

感染症へのアプローチ 腸管免疫と感染—免疫力を考える

犬の腸内フローラと バイオジェニックスの効果 —最近の研究より

Immune effects of canine intestinal flora and biogenics
-from recent studies-

村田 佳輝

Yoshiteru Murata, D.V.M., Ph.D.

獣医臨床感染症研究会
むらた動物病院
東京農工大学附属 国際家畜
感染症防疫研究教育センター
北里大学 大村記念研究所



北里大学大学院修士課程で獣医外科学教室にて血液ガス酸塩基平衡を研究、千葉県茂原市にむらた動物病院開業。勤務の傍ら千葉大学真菌医学研究センター研究生、千葉大学大学院医学薬学部医真菌学にて医学博士取得。現在、東京農工大学農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センター産学官連携研究員、北里大学大村智記念研究所研究員、獣医臨床感染症研究会会長。専門は医真菌学、臨床感染症学（とくに敗血症とトランスロケーション）、眼科感染症学。写真はECVOリスボンにて。

はじめに

腸内細菌叢（マイクロバイオーーム）は腸管での栄養代謝を助けるだけでなく、病原菌の腸内感染防御に重要な働きをもつことがわかっている。また全身疾患における免疫機能の動きにも大きく関与している。とくに腸管感染においては、複雑に絡み合う常在菌—病原細菌—宿主免疫という三者の相互関係が感染と排除のバランスに関与しているといわれている^[1]。今回、犬での腸内細菌叢を解析し、またそこにおける宿主免疫に大きく関与しているといわれている、制御性T細胞（Treg）へのマイクロバイオーームと微生物生産物質（バイオジェニックス）の関与を考察し、さらに最近小動物臨床で問題視されている敗血症（とくに原発性敗血症）とマイクロバイオーームの関係も考えてみた。また犬の糞便から分離培養したマイクロバイオーーム構成菌のうち乳酸菌類（善玉菌）を使用し、*in vivo*での効果を予想するために、*in vitro*でのバイオジェニックスのマイクロバイオーームへの関与を考察した。

マイクロバイオーームの働き

体表・粘膜および消化器粘膜上では、常在細菌は恒常性を保った細菌群をつくっており、これを微生物叢（マイクロバイオータ）とよび、腸管粘膜上も同様であり、腸内微生物叢（細菌・真菌）を形成している。ほ乳類の胎児は母体内では無菌状態で維持されているが、出生後直ちに膨大な数の微生物に曝露され、その一部は常在菌として定着する。これまでの研究でマイクロバイオータは腸管での栄養代謝を助けるだけでなく、病原菌の腸内感染防御に重要な働きをもつことがわかっている。腸管粘膜とその周辺では、病原菌（細菌・真菌）と常在細菌とのせめぎ合いが常に行われ、宿主の健全性を保つための免疫応答反応が行われている。したがっていったんこの恒常性のバランスが崩れると免疫機構のアンバランスにより炎症などの全身反応がおこり、疾患が惹起されることになる。さらに最近の知見では様々な免疫関与疾患の発生にも関与していることもわかってきた。このようにマイクロバイオーームは宿主の生理機能の恒常性を保つためにも重要な役割をもっている。マイクロバイオーームは、宿主の消化酵素では分解できない食物繊維

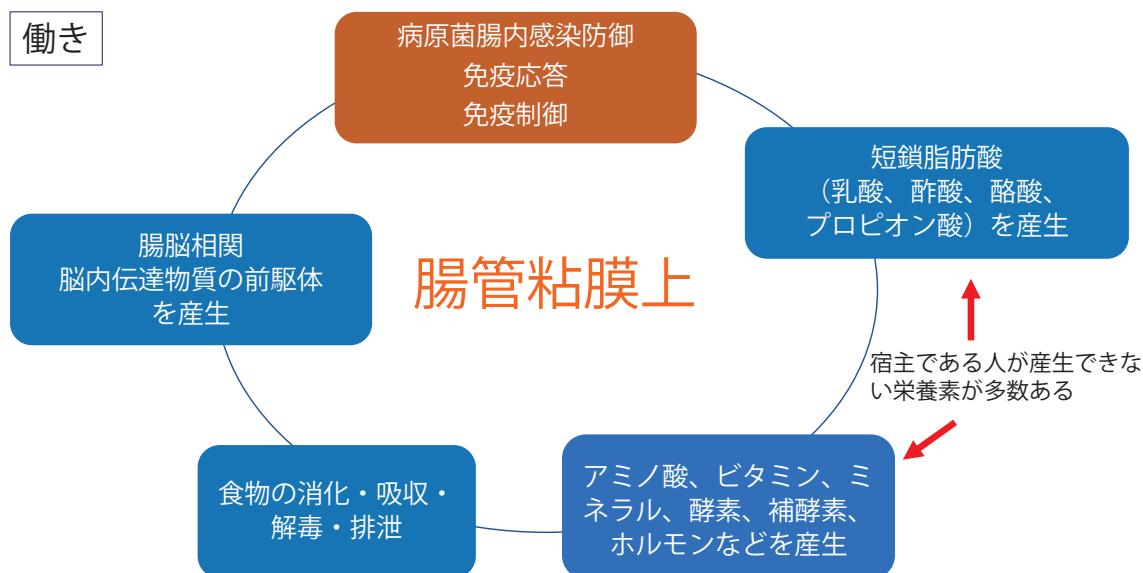


図1 腸内細菌叢（マイクロバイオーーム）
腸管粘膜上では常在細菌は恒常性を保った細菌群を形成

維などを微生物発酵により分解し、終末代謝産物として様々な低分子化合物を産生している。宿主細胞はこれらの発酵代謝産物をエネルギー源として利用している。とくに人の結腸下部の腸上皮細胞は摂取エネルギーのうち70%を共生細菌由来の発酵産物に頼っている。腸内細菌によって供給される短鎖脂肪酸（酢酸、プロピオン酸、酪酸）は最も重要な栄養源で、さらに腸内フローラはリビフラビン（VB₂）、ピリドキシン（VB₆）、ビオチン（VB₇）、葉酸（VB₉）、VB₁₂といった、糖・脂質代謝の補酵素となるビタミンB群を宿主に供給している（図1）。マイクロバイオーームは「外付けの臓器」ともいえる代謝系を構築しており、宿主と腸内細菌は一種の共生関係にあるといえる。そのため腸管には、外来性の病原微生物に対する生体防御応答を保障しながら常在微生物に対する免疫応答を制御するという高度な仕組みが備わっている。この免疫バランスの破綻が炎症性腸疾患（IBD）に代表される慢性炎症疾患の原因となる^[1]。

