

妊娠初期胎盤由来の不死化ヒト胎盤絨毛外性栄養膜細胞 (TCL-2) の 内分泌機能及びペルオキシソームについて

橋本フミ恵,^{*,a} 小野明日香,^a 松岡菊美,^b 横田貞記,^c
関 博之,^b 竹田 省,^b 林 秀徳^a

Hormone Excretion and Peroxisomes of Human Immortalized Extravillous Trophoblast Cells (TCL-2) Derived from First-Trimester Placenta

Fumie HASHIMOTO,^{*,a} Asuka ONO,^a Kikumi MATSUOKA,^b Sadaki YOKOTA,^c
Hiroyuki SEKI,^b Satoru TAKEDA,^b and Hidenori HAYASHI^a

^aFaculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, 1-1 Keyakidai, Sakado, Saitama 350-0295, Japan,

^bDepartment of Obstetrics and Gynecology, Saitama Medical Center, Saitama Medical University,
1981 Kamoda, Kawagoe, Saitama 350-8550, Japan, and ^cSection of Functional Morphology,

Faculty of Pharmaceutical Science, Nagasaki International University, 2825-7
House Tenbosu-machi, Sasebo, Nagasaki 859-3298, Japan

(Received February 5, 2009; Accepted July 10, 2009)

We studied the hormone excretion of human immortalized extravillous trophoblast cells (TCL-2, first-trimester cells) and determined whether peroxisomes are present in TCL-2. The results of TCL-2 were compared with those of TCL-1 (third-trimester cells). Morphologically, TCL-2 cells were fibroblast-like, and the growth rate of TCL-2 was slower than that of TCL-1 during 3 days culture. Progesterone was detected in the medium of TCL-2, and its concentration was approximately one-tenth of that in TCL-1. The activity of the peroxisomal marker enzyme catalase was detected in the TCL-2 homogenate, and it was about one-third the level of that in TCL-1. Fatty acyl-CoA oxidase activity was detected in TCL-2, and it was about one-seventh the level of that in TCL-1. On the other hand, human chorionic gonadotropin (hCG) was detected in the medium of TCL-2, and its concentration after 3 days of culture was about 2-fold that in TCL-1. Using the diaminobenzidine (DAB) method, peroxisomes were found in TCL-2, but only a very small amount of catalase was detected. These results indicate that human immortalized extravillous trophoblast cells (TCL-2) synthesize, secrete hCG and progesterone, and may contain peroxisomes. Because extravillous trophoblast cells are difficult to obtain from the first-trimester placenta, TCL-2 cells are useful for the study of the physiologic functions (including peroxisomal function) of first-trimester cells.

Key words—trophoblast cell line-2; trophoblast; peroxisome; catalase

緒 言

ヒト胎盤絨毛細胞は、細胞性栄養膜細胞、合体体栄養膜細胞、絨毛外性栄養膜細胞の3種類からなり、妊娠の発展、維持に重要な役割を果たしている。絨毛外性栄養膜細胞には絨毛性栄養膜細胞とは異なった特異な生物学的特性が認められる。すなわち絨毛外性栄養膜細胞には悪性腫瘍を思わせる旺盛な細胞増殖と細胞浸潤がみられ、血管内への浸潤は悪性腫瘍の転移の過程に似ている。こうした現象に

はがんの増殖、浸潤、転移に係わるがん遺伝子、がん抑制遺伝子などの関与が推察されている。絨毛外性栄養膜細胞は脱落膜中に散在するため母体細胞との識別が容易ではない。また、絨毛外性栄養膜細胞を得るためには妊娠中絶女性から提供された栄養膜細胞では不十分であるなどの制約があり、絨毛外性栄養膜細胞の研究報告は絨毛性栄養膜細胞に比べ極めて少ないのが現状である。

着床現象、胎盤形成、発育機構には種々の生理活性物質やホルモンが関係している。プロラクチンは下垂体から分泌されるが、胎盤や子宮などの末梢組織でも産生される。VEGF (vascular endothelial growth factor) は血管内皮細胞増殖因子であり、胎

^a城西大学薬学部, ^b埼玉医科大学総合医療センター産婦人科, ^c長崎国際大学薬学部機能形態学

*e-mail: hasimoto@josai.ac.jp

盤の血管形成過程において関与し、ヒト胎盤に発現している。PGE₁ (prostaglandin E₁) や PGE₂ (prostaglandin E₂) は造血細胞系の増殖及び分化を促し、PGE₂ は生殖器の卵胞及び黄体に関与している。ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG, human chorionic gonadotropin) は胎盤の絨毛組織で産生されるが、産生は妊娠初期にピークとなり妊娠後期には低値となる。プロゲステロンは妊娠初期では黄体で主として産生されるが、hCG の刺激により産生が促進される。妊娠 6 週目にはプロゲステロンの産生の主体は黄体から胎盤の絨毛へと移行する。これらの生理活性物質やホルモンと、ヒト胎盤絨毛細胞との係わりについては、詳細には不明な点が多い。

