

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：32684
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2019～2021
課題番号：19K07176
研究課題名(和文) 切迫早産の予防と良好な予後を維持するための革新的膣マイクロバイオーーム移植の実践

研究課題名(英文) Basic research on microbiota transplantation for the treatment of imminent preterm birth

研究代表者
杉田 隆 (Sugita, Takashi)

明治薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：10312076
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)：細菌性膣症の発症が絨毛膜羊膜炎から切迫早産に進展するため、細菌性膣症の発症を制御することには切迫早産の予防および治療する上で合理性がある。患者膣内のマイクロバイオーームは *Lactobacillus crispatus* と *Lactobacillus iners* 間でディスバイオーシスが生じていた。また、細菌性膣症の悪化因子である *Gardnerella vaginalis* による炎症をノックダウンできる *Lactobacillus* MPU737 株を発見した。今後はこの株を患者膣内に移植することで治療に貢献できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

切迫早産は早産の危険性が高い状態である。その予防および良好な予後を維持する方策を確立することは、少子化社会の我が国においては、急務な課題である。切迫早産は細菌性膣症がトリガーとなるため、妊婦の膣マイクロバイオーーム環境が破綻していると考えらるべきである。抗菌薬による治療は、切迫早産期に優位となった切迫早産誘発膣内細菌(悪玉菌)の除菌が主眼であるため正常細菌マイクロバイオーーム(善玉菌)の破綻は避けられない。従って、健康なマイクロバイオーームを再構築することは、切迫早産の予防療上有用である。

研究成果の概要(英文)：Controlling the onset of bacterial vaginosis is rational in the prevention and treatment of imminent preterm birth, as the onset of bacterial vaginosis progresses from chorioamnionitis to imminent preterm birth. Since the microbiome in the patient's vagina had dysbiosis between *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus iners*. We also discovered the *Lactobacillus* MPU737 strain, which can knock down inflammation caused by *Gardnerella vaginalis*, which is an exacerbating factor for bacterial vaginosis. In the future, it may be possible to contribute to treatment by transplanting this microorganism into the patient's vagina.

研究分野：医療薬学

キーワード：マイクロバイオーーム 切迫早産 細菌性膣症 *Gardnerella vaginalis* *Lactobacillus*

1. 研究開始当初の背景

切迫早産とは、「妊娠 22 週以降 37 週未満に規則的な子宮収縮と子宮口開大・子宮頸管の展退などが認められ、早産の危険性が高い状態」と定義されている。妊娠 30 週で出産した場合、児の生存率はわずか 30%であり、また生存しても身体障害等があらわれることがある。厚生労働省の報告によれば、全妊婦の 5%が早産となり、また妊娠した女性の 40%に流産の経験があった。少子化社会の我が国においては、早産対策は急務な課題と言える。

切迫早産は細菌性膣症がトリガーとなるため、妊婦の膣マイクロバイオーム環境は破綻している。この細菌性膣症の治療には抗菌薬(クロラム フェニコールとクリンダマイシン)を投与するが、抗菌薬投与で細菌性膣症の発症を一過性に制御できるが、持続的維持は出来ない。これは本症の原因菌の殺菌と同時に膣内に定着するマイクロバイオーム構成環境を一斉に破綻させるからである。

2. 研究の目的

マイクロバイオームの破綻はマイクロバイオームの多様性の低下を意味する。アトピー性皮膚炎、尋常性乾癬あるいは尋常性痤瘡(ニキビ)患者の皮膚マイクロバイオームの多様性は健康人よりも著しく低下している。このことから、正常なマイクロバイオームを膣内に移植することは、破綻したマイクロバイオームの多様性が高まることにより膣内が適正環境に再構築されることを可能とする。この結果、細菌性膣症の発症が抑制され、切迫早産のリスクが減少すると考えられる。従って、健康なマイクロバイオームを再構築することは、切迫早産の予防・治療上の科学的合理性がある(図 1)。

