

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791833

研究課題名(和文)胎児予備能の許容限界の解明を目指した重症胎児発育不全における炎症関連分子の解析

研究課題名(英文) Potential defense mechanisms against oxidative stress and inflammation for the placenta in modulating adverse environment to the fetus

研究代表者

近藤 英治 (Kondoh, Eiji)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：10544950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠高血圧腎症(PE)の病態には胎盤における酸化ストレスが関与していると推測されている。母体血中では脂質が増加しており、酸化LDLも高値である。我々は、酸化LDLとその受容体LOX-1に着目し、胎盤における脂質代謝異常とPEの病態の関係を検討し、次のことを明らかにした。PEの胎盤においては低酸素環境のため、酸化LDLのスカーベンジャー受容体であるLOX-1の発現が低下することにより、酸化LDLの絨毛細胞内への取り込みが低下し、母体血中で酸化脂質が増加する。またNrf2の活性が抑制され、その標的遺伝子である抗酸化ストレス酵素HO-1の発現も低下し、PE胎盤ではより酸化ストレスが増大する。

研究成果の概要(英文)：Serum concentration of oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) is higher in women with preeclampsia than in normal pregnant woman. Lectin-like oxLDL receptor-1 (LOX-1) is one of the scavenger receptors for oxLDL and is abundantly expressed in placenta. It is well known that oxLDL activates nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), a master regulator of antioxidant and cytoprotective genes such as heme oxygenase-1 (HO-1), which play an important role in preeclampsia. Both LOX-1 expression and Nrf2 activation were significantly decreased in preeclamptic placentas compared with normal controls. A significant decrease in LOX-1 mRNA was found in placental explant cultures under hypoxic conditions. Activation of Nrf2 up-regulated HO-1 in both the JAR cells and placental explants. Furthermore, oxLDL increased HO-1 mRNA, whereas the blockade of LOX-1 inhibited the increase of HO-1 mRNA in JAR cells.

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：妊娠高血圧腎症 酸化LDL 酸化LDL受容体LOX-1 脂質代謝 酸化ストレス Nrf2

1. 研究開始当初の背景

妊娠高血圧腎症(Preeclampsia = PE)は妊娠 20 週以降に生じる高血圧と蛋白尿を主徴とする疾患で、全妊娠の 2-8%に合併する。周産期領域における母体の主要な死亡原因となるほか、胎児にとっても子宮内発育不全や子宮内死亡の原因となりうる。PE では、母体の血管内皮障害がその主要な病態と考えられている。また、血管内皮障害の一因として酸化ストレスおよび炎症が関与していることが推測されている。

妊娠中、母体の血中脂質は増加し、生理的な高脂血症状態となるが、PE の母体においては正常妊娠にもまして母体の血中脂質が高値となるほか、動脈硬化の進展に深く関与する酸化 LDL も高値となっている。胎盤には酸化 LDL のスカベンジャー受容体である lectin-like oxidized LDL receptor1(LOX-1) や、脂質排出トランスポーターである ATP-binding cassette transporter A1(ABCA1)が強く発現しており、ABCA1 を調節する転写因子 Liver X Receptor(LXR)も存在している。

PE の胎盤では抗酸化ストレス遺伝子である heme oxygenase1(HO-1)が低下している。しかし、その機序は不明であり、HO-1 を含む抗酸化遺伝子群の発現を統一的に制御している重要な転写因子 nuclear factor erythroid 2-related factor2(Nrf2)の、胎盤、特に PE の胎盤における Nrf2 活性化を検討した研究はほとんどない。

2. 研究の目的

胎盤における脂質代謝、胎盤における酸化ストレス防御機構 (Nrf2 system)に着目し、PE の病態形成に果たす役割を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

倫理委員会承認のもと京都大学医学部附属病院にて分娩した妊婦から、同意を得て正常胎盤および PE 胎盤を採取し、定量 PCR 法にて LOX-1、HO-1、ABCA1、LXR の mRNA 発現を検討した。また LOX-1、ABCA1 については Western Blot 法により蛋白発現も検討した。さらに正常胎盤から得られた絨毛組織を 1% 酸素下で 24 時間組織培養し、低酸素に対する LOX-1 の発現変化を検討した。

上記胎盤から核蛋白を抽出し、Western Blot 法により Nrf2 の核内集積 (活性化) を検討した。

JAR 細胞および胎盤組織培養系において Nrf2/HO-1 pathway が機能することを、Nrf2 活性化剤 (DEM) を用いて確認した。

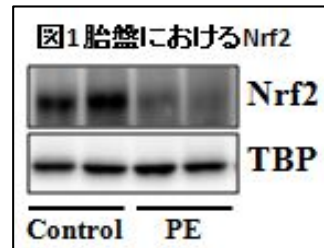
JAR 細胞に酸化 LDL を添加し、Nrf2 の活性化、HO-1、LOX-1、ABCA1、LXR の発現変化を検討した。

JAR 細胞に LOX-1 阻害抗体を前処置したのちに酸化 LDL を添加し、HO-1、ABCA1 の発現変化を検討した。

4. 研究成果

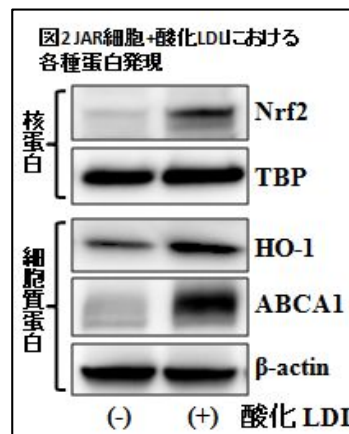
PE の胎盤では正常の胎盤に比べ、LOX-1、HO-1、ABCA1、LXR の mRNA が有意に低下していた。LOX-1 および ABCA1 は蛋白発現も有意に低下していた。さらに絨毛組織を低酸素 (1%酸素) で培養すると LOX-1 の mRNA は発現低下した。

