

総説

乳児腸内細菌叢コントロールと腸管機能

金森 豊

国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部外科
(〒117-8353 東京都世田谷区大蔵 2-10-1)

【はじめに】

ヒト胎児は母親の子宮内で無菌環境下に発育する。しかし、出産を契機にして母親の膣や皮膚、医療従事者の手などを介して環境中の微生物にさらされ、急激に細菌が寄生する状態に移行し、生涯をそれらの微生物とともに生きることになる。腸管もその例外ではないが、特に腸管内は膨大な細菌が寄生する特殊な環境となることが知られており、ヒト大腸では寄生する細菌数は100兆を超えるといわれている。最近では腸管組織と腸内細菌との密接な関係が、ヒトの健康維持や病態に深く影響していることが明らかにされつつある。本稿では生後間もなく治療が必要な新生児重症疾患患児の腸内細菌叢コントロールの有効性について我々の経験をもとに概説する。

【新生児外科疾患と腸内細菌叢異常】

我々は生後間もない児に対する外科治療を行う新生児外科に従事しており、この時期は患児にとっては腸内細菌叢が生着しつつある重要な時期である。さらに、外科治療では抗生物質の使用、腸管栄養の制限など腸内細菌の獲得には不利な処置がおこなわれる。そのために患児の腸内細菌叢は極めて異常になることが予想される。

腸内細菌叢異常をきたす可能性が高い新生児外科疾患には、二通りの疾患群がある。一つは、腸管自体に病気をもつ疾患群で、先天性腸閉鎖

症、胎便性腹膜炎（胎児期の腸管穿孔による腹膜炎）、腹壁破裂、などの疾患がある。これらの疾患は腸管機能異常を伴い術後も腸管栄養が困難な場合がほとんどで、腸管が死腔としてしばらく存在することになり、腸管内腔の環境は極めて異常になりやすい。もう一つの疾患群は、重症の呼吸器疾患である。この疾患群には、先天性横隔膜ヘルニア、臍帯ヘルニア、巨大頸部腫瘍、巨大頸部リンパ管腫といった疾患がある。これらの疾患は、呼吸管理が長期になり多くの場合気管切開という処置を受ける。そのため気管内に人工チューブの留置が必須でこの異物に病原性微生物が生着することになる。するとその微生物が呼吸器で増殖するだけでなく、嚥下されて消化管内でも増殖するため、腸内細菌叢が異常になることが予想される。

実際に、1990年代の小児外科病棟には多くの患児が腸内細菌叢異常のために繰り返す腸炎や重症感染症に罹患して治療に難渋していた。表1はそのような患児10例の腸内細菌叢を検索した結果である。多くの患児で偏性嫌気性菌である *Bacteroides* や *Bifidobacterium* の減少がみられ、その代わりに *Staphylococcus* や *Pseudomonas*、*Candida* といった病原性微生物が増加していた。

【腸内細菌叢コントロールの試み：治療的シンバイオティクス療法】

腸内細菌叢の異常と繰り返す重症感染症の因果関係は明らかではなかったが、腸内細菌叢の改善が得られれば患児の症状が改善するのではないかという仮定のもとに、提唱されて間もなかったシンバイオティクス療法を1997年から

受理：2013年4月3日

表 1 生後 1 年以上入院を要した患児の腸内細菌叢

Diagnosis	<i>Bacte- roides</i>	<i>Bifido- bacterium</i>	<i>Lacto- bacillus</i>	<i>Entero- bacteria- cea</i>	<i>Entero- coccus</i>	<i>Staphylo- coccus</i>	<i>Pseudo- monas</i>	<i>Candida</i>
VACTERL association	0	0	5.62	9.78	9.38	4.30	3.34	0
Short bowel syndrome	0	0	0	9.20	7.68	6.05	0	3.08
Giant omphalocele	0	0	0	9.17	0	6.38	0	3.66
Tracheal stenosis	10.04	0	0	9.41	4.08	3.26	7.15	0
Refractory enterocolitis	0	0	5.78	9.76	6.75	3.66	0	0
Short bowel syndrome	0	0	0	0	0	0	0	9.41
Trachoesophageal fistula	0	0	6.70	9.78	9.70	4.88	5.76	7.95
Hirschsprung disease	0	7.66	0	8.24	8.38	4.04	0	4.03
Laryngotracheo esophageal cleft	0	0	0	8.73	10.07	0	0	7.08
Diaphragmatic eventration	10.49	0	0	9.09	9.32	3.62	7.14	6.44

