
ランチオンセミナー

Hygiene hypothesisに基づくアレルギー発症に 対する腸内フローラ介入の効果

古賀 泰裕

東海大学医学部教授

Role of Intestinal Flora in Allergy Development - The Effect of 1-Kestose on the Growth of Bifidobacteria -

Yasuhiro KOGA, M.D.

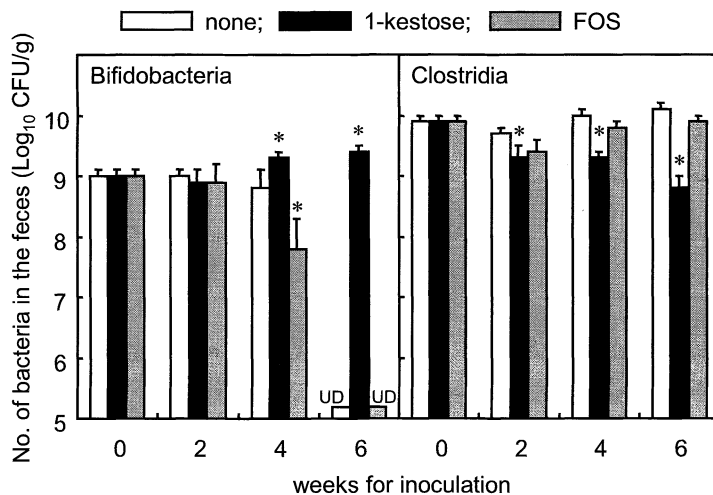
Laboratory for Infectious Diseases, Tokai University School of Medicine

A synthetic mixture of fructo-oligosaccharides (mFOS), consisting largely of nystose (GF₃) and a lesser amount of 1-kestose (GF₂) has been reported to be selectively utilized by bifidobacteria. In the present study, we tried to identify which fructo-oligosaccharide molecule in mFOS is really involved in the stimulation of bifidobacteria in the gut, using both the gnotobiotic murine model and *in vitro* culture. 1-Kestose administration to gnotobiotic mice that were associated with human fecal microbiota significantly increased the number of bifidobacteria while mFOS administration was unable to sustain bifidobacteria in these hosts. Moreover a simultaneous decrease in the number of clostridia was found in host mice administered 1-kestose but not in those administered mFOS. The acetate/propionate ratio in the feces was far higher in host mice administered 1-kestose than in those administered mFOS, suggesting the selective growth activation of bifidobacteria by 1-kestose. The culture study demonstrated that 1-kestose exerts a strong growth-stimulating activity on bifidobacteria but a negligible one on clostridia. On the other hand, nystose was able to stimulate clostridia if the clostridia were exposed to nystose for some time. These results suggest the superiority of 1-kestose to mFOS, which consists largely of nystose, in the selective stimulating activity on bifidobacteria.

アトピー性皮膚炎，食物アレルギー，花粉症，気管支喘息などのアレルギー疾患の原因として遺伝的要因に加え様々な環境要因が指摘されているが，その中で乳幼児期に感染症に罹患する機会が減少したためとする，いわゆる“hygiene hypothesis”は注目を集めている．Shirakawaら¹⁾は疫学的に，小児期のツベルクリン反応陽性すなわち

結核菌への曝露は，その後のアトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患発症予防につながることを証明した．またHopkin²⁾らの疫学調査は3つのアレルギー発症の危険因子，1) 母親にアレルギー疾患があること，2) 百日咳ワクチン接種の既往があること，3) 生後2歳までの間に抗生物質投与を受けたこと，をあげている．抗生物質は腸内

Table 1



フローラの破壊につながり、アレルギー発症の誘因になると述べている。腸内フローラを構成する常在腸内細菌群も乳幼児期には病原微生物と並んでアレルギー予防に重要であることを、hygiene hypothesisは指摘している。この考え方を支持する実験結果をSudoら³⁾が報告している。すなわち、3週令の幼若マウスに抗生物質カナマイシンを経口投与して腸内フローラを除く処置を行うと、免疫系がアレルギーを発症しやすくなるTh2優位に傾き血中IgEが上昇した。さらにこの抗生物質投与により腸内フローラが除かれたマウスに種々の腸内細菌を経口投与して腸内フローラを再建したところ、乳酸桿菌や腸球菌などプロバイオティクスとしても使用されている菌種ではTh2優位が是正されたが、成人腸内フローラの再優勢菌種であるバクテロイデス属菌では改善効果はなかった。

