

総説

家畜胎盤で発現する特異タンパク質； プロラクチンファミリータンパク質の発現動態と生理機能

高橋 透

要約

牛をはじめとする反芻家畜の胎盤では、下垂体から分泌されるプロラクチン (PRL) に構造的・機能的に類似した多種類の分子が発現しているが、反芻類胎盤で PRL またはそのパラログが発現する生理学的意義は明らかでない点が多い。本稿では、牛の胎盤で発現する PRL ファミリー分子の種類と分泌動態について解説し、牛の妊娠期における PRL ファミリー分子の生理的意義を、胎子の発育と胎盤の血管新生調節に焦点を当てて考察する。

キーワード：血管新生，胎子発育，胎盤，プロラクチン，パラログ

1. はじめに

我われ獣医師が診療の対象としている動物は哺乳類が多い。家禽やエキゾチックアニマル、そして魚類やミツバチも獣医療の対象として重要なことは言うまでもないが、本稿では哺乳類、特に牛の妊娠を支える胎盤が産生する特異的なタンパク質に焦点を当てて、その特性や生理的意義について考察する。

2. 哺乳類の生殖戦略

哺乳類は脊椎動物亜門を構成する一つの綱 (哺乳綱) をなす動物である。牛の胎子発育における胎盤の役割を考えるに先立ち、まず哺乳類の生殖戦略の特殊性とその効果について考えてみたい。哺乳類はその名称の通り、幼体は母親の乳腺から分泌される母乳で哺育される。そしてほとんどの哺乳類は胎生であり、卵生哺乳類は単孔類 (カモノハシ) のみである。

それでは、胎生とはどのような生殖様式であろうか。胎生とは、「胚が母体の生殖器官内において母体と組織的に連絡して、自由生活ができる状態まで発育する現象」と定義され、相反する概念である卵生とはその様式が大きく異なっている。胎生動物が一度に卵巣から放出する卵子の数、即ち排卵数は動物種ごとに

厳密に決まっている。マウスは数個から十数個、牛や馬は1個というように毎回ほぼ一定に制御されており、排卵数は生まれる幼体の数と同数かやや多い程度である。哺乳類の受精は雌動物の体内で行われ、受精によって生じた胚は母体の子宮内で胎盤を介して母体と連絡して発育する。胎盤の形成や胎子の発育には両性ゲノムが必須であり、単為発生胚は勿論のこと、雌性発生胚 (顕微鏡下のマイクロマニピュレーションによる胚操作で2個の雌性前核を合体させた胚) や雄性発生胚 (2個の雄性前核を合体させた胚) も産子が生まれることはない。この一見融通の効かないシステムは、世代を経るごとにゲノムの多様性を増すことで環境適応していこうとする戦略の一つと考えられる。

また、個体の生命活動が最も活発な時期に生殖活動を行ない、ライフサイクルの中で十分に幼体の子育てが可能なのも胎生動物の特徴であろう。ヒトでは、加齢によって生殖機能がなくなった後も個体の生命が長く保たれるが、これは集団の食料競合のデメリットよりも、「亀の甲より年の劫」による文化の継承のメリットの方が大きいという指摘もある。

しかし、胎生という生殖戦略は、哺乳類に固有の生殖様式ではない。脊椎動物で胎生種が存在しないの

は、円口類（ヤツメウナギ）と鳥類のみであり、魚類、両生類、爬虫類などには胎生種が存在する。硬骨魚類の出現から現世哺乳類に至る進化の過程で動物は幾度となく胎生に挑戦してきたかのように見える。しかし哺乳類以外では胎生は非主流であり、哺乳類のみが胎生のメリットを最大限に活用して進化してきた。

3. 胎生と胎盤

胎盤は母体と胎子を繋ぐインターフェースであり、胎子にとってはガス交換を担う呼吸器官として、栄養素の供給による消化器官として、代謝産物を排泄する排泄器官として、さらには胎盤自身が多様なシグナル分子を産生する内分泌器官として、実に多彩な役割を果たしている。

