

機関番号： 32620

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591307

研究課題名 (和文) 未熟児・新生児における腸管粘膜バリアー機能の検討

研究課題名 (英文) Effects of barrier function of the intestinal mucosa in premature infants

研究代表者

清水俊明 (SHIMIZU TOSHIAKI)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：30260889

研究成果の概要 (和文)：低出生体重児の粘膜バリアー機能を向上させるため、n-3系PUFAおよびプロバイオティクスの投与が及ぼす影響を検討した。

まず、授乳ラットおよび授乳婦に、DHA強化食あるいはDHAカプセルを投与し、児の脂肪酸組成に及ぼす影響を検討した。DHAの強化により母乳中DHA濃度および児の組織中n-3系PUFA値が有意に上昇することが認められ、これらによって未熟児・新生児における腸管粘膜バリアー機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

次に、出生直後の仔ラットにプロバイオティクスである *B.breve* を投与した際の消化管粘膜における炎症性シグナル分子の発現をマイクロアレイを用いて検討した。出生直後から2週間、継続的に *B.breve* を投与した群において lipoprotein lipase、glutathione peroxidase 2、lipopolysaccharide binding protein などのシグナル伝達分子の発現が抑制されることを確認し、プロバイオティクスが持つ抗炎症効果ならびにバリアー機能保護作用を説明するものと思われた。

最後に、bacterial translocation の的確な診断のため、血中および便中細菌検索を定量的 RT-PCR 法を用いて行い、微量のサンプルにて高感度に各種細菌の同定が可能である測定法を確立した。本法を用いて低出生体重児ではこれまで培養検査では同定されなかった腸内細菌群によって、容易に菌血症・敗血症を起こすことが明らかになり、消化管粘膜バリアー機能の重要性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)： To evaluate effects of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs) and probiotics on intestinal mucosal barrier function we performed this study.

Fortification of Docosahexaenoic fatty acid (DHA) increased levels of DHA in breast milks of lactated mothers and in brain tissues of rat pups. These results suggest that administration of DHA to mothers may play an important role in the intestinal mucosal barrier function of their infants because n-3 PUFAs is known to contribute to the mucosal barrier function.

Administration of *Bifidobacterium breve* (*B.breve*) to newborn rats for 2 weeks attenuated the expression of inflammatory molecules, including lipoprotein lipase, glutathione peroxidase 2, lipopolysaccharide binding protein, in the intestinal mucosa using microarray. These findings indicate that probiotics may protect the intestinal mucosal barrier function by suppressing the mucosal inflammation

In low birth weight infants with neonatal sepsis, *Enterobacteriaceae* was detected in the blood as the most common bacteria using bacterial ribosomal RNA-targeted reverse transcription-quantitative PCR that was not detected by the conventional blood culture. These results suggest that suppression of the bacterial translocation is needed to prevent neonatal sepsis in low birth weight infants.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、胎児・新生児医学

キーワード：新生児医学、栄養学、消化器病学

1. 研究開始当初の背景

近年の新生児医療の充実により、低出生体重児の生命予後はたとえ1000g未満の超低出生体重児であっても極めて良くなっている。最近では、インタクトサバイバルを目指した未熟児管理が注目されており、栄養に関する問題も盛んに議論されるようになってきている。低出生体重児では、消化吸収能、腸管運動、腸管免疫、腸内細菌叢、および腸管粘膜バリアー機能はいずれも未成熟な状態にあり、これらが児の栄養学的問題と密接に関係している。さらに腸管粘膜バリアー機能の未熟性は、bacterial translocation (BT) を介しての敗血症や NEC などの発症、あるいは腸粘膜における透過性の亢進による消化管アレルギーの発症にも関与していると考えられている。

胎児期の腸管は無菌状態であり、生後早期の経腸栄養とそれに伴う腸内細菌叢の変化によって、消化管における粘膜免疫や tight junction 機能に明らかな変化が生じ、それらによって構成される粘膜バリアー機構にもダイナミックな変化が起こっていると考えられる。しかしながら、未熟児・新生児における腸管粘膜のバリアー機能を経腸摂取された栄養素あるいは腸内細菌叢との関係から経時的に検討した報告は、国内外を問わず認められない。

