

研究課題名	新生児早期の食事介入による即時型食物アレルギーの発症予防効果の検証		
フリガナ	エビサワ モトヒロ		
代表者名	海老澤 元宏		
所属機関 (機関名) (役職名)	国立病院機構相模原病院臨床研究センター 副臨床研究センター長 兼 アレルギー性疾患研究部長		
共同研究者	氏名 (フリガナ)	所属機関・役職名	役割分担
	佐藤 さくら (サトウ サクラ)	国立病院機構相模原病院臨床研究センター病態総合研究部病因・病態研究室室長	統括、症例管理
	永倉 顕一 (ナガクラ ケンイチ)	国立病院機構相模原病院小児科医員	統括、症例管理
	浦島 充佳 (ウラシマ ミツヨシ)	東京慈恵会医科大学分子疫学研究室 教授	研究デザイン管理
	木戸 博 (キド ヒロシ)	徳島大学疾患酵素学研究センター 生体防御・感染症病態代謝研究部門 特任教授	食物抗原測定
	藤田 英寿 (フジタ ヒデトシ)	愛和病院 部長	症例登録
	谷口 裕章 (タニグチ ヒロアキ)	六甲アイランド甲南病院 医員	症例登録
本助成金による発表論文, 学会発表	特になし		

研究結果要約

【背景】食物アレルギーの有病率は増加傾向で社会的な問題となっており、発症予防が大きな課題である。鶏卵アレルギーは本邦の食物アレルギーの約4割を占めている。これまで児の鶏卵摂取による二次予防、三次予防を目的とした研究がなされ、その有用性が示唆されているが、一次予防を目的として感作成立前に介入する研究の有用性は報告されていない。

【目的】鶏卵への感作が成立する前の新生児早期に母親が鶏卵を摂取することによる即時型鶏卵アレルギーの発症予防効果の有無を検証する。

【結果】2018年3月までに、研究参加への同意を取得した症例が計70例、児が出生して本登録へ至った症例が計60例、生後4ヶ月以上経過した症例が計25例であった。初乳中の鶏卵タンパク質量測定に関しては、鶏卵摂取群では2例/31例(6%)にオボアルブミンが検出され、9例/31例(39%)にオボムコイドを検出した。一方、鶏卵除去群でもオボアルブミンが4例/29例(14%)、オボムコイドが1例/29例(3%)に検出された。kineticsに関しては、個々の症例によりピークは異なり、一定の傾向を認めなかった。生後4ヶ月時の児の感作状況に関しては、鶏卵摂取群と除去群の比較では、卵白感作が3例/13例(23%) vs 4例/10例(40%)、オボムコイド感作が3例/13例(23%) vs 4例/10例(40%)に認めており、鶏卵摂取群の方が少ない傾向にあった。

【結論】全体で3年間の研究計画のうち1年までの結果を報告した。母の鶏卵摂取により初乳中に鶏卵タンパクを含む割合は高くなるが、摂取後のピークは症例により異なった。現時点では新生児早期に母が鶏卵を摂取した群の方が、生後4ヶ月時の児の卵白感作が少ない傾向であった。

研究目的

＜課題＞(1) 食物アレルギーの疾病負担

近年、食物アレルギーの有病率は増加傾向である。(1) 本邦では乳幼児の10%前後に発症し、過去9年で約1.7倍に増加した。(2) 医療・栄養・社会・園や学校など多分野で問題となっている。特に鶏卵アレルギーは本邦の食物アレルギーの原因食物で最も多く、今後の対応が急務である。

(2) 即時型鶏卵アレルギーに対する一次予防の必要性

二次予防については、乳児期早期から鶏卵を摂取した児は、鶏卵を除去した児と比較し1歳以降の鶏卵アレルギー発症率が有意に低いことが複数の研究で報告され(3,4)、乳児期早期からの鶏卵摂取による発症予防の可能性が示唆された。三次予防については、我々は乳幼児の即時型鶏卵アレルギー児が微量卵白を摂取することによる耐性獲得の促進を明らかにした。(5) しかしながら、一次予防を目的とした新生児早期の母の鶏卵摂取による有用性は報告されていない。

