

セロトニンの末梢血管に対する作用と妊娠中毒症患者 血液、胎盤、羊水中のセロトニン量について

Quantitative Study of Serotonin in the Patient Blood with Toxemia of Pregnancy, in the Placenta and in the Amniotic Fluid

熊本大学医学部産科婦人科学教室（主任 加来道隆教授）

研究員 森 永 高 弘 Takahiro MORINAGA

緒 言

Ludwig 及び Schmidt¹⁾ が還流犬筋肉を用いて、脱フィブリン血が血管収縮作用を有することを認めたのは1868年のことである。その後高血圧の成因をめぐって血管収縮物質に関する研究は90年間に多数報告された。

1948年、Rapport, Green,^{2)~5)} 及び Page 等は共同研究の結果、牛血2トンより血清中の血管収縮物質 (Serum Vasoconstrictor) として、クレアチニン硫酸塩の板状結晶 102.5mg を取り出し Serotonin と命名した。翌1949年、溶解度、紫外部吸収、電位測定、呈色反応等から、この物質は indole 誘導体であり 5-Oxyindoleethylamine に一致すると推定した。ついでこの複塩からインドール部のみを分離して改めてセロトニンと命名、1952、5-Oxytryptamine の合成実験を経て、セロトニンが 5-Oxytryptamin と同一であることを確認した。

さて血清中の血管収縮作用がセロトニンのみによるものか、或は多数の Serum Vasoconstrictors が考えられるかが問題となるが、Rapport, Rand, Reid, 及び Zucker⁶⁾ 等は血清収縮作用は凡てセロトニンによると考えている。

1930年代に非腺性ホルモンの抽出に関する研究が盛んに行われた頃、Vialli & Erspamer⁷⁾ は胃腸粘膜の抽出物より“Enteramin”なる物質を不純な状態で精製した。その後この物質は胃腸粘膜にある enterochromaffine Zellen に由来するものであることを明らかにした。エンテロクロマフィン細胞が消化管粘膜に点在し、クローム親和性で分泌機能があることを初めて注目したのは Clara⁸⁾ & Canal (1932), Lison (1931) などである。この方面の権威者 Erspamer は enterochromaffine Zellen は腸管のみならず胆道、膵管などにも存

在し Enteramin と呼ぶべきホルモン様物質を産生することを見出している。この細胞より得られた Enteramin について Erspamer^{9)~12)} は生理薬理学的研究を行ったが戦前のものは物質が不純であつて、チラミン、オクトパミン、ヒスタミンなどを含んでいた。

Erspamer は Enteramin がインドール反応を示すところから、この物質が indole-alkylamine であろうと想像し1951年頃より濾紙クロマトグラフィーを用いて化学構造の究明に努力し1952年に 5-Hydroxytryptamin に一致することを見出した。しかるに 5-Hydroxytryptamin はすでに Page 一派が血清中の血管収縮物質として結晶形にとり出すことが出来た物質であつた。このようにして全く別個の視野から夫々研究せられていた Enteramin と Serotonin とは1952年に全く同一物質であることが確認された。

セロトニンは脳、血小板、胃腸、脾等には多量に、肝、骨髄、肺、甲状腺、膵、横隔膜には少量証明されるが、横紋筋、末梢神経、副腎等には見出されない。また脊椎動物のみならず無脊椎動物、植物界にも存在すると云われている¹³⁾。

消化管粘膜のセロトニン含量は動物の種類によつて相当地に差異を示すが、凡そ平均 0.3~0.9 μ gr である。胃幽門部、十二指腸、虫垂などに多量に存在する。人では十二指腸、回腸下部、虫垂、盲腸などに多量で、カルチノイドのセロトニンの濃度は2%以上に達すると云われている。腸管のセロトニンの含量は全身、局所の状態によつて異り、急性腎不全、尿毒症などでは enterochromaffin Zellen もセロトニンも増加し、アレルギー状態、感作状態、アレルギー性虫垂炎などでは虫垂に増量すると云われている。セロトニンの消化器系に対する意義については不明である。動物実験でセロトニンは蠕動

