

マクロバイオーム解析による絨毛膜

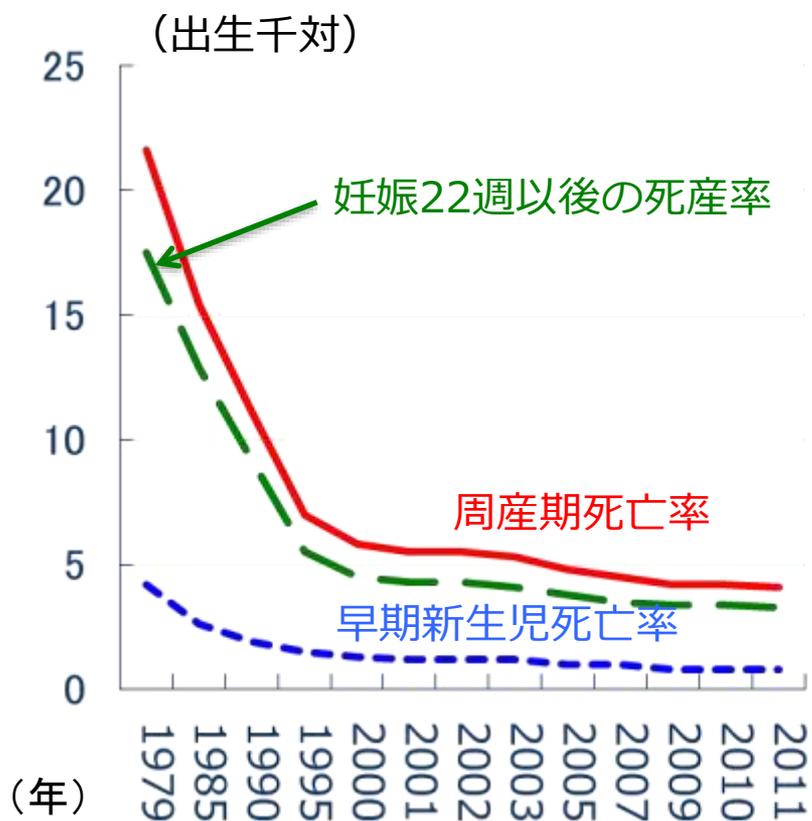
羊膜炎診断検査法の開発

福岡大学・医学部・産婦人科

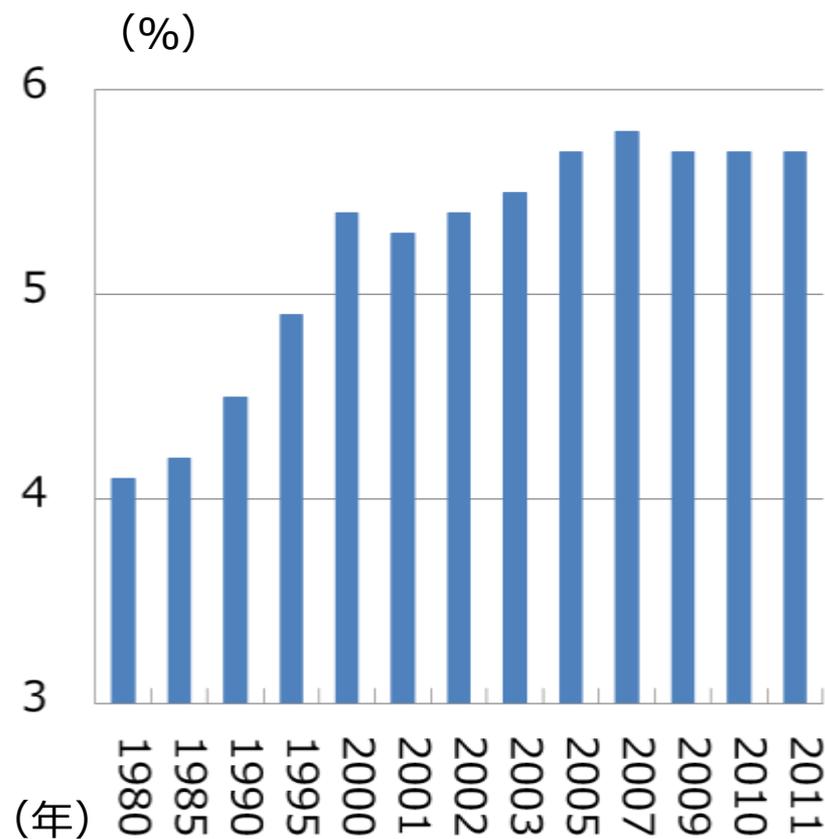
宮本新吾・漆山大知

本邦における周産期死亡率および早産の背景

周産期死亡率



早産率



母子保健の主なる統計、2012より

目 的

羊水感染から胎児・新生児を救命する

1. 羊水の網羅的かつ**定量的**な細菌組成解析を行い、**子宮内感染例の羊水細菌組成を同定**すること。
2. **羊水の細菌組成で絨毛膜羊膜炎を診断可能か**
否かを検証すること。

対象

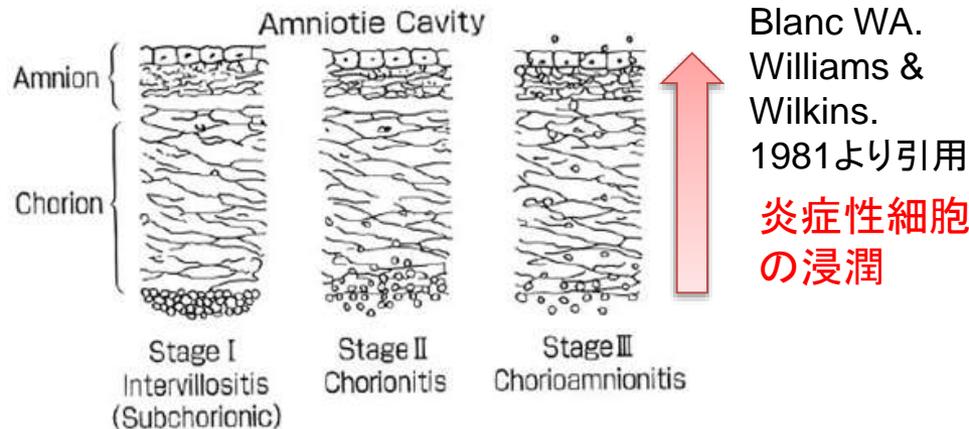
- 福岡大学病院で2009年12月からの5年間に、羊水検査と胎盤病理検査を施行した41例(早産38例, 正常産3例)を対象とした