N-3PUFA の中でも docosahexaenoic acid (DHA) は未熟児・新生児の脳・神経発達に必須であることが知られており、私たちも人工乳への DHA 強化や DHA の認知発達に及ぼす影響などの検討を行ってきた。また、DHA および同様に n-3PUFA である eicosapentaenoic acid (EPA) は、ラットの NEC モデルにおいて抗炎症性メディエーターである PPAR- γ の発現を介して NEC の発症を防止すること (Fujii T, Shimizu T, et al. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2006)、あるいは腸粘膜

細胞 T84 の tight junction 機能に影響を及ぼすこと (金子, 清水, 他. 第 30 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 2005) などを報告している。

他方、プロバイオティクスについての研究では、低出生体重児を対象にビフィズス菌の投与により正常な腸内細菌叢の早期確立が望めること (Li Y, Shimizu T, et al. Pediatr Int, 2004)、さらには NEC や重症感染症の予防が可能であること (Satoh Y, Shimizu T, et al. Int J Probiotics Prebiotics, 2007) などを報告している。海外の報告においても、n-3PUFA やプロバイオティクスを用いた重症感染症や NEC、あるいは消化管アレルギーの発症予防効果の報告が散見されるが、その機序は明らかにされていないのが現状であり、児の腸管粘膜バリアー機能との関係を論じた報告も見当たらない。

2. 研究の目的

そこで今回、新生児・未熟児における腸管粘膜バリアー機能の生後の発達に、これまで私たちが重点的に研究を行ってきた n-3PUFA やプロバイオティクスが、どのような役割を演じ、重症感染症や NEC、あるいは消化管アレルギーの発症予防に関与しているのかを検討する目的で、本研究の計画に至った。

1. 低出生体重児を出産した母親への DHA 投与が、母乳中および児の赤血球膜中 n-3PUFA 組成に与える影響を明らかにする。
2. 低出生体重児および成熟児における腸管粘膜透過性、粘膜免疫、および腸内細菌叢の生後の発達過程を明らかにし、n-3PUFA およびプロバイオティクスの投与が、その発達に与える影響を明らかにする。
3. 腸管粘膜透過性、粘膜免疫、および腸内細菌叢などの個々の変化が、腸管粘膜バ

リヤー機能の生後の発達にどのような影響を及ぼすかを明らかにする。

4. 未熟仔・新生仔ラットに n-3PUFA およびビフィズス菌を投与し、microarray を用いて上皮成長因子や tight junction 構成蛋白の発現、さらには炎症性および抗炎症性シグナル伝達分子の発現への影響を明らかにする。
5. 腸粘膜細胞 T84 を用いて、n-3PUFA およびビフィズス菌から産生される乳酸、短鎖脂肪酸などが tight junction 機能に及ぼす影響を、管腔/基底間電気抵抗 (trans-epithelial electrical resistance: TEER) の測定や蛍光色素標識物質のクリアランスの測定などによって明らかにする。

以上の臨床研究、動物実験、および培養実験から、研究期間の3年間で新生児・未熟児における腸管バリアー機能の生後の発達過程と n-3PUFA およびビフィズス菌の発達促進効果、およびそれらが重症感染症や NEC、あるいは消化管アレルギーの発症に及ぼす影響を明らかにしていく。

3. 研究の方法

I 臨床研究

① 授乳婦への DHA 投与による母乳および児の赤血球膜中脂肪酸組成の検討

対象：当科 NICU に入院した出生体重 1500g 未満の極低出生体重児とその母親 40 名を対象とする。

方法：DHA 強化群として 20 名の授乳婦に産後 1 週目から DHA (500mg/日) を連日摂取させ、経時的 (生後 1, 2, 4, 8 週) に母乳中および児の赤血球膜中脂肪酸組成分析をガスクロマトグラフィー法にて行う。同様の測定を DHA を摂取していない授乳婦 20 名にも行い DHA 非強化群とする。また食事日誌の作成により、1 日の総 DHA 摂取量も算出する。