現在使用されている 腸管免疫関与物質

プロバイオティクス

1989年のFullerの定義では、「生きた細菌の飼料添加物で、宿主動物の腸内細菌のバランスを改善することで動物に有益な影響を与えるもの」とされており、この時点では対象は家畜であった。当時は発育増進のために飼料に添加される抗菌薬が問題視されはじめて

おり、その代替として用いられたのがプロバイオティクスだったのである。現在では動物だけでなく人もその適用範囲で、最近の定義では「宿主に保健効果を示す生きた微生物、またはそれを含む食品」とされている。ここでの微生物は乳酸発酵を行う乳酸菌が主なものであるが、*Escherichia coli*など乳酸菌以外の細菌も一部含まれている。

すべてのプロバイオティクスに共通して認められる働きとしては、以下のものが挙げられる^[2]。

- 1) 病原菌の定着阻止
- 2) 酸や短鎖脂肪酸の産生
- 3) 消化管運動の調整
- 4) 腸内細菌の正常化
- 5) 腸上皮細胞のターンオーバーの促進
- 6) 競合による病原菌の排除

プレバイオティクス

複雑に絡み合った腸内生物叢のバランスを保ち、宿主の健康を維持増進するために用いられるのがプレバイオティクスである。プレバイオティクスは1995年にGibsonとRoberfroidによって提唱された概念で、「非消化性の食物成分で、単数ないし少数の結腸内の有用な細菌の成長や活性を選択的に刺激して有益な影響を与え、宿主の健康を増進するもの」と定義された。具体的な項目は、本誌「マイクロバイオータと乳酸菌製剤」の記事（p22）をご参照いただきたい。

A

*Bifidobacterium*属、*Enterococcus*属、*Lactobacillus*属
(乳酸菌生産物質で人の正常腸内細菌叢での善玉菌)
代謝産物の濃縮製剤

SOPHIA乳酸菌使用株一覧

1. B ロングム *Bifidobacterium longum* (×2 株)
2. アドレセンティス *Bifidobacterium adolescentis* (×2 株)
3. B ビフィダム *Bifidobacterium bifidum* (×1 株)
4. B ブレーベ *Bifidobacterium Breve* (×1 株)
5. B インファンティス *Bifidobacterium Infantis* (×1 株)
6. E フェシウム *Enterococcus faecium* (×5 株)
7. E フェカリス *Enterococcus Faecalis* (×1 株)
8. E デュランズ *Enterococcus durans* (×3 株)
9. L パラカゼイ *Lactobacillus ss casei* (×2 株)
10. L フルガリクス *Lactobacillus bulgaricus* (×1 株)
11. L ラクティス *Lactococcus lactis* (×1 株)
12. L カゼイ *Lactobacillus casei* (×4 株)
13. L プレビス *Lactobacillus brevis* (×1 株)
14. L アシドフィルス *Lactobacillus acidophilus* (×3 株)
15. L ガッセリ *Lactobacillus gasseri* (×2 株)
16. L デルブリッキ *Lactobacillus delbrueckii* (×1 株)

図2 今回使用したバイオジェニックスとサプリメント

A: 本製品の製造過程で使用する乳酸菌

B: 腸内フローラサポートサプリメント

B

SOPHIA FLORA CARE
(乳酸菌生産物質)

乳酸菌生産物質の発酵・培養



バイオジェニックス

バイオジェニックスとは微生物生産物質のことをいい、今回の研究ではバイオジェニックスは乳酸菌生産物質で、人の正常腸内細菌叢での善玉菌である、*Bifidobacterium*属、*Enterococcus*属、*Lactobacillus*属、の生産物質を濃縮したもので、今回の考察では(株)SOPHIAのSOPHIA FLORA CARE(動物用サプリメント)を使用した(図2A、B)。

このなかには酪酸、酢酸、乳酸、プロピオン酸、葉酸など数種の短鎖脂肪酸が含まれる。短鎖脂肪酸のなかでとくに酪酸は腸管内において、先述したように粘膜細胞・マイクロバイオームの栄養源となり、免疫力の向上に付与し、とくにIBD、アトピーなどの難治症例では長期投与により改善するとされている^[3](図3)。

また摂取によりアディポネクチンの産生能を促進する働きがあり、糖尿、肥満に効果があるとされている。アディポネクチンは脂肪細胞が特異的に分泌する生理活性物質の一種で、動脈硬化や糖尿病を防ぐ善玉物質として注目されている。また内臓脂肪を燃焼させ、痩せさせる作用もあるといわれている。さらに内臓脂肪が多いとアディポネクチンの分泌量は減ってしまうこともわかってきている。インスリンの効果を高める作用もあり、この効果が糖尿病を緩和させると考えられている。アディポネクチンは最近では、がん・心筋梗塞の予防効果もあるといわれ、人においてはアディポネクチンが正常に分泌されていれば生活習慣病を防いでくれるともいわれている。バイオジェニックスはこれを補う作用もあるとされている^[1, 3]。

- ・プロバイオティクス：
オリゴ糖、食物繊維(悪玉菌排除)
- ・プレバイオティクス：
生菌製剤、ヨーグルト(善玉菌)