- 絨毛膜羊膜炎の重症度分類(Blanc分類)に基づいて各群に分け、コントロール羊水として妊娠初期に得られた羊水19検体, 実験ネガティブコントロールとしてDNA抽出時とライブラリー作製時にBlank(精製水)を置いた

<絨毛膜羊膜炎の重症度分類(Blanc分類)>

Stage III (Chorioamnionitis) : 羊膜まで炎症が波及

Stage II (Chorionitis) : 絨毛膜まで波及

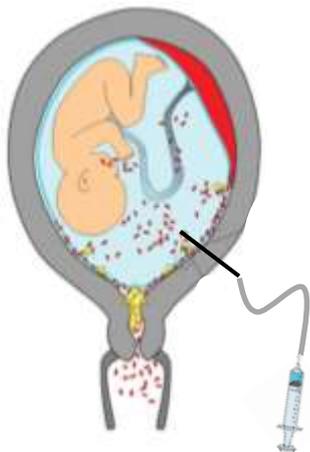
Stage I (Subchorionitis) : 絨毛膜下にとどまる



各群における胎盤の組織学的分類とコントロールの内訳

グループ名	サンプル名	胎盤の組織学的診断
Chorioamnionitis (CA)	1-12	Stage III
Chorionitis (C)	13-29	Stage II
Non-Chorionitis (Non-CA)	30-41	Stage <II
1 st Trimester AF (1st-AF)	42-60	
Blank Control (Blank)	N1-11	

