

り、ホルモン環境のちがいに、収縮促進の場合と抑制の場合とがあり DHAS の作用は多岐にわたっておりさらに今後検討していかねばならない問題かと思われまゝ。

408. 子宮筋における収縮—弛緩の調節機構

(熊本大)

東 憲次, 松井 和夫, 前山 昌男

(同・第一薬理) 宮本 英七

平滑筋においては、分子量2万のミオシン軽鎖のリン酸化・脱リン酸化反応が収縮・弛緩と相関し、ミオシン軽鎖キナーゼが収縮機構に関与していると示唆されている。そこで子宮筋における収縮-弛緩調節機構を検討するため、ブタ子宮筋よりミオシン軽鎖キナーゼを精製しその性質を調べた。

ブタ子宮筋細胞上清分画より、硫酸分画・ゲル濾過・カルモデュリン親和性、DEAE-セルロースカラムを用い、ミオシン軽鎖キナーゼを精製し、性質を調べた。さらに、同組織より cAMP 依存性プロテインキナーゼを精製し、両キナーゼの相互作用についても検討した。

子宮筋から均質なまでに精製したミオシン軽鎖キナーゼは、分子量13万の単一のペプチド鎖であつた。回収率から補正すると、組織中濃度は $0.85\mu\text{M}$ であつた。精製酵素は、cAMP 依存性プロテインキナーゼでリン酸化を受け、カルモデュリンに対する親和性を減じたが、リン酸化能の最大活性には影響なかつた。さらに、飽和量以下のカルモデュリン存在下では、非リン酸化酵素も Ca^{2+} に対する親和性が約10倍減少したが、リン酸化酵素はさらに減少し35倍に達した。また、この条件下で活性を経時的に調べると、リン酸化酵素は非リン酸化酵素に比べて、約1/4の低い活性を示した。

以上の結果から、子宮筋の収縮—弛緩機構には、リン酸化反応による調節機構が存在していることが考えられる。ミオシン軽鎖キナーゼの cAMP 依存性プロテインキナーゼによるリン酸化反応は、臨床的に β -アドレナリン性作動薬の子宮筋弛緩作用機構を示すものと考えられる。

質問

(日本医大) 鈴村 正勝

子宮の myosin 軽鎖は、横紋筋の H, L merromyosin のどれに相当するものと考えられますか？

回答

(熊本大) 東 憲次

ミオシン軽鎖は HMM に含まれている。

質問

(山形県立新庄病院) 経塚 光夫

ミオシンのリン酸化と収縮張力とは必ずしも相関し

ないというデータも出ていますが、先生はどうお考えでしょうか？

回答

(熊本大) 東 憲次

リン酸化説での、in vivo における discrepancy について

私の実験も in vitro での結果であり、文献的にも phosphorylation theory を in vivo できちんと証明したものは無いと思う。

409. 胎盤付着部における子宮筋蛋白質リン酸化酵素、カルモデュリンの動態

(熊本大)

松井 和夫, 東 憲次, 伊藤 昌春

吉村 寿博, 中村 敏光, 川崎 憲欣

片岡 秀隆, 前山 昌男

(同・第一薬理) 宮本 英七

目的：蛋白質リン酸化反応が、子宮筋の収縮弛緩に関与することが示唆されている。我々は、子宮筋のミオシン軽鎖リン酸化酵素 (MLCK) 活性の女性ホルモンによる変動、さらに妊娠経過に伴い、MLCK の増加と cAMP 依存性蛋白質リン酸化酵素 (APK) の減少という酵素の解離現象を見出し、報告した。ところで子宮筋の胎盤付着部と非付着部では、膜電位及びその伝播に差異があると報告されている。今回、我々はその両者間での収縮性に関する検討を行なう為、MLCK、APK 活性及び MLCK の活性因子であるカルモデュリン (CaM) 量を測定した。

方法：妊娠28日目の家兎より子宮筋を分離し、肉眼的に胎盤付着の有無により分け、ホモジナイズ後、細胞上清分画を得た。一部は DEAE セルロースカラムにかけ、酵素活性は放射性 ATP を用い、CaM は MLCK の活性は放射性 ATP を用い、CaM は MLCK の活性化能により測定した。

成績：(1) 湿重量当り、単位蛋白量当りの MLCK 活性は、付着部で非付着部より有意に高値を示した。(2) 基質にヒストン、プロタミンを用いた時の APK 活性は、湿重量当り、単位蛋白量当りで両者間に差はなく、cAMP への依存性にも変化はなかつた。DEAE セルロースカラム溶出によるアイソザイムパターンに差を認めなかつた。(3) CaM 量は胎盤付着部で有意に高値であつた。以上の結果は、胎盤付着部で Ca^{2+} 依存性蛋白質リン酸化反応が亢進しており、子宮筋が胎盤非着部に比べて、高い収縮能力を保持していることを示唆している。

