

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2007～2009
課題番号：19791176
研究課題名 (和文) 新たな流産誘発因子 adipsin—胎盤内の補体活性または脂質代謝に与える影響
研究課題名 (英文) Adipsin, a new candidate factor in the process of spontaneous abortion, on the effects of complement system and lipid metabolism
研究代表者 日下部 健 (KUSAKABE TAKESHI) 大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教 研究者番号：20319536

研究成果の概要 (和文)：補体活性化因子 adipsin はマウス流産胎盤の迷路部領域において検出量が著明に増加していたが、活性型補体 C3b および補体第二経路活性の亢進は検出されなかった。一方、adipsin の活性化経路下流で働く抑制性因子 Crry が増加しており、流産胎盤では adipsin の補体活性化作用は機能していない可能性が示唆された。Adipsin は胎盤内への脂質取り込みなど、他にも繁殖生理に影響する可能性がある。

研究成果の概要 (英文)：Adipsin, a complemental activator, was detected prominently in the labyrinthine region of abortion placentas. But the complement component 3 and the alternative complement pathway was not markedly activated. Since Crry, an inhibitor for complement acting in the downstream of adipsin, increased, it was suggested that adipsin does not have a strong effect to activate complement system in the abortion placenta. Adipsin may have an influence in the lipid metabolism on the reproductive physiology.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	800,000	0	800,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	660,000	3,660,000

研究分野：生殖生物学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：生殖医学、妊娠生理学

1. 研究開始当初の背景

網羅的遺伝解析より、我々はマウスの自然流産胎盤において adipsin 遺伝子の顕著な亢進を発見した (Kusakabe *et al.*, Fertil Steril, 2007)。Adipsin は補体活性化因子として働き、特に特異抗体が関与しない補体第二経路の活性を促すことが知られている (図

1)。Adipsin が繁殖生理においてどのような作用を持ち、また流産の発症に関連性を持つのか全く理解されていない。また、adipsin は生体内では脂肪組織での産生が確認されているが、胎盤内での局在性は不明である。

2. 研究の目的

Adipsin による補体系の異常活性化と胎盤形成への毒性効果および妊娠の継続に対する悪影響について検討する。

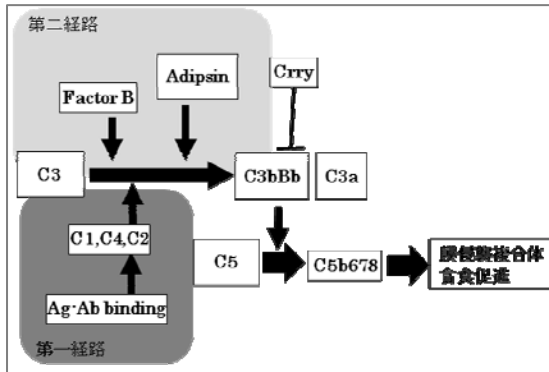


図1 一般的な補体の活性化経路

3. 研究の方法

(1) 動物

C57BL/6J マウスを同系統間で交配させ、膣栓確認日を妊娠 0.5 日とした。妊娠 10.5 及び 14.5 日の子宮から、正常または吸収胚を含む着床部位をそれぞれ正常および流産部位として採取した。

(2) 組織学的検索

ホルマリン固定した標本からパラフィン切片を作成し、PAS 染色および Oil red O 染色で流産部位の変化を確認した。胎盤内 adipsin の分布について、免疫組織化学解析および *in situ* hybridization を行った。

(3) 生化学的検索

迅速凍結を行った標本から 0.15M NaCl または 10mM CHAPS を用いてタンパクを抽出し、主に血中および間質液中の成分 (NaCl 可溶性分画) と、細胞膜および細胞質成分 (CHAPS 可溶性分画) に分けた。各々の分画について補体活性の測定と western blotting を行った。

4. 研究成果

(1) 主な成果

マウス自然流産胎盤では adipsin タンパクの検出量が増加し (図 2、3)、特に栄養膜巨細胞において adipsin の発現亢進が確認されたが、活性型補体 C3b の増加および補体第二経路活性の亢進は顕著ではなかった (図 4)。

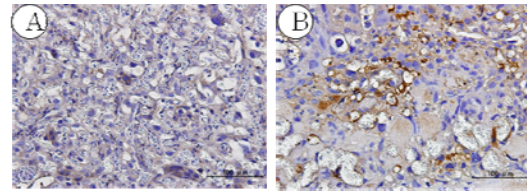


図2 胎盤における adipsin 免疫染色 (妊娠 14.5 日、A: 正常胎盤、B: 流産胎盤)。Kusakabe *et al.*, Fertil Steril, 2007 より一部改変。

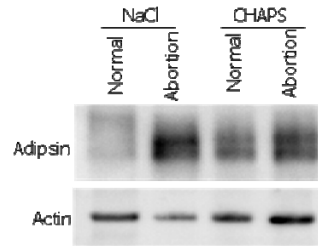


図3 胎盤内 adipsin タンパクの検出 (妊娠 14.5 日)。Takeshita *et al.*, J Reprod Dev *in press* より一部改変。

