

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：13802

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19608

研究課題名（和文）妊娠維持に有効な腸内、膣内および子宮内腔細菌叢の同定

研究課題名（英文）Identification of intestinal, vaginal and uterine lumen flora that are effective in maintaining pregnancy

研究代表者

安立 匡志（Adachi, Masashi）

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40749446

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：研究の目的は腸内、膣内および子宮内腔の細菌叢の関係を解明し、妊娠維持に有効な子宮内環境を同定することである。子宮内と膣内の細菌叢の関係を調べるべく子宮内粘液と膣内粘液を同時に採取し次世代シーケンサーで解析を行った。子宮内に細菌叢が存在する可能性は高いと思われるが、子宮内粘液はDNA濃度が少いことがわかった。子宮内と膣内の細菌叢で関連のある細菌を見つけることはできなかった。同一人物での肛門周囲細菌と膣内細菌の関係性は膣内ではLactobacillusが多いのに対し、肛門周囲ではClostridialesが多かった。膣内細菌叢と腸内細菌叢の関係において共通点が少なくさらなる検討が必要と思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内・膣内・子宮内の細菌叢を比較し、妊娠維持に必要な細菌の同定を目指し研究を行ったが同定には至らず、目的とした学術的意義・社会的意義を見出すことはできなかった。しかし、子宮内の細菌は数は少なく、細菌叢としては機能していない可能性が示唆された。また膣内細菌叢は腸内細菌の影響を受ける可能性が低いことが新たに分かった。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the study is to elucidate the relationship between the intestinal, vaginal and uterine lumen bacterial flora and to identify an intrauterine environment that is effective in maintaining pregnancy. Uterine lumen bacterial flora and vaginal bacterial flora were collected simultaneously and analyzed with a next-generation sequencer in order to investigate the relationship between the bacterial flora in uterus lumen and vagina. The uterine lumen had low DNA levels, and no correlated bacteria could be found in the intrauterine and vaginal flora.

Regarding the relationship between perianal bacteria and intravaginal bacteria in the same person, Lactobacillus was more common in the vagina, while Clostridiales was more common around the anus. There is little commonality in the relationship between the vaginal flora and the intestinal flora, and further studies are needed.

研究分野：膣内細菌叢

キーワード：膣内細菌叢 子宮内細菌叢 腸内細菌叢

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究開始前は主に腔内細菌叢の解析を次世代シーケンサーを用いて行っていた。一般的に子宮内腔は無菌であるという既成概念があり、子宮内腔に細菌叢が存在する可能性について調べた報告は非常に少なかった。また不妊の原因のひとつに慢性子宮内膜炎という病態がある。慢性子宮内膜炎は子宮内腔の持続的な細菌感染ではなく、子宮内腔の細菌叢のバランスが良くないことが原因で起こる病態と仮定した。未知である子宮内腔の調査を行うことで妊娠維持に必要な子宮内細菌叢を見つけることできるのではないかと考えた。また腔と肛門は近い位置にあり、腸内細菌は腔を経由し子宮内腔の細菌叢にまで影響を与える可能性があると考え、腔内、子宮内腔、腸内の細菌叢の関係性を調べることで女性の健康維持及び妊娠維持に有効な細菌叢を見つけることができると考えた。

2. 研究の目的

子宮内腔、腸内、腔内の細菌を比較し、その関係性を解明することで、女性の健康維持及び妊娠維持に有効な腸内、腔内および子宮内環境を発見することである。最終的には新しい不妊症に対する治療法を見つけることを目標とする。

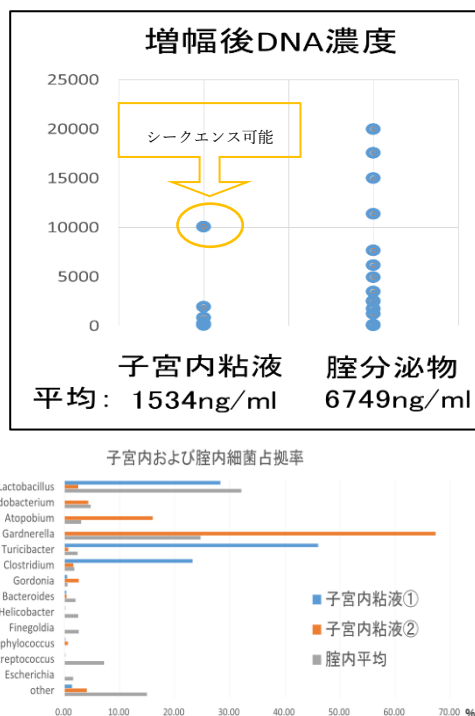
3. 研究の方法

一般女性の子宮内腔粘液、腔分泌物、直腸内粘液の3つを採取し、次世代シーケンサーを用いて、子宮内腔、腔内、直腸内の細菌叢を解析し、3つの関係性を明らかにする。また子宮内腔の細菌感染が不妊の原因の一つとされており、細菌の侵入を防ぐには、子宮内細菌叢のバランスを保つ必要があると考えられる。一般女性の持つ、子宮内腔細菌叢の構成を確立したのちに、体外受精でも妊娠成立しない女性との細菌叢の比較を行い、着床に有効な細菌叢を特定する。

