



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학 석사학위 논문

자간전증 임신부 태반 조직에서 Heat
Shock Protein 70 의 발현

아주대학교 대학원
의 학 과
김 호 연

자간전증 임신부 태반 조직에서 Heat Shock Protein 70 의 발현

지도교수 양 정 인

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2008년 2월

아주대학교 대학원

의 학 과

김 호 연

김호연의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 양 정 인 인

심사위원 유 희 석 인

심사위원 김 행 수 인

아 주 대 학 교 대 학 원

2007년 12월 21일

자간전증 임신부 태반 조직에서 Heat Shock Protein 70 의 발현

목적 : 자간전증은 영양세포의 나선혈관으로의 부적절한 침윤으로 태반 조직의 허혈을 초래하는 면역반응의 부전과 염증 반응에 의한다고 알려져 있다. 이와 같은 염증 매개 인자들이 산화적 스트레스를 유발하여 혈관 내피 세포 손상을 일으킨다. 또한 태반 혈류감소에 따른 허혈에 의해 세포고사가 증가된다는 세포고사와 연관이 있는 병태생리가 최근 규명되고 있다. 이와 밀접한 관계가 있는 스트레스 단백질인 Heat shock protein 70 (Hsp70)을 이용하여 정상 임신과 자간전증의 태반 조직에서의 발현에 있어 차이의 여부를 알아보고자 한다.

연구대상 및 방법 : 아주대학교 병원 산부인과에서 제왕절개술로 분만한 산모들 중 태아발육부전을 동반하지 않은 경증 및 중증 자간전증 산모 각각 12 명과 자간전증을 동반하지 않은 정상 산모 12 명을 대상으로 하여 분만 후 태반 조직을 채취하였다. 동결조직에 1:50 Heat shock protein 70 일차 항체를 사용하여 면역조직화학적 염색을 하였고 합포체영양막, 세포영양막, 태반기저부의 용모외영막, 태반기저부 혈관의 내피세포, 탈락막에서 Hsp70 의 발현 정도를 관찰하였으며 강도에 따라 세 환자군을 비교하였다. Western blot 분석을 하여 정상 임신과 전자간증 태반에서의 Hsp70 정량을 비교하였다.

결과 : 세 환자군의 모든 태반 세포에서 면역 조직화학적 염색에 의해 Hsp70 의 발현을 보였다. 그러나 세 군에 있어서 Hsp70 의 발현 강도는

통계학적으로 유의하게 차이가 없었다. Western blot 분석 결과에서도 세 환자군의 Hsp70 band 의 강도에서 차이가 없었다.

결론 : 따라서 경증과 중증의 자간전증 태반에서 Hsp70 의 발현은 정상 임신과 차이를 보이지 않았다. 이는 Hsp70 만으로는 자간전증의 병태생리인 산화적 스트레스를 설명할 수 없으며 세포고사와의 관계 규명을 할 수 없으며 다른 Hsp 나 매개 인자들과 복합적으로 작용할 것으로 보여 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

핵심어 : preeclampsia, heat shock protein 70, placenta

차 례

국문 요약	i
차례	ii
그림차례	iii
표차례	iv
I. 서론	1
II. 연구대상 및 방법	3
A. 연구대상	3
B. 연구방법	3
1. 태반조직의 준비	3
2. 면역조직화학적 염색	4
3. Western blot for heat shock protein 70	5
4. 결과의 판독 및 분석	5
III. 결과	7
IV. 고찰	9
V. 결론	12
참고문헌	13
ABSTRACT	17

그림 차례

Fig. 1. Immunohistochemical staining of Hsp70 (a) normal placenta (b) mild preeclamptic placenta (c) severe preeclamptic placenta (x200)	8
Fig. 2. Western blot analysis for Hsp70	8

