

妊娠維持における子宮動脈分枝血管壁増殖の重要性に関する研究

北海道大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 藤本征一郎教授)

牧野田 知 小葉松洋子 十亀 真志
 三国 雅人 根岸 広明 奥田 俊幸
 田畑 雅章 中陳 欣也 藤本征一郎

The Importance of Uterine Vascular Systems
 in the Maintenance of Pregnancy

Satoru MAKINODA, Yoko KOBAMATSU, Masashi SOGAME,
 Masato MIKUNI, Hiroaki NEGISHI, Toshiyuki OKUDA,
 Masaaki TABATA, Kinya NAKAJIN
 and Seiichiro FUJIMOTO

Department of Obstetrics and Gynecology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

概要 モルモットの mesometrial artery は、子宮動脈の分枝で直接胎盤へ流入する部分であり、妊娠に際して増殖し、血流の面から胎児の成長に多大の貢献をしている。この血管壁の正常性周期、正常妊娠時および抗 progesterone 剤 RU38486 30mg/kg 投与による流産に際しての増殖性の変化を測定比較し、血管系の妊娠維持における重要性について検討した。

正常性周期・正常妊娠ならびに RU38486 投与による誘発流産時の mesometrial artery を採取し、 ^3H -thymidine 185kBq/ml を含む Medium 199 で 4 時間培養した。培養後血管組織内に取り込まれた ^3H 量をシンチレーション・カウンターにて計測し、血管壁増殖性の指標とした。

正常性周期の mesometrial artery は diestrus 期には $20 \pm 9 \text{Bq/mg} \cdot \text{h}$ ($M \pm \text{SE}$, 以下同じ) ときわめて低い増殖性であったが、排卵期の Day 1 に向かつて 30 倍以上の急激な増殖を示し、以後漸減した。これに対し正常妊娠時には、モルモットの妊娠の 1st trimester にあたる 20 日未満では $2,825 \pm 1,036$ と排卵期を上まわる高値を示したが、以後 523 ± 105 ($20 \leq d < 30$), 384 ± 36 ($30 \leq d < 40$) と漸減し、分娩直前には 75 ± 10 ($60 \leq d$) という低値となつた。これらの各妊娠時期に RU38486 30mg/kg を投与して流産を誘発し、投与 24~48 時間後で胎仔がまだ生存している場合の mesometrial artery の増殖性を測定したところ、たとえば妊娠 20 日以上 30 日未満の場合には 255 ± 44 と対照に比し有意な低下を見た ($p < 0.05$)。RU38486 投与による mesometrial artery の増殖性の抑制は測定した他の 2nd and 3rd trimester のいずれの時期にも認められ、RU38486 の妊娠モルモット子宮動脈分枝血管壁増殖抑制作用が胎仔の死亡前に発症することが確認された。

以上より、血管系の増殖性の低下が、血管の変性をもたらし、ひいては胎盤への血流量減少となつて流産等が発生することが考えられ、妊娠維持における血管系の重要性が明確にされた。

Synopsis The mesometrial artery (MA), which is the final part of the uterine artery in guinea pig, supplies nutrients and oxygen to the fetus and placenta during pregnancy. Accompanying fetal growth, MA increases 8-fold in diameter, and 30- to 50-fold in weight, protein content and deoxyribonucleic acid (DNA) content. The importance of MA in the maintenance of pregnancy was examined by comparing the proliferative rate of MA during pregnancy and abortion induced by antiprogestosterone RU38486 30mg/kg. MA was incubated in Medium 199 with 185kBq/ml ^3H -thymidine for 4h and the rate of ^3H -incorporation into MA was used as the proliferative rate. The proliferative rate of MA during the first trimester (day < 20) was $2,825 \pm 1,036 \text{Bq/mg} \cdot \text{h}$, which is almost 100 times higher than the rate in diestrus animals. During the later course of pregnancy, the proliferative rate decreased logarithmically, being 352 ± 58 ($40 \leq d < 50$), 158 ± 23 ($50 \leq d < 60$) and 75 ± 10 ($60 \leq d$). The proliferative rate of MA was measured also in animals which received RU38486 30mg/kg at 24~48h prior to the measurement and whose fetuses were still alive. The proliferative rates of MA in such animals decreased markedly to 141 ± 21 ($40 \leq d < 50$) and 37 ± 8 ($50 \leq d < 60$).