次世代シーケンサーを用いた網羅的細菌叢解析の方法

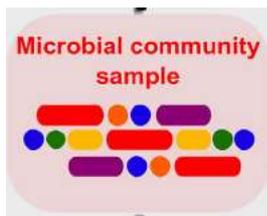


Mi Jeong Kimら, 2009と
Morgan XCら2012より
引用改変

無菌的に
羊水穿刺



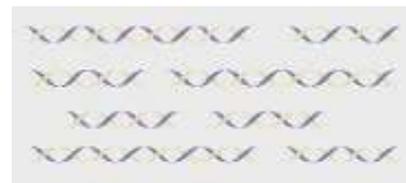
羊水検体
(多種の細菌が存在)



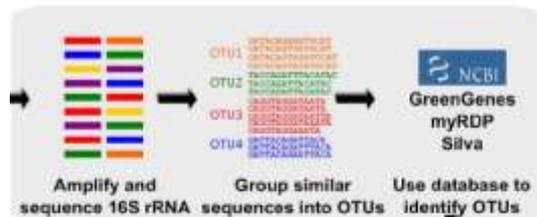
溶菌
DNA抽出



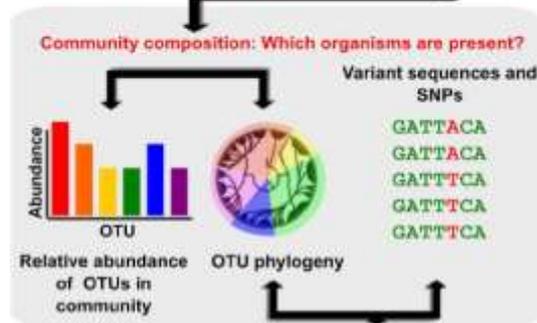
DNAサンプル
(細菌由来とヒト由来が混在)



16S rDNA amplicon sequence
(全細菌由来DNAが解析対象)



解析



培養できない微量な死
菌も解析可能
(網羅的かつ半定量的)

