

氏 名	今井 敦子
学 位 の 種 類	博士（学術）
学 位 記 の 番 号	乙第 73 号
学位授与年月日	2019（平成 31）年 2 月 18 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	母体の炎症環境が出生子に及ぼす影響—免疫代謝の視点からの解析
論 文 審 査 委 員	主査 佐藤 和人 （人間発達学専攻 教授） 副査 丸山 千寿子（人間発達学専攻 教授） 副査 五関 正江 （人間発達学専攻 教授） 副査 江石 義信 （東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科教授）

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

妊娠中の母親の胎内環境は出生子の健康及び疾病の発症リスクに影響する。「将来の健康や特定の病気へのかかりやすさは、胎児期や生後早期の環境の影響を強く受けて決定される」という DOHaD（Developmental Origins of Health and Disease）の概念が提唱されている。言い換えれば、健康寿命の進展及び病気の予防のためには、胎生期や生後早期からの対策が必要であると言える。現在の日本では、20 代から 30 代の妊娠年齢のやせが問題視されるが、一方で若年女性での脂質エネルギー比率の増加も報告されている。また晩婚化や生殖医療技術の進歩による妊娠年齢の高年齢化も進んでいる。厚生労働省の統計によれば 35 歳以上で妊娠する女性はずでに肥満傾向にあり、加齢による肥満（内臓脂肪蓄積）は母体の糖代謝異常や動脈硬化を伴い慢性炎症の基盤を持つことで、妊娠高血圧症候群や妊娠糖尿病などの周産期合併症を増加させると考えられている。さらに世界的にみても妊娠年齢女性の 3 割以上が肥満もしくは過体重であるとの調査報告がある。現在のこの状況は、40～50 年先の将来の疾病構造に大きな影響を及ぼすと考えられるが、その影響は十分に明らかにされていない。

一方、炎症は様々な疾患の発症及び病態形成に関与する。感染症や創傷のみならず、心血管疾患や脳血管疾患のリスク因子となる肥満、糖尿病、動脈硬化症、癌、さらには近年高齢者の健康障害として問題になっているサルコペニアなどにおいても炎症は病態形成に重要な役割を果たす。これらの慢性疾患は、先進国のみならず発展途上国も含めて全世界的に急増しており、世界保健機構(WHO)は、生活習慣病や癌を総称して「非感染性疾患(non-communicable disease: NCD)」と定義し、新たな重要課題と位置づけている。多くの NCD は加齢とともに有病率が上昇するため、超高齢社会であるわが国においては、罹患者の生活の質 (Quality of life: QOL) 向上、健康寿命の延伸、医療経済的側面からも取り組まれるべき喫緊の課題である。

炎症は本来、生体の恒常性維持のために起炎体を排除し修復するための生体防御反応であり免疫反応と深く結びついている。微生物感染や創傷などにより誘導される「急性炎症（acute inflammation）」は、いわゆる炎症の四徴（熱感・発赤・疼痛・腫脹）を呈する典型的な生体防御反応であり、一過性に誘導された後、炎症反応のピークを越えると組織は恒常状態を回復する。一方、生活習慣病等でみられる「慢性炎症（chronic low-grade inflammation）」では明らかな急性炎症の特徴を示さないままに低レベルの炎症反応が持続・遷延化することが特徴である。組織障害と修復の機転が同時に続くことにより、線維化等により組織構築の改変（組織リモデリング）が生じる。組織リモデリングが高度に進行すると最終的には不可逆な臓器機能障害が引き起こされる。

脂肪組織は余剰エネルギーを中性脂肪として貯蔵する機能だけでなく、アディポカインと総称される生理活性物質を分泌する内分泌臓器である。また、単なる成熟脂肪細胞の集合体ではなく、その間質に前駆脂肪細胞や内皮細胞、免疫細胞などの多様な細胞集団を含む。肥満により過剰に蓄積した内臓脂肪組織ではアディポカイン分泌の質的・量的パターンの変化や間質細胞における炎症性の細胞動態（慢性炎症）が認められ、メタボリックシンドロームや遠隔組織（または全身性）の炎症性変化の病態形成に関与する。内臓脂肪組織の炎症は脂肪組織からの炎症性サイトカイン分泌を増加させる一方で、アディポネクチン等の一部のアディポカインの発現を低下させる。このような代謝系と免疫系の連携に着目した免疫代謝immune-metabolism と呼ばれる領域が注目を集めている。また、加齢に伴い、免疫代謝のシステムの機能低下、またはバランスの変化等に起因して恒常性の変化が生じ、それに伴う慢性炎症状態が起りやすくなることが推察されるが、加齢による変化が免疫代謝に及ぼす影響も十分には解明されていない。