Bacterial number is expressed as log 10 per 1.0g wet feces

試みることにした。シンバイオティクス療法とは、腸内細菌叢を改善する作用をもつ生菌製剤・プロバイオティクスと腸内有用菌と考えられるビフィズス菌などの増殖因子である難消化性の食物・プレバイオティクスを同時に患児に投与してそれらの相乗的な効果を期待するもので、1995 年に初めて Gibson らによって提唱された新しい概念であった。我々はこの治療を行うに当たり腸内細菌叢解析では世界的に有名なヤクルト中央研究所に相談し、生菌製剤の供与を受けた。生菌製剤は、*Bifidobacterium breve* Yakult 株と *Lactobacillus casei* Shirota 株の 2 種類の菌を用いた。これらの菌は胃酸に対する耐性を持ち経胃の投与でも腸管まで到達しやすく、含有する菌数が 10^9 以上と保証されており、副作用が少ないことが動物実験や健常人での使用で確認されているという特徴を有し、病的児に対しても比較的安全に使用できる菌であると考えた。プレバイオティクスとしては、ヤクルト本社から発売されている食品であるオリゴメイト[®]を使用した。これはガラクトオリゴ糖で難消化性の食品としての特徴を有するビフィズス菌増殖因子である。適正な使用菌数は明らかでなかったが、生菌製剤を一日 3g ずつ、オリゴメイトを一日 3g、分 3 投与することにした(図 1)。

はじめの臨床応用は、繰り返す腸炎に悩んでいた短腸症候群の 4 歳女児であった。患児は新生児期に腹壁破裂に伴う多発小腸穿孔により短

腸症となった。その後腸炎による発熱を繰り返し、経口摂取がままならない状態が継続しており、典型的な短腸症候群を呈していた。この患児は、我々のシンバイオティクス療法を開始すると腸炎を起こす頻度が著明に減少し、体重増加が順調に得られた。同時に腸内細菌叢も著しい改善を見せた。腸内細菌の改善が臨床的に効果を有する可能性が強く示唆された症例であった。

この治療結果に力を得て我々はさらに治療に難渋している 6 名の重症腸管機能障害児に 1 年以上にわたりシンバイオティクス療法を行った(表 2)。その結果、先に述べた症例と合わせて 7 名の患児で腸内細菌叢はプロバイオティクス優位の菌叢から嫌気性菌優位の菌叢に移行し(表 3)、患児の腸炎発症回数が減少、成長も良好となることが確認された。すなわち、我々のシンバイオティクス療法は新生児期から治療に難渋している消化管機能異常を有する重症患児の腸内細菌叢改善を誘導することが可能であり、かつその結果として患児の臨床症状を改善することが明らかになった。後にこのような腸内細菌叢異常を有する患児に対するシンバイオティクス療法を治療的シンバイオティクス療法と位置付けた。

[腸内細菌叢の分類]

我々の治療している患児では、腸内細菌叢はかなり異常なものが多かったため、多くの患児

表2 シンバイオティクス療法をおこなった短腸症患児

症例	年齢	性別	原疾患	短小腸	短大腸	治療開始年齢	治療期間
1	7y 11mo	F	腹壁破裂	(+) 25cm	(-)	3y 4mo	55
2	24y 8mo	F	腸回転異常症	(+) 60cm	(+) 30cm	20y 3mo	53
3	4y 7mo	M	腸回転異常症	(+) 15cm	(-)	2y 2mo	29
4	10y 0mo	M	ヒルシユスプルング病	(+) 140cm	(+) 8cm	7y 0mo	37
5	8y 7mo	M	ヒルシユスプルング病	(+) 100cm	(+) 20cm	4y 8mo	47
6	2y 6mo	M	ヒルシユスプルング病	(-)	(+) 10cm	1y 3mo	15
7	2y 11mo	M	難治性腸炎	(+) 85cm	(-)	1y 4mo	19

