

第80回東京女子医科大学学会総会  
シンポジウム「東京女子医大 小児医療の最前線！— “なおらない” から “なおる！” へ—」  
Part 1

(6) 腸内細菌とこどもの病気

東京女子医科大学医学部小児科学

ナガタ サトル  
永田 智

(受理 平成27年1月5日)

The 80th Annual Meeting of the Society of Tokyo Women's Medical University  
Symposium “The Frontier Pediatric Practice at Tokyo Women's Medical University”

Part 1

(6) Gut Microbiota in Childhood: Health and Disease

Satoru NAGATA

Department of Pediatric, Tokyo Women's Medical University School of Medicine

Recently, the potential use of probiotics in clinical practice has been extended to regulating bowel movements as well as altering the course of infectious diseases, cancer, and allergies. Immunostimulatory probiotics, such as *Lactobacillus casei* Shirota, which are facultative anaerobes characterized by the ability to induce predominant IL-12 production, promote the activation of NK cells and the development of Th1 cells, thereby augmenting the immune defense against viral infections and cancer and helping to decrease the rate of allergies. On the other hand, obligate anaerobic probiotics, such as *Bifidobacterium*, prevent harmful luminal bacteria from approaching enterocytes by producing short-chain fatty acids and competing for adhesion sites and/or sources of nutrition. Furthermore, only the *L. casei* strain Shirota has been reported to cause increased endogenous intestinal *Bifidobacterium* production and suppress the proliferation of destructive bacteria, thus improving the enteric environment. There is also evidence supporting the significant clinical benefits of *Lactobacillus* in treating acute gastroenteritis, such as that due to rotaviral infection, as well as synbiotics in preventing infectious diseases in childhood, as demonstrated in randomized controlled trials.

Therefore, ingesting probiotics contributes to improving and/or maintaining the health of children.

**Key Words:** probiotics, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, short-chain fatty acids, childhood

はじめに

私たちの腸には、人体を構成する細胞数をも上回る数の腸内細菌が存在するといわれている。そのほとんどは、生直後から数日のうちに経口的に侵入し腸管に到達したもので、大部分は人体にとって有益な働きをしている。小腸で消化しきれず大腸に至っ

た炭水化物の消化やビタミンKの補給、有害菌の侵入阻止などがよく知られており、菌数は、有益菌(善玉菌) > 無害、無益菌 > 有害菌の順に、それぞれ100倍以上の優劣を形成している。しかし、ひとたび、この秩序が乱れて、有害菌が多い腸内環境になってしまうと、便秘や下痢、各種感染症、アレルギーな

**Table 1** Differences between *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*

	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>
Classification	Gram-positive bacillus Facultative anaerobe	Gram-positive bacillus Obligate anaerobe
Phylogenesis	Firmicutes	Actinobacteria
Habitat	Small intestine	Large intestine
Numbers/g feces	10 <sup>5-6</sup>	10 <sup>9-10</sup>
Resistance	Resistant to gastric acid and bile acid	Not resistant to gastric acid and bile acid
Metabolic products	Lactic acid	Acetic acid
Immunogenicity	Th1	Weak
By-products	Bacteriocins Hydrogen peroxide	Vitamin B

どを起こしやすくなってくるといわれている。近年、この腸内細菌の乱れを、有益菌を外から与えることによって是正しようという考え方が出現した。この有益菌を食品や薬剤にしたものを「プロバイオティクス」とよんでいる。

本稿では、小児領域におけるプロバイオティクスの整腸効果、感染症抑制効果、抗アレルギー効果などについて、ランダム化比較試験 (randomized controlled trial: RCT) の結果を主体に紹介する。さらに、新しいプロバイオティクスの作用として、新生児の体重増加や、肥満児の生活習慣病予防効果、母体投与による早産の予防効果にまで、その応用力が広がっていることに言及する。人類と長年共生関係にあった善玉菌の底力に驚かれるに違いない。