표 차례

Table 1. Patient characteristics of sample pregnant women	7
---	---

I. 서 론

자간전증은 주산기 합병증, 이환율 및 치사율을 높이는 질환으로 뚜렷한 원인이 정립되어 있지 않으나 현재 많은 가설이 제시되고 있다. 이 중 태반이 형성되는 과정에서 영양세포의 부적절한 침입으로 허혈 상태가 초래되며 이로 인하여 Tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 Interleukin 등의 생화학적 매개 인자가 분비되어 혈관의 내피세포 손상을 일으킨다는 학설이 유력하다 (Cunningham 등, 2005). 생화학적 매개 인자들은 산화적 스트레스를 유발하고 독성의 유리기를 생산하여 내피손상을 가중시키는데 이와 같은 세포손상을 줄이기 위해 스트레스 유도 단백질인 Hsp과 같은 보호단백질을 발현할 것으로 생각된다. Hsp는 고온과 같은 스트레스에 의해 세포 및 조직에서 생성되는 단백질로서 분자량에 따라 명명하여 크게 다섯 families, Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp27 (small Hsp)로 구분한다 (Goloubinoff와 De Los Rios, 2007).

Hsp70은 가장 많이 알려진 Hsp family로 최근까지 인간 및 동물의 뇌경색, 심근경색, 신부전과 암세포와 관련되어 발현이 증가되는 연구가 많이 시행되고 있으나 (Giffard와 Yenari, 2004; Marber 등, 1995; Fekete 등, 2003; Jolly와 Morimoto, 2000) 세포고사에도 관여하지만 주산기 영역의 임신 또는 자간전증과의 관련에 대한 연구는 부족하여 그 역할이 정립되지 않았다. 이는 스트레스로부터 세포를 보호하는 기능과 더불어 세포고사를 억제하여 태반 혈류 감소에 의한 저산소증으로 세포고사가 촉진된다는 전자간증에 대한 원인의 이해 및 치료로도 모할 수 있을 것으로 생각되어 본 연구를 시행하였다.

본 연구에서는 산화적 스트레스, 염증과 허혈에 의한 자간전증 태반에서의 Hsp70 발현의 변화를 측정해보고자 한다.

II. 연구대상 및 방법

A. 연구대상

아주대학교 병원 산부인과에서 37주 이상의 분만 진통의 과정 없이 태아 둔위 및 반복제왕절개술 과거력을 적응증으로 제왕절개술로 분만한 산모들 중 태아발육부전을 동반하지 않은 경증 및 중증 자간전증 산모 12명 (연구군)과 자간전증을 동반하지 않은 정상 산모 12명 (대조군)을 대상으로 하였다. 정상군은 내, 외과적 질환 및 산과적 합병증을 동반하지 않고 임상적으로 염증의 소견이 없는 경우로 한정하였다.

자간전증의 진단은 임신 20주 이후에 혈압이 140/90 mmHg 이상이면서 24시간 소변에서 요단백이 300 mg 이상이 검출되거나 무작위로 측정한 요검사에서 dipstick 1+ 이상인 경우로 하였다. 경증과 중증의 자간전증의 구분은 혈압이 160/110 mmHg 이상이고 24시간 소변에서 요단백이 2 g 이상 검출되거나 무작위 요검사에서 dipstick 2+ 이상이거나 이와 함께 혈소판 과소증 ($<100,000/\text{mm}^3$), AST/ALT 상승, 두통, 시야 흐림 또는 상복부 복통이 동반되는 경우 중증으로 정의하였다.

B. 연구방법

1. 태반조직의 준비

분만 즉시 채취한 태반 조직의 중심부와 변연부에서 각각 두 곳을 선택하여

상방 1cm으로 자른 부분을 포르말린에 고정하고 고정된 조직을 파라핀에 굳혀서 보관하였다.

