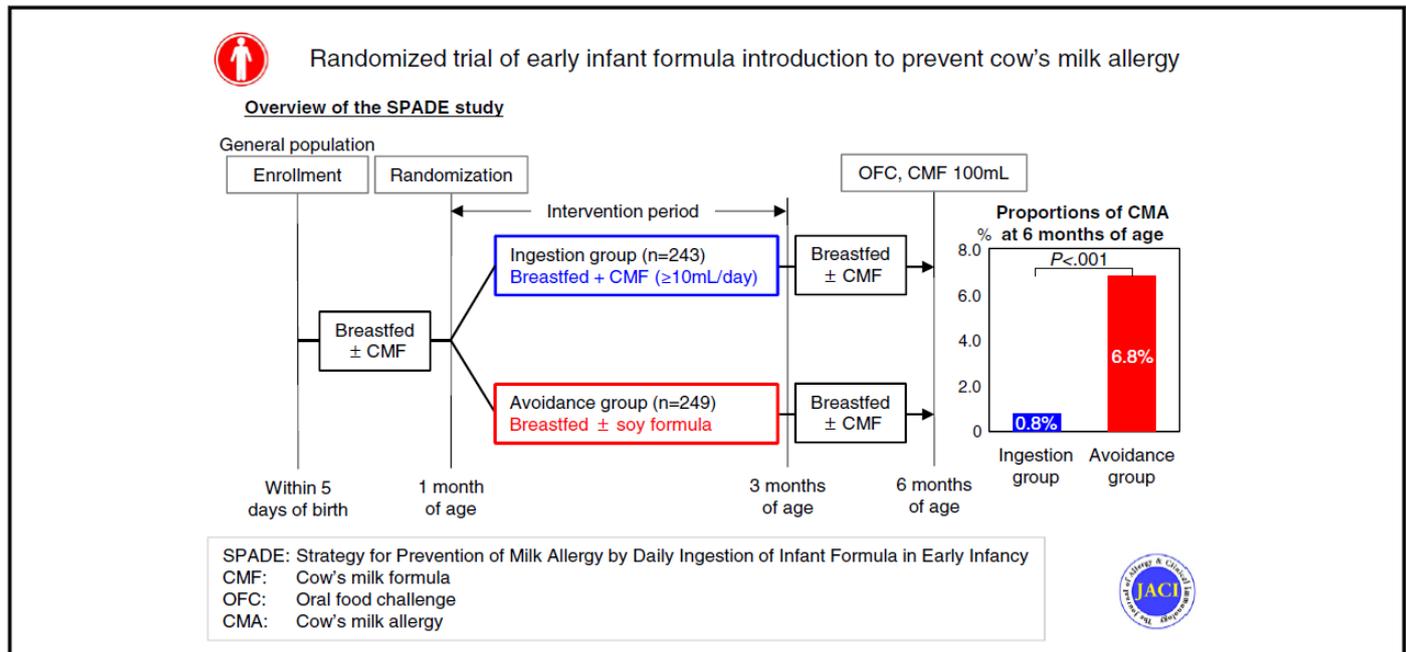


Randomized trial of early infant formula introduction to prevent cow's milk allergy

Tetsuhiro Sakihara, MD,^a Kenta Otsuji, MD,^b Yohei Arakaki, MD,^c Kazuya Hamada, MD,^d Shiro Sugiura, MD, MPH, PhD,^e and Komei Ito, MD, PhD^e
(*JAllergy Clin Immunol* 2020)



Background: Previous research has produced conflicting evidence on the preventive effects of early introduction of cow's milk protein on cow's milk allergy (CMA).

Objective: Through a randomized controlled trial, we sought to determine whether the early introduction of cow's milk formula (CMF) could serve as an effective strategy in the primary prevention of CMA in a general population.

Methods: We recruited newborns from 4 hospitals in Okinawa, Japan. Participants were randomly allocated to ingest at least 10 mL of CMF daily (ingestion group) or avoid CMF (avoidance group) between 1 and 2 months of age. In the avoidance group breast-feeding was supplemented with soy formula as needed. Oral food challenge was performed at 6 months of age to assess CMA development. Continuous breast-feeding was recommended for both groups until 6 months of age.

Results: We identified 504 infants for randomization into the 2 groups. In all, the parents of 12 participants declined to receive the intervention, and the study sample comprised 491 participants (242 in the ingestion group and 249 in the avoidance group) for a modified intention-to-treat analysis. There were 2 CMA cases (0.8%) among the 242 members of the ingestion group and 17 CMA cases (6.8%) among the 249 participants in the avoidance group (risk ratio 5 0.12; 95%

CI 5 0.01-0.50; $P < .001$). The risk difference was 6.0% (95% CI 5 2.7-9.3). Approximately 70% of the participants in both groups were still being breast-fed at 6 months of age.

Conclusions: Daily ingestion of CMF between 1 and 2 months of age prevents CMA development. This strategy does not compete with breast-feeding.

背景：以前の研究では、牛乳タンパク質の早期導入が牛乳アレルギー（CMA）に及ぼす予防効果について

矛盾する証拠が得られた。

目的：ランダム化コントロール試験を通じて、人工乳（CMF）の早期導入が、一般集団における CMA の一次予防の効果的な戦略として役立つかどうかを調べた。

方法：沖縄の 4 つの病院から新生児を募集した。参加者は、**生後 1～2 か月の間に少なくとも 10 mL の CMF を毎日摂取する**（摂取グループ）か、CMF を回避する（回避グループ）ようにランダムに割り当てられた。回避グループでは、必要に応じて母乳育児に大豆製剤を補充した。CMA の発生を評価するために、生後 6 か月で経口食品チャレンジを実施しました。生後 6 か月まで、両方のグループに継続的な母乳育児が推奨された。

結果：504 人の乳児を 2 つのグループにランダム化した。12 人の参加者の親は介入を受けることを拒否し、研究サンプルは 491 人の参加者（摂取グループで 242 人、

修正された ITT 解析のための回避グループ）。摂取グループの 242 人のメンバーの中に 2 人の CMA ケース（0.8%）があり、回避グループの 249 人の参加者の中に 17 人の CMA ケース（6.8%）があった（リスク比 = 0.12; 95% CI = 0.01-0.50; P < .001）。リスク差は 6.0%（95% CI = 2.7-9.3）であった。両方のグループの参加者の約 70% は、生後 6 か月でまだ母乳で育てられていた。

結論：生後 1～2 か月の CMF を毎日摂取すると、CMA の発症が予防できる。この戦略は母乳育児と競合することはない。

Cow's milk allergy (CMA) is relatively common in early childhood, with an estimated prevalence of 0.5% to 4.9%^{1,2} and approximately 50% of children outgrowing their CMA within the first 5 years of life.^{3,4} In Japan, neonates and their mothers usually remain in maternity hospitals for 1 week after birth,

during which time a proportion of neonates are given cow's milk formula (CMF) if required. Because of the general recommendations for exclusive breast-feeding, CMF ingestion is frequently discontinued after hospital discharge. Some of these infants have an elevated risk of developing CMA with the introduction of baby

food containing cow's milk protein (CMP) or the reintroduction of CMF. Recent systematic reviews and a meta-analysis of randomized controlled trials (RCTs) have reported that the early introduction of allergenic foods can prevent development of the corresponding allergies.^{5,6} Similarly, observational studies have found that early CMP introduction was associated with a lower risk of CMA development.⁷⁻⁹ In 1 such study, exposure to CMP at age 15 to 94 days was associated with increased odds of CMA development when compared with exposure in the first 14 days of life.⁷ However, no RCTs have demonstrated the efficacy of early CMP exposure to prevent CMA development.^{5,6}

牛乳アレルギー（CMA）は幼児期に比較的一般的であり、推定有病率は 0.5% から 4.9%^{1,2} であり、子供の約 50% が生後 5 年以内に CMA がアウトグロウ（自然治癒）する^{3,4}。日本では、新生児母親は通常、出産後 1 週間は産科病院に滞在する。その間、必要に応じて、一部の新生児に人工乳（CMF）が与えられる。一般には完全母乳育児推奨のため、CMF の摂取は退院後に多くは中止される。これらの乳児の中には、牛乳タンパク質（CMP）を含む離乳食の導入または CMF の再導入により、CMA を発症するリスクが高いものがある。最近のシステミックレビューとランダム化コントロール試験（RCT）のメタアナリシスでは、ア

レルゲン食品の早期導入がアレルギーの発症を予防できると報告している^{5,6}。同様に、観察研究は、早期 CMP 導入がより低い牛乳アレルギー発症リスクと関連していることが発見された。⁷⁻⁹ 1つのそのような研究では、15~94日齢での CMP の投与は、生後14日間の投与と比較した場合、CMA 発症の確率の増加と関連していた⁷。しかし、RCT は CMA の発症を防ぐための早期 CMP 投与の有効性は示さなかった。^{5,6}

An RCT from Japan in 2019 showed that avoidance of CMP for the first 3 days of life suppressed milk sensitization and prevented CMA development at 2 years of age.¹⁰ However, previous RCTs have generally been limited by factors such as low adherence to diet regimens,¹¹ late intervention,¹² and lack of information about

the continuation of CMF ingestion.¹⁰ Accordingly, there is insufficient evidence of the CMA-preventive effects of early CMP introduction. To provide better evidence for the possible preventive effects of early CMF introduction, we designed and conducted an RCT that accounted for the timing of CMF introduction, adherence, ingestion duration, and ingestion quantities.

2019年の日本からの RCT は、生後3日間の CMP の回避が牛乳の感作を抑制し、2歳での CMA の発症を予防したことを示した¹⁰。しかし以前の RCT が一般に食事指導に対するアドヒアランスの低さ¹¹、遅い介入¹²、CMF 摂取の継続に関する情報の欠如¹⁰のような因子によって制限されてきた。したがって、早期 CMP 導入の CMA 予防効果のエビデンスは不十分である。初期の CMF 導入の予防効果の可能性についてより良いエビデンスを提供するために、CMF 導入のタイミング、順守、摂取期間、および摂取量を考慮した RCT を設計および実施した。

Here, we have reported the results of the Strategy for Prevention of Milk Allergy by Daily Ingestion of Infant Formula in Early Infancy (SPADE) study, which was a randomized controlled intervention study on infants recruited from the general Japanese population. This trial was designed to determine whether the early introduction of CMF could serve as an effective strategy in the primary prevention of cow's milk sensitization and allergy in a general population.

ここでは、一般日本人から募集した乳児を対象としたランダム化コントロール試験である乳児用調製粉乳の毎日の摂取による牛乳アレルギー予防戦略 (SPADE) 研究の結果を報告した。この試験は、CMF の早期導入が、一般集団における牛乳の感作とアレルギーの一次予防に効果的な戦略として役立つかどうかを判断するために設計された。

METHODS

Study design and participants

The SPADE study was a multicenter, open-label RCT (Fig 1). The trial recruited newborns within 5 days of birth from 4 hospitals in Okinawa, Japan (Heartlife Hospital, Okinawa Kyodo Hospital, Naha City Hospital, and University of the Ryukyus Hospital). The inclusion criteria were a gestational age of at least 35 weeks and a birth weight of at least 2000 g. Candidate participants were excluded if they had complications of any severe underlying diseases, and endocrine metabolic diseases). Written informed consent was obtained from each participant's parents at the time of enrollment. Shortly after the birth of the participating infants, all participating families received a standardized baseline questionnaire about the mother's elimination diet during pregnancy, parental smoking, pet ownership, and parental

history of atopy (including food allergy, bronchial asthma, atopic dermatitis, and allergic rhinitis). The mothers were advised to follow the Japanese Guidelines for Food Allergy 2017, which do not recommend food elimination as an allergy prevention measure for pregnant and lactating mothers.¹³ The investigators checked the daily quantity of CMF consumed by each participant on the basis of his or her medical record during the initial maternity hospitalization. Participants ingested CMF as required to supplement breast-feeding before 1 month of age. Adverse events and the daily quantities of CMF consumed were recorded in an event diary by parents, and physicians checked these diaries during monthly visits up until the participants reached 6 months of age.