- ・バイオジェニックス：乳酸菌生産物質(腸管免疫関与)
SOPHIA



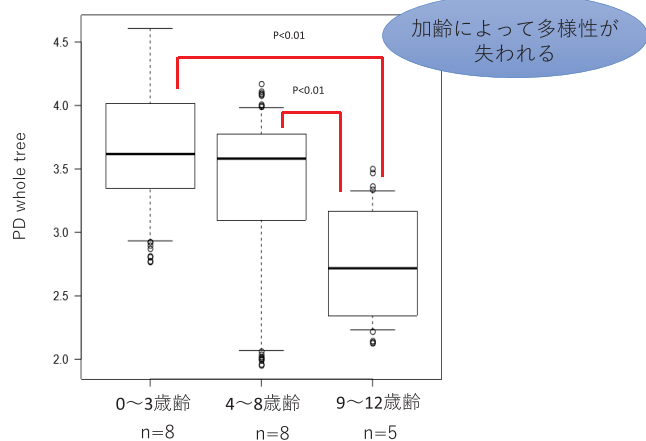
酪酸、酢酸、乳酸、プロピオン酸、葉酸など数種の
短鎖脂肪酸が含まれる

図3 乳酸菌関連製剤

犬の腸内細菌叢(マイクロバイオーム)の研究

本研究では犬での腸内細菌叢を解析し、またそこにおける宿主免疫に大きく関与しているといわれている、制御性T細胞(Treg)へのマイクロバイオームと微生物生産物質(バイオジェニックス)の関与を確認し、さらに免疫グロブリンA(IgA)の上昇も確認でき、最近小動物臨床で問題視されている敗血症(とくに原発性敗血症)でのバクテリアルトランスロケーション(Bacterial translocation)の抑止も期待できることが確認できた。さらに、今回はバイオジェニックスを投与することにより、犬より分離増殖したマイクロバイオーム(善玉菌)を使用することにより、*in vitro*、*in vivo*でのバイオジェニックスのマイクロバイオームへの関与を考察した。

腸内細菌叢は宿主に対し栄養学的、免疫学的、生理学的に重要な役割を果たしており、その解析は病態の



Kruskal-Wallis test → Mann-Whitney U test (Bonferroni法で補正)

図4 多様性と年齢 [4]

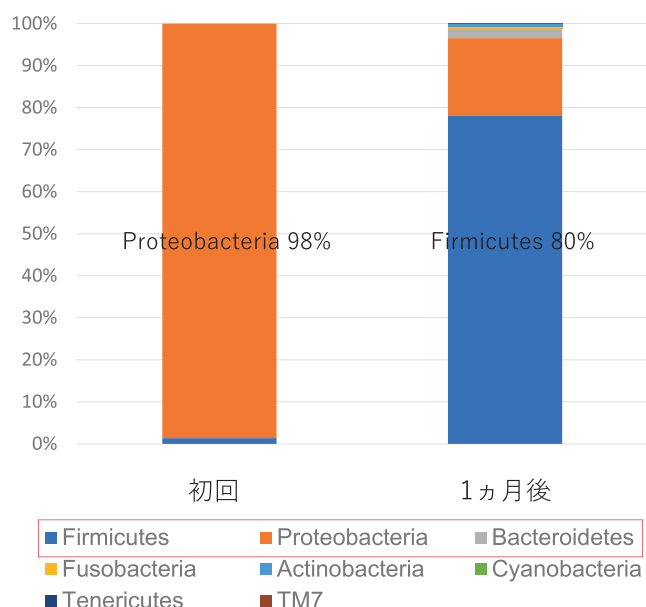
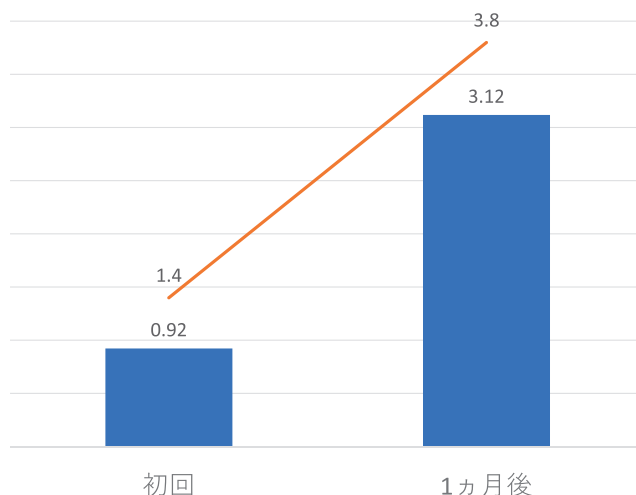


図6 蛋白漏出性腸症のケース—OTUの変化 [4]

OTU : operational taxonomic unit

理解および治療につながる可能性があるが、犬ではまだ十分に調べられていない。IBDのような免疫介在性難治性疾患の発生に腸内細菌叢のアンバランスが関与しているとされており [5~25]、この方向から糞便移植などの治療法も試験的に行われているが、確立されていない [5~25]。本研究では主要な家庭飼育犬の一種であるトイ・プードルを対象に腸内細菌叢の特徴を明らかにすることを目的とした。消化器症状を呈していないトイ・プードル21頭（雄12頭、雌9頭、年齢0~12歳）の糞便21サンプルについて、次世代シーケンサーによる16S rRNA遺伝子のV3-V4領域をターゲットとしたメタゲノム解析を行った。全サンプルの総計で門レベルでの検出されたものは、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、



■ PD whole tree — 血中アルブミン (g/dL)

図5 蛋白漏出性腸症のケース—多様性の変化 [4]

PD whole tree : 系統的多様性

*Bacteroidetes*の3門が全体の9割を占め、以下のような考察が得られた [4]。

- ・ トイ・プードルの腸内細菌叢には、非常に大きな個体差がある。
- ・ 腸内細菌叢の多様性は、加齢によって有意に減少する (図4)。
- ・ 疾患による影響や、同一個体内での経時的变化が存在する可能性がある。
- ・ 特筆すべき事例として、蛋白漏出性腸症において、発症中血中アルブミン値が1.4g/dLと低値のときは *Proteobacteria* 98%で、良化した (図5)。
- ・ 1ヵ月後、血中アルブミン値が3.8g/dLでは *Firmicutes* 80%と腸内細菌叢の変化がみられた (図6)。

このことから腸疾患には、腸内細菌叢は密接に関与していることが示唆された [4]。

バイオジェニックスの腸内免疫への関与 (研究のまとめ)

バイオジェニックス中の短鎖脂肪酸 (とくに酪酸) は腸管内において、粘膜細胞・マイクロバイオームの栄養源となり、免疫力の向上に付与し、とくにIBD、アトピーなどの難治症例では長期投与により改善するとされている。宿主での腸内細菌叢と病原細菌の関係は排除と寛容が免疫応答により行われている。腸管における免疫応答を制御する細胞の代表として、Foxp3陽性の制御性T (Treg) 細胞が挙げられる。腸内細菌

