

ニッポンハム食の未来財団 2022 年度個人研究助成 研究完了報告書

研究課題名	機能性大麦を用いた腸内細菌叢を標的とする 新たな食物アレルギー治療法の開発
フリガナ	アカガワ ショウヘイ
代表者名	赤川 翔平
所属機関 (機関名) (役職名)	関西医科大学医学部 小児科学講座 講師
本助成金による 発表論文, 学会発表	第 71 回日本アレルギー学会学術大会 (2022 年 10 月 7 日、東京) シンポジウム 6: Microbiome を考える 「食物アレルギーと microbiome」 演者: 赤川翔平、金子一成 第 126 回日本小児科学会学術集会 (2023 年 4 月 15 日、東京) 分野別シンポジウム 7: アレルギー疾患の予防 「食物アレルギー発症予防と microbiome」 演者: 赤川翔平、金子一成

研究結果要約

アレルギー疾患の患者において腸内細菌叢の乱れ (dysbiosis) が認められることが相次いで報告されている¹⁻⁸。申請者らは、小児の鶏卵アレルギー患者では酪酸産生菌の減少に特徴づけられる dysbiosis を来していることを明らかにした⁹。酪酸は腸管において、過剰な免疫応答を抑制する役割を担う制御性 T 細胞の分化・誘導を促進するため、dysbiosis の是正が食物アレルギーの新たな治療標的となり得る。一方で、申請者らは食物繊維を豊富に含んだ機能性大麦の継続摂取が酪酸産生菌を増加させることを報告した¹⁰。本研究では、申請者らが過去に取り組んだ小児腸内細菌叢の解析手法をもとに、「機能性大麦の継続的な摂取が、食物アレルギー患者の酪酸産生菌減少に特徴づけられる dysbiosis を是正し、食物アレルギーの新たな治療法になり得る」という仮説をプラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験を用いて検証することを目的とした。対象は 1 歳から 8 歳の鶏卵アレルギー患者 50 名とし、機能性大麦（またはプラセボとして米粉）を 3g 含んだクッキーを 16 週間摂取し、腸内細菌叢の変化および経口負荷試験での鶏卵摂取閾値を 2 群で比較することとした。2023 年 3 月末時点で、8 名のリクルートが完了したが、4 名が脱落し、試験を完遂できたのは機能

性大麦群 1 名、プラセボ群 3 名の 4 名のみであり、進捗に大幅に遅延が生じている。そのため、今後は近畿食物チャレンジネットワークを通じた多施設共同研究に変更し、本研究の完遂を目指す。

研究目的

食物アレルギーの治療法について

本邦における乳幼児の食物アレルギーの有病率は 10%程度と非常に高く、重篤なアレルギー症状を来すのみならず、患児や保護者の QOL を大きく低下させる。食物アレルギー診療ガイドライン 2016（日本小児アレルギー学会）によると、食物アレルギーの治療は「正しい診断に基づいた必要最小限の除去」とされており、「治癒」を目指す積極的な治療ではない。近年では、耐性獲得を目指す新たな治療として経口免疫療法が研究・実施されているが、アナフィラキシーを含む重篤な症状を誘発するリスクが高く、一般診療としては推奨されていない。そこで、より安全に実施できる食物アレルギーの治療法の開発が望まれる。

アレルギー疾患と腸内細菌叢の乱れ（dysbiosis）

近年、アレルギー疾患患者において dysbiosis が認められることが相次いで報告されている¹⁻⁸。申請者らも、2021 年に卵アレルギーを有する小児患者の腸内細菌叢では酪酸産生菌の減少に特徴づけられる dysbiosis が存在することを報告した⁹。酪酸産生菌は腸管内で酪酸を産生し、酪酸は Naïve T 細胞を制御性 T 細胞に分化させ、過剰な免疫応答を抑制するため、酪酸産生菌の減少がアレルギー疾患の発症の一因となっている可能性がある。そのため、酪酸産生菌に特徴づけられる dysbiosis の是正がアレルギー疾患の新たな治療標的となり得る可能性がある。

