

## ヒト妊娠・分娩時の子宮筋と羊膜-脱落膜との oxytocin-prostaglandin receptor の共軛機構について

日本大学医学部産科学婦人科学教室 (主任：高木繁夫教授)

深井 博 田 根培 坂元 秀樹  
佐藤 信義 中川 真一 高木 繁夫

### The Interaction of Oxytocin-Prostaglandin Receptors in Human Myometrium and Amnio-Decidua throughout Pregnancy and in Labor

Hiroshi FUKAI, Konbai DEN, Hideki SAKAMOTO, Nobuyoshi SATOH

Shinichi NAKAGAWA and Shigeo TAKAGI

*Department of Obstetrics and Gynecology, Nihon University School of Medicine, Tokyo*

*(Director : Prof. Shigeo Takagi)*

**概要** 今日、ヒトの分娩発来とその後の進行に際しては、oxytocin(OXT)や prostaglandin  $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$ )が主要な因子となるとするものが多い。しかしこの両者の子宮筋と羊膜、脱落膜との間にみる共軛機構についてはなお明らかでない。よって妊娠経過、分娩発来前後における両者の receptor(OXT-R, PGF $_{2\alpha}$ -R) 動態を知るため、解離定数 (Kd) と結合部位数 (NBS) とを検討し、以下の成績を得た。

1. ラット子宮筋 OXT-R は妊娠第20日より漸増し、分娩初期にピークとなり ( $23.8 \pm 3.3 \rightarrow 34.4 \pm 5.7$  pmol/mg protein,  $p < 0.05$ )、その後急減する。一方、PGF $_{2\alpha}$ -R は第18—20日より急増し ( $9.2 \pm 1.6 \rightarrow 27.1 \pm 3.6$  fmol/mg protein,  $p < 0.02$ )、分娩が終了した第23日依然同一値を継続した。

2. ヒト子宮筋 OXT-R は妊娠初期より末期に増加し ( $0.20 \pm 0.18 \rightarrow 0.67 \pm 0.22$  pmol/mg protein,  $p < 0.01$ )、陣痛発来後急減するが、その間 PGF $_{2\alpha}$ -R には変動がなく、またその結合部位数も OXT-R の  $1/20-1/30$  となり寡少であった。

3. 羊膜、脱落膜 OXT-R の結合親和性は妊娠初期より末期に上昇するが (Kd;  $0.308 \pm 0.210 \rightarrow 0.216 \pm 0.112$  nM,  $0.327 \pm 0.100 \rightarrow 0.170 \pm 0.084$  nM,  $p < 0.05$ )、結合部位数には変動がなく、しかも子宮筋のその  $1/6-1/7$  であり、陣痛発来後は羊膜におけるそのみ有意の減少を示した (NBS;  $104 \pm 84 \rightarrow 76 \pm 43$  fmol/mg protein,  $p < 0.05$ )。

4. 陣痛未発来の子宮筋に限ってみると、OXT-R の結合親和性は PGF $_{2\alpha}$  によつて上昇するが (Kd;  $0.253 \pm 0.131 \rightarrow 0.183 \pm 0.021$  nM,  $p < 0.02$ )、一方、PGF $_{2\alpha}$ -R に対する OXT 効果は認められなかった。

したがつて以上の成績から、ヒト分娩発来に際しては子宮筋ならびに羊膜、脱落膜における OXT と OXT-R との結合反応が亢進することが一義的であり、PGF $_{2\alpha}$  はその receptor を介することなく、直接、OXT-R、あるいは plasma membrane に作用する allosteric 様効果を示しているものと考えられる。

**Synopsis** This study was designed to investigate the interaction of oxytocin and prostaglandin  $F_{2\alpha}$  at the receptor level (OXT-R and PGF $_{2\alpha}$ -R) between the myometrium and amnio-decidua throughout pregnancy and at parturition in an effort to clarify which of the two is the first and/or triggering factor involved in the instigation of myometrial contractions. In rat myometria, it was recognized that PGF $_{2\alpha}$ -R increased from day 20 of pregnancy and preceded that of OXT-R from day 22 and thereafter both reached peak levels at delivery. In human myometria, on the other hand, OXT-R showed an increase as gestation advanced and when labor was initiated, a significant decrease was found regardless of the route of labor, while the PGF $_{2\alpha}$ -R the binding capacity of which was only  $1/20-1/30$  of OXT-R, did not change throughout pregnancy or in labor. The binding affinity of OXT-R in amnio-decidua increased as gestation advanced, while its binding capacity remained unchanged and after the onset of labor that of the amnion decreased significantly even though it was only  $1/6-1/7$  that of the myometrium. The binding affinity of myometrial OXT-R was elevated following the addition of PGF $_{2\alpha}$  before the onset of labor, but the converse could not be shown.

These findings suggest that the instigation and maintenance of human labor may be firstly and/or initially dependent on the increase of the binding activity between OXT and OXT-R in the myometrium, and the  $\text{PGF}_{2\alpha}$  may facilitate such activity by the allosteric effect on OXT-R directly or on the plasma membrane to increase its binding affinity.

**Key words:** Human labor • Oxytocin and prostaglandin receptor • Myometrium and amnio-decidua

## 緒 言

今日, oxytocin(OXT)と prostaglandins(PGs)とは子宮平滑筋収縮に与かる代表的物質とされ, またこの両者が分娩の発来, 進行に際して主要な制禦因子の一つになるものとされている。しかしこの両者の相互関係, たとえば PGs 生成が急激に増加すると子宮収縮と OXT 放出とが起こるか, あるいは逆に OXT 分泌が亢進すると子宮収縮が起こつて, ひき続き  $\text{PGF}_{2\alpha}$  分泌が起こるか, あるいはこの両者がそれぞれ独自に作動をするのか明らかでなく, 依然検討の余地が残されている。因みに当教室を含めて, 従来の体液中の OXT 動態からする報告は, 胎児由来の OXT が分娩の発来ならびに陣痛と一定の関連があり, また分娩時, 胎児由来の OXT が相当量母体側へいはその標的臓器の一つの子宮筋へ流入する可能性があるとし唆されたが, 母児双方の体液中 OXT が分娩の発来や進行に与かる態様は必ずしも一律でなく, また OXT 濃度が分娩発来前に上昇をみるとの立証も明らかでない<sup>5)7)</sup>。また  $\text{PGF}_{2\alpha}$  についても, それが子宮収縮の刺激, 収縮律動の調節あるいは OXT 作用の伝達亢進などに与かるとしても, 体液中  $\text{PGF}_{2\alpha}$  あるいはその代謝物の PGFM (13, 14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) 動態については異論があり, 必ずしも一致をみていない。そして  $\text{PGF}_{2\alpha}$  に分娩発来の引金的役割を求めるためにも, なお多くの問題点が残されている<sup>9)</sup>。

