

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月15日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890101

研究課題名（和文） 胎盤形成異常における酸化ストレスの与える影響の解析

研究課題名（英文） Analysis of the effect of oxidative stress on abnormal placentation

研究代表者

味村 和哉（MIMURA KAZUYA）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：50437422

研究成果の概要（和文）：癒着胎盤、前置胎盤、妊娠高血圧症候群（PIH）、正常胎盤および胎盤床を用いて、NK細胞やマクロファージのマーカーであるCD56やCD68、およびTLR3、TLR4、TRXの免疫染色法を行った。胎盤のトロホブラストにおけるTRX陽性率は絨毛膜、絨毛、脱落膜ともにPIH胎盤で増加、前置胎盤・癒着胎盤で減少した。また胎盤におけるCD56発現はPIHで発現増加を認めた。TLR、CD68、VEGFには差を認めなかった。TRXは前置胎盤・癒着胎盤で発現減少を認めた。今後、診断マーカーや治療の標的としての可能性に期待が持てた。

研究成果の概要（英文）：We assessed the expression of trophoblast invasion related molecules in placenta previa, especially accreta. We immunohistochemically assessed the expressions of thioredoxin (TRX), TLR3, TLR4, CD56, CD68, VEGF in the placenta of control, PIH, placenta previa and placenta accreta, and placental bed of control and placenta accreta. TRX expression is slightly higher in PIH placenta, especially chorion and decidua. In placenta previa and accreta, TRX expression is hardly seen in all the area of placenta. There are little differences of expression in other molecules. TRX expression decreased in placenta previa and accreta. It may indicate that oxidative stress decreases and therefore preeclampsia frequency is reduced in placenta previa.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

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：胎盤形成、前置胎盤、酸化ストレス、チオレドキシン

1. 研究開始当初の背景

周産期医療の進歩によって母体救急、早産児・低出生体重児の救命率や予後は飛躍的に改善したが、一方で周産期医療にかかる期待と医療者への負担は年々増加している。特に

母体死亡の原因として前置胎盤・癒着胎盤は予防・予測法がまだ確立しておらず、帝王切開時における出血対策に大きな労力を強いられ、また失敗すれば医療者への大きな不信を招く。それはときに社会問題にすら発展

し、周産期医療における大きな課題となっている。さらに近年の帝王切開率の上昇は世界的問題であり、アメリカでは30%、日本でも20%を超えている。帝王切開既往は前置胎盤を増加させ、また帝王切開既往が2回の前置胎盤患者における癒着胎盤合併率は11%、3回では40%にも至る。しかし、これまで前置胎盤・癒着胎盤の発症メカニズム・予防法に関する分子生物学的研究はほとんどなされていない。

これまで胎盤形成における主な研究は妊娠高血圧症候群(PIH)でなされており、PIHでは胎児由来のトロホプラストの母体脱落膜や子宮筋層におけるらせん動脈への侵入が阻害され、動脈壁リモデリングが不十分となり、子宮胎盤循環血液量は非常に小さくなり、調節性も悪くなる。これは poor placentation と呼ばれ (Science 2005; 308:1592)、胎盤は低酸素・酸化ストレス環境下にさらされる。我々はこの酸化ストレスに対する“胎盤における抗酸化システム(チオレドキシン)”に注目した。PIHの病態には胎盤における酸化ストレスと抗酸化物質とのアンバランスが密接に関与している。とくにチオレドキシンは抗酸化システムとして作用し、受精卵やトロホプラストの保護、正常妊娠の維持にも作用することが報告されている。チオレドキシンはPIH胎盤においても抗酸化システムとして働くことが予測され、実際PIH胎盤においてチオレドキシンの発現増加が報告されている (Placenta 2001;22:566)。前置胎盤・癒着胎盤における胎盤形成においても、この点に関して検討が重要であると考えられる。前置胎盤ではその着床部位が子宮頸管にあるため脱落膜が乏しいという解剖学的特徴もあり、トロホプラストの侵入を容易にさせ、rich placentation ともいえる病態であると想定される。実際、前置胎盤・癒着胎盤の子宮胎盤床における病理学的検討において、トロホプラスト侵入の増加、らせん動脈リモデリングの促進が報告されている (Acta Obstet Gynecol Scand 1999;78:173)。さらに前置胎盤におけるPIHの合併は一般に比べて約1/2と少ない。それは胎盤が低酸素・酸化ストレスにさらされにくい状態のためと考えられる。しかし、そこに働く抗酸化システムの果たす役割に関しては詳しく分かっていない。

