

京都大学	博士（医学）	氏名	松本久宣
論文題目	CD9 suppresses human extravillous trophoblast invasion (CD9はヒト絨毛外栄養膜細胞の浸潤を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>ヒトの胎盤形成において、絨毛外栄養膜細胞 (extravillous trophoblast ; EVT) は母体脱落膜、筋層、そして、らせん動脈へ浸潤する。しかし、EVT の浸潤制御機序の詳細は未だ解明されていない。CD9 は妊娠初期胎盤では cell column の EVT に弱く発現し、妊娠中期および後期胎盤では胎盤床の EVT と妊娠末期胎盤羊膜のヒト絨毛膜(chorion laeve)の EVT に強く発現していることを以前報告したが、その機能については細胞接着や遊走、細胞融合など細胞運動関連分子として報告されているものの正確な生理学的役割はいまだ知られていない。そこで本研究では EVT の浸潤過程における CD9 の役割を解明することを目的とした。</p> <p>京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会承認のもと患者の同意を得て、胎盤試料および臍帯試料を採取、妊娠初期胎盤組織の器官培養より EVT を分離し、臍帯試料より臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)を分離し、以下の実験に供した。妊娠初期のヒト着床部位組織、分離 EVT 細胞、EVT 由来不死化細胞株である Swan71 細胞における CD9 の発現を免疫組織染色法、フローサイトメトリー法および RT-PCR 法により調べた。抗 CD9 機能抗体 (ALB6) が分離 EVT 細胞および Swan71 細胞の浸潤に与える影響をマトリゲル浸潤アッセイ法にて検討し、CD9 遺伝子を発現抑制した Swan71 細胞の浸潤能についても同方法にて検討した。Swan71 細胞において酸素環境による CD9 の発現変化を RT-PCR 法、フローサイトメトリー法を用いて検討した。HUVEC 細胞との共培養下で Swan71 細胞における CD9 の発現変化をフローサイトメトリー法、ウエスタンブロット法にて検討した。</p> <p>妊娠初期のヒト着床部位を免疫組織染色すると CD9 は脱落膜深部から筋層内に存在する EVT と血管内 EVT で高度に発現していた。RT-PCR 法により分離 EVT 細胞および Swan71 細胞に CD9 mRNA の発現が確認できた。免疫細胞染色法にて HLA-G 陽性の分離 EVT 細胞において CD9 発現を確認し、フローサイトメトリーでも確認した。分離 EVT 細胞および Swan71 細胞の浸潤は、ALB6 添加または shRNAmir による CD9 発現抑制によって有意に促進された。低酸素条件下で Swan71 細胞の CD9 発現は、RT-PCR 法およびフローサイトメトリー法にて減少することが確認でき、HUVEC との共培養によってその発現は、フローサイトメトリー法およびウエスタンブロット法にて増加することが確認できた。</p> <p>本研究では CD9 が浸潤境界領域の EVT と血管内 EVT に強く発現していることが示された。また CD9 が酸素環境および母体内皮細胞の影響下で EVT 浸潤を減弱させることが示唆され、CD9 がヒト胎盤形成の調節因子の 1 つである可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ヒトの胎盤形成過程において、絨毛外栄養膜細胞 (extravillous trophoblast ; EVT) は母体脱落膜、子宮筋層、らせん動脈へ浸潤し、その後、浸潤を停止するが、その浸潤制御機序は解明されていない。細胞接着や遊走など細胞運動関連分子である CD9 は妊娠期間を通じて EVT に発現していることが知られているが、その詳細な局在や機能は知られていなかった。本研究は初期胎盤形成における CD9 の発現部位や機能、調節因子について検討し、EVT の浸潤機構における CD9 の役割を解明することを目的とした。

ヒト妊娠初期の着床部位の免疫組織染色により CD9 は子宮筋層内で浸潤を停止している EVT および血管内 EVT に強く発現していた一方で、浸潤している過程の EVT には発現を認めなかった。抗 CD9 機能抗体(ALB6)を添加すると不死化 EVT 細胞株である Swan71 細胞と分離 EVT 細胞の浸潤能は有意に促進された。同様に CD9 遺伝子の発現を抑制すると Swan71 細胞の浸潤能が有意に促進された。Swan71 細胞の CD9 発現は低酸素環境で減少し、臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)との間接共培養で増加した。

以上から EVT において CD9 は低酸素環境や血管内皮細胞由来因子により発現誘導され、EVT 細胞の浸潤を抑制するという形で初期胎盤形成に関与していることが示唆された。

以上の研究はヒト胎盤形成における EVT の浸潤制御機構の解明に貢献し、周産期医学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 29 年 5 月 12 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