そこで、本研究は母体の胎内環境が出生子に及ぼす影響を解析することを目的に行った。病態モデルマウスを用い、母体の環境が出生仔マウスに及ぼす影響を、免疫・代謝応答、炎症性疾患の病態、さらに加齢変化の視点から解析した。本研究は慢性炎症が病態に関与する疾患の発症予防・改善を目的とした栄養療法を発展させるための基礎研究としても位置づけられる。

## 第1章：母体の強力な炎症環境が出生仔マウスの免疫・アレルギー病態に及ぼす影響[研究1、2]

近年、免疫・アレルギー疾患の炎症病態と代謝病態との間に関連があり、肥満などによる代謝機能異常が免疫・アレルギー疾患の炎症病態に影響を及ぼすことが示唆されている。本研究では母体の炎症が仔マウスの免疫・アレルギーの炎症病態に及ぼす影響を明らかにすることを目的に、母マウスに Lipopolysaccharide(LPS) 投与による強力な炎症を誘導し、出生仔マウスの免疫・アレルギー疾患モデルの病態に及ぼす影響について、免疫代謝の視点から検討した。LPS はグラム陰性桿菌の細胞膜成分であり、生体内ではマクロファージなどの自然免疫系細胞の Toll-like receptor (TLR) 4 により認識される。LPS によりヘルパーT (Thelper: Th) 細胞のうち、特に Th1 型の細胞性免疫応答が誘導され、急性の炎症反応が生じる。また、母マウスへの LPS 投与による炎症誘導は仔マウスの脂肪蓄積を増加させ、代謝機能の恒常性を障害する（インスリン抵

抗性の亢進など）ことが報告されている。これらの変化は、仔マウスにおける免疫応答を変化させ、相互に関連しあって炎症病態に影響を及ぼす可能性があるが、その影響は不明である。第1章では Th タイプの異なる病態モデルを用い、Th バランス及びアディポカイン産生などの免疫代謝機能が炎症病態に及ぼす影響を解析した。

#### [研究1]実験的アレルギー性鼻炎モデル (Th2型優位モデル) での検討

近年、アレルギー疾患の発症が増加している。アレルギーは遺伝的要因に環境要因が加わって発症する。近年の急激な増加は、遺伝的要因よりむしろ環境要因の変化が重要な役割を果たしていると考えられるがその詳細は不明である。アレルギーは本来生体に有害ではない抗原に対して過剰な免疫応答が生じる状態であり、抗原特異的な獲得免疫機能の異常であるが、自然免疫系と獲得免疫系が複雑に関与し合って発症する。アレルギー疾患はヘルパーT細胞機能が Th2 型優位で発症しやすい。近年、環境中の微生物との接触とアレルギー疾患の発症リスクとの関連についての研究が行われ、環境中のグラム陰性桿菌の細胞膜成分である LPS 量とアレルギー発症リスクとの間に関連があり、特に生後1年までの LPS 曝露がアレルギー疾患発症を予防すると報告されている。一方、LPS 投与は免疫系への影響だけでなく、内分泌系におけるホルモン分泌および神経系にも影響を及ぼす。したがって、母体の LPS 投与による炎症環境が出生仔に及ぼす影響を検討するにあたり、免疫学的な側面のみならず、出生仔の代謝機能の変化も考慮する必要がある。しかしながら、アレルギーの炎症病態に影響を及ぼす母体環境因子の検討は十分になされていない。本研究では LPS 投与による母体の炎症環境が出生仔マウスのアレルギー性鼻炎の病態に及ぼす影響について、抗原特異的な免疫応答に加えて、代謝機能も解析し、相互の関連について検討した。その結果、母炎症群は体重及び内臓脂肪重量が有意に高値であり、血中レプチン濃度も高値であった。一方、母炎症群において脾臓細胞培養上清中の IFN $\gamma$  産生が高値であり、Th バランスの指標となる IFN $\gamma$ /IL-4 比率はコントロール群に対して有意に高値であった。すなわち母炎症群は Th バランスが Th1 優位であった。しかしながら、アレルギー病態の指標となる OVA 特異的な IgE 抗体価や実験的アレルギー性鼻炎の病態（くしゃみ・ひっかき回数）の抑制は認められなかった。レプチンは T 細胞の分化や活性に影響し、特に IFN $\gamma$  産生を促し Th1 型優位を促進する。一方で、肥満細胞からのヒスタミンやプロスタグランジン D2 の放出を促進して I 型アレルギー応答を促進する。これらのことからレプチンは炎症病態に多面的に働き、炎症病態を調節する可能性がある。抗原特異的なリンパ球増殖反応や Th バランスはアレルギーの主要な免疫指標であり、母の炎症はアレルギー抑制的に作用したと考えられるが、本研究において母炎症群の IgE 抗体価やアレルギーの病態が抑制されなかった要因として、レプチンが Th バランスに影響を及ぼすとともに、アレルギーの局所炎症を亢進する役割を果たした可能性が推測された。以上のことから、母体の炎症環境が出生仔のアレルギー炎症に及ぼす影響について、脂肪組織機能の変化の視点から更に検討する必要がある。

