

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K18635

研究課題名（和文）脱落膜分泌因子による絨毛浸潤制御機構～ART妊娠に伴う癒着胎盤の予測へ向けて～

研究課題名（英文）Regulatory mechanism of chorionic villus invasion by shedding membrane secretion factor

研究代表者

川村 裕士（Kawamura, Hiroshi）

福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・助教

研究者番号：80792621

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：子宮脱落膜から分泌される因子（decidual factor）が絨毛外栄養膜細胞（extravillous trophoblast cells; EVT）へ与える影響について検討した。decidual factorとして、IL-5, IL-7, IL-9, IL-13による刺激は絨毛細胞（HchEPC1b）の細胞増殖への影響は認めなかった。さらにMMP9, MMP2の発現検討を行い、IL-5刺激で有意に減少、IL-7, IL-13刺激で有意に増加した。ART妊娠後の癒着胎盤の臨床サンプル（妊娠初期の母体血清）について、癒着胎盤ではないサンプルと比較してIL-7値が高値傾向を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦では近年生殖補助医療（ART）が盛んに行われている。ART妊娠では癒着胎盤を合併することで分娩後異常出血のリスクが高まることが分かっている。本研究成果は、ART妊娠に伴う癒着胎盤の新規予測法の確立に寄与する可能性がある。さらにART妊娠における癒着胎盤の事前予測は安全な出産および産褥搬送に伴う母児分離の回避に寄与するため、この点が本研究の社会的意義と考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of decidual factors secreted from the uterine decidua on extravillous trophoblast cells (EVT). Stimulation with IL-5, IL-7, IL-9, and IL-13 as decidual factors had no effect on the proliferation of trophoblast cells (HchEPC1b). In clinical samples of adherent placenta after ART pregnancy (maternal serum in early pregnancy), IL-7 levels tended to be higher than those in samples without adherent placenta.

研究分野：産科婦人科

キーワード：脱落膜分泌因子 癒着胎盤 帝王切開 ART妊娠

## 1. 研究開始当初の背景

分娩後異常出血を引き起こす癒着胎盤は、脱落膜の欠損・発育不全が存在する部位で絨毛が子宮筋層に過度に浸潤することにより発生すると推測されている。近年、我が国では生殖補助医療による妊娠 (ART 妊娠) が増加しているが、ART 妊娠は癒着胎盤リスクが有意に高いことが疫学的に証明されている (Esh-broder 2011 BJOG, Ishihara 2014 Fertil Steril)。その発生機序は不明であり、現時点で有効な診断・治療方法も存在しない。ヒト胎盤の形成プロセスで、絨毛外栄養膜細胞 (extravillous trophoblast cells; EVT) は、様々な促進因子の刺激を受けながら、子宮内膜～子宮筋層へ浸潤する。EVT は子宮脱落膜を超えて浸潤し、子宮筋層 1/3 のレベルで浸潤を停止すると考えられている (Brosens 1988 Trophoblast Research)。なぜ EVT が子宮筋層の途中で浸潤を停止するかはまだ明らかでないが、子宮脱落膜から分泌される様々な因子 (decidual factors) が EVT の浸潤能を制御する可能性が報告されている (Sharma 2016 Am J Reprod Immunol)。

## 2. 研究の目的

- (1) 脱落膜分泌因子 (decidual factors) が EVT の浸潤制御に及ぼす影響を解明すること
- (2) ART 妊娠における癒着胎盤の発症予測法を開発すること

## 3. 研究の方法

- (1) decidual factors が EVT の増殖、アポトーシスに及ぼす影響の検討

EVT モデルとして、ヒト妊娠初期の EVT に由来する不死化細胞株 HchEPC1b を用いた。

当初、decidual factors として成長因子や Matrix metalloproteinases (MMPs) 阻害蛋白 (TIMPs)、各サイトカイン等を想定した。先行研究 (Sharma 2016) において子宮脱落膜細胞から分泌され、かつ絨毛細胞の浸潤への影響が分かっていない因子 (IL-5, IL-7, IL-9, IL-13) について検討することとした。

絨毛細胞 (HchEPC1b) を 96well プレートに  $1 \times 10^4$  個ずつ播種し、培養翌日に MTT assay により生細胞数をカウントした。濃度はそれぞれ Control (BSA), IL-5 (20ng/ml), IL-7 (20ng/ml), IL-9 (20ng/ml), IL-13 (40ng/ml) とし、刺激から 24, 48, 72 時間後に assay を行い、細胞生存率・細胞増殖について検討を行った。

絨毛細胞 (HchEPC1b) を 48well プレートに  $5 \times 10^4$  個ずつ播種し、培養翌日にサイトカイン刺激を行った。濃度はそれぞれ Control (BSA), IL-5 (20ng/ml), IL-7 (20ng/ml), IL-9 (20ng/ml), IL-13 (40ng/ml) とし、刺激から 24, 48 時間後に細胞を回収し、MMP9, MMP2 の mRNA をリアルタイム PCR により測定し、検討を行った。

