

K1-21 ラビット早産モデルにおける Lactoferrin の早産抑制効果とその機序に関する検討—FIRS 予防の観点から—

昭和太

杉山将樹, 大槻克文, 八鍬恭子, 澤田真紀, 中山 健, 松浦 玲, 満川香織, 千葉 博, 長塚正晃, 岡井 崇

【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。我々は当該施設での動物実験委員会の承認を得て、子宮頸管内に *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その早産予防効果について報告してきた。今回、同様のラビット早産モデルを用い LF の胎児脳への炎症波及予防効果についての検討を行った。【方法】妊娠ラビットを3群に分け、内視鏡下で子宮頸管内に、C群 (n=3) と E群 (n=8) では生食を、LF群 (n=7) には LF を投与した。2時間後に C群 に生食を、E群 と LF群 に *E.coli* を同じ方法で投与した。1) 妊娠継続日数、2) 胎仔生存率、3) 母獣血清と羊水中の TNF- α 濃度、4) 子宮頸管における matrix metalloproteinase (MMP) の発現 (Western blot 法)、5) 胎児脳切片の病理を検討した。【成績】1) 妊娠継続日数 (PL) は、C群 7.0 \pm 0.4 日、E群 3.3 \pm 0.4、LF群 4.9 \pm 1.8、2) 胎仔生存率 (FS) は C群 95.7%、E群 0、LF群 32.6 で、PL および FS 共に LF群 は E群 と比較し有意に長かった。3) TNF- α 濃度は母獣血清中で、C群 45.6 \pm 10.2pg/ml、E群 96.6 \pm 22.6、LF群 69.2 \pm 12.0、羊水中はそれぞれ 0 pg/ml、218.7 \pm 27.2、48.5 \pm 24.7 で、LF群 では E群 と比べて有意差を認めずも低くなる傾向にあった。4) LF群 では E群 と比べ MMP 発現が抑制された。5) LF群 では E群 と比べ炎症細胞浸潤が抑制された。【結論】LF には *E.coli* 投与ラビットにおける抗炎症作用を介しての TNF- α の産生抑制とそれによる頸管熟化抑止作用による早産抑制効果以外に、FIRS 予防効果をも有している可能性が示唆された。Prebiotics で副作用の少ない LF は、ヒトにおいても炎症に起因する早産ならびに FIRS を予防する効果が期待される。

K1-22 Activation of TLR3 in the trophoblast (TB) is associated with preterm delivery (PD)

Obstetrics and Gynecology, University of Tokyo

Kaori Koga, Yutaka Osuga, Yuji Taketani

【Objective】TLRs are key components of innate immune system. TB plays an important role in response to infection. We have described the expression of TLR3 by TB and its ability to respond to PolyIC, a synthetic dsRNA that mimics viral RNA. In this study we evaluate the effect of polyIC in pregnancy. 【Methods】Wild type (WT) and TLR3 knock out (KO) mice were injected with PolyIC on 16.5 dpc. Histological changes at feto-maternal interface (FM) were evaluated by IHC. Cytokine/chemokine (CK) levels in the placenta (PL) were determined by BioPlex system. Activation of NF κ B was evaluated by IHC. TB from mice and human were treated with PolyIC and CK secretions were measured. NF κ B activity in TB was determined by luciferase assay. 【Results】Injection of PolyIC to WT caused PD. No effect were seen in KO. PolyIC induced dramatic histological changes at FM characterized by infiltrations of PMN, NK cells and macrophages in PL. PolyIC injection increased CK levels in PL. PolyIC also induced secretions of CK by cultured TB. NF κ B pathway was activated by PolyI:C in *in vivo/in vitro* setting. 【Conclusion】We demonstrated that viral infection may trigger an immune response leading to PD. We further showed that TB is able to recognize and respond to virus through TLR3. Our findings provide a novel mechanism of pathogenesis of PD associated with TLR3 mediated inflammatory response.

K1-23 好中球, 単球, T 細胞から産生される IL-17 は TNF α と相乗的に作用し羊膜上皮, 間葉系細胞からの IL-8 産生を亢進させる富山大¹, 富山大再生医学²伊藤実香¹, 中島彰俊¹, 伊奈志帆美¹, 米田 哲¹, 塩崎有宏¹, 二階堂敏雄², 斎藤 滋¹

【目的】IL-17 は前駆炎症性サイトカインと呼ばれ、炎症性サイトカインの分泌を促す。そのシグナル伝達経路も報告され、最近になりヒトの疾患との関係が注目されてきている。今回我々は絨毛膜羊膜炎 (CAM) と IL-17 の関係について調べた。【方法】1. 当科に入院した切迫早産患者 187 例に IC の上、経腹的に羊水を採取し、サイトカイン濃度を ELISA で測定した。2. CAM 症例卵膜中の IL-17 の局在を免疫組織染色で確認し、蛍光二重染色で IL-17 分泌細胞を同定した。3. 羊膜から単離した上皮系 (HAE) 細胞と間葉系 (HAM) 細胞を IL-17 や炎症性サイトカインで刺激し培養液中の IL-8 濃度を測定した。4. IL-17 による IL-8 分泌促進が MAPK 抑制剤を用いて抑制されるかをみた。【成績】1. 羊水中の IL-17 濃度は CAM grade 3 群で CAM 陰性～grade2 の群に比して有意に上昇していた ($p<0.0001$)。IL-17 濃度と IL-8、IL-6 濃度との間には、中等度の正の相関を認めた ($r=0.408$, $p<0.0001$ / $r=0.476$, $p<0.0001$)。2. CAM 症例では、卵膜内に IL-17 陽性細胞を多数認め、二重染色の結果、IL-17 を産生するのは一部の T 細胞/単球と多数の好中球であった。3. HAM 細胞の IL-8 分泌は、培養液中の IL-17 濃度依存性に増加し ($p<0.0001$)、IL-17 1000pg/ml の濃度で IL-17 分泌は対照の 2.9 \pm 2.0 倍、TNF α 1ng/ml 存在下では対照の 10.9 \pm 4.3 倍であったが、両者を加えると 39.9 \pm 23.0 倍となり、IL-17 は TNF α と相乗的に作用し IL-8 産生を高めた。HAE 細胞でも同様であった。4. JNK, IKK, MEK, p38-MAPK に対する阻害剤を用いるとこの相乗的 IL-8 分泌増加をそれぞれ 70.7%, 74.6%, 55.7%, 83.0% 抑制した。【結論】IL-17 は TNF α と羊膜の IL-8 分泌に相乗的に作用しすることで、CAM の発症や病態の進展に関わっている。