(3) 食物アレルギーにおける感作の成立時期

生後3ヶ月時点で卵白特異的IgE抗体が陽性となる児が多いことは知られているが(6)、上記の介入研究ではこのような児は対象から除外されている。感作の成立時期は明らかではないが、新生児早期の食物タンパクへの暴露がその後の感作と関連している可能性がある。感作が成立する前に何らかの介入をすることが一次予防に繋がる可能性が考えられるが、これまで新生児早期の介入に関する検討は報告されていない。

＜研究目的＞新生児早期の母の鶏卵摂取による即時型鶏卵アレルギーの発症予防効果の検証

鶏卵への感作が成立する前の新生児早期に母が鶏卵を摂取することで、即時型鶏卵アレルギーの発症を予防することを明らかにできれば、食物アレルギー診療および授乳中の栄養指導に極めて有益な情報となる可能性がある。

研究計画及び研究手法

【研究デザイン】 多施設でのランダム化比較介入試験。参加施設数は6施設程度を想定していたが、研究整備に時間が掛かり、今年度の参加施設数は3施設となった。

【対象】 ＜選択基準＞①食物アレルギーの発症リスクが高い児：両親のいずれかにアレルギー疾患（アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、アレルギー結膜炎、気管支喘息、食物アレルギーのうち1つ以上）を有する児

②各参加施設の産科外来通院中に研究参加への同意を得た母親および児

＜除外基準＞①早産児

②出生体重2300g未満の児

③重症新生児仮死の児（5分値のApgar score 3点以下）

④NICU入院が必要な児

⑤日齢2以降に母乳摂取が一切不可能な児

⑥主治医が試験の実行は不可能と判断した児

⑦母が鶏卵アレルギーである児

上記選択基準の①と②を満たし、除外基準の①-⑦のいずれにも該当しない症例を対象とした。

【介入・調査方法】

＜割り付け＞生後 0-5 日の間、母親が鶏卵を 1 日 1 個摂取する早期摂取群と鶏卵を除去する除去群にランダムに割り付けた。割付調整因子の層は施設毎として、置換ブロック法を用いてランダム化した。封筒法を用いてブラインド下に無作為に割付を行った。

＜入院中＞生後 0 日目に除外基準のいずれにも該当していないことを確認した。その場合を本登録とした。生後 4 日目に鶏卵摂取 1 時間後、3 時間後、6 時間後に母乳を 1ml 採取した。母乳検体を徳島大学に送付し、鶏卵タンパク量を測定した。

＜退院後＞母の自宅での鶏卵摂取に関しては特定の指導をせず自由に摂取可とした。

＜生後 1 ヶ月＞1 ヶ月時に皮膚のスキンケア指導を十分に行った。母親の鶏卵摂取状況についてアンケート調査を行った。母乳を 1ml 採取した。母乳検体を徳島大学に送付し、鶏卵タンパク量を測定した。

＜生後 4 ヶ月＞受診時に皮膚のスキンケア指導、母親の鶏卵摂取のアンケート調査に加えて血液検査を行い、鶏卵感作の有無などを評価した。

＜生後 5 ヶ月＞生後 5 ヶ月時から離乳食の摂取を指導した。血液検査で鶏卵への感作（卵白特異的 IgE 0.10UA/ml 以上）を認めなければ、自宅で児に鶏卵を食べ進めるよう指導した。感作を認めた際には、以下の内容で少量から段階別の食物経口負荷試験を行った。

生後 6-7 ヶ月時：全卵 1/32 個

生後 7-8 ヶ月時：全卵 1/8 個

生後 8-9 ヶ月時：全卵 1/2 個

生後 9-12 ヶ月時：全卵の炒り卵

自宅での児の鶏卵摂取で明らかな即時症状を呈して、その後のアレルギー専門医師の診察で即時型鶏卵アレルギーと診断した場合、および何れかの食物経口負荷試験で陽性と判断した場合を即時型鶏卵アレルギーと診断し、主要評価項目の発生と評価する。