研究デザインと参加者

SPADE 試験は多施設非盲検 RCT でした (図 1)。この試験では、沖縄の 4 つの病院 (ハートライフ病院、沖縄共同病院、那覇市民病院、琉球大学病院) で生まれた生後 5 日以内の新生児を募集した。選択基準は、在胎週数が 35 週以上、出生時体重が 2000g 以上であった。参加者候補者候補は、重篤な基礎疾患および内分泌代謝性疾患の合併症がある場合は除外された。書面によるインフォームドコンセントは、登録時に各参加者の両親から得られた。参加している乳児の誕生後すぐに、参加しているすべての家族は、妊娠中の母親の除去食、親の喫煙、ペットの所有、およびアトピーの親の病歴 (食物アレルギー、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎を含む) に関する標準化されたベースライン質問票を受け取った。母親は、妊娠中および授乳中の母親のアレルギー予防策として食物除去を推奨していない 2017 年の食物アレルギーに関する日本のガイドラインに従うようにアドバイスされた¹³。調査員は、各参加者が消費した CMF の 1 日量を最初の出産入院中の彼女の医療記録を基にチェックした。参加者は、生後 1 か月前に母乳育児を補うために必要に応じて CMF を摂取した。有害事象と消費された CMF の毎日の量は、両親によるイベント日記に記録され、医師は参加者が生後 6 か月に達するまで毎月の訪問中にこれらの日記をチェックした。

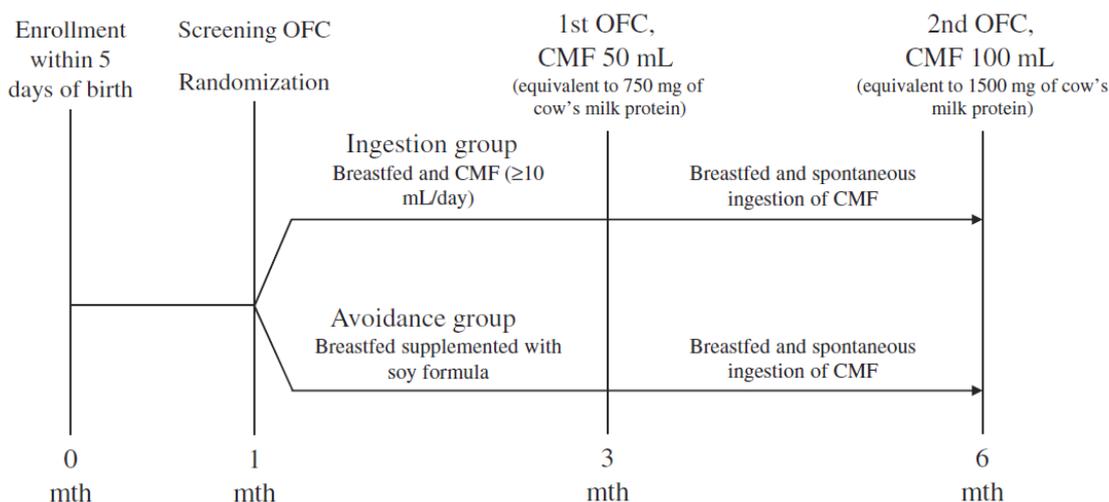


FIG 1. Study design. Infants in the ingestion group ingested at least 10 mL of CMF daily between 1 and 2 months of age. Infants in the avoidance group avoided CMF between 1 and 2 months of age. At 3 and 6 months of age, participants in both groups underwent OFCs with a total of 50 mL (first OFC) and 100 mL (second OFC) of CMF, respectively.

図 1. 研究デザイン。 摂取グループの乳児は、生後 1~2 か月の間に毎日少なくとも 10mL の CMF を摂取した。 回避グループの乳児は、生後 1~2 か月の CMF を回避した。 生後 3 か月と 6 か月で、両方のグループの参加者は、それぞれ合計 50 mL (最初の OFC) と 100 mL (2 番目の OFC) の CMF で OFC を受け

た。

Screening OFC

Screening oral food challenge (OFC) was performed on all participants at 1 month of age. Here, participants ingested 20mL of CMF at 1 time. Participants with a negative test result were randomly assigned to either the CMF ingestion group (designated the ingestion group) or the elimination group (avoidance group).

OFC のスクリーニング

経口食品チャレンジ (OFC) のスクリーニングは、生後 1 か月のすべての参加者に対して実施されました。ここでは、参加者は 20mL の CMF を 1 回摂取しました。テスト結果が陰性の参加者は、CMF 摂取グループ (摂取グループと指定) または回避グループのいずれかにランダムに割り当てられました。

Randomization and allocation

Participants were randomly assigned to the ingestion group or avoidance group in a 1:1 allocation ratio. The allocation plan was created by an investigator (T.S.) and carried out by using the block randomization method (block size 5/4). Assignments were based on a computer-generated random number table, and the results were orally communicated to the treating physicians and the participants' parents.

ランダム化と割り当て

配分計画は、調査員 (T.S.) によって作成され、ブロックランダム化手法のブロックサイズ 5/4) を使用して実行された。割り当てはコンピューターで生成された乱数表に基づいており、結果は治療を行う医師と参加者の両親に口頭で伝えられた。

Intervention

Participants in the ingestion group were assigned to ingest at least 10 mL of CMF (equivalent to 150 mg of CMP) daily between 1 and 2 months of age. This regimen specified a minimal average administration of CMF for at least 20 days per month with a maximum interruption of 1 week during the intervention period until the participant reached 3 months of age. There was no upper limit on CMF intake, and the participants' parents were to procure CMF as needed. Although the type of CMF was not specified, parents were instructed not to use hydrolyzed or amino acid-based formulas. Participants in the avoidance group were assigned to avoid CMF (<10 days per month)

between 1 and 2 months of age. The participants' parents were advised to supplement breast-feeding with soy formula when required during the intervention period. Continued breast-feeding throughout the study period was recommended for both groups.

Skin prick tests (SPTs), an open OFC at 3 months of age (first OFC), and an open OFC at 6 months of age (second OFC) were performed to assess cow's milk sensitization and CMA (see the Methods section of the Online Repository at jacionline.org). With the exception of infants with a positive first OFC result, the

participants ingested CMF on demand to supplement breastfeeding after reaching 3 months of age. The second OFC was performed in all participants, including those with positive first OFC results. Although there were generally no restrictions on the ingestion of complementary food, participants were not allowed to ingest dairy products except for CMF until the second OFC was performed.

介入

摂取グループの参加者は、生後 1~2 か月の間に毎日少なくとも 10 mL の CMF (150 mg の CMP に相当) を摂取するように割り当てられました。このレジメンは、参加者が生後 3 か月に達するまで、介入期間中に最大 1 週間の中断を伴う、月に少なくとも 20 日間の CMF の最小平均投与を指定した。CMF 摂取量に上限はなく、参加者の両親は必要に応じて CMF を調達することになっていた。CMF の種類は特定されていないが、両親は加水分解またはアミノ酸ベースの処方を使用しないように指示された。回避グループの参加者は、生後 1~2 か月の CMF (<10 日/月) を回避するように割り当てられた。参加者の両親は、介入期間中に必要な場合、母乳育児に大豆製剤を補給するようにアドバイスされた。研究期間を通して継続的な母乳育児は、両方のグループに推奨された。

牛乳の感作と CMA を評価するために、プリックテスト (SPT)、生後 3 か月のオープン OFC (最初の OFC)、および生後 6 か月のオープン OFC (2 番目の OFC) が実行された (オンラインリポジトリの方法のセクションを参照 jacionline.org で)。最初の OFC の結果が陽性であった乳児を除いて、参加者は 3 か月齢に達した後、母乳育児を補うためにオンデマンドで CMF を摂取した。2 回目の OFC は、最初の OFC の結果が陽性であった参加者を含め、すべての参加者で実施された。補完食品の摂取には一般的に制限しなかったが、参加者は、secondOFC が実施されるまで、CMF を除く乳製品の摂取を許可されなかった。

Outcome measures

The primary outcome measure was the proportion of participants with CMA confirmed by the second OFC at 6 months of age. The secondary outcome measures were the proportion of participants with a positive SPT response to cow's milk; diameter of the wheal formed during the cow's milk SPT; and serum titers of cow's milk-specific IgE, casein-specific IgE, and casein-specific IgG4 in cow's milk-sensitized infants at 6 months of age.

結果の測定

主要なアウトカム指標は、生後 6 か月の 2 回目の OFC によって確認された CMA の参加者の割合であった。二次アウトカム指標は、牛乳に対して陽性の SPT 反応を示した参加者の割合であった。牛乳の SPT 中に形成された膨疹の直径。生後 6 か月の乳児における牛乳特異的 IgE、カゼイン特異的 IgE、およびカゼイン特異的 IgG4 の血清力価。

Sample size

On the basis of published reports, we predicted that the prevalence of IgE-mediated CMA in the general population would be less than 5%.^{1,2} We estimated that 344 infants were required in each group (for a 5 0.05 and b 5 0.20) to detect a 75% reduction in CMA at 6 months of age (4.9% in the avoidance group vs 1.2% in ingestion group). Allowing for a 10% dropout rate during the follow-up period (until the second OFC), we originally aimed to recruit a total of 764 infants.

サンプルサイズ

公表された報告に基づいて、一般集団における IgE による CMA の有病率は 5%未満になると予測した 1,2。各グループで 344 人の乳児が必要であると推定した (50.05 および b5 0.20)。生後 6 か月で CMA の 75%の減少を検出した (回避グループで 4.9%、摂取グループで 1.2%)。フォローアップ期間中 (2 回目の OFC まで) に 10%のドロップアウト率を考慮して、当初は合計 764 人の乳児を採用することを目指していた。

Statistical analysis

We performed an analysis of all participants who received the intervention and could be assessed for the primary outcome irrespective of whether they had discontinued treatment before the scheduled visit at 6 months of age (modified intention-to-treat analysis). We also analyzed the per-protocol population, which included only those participants who could be assessed for the primary outcome and had adhered to the assigned regimen.

Intergroup comparisons were performed by using the Fisher exact test for categorical variables and the Mann-Whitney U test for continuous variables. The risk ratios (RRs) and 95% CIs for the outcome measures were calculated. We set the level of statistical significance at .05 (2 tailed). All statistical analyses were performed by using EZR software (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan).¹⁴ The institutional ethics committee of each participating hospital approved the study protocol. This trial is registered with the University Hospital Medical Information Network Clinical Trial Registry (UMIN-CTR Trial [identifier UMIN000025402]).

統計分析

介入を受けたすべての参加者の分析を実施し、6 か月齢で予定された訪問前に治療を中止したかどうかに関係なく、主要転帰を評価できた (修正 ITT 分析)。また、プロトコルごとの母集団を分析した。これには、主要な結果を評価でき、割り当てられたレジメを順守した参加者のみが含まれていた。

グループ間の比較は、カテゴリ変数のフィッシャーの直接確率検定と連続変数のマンホイットニーU 検定を使用して実行された。アウトカム指標のリスク比 (RR) と 95%CI が計算されました。統計的有意性のレベルを.05 (両側) に設定した。すべての統計分析は、EZ R ソフトウェア (埼玉医療センター、自治医科大学、埼玉、日本) を使用して実行されました¹⁴。各参加病院の組織倫理委員会は、研究プロトコルを承認した。この試験は、大学病院医療情報ネットワーク臨床試験レジストリ (UMIN-CTR 試験[識別子 UMIN000025402]) に登録されている。

Source of infant formula

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. A portion of the CMF was provided free of charge from Meiji Holdings Co, Ltd, and sample packages of soy formula were provided free of charge from Asahi Group Foods Ltd (see the Methods section of the Online Repository).