を充進し排便を促進させ、また摘出腸管を収縮させる作用があるので、Feldberg & Toh¹⁴⁾ はラットの大腸をセロトニンの定量に用いている。

さてこのようにセロトニンは血管収縮物質、血圧上昇物質を求めた結果発見され、かつそのような意味をもたせて命名されたが、その生理学的意義は未だ充分明らかでない。消化管の運動に於ける役割、血液凝固における作用、腎の血行動態の調節、炎症やアレルギー、アナフィラキシーにおける化学的媒体としての作用など今後の研究にまつところが多い。先に私は各種胎盤物質、並びに妊娠中毒症患者血清、羊水の末梢血管に対する作用¹⁵⁾ を検討し、妊娠中毒症は胎盤多糖体様物質を抗原とするアレルギー性疾患であろうと結論したが、更に血管収縮物質、血圧上昇物質といわれているセロトニンの末梢血管に対する作用と、妊娠中毒症患者血液、胎盤、羊水中のセロトニン量などを比較検討したので、ここにその成績を報告する。

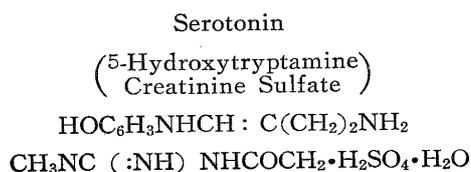
第1編 セロトニンの末梢血管に対する収縮作用

第1章 実験方法

Kraukow-Pissemiski¹⁶⁾ 法で家兎耳殻血管灌流試験を行つた。家兎耳殻は切断後リングル氏液に浸し、約24時間氷室中に保存したものを使用した。耳殻動脈に私の考案したカニューレ（物質注入時、可及的に内圧の変動を少くするためのもの）を挿入し、これをマリオット罐に連絡しその間に恒温槽を置き、蛇管を通して一定温度38°Cに加温した酸素加リンゲル氏液を灌流し、静脈からの滴下数の増減をタンブール附滴数計により測定記録した。マリオット罐の水柱圧は40~50cmで灌流開始後数分から10数分で滴下数が一定（毎分30~40滴）になつてからセロトニンを注入した。尚使用したマリオット罐は圧力調節管を挿入した改良型¹⁷⁾のものである。

第2章 セロトニンの末梢血管に対する収縮作用

実験に使用したセロトニン (California Corporation Made in U.S.A. 輸入元 和光純薬工業株式会社) の量

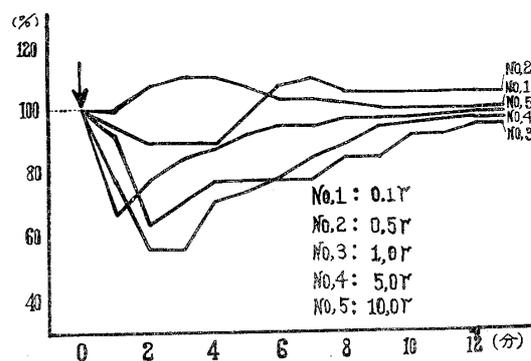


は 0.1 γ (No.1), 0.5 γ (No.2), 1.0 γ (No.3), 5.0 γ (No.4), 10 γ (No.5), 50 γ (No.6), 100 γ (No.7), 500 γ (No.8), 1000 γ (No.9) に分けて、それぞれを灌流液 1.0cc に溶解し、注入時間約20秒を以つて各実験を行なつた。家兎切断耳殻にセロトニン 0.1 γ -1.0cc (No.1) を注入した。注入2分後より漸次滴数の増加をしめし4分後には9.5%の滴数の増加を認め6分後より次第に旧に復した。

