



Title	The Effects of Low Concentrations of Pravastatin on Placental Cells
Author(s)	神田, 昌子
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/98664
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、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

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	神田 昌子
論文題名 Title	The Effects of Low Concentrations of Pravastatin on Placental Cells (胎盤細胞に対する低濃度プラバスタチンの影響)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>妊娠高血圧腎症 (preeclampsia : PE) は、妊娠20週以降に発症する蛋白尿や臓器不全を特徴とする高血圧性疾患である。全妊娠の約3~8%を占め、母子の生命を脅かす。降圧薬の効果は一時的であり、現時点ではPEの唯一の根本的治療は分娩のみである。</p> <p>妊娠初期に、絨毛の先端の栄養膜細胞 (CTB) が子宮脱落膜に付着すると、絨毛外栄養細胞 (EVT) へと変化して子宮筋層へ浸潤し、螺旋動脈のリモデリングを行う。PEの原因として提唱されているtwo-stage theoryでは、EVTの子宮筋層浸潤が不十分で螺旋動脈のリモデリングが不良だと、胎盤循環が低酸素状態となり (first stage) 、低酸素により抗血管新生因子である可溶性fms様チロシンキナーゼ1 (sFlt-1) が産生される。sFlt-1は母体循環へ移行し全身の内皮障害を引き起こし、高血圧と蛋白尿が出現する (second stage)。</p> <p>高コレステロール血症の治療薬であるスタチンは、抗炎症作用や抗酸化作用などの多面的作用を有するため、心血管疾患の予防薬としても使用されている。近年、PEにおいても、プラバスタチン(PS)のPE予防および治療効果を検討した複数の臨床研究が報告されている。しかし投与量や投与時期にばらつきがあり、効果の程度は様々である。PSの最適な投与量と投与時期を決定するために、さらなる研究が必要であるが、妊婦を対象とした臨床試験を行う前に、in vivoおよびin vitroのデータを収集する必要がある。本研究では、in vitroにおいて、低濃度のPSが、sFlt-1や胎盤増殖因子 (PIGF) などの血管因子 (second stage) 、および螺旋動脈のリモデリングに関連する細胞遊走能と浸潤能 (first stage) に及ぼす影響を検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>① 妊娠第1三半期のEVT細胞の細胞株であるHTR-8/SVneoと妊娠38週台の分娩時のヒト胎盤から分離した初代培養であるCTBを用いて、これらを2%の低酸素状態で培養することにより、妊娠初期と妊娠後期の2通りのPE細胞モデルを作成した。HTR-8/SVneoは播種後24時間、CTBは播種後72時間の時点で、0、0.01、0.1、1、5、10μMのPSを投与したのち、低酸素インキュベーターで各々48時間と24時間培養した。上清中のsFlt-1蛋白、PIGF蛋白をELISAで測定した。CTBのsFlt-1蛋白は濃度依存性に最大34%減少し、PIGF蛋白は0.01~5μMのPS投与により最大62%増加した。</p> <p>② ①と同じプロトコールで、HTR-8/SVneoとCTBを培養、0~10μMの6種類のPSを投与、低酸素状態でさらに培養した。Cell Counting Kit-8試薬を培地に添加し1時間インキュベート後、吸光度測定によるcell viability assayを施行した。HTR-8/SVneo、CTBともに、全てのPS濃度で細胞傷害性を認めなかった。</p> <p>③ PSの細胞遊走能への影響を確認するためwound healing assayを施行した。HTR-8/SVneoをサブコンフルエントまで培養した、無血清培地でさらに6時間培養した。P200ピペットチップで細胞を剥離しwoundを作成し、6種類の濃度のPSを含む培地に交換後、2%酸素下で16時間培養した。Wound作成直後と16時間培養後の2回、倒立位相差顕微鏡でウェルを撮影した。Wound面積(無細胞領域)を定量化し、創傷閉鎖率を求めた。全てのPS濃度でwound閉鎖率は上昇し、最大32%の上昇を認めた。</p> <p>④ 96ウェルプレートをgrowth factor-reducedマトリゲルでコーティングした。あらかじめ無血清培地で6時間インキュベートしたHTR-8/SVneoをマトリゲル上に播種、6種類のPSを含む培地で、2%酸素下で16時間培養した。倒立位相差顕微鏡でウェルを撮影し、管腔形成の程度を評価した。管腔の全長を定量化した。全てのPS濃度で管腔形成率は上昇し、最大15%の上昇を認めた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究では、PEモデル細胞を用い、低濃度のPSがsFlt-1レベルを低下させることを示した。さらに、低濃度のPSは細胞遊走能と血管新生能を改善し、PEにおける妊娠初期の胎盤形成不全を改善させる可能性を示唆した。この結果は、妊娠初期に低用量のPSを内服することで、PEの病態であるtwo-stage theoryのfirst stage、second stageの両方を改善し、PEへの進展を予防できる可能性を示している。今後の臨床試験によるさらなる検討が必要である。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 神田 昌子

論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	北島 康司
	副 査	大阪大学教授	猪股 善隆
	副 査	大阪大学教授	野々村 視夫

論文審査の結果の要旨

高脂血症の治療薬であるプラバスタチンは、妊娠高血圧腎症(preeclampsia: PE)の予防薬または治療薬となる可能性があると報告されている。しかし、適切なプラバスタチンの用量は確立されておらず、臨床研究においても低用量から高用量まで様々な検討が行われている。今回の細胞研究では、2種類の胎盤細胞に対する低濃度のプラバスタチン(0.01~10 μ M)の影響を検討した。正期産胎盤から単離したcytotrophoblast細胞において、低濃度プラバスタチンは上清中のsFlt-1蛋白レベルを最大34%低下させることを示した。また、胎盤形成における重要なステップである螺旋動脈のリモデリングに対するプラバスタチンの影響を検討し、低濃度のプラバスタチンがHTR-8/SVneoの細胞遊走および浸潤を促進することを示した。

以上により、本研究において、低濃度プラバスタチンはPEの病態である胎盤形成不全を改善させ、抗血管新生因子を低下させることが示唆された。また、この研究は、妊婦への投与は必ずしも高用量プラバスタチンが必要とはならず、低用量でより安全に抗PE効果を得られる可能性を示したことから、博士（医学）の学位授与に値する。