ヒト胎盤絨毛細胞は母体から胎児への物質供給以外にも、活発な物質代謝の場としての役割を果たしている。絨毛細胞は代謝の過程で活性酸素種の生成を伴う。また、活性酸素種がプロスタグランジン合成を促進して子宮収縮を引き起こすことが報告されている。¹⁻³⁾ したがって、絨毛細胞における活性酸素種消去機構の存在は、生体防御と妊娠維持の面から極めて重要である。活性酸素の消去にはカタラーゼが重要な役割を果たしている。カタラーゼはペルオキシソームに局在しているため、生体防御と妊娠維持のための活性酸素種消去機構として、ペルオキシソームの存在は不可欠である。

当研究室では過去に、妊娠後期のヒト胎盤絨毛外性栄養膜細胞について、不死化ヒト胎盤絨毛細胞 (TCL-1, Trophoblast cell line-1) を用いて調べた。ペルオキシソームが生化学的にも形態学的にも存在することや、その特徴も明らかにしている。^{4,5)} ペルオキシソームの指標酵素であるカタラーゼ量は、妊娠後期になるにつれて上昇するという報告がある。⁶⁾ しかしヒトの妊娠初期 (first-trimester) のヒト胎盤絨毛外性栄養膜細胞のペルオキシソームの存在については確認されていない。

TCL-1 は第 3 トリメスター (妊娠後期) の細胞であるが、サイトカインの産生など本来の細胞特性を維持していることが確認されている。⁷⁻¹³⁾ TCL-2 (Trophoblast cell line-2) は第 1 トリメスター (妊娠初期) の胎盤より TCL-1 と同様の方法により作成されている。^{7-9,14)}

本論文では TCL-2 を用い、この細胞が妊娠初期の絨毛細胞として生理活性因子やホルモン分泌にど

のような特徴を持つのか調べた。さらに細胞内指標酵素のカタラーゼ、脂肪酸アシル CoA 酸化酵素活性の測定、ジアミノベンジジン (DAB) 反応によるカタラーゼ染色を行うことでペルオキシソームの検出を試みた。

方 法

1. 試薬 パルミトイル CoA, 2,7-ジクロロフルオレシジン ジアセテート (leuco-2,7-dichloro fluorescein diacetate: leuco-DCF), Triton X-100, 牛胎児血清は Sigma (St. Louis, USA) から購入した。3,3'-ジアミノベンジジジンテトラクロライド (DAB) は同仁化学 (熊本, 日本) から購入した。RPMI1640 培地は日水製薬 (東京, 日本) のものを使用した。その他の試薬は和光純薬 (大阪, 日本) の分析用又は特級のものを使用した。

2. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞の培養法 不死化ヒト胎盤絨毛細胞 TCL-1, TCL-2 は、埼玉医科大学総合医療センター産婦人科研究室より供与された。絨毛細胞はそれぞれ、TCL-1 は第 3 トリメスター (妊娠後期)、TCL-2 は第 1 トリメスター (妊娠初期) の胎盤より二段階酵素処理法により分離し、SV40 large T で不死化させることにより樹立されている。⁷⁻⁹⁾

細胞は、2 mM L-グルタミン、0.2% 硫酸ゲンタマイシン、10% 牛胎児血清を含む RPMI1640 培地に 9.6×10^4 細胞/ml の濃度になるように懸濁した。この細胞懸濁液 10 ml を直径 100 mm のディッシュに撒き、5% CO₂ の存在下、37°C で培養した。

3. ジアミノベンジジン (DAB) 反応 (ペルオキシソームの可視化) 培養した細胞をリン酸緩衝溶液 (PBS) で洗浄し、1% グルタルアルデヒド-0.1 M HEPES-KOH (pH 7.4) を用いて 1 時間室温で固定した。その後 PBS で 3 回洗い、アガロースで細胞を固定したのち細胞のスライスを作成した。DAB 反応液 (2 mg/ml DAB, 0.02% 過酸化水素を含む 0.05 M グリシン-水酸化ナトリウム緩衝液 (pH 10.0)) を用いて、室温暗所で 1 時間反応を行った。反応後 PBS で洗い、1% 還元オスミウムで 1 時間、後固定を行い、常法により、電子顕微鏡用検体を作成した。電子顕微鏡は Hitachi H7500 電子顕微鏡 (東京, 日本) を用いた。

