

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08235

研究課題名（和文）帝王切開で出生する新生児における出生直後のプロバイオティクス口腔内投与の有効性

研究課題名（英文）Efficacy of oral probiotics at birth for neonates born by cesarean section.

研究代表者

久田 研（HISATA, KEN）

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：10420853

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：帝王切開で出生した新生児に対してビフィズス菌を投与し、正常な腸内細菌叢を誘導する試験を計画した。単施設の産科施設においてランダム化二重盲検並行群間比較試験を行った。妊娠35-37週時点で層別置換ブロック法を用いてランダム化し、割付け食品を出生から3日間内服させ、産科退院時、生後1か月、3か月時に、採便・採尿を行った。

40名の新生児に対し、割付け食品の内服が行われ、生後1か月、3か月に検体を回収した。現在、16SrRNAシーケンスによる腸内細菌叢解析が終了し、症例固定を行っている。今後、キーオープンし、ビフィズス菌群およびプラセボ群の二群間で統計解析を実施する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、様々な疾病の発症もしくは増悪に腸内細菌叢が関連することが分かってきた。直接的な因果関係について十分に解明された段階には至っていないが、帝王切開での出生、そして、帝王切開に伴う腸内細菌叢の変化もまた、将来的な疾病の発症リスクになり得る可能性が報告されている。その一方で、帝王切開は母子の安全を考慮した分娩方法であり、世界的には増加傾向にある。従って、帝王切開で出生した新生児の腸内細菌叢を、経膣分娩に類似した正常な腸内細菌叢へと誘導することができれば、将来的な疾病の発症リスクの軽減につながる可能性がある。本研究の解析結果に統計学的有意差が出ることは、予防医学の観点から意義の高い研究となる。

研究成果の概要（英文）：A study was designed to induce normal intestinal microflora by administering bifidobacteria to newborns born by cesarean section. A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study was conducted at a single obstetric center. Patients were randomly assigned at 35-37 weeks gestation using a stratified substitution block method, were given the assigned foods internally for the first 3 days of life, and stool and urine samples were collected at obstetric discharge, at 1 month of age, and at 3 months of age.

Assigned foods were administered to 40 newborns, and samples were collected at 1 month of age and 3 months. Currently, gut microbiota analysis by 16SrRNA sequencing has been completed and case fixation is underway. A statistical analysis will be performed between the bifidobacteria and placebo groups.

研究分野：新生児

キーワード：新生児 プロバイオティクス 帝王切開

1. 研究開始当初の背景

何らかの要因によって、宿主の腸内細菌叢が変化し、細菌の多様性が消失した状態を *dysbiosis* と呼ぶ。その変化は、腸内細菌の代謝産物である短鎖脂肪酸の産生にも影響を及ぼし、消化管の恒常性を破綻させる。その結果、宿主の遺伝的な背景とともに、様々な疾病の発症につながっていく 1)。この疾病と腸内細菌叢の関連性は、様々な分野で注目されており、疾病の発症予防や治療の介入方法としても期待が集まっている。

近年、新生児領域でも、分娩方法の違いによる腸内細菌叢への影響に注目が集まっている。経膣分娩児と帝王切開児の腸内細菌叢を比較した *systematic review* では、帝王切開児は経膣分娩児に比べて、*Bifidobacterium* や *Bacteroides* が少なく、*Enterobacteriaceae* が優勢になりやすいことが報告されている 2)。そして、この異常な細菌叢が、新生児・乳児の免疫機能に影響を及ぼし 3)、大規模な出生コホート研究では、帝王切開での出生が、肥満、喘息を含むアレルギー疾患、糖尿病などの疾病の発症リスクになることが統計学的に示されている 4)。すなわち、『帝王切開による出生が、正常な腸内細菌叢の確立を遅らせ、発達途上にある新生児の免疫機能に影響を及ぼし、将来的な疾病の発症リスクになる』と考えられるようになったのである。