機能性大麦による酪酸産生菌増加効果

機能性大麦はオーストラリア連邦科学産業研究機構が開発した大麦で、一般の大麦に比べて 2 倍の食物繊維と、4 倍のレジスタントスターチ（難消化性でんぷん）を含む。そのため、腸管内でプレバイオティクスとして作用し、腸内細菌叢を改善する。申請者らは 2021 年に機能性大麦を継続して

摂取することにより、腸内細菌叢に占める酪酸産生菌割合、および便中酪酸濃度が上昇することを報告した¹⁰。

以上のことから機能性大麦を継続的に摂取し、腸管内の酪酸産生菌や酪酸を増加させることがアレルギー疾患の新たな予防法や治療法につながるのではないかという着想に至った。そこで、本研究では、「機能性大麦の継続的な摂取が、食物アレルギー患者の酪酸産生菌減少に特徴づけられる dysbiosis を是正し、食物アレルギーの新たな治療法になり得る」という仮説を検証することを目的とした。

研究計画及び研究手法

本研究は関西医科大学医学倫理審査委員会の承認を得ている。（承認番号: 2021159）

【研究デザイン】

プラセボ対照二重盲検ランダム化並行群間比較試験

試験食品：機能性大麦入りクッキー（製造元：株式会社フランソア）

機能性大麦（豪州産）3g、砂糖、サラダ油、水あめ、食塩、米粉、カラメル色素を含む

プラセボ：米粉クッキー（製造元：株式会社フランソア）機能性大麦の代わりに米粉を使用

【対象】

関西医科大学附属病院小児科アレルギー外来を初めて受診した1歳から8歳の卵アレルギーの患者50例とする。（検出力分析での必要数は各群21名であり、脱落率を20%として対象数を決定した。）なお、卵アレルギーの診断は以下の基準のいずれかを満たした者とする。

(1)医師の監督下で実施した卵の経口負荷試験が陽性

(2)卵摂取後にアレルギー症状出現の既往があり、かつ卵白特異的IgE値が0.35UA/ml以上

【方法】

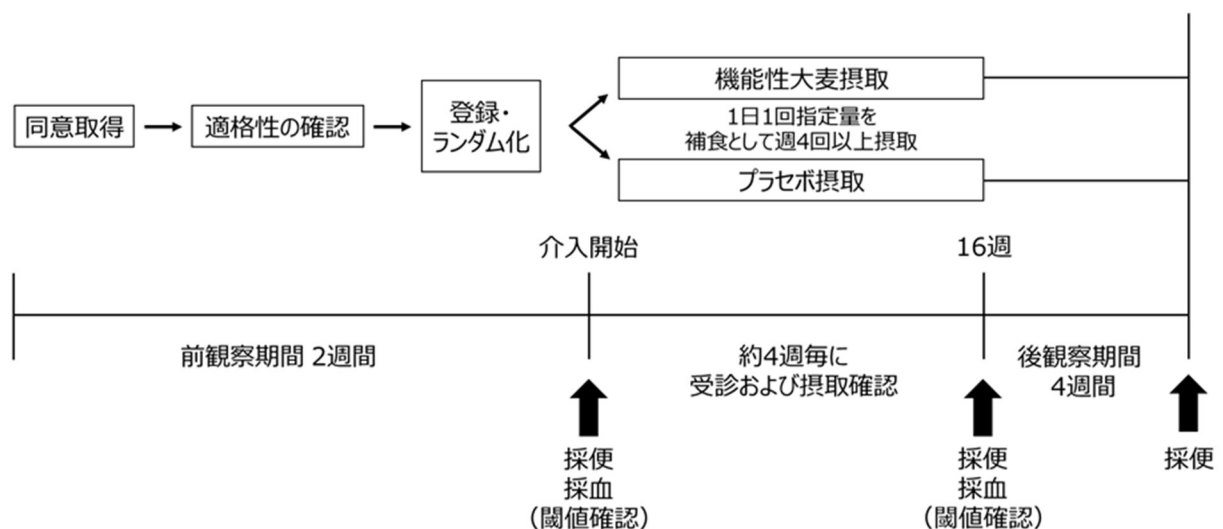
(1)対象をランダムに2群に分け、機能性大麦もしくはプラセボを1日1回、週4回以上、16週間摂取してもらう。