### 1. 腸内細菌叢の構成の経時的変化

ヒトの大腸内には、1,000種類以上、100兆もの腸内細菌が存在し、その遺伝子数はヒトの約100倍にも達するという<sup>1)</sup>。経膈分娩出生児においては、生直後より母体の腔内細菌を起源とする腸内細菌の定着が起こるとされる<sup>2)</sup>。生直後は、*Lactobacillus gasseri* を主体とする通性嫌気性菌の定着が起こるが、速やかにそれらの菌は減少し、1~2週間後の最も優勢な菌種は *Bifidobacterium breve* などの *Bifidobacterium* 属となり、約1ヵ月の経過で全体の菌数の60~90%の菌叢を占めるに至る<sup>3,4)</sup>。新生児早期に腸内細菌叢の主要菌種が変化する理由は明確ではないが、母体の腔内細菌の主要菌種である *L. gasseri* などは、生直後の新生児の小腸の Peyer 板などの粘膜免疫組織の発達に寄与し、なおかつ、乳児期早期の腸内細菌叢の主要となる *Bifidobacterium* の増殖効果があることが筆者らの検討で知られていることから、合目的な現象とも思われる<sup>5)</sup>。上述の推論で、経膈分娩か帝王切開かの分娩様式で、新生児期の腸内細菌叢の組成が

異なるのは説明がつくことと思われる。以前は、母乳栄養児の腸内細菌が *Bifidobacterium* 優位であることが強調されていたが<sup>6)</sup>、これは母乳中のガラクトオリゴ糖が *Bifidobacterium* の増殖因子であるためといわれ、最近では人工乳にもこれらが添加されるようになってきている。生後約1年かけて腸内細菌叢の組成は成人の組成に近づいていくが、その差異は個体における成人期にも影響を受けている可能性がある<sup>7)</sup>。また帝王切開により生まれた児は経膈分娩で生まれた児より *Bifidobacterium* などのいわゆる善玉菌の定着が遅れ、のちのアレルギー疾患の発症率を増加させる可能性が報告されている<sup>8)</sup>。

### 2. 臨床で使用されているプロバイオティクス

プロバイオティクスは、宿主に有用な作用を示す生菌体を含む食品もしくは薬剤と定義されている。いわゆる代表的なプロバイオティクスには“乳酸菌”、“ビフィズス菌”があげられる。“乳酸菌”は総称であり、「グラム陽性の桿菌または球菌で、カタラーゼ陰性、内生孢子を形成せず消費したグルコースの50%以上を乳酸に変換しうる菌」を指す。現在16S ribosomal RNA塩基配列による系統分析により26属に分類されるが、プロバイオティクスとして利用されているものの大多数は *Lactobacillus* 属、*Enterococcus* 属、*Lactococcus* 属に属している。対して“ビフィズス菌”は *Bifidobacterium* 属に属する菌の総称であり、*B. breve*、*B. bifidum*、*B. infantis*、*B. longum*、*B. lactis* 等があげられる。乳酸菌とのその生物学的差異を Table 1 にあげる。その他にも、酵母 (*Saccharomyces*) や、真菌 (*Aspergillus*)、芽胞産生菌 (*Bacillus*、*Clostridium*) など極めて多くの微生物がプロバイオティクスとして研究されている。

### 3. プロバイオティクスの作用機序

ヒトの健康維持に貢献するプロバイオティクスの

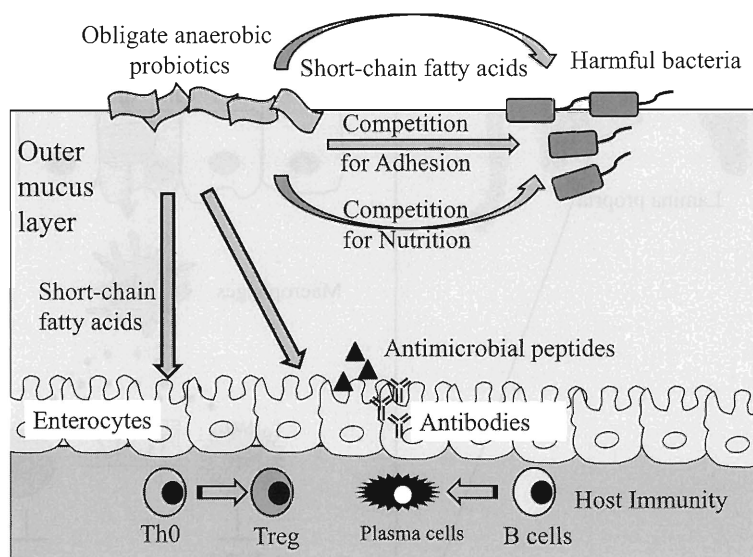


Fig. 1 Possible mechanisms underlying the amelioration of bacterial infection by obligate anaerobic probiotics

Probiotics float at a distance of 100-300  $\mu\text{m}$  from host enterocytes in the outer mucus layer and prevent harmful luminal bacteria from approaching enterocytes by producing short-chain fatty acids and competing for adhesion sites and sources of nutrition. If pathogens manage to break through these barriers, the probiotic stimulates the host enterocytes to release antimicrobial peptides and/or increases the host's immunity by promoting the secretion of IgA. Some obligate anaerobic probiotics may promote the differentiation of Tregs via short-chain fatty acids.