＜生後 7 カ月、10 ヶ月＞自宅での鶏卵摂取に関するアンケートを郵送する。

＜生後 12 ヶ月時＞即時型鶏卵アレルギーの有無を評価する。

【母乳の解析方法】母乳検体を徳島大学に送付し、鶏卵タンパク量を測定した。徳島大学で作成した抗オボアルブミンおよび抗オボムコイドウサギポリクローナル IgG 抗体と母乳原液を反応させた後に蛍光標識した同一抗体で検出した。オボアルブミンに関しては、凍結乾燥により 5 倍濃縮で解析した。

①母乳中のオボアルブミン抗原量の測定について

Blank および検量線作成は検体と同様の処理を行った森永 E ミルク（0～1 歳用）を使用し測定した。測定可能範囲は 0.20 ng/mL-25 ng/mL であった。

②濃縮母乳中の OVA 抗原量の測定について

①での測定検出率が低かったため、凍結乾燥による濃縮で検出が可能かを検討した。Blank および検量線作成は検体と同様の処理を行った凍結乾燥した森永 E ミルク（0～1 歳用）を 5 倍濃縮になるように調整したものを使用し、測定を行った。測定可能範囲は 0.20 ng/mL-25 ng/mL であった。

③母乳中の OVM 抗原量の測定について

Blank および検量線作成は検体と同様の処理を行った森永 E ミルク (0 ~ 1 歳用) を使用し測定を行った。測定可能範囲は 0.78 ng/mL-25 ng/mL であった。

【目標症例数】 当初は 400 例 (鶏卵摂取群 200 例、鶏卵除去群 200 例) を想定していたが、以下のように再度計算を実施した。

本研究では食物アレルギーの発症リスクの高い児のみを対象としており、鶏卵除去群での鶏卵アレルギーの発症率を 15% と仮定した。早期介入による予防効果を 6 割とし、鶏卵摂取群の有病率を 5% と仮定した。p=0.05、検出力 0.8 とした場合、1 群当り 140 例となった。脱落率を 2 割と仮定して、計 350 例となった。施設間の差を考慮して、必要症例数を計 380 例と設計した。

【評価項目】

<主要評価項目> 1 歳台の即時型鶏卵アレルギーの有無

<副次評価項目> 鶏卵への感作の有無、他の食物アレルギーの発症、湿疹の有無、母乳中の鶏卵タンパク量

【統計解析】 即時型鶏卵アレルギーの有無、牛乳もしくは小麦アレルギーの有無、湿疹の有無はカイ 2 乗検定を用いて解析する。血液検査データ、母乳中の鶏卵タンパク量は Mann-Whitney の U 検定を用いて解析する。

【研究の進捗状況】 当初より 3 年間の研究計画を立案しており、今回の報告書では開始 1 年時点での報告となった。今年度の目標登録症例数 80 例のうち、70 例を登録した。実際に研究分担施設では 2017 年 10 月からエントリーを開始しており、各施設とも研究開始後の症例登

録は順調であった。今後、研究を継続する予定であり、当初の予定通りに 3 年間の研究期間で目標数に到達可能と考えている。

結果と考察

【現時点の進捗状況】

2018 年 3 月 31 日時点での研究の進捗状況を図 1 に示す。2017 年 4 月より各施設での倫理申請と研究体制の整備、UMIN 登録を実施し、2017 年 7 月より当院で研究を開始し、10 月より六甲アイランド甲南病院と愛和病院でも研究を開始した。

2018 年 3 月時点で計 70 例より研究参加の同意を得た。内 60 例で児が既に出産し、除外基準のいずれにも該当しないことを確認 (本登録) した。内 25 例が生後 4 ヶ月まで経過している。



図 1. 2018 年 3 月 31 日時点の進捗状況

今回の報告書では、“本登録へ至った 60 例に関する検討”を 検討①：母乳中抗原量の検討、“生後 4 ヶ月へ到達した 25 例”に関する検討を 検討②：感作に関する検討として報告する。

【結果】

<検討①：母乳中抗原量の検討>

患者背景を表 1 に示す。鶏卵摂取群 31 名、

鶏卵除去群 29 名となった。母のアレルギー疾患の有無が、鶏卵摂取群での 23 例 /31 例 (74%) に対して、鶏卵除去群では 28 例 /29 例 (97%) と有意に多かった。その他の項目では両群で有意差は認めなかった。母の食事への介入は全例問題なく実施できた。

