

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18179

研究課題名(和文) 子宮内感染の予測と羊水穿刺の適応を診断する方法の開発

研究課題名(英文) Development of a method to predict intrauterine infection and diagnose indications for amniocentesis

研究代表者

倉員 正光 (Kurakazu, Masamitsu)

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：30712468

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)：子宮内感染の診断は、羊水穿刺による羊水評価がその診断精度を向上させることが示されていました。一方で、羊水穿刺は子宮穿刺に伴う出血、感染、破水、胎児損傷などのリスクを伴いました。今回の研究成果では、羊水中のmiR-4353とmiR-1915-5pが、絨毛羊膜炎の予測診断の炎症性バイオマーカーになり得ること、さらに母体血中と羊水中のmiR-4353とmiR-1915-5pに関連していたことは、母体血中の評価により子宮内感染を評価できる可能性が示唆されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、母体血液検査において炎症バイオマーカーを選択することで、子宮内環境を評価できることを示しました。羊水穿刺を回避し、子宮内感染(組織学的絨毛膜炎)を出生前診断に低侵襲に予測診断できること社会的意義は高いと考えられました。また、羊水中の炎症性バイオマーカーを選択することにより胎児感染の有無を評価できる可能性が示唆された研究成果は、出生後の新生児治療において抗菌薬治療開始の科学的根拠を提供することの社会的意義は高いと考えられました。

研究成果の概要(英文)：The diagnosis of intrauterine infection had been shown to be improved by amniocentesis, an evaluation of amniotic fluid that improves its diagnostic accuracy. On the other hand, amniocentesis was associated with risks such as uterine puncture-related bleeding, infection, water breaking, and fetal damage. The results of this study showed that miR-4353 and miR-1915-5p in amniotic fluid could be inflammatory biomarkers for the predictive diagnosis of chorioamnionitis, and the correlation between miR-4353 and miR-1915-5p in maternal blood and amniotic fluid suggested that intrauterine infection could be evaluated by assessing maternal blood. This suggested the possibility that intrauterine infection can be evaluated by assessment of maternal blood.

研究分野：子宮内感染

キーワード：絨毛膜羊膜炎 子宮内感染 マイクロRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦では出生数の減少、晩婚化・晩産化に伴うハイリスク妊婦の増加が加速度的に進行し、早産やそれに伴う未熟児が増加する新たな社会問題が発生しています。その早産の主な原因として、子宮内感染(絨毛膜羊膜炎)によるものが考えられています。一方で、子宮内感染の妊婦における臨床症状は乏しく、出生前に診断することは極めて困難です。加えて、子宮内感染は、適切な分娩帰結の時期を逸すると胎児感染に至り、新生児に致死性的あるいは重篤な後遺症を残すため、出生前(妊娠中)に子宮内感染を予測診断することが重要です。

(2) これまでに、羊水穿刺による羊水検査所見を併用する診断法が有用であることが報告してきましたが、羊水穿刺には破水、感染、出血など手技に伴う合併症や、前期破水症例では羊水検索が困難な場合が問題となります。一方で、経母体的な子宮内感染の予測診断精度は極めて低く、診断方法が全く確立されていない現状です。

2. 研究の目的

(1) 我々は、新規の炎症性バイオマーカーとしてマイクロ RNA に着目しました。これまでに、マイクロ RNA に対する網羅的アレイおよびデジタル PCR 法の定量的解析により、子宮内感染症例において特異的に高発現するマイクロ RNA が同定できていました。さらに、子宮内感染時の羊水中に高発現するマイクロ RNA のいくつかは子宮内感染した母体血中に検出できる可能性が示唆されていました。

(2) 我々は、既存の検査項目や方法を変更することで、羊水分析(羊水穿刺)を併用せずに子宮内感染を予測診断できるかという学術的「問い」に答えたいと本研究を開始しました。本研究の目的は、子宮内感染の非侵襲的出生前診断法を確立することでした。

