

令和 元年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06266

研究課題名(和文) アデノシンシグナルを介した妊娠高血圧腎症の病態機序の解明と臨床への応用を目指して

研究課題名(英文) Investigation of placental adenosine signaling in the pathogenesis of preeclampsia

研究代表者

入山 高行 (Iriyama, Takayuki)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10570442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 17,400,000円

研究成果の概要(和文)：<実績1>転写因子Xが、アデノシンシグナル関連分子であるYおよびZの発現誘導を介して、妊娠高血圧腎症(PE)におけるアデノシンシグナル経路の増強に関与していること明らかとした。<実績2>血管内皮障害の改善効果の予想される薬剤Xの投与が、PEモデルマウスの症状を改善することを明らかとした。<実績3>絨毛細胞におけるHIF-2 の亢進が、PEで認められる胎盤でのPLGFの発現低下に関与することを明らかとした。<実績4>胞状奇胎において、sFlt-1、PEに密接に関連する炎症性サイトカインLIGHTの発現が亢進しており、胞状奇胎での高頻度のPE発症の背景にある機序として重要であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠高血圧腎症(PE)は、妊娠中の高血圧を主徴とする疾患であり、母児の周産期罹病の主因であるが、その発症と病態形成の詳細な分子機序はいまだ不明な点が多い。本研究においては、PEにおいて増強した胎盤でのアデノシンシグナルの分子機序の一端を明らかとし、アデノシンシグナルおよび血管内皮障害を標的とした治療的な可能性を示す結果を得た。PEに対する病態に即した有効な治療法は存在せず、PE病態の分子機序の解明および治療法の開発は喫緊の課題である。臨床への応用を含め、本研究がその一歩となる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：We found that () transcription factor X plays key roles in the enhancement of placental adenosine signaling leading to preeclampsia(PE). () agent X with the effects to ameliorate endothelial dysfunction shows therapeutic potentials for PE. () elevation of HIF-2 in trophoblasts underlies the downregulation of PLGF expression in PE. () elevation of LIGHT leading to the increased sFlt-1 expression implies the pathogenic link between the development of PE in hydatidiform mole.

研究分野：周産期医学

キーワード：妊娠高血圧腎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧腎症 (PE) は、妊娠中の高血圧を主徴とする疾患であり、母児の周産期罹病の主因である。低酸素、炎症などのストレスによる胎盤のダメージが PE の発症に深く寄与することはよく知られているが、その詳細な機序はいまだ不明な点が多い。PE に対する病態に即した有効な治療法は存在せず、PE の発症における分子機序の解明および治療法の開発は我々周産期医療従事者にとっては喫緊の課題である。本研究では、申請者らが明らかとしてきた、胎盤でのアデノシンシグナルや、転写因子 Hypoxia inducible factor (HIF) の PE 病態への関与について主に着目し、多角的に研究を進めた。

2. 研究の目的

検討 1) PE における胎盤でのアデノシンシグナル亢進の分子機序の解明と治療的な可能性の探求

検討 2) PE に対する新規薬剤を用いた治療的な可能性の探求

検討 3) PE における PLGF 発現低下の分子機序の解明

検討 4) PE 発症のハイリスクである胞状奇胎症例の解析による、PE の契機となる胎盤異常発生の分子機序の解明

3. 研究の方法

1) PE マウスモデルを施行し、転写因子 X のアデノシンシグナル経路の増強を介した PE の病態形成への関与を検討する。ヒト絨毛細胞組織片培養やヒト絨毛細胞不死化細胞株 HTR-8/SV neo 細胞を用い、転写因子 X の活性化が、アデノシン関連分子 Y および Z の転写・発現誘導およびアデノシンの産生を引き起こすかを検討する。

2) PE マウスモデルを施行し、血管内皮障害の改善効果の予想される薬剤 X の投与を行い、母獣の PE 表現型が改善されるかを検討する。

3) 初代絨毛細胞を用いて、転写因子 HIF-1 および HIF-2 に着目し、PE 患者でみられる PLGF の発現低下との関連性を検討する。

4) PE を高率に発症する胞状奇胎の症例の血中及び胎盤における sFlt-1、および PE に密接に関連する炎症性サイトカイン LIGHT の発現を検討する。

4. 研究成果

1) PE マウスモデルにおいて転写因子 X を阻害することで、胎盤での Y および Z の発現は抑制され、アデノシンシグナルの増強は軽減され、PE の症状が改善した。ヒト絨毛細胞においても、マウスの知見を支持する結果を得た。胎盤での転写因子 X が、アデノシン関連分子 Y および Z の発現の亢進を惹起し、胎盤でのアデノシンシグナルの増強と亢進状態の維持に重要な役割を果たしており、PE の発症に密接に関与することを示す結果を得た。また、アデノシンの分解を促す薬剤 A の投与により胎盤でのアデノシン発現を抑制すると、PE の表現型が改善される、というアデノシンを標的とした治療的な可能性を示す結果を得た (現在、論文投稿中)。