もしも胎盤がなかったら胎子はどこまで発育できるのだろうか？ 動物の組織片を器官培養する際には、培養液中の酸素が組織に浸透できる深さは0.8mm程度である。この場合、厚さが1.6mm以上の組織片は中央部が酸素不足によって壊死してしまう。培養気相の酸素分圧を上げると酸素は深くまで浸透するが、今度は組織の表層が高濃度酸素の影響でダメージを受ける。このような条件では、組織片の長さや面積に関係なく、厚みが一定以下であれば酸素は到達するので、蠕虫の形態は概ねこの原則に適合している。例えば、サナダムシと俗称される広節裂頭条虫は長さが数メートルにも達するが、片節の幅は10mm程度で厚みは1-2mm程度である。ウシ胚も受精後3-4週で着床を開始する時期には長さが20cm以上にまで伸長するが、胚を構成する組織は薄い膜状で酸素や栄養素は周囲からの浸透で賄われている。しかし、将来胎子とな

る組織が形成される時期になると浸透だけでは酸素を賄いきれず、自身の脈管系を構築しつつ母体と積極的に結合する。これが胎盤形成の始まりとなる。興味深いことに、絨毛膜の表層に100個ほど形成される牛の胎盤は、その全てが一斉に形成されるのではなく、絨毛膜の胎子近傍から形成が始まり、胎子の発育とともに遠位に向かって形成が進行する。牛の絨毛膜に胎盤が形成される分子機構は完全に解明されていないものの、胎子の成長に伴う酸素や栄養素などのデマンドが直接の引き金になっているであろうことは容易に想像されることである。

妊娠成立とともに、胎子組織の重量は指数関数的に増加するが、この成長の資源は全て胎盤を介して供給される。妊娠220-240日齢頃のウシ胎子の体重は約20kg程度であるが、胎子の日増体量は約350gにも及ぶ。この時期の日増体量は体重の1.75%に及び、胎盤は驚異的な成長を支えている [1] (図1)。

4. 胎盤で発現するプロラクチンとそのパラログ

奇妙なことに、哺乳類の胎盤ではプロラクチン(PRL)やそのパラログ(祖先遺伝子から遺伝子重複によって派生した相同分子)が発現している。哺乳類の胎盤でPRLやそのパラログが発現するという一見脈絡のない現象も、硬骨魚類から哺乳類に至るまで進化のプロセスを一連の流れとして捉えることによって一定の理解が得られるかもしれない。PRLは脊椎動物の進化の過程において、「新しい繁殖戦略の採用」を支えたホルモンであり、いわば進化の立役者である。家畜においては、下垂体以外で発現するPRLファミリー分子の生物学的役割について未だ明らかでない

