

審査の結果の要旨

氏名 西谷 健汰

胎盤は正常な妊娠・出産に必要な臓器であり、胎盤の異常は妊娠期の胎子発生異常につながる。胎盤を構成する各種の栄養膜細胞が、然るべき位置に、適切な量だけ配置されることが、胎盤の正常な機能の発揮に必要であるが、栄養膜細胞分化の制御機構の詳細はいまだ明らかにされていない。本論文では、マウス栄養膜幹細胞 (mouse trophoblast stem cell, mTSC) をモデルとして用い、細胞外因子による栄養膜細胞の分化制御機構の一端を解明することを目的とした研究が行われている。

第一章ではまず、ヒトやげっ歯類において栄養膜細胞分化や機能への関与が示唆されている EGF シグナルに着目した。EGF 受容体欠損 (Egfr KO) マウスの胎盤において海綿状栄養膜細胞 (Spongiotrophoblast, SpT) が減少することなどから、EGF シグナルは SpT 分化を正に制御すると考えられていた。しかし、EGF 添加培地で mTSC を分化させたところ、SpT マーカーである *Tpbpa* 遺伝子の発現が有意に減少することが明らかとなり、EGF シグナルは SpT への分化をむしろ抑制することが示された。またその作用が EGF 受容体阻害剤の同時添加で中和されたことから、EGF 受容体の活性化を介することが示唆されたが、これは Egfr KO マウスの表現型から予測されたものとは逆の作用であった。一方、ゲノム編集により Egfr KO mTSC を作出しその分化能を解析すると、SpT への分化が著しく損なわれていた。すなわち、Egfr KO マウス胎盤に見られた表現型は栄養膜細胞に自律的なもので、SpT の分化、あるいは生存に EGF 受容体タンパク質が必要であることが示唆された。さらに、SpT の分化・生存に必須である転写因子 *Mash2* の遺伝子発現が、EGF 添加、および Egfr 欠損のどちらでも低下しており、*Mash2* の強制発現で、EGF による SpT 分化抑制作用が緩和されることが示された。以上のことから、EGF 刺激が *Mash2* の発現を抑制することで SpT 分化を負に制御する一方で、EGF 受容体タンパク質は *Mash2* 発現の維持に必要であるという、EGF/EGF 受容体の両面的な機能が提唱された。

第二章では、薬理活性既知の低分子量化合物ライブラリーから、mTSC の分化運命に影響を及ぼす分子が探索され、3 種類の化合物が同定された。その 1 つ N-Oleoyldopamine (OLDA) は、mTSC の SpT への分化を抑制し、Pr13d1/Pr12c2 陽性の頭頂部栄養膜巨細胞 (Parietal trophoblast giant cell, P-TGC) への分化を促進した。OLDA の作用機序の解明のため、その作用点である可能性が想定されたバニロイド受容体 (Trpv) 2 と Trpv3 それぞれの KO mTSC

の作製が試みられた。樹立された Trpv2 KO mTSC では OLDA への応答性が保たれており、Trpv2 は OLDA の作用点ではないことが証明された。一方、Trpv3 KO mTSC は得られなかったが、Trpv3 阻害剤添加によっても P-TGC 様の遺伝子発現が誘導されたことから、OLDA が Trpv3 の逆作動薬として機能する可能性が議論された。

第三章では、第二章で見出された 3 種類の化合物の添加によって引き起こされる遺伝子発現変化が、RNA-seq により網羅的に解析された。分化誘導初期の OLDA 処理で発現変化が誘導される遺伝子について、まず Gene Set Enrichment Analysis を行った結果、発現量が増加する遺伝子群が、浸潤性の細胞の特徴である上皮間葉転換に関する遺伝子群と相関することが明らかとなった。遺伝子オントロジー (GO) 解析によって発現が変化した遺伝子の特徴づけをすると、胎盤形成に関与する GO term をもつ遺伝子が有意に濃縮されていることが明らかとなった。その中には、P-TGC への分化を促進すると考えられている転写因子 Fos11 が含まれており、OLDA がその発現上昇を誘導することで P-TGC への分化を促進した可能性が示された。

総合討論では、EGF 受容体と Trpv3 の相互作用の可能性や、これらが、母体と胚体の境界に位置する栄養膜細胞において細胞外の変化を受け取るセンサーとしての機能を果たす生理的意義と、今後の研究の課題についての考察が展開された。

以上のような基礎研究の蓄積は、将来的な、ヒトにおける異常妊娠の診断や予防に貢献するとともに、家畜動物における受胎率の低下の原因解明などにも寄与することが期待される。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。