

令和元年5月16日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10115

研究課題名(和文) SGA児の成長障害及び代謝異常における腸内細菌叢の関与と治療応用への可能性の探求

研究課題名(英文) Gut microbiota on failure to thrive and metabolic abnormality of small for gestational age infants

研究代表者

荒木 俊介 (ARAKI, SHUNSUKE)

産業医科大学・医学部・講師

研究者番号：20515481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：極低出生体重児21例(出生体重:981g、在胎期間:28.6週)に対して投与されたプロバイオティクス(*B. breve*)の定着及び腸内細菌の経時変化(経腸栄養確立日:F期と修正37週以降:T期)を16SrRNA解析で検討した。F期はT期に比較して腸内細菌叢の多様性に乏しく、*B. breve*が占める割合はF期36.7%からT期11.8%と低下したが、症例毎のばらつきが大きかった。分娩様式、抗菌薬投与、栄養法との関連性はなかった。*B. breve*の定着率、腸内細菌の変化は個人差、未熟性に影響される。プロバイオティクスによる効果を評価するためには腸内細菌叢の変化の個人差を認識することも重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により極低出生体重児の未熟な腸管においてはプロバイオティクスの定着率には個人差が大きく、在胎期間に応じて腸内細菌叢の多様性が高まることが明らかとなった。本研究結果は未熟児に対するプロバイオティクスの効果を評価する際に必要な情報であり、今後の未熟児における成長障害や消化器症状の理解及び治療法の開発のために意義深い結果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study was designed to elucidate the establishment of probiotics (*Bifidobacterium breve*: *B. breve*) and age dependent change of microbiota in immature gut. Twenty-one very low birth weight infants (VLBWI), whom probiotics were orally administered within 24 hours after birth, were enrolled in the study. The median age in gestational weeks and weight at birth were 28.6weeks and 981g. We have collected the feces at the two point; F term (at full feeding) and T term (at >37 corrected weeks). The gut microbiota of feces was analysed by 16S ribosomal RNA sequences. The proportion of *B. breve* in feces have declined 36.7% in F term to 11.8% in T term, but they varied widely. There were no significant relationships among the gut microbiota and mode of delivery, usage of antimicrobial drug, breast feeding. The gut microbiota in VLBWI were affected by immaturity. Therefore, further studies are needed to elucidate the factors affecting the individual difference of gut microbiota.

研究分野：新生児学

キーワード：腸内細菌 未熟児 プロバイオティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Small for gestational age 児(SGA 児)、未熟児の増加及びその後の成長障害は成人後の生活習慣病患者の増加につながり、一個人のみならず社会的な問題となる。腸内細菌叢の変化が様々な疾患に関与することが明らかとなっているが、SGA 児の出生後の成長障害・代謝異常、生活習慣病発症と腸内細菌叢との関係は不明である。

2. 研究の目的

新生児集中治療室(NICU)では腸内細菌叢の確立促進及び感染症や壊死性腸炎の発症予防を期待して未熟な消化管機能の極低出生体重児に対してプロバイオティクスの投与が行われている。しかし、実際に投与されたプロバイオティクス中の生菌が定着しているかについての検討は少ない。本研究ではプロバイオティクス投与による腸内細菌叢及び腸管内脂肪酸の変化について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

産業医科大学病院 NICU で出生後より入院加療を開始し、生後 24 時間以内にプロバイオティクスとして *Bifidobacterium breve*(*B. breve*)を投与した極低出生体重児を対象とした。経腸栄養確立日(経腸栄養量が 100ml/kg/day に到達した日:F 期)とプロバイオティクス投与終了後の修正 37 週以降(T 期)の 2 回における便を採取した(図 1)。採取した糞便を用いて 16S rRNA 解析による腸内細菌叢(図 2)及び腸管内短鎖脂肪酸について比較検討を行った。

図 1 研究プロトコール

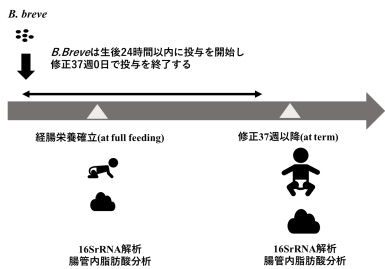
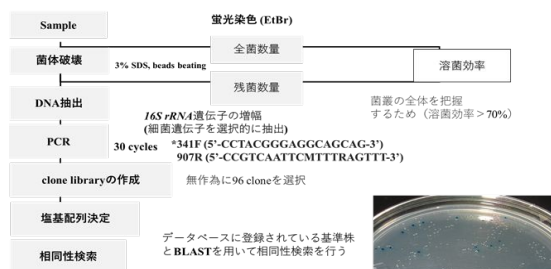


