

氏 名	えがわ はると人
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	医博第2680号
学位授与の日付	平成16年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Peripheral blood mononuclear cells in early pregnancy promote invasion of human choriocarcinoma cell line, BeWo cells (妊娠初期女性の末梢血単核球はヒト絨毛癌細胞株BeWo細胞の浸潤を促進する)
論文調査委員	(主査) 教授 中 畑 龍 俊 教授 内 山 卓 教授 藤 井 信 吾

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト胎盤の主な構成細胞である栄養膜細胞は、いわゆる胎盤絨毛を形成する絨毛栄養細胞と付着した絨毛の先端より子宮内膜内に侵入していく絨毛膜外栄養膜細胞とに分類される。このうち絨毛膜外栄養膜細胞は特に母体の螺旋動脈内に浸潤してその血管の収縮能を減弱させるが、これにより胎盤絨毛間腔への十分な母体血流が確保され、適切な胎児との物質交換が可能となる。これらの栄養膜細胞に対して母体が免疫的寛容状態となっていることより、妊娠女性の免疫系細胞は何らかの機能変化を起こしている可能性が以前から推察されてきたが、最近では免疫系がむしろ妊娠の維持に積極的に貢献しているという考えが支持されつつある。

本研究では、母体の免疫系細胞が胎盤形成、特に絨毛膜外栄養膜細胞の浸潤に果たす役割を推定する目的で、妊娠初期の女性から得られた末梢血単核球 (PBMC) と比較的ヒト栄養膜細胞の性質を維持しているとされているヒト絨毛癌由来細胞株である BeWo 細胞を用い、PBMC の BeWo 細胞の浸潤能および増殖能に及ぼす影響を検討した。PBMC は妊娠 5 ～ 10 週の女性および月経周期の分泌期にあたる非妊娠女性から本人の同意のもとヘパリン添加下に採血後、Ficoll-Hypaque 法にて分離した。BeWo 細胞の増殖能の検討には MTT assay と細胞数算定を行い、また浸潤能の検討にはマトリゲル膜を用いた Invasion assay を施行した。妊娠女性または非妊娠女性から採取した PBMC との 48 時間共培養では、BeWo 細胞の増殖能の有意な変化は観察されなかった。しかしながら、PBMC を下層に添加しておこなった Invasion assay では、妊娠女性の PBMC を共培養した群で、マトリゲル膜下への BeWo 細胞の有意な浸潤亢進が認められた。次に妊娠女性の PBMC を 48 時間培養して得た培養上清について BeWo 細胞の浸潤能に与える作用を検討した。培養上清をマトリゲル膜の下層に添加した条件下で Invasion assay を施行したところ、用量依存性に BeWo 細胞の浸潤が増加した。さらにこの培養上清を上層に添加すると BeWo 細胞の浸潤が有意に抑制され、一方で両方に添加した場合には浸潤に変化を認めなかった。そこで上記の液性因子の産生を担う PBMC 分画を推定する目的で、妊娠女性の PBMC を浮遊細胞群と接着細胞群とに分離し、それぞれの細胞について BeWo 細胞の浸潤能に対する影響を調べた。その結果、接着細胞群で有意な浸潤能の増加が認められた。これらの結果から、妊娠時の PBMC は BeWo 細胞の浸潤能を亢進する方向の機能変化をしていると推察されたが、この機能変化を誘導する因子の候補として、栄養膜細胞が分泌する human chorionic gonadotropin (hCG) について検討した。hCG 存在下に 48 時間培養した非妊娠女性の PBMC を、マトリゲル膜の下層に配置して Invasion assay を施行したところ、BeWo 細胞の浸潤促進作用が観察された。

本研究の成果として、妊娠初期の PBMC は、特に接着能をもつ細胞分画において、その機能を変化させており、BeWo 細胞の浸潤能を亢進させる可能性、またこの作用は PBMC から分泌される走化性液性因子が関与している可能性、さらに胚側より分泌される hCG が機能変化の誘導因子である可能性が示唆された。BeWo 細胞は実際の絨毛膜外栄養膜細胞の機能を正確に反映はしないものの、これらの結果は、妊娠初期に胚と母体免疫細胞間に相互作用が存在し、免疫系が胚着床に貢献している可能性を支持するものと位置づけられた。

論文審査の結果の要旨

ヒト胎盤形成において、母体の子宮内膜内に侵入する絨毛外栄養膜細胞が子宮らせん動脈を浸潤・破壊することが絨毛間血流量を維持する上で必須の過程であるが、この浸潤を誘導する機構は明らかにされていない。これまで子宮内膜内に遊走してくる母体末梢血免疫細胞が着床直後の胚浸潤を誘導する可能性を報告してきたが、本研究ではさらに胎盤形成期の絨毛外栄養膜細胞の浸潤にも末梢血免疫細胞が関与している可能性を考え、栄養膜細胞のモデルとしてヒト絨毛癌由来細胞株である BeWo 細胞を用いて、その浸潤に対する妊娠女性の末梢血単核球の影響を Invasion assay にて検討した。

その結果、同意のもと妊娠女性から採取された末梢血単核球は BeWo 細胞の浸潤を促進することが示され、その促進作用は走化性を有する液性因子を介すること、および浸潤を促進する末梢血単核球分画はおもに接着性を有するものであることが推定された。さらに末梢血単核球により誘起される浸潤促進機構に BeWo 細胞に発現する integrin $\beta 1$ が関与していることが示唆された。また高濃度の hCG により非妊娠女性の末梢血単核球に BeWo 細胞の浸潤促進作用が誘導されることも判明した。これらの知見により、母体免疫細胞が絨毛外栄養膜細胞の子宮内膜への浸潤誘導に関与する可能性、および胚から分泌される hCG が妊娠時の末梢血免疫細胞の機能変化を誘導する可能性が示された。

以上の研究は絨毛外栄養膜細胞の浸潤制御機構における免疫細胞の関与の解明に貢献し、生殖医学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15年12月15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。