

学位（博士）授与の記録

たか しま あき こ
高 島 明 子

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2664号

学位授与の日付：平成26年6月26日

主 論 文：Uterine natural killer cells severely decrease in number at gestation day 6 in mice
(マウスの子宮NK細胞は妊娠6日目に著明に減少する)

著 者：Takashima A, Ishikawa F, Kuwabara T, Tanaka Y, Kinoshita T, Ito M, Kakiuchi T
公 表 誌：Biol Reprod 89: 101, 1-8, 2013

論文内容の要旨

Natural killer (NK) 細胞は自然免疫担当細胞で、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞を排除する。最近では妊娠に伴い子宮のNK細胞数が飛躍的に増加し、妊娠の成立に重要な役割を果たしていることも知られている。子宮外から流入するNK細胞またはその前駆細胞がこの増加に関与するといわれるが、非妊娠時にもNK細胞が子宮に存在する。非妊娠時の子宮NK細胞が妊娠後の増加に関与するかどうかは不明である。本研究では非妊娠時に存在する子宮NK細胞の関与について、BALB/c 妊娠マウス [日本チャールス・リバー (株), 横浜] を用いて検討した。

【方法】非妊娠、妊娠4, 6, 9, 12日目のBALB/cマウスの子宮から細胞を採取し、CD45分子を発現する白血球系の細胞について検討した。雌マウスにプラグが確認された日を妊娠1日目とした。動物実験については、東邦大学動物委員会の承認を得た(動承-13-31-225)。各特異抗体を用いて、細胞表面分子の解析、サイトカイン産生細胞等について、主としてフローサイトメーターを用いて解析した。

【結果】CD45⁺細胞についてCD11bまたはGr-1の発現を調べたところ、妊娠6日目にCD45⁺CD11b⁻細胞とCD45⁺Gr-1⁻細胞が著しく減少しており、両者はほぼ同じ細胞集団であった。妊娠6日目は受精卵が着床し胎盤形成が始まる時期に相当する。減少する細胞はCD49bを発現するNK細胞であった。妊娠12日目には子宮NK細胞の比率は回復したが、12日目の子宮NK細胞ではCD11b, CD27, CD127, B220を発現する細胞が非妊娠時に比べてそれぞれ増加しており、成熟したNK細胞の増加がみられた。子宮のCD45⁺細胞のchemokine (C-X-C motif) ligand 12 (CXCL12)の発現をみると、非妊娠時と妊娠6日目では強く発現し、12日目では著明に低下していた。CXCL12に結合するC-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4)の発現は12日目の子宮NK細胞で非妊娠時に比べやや増加していた。NK細胞の生存・増殖に重要なinterleukin-15 (IL-15)産生は妊娠12日目のCD45⁺細胞のほうが非妊娠時よりも強く、IL-15R α の発現は12日目のNK細胞で強くみられ、非妊娠時にはほとんど認められなかった。また妊娠成立に重要とされるインターフェロン γ 産生は妊娠12日目で非妊娠時のNK細胞よりも強くみられた。

【結論】妊娠6日目には子宮NK細胞がほとんどみられなくなることから、非妊娠時に存在する子宮NK細胞は妊娠後の著しいNK細胞増加には関与していないものと考えられる。子宮CD45⁺細胞の産生するCXCL12によりCXCR4を発現するNK細胞またはその前駆細胞が子宮に遊走し、成熟したNK細胞がインターフェロン γ 産生を介して胎盤形成に関与していると考えられる。

こ みね ゆ み こ
小 峰 由美子

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2665号

学位授与の日付：平成26年8月26日

主 論 文：Maternal consumption of *Lactobacillus rhamnosus* GG yogurt during pregnancy promotes bifidobacteria growth in intestinal microflora of infants
(妊婦の *Lactobacillus rhamnosus* GG ヨーグルト摂取による乳児期早期の腸内 *Bifidobacterium* 属菌形成促進)