図 2 16SrRNA 細菌叢解析方法



糞便中の短鎖脂肪酸については株式会社テクノスルガ・ラボに測定を依頼し、GC-FIC(ガスクロマトグラフィー・水素炎イオン化検出器)を用いて測定した。なお、本研究は産業医科大学倫理委員会の承認を得て行った(承認番号 H28-088)。

4. 研究成果

(1) 対象

症例数 (男/女)	21 (12/9)
SGA 児	8 例
在胎期間 (週)	28 (24 ~ 36)
分娩方法 (帝王切開/経膈分娩)	14/7
出生体重 (g)	980 (543 ~ 1400)
出生後抗菌薬投与あり (例)	18
糞便採取日	
F 期: 経腸栄養確立日齢(日)	14 (6 ~ 21)
修正週数 (週)	30 (27 ~ 37)
体重 (g)	962 (545 ~ 1274)
T 期: 退院前日齢(日)	71 (41 ~ 113)
修正週数 (週)	38 (37 ~ 45)
体重 (g)	2023 (1210 ~ 2718)

中央値(最小値 ~ 最大値)

(2) 腸内細菌叢の変化

経腸栄養確立時(F 期)には半数の症例において投与された *B. Breve* が有意の腸内細菌叢が形成されていたが、出生後の日齢が進むに従い(T 期)、*Proteobacteria* が有意の菌叢となり *B. Breve* が占める割合は F 期 36.7%から T 期 11.8%と低下したが、症例毎のばらつきが大きかった。

図 3 に Actinobacteria(放線菌)門、Firmicutes(フィルムクテス)門、Proteobacteria(プロテオバクテリア)門、その他(unclassified)に分けた各症例別の腸内細菌叢について示す(図 3)。腸内細菌叢の多様性についてシン普森係数を用いて評価した(図 4)。シン普森係数は T 期で F 期より有意に上昇し、シン普森係数は修正週数と有意な正相関を認めており($r=0.541$, $p<0.01$)、日齢が進むと多様性が高まることが明らかとなった。

SGA 児と非 SGA 児における腸内細菌叢の特徴に差はなかった。

図3

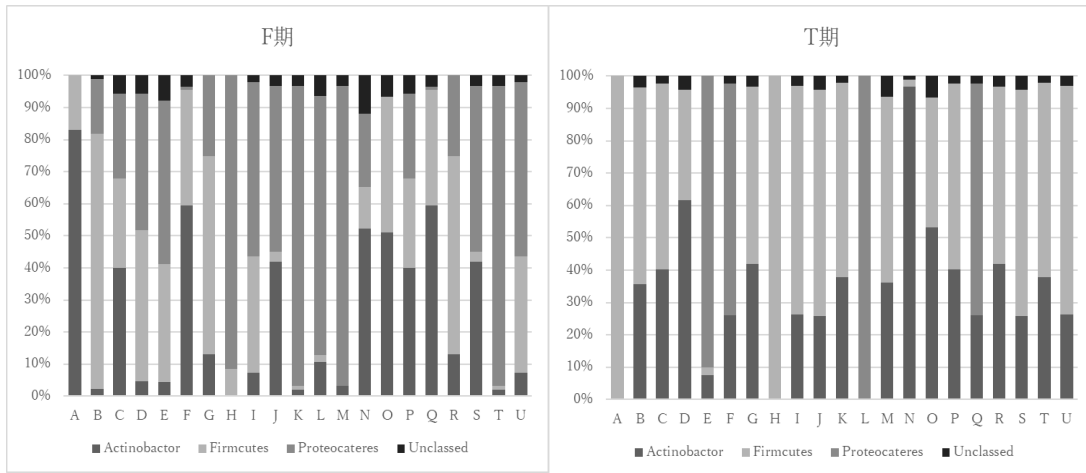
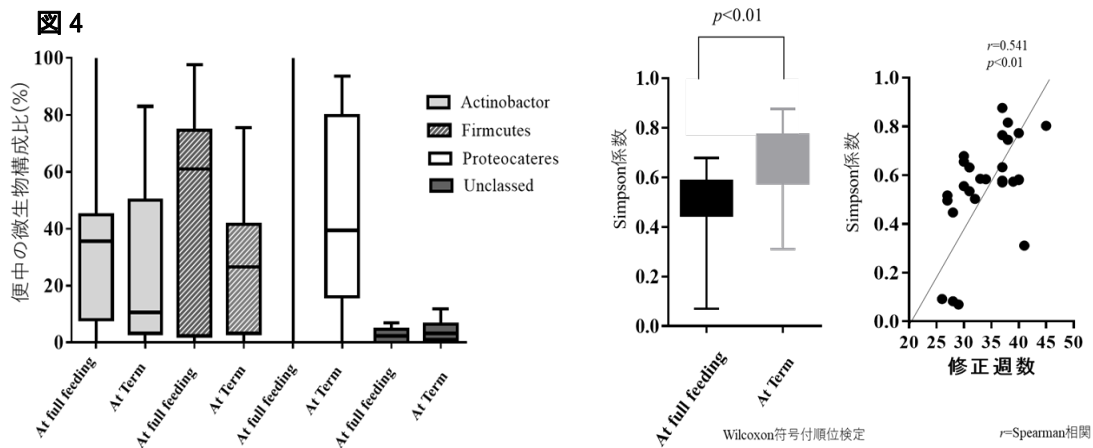


