原 著

順天堂医学 34 (3)
P. 381~391 (1988)

ヒト胎盤絨毛上皮細胞抗原の分布と加齢変化

Distribution of Human Placental Antigens and their Age-Associated Changes

宮 崎 亮 一 郎*

RYOICHIRO MIYAZAKI, M. D.

胎盤形成過程における胎盤機能の変化を解明する一端の研究として、ヒト絨毛上皮癌に対し作製された単クローン抗体 (MAbs) である抗 Trop 1 と Trop 2 抗体, transferrin 受容体に対する MAbs, および組織適合抗原に対する MAbs などを用い、妊娠周数 5 週から出産直後の主に正常妊娠胎盤絨毛上皮抗原を免疫組織化学的に解析し、これらの抗原の分布と絨毛細胞の加齢にともなう抗原の変化につき検討した。

Trop 1 抗原は、妊娠初期の cytotrophoblast に存在したが、妊娠 16 週より 18 週に至ると、cytotrophoblast の Trop 1 抗原が消失し始め、妊娠 22 週以後では、それが完全に消失した。また、子宮内胎児死亡例の cytotrophoblast では、妊娠 16 週以前においても Trop 1 抗原が認められなかった。さらに、Trop 1 抗原は、妊娠経過中常に絨毛間質細胞の内一部の細胞に存在した。この間質細胞は、Class I 抗原・HLA-DR 抗原・Leu M 3 抗原が陽性であり、絨毛間質内で macrophage 機能を持つ Hofbauer 細胞であった。一方、Trop 2 抗原は、妊娠各期の cytotrophoblast 領域に存在し、Trop 1 抗原の様に加齢にともなう抗原の消失が認められなかった。Transferrin 受容体は、syncytiotrophoblast の絨毛表面に存在し、Trop 2 抗原と同様に妊娠経過にともなう変化が認められなかった。組織適合抗原については、Class I 抗原および HLA-DR 抗原が妊娠経過中絨毛上皮細胞上に認められなかった。しかし、Class I 抗原のみは、妊娠 10 週で子宮筋腫のため摘出された組織中の non-villous trophoblast に存在した。

以上のことにより、Trop 1 および Trop 2 抗原は、正常妊娠胎盤絨毛組織中において、主に cytotrophoblast に存在することが判明した。その中で、Trop 1 抗原は胎盤の加齢にともなう cytotrophoblast の形態学的変化に一致して、その抗原性が消失することにより、妊娠初期から中期に至る cytotrophoblast の機能的変化に関連した物質であると考えられ、今後その機能の解析に重要性が示された。一方、Trop 2 抗原は、加齢による形態的な変化と無関係に常に cytotrophoblast に存在することにより、cytotrophoblast にとって重要な何らかの基本的な構造分子ではないかと思われた。Transferrin 受容体は、常に syncytiotrophoblast に存在するので、妊娠経過中継続する絨毛上皮の旺盛な物質交換にとって重要な因子であると思われた。さらに、組織適合抗原に関しては、絨毛上皮細胞上に認められないことが、母子間の免疫関係において、生殖の適応現象の一つとして重要と考えた。

索引用語 : Trop 1 抗原, Trop 2 抗原, HLA 抗原, transferrin 受容体, 絨毛細胞

Key Words : Trop 1 antigen, Trop 2 antigen, HLA antigen, transferrin receptor, trophoblast

* 順天堂大学医学部産婦人科学講座

Department of Obstetrics and Gynecology,
Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

〔Oct. 7, 1987 原稿受付〕

(Nov. 26, 1987 掲載決定)

緒 言

絨毛組織の基本的構造は、最外層に syncytiotrophoblast, その内側に一層に配列する cytotrophoblast, および絨毛の芯を形成する間質からなり、この間質には、胎児血管・間質細胞、および Hofbauer 細胞が存在する。発生学的には、non-villous trophoblast から cytotrophoblast へ、さらに transtional mononuclear cell を経て、多核的な syncytiotrophoblast になると考えられている¹⁾。また、これらの細胞自身も妊娠の進行にともない、短期間の内に様々な変化を示す。non-villous trophoblast は消失し、cytotrophoblast の数がいちじるしく減少する。このため、syncytiotrophoblast は直接基底膜に接する部分が広くなり、細胞自体も菲薄化し表面の微絨毛も短小かつ疎になる。

