

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462577

研究課題名(和文) Lactoferrinによる膣内環境改善を介した早産予防効果の検証

研究課題名(英文) Improvement of vaginal bacterial formation by lactoferrin

研究代表者

大槻 克文 (OTSUKI, KATSUFUMI)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号：90276527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラクトフェリンはヒト乳汁中や好中球に多量に含有される糖蛋白で、人体内に存在するPrebioticsの一つである。LFは、抗菌・抗炎症性サイトカイン作用を有するが、Lactobacillusの発育を抑制しない。また、LFは副作用がほぼ皆無であり安全性が極めて高い。上記の観点に立ち、我々はLFが早産予防に効果的な薬剤となる可能性が高いと考え、現在までに、LFの周産期領域における早産予防薬としての有用性を検討し報告してきた。本研究では今までの実績を踏まえて、特にLF膣錠をヒトに使用し、早産の予防・治療への応用及び予防の可能性、ヒトでの有用性ならびに安全性を検討し、ヒトでの有効性の機序を再確認した。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that Lactoferrin (LF) could most likely be effective for preventing preterm delivery and intrauterine infections based on data derived from mice and rabbits. Here we describe six women with a history of multiple pregnancy losses or preterm delivery and refractory bacterial vaginosis, who received prebiotic LF therapy and delivered an infant normally.

Vaginal suppositories and oral prebiotic LF were administered to patients who were refractory to conventional treatment for vaginosis and had a history of late miscarriages and very early preterm delivery due to refractory vaginitis and chorioamnionitis. Lactoferrin significantly improved the vaginal bacterial flora. Lactobacillus that was detectable in the vaginas of all patients after one month of LF therapy gradually became dominant.

The findings from these patients suggest that administering LF to humans could help to prevent refractory vaginitis, cervical inflammation and preterm delivery.

研究分野：産婦人科 周産期

キーワード：ラクトフェリン 膣内細菌叢 早産

1. 研究開始当初の背景

子宮内感染による胎児への影響として、細菌などの侵襲などによる子宮内の炎症に反応した胎児の高サイトカイン血症が児の多臓器不全を引き起こすという考え方 (Fetal Inflammatory response syndrome: FIRS) がされるようになっていく。特に子宮内感染と脳障害 (脳性麻痺) との関連について数多くの報告がされており、その**予防**の方策を講じることは急務である。また、子宮内感染が早産の誘引と成り得るとの観点から、早産の予後についてみると、先天奇形を除く周産期死亡の約 75% は早産児であり、1,000g 未満の超低出生体重児は生存しても、その約 20% 以上が精神発達上の問題を残している。仮に、人工早産以外の 75% の早産と preterm PROM を予防できれば、低出生体重児を半数以下に減少させることが可能となるはずである。したがって、この解決は急務であり、**早産を減少させることこそが心身障害 (脳障害など) を予防するための最善の方策である**。近年、早産の原因として、細菌性腔症や頸管炎からの上行性感染である絨毛膜羊膜炎 (CAM) が重要であるとされ、そのことは疑う余地がない。CAM は細菌感染あるいは一部その他の原因により高サイトカイン状態を引き起こし、それが頸管熟化と子宮収縮発来へとつながることから、早産防止のためには CAM の治療が重要とされて来た。一方、近年、高サイトカイン状態の成立後からの抗菌・抗サイトカイン療法の限界も指摘され、CAM に至る前段階での対策として細菌性腔症の治療による早産予防の試みがなされ始めた。しかし、抗生物質投与による早産予防の有効性に関しては否定的な報告が多い。その理由の一つとして腔内常在菌である

Lactobacillus 自体の発育抑制が問題となっている。以上のことから、CAM を介した早産を予防するためには、宿主の免疫力を低下させることなく腔内細菌叢を正常化し、早い段階で、炎症性サイトカインの活動を抑制することが必要であると考えられる。我々は今までに、LF が周産期領域において早産予防薬としての有用性を有する可能性について、以下の様に検討し学会及び論文発表を数多く行ってきた。(学会発表および学術誌投稿済)

