成果

登録は41例であり、年齢は6(5-9)歳、男児が28例(68%)、閾値は1/32(1/100-1/10)個であった。OIT開始時、総IgE値は714(364-2022)IU/mL、OVM特異的IgE値は15.7(7.52-65.4)UA/mLであった。B群が21名、P群が20名で、詳細はTable1, Figure1参照。

対象のうち10例が脱落(B群5名、P群5名)。摂取困難はそれぞれ2名であった。31例(B群16例、P群15例)が48週OFCを実施し、陰性20例(B群10例(63%)、P群10例(75%))であり、有意差はなかった。

陰性者20名が全員持続的無反応の確認を行った。持続的無反応は9例(B群6例(60%)、P群3例(30%))が獲得し、こちらも群間差はなかった。

またOIT前後の腸内細菌叢における多様性に有意差はなかった。またプロカルシトニンはB群の方が低値で推移する傾向があったが、統計学的な有意差は認めなかった(Figure2)。また48週および持続的無反応の獲得群と非獲得群間の有意差も認めなかった。

以上の結果から、鶏卵OITにおいて乳酸菌製剤の介入は、明らかな有益性を示さなかった。

Table 1

	全体(n=41)	B群(n=21)	P群(n=20)
年齢(歳)	6 (5-9)	6 (5-9)	6 (5-8)
性別, 男児	28 (68%)	17 (81%)	11 (55%)
鶏卵閾値(個)※	1/32(1/100-1/10)	1/32 (1/100-1/6)	1/32 (1/100-1/8)
総IgE値 (IU/mL)	714 (364-2022)	1073 (348-2602)	469 (353-1497)
卵白特異的IgE値 (UA/mL)	26.1 (10.3-63.5)	37.9 (8.1-92.8)	21 (11.8-50.3)
OVM特異的IgE値 (UA/mL)	15.7 (7.50-65.4)	15.7 (1.54-86.7)	15.6 (8.53-45.0)
好酸球数(/μL)	441 (308-775)	511 (296-784)	396 (314-783)
TARC(pg/mL)	488 (317-628)	499 (317-598)	470 (299-669)
カルプロテクチン (mg/kg)	37.8 (29.3-54.1) (n=28)	41.3 (31.9-66.9) (n=14)	34.7 (27.2-47.3) (n=14)

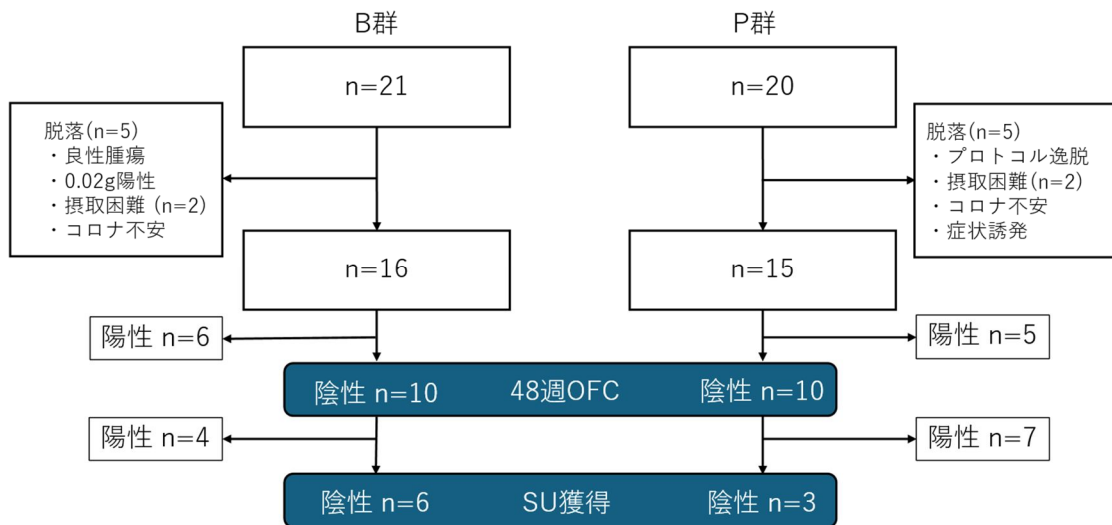


Figure 1

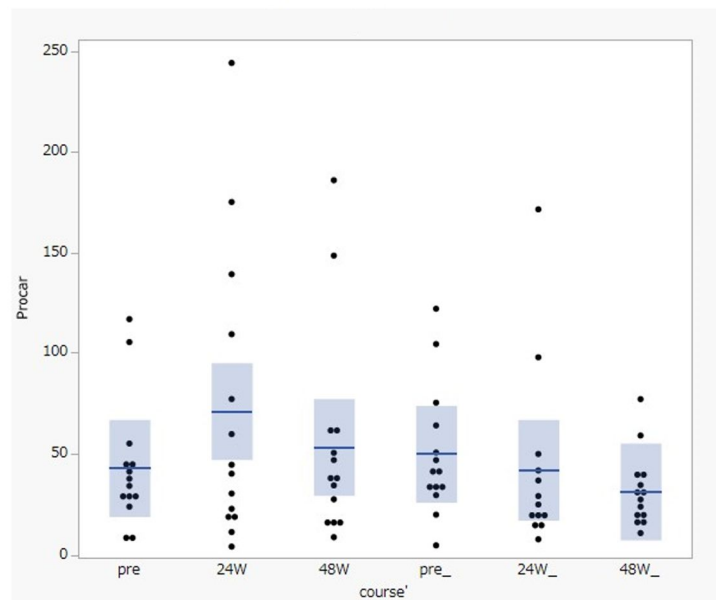


Figure2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 今井孝成
2. 発表標題 鶏卵経口免疫療法に対する乳酸菌製剤の効果の検証：無作為盲検化比較試験
3. 学会等名 日本小児アレルギー学会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------