独創点：胎盤付着部の蛋白質リン酸化反応の検討は

未だなく、付着、非付着の子宮筋収縮性の差を酸素反応より検討することは、胎盤の剝離機序解明に役立つものと思われる。

質問 (日本医大) 鈴木 正勝

Crapo は胎盤付着部の収縮は弱いと云っているが、私たちは多測法では立証出来なかつた。先生の研究成績では収縮能力がないとされているが、実際の収縮は強いのですか？

回答 (熊本大) 松井 和夫

続層筋、輪状筋に分けて測定したことがあるが、差はみられなかつた。また、胎盤付着部におけるリン酸化反応の亢進状態は、収縮しやすい環境、potency を保持していると考えている。

質問 (奈良医大) 平岡 克忠

1. 妊娠末期に酵素活性を胎盤付着部で高くする機構は何でしょうか。

2. 子宮収縮作用物質やステロイドホルモンとの接点はどこでしょうか。

回答 (熊本大) 松井 和夫

① 妊娠28日目 Fetus が入った状態で検討した。

② 制御機構に関しては、検討していない。

③ エストロゲン、プロゲステロンの steroid hormone による蛋白合成を介するミオシン軽鎖に酸化酵素の変動を報告している。

質問 (日本医大) 高橋 通

超音波診断上、妊娠初期に、胎盤付着部に局所収縮を認めることがあるが、先生のデータ上から妊娠前半期と末期の差はあるでしょうか。

回答 (熊本大) 松井 和夫

妊娠初期の胎盤付着の有無による検討は行なっていないが、妊娠中、ミオシン軽鎖リン酸化酵素活性が増加することは報告している。

410. 単一蔗糖隔絶法による妊娠ヒト子宮筋の自発性活動電位とノルアドレナリン、オキシトシン、PGF_{2α} の効果

(佐賀医大) 瓦林達比古、杉森 甫

電気生理学的研究において、多くの実験動物の種々の平滑筋機能の解明に用いられてきた単一蔗糖隔絶法をヒト子宮筋にも応用し、自発性活動電位と収縮を同時に記録してそのパターンを分析することにより、現在までに蓄積された実験動物の子宮筋に関する多くの報告との関連性を考察し、それらの同一点、相違点を明確にして妊娠ヒト子宮筋の細胞膜機能を推論するために今回の実験系を設定した。さらに、交感神経系の

化学伝達物質であるノルアドレナリンの作用を調べ、日常臨床で使用されるオキシトシン、PGF_{2α} の薬理機序についても検討した。材料は、種々の妊娠時期の摘出子宮や帝切時得られる妊娠ヒト子宮の小筋片を用い、灌流液中に投与した薬物の効果を観察した。得られた結果は以下のようであつた。① 妊娠ヒト子宮筋の自発性活動電位はスパイク型、プラトー型、中間型を呈し、付随する収縮と良く同期した。② 妊娠末期子宮峡部筋ではプラトー型を呈するものが多かつたが、スパイク型も観察された。③ 収縮量はプラトー型ではプラトー電位の持続に、スパイク型ではスパイク電位の頻度に依存し、スパイク電位の間隔が短縮すると各単収縮は融合して強縮となつた。④ ノルアドレナリン (2×10⁻⁷g/ml) の α 興奮作用はプラトー型ではプラトー電位を増強し、スパイク型では活動電位のパターンをプラトー型に変化させて収縮増大作用を惹起した。⑤ オキシトシン (10⁻²U/ml), PGF_{2α} (10⁻⁶g/ml) の自発活動におよぼす効果はプラトー型、スパイク型において同様であり、プラトー電位を増強することにより収縮増大作用を呈した。以上より、妊娠ヒト子宮筋は異なつた性格の筋束により構成され、ノルアドレナリン、オキシトシン、PGF_{2α} の収縮増大作用は活動電位のプラトー相を増強することにより惹起されることが示され、妊娠ラット子宮輪走筋のプラトー電位におよぼす外液 Ca イオンの影響より、その増強には外液 Ca イオンの関与が示唆された。

質問 (鳥取大) 前田 一雄

子宮筋電信号増幅には直流増幅器を使つたか。プラトー電位記録をみたとき、交流増幅器使用時のように基線がゆれているかどうか。

回答 (佐賀医大) 瓦林達比古

DC アンプを使用しております。基線のズレは、蔗糖隔絶法の装置のゴム膜を通して、収縮の際、液のモレがあるので起つていると思われます。

質問 (順天堂大) 橋本 武次

2つの薬物(収縮剤)の interaction はあるか？

回答 (佐賀医大) 瓦林達比古

薬物実験の場合、必ずコントロールと、リカバリを観察して次の実験に移りますので、前の薬物の影響は考えなくていいと思います。

411. 子宮平滑筋 Myosin B ATPase 活性に及ぼす Calmodulin の影響について

(東京・佼成病院)

落合 和彦、小池 清彦、小幡 功