このように変化する絨毛細胞の性格を検討し、染色体異常にもとづく異常妊娠の早期診断に応用するため、1981年、Lipinski ら²⁾は、ヒト絨毛上皮癌に対する単クローン抗体を作製した。その後、Sunderland ら³⁾、Johnson ら⁵⁾、Nakamura ら⁵⁾、Loke ら⁶⁾によって、多くの絨毛細胞に対する単クローン抗体が作製され続け、1986年にはヒト絨毛細胞や精子に対する単クローン抗体に関しての、workshops⁷⁾が行われ、これらの抗体に対応する抗原の性質、および機能等について検討された。この中で Trop 1 と Trop 2 抗原は、精子・精漿、およびヒト血清中にも存在することが確認された。また、Trop 1, Trop 2 抗体作製時に、同様にして得られた Trop 3・Trop 4 抗体については、Trop 3 が TLX 抗原の抗原決定基の一つであり、Trop 4 が細胞の増殖や細胞間相互作用に関係した物質であると考えられている⁸⁾。しかし、未だにこれら抗原の性状・機能については未知の部分が多い。

一方、Transferrin 受容体については、現在、細胞の成長や増殖に深く関わるものとされている。しかも Radioimmunoassay 法や免疫組織学的方法で、これが絨毛細胞にも存在することが確認

されている⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。

さらに、絨毛細胞上の組織適合抗原に関しては、父系・母系遺伝子を半分ずつ持つ胎児が何故、母体より拒絶を免れるかについて研究されてきたが、未だにその結論に達していない。

今回、著者は胎盤形成過程における胎盤機能の変化を解明する研究の一端として、Lipinski ら²⁾が作製した Trop 1 抗体と Trop 2 抗体、Transferrin 受容体および組織適合抗原 (HLA) に対する抗体を用いて、主に正常妊娠における絨毛細胞の、分化・増殖過程にともなう抗原の消長について検討した。

研究材料および研究方法

1. 研究材料

胎盤組織は医学的適応のため人工妊娠中絶術をやむをえず施行したもの、早産、および正期産から得たもので、妊娠週数(最終月経から)は、妊娠5より15週までの20例 妊娠16より28週までの5例 妊娠37より41週までの11例であった。これらは主に正常妊娠経過の組織であるが、妊娠5より15週までに得た組織には、子宮筋腫のため妊娠10週で子宮摘出術をうけたもの1例、子宮筋腫があり妊娠9週で子宮内胎児死亡のため子宮摘出術をうけたもの1例、および習慣流産のため妊娠10週で子宮内容除去術をうけたもの1例が含まれている。胎盤形成後の組織は臍帯付着部直下の正常部分を採取部位とした。

2. 抗体

Trop 1・Trop 2 抗原の分布を検討するため抗 Trop 1・Trop 2 抗体を用いた。この両抗体は、Lipinski ら²⁾がマウスにヒト絨毛上皮癌培養細胞株である BeWo 細胞を免疫して作った抗体で、抗 Trop 1 抗体は IgG 2 a (Igh-1a allotype) であり、抗 Trop 2 抗体は IgG 1 (Igh-4 a allotype) である。抗 Trop 1 抗体は 4 mg/100ml のものを 200 倍に、抗 Trop 2 抗体は 1 mg/100ml のものを 50 倍に希釈して使用した。抗体の希釈には 0.01% bovine serum albumin (BSA) を加えた

0.01M phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2を用いた。これらの濃度は正常初期絨毛を用いた蛍光抗体法で決定した。Transferrin 受容体の分布を検討するために、Ortho-mune OKT-9 単クローン抗体 (Ortho Diagnostic System 社) を用いた。この抗体は0.01% BSAで20倍に希釈して使用した。この希釈濃度は正常初期絨毛を用いて決定した。HLA 抗原の分布を検討するために、種々の HLA 抗原に対する単クローン抗体を用いた。Class I 抗原には、HLA-A、-B、-C 抗原の全てと反応する単クローン抗体 (Becton-Dickinson 社) を、Class II 抗原には、各々 HLA-DR、-DQ、-DP 単クローン抗体 (Becton-Dickinson 社) を用いた。抗Class I 抗体は100倍、抗 HLA-DR 抗体は120倍、抗 HLA-DQ 抗体は200倍、抗 HLA-DP 抗体は200倍に希釈し使用した。これらの希釈濃度は正常リンパ節、および正常胸腺組織を用いて決定した。さらに Hofbauer 細胞を同定するため、macrophage 抗原を認識する抗体として Leu M 3 単クローン抗体 (Becton-Dickinson 社) を用いた。希釈濃度は20倍であり、正常リンパ節を用いて決定した。

