

令和元年6月5日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11084

研究課題名(和文)胎盤におけるソニックヘッジホッグシグナルの機能解析

研究課題名(英文)A role of Sonic hedgehog pathway in preeclamptic placenta

研究代表者

巽 啓司 (Tatsumi, Keiji)

京都大学・医学研究科・非常勤講師

研究者番号：10324633

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠高血圧腎症の胎盤でSHH pathwayのactive markerであるPTCH1やGLI2の発現は有意に低下し、またPTCH1の発現は児体重や胎盤重量と正の相関を認めた。Primary cytotrophoblastに recombinant SHHを投与するとsyncytium化は促進され、SHH pathwayの阻害であるcyclopamineを投与すると syncytium化は抑制された。妊娠マウスを用いて胎盤にcyclopamineを局注すると、胎仔体重は有意に低下した。以上のことより、SHH pathwayは胎盤において胎盤機能に関わり、胎児発育に寄与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児発育の成否は、主に胎盤機能に依存している。胎盤機能が著しく低下すると、胎児発育不全や妊娠高血圧腎症を引き起こし、早期の娩出を余儀なくされるため、脳や肺など主要臓器の機能が未熟であり、児の死亡率、合併症罹患率が高くなる。しかし、これまで胎盤機能低下に関与する分子生物学的機序は未解明な部分が多く、有効な治療法の開発にも至っていない。本研究では、胎盤機能においてSHH pathwayが胎児発育に寄与している可能性が示され、胎児発育不全や妊娠高血圧腎症に対する予防、新規治療法の開発につながる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The expression of both PTCH1 and GLI2, active markers for SHH pathway activity, was significantly lower in preeclampsia placentas compared with normal placentas and PTCH1 was highly correlated with birth weight and placental weight. These data suggest that the SHH pathway is suppressed in preeclampsia placentas and that it affects birth weight. Recombinant SHH promoted syncytialization in primary cytotrophoblast and SHH pathway inhibitor, cyclopamine suppressed syncytialization. The direct injection of cyclopamine into mice placentas decreased PTCH1 and decreased birth weight in mice. Since the placental SHH pathway regulated foetal growth, this finding could provide a clue to the development of new treatments for major placenta-related disorders, including preeclampsia and FGR.

