

【研究紹介】

「胚着床誘導機構」

The mechanisms to induce embryo implantation

金沢大学医薬保健研究域医学系分子移植学
(産科婦人科学)

藤 原 浩

1. はじめに

哺乳類はその生殖機構の戦略として胎児の子宮内での発育を選択したが、このため黄体形成や子宮内膜への胚着床、さらに胎盤形成に至る一連の過程が必要となり、母体-胚間の相互応答や母体組織の再構築が不可欠となった。胚の着床現象は主として内分泌系による制御を受けているが、その他にも胚からの因子が重要であることが指摘されており、胚-母体間のクロストークの機構に注目が集められている。

妊娠の成立・維持に対する免疫系の役割に関しては、これまで胎児を拒絶することなく子宮内寄生を寛容する機序に注目が集められてきたが、近年免疫細胞がより積極的に妊娠の成立・維持に貢献している可能性が示されつつある。我々は免疫系の細胞、特に末梢血中の免疫細胞がヒト妊娠黄体の分化と機能維持にむしろ積極的に関与していることを見だし、その後の検討で胚着床現象においても免疫系細胞は胚の存在を認識して機能を変え、子宮内膜の分化や胚の浸潤に対して促進的な役割を果たしていることを明らかにしてきた。これらの知見から胚の着床過程は従来からいわれている内分泌系による制御のみならず免疫系の制御も受けており、これら両システムのネットワークによる制御のもとで、相互認識と接着誘導、胚の活性化と上皮間への侵入と、さらに相互応答による胎盤形成と子宮内寄生の成立がおこなわれていることを提言した(図1)¹⁾。

現在上記の考えに基づいて着床不全症例に対する自己の免疫細胞を用いた治療法を開発し、現在臨床の現場で有意な成果を挙げてきている。本稿ではこれまでの成果を紹介し、今後の展望について述べる。

2. ヒト胚着床機構の概要

ヒトにおいても子宮内膜分化の制御は卵巣から分泌されるステロイドホルモンが重要とされている。増殖期にはエストロゲンが、また分泌期にはプロゲステロンが子宮内膜の腔上皮へ直接または間接的に作用することによって、またさらに胚からの因子も加わって胚着床に適した状態へと変化すると考えられている。ヒト胚は受精後、45日後に子宮内腔に移動するとされ、しばらく胚着床の準備がととのった子宮内腔で母体子宮内膜と相互応答を行いながらハッチングし、子宮内膜への接着の準備をすすめると推定されている。その後、内細胞塊を子宮面にむけて対峙し、受け入れの準備ができた後に胚は子宮内膜に接着するとされ、胚の子宮内膜への接着を媒介する分子としてインテグリン $\alpha V \beta 3$ 、L-selectin ligand, trophinin, CD9などが提案されている。

次の段階としてヒト胚は接着した後に活性化し、栄養膜細胞はその浸潤性を増すと考えられている。この活性化には最近前述した胚および子宮内膜の双方に発現する trophinin 分子同士の結合が関与する可能性が示されている。私たちが幹細胞の活性化分子として近年注目されて来た ALCAM 分子が同様に胚および子宮内膜の双方に発現し、胚の活性化を誘導する因子の一つである可能性を報告して来た。その後浸潤性を増したヒト胚はさらに基底膜を破壊して子宮内膜間質内へと一塊となって埋没するように侵入するとされている。排卵後7.5日目にはヒト胚は既に子宮内膜上皮下に埋没し、子宮側の栄養膜細胞は肥大し活性化されている像が観察され、排卵後12日目になると栄養膜細胞の層内に lacunar space が誘導されて、母体の血流との交通が開始される。栄養膜細胞から大量に産生され、LHと受容体を共用する絨毛性ゴナドトロピン HCG は母体血流を介して黄体に至り、プロゲステロン産生を刺激して胚の着床を維持する。このようにして血流を介した胚-母体間の相互応答が開始される。