3. 研究方法

組織採取後、速やかに直径約 1 cm^3 のブロックを作製し、OCT compound (Miles 社) に埋没後液体窒素で急速凍結し、 -20°C に保存した。このブロックから cryostat (Division 社) を使用して $5\text{ }\mu\text{m}$ の切片を作製し、室温で約2時間乾燥固定後、 4°C でアセトンに10分間固定、室温で乾燥を行い、免疫組織化学的研究に用いた。各抗原の解析は、間接蛍光抗体法 (avidin-biotin 法) および酵素抗体法間接法 (avidin-biotin-peroxidase complex 法: ABC 法) の両者により行った。

間接蛍光抗体法では、上記切片を0.01M PBS で10分間3回洗浄後、一次抗体として前記の抗体をそれぞれ60分間以上反応させた。これらを0.01M PBS で10分間3回洗浄し、二次抗体として biotin 結合ウマ抗マウス IgG 抗体を45分間反応させ、0.01M PBS で10分間3回洗浄後、最後に

avidin-FITC を20分間反応させた。これらを0.01M PBS で10分間3回洗浄し、PPD-グリセリンで封入した。撮影には透過型蛍光顕微鏡 (オリンパス社) を用いた。

ABC 法では、上記の0.01M PBS で洗浄後の切片に1% PFA-PBS で5分間固定した後、0.01M PBS で5分間2回洗浄したものに、3% H_2O_2 solution と5分間反応させ、内因性 peroxidase の block を行い、これを0.01M PBS で5分間3回洗浄した。一次抗体と二次抗体については、間接蛍光抗体法と同様に反応させ、最終的に avidin-horse radish peroxidase (HRP) と20分間反応させた後、0.01M PBS で5分間3回洗浄した。Peroxidase の発色は diaminobenzidine (Sigma 社) H_2O_2 溶液にて行い、ヘマトキシリン-エオジンを用いて対染色した。

Biotin 結合ウマ抗マウス IgG 抗体、avidin-FITC と avidin-HRP は、ヒト正常肝組織およびヒト正常血清とによりあらかじめ吸収したものをを用いた。Biotin 結合ウマ抗マウス IgG 抗体は0.01% BSA で30倍、avidin-FITC は20倍、avidin-HRP は5倍に希釈したものを使用した。

結 果

1. Trop 1 抗原の分布

妊娠15週までの胎盤絨毛組織では、Trop 1 抗原が cytotrophoblast、および一部の間質細胞に存在した (図-1a) (表-1)。しかし、妊娠15週までは明らかに認められた cytotrophoblast 上の Trop 1 抗原は、妊娠16より18週に至るとその存在が部分的となり (図-1b)、妊娠22週以降41週までの cytotrophoblast には全く認められなかった (図-1c)。また、妊娠9週で子宮内胎児死亡と診断された子宮筋腫合併妊娠例、妊娠10週で子宮内胎児死亡の習慣流産例、さらに妊娠6週の内一例には、本来この妊娠週数において明らかに存在する cytotrophoblast の Trop 1 抗原がごく一部に認められるに過ぎなかった (図-1d)。一方、Trop 1 抗原陽性の間質細胞は、検索した全ての

週齢の絨毛組織に存在した。この Trop 1 抗原陽性間質細胞が、どのような細胞であるかを形態学的に検討するため、その細胞の持つ HLA 抗原について検討した。その結果、この細胞は HLA 抗原のうち Class I 抗原および HLA-DR 抗原が陽性であり、HLA-DQ 抗原と HLA-DP 抗原は陰性であった。さらに、抗 Leu M 3 抗体を用いて検索したところ、この細胞は Leu M 3 抗原が陽性であった (図-1 b, 2 a, 2 b, 2 c)。したがって、これが macrophage 系の細胞と考えられた。絨毛間質細胞の中、macrophage 機能を持つ細胞

図-1 c 妊娠40週 Trop 1 抗原の分布
Hofbauer 細胞にのみ Trop 1 抗原が認められるが、他の細胞には認められない。

図-1 a 妊娠8週 Trop 1 抗原の分布
cytotrophoblast と Hofbauer 細胞に Trop 1 抗原が認められる。

図-1 d 妊娠9週、子宮内胎児死亡例の Trop 1 抗原の分布

Trop 1 抗原 が Hofbauer 細胞にみとめられ cytotrophoblast には認められない。

図-1 b 妊娠18週 Trop 1 抗原の分布
Hofbauer 細胞に Trop 1 抗原が認められるが、cgtotrophoblast には殆ど認められない。

