

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09653

研究課題名(和文) 常位胎盤早期剥離の発症機序に関する研究：子宮内細菌叢の観点から

研究課題名(英文) Study on the mechanism of placental abruption from the viewpoint of uterine microbiota

研究代表者

関沢 明彦 (Sekizawa, Akihiko)

昭和大学・医学部・教授

研究者番号：10245839

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)：常位胎盤早期剥離(早剥)は、妊娠高血圧症候群や先天性の凝固障害のある妊婦に発症率が高いことが知られているものの、その原因となる病態は不明である。我々は、早剥の反復率の高さの疫学的データに着目し、その要因に慢性子宮内感染が関与しているとの仮説を立てた。帝王切開時に胎盤娩出直後に胎盤の母体面を擦過して細胞を採取し、次世代シーケンサーで細菌叢を解析した。コントロールとして採取した早剥ではない正常の選択的帝王切開の10例において細菌は検出できなかった。さらに、早剥と臨床診断された3症例においても細菌は検出できなかった。このことから、慢性子宮内感染が早剥発症機序に関与するとの仮説は証明できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠中の児娩出前に胎盤が剥離する常位胎盤早期剥離(早剥)は、出生児の脳性麻痺の原因として最多であるばかりか、早剥に子宮内胎児死亡を併発した病態では、分娩時に血管内凝固症候群(DIC)となることで大量出血の原因にもなり、ときに妊産婦死亡の原因にもなる重篤な疾患である。しかし、妊娠高血圧症候群や先天性の凝固障害のある妊婦に発症率が高いことが知られているものの、その原因となる病態は不明であり、その病態解明は早剥の発症予防を可能にするものであり、周産期医療の安全性向上に重要な課題である。

研究成果の概要(英文)：Although the incidence of placental abruption is known to be higher in pregnant women with hypertensive disorder of pregnancy and congenital coagulation disorders, the pathogenesis of this condition is unknown. We hypothesized that chronic intrauterine infection may contribute to the pathogenesis of placental abruption, focusing on epidemiological data showing a high rate of recurrence. Immediately after delivery of the placenta during cesarean section, we abraded the maternal surface to collect cells and analyzed the bacterial flora using a next-generation sequencer. No bacteria were detected in 10 normal elective cesarean sections collected as controls. Furthermore, no bacteria were detected in three cases of placental abruption. Thus, the hypothesis that chronic intrauterine infection is involved in the pathogenesis of early abruption could not be proven.

研究分野：周産期医学

キーワード：常位胎盤早期剥離 妊娠高血圧症候群 慢性子宮内感染 子宮内フローラ

1. 研究開始当初の背景

常位胎盤早期剥離(早剥)は妊娠中に胎児が娩出する以前に胎盤の一部が剥離する疾患で、胎児の重篤な低酸素・酸血症を起こし、ときに児の脳性麻痺の原因になる。産科医療補償制度に報告された脳性麻痺事例の解析結果でも、2,113 例中 375 例(17.7%)が早剥によるものであり、加えて、子宮内胎児死亡も起こっていることを考えると、早剥は妊娠合併症の中で最も周産期予後に大きく影響する疾患である。一方、早剥は母体にも重篤な血管内凝固症候群(DIC)を起こし、産科危機的出血の原因となつてときに妊産婦死亡の原因となり、日本産婦人科医会の妊産婦死亡報告事業にも毎年早剥による妊産婦死亡例が報告されている。発症率は単胎妊娠で 1,000 分娩あたり 5.9 件、双胎妊娠で 12.2 件であり、稀な疾患ではないが、早剥の病態解明とその発症予防に向けた対策は産科医療において最も重要な課題であるといえる。

前回妊娠で早剥を発症した場合の再発率は、次回妊娠で 10%(一般女性の 20 倍)、2 回反復で 25%(同 50 倍)と再発率が極めて高いことが知られている。これまで早剥は多因子複合的要因が発症に関与すると考えられてきた。遺伝学的な要因としては、ミトコンドリア遺伝子多型や酸化的リン酸化関連遺伝子多型が早剥の反復に関与すると報告されているが、それらを組み合わせても発症率を 2-3 倍に増加させる程度であり、実際の早剥の再発率の高さを説明できず、早剥の発症および再発に全く異なる要因が関与していると強く推察される。

(研究の着想背景)

子宮内はもともと無菌的であると考えられていたが、次世代シーケンサ(NGS)を用いたゲノム解析から、子宮内にも細菌が存在し、その大部分は、通常、*Lactobacillus* 属であることが報告された。そして、不妊症患者を対象とした研究で、子宮内細菌叢で *Lactobacillus* 属が 90%以上を占める群とそれ以下の群を比較した結果、その後の不妊治療での妊娠率は 70%と 33%であり、*Lactobacillus* 属が 90%以上を占める群で有意に妊娠率が高いことが報告された(Moreno I, et al., AJOG 2016)。このような報告を基に、われわれは機能性不妊、反復流産、不育症にも子宮内細菌叢の変化が関連していると仮説をたて、それらの患者の子宮内と腸内細菌叢についての検討を行っているが、その検討の中で、興味深い以下の症例を経験した。

