

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	樋口 正太郎
論文審査担当者	主 査 菅野祐幸教授 副 査 中山 淳教授・樋口京一教授・平田修司教授
論文題目	Trophoblast type-specific expression of senescence markers in the human placenta (ヒト胎盤の栄養膜細胞のタイプ特異的な細胞老化マーカーの発現)
(論文の内容の要旨)	<p>【研究の背景と目的】ヒトの子宮は妊娠40週に陣痛が開始する。陣痛発来の際にはまだ解明されていないが、妊娠後期における機能的なプロゲステロン作用の減弱、子宮収縮作用のあるオキシトシンの産生増加と感受性の高まり、炎症性サイトカインの発現などが関与していると推測されている。一方、早産期での陣痛発来には細菌感染が関与していることが判明してきた。すなわち、膣や子宮頸部への感染により炎症系サイトカイン産生が惹起され、子宮頸管熟化、卵膜破綻や陣痛につながると考えられる。実際に炎症によって惹起されたIL-6やIL-8などの炎症系サイトカインの上昇は子宮頸管熟化を誘発することが報告されている。一方、満期での陣痛発来にも炎症系サイトカインが関与することが示唆されているが、どのように炎症系サイトカインが惹起され、陣痛発来に関与しているかは不明である。胎盤は40週の妊娠の間に発育と老化を呈する非常にユニークな臓器である。今回、我々はサイトカイン産生の機序として胎盤の絨毛細胞の老化に着目した。不可逆的に細胞周期停止状態となった老化細胞からはIL-6、IL-8などの炎症性サイトカインを含むSASP (senescence-associated secretory phenotype) が分泌されることが知られている。我々は胎盤が陣痛発来を制御する「時計機能」を担っており、妊娠経過による絨毛細胞の老化が陣痛発来に関与しているのではないかと仮説を立て、これを検証するためにまず胎盤絨毛の老化について検討することとした。胎盤の絨毛は内側のcytotrophoblast (CT) と外側のsyncytiotrophoblast (ST) から構成されている。本研究では妊娠初期、妊娠中期、妊娠後期のヒト胎盤における細胞老化マーカーの発現をこの2つのタイプの絨毛細胞ごとに比較検討した。また、CTのモデルとしてヒト絨毛癌細胞であるBeWo細胞を用いて細胞融合過程における細胞老化の変化についても検討した。</p> <p>【方法】インフォームドコンセントが得られた患者において、人工妊娠中絶もしくは選択的帝王切開により摘出された胎盤組織を使用した。妊娠初期、中期、後期における細胞老化の状態を senescence-associated beta-galactosidase(SA-β-gal)、細胞老化関連マーカーである p16、 p21、 promyelocytic leukemia (PML) を用いて検討した。同時に細胞増殖のマーカーである MCM7 の発現を免疫組織染色により評価した。また、forskolin を用いて BeWo 細胞の細胞融合を誘導し、細胞融合前後の SA-β-gal、細胞老化関連マーカーの発現の変化を検討した。</p> <p>【結果】MCM7 はCT ではすべての妊娠期間で高発現していた。SA-β-gal はCT では妊娠初期および中期では強く発現し、妊娠後期では減弱していた。一方、ST では妊娠初期、中期では弱く、妊娠後期で発現が強まった。細胞老化関連蛋白 (p16、p21、PML) の免疫組織染色ではすべての妊娠期間においてCT ではST より強く発現し、妊娠経過とともに増強した。BeWo 細胞を用いた in vitro の実験では細胞融合後に SA-β-gal、p21、PML の発現増強が認められた。</p> <p>【結論】今回の検討からCT とST ではSA-β-gal および細胞老化関連マーカーの発現様式は異なることが判明した。まずCT は増殖能は呈するものの、同時に妊娠初期から老化を呈してST に融合され、ついで妊娠後期になってST に老化が起きるという二峰性のパターンを示した。妊娠中のCT とST に特異的な細胞老化マーカーの推移に関する報告は過去になく、CT とST の協調した細胞老化が胎盤機能維持に重要である可能性が示された。</p>