一方, 子宮筋における OXT と  $\text{PGF}_{2\alpha}$  との receptor (OXT-R,  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -R) はそれぞれ独自のものであり<sup>14)</sup>, 子宮筋においては, この両者の比率と均衡が分娩発来とその後の維持とに影響するとも言われている。たとえば, ラット子宮筋の OXT-R に対する OXT 結合は妊娠末期に急増し, 分娩時最大となるため, 子宮筋の OXT-R が循環 OXT に呼応し, ひいては分娩発来の調節に与かるとするものもいる<sup>30)</sup>。またヒトにおいても

OXT と OXT-R との結合は, 分娩進行の維持より分娩発来にその役割を果す可能性が大きいとするものがある<sup>2)7)</sup>。さらに  $\text{PGF}_{2\alpha}$  の生成の場となる羊膜・脱落膜中には OXT-R も存在し, それを介した OXT 効果によつて  $\text{PGF}_{2\alpha}$  の生成・分泌が促進されるとするものもある<sup>20)21)</sup>。

いずれにせよ, 子宮内における OXT と  $\text{PGF}_{2\alpha}$  との関連, 共軛, とりわけ羊膜・脱落膜と子宮筋との間におけるそれが問題である。換言すると, 分娩の発来, すなわち子宮筋の律動収縮にとつて, この両者のいずれが先行するのか極めて重要な問題である。よつて著者らはまず, 妊娠経過, 分娩型式別に子宮筋における OXT-R と  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -R との動態を動力学的に算定したうえ, 羊膜・脱落膜におけるそれらを含めて比較し, これらの分娩発来, 進行に占める役割と共軛とについても検討し, 以下の成績を収めたので報告する。

## 研究方法

### 1. 実験対象

まず対照群として Wister 系ラット (250—300 gr) を使用し, 非妊時, 妊娠第12—21日および第22日の午前10時, また分娩中および分娩後のそれぞれを断頭屠殺し, 両側子宮角を摘除, 使用した。すなわち子宮組織を4℃下に血管, 脂肪組織, 胎児, 胎盤および内膜を除去した後, 10%dimethyl sulfoxide 溶液中でドライアイスにて凍結し, -70℃にて保存した。つぎにヒトのそれについては, まず妊娠16週以内のもので巨大子宮筋腫を合併し, 健児が2名以上いるためその後の挙児希望がなく, 子宮全摘術を施行した35—39歳の5婦人の摘出子宮の体下部前壁中央部の子宮筋および羊膜, 脱落膜を採取し, さらに妊娠8—24週の期間で優生保護法により人工妊娠中絶術を施行した25—40歳の8婦人から羊膜と脱落膜とを採取し用いた。ついで産科的適応があり, やむなく帝王切開術を行つた妊娠38—42週の妊産婦で, 術前予め

夫婦の了解を得たものを対象に、帝切時の子宮下部横切開創の上縁からほぼ1—2gr 程度の小片と羊膜および被包脱落膜とを採取した。その内訳は、児頭骨盤不均衡などの陣痛未発来例 6 名、自然陣痛の発来をみた後分娩第 1 期に胎児仮死あるいは児頭骨盤不均衡によつて帝切されたもの 5 名、予定日超過のため合成 OXT (アトニン 0, 帝国臓器), あるいは合成 PGF<sub>2α</sub> (プロスタルモン F<sub>2α</sub>, 小野薬品) により陣痛誘発を行つた 5 名と 4 名である。かくして得られた子宮筋, 羊膜および脱落膜とは 4℃ 下生理食塩水で洗浄, 脱血した後, 1 mm<sup>3</sup>以下に細切し 10% dimethyl sulfoxide 溶液中でドライアイスにて凍結し, -70℃ にて保存した。

## 2. 実験方法

### 1) 子宮筋における oxytocin と prostaglandin F<sub>2α</sub> との receptor source の作製

全操作は 0°—4℃ の条件下で行つたが, まず前述したごとく処理した子宮筋を解氷し, 生理食塩水中で洗浄してから, 5 倍量の 10mM Tris-HCl buffer (pH 7.5, 0.5mM dithiothreitol 含有, 以下 T/D buffer) とともに potter glass homogenizer で最高速 6 stroke にて homogenize した。得られた homogenate は 1,000×g で遠沈し, その上清の 120,000×g 沈査をさらに 50mM Tris-maleate buffer (pH 7.4, 5mM MnCl<sub>2</sub>, 0.1% gelatin 含有, 以下 T/M buffer) にて洗浄した後, 同 buffer 中に再浮遊し, これを OXT の receptor source とした。一方 PGF<sub>2α</sub> の receptor source は細切子宮筋を 5 倍量の 10mM Tris-HCl buffer (pH 7.5, 0.1mM indomethacin 含有, 以下 T/I buffer) で homogenize し, その homogenate の 1,000×g 上清を 105,000×g で 90 分間遠沈し, その沈査を T/I buffer で洗浄した後, 同 buffer 中に再浮遊し, これを PGF<sub>2α</sub> の receptor source とした。羊膜, 脱落膜における OXT receptor source の作製も子宮筋のそれと同様に行つた。