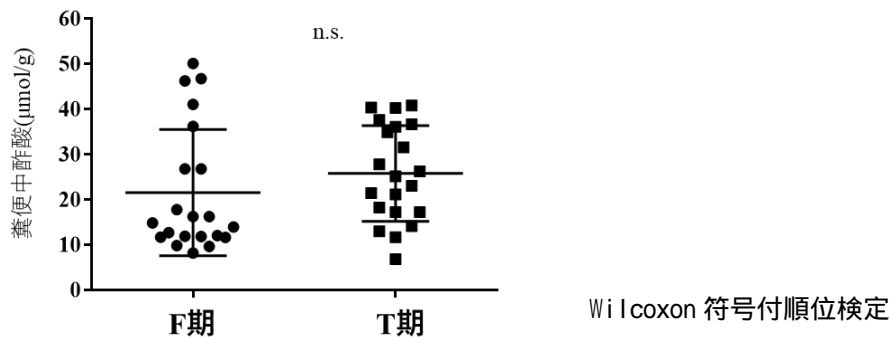
図4



(3) 腸管内短鎖脂肪酸(糞便中酢酸濃度)の変化

便中短鎖脂肪酸である酢酸はF期(22.3 μmol/g)からT期(29.7 μmol/g)にかけて増加する傾向があった(図5)。他の短鎖脂肪酸(コハク酸、乳酸、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、iso-酪酸、n-酪酸、iso-吉草酸、n-吉草酸)については測定感度以下が多く、評価できなかった。

図5 腸管内短鎖脂肪酸(糞便中酢酸濃度)の変化



(4) 分娩法の違いによる影響

帝王切開出生14例と経膈分娩出生7例のF期とT期における腸内細菌叢を図6に示す。両期とも正期産児における既報と異なり分娩法による腸内細菌叢の特徴は明らかではなかった。これはNICUという環境要因による曝露が大きく影響していると考えられた。

(5) 抗菌薬投与による影響

出生直後から抗菌薬(ABPC+GM)投与を受けた18例と非投与3例の腸内細菌叢を図7に示す。非投与例の症例数が少なく、抗菌薬が極低出生体重児の未熟な腸内細菌叢に与える影響については明らかではなかった。