2. 면역조직화학적 염색

조직블록을 3 μm 두께로 박절하여 면역조직화학 염색을 위한 슬라이드를 만들었다. 슬라이드를 58°C dry oven에서 하룻 동안 방치한 후 xylene으로 10분씩 3번에 걸쳐 파라핀을 제거한 다음 100% 에탄올에 1분씩 2번, 95% 에탄올에 1분씩 1번, 80% ethanol에 1분씩 1번, 70% 에탄올에 1분씩 1번을 거친 후 흐르는 물에 세척하였다. 다시 0.01M citrate buffer (pH 6.0)에 넣어 microwave로 15분간 처리한 후에 증류수로 세척하고 3% H₂O₂를 첨가한 메탄올로 15분간 실온에서 처리하였다. Tris buffered saline (pH 7.6 Tris Base 1.4g, Tris HCl 6.0g, NaCl 8.7g)으로 세척한 후에 cap-plus detection kit (Zymed laboratories Inc, San Francisco, CA, USA)에 들어있는 blocking agent로 10분간 처리하였다. 1:50 heat shock protein 70 (Santa Cruz Biotechnology Inc. Santa Cruz, CA, USA) 일차 항체를 각각 고정액으로 만들어진 슬라이드표본 위에 처리한 후 37°C incubator 에 1시간 동안 처리한 후 Tris buffered saline으로 충분히 씻어내고 biotinylated 이차항체로 12분간 처리하였다. 다시 Tris buffered saline으로 세척하고 streptavidin-HRP로 12분간 처리한 후에 substrate-chromogen인 diaminobenzidine(DAB)을 이용하여 발색시켰으며, Mayer hematoxylin으로 대조 염색 하였다. 흐르는 물에 세척한 다음, 95% 에탄올에 1분씩 2번 100% 에탄올에 2분씩 2번 후, xylene으로 2분씩 4번을 걸쳐 봉입제로 봉입한 후 현미경으로 관독하였다.

3. Western blot for heat shock proteins

태반 조직을 섭씨 4 도 에서 균등화 완충액에 넣어 Tissue Tearor (Glen Mills, Clifton, NJ) (초기에는 14초로 마지막에는 22초)와 함께 5초 동안 3회 균등화 시켰다. 균등화 완충액은 250 mmol/L의 sucrose와 50 mmol/L의 HEPES (pH 7.4)로 이루어져 있으며 protease inhibitors인 0.7 mg/mL pepstatin, 10 mg/mL leupeptin, 100 mmol/L 4-(2-aminoethyl) benzenesulfonyl fluoride (AEBSF), 100 mmol/L Na-p-tosyl-L-lysine-chloromethyl ketone(TLCK)와 200 mmol/L sodium orthovanadate 를 포함하고 있다. 10분동안 1000g 에서 원심분리 후 상청액을 걸러냈다. 총 단백질 정량은 BCA method를 사용하였다. 조직 샘플은 0.25 mol/L Tris (pH 6.8), 20% glycerol, 2% SDS, 5% b-mercaptoethanol 과 0.02% bromophenol blue가 들어있는 두 배의 샘플 완충액에서 희석하였고 섭씨 100도에서 5분 동안 가열하였다. SDS-PAGE 겔 전기영동을 하기 위해 각각 샘플 단백질 20 mg을 12% Tris-glycine gel에 띄었고 겔 당 40mA에서 돌렸다. 전기영동 후에 nitrocellulose 막으로 옮겨졌다. 1시간 동안 TBS-T의 5% skim milk로 막을 block in 하였으며 섭씨 4도에서 하룻 동안 mouse anti-hsp70 polyclonal antibody (1:1000) (Santa Cruz Biotechnology Inc. Santa Cruz, CA, USA)로 probing하였다. 막을 세척하고 donkey antirabbit 이차 항체 (1:1000)로 incubation 하였다. ECL Western Lightning Chemiluminescence Reagent (Amersham)을 사용하여 radiographic film에서 Hsp70 밴드 발현을 확인하였다. 저 분자량의 표식자로 미리 염색하여 Hsp70의 발현을 재확인 하고 밴드의 농도를 정량화 하여 결정하였다.

4. 결과의 관독 및 분석

면역조직화학적으로 염색된 슬라이드를 광학 현미경으로 관찰하였다. 합포체

영양막 (syncytiotrophoblast), 세포영양막 (cytotrophoblast), 태반기저부의 융모외영
막 (extravillous cytotrophoblast), 태반기저부 혈관의 내피세포, 탈락막에서 Hsp70
의 발현 정도를 관찰하였으며 강도에 따라 비교하였다. 통계적 분석은 SPSS for
windows 11.5 프로그램의 Kruskal-Wallis test를 이용하였고 $P < 0.05$ 를 통계적으로
유의하다고 판단하였다.