2. 研究の目的

今回、*in vitro*における検討では、胎盤形成およびそれに基づく病態発生に大きな役割を果たす抗酸化システムに注目し、低酸素・酸化ストレス環境下におけるトロホプラストに与える影響を解析する。さらに臨床検体における検討では、前置胎盤・癒着胎盤/妊娠高血圧症候群/正常患者の胎盤において胎盤形成異常に影響する因子を分析する。

我々はこの研究が、前置胎盤・癒着胎盤やPIHなどの胎盤形成異常の発症メカニズム、および低酸素・酸化ストレス環境下胎盤が母児の予後に与える影響などの解明に貢献できることを期待した。

3. 研究の方法

妊娠高血圧症候群(PIH)胎盤において炎症細胞(NK細胞やマクロファージなど)の活性化や自然免疫を賦活するToll-like Receptor (TLR)の亢進が報告され、トロホプラストの侵入にも関与すると言われる。また、PIH胎盤において酸化ストレスマーカーであるThioredoxin (TRX)の発現が増加することも報告されている。今回、これらの分子に関して前置胎盤、特に癒着胎盤での発現を対照群およびPIH群も含め免疫染色で比較した。

当センター倫理委員会の承認およびインフォームド・コンセントの下、妊娠30週以降で帝王切開分娩となった胎盤(癒着胎盤6例、前置胎盤7例、PIH8例、正常7例)および胎盤床(癒着胎盤5例、正常5例)を用いた。免疫染色法にてTRX、TLR4、TLR3、NK細胞のマーカーであるCD56、マクロファージのマーカーであるCD68の発現程度の差を確認した。血管新生因子であるVEGFについても検討を加えた。ヘマトキシリンにて対比染色を行った。

Table 1. Characteristics for the patients included in the study of placenta. Data presented as numbers of cases (%) or mean \pm SD

Placenta	Control (n = 7)	Pre-eclampsia (n = 8)	Placenta previa (n = 6)	Placenta accrete (n = 7)
Maternal age (years)	31.9 \pm 3.2	33.4 \pm 6.6	31.3 \pm 2.8	30.3 \pm 1.9
Parity	0.8 \pm 1.0	1.2 \pm 1.9	0.8 \pm 0.4	1.5 \pm 0.8
Previous CS	0.5 \pm 0.6	0.7 \pm 0.8	0.2 \pm 0.5	1.0 \pm 0.0
Gestational age (weeks)	36.4 \pm 1.8	34.2 \pm 2.9	34.7 \pm 3.0	34.2 \pm 2.9
Birth weight (g)	2455 \pm 500.8	1672 \pm 587.5	2229 \pm 562.2	2239 \pm 489.2
Blood pressure (mmHg)				
Systolic	115.9 \pm 9.5	166.3 \pm 5.9*	113.6 \pm 8.6	111.2 \pm 13.2
Diastolic	70.6 \pm 7.6	103.4 \pm 7.4*	66.1 \pm 7.0	63.2 \pm 10.8

* Statistically different from control ($P < 0.05$).