3. 研究の方法

(1) 最初に候補となる miRNA を探索しました。候補となった miRNA の発現について、羊水サンプル(16S_rDNA コピー数で定義した絨毛膜羊膜炎ありと絨毛膜羊膜炎なし、妊娠 15-17 週の羊水検査 15 サンプル)を対象として解析しました。

(2) 候補となった miRNA の臨床的意義を明らかにするために、妊婦の羊水サンプル(n=63)における miRNA の発現と 16S_rDNA のコピー数を解析しました。

(3) 候補となった miRNA (miR-4535、miR-191-5p、miR-1915-5p) と 16S_rDNA のコピー数を用いて、重症絨毛膜羊膜炎の診断予測精度を解析しました。

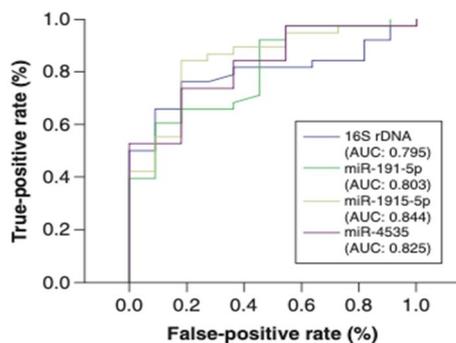
(4) 候補となった mRNA(miR-4353、miR-1915-5p)、16S_rDNA のコピー数および IL-6 値を用いて、胎児感染の診断予測精度を解析しました。胎児感染は、新生児の血液バイオマーカー(白血球数:5,000/ μ L 未満または 20,000/ μ L 以上、CRP 値:0.5mg/mL 以上、または IgM 値:20mg/mL 以上)と決めました。

4. 研究成果

(1) マイクロアレイ解析において、群は *U. parvum* を含む少なくとも2種の miCAM に羊水感染がある患者2名で構成されていました。グループには、*U. parvum* のみに羊水感染がある患者3人で構成されていました。群には、*U. parvum* 以外の miCAM 種に羊水感染がある患者3人で構成されていました。グループは、非 miCAM 種に羊水感染がある患者4人で構成されていました。グループは、絨毛膜羊膜炎のない健常人3人で構成されていました。

(2) 群および群または群と群および群の羊水中の miRNA プロファイルを比較した結果、miR-4535、miR-6769a-5p および miR-6807-5p が有意に発現上昇していることが検出されました。さらに候補となる miRNA を選択するために、群、群、群、群または群の3群間で羊水中の miRNA の発現を調べたところ、miR-208a-5p と miR-345-3p の発現が2倍以上に増加していることが示されました。(p<0.05)

(3) 羊水中の miR-4535、miR-1915-5p は、子宮内感染症例で多く発現していることが示されました。羊水中の miR-4535 および miR-1915-5p の発現は、羊水中 16S_rDNA コピー数と有意



に相関していました。また、miR-4535 の発現は、母体血清中と羊水中において有意に相関していました。羊水中の miR-4353 と miR-1915-5p、母体血清中の miR-4535 が、絨毛羊膜炎の予測診断のバイオマーカーになる可能性があることが示されました。(Kiyoshima, Kurakazu et al., Future Science, 2020)

図1 羊水中の候補 miRNA (miR-4535 : 紫、miR-1915-5p : 黄、miR-191-5p : 緑) 16S_rDNA : 青の値と重症組織学病的絨毛膜羊膜炎の予測診断精度

(4) 羊水中の miR-4353 と miR-1915-5p は、胎児感染 (A: 新生児白血球数、B: 新生児 CRP 値、C: 新生児 IgM 値) を中等度の精度で予測診断できる可能性があることが示されました。(Yoshikawa, Kurakazu et al., Placenta, 2021)