表 1. 検討①の患者背景

	鶏卵摂取群	鶏卵除去群	p =
人数	31名	29名	
男:女	18名:13名	20名:9名	0.38
帝王切開	6名 (19%)	5名 (17%)	0.83
同胞	同胞なし:18名 1人:11名 2人:2名 3人:0名 4人以上:0名	同胞なし:13名 1名:10名 2名:4名 3名:0名 4名以上:1名	0.30
父にアレルギー歴	24名 (77%)	18名 (62%)	0.19
母にアレルギー歴	23名 (74%)	28名 (97%)	0.01
介入に問題なし	14名 (100%)	11名 (100%)	-

生後 1 ヶ月時の定期診察の結果を表 2 に示す。生後 1 ヶ月時では、乳児湿疹を認めたのは鶏卵摂取群では 14 例 /31 例 (45%)、鶏卵

表 2. 検討①の 1 ヶ月時の結果

	鶏卵摂取群	鶏卵除去群	p =	
人数	31名	29名		
乳児湿疹あり	14名 (45%)	9名 (31%)	0.26	
母乳栄養	完全母乳	8名 (26%)	11名 (38%)	0.31
	混合	23名 (74%)	17名 (55%)	0.20
	人工栄養のみ	0名 (0%)	0名 (0%)	-
人工栄養の種類	ベブテドミルク	11名 (35%)	7名 (24%)	0.33
	普通ミルク	12名 (39%)	8名 (28%)	0.36
	なし	8名 (26%)	10名 (34%)	0.46
母の鶏卵摂取	1日1個	26名 (84%)	22名 (76%)	0.44
	1日半分	4名 (13%)	5名 (17%)	0.63
	1日1/4個未満	1名 (3%)	1名 (3%)	0.96
母乳中	OVA検出	6名 (19%)	6名 (21%)	0.32
	OVM検出	3名 (10%)	0名 (0%)	0.08

除去群では 9 例 /29 例 (31%) であった。乳児湿疹、母乳栄養の割合、人工栄養の割合、母の鶏卵摂取量に関しては、いずれも両群で有意差は認めなかった。

日齢 4 に採取した初乳中の鶏卵タンパク量の測定結果を図 2、図 3 に示す。初乳中のオボアルブミンは、鶏卵摂取群では 2 例 /31 例 (6%)、鶏卵除去群では 4 例 /29 例 (14%) で検出された (0.20ng/ml 以上) (図 2)。

初乳中のオボムコイドは、鶏卵摂取群では 9 例 /31 例 (39%)、鶏卵除去群では 1 例 /29 例 (3%) で検出された (0.78ng/ml 以上) (図 3)。両タンパク質ともに鶏卵を摂取してから 1 時間後、3 時間後、6 時間後といずれのタイミングでも検出され、ピークのタイミングは症例毎に異なっていた。

<検討②：感作に関する検討>

生後 4 ヶ月まで経過した 25 例の患者背景を表 3 に示す。父のアレルギー疾患の有無が鶏卵摂取群で有意に多く、母のアレルギー疾患の有無が鶏卵除去群で有意に多かったが、その他の項目や母の鶏卵の摂取頻度で有意差は認めなかった。血液検査では卵白感作を鶏卵摂取群 3 例 /13 例 (23%)、鶏卵除去群 4 例 /10 例 (40%) に認めた。オボムコイドの感作は鶏卵摂取群 0 例 /13 例 (0%)、鶏卵除去群 1 例 /10 例 (10%) に認めた。卵白・オボムコイドの感作の有無に関して両群で有意差は認めなかったが、鶏卵摂取群の方が少ない傾向であった。