III. 결과

본 연구에 참가한 환자군 세 군 간의 임상적 특징은 산모의 연령, 분만력, 분만시 주수, 태아 무게, 임신 전 후의 체질당지수 (BMI)에서 차이를 보이지 않았다. (Table 1)

Table 1. Patient characteristics of sample pregnant women

	Normal (n=12)	Mild Preeclampsia (n=12)	Severe Preeclampsia (n=12)	P-value
Age (years)	30.6 ± 3.9	30.8 ± 2.8	30.7 ± 5.0	-
Primiparous	8(66.7%)	7(58.3%)	8(66.7%)	-
Gestational age at delivery (weeks)	38.6 ± 2.5	38.4 ± 7.1	38.1 ± 2.8	-
Birth weight (gm)	3123 ± 489	3112 ± 409	3110 ± 311	-
Pre-pregnant BMI (kg/m ²)	23.2 ± 3.5	23.5 ± 4.3	23.7 ± 3.1	-
Post-pregnant BMI (kg/m ²)	29.1 ± 3.5	29.2 ± 2.1	29.3 ± 4.9	-

Mean ± SD

정상 임신군과 경증 및 중증 전자간증 태반 조직에서 모두 Hsp70의 발현되는 것을 확인 할 수 있었다. 합포체 영양막세포, 세포영양막세포, 용모내 혈관의 내피세포, 태반기저부의 용모외영양막, 탈락막에서 모두 발현되었다. Fig. 1은 Hsp70의 정상, 경증과 중증 전자간증 태반에서 면역조직화학적 염색한 샘플 슬라이드로 모두 세포질에서만 염색되었다. 세 군에서 염색되는 강도에 따라 점수를 매긴 결과 세 군에서 통계학적으로 유의하게 차이가 없었다. 즉 전자간증과 정상 임신의 태반에서의 Hsp70의 발현에 있어 차이가 없었다.

Western blot 결과에서는 세 군에서 70 kD에서 band를 확인하였고 대조군과

비교했을 때 band의 강도에 있어 차이를 보이지 않았다. (Fig. 2)

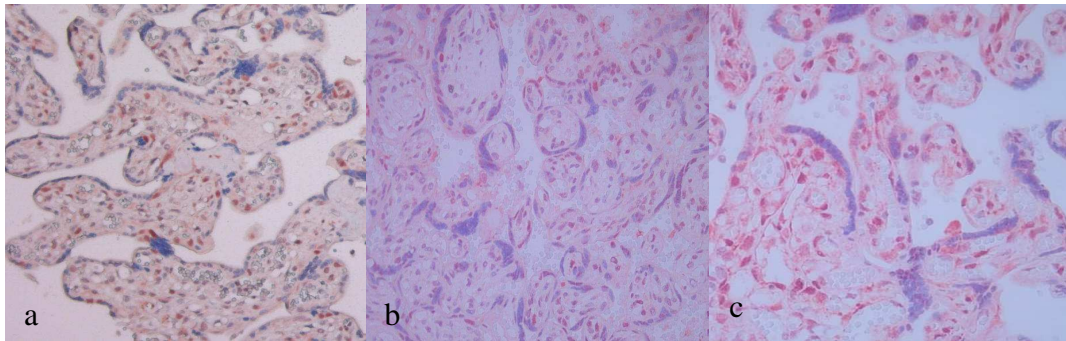


Fig. 1. Immunohistochemical staining of Hsp70. Normal placenta (a), mild preeclamptic placenta (b) and severe preeclamptic placenta (c) are stained with 1:50 heat shock protein 70 antibody and Hsp70 expression appears as pink color (x200).

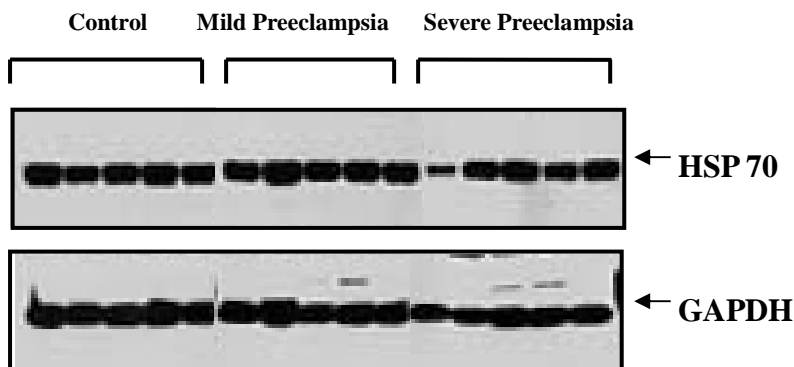


Fig. 2. Western blot analysis for Hsp 70. There are no differences in band intensity for Hsp70 in normal, mild preeclampsia and severe preeclampsia.

