

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17457

研究課題名（和文）臍帯血中特異的IgG4抗体価の評価によるアレルギー疾患予防の検討

研究課題名（英文）Prevention of allergic disease based on allergen-specific IgG4 levels in cord blood

研究代表者

苛原 誠（IRAHARA, Makoto）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・徳島大学専門研究員

研究者番号：50767910

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：出生コホート研究の参加者を対象に、臍帯血中のアレルギー特異的IgG4抗体価と妊娠中母体の便中マイクロバイオームとの関連を検討した。臍帯血中の卵白特異的IgG4抗体価と児の生後6カ月時のオボムコイド特異的IgE抗体価とに負の相関を認めた。臍帯血中の卵白特異的IgG4抗体価は母体の妊娠中期の便中Butyrate-producing bacterium M212, Coprococcus catusと正の、Olsenella species 1832と負の相関を認めた。妊娠中母体の便中マイクロバイオームが臍帯血中のアレルギー特異的IgG4価と関連し、児の食物アレルギーに影響する可能性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究代表者は、臍帯血中のアレルギー特異的IgG4抗体価と出生した児のアレルギー特異的IgE抗体価とに負の関連があることを報告した。このことは、臍帯血中のアレルギー特異的IgG4抗体価に関連する因子の特定が、出生した児のアレルギー特異的IgE抗体価の上昇の予防を通じて、アレルギー疾患の予防にもつながる研究になることを示している。そこで、近年の研究でアレルギー疾患との関連が示唆される便中マイクロバイオームに着目し、検討を行った。妊娠中の便中マイクロバイオームと臍帯血中のアレルギー特異的抗体価との関連における報告はなく、アレルギー疾患の予防法確立の基礎として学術的意義、社会的意義のある研究である。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the association between fecal microbiomes of pregnant women and allergen-specific IgG4 levels in cord blood. A negative correlation was shown between egg white-specific IgG4 levels in cord blood and ovomucoids-specific IgE levels at 6 months of age in their children. Egg-white specific IgG4 levels in cord blood was positively correlated with Butyrate-producing bacterium M21.2, Coprococcus catus, and negatively correlated with Olsenella species 1832 in stools of pregnant mothers. This study suggests that the fecal microbiome of pregnant mothers is associated with allergen-specific IgG4 levels in cord blood and may be associated with developing of food allergy in their children.

研究分野：小児アレルギー学

キーワード：アレルギー特異的IgG4 アレルギー特異的IgE マイクロバイオーム 臍帯血

## 1. 研究開始当初の背景

アレルギー特異的 IgE 抗体は肥満細胞上でアレルギーと架橋し、ヒスタミンなどのメディエーターを放出することで食物アレルギーやアレルギー性鼻炎などのアレルギー疾患の原因となる。研究代表者は、以前に臍帯血中のアレルギー特異的 IgG4 抗体の上昇がその後のアレルギー特異的 IgE 抗体価と負の関係があることを報告した。他のマウスモデルでの報告でも、臍帯血中のアレルギー特異的 IgG4 抗体が Fc R B に作用することで、後の感作を抑制する可能性が示された。このことは、臍帯血中のアレルギー特異的 IgG4 抗体価を上昇させる因子を特定できれば、児の出生後のアレルギー特異的 IgE 抗体の上昇を抑制し、アレルギー疾患の発症を抑制する因子の解明につながる可能性を示唆している。

その因子の中で便中マイクロバイオーームが 1 つの重要な候補と考えられる。近年、便中マイクロバイオーームにおける一部の菌や構成は食物アレルギーや感作を抑制するという報告がされている。

しかし、妊娠中母体の便中マイクロバイオーームが臍帯血中のアレルギー特異的 IgG4 抗体価にどのように関連するかは十分に検討がなされていない。

## 2. 研究の目的

妊娠中母体の便中マイクロバイオーームと臍帯血のアレルギー特異的 IgG4 抗体価の関連性とを明らかにすること

## 3. 研究の方法

### (1) 研究対象者

国立成育医療研究センター周産期・母性診療センターで出産予定のアトピー性皮膚炎のハイリスク児(両親もしくは年長兄弟のいずれかがアトピー性皮膚炎)を対象とした出生コホート研究(HiRAD 研究)において、妊娠中期の母体がリクルートされた。その中で、2020 年から 2021 年に臍帯血の取得についても同意を得て採取された母子を対象として検討を行った。本研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則および、臨床研究に関する倫理指針に基づき、国立成育医療研究センター内の倫理委員会の承認のもとに行われた(承認番号:2204)

