

382 ヒト血管内皮細胞のエンドセリン-1産生に及ぼす妊娠中毒症血清の影響

札幌医大産婦人科、薬理*

西川 聡、山本裕之、宮本 篤*、工藤隆一

【目的】妊娠中毒症(Preeclampsia, PE)では昇圧物質に対する血管感受性の亢進を認め、その発症や進行に血管内皮細胞障害の関与が注目されている。血中エンドセリン-1(ET-1)値はPE妊婦では高値を示し、血管内皮細胞障害に基づくET-1産生亢進が考えられている。我々は、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)を用いてPE血清がET-1産生に及ぼす影響について検討した。【方法】非妊婦、正常妊婦、PE妊婦の肘静脈より採血し(各n=15)、血清分離し実験まで-80℃で保存した。HUVECは正常妊婦の分娩後の臍帯よりJaffeらの方法に従って培養し、実験にはpassage 2を用いた。採血、臍帯使用に関しては各個人にインフォームド・コンセントを得た。ET-1、イノシトール1,4,5-三リン酸(IP₃)は各々ET-1 ELISA system、IP₃ [³H] assay system (Amersham)で測定した。ET-1変換酵素(ECE)の発現はWestern blot法で調べた。HUVECを10%各血清下で培養し、昇圧物質(アンジオテンシンII、エピネフリン)で刺激後、培養液中に放出されたET-1量と細胞で産生されたIP₃量、ECEの発現を測定した。【成績】1)各血清処置したHUVECからのET-1産生は、各血清間に有意差はなかったが、昇圧物質刺激によるET-1産生はPE血清処置により増加した。2)各血清処置したHUVECのIP₃産生、昇圧物質刺激によるIP₃産生は、各血清間に有意差はなかった。3)各血清処置したHUVECのECE発現は、各血清間に有意差はなかったが、昇圧物質刺激によるECE発現はPE血清処置により増加した。【結論】PE血清処置HUVECでは昇圧物質によるET-1産生亢進を認め、ECE発現増加が関与している可能性が示唆された。

383 中毒症の血管平滑筋に対するNO反応性の検討

名古屋市大、同薬理*

鈴木佳克、小島和寿、村上勇、鈴森薫、伊藤猛雄*

【目的】我々は妊娠中毒症(中毒症)の病態変化に内皮由来弛緩因子の一つであるnitric oxide(NO)の機能異常が関与すると報告してきた。今回、血管平滑筋に対するNOの反応性減少のメカニズムについて検討した。【方法】対象は高血圧と蛋白尿を有する純粋型中毒症15名と正常妊婦29名とした。同意の得られた患者より帝王切開時に、大網を摘出し、直径0.1-0.3mmの動脈を分離し、内皮温存または除去標本を作成した。また、内皮除去標本をβ-escin-スキンド標本も作製した。トロンボキサンA₂類似薬である11epithio-11,12-methano-thromboxane A₂(STA₂)にて前収縮後、NOドナーであるsodium nitroprusside(SNP)を用量依存的に添加した。ヒトNa利尿ペプチド(hANP)を同様に添加した。STA₂収縮に対する膜透過性、PDE resistant cGMPである8-pCPT-cGMPの効果もあわせて検討した。【成績】内皮温存標本でSNPはSTA₂-収縮を抑制したが、その反応性は中毒症妊婦で弱かった。hANPもSTA₂-収縮を抑制したが、その反応性も中毒症にて減弱化していた。内皮除去標本において8-pCPT-cGMPはSTA₂収縮を濃度依存性に抑制したが、その抑制は中毒症患者で減弱化していた。血管平滑筋スキンド標本において、Ca収縮に対する8-pCPT-cGMPの収縮抑制効果も中毒症では減弱化していた。【結論】中毒症では、血管平滑筋に対するNOの反応性の低下、特にcGMP以降の情報伝達系の反応性の低下が明らかとなった。

384 酸化的障害下における血管内皮細胞thrombomodulin産生の変化と新規抗酸化物質の効果

京都府立医大

八木いづみ、北宅弘太郎、多田佳宏、保田仁介、本庄英雄

【目的】血管内皮細胞で産生される抗凝固因子であるthrombomodulin(TM)は妊娠中毒症血清での増加が報告されている。今回中毒症モデルとして用いられる酸化的障害下でその産生の変化を蛋白および遺伝子レベルで検討し、併せて抗酸化作用を有する新規エストロゲン誘導体の影響を検討した。【方法】同意の得られた合併症のない正常分娩直後の臍帯から採取した血管内皮細胞を培養し、酸化的障害として各濃度の過酸化脂質、t-butyl hydroperoxide(TBH)の存在化で、TMはEIA法で、mRNAはRT-PCR法で測定し、その変化を検討した。さらに抗酸化作用を有する新規エストロゲン誘導体である2,3-Dihydroxy-D-homo-17-oxaestra-1,3,5(10)-trien-17a-one(TZE5316)を添加し、その影響を検討した。【成績】TBHとの接触により内皮細胞内でのTM量は、TBHの濃度(0.025mM、0.05mM)および時間依存性に低下し、12時間でコントロールに対し53%となり、mRNAも同様に減少した。しかし培養液中のTMの濃度に変化は認められず、TBHによる酸化的障害は内皮細胞表面からのTMの遊離にはなお影響を与えてはいないが、細胞内での産生を抑制したと考えられた。一方TZE5316添加によりTMの産生は増加し、またTBHによるTM産生低下は濃度依存性に抑制され、回復した。また培養液中のTMの濃度変化はやはり認められなかった。【結論】血管内皮への酸化的障害は、内皮細胞表面からのTMの遊離へ影響を与える以前よりすでにその産生の減少を引き起こし、このような変化が抗凝固能低下、血清TMの増加など妊娠中毒症の病態進行に関与していると考えられた。一方エストロゲン誘導体であるTZE5316はそのような酸化的障害の予防に有効な薬剤である可能性が示唆された。