令和２年度 学内研究助成金 研究報告書

研　究　種　目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21 世紀研究開発奨励金 （共同研究助成金）	□21 世紀教育開発奨励金 （教育推進研究助成金）
研 究 課 題 名	分娩前の膣および口腔内細菌叢と臍帯血内細菌の相関に関する研究	
研究者所属・氏名	研究代表者：葉　　宜慧（医学部） 共同研究者：なし	

１．研究目的･内容

絨毛膜羊膜炎は早産や児の予後不良をもたらす主要な原因であるが、その原因菌を同定するのは困難であり、まだ十分に解析が行われていない。
我々は、以前より、細菌性腟症と早産の関連について研究を行ってきたが、嫌気性菌などの腟内の難培養細菌の上行性感染による絨毛膜羊膜こそが、早産の原因であると考えている。最近、腟内細菌叢のメタゲノム解析を行い、早産との関連を調べた大規模な研究も行われており、腟内の乳酸桿菌減少および、これまで認識されていなかった多種類の嫌気性菌の増加が早産と関連していることが示されたが、実際に子宮内に感染し、増殖している細菌の種類や絨毛膜羊膜炎の病理組織学的所見と、その胎盤における細菌の種類の関連については、まったく報告がない。
また、近年、歯周病は、慢性疾患との関係が注目されているが、全身性炎症反応により切迫早産と関連するという報告がある。しかし、その原因菌の種類や臍帯血中の細菌との関連は明らかになっていない。臍帯血中の細菌は絨毛膜にも存在するため本研究は、絨毛膜羊膜の胎盤のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)標本のマイクロバイオームのメタゲノム解析を行うことで、どのような菌が実際に絨毛膜羊膜炎を引き起こしたかを明らかにし、児の予後不良となる菌を同定することを明らかにすることを目的とした。

２．研究経過及び成果

当院で管理し早産した妊婦で、口腔内細菌と腟内細菌と分娩時の臍帯血を採取し、マイクロバイオーム解析を行い、どの菌が胎内感染しやすいかを検討することを前向き研究として、予備実験として開始したが、3 症例の全てが negative data であった。そのため絨毛膜羊膜の診断に至った胎盤（FFPE)標本のマイクロバイオームのメタゲノム解析を後方視的研究することとした。
当院で分娩管理し早産した妊婦のうち、病理組織学的に絨毛膜羊膜炎を実際に生じている胎盤(n=5)と、コントロール群として絨毛膜羊膜炎ではなく妊娠高血圧腎症であった胎盤(n=5)の FFPE 標本から DNA を抽出し、メタゲノム解析を行った。その結果、絨毛膜羊膜炎を生じた胎盤のうち４例で、増加して感染症を引き起こしていると考えられる計５種類の細菌を同定することができた。なおその４例において、分娩前の腟分泌物や出生児の鼻腔培養において、それらの細菌は検出されていなかった。文献検索すると、症例１で検出されていた *Serratia marcescens* による絨毛膜羊膜炎はこれまで世界で５例の報告がある。このように、本方法によって、日常診療で用いられる腟内細菌培養検査では必ずしも同定できない、絨毛膜羊膜炎の原因となった細菌を同定できることを見出した。

３．本研究と関連した今後の研究計画

本研究により、我々は、絨毛膜羊膜炎を生じた胎盤のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)標本を用いて、胎盤のメタゲノム解析を行うことで胎盤に特異的に増殖している病原細菌を同定できることを見出した。
さらに今後の研究計画としては、症例を集積していくことで、FFPE 標本を用いることによって、重症例や児の予後不良例など解析を行うべき検体を、十分に選別して解析することが可能であると考えられる。本研究により、真に臨床上重要視すべき子宮内感染の原因菌が明らかになり、周産期における、適切な抗生剤投与の指針や臨床におけるメタゲノム解析の有用性が明らかになると期待される。

４．成果の発表等

発　表　機　関　名	種類（著書・雑誌・口頭）	発表年月日(予定を含む)
なし		