

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11220

研究課題名(和文) 早産の病態解明と新たな治療戦略-羊水中病原微生物の迅速高感度検出システムの応用-

研究課題名(英文) Elucidation of pathophysiology of preterm birth and new therapeutic strategy
-Application of highly sensitive and reliable PCR system for detection of
microorganism in amniotic fluid-

研究代表者

米田 徳子(YONEDA, NORIKO)

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：80377283

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：予後不良の在胎28週未満の早産では子宮内感染の頻度は高率だが、これまで非破水切迫早産の抗菌薬投与は無効とされていた。我々は、偽陽性のない迅速高感度PCR法を用いて、羊水中の感染の有無を検索し、適切な抗菌薬治療により妊娠予後が改善することを報告した。また、Amniotic fluid sludge (AFS) は、切迫早産症例の経膈超音波検査で内子宮口付近に認める高輝度集塊像で、その成分は不明で病原微生物の詳細な研究報告はなかった。我々は、迅速高感度PCR法を用いて羊水中病原微生物を検出し、AFSは子宮内感染ではなく子宮内炎症を示し、早期早産と関連していることを初めて報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

予後不良とされる妊娠28週未満の早産の原因となる、子宮内(羊水中)病原微生物を迅速高感度PCR法を用いて検出し、適切な抗菌薬治療をおこなうことで、早産児の予後の改善につながるため、社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Intrauterine infection has a high frequency in women with very preterm birth less than 28 weeks of gestation. However, previous report showed that antibiotic therapy for preterm labor is not effective. We examined the presence of infection in amniotic fluid in patients with preterm labor using highly sensitive and reliable PCR system and reported that appropriate antibiotic therapy improves the perinatal outcome. In addition, amniotic fluid sludge (AFS) is a high-intensity aggregates observed near the internal uterine os by transvaginal sonography in a case of preterm labor. Using highly sensitive and reliable PCR system, we first reported that AFS showed intrauterine inflammation but not intrauterine infection in patients with preterm labor.

研究分野：産科婦人科

キーワード：早産 子宮内感染 子宮内炎症 PCR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本における出生体重 1000g 未満の超低出生体重児の予後は、新生児死亡率約 20% 神経学的後遺症、視力障害、呼吸器疾患などの障害をもつ割合は約 40%とされ、また重い障害をもった児を十分にケアできる施設が極めて限られているという問題もある。早産、特に在胎週数が短い超早産では絨毛膜羊膜炎が多く、分娩時に採取した胎盤組織培養で在胎 30 週以下の早産で約 70%、在胎 31-32 週で約 40%の病原微生物が検出される(N. Engl J Med:342:1500-1507,2000)。一方、前期破水(pPROM)は腔内の病原微生物による上行性の子宮内感染のリスクが高く、破水後は妊娠延長が困難で早産となり、長期的な神経発達予後不良と関連する。また、早産児での障害を減少させる方策として、呼吸器疾患などに関連が深い子宮内の *Ureaplasma*, *Mycoplasma* 感染(Pediatr Infect Dis J 24:1033-1039, 2005)などの出生前迅速診断と、適切な治療法の確立が挙げられる。子宮内感染は、従来の培養法では起炎菌の同定に時間を要していたため、抗菌薬の有効性は証明されていないが、これら *Ureaplasma*, *Mycoplasma* 属感染および細菌・真菌感染の迅速検査により慢性肺疾患をはじめとした早産予後、新生児予後の改善が期待できる。また、最近の研究により腸内細菌の 1 つであるクロストリジウム属細菌が制御性 T 細胞(Treg)を誘導し、腸炎やアレルギーを抑制していることが判明した(Science 331:337-341, 2011)。制御性 T 細胞は妊娠維持に必須の免疫担当細胞であり、早産例では減少する。我々はすでに早産例の腸内細菌叢でクロストリジウム属が減少していることを世界に先駆けて報告した(PLOS ONE 2014 Nov5;9(11):e111374.)。