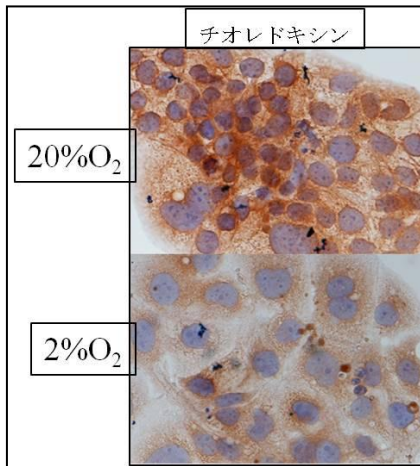
Table 2. Characteristics for the patients included in the study of placental bed. Data presented as numbers of cases (%) or mean \pm SD

Placental bed	Control (n = 5)	Placenta accrete (n = 5)
Maternal age (years)	33.8 \pm 4.5	31.0 \pm 1.6
Parity	1.0 \pm 0.0	1.4 \pm 0.9
Previous CS	1.0 \pm 0.0	1.0 \pm 0.0
Gestational age (weeks)	36.5 \pm 3.3	34.5 \pm 3.2
Birth weight (g)	2790 \pm 210.3	2270 \pm 540.2
Blood pressure (mmHg)		
Systolic	117.0 \pm 10.9	109.8 \pm 14.3
Diastolic	70.3 \pm 10.0	61.4 \pm 11.0

4. 研究成果

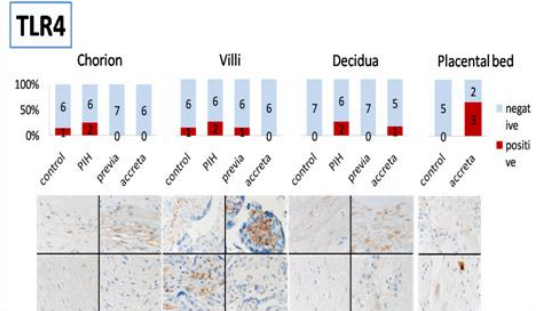
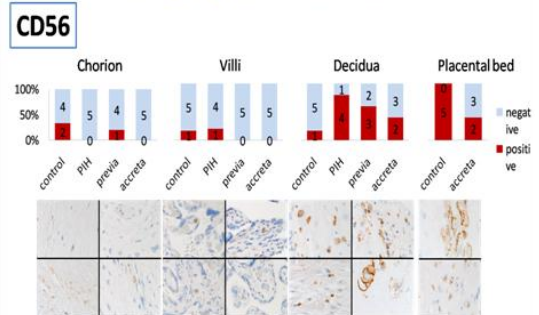
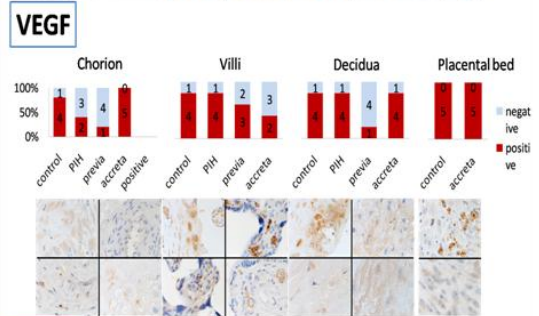
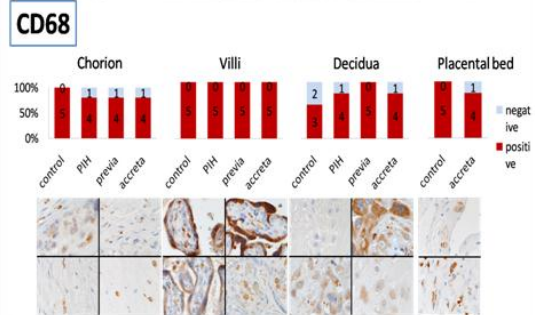
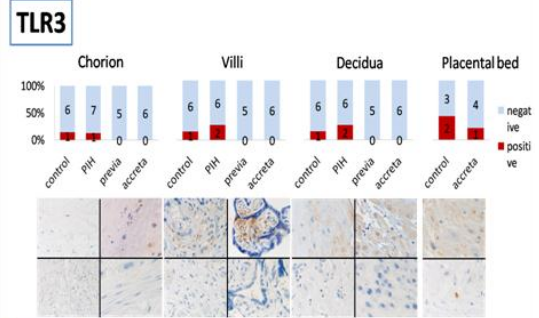
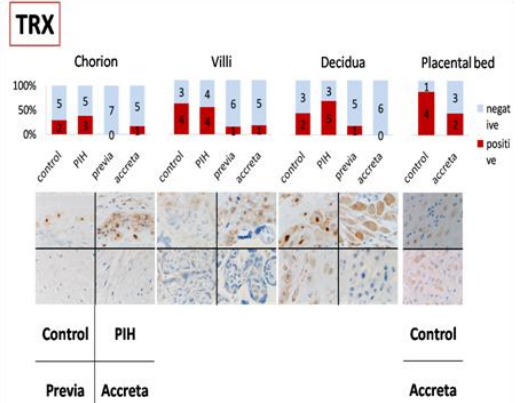
我々の予備実験において、前置胎盤・癒着胎盤の臨床検体では、対象群に比較しチオレドキシンの発現が減少していることを認めた。また、ヒト絨毛癌の cell line である BeWo 細胞でトロホプラストの侵入実験を行ったところ、低酸素環境において侵入は増加し、チオレドキシンの発現が減弱することを認め