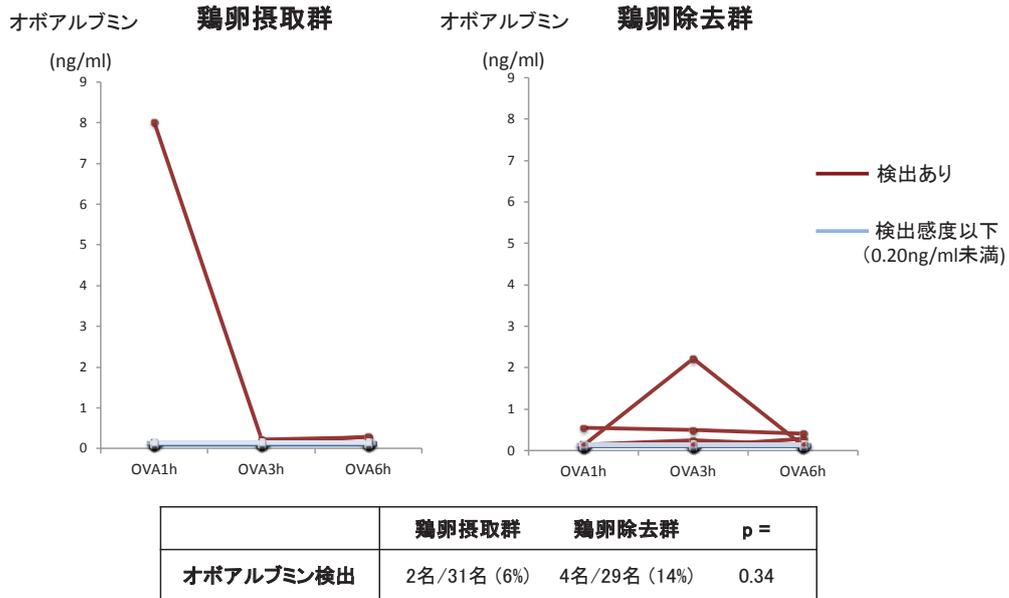


図2. 初乳中のオボアルブミン

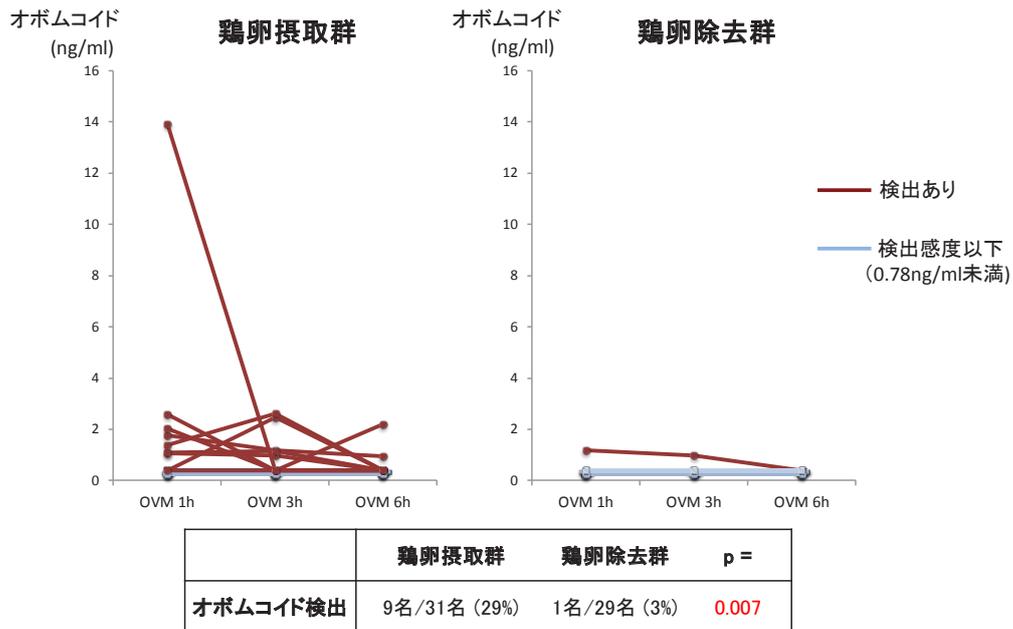


図3. 初乳中のオボムコイド

表 3. 検討②の患者背景

	鶏卵摂取群	鶏卵除去群	p =
人数	14名	11名	
男:女	7名:7名	7名:4名	0.49
帝王切開	4名 (29%)	1名 (9%)	0.22
同胞	同胞なし:9名 1人:4名 2人:0名	同胞なし:5名 1人:4名 2人:1名	0.34
父にアレルギー歴	12名 (86%)	4名 (36%)	0.01
母にアレルギー歴	9名 (64%)	11名 (100%)	0.02
介入に問題なし	14名 (100%)	11名 (100%)	—