作用として、1) 整腸作用、2) 感染予防、3) 免疫調節作用、4) 代謝調節について述べる。

#### 1) 整腸作用

整腸作用とは、下痢と便秘という相反する消化管運動異常を制御することであり、一般にプロバイオティクスがその効果を有することは経験的に知られている。しかし、そのメカニズムについてのエビデンスは意外にも多くはない。

##### (1) 下痢の抑制のメカニズム

かかるメカニズムとして、①下痢の原因となる病原体の排除、②消化管上皮細胞に栄養を与えてその機能の正常化を助ける、③消化管平滑筋や迷走神経へ働きかけて腸管の過剰な運動を抑制する、などが考えられるが、エビデンスが確立しているのは、①のみである。主な病原体には、細菌、ウイルスがあげられるが、ウイルスの排除機構に関しては次項の「免疫調節作用」に譲るとして、本項では「腸管病原菌の排除機構」について述べる。腸管上皮は、厚さ100~300  $\mu\text{m}$  ものムチン粘液層に覆われ、病原体はおろか常在菌さえも容易に宿主の腸管上皮細胞に近づくことはできない<sup>9)</sup>。腸内細菌叢は、ムチンの海に浮かび、病原体と場所的、栄養的競合により腸管上

皮に近づかないように物理・化学的生体防御を構成している。さらに、大腸の偏性嫌気性菌は、最終産生物として、酪酸、酢酸およびプロピオン酸に代表される短鎖脂肪酸を産生するが、これらは、腸管上皮細胞へのエネルギー源になるとともに、腸内pHを下げることで、有害菌増殖を抑える効果があるとされる (Fig. 1)。このように大腸に生息する *Bifidobacterium* 属や *Clostridium* 属のような偏性嫌気性菌は、主に病原菌の増殖、生体への侵入を防いでおり、これらをプロバイオティクスとして用いることにより細菌感染による下痢を抑制することは意義があると思われる。

##### (2) 便秘の抑制のメカニズム

プロバイオティクスの便秘抑制効果は、基礎、臨床ともに、その効果を証明する試験は驚く程少ない。基礎的な根拠は、*Bifidobacterium* 属の主要代謝産物である酢酸が腸管平滑筋を刺激するという *in vitro* study がある程度である<sup>10)</sup>。

#### 2) 感染予防

##### (1) 細菌感染症

大腸の病原体の増殖・生体への侵入防御については前述したが、主に小腸に生息する常在菌の感染防

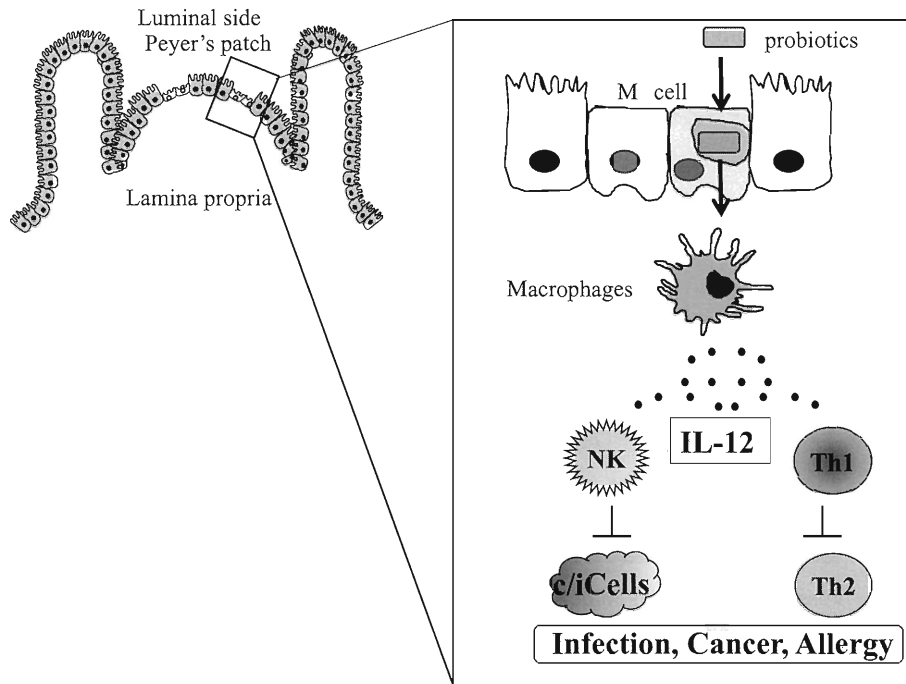


Fig. 2 Possible mechanisms underlying the amelioration of viral infection, cancer and/or allergies by facultative anaerobic probiotics<sup>11)</sup>

