

31-14 ラビット早産モデルにおける Recombinant human lactoferrin の早産防止効果

昭和大学¹, 新薬開発研究所前臨床本部²長谷川明俊¹, 大槻克文¹, 佐々木康¹, 澤田真紀¹, 千葉 博¹, 長塚正晃¹, 岡井 崇¹, 加藤敦子²

【目的】Lactoferrin (LF) は、制菌・抗菌、抗炎症、免疫調節など多彩な作用を有することが報告されている。我々は前回マウス早産モデル (LPS 腹腔内投与) における LF の早産防止効果を発表したが、今回は子宮頸管内に *Escherichia coli* (*E. coli*) を直接投与することによりラビット早産モデルを作成し、Recombinant human LF (rh-LF) の早産の予防、治療への臨床応用への可能性を検討した。なお当該施設での動物実験委員会の承認を得て行った。【方法】ラビット (New Zealand White 種, 3kg) を交配させ、これらを A, B, C の3群 (各々 n=3) に分け、妊娠日令21日目に麻酔下に直径3.5mm の子宮内視鏡を用いて A 群および B 群に生食を C 群には rh-LF (5mg/body) を子宮頸管内に直接投与した。その二時間後、A 群に生食、B および C 群に *E. coli* (10^7 cfu/body) を同様に投与した。投与当日から投与後7日目まで母獣の体温、性器出血の有無、仔死亡率 (早産仔数ないしは死産仔数の総胎仔数に対する割合)、妊娠継続日数を観察した。【成績】仔死亡率はそれぞれ A 群: 0%, B 群: 42.3%, C 群: 16.0% であり、C 群は B 群と比較し有意に ($p < 0.05$) 低値を示した。妊娠継続日数は A 群: 7.0 ± 0 日, B 群: 3.6 ± 1.3 日, C 群: 4.3 ± 2.1 日であった。C 群では B 群に比べ有意差を認めないものの妊娠継続日数を延長させることが可能であった。【結論】*E. coli* 頸管内投与によるラビット早産モデルにおいて、rh-LF の頸管内投与が仔死亡率を減少させ、かつ妊娠継続日数を延長させる傾向を示したことは rh-LF が抗菌作用のみならず抗炎症作用をも有することによると考えられ、感染に起因する早産の防止に rh-LF の臨床応用の可能性が示唆された。

31-15 胎盤における iNOS 早産因子の遺伝的影響～Lipopolysaccharide (LPS) 処理による NO と PGE₂ の産生動態～

福島県立医大

高橋秀憲, 大川敏昭, 安部 宏, 橋本 敏, 藤森敬也, 柳田 薫, 佐藤 章

【目的】iNOS は子宮筋弛緩の他、炎症にも関与するが、炎症と早産への iNOS の遺伝的関与は未解明である。今回、LPS を投与した iNOS ノックアウト (iNOSKO) マウスを用い、胎盤 iNOS を母親 (maternal (m)) または父親 (paternal (p)) 由来に分類し、子宮筋と胎盤から産生される Nitric Oxide 代謝物 (NO_x) と PGE₂ 濃度を測定し、遺伝的 iNOS の関与を検討した。【方法】非妊娠 iNOSKO (iNOS^{-/-}) と C3H (iNOS^{+/+}) マウスの子宮筋 (UT) 標本と、両者を交配させた (1) iNOSKO (♂) × iNOSKO (♀); iNOS^{-/-}, (2) iNOSKO (♂) × C3H (♀); iNOS^{-/+m}, (3) C3H (♂) × KO (♀); iNOS^{+p/-} の3群を作成し、妊娠期 (14日目) の胎盤付着子宮筋 (UTpl) を摘出した。また非妊娠と妊娠期に LPS 400μg/kg を腹腔内投与した群も作成し、それぞれの標本を Krebs 液内に懸垂し、溶液中の NO_x と PGE₂ 濃度を測定した。【成績】妊娠期 UTpl の NO_x 産生量は iNOS^{+p/-} > iNOS^{-/+m} > iNOS^{-/-} の順で父親由来が多く、LPS 処理すると母親由来である iNOS^{-/+m} が最も NO_x を産生させた。妊娠期 UTpl の PGE₂ 量は3群とも差を認めず、LPS 処理にて3群共に有意に上昇した。非妊娠の C3H と iNOSKO マウスの UT では、LPS 処理にて両者共 NO_x と PGE₂ が有意に上昇した。【結論】(1) 胎盤での子宮筋弛緩に関与する生理的な iNOS は父親由来だが、炎症の病態に作用する iNOS は母親由来であり、母親からの早産因子遺伝が示唆された。(2) 妊娠子宮筋は非妊娠子宮筋に比較し、炎症による NO 産生反応が減弱しており、早産の防御反応と考えられた。(3) PGE₂ 産生に iNOS は介さない事から、種々の独立した要因が早産を引き起こす事が示された。(4) 同一妊婦の易感染性や反復早産因子として、胎盤の母親由来 iNOS の重要性が示唆された。

31-16 アンチセンスマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) アデノウイルスを用いた LPS 誘発マウス早産モデルにおける MIF 機能の検討

浜松医大

杉村 基, 岩城孝行, 金山尚裕

【目的】切迫早産の発症には MCP, IL-8 やマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) といったケモカインによる炎症細胞の局所遊走を引き金に、TNF- α や IL-1 などの炎症性サイトカインが子宮筋や繊維芽細胞でのプロスタグランジン産生を促し、頸管熟化、子宮筋収縮を誘発する機序が存在する。そこでアンチセンス MIFcDNA アデノウイルスを作成、LPS 誘発早産モデルにおける MIF のケモカインとしての機能を検討した。【方法】アンチセンス MIFcDNA アデノウイルスを挿入したコスミドを作成、293細胞を用いてコンピネーション法によりアンチセンス MIF アデノウイルスを作成した。同ウイルス活性は MIF 産生 NIH3T3細胞を用いてコンピネーション法によりコンピネーション法によりアンチセンス MIF アデノウイルスを作成した。同ウイルス活性は MIF 産生 NIH3T3細胞を用いて検出した。また、切迫早産に対する作用は妊娠15日目 LPS 100microgram/body 腹腔内投与により60%早産率を示す LPS 誘発マウス早産モデルを用い、アンチセンス MIF アデノウイルス投与群 (A 群) と LacZ アデノウイルス投与群 (C 群) に分け検討した。いずれも妊娠10日目に腹腔内投与した。また炎症性サイトカイン産生については妊娠マウスにおける LPS 刺激後3時間時点での TNF- α 産生量を検討した。【成績】同ウイルスは NIH3T3細胞において濃度依存性に MIF タンパク産生を抑制した。C 群では LPS 投与24時間後には60%の早産率を示したが A 群では20%の早産率と有意に抑制した。LPS 刺激による TNF- α 産生量は C 群では125.3pg/ml に対し、A 群では42.2pg/ml と有意に抑制した。【結論】LPS により誘導される MIF はサイトカインネットワークの早期に作用し TNF- α や IL-1 誘導を調節し子宮収縮を誘発していることが示唆された。