

令和 4 年 5 月 7 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09792

研究課題名（和文）腸内細菌叢・脳軸からみた月経前症候群への新治療戦略

研究課題名（英文）New Treatment Strategies for Premenstrual Syndrome from the Gut Microbiota/Brain Axis Perspective

研究代表者

武田 卓（Takda, Takashi）

近畿大学・東洋医学研究所・教授

研究者番号：20301260

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）：月経前症候群（PMS）患者における腸内細菌叢の特徴を検討した。PMS症状を訴える女性27名と、症状が重度ではない女性29名を募集した。その中から、社会生活に支障をきたすほどの症状を持つ21名（PMD群）と、深刻な症状がなく、社会生活にも支障がない女性22名（対照群）をさらに選出した。血液中の炎症マーカーは、PMD群と対照群で有意差はなかった。PMD群と対照群の腸内細菌叢には、多様性の差が検出された。属レベルでの腸内細菌の検討では、対照群との比較で、ParabacteroidesとMegasphaeraの減少がPMS患者の特徴となり、さらにこれらの量が少ないと、症状が重度となることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでPMSの診断には問診票を用いた症状からの診断しかできず、客観的な診断マーカーが存在せず、このことはPMSに対する研究を進めていく上での大きな障害となっている。今回の研究の結果、PMS患者に特徴的な腸内細菌が明らかとなり、今後のさらに規模の大きな詳細な検討により、PMS診断マーカーへの腸内細菌叢の応用が期待できる。さらに、腸内細菌をターゲットするようなPMSに対する新規治療法開発も期待できる。

研究成果の概要（英文）：The characteristics of the gut microbiota in patients with premenstrual syndrome (PMS) were investigated: 27 women with PMS symptoms and 29 women with less severe symptoms were recruited. From these, 21 women with symptoms that were severe enough to interfere with their social life (PMD group) and an additional 22 women with no serious symptoms and no problems with their social life (control group) were selected. Inflammatory markers in blood were analyzed. For the stool samples, 16S ribosomal RNA of gut microbiota was sequenced. Blood inflammation markers were not significantly different between the PMD and control groups; differences in beta diversity were detected in the gut microbiota of the PMD and control groups. Examination of the gut microbiota revealed that decreased levels of Parabacteroides and Megasphaera were characteristic of PMS patients, and furthermore, these were inversely correlated with symptom severity.

研究分野：女性心身症

キーワード：腸内細菌叢 月経前症候群

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 女性の社会進出において、月経関連疾患はこれまで以上に適切な管理・対策が必要となってきたが、十分な対応が行われていない。

(2) PMS はパフォーマンスに大きな影響を及ぼすが、標準治療の LEP/OC 製剤や SSRI への受け入れの悪さから、十分な治療が行われておらず、簡便・低侵襲な治療法開発が必要である。

(3) うつ病等の精神疾患において、脳・腸内細菌叢との関連性が注目されるようになり、脳科学での一種のパラダイムシフトとも呼べる状況となっている。

(4) 腸内細菌研究は食事療法・プロバイオティクス・プレバイオティクスといった簡便・低侵襲な治療法開発が期待できる。

2. 研究の目的

これまで検討されてこなかった腸内細菌叢と PMS の関連性を次世代シーケンスによる細菌叢分析、宿主免疫、宿主への菌体産物移行、腸内細菌由来物質等から多面的に解析を行い、腸内細菌叢・脳軸 (gut microbiota-brain axis) からの PMS 治療戦略開発を目的とする。

3. 研究の方法

産婦人科クリニックに受診した中等度以上の PMS 症状を主訴とする初診患者 27 名 (P 群) と健診等で受診した中等度以上の PMS 症状の自覚のない健常者 29 名 (N 群) を対象に以下の検討を実施した。P 群のうち、PMS 症状による社会生活障害を自覚する 21 名を PMDs 群 (PMDs 群) とし、N 群のうち PMS 症状による社会生活障害を自覚しない 22 名をコントロール (C 群) とした。PMS 症状の評価には、premenstrual symptoms questionnaire (PSQ) を用いて評価した。

