京都大学	博士（　医　学　）	氏　名	藤　田　浩　平
論文題目	Differential expression and the anti-apoptotic effect of human placental neurotrophins and their receptors (ヒト胎盤における神経栄養因子および受容体の発現制御とアポトーシス防御作用)		

（論文内容の要旨）

神経栄養因子 (neurotrophin; NT) は、神経細胞の維持や分化に重要な因子として同定され、その後、腫瘍増殖、免疫、血管新生、さらには卵胞発育にも関連しているとの報告があるが、ヒト妊娠における胎盤での発現や妊娠合併症との関係についての知見は乏しい。また、妊娠合併症の中でも妊娠高血圧腎症 (preeclampsia; PE) は、全妊娠の 3-5%に発症し、周産期予後に影響する病態であるが、有効な治療は胎盤娩出しかなく、予知マーカーも存在しない。その病態には不明な点が多いが、PE の発症や進展には酸化ストレスや血管新生因子が関わっていることが推定されている。

本研究では、ヒト正常妊娠における NT およびその受容体 (NTR) の発現プロファイルを調べ、胎児発育や PE における発現変化を測定した。さらに絨毛癌細胞株を用いて酸化ストレスに対する作用について検討した。

まずヒト妊娠後期正常胎盤において、羊膜、絨毛膜、胎盤実質、脱落膜の各部位における NT および NTR mRNA 発現を定量 PCR で調べると、NTR のうち TrkB mRNA が胎盤実質および脱落膜で強く発現し、胎盤実質では妊娠経過に伴って増加していた。また TrkB リガンドの BDNF は胎盤実質および絨毛膜で発現していた。次に、免疫組織化学染色で、TrkB と BDNF は、ともに絨毛細胞、血管内皮に局在していることを確認した。TrkB mRNA 発現は、PE 胎盤では満期正常に比して有意に強く、正常血圧胎児発育不全 (small for gestational age; SGA) 胎盤でも強い傾向であった。この 3 群 42 例の胎盤での TrkB 発現と出生時体重を妊娠週数で補正した標準偏差 (SD) との間に負の相関を認めた。また異なる遺伝子を有し 15%以上の体重差のある二絨毛膜二羊膜性双胎の胎盤において、低体重児側で TrkB 発現の亢進を認めた。一方母体血中の BDNF 濃度は、SGA、PE 症例で満期正常発育群に比べて有意に高かった。

次に、満期胎盤組織培養系を作成し、酸化ストレスとして過酸化水素を添加すると TrkB mRNA 発現が亢進した。培養絨毛癌細胞株 (JEG3) でも同様に過酸化水素の添加で TrkB mRNA 発現の亢進を認めた。さらに、フローサイトメトリーを用いた解析により、過酸化水素の添加で JEG3 のアポトーシスが増加するが、BDNF を添加することにより細胞死が減少することを確認した。またこの BDNF の抗アポトーシス作用は Trk 阻害剤 (k252a) の添加で抑制された。

ヒト胎盤において、BDNF および TrkB mRNA が強く発現し、PE や SGA では、胎盤の TrkB mRNA とともに、母体血中 BDNF が増加していることから、BDNF/TrkB 系は母体、胎盤環境の悪化した病態で亢進していることが想定された。さらに BDNF/TrkB シグナルは過酸化水素による絨毛癌細胞株の細胞死を抑制することから、BDNF/TrkB は酸化ストレスに対して、防御的に働いていることが考えられた。

本研究によって、ヒト妊娠において、PE や SGA のようなストレスのある病態に BDNF/TrkB シグナルが関与している可能性が示唆された。その役割の一つとして、ストレスからの胎盤の防御的作用が想定されるが、更なる検討によって PE や SGA の病態解明や予知につながる可能性がある。

（論文審査の結果の要旨）

神経栄養因子 (NT) は、神経細胞の維持や分化に重要であるが、ヒト妊娠における胎盤での発現や妊娠高血圧腎症 (PE) など妊娠合併症との関係についての知見は乏しい。

今回、ヒト正常妊娠での NT および受容体 (NTR) の発現プロファイル、病態下での発現変化を検討した。さらに絨毛癌細胞株で酸化ストレスへの作用を検討した。

満期正常例では、NTR のうち TrkB が胎盤実質、脱落膜で強く発現し、胎盤実質では妊娠経過に伴って増加した。免疫染色で TrkB と BDNF の絨毛細胞、血管内皮への局在を確認した。胎盤の TrkB mRNA は、PE では満期正常より有意に高く、正常血圧胎児発育不全 (SGA) でも強い傾向であり、TrkB 発現と出生時体重 (SD) は負に相関した。体重差のある二絨毛膜二羊膜性双胎の胎盤で、低体重児側の TrkB 発現が亢進していた。母体血中の BDNF は SGA、PE で正常群より有意に高かった。

胎盤組織培養、絨毛癌細胞株に酸化ストレス (過酸化水素) を加えると TrkB mRNA 発現が亢進した。フローサイトメトリーでは、過酸化水素で絨毛癌細胞の細胞死が増加するが、BDNF が抑制し、その抗アポトーシス作用は Trk 阻害剤で抑制されるとこを確認した。

BDNF/TrkB は母体、胎盤環境の悪化した病態で亢進していた。その役割の一つとして胎盤における酸化ストレスに防御的に働いていることが想定された。

以上の研究は妊娠高血圧腎症、胎児発育不全の発症の解明に貢献し、その病態の予知、予防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２３年１１月２９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