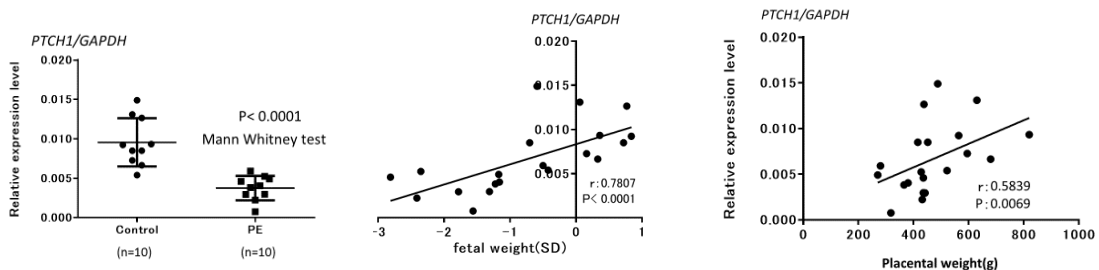
研究分野：周産期

キーワード：foetal growth sonic hedgehog placenta preeclampsia

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

FGR とは文字どおり子宮内の胎児の発育が遅延している病態を表す。FGR の発症病態は単一ではなく、その中には胎児自身の発達(成熟)能と、母体の健康状態や子宮-胎盤-臍帯循環などを含めた子宮内での胎児の養育環境が反映されている。FGR 児は新生児期に低血糖、カルシウム血症、多血症などに陥りやすく、周産期死亡率は正常産正常児の 8 倍にもなり、さらに精神発達遅延の発症率も高いことが知られている。したがって、FGR を来す胎盤機能不全の原因を解明することは、臨床的にも大いに意味がある。胎盤を構成する絨毛細胞は、細胞性栄養膜細胞、合胞体性栄養膜細胞、中間型栄養膜細胞に分類される。その中で母体血と接触する合胞体性栄養膜細胞は、細胞性栄養膜細胞より分化し、母児間の栄養代謝物交換やガス交換に関与している。胎盤機能低下を来した胎盤では、子宮-胎盤循環不全による低酸素環境により、その合胞体性栄養膜細胞の形成不全がみられ、病態形成の一因を担っている。すなわち、機能が低下した胎盤を病理学的に観察すると、絨毛の過成熟(絨毛は細胞性栄養膜細胞から合胞体性栄養膜細胞への分化不全をきたし、1 つ 1 つが小さくなり絨毛の数が増加)やアポトーシスの終末像とされる胞体結節=syncytial knot が認められる。しかし、これまで胎盤機能低下に関与する分子生物学的機序は未解明な部分が多く、有効な治療法の開発にも至っていない。FGR は、しばしば妊娠高血圧腎症(Preeclampsia:PE)に合併することが知られている。我々の研究室では、これまで PE の胎盤を用いて、PE の病態に関わる分子学的機序につき研究を進めてきた。すなわち、子宮内環境の悪化に対する胎児・胎盤の防御という視点から、PE 胎盤における神経栄養因子、脂質代謝機構、酸化ストレス防御機構(Nrf2 system)の役割を明らかにしてきた(Fujita et al. 2011, Chigusa et al. 2012, Chigusa et al. 2013)。また近年、同研究室では、Web 上で公開されているデータベース、Gene Expression Omnibus(GEO)より PE に関する胎盤遺伝子発現データを手し、Gene Set Analysis(GSEA)を用いて PE の胎盤で有意に発現が増減している特異的な 10 個の pathway を同定した(Mol Hum Reprod. 2015;21:217-24.)。これらの pathway の中には Shh pathway が含まれていた。Shh pathway は、細胞の分化や増殖、アポトーシスに深く関わる morphogen であるが、興味深いことに我々の予備検討において、Shh の受容体である Protein Patched homolog 1(PTCH1)の発現は、FGR を伴う PE の胎盤で有意に低下( $P < 0.0001$ )していた。しかも、PTCH1 の発現は、新生児出生時体重や胎盤重量と強く相関していた( $r = 0.7807, P < 0.0001; r = 0.5839, P = 0.0069$ )。これらのデータは、胎盤における Shh pathway が PE のみならず、胎盤形成および胎盤機能に深く関与していることを、強く示唆している。そこで、Shh pathway の胎盤機能における役割を解明し、それらを標的とした FGR に対する予防や新しい治療法の開発を目指した。



### 2. 研究の目的

胎盤機能における Shh pathway が果たす役割を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

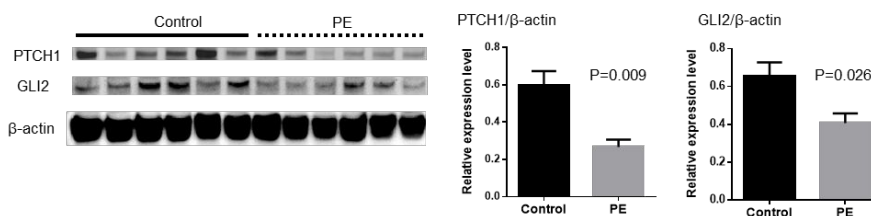
下記の項目について検討を行った。

- 1)胎盤における Shh pathway を構成する遺伝子群の発現解析
- 2)Shh pathway の機能解析
- 3)Shh pathway 主要構成遺伝子の発現制御の解析
- 4)妊娠マウスを用いた Shh pathway の解析