(1) 血中炎症マーカー測定

初診時に採血した検体を用いて、血清 CRP、soluble CD14 (sCD14)、lipopolysaccharide binding protein (LBP) を Human Magnetic Luminex Assay (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA) を用いて測定した。

(2) 腸内細菌叢解析

受診後に自宅にて、専用スワブを用いて便を自己採取した検体を用いて、次世代シーケンスメタゲノム解析を実施した (テクノスルガラボへ外注)。

4. 研究成果

(1) 血中炎症マーカー測定

CRP、sCD14、LBP において、PMDs 群と C 群を比較して、有意差を認めなかった。これらは、菌体成分の宿主への移行を評価するマーカーであり、大うつ病で提唱されているような bacterial translocation は、PMS では明らかではなかった。

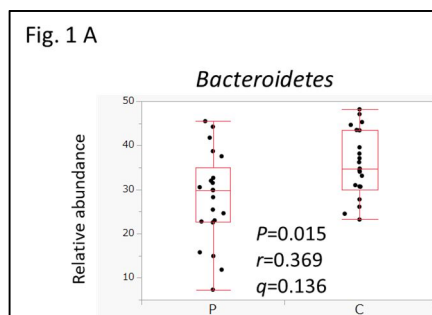
(2) 腸内細菌叢解析

多様性解析

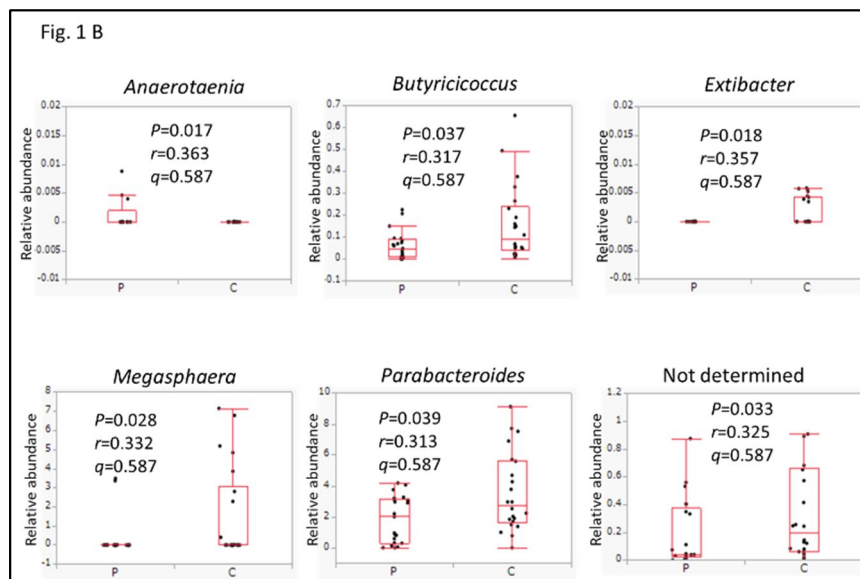
PMDs 群と C 群の比較において、多様性に関しては、Chao 1、Shannon、Simpson のそれぞれの解析において有意差を認めなかった ($P = 0.430$, 0.423 , and 0.308)。PCoA 解析をもちいた多様性に関しては、両群間に有意差を認めた ($R = 0.062$, $P = 0.027$)。

相対的存在比比較

門レベルでは、PMDs 群では *Bacteroidetes* のみが C 群に比べ有意に少なかった ($P = 0.015$, $q = 0.136$) (Fig. 1A)。

