

令和元年6月14日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11082

研究課題名(和文) 妊娠高血圧腎症におけるオートファジーによる病因解明、新規治療法開発に向けた研究

研究課題名(英文) The development of new therapy for preeclampsia via modulation of autophagy

研究代表者

中島 彰俊 (Nakashima, Akitoshi)

富山大学・附属病院・講師

研究者番号：00436792

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)：研究期間に明らかにする課題1)小胞体ストレスによるオートファジー(AutP)抑制：結果を論文に投稿中である。2)新規AutP誘導因子Transcriptional factor EB (TFEB)の活性化経路の探索：結果の一部を論文投稿中である。3)TFEBによるVEGF活性化メカニズムの解明：実験系の確立が難しく、現在進行中。4)PE早期発見のための血清マーカーの検索：1)から発展し、候補マーカーが見つかっており、現在胎盤オートファジー機能との相関を検討している。胎盤におけるオートファジーの役割を一步一步解明できている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠高血圧症候群(HDP)は、世界中で約1000万人の妊婦が罹患し、その中で7万6000人の妊婦および50万人の胎児が死亡する疾患である。HDP妊婦(特に早発型、重症)から生まれた新生児は発育が不全となり、多くの神経発達障害を認めるため、HDPは次世代にも悪影響を与える疾患である。高齢妊婦に起こり易いというHDPの疫学的特徴は、高齢化の進む日本でのHDP増加を増加を示唆するが、HDPに有効な治療法はない。今回の新規経路を明らかにすることで、胎盤をターゲットに治療を行うことで、母体・胎児両方を治療できる可能性がある。これは、次世代への福音にもなり得るものである。

研究成果の概要(英文)：There were four tasks that we set up in this study for 3 years. 1) Endoplasmic reticulum stress-inhibited autophagy: The results we obtained for 3 years are submitted to a scientific journal. 2) New approach for activating autophagy via transcriptional factor EB (TFEB); new transcriptional factor for activating autophagy; part of results are submitted to a scientific journal. 3) VEGF activation via TFEB; The method to evaluate vegf via TFEB modulation are under construction in trophoblast cells. We need some time. 4) New serum marker for severity or onset of preeclampsia; We found a candidate to see that. A correlation between the marker and autophagic functions in placenta are now investigated. The progress of this study was doing well.

研究分野：妊娠高血圧症候群

キーワード：妊娠高血圧症候群 オートファジー ERストレス TFEB 胎盤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧症候群 (HDP) は、世界中で約 1000 万人の妊婦が罹患し、その中で 7 万 6000 人の妊婦および 50 万人の胎児が死亡する疾患である。HDP 妊婦 (特に早発型、重症) から生まれた新生児は発育が不全になると共に、同程度の体重で生まれた新生児 (早産) の中でも、より多くの神経発達障害を認め、HDP は次世代へ悪影響を与えることを明らかにしてきた。また、HDP 妊婦は将来的に心血管イベントが起こり易くなることも分かっている。高齢妊婦に起こり易いという HDP の疫学的特徴は、高齢化の進む日本において HDP の増加を懸念させ、その対策は喫緊の課題である。

2. 研究の目的

我々は HDP 胎盤の病態解明に取り組み、その原因の一つが Autophagy 抑制であることを報告してきた (Nakashima et al. Autophagy 2013)。さらに、近年胎盤特異的 Autophagy 抑制マウスを作成し、そのモデルにおいて胎盤低形成および妊娠高血圧症を認めることも明らかにした (Aoki et al. Am J Pathol, 2018)。つまり、これは胎盤におけるオートファジー抑制が、母体循環に悪影響を与えることを明らかにしたものである。加えて、モデルマウスおよびヒト HDP 胎盤の比較から、HDP 胎盤ではリソソーム機能が低下し Autophagy を抑制することも分かっている。さらに、HDP の病因として抗血管新生因子 (sFlt1 および sEng) の母体血清中における増加が明らかにされているが、筆者らは sEng が AtP を抑制することも明らかにした。HDP の治療に目を向けると、近年アスピリン内服がハイリスク PE 妊婦の PE 発症率を下げる事が明らかとなったが、依然として HDP を発症した早発・重症型患者の治療は分娩終了であり、発症後の有効な治療法はない。そこで、今回我々は、Autophagy 活性化を目的とした新規治療法の開発と、胎盤オートファジー抑制機構の解明を基盤とした HDP 重症度および発症予知マーカーの解明に取り組むことにした。