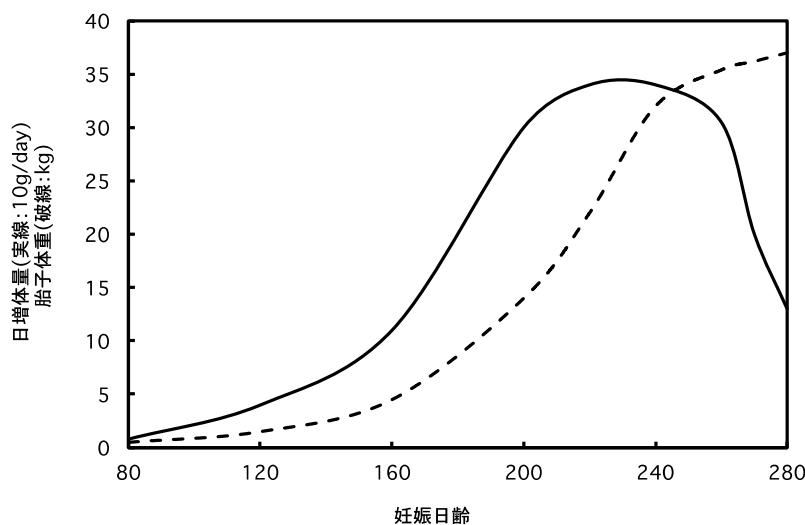


図1 牛の胎子の発育曲線。横軸は妊娠日齢、実線は1日あたりの増体量、破線は体重を示す(参考文献 [1] から改変して引用)。

ところが多いが、本稿では反芻家畜胎盤で発現する PRL のパラログの役割について概観する。

5. PRL の分子進化

PRL は下垂体前葉の酸好性細胞であるラクトロフで発現するタンパク質で、黄体形成ホルモンや卵胞刺激ホルモンのような糖タンパク質と違って糖鎖修飾を持たない単純タンパク質であり、またサブユニット構造を持たない 1 本鎖のポリペプチド鎖からなっている [2]。牛やヒトの PRL の成熟タンパク質は 199 個のアミノ酸残基から構成されている。PRL は成長ホルモン (GH) と構造的・機能的に類似性が高く、遺伝子の塩基配列も相同性が認められることから、PRL と GH は同一の祖先遺伝子 (現在では失われている) から遺伝子重複によって派生したパラログであると考えられ、一連の相同遺伝子群は GH/PRL 遺伝子ファミリーと呼ばれている [3]。PRL の遺伝子は硬骨魚類以降の進化の系譜に認められており、それぞれの動物種で重要な意義を持つと考えられているが、その整理作用は極めて多様で「PRL の生理作用」として一括りにすることが難しい [4]。

イトヨなどの魚類は「子育てを行う魚類」として知られているが、PRL は魚体の皮膚腺からの粘液物質の産生を促進し、この粘液物質が幼魚の餌として利用される。皮膚腺からの分泌は産卵後にのみ認められ、「子育て」目的に特化した機能であることがわかる。サケ科の魚類のあるものは稚魚が降海して海洋で成長し、産卵のために河川を遡上する。PRL は魚類の回遊行動や回遊に伴う体内浸透圧調節を司っている。また、タツノオトシゴのオスはメスが産卵した卵を抱えて孵化させるが、その際に自身の胸ビレを動かして卵に新鮮な海水を供給する。この行動はファニングと呼ばれ、PRL はファニングにも関与している。

両生類の卵には爬虫類や鳥類のような強固な卵殻がないために、産卵場所は水中でなくてはならない。陸棲のイモリが産卵のために水生に転換するウォータードライブは PRL の作用である。

ハトのそ嚢は PRL によって肥大して幼雛の餌となるプロップサックミルクを産生する。これは PRL のバイオアッセイにも応用されている著名な現象であるが、この他にも抱卵中に胸部の羽毛が脱毛して皮膚の毛細血管が充血して抱卵中の卵に効率よく体温が伝導する仕組みであるブラッドパッチや、就巢行動も PRL の作用である。白色レグホンは高い産卵能力を有する鶏品種であり、産卵能力の障害となる就巢性がない。就巢性は PRL の作用によって発現し、白色レ

グホンの就巢性喪失は PRL 遺伝子の部分的欠失によることが報告されている。

哺乳類における PRL の役割は、その命名の元になった乳腺に対する作用の他に黄体維持や子育て行動への役割が知られている。

このように、PRL は多様な生物種の中で多様な生理的役割を発揮しており、典型的な作用を一言でまとめ難い。

6. 動物種に特有な PRL 遺伝子ファミリーの拡大

ヒトの PRL 遺伝子ファミリーは、PRL および胎盤性ラクトジェン (PL) の 2 種類であるが、マウスでは 27 種類 [5]、ラットでは 21 種類 [5]、反芻類では 12 種類 [6] のパラログが PRL 遺伝子ファミリーを構成し、そのほとんどが胎盤で発現している。反芻類やげっ歯類では PRL 遺伝子ファミリーがヒトに比べて極端に拡大しており [7]、これはウサギや犬では PL が存在しないために PRL 遺伝子ファミリーを構成する遺伝子が PRL しかない事と比較すると更に顕著な特徴といえる [8]。PRL 遺伝子ファミリーの拡大は遺伝子重複によってもたらされ、この考え方は、ウシの GH/PRL 遺伝子ファミリー遺伝子の全てが 23 番染色体にクラスターしている事からも裏付けられる [3]。派生したパラログは変異が起きても淘汰圧から逃れることができるために、急速に変異が蓄積してゆく。遺伝子重複によって生じたパラログは、変異が蓄積したジャンク遺伝子とみなす考え方と、祖先分子と構造や機能が大きく異なる新しい機能分子とみなす正反対の解釈がなされるが、反芻類の PRL 遺伝子ファミリーを構成する遺伝子がそのいずれに該当するかは明らかでない。