### 4. 研究成果

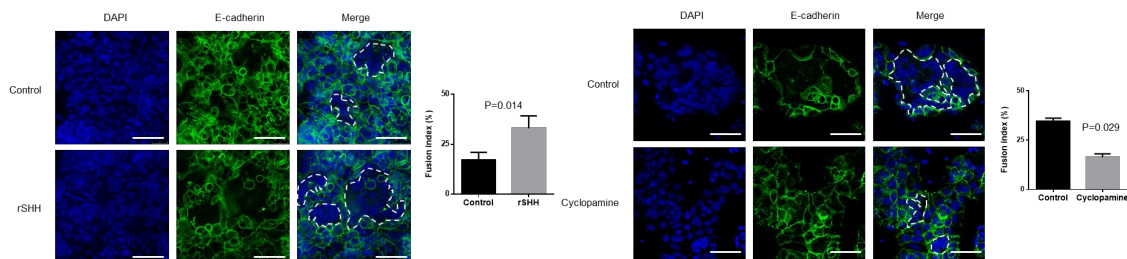
- 1)胎盤における Shh pathway を構成する遺伝子群の発現解析

正常胎盤と比較すると、PE 胎盤では PTCH1、GLI2 の発現が有意に低下していた。



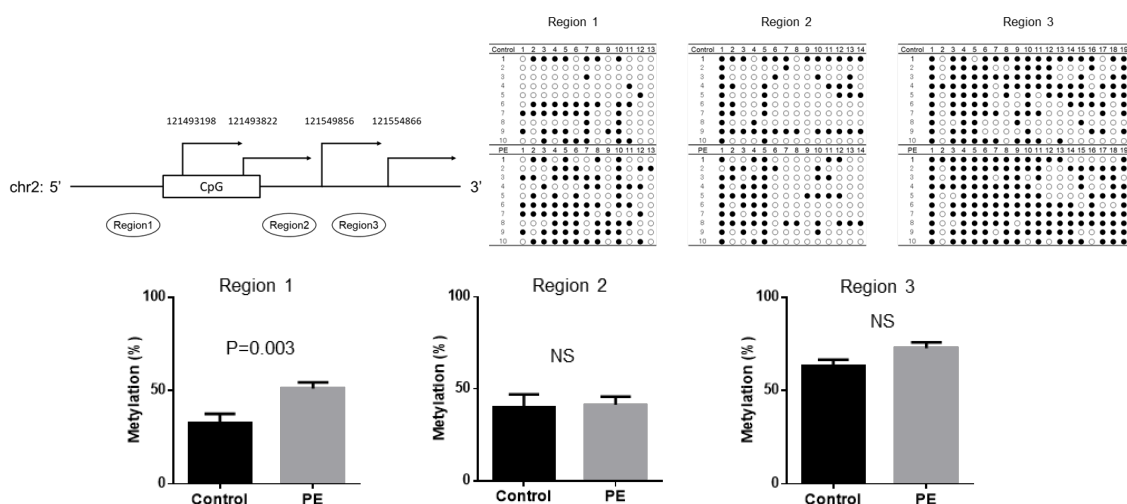
## 2) Shh pathway の機能解析

Primary cytotrophoblast cells(CTBs)を用いて、recombinant Shh を投与すると、Syncytium 化が促進され、Shh pathway の inhibitor である Cyclopamine を投与すると、Syncytium 化が抑制された。このことから、Shh pathway は Syncytium 化に寄与することが示唆された。



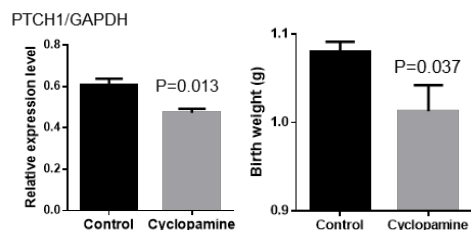
## 3) Shh pathway 主要構成遺伝子の発現制御の解析

正常胎盤と PE 胎盤において、Shh pathway の active marker である GLI2 の発現制御について調べるために、それぞれの GLI2 のメチル化解析を行うと、PE 胎盤で高メチル化状態であった。このことから、GLI2 はメチル化により制御されている可能性が示唆された。



