

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 秋山鹿子

主論文 1編

Molecular detection of microbial colonization in cervical mucus of women with and without endometriosis

American Journal of Reproductive Immunology 82(2): e13147, 2019 doi: 10.1111/aji.13147

審査結果の要旨

子宮内膜症は、子宮内腔以外の部位で子宮内膜様組織が存在、増殖することを特徴とする慢性炎症性疾患で、quality of life の著しい低下を招く疾患である。発生原因は未だ明らかにされていない。近年、子宮内膜症が子宮内腔の細菌感染と関連があるとの報告がある。培養の手法によって子宮内膜症患者の月経血中に大腸菌が有意に高く検出され、その外毒素である lipopolysaccharide (LPS) が月経血中にも腹水中にも内膜症で高濃度に検出されることから、LPS が toll like receptor 4 を介して自然免疫を惹起させ、炎症反応を起こすことが子宮内膜症の発症原因の引き金である、という“bacterial contamination hypothesis”である。この細菌の流入経路として、子宮頸管を通じた腔内細菌の逆行性感染が重要と考えられるが、子宮頸管内の細菌叢についての報告は少なく、子宮内膜症患者の子宮頸管内細菌についての報告は未だない。申請者らは次世代シーケンサー(NGS)を用いて、子宮頸管粘液中の細菌叢を網羅的に解析し、子宮内膜症患者と対照群を比較することで、子宮内膜症の病態生理に関わる可能性がある細菌を同定することを目的とした。子宮内膜症群 30 例、対照群 39 例の子宮頸管粘液を産婦人科外来受診者から採取し、それぞれの検体から細菌 DNA を抽出し、NGS 解析を行い、その抽出した結果を確認する目的で特異的 primer を用いた real time PCR 解析を行った。また、視覚的に細菌の存在を確認する目的でグラム染色も併せて行った。

患者背景に月経痛の有無の他は両群間に差は認めなかった。子宮頸管粘液のグラム染色では両群とも多彩な細菌が視覚的に確認でき、子宮頸管粘液細菌叢は腔内細菌叢のように一定のものではなく、個人差を認めた。属レベルでの NGS 解析では子宮頸管粘液の細菌叢には個人差を多く認め、両群とも *Lactobacillus* が最も多く検出されたが、他にも多彩な細菌を認めた。 β 多様性解析での細菌叢比較では、両群間に特有な細菌叢は認めなかった。 α 多様性解析では子宮内膜症群では対照群より多様性指数が有意に高かったため個々の細菌属の存在率を比較した。*Lactobacillus*, *Prevotella*, *Gardnerella* は両群間で有意差は認めなかった。子宮内膜症群で 1% 以上存在し、対照群よりも有意に多く検出される細菌属を抽出すると、*Corynebacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* が該当し、さらなる解析の候補とした。対照群で検出しなかった割合が多数をしめた *Streptococcus* も候補に含めた。これら 5 細菌属を定量的に解析し、*Enterobacteriaceae* と *Streptococcus* は子宮内膜症群に有意に高く検出された。全細菌数の指標である 16S rRNA の定量解析では両群間に有意差は認めなかった。

これらの所見より、子宮内膜症患者の子宮頸管粘液中では対照群と比較して、*Enterobacteriaceae* と *Streptococcus* が増加しており、これらの細菌属が子宮内膜症の病態生理に関与する可能性が示唆された。また、既報と比較して属レベルまで細菌の特定範囲を狭めることができた。以上が論文の要旨であるが、子宮内膜症と細菌感染との関連の可能性を示した点で医学的価値のある研究と認める。

令和 元年 9 月 19 日

審査委員 教授 八木田和弘 ㊦

審査委員 教授 松田修 ㊦

審査委員 教授 福井道明 ㊦