

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592396

研究課題名(和文) 血管新生調節因子に着目した妊娠高血圧症候群の予知・予防・治療法の確立

研究課題名(英文) Prediction, prevention and treatment of preeclampsia by measuring and controlling angiogenic factors

研究代表者

甲賀 かをり (Koga, Kaori)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10396723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠高血圧症候群の病因として、胎盤の形成不全と、それによって胎盤から母体血流へ分泌されるsFlt1などの血管新生抑制因子の関連が知られている。今回の研究により、血栓形成などの際に生成するトロンビンが血管新生抑制因子であるsFlt1の胎盤での産生を刺激すること、血管新生抑制因子であるsFlt1および血管新生因子であるPlacental growth factor (PlGF)の血中濃度を測定することにより、本症の予知が可能であることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Angiogenic modulator, such as sFlt1 produced by poorly invaded placenta, is known to be involved in the pathogenesis of preeclampsia. This study demonstrated that 1) thrombin, a major factor produced during the clot formation, induced sFlt1 production in trophoblasts, and 2) measuring serum sFlt1 and placental growth factor (PlGF) can predict the onset of preeclampsia.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学 産婦人科学

キーワード：血管新生因子

1. 研究開始当初の背景

胎児/新生児医学の目覚ましい発展とは対照的に、妊娠高血圧症候群への対応は周産期医学の中で最も遅れている。本症は母児に重篤な障害をもたらすにも関わらず、確立した予知、治療法がないため、昨今の産科医療を逼迫させる一因となっている。本症の発症機序は永らく不明であったが、近年、妊娠初期に胎盤から母体循環に分泌される各種の血管新生調節因子が、妊娠中・後期に母体の血管内皮細胞障害をおこすことが判明してきた。本研究の目的は、このような血管新生調節因子の新規因子の探索・特定と、新規因子および sFlt1 などの既知因子を用いた妊娠高血圧症候群の『予知法』、および『予防・治療法』の確立である。

2. 研究の目的

本研究では 新規・既知血管新生調節因子の早期検出による本症の『予知法』の確立、新規・既知血管新生調節因子の制御による本症の『予防・治療法』の確立を目指す。

3. 研究の方法

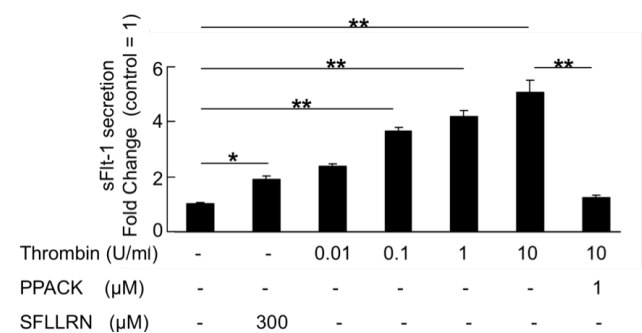
栄養膜細胞および絨毛外栄養膜細胞の初代培養およびセルラインを用い、sFlt1 の発現を制御する因子としてトロンビンに着目し、これが sFlt1 の発現を制御するか、他の血管新生因子の制御について、その制御機構について、添加実験および sFlt1 の発現を RTPCR 法、ELISA 法を用いて明らかにする。

当科の妊婦健診に通院する妊婦から妊娠 12-15 週、20-23 週、28-29 週に採血を行い、血清を保存。その後の妊娠経過、分娩経過を追跡し、妊娠高血圧症候群を発症した妊婦と対照群につき、保存血清中の sFlt1、PlGF を測定し、本症の発症目にこれらの因子の血清中濃度が変化しているかについて検討する。

4. 研究成果

栄養膜細胞と比較し、絨毛外栄養膜細胞では PAR-1 mRNA の発現量は有意に高かった。sFlt-1 mRNA 発現量は、トロンビンや PAR-1 刺激薬である SFLLRN の添加で、栄養膜細胞では変化がなかったが、絨毛外栄養膜細胞では統計学的有意に増加した。同様に sFlt-1 タンパク分泌量は、トロンビン添加によって、栄養膜細胞において変化はないが、絨毛外栄養膜細胞で統計学的有意に増加した。トロンビン添加による sFlt-1 分泌増加はトロンビン阻害薬である PPAK 前処置によって打ち消された。VEGF mRNA 発現量はトロンビン投与で絨毛外栄養膜細胞で僅かに上昇したが、PlGF mRNA は変化なく、栄養膜細胞では VEGF、PlGF 両者の mRNA 発現量に変化を認めなかった。VEGF タンパクは ST の上清では検出されず、絨毛外栄養膜細胞では有意な上昇はなかった。PlGF タンパク量は絨毛外栄養膜細胞、栄養膜細胞いずれもトロンビンの刺激による変化はなかった。代表的な結果を下図に示す。

