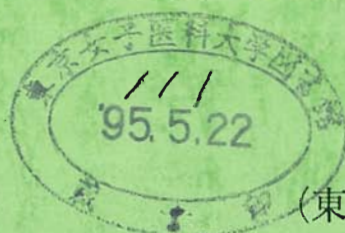


早産の陣痛発来機構に占めるエンドセリンの
意義に関する検討

課題番号 05671404

平成6年度科学研究費補助金（一般研究C）
研究成果報告書

平成7年3月3日



研究代表者 高木 耕一郎
(東京女子医科大学医学部講師)

早産の陣痛発来機構に占めるエンドセリンの
意義に関する検討

課題番号 05671404

平成6年度科学研究費補助金（一般研究C）
研究成果報告書

平成7年3月3日

研究代表者 高木 耕一郎
（東京女子医科大学医学部講師）

はしがき

研究組織

研究代表者：高木 耕一郎 （東京女子医科大学医学部講師）

研究分担者：安藤 一人 （東京女子医科大学医学部助手）

研究分担者：塩崎 美織子 （東京女子医科大学医学部助手）

研究経費

平成5年度	700千円
平成6年度	1500千円
計	2200千円

研究発表

（1）学会誌等

産褥期に発症したHELLP症候群の一例 - 凝固線溶系及びエンドセリンの動態を中心として - 赫 文栄、中山摂子、高木耕一郎、中林正雄、武田佳彦
日本産科婦人科学会妊娠中毒症学会誌：vol.1, 1113-1114, 1993

（2）口頭発表

エンドセリンの妊娠ラット黄体機能に及ぼす影響 橋口和生、高木耕一郎、赫文栄、安藤一人、武田佳彦；日本内分泌学会誌：vol. 69, No.4, 380, 1993

培養ヒト黄体化顆粒膜細胞のprogesterone産生に及ぼすendothelin-1の作用に関する検討 赫 文栄、高木耕一郎、橋口和生、塩崎美織子、武田佳彦
日本産科婦人科学会雑誌 vol., 46, S-306, 1994

Gene expression of endothelin-1 in rat placenta under chronic fetoplacental hypoxia induced by ligation of the uterine artery. Wen-Rong He, Koichiro Takagi, Takanobu Yoshimoto, Mitsuhide Naruse, Hiroshi Demura, Yoshihiko Takeda : 発表予定

（3）出版物

Preterm PROMの最近の動向：高木耕一郎、武田佳彦 産婦人科の実際 VOL.43, NO.6, P.771-773

胎児仮死の診断と治療：B.慢性胎児仮死 高木耕一郎 武田佳彦監修
最新の周産期管理 医科学出版社 東京 P.143-152, 1994

研究報告

「目的」

平滑筋収縮性ペプチドであるエンドセリン-1 (ET-1) は、血管平滑筋のみならず、気管支、子宮平滑筋においてもその特異的受容体を介して収縮を惹起することがin vitroの実験を中心に明かとされている。近年、子宮内感染に起因する流早産例の羊水中のET-1濃度が増加することが報告され、早産における子宮収縮因子としてET-1が重要である可能性が強く示唆されている。本研究では1. in vivoにおけるET-1の早産誘発作用を、卵巣・胎盤のステロイド生合成系への影響より検討する。2. ET-1産生部位の検討を胎盤組織を用いて免疫組織化学的手法により検討する。3.胎盤におけるET-1遺伝子発現の早産における陣痛発来機構とET-1との関連を明らかにすることとした。

「成績」

1. in vivoにおけるET-1の早産誘発作用に関する検討

(1)ET-1の妊娠ラット黄体機能に及ぼす影響

ET-1は培養ブタ卵巣顆粒膜細胞のprogesterone産生を低下させることが報告され、黄体機能の調節因子としての役割が示唆されているが、これまでin vivoにおけるET-1の黄体機能に及ぼす影響は明らかではない。そこで妊娠ラットにET-1を投与し、早産誘発作用の有無を検討すると同時に黄体機能の指標である血漿Pと 20α dihydroprogesterone(20α OHP)濃度に及ぼすET-1の影響を検討した。「方法」妊娠18日齢のWistarラットにET-1を腹腔内投与し、投与後経時的に採血、血漿中のP、 20α OHPをRIAにより測定した。また、早産誘発作用の有無の検討には分娩の有無、腔出血の有無を観察した。「成績」ET-1投与後の血漿P濃度はvehicle投与の対照に比し、用量依存性に低下し、ET-10.16mg/Kg投与6時間後にはP値 (ng/ml)は対照 $100.6\pm 8.8(n=8)$ に比し、ET-1投与群では $64.5\pm 14.4(n=4)$ と有意