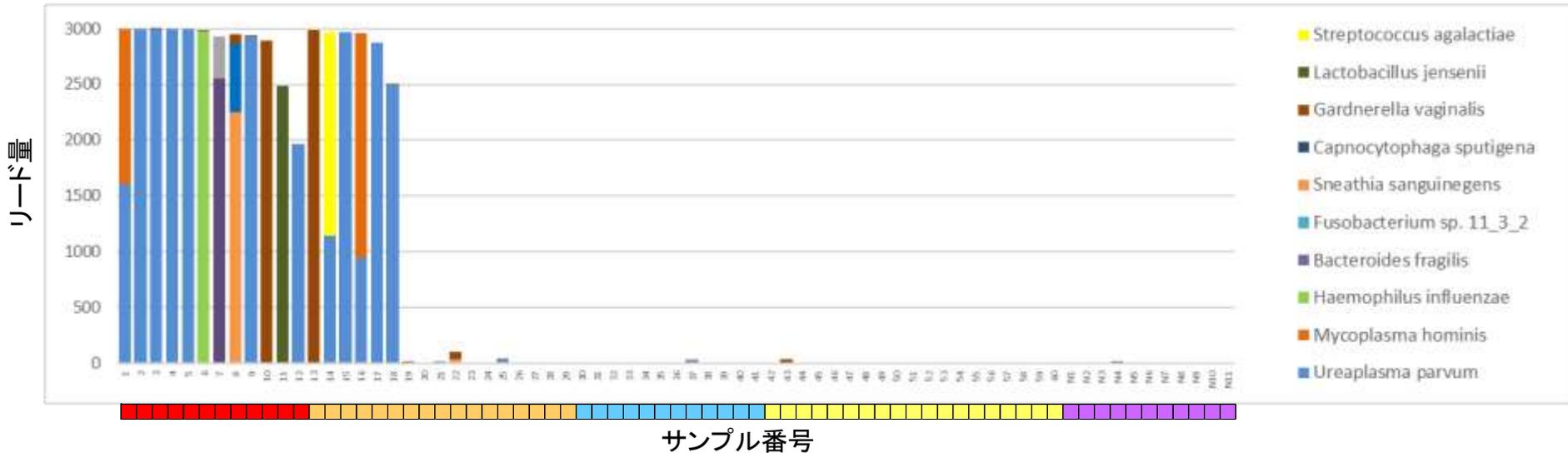
次世代シーケンサーMiSeq®を
利用することで96サンプル同時に
解析可能

羊水感染群に特異的に検出される菌の絞り込み

【目的】 羊水感染群で特徴的な細菌組成を引き起こした菌種の同定

【方法】 羊水感染群で10%(300リード)以上, コントロール群 (Non-C群, 1st.AF群, Blank群) で0.5% (15リード) 未満のOTU (菌種に相当) を同定した

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>Ureaplasma parvum</i>	1608	2997	2997	2994	2992	0	0	1	2929	1	0	1967	2	1144	2970	946	2873	2499
<i>Mycoplasma hominis</i>	1390	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2010	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	0	0	2980	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides fragilis</i>	0	0	0	0	0	0	2555	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fusobacterium sp. 11_3_2</i>	0	0	0	0	0	0	372	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sneathia sanguinegens</i>	0	0	0	0	0	0	0	2250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	0	0	0	0	0	0	0	614	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0	0	1	0	0	1	0	85	1	2894	0	0	2987	0	0	0	0	1
<i>Lactobacillus jensenii</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2487	0	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1828	0	0	0	0



羊水感染群でdominantだった10 OTUのリード量

羊水感染群でdominant (優勢) であったOTUを特定し, 9菌種を同定した

絨毛膜羊膜炎(Stage III)の予測精度

	羊水感染 (+)	羊水感染 (-)	計
Stage III	12	0	12
Stage ≤II	6	23	29
計	18	23	41

感度 : 100% (12/12)

特異度 : 79% (23/29)

陽性的中率 : 67% (12/18)

陰性的中率 : 100% (23/23)

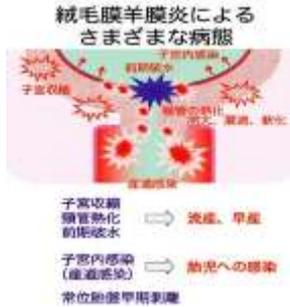
従来法※との比較

	感度	特異度
グラム染色	24 %	99 %
羊水中白血球数	57 %	78 %
羊水中糖	57 %	74 %
IL-6	81 %	75 %
本研究のメタ16S解析	100 %	79 %

※Romero R, et al.
Am J Obstet Gynecol
1993;169(4):839-51.

- 網羅的かつ定量的解析により、高い精度で子宮内感染を予測できる可能性が示唆された。
- 羊水感染群でdominantに検出される菌種をマーカーとして、簡便に検出することの有益性が示唆された

子宮内感染



起炎菌の同定

子宮内感染の予測

特異的miR
羊水中の宿主反応

Digital PCR


選択的
抗生物質投与

腔内細菌叢解析

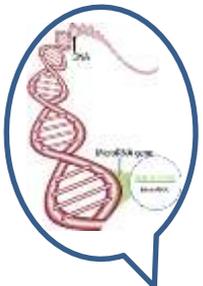
腔内細菌叢
Quorum Sensing

迅速NRS


経母体診断法の開発

分娩継続の診断の可能性

腸内細菌叢治療



社会的効果



少子化対策

社会進出促進

未熟児関連疾患撲滅



お問い合わせ先

福岡大学 研究推進部 産学官連携センター
担当コーディネーター
芳賀 慶一郎

TEL: 092-871-6631 (内線2809)

FAX: 092-866-2308

E-mail: sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp