

3月22日（月）14:45-15:45

Translational Impact Award Lecture（「橋渡し研究」インパクト賞受賞講演）

The Placenta: A Recorder and Transducer of Environmental Toxics「胎盤：環境中の有害物質を記録し、変換する臓器」

Professor Rebecca Fry, University of North Carolina at Chapel Hill, USA

### Slide 1-2

胎盤は、妊娠中にのみ現れる限定的な臓器であるにもかかわらず、長期間の健康影響をもつ重要な臓器である。

胎盤には以下の機能がある：

- 母体からの直接の血流から胎児を守る
- 胎児に酸素や栄養を運ぶ
- 胎児にとり不要なものを母体に送る
- 母体の血流サイクルの生体異物から守る（排出機能）
- 母体と胎児の血流を分ける
- 胎児の発育に必要なホルモンを生産する内分泌機能
- 初期の免疫機能を供給するための抗体を通す

### Slide 3

胎盤の機能不全は妊娠に関わる疾患につながる

- 子癇前症（preeclampsia）
- 癒着胎盤
- 子宮内胎児発育不全
- 早産

また胎盤の機能不全は出生後の健康にも影響する

- 小児期の低体重または肥満
- 心血管疾患
- 神経認知障害

#### Slide 4

胎盤が形成される際は、細胞が移動したり母親の体内に侵入したりという複雑な経過をたどる。胎盤は癌細胞のように母体に浸潤して形成される。

胎盤の発達：受精から妊娠満期まで（図）

胎盤は胎児の発達と順調な妊娠に重要な役割を果たす。

#### Slide 5-6

有害物質、胎盤、妊娠、そして小児の健康について研究するための橋渡し研究

胎盤細胞の培養、マウスを使った実験、そして人を対象にした研究をしてきた。

今回話すのは、無機ヒ素、カドミウムそして PFAS 暴露についてである。

ヒ素は、世界各地で人々に健康被害を与えてきた「毒の王」である。各地の飲料水に含まれている。

#### Slide 7

タイのロンフブン地域を対象としたヒ素研究の結果を紹介する。妊娠中にヒ素に暴露された胎児の遺伝子発現が大規模にリプログラミングされた影響についてである。なぜこのようなことが起きるのか、何が遺伝子発現をコントロールしたのかを明らかにしたかった。

#### Slide 8

米国でも飲料水の中にヒ素が高濃度に検出される場所がある。井戸水が天然由来のヒ素に汚染されているのである。ノースキャロライナ州で使用されている 6 万 3000 か所の井戸水を調べたところ、約 1500 か所が 10ppb 以上、50ppb 以上のところも数百か所あった。最高値は 800ppb である。300 万人以上の人々がこれらの井戸水を飲んでいる。

#### Slide 9

妊娠中にヒ素に暴露するとその後に健康影響が現れる。マウスを使った実験では、妊娠中に暴露すると後に肝臓がんが発生する。ヒトを対象にした研究では、

妊娠中または小児期にヒ素に暴露すると、後に膀胱、咽頭、肺、腎臓などのがん、または気管支拡張症、慢性閉そく性肺疾患、急性心筋梗塞、慢性腎疾患などの、がん以外の疾患が増加すると報告されている。

#### Slide 10-12

メキシコで行ったコホート調査（BEAr=Biomarkers of Exposure to Arsenic）では、200人の妊婦を対象に行った。飲料水中と尿中のヒ素濃度を測定した。飲料水中のヒ素濃度は最高 240ppb で、全体の 53%は EPA の基準値（10ppb）を超えていた。28%は、25ppb を超えていた。妊娠中のヒ素暴露が高いほど、出生体重が低くなった。バングラデシュ、米国オクラホマ州でも同様の結果が報告されている。

#### Slide 13

なぜこのようなことが起こるのか、そのメカニズムを明らかにするため、CpG メチレーションに注目した。メチレーション癌は、特に、遺伝子のプロモーター領域の CpG アイランドにメチレーションマークが多くある場合に、細胞の遺伝子のスイッチをオンにしたりオフにしたりする。そこで、メキシコの調査参加者の臍帯血中の白血球内で起こるメチレーションを調べた。その結果、ヒ素暴露に結びつく興味深い遺伝子を見つけた。それらは、低体重とも結びつくものであった。

