

令和 6 年 5 月 21 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09450

研究課題名(和文)胎盤絨毛細胞合体化の分子細胞生物学的機序の解明：妊娠高血圧症候群発症病態の解明

研究課題名(英文) Study on the mechanisms of trophoblast syncytialisation: implication for the pathogenesis of preeclampsia

研究代表者

工藤 美樹 (Kudo, Yoshiki)

広島大学・医系科学研究科(医)・教授

研究者番号：80241082

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：1. トロフォブラストのシンシチウム化を抑制する suppressyn の発現を妊娠高血圧症の胎盤において解析を行った。妊娠高血圧の胎盤では suppressyn の発現が低下しており、過剰のシンシチウム化が起こりトロフォブラストのアポトーシスが增強し、胎盤機能が低下すると考えられた。2. Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) の母体-胎児境界部位での発現を解析した。脱落膜に存在する IDO はトロフォブラストの浸潤を制御している可能性がある。癒着胎盤においては脱落膜での IDO の発現が欠損し、トロフォブラストの浸潤が抑制されないことが癒着胎盤の発症病態と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

妊娠高血圧症候群は周産期医療の発達した現在においても高頻度かつ母児共に生命に危険のある重篤な妊娠合併症である。その発症には胎盤の関与が示唆されており、病理組織学的にシンシチオトロフォブラストの形成不全が認められるのが特徴である。この研究で得られた結果は、シンシチオトロフォブラスト形成の調節機構、さらには妊娠高血圧症候群およびそれに合併する子宮内胎児発育不全の発症病態の分子生物学的機序の解明につながると考えられる。また、癒着胎盤も母児の生命に関わる病態であり、その発症病態の解明が待たれる周産期合併症である。

研究成果の概要(英文)：1. The expression dynamics of suppressyn, which inhibits the syncytialisation of trophoblasts, were analyzed in the placenta of pre-eclampsia. In the placenta of pre-eclampsia, the expression of suppressyn was decreased, leading to excessive syncytialisation, increased trophoblast apoptosis, and consequently, reduced placental function. 2. The expression dynamics of Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) at the maternal-fetal interface were analysed. IDO present in the decidua may regulate trophoblast invasion. In cases of placenta accreta, the expression of IDO in the decidua is absent, leading to uncontrolled trophoblast invasion, which is thought to contribute to the pathogenesis of placenta accreta.

研究分野：産婦人科学

キーワード：胎盤 トロフォブラスト シンシチウム化 妊娠高血圧症候群 癒着胎盤

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトの胎盤は血絨毛性胎盤で母体血液と直接に接する絨毛組織の最外層は多核合胞体細胞塊(シンシチウム、シンシチオトロフォプラスト)構造を有している。シンシチオトロフォプラストは母体胎児間の栄養代謝物交換やガス交換を行うとともに種々のホルモンや成長因子を産生しており正常な胎児成長発育に必要な胎盤機能の中心的な役割を果たしている。このシンシチオトロフォプラストはその下層に存在する単核のサイトトロフォプラスト同士が細胞融合することにより形成(シンシチウム化)されるが、その機序についてはほとんど解明されていない。シンシチウム化に關与する分子としてヒト内因性レトロウイルス(human endogenous retrovirus (HERV))のエンベロップ蛋白(envelope protein (env))のHERV-W env (syncytin) (Mi et al. (2000) Nature 403; 785-789)の關与が報告された。さらに、アミノ酸輸送担体を構成する蛋白のひとつであるCD98が、ウイルスによって誘発される細胞融合に關与する蛋白であるfusion regulatory protein-1と同一であることが判明した(Tsurudome & Ito (2000) Crit Rev Immunol 20; 167-196)。CD98はインテグリンを活性化することにより細胞融合を惹起する。ヒト胎盤においてもCD98の生理学的意義に関する研究は多く行われているが、そのほとんどはアミノ酸輸送に関するものでシンシチオトロフォプラストの形成に関するものは申請者が報告したのみである(Kudo et al. (2003) J Physiol 550; 3-9, Kudo & Boyd (2004) FEBS Lett 577; 473-477)。