著 者：Komine Y, Watanabe M, Soutome T, Uchino K, Uchino T, Saji T

公 表 誌：J Med Soc Toho 61: 3-12, 2014

論文内容の要旨

【背景および目的】腸内細菌叢は、宿主の免疫系の発達や経口免疫誘導に重要である。新生児期の便中 *Lactobacillus* や *Bifidobacterium* が少ない児で、アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis: AD) の発症が多いと報告され、1997年よりプロバイオティクスによるアレルギー疾患の治療および発症予防の研究が開始された。2001年には、妊娠後期から授乳期の母体にプロバイオティクスを投与することにより、2歳までのADの発症率が低下したという予防効果が発表された。その後も、母体に対するプロバイオティクス投与の効果について、同様の結果が数多く報告されているが、本邦での検討はない。また、市販されている食品を用いての検討は世界的にもみられない。そこで、われわれは、プロバイオティクスを用いて、正常腸内細菌叢を早期に形成することが、ADの発症予防になると仮定した。そして、第一段階として、妊娠後期の妊婦に、プロバイオティクスとして市販されている食品であるLGGヨーグルト (*Lactobacillus rhamnosus* GG菌含有)を摂取させ、出生した児の腸内細菌叢の変化を、摂取群と非摂取群で比較検討した。

【対象および方法】妊娠33週の妊婦で、LGGヨーグルトを出産まで毎日1個摂取した30例をLGG群、摂取していない妊婦20例を対照群とした。母、児の背景は、産院のカルテで後方視的に検討した。また、出生した児の便中 *Bifidobacterium* を reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) で定量し経過観察した。検査項目は、*Bifidobacterium* の菌数、検出率、菌種数、*Bifidobacterium breve* の検出率である。胎便、初乳後、退院時、生後1、4、6~9カ月、1歳に経過を観察した。

【結果】母および児の背景については、LGG群と対照群の間で差は認められなかった。*Bifidobacterium* の検出率は、LGG群で有意に高く、特に生後4カ月時は、LGG群100%、対照群66.7% ($p=0.008$)、生後6~9カ月時は、LGG群96.3%、対照群78.6% ($p=0.047$)であった。*Bifidobacterium* の菌数、菌種数に、有意差は認められないものの、LGG群の方が対照群より多く、月齢がすすむにつれて増加していた。*Bifidobacterium breve* の検出率は、9カ月まではLGG群の方が高かった。

【考察】妊娠後期の妊婦が、プロバイオティクスであるLGGヨーグルトを摂取したことで、離乳初期から離乳後期の児における *Bifidobacterium* 属菌優位な腸内細菌叢の形成が促進された。アレルギー予防のcritical periodは、妊娠中から授乳期と考えられている。今回はそのcritical periodにあたる生後6~9カ月までに、LGG群で対照群より正常腸内細菌叢の形成が促進されていたことから、今後LGG群でADの発症が対照群に比し低くなることが期待された。現在、乳児にプロバイオティクスを使用する場合は、乳酸菌製剤をミルクに混ぜることがほとんどで、プロバイオティクスミルクとして、商品化されているものはない。今回の検討では、妊婦に対してのみ、特定保健用食品として商品化されているプロバイオティクスヨーグルトを摂取させ、出生した児には摂取させなかったにもかかわらず、正常腸内細菌叢の形成が促進されたため、妊婦と児両者にとって、安全でかつ有効な方法と考えられた。今後、児のAD発症を確認し、プロバイオティクスによるADの予防効果を検討する予定である。

【結語】妊娠後期の妊婦が、プロバイオティクスであるLGGヨーグルトを摂取したことで、離乳初期から離乳後期の児における *Bifidobacterium* 属菌優位な腸内細菌叢の形成が促進された。

なばえ こう じ
難波江 功 二

学位の種類：博士（医学） 学位番号：乙第2666号

学位授与の日付：平成26年7月24日

主 論 文：Estimating the risk of parvovirus B19 infection in blood donors and pregnant women in Japan