図-2 a 妊娠18週 Class I 抗原の分布
絨毛間質細胞、Hofbauer 細胞と血管内皮細胞の一部に Class I 抗原が認められるが、絨毛上皮細胞には認められない。

図-2b 妊娠18週 HLA-DR 抗原の分布
Hofbauer 細胞に HLA-DR 抗原が認められる。

図-2c 妊娠18週 LeuM 3 抗原の分布
Hofbauer 細胞に LeuM 3 抗原が認められる。

は Hofbauer 細胞である。この Trop 1 抗原陽性の Hofbauer 細胞は妊娠 5 週から存在していたがその数は少なく、妊娠の経過とともに増加し、妊娠 22 週にはこの細胞数が最高になり、それ以降徐々に減少し続け、妊娠 41 週にはほとんど認められなくなった (表-1)。

2. Trop 2 抗原の分布

Trop 2 抗原は絨毛細胞のうち cytotrophoblast の膜表面上に存在しており、その他の細胞には認められなかった (図-3) (表-1)。また、Trop 1 抗原のように、明らかに妊娠の経過とともに抗原の消失は認められなかった。子宮内胎児死亡例の cytotrophoblast にも、Trop 1 抗原のように消失することなく Trop 2 抗原は存在した。

図-3 妊娠18週 Trop 2 抗原の分布
cytotrophoblast に Trop 2 抗原が認められ、他の細胞には認められない。

3. Transferrin 受容体の分布

絨毛組織の transferrin 受容体について、OKT-9 抗体を用いて検索した結果、この抗原は cytotrophoblast には認められず、syncytiotrophoblast 上の villi に存在したが、その他の細胞にはほとんど認められなかった (表-1)。妊娠の経過による変化としては、妊娠 10 週の一例に部分的に存在しないところもあったが、妊娠 5 から 41 週までの syncytiotrophoblast に常に存在し、妊娠の経過による明らかな変化は認められなかった (図-4)。Transferrin 受容体は、子宮内胎児死亡例の syncytiotrophoblast にも正常妊娠と同様に存在した。

図-4 妊娠40週 Transferrin 受容体の分布
syncytiotrophoblast に transferrin 受容体がみとめられるが、他の細胞には認められない。

4. HLA 抗原の分布

Class I 抗原は, syncytiotrophoblast および cytotrophoblast に妊娠の全経過を通して認められなかった (図-2 a). しかし, 妊娠10週で子宮筋腫のため子宮摘出術を受けた絨毛組織の non-villous trophoblast にこの抗原は存在した. この細胞は形態学的に, 妊娠12週までに消失してしまう細胞であり, 未だその役割に関して分かっていない. この他, Class I 抗原は絨毛間質の細胞に認められた. 絨毛間質の細胞には, Hofbauer 細胞・絨毛間質細胞, および胎児血管が存在するが, この抗原は妊娠の全経過を通して Hofbauer 細胞, および絨毛間質細胞に存在し, 胎児血管内皮細胞では妊娠16週より部分的に発現し (図-2 a), 妊娠22週以降の血管内皮細胞にはその全てに

存在した (表-1). HLA-DR 抗原は絨毛間質細胞の中, Hofbauer 細胞に存在し (図-2 b), 血管内皮細胞にも部分的に存在した. しかし, その他の絨毛間質細胞には認められなかった. HLA-DR 抗原は, Class I 抗原と同様に syncytiotrophoblast, および cytotrophoblast には認められず, さらに non-villous trophoblast にも認められなかった. HLA-DQ および HLA-DP 抗原に関しては, 妊娠の全経過において陽性となる細胞は認められなかった (表-1).

各種細胞別にみた妊娠の経過にともなう抗原の推移について表-2にまとめた.

考 察

ある種のホルモンやタンパク等の血中濃度が, 妊娠の経過に伴い変化することは知られている¹³⁾. その中には, human chorionic gonadotropin (HCG) や human placental lactogen (HPL) などがある. その一部については, 妊娠経過における推移について数多くの研究がなされてきており, 実際臨床に役立っている. 今回著者は, 胎盤形成過程における胎盤機能の変化を解明する

