

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09644

研究課題名(和文)胎盤形成不全を伴う疾患発症原因タンパクとしてのサブプレシン機能解析

研究課題名(英文)Functional Analysis of Suppressyn as a Causative Protein in Disorders with Placental Hypoplasia

研究代表者

杉本 潤(sugimoto, jun)

広島大学・医系科学研究科(医)・助教

研究者番号：10315476

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：サブプレシン(Suppressyn)は胎盤トロホプラスト細胞における細胞融合を抑制的に調節する。本研究では、胎盤形成異常を伴う周産期疾患発症原因タンパクとしてのサブプレシンの可能性を明らかにしようと考えた。妊娠高血圧腎症の患者由来胎盤組織を用いてサブプレシンタンパクの発現解析を行った結果、発現が有意に低下していることが明らかとなった。さらに胎児発育不全を伴う患者の母体血をサブプレシン特異的なELISAアッセイ法を用いて解析した結果、サブプレシンは正常妊婦に比べ母体血中で有意に濃度が低下していた。このことから、サブプレシンタンパクの発現低下が妊娠高血圧腎症、胎児発育不全の発症に関わる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、妊娠高血圧腎症、胎児発育不全という胎盤形成異常を伴う疾患では、共通してサブプレシンタンパクの発現が変化していることが明らかとなった。このことは、胎盤形成に深く関わるサブプレシンが、胎盤形成異常を通して、疾患発症に関与する可能性を示唆している。今後、これら周産期疾患の発症原因タンパクとしての解析を遂行することで、発症メカニズムの解明、治療法の開発に貢献する可能性がある。また我々が開発したサブプレシン特異的なELISAアッセイ法は、トロホプラストの形成異常を伴う周産期疾患の発症予知、診断に応用可能な新しい検出法になると期待された。

研究成果の概要(英文)：Suppressyn (SUPYN) is a protein involved in the regulation of cell fusion in the placenta. This study aimed to investigate its role in perinatal disorders with abnormal placental development, specifically preeclampsia and fetal growth restriction. The expression of Suppressyn was analyzed in placental tissues from preeclampsia patients, revealing a significant decrease compared to controls. Additionally, a Suppressyn-specific ELISA assay showed reduced levels of Suppressyn in the maternal blood of fetal growth restriction patients. These findings suggest that Suppressyn downregulation may associate to the development of these disorders. Further elucidating the functional role of Suppressyn could provide insights into the underlying mechanisms driving these disorders and their potential therapeutic targets. The Suppressyn-specific ELISA assay shows promise as a diagnostic tool for perinatal disorders associated with abnormal trophoblast formation.

研究分野：分子生物学

キーワード：サブプレシン 内在性レトロウイルス 細胞融合抑制 胎盤トロホプラスト細胞 妊娠高血圧腎症 胎児発育不全 ダウン症候群

1. 研究開始当初の背景

胎盤絨毛組織では、多核で膜状の融合細胞が表面を覆うことで、母体血と胎児血が交わることなく効率的なガス、栄養素の交換が行われる。このシンシチオトロホプラスト (syncytiotrophoblast : ST) と呼ばれる膜状の細胞は、その内側に存在するサイトトロホプラスト (cytotrophoblast : CT) が細胞融合することで形成される。つまり、胎盤形成だけでなく胎児の発育、妊娠の継続のためには、これら胎盤トロホプラスト細胞の細胞融合が適切に行われることが必須である。近年、内在性レトロウイルス (HERV) 配列に由来する機能タンパク：シンシチン 1 (syncytin-1: SYN1), シンシチン α (syncytin-2: SYN2) が、特定の受容体 (ASCT2, MFSD2) と会合し、この細胞融合を引き起こすことが明らかとなった。(図 1 左) ここで、我々は、細胞融合に関わる新規の分子：サブプレシン (suppressyn: SUPYN) を世界で初めて報告している。サブプレシンはシンシチン 1 と同じ HERV に由来する機能タンパクであり、胎盤トロホプラスト細胞で特異的に発現する。また、その機能は、シンシチン 1 特異的な細胞融合の抑制であり、シンシチン 1 受容体である ASCT2 と会合することでシンシチン 1 との会合を阻害し、絨毛組織における不必要な細胞融合を調節していると考えられている。(図 1 右) このことから、我々が見出したサブプレシンは、胎盤形成に必須の細胞融合過程において重要な役割を担うタンパクであると推察された。