#### [研究2]コラーゲン誘導性関節炎モデル (Th1型優位モデル) での検討

近年、ヒト関節リウマチ患者ではリウマチ性悪液質や中心性肥満を認め、冠動脈疾患の罹患率が高いことが報告されている。関節リウマチの炎症病態が代謝機能に影響し、中心性肥満を引き起こす可能性がある。また、中心性肥満（内臓脂肪蓄積）による脂肪組織炎症をはじめとする代謝異常が関節リウマチの炎症病態に影響を及ぼすと考えられる。そこで、研究2では母体の炎症が仔の免疫機能および代謝機能を調節し、炎症性疾患の病態形成に影響すると仮説を立て、コラーゲン誘導性関節炎（CIA）の発症に及ぼす影響を解析した。足関節腫脹を75日間にわたって観察し、その後解剖して足関節の組織学的観察、タイプIIコラーゲン特異的抗体価、全身性免疫機能の指標としてリンパ球機能を解析した。さらに、足関節腫脹と血清中炎症性サイトカイン、およびレプチン濃度の関連を検討した。その結果、母炎症群において発症初期の足関節腫脹が有意に軽度であった。しかしながら、長期の観察により、徐々にコントロール群との差はなくなった。解剖時点（26週齢）における足関節の組織学的観察によるCIAスコアとCII特異的IgG抗体価は母炎症群において有意に低値であった。これらの結果より、母体の炎症環境は出生仔マウスのCIA発症を遅らせる、または調節することが示された。

一方で、追加免疫後75日目にあたる解剖時（26週齢）での検討では、RAにおいて疾患活動性の指標となる血清IL-6濃度は、母炎症群において有意に高値、血中レプチン濃度は低値傾向であった。血中レプチン濃度は体重や体脂肪量と正相関する。しかしながら、RA患者ではBMIとは関連せず、CRPやIL-6といった炎症の程度を表わす指標と逆相関するとの報告がある。本研究でも体重および脂肪重量には2群間に差は認められず、血中レプチン濃度は血中IL-6濃度と逆相関した。研究室の先行研究においても、疾患活動性が高いRA患者は血中レプチン値が有意に低値であった。またCIA誘導により血中レプチン濃度は低値を示した。炎症性サイトカイン刺激下で脂肪細胞を培養するとレプチンのmRNA発現およびタンパク産生が抑制されるという*invitro*実験の結果がある。関節局所では関節滑膜液の炎症性サイトカイン産生は亢進しており、関節内でのレプチン代謝を抑制しているかもしれない。以上の先行研究の結果より、解剖時における血中IL-6濃度高値、レプチン濃度低値は母炎症群のCIA病態が今後、増悪する傾向にあることを示している可能性がある。

## 第2章母マウスの食餌誘導性肥満による慢性炎症が出生仔マウスの加齢変化に及ぼす影響[研究3]

第1章では、母体のLPSによる強力な炎症環境が出生仔マウスの脂肪組織機能に影響し、免疫・アレルギー疾患の病態に影響を及ぼすことを示した。第2章では、low-gradeの炎症環境である食餌誘導性肥満による慢性炎症が出生仔マウスに及ぼす影響を検討した。