### 2) Oxytocin, prostaglandin F<sub>2α</sub> の radioreceptor assay

まず OXT については, 最終蛋白量を 3mg/ml に調整した receptor source 100μl にそれぞれ

<sup>3</sup>H-OXT 100μl (10,000dpm, 比放射能 19Ci/mmol, 生物活性 350IU/mg, SINLOICHI Co.) および cold OXT 100μl (0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 と 1.6nM, 生物活性 220IU/mg, 帝国臓器) および T/I buffer 300μl を加えて 20℃, 60 分間 incubate を行い, ついで氷水中に移し等量の 25% polyethylene glycol (#6,000, Nakarai Chem. Ltd.) を加えて 10 分間静置した後, 4℃, 105,000×g で 30 分間遠沈し, その沈査を 1N NaOH 500μl で溶解したうへ liquid scintillation counter (LSC-903, ALOKA Co. Ltd.) で radioactivity を測定した。また PGF<sub>2α</sub> についても同様, 最終濃度 3mg/ml に調整した receptor source 100μl にそれぞれ <sup>3</sup>H-PGF<sub>2α</sub> 100μl (10,000dpm, 比放射能 150Ci/mmol, New England Nuclear), cold PGF<sub>2α</sub> 100μl (2, 4, 10, 20, 40ng) および T/I buffer 300μl を加え 37℃, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>=95/5 気相下 60 分間 incubate を行い, ついで 25% polyethylene glycol 500μl を加えて氷水中に 10 分間静置し 4℃, 105,000×g で 30 分間遠沈し, その沈査を 1N NaOH 500μl で溶解し, radioactivity を測定した。つぎに羊膜, 脱落膜および子宮筋の OXT-R に対する PGF<sub>2α</sub> 効果をみるため, まず細切した homogenate 前の組織 (1gr) を最終濃度で 10μM となるように調整した PGF<sub>2α</sub> 100μl, T/I buffer 2.9ml と共に, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>=95/5 の気相下 37℃, 30 分間 preincubation 後, 上述したそれと同一の操作によつて receptor source を作製し assay を行う一方 (cell intact), 通常の receptor source 作製後その sample 100μl (250—300μg) に PGF<sub>2α</sub> 10μM を加えて同様の assay も行つた (cell free)。また子宮筋の PGF<sub>2α</sub>-R に対する OXT の影響をみるため, 同様に homogenize 前の細切子宮筋 1gr を最終濃度 60 IU/ml となるように調整した cold OXT 100μl, T/I buffer 2.9ml と共に 20℃, 10 分間の preincubation を行つてから receptor source を作製し, ついでその 100μl (250—300μg) と OXT 100μl (60IU/ml) とを加え assay を行つた。なお receptor 活性の指標として解離定数 (dissociation constants, K<sub>d</sub>s) すなわち結合親和性と, 結合部位数 (number of binding sites, NBS) すなわち結

合能をそれぞれ Scatchard plot から算出してから求めたが、その際蛋白濃度は通常6点とし、原則としていずれも duplicate で測定した。

### 研究成績

#### I. 妊娠、分娩時のラット子宮における oxytocin, prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor の動態

まず対照群としてのラット子宮筋における OXT-R 動態とその推移をみると、NBS は非妊時  $16.3 \pm 3.9$  pmol/mg protein であり、妊娠第18日までのそれに有意の変動がなく以後漸増し、分娩開始直前の第22日  $23.8 \pm 3.3$  ( $p < 0.01$ )、ついで分娩中にピークとなり ( $34.0 \pm 5.7$  pmol/mg protein)、分娩後速やかに非妊時のレベルまで急減した。一方、kd 値には非妊、妊娠経過のいずれにおいても有意の変動は認められなかった。また  $PGF_{2\alpha}$ -R のそれについては、NBS は非妊時  $9.2 \pm 1.6$  fmol/mg protein、妊娠第18日目まで同様であり第20日に急増し  $27.0 \pm 3.6$  fmol/mg protein ( $p < 0.01$ ) となり、以後分娩中、分娩後も同様の高値を維持したが、kd 値に有意の変動を認

めなかった (図1)。

#### II. 妊娠、分娩時のヒト子宮筋における oxytocin, prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor の動態

妊娠16週までのヒト子宮筋 OXT-R の Kd 値は  $0.290 \pm 0.120$ , 末期のそれは  $0.203 \pm 0.037$  nM, また NBS はそれぞれ  $0.20 \pm 0.18$ ,  $0.67 \pm 0.22$  pmol/mg protein となり、Kd, NBS ともに妊娠初期と末期のそれと有意の相違があることを認めた ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。つぎに分娩型式別にそれぞれの OXT-R 動態を求めて比較すると、kd 値は自然陣痛発来例で  $0.190 \pm 0.042$ , OXT 誘発例  $0.188 \pm 0.069$ ,  $PGF_{2\alpha}$  誘発例で  $0.195 \pm 0.053$  nM となり、この3者間に有意の差はなく、また陣痛未発来のそれ ( $0.203 \pm 0.037$  nM) とも相違を認めぬ一方、NBS は自然陣痛発来例で  $0.25 \pm 0.12$ , OXT 誘発例で  $0.23 \pm 0.22$  pmol/mg protein および  $PGF_{2\alpha}$  誘発例で  $0.21 \pm 0.13$  pmol/mg protein となり、この3者間に有意の差はなく、また陣痛未発来のそれ ( $0.67 \pm 0.22$  pmol/mg protein) と比較するといずれも有意の減少があることを認め

図1 ラット妊娠経過、分娩発来前後における oxytocin receptor (OXT-R) と prostaglandin  $F_{2\alpha}$  receptor ( $PGF_{2\alpha}$ -R) との動態