- 1) 子宮内感染環境下で出生した児は、非感染環境下で出生した児に比し唾液中 LF の産生量が、有意に高値であること。(*Lactoferrin: Structure, Function and Applications*, 2000、他)
- 2) 絨毛膜羊膜炎陽性羊水中の LF 濃度は非感染羊水と比較し有意に高値であること。(*Adv Exp Med Biol*, 1998、他)
- 3) 羊膜細胞を用いた子宮内感染モデルの培養系で、LF 添加により、炎症性

サイトカインの産生を著しく抑制すること。(*Placenta*, 1999、他)

- 4) affinity column を用いたヒト羊膜より human LF receptor の分離・同定。(*FASEB J*, 2000、他)
- 5) LF のグラム陰性菌に対するオプソニン効果の検討。(*Biochemistry and Cell Biology*, 2002、他)
- 6) ヒト頸管細胞株を用いた LF および Lysozyme の *E. coli* に対する殺菌・制菌作用の検討。(*Biochemistry and Cell Biology*, 2002、他)
- 7) 妊娠マウスを用いて、lipopolysaccharide (LPS) によって早産を誘導したマウスで、LF を腹腔内投与することにより、早産を有意に抑制できること。(*Acta Obstet Gynecol Scand*, 2000、他)
- ラビット切迫早産動物モデル (子宮頸管内に直径約 5 mm の子宮内視鏡を用い LPS ないしは細菌を直接投与) を使用し、LF を同様の方法で頸管内に投与することで LF 非投与群と比較し、妊娠期間を有意に延長させ、児の生存率を有意に上昇させた。更に母体血、羊水、胎児血中の炎症性サイトカインの産生を抑制したこと (早産を有意に抑制)。(*Am J Obstet Gynecol*, 2005、他)
- 8) ラビット早産動物モデルと同様に、LPS を腔錠として投与して作成した子宮頸管熟化モデルを使用し、LF が Urinary trypsin inhibitor (UTI) と同様な頸管熟化抑制効果を有すること。(*Arch Gynecol Obstet*, 2006)
- 9) 上記の頸管熟化抑制効果は matrix metalloproteinase (MMP) の発現抑制を介していること。(*Int J Gynecol Obstet*, 2006) (以上、学会発表および学術誌投稿済)

産婦人科領域以外では LF を用いたヒトに対する臨床応用としては C 型肝炎の治療、hericobacter *piroli* の発育抑制による十二指腸潰瘍治療、シェーグレン症候群に対して診断及び治療薬としての可能性等様々な報告されている。しかしながら、我々の今回の研究の様に、LF などの Prebiotics などを用いて産婦人科学的観点から早産の予防を目的とした系統的な研究は過去において国内外において全く見られない。

本研究により、新たな視点から子宮内感染・早産・preterm PROM の発来機序や防御機構の一端が明らかになり、早産予防という目標を達成することにより脳障害などの心身障害を減少させることが可能となる。更には周産期医療水準の向上・周産期医療費 (特に新生児・未熟児医療費) 上昇の抑制に貢献し得ることと考えられる。今後、周産期領域において、LF

投与による早産防止・治療への臨床応用への道が開かれることが大いに期待されると考えられる。

2. 研究の目的

ラクトフェリン: Lactoferrin (LF) はヒト乳汁中や好中球に多量に含有される糖蛋白で、人体内に存在するPrebiotics(Natural Antibiotics)の一つである。LFは、抗菌・抗炎症性サイトカイン作用を有するが、*Lactobacillus*の発育を抑制しない。また、LFはUrinary Trypsin Inhibitor(UTI)とは異なり副作用がほぼ皆無であり安全性が極めて高い。上記の観点に立ち、我々はLFが早産予防に効果的な薬剤となる可能性が高いと考え、現在までに、LFの周産期領域における早産予防薬としての有用性を検討し報告してきた。本研究では今までの実績を踏まえて、特にLF錠をヒトに使用し、早産の予防・治療への応用及び予防の可能性、ヒトでの有用性ならびに安全性を検討し、ヒトでの有効性の機序を再確認する。