7. 反芻類で発現する胎盤性 PRL ファミリー

げっ歯類やヒトの胎盤組織に乳腺を刺激する物質が含まれていることは古くから知られており、ここから PL が発見されている [9, 10]。牛胎盤においても同様の活性が存在することが報告されて精製と構造決定がなされた結果、牛にも PL が存在することが明らかになった [11, 12]。牛の PL は PRL とほぼ同等の生物活性を有し、51% のアミノ酸残基が牛 PRL と相同である [13]。

その後、三重大学医学部の中島邦夫教授 [14, 15]、米国ウィスコンシン大学獣医学部の LA Schuler 教授 [16]、農業生物資源研究所 (現 農研機構) の橋爪一善博士 [17-19] (現 岩手大学名誉教授) がヤギやヒツジも含めた反芻類の遺伝子ファミリーメンバーを

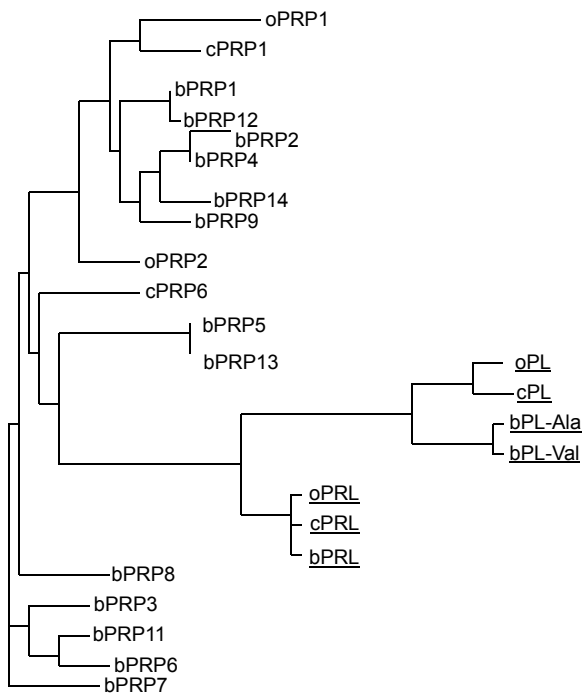


図2 反芻類のPRLファミリーを構成するプロラクチン(PRL)、胎盤性ラクトジェン(PL)、PRL関連タンパク質(PRP)の分子系統樹。小文字のbは牛、cは山羊、oは羊を示す(引用文献18、19から改変して引用)。

次々と同定し、現在では牛のPRLファミリー遺伝子は12種類にのぼっている(図2)。

反芻類の「拡大した」PRL遺伝子ファミリーのメンバーには、祖先遺伝子であるPRLの生理活性を持っている「クラシカル」メンバーと、PRL活性を失った「ノンクラシカル」メンバーに大別される。「クラシカル」メンバーにはPRLとPLが該当し、「ノンクラシカル」メンバーには一連のPRL関連タンパク質(PRP)が該当する。この名称が示すように、クラシカルメンバーは進化的に古い分子種で、ノンクラシカルメンバーは新しい分子種といえる。

8. 牛胎盤におけるPRLファミリー遺伝子発現の特徴

先に、牛胎盤ではPLやPRPが発現していることを述べたが、胎盤におけるこれらの遺伝子の発現は、時間的(発現の時期)および空間的(発現細胞)に厳密な調節を受けている。PLやPRPは胎膜の最外層を構成する栄養膜に存在する二核細胞で転写が起こり、完成したタンパク質は細胞質の分泌顆粒に蓄えられる[20]。PLやPRPの発現はほとんどの二核細胞で認められ、胎盤における発現開始は、二核細胞の出現時期(受精後約3週)にほぼ一致している[21]。これは、栄養膜細胞の分化とPRLファミリータンパク質発現

