

シンポジウム2 子宮内膜の機能調節とその病態

(4) トロフィニンに着目した子宮内膜の機能調節と

トランスレーショナルリサーチ

浜松医科大学 杉 原 一 廣

【目的】

トロフィニンは、着床時に子宮内膜細胞とブラストシストの apical cell surface にそれぞれ発現する接着分子である。まずトロフィニン同士が接着しインテグリンやカドヘリンを介する強固な接着へ移行する。正常な月経周期を有する生殖年齢のヒト子宮内膜を用いたマイクロアレイデータは、ホルモン依存性にトロフィニン遺伝子が発現することを示唆している。しかしながらヒト子宮内膜におけるトロフィニンの発現量は、性周期を通して低い。それ故に卵巣由来のステロイドホルモンの分泌のみでは着床時、子宮内膜上皮の着床サイトに起こるトロフィニンの強発現を説明できない。卵管妊娠では、トロフィニンは着床部位において卵管上皮と胚それぞれに強発現する。トロフィニンの発現は絨毛が接している近傍の卵管上皮にのみ強発現し、着床部位よりわずかに離れた(5mm) 卵管上皮にはトロフィニンの発現は認められない。よって、母胎側のトロフィニンは、胚との相互作用により着床に依存して局所的に発現誘導される。

着床率改善のトランスレーショナルリサーチ

ヒトでは着床前にブラストシストがhCGを分泌し、分泌期子宮内膜でのIL-1 β 遺伝子発現が増加する。我々は卵管上皮細胞でhCGとIL-1 β がトロフィニンを誘導するという解析結果を得た。子宮内膜上皮細胞では、implantation windowに相当する時期にpinopodを形成する。さらにhCGのパラクライン作用によりトロフィニンがpinopodに誘導されることを明らかにした。そこで、これらの分子に着目してブラストシストの物理的・生理学的な特色をmimicできるアガロー

スピーズを考案した。hCGをコーティングしIL-1 β を添加したビーズは子宮内膜におけるトロフィニンの発現を強誘導する。ヒト子宮内膜細胞とhCGをコーティング処理しIL-1 β を添加したビーズと共培養するとトロフォブラストとの接着が著明に亢進する。さらに、アカゲザルの受精卵と我々が開発したビーズを混ぜて胚移植すると着床率、妊娠率ともに上昇した。

胚接着分子トロフィニンの上流における機能調節

子宮内膜上皮表面はムチンのコア蛋白であるMUC1に覆われている。MUC1は細胞表面より突出しているため、子宮内膜と受精卵との接着に関連する分子を包み込むことにより胚接着を妨げる。マウス、ラットやブタの子宮内膜では、受精卵が子宮へ到達する以前にMUC1がdown-regulationされ着床に備える。子宮内膜上皮でMUC1が発現低下すると①糖鎖による接着障害が除かれる ②着床に必須である接着分子が子宮内膜上皮に暴露され胚受容能が亢進する。これらの現象は着床準備として合目的的である。一方、ヒトの子宮内膜では、受精卵が子宮内膜に到達するとMUC1はup-regulationされ接着を障害する。しかしブラストシストが子宮内膜と接着する部位では、子宮内膜上皮のMUC1は消失し、トロフィニンがpinopodに発現誘導され初期接着が起こる。我々のデータよりブラストシストから分泌されるhCGがMUC1をdown-regulateし子宮内膜で着床部位を規定していることが示唆される。

胚接着分子トロフィニンの下流における機能調節

我々は着床初期トロフィニンを介するhomophilic adhesionがトリガーとなり、トロフォブラストが細胞形態を変化させ、細胞分裂、浸潤能を

獲得し胎盤形成が進むこと明らかにした。トロフィニンはトロフォブラストの細胞膜においてビスチン、ErbB4(EGFR)と複合体を形成し、ErbB4の活性化を阻止している。着床時トロフィニン同士が接着するとトロフィニンはビスチンから解離してErbB4がチロシンリン酸化され、シグナルが細胞内へ伝達されて浸潤能を獲得する。よって、トロフィニンはトロフォブラストを活性化する分子スイッチとして機能する。細胞内情報伝達系に着目するとトロフィニンが構成する分子スイッチにより活性化されるErbB4の下流分子はSrc, STAT3, MAPK, JNK, Rbであることが判明した。一方、子宮内膜上皮細胞はトロフィニンを介する初期接着で活性化されないばかりでなく子宮内膜はトロフォブラストを受け入れ脱落膜化を起こす。そこで子宮内膜培養細胞を用いてトロフィニン同士が接着した状態を模倣するとアポトーシスが誘導された。アポトーシスを引き起こすシグナルはFASを介する系とは異なる経路を介して細胞内へ伝達されていることが判明した。

以上、本研究では胚接着分子“トロフィニン”に着目し子宮内膜の機能調節を明らかにすること、さらに着床率改善を目指したトランスレーショナルリサーチが目的である。

【方法】

1. 子宮内膜を用いてトロフィニンを誘導する分子を検索した。
2. プラストシストの物理的・生理学的な特色をmimicできるアガロースビーズを考案した。
3. pinopodにおいてhCGがトロフィニンを誘導発現するか免疫組織電顕を用いて検討した。
4. アカゲサルの受精卵に我々が考案したビーズを混ぜて胚移植し着床率が上昇するか検討した。
5. ヒト子宮内膜でMUC1を発現低下させる分子を検討した。
6. トロフィニンの下流で活性化される分子を網

羅的解析で明らかにした。

7. トロフィニン同士の接着により子宮内膜のアポトーシスを誘導するシグナルはFas-Fasリガンド系を介するかを検討した。

(本研究に用いたヒト組織と細胞はインフォームドコンセントを得て採取したものである。)

【成績】

1. 着床時、子宮内膜にトロフィニンを強誘導する分子はhCGとIL-1 β であることが判明した。
2. hCGをコーティングしたビーズは子宮内膜におけるトロフィニンの強発現を誘導する。
3. implantation windowに相当する子宮内膜ではhCGがpinopodにトロフィニンを強誘導する。
4. 我々が考案したビーズをサル胚移植時に受精卵と混ぜると、着床率、妊娠率ともに上昇した。
5. ヒト子宮内膜でMUC1を発現低下させる分子はhCGであることが示唆された。
6. トロフィニン同士の接着により子宮内膜ではPKC- δ の発現が亢進しアポトーシスが誘導されることが判明した。
7. トロフィニンを介し子宮内膜のアポトーシスを誘導する新たな細胞内情報伝達系が明らかとなった。

【独創点】

- ①着床時の胚接着分子“トロフィニン”に着目し分子機構を解析した。本研究でトロフィニンが子宮内膜へ誘導される機構、さらにトロフィニンが分子スイッチの構成成分として機能し、細胞内情報伝達系に関与することが分子レベルで判明した。
- ②産婦人科臨床医の立場で基礎的研究を進め、その結果をもとに臨床応用を目的として着床率改善のためのトランスレーショナルリサーチを進めている。