た（下図）。また、チオレドキシンを投与したところトロホブラストの侵入は減少した。



胎盤のトロホブラストにおける TRX 陽性率は絨毛膜、絨毛、脱落膜別に正常 (2/7、4/7、2/5)、PIH (3/8、4/8、5/8)、前置胎盤 (0/7、1/7、1/6)、癒着胎盤 (1/6、0/6、0/6)。胎盤床では正常 (4/5)、癒着胎盤 (2/5) であった。また胎盤における CD56 発現は PIH で発現増加を認め、胎盤床においては癒着胎盤で減少傾向であった。TLR、CD68、VEGF の発現程度には差を認めなかった。TRX は前置胎盤・癒着胎盤で発現減少を認めた。

トロホブラスト侵入規定因子の検討に関しては症例数を増やす必要がある。酸化ストレスマーカーである TRX に関しては前置胎盤・癒着胎盤で発現減少を認めた。前置胎盤では酸化ストレスが減少しており、PIH が少なくなる病態を反映している可能性が考えられた。



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 10 件)

- ① Goa S, Mimura K, Kakigano A, Tomimatsu T, Kinugasa-Taniguchi Y, Endo M, Kanagawa T, Kimura T. Normalisation of angiogenic imbalance after intrauterine transfusion for mirror syndrome caused by parvovirus B19. *Fetal Diagn Ther.* in press. doi:10.1159/000348778. 査読有
- ② Kakigano A, Mimura K, Kanagawa T, Nakayama M, Kanayama T, Fujita S, Kinugasa-Taniguchi Y, Endo M, Tomimatsu T, Kimura T. Imbalance of angiogenic factors and characteristic finding of placenta which showed avascular edematous cystic villi in trisomy 13 pregnancy: a case report. *Placenta.* In press. doi:10.1016/j.placenta.2013.04.001. 査読有
- ③ Tomimatsu T, Fujime M, Kanayama T, Mimura K, Koyama S, Kanagawa T, Kimura T. Maternal arterial stiffness in normotensive pregnant women who subsequently deliver babies that are small for gestational age. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013 Feb 20. doi:pii: S0301-2115(13)00059-6. 10.1016/j.ejogrb.2013.01.016. 査読有
- ④ Minato K, Tomimatsu T, Mimura K, Jugder O, Kakigano A, Kanayama T, Fujita S, Taniguchi Y, Kanagawa T, Endo M, Kimura T. Hypoxic preconditioning increases triiodothyronine (T3) level in the developing rat brain. *Brain Res.* 2013 doi: 10.1016/j.brainres.2013.01.036. 査読有
- ⑤ Tomimatsu T, Kakigano A, Mimura K, Kanayama T, Koyama S, Fujita S, Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T. Maternal carbon dioxide level during labor and its possible effect on fetal cerebral oxygenation: mini review. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Jan;39(1):1-6. doi: 10.1111/j.1447-0756.2012.01944.x. 査読有
- ⑥ Tomimatsu T, Kakigano A, Mimura K, Kanayama T, Koyama S, Fujita S, Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T. Maternal hyperventilation during labor revisited: its effects on fetal oxygenation. *Reprod Sci.* 2012 Nov;19(11):1169-74. doi:10.1177/1933719112443881. 査読有
