

P-241 Trophoblast の分化における β -1,4 Galactosyltransferase の発現

慶應大

鈴木 直, 青木大輔, 斉藤英子, 片岡史夫, 金杉 優, 進 伸幸, 吉村泰典, 野澤志朗

【目的】 β -1,4 Galactosyltransferase (GalT) はゴルジ装置に局在し、糖蛋白質上の糖鎖の合成に関与する。また胚盤胞では GalT が合成に関与する細胞表面の糖鎖構造が細胞間の接着分子として機能するとの報告がある。そこで今回、絨毛構造の構築や脱落膜への接着・浸潤といった機能を有する trophoblast における GalT の発現と局在について明らかにすることを目的とした。【方法】ヒト GalT を特異的に認識する抗体 Mab8628を用いて、インフォームドコンセントを得て採取した胎盤を対象に免疫組織染色を行った。また GalT がその糖鎖合成に不可欠であると考えられる hCG の発現も家兎抗 hCG 抗体を用いて検討した。【成績】妊娠5-10週の初期胎盤において、Mab8628は脱落膜に浸潤する intermediate trophoblast (IT) および絨毛構造外側の syncytiotrophoblast (ST) に強陽性を示し、内側の cytotrophoblast (CT) では弱陽性であった。また脱落膜細胞では、浸潤する IT 周囲に限って陽性反応が認められた。一方、hCG は初期胎盤 IT ではほとんど認められず、ST で強陽性、CT で陰性を示した。中期胎盤では Mab8628および抗 hCG 抗体の反応はともに陽性であったが、週数を経ると減弱し、後期胎盤ではいずれもほとんど認められなかった。【結論】(1) 初期胎盤において GalT は ST と IT に強発現したことから、CT が ST および IT に分化する際の分子指標になり得ることが判明した。(2) IT および IT 周辺の脱落膜細胞で GalT の発現が見られたことから、GalT は IT が浸潤する際の脱落膜細胞との相互作用に関与するものと考えられた。

P-242 絨毛細胞の浸潤における CD26/Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) の関与

京都大

佐藤幸保, 藤原 浩, 樋口壽宏, 吉岡信也, 藤井信吾

【目的】妊娠初期に母体面に浸潤する絨毛細胞は Extravillous trophoblast とよばれ、その浸潤能の適切な制御が妊娠成立・維持にとり重要である。一方膜結合型ペプチダーゼである CD26/DPPIV の発現は癌の浸潤能との関与が報告されている。そこで今回ヒト絨毛細胞における CD26の発現および浸潤機構への関与を検討した。【方法】患者の同意の下に採取した妊娠各期胎盤組織における CD26の発現を免疫組織染色法により検討した。次に CD26強陽性であるヒト絨毛癌細胞株 JEG3を用いて CD26の機能を検討した。まず絨毛細胞が浸潤型へ分化するのを抑制するとされている低酸素環境下で JEG3を培養し、CD26発現の変化を Flow cytometry および RT-PCR 法により検討した。更に DPPIV 活性の阻害剤 Diprotin A の添加による JEG3の増殖能・浸潤能の変化を MTT assay, invasion assay により検討した。【成績】免疫組織染色法による検討の結果、CD26は cell column の起始部および placental bed giant cell に発現を認め、interstitial trophoblast には発現していなかった。ヒト絨毛癌細胞株 BeWo, JAR, JEG3のうち、CD26の発現は JEG3で最も強く、更に低酸素濃度 (1%) 下での培養により JEG3における CD26発現は約2倍に亢進した。また Diprotin A は JEG3の細胞増殖能に影響を与えず、その浸潤能を促進した。【結論】胎盤では CD26は絨毛細胞のうち浸潤能が低いとされている部位に発現し、絨毛癌細胞株 JEG3では DPPIV 活性を阻害することで浸潤能は亢進した。これらより、CD26/DPPIV が絨毛細胞の浸潤制御機構へ関与している可能性が示唆された。また低酸素培養の結果は、CD26の発現が絨毛細胞の分化と関連している可能性を示唆した。

P-243 正常絨毛細胞特異的に強発現する遺伝子群の単離・同定

九州大生医研

小川昌宣, 浅野間和夫, 松田貴雄, 近藤晴彦, 周 勇, 加藤秀則, 和氣徳夫

【目的】胎盤絨毛に強く発現し、胞状奇胎で抑制される遺伝子は、胎盤絨毛の発生・分化に関わり、胞状奇胎の表現型異常を導くと考えられる。本研究では正常胎盤絨毛特異的な発現を示す遺伝子群の単離・同定を試みた。【方法】1) PCR-cDNA サブトラクションにて、胎盤絨毛特異的な cDNA クローンを得た。2) ノザンプロットにより胎盤絨毛における特異的な発現を検討した。3) cDNA ライブラリからサブクローニングをおこなって、cDNA の全長を得た。シーケンスを行い、各クローンの塩基配列を決定し、BLAST によるホモロジーサーチを行った。【成績】胎盤絨毛特異的な発現を示す cDNA 断片 (100~400bp) として、6クローンを得た。これらをプローブとして胎盤絨毛 cDNA ライブラリからサブクローニングを行ったところ、全長0.5~2kb 程度の cDNA を得た。それぞれの cDNA の塩基配列を決定したところ、既知の遺伝子と高いホモロジーを示すもの5クローン (hCG α サブユニット, ヒト成長因子誘導遺伝子2A9, ヒト肝細胞ガン関連抗原56, ヒト凝固因子 V, ヒト JAK 結合蛋白 (SSI-1)), 未知の遺伝子1クローンであった。【結論】1) 本研究で行った cDNA サブトラクション法は、胎盤絨毛特異的に強発現を示す遺伝子を同定しており、本方法の妥当性が示された。2) 単離された遺伝子群の中には未知のものと既知のものとが含まれているが、この中に胎盤絨毛の発生・分化や、胞状奇胎の発生に関与する遺伝子が含まれていることが予想される。