2. 研究の目的

早産特に在胎 28 週未満の早産では子宮内感染や絨毛膜羊膜炎(CAM)の頻度は高率だが、これまで非破水例に対する抗菌薬の有効性は証明されていなかった。我々は独自に開発した偽陽性のない迅速高感度 PCR 法を用いて羊水中の感染の有無を検索した。その結果、非破水切迫早産例の羊水感染例では抗菌薬使用により早産予後が改善したが、羊水非感染例では抗菌薬使用により逆に早産予後が悪くなった(Am J Reprod Immunol 2016)。この結果は起炎菌が存在しない場合、腸内細菌叢を抗菌薬が乱し、早産になったと推察させる。本研究は 従来の非破水切迫早産例に加えて前期破水(pPROM:premature rupture of the fetal membranes)でも同様の検討を行うこと、羊水感染例や pPROM 例に抗菌薬投与を行った際、腸内細菌叢が乱れるが、これを防ぐためにプロバイオティクス製剤を併用することで、さらに早産予後を改善できるかを前方視的に検討することにより、超早産の減少とハンディキャップを持つ児の減少をめざす研究である。

3. 研究の方法

羊水中サイトカインと羊水中病原微生物との関連性、子宮内炎症の程度と羊水中の病原微生物の種類、菌体量との相関を検討し、適切な抗菌薬治療により新生児予後が改善するかを検証する、羊水感染例の抗菌薬投与による治療効果判定(定量)し、有効性を検証する。

4. 研究成果

未破水切迫早産例で病原微生物陽性では、適切な抗菌薬投与は有意に妊娠期間を延長し、陰性例に抗菌薬を投与すると逆に妊娠期間を有意に短縮することがわかった(Yoneda S et al, Am J Reprod Immunol 2016)。

切迫早産の羊水感染例で適切な抗菌薬治療後に治癒判定のために再度羊水検査を行う、もしくは分娩時に羊水を採取した 23 例中、18 例(78.3%)で、病原微生物が消失していた。

また、病原微生物消失例では、非消失例に比し、妊娠延長期間が有意に延長していた(72(17-106)日 vs 9(7-43)日, $p=0.035$)。羊水中病原微生物に適切な抗菌薬投与を行うことで、病原微生物が約8割消失し、周産期予後が改善する可能性が示唆された。

Amniotic fluid sludge(AFS)と羊水中病原微生物の関連について、迅速高感度PCR法を用いて検討した。AFSは、切迫早産症例の経膈超音波検査で内子宮口付近に認める高輝度集塊像で、その成分は不明で病原微生物の詳細な研究報告はなかった。妊娠30週未満の切迫早産105例を後方視的に検討した。AFSの有無にかかわらず、病原微生物の陽性率は同程度(AFS陽性 31.6% vs AFS陰性 38.4%)だったが、AFS陽性例では、子宮内炎症を示す Interleukin-8値が有意に高値(AFS陽性 15.2(0.2-381.5)ng/mL vs AFS陰性 5.8(0.1-413.7)ng/mL; $P=0.005$)で、組織学的絨毛膜羊膜炎の頻度も有意に高かった(AFS陽性 52.6%(10/19) vs AFS陰性 23.3%(20/86); $P=0.010$)。**AFSは子宮内感染ではなく子宮内炎症を示しており、早期早産と関連していることを初めて報告した**(Yoneda N et al, Am J Reprod Immunol 2018)。