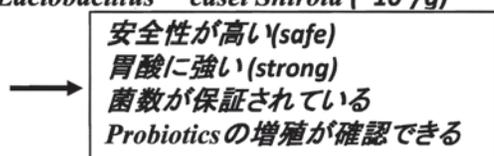
表3 7例の消化管機能障害患児における治療的シンバイオティクス療法による腸内細菌叢の変化

case	Bacte-roides	Bifido-bacterium	Lacto-bacillus	Entero-bacteriaceae	Strept-coccus	Staphylo-coccus	MRSA	Pseudo-monas	Candida	B. breve	L. casei
Before Treatment											
1	0	0	0	0	0	0	0	0	9.41	0	0
2	9.70	10.63	3.00	7.66	6.91	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	9.20	7.68	6.05	3.60	0	3.08	0	0
4	9.65	9.30	4.31	7.13	5.15	0	0	3.86	2.60	0	0
5	0	7.66	0	8.24	8.38	4.04	0	0	4.03	0	0
6	0	0	0	0	0	4.76	4.56	3.64	0	0	0
7	0	0	0	9.29	4.68	3.86	2.78	0	0	0	0
One to three months after starting treatment											
1	4.43	11.04	9.02	8.43	0	0	0	0	8.50	10.61	8.70
2	9.34	10.22	4.70	6.78	6.98	0	0	0	0	9.20	4.64
3	9.18	8.50	4.79	8.70	8.41	0	0	0	0	6.86	6.88
4	9.18	10.72	6.35	9.13	9.26	3.87	0	2.78	0	9.95	7.75
5	0	8.48	5.64	0	0	0	0	0	0	0	7.08
6	0	10.00	8.41	7.96	7.13	2.3	0	0	0	10.06	8.47
7	0	4.60	4.86	2.60	0	4.51	0	0	0	4.15	4.45
Latest data											
1	0	10.15	9.85	7.60	0	0	0	0	0	7.78	7.78
2	10.65	9.54	7.15	8.97	2.90	0	0	0	0	10.18	6.20
3	0	10.11	9.18	8.6	7.78	0	0	0	0	10.21	8.20
4	10.0	9.18	7.58	8.03	7.53	3.51	0	0	3.48	3.38	5.97
5	0	7.38	8.99	6.26	0	2.30	0	0	5.41	5.90	6.20
6	0	9.18	7.79	7.78	7.30	3.53	0	0	0	6.41	7.20
7	9.00	9.40	6.88	8.58	8.75	0	0	0	0	8.56	9.06

Bacterial number is expressed as log 10 per 1.0g wet feces:
"0" means that bacteria is under detection threshold in our culture system

プロバイオティクス:

- 1, *Bifidobacterium breve* Yakult (~10⁹/g)
- 2, *Lactobacillus casei* Shirota (~10⁹/g)



プレバイオティクス:

- 3, galactooligosaccharides(Oligomates[®]) (ガラクトオリゴ糖)

図1 新しいシンバイオティクス療法

1997年から始めた我々のシンバイオティクス療法は、*Bifidobacterium breve* Yakult株と *Lactobacillus casei* Shirota株をプロバイオティクスとして使用し、ガラクトオリゴ糖をプレバイオティクスとして使用するもので、菌の胃酸耐性、菌数保証、安全性などの点で他のプロバイオティクスに比して優れていると考えた。

の腸内細菌叢を次々に解析したが、その過程で正常腸内細菌叢との差を明らかにして腸内細菌叢の変化を記述するのに便利な分類を考案することを試みた。その分類はまず大分類として、

好気性菌優位の菌叢 (phase I)、プロバイオティクス優位の菌叢 (phase II)、嫌気性菌優位の菌叢 (phase III) に分け、さらに phase Iを常在好気性菌優位の phase I-a、病原性好気性菌優位の phase I-b、*Lactobacillus* 優位の phase I-c に細分、phase IIIを、正常菌叢に近い phase III-a と病原性菌が多く存在する phase III-b に細分した分類を提唱した (図2)。この分類を用いると、治療的シンバイオティクス療法では、菌叢を phase I-b から phase IIを経て、phase III-a に誘導すると記述できる (図3)。

[重症呼吸器疾患患児に対する治療的シンバイオティクス療法]

腸管機能障害と並んで問題となる、重症呼吸器障害患児に対する治療的シンバイオティクス療法の結果を次に報告した。このような患児では、気管切開などの必要性から上気道に多くの

