

P-103 妊娠中毒症胎盤における過酸化反応物の発生とその局在に関する検討

名古屋大

森川重彦、倉内 修、古郡和徳、久野尚彦
板倉敦夫、水谷栄彦、友田 豊

【目的】近年過酸化脂質と各種病態との関係が注目されている。妊娠中毒症においては、母体血中の過酸化脂質上昇について報告されているが、その障害部位については明確になっていない。4-hydroxy-2-nonenal (HNE)は脂質の過酸化により発生し、蛋白質と反応して細胞障害を起こす物質である。今回胎盤における過酸化反応物の発生と、その局在を検討するために、正常及び妊娠中毒症胎盤におけるHNE修飾蛋白について免疫組織学的に検討した。【方法】日本産婦人科学会倫理規定に基づいて得られた、妊娠中毒症胎盤10例、正常胎盤16例(29週-40週)を対象にして、胎盤におけるHNE修飾蛋白の存在を調べるためにウサギ抗HNE修飾蛋白抗体を用いて免疫組織染色および免疫組織電顕を行った。また胎盤組織をホモジェネートし Western-blot法により妊娠中毒症と正常胎盤を比較した。さらに胎盤ホモジェネートを遠心分離により核、ミトコンドリア、ミクロゾーム、可溶性の各細胞分画に分離しWestern-blot法を行った。【結果】妊娠中毒症胎盤では10例中3例においてtrophoblastに特異的に染色された。正常胎盤ではいずれも特異的な染色を認めなかった。Western-blot法では12.0kDaと7.5kDa、7.0kDaにbandを検出したが、いずれのbandも妊娠中毒症胎盤に強くみられた。免疫組織電顕ではtrophoblastの細胞質で主にミトコンドリアに強い局在がみられた。細胞分画後のWestern-blot法でもミトコンドリア分画に強いbandがみられた。【結論】妊娠中毒症胎盤においてtrophoblast細胞質の特にミトコンドリアにHNE修飾蛋白が増加しており、ミトコンドリアにおいて脂質過酸化によりエネルギー産生が障害されていることが示唆された。

P-104 血管内皮細胞由来の cadherin の cloning と妊娠中毒症胎盤血管内皮細胞における免疫組織化学的検討

国立大蔵病院, 同臨床研究部*

川嶋正成, 秋山芳晃, 山田恭輔, 窪谷 健,
武田 修, 倉島富代, 北川道弘*, 伊藤治英

【目的】cadherinは Ca^{2+} 依存性の細胞間接着に関与する分子群で、多数のsubclassの存在が報告されている。我々は血管内皮細胞由来と考えられるcloneの同定を行い、このmonoclonal抗体を用いて妊娠中毒症胎盤における血管内皮細胞の免疫組織化学的検討を行った。

【方法】ヒト brain poly [A]⁺ RNA preparationをtemplateにmixed oligo primerにてPCRを行い得られたbandをprobeとし、ヒト brain c-DNA libraryでplaque hybridizationを行った。得られたclone(#4~#13)のうちヒト培養血管内皮細胞(HUVEC)に特異的に接着活性を有するcloneを同定した。(clone #5)このcloneのEC(extra cellular)部分でmonoclonal抗体を作成し、患者の同意を得た上で妊娠中毒症胎盤血管の免疫組織化学的検討を行った。また正常胎盤血管内皮細胞との比較のため顕微分光測光法を用いて検討を行った。

【成績】plaque hybridizationにて得られたclone(#4~13)を[³⁵S] d-ATPにてsequenceを行い塩基配列を決定したところ既知のcadherinとhomologyを有するものの新しいcadherinであることが判明した。これらのcloneのうち#5のmonoclonal抗体による免疫組織化学染色のみHUVECでの発現が確認された。この抗体を用いて妊娠中毒症胎盤血管を染色したところ正常胎盤に比しcadherinの発現が弱く、顕微分光測光法にて定量的に有意差が認められた。

【結論】血管内皮細胞由来と考えられるcadherinのcloningに成功した。また正常胎盤に比し中毒症胎盤血管内皮細胞での発現性が弱いことよりその成因や病態解明の一助となる可能性が示唆された。