

**P-760 SGA 妊娠胎盤における apoptosis の増加と HIF(hypoxia-inducible transcription factor)の関与に関する研究**

香川医大母子科

金西賢治, 戴 妹艶, 秦 利之

【目的】近年, 子宮内胎児発育遅延症例の胎盤での apoptosis の増加と胎盤での循環不全の関連性が着目されている。今回, 低酸素環境下で細胞から誘導される HIF(hypoxia-inducible transcription factor)を指標とし SGA 妊娠の胎盤における apoptosis の誘導と胎盤循環の低下の関連性について検討した。【方法】十分なインフォームドコンセントを得た AGA 妊娠10例, SGA 妊娠10例より胎盤を採取し, TUNEL 法を用いて syncytiotrophoblast での apoptotic index を算出した。同時に抗 HIF-1 $\alpha$ , 1 $\beta$ , 2 $\alpha$  抗体で免疫組織染色を施行し, 各標本それぞれ10視野の染色性の強さを1+, 2+, 3+, と半定量的にその発現の強度について評価した。【成績】Apoptotic index は SGA 妊娠で $1.72 \pm 2.12$ , AGA 妊娠で $0.33 \pm 0.19$ と SGA 妊娠で明らかに syncytiotrophoblast における apoptosis の割合が増加していた( $p < 0.05$ )。また, それぞれの胎盤組織で HIF-1 $\alpha$ , 1 $\beta$  と比べ HIF-2 $\alpha$  は syncytiotrophoblast および絨毛血管内皮細胞にその発現が強く認められ, また SGA 妊娠胎盤の血管内皮細胞では AGA 妊娠胎盤に比較し HIF-2 $\alpha$  発現が増加していた。【結論】SGA 妊娠の胎盤で有意に apoptosis が増加し, また同時に HIF-2 $\alpha$  の発現が増加していたことより SGA 妊娠における胎盤組織での局所低酸素の環境が胎盤の apoptosis の誘導に強く関与している可能性が示唆された。

**P-761 ヒト絨毛癌(BeWo)細胞の低酸素負荷における Hypoxia Inducible Factor 1 $\alpha$  を介するグルコーストランスポーター(GLUT1)発現量への影響**大阪大<sup>1</sup>, 大阪府立成人病センター<sup>2</sup>林 正美<sup>1</sup>, 坂田正博<sup>1</sup>, 峯川亮子<sup>1</sup>, 武田 卓<sup>1</sup>, 山本敏也<sup>2</sup>, 田坂慶一<sup>1</sup>, 村田雄二<sup>1</sup>

【目的】絨毛細胞は脱落膜へ浸潤し, 子宮ラセン動脈の再構築が起こる。その再構築に破綻をきたすと絨毛細胞は低酸素にさらされる可能性が考えられる。また低酸素により活性化する転写因子 Hypoxia Inducible Factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) の存在が指摘されている。我々は, 低酸素負荷が, 胎盤の HIF-1 $\alpha$  を介するグルコース輸送に及ぼす影響をヒト絨毛癌(BeWo)細胞を用いて検討した。【方法】1.Glut1プロモーター遺伝子の deletion mutant を(BeWo)細胞に遺伝子導入し, 低酸素負荷およびそれを惹起する薬剤添加下でのプロモーター活性の変動をルシフェラーゼアッセイで経時的に観察した。2. 低酸素負荷時の BeWo 細胞における GLUT1蛋白の発現量の変動を Western blot 法で解析した。3. 低酸素負荷時の BeWo 細胞の Hypoxia Inducible Factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )蛋白の発現量の変動を Western blot 法で解析した。4.Glut1プロモーター遺伝子の deletion mutant と HIF-1 $\alpha$  発現ベクターを BeWo 細胞に遺伝子導入し, プロモーター活性の変動をルシフェラーゼアッセイで観察した。【成績】1.BeWo 細胞において低酸素負荷により GLUT1プロモーター活性は, 12時間から18時間後で有意に上昇した。2. 低酸素負荷で, GLUT1蛋白の発現が増加した。3. 低酸素負荷で HIF-1 $\alpha$  蛋白が誘導された。4.BeWo 細胞において HIF-1 $\alpha$  の強制発現により, GLUT1プロモーター活性が有意に上昇した。【結論】BeWo 細胞において, 低酸素負荷で GLUT1プロモーター活性と蛋白の発現が HIF-1 $\alpha$  の誘導を介して増加することが示唆された。

**P-762 胎盤での HIF(hypoxia inducible factor)による胎盤性ロイシニアミノペプチダーゼ転写誘導について**名古屋大<sup>1</sup>, 豊橋市民病院<sup>2</sup>炭竈誠二<sup>1</sup>, 野村誠二<sup>1</sup>, 板倉敦夫<sup>1</sup>, 伊藤充彰<sup>2</sup>, 伊藤友美<sup>1</sup>, 生駒容子<sup>1</sup>, 紫藤 史<sup>1</sup>, 山本英子<sup>1</sup>, 水谷栄彦<sup>1</sup>

【目的】胎盤では低酸素誘導因子である HIF1 $\alpha$  と HIF2 $\alpha$  が発現しており妊娠週数に伴う増加, また, HIF2 $\alpha$  は妊娠中毒症でも増加することが報告されている。我々は胎盤性ロイシニアミノペプチダーゼ(P-LAP)のゲノムクローニングに成功し上流域における転写調節について報告してきたが, HIF の結合領域が存在したことから, 本研究では妊娠中毒症における P-LAP の胎盤での発現の変化と共に, HIF の P-LAP 発現に対する影響を検討した。【方法】1) Informed consent の後に, 正常胎盤及び妊娠中毒症胎盤より RNA を抽出し, Northern blotting にて P-LAP の発現量を比較した。2) 絨毛癌細胞株 BeWo を1%, あるいは21%酸素下に培養した後蛋白を回収し, Western blotting 法にて蛋白レベルでの P-LAP 発現に対する低酸素の影響を検討した。3) 同様の条件下で培養した BeWo より RNA を抽出し, 半定量的 RT-PCR にて P-LAP 遺伝子発現に対する低酸素の影響を経時的に検討した。陽性対照として低酸素での誘導が報告されている GLUT3遺伝子を用いた。【成績】1) 妊娠中毒症胎盤では正常胎盤と比較し, P-LAP の発現が有意に増加していた。2) 1%酸素下にて48時間まで培養したが, P-LAP 蛋白の誘導は認められなかった。3) P-LAP の RNA 量は1%酸素下培養にて8時間までは変化なく, 24時間で増加傾向を認めたが有意ではなかった。陽性対照として用いた GLUT3遺伝子は1%酸素下培養で発現が増加した。【結論】妊娠中毒症胎盤で P-LAP 発現は増加していた。しかしながら, 上流域の HIF 結合領域の存在から推察された予想に反し, 低酸素培養は P-LAP 発現に影響を与えなかった。妊娠中毒症胎盤における P-LAP 発現亢進は, 低酸素環境以外の原因によることが示唆された。