4. 測定用検体の調製法 細胞を直径 100 mm

ディッシュ中で3日間培養後、培養上清を回収し、ホルモン濃度測定用の検体とした。また、ディッシュに接着している細胞は牛胎児血清を含まないRPMI1640培地及びPBSにて洗浄した。細胞を0.25 M スクロース溶液で懸濁し、タンパク含量及び酵素活性測定用の検体とした。

5. タンパク質含量の測定 タンパク質の測定は、Lowryらの方法¹⁵⁾で行った。タンパク質の標準物質としては牛血清アルブミンを用いた。

6. DNA含量の測定 DNA含量の測定は、Lewisらの方法⁹⁾で行った。牛胸腺DNAを標準物質として用いた。

7. 酵素活性の測定 ペルオキシソーム酵素活性として、指標酵素であるカタラーゼ、脂肪酸アシルCoA酸化酵素の活性を測定した。カタラーゼ活性は、Leightonらの方法に準じて測定した。¹⁶⁾ 脂肪酸アシルCoA酸化酵素活性は、酵素反応の結果leuco-DCFが酸化されて生成するDCFを502 nmで測定する方法¹⁷⁾で行った。

8. ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン濃度の測定 培養上清中のヒト絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)濃度は、和光純薬(大阪, 日本)のヒト絨毛性性腺刺激ホルモン測定キットを用いて測定した。細胞のタンパク質量当たりのホルモン濃度として表した。

9. プロゲステロン濃度の測定 培養上清中のプロゲステロン濃度は、Cayman社(Ann Arbor, USA)のプロゲステロンEIAキットを用いて測定した。

10. プロラクチン, PGE₂, VEGFの定量 プロラクチン, PGE₂, VEGFの測定は、株式会社エスアールエル(東京, 日本)に依頼した。

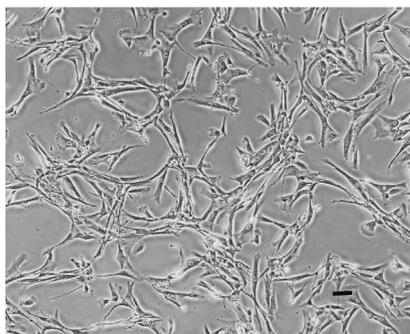
結 果

1. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞の形態学的, 生化学的特徴

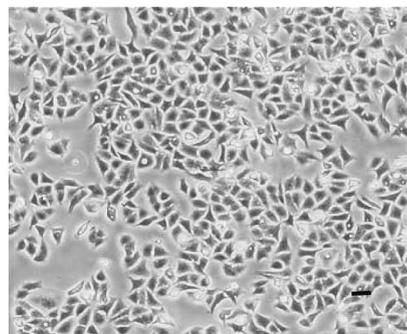
1-1. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞の培養の観察 妊娠初期の不死化ヒト胎盤絨毛細胞(TCL-2)と妊娠後期の不死化ヒト胎盤絨毛細胞(TCL-1)を顕微鏡により観察した結果を、Fig. 1に示す。TCL-2とTCL-1の形を比較すると、TCL-2はTCL-1に比べて線維芽細胞様の特徴を示した。

1-2. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞の細胞増殖速度 不死化ヒト胎盤絨毛細胞のTCL-1とTCL-2の細胞を同数(9.6×10^5 個)撒き、それぞれ3日間培養した。両細胞のタンパク質含量の経時変化をFig. 2(A)に示す。細胞の大きさは経時的には変わらなかった。TCL-1細胞, TCL-2細胞のタンパク質含量はともに経時的に増加した。TCL-2は直線的に増加していたがTCL-1に比べるとTCL-2は増殖速度が低かった。顕微鏡で観察するとTCL-2の方が増殖しているようにみえたが、TCL-2はTCL-1に比べると線維芽細胞様で若干大きく、細胞数としては少なかった。タンパク質含量はいずれの培養日もTCL-1の方が高かった。Figure 2(B)にはDNA含量の経時変化を示す。タンパク含量と同じような傾向を示した。

1-3. プロラクチン, PGE₂, VEGFの測定結果



TCL-2



TCL-1

— Bar, 0.1mm

Fig. 1. Shape of Microscopic Features of Immortalized Extravillous Trophoblast Cells

Both cells (TCL-2 and TCL-1) are shown by photomicroscopy at the same magnification. Bar indicates 0.1 mm.