PE の胎盤から抽出した核蛋白において、Nrf2 の活性化は正常胎盤に比べて有意に低下していた (図 1)。



JAR 細胞および胎盤組織培養系において DEM を添加すると、Nrf2 の活性化 (核内集積) および下流遺伝子 HO-1 の発現増強がみられ、絨毛細胞においても Nrf2/HO-1 pathway が正常に機能することが確認された。

JAR 細胞に酸化 LDL を添加すると、Nrf2 の活性化 (核内集積) および HO-1 の発現増強がみられた。また酸化 LDL は ABCA1、LXR の発現を増強させた (図 2)。



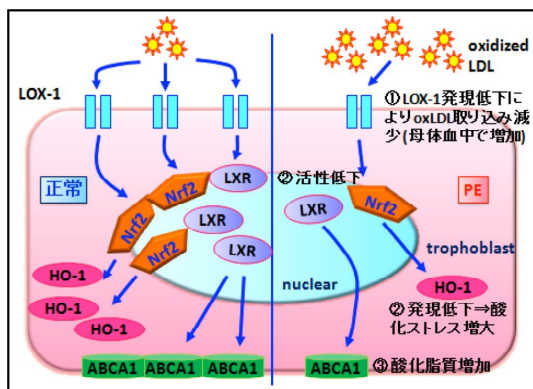
PE の母体血中では酸化 LDL が高値となることが知られている。にもかかわらず PE の胎盤において Nrf2 の活性化が生じず、HO-1 の発現が低下していること、また ABCA1 の発現が低下していることに LOX-1 の発現低下が関与している可能性を想定し、JAR 細胞において、LOX-1 阻害抗体を処理したのちに酸化 LDL を添加した。その結果、酸化 LDL 添加によって発現が増強した HO-1、ABCA1 は、LOX-1 阻害抗体添加によってその発現上昇が有意に抑制された。

これらの結果から以下のことが示唆された。PE の胎盤においては低酸素環境のため、酸化 LDL のスカベンジャー受容体である LOX-1 の発現が低下することによって、酸化 LDL の絨毛細胞内への取り込みが低下する。

そのため酸化 LDL による Nrf2 の活性化が生じにくくなり、Nrf2 標的遺伝子である、抗酸化ストレス酵素 HO-1 の発現も低下する。その結果 PE の母体、胎盤ではより酸化ストレスが増大する。

また酸化 LDL の取り込みが低下すると、脂質センサーである LXR の活性化が生じにくくなり、下流遺伝子である脂質排出トランスポーター ABCA1 の発現が低下する。このことは PE での母体血中で酸化脂質が増加する一因となっている可能性がある。

図 3 :胎盤における LOX-1 を介した遺伝子発現変化



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2件)

Chigusa Y, Kondoh E, Mogami H, Nishimura F, Ujita M, Kawasaki K, Fujita K, Tatsumi K, Konishi I、ATP-binding cassette transporter A1 expression is decreased in preeclamptic placentas、Reprod Sci.、2013、20、891-8

Chigusa Y, Tatsumi K, Kondoh E, Fujita K, Nishimura F, Mogami H, Konishi I、Decreased lectin-like oxidized LDL receptor 1 (LOX-1) and low Nrf2 activation in placenta are involved in preeclampsia、J Clin Endocrinol Metab.、2012、97、E1862-70

[学会発表](計5件)

千草義継, 近藤英治, 最上晴太, 川崎 薫, 清川 晶, 宇治田麻里, 西村史朋, 藤田浩平, 小西郁生、Statin は絨毛細胞における酸化ストレス防御機構(Nrf2 system)を活性化させる、第 21 回日本胎盤学会学術集会 ワークショップ「胎盤形成の生理と病理」、平成 25 年 10 月 25 日 - 26 日、名古屋

Yoshitsugu Chigusa, Eiji Kondoh, Haruta Mogami, Fumitomo Nishimura, Mari Ujita,

Kaoru Kawasaki, Kohei Fujita, Keiji Tatsumi, Ikuo Konishi、ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression is decreased in preeclamptic placentas、第 65 回日本産科婦人科学会学術講演会 International Session、平成 25 年 5 月 10 日 - 12 日、札幌

Yoshitsugu Chigusa, Eiji Kondoh, Haruta Mogami, Keiji Tatsumi, Mari Ujita, Fumitomo Nishimura, Kohei Fujita, Ikuo Konishi、Disruption of Nrf2 signaling due to decreased expression of lectin-like oxidized LDL receptor 1 (LOX-1) is involved in preeclampsia、International Federation of Placenta Associations Meeting 2012、18-21 September 2012、Hiroshima Japan

千草義継、巽啓司、近藤英治、小西郁生、酸化脂質と炎症関連分子のヒト胎児発育における関与と喫煙の影響、喫煙科学研究財団平成 23 年度助成 研究発表会、平成 24 年 7 月 18 日、東京

千草義継、巽啓司、西村史朋、藤田浩平、最上晴太、近藤英治、小西郁生、Preeclampsia の胎盤では転写因子 Nrf2(NF-E2-related factor 2)の活性が低下している、第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会、平成 24 年 4 月 13 日 - 15 日、神戸

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

近藤英治

研究者番号：10544950