【考察】初乳中のオボアルブミンおよびオボムコイドが検出できたのは半数以下であった。成乳中のオボアルブミン測定に関しては、オーストラリアのグループが全卵を摂取してから2時間後から8時間後までに測定して31例/41例(76%)でオボアルブミンが検出されたと報告している。また我々もpilot研究で4例の成乳を本研究と同じ方法で測定し、全例で1-6時間に0.57 ng/mL - 4.91 ng/mLで検出されていた。ここまでの結果からは、初乳中にも鶏卵タンパクは含まれるが、成乳と比し、微量である可能性が考えられる。

児の感作状況に関しては、4ヶ月時の血液検査所見では、卵白感作を鶏卵摂取群 3例/13例(23%)、鶏卵除去群 4例/10例(40%)、オボムコイド感作は鶏卵摂取群 0例/13例(0%)、鶏卵除去群 1例/10例(10%)に認め、鶏卵摂取群では感作が少ない傾向にあった(表4)。今後、症例数を増やして更なる検討を行う。

表 4. 検討②の4ヶ月時の血液検査

	鶏卵摂取群	鶏卵除去群	p =
人数	13名	10名	
湿疹あり	7名 (54%)	7名 (70%)	0.43
総IgE 5.0以上	4名 (30%)	6名 (60%)	0.16
卵白感作あり	3名 (23%)	4名 (40%)	0.38
OVM感作あり	0名 (0%)	1名 (10%)	0.24
牛乳感作あり	1名 (8%)	1名 (10%)	0.84
カゼイン感作あり	1名 (8%)	1名 (10%)	0.84
小麦感作あり	0名 (0%)	0名 (0%)	—
ω5'リジン感作あり	0名 (0%)	0名 (0%)	—
好酸球 4.0%以上	5名 (38%)	5名 (50%)	0.58

今後の研究活動について

ここまでの結果では、新生児早期に母が鶏卵を摂取した群では、生後4ヶ月時の児の卵白・オボムコイド感作が低い傾向を認めた。3年計画の2年目以降も本研究を継続し、本研究の主要評価項目である即時型鶏卵アレルギーの発症の有無に影響するかを、登録症例数を増やしつつ食物経口負荷試験などで評価していく。

これらの結果により、即時型鶏卵アレルギーの一次予防へ繋げることができれば、今後の食物アレルギー診療および授乳中の栄養指導に関して極めて重要な情報となる。

参考文献

- 1) Sicherer SH. et al. US prevalence of self-reported peanut, tree nut, and sesame allergy: 11-year follow-up. J Allergy Clin Immunol. 2010; 125:1322-6
- 2) 平成25年度 学校生活における健康管理に関する調査事業報告書 日本学校保健会
- 3) Perkin MR. et al N Engl J Med. Randomized Trial of Introduction of Allergenic Foods in

- Breast-Fed Infants. 2016; 372: 803-13.
- 4) Natsume O. et al. Two-step egg introduction for prevention of egg allergy in high-risk infants with eczema (PETIT): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2016; 389: 276-286
 - 5) Okada Y. et al. Heated egg yolk challenge predicts the natural course of hen's egg allergy: a retrospective study. *WAO J*. 2016; 9: 31
 - 6) 池松かおり、他. 乳児期発症食物アレルギーに関する検討(第1報) - 乳児アトピー性皮膚炎と食物アレルギーの関係 - *アレルギー* 2006; 55: 140-150
 - 7) Palmer DJ. et al. Effect of cooked and raw egg consumption on ovalbumin content of human milk: a randomized, double-blind, cross-over trial. *Clin Exp Allergy*. 2005 Feb;35(2):173-8.