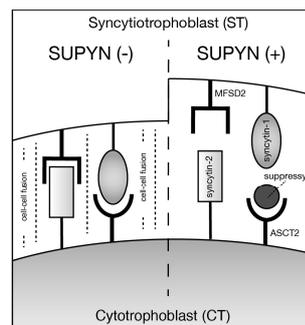


図1 細胞融合に関わる分子

2. 研究の目的

細胞融合に関わる HERV 由来の機能タンパク：サブプレシンは、胎盤形成に深く関わる可能性が考えられた (図 2)。逆にこのタンパクの機能異常は、細胞融合の破綻につながり、胎盤形成不全を伴う各種周産期疾患 (ダウン症候群、妊娠高血圧症候群 (HDP, PE)、胎児発育不全 (FGR)) に関与する可能性が推察された。本研究では、この胎盤形成不全を伴う各種周産期疾患発症原因タンパクとしてのサブプレシンの関与を明らかにしようと考えた。

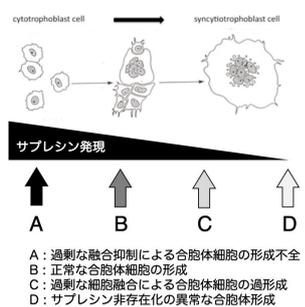


図2 サプレシン発現とトロホプラスト形成

3. 研究の方法

(1) ダウン症候群

ダウン症候群を伴う妊婦胎盤を用い、遺伝子発現解析、タンパク発現解析、細胞融合能を検証する機能解析を行った。サンプルは、同意をいただいた方の娩出後の胎盤組織を用いた。この時、週数を合わせた胎盤をコントロールとしている。胎盤組織から RNA、タンパクを抽出し定量的 RT-PCR 法、ウエスタンブロット法に用いた。また、同妊婦の分娩時の母体血中のサブプレシンタンパク濃度を、我々が開発したサブプレシン特異的 ELISA アッセイ法で検証した。細胞融合能はこれら胎盤から絨毛初代培養細胞を単離、培養し、細胞融合率を定量化した。具体的には細胞境界を E-Cadherin により蛍光染色することで、未融合の細胞を視覚化し、数を数えることにより細胞融合率を算出している。

(2) 妊娠高血圧腎症

解析方法は、ダウン症候群とおおよそ同様である。29 週から 37 週までの妊娠高血圧腎症由来胎盤組織を用いて、週数を合わせたコントロール胎盤とともにウエスタンブロット法によるタンパク発現解析を行なった。また、患者由来の母体血を用いて、サブプレシンの血中濃度を正常妊婦と比較した。

(3) 胎児発育不全

解析方法は、妊娠高血圧腎症とおおよそ同様である。36 週から 37 週までの胎児発育不全を伴う患者由来の母体血を用いてサブプレシンの血中濃度を正常妊婦の母体血と比較した。

4. 研究成果

(1) ダウン症候群

ダウン症候群に見られる特徴的な胎盤形成不全とサブプレシンの発現との関わりを証明した。

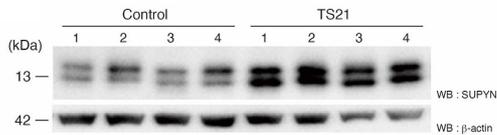


図3 ダウン症候群胎盤におけるサプレシントランパクの発現

(Sugimoto *et al*, 2022 *Sci Rep.* 12(1):10552) サプレシン遺伝子はヒト第 21 番染色体に座位していることから、ダウン症候群胎盤では物理的な染色体の増加 (1.5 倍) によるサプレシン転写産物、翻訳産物の過剰発現が予想される。実際、ダウン症の胎盤 (TS21) ではコントロール (Control)