### (2) 医師記録・アンケート

前述の HiRAD 研究で取得されたデータを用いた。データは、母体が妊娠中期に答えたアンケートから年長児の存在について抽出し、分娩記録から医師が転記することで性別や分娩様式、出生体重の項目について抽出することで取得した。

### (3) 便中マイクロバイオーーム

前述の HiRAD 研究において、母体から妊娠中期に採取された便検体を用い、16S rRNA 遺伝性配列シーケンス解析により得られた各菌の菌種レベルのデータを用いた。

### (4) 臍帯血中のアレルギー特異的抗体価

出生直後に臍帯血は産婦人科医により取得された。取得後、測定まで冷凍保存され、卵白、オボムコイド(OVM)、牛乳の 3 種のアレルギーに対するアレルギー特異的 IgG4 抗体価を Densely Carboxylated Protein Chip (DCP chip)(AMERIC, Tokushima, Japan)を用いて測定した。また、最も関連がある抗体価について確認するためにアレルギー特異的 IgE、IgG1、IgA 抗体価についても同様の方法で測定した。

### (5) 生後 6 カ月における児の血清中アレルギー特異的 IgE 抗体価

前述の HiRAD 研究において、児が生後 6 カ月の際に ImmunoCAP 法を用いて行われたアレルギー特異的 IgE 抗体価の中から臍帯血で測定した IgG4 抗体価と対応するアレルギー特異的 IgE 抗体価のデータを用いた。

### (6) 統計解析

臍帯血中のアレルギー特異的抗体価と生後 6 カ月におけるアレルギー特異的 IgE 抗体価における関連はいずれも spearman の順位相関係数を the Statistical Package for Social Sciences version 24.0 (SPSS, IBM Corporation, Armonk, NY, USA) を用いて算出した。このうち P 値は 0.05 未満を有意とした。

## 4. 研究成果

### (1) 対象者と背景

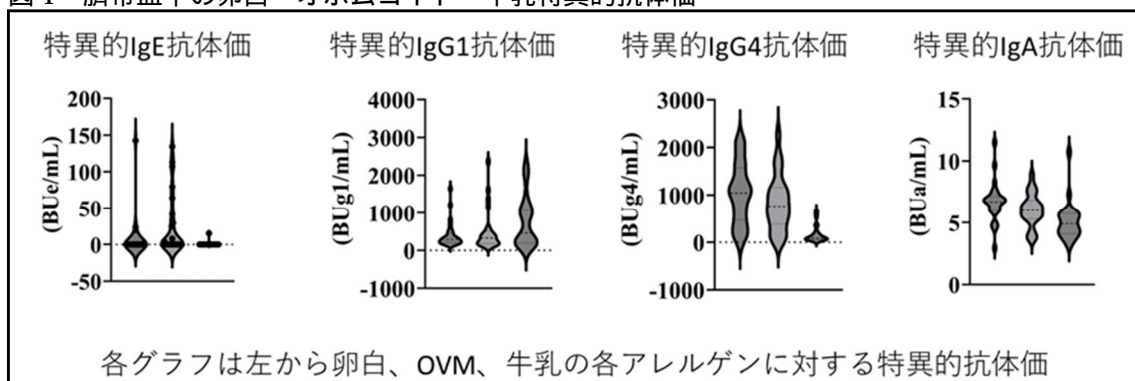
2020 年以降の COVID-19 感染症の流行に伴い、健康な妊婦および児を対象とした本出生コホートの参加者について倫理的観点から来院しての検査が困難となったり出生コホート研究自体のリクルートが困難となったりしたために、臍帯血および生後 6 カ月の児の検体がある児が 27 名

であった。それぞれ、背景因子としては性別では女児が 18 名 (66.7%)、分娩様式では経膈分娩が 18 名 (66.7%)、年長児のいる児が 9 名 (33.3%)、2500g 未満で出生した低出生体重児が 0 名 (0.0%) であった。