表-1 胎盤構成細胞と各種抗原との関係

絨毛組織	TR ^a	Trop 1	Trop 2	HLA-A, HLA-B, HLA-C	HLA-DR	HLA-DQ	HLA-DP	Leu M3
Trophoblast								
syncytiotrophoblast	+ ^b	- ^c	-	-	-	-	-	-
cytotrophoblast	-	+	+	-	-	-	-	-
non-villous trophoblast	* ^d	-	-	+	-	-	-	-
Stroma cells								
Hofbauer cells	-	+	-	+	+	-	-	+
Endothelial cells	-	-	-	+	*	-	-	-
Other stromal cells	-	-	-	*	-	-	-	-

a : transferrin receptor b : 陽性 c : 陰性 d : 部分的に陽性

表-2 妊娠経過に伴う胎盤組織抗原の推移

細胞と抗原	妊娠週数				
	5週	10週	20週	30週	40週
C.T.とTrop 1 抗原	—	—	—	—	—
C.T.とTrop 2 抗原	—	—	—	—	—
S.T.とTR	—	—	—	—	—
血管内皮とHLA抗原	—	—	—	—	—
N.V.T.とHLA抗原	—	—	—	—	—
N.V.T.とTR	—	—	—	—	—

陽性 N.T.V.: non villous trophoblast
 ...部分的に陽性 HLA 抗原: Class I 抗原
 S.T.: syncytiotrophoblast TR: transferrin receptor
 C.T.: cytotrophoblast

る研究の一端として, 新しい抗体を用い, 主に正常妊娠の経過にともない様々に変化する絨毛構成細胞の表面抗原の変化について, 免疫組織化学的に解析することを試みた. 検討に用いた抗Trop 1とTrop 2抗体であるが, これらは, Lipinskiら²⁾が染色体異常などの異常妊娠を早期診断する手段として, 妊婦血中の胎児細胞成分を認識する抗体を得る必要性から作製されたものである. 抗体はヒト絨毛上皮癌細胞の cell line である BeWo 細胞を, マウスに免疫して作製した単クローン抗体であり, 両者はともに絨毛上皮癌以外に, 精子, 精漿, および正常ヒト血清中に存在

することが確認されている⁷⁾。一方, Trop 1 抗原の妊娠絨毛における分布については, 従来からこれが syncytiotrophoblast および cytotrophoblast の両者に存在するか, あるいは, cytotrophoblast のみに存在するかについて異論があった²⁾¹⁴⁾。この点は, 用いた絨毛組織の妊娠週数・組織固定法, および抗原染色法の違いなどの問題に由来している可能性があった。今回, 凍結切片をアセトン固定した材料を用いて, 間接蛍光抗体法と酵素抗体法間接法を使用した著者の研究において, Trop 1 抗原が正常妊娠絨毛組織中では, cytotrophoblast 上に存在することが新たに確認された。しかも, この Trop 1 抗原は妊娠中期 (最終月経より22週) 以降になると cytotrophoblast にも存在しなくなることが明らかとなった。この現象は, cytotrophoblast が加齢にともない形態学的に変化するだけでなく, 抗原性も変化していくことを明らかに示すものである。したがって, Trop 1 は胎盤の機能的加齢変化と深く関わった物質である可能性が示唆された。さらに, 今回の研究で Trop 1 抗原が cytotrophoblast 以外に, 絨毛間質の一部の間質細胞にも存在することが明らかになった。この細胞は, Class I 抗原と HLA-DR 抗原が存在したので, macrophage 系細胞であると考え, macrophage を認識する抗体 LcuM3 を用い, その確認を試みた結果この細胞が, macrophage 系細胞であることを確認した。絨毛間質細胞のうち macrophage の機能を持つ細胞は, 1970年, Enders & King¹⁵⁾によって報告された Hofbauer 細胞である。今回の研究で, この Hofbauer 細胞に cytotrophoblast と同様, Trop 1 抗原が存在することを確認した。なお, まだ症例数が少ないが, 妊娠初期に子宮内胎児死亡と診断された cytotrophoblast に, 本来この週数であれば多量に存在するはずの Trop 1 抗原が, 極めて微量であることを発見した。この点がさらに確認されれば, Trop 1 抗原はヒト血清中にも存在するので, 妊娠初期の異常妊娠の診断にも役立つ可能性が示唆される。現在, Trop 1 抗原の機能については, 胎盤の生理機能の加齢変化や Hofbauer

細胞機能との関係から検索を進めている。

一方, Trop 2 抗原についても, 従来これが syncytiotrophoblast と cytotrophoblast の両者に存在するといわれていた²⁾が, 今回の研究では, これが cytotrophoblast にのみ存在することが確認された。さらに Trop 2 抗原は, 加齢にともなう変化を示さないで, cytotrophoblast の重要な構成分子の一つである可能性が示唆された。