腸内細菌がつくる酪酸が制御性 T 細胞への分化誘導のカギ
- 炎症性腸疾患の病態解明や新たな治療法の開発に期待 -

本研究成果のポイント

- 食物繊維が多い食事を摂ると酪酸が増加
- 酪酸が制御性 T 細胞への分化誘導に重要な Foxp3 遺伝子の発現を高める
- 酪酸により分化誘導された制御性 T 細胞が大腸炎を抑制

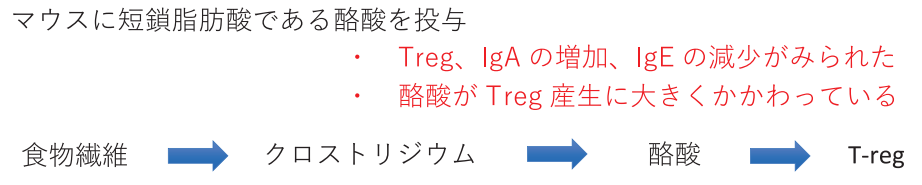


図7 理科学研究所の大野らのグループでの研究

の定着は腸管関連リンパ組織を成熟させ、IgA産生を促進しTH17細胞の分化を誘導するなど、宿主免疫システムの成熟に必須である。いっぽうで、腸内細菌に対する過剰な免疫応答を抑制するために、大腸において抑制性T（Treg）細胞が誘導される。生体ではこの機構により感染症、免疫介在性疾患の一部などで全身性炎症反応を回避させている^[26]。この機構に着目し、犬においてバイオジェニックス投与での腸管免疫応答で免疫反応の促進が行われていることを、IgA、IgE、Tregの動向により証明する試験を行った。使用したバイオジェニックスは乳酸菌生産物質（SOPHIA FLORA CARE）で、人の正常腸内細菌叢での善玉菌である、*Bifidobacterium*属、*Enterococcus*属、*Lactobacillus*属の生産物質を濃縮したものである。6頭の犬において8週間の投与を行ったところ、投与4週目でTregの上昇がみられ、IgAも上昇傾向が確認された^[3]。理科学研究所の大野らのグループでの研究によるとマウスに繊維質食を与えたところ*Clostridium*属菌種が増加し、短鎖脂肪酸である酪酸も増加し、その結果、Treg、IgAの増加、IgEの減少がみられた。このことより酪酸がTreg産生に大きくかかわっていることがわかった^[26]（図7）。東京農工大学での研究でもバイオジェニックスの投与により、犬においても短期でTregの上昇がみられ（ただし、アディポネクチン、IgEでは大きな変化はみられなかった）、IgAの上昇もみられた、バイオジェニックスには酪酸以上の効果があると期待できる^[3]。

腸内免疫と敗血症 （バイオジェニックスの臨床応用）

敗血症の多くは*Escherichia coli*、*Enterobacter aerogenes*、*Enterococcus faecium*、*Klebsiella pneumoniae*、*Clostridium perfringens*、*Candida albicans*、*C.glabrata*などの腸管内常在菌によるものが多く、直接感染の他に免疫低下による腸管バリア機能の低下がおこり腸内常在菌の感染が成立する（図8）、バクテリアルトランスロケーションによるもの（原発性敗血症）が半数以上でみられる。このなかで大腸菌や肺炎桿菌などのグラム陰性菌が多数を占め、これらの症例ではエンドトキシンショックを引き起こす危険が高い傾向にある^[27]。また犬の腸管内常在菌である嫌気性菌の*C.perfringens*も多く分離され、同様にエンドトキシンの関与も示唆される症例もみられている^[28]。人では腸内細菌の変化が敗血症と関連するという報告もあり、プロバイオティクスやプレバイオティクス、さらにバイオジェニックスによる敗血症治療の妥当性も示唆されている。最近のバクテリアルトランスロケーションにおける敗血症の発生機序と腸内細菌叢の関係の見解では、生体になんらかの原因により免疫不均衡がおこると、腸管内では粘膜免疫に異常がおこりsymbiosis（腸内細菌の均衡）からdysbiosis（腸内細菌の不均衡）となり腸炎が惹起され腸内細菌叢の乱れがおこる。そのような状態下では腸粘膜細胞・善玉菌への栄養供給が低下しTreg、IgAなどの減少から腸管内常在病原菌への増殖抑制機能も低下し、粘膜バリアの破綻から、炎症粘膜の細胞間隙から感染がおこり、血管・リンパ管への侵入により敗血症が成立す

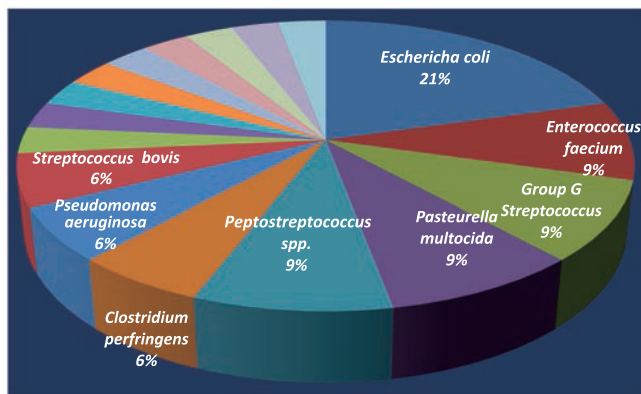


図8 敗血症での血液培養分離菌
(2003～2014年 むらた動物病院)

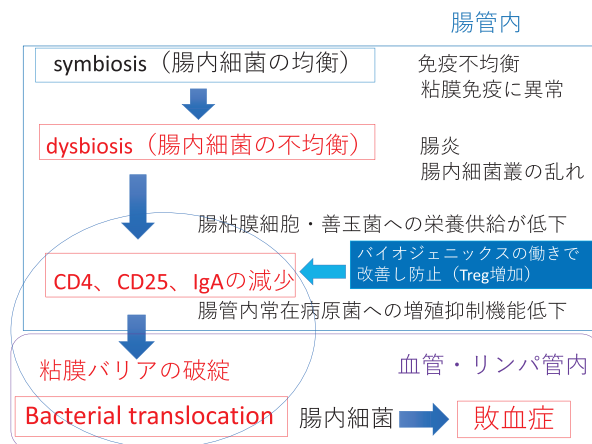


図9 腸管免疫と敗血症

るといわれている^[3] (図9)。いわゆる菌交代症でも同様のことがみられ、広域抗菌薬の長期連用による腸内細菌叢の乱れから腸炎がおり、大腸菌・カンジダなどの感染による敗血症がおこるとされている^[28]。