② 腸管粘膜透過性、粘膜免疫、腸内細菌叢の発達に及ぼす n-3PUFA、プロバイオティクスの役割

対象：出生体重 1500g 未満の極低出生体重児 40 例を対象とする。

方法：DHA 強化群および DHA 非強化群各 20 例をそれぞれ無作為にビフィズス菌投与群と非投与群に分け、投与群には出生日から *Bifidobacterium breve*: *B. breve* (10^9 CFU/日) を連日投与する (Li Y, Shimizu T, et al. *Pediatr Int*, 2004)。各群において経時的 (生後 1, 2, 4, 8 週) にマンニトールおよびラクツロースの経口負荷を行い、それぞれの尿中濃度を HPLC にて測定し尿中排泄率から腸管 permeability の測定を行い、便中 sIgA の測定を sIgA キットを用いて行い、便中細菌の分析を定量的 RT-PCR 法にて実施する (Wada M,

Nagata S, et al. 2nd ASPR, 2006)。

③ 腸管粘膜バリアー機能の検討

対象：4 群 (DHA 強化+ビフィズス菌投与群、DHA 強化+ビフィズス菌非投与群、DHA 非強化+ビフィズス菌投与群、DHA 非強化+ビフィズス菌非投与群、各群 10 名) の極低出生体重児を対象とする。

方法：各群における腸管 permeability、便中 sIgA、便中細菌の結果と腸管感染症、敗血症、NEC、アレルギー症状などの発症率との関係、さらには血中エンドトキシン値および高感度定量的 RT-PCR による血中腸内細菌

(*Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*,

Pseudomonas, など) の検出率との関係を検討する (坂口, 永田, 他. 第 110 回日本小児科学会総会, 2007)。

II 動物実験

妊娠ラット (Wistar 系) を麻酔下で帝王切開し、在胎 20 日で未熟仔ラットを出生させ、呼吸および体温管理を行いつつ胃瘻を造設する。以後、温浴槽を用いて保温および保湿に努め、胃瘻よりミルクを注入して飼育を行っていく。対照とし満期 (在胎約 21 日) で出生したラットを用い、同様に胃瘻を造設して飼育を行う。

魚油から抽出した DHA および EPA をそれぞれラット用人工乳に 0.05、0.1、0.5mg/日の割合で添加して飼育し、生直後および生後 3、7 日にペントバルビタール投与にて呼吸を停止させ、小腸および大腸粘膜を採取し凍結保存する。さらに *B. breve* (10^7 CFU/日および 10^8 CFU/日) 投与群においても、同様に DHA および EPA を投与して腸管粘膜を採取する。

摂取した腸管粘膜から mRNA を抽出し、cDNA を作成した後、DNA microarray assay を用い、IGF- I、EGF、occludin、claudin、Stat、Cox、Smad、NF- κ B、PPAR- γ 、Resolvin などの発現を多角的に捉え、real time PCR 法を用いてその発現を確認し、未熟仔ラット群と対照群で比較を行う (Yamakawa Y, Shimizu T, et al. 2nd ASPR, 2006)。

III 培養実験

ヒト大腸癌由来 T84 細胞を transwell 上で培養し、顕鏡法および volt-ohm meter による TEER 値から confluent 状態に達する前の 3 日間を pre-confluent 状態として、この期間で実験を行う。また対照として confluent 状態でも同様の実験を行う。

Pre-confluent 期間の 3 日間で、DHA、EPA、およびビフィズス菌が産生する乳酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸を培養液 (管腔および基底側) にそれぞれ 1、5、10 μ g/ml となるよ

うに添加する。

Volt-ohm meter を使用して TEER を pre-confluent 状態の 3 日間で測定し、permeability (tight junction 機能) の基礎値を調べ、さらに permeability 亢進作用を有する IFN- γ (10ng/ml) の基底側への添加による TEER 値の変化を検討する(金子, 清水, 他. 第 30 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 2005)。また、管腔側から基底側の蛍光色素標識物質 (fluorescein sulfonate: FS, MW478 および FITC-dextran:FD-4, MW440) のクリアランスの基礎値および IFN- γ 刺激によるクリアランスの変化も同様に検討する。

4. 研究成果

I DHA 強化による消化管粘膜バリアー機能への影響

まず、動物実験において母親への DHA 強化食が、授乳を受ける児の組織中 n-3PUFAs 濃度に影響を及ぼすか否かにつき検討を行った。結果は、DHA 強化食群では大豆油食群に比し、優位に脳における DHA 含量が上昇した(図 1)。

次に、産後の授乳婦に DHA カプセルを 500mg/日内服させ、母乳中の脂肪酸分析を行った結果、非投与群に比して、産後 1 週以降にみられる DHA 濃度の低下が有意に抑えられた。