また、妊娠32週未満のpPROM:Preterm PROM(前期破水)と未破水切迫早産の新生児短期予後不良因子を検討した。妊娠22週以降、32週未満のpPROMまたは未破水切迫早産131例を対象として、新生児短期予後不良(脳室内出血3度以上、脳室周囲白質軟化症、慢性肺疾患3または3'型)の因子を後方視的に検討したところ、絨毛膜羊膜炎 度と在胎30週未満の早産が独立した予後不良因子だと報告した(米田徳子、第53回日本周産期・新生児学会)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Yoneda Satoshi, Yoneda Noriko, Shiozaki Arihiro, Yoshino Osamu, Ueno Tomohiro, Niimi Hideki, Kitajima Isao, Tamura Kentaro, Kawasaki Yukako, Makimoto Masami, Yoshida Taketoshi, Saito Shigeru | 4. 巻 80 |
| 2. 論文標題 17OHP-C in patients with spontaneous preterm labor and intact membranes: is there an effect according to the presence of intra-amniotic inflammation? | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Reproductive Immunology | 6. 最初と最後の頁 e12867 ~ e12867 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.12867 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 米田徳子, 米田 哲, 齋藤 滋 | 4. 巻 48(5) |
| 2. 論文標題 【早産管理2018 - 至適娩出時期をめぐって】 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 周産期医学 | 6. 最初と最後の頁 521-526 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 米田 哲, 米田徳子, 齋藤 滋 | 4. 巻 49(1) |
| 2. 論文標題 【胎盤・臍帯・羊水を再び考える】 羊水の新しい知見 特に感染/炎症との関連(解説/特集) | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 周産期医学 | 6. 最初と最後の頁 40-45 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Yoneda N, Yoneda S, Niimi H, Ito M, Fukuta K, Ueno T, Ito M, Shiozaki A, Kigawa M, Kitajima I, Saito S. | 4. 巻 79(2) |
| 2. 論文標題 Sludge reflects intra-amniotic inflammation with or without microorganisms. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Am J Reprod Immunol. | 6. 最初と最後の頁 1,8 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.12807. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|--------------------|
| 1. 著者名 Yoneda S, Yoneda N, Shiozaki A, Yoshino O, Ueno T, Niimi H, Kitajima I, Tamura K, Kawasaki Y, Makimoto M, Yoshida T, Saito S. | 4. 巻 79 |
| 2. 論文標題 17OHP-C in patients with spontaneous preterm labor and intact membranes: is there an effect according to the presence of intra-amniotic inflammation? | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Am J Reprod Immunol. | 6. 最初と最後の頁 1,11 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aji.12867. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Yoneda S, Yoneda N, Fukuta K, Shima T, Nakashima A, Shiozaki A, Yoshino O, Kigawa M, Yoshida T, Saito S. | 4. 巻 44(3) |
| 2. 論文標題 In which preterm labor-patients is intravenous maintenance tocolysis effective? | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 J Obstet Gynaecol Res. | 6. 最初と最後の頁 397,407 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.13547. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 米田 哲, 米田徳子, 齋藤 滋. | 4. 巻 66(7) |
| 2. 論文標題 【早産リスクにどう向き合うか-最近の話題-】 切迫早産管理における羊水検査の意義(解説/特集) | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 産婦の実際 | 6. 最初と最後の頁 823,828 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 米田徳子, 福田香織, 齋藤 滋. | 4. 巻 48(1) |
| 2. 論文標題 産科の薬物療法 update 各論 産科合併症の薬物療法 前期破水 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 周産期医学 | 6. 最初と最後の頁 47,49 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------|
| 1. 著者名 安達知子, 金山尚裕, 中井章人, 米田徳子 | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 切迫早産・早産と黄体ホルモン | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Progestin Insights | 6. 最初と最後の頁 1,5 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 米田 徳子, 米田 哲, 小林 睦, 草開 妙, 塩崎 有宏, 齋藤 滋. |
| 2. 発表標題 母体早発型妊娠高血圧腎症は, 在胎34週未満早産児の長期神経発達予後不良に関連する. |
| 3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 米田 徳子, 米田 哲, 古田 惇, 丸山 恵利子, 森田 恵子, 小野 洋輔, 田村 賢太郎, 伊藤 実香, 牧本 優美, 塩崎 有宏, 吉田 丈俊, 齋藤 滋. |
| 2. 発表標題 単胎自然早産児の長期神経発達予後不良因子は30週未満の早産である. |
| 3. 学会等名 第54回日本周産期・新生児医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 米田徳子 |
| 2. 発表標題 早産の病態解明と新たな治療戦略 - 羊水中病原微生物の迅速高感度検出システムの臨床応用 - . |
| 3. 学会等名 平成30年度富山大学杉谷地区臨床研究発表会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoneda N. |
| 2. 発表標題 Because it 's a clinical study, It is interesting and useful. Part . |
