

正常妊娠及び重症妊娠中毒症における酸化ストレスと抗酸化機構

Expression of Thiol/Disulfide Oxidoreductase Family

in Normal and Preeclamptic Placentas

1)産業医科大・産婦人科 2)産業医科大・健康開発科学

3)ハーバード大学医学部・ブリガム&ウイメンズ病院

柴田英治¹⁾²⁾, 江島邦彰²⁾³⁾, 南里宏樹²⁾, 土岐尚之¹⁾, 小山 力¹⁾, 池田正春²⁾, 柏村正道¹⁾

1) Department of Obstetrics and Gynecology and 2) Health Development, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu, Japan

3) Harvard Medical School and Brigham and Women's Hospital, Program of Developmental Cardiovascular Biology
Eiji Shibata, Kuniaki Ejima, Hiroki Nanri, Naoyuki Toki, Chikara Koyama, Masaharu Ikeda, and Masamichi Kashimura

目的

前回我々は、正常妊娠と重症妊娠中毒症の胎盤における酸化ストレスの評価および活性酸素種の消去と活性酸素種による傷害タンパクの再生修復に關与する抗酸化酵素である Thioredoxin(Trx) Thioredoxin reductase(TR) Glutaredoxin(Grx) Protein disulfide isomerase(PDI)の発現を Western Blotting、免疫染色により調べた。今回、正常および重症妊娠中毒症の胎盤におけるTrx 関連タンパク質でミトコンドリア内に局在するSP-22の発現の評価を加え、さらにTrxの遺伝子レベルでの発現をRT-PCRにより評価した。

方法

- 1) 正常(N = 8)および重症妊娠中毒症(N = 8)のヒト胎盤のHomogenatesと凍結切片を作成した。
- 2) 酸化ストレスの評価は、脂質過酸化物質修飾タンパク質 [HNE (4-Hydroxy-2-Neonenal)-modified proteins] の蓄積をWestern Blottingと免疫染色により検討した。
- 3) Western blotting、免疫染色 によりTrx、TR、PDI、Grx、SP-22 の発現を検討した。
- 4) Trxの遺伝子レベルでの発現をRT-PCRにより検討した。

結果

- 1) 重症妊娠中毒症の胎盤においてHNE-modified proteinsの蓄積亢進が主としてTrophoblastに認められた。
- 2) Trx、TR、PDI、Grx、SP-22の発現は正常妊娠胎盤に比べ重症妊娠中毒症の胎盤で2-3倍亢進しておりその局在は主としてTrophoblastに認められた。
- 3) Trxの発現は遺伝子レベルにおいても正常妊娠胎盤に比べ重症妊娠中毒症の胎盤で約3倍亢進していた。

結論・考察

重症妊娠中毒症の胎盤においては酸化ストレスが明らかに亢進していた。一方で抗酸化酵素であるTrx、TR、PDI、Grx、さらに活性酸素の主要な産生部位であるミトコンドリア内の抗酸化系であるSP-22も重症妊娠中毒症の胎盤においてその発現はタンパクレベルや遺伝子レベルで亢進していた。これらの抗酸化酵素が妊娠中毒症の胎盤において生体防御機構として働いている可能性が強く示唆された。さらに妊娠中毒症胎盤のTrophoblastにおいてこれらの抗酸化酵素発現の亢進が認められた。これらより我々の調べた抗酸化酵素系の破綻は胎盤機能障害に關与すると思われる。今回調べた重症妊娠中毒症では胎児仮死や胎児発育不全を合併した症例も含まれたが、妊娠中毒症の症例間では

我々が調べた抗酸化酵素系の発現にあまり差異を認めなかった。今後、妊娠中毒症に合併する胎児発育不全や胎児仮死と胎盤(Trophoblast)における酸化ストレスや抗酸化機構の因果関係についてはさらなる検討が必要であると思われる。

主要関連文献

1. DiFederico E, Genbacev O, and Fisher SJ (1999) Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. *Am J Pathol*, 155, 293-301.
2. Ejima K, Nanri H, Toki N, Kashimura M, and Ikeda M (1999a) Localization of thioredoxin reductase and thioredoxin in normal human placenta and their protective effect against oxidative stress. *Placenta*, 20, 95-101.
3. Ejima K, Nanri H, Araki M, Uchida K, Kashimura M, Ikeda M (1999b) 17β -estradiol induces protein thiol/disulfide oxidoreductases and protects cultured bovine aortic endothelial cells from oxidative stress by paraquat. *Eur J Endocrinol*, 140, 608-613.
4. Ejima K, Koji T, Nanri H, Kashimura M, and Ikeda M (1999c) Expression of thioredoxin and thioredoxin reductase in placentae of pregnant mice exposed to lipopolysaccharide. *Placenta*, 20, 561-566.
5. Ejima K, Koji T, Tsuruta D, Nanri H, Kashimura M, Ikeda M (2000) Induction of apoptosis in placentas of pregnant mice exposed to lipopolysaccharides: Possible involvement of Fas/Fas ligand system. *Biol Reprod*, (in press)
6. Fernando MR, Nanri H, Yoshitake S, Nagata-kuno K, Minakami S (1992) Thioredoxin regenerates proteins inactivated by oxidative stress in endothelial cells. *Europ. J. Biochem*, 209, 917-922.
7. Masaru A, Hiroki N, Kuniaki E, and Masaharu I (1999) Antioxidant function of the mitochondrial protein SP-22 in the cardiovascular system. *The Am So for Biochem and Molecu biol*, 274 2271-22788. 江島邦彰、南里宏樹、柏村正道、池田正春：酸化ストレスによる Thioredoxin Reductase の誘導；日本生化学会雑誌. 68 (7) : 1004, 1996.
9. Ejima K, Nanri H, Kashimura M, Ikeda M. Mitochondrial thioredoxin reductase and its Protective role for oxidative damages in mitochondrial proteins. :FASEB J 11, A-1341, 1997.
10. 江島邦彰、南里宏樹、土岐尚之、柏村正道、池田正春：胎盤における Thioredoxin-Thioredoxin reductase 系の酸化ストレスに対する防御効果；日本妊娠中毒症学会雑誌 5, 75-76, 1997
11. 江島邦彰、柏村正道；特集／妊娠中毒症へのアタック'99；妊娠における酸化ストレスと抗酸化システム …妊娠中毒症との関連…産婦人科の世界、51, 951-957, 1999.
12. 江島邦彰、小路武彦、南里宏樹、柴田英治、柏村正道、池田正春；炎症胎盤における抗酸化機構とその破綻によるアポトーシスの誘導。…妊娠中毒症における胎盤機能不全と常位胎盤早期剥離のメカニズム… 日本妊娠中毒症学会雑誌 7, 95-96, 1999
13. 柴田英治、江島邦彰、土岐尚之、小山 力、柏村正道；正常妊娠および重症妊娠中毒症の胎盤における抗酸化酵素系の発現 日本妊娠中毒症学会雑誌 7, 97-98, 1999
14. Ejima K, Nanri H, Araki M, Koji T, Shibata E, Kashimura M, Ikeda M: Expression of mitochondrial thioredoxin-dependent antioxidant protein, SP-22, in normal human and inflammatory mouse placentas. *Placenta*, (2000) in press