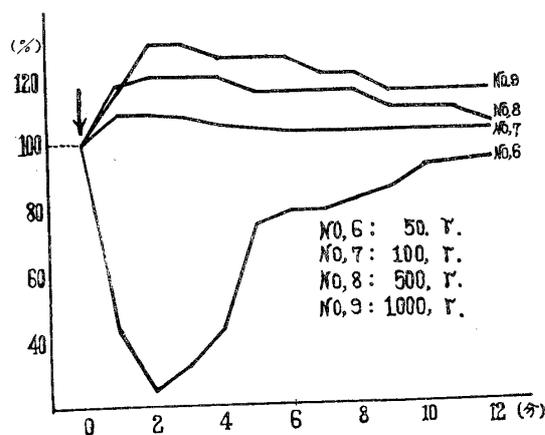
0.5 γ -1.0cc (No.2) 注入では1分後に5%の、2分後には10%の滴数減少があり6分後より旧に復した。1.0 γ -1.0cc (No.3) 注入例では1分後に7.2%、2分後に36%の滴数減少を示しかなり強い収縮作用を示した。5.0 γ -1.0cc (No.4) では1分後に22%、2分以後は43%の強い滴数減少があり、4分以後は次第に滴数増加し、12分後に完全に旧に復した。10 γ -1.0cc (No.5) 注入例では1分後に33%の滴数減少をしめし以後は次第に増加の傾向をとり6分後に殆んど旧に復した(1図)。

次に 50 γ -1.0cc (No.6) 注入では2分後に75%の最

(第1図) Serotonin の末梢血管に対する収縮作用



(第2図) Serotonin の末梢血管に対する収縮作用



も著明な滴数の減少を示した。100 γ -1.0cc (No.7) 注入例では1分後に軽度の滴数増加がみられ拡張傾向が認められた。500 γ -1.0cc (No.8), 1000 γ -1.0cc (No.9) 注入では滴数増加が著明にあらわれ、No.9などは2分後に27%の滴数増加を示し可成り強い末梢血管拡張作用を認めた(第2図)。

以上の実験結果よりセロトニンの量を0.1 γ より増量することにより血管収縮作用が著明にあらわれ50 γ で最も強い作用をあらわした。更にセロトニンを増加すると逆に血管拡張作用があらわれ、増量するに従い血管拡張作用は強くあらわれた。

第2編 妊娠中毒症患者血液、胎盤、羊水中のセロトニン量について

第1章 実験材料

妊娠中毒症患者血液、胎盤、羊水は熊本大学附属病院産婦人科及び熊本通信病院産婦人科に入院した患者及び妊婦の、対照の未産非妊婦血液は上記病院看護婦の血液を使用した。

第2章 セロトニンの抽出¹⁸⁾

硼酸緩衝液: 94.2gr の硼酸を3lの水に溶かし、10 N-NaOH 165mlを加える。次にこの混合液を下記のブタノール及び食塩で飽和せしめる(PH約10.0)。n-ブタノール: 最初等量の0.1N-NaOHで、次いで0.1 N-HClで夫々1回、最後に蒸留水で2回振盪する。ヘプタン: ブタノールと同様に処理する。

予めPH10とした組織抽出液(胎盤は臍帯より蒸留水にて洗滌し血液その他を除去後可及的に水分を除去しホモゲナイザーを用いた)3mlに硼酸緩衝液1ml, 食塩2gr及びn-ブタノール15mlを加える。5分間振盪し遠心分離する。分離した水層を除き、硼酸緩衝液15mlを加え、5分間振盪後再び遠心分離し水層を除き、更に硼酸緩衝液15mlを加えて5分間振盪後遠心分離する。ブタノール層10mlを採りヘプタン20ml及びpH4.0の蟻酸緩衝液3mlを加え振盪、遠心分離した水層を採取する。

第3章 定 量¹⁸⁾

紫外外部吸収による定量で、セロトニンは275 μ mに λ maxを有している。この定量法は肝臓、腎臓の切片やホモジネートを用いて酵素的研究を行う場合に便利であり、0.04~0.4モル濃度のセロトニンの測定に適するといわれている。