2) 全身の血管内皮細胞障害は、PE 病態の本質をなす機序である。血管内皮障害の改善効果の予想される薬剤 X の投与が、PE マウスモデルにおける PE 表現型を改善した。薬剤 X の投与は、母獣の高血圧、蛋白尿の PE 症状のみならず、胎盤の血管形成、発育を促進し、胎児発育不全にも治療的效果を示した。このことは、薬剤 X が、全身の血管内皮障害のみならず、その契機ともなる胎盤の形成不全、それに伴う胎盤機能障害への治療的な効果を有することを示していた (現在、論文投稿中)。

3) PE の病態形成において、胎盤及び母体血中における soluble Flt-1(sFlt-1)の増加と placental growth factor (PLGF)の低下に代表される、血管新生関連因子の不均衡が根底にあることは知られている。sFlt-1 の発現亢進の機序については HIF-1 の関与など多くの報告があるが、PLGF の低下の分子機序は不明であった。PE 患者胎盤での発現解析の結果、母体血に接する、合胞体性栄養膜細胞において HIF-2 の発現が亢進していた。初代培養合胞体性栄養膜細胞を低酸素に暴露すると、HIF-2 の発現亢進に伴い、PLGF の発現が低下しており、PE 患者血中における PLGF の発現の低下には HIF-2 が重要であることを示す結果であった。

4) 胞状奇胎の患者の血中において、週数の一致した正常妊婦に比較して、sFlt-1、および PE に密接に関連する炎症性サイトカイン LIGHT の発現が亢進していた。sFlt-1、および LIGHT は正の強い相関を示した。さらに、ヒト絨毛細胞に LIGHT を添加すると、sFlt-1 の発現が誘導された。このことは、胞状奇胎において、治療されないで経過すると約 30%という高率で PE を発症する病態の背景に、LIGHT の亢進がある可能性を示唆する結果であった。また、LIGHT の亢進は、PE 発症の契機となる因子である可能性をも示唆していた(現在、論文投稿中)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

- 1) Nagamatsu T, Fujii T, Schust DJ, Tsuchiya N, Tokita Y, Hoya M, Akiba N, Iriyama T, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Tokishakuyakusan, a traditional Japanese medicine (Kampo) mitigates iNKT cell-mediated pregnancy loss in mice. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Oct;80(4):e13021. doi: 10.1111/aji.13021. Epub 2018 Jul 12.
- 2) Katoh Y, Seyama T, Mimura N, Furuya H, Nakayama T, Iriyama T, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Elevation of maternal serum sFlt-1 in pregnancy with mirror syndrome caused by fetal cardiac failure. *Oxf Med Case Reports*. 2018 Mar 28;2018(3):omx112. doi: 10.1093/omcr/omx112. eCollection 2018 Mar.
- 3) Toshimitsu M, Kamei Y, Ichinose M, Seyama T, Imada S, Iriyama T, Fujii T. Atomoxetine, a selective norepinephrine reuptake inhibitor, improves short-term histological outcomes after hypoxic-ischemic brain injury in the neonatal male rat. *Int J Dev Neurosci*. 2018 Nov;70:34-45. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2018.03.011. Epub 2018 Mar 30.
- 4) Hoya M, Nagamatsu T, Fujii T, Schust DJ, Oda H, Akiba N, Iriyama T, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Impact of Th1/Th2 cytokine polarity induced by invariant NKT cells on the incidence of pregnancy loss in mice. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Mar;79(3). doi: 10.1111/aji.12813. Epub 2018 Jan 24.
- 5) Seyama T, Kamei Y, Iriyama T, Imada S, Ichinose M, Toshimitsu M, Fujii T, Asou H. Pretreatment with magnesium sulfate attenuates white matter damage by preventing cell death of developing oligodendrocytes. *J Obstet Gynaecol Res*. 2018 Apr;44(4):601-607. doi: 10.1111/jog.13568. Epub 2018 Jan 23.
- 6) Fujii T, Nagamatsu T, Morita K, Schust DJ, Iriyama T, Komatsu A, Osuga Y, Fujii T. Enhanced HIF2 expression during human trophoblast differentiation into syncytiotrophoblast suppresses transcription of placental growth factor. *Sci Rep*. 2017 Sep 29;7(1):12455. doi: 10.1038/s41598-017-12685-w.
- 7) Samejima T, Nagamatsu T, Schust DJ, Iriyama T, Sayama S, Sonoda M, Komatsu A, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Labor prediction based on the expression patterns of multiple genes

related to cervical maturation in human term pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2017 Nov;78(5). doi: 10.1111/aji.12711. Epub 2017 May 30.