IV. 고찰

Hsp은 1962년 최초로 과일 파리인 *Drosophila*의 침샘 염색체에 고온이 가해지면서 ‘puffing pattern’으로 발현되어 알려졌으며 (Ritossa, 1962) 1974년 Tissiere 등에 의해 Hsp로 명칭되었다 (Tissiere, 1974). Hsp의 대표적인 특징은 첫째로 정상 생리 과정에서 다른 고분자의 비공유 접힘 (folding)과 정렬 (assembly)을 보조하는 고분자인 molecular chaperone로서 세포의 복원, 유지 및 치료 기능을 하며 둘째는 온도변화, 산소 유리기, 바이러스 또는 박테리아 감염, 중금속, 알코올과 허혈과 같은 세포의 스트레스에 반응하여 생성되는 단백질이다 (Neuer 등, 2000). 또한 anti- 또는 proapoptotic 기능을 가지고 있어 세포고사 조절에 관여하여 생식의학, 감염학 및 면역학 분야에서의 그 역할에 대한 관심이 증가하고 있다.

Hsp70은 70kD 분자량을 가진 가장 잘 알려진 family로 세포의 핵과 세포질에 존재하며 이는 정상 생리과정에서 보이는 형태 (Heat shock constitutive; Hsc70)와 스트레스에 의해 유발되는 형태 (Hsp70)가 구분이 되어 있다 (Neuer 등, 2000). 또한 미토콘드리아와 소포체에 있는 형태가 각각 Hsp75와 Glucose-related protein 78 (Grp78)로 명명되었다. Shah 등에 의하면 정상 임신 제 삼분기에 Hsp70이 합포체영양막세포, 세포영양막세포, 혈관내피세포, 탈락막세포에서 발현을 보인다고 한다 (Shah 등, 1998). 위에 제시한 Hsp의 중요한 기능에 있어 세포고사의 강력한 항세포고사 (Anti-apoptotic) 단백질로서 치명적인 자극으로부터 세포의 생존력을 증가시키는 작용을 한다. 미토콘드리아의 손상을 막고 핵의 분열을 막는다고 알려져 있고 세포고사 과정에서 필수적인 Caspase

활성화의 upstream과 downstream에서 이 단백질의 발현이 증가되는 현상을 확인할 수 있다. 세포고사의 억제는 미토콘드리아에서 분비되는 cytochrome c를 억제하고 apoptotic protease activation factor-1 (Apaf-1)과 결합하여 procaspase-9이 apoptosome과 만나는 것을 방해하여 이루어 진다. Caspase 활성화와 관계 없이 Apoptosis-induced factor (AIF)와 결합하여 AIF에 의한 chromatin condensation을 억제한다. 또한 세포고사를 촉진하는 p53과 c-myc과 연관이 있으며 co-chaperone으로 알려진 Bag-1와 함께 Bcl-2와 Raf-1을 조절한다 (Garrido 등, 2001).

저산소증이 세포고사의 원인으로 최근 밝혀지면서 혈관수축에 의해 혈관 저항의 증가로 혈압이 상승하고 태반혈류가 감소되어 저산소증이 일어나는 전자간증에서 세포고사가 증가된다는 연구 결과가 많이 보고되었다 (박 등, 2005). 특히 태반의 세포 중 세포고사의 50%이상이 합포체 영양막세포에서 관찰된다고 한다 (Smith 등, 1997). 따라서 산화적 스트레스에 의한 태반의 혈관내피세포 손상을 복원하는 기능과 더불어 Hsp70의 항세포고사 기능은 전자간증에서 증가된 세포고사의 병태생리를 정확히 규명하고 향후 치료 방법에 응용할 수 있어 본 연구를 시행하게 되었다.