に関連性があることを示唆するものであり[22]、妊娠60日齢の胎盤試料を用いた研究によれば、二核細胞の約95%にPLやPRPの発現が認められ、その多くに妊娠関連糖タンパク質(PAG)が共発現している。PLやPRPの発現は、栄養膜の二核細胞に限定され、単核の栄養膜細胞には全く発現しない。PAGタンパク質の中には二核細胞と単核細胞の両方で発現するものもあるが[23]、PLやPRPは二核細胞特異的であり、極めて厳格な発現調節機構が存在することが想像される[21]。

二核細胞の分泌顆粒に蓄えられたPLやPRPタンパク質は、二核細胞が子宮内膜上皮細胞と融合して三核細胞を形成した後に母体組織中に分泌される。牛の母体血中PL濃度は妊娠60日頃から約0.6 ng/ml程度の濃度で検出され始め、妊娠の経過とともに漸増して妊娠200日頃には1.3 ng/ml程度の濃度に到達して分娩まで維持される[24]。分娩後は後産の排出とともに血中濃度は急減して分娩の翌日または翌々日には検出されなくなる。牛の母体血中PL濃度はヒトの血中濃度(妊娠末期には数 μ g/ml)に比較して著しく低く、これには発現量そのものの多寡と共に、反芻類と霊長類の胎盤構造の相違(結合組織絨毛胎盤と血絨毛胎盤)が影響しているのかもしれない。

9. 牛の妊娠維持と胎子発育に及ぼす胎盤性PRLファミリータンパク質の役割

げっ歯類におけるPRLとそのパラログは、黄体機能発現と妊娠維持に極めて重要な役割を担っている。即ち、不完全発情周期動物であるラットは、交尾刺激がないと排卵後に形成される黄体は活性化されず、4日周期の発情周期が回帰する。しかし、交尾が成立した場合には、1日2回のPRLサージが下垂体から分泌されて黄体機能が活性化される。妊娠が成立して胎盤が形成されると胎盤性ラクトジェンI(PL-I)が胎盤から分泌されて下垂体PRLに替わる黄体維持の主役になる[25]。さらに妊娠後半にはPL-Iに替わってPL-IIが胎盤から分泌されて黄体維持の役割を担う[26]。

牛においても組換えPLを投与すると黄体サイズの増大や血中プロゲステロン濃度の上昇が認められたとする報告もあるが[27]、羊ではそのような作用は認められず[28]、牛PLに黄体刺激作用があるかどうかは明らかでない。

牛PLがPRL活性と共に、弱いながらもGH作用を持つことが知られている。黄体維持との関連性が希薄な牛PLの役割の一つとして、PLは母体が摂取し

た栄養素を胎子の発育を促進するように振り分ける調節機構に参与するという仮説が提唱されてきた。妊娠中のボディコンディションスコアが低い母牛から生まれた子牛の体重は、BCSが中程度の対照群の母牛から生まれた子牛に比較して有意な違いが見られなかったが、低BCS母牛の子宮重量は対照群よりも軽かったが胎盤重量は逆に重く、尿膜水中の果糖濃度は低BCS群で低かった。更に母体血中PL濃度は低BCS群で対照群より低かった [29]。これらの成績は、PLが母体と胎子間の栄養素の割り振りに関わっているという仮説を支持するものである。また、羊をPLで免疫して抗体価が上がっていきから繁殖に供した場合には正常に受胎して分娩に至るが、産子の体重と分娩後の乳量が増加することが報告されている [30]。PL免疫羊では、胎盤から分泌されたPLは抹消血中に存在する抗体で中和されてしまうものの、胎盤組織における産生は逆に亢進し、栄養素の割り振りが「胎子寄り」になった結果かもしれない。