さらに着床現象が進むと胚由来の絨毛外栄養膜細胞 (extravillous trophoblast, EVT) が、子宮内膜内へ侵入して母体動脈に浸潤し、これを再構築して収縮力を減弱させることにより絨毛間腔に十分な血流が供給される。この過程が障害されると胎盤機能不全が生じるが、その機構の詳細は未だに不明のままである。一方で EVT の浸潤は子宮筋層の内部3分の1に限られており、癌細胞より激しい EVT の浸潤が子宮内で停止し、かつ母体にとって他人の細胞である EVT が免疫学的な寛容を維持する機構の詳細も不明であり、ヒトの着床の多くの過程がブラックホールのままになっているのが現状である。

3. 反発分子による新しい母体-胚間の相互応答機構

適切な胚着床のためには、ある期間、胚と子宮内膜上皮が相互応答するための時間的猶予が必要と推察されるが、どのような機構で制御されているのかについては解明されていない。私たちは最近、局所における母体-胚間の直接の対話の期間制御に反発分子が関与している可能性を見出した。反発作用を有する分子として私たちは Eph-ephrin 系分子に着目した。Eph-ephrin 分子はリガンドと受容体の関係でともに細胞膜表面に存在し、結合した後、両側性に細胞内にシグナルが伝わり、その結果インテグリンなどの機能変化を経て、細胞間に反発力を誘導することが知られている。ここで特徴的なのは、いわゆる接着阻害分子とは違って、一旦分子同士が相互作用をした後にふたたび離れるという点が挙げられる。私たちは Eph-ephrin 系分子がヒト子宮内膜上皮細胞と胚で発

現することを報告してきた。その作用を解析したところ、EphA分子可逆的に胚の接着を遅らすことが示され、EphA分子の相互作用によって子宮内膜上皮上で胚との反発作用を誘導すること、一方で子宮内膜の上皮間の離開を誘導して栄養膜細胞の浸潤も促進することが示され胚の接着から内膜内への侵入に至る過程で、母体-胚間の相互作用の制御に関わっている可能性が推察された。

4. 血液細胞による新しい母体-胚間の相互応答機構

妊娠黄体は胚の維持に不可欠な内分泌器官であり、ヒトではその機能維持の主役はHCGとされている。しかしながら外因性にHCGを投与しても黄体は維持できず、血中に相当量のHCGが存在しても流産が進行するなど、別の調節因子の存在が推察されてきたが、これまでHCG以外の液性因子は同定されず、その機構の詳細は謎のままであった。そこで妊娠黄体に発現している分子の同定を試みた結果、T細胞との相互応答を介在する分子群の発現が観察された。着床部にもう一度目を向けると、排卵後12日目にはヒト胚はすでに子宮内膜内へ埋没しており、胚全体は母体血に囲まれた状態になっている。この母体血中には、末梢血単核球 (PBMC) が存在しており、胚組織と直接接したPBMCは再び血流を介して黄体組織へ移動できる。そこで、血流を介した相互応答に免疫細胞も参加しているのではと考えた。この仮説を実証するため、黄体細胞と末梢血単核球 (PBMC) を共培養して検討すると、妊娠初期のPBMCは黄体機能を賦活することが示され、血流を介した相互応答にはHCGのみならず、PBMCも関与しているという新しい概念が提示された(図1)²⁾。

我々はさらに末梢血中の遊走免疫細胞が妊娠成立の情報を子宮にも伝達し、胚着床に作用するののかについてマウスの着床実験を使用して検討した。着床前の妊娠4日目マウスから採取した胚盤胞を偽妊娠マウスに移植すると、子宮内膜の分化が完了した3-5日目の胚移植で胚着床が成立する。これをimplantation windowと呼んでいるが、同じく着床前の妊娠4日目マウスの脾臓細胞を投与すると本来胚が生着しない時期にも胚着床が誘導され、その後の検討で妊娠時の免疫細胞は子宮内膜の分化を促進して胚着床を誘導することが示された。また非妊娠時の胸腺細胞を用いて検討した結果、非妊娠時の免疫細胞にも胚着床を促進する細胞成分が確認された。