乳児用調製粉乳のソース

この研究は、公的、商業的、または非営利セクターの資金提供機関から特定の助成金を受けていません。CMF の一部は明治ホールディングスから無料で提供され、大豆フォーミュラのサンプルパッケージはアサヒグループ食品株式会社から無料で提供されました (オンラインリポジトリの「方法」セクションを参照)。

RESULTS

Study population

The study population is outlined in a Consolidated Standards of Reporting Trials diagram (Fig 2). SPADE study enrollment took place from January 1, 2017, to August 31, 2019. On September 1, 2019, because of funding constraints, enrollment was ceased

before the target sample size had been reached. Data collection was completed on March 30, 2020. Of the 518 infants enrolled within 5 days of birth, 12 did not participate because their parents declined their participation before allocation and 2 were excluded because they developed allergic reactions to the screening OFC. One of the excluded infants was diagnosed as having food protein–induced enterocolitis syndrome (FPIES) for CMP. The

remaining 504 candidate participants were randomized into 2 groups, but the parents of 12 of them (2.4%) declined to have their infant receive the intervention. The study sample comprised 492 participants (243 in the ingestion group and 249 in the avoidance

group). Of these participants, 462 (93.9%) attended their scheduled visit at 6 months of age to undergo the SPT and second OFC. In all, 30 participants were voluntarily withdrawn from both groups; of these withdrawals, 29 were confirmed by a phone call to their parents to have ingested at least 100 mL of CMF with no allergic reaction at 6 months of age. These participants were included in the primary intention-to-treat analysis but excluded from the per-protocol analysis. Because of nonadherence to the

regimens, 23 participants in the ingestion group (10.1%) and 40 participants in the avoidance group (17.0%) were excluded from the per-protocol analysis.

結果

調査対象母集団

調査対象集団は、統合報告試験基準図に概説されています (図 2)。 SPADE 研究の登録は、2017 年 1 月 1 日から 2019 年 8 月 31 日まで行われた。2019 年 9 月 1 日、資金の制約により、目標サンプルサイズに達する前に登録が中止された。データ収集は 2020 年 3 月 30 日に完了した。生後 5 日以内に登録された 518 人の乳児のうち、12 人は両親が割り当て前に参加を拒否したため参加せず、2 人はスクリーニング OFC に対してアレルギー反応を示したため除外された。除外された乳児の 1 人は、CMP の食物タンパク質誘発胃炎候群 (FPIES) と診断された。残りの 504 人の候補者は 2 つのグループにランダムに分けられたが、そのうち 12 人 (2.4%) の親は、乳児に介入を受けることを拒否した。研究サンプルは 492 人の参加者で構成された (摂取グループで 243 人、回避グループで 249 人)。これらの参加者のうち、462 人 (93.9%) が 6 か月齢で予定されていた訪問に参加し、SPT と 2 回目の OFC を受けた。全部で 30 人の参加者が両方のグループから辞退した。これらの離脱人のうち、29 人は両親への電話で、生後 6 か月でアレルギー反応を起こさずに少なくとも 100mL の CMF を摂取したことが確認された。これらの参加者は、主要な intention-to-treat analysis に含まれていましたが、per-protocol analysis からは除外されていた。レジメが順守されていないため、摂取グループの 23 人の参加者 (10.1%) と回避グループの 40 人の参加者 (17.0%) が per-protocol analysis から除外された。

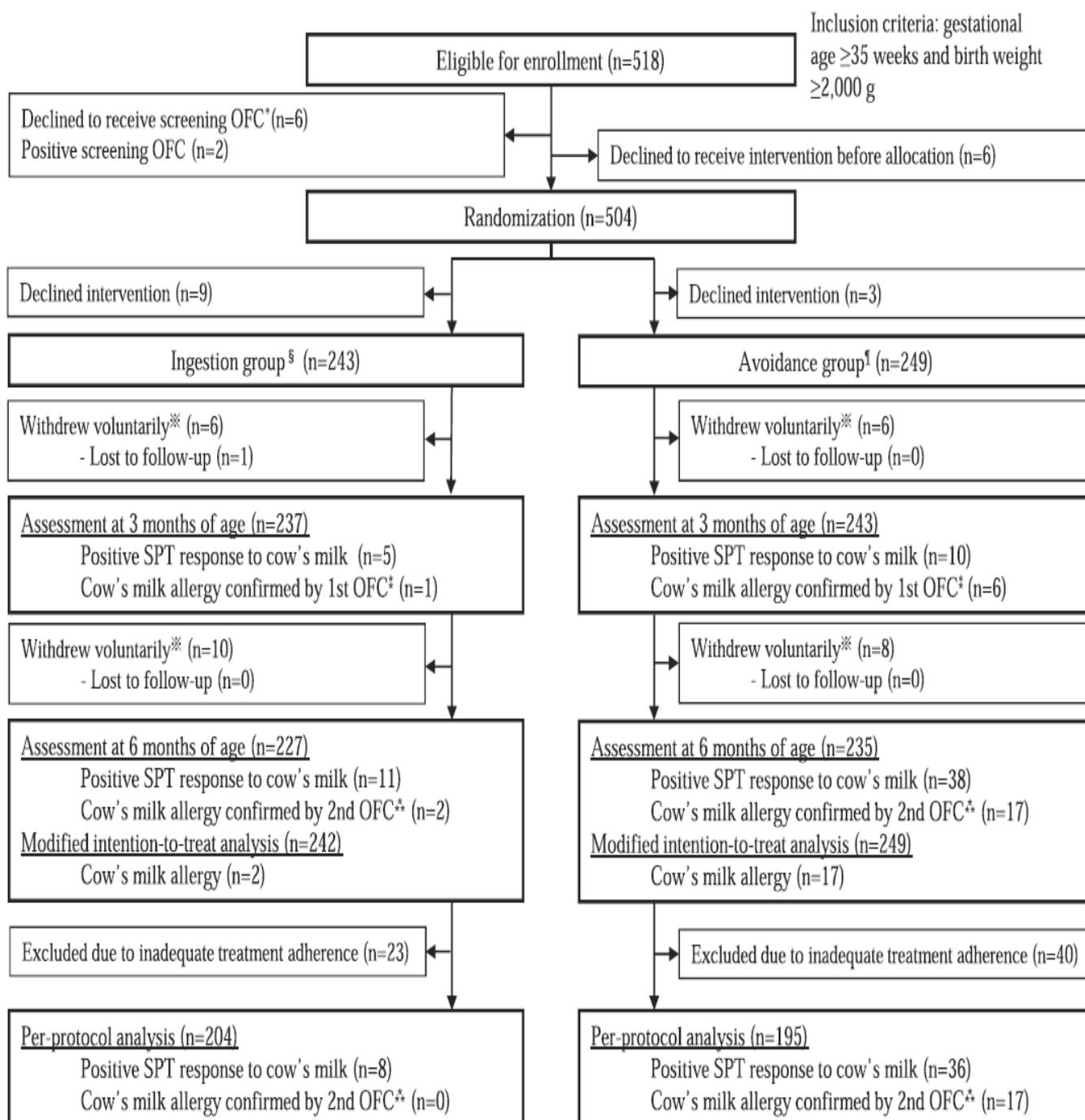


FIG 2. SPADE study enrollment, screening, and participant flow. *At 1 month of age, participants underwent a screening OFC involving a single dose of 20 mL of CMF. §Infants in the ingestion group ingested at least 10 mL of CMF daily between 1 and 2 months of age. †Infants in the avoidance group avoided CMF between 1 and 2 months of age. **The first OFC consisted of a cumulative dose of 50 mL of CMF. ***The second OFC consisted of a cumulative dose of 100 mL of CMF.

図 2.SPADE 研究の登録、スクリーニング、および参加者の流れ。 *生後 1 か月で、参加者は 20mL の CMF の単回投与を含むスクリーニング OFC を受けた。 §摂取グループの乳児は、生後 1~2 か月の間に毎日少なくとも 10mL の CMF を摂取した。 †回避グループの乳児は、生後 1~2 か月の CMF を回避した。 **最初の OFC は、50mL の CMF の累積投与量で構成されていた。 *** 2 番目の OFC は、100mL の CMF の累積投与量で構成さ

れていた。

Baseline characteristics

The participants' baseline characteristics are summarized in Table I and Table E1 (available in this article's Online Repository at jacionline.org). There were no significant intergroup differences in the baseline demographic and clinical characteristics. None of the mothers had eliminated CMP from their diet during pregnancy. The proportions of CMF avoidance for the first 3 days of life¹⁰ and start of daily CMF ingestion in the first 14 days of life⁷ were similar between the groups.

ベースライン特性

参加者のベースライン特性は、表 I および表 E1 (この記事のオンラインリポジトリ (jacionline.org) で入手可能) に要約されている。ベースラインの人口統計学および臨床的特徴にグループ間の有意差はなかった。妊娠中に食事から CMP を排除した母親はいなかった。生後 3 日間の CMF 回避¹⁰ と生後 14 日間の毎日の CMF 摂取開始⁷ の割合はグループ間で類似していた。

TABLE I. Baseline characteristics of participants at randomization

Characteristic	Ingestion group (n = 243)			Avoidance group (n = 249)			P value
	Missing value	No. or median	Percentage or IQR	Missing value	No. or median	Percentage or IQR	
Male	0	127	52.3	0	142	57.0	.32
Caesarean section	0	53	21.8	0	62	24.9	.46
Season of birth: spring/summer	0	155	63.8	0	168	67.5	.40
Maternal food allergy	0	39	16.0	0	27	10.8	.11
Maternal bronchial asthma	0	31	12.8	0	33	13.3	.89
Maternal atopic dermatitis	0	24	9.9	0	18	7.2	.34
Maternal allergic rhinitis	0	63	25.9	0	70	28.1	.61
Paternal food allergy	0	39	16.0	2	36	14.5	.71
Paternal bronchial asthma	0	33	13.6	2	30	12.0	.69
Paternal atopic dermatitis	0	19	7.8	2	12	4.8	.20
Paternal allergic rhinitis	0	56	23.0	2	56	22.5	>.99
Amount of CMF intake per day during the neonatal period (mL)	8	80	0 to >200	8	80	0 to >200	.61
Instances of CMF intake per month during the neonatal period	8	27	8-30	8	26	9-30	.94
Avoidance of CMF for the first 3 days of life	8	18	7.4	8	13	5.2	.36
Started daily ingestion of CMF in the first 14 days of life	8	115	47.3	8	117	47.0	>.99

P values were calculated by using the Fisher exact test for categorical variables and the Mann-Whitney U test for continuous variables. IQR, Interquartile range.

TABLE E1. Additional baseline characteristics of participants at randomization

Characteristic	Ingestion group (n = 243)			Avoidance group (n = 249)			P value
	Missing value	No. or median	Percentage or IQR	Missing value	No. or median	Percentage or IQR	
Gestational age (wk)	0	39	38-40	0	39	38-40	.34
Birth weight (g)	0	3026	2805-3276	0	2995	2795-3185	.08
No siblings	0	91	37.4	0	95	38.2	.78
Maternal age (y)	0	32	28-36	0	32	29-36	.60
Maternal body mass index before pregnancy (kg/m ²)	3	20.7	19.2-23.1	2	21.2	19.5-23.4	.11
Maternal weight gain during pregnancy (kg)	5	10.0	8.0-12.6	1	9.7	7.4-11.9	.26
Maternal smoking	0	10	4.1	0	6	2.4	.32
Paternal age (y)	0	33	29-37	2	33	29-37	.86
Paternal smoking	0	81	33.3	2	82	32.9	>.99
Domestic dog exposure at birth	0	41	16.9	0	27	10.8	.07
Domestic cat exposure at birth	0	16	6.2	0	15	6.0	>.99

P values were calculated by using the Fisher exact test for categoric variables and the Mann-Whitney U test for continuous variables.
 IQR, Interquartile range.

Intervention adherence

In the ingestion group, 89.9% of participants ingested CMF for at least 20 days per month, with a maximum interruption of 1 week during the intervention period. In the avoidance group, 83.0% of participants did not ingest CMF for at least 20 days per month during the intervention period (see Fig E1 in this article's Online Repository at jacionline.org).

