

論文の内容の要旨

論文題目 オメガ 3 脂肪酸の最終代謝産物であるレゾルビン E3 とその前駆物質

18-Hydroxyeicosapentaenoic acid による早産予防と炎症制御メカニズムに関する研究

氏名 井上恵莉

早産の背景因子は多彩であるが、最終的には子宮-胎盤系における炎症状態の惹起、プロスタグランジン産生の亢進に伴い子宮頸管の熟化と開大、子宮筋の収縮を生じて分娩にいたるという共通のカスケードにより進行する。この過程の抑止が早産防止のための重要な治療標的である。

オメガ 3 脂肪酸代謝産物は、オメガ 6 脂肪酸代謝産物による炎症誘導作用に対する生理的な抑制機構としての機能を有することが明らかとなっており、妊婦を対象にした疫学研究において、オメガ 3 脂肪酸の早産防止効果に関する報告が散見されている。しかし、オメガ 3 脂肪酸の早産防止の機序に関する解明は進んでいなかった。

過去の研究によりオメガ 3 脂肪酸優位な内部環境を有する fat-1 トランスジェニックマウスで LPS 誘発性の早産が減少することが示されているが、多くの種類のオメガ 3 脂肪酸代謝産物の中でどの物質が早産抑止の鍵を握っているかは解明されていなかった。過去の報告では fat-1 マウスと WT との比較において LPS 投与で生じる炎症状態下では 18-HEPE の産生量の違いが顕著であった。さらに、18-HEPE の代謝産物である RevE3 投与による WT マウスの早産予防が示唆されており、18-HEPE 代謝経路が

早産抑止の鍵を握る物質であると予想されていた。しかし、その分子生物学的機序は未解明である。そこで本研究では、オメガ3脂肪酸代謝産物の一つである18-HEPEと、それを前駆体として産生される RevE3 に着目して、以下の項目に焦点を当ててオメガ3脂肪酸代謝産物による早産抑制の機序の解析を行うことを目的とした。

1)18-HEPE、RevE3 による LPS 誘導性早産予防

LPS を経膈投与する炎症性早産マウスモデルを使用した。早産発生率、早産胎児率は、18-HEPE、RevE3 投与群でいずれもコントロールに比べて有意に低い結果であった。18-HEPE は LPS 誘導性早産を抑制し、さらにその抑制効果は 18-HEPE の最終代謝産物の一つである RevE3 の投与においても示された。

2) 18-HEPE、RevE3 の投与による LPS による炎症性サイトカイン誘導に対する変化

早産の進行過程では種々の要因により子宮―胎盤系に炎症が生じてサイトカインやケモカインの発現誘導、炎症性プロスタグランジンが上昇する。LPS 誘導性早産モデルにおいても、サイトカイン、ケモカインの発現が早産発生の背景機序となっていることは報告されてきた。そこで、18-HEPE、RevE3 による早産抑制とそれらの炎症性メディエーターの関連について検討を行った。18-HEPE あるいは RevE3 を投与した妊娠マウスに対して、LPS 投与 2 時間後時点での、胎盤、子宮体部、子宮頸部、脾臓のサイトカイン、ケモカインの mRNA 発現レベルを real-time PCR 法により比較した。

18-HEPE では胎盤内、RevE3 では胎盤、子宮体部において LPS 刺激に伴うサイト

カイン、ケモカインの発現誘導を抑制することを示した。

3) LPS 投与による胎盤組織障害に対する 18-HEPE、RevE3 投与の影響

LPS の刺激は子宮胎盤系の炎症に伴う胎盤組織障害を生じ、それに伴う胎盤の機能破綻により早産を誘発する。そこで、18-HEPE あるいは RevE3 を投与した妊娠マウスに対し、LPS 投与の 2 時間後時点で胎盤を摘出し、HE 染色を行い、胎盤の組織学的変化について観察した。コントロール群では、LPS 投与後の胎盤内で spongiotrophoblast 層に壊死性変化や出血を認めた。また、labyrinth 層が萎縮して菲薄化したが、spongiotrophoblast 層は壊死、出血部分を内包して肥厚していた。一方で 18-HEPE 投与群、RevE3 群では、spongiotrophoblast 層の構造は保たれており、壊死や出血を認めなかった。胎盤内の変化の定量的評価のため、各層の面積を比較したところ、18-HEPE 投与群、RevE3 投与群ではコントロール群に比べ、spongiotrophoblast 領域が狭く、これは 18-HEPE 投与群では有意な違いであった。labyrinth 層については 18-HEPE 投与群、RevE3 投与群のいずれにおいても有意にコントロール群よりも広がった。

4) RevE3 投与による早産予防に黄体形成機序は関与しない。

マウスの妊娠維持には卵巢内の妊娠黄体から産生されるプロゲステロンが必須であり、正常な妊娠では妊娠末期に黄体が自然退縮し、分娩が発来する。本研究における早産モデルと妊娠黄体の関係について調べるため、LPS 投与後の卵巢の組織学的

検討を行った。LPS 刺激したコントロール群と RevE3 投与群の間に卵巣黄体の組織学的変化はなく本研究のモデルにおける RevE3 による早産率の低下に卵巣黄体に関連する機序の存在は否定的であった。

本研究では、オメガ 3 脂肪酸の代謝産物である 18-HEPE と RevE3 の投与は LPS 誘発性早産を抑制することを示した。そして、18-HEPE では胎盤内、RevE3 では胎盤、子宮体部において LPS 刺激に伴うサイトカイン、ケモカインの発現誘導が抑制されていることが示された。また、LPS 投与後に生じる胎盤内 spongiotrophoblast 層での壊死性変化や出血に関して、18-HEPE と RevE3 のそれぞれの投与がそれを抑制することが明らかとなった。そして、その早産抑制に黄体形成機序は関与しないことが示された。早産発生に先行する背景機序である炎症に対し直接働きかける作用を有する薬剤の使用により、より早い段階での病態進行を阻止する治療的アプローチが望まれている。その意味で、本研究において早産抑止効果が確認された 18-HEPE およびその代謝産物の RevE3 は抗炎症作用を有する新規の早産治療薬のターゲットとなりうる。また、さらに 18-HEPE と RevE3 はオメガ 3 脂肪酸に由来する生理的物質であるという点において、現在臨床で使用されている子宮収縮抑制薬と比較して母体、胎児への副作用の少ない早産予防薬、治療薬として応用が期待される。