3. 研究の方法

申請者は、PE の第 2 ステップである胎盤機能不全に AtP 抑制が関与するかを明らかにするため、PE 胎盤における AtP 関連因子を網羅的に検討した。その中で、リソソーム発現 (AtP の最終ステップに必須) が PE 胎盤で有意に抑制されていることを発見した。また、対照的に分解系の不全によって蓄積する凝集タンパクが PE 胎盤の合体体栄養膜細胞に多くみられることを示唆する結果も得ている (AtP 分解系が正常に働かないため)。そこで、1) 小胞体ストレスによるオートファジー (AtP) 抑制、2) 新規 AtP 誘導因子 Transcriptional factor EB (TFEB) の活性化経路の探索、3) TFEB による VEGF 活性化メカニズムの解明、4) PE 早期発見のための血清マーカーの検索を検討することとした。

4. 研究成果

1) 小胞体ストレスによるオートファジー (AtP) 抑制: 小胞体ストレスはリソソームを抑制することを発見した。リソソームはオートファジー経路の最終段階で、オートファゴソーム内の内容を分解する作用を持つ。そのため、リソソームの数の低下はオートファジー抑制に繋がることを発見した。さらに数の低下と共に、細胞内分布も変化することで機能低下に陥っていることを見出した。現在論文投稿中である。2) 新規 AtP 誘導因子 Transcriptional factor EB (TFEB) の活性化経路の探索: 1) に関連して、ヒト PE 胎盤でリソソームの数の低下が起きていることが示唆された。さらに、これまでに我々のグループが作成した胎盤特異的オートファジーノックアウトマウス (cKO) を用いて、ヒト PE 胎盤と cKO 胎盤の共通性という観点から、AtP 抑制機構として TFEB 抑制 (AtP およびリソソームの活性化に関与) が関与することを見出した。現在、ヒト血清に TFEB の活性化抑制能があることが分かってきた。また、ある薬剤を投与することに

より、HDP モデルマウスの高血圧が改善される結果を得ており、TFEB 活性化に関与するかを検討中である。実験結果の一部を現在投稿中である。3)TFEB による VEGF 活性化メカニズムの解明:TFEB 活性化による絨毛細胞から分泌される VEGF/PlGF 発現を確認するため、TFEB 過剰発現系および抑制系を確立するべく、実験進行中である。4)PE 早期発見のための血清マーカーの検索: 1))に関連し、リソソーム関連蛋白の検索を行い、いくつかの候補が見出されている。現在それら濃度と胎盤オートファジー機能に相関があるかを検討している。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 19 件)

1. Nakashima A, Higashisaka K, Kusabiraki T, Aoki A, Ushijima A, Ono Y, Tsuda S, Shima T, Yoshino O, Nagano K, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, Saito S. "Autophagy is a new protective mechanism against the cytotoxicity of platinum nanoparticles in human trophoblasts" *Sci Rep*. 2019 9(1):5478
2. Aoki A, Nakashima A, Kusabiraki T, Ono Y, Yoshino O, Muto M, Kumasawa K, Yoshimori T, Ikawa M, Saito S. "Trophoblast specific Conditional Atg7 knockout mice develop gestational hypertension" *Am J Pathol*, 2018. 188:11:2474-2486.
3. Tsuda S, Nakashima A, Shima T, and Saito S "New Paradigm in the Role of Regulatory T Cells During Pregnancy." *Front. Immunol*. 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.00573
4. Higashisaka K, Nakashima A, Iwahara Y, Aoki A, Nakayama M, Yanagihara I, Lin Y, Nagano K, Tsunoda S, Saito S, Yoshioka Y, Tsutsumi Y. "Neutrophil depletion exacerbates pregnancy complications, including placental damage, induced by silica nanoparticles in mice" *Front. In Immunol*. 2018;9;1850.
5. Nakashima A, Aoki A, Kusabiraki T, Cheng SB, Sharma S, Saito S. "Autophagy regulation in preeclampsia: Pros and cons" *J Reprod Immunol*. 2017 Sep;123:17-23.
6. Nakashima A, Aoki A, Kusabiraki T, Shima T, Yoshino O, Cheng SB, Sharma S, Saito S. "Role of autophagy in oocytogenesis, embryogenesis, implantation, and pathophysiology of pre-eclampsia." *J Obstet Gynaecol Res*. 2017 Apr;43(4):633-643.
7. Nakabayashi Y, Nakashima A, Yoshino O, Shima T, Shiozaki A, Adachi T, Nakabayashi M, Okai T, Kushima M, Saito S. "Impairment of the accumulation of decidual T cells, NK cells, and monocytes, and the poor vascular remodeling of spiral arteries, were observed in oocyte donation cases, regardless of the presence or absence of preeclampsia" *J Reprod Immunol*. 2016, 114:65-74
7. Saito S, Shima T, Nakashima A, Inada K, Yoshino O. "Role of Paternal Antigen-Specific Treg Cells in Successful Implantation." *Am J Reprod Immunol*. 2016 75:310-16
8. Cheng SB, Nakashima A, Sharma S. "Understanding Pre-Eclampsia Using Alzheimer's Etiology: An Intriguing Viewpoint" *Am J Reprod Immunol*. 2016 75:372-81
9. Saito S, Nakabayashi Y, Nakashima A, Shima T, Yoshino O. "A new era in reproductive medicine: consequence of third-party oocyte donation for maternal and fetal health" *Semin Immunopathol*. 2016 38:687-697

