

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09238

研究課題名(和文) 不育症における子宮内フローラの影響の解明とプロバイオティクスを用いた治療法の開発

研究課題名(英文) Endometrial microbiota in women with recurrent pregnancy loss without common risk factors and the effect of administering prebiotics

研究代表者

近藤 哲郎 (Kondo, Tetsuro)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号：30365754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：既知のリスク因子が検出されなかった不育症の女性の子宮内フローラを解析した結果、乳酸を産生するLactobacillus属もしくはBifidobacterium属が子宮内フローラの80%以上を占めていたのは45%、80%未満であったのは45%であり、子宮内フローラ異常が不育症のリスク因子である可能性が示唆された。子宮内フローラにおける乳酸産生菌の占める割合が低い人にラクトフェリンを3ヶ月経口投与した結果、前述の割合が上昇した人は40%であった。プレバイオティクスの経口投与は子宮内フローラにおける乳酸産生菌の占める割合を増加させる可能性が示唆されたが、この効果は限定的である可能性が高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

詳細な検査によりリスク因子が同定されなかった習慣流産の女性のなかには子宮内フローラ異常を認める人が一定数存在する可能性が示唆された。また、ラクトフェリンの経口摂取により一部の人においては子宮内フローラ異常が改善した。本研究でプレバイオティクスの摂取が習慣流産のリスク軽減につながる可能性が示唆されたが、その効果を得られる人は限定的である可能性が高く、臨床応用するにはさらなる研究が必要である。

研究成果の概要(英文)：Analysis of the endometrial microbiota of women with recurrent pregnancy loss in whom no known risk factors were detected revealed that lactic acid-producing Lactobacillus or Bifidobacterium spp. accounted for more than 80% of the endometrial microbiota in 45% of the subjects and less than 80% in 45% of the subjects. The results suggested that dysbiosis of uterine cavity may be a risk factor for recurrent pregnancy loss. After 3 months of oral administration of lactoferrin to those with a low percentage of lactic acid-producing bacteria in their endometrial microbiota, the aforementioned percentage increased in 40% of those who received lactoferrin. It was suggested that oral administration of prebiotics may increase the proportion of lactate-producing bacteria in the uterine cavity, but this effect is likely to be limited.

研究分野：産婦人科

キーワード：子宮内フローラ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

習慣流産は抗リン脂質抗体症候群などの自己免疫疾患、甲状腺機能異常、耐糖能異常、両親の染色体異常など多彩な疾患がリスク因子になることが知られている。しかし、詳細な検査によりリスク因子が同定できる患者は半分にも満たない状況で、多くの習慣流産の女性が不安を抱えた状態で次の妊娠を迎えることになっている。また、凝固亢進傾向を示唆された患者のなかには低用量アスピリンやヘパリンによる抗凝固療法を施行しても生児を得られない患者が一定数おり、これまでに解明されていない原因が他にも存在すると考える。

従来から、子宮内は酸性の腔、頸管粘液などに守られて無菌的であると考えられてきた。しかし、近年、次世代シーケンサーを用いて子宮内膜を採取した報告によると子宮内に microbiota (子宮内細菌叢、子宮内フローラ) が存在し、その主体は *Lactobacillus* 属であることが明らかになった。子宮内フローラにおける *Lactobacillus* 属が占める割合が 90%以上の婦人とそれ未満の婦人で不妊治療の成功率に大きな差があることが報告された (Moreno I, et al. AJOG 2016)。一方、妊娠中の腔内フローラにおける *Lactobacillus* 属が占める割合が 90%未満であっても妊娠を継続できる症例を臨床的に多く経験している。

以上のことを踏まえ、「妊娠成立前に子宮内に存在していた *Lactobacillus* 属は、妊娠中の胎盤基底部や被胎盤附着部の脱落膜 絨毛膜間で妊娠中も存在し続け、妊娠維持に影響している」という仮説をたてた。

2. 研究の目的

既知のリスク因子が検出されなかった不育症の女性の子宮内フローラを解析すること、および子宮内フローラ異常をもつ女性に対する治療として妊娠前からのプレバイオティクスを投与し、その有効性について検討することで、不育症症例に対する新たな治療法の確立を目的として本研究を計画した。

3. 研究の方法

精査により既知のリスク因子が検出されなかった不育症の女性 20 人を対象に、分泌期子宮内膜組織を採取し保存液に入れて保存後、DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen) により DNA を抽出した。Agilent 2100 バイオアナライザ電気泳動システムにより DNA 濃度を測定し、抽出した DNA は濃度をそろえ、PCR テンプレートとして 16S rRNA 遺伝子を PCR 増幅した。その後、検体ごとに濃度をそろえて次世代シーケンサーによる高速シーケンス解析を実施し子宮内フローラの組成を確認した。

乳酸を産生する *Lactobacillus* 属もしくは *Bifidobacterium* 属が子宮内フローラに占める割合が 80%未満であり、かつ同意を得られた人にラクトフェリン (700mg/日) を 3 ヶ月間経口投与し、投与後に分泌期子宮内膜組織を再度採取し子宮内フローラ組成を確認し、投与前の結果と比較した。

4. 研究成果

既知のリスク因子が検出されなかった不育症の女性 20 人を対象に子宮内フローラを解析した結果、乳酸を産生する *Lactobacillus* 属もしくは *Bifidobacterium* 属が子宮内フローラの 80%以上を占めていたのは 9 人 (45%)、80%未満であったのは 9 人 (45%)、菌量が少なく評価不可であったのは 2 人であった。

Lactobacillus 属もしくは *Bifidobacterium* 属が子宮内フローラに占める割合が 80%未満で、3 ヶ月間のラクトフェリン (700mg/日) の内服効果を判定できたのは 5 人であった。2 人 (40%) は 3 ヶ月間のラクトフェリン (700mg/日) の内服後は内服前よりも *Lactobacillus* 属もしくは *Bifidobacterium* 属の占める割合が上昇していたが、他の 3 人 (60%) は横ばいもしくは低下していた。

ラクトフェリン 700mg/日内服のみで *Lactobacillus* 属もしくは *Bifidobacterium* 属が子宮内フローラに占める割合が 80%以上にまで最終的に上昇したのは 1 人だけであった。

詳細な検査によりリスク因子が同定できない不育症女性のなかには子宮内フローラにおける *Lactobacillus* 属もしくは *Bifidobacterium* 属が占める割合が 80%未満である人が存在することが確認され、子宮内フローラ異常が不育症のリスク因子である可能性が示唆された。

また、3 ヶ月間のラクトフェリン 700mg 内服による、子宮内フローラにおける *Lactobacillus* 属もしくは *Bifidobacterium* 属が占める割合を上昇させる効果が確認された。

プレバイオティクスの経口投与は子宮内フローラの異常を改善させる可能性があり、この効果を得ることのできる人は限定的である可能性が高い。

プレバイオティクスは妊婦でも安心して摂取できることより拳児希望の女性に対して導入しやすいという利点もあるため、今後さらなる研究によりプレバイオティクス摂取が効果的な人の特徴を把握することができれば、習慣流産の新たなリスク低減法として臨床応用も可能と考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	小出 馨子 (Koide Keiko) (90384437)	昭和大学・医学部・講師 (32622)	
研究分担者	関沢 明彦 (Sekizawa Akihiko) (10245839)	昭和大学・医学部・教授 (32622)	
研究分担者	岡田 裕美子 (Okada Yumiko) (70622059)	昭和大学・医学部・助教 (32622)	
研究分担者	河本 貴之 (Koumoto Takayuki) (80817594)	昭和大学・医学部・助教 (32622)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関