



TITLE:

# Endovascular trophoblast expresses CD59 to evade complement-dependent cytotoxicity( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Ueda, Masashi

---

CITATION:

Ueda, Masashi. Endovascular trophoblast expresses CD59 to evade complement-dependent cytotoxicity. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-09-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22744>

RIGHT:

Molecular and Cellular Endocrinology. 第490巻第15号 57-67.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.04.006>

京都大学	博士 (医学)	氏名	上田 匡
論文題目	Endovascular trophoblast expresses CD59 to evade complement-dependent cytotoxicity (血管内トロホブラストは CD59 を発現し補体依存性細胞傷害を回避する)		
(論文内容の要旨)			
<p>妊娠初期のヒト胎盤において、胎児成分である extravillous trophoblast (EVT) は母体脱落膜のらせん動脈を浸潤し (血管内 EVT)、その血管壁を置換 (らせん動脈リモデリング) することで血管径を増大させ、胎盤への母体血流を増加させる。リモデリング不全は子宮内胎児発育不全や妊娠高血圧腎症の一因と考えられているが、その正確な機序は未解明な部分が多い。本研究では、血管内 EVT が母体血中の補体因子に常時さらされているにもかかわらず、補体経路により排除されない機構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 (婦人科学産科学) 生殖医学研究室では、これまで血管内 EVT に沈着した母体血小板がらせん動脈リモデリングを促進していることを報告し、絨毛組織の器官培養より分離した EVT (分離 EVT) が血小板との共培養により血管内 EVT 様の表現型に変化することを見出した。そこでマイクロアレイ解析を用いて、分離 EVT において血小板との共培養により発現が増強する因子を抽出した。抽出された因子の中で補体制御因子の一つである CD59 (18-20kDa の GPI 結合膜タンパク、補体経路の活性化の最終産物である膜侵襲複合体の形成を阻害) に着目した。</p> <p>まず、婦人科疾患の適応で妊娠初期に摘出された子宮より胎盤着床部の切片を作成し、免疫組織染色で EVT における CD59 の発現分布を検討した。興味深いことに、CD59 は cell column や脱落膜に存在する EVT にはほとんど発現を認めず、母体血と直接接する血管内 EVT で強く発現していることが明らかとなった。</p> <p>次に、分離 EVT、ヒト EVT 細胞株である Swan71 細胞、ヒト絨毛癌細胞株である JEG-3 細胞、JAR 細胞および BeWo 細胞における CD59 の発現を、RT-PCR、flow cytometry にて検討した。分離 EVT および Swan71 細胞で CD59 の発現が確認されたが、ヒト絨毛癌細胞株では CD59 の発現を認めなかった。以上より、Swan71 細胞を血管内 EVT のモデルとして使用することとした。</p> <p>続いて、Swan71 細胞において短鎖ヘアピン RNA により CD59 発現を knockdown した Sw_CD59sh 細胞を作成し、CD59 が細胞増殖および浸潤に与える影響を検討した。さらに、補体を非働化したヒト血清および対照ヒト血清を添加し、CD59 が補体依存性細胞障害に与える影響を細胞壊死実験により検討した。Sw_CD59sh 細胞と対照細胞との比較では、CD59 の knockdown は Swan71 細胞の浸潤能および増殖能には影響を与えなかった。一方で、補体添加により誘導される細胞死は CD59 の knockdown により有意に増加した。</p> <p>最後に、脱落膜の器官培養上清の添加あるいは低酸素条件下の培養が分離 EVT の CD59 発現に与える影響を q-PCR を用いて検討した。分離 EVT における CD59 発現は低酸素条件下で有意に減弱した。生体において脱落膜内はらせん動脈周囲に比べて酸素濃度が低いことより、血管内 EVT で CD59 発現が増強している一因として EVT 周囲の酸素濃度が関与している可能性が示唆された。</p> <p>以上より、CD59 は血管内 EVT で発現が増強し、母体血中にある補体の活性化によって生じる細胞障害から血管内 EVT を保護している可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ヒト胎盤において、endovascular extravillous trophoblast (eEVT) はらせん動脈の血管壁を置換する (らせん動脈リモデリング)。eEVT は補体因子を含む母体血と直接接しているにもかかわらず、補体経路により排除されない。この免疫回避機構を解明することを目的とした。

我々は、初期胎盤組織より分離した EVT が、血小板との共培養により eEVT 様の形態変化をおこすことを報告した。血小板と共培養した分離 EVT で発現が増強する因子をマイクロアレイ解析で抽出し、そのうち補体制御因子である CD59 に着目した。

まず、妊娠初期摘出子宮の着床部切片を免疫染色し、CD59 が eEVT で特異的に強発現していることを見出した。

次に、ヒト EVT 細胞株である Swan71 細胞に shRNA を導入し、CD59 発現を knockdown した。ヒト補体の添加により誘導される細胞死は CD59 の knockdown により有意に促進された。

最後に、脱落膜の器官培養上清の添加あるいは低酸素条件下の培養が分離 EVT の CD59 発現に与える影響を検討した。CD59 発現は脱落膜の器官培養上清の添加では変化しなかったが、低酸素条件下の培養で有意に減弱した。

以上より、CD59 は eEVT で発現が増強し、母体血中にある補体の活性化によって生じる細胞障害から eEVT を保護している可能性が示唆された。また eEVT における CD59 高発現に eEVT 周囲の高酸素環境が寄与している可能性が示唆された。

この研究は妊娠初期胎盤形成における新しい分子生物学的機構の一つを解明しており、らせん動脈リモデリングに関わる研究の今後の発展に寄与するところが大きい。

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、令和 2 年 8 月 27 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