



Title	Production of Interleukin-6 by Normal Human Trophoblast
Author(s)	亀田, 隆
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37336
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	かめ 亀	だ 田	たかし 隆
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	9 4 1 8	号
学位授与の日付	平 成 2 年	12 月	4 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
学位論文題目	Production of Interleukin-6 by Normal Human Trophoblast (ヒト正常絨毛細胞によるインターロイキン6の分泌)		
論文審査委員	(主査) 教 授	谷澤 修	
	(副査) 教 授	濱岡 利之	教 授 平野 俊夫

論文内容の要旨

〔目 的〕

胎盤は母児間の接点に存在し、胎児の生着および発育に重要な役割を担う臓器である。胎盤の発育や分化には、種々の増殖因子や分化因子の関与が推測されているが、未だ十分に明らかにされていない。一方、Interleukin-6 (IL-6) はリンパ球B細胞のみならず骨髄幹細胞、神経、皮膚および肝細胞等の多種の細胞において、増殖または分化因子として作用していることが知られている。そこで著者は、胎盤におけるIL-6の局在、ならびに産生分泌の有無について検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

1. ヒト胎盤からのIL-6分泌

まず、ヒト胎盤の器官培養を行い、上清中のIL-6活性を検討した。ヒト胎盤、子宮筋、卵巣の各組織をPBSにて洗浄後、約1mmの大きさに細切し、FCSを含まないRPMI 1640中に7時間培養を行った。培養終了後上清を採取し、MH60・BSF-2細胞(IL-6 dependent cell line)にその上清を添加し、その増加に伴う³H-TdR uptake をみることにより、上清中に含まれるIL-6活性を測定した。その結果、子宮筋や卵巣の器官培養上清中のIL-6活性は、感度(0.25 U/ml/mg)以下であった。一方、胎盤の器官培養上清中のIL-6活性は約33 U/ml/mgであり、初期、中期、後期いずれの胎盤上清からもほぼ同量のIL-6活性が認められた。

次に胎盤器官培養上清中のIL-6活性を確認するため抗IL-6血清を用いた抑制実験で検討した。MH60・BSF-2細胞に、IL-6活性が1 U/mlになる様に希釈した胎盤培養上清を添加した系

をつくり、抗IL-6血清または正常血清を種々の濃度で添加し、MH60・BSF-2細胞の ^3H -TdR uptakeの変化を検討した。その結果、正常血清を加えたcontrolでは、MH60・BSF-2細胞の増殖は抑制されなかった。一方、抗IL-6血清を加えた場合、MH60・BSF-2細胞の増殖は濃度依存性に抑制され、 $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ ではほぼ完全な抑制が認められた。以上の結果、胎盤の器官培養上清には、IL-6が含まれていることが確認された。

2. 胎盤組織におけるIL-6の局在

胎盤は絨毛細胞、胎盤マクロファージや血管内皮細胞等から構成されている。いずれの細胞がIL-6を分泌しているか、免疫組織学的にIL-6の局在を検討した。胎盤の凍結切片を作成し冷アセトンにて固定後、immunoperoxidase法を応用したABC法にて常法のごとくに染色を行った。第1抗体としては、抗IL-6マウスモノクローナル抗体である166を $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ の濃度で用いた。核染色にはmeyer hematoxylinを用いた。その結果、胎盤の絨毛細胞層にのみ陽性所見が得られ、他の部位は染色されなかった。さらに166抗体の絨毛細胞層に対する特異性はrecombinant IL-6 (rIL-6)を用いた吸収実験によっても確かめられた。従って、IL-6が胎盤の絨毛細胞に局在することが確かめられた。

胎盤の絨毛細胞層はsyncytiotrophoblastとcytotrophoblastの2層より構成され、各々異なった分化段階および内分泌学的特徴を有する。そこでsyncytiotrophoblastとcytotrophoblastのいずれがIL-6分泌をするか、single cell levelから免疫組織学的に検討した。胎盤を細切酵素処理によりsingle cell suspensionをつくり、Percoll gradient sedimentationにより絨毛細胞に富む分画を得た。これをcytospinによりスライドグラスに固定し、先と同様のABC法で免疫組織染色を行った。その結果、cytotrophoblastは陰性であったが、syncytiotrophoblastは陽性であった。このことよりsyncytiotrophoblastからIL-6が分泌されていると考えられた。

本研究に使用したMH60・BSF-2細胞、rIL-6、166モノクローナル抗体および抗IL-6血清は、大阪大学平野俊夫教授、岸本忠三教授より供与を受けた。

〔総括〕

以上の研究結果より

1. ヒト胎盤はIL-6を分泌する。
2. IL-6分泌量は妊娠期間を通じて、胎盤単位重量当たりほぼ同量である。
3. IL-6の分泌細胞は、ヒト胎盤の絨毛細胞の中でも、syncytiotrophoblastである。従って、IL-6はヒト胎盤においても、増殖または分化因子として機能している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、細胞の増殖因子あるいは分化因子の1つである Interleukin-6 (IL-6) がヒト胎盤においても産生分泌されていることを明らかにしている。胎盤における IL-6 の分泌量は妊娠期間を通じ胎盤単位重量当りほぼ同量であった。免疫組織化学的検討によって、胎盤組織の IL-6 産生細胞は絨毛細胞、とくに syncytiotrophoblast であることが同定された。従って IL-6 がヒト胎盤で増殖あるいは分化因子として機能していることが示唆された。

本研究はヒト胎盤における IL-6 の産生分泌ならびにその局在を世界ではじめて明らかにしたものであり学位授与に値する。