

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K09306

研究課題名（和文）羊水細菌叢の網羅的解析による早産予防治療戦略構築のための基礎的研究

研究課題名（英文）Comprehensive analysis of amniotic fluid microbiota for the prevention of preterm delivery: a fundamental study

研究代表者

吉里 俊幸（Yoshizato, Toshiyuki）

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：80264034

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：腔内におけるLactobacillus属を中心とした細菌叢および妊娠期間を通じた菌種の多様性の減少は、腔内環境の維持、ひいては妊娠の維持に大きな影響を及ぼしていること、Lactobacillus属の減少、あるいは菌種の多様性の増大は逆に細菌性膣症の主体病態を反映し、喫煙などの生活歴の他に、妊娠以前の子宮手術歴が関与している可能性が高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、早産に至る妊婦の腔細菌叢を妊娠初期に解析することより、その発症の予測および予防のための戦略を立てる上での基礎的データを提供するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The vaginal microbiota during pregnancy, specifically the predominance of specific Lactobacillus species and the decrease in overall diversity, contribute to the maintenance of a healthy pregnancy. Conversely, a decrease in Lactobacillus quantity and an increase in microbiota diversity are indicative of bacterial vaginosis, which can be associated with factors such as a history of uterine surgeries and various known factors, including smoking.

研究分野：早産、超音波診断

キーワード：腔細菌叢 網羅的解析 妊娠

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

今日、早産の予防は周産期において残された最も重要な課題である。早産の原因は、多元的であるが、その中で子宮内感染、炎症の関与が重要である。近年、細菌の同定は細菌培養によらず、細菌特有の拡散(16S ribosomal RNA 遺伝子, 16S rDNA)の塩基配列によって、細菌培養が不可能であった細菌の存在が明らかとなった。このような背景から、主に消化器系疾患を対象として、口腔内、糞便などの細菌叢の網羅的解析と疾患発症との関連性が精力的に研究されており、発症を予知するバイオマーカーとして既に臨床応用がなされている。

早産の発症には、前述したように子宮内感染がその発症に大きく関与している。子宮内感染の成立には、その侵入経路として、膣から子宮頸管を介する上行性と血液を介する経胎盤性の2つが考えられるが、前者が多くを占めるとされている。加えて、子宮内感染には、細菌性膣症が早産発症の前駆病態として注目されてきた。これら細菌性膣症を含めた子宮内感染について、子宮、口腔、膣分泌物を対象にこれまでは培養可能な個々の細菌を中心に解析されてきたが、細菌叢をひとまとめにした細菌環境という視点でなされた研究は少ない。

2. 研究の目的

本研究では、正常単胎妊婦を対象として、膣内細菌叢を次世代シーケンサーを用いて解析し、(1)妊娠期間中における変化、(2)またその臨床的背景を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1. 正常妊婦膣細菌叢の網羅的解析

正常単胎妊婦 23 症例を対象として、妊娠中期(20-24 週)および後期(33-37 週)の計 46 検体から細菌叢の解析を行った。

膣分泌物から DNA を抽出した後、16S ribosomal RNA 遺伝子における V1-V2 hypervariable region につき次世代シーケンサーを用い PCR を用いた増幅し、operational taxonomic unit (OUT)解析を用いて、菌種の同定を網羅的に行った。妊娠中期と後期の菌叢の比較では、組成の 95%以上を占める上位 3 位までを対象とした。妊娠中期、後期において菌叢組成を明らかにし、妊娠中期から後期にかけて菌叢組成の比較検討を行った。

2. 正常妊婦膣細菌叢の妊娠の進行に伴う変化とその臨床的背景の解析

妊娠中期、後期の時期に検体が採取された 42 検体について、クラスタ分析を行い、各クラスタにおける臨床的な背景の抽出を行った。

4. 研究成果

1. 正常妊婦膣細菌叢の網羅的解析

(1)すべての検体で、*Lactobacillus* を検出し、頻度順に *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. gensenii* の 4 種であった。(2)最上位の菌種が *Lactobacillus* であったものは、41/46 検体(89.1%)で、残り 5 検体はいずれも *Gardnerella vaginalis* であった。(3)*G. 8+*-vaginalis* や *Atopobium vaginae* 等の Bacterial vaginosis (BV)関連の非 *Lactobacillus* 菌種は、12/46 検体(26.1%)で認められ、いずれもその中に *L. gasseri* あるいは *L. iners* を認めた。(4)*L. crispatus*, *L. gensenii* が検出された検体ではいずれも 95%異常が単独の菌種で占められていた。(5)妊娠中期と後期との比較で、20/23 例(87.0%)で最上位の

菌種に変化が認められなかった。(6)菌種の変化を認めたものは、3例(13.0%)で、*L. gasseri*→*L. iners*, *L. gensenii*→*L. crispatus*, *L. crispatus*→*L. gensenii*であった。このことから、(1)個体が有する優勢菌種は妊娠期間を通じてほとんど変化しないこと、(2)*Lactobacillus*には菌種によりその特性が異なり、*L. crispatus*, *L. gensenii*は、*L. gasseri*, *L. iners*と比較し、robustnessともいべき特性を有することが明らかとなった。

2. 正常妊婦膣細菌叢の妊娠の進行に伴う変化とその臨床的背景の解析

(1)7つのクラスターに分類することができた。膣分泌物を構成する主たる菌種は前述の *Lactobacillus* 属の4菌種およびBV関連菌種であった。(2)17症例では、2つの採取時期で同じクラスターに属し、残り4症例では異なるクラスターを形成した。(3)後者においては、妊娠の進行と共に菌叢を形成する菌種の多様性が減少し、安定した菌叢を形成する一方、子宮手術歴を有する妊婦では、BV関連性の菌種が認められ、多様性は逆に増加していることが明らかとなった。

以上のことから、膣内における *Lactobacillus* 属を中心とした細菌叢、妊娠期間を通じた菌種の多様性の減少は、膣内環境の維持、ひいては妊娠の維持に大きな影響を及ぼしていること、*Lactobacillus* 属の減少、あるいは菌種の多様性の増大は逆に細菌性膣症の主体病態を反映し、喫煙などの生活歴の他に、妊娠以前の子宮手術歴が関与している可能性が高い。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Horinouchi T, Yoshizato T, Muto M, Fujii M, Kozuma Y, Shinagawa T, Morokuma S, Kakuma T, Ushijima K	4. 巻 47(4)
2. 論文標題 Gestational age-related changes in shear wave speed of the uterine cervix in normal pregnancy at 12-35 weeks' gestation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Perinatal Medicine	6. 最初と最後の頁 393-401
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1515/jpm-2018-0250	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yokomine M, Yoshizato T, Horinouchi T, Ushijima K
2. 発表標題 Vaginal microbiome of normal Japanese pregnant women at second and third trimester
3. 学会等名 日本産科婦人科学会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------