- Phase I-a** :常在好気性菌優位の菌叢
- Phase I-b** :病原性微生物優位の菌叢
- Phase I-c** :乳酸菌最優勢の菌叢
- Phase II** :プロバイオティクス優位の菌叢
- Phase III-a** :常在嫌気性菌優位の菌叢
- Phase III-b** :常在嫌気性菌優位だが病原性微生物も多く存在する菌叢

図2 腸内細菌叢の phase 分類

腸内細菌叢の新分類 大きく分けて、好気性菌優位の phaseI、プロバイオティクス優位の phaseII、嫌気性菌優位の phaseIII の3つに分類した。phaseI はさらに、常在好気性菌優位の phaseI-a、病原性菌優位の phaseI-b、*Lactobacillus* 優位の phase I-c に分けた。また、phaseIII を、正常に近い phaseIII-a と、病原性菌を多く含んでいる phaseIII-b に分類した。これらの分類は患児の状態を記述するのに有用であると考えられる。

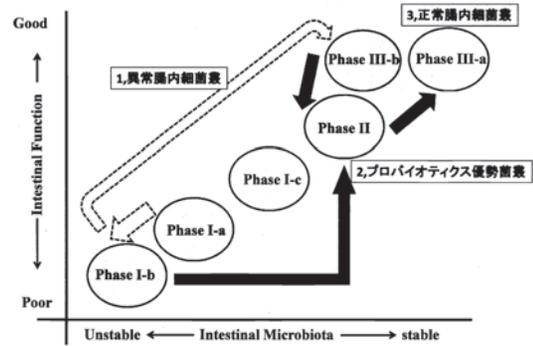


図3 治療的 synbiotics 療法の効果

治療的シンバイオティクスでは、異常となった腸内細菌叢 phaseI-a や phaseIII-b をプロバイオティクス優位の phaseII に誘導し、さらに長期的には phaseIII-a に誘導することが示された。

表4 シンバイオティクス療法をおこなった呼吸障害患児7例

症例	性別	年齢	原疾患	気管切開	消化管疾患	その他の問題点	治療期間
1	F	10mo	頸部巨大リンパ管腫	+	胃瘻		8mo
2	F	2y2mo	Body stalk anomaly 肺低形成	+	腸瘻 胃食道逆流症	中心静脈 カテーテル使用	1y2mo
3	F	2y4mo	喉頭閉鎖症	+	鎖肛 胃食道逆流症	膀胱尿管逆流症	10mo
4	M	3y3mo	声門下狭窄症	+	ヒルシュ スプルング病	心疾患	2y10mo
5	M	4y4mo	食道気管瘻 気管狭窄症	+	胆石症 胃食道逆流症	中心静脈 カテーテル使用	1y7mo
6	F	7y8mo	喉頭気管食道裂	+	胃瘻、腸瘻	中心静脈 カテーテル使用	6y11mo
7	M	11y3mo	両側横隔膜弛緩症 肺低形成	+	胃瘻 嚥下困難症	中心静脈 カテーテル使用	6y10mo

病原性菌が生着しており、これを嚥下することで腸内細菌叢はやはり異常を呈している。その病原性菌が患児の身体を汚染し、頻回の重症感染症を引き起こしていると考えられた。そこで重症患児7名に治療的シンバイオティクス療法を行った(表4)。その結果腸内細菌叢は、phase I-b から phase II を経て、phase III に誘導され、重症感染症を起こす頻度が減少し患児の栄養状態も改善した。しかし、呼吸器疾患患児では、気管切開など気道系に気管切開チューブという異物が常に存在するため病原性微生物を完全に排除することは難しく、phase III-b という嫌気性菌優位だが病原性微生物も残存している菌叢がみられた。

[予防的シンバイオティクス療法]

シンバイオティクス療法で異常な腸内細菌叢

をコントロールすることが可能であることを確認した後に、我々は腸内細菌叢の異常を予防するべく生後可及的早期からシンバイオティクス療法を導入する治療を開始した。これによって腸内細菌叢をいち早く正常に誘導し、病原性微生物の生着を防ぐことができるかどうかを検証した。その結果、患児は病原性微生物をほとんど生着させることなく、生直後の常在好気性菌優位の phase I-a 菌叢から、phase II のプロバイオティクス優位の菌叢を経て生後半年ほどで phase III-a の正常に近い菌叢を獲得することが可能であることが明らかになった(表5、図4)。その結果患児の成長は重症疾患にも関わらず極めて良好であった。