バイオジェニックスはこのような状態下での腸管粘膜細胞・善玉菌の栄養源である短鎖脂肪酸 (酢酸、プロピオン酸、酪酸)、VB群を多く含み、抑制状態を改善し、Treg、IgAの増加から免疫不均衡を是正するといわれている^[3]。したがって糖尿病、副腎皮質機能亢進症、免疫介在性疾患での免疫抑制治療、抗がん剤治療のようなimmune hypomunity (免疫低下状態)、immunocompromised (免疫不全) をつくりやすい治療においては、敗血症に陥りやすいため、バイオジェニックス使用は予防策として推奨したい。

とがTreg、IgAの増加につながる要因の1つであると考えられた。また歯周病菌である*Porphyromonas gingivalis*、*Streptococcus mutans*では増殖抑制傾向もみられた^[3]。また*Prevotella copri*はリウマチ患者、インスリン抵抗性を示す患者 (糖尿病) で増加がみられ、抗がん剤投与後の消化器毒性にも関連性があるという報告もある。今回バイオジェニックスをこの菌の培地に給与したところ、コロニーが縮小、減少していく傾向がみられたことから、糖尿病患者の症状も緩和するであろうことが予想された。偏性嫌気性の細菌さらに悪玉菌の増殖抑制についても、今後取りまとめていく予定である。

小動物での腸内免疫研究の今後

小動物における腸内細菌への取り組みは、最近ではじまったばかりである。小動物臨床現場で尿路感染症、子宮蓄膿症などに多くみられる敗血症での分離細菌・真菌の割合は人に類似するものであった。敗血症では半数以上が腸内常在菌のバクテリアトランスロケーションによるものであることから、腸内細菌叢も人のそれに近いこともわかってきた。犬の腸内細菌の研究は増加しており、最近ではそれを利用しIBDなどの難治性疾患の糞便移植治療に利用しようとの試みもなされている。プロバイオティクス、プレバイオティクスについては動物においても数多く製品化されているが、バイオジェニックスの動物への利用は少ない。今回の試験により犬においてTreg、IgAの上昇がみられたことは、小動物臨床においては朗報であり、今後この製品の利用が普及し、今まで難治とされていた疾患の治療の一助となることを期待したい^[3]。さらに特

マイクロバイームとバイオジェニックス (研究のまとめ)

犬にバイオジェニックス (SOPHIA FLORA CARE) を給与したところ、糞便より15菌種の善玉菌 (*Pediococcus*属、*Enterococcus*属、*Weissella*属、*Lactobacillus*属、*Streptococcus*属) が分離された。分離培養したマイクロバイーム構成菌のうち乳酸菌類 (善玉菌) を使用し、*in vivo*での効果を予想するために、*in vitro*でのバイオジェニックスのマイクロバイームへの関与を考察した。分離された菌種と善玉菌である*Bifidobacterium*属に、バイオジェニックスをそれぞれ0.08%、0.40%、2.0%、10.0%添加したところ、濃度依存性に増殖率の増加がみられた。これはバイオジェニックスには乳酸菌類の増殖を促す成分が含まれ、生体内においても同様のことが期待でき、このこ

記事項としては、歯周病菌の抑制も今後期待できるとも付け加えておきたい（表1）。

表1 腸管免疫研究の今後

プロバイオティクス、プレバイオティクスについては動物においても数多く製品化されている
バイオジェニックスの動物への利用はまだ少ない
今回の試験により犬においてTreg、IgAの上昇がみられたことは、小動物臨床においては朗報
今後この製品の利用が普及し、今まで難治とされていた疾患の治療に一助となることを期待したい
歯周病菌への抑制試験で、今後予防・治療が期待できる

