

[過程-2]

審査の結果の要旨

氏名 山下 亜紀

本研究は、抗炎症作用で知られる ω 3脂肪酸の早産予防効果とその機序を明らかにし、新規の早産予防薬を探るため、 ω 3脂肪酸を内因性に高発現する fat-1 トランスジェニックマウスを用い、早産モデルを作成し、脂肪酸代謝物の網羅的解析により同定された脂肪酸代謝物を前駆体とする活性代謝物レゾルビン E3(RvE3)の直接的早産予防効果を検証し、下記の結果を得ている。

1. 妊娠 15 日目に経腔的に子宮頸部へ大腸菌リポ多糖(LPS)を局注し、早産を誘発するモデルを作成した。fat-1 マウスとその同系野生型マウス(WT)にそのモデルを適用し、早産率を比較したところ、fat-1 マウスでは、WT マウスに比べ、有意に早産率が低かった。 ω 3脂肪酸が体内に豊富にあることで炎症性早産が有意に抑制されることが示された。
2. LPS 局注後、早産が起こる前の fat-1、WT それぞれの子宮における IL-6、IL-1 β 、TNF- α の炎症性サイトカイン遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法によって測定し、 β -actin を内在性コントロールとして Δ CT法により解析したところ、fat-1 子宮では、WT に比べ、IL-6、IL-1 β の遺伝子発現は有意に抑えられていた。LPS 局注後の子宮頸部へのマクロファージ浸潤数を免疫組織化学法により調べ、fat-1 では WT に比べ有意に少ないということが示された。さらに fat-1 と WT の腹腔内マクロファージを単離培養し、LPS 刺激による反応を比較したところ、IL-1 β のサイトカイン遺伝子発現は、fat-1 で有意に抑制されていた。LPS 局注後の血清プロゲステロン値を ELISA 法にて測定し、卵巣妊娠黄体を HE 染色にて観察した結果、WT では、LPS 局注後、生食のみの局注後に比べ、血清プロゲステロン値が低下し、妊娠黄体の退縮が見られたのに対し、fat-1 では生食局注と LPS 局注後に有意な差は認めず、fat-1 マウスでは、LPS 局注後の妊娠黄体の退縮、血清プロゲステロン値低下が抑制されていることも示された。
3. fat-1 マウス、WT マウスの LPS 局注後と生食局注後の 4 群の妊娠子宮を回収し、LC/MS/MSによる脂肪酸代謝物の網羅的解析を行った。WT の LPS 局注群においては、アラキドン酸(AA)代謝系のプロスタグランジン E₂、F_{2 α} の上昇を認めたが、fat-1 の LPS 局注群では、それらは約 1/10 の値に抑えられていることが示された。一方、エイコサペンタンエン酸(EPA)代謝系の 18-HEPE が、fat-1/LPS 群で WT/LPS 群の約 8.5 倍に上昇していることが示された。 ω 3系と ω 6系の脂肪酸組成の違いから脂肪酸代謝物の違いが生じ、このことが ω 3脂肪酸の抗炎症機序を説明するものと考えられた。さらに 18-HEPE を前駆体としてレゾルビン E シリーズが生成されることは既に知られ

ており、積極的な炎症収束作用を持つレゾルビン¹は、早産予防薬候補として挙げられた。

4. WT の LPS 誘導炎症性早産モデルにレゾルビン E3(RvE3)を静注したところ、有意に早産が抑制されることが示された。早産が抑制されたマウスでは子宮内での胎児の viability も保たれていた。ω3 系脂肪酸である EPA から代謝生成されるレゾルビン E3 は、炎症性早産を直接的、効率的に予防する早産予防薬として期待されると考えられる。

以上、本論文は fat-1 トランスジェニックマウスを用いた早産モデルの解析により、ω3 脂肪酸が体内に豊富にあることで抗炎症作用が働き、炎症性早産が抑制されることが明らかになった。脂肪酸代謝物の網羅的解析の結果、AA 系のプロスタグランジン、EPA 系の 18-HEPE の生成に有意な差が生じており、ω3 脂肪酸の抗炎症機序、早産予防機序における重要な脂肪酸代謝物候補として同定された。また、18-HEPE を前駆体として生成される RvE3 には、直接的早産予防効果があることも示され、新規の早産予防薬としてのヒトへの応用も期待され、学位の授与に値するものと考えられる。