

図2 アトピー性皮膚炎の重症度

「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン2005」の重症度のめやすをもとに判断した、各年齢のAD重症度の割合を示す。小児期では年齢が高くなるにつれ、重症度の高い患者の割合が増加するが、成人では40代以降は重症例がいなくなる。

て、20歳代9.8%，30歳代8.7%，40歳代4.4%，50歳+60歳代2.6%であり、全体の平均は6.9%であった²⁾。平成19年度の近畿大学職員820名での調査は20歳代6.8%，30歳代6.8%，40歳代5.7%，50歳+60歳代2.4%であり、全体の平均は4.8%であった³⁾。この2調査を合計すると、ADの有症率は20歳代9.4%，30歳代8.3%，40歳代4.8%，50歳+60歳代2.5%であり、全体の平均は6.3%となる⁴⁾。このように、成人のAD有症率は、20代が最も多く、年齢が長じるに従い有症率は減少することが明らかとなった(図1)。

2. アトピー性皮膚炎の重症度の年齢による変化

それでは、ADの重症度は年齢によりどう変化するのであろうか。厚労省の調査では、「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン」の重症度のめやす(表1)をもとに、重症度判定を行っている。小児ADの重症度は、図2に示す通りであり、軽症者が70～80%であるが、年齢が長じるにつれて中等症患者の割合がやや多くなる。

成人では東京大学、近畿大学の2大学の職員健診の結果を合わせて重症度をみると、20

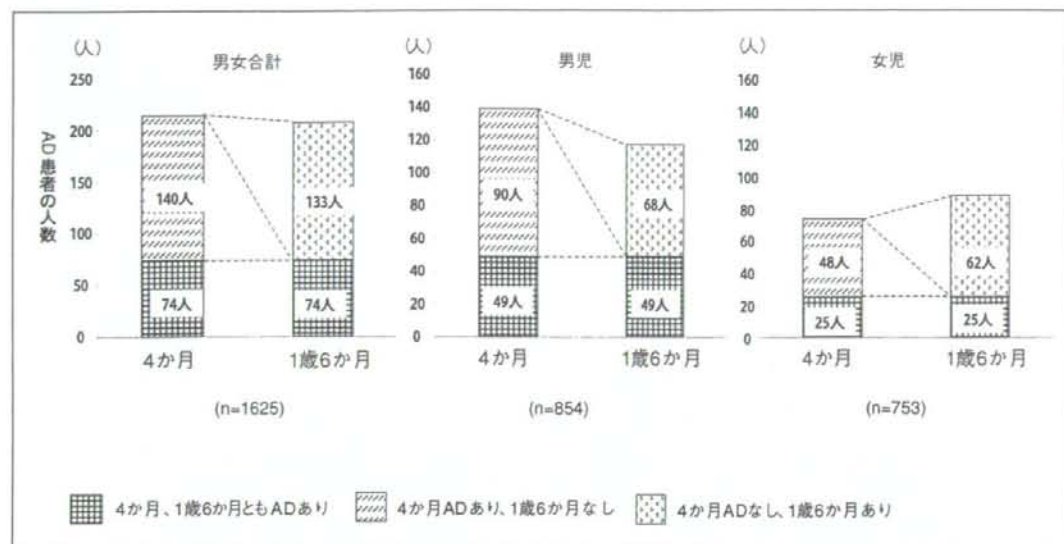


図3 アトピー性皮膚炎症例の移り変わり

横浜市と千葉市での、4か月、1歳6か月健診におけるAD症例の追跡調査。ADが持続している例、4か月でADがあったが、1歳6か月で軽快している例、1歳6か月で新たにADと診断される例があるのがわかる。

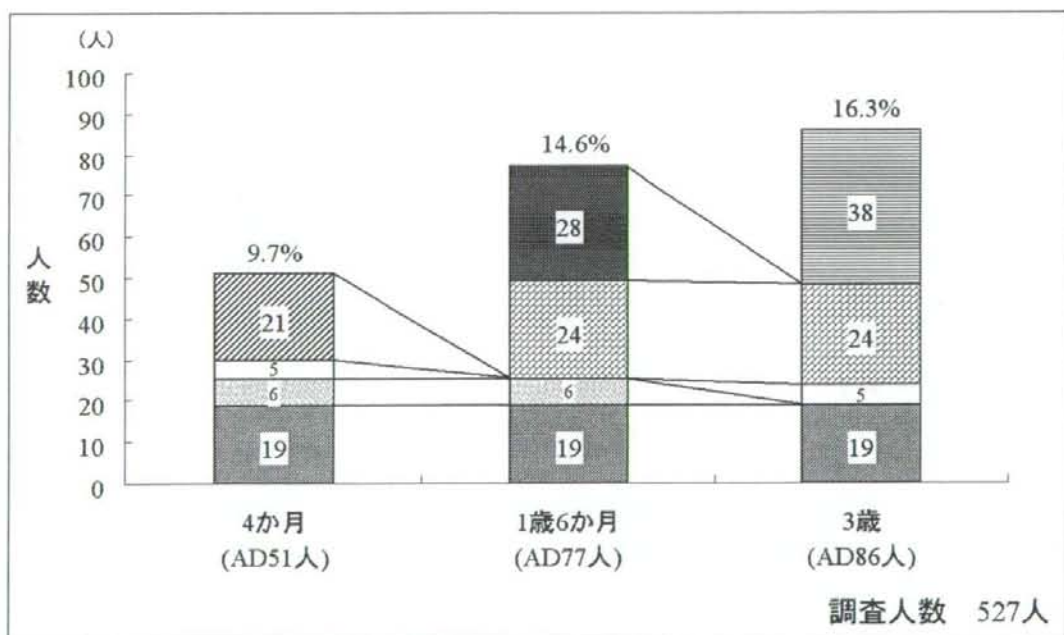


図4 アトピー性皮膚炎の自然歴：有症率と症例の移り変わり（千葉市3歳まで）
 千葉市での4か月、1歳6か月、3歳でのAD症例の追跡調査。軽快例、新たな発症例、再燃例が存在する。グラフのカラムの同じ色は、同じ患者群を示す。

歳代、30歳代では、軽症者が70%代で、重症・最重症の患者がわずかであるが認められるのに対し、40歳代、50歳+60歳代では重症、最重症の患者はおらず、20歳代、30歳代に比べ軽症の占める割合が多くなる。このように、小児期、成人を通じてADの70%以上は軽症者である。中等症以上の患者の割合は小児期には年齢が長ずると増加するが、成人では40代以降減少する。

小児期で学童期に有症率が高く重症度も高い症例が多いことは、この時期の治療が重要であることを示唆する。この時期は学校で汗をかくことが多く、また運動その他で汚れもつきやすいが、帰宅するまでその汚れを洗い流すことが難しいため、スキンケアがしにくい年齢であるといえる。そこで、一部の学校に協力を依頼し、学童に微温湯によるシャワー浴を実施したところ、シャワー浴を開始したのち、速やかに症状スコアの改善が認められた⁴⁾。シャワー設置のコストなどの問題もあり、すべての学校でのシャワー浴の実施は困難かもしれないが、AD対策として今後検討していく価値のある方法と思われる。

3. 乳幼児期のADの患者集団の変化

ADの年齢毎の有症率は先に述べたとおりであるが、一人一人の患者の症状はどのように経過するのであろうか。一度ADを発症した患者はずっとADを有しているのか、あるいはある年齢で寛解して、別の人が新たにADを発症するのかに関しては十分なデータはない。

そこで、横浜市と千葉市において乳幼児健診に訪れた4か月児について1歳6か月児に追跡調査を行った(図3)⁵⁾。横浜市では4か

月児1417名のうち、1歳6か月にも評価できた児は955名(追跡率67.4%)、千葉市では4か月児1016名のうち1歳6か月時に評価できた児は670名(追跡率65.9%)であり、両地域で大きな差はなく、合わせて66.8%(1625名/2433名)の追跡率であった。追跡可能群、脱落群に男女比、AD有症率、重症度に差はなかった。図3に示すように4か月では男児にADが多く、1歳6か月では性差はなかった。4か月のADの65%は1歳6か月までに軽快しており、一方、1歳6か月のADの64%は新たに発症した例であった。特に女児では、1歳6か月に新たにADを発症してきた患者が多かった。

