

P1-439 絨毛細胞および子宮内膜における炎症性サイトカイン刺激による VEGF, VEGF receptor の発現

大分大

島野雅子, 吉松 淳, 松本治伸, 後藤清美, 奈須家栄, 宮川勇生

【目的】Soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) は VEGF の可溶性レセプターで胎盤から産生されるがチロシキナーゼドメインが欠損するため細胞内にシグナルが伝わらず VEGF に拮抗的に働く。VEGF と sFlt-1 のバランスにより絨毛の血管新生は調整されていると考えられる。着床期において絨毛血管の発達に寄与する TNF- α は妊娠初期の絨毛組織や子宮内膜から多く産生され絨毛からの VEGF の産生を増加させることが知られているが、アンタゴニストである sFlt-1 の産生については検討がなされていない。今回、我々は TNF- α の初期絨毛、子宮内膜における sFlt-1 産生に与える影響を検討した。【方法】妊娠 6 週から 10 週の器官培養した絨毛組織と単離培養した子宮内膜間質細胞を TNF- α 10ng/ml で 12 時間刺激した。上清中の VEGF, sFlt-1 を ELISA 法で測定した。さらに、それぞれに低酸素刺激を加え (1%O₂) 同様の実験を行った。【成績】絨毛組織で TNF- α 刺激を加えると有意に sFlt-1 濃度が増加した (15.8 \pm 3.1ng/ml/mg vs. 43.5 \pm 10.3ng/ml/mg)。子宮内膜間質細胞でも同様であった (16.6 \pm 3.4pg/ml/mg vs. 39.7 \pm 1.1pg/ml/mg)。低酸素刺激下で TNF- α を添加すると絨毛組織からの sFlt-1 産生は更に増加したが子宮内膜間質細胞では変化が見られなかった。VEGF は TNF- α により絨毛組織、子宮内膜間質細胞で低酸素下でも産生が増加した。【結論】絨毛組織とその浸潤母地となる子宮内膜間質細胞では TNF- α をオートクライン、パラクライン的に作用させ VEGF とそのアンタゴニストである sFlt-1 を産生し血管新生を制御することが示唆された。また、その制御は局所の酸素濃度によって変化すると思われた。

4
日
月
一
般
演
題**★P1-440** ヒト絨毛細胞での TLR2 を介する PGE2 産生誘導と転写因子 NF- κ B の関与

鳥取大

光成匡博, 吉田壮一, 庄司孝子, 大浜陽子, 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】早産陣痛発来の一因として感染が重要視されており、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。一方、TLR2 のリガンドである Macrophage-activating lipopeptide (MALP) -2 もヒト絨毛細胞において cyclooxygenase (COX) -2 発現と PGE2 産生を誘導することを報告してきた。本研究では、TLR2 を介する PGE2 産生誘導における転写因子 NF- κ B の関与について検討した。【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 時間培養後の syncytiotrophoblast-rich (ST) 細胞を対象とした。MALP-2 添加後の I κ B のリン酸化を Western blot 法により、培養上清中の PGE2 濃度を EIA で検索した。MALP-2 の PGE2 産生誘導に対して、TLR2 の中和抗体である TL2.1 と NF- κ B の阻害剤である TPCK の効果を検討した。【成績】ST 細胞において TLR2 の遺伝子発現が確認された。MALP-2 添加により I κ B のリン酸化を認めた。MALP-2 は添加 2 時間後より COX-2 遺伝子および蛋白発現を増強し、添加 24 時間後の培養上清中 PGE2 産生を濃度依存性に増加した。MALP-2 による PGE2 産生誘導は、TL2.1 および TPCK の併用添加により阻害された。【結論】ヒト絨毛細胞において、MALP-2 による PGE2 産生誘導は TLR2 を介することが示されるとともに、転写因子 NF- κ B が関与する可能性が示唆された。

P1-441 羊膜細胞における Toll-like receptors の機能とその制御札幌医大¹, 北海道・NTT 東日本札幌病院²寺本瑞絵¹, 西川 鑑², 大屋 円¹, 木村美帆¹, 藤本 尚¹, 岩崎雅宏¹, 斉藤 豪¹

【目的】病原体の宿主内侵入に対する生体防御反応は、主として自然免疫系と獲得免疫系からなる免疫反応によって行われる。Toll-like receptor (TLR) は、自然免疫反応において病原体を認識する受容体として同定されている。我々はこれまで、ヒト培養羊膜細胞において Lipopolysaccharide (LPS) 刺激により炎症性サイトカインが誘導されること、LPS 受容体である TLR4 が発現機能することを報告した。今回我々は、ヒト培養羊膜細胞における TLR2 の発現および機能を検討した。さらに、TLR 阻害によるサイトカインの産生制御についても検討した。【方法】予定帝王切開時にインフォームドコンセントを得て採取した羊膜を上皮細胞と間葉細胞に分離培養した。TLR2 のリガンドとして、グラム陽性細菌菌体成分である peptidoglycan (PGN), lipoteichoic acid (LTA), 真菌成分である zymosan を添加した。リガンド添加による IL-8, TNF- α 濃度を ELISA 法で測定した。TLR 阻害実験として、モノクローナル抗体である HTA125 (抗 TLR4 抗体), TL2.1 (抗 TLR2 抗体), IgG1 抗体を用い、LPS および PGN にて刺激した後に IL-8 濃度を測定した。【成績】培養羊膜細胞では、各刺激に対し、濃度依存性・時間依存性に IL-8 および TNF- α 産生が増加した。間葉細胞は上皮細胞と比較し、強いサイトカイン産生能を有した。抗 TLR2 抗体は PGN による反応を抑制し、抗 TLR4 抗体は、LPS および PGN 刺激による IL-8 産生を抑制した。【結論】ヒト羊膜は、TLR2, TLR4 を発現し、種々のリガンドに対して炎症性サイトカインを産生することにより、免疫防御機構を有することが明らかになった。また、TLR 中和抗体によりサイトカイン産生を抑制できることが明らかになった。