

主論文の要旨

**Upregulation of ENDOU in cytotrophoblasts from
placenta complicated with preeclampsia and
fetal growth restriction**

〔胎盤サイトトロホブラストでの ENDOU の発現上昇は、
妊娠高血圧腎症における胎児発育不全の原因となる〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
発育・加齢医学講座 産婦人科学分野

(指導：梶山 広明 教授)

野元 正崇

【緒言】

胎児発育不全(FGR)は、現在のところ母体子宮内で改善が見込める有効な治療法はなく、出生後に治療を開始しなければならず、予後の改善は困難である。したがって子宮内での胎児発育を改善する治療法の確立が望まれている。FGRの原因のうち、胎盤低形成を原因とするものは、胎児自体は正常と考えられるため、胎盤低形成の改善を含めた出生前治療で改善できる可能性があると考えられる。胎盤低形成は、臓器障害を伴う妊娠高血圧腎症(PE)の主な原因であり、FGRを併発することは少なくない。

ヒト胎盤では、幹細胞様の機能を持つ cytotrophoblast (CT) が分裂・増殖し、機能の異なる syncytiotrophoblast (ST) と extravillous trophoblast (EVT) に分化すると考えられている。ST は主に妊娠を維持するための様々な体液性因子を産生し、絨毛間で胎児と母体の間でガス、栄養、老廃物の交換を行う。EVT は、子宮の脱落膜や筋層に侵入して、螺旋動脈を拡張するリモデリングを行い、間隙の豊富な血流維持に関与している。EVT が子宮内に浸潤できない場合が胎盤低形成となり、FGR や PE の原因となるとされる。これらの知見から、胎盤低形成における CT は、正常胎盤由来のものとは異なる特徴を持つ可能性が示唆される。これらの特徴を明らかにすることで、胎盤低形成の病態生理を解明し、新たな胎内治療法を開発することができる。そこで我々は、FGR を発症した胎盤から分離した CT のプロテオームプロファイルを調べ、健常妊婦由来のそれと比較検討した。

【対象及び方法】

名古屋大学医学部附属病院で分娩管理した妊婦のうち、年齢、週数、分娩様式をマッチさせた正常妊娠(対照群)5例、PEを発症しFGRの所見を認めた妊婦(PE-FGR群)4例を対象とした(Table1)。帝王切開で娩出された新鮮な胎盤から既報をもとにCTを単離、培養した。各CTの細胞抽出液の可溶性分画を液体クロマトグラフ質量分析計でプロテオーム解析を行った。2倍以上の発現強度差を認めるものを差次的発現蛋白として同定し、遺伝子オントロジー(GO)解析及びパスウェイ解析を行った。特徴的な発現差が確認されたタンパク質を決定し、対照群およびPE-FGR群の胎盤の免疫組織化学染色を実施し、疾患におけるCTでのそれぞれのタンパク質の発現を定量的に確認した。胎盤絨毛を含むランダムな10視野を2名の評価者が、CTの染色強度を4段階で評価(0:無染色、1:弱染色、2:中程度、3:強染色)し、その平均値を用いた。

【結果】

プロテオーム解析の対象とした対照群及びPE-FGR群の臨床背景をTable1に示す。2群間の臨床的特徴は出生体重と胎盤重量がPE-FGR群で有意に低かった($p = 0.022$ 、 $p < 0.001$)。プロテオーム解析の結果、6802種類のタンパク質が検出され、1253個と2129個のタンパク質が、それぞれ2倍以上の発現の上昇あるいは減少を示した。パスウェイ解析によると、上昇したパスウェイはOxidoreductase activity、下降したパスウェイはGTPase binding と GTPase regulator activity が含まれていた(Figure 1A)。

ボルケーノプロットを作成し、2倍以上の変化があり、既報と一致するタンパク質はALPP、APOA1、CYP19A1、FSTL3、ENDOU、MTPNであった。ALPP、APOA1、CYP19A1、FSTL3、ENDOUの発現は増加し、MTPNの発現は減少した(Figure1B)。ALPP、CYP19A1、FSTL3はすでにPEの病態との関連が報告されているため、検討から除外した。対照群とPE-FGR群の背景をマッチさせた胎盤標本の免疫組織化学染色をそれぞれの候補タンパク質で行った。PE-FGR群の胎盤CTにおけるAPOA1およびENDOUの発現が、対照群と比較して有意に高かった($p=0.013$ 、 $p=0.008$)。一方、MTPNは有意差がつかなかった($p=0.120$) (figure 2A、B)

【考察】

本研究は、胎児発育不全を呈した妊娠高血圧腎症妊娠と正常妊娠との間で、胎盤のcytotrophoblastのプロテオームパターンが異なることを示した最初の報告である。パスウェイ解析ではOxidoreductase activityが有意に増加していたが、GTPase bindingとGTPase regulator activityは有意に減少していた。CYP19A1は、Oxidoreductase activityに関与し、また、GTPaseは、胎児のFGRとの関連性が以前に報告されている。本研究では、PE-FGRの胎盤におけるAPOA1、ENDOU、MTPNの発現レベルを免疫組織化学染色によって評価し、APOA1とENDOUの発現が対照群に比較して有意に上昇していることが確認された。

ENDOUはhuman placenta protein 11として発見され、RNA結合能を持つMn²⁺依存的に一本鎖RNAをウリジル酸で切断する機能を持つ。胎盤におけるENDOUの役割は未だ不明であるが、ウイルス学の分野ではENDOUは、コロナウイルスのエンドリボヌクレアーゼNsp15と高い相同性を持つことが示されている。COVID-19感染症を発症した重症妊婦がPE様の症候群を発症していたとの報告がある一方、PEに見られる血管形成因子に変化は認められなかったとも報告されている。ENDOUとCOVID-19の胎盤への感染等、その病理学的特徴は今後明らかにされるであろう。

APOA1はHDLコレステロールの主成分であるが、胎盤からも分泌され妊娠中の母体へのコレステロール輸送に関与するとされる。妊娠高血圧腎症でAPOA1の血清レベルを比較した報告があるが、発現の増減は本研究の結果とは矛盾していた。胎盤(胎児側)と母体血清レベルとの相関関係は見いだせないのかもしれない。

MTPNは、インスリン分泌の調節因子であるmiR-375と関連しているとされ、細胞増殖との関連性はあるものの、依然として機能の詳細が不明である。

【結語】

正常妊娠とPE-FGR妊娠の胎盤から得られたcytotrophoblastとの間で、タンパク質の発現プロファイルが変化していることを発見した。本研究の方法論は、他の産科疾患(癒着胎盤や早産など、病理学的に区別可能な胎盤)へ応用可能であり、疾患ごとに対する新たな治療標的の発見につながる可能性があると考えられる。