

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 矢島 昌子

バクテリアルトランスロケーション (BT) は、腸管内腔から腸内に生息する細菌が生きたまま腸管粘膜を通過し、腸管以外の臓器に侵入することと定義されている。新生児期の BT は、無菌であった胎児が出生後に腸内細菌叢を形成し始めるという点で、既に成立した菌叢を持つ成人に起こる BT とは、異なった発生の要因を持つ。新生児の鼻腔や口腔、腸などの粘膜上皮に到達し定着を始める細菌は、必ずしも病態を惹起しない。一方で新生児の腸内に最優勢に検出される大腸菌群などの好気性細菌群は、新生児集中治療室における敗血症で高頻度に検出される。腸内菌叢を構成する細菌群の種類や量は、BT の発生の率に影響する可能性がある。

帝王切開出生児における腸内細菌定着過程は、母乳児とは明らかに異なっている。健康な母乳児の糞便中占有率は 99% が *Bifidobacteria* であるが、帝王切開出生児における *Bifidobacterium* の成立は母乳児に比べて遅い。近年、極小未熟児へ *Bifidobacterium* を投与することにより、壊死性腸炎の発症が軽減されたとの報告が相次いでいるなど、腸内細菌を改善することにより壊死性腸炎の発症を予防できる可能性が示されている。

無菌動物を用いた研究から、定着させる菌が異なるとそれらに応答した T リンパ球の分化が異なることや、経口寛容の誘導に乳児期の腸管リンパ組織の発達が必要であるなど、哺乳期の菌叢は離乳後の免疫応答に関与する。

新生児期は消化管の構造や機能が未発達である。哺乳動物の腸内菌叢を構成する細菌群の中で、BT を起こし易い菌群についての検討や、それらが宿主に及ぼす影響に関しては、これまで詳細な検討はなされていない。

本論文では、哺乳期ラットに関して、自然発生的な BT を起こす細菌群を検出し、BT を起こしやすい背景、BT を起こした細菌群を排除する能力、および乳児の栄養環境による違いの有無、即ち、母乳哺育 (MR) 仔と胃内にカニューレを装着した人工乳哺育 (AR) 仔ならびにカニューレ装着の手術後直ちにカニューレを除去して母乳で保育した乳児 (Sham 仔) における BT の違いを、モデル動物を作製して検討した。これらの成果は乳児における免疫系の発達や応答を理解する一助になると考える。本論文は、三つの章で構成されている。

第一章では、哺乳期のラットにおいて、MR, AR, Sham のいずれの群においても腸間膜リンパ節への BT に差は見られず、健康な状態においても自然発生的に起こることを見いだした。健康な MR 仔において、BT を起こし腸間膜リンパ節へ移行した菌群は、糞

便や盲腸内容物中の菌叢を構成する菌群構成をそのまま反映しなかった。BT を起こしやすい菌群として、enterobacteriaceae や enterococci、lactobacilli が多く検出された。また、staphylococci は BT 菌として高頻度に検出されたが、糞便中では 0.001% 以下の占有率であった。このことは、新生仔期に形成される腸内細菌叢の構成細菌の種類や量の違いが BT の起こり易さに影響を与えるばかりでなく、生体側の抗原認識と貪食能の違いによっても、BT が異なることを示唆している。

健常な MR 仔では見られない肝臓への BT が Sham 仔と AR 仔で見られ、AR 仔では Sham 仔に比べ長期に BT が見られた。AR 仔の糞便菌叢を MR 仔、Sham 仔と比較したところ、AR 仔では、enterobacteriaceae が MR 仔に比べて糞便中の菌数が高く検出され、Sham 仔ではその中間的菌数であった。Nakayama らにより、AR 仔では、腸粘膜へ付着する菌数が多く、AR 仔の糞便中の enterobacteriaceae 菌数は、哺乳期間ばかりでなく離乳後も高く維持されたと報告されている。腸粘膜への付着菌数が多いことは、腸内細菌が腸管上皮に接触する頻度を高め、BT の頻度を高めていると考えられる。

第二章では、AR 仔では MR 仔、Sham 仔に比べて、生体内への BT が長期に持続した背景に関して検討するため、腹腔滲出性多形核白血球 (PMNL) の貪食活性を AR 仔、Sham 仔および MR 仔で比較した。AR 仔では貪食活性が低下した個体が見いだされた。さらに、AR 仔では、長期に BT が持続し、BT を起こした最優勢菌群は、enterobacteriaceae であったことから、MR 仔の腹腔内に *E. coli* 由来のリポ多糖 (LPS) を投与して PMNL の貪食活性を比較したところ、腹腔内へ誘導した多形核白血球 (PMNL) の貪食活性が LPS の濃度依存的に低減された。

第三章では、LPS 炎症の軽減に及ぼす母乳中因子の影響に関し検討した。ラットの母乳中に 0.2% 含まれるラクトフェリン (LF) には、腫瘍壊死因子 (TNF) の産生を抑制するなど、抗炎症作用がある。LPS 炎症を惹起したラット仔の PMNL の貪食活性と、腹腔内への蛋白質貯留に及ぼす LF の影響を検討した。ヒト型 LF (hLF) を、LPS 投与の 18 時間前に投与することにより、LPS 投与の直前 (15 分前) や 1 時間後に投与した場合に比べて、TNF の産生抑制、PMNL の貪食活性の低下及び腹腔への腹水やアルブミンの貯留が回避された。LPS による PMNL の貪食活性の低下と腹水の貯留は、ラットの TNF 抗体により十分に抑制されなかったことから、hLF による炎症抑制作用の一部は、LF の抗炎症作用としてこれまでに報告されている TNF 産生抑制作用とは異なった機作も関与している可能性が示唆された。また、同様に検討したウシ型 LF には抑制効果が認められなかった。

以上、本論文は新生仔期の BT を抑制するための応用研究に重要な知見を与えると考えられる。よって審査委員一同は、本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。