

神澤医学賞受賞講演

精子形成・着床現象・初期発生 of 細胞内情報伝達系を分子レベルで解明し妊娠率・着床率を改善する方法と新規薬剤の開発を目指したトランスレーショナルリサーチ

浜松医科大学医学部産婦人科学講座 准教授 杉原 一廣

近年、診断や創薬を目指したトランスレーショナルリサーチが注目されている。私は、着床機構・精子形成・癌の浸潤転移に関する原理・原則を解明すべく基礎研究（参考文献 1-15）を続けてきた。さらに基礎研究によって明らかになった成果をふまえて、現在、産婦人科臨床医として“臨床応用を目指した研究と創薬”を進めている(9, 11, 15)。

第 11 回神澤医学賞受賞講演では、受精・着床に関連した研究成果と新規抗癌剤の開発についてご紹介する。

(1) 胚と子宮内膜の接着分子トロフィニンに着目した研究

I. ヒト胚の着床と細胞接着分子トロフィニン

ヒト受精卵は胚盤胞 (blastocyst) まで自身で分裂・増殖し発生する。やがて子宮腔に達した後は、implantation window と呼ばれる時期の子宮内膜に接着し、『胎盤』を形成して母体から栄養の供給を受ける必要がある。胚盤胞が胚子極で子宮内膜上皮に接着し着床が成立する頻度は健常な女性でも比較的稀である。不妊症患者に対する治療法として体外授精が行われているが妊娠率は頭打ちである。その主たる原因の 1 つが着床不全と考えられる。しかしながら着床不全を改善し妊娠の効率を上げる有効な方法は現在のところない。

ところでヒトの胚を用いた実験は非常に困難なため、ヒトの着床機構を分子レベルで解明することは極めて難しい課題である。我々は、着床の時期に時間的・空間的な特異性をもって発現する接着分子“トロフィニン”を新規に同定し、その機能を解析して、ヒトの着床現象の一端を明らかにしようとしている。トロフィニンは相同的 (homophilic) な接着分子で、胚盤胞と子宮内膜がトロフィニンを介して触れあうように結合することにより細胞間の接着 (initial adhesion) が成立する。トロフィニンは着床前に胚盤胞の apical cell surface に発現する。子宮内膜は、胚盤胞が近づくと胚盤胞から分泌される hCG によりトロフィニンが誘導され強発現するようになる。トロフィニンが hCG のパラクラインにより誘導されることは子宮外妊娠の解析より明らかとなった(4-9, 11-13)。

トロフィニン・ノックアウトマウスの作製と解析より、トロフィニンがマウスでは着床に関与しないことが判明した(5)。一方、霊長類の着床にトロフィニンは必要であるがサル目では卵管に発現せず子宮外妊娠がほとんどない。よって、トロフィニンは齧歯目からサル目、そしてヒトへの進化の過程で着床に関与する接着分子としての機能を獲得したことが示唆された(5, 8, 12)。

II. トロフィニンは着床における分子スイッチを構成する

ヒトやサルでは胚盤胞と子宮内膜が接着すると、接着した部分の栄養外胚葉は急速に増殖と浸潤を開始する。細胞形態を変化させた栄養膜細胞 (トロフォブラスト) は子宮内膜に浸潤し、細胞分裂を繰り返しながら細胞運動することで着床が進む。一方、接着しなかった部分の栄養

外胚葉は細胞増殖をしない。これらの事実より、我々はトロフィニンどうしのホモフィリックな接着が細胞内情報伝達系を活性化するスイッチとして働くという仮説を立てた。そこで、まずトロフィニンの接着を mimic する GWRQ ペプチドを同定し分子機構を解析した(7)。

着床時の栄養外胚葉では EGFR ファミリーの ErbB4 が発現し、ErbB4 の細胞質ドメインはトロフィニン・ビスチン(トロフィニンの細胞内調節分子)と結合して複合体を形成しているため、HB-EGF が細胞表面で ErbB4 に結合しても ErbB4 はリン酸化されずチロシンキナーゼは不活性である。次いでトロフィニンによる細胞接着が起こるとトロフィニンはビスチンから解離し ErbB4 は活性化される。つまり、トロフィニンは細胞接着分子として機能すると同時に、ErbB4 の分子スイッチとして機能することが判明した。トロフィニンは、トロフォブラストの細胞内情報伝達系を介して細胞運動と細胞分裂を促進する。我々の研究より、トロフォブラストが子宮内膜への浸潤能を獲得する過程をトロフィニンに着目し分子レベルで解明した(7)。