介入の遵守(アドヒアランス)

摂取グループでは、参加者の 89.9%が月に少なくとも 20 日間 CMF を摂取し、介入期間中は最大 1 週間の中断があった。回避グループでは、参加者の 83.0%が介入期間中に月に少なくとも 20 日間 CMF を摂取していなかった (jacionline.org のこの記事のオンラインリポジトリの図 E1 を参照)。

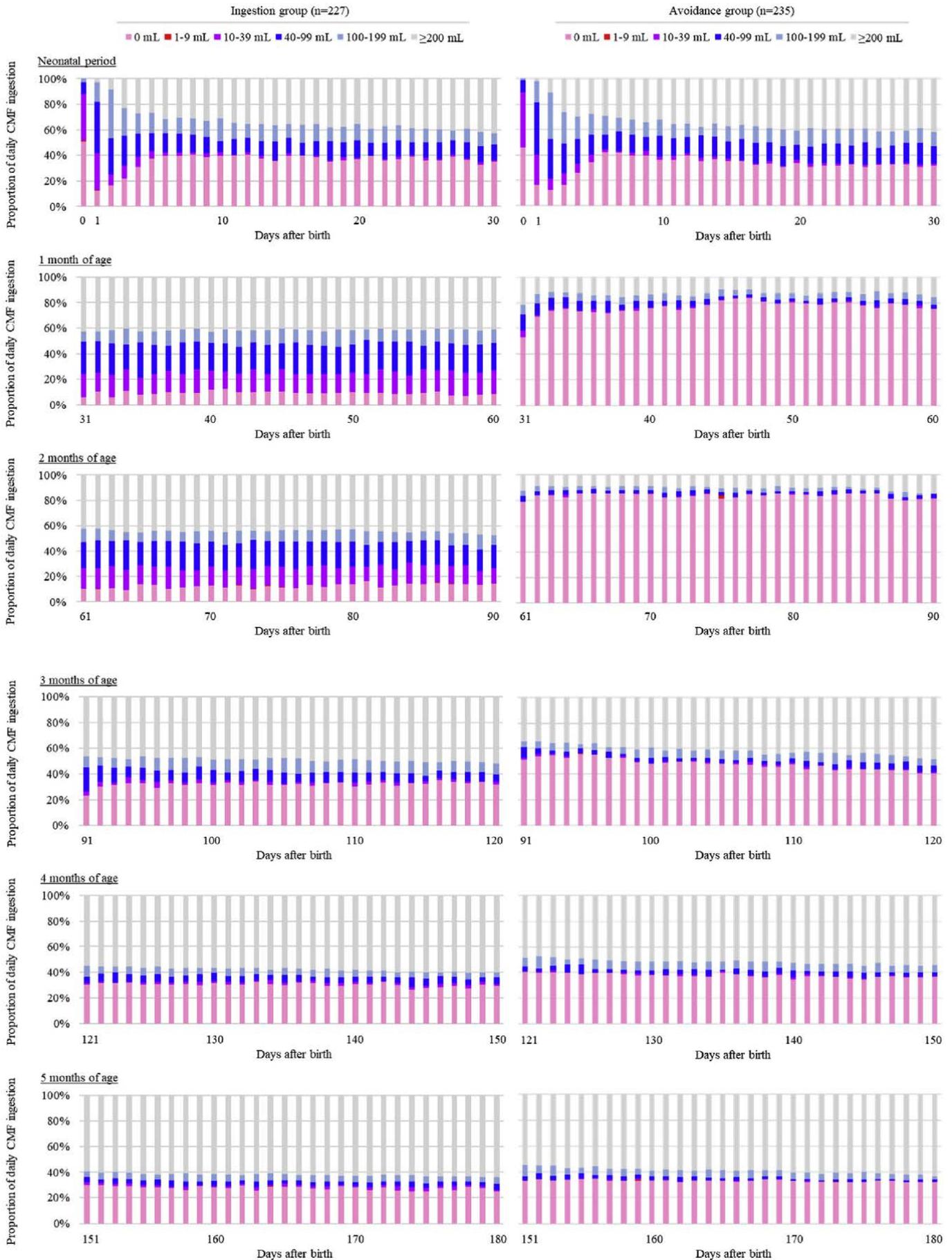


FIG E1. Proportions of daily CMF ingestion quantities. The proportions of daily CMF ingestion quantities throughout the study period are shown. The ingestion quantities were classified into 6 groups: 0 mL, 1 to 9 mL, 10 to 39 mL, 40 to 99 mL, 100 to 199 mL, and at least 200 mL. C/S, Caesarean section; VD, vaginal

delivery.

図 E1。 毎日の CMF 摂取量の割合。 研究期間中毎日の CMF 摂取量の割合が示した。 摂取量は、0 mL、1~9 mL、10~39 mL、40~99 mL、100~199 mL、および少なくとも 200mL の 6 つのグループに分類された。 C / S、帝王切開; VD、膣分娩。

Clinical outcomes at 6 months of age

The clinical outcomes at 6 months of age are summarized in Table II. The proportion of participants with daily CMF ingestion between 3 and 5 months of age was significantly higher in the ingestion group than in the avoidance group (54.2% vs 35.0% [$P < .001$]). Approximately 70% of participants in both groups were still being breast-fed at 6 months of age. None of the mothers had eliminated CMP from their diet during lactation. There were no significant intergroup differences in the proportions of clinician-diagnosed eczema (including mild eczema not considered to be atopic dermatitis) and sensitization to egg white, wheat, and soy.

生後 6 ヶ月での臨床転帰

生後 6 ヶ月での臨床転帰は表 II に要約されている。 生後 3~5 か月の CMF を毎日摂取する参加者の割合は、回避グループよりも摂取グループの方が有意に高かった (54.2%対 35.0% [$P < .001$])。 両方のグループの参加者の約 70%は、生後 6 か月でまだ母乳で育てられていた。 授乳中の食事から CMP を排除した母親はいなかった。 臨床医が診断した湿疹 (アトピー性皮膚炎とはみなされない軽度の湿疹を含む) と卵白、小麦、大豆に対する感作の割合にグループ間の有意差はなかった。

TABLE II. Clinical outcomes in the intention-to-treat analysis population

Clinical outcome	Ingestion group (n = 242)			Avoidance group (n = 249)			P value
	Missing value	Number or median	Percentage or IQR	Missing value	Number or median	Percentage or IQR	
Amount of CMF intake per day between age 1 mo and 2 mo (mL)	9	106	30 to >200	8	0	0-0	<.001
Instances of CMF intake per month between age 1 mo and 2 mo	9	30	26-30	8	2	0-8	<.001
Amount of CMF intake per day between age 3 mo and 5 mo (mL)	16	>200	0 to >200	15	100	0 to >200	<.001
Frequency of CMF intake per month between age 3 mo and 5 mo	16	30	8.5-30	15	26	0-30	<.001
Daily ingestion of CMF between age 3 mo and 5 mo	16	123	54.2	15	82	35.0	<.001
Continuation of breastfeeding up to age 3 mo	6	212	89.5	6	218	89.7	>.99
Continuation of breastfeeding up to age 6 mo	16	164	72.2	14	159	67.7	.31
Body weight at age 6 mo (g)	26	7560	7130-8220	24	7415	6965-8138	.23
Eczema before age 3 mo	4	121	50.6	5	126	51.6	.86
Eczema between age 3 mo and 5 mo	15	70	30.7	13	75	31.8	.84
Positive SPT response to egg white at age 6 mo	16	64	28.2	14	64	27.2	.84
Positive SPT response to wheat at age 6 mo	16	2	0.9	14	2	0.9	>.99
Positive SPT response to soy at age 6 mo	16	1	0.4	14	0	0.0	.49
Positive SPT response to cow's milk at age 6 mo	16	11	4.9	14	38	16.2	<.001
Cow's milk allergy at age 6 mo*	0	2	0.8	0	17	6.8	<.001

P values were calculated by using the Fisher exact test for categorical variables and the Mann-Whitney U test for continuous variables. IQR, Interquartile range.

Primary outcome measure

The primary outcomes are shown in Fig 3. In the primary intention-to-treat analysis population, 2 of the 242 ingestion group participants (0.8%) and 17 of the 249 avoidance group participants (6.8%) had OFC-confirmed

CMA at 6 months of age (RR 5 0.12; 95% CI 5 0.01-0.50; $P < .001$). The risk difference was 6.0% (95% CI 5 2.7-9.3). For the worst-case scenario analysis (in which participants who withdrew and were lost to follow-up from the ingestion group and the avoidance group were considered positive and negative, respectively, for the primary outcome), 3 (1.2%) of the 243 ingestion group participants had OFC-confirmed CMA compared with 17 (6.8%) of the 249 avoidance group participants ($P < .001$).

In the per-protocol analysis population, none of the 204 ingestion group participants had OFC-confirmed CMA compared with 17 (8.7%) of the 195 avoidance group participants ($P < .001$). The clinical details of participants with positive second OFC results are presented in Table E2 (available in this article's Online Repository at jacionline.org).

一次アウトカム指標

主な結果を図3に示します。主な ITT 解析集団では、242 人の摂取グループ参加者のうち 2 人 (0.8%) と 249 人の回避グループ参加者のうち 17 人 (6.8%) が 6 歳で OFC 確認済み CMA を示した。生後月数 (RR 5 0.12; 95%CI 5 0.01-0.50; $P < .001$)。リスク差は 6.0% (95%CI 5 2.7-9.3) であった。最悪のシナリオの分析 (摂取グループと回避グループからのフォローアップを取りやめ、失った参加者が、主要な結果について、それぞれポジティブとネガティブと見なされた) では、243 人中 3 人 (1.2%) 摂取グループの参加者は、249 人の回避グループの参加者のうち 17 人 (6.8%) と比較して、OFC で確認された CMA を持っていた ($P < .001$)。

プロトコルごとの分析集団では、195 人の回避グループ参加者のうち 17 人 (8.7%) と比較して、204 人の摂取グループ参加者のいずれも OFC 確認済み CMA がなかった ($P < .001$)。2 番目の OFC の結果が陽性の参加者の臨床の詳細は、表 E2 に示した (この記事のオンラインで入手可能)

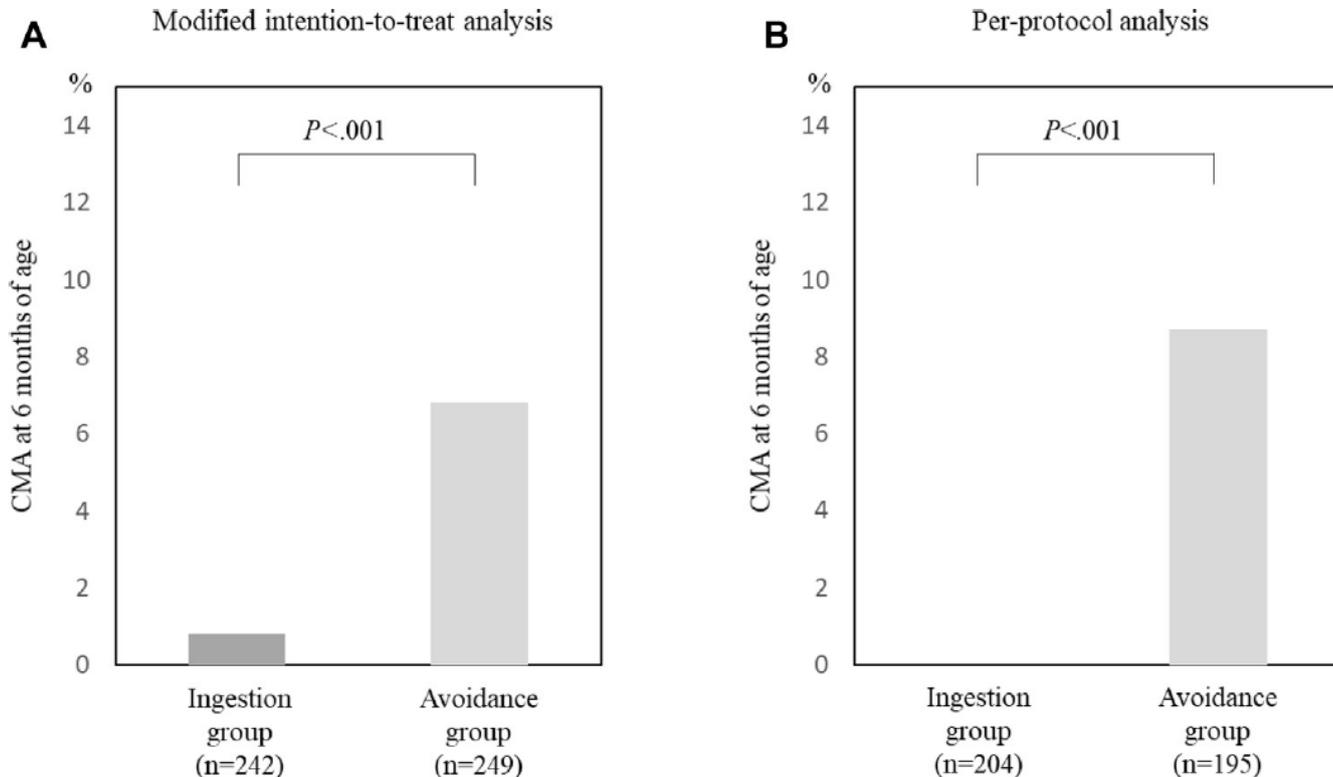


FIG 3. Primary outcome in the modified intention-to-treat analysis and per-protocol analysis. Proportions of positive results in the CMF OFC (cumulative dose of 100 mL) at 6 months of age in the modified intention-totreat analysis, which included participants who withdrew voluntarily but not those lost to follow-up (A), and in the per-protocol analysis, which included only participants who adhered to the assigned regimen (B).