新生児の腸内フローラ構成とその後のアレルギー発症との関係を北欧で2年間にわたり観察した報告⁴⁾では、2歳の時点でアレルギーを発症していた児では健康児に比べ、生後1ヶ月の時点で腸球菌が少なく、生後1ヶ月の時点ではビフィズス菌が少なかった。一方、3ヶ月の時点でクロストリジウム属の菌が多く、6ヶ月の時点でブドウ球菌が多かった。またアレルギー発症予防に働く

と考えられるビフィズス菌においてもアレルギー児では成人に多く認められるビフィズス菌種(たとえば*B. adolescentis*)が優勢であったのに対し、健康児では乳幼児期に多数みつかるとともにビフィズス菌種(*B. breve*など)が優位を占めていた⁵⁾。このように乳幼児期における腸内フローラを構成する細菌種の違いがアレルギー発症の有無に大きく関与することを示唆している。

2001年、Kalliomakiら⁶⁾は乳酸桿菌を投与して腸内フローラを改善しておけば、アトピー性皮膚炎の発症率が約半分に低下することを報告した。またRosenfeldtら⁷⁾も最近の報告で、乳酸桿菌を投与することでアトピー性皮膚炎の症状が統計学上、有意に改善することを発表している。これらの結果は、新生児期から乳幼児期にいたる生後早期の間の腸内フローラを健全に維持しておけば、その後のアレルギー発症の予防あるいは症状緩解につながることを示唆するものである。

これらのビフィズス菌や乳酸桿菌などのように生体に有益な効果を及ぼす菌群はプロバイオティクスと呼ばれる。しかし、プロバイオティクスは生体にとっては外来の菌であるため服用しても腸内に定着せず大部分は消化管を素通りしてしまうため効果は一過性と考えられる。また生きた菌であるため製品の品質管理に手がかり製品形態も

限定されてしまう。

一方、プレバイオティクスは腸内にもともと棲息している内在性のビフィズス菌などを増やし活性化する物質で、オリゴ糖はその代表である。野菜、果物はオリゴ糖を多く含む食物であるが、ヒト乳にもオリゴ糖は12g/L（初乳では20g/L）と乳糖、乳脂肪に次いで多く含まれる。この事は、オリゴ糖が乳児の健全な腸内環境の維持に重要な役割を果たしている事を示唆する。従って、オリゴ糖はその効果が体内で持続しプロバイオティクスに上回る効果をとくに乳児において発揮すると期待されるが、これまで述べてきたような、アトピー性皮膚炎などに対する本格的な臨床試験の報告はこれまでのところまだない。オリゴ糖の中で最も多く研究され使用実績があるのがフラクトオリゴ糖である。現在、市場に出回っているフラクトオリゴ糖は、glucose-fructose-fructose (GF2, ケストース), GF 3 (ニストース), GF 4 の混合物でその中でもニストースが主成分となっている。

これに対して、ケストース純品は我々のこれまでの検討でフラクトオリゴ糖混合物に比べ、ビフィズス菌への増殖促進および活性化作用がはるかに大きいことが動物実験 (Table 1) および試験管内実験 (Table 2) で明らかとなった⁸⁾。ケストースは自然界ではタマネギ、アスパラガス、バナナなどに多くふくまれる。合成されたケストースは商品として一部で流通しているが、その安全性はヒト試験で確認されている。以上の状況から、プレバイオティクスであるケストースのアトピー性皮膚炎に対する発症予防あるいは症状緩解効果をヒト臨床試験により検討することは時宜にかなったものであり、大きな成果が期待される。しかし、ケストースのこの領域における臨床知見はまだほとんどないため、まずオープン試験を試みた。すなわち、アトピー性皮膚炎に罹患し通院中の被験者13名に、ケストースを12週間連日投与した。被験者は生後5ヶ月から3歳までの乳幼児 (平均月齢21ヶ月) で、このうち1歳以下および1歳～3歳の被験者には、1日あたりそれぞれ1gおよび2gのケストースを経口投与した。そして皮膚科専門医が経口投与前と投与12週間後に皮疹の程度を臨床評価した。評価法は背面、腹面、顔、上肢、下肢の各部位の皮疹重症度を5段階評価するもので、最重症では合計25点となる。その結果、投与前の全被験者の平均値9.2点が投与後には2.5点とScheffe検定で有意に ($p=0.022$) 改善した。また同時に採取した糞便中のビフィズス菌数の平均値も9.3 (LogCFU/g feces) から10.3へと有意に ($p=0.026$) 増加していた。以上の結果は、プレバイオティクス、ケストースのアトピー性皮膚炎に対する有効性を強く示唆するものであり、今後の本格的な臨床検討が望まれる。

