

## 総括研究報告書

課題番号：29-26

課題名：不育症・血栓症の原因としての抗リン脂質抗体症候群に対する診断・治療法の開発

宮戸 健二 (所属施設) 国立成育医療研究センター  
(所属・職名) 再生医療センター・室長

(研究成果の要約) 本研究では、不育症例において確定診断が進んでいない抗リン脂質抗体症候群の診断基準を確立し、さらに抗リン脂質抗体症候群の発症を予防するための基盤研究および開発研究を行うことを最終目標とした。特に、不育症例で高頻度に認められる抗ホスファチジルエタノールアミン抗体による抗リン脂質抗体症候群の発症メカニズムと診断法および治療法の開発をめざした。本研究は、申請者のこれまでの研究成果に裏付けられた独自の研究であり、不妊症だけでなく、血栓によって引き起こされる全身性の疾患の解明にも波及効果がある。本研究では、抗リン脂質抗体だけでなく、リン脂質が多量に血管内や子宮・卵管内に存在することによる疾患発症の可能性についても検討した。本研究に先立って、ホスファチジルアタノールは卵に対して強い細胞障害性をもち、膜貫通タンパク質 CD9 の膜貫通領域の合成ペプチドによって、その細胞障害性が完全に中和されることが、申請者の研究から明らかになっている。本年度は、卵、子宮内膜細胞、血管内皮細胞、神経細胞をモデルケースとして、リン脂質による細胞障害性の分子メカニズムの解明とその中和法の開発に取り組んだ。

## 1. 研究目的

急速なライフスタイルの変化は晩婚・晩産化をもたらし、我が国の出生率を急速に低下させ、超少子化状態を作り出している。こういった状況にともない生殖医療による診療件数が増加し、出生児が日本全体の出生児数の 3.1% (2011 年の治療にて 32,426 人出生) を超え、毎年上昇傾向にある。人口減少への歯止めがかからない状況の中、ライフスタイルの変化に対応して、生殖医療の質と効率を向上させる必要がある。また世界的にも、35 歳以上の高齢不妊症夫婦に対しては現在の生殖補助医療によって治療しても限界があると考えられている。そこで、加齢にともなう妊孕性低下のメカニズム解明とエビデンスに基づいた的確な治療システムを構築するために、遺伝子・タンパク質・低分子物質の各レベルで病態および病因を明らかにすることが必要である。本研究では、配偶子の機能低下が原

因と考えられる不妊症を中心に解析し、新しい診断・治療法を開発する基盤とし、有用な情報を積極的に社会に発信する。

加齢や環境変化にともなって配偶子の機能が低下することが疫学研究をベースとした調査研究によって蓄積されている。それでもなお、配偶子の機能低下につながる原因物質の特定にはいたっていない。本研究では、疾患モデル動物を用いた研究により、従来の研究では到達できなかった配偶子機能を低下させる原因物質の特定に取り組んでいる。その成果として、脂質、カルシウム、クエン酸といった物質の配偶子内での不足または蓄積量の増加によって配偶子の機能低下が引き起こされることが考えられる。また、本研究班には基礎研究者と臨床研究者が参加していることから、物質の特定から検証までを行うことが可能である。さらに、配偶子機能の低下は、加齢や環境変化といった後天的な原因ばかりでなく、

