

新生児における腸内菌叢の動態と 感染防御因子に関する研究

東海大学医学部微生物学教室 小澤 敦, 沢村貞昭
東海大学医学部小児科教室 高倉 巖

個体発生的立場から新生児における腸内菌叢の動態を経時的に追跡し、栄養方法との相関性を求めるとともに、これらの腸管内細菌叢の生態学的解析の結果が新生児における生体防御機構に如何なる形で反映するかの検討を企図する。そしてまた、初乳中の感染防御因子についての解析もところみる。

生後1, 5, 30日目における新生児大便中の細菌叢の定量的追跡を、母乳栄養児4例、人工栄養児3例、混合栄養児5例について実施した。その結果 Escherichia coli, Stapleylococcus epidermidis, Streptococcus faecalis の腸管内定着性は高く評価され、栄養方法別における著明な差はみとめられなかった。その他 Klebsiella pneumoniae, Enterobacter, Citrobacter, Edwardsiella tarda, Staphylococcus aureus, 等が出没していた (Table 1)。嫌気性菌の動態については、生後5日目より出現しはじめ30日目には多菌種共存のパターンがみとめられた。Bifidobacterium は一般に母乳栄養、混合栄養の場合に分離頻度が高く評価される傾向がみとめられ、人工栄養の場合には低く評価される傾向がみとめられた。母乳、混合栄養の場合に分離された Bifidobacterium の中では Bifidobacterium bifidum の頻度が高く、ついで Bifidobacterium infantis ss. infantis, Bifidobacterium infantis ss. liberorum, Bifidobacterium adolescentis variety B, Bifidobacterium longum ss. longum, 等がみとめられた。また Bacteroides の分離頻度も母乳、混合栄養の場合に高く評価される傾向がみとめられ、ついで Bacteroides fragilis ss. vulgatus, Bacteroides elostridicformis ss. clostridiformis Bacteroides oralis, Bacteroides ruminicola ss. ruminicola, Bacteroides melaninogenicus ss. asaccharolyticus 等がみとめられた。一方、人工栄養例の場合には、母乳、混合栄養例に比較して Propionibacterium, Peptostreptococcus の分離率が少々高く評価される傾向がみられ、Propionibacterium freundenreichii ss. freundenreichii, Peptostreptococcus productus 等の検出がみられた (Table 2, 3)。

以上の栄養方法別にみた新生児における腸内菌叢の動態的観察結果から、その栄養方法によって菌叢構成パターンにある程度質的な差がみとめられたが、これらの生態学的解析の結果と生体防御機構との相関性を求めてゆくためには、さらに例数を追加した検討が望まれる。

一方、無菌マウス (ICR系) を用いて Bifidobacterium adolescentis の腸管内定着が、Salmonella typhimurium LT-2 株の経口感染像を如何に修飾するかの実験が企図された。Bifidobacterium adolescentis を経口投与して1週後に S. typhimurium を経口感染して、そ

Table 1

Sequential observations on enteric bacterial flora in newborn individuals

○: Breast (母乳) X: Bottle (人工) ●: Mix (混合)

Bacteria isolated	Days after birth		
	1	5	30
<i>Escherichia coli</i>	● ● ○	● ● ● ○ ○ ○ ○ X	● ● ● ● ○ ○ ○ X X
<i>Pseudomonas</i>	●	●	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	●	X X	● ● ○ ○ X X X
<i>Enterobacter</i>	● ●	● X X	●
<i>Citrobacter</i>	X	● X	● X
<i>Edwardsiella tarda</i>		○	○
<i>Staphylococcus aureus</i>			X
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	● ● ● X X	● ● ● ● ○ ○ ○ ○ X X X	● ● ● ● ● ○ ○ ○ ○ X X X
<i>Streptococcus faecalis</i>	● ● ○ X	● ● ● ● ○ ○ X X X	● ● ● ● ● ○ ○ X X X
<i>Candida</i>	● X	●	● ● ○ ○ X X

