

■研究・実践の課題（テーマ）

食物アレルギーと腸内細菌叢の関連

■主任研究者 藤木理代

■共同研究者 福安智哉

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

【背景および目的】

近年わが国で食物アレルギー患者は増加傾向にある。アレルギー発症に影響を及ぼす因子として、腸内細菌叢の研究が盛んに行われている。食物アレルギー児では腸内細菌の多様性が低いこと、酪酸生成菌や、*Bifidobacterium* が少ないことなどが報告されている。しかし、それらの報告には必ずしも一貫性がなく、論文によって菌叢の傾向が異なる。そのため腸内細菌への介入によるアレルギー療養はエビデンスが不足しているのが現状である。そこで我々は特にアレルゲン別の腸内細菌叢の特徴に着目し解析した。

【対象】

書面にて説明、承諾を得た 1~17 歳の、男性 26 人、女性 18 人、計 44 人（内、乳アレルギー 5 名、卵アレルギー 3 人、乳・卵アレルギー 9 人）を対象とした。

【方法】

対象の便サンプル 0.2g から ISOFE CAL for Beads Beating(NIPPON GENE)を使用し腸内細菌の DNA を採取した。16s rDNA 遺伝子配列 v3-v4 の菌種共通領域に設計したプライマーを用いて PCR 法にて 16s r DNA を増幅した。増幅サンプルを次世代シーケンサー(MiSeq、イルミナ社)で解析し、菌種特異的領域から解読されたデータを遺伝子解析ソフト mothur(ver1.43)で解析した。統計解析には R(ver4.2.2)、vegan、phyloseq パッケージを使用した。

【結果】

アレルギー群と健常者群の比較において、 α 多様性解析(指標:ACE、Simpson、InvSimpson)にて Mann-Whitney U test により、有意差検定を行ったところ、群間に有意差はなかった。また、 β 多様性解析(Bray-Curtis 指数)においても有意差を認めなかった。LEFSe 解析による個々の菌の割合にも違いは見られなかった。

各アレルゲン患者群、健常者群の比較において、多様性解析(指標:ACE、Simpson、InvSimpson)にて Mann-Whitney U test により、有意差検定を行ったところ、群間に有意差はなかった。また、 β 多様性解析(Bray-Curtis 指数)においても有意差を認めなかった。LEFSe 解析にて、LDA SCORE(log10)>3、 $p<0.05$ の条件で解析した所、健常者群と乳アレルギー群を比較すると、健常者群では、*Acidaminococcus*、*Tepidisphaerales* 等の菌が多いという特徴があった。健常者群と、卵アレルギー群で比較すると、卵アレルギー

群では、Howardella、Coprococcus、Bacteria 等の菌が多いという特徴があった。乳・卵アレルギー群と乳アレルギー群で比較を行うと、乳アレルギー群では、Acidaminococcus、Lactobacillus 等の菌が多いという特徴があった。乳・卵アレルギー群と卵アレルギー群で比較を行うと、卵アレルギー群では、Howardella、Coprococcus 等の菌が多いという特徴があった。卵アレルギー群と乳アレルギー群で比較を行うと、卵アレルギー群では、Coprococcus、Bacteria、Bifidobacteriaceae 等の菌が多いという特徴があった。

【考察】

今回の結果では、乳または卵アレルギー患者と健常者間で腸内細菌叢 (α および β 多様性) および個々の菌の割合に違いは見られなかった。これは、他の先行研究と異なっている。しかし、乳単独、卵単独、乳と卵の合併それぞれに、いくつかの菌の有意な増減が見受けられた。このことから、アレルゲンの違いによって独特な菌叢が作り出されている可能性が示された。今後、更に検体数を増やしてアレルゲン別に菌叢解析を行う必要がある。また、菌叢には食事の影響もあるため、食生活との関係を調査する必要がある。

本研究では、他の研究では報告されていない菌種に有意差を認めた。これは、検体の特性による差だけではなく、菌叢解析に用いたパラメーター設定等の方法の違いによって生じている可能性がある。近年腸内細菌叢解析が盛んに行われ多くの論文が報告されているが、解析のパラメーターは統一されていない。解析時には目的に応じたパラメーターの設定と論文発表時には詳細な方法の記述が必要である。