

P-538 fgl2 prothrombinase は妊娠初期ヒト extravillous trophoblast(EVT)に発現し, thrombin を介して EVT の機能を調整している

東京医歯大

己斐秀樹, 原田竜也, 寺内公一, 久保田俊郎, 麻生武志

【目的】妊娠初期のヒト EVT にはトロンピンレセプター(protease-activated receptor)が発現しており, トロンピンがレセプターを介して EVT の浸潤と増殖を調整している因子であることをすでに報告した. 本研究では prothrombin から thrombin への活性化に関わる fgl2 prothrombinase のヒト EVT における発現と機能に注目した. 【方法】倫理規定を遵守しインフォームドコンセントのもとに妊娠初期ヒト絨毛組織を以下の実験に用いた. 培養 EVT は Graham らの方法(1986年)により絨毛 explant から伸展する細胞を分離, 培養して用いた. 妊娠初期の凍結組織切片を用いた In situ hybridization により脱落膜組織中の EVT における fgl2 の発現を, また培養 EVT から total RNA を抽出して RT-PCR を行い fgl2 の発現を確認した. PCR 産物はシークエンサーにて塩基配列を確かめた. また, EVT を 2% Neutridoma-SP 添加 DMEM 培養液にヒト prothrombin (10 U/mL) を添加, 無添加で 24 時間培養し得た培養液を試料に抗ヒト prothrombin 抗体および抗ヒト thrombin 抗体を用いて Western blotting を行い, prothrombin の thrombin への変化を解析した. 【成績】(1) In situ hybridization では, 妊娠初期脱落膜中のサイトケラチン陽性細胞; EVT に fgl2 のメッセージの発現を認めた. (2) 培養 EVT には fgl2 のメッセージが発現しており Western blotting において prothrombin から thrombin へ活性化が確認された. EVT は prothrombinase 活性を持つことが明らかとなった. 【結論】マウスにおいては fgl2 が胎盤に発現し局所の免疫応答に関与していることが報告されている. ヒトにおいても EVT には fgl2 が発現し, thrombin の活性化を介して EVT の機能を調整している可能性が示唆された.

P-539 IGF-I の絨毛細胞接着現象における生理的意義

杏林大

塩川滋達, 酒井 謙, 葉梨秀樹, 鈴木典子, 岩下光利, 中村幸雄

【目的】絨毛細胞の子宮内膜への接着侵入に細胞表面のインテグリンと細胞外マトリックス(ECM)の反応が重要である. IGF-I (Insulinlike growth factor-I) は絨毛細胞の機能制御に関与しているが, 詳細は不明である. 今回, IGF-I の絨毛細胞の接着機構へ与える影響を検討した. 【方法】人工妊娠中絶時に同意のもとに採取した初期絨毛より, Yagel らの方法で培養細胞を作製した. IGF-I 添加群, 非添加群で絨毛細胞の形態を電子顕微鏡で観察すると共に, フィブロネクチン(FN)への接着能を adhesion assay で解析した. IGF-I 添加後の avb3 インテグリンとインテグリンの細胞内シグナル伝達に関与する phospho focal adhesion kinase (pFAK) の存在を免疫蛍光染色で解析した. 【成績】IGF-I 添加により, 絨毛細胞の葉状仮足形成が促進され, 接着斑に avb3 インテグリンと pFAK が局在するようになった. IGF-I は FN への接着(個/mm²)を用量依存性に増加させた(非添加群 75±7; IGF-I 0.1nM 添加群, 104±4; IGF-I 1nM 添加群 121±5; IGF-I 10nM 添加群, 207±6; IGF-I 100nM 添加群, 214±8). この作用は, IGF-Ia サブユニットに対する抗体である α IR3 とインテグリンの FN への結合部位である RGD ペプチドの添加で抑制された. (IGF-I 10nM + α IR3 10nM 添加群, 78±5; IGF-I 10nM + RGD 添加群, 46±5; IGF-I 10nM + RGE 添加群, 196±9). 【結論】IGF-I が妊娠初期絨毛培養細胞の接着能を促進し, その作用は avb3 インテグリンが関与していることが示唆された. 絨毛細胞には IGF-I 受容体が存在するだけでなく, IGF-I も産生することから, 絨毛細胞には IGF-I のオートクリン機構を介して自身の接着を促進し, 着床の過程で重要な役割を演じていると考えられた.

P-540 排卵に及ぼすカルニチンの効果

大阪市立大¹, 同分子病態学講座²

中川恵理¹, 佐藤英介², 井上正康², 石河 修¹

【目的】排卵は炎症反応に類似しており, 酸化ストレスが関与することが知られている. 我々はこれまでに長時間作動型 SOD (SM-SOD) が排卵過程における顆粒膜細胞のアポトーシスを著明に抑制して排卵を抑制することを報告してきた. カルニチンは, ミトコンドリア β 酸化に関与するが, 酸化ストレスによりミトコンドリアに発生した過酸化脂質を消去してミトコンドリア依存性のアポトーシスを抑制することも知られている. そこで本研究では, カルニチンの排卵に及ぼす影響を解析した. 【方法】3週齢の ICR 系マウスに, カルニチンを飲水中に含有して 1 週間前投与した後に, PMSG と HCG 処理によって過排卵を誘発させた. 動物は, 排卵数の変化及び卵巣中のアポトーシスの有無, アポトーシス関連蛋白質の発現の有無を解析した. 【成績】過排卵処理によって種々の酸化ストレス関連蛋白質の発現が認められた. 排卵数はコントロール群 12.7±6.1 個に対しカルニチン投与群 15.3±4.8 個と有意に上昇した. 排卵時の卵巣を TUNEL 法により染色した結果, カルニチンによりアポトーシスが軽減される傾向を認めた. 【結論】アポトーシスには Fas 依存性とミトコンドリア依存性の 2 つの経路が存在する. カルニチンはミトコンドリア依存性アポトーシスを抑制してその効果を発揮するが, Fas 依存性アポトーシスは抑えないことが知られている. 本実験により排卵数は増加したが, これは卵胞発育過程に生ずるアポトーシスと排卵時の卵胞破裂のメカニズムが異なるために生じたと考えられた.