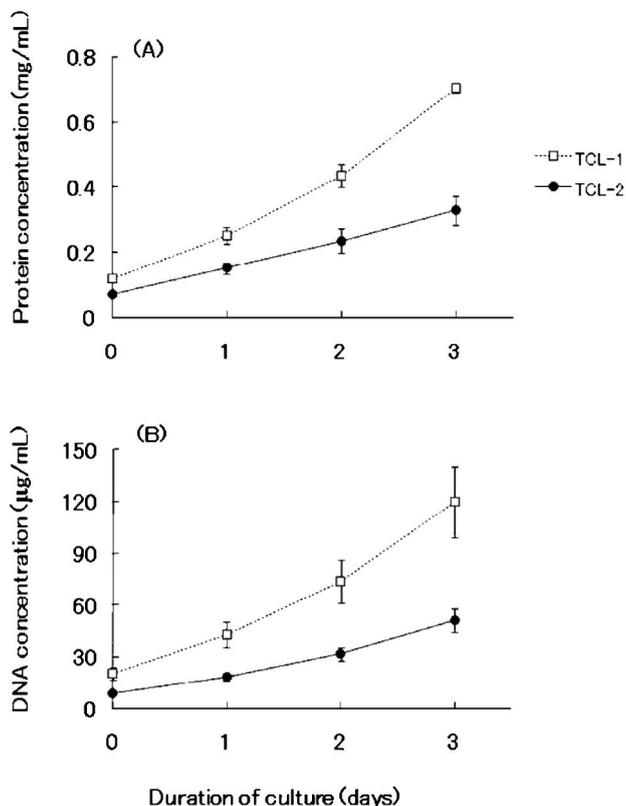


Fig. 2. Time Course of Protein and DNA Concentration of Immortalized Extravillous Trophoblast Cells

The cells were incubated for 3 days and samples were collected each day. Protein (A) and DNA (B) concentration of cells was determined as described in the text. Data are shown as the mean values \pm S.D. of 3-5 experiments.

不死化ヒト胎盤絨毛細胞をプレート当たり 3.0×10^4 個撒き、培養 1 日目の培地中に分泌されたものの両細胞の結果を以下に示す。プロラクチンは両細胞ともみられなかった。VEGF の濃度は、TCL-2, TCL-1 についてそれぞれ 1580 pg/ml, 675 pg/ml であった。また TCL-2, TCL-1 の PGE₂ の濃度は、それぞれ 170 pg/ml, 8.9 pg/ml であり、TCL-2 は TCL-1 よりも著しく高い値を示した。

1-4. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞のホルモン分泌の比較 妊娠初期と妊娠後期での不死化ヒト胎盤絨毛細胞のホルモン分泌の比較をするために 3 日間 24 時間毎に回収した培養上清の hCG とプロゲステロンの濃度を測定した。

TCL-2 が 24 時間毎に培養上清中に分泌した hCG の量は、1, 2, 3 日目ではそれぞれ 67.26 ± 4.73 , 47.51 ± 5.93 , 42.72 ± 4.90 mIU/mg protein であり、TCL-1 の hCG の 24 時間当たりの分泌量は、1, 2, 3 日目では 55.16 ± 6.01 , 34.16 ± 3.31 , 23.43 ± 0.45

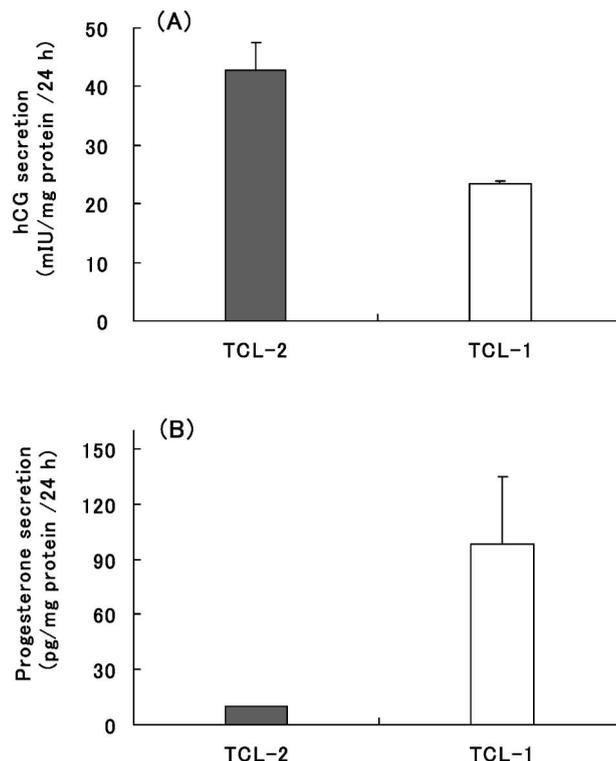


Fig. 3. Levels of Human Chorionic Gonadotropin and Progesterone Secreted from Trophoblast Cells

