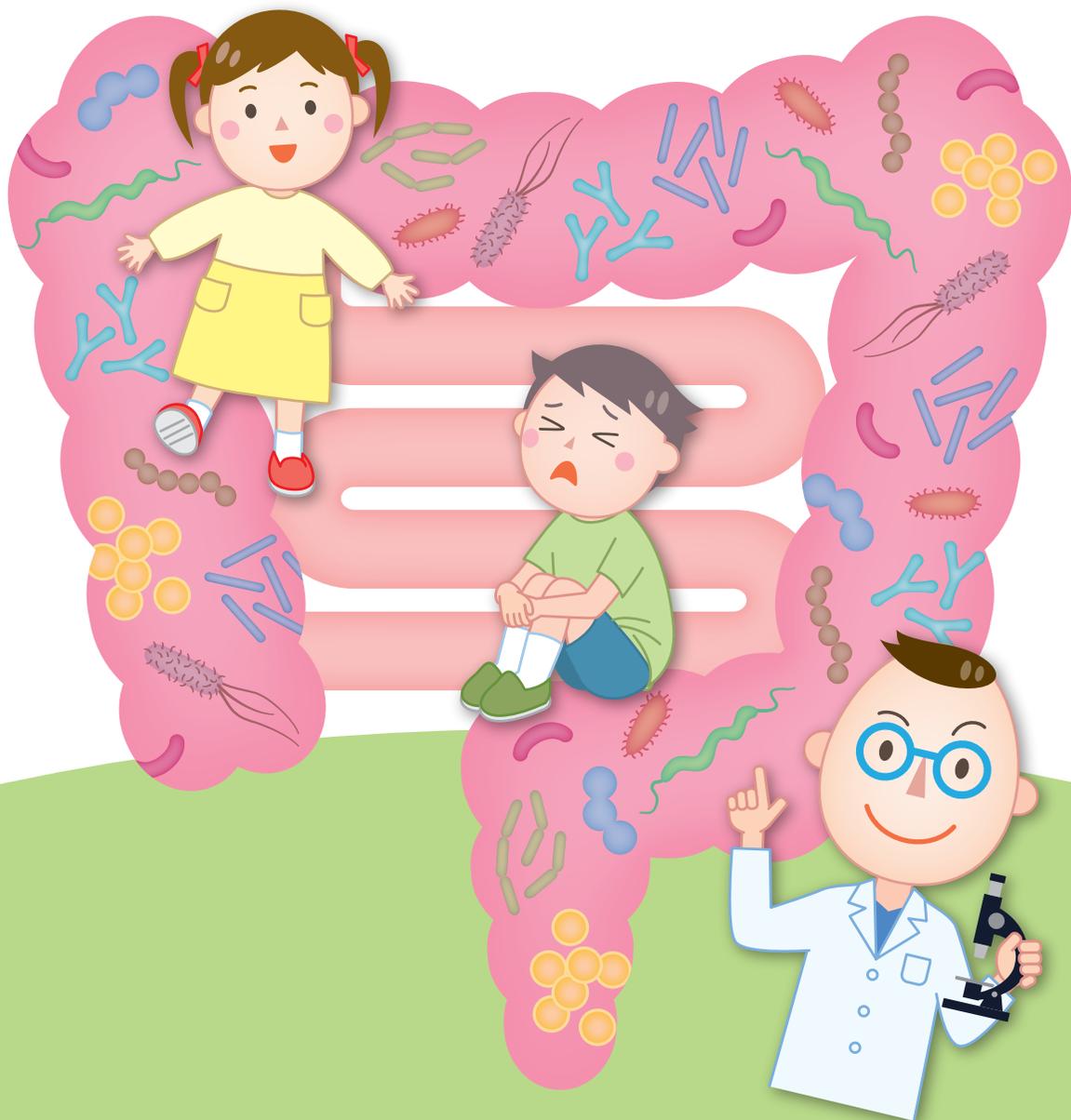


小児の腸内細菌叢

UP-TO-DATE

基礎研究と臨床の知見

関西医科大学小児科学講座教授 金子一成 編著



日本医事新報社

1-1 腸内細菌叢研究の歴史

神谷 茂

はじめに

ヒトの体内には生体を構成する全細胞数(約30兆個)よりも多くの細菌が棲息し、常在細菌叢(indigenous microbiota)を形成している^{1, 2)}。常在細菌叢は口腔、消化管、気道、泌尿生殖器、皮膚などに存在するが、これらのうち最大(菌種および菌数)のものは腸内細菌叢(intestinal/gut microbiota)である。本項では腸内細菌叢に関する研究の歴史を紹介する。同時に、微生物間干渉作用ならびに生菌製剤であるプロバイオティクスに関する研究の歴史についても紹介する。