さらに、千葉市では527名の児について4か月から3歳までの経過が追えているので、その結果を示す。図4にみるように、4か月では527名中51名(9.7%)がADを有しており、そのうち19名(37%)が3歳まで持続してADを有していた。6名(11.8%)は1歳6か月まではADを有していたが3歳までに寛解し、26名(41.1%)の児は1歳6か月までに寛解し、その中で5名(AD51名の9.8%)はその後3歳までに再燃している。1歳6か月のADの有症率は77名(14.6%)であり、4か月時にADがなく1歳6か月に新たにADを発症していた例はそのうちの52名(67.5%)であった。さらにその中で24名(1歳6か月のADの中で31%)は3歳時にもADを有しており、28名(同36.4%)は3歳時にはADが寛解していた。3歳の時点でのADは86名(16.3%)であり、38名が新たにADを発症した患者であった。

3歳はもっともADの有症率が高い年齢であったが、このようにコホートで追跡調査をしていくと、4か月、1歳6か月までにADを発症した例がずっとADを有していてさらに

表2 1歳6か月のAD関連因子(男女別)

	男子 (n = 546)		女子 (n = 477)	
	オッズ比	p値	オッズ比	p値
帝王切開	2.033	0.034	0.792	0.639
4か月までの母乳栄養	1.143	0.636	2.322	0.009
年長同胞が2人以上	1.421	0.419	1.012	0.982
父のAD歴あり	0.728	0.546	1.288	0.629
母のAD歴あり	2.752	0.009	1.317	0.530
4か月でのADあり	5.442	0.000	7.057	0.000
4か月までのペット飼育なし	0.627	0.182	1.096	0.834
1歳6か月で保育所通園あり	3.138	0.000	0.834	0.659
多重ロジスティック解析				

患者が増えていくのではなく、途中寛解する例、新たに発症する例があり、患者集団の一部が入れ替わっていることが明らかとなった。また、乳児期と幼児期のADの発症には男女差があり、乳児期早期には男児に多く、その後女児のADが増えてくるが、途中寛解率には男女で差がないことが示された。これらの患者の寛解、発症、再燃の機序、この年齢での男女差についての機序は明らかではなく、今後の課題である。

4. アトピー性皮膚炎の発症・増悪にかかわる因子

ADの有症率、重症度、乳幼児期のADの経過および男女差について述べてきたが、次に必要な情報はADの発症、寛解、持続などに関与する因子である。これらを解析することは、発症の予防、早期治療につながる。先に述べた横浜市、千葉市の乳幼児健診でのAD調査では同時にアンケートを行って周産

期歴、家族歴、乳児期の栄養法などを調査し、AD関連因子の解析を行った。1歳6か月時に調査のできた男児546名、女児477名のデータをもとに多重ロジスティック解析を行い、1歳6か月でのADに関連する因子を検討した。その結果、表2に示すように、男女に共通する因子と異なる因子が認められた。男女に共通する因子は4か月でのAD発症であったが、男児では帝王切開での出生、母のAD歴、1歳6か月での保育所通園所があげられ、女児では4か月までの母乳栄養であった。また、4か月でのADが1歳6か月までの持続にかかわる因子は、母のアレルギー歴と1歳6か月での児の食物アレルギーであった。

母乳栄養はアレルギー疾患の発症を促進するという報告がある一方で抑制するという相反する報告がある。今回の調査では母乳栄養は女児において1歳6か月の時点でADを有することのリスクファクターとなった。問題点として、今回の調査も含め、我が国の栄養法についての調査は母親への問診が主であり、

特に産科施設入院中の生後早期に人工乳が与えられたかどうかの情報がない。そこで、現在研究班では、出生時から完全に母乳のみで育てられた児についての追跡調査を行い、母乳栄養とアレルギーの関連についての解析を進めている。

る。今回のコホートをさらに追跡し、ADの診療に必要な情報を集積していく予定である。

文献

おわりに

ADの有症率、重症度の年齢による変化、乳幼児期のADの自然歴、および現時点で示唆されている関連因子を厚生労働科学研究の調査をもとに述べた。

ADの発症・増悪・持続にかかわる因子については、たとえば母乳にしても、母乳に含まれるアレルゲンの量、TGF- β などの免疫関連分子の量、母乳を与えられる児の遺伝的素因の問題など、いくつもの要素が絡んでリスクファクターとなるものと考えられ、今後さらなる情報が必要である。日本ではこれまでADについての大規模なコホート調査は少なく、医師の直接診察による情報も限られてい

- 1) 山本昇壯：厚生労働科学研究補助金、免疫アレルギー疾患予防・治療等研究事業平成14年度研究報告書第1分冊。(2003) p71-77.
- 2) 佐伯秀久：厚生労働科学研究補助金、免疫アレルギー疾患予防・治療等研究事業平成17年度研究報告書第1分冊。(2006) p113-115.
- 3) 佐伯秀久：厚生労働科学研究補助金、免疫アレルギー疾患予防・治療等研究事業アトピー性皮膚炎の発症及び悪化因子の同定と発症予防・症状悪化防止のための生活環境整備に関する研究。平成19年度 総括・分担研究報告書。(2008) p6-8.
- 4) 森川昭廣 他：アトピー性皮膚炎児における小学校でのシャワー効果の解析。厚生労働科学研究補助金、免疫アレルギー疾患予防・治療等研究事業平成16年度研究報告書第3分冊(2005) p56-58.
- 5) 下条直樹：厚生労働科学研究補助金、免疫アレルギー疾患予防・治療等研究事業アトピー性皮膚炎の発症及び悪化因子の同定と発症予防・症状悪化防止のための生活環境整備に関する研究。平成19年度 総括・分担研究報告書。(2008) p9-11.

<話題あれこれ>

第58回日本アレルギー学会秋季学術大会

テーマ：アレルギー疾患の予防と治療を目指して—基礎と臨床のコラボレーション—

第58回日本アレルギー学会秋季学術大会を下記の日程で開催いたします。

会 長：大田 健 (帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学 教授)
 会 期：2008年11月27日(木)、28日(金)、29日(土)
 会 場：東京国際フォーラム 〒100-0005 東京都千代田区丸の内3丁目5番1号 TEL：03-5221-9000(代表)

連絡先：第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 事務局
 帝京大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー学
 事務局長：足立 哲也 担当：新井 優子
 〒173-8605 東京都板橋区加賀2-11-1
 TEL：03-3964-1211 (内線1591,1471) FAX：03-3964-1291
 E-mail：jsa58-office@umin.ac.jp

※バックナンバーを会場で販売予定です。お立ち寄り下さい。

A Quantitative and Relative Increase in Intestinal *Bacteroides* in Allergic Infants in Rural Japan

Shuichi Suzuki¹, Naoki Shimojo¹, Yoshito Tajiri², Megumi Kumemura² and Yoichi Kohno¹

SUMMARY Recent studies have suggested that intestinal microbiota play a substantial role in the development of allergic diseases during infancy. We analyzed fecal microbiota in 18 Japanese infants with or without allergy at 6 months and 2 years of age using a cell culture technique. Allergy determination was based on doctor-diagnosed allergic diseases and skin prick tests. There were no differences between 9 allergic and 9 non-allergic infants at 6 months of age in the frequencies or counts of 13 genera and yeast-like organisms. *Bifidobacterium* was dominant in all infants irrespective of allergy status. At 2 years of age, 8 infants were non-allergic and 10 infants were allergic. Allergic infants at 2 years of age had higher counts of *Bacteroides* and higher ratios of *Bacteroides* to *Bifidobacterium* than non-allergic infants. Despite the small population size used in this study, the results support a significant role of *Bacteroides* in the pathogenesis of allergy during infancy.

Intestinal microbiota, which live in symbiosis with the human body, are a major bacterial stimuli received by neonates after birth, and are reported to be essential for the development and maintenance of the immune system.^{1,2} Studies in northern Europe have shown a relationship between intestinal microbiota and allergic diseases, and aberrant intestinal microbiota may affect the development of allergy in infancy.³⁻⁷ However, aberrances in the levels of intestinal microbiota vary among the published studies. Bjorksten's group found lower levels of *Bifidobacterium* and *Bacteroides* and higher clostridia,^{3,4} while Isolauri's group showed lower levels of *Bifidobacterium* and higher *Bacteroides* and clostridia⁵⁻⁷ in allergic infants in comparison with non-allergic infants. In contrast, Nambu *et al.*⁸ reported that *Bacteroides* but not *Bifidobacterium* or *Clostridium* is associated with allergy in Japanese infants. Since intestinal microbiota may differ among genetic back-

grounds,^{9,10} it is important to conduct studies in areas outside northern Europe.