慢性炎症は生活習慣病や癌などの加齢関連疾患に共通する基盤病態である。高齢者では慢性炎症が生じやすく、炎症が加齢関連疾患の発症や病態の進展に関与していると考えられる。一方、加齢に伴い免疫系は大きく変化する。特に獲得免疫応答の低下、炎症増大傾向および自己免疫疾患の増加が知られており、これらの加齢に伴う免疫機能の変化を「免疫老化」と呼ぶ。また、肥満により過剰に蓄積した内臓脂肪組織ではアディポカイン分泌の変化や間質細胞における炎症

性の細胞動態（慢性炎症）が認められ、メタボリックシンドロームや遠隔組織（または全身性）の炎症性変化の病態形成に関与する。このような免疫系と代謝系の連携に着目した免疫代謝 **immune-metabolism** と呼ばれる領域が注目を集めている。通常、免疫系と代謝系は相互に連携し、生体の恒常性維持に役割を果たしている。しかしながら、加齢に伴いこれらのシステムの機能低下、またはバランスの変化等に起因して恒常性の変化が生じ、それに伴い慢性炎症状態が起りやすくなることが推測される。そこで本研究では加齢による免疫機能の変化である「免疫老化」に着目し、母マウスの食餌誘導性肥満が仔マウスの老齢期の免疫及び代謝機能に及ぼす影響を解析した。さらに老齢期での影響の機序を検討するため、新生仔期（0～7日齢）における検討も行った。母マウスには交配1週間前から高脂肪食または普通食を摂取させ、妊娠中、授乳中を通して同じ実験食を摂取させた。離乳後、それぞれの実験食群の仔マウスをさらに2群にわけ、高脂肪食または普通食を摂取させ、計4群で飼育した。その結果、母マウス高脂肪食摂取の影響により、仔マウスの体重は若齢期では有意に高値を示した。これに対して老齢期では逆に母マウス高脂肪食摂取の影響により低値を示した。また、すべての群においてピーク体重に達した後、加齢が進むに連れて仔マウスの体重は減少した。ピーク体重に達した週齢は母マウス高脂肪食の影響により有意に早期であった。以上のことから、母マウス高脂肪食摂取の影響により、加齢に伴う体重減少が早まり、老化が促進した可能性が示唆された。70週齢時の体組成の分析結果において、母高脂肪食摂取により仔マウスで観察された加齢による体重減少は、筋肉量の低下ではなく、脂肪量の低下による影響を受けている可能性が考えられた。加齢に伴い脂肪組織の機能が低下し、前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞に分化する過程が障害され、その結果、脂肪細胞が脂肪を蓄える能力が低下し脂肪細胞のサイズが小さくなる。よって母高脂肪食摂取の影響により脂肪組織の加齢変化が速まったことが示唆された。本研究では「免疫老化」を評価するため、抗原特異的免疫応答、T細胞表面抗原の変化を評価した。OVA特異的IgG,IgE産生において、加齢による変化は認められたものの、母高脂肪食摂取による影響は認めなかった。一方、フローサイトメトリー法によるT細胞の表面抗原解析の結果、ナイーブ/メモリー比率は有意に低下、また加齢関連T細胞として加齢による増加が報告されているPD-1+memory phenotype(MP)CD4+T細胞比率が加齢により有意に高値を示した。PD-1+MPCD4+T細胞は加齢により増加し、T細胞レセプター刺激に対する増殖反応を示さないこと、強力な炎症性サイトカインであるオステオポンチンを大量に分泌することから、獲得免疫機能の低下および炎症素因の増大という免疫老化の現象と符合し、免疫老化に重要な役割を果たす細胞であることが提唱されている。加えて、PD-1+MPCD4+T細胞は加齢のみならず、食餌誘導性肥満マウスの内臓脂肪組織中に増加した。PD-1+MPCD4+T細胞の増殖に直接影響する因子は同定されていないが、肥満した内臓脂肪組織の環境がPD-1+MPCD4+T細胞を増加させることが推測されている。本研究では、母マウス高脂肪食摂取の影響によりPD-1+MPCD4+T細胞比率が増加したことから、母マウス高脂肪食摂取は仔マウスの脂肪組織の加齢変化を引き起こし、「免疫老化」を促進した可能性が推測された。肝臓の組織学的観察において、母マウスおよび仔マウスの高脂肪食摂取の影響により単純脂肪肝より非アルコール性脂肪肝疾患(NAFLD)が進んだ状態である脂肪肝炎が観察された。