(2) 臍帯血中のアレルゲン特異的抗体価

臍帯血中の特異的抗体価は図 1 のようであった。特異的 IgE 抗体価においては卵白で 5 検体 (18.5%)、OVM で 13 検体 (48.1%)、牛乳で 2 検体 (7.4%) 以外はすべて測定限界未満の値を示した。また、他の抗体価においては特異的 IgG4 抗体価で OVM および牛乳で各 1 検体のみ測定感度未満の値を示した検体が存在した。これは、卵白、OVM、牛乳に対する特異的 IgG1、IgG4、IgA 抗体価はアトピー性皮膚炎のハイリスク児ではほとんどの臍帯血中に存在している可能性を示した。

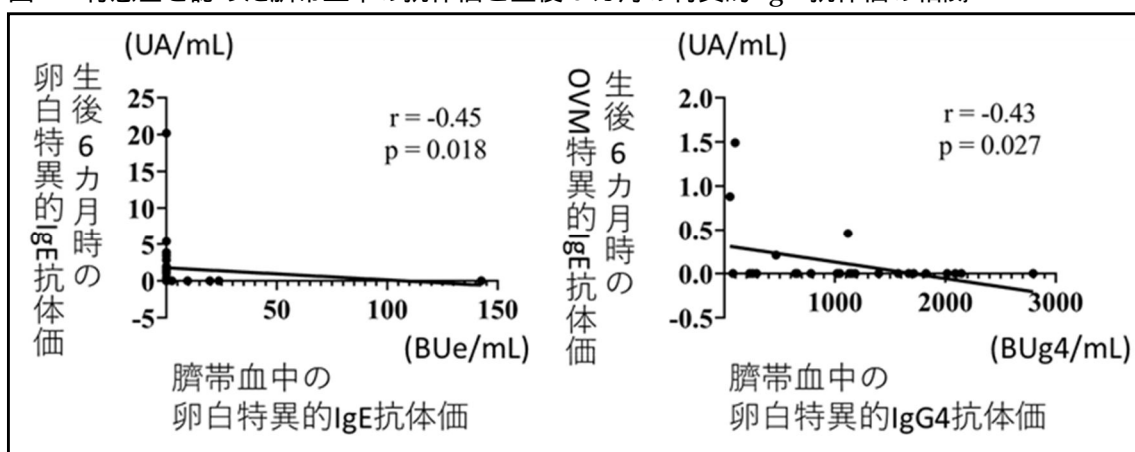
図 1 臍帯血中の卵白・オボムコイド・牛乳特異的抗体価



(3) 生後 6 カ月時のアレルゲン特異的 IgE 抗体価

臍帯血および生後 6 カ月の児の検体がある児 27 名において、卵白特異的 IgE 抗体価は、中央値 0.26 [第 1 四分位範囲 0.0 - 第四分位範囲 31.83] UA/mL、OVM 特異的 IgE 抗体価は、中央値 0.00 [0.00 - 0.16] UA/mL、牛乳特異的 IgE 抗体価は中央値 0.00 [0.00 - 0.00] UA/mL であった。次に臍帯血中の各抗体価と生後 6 カ月時の各特異的 IgE 抗体価について spearman の順位相関係数を用い、P 値が 0.05 未満となる抗体価を検討したところ、臍帯血中の卵白特異的 IgE 抗体価と生後 6 カ月時の卵白特異的 IgE 抗体価および臍帯血中の卵白特異的 IgG4 抗体価と生後 6 カ月時の卵白特異的 IgG4 抗体価において弱い有意な負の相関を認めた (図 2)。今回の検討においても鶏卵に関連するアレルゲン特異的 IgG4 抗体価と生後 6 カ月の特異的 IgE 抗体価の間に負の関連があることが示唆された。