## 4) 妊娠マウスを用いた Shh pathway の解析

C57BL6 妊娠マウスの胎盤に Cyclopamine を局注すると、胎盤の PTCH1 発現は有意に低下し、胎仔体重も有意に低下した。



以上の結果より、Shh pathway は胎盤機能に関わり、胎児発育に寄与している可能性が示唆された。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Takai H, Kondoh E, Mogami H, Kawasaki K, Chigusa Y, Sato M, Kawamura Y, Murakami R, Matsumura N, Konishi I, Mandai M. Placental sonic hedgehog pathway regulates foetal growth via insulin-like growth factor axis in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019.

〔学会発表〕(計 7 件)

Hiroshi Takai, Eiji Kondoh, Kaoru Kawasaki, Mari Ujita, Yoshitsugu Chigusa, Hikaru Kiyokawa, Fumitomo Nishimura, Haruta Mogami, Satoru Takeda, Ikuo Konishi  
Sonic hedgehog pathway is down-regulated in preeclampsia  
第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会 2015 年 4 月 9 日 ~ 12 日、神奈川県横浜市

Hiroshi Takai, Eiji Kondoh, Mai Sato, Kaoru Kawasaki, Hikaru Kiyokawa, Mari Ujita, Ikuo Konishi  
Sonic Hedgehog pathway is down-regulated in preeclampsia

第 36 回日本妊娠高血圧学会学術集会 2015 年 9 月 11 日～12 日、北海道札幌市

Hiroshi Takai, Eiji Kondoh, Mai Sato, Kaoru Kawasaki, Hikaru Kiyokawa, Mari Ujita, Ikuo Konishi

Sonic hedgehog pathway is down-regulated in preeclamptic placenta

第 23 回日本胎盤学会学術集会、2015 年 11 月 5 日～6 日、東京都

Hiroshi Takai, Kondoh Eiji, Yoshitsugu Chigusa, Mai Sato, Kaoru Kawasaki, Hikaru Kiyokawa, Mari Ujita, Ikuo Konishi

Sonic hedgehog pathway may play an important role in placental function

第 68 回日本産科婦人科学会学術講演会 2016 年 4 月 21 日～24 日、東京都

Hiroshi Takai, Eiji Kondoh, Mai Sato, Kaoru Kawasaki, Hikaru Kiyokawa, Mari Ujita, Yoshitsugu Chigusa, Haruta Mogami, Ikuo Konishi, Noriomi Matsumura

Sonic hedgehog pathway regulates placental growth factor expression in placenta

第 69 回日本産科婦人科学会学術講演会 2017 年 4 月 13 日～16 日、広島県広島市

高井 浩志、近藤 英治、川村 洋介、伊尾 紳吾、佐藤 麻衣、最上 晴太、万代 昌紀

Sonic hedgehog pathway は IGF1R の発現を制御し児体重の調節に寄与する

第 25 回日本胎盤学会学術集会、2015 年 11 月 24 日～25 日、長崎県雲仙市

Hiroshi Takai, Eiji Kondoh, Mai Sato, Yoshitsugu Chigusa, Haruta Mogami, Yosuke Kawamura, Shingo Io and Masaki Mandai

Sonic hedgehog pathway in placenta regulates fetal growth via IGF1R

第 70 回日本産科婦人科学会学術講演会 2018 年 5 月 10 日～13 日、宮城県仙台市

〔図書〕(計 0 件)

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：近藤 英治

ローマ字氏名：Kondoh Eiji

所属研究機関名：京都大学

部局名：医学研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：10544950

研究分担者氏名：小西 郁生

ローマ字氏名：Konishi Ikuo

所属研究機関名：京都大学

部局名：医学研究科

職名：名誉教授

研究者番号（8桁）：90192062

(2)研究協力者

研究協力者氏名：最上 晴太

ローマ字氏名：Mogami Haruta

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。