参考文献

- [1] 大野博司編：綾部時芳，藤本康介，竹田 潔，金谷高史，河本新平，Fagarasan Sidonia，新蔵礼子，新幸二，長谷耕二他，佐藤尚子，倉島洋介，武村直紀，植松 智，三宅健介，鳥山 一，北本 祥，鎌田信彦，下川周子，清原裕貴，金井隆典，宮内栄治，長竹貴広，國澤純，藤山 聡，澁谷彰，福山賀子，幸 義和：別冊 医学のあゆみ，粘膜免疫UPDATE. 医歯薬出版株式会社：2016. 5. 25
- [2] 栗田吾郎：犬猫の腸内細菌の役目を考える—腸内環境を整えて，感染症に勝つ—，2.腸内細菌，プロバイオティクス，プレバイオティクス総論：動物臨床医学，28巻1号pp5-8，2019.
- [3] 村田佳輝：犬猫の腸内細菌の役目を考える—腸内環境を整えて，感染症に勝つ—，1.犬の腸内細菌解析：動物臨床医学，28巻1号，pp1-4，2019.
- [4] Tsutomu Omatu, Miki Omura, Yukie Katayama, Toru Kimura, Maho O Kumura, Atsushi Okumura, Yoshiteru Murata and Tetsuya Mizutani : Molecular diversity of the fical microbiota of Toy Poodles in Japan : The JournalVeterinary Medical Science. J. Vet. Med. Sci. 80 (5) : 749-754, 2018 doi : 10.1292/jvms.17-0582
- [5] Cong, X., Xu, W., Janton, S., Henderson, W. A., Matson, A., McGrath, J. M., Maas, K. and Graf, J. 2016. Gut Microbiome Developmental Patterns in Early Life of Preterm Infants : Impacts of Feeding and Gender. PLOS ONE 11 : e0152751.
- [6] Deng, P. and Swanson, K. S. 2015. Gut microbiota of humans, dogs and cats : current knowledge and future opportunities and challenges. Br. J. Nutr. 113 Suppl : S6-S17.
- [7] Deusch, O., O'Flynn, C., Colyer, A., Swanson, K. S., Allaway, D. and Morris, P. 2015. A Longitudinal Study of the Feline Faecal Microbiome Identifies Changes into Early Adulthood Irrespective of Sexual Development. PLoS ONE. 2015 Dec 14 ; 10 (12) : e0144881. Identifies Changes into Early Adulthood Irrespective of Sexual Development. PLOS ONE 10 : e0144881.
- [8] Dillon, R. J., Webster, G., Weightman, A. J. and Keith Charnley, A. 2010. Diversity of gut microbiota increases with aging and starvation in the desert locust. Antonie van Leeuwenhoek 97 : 69-77.
- [9] Gnanandarajah, J. S., Johnson, T. J., Kim, H. B., Abrahante, J. E., Lulich, J. P. and Murtaugh, M. P. 2012. Comparative faecal microbiota of dogs with and without calcium oxalate stones. J. Appl. Microbiol. 113 : 745-756.
- [10] Goodrich, J. K., Davenport, E. R., Waters, J. L., Clark, A. G. and Ley, R. E. 2016. Cross-species comparisons of host genetic associations with the microbiome. Science 352 : 532-535.
- [11] Guard, B. C., Barr, J. W., Reddivari, L., Klemashevich, C., Jayaraman, A., Steiner, J. M., Vanamala, J. and Suchodolski, J. S. 2015. Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. PLOS ONE 10 : e0127259.
- [12] Hatta, Y., Omatsu, T., Tsuchiaka, S., Katayama, Y., Taniguchi, S., Masangkay, J. S., Puentespin, R. Jr., Eres, E., Cosico, E., Une, Y., Yoshikawa, Y., Maeda, K., Kyuwa, S. and Mizutani, T. 2016. Detection of Campylobacter jejuni in rectal swab samples from Rousettus amplexicaudatus in the Philippines. J. Vet. Med. Sci. 78 : 1347-1350.
- [13] Honneffer, J. B., Minamoto, Y. and Suchodolski, J. S. 2014. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. World J. Gastroenterol. 20 : 16489-16497.
- [14] Hooda, S., Minamoto, Y., Suchodolski, J. S. and Swanson, K. S. 2012. Current state of knowledge : the canine gastrointestinal microbiome. Anim. Health Res. Rev. 13 : 78-88.
- [15] Igarashi, H., Maeda, S., Ohno, K., Horigome, A., Odamaki, T. and Tsujimoto, H. 2014. Effect of oral administration of metronidazole or prednisolone on fecal microbiota in dogs. PLOS ONE 9 : e107909.
- [16] Kasiraj, A. C., Harmoinen, J., Isaiah, A., Westermarck, E., Steiner, J. M., Spillmann, T. and Suchodolski, J. S. 2016. The effects of feeding and withholding food on the canine small intestinal microbiota. FEMS Microbiol. Ecol. 92 : fiw085.
- [17] Middelbos, I. S., Vester Boler, B. M., Qu, A., White, B. A., Swanson, K. S. and Fahey, G. C. Jr. 2010. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. PLoS ONE 5 : e9768.
- [18] Mihajlovski, A., Doré, J., Levenez, F., Alric, M. and Bruguère, J. F. 2010. Molecular evaluation of the human gut methanogenic archaeal microbiota reveals an age-associated increase of the diversity. Environ. Microbiol. Rep. 2 : 272-280.
- [19] O'Toole, P. W. and Jeffery, I. B. 2015. Gut microbiota and aging. Science 350 : 1214-1215.
- [20] Panasevich, M. R., Kerr, K. R., Dilger, R. N., Fahey, G. C. Jr., Guérin-Deremaux, L., Lynch, G. L., Wils, D., Suchodolski, J. S., Steer, J. M., Dowd, S. E. and Swanson, K. S. 2015. Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. Br. J. Nutr. 113 : 125-133.
- [21] Park, H. J., Lee, S. E., Kim, H. B., Isaacson, R. E., Seo, K. W. and Song, K. H. 2015. Association of obesity with serum leptin, adiponectin, and serotonin and gut microflora in beagle dogs. J. Vet. Intern. Med. 29 : 43-50.
- [22] Sabbioni, A., Ferrario, C., Milani, C., Mancabelli, L., Riccardi, E., Di Ianni, F., Beretti, V., Superchi, P. and Ossiprandi, M. C. 2016. Modulation of the Bifidobacterial Communities of the Dog Microbiota by Zeolite. Front. Microbiol. 7 : 1491.
- [23] Šlapeta, J., Dowd, S. E., Alanazi, A. D., Westman, M. E. and Brown, G. K. 2015. Differences in the faecal microbiome of non-diarrhoeic clinically healthy dogs and cats associated with Giardia duodenalis infection : impact of hookworms and coccidia. Int. J. Parasitol. 45 : 585-594.
- [24] Suchodolski, J. S. 2016. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. Vet. J. 215 : 30-37.
- [25] Suchodolski, J. S., Markel, M. E., Garcia-Mazcorro, J. F., Unte rer, S., Heilmann, R. M., Dowd, S. E., Kachroo, P., Ivanov, I., Minamoto, Y., Dillman, E. M., Steiner, J. M., Cook, A. K. and Toresson, L. 2012. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. PLoS ONE 7 : e51907.
- [26] Yukihiro Furusawa, Yuki Obata, Shinji Fukuda, Takano A. Endo, Gaku Nakato, Daisuke Takahashi, Yumiko Nakanishi, Chikako Uetake, Keiko Koto, Tamotsu Kato, Masumi Takahashi, Noriko N. Fukuda, Shinnosuke Murakami, Eiji Miyauchi, Shingo Hino, Koji Atarashi, Satoshi Onawa, Yumiko Fujimura, Trevor Lockett, Julie M. Clarke, David L. Topping, Masaru Tomita, Shohei Hori, Osamu Ohara, Tatsuya Morita, Haruhiko Koseki, Jun Kikuchi, Kenya Honda, Koji Hase and Hiroshi Ohno : Commensal micro-derived

butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells.
doi: 10.1038/nature12721

- [27] 村田佳輝：どう使う, 抗菌薬私ならこう使う, 3. 血流感染症への対応
／抗菌薬感受性試験の重要性. 動物臨床医学 (Vol. 25 No.2 2016) :

47-51: 動物臨床医学会

- [28] 村田佳輝：感染症へのアプローチ 治療, 敗血症の診断・治療. MVM,
vol.28, No.184, pp29-42, 2019.

