

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791117

研究課題名(和文) 不育症におけるアネキシンの役割

研究課題名(英文) The Role of Annexin in Pregnant woman

研究代表者

松本 万紀子(Matsumoto, Makiko)

大阪市立大学・医学(系)研究科(研究院)・登録医

研究者番号：50599298

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠高血圧症の病態には、胎盤虚血や血管内皮障害が一因であると考えられている。アネキシンファミリーの一つであるAnnexin A2は線溶活性増強因子であり、今回の研究で正常妊娠に比し妊娠高血圧症例の胎盤ではAnnexin A2が高発現を示すことを確認した。さらに臨床経過の異なる二つの妊娠高血圧症群間で比較検討した。結果は状態の安定している妊娠高血圧症に比し、急性増悪のため急遂分娩を要した症例群はmRNAの発現が有意に上昇しており、児の出生体重も有意に低下していた。母体状態のみならず、胎児胎盤系の病態にもAnnexin A2が関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The underlying pathogenic mechanism of preeclampsia(PE) remains unclear. It is thought to be associated with uteroplacental ischemia and endothelial dysfunction. Annexin A2, including syncytiotrophoblasts, is a member of Annexin family. Placental expression of Annexin A2 as determined by immunohistochemistry was significantly higher in PE groups compared with the uncomplicated pregnancy group. Placental Annexin A2 mRNA expression was significantly elevated in group 2(PE cases with acute worsening of symptoms necessitating immediate pregnancy termination) compared with the normal pregnancy group and group 1(PE cases without emergency termination of pregnancy). These findings suggest that worsening of PE might alter Annexin A2 expression at the transcription level.

研究分野：産科

キーワード：Annexin A2 胎盤 妊娠高血圧症

1. 研究開始当初の背景

アネキシンは胎盤で高発現しているとの報告があるが、その発現様式や産科的な役割は未だ解明されていない。

近年、多機能タンパク質であるアネキシンの酸性糖質性異物認識能が自然免疫を担う可能性を示唆する報告がなされた。

線溶活性増強因子であるアネキシン A2 は腫瘍で過剰に発現し、腫瘍の浸潤、増殖、血管新生を促進するとの報告や、骨芽細胞において低酸素によりアネキシン A2 発現量が増加するという報告がある。また、高酸素負荷網膜血管新生マウスモデルを用いて、血管周囲フィブリンを一掃することによって血管形成を促進することが報告されている。

アネキシン A5 は胎盤由来の抗凝固蛋白質として見出され合胞体栄養細胞表面のフォスファチジルセリンに結合して抗凝固性シールドを形成しているとの仮説が提唱されている。

2. 研究の目的

アネキシン A2 においては線溶活性因子として、また正常妊娠に比し低酸素状態と考えられる胎児発育不全症や妊娠高血圧症等で胎盤での発現の仕方についての報告はない。アネキシン A5 は胎盤での抗凝固性機構としての仮説が提唱されており、正常妊娠に比し、胎児発育不全症や妊娠高血圧症の胎盤でのアネキシン A5 の発現は減少していると報告されている。

今回、アネキシン A2 および A5 の胎盤での役割の解明、さらに妊娠高血圧症の原因の解明につなげる。

3. 研究の方法

(1) 正常妊娠、妊娠高血圧症の分娩時に採取した胎盤をホルマリン固定し、プレパラートを作成した。一次抗体として抗 Annexin A2 マウス抗体と抗 Annexin A5 マウス抗体を使用。二次抗体としてビオチン標識抗マウス IgG 抗体を使用し ABC 法にて染色し、Micro Analyzer を用いて定量化した。

対象は 2010 年 9 月から 2013 年 6 月に当院で周産期管理をした正常単胎妊娠、状態の安定している妊娠高血圧症(Group 1)および急性増悪のため急遂分娩を要した妊娠高血圧症 (Group 2)を対象とした。

(2) 免疫組織学的染色と同様の検体から Nucleo spin RNA xs Kit を用いて RNA を抽出し、qPCR で測定した。

(3) Annexin A5 はフォスファチジルセリンに結合するため、その合成酵素である Phosphatidylserine synthase-1(PSS1)/synthase-2(PSS2) の発現の検討。

対象は正常妊娠が 10 例、子宮内胎児発育不全を合併した妊娠高血圧症 6 例。

免疫組織学的染色の一次抗体には anti-annexin A5 polyclonal mouse antibody、

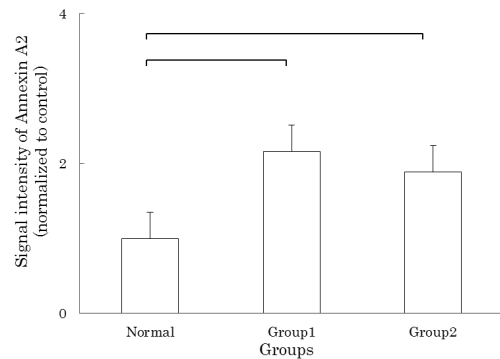
anti-PSS1 polyclonal goat antibody、anti-PSS2 polyclonal goat antibody を使用し、二次抗体にビオチン標識抗 mouse IgG antibody in annexin A5、ビオチン標識抗 goat IgG antibody in PSS1/PSS2 を使用した。

Micro Analyzer を用いて定量化した。

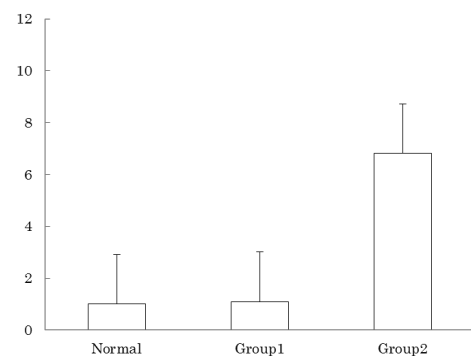
(4) 免疫組織学的染色と同様の検体から Nucleospin RNA II kit を用いて RNA を抽出し、ABI 7500 FAST Real Time PCR system で測定した。