Table 2

Sequential observations on enteric bacterial flora in newborn individuals

Bacteria isolated		Days after birth		
		1	5	30
<i>Clostridium</i>	<i>Perfringens</i>			● ● ● ○ X
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>			●
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>			● X
<i>Clostridium</i>	<i>paraputrificum</i>			●
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>			○
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>			X
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>		○	●
<i>Eubacterium</i>	<i>lentum</i>			● ○
<i>Eubacterium</i>	<i>rectale</i>			● X
<i>Eubacterium</i>	<i>saburreum</i>			●
<i>Bifidobacterium</i>	<i>breve</i>		●	●
<i>Bifidobacterium</i>	<i>infantis</i> ss. <i>infantis</i>			●
<i>Bifidobacterium</i>	<i>infantis</i> ss. <i>liberorum</i>		●	● X
<i>Bifidobacterium</i>	<i>bifidum</i>	○	● ● ○	● ○ ○
<i>Bifidobacterium</i>	<i>adolescentis</i> variety B		○	○
<i>Bifidobacterium</i>	<i>longum</i> ss. <i>longum</i>		●	● ○
<i>Bifidobacterium</i>	<i>eriksonii</i>			○
<i>Bifidobacterium</i>	<i>adolescentis</i> variety A		X	●
<i>Bifidobacterium</i>	<i>adolescentis</i> variety D	X		●
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>			● ○ ○
<i>Veillonella</i>	<i>parvula</i>			●
<i>Gaffkya</i>	<i>anaerobia</i>			●

Table 3

Sequential observations on enteric bacterial flora in newborn individuals

Bacteria isolated	Days after birth		
	1	5	30
<i>Bacteroides biacutus</i>			●
<i>Bacteroides fragilis</i> - other		X	○ ○ ○
<i>Bacteroides fragilis</i> ss. <i>distasonis</i>			●
<i>Bacteroides fragilis</i> ss. <i>fragilis</i>		● ● ○	○ ○
<i>Bacteroides fragilis</i> ss. <i>vulgatus</i>		○ X	●
<i>Bacteroides clostridiiformis</i> ss. <i>clostridiiformis</i>			● ○
<i>Bacteroides oralis</i>			●
<i>Bacteroides capillosus</i>		○	
<i>Bacteroides ruminicola</i> ss. <i>ruminicola</i>		●	●
<i>Bacteroides melaninogenicus</i> ss. <i>asaccharolyticus</i>		○	
<i>Propionibacterium lymphophilum</i>			○
<i>Propionibacterium freundenreichii</i> ss. <i>shermanii</i>		○	● ○ X
<i>Propionibacterium freundenreichii</i> ss. <i>freundenreichii</i>		X	X X
<i>Propionibacterium jensenii</i>		X	
<i>Propionibacterium acnes</i>		●	
<i>Propionibacterium granulosum</i>			○ X
<i>Fusobacterium mortiferum</i>		X	
<i>Peptostreptococcus productus</i>			○ X X
<i>Peptostreptococcus intermedius</i>			X
<i>Peptostreptococcus micros</i>			●
<i>Arachnia propionica</i>		●	

Fig. 1 Sequential observations on bacterial multiplication in the intestine and liver in discontamination of germ free mice infected with Bifidobacterium adolescentis and *S. typhimurium*.

