

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18173

研究課題名（和文）子宮頸がん妊孕性温存手術後妊娠における腔内細菌叢解析

研究課題名（英文）Vaginal microbiome analysis in pregnancy after childbearing surgery of cervical cancer

研究代表者

春日 義史（Yoshifumi, Kasuga）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：60570877

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：広汎子宮頸部摘出術後妊娠（RT：25例）と子宮頸がん妊孕性温存手術を受けていない妊婦（コントロール：100例）を対象として、妊娠初期、中期、後期の3回腔分泌物を採取した。採取した腔分泌物は16SリボソームRNA解析を行い、網羅的な細菌叢を明らかにした。3期間とも、乳酸桿菌の比率については両群間で有意差を認めなかった。一方で、コントロール群と比較して、RT群は、多様性が高いことが判明し、RT後妊娠では腔内細菌叢が変化することが早産の原因の一因になっている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

広汎子宮頸部摘出術（RT）後妊娠は30%以上が妊娠34週未満の早産となる早産ハイリスク群である。子宮頸がんはワクチン接種が進んでいない現状ではさらに増える可能性があり、RTに対する需要は高まっている。一方で、RT後妊娠に対する早産予防法は確立されていない。RT後妊娠の腔内細菌叢が変化していることが判明したことから、腔内細菌叢を改善するような薬剤の使用により、早産を予防できる可能性がある。早産児は出生直後のみならず、将来の生活習慣病や肥満などのリスクも高く、精神発達が遅れる可能性もあるなど長期的な予後も不良である。本研究はRT後妊娠において、早産予防法の足がかりとなる重要な研究であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We enrolled pregnant women who had undergone radical trachelectomy (RT: n=25) and those who had not undergone RT or cervical conization (control: n=100) and received perinatal care between 2019 and 2023. Vaginal discharge samples were collected during the first, second, and third trimesters and subjected to microbial analysis by sequencing the V1-V2 region of the 16S ribosomal RNA gene. Throughout all trimesters, no differences in the incidence of *Lactobacillus* spp. were observed between the two groups. Compared with the control group, the RT group exhibited higher incidences of *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., and *Prevotella* spp. in the first trimester; *Prevotella* spp. and *Dialister* spp. in the second trimester; and *Streptococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Prevotella* spp., *Dialister* spp., and *Mycoplasma* spp. in the third trimester. Furthermore, the  $\alpha$ -diversity analysis revealed alterations in the vaginal microbiota in the control group but not in the RT group.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠 腔分泌物細菌叢 子宮頸がん 手術 早産

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

早期子宮頸がんに対する妊孕性温存手術である子宮頸部円錐切除術(以下、円切)や広汎子宮頸部摘出術(以下、RT)は絨毛膜羊膜炎(以下、CAM)に起因した早産分娩が多い。早期子宮頸がんは若年女性に多く、さらに増加傾向にある。円切やRTでは子宮頸部を大きく摘出されるため、頸管腺が欠如し感染防御機構が破綻している可能性がある。しかし、腔内環境が円切後妊娠やRT後妊娠にどのような影響を与え、早産に至るのかわかりではない。早産分娩では新生児死亡や呼吸器合併症発症リスクを伴うのみならず、早産児は将来的な生活習慣病や肥満のリスクが高くなるため、短期的にも長期的にも医療経済に影響を与える可能性がある。そのため、円切後妊娠やRT後妊娠における早産予防法の確立が求められている。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は 子宮頸がん妊孕性温存手術後妊娠と非手術後妊娠における腔内細菌叢の相違を明らかにし、子宮頸がん妊孕性温存手術が妊娠における腔内環境制御に与える影響を明らかにすること、子宮頸がん妊孕性温存手術後妊娠における腔内環境の妊娠中継時的変化を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

2019年9月1日～2024年3月31日までに研究内容を説明し書面で同意された研究代表者所属施設(慶應義塾大学医学部)で分娩予定妊婦を対象とする。子宮頸がん妊孕性温存手術後妊娠群(50例)および非手術後妊娠群(100例)に対して、妊婦健診時に妊娠初期(妊娠14週)、中期(妊娠24週)、後期(妊娠34週)の計3回に腔分泌物をスワブで採取する。検体は冷凍保存したのち、共同研究先である国立成育医療研究センターに搬送し、16SrRNA系統解析を行う。具体的には腔分泌物中のDNAを抽出し、16S rRNA遺伝子のV1V2領域をターゲットとして、次世代シーケンサーを用いて16S rRNA amplicon sequencingを行い、多様性解析、UniFrac距離を用いた多様性解析、細菌組成解析を行う。解析結果は国立成育医療研究センター内計算サーバーで解析する。同時に、母児情報(年齢、分娩週数、出生体重等)と腔内細菌叢データを統合するデータベースを作成する。本研究では以下の2種類の解析を行う。