c/i Cells: cancer cells or infectious cells.

Immunostimulatory probiotics, such as *Lactobacillus casei* Shirota, are characterized by the ability to induce predominant IL-12 production and subsequently promote the activation of NK cells and Th1 cells, thereby augmenting the immune defense against viral infection and cancer and decreasing the rate of allergies.

御機構は大きく異なる。 *Lactobacillus* 属においては、嫌気条件下でのフラビン酵素を介し過酸化水素を発生させ、細胞膜脂質の酸化を促進させ、殺菌作用を有する。近年、 *Lactobacillus* 属が産生する殺菌物質としてバクテリオシンが注目されているが、これは耐熱・耐酸性であり、腸管内のタンパク分解酵素により分解されることからより高い安全性を有するとされている。宿主の免疫増強により細菌感染症を予防する機序については次項に譲る。

## (2) ウイルス感染症

ほとんどの腸管腔の抗原は分厚い粘液層をかいくぐって上皮細胞に到達しにくいため、細菌などの異物を積極的にサンプリングできる構造が特別に備わっている。それが、Peyer 板を主体とした腸管関連リンパ組織 (gut-associated lymphoid tissue : GALT) であって、その表面は粘液層や微絨毛が少なく、抗原が腸上皮に近づきやすい環境になっている。抗原のサンプリングはその専従細胞である M (microfold) もしくは membranous) 細胞が行っていることが知られている。抗原は、M 細胞により取り込まれ、マクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞により

B 細胞, T 細胞に提示される。主に小腸で効果を発揮する *L. casei* のような通性嫌気性菌のプロバイオティクスは、このシステムによって積極的にサンプリングされ、マクロファージに IL-12 を産生させることにより NK 細胞が誘導され、ウイルス感染症に対抗することが知られている (Fig. 2)<sup>11)</sup>。

## 3) 免疫調節作用

### (1) Th1 型免疫および NK 細胞誘導

上述した小腸に生息する *L. casei* のような通性嫌気性菌は、GALT にサンプリングされた後マクロファージに IL-12 を産生させて、Th1 型免疫応答を誘導し、Th2 型免疫応答を抑制することによりアレルギー予防に働くことが期待されている (Fig. 2)。NK 細胞は、ウイルス感染症のみならず、がん細胞に対抗する宿主免疫増強につながる。さらに、プロバイオティクスの細胞壁構成成分の一つであるペプチドグリカン、発癌物質であるヘテロサイクリックアミン類を吸着・排出させることで、抗がん作用をもつものと期待されている。

### (2) 制御性 T 細胞 (Treg) の誘導

これに対して、大腸に生息する *Bifidobacterium* 属

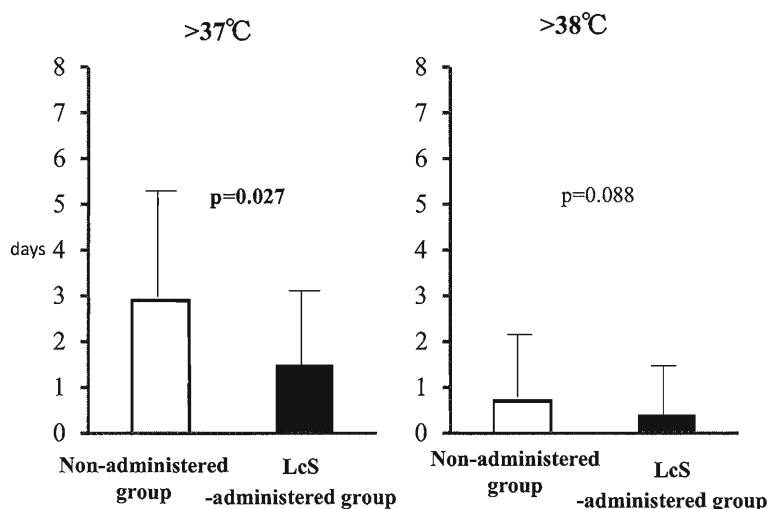


Fig. 3 Duration of fever (days) after the onset of norovirus gastroenteritis<sup>19)</sup>