妊娠高血圧症候群は周産期医療の発達した現在においても頻度が高く、母児共に生命に危険のある重篤な妊娠合併症である。その発症には胎盤の關与が示唆されており、病理組織学的に子宮-胎盤血液循環不全による胎盤虚血(低酸素状態)およびシンシチオトロフォプラストの形成不全が認められるのが特徴である(Redman & Sargent (2005) Science 308; 1592-1594)。さらに妊娠高血圧症候群の胎盤では上述した syncytin のトロフォプラストでの発現量は低下すると共に発現部位が正常胎盤とは異なることが報告されている(Lee et al. (2001) Placenta 22; 808-812)。また、妊娠高血圧症候群には子宮内胎児発育不全が合併することが知られており、このような胎児では臍帯血中のアミノ酸の濃度は正常と比べて低下していて、胎盤を介するアミノ酸輸送能の低下が示唆されている(Marconi et al. (1999) Pediatr Res 46;114-119)。

## 2. 研究の目的

(1)CD98 以外にシンシチオトロフォプラストの形成に關与する分子の同定を行うこと、(2)低酸素状態がシンシチオトロフォプラストの形成、および CD98、上記(1)で同定したシンシチウム化に關与する分子の発現に影響を及ぼすかどうか、(3)正常妊娠および妊娠高血圧症候群の胎盤での CD98、上記(2)で同定した分子の発現動態を解析し比較することを目的とする。(4)トロフォプラストの浸潤を調節する胎盤に発現する分子を同定し、癒着胎盤の発症病態の解明を行うことを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1)シンシチウム化に關与している分子の同定

シンシチウム化に伴う遺伝子発現の経時的変化を cDNA microarray 法により解析した結

果 (Kudo et al. (2002) Placenta 23; 536-541) に基づいて、トロフォブラストのシンシチウム化に関与している新たな分子の同定を行う。すなわち、CD98 の他にもこれまでシンシチウム化との関連が報告されている HERV-3 env と HERV-W env (syncytin)、syncytin のレセプター - であるアミノ酸輸送タンパクの ASCT2、a disintegrin and metalloprotease (ADAM) domain family of proteins のうち ADAM8,10,18 などが cDNA microarray 法による解析の結果、シンシチウム化に関与している分子の候補として挙がってきている。これらのそれぞれの分子についても、発現を抑制したり、過剰発現させたりしシンシチウム化に及ぼす影響を検討する。

#### (2)低酸素状態がシンシチウム化におよぼす影響

胎盤の低酸素状態は妊娠高血圧症候群の特徴のひとつである。その状態を模倣するために低酸素状態(酸素濃度; 2または5%)で細胞を培養し、シンシチウム化におよぼす影響を調べる。CD98に加えて上記 2) で同定したシンシチウム化に関与する分子の低酸素状態での発現量を遺伝子(RT-PCR法)とタンパク(ウエスタンブロット法、免疫細胞化学的染色法)のレベルで解析し、酸素濃度20%で培養した時との結果と比較する。

#### (3)ヒト胎盤組織でのシンシチウム化に関与する分子の発現動態

正常妊娠および妊娠高血圧症候群の胎盤を用いて、CD98に加えて上記 2) で同定したシンシチウム化に関与する分子の遺伝子およびタンパクレベルでの発現を解析し、正常胎盤でのそれらと比較する。上記と同様に遺伝子の発現量は RT-PCR 法、タンパクの発現量と発現部位はそれぞれウエスタンブロット法と免疫組織化学染色法により行う。

#### (4)シンシチウム化を抑制する分子の発現動態

研究分担者の杉本はトロフォブラストのシンシチウム化を抑制する分子として suppressyn を同定し、この分子も HERV のエンベロップタンパク (HERV-H env) であり、syncytin と同様にアミノ酸輸送タンパクである ASCT2 をレセプターとしていることを解明した (Sugimoto et al. (2013) Sci Rep 3; 1462, Sugimoto et al. (2019) Sci Rep 9; 19502)。このシンシチウム化を抑制する suppressyn の発現動態を BeWo 細胞およびクライマン細胞を低酸素状態で培養し、酸素濃度 20%で培養した時との結果と比較する。さらに、シンシチウム化を促進する分子である syncytin と抑制する分子である suppressyn の発現動態を比較することによって、生理的および低酸素下でのこれらの分子のシンシチウム化におよぼす影響を検討する。また、syncytin および suppressyn は、トロフォブラストの細胞膜に局在する ASCT2 に結合することによってシンシチウム化を促進または抑制する。すなわち、レセプターである ASCT2 への結合を syncytin と suppressyn が拮抗していると予測され、シンシチウム化は syncytin と suppressyn、ASCT2 の発現のバランスによって制御されていると推測できる。さらに、syncytin、suppressyn、ASCT2 の発現動態を妊娠高血圧症の胎盤において遺伝子レベルおよびタンパクレベルで解析し、正常胎盤でのそれらと比較する。また、ASCT2 はアミノ酸輸送タンパク(トランスポーター)であるため、syncytin、suppressyn が結合することによって ASCT2 を介するアミノ酸輸送に影響をおよぼし、胎児へのアミノ酸の供給が抑制されることが予測される。これが胎児発育不全の発症に関与している可能性が考えられる。そこで、培養細胞系でこれらの分子の発現量を調節した際の ASCT2 を介するアミノ酸輸送におよぼす影響を放射標識されたアミノ酸を用いたトレーサー実験により解析する。