胎児の成長に必要な鉄の量は, Pribilla ら¹⁵⁾の報告によれば, 妊娠経過中300mgとかなり多くを必要とするとされている。Radioimmunoassay による Enns ら¹¹⁾の報告では, 正常妊娠中の絨毛上皮には, transferrin 受容体の量が reticulo-cyte, erythrocyte, および normal breast とは比較にならないほど大量に存在している。この transferrin 受容体は, 腫瘍組織中にも高濃度に存在しているが, 絨毛上皮と比較すると2倍以下である。Transferrin の役割については, 現在これが細胞の成長や増殖に密接に関連していることが明らかになっている¹⁷⁾が, 未だ妊娠の経過に伴うその推移に関しての報告は少ない。今回, 著者は妊娠週数別に transferrin 受容体の分布, およびその加齢的变化について検討してみたところ, これが syncytiotrophoblast に限局して存在し, しかも妊娠5週から分娩直後の胎盤, さらには子宮内胎児死亡した胎盤の syncytiotrophoblast にも存在していることが明らかとなった。Transferrin 受容体が絨毛組織の中で最も重要な物質の交換にたずさわる syncytiotrophoblast に多量に存在するのは, 胎児の発育にとって重要な物質であると考え。

胎児・胎盤は, 遺伝学的に父系・母系遺伝子を半分ずつ持っており, 免疫学的には semiallograft とみなすことができる。この胎児・胎盤がなぜ母体により拒絶されないかは, 生殖免疫学における現在の大きな研究課題となっている。この点に関して, 正常妊娠絨毛に組織適合抗原が存在するか否かの検討が, 1970年代以降多く報告されてきている。1971年 Loke ら¹⁸⁾は, 妊娠初期正常絨毛を単層培養し, これに抗 HLA 抗血清および補体に

よる細胞障害試験を行い、HLA 抗原の存在を認めると報告した。1976年 Goodfellow ら¹⁹⁾は、絨毛細胞膜分画に HLA-A、-B、-C 抗原・HLA-DR 抗原・ β 2-microglobulin の存在を確認したが、これらの量が極めて微量であるために、胎盤が拒絶の対象にはならない可能性を示唆した。これに対して、1976年 Faulk ら²⁰⁾らは、妊娠初期・中期・末期の各絨毛の凍結切片を、抗 HLA-A、-B、-C 抗血清、および抗 β 2-microglobulin 抗血清で、免疫蛍光抗体法・酵素抗体法染色とで検索した結果、血管を含む絨毛間質には陽性所見を認めたが、絨毛細胞上皮には HLA 抗原が認められないことを示した。続いて、1981年 Sunderland ら²¹⁾は、摘出妊娠子宮（妊娠6週）の着床部位の解剖学的構築を維持したまま凍結し、その組織切片について、HLA-A、-B、-C と HLA-DR に対する単クローン抗体を用いた免疫酵素抗体法により検討した結果、non-villous trophoblast に HLA-A、-B、-C 抗原のみが存在するという新しい所見を報告した。その後、Redman ら²²⁾は、non-villous trophoblast の細胞表面の HLA 抗原の決定基は、HLA-C かあるいは未知の HLA 抗原の可能性があると報告している。これに対して Kawata ら²³⁾は、flow cytometry により cytotrophoblast のみを分離するという方法によって、その中に含まれる HLA-A、-B、-C heavy chain の mRNA 量を調べ、これらが正常リンパ球の300分の1程度の量であることを示し、HLA 遺伝子が絨毛上皮では転写レベルで抑制の発現をなされていることを示唆した。今回、著者も胎盤絨毛上皮について、抗 HLA 抗体を用いて検討してみたところ、Sunderland ら²¹⁾の報告と同様に HLA-A、-B、-C に共存する抗原のみが、non-villous trophoblast にのみ明らかに認められた。合目的には、分化した cytotrophoblast、さらには syncytiotrophoblast HLA 抗原、特に移植拒絶の対応抗原である Class I 抗原 (HLA-A、-B、-C) が存在しないということは極めて重要なことである。未分化な non-villous trophoblast に存在する HLA 抗原が、分化の過程で消失するという現象は、生殖

における適応現象として重要なものと考えられる。この点に関しては、早期流産などの例で HLA 抗原の消長との関係を検索中である。

結 論

ヒト胎盤絨毛上皮細胞の、加齢にともなう抗原性の変化および分布について、妊娠5から41週までの胎盤36例を対象に、Trop 1 と 2 抗体、Transferrin 受容体、および HLA 抗原に対する抗体などを用いて、免疫組織化学的に検討したところ、以下の結論が得られた。