During a one-month period, there were no significant differences in the incidence of norovirus gastroenteritis between the group administered *Lactobacillus casei* Shirota (LcS)-fermented milk (n=39) and the untreated control group (n=38). However, the mean duration of fevers of >37 °C after the onset of gastroenteritis was 1.5 ± 1.7 days in the former group versus 2.9 ± 2.3 days in the latter group, indicating a significant shortening of this interval in the latter group (p<0.05).

などの偏性嫌気性菌は、ほとんど免疫学的な活性はもたないと信じられてきた。しかし、近年、*Clostridium* 属の細菌の産生する酪酸により Treg の産生が誘導されることが報告されている<sup>12)</sup>。

#### 4) 代謝調節

プロバイオティクスには、消化管内のコレステロールに結合し、胆汁酸脱抱合作用を及ぼして、血清コレステロールを低減する作用、アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド産生による血圧降下作用等も報告されている。近年、成人では生活習慣病と腸内細菌叢との関連が注目を浴びており<sup>13)14)</sup>、安全性の高いプロバイオティクスにおける効果が期待されている。

#### 4. プロバイオティクスの臨床応用

現在、小児科領域の臨床におけるプロバイオティクスの RCT の報告を以下にまとめる。

##### 1) 下痢

201 名の乳幼児に対して *B. lactis* もしくは *L. reuteri* 投与をランダムに投与して急性下痢症の発症予防効果をみたところ、*L. reuteri* 投与群において急性感染性下痢症の発症抑制効果および下痢持続時間の短縮効果が有意に高かったとの報告がある<sup>15)</sup>。*L. rhamnosus* GG (LGG) が、ロタウイルス感染予防および治療効果を有することは、メタ分析、Cochrane レビューでも示されている<sup>16)17)</sup>。抗菌薬関連

下痢症は、短鎖脂肪酸を産生する腸管内の嫌気性菌が減少することで、Na 再吸収低下や炭水化物貯留が起ることにより生じる浸透圧性下痢と考えられているが、メタ分析においても、同下痢症の発症予防に LGG, *B. lactis*, *Streptococcus thermophiles*, *Saccharomyces boulardii* などのプロバイオティクスが有用であるとされる<sup>18)~20)</sup>。ノロウイルスに対する作用については、RCT の報告は見あたらず、臨床効果を証明する試験もほとんどない。成人領域のオープン試験であるが、筆者らは、77 例の平均年齢 84 歳の高齢者施設にてノロウイルス感染症流行期 1 ヶ月間に *L. casei* strain Shirota (乳酸菌シロタ株) 含有飲料を飲用した群において、ノロウイルス感染症による 37°C 以上の高齢者の発熱期間を有意に短縮 (飲用群 1.5 日 vs 非飲用群 2.9 日) し (Fig. 3)、同飲料飲用により、便中の *Bifidobacterium* 数が有意に増加していることを証明している<sup>21)</sup>。

##### 2) 便秘

小児領域におけるメタ分析では、640 人の便秘の小児においてプロバイオティクスの効果は否定的と報じられている<sup>22)</sup>。成人領域では、筆者らが 42 例の高齢者施設入所者を対象にしたオープン試験により、乳酸菌シロタ株含有飲料飲用群において有意に便秘回数の低下を認めたことを証明している<sup>5)</sup>。さらに、88 例の高齢者施設入所者と 20 例の施設職員を

対象にした RCT により、乳酸菌シロタ株含有飲料飲用群において有意に便秘回数の低下を認めたことを証明している（論文投稿中）。

### 3) 感染症全般

プロバイオティクスにより発達が促進された common mucosal immune system により、病原体に対する特異的免疫応答細胞が気道など腸管外の粘膜に分配されることで、感染全般を予防することも期待されている。ただし、1~6歳までの571名の健常児に対して、LGGもしくはプラセボをランダムに6ヵ月間投与した試験では、呼吸器感染症に対する発症抑制効果はLGGには認められなかった<sup>23)</sup>。しかし、その後、プロバイオティクスとプレバイオティクス（プロバイオティクスの増殖因子）を同時投与する「シンバイオティクス」という新たな治療戦略が出現し、新たな効果が期待されている。年齢6ヵ月の乳児188例に乳酸菌の一種である *L. fermentum* とその増殖因子であるガラクトオリゴ糖をシンバイオティクスとして与えることにより、6ヵ月の観察期間において、急性胃腸炎、呼吸器感染、急性上気道炎を含めた感染症全般への罹患率が有意に低下したと報告されている<sup>24)</sup>。

