審査の結果の要旨

氏名　須江　英子

本研究では NLRP3 インフラマソームが妊娠高血圧症候群の病態、特に本症の病因の主座である胎児・母体境界面の炎症に関連するかどうかを知るために、特に胎児・母体境界面における免疫担当細胞の中で最も割合が高く、また自然免疫の主たる役割を担う脱落膜マクロファージ、並びに、各種パターン認識受容体を発現し、自然免疫に関与していることが知られる絨毛細胞に着目し、研究を行っている。さらに妊娠高血圧症候群の治療や予防という観点から、NLRP3 インフラマソームを制御する可能性のある因子、かつ妊娠中にも比較的安心して投与できる因子として、食品化合物に着目し、なかでもオメガ３脂肪酸とレスベラトロールの NLRP3 インフラマソームの抑制効果について検討している。以下のような知見を得ている。

１．　脱落膜マクロファージで NLRP3 インフラマソームが機能するかを検証するために、胎盤マクロファージに NLRP3 インフラマソームを刺激することが知られる LPS 前処置後のニゲリシンの投与を行い、NLRP3 の刺激によって分泌される代表的な因子である IL-1β ならびに IL-18 の濃度を ELISA 法で測定した。その結果、LPS 単独群、ニゲリシン単独群と比較して LPS 前処置をおこなったニゲリシン群では IL-1β・IL-18 分泌が有意に増加した。脱落膜マクロファージにおける NLRP3 インフラマソームの存在を示唆した。
２．　オメガ３脂肪酸が NLRP3 インフラマソームを抑制するかを検証するために、１．の実験系に EPA もしくは DHA を添加すると、IL-1β、IL-18 分泌は抑制された。一方、Caspase-1 の分泌は統計学的有意ではないが増加する傾向にあり、その群にオメガ脂肪酸を添加すると Caspase-1 の分泌は減少した。オメガ３脂肪酸は脱落膜マクロファージの NLRP3 インフラマソームを抑制することが示された。
３．　ATP が脱落膜マクロファージの NLRP3 インフラマソームを活性化させるかの検証とオメガ３脂肪酸によるその抑制の検証をおこない、NLRP3 インフラマソームを活性化することが知られている ATP を LPS 前処置後に脱落膜マクロファージに添加し、ニゲリシンと同様に NLRP3 インフラマソームを刺激するかを確認したところ、IL-1β, IL-18, Caspase-1 の分泌すべてが ATP の添加によって有意に増加した。この系に EPA もしくは DHA を添加すると、IL-1β、IL-18、Caspase-1 の分泌は低下した。脱落膜マクロファージを LPS および ATP で刺激しても IL-1β および IL-18 分泌は増加し、その増加はオメガ３脂肪酸添加により抑制されることが示唆された。
４．　同様の系へのレスベラトロールの影響を検討した。LPS で前処置をおこなった脱落膜マクロファージにニゲリシンで刺激をする前にレスベラトロールを添加すると、IL-1β、IL-18、Caspase-1 の分泌は全て統計学的有意に低下し、また、ATP による刺激系に変更しても、レスベラトロールによる NLRP3 インフラマソームを抑制する結果が得られた。レスベラトロールは脱落膜マクロファージにおいて NLRP3 インフラマソームを抑制することが示唆された。
５．　尿酸が脱落膜マクロファージの NLRP3 インフラマソームを活性化させるかの検証とレスベラトロールによるその抑制の検証をおこなった。尿酸ナトリウム（MSU）を LPS 前処置後に脱落膜マクロファージに添加し、LPS 前処置後に MSU を添加すると、IL-1β の分泌は有意に増加し、次にこの系にレスベラトロールを添加すると、IL-1β の分泌が抑制された。
６．　絨毛不死化細胞である Swan71 細胞で MSU によって NLRP３インフラマソームが刺激されるかを確認した。MSU 添加により IL-1β分泌は有意に増加し、その系にレスベラトロールを添加したところ、IL-1β 分泌は抑制された。Caspase-1 分泌は MSU 添加により増加しなかったが、レスベラトロールの添加により抑制された。

以上、本論文では、妊娠高血圧症候群の病巣の主座である、胎児・母体境界面に存在する脱落膜マクロファージもしくは絨毛細胞の NLRP3 が、ATP や尿酸といった妊娠高血圧症候群で血中濃度が上

昇する因子を認識し、 インフラマソームを介して IL-1 ファミリーといった液性因子を分泌、母体の循環に放出させることで、本症の病態の増悪、負のカスケードの一部を担っていると考えられた。さらにこのシステムがオメガ３脂肪酸やレスベラトロールで抑制されることを示し、これらの食品由来化合物がこの増悪を抑制する可能性、これまで臨床的に報告されてきたこれらの化合物の本症発症抑制効果の機序を説明する可能性、が示唆された。これらの知見は本症の病態解明、新規予防法の開発に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。