- (2) ART 妊娠における decidual factors と癒着胎盤との関連に関する臨床的検討

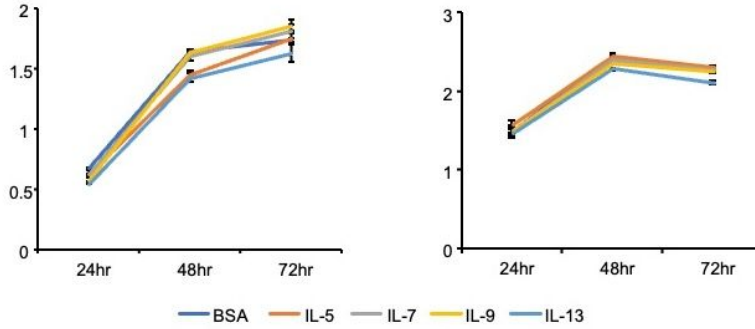
当院で妊娠初期血液検査を実施した妊婦のうち、残存血清の研究利用に同意が得られた患者を対象とした。残存血清中の IL-5、IL-7、IL-13 の蛋白濃度と分娩後の臨床的癒着胎盤 (clinical placenta accreta spectrum; cPAS) との関連について、自然妊娠群と ART 妊娠群について比較検討した。蛋白濃度は ELISA 法を用いて算出した。なお本検討は、当院の倫理審査委員会の承認を得て行なった。

#### 4. 研究成果

(1)

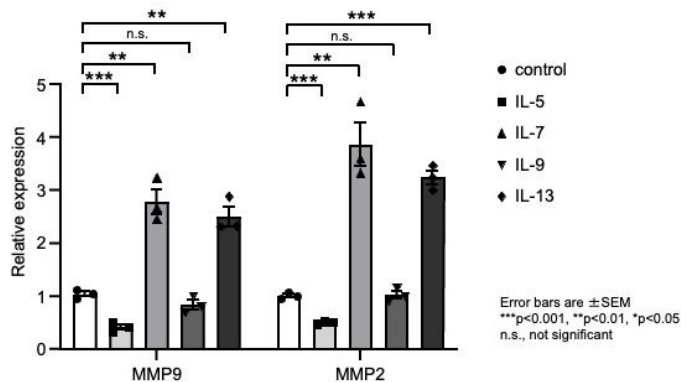
Control と比較して、それぞれの時間経過における細胞数をカウントしているが、24, 48, 72 時間でいずれも control との差は認められなかった (図 1)。これより、各サイトカインによる刺激が細胞増殖に与える影響は殆どないと考えている。

(図 1)



②24 時間後に回収したサンプルにおいて、IL-5 刺激では MMP9, MMP2 発現が有意に減少した。一方で、IL-7, IL-13 刺激では MMP9, MMP2 発現が有意に増加した (図 2)。

(図 2)



(2) ART により妊娠成立し経膈分娩後に cPAS と診断された 3 例 (ART/cPAS 群) 経膈分娩後に cPAS と診断されなかった 3 例 (ART 群) 自然妊娠後に経膈分娩となり cPAS と診断されなかった 5 例 (自然妊娠群) について検討した。IL-5 と IL-13 については、ELISA にて検出されず評価困難であった。一方、IL-7 のみ全ての検体で検出されたため、これについて評価した。測定の結果、Kruskal-Wallis 検定にて 3 群間に有意差は認められなかったが、ART/cPAS(+)群が IL-7 の平均値が最も高く (4.10 pg/mL)、次いで自然妊娠群 (4.07pg/mL)、ART 群 (3.26pg/mL) であった。これは cPAS(+)群で IL-7 値が高値傾向を示すデータであり、癒着胎盤を引き起こす decidual factors として IL-7 が候補因子である可能性を示唆している。今後も症例数を増やして検討していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi Jin, Orisaka Makoto, Inoue Daisuke, Kawamura Hiroshi, Takahashi Nozomu, Tsuyoshi Hideaki, Shinagawa Akiko, Kurokawa Tetsuji, Yoshida Yoshio	4. 巻 24
2. 論文標題 Evaluation of the holding-up uterus technique for placenta accreta spectrum cesarean hysterectomy in shocked patients with a high shock index: a case series study	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 BMC Surgery	6. 最初と最後の頁 不明
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12893-024-02311-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金井貴弘、川村裕士、白藤文、玉村千代、宮崎有美子、折坂誠、黒川哲司、吉田好雄
2. 発表標題 当院で経験した臨床的癒着胎盤の検討
3. 学会等名 第33回北陸周産期・新生児研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 全国周産期医療（MFICU）連絡協議会	4. 発行年 2022年
2. 出版社 メディカ出版	5. 総ページ数 471
3. 書名 改定第4版MFICUマニュアル	

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------