After incubation for 3 days, the medium was collected. Concentration of human chorionic gonadotropin and progesterone in the medium was determined as described in the text. Data are shown as the mean values \pm S.D. of 3 experiments.

mIU/mg protein であった。すなわち、hCG の 24 時間当たりの分泌量は 1 日目の後から TCL-2, TCL-1 細胞ともに減少傾向がみられた。いずれの日も TCL-2 の方が高く、TCL-1 のそれぞれ約 1.22 倍, 1.39 倍, 1.82 倍であった。Figure 3 (A) には TCL-2, TCL-1 の hCG の、24 時間当たりに分泌された量の 3 日目の値を示す。

Figure 3 (B) はプロゲステロン分泌の 3 日目の 24 時間当たりの分泌量を示す。培養上清における両細胞のプロゲステロン分泌濃度を測定した。TCL-2 細胞のプロゲステロン分泌量は 9.76 ± 0.27 pg/mg protein であり、TCL-1 に比べて約 10 分の 1 の量であった。

2. 妊娠初期の不死化ヒト胎盤絨毛細胞のペルオキシソームの有無の検討

2-1. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞のカタラーゼ活性の測定 絨毛細胞にペルオキシソームが存在するかどうか調べるためにペルオキシソームの指標酵素の 1 つであるカタラーゼの活性を測定した。培養 3

日目の TCL-2 と TCL-1 のホモジネートのカタラーゼ活性は、それぞれ $0.63 \pm 0.08 \mu/\text{mg protein}$, $1.72 \pm 0.42 \mu/\text{mg protein}$ であり、TCL-2 の活性は TCL-1 のおよそ 3 分の 1 であった [Fig. 4(A)].

2-2. 不死化ヒト胎盤絨毛細胞の脂肪酸アシル

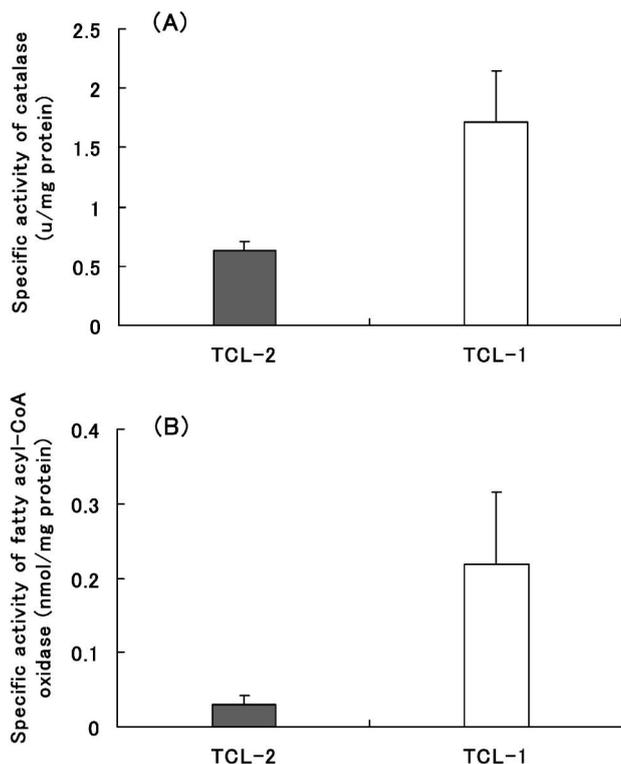


Fig. 4. Comparison of Specific Activity of Catalase and Fatty Acyl-CoA Oxidase between TCL-2 and TCL-1 Cells after 3 Days of Incubation

After incubation for 3 days, the cells were harvested. Catalase and fatty acyl-CoA oxidase activity of the cells was determined as described in the text. Data are shown as the mean values \pm S.D. of 5 experiments.