1. Trop 1 抗原は cytotrophoblast と Hofbauer 細胞に存在した。このうち cytotrophoblast 上の Trop 1 抗原は妊娠22週以降になると、その細胞表面から完全に消失した。一方、Hofbauer 細胞上の Trop 1 抗原の変化は認められなかった。Trop 1 抗原と胎盤機能との関係については、妊娠初期から中期の cytotrophoblast の機能と関連した物質であると考えられた。

2. 子宮内胎児死亡例の cytotrophoblast は、本来この妊娠週数では多量に存在するはずの Trop 1 抗原が極めて微量であり、子宮内胎児死亡との関連が注目された。

3. Trop 2 抗原は cytotrophoblast のみに存在し、妊娠経過にともなう明らかな変化を示さない抗原で、cytotrophoblast の重要な構造分子である可能性が示唆された。

4. Transferrin 受容体は、妊娠経過中常に syncytiotrophoblast に存在し、胎盤機能に重要な因子であることが裏づけられた。

5. HLA 抗原のうち Class I 抗原は、妊娠初期の non-villous trophoblast にのみ存在し、syncytiotrophoblast や cytotrophoblast には存在しなかった。また、この抗原は妊娠22週以降の絨毛血管内皮細胞に存在することが確認された。一方、Class II 抗原は、妊娠経過中絨毛上皮には認められなかった。このうち HLA-DR 抗原は、Hofbauer 細胞や血管内皮に認められた。HLA 抗原が絨毛上皮細胞に存在しないのは、生殖免疫

の適応現象として重要と考えられた。

稿を終えるにあたり、懇切なるご指導とご校閲を賜った順天堂大学医学部病理学第二講座白井俊一教授、ご指導を賜った順天堂大学医学部産婦人科学講座古谷 博前教授、ご校閲を賜った順天堂大学医学部産婦人科学講座高田道夫教授、ご協力を頂いた教室員、病理学第二講座教室員・技術員各位、抗体を快く提供して頂いた順天堂大学医学部免疫学講座奥村 康教授、組織を提供して頂いた江東病院産婦人科松田静治副院長、賛育会病院産婦人科吉田浩介部長に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 吉田吉信：胎盤の形成と発育。産婦人科の実験，**34**：289～295，1985
- 2) Lipinski, M., Parks, D.R., Herzenberg, L. A., *et al.*: Human trophoblast cell-surface antigens defined by monoclonal antibodies. Proc. Natl. Acad. Sci, **78**：5147～5157, 1981
- 3) Sunderland, C. A., Redman, C.W.G. & Stirrat, G.M.: Monoclonal antibodies to human syncytiotrophoblast. Immunol, **43**：541～546, 1981
- 4) Jonson, P.M., Molloy, C. M. & Slade, M. B.: Human trophoblast specific surface antigens identified using monoclonal antibodies. Am. J. Reprod. Immunol, **5**：106～108, 1984
- 5) 中村隆文, 山下幸紀, 清水 哲, 他：絨毛癌に対する単クローン抗体の作成。日産婦誌, **36**：1493, 1984
- 6) Loke, Y. W., Whyte, A. & Davies, S.P.: Differential expression of trophoblast specific membrane antigens by normal and abnormal placentae and by neoplasms of trophoblastic and non-trophoblastic origin. Int. J. Cancer, **25**：459～462, 1980
- 7) Anderson, D. J., Johnson, P.M., Griffin, P. D., *et al.*: Monoclonal antibodies to human trophoblast and sperm antigens. J. R prod. Immunol. **10**：231～257, 1987
- 8) Soubiaran, P., Lipinski, M. & Masseyeff, R.: Distribution of Trop 3 and Trop 4 antigens as defined by monoclonal antibodies raised against a human choriocarcinoma cell line. Am. J. Reprod. Immunol, **12**：118～123, 1986
- 9) Wada, H. G., Hass, P. E. & Sussman, H. H.: Transferrin receptor in human placental bursh border membranes. J. Biol. Chem, **254**：12629～12635, 1979
- 10) Seligma, P. A., Schleicher, R.B. & Allen, R.H.: Isolation and characterization of the transferrin receptor from human placenta. J. Biol. Chem, **254**：9943～9946, 1979
- 11) Enns, C. A., Shindelman, J. E., Sussman, H. H., *et al.*: Radioimmunochemical measurement of the transferrin receptor in human trophoblast and reticulocyte membranes with a specific anti-receptor antibody. Proc. Natl. Acad. Sci, **78**：4222～4225, 1981
- 12) Berkowitz, R. S., Dubey, D. P., Anderson, D. J., *et al.*：Localization of transferrin receptor in the choionic villi of complete molar pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol, **151**：128～129, 1985
- 13) 倉智敬一：妊娠と内分泌。現代産婦人科学大系 4c 臨床内分泌学総論, 坂元正一, 他編, 105～122, 中山書店, 東京, 1971
- 14) 笹川 基：免疫組織化学的解析による正常妊娠および絨毛性疾患の trophoblast subpopulation に関する研究。日産婦誌, **37**：2010～2014, 1985
- 15) Enders, A. & King, B.F.: The cytology of Hofbauer cells. Ant. Rec, **167**：231～252, 1970
- 16) Pribilla, W., Bothwell, T. H. & Finch, C. A.: in Iron in Clinical Medicine. 58～64, Berkeley, C. A., Univ. Carifornia, 1985
- 17) Gatter, K. C., Brown, G., Mason, D. Y., *et al.*: Transferrin receptors in human tissues : their distribution and possible clinical relevance. J. Clin. Pathol, **36**：539～545, 1983
- 18) Loke, Y. W., Joysey, V. C. & Borand, R.: HLA antigens on human trophoblastic cells. Natur, **232**：403～405, 1971
- 19) Goodfellow, P. N., Barnstable, C. J., Crumpton, J. M., *et al.*: Expression of HLA system antigens on placenta. Transplant, **22**：595～603, 1976