In the present study, we analyzed fecal microbiota of Japanese infants at 6 months and 2 years of age, and compared intestinal microbiota between infants with and without allergies.

MATERIALS AND METHODS

Study design

This study was conducted at a local hospital in Omigawa (population of approximately 25,000),

From the ¹Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan, ²Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Otsu Nutraceuticals Research Institute, Otsu, Japan.
Correspondence: Shuichi Suzuki
E-mail: seeyou@msj.biglobe.ne.jp

located in a rural region of Chiba prefecture in Japan. All babies were born from May to December, 2001 and were examined at 1, 3, and 6 months of age whereupon the type of feeding was checked and physical examinations were performed by a pediatric allergist. Babies born preterm, those administered antibiotics before 6 months of age, or those diagnosed with non-allergic diseases were excluded from further participation. However, infants delivered by Caesarian section or those without atopic heredity were retained. At 6 months of age, a determination of allergy was conducted based on the diagnosis of allergic diseases and skin prick tests (SPTs). Infants with more than one allergic disease or one positive result on the SPT were considered allergic; infants without allergic symptoms and no positive reactions on the SPT were considered non-allergic. Among 45 infants that were monitored until the 6 month stage, 9 infants were determined to be allergic, and 9 non-allergic infants matched for feeding method were recruited to comprise the non-allergic group. A fecal sample was requested from parents within one month after the 6-month visit and again in the summer of 2003, when a reassessment of allergy was performed according to the same criteria.

Skin prick tests

Skin prick tests (SPT) were performed on the volar aspects of the forearms with standardized extracts (Torii Pharmaceutical Co., Ltd. Tokyo, Japan) from egg white, cow's milk, wheat, soy bean, rice, house dust mite, and house dust on infants at 6 months of age, and egg white, cow's milk, house dust mite, house dust, Japanese cedar pollen, cat extracts, alternaria, and orchard grass on infants at 2 years of age. Histamine hydrochloride (1 mg/ml) was used as a positive control and glycerol as a negative control. A result was considered positive if the diameter of the wheal was equal to or more than 3 mm compared to the negative control.¹¹

Type of feeding during lactation

At the hospital where this study conducted, most babies were mixed-fed with breast milk and formula before 5 days of age.¹² The term breastfed is defined as infants who were exclusively breastfed from 1 month to the first fecal analysis. Formula-fed infants were those exclusively formula-fed from 1 month, and mixed-fed are those who were not exclu-

sively breastfed or formula-fed from 1 month to the first fecal analysis. Babies were administered water containing 10% glucose at approximately 6 h after delivery, and were fed formula milk until receiving breast milk from their mothers in the maternity ward of the hospital until discharge.

Collection of fecal samples and bacterial analyses

None of the infants had received antibiotics for 4 weeks, or been fed yogurt or drinks containing lactic acid bacteria, or any other foods containing live bacteria for one week prior to fecal collection. Approximately 2 g of a fresh fecal sample was collected in an anaerobic transport container (seed tube, Eiken Chemical Co, Ltd, Tokyo, Japan) as soon as possible after defecation. It was stored in a styrofoam box and kept at 4°C during transportation. Bacteriological analysis was performed within 24 hours following collection. Fecal microbiota was analyzed according to the method of Mitsuoka, as reported previously.¹³ The detection limit of bacteria was 2.3 log₁₀ colony-forming units per gram of wet feces.

Statistical evaluation

Counts and the ratio of *Bacteroides* to *Bifidobacterium* between allergic and non-allergic infants were compared by the Mann-Whitney test. Frequency of intestinal microbes was analyzed by Fisher's exact test. Data were analyzed using computer software included in the Statistical Package of Social Sciences (SPSS standard version 11.0; SPSS, Inc., Cary, North Carolina, USA). A *p* value less than 0.05 was considered statistically significant.

Ethical aspects

This study was performed according to the Declaration of Helsinki, and written informed consent was obtained from the mothers at birth. This study was approved by the ethical committee of Omigawa General Hospital.

RESULTS

Characteristics of the participants

Of the 18 participants, 83% had atopic heredity, the average weight at birth was 3,012 g, and

the percentage delivered by Caesarean section was 17.7%. Sex, type of feeding during lactation, allergic diseases, and the results of SPTs in the participants are shown in Table 1. Other characteristics such as frequency of eating fermented foods and the number of episodes requiring the administration of antibiotics prior to the second fecal analysis were not statistically different between the allergic and non-allergic groups.

Fecal microbiota in allergic and non-allergic infants at 6 months of age

The comparison of fecal microbiota in 9 allergic and 9 non-allergic infants at 6 months of age is shown in Table 2. Regardless of allergic status, *Bifidobacterium* was found in all infants and was the most dominant genus. There was no statistical difference in the fecal microbiota between allergic and non-allergic infants. Counts of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* were positively correlated with the amount of breast milk at 6 months of age, and the prevalence of *Lactobacillus* at 6 months of age was also correlated with the amount of breast milk (data

not shown).

Fecal microbiota in allergic and non-allergic infants at 2 years of age

Of the 9 non-allergic infants at 6 months of age, 3 were determined to be allergic at 2 years of age, while of the 9 allergic infants at 6 months of age, 2 infants were determined to be non-allergic at the time of reassessment at 2 years of age. Thus, fecal microbiota between allergic ($n = 10$) and non-allergic ($n = 8$) infants were compared at 6 months and 2 years of age (Table 3). There was no a statistical difference at 6 months of age. In contrast, allergic infants had higher counts of *Bacteroides* and lower counts of *Staphylococcus* than non-allergic infants at two years of age ($p = 0.027$, and $p = 0.043$, respectively).

Increased ratio of *Bacteroides* to *Bifidobacterium* in allergic and non-allergic infants at 2 years

Using the assumption that *Bacteroides* perform offensively and *Bifidobacterium* perform pro-

Table 1 Participant background and allergic status at 6 months and 2 years of age

Sex	Atopic heredity	Feeding during lactation	6 months		2 years	
			Allergic disease	SPTs	Allergic disease	SPTs
F	+	Breast	AD	m	AD	d
F	+	Breast	-	e	AD	-
F	+	Mix	AD	emd	AD, BA, FA	emdcch
M	+	Mix	AD	e	AD	djcoh
M	+	Mix	AD	-	AD	-
F	+	Formula	-	e	-	dh
M	+	Formula	AD	e	AD, AR	dah
M	+	Formula	AD	e	AD, FA	e
M	+	Formula	AD	m	-	-
F	-	Breast	-	-	-	d
F	+	Breast	-	-	AD	djch
F	+	Mix	-	-	-	-
M	-	Mix	-	-	-	-
M	+	Mix	-	-	-	-
F	+	Formula	-	-	-	d
F	+	Formula	-	-	-	-
M	-	Formula	-	-	-	-
F	+	Formula	-	-	-	-

AD, atopic dermatitis; BA, bronchial asthma; FA, food allergy; AR, allergic rhinitis
e, egg white; m, cow's milk; d, dermatophagoides; c, cat extract; j, Japanese cedar pollen
o, orchard grass; h, house dust; a, alternaria.

tectively in the development of allergy, we considered the balance between *Bacteroides* and *Bifidobacterium* to be of significance. Thus the ratio of *Bacteroides* to *Bifidobacterium* was compared between allergic and non-allergic infants at 6 months and 2 years of age (Fig. 1). The ratio was not different at 6 months of age (Fig. 1A); however, it was significantly higher in allergic than non-allergic infants at 2 years of age (Fig. 1B; $p = 0.027$).

DISCUSSION

Our results show that prevalence and count of lactic acid bacteria, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, do not differ between allergic and non-allergic infants. Since we did not examine fecal microbiota prior to 6 months of age, it might be possible that infants who later developed allergies had a lower frequency of *Bifidobacterium* in an earlier age than those who remained non-allergic. However, this is unlikely in our study subjects since we did not find any differences in the frequency of *Bifidobacterium* between allergic or non-allergic infants at 1, 3 months of age using a PCR method of detection.¹² Our results support the previous study by Nambu *et al.*,⁸ who found that allergic infants do not necessarily have reduced amounts of lactic bacteria in Japan.

These results are in contrast to the studies from Northern Europe,³⁻⁷ but in accordance with a large cohort study from 3 European countries published recently.¹³ Thus, discordance of the results among studies can not be fully explained by differences in food customs and genetic background. Another explanation for the discordance lies in the differences in the severity of allergic infants, since intestinal lactic acid bacteria have not been detected in infants with severe atopic dermatitis,¹⁴ and an inverse correlation between the ratio of *Bifidobacterium* and the severity of atopic dermatitis in children has been reported in Japan.¹⁵ Therefore, a large population study on intestinal microbiota in allergic infants in the future should refer to this point.

