

Title	Membrane-Spanning Fc γ Receptor III Isoform Expressed on Human Placental Trophoblasts
Author(s)	錦織, 直子
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39259
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	にしき 錦 おり 織 なお 直 こ 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 4 5 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 5 月 1 9 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Membrane – Spanning Fc γ Receptor III Isoform Expressed on Human Placental Trophoblasts (ヒト胎盤絨毛細胞における膜貫通型Fc γ レセプター III の発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡田伸太郎 (副査) 教 授 濱岡 利之 教 授 平野 俊夫

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

妊孕現象において母体と胎児の接点に位置する胎盤は、母児間に起こる免疫事象を考える上で重要な役割を果たしている。胎生期の液性免疫は胎児自体の免疫グロブリンG (IgG) の産生能は殆ど認められないため、IgG は胎盤を介して母体から能動的に輸送され、胎児の受動免疫に寄与している。この現象は IgG のみに限定され、他のクラスの免疫グロブリンには認められない。また胎盤には IgG が特異的に吸着しており、胎盤抽出 IgG は父親由来の組織適合抗原に対する抗体活性をもつことが知られている。これらの IgG の結合や母児間輸送はクラス特異的であり、IgG 受容体、すなわち Fc γ レセプター (Fc γ R) を介した反応であると考えられている。

Fc γ R には IgG との親和性およびその蛋白構造から、3種類のサブタイプ、Fc γ R I, II, III が存在し、各々免疫学的機能を異にする。胎盤を構成する細胞における Fc γ R 発現の解析の結果、IgG 高親和性である Fc γ R I は絨毛間質のマクロファージに IgG 低親和性の Fc γ R II はマクロファージ及び胎児側の毛細血管内皮細胞に発現が認められるが、trophoblast での Fc γ R の発現は未だ明らかではない。

本研究では、trophoblast に特異的に発現する Fc γ R についてそのサブタイプ及びイソフォームを分子生物学的に同定し、分子の化学的性状を明らかにした。

[方法ならびに成績]

① trophoblast 単一細胞系における表面抗原の解析

帝王切開により無菌的に得られた胎盤をトリプシン、DNase を用いて酵素処理の後、パーコール比重遠心法により trophoblast 画分を回収した。これを16時間培養して細胞膜蛋白を再構築させた後 EDTA を用いて細胞を回収し、fluorescence activated cell sorter (FACS) を用いて解析した。FACS 解析には FACStar を使い、モノクローナル抗体 32・2 (Fc γ R I), I V 3 (Fc γ R II), 3G 8 (Fc γ R III), Leu 11 (Fc γ R III), Leu 4 (CD3), Leu 19 (CD56), Leu M 3 (CD14), W6/32 (HLA class I) および2次抗体として FITCgoat anti – mouse IgG F (ab')₂ を反応させた。Fc γ R の各サブタイプに特異的なモノクローナル抗体による FACS 解析の結果、Fc

γ R I・IIの抗体では反応は認められないが、Fc γ R IIIでは2種の抗体いずれでも陽性であった。更に trophoblast 上に発現する他の表面抗原分子を解析した結果、CD3・CD56・CD14の抗体では反応は認められないが、HLA クラス I に関しては2峰性のピークを認め、一部の trophoblast がHLA クラス I 分子を発現していると考えられた。通常、villous trophoblast には古典的クラス I は発現を認めないとされているが、これはHLA-Gを含めた一部の extravillous のHLA クラス I 分子を反映したものと考えられた。

② trophoblast 画分 mRNA からの RT-PCR を用いた Fc γ R III のクローニング

trophoblast から totalRNA を抽出し、Fc γ R III 特異的 3' end primer から逆転写酵素を用いて first stand の cDNA を合成した。次にこれを鋳型に 5' end primer と 3' end primer で PCR による cDNA 増幅を行った。3' end primer は 3' 非翻訳領域に、5' end primer は細胞外ドメイン N 側に設定した。このようにして増幅された cDNA は Bluescript vector にサブクローニングして dideoxy 法にて塩基配列を決定した。trophoblast からクローニングされた Fc γ R III は多核白血球のそれといくつかの塩基の置換がみられたが、NK タイプのイソフォームと一致していた。また、多核白血球の Fc γ R III は膜貫通部分のあと4つのアミノ酸で終止コドンが認められるのに対して、NK タイプはチミンからシトシンへの置換のため、21個のアミノ酸が細胞内ドメインで挿入されており、膜貫通型の分子であると考えられた。

③ trophoblast 上の Fc γ R III の PIPLC 感受性の解析

多核白血球の Fc γ R III は細胞膜上で phosphatidyl inositol (PI) glycan anchor 分子として存在しており、PI 特異的ホスホリパーゼ C (PIPLC) で切断される。回収された trophoblast 画分及び比重遠心法で得られた多核白血球を PIPLC 0.5 units/ml で処理した後、Fc γ R III の一次抗体 3G 8 と反応させて FACS 解析を行った。多核白血球は PIPLC 処理により抗体との反応性が減弱しているのに対し trophoblast は反応性の変化は認められず、trophoblast 上の Fc γ R III は PIPLC の耐性であり、PI glycan アンカーを持たないことが判明した。以上のことから trophoblast は NK タイプの膜貫通型の Fc γ R III を細胞膜上に発現していることが確認された。

[総括]

- ①胎盤絨毛には Fc γ R III に対する抗体で認識される分子の発現が認められる。胎盤絨毛に発現する Fc γ R III の cDNA 塩基配列は NK 細胞のイソフォームと相同であり、塩基置換のため好中球イソフォーム C 末端に 21 アミノ酸の挿入がみられた。
- ②絨毛細胞上の Fc γ R III 分子は PI 特異的ホスホリパーゼ C 抵抗性の膜貫通型分子であり、PI グリカンアンカー分子である多核白血球型 Fc γ R III と異なる。
- ③絨毛細胞は NK 型 CD16 陽性であるが、NK マーカー (CD56) 陰性、T 細胞マーカー (CD3) 陰性、マクロファージマーカー (CD14) 陰性のユニークな細胞集団である。

論文審査の結果の要旨

免疫グロブリン G (IgG) は胎盤に結合し母体から胎児に能動的に輸送され、胎児の受動免疫に寄与していると考えられるが、これまでに胎盤絨毛細胞での IgG 受容体 (Fc γ R) の詳細な分子レベルでの解析はなされていなかった。本論文においてヒト胎盤から絨毛細胞画分を単離し細胞表面抗原を解析した結果、絨毛細胞には Fc γ R III が発現していることを明らかにした。また絨毛細胞からクローニングした Fc γ R III の塩基配列から NK 細胞型のイソフォームと相同の膜貫通型分子であることが判明した。さらにホスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼ C で処理によってクローニングの結果を確認している。母児間の接点である絨毛細胞において Fc γ R の分子生物学的検討がなされたことは IgG の母児間輸送を解析する上で大変意義のあることで、本論文は学位論文に値すると考える。