($p < 0.01$), which means that the proliferation of MA is reduced even before the death of the fetus. This phenomenon suggests that the vascular systems play an important role in the maintenance of pregnancy.

Key words: Blood flow • Uterine artery • Placenta • RU38486 • Vascular system

緒 言

胎児の子宮腔内発育に際して不可欠なアミノ酸やブドウ糖などの栄養物や酸素は、当然のことながら主として子宮動脈を経由した血流によつて供給されている。妊娠の全期間を通して、ヒトにおいては通常約50gしかない子宮が胎児・胎盤等を含めて最低でも約5kgにまで100倍にも重量を増やすためには、血流量の飛躍的な増大なくしてはありえない。この血流量の飛躍的な増大をもたらすためには、子宮への主要な血行路である子宮動脈自体が増殖し、その内径を拡大することが必要と考えられる。事実、Moll et al.⁸⁾は、モルモットにおいて子宮動脈の分枝で胎児・胎盤への最終血行路である mesometrial artery について詳細な観察検討を行い、妊娠全期間を通じて mesometrial artery は長さで約3.5倍、湿重量・蛋白量・DNA 量が30～50倍にも増加し、その結果血管内径が約8倍になることを報告している（写真1）。このように妊娠期間中に顕著な増殖を示し、血流量の面から胎児の成長に多大の貢献をしている子

宮動脈分枝であるが、今回、本血管壁の正常性周期ならびに正常妊娠中における血管壁増殖性を検討するとともに抗 progesterone 剤である RU38486 投与による誘発流産の場合の mesometrial artery の増殖能を測定し、血管系の妊娠維持における重要性を示唆する所見を得たのでここに報告する。

研究方法

実験動物としては生後70～150日のモルモットを用いた。生後約50日（体重約300g）で生産者（株式会社・ホクドー）より購入し、2匹ずつ cage 内に入れ空調設備下で1日12時間の照明条件のもとで飼育した。日本クレア社製の標準モルモット固形飼料 CG-3 および水を ad libitum で与えた。購入後毎日腔の開口状況を調べ少なくとも1周期以上平均16日の正常腔開口周期を示した動物を実験に用いた。妊娠モルモットは、正常腔開口周期を見ながら、推定排卵日（通常腔開口日の翌日）の2～3日前から雄と mating して作成した。なお一部の後期妊娠モルモットについては生産者より

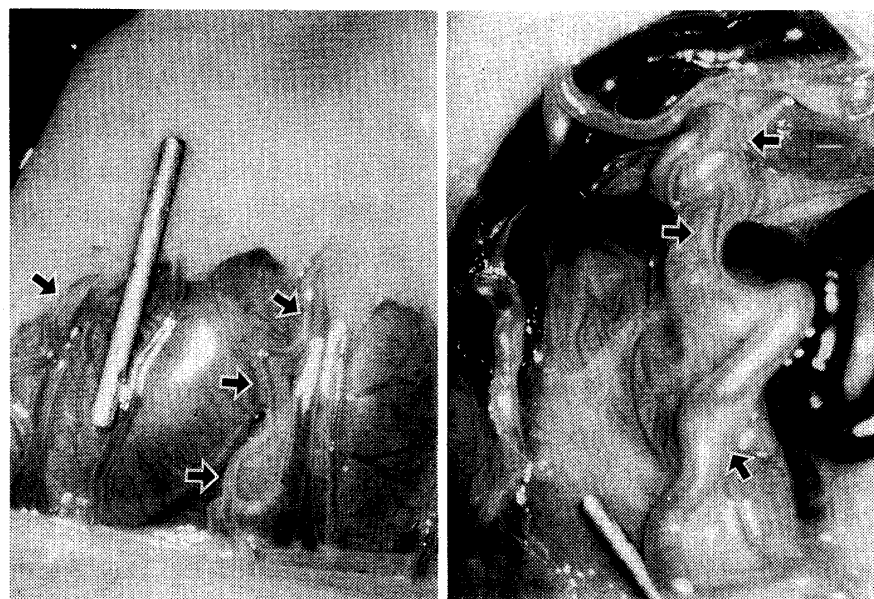


写真1 モルモットの mesometrial artery (矢印)（左：非妊時、右：妊娠60日）。金属棒はスケールとして置いたもので、子宮動脈分枝が増殖し、長さ血管径が延長・拡大していることがよくわかる。