The intestinal microbiota of allergic infants showed higher counts of *Bacteroides* and a higher ratio of *Bacteroides* to *Bifidobacterium* at 2 years of age. *Bacteroides* differ from lactic acid bacteria in that they do not improve allergic colitis¹⁶ and may induce intestinal or systemic inflammation.^{17,18} An increase in intestinal *Bacteroides* counts has been found in Japanese infants prior to sensitization to hen's egg at 1 year of age,⁸ and in Finnish infants with milk allergy during breast-feeding.⁶ In addition, a positive correlation with the serum IgE levels and

Table 2 Fecal microbiota of allergic and nonallergic infants at 6 months of age

	Allergic (n = 9)		Non-allergic (n = 9)	
	Count	Prevalence	Count	Prevalence
<i>Bifidobacterium</i>	10.53 ± 0.47	100%	10.18 ± 0.68	100%
<i>Eubacterium</i>	9.49 ± 0.49	67%	9.30 ± 0.49	44%
<i>Lactobacillus</i>	5.12 ± 2.70	67%	8.49 ± 1.26	44%
Lecithinase(+) <i>Clostridium</i>	4.80 ± 1.54	44%	8.97 ± 1.59	22%
Lecithinase(-) <i>Clostridium</i>	7.86 ± 1.49	78%	6.92 ± 1.32	67%
<i>Peptostreptococcus</i>	9.13 ± 0.52	67%	8.97 ± 0.44	44%
<i>Veillonella</i>	7.68 ± 2.38	67%	8.36 ± 0.57	78%
<i>Bacteroides</i>	9.40 ± 1.48	100%	9.00 ± 1.55	89%
<i>Staphylococcus</i>	4.04 ± 0.76	100%	4.86 ± 0.78	89%
<i>Enterococcus</i>	8.90 ± 0.39	89%	8.54 ± 0.71	100%
<i>Streptococcus</i>	8.64 ± 0.71	67%	8.50 ± 1.01	56%
<i>Bacillus</i>	3.74 ± 0.51	22%	ND	0%
Yeast like organism	0.75 ± 1.49	22%	ND	0%
Total counts	10.72 ± 0.41		10.45 ± 0.48	

Counts are presented as means ± SD and as log CFU per gram of wet feces
ND, not detected

¹Counts were statistically analyzed by the Mann-Whitney U test

²Prevalence values were statistically analyzed by the Fisher's exact test.

Bacteroides counts has been shown in non-allergic Estonian children.¹⁹ These reports show that intestinal *Bacteroides* may play a significant role in the pathogenesis of allergic diseases, independent of ethnic group. It might further be important to define what kind of *Bacteroides* species need to be reduced. The discordance in the counts of *Bacteroides* to allergies between Isolauri's group,⁵⁻⁷ Bjorksten's group,^{3,4} and Nambu *et al.*⁸ and the present study may be due to the difference in *Bacteroides* species,

since only an increase in the *Bacteroides fragilis* group has been found to be associated with the symptoms of Japanese cedar pollinosis in a report by Odamaki *et al.*²⁰ They also found that the cell number ratio of the *B. fragilis* group to *Bifidobacterium* increased significantly during the pollen season in the placebo group but not in the probiotic group. These results indicate that the balance of 'inflammatory' bacteria such as *Bacteroides* to 'anti-inflammatory' bacteria such as *Bifidobacterium* is

Table 3 Fecal microbiota of allergic and nonallergic infants at 6 months and 2 years of age

6 months	Allergics (n = 10)		Nonallergics (n = 8)	
	Count	Prevalence	Count	Prevalence
<i>Bifidobacterium</i>	10.54 ± 0.54	100%	10.11 ± 0.61	100%
<i>Eubacterium</i>	9.71 ± 0.23	60%	8.97 ± 0.37	50%
<i>Lactobacillus</i>	7.06 ± 2.74	60%	5.56 ± 2.89	50%
Lecithinase (+) <i>Clostridium</i>	5.58 ± 0.50	30%	5.49 ± 3.66	25%
Lecithinase (-) <i>Clostridium</i>	8.01 ± 0.85	80%	6.48 ± 1.79	63%
<i>Peptostreptococcus</i>	8.92 ± 0.30	60%	9.27 ± 0.65	50%
<i>Veillonella</i>	8.45 ± 0.77	70%	7.55 ± 2.27	75%
<i>Bacteroides</i>	9.29 ± 1.40	100%	9.13 ± 1.71	88%
<i>Staphylococcus</i>	4.55 ± 0.84	100%	4.24 ± 0.89	88%
<i>Enterococcus</i>	8.91 ± 0.49	100%	8.42 ± 0.64	88%
<i>Streptococcus</i>	9.01 ± 0.28	60%	8.06 ± 0.96	63%
<i>Bacillus</i>	3.75 ± 0.52	20%	ND	0%
Yeast like organism	3.15	10%	3.58	13%
Total counts	10.78 ± 0.38		10.40 ± 0.44	

2 years	Allergics (n = 10)		Nonallergics (n = 8)	
	Count	Prevalence	Count	Prevalence
<i>Bifidobacterium</i>	9.85 ± 0.37	100%	9.77 ± 0.37	100%
<i>Eubacterium</i>	9.97 ± 0.31	100%	9.84 ± 0.49	100%
<i>Lactobacillus</i>	8.01 ± 2.22	100%	7.28 ± 2.22	88%
Lecithinase(+) <i>Clostridium</i>	3.55 ± 1.07	20%	4.91 ± 0.91	25%
Lecithinase(-) <i>Clostridium</i>	8.20 ± 0.48	40%	8.89 ± 0.23	50%
<i>Peptostreptococcus</i>	8.91 ± 1.11	50%	8.35 ± 0.14	50%
<i>Veillonella</i>	7.31 ± 1.61	40%	6.90 ± 0.75	75%
<i>Bacteroides</i>	10.16 ± 0.39 ¹	100%	9.82 ± 0.48	100%
<i>Staphylococcus</i>	3.83 ± 1.15	70%	4.72 ± 1.27*	100%
<i>Streptococcus</i>	7.84 ± 1.22	100%	7.54 ± 0.72	100%
<i>Bacillus</i>	8.82 ± 0.77	20%	ND	0%
<i>Enterococcus</i>	7.90 ± 0.92	100%	7.97 ± 0.53	100%
Yeast like organism	3.87 ± 1.03	70%	3.58 ± 0.56	38%
Total counts	10.59 ± 0.32		10.25 ± 0.32	

Counts are presented as means ± SD and as log CFU per gram of wet feces; ND: not detected.

1) Counts were statistically analyzed by Mann-Whitney's U test.

2) Prevalence were statistically analyzed by Fisher's exact test.

* $p < 0.05$.

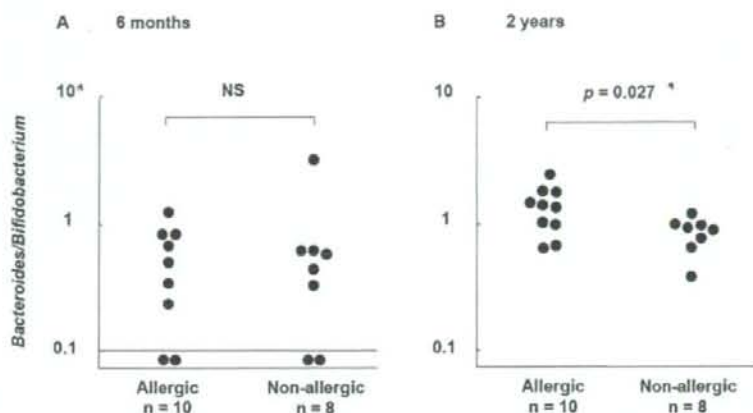


Fig. 1 The ratio of *Bacteroides* to *Bifidobacterium* at 6 months of age (A) and 2 years of age (B) in infants evaluated as allergic and non-allergic at 2 years of age. The data are shown in logarithmic scale. NS: not significant.

critical in the development of allergy, encouraging the administration of lactic acid not only for treatment but also for the prevention of the allergic diseases.

