

氏 名	曾 祥
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3088 号
学位授与の日付	平 成 19 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	Integrin $\alpha 5$ is involved in fibronectin - induced human extravillous trophoblast invasion. (インテグリン $\alpha 5$ はフィブロネクチンによって誘導されるヒト絨毛外栄養膜細胞の浸潤に関与する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 野 田 亮 教 授 瀬 原 淳 子

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト絨毛の構成細胞である trophoblast はその母体面付着部位において extravillous trophoblast (EVT) に分化し、浸潤能を獲得する。浸潤能を獲得した EVT は脱落膜内の母体動脈へ浸潤し、血管内皮や平滑筋を置換して血管抵抗を減弱することにより胎盤循環の確立に重要な役割を果たしている。一方でそれ以外の EVT は子宮筋層浅部に到達するまでに、あるいは妊娠中期に至るまでに浸潤を停止する。このように EVT の浸潤は癌細胞と異なり合目的で巧妙に調節されているが、その浸潤停止を制御する機構については十分に解明されていない。

本研究では EVT の浸潤調節機構を解明する目的で、単クローン抗体作成法を用いてヒト EVT に発現している分子を捉えることを試みた。患者の同意のもと、正常分娩時に得られた卵膜からヒト EVT で構成されている滑平絨毛膜 (chorion laeve) 層を分離し、細切後に BALB/c マウスに免疫して単クローン抗体を作成した。免疫組織染色法を用いてスクリーニングした結果、ヒト EVT に特異的に染色される数種類のクローンが得られた。それらの抗体の中からヒト絨毛癌細胞由来株である BeWo 細胞の浸潤を抑制したクローン CHL-3 を選択し、その抗原蛋白を胎盤から精製して部分アミノ酸配列を解析したところ、integrin $\alpha 5$ の配列と一致した。そこで婦人科疾患の治療目的で妊娠初期に子宮を摘出した症例から患者の同意のもとに採取した胎盤組織を用いて CHL-3 の特異性を他の抗 integrin $\alpha 5$ である SAM1 および P1D6 と 2 重染色法で比較した。その結果 CHL-3 の染色は SAM1 および P1D6 とほぼ一致し、EVT に特異的に反応することが確認された。さらに BeWo 細胞および患者同意のもとに妊娠中絶時に得られたヒト培養 EVT を用いて flow cytometry 法で解析したところ、CHL-3 はこれらの細胞膜へ反応し、その反応は P1D6 によって完全に抑制されることが示された。また CHL3 は P1D6 と同様に BeWo 細胞およびヒト培養 EVT の fibronectin に対する接着を抑制することが判明した。これらの結果から CHL3 は fibronectin への結合を抑制するヒト integrin $\alpha 5$ に対する特異的な機能抗体であると結論付けられた。

Integrin $\alpha 5$ がヒト EVT に発現しその浸潤機構に重要な役割を演じている可能性については既に報告されていたが、integrin $\alpha 5 \beta 1$ と fibronectin の相互作用が EVT の浸潤を亢進するか抑制するかについては研究者によって異なる結果が示されており一定の結論に達していなかった。そこで本研究では得られた integrin $\alpha 5$ に対する機能抗体 CHL-3 を使用して、EVT の浸潤に対する integrin $\alpha 5 \beta 1$ と fibronectin の相互作用の役割についてさらに検討した。その結果 Matrigel invasion assay で fibronectin の存在下にヒト培養 EVT の浸潤が亢進すること、また CHL-3 が細胞増殖や Matrix Metalloproteinase-2 および 9 の分泌能を変えないことなく EVT の浸潤を抑制することが示され、integrin $\alpha 5$ と fibronectin の相互作用が EVT の浸潤を亢進することが確認された。さらに CHL-3 は fibronectin の非存在下においても EVT の浸潤を抑制することが示され、fibronectin を介さない integrin $\alpha 5$ による EVT の浸潤調節機構の存在が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒト絨毛の trophoblast から分化した Extravillous trophoblast (EVT) は、脱落膜内の母体動脈へ浸潤する胎盤循環の確

立に不可欠な胎児由来細胞であるが、その浸潤制御機構は十分に解明されていない。

本研究では EVT の浸潤調節機構を解明する目的で単クローン抗体を作成してヒト絨毛癌細胞由来株 BeWo 細胞の浸潤を抑制する抗体 CHL-3 を得た。この抗原蛋白を胎盤から精製して部分アミノ酸配列を解析したところ $\text{integrin}\alpha 5$ の配列と一致した。さらに他の抗 $\text{integrin}\alpha 5$ 抗体を用いて解析したところ、CHL-3 は $\text{integrin}\alpha 5$ と特異的に反応し、 $\text{integrin}\alpha 5$ と fibronectin の結合を抑制することが判明した。そこでヒト EVT の浸潤に対する $\text{integrin}\alpha 5$ と fibronectin の相互作用を検討したところ、fibronectin の存在下で EVT の浸潤が亢進すること、一方で CHL-3 は細胞増殖やプロテアーゼの分泌能を変えることなく EVT の浸潤を抑制すること示され、 $\text{integrin}\alpha 5$ と fibronectin が EVT の浸潤制御に重要であることが確認された。さらに CHL-3 は fibronectin の非存在下においても EVT の浸潤を抑制すること示され、 $\text{integrin}\alpha 5$ による fibronectin を介さない EVT の浸潤調節機構の存在が示唆された。

以上の研究は生殖医学の解明に貢献し、ヒト胎盤形成異常疾患の治療法開発に寄与することが多い。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19年1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。