VII、新しい腸内細菌叢解析法の導入

これまで述べてきた腸内細菌叢の解析は培養法によるものである。大腸内の腸内細菌は多く

表5 予防的 synbiotics 療法を施行した患児 11 名

疾患名	年齢	性別	短腸	腸内細菌叢 phase	IIIa 誘導年齢
1、胎便性腹膜炎	7y5m	M	+	II-IIIa	4m
2、胎便性腹膜炎	4y2m	F	+	Ia-II-IIIa	3m
3、胎便性腹膜炎	7m	M	+	IIIa	1m
4、腹壁破裂	1y10m	F	+	Ia-II-IIIa	8m
5、腹壁破裂	7m	F	+	IIIa	0m
6、腹壁破裂	6m	M	+	II-IIIa	4m
7、新生児腸管穿孔	2y0m	M	-	Ia-II-IIIb-IIIa	8m
8、鎖肛、低出生体重児	2y2m	M	-	II-IIIa	9m
9、総排泄腔外反症	4y1m	F	+	Ia-II-IIIa	2m
10、鎖肛・尿道閉鎖症	3y6m	F	+	IIIa-II-IIIb	4m
11、腸閉鎖症	1y11m	F	+	II-Ic-IIIa-Ic-IIIa	5m

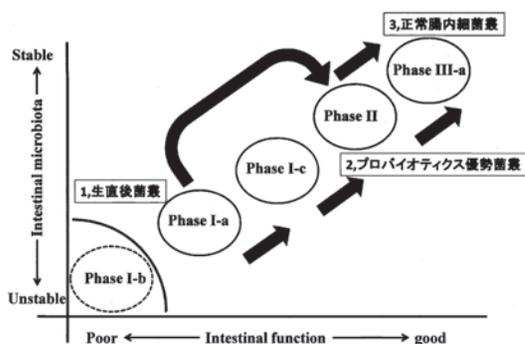


図4 予防的 probiotics 療法の効果

予防的シンバイオティクス療法では、phase-I-a という常在好気性菌優位の菌叢を、プロバイオティクス優位の phase-II に誘導し、早期に phase-III-a にまで誘導することが明らかになった。この過程では病原性菌はほとんど検出されないことも明らかになった。

が嫌気性菌であるために 1950 年代までは培養法による解析も難しかった。しかし 1960 年を過ぎたころから嫌気状態での細菌培養法が開発されこれによって腸内細菌の解析は飛躍的に進んだ。しかし培養できない細菌が数多く存在することも同時に知られるようになり、この欠点を補う方法論の出現が待たれていた。1990 年代になると、細菌の遺伝子を解析することによる網羅的な腸内細菌叢解析法が出現した。その結果、これまで知られていなかった新しい腸内細菌の姿が明らかにされてきた。細菌を門レベルで解析した結果、*Bacteroidetes* 門の細菌と *Fermicutes* 門の細菌の比率が肥満者では低いことが示されたり、腸内細菌叢を細菌属レベルで解析した結果、3つのタイプがあることが示されたりというこれまでは知りえなかった特徴が浮き彫りにされている。我々もこの手法を用いてこれまでに治療してきた患児の腸内細菌叢を解析したが、治療的シンバイオティクス療法を行った患児では属レベルでかなりの異常が残存していることが明らかになった。培養法で

は正常に近い菌叢と考えていたが、遺伝子解析法で網羅的に解析した結果乳酸菌最優勢菌叢を示す患児が圧倒的に多く、一度異常化した菌叢は正常には戻りえない可能性が示唆された。一方予防的シンバイオティクス療法を行った患児の菌叢は、正常菌叢に近似している可能性が示され、今後はいち早く腸内細菌叢をコントロールすることが重要であるとの認識を新たにして

[今後の発展]