(2)有効性評価のために、介入前後で以下の項目についての検査を実施する。

- 1) 血液検査データ：白血球数、好酸球数、IgE 値、特異的 IgE 値、TARC
- 2) 鶏卵に対する閾値：症状なく摂取できる鶏卵量を経口負荷試験で確認する。
- 3) 腸内細菌叢：16S rRNA 遺伝子解析を行い、酪酸産生菌割合、構成菌、多様性を解析する。
- 4) 便中有機酸濃度：高速液体クロマトグラフィー法を用いて測定する。
- 5) 末梢血 Treg 数：フローサイトメーターを用いて測定する。

(3) Mann-Whitney U 検定を用いて、上記結果を2群間で比較し、仮説を検証する。

<研究のアウトライン>。



結果と考察

目標対象数は50名と設定したが、2023年3月末時点で、リクルートできたのは8名のみである。また、4名が脱落し、試験を完遂できたのは機能性大麦群1名、プラセボ群3名の合計4名であり、進捗に大幅に遅延が生じている。コロナ禍の影響でリクルートの大幅な遅れおよび受診控えによる脱落者の増加がその原因と考えられる。

現在の対象者数では統計学的解析が困難であること、少ない検体数で腸内細菌叢解析を実施する

と 1 検体あたりの試薬代が高額になってしまうことから、現時点で腸内細菌叢の中間解析も実施できていない。

今後は近畿食物チャレンジネットワーク（近畿圏で小児アレルギー診療の質の向上を目的とする小児科医の自主的なネットワークで約 30 施設が参加している）を通じた多施設共同研究に変更し、本研究の完遂を目指したい。

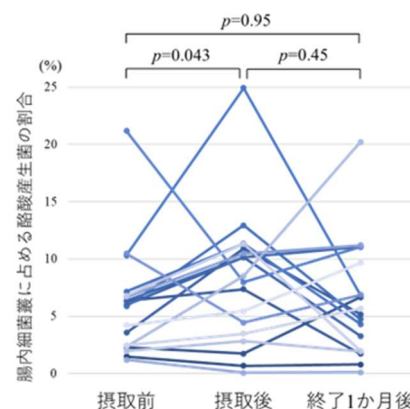
本研究の成果は「腸内細菌叢を変化させることでアレルギー疾患を克服する」という新しい治療概念に繋がる重要な一歩であると考ええる。

< 予想される結果 >

① 腸内細菌叢に占める酪酸産生菌の増加

卵アレルギーを有する小児患者では健常小児と比較して腸内細菌叢に占める酪酸産生菌が減少していることが分かっている⁹。

申請者らは健康成人を対象として、1 か月間機能性大麦を継続的に摂取することにより腸内細菌叢を占める酪酸産生菌が有意に増加することを報告した¹⁰。（右図）



そのため、本検討においても機能性大麦を摂取した群ではプラセボ群と比較して腸管内の酪酸産生菌割合および便中の酪酸濃度が上昇していることが予測される。

② 末梢血における制御性 T 細胞の増加

酪酸は腸管内で Naïve T 細胞を制御性 T 細胞に分化させる。そのため、機能性大麦を摂取した群ではプラセボ群と比較して末梢血における制御性 T 細胞が増加していることが予想される。制御性 T 細胞は過剰な免疫応答を抑制するため、アレルギー反応も抑制することが期待される。

