

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：32658

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25850222

研究課題名(和文)炎症による妊娠高血圧症候群の分子基盤の解明：自然炎症インフラマソーム機構の意義

研究課題名(英文) Mechanism of pregnancy induced hypertension via inflammatory response

研究代表者

白砂 孔明 (Koumei, Shirasuna)

東京農業大学・農学部・助教

研究者番号：20552780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠は半異物である胎児を許容する免疫寛容である。それが破綻した場合に炎症反応による胎盤機能不全が誘発され妊娠高血圧症候群が発症すると考えられる。本研究では、妊娠マウスにAngiotensin II (AII)を含んだポンプを埋め込んだ。AIIを投与すると、母体血圧が増加するだけでなく、胎盤内炎症性サイトカインIL-6の増加、胎仔低体重が見られた。インフラマソーム構成分子NLRP3欠損妊娠マウスにAIIを投与すると、母体血圧増加とIL-6の増加が抑制されたが、胎仔低体重には影響しなかった。つまり、NLRP3分子は母体血圧調節に関与するが、AII誘導性の胎仔低体重には非依存的であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Preeclampsia is a pregnancy-specific syndrome characterized by elevated blood pressure, proteinuria, and intrauterine growth restriction (IUGR). Although sterile inflammation appears to be involved, its pathogenesis remains unclear. Here we investigated the role of the NLRP3 inflammasomes in the pathogenesis of preeclampsia using Nlrp3-deficient pregnant mice. During pregnancy in mice, continuous infusion of angiotensin II (AII) induced hypertension, proteinuria, and IUGR. AII-induced hypertension was prevented in Nlrp3 deficient mice. Although NLRP3 deficiency had no effect on IUGR, it restored IL-6 upregulation in the placenta and kidney of AII-infused mice. These findings demonstrate that NLRP3 contributes to the development of gestational hypertension independently of the inflammasomes.

研究分野：生殖免疫学

キーワード：妊娠 妊娠高血圧症候群 自然炎症 インフラマソーム

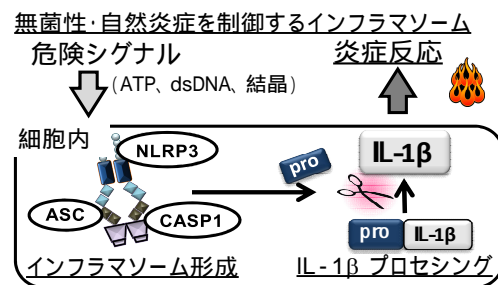
1. 研究開始当初の背景

(妊娠高血圧症候群の現状) 妊娠高血圧症候群は、全妊娠の7~10%に発症する妊娠特異的な症候群であり、妊産婦死亡の主要な原因の一つである。本病態を発症した妊婦は高血圧・蛋白尿を呈し、胎盤機能異常・子宮内胎児発育遅延などが誘発され、症状が増悪した場合は死亡するケースもある。本病態は、出産後にその症状が軽快するため胎盤の存在が密接に関連する。発症概念として、本病態の胎盤は慢性的な低酸素と炎症反応に暴露され、抗血管新生因子 soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1)産生が増加し、大量に母体に流出する。母体血中を循環するsFlt1が血管内皮障害を惹起し、本病態が出現すると理解されている。本病態は妊娠性疾患であるため多くの治療薬は禁忌であり、根本的な治療は妊娠の中断・終結しかない。妊娠高血圧症候群については多くの研究がなされているが、今なお、その分子機序が特定されていないのが現状である。

(妊娠高血圧症候群の免疫機構) 妊娠は“半異物”である胎児を許容する自然免疫寛容と考えられ、母体の免疫系は大きく変化する。この免疫機構が破綻した場合、本病態の発症に繋がるという概念が定着してきた。事実、妊娠高血圧症候群では①マクロファージ・好中球・NK細胞の活性化による炎症状態であること、②Th1 サイトカインのIFN γ ・TNF α が増加し、Th2 サイトカインのインターロイキン(IL)-4が減少するTh1優位の状態であること、③胎児拒絶を防ぐ役割を持つ制御性T細胞が減退することが明らかとなった。つまり、妊娠高血圧症候群は、炎症反応が亢進状態になることが病因の一端として考えられる。

しかし、感染や異物が関与しない正常妊娠や妊娠高血圧症候群において、どのように

炎症反応が惹起されるのかは未だ不明である。申請者は、胎児を許容する妊娠生理や本病態のような無菌性の疾患には、「自己由来因子に反応する自然炎症」機構が存在するのではと考えた。この経緯の中、“インフラマソーム”分子複合体が細胞の炎症反応の初期段階で重要な役割を果たし、痛風などの“無菌性・自然炎症”を誘導することが発見された(Martinon et al., Nature 2006)。