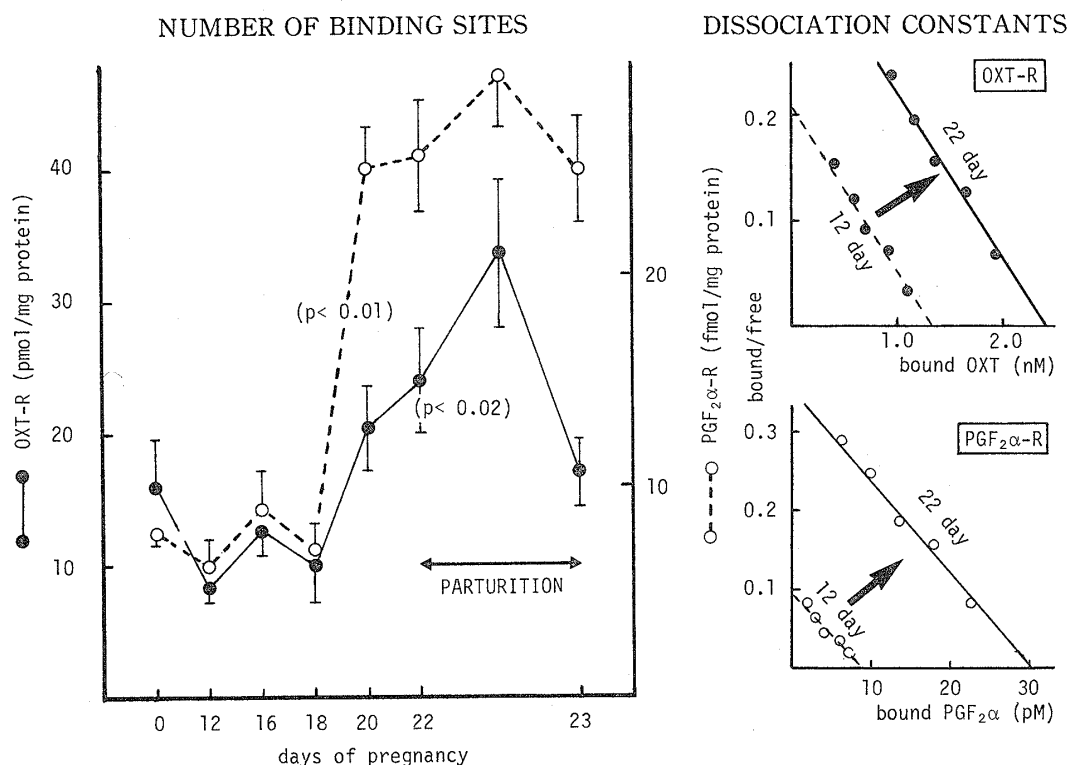


表1 妊娠経過, 分娩型式別にみた子宮筋 oxytocin receptor (OXT-R) と prostaglandin  $F_{2\alpha}$  receptor ( $PGF_{2\alpha}$ -R) との動態

|                           | No. of cases | OXT-R                  |                       | $PGF_{2\alpha}$ -R |                       |
|---------------------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
|                           |              | Kd (nM)                | NBS (pmol/mg protein) | Kd (pM)            | NBS (fmol/mg protein) |
| Ist trimester             | 5            | $0.290 \pm 0.120$      | $0.20 \pm 0.18$       | $283 \pm 137$      | $21.3 \pm 7.4$        |
| Route of cesarean section |              |                        |                       |                    |                       |
| elective                  | 6            | $0.203 \pm 0.037^{\#}$ | $0.67 \pm 0.22^*$     | $315 \pm 150$      | $25.5 \pm 5.0$        |
| indicated                 | 5            | $0.190 \pm 0.042$      | $0.25 \pm 0.12^{**}$  | $288 \pm 165$      | $23.1 \pm 5.8$        |
| OXT induced               | 5            | $0.188 \pm 0.069$      | $0.23 \pm 0.22^{**}$  | $358 \pm 270$      | $24.4 \pm 8.5$        |
| $PGF_{2\alpha}$ induced   | 4            | $0.195 \pm 0.053$      | $0.21 \pm 0.13^{**}$  | $293 \pm 182$      | $29.1 \pm 10.2$       |

$\#$  Significantly different those of Ist trimester ( $p < 0.05$ ).  $*$  Significantly greater than those of Ist trimester ( $p < 0.01$ ) and  $^{**}$  significantly lower than those of elective cesarean section ( $p < 0.05$ ). Kd : dissociation constants, NBS : number of binding sites.

た( $p < 0.05$ ). 一方,  $PGF_{2\alpha}$ -R については, 妊娠初期と末期のそれぞれの Kd 値は  $283 \pm 137$ ,  $315 \pm 150$  pM となり, NBS は  $21.3 \pm 7.4$  と  $25.5 \pm 5.0$  fmol/mg protein となり, この両者はともに妊娠経過に伴う変動を認めることができなかった. また分娩型式別にみた Kd 値も自然陣痛例のそれが  $288 \pm 165$ , OXT 誘発例のそれが  $358 \pm 270$ ,  $PGF_{2\alpha}$  誘発例のそれが  $293 \pm 182$  pM となり, この3者間で陣痛未発来例のそれ ( $315 \pm 150$  pM) との間に有意の差はなく, また NBS でも同様  $23.1 \pm 5.8$ ,  $24.4 \pm 8.5$ ,  $29.1 \pm 10.2$  fmol/mg protein となり, 陣痛未発来例のそれ ( $25.5 \pm 5.0$  fmol/mg protein) との間において有意の差を認めることができなかった (表1).

### III. 妊娠, 分娩時のヒト羊膜, 脱落膜における oxytocin receptor の動態

前述した妊娠初期 (単純子宮全摘例), 中期 (人工妊娠中絶例) および末期 (選択的帝切例) の羊膜, 脱落膜でそのそれぞれの OXT-R の Kd, NBS 値を求めると, Kd 値は羊膜で  $0.308 \pm 0.210$ ,  $0.195 \pm 0.069$  および  $0.216 \pm 0.112$  となり, 脱落膜では  $0.327 \pm 0.100$ ,  $0.256 \pm 0.077$  および  $0.170 \pm 0.084$  nM となり, 初期と末期で両者ともに有意の差があり ( $p < 0.05$ ), 一方, NBS 値は羊膜で  $108 \pm 96$ ,  $80 \pm 30$  および  $104 \pm 75$ , 脱落膜で  $98 \pm 42$ ,  $101 \pm 57$  および  $122 \pm 78$  fmol/mg protein となり, いずれも有意の差を認めることができなかった. ついで分娩型式別に比較すると, Kd 値は自然陣痛例で

$0.181 \pm 0.067$  と  $0.160 \pm 0.082$ , OXT 誘発例で  $0.238 \pm 0.057$  と  $0.231 \pm 0.067$ ,  $PGF_{2\alpha}$  誘発例では  $0.211 \pm 0.086$  と  $0.197 \pm 0.053$  nM となるのでこの3者間にはいずれも相違がなく, また陣痛未発来例のそれ ( $0.216 \pm 0.112$  と  $0.170 \pm 0.084$  nM) との間に有意の差を認めることができなかった. 一方, NBS 値はそれぞれ  $76 \pm 43$  と  $98 \pm 24$ ,  $100 \pm 54$  と  $144 \pm 82$  および  $96 \pm 57$  と  $106 \pm 48$  fmol/mg protein となり, 羊膜のそれが陣痛発来例で未発来例のそれに比し有意の減少 ( $p < 0.02$ ) となることを認めた (表2).