3. 研究の方法

ヒトへの投与(医の倫理委員会承認済み)

産婦人科領域において難治性膣炎、頸管炎と診断され、従来の治法で症状の顕著な改善が認められない症例に対して、ラクトフェリン錠腔内投与を行うことによりそれら症状に改善効果が認められるか否かを検討する。さらに、ラクトフェリン錠腔内投与による副作用等安全性についても有効性と同様に比較する。

4. 研究成果

我々の今までの研究結果から、LFの投与が膣炎や頸管炎の治療に有効であり、さらには子宮内感染による脳障害の発生抑制効果を有する可能性が十分に示唆されていた。これらをふまえて、LF錠のヒトへの投与を行い、子宮頸管炎ないしは膣炎治療薬、ひいては早産予防薬としての臨床応用の可能性を更に具体的に検討した。尚、ヒトへの投与については当該施設の医の倫理委員会の承認を既に得ており、本研究費申請時で8例のヒトへの投与が終了している。一部は学会発表および学術誌への投稿を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8件)

1. Otsuki K, Imai N. Effects of lactoferrin in 6 patients with refractory bacterial vaginosis.

Biochem Cell Biol. 2017

Feb;95(1):31-33. [査読有り]

2. Otsuki K, Nakai A, Matsuda Y, Shinozuka N, Kawabata I, Makino Y, Kamei Y, Iwashita M, Okai T. Randomized trial of ultrasound-indicated cerclage in singleton women without lower genital tract inflammation. J Obstet Gynaecol Res. 2016

Feb;42(2):148-57[査読有り]

3. Otsuki K, Tokunaka M, Oba T, Nakamura M, Shirato N, Okai T. Administration of oral and vaginal prebiotic lactoferrin for a woman with a refractory vaginitis recurring preterm delivery: appearance of lactobacillus in vaginal flora followed by term delivery. J Obstet Gynaecol Res. 2014 Feb;40(2):583-5. [査読有り]

4. 【感染症診療 update】(11章)主要な臓器感染症 産科感染症 絨毛膜羊膜炎. 大槻克文. 日本医師会雑誌 143, S236-S239(2014) [査読無し]

5. 【管理法はどう変わったか?:温故知新 産科編】頸管無力症. 大槻 克文, 神保 正利, 太田 創. 周産期医学 44 巻 3 号 Page331-336(2014) [査読無し]

6. 【読み方がわかる!説明できる!産科の臨床検査デクショナリー これさえあれば妊婦健診で困らない! エコーもCTGも】(第1章)妊娠中の基本検査を理解しよう! 細菌関連検査 膣分泌物培養検査. 折坂勝, 大槻克文. ペリネイタル ケア 2014 新春増刊 Page060-063(2014) [査読無し]

7. 【新たな早産予防戦略】歯周病と早産. 小出容子, 大槻克文, 山本松男, 関沢明彦. 産科と婦人科 81 巻 1 号 Page51-54(2014) [査読無し]

8. 【新たな早産予防戦略】頸管長と早産. 大槻克文. 産科と婦人科 81 巻 1 号 Page39-45(2014)[査読無し]

[学会発表](計 19件)

1. 早産予防の問題点と今後の展開 ~最新の知見から~ 大槻克文 第5回多摩周産期研究会学術講演会 立川グランドホテル(2017.2.23)

2. 『早産予防のUp to date』 大槻克文 江戸川区産婦人科医会講演会 於: 江戸川区医師会館、東京都江戸川区、(2016.6.8.)

3. 難治性膣炎により早産を繰り返す症例に対して、腔内環境改善を目指したラクトフェリンによる早産予防の試み 大槻克文 第90回日本感染症学会学術集会 仙台 (2016.4.)