In summary, although the sample size smaller than required to provide conclusive proof, a quantitative and relative increase in intestinal *Bacteroides* was found in infants with allergy at 2 years of age. Dietary, probiotic or prebiotic intervention would elucidate the clinical significance of suppressing potentially inflammatory bacteria for the treatment or prevention of allergic diseases in infancy.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the participants, and to co-workers in the Department of Obstetrics and Pediatrics at Omigawa Hospital for cooperation in the study. We thank Dr M. D. Ohto for critical review of the manuscript. This work was partly supported by Health and Labour Sciences Research Grants of the Research on Allergic diseases and Immunology from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

REFERENCES

1. Cebra J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1046S-51S.
2. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-

like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004; 118: 229-41.

3. Bjorksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 342-6.
4. Bjorksten B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: 516-20.
5. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 129-34.
6. Kirjavainen PV, Apostolou E, Arvola T, Salminen SJ, Gibson GR, Isolauri E. Characterizing the composition of intestinal microflora as a prospective treatment target in infant allergic disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001; 32: 1-7.
7. Kirjavainen PV, Arvola T, Salminen SJ, Isolauri E. Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? *Gut* 2002; 51: 51-5.
8. Nambu M, Shintaku N, Ohta S. Intestinal microflora at 4 months of age and the development of allergy. *Allergology Int* 2004; 53: 121-6.
9. Benno Y, Suzuki K, Narisawa K, Bruce WR, Mitsuoka T. Comparison of the fecal microflora in rural Japanese and urban Canadians. *Microbiol Immunol* 1986; 30: 521-32.
10. Toivanen P, Vaahtovuori J, Eerola E. Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora. *Infect Immun* 2001; 69: 2372-7.
11. Adinoff AD, Rosloniec DM, McCall LL, Nelson HS. Immediate skin test reactivity to Food and Drug Administration-approved standardized extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 766-74.
12. Suzuki S, Shimojo N, Tajiri Y, et al. Differences in the composition of intestinal *Bifidobacterium* species and the development of allergic diseases in infants in rural Japan. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 506-11.

13. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, *et al.* Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 343-50.
14. Hattori K, Yamamoto A, Sasai M, *et al.* Effects of administration of bifidobacteria on fecal microflora and clinical symptoms in infants with atopic dermatitis. *Arerugi* 2003; 52: 20-30. (in Japanese).
15. Watanabe S, Narisawa Y, Arase S, *et al.* Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 587-91.
16. Sudo N, Yu XN, Aiba Y, *et al.* An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1112-6.
17. Onderdonk AB, Franklin ML, Cisneros RL. Production of experimental ulcerative colitis in gnotobiotic guinea pigs with simplified microflora. *Infect Immun* 1981; 32: 225-31.
18. Brook I. Clinical review: bacteremia caused by anaerobic bacteria in children. *Crit Care* 2002; 6: 205-11.
19. Sepp E, Julge K, Mikelsaar M, Bjorksten B. Intestinal microbiota and immunoglobulin E responses in 5-year-old Estonian children. *Clin Exp Allergy* 2005; 35: 1141-6.
20. Odamaki T, Xiao JZ, Iwabuchi N, *et al.* Fluctuation of fecal microbiota in individuals with Japanese cedar pollinosis during the pollen season and influence of probiotic intake. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2007; 17: 92-100.

乳児期の黄色ブドウ球菌の皮膚定着とアトピー性皮膚炎の発症

鈴木修一¹⁾ 下条直樹²⁾ 有馬孝恭²⁾ 河野陽一²⁾独立行政法人国立病院機構下志津病院アレルギー科¹⁾, 千葉大学大学院医学研究院小児病態学²⁾

Key words: 乳児, アトピー性皮膚炎, 黄色ブドウ球菌

略語: IgE: immunoglobulin E, IL-4: interleukin-4,

PCR: polymerase chain reaction, Th2: T helper type 2,

SE: staphylococcal enterotoxin, TSST-1: Toxic shock syndrome toxin-1

和文抄録

乳児アトピー性皮膚炎における皮膚黄色ブドウ球菌の役割を明らかにするために、われわれは千葉市乳児健診において、全乳児のアトピー性皮膚炎の有無および重症度の診断とともに、頬部皮膚黄色ブドウ球菌の培養を行い、生後4か月より1歳6か月、3歳まで追跡した。4か月および1歳6か月において、黄色ブドウ球菌の皮膚への定着はアトピー性皮膚炎の重症度と関連していた。また、4か月および1歳6か月のアトピー性皮膚炎のない児において、黄色ブドウ球菌の定着は後の発症に関連していた。これらの結果は黄色ブドウ球菌の皮膚定着は乳児におけるアトピー性皮膚炎の重症化だけでなく発症にも関与し、黄色ブドウ球菌の皮膚定着防止が乳児アトピー性皮膚炎発症予防の有力な手段となりうることを示唆している。

はじめに

小児のアトピー性皮膚炎の多くは乳児期に発症し、1歳までの症状が最も重いことが多い。軽化してくるまで児のかゆみのため養育者も眠れず、高率に合併する食物アレルギーを心配し、将来のアレルギー疾患発症への不安もある。このようなことから、乳児アトピー性皮膚炎の管理や予防は小児科医にとって、非常に重要な課題である。本稿では、黄色ブドウ球菌の皮膚定着と乳児アトピー性皮膚炎発症との関連、および乳児アトピー性皮膚炎発症予防の可能性についてわれわれの知見を交えて考察する。

乳児アトピー性皮膚炎の病態

乳児アトピー性皮膚炎の主な病態は、さまざまな遺伝子異常や遺伝子多型を背景としてTh2細胞優位の免疫異常と皮膚バリア機能異常が生じ、それぞれに多様な環境因子が関与することにより生じるアレルギー性炎症である。環境因子としては、経口的に摂取されるもの(母乳, 食物, 腸内細菌叢など)と、経皮的に曝露されるもの(洗剤, ダニ, 乾燥, 汗, 微生物)

に分けられる。従来、皮膚透過性異常や易感染性は、一次的に生じているTh2細胞優位の免疫異常によるアレルギー性炎症の結果として二次的に生じるものと考えられていた。しかし最近では、遺伝的異常を背景に一次的にバリア機能異常が生じ、経皮的に侵入した抗原や微生物などがケラチノサイトを刺激し thymic stromal lymphopoietin (TSLP) が産生され、Th2細胞を誘導する樹状細胞の活性化 thymus and activation-regulated chemokine (TARC) や macrophage-derived chemokine (MDC) といったケモカイン産生が二次的に生じ、皮膚において惹起されたアレルギー性炎症が全身に波及する病態も考えられている¹⁾。この病態は、皮膚の水分保持に重要な役割を果たしている filaggrin 遺伝子異常が乳児アトピー性皮膚炎の発症に関与することを示唆する報告によりさらに注目されている²⁾。

アトピー性皮膚炎の病態における黄色ブドウ球菌の関与(図1)

黄色ブドウ球菌はアトピー性皮膚炎の病態に関与す

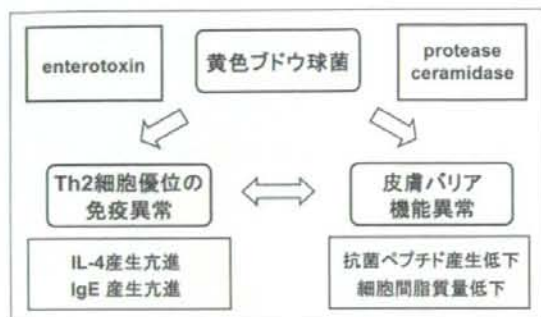


図1 アトピー性皮膚炎の病態における黄色ブドウ球菌の関与

ることが基礎的研究や臨床的経験から明らかとなっている。黄色ブドウ球菌の産生するエンテロトキシンは皮膚においてIL-4産生を促進するが⁶⁾、抗菌ペプチド β -defensin2, 3およびcathelicidin (LL-37)の活性はIL-4依存性に低下することから黄色ブドウ球菌の皮膚定着がさらに生じやすくなると考えられる⁷⁾。バリア機能の低下した皮膚のpHは上昇しており、抗菌活性のある遊離脂肪酸やセラミドの代謝物であるsphingosine産生量が低下しており、黄色ブドウ球菌が定着しやすい¹¹⁾。また、黄色ブドウ球菌の菌体表面には遊離脂肪酸産生を抑制するタンパクの存在が知られている¹²⁾。さらに、黄色ブドウ球菌はserine proteaseやceramidaseを産生し、皮膚のバリア機能を傷害することで抗原の侵入を容易にし、アレルギー性炎症を増幅させる¹³⁾。このように、黄色ブドウ球菌の皮膚定着と皮膚のバリア機能には密接な関連が認められる。