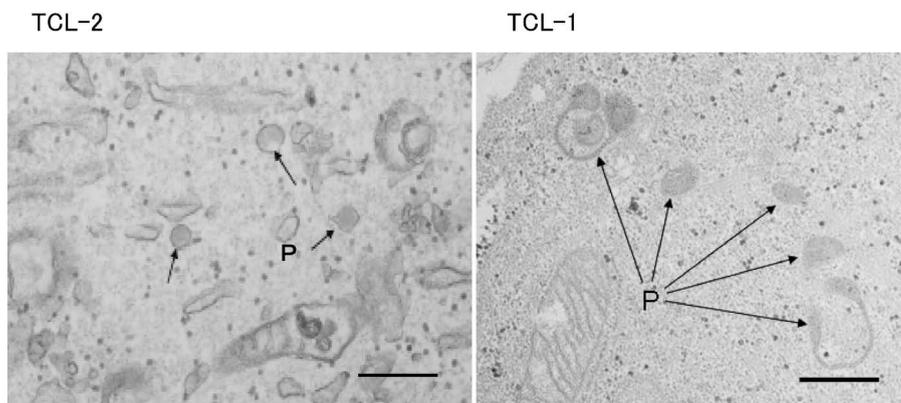
CoA 酸化酵素活性の測定 絨毛細胞にペルオキシソームが存在するかどうか調べるためにカタラーゼに加え、脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性を測定した。脂肪酸アシル CoA 酸化酵素は脂肪酸 β 酸化系の律速酵素でありペルオキシソームの指標酵素である。TCL-2, TCL-1 について測定した結果を Fig. 4(B) に示す。TCL-2 からは脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性が少ないながらも確認された。ペルオキシソームは脂肪酸の β 酸化系の機能を持ち TCL-2 の比活性は $0.030 \pm 0.012 \text{ nmol/mg protein}$ であり、TCL-1 の約 7 分の 1 の活性であった。

2-3. ジアミノベンジジン (DAB) 法 絨毛細胞を 3 日間培養し、DAB 法によるカタラーゼ染色を行い、電子顕微鏡で観察した結果を Fig. 5 に示す。

TCL-2 に少ないながらもペルオキシソームがみられた。ペルオキシソームの中に、DAB 反応により得られた電子密度の高い粒子が観察され、カタラーゼの検出により TCL-2 におけるペルオキシソームの存在が確認された。また、ペルオキシソームのカタラーゼ量は、染色強度から TCL-1 と比べて非常に少なかった。さらに、TCL-1 のペルオキシソームは、球状、ひも状、枝分かれしたものなど多様で、変わった形をしたものがみられたのに対して、TCL-2 のペルオキシソームは比較的球形のものが多くみられた。

考 察

本研究において妊娠初期のヒト胎盤絨毛細胞はど



(Biol. Pharm. Bull., 31, 546 (2008))

Fig. 5. Electron Microscopy of Trophoblast Cells after DAB Reaction for Catalase

Both cells (TCL-2 and TCL-1) are shown by electron microscopy at the same magnification. Bar indicates $0.5 \mu\text{m}$. P: peroxisomes.

のような特徴を持つのか、またこの細胞に真にペルオキシソームが存在するかどうかを調べた。

本研究に用いた不死化ヒト絨毛細胞は、異常増殖するが、がん細胞とは異なり正常細胞特性を保つ細胞である。¹⁸⁾ 当研究室の過去の報告において妊娠後期の不死化ヒト胎盤絨毛細胞 (TCL-1) にはペルオキシソームが生化学的にも形態学的にも存在することを明らかにしている。^{4,5)}

TCL-2, TCL-1 細胞の増殖速度を調べたところ TCL-2 は TCL-1 に比べて比較的緩やかに増殖した (Fig. 2)。本研究において培養初日は同数の細胞数でディッシュに撒いたが細胞培養 3 日目は TCL-2 に比べて TCL-1 の方がコンフルエントに近い状態であった。TCL-2 は単一の細胞が大きく、線維芽細胞様の特徴を示すため見た目よりもタンパク含量が少なかった。TCL-2 は細胞質が多く部分を占める細胞なのかもしれない。