4. 子宮頸部円錐切除術後に流早産を繰

り返す難治性細菌性膣症に対するラクトフェリン内服の効果 今井紀昭, 大槻克文, 高橋 司, 長谷川祐子, 熊谷祐作, 吉田瑤子, 末永香緒里, 葛西 亜希子, 葛西剛一郎, 小泉俊光, 会田 剛史, 河野順子 日本産科婦人科学会第 68 回学術講演会 東京・(2016・4.)

5. 『早産予防対策 Up to Date』 大槻克文 第 226 回 三水会 於: 城山観光ホテル 鹿児島市 (2016.2.23)

6. 『早産予防対策 Up To date』 大槻克文 Ob-Repro ネットワーク研究会 於: ホテル ニューオータニ ガーデンコート、東京都、港区(2016.2.4.)

7. 「日本早産予防研究会が主導した多施設共同研究ランダム化比較試験の報告『頸管長短縮例に対する頸管縫縮術の有効性の検証』および『頸管長短縮例に対するウリナスタチン膣内投与の有効性の検証』」 大槻克文 第 9 回日本早産予防研究会学術集会 (於: 順天堂大学医学部附属順天堂医院 D 棟 7 階会議室) (2015.11.14)

8. Otsuki K, Imai N, Oba T. Efficacy of Lactoferrin in Patients with Refractory Bacterial Vaginosis. XII th International Conference on Lactoferrin, (2015.11.2-7.) Nagoya,

9. 「切迫早産研究 Up To Date」 第 18 回ゆずの木周産期病診連携セミナー 大槻克文 (於: 坂戸グランドホテル WIN) (2015.7.6)

10. 「早産管理の変遷とこれからの展望」 大槻克文 第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会ランチョンセミナー (於: パシフィコ横浜) (2015.4.12)

11. 切迫早産予知のための管理と考え方. 大槻克文. 第 2 回江東豊洲産婦人科懇話会 東京 江東区 (2014.12)

12. 本邦における早産予防対策の現状と今後の方策. 大槻克文. 江戸川区産婦人科医会 東京 江戸川区医師会館 (2014.09)

13. 早産ハイリスク症例に対する膣内環境改善を目指したラクトフェリン (LF) による早産予防の試み. 大場智洋, 大槻克文, 仲村将光, 長谷川潤一, 関沢明彦. 第 31 回日本産婦人科感染症研究会学術集会 神戸 (2014.06)

14. 早産ハイリスク症例に対する膣内環境改善を目指したラクトフェリン (LF) による早産予防の試み. 大槻克文. JAPAN2014(第 12 回ヘルスフードエキスポ) 日本ラクトフェリン学会セミナー 東京ビッグサイト (2014.05)

15. 本邦の周産期センターにおける早産予防管理の多様性と問題点. 大場智洋, 大槻克文, 徳中真由美, 長谷川潤一, 松岡隆, 市塚清健, 関沢明彦. 日本産科婦人科学会第 66 回学術集会 (2014.04)

16. ラクトフェリンによる早産抑制効果について. 大槻克文. 第 4 回臨床ラクトフェリンシンポジウム 東京 (2014.03)

17. Oba T, Otsuki K, Tokunaka M, Sekizawa A. Efficacy of Lactoferrin in patients with multiple episodes of recurrent pregnancy loss caused by refractory bacterial vaginosis. XIth International Conference on Lactoferrin., Rome, Italy (2013.10.)

18. 昭和大学病院総合周産期母子医療センターにおける早産と歯周病罹患状態との関連性の調査 小出容子(昭和大学 歯学部歯周病学講座), 大槻克文, 岡井崇, 山本松男 日本歯科医学会 平成 25 年度学術講演会 秋田 (2013.9.)

19. 妊娠初期母体血液中の非炎症性サイトカインによる切迫早産の予知 徳中真由美(昭和大学), 大槻克文, 大場智洋, 岡井崇 第 65 回日本産科婦人科学会学術講演会 札幌 (2013.5.)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大槻克文 (OTSUKI, Katsufumi)

昭和大学・医学部・准教授

研究者番号: 90276527

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：

(4) 研究協力者
今井紀昭 (IMAI, Noriaki)
八戸市立市民病院部長
研究者番号：60531332