それに対して、仔マウスのみ高脂肪食摂取では重度の脂肪肝を認めたものの、炎症や線維化は生じていなかった。すなわち、周産期だけでなく離乳後も高脂肪食を摂取することにより脂肪肝炎が増悪した。肝臓では自然免疫系が恒常性維持、肝細胞の再生に役割を果たしている。健康な肝臓では Natural killer (NK) T 細胞は肝臓類洞に存在し、肝臓の恒常性維持に役割を果たす。NAFLD において、脂肪肝では NKT 細胞の数が減少すること、非アルコール性脂肪肝炎の生検組織では脂肪肝の程度が増すと NKT 細胞数が低下することが報告されている。本研究では NKT 細胞数は母高脂肪食摂取および仔高脂肪食摂取の影響により有意に低下していた。以上のことから、母高脂肪食摂取は自然免疫系による肝臓の恒常性維持機能を変化させ、そのことが肝臓における炎症や線維化をもたらす原因となったと推測した。

老齢期における脾臓 T 細胞サブセットの変化の機序を検討するため、老齢マウスの母マウスと同じ飼育条件で飼育した母マウスから生まれた仔マウスについて、新生仔期における胸腺の発達を検討した。出生日 (day0)、3 日齢 (day3)、7 日齢 (day7) で解析したところ、胸腺の発達段階である  $CD4\cdot CD8 \Rightarrow CD4+CD8+$  (double positive, DP)  $\Rightarrow CD4+CD8-$  または  $CD4\cdot CD8+$  の分化段階において母高脂肪食摂取の仔マウスと母普通食摂取の仔マウスの群間に有意な差が認められた (母高脂肪食摂取群の仔マウスにおいて DP 細胞比率が増加、 $CD4+CD8-$  および  $CD4\cdot CD8+$  細胞比率の低下)。すなわち母高脂肪食摂取は新生仔マウスの胸腺の発達段階に影響し、 $CD4+CD8-$  および  $CD4\cdot CD8+$  細胞への分化を妨げることが推測された。本研究の加齢マウスの解析において、Treg 細胞や PD-1+MPCD4+T 細胞、NKT 細胞の比率に変化が認められた。母マウス高脂肪食摂取は、一次リンパ節である胸腺の発達を変化させ、胸腺内での T 細胞の分化に影響し、脂肪組織や肝臓における加齢変化を促進した可能性があり、さらに詳細な機序の検討が必要である。また、これらの代謝系と免疫系の変化は相互に関連することが推測される。今後は仔マウスを時間経過を追って観察し、母マウス高脂肪食摂取が仔マウスの脂肪組織および免疫機能の加齢変化に及ぼす影響を解析する必要がある。

### 第 3 章：母体における自己抗原の経口摂取が仔マウスの自己免疫疾患の病態に及ぼす影響 [研究 4]

関節リウマチ (RA) は原因が不明の多発性関節炎を主徴とする進行性かつ炎症性の疾患である。関節滑膜に病変の主座があり、滑膜の増殖から次第に周囲の軟骨・骨が侵され、関節の破壊と変形に至ることが多い。RA の発症には遺伝要因に加えて環境要因が関与する。一卵性双生児においても RA 発症の一致率は 12~32% 程度であり、環境要因が発症に強く関与することが推測される。一方、RA に対する治療は抗リウマチ薬や生物学的製剤が用いられ、炎症や痛みを抑えるだけでなく、病態の進行を食い止めて関節の破壊を防ぐ治療が開発され、患者の生活の質 (QOL) 改善を目指す治療が出来るようになってきた。しかしながら、関節リウマチの根本原因は未解明であり、根治的な治療法が確立していない。また、これらの新しい治療法の問題点として、副作用や医療費の増大がある。より生理的な治療法として注目されるのが経口免疫寛容療法である。経口免疫寛容とは、経口摂取した抗原、すなわち粘膜面から取り込んだ抗原に対して

