

令和元年6月20日現在

機関番号：82401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06995

研究課題名(和文)新規極性制御因子による栄養膜細胞の物質交換および増殖を制御するメカニズムの解明

研究課題名(英文) Fetal and maternal asymmetry in plasma membrane domains of syncytiotrophoblast layer-I cells are maintained by a polarity-regulating factor

研究代表者

田村 可奈 (Tamura, Kana)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員

研究者番号：70807461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：胎盤では、母体側から胎児側へ栄養輸送、胎児側から母体へ老廃物排出という”方向性”をもったやりとりが行われている。これらはトランスポーターを介して行われるが、その位置決定が何によって制御されるのかは不明であった。本研究により、合胞体栄養膜細胞Iが胎児-母体細胞極性を持つこと、そして機能未知因子Wwc2/KIBRALが、この細胞極性制御を介して様々なトランスポーターの位置を決めることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、胎盤の最大の機能である「母体と胎児の物質交換」に必須であるトランスポーターの位置決定機構の一端を明らかにした。本研究はマウス胎盤を用いたものだが、ヒト胎盤とマウス胎盤は構造が酷似している。したがって、Wwc2の遺伝子異常は、胎盤形成異常を介したヒト胎児発育不全を引き起こす原因の1つになり得るだろう。今後、新たな流産のリスク因子の1つとして、Wwc2が遺伝子検査の対象となる可能性が高いと考える。

研究成果の概要(英文)：The syncytiotrophoblast have the machinery for the exchange of specific substances between fetal and maternal blood and seems to serve as a barrier for the vectorial transport of these substances. However, how these proteins are asymmetrically localized between the maternal side and fetal side-membrane domain in syncytiotrophoblasts is unknown. One of the most conserved regulators of cellular asymmetry, cell polarity, is aPKC. KIBRA is the regulator of aPKC during epithelial polarization. In this study, focused on the KIBRA homolog, KIBRA-like/Wwc2 (KIBRAL). We produced KIBRAL knock-out (KO) mouse, and found that KIBRAL-KO mouse shows cell polarity defects in syncytiotrophoblast layer-I (SynT-I) cells. We demonstrated that SynT-I cells have unique cell polarity. Our results suggest that KIBRAL is required for proper localization of cellular machineries including nutrient transporters, which are essential for vectorial transport of substances between fetus and mother.

研究分野：細胞生物学

キーワード：胎盤 aPKC 合胞体栄養膜細胞 細胞極性

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 解析が進んでいない機能未知のタンパク質である KIBRAL/Wwc2 のノックアウトマウスの作製および解析を行ったところ、E11.5 において 100%胎生致死であることが明らかとなった。

(2) 胎生致死の原因を探るため、抗 PECAM-1 抗体を用いて胎児および胎盤の血管形成状態を解析した結果、KIBRAL ノックアウト胎盤において形成異常を示すことが明らかとなった。

(3) KIBRAL が合胞体栄養膜細胞に発現していることがわかり、極性因子である aPKC の発現パターンに異常が生じることがわかった。

2. 研究の目的

KIBRAL を介した極性制御による合胞体栄養膜細胞の物質交換メカニズム解明を試みた。

3. 研究の方法

(1) 野生型マウスの E10.5 の胎盤において、aPKC および KIBRAL が合胞体栄養膜細胞 I と合胞体栄養膜細胞 II のどちらに発現しているのか、それぞれのマーカー因子を染色することで詳細解析を行った。

(2) KIBRAL ノックアウトマウスの合胞体栄養膜細胞 I で、各種トランスポーターの局在に変化が生じているか、蛍光免疫染色法にて解析を行った。

(3) 野生型マウスの E10.5 の胎盤から合胞体栄養膜細胞を単離、培養することで、合胞体栄養膜細胞 I と合胞体栄養膜細胞 II の接触部位に aPKC の集積および KIBRAL の集積が生じるか観察を行った。

(4) KIBRAL を介した合胞体栄養膜細胞 I に生じる aPKC の胎児血側局在化のメカニズムを解明するために、KIBRAL 発現ベクター、変異型 KIBRAL 発現ベクター、aPKC 発現ベクター、および寄与しそうなアピカル膜局在タンパク質の 1 つである因子 X の発現ベクターを用いて、これら因子を培養細胞に発現させることで、結合実験を行った。

(5) ヒト絨毛癌由来培養細胞にて KIBRAL をノックダウンすることで、aPKC や因子 X の局在変化が生じるかどうか解析を行った。

4. 研究成果

(1) KIBRAL は合胞体栄養膜細胞 I 全体に、aPKC は合胞体栄養膜細胞 I の胎児血側に強く局在していることがわかった。このことから、上皮細胞のアピカル - ベーサル極性と類似した極性を合胞体栄養膜細胞 I が有している可能性が示唆された。

(2) E10.5 の KIBRAL ノックアウトマウスの合胞体栄養膜細胞 I では、Glut1 や CD71 等のトランスポーターの局在異常が生じることが観察されたことから、KIBRAL が極性制御を行うことで、合胞体栄養膜細胞 I のトランスポーターの位置を決めている可能性が示唆された。

(3) 胎盤より単離してきた合胞体栄養膜細胞 I と合胞体栄養膜細胞 II の培養中に形成された接着部位に aPKC の集積が観察された。このことから、合胞体栄養膜細胞 II と接すること

が、合胞体栄養膜細胞 I の極性形成の起点 (polarity cue) になっている可能性が示唆された。発生過程において、合胞体栄養膜細胞 I と II は離れた場所でそれぞれ分化し、発生が進むにつれて距離が無くなり、やがて接することで二層構造を形成することが知られている。このことから、本研究の結果は、非常に整合性のある結果だと考えられる。

(4) KIBRAL を介した aPKC 極性制御機構に寄与しそうな因子 X と aPKC の結合は、KIBRAL 存在下で顕著に増加することがわかった。さらに、KIBRAL の中で因子 X が結合すると予想される領域を無くした変異体存在下では、因子 X と aPKC の結合増加は認められなかった。このことから、aPKC は KIBRAL を介して因子 X と結合することで、合胞体栄養膜細胞 I の胎児血側に局在する可能性が示唆された。

(5) ヒト絨毛癌由来培養細胞にて KIBRAL をノックダウンすると、細胞間接着部位に局在していた aPKC および因子 X の局在が顕著に減少することがわかった。このことから、ヒト胎盤の絨毛栄養膜細胞においても、KIBRAL が aPKC の局在を制御している可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

なし

〔学会発表〕(計1件)

Kana Tamura, Kazunari Yamashita, Ohno Shigeo : Fetal and maternal asymmetry in plasma membrane domains of syncytiotrophoblast layer-I cells are maintained by a polarity-regulating factor, KIBRA-like/Wwc2. IFPA, 2018, 西新橋

〔図書〕(計0件)

〔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

なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

なし

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。