P values were calculated by using the Fisher exact test.

図 3.修正された intention-to-treat analysis および per-protocol analysis における主要な結果。修正された ITT 解析では、生後 6 か月の CMF OFC（累積投与量 100 mL）で陽性の結果が得られた割合は、自発的に離脱した参加者を含むが、フォローアップから脱落した参加者は含まれていない（A）。-割り当てられたレジメ（B）を順守した参加者のみを含む per-protocol analysis。P 値は、フィッシャーの直接確率検定を使用して計算された。

TABLE E2. Clinical details of participants with positive results in the OFC to CMF at 6 months of age

No.	Group allocation	Cumulative CMF (CMP) dosage at first appearance of symptoms, ml (mg)	Symptom	Medication	Total IgE level at 6 age 6 mo (IU/mL)	Cow's milk-specific IgE level at age 6 mo (kUA/L)	Casein-specific IgE level at age 6 mo (kUA/L)	Casein-specific IgG4 level at age 6 mo (mgA/L)
1*	Ingestion	100 (1500)	LU	None	53.2	0.78	<0.10	0.09
2*	Ingestion	5 (75)	LU	None	9.0	0.53	<0.10	<0.07
3	Avoidance	100 (1500)	LU	None	8.3	1.26	<0.10	0.12
4	Avoidance	20 (300)	LU	None	35.0	0.52	0.20	0.07
5	Avoidance	100 (1500)	LU	None	19.6	0.69	<0.10	<0.07
6	Avoidance	50 (750)	LU	None	23.0	0.90	<0.10	0.19
7	Avoidance	5 (75)	SU	Antihistamine	152	5.04	5.19	0.13
8	Avoidance	50 (750)	LU	None	14.2	3.64	<0.10	<0.07
9	Avoidance	5 (75)	LU	None	32.7	0.48	0.42	0.09
10	Avoidance	20 (300)	SU, V, coughing, wheezing	Antihistamine, salbutamol	156	20.2	5.19	0.09
11	Avoidance	20 (300)	LU	None	11.5	0.57	<0.10	0.08
12	Avoidance	100 (1500)	LU	None	106	1.09	0.30	0.13
13	Avoidance	100 (1500)	LU	None	<5.0	0.49	0.44	NA
14	Avoidance	5 (75)	LU	None	338	3.39	2.60	0.09
15	Avoidance	100 (1500)	LU	None	5.9	0.19	0.16	NA
16	Avoidance	100 (1500)	LU	None	13.9	1.04	0.37	NA
17	Avoidance	50 (750)	LU	None	67.1	1.13	<0.10	NA
18	Avoidance	20 (300)	SU	Antihistamine	152	21.1	26.3	NA
19	Avoidance	20 (300)	LU, V	None	11.8	0.51	<0.10	NA

LU, Localized urticaria referring to noncontact urticarial reactions; SU, systemic urticaria; V, vomiting.

*Excluded from the per-protocol analysis because of insufficient adherence to the assigned regimen (ie, ingestion of CMF less than 10 days per month in the avoidance group and regular ingestion of CMF for 20 or more days per month with a maximum interruption of 1 week in the ingestion group).

Secondary outcome measures

Of the 227 ingestion group participants, 11 (4.8%) had a positive SPT response to cow's milk at 6 months of age, as did 38 (16.2%) of the 235 avoidance group participants (RR 5 0.26; 95% CI 5 0.12-0.55; P < .001). Although the diameter of the wheal formed during the egg white SPT was similar between the groups, the diameter of the wheal formed during the cow's milk SPT was larger in the avoidance group than in the ingestion group (P < .001) (Fig 4). The median titer of cow's milk-specific IgE in participants with a positive SPT response to cow's milk at 6 months of age (n 5 49) was 0.51 kUA/L (range, <0.10 to 0.78 kUA/L) in the ingestion group and 0.55 kUA/L (range, <0.10 to 21.1 kUA/L) in the avoidance group (P 5.20). The median titer of casein-specific IgE was less than 0.10 kUA/L (range, <0.10 to 0.33 kUA/L) in the ingestion group and less than 0.10 kUA/L (range, <0.10 to 26.3 kUA/L) in the avoidance group (P 5.40). The median titer of casein-specific IgG4 was 2.61 mgA/L (range, 0.45-10.46 mgA/L) in the ingestion group and 0.12 mgA/L (range, 0.08-0.33 mgA/L) in the avoidance group (P 5 .02) (Fig 5).

二次アウトカム指標

227 人の摂取グループ参加者のうち 11 人 (4.8%) は、生後 6 か月で牛乳に対して SPT が陽性を示し、235 人の回避グループ参加者のうち 38 人 (16.2%) は陽性でした (RR 5 0.26; 95%CI 5 0.12- 0.55; P <.001)。卵白

SPT 中に形成された膨疹の直径はグループ間で類似していたが、牛乳 SPT 中に形成された膨疹の直径は、摂取グループよりも回避グループの方が大きかった ($P < .001$) (図 4)。生後 6 か月 (n 549) で牛乳に対して陽性の SPT 応答を示した参加者の牛乳特異的 IgE の力価の中央値は、摂取群で 0.51 kUA / L (範囲、 $<0.10 \sim 0.78$ kUA/L) であった。回避グループ ($P = .20$) では 0.55 kUA/L (範囲、 $<0.10 \sim 21.1$ kUA/L)。カゼイン特異的 IgE の力価の中央値は、摂取群で 0.10 kUA/L (範囲、 $<0.10 \sim 0.33$ kUA/L) 未満であり、摂取群で 0.10 kUA / L (範囲、 $<0.10 \sim 26.3$ kUA / L) 未満でした。回避グループ ($P = .40$)。カゼイン特異的 IgG4 の力価の中央値は、摂取群で 2.61 mgA/L (範囲、0.45-10.46 mgA/L)、回避群で 0.12 mgA/L (範囲、0.08-0.33 mgA/L) であった ($P = .02$) (図 5)。

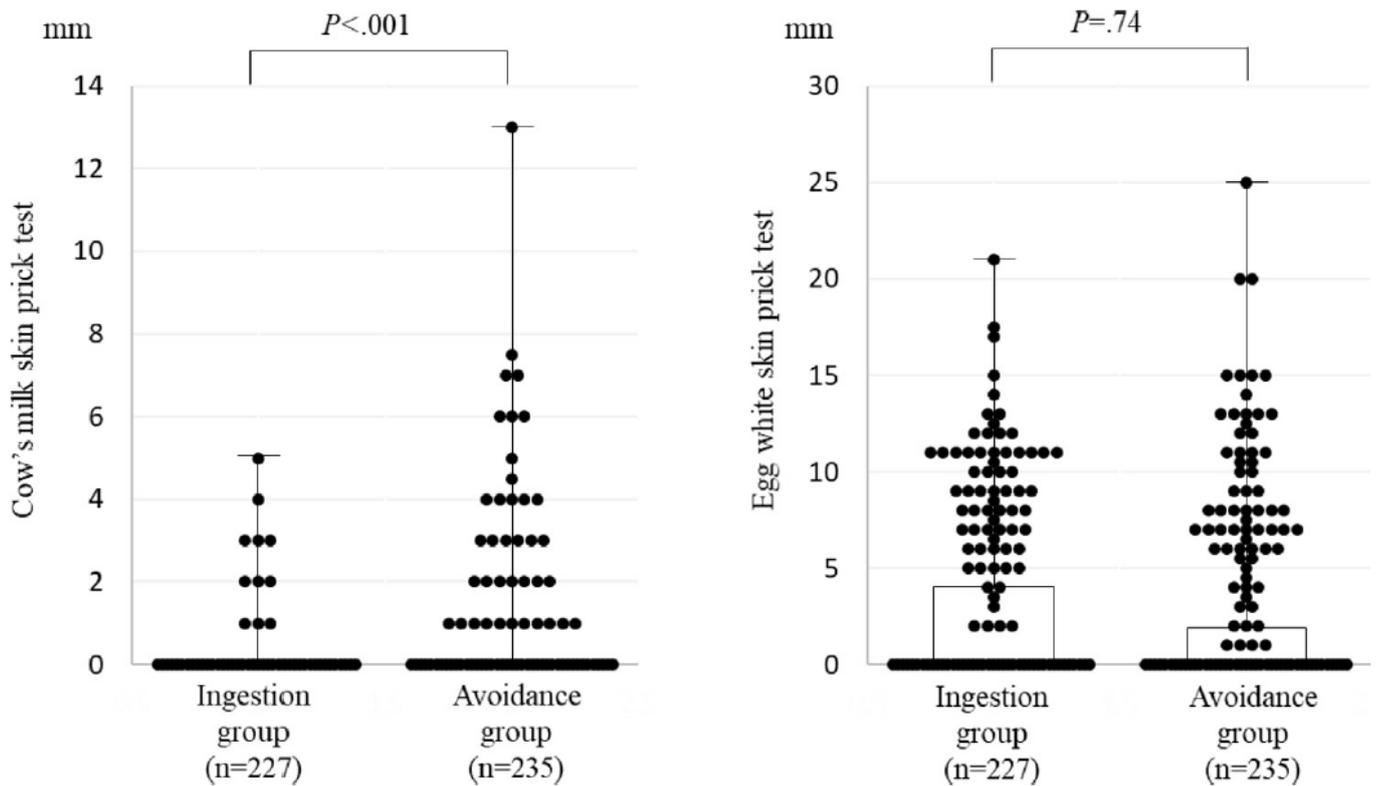


FIG 4. Diameter of wheals formed during the cow's milk and egg white SPTs at 6 months of age. P values were calculated by using the Mann-Whitney U test.