抗原特異的免疫応答が抑制される現象である。関節成分の一つであるタイプ II コラーゲン (CII) を経口摂取することにより、免疫寛容を誘導し、関節炎を抑制する治療法が試みられている。第 1、第 2 章において、母体の炎症環境が仔マウスの炎症病態に影響を及ぼすことを示した。そこで第 3 章では、胎児期や生後早期の環境調節による予防法を探索するための実験的試みとして、自己抗原である CII を母マウスに経口投与し、その後、出生仔マウスに誘導した CIA の病態に及ぼす影響を検討した。その結果、仔マウスの足関節腫脹は母マウスへの CII 経口投与の影響により、有意に軽度であった。出生後の仔マウスにも CII 経口投与することで足関節腫脹はさらに軽減された。また、腸管パイエル板細胞の CII 刺激による IL-10 産生量は母マウスおよび仔マウスの両方に CII を経口投与した CII-CII 群において有意に高値であった。経口免疫寛容の成立機序は主に 3 つ知られており、少量の抗原の頻回摂取による制御性 T 細胞 (Treg) による能動的抑制、大量の抗原摂取によるヘルパー T 細胞の低応答化やクローンの消失がある。自己免疫疾患に対する経口免疫寛容療法においては Treg による能動的抑制の誘導が重要である。本研究では腸管関連リンパ組織のパイエル板細胞において、CII 刺激に対する IL-10 の産生が有意に高値であり、能動的抑制機構が誘導されたことが示唆された。以上の結果より、自己免疫疾患である RA の病態モデルである CIA において、母マウスへの自己抗原の経口投与が仔マウスの CIA 病態を軽減することが示された。またその機序として、腸管免疫系の応答の変化が関節局所の免疫応答の抑制に関与した可能性が示唆された。今回得られた結果の機序をさらに検討し、RA の予防法として応用が可能であるか検討する必要がある。

本研究により第 1 章[研究 1, 2]では、母体の強力な炎症環境が出生仔マウスの免疫・アレルギー疾患モデルの病態に及ぼす影響を解析した。アレルギーと自己免疫疾患は免疫機能が過剰に反応することで炎症を生じる疾患であることに加えて、近年、その炎症病態と代謝機能との相互作用が重症度や合併症発症に影響することが報告されている。本研究では母体の強力な炎症環境は仔マウスの免疫機能の変化のみならず、体重増加や血中レプチン濃度の増加などの代謝機能の変化を介して炎症病態を変化させることが示唆された。

第 2 章[研究 3]においては、low-grade の炎症環境である食餌誘導性肥満による慢性炎症が仔マウスに及ぼす影響を解析した。その結果、母マウス高脂肪食摂取の影響により、加齢による体重減少が有意に早く、高度に起こること、加齢関連 T 細胞と呼ばれ、免疫老化に関連する T 細胞の割合が増加することが明らかになった。

以上のことから、母マウスの高脂肪食摂取による慢性炎症は、仔マウスの脂肪組織機能および免疫機能の加齢変化を促進することが示された。またこれらの加齢変化が相互に作用し、肝臓組織において肝小葉への炎症性細胞浸潤や肝硬変形成の前段階である線維化が生じ、非アルコール性脂肪肝疾患の病態を悪化させることが示唆された。また、T 細胞サブセットの変化はすでに新生仔期に生じており、これらの変化が老齢期における加齢変化を促進した可能性がある。

第 3 章[研究 4]では、第 1 章、第 2 章において、母体の胎生期や生後早期の炎症環境が仔マウスの炎症病態を変化させることを示した。これをふまえ、仔マウスでの炎症病態を抑制、予防す

るための胎生期、生後早期の環境を検討することを目的に、炎症性の自己免疫疾患である関節リウマチモデルマウスを用い、母マウスの自己抗原の経口投与が仔マウスの経口免疫寛容誘導による関節炎病態の抑制に及ぼす影響を解析した。その結果、母マウスへの自己抗原経口投与により、仔マウスでは抗原特異的応答が低下、または抑制性応答が亢進した。今後は得られた結果の機序をさらに検討し、子での予防法として応用可能か検討する必要がある。

以上の章からなる本研究により、母マウスの炎症環境は出生仔マウスの炎症病態に影響し、その背景として脂肪組織からのアディポカイン分泌の変化などの代謝機能の変化を介した‘免疫応答と代謝機能との相互作用’の変化があることが示唆された。また仔の炎症病態の予防・改善に胎生期、生後早期の環境調節が有効である可能性が示唆された。