1 腸内細菌の分類

細菌はかつて分類学的位置づけとして真核生物中の植物相(flora)に含まれていたことがあり³⁾、腸内細菌叢の名称として腸内フローラ(intestinal/gut flora)の言葉が採用されたものと想定される。近年では細菌叢の語句としてマイクロビオータ(microbiota)もしくはマイクロバイーム(microbiome)が使われるようになってきている(特に海外では)。細菌の分類は門(phylum, 自然界に70門以上が存在する)、綱(class), 目(Order), 科(Family), 属(Genus), 種(Species)に従い行われるが、ヒトの腸内細菌叢ではFirmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteriaの4門のみで99%以上が占められる。

腸内細菌叢は宿主の機能(物質代謝, 蠕動, 消化吸収など)と密接に関連するとともに、外来性病原微生物への感染防御や宿主免疫能の活性化に関与する。腸内細菌叢のゲノム解析の結果、出生直後ではActinobacteria, Proteobacteria, Firmicutesが優位を示すこと、離乳によりBacteroidetes, Firmicutesの優勢化が起こり、成人の腸内細菌叢へと移行することがわかっている⁴⁾。一方、加齢とともにProteobacteriaおよびActinobacteriaの増加がみられる。表1にヒトに常在する細菌の主たるものをまとめた^{5, 6)}。上述のごとく常在細菌叢中腸内細菌叢が最大のものであり、腸内細菌叢を構成する主たる細菌は表1に記載されている。

1-4 小児期の腸内細菌叢の形成と その特徴

三島梨子, 小田巻俊孝

はじめに

生後初期の腸内細菌叢は成人に比べて単純な構造をしており、時期によって劇的な変化を起こす。乳幼児期の腸内細菌叢は、児の栄養吸収や免疫発達に深く関与し、その後のアトピー性疾患、喘息、肥満、1型糖尿病など様々な疾患発症リスクに影響を与えることが知られている。そのため乳幼児の健康的な発達をサポートするためには、乳幼児腸内細菌叢の変遷や、それらに影響を与える育児因子について理解することが非常に重要である。

本項では、乳幼児期における腸内細菌叢の形成について、乳幼児腸内細菌叢の役割、影響因子、プロバイオティクスに触れつつ紹介する。

1 胎児期および乳幼児期の腸内細菌叢の変遷

1. 胎児期

子宮内環境は無菌であり、腸内細菌叢の形成は出生後に始まるという認識が一般的である¹⁾。しかし、2014年にAagaardらによる胎盤の微生物叢に関する研究²⁾が発表されて以降、胎盤や羊水に微生物が存在し、定着している可能性についていくつかの検証がなされてきた。10年ほど議論が続いてきたが、2023年になり69もの研究チームが共著者として名を連ねた論文にて、分娩時、サンプリング時、実験時、シーケンス時におけるコンタミネーションのリスクが存在することで膣、皮膚、試薬からの微生物が混入し、低バイオマスのサンプルに反映されている可能性が高いとの報告がなされた³⁾。現時点では、健康な胎児の腸内細菌叢は無菌であるとの見解が有力であり、腸内細菌叢の本格的な定着は出生後に始まると考えられる。

2. 新生児期

新生児は母体や環境由来の膨大な微生物に曝露され、出生直後から本格的な腸内細菌

1-6 腸内細菌叢の乱れと 小児の疾患

金子 一成

はじめに

ヒトの口腔，消化管，気道，皮膚，泌尿・生殖器には，種類にして1000種類以上，数にして約38兆個もの細菌が常在している。そのうち90%以上を占める消化管の細菌集団は腸内細菌叢 (gut microbiota) と呼ばれ，ヒトの腸内で一定のバランスを保ちながら共生している。近年，その役割が明らかになるにつれ，重要な研究テーマとして注目を集めており，米国国立医学図書館のPubMedでキーワード“Gut Microbiota”で検索すると，年間論文数が，最近20年で400倍以上 (2002年:32件，2023年:13720件) に増えている (2024年5月21日検索)。

