The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Effects of Ureaplasma parvum lipoprotein multiple-banded antigen on pregnancy outcome in mice
Author(s)	内田, 薫
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34282
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	内田　薫
論文題名 Title	Effects of *Ureaplasma parvum* lipoprotein multiple-banded antigen on pregnancy outcome in mice （*Ureaplasma parvum*由来リポタンパク質multiple-banded antigenの妊娠マウスへの影響）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

Ureaplasma spp.は、マイコプラズマ科の細菌であり、絨毛膜羊膜炎(CAM)や早産との関連が推測されている。実際、大阪府立母子医療センターの解析において、流早産胎盤（妊娠週数13−31週）の42%より、*Ureaplasma* spp.が分離同定され、CAMとの関連が疫学的に示されている。

*U. parvum*のリポタンパク質であるmultiple banded antigen (MBA) は、toll-like receptor (TLR) 1、TLR2、TLR6を介し、NF-κBを活性化する。また、*U. parvum*（血清型3）のMBAはN末側にアシル化サイト、C末側にアミノ酸のタンデムリピートを含むことが知られている。

しかし、一方で、*U. parvum*によるサイトカイン産生は非常に低く、プロスタグランジンは検出されなかった、という報告もあり、*Ureaplasma* spp.が常在細菌であるか、流早産に関する病原細菌であるか、未だ結論付けられていない。

そこで本研究は、*U. parvum*の臨床分離株からMBAを精製し、*in vitro*および*in vivo*の実験系にて、炎症反応、早産や胎内死亡(IUFD)の有無、胎盤病変等を調べ、MBAが早産の病原因子であるかどうか検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒト早産胎盤由来の臨床分離株より、*U. parvum* (*U. p*)の免疫原性蛋白質であるMBAをTriton X-114二相分離法にて精製した。また、MBAのN末側システインをジアシル化した合成リポペプチド(UPM-1)を作製した。これらをHeLa細胞に添加し、ルシフェラーゼアッセイにてNF-κB転写活性を評価した。TLR2を発現させたMBA刺激群では、Control群に比べ、10. 4倍活性が上昇した。UPM-1刺激群では、Control群に比べ、濃度依存的な活性上昇がみられた。UPM-1ペプチド刺激群では、活性は全く上昇しなかった。*U. p*の株による比較を行ったところ、ATCC標準株や、CAMを持たない正期産の子宮検体（子宮腺筋症）から分離された株のMBAでは、早産胎盤由来株のMBAほどの活性はみられなかった。次に、マウス腹腔マクロファージを用いて、UPM-1刺激に対する炎症性サイトカイン、ケモカイン等の発現をreal-time PCRにて調べた。UPM-1刺激群では、IL-1β、IL-6、IL-12p35、TNF-α、MIP2、LIX、iNOSの発現上昇がみられた。

妊娠15日目のC3H/HeNマウスの子宮内にMBA、UPM-1を投与し、胎仔・母獣への影響を検討した。MBA投与群は38.5%のIUFD、UPM-1投与群は低濃度では55.2%のIUFD、高濃度では80%の母獣で早産が確認された。胎盤病理所見において、UPM-1投与群では、絨毛間腔の面積がControl群に比べて上昇し、胎盤全体に対するspongiotrophoblast layerの面積の割合が減少していた。iNOS免疫染色において、UPM-1投与群では陽性細胞が胎盤全体に観察された。好中球エステラーゼ染色において、UPM-1投与群では、好中球の血管壁への接着そして脱落膜や子宮筋層への浸潤がみられた。

〔総　括(Conclusion)〕

*in vitro*および*in vivo*の実験系で、*U. p*のMBAはIUFDや早産の病原因子であることが示された。UPM-1はMBAと同等の機能的役割を果たし、MBAリポタンパク質において、脂肪酸が結合しているN末側の構造が、炎症惹起には重要であることが示された。また、NF-κB活性によるiNOS産生誘導や好中球浸潤が、IUFDや早産誘発の一因になると考えられる。そして今回、MBAによるIUFD・早産のマウスモデルが確立でき、ヒトのCAM胎盤を再現できたと考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　内田　薫

論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	木村　正
	副　査	大阪大学教授	大園恵一
	副　査	大阪大学教授	杉本　央

論文審査の結果の要旨

Ureaplasma spp.は、マイコプラズマ科の細菌であり、絨毛膜羊膜炎(CAM)や早産との関連が推測されている。実際、大阪府立母子医療センターの解析において、流早産胎盤（妊娠週数13−31週）の42%より、*Ureaplasma* spp.が分離同定され、CAMとの関連が疫学的に示されている。共同研究者らは、*U. parvum* (*U. p*)のリポタンパク質であるmultiple banded antigen (MBA)が、toll-like receptor (TLR) 2を介し、NF-κBシグナルカスケードを活性化することを見出したが、*in vivo*での解析には至っていなかった。本研究において、申請者は妊娠マウスを用いて、MBA及びMBA由来の合成リポペプチド(UPM-1)による流早産モデルの作製を試みた。

まず*in vitro*において、早産胎盤由来の臨床分離株より精製したMBAは、ATCC標準株や正期産由来の臨床分離株MBAに比べ、より強いNF-κB転写活性を示した。一方*in vivo*においてMBA、UPM-1は早産や胎仔死亡を有意に引き起こし、UPM-1投与群胎盤では、CAMに特徴的な好中球浸潤を認めた。

以上より、*in vitro*および*in vivo*の実験系で、*U. p*のMBAは早産の病原因子であることが示され、本研究は、ウレアプラズマ感染による流早産の予防・治療法の確立へ向けて重要な手がかりのひとつになると考えられ、学位に値するものと認める。