

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10043

研究課題名(和文) 乳児期における腸内細菌叢の構成、新たなバイオマーカーとアレルギー疾患の発症の解明

研究課題名(英文) Birth cohort study of Gut Microbiota composition and novel biomarkers in infancy and development of allergic disease

研究代表者

Ruby Pawankar (Pawankar, Ruby)

日本医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00287674

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：日本医科大学付属病院で出生したBirth cohortの乳児期の腸内細菌叢の構成、バイオマーカーとアレルギー疾患の発症の関連性を検討した。アレルギー疾患は登録者数102人中40人、食物アレルギー-31人、アトピー性皮膚炎26人であった、このうち食物アレルギーが関与したものは20人であった。24症例中(アレルギー(-)14例 アレルギー(+))10例)で1か月と6か月の便を用いて腸内細菌叢解析を行った。1か月に比べてFirmicutusが多くProteobacteria, Bifidobacteroidesの減少がみられた。また分娩直前の抗菌薬投与とアレルギー疾患の発症に関連性を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー疾患の発症と腸内細菌叢に関する検討の報告は諸外国では散見されるが、本邦では報告がない。日本においては諸外国と民族的な相違の他、特に食文化は異なりこの点からも諸外国のそれとは違った結果が得られる可能性が予測される。又、アレルギー発症前からの情報となる新生時期からの経時的なバイオマーカーの測定はその結果よりアレルギー発症との関連性および病態の解明に迫る情報が得られる可能性が考えられる。さらにアレルギー発症予測が可能であれば早期に発症予防のための介入が可能になり、アレルギー疾患の罹患数の減少につながると思われる。

研究成果の概要(英文)：Our study was designed to analyze the time course composition of the gut microbiome and biomarkers and its relation to the development of allergic diseases in a birth cohort born in Nippon Medical School at 1 month, 3months, 6 months, 1yr, 2yr and 3 yrs. Out of 102 in the birth cohort, 40 were allergic, 31 had food allergies and 26 had atopic eczema. In the analysis of the gut microbiota of 14 allergic and 10 non-allergics at 1 month and 6 months, we demonstrated increased Firmicutus but decreased Proteobacteria and Bifidobacteroides at 6 months as compared to 1 month. There was a strong co-relation between the maternal use of antibiotic during pregnancy and post partem and the development of allergic disease. Further analysis at other time points are in process.

研究分野：小児科

キーワード：小児免疫 アレルギー疾患 腸内細菌叢 ビタミンD バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトの消化管には1000種類以上で100兆個を越える細菌が生息しており、この細菌群は、宿主に対して栄養代謝の補助、消化管粘膜免疫の誘導および維持、免疫寛容の誘導、更には感染制御といった様々な役割を果たして宿主に共生している(Cox MJ, Hum Mol Genet. 2013) 近年、慢性炎症性疾患(アレルギー疾患、炎症性腸疾患、肥満など)の急激な増加が先進国を中心に起きており、世界的な医療問題になっているが、その原因として細菌叢の攪乱が発症に関与している可能性が指摘されている(Suzaki H, Pawankar R. Curr Opin Allergy, 2013; Aho V, Pawankar R (WAO J) 2015; Abrahamson TR, J Allergy Clin Immun, 2012; West CE, Cox LM Cell. 2014; Pawankar R. J Allergy Clin Imm. 2015, 無菌マウスでの消化管粘膜にはパイエル板や粘膜内リンパ組織の形成不全が認められ、このマウスにコンベンショナルな環境で飼育したマウスの便を移植するとパイエル板の形成や粘膜リンパ組織が形成される(Cox LM, Cell, 2014) そこで、出生後の免疫の発達には腸内細菌群は重要なはたらきをしている。この免疫の発達時期の腸内細菌叢の構成変化は免疫機能に大きな影響を与える可能性があり、この免疫機能への影響は生涯持続する可能性が指摘されている。このようなことから近年急増しているアレルギー疾患の病態形成に腸内細菌叢が関与していると考えられる(Microflora hypothesis, Perinatal programming allergic diseases. Kraneveld. Biophys Acta. 2014) 胎児は無菌と考えられており、分娩の際に産道で初めて腔内細菌叢に暴露され出生後は環境中の細菌に暴露され出生後に消化管内の細菌叢はダイナミックに変化しながら形成される。母乳中にも細菌の存在は確認されており、母乳を介しても細菌の暴露を受ける