<助成期間後に残された課題>

対象者のリクルートが予想よりも大幅に遅延した点が最も大きな課題である。当初の計画が単施設研究であったことがその一因と考えられるため、多施設共同研究として積極的なリクルートをすすめる必要がある。

<学会発表など>

第 71 回日本アレルギー学会学術大会や第 126 回日本小児科学会学術集会のシンポジウムにおいて本研究のコンセプトや研究方法および実施状況について報告した。本研究成果は同学会で報告する予定である。

今後の研究活動について

今後は近畿食物チャレンジネットワーク（近畿圏で小児アレルギー診療の質の向上を目的とする小児科医の自主的なネットワークで約 30 施設が参加している）を通じた多施設共同研究に変更し、本研究の完遂を目指したい。

本研究から dysbiosis を是正することで、症状の改善などの臨床的効果をもたらすことが明らかになれば、「腸内細菌叢を変化させることでアレルギー疾患を克服する」という全く新しい治療概念が生まれると考える。しかし、どのような臨床的背景を持つ患児が新しい治療を必要とするかは不明である。そこで、次に実施する研究では治療開始時点の腸内細菌叢から治療予後（耐性獲得）を予測することを目的としたいと考える。

そのために、2019 年 4 月から 2021 年 9 月までの期間に関西医科大学附属病院小児科アレルギー外来で鶏卵アレルギーと診断された 2 歳から 9 歳の小児のうち治療開始前に糞便を採取し得た患者 60 名を対象とした前向き観察研究を計画した。研究計画は既に関西医科大学医学倫理審査委員会の承認を得た（承認番号: 2019250）。また、研究資金は貴財団の 2023 年度個人研究助成を用いる。

参考文献

1. Fazlollahi M, Chun Y, Grishin A, Wood RA, Burks AW, Dawson P, et al. Early-life gut microbiome and egg allergy. *Allergy* 2018;73:1515-24.
2. Savage JH, Lee-Sarwar KA, Sordillo J, Bunyavanich S, Zhou Y, O'Connor G, et al. A prospective microbiome-wide association study of food sensitization and food allergy in early childhood. *Allergy* 2018;73:145-52.
3. Chen CC, Chen KJ, Kong MS, Chang HJ, Huang JL. Alterations in the gut microbiotas of children with food sensitization in early life. *Pediatr Allergy Immunol* 2016;27:254-62.
4. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, Lin DL, Levan S, Fadrosch D, et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med* 2016;22:1187-91.
5. Los-Rycharska E, Golebiewski M, Sikora M, Grzybowski T, Gorzkiewicz M, Popielarz M, et al. A Combined Analysis of Gut and Skin Microbiota in Infants with Food Allergy and Atopic Dermatitis: A Pilot Study. *Nutrients* 2021;13.
6. Bannier M, van Best N, Bervoets L, Savelkoul PHM, Hornef MW, van de Kant KDG, et al. Gut microbiota in wheezing preschool children and the association with childhood asthma. *Allergy* 2020;75:1473-6.
7. Stokholm J, Blaser MJ, Thorsen J, Rasmussen MA, Waage J, Vinding RK, et al. Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood. *Nat Commun* 2018;9:141.
8. Arrieta MC, Arevalo A, Stiemsma L, Dimitriu P, Chico ME, Loo S, et al. Associations between infant fungal and bacterial dysbiosis and childhood atopic wheeze in a nonindustrialized setting. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142:424-34 e10.
9. Yamagishi M, Akagawa S, Akagawa Y, Nakai Y, Yamanouchi S, Kimata T, et al. Decreased butyric acid-producing bacteria in gut microbiota of children with egg allergy. *Allergy* 2021;76:2279-82.
10. Akagawa S, Akagawa Y, Nakai Y, Yamagishi M, Yamanouchi S, Kimata T, et al. Fiber-Rich Barley Increases Butyric Acid-Producing Bacteria in the Human Gut Microbiota. *Metabolites* 2021;11:559.

以上