본 연구 결과에 의하면 전자간증의 원인 및 병태생리와 관련된 Hsp70은 전자간증과 정상 임신에서의 발현에 있어서 차이를 보이지 않는다. 따라서 이 단백질을 통해 산화적 스트레스와 전자간증과의 연관성을 입증할 수 없었다. 또한 세포고사가 증가하는 전자간증에서 세포고사에 길항하는 Hsp70의 발현이 증가되거나 감소하지 않는 위 결과로 세포고사의 증가에 따라 이에 길항하는 단백질 발현에 차이가 없는 것을 알 수 있었다. 이는 Hnat 등이 연구한 결과에서 Hsp70이 발육제한 동반여부에 상관 없이 전자간증과 정상 임신에서의 면역조직화학 발현에서 차이가 없다는 유사한 결과이다 (Hnat 등, 2005). 그런데

Akihiko 등은 전자간증의 합포체 영양막세포에서 저산소증과 세포고사와 연관된 유전자의 발현 증가와 더불어 Hsp70의 발현이 증가된다는 결과를 보고하였다 (Akihiko, 2003). Pockley 등은 혈압 상승에서 Hung 등은 허혈-재관류에 대한 태반의 반응으로 이 단백질의 발현이 증가된다고 하였다. (Pockly 등, 2002; Hung 등, 2001) 또한 혈청의 Hsp70 측정에 있어서 전자간증에서 증가된다는 결과는 Jirecek 등과 Fukushima 등에서 발견할 수 있었다 (Jirecek 등, 2002; Fukushima 등, 2005). 그러나 혈정보다는 임신 유지의 중추적인 기관인 태반의 영양막세포, 혈관내피세포와 탈락막에서의 직접적인 발현이 더 의미가 있을 것이라 생각된다.

V. 결론

결론적으로 Hsp70만으로는 전자간증의 병태생리로서의 염증 반응으로 나타나는 산화적 스트레스를 설명할 수 없었으며 저산소증에 의한 세포고사의 증가를 보이는 전자간증에서의 발현의 차이가 없음을 알 수 있었다. 증가된 전자간증의 세포고사는 다른 Hsp 또는 시토카인과 같은 염증 매개 인자들이 복합적으로 상호 작용하여 이루어지므로 전자간증의 정확한 원인 및 병태생리의 규명을 위하여 이러한 인자들에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.

참고문헌

1. 박지현, 김세련, 송은섭, 임문환, 이병익, 이우영 : 태아 성장 발육장애 또는 전자간증 태반에서의 세포고사: Bcl-2, Bax 및 p53 단백질 발현에 관한 연구. *대한산부회지* 48(4): 892-899, 2005
2. Akihiko S : Detection of the damage of placental villous trophoblasts and the possible pathogenesis. *Acta Obstet Gynecol Japon* 55(8):830-837, 2003
3. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KL, Gilstrap LC III, Hauth JC, Wenstrom KD. *Williams Obstetrics*. McGraw-Hill Companies. 22nd ed. 761-808, 2005
4. Fekete A, Treszla, Toth-Heyn P, Vannay A, Tordan A, Talassay T, Vasarhelyi B : Association between heat shock protein 72 gene polymorphism and acute renal failure in premature neonates. *Pediatr Res* 54:452-455, 2003
5. Fukushima A, Kawahara H, Isurugi C, Syoji T, Oyama R, Sugiyama T, Horiuchi S : Changes in serum levels in heat shock protein 70 in preterm delivery and preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 31:72-77, 2005
6. Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G : Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 286:433-442, 2001
7. Geisler JP, Manahan KJ, Geisler HE, Tammela JE, Rose SL, Hiatt AK, Miller GA,