以上の結果から、消化管粘膜のバリアー機能に影響を及ぼすことが知られている DHA を授乳婦に投与することによって、児の消化管粘膜機能に何らかの効果を与える可能性が考えられた。

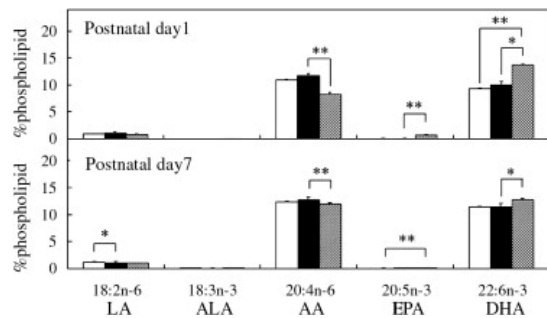


Fig. 1. Fatty acid compositions of phospholipids on postnatal days 1 and 7. LA: linoleic acid, ALA: alpha-linolenic acid, AA: arachidonic acid, EPA: eicosapentaenoic acid, DHA: docosahexaenoic acid. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

II B. breve の消化管粘膜における抗炎症効果の検討

F334/N 系ラットを対象に、日齢 14 の仔ラットと日齢 35 の離乳終了後の仔ラットの消化管粘膜における免疫関連分子の遺伝子発現を microarray を用い網羅的に検討した。さらに出生直後および離乳後から 2 週間、プ

ロバイオティクスを投与した群とそうでない群に分け、消化管粘膜における免疫関連分子の発現を比較検討し、粘膜免疫の発達におけるプロバイオティクスの効果を検討した。プロバイオティクスには *B. breve* を用い 1 日 5×10^8 CFU を 14 日間連続投与した。microarray の結果は Fold Change ± 1.5 以上かつ有意差 $p < 0.05$ で検証した。

正常粘膜においては、日齢 14~35 にかけて MHC class II および IL-18 関連分子の発現の増強を認めた。出生直後からプロバイオティクスを投与すると炎症にかかわる lipoprotein lipase, glutathione peroxidase 2, lipopolysaccharide binding protein などの発現の減少を認めた(表 1)。一方、離乳後よりプロバイオティクスを投与した群においては、T cell receptor 関連分子の発現の増強を認めたが、co-stimulatory molecule の発現には有意な変化はなかった。

出生後、腸管粘膜においては、腸内物質に対する抗体産生や Th1 免疫応答が発達してることが確認された。一方、プロバイオティクスを投与すると出生直後は抗炎症効果が、また、離乳後は抗原に対する寛容の誘導効果が認められ、プロバイオティクスの消化管粘膜バリアー機能にも及ぼす効果が期待された。

Table 1 Results of microarray for inflammatory molecules

Fold Change	gene description
-1.50	lipoprotein lipase
-1.65	tRNA nucleotidyl transferase, CCA-adding, 1
-2.07	glutathione peroxidase 2
-2.31	chloride channel, calcium activated, family member 4
-3.62	lipopolysaccharide binding protein

Fold Change ≥ 1.5 and $P < 0.05$

III 低出生体重児における消化管粘膜バリアー機能の検討

Bacterial Ribosomal RNA-Targeted RT-quantitative PCR (BrRNA-RT-qPCR) は、ribosomal RNA を標的とすることで従来の PCR よりも検出感度を向上させた分子生物学的起因菌検出法である。そこで、臨床的敗血症を疑う新生児の血液検体を用い、本方法による血液中の起因菌検出を試み、血液培養検査結果と比較し、低出生体重児における bacterial translocation の影響について検討した。

低出生体重、外科疾患などにより当院および関連病院に入院となった新生児のうち、入院経過中に呼吸障害、体温の異常、不機嫌、活動性低下、検査値の異常などから敗血症が疑われた児を対象とした。血液培養施行時の

同一検体を用い、本 PCR 法を行った。BrRNA-RT-qPCR による血液中細菌の分別定量は、菌群、あるいは菌種特異的な 15 種のプライマーを用いた。

対象となったのは 39 名であった（出生体重：2091±788g，在胎週数：34.8±5.8 weeks，男女比：25/14，発症日齢：13.7±2.9）。血液培養における細菌検出率は 6/39 (15.3%) であったのに対し、BrRNA-RT-qPCR では 16/39 (41.0%) と、血液培養に比べ 3 倍程度の高い検出感度を認めた。血液培養が陰性にもかかわらず、本 PCR 法にて菌を検出できた症例は 7 例あり、その多くで *Enterobacteriaceae* を検出した（表 2）。

