

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Inappropriate activation of invariant natural killer T cells and antigen-presenting cells with the elevation of HMGB1 in preterm births without acute chorioamnionitis

絨毛膜羊膜炎を伴わない原因不明早産の解析
-自然免疫制御による新たな早産予防を探る-

日本医科大学大学院医学研究科 女性生殖発達病態学分野
研究生 加藤 雅彦

American journal of reproductive immunology (2020) 掲載予定

doi: 10.1111/aji.13330.

早産は児の予後を大きく左右する重要な疾患である。早産の主な原因は、これまで病原体感染に起因する絨毛膜羊膜炎(chorioamnionitis: CAM)と考えられてきたが、近年病理学的CAMを伴わない早産がかなりの割合を占めることが分かってきた。最近様々な分野で damage-associated molecular patterns (DAMPs)、またはアラミンと称される内因性リガンドが惹起する「無菌性炎症」という概念が注目されている。そこで申請者らは、この無菌性炎症が胎盤内で生じ早産の原因になるという仮説を立て、CAMを伴わない早産脱落膜中の免疫細胞解析を行った。

【方法】妊娠 24 週 0 日から妊娠 33 週 6 日で分娩に至った病理学的 CAM を伴わないヒト早産症例について、陣痛もしくは破水などの分娩兆候を有する群と有さない群に分類して解析した。分娩後の胎盤壁側脱落膜(decidua parietalis: DP)、基底脱落膜(decidua basalis: DB)を採取し、ここに含まれる免疫細胞群および表面抗原の発現をフローサイトメーターで解析した。また 37 週以降の予定帝王切開で得られた胎盤脱落膜より分離した抗原提示細胞、invariant natural killer T (iNKT) 細胞を high-mobility group box 1 (HMGB1)の存在下で共培養し、iNKT 細胞の増殖を評価した。

【結果】樹状細胞、マクロファージ、CD8+ T 細胞、CD4+ T 細胞、NK 細胞、iNKT 細胞の分布を解析したところ、分娩兆候を有さない群に比して分娩兆候を有する群では DP における iNKT 細胞の有意な増加を認めた。樹状細胞、マクロファージなどの抗原提示細胞に関しては、その数の割合は各群で有意差を認めなかったものの、分娩兆候を有する DP 内では Toll-like receptor (TLR) 4、receptor of advanced glycation endproducts (RAGE)、CD1d の

発現が亢進する傾向を認めた。TLR4、RAGE に共通するリガンドである HMGB1 を検索したところ、樹状細胞、マクロファージ、および非免疫細胞内の HMGB1 濃度は分娩兆候を有する群において有意に上昇していた。これらの結果は、CAM を有さない早産の破水、陣痛発来機転には、HMGB1 により抗原提示細胞の免疫刺激活性が亢進し、iNKT 細胞の集積、活性化が促進されるというメカニズムを示唆する。これを検証するため、*ex vivo* において iNKT 細胞、抗原提示細胞をリコンビナント HMGB1 の存在下で共培養したところ、*in vivo* の結果と同様 iNKT 細胞の増殖が確認された。流産防止目的で使用されるヘパリンは、HMGB1 と RAGE の結合阻害をして抗炎症効果を発揮すると報告されている。そこで上記の共培養系に HMGB1 とともにヘパリンを添加したところ、iNKT 細胞増殖の抑制が確認された。

【考察】CAM を伴わない早産の分娩開始機転には、内因性抗原である HMGB1 の増加、および抗原提示細胞の免疫刺激活性亢進や iNKT 細胞の集積といった、アラームと自然免疫系が深く関与する可能性が示された。本研究結果から HMGB1-RAGE 相互作用の阻害にヘパリンが有効である可能性も示され、ヘパリンは流産のみならず早産予防法の一つの選択肢になるかも知れない。

第二次審査では、①実験系の詳細に関わる事項、②無菌性炎症とサイトカインの関係に関する事項、③早産と正期産の陣痛発来機転の差異について、④ヘパリンの早産治療への臨床応用の可能性などについて質疑応答がなされ、それぞれの確な回答を得た。

本論文は、自然免疫系による無菌性炎症は原因不明早産の一因であることを示したものであり、同時に今後内因性抗原や自然免疫制御が新しい早産治療の標的となる可能性を示唆した点で、学位論文として十分価値があると認定した。