しかしながら、帝王切開は、リスクのある分娩、そして、母子の安全性を考慮した分娩方法のひとつである。その割合は増加傾向にあり、多くの新生児が帝王切開で出生している 5)。では、帝王切開で出生した児は、すべからく将来の疾病リスクを受け入れなければならないのか。帝王切開での出生が増えるなか、予防医学の観点から、そして、将来的な疾病対策として効果的な介入方法を検証することが必要である。そして、分娩方法として帝王切開を選択しなければならない家族の不安を解消するためにも解決すべき問題である。

2. 研究の目的

近年、腸内細菌叢の由来を調査した複数の報告から新たな知見が得られてきている。3歳頃までは母親由来の腸内細菌の占める割合が高く、4歳以上になると母親だけではなく父親の口腔細菌叢の占める割合が増える。すなわち、新生児期から幼児期の腸内細菌叢の形成には母親の腸内細菌叢が重要である 6)。そして、母親からの微生物の伝播経路を生後4ヶ月まで前方視的に解析した報告 7) から、出生早期の腸内細菌叢は出生時の環境に大きく依存すること、その後は選択圧がかかり、経過とともに、母親の膣、口腔、皮膚由来の細菌叢は減少し、母親の腸内細菌叢由来が50%以上の占有率になることが示されている。更に596人の正期産児の糞便(日齢4、7、21、乳児期)を前方視的に採取し、メタゲノム解析を実施した報告 8) から、帝王切開で出生した新生児は *Bifidobacterium* 属と *Bacteroides* 属の母親からの継承が、特に阻害されることが判明している。すなわち、帝王切開で出生した新生児の腸内細菌叢へ介入が必要とするならば、出生時の介入が効率的であるということが分かる。

この仮説をもとに、帝王切開が予定されている母親の糞便を予め採取しておき、新生児に出生後すぐに経口摂取させるという介入試験(糞便移植)が行われた 9)。その結果、帝王切開で定着が阻害される *Bifidobacterium* 属と *Bacteroides* 属を生後早期から誘導できることが示された。しかしながら、その一方で、登録された母親の半数近くが病原微生物の検出などにより試験にすすむことができなかった。すなわち、糞便移植は帝王切開で出生した新生児に正常な腸内細菌叢を誘導するひとつの方法になり得るが、安全性という問題の解決が困難な方法でもあった。

そこで、帝王切開で出生した新生児の腸内細菌叢を、より安全かつ効率的に正常に誘導する方法を検証するため本研究が計画された。本研究では、定着が阻害される *Bifidobacterium* 属そのものを糞便移植と類似した方法で経口接種させ、正常な腸内細菌叢を誘導することができるかを検証する。

3. 研究の方法

デザイン：ランダム化二重盲検並行群間比較試験(帝王切開の2群比較)

対象： 予定帝王切開にて出生する出生体重2000g以上の単胎の健常新生児

- ・プロバイオティクス試験食品群 n=20
- ・プラセボ食品(賦形剤デキストリン)群 n=20

方法： 妊娠35-37週の妊婦健診時に、母体に対して本研究の説明を行い、代諾者(親権者)より同意が得られた新生児を対象とする。健診時の胎児の推定体重を調整因子として層別置換ブロック法を用いてランダム化する。帝王切開で出生した2群の新生児に対して、出生直後および生後2日目、3日目まで計3回、試験食品もしくはプラセボ食品を経口摂取させる。

サンプリング：採便・採尿(退院前、生後1か月、生後3か月)

解析： 腸内細菌叢解析(16S rRNA シーケンス)

観察項目

母親： 母体年齢、身長・体重、子宮内感染・前期破水・母体ステロイド投与の有無、合併症、薬剤投与状況、出生時の母体処置、GBS 保菌の有無、分娩時予防的抗菌薬の有無、母体

簡易調査票（母親の普段（妊娠前）の体重、分娩までの直近1ヶ月間の処方薬使用有無（抗菌剤、便秘薬、他、不明）、サプリメント使用有無（乳酸菌、ビフィズス菌、オリゴ糖、他、不明））