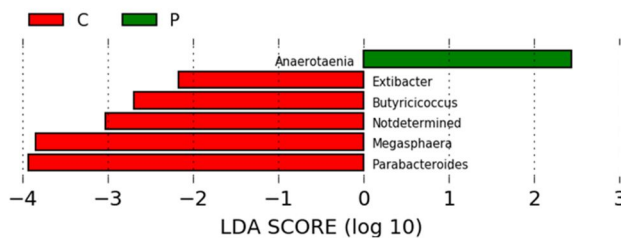


属レベルでは、PMDs 群は C 群に比べ、*Butyricicoccus*、*Extibacter*、*Megasphaera*、*Parabacteroides* および「不明」の率が低く (それぞれ $P = 0.037$, 0.018 , 0.028 , 0.039 and 0.033) *Anaerotaenia* が高かった ($P = 0.017$) が、FDR 補正後、この有意性は認めなくなった (Fig. 1B)。



Linear discriminant effect size analysis (LEfSe)
 属レベルで見ると、PMDs 群では *Anaerotaenia*、コントロール群では *Extibacter*、*Butyricoccus*、*Not determined*、*Megasphaera*、*Parabacteroides* の密度が高いことがわかった (Fig. 2)。

Fig.2 PMDs 群とコントロール群の差異を識別するための LEfSe



PMS 症状の重症度と腸内細菌叢との関連
 属レベルでは、PSQ total score は *Anaerotaenia* と正の相関を示し、*Extibacter* と *Parabacteroides* とは負の相関を示した (Table 1)。

Table 1 PMS 症状の重症度と腸内細菌叢との関連

	R	P
<i>Anaerotaenia</i>	0.292	0.029
<i>Extibacter</i>	-0.410	0.002
<i>Parabacteroides</i>	-0.342	0.010

重回帰分析では、PSQ の総得点は *Parabacteroides* および *Megasphaera* と負の相関があった (Table 2)。

Table 2 PMS 症状の重症度と腸内細菌叢との関連 (重回帰分析)

	β	95% CI	P	Standardized β	VIF
<i>Blautia</i>	0.36	-0.07 to 0.79	0.10	0.23	1.24
<i>Faecalibacterium</i>	-0.33	-0.82 to 0.17	0.19	-0.17	1.07
<i>Parabacteroides</i>	-1.31	-2.43 to -0.18	0.02	-0.30	1.14
<i>Ruminococcus</i>	1.15	-0.07 to 2.36	0.06	0.25	1.27
<i>g_Lachnospiraceae bacterium</i>	-2.65	-5.36 to 0.06	0.06	-0.24	1.10
<i>KNHs209_incertae_sedis</i>	-2.65	-5.36 to 0.06	0.06	-0.24	1.10
<i>Megasphaera</i>	-1.56	-2.89 to -0.24	0.02	-0.31	1.19

~ により、腸内細菌の性状が PMS 症状と関連することを明らかにした。*Parabacteroides* および *Megasphaera* の減少は PMD 患者の特徴であり、PMS 症状の重症度と負の相関があることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takeda T, Yoshimi K, Yamada K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Psychometric Testing of the Premenstrual Symptoms Questionnaire and the Association Between Perceived Injustice and Premenstrual Symptoms: A Cross-Sectional Study Among Japanese High School Students	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Women's Health	6. 最初と最後の頁 755-763
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/IJWH.S269392. eCollection 2020.	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 該当する

1. 著者名 Takashi Takeda, Kana Yoshimi, Sayaka Kai, Genki Ozawa, Keiko Yamada, Keizo Hiramatsu	4. 巻 -
2. 論文標題 Characteristics of the gut microbiota in women with premenstrual symptoms: a cross-sectional study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
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 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 -

〔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	清水 尚子 (Shimizu Shoko) (50572731)	近畿大学・東洋医学研究所・助教 (34419)	
研究分担者	平野 昌美 (Hirano Masami) (70351632)	近畿大学・東洋医学研究所・講師 (34419)	

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	宮田 信吾 (Miyata Shingo) (70403194)	近畿大学・東洋医学研究所・教授 (34419)	
研究分担者	石野 雄吾 (Ishino Yugo) (80625088)	近畿大学・東洋医学研究所・助教 (34419)	

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