Table 2

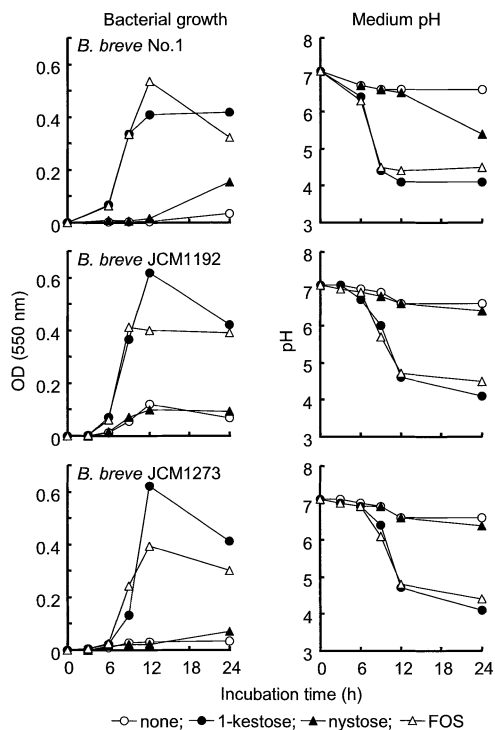


Table 1 ヒト腸内細菌叢再建マウスへのケストース投与

無菌マウスにヒト乳児糞便を経口投与して、マウス腸内にヒト腸内細菌叢を再建した。このマウスから成る各群 ($n=10$) に、ケストース25mg,

あるいはFOS (fructo-oligosaccharides mixture; ケストースおよびニストースを約1:2の割合で含む) 25 mgを連日6週間継続投与した。投与開始時(0週), 2, 4, 6週間後にマウス糞便1g内のビフィズス菌およびクロストリジウム属菌数を測定した。コントロールとして非投与群(none)を置いた。

Table2 ビフィズス菌培養系へのケストースの添加
ケストース, ニストース, あるいはFOSを1.0% (W/V) 添加したEG培地(日水製薬)に, 図に示した各ビフィズス菌株を 10^7 CFU/mLの濃度で加え37°Cで24時間培養した。コントロールとして非添加培地にも同様にビフィズス菌を加えた(none)。開始時(0)から経時的に培養菌液を採取し, 菌数および菌代謝活性を, それぞれOD値および培養液pHにより測定した。

参 考 文 献

- 1) Shirakawa T. et al : The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 275 : 77, 1997
- 2) Hopkin J.M. : Mechanisms of enhanced prevalence of asthma and atopy in developed countries. *Curr. Opin. Immunol.* 9 : 788, 1997.
- 3) Sudo N. et al : An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th 2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice. *Clin. Exp. Allergy* 32 : 1112, 2002.
- 4) Bjorksten B. et al : Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108 : 516, 2001.
- 5) Ouwehand A.C. et al : Differences in Bifidobacterium flora composition in allergy and healthy infants. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 108 : 144, 2001.
- 6) Kalliomaki M. et al : Probiotics in primary prevention of atopic diseases : a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 357 : 1076, 2001.
- 7) Rosenfeldt V. et al : Effect of probiotic Lactobacillus strains in children with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 111 : 389, 2003.
- 8) Suzuki N. et al : Superiority of 1-kestose, the smallest fructo-oligosaccharide, to a synthetic mixture of fructo-oligosaccharides in the selective stimulating activity on bifidobacteria. *Bio-science Microflora* 25 : 109, 2006.

連絡先：古賀 泰裕
〒259-1193
神奈川県伊勢原市望星台
東海大学医学部感染症研究室
TEL 0463-93-1121 内線2591
FAX 0463-94-2976
E-mail yasuhira@is.icc.u-tokai.ac.jp