- Wiemann MC, Zhou Z : Heat shock protein 27 in the placentas of women with and without severe preeclampsia. *Clin Exp Obstet Gynecol* 31(1):12-14, 2004
8. Giffard RG, Yenari MA, Many mechanisms for hsp70 protection from cerebral ischemia. *J neurosurg Anesthesiol* 16:53-61, 2004
 9. Goloubinoff P, De Los Rios P, The mechanism of Hsp70 chaperones: (entropic) pulling the models together. *Trends in Bio Sci.* 32(8):372-380, 2007
 10. Hnat M D, DO, Meadows J W, Brockman D E, Pitzer B, Lyall F, Myatt L : Heat shock protein-70 and 4-hydroxy-2-nonenal adducts in human placental villous tissue of normotensive, preeclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 193:836-840, 2005
 11. Hung T-H, Skepper JN, Burton GJ : In vitro ischemia-reperfusion injury in term human placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies. *Am J Pathol* 149:4-13, 2001
 12. Jirecek S, Hohlagschwandtner M, Tempfer C, Knofler M, Husslein P, Zeisler H : Serum levels of heat shock protein 70 in patients with preeclampsia: a pilot-study. *Wien Klin Wochenschr* 114:730-732, 2002
 13. Jolly C, Morimoto R : Role of the heat shock response and molecular chaperones in

oncogenesis and cell death. *J Natl Cancer Inst* 92:1564-1572, 2000

14. Marber MS, Mestril R, Chi S, Sayen MR, Yellon DM, Dillmann WH : Overexpression of the rat inducible 70-kD heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury. *J Clin Invest* 96:1446-1456, 1995
15. Neuer A, Spandorfer S.D, Giraldo P, Dieterle S, Rosenwaks Z, Witkin SS : The role of heat shock proteins in reproduction. *Human reprod* 6(2):149-159, 2000
16. Pockley AG, de Faire U, Kiessling R, Lemne C, Thulin T, Frostegard J. Circulating heat shock protein and heat shock protein antibody levels in established hypertension. *J Hypertens* 20:1815-1820, 2002
17. Ritossa F.A : A new puffing pattern induced by a temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 18:571-573, 1962
18. Shah M, Stanek J, Handwerger S : Differential localization of heat shock proteins 90, 70, 60 and 27 in human decidua and placenta during pregnancy. *Histochem J* 30(7):509-518, 1998
19. Smith SC, Baker PN, Symonds EM : Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 177: 57-65, 1997

20. Tissiere A, Mitchel H.K, Tracy U : Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosomal puffs. *J Mol Biol* 84:389-398, 1974

-ABSTRACT-

The expression of Heat Shock Protein 70 in the placental tissue with preeclampsia

Ho Yeon Kim

Department of medical school

The Graduate School, Ajou University

Supervised by Associate Professor Jeong In Yang

Objective : Placental ischemia caused by abnormal trophoblastic invasion to spiral arteries, immunologic intolerance and inflammatory change explain etiology of preeclampsia. As a consequence, inflammatory cells are released and they induce oxidative stress contributing to endothelial dysfunction and endothelial cell injury. Also apoptosis is closely related to preeclampsia in recent finding that placental ischemia contributes to increased apoptotic activity. Heat shock protein 70 (Hsp70) is a stress-induced protein and this protein can be a specific marker for this ischemic and apoptotic circumstance, preeclampsia. Therefore we compared immunohistochemical expression of Hsp70 in normotensive and preeclampsia pregnancies.

Methods : Placenta tissue were obtained from twenty four women complicated by mild and severe preeclampsia, twelve each and from twelve normotensive women right after delivery. Cryosection was immunostained with 1:50 Hsp70 first antibody and the expression

of Hsp70 was observed in syncytiotrophoblast, cytotrophoblast, intravillous endothelial cells, extravillous trophoblast in basal layer and decidual cell. And according to the intensity of immunostaining, we compared these three groups. Western blot analysis was performed and the quantification and comparison of Hsp70 were done in placental tissue among the three group of patients.

Results : All groups demonstrated positive immunostaining for Hsp70 in cytoplasm of placental cells. But the intensity of immunostaining showed no statistical differences among three groups. The result of Western blot analysis resulted in no differences.

Conclusion : In other words, the expression of Hsp70 in preeclampsia and normotensive pregnancies demonstrated no differences. This cannot define the oxidative stress as the pathophysiology of preeclampsia and proapoptotic activity in preeclampsia correlated with Hsp70. Since preeclampsia is complicated disease, combination of other Hsp and mediators as cytokines can be used in the future study for better understanding of preeclampsia.

Key words : preeclampsia, heat shock protein 70, placenta