

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04979

研究課題名(和文) 脂質シグナル経路とプロゲステロンに着目した妊娠初期子宮内微環境制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulatory mechanism of microenvironment at fetomaternal interface by lipid mediators and progesterone

研究代表者

藤井 知行 (Fujii, Tomoyuki)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：40209010

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：リゾホスファチジン酸(LPA)とその特異的受容体を介したシグナル経路が絨毛細胞機能を介して胎盤機能に果たす役割について検討した。LPA産生酵素であるオートタキシン(ATX)は妊娠女性の末梢血で著明に増加し胎盤が主要な産生源となっていた。絨毛細胞ではLPAシグナル刺激により血管形成、免疫調整、分化に関わる遺伝子発現が誘導された。妊娠高血圧症候群や胎児発育不全の胎盤では、LPAシグナル経路に関わる分子発現が正常胎盤と異なっておりLPAシグナル経路の障害が疾患の発生に関与することが示された。LPAシグナル経路は胎盤機能異常を背景とする周産期疾患の治療ターゲットとなりうる。

研究成果の概要(英文)：The involvement of lysophosphatidic acid (LPA) signaling pathway in the regulation of trophoblast cell activities and placental function was investigated. We found that the serum level of autotaxin (ATX), a secretory enzyme essential for LPA production was remarkably elevated in pregnant women and that the placenta was a major source of ATX. In-vitro study revealed that LPA signaling induced the expression of the genes related to angiogenesis, immune modulation and cell differentiation in trophoblast cells. Abnormal expression pattern of the molecules associated with LPA signaling was observed in the placentas complicated with preeclampsia and fetal growth restriction, suggesting the relevance of deranged LPA signaling to pathoetiology of those diseases. Our findings propose that LPA signaling pathway can be a therapeutic target for preeclampsia and recurrent pregnancy loss.

研究分野：産婦人科学

キーワード：脂質メディエーター 胎盤 妊娠高血圧症候群 リゾホスファチジン酸

1. 研究開始当初の背景

妊娠において着床から胎盤発生のプロセスが正常に進行することは、その後の胎児発育にとって重要である。このプロセスは子宮内膜側の細胞と胚側との絨毛細胞の精緻な細胞間相互作用のもと進んでゆく。そうした妊娠初期の生理的機構の破綻が異常妊娠の原因となっている。しかし、妊娠初期の子宮内微小環境の調節に関わる分子機構は未解明な点が多く、妊娠高血圧症候群や不育症などの胎盤形成の障害に伴い生じる周産期疾患に対してはまだ有効な治療的アプローチは確立していない。

脂質メディエーターは、細胞間シグナル分子として作用し生理活性を有する局所因子の1つで、細胞膜を構成する脂質から産生、放出される。リゾホスファチジン酸 (lysophosphatidic acid; LPA) は脂質メディエーターの一つで、多様な生理活性機能、幅広い疾患への関与が示唆されて近年注目されている。そして、オートタキシン(ATX)はLPAの主要な産生酵素である。LPAは細胞膜上の特異的受容体と結合する。LPA受容体としてLPAR1-6が同定されている。それらの受容体の発現分布には組織特異性がある。LPAR3は生殖組織(精巣、子宮内膜)で発現が優位であり、LPAR3欠損マウスでは着床の異常と胎仔のサイズが減少することが報告されており、LPA-LPAR3経路は妊娠初期過程および胎盤形成・機能維持に重要なシステムと考えられる。しかし、その分子生物学的機構の詳細は未解明である。

2. 研究の目的

本研究ではLPAシグナル経路が絨毛細胞機能を介して妊娠初期の子宮内微小環境の調整、胎盤形成・機能維持に果たす役割について解明することが目的である。そしてLPAシグナル経路に着目して母児の予後を改善する方策が確立していない妊娠高血圧症候群、不育症への治療的アプローチの開発を見据えて研究を進めた。