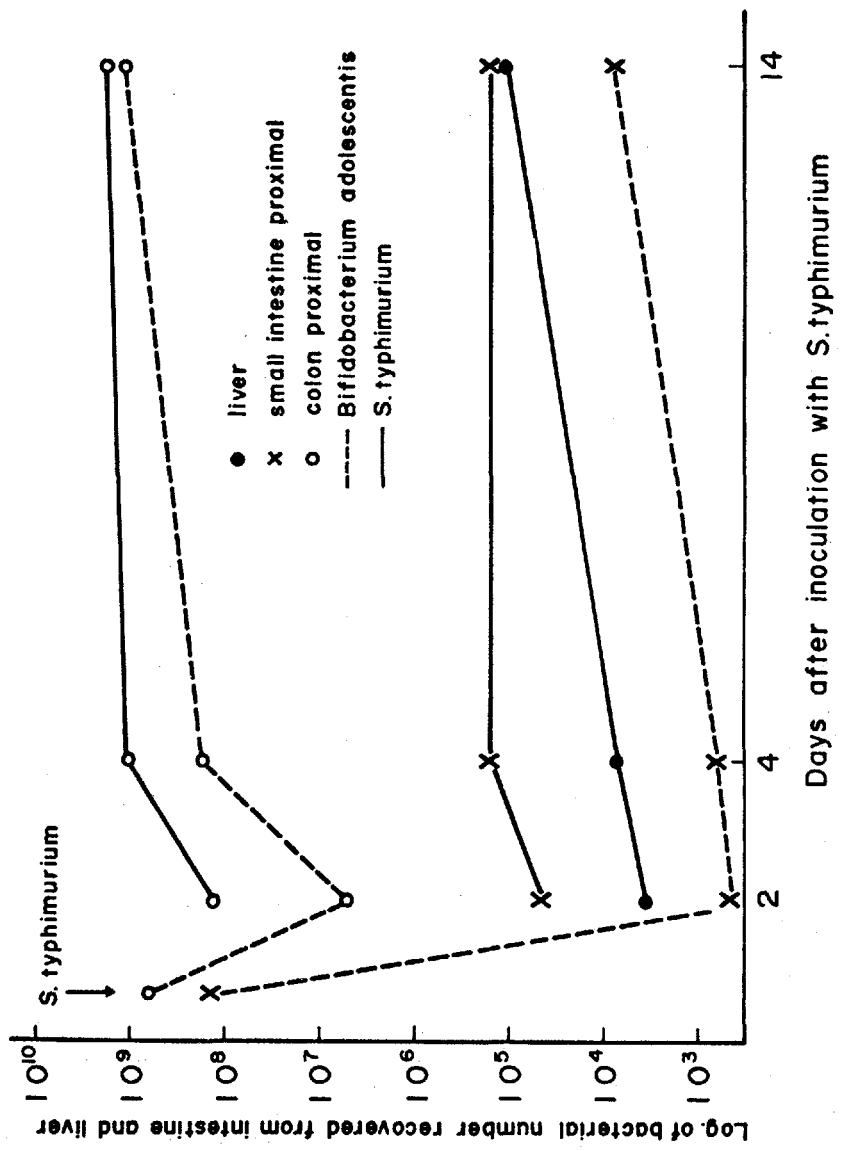
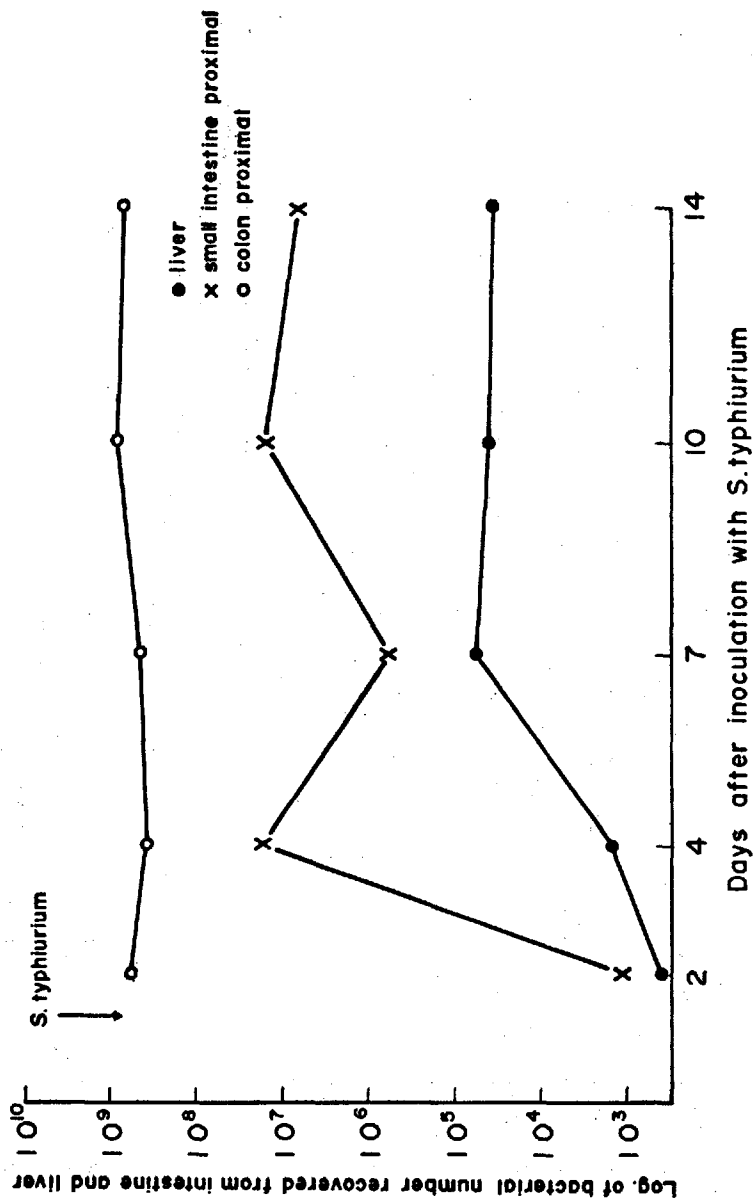