News

第23回日本獣医がん学会 オンライン開催される

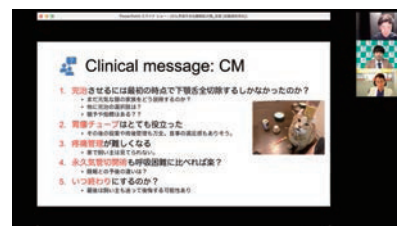
2021年1月26日～2月16日、オンライン配信での開催となった第23回日本獣医がん学会。新型コロナウイルス感染症拡大による緊急事態宣言下の開催となったが、メインシンポジウム「猫の口腔内扁平上皮癌」をはじめ、総合教育講演8科目、教育講演3演題、内科シンポジウム「骨髄増殖性疾患を理解する」など、例年通り充実したプログラムが展開された。

メインシンポジウムの特別対談として開催されたのは、「飼い主として闘った猫の口腔内扁平上皮癌～家族目線の体験を振り返る専門医との対談～」(座長:高橋雅先生、鹿児島大学)。動物の飼い主であり主治医でもある大隅尊史先生(東京農工大学付属動物医療センター)が、飼い主かつ主治医の立場から、口腔内扁平上皮癌に罹患した

猫の病歴と治療のすすめ方、そして当時の心境を語り、その治療内容に対して、がんの専門医である小林哲也先生(日本小動物がんセンター)が評価しアドバイスしていくという内容。がん治療がもつ様々な側面と主治医としての決断、その治療に立ち向かう動物と家族の奮闘、専門医が語る治療の難しさ——そうしたものが治療の時系列とともに語られた、じつに貴重なセッションとなった。

また、メインシンポジウムの総合討論では、事前に視聴者から募集した質問に登壇者が答える形ですすめられた。座長である杉山大樹先生(ファミリー動物病院)をはじめ8名の先生方による討論は、多くの質問と答えが行き交う、オンラインであることを忘れるほど手応えのある内容であった。

この総合討論をはじめ、多くのセミナー、セッションが予定時間を超えて行われ、講師の先生方、視聴の先生方の熱意が感じられた本学会。次回、第24回の日本獣医がん学会の開催日程などについては、日本獣医がん学会ホームページ(<http://www.jvcs.jp/>)にて逐次発表される予定。



メインシンポジウムの特別対談の様子

特集のおわりに

バイオジェニックスの小動物臨床での今後を考える

小動物臨床における腸内細菌活用への取り組みは、最近ではじまったばかりである。

犬の腸内細菌の研究は増加しており、最近ではそれを利用し炎症性腸疾患（IBD）などの難治性疾患の糞便移植治療に利用しようとの試みもなされている。

トイ・プードルを対象にバイオジェニックスを給与する前後での腸内細菌叢を分析した研究では、トイ・プードル21頭（雄12頭、雌9頭、年齢0～12歳齢）の糞便22サンプルについて、次世代シーケンサーによる16S rRNA遺伝子のV3-V4領域をターゲットとしたメタゲノム解析を行った。全サンプルから検出された細菌類を門レベルで解析すると、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Bacteroidetes*の3門が全体の9割を占めた。

- ・トイ・プードルの腸内細菌叢には、非常に大きな個体差がある。
- ・腸内細菌叢の多様性は、加齢によって有意に減少する。
- ・疾患による影響や、同一個体内での経時的変化が存在する可能性がある。

特筆すべき事例として、蛋白漏出性腸症において、発症中血中アルブミン値が1.4g/dLと低値のときは*Proteobacteria* 98%で、良化し、1ヵ月後3.8g/dLでは*Firmicutes* 80%と腸内細菌叢の変化がみられた。

このことから腸疾患には、腸内細菌叢は密接に関与していることが示唆された。

腸管には全身の末梢免疫細胞の60～70%が集積しており、腸管免疫系は病原微生物に対する生体防御応答と常在細菌に対する免疫グロブリンA（IgA）抗体による常在細菌数のバランスを保っている。この不均衡（dysbiosis）が感染症（敗血症）、やIBD、アレルギーを引き起こす原因となる。さらに制御性T細胞（Treg）がそこでは働き、Tregは炎症、自己免疫疾患、アレルギーなどの不要な免疫応答・疾患に抑制的に働き免疫恒常性を維持する。Tregには、胸腺で分化し自己免疫疾患の発症を抑える働きをもつ「胸腺由来Treg」と末梢でナイーブT細胞から分化し、アレルギーや遷延炎症の抑制に働く「末梢由来Treg」が存在する。

乳酸菌製剤（プロバイオティクス、プレバイオティクス、バイオジェニックス）は生体内で短鎖脂肪酸の産生に付与し免疫機能の活性化に關与する働きがある。制御性T細胞（Treg細胞）の増加、NK細胞の活性化、IgAの分泌増加を促進する。とくに*Bifidobacterium*属、*Lactobacillus*属、*Enterococcus*属はプラズマサイト樹状細胞（pDC）の活性化によるIFNの産生／NK細胞の活性化／CTL細胞・B細胞の分化を促進し自然免疫と獲得免疫による感染防御を促す。

小動物臨床において乳酸菌製剤の効果は、アトピー性皮膚炎、IBDなどの自己免疫疾患において免疫抑制的に働くことで病変や症状を軽減させること、免疫を高めることで感染症（とくに敗血症）や腫瘍などの予防に応用できることである。プロバイオティクス、プレバイオティクスについては動物においても数多く製品化されているが、バイオジェニックスの動物への利用は少ない。今回の試験により犬においてTreg、IgAの上昇がみられたことは、小動物臨床においては朗報であり、今後この製品の利用が普及し、今まで難治とされていた疾患の治療に一助となることを期待したい。さらに特記事項としては、歯周病菌の抑制も今後期待できることも付け加えておきたい（表1）。

