

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Chorioamnionitis reduces placental endocrine functions : the role of bacterial lipopolysaccharide and superoxide anion  |
| Author(s)    | 岡田, 恭芳  |
| Citation     | 大阪大学, 1998, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/40978">https://hdl.handle.net/11094/40978</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

|               |   |
|---------------|---|
| 氏 名           | 岡 田 恭 芳   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)   |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 3 5 7 7 号   |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 10 年 3 月 9 日  |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当  |
| 学 位 論 文 名     | Chorioamnionitis reduces placental endocrine functions: the role of bacterial lipopolysaccharide and superoxide anion<br>(絨毛羊膜炎による胎盤内分泌機能の低下：細菌由来リポ多糖類と活性酸素の役割) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 村 田 雄 二<br>(副査)<br>教 授 網 野 信 行 教 授 谷 口 直 之  |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目的]

周産期における子宮内感染症，特に絨毛羊膜炎は早産の原因になると同時に，児の予後に影響を与える重要な因子である。起炎菌の大半は大腸菌などのグラム陰性桿菌であり，その細胞壁外膜に存在するリポ多糖類(LPS)がエンドトキシンとして作用している。本研究では，まず子宮内感染時の胎盤内分泌機能を検討するため，ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)，ヒト胎盤性ラクトゲン(hPL)及びプロゲステロンの絨毛羊膜炎における産生動態を明らかにした。次に，LPSレセプターであるCD14分子に着目して，絨毛細胞の内分泌機能に対するLPSの作用機序を分析した。さらに，炎症時に増加する活性酸素と，その消去酵素であるスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)のうち，Mn-SOD，Cu，Zn-SODの役割についても検討し，子宮内感染症における早産誘導のメカニズムを解明することを目的とした。

### [方法ならびに成績]

#### (1)絨毛羊膜炎の有無による胎盤のホルモン産生能

在胎25～33週で経膈分娩にて早産に至った合併症のない16例より胎盤を採取し，組織学的絨毛羊膜炎の有無を検討した(Blancの分類による)。8例はgrade 2またはgrade 3の絨毛羊膜炎であり，8例には炎症が存在しなかった。これらを細切して器官培養を24時間行い，培養上清中のhCGとhPLをEIA法にて測定すると，絨毛羊膜炎のある胎盤のホルモン産生能が絨毛羊膜炎のない胎盤に比べて有意に低下していることが判明した。

#### (2)絨毛細胞のホルモン産生に対するLPSの影響

選択的帝王切開術にて得られた妊娠末期の胎盤を，Klimanらの方法によって酵素処理し，絨毛細胞が純度90%以上の培養系を作成した。これをLPSの存在下で培養すると，上清中のhCG，hPLおよびプロゲステロン産生は，培養2日目よりLPSの濃度依存的に抑制された。なお，この系におけるLPSの細胞毒性の可能性は除外されている。

#### (3)CD14分子の胎盤における発現

(2)の胎盤組織よりRNAを抽出し，CD14のcDNAをプローブとしたNorthern blot解析を行った結果，CD14 mRNAの発現が強く認められた。また，抗CD14モノクローナル抗体を用いた免疫組織染色法により，絨毛細胞に

CD14分子が局在していることを確認した。

#### (4)絨毛細胞培養系で産生される SOD

上記の絨毛細胞培養3日目における細胞分画と上清中の Mn-SOD および Cu, Zn-SOD 量を EIA 法にて測定した。LPS 刺激培養群の Mn-SOD 量は、細胞分画と培養上清中ともに有意に上昇していたが、Cu, Zn-SOD については LPS 添加の有無で差を認めなかった。

#### (5) Mn-SOD および Cu, Zn-SOD 分子の胎盤における発現

(3)と同様に、抗 Mn-SOD および抗 Cu, Zn-SOD モノクローナル抗体を用いた胎盤の免疫組織染色法を行った結果、絨毛細胞に両分子が存在していることが判明した。過剰量の Mn-SOD および Cu, Zn-SOD で前処理すると染色が消失することから、それらの特異性を確認した。

#### (6)活性酸素による胎盤ホルモン産生の抑制

上記絨毛細胞培養系に、ヒポキサンチンとキサンチンオキシダーゼを投与して活性酸素を誘導すると、培養3日目の上清中の hCG, hPL およびプロゲステロン産生は有意に抑制された。また、この系にあらかじめ十分量の SOD を加えておくと、その抑制は完全に解除された。

#### [総括]

組織学的絨毛羊膜炎において、胎盤ホルモン産生能は低下していることが判明した。このことは、*in vitro* の絨毛細胞培養系で、LPS が hCG, hPL およびプロゲステロン産生を抑制することと一致している。一方、LPS レセプターである CD14分子は単球、マクロファージ等に発現することが知られているが、本研究で胎盤絨毛細胞にも発現していることが明らかになった。従って、子宮内感染時には、LPS が絨毛細胞上の CD14を介して作用していることが証明された。

絨毛細胞には Mn-SOD および Cu, Zn-SOD も存在しており、LPS によって Mn-SOD 産生が増加した。また活性酸素を誘導すると、絨毛細胞のホルモン産生は著しく抑制され、SOD の前投与によってその抑制が解除された。以上より、絨毛羊膜炎においては、LPS が CD14分子を介して絨毛細胞ならびに胎盤内の単球やマクロファージに作用することにより活性酸素を産生し、同時に Mn-SOD が誘導されるが、その不活化の働きが十分でない場合に胎盤内分泌機能が阻害される可能性が示唆された。

子宮内感染症では、LPS や炎症性サイトカインがプロスタグランジン合成を促進することが知られている。本研究の結果、活性酸素をはじめとするフリーラジカルが胎盤の内分泌機能にダメージを与えることが推測され、SOD による活性酸素消去系を凌駕することによって、最終的に早産を誘導するものと考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、周産期の子宮内感染症において、なぜ妊娠維持機構が破綻するのかを内分泌学的に解明することを目的としている。近年、周産期医学の進歩にもかかわらず、早産未熟児の出生はむしろ増加傾向にある。子宮内感染症、特に絨毛羊膜炎は早産の原因となり、児の予後にも深く関連するため、周産期管理上最も重大な問題の一つとなっている。最初に、胎盤のホルモン産生が絨毛羊膜炎の合併により低下していることを明らかにした。次に、細菌性子宮内感染におけるエンドトキシンとして、グラム陰性桿菌に存在するリポ多糖類(LPS)に着目し、そのレセプターである CD14分子が胎盤絨毛細胞に発現していることを本研究で初めて証明した。また、絨毛細胞培養系における検討の結果、LPS が胎盤ホルモン産生の低下を惹起することが判明した。さらにその作用機序として、生体炎症時に増加する活性酸素とその消去酵素であるスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) に着目し、活性酸素の誘導により胎盤ホルモン産生が強く抑制されること、および LPS によって SOD 産生が増加することを明らかにした。結論として絨毛羊膜炎においては、LPS と活性酸素が関与する胎盤内分泌機能の阻害が、妊娠維持機構の破綻即ち早産を誘導する可能性が示唆された。本研究は、周産期医学の重要問題である早産のメカニズムを解明する一助となり、学位の授与に値すると思われる。