次にヒト胚の接着解析モデルで検討すると、本人のPBMCを共培養すると子宮内膜の接着率が著明に亢進することが観察され、本人のPBMCは子宮内膜接着能を亢

進させる可能性が示唆された。現在体外受精で妊娠しない内分泌刺激に不応性の子宮内膜分化不全患者が問題となっており、有効な治療法はない。そこで本人のPBMCを子宮内膜内腔に投与して内膜分化の促進を図り、その後胚移植をするという新しい治療法が開発された。連続4回以上体外受精不成功者を対象にこの治療法を試みたところ、妊娠率の向上が見られた³⁾。まがウシの着床率も免疫細胞を用いた療法で向上することが示された。

5. 胎盤形成時の胚-母体間の相互応答機構

上述したように4週後半ですでにEVTは母体脱落膜に侵入している。近年我々は血管に浸潤するEVTにケモカイン受容体のCCR1が発現していることを見だし、さらにケモカインがEVTの浸潤を誘導することが明らかとなった⁴⁾。その後、母体動脈内に浸潤しているEVTの周囲に血小板が沈着し、活性化している像が観察された。近年活性化した血小板は細胞遊走誘導因子を分泌することが知られている。そこで血小板の作用を検討したところ、EVTの浸潤を促進することが示された。以上より、母体動脈内のEVTに沈着した血小板がケモカインのgradientを形成し、EVTの動脈浸潤をさらに誘導するという新しい機序が提言された⁵⁾。さらに黄体形成における血管新生においても血小板から分泌されるケモカインが血管内皮細胞の遊走誘導に重要な働きを演じている可能性が示された。

6. 結語

以上のように、胚の着床過程は従来からいわれている内分泌系による制御のみならず免疫系の制御も受けており、これら両システムのネットワークによる制御のもとで、相互認識と接着誘導、胚の活性化と上皮間への侵入と、さらに相互応答による胎盤形成と子宮内寄生(免疫寛容の成立)がおこなわれている(図1)。現在は糖鎖抗原に着目して胚シグナルのkey moleculeの同定を試みており、胚シグナルをmimicする合成peptideを得ることにより生殖医学のみならず、臓器移植の分野に大きな貢献を与えるものと期待される。

参考文献

- 1) Fujiwara H, Araki Y, Toshimori K. Is the zona pellucida an intrinsic source of signals activating maternal recognition of the developing mammalian embryo? J Reprod Immunol. 2009;81: 1-8.
- 2) Fujiwara H. Do circulating blood cells contribute to maternal tissue remodeling and embryo-maternal cross-talk around the implantation period? Mol Hum Reprod. 2009;15: 335-43.
- 3) Yoshioka S, Fujiwara H, Nakayama T, Kosaka K, Mori T, Fujii S. Intrauterine administration of autologous peripheral blood mononuclear cells promotes implantation rates in patients with repeated failure of IVF-embryo transfer. Hum Reprod. 2006;21: 3290-4.
- 4) Sato Y, Higuchi T, Yoshioka S, Tatsumi K, Fujiwara H, Fujii S. Trophoblasts acquire a chemokine receptor, CCR1, as they differentiate towards invasive phenotype. Development. 2003;130: 5519-32.
- 5) Sato Y, Fujiwara H, Zeng BX, Higuchi T, Yoshioka S, Fujii S. Platelet-derived soluble factors induce human extravillous trophoblast migration and differentiation: platelets are a possible regulator of trophoblast infiltration into maternal spiral arteries. Blood. 2005 15;106: 428-35.

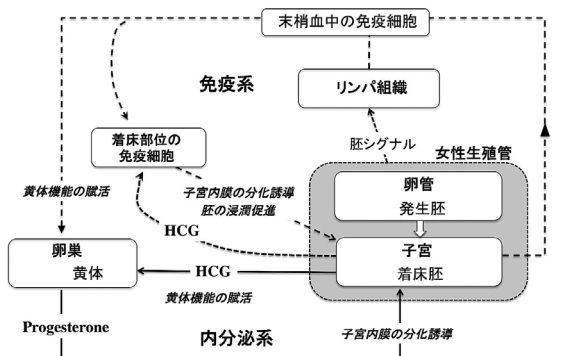


図1. 内分泌系と免疫系による胚着床誘導機構