プロバイオティクスは生体に有用な生菌の総称である。疾患別に、あるいは病態別に有用な菌が明らかになれば一層の効力を発揮するであろう。また最近の解析によると腸内細菌叢は多様性を維持することが機能的に重要であるという。すなわちプロバイオティクスとして腸内細菌の多様性を誘導する機能というものが今後注目されることが考えられる。その一つの方向として健常人の腸内細菌叢をそのまま投与する試みも始まっている。今後ますます腸内細菌解析とその病態への関連に関する知見の発展が期待されている。

[参考文献]

1. Kanamori, Y., Hashizume, K., Sugiyama, M., Morotomi, M. and Yuki, N. 2001. Combination therapy with *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, and galactooligosaccharides dramatically improved the intestinal function in a girl with short bowel syndrome A novel synbiotics therapy for intestinal failure. *Dig. Dis. Sci.* 46; 2010-2016.
2. Kanamori, Y., Hashizume, K., Sugiyama, M., Morotomi, M., Yuki, N. and Tanaka, R. 2002. A novel synbiotic therapy dramatically im-

- proved the intestinal function of a pediatric patient with laryngotracheo-esophageal cleft (LTEC) in the intensive care unit. *Clin. Nutr.* 21: 527-530.
3. 金森 豊. 2003. 短腸症や難治性腸炎患児とプロバイオティクス・プレバイオティクス. *医学のあゆみ* 207: 889-893.
 4. Kanamori, Y., Hashizume, K., Kitano, Y., Tanaka, Y., Morotomi, M., Yuki, N. and Tanaka, R. 2003. Anaerobic dominant flora was reconstructed by synbiotics in an infant with MRSA enteritis. *Pediatr. Int.* 45: 359-362.
 5. Kanamori, Y., Sugiyama, M., Hashizume, K., Yuki, N., Morotomi, M. and Tanaka, R. 2003. Experience of long-term synbiotic therapy in seven short bowel patients with refractory enterocolitis. *J. Pediatr. Surg.* 39: 1686-1692.
 6. Kanamori, Y., Sugiyama, M., Komura, M., Nakahara, S., Sato, K., Iwanaka, T., Yuki, N., Morotomi, M., Takahashi, T. and Tanaka, R. 2006. Synbiotic therapy: An important supportive therapy for pediatric patients with severe respiratory distress. *Int. J. Prob. Preb.* 1: 161-168.
 7. Kanamori, Y., Sugiyama, M., Goishi, K., Kano, H., Yuki, N., Takahashi, T., Morotomi, M. and Tanaka, R. 2006. Abnormal intestinal microbiota in pediatric surgical patients and the effects of a newly designed synbiotic therapy. *Int. J. Prob. Preb.* 1: 149-160.
 8. 金森 豊. 2007. 小児外科疾患患児の腸内細菌叢異常に対する synbiotics 療法の効果. *日本臨床腸内微生物学会誌* 9: 14-18.
 9. 金森 豊. 2008. Immunonutrition としての probiotics. *小児外科* 40: 889-895.
 10. 金森 豊, 五石圭司, 高見澤勝. 2008. 新生児・未熟児の腸内細菌叢異常に対する probiotics・prebiotics の免疫学的・栄養学的効果. *周産期学シンポジウム* 26: 97-102.
 11. 金森 豊. 2008. 新生児外科疾患に対する synbiotics 療法の効果. *日臨栄養会誌*, 29: 384-390.
 12. Kanamori, Y., Iwanaka, T., Sugiyama, M., Komura, M., Takahashi, T., Yuki, N., Morotomi, M. and Tanaka, R. 2010. Early use of probiotics is an important therapy in infants with severe congenital anomaly. *Pediatr Int* 52: 362-367.
 13. 金森 豊. 2010. 腸内細菌叢コントロールを主軸にした新しい短腸症治療戦略の概念. *外科と代謝・栄養* 44: 327-332.
 14. 金森 豊, 杉山正彦, 高橋琢也, 結城功勝, 諸富正己, 田中隆一郎. 2011. 新生児外科における腸内細菌叢コントロールの意義. *外科と代謝・栄養* 45: 63-70.

Controlling the intestinal microbiota in infants complicated with severe intestinal dysfunction: its effects to improve nutrition and to prevent severe infections

Yutaka Kanamori

Division of Surgery, Department of Surgical Specialties, National Center for Child Health and Development
(2-10-1 Okura Setagaya-ku Tokyo, 117-8535, Japan)