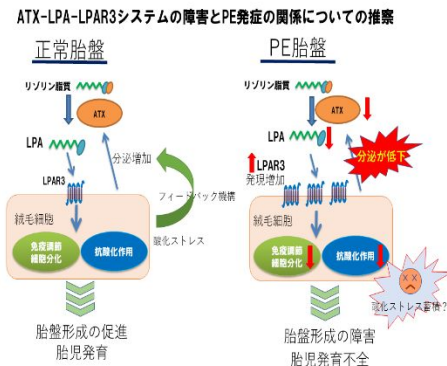
3. 研究の方法

ヒト胎盤(正常胎盤および妊娠高血圧症候群の疾患胎盤)および、絨毛細胞の初代培養による分化培養モデルと不死化絨毛細胞株(HTR-8/SVneo)を用いて検討を進めた。LPA産生酵素蛋白のATX、LPAR3を含めたLPA受容体1-6の全てをターゲットとしてmRNA、蛋白それぞれの発現状況をreal-time PCR法、Western blotting法、免疫染色法にて調べLPAシグナル経路の絨毛細胞機能および胎盤形成への関与に関する全体像の把握を進めた。また、妊婦の抹消血中での妊娠週数毎の末梢血ATX濃度変化および妊娠高血圧症候群や胎児発育不全など胎盤機能障害を背景とする疾患との差異について血清検体を用いて解析を進めた。

4. 研究成果

胎盤ではLPA産生酵素ATXが豊富に分泌されており、妊娠の進行に伴い産生が増加していたことから、胎盤局所においてLPAシグナル経路が活性化していると考えられた。絨毛細胞では機能分化に伴いLPAR3を含めたLPA受容体の発現が誘導されていた。LPAR3を遺伝子導入した絨毛細胞株にLPAR3刺激を行い、遺伝子発現解析を行ったところ細胞分化、免疫制御に関連する遺伝子群の発現誘導を確認し、LPAR3シグナル経路は着床のみならず絨毛細胞機能の制御、胎盤形成に対して深く関与することが示唆された。さらに妊娠高血圧症候群(PE)女性ではATXの血中濃度、胎盤内の発現が低下しており、その一方でLPAR3の絨毛細胞上での発現が上昇していた。これよりLPA-LPAR3システムは子宮-胎盤系の確立に重要であり、その破綻は胎盤機能障害に続発するPE発症に関与することが示唆された(図1)。

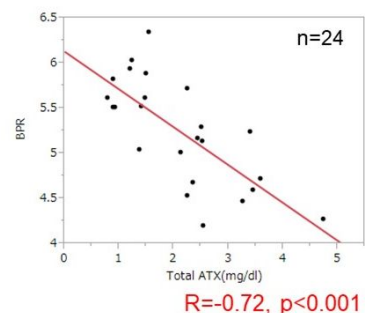
図1



酸化ストレスに対するATXおよびLPAR3の発現応答について調べるため、HTR細胞に対するH2O2刺激を与えた。その結果、H2O2添加による酸化ストレスに対してATX、LPAR3の両方でmRNA発現の増加を認めた。これらの結果より、LPA-LPAR3経路の異常は着床のみならず胎盤形成において重要なシグナルシステムであり、この機構の異常がPE発症の一つのトリガーとなっている可能性があらうことが示唆された。

図2

妊娠中期におけるATXとBPRの相関



また、妊娠中期の胎盤形成期の妊婦末梢血中のATX濃度が胎児/胎盤重量比(BPR)と強く相関することが明らかとなり(図2)、PEや

胎児発育不全を呈する妊婦ではこの相関が認められないことを確認した。そのため ATX-LPA のシグナル経路が適切な胎児発育のための胎盤機能の制御に関わることが示唆された。以上より ATX は胎盤機能を反映するバイオマーカーとして期待される。本研究により得られた知見より、ATX-LPA シグナル経路へのアゴニスト作用を有する薬剤の開発は、PE および不育症などの胎盤機能異常を背景として発症する周産期疾患への新たな治療法につながる可能性がある。

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 7 件)

1. 査読有 Motomura K, Okada N, Morita H, Hara M, Tamari M, Orimo K, Matsuda G, Imadome KI, Matsuda A, Nagamatsu T, et al.: A Rho-associated coiled-coil containing kinases (ROCK) inhibitor, Y-27632, enhances adhesion, viability and differentiation of human term placenta-derived trophoblasts in vitro. PLoS one 2017;12:e0177994. Doi: 10.1371/journal.pone.0177994

2. 査読有 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. The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : 2017;1-6.