本稿では腸内細菌叢研究に関する最新の知見について，小児疾患との関連を含めて紹介する。

1 腸内細菌叢の基本的概念

腸内細菌に関する研究は分子生物学的手法が導入された2000年以降，急速に発展した。すなわち細菌に特異的な16Sリボソーム (r) RNA 遺伝子 (約1500塩基対からなる細菌の構造DNA) を標的とした解析手法によって腸内細菌叢に関する知見が飛躍的に増加し，以下の基本的事項が明らかとなった^{1,2)}：(1) 便の分離培養法で確認される腸内細菌は実際の腸内細菌の10~50%程度でしかない，(2) 腸内細菌の種類は1000種類以上 (ヒト一人あたり約160種類) 存在する，(3) 腸内細菌の菌数はヒトの体を構成する細胞数 (約30兆個) を上回る38兆個に及ぶ³⁾，(4) 腸内細菌をはじめとする腸内微生物叢の有する遺伝子数は約2200万と，ヒトの1000倍 (ヒトの遺伝子総数は2万から2万5千) と推測される⁴⁾，(5) 分類学上，ヒトの腸内細菌叢は11門 (2021年に“門”の名称が大幅に変更されたが⁵⁾，なじみが薄いので本稿では旧名で記載する) に属する細菌で構成されるが，ファーミキューテス (Firmicutes) 門，バクテロイデス (Bacteroidetes) 門，アクチノバクテリア (Actinobacteria) 門，プロテオバクテリア (Proteobacteria) 門の4門に属する細菌で95%以上を占める²⁾。なお生

1-7

プロバイオティクスや プレバイオティクスによる 腸内細菌叢の乱れに対する介入

成田雅美

はじめに

小児の腸内細菌叢は、遺伝的要因や胎児期・生後早期の環境要因の影響を受けて形成される。腸内細菌叢は様々なメカニズムにより、宿主の健康に重要な役割を果たしている。そして腸内細菌叢の乱れ(ディスバイオーシス)は、小児においても炎症性腸疾患をはじめとする消化管疾患、代謝性疾患、精神・神経疾患、アレルギー疾患などの患者で報告されている。さらに出生コホート研究のような前向き研究により、一部の疾患ではこのディスバイオーシスが発症前から存在することが明らかになった。そのため腸内細菌叢を標的とした介入により、疾患の治療や発症予防に効果があるのではないかと期待されている。本項ではこのような介入研究について、代表的なものを取り上げながら解説する。

1 腸内細菌叢を標的とした介入

ヒトの腸内細菌叢の形成には、周産期の抗菌薬の使用、分娩様式、母乳栄養、年長の兄弟が多い環境、保育園の利用、感染症罹患、子どもへの抗菌薬の使用、予防接種、受動喫煙、ペット飼育、家畜小屋のある環境、離乳食開始時期や内容など、生後早期の多くの環境要因が影響している¹⁾。これらの環境要因と遺伝的要因により出生直後から腸内細菌叢は劇的に変貌し、3歳頃までには成人型に近い腸内細菌叢が形成されるとされている。その過程で何らかの要因があるとディスバイオーシスとなり、宿主の健康に不利益が生じる。これを予防・是正するためには、母乳育児の推進、抗菌薬の過剰投与の抑制、家族の禁煙、離乳食の内容の検討などある程度の対策が可能だが、現実的には限界がある。そのためディスバイオーシス回避のための積極的な介入として、プロバイオティクス、プレバイオティクスなどが使用される(図1)。