### IV. ヒト子宮筋における oxytocin receptor に対する $PGF_{2\alpha}$ の影響

陣痛未発来例の子宮筋を  $PGF_{2\alpha}$  と preincubate した後 OXT の RRA を行くと, その Kd, NBS 値はともに  $0.083 \pm 0.021$  nM,  $0.18 \pm 0.12$  pmol/mg protein となつたが, 一方, 陣痛発来例のそれは  $0.352 \pm 0.15$  nM,  $0.23 \pm 0.15$  pmol/mg protein となつた. したがって陣痛未発来例では OXT-R の結合親和性が  $PGF_{2\alpha}$  によつて亢進することを示したことになる. 同様に  $PGF_{2\alpha}$ -R に対する OXT 効果を検討すると, 陣痛未発来例での Kd, NBS 値は  $300 \pm 142$  pM,  $32 \pm 19$  fmol/mg protein となり, 陣痛発来例のそれは  $212 \pm 183$  pM,  $21 \pm 10$  fmol/mg protein となるため, この両者のいずれにおいても相違がないことを認めた (表3).

### V. ヒト羊膜, 脱落膜における oxytocin receptor に対する prostaglandin $F_{2\alpha}$ の影響

表2 妊娠経過, 分娩型式別にみた羊膜, 脱落膜 oxytocin receptor の動態

|                           | No. of cases | AMNION                   |                       | DECIDUA                  |                       |
|---------------------------|--------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
|                           |              | Kd (nM)                  | NBS (fmol/mg protein) | Kd (nM)                  | NBS (fmol/mg protein) |
| Ist trimester             | 5            | 0.308±0.210              | 108±96                | 0.327±0.100              | 98±42                 |
| IInd trimester            | 8            | 0.195±0.069              | 80±30                 | 0.256±0.077              | 101±57                |
| Route of cesarean section |              |                          |                       |                          |                       |
| elective                  | 6            | 0.216±0.112 <sup>#</sup> | 104±84                | 0.170±0.084 <sup>#</sup> | 122±78                |
| indicated                 | 5            | 0.181±0.067              | 76±43 <sup>*</sup>    | 0.160±0.082              | 98±24                 |
| OXT induced               | 5            | 0.238±0.057              | 100±54                | 0.231±0.067              | 144±82                |
| PGF <sub>2α</sub> induced | 4            | 0.211±0.086              | 96±57                 | 0.197±0.053              | 106±48                |

<sup>#</sup> Significantly different those of Ist trimester ( $p<0.02$ ) and <sup>\*</sup>significantly lower than those of elective cesarean section ( $p<0.05$ ).

妊娠初期, 中期および末期における羊膜, 脱落膜 OXT-R に対する RGF<sub>2α</sub> 効果をその Kd, NBS 値より求めた。その結果, 羊膜における Kd 値は  $0.279 \pm 0.072$ ,  $0.092 \pm 0.039$  および  $0.071 \pm 0.043$  nM となり脱落膜のそれが,  $0.293 \pm 0.202$ ,  $0.086 \pm 0.043$  および  $0.074 \pm 0.017$  nM となった。したがって妊娠末期の羊膜, 脱落膜においては OXT-R の結合親和性はともに PGF<sub>2α</sub> によつて亢進することを認めたことになる ( $p<0.05$ )。一方, NBS 値は羊膜のそれが  $93 \pm 41$ ,  $67 \pm 33$  および  $85 \pm 21$  fmol/mg protein となり, 脱落膜のそれが  $110 \pm 56$ ,  $67 \pm 33$  および  $85 \pm 20$  fmol/mg protein となるため, この両者の間に有意の相違がなく, また陣痛発来例のそれでは Kd, NBS 値ともに変動が認められなかつた (表3)。

### 考 案

従来, 子宮の平滑筋収縮は actin および myosin filament を含有する収縮蛋白が主となり, 一般に筋細胞内遊離 calcium ( $Ca^{++}$ ) 濃度の増加によつて起こるとされている。その際, OXT と PGF<sub>2α</sub> とは妊娠経過に伴つて増加する adenosine triphosphate (ATP) 依存性  $Ca^{++}$  の細胞内結合, ことに sarcoplasmic reticulum へのそれを阻止する一方, cyclic-3'5'-guanosine monophosphate (cGMP) を介して結合, 貯留されている  $Ca^{++}$  放出を刺激し, 子宮筋収縮に与かるとされている<sup>11)</sup>。さらに OXT と PGs との両者が分娩の発来と進行とに際して重要な制禦因子となるとされるが, その根拠については, たとえば, 1) 妊娠末期に限

らず妊馬は OXT によつて PGFM が急増し分娩発来をみる, 2) 羊は妊娠末期に OXT を投与すると PGF<sub>2α</sub> が放出され,  $\beta_2$ -mimetic agent によつて阻害をうけない<sup>18)26)</sup>, 3) 羊やラットの子宮筋では, OXT によつて dose dependent な PGF<sub>2α</sub> 生成の促進をみる<sup>15)27)</sup>, 4) PGF<sub>2α</sub> 負荷によつて progesterone ( $\Delta^4P$ ) が消退し, 子宮筋の estradiol receptor ( $E_2$ -R) と OXT-R が増加し子宮収縮をみる<sup>10)</sup>, などの事実があげられている。したがってこれらの哺乳動物では一応 OXT によつても PGF<sub>2α</sub> 分泌は誘導され, また OXT の放出とこれに反応する PGF<sub>2α</sub> の生成度合の如何によつて子宮収縮が誘発されることになる。したがってこれを事実とすると, OXT は PGF<sub>2α</sub> 分泌に対して直接的効果を示したものと考えられる。しかし現在, 子宮筋の receptor level において OXT と PGF<sub>2α</sub> との検討を同時に行い, それら相互の作用をみた報告がない。したがってこの両者の共軛する機序の面からした分娩発来・進行との関連やその在り方についてはなお明らかではない。

そこで著者らは今回上述したごとく, まず対照として妊娠・分娩時のラットで OXT-R と PGF<sub>2α</sub>-R との経日および経時的動態をみたうえ, ヒトの妊娠経過と分娩型式別のそれについてもそれぞれ検討した。その結果, (1) ラット子宮筋 OXT-R の結合親和性は, 妊娠経過, 分娩前後で変動がないこと, (2) OXT-R の結合能 (部位数) は妊娠第20日より漸増し, 分娩初期においてピークとなり分娩後急減すること, (3) PGF<sub>2α</sub>-R はこの OXT-R