図 4.6 か月齢の牛乳と卵白の SPT 膨疹の直径。 P 値は、マンホイットニーU 検定を使用して計算した。

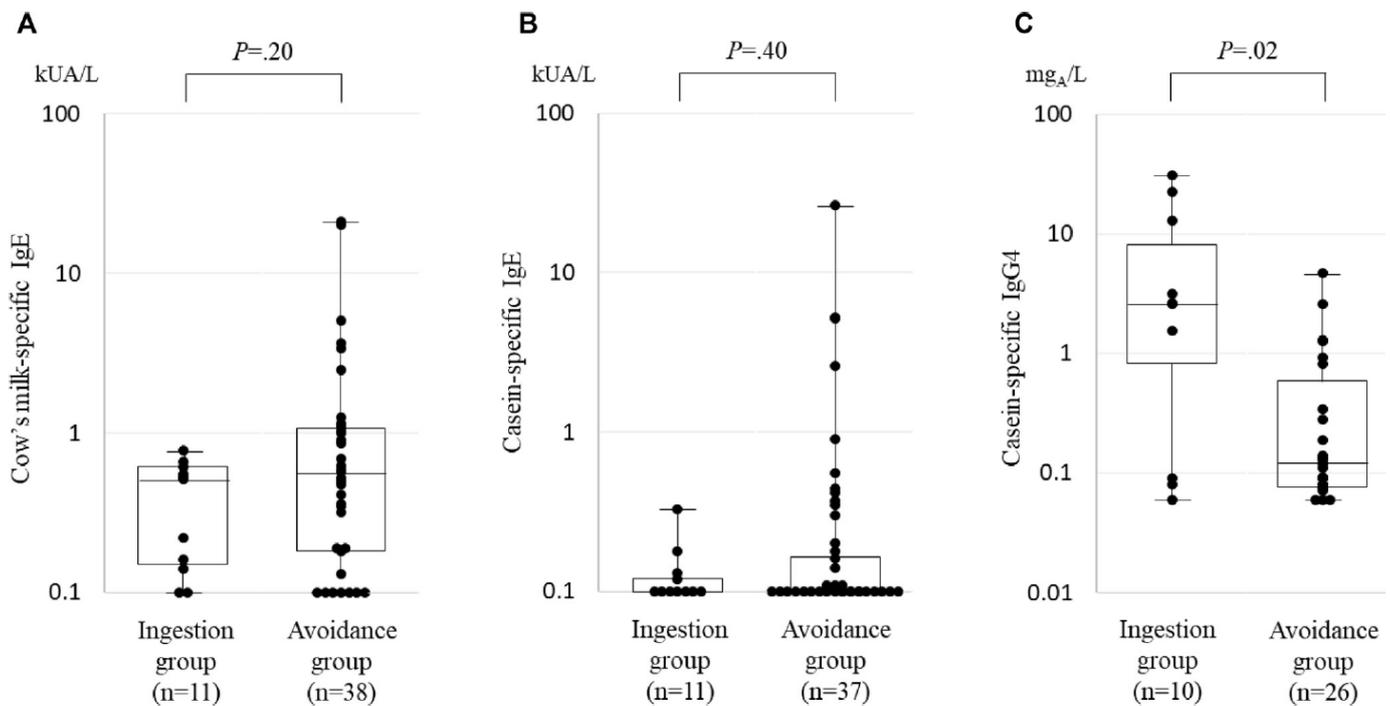


FIG 5. Titers of cow's milk-specific IgE, casein-specific IgE, and casein-specific IgG4 in cow's milk-sensitized infants at 6 months of age. Serum titers of cow's milk-specific IgE (A), casein-specific IgE (B), and casein-specific IgG4 (C) were measured in participants with cow's milk sensitization confirmed by SPT. P values were calculated by using the Mann-Whitney U test.

図 5.6 か月齢の牛乳感作乳児における牛乳特異的 IgE、カゼイン特異的 IgE、およびカゼイン特異的 IgG4 の力価。牛乳特異的 IgE (A)、カゼイン特異的 IgE (B)、およびカゼイン特異的 IgG4 (C) の血清力価は、SPT によって牛乳の感作が確認された参加者で測定した。P 値は、マンホイットニー U 検定を使用。

Safety outcomes

No CMF-related adverse events occurred during the study. One avoidance group participant had an FPIES-type reaction (delayed, recurrent, and profuse vomiting) and was advised to stop the assigned regimen. A total of 20 avoidance group participants experienced transient gastrointestinal symptoms (9 had vomiting, 8 had constipation, and 3 had diarrhea) after ingesting soy formula. A total of 30 participants (6.1% [16 in the ingestion group and 14 in the avoidance group]) withdrew from the trial after the intervention began. No participants withdrew on account of adverse reactions caused by the trial formula (see Table E3 [available in the Online Repository at jacionline.org]). We also monitored the hospitalization of participants throughout the study period. The majority of hospitalizations were due to infections, and the proportions of hospitalized cases did not differ significantly between the groups (see Table E4 in this article's Online Repository at jacionline.org).

安全性の結果

研究中に CMF 関連の有害事象は発生しなかった。回避グループの参加者の 1 人は、FPIES タイプの反応（遅延、再発、および大量の嘔吐）を示し、割り当てられたレジメを中止するようにアドバイスされた。合計 20 人の回避グループの参加者は、大豆製剤を摂取した後、一過性の胃腸症状（9 人は嘔吐、8 人は便秘、3 人は下痢）

が出現した。合計 30 人の参加者（6.1%[摂取グループで 16 人、回避グループで 14 人]）が介入開始後に試験から辞退した。試験処方によって引き起こされた副作用のために離脱した参加者はいなかった（表 E3 [jacionline.org のオンラインリポジトリで入手可能]を参照）。また、調査期間中、参加者が入院した。入院の大部分は感染によるものであり、入院した症例の割合はグループ間で有意差はなかった（この記事の jacionline.org のオンラインリポジトリの表 E4 を参照）。

DISCUSSION

This RCT demonstrated that daily consumption of a small quantity of CMF between 1 and 2 months of age prevented the development of OFC-confirmed CMA in infants recruited from the general population. These findings are clinically important because the strategy does not hinder continued breast-feeding.

討論

この RCT は、生後 1~2 か月の間に少量の CMF を毎日摂取すると、一般集団における乳児での OFC で確認された CMA の発症を妨げることが示された。戦略は継続的な母乳育児を妨げることがない、これらの所見は臨床的に重要である。

Timing of CMF introduction, intervention adherence, ingestion duration, and ingestion quantities

Although some observational studies have shown that early CMF introduction is associated with a lower risk of CMA,⁷⁻⁹ a meta-analysis of 2 RCTs did not find any significant preventive effects (RR = 0.76; 95% CI = 0.32-1.78).⁶ However, the results of those RCTs should be interpreted with several caveats in mind. One RCT had recruited infants at high risk of atopy, and it reported the CMA prevalence within the first 2 years of life to be 4.2% in the soy formula (avoidance) group and 3.1% in the conventional CMF group (odds ratio 51.36; 95% CI 50.46-4.00).¹¹ However, the rate of adherence to the allocated regimen was only 63% at 6 months of age, which may have contributed to the nonsignificant results. The other RCT was based on the Enquiring About Tolerance (EAT) study, which recruited infants from the general population. The prevalence of CMA was 0.67% in the standard introduction group versus 0.53% in the early introduction group (RR 5 0.79; 95% CI: 0.18-3.50).¹² However, the EAT study had defined CMP avoidance as a daily formula milk intake less than 300 mL, resulting in the possible early introduction of CMP in both groups. In addition, infants in the early introduction group did not begin CMF ingestion until 3 months of age, which may be too late to effectively prevent CMA development.^{15,1}

CMF 導入のタイミング、介入順守、摂取期間、および摂取量

いくつかの観察研究は、早期の CMF 導入が CMA のリスクの低下と関連していることを示しているが、7-9 2 つの RCT のメタアナリシスでは、有意な予防効果は見られなかった (RR = 0.76; 95%CI = 0.32-1.78)。6 ただし、これらの RCT の結果は、いくつかの注意点を念頭に置いて解釈する必要がある。ある RCT は、アトピーのリスクが高い乳児を募集し、生後 2 年以内の CMA 有病率は大豆製剤 (回避) グループで 4.2%、従来の CMF グループで 3.1%であると報告している (オッズ比=1.36; 95%CI=0.46-4.00) .11 しかし、割り当てられたレジメンの順守率は生後 6 か月で 63%に過ぎず、これが結果に関与した可能性がある。他の RCT では、一般集団から乳児を募集した Inquiring About Tolerance (EAT) 研究に基づいている。CMA の有病率は標準導入群で 0.67%であったのに対し、早期導入群では 0.53%であった (RR = 0.79; 95%CI : 0.18-3.50) 12。しかし、EAT 研究では、CMP 回避を毎日の粉ミルク摂取量 300 mL 未満であると定義していたので、両方のグループに CMP が早期に導入された可能性がある。さらに、早期導入群の乳児は生後 3 か月まで CMF の摂取を開始しなかったため、CMA の発症を効果的に防ぐには遅すぎた可能性がある 15,1。

Because our trial did not perform a screening SPT before the intervention, the participants may have included infants who were sensitized to cow's milk at the time of assignment. Nevertheless, the lack of adverse events during the intervention period indicates that the daily ingestion of 10 mL of CMF is safe. In addition, the relatively low minimum intake of CMF in our strategy is practical and may have facilitated adherence. However, 2 cases showed allergic reactions after ingestion of 20 mL of CMF in the screening OFC. One case involved an FPIES-type reaction, and the other involved development of skin symptoms without anaphylaxis. Early intervention from the neonatal period may be beneficial because IgE-mediated CMA can develop before 1 month of age. Urashima et al recruited newborns with a high risk of atopy and reported that the prevalence of CMA by 2 years of age was 0.7% in infants who were breast-fed for at least the first 3 days of life versus 6.6% in infants who ingested CMF from the first day of life (RR 5 0.10; 95% CI 5 0.01-0.77).10 In our study, there were no differences in breast-feeding or CMF feeding patterns between the ingestion and avoidance groups during the neonatal period (Table I and see Fig E1), and none of the 31 participants who avoided CMF for the first 3 days of life developed CMA (see Fig E2 in this article's Online Repository at jacionline.org). A prospective study found that exposure to CMP during the initial maternity hospitalization increased the risk of CMA whereas subsequent or continued exposure may promote tolerance.15 Among our participants, the ingestion group and avoidance group had a higher and lower proportion, respectively, of daily CMF ingestion after the intervention period; the intervention may have influenced each participant's postintervention feeding pattern.

我々の試験では介入前にスクリーニング SPT を実施しなかったため、参加者には、割り当て時に牛乳に感作された乳児が含まれていた可能性があった。それにもかかわらず、介入期間中に有害事象がないことは、10mL の CMF の毎日の摂取が安全であることを示している。さらに、我々の戦略における CMF の比較的低い最小摂取量は実用的であり、遵守 (アドヒアランス) を促進した可能性がある。しかし、2 例は OFC のスクリーニングで 20mL の CMF を摂取した後にアレルギー反応を示した。1 つのケースは FPIES タイプの反応があり、もう 1 つのケースはアナフィラキシーを伴わない皮膚症状の発症であった。IgE を介した CMA は生後 1 か月より前に発症する可能性があるため、新生児期からの早期介入は有益である可能性がある。浦島らは、アトピーのリスクが高い新生児を募集し、2 歳までの CMA の有病率は、生後 3 日以上母乳で育てられた乳児では 0.7%であったのに対し、CMF を摂取した乳児では 6.6%であったと報告している。生後 1 日目から (RR = 0.10; 95%CI = 0.01-0.77) 10 私たちの研究では、新生児期の摂取群と回避群の間で母乳育児または CMF 授乳パターンに違いはなかった (表 I 図 E1 を参照)、生後 3 日間 CMF を回避した 31 人の参加者はいずれも CMA を発症しなかつ

た（この記事のオンラインリポジトリ jacionline.org の図 E2 を参照）。前向き研究では、最初の出産入院中の CMP への曝露は、CMA のリスクを高めたが、その後の継続的な曝露は耐性を促進する可能性があることがわかった 15。介入期間後；毎日の CMF 摂取の割合が摂取グループでは高く、回避グループではひくかった。介入が、各参加者の介入後の摂食パターンに影響を与えた可能性があった。