最後に、本研究を行うことで胎生期から生後早期という発達の初期段階の生体を取り巻く環境が成長後の健康・疾患に大きな影響を及ぼすことを改めて認識した。また、栄養と免疫は生体の恒常性を保つ基本的な事象であり、相互に影響しあっていることは古くから認識されてきたが、近年、その相互作用の分子機構の研究が進み、様々な疾患の発症、特に全世界で問題になっている NCD の病態に深く関与していることが明らかになってきている。しかしながら、栄養状態と免疫系の相互作用の理解は未だ不十分であり、immune-metabolism の視点から栄養状態と免疫機能の関わりを追求することは、慢性炎症やそれに伴い増加する加齢関連疾患の理解、栄養療法の発展に必要である。動物モデルを用いた本研究の結果はすぐにヒトに外挿できるものではないが、妊娠年齢女性の生活習慣是正のための基礎情報として、さらに immune-metabolism の視点から栄養療法を発展させるための基礎研究として有用であると考ええる。栄養療法による炎症性疾患の予防、改善のため、管理栄養士の視点からこれらの課題に取り組んでいきたい。

## 論文審査結果の要旨

妊娠中の母親の胎内環境は出生子の健康及び疾病の発症リスクに影響を与えるが、「将来の健康や特定の病気へのかかりやすさは、胎児期や生後早期の環境の影響を強く受けて決定される」という DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) の概念が提唱されている。言い換えれば、健康寿命の進展及び病気の予防のためには、胎生期や生後早期からの対策が必要であると言える。現在の日本では、20 代から 30 代の妊娠年齢のやせが問題視されているが、一方で若年女性での脂質エネルギー比率の増加も報告されている。また晩婚化や生殖医療技術の進歩による妊娠年齢の高年齢化も進んでいる。厚生労働省の統計によれば 35 歳以上で妊娠する女性はすでに肥満傾向にあり、加齢による肥満（内臓脂肪蓄積）は母体の糖代謝異常や動脈硬化を伴い慢性炎症の基盤を持つことで、妊娠高血圧症候群や妊娠糖尿病などの周産期合併症を増加させると考えられている。さらに世界的にみても妊娠年齢女性の 3 割以上が肥満もしくは過体重であるとの調査報告があり、現在のこの状況は、40～50 年先の将来の疾病構造に大きな影響を及ぼ



すと考えられるが、その影響は十分に明らかにされていない。

一方、炎症は様々な疾患の発症及び病態形成に関与し、感染症や創傷のみならず、心血管疾患や脳血管疾患のリスク因子となる肥満、糖尿病、動脈硬化症、癌、さらには近年高齢者の健康障害として問題になっているサルコペニアなどにおいても病態形成に重要な役割を果たす。これらの慢性疾患は、先進国のみならず発展途上国も含めて全世界的に急増しており、加齢とともに有病率が上昇するため、超高齢社会であるわが国においては、罹患者の生活の質の向上、健康寿命の延伸、医療経済的側面からも取り組まれるべき喫緊の課題である。炎症は本来、生体の恒常性維持のために起炎体を排除し修復するための生体防御反応であり免疫反応と深く結びついているが、生活習慣病等でみられる「慢性炎症」では低レベルの炎症反応が持続・遷延化することが特徴である。組織障害と修復の機転が同時に続くことにより、線維化等により組織構築の改変(組織リモデリング)が生じ、組織リモデリングが高度に進行すると最終的には不可逆な臓器機能障害を引き起こす。

脂肪組織は余剰エネルギーを中性脂肪として貯蔵する機能だけでなく、アディポカインと総称される生理活性物質を分泌する内分泌臓器である。また、単なる成熟脂肪細胞の集合体ではなく、その間質に前駆脂肪細胞や内皮細胞、免疫細胞などの多様な細胞集団を含んでいる。肥満により過剰に蓄積した内臓脂肪組織ではアディポカイン分泌の質的・量的パターンの変化や間質細胞における炎症性の細胞動態(慢性炎症)が認められ、メタボリックシンドロームや遠隔組織(または全身性)の炎症性変化の病態形成に関与する。

そのような背景から代謝系と免疫系の連携に着目した免疫代謝 immune-metabolism と呼ばれる領域が注目を集めている。また、加齢に伴い、免疫代謝のシステムの機能低下、またはバランスの変化等に起因して恒常性の変化が生じ、それに伴う慢性炎症状態が起りやすくなることが推察されるが、加齢による変化が免疫代謝に及ぼす影響も十分には解明されていない。

そこで、本論文は母体の胎内環境ならびに出生後の環境が出生子に及ぼす影響を解析することを目的に、病態モデルマウスを用い、免疫・代謝応答、炎症性疾患の病態、さらに加齢変化の視点から解析したものである。

本論文は三章、四つの研究から構成されている。

第1章：母体の強力な炎症環境が出生子マウスの免疫・アレルギー病態に及ぼす影響[研究1、2]