#### Slide 14, 15

その遺伝子とは、KCNQ1 である。これは染色体のホットスポットに存在する。ここには多くの imprinted genes（刷り込み遺伝子＝哺乳類において、父系または母系のみが発現する）が存在する。H19、IGF2 などで、これらは「オランダの飢餓の冬事件」研究など（DOHaD の初期研究）で、受精周辺期に暴露すると insulin-like growth factor 2 のメチレーションを抑制することなどが知られている遺伝子で、環境からの影響に対して非常に感受性の高い遺伝子群である。（図中、青色で示された遺伝子は父系、ピンク色は母系、黒は刷り込みゲノムではない）

#### Slide 16

## 刷り込み遺伝子（ゲノム刷り込み） — 出生前ヒ素暴露と出生体重

「刷り込み遺伝子」は、メンデルの遺伝の法則に反して、父方か母方どちらかの対抗遺伝子が発現する。母方に発現した遺伝子は成長を抑制する方に働き、子宮内で母体からの資源の活用を制限する。一方、父方の遺伝子の発現は子宮内で母体からの資源の活用を最大限にしようと働き、成長を促進する。これはしばしば「子宮内で胎児が母体の資源を利用するための母方と父方の遺伝子の綱引き」と呼ばれる。

### Slide 17-18

刷り込み遺伝子で興味深いのは、接合子形成の前に、**germline imprint**（生殖細胞系列の刷り込み）が始まることである。そこで、受精前のヒ素暴露が次世代の表現型に影響を与えているのではないか、という疑問が生じた。そこで、ノースキャロライナ大学の **Styblo** 博士と共に受精前の汚染物質暴露と出生後の健康影響について二つの論文を発表した。

### Slide 19

出生前のヒ素暴露と低出生体重との関係を考える上でもう一つ重要なのは、胎盤のホルモンの調整不全との関係である。胎盤は胎児の発達に重要なホルモンを分泌するが、この働きは環境汚染物質によって乱される。

### Slide 20

ヒ素：胎盤における環境ホルモン

胎盤中の細胞がヒ素に暴露された際の影響を見た。ヒ素の濃度により、糖質コルチコイド受容体によって発現する遺伝子が、発現を変化させることを見出した。図中、赤い部分が、発現が高くなっているところで、青い部分は発現が低くなっているところである。また、糖質コルチコイドの核受容体のターゲットとなっている同じ遺伝子の発現がメチレーションの変化につながっていた。右図に見られるように、より高いメチレーションが、より低い発現と相関していた。ヒ素は遺伝子の発現を変えて、ホルモンのシグナル経路を乱して胎盤の働きを傷つけてしまうのである。

### Slide 21

ヒ素は糖質コルチコイド受容体の活性化や核の移動を変化させ、糖質コルチコイドが DNA に結合するのを阻害する。

## Slide 22

ヒ素部分の要約：

- 出生前のヒ素暴露はヒトにおいて低出生体重に関連している
- 出生前のヒ素暴露はヒトにおいて刷り込みゲノムの CpG メチレーションを変える
- 受精前のヒ素暴露はマウスを使った実験では次世代の健康に影響を与える
- 胎盤細胞を使った実験では、ヒ素は糖質コルチコイドホルモンのシグナル経路を乱す

## Slide 23-24

次にカドミウムの影響である。システマティックレビューの結果、カドミウムは生殖に悪影響を与える報告が多数あることがわかった。その中で最もリスクが上がったのは子癩前症であった。

## Slide 25

胎盤中のカドミウム濃度は子癩前症のリスク上昇と相関がみられた。172 人の女性を対象に調査した結果、胎盤中のカドミウムが高かった場合、子癩前症と関連があった。興味深いのは、必須元素との関連である。セレンと亜鉛の濃度が低いと、リスクは上がる傾向が見られた。必須元素が高ければ、リスクは下がった。

