審査の結果の要旨

氏名　市川　麻祐子

本研究は、新規の脂質メディエーターであるリゾフォスファチジン酸（LPA）が、ヒトの絨毛細胞においてどのような機能を果たすかを明らかにするため、LPA 産生酵素である ATX と、LPA 特異的受容体 LPAR3 に着目し、ヒト胎盤における ATX、LPAR3 の発現の評価と、LPAR3 を強制発現した絨毛細胞由来株を作成することによってその機能解析をおこなった研究である。下記のような結果を得ている。

１．　妊娠初期、中期、後期での胎盤における ATX 発現量を定量的 Real timePCR 法にて測定した。胎盤での ATX 発現量は、妊娠女性の末梢血中と同様、妊娠週数が進むにつれて上昇していることが示された。

２．　LPAR3 のヒト胎盤における発現パターンを免疫組織化学染色を用いて検討した。ヒト胎盤における LPAR3 の発現は、絨毛細胞内側の cytotrophoblast には認めず、絨毛細胞表面の syncytiotrophoblast と子宮脱落膜内に侵入する extra-villous trophoblast に限局していた。ヒト胎盤における ATX の発現が全ての絨毛細胞に認められた一方で、LPAR3 は分化の進んだ絨毛細胞にのみ発現しており、ATX-LPA-LPAR3 経路は絨毛細胞の機能分化に関与している可能性が示唆された。また、ヒト胎盤における LPAR3 の発現を、正常胎盤と PIH を合併する胎盤で比較検討したところ、免疫染色においては双方に明らかな発現の差を認めなかった。

３．　LPAR3 を遺伝子導入した HTR8/SVneo 細胞（以下 HTR-LPAR3）と、コントロールベクターを遺伝子導入した HTR8/SVneo 細胞（以下 HTR-mock）を作成し、LPAR3 が強制発現していることを定量的 RT-PCR 法と免疫染色法にて確認した。

４．　HTR-LPAR3 と HTR-mock を、LPAR3 特異的アゴニストである T13 にて刺激し、発現変化している遺伝子群を DNA マイクロアレイ法によって網羅的に解析した。T13 刺激によってシグナル比が 2 倍以上亢進した遺伝子は、27456 遺伝子中 480 個あり、互いに機能的な関連の強い遺伝子群を抽出した Pathway 解析では 14 種類の pathway に明らかな変化を生じていた。この中には、胎盤形成、妊娠維持との関連が深いことが報告されている cox2、PGE2 受容体などのイコサノイド産生関連遺伝子、IL-6、IL-8、SDF-1 などのサイトカイン、ケモカイン、そして絨毛細胞の分化に関与することが知られる BMP4、

EOMES が含まれている。この結果は、絨毛細胞における ATX-LPA-LPAR3 経路が、絨毛細胞の分化、免疫調節機能の制御に関与している可能性を示唆している。

５．　妊娠後期での胎盤における ATX 発現量を、正常妊婦と妊娠高血圧症候群（PIH）を発症した妊婦で比較した。PIH 妊婦の胎盤での ATX 発現量は、正常妊婦に比較して有意に低下していた。すなわち PIH では ATX-LPA 経路が減弱している可能性が示唆された。PIH 胎盤を、発症時期によって早発群（early onset type:EO)、遅発群（late onset type:LO）に分けて解析すると、より胎盤形成不全が重篤である EO 群では、LO 群に比較して ATX 発現量がさらに低い傾向にあった。このことは、PIH では ATX-LPA 産生の低下が絨毛細胞機能に影響を与え、その結果胎盤形成異常を生じて PIH の発症に関与している可能性を示唆している。

以上、ATX-LPA-LPAR3 経路は、ヒトの絨毛細胞において分化誘導や母児免疫調節に関与している可能性が示唆された。この経路の減弱は、PIH の病態形成における first stage での胎盤形成不全の誘因のひとつである可能性を示している。また絨毛細胞由来の ATX 発現量は、胎盤機能を評価するための新たなバイオマーカーとして臨床応用できる可能性が考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。