

医研第309号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Cellular localization of placenta-specific human endogenous retrovirus (HERV)
transcripts and their possible implication in pregnancy-induced hypertension

(胎盤特異的に発現するヒト内在性レトロウイルス (HERV) 転写物の細胞局在と
妊娠高血圧症候群への関与の可能性)

氏名 久高 亘 

【背景と目的】 syncytin は遺伝子化したヒト内在性レトロウイルス (human endogenous retrovirus: HERV) である。細胞融合能を持ち、胎盤形成に関与する。syncytin と同様に細胞融合能を持つ HERV、 syncytin 2 も報告されている。我々は、胎盤で高発現している 3 つの HERV (HERV-H7/F(XA34), HERV-Fb1, HERV-HML6-c14; 以後、 H7/F(XA34), Fb1, HML6-c14 と略) ローカスを同定している。これらの機能解明のため、syncytin 及び syncytin 2 を加えた計 5 つの HERV の胎盤における経時的発現変化を解析し、3 つのパターンに分類した。今回は、それらの発現細胞の特定を試み、更に、妊娠高血圧症候群 (pregnancy induced hypertension: PIH) 胎盤での発現量の変化を検討した。

【方法】胎盤絨毛での各 HERV 発現細胞 (及び細胞内局在) を *in situ* hybridization 法で調べた。解析には 5- μ m のパラフィン包埋切片とジゴキシゲニン標識 1 本鎖 RNA プロブを用いた。各 HERV 転写物の定量は、TaqMan 自動 PCR 定量装置を用いて行い、グリセルアルデヒド 3 リン酸脱水素酵素 mRNA で補正した。PIH 群 22 例、対照群 87 例

を解析対象とした。

【結果】 syncytin, H7/F(XA34), Fb1, HML6-c14 の4つは、栄養膜細胞層に発現が認められ、syncytin2は細胞性栄養膜細胞のみに発現していた。HML6-c14は、他の4つと異なり、細胞核に局在が認められた。TaqManによるreal time RT-PCRでの各HERVの発現定量解析では、PIH群の発現量は、対照群に比べHML6-c14を除く4つのHERVで有意に低下していた。また、分娩様式による発現への影響を考慮し、対照群における自然経膣分娩（41例）及び帝王切開分娩（46例）の2群で比較した。HML6-c14を除いた総てのHERVが自然経膣分娩群で有意に低下していた。そこで、帝王切開分娩症例でPIH群（16例）と対照群（46例）を比較したが、全サンプルの比較解析と同様の結果が得られた。

【考察】 syncytin及びsyncytin2は、発現細胞の同定、及び細胞融合能を持つことが明らかにされているが、今回解析したH7/F(XA34), Fb1, 及びHML6-c14の機能については未解明の状況にある。*in situ*

hybridization の結果は syncytin 及び syncytin 2 のこれまでの報告と一致していた。HML6-c14 発現は核内に局在することから、HML6-c14 は non-coding RNA として機能する可能性が推察され、転写制御について新規のメカニズムを提示するかもしれない。

PIH の基本病態は、妊娠に伴う妊婦の高血圧症である。胎盤の形成不全が土台にあるが、その原因や高血圧症に至る過程及び遺伝性等に関する詳細は未解明である。syncytin との相関性は複数の論文が指摘しているが、原因か結果かに関しては議論の余地がある。5 つの HERV を解析した結果、有意差を示した HERV の中でも p 値は 1 桁 ~ 2 桁の相違があり、syncytin が最も低値をとる傾向が認められた。syncytin 2 の p 値はそれほど小さくなく、むしろ H7/F(XA34) が syncytin と同レベルの p 値を示した。H7/F(XA34) は zinc finger motif を含む 333 個のアミノ酸をコードする open reading frame を有しており、syncytin とは異なるメカニズムで PIH の病態に関与している可能性が考えられた。

(別紙様式第 7 号)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	* 課程博 第 号 論文博	氏名	久高 亘
論文審査委員	審査日	平成 20 年 1 月 21 日	
	主査教授	森 直 樹	森
	副査教授	瀧 下 修 一	瀧
	副査教授	加 藤 誠 也	加藤
(論 文 題 目)			
Cellular localization of placenta-specific human endogenous retrovirus (HERV) transcripts and their possible implication in pregnancy-induced hypertension			
(論文審査結果の要旨)			
上記論文に対して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術的水準につき検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
ヒト内在性レトロウイルス (HERV) は、ヒトゲノム中に多数散在する転移因子の 1 つである。殆どは進化の過程で形骸化しているが、一部の HERV は転写活性を有している。ENV 蛋白に細胞融合能を持つ syncytin は、胎盤形成に関与すると報告されている。著者らは、胎盤で高発現している 3 つの HERV (HERV-H7/F(XA34), HERV-Fb1, HERV-HML-6c14; 以後、H7/F(XA34), Fb1, HML6-c14 と略) ローカスを同定している。また、妊娠高血圧症候群 (pregnancy induced hypertension: PIH) について、その病因は解明には至っていないが、胎盤形成不全との関連が指摘されている。本研究は HERV 発現について、細胞局在を同定すること、そして PIH との関連を解析することにより、HERV の機能解明の糸口を得ることを目的とした。			
2. 研究内容			
<i>in situ</i> hybridization 法を用いて、胎盤絨毛での各 HERV の発現細胞 (及び細胞内局在) を同定した。次に、PIH (n = 22) 胎盤での発現量を TaqMan RT-PCR 法で測定し、対照群 (正常血圧群; n = 87) の発現量と比較解析した。H7, Fb1, HML6-c14 は、syncytin 同様に栄養膜細胞層に発現が認められた。syncytin 2 は細胞性栄養膜細胞のみに発現していた。			

HML6-c14 は、他の4つと異なり細胞核に局在が認められた。各 HERV の発現定量解析では、PIH 群の発現量は、対照群に比べ HML6-c14 を除く4つの HERV で有意に低下していた。対照群に比べ、PIH 群で帝王切開分娩の割合が多いという分娩様式の偏りの影響を考慮し、対照群における自然経膈分娩（41例）及び帝王切開分娩（46例）の2群で比較した。HML6-c14 以外は総て自然経膈分娩群で有意に低下していた。そこで、帝王切開分娩の症例で PIH 群（16例）と対照群（46例）を比較したが、全サンプルの比較解析と同様の結果が得られた。

3. 研究成果の意義と学術的水準

HERV の生理学的機能の研究として、syncytin に代表されるように、その *env* 領域転写物による細胞融合能等に関するものが主であった。本研究は、HERV 転写活性に主眼を置いて研究を進めてきたところに特徴がある。その結果、胎盤で転写活性をもつ3つの HERV が同定され、その機能解明のための研究が進められている。各 HERV 発現と PIH との関連では、H7/F(XA34)は syncytin と同様な挙動を示すことや、*gag* 領域の転写物で333個のアミノ酸をコードする翻訳領域（open reading frame: ORF）を有し、新しい機能を担っている可能性があることから、H7/F(XA34)の PIH 病態への関与の可能性を指摘している。また発現細胞（細胞内局在）について、HML6-c14 転写物の細胞核内局在が示された。この HERV は長い ORF を欠いているが、その細胞局在は独特である。近年、non-coding RNA についての研究報告が活発である。HML6-c14 は non-coding RNA としての機能を有している可能性があり、その解明が期待される。この2つの HERV に関するこれらの知見は他に類を見ず、新規性の高い論文となっており、学術的水準も高いと評価できる。

以上より、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。