- 20) Faulk, W. P., Sanderson, A. R. & Temple, A.: Distribution of MHC antigens in human placental chorionic villi. *Transplant*, **9** : 1379~1384, 1977
- 21) Sunderland, C. A., Redman, C. W. & Stirrat, G. M.: HLA A B C antigens are expressed on nonvillous trophoblast of the early human placenta. *J. Immunol*, **127** : 2614~2615, 1981
- 22) Redman, C. W., Stirrat, G. M. & Sunderland, C. H.: The expression of Class I major-histocompatibility complex (MHC) antigen by human nonvillous trophoblast. *J. Reprod. Immunol. Suppl*, **64**, 1983
- 23) Kawata, M., Parnes, J. R. & Herzener, L. A.: Transcription control of HLA-A B C antigen in human placental cytotrophoblast isolated using trophoblast- and HLA- specific monoclonal antibodies and the fluorescence - activated cell sorter. *J. Exp. Med*, **160** : 633~651, 1984

Original Paper

Summary**Distribution of Human Placental Antigens and their Age-Associated Changes**

To study the correlation between the development of placenta and its functional changes, immunofluorescent and immuno-histochemical analyses of the distribution of cell-surface antigens of chorionic cells and their age-associated changes were performed, using placentas ranging from 5 gestational weeks to the period of delivery.

Monoclonal antibody (MAb) Trop 1 which had been raised against the human choriocarcinoma cell-line BeWo, reacted with cytotrophoblast, but not with syncytiotrophoblast and non-villous trophoblast, in the first trimester. However, this antigen gradually disappeared after 16 gestational weeks and was negative on the cytotrophoblast of the placentas more than 28 gestational weeks. A very weak expression of Trop 1 was noted on the cytotrophoblast in the case of intra-uterine fetal death which occurred before 16 gestational weeks. Therefore, Trop 1 seems to be an important functional molecule on the cytotrophoblast at an early phase of pregnancy. The stromal Hofbauer cells (placental macrophages) were also positive for Trop 1. These cells were distinguished by their morphological characteristics and the expression of HLA class I, HLA-DR and LeuM 3 antigens. Trop 2 antigen, the antigen detected by another MAb raised against BeWo cells, was also distributed only on the cytotrophoblast. The expression of this antigen did not change during the development of the placenta. In contrast to Trop 1 and Trop 2 the transferrin receptor was located on syncytiotrophoblast and partially on the non-villous trophoblast, and was expressed throughout the pregnancy.

Thus, this molecule appears to play a role in the basic metabolism of the placenta throughout the pregnancy. Studies of HLA antigens showed that both Class I and Class II antigens were not expressed on the chorionic villous epithels. However, the Class I antigen was positive on the non-villous trophoblast. The lack of HLA antigens on the villous trophoblasts appears to be advantageous against the maternal immune response to the fetus.

Key words : Trop 1 antigen, Trop 2 antigen, HLA antigens, transferrin receptor, trophoblast

RYOICHIRO MIYAZAKI, M. D.

Department of Obstetrics and Gynecology,

Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan