

胚と脱落膜の相互関係に着目した着床メカニズム

埼玉医科大学 産科婦人科 教授 梶原 健

はじめに

ヒトの妊娠が成立するためには、子宮内膜と胚との密接な相互作用が重要である。ヒトの妊娠成立過程において多数の胚が淘汰されるが、その原因の多くは胚の異数性 (aneuploidy) であると考えられている。そのため母体はこれらの不適切な胚が子宮内膜へ浸潤することを阻止する必要があると考えられる。近年、脱落膜化した子宮内膜には能動的に良好胚を認識し選択する能力 (Sensor of Embryo Quality) があるとする仮説が提唱されている^{1,2)}。

本稿ではこの新しい概念に関して、これまでの研究結果とそこから導かれた仮説に関して解説を行なう。

子宮内膜の脱落膜化

脱落膜は妊娠の成立に伴い変化し、妊娠の終結に伴い胎盤とともに剥脱する子宮内膜組織の一部と定義される。子宮内膜間質細胞が妊卵の着床に伴い形態学および機能的に分化をする過程を脱落膜化といい、この分化過程は絨毛細胞の浸潤の制御、さらには胎盤形成に重要な役割を果たしている。

脱落膜化の障害は、不妊、反復流産、妊娠高血圧症候群、胎児発育遅延などの妊娠に関連した疾患だけではなく、子宮内膜症、子宮内膜癌の発症に関連することが報告されている (図1)³⁾。

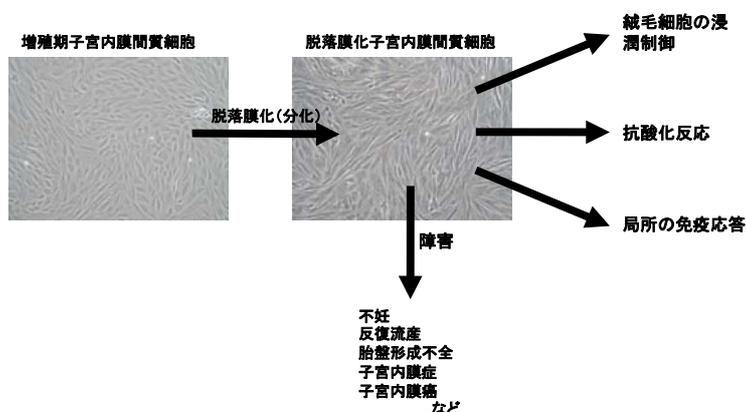


図1 脱落膜化細胞の生理学的役割とその障害

(文献3より引用・改変)

子宮脱落膜細胞による胚の認識と選択

ヒトは他の哺乳類と比較してその生殖効率は低く、月経周期毎の妊娠率 (Monthly Fecundity Rates; MFR) は 20-30%程度である⁴⁻⁶⁾。体外受精を受けたカップルの大多数において受精卵を子宮内に移植する事は可能であるが、着床に至るのはそのうち半数程度であり、さらにその半数以上がその直後に失われてしまう (Peri-implantation Loss)⁷⁾ことが知られている (図 2)。

着床直後に妊娠が継続されず、多くの胚が淘汰されてしまう現象は ART にのみに特徴的に起こっていることではなく、自然生殖過程においても同様に起こっていると推定されている⁸⁾。

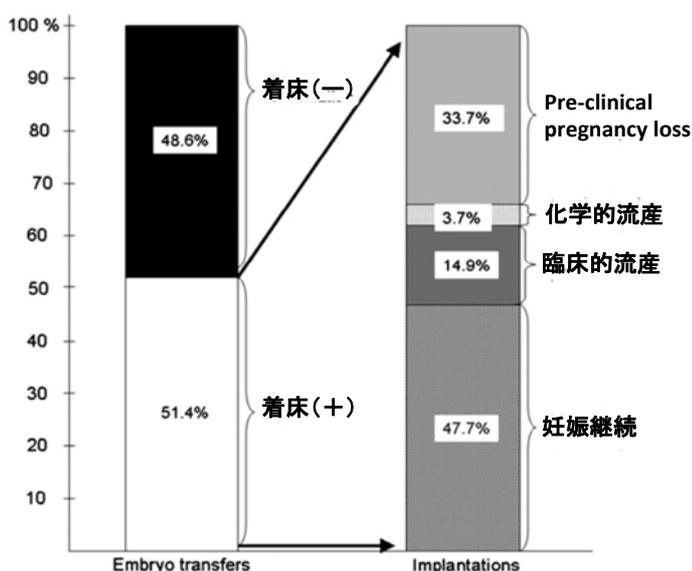


図2 移植された胚(n=179)の帰転

(文献7より引用・改変)

