P1-466 胎盤絨毛の分化における RelA-associated Inhibitor (RAI) 発現に関する検討大阪大¹, 大阪府立成人病センター², 市立堺病院³峯川亮子¹, 坂田正博¹, 林 正美¹, 磯部 晶¹, 岡本陽子¹, 武田 卓², 山本敏也³, 古山将康¹, 田坂慶一¹, 村田雄二¹

【目的】胎盤絨毛のグルコースの輸送には、グルコーストランスポーター1 (GLUT1) が重要な役割を担う。我々はこれまでに、分化能を有するラット絨毛癌細胞株 (Rcho-1 細胞) では分化に伴い、転写因子 Sp1 および GLUT1 の発現が低下することを示してきた。あわせて、Sp1 が GLUT1 のプロモーター活性を制御することを示した。近年胎盤におけるその存在が同定された核内因子 RelA-associated Inhibitor (以下 RAI) は NF- κ B の抑制因子であり、Sp1 に対しても抑制的に働くことが示されてきた。そこで今回我々は、絨毛の分化における RAI の関与を検討した。【方法】インフォームドコンセントの得られた各妊娠三半期の胎盤絨毛を用いたリアルタイム PCR 法、免疫組織染色により、RAI の妊娠週数による変動と胎盤絨毛における局在を検討した。次に Rcho-1 細胞における CAT アッセイにて、ラット GLUT1 遺伝子プロモーター活性に対する Sp1, RAI の役割を、Rcho-1 細胞の分化に伴う RAI 蛋白質の変動をウェスタンブロット法にて検討した。【成績】RAImRNA は妊娠週数とともに増加し、RAI の免疫活性は syncytiotrophoblast に主に局限していた。RAI の強制発現により GLUT1 プロモーター活性は抑制されたが、Sp1 結合部位を含まない GLUT1 プロモーター変異遺伝子の場合ではその抑制効果は認めなかった。また Rcho-1 細胞の分化に伴い RAI 蛋白質の増加を認めた。【結論】RAI は絨毛細胞に存在し、Sp1 を介して胎盤絨毛の分化に寄与する可能性が示唆された。

P1-467 胎盤、絨毛における嗅覚受容体の発現

浜松医大

板倉 称, 金山尚裕

【目的】嗅覚受容体は嗅上皮のみならず精子などにも発現していることが明らかになってきた。精子においては卵の嗅覚物質がリガンドとなり遊走することが最近判明した。我々は受精卵の遊走、絨毛の浸潤にも嗅覚受容体が関与しているのではないかと考え胎盤や絨毛の嗅覚受容体の発現について研究を行った。【方法】ラットの胎盤、ヒトの初期胎盤および胎盤における嗅覚受容体およびシグナル伝達の下流に存在する蛋白群である G 蛋白 (Golf), アデニル酸シクラーゼ (ACIII), イオンチャンネル (CNC) の発現について RT-PCR 法およびウェスタンブロット法を用いて調べた。なおヒト胎盤については人工妊娠中絶術後、正常分娩後にインフォームドコンセントを得て採取した。【成績】胎盤および絨毛組織に含まれる mRNA より RT-PCR を行い嗅覚受容体およびシグナル伝達の下流に存在する蛋白群の発現を検討した。RT-PCR の結果、ラット胎盤、ヒト初期胎盤では予想されたサイズの DNA fragment が増幅され、さらに遺伝子配列を解析してみると嗅覚受容体および嗅覚受容体のシグナル伝達の下流にある Golf, ACIII, CNC の発現が確認された。しかしヒトの term の胎盤サンプルには発現が認められなかった。次に Golf, ACIII の発現をヒト初期胎盤、ラット胎盤についてウェスタンブロット法で検討してみると、Golf の発現は認められ、ACIII の発現は認められなかった。【結論】ヒト初期胎盤、ラット胎盤に嗅覚受容体およびそのシグナル伝達の下流にある蛋白群が発現していることが明らかになった。

P1-468 母獣の骨髄細胞がマウス胎盤形成に寄与する可能性—Green fluorescent protein transgenic マウスを用いた検討—京都大¹, 兵庫県立塚口病院²川村 真¹, 佐川典正¹, 伊東宏晃¹, 由良茂夫¹, 竹村真紀¹, 角井和代², 藤井信吾¹

【目的】骨髄由来細胞のある種の分画は多分化能を有し、種々の臓器を構成する細胞に分化して、組織の再生・新生に寄与すると報告されている。一方、胎盤の正常な形成発達は胎児の健全な発育に必須の現象であり、絨毛構造の分化と胎児側・母体側血管床の急速な remodeling が進行する胎盤の形成過程の解明が待たれる。今回我々は、Green fluorescent protein transgenic (Tg) マウスを用いて、母獣骨髄由来細胞が胎盤形成に寄与する可能性を検討した。【方法】施設内動物実験委員会の承認のもとに、Tg 雌マウスに non-Tg 雄マウスを交配、妊娠 18.5 日目に開腹し non-Tg 胎仔の胎盤を採取した。また、Tg 雄マウスの大腿骨及び頸骨から骨髄細胞の単核球分画を調整し、これを non-Tg 妊娠マウス尾静脈より妊娠 4.5 および 6.5 日に静注した ($1\sim 4 \times 10^7$ 個)。妊娠 18.5 日目に開腹し胎盤を採取した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて胎盤における GFP 陽性細胞の有無につき検討した。【成績】Tg 母獣より採取した non-Tg 胎仔の胎盤の連続切片 (150-200 枚) のほぼ 100% において胎仔血管網と絨毛細胞からなる labyrinth 層 (L 層) ならびに絨毛細胞を主体とする spongiotrophoblast 層 (S 層) に母獣血液細胞より大型の GFP 陽性細胞を検出した。L 層中の GFP 陽性細胞の内、約 2% は CD34 陽性であった。一方、妊娠 4.5 および 6.5 日目に Tg 由来の骨髄細胞を静注した non-Tg 母獣の胎盤 (n=3) の連続切片の 11-18% において L 層および S 層に 1-5 個の GFP 陽性細胞を検出した。L 層と S 層の GFP 陽性細胞数は 16.3 ± 2.3 (SEM)/胎盤, 7.3 ± 0.7 /胎盤であった。【結論】母獣骨髄由来細胞が胎盤内に認められ、胎盤形成に何らかの寄与をしている可能性が示唆された。