アトピー性皮膚炎患者の血清より菌体特異的IgE抗体およびエンテロトキシン特異的IgE抗体が検出されることから、黄色ブドウ球菌はアレルゲンとしても病態に関与すると考えられる^{10,11)}。またエンテロトキシンはスーパー抗原としてT細胞を抗原非依存的に活性化し、痒疹を惹起するIL-31産生を誘導する^{12,13)}。さらに、ケラチノサイトよりのTSLP産生も誘導する¹⁴⁾。その他、黄色ブドウ球菌は皮膚ホーミング受容体であるcutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA)抗原のT細胞表面への誘導、T細胞のステロイド抵抗性、調節性T細胞の活性低下にも寄与するなど、さまざまなメカニズムによりアトピー性皮膚炎の増悪に関与すると考えられている¹⁴⁾。

黄色ブドウ球菌は成人のアトピー性皮膚炎患者の湿疹部より90%以上の頻度で検出されることが知られて

いる¹⁵⁾。しかし、乳児期のアトピー性皮膚炎における検出頻度についての報告は少なく¹⁶⁾、黄色ブドウ球菌の皮膚定着が乳児アトピー性皮膚炎の発症においてどのような役割があるのかについては知られていなかった。

千葉市健診コホート研究

そこで、われわれは千葉市乳児健診(4か月, 1歳6か月, 3歳)において、一般乳児集団を対象としたコホート研究を行った(図2)。それぞれの健診において、医師がアトピー性皮膚炎治療ガイドラインに基づいたアトピー性皮膚炎の診断および重症度判定を行った。4か月1歳6か月では、アトピー性皮膚炎の有無によらず、綿棒により左右の頬部皮膚を擦過し黄色ブドウ球菌について培養検査を施行した。さらに、黄色ブドウ球菌が検出された場合は、PCR法によりstaphylococcal enterotoxin (SE) A, SEB, SEC, SED, SEE, toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)を検出した。

黄色ブドウ球菌の検出率をアトピー性皮膚炎の重症度別に比較したところ、4か月, 1歳6か月ともに黄色ブドウ球菌の検出率とアトピー性皮膚炎の有無、および重症度には正の相関が認められた。すなわち、4か月においてアトピー性皮膚炎のない児における黄色ブドウ球菌の検出率は14%であったのに対し、軽症、中等症、重症・最重症のアトピー性皮膚炎児における黄色ブドウ球菌の検出率は、それぞれ21%、77%、100%であった。1歳6か月においては、アトピー性皮膚炎なし、軽症、中等症での黄色ブドウ球菌の検出率は、それぞれ、15%、33%、87%であった。この結

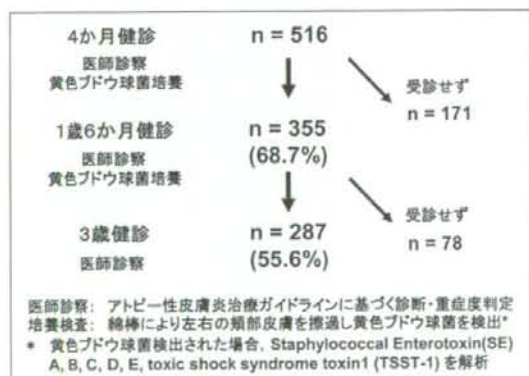


図2 千葉市一般集団におけるコホート研究

果は、黄色ブドウ球菌の皮膚定着はその時のアトピー性皮膚炎症状と強く関連していることを示唆している。

次に、健診時にアトピー性皮膚炎を発症していない児に着目して、黄色ブドウ球菌の定着とその後のアトピー性皮膚炎の発症との関連を解析したところ、4か月時アトピー性皮膚炎のなかった児のうち、頬部の皮膚に黄色ブドウ球菌が検出されたグループの1歳6か月のアトピー性皮膚炎の発症率（15%）は、黄色ブドウ球菌が検出されなかったグループの発症率（5%）よりも有意に高かった。同様に、1歳6か月でアトピー性皮膚炎のなかった児のうち、黄色ブドウ球菌が検出されたグループでの3歳時アトピー性皮膚炎の発症率（23%）は、検出されなかったグループの発症率（9%）よりも有意に高かった。この関連は、アトピー性皮膚炎の発症に関与しうる他の因子、すなわち、性、両親のアトピー性皮膚炎歴、4か月での母乳継続、同胞の有無、保育園通園、猫の飼育を加味したロジスティック回帰分析においても有意な関連を示した。黄色ブドウ球菌定着がアトピー性皮膚炎の原因悪化因子であるのかバリア機能異常の結果として認められるのかは、今後の介入試験が必要であるが、これらの結果から、まだアトピー性皮膚炎を発症していない児の皮膚に定着している黄色ブドウ球菌がその後のアトピー性皮膚炎の発症に関与することが強く示唆された。これまで黄色ブドウ球菌はアトピー性皮膚炎発症後の増悪期・慢性期の病態において関与することが強調されてきた。しかし今回の結果は、黄色ブドウ球菌は乳児アトピー性皮膚炎の病期において、より早期の発症期、あるいは発症準備期より病態形成に関与する可能性を示している（図3）。

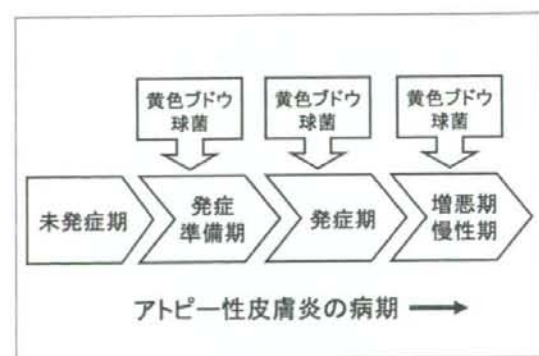


図3 アトピー性皮膚炎の病期における黄色ブドウ球菌の役割

黄色ブドウ球菌の毒素検出率は、個々の毒素の検出率、何れかの毒素が検出された頻度に、4か月と1歳6か月の比較において差異は認められなかった。黄色ブドウ球菌の検出された集団において、何れかの毒素が検出された頻度をアトピー性皮膚炎の重症度別に解析した結果、4か月ではアトピー性皮膚炎の重症度と毒素検出率に正の相関を認めた。すなわち、4か月においてアトピー性皮膚炎のない児における毒素の検出率は22%であったのに対し、軽症、中等症、重症・最重症のアトピー性皮膚炎児における黄色ブドウ球菌の検出率は、それぞれ33%、46%、75%であった。一方、1歳6か月においてはこのような関連は認められず、アトピー性皮膚炎なし、軽症、中等症での黄色ブドウ球菌の検出率は、それぞれ、41%、33%、38%であった。毒素の検出とその後のアトピー性皮膚炎発症には関連を認めなかったことと併せると、乳児アトピー性皮膚炎の発症には黄色ブドウ球菌毒素の有無よりも菌体の有無がより重要と考えられる。

そこで、黄色ブドウ球菌の皮膚定着の危険因子について解析したところ、母親にアトピー性皮膚炎歴がある場合に児の黄色ブドウ球菌検出率が有意に高率であることがわかった。すなわち、4か月における黄色ブドウ球菌検出率は母親のアトピー性皮膚炎歴のない群において16%であったのに対し、母親にアトピー性皮膚炎歴のある群においては30%であった。同様に1歳6か月における黄色ブドウ球菌の検出率は、それぞれ13%、40%であった。しかしながら、父親のアトピー性皮膚炎歴による検出率の差異は認めなかった。母親のアトピー性皮膚炎は児のアトピー性皮膚炎と関連があるため、児のアトピー性皮膚炎の有無により群分けした上での解析を行ったところ、児の症状の有無に関わりなくいずれの比較においても、母親にアトピー性皮膚炎歴がある群の菌数が多い傾向があった。この結果は、児の黄色ブドウ球菌定着には、母親のアトピー性皮膚炎歴が関連することを示唆している。この背景には、母親に黄色ブドウ球菌を定着させやすい遺伝因子が関与する可能性と、母親にアトピー性皮膚炎があるために、母親が黄色ブドウ球菌の持続的な供給源となっている可能性とが考えられる。しかし、今回の研究では母親のアトピー性皮膚炎の既往についてのみチェックしており、母親のアトピー性皮膚炎の活動性の有無や重症度、皮膚黄色ブドウ球菌についての検討を行っていない。したがって、後者の関与の可能性についてはさらなる検討を要する。