Doi: 10.1080/14767058.2017.1285895

3. 査読有 Aikawa S, Kano K, Inoue A, Wang J, Saigusa D, Nagamatsu T, Hirota Y, Fujii T, Tsuchiya S, Taketomi Y, Sugimoto Y, Murakami M, Arita M, Kurano M, Ikeda H, Yatomi Y, Chun J, Aoki J: Autotaxin-lysophosphatidic acid-LPA3 signaling at the embryo-epithelial boundary controls decidualization pathways. The EMBO journal 2017; 36: 2146-2160.

4. 査読有 Fujii T, Nagamatsu T, Morita K, Schust DJ, Iriyama T, Komatsu A, Osuga Y, Fujii T: Enhanced HIF2alpha expression during human trophoblast differentiation into syncytiotrophoblast suppresses transcription of placental growth factor. Scientific reports 2017;7:12455. doi: 10.1038/s41598-017-12685-w

5. 査読有 Tokuhara Y, Kurano M, Shimamoto S,

Igarashi K, Nojiri T, Kobayashi T, Masuda A, Ikeda H, Nagamatsu T, Fujii T, Aoki J, Yatomi Y: A New Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Classical Autotaxins (ATXalpha, ATXbeta, and ATXgamma) and Novel Autotaxins (ATXdelta and ATXepsilon). PLoS one 2015;10: e0130074.

6. 査読有 Ichikawa M, Nagamatsu T, Schust DJ, Kawai-Iwasawa Y, Kawana K, Yamashita T, Osuga Y, Aoki J, Yatomi Y, Fujii T: Placental autotaxin expression is diminished in women with pre-eclampsia. The journal of obstetrics and gynaecology research 2015;41:1406-1411.

7. 査読無 藤井 達也, 永松 健, 藤井 知行: 【血管制御系と疾患】血管新生因子と preeclampsia. 生体の科学 2017;68: 344-347.

[学会発表](計 8 件)

1. 西森 裕美子, 永松 健, 藤井 知行, 他: 末梢血オートタキシン濃度は胎盤機能を反映する. 日本生殖免疫学会, 2017

2. Fujii T, Nagamatsu T, 他, : LPAR3 signaling is possibly involved in the clearance of oxidative stress in preeclamptic placenta. 日本産科婦人科学会学術集会 2017

3. 藤井 達也, 永松 健, 藤井 知行, 他: LPA-LPAR3 システムの障害から見た Preeclampsia の病態機序の解明. 日本生殖免疫学会, 2016

4. シンポジウム 永松 健: 妊娠高血圧症候群の新知見 Preeclampsia の胎盤機能障害 リゾリン脂質シグナルシステムからの視点. 日本周産期・新生児医学会学術集会 2016

5. Morita K, Nagamatsu T, Fujii T et al.: Gene expression profiling in the process of human cytotrophoblast differentiation into syncytiotrophoblast. 日本産科婦人科学会学術集会 2016

6. Fujii T, Nagamatsu T, Fujii T et al.: Enhanced expression of lysophosphatidic acid receptors in preeclamptic placentas. 日本産科婦人科学会学術集会 2016

7. 市川麻祐子, 永松 健, 藤井 知行, 他: リゾフォスファチジン酸系は絨毛細胞において血管新生関連因子の発現を誘導する. 日本生殖免疫学会 2015

8. Y Nishimori, T Nagamatsu, T Fujii, et

al.:Serum autotaxin level as a biomarker
to reflect placental function World
Congress of Perinatal Medicine, 2017

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤井知行 (FUJII, Tomoyuki)
東京大学・医学部附属病院・教授
研究者番号：40209010

(2)研究分担者

廣田 泰 (HIROTA, Yasushi)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：40598653

永松 健 (NAGAMATSU, Takeshi)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：60463858