



Title	The effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on human chorionic gonadotropin (hCG) production and differentiation of first trimester trophoblast.
Author(s)	澤井, 啓祐
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40327
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について 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	澤 井 啓 祐
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 7 3 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 11 月 1 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	The effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on human chorionic gonadotropin (hCG) production and differentiation of first trimester trophoblast. (白血病抑制因子の初期絨毛細胞における hCG 産生機能および分化における役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 田 雄 二 (副査) 教 授 瀧 岡 利 之 教 授 平 野 俊 夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】 受精および妊娠の成立は、母体側の脱落膜と胎児側の胎盤との情報伝達が重要である。これに関わる情報伝達物質には、様々なサイトカインが含まれる。これらのサイトカインのうち、特に白血病抑制因子 (LIF) はマウスの受精卵の分化や着床に関わっている。本研究では、LIF のヒト妊娠初期における役割として絨毛細胞の hCG 産生およびその分化に対する影響を検討した。

【方 法】 1) 初期胎盤、脱落膜の免疫組織染色：妊娠初期の胎盤、脱落膜より凍結切片を作製し、マウス抗 LIF モノクローナル抗体を用いて avidin-biotin peroxidase 法にて免疫組織染色を行った。さらに初期胎盤切片において、LIF の情報伝達系受容体 gp130 に対する抗体を用いて同様に免疫組織染色を行った。

2) 初期胎盤、脱落膜の組織培養上清中 LIF 濃度の測定：初期胎盤、脱落膜を細切し、組織培養を行った。培養後、経時的に上清中の LIF 濃度を ELISA を用いて測定した。

3) 絨毛細胞培養上清中の hCG 濃度の測定：初期胎盤を酵素処理して絨毛細胞を精製し、LIF で刺激後150分の上清中 hCG 濃度を EIA を用いて測定した。また LIF の絨毛細胞における受容体や細胞内刺激伝達系を検討するために、絨毛細胞を LIF と共に抗 IL-6 receptor 抗体 PM1, 抗 gp130抗体 GPX7, tyrosine kinase 阻害剤 genistein 等で培養し、同様にその hCG 濃度を測定した。

4) LIF の絨毛細胞分化に対する作用：LIF の絨毛細胞の分化への作用を検討するため、培養48時間後の絨毛細胞を用いてスメアを作製し、抗 hCG 抗体による免疫細胞染色を施行して、形態的、機能的に絨毛細胞の分化を評価した。

5) RT-PCR による gp130 の mRNA 発現：初期絨毛細胞を48時間培養した後、gp130に特異的な primer を用いた RT-PCR により、mRNA の発現を検討した。

【成 績】 1) 妊娠初期における LIF の発現：免疫組織染色法では、LIF の発現は絨毛組織においては栄養膜細胞層のみに認められ、脱落膜組織においては脱落膜腺組織、脱落膜間質組織ともに認められた。また各々の組織培養では、脱落膜組織の培養の上清中に分泌された LIF は絨毛組織の培養の上清中の分泌よりも有意に高値をとり、かつそれらの LIF 発現は時間依存性に上昇した。

- 2) 初期絨毛組織における gp130 の発現：絨毛組織における免疫組織染色では gp130 は栄養膜細胞層および栄養膜合体層どちらにもその発現が認められた。また RT-PCR により、絨毛細胞に gp130 の発現を示す band が認められた。
- 3) LIF による絨毛細胞の hCG 産生に対する影響：LIF による刺激で、絨毛細胞の hCG 産生は LIF の濃度依存性に増加された。この実験系に、PM1, GPX7 を添加すると、GPX7 でのみ絨毛細胞の hCG 産生は抑制された。また genistein を添加しても hCG 産生は抑制された。
- 4) 絨毛細胞の分化：培養絨毛細胞を免疫細胞染色によって時間経過を追って観察すると、絨毛細胞は単核で hCG 産生の認められない栄養膜細胞層から、単核ながら hCG 産生能を持つ transitional trophoblast を経て、多核で hCG 産生能を持つ栄養膜合体層へと分化した。そこで LIF による絨毛細胞の分化の変化を検討すると、control 群に比べて、栄養膜細胞層より分化した transitional trophoblast、栄養膜合体層の全絨毛細胞に占める割合が増加していた。この LIF の作用は培養液中に LIF と共に抗 hCG 抗体を加えることによって、control 群と同程度にまで阻害された。

【総括】 妊娠初期における LIF の動態、絨毛細胞に対する作用を検討した結果、以下のことが明らかになった。

- 1) 妊娠初期においては、LIF は主に脱落膜より産生される。
- 2) LIF による刺激によって、その濃度依存性に絨毛細胞は hCG 産生を亢進し、情報伝達系受容体として gp130 を介し、細胞内刺激伝達物質として tyrosine kinase を介していた。
- 3) LIF は栄養膜細胞層により transitional trophoblast を経て、栄養膜合体層に至る絨毛細胞の分化を亢進させた。この作用は抗 hCG 抗体により阻害された。

従って、妊娠初期において主に脱落膜より産生される LIF は絨毛細胞の hCG 産生を増加させ、それにより絨毛細胞の分化を亢進させた。この LIF による絨毛細胞の分化調節機能は、受精卵の栄養膜の分化すなわち着床の成功、妊娠維持に関与していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文において、妊娠初期における白血病抑制因子(LIF)の発現および絨毛細胞の機能に対する作用を検討した結果、

- 1) 妊娠初期においては、LIF は主に脱落膜より産生される。
- 2) LIF による刺激によって、その濃度依存性に絨毛細胞は hCG 産生を亢進し、情報伝達系受容体として gp130 を介していた。また、この hCG 産生における LIF の刺激伝達系は、以前より知られていた IL-6 の絨毛細胞の hCG 産生における刺激伝達系とは違うことが明らかになった。
- 3) LIF は hCG を介して、cytotrophoblast より、単核ながら hCG 産生能を持つ transitional trophoblast を経て、syncytiotrophoblast に至る絨毛細胞の分化を亢進させた。

LIF 欠損マウスにおいて受精卵の着床が認められないことなど、LIF は妊娠と大きく関わっているが、その機序は明らかでなかった。

従って、妊娠初期において主に脱落膜より産生された LIF が、絨毛細胞の hCG 産生を増加させ、それにより絨毛細胞の分化を亢進させることを明らかにした本論文は、LIF の妊娠の成功、維持に対する機序の一部を明らかにし、妊娠の成立を解明するために重要な知見であり、学位を授与されるに値するものと認める。