

28-6 胎盤形成における絨毛外トロフォブラストの血管内皮分化制御に関わる分子の同定

九州大学医学部附属病院周産母子センター¹, 九州大学医学部附属病院産科婦人科², 九州大学医学研究院生殖病態生理³, 埼玉医科大学総合母子医療センター⁴, 関東労災病院⁵
 福岡恒太郎¹, 宮本新吾², 小松 一³, 月森清巳², 小林裕明², 竹田 省⁴, 関 博之⁵, 中野仁雄³

【目的】絨毛外絨毛細胞(EVT)は増殖, 浸潤, 血管内皮への分化を介し integrin 発現変化を伴って胎盤を形成する。われわれは TNF α が EVT にアポトーシスを起こす一方で, 浸潤に関わる integrin 発現転換を誘導し, 細胞外マトリクスとともに EVT の機能分化に関わることを報告してきた。本研究では EVT の血管内皮への分化に関わる因子の抽出を目的として, ヒト EVT 不死化細胞株 TCL1 において1) 血管内皮への分化の有無2) 液性因子による血管内皮特異的 integrin 分子発現の変化と3) その生物学的意義について検討した。【方法】TCL1細胞を matrigel, collagen ゲル上で培養し, 位相差顕微鏡で微小血管形成を観察した。2) RT-PCR 法を用いて, TNF α (100pg/ml), VEGF (10ng/ml) 添加時の integrin サブユニットの mRNA 発現を検討した。3) 血管内皮特異的な integrin α V β 3.5抗体存在下での a) 微小血管形成, b) TNF α 添加時のアポトーシス細胞をそれぞれ計測した。【成績】1) matrigel 上で培養した TCL1細胞は12時間後には微小血管を形成したが, collagen ゲルでは形成されなかった。2) TCL1細胞における integrin α V β 3.5発現は TNF α , VEGF 添加6時間後にそれぞれ2.5, 1.5, 4.1倍となった。3) integrin α V β 3.5抗体は a) matrigel 上での微小血管形成を阻害し, b) TNF α によるアポトーシスを抑制した。【結論】1) TCL1細胞は matrigel 上で微小血管を形成し, 血管内皮への分化を示した。2) TNF α , VEGF は血管内皮特異的な integrin α V β 3.5の発現を誘導し, これらのサブユニットからのシグナルは微小血管形成および細胞死の制御に関わっていた。以上より TNF α , VEGF と integrin によるシグナルが胎盤形成における EVT の浸潤のみならず血管内皮への分化制御にも関わると考えられた。

28-7 エストロゲン依存性胎盤生長の分子メカニズム

岐阜大学

中川由美子, 藤本次良, 高橋雄一郎, 玉舎輝彦

【目的】妊娠中母体はエストロゲンが豊富な環境にあるため, エストロゲンが胎盤の発育や生長に働いていると考えられてきたが, その分子メカニズムは不明であった。また胎盤は最も血管の豊富な臓器で, その生長には血管新生が関わっていると考えられる。そこでヒト胎盤におけるエストロゲン依存性血管新生因子の発現様式からメカニズムを明らかにしたい。【方法】胎盤組織(58例)の採取および研究内容に関するインフォームド・コンセントをすべての人から得た。血管新生因子[vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (FGF), platelet derived growth factor (PDGF), hepatocyte growth factor (HGF), tumor necrosis factor (TNF) α , transforming growth factor (TGF) β , interleukin (IL) -1 β , IL-6, IL-8]のタンパク発現は酵素抗体法で, VEGF アイソフォームの mRNA は RT-PCR 法, タンパクの発現はウエスタンブロッティング法で検討した。【成績】ヒト胎盤において VEGF, とくに VEGF165 と basic FGF の発現レベルは妊娠期間を通して胎盤重量と相関したが, その他の血管新生因子の発現レベルは胎盤重量との明らかな相関は認めなかった。【結論】エストロゲンは estrogen responsive element を有する VEGF とくに VEGF165 や基礎血管新生に働く basic FGF の発現誘導を介し, 妊娠全期間を通じ胎盤生長を促していることが推察された。

28-8 Soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) による血管内皮細胞増殖能の抑制に関する検討

大分大

松本治伸, 吉松 淳, 江藤雅子, 河野康志, 檜原久司, 宮川勇生

【目的】soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1, sVEGF receptor-1) は胎盤から産生され, 妊娠中毒症の羊水中で上昇していると報告されている。血液中の sFlt1 が VEGF と結合すると, 血管内皮細胞上の VEGF receptor と結合する VEGF が減少する。この VEGF の低下は妊娠中毒症における高血圧と蛋白尿を来すメカニズムに関与すると考えられている。妊娠中毒症で見られる血管内皮細胞に対する sFlt1 の影響を検討した。【方法】対数増殖期にある培養ヒト臍静脈血管内皮細胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)を 2×10^3 cells/well となるよう浮遊液を調製した。96穴プレートの各ウェルに50 μ L ずつ細胞浮遊液を添加し37 $^{\circ}$ C, CO₂インキュベーターで24時間培養した。10%非妊婦血清入り EGM-2 を添加, さらに96時間培養し, 高水溶性ホルマザン産物を測定, 血管内皮細胞の増殖能の指標とした。また, 上清中の VEGF を ELISA 法で測定した。【成績】HUVEC の増殖能は sFlt1 0.1ng/mL 添加で control に比して96.9%, 1ng/mL で86.8%, 10ng/mL で80.1%と sFlt1 の濃度依存的に低下した。また, 上清中の VEGF は control で 19.0 ± 0.7 pg/mL, sFlt1 0.1ng/mL 添加で 18.7 ± 1.2 pg/mL, 1ng/mL で 13.7 ± 2.5 pg/mL, 10ng/mL で 12.4 ± 0.8 pg/mL と sFlt1 の濃度依存的に低下した。【結論】胎盤の低酸素は絨毛細胞からの sFlt1 産生を亢進する。その結果 free VEGF は低下し, 血管内皮細胞の dysfunction を来すと考えられる。非妊婦血清中で sFlt1 が上昇すると VEGF が低下し, その作用である血管内皮細胞の増殖を抑制することが証明された。また, sFlt1 が妊娠中毒症の発症の一端の担っていることが推察された。