

11-24 ヒト胎盤絨毛細胞における Toll-like receptor2を介した cyclooxygenase-2の発現誘導

鳥取大

光成匡博, 吉田壮一, 出浦伊万里, 堀江さや子, 月原 悟, 岩部富夫, 原田 省, 入江 隆, 寺川直樹

【目的】早産陣痛発来の一因として感染が指摘されている。グラム陰性菌の膜構成成分であるリポ多糖 (LPS) はその受容体である Toll-like receptor (TLR) 4を介して陣痛を誘発することが知られている。TLR2により認識されるウレアプラズマ感染と早産との関連を今までに報告してきたが、TLR2を介した陣痛発来機序は未だ不明である。本研究では、絨毛細胞における TLR2を介した cyclooxygenase (COX) -2発現誘導について検討した。【方法】同意の得られた帝王切開症例の胎盤から cytotrophoblast 細胞を分離し、血清存在下で48時間培養した syncytiotrophoblast-rich (ST) 細胞を用いた。TLR2および TLR4の遺伝子発現を RT-PCR により検討した。ST細胞を LPS あるいは TLR2のリガンドである Macrophage-activating lipopeptide (MALP) -2存在下に培養し、COX-2遺伝子と蛋白の発現量をそれぞれ定量的 RT-PCR と Western blotting で評価した。培養上清中の PGE2濃度を ELISA で測定した。【成績】ST細胞において TLR2および TLR4の遺伝子発現が認められた。LPS (100ng/ml) および MALP-2 (3ng/ml) は添加2時間後より COX-2遺伝子の発現を増強し、添加24時間後の COX-2蛋白発現をそれぞれ7.0倍および3.8倍に増強した。上清中の PGE2濃度は、LPS および MALP-2添加により濃度依存性に増加した。【結論】ヒト絨毛細胞において TLR2と TLR4が発現していること、TLR4のみならず TLR2を介して COX-2発現と PGE2産生が誘導されることが初めて明らかとなった。ウレアプラズマ感染が早産陣痛発来に関与する可能性が示唆された。

11-25 炎症性サイトカイン IL-1 β による絨毛細胞コルチゾール代謝の調節

鳥取大

吉田壮一, 光成匡博, 月原 悟, 出浦伊万里, 堀江さや子, 岩部富夫, 原田 省, 入江 隆, 寺川直樹

【目的】コルチゾールは強力な抗炎症作用を有する一方、炎症により惹起される陣痛を促進するという paradoxical な作用を発揮する。コルチゾールの代謝酵素である 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-2 (HSD-2) は胎盤では絨毛膜合胞細胞 (S細胞) に局在する。本研究では早産陣痛発来機序の一端を明らかにするため、炎症性サイトカイン Interleukin-1 β (IL-1 β) が S細胞におけるコルチゾール代謝に及ぼす影響を検討した。【方法】Forskolin 添加により分化誘導した BeWo 細胞を S細胞モデルとして用いた。IL-1受容体発現を RT-PCR 法で検索した。IL-1 β (0-10ng/ml) 存在下に培養し、HSD-2発現および I κ B (NF κ B の inhibitor) と Erk1/2 (MAP kinase のシグナル伝達分子) のリン酸化を Western blot 法にて検討した。IL-1 β 処理後の細胞をコルチゾール存在下に培養後、上清中に代謝されずに残存したコルチゾール濃度を EIA にて測定した。IL-1受容体アンタゴニスト (IL-1Ra), NF- κ B 阻害剤 (TPCK) および MEK1/2阻害剤 (U0126) の作用についても評価した。【成績】分化誘導後の BeWo 細胞に IL-1受容体発現がみられた。IL-1 β の添加は BeWo 細胞の HSD-2発現を時間ならびに濃度依存性に抑制するとともに、I κ B と Erk1/2のリン酸化を促進した。IL-1 β 処理後の BeWo 細胞培養上清中コルチゾール濃度は対照に比して有意に高かった。IL-1Ra, TPCK および U0126の併用添加は、IL-1 β の HSD-2発現抑制作用を減弱した。【結論】IL-1 β は NF- κ B と MAP kinase を介して S細胞における HSD-2発現を抑制し、絨毛膜・羊膜でのコルチゾール濃度を増加させることが示唆された。炎症がコルチゾール代謝を抑制することで早産陣痛発来に関与する可能性が初めて示された。

11-26 マウス切迫早産モデルにおける膜結合型および細胞質型 PGE₂合成酵素の発現東京医科歯科大学学生殖機能協同学¹, 東京医科歯科大学医歯学総合研究科分子細胞機能学²久保田健¹, 久保田俊郎¹, 森田育夫², 麻生武志¹

【目的】膜結合型 PGE₂合成酵素 type1 (mPGES-1) は COX-2にリンクしていると考えられている酵素であり、炎症反応などにおいて発現が亢進し PGE₂を合成する terminal enzyme である。C57BL/6N マウスを用いた Lipopolysaccharide (LPS) 投与による切迫早産モデルにおいて PGE₂合成酵素 (細胞質型 PGE₂合成酵素: cPGES, 膜結合型 PGE₂合成酵素 type1: mPGES-1, type2: mPGES-2) の変化をみることを目的とした。【方法】妊娠15日の C57BL/6N wild type マウスに LPS 5mg/kg 腹腔内投与し、分娩に至るまでの時間ならびに投与3.6時間後における子宮筋、卵膜、胎盤の各種 PGE₂合成酵素の発現を RT-PCR ならびに Western blot にて評価した。【成績】RT-PCR では LPS 投与3.6時間後ならびに分娩時 (早産時) に子宮筋、胎盤、卵膜で mPGES-1の発現亢進はみられたが、その他の cPGES ならびに mPGES-2は発現がみられているものの投与時間ならびに分娩時には変化はなかった。Western blot においても LPS 投与群の子宮筋・胎盤・卵膜で mPGES-1タンパクの発現が6時間後ならびに分娩時 (早産時) に発現が亢進しており、子宮筋にて最も変化が大きかった。cPGES, mPGES-2は発現しているものの変化はなかった。【結論】マウス切迫早産モデルでは mPGES-1が子宮筋・胎盤・卵膜にて亢進しており、mPGES-1が治療ターゲットのひとつになりうる可能性が考えられる。