#### (5)トロフォブラストの浸潤を調節する分子の解析

トリプトファン代謝酵素である indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) の母体 - 胎児境界

部位での発現動態を免疫組織染色法で解析し、癒着胎盤における胎盤着床部位との比較を行う。

#### 4．研究成果

##### (1)トロフォブラストのシンシチウム化に関する研究

トロフォブラストのシンシチウム化を抑制する分子として suppressyn が同定された。この分子も HERV のエンベロップタンパクであり、アミノ酸輸送タンパクの ASCT2 をレセプターとしている。そこでこの分子の発現動態を妊娠高血圧症の胎盤において解析した。Suppressyn の発現は正常妊娠の胎盤において、単核のサイトトロフォブラスト優位に発現が認められた。発現部位は細胞膜と細胞質であった。妊娠高血圧症候群の胎盤では suppressyn の染色性の低下が認められた。以上の結果より妊娠高血圧症候群の胎盤においてはトロフォブラストの過剰のシンシチウム化が起こり、アポトーシスが增強し、胎盤機能の低下をきたす可能性が示唆された。

##### (2)トロフォブラストの浸潤に関する研究

ID0 には二つのアイソフォームが同定されている (ID0-1、ID0-2)。この二つのアイソフォームの母体 - 胎児境界部位における発現動態を免疫組織化学染色法により解析した。その結果、ID0-1 は脱落膜の腺上皮、絨毛組織内の胎児の血管内皮およびマクロファージに発現が認められた。ID0-2 はシンシチオトロフォブラストに発現していた。IFN- $\gamma$  は ID0-1 の遺伝子およびタンパクレベルでの発現を促進したが、この IFN- $\gamma$  の効果は ID0-1 に特異的で ID0-2 に対しては認められなかった。母体 - 胎児境界部位における ID0 の二つのアイソフォームの発現部位および IFN- $\gamma$  への反応性が異なることは、それぞれのアイソフォームが正常妊娠御維持において特異的な役割を果たしていることが考えられる。すなわち、ID0 の発現により局所でのトリプトファン濃度が低下し免疫細胞による拒絶反応を抑制したり、トロフォブラストの脱落膜組織および筋層内への浸潤が制御され、正常な胎盤形成が起こると考えられる。癒着胎盤の母体 - 胎児境界部位においては、脱落膜組織の ID0 の発現が認められず、トロフォブラストの浸潤は子宮筋層内にまで及んでおり、このことが癒着胎盤の発症病態のひとつである可能性が示唆された。

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 3件/うちオープンアクセス 4件）

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 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 10552-10552
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
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 Sugimoto Jun, Schust Danny J., Sugimoto Makiko, Jinno Yoshihiro, Kudo Yoshiki	4. 巻 13
2. 論文標題 Controlling Trophoblast Cell Fusion in the Human Placenta? Transcriptional Regulation of Suppressyn, an Endogenous Inhibitor of Syncytin-1	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1627 ~ 1627
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom13111627	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 Kudo Yoshiki, Sugimoto Jun	4. 巻 25
2. 論文標題 The Role of the Placental Enzyme Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Normal and Abnormal Human Pregnancy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4577 ~ 4577
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms25084577	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本潤、Schust Danny、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、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
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
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉本潤
2. 発表標題 サブレッシン：網羅的遺伝子解析により同定した胎盤トロホプラスト形成に関わる分子
3. 学会等名 第75回日本産科婦人科学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉本潤、永松健、Danny Schust、山崎友美、工藤美樹
2. 発表標題 早発型妊娠高血圧腎症と胎児発育不全に認められる細胞融合抑制タンパク：サブレッシンの発現異常
3. 学会等名 第31回日本胎盤学会学術集会
4. 発表年 2023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
研究分担者	杉本 潤  (Sugimoto Jun)  (10315476)	広島大学・医系科学研究科(医)・助教   (15401)	
研究分担者	古宇 家正  (koh lemasa)  (10794779)	広島大学・医系科学研究科(医)・講師   (15401)	

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
---------	---------