に比べサプレシントランパクの過剰発現が検出され、これに伴う細胞融合率の減少が確認された (図 3)。これまでダウン症の胎盤では未融合の細胞 (サイトトロホプラスト) が多く観察され、正常な胎盤と比べ異常が認められることが報告されていたが、この原因の一つがサプレシンの過剰発現である可能性が考えられる。また、ダウン症の児を持つ妊婦母体血を用いて、サプレシン特異的 ELISA アッセイ法によりサプレシン血中濃度を測定したところ、正常な妊婦の血中濃度に対して、有意に増加していることが確認された、このことから、我々が開発したサプレシン特異的 ELISA アッセイ法は、ダウン症候群の疾患発症予知、診断に応用できる可能性が示唆された (図 4)。

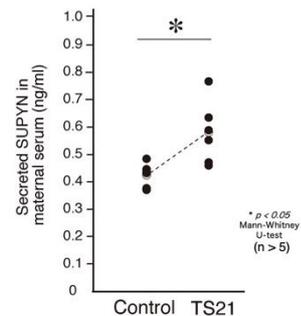


図4 ダウン症胎盤を伴う妊婦のサプレシン血中濃度

(2) 妊娠高血圧腎症

妊娠高血圧腎症 (PE) におけるサプレシントランパクの発現を解析した。29 週から 37 週までの妊娠高血圧腎症由来胎盤組織を用いて、週数を合わせたコントロール胎盤とともにウエスタンブロット法によるタンパク発現解析を行った。この結果、サプレシントランパクは有意差を持って PE の患者胎盤で発現が低下していた。ここで、妊娠高血圧腎症の早発型、遅発型いずれにおいても、有意な発現の低下が

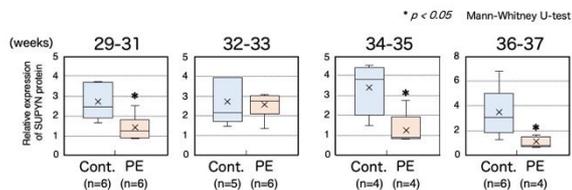


図5 妊娠高血圧腎症 (PE) 胎盤に確認されるサプレシントランパクの発現変化

定量的解析で確認されている (図 5)。また、今回用いた妊娠高血圧腎症サンプルは胎児発育不全を伴うものが多いという特徴があった。このことから、胎児発育不全の病態の有無による妊娠高血圧腎症の違いとサプレシン発現との関わりを明らかにするため、患者母体血を用いた ELISA 法によるタンパク発現解析を行った。その結果、早発型で胎児発育不全を伴う妊娠高血圧腎症患者でのみ、サプレシンの血中濃度が有意に低下していた。この時、用いた早発型の妊娠高血圧腎症患者サンプルはいずれも胎盤重量がコントロールに比べ有意に減少しており、サプレシンの発現低下と胎盤形成異常、胎児発育不全との関わりが予測された。

(3) 胎児発育不全

(2) の妊娠高血圧腎症の解析結果より、胎児発育不全のみを伴う PE の患者ではサプレシンの血中濃度が有意に低下することが明らかとなった。そこで、さらに胎児発育不全のみを病態として持つ患者に限定してサプレシンの発現解析を行った。その結果、サプレシンの血中濃度は、これらサンプルで有意に低下していることが明らかとなった (図 6)。また、今回用いたサンプルでも、明らかな胎盤重量の減少を認め、胎盤形成異常を伴うサンプルであることが確認されている (図 6)。

