

京都大学	博士（医学）	氏名	宇治田 麻里
論文題目	<p>Impaired Wnt5a signaling in extravillous trophoblasts: Relevance to poor placentation in early gestation and subsequent preeclampsia (絨毛外栄養膜細胞における Wnt5a シグナルの低下は妊娠初期の胎盤形成に影響し妊娠高血圧腎症の原因となり得る)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>妊娠高血圧症候群 (PE) は妊娠中に母体の高血圧、尿蛋白を生じる疾患で、全妊娠の 2-8%にみられ、母児の周産期死亡の主たる原因として知られている。PE の病態は諸説あるが、次の 2-step theory が最も支持されている。即ち、正常では妊娠初期に胎盤の絨毛外栄養膜細胞 (EVT) が脱落膜や子宮筋層内の子宮動脈 (らせん動脈) を置換することにより、らせん動脈の血管が適切に拡張し子宮から胎盤への血流が増加するが、PE ではこのらせん動脈リモデリングが十分に起こらずに胎盤の循環不全が生じ (第 1 段階)、病的胎盤から様々な分子が放出され、これらの分子により母体の血管内皮障害が起こる (第 2 段階) という説である。</p> <p>Wnt シグナルは種を超えて広く保存されており、胚の発生や細胞運動に関わる重要なシグナルである。Wnt シグナルが胎盤形成や絨毛細胞の分化に関与しているという報告があるものの、Wnt シグナルがらせん動脈リモデリングに及ぼす影響は十分には解明されていない。本研究では Wnt シグナルと PE およびらせん動脈リモデリングとの関わりについて明らかにすることを目的とした。</p> <p>まず、GEO(Gene Expression Omnibus)上に公開されている遺伝子発現データを用いて、絨毛検査のため採取された妊娠初期絨毛における WNT 遺伝子の発現を正常妊娠 (8 例) とのちに PE を発症した症例 (4 例) との間で比較した。19 種類の WNT 遺伝子のうち、非βカテニン経路に属する WNT5A の発現が PE の初期絨毛において有意に低下していた。</p> <p>自施設で採取した胎盤における WNT5A 発現を検討 (定量 PCR 法、Western blotting 法) したところ、やはり同様に WNT5A 遺伝子および蛋白発現は PE 群で有意に低下していた。また、WNT5A はらせん動脈を構成する EVT に発現していることを免疫染色により確認した。</p> <p>次に、EVT 細胞株である HTR-8/SV neo (HTR 細胞) を用いて WNT5A の発現変化がどのように細胞機能に影響を及ぼすかを調べた。リコンビナント WNT5A 蛋白 (rh WNT5A) または WNT5A-siRNA を添加し HTR 細胞の増殖能、浸潤能、遊走能、管腔形成能の変化を検討した。rh WNT5A の添加により HTR 細胞の増殖能は変化しなかったものの、遊走能 (p=0.0007)、浸潤能 (p=0.0078)、管腔形成能 (P=0.0163) は有意に促進した。一方、si-RNA による WNT5A の発現抑制は、HTR 細胞の増殖能と遊走能には影響しなかったが、浸潤能 (p=0.0022) と管腔形成能 (p=0.0328) を有意に低下させた。</p> <p>Wnt5a シグナルは PCP (Planar Cell Polarity) 経路、Ca²⁺経路により構成されており、これらを介在する PKC と JNK に着目した。まず rhWNT5A の HTR 細胞への添加によ</p>			

り PKC, JNK のリン酸化が促進されることを確認した。次に PKC, JNK の阻害剤 (GF109203X, SP600125) を用いて浸潤能および管腔形成能を検討したところ、PKC と JNK の阻害剤はともに HTR 細胞の浸潤能を低下させた。PKC 阻害は rhWNT5A による管腔形成能の促進を阻害しなかったが、JNK 阻害は管腔形成能を有意に低下させた。以上の結果より、WNT5A は PKC 経路と JNK 経路を活性化し、両経路は HTR 細胞の浸潤能を促進するが、管腔形成能は JNK 経路のみが関わっていると考えられた。

今回の研究により、Wnt5a シグナルの低下がらせん動脈リモデリング不全および PE 発症に関与している可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

妊娠高血圧症候群 (PE) は母児の生命に関わる疾患であるが、有効な治療法はまだ確立されておらず、根本的治療は妊娠の終了のみである。PE の原因として Extravillous trophoblast (EVT) による子宮動脈リモデリング不全が支持されているが、その原因については明らかとなっていない。

Wnt シグナルは胚の発生や細胞運動に関わる重要なシグナルである。Wnt シグナルが胎盤形成や絨毛細胞の分化に関与しているという報告があるものの、Wnt シグナルが子宮動脈リモデリングに及ぼす影響は十分には解明されていない。本研究では Wnt シグナルと PE およびらせん動脈リモデリングとの関わりについて明らかにすることを目的とした。

GEO (Gene Expression Omnibus)上に公開されている遺伝子発現データや自施設で分娩した胎盤を用いた比較により、PE 症例では WNT5A の発現が PE を発症する前の妊娠初期胎盤と分娩時胎盤いずれにおいても有意に低下していることがわかった。

そこで WNT5A の発現変化がどのように EVT の細胞機能に影響するかを検討したところ、siRNA による発現抑制では浸潤能と管腔形成能を低下させ、リコンビナント WNT5A 蛋白 (rh WNT5A) は遊走能、浸潤能、管腔形成能を促進した。またシグナルの解析によりこれらの EVT の機能変化が PCP (Planar Cell Polarity) 経路、Ca²⁺経路を介していると考えられた。

今回の研究により、WNT5A シグナルの低下がらせん動脈リモデリング不全および PE 発症に関与している可能性が示唆され、PE の早期診断や新たな治療戦略の鍵となる可能性が示唆された。

以上の研究は PE 胎盤における子宮動脈リモデリング不全の病態理解に貢献し PE の治療法の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 3 月 14 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降