

審査の結果の要旨

氏名 藤井 達也

本研究は妊娠高血圧腎症の病態生理を明らかにするため、低酸素誘導因子(HIF)及びリゾリン脂質(LPA)に着目してヒトの絨毛組織における発現状況や、その機能についての解析を行い、下記の結果を得ている。

1. 妊娠後期の胎盤から栄養膜細胞を単離して、培養することで合胞体性栄養膜層へと分化・融合を促したところHIF1 $\alpha$ の発現が経時的に減少する一方、HIF2 $\alpha$ の発現は上昇することが判明した。蛋白、mRNAのいずれにおいても同様の変化がみられた。また正常後期の胎盤及び、妊娠高血圧腎症の症例の胎盤を用いて免疫染色を行ったところ、実際の胎盤組織においてもHIF1 $\alpha$ は合胞体性栄養膜層ではなくて栄養膜細胞で主に発現していた。HIF2 $\alpha$ は合胞体性栄養膜層でも栄養膜細胞と同程度に発現していた。これらの結果から、合胞体性栄養膜層へと分化が進むことで相対的にHIF2 $\alpha$ の発現が亢進することが示された。

2. 次に合胞体性栄養膜層におけるHIF2 $\alpha$ の機能を明らかにするために、以下の実験を行った。まずは後期の胎盤から単離、培養した合胞体性栄養膜層、及び合胞体性栄養膜層に近い性質を示すとされる細胞株、BeWoを低酸素下で培養したところいずれの細胞においても低酸素下で胎盤成長因子(PIGF)の産生が低下していた。一方、未分化の栄養膜細胞由来の細胞株、HTR-8/SVneoにおいては低酸素下でもPIGFの産生変化は見られなかった。これらの結果から、低酸素でのPIGFの産生にHIF2 $\alpha$ が関与している可能性が示唆された。

この点を明らかにするために、siRNAを用いてHIF1 $\alpha$ 、HIF2 $\alpha$ の発現を抑制した状態でBeWoを低酸素下で培養したところ、HIF2 $\alpha$ の発現を抑制したBeWo細胞では、低酸素下でのPIGFの産生低下がキャンセルされた。一方、HIF1 $\alpha$ の発現を抑制した細胞では抑制していない細胞と同様に低酸素下ではPIGFの産生が低下した。これらの結果から、合胞体性栄養膜層においてHIF2 $\alpha$ はPIGFの産生を抑制していると考えられた。

3. 代表的なリゾリン脂質であるリゾフォスファチジン酸(LPA)はLPAに特異的な受容体LPARに結合することで生理作用を発揮することが知られる。これまでにLPAR1からLPAR6までが同定されている。今回の研究では、既往帝王切開後妊娠や骨盤位のため帝王切開術によって娩出された正常後期の胎盤及び、妊娠高血圧腎症のため帝王切開術で分娩となった症例の胎盤におけるLPARの発現状況を解析した。リアルタイムPCRを用いてmRNAの発現状況を確認したところ、LPAR2,3,4,5 mRNAは妊娠高血圧腎症の胎盤で発現が上昇していた。さらにウエスタンブロットによる解析も行ったところ蛋

白レベルではLPA3の発現のみが有意に上昇していた。胎盤内におけるLPA3の局在を確認するために免疫染色を施行したところ妊娠高血圧腎症の胎盤では合胞体性栄養膜層においてLPA3の発現が亢進していることが示唆された。

以上、本論文はヒト絨毛細胞において、合胞体性栄養膜層へと分化が進むことで相対的にHIF2 $\alpha$ の発現が亢進すること、さらにHIF2 $\alpha$ はPIGFの発現を抑制していることを明らかにした。今回の研究結果からはHIF2 $\alpha$ がPIGFの産生低下を引き起こして妊娠高血圧腎症の病態に関与している可能性が考えられた。また、妊娠高血圧腎症の胎盤においてはLPA3が合胞体性栄養膜層において発現が亢進していることも示した。

本研究はHIF及びLPA経路の絨毛組織における発現状況やその機能を解析することで妊娠高血圧腎症の病態の解明に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。