

P-496 ヒト extravillous trophoblast における carboxypeptidase M の発現及び機能の検討

京都大

西岡良泰, 樋口壽宏, 佐藤幸保, 吉岡信也, 藤原 浩, 藤井信吾

【目的】 Extravillous trophoblast (EVT) は胎盤形成時に母体子宮内膜を経てラセン動脈に浸潤し、胎盤循環の確立に寄与する細胞群である。近年 EVT の機能異常が妊娠中毒症の病態へ関与している可能性が指摘されているが、機能・分化機構を含め詳細は不明である。一方、膜結合型ペプチダーゼは細胞表面で周囲のペプチド分子の活性を調節することにより、局所調節因子として細胞増殖・分化に関与する可能性が報告されている。そこで今回、膜結合型ペプチダーゼの1つである carboxypeptidase M (CP-M) に着目し、ヒト胎盤、特に EVT における発現とその機能につき検討を加えた。

【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 CP-M の発現を免疫組織染色法及び RT-PCR 法により検討した。次に、ヒト絨毛癌細胞株 (BeWo, JEG3, JAR) における CP-M の発現を Flowcytometry 法及び RT-PCR 法にて検討し、CP-M の活性阻害剤である D,L-mercaptomethyl-3-guanidino-ethylthiopropionic acid (MGTA) の添加によるこれらの細胞の増殖能、浸潤能の変化を検討した。

【成績】 免疫組織染色法の結果、CP-M は cell column 遠位部の EVT, interstitial trophoblast, placental bed giant cell に発現を認めた。この着床部組織における CP-M の発現は RT-PCR 法にも確認された。一方、ヒト絨毛癌細胞株の中で JEG3 において CP-M の発現が確認され、JEG3 は MGTA 添加による CP-M の活性阻害により細胞増殖能にかかわらず浸潤能が亢進することが観察された。

【結論】 CP-M が cell column 脱落膜側及び脱落膜内に存在する EVT に発現を認め、その酵素活性阻害が JEG3 の浸潤促進に作用していた結果から、CP-M が EVT の浸潤抑制に関与する可能性が推察された。

★P-497 ヒト胎盤および絨毛 (癌) 細胞株における survivin の発現とアポトーシスの制御に関する検討社会保険高岡病院¹, 岡山大細胞生物学部門², 富山医薬大³塩崎有宏¹, 片岡 健², 藤村正樹³, 斎藤 滋³

【目的】 絨毛上皮は合胞体栄養膜細胞 (S 細胞) と細胞性栄養膜細胞 (C 細胞) からなる。S 細胞のアポトーシスは bcl-2 により抑制されているが、C 細胞のアポトーシス抑制機構については不明である。そこで我々はヒト胎盤および絨毛 (癌) 細胞株において、アポトーシス抑制物質である survivin の発現とアポトーシスへの関与について検討した。

【方法】 1) ヒト妊娠初期及び満期胎盤、絨毛癌細胞株 (JEG-3, BeWo), 絨毛細胞株 (tPA30-1) より RNA を抽出し、RT-PCR 法及び Northern blot 法にて survivin mRNA の発現を解析した。2) Western blot 法にて組織中の survivin 蛋白の同定を行った。3) 妊娠初期及び満期胎盤、胎状奇胎、絨毛癌における survivin 蛋白の局在を、抗 survivin 抗体を用いた免疫染色にて検討した。4) survivin に対する antisense, sense oligonucleotide (oligo) を作製し、Lipofectin により絨毛 (癌) 細胞株に導入した後、これらの細胞におけるアポトーシス誘導を MTT 法及び TUNEL 法にて検討した。

【成績】 1) survivin mRNA および survivin 蛋白はヒト胎盤組織、絨毛 (癌) 細胞株に発現していた。2) survivin 蛋白は C 細胞と絨毛外栄養膜細胞に局在しており、S 細胞にある bcl-2 とは逆の関係を示した。3) survivin antisense oligo を導入した絨毛 (癌) 細胞株では、コントロールに比べてアポトーシス陽性率は有意に ($P < 0.0001$) 高く、細胞生存率は有意に ($P < 0.05$) 低かった。一方 sense oligo では、有意な細胞生存率の低下を認めなかった。

【結論】 survivin は bcl-2 の発現しない C 細胞、絨毛外栄養膜細胞、絨毛 (癌) 細胞株に発現しており、これらの細胞のアポトーシス抑制因子として関与していることを初めて明らかにした。

P-498 絨毛細胞において Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) は TERT の発現を促進する

東京医大

西 洋孝, 井坂恵一, 中田敏英, 長壁由美, 高山雅臣

【目的】 胎盤の正常な発育には酸素濃度が大きな影響を及ぼすと考えられている。cytotrophoblast は低酸素下においては強い増殖能を示すが、酸素に暴露されると分化の方向へ進むとされる。そして、母児循環を確立するために子宮筋層へと浸潤していく。そこで我々は、酸素による細胞の恒常性の主要な調節を担っている hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) と、細胞の増殖に関与するとされる telomerase catalytic subunit (TERT) の胎盤における発現を検討した。以前、我々は妊娠初期胎盤において TERT の mRNA の発現が亢進していることを報告した。

【方法】 インフォームドコンセントを得た後、妊娠各時期の胎盤を採取しタンパクを抽出した。HIF-1 α および TERT の発現をウエスタンブロット法にて解析した。さらに転写因子 HIF-1 α の TERT プロモーター活性への影響を絨毛癌細胞株 JEG-3 を用いルシフェラーゼアッセイ法にて検討した。

【成績】 HIF-1 α の発現は TERT と相関しており、妊娠初期で高い発現を示し妊娠中期より発現の減少を認めた。HIF-1 α の過剰発現によって TERT プロモーターの活性は亢進した。

【結論】 妊娠初期の trophoblast の増殖は低酸素状態のもとで促進され、10週以降からの酸素濃度の上昇とともに trophoblast の増殖から分化への機構が促されるのではないかと考えられ、そこに転写因子 HIF-1 α が関わっていることが示唆された。