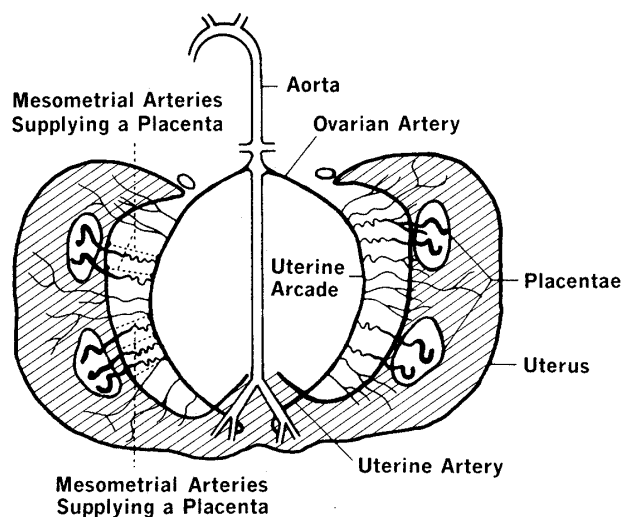


図1 モルモットの子宮を支配する血管系の模式図。

モルモットでは子宮動脈と卵巣動脈が吻合して uterine arcade といわれる弓状動脈を形成しており、ここから mesometrial artery が子宮に分布している。

購入し、Kaufmann⁴⁾による胎児頭殿長(CRL)からの妊娠日数推定式

$$\text{gestational age (d)} = \sqrt{33 \times \text{CRL (mm)}}$$

を用いて妊娠日数を算定した。

モルモットでは図1に示すように子宮動脈と卵巣動脈が吻合して uterine arcade といわれる弓状動脈を形成しており、ここから子宮へ向かつて mesometrial artery といわれる放射状動脈が伸びている。この動脈は妊娠時に胎児・胎盤へ分布する最終動脈となり胎児の発育に重要な役割を果たしていると考えられる。

Pentobarbital sodium (ネプタール：大日本製薬) 30mg/kg を腹腔内投与して得られた麻酔下で mesometrial artery ならびに対照として carotid artery を摘出し図2に示す Makinoda et al.⁵⁾の方法に従って血管壁の増殖性を検討した。

すなわち摘出血管を 6%CO₂ を含む空気中で 185kBq/ml (5μCi/ml) の methyl-³H-thymidine ならびに penicillin (15IU/ml), streptomycin (15μg/ml), vitamin C (0.1mg/ml) を含む pH 7.4 に調整された Medium 199 で 4 時間培養した。培養後ただちに生理食塩水で十分洗浄したのち、10%過塩素酸中で 10 分間十分に振盪した。その後、組織溶解液 Soluene®-350 (Packard) で溶解した

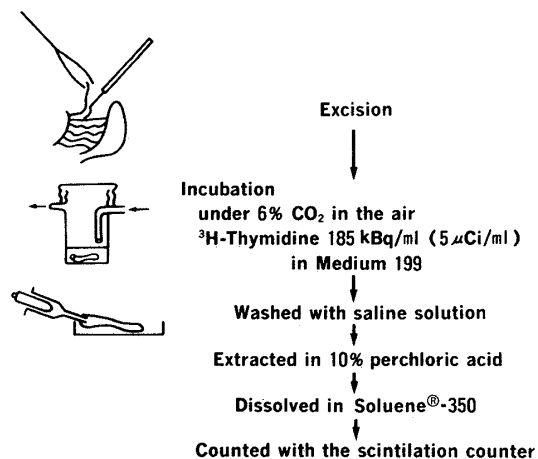


図2 ³H-thymidine を用いた血管壁増殖性測定方法の模式図。

のち、酢酸で中性化して 5g/l 2,5-diphenyloxazole (PPO), 0.5g/l p-bis-(o-methylstyryl)-benzene (MSB) を含む xylene 20ml を加え β カウンターにて ³H の up take を測定した。

上記のような方法で、正常性周期の mesometrial artery ならびに carotid artery および正常妊娠時の mesometrial artery の血管壁増殖性を妊娠経過に従って測定するとともに、抗 progesterone 剤である RU38486 を 30mg/kg 投与後、24~48 時間目に同様に血管を採取し、血管壁増殖性の変化を比較検討した。

