

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22686

研究課題名（和文）円錐切除後妊娠の膣分泌物プロテオーム解析を用いた子宮頸部が担う妊娠維持機構の解明

研究課題名（英文）Cervicovaginal fluid proteomic analysis of pregnant women after the excisional surgery for cervical lesions to elucidate the cervical mechanism for the maintenance of pregnancy

研究代表者

近藤 英治（Kondoh, Eiji）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授

研究者番号：10544950

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：円錐切除後妊娠の妊娠中期の膣分泌物を計114例回収した。早産群13例と正常産群13例の2群を作成し、その膣分泌物中の蛋白を網羅的に定量比較した。計480蛋白を定量比較でき、早産群の膣分泌物でMucin5B量が低下していた。さらに、妊娠中期の膣分泌物中のMucin5B量と分娩週数に有意な相関を認めた。本研究により、子宮頸部におけるMucin5B分泌低下が早産と関連する可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

早産は全分娩の10%に発症し、新生児死亡や脳性麻痺の原因の大部分を占める。しかし妊娠維持機構については未だ未解明な点が多く、早産の予知・予防法の開発は喫緊の課題である。本研究では、子宮頸部でのMucin5B分泌低下が早産と関連する可能性を示した。本研究で抽出したMucin5Bは早産予測マーカーや早産予防目的の補充療法の開発に直結する。

研究成果の概要（英文）：A total of 114 cervicovaginal fluid at the second trimester were collected from pregnant women after the excisional surgery for cervical lesions. Among these 114 sample, all 13 women who had a spontaneous preterm birth were selected for cases, and 13 controls were selected from the other women who delivered at term. Proteome compositions of cervicovaginal fluid from these two groups were quantified and compared. A total of 480 proteins were commonly quantified in two groups. The expression of mucin5B was decreased in cervicovaginal fluid from case group. Furthermore, there was significant correlation between the expression of mucin5B of cervicovaginal fluid at the second trimester and gestational age at delivery. This study showed that decreased Mucin5B secretion at the cervix may be associated with preterm birth.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠 ムチン 膣分泌物 円錐切除

1. 研究開始当初の背景

初期子宮頸癌の主な治療法に、子宮頸部を部分的に切除する円錐切除手術がある。応募者は日本産科婦人科学会の周産期委員として全国の円錐切除後妊娠の予後を解析し(2013-2014年、n=307,001)その早産率が25%にも上ることを報告した。近年では摘出する範囲が必要最小限になるよう高周波ループ切除法を用いて子宮頸部を浅く切除する施設が増えている。しかし、応募者らの解析では、手術法による早産のリスクに差を認めなかった。この知見は、円錐切除に起因する早産は、単に子宮頸部短縮による物理的な保持力の低下により生じるのではなく、子宮頸部が担っている何らかの機能が不全となるため起こっている可能性を示唆している。そこで、応募者は、子宮頸部の状況をダイレクトに反映すると思われる腔分泌物中に早産解明の鍵があると着想し、円錐切除後妊娠の腔分泌物に焦点を当て子宮頸部の妊娠維持機構を解明するという本研究構想に至った。

2. 研究の目的

早産は全分娩の10%に発症し、新生児死亡や脳性麻痺の原因の大部分を占める。早産の原因の大部分を占めるのは、子宮頸管無力症と上行性感染(腔内の病原体が子宮頸部を介して子宮内感染を惹起)である。このどちらにも関与する子宮頸部は妊娠維持に重要な役割を果たすと考えられており、実際、円錐切除後妊娠の早産率は上記に記載した通り高い。しかし、子宮頸部の一部が欠損するとなぜ早産に至るのかについてはほとんど解明されていない。応募者は子宮頸部が頸部熟化や上行性感染を抑制する蛋白を分泌し早産を防止しているという仮説を立て、本研究では、子宮頸部の状況をダイレクトに反映すると思われる腔分泌物に着目し子宮頸部の妊娠維持機構を解明することを目的とした。本研究により、早産を予測するバイオマーカーや早産を予防する新規治療法の開発につながる知見を得る。