### 4) アレルギー

プロバイオティクスのアレルギー疾患予防効果については、従来から期待されているところであった。アトピー性皮膚炎発症高リスク群132名を対象として、妊娠末期4週間は母体に、出生後6ヵ月は乳児に、LGGもしくはプラセボを投与して同疾患発症率をみた試験では、出生後2年までにLGG投与群では有意に発症が予防され（LGG群64名中15名 vs プラセボ投与群68名中31名；オッズ比0.51, 95% CI: 0.32-0.84； $p < 0.01$ ）、さらに4歳時でもこの予防効果は認められていたとされている<sup>25)</sup>。しかしこの研究結果を支持する他の報告はなく、逆に別の高リスク群を対象とした出生後の *L. acidophilus* 投与群においては、このアトピー発症予防効果はなく、むしろミルクアレルギーのリスクを増大させるという報告もある<sup>26)</sup>。2007年のCochraneレビューでは、妊娠中母体および出生児に対するプロバイオティクスのアレルギー疾患予防効果については、エビデンスがまだ十分に蓄積されていないとされている<sup>27)</sup>。

治療に関しては、オーストラリアの53名の中等症以上のアトピーの乳児において *L. fermentum* もしくはプラセボを8週間投与した後、その後8週間後の severity of scoring of atopic dermatitis による判定

にて、プロバイオティクス投与群において有意に湿疹が改善を示したとする報告がある<sup>28)</sup>。その後のCochraneレビューにおいてはまだ十分なエビデンスがあるとはみなされず、さらなる研究が必要とされている<sup>29)</sup>。昨今、新生児84例を対象としてランダムに *L. rhamnosus* と *B. longum* にガラクトオリゴ糖とフルクトオリゴ糖を加えたシンバイオティクスもしくはプラセボを6ヵ月投与したところシンバイオティクス群において有意にアトピー性皮膚炎の罹患率が減少したとする報告がある<sup>30)</sup>。気管支喘息、食物アレルギーに関してはマウスにおいてその有効性が報告されているが、ヒトにおけるこの分野は予防および治療に関しては無効であったとする報告が多く現時点ではプロバイオティクス、プレバイオティクス、シンバイオティクスともにまだ十分なエビデンスはないとされ<sup>31)</sup>、現在その予防および治療効果は否定的とされる報告が多い。アレルギー性鼻炎に関する小児のRCTの報告は少ないが、*L. casei* strain Shirota, *L. gasseri* を用いた治療介入群において、その臨床症状を緩和させたとする報告がある<sup>32)33)</sup>。

### 5) 早産、低出生体重

自然早産の最大の原因は絨毛膜羊膜炎（chorioamnionitis: CAM）を主体とする子宮感染であり、CAMの原因の9割は、細菌性膣症からの上行感染が関与しているといわれている<sup>34)</sup>。細菌性膣症の膣内細菌叢の特徴として、常在菌である *Lactobacillus* 属の減少と *Gardnerella* 属, *Atopobium* 属, *Mobiluncus* 属, *Chlamydia* 属, *Ureaplasma* 属などの複数菌の増加が指摘されており<sup>35)</sup>、膣内細菌叢のコントロールが早産の予防につながるという新たな期待がよせられている。細菌性膣症640例に対し、妊娠25週まで6~12週間ランダムに *L. Rhamnosus* + *L. reuteri* もしくはプラセボを投与したRCTにおいては、在胎34週未満の早産の出生数の減少はみられたものの、統計的有意差は残念ながら認められなかった<sup>36)</sup>。

### 6) 肥満、生活習慣病

成人領域においては、肥満と腸内細菌叢との関わりが指摘されているものの<sup>37)38)</sup>、小児領域では、プロバイオティクスによる肥満の治療・予防については明瞭な結論は出ていない<sup>39)</sup>。筆者らが、肥満小児と健常児の初診時の腸内細菌叢および便中有機酸を、それぞれ16S ribosomal RNAをターゲットとした定量的RT-PCRとHPLC分析により解析を行ったところ、肥満群の便では *Bifidobacterium*, *Bacteroides fragilis* group, *Atopobium cluster*, *L. gasseri* subgroup

