

氏名(本籍)	わた なべ ひで き 渡 邊 秀 樹 (東 京 都)
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	博 甲 第 3205 号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	プロテオーム解析による妊娠中毒症の新たな関連蛋白の同定
主査	筑波大学教授 医学博士 小山 哲 夫
副査	筑波大学助教授 医学博士 内 田 和 彦
副査	筑波大学助教授 博士(医学) 渡 辺 重 行
副査	筑波大学講師 博士(理学) 清 水 健

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

妊娠中毒症は高血圧・蛋白尿・浮腫を三主徴とする疾患で、妊娠中期から後期に発症する。急激に進行し、母体および胎児に様々な障害を引き起こすが、妊娠中毒症の病態は未だに不明である。妊娠中毒症の発症予知、進行の予測を行うことは、周産期管理を行う上で極めて重要であるが、現時点では、有用なスクリーニングテストはない。本研究では、妊娠中毒症の新たなバイオケミカルマーカーとなる蛋白を同定することを目的に、妊娠中毒症患者の血清をプロテオーム解析の技術を用い解析した。

### (対象と方法)

妊娠中毒症妊婦6名と妊娠週数をマッチした正常妊婦6名の血清をスクリーニング用検体とし、確認用検体として妊娠中毒症妊婦80名と妊娠週数をマッチした正常妊婦80名の血清を用いた。妊娠中毒症の診断には、National High Blood Pressure Education Program Working Group (NHBPEP) の診断基準を用いた。また、すべての検体はインフォームド・コンセントを得た後に採取した。スクリーニング用の検体を使用し、二次元電気泳動法によりゲル上に蛋白質を展開し、SYPRO®Rubyによる蛍光染色にて検出を行った後、画像解析を行い比較検討した。蛋白の同定には、蛋白データベース、ペプチドマスフィンガープリンティング法、ウェスタンブロット法を使用した。さらに確認用の検体の血清を用い、ELISA法にて量的差異を検討した。

### (結果)

妊娠中毒症6例、正常妊婦6例の血清を二次元電気泳動とSYPRO®Rubyによる蛍光染色で比較したところ明らかに妊娠中毒症群で増加するスポットが一つ検出された(妊娠中毒症群 vs 正常妊婦群;  $2955.9 \pm 1095.3$  PPM vs  $1431.6 \pm 638.8$  PPM (Mean  $\pm$  SD),  $p=0.015$ )。ペプチドマスフィンガープリンティング法、二次元電気泳動ゲルデータベース (SWISS-2Dbase) による比較、ウェスタンブロット法を行うことによって、増加しているスポットは clusterin と同定した。さらに、妊娠中毒症80例、正常妊婦80例を対象としてELISA法にて、血清 clusterin 濃度を測定し、clusterin濃度は標準血清との比によって表した。その結果、血清 clusterin濃度が、妊娠中毒症妊婦血清で有意に高値であることを確認することが出来た(妊娠中毒症群 vs 正常妊婦群;  $1.62 \pm 0.46$  倍 vs  $1.30 \pm 0.46$  倍 (Mean

± SD),  $p < 0.001$ )。

#### (考察)

プロテオーム解析により妊娠中毒症血清で高値となる clusterin を同定し、ELISA 法にて正常妊婦血清と比較し、妊娠中毒症血清で clusterin が高値となることが確認することが出来た。clusterin は、分子量約 80kDa のヘテロ二量体蛋白である。その mRNA の発現は、脳、卵巣、精巣、肝臓などで高く、血漿、母乳、尿、髄液、精液などの広範な体液中に分泌されている。機能は、まだ詳細には明らかとなっていないが、多様な機能を有していると推測されている。妊娠中毒症において血清 clusterin 濃度が上昇する機序に関しては、腎障害、血小板の活性化、血管内皮障害を反映していることが推測される。妊娠中毒症では、尿中の clusterin は、腎障害が存在すると上昇すると報告されている。また、妊娠中毒症では、血小板の活性化が生じているが、循環中の clusterin は、血小板の  $\alpha$  顆粒中にも存在している。さらに、妊娠中毒症では血管内皮細胞が障害されているので、内皮細胞障害の保護作用として clusterin が上昇している可能性もある。

#### (結論)

本研究の結果から、clusterin が新たに妊娠中毒症と関連があることが示唆された。様々な機能をもった clusterin が妊娠中毒症において高値を示すことは、新たな知見である。しかし、clusterin がどのような産生機序によって妊娠中毒症で高値を示しているか不明であり、妊娠中毒症での clusterin の役割を解明していくことは、妊娠中毒症の病態生理を解明し、発症予知・治療法を確立していく上で必要と考えられた。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

妊娠中毒症は高血圧・蛋白尿・浮腫を三主徴とする疾患で、妊娠中期から後期に発症する。急激に進行し、母体および胎児に様々な障害を引き起こすが、妊娠中毒症の病態は未だに不明である。妊娠中毒症の発症予知、進行の予測を行うことは、周産期管理を行う上で極めて重要であるが、現時点では、有用なスクリーニングテストはない。筆者らは妊娠中毒症の新たなマーカーとなる蛋白を同定することを目的に、妊娠中毒症患者の血清をプロテオーム解析の技術を用い解析した。妊娠中毒症で増加する蛋白があり、clusterin であることを同定した。

clusterin が妊娠中毒症において高値を示すことは、新知見であり、高く評価出来る。今後さらに、clusterin がいかなる機序によって妊娠中毒症で高値を呈するか、さらに妊娠中毒症発症機序における clusterin の役割を解明する必要があると考えられた。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。