症例は 30 代の 1 回経産婦で、第 1 子出産後の妊娠は 19 週と 18 週に感染性流産を 2 度繰り返した既往があり、精査のため紹介受診した。感染性流産を反復していることから、子宮内感染を考慮し、黄体期に子宮内細菌叢を採取し、NGS 解析したところ、*Lactobacillus* 属が 19%と著しく少なく、子宮内環境が悪いことが推定された。また、腸内細菌叢の検査では *Bacteroides* が最も多く、かつ細菌叢に多様性が乏しい傾向にあり、腸内細菌の異常が示唆され、同時に重症の歯周病がであることから dysbiosis の状態にあると判断した。そこで、この患者にプレバイオティクス的一种であるラクトフェリンを服用させ、また、合併していた歯周病治療などを並行して行った。治療開始 1 年後の子宮内細菌叢検査で *Lactobacillus* 属が 85%に増加し、腸内細菌叢の多様性も生まれ、歯周病も改善したため妊娠を許可した。本人の希望もあって妊娠中もラクトフェリンの服用を継続して経過を見たところ妊娠中期流産もなく妊娠は順調に経過したが、妊娠 35 週に早剥を発症し、緊急帝王切開となった。妊娠経過には子宮内感染を示唆する所見は認めなかったものの、胎盤の病理

検査で胎盤の一部に炎症性細胞浸潤の所見を認め、炎症の関与が示唆された。

この症例を通じて、早剥の発症は偶然ではなく、子宮内膜の慢性的な炎症が原因として関与しており、その背景には dysbiosis の病態があるものと考えられ、早剥と子宮内細菌叢を含めた dysbiosis の関与を実証することは新たな早剥予防にも道を開く価値のある研究テーマであると考えた。さらに、本研究の成果はプレコンセプションケアとして妊娠前に子宮内細菌叢を検査し、異常例にはプレバイオティクスや抗菌薬投与を行うことで、早剥を防止することにもつながる可能性のある研究である。

2. 研究の目的

早剥の再発率は非常に高く、遺伝学的要因などの組み合わせでは説明がつかない。加えて、子宮内細菌叢異常に加え、dysbiosis の状態にある症例に早剥が発症した経験から、早剥の発症機序を以下のような仮説を立てた。

早剥の病態についての仮説：

慢性的に子宮内膜細菌叢に異常があり、炎症のある子宮内膜に着床しても胎盤が形成されて妊娠は維持されるが、これは母体の免疫機能によってその炎症が周囲に波及せず、局所的な炎症に制御されて限局しているためである。この母体免疫機能が何らかの要因で弱まった時に、その炎症が周囲に波及することで脱落膜に壊死が起こり、早剥を引き起こす。

この仮説を実証するため、具体的に早剥発症に妊娠前からの子宮内細菌叢の異常と子宮内膜の炎症が関与している、また、子宮内細菌叢は腸内細菌叢の影響を受けるとの仮説を立て、その仮説を証明することを目的に研究を行う。

3. 研究の方法

胎盤剥離後の母体面の擦過細胞における細菌叢の検出

帝王切開時に胎盤娩出直後に胎盤の母体面を擦過して細胞を採取し、そこから核酸を抽出した。その後の細菌叢の解析は 16S rRNA に特異的なユニバーサルプライマーを用いて PCR 増幅を行い、得られた増幅産物に対して次世代シーケンサー (MiSeq) を用いて塩基配列を同定し、そこから細菌叢を同定した。

コントロールとして正常の妊娠満期の選択的帝王切開症例を用い、早剥と臨床診断された症例と細菌叢の違いについて比較検討した。

同時に、早剥事例の胎盤の病理組織学的検査を行い、炎症細胞の集積状況など、組織学的な炎症所見の有無を確認した。

4. 研究成果

コントロールとして採取した早剥ではない正常の選択的帝王切開の 3 例において細菌は検出できなかった。この症例は帝王切開開始直前に抗菌薬の点滴投与が行われていたことから、抗菌薬の投与は胎盤娩出後に行うこととして、その後に 7 例について検査を実施した。しかし、NGS を用いた検討によって、細菌叢は検出できない結果であった。

さらに、早剥と臨床診断された 3 症例においても同様の検討を行ったものの、細菌叢の検出はできなかった。このうちの 2 例は手術開始時に抗菌薬の投与が行われていた。

このことから、慢性子宮内感染が早剥発症機序に関与するとの仮説は証明できなかった。同時に、早剥を示した胎盤において、炎症性細胞の集積など炎症を示唆する所見の有無につ

いて病理学的に検討を依頼したものの、特に炎症性細胞の集積など、感染を示唆する所見はないとの病理医のコメントであり、早剥の病態として慢性子宮内膜炎の関与を直接的に証明することは困難と思われた。

今後、帝王切開後の女性に手術後半年経過した時点で外来を受診させ、次の妊娠に備えたプレコンセプション外来を行う。この外来では超音波による子宮切開創の確認と腔培養を行うとともに、黄体期（月経発来前の場合は任意の時期）に子宮内膜を採取し、その細菌叢を検討する。同時に便を採取し、腸内細菌叢を検討する。細菌叢で *Lactobacillus* 属が 80% を下回る場合には、子宮内環境が悪いと判断してラクトフェリンなどのプレバイオティクスを希望に基づいて投与（市販の薬剤を使用）することで、その後の妊娠の有無、早剥を含めた妊娠合併症の発症の有無、妊娠転帰（児の所見）を追跡調査する方法で、子宮内慢性炎症の関与について継続して検討していきたいと考えている。

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	四元 淳子 (Yotsumoto Junko) (30553648)	昭和大学・医学部・特別研究生 (32622)	
研究分担者	小出 馨子 (Koide Keiko) (90384437)	昭和大学・医学部・講師 (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