のそれぞれ有意な減少が認められた。便中有機酸分析においては、肥満群で酢酸濃度の明らかな低下が認められた。肥満群に、観察期間の前半6ヵ月は食事・運動療法のみ、後半6ヵ月に乳酸菌シロタ株含有飲料を飲用させたところ、飲用1ヵ月後に飲用前に比較して有意な体重減少および血清中性脂肪値の有意な低下、血清HDLコレステロール値の上昇傾向がそれぞれ認められた。なお、この際の腸内環境として、*Bifidobacterium* 数および酢酸濃度の有意な増加が確認された<sup>40)</sup>。

### 5. プロバイオティクスの安全性

*L. reuteri*, LGGを免疫不全マウスに投与したところ、成体マウスでは影響はなかったが、新生仔マウスにおいて感染症死例が出たとする報告がある<sup>41)</sup>。実際に基礎疾患のない健常児におけるプロバイオティクスによる敗血症の報告はないが、腸内環境の脆弱性が予想されるケースや、いわゆる易感染性が疑われるケースでは注意したほうがよいと思われる。ただし小児科領域での敗血症報告はLGG, *S. boulardii*のみであり、本邦で医薬品として用いられている“整腸薬”にこれらの菌は含まれていない。

#### おわりに

ヒトは、摂取した食物を自らの力で消化して栄養素を吸収し、自らの生を支えていると長年信じられてきたが、実は、消化・吸収の一部は自らの力では不十分で、腸内細菌叢がその働きを代行していることが、昨今少しずつわかってきた。また、腸内細菌叢は宿主の免疫力にも大きな影響を及ぼし、自身を守り繁栄させる生物学的活動が、結果的に宿主を様々な感染症や自己免疫疾患、悪性新生物から守ることにつながっているといえよう。腸内細菌叢は、成人で重さ1 kg以上にも達し、第二の肝といってもよい複雑な機能を持っていることから、まさに体の一部という認識が生まれても不思議はない。筆者らは、腸内細菌叢が宿主の味方にも敵にもなりうる存在であることから、小児領域において、患者の腸内細菌叢を患者の味方につけんとする新たな治療戦略を開発中である。

開示すべき利益相反状態はない。

#### 文 献

- 1) **Qin J, Li R, Raes J et al:** A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* **464**: 59–65, 2010
- 2) **Björkstén B, Sepp E, Julge K et al:** Allergy development and the intestinal microflora during the

first year of life. *J Allergy Clin Immunol* **108**: 516–520, 2001

- 3) **Rahman MS, Nagata S, Matsuda K et al:** Molecular biological studies of the origin of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in neonatal feces. *Int J Probiotics Prebiotics* **7**: 91–98, 2012
- 4) **Tsuji H, Oozeer R, Matsuda K et al:** Molecular monitoring of the development of intestinal microbiota in Japanese infants. *Beneficial Microbes* **3**: 113–125, 2012
- 5) **Bian L, Nagata S, Asahara T et al:** Effects of continuous intake of *Lactobacillus casei* strain Shirota-fermented milk containing on risk management of long-term inpatients at health service facilities for the elderly. *Int J Probiotics Prebiotics* **6**: 123–132, 2011
- 6) **Mshvildadze M, Neu J:** The infant intestinal microbiome: friend or foe? *Early Hum Dev* **86** (Suppl 1): 67–71, 2010
- 7) **Yoshioka H, Iseki K, Fujita K:** Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics* **72**: 317–321, 1983
- 8) **Renz-Polster H, David MR, Buist AS et al:** Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin Exp Allergy* **35**: 1466–1472, 2005
- 9) **Mayer L, Walker WA:** Development and physiology of mucosal defense. *In Mucosal Immunology* (Mestecky J, Lamm ME, Strober W et al eds), pp5–18, Elsevier Academic Press, Amsterdam (2005)
- 10) **Yokokura T, Yajima T, Hashimoto S:** Effect of organic acid on gastrointestinal motility of rat in vitro. *Life Sci* **21**: 59–62, 1977
- 11) **Shida K, Nanno M, Nagata S:** Flexible cytokine production by macrophages and T cells in response to probiotic bacteria: a possible mechanism by which probiotics exert multifunctional immune regulatory activities. *Gut Microbes* **2**: 109–114, 2011
- 12) **Atarashi T, Tanoue T, Shima T et al:** Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* **331**: 337–341, 2011
- 13) **Bäckhed F, Ding H, Wang T et al:** The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**: 15718–15723, 2004
- 14) **Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM et al:** Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **292**: E740–E747, 2007
- 15) **Weizman Z, Asli G, Alsheikh A:** Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics* **115**: 5–9, 2005
- 16) **Szajewska H, Mrukowicz JZ:** Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **33** (Suppl 2): S17–S25, 2001