そのために、

- 1)切迫早産誘発細菌を同定する。
- 2) 切迫早産誘発細菌の細胞傷害能を低下させる細菌を探索し、これを上皮細胞上で評価する。
- 3) 膣内環境を適正化させるマイクロバイオームから膣投与カクテルを作製する。

3. 研究の方法

1) 膣内マイクロバイオームのディスバイオーシスの解析

患者膣マイクロバイオームの微生物学的階層結果に基づいてディスバイオーシスに関係のある菌種を探索した。

2) Kingdom を超えた相関性

膣内は細菌である *Lactobacillus* が最も優位であるが、真菌も存在する。そのため真菌と細菌との相関性を解析した。

3) 上皮細胞が産生する炎症性サイトカイン

切迫早産誘発膣内細菌 *Gardnerella vaginalis* は炎症性サイトカイン産生を誘導する。これを抑制する *Lactobacillus* 株をライブラリーから探索し評価した。

4. 研究成果

1) 患者群のマイクロバイオームは健康人群よりも微生物多様性は低下していた。両群共に乳酸菌 *Lactobacillus* spp. が優位であったが、*Lactobacillus crispatus* と *Lactobacillus iners* は逆相関した(図 2)。すなわち、*L. crispatus* の占有率の上昇に伴い、*L. iners* は減少した。これは、*L. crispatus* の増殖が弱酸性域を好むのに対して、*L. iners* は中性を至適増殖環境とする細菌学的な性状と一致している。乳酸菌が必ずしも膣の健康増進に寄与しているわけではなく、膣内環境が悪化した結果として菌交代現象が生じたと考えられる。

2) Kingdom を超えた相関性

膣内は真正細菌のみならず真菌も豊富に存在する。子囊菌系酵母である *Candida albicans* あるいは

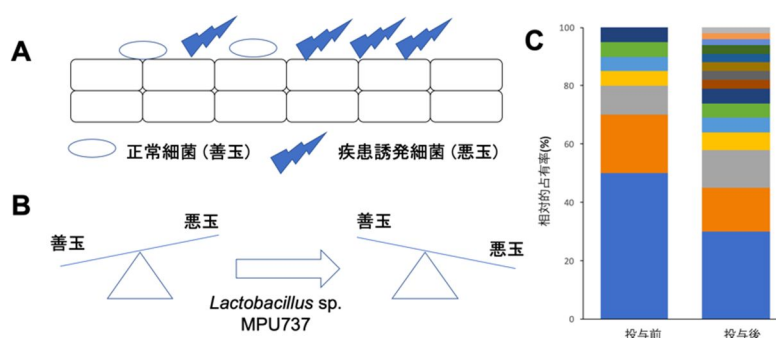


図1. A. 患者上皮細胞上でのマイクロバイオーム、B. 膣移植候補株 MPU737によるマイクロバイオームバランスの是正、C. MPU737株投与後の多様性向上のイメージ

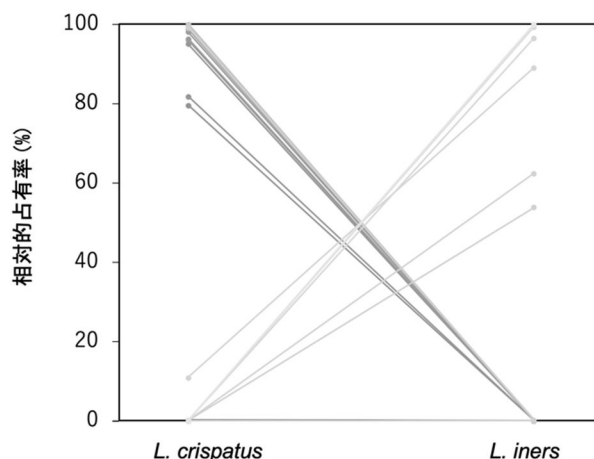


図2. *Lactobacillus crispatus*と*Lactobacillus iners*の相対的占有率

は *Candida glabrata* の占有率も高かった。切迫早産誘発膣内細菌 *Gardnerella vaginalis* とその占有率は正の相関を示した。つまり、Kingdom を超えても相関する微生物種の組み合わせが存在することが判明した。