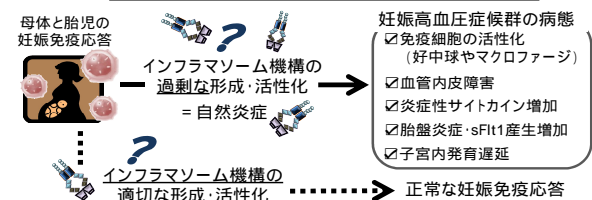


インフラマソームは、主にマクロファージや好中球などにおいて、NLR3を含むNOD-like受容体(NLR)・アダプター分子ASC・caspase-1(CASP1)の複合体で構成される。CASP1活性化を介して炎症性サイトカインIL-1 β の成熟化を制御し、炎症惹起に寄与する。インフラマソーム活性化因子として、自己由来の分子(ATPやDNA)や病原体構成成分がNLRによって認識される(図)。

2. 研究の目的

本研究では、「妊娠高血圧症候群は、胎盤でインフラマソーム機構による“自然炎症”が過剰に惹起されることで発症する病態である」という研究仮説を立てた(図)。

仮説: 妊娠高血圧症候群はインフラマソーム機構による“自然炎症”で過剰な免疫応答が起きた状態では?



妊娠高血圧症候群病態マウスモデルにおけ

るインフラマソーム機構の重要性を解明することで、本病態における自然炎症の免疫学的分子基盤を提示することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 妊娠高血圧症候群の病態要因として考えられている sFlt1 に着目した。sFlt1 の発現アデノウイルスベクター (Ad) を妊娠マウスに投与し、その影響を検証した。

(2) 高血圧を惹起する主要な因子である Angiotensin II (AngII) に着目した。妊娠中期のマウスに Angiotensin II を含んだ浸透圧ポンプを埋め込み、その影響を検証した。

4. 研究成果

(1) sFlt1 Ad を妊娠中期に投与することで母体の血圧は増加し、胎盤炎症が惹起された。しかし、高濃度の sFlt1 Ad の投与では母体が死亡する事例が散見され、投与量を下げると血圧変動が見られなくなったことから、sFlt1 Ad を使用した動物モデルの作製は困難であると判断した。

(2) 低濃度の AngII を投与すると母体の血圧が増加したが、胎仔には影響が見られなかった。一方、高濃度の AngII を投与すると、母体の血圧が著しく増加するだけでなく、胎盤内における炎症性サイトカイン・IL-6 の増加、胎仔低体重および腎臓機能傷害が見られた。また、胎盤細胞の培養系で AngII を添加すると、IL-6 分泌が濃度依存的に増加した。しかしながら、インフラマソームで制御される IL-1 β 分泌の増加は見られなかった。

インフラマソーム構成分子である NLRP3 を欠損した妊娠マウスに高濃度の AngII を投与すると、母体の血圧増加および胎盤内 IL-6 の増加が抑制されたが、胎仔低体重および腎臓機能傷害には影響を与えなかった。一方、インフラマソーム構成分子である ASC を欠損した妊娠マウスに高濃度の

AngII を投与すると、母体の血圧増加・胎仔低体重および腎臓機能傷害には影響を与えなかった。つまり、NLRP3 分子は炎症性反応を抑制することで母体の血圧調節に関与する可能性が示唆されたが、AngII 誘導性の胎仔低体重は NLRP3 インフラマソーム非依存的な現象であることが分かった。

胎児低体重が高血圧によって引き起こされるのかどうかを検証するため、降圧剤 Hydralazine を用いて検討した。予想通り、Hydralazine を投与した妊娠マウスは AngII 誘導性の高血圧レベルが低下した。しかしながら、Hydralazine 投与で高血圧を抑制したにも関わらず、胎仔低体重が出現し、胎盤内および腎臓内の IL-6 発現が増加した。以上から、胎仔低体重は母体の血圧増加によって起きるものではないことが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Shirasuna K, Usui F, Karasawa T, Kimura H, Kawashima A, Mizukami H, Ohkuchi A, Nishimura S, Sagara J, Noda T, Ozawa K, Taniguchi S, Takahashi M. Nanosilica-induced placental inflammation and pregnancy complications: Different roles of the inflammasome components NLRP3 and ASC. *Nanotoxicology* 2014;11:1-14 査読有 doi:10.3109/17435390.2014.956156

Hara K, Shirasuna K, Usui F, Karasawa T, Mizushima Y, Kimura H, Kawashima A, Ohkuchi A, Matsuyama S, Kimura K, Takahashi M. Interferon-tau attenuates uptake of nanoparticles and secretion of interleukin-1 β in macrophages. *PLoS ONE* 2014; 9: 1-17

査読有 DOI: 10.1371/journal.pone.0113974

Ohkuchi A, Hirashima C, Takahashi K,

Shirasuna K, Suzuki H, Ariga H, Kobayashi M, Hirose N, Matsubara S, Suzuki M. A trio of factors for the onset of preeclampsia in the second and early third trimesters. *Pregnancy Hypertension* 2014; 4: 224-230 査読有
DOI: 10.1016/j.preghy.2014.04.024

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白砂 孔明 (Koumei Shirasuna)

東京農業大学・農学部・助教

研究者番号：20552780