- 17) **Allen SJ, Okoko B, Martínez E et al:** Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* **2**: CD003048, 2004
- 18) **Corrêa NB, Péret Filho LA, Penna FJ et al:** A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol* **39**: 385–389, 2005
- 19) **Hawrelak JA, Whitten DL, Myers SP:** Is *Lactobacillus rhamnosus* GG effective in preventing the onset of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review. *Digestion* **72**: 51–56, 2005
- 20) **Szajewska H, Ruszczyński M, Radzikowski A:** Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* **149**: 367–372, 2006
- 21) **Nagata S, Asahara T, Ohta T et al:** Effect of the continuous intake of probiotic-fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on fever in a mass outbreak of norovirus gastroenteritis and the fecal microflora in a health service facility for the aged. *Br J Nutr* **106**: 549–556, 2011
- 22) **Tabbers MM, Boluyt N, Berger MY et al:** Non-pharmacologic treatments for childhood constipation: systematic review. *Pediatrics* **128**: 753–761, 2011
- 23) **Hatakka K, Savilahti E, Ponka A et al:** Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ* **322**: 1327, 2001
- 24) **Maldonado J, Cañabate F, Sempere L et al:** Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **54**: 55–61, 2012
- 25) **Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T et al:** Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **361**: 1869–1871, 2003
- 26) **Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL:** Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* **119**: 184–191, 2007
- 27) **Osborn DA, Sinn JK:** Probiotics in infants for prevention of allergic disease and food hypersensitivity. *Cochrane Database Syst Rev* **4**: CD006475, 2007
- 28) **Weston S, Halbert A, Richmond P et al:** Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child* **90**: 892–897, 2005
- 29) **Boyle RJ, Bath-Hextall FJ, Leonardi-Bee J et al:** Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database Syst Rev* **4**: CD006135, 2008
- 30) **Rozé JC, Barbarot S, Butel MJ et al:** An  $\alpha$ -lactalbumin-enriched and symbiotic-supplemented v. a standard infant formula: a multicentre, double-blind, randomised trial. *Br J Nutr* **107**: 1616–1622, 2012
- 31) **van der Aa LB, Heymans HS, van Aalderen WM et al:** Probiotics and prebiotics in atopic dermatitis: review of the theoretical background and clinical evidence. *Pediatr Allergy Immunol* **21**: e355–e367, 2010
- 32) **Giovannini M, Agostoni C, Riva E et al:** A randomized prospective double blind controlled trial on effects of long-term consumption of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in pre-school children with allergic asthma and/or rhinitis. *Pediatr Res* **62**: 215–220, 2007
- 33) **Chen YS, Jan RL, Lin YL et al:** Randomized placebo-controlled trial of *Lactobacillus* on asthmatic children with allergic rhinitis. *Pediatr Pulmonol* **45**: 1111–1120, 2010
- 34) **Jones HE, Harris KA, Azizia M et al:** Differing prevalence and diversity of bacterial species in fetal membranes from very preterm and term labor. *PLoS One* **4**: e8205, 2009
- 35) **Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL:** Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* **29**: 297–301, 1991
- 36) **Krauss-Silva L, Moreira ME, Alves MB et al:** A randomised controlled trial of probiotics for the prevention of spontaneous preterm delivery associated with bacterial vaginosis: preliminary results. *Trials* **12**: 239, 2011
- 37) **Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P et al:** Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**: 11070–11075, 2005
- 38) **Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S et al:** Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* **444**: 1022–1023, 2006
- 39) **Collado MC, Cernada M, Bäuerl C et al:** Microbial ecology and host-microbiota interaction during early life stages. *Gut Microbes* **3**: 352–365, 2012
- 40) **永田 智:** プロバイオティクスを用いた小児肥満対策の検討 <http://kaken.nii.ac.jp/d/p/22500773.en.html>
- 41) **Wagner RD, Warner T, Roberts L et al:** Colonization of congenitally immune deficient mice with probiotic bacteria. *Infect Immun* **65**: 3345–3351, 1997