Fig. 2 Sequential observations on bacterial multiplication in the intestine and liver in monocontamination of germ free mice infected with *S. typhimurium*



Sequential observations on bacterial multiplication in the intestine and liver in tricontamination of germ free mice infected with *Bifidobacterium adolescentis*, *Escherichia coli* and *S. typhimurium*

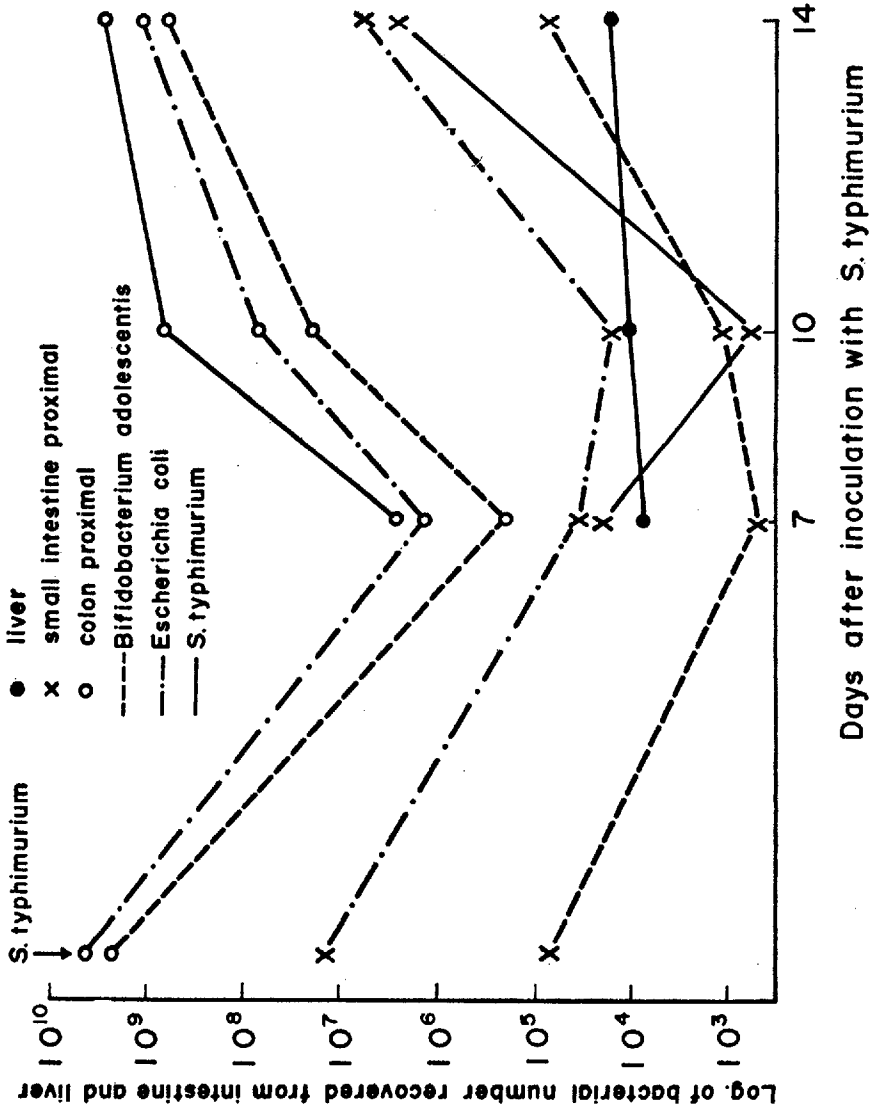
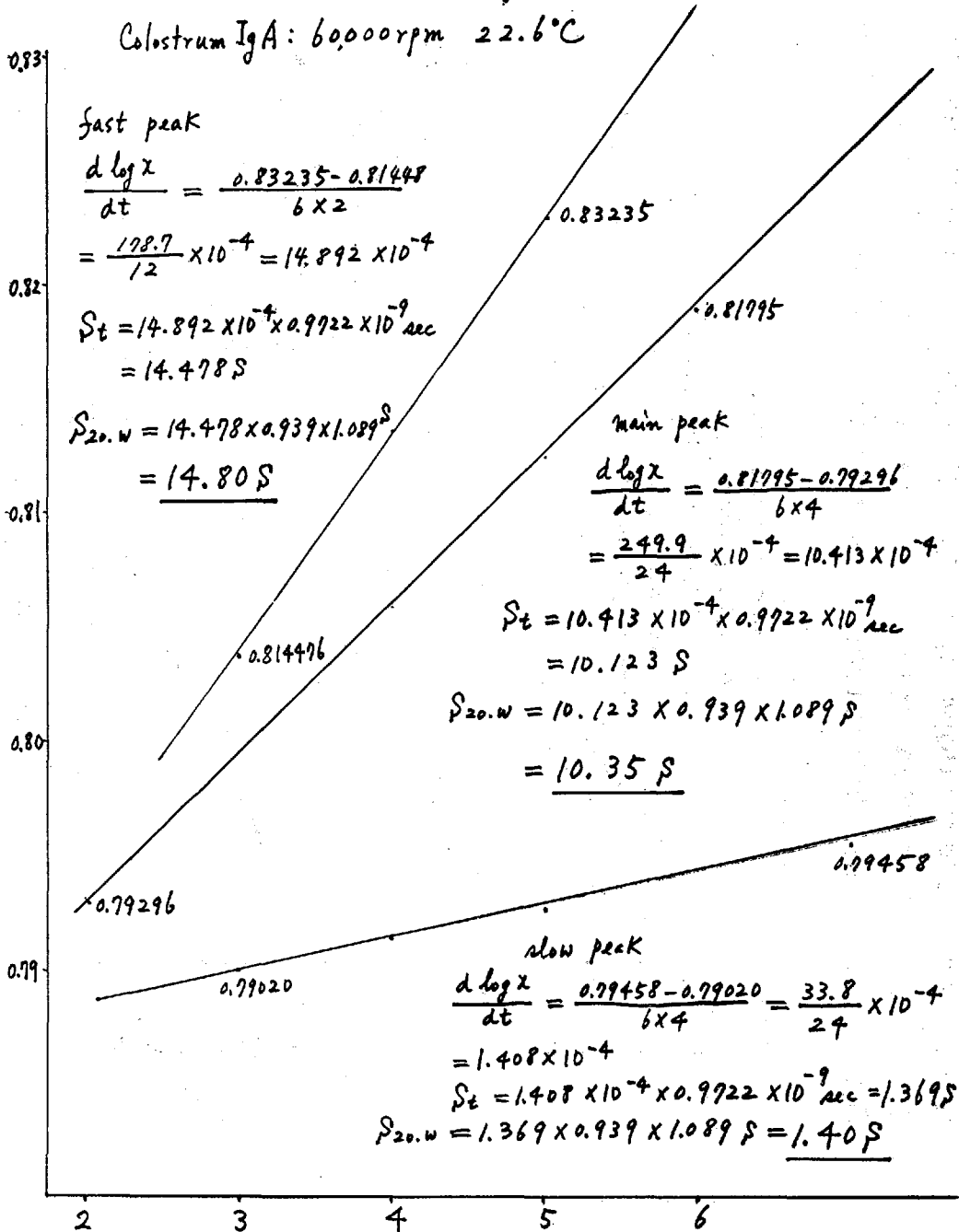


