

Title	母性発現遺伝子PLAC1による胎盤サイズと層構造の調節機能の解析
Author(s)	武藤, 真長
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/56171">https://doi.org/10.18910/56171</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 武藤 真長 )

論文題名

母性発現遺伝子PLAC1による胎盤サイズと層構造の調節機能の解析

## 論文内容の要旨

胎盤は哺乳類の胚発生において初期に形成される臓器であり、母体にとって異物である胎児を免疫的に隔離し、さらにガスや栄養・老廃物の交換を介して、妊娠の維持や胎児の発生を進めるための重要な役割を担っている。胎盤は層構造を形成しており、母体側の脱落膜、中間にある海綿状栄養膜細胞層 (junctional zone: JZ)、胎仔側の迷路部 (labyrinth zone: LZ) に分かれる。胎盤形成の異常は、栄養供給の低下による胎仔の発育不良や、母体へ影響を及ぼす悪性因子の増加を引き起こすことも知られているため、胎盤形成のメカニズムを明らかにすることは重要である。そこで、ヒトを含む哺乳類において胎盤特異的な発現を示す *Plac1* 遺伝子に着目した。ヒト *PLAC1* タンパク質はトロホブラスト細胞の膜表面に局在しており、母体と胎仔の相互作用に重要であることが示唆されているが、詳細な生理機能は明らかになっていない。本論文では、*Plac1* 遺伝子欠損マウスの表現型解析と、胎盤特異的な遺伝子導入法を用いた解析により、胎盤形成における *Plac1* の生理機能を解析した。

*Plac1* のエキソン部分に *LacZ* レポーター遺伝子を挿入することで、*Plac1* 欠損アレルを持つ変異マウスを得た。X-gal 染色により内在性の *Plac1* の発現解析を行ったところ、母方から変異が伝わった個体 ( $X^m$ ) の胎盤では、*LacZ* 陽性細胞が観察された。一方で父方から変異が伝わった個体の胎盤では、*LacZ* 陽性細胞がほとんど観察されなかった。このことから、*Plac1* は母方のアレルから発現する遺伝子であることがわかった。次に *Plac1* 変異マウスの妊孕性を調べたところ、母方から変異が伝わる交配において産仔数が有意に減少することがわかった。このことから、母方アレルから発現する *Plac1* が胚発生に重要であることが示された。そこで胎盤形成時期における表現型を解析した。胎齢 12.5 日 (E12.5) の胎盤重量は野生型と  $X^m$  型で差は見られなかったが、E14.5、E16.5 の  $X^m$  型の胎盤は過形成を示し、重量が約 2 倍と顕著に増加していた。E16.5 の  $X^m$  型胎仔の重量は、野生型に比べて有意に減少し、発育不良が見られた。PAS (Periodic acid Schiff) 染色により組織病理学的解析を行ったところ、 $X^m$  型胎盤では野生型に比べて JZ が過形成であり、LZ への陥入が見られた。細胞増殖マーカー Ki67 の免疫組織染色では、 $X^m$  型胎盤では野生型に比べ JZ で Ki67 陽性細胞が顕著に増加していた。このことから、*PLAC1* の胎盤過形成は JZ における細胞過増殖が原因と考えられた。また、 $X^m$  型胎盤の LZ について胎仔由来の血管内皮細胞を特異的に染色するラミニンの免疫組織染色では、 $X^m$  型胎盤の LZ では血管構造は保たれていたが、母体血が流れている血洞 (maternal blood sinus: MBS) が有意に拡張していた。このことから、母方アレルの *Plac1* 欠損が胎盤過形成をきたし、層構造と MBS 構造にも悪影響を及ぼすことが明らかとなった。

次に *Plac1* 変異マウスの胎盤過形成の表現型が、胎盤において *Plac1* を欠損したことに起因するかを検証するため、レンチウイルスベクターを用いた胎盤特異的な遺伝子導入法によるレスキュー実験を試みた。本研究では、CAG プロモーター制御下で *Plac1* cDNA を発現するレンチウイルスベクター (LV-*Plac1*) を用いた。*Plac1* 変異が母方から伝わる交配で得られた胚盤胞に LV-*Plac1* を導入して表現型を解析した。コントロールとして LV-*EGFP* を導入した場合と比べ、LV-*Plac1* を導入した場合は、 $X^m$  型胎仔の出生率が改善した。さらに LV-*Plac1* を導入した  $X^m$  型胎仔の重量はコントロールと比べて有意に増加し、胎仔発育が改善された。一方で胎盤重量は、驚くべきことに、 $X^m$  型胎盤の表現型は回復せず、LV-*Plac1* 導入によりさらに過形成となった。しかし、組織病理学的解析を行ったところ、LV-*Plac1* を導入した  $X^m$  型胎盤では JZ の層構造の乱れが観察されたが、LZ における MBS の構造は回復傾向にあった。このことから、LV ベクターによる胎盤特異的なレスキュー実験では、*Plac1* 変異マウスの胎盤過形成は改善されないものの、栄養交換を担う LZ の改善により、胎仔の体重や出生率が回復したと考えられた。

以上のことから、*Plac1* は胎盤の JZ における細胞増殖性の制御と、LZ における正常な MBS 形成に重要であることを明らかにした。また *Plac1* 欠損マウスの胎盤が過形成となる原因は、LV ベクターを用いた実験から胎仔側で *Plac1* を欠損したことによるものと考えられ、胎仔由来の *Plac1* の発現が胎盤形成に関与している可能性を提示した。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (武藤 真長)	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 教授 伊川 正人
	副 査 教授 辻川 和丈
	副 査 教授 堤 康央
<b>論文審査の結果の要旨</b>	
<p>本研究は、ヒトを含む哺乳類において胎盤特異的な発現を示すPlac1遺伝子の生理機能について、遺伝子改変マウスを用いたアプローチから個体レベルで解析を試みたものである。</p> <p>I. Plac1欠損マウスの胎盤は過形成となり、胎仔の発育不良が見られたことから、Plac1は正常な胎盤形成と胎仔の発育に重要であることを見出した。</p> <p>II. Plac1欠損マウスの胎盤において、JZの拡張による層構造の乱れと、JZにおけるmaternal blood sinusの拡張が認められたことから、Plac1はJZにおける細胞増殖性の制御と、LZにおける正常な母体血洞形成に関与することを示した。</p> <p>III. レンチウイルス (LV) ベクターを介したPlac1欠損マウスの胎盤特異的レスキュー実験では、胎盤過形成の表現型は回復せず、JZの層構造の乱れも正常に戻らなかった。一方、野生型胎盤へPlac1を遺伝子導入した場合でも胎盤過形成となったが、Plac1欠損胎盤で見られた表現型は示さなかった。このことからPlac1欠損マウスの胎盤が過形成となる原因は、胎仔側でPlac1の発現を欠損したことによるものだと考えられ、胎仔由来のPlac1の発現が胎盤形成に関与している可能性を提示した。</p> <p>以上、本論文は、Plac1遺伝子の発現量調節が胎盤形成を通じて子宮内胎児発育に寄与することを示すものであり、博士 (薬科学) の学位論文に値するものと認める。</p>	