本 PCR 法は血液培養に比べ検出感度が高く、血液培養陰性例からも起因菌を検出することが可能と考えられる。また、敗血症にも関わらず血液培養にて起因菌が検出されず治療選択に苦慮する症例の有用な起因菌検出法として期待される。今回の結果から、腸内細菌叢が bacterial translocation によって新生児の敗血症の原因となっている可能性が考えられ、腸粘膜におけるバリアー機能の重要性が示唆された。

Table 2 Positive results using the BrRNA-RT-qPCR method

Case	Onset day	2 sites	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Group B streptococcus</i>	<i>Group D streptococcus</i>	<i>Group G streptococcus</i>	<i>Group O streptococcus</i>	<i>Group A streptococcus</i>	<i>Group C streptococcus</i>	<i>Group F streptococcus</i>	<i>Group H streptococcus</i>	<i>Group I streptococcus</i>	<i>Group J streptococcus</i>	<i>Group K streptococcus</i>	<i>Group L streptococcus</i>	<i>Group M streptococcus</i>	<i>Group N streptococcus</i>	<i>Group P streptococcus</i>	<i>Group Q streptococcus</i>	<i>Group R streptococcus</i>	<i>Group S streptococcus</i>	<i>Group T streptococcus</i>	<i>Group U streptococcus</i>	<i>Group V streptococcus</i>	<i>Group W streptococcus</i>	<i>Group X streptococcus</i>	<i>Group Y streptococcus</i>	<i>Group Z streptococcus</i>	Blood culture		
1	10	①	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
2	7	①	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3	13	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
4	37	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
5	7	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
6	1	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
7	1	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
8	0	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
9	4	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
10	1	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
11	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
12	8	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
13	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
14	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
15	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
16	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
17	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
18	8	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
19	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
20	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
21	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
22	3	①	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

*Numbers represent bacterial cell counts per milliliter of sample
①: not detected

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 15 件)

1. 幾瀬圭, 清水俊明. 腸管感染症. 小児内科 43:231-235. 2011 (査読無)
2. 庄野哲夫, 清水俊明. 小児の下痢—最近の対応. 総合臨床 59:2313-2314. 2010
3. 清水俊明. 母乳育児. 小児科 51:1403-1409. 2010 (査読無)
4. Ohtsuka Y, Nagata S, Shimizu T, et al. (12人中1、10、12番目) ω -3 fatty acids attenuate mucosal inflammation in premature rat pups. J Pediatr Surg 46:489-95. 2011 (査読有)
5. Shoji H, Hisata K, Shimizu T, et al. (7人中7番目) Effects of parenteral

soybean oil lipid emulsion on the long-chain polyunsaturated fatty acid profile in very-low-birth-weight infants. Acta Paediatr, in press. (査読有)

6. Chiba Y, Nagata S, Shimizu T, et al. (11人中3、7番目) Well-controlled proinflammatory cytokine responses of Peyer's patch cells to probiotic *Lactobacillus casei*. Immunology 130:352-62. 2010 (査読有)
7. Fujimori M, Nagata S, Shimizu T, et al. (11人中3、11番目) Efficacy of bacterial ribosomal RNA-targeted reverse transcription-quantitative PCR for detecting neonatal sepsis: a case control study. BMC Pediatr 29:10:53. 2010 (査読有)
8. Lkhagvadorj E, Nagata S, Shimizu T, et al. (10人中2、8番目) Anti-infectious activity of synbiotics in a novel mouse model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Microbiol Immunol 54:265-75. 2010 (査読有)
9. Okada K, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al. (7人中3、7番目) Overfeeding Can Cause NEC-Like Enterocolitis in Premature Rat Pups. Neonatology 97:218-224. 2010 (査読有)
10. Suganuma H, Shimizu T, et al. (6人中6番目) Maternal docosahexaenoic acid-enriched diet prevents neonatal brain injury. Neuropathology 30:597-605. 2010 (査読有)
11. Wada M, Nagata S, Shimizu T, et al. (10人中6、7番目) Quantitative reverse transcription-PCR assay for the rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Appl Microbiol 108:779-88. 2010 (査読有)
12. Okada K, Ohtsuka Y, Shimizu T, et al. (7人中3、7番目) Overfeeding Can Cause NEC Like Enterocolitis in Premature Rat Pups. Neonatology 29:218-24, 2009 (査読有)
13. Wada M, Nagata S, Shimizu T, et al. (10人中6、7番目) Quantitative reverse transcription-PCR assay for the rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Appl Microbiol 108:779-788, 2009 (査読有)
14. Ikeno M, Shimizu T, et al. (7人中7番目) Fatty acid composition of the brain of intrauterine growth retardation rats and the effect of