（日本の献血者及び妊婦におけるパルボウイルス B19 感染のリスク推定）

著 者：Nabae K, Satoh H, Nishiura H, Tanaka-Taya K, Okabe N, Oishi K, Matsumoto K, Hasegawa T

公 表 誌：PLoS One 9: e92519, 2014

論文内容の要旨

【背景および目的】ヒトパルボウイルス B19 (human parvovirus B19: HPVB19) は、小児を中心に伝染性紅斑を引き起こす他、関節炎や一過性骨髄無形成発作、また妊婦が感染すると胎児死亡や胎児水腫を引き起こす可能性のあるウイルスである。

わが国における伝染性紅斑の発生動向については、感染症法の五類疾病として全国約3000の小児科定点から定期的に報告されているものの、成人での感染実態については不明な点が多く、また、1990年代にHPVB19の血清疫学研究が行われたが、それ以降20年ほど報告がなされていない。そこで、2000年代のデータを用いてHPVB19の血清疫学研究を行うとともに、数理モデル手法を用い、献血者および妊婦におけるHPVB19の感染リスクの推定を行った。

【方法】血清疫学研究については、国立感染症研究所の血清銀行に保管されている血清を用い、enzyme immunoassay (EIA) 法で抗体測定を行った。対象検体は2004～2007年の4年間に近接2県で採取されたもので、男女同数、各年齢層(0～4歳は5歳刻み群、40代は1群、50歳以上は1群)から同数ランダムサンプリングされた計1000検体を用いた。数理モデルについては、4つのモデル〔(i)年齢時間独立モデル、(ii)年齢依存時間独立パラメトリックモデル、(iii)年齢依存時間独立ノンパラメトリックモデル、(iv)年齢時間依存モデル〕を構築し、年間感染リスク(force of infection: FOI)および基本再生産関数(R_0)の推計を行うとともに、年間胎児死亡・胎児水腫数の推計を行った。献血者におけるリスクについては、日本赤十字社のデータ(2001～2007年)をもとに、年齢別の感染者数を示すとともに、上記数理モデルで得られた年齢別感染リスクとの比較を行った。

【結果】1000検体のうち、543検体(54.3%)が抗体陽性であった。抗体陽性者の平均年齢は28.4歳、男女差はなかった。(i)の年齢時間独立モデルにより得られたFOIは0.031、 R_0 は2.51であった。(iii)の年齢依存時間独立ノンパラメトリックモデルでは、FOIがもっとも高いのは5～9歳(0.12)、続いて0～4歳(0.05)であり、15～39歳と40歳以上ではそれぞれ0.0059と0.0246であると推計された。また、 R_0 は2.07〔95% confidence interval (CI): 1.33-2.98〕と推計された。出生年別では、成人のうち1965～1974年に生まれた群で比較的抗体保有率が低く、先行研究で得られていた1990年代のデータと大きな違いは見られなかった。献血者(18歳以上)におけるHPVB19の陽性率は30～39歳で最も高く、続いて40～49歳であった。妊婦では年間最大2374人が感染し、最大107例の胎児死亡、21例の胎児水腫が起きていると推計された。

【考察および結論】HPVB19の感染は主に小児で起きている一方、成人では30代で最も多く感染が起きていることが示唆され、子供を持つ家庭でのリスクや、抗体保有率が比較的低い世代での感染リスクが示唆された。また、今回得られた結果は、すでにヨーロッパ等の諸外国で得られている結果と大きな違いはなく、日本でも同様の感染動態があると推察された。本研究の限界として、i) 2県のデータに基づくものであること、ii) 妊婦の感染リスクについては、家庭の状況(子供を持つ等)を考慮していないこと、iii) リスク推定にHPVB19の流行の影響を考慮していないこと、iv) 献血データでの偽陽性や再献血者の影響を排除していないこと、があげられる。

現在HPVB19のワクチン開発が行われているが、風疹でも見られたとおりワクチン政策はその後の感染動態に影響を与えるものであり、ワクチン政策を決定する上で将来同様の研究が実施されることが重要である。