- ⑦ Namba F, Ina S, Kitajima H, Yoshio H, Mimura K, Saito S, Yanagihara I. Annexin A2 in amniotic fluid: correlation with histological chorioamnionitis, preterm premature rupture of membranes, and subsequent preterm delivery. *J Obstet Gynaecol Res.* 2012 Jan;38(1):137-44. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01651.x. 査読有
- ⑧ Mimura K, Tomimatsu T, Minato K, Jugder O, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Nozaki M, Yanagihara I, Kimura T. Ceftriaxone preconditioning confers neuroprotection in neonatal rats through glutamate transporter 1 upregulation. *Reprod Sci.* 2011 Dec;18(12):1193-201. doi: 10.1177/1933719111410710. 査読有
- ⑨ Mabuchi S, Hisamatsu T, Kawase C, Hayashi M, Sawada K, Mimura K, Takahashi K, Takahashi T, Kurachi H, Kimura T. The activity of trabectedin as a single agent or in combination with everolimus for clear cell carcinoma of the ovary. *Clin Cancer Res.* 2011 Jul 1;17(13):4462-73. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2987. 査読有
- ⑩ Yamashita K, Yoshioka Y, Higashisaka K, Mimura K, Morishita Y, Nozaki M, Yoshida T, Ogura T, Nabeshi H, Nagano K, Abe Y, Kamada H, Monobe Y, Imazawa T, Aoshima H, Shishido K, Kawai Y, Mayumi T, Tsunoda S, Itoh N, Yoshikawa T, Yanagihara I, Saito S, Tsutsumi Y. Silica and titanium dioxide nanoparticles cause pregnancy complications in mice. *Nat Nanotechnol.* 2011 May;6(5):321-8. doi:10.1038/nnano.2011.41. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① 味村和哉、野崎昌俊、柳原格、ナノシリカの妊娠マウス投与が胎盤に与える影響、第 47 回日本周産期・新生児医学会、2011. 7. 11、札幌コンベンションセンター (北海道)
- ② 味村和哉、金川武司、後安聡子、柿ヶ野藍子、金山智子、藤田聡子、谷口友基子、富松拓治、木村 正、パルボウイルス B 19 感染により Mirror 症候群を発症した

1 例、第 85 回日本超音波医学会学術集会、2012. 5. 25-27、グランドプリンスホテル新高輪（東京）

③ 味村和哉、金川武司、谷口友基子、金山智子、柿ヶ野藍子、藤田聡子、冨松拓治、木村正、卵管間質部妊娠の 1 例と、間質部妊娠との鑑別を要した双角子宮妊娠の 1 例、第 48 回日本周産期・新生児医学会学術集会、2012. 7. 8-10、大宮ソニックシティ（埼玉）

④ Mimura K, Placental Features of Chorioamnionitis Colonized With Ureaplasma Species in Preterm Delivery, Joint Congress of The 5th Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmaology (AOM) and The 38th Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmaology (JSM), 2011. 10. 20、長崎県医師会事務局（長崎）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

味村 和哉 (MIMURA KAZUYA)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：50437422

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：