10. PRL ファミリータンパク質の血管新生調節因子としての役割

ヒトの産褥性心筋症が、PRLがカテプシンで切断されて生成するN末端側の16k断片によって引き起こされることが報告されて以来 [31]、ヒト以外の種においても、ラットPRLがカテプシンで切断されて生じるN末端断片が血管新生抑制作用を示すことが知られている [32]。この時生じるN末端断片と同じ構造の組換えタンパク質も同様の活性を示すことから、PRLのN末端断片は血管内皮細胞の細胞増殖を阻害することによって血管新生を抑制していると考えられている [33]。

筆者らは、牛PRP1タンパク質について同様の実験を行ったところ、PRLの場合とは反対に、PRP1タンパク質のN末端断片は血管内皮細胞の増殖を促進することを報告した [34]。PRP1タンパク質はIV型コラーゲンに結合する性質がある [35]。PRP1タンパク質は細胞外マトリックスを分解するマトリックスメタロプロテナーゼによっても切断を受けることから、胎盤形成に伴う組織リモデリング過程で、マトリックスにアンカーされたPRP1タンパク質が酵素切断を受けてそのN末端断片が血管新生を促進的に調節しているものと想像される。

11. おわりに

実のところ、反芻類の胎盤でPRLファミリー分子が発現する意義は明らかではない。また、反芻類や

げっ歯類でのみPRLファミリーが拡大した理由も不明である。進化における中立説の「必要性のない遺伝子ほど進化の自然淘汰にかかりにくく、多様性が急速に増大する」という原則を考慮すると、反芻類のPRLファミリーの拡大が繁殖戦略に関する何らかの機能獲得に関連したものであるかどうかは今後の検証に俟たねばならない。家畜動物の胎盤機能の研究は生物学の地平を拓ける遠大なテーマであると共に、獣医療や畜産業の高度化を目指す技術開発のコアになる部分でもあり、今後一層の発展が期待される。

引用文献

- [1] Rrior RL, Laster DB : J Anim Sci, 48, 1546-1553 (1979)
- [2] Gregerson KA : In Neill, J. D. (ed.) Physiology of Reproduction., 1703-1726 Elsevier, Amsterdam (2006)
- [3] Wallis M : J Molecular Endocrinology, 9, 185-188 (1992)
- [4] 若林克己 : ホルモンハンドブック, 104-453, 南江堂, 東京 (1988)
- [5] Soares MJ, Alam SM, Duckworth ML, Horseman ND, Konno T, Linzer DI, Maltais LJ, Nilsen-Hamilton M, Shiota K, Smith JR, Wallis M : Mamm Genome, 18, 154-156 (2007)
- [6] Ushizawa K, Takahashi T, Hosoe M, Kaneyama K, Hashizume K : Reprod Biol Endocrinol, 3, 68 (2005)
- [7] Soares MJ, Müller H, Orwig KE, Peters TJ, Dai G : Biol Reprod, 58, 273-284 (1998)
- [8] Talamantes F. Jr : General and Comparative Endocrinology, 27, 115-121 (1975)
- [9] Josimovich JB, MacLaren JA : Endocrinology, 71, 209-220 (1962)
- [10] Kohmoto K, Bern HA : J Endocrinology, 48, 99-107 (1970)
- [11] Buttle HL, Forsyth IA : J. Endocrinology, 68, 141-146 (1976)
- [12] Arima Y, Bremel RD : Endocrinology, 113, 2186-2194 (1983)
- [13] Schellenberg C, Friesen HG : Endocrinology, 111, 2125-2128 (1982)
- [14] Tanaka M, Yamakawa M, Watahiki M, Yamamoto M, Nakashima K : Biochim Biophys Acta, 1008, 193-197 (1989)
- [15] Yamakawa M, Tanaka M, Koyama M, Kagesato