2. 研究の目的

新生児～乳幼児早期に腸内細菌叢に影響を及ぼす因子として分娩様式、抗菌薬の使用、栄養方法などがあげられる(図1)。このような因子を記録するとともに出生後の経時的な腸内細菌叢解析と生体の免疫評価を行うことで、腸内細菌叢の構成変化から疾患の発症を予測するとともにアレルギー疾患の予防へも応用可能と考えられる。そこ本研究では日本医科大学付属病院で出生した Birth cohort の乳児期の腸内細菌叢の構成、バイオマーカーとアレルギー疾患の発症の関連性を検討する。

図 1

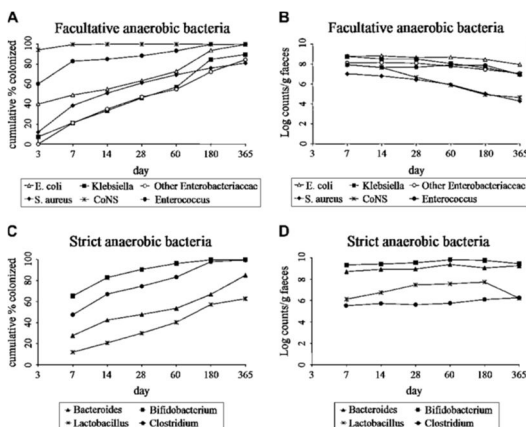
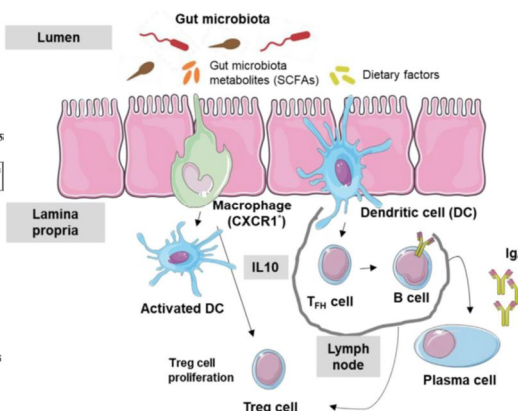


図 2



(Kawasaki A. Skin inflammation exacerbates food allergy. Allergy. 2018). Pascal M. Gut microbiome & Allergic disease Frontiers in Immunol. 2018 腸内細菌叢と免疫の相互作用(図2)

3 . 研究の方法

アレルギー疾患（特にアトピー性皮膚炎、食物アレルギー）に関与する腸内細菌叢の特徴とリスクファクターを明らかにし、腸内細菌叢解析からアレルギー発症を明らかにすることを目的とし、以下を検討する。

- 1) 出生後から経時的に便を採取して腸内細菌叢の変化を記録する。
 - 2) これと同時に血液を用いてアレルギー疾患に関与するバイオマーカーの測定を経時的に行う。
 - 3) アレルギー疾患を発症に関してSCORAD, IgE-RIST, IgE-RASTで評価し経時的に記録する。
 - 4) アレルギー疾患の発症の有無および腸内細菌叢とバイオマーカーの双方の結果をもとに、その関連性を検討しアレルギー疾患発症に関与する腸内細菌の特徴を明らかにする。
 - 5) プロバイオティクス/プレバイオティクス、ビタミンDの介入効果を検討する
- アレルギー疾患（特にアトピー性皮膚炎、食物アレルギー）に関与する腸内細菌叢の特徴とリスクファクターを検討し、腸内細菌叢構成からアレルギー疾患発症を明らかにする。