今回の特集において、感染症の成立・治療・予防について、腸管免疫から考察してみた。生活型の変化により今後小動物臨床領域においても難治性症例がますます増加していくと考えられる。今回提示された治療法・予防法が応用され小動物臨床の光となることを期待してやまない。

（付記）小動物臨床現場での腸管免疫治療のまとめ

臨床現場での腸管免疫を利用したマイクロバイオータ／乳酸菌製剤治療の今後をまとめてみた。

犬アトピー性皮膚炎（cAD）の治療の今後

犬アトピー性皮膚炎（cAD）においては*Staphylococcus intermedius group*、*Malassezia pachydermatis*の増加により皮膚マイクロバイオータの不均衡dysbiosisがおこる。このことから「皮膚常在菌の一過性の増殖」「皮

表1 小動物用乳酸菌製剤一覧表

2021年1月 作成：むらた動物病院

製品名	使用例	分類1	分類2	対象
SOPHIA FLORA CARE ((株) SOPHIA)	腸、皮膚、免疫	サプリメント	バイオジェニクス	犬・猫・エキゾチックアニマル
プロコリンアドバンス犬用、猫用 ((株) ミネルヴァコーポレーション)	整腸	サプリメント	シンバイオティクス	犬・猫
キューテック (エランコジャパン (株))	整腸	サプリメント	シンバイオティクス	犬・猫
プレビオQ [®] タブレット250、プレビオQ [®] タブレット380 (Meiji Seika ファルマ (株))	整腸	サプリメント	プレバイオティクス	犬
マイトマックス・スーパー (共立製薬 (株))	整腸	サプリメント	プロバイオティクス	犬・猫
Bifi-S ((株) ビフィ・ワン)	整腸	サプリメント	プロバイオティクス	犬・猫
エスプレス [®] H61犬用、猫用 (東亜薬品工業 (株))	整腸、皮膚、腎臓	サプリメント	プロバイオティクス	犬・猫
ペットアイジージー (兼松ウェルネス (株))	整腸	サプリメント	—	犬・猫
ビヒラクチン [®] DX ((株) 森乳サンワールド)	整腸	サプリメント	プロバイオティクス	犬・猫
ベジタブルサポートドクタープラス グルタミン & オリゴ ((株) メニワン)	整腸	サプリメント	プレバイオティクス	犬・猫
ペット用万田酵素フェルミック (万田発酵 (株))	整腸	サプリメント	シンバイオティクス	犬・猫
バイオムバスター [®] 錠 (共立製薬 (株))	食欲不振、消化不良、単純性下痢	薬	—	犬・猫
<犬用><猫用>腸内バイオーム ドライ (日本ヒルズ・コルゲート (株))	整腸	フード (ドライ)	—	犬・猫

(提供：(株) SOPHIA、石田一成氏)

膚の炎症・角化異常」「腸内環境の乱れを通じたTh1/Th2細胞のバランス不均衡をはじめとする免疫系バランスの乱れ」の是正がcADの改善に必要である。*L. paracacei*/ケストースのシンバイオティクス効果は制御性T細胞Treg刺激によるIL-10の分泌量増加と酪酸の上昇によるTregの活性化が関与しているため、cADの治療に応用でき、実際の臨床においても良好な治療成績を上げていることから、今後が期待される。(川野先生)

小動物における敗血症治療の今後

小動物臨床現場で尿路感染症、子宮蓄膿症などに多くみられる敗血症での分離細菌・真菌の割合は人に類似するものであった。最近のトランスロケーションにおける敗血症の発生機序と腸内細菌叢の関係の見解では、生体になんらかの原因により免疫不均衡がおけると、腸管内ではsymbiosis (腸内細菌の均衡) から粘膜免疫に異常がおこりdysbiosis (腸内細菌の不均衡) となり腸炎が惹起され腸内細菌叢の乱れがおこり、そのような状態下では腸粘膜細胞・善玉菌への栄養供給

が低下しTreg、IgAなどの減少から腸管内常在病原菌への増殖抑制機能も低下する。さらに、粘膜バリアの破綻から、炎症粘膜の細胞間隙から感染がおこり、原因菌の血管・リンパ管への侵入により敗血症が成立するといわれている。

人では腸内細菌叢の変化が敗血症と関連するという報告もあり、プロバイオティクスやプレバイオティクスさらにバイオジェニクスによる敗血症治療の妥当性も示唆されている。とくにバイオジェニクスは免疫抑制状態を改善し、Treg、IgAの増加から免疫不均衡を是正するといわれている。敗血症では半数以上が腸内常在菌のトランスロケーションであるので腸内細菌叢も人のそれに近いと考えられる。糖尿病、副腎皮質機能亢進症、免疫介在性疾患での免疫抑制治療、抗がん剤治療、のようなimmune hypoinmunity (免疫低下状態)、immunocompromised (免疫不全) をつくりやすい治療においては、敗血症に陥りやすいため、バイオジェニクス使用は予防策として推奨したい。(村田)

小動物における糞便移植法（FMT）の今後

糞便移植法（FMT）とは健常者の糞便を患者の結腸に直接移植し、腸内細菌由来代謝産物による局所免疫（腸炎）制御・全身性免疫の制御を行い、免疫介在性難治性疾患を治療する方法である。方法としては、経口FMT、内視鏡下FMTがある。犬猫においてFMTの有効性が報告されている疾患は、パルボウイルス感染症による急性出血性下痢症、ほ乳後下痢症、急性下痢、*Clostridium difficile*関連性下痢症、好酸球性腸炎、難治性*Clostridium perfringens*下痢症、慢性嘔吐および下痢、潰瘍性大腸炎、IBDがある。犬の重度IBD（プレドニゾロン、プデソニド、クロラムブシ

ル無効）に対してFMT治療効果は人と同様、寛解率は20～40%である。治癒症例ではマイクロバイオータのdysbiosisの改善がみられているため、dysbiosisが原因のIBDが抽出できれば、効率よく治療ができる。またマイクロバイオータの多様化が期待できる、遺伝的に同系ではないドナーの選択が望ましい。（大森先生）

村田 佳輝

Yoshiteru Murata, D.V.M., Ph.D.

獣医臨床感染症研究会 会長

むらた動物病院

東京農工大学農学部附属 国際家畜感染症防疫研究教育センター

北里大学 大村記念研究所