- Y, Watahiki M, Yamamoto M, Nakashima K : J Biol Chem, 265, 8915-8920 (1990)
- [16] Schuler LA, Kessler MA, Tanaka M, Nakashima K : Endocrinology, 129, 2057 (1991)
- [17] Ushizawa K, Kaneyama K, Takahashi T, Tokunaga T, Tsunoda Y, Hashizume K : Biochem Biophys Res Commun, 326, 435-441 (2005)
- [18] Ushizawa K, Takahashi T, Hosoe M, Kizaki K, Abe Y, Sasada H, Sato E, Hashizume K : BMC Dev Biol, 7, 16 (2007)
- [19] Ushizawa K, Takahashi T, Hosoe M, Ohkoshi K, Hashizume K : BMC Mol Biol, 8, 95 (2007)
- [20] Wooding FB : J Reprod Fertil (Suppl 31), 31-39 (1982)
- [21] Yamada O, Todoroki J, Kizaki K, Takahashi T, Imai K, Patel OV, Schuler LA, Hashizume K : Reproduction, 124, 427-437 (2002)
- [22] Takahashi T : Anim Sci J, 77, 10-17 (2006)
- [23] Green JA, Xie S, Quan X, Bao B, Gan X, Mathialagan N, Beckers JF, Roberts RM : Biol, Reprod, 62, 1624-1631 (2000)
- [24] Patel OV, Hirako M, Takahashi T, Sasaki N, Domeki I : Domestic Animal Endocrinology, 13, 351-359 (1996)
- [25] Tomogane H, Arbogast LA, Soares MJ, Robertson MC, Voogt JL : Biology of Reproduction, 48, 325-332 (1993)
- [26] Kawai M, Kishi K : J Reprod Fertil, 109, 145-152 (1997)
- [27] Lucy MC, Byatt JC, Curran TL, Curran DF, Collier RJ : Biology of Reproduction, 50, 1136-1144 (1994)
- [28] Waters MJ, Oddy VH, McCloghry CE, Gluckman PD, Duplock R, Owens PC, Brinsmead MW : J Endocrinol, 106, 377-386 (1985)
- [29] Rasby RJ, Wettemann RP, Geisert RD, Rice LE, Wallace CR : J Anim Sci, 68, 4267-4276 (1990)
- [30] Leibovich H, Gertler A, Bazer FW, Gootwine E : Anim Reprod Sci, 64, 33-47 (2000)
- [31] Sliwa K, Fett J, Elkayam U : Lancet, 368, 687-693 (2006)
- [32] Corbacho AM, Martinez De La Escalera G, Clapp C : J. Endocrinol, 173, 219-238 (2002)
- [33] Tabruyn SP, Nguyen NQ, Cornet AM, Martial JA, Struman I : Molecular Endocrinology, 19, 1932-1942 (2005)
- [34] Ushizawa K, Takahashi T, Hosoe M, Kizaki K, Hashizume K : Mol Cell Endocrinol, 323, 277-281 (2010)
- [35] Takahashi T, Yamada O, Soares MJ, Hashizume K : J Endocrinol, 196, 225-234 (2008)

文献抄録

Rhodococcus equi Infections in Dogs

Bryan LK, Clark SD, Diaz-Delgado J,
Lawhon SD, Edwards JF

(Texas A&M University, USA)
Vet pathol, 54, 159-163 (2017)

2003年から2014年の間に5頭の犬がロドコッカス・エクイ感染症に罹患していた。これらのうち3頭には、ロドコッカス・エクイによる病変としては過去に記載のない、眼内炎、心内膜炎、化膿性胸膜肺炎といった病変が認められた。分離株4株の

病原性プラスミド (vap) 遺伝子がPCR法により解析された。1株はvapA陽性、2株は病原性プラスミドを欠き、ほかの1株は最近牛から分離されたvapNをコードする新規のプラスミド (pVAPN) を獲得していた。pVAPNプラスミドはこれまで伴侶動物由来の分離株では報告されていない。4頭はいずれも免疫抑制剤を服用するか、あるいは内分泌障害を示していた。以上の成績から、ロドコッカス・エクイは犬に重篤な感染症を引き起こすおそれがあり、免疫不全に陥った犬では感染のリスクを考慮すべきことがわかった。

(岩手大学獣医病理学研究室)