

Title	Placental sonic hedgehog pathway regulates foetal growth via insulin-like growth factor axis in preeclampsia(Abstract_要旨)
Author(s)	Takai, Hiroshi
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2020-05-25
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k22640
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士 (医学)	氏名	高井浩志
論文題目	Placental sonic hedgehog pathway regulates foetal growth via insulin-like growth factor axis in preeclampsia (妊娠高血圧腎症では胎盤におけるソニックヘッジホッグ経路がインスリン様成長因子系を介して胎児発育を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>胎児発育の成否は、主に胎盤機能に依存している。胎盤機能が著しく低下すると、胎児発育不全や妊娠高血圧腎症 (Preeclampsia=PE) を引き起こし、児の死亡率、合併症罹患率が高くなる。しかし、これまで胎盤機能低下に関与する分子生物学的機序は未解明な部分が多く、有効な治療法の開発にも至っていない。本研究では、胎盤の網羅的遺伝子発現解析により同定した PE に特異的な 10 の pathway のうち、細胞の分化や増殖、アポトーシスに関わる sonic hedgehog (SHH) pathway に着目し、その胎盤機能における役割について検討した。</p> <p>SHH pathway の活性化マーカーである PTCH1 および GLI2 の胎盤における発現を、qPCR、Western blot、免疫染色を用い検討した。PE 胎盤では PTCH1、GLI2 の発現は有意に低下し、PTCH1 mRNA の発現は児体重、胎盤重量と強い正の相関を認めた。また、PE 胎盤では GLI2 の promoter 領域が高メチル化状態であることを明らかにした。</p> <p>次に、胎盤機能の重要な機能を担う絨毛細胞の合胞体性栄養膜化 (シンシチウム化) について検討した。Primary cytotrophoblast cells (CTBs) に recombinant SHH (rSHH) を投与するとシンシチウム化は促進され、SHH pathway の阻害剤である cyclopamine を投与するとシンシチウム化は抑制された。一方で、CTBs に GLI2 siRNA を投与しても、シンシチウム化は抑制されなかった。また、CTBs に rSHH を投与すると、cAMP response element-binding protein (CREB) のリン酸化が促進され、cyclopamine を投与すると CREB のリン酸化は抑制された。このことから、絨毛細胞のシンシチウム化は、古典経路の SHH-GLI pathway ではなく、非古典経路の SHH-adenylate cyclase (ADCY) pathway により制御されている可能性が示唆された。</p> <p>さらに、胎盤における SHH pathway が IGF (insulin-like growth factor) 経路に及ぼす影響について検討した。PE 胎盤において、IGF1 receptor (IGF1R)、IGF1、IGF2 mRNA の発現は低下しており、PTCH1 mRNA と正の相関を認めた。また、CTBs に CREB のリン酸化を促進させる Forskolin を投与すると IGF1R の発現は有意に促進され、cyclopamine や GLI2 siRNA を投与すると IGF1R の発現は有意に抑制された。また、rSHH 投与による IGF1R 発現の促進は cyclopamine および ADCY 阻害剤により抑制された。胎盤の網羅的遺伝子発現データを用いた pathway 解析でも IGF1R pathway スコアは SHH pathway および ADCY pathway スコアと強い正の相関を認めた。以上より、CTBs において IGF 経路は、非古典経路の SHH-ADCY pathway と古典経路の SHH-GLI pathway の双方に制御されていることが示唆された。</p> <p>最後に、妊娠マウスを用い胎盤機能における SHH pathway の関与について検討した。胎盤に cyclopamine を投与したところ、胎盤における IGF1R mRNA の発現は有意に低下し、マウスの胎仔重量を有意に減少させた。</p> <p>以上より、胎盤において SHH pathway は IGF 経路を介して胎児発育の制御に寄与している可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

妊娠高血圧腎症 (PE : preeclampsia) は全妊娠の約 5% に発症する高血圧を主徴とする症候群で、しばしば胎児発育不全を伴う。PE は胎盤形成不全に起因するという説が有力であるが、その病態は未だ十分には解明されておらず、妊娠終結以外に確立された治療法はない。本研究では、胎盤における sonic hedgehog (SHH) pathway が PE の病態にどのように関与しているのかを明らかにすることを目的とした。

SHH pathway の活性は PE 胎盤で有意に低下しており、児体重、胎盤重量と強い正の相関を認めた。Primary cytotrophoblast (CTB) を用いた実験では、胎盤機能の指標である絨毛細胞の細胞性栄養膜細胞から合胞体性栄養膜細胞への分化 (シンシチウム化) が、GLI を介する古典経路ではなく adenyate cyclase (ADCY) - cAMP response element binding protein (CREB) pathway を介する非古典経路により制御されている可能性が示唆された。

次に、in silico で胎盤遺伝子発現のマイクロアレイデータを解析したところ、insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) pathway が SHH pathway と強い正の相関を認めた。実際に CTB では、IGF1R pathway は SHH pathway の古典経路、非古典経路の双方に制御されている可能性が示唆された。また、妊娠マウス胎盤に SHH pathway の阻害剤を投与すると、胎盤における IGF1R, insulin receptor substrate 1 (IRS1) の発現が抑制され、胎仔重量が有意に減少した。

以上の結果より、PE では胎盤における SHH pathway の活性が低下することで絨毛細胞のシンシチウム化や IGF1R pathway が抑制され、胎児発育不全をきたす可能性が示唆された。

以上の研究は PE に伴う胎児発育不全の病態の解明に貢献し、PE 研究の今後の発展に寄与するところが多い。

公聴会では論文内容と発表に対して様々な質問がなされたが、応答が不十分であったため、追加実験とレポート提出を求めた。その後追試結果とレポートが提出され十分な回答がなされたので、本研究は博士 (医学) の学位に値すると判断した。

なお、本学位授与申請者は、令和元年 9 月 26 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