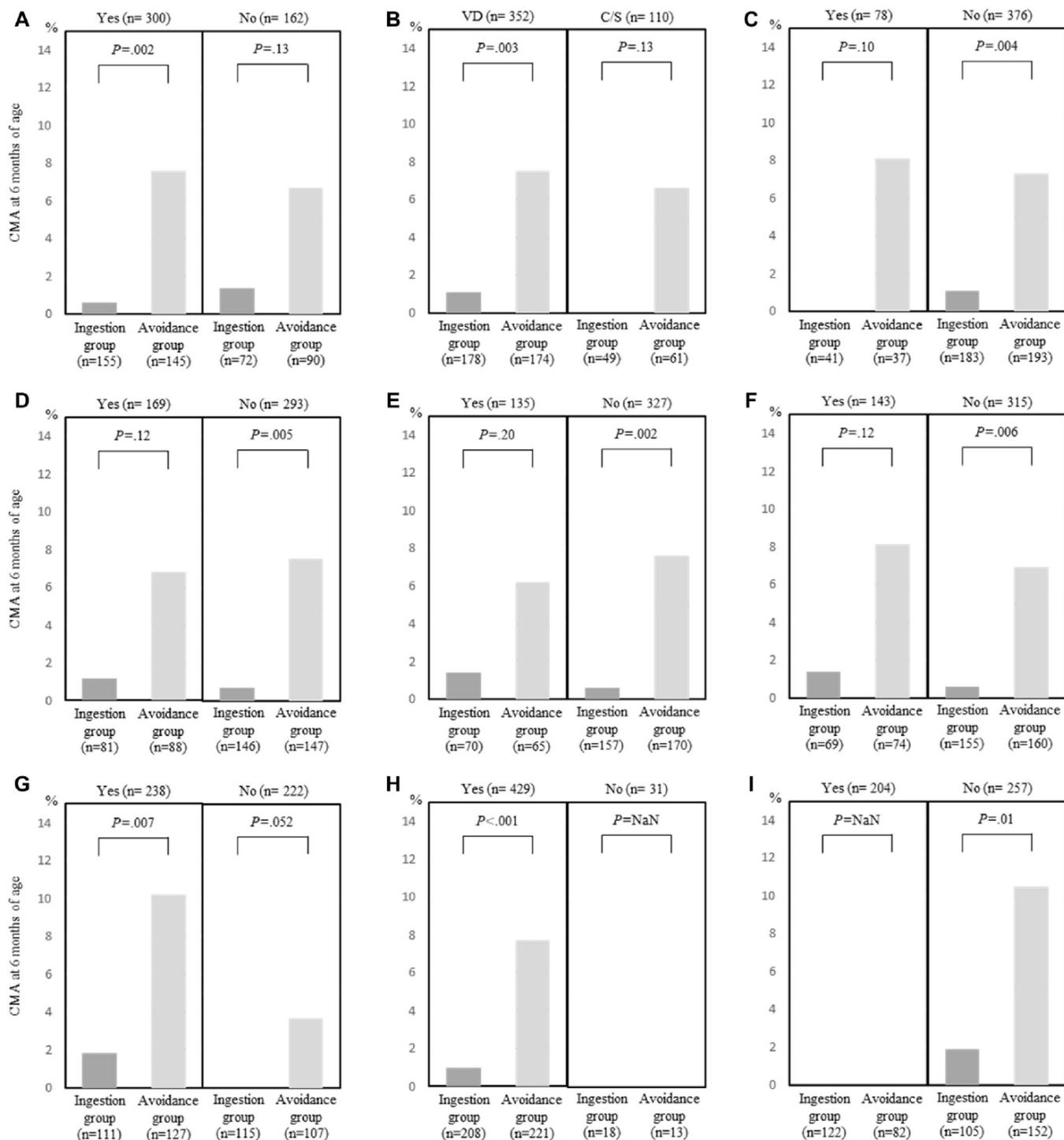


FIG E2. Outcomes of the post hoc subgroup analyses. Post hoc analyses that evaluated the incidence of CMA between the ingestion group and avoidance group stratified by parental history of atopy (A), mode of delivery (B), perinatal (maternal and/or newborns within the first 7 days of life) antibiotic use (C), eczema in the

neonatal period (D), eczema between 1 and 2 months of age (E), eczema between 3 and 5 months of age (F), ingestion of CMF in the first 24 hours after birth (G), ingestion of CMF in the first 3 days of life (H), and daily ingestion of CMF between 3 and 5 months of age (I). P values were calculated by using the Fisher exact test. C/S, Caesarean section; NaN, not a number; VD, vaginal delivery.

図 E2。 事後サブグループ分析の結果。 アトピーの親の病歴 (A)、分娩様式 (B)、周産期 (生後 7 日以内の母体および/または新生児) の抗生物質使用によって層別化された摂取群と回避群の間の CMA の発生率を評価した事後分析 (C)、新生児期の湿疹 (D)、生後 1~2 か月の湿疹 (E)、生後 3~5 か月の湿疹 (F)、生後 24 時間以内の CMF の摂取 (G)、生後 3 日間の CMF の摂取 (H)、および生後 3~5 か月の CMF の毎日の摂取 (I)。 P 値は、フィッシャーの直接確率検定を使用して計算。 C/S、帝王切開; NaN、数ではない。 VD、膣分娩。

A dose-response analysis examined the relationship between the ingestion quantities of CMF and CMA development; the analysis showed that none of the participants who consumed at developed CMA (see Fig E3 in this article's Online Repository at jacionline.org). These results therefore support our intervention protocol involving a daily minimum of 10 mL of CMF. FIG 5. Titers of cow's milk-specific IgE, casein-specific IgE, and casein-specific IgG4 in cow's milk-sensitized infants at 6 months of age. Serum titers of cow's milk-specific IgE (A), casein-specific IgE (B), and casein-specific IgG4 (C) were measured in participants with cow's milk sensitization confirmed by SPT. P values were calculated by using the Mann-Whitney U test.

用量反応分析では、CMF の摂取量と CMA の発生との関係を調べた。 分析の結果、発症した CMA で CMF を摂取した参加者は誰もいなかったことがわかった (jacionline.org にあるこの記事のオンラインリポジトリの図 E3 を参照)。 したがって、これらの結果は、1 日最低 10mL の CMF を含む介入プロトコルをサポートしている。 図 5.6 か月齢の牛乳感作乳児における牛乳特異的 IgE、カゼイン特異的 IgE、およびカゼイン特異的 IgG4 の力価。 牛乳特異的 IgE (A)、カゼイン特異的 IgE (B)、およびカゼイン特異的な gG4 (C) の血清力価は、SPT によって牛乳の感作が確認された参加者で測定した。 P 値は、マンホイットニーU 検定を使用して計算した。

Intervention period and breast-feeding

As the randomization of breast-feeding in infants is unethical, we recommended breast-feeding to both groups. Furthermore, limiting CMF supplementation during the neonatal period may be associated with various risks, such as jaundice, hypoglycemia, and poor weight gain. Thus, we set the start of the intervention at 1 month of age. Infant feeding patterns in the first 3 months after birth are important in preventing CMA development,^{8,9} and the intervention period was therefore set to end at 3 months after birth. The EAT study detected no difference in the rate of breast-feeding continuation between the early introduction group (starting CMF intake at 3 months of age) and the standard introduction group (starting CMF intake at 6 months of age).¹² Similarly, we did not observe any intergroup difference in our subjects from the standpoint of the proportion of breast-feeding up to 6 months of age. In Okinawa, the proportion of breast-feeding continuation is approximately 70% (comprising similar proportions of exclusive breast-feeding and mixed feeding) at 6 months of age in the general population.¹⁷ Therefore, even the ingestion group participants in our study had higher rates of breastfeeding continuation than the general population did.

介入期間と母乳育児

乳児の母乳育児のランダム化は非倫理的であるため、両方のグループに母乳育児を推奨した。さらに、新生児期に CMF の補充を制限すると、黄疸、低血糖、体重増加不良などのさまざまなリスクが伴う可能性がある。したがって、介入の開始を生後 1 か月に設定した。CMA の発症を防ぐには、出生後最初の 3 か月の乳児の摂食パターンが重要であるため 8,9、介入期間は出生後 3 か月で終了するように設定された。EAT 研究では、早期導入群 (3 か月齢で CMF 摂取を開始) と標準導入群 (6 か月齢で CMF 摂取を開始) の間で母乳育児の継続率に差は検出されなかった 12。生後 6 か月までの母乳育児の割合の観点から、被験者のグループ間の違いは観察されなかった。沖縄では、母乳育児継続の割合は、一般人口の生後 6 か月で約 70% (母乳育児と混合授乳の割合が同じ) である 17。したがって、本研究の摂取グループの参加者でさえ、一般の人々よりも母乳育児の継続率がより高かった。

Study strengths

The main strength of the SPADE study is that it was designed for the general population, and its findings have a high level of generalizability. In addition, the participants performed the regimens safely with high levels of adherence, and the intervention did not interfere with breast-feeding. RCTs involving the early introduction of infant formula are often impaired on account of the high proportion of mothers who wish to maintain exclusive breast-feeding. In addition, it would be ethically unacceptable to prohibit ingestion of infant formula in the control group, and it is difficult for parents to accept amino acid-based formulas, which have inferior taste and nutritional value. To overcome these problems, our intervention allowed unlimited CMF ingestion during the neonatal period. To facilitate CMP avoidance, the avoidance group was provided with soy formula at no cost between 1 and 2 months of age. In addition, CMA was determined by OFC in all cases (including in infants who disliked CMF ingestion), excluding withdrawers. This ensured the accuracy of CMA incidence at 6 months of age. However, CMA occurred in 6.8% of the avoidance group, which is substantially higher than previously reported prevalences.^{1,2} The dose-response analysis showed that all participants who developed CMA ingested less than 70 mL of CMF per week between 1 and 2 months of age (see Fig E3). The higher incidence of CMA among those in the avoidance group may therefore be due to their restricted CMF ingestion, but further analyses are required to understand this finding.

研究の強み

SPADE 研究の主な強みは、一般集団向けに設計されたものであり、その調査結果は高いレベルの一般化の可能性を持っていることである。さらに、参加者は高レベルのアドヒアランスで安全にレジメを実施し、介入は母乳育児を妨げなかった。乳児用調製粉乳の早期導入を伴う RCT は、母乳だけで育てることを希望する母親の割合が高いために、しばしば損なわれる。さらに、対照群で乳児用調製粉乳の摂取を禁止することは倫理的に受け入れられず、味と栄養価が劣るアミノ酸ベースの調製粉乳を親が受け入れることは困難である。これらの問題を克服するために、我々の介入により、新生児期に無制限の CMF 摂取が可能になった。CMP 回避を促進するために、回避グループには生後 1~2 か月の間に無料で大豆製剤が提供されました。さらに、CMA は、離脱者を除くすべてのケース (CMF 摂取を嫌った乳児を含む) で OFC によって決定された。これにより、生後 6 か月での CMA 発生率の精度が保証された。ただし、CMA は回避グループの 6.8% で発生し、以前に報告された有病率よりも大幅に高くなっている 1,2。用量反応分析では、CMA を発症したすべての参加者が生後 1~2 か月間で週に 70mL 未満の CMF を摂取したことが示された。(図 E3 を参照)。したがって、回避グループの間で CMA の発生率が高いのは、CMF の摂取が制限されているためである可能性があるが、この所見を理解するにはさらなる分析が必要である。