3) 上皮細胞が産生する炎症性サイトカイン

研究室 *Lactobacillus* 株ライブラリーから *Gardnerella vaginalis* が産生誘導する炎症性サイトカインを阻害する菌株を探索した。その結果、MPU737 株が炎症性サイトカイン産生を有意に抑制した。当該菌株を今後の膣移植候補株として選定した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 0件）

1. 著者名 Ohkubo T, Matsumoto, Cho O, Ogasawara Y, Sugita T	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete genome sequence of Citrobacter koseri Strain MPUCK001	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiol. Resour. Announc	6. 最初と最後の頁 e01128-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.01228-20.	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 杉田 隆、張 音実	4. 巻 313
2. 論文標題 皮膚とマイクロバイオーーム	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Monthly Book Derma,	6. 最初と最後の頁 1-7
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 杉田 隆、張 音実	4. 巻 14
2. 論文標題 皮膚マイクロバイオーーム	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 COSMETIC STAGE	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12件（うち招待講演 6件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 杉田 隆
2. 発表標題 真菌マラセチアと皮膚炎 皮膚マイクロバイオーーム解析は何を明らかにしたのか
3. 学会等名 第72回日本皮膚科学会西部支部学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉田 隆
2. 発表標題 病原真菌の多様性解析に基づく疾患の理解
3. 学会等名 第64回日本医真菌学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sugita T
2. 発表標題 Skin microbiome and Skin disease
3. 学会等名 1st Skin cancer conference（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 506. 大久保友隆、張 音実、杉田 隆
2. 発表標題 Propidium monoazide処理後の皮膚マイクロバイオームの網羅的解析
3. 学会等名 第92回日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉田 隆、張 音実
2. 発表標題 いかにしてマイクロバイオームと良い関係を構築するか
3. 学会等名 第92回日本細菌学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉田 隆
2. 発表標題 いかにして皮膚マイクロバイオーームとつきあうか
3. 学会等名 第70回日本皮膚科学会中部支部総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉門 早苗, 杉田 隆
2. 発表標題 Mechanisms of biofilm formation and screening for anti-biofilm agents in <i>Candida albicans</i>
3. 学会等名 第93回日本細菌学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊 香那子 ¹ 、張 音実 ¹ 、大久保 友隆 ¹ 、加藤 隼平 ¹ 、杉田 隆
2. 発表標題 マイクロバイオーームとしてのピフィズス菌とアクネ菌の相互作用
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sugita T, Cho O.
2. 発表標題 Comprehensive analysis of the skin microbiome and interaction of <i>Malassezia</i> and bacteria in keratinocytes.
3. 学会等名 6th meeting of Asia Pacific Society for Medical Mycology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤隼平、大久保友隆、張 音実、杉田 隆
2. 発表標題 正常ヒト表皮角化細胞における真菌Malasseziaと細菌Staphylococcus aureus の相互作用
3. 学会等名 第63回日本医真菌学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉田 隆
2. 発表標題 皮膚真菌マイクロバイームと皮膚炎
3. 学会等名 第120回日本皮膚科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武田望歩、張 音実、杉田 隆
2. 発表標題 三次元培養表皮モデルを用いたMalassezia の皮膚免疫応答
3. 学会等名 第65回日本医真菌学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 杉田隆、張音実	4. 発行年 2020年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 ヒト常在菌叢と生理機能・全身疾患	

1. 著者名 杉田 隆、張 音実	4. 発行年 2021年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 4
3. 書名 進化する皮膚科学 機能研究・臨床・評価・製品開発の最前線	

〔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
---------	---------