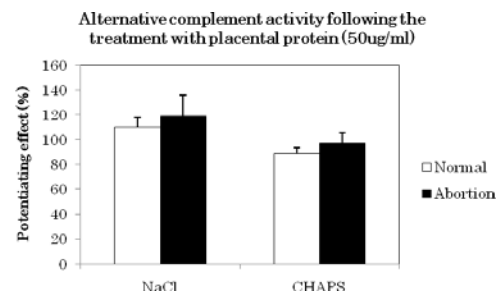


図4 胎盤抽出タンパク (妊娠 14.5 日) を添加した時の補体第二経路の活性変化。Takeshita *et al.*, J Vet Med Sci *in press* より一部改変。

一方、補体抑制タンパク Crry が増加していたことから (図 5)、流産胎盤では第二経路を介した補体活性は制御されていると考えられた。また、流産胎盤の迷路部では、脂肪の蓄積が増加していることが分かり、adipsin と胎盤内脂質代謝との関連性が示唆された。

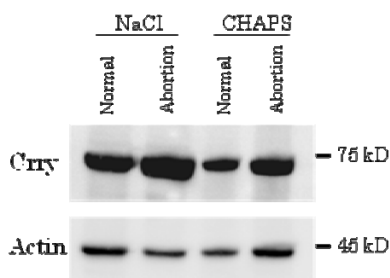


図4 胎盤内 Crry タンパクの検出 (妊娠 14.5 日)。Takeshita *et al.*, J Vet Med Sci *in press* より一部改変。

(2) 国内外の位置づけとインパクト

胎盤内の栄養膜巨細胞が adipsin を発現すること、および流産胎盤でその発現が亢進することを初めて報告した。また、流産胎盤で Crry が発現することも同様に初めて報告し、自然流産の発症過程では補体第二経路の関連性が低いことを示した。

(3) 今後の展望

今回、補体系の解析にほとんどの時間を費やしたが、adipsin の生理機能としては補体亢進作用のほかに、組織内への脂質取り込みを促進することが報告されている。Adipsin は胎盤内の脂質代謝を調節し、胎児への栄養供給、胎盤由来のホルモン産生、胎盤形成に影響する可能性がある。一方、補体系の流産発症への関与も完全に否定されたわけではない。今後、adipsin を過剰発現させたマウスモデルを作出し、検討を続ける予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

(注) 研究代表者の名前標記について、2010年以降は Kusakabe KT、2009年以前は Kusakabe K となっています。

- ① Takeshita A, Nagaishi S, Kondo T, Okada T, Kusakabe KT. Regulation of complement activity via the alternative pathway in placentas of mouse spontaneous abortions. J. Vet. Med. Sci., *in press*. (査読あり)
- ② Takeshita A, Kondo T, Okada T, Kusakabe KT. Elevation of Adipsin, a Complement activating factor, in the mouse placenta during spontaneous abortion. J. Reprod.

Dev., *in press*. (査読あり)

- ③ Kusakabe K, Naka M, Ito Y, Eid N, Otsuki Y (2008). Regulation of NK cell cytotoxicity and enhancement of complement factors in the spontaneously aborted mouse placenta. Fertil. Steril., 90, 1451-1459. (査読あり)

[学会発表] (計6件)

- ① Ken Kusakabe. Upregulation of complement factors adipsin and C3 in mouse abortion placenta. 第39回日本免疫学会. 2009.12.2-4. 大阪国際会議場.
- ② 武下 愛、加藤啓子、岡田利也、目下部健. マウス自然流産胎盤における補体活性化因子 adipsin の発現. 第24回日本生殖免疫学会. 2009.11.27-28. 京王プラザホテル.
- ③ 武下 愛、加藤啓子、岡田利也、目下部健. マウス自然流産胎盤の形態変化と補体活性. 第147回日本獣医学会. 2009.4.2-4. 栃木県総合文化センター.
- ④ 目下部健、武下 愛、加藤啓子、岡田利也. マウス自然流産胎盤におけるNK細胞と補体活性. 第146回日本獣医学会. 2008.9.24-26. 宮崎市フェニックスシーガイアリゾート.
- ⑤ Ken Kusakabe. Involvements of NK cells and complement factors in spontaneously aborted mouse placenta. 第38回日本免疫学会. 2008.12.1-3. 国立京都国際会館.
- ⑥ 目下部健. マウス胎盤におけるNK細胞とアポトーシス. 第17回日本アポトーシス研究会学術集会. シンポジウム2 生殖、内分泌のアポトーシス. 2008.8.1-2. メルパルク京都.

[その他]

ホームページ等

大阪府立大学生命環境科学研究科実験動物学教室のホームページ：

<http://www.vet.osakafu-u.ac.jp/LAS/LAS.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日下部 健 (KUSAKABE TAKESHI)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・助教

研究者番号：20319536