プロバイオティクスとは、適量を投与することにより宿主に有益な影響を与える生

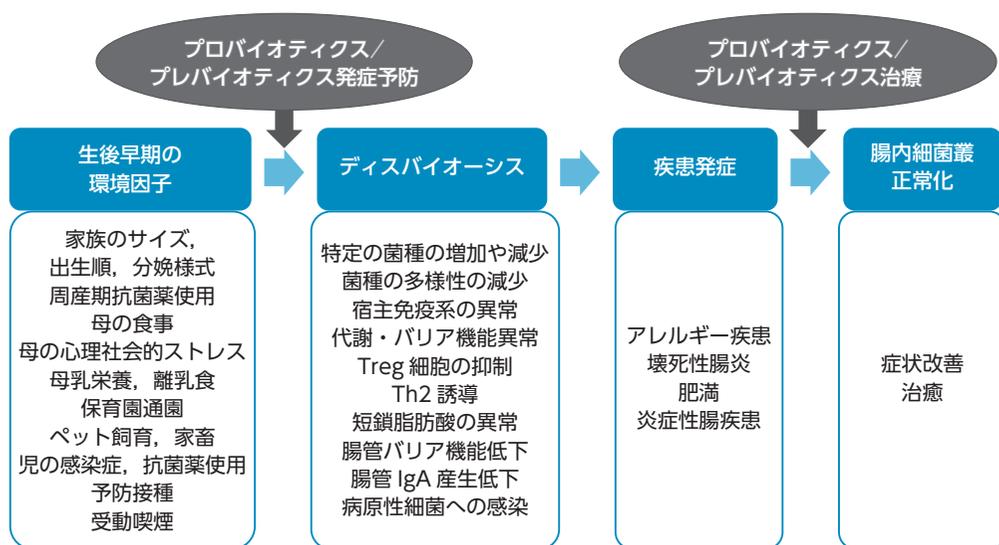


図1 腸内細菌叢、疾患発症とプロバイオティクス/プレバイオティクス介入の関係

生後早期の環境因子は、小児の腸内細菌叢の形成に重要な役割を果たす。様々な要因によりディスバイオーシスが生じると、宿主免疫系との相互作用に異常をきたし、疾患発症のリスクが高まる。ディスバイオーシスが生じる前からプロバイオティクス/プレバイオティクスを投与することにより、発症予防が期待できる。また疾患発症後にプロバイオティクス/プレバイオティクスを投与することにより、治療効果が期待される。

きた微生物、と定義される。さらにプレバイオティクスとは、宿主の腸内に生息する有用菌の増殖、代謝活動の促進をもたらす難消化性食物成分である。プロバイオティクスとプレバイオティクスを合わせたものを、シンバイオティクスという。腸内細菌と宿主の相互作用には、短鎖脂肪酸などの代謝産物や細菌の構成成分も関与することが明らかになり、宿主の健康に有益な無生命微生物や構成成分、代謝産物(ポストバイオティクス)の投与を、単独でまたはプロバイオティクスやプレバイオティクスと組み合わせて行った報告もある。また、ディスバイオーシスとは特定の細菌の多寡によるものではなく、菌種全体のバランスの異常であることから、腸内細菌叢を全体として入れ替える、糞便微生物移植(FMT)も一部の疾患で報告されている。また、抗菌薬を投与することにより、宿主の健康に不利益な腸内細菌を除去する方法もあるが、正常の常在菌への影響にも配慮する必要がある。

2 介入研究の効果判定

腸内細菌叢を標的とした介入研究において課題となるのは、何を最終的な評価項目とするかという点である。介入の目的からはディスバイオーシスの減少または消失が評価項目になるべきであるが、前述のようにそもそもディスバイオーシスには確立された指標がない。通常は特定の菌種の割合や多様性、代謝産物の量などが評価される。

2-1 小児のアレルギー疾患

赤川 翔平

はじめに

アレルギー疾患発症のメカニズムはいまだ不明であるが、腸内細菌叢研究の進歩によってアレルギー疾患患者の特徴が明らかになりつつある。その結果、腸内細菌叢の量的・質的な異常(ディスバイオーシス)がアレルギー疾患の発症に関与している可能性が示唆されている。本章ではアレルギー疾患を有する小児の腸内細菌叢の特徴について、筆者らの研究を含む最近の知見を紹介し、アレルギー疾患の発症とディスバイオーシスの関連性について、筆者らの仮説を紹介する。そして最後に腸内細菌叢を標的としたアレルギー疾患の予防・治療戦略について述べる。

1 アレルギー疾患の概念

アレルギー疾患には食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎・結膜炎などが含まれる。小児期は、アレルギーになりやすい素因を有する児が、乳幼児期のアトピー性皮膚炎を始まりとして、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎・結膜炎と異なる時期に相次いでこれらの疾患を発症することが多く、「アレルギーマーチ(atopic marchまたはallergic march)」と呼ばれる(図1)^{1, 2)}。近年、アレルギー疾患の発症率は世界中で増加しており^{3, 4)}、「アレルギーマーチ」を断ち切ることが重要な課題である。本項では小児において特に有病率の高い食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息の疾患概念について概説する。

1. 食物アレルギー

食物アレルギーは「食物によって引き起こされる抗原特異的な免疫学的機序を介し、生体にとって不利益な症状が惹起される現象」と定義される^{5, 6)}。本邦における小児の食物アレルギー有病率はエコチル調査の結果から1歳児で7.6%、2歳児で6.7%、3歳児で4.9%と経年齢的に低下し、学童期では3.2~4.6%と報告されている⁷⁾。原因食物として小児では鶏卵、牛乳、小麦が3大アレルゲンとして頻度が高いが、近年木

