

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：14301
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22591822
 研究課題名（和文）卵膜を介した胎児・母体間クロストークの分子機構の解析
 研究課題名（英文）Molecular mechanisms of crosstalk between fetus and mother via fetal membrane
 研究代表者
 角井 和代（Kazuyo Kakui）
 京都大学・医学研究科・非常勤講師
 研究者番号：40531067

研究成果の概要（和文）：本研究では、ニューロトロフィンをはじめとする各種神経栄養因子の受容体の発現を羊膜において確認し、これらの神経栄養因子・伝達物質が母児間のシグナル伝達を担っている可能性が示唆された。また初代羊膜間葉細胞において、早産発症因子である胎児ファイブロネクチンによるコラーゲン分解酵素やプロスタグランジン産生の増加が、トラネキサム酸により抑制され、前期破水・早産の予防・治療に応用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：First, we found that receptors of nerve growth factors, such as neurotrophin, were expressed in amnion, which suggested that these nerve growth factors had some roles in the signal transduction between mother and fetus. Secondly, in primary amnion mesenchymal cells, increase of matrix metalloprotenases and cyclooxygenase type-2 by fetal fibronectin were significantly suppressed by tranexamic acid, which implied that tranexamic acid might be useful for prevention or treatment of preterm rupture of membrane and preterm birth.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：卵膜、成長因子、妊娠高血圧症候群、胎児発育遅延、クロストーク

1. 研究開始当初の背景

(1) 卵膜と神経栄養因子

卵膜は胎児を物理的に支持し、子宮外環境から防御する役割を担うほか、物質産生、物質移動を行う機能的な臓器である。その中で

も羊膜は母体と胎児とを隔てる最前線にあって、母体-胎児間のシグナル伝達に重要な働きをなしていることが想定される。

神経栄養因子は、神経細胞の生存、発生、機能に必要とされる因子であり、神経成長因子 (NGF) や脳由来神経栄養因子 (BDNF) などが知られている。

我々の研究室の藤田は、羊水中には NGF、BDNF が存在することを確認しており、また神経伝達物質のメラトニン、セロトニン、 β エンドルフィンなども羊水中に存在することがこれまでに報告されている。つまりこれらの物質が羊膜 (羊水) を介した母児応答におけるシグナル伝達物質である可能性があるが、その羊水中での機能や受容体の局在については不明である。

(2) 羊膜と早産

妊娠 37 週未満に破水が生ずる前期破水は早産発症の主要な原因となる。前期破水は卵膜中の羊膜が脆弱になり発症するが、これには強力なコラーゲン分解酵素であるマトリックスメタロプロテナーゼ (MMPs) が活性化され、羊膜のコラーゲン分解が促進されることが関与している。一方、羊膜におけるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) の産生は生理的には子宮頸管の熟化や子宮収縮を生じ、分娩発来に重要な役割を果たすが、PGE₂ の病的な上昇は早産を生じることが知られている。我々の研究室の最上は、これまで早産マーカーとして用いられてきた胎児ファイブロネクチン (fFN) が、羊膜の MMPs や PGE₂ の産生を促し、早産の病態発症因子の 1 つであることを発見した。

2. 研究の目的

(1) 羊水・卵膜を介した母体-胎児間のシグナル伝達機構を神経栄養因子の点から明らかにすることにより、胎児発育に必要な栄養、ガス交換、あるいは内分泌物質の母体-胎児間での新たな調節機構を明らかにし、その生理的な意義を確立する。

(2) 羊膜において、胎児ファイブロネクチン (fFN) による MMPs、PGE₂ 産生を抑制する分子・物質、あるいは薬剤を探索し、早産の予防・治療に応用することを目標とする。

3. 研究の方法

(1) 羊膜における神経伝達物質の受容体の存在の検討

羊水中に存在する神経伝達物質について、その受容体の遺伝子発現を羊膜において、定量 PCR 法により検討した。

(2) 羊膜における MMPs、PGE₂ を抑制する薬剤の探索

ヒト初代羊膜細胞に対して胎児ファイブロネクチン (fFN) を投与し、MMPs およびプロスタグランジン産生の律速酵素である cyclooxygenase-2 (COX-2) の遺伝子発現を定量 PCR 法にて検討した。さらに MMPs、COX2 の増加を抑制する薬剤を検討した。

4. 研究成果

(1) メラトニン受容体 1A (MTR1A)、セロトニン受容体 1A (HTR1A)、ドパミン受容体 D1 (DRD1) の発現がヒト羊膜において確認された。一方で、メラトニン受容体 1B (MTR1B)、 β エンドルフィン前駆体 (POMC)、セロトニン受容体 3 (HTR3)、オピオイド受容体 μ (OPRM1) の発現はヒト羊膜には認められなかった。以上より羊水中に存在する神経伝達物質の一部は、羊膜上の受容体を介して母体にシグナル伝達を行う可能性が示唆された。