乳児アトピー性皮膚炎の発症予防手段 (図4)

以上のわれわれのデータをまとめ、乳児アトピー性皮膚炎の発症予防について考察する。第一に、乳児期の黄色ブドウ球菌の皮膚への定着はアトピー性皮膚炎の重症度と関連するだけでなく、後の発症にも関与することから黄色ブドウ球菌の定着防止は乳児アトピー性皮膚炎発症予防の有効な手段となる可能性がある。第二に、SE および TSST-1 は、4 か月において重症度との関連が認められたが1歳6か月においては関連が認められなかったことから、一般集団における検出率の低さと併せ、予防のターゲットとするには限界があるものと思われる。ただし、すでにアトピー性皮膚炎を発症した児においては、これらの毒素による免疫刺激を阻止することで重症化を防止することはできるかもしれない。第三に、乳児の黄色ブドウ球菌の定着には母親のアトピー性皮膚炎歴が関連していた。アトピー性皮膚炎の湿疹部に認められる黄色ブドウ球菌の菌数は、ステロイド外用薬やタクロリムス軟膏の使用により減少する^{17,18)}。したがって、母親に活動性のあるアトピー性皮膚炎がある場合には積極的な治療を行うことにより乳児への黄色ブドウ球菌曝露の機会が減少し、児の皮膚への黄色ブドウ球菌定着が防止できる可能性がある。

アトピー性皮膚炎患者の湿疹部顆粒層においては fibronectin が高発現しており、黄色ブドウ球菌は菌体表面に fibronectin 結合タンパクを介して皮膚に定着することが知られている¹⁹⁾。このタンパク質を阻害することで黄色ブドウ球菌の皮膚定着が阻止できることが示唆される。しかし一方では fibronectin は IL-4 依存性に誘導されるとの報告があり²⁰⁾、fibronectin は炎症の結果として発現するものと推察されることか

ら、湿疹のない乳児皮膚における標的分子としての意義は大きいとはいえないのではないかと考えられる。ただし、湿疹発症早期にステロイド外用薬を使用することで IL-4 産生を抑制し fibronectin 発現誘導を防止する戦略は、少なくとも乳児アトピー性皮膚炎の重症化予防には有効であろう。

黄色ブドウ球菌の定着を防止するためには、抗菌ペプチドの活性化あるいは産生促進が有効であると考えられる。 β -defensin や cathelicidin は高い pH では活性が低下する²¹⁾。従って、適切なスキンケアにより乳児の皮膚 pH を弱酸性に保つことには予防的意義があると考えられる。また、cathelicidin は Vitamin D により誘導されることが明らかとなっていることから²²⁾、Vitamin D の積極的摂取あるいは適度な日光浴を行うことにも予防的意義があるかもしれない。

保湿剤の使用は乾燥しやすい乳児の皮膚の保湿性を補うだけでなく、セラミドや遊離脂肪酸などの細胞間脂質を保持し、皮膚の角質構造を維持する。細胞間脂質には抗菌活性があることを示唆する報告があり²²⁾、細胞間脂質の保持や補充は黄色ブドウ球菌の定着防止の観点からも有用である可能性がある。入浴、洗浄料は古くなった角質、皮脂、汗、細菌を洗い流し皮膚を清潔にする一方で、方法を誤れば皮膚の細胞間脂質を奪うことにもなる。したがって、生後早期からの適切なスキンケア指導は、黄色ブドウ球菌の皮膚定着を防止するためには必須であると考えられる。

このように、皮膚の免疫異常、抗菌バリア機能、皮膚構造バリア機能は相互に関連し、黄色ブドウ球菌の皮膚定着に関与することから、黄色ブドウ球菌を標的とした乳児アトピー性皮膚炎の発症予防には、菌体の皮膚定着を直接阻害する以外の手段を含めた包括的アプローチが必要であると考えられる。乳児アトピー性皮膚炎発症予防を目的とした介入試験において黄色ブドウ球菌の皮膚定着を併せて評価することにより、乳児アトピー性皮膚炎発症における皮膚黄色ブドウ球菌の役割がより明らかになると期待される。

謝 辞

本発表の内容は、以下の研究者との共同研究である。
千葉大学大学院医学研究院小児病態学
富板美奈子、井上祐三朗、上原直毅、中矢真裕子
千葉市環境保健研究所
池上 宏、秋葉容子



図4 乳児アトピー性皮膚炎発症予防のための介入手段

千葉大学医学部附属病院検査部

渡邊正治

千葉市保健所

石川 洋

文 献

- 1) Elias PM, Hatano Y, Williams ML. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: outside-inside-outside pathogenic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jun;121(6):1337-43.
- 2) Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, et al. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol*. 2002 Jul;3(7):673-80.
- 3) Nomura T, Sandilands A, Akiyama M, Liao H, Evans AT, Sakai K, et al. Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Feb;119(2):434-40.
- 4) Laouini D, Kawamoto S, Yalcindag A, Bryce P, Mizoguchi E, Oettgen H, et al. Epicutaneous sensitization with superantigen induces allergic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Nov;112(5):981-7.
- 5) Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, et al. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2002 Oct 10; 347(15):1151-60.
- 6) Howell MD, Gallo RL, Boguniewicz M, Jones JF, Wong C, Streib JE, et al. Cytokine milieu of atopic dermatitis skin subverts the innate immune response to vaccinia virus. *Immunity*. 2006 Mar; 24(3):341-8.
- 7) Kisich KO, Carspecken CW, Fieve S, Boguniewicz M, Leung DY. Defective killing of *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis is associated with reduced mobilization of human beta-defensin-3. *J Allergy Clin Immunol*. 2008 Jul;122(1):62-8.
- 8) Clarke SR, Mohamed R, Bian L, Routh AF, Kokai-Kun JF, Mond JJ, et al. The *Staphylococcus aureus* surface protein IsdA mediates resistance to innate defenses of human skin. *Cell Host Microbe*. 2007 May 17;1(3):199-212.
- 9) Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Ichikawa Y, Imokawa G. Decreased levels of sphingosine, a natural antimicrobial agent, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatitis to colonization by *Staphylococcus aureus*. *J Invest Dermatol*. 2002 Aug;119(2):433-9.
- 10) Motala C, Potter PC, Weinberg EG, Malherbe D, Hughes J. Anti-*Staphylococcus aureus*-specific IgE in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1986 Oct;78(4 Pt 1):583-9.
- 11) Bunikowski R, Mielke M, Skarabis H, Herz U, Bergmann RL, Wahn U, et al. Prevalence and role of serum IgE antibodies to the *Staphylococcus aureus*-derived superantigens SEA and SEB in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 Jan;103(1 Pt 1):119-24.
- 12) Strickland I, Hauk PJ, Trumble AE, Picker LJ, Leung DY. Evidence for superantigen involvement in skin homing of T cells in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 1999 Feb;112(2): 249-53.
- 13) Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, Pivarcsi A, Soto H, Kemeny L, et al. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Feb;117(2):411-7.
- 14) Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2008 Apr 3;358(14):1483-94.
- 15) Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 1974 May;90(5):525-30.
- 16) Bunikowski R, Mielke ME, Skarabis H, Worm M, Anagnostopoulos I, Kolde G, et al. Evidence for a disease-promoting effect of *Staphylococcus aureus*-derived exotoxins in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Apr;105(4):814-9.
- 17) Nilsson EJ, Henning CG, Magnusson J. Topical corticosteroids and *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*. 1992 Jul; 27(1):29-34.
- 18) Remitz A, Kyllonen H, Granlund H, Reitamo S. Tacrolimus ointment reduces staphylococcal colonization of atopic dermatitis lesions. *J Allergy*

- Clin Immunol. 2001 Jan;107(1):196-7.
- 19) Cho SH, Strickland I, Boguniewicz M, Leung DY. Fibronectin and fibrinogen contribute to the enhanced binding of Staphylococcus aureus to atopic skin. J Allergy Clin Immunol. 2001 Aug; 108(2):269-74.
- 20) Cho SH, Strickland I, Tomkinson A, Fehring AP, Gelfand EW, Leung DY. Preferential binding of Staphylococcus aureus to skin sites of Th2-mediated inflammation in a murine model. J Invest Dermatol. 2001 May;116(5):658-63.
- 21) Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. J Immunol. 2004 Sep 1;173(5): 2909-12.
- 22) Bibel DJ, Aly R, Shah S, Shinefield HR. Sphingosines: antimicrobial barriers of the skin. Acta Derm Venereol. 1993 Dec;73(6):407-11.