4. 研究成果

(1) 免疫組織学的染色において、Annexin A2 は絨毛細胞の最外層に染色され、正常妊娠群と比較して安定した妊娠高血圧症群 (Group 1)、急性増悪した妊娠高血圧症群 (Group 2) 共に有意に強い染色を認めた (Group 1 $p < 0.001$, Group 2 $p < 0.001$)。



(2) mRNA の発現は正常妊娠群と安定した妊娠高血圧症群 (Group 1) 比較し、急性増悪した妊娠高血圧症群 (Group 2) において有意な上昇を認めた。



臨床的症状としては、急性増悪のため急遂分娩を要した妊娠高血圧症 (Group 2) は、状態が安定した妊娠高血圧症 (Group 1) 群に比べ有意に血管攣縮症状が多く ($p = 0.001$)、正常妊娠群に比べ児の出生体重が有意に低下していた ($p < 0.05$)、

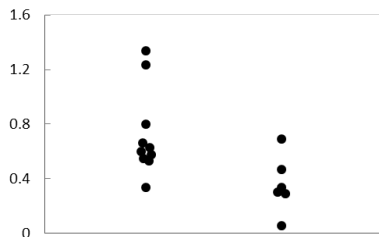
(下表)

	Normal (n=9)	Group1 (n=6)	Group2 (n=7)	p value*
Gestational week at delivery	39.6 (38.1-39.9)	36.6 (34.9-39.8)	36.7 (34.4-37.6)	0.20
Cesarean section: n (%)	4/9 (44)	4/6 (67)	5/7 (71)	0.51
Interval between diagnosis and delivery (hours)	-	98.0 (66.3-120)	4.0 (3-4.5)	0.002
Birth weight (g)	3190 (2632-3245)	2191 (1975-2707)	2080 (1747-2315)**	0.01
Placental weight (g)	580 (540-630)	480 (423-538)	455 (390-490)**	0.34

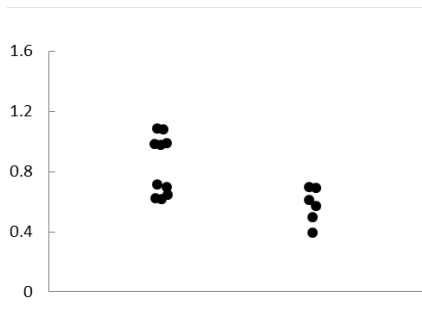
以上より、急性増悪を呈する妊娠高血圧症では胎児発育が阻害され、それらの胎盤では Annexin A2 の発現が増加していることが明らかになった。
母体状態のみならず、胎児胎盤系の病態にも Annexin A2 が関与していることが示唆された。

(3) PSS1/PSS2 の発現は正常妊娠に比し、子宮内胎児発育不全を合併した妊娠高血圧症で有意に低下していた。

PSS1 の免疫組織化学的染色の結果

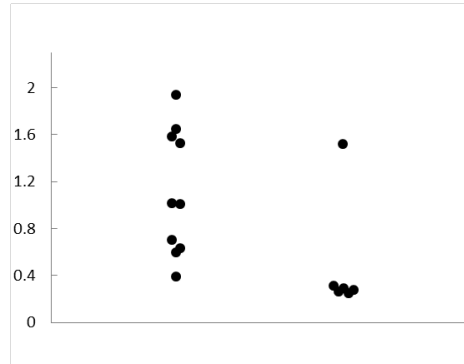
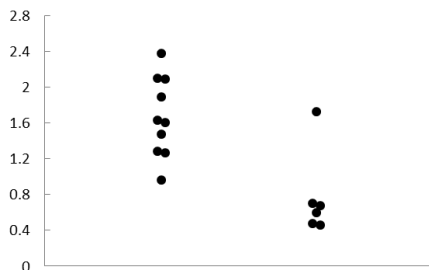


PSS2 の免疫組織化学的染色の結果



(4) mRNA に関して正常妊娠に比し、子宮内胎児発育不全を合併した妊娠高血圧症で有意に低下していた。

(下図 mRNA レベル PSS1/PSS2 の順)



以上より子宮内胎児発育不全症を合併する妊娠高血圧症は PSS1/2 の胎盤での発現減少が病態に関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Sano Miho, Makiko Matsumoto, Hiroyuki Terada, Haijiao Wang, Yasushi Kurihara, Natsuko Wada, Hiroko Yamamoto, Yukimi Kira, Daisuke Tachibana, and Masayasu Koyama

Osaka City Med. J. Vol. 60, 87-93, 2014
査読有

Increased Annexin A2 Expression in the Placenta of Women with Acute Worsening of Preeclampsia

〔学会発表〕(計2件)

発表者：佐野美帆、寺田裕之、松本万紀子

「Syncytiotrophoblast における Phosphatidylserine synthase-1/synthase-2 の発現について」

第66回日本産科婦人科学会学術講演会

2014年4月18日～2014年4月20日

東京国際フォーラム(東京都千代田区)

発表者 佐野美帆、松本万紀子、橋大介

「妊娠高血圧症、胎児発育不全症の胎盤における Annexin A2、Annexin A5 の発現について」

第65回日本産科婦人科学会学術講演会

2013年5月10日～2013年5月12日

札幌プリンスホテル(北海道札幌市)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

松本 万紀子 (Matsumoto, Makiko)

大阪市立大学・大学院医学研究科・登録医

研究者番号：5 0 5 9 9 2 9 8