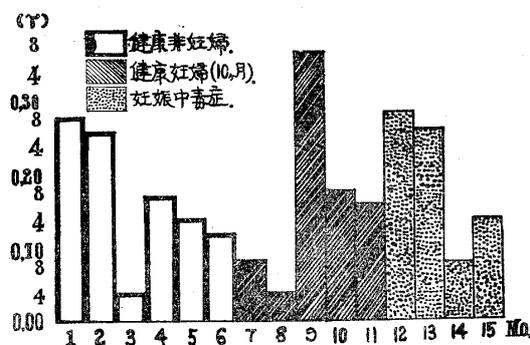
第4章 妊娠中毒症患者血液中のセロトニン量について

健康妊婦は妊娠10カ月の初妊婦で尿や血圧に異常がなく浮腫もないもの5例である。妊娠中毒症患者は4例(No.12, 13, 14, 15)で臨床症状は3表の通りである。その成績は第4図に示す如くセロトニン量はそれぞれ0.286 γ /cc, 0.263 γ /cc, 0.080 γ /cc, 0.141 γ /ccの値をしめし、正常妊婦(No. 7, 8, 9, 10, 11)では各々0.084 γ /cc, 0.042 γ /cc, 0.368 γ /cc, 0.179 γ /cc, 0.158 γ /ccであった。また健康非妊婦(No. 1, 2, 3, 4, 5, 6)では0.282 γ /cc, 0.259 γ /cc, 0.041 γ /cc, 0.171 γ /cc, 0.140 γ /cc, 0.121 γ /ccの値をしめした。

(第3表)

患者	No. 12	No. 13	No. 14	No. 15
年齢	30.2	31.5	24.7	28.3
既往分娩	1×	1×	0×	0×
妊娠月数	10	10	10	10
尿蛋白	(++)	(+)	(++)	(+)
血圧	210/105	160/90	185/95	168/110
浮腫	(+)	(++)	(++)	(+)

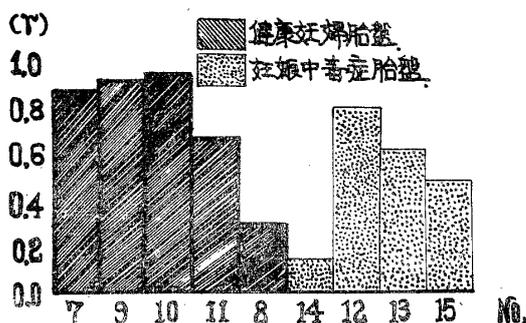
(第4図) 血中 Serotonin γ /cc



第5章 胎盤のセロトニン含量について

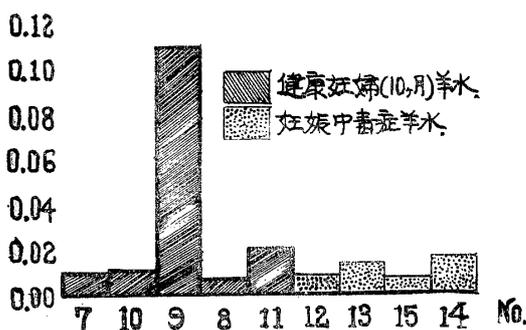
胎盤はいずれも妊娠10カ月のもので、臍帯から蒸留水で胎盤を灌流し、殆んど白色近くなつてから切片をとり、可及的水分を除去した後、ホモゲナイザーにかけて使用した。

健康妊婦胎盤(No. 7, 9, 10, 11, 8)ではそれぞれ0.877 γ /gr, 0.915 γ /gr, 0.961 γ /gr, 0.684 γ /gr, 0.307 γ /grであり、妊娠中毒症患者胎盤(No. 14, 12, 13, 15)では0.148 γ /gr, 0.810 γ /gr, 0.641 γ /gr, 0.482 γ /grの値をしめした(第5図)。

(第5図) 胎盤中の Serotonin γ /gr

第6章 羊水中のセロトニン含量について

健康妊婦(10ヵ月)羊水, 妊娠中毒症患者羊水中のセロトニン量を検討した。健康妊婦(No. 7, 10, 9, 8, 11)ではそれぞれ 0.0101 γ /cc, 0.0122 γ /cc, 0.1115 γ /cc, 0.0080 γ /cc, 0.0221 γ /cc を認めた。妊娠中毒症患者羊水(No. 12, 13, 15, 14)では各々 0.010 γ /cc, 0.015 γ /cc, 0.008 γ /cc, 0.018 γ /cc の値をしめた(第6図)。

(第6図) 羊水中の Serotonin γ /cc

考按並びに総括

セロトニンは血管収縮物質, 血圧上昇物質を求めて発見され, かつそのような意味をもたせて命名されたが, セロトニンは投与量, 試験動物の種類や実験条件などで必ずしも常に血管収縮, 血圧上昇を示すとは限らない。