CUTANEOUS COLONIZATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS
AND THE DEVELOPMENT OF ATOPIC DERMATITIS IN INFANCY

Suzuki Shuichi¹⁾, Naoki Shimojo²⁾, Takayasu Arima²⁾, Yoichi Kohno²⁾

*Department of Allergy, National Shimoshizu Hospital¹⁾,
Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Chiba University²⁾*

Abstract

To elucidate a role of staphylococcus aureus colonized on the skin in infancy, we performed population based study in Chiba city, in which we examined all the infants who attended regular health check up at 4 months of age for presence and severity of atopic dermatitis and performed skin culture of staphylococcus aureus on the cheeks, then followed them at 18 months and 3 years of age. At 4 months and 18 months of age, frequency of staphylococcal colonization was associated with severity of atopic dermatitis. In addition, staphylococcal colonization in infants without atopic dermatitis was associated with the development of atopic dermatitis in later life. These results suggest that cutaneous colonization with staphylococcus aureus may be involved in not only the increased severity of atopic dermatitis but also the development of the disease in young children. Thus, inhibition of staphylococcus aureus colonization on the skin may be a candidate for prevention of atopic dermatitis in early childhood.

Key words : infants, atopic dermatitis, staphylococcus aureus

母と子のアレルギー

母乳とアレルギー

千葉大学大学院医学研究院小児病態学 しも じょう なお き
下 条 直 樹

キーワード 母乳、アレルギー、食物除去、感作、食品

はじめに

お母さんや上のお子さんがアレルギーであったりする時に、妊娠中あるいは授乳中のお母さんの食物除去について尋ねられることは少なくない。例えば、①妊娠中あるいは授乳中の母体のアレルゲン除去は児のアレルギー発症予防に効果があるのか？②母乳栄養の乳児に湿疹があるときに母親の食物除去は必要か？などである。われわれが現在行っている乳児期栄養法と児のアレルギー発症に関する前方視的調査で、妊娠中の母体の何らかの食物除去率は、アレルギーがある母体では410名中30名(7.3%)に対してアレルギーのない母体では217名中6名(2.8%)と有意に少ない($p=0.02$)という結果が得られている。除去を行っている母親の大部分において除去は医師から指示されておらず、自己判断によって妊娠中の食物除去を行っているケースが少なくないと考えられる。乳児期の栄養法についても海老澤らは相模原市の疫学調査をもとに、医師の診断ではなく自己判断による食物除去が多く行われている可能性を指摘している。このように、まだまだ多くの母親が客観的な情報ではなく口コミなどによって妊娠中、授乳中の食事を考えていると思われる。妊娠中の母体の食事や乳児期の栄養法とアレルギー発症予防の関連については、エビデンスに基づいた指針の作成とその普及が必要である。本稿は「母乳とアレルギー」というテーマで、主に出生後の乳児栄養法と児のアレルギーの関連を中心に現在の知見を整理してみたい。

1. 母乳栄養はアレルギーを予防できるか？ ～母乳栄養と児のアレルギー疾患に 関する疫学調査～

古くから非常に多くの疫学研究が行われてきている。これらの報告を評価するときには個々の研究で対象、評価項目、方法などが大きく異なることに注意しなくてはならない。例えば後方視的調査では母親に栄養法を思い出してもらうので栄養法が正確でないことが多い。わが国での調査の多くは児が成長してからの母親へのアンケートであることから栄養法が正確でない。さらに母親はずっと母乳栄養と書いていても実際には出産後数日間に少量の人工乳を与えられていることがまれではない。また一口にアレルギーといっても食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎と複数のアレルギー疾患があり、それぞれ発症機序が異なることから、どのような疾患を評価項目としたかによっても結果が変わってくる。また栄養法を完全母乳栄養、混合栄養、人工栄養でわけける方法の他に、摂取した人工乳の量や完全母乳の期間などをとに解析することもある。対象が家族歴にアレルギーを有する妊婦か家族歴のない妊婦も含めた一般集団なのかにより結果が異なる。現在までに発表された報告には、①母乳栄養がアレルギーに予防的に働く、②母乳栄養はアレルギー発症を促進する、③母乳栄養とアレルギーと関連がない、の三つの全てがある。しかし、上記のような理由でそれぞれの調査同士を比較することは簡単ではない。そこで、複数の研

究を吟味して一定の基準を満たしており解析が可能と考えられる研究を集めてのメタ解析が行われている。

1) アトピー性皮膚炎：2001年に Gdalevich らにより発表された、母乳栄養と乳児期のアトピー性皮膚炎発症の関連を前方視的に調査した18の研究のメタ解析によれば、生後3か月までの完全母乳栄養は乳児期のアトピー性皮膚炎の発症を抑制し、特にその効果はアレルギーの家族歴を持つ児において認められている¹⁾。2005年にスウェーデンから発表された二つのメタ解析では一つが母乳栄養はアトピー性皮膚炎発症を抑制すると、もう一つは関係がなかったとしている。単独の調査としては、最近ドイツにおいて施行されたアレルギー発症ハイリスク児を対象とする大規模な介入試験の成績が最も信頼度が高いと考えられる。これはアレルギー発症ハイリスク児を対象として、原則として完全母乳栄養とし生後4か月までに人工乳を与える場合に、3種の加水分解乳と通常の調整粉乳の4群に無作為に分けた前方視的二重盲検による介入研究である²⁾。従来の研究の大部分が観察研究であるのに対し本研究は介入研究である点が優れた特徴である。1歳までのアトピー性皮膚炎の発症率は、完全母乳で9.5%、母乳+加水分解乳で9.8%、母乳+調整粉乳で14.8%であった。すなわち、完全母乳または母乳に加水分解乳を加えた場合には母乳に調整粉乳を足した場合に比較してアトピー性皮膚炎の発症率が3分の2になり、完全母乳と母乳に加水分解乳を加えた場合には差がなかったことになる。一方、児のアレルギー発症のリスクが高くない場合には（児の父母あるいは兄弟にアレルギー疾患がない）、完全母乳によるアトピー性皮膚炎発症の予防効果は期待できないと考えられている。

2) 気管支喘息：2001年に Gdalevich らにより発表された、母乳栄養と気管支喘息との関連を前方視的に調査した12の研究のメタ解析によれば、生後3か月までの完全母乳栄養は2～5歳での気管支喘息の発症を抑制するが、その効果はアレルギーの家族歴を持つ児においてのみ認められてい

る³⁾。しかし、その後に発表された Cochrane review によるメタ解析では生後3か月までの母乳栄養と気管支喘息発症には関連が認められていない。アメリカアリゾナ州で行われた出生コホート調査では、母親に喘息がある児が4か月以上母乳栄養であった場合には13歳での喘息発症のオッズ比が8.7と非常に高率であった⁴⁾。ニュージーランドでの同様の調査では4週間以上母乳栄養であった児は9歳での喘息発症のオッズ比が2.4とやはり高かった⁵⁾。すなわち母乳栄養の方が喘息発症のリスクが高いという結果であり、少なくとも母乳栄養が気管支喘息の発症に対して抑制的であるとの証拠は得られていない。

3) 食物アレルギー：多くの食物アレルギーは乳幼児期に発症し、しばしばアトピー性皮膚炎など他のアレルギー疾患を合併する。そのため、母乳栄養の食物アレルギーの発症に対する予防効果については解析が簡単ではない。Muraro らのメタ解析では4か月までの完全母乳栄養は1歳半までの牛乳アレルギーの発症を予防する効果があるとしている⁶⁾。一方、Cochrane review では4か月までの完全母乳によって1歳までの食物アレルギーの予防はできないと結論している⁷⁾。このように現在のところ、母乳栄養による食物アレルギーの発症予防効果については結論がでていない。

2. 授乳中の母体の食物制限はアレルギー予防に有効か？

授乳中の母親の食事制限と児のアレルギー発症との関連についても複数の研究が行われている。アレルギーの家族歴がある児を対象とし、母親が授乳中は卵、牛乳、魚、ピーナッツ、大豆を除去して母乳を与える群と普通ミルク、加水分解乳、大豆乳を与える群それぞれとの比較検討を行ったところ、母親が食物除去をして母乳を与えた群で1歳半の時点でのアトピー性皮膚炎の発症率が最も低かったという報告がある⁸⁾。一方、アレルギー家族歴や脐帯血 IgE 値などからハイリスクと考えられる児を対象とし、授乳中の母親と児が卵、牛乳、魚を除去したところ、4歳の時点では