[研究1] 実験的アレルギー性鼻炎モデル(Th2型優位モデル)での検討

[研究2] コラーゲン誘導性関節炎モデル(Th1型優位モデル)での検討

第2章 母マウスの食餌誘導性肥満による慢性炎症が出生子マウスの加齢変化に及ぼす影響[研究3]

第3章:母体における自己抗原の経口摂取が子マウスの自己免疫疾患の病態に及ぼす影響[研究4]

第1章[研究1, 2]では、母体の強力な炎症環境が出生仔マウスの免疫・アレルギー疾患モデルの病態に及ぼす影響を解析している。アレルギーと自己免疫疾患は免疫機能が異常な方向へ過剰に反応することで炎症を生じる疾患であるが、そのことに加えて、近年、その炎症病態と代謝機能との相互作用が重症度や合併症発症に影響することが報告されている。そこで本研究では[研究1] 実験的アレルギー性鼻炎モデル(Th2型優位モデル)での検討、[研究2] コラーゲン誘導性関節炎モデル(Th1型優位モデル)での検討をおこない、母体の強力な炎症環境は仔マウスの免疫機能の変化のみならず、体重増加や血中レプチン濃度の増加などの代謝機能の変化を介して炎症病態を変化させることを示した。

第2章[研究3]においては、low-gradeの炎症環境である食餌誘導性肥満による慢性炎症が仔マウスに及ぼす影響を解析している。その結果、母マウス高脂肪食摂取の影響により、加齢による体重減少が有意に早く、高度に起こること、加齢関連T細胞と呼ばれ、免疫老化に関連するT細胞の割合が増加することを明らかにした。

すなわち、母マウスの高脂肪食摂取による慢性炎症は、仔マウスの脂肪組織機能および免疫機能の加齢変化を促進することを示している。またこれらの加齢変化が相互に作用し、肝臓組織において肝小葉への炎症性細胞浸潤や肝硬変形成の前段階である線維化が生じ、非アルコール性脂肪肝疾患の病態を悪化させることを明らかにした。また、免疫系の機能を反映するT細胞サブセットの変化はすでに新生仔期に生じており、これらの変化が老齢期における加齢変化を促進した可能性のあることを示した。

第3章[研究4]では、第1章、第2章において、母体の胎生期や生後早期の炎症環境が仔マウスの炎症病態を変化させることをふまえ、仔マウスでの炎症病態を抑制、予防するための胎生期、生後早期の環境を検討することを目的に、炎症性の自己免疫疾患である関節リウマチモデルマウスを用い、母マウスの自己抗原の経口投与が仔マウスの関節炎病態に及ぼす影響を解析している。その結果、母マウスへの自己抗原経口投与により、仔マウスでは抗原特異的応答が低下、または抑制性応答が亢進したことが示唆された。今後は得られた結果の機序をさらに検討し、子供での予防法として応用可能か検討する必要がある。

以上のように本論文では、母マウスの炎症環境は出生仔マウスの炎症病態に影響し、その背景として脂肪組織機能の変化を介した‘免疫応答と代謝機能との相互作用’の変化があることを示し、さらに仔の炎症病態の予防・改善に胎生期、生後早期の環境調節が有効である可能性を示唆している。

本論文において胎生期から生後早期という発達の初期段階の生体を取り巻く環境が成長後の健康・疾患に大きな影響を及ぼすことを改めて明らかにした。また、栄養と免疫は生体の恒常性を保つ基本的な事象であり、相互に影響しあっていることは以前から認識されているが、近年、そのメカニズムの研究が進み、様々な疾患の発症の病態に深く関与していることが少しずつ明らかになってきている。しかしながら、依然として栄養状態と免疫系の相互作用の理解は不十分である。immune-metabolism 免疫代謝の視点から栄養状態と免疫機能の関わりを追求することは、慢性炎症やそれに伴い増加する加齢関連疾患の理解、栄養療法の発展に必要であると考え。動

物モデルを用いた本研究の結果はすぐにヒトに応用できるものではないが、妊娠年齢女性の生活習慣是正のための基礎情報として、さらに immune-metabolism の視点から栄養療法を発展させるための基礎研究として有用であると考ええる。

以上より、審査委員会は、研究課題の重要性、研究手法の妥当性、研究成果の分析ならびに考察の適切性、研究の発展性などを審査した結果、本論文はいずれも高く評価でき、博士（学術）授与に十分値すると全員一致で判断した。