Fig. 3

Fig. 4

Sedimentation coefficients of Secretary IgA fractionated

Colostrum IgA: 60,000rpm 22.6°C



の感染像を細菌学的, 酵素組織化学的, 病理組織学的視点から検討を加えた。S. typhimurium 経口投与後において, Bifidobacterium adolescentis の小腸内定着性はかなり阻害されたが, 大腸内定着性の抑制は著明でなかった。また, S. typhimurium の小腸内増殖性および肝内増殖性は単独感染の場合に比較して軽度の増殖抑制がみられるようであった (Fig. 1, 2)。また, 肝におけるアルカリフォスファターゼおよびアシドフォスファターゼ活性の動態は, S. typhimurium 単独感染の場合におけるそれらの動きと比較し著明な差はみられないようであった。肝における granuloma の形成は S. typhimurium 単独感染の場合と比較し, ほとんど差がみとめられなかった。

Bifidobacterium adolescentis と大腸菌とを経口投与してのち, S. typhimurium を経口感染させた場合においては, S. typhimurium の小腸内, 肝内増殖性の低下が軽度にとめられた (Fig. 3)。そして, 小腸, 肝におけるアルカリフォスファターゼ活性局在の動態をみると, Bifidobacterium adolescentis と S. typhimurium の組合せの場合に比較して, その増減の程度が弱く評価された。また, 肝におけるアシドフォスファターゼ活性においては, 肝細胞における活性の低下と, クッペル星細胞における活性の上昇が著明であり, granuloma の形成は S. typhimurium 単独感染に比較してかなりな減弱がみられた。

初乳から affinity chromatography, DEAE cellulose chromatography, Sephadex G-200 gel filtration によって抽出した分泌型 Ig A 分画について, その純度を ultracentrifuge の pattern によって解析した結果, 3つの peak がみられた。main peak の沈降係数 sedimentation coefficient は 10.35 S, fast peak は 14.8 S, slow peak は 1.4 S であった。一方, DEAE cellulose chromatography, CM-cellulose chromatography, Sephadex G-200 gel filtration, affinity chromatography を適用して抽出した Secretory piece および lactoferrin についての沈降係数はそれぞれ 2.24 S および 5.15 S であった (Fig. 4, 5)。lactoferrin の分子量測定の結果, 248,000 と評価された。現在 secretory Ig A 抽出の方法について検討を加えているが, 同時に抽出された分泌型 Ig A, lactoferrin 分画について, その抗菌作用を各種細菌を用いて検討している。

個体発生学的視点からの腸内菌叢の生態学的解析, 初乳中の感染防御因子の検討を含めた免疫学的解析を基盤として, 新生児における生体防衛機構解明への足掛りを求めてゆきたい。