研究成績

正常性周期における mesometrial artery および carotid artery の血管壁増殖性の変化を図3に示す。モルモットでは前述したように平均16日周期のヒトと同じ完全黄体周期を持つており、この性周期に応じ mesometrial artery は周期的な増殖をくり返していることがわかる。すなわち膣開口日を Day 0 とすると、Day 8~14 までの diestrus 期においては、20±9Bq/mg・h (M±SE, 以下同じ) と carotid artery とほぼ同様なきわめて低い増殖性を示しているが排卵期の Day 1 に近づくとつれて平均値で Day 15 99.8, Day 0 164.4, と上昇し、Day 1 で 722.4 というピーク値を示したのち、徐々に減少し、Day 8 で diestrus 期レベルに戻った。mesometrial artery のこのような周期的な変化に対し、頸動脈は、全く周期的な変化を示さず、diestrus 期レベルの低値に一定していた。こ

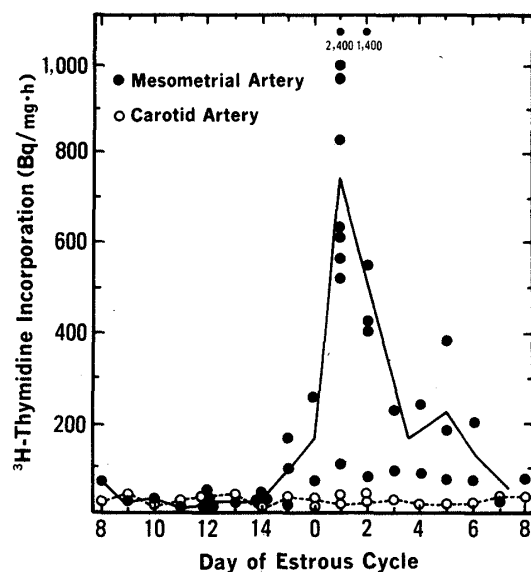


図3 正常性周期における mesometrial artery および carotid artery の血管壁増殖性の変化。腔開口日を Day 0 とし排卵日は通常 Day 1 である。

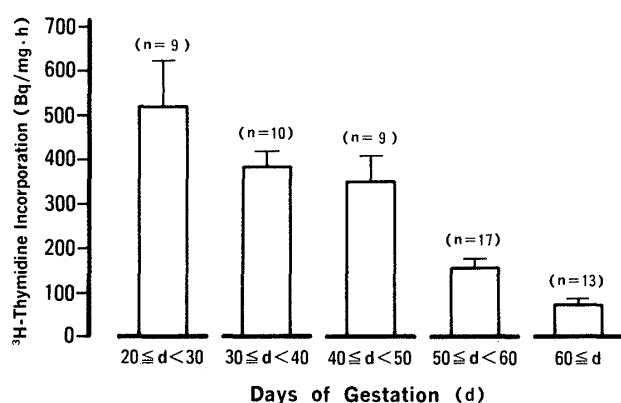


図4 正常妊娠2nd, 3rd trimesterにおける mesometrial artery 血管壁増殖性の経時的推移。妊娠の進行に伴って血管壁増殖性は低下した。

の現象は子宮内膜等の組織と同様に、子宮動脈分枝においても、その増殖が性周期の支配を受けていることを示す所見と考えられる。

一方、妊娠中における mesometrial artery の増殖性は妊娠日数の進行とともに急激に減少していった。モルモットの通常妊娠期間（65日）の1st trimester にあたる妊娠20日未満では mesometrial artery の増殖率は $2,825 \pm 1,036 \text{ Bq/mg} \cdot \text{h}$ ($n=4$) と通常性周期の排卵期である Day 1 を上まわる高値を示したがその後は図4に示すごとく、妊娠20日以上30日未満では 523 ± 105 、30日以上40

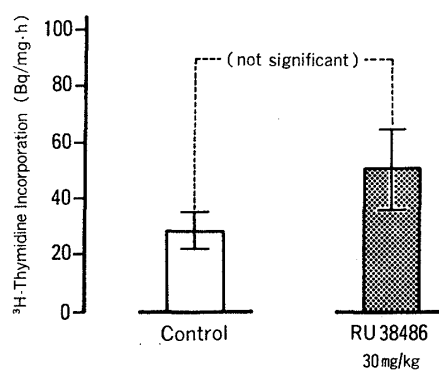


図5 卵巣摘出モルモットに RU38486 30mg/kg を投与した際の mesometrial artery 壁の増殖性の変化。若干の増殖性の亢進が見られたが、統計学的な有意差は認められない。