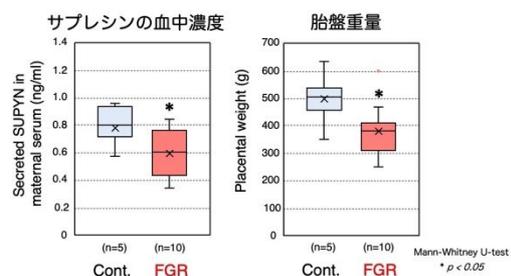


図6 胎児発育不全を伴う胎盤の重量とサプレシン血中濃度

以上の結果から、胎盤形成異常により胎児発育不全を伴った病態では、サプレシンの母体血中濃度が有意に低下することが明らかとなった。この結果は、妊娠高血圧腎症、胎児発育不全において共通して確認されたことから、この病態の原因タンパクの一つである可能性が示唆された。ヒトの胎盤形成にはサプレシントランパクが存在およびバランスの取れた機能が必要不可欠であり、これらの異常が胎盤形成異常を伴う疾患発症に関わる可能性が本研究課題により明らかとなった。さらに、我々が開発したサプレシン特異的 ELISA アッセイ法による母体血中のサ

プレシタンパクの測定は、トロホプラストの形成異常を伴う周産期疾患の発症予知、診断を可能とすることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sugimoto Jun, Choi Sehee, Sheridan Megan A., Koh Iemasa, Kudo Yoshiki, Schust Danny J.	4. 巻 22
2. 論文標題 Could the Human Endogenous Retrovirus-Derived Syncytialization Inhibitor, Suppressyn, Limit Heterotypic Cell Fusion Events in the Decidua?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10259 ~ 10259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms221910259	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Roberts R. Michael, Ezashi Toshihiko, Schulz Laura C., Sugimoto Jun, Schust Danny J., Khan Teka, Zhou Jie	4. 巻 113
2. 論文標題 Syncytins expressed in human placental trophoblast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Placenta	6. 最初と最後の頁 8 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.placenta.2021.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Schust Danny J., Bonney Elizabeth A., Sugimoto Jun, Ezashi Toshi, Roberts R. Michael, Choi Sehee, Zhou Jie	4. 巻 22
2. 論文標題 The Immunology of Syncytialized Trophoblast	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1767 ~ 1767
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22041767	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Sugimoto Jun, Schust Danny J., Yamazaki Tomomi, Kudo Yoshiki	4. 巻 12
2. 論文標題 Involvement of the HERV-derived cell-fusion inhibitor, suppressyn, in the fusion defects characteristic of the trisomy 21 placenta	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10552
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-14104-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本 潤、Danny J. Schust、工藤美樹
2. 発表標題 内在性レトロウイルス由来細胞融合抑制遺伝子を欠損したマウスは胎盤形成異常と胎児発育不全を示す
3. 学会等名 第29回日本胎盤学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jun Sugimoto, Tomomi Yamazaki, Yuriko Omori, Yoshiki Kudo
2. 発表標題 Expression of the cell fusion inhibitor, Suppressyn, in hypertensive disorders of pregnancy
3. 学会等名 第73回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本潤
2. 発表標題 胎盤形成とヒト内在性レトロウイルス由来タンパク：サブプレシン
3. 学会等名 第28回日本胎盤学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Jun Sugimoto, Yoshiki Kudo
2. 発表標題 O2 responses suggest a central role for suppressyn in trophoblast cell fusion
3. 学会等名 第72回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉本潤、永松健、Danny Schust、矢野絵里子、山崎友美、工藤美樹
2. 発表標題 syncytin-1/suppressyn遺伝子発現比は早期型妊娠高血圧腎症発症に相関する
3. 学会等名 第30回日本胎盤学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Jun Sugimoto, Yoshiki Kudo
2. 発表標題 Deletion of a mouse retrovirus-derived cell fusion suppressor gene induces abnormal placental formation
3. 学会等名 第74回日本産科婦人科学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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		
米国	Duke University	Danny Schust	