

Title	Decrease in Epidermal Growth Factor Receptor and Its Messenger Ribonucleic Acid Levels in Intrauterine Growth-Retarded and Diabetes Mellitus-Complicated Pregnancies
Author(s)	藤田, 善子
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38316">https://hdl.handle.net/11094/38316</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	藤 田 善 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 2 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 5 月 12 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Decrease in Epidermal Growth Factor Receptor and Its Messenger Ribonucleic Acid Levels in Intrauterine Growth- Retarded and Diabetes Mellitus-Complicated Pregnancies (胎児発育遅延と糖尿病合併妊娠における胎盤のEGF受容体数の減少)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 谷 澤 修 (副査) 教 授 松 沢 佑 次 教 授 宮 井 潔

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目 的]

マウスでは、上皮成長因子 (EGF) の主な産生部位である顎下腺で EGF 濃度が妊娠中有意に増加し、血中濃度も上昇する。さらに顎下腺を摘除して血中 EGF を減少させると流産や胎児発育遅延がおこることが知られている。ヒトにおいては、胎盤に EGF 受容体 (EGFR) がきわめて豊富に存在し、妊娠の進行とともに EGFR が増加しており、ヒトにおいても EGF が胎児-胎盤系に何らかの生理的意義を持つことが推察されている。

本研究では、EGF の胎児-胎盤系における生理的意義を検討する目的で、ヒト正常妊娠 (AGA)、子宮内胎児発育遅延 (IUGR) 及び胎児・胎盤にしばしば未熟性が見られる糖尿病合併 (DM) 妊娠3群で胎盤の EGFR とその mRNA の発現を比較検討した。同時に3群の臍帯血中 EGF 濃度も測定した。

#### [方 法]

AGA (n=10)、IUGR (標準児体重の85%以下、n=8)、DM (White C, D, n=6) の分娩時に得られた胎盤を用いて以下の実験を行った。

- 1)  $^{125}\text{I}$ -EGF の結合能測定-胎盤組織3gを細切、ホモゲナイズし、differential centrifugation より膜分画を調整した。種々の量の  $^{125}\text{I}$ -EGF と 4  $\mu\text{g}$  の膜分画を過剰の非標識 EGF の存在、又は非存在下で 24°C、2時間インキュベートし、その溶液を vacuum filtration して filter 上の放射活性を測定した。
- 2) EGFR の免疫組織染色-胎盤組織から凍結切片 (8  $\mu\text{m}$ ) を作成し、抗 EGFR モノクローナル抗体を用い ABC 法にて免疫組織染色を行った。
- 3) EGFR mRNA の測定-胎盤組織より Guanidine/CsCl 法により total RNA を Oligotex(dT)30 を用いて poly(A)<sup>+</sup>RNA を抽出し、5  $\mu\text{g}$  の poly(A)<sup>+</sup>RNA を 1% アガロースゲルで電気泳動後、Northern blot analysis を行った。プローブは  $^{32}\text{P}$  でラベルした EGFR の cDNA を用いた。
- 4) AGA, IUGR, DM 妊娠の分娩時の臍帯静脈血清の EGF 濃度を  $^{125}\text{I}$ -hEGF を用いて、2抗体法 RIA にて測定した。

## [成績]

- 1) EGF 結合能は24°C, 2時間のインキュベーションで plateau に達し, rebinding, degradation study では<sup>125</sup>I-hEGF, EGFR とともに degradation は殆ど認めなかった。Scatchard plot は, AGA, IUGR, DM いずれの胎盤でも curvilinear なパターンを示し, 異なる親和性をもつ2種の結合部位が存在することが示唆された。高親和性結合部位の Kd は AGA :  $1.33 \pm 0.13$  (mean  $\pm$  SE)  $\times 10^{-10}$ , IUGR :  $1.33 \pm 0.08 \times 10^{-10}$ , DM :  $1.26 \pm 0.05 \times 10^{-10}$  mol/L であり有意な変動を示さなかったが, Bmax は, AGA :  $2.05 \pm 0.11$  (mean  $\pm$  SE), IUGR :  $1.00 \pm 0.13$ , DM :  $1.19 \pm 0.17$  pmol/mg protein と IUGR, DM 群では AGA 群に比べ有意に低値であった。低親和性結合部位についても同様の結果であった。
- 2) 免疫組織化学的には3群の胎盤いずれも EGFR はシンシチウム細胞に局在し, 染色強度は IUGR, DM 妊娠で AGA 群と比較して弱い傾向を認めた。
- 3) 3群いずれの胎盤においても EGFR の mRNA のサイズは5.6kb と 10kb でありその発現量は, AGA 群に比し IUGR, DM 群ともに約 $\frac{1}{2}$ に減少していた。
- 4) 臍帯静脈血清中の EGF 濃度は, AGA :  $475.7 \pm 43.0$  (mean  $\pm$  SE, n=26), IUGR :  $237.7 \pm 54.55$  (n=10), DM :  $290.6 \pm 37.7$  (n=8) pg/ml と IUGR, DM 群では有意に低値を示した。

## [総括]

IUGR, DM 妊娠では胎盤中 EGFR 量が正常妊娠胎盤に比較して有意に少なく, mRNA 量も減少していることを初めて明らかにした。この事実は, EGF が絨毛細胞の機能的, 形態的分化に関与する可能性が in vitro で示唆されていることを考慮すると, IUGR, DM 胎盤にみられる形態的未熟性に EGF の作用の低下が関与している可能性も想定される。又, IUGR, DM 群でみられた臍帯血中 EGF 濃度の低下は, 胎児組織に何らかの影響を及ぼしている可能性も考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は, ヒト正常妊娠, 子宮内胎児発育遅延 (IUGR), 及び糖尿病合併妊娠 (DM) の胎盤における EGF 受容体 (EGFR) とその mRNA の発現を比較検討し, 同時に3群の臍帯血中 EGF 濃度を測定して, EGFR の胎児-胎盤系における生理的意義について調べたものである。その結果, IUGR, DM 妊娠では胎盤中の EGFR 量が正常妊娠胎盤に比較して有意に少なく, mRNA 量も減少していること, また, IUGR, DM 群では臍帯血中 EGF 濃度が低下していることを初めて明らかにした。EGF が絨毛細胞の分化に関与する可能性が in vitro で示唆されていることを考慮すると IUGR, DM 胎盤にみられる形態的未熟性に EGF の作用の低下が関与している可能性も想定され, また, EGF 濃度の低下が胎児組織に何らかの影響を及ぼしている可能性も考えられる。本研究は, EGF の胎児-胎盤系における生理的役割を解析しようとしたもので, 学位論文として十分価値のあるものと認められる。