

【目的】妊婦層への薬物治療の拡大には、妊娠に伴う薬物動態変動を規定する機構の解明が重要である。そこで本研究では、胎盤および母体における薬物動態規定因子発現に及ぼす胎盤由来 miRNA の影響を解明することを目指し、研究を行った。具体的には、胎盤関門形成に及ぼす miRNA の影響に加え、胎盤由来エクソソーム中 miRNA が肝実質細胞における薬物代謝酵素活性に与える影響を明らかにすることを目的とした。胎盤特異的 miRNA を妊婦体内動態評価のマーカーとしても活用できれば、妊婦における薬物動態変動予測における問題を解決する突破口ともなる。

【方法】Forskolin あるいは miR-126 を添加したヒト絨毛癌由来 JEG-3 細胞における miRNA または mRNA の発現を、マイクロアレイおよび定量 PCR 法で解析した。3'非翻訳領域を介した miR-126 による遺伝子発現制御は、ルシフェラーゼアッセイで評価した。JEG-3 細胞の培養上清からエクソソームを抽出してヒト肝癌由来 HepG2 細胞の培養液中に添加し、培養後の mRNA 発現の変動を定量 PCR 法で解析した。

【結果】1. 胎盤関門形成における miRNA の役割: JEG-3 細胞に PKA アゴニストである forskolin を添加することで、合胞体化因子や関門トランスポーター発現が促進される。Forskolin 添加後の miRNA 発現変動をマイクロアレイで網羅的に解析した結果、miR-126-3p の変動が大きく、発現量が約 5 倍に上昇することを見出した (図)。さらに、miR-126 を導入後の JEG-3 細胞において、胎盤関門形成時の合胞体化抑制機能を持つ可能性がある *LIN28A* や *F3* の発現が有意に減少した。一方、miR-126 は胎盤栄養膜細胞の融合を担う *syncytin-1* および *syncytin-2* に加えて、*syncytin-2* の受容体である *MFSD2A* の発現を上昇させることが示された。これらは、forskolin 添加後の JEG-3 細胞における発現変動パターンと相関していた。*LIN28A* あるいは *F3* 遺伝子の 3'非翻訳領域をルシフェラーゼ遺伝子の下流に組み込んだプラスミドを遺伝子導入した JEG-3 細胞において、miR-126 導入はルシフェラーゼ活性を半分以下に低下させた。加えて、*LIN28A* 遺伝子の 3'非翻訳領域のうち、miR-126 との結合予想領域の一部に変異を加えると影響は消失した。以上の結果から、miR-126 は PKA 活性化に伴い発現量を上昇させ、*LIN28A* の 3'非翻訳領域と結合してその発現を抑制することが明らかとなり、miR-126 が胎盤関門形成に大きな役割を果たす可能性が示された。2. 母体薬物代謝に及ぼす胎盤由来 miRNA の影響: JEG-3 細胞の培養上清から抽出したエクソソーム画分は、HepG2 細胞における *CYP3A4* および *CYP1A2* の発現量を上昇させる一方、*CYP2C9* および *CYP2D6* の発現量は減少させることが示された。胎盤エクソソームは肝臓における薬物代謝酵素の発現を調節可能であることが示され、少なくとも *CYP3A4* の発現上昇は、妊娠時における薬物代謝活性変動と相関していた。

PKA アゴニストが JEG-3 細胞における miRNA 発現量に及ぼす影響