新生児：出生体重・身長・頭囲、性別、在胎期間、アプガースコア（1分・5分）、単胎・多胎、蘇生時酸素使用の有無、合併症、出生時から退院までの処置の有無、退院時の体重、（栄養調査票：生後1か月健診時、3-4か月健診時の体重、身長、頭囲、母乳率、抗菌薬使用歴、他処方薬使用の有無、感染徴候および臨床症状の有無、サプリメント使用有無（乳酸菌、ビフィズス菌、オリゴ糖、他））

4. 研究成果

産科単施設にてリクルートを行い、基準に合致した40名の母子が試験に参加した。対象新生児に対しては、生後から計3回の試験食品の経口摂取、生後1か月、生後3か月に採便・採尿が行われた。

予定帝王切開時の母体の特徴は、平均年齢：35.6±3.4歳、体重：63.7±7.8kg、BMI：25.2±2.4であった。いずれも感染兆候なく、正常な妊娠経過であった。

出生した新生児の出生時の特徴は、男女比：18:22、出生週数：37.5±0.4週、出生体重：2861±271g、カウプ指数：12.9±0.9であった。

1か月健診時の特徴は、平均体重：3957±3396g、カウプ指数：14.6±1.0、栄養方法は、完全母乳栄養：7名、混合（母乳率75%以上）：12名、混合（母乳率25-75%）：16名、混合（母乳率25%未満）：4名、完全人工栄養：1名の割合であった。

3-4か月健診の特徴は、平均体重：6606±592g、カウプ指数：17.5±1.2、栄養方法は、完全母乳栄養：12名、混合（母乳率75%以上）：8名、混合（母乳率25-75%）：13名、混合（母乳率25%未満）：3名、完全人工栄養：4名の割合であった。

1か月40検体、3か月4検体の16S rRNA シーケンスによる腸内細菌叢解析が行われた。現在、各症例の最終的な症例固定を行っている。すべての症例の固定化が終了後、層別置換ブロック法を用いたランダム化のキーオープンが行われ、プロバイオティクス試験食品群とプラセボ食品群の2群間での統計解析が実施される。

本解析により統計学的有意差が証明できれば、帝王切開で出生した新生児の腸内細菌叢を、安全かつ効率的に正常な細菌叢に誘導するひとつの方法となり、将来の疾病リスクを軽減できる可能性につながる。

引用文献

- 1) Hooper LV, et al. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012; 336: 1268-73.
- 2) Rutayisire E, et al. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterology* 2016; 16: 86.
- 3) Jakobsson HE, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut* 2014; 63: 559-566.
- 4) Kristensen K, et al. Cesarean section and disease associated with immune function. *J Allergy Clin Immunol*. 2016; 137: 587-90.
- 5) Boerma T, et al. Global epidemiology of use of and disparities in caesarean sections. *Lancet*. 2018; 392: 1341-1348.
- 6) Valles-Colomer M, et al. The person-to-person transmission landscape of the gut and oral microbiomes. *Nature*. 2023; 614: 125-135.
- 7) Ferretti P, et al. Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome. *Cell Host Microbe*. 2018; 24: 133-145.
- 8) Shao Y, et al. Stunted microbiota and opportunistic pathogen colonization in caesarean-section birth. *Nature*. 2019; 574: 117-121.
- 9) Korpela K, et al. Maternal Fecal Microbiota Transplantation in Cesarean-Born Infants Rapidly Restores Normal Gut Microbial Development: A Proof-of-Concept Study. *Cell*. 2020; 183: 324-334.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|--------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 大日方 薫 (Obinata Kaoru) (10204281) | 順天堂大学・医学部・客員教授 (32620) | |
| 研究分担者 | 堀 賢 (Hori Satoshi) (80348937) | 順天堂大学・大学院医学研究科・教授 (32620) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |