

## 学 位 論 文 要 旨

## 研究題目

Equol, a soybean metabolite with estrogen-like functions, decreases lipopolysaccharide-induced human neutrophil extracellular traps *in vitro*  
(女性ホルモン様の機能を有する大豆代謝産物のエクオールは、*in vitro* でリポポリサッカライド誘発性ヒト好中球を減少させる)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 生体応答制御系

救急集中治療医学(指導教授 平田 淳一)

氏 名 村上 博基

好中球は敗血症などの感染症に対して細菌の排除に強力な効果を持つ免疫細胞である。好中球の新たな防御機構として2004年に好中球細胞外トラップ(Neutrophil Extracellular Traps: NET)が報告された。好中球は細菌や細菌の細胞壁構成成分であるリポ多糖(Lipopolysaccharide: LPS)などに遭遇するとNETを形成する。NETは好中球の細胞核のDNA、細胞質内の抗菌蛋白のエラスターゼなどが付着した網目状構造で、細菌やウイルスなどの病原体の波及を抑制する働きがある。しかし、敗血症では免疫反応の異常により、好中球から過剰なNETが放出され、全身性炎症や臓器障害の原因となることが報告されている。したがって、NET形成を適切に制御することは、敗血症の重要な治療法となる可能性がある。また、敗血症の予後には性差があり、女性の方が男性より生存率が高いことが報告されており、女性ホルモンの影響が関与していると考えられる。我々は、NET制御に女性ホルモン類似物質で抗炎症作用を示すエクオールに注目した。*in vitro* でヒト好中球をLPS刺激によるNET形成に対するエクオールの効果を検証した。

健康人の静脈血より採血し、磁気ビーズ分離システムで好中球を分離し、LPS処理により好中球NETを誘導した。NET誘導後にエクオール添加群と対象群(Dimethyl sulfoxide: DMSO)を37度5%CO<sub>2</sub>の培養用インキュベーターで3時間培養しNETを評価した。3時間培養後のNETを酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)でDNA結合エラスターゼを定量し、免疫染色でNET面積を評価した。その結果、0.01  $\mu$ M および0.1  $\mu$ M の低濃度のエクオール添加群が男性ボランティアの好中球NETのDNA結合エラスターゼとNET面積を有意に減少させた。0.01  $\mu$ M のエクオールはLPS処理後45分で男性ボランティアの好中球NETで核内ペプチジルアルギニンデアミナーゼ4(PAD4)の発現を有意に減少させた。(逆転写定量PCR)低濃度のエクオールはエストロゲン受容体であるG蛋白共役型受容体30(GPR30)の発現量と好中球貪食能を変化させなかった。

本研究結果から、エクオールは好中球の機能を変えないことなく、男性由来の過剰なNETを抑制することが示された。