(2) ヒト初代羊膜細胞に胎児ファイブロネクチン (fFN) を投与すると、羊膜上皮細胞では MMPs の変化は認められなかったが、羊膜間葉細胞では、コラーゲン分解酵素である MMP1、およびゼラチン分解酵素の MMP9 の遺伝子発現ならびに酵素活性が有意に増

加することを確認した。さらに羊膜間葉細胞では COX2 mRNA が増加し、培養上清中のプロスタグランジン E2 (PGE2) 産生が有意に増加した。これは fFN が羊膜のコラーゲン分解、ひいては前期破水に関与し、さらに PGE2 の増加により子宮頸管の熟化や子宮収縮が引き起こされることを示唆するものと考えられる。

上記データに引き続き、止血剤として用いられているトラネキサム酸(TA)の作用を検討した。トラネキサム酸は線溶系のプラスミノゲンがプラスミンに変換されるステップを阻害し、止血効果を発揮するが、それとは別に抗炎症効果を有することが知られている。そこで、羊膜間葉細胞をトラネキサム酸で前処理した後、fFN を投与すると、興味深いことに MMP1, MMP9, ならびに COX2 mRNA がそれぞれ 43%、48%、および 67% 抑制された (図 1)。このトラネキサム酸が、コラーゲン分解を阻害する、あるいはプロスタグランジン産生を抑制するメカニズムについてはまだ研究途中であるが、トラネキサム酸が前期破水・早産の予防・治療に応用できる可能性を示唆するものである。

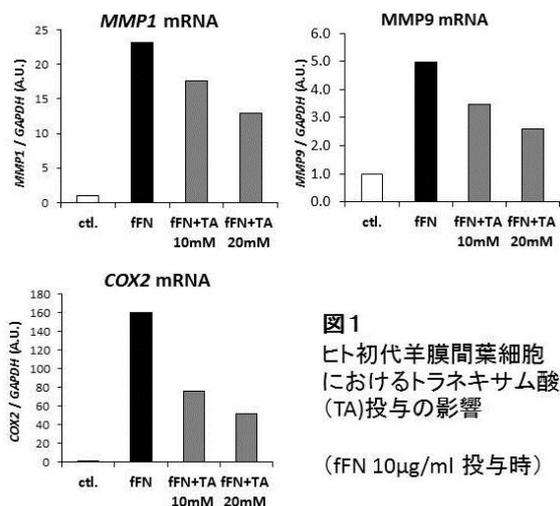


図1
ヒト初代羊膜間葉細胞
におけるトラネキサム酸
(TA)投与の影響
(fFN 10 μ g/ml 投与時)

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 4 件)

①Fujita K, Tatsumi K, Kondoh E, Chigusa Y, Mogami H, Fujii T, Yura S, Kakui K, Konishi I, Differential expression and the anti-apoptotic effect of human placental neurotrophins and their receptors. Placenta, 査読有、32:737-44, 2011
doi: 10.1016/j.placenta.2011.07.001.

②Fujii T, Yura S, Tatsumi K, Kondoh E, Mogami H, Fujita K, Kakui K, Aoe S, Ito H, Sagawa N, Fujii S, Konishi I, Branched-chain amino acid supplemented diet during maternal food restriction prevents developmental hypertension in adult rat offspring. Journal of Developmental Origins of Health and Disease. 査読有、2: 176-183, 2011
<http://dx.doi.org/10.1017/S204017441100002X>

③Mogami H, Yura S, Tatsumi K, Fujii T, Fujita K, Kakui K, Kondoh E, Inoue T, Fujii S, Yodoi J, Konishi I. Thioredoxin binding protein-2 inhibits excessive fetal hypoglycemia during maternal starvation by suppressing insulin secretion in mice. Pediatr Res. 査読有、67: 138-43. 2010
doi: 10.1203/PDR.0b013e3181c2f4cc.

④巽啓司、藤田浩平、近藤英治、角井和代、小西郁生、妊娠高血圧症候群の病態解明 - 分子機構を中心に - 9. 神経栄養因子から見た妊娠高血圧症候群、産婦人科の実際 査読無、59: 1057-1061, 2010

[学会発表] (計 2 件)

①藤田浩平、他、ヒト胎盤における神経栄養因子と酸化ストレスの関係、第 63 回日本

産科婦人科学会 学術講演会、2011 年 8
月 29 日-31 日、大阪

- ②藤田浩平、他、ヒト胎盤における神経栄養
因子および受容体の発現と胎児発育や胎内
環境との関係、第 62 回日本産科婦人科学
会 学術講演会、2010 年 4 月 23 日-25 日、
東京

6. 研究組織

(1)研究代表者

角井 和代 (Kakui Kazuyo)
京都大学・医学研究科・非常勤講師
研究者番号：40531067

(2)研究分担者

巽 啓司 (Tatsumi Keiji)
京都大学・医学研究科・非常勤講師
研究者番号：10324633

近藤 英治 (Kondo Eiji)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：10544950

小西 郁生 (Konishi Ikuo)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：90192062

(3)連携研究者

なし