

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20763

研究課題名（和文）腸内細菌の異常が習慣性流産を誘発するメカニズムの解明

研究課題名（英文）Investigating the Involvement of Dysbiosis in Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss

研究代表者

鈴木 功一郎（Suzuki, Koichiro）

慶應義塾大学・薬学部（芝共立）・特任助教

研究者番号：20963432

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、マウスにスペクトラムの異なる種々の抗生物質を投与し、胎児吸収、腸内細菌叢、子宮・脱着膜の免疫系に与える影響を評価した。胎児吸収の発生率に影響を与えない抗生物質がある一方、特定の抗生物質を投与した雌マウスでは胎児吸収が顕著に増加した。胎児吸収を引き起こす抗生物質を投与したマウスの腸管ではCitrobacter属およびEnterococcus属の細菌が増加しており、また、子宮と脱着膜では一部の免疫細胞サブセットに変化が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、抗生物質の投与による腸内細菌叢の攪乱が流産の原因になり得ることが明らかになった。さらに、流産の発生と相関を示す細菌を見出すことができた。今後の研究によりこれらの細菌が流産の原因になることが示された場合、その細菌をターゲットとする予防・治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we administered various antibiotics with different spectra to mice and evaluated their effects on fetal resorption, gut microbiota, and the immune system of the uterus and the decidua. While some antibiotics did not affect the incidence of fetal resorption, administration of a specific antibiotic to pregnant female mice resulted in a significant increase in fetal resorption. In the intestines of mice administered with the antibiotic that induced fetal resorption, there was an increased abundance of Citrobacter and Enterococcus. Additionally, changes were observed in certain subsets of immune cells in the uterus and the decidua.

研究分野：粘膜免疫学

キーワード：腸内細菌 ディスバイオーシス 抗生物質 胎児吸収 流産 不育症

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

臨床的に確認された妊娠のうち 15-25%は流産となる。その多くは胎児に偶然生じた染色体異常によるものであるが、両親が何らかのリスク因子を持ち、流産・死産を繰り返す不育症も妊娠女性の約 1%に起きる。不育症の原因として、子宮の形態異常、内分泌異常、自己免疫疾患などがあるが、原因を特定できないケースが約半数を占める。これまでに原因不明の不育症患者で腸内細菌叢の構成異常（ディスバイオーシス）が起きていることが報告されている[Liu *et al.* NPJ Biofilms Microbiomes 2021]。しかし、ディスバイオーシスと不育症の因果関係や、両者を繋ぐメカニズムはよく分かっていない。腸内細菌は宿主の免疫系に大きな影響を与えることから、本研究では「腸内細菌の異常が母体の免疫異常を引き起こし不育症の原因になる」という仮説を検証することにした。

2. 研究の目的

ディスバイオーシスと流産の間に因果関係があるか否かを調べる。両者に関連が認められた場合には、ディスバイオーシスが流産を引き起こすメカニズムの解明、および、流産の原因菌の特定を目指す。

3. 研究の方法

種々の抗生物質を投与することで腸内細菌叢を予め攪乱した雌の C57BL/6 マウスを雄の BALB/c マウスと交配させた。膣栓確認から 12 日後に解剖し、胎児吸収の発生を調べた。腸内細菌叢はショットガンメタゲノムシーケンスにより調べた。免疫系への影響を調べるため、子宮および脱落膜から酵素処理により免疫細胞を回収し、フローサイトメトリーによる解析を行なった。

糞便移植の実験では、アンピシリンを投与したマウスの糞便を PBS に懸濁させ、予め腸内細菌を除去した雌の C57BL/6 マウスに経口投与した後、雄の BALB/c マウスと交配させた。

4. 研究成果

(1) 抗生物質の投与が胎児吸収の発生に与える影響

雌マウスにバンコマイシン、ネオマイシン、アンピシリンというスペクトラムの異なる 3 種類の抗生物質をそれぞれ飲水投与した後、雄マウスと交配させ、胎児吸収の発生率を比較した。その結果、バンコマイシン投与群とネオマイシン投与群では、対照（水道水投与）群と比較して胎児吸収の発生に有意な変化が認められなかったのに対して、アンピシリン投与群では 9 割以上の個体で胎児吸収が発生し、個体によっては全胎児のうち半数が子宮内で死亡し、吸収されていた。無菌マウスにおける胎児吸収の発生を SPF 環境下で飼育したマウスと比較したところ、有意な差は認められなかった。このことから、アンピシリン投与による胎児吸収の増加は、特定の細菌の減少ではなく、細菌構成の変化や特定の細菌の存在割合が増えたことに起因する可能性が高いと考えられる。

(2) 腸内細菌叢の解析

アンピシリン投与による腸内細菌叢の変化を明らかにするために、ショットガンメタゲノムシーケンスを行なったところ、アンピシリンの投与により腸内細菌叢の構成が大きく変化して

いた。特に、一部の *Citrobacter* 属および *Enterococcus* 属細菌の存在割合が増加していた。

(3) 抗生物質の投与が子宮・脱落膜の免疫細胞に与える影響

腸内細菌は宿主の免疫系に大きな影響を与えることから、アンピシリンの投与が宿主の免疫系、特に母子の境界面に位置する子宮と脱落膜の免疫系に与える影響を調べた。その結果、アンピシリンを投与したマウスの子宮や脱落膜では免疫抑制性の働きを持つことが知られる特定の免疫細胞サブセットが減少していた。

(4) アンピシリン投与マウスからの糞便移植

アンピシリン投与による胎児吸収の発生が腸内細菌叢の変化によるものなのか調べるために、アンピシリン投与マウスの糞便を他のマウスに移植する実験を行った。しかし、アンピシリン投与マウスから糞便移植を受けたマウスでは、胎児吸収の有意な増加は認められなかった。原因として、責任細菌が十分に定着しなかった可能性、腔内細菌等の腸管以外の共生細菌が関与する可能性、アンピシリンそのものが胎児に悪影響を与えた可能性などが考えられ、今後さらなる検証が必要である。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 鈴木 功一郎、長谷 耕二	4．巻 37
2．論文標題 腸内細菌による発達期における免疫インプリンティング	5．発行年 2023年
3．雑誌名 腸内細菌学雑誌	6．最初と最後の頁 149～155
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11209/jim.37.149	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 -

1．著者名 鈴木 功一郎、長谷 耕二	4．巻 49
2．論文標題 腸内細菌叢と次世代の健康	5．発行年 2023年
3．雑誌名 Medical Science Digest	6．最初と最後の頁 397～400
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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