また培養上清から、妊娠器官や胎盤機能に役割を持つプロラクチン、VEGF と PGE₂ について測定した。その結果、VEGF と PGE₂ が両細胞で検出された。プロラクチンは下垂体から分泌されるタンパクホルモンの 1 つであり、胎盤でも産生されるが、TCL-2 では検出されなかった。TCL-1 と同様、絨毛外性栄養膜細胞では検出されないとされる。VEGF¹⁹⁾ は血管内皮細胞増殖因子であり、胎盤の血管形成過程において関与し、ヒト胎盤に発現している。正常な妊娠維持と胎児の発育のためには、胎盤を境として母体側でも胎児側でも特徴的な血管の変化、増殖、新生が起こる必要がある。TCL-2 細胞の方が TCL-1 細胞よりも VEGF が高い値となったのは、妊娠の初期に血管の形成が起こり胎児-母体間の栄養分の供給や胎児の発育のために必要不可欠な因子であるからだと思われる。PGE₂ は両細胞で検出され、TCL-2 細胞の方が高い値を示した。PGE₁ や PGE₂ は造血細胞系の増殖及び分化を促し、PGE₂ は生殖器の卵胞及び黄体に関与している。PGE は *in vivo*, *in vitro* の両面からがん細胞の増殖を抑制することが Santoro ら²⁰⁾ によって示された。それに反して Trevisani ら²¹⁾ は PGE₂ が腫瘍細胞の増殖を促すことを示している。本実験では PGE₂ については、TCL-2 が TCL-1 よりも著しく高い値を示した。PGE₂ が細胞の増殖になんらかの影響を及ぼして、妊娠の初期に血管形成や卵胞の発達に関与

しているのかもしれない。

Matsuo ら²²⁾ や Maruo ら²³⁾ はプロゲステロンレベルの増加が絨毛細胞での hCG (α , β) の生成、分泌を抑制することを報告し、絨毛内プロゲステロン濃度と hCG mRNA 転写機構の間にネガティブフィードバック機構の存在を示唆している。本研究において妊娠初期の TCL-2 は TCL-1 よりも hCG の分泌量が高く [Fig. 3(A)], プロゲステロン分泌量は低い値となった [Fig. 3(B)]。彼らの報告を支持しているのかもしれない。両ホルモン濃度を経時的に調べ、ホルモン分泌の変動のさらなる検討が必要と思われる。

以上のように TCL-1 と比較することで TCL-2 の部分的な特徴づけを行うことができた。

当研究室の過去の報告において、TCL-1 にペルオキシソームの指標酵素であるカタラーゼ、脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性が検出されたこと、クロフィブリン酸、ゲンフィブロジルにより、細胞レベルにおいて、カタラーゼ活性が有意に増加したことを明らかにしている。また、脂肪酸アシル CoA 酸化酵素活性は、クロフィブリン酸、ゲンフィブロジルの添加により増加したこと、⁴⁾ カタラーゼ活性の高い画分が細胞分画法、密度勾配遠心によって分離できることを報告している。また形態学的にも調べ、ペルオキシソームの存在を明らかにしている。⁵⁾

しかしながら妊娠初期の不死化ヒト胎盤絨毛細胞 (TCL-2) のペルオキシソームの存在は明らかにされていなかった。そこでペルオキシソームの指標酵素、カタラーゼと脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性を調べ、両酵素が検出された。TCL-2 におけるカタラーゼ活性は、TCL-1 に比べて約 3 分の 1 であった。

本実験の結果は、カタラーゼは妊娠後期にかけて増加するという報告⁶⁾ と併せてカタラーゼが周産期の進行に伴い増加することが示唆された。また、脂肪酸アシル CoA 酸化酵素の活性は、TCL-2 は TCL-1 に比べて約 7 分の 1 の活性であった [Fig. 4 (B)]。

さらに形態学的方法を用いて、不死化ヒト絨毛細胞におけるペルオキシソームの存在を明らかにした。ジアミノベンジジン (DAB) 法によるカタラーゼ染色により、TCL-2 を観察した。DAB 法によっ

て電子密度の高い粒子が観察され、絨毛細胞のペルオキシソームにカタラーゼが存在することがわかった。ペルオキシソームのカタラーゼ量は、染色強度から TCL-1 と比べて非常に少なかった。TCL-1 のペルオキシソームは、球状、ひも状、枝分かれしたものなど、多様で、変わった形をしたものが多くみられたのに対して TCL-2 のペルオキシソームの形は、類円形が多いことがわかった (Fig. 5)。ペルオキシソームは集団を成していることが多く、隣接するペルオキシソームとの関係で枝分かれなどがあるのかもしれない。

ペルオキシソーム指標酵素活性の測定や DAB 反応の結果を比較すると、妊娠初期のペルオキシソームは妊娠後期のものよりも少ないことが推定される。しかしこの結論のためにはさらなる研究が必要と思われる。妊娠初期よりも妊娠後期にかけてペルオキシソームが増加している場合は、胎児が発育していくなかで代謝が活発となり活性酸素種の生成が盛んになるため妊娠過程の後期にペルオキシソームが必要とされ、なんらかの重要な役割を果たしているのかもしれない。