8) Sayama S, Takeda N, Iriyama T, Inuzuka R, Maemura S, Fujita D, Yamauchi H, Nawata K, Bougaki M, Hyodo H, Shitara R, Nakayama T, Komatsu A, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Peripartum type B aortic dissection in patients with Marfan syndrome who underwent aortic root replacement: a case series study. *BJOG*. 2018 Mar;125(4):487-493. doi: 10.1111/1471-0528.14635. Epub 2017 May 2.

9) Machino H, Iriyama T, Nakayama T, Komatsu A, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. A case of a surviving co-twin diagnosed with porencephaly and renal hypoplasia after a single intrauterine fetal death at 21 weeks of gestation in a monochorionic monoamniotic twin pregnancy. *Oxf Med Case Reports*. 2017 Jan 17;2017(1):omw096. doi: 10.1093/omcr/omw096. eCollection 2017 Jan.

10) Hashimoto A, Iriyama T, Sayama S, Nakayama T, Komatsu A, Miyauchi A, Nishii O, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Adenomyosis and adverse perinatal outcomes: increased risk of second trimester miscarriage, preeclampsia, and placental malposition. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018 Feb;31(3):364-369. doi: 10.1080/14767058.2017.1285895. Epub 2017 Feb 9.

11) Samejima T, Nagamatsu T, Schust DJ, Itaoka N, Iriyama T, Nakayama T, Komatsu A, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. Elevated concentration of secretory leukocyte protease inhibitor in the cervical mucus before delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Jun;214(6):741.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2015.12.029. Epub 2016 Jan 14.

〔学会発表〕(計 10 件)

1) 平成 31 年度 日本産科婦人科学会学術講演会 International Session : Fujii T, Nagamatsu T, Morita K, Iriyama T, Osuga Y, Fujii T. Shifting of HIF subtypes expression during syncytialization is associated with the regulation of VEGF family molecules in human trophoblast cells

2) 平成 31 年度 日本産科婦人科学会学術講演会 International Session : Yoshikawa M, Iriyama T, Suzuki K, Samejima T, Fujii T, Kumasawa K, Nagamatsu T, Osuga Y, Fujii T. Apoptosis signal-regulating kinase1 (ASK1) is involved in inflammation-induced preterm birth by sensing excess reactive oxygen species.

3) 平成 31 年度 日本産科婦人科学会学術講演会 International Session : Matsui H, Iriyama T, Yoshikawa M, Niimi K, Yamamoto E, Kotani T, Nagamatsu T, Koga K, Osuga Y, Fujii T. LIGHT elevation underlies sFlt-1 overproduction in hydatidiform mole : An implication for the pathogenic link between molar pregnancy and preeclampsia

4) 平成 30 年度 日本産科婦人科学会学術講演会 International Session : Nishimori Y, Nagamatsu T, Fujii T, Mimura N, Iriyama T, Osuga Y, Fujii T. AI. Serum autotaxin level as a biomarker for placental function

5) 平成 30 年度 日本産科婦人科学会学術講演会 International Session : Oda H, Nagamatsu T, Iriyama T, Osuga Y, Fujii T.. Attenuation of angiotensin-II induced preeclamptic symptoms by recombinant thrombomodulin in mice a novel therapeutic approach for preeclampsia

6) 平成 30 年度 日本妊娠高血圧学会学術集会 ワークショップ 入山高行 胎盤でのアデ

ノシンの過剰蓄積を介した妊娠高血圧腎症の発症機序

7) 平成 30 年度 日本生殖免疫学会学術集会 松井遥香, 入山高行, 吉川美登利, 永松健, 小谷友美, 大須賀穰, 藤井知行. 胞状奇胎に続発する妊娠高血圧腎症の病態機序の解明-炎症性サイトカイン LIGHT に着目した検討

8) 平成 29 年度 日本産科婦人科学会学術集会 シンポジウム 入山高行 妊娠高血圧腎症における炎症性サイトカインの役割の検討 治療標的・予知マーカーとしての可能性の探求

9) 平成 28 年度 日本生殖免疫学会学術集会 シンポジウム 入山高行 妊娠高血圧腎症の病態形成における自己抗体の関与

10) 平成 28 年度 日本妊娠高血圧学会学術集会 学術奨励賞受賞講演 入山高行 胎盤での過剰なアデノシンシグナルを介した妊娠高血圧腎症の発症機序の解明

〔図書〕(計 1 件)

1) Iriyama T, Xia Y. Placental adenosine signaling in the pathophysiology of preeclampsia. Preeclampsia -Basic, Genomic, and Clinical-. Springer Nature. Chapter 6. 2018

〔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:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。