3 川崎病と腸内細菌叢

1. 川崎病急性期の腸内細菌叢の特徴

川崎病の病因研究としての腸内細菌叢解析については、2000年代以降、培養法による報告が散見される。Takeshitaらは20名の川崎病患者における乳酸菌の発現率(2/20, 10%)が健康小児(14/20, 70%)よりも有意に低いことを示した⁴⁸⁾。また、Nagataらは19名の川崎病患者の空腸粘膜からの熱ショックタンパク質(heat shock proteins:hsp)60を産生するグラム陰性菌を分離し、産生されたhsp60によって炎症性サイトカイン産生が誘導されることを確認した⁴⁹⁾。また、同様にVβ2陽性T細胞の増殖を促進するグラム陽性球菌を分離した。これらの研究結果から、川崎病患者に特徴的な腸内細菌が川崎病の病態に関与している可能性が示唆された。

一方、2010年代に入ると、培養法によらずに16S rRNA遺伝子解析を用いた網羅的な細菌叢解析が広く行われるようになった。そして、この解析法を用いた川崎病の腸内細菌叢研究は2015年以降、現在までに6報報告されているが⁵⁰⁻⁵⁵⁾、いずれもディスバイオーシスの存在を認めている。各研究の概要を表1に示したが、Kinumakiらは、川崎病患者28名を対象として16S rRNA遺伝子解析を用いた腸内細菌叢解析を初めて実施した。彼らは川崎病の急性期では非急性期(川崎病罹患後4~6カ月)の腸内細菌叢と比較し、*Rothia*や*Staphylococcus*が多く、*Ruminococcus*、*Blautia*、*Faecalibacterium*、*Roseburia*が少ないことを報告した。しかし、この研究では対象者の約8割は急性期の便サンプル採取直前に抗菌薬投与を受けており、これらの腸内細菌叢の変化は抗菌薬の影響を示したもので、川崎病に伴う変化ではない可能性がある。その後、抗菌薬を使用していない急性期の川崎病患者の腸内細菌叢の解析結果に関する報告が4報ある。それらの特徴として、急性期には主に*Enterococcus*、*Lactococcus*、*Leuconostoc*、*Staphylococcus*などのBacillota門(旧名Firmicutes門) Bacilli綱に属するグラム陽性菌が増加している一方で、Lachnospiraceae、*Anaerostipes*、*Blautia*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Roseburia*、*Ruminococcus*などBacillota門Clostridia綱に属する細菌が減少していることが挙げられる。

興味深いことに、川崎病の患者において減少していた菌の多くは腸管内で食物繊維を資化し、短鎖脂肪酸である酪酸を産生する酪酸産生菌である。また、筆者らのパイロット研究でも、川崎病急性期の患者の便中有機酸濃度は健康小児と比較して低かった¹⁷⁾。

2-9 小児肥満

西川翔太, 渡辺啓太, 木村郁夫

はじめに

ヒトの腸管内腔には約1,000種類、総数100兆個に及ぶ細菌で構成された腸内細菌叢が存在している。近年、この腸内細菌叢による宿主代謝制御機構の解明を目的とする研究が多方面で展開され、プレバイオティクスなど腸内細菌叢を標的とした介入も盛んに行われている。代謝性疾患の中でも肥満は特に関心が高く、先進国で増加傾向にある小児肥満は成人期での肥満につながりやすいということもあり、大きな社会問題となっている。

またDOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) 仮説の提唱以降、乳幼児期の健康状態、ひいては妊娠期における母体の栄養状態が、成長後の疾患発症リスクと因果関係にある可能性が示唆されつつある。したがって小児肥満の抑制を目的とした、乳幼児期や妊娠期の腸内細菌叢への介入に注目が集まっている。そこで本項では小児肥満と腸内細菌叢に関する知見を、筆者らの最近の研究成果を交えながら概説する。

1 小児肥満の概念

欧米型の食生活への変化に伴う過度なエネルギー摂取の結果として、成人の肥満者の割合が増加している。さらに2015年には、2~18歳までの小児における過体重・肥満有病率が23%を超えるなど、小児肥満者の増加が先進国をはじめとした世界的な問題となっている。小児期における肥満は成人後の肥満発症リスクの増大や多くの慢性的な肥満関連疾患の発症リスクを高めることから、小児肥満は重要な治療対象疾患と考えられている (図1)。

一方で、小児肥満の発症リスクの増大に、両親の肥満有病率が影響していることなどから、小児肥満の予防には、周辺環境の改善が重要である。したがって、近年は、乳幼児期や妊娠期の母体への介入による小児肥満予防法に注目が集まっている^{1~3)}。