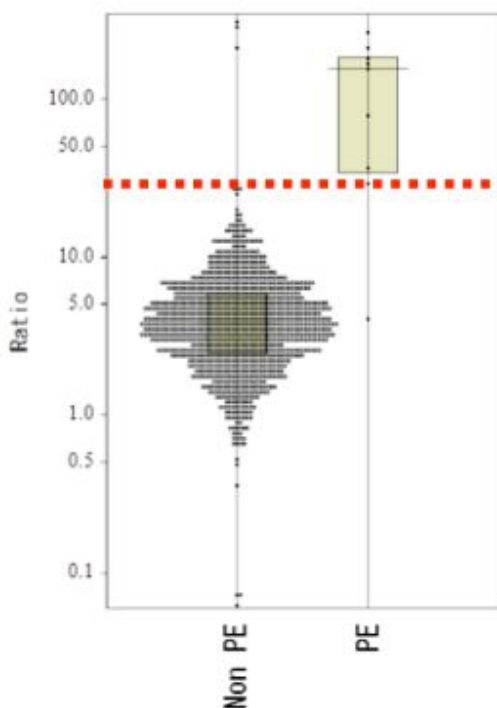
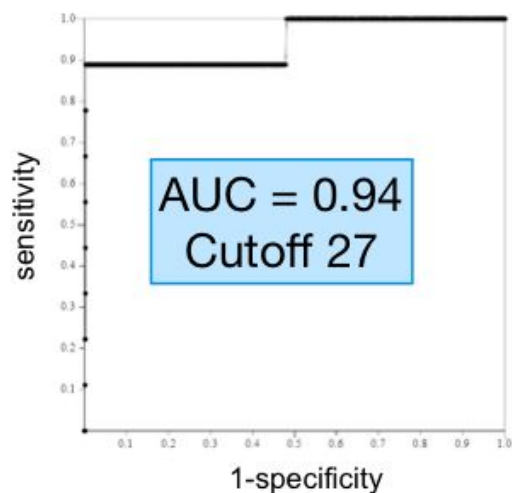
図：絨毛外栄養膜細胞にトロンビン / SFLLRN / PPAK を添加し、sFlt-1 の分泌量を上清中の sFlt-1 を測定することによって評価した結果。トロンビンは用量依存性に sFlt-1 の分泌を増加させ、トロンビン阻害薬の PPAK はその増加を打ち消し、PAR-1 刺激薬の SFLLRN はトロンビンと同様 sFlt-1 の分泌を増加させた。



1392 検体の解析の結果、sFlt1/PlGF 比

のカットオフ値を 27 とすると、4 週間以内の妊娠高血圧症発症の予測が TOC で AUC0.94、感度 80%特異度 100%陽性的中率 75%陰性的中率 100%となった。

図は sFlt-1/PlGF と 4 週間以内の妊娠高血圧症候群発症の ROC および対照群と発症群の sFlt-1/PlGF 比値の散布図。



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 4 件)

1) Koga K, Izumi G, Mor G, Fujii T, Osuga Y, Toll-like Receptors at the Maternal-Fetal Interface in Normal Pregnancy and Pregnancy Complications. Am J Reprod Immunol in press

2) Menkhorst E, Koga K, Van Sinderen M, Dimitriadis E, Galectin-7 serum levels are altered prior to the onset of pre-eclampsia. Placenta 2014 Apr;35(4):281-5

3) Zhao Y, Koga K, Osuga Y, Nagai M, Izumi G, Takamura M, Harada M, Hirota Y, Yoshino O, Taketani Y, Thrombin enhances soluble Fms-like tyrosine kinase 1 expression in trophoblasts; possible involvement in the pathogenesis of preeclampsia. Fertil Steril. 2012 Oct;98(4):917-21

4) Wang B, Koga K, Osuga Y, Hirata T, Saito A, Yoshino O, Hirota Y, Harada M, Takemura Y, Fujii T, Taketani Y., High mobility group box 1 (HMGB1) levels in the placenta and in serum in preeclampsia. Am J Reprod Immunol. 2011 Aug;66(2):143-8

[学会発表] (計 5 件)

1) Kaori Koga, Angiogenic factors in Preeclampsia, Annual congress of International society for reproductive immunology May 2013 USA

2) Kaori Koga, Prediction of PE study in Japan, 2nd Preeclampsia Early Adopters Meeting April 2013 Austria

3) 甲賀かをり、妊娠高血圧症候群と血管新

生抑制因子、第19回日本胎盤学会学術集
会シンポジウム 2011年9月 東京

4) 甲賀かをり、成因としての血管新生因子、
第21回腎と妊娠研究会ワークショップ
2011年3月 埼玉

5) 永井美和子、甲賀かをりら、トロンピン
は絨毛外栄養膜細胞の可溶型 Fms 様チロ
シンキナーゼ1の産生を増加させる、日本
妊娠高血圧学会学術集会、2011年12月
金沢

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

甲賀かをり (KOGA Kaori)

東京大学医学部附属病院 講師

研究者番号：10396723