| 3. 学会等名 Pre-symposium lecture for yound doctors. The 31th annual meeting of the Korean Society of Perinatology (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 布村 晴香, 米田 徳子, 小野 洋輔, 津田 竜広, 森田 恵子, 伊藤 実香, 米田 哲, 塩崎 有宏, 齋藤 滋 . |
| 2. 発表標題 子宮内(羊水中)病原微生物の迅速高感度同定・定量検査により,抗菌薬治療後の菌量の減少を認めたが,子宮内炎症の改善に乏しく早産となった一例 . |
| 3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 堀江 健司, 青木 宏明, 永松 健, 叶谷 愛弓, 兵頭 博信, 寺田 佳世子, 中井 章人, 米田 徳子, 齋藤 滋, 松田 義雄, 大口 昭英 . |
| 2. 発表標題 シンポジウム 早産1 Network Medicine 早産予防研究-頸管長短縮・頸管無力症への新たな挑戦 切迫早産有症状/無症状別、子宮頸管長別の、早産発生率(<35週)、及び早期娩出率(<7日) 多施設共同後向きコホート研究(PLASH-1 study) . |
| 3. 学会等名 第54回日本周産期・新生児医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 米田 哲, 米田徳子, 森田恵子, 小野洋輔, 伊藤実香, 塩崎 有宏, 齋藤 滋 . |
| 2. 発表標題 高度子宮頸管炎、子宮頸管長15mm以下の2因子が無症候性頸管長短縮例の早産リスク因子である |
| 3. 学会等名 第54回日本周産期・新生児医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoneda S, Yoneda N, Saito S. |
| 2. 発表標題 Pathology and novel management strategies for preterm labor from viewpoints of intra-amniotic inflammation and/or infection. Special lecture (invited speaker) |
| 3. 学会等名 The 31th annual meeting of the Korean Society of Perinatology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yoneda S. |
| 2. 発表標題 Because it 's a clinical study, It is interesting and useful. Part . |
| 3. 学会等名 Pre-symposium lecture for yound doctors. The 31th annual meeting of the Korean Society of Perinatology (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoneda S, Yoneda N, Ito M, Ono Y, Shiozaki A, Saito S. |
| 2. 発表標題 17-alpha-hydroxyprogesterone caproate combined maintenance tocolysis could prolong gestational period in case of preterm labor with mild intra-amniotic inflammation. |
| 3. 学会等名 70th Annual congress of Japan Society of Obstetrics and Gynecology. |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kusabiraki T, Yoneda N, Yoneda S, Kobayashi M, Fukuta K, Shiozaki A, Saito S. |
| 2. 発表標題 Correlation between intracranial imaging by MRI and development at age of 3 in the children born from mothers with hypertensive disorders of pregnancy or spontaneous preterm birth. |
| 3. 学会等名 70th Annual congress of Japan Society of Obstetrics and Gynecology |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 草開 妙, 米田徳子, 米田 哲, 小林 睦, 福田香織, 塩崎有宏, 川崎裕香子, 牧本優美, 吉田丈俊, 齋藤 滋. |
| 2. 発表標題 Hypertensive disorder of pregnancy (HDP) 出生児における長期神経学的予後と修正40週時頭部MRI所見の検討. |
| 3. 学会等名 第5回中日本産婦人科セミナー |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoneda N, Yoneda S, Fukuta K, Yoshie M, Shiozaki A, Saito S. |
| 2. 発表標題 The presence of pPROM and delivery before 29 weeks of gestation were independent risk for poor perinatal outcome in preterm labor patients with and without pPROM before 31 weeks of gestation. |
| 3. 学会等名 第69回日本産婦人科学会学術集会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 米田徳子, 米田 哲, 大北恭子, 川口美保子, 伊東雅美, 福田香織, 塩崎有宏, 齋藤 滋. |
| 2. 発表標題 32週未満の切迫早産の新生児短期予後不良因子は、CAM 度と29週以前の早産である. |
| 3. 学会等名 第52回日本周産期・新生児医学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoneda S, Yoneda N, Ito M, Shima T Nakashima A, Yoshino O, Shiozaki A, Saito S. |
| 2. 発表標題 The large yolk sac in the case of missed miscarriage is associated with abnormal chromosomal composition. |
| 3. 学会等名 第69回日本産婦人科学会学術集会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 田村賢太郎, 猪又智実, 川崎裕香子, 牧本優美, 米田徳子, 米田 哲, 吉田丈俊. |
| 2. 発表標題 病原微生物による子宮内炎症と慢性肺疾患発症についての検討. |
| 3. 学会等名 第52回日本周産期・新生児医学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 米田 哲, 米田徳子, 福田香織, 伊東雅美, 吉江正紀, 塩崎有宏, 齋藤 滋. |
| 2. 発表標題 未破水切迫早産に対する長期tocolysisが必要な症例, 不必要な症例に関する臨床的検討. |
| 3. 学会等名 第52回日本周産期・新生児医学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 米田 哲, 米田 徳子, 森田 恵子, 小野 洋輔, 伊藤 実香, 塩崎 有宏, 齋藤 滋. |
| 2. 発表標題 軽度の子宮内炎症を伴う未破水切迫早産例では、17-OHPCが妊娠期間延長に関与する？ |
| 3. 学会等名 第65回北日本産科婦人科学会総会・学術講演会 |
| 4. 発表年 2017年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|-------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 齋藤 滋 (SAITO SHIGERU) (30175351) | 富山大学・大学本部・学長 (13201) | |