子宮頸がん妊孕性温存手術後妊娠と非手術後妊娠での腔内細菌叢の違い

子宮頸がん妊孕性温存手術後妊娠における妊娠経過に伴う腔内細菌叢の変化

### 4. 研究成果

本研究において、5本の査読付き英文論文を公表し、各論文は多くの論文から引用され、特にRT後妊娠の周産期管理に関するReviewは多く引用されている。また、関東連合産科婦人科学会研究助成を獲得し、同学会所属の周産期母子医療センターにおけるRT後妊娠の実態調査を行った。これまで日本国内において、RT後妊娠の多施設共同研究が行われたことはなく、日本国内でのRT後妊娠の実態を明らかにできた有意義な結果を報告することができ、RT後妊娠は国内で増加傾向にあり、早産予防法確立は喫緊の課題であることが再認識された。

また、本研究でRT後妊娠(20例)や円切後妊娠(13例)では妊娠期間中に腔内細菌叢の変化は少ないが、非術後妊娠(81例)と比較して多様性が増していることが明らかになった。研究の立案時には通常培養検査では検出が困難であり、早産やCAMとの関連が報告されているウレアプラズマやマイコプラズマが検出されることを期待したが、RT後妊娠や円切後妊娠に有意に検出されるという結果は得られなかった。ただ、腔内細菌叢の多様性が増しているという結果は両妊娠における早産予防法確立の足がかりになることが期待されることから、さらなる研究の

図1 <子宮頸癌(上皮内がん含む)年齢別罹患数の推移>

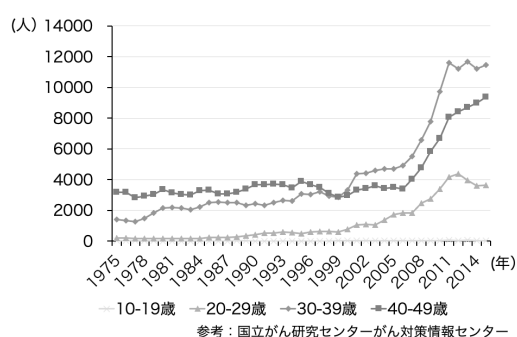


図2

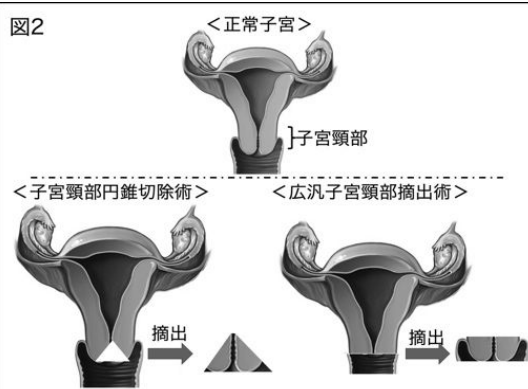
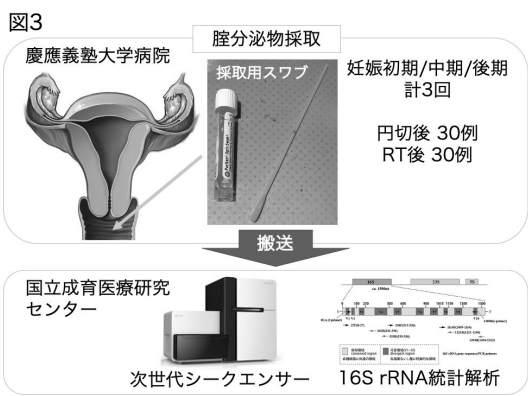