私の実験では既述の如くセロトニンの末梢血管に対する作用はその量により収縮或は拡張の両作用がみられる。この血管作用は血管の平滑筋に対する直接作用であろうと考えられる。次に健康非妊婦, 妊婦及び妊娠中毒症患者血液中のセロトニン量を比較検討したが妊娠中毒症患者血液中に特に著明なセロトニンの増加は認められなかった。Erspamer は高血圧症患者血液中にセロトニンの増加は認めず, セロトニン過血症として知られているカルチノイド患者でも高血圧はみられないと述べている。また血液中のセロトニン量は動物の種類によつて異なるのみでなく個人差もみられる。更に同じ腸管でも場所

により著しい差があるという。

結 論

人では組織 1gr 当りのセロトニン量は胃底 0.6~1.7 μ g, 幽門部 1.6~3.9 μ g, 十二指腸 3.9~6.4 μ g, 血液平均 0.1 μ g/ml で人によつては 10 μ g% という値を掲げているものもある。また血液凝固の際のセロトニン遊出は試験管を静置した時の方が振盪時より大量にみとめられる。次に健康妊婦, 妊娠中毒症患者のそれぞれの胎盤, 羊水についてもそのセロトニン量を比較検討したが, 妊娠中毒症患者の胎盤, 羊水中に特に多量のセロトニンを含んでいるというような事実は認められなかった。即ちセロトニンは末梢血管に対し, その量により収縮或は, 拡張作用を示す。非妊婦, 健康妊婦, 妊娠中毒症患者血液中のセロトニン量を比較検討したが三者間に有意差を認め得なかった。次に健康妊婦, 妊娠中毒症患者の胎盤, 羊水中のセロトニン量を比較検討したが両者間に有意差を見出し得なかった。唯特記すべきことは胎盤中には少々高濃度のセロトニンが含有されていること, 及び羊水中にも亦セロトニンが含有されていることである。

擧筆に当り終始御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた恩師加来道隆教授に衷心より深謝し, 本研究に多大の御指導, 御助言を頂いた熊本大学医学部第一生理学教室田中育郎教授, 並びに熊本通信病院臨床検査室部長竹屋晃博士に感謝の意を捧げます。

尚本論文の要旨は昭和36年3月28日第13回日本産科婦人科学会総会の席上で発表した。

参 考 文 献

- 1) Ludwig, C. & Schmidt.: Arb.a. d. physiol. Anstalt. Z. Leipzig, 3: 12, 1, 1868. —2) Rapport, M. M., Green, A.A. & Page, I.H.: J. biol. Chem. 174: 735, 1948. —3) Rapport, M.M., Green, A.A. & Page, I.H.: J. biol. Chem. 176: 1237, 1948. —4) Rapport, M.M., Green, A.A. & Page, I. H.: J. biol. Chem. 176: 1243, 1948. —5) Rapport, M.M., Green, A.A. & Page, I.H.: Science. 108: 329, 1948. —6) Zucke, M.B., Friedman, B.T., & Rapport, M.M.: Proc. Soc. Exp. Bio. 85: 282, 1954. —7) Vialli, M. & Erspamer, V.: Z. Zellforsch. 19: 743, 1933. —8) Clara, M.: über die basalgekörnten Zellen des Darmepithels. Ergebn.-Anat. —9) Erspamer, V.: Arch. exper. Path. Pharmacol. 196: 343, 1940. —10) Erspamer, V.: ibid. 196: 366, 1940. —11) Erspamer, V.: ibid. 196: 391, 1940. —12) Erspamer, V.: Arch. Sc. biol. 31: 76, 1946. —13) Correale, P.: J. Neurochem. 1: 22, 1956. —14) Feldberg, W., & Toh, C.C.: J-Physiol., 119: 352, 1953. —15) 森永: 日産婦誌, 12, 4, 555, 昭35. —16) 小林: 薬理学実習講義, 南江堂, 第5版250, 1943. —17) 田島: 熊本医学会雑誌, 32: 4, 563, 昭33. —18) Udenfriend, S., Weissbach, H., & Clark, C.T.: J. Biol. Chem., 215: 337, 1955. (No. 1483 昭37・2・2 受付)