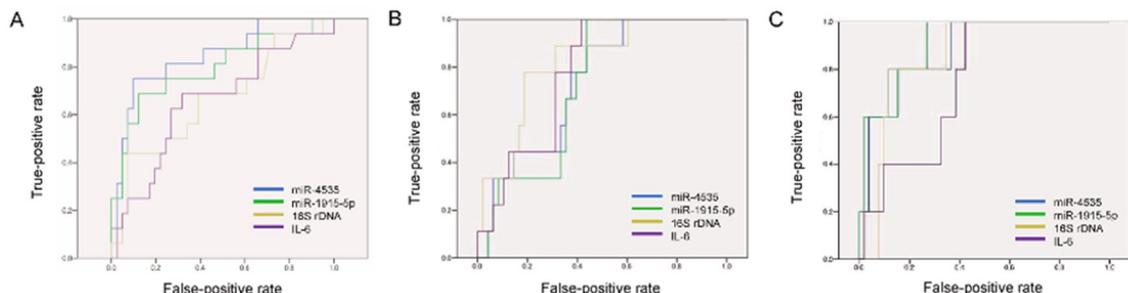


図2 羊水中の候補 miRNA (青 : miR-4353、緑 : miR-1915-5p) 黄 : 16S_rDNA、紫 : IL-6 の値と胎児感染 (A: 新生児白血球数、B : 新生児 CRP 値、C : 新生児 IgM 値) の予測診断精度

今回の研究成果では、羊水中の miR-4353 と miR-1915-5p が、絨毛羊膜炎の予測診断の炎症性バイオマーカーになり得ること、さらに母体血中と羊水中の miR-4353 と miR-1915-5p 相関していたことは、母体血中の評価により子宮内感染を評価できる可能性が示唆されました。本研

究は、母体血液検査において炎症バイオマーカーを選択することで、子宮内環境を評価できることを示しました。羊水穿刺を回避し、子宮内感染（組織学的絨毛膜炎）を出生前診断に低侵襲に予測診断できること社会的意義は高いと考えられました。また、羊水中の炎症性バイオマーカーを選択することにより胎児感染の有無を評価できる可能性が示唆された研究成果は、出生後の新生児治療において抗菌薬治療開始の科学的根拠を提供することの社会的意義は高いと考えられました。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 Yoshikawa Kenichi, Kiyoshima Chihiro, Hirakawa Toyofumi, Urushiyama Daichi, Fukagawa Satoshi, Izuchi Daisuke, Sanui Ayako, Kurakazu Masamitsu, Miyata Kohei, Nomiya Makoto, Setoue Takashi, Nagamitsu Shinichiro, Nabeshima Kazuki, Hata Kenichiro, Yasunaga Shin'ichiro, Miyamoto Shingo	4. 巻 114
2. 論文標題 Diagnostic predictability of miR-4535 and miR-1915-5p expression in amniotic fluid for foetal morbidity of infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 68 ~ 75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.placenta.2021.08.059	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 -
1. 著者名 Kiyoshima, Shirasu, Urushiyama, Fukagawa, Hirakawa, Yoshikawa, Izuchi, Miyata, Kurakazu, Yotsumoto, Hiromatsu, Nomiya, Ohta, Hirose, Ogura, Hayashi, Hata, Nabeshima, Yasunaga, Miyamoto	4. 巻 6
2. 論文標題 MicroRNAs miR-4535 and miR-1915-5p in amniotic fluid as predictive biomarkers for chorioamnionitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Future Science OA	6. 最初と最後の頁 FS0686
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 -
1. 著者名 Urushiyama Daichi, Ohnishi Eriko, Suda Wataru, Kurakazu Masamitsu, Kiyoshima Chihiro, Hirakawa Toyofumi, Miyata Kohei, Yotsumoto Fusanori, Nabeshima Kazuki, Setoue Takashi, Nagamitsu Shinichiro, Hattori Masahira, Hata Kenichiro, Miyamoto Shingo	4. 巻 11
2. 論文標題 Vaginal microbiome as a tool for prediction of chorioamnionitis in preterm labor: a pilot study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18971
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98587-4	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
---------	---------