表3 羊膜, 脱落膜および子宮筋 oxytocin receptor に対する prostaglandin  $F_{2\alpha}$  の影響

|                           | No. of cases | AMNION                       |                       | DECIDUA                      |                       | MYOMETRIUM                   |                          |
|---------------------------|--------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------|
|                           |              | Kd (nM)                      | NBS (fmol/mg protein) | Kd (nM)                      | NBS (fmol/mg protein) | Kd (nM)                      | NBS (pmol/mg protein)    |
| Ist trimester             | 5            | 0.279±0.072<br>(0.302±0.115) | 93±41<br>(89±56)      | 0.293±0.202<br>(0.285±0.093) | 110±56<br>(125±92)    | 0.301±0.121<br>(0.295±0.112) | 0.25±0.21<br>(0.23±0.19) |
| The onset of labor before | 6            | 0.071±0.043<br>(0.236±0.087) | 129±62<br>(111±69)    | 0.074±0.017<br>(0.250±0.054) | 85±20<br>(144±58)     | 0.083±0.021<br>(0.253±0.131) | 0.18±0.12<br>(0.22±0.20) |
| after                     | 5            | 0.139±0.091<br>(0.192±0.133) | 54±9<br>(81±42)       | 0.203±0.045<br>(0.219±0.105) | 77±14<br>(90±31)      | 0.352±0.150<br>(0.249±0.093) | 0.23±0.15<br>(0.29±0.20) |

\* The values in parenthesis represent those of the control.

と比較して結合親和性が高く, 結合能(部位数)が低下すること, またその結合能は妊娠第18-20日目に急増し, 分娩終了後(第23日)もなお継続することを認めた. したがって分娩発来時, ラットは子宮筋の receptor level で  $PGF_{2\alpha}$  の増加が先行し, ついで OXT のそれを見ることになる. 一方, 子宮筋細胞の核内  $\Delta^4P$ -R は妊娠第20日で消退を開始し,  $E_2$ -R は妊娠第22日目に急増し分娩開始後むしろ減少する<sup>3)</sup>とされている. したがって分娩発来に際しては, まず血中  $\Delta^4P$  濃度と呼応して子宮筋細胞内の  $\Delta^4P$ -R が消退し, ついで  $PGF_{2\alpha}$ -R が増加し, ひき続いて血中  $E_2$ , OXT 濃度と関係なく  $E_2$ -R が増加し, OXT-R の増加をみることになる. ところで一般に,  $\Delta^4P$  と  $E_2$  とは共軛して  $PGF_{2\alpha}$  生成系酵素, ことに phospholipase  $A_2$  に作用しその生成と放出とに与かるとされている. しかし以上の坂元ら<sup>3)</sup>および今回の成績からすると, 子宮筋細胞内  $\Delta^4P$ -R の消退は  $PGF_{2\alpha}$ -R の増加にかかわることになる. 事実,  $\Delta^4P$  の消退のみによつても PGs が放出される可能性はあるとされるが<sup>13)</sup>,  $E_2$  が子宮筋の蛋白合成に与かり OXT-R 量を増加し, さらに actinomycin D によつてこれが阻害されるため<sup>2)</sup>, OXT-R の増加の機序の一部に  $E_2$ , ことに  $E_2$ -R を介するそれがかかわるので, この効果はすなわち messenger ribonucleic acid (mRNA) を介した OXT-R 蛋白合成の促進によるものと思われる. 因みに蛋白合成阻害剤 cycloheximide や mRNA 合成阻害剤 actinomycin D はいずれも  $E_2$  誘導による  $PGF_{2\alpha}$

生成系を阻害しがたいとされている.

一方, ヒト子宮筋においても OXT-R の局在様式, 作用機序, あるいは妊娠, 分娩時の動態も漸く明らかにされつつある. すなわち, OXT の生理作用は OXT-R と結合することによつて初めて起こり, またその作用の強弱は OXT-R に対する結合親和性の高低に左右されるとされるが, 教室の検討成績も含めて<sup>2)4)5)7)8)</sup>, OXT-R は insulin, prolactin などの receptor と同様原形質膜に存在し, ヒト子宮筋においては OXT-R の結合親和性, 結合能がともに妊娠末期に上昇し, 陣痛発来後結合能が著しく減少する. しかし今回の分娩の型式別動態よりすると, ヒト子宮筋においては OXT-R の結合親和性と結合能ことに後者が妊娠末期に上昇し, 陣痛発来後は誘発型式の如何にかかわらず結合能が減少し, 結合親和性にこれが認めがたいし, また結合親和性, 結合能が陣痛の発来後の時間に関係なく一律となる. また前述したごとく, ラットは分娩時 OXT-R 量は減少するが, これは分娩発来24時間後に初めて明らかになり, また陣痛未発来の子宮筋へ OXT を負荷すると OXT-R の結合能は有意に減少し, 陣痛発来後の子宮筋でこれが認めがたい. しかも陣痛発来時の OXT と OXT-R との結合反応は子宮収縮と一致をみることがないともされている<sup>2)5)</sup>. したがって分娩時 OXT はその receptor level で関連し, また OXT と OXT-R との結合が分娩発来にその役割を果たしている可能性が大きいことになる. 因みに妊娠末期の子宮筋 OXT 感受性は非妊時のそれに

比し有意に増加し、その閾値は500—1,000mIU 対10—25mIU となるため<sup>21)</sup>、循環 OXT 濃度が低くても OXT-R の増加をみる場合には、子宮筋の OXT 感受性は上昇することになる。

ところで OXT によつて PGF<sub>2α</sub> の生成・放出がいずれも亢進して、陣痛発来をみるとされるが、この過程は OXT-R 量あるいは E<sub>2</sub>/Δ<sup>4</sup>P 濃度に依存し、β<sub>2</sub>-mimetic agent によつて阻害をみることがない<sup>29)</sup>。さらに原形質膜での OXT と OXT-R との相互作用、すなわち結合反応が起こると速やかに PGF<sub>2α</sub> 生成が亢進し、しかもこれが OXT の phospholipase A<sub>2</sub> 活性に作用するためのものともいわれる<sup>24)</sup>。一方、これには E<sub>2</sub>, Δ<sup>4</sup>P もかわり、またこの両者は OXT の放出促進よりむしろ子宮筋の OXT 感受性すなわち OXT-R 数を増加し、PGF<sub>2α</sub> の分泌促進を誘導するものとも考えられている<sup>11)</sup>。またヒトでは一見すると分娩発来前後の循環 E<sub>2</sub>, Δ<sup>4</sup>P 動態に変動を認めたいが、子宮筋 receptor level のそれはラットのそれと同様、E<sub>2</sub>-R 優位、Δ<sup>4</sup>P 消退となる<sup>6)</sup>。したがって子宮筋細胞内ではΔ<sup>4</sup>P の消退が PGF<sub>2α</sub> あるいは PGF<sub>2α</sub>-R の増加に係わる一方、E<sub>2</sub>-R の増加がそれを介する E<sub>2</sub> 作用によつて OXT-R 増加を招くに至るものと思われる。他方ヒト子宮筋でも妊娠初期より PGF<sub>2α</sub>-R が存在するが、その活性は、妊娠の経過や陣痛あるいは分娩の発来型式の如何によつて変動がなく、また OXT-R と比較して結合親和性は等しいが結合能は1/20—1/30となるため、ラットと同様、ヒトの陣痛発来もまた OXT による一次的作用によつて PGF<sub>2α</sub> が増加し、ひき続いて子宮収縮をみるとする根拠は乏しくなるものと思われる。