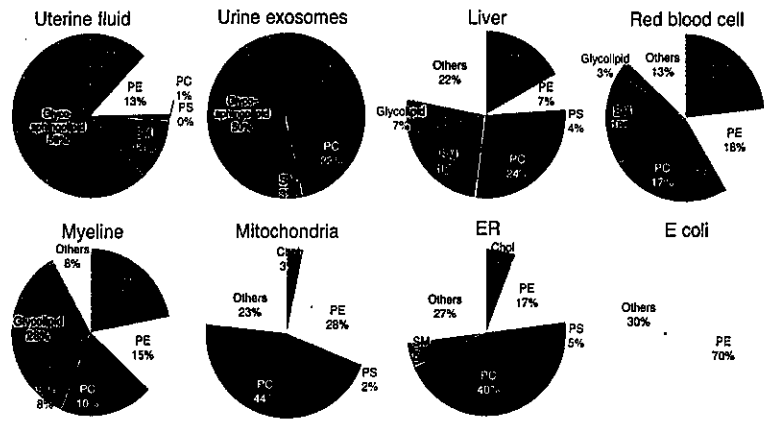


図1 細胞膜・オルガネラ膜の脂質組成

配偶子の形成過程に起因する可能性も考えられるため、配偶子形成についても疾患モデル動物を用いた解析を行い、可能性の是非を検証することで、新しい知見が得られると考えられる。

2. 研究組織

研究者	所属施設
宮戸 健二	国立成育医療研究センター
齊藤 英和	同上

3. 研究成果

本年度は以下の3項目について検討を行った。

(1) 子宮内液に含まれる脂質組成

脂質の体内動態を調べるため、まず、子宮内液に含まれる脂質組成を調べた。性成熟したマウスの子宮内液の脂質成分を解析した結果、スフィンゴ糖脂質の割合が58%と最も高く、コレステロールが14%、リン脂質であるスフィンゴミエリン(14%)、ホスファチジルエタノールアミン(PE) (13%)が含まれ、ホスファチジルコリン(PC) (1%)とホスファチジルセリン(PS) (0%)は微量であることがわかった(図1)。続いて、子宮内液の脂質成分と、他の細胞膜(ミエリン鞘、肝細胞、赤血球)、オルガネラ膜(ミトコンドリア、小胞体)、大腸菌の脂質成分を比較した(図1)。その結果、子宮内液ではスフィンゴ糖脂質の割合が顕著に高く、一方、PEの割合は肝臓(7%)よりは高かったものの、大腸菌(70%)、ミトコンドリア(28%)、赤血球(18%)、小胞体(17%)、ミエリン鞘(15%)よりは低く、14%であった(図参照)。しかしながら、我々が着目しているPE、特に顕著な細胞障害性を有する分子種であるPE

(C18:0/C20:4)の割合が疾患発症の前段階に顕著に増加する可能性が考えられた。

(2) CD9を介して細胞障害性のPE(C18:0/C20:4)が体液中および血液中に放出される分子メカニズムの解析を行い、その分子メカニズムの一端を明らかにした。現在、原著論文を投稿準備中である。さらに、PEの体内における動態

を制御する細胞外微粒子としてマイクロエクソソーム(microexosome)の存在を提唱し、総説として発表した(図2)。

(3) PE(C18:0/C20:4)による細胞障害性に対する対処法(CD9ペプチドによる毒性中和)を、マウス卵子をモデルとして検討した。今後、子宮内膜細胞、血管内皮細胞、神経細胞を用いてさらに検討を行う。

4. 研究内容の倫理面への配慮

(宮戸) 実験動物を用いる研究については、国立成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施した(承認番号2003-002, 2005-003)。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめた。

(齊藤英和) 臨床データ解析に関しては、治療上に必要な既に検査された値の解析のみである。マウスを用いた実験については、管理者と相互協力のもと適切な環境のもと飼育管理を行った。

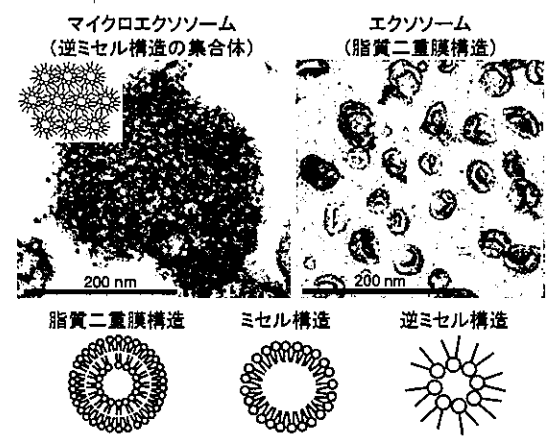


図2 マイクロエクソソームの超微形態