III. トランスレーショナルリサーチ

現在、トロフィニンに関連する基礎的研究より得られた知見を産婦人科医の立場で臨床へ応用し、受精・着床過程を改善して妊娠率を上げる方法と新規薬剤の開発を進めている。講演ではその成果も紹介する(9, 11)。

(2) 腫瘍血管内皮特異的分子標的治療薬の開発

抗癌剤は血中を循環するため投与量に応じて副作用が問題になる。我々は腫瘍血管内皮細胞へ特異的に薬剤を運ぶことにより、副作用の問題を克服し優れた治療効果が期待できる新規の血管内皮標的薬を開発し創薬を進めている。

まず、糖鎖構造と癌転移機構に着目し peptide displaying phage library をスクリーニングして糖を代用するペプチドを探した。クローニングしたペプチド IELLQAR (I-ペプチド) は未知のレセプター(I-ペプチドレセプター: IPR)と結合し、メラノーマ細胞(B16 FT-III)の肺転移を阻害する。この IPR を同定するべく実験をすすめ 2 つの IPR を同定した(15)。IPR の 1 つが腫瘍血管内皮に特異的に発現する Annexin 1 であることが判明した。Alexa Fluor® 488 を用い蛍光標識したペプチドは腫瘍血管に集積し腫瘍内に短時間で広がる。さらに HSP90 阻害剤である geldanamycin(GA) analog を結合しマウスに投与したところ、ペプチドが Annexin 1 特異的な targeting vehicle となることを確認した。現在、腫瘍新生血管に特異的に結合するペプチドを用いた新規薬剤を開発中である。

参考文献

1. Sugihara K et al.: The exocyst complex binds the small GTPase RalA to mediate filopodia formation.
Nature Cell Biology 4(1): 73-78, 2002.
2. Akama TO, Nakagawa H, Sugihara K et al.: Germ cell survival through carbohydrate-mediated interaction with Sertoli cells.
Science 295(5552): 124-127, 2002.
3. Sugihara K et al.: Rac1 is required for the formation of three germ layers during gastrulation.
Oncogene 17(26): 3427-3433, 1998.

4. Suzuki N, Nadano D, Paria BC, Kupriyanov S, Sugihara K, Fukuda MN: Trophinin expression in the mouse uterus coincides with implantation and is hormonally regulated but not induced by implanting blastocysts.
Endocrinology 141(11): 4247-4254, 2000.
5. Nadano D, Sugihara K et al.: Significant differences between mouse and human trophinins are revealed by their expression patterns and targeted disruption of mouse trophinin gene.
Biology of Reproduction 66(2): 313-321, 2002.
6. Aoki R, Suzuki N, Paria BC, Sugihara K et al.: The Bysl gene product, bystin, is essential for survival of mouse embryos.
FEBS Letter 580: 6062-6068, 2006.
7. Sugihara K et al.: Trophoblast cell activation by trophinin ligation: Possible role in human embryo implantation.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA:PNAS 104(10): 3799-3804, 2007.
8. Sugihara K et al.: Signal transduction in human embryo implantation.
Cell Cycle 6: 10, 1153-1156, 2007.
9. Sugihara K et al.: Induction of trophinin in human endometrial surface epithelia by CG β and IL-1 β .
FEBS Letter 23:582(2):197-202, 2008
10. Kabir-Salmani M, Fukuda MN, Kanai-Azuma M, Ahmed N, Shiokawa S, Akimoto Y, Sakai K, Nagamori S, Kanai Y, Sugihara K, Iwashita M: The Membrane-Spanning Domain of CD98hc Promotes α v β 3 Integrin Signals in Human Extravillous Trophoblasts.
Molecular Endocrinology 22(3):707-715, 2008
11. Hatakeyama S, Sugihara K et al.: Enhancement of human sperm motility by trophinin-binding peptide.
Journal of Urology 180(2):767-771, 2008
12. Fukuda MN, Sugihara K: An integrated view for L-selectin and trophinin function in human embryo implantation.
The Journal of Obstetrics and Gynecology Research 34(2):129-136, 2008
13. Fukuda MN, Sugihara K et al.: Trophinin: what embryo implantation teaches us about human cancer.
Cancer Biology & Therapy 7(8):1165-1170; 2008
14. Shimuzu Y, Kabir-Salmani M, Sugihara K et al.: Expression and Localization of Galectin-9 in the Human Uterodome
Endocrine Journal 55(5):879-887; 2008
15. Hatakeyama S, Sugihara K et al.: Identification of mRNA splicing factors as the endothelial receptor for carbohydrate-dependent lung colonization of cancer cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA:PNAS 106(9): 3095–3100, 2009