図6 帝王切開及び経膣分娩による腸内細菌叢変化

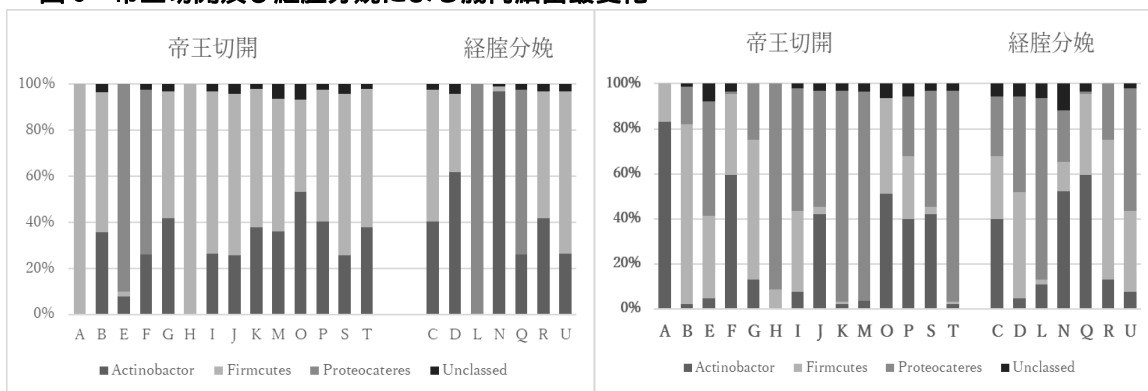
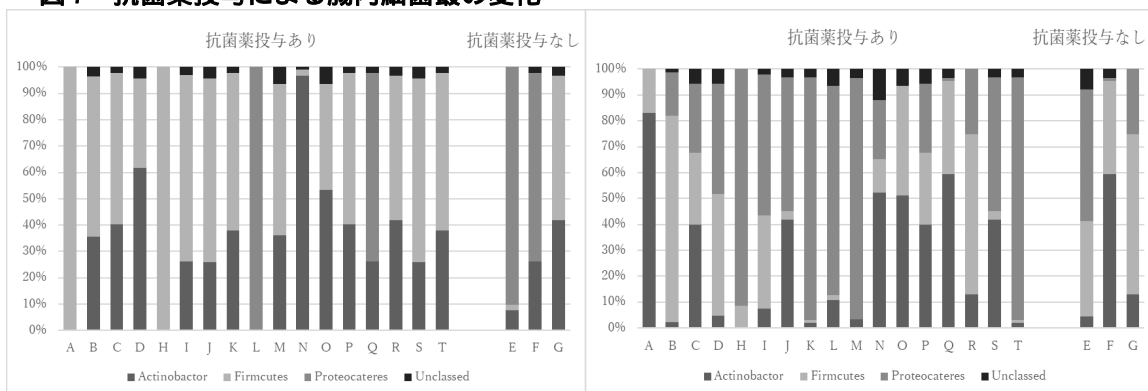


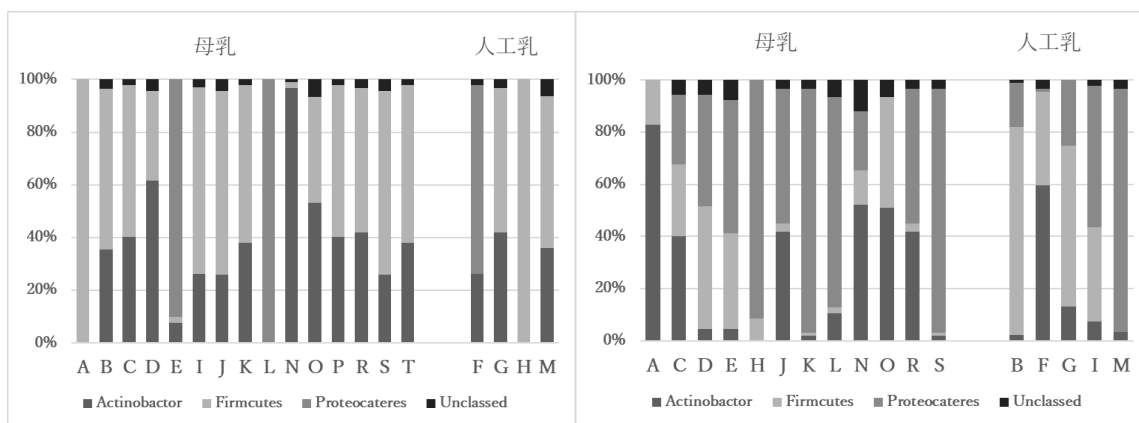
図7 抗菌薬投与による腸内細菌叢の変化



(6) 母乳栄養による影響

母乳栄養による腸内細菌叢の変化を図8に示す。糞便検体採取1週間前の栄養が半分以上母乳であった場合を母乳群としたが、母乳栄養と人工栄養による明らかな差異は認めなかった。

図8 栄養法の違いによる腸内細菌叢の変化



(7) まとめ

本研究により極低出生体重児に投与されたプロバイオティクスの腸管内での生着には個人差が大きいことが明らかとなった。症例数が少なく、その個人差を規定する因子については明らかにできず、今後の多数例での検討が望まれる。また、腸管内脂肪酸である便中酢酸の有意な変化はなく、現在の投与方法ではB.Breve投与による腸内細菌叢の改善が不十分であることを反映している可能性がある。プロバイオティクスの効果を評価するには個人差を認識したテーラーメイドの投与についても検討する必要があるのかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

1. 荒木 俊介, 田中 健太郎, 菅 秀太郎, 楠原 浩一・16S rRNA 遺伝子解析を用いた極低出

〔図書〕(計 0 件)

〔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：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山本 幸代

ローマ字氏名： YAMAMOTO YUKIYO

所属研究機関名：産業医科大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 20279334

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。