さらに PGF<sub>2α</sub> あるいはその receptor 増加が分娩発来の直接的、一次的因子としての役割を果たすとするにはなお問題がある。すなわち妊娠ラットへ PGF<sub>2α</sub> を投与しこれによつて流産誘発をする場合、妊娠日数によつてその効果が異なり、1) Δ<sup>4</sup>P 濃度が最高となる妊娠第15日で PGF<sub>2α</sub> 効果が認めがたく、2) Δ<sup>4</sup>P 消退が始まる妊娠第16—20日で早産し、3) これが E<sub>2</sub>, OXT-R の上昇と一致し、Δ<sup>4</sup>P の投与によつて阻害され<sup>10)</sup>、4)

PGF<sub>2α</sub> 投与と分娩発来との間に48時間の時間差があり、5) 妊娠第21日、すなわち OXT 効果が作動する時期で却つて PGF<sub>2α</sub> は E<sub>2</sub> 同様、子宮筋の gap junction 形成に与かり<sup>22)</sup>、この gap junction の増加が子宮収縮、ひいては分娩発来をみるための最後の過程にかかわる要素と考えられている。さらに、7) 陣痛未発来例の子宮筋でみる OXT-R の結合親和性は PGF<sub>2α</sub> によつて有意に上昇するが、PGF<sub>2α</sub>-R に対しては OXT の影響が認めがたい。したがって妊娠末期における子宮筋 receptor は OXT-R が PGF<sub>2α</sub> のそれを凌駕し、また PGF<sub>2α</sub> はその receptor を介することなく直接 OXT-R あるいは原形質膜に作用する、いわゆる“allosteric”様効果によつて OXT-R を介する OXT の子宮収縮作用を修飾し、ひいてはそれが分娩発来に与かることになるものと思われる。

他方、ヒト羊膜、脱落膜にも OXT-R が存在し、その結合能は子宮筋におけるそれと同様、陣痛発来直後に最高となる。しかもこれを介して OXT の PGF, PGE の生成、分泌が促進されるため、ヒト羊膜、脱落膜もまた OXT と PGs との両者が、前述した子宮筋と同一作用の場となる可能性がある<sup>20)21)</sup>。すなわち羊膜、脱落膜の OXT-R が増加すると OXT 感受性が上昇し、OXT と OXT-R 結合が亢進して PGs 生成を促進し、その結果、子宮筋の OXT 取り込みが増大して子宮収縮をみることになる。これに関する著者らの結果は、ヒト羊膜、脱落膜にも OXT-R が存在し、その結合親和性は妊娠経過とともに上昇する一方、結合能に変動がなく、妊娠末期の子宮筋 OXT-R と比較すると結合能のみはば1/6—1/7となることを認めた。さらに自然陣痛発来後の帝切例では未発来のそれに比較し、羊膜、脱落膜 OXT-R の結合能が有意に減少し、経膈分娩例では発来型式と関係なく結合能はむしろ増加する傾向があり、PGF<sub>2α</sub> を加えると陣痛未発来例に限つて OXT-R の結合親和性が有意に上昇する。したがって分娩発来前後で羊膜、脱落膜中に存在する OXT-R もまた活性化され、子宮筋におけると同様これに PGF<sub>2α</sub> がかわるものと受けとれる。実際、ヒト羊膜、脱落膜では妊娠経過に伴つて PGs 生成量が増大する



が、その生成率は羊膜>脱落膜あるいは子宮筋の順である。しかも脱落膜のPGF生成はOXTによつて促進され、陣痛発来後最高となる一方、子宮筋ではこの効果が認めがたく<sup>20)21)</sup>、またOXTによる子宮収縮ではPGF<sub>2α</sub>濃度が上昇し、しかもこれは自然分娩例での動態と等しく、また頸管開大度に並行し<sup>15)</sup>、一方、PGs放出をみぬもので頸管開大や分娩進行が認めがたいとされている<sup>21)</sup>。したがつて子宮筋におけると同様、羊膜、脱落膜でもOXT-Rとの結合ならびにPGs生成亢進は、分娩発来にとつて一つの要素となる可能性は否定しがたい。

しかしヒトの分娩発来に際しては、PGF<sub>2α</sub>の放出がOXT作用によつての一次的要素となることなく、その結果となる可能性が大である。因みに分娩発来前後においてはPGF<sub>2α</sub>産生率は羊膜で相違がなく、脱落膜で低下し<sup>28)</sup>、またその代謝率はそのいずれにおいても低下をみる<sup>23)</sup>ので、PGF<sub>2α</sub>が分娩の発来にとつて第一要因となるとはみなしがたい。さらに問題は、1) 胎児側OXT濃度が分娩初期から上昇しており、しかも母体側濃度に比べて高値であり<sup>4)</sup>、2) また胎児由来の羊水中OXT濃度も妊娠末期に増量し、しかも生理活性型OXTも存在し<sup>1)</sup>、3) OXTは胎盤を通過し<sup>16)</sup>、4) 子宮筋のOXT-Rに直接作用し、絨毛膜血管あるいは羊膜を通過し壁脱落膜にも拡散するとの立証があり、今後に残された研究課題である。

本論文の要旨は、昭和56年第33回、昭和57年第34回、昭和58年第35回日本産科婦人科学会総会学術講演会および昭和57年第55回日本内分泌学会総会においてそれぞれ発表した。