正常初期絨毛において絨毛外性栄養膜細胞は間質組織に浸潤する。しかし正常細胞がどのような機構で浸潤するのか、そのメカニズムはがん細胞とは異なり厳密に管理されていると考えられるが、詳細には明らかにされていない。胎盤の生理活性物質やホルモン分泌機能にヒト胎盤絨毛細胞が関わっているが、詳細については不明な点が多い。着床現象、胎盤形成、発育機構には種々の細胞が係わっており、それらの細胞間の相互作用の研究にも有用と思われる。

TCL-2 は、確立された細胞である TCL-1 と同様な方法で作成されており、本報告は研究の遅れている絨毛外性栄養膜細胞の機能や分化、妊娠維持機構の解明などに役立つことが期待される。また不死化ヒト胎盤絨毛細胞の性状解析により、これらの生理学的な役割や機能の解明に役立つだけでなく、化学物質が胎児に及ぼす影響、妊婦が摂取する薬毒物の安全性研究に対し、極めて有用なツールを提供すると思われる。

REFERENCES

1) Hemler M. E., Cook H. W., Lands W. E.,

Arch. Biochem. Biophys., **193**, 340–345 (1979).

- 2) Hemler M. E., Lands W. E., *J. Biol. Chem.*, **255**, 6253–6261 (1980).
- 3) Cherouny P. H., Ghodgaonkar R. B., Niobyl J. R., Dubin H., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **159**, 1390–1394 (1988).
- 4) Hashimoto F., Oguchi Y., Morita M., Matsuoka K., Takeda S., Kimura M., Hayashi H., *Biochem. Pharmacol.*, **68**, 313–321 (2004).
- 5) Hashimoto F., Shimooka S., Iwasaki K., Ono A., Kumaoka M., Yokota S., Takeda S., Hayashi H., *Biol. Pharma. Bull.*, **31**, 546–552 (2008).
- 6) Watson A. L., Skepper J. N., Jauniaux E., Burton J., *Placenta*, **19**, 27–34 (1998).
- 7) Starkey P. M., Sargent I. L., Redman W., *Immunology*, **65**, 129–134 (1988).
- 8) Seki H., Takeda S. Kinoshita K, *Sanfujinka no Sekai*, **49**, 621–627 (1997).
- 9) Lewis M. P., Clements M., Takeda S., Kirby P. L., Seki H., Lonsdale L. B., Sullivan M. H. F., Elder M. G., White J. O., *Placenta*, **17**, 137–146 (1996).
- 10) Fukushima K., Tsukimori K., Kobayashi H., Nishijima H., Komatsu H., Seki H., Takeda S., Nakano H., *Am. J. Reprod. Immunol.*, **46**, 245–251 (2001).
- 11) Fukushima K., Miyamoto S., Komatsu H., Tsukimori K., Kobayashi H., Seki H., Takeda S., Nakano H., *Biol. Reprod.*, **68**, 1771–1778 (2003).
- 12) Fukushima K., Miyamoto S., Tsukimori K., Kobayashi H., Seki H., Takeda S., Egashira K., Ohtani K., Shibuya M., Nakano H., *Biol. Reprod.*, **73**, 172–179 (2005).
- 13) Fukushima K., Murata M., Hachisuga M., Tsukimori K., Seki H., Takeda S., Kato K., Wake N., *Placenta*, **29**, 898–904 (2008).
- 14) Seki H., Matuoka K., Inooku H., Takeda S., *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, **33**, 408–416 (2007).
- 15) Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall J., *J. Biol. Chem.*, **193**, 265–275 (1951).
- 16) Hayashi H., Suga T., *J. Biochem.*, **84**, 513–520 (1978).
- 17) Gillian M. S., Keith B., Martin J. C., *J. Biochem.*, **227**, 205–210 (1985).

- 18) Helftenbein G., Wiehle R. D., Beato M., *Eur. J. Cell Biol.*, **56**, 49–57 (1991).
- 19) Sharkey A. M., Charnock-Jones D. S., Boock C. A., Brown K. D., Smith S. K., *J. Reprod. Fertil.*, **99**, 609–615 (1993).
- 20) Santoro M. G., Jaffe B. M., Simmons D. J., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **156**, 373–377 (1977).
- 21) Trevisani A., Ferretti E., Capuzzo A., Tomasi V., *Br. J. Cancer*, **41**, 341–347 (1980).
- 22) Matsuo H., Maruo T., Hoshina M., Mochizuki M., *Nihon Naibumpi Gakkai Zasshi*, **61**, 882–892 (1985).
- 23) Maruo T., Matsuo H., Ohtani T., Hoshina M., Mochizuki M., *Endocrinology*, **119**, 855–864 (1986).