## Slide 26, 27

子癩前症は妊娠 20 週以降に起こる高血圧、蛋白尿の症状である。血管新生やらせん状動脈形成を阻害する。胎児の健康悪化の最も大きな原因の一つである。世界的に妊娠の約 10%に起こる。子癩前症が起これば出産させるしかなく、これが早産という結果になる。この症状は栄養膜への浸潤がうまくいかないことが原因ではないかと考えられている。胎盤の細胞は癌細胞のように、母体に浸潤していくと冒頭で説明したとおりである。

## Slide 28

カドミウムは胎盤のセルが移動するのを阻害するのだろうか。図にあるとおり、カドミウムは濃度依存的に胎盤の細胞が移動するのを抑制する。細胞の移動が減ることにより、子癩前症につながるのではないかと疑われる。

#### Slide 29

カドミウムが子癩前症につながる経路としては、**TGF- $\beta$** （トランスフォーミング増殖因子=多くの細胞種に対して増殖抑制、細胞分化や細胞死の誘導に寄与する）が関係しているかもしれない。子癩前症の胎盤ではこの**TGF- $\beta$** の表現型が乱されている。

#### Slide 30, 31

**TGF- $\beta$** がオンになると、子癩前症のリスクが上がり、栄養膜への浸潤が減少する。このスイッチをオフにしたら、あるいはオフにしたらどうなるのだろうか。図は、**TGF- $\beta$** がオンの時とオフの時それぞれ、カドミウムの影響がどうなるかを示している。右端のバーが示すとおり、細胞の移動はカドミウムがあっても**TGF- $\beta$** がオフであれば増加する。一方、カドミウムがあり、**TGF- $\beta$** がオンであれば、細胞の移動の可能性は抑制される。

#### Slide 32, 33

**TGF- $\beta$** のスイッチだけでなく、エピジェネティックな調節機能でカドミウムが子癩前症につながる経路を緩和することができるのではないかと考え、**miRNA**に注目した。**miRNA**は小さなRNAで、遺伝子発現の調節因子である。トランスクリプターを分解したり、たんぱく質の合成を止めたりする。メチレーションが遺伝子発現のスイッチの役割を果たすように、**miRNA**もスイッチの役割を果たす。オンの時には遺伝子の転写が抑制される。

#### Slide 34, 35

**TGF- $\beta$** の経路に注目すると、この経路を調節する役割を果たす**miRNAs**を使うことで**TGF- $\beta$** のオン、オフをコントロールすることができるのではないか。そしてこれが可能であれば、胎盤細胞の移動や浸潤をコントロールすることができるのではないか。そこで、**miRNA26a**を使って実験した。**TGF- $\beta$** がオンの時は**miRNA**の発現が抑制されて細胞の移動が減少し、オフの時は発現が増殖して

細胞の移動が増加する。**miRNAs** を有害な重金属による影響を調節するメカニズムに使える可能性を見出したことは非常に重要である。

#### Slide 36

カドミウムによる胎盤への影響を要約する。

- 出生前のカドミウム暴露はヒトにおいて、特に胎盤に蓄積している場合、子癩前症と関連している。
- カドミウムは **TGF- $\beta$**  の経路のシグナルを乱す。
- **MiRNAs** はカドミウムによって引き起こされた **TGF- $\beta$**  経路のシグナル反応を調節している。

#### Slide 37-40

最後に、**Per/Polyfluoroalkyl substances (PFAS)**について。現在米国では、**PFAS** 汚染が大きな問題になっている。ノースキャロライナ州では、水道水中から検出され、人の健康への影響が重大な関心事である。そのため、「ノースキャロライナ **Policy Collaboratory**」からの資金を得て、我々のグループは「ノースキャロライナ **PFAS** 検査ネットワーク」に参加した。ノースキャロライナ大学、デューク大学、ノースキャロライナ州立大学などとの共同研究である。6 チームに分かれて州内の水のサンプル収集、どうすれば **PFAS** を取り除けるか、**PFAS** の毒性、**PFAS** 暴露の影響の分析などを行った。私はこの中の「**Team 5**」に入っている。