[学会発表](計 21 件)

- 1 . Invited speaker ; "The role of autophagy in pathophysiology of preeclampsia: Correlation between trophoblast-specific Atg7 knockout-mediated poor placentation and human preeclamptic placentas" Akitoshi Nakashima, 38th American-Sino joint meeting of

reproductive immunology (ASRI-CSI 2018), 2018/6/28-7/1, Shanghai, China, Invited speaker
2. Workshop Pre-eclampsia and the placenta; What 's new? "The role of autophagy for pathophysiology of preeclampsia: Correlation between trophoblasts-specific Atg7 knockout mouse model and human preeclamptic placentas." Akitoshi Nakashima, Aiko Aoki, Shigeru Saito International Federation of Placenta Associations 2018, Tokyo, 2018/9/21-9/24, Tokyo, Japan.

3. シンポジウム "オートファジー破綻は、妊娠高血圧腎症胎盤におけるトランスサイレチン蓄積に關与する" 中島彰俊, 草開妙, 島友子, 齋藤滋 第27回腎と妊娠研究会、2017/3/4 新潟

4. "妊娠高血圧腎症胎盤におけるオートファジー不全とトランスサイレチン蓄積の關与" 中島彰俊, 草開妙, 島友子, 齋藤滋 第32回日本生殖免疫学会, 2017/12/2-12/3, 東京, 学会賞

5. "Preeclampsia (PE) serum disrupts the autophagy/lysosome pathway cooperated with endoplasmic reticulum (ER) stress." Akitoshi Nakashima, Tomoko Shima, Shigeru Saito 第68回日本産科婦人科学会、2016/4/21-24、東京、2016, International session, Best award

3. "Preeclampsia serum disrupts the autophagy/lysosome pathway cooperated with endoplasmic reticulum (ER) stress" Akitoshi Nakashima 10th INTERNATIONAL WORKSHOP in REUNION ISLAND "REPRODUCTIVE IMMUNOLOGY, IMMUNOLOGICAL TOLERANCE and IMMUNOLOGY of PREECLAMPsia", 2016/12/5-8, Reunion island, France

4. シンポジウム 8 "妊娠高血圧腎症発症機序の解明に向けてーlysosome/ Autophagy 経路から觀た新たな概念" 中島彰俊 第52回周産期新生児学会、2016/7/16-7/18、富山

5. シンポジウム "胎盤オートファジー抑制は妊娠高血圧症候群発症リスクである" 中島彰俊 第37回妊娠高血圧学会学術集会、2016/10/7-10/8、大宮

6. シンポジウム 1 "妊娠高血圧腎症患者血清は小胞体ストレスと共に絨毛細胞のオートファジーを破綻させる" 中島彰俊 第24回日本胎盤学会学術集会、2016/11/25-11/26 和歌山市
〔図書〕(計4件)

1. Springer Preeclampsia の分担執筆 Nakashima A, Aoki A, Kusabiraki T, Shima T, Yoshino O, Cheng SB, Sharma S, Saito S. Book title: Preeclampsia, Chapter: Autophagy in preeclampsia. Comprehensive Gynecology and Obstetrics.

2. 胎児發育遅延(中外医学社)の分担執筆 草開妙、中島彰俊、齋藤滋: Chapter II 病因・病態: 胎盤形成の異常 2018、p34-38

3. Nakashima A, Aoki A, and Saito S., 2016. The role of autophagy for maintaining pregnancy. In: Gorbunov NV, and Schneider M, ed. Autophagy in current trends in cellular physiology and pathology. Rijeka, Croatia, pp. 329-345.

〔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：島 友子

ローマ字氏名：Tomoko Shima

所属研究機関名：富山大学

部局名：産婦人科

職名：助教

研究者番号（8桁）：00377285

研究分担者氏名：斎藤 滋

ローマ字氏名：Shigeru Saito

所属研究機関名：富山大学

部局名：産婦人科

職名：教授

研究者番号（8桁）：30175351

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。