## 文 献

1. 木村繁喜：ヒト胎児の生物活性型 oxytocin 分泌動態と分娩発来機構への関与。日産婦誌，35：1617，1983。
2. 坂元秀樹，深井 博，小山陽一，田 根培，高木繁夫：子宮筋における oxytocin 受容体の動態に関する研究。日産婦誌，33：344，1981。
3. 坂元秀樹，高木繁夫，斉藤良治，MucLusky, N.J. and Naftolin, F.：妊娠ラット子宮筋の生化学並びに形態学的研究，殊に Sex steroid receptor と Gap Junction 形成との分娩発来に果す役割について。日産婦誌，35：645，1983。
4. 高木繁夫，田 根培，坂元秀樹，萩原 寛，深井博：オキシトシン・レセプター：子宮収縮機構における役割。ホルモンと臨床，30：291，1982。
5. 高木繁夫，田 根培：分娩発来とオキシトシンの役割。産科と婦人科，50：675，1983。
6. 高木繁夫，田 根培：分娩周辺期における内分泌動態；1. 母児双方の内分泌動態とその意義。最新医学，38：1808，1983。
7. 高木繁夫，田 根培：分娩発来とその内分泌考証—その4—；ヒト胎児における oxytocin, vasopressin 分泌とその意義。産婦世界，35：413，1983。
8. 高木繁夫，田 根培：分娩周辺期における内分泌動態；2. 子宮筋およびその隣接組織におけるホルモン・レセプターとその意義。最新医学，38：2490，1983。
9. 高木繁夫，田 根培：分娩発来とその内分泌考証—その6—；Prostaglandins の生成・分娩動態とその作用機序。産婦世界，35：615，1983。
10. Alexandrova, M. and Soloff, M.S.：Oxytocin receptors and parturition. III. Increases in estrogen receptors and oxytocin receptor concentrations in the rat myometrium during prostaglandin F<sub>2α</sub>-induced abortion. Endocrinology, 106：739，1980。
11. Carsten, M.E.：Calcium accumulation by human uterine microsomal preparation：Effects of progesterone and oxytocin. Am. J. Obstet. Gynecol., 133：598，1979。
12. Castracane, V.D. and Jordan, V.C.：Considerations into the mechanism of estrogen-stimulated uterine prostaglandin synthesis. Prostaglandins, 12：243，1976。
13. Challis, J.R.G. and Mitchell, B.F.：Hormonal control of preterm and term parturition. Semin. Perinat., 5：192，1981。
14. Chan, W.Y.：Relationship between the uterotonetic action of oxytocin and oxytocin action and release of PG activity in isolated non-pregnant and pregnant rat uteri. Biol. Reprod., 17：541，1977。
15. Chan, W.Y.：The separate uterotonetic and prostaglandin releasing actions of oxytocin. Evidence and comparison with angiotensin and metacholine in the isolated rat uterus. J. Pharmacol. Exp. Ther., 213：575，1980。
16. Dawood, M.Y., Lauersen, D., Trivedi, O., Ylikorkala, O. and Fuchs, F.：Studies on oxytocin in the baboon during pregnancy and delivery. Acta Endocrinol., 91：704，1979。
17. Den, K., Sakamoto, H., Kimura, S. and Takagi, S.：Study of oxytocin receptor：II. Gestational changes in oxytocin activity in the

- human myometrium. *Endocrinol. Japon*, 28: 375, 1981.
18. *Forsling, M.L., MacDonald, A.A. and Ellendorf, F.*: The neuro-hypophyseal hormones. *Anim. Reprod. Sci.*, 2: 43, 1979.
  19. *Fuchs, A.-R.*: Prostaglandin effects on rat pregnancy. I. Failure of induction of labor. *Fertil. Steril.*, 23: 410, 1972.
  20. *Fuchs, A.-R., Husslein, P. and Fuchs, F.*: Oxytocin and the initiation of human parturition. II. Stimulation of prostaglandin production in human decidua by oxytocin. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 141: 694, 1981.
  21. *Fuchs, A.-R., Fuchs, F., Husslein, P., Soloff, M.S. and Fernstrom, M.J.*: Oxytocin receptors and human parturition: A dual role for oxytocin in the initiation of labor. *Science*, 215: 1396, 1982.
  22. *Garfield, R.E., Kannan, M.S. and Daniel, E.E.*: Gap junction formation in myometrium. Control by estrogens, progesterone and by prostaglandins. *Am. J. Physiol.*, 238: 681, 1980.
  23. *Keirse, M.J.N.C.*: Endogenous prostaglandins in human parturition. In *Human Parturition*. (eds. M.J.N.C. Keirse, A.B.M. Anderson and J. Bennebroek Gravenhorst), 101. Martinus Nijhoff Pub., Hague/Boston/London, 1979.
  24. *McCracken, J.A.*: Hormone receptor control of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  secretion by the ovine uterus. In *Advance in Prostaglandin and Thromboxane Research*. vol. 8, (eds. B. Samuelsson, P.W. Ramwell and R. Paoletti), 1329. Raven Press, New York, 1980.
  25. *Minh, H.N., Doubin, D., Smadja, A. and Orsel, L.*: Fetal membrane morphology and circulation of the liquor amni. *Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 10/4: 213, 1980.
  26. *Mitchell, M.D., Flint, A.P.F. and Turnbull, A.C.*: Stimulation by oxytocin of prostaglandin F levels in uterine venous effluent in pregnant and puerperal sheep. *Prostaglandins*, 9: 47, 1975.
  27. *Roberts, J.S., McCracken, J.A., Gavagan, J.E. and Soloff, M.S.*: Oxytocin stimulated release of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  from ovine endometrium *in vitro*: Correlation with estrous cycle and oxytocin-receptor binding. *Endocrinology*, 99: 1107, 1976.
  28. *Satoh, K., Yasumizu, T., Kawai, Y., Ozaki, A., Wu, T., Kinoshita, K. and Sakamoto, S.*: *In vitro* production of prostaglandin E, F and 6-keto-prostaglandin  $F_{1\alpha}$  by human pregnant uterus, decidua and amnion. *Prostaglandins and Medicine*, 6: 359, 1981.
  29. *Sharma, S.C. and Fitzpatrick, R.J.*: Effect of estradiol-17 $\beta$  and oxytocin treatment on prostaglandin  $F_{2\alpha}$  release in the anestrous ewe. *Prostaglandins*, 6: 97, 1974.
  30. *Soloff, M.S., Alexandrova, M. and Ferstrom, M.J.*: Oxytocin receptors: Triggers for parturition and lactation? *Science*, 204: 1313, 1979.

(No. 5362 昭58・9・19受付)