#### Slide 41

妊娠中の **PFAS** 暴露は様々な健康影響と関連している。例えば、出生児の低体重、妊娠率の低下、妊娠高血圧症と子癩前症の増加など。また成長後、甲状腺の疾患や血中コレステロール値の増加、ワクチンによる免疫獲得の低下などが報告されている。動物実験では、免疫システムの損傷、肝臓への悪影響、奇形、発達の遅れ、死産などに影響するという報告が多くある。

#### Slide 42

PFAS 暴露は、妊婦の健康や胎盤機能への悪影響はあるのか。そこで、胎盤に PFAS がどの程度蓄積しているのか、また胎盤機能への影響にはどのようなものがあるのかを細胞レベルで見てみた。

#### Slide 43-44

ノースキャロライナ大学附属病院でのハイリスク妊娠コホートで得られた 112 の胎盤を調べた。11 種類の PFAS が検出された。この中で PFOS が最も検出率が高く、濃度も高かった。赤い背景の数値が高い数値。同州東部のウィルミントンでの調査で採取された血中から検出された GenX や Nafion byproduct 2 (Nafion BP2)は検出されなかった。(今回の対象地区はノースキャロライナ州の中央部) この結果は、米国内の胎盤を調べた初めての報告である。海外での報告と比較すると図のようになる。

#### Slide 45, 46

胎盤中の PFAS と様々な社会的背景やリスクの相関を見た。母親の喫煙状況を見ると、PFAS の種類によっては喫煙と相関があった。また民族で見ると PFAS の種類によっては相関があるものもあった。PFAS 暴露と健康影響を見ると、子癩前症、出生時体重、妊娠週数には相関が見られなかった。図は、胎盤中の PFAS 濃度と出産週数との関連を示したものである。

#### Slide 47

もちろん、チャペルヒルでのコホートで関連が見られなかったからといって PFAS の健康影響がないとは言えない。これまでに妊娠中の PFAS 暴露と健康影響との関連についてはいくつもの報告が出されている。これからも PFAS には注目していく。

#### Slide 48

細胞レベルで、PFAS の中でもどの物質がどのように胎盤に影響を与えているのか、そのメカニズムを明らかにしたいと思ったので、PFOS、PFOA、GenX が胎盤細胞の中でどのような挙動をするかを研究した。妊娠初期に栄養膜として知られる胎盤細胞が移動し、浸潤することによって子宮壁に動脈を形成する。動

脈の形成により胎盤への血流が増え、胎児が成長する。この栄養膜の移動と浸潤が阻害されると、子癩前症のような妊娠合併症が起こる可能性がある。

#### Slide 49

胎盤細胞の移動を調べると、これら3種類の **PFAS** はいずれも胎盤細胞の移動を阻害し、**GenX** が最も強い影響があった。

#### Slide 50

このような **PFAS** の胎盤細胞移動と免疫機能の阻害とは関係があるのだろうか。栄養膜と免疫システムは互いに影響しあっており、胎児を病原体から守ったり栄養膜の浸潤や移動を調節していることが知られている。**PFAS** は他の細胞で免疫シグナルを乱すことも報告されているのである。

#### Slide 51

**PFAS** に暴露された胎盤細胞の免疫の鍵となるケモカインの遺伝子発現を見た。いずれのケモカインも、暴露により減少する。いくつかのケモカインは、子癩前症に影響すると考えられているケモカインである。

#### Slide 52

実験の結果から、**PFAS** は胎盤細胞の移動を妨げることが、コホート調査からは胎盤に蓄積することが明らかになった。

サマリーとして、胎盤はまさに環境汚染物質からの悪影響のセンサーであり、**transducer** (変換器) でもある。この講演では、ヒ素、カドミウム、**PFAS** による影響を紹介したが、これらの研究をする目的は、これらの環境汚染物質による胎盤への健康影響のメカニズムを明らかにし、予防につなげるためである。