maternal docosahexaenoic acid enriched diet. Early Hum Dev 85: 733-5, 2009 (査読有)

15. 大塚宜一, 清水俊明. 新生児壊死性腸炎の予防を見据えた probiotics および n-3 系多価不飽和脂肪酸投与について. 周産期シンポジウム 26: 89-96, 2008 (査読無)

[学会発表] (計 11 件)

1. 大川夏紀, 清水俊明, 他. (7 人中 7 番目) 出生前の栄養環境が極低出生体重児のインスリン抵抗性に及ぼす影響についての検討. 第 37 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 高松. 2010. 10. 9
2. 大塚宜一, 清水俊明, 他. (11 人中 1、11 番目) Microarray を用いた小児期炎症性腸疾患の病態の検討. 第 37 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 高松. 2010. 10. 9
3. 千葉幸英, 永田智, 清水俊明, 他. (9 人中 4、5 番目) MRSA 腸管感染モデルマウスにおけるシンバイオティクスによる感染防御効果. 第 37 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 高松. 2010. 10. 9
4. 久田研, 永田智, 清水俊明, 他. (6 人中 5、6 番目) ビフィズス菌溶解後の保存状況による生菌数および浸透圧への影響. 第 55 回日本未熟児新生児学会・学術集会, 神戸. 2010
5. 藤森誠, 永田智, 清水俊明, 他. (10 人中 9.) 10 番目) 新生児敗血症における Bacterial rRNA-targeted RT-Quantitative PCR 法の有用性. 第 113 回日本小児科学会学術集会, 盛岡. 2010. 4. 23
6. 和田万里子, 永田智, 大塚宜一, 清水俊明, 他. (12 人中 2、7、8 番目) 化学療法後の低免疫状態の患児への probiotics 投与の有用性について. 第 37 回日本小児栄養消化器肝臓学会, 高松. 2010. 10. 9
7. Shimizu T. Effects of probiotics on diseases in children. 台湾小児消化医学会, Taipei, Taiwan. 2009. 6. 21
8. 大塚宜一, 永田智, 清水俊明, 他. (14 人中 1、10、14 番目) Microarray を用いた仔ラット消化管粘膜に与える probiotics の効果の検討. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 秋田. 2009. 10. 31
9. Shoji H, Shimizu T, et al. (5 人中 5 番目) Effects of parenteral lipid emulsion on the long-chain polyunsaturated fatty acid profile in very-low-birth-weight infants. 11th Congress of the Asian Pan-Pacific Society for Paediatric

Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Seoul, Korea, 2009. 9. 25

10. 久田研, 清水俊明, 他. (10 人中 10 番目) 新生児における敗血症マーカーイムノクロマト法によるプロカルシトニン測定の有用性. 第 112 回日本小児科学会学術集会, 奈良. 2009. 4. 17
11. Ohtsuka Y, Fujii T, Nagata S, Shimizu T, et al. (8 人中 1、6、7 番目) Anti-inflammatory effects of DHA and EPA on premature rats' intestine. 4th Congress of Asian Society for Pediatrics Research, Hawaii, 2008. 5. 4

[図書] (計 1 件)

1. 清水俊明. 消化器官の発達. 小児臨床栄養学. 児玉浩子, 玉井浩, 清水俊明(編), 診断と治療社, 東京, 10-15. 2011

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
清水 俊明 (TOSHIAKI SHIMIZU)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号: 30260889

(2) 研究分担者

大塚 宜一 (YOSHIKAZU OHTSUKA)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 90338335

永田 智 (SATORU NAGATA)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号: 70266055