図 2 有意差を認めた臍帯血中の抗体価と生後 6 カ月の特異的 IgE 抗体価の相関

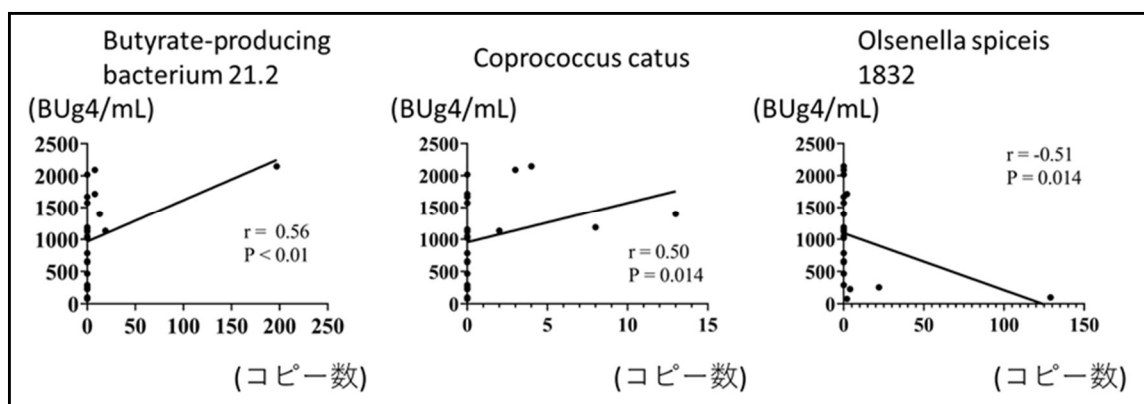


(4) 臍帯血中の卵白特異的 IgG4 抗体価

以前の検討および今回の検討から臍帯血中の卵白特異的 IgG4 抗体価の上昇が、その後の特異的 IgE 抗体価の抑制と関連する可能性があると考え、臍帯血中の卵白特異的 IgG4 抗体価と母体の妊娠中期における便マイクロバイオーームとの関連について spearman の順位相関係数を用いて検討を行った。測定された菌種の中で HiRAD 研究参加者の妊娠中期に得られた糞便中の 1 割以上の検体で存在していた菌 219 菌種について検討を行った。残念ながら症例数に比して菌種に関して多くなったため、相関係数の絶対値が 0.5 を超える菌種について探索した。そうしたところ、butyrate-producing bacterium M21.2、Olsenella species 1832 の 2 菌種において負の関連性が、Coprococcus catus において正の関連性をもつ可能性が示された (図 3)。一方で、今回

の研究ではこれらの菌種と生後 6 カ月の OVM 特異的 IgE 抗体価との関連について相関関係は認められなかった。

図 3 相関係数 0.5 以上の菌種のコピー数と臍帯血中の卵白特異的 IgG4 抗体価の相関



(5) 研究成果に対する考察

今回の検討でも臍帯血中の卵白特異的関連特異的 IgG4 抗体価と生後 6 カ月の児の OVM 特異的 IgE 抗体価において負の関係が認められた。また、卵白特異的 IgG4 抗体価は妊娠中期の便中マイクロバイオーームとの関連が示唆されたが、今回の研究ではその後のアレルギーの抑制につながるか十分な結論を得ることはできなかった。

Coprococcus catus は Coprococcus に属しており、最終代謝産物として酪酸を産生することが報告されている。Butyrate-producing bacterium もまた酪酸を産生する菌として知られている。一方で、Olsenella 属は乳酸や酪酸の産生菌とされる。酪酸は特異的 IgG4 抗体価の産生を増強する IL-10 の産生調整に関わっており、出生後の児において食物アレルギーに対する抑制効果が報告されている。このことから妊娠中に酪酸を産生する菌の増加が特異的 IgG4 抗体価を増加させ、その後の出生時の食物アレルギーを抑制した可能性が考えられた。今回の研究は、妊娠中からできる児の食物アレルギーの予防法として腸管マイクロバイオーームへのアプローチの意義について示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Irahara Makoto, Yamamoto-Hanada Kiwako, Saito-Abe Mayako, Sato Miori, Miyaji Yumiko, Yang Limin, Mitsubuchi Hiroshi, Oda Masako, Sanefuji Masafumi, Ohga Shouichi, Ikegami Akihiko, Mise Nathan, Suga Reiko, Shimono Masayuki, Yamazaki Shin, Nakayama Shoji F., Ohya Yukihiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Fluctuations of aeroallergen-specific immunoglobulins and children's allergic profiles: Japan Environment and Children's Study of a pilot cohort	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2022.01.002	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 苛原誠, 木戸博
2. 発表標題 特異的IgE抗体のAvidityによる即時型食物アレルギー症状誘発リスク評価の可能性
3. 学会等名 日本小児アレルギー学会（招待講演）
4. 発表年 2022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