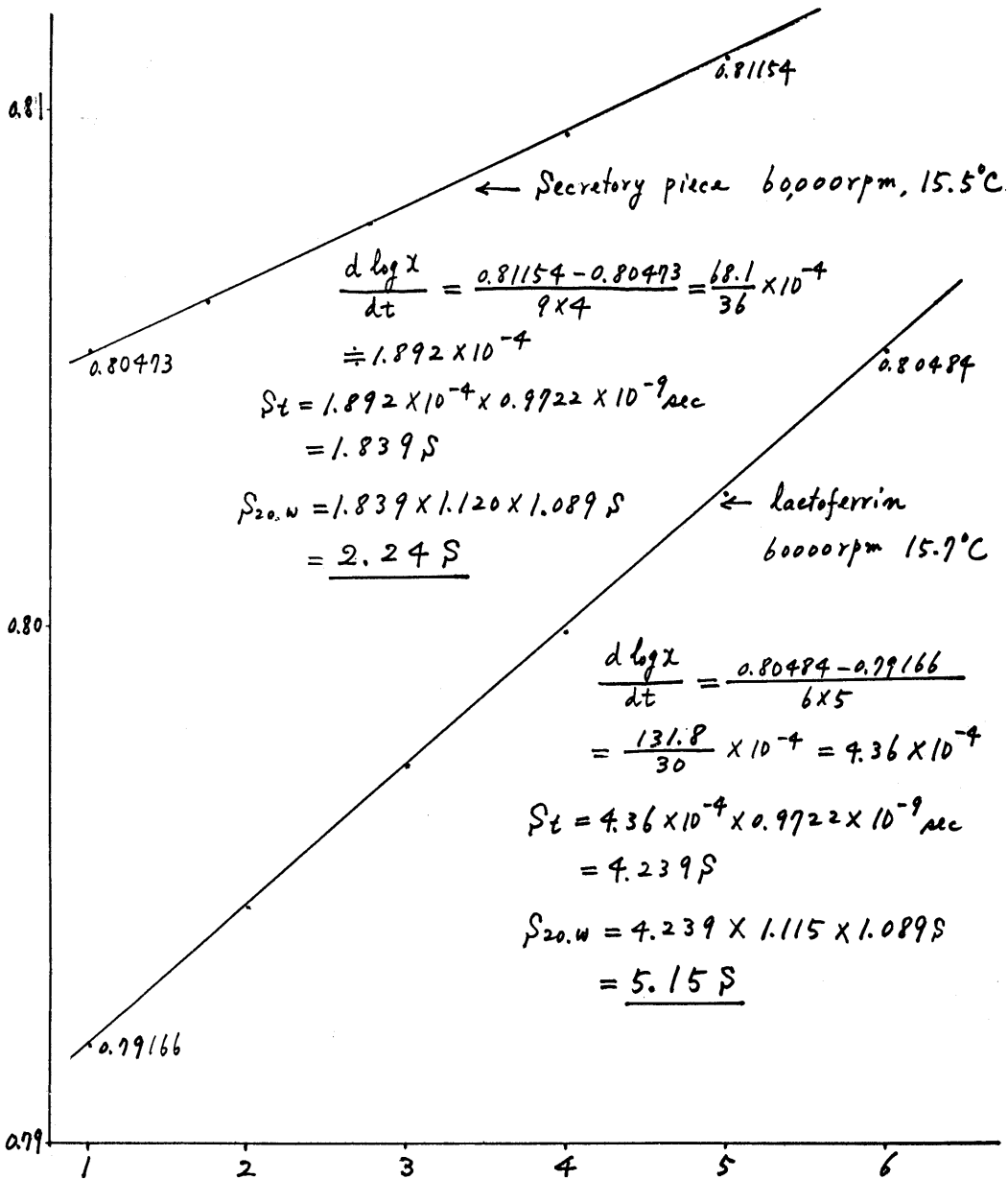
母乳の免疫学的アプローチに関する研究

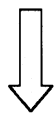
岡山大学医学部小児科 喜多村 勇
研究協力者 国富泰二, 林 洋光, 西林洋平
尾崎 寛, 小倉英郎, 脇口 宏
二宮美知子, 永瀬 恵, 埴岡範雄

母乳中の感染阻止または免疫学的防禦作用を担当するものとしては, 液性因子及び細胞 (主とし

Fig. 5

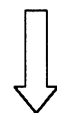
Sedimentation coefficients of Secretory piece and lactoferrin extracted





検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



個体発生的立場から新生児における腸内菌叢の動態を経時的に追跡し, 栄養方法との相関性を求めるとともに, これらの腸管内細菌叢の生態学的解析の結果が新生児における生体防御機構に如何なる形で反映するかを検討を企図する。そしてまた, 初乳中の感染防御因子についての解析もこころみる。