

★P-769 胎盤における転写因子 Ikaros の発現

名古屋大

山本英子, 野村誠二, 伊藤友美, 伊藤則雄, 生駒容子, 紫藤 史, 炭竈誠二, 水谷栄彦

【目的】我々は胎盤性ロイシンアミノペプチダーゼ(P-LAP)遺伝子解析を通して, 転写因子 Ikaros が絨毛細胞に存在し, AP-2等の他の因子と協調して作用することを明らかにしてきた. Ikaros についてはこれまでリンパ球においてのみ, 機能の異なる 8 個の isoform が分化に関与することが報告されているが, 胎盤における検討の報告はない. そこで, 今回は正常胎盤におけるその生理的意義を解明するため, 胎盤での発現の局在および発現する isoform の型と妊娠週数による変化について検討した. 【方法】インフォームドコンセントの同意のもと得られた正常胎盤において免疫組織染色法にて Ikaros の局在および週数による発現の変化を検討した. (2)絨毛より RNA を抽出し, RT-PCR 法にて週数による Ikaros の isoform の変化を検討した. (3)絨毛細胞株 JEG-3に分化誘導剤である Forskolin 添加24時間後 RNA を抽出, RT-PCR を用いて isoform の型を検討した. 【成績】(1)Ikaros は syncytiotrophoblast(S細胞)および extravillous trophoblast(EVT)に強く発現を認め, P-LAP の局在と一致した. (2)isoform は Ik-1~4, Ik-8の発現を認め, 初期で Ik-1の発現増強を認めた. (3)JEG-3では弱促進型 Ik-2~4の発現が優位であり, Forskolin により強促進型の Ik-1の発現が誘導された. 【結論】胎盤での Ikaros の存在を初めて明らかにし, isoform を同定した. EVT や S細胞における Ikaros の優位な発現や Forskolin による強促進型 Ikaros の誘導は絨毛細胞分化に伴う胎盤蛋白の発現制御に関与している可能性が示唆された.

★P-770 ヒト胎盤絨毛マクロファージ(Mφ)における LH/hCG 受容体(LH/hCGR)の発現と機能に関する解析

熊本大¹, 群馬大², 兵庫県立成人病センター³園田直子¹, 片瀬秀隆¹, 田代浩徳¹, 大場 隆¹, 岡村 均¹, 峯岸 敬², 西村隆一郎³

【目的】LH/hCGR 遺伝子には亜型があり, その機能は不明である. 今回, ヒト胎盤絨毛マクロファージ(絨毛 Mφ)における exon 9を欠失した LH/hCGR(del9R)の発現と機能を検討する. 【方法】患者の同意の下に73例のヒト胎盤(妊娠6週~41週)が得られ, 9例(妊娠7週~41週)について抗 LH/hCGR ポリクローナル抗体を用いて免疫組織化学染色を行った. 初期のヒト胎盤絨毛61例(妊娠6週~11週)から分離した絨毛 Mφ の LH/hCGR 遺伝子の発現に関して, その exon 8~11を RT-PCR 法で検討し, 得られた遺伝子産物についてシーケンス解析を行った. Mφ の性格を有する単球系の細胞株である THP-1に, del9R 遺伝子発現ベクター pcDNA3を導入し, 野生型 LH/hCGR 遺伝子発現ベクター pcDNA3導入と pcDNA3のみの導入と比較した. 3つの導入細胞を hCG(10μg/ml)存在下で培養し, その48時間後に培養上清と細胞質中の intact hCG, hCGβsubunit core fragment(β-CF)の濃度を測定した. 【成績】絨毛 Mφ は妊娠の期間を通して抗 LH/hCGR 抗体の強い陽性を示した. 絨毛 Mφ における LH/hCGR 遺伝子の RT-PCR 法による同定では2つの産物が得られ, シーケンス解析によって野生型と del9R であることが示された. hCG 存在下で del9R 遺伝子発現ベクター pcDNA3を導入した THP-1の培養では, 細胞質中の intact hCG 濃度は平均で0.48ng/ml(n=3), β-CF 濃度は平均で5.48ng/ml(n=3)で, 他の2つの導入に比べてそれぞれ2.5~3.7倍, 1.3~2.3倍と高かった. しかし, 培養上清中の両者の濃度には3つの導入細胞の間で差は認められなかった. 【結論】絨毛 Mφ には, 野生型に加え del9R の発現が認められ, del9R は hCG の摂取と分解に携わっていると考えられた.

P-771 脱着膜におけるリンパ球の chemokine receptor の発現とその ligand の脱着膜における発現の解析

大阪大

松尾高司, 下屋浩一郎, 井阪茂之, 張 慶, 香山晋輔, 中村仁美, 神崎 徹, 古山将康, 村田雄二

【目的】脱着膜には CD56briCD16-である NK 様細胞が特徴的に増加している. また, NK 細胞の遊走, 活性化には種々のケモカインが関与していると考えられる. それらケモカインの機能はそれぞれの受容体を介して発揮される. 本研究ではヒト脱着膜特異的 NK 細胞様リンパ球の分化機構を解析するため, 脱着膜リンパ球におけるケモカイン受容体の発現とそれに対する脱着膜ケモカインの発現について検討した. 【方法】インフォームドコンセントのもと, 合併症のない初期人工妊娠中絶術症例の脱着膜および末梢血から脱着膜より比重遠心法を用いて単核球を分離し, 抗 CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CX3CR1, モノクローナル抗体を用いて FACS 解析を行った. さらにケモカインである IP-10, Mig, I-TAC, SDF-1に対する抗体を用いて脱着膜のパラフィン切片を作成し, それぞれ abidin-biotin complex 免疫組織染色法を行いその局在を検討した. 【成績】脱着膜リンパ球の単染色 FACS 解析では CXCR3のみの発現が観察された. 抗 CD56抗体, 抗 CD3抗体, 抗 CXCR3抗体による3 color FACS 解析の結果, CD56陽性リンパ球の67%が CXCR3陽性であり, 末梢血 CD56陽性細胞中の CXCR3陽性率(3%)に比して有意に増加していた. さらに脱着膜には IP-10, Mig, I-TAC, SDF-1の局在を確認した. 【結論】脱着膜にはさまざまなケモカインが発現しており, それらのケモカインを介して CXCR3陽性脱着膜 NK 様リンパ球の発現が認められた. 脱着膜においてケモカインがその妊娠維持機構に機能していることが示唆された.