4. 研究成果

本研究の目的は腸内、腔内および子宮内腔の細菌叢の関係性を解明し、妊娠維持に有効な子宮内環境を同定することであった。

まずは腔分泌物と子宮内粘液の関係性を探るべく、腔分泌物と子宮内腔を同時に採取する調査をおこなった。同時に採取できたのは9例であった。通常、採取した検体からDNAを抽出し、増幅した後、次世代シーケンサーの検査を行うのだが、腔分泌物と比較して子宮内粘液のDNA濃度は非常に低く、十分な量のDNAを検出できなかった(上図)。つまり子宮内腔には細菌はおらず、細菌叢を形成していないかもしれないという結果であった。次世代シーケンサーの精度を担保できるほどの充分量の細菌が存在していた子宮内粘液検体は2例のみであり、子宮内腔粘液は2例のみ、腔分泌物は9例とも次世代シーケンサーで解析を行った。検出できた子宮内腔の細菌はそれぞれ占拠率から順に①Gardnerella、Atopobium、ifidobacterium、②Turicibacter、Lactobacillus、Clostridiumであった(下図)。子宮内腔で検出された細菌と腔内の細菌占拠率は一致しなかった。

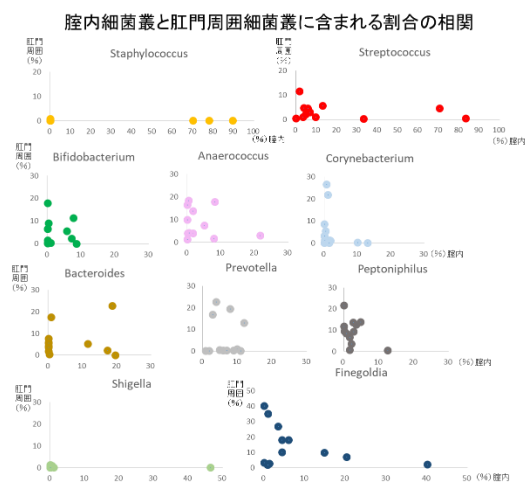


本来は腔内、子宮内、腸内の3か所の細菌叢を同時に採取しそれらと比較・検討を行う予定であったが、3か所を同時に採取できる被検者がなかなか集まらなかった。被検者が集まらないため条件を変更した。腸内細菌を容易に採取できる肛門周囲細菌叢に変えて調査。肛門周囲と腔内の調査を行うべく被検者集めを行ったが、新型コロナの影響もあり、病院内での検体集めが困難になってしまった。また研究内容が糞便や膣分泌物の採取となるため、新型コロナ感染の観点からも協力をほとんど得られず、被検者を集めることが非常に困難であった。実際に得られた検体は非妊娠可能年齢6人分の腔内・肛門周囲のみであった。12検体の抽出できたDNA量は充分であり、12検体を次世代シーケンサーも用いて解析を行った。

腔内と肛門周囲の間に有意な相関のある細菌はなかった。正の相関があったのは *Bacteroides* のみであり、その他の主要細菌は負の相関であった。膣と肛門は距離が近く、腔内細菌叢は肛門から細菌が移動することで変化するという仮説が正しいことを示すことができなかった。

これらの検体から推測できることは、腔内細菌叢と腸内細菌叢はそれぞれが独立しており、お互いに影響を与える可能性が低いということであった。また腸内細菌はある程度は一定であるが、腔内細菌は個人差が非常に大きいということも推測できた。

今回の調査では新型コロナの影響もあり、検体集めに難渋してしまい、腔内・子宮内・腸内細菌叢の関係性についての調査は進展が得られない結果となってしまった。妊娠維持に有効な子宮内環境を推測できるまでには至らなかった。



	相関係数	p値
<i>Staphylococcus</i>	-0.261	P=0.413
<i>Streptococcus</i>	-0.214	P=0.504
<i>Bifidobacterium</i>	-0.075	P=0.817
<i>Anaerococcus</i>	-0.224	P=0.484
<i>Corynebacterium</i>	-0.295	P=0.352
<i>Bacteroides</i>	0.162	P=0.615
<i>Prevotella</i>	-0.246	P=0.440
<i>Peptoniphilus</i>	-0.436	P=0.156
<i>Shigella</i>	-0.172	P=0.593
<i>Finegoldia</i>	-0.384	P=0.218

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安立匡志
2. 発表標題 子宮卵巣摘出後女性の腔内細菌叢の特徴（次世代シーケンサーを用いて）
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 2019年

1. 発表者名 安立匡志
2. 発表標題 肛門部細菌叢と腔内細菌叢の関係
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安立 匡志
2. 発表標題 子宮卵巣摘出後女性の腔内細菌叢の特徴（次世代シーケンサーを用いて）
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2019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	金山 尚裕 (Kanayama Naohiro) (70204550)	浜松医科大学・医学部・副学長 (13802)	

6. 研究組織（つづき）

	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	伊東 宏晃 (Ito Hiroaki) (70263085)	浜松医科大学・医学部・教授 (13802)	

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