($p<0.05$)に低下した。一方、Pの不活性代謝産物である 20α OHP値にはET-1投与による影響は認められなかった。今回の検討に用いた量のET-1投与では早産を誘発することは不可能であったが、8匹中3匹において少量の性器出血が認められた。「結論」ET-1はin vivoにおいて血漿P濃度を低下させたことから、ラット妊娠黄体退縮に関与する可能性が示唆されたが、今回用いた投与量では早産を誘発することは不可能であった。

2.in vitroにおけるET-1のステロイド産生に及ぼす影響

(1)培養ヒト黄体化顆粒膜細胞のprogesterone産生に及ぼすET-1の作用に関する検討

[目的]血管内皮細胞由来のET-1はラット、ブタの培養顆粒膜細胞に特異的結合が認められ、卵巣機能の局所調節因子として注目されている。本研究では培養ヒト黄体化顆粒膜細胞に対するET-1の作用の検討を目的とした。[方法]IVF-ET時、患者の同意を得て採卵後の卵胞液と卵胞洗浄液中に浮遊する細胞成分を遠沈により収集し、Ficoll法により赤血球を除去後、細胞塊を機械的に単細胞に分離した。本細胞を10% fetal bovine serum添加DMEM培養液中で4日間単層培養後、ET-1を含む培養液に交換し以下の検討を行った。[成績]ET-1は $10^{-11}\sim 10^{-8}$ Mの濃度域で培養液中のprogesterone(P)放出を濃度依存性に増加させ、ET-1の 10^{-8} M添加24時間後のP濃度($\mu\text{g}/10^6\text{cells}$; mean \pm SEM, n=4)は対照 0.81 ± 0.07 に対し、 1.55 ± 0.02 と有意($p<0.01$)の増加を示した。P放出はhCG(100IU/ml)により対照の300%の増加を示したが、ET-1によるP放出の増加はhCG添加時には認められなかった。ET_A受容体拮抗剤FR139317(10^{-6} M)はET-1非存在下では培養液中P濃度に影響しないが、ET-1(10^{-8} M)添加時には対照 1.55 ± 0.07 に対し、 1.12 ± 0.05 と減少傾向を示した。[結論]ET-1は培養ヒト黄体化顆粒膜細胞のP放出の促進作用を有し、このP放出はAキナーゼ系を介するET_A受容体の拮抗剤により抑制されることから、ET-1のP産生促進作用はAキナーゼ系の細胞内情報伝達機構を介する可能性が示唆された。ET-1のステロイド産生に及ぼす影響はプロスタグラ

ンジンと同様に、in vivoとin vitroでは異なり、in vivoでは黄体退縮作用を持ちながらも、iv vitroではその反対の黄体刺激的に作用する可能性が考えられる。ET-1の早産誘発作用の解明の一端として、妊娠維持に必須であるステロイドホルモン、特にprogesterone分泌に及ぼすET-1の作用を検討したが、今後その詳細を解明するには、ET-1以外の成長因子、プロスタグランジンなどの生理活性物質との関連に着目する必要があると思われる。

3. 胎盤組織におけるET-1遺伝子発現の検討

「目的」早産例の胎盤を用いたET-1遺伝子発現の検討を行うにあたり、予備実験としてラット胎盤によるET-1遺伝子の検討を行った。「方法」Wistarラットの妊娠18日に片側子宮動脈を結紮し、慢性子宮胎盤不全による子宮内胎児発育障害モデルを作成した。妊娠21日に開腹し、両側の子宮角を摘出後、胎盤を取り出し、AGPC法を用いてRNAを抽出した。逆転写反応後ラットET-1遺伝子とGAPDH遺伝子のプライマーを用いPCRを施行した。得られたPCR産物をSouthern blotting後オートラジオグラフィーを行い、デンシトメーターにて定量し、ET-1遺伝子発現を検討した。「成績」ラット胎盤のET-1遺伝子発現は慢性低酸素負荷により、約2倍に増加した。本成績は子宮内胎児発育遅延において早産となることが多いことを考えると、妊娠中毒症や子宮内胎児発育遅延では胎盤への低酸素刺激により、ET-1遺伝子発現が亢進することが、早産における陣痛発来に関与する可能性が示唆された。