図3



準備を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Kasuga Yoshifumi, Ikenoue Satoru, Nishio Hiroshi, Yamagami Wataru, Ochiai Daigo, Tanabe Kiyoo, Tashima Yasuhiro, Hirao Nobumaru, Miyakoshi Kei, Kasai Kenji, Suda Yoshio, Nemoto Taiko, Shiraishi Satoru, Yoshida Hiroyuki, Kurahashi Takashi, Nakada Sakura, Tanaka Mamoru, Aoki Daisuke	4. 巻 35
2. 論文標題 Adenocarcinoma in situ or early-stage cervical cancer is a risk factor for preterm delivery after cervical conization: a multicenter observational study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine	6. 最初と最後の頁 9837 ~ 9842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14767058.2022.2056835	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 Kasuga Yoshifumi, Ikenoue Satoru, Tanaka Yuya, Tamagawa Masumi, Hasegawa Keita, Oishi Maki, Endo Toyohide, Sato Yu, Tanaka Mamoru, Ochiai Daigo	4. 巻 100
2. 論文標題 Expectant management for early pregnancy miscarriage after radical trachelectomy: A single hospital based study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica	6. 最初と最後の頁 1322 ~ 1325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aogs.14158	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 Kasuga Yoshifumi, Ikenoue Satoru, Tanaka Mamoru, Ochiai Daigo	4. 巻 162
2. 論文標題 Management of pregnancy after radical trachelectomy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 220 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygyno.2021.04.023	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 Kasuga Yoshifumi, Ikenoue Satoru, Nishio Hiroshi, Yamagami Wataru, Ochiai Daigo, Tanabe Kiyoo, Tashima Yasuhiro, Hirao Nobumaru, Miyakoshi Kei, Kasai Kenji, Suda Yoshio, Nemoto Taiko, Shiraishi Satoru, Yoshida Hiroyuki, Kurahashi Takashi, Takamatsu Kiyoshi, Iwasaki Shinya, Yamashita Hiroshi, Akiba Yasuo, et al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Adenocarcinoma in situ or early-stage cervical cancer is a risk factor for preterm delivery after cervical conization: a multicenter observational study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine	6. 最初と最後の頁 1 ~ 6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14767058.2022.2056835	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 Kasuga Yoshifumi, Hasegawa Keita, Hamuro Asuka, Fukuma Yuka, Tamai Junko, Tanaka Yuya, Ikenoue Satoru, Tanaka Mamoru	4. 巻 164
2. 論文標題 Pregnancy outcomes following radical trachelectomy for early stage cervical cancer: A retrospective observational study in the Kanto area, Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Gynecology & Obstetrics	6. 最初と最後の頁 108 ~ 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijgo.14935	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Yoshifumi Kasuga, Eriko Onishi, Hiromi Kamura, Keita Hasegawa, Yuka Tanaka, Junko Tamai, Yuya Tanaka, Satoru Ikenoue, Daigo Ochiai, Nakabayashi Kazuhiko, Kenichiro Hata, Mamoru Tanaka
2. 発表標題 Vaginal microbiota at the first trimester in pregnancy after radical trachelectomy
3. 学会等名 RCOG2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 春日義史, 大西英理子, 嘉村浩美, 長谷川慶太, 福間優花, 玉井順子, 葉室明香, 田中雄也, 池ノ上学, 中林一彦, 田中守, 秦健一郎
2. 発表標題 広汎子宮頸部摘出術後妊娠における妊娠初期腔分泌物細菌叢解析
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第67回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshifumi Kasuga, Keita Hasegawa, Yuka Fukuma, Junko Tamai, Asuka Hamuro, Yuya Tanaka, Toshimitsu Otani, Satoru Ikenoue, Kazuhiko Nakabayashi, Kenichiro Hata, Daisuke Aoki, Mamoru Tanaka
2. 発表標題 Characteristics of the vaginal microbiota in early gestation after radical trachelectomy
3. 学会等名 第75回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 春日義史
2. 発表標題 子宮頸部摘出術後妊娠における残存子宮頸管長と周産期予後の関係
3. 学会等名 第43回日本母体胎児医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 春日義史，福間優花，玉井順子，葉室明香，田中雄也，長谷川慶太，池ノ上学，落合大吾，青木大輔，田中守
2. 発表標題 広汎子宮頸部摘出術後妊娠における帝王切開術の実際
3. 学会等名 第386回四水会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 春日義史
2. 発表標題 広汎子宮頸部摘出術後妊娠管理および周産期予後に関する実態調査
3. 学会等名 第145回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 春日義史
2. 発表標題 広汎子宮頸部摘出術後妊娠管理のポイント
3. 学会等名 第145回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Keita Hasegawa, Yoshifumi Kasuga, Yuka Fukuma, Junko Tamai, Yuya Tanaka, Toshimitsu Otani, Satoru Ikenoue, Kazuhiko Nakabayashi, Kenichiro Hata, Wataru Yamagami, Mamoru Tanaka
2. 発表標題 Vaginal microbiota in pregnancy after radical trachelectomy
3. 学会等名 第76回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2024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
---------------------------	-----------------------	----

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