

**P1-313** 新規 alpha fetoprotein (AFP) mRNA isoform の同定

山梨大

多賀谷光, 深沢宏子, 平田修司, 正田朋子, 星 和彦

【目的】 ヒト, ラットなどにおいて AFP 遺伝子の発現は, 多重プロモータ機構により調節されている。ラットでは exon 7 と exon 8 の間に存在する exon V から転写が開始する AFP-V mRNA isoform の存在が報告されているが, マウスにおいては exon V の存在は明らかにされていない。そこで, 今回我々はマウスにおいて AFP-V mRNA isoform の存在と発現について検討した。【方法】 胎令 18 日の胎仔マウスの肝臓を検体として用い, 検体から調製した total RNA を鋳型として, exon 7 と exon 8 の間の intron に設定した sense primer ならびに exon 9 に設定した antisense primer を用いた RT-PCR を行い, AFP-V mRNA isoform の存在を検討した。同時に, 成体マウスおよび日令 2 週の子マウスについても同様に AFP-V mRNA isoform の存在を検討した。【成績】 胎仔マウス肝臓においては AFP-V mRNA isoform の発現が確認された。また, 成体マウスおよび子マウスでは AFP-V mRNA isoform の発現レベルは検出感度以下であった。【結論】 マウス AFP 遺伝子において AFP-V mRNA isoform が転写されていることをはじめて明らかにした。wild type AFP mRNA とは異なり, AFP-V mRNA isoform の発現は胎仔期のみに限定されていた。この成績から, AFP-V mRNA の転写プロモータは, wild type mRNA の転写プロモータとは独立して存在し, それぞれが発達段階特異的な転写調節を行っていることを明らかにした。

**P1-314** HeLa 細胞における RIG-I 遺伝子の発現

弘前大

松倉大輔, 湯澤 映, 福原理恵, 木村秀崇, 福井淳史, 藤井俊策, 水沼英樹

【目的】 RIG-I はウイルス感染により活性化され, インターフェロンの分泌を促してその増殖を抑える作用を持つ生理活性物質である。婦人科領域での検討は極めて少ない。そこで我々は, 子宮頸癌細胞株である HeLa 細胞を IFN- $\gamma$  で刺激し, RIG-I 遺伝子の発現を調べた。【方法】 HeLa 細胞を 37°C, CO<sub>2</sub>5% 下にて培養し, IFN- $\gamma$  を培養液中に添加した。培養液中に IFN- $\gamma$ 10ng/ml を加え, 0~48 時間刺激し, RT-PCR 法により RIG-I 遺伝子発現を, また, western blot 法により RIG-I 蛋白発現を調べた。次に IFN- $\gamma$  濃度を 0.08, 0.4, 2, 10, 50ng/ml と変化させ, 特異的プライマーを用いた RT-PCR 法により 8 時間培養後の RIG-I 遺伝子発現を, また, western blot 法により 48 時間刺激後の RIG-I 蛋白の発現を調べた。さらに, RNA 干渉法にて RIG-I 遺伝子を knock down し, その下流の遺伝子発現を検索した。【成績】 1. HeLa 細胞を IFN- $\gamma$  で刺激したところ, 2ng/ml 以上で RIG-I 遺伝子及び RIG-I 蛋白の発現が強く誘導された。刺激時間は, 4~8 時間で最も強く RIG-I 遺伝子が誘導され, RIG-I 蛋白は 48 時間で最も強く発現が誘導された。2. RNA 緩衝法により, HeLa 細胞において効率的に RIG-I 遺伝子を knock down することに成功した。3. RIG-I 遺伝子を knock down した検体を用い, その他に knock down されている遺伝子を検索したところ, ITAC (CXCL11) 遺伝子の発現が抑制されていた。【結論】 以上より, HeLa 細胞では RIG-I が発現していること, またその遺伝子の下流に ITAC が存在していることが示唆された。

**P1-315** 妊娠中に増加するホルモンは Indoleamine2,3-dioxygenase (IDO) 発現を増強するか?

慈恵医大

梅原永能, 川口里恵, 和田誠司, 池谷美樹, 杉浦健太郎, 大浦訓章, 田中忠夫

【目的】 必須アミノ酸である Tryptophan (Trp) 代謝酵素の一つである Indoleamine2,3-dioxygenase (IDO) は抗原提示細胞や Trophoblast 等に広く発現し, 局所 Trp 濃度を低下させることにより T 細胞の増殖を抑制し, 母体-胎児面における IDO 発現は母体免疫応答を抑制し, allograft である胎児の拒絶を回避することにより正常な妊娠維持に重要であることが示唆されている。Th1 Cytokine の IFN- $\gamma$  や TNF- $\alpha$ , LPS 等による IDO 発現の増強は知られているが, 妊娠中に特異的に IDO 発現が増強される誘因についての報告は少ない。そこで妊娠特異的に増加するホルモンの IDO 発現に及ぼす影響を検討した。【方法】 本研究に関するインフォームド・コンセントを施行し, 同意の得られた健康女性より末梢血を採取し分離・抽出した CD14 陽性細胞, および syncytiotrophoblast 由来の Cell line (HchePc1b) を検体とした。妊娠中に変動する様々な末梢血濃度の Estradiol (E2), Progesteron (P4), human Chorionic Gonadotropin (hCG), Hydrocortisone および IDO を強発現する IFN- $\gamma$  濃度にてこれらの細胞を 24 時間培養し, RT-PCR にて IDO mRNA を測定した。【成績】 CD14 陽性および HchePc1b 細胞において, 無処理の細胞に比較し IFN- $\gamma$  処理では 4.7 倍, E2 処理では 1.2~2.5 倍, P4 処理では 1.6~2.9 倍, hCG 処理では 4.2 倍の IDO mRNA 発現が増強した。Hydrocortisone では発現増強は見られなかった。【結論】 妊娠中に増加する E2, P4, hCG は母体 CD14 陽性細胞および胎児 Trophoblast 両者の IDO 発現を誘導し, 子宮内局所での母体免疫応答を抑制することで妊娠維持に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。