3. 研究の方法

- 1) 妊婦登録：京都大学とその関連施設を含めた全13施設で妊婦健診を受ける円錐切除後の妊婦を登録した。
- 2) 腔分泌物採取：各施設で妊娠中期の健診の際に腔分泌物を採取する。後腔円蓋から採取し冷凍保存し京都大学に輸送した。その後遠心分離し、その上清を-80度で保管した。
- 3) 分娩転帰解析：各妊婦の分娩週数に加えて、交絡因子となりうる年齢、結婚歴、妊娠・分娩歴、喫煙歴、円錐切除術の方法に関する情報を収集した。
- 4) 群分け・マッチング：早産群を作成し、残りの正期産群から健診施設、妊娠・分娩歴、妊娠中期の子宮頸管長を1:1マッチングさせ対照群を作成した。
- 5) 腔分泌物蛋白の網羅的解析：2群における腔分泌物中の蛋白質をナノ流速液体クロマトグラフ(NanoLC)で分離した後、四重極-飛行時間型質量分析装置を用い網羅的に同定・定量した。
- 6) プロテオミクス統計解析：5)で作成した各群間の腔分泌物蛋白プロファイルを比較解析し、早産群に特異的な蛋白質群を抽出した。

4. 研究成果

円錐切除後妊娠の妊娠中期の腔分泌物を計114例回収した。早産群13例と正期産群13例のNested case-control cohortを作成し、その腔分泌物中の蛋白を網羅的に定量比較した。計480蛋白を定量比較できた。480個の蛋白定量値を用いて主成分分析を行ったが、早産群と正期産群を分離することはできなかった(図1)。一方で、早産群の腔分泌物で粘液関連蛋白であるMucin5B量が低下していた(図2)。さらに、妊娠中期の腔分泌中のMucin5B量と分娩週数に有意な相関を認めた(図3)

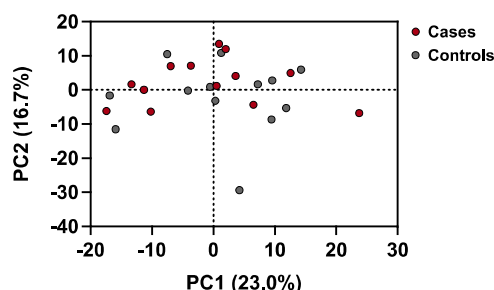


図1 480個の蛋白定量値による主成分分析

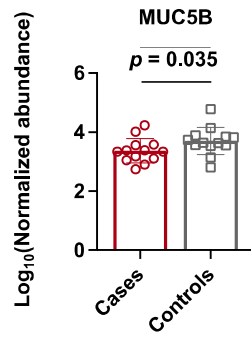


図2 2群のMUC5B定量値

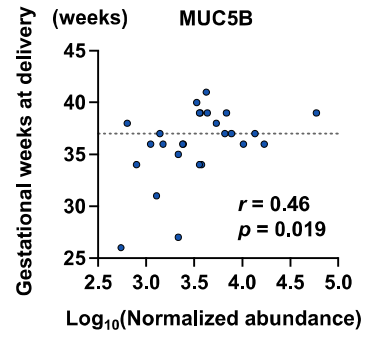


図3 MUC5B定量値と分娩週数の相関

以上より、子宮頸部での Mucin5B 分泌低下が早産と関連する可能性が示唆された。本研究で抽出した Mucin5B は早産予測マーカーや早産予防目的の補充療法の開発に利用できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Yusuke Ueda, Haruta Mogami, Eriko Yasuda, Asako Inohaya, Yosuke Kawamura, Kaoru Kawasaki, Yoshitsugu Chigusa, Eiji Kondoh, Masaki Mandai
2. 発表標題 Mucus-associated proteins are required for maintenance of pregnancy
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
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
研究分担者	最上 晴太 (Mogami Haruta) (40378766)	京都大学・医学研究科・講師 (14301)	
研究分担者	伊藤 慎二 (Ito Shinji) (50362512)	京都大学・医学研究科・特定助教 (14301)	
研究分担者	千草 義継 (Chigusa Yoshitugu) (80779158)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	

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