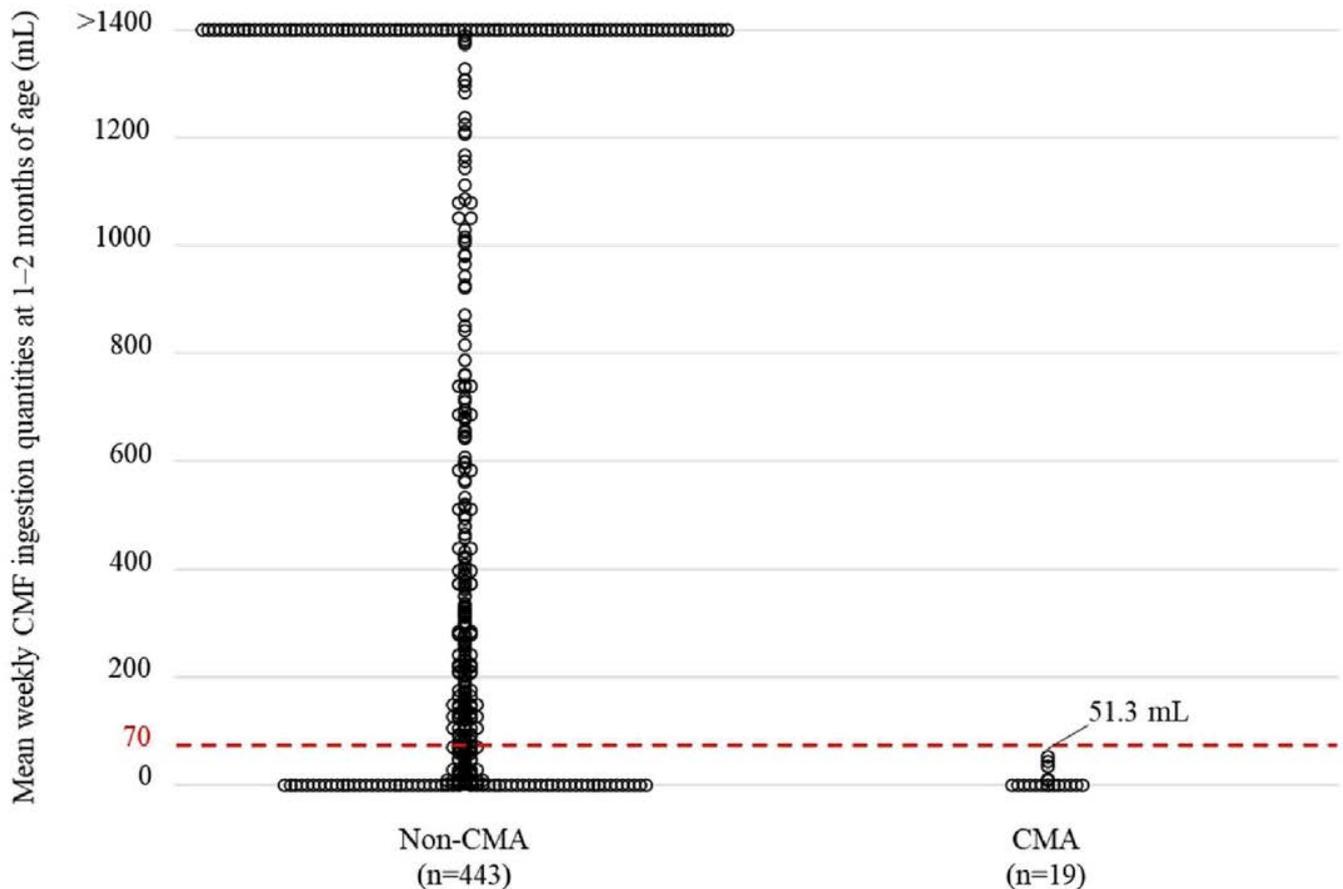


FIG E3. Mean weekly CMF ingestion quantities between 1 and 2 months of age in infants without CMA (non CMA) and infants with CMA (CMA infants). This dose-response analysis evaluated the mean weekly quantities of CMF ingested by participants with and without CMA from 1 to 2 months of age.

図 E3。 CMA のない乳児（非 CMA）および CMA のある乳児（CMA 乳児）における生後 1～2 か月の平均週 CMF 摂取量。この用量反応分析では、生後 1～2 か月の CMA の有無にかかわらず参加者が摂取した CMF の週平均量を評価。

Study limitations and future issues

First, this study did not use masking or allocation concealment. Because it is difficult to blindly and randomly assign infant formula, we used an open-label intervention. Second, we did not perform double-blinded, placebo-controlled OFC to confirm CMA. Therefore, the physicians were aware of each participant's allocated group, which renders the evaluations susceptible to investigator bias. Also, this lack of masking may have influenced the results, as a larger number of participants in the ingestion group declined the intervention than in the avoidance group. However, because of the low prevalence of CMA in the general population,^{1,2} we posit that the difference in declined cases would not have a substantial impact on our findings. Furthermore, objective physical findings were used to identify sensitization, and each evaluation was performed by at least 2 investigators. Third, blood samples were drawn only from cow's milk-sensitized infants. However, the SPT is more sensitive for identifying sensitization than analyses of allergen-specific IgE levels are.¹³ Fourth, eczema severity was not quantitatively evaluated by using thymus and activation-regulated chemokines or the Scoring Atopic Dermatitis tool. For this reason, we performed a subgroup

analysis for the presence or absence of eczema (see Fig E2). Both groups used the same skin care intervention, and there was no difference in the prevalence of eczema or the proportion of participants with food sensitization (excluding CMP). Fifth, mothers in both groups were not instructed to avoid dairy products. It is therefore possible that some avoidance group participants had ingested a small amount of CMP via breast milk between 1 and 2 months of age. However, dietary restrictions for mothers are not recommended. Our results indicate that CMA can be prevented by daily ingestion of CMF in infants without restricting mothers' intake of dairy products.

研究の限界と将来の問題

まず、この調査ではマスキングや割り当ての隠蔽を使用しなかった。乳児用調製粉乳をランダムに割り当てることは難しいため、非盲検介入をおこなった。第二に、CMAを確認するために二重盲検プラセボ対照 OFC を実施しなかった。したがって、医師は各参加者に割り当てられたグループを認識していたため、評価は研究者のバイアスの影響を受けやすくなった。また、摂取グループのより多くの参加者が回避グループよりも介入を拒否したため、このマスキングの欠如が結果に影響を与えた可能性がある。ただし、一般集団における CMA の有病率は低いため^{1,2}、拒否された症例の違いは、我々の調査結果に実質的な影響を及ぼさないと考えている。さらに、客観的な身体所見にて感作を特定し、各評価は少なくとも 2 人の研究者によって実施された。第三に、血液サンプルは牛乳に感作された乳児からのみ採取された。ただし、SPT は、アレルゲン特異的 IgE レベルの分析よりも感作の識別に敏感である¹³。第 4 に、湿疹の重症度は、胸腺および活性化調節ケモカインまたはスコアリングアトピー性皮膚炎ツールを使用して定量的な評価はされなかった。このため、湿疹の有無についてサブグループ分析を行なった (図 E2 を参照)。両方のグループが同じスキンケア介入を行い、湿疹の有病率または食物感作の参加者の割合 (CMP を除く) に違いはなかった。第五に、両方のグループの母親は乳製品を避けるように指示されなかった。したがって、一部の回避グループの参加者は、生後 1~2 か月の間に母乳を介して少量の CMP を摂取した可能性があるが、母親の食事制限はお勧めなかった。我々の結果は、母親の乳製品の摂取を制限することなく、乳児に CMF を毎日摂取することで CMA を予防できることを示している。

This study did not examine the effectiveness of probiotics and the role of gut microbiota in preventing CMA. Previous studies have reported an association between gut microbiota and regulatory T-cell induction.^{18,19} Feehley et al noted that the transfer of healthy infants' microbiota to mice protected against allergic responses to CMP but the microbiota of infants with CMA had no such effects.²⁰ It may therefore be important to introduce CMP after the establishment of gut microbiota that can induce regulatory T-cells. Our study showed that cow's milk-sensitized participants in the ingestion group had higher casein-specific IgG4 levels than in the avoidance group, suggesting that CMF ingestion from the first month induces tolerance to CMA. If CMF is ingested within the first 3 days of life, CMA may be prevented by consistent ingestion of CMF from the first month onward.

この研究では、プロバイオティクスの有効性と、CMA の予防における腸内細菌叢の役割については検討しなかった。以前の研究では、腸内細菌叢と制御性 T 細胞誘導との関連が報告されている^{18,19}。Feehleyetal は、健康な乳児の微生物叢をマウスに移すと CMP に対するアレルギー反応から予防されたが、CMA の乳児の微生物叢にはそのような影響はなかったと述べている。²⁰ したがって、制御性 T 細胞を誘発する可能性のある腸内細菌叢の確立後に CMP を導入することが重要である。我々の研究では、摂取グループの牛乳感作参加者は、回避グループよりもカゼイン特異的 IgG4 レベルが高いことが示され、最初の月からの CMF 摂取が CMA に対する耐性を誘発することが示唆された。CMF が生後 3 日以内に摂取された場合、CMA は、最初の月以降の CMF の一貫した摂取によって予防される可能性がある。

Conclusions

Daily ingestion of CMF between 1 and 2 months of age prevents CMA development. This strategy does not interfere with breast-feeding.

生後1~2か月のCMFを毎日摂取すると、CMAの発症を予防する。この戦略は母乳育児を妨げない。

REFERENCES

1. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, von Berg A, Beyer K, et al. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) guidelines. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21(suppl 21): 1125.
2. Schoemaker AA, Sprikkelman AB, Grimshaw KE, Roberts G, Grabenhenrich L, Rosenfeld L, et al. Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children – EuroPrevall birth cohort. *Allergy* 2015;70:963-72.
3. Wood RA, Sicherer SH, Vickery BP, Jones SM, Liu AH, Fleisher DM, et al. The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:805-12.
4. Elizur A, Rajuan N, Goldberg MR, Leshno M, Cohen A, Katz Y. Natural course and risk factors for persistence of IgE-mediated cow's milk allergy. *J Pediatr* 2012;161:482-7.e1.
5. de Silva D, Halken S, Singh C, Antonella M, Angier E, Arasi S, et al. Preventing food allergy in infancy and childhood: systematic review of randomized controlled trials [e-pub ahead of print]. *Pediatr Allergy Immunol* 10.1111/pai.13273. Accessed May 23, 2020.
6. Ierodiakonou D, Garcia-Larsen V, Logan A, Groome A, Cunha S, Chivinge J, et al. Timing of allergenic food introduction to the infant diet and risk of allergic or autoimmune disease a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2016;316: 1181-92.
7. Katz Y, Rajuan N, Goldberg MR, Eisenberg E, Heyman E, Cohen A, et al. Early exposure to cow's milk protein is protective against IgE-mediated cow's milk protein allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:77-82.
8. Sakihara T, Sugiura S, Ito K. The ingestion of cow's milk formula in the first 3 months of life prevents the development of cow's milk allergy. *Asia Pac Allergy* 2016;6:207-12.
9. Peters RL, Koplin JJ, Dharmage SC, Tang MLK, McWilliam VL, Gurrin LC, et al. Early exposure to cow's milk protein is associated with a reduced risk of cow's milk allergic outcomes. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:462-70.
10. Urashima M, Mezawa H, Okuyama M, Urashima T, Hirano D, Gocho N, et al. Primary prevention of cow's milk sensitization and food allergy by avoiding

supplementation with cow's milk formula at birth: a randomized clinical trial.

JAMA Pediatr 2019;173:1137-45.

11. Lowe AJ, Hosking CS, Bennett CM, Allen KJ, Axelrad C, Carlin JB, et al. Effect of a partially hydrolyzed whey infant formula at weaning on risk of allergic disease in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128:360-5.

12. Perkin MR, Logan K, Tseng A, Raji B, Ayis S, Peacock J, et al. Randomized trial of introduction of allergenic foods in breast-fed infants. *N Engl J Med* 2016;374: 1733-43.

13. Ebisawa M, Ito K, Fujisawa T. Japanese guidelines for food allergy 2017. *Allergol Int* 2017;66:248-64.

14. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:452-8.

15. Saarinen KM, Juntunen-Backman K, Järvenpää AL, Kuitunen P, Lope L, Renlund M, et al. Supplementary feeding in maternity hospitals and the risk of cow's milk allergy: a prospective study of 6209 infants. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:457-61.

16. Santos A, Dias A, Pinheiro JA. Predictive factors for the persistence of cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2010;21:1127-34.

17. The Okinawa Society of Child Health. Report on health checkups for infants and toddlers 2018. Available at: http://www.osh.or.jp/h_repo/data/H30/2018sum0.pdf. Accessed December 25, 2019.

18. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011; 331:337-41.

19. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 2013;500:232-6.

20. Feehley T, Plunkett CH, Bao R, Choi Hong SM, Cullen E, Belda-Ferre P, et al. Healthy infants harbor intestinal bacteria that protect against food allergy. *Nat Med* 2019;25:448-53.