4 . 研究成果

日本医科大学付属病院で出生したBirth cohortの乳児期における腸内細菌叢の構成とアレルギー疾患の発症の関連性を検討してきた。1か月、3か月、6か月、12か月、2歳、3歳で検診している。食物アレルギーと診断され登録者数102人中31人でした。アレルギー疾患と診断されたのは40人でした。アトピー性皮膚炎と診断されたのは26人であった、このうち食物アレルギーが関与したものは20人であった。24症例中（アレルギー（-）14例 アレルギー（+）10例）で1か月と6か月の便を用いて腸内細菌叢解析を行った。6ヶ月の腸内菌叢構成変化（dysbiosis）がみられた。6か月の菌叢で1か月に比べてFirmicutus が多く Proteobacteria, Bifidobacteroides の減少がみられた。6か月時のUniFrc 距離（weighted）に基づきPCoA分析で、アレルギー疾患の有無（ $p=0.03$ ）、周産期抗菌薬投与の有無（ $p=0.03$ ）分娩直前抗菌薬投与の有無（ $p=0.04$ ）で有意差を認めた。また分娩直前の抗菌薬投与とアレルギー疾患の発症に関連性を認めた。現在、上記解析を行った24例に関して1,2,3歳を追加して解析中で、また1か月と6か月に関しては20症例（アレルギー（-）10例 アレルギー（+）10例）を追加して解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tajima H, Pawankar R.	4. 巻 19 (1)
2. 論文標題 Obesity and adiposity indicators in asthma and allergic rhinitis in children	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Curr OpinAllergy Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 7-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ACI.0000000000000504.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Cuello-Garcia C, Fiocchi A, Pawankar R	4. 巻 11
2. 論文標題 A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Exp Allergy	6. 最初と最後の頁 1468-1477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cea.13042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Fiocchi A, Schunemann H, Ansotegui I, Pawankar R, et al	4. 巻 4:11
2. 論文標題 The global impact of the DRACMA guidelines cow's milk allergy clinical practice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Allergy Organ J	6. 最初と最後の頁 2-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40413-017-0179-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Cuello-Garcia C, Fiocchi A, Pawankar R et al	4. 巻 47:11
2. 論文標題 Prebiotics for the prevention of allergies: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinical Experimental Allergy	6. 最初と最後の頁 1468-1477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cea.13042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yepes-Nu JJ, Brozek JL, Fiocchi A, Pawankar R, et al	4. 巻 73(1):
2. 論文標題 Vitamin D supplementation in primary allergy prevention: Systematic review of randomized and non-randomized studies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 37-49.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.13241	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ricci G, Cipriani F, Cuello-Garcia CA, Brozek JL, Fiocchi A, Pawankar R,	4. 巻 10
2. 論文標題 A clinical reading on "World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics"	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 World Allergy Organ J.	6. 最初と最後の頁 9-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40413-016-0101-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamanishi Shingo, Pawankar Ruby	4. 巻 20
2. 論文標題 Current advances on the microbiome and role of probiotics in upper airways disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 30 ~ 35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ACI.0000000000000604	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tajima Hanako, Pawankar Ruby	4. 巻 19
2. 論文標題 Obesity and adiposity indicators in asthma and allergic rhinitis in children	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 7 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ACI.0000000000000504	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Pawankar R.
2. 発表標題 Microbiome, air pollution and allergies
3. 学会等名 European Academy of Allergy and Clinical Immunology May 2018, Munich (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Pawankar R.
2. 発表標題 The Microbiome, Biodiversity and Allergies
3. 学会等名 Korean Academy of Allergy Asthma and Immunology 2018, China April 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Pawankar R
2. 発表標題 Biologics and Biomarkers in Asthma
3. 学会等名 Malaysian Allergy Immunology Congress 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Pawankar R
2. 発表標題 The Microbiome and Changing Patterns of Food Allergies in Asia
3. 学会等名 Gordon Research Conference on Food Allergy, Stanford, USA (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Pawankar R
2. 発表標題 Recent Advances in Microbiome and Allergic Airway diseases
3. 学会等名 Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respirology and Immunology 2017 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Pawankar R
2. 発表標題 Changing patterns of Food Allergies and the microbiome in Asia Pacific
3. 学会等名 Gordon Resesrach Meeting on Food Allergy, Stanford (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Pawankar R
2. 発表標題 Microbiome and Allergic Airway diseases
3. 学会等名 International Congress of Italian Society of Allergy Asthma and Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Pawankar R, Yamanishi S.
2. 発表標題 Early life Microbiome and allergic disease.
3. 学会等名 APAPARI 2019.10. Bali, Indonesia (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 山西信吾、パワンカール ルビー	4. 発行年 2017年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス (NTS)	5. 総ページ数 149-157
3. 書名 ヒトマイクロバイオーム研究最前線	

〔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
研究 分担者	森田 英利 (Morita Hidetoshi) (70257294)	岡山大学・農学部・教授 (15301)	
研究 分担者	服部 正平 (Hattori Shohei) (70175537)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	