ヒトの分割胚の個々の割球の網羅的な遺伝子解析により、形態的に良好であった胚の約 70%に染色体の異数性を伴う割球が含まれていた。この比率は他の哺乳類と比較して約 10 倍高率であった⁹⁾。そのためヒトの場合、母体はこれらの不適切な胚の子宮内膜への浸潤を阻止する必然性があると考えられる。最近になりヒト胚と脱落膜化した子宮内膜間質細胞 (HESCs) を用いた共培養システムを用いた研究やマウスを用いた研究により、脱落膜細胞自身がゲノム不安定性を有する胚を認識し、良好胚を選択する能力 (Sensor of Embryo Quality) が存在し、逆に良好胚を認識・選択する能力の低下や欠如が着床不全や習慣性流産の一因になる可能性が提唱されている^{1,2)}。

胚の脱落膜化細胞の遺伝子発現に対する影響

前述した概念を支持するデータは、まずは透明帯を外した胚盤胞と HESCs の共培養実験によって得られた。発育を停止した胚盤胞（不良胚）と脱落膜化させた HESCs を共培養すると、着床現象に重要な役割を果たしていることが知られている IL-1 β 、IL-6、IL-10、IL-17、IL-18、CCL11、HB-EGF の脱落膜化 HESCs からの分泌が抑制されていた。しかし、正常に発育している胚盤胞（良好胚）と共培養した場合にはその分泌抑制は認められなかった。また、脱落膜化していない HESCs の場合はいずれの胚盤胞と共培養してもそのような現象は観察されなかった¹⁰⁾。

その後の研究で、体外受精にて子宮内への移植には適さない不良胚と、移植後に妊娠が確認された良好胚を、それぞれ個々に培養していた培養液を脱落膜化 HESCs に添加すると、良好胚の培養液を添加した場合は 15 遺伝子の発現が変動しただけであったのが、不良胚の培養液を添加した場合には 449 の遺伝子の発現変動が認められた。さらに Gene ontology 解析を行ったところ、発現変動のあった遺伝子の多くは、transport、translation、細胞周期の制御に関連した遺伝子であった。また、良好胚または不良胚の培養液をそれぞれマウスの子宮腔内に灌流し、子宮内膜組織 (in vivo) で発現の変動した遺伝子を網羅的に解析したところ、良好胚の培養液を灌流した場合のみ、代謝に関連した多くの遺伝子の発現が上昇し、さらには着床過程に重要な役割を果たしていることが広く知られている COX2、cytochrome p450 26a1 や osteopontin などの遺伝子の発現が有意に上昇していた¹¹⁾。これらのデータは、子宮内膜は発育不良胚のみならず、発育良好胚からのシグナルをも認識し、胚の選択を能動的に行っている可能性を示唆するものと考えられる。

胚の認識と選択における脱落膜細胞の migration の役割

着床過程において一旦胞胚が子宮内膜被覆上皮細胞に接着すると、その後胞胚は上皮を破りさらには間質へ侵入（浸潤）する。これまで、この着床過程において脱落膜細胞は受動的な振る舞いをしているにすぎないと考えられていた。我々の不死化した細胞株を用いた in vitro 着床モデルでの研究からも、脱落膜化した細胞は互いの gap junction 数を増加させ絨毛細胞の侵入を抑制すると考えられた¹²⁾。しかし脱落膜化した細胞はむしろ積極的に胚を認識し、さらには migration することにより胞胚を囲んでいくことが明らかとなった。

Grewal らはヒトとマウスの胚と HESCs を用いた in vitro 着床モデルにおいて、HESCs 上で絨毛細胞が outgrowth していくに従い、HESCs も胞胚の周囲に migration しており、絨毛細胞の脱落膜細胞への浸潤を制御している

のを観察した^{13,14)}。また Gellersen らは、この migration は非脱落膜化 HESCs よりも脱落膜化した HESCs において顕著であり、その脱落膜化 HESCs の migration に伴い絨毛細胞がさらに outgrowth していくことを観察した。そして、この HESCs の migration には絨毛細胞から分泌される Platelet-derived Growth Factor AA (PDGF-AA) の作用が重要であると報告している^{15,16)}。また別の報告では、同様の実験で良好胚と培養した場合、脱落膜化した HESCs は胚に向かい migration していくが、不良胚である 3PN の胚に対して脱落膜化 HESCs は migration しなかった。これらは、脱落膜化した細胞が子宮内膜被覆上皮を破って侵入してきた 3PN 胚などの異常なヒト胚の浸潤や outgrowth を積極的に抑制する能力を持ちうることを示唆する。さらに興味深いことに、習慣性流産の患者から分離培養した HESCs の場合には、良好胚のみならず 3PN の胚に向かっても HESCs が migration していることが観察され¹⁷⁾、習慣性流産の場合、脱落膜化細胞が前述してきたような胚を選択する能力が障害され、そのために流産を繰り返している可能性がある。

