

主論文の要旨

**Maternal molecular hydrogen administration
on lipopolysaccharide-induced
mouse fetal brain injury**

〔 リポポリサッカライドによって引き起こされた
胎児脳障害に対する母獣分子状水素投与 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻
発育・加齢医学講座 産婦人科学分野

(指導：吉川 史隆 教授)

中野 知子

[緒言]

全世界において早産児の出生は、現在年間 1500 万人にものぼり、また早産率も 11.1%と増加傾向を示している。新生児の脳障害は最も重篤な早産児の後遺症であり、長期予後に影響する。これまでに、早産の病態に感染・炎症が関与することや、酸化ストレスやインターロイキン 6 (IL-6) などの炎症性サイトカインが児の予後に影響することが報告されている。しかし、今現在有用な治療法は見出されていない。そこで、近年抗酸化作用と抗炎症作用、抗アポトーシス作用が報告されている分子状水素に着目した。分子状水素は活性酸素種のうち、ヒドロキシラジカルやペルオキシナイトライトを特異的に消去する新規の抗酸化剤として 2007 年 Nature Medicine で報告されて以来、臨床応用に向けて様々な実験報告がされている。投与方法には水素ガス吸入、飽和水素水飲水などがあり、すでにパーキンソン病や糖尿病などの酸化ストレスが要因となる疾患に効果的であったとの報告がされている。また産科領域においては、我々はラットの虚血再灌流モデルの胎児脳障害において、母獣の水素水投与によって海馬における酸化ストレスとアポトーシスが改善し、学習速度が改善したことをすでに報告している。また母獣の水素水投与により、胎仔脳組織の水素濃度が上昇することも証明した。そこで、今回我々は、子宮内炎症によって引き起こされた胎児脳障害に対する分子状水素の効果を検討した。

[対象及び方法]

C3H/HeN マウス (8~10 週齢) を用いて、妊娠 15.5 日目のマウスにリポポリサッカライド (lipopolysaccharide; LPS) を $5 \mu\text{g}/\text{body}$ 腹腔内投与するプロトコルを用いて、腹腔内投与 24 時間後の妊娠 16.5 日目に検体回収とする群を LPS 群とした。コントロール群は、LPS のかわりに PBS を妊娠 15.5 日目に腹腔内投与した。また、LPS 腹腔内投与の 24 時間前の妊娠 14.5 日目から水素水を自由飲水させる群を H_2 water + LPS 群とした。羊水は各胎囊から回収して、ELISA 法を用いて IL-6 を各群で比較検討した。次に胎仔脳組織を用いて、アポトーシスの証明を TUNEL 染色で確認し、各群を比較検討した。酸化ストレスについては、DNA の酸化ストレスマーカーである 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine; 8-OHdG) を免疫組織学的検査で確認した。また胎仔脳組織を用いて、半定量 RT-PCR にて各群の IL-6 を比較検討した。

[結果]

羊水中の IL-6 は LPS 群で増加し、 H_2 water + LPS 群では低下していた (fig. 1)。マクロ像にて、LPS 群では胎仔脳の血管像消失を認め、 H_2 water + LPS 群では胎仔脳の血管像消失の改善を認めた (fig. 2)。また胎仔脳組織を用いた TUNEL 染色では、LPS 群で陽性細胞率が上昇し、 H_2 water + LPS 群では有意に改善していた ($p=0.001$, fig. 3 A, B)。また胎仔脳組織の 8-OHdG は LPS 群で上昇していたが、 H_2 water + LPS 群で有意に低下していた ($p<0.001$, fig. 3 A, C)。胎仔脳組織の IL-6 mRNA は、LPS 群で発現が上昇し、 H_2 water + LPS 群では有意に改善していた ($p=0.041$, fig. 4)。

[考察]

臨床において、細菌性膣症からの上行性感染により絨毛膜羊膜炎となり、羊水中のIL-6が上昇すると、胎児炎症性症候群 (Fetal inflammatory response syndrome; FIRS) が引き起こされる。そのため、IL-6は脳障害や肺障害など児の予後不良因子として知られている。今回我々は、妊娠15.5日目のマウスにLPS腹腔内投与によって羊水中IL-6が上昇したが、LPS投与前の水素水母獣投与で減少させることを証明した。さらに、胎仔脳組織において、8-OHdGやIL-6、アポトーシス陽性細胞が水素水前投与で減少することを見出した。これらの結果は、他の分子状水素の論文でも報告されていることと同様に、抗酸化作用と抗炎症作用、抗アポトーシス作用を示すことが出来た。ここで、分子状水素の作用機序はまだ明確になってはいないが、急速に体内へ拡散していくことが知られている。脳組織へは、他の治療薬で問題となる血液脳関門 (blood-brain barrier; BBB) を分子状水素は通過出来るところが利点である。しかし、今回のモデルにおいて、IL-6と同じく胎児脳障害の重要な因子であるIL-1とTNF- α は変化を認めなかった。今後の課題として、水素水の投与開始時期や投与量、また検体の回収時期などを比較検討する必要があると考えられた。

[結論]

今回の我々の結果で、感染による母体の子宮内炎症が及ぼす胎児への脳障害を、母獣への水素水投与が改善させる効果を有する可能性が示唆された。