胚から脱落膜細胞へ分泌されるシグナル

上述したデータのみでは、胚自身が発育能力を有することをどの様なシグナルで脱落膜細胞に伝えているのか明らかではなかった。しかし、最近の研究により胚から分泌される serine-protease がそのシグナル候補の一つとして挙げられている。マウスを用いた実験において、着床しつつある胚盤胞から分泌されるトリプシンが子宮内膜被覆上皮腺細胞の apical border に存在する上皮 Na⁺チャンネルを活性化し、これにより腺細胞膜が脱分極化し、L-type の Ca²⁺チャンネルを介した上皮細胞への Ca²⁺の流入が起っていることが明らかとなった。さらには、この一時的な Ca²⁺変動は転写因子の CREB のリン酸化を促進し、その結果 COX2 の発現の上昇と、PGE2 の分泌が誘導されることが報告されている。さらに興味深いことに、ヒトの発育良好胚を培養していた培養液をヒト上皮腺細胞 (EEC) に添加すると一過性の Ca²⁺変動が起こるが、不良胚を培養した培養液を EEC に添加すると長時間の Ca²⁺変動が起き、その結果小胞体ストレスが誘導されていた^{11,18)}。

まとめ

これまで着床過程において胚は能動的な役割を果し、その一方脱落膜細胞はどちらかという受動的な役割を果たしているものと考えられてきた。

しかしながら、本稿で述べてきたように、脱落膜化細胞には良好な胚を認識・選択し、積極的にその胚の着床過程をサポートする働きをしている

ことが明らかとなっている。現在のところ、習慣性流産及び着床不全について明確なエビデンスの存在する治療法はない。

しかしながら、この **peri-implantation loss** が起きるメカニズムを明らかにすることは不妊カップルの治療成績を向上させる一つの **Key** であると考えられる。

【引用文献】

- 1) Macklon NS, Brosens JJ :The human endometrium as a sensor of embryo quality. Biol Reprod :91:98,2014
- 2) Lucas ES, Salker MS, Brosens JJ :Uterine plasticity and reproductive fitness. Reprod Biomed Online :27:506-514,2013
- 3) Kajihara T, Brosens JJ, Ishihara O :The role of FOXO1 in the decidual transformation of the endometrium and early pregnancy. Med Mol Morphol :46:61-68,2013
- 4) Chard T :Frequency of implantation and early pregnancy loss in natural cycles. Baillieres Clin Obstet Gynaecol :5:179-189,1991
- 5) Foote RH, Carney EW :Factors limiting reproductive efficiency in selected laboratory animals. Ann N Y Acad Sci :541:683-696,1988
- 6) Stevens VC :Some reproductive studies in the baboon. Hum Reprod Update :3:533-40,1997
- 7) Boomsma CM, Kavelaars A, Eijkemans MJ, et al :Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. Hum Reprod 2009 :24:1427-1435,2009
- 8) Macklon NS, Geraedts JP, Fauser BC :Conception to ongoing pregnancy: the 'black box' of early pregnancy loss. Hum Reprod Update :8:333-343,2002
- 9) Mertzaniidou A, Wilton L, Cheng J, et al :Microarray analysis reveals abnormal chromosomal complements in over 70% of 14 normally developing human embryos. Hum Reprod :28:256-264,2013

- 10) Teklenburg G, Salker M, Molokhia M, et al :Natural selection of human embryos: decidualizing endometrial stromal cells serve as sensors of embryo quality upon implantation. *PLoS One* :5:e10258,2010
- 11) Brosens JJ, Salker MS, Teklenburg G, et al :Uterine selection of human embryos at implantation. *Sci Rep* :4:3894,2014
- 12) Wongwananuruk T, Sato T, Kajihara T, et al :Endometrial androgen signaling and decidualization regulate trophoblast expansion and invasion in co-culture: A time-lapse study. *Placenta* :47:56-62,2016
- 13) Grewal S, Carver JG, Ridley AJ, et al :Implantation of the human embryo requires Rac1-dependent endometrial stromal cell migration. *Proc Natl Acad Sci U S A* :105:16189-16194,2008
- 14) Grewal S, Carver J, Ridley AJ, et al :Human endometrial stromal cell rho GTPases have opposing roles in regulating focal adhesion turnover and embryo invasion in vitro. *Biol Reprod* :83:75-82,2010
- 15) Gonzalez M, Neufeld J, Reimann K, et al :Expansion of human trophoblastic spheroids is promoted by decidualized endometrial stromal cells and enhanced by heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and interleukin-1 β . *Mol Hum Reprod* :17:421-433,2011
- 16) Gellersen B, Wolf A, Kruse M, et al :Human endometrial stromal cell-trophoblast interactions: mutual stimulation of chemotactic migration and promigratory roles of cell surface molecules CD82 and CEACAM1. *Biol Reprod* :88:80,2013
- 17) Weimar CH, Kavelaars A, Brosens JJ, et al :Endometrial stromal cells of women with recurrent miscarriage fail to discriminate between high- and low-quality human embryos. *PLoS One* :7:e41424,2012
- 18) Ruan YC, Guo JH, Liu X, et al :Activation of the epithelial Na⁺ channel triggers prostaglandin E₂ release and production required for embryo implantation. *Nat Med* :18:1112-1117,2012