日未満では 384 ± 36 と徐々に減少し2nd trimester の期間中では estrous 期、妊娠前半期の50%以下の値しか示さなかつた。この傾向は妊娠40日以上50日未満では 352 ± 58 、50日以上60日未満でも 158 ± 23 、60日以後で 75 ± 10 と子宮動脈の肥大拡大にもかかわらず、重量当りの増殖率は明らかに低下した。

このような正常性周期および正常妊娠経過をとる子宮動脈分枝の増殖性に対し、抗 progesterone 剤である RU38486 がどのような影響を与えるかを検討した。まず卵巣摘出モルモットに RU38486 を 30mg/kg 投与した場合、子宮動脈分枝の増殖性がどのように変わるかを検討した。RU38486 投与48時間後に mesometrial artery を取り出し同様な方法で増殖能を測定したところ図5に示すように RU38486 投与群では対照の 28.5 ± 7.7 に比し、 50.6 ± 14.4 と高値を示したが、統計学的な有意差は認められなかつた。このことは RU38486 自身は mesometrial artery 壁増殖に何らの影響も与えないことを示す所見といえる。そこで、腔開口周期観察法で妊娠と確定できる妊娠20日以上2nd and 3rd trimester の期間に RU38486 30mg/kg をモルモットに投与し、投与後24～48時間後に胎仔が胎動などで生存していることを確認できた例についてのみ、同様の方法で mesometrial artery の増殖性を測定した。その結果、妊娠20日以上30日未満の期間では対照の正常妊娠時 523 ± 105 に比し RU38486 投与群では 255 ± 44 と有意な低下を示

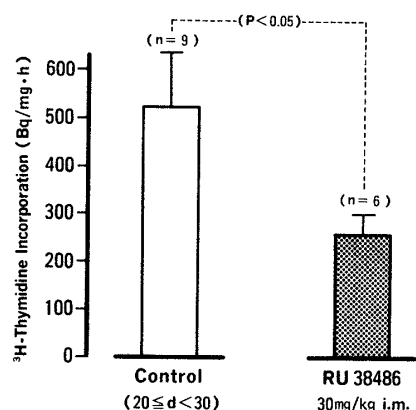


図6 妊娠20日以上30日未満の期間の対照群とRU38486 30mg/kg投与群のmesometrial artery壁増殖性の比較。胎仔の生存中でありながら、血管壁の増殖性は有意に低下している ($p < 0.05$)。

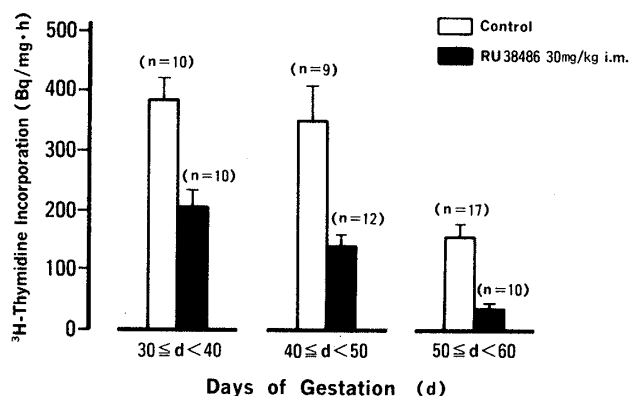


図7 妊娠30日以上10日ごとの期間の対照群およびRU38486投与群のmesometrial artery壁増殖性の比較。いずれの期間においてもRU投与群で血管壁増殖性の低下が認められる ($p < 0.01$)。

した($p < 0.05$) (図6)。同様な結果は図7に示すように測定したすべての妊娠期間中に認められ、RU38486の妊娠モルモット子宮動脈分枝血管壁増殖抑制作用が胎仔の死亡前に発症することが確認された。

考 案

胎児の発育に際して不可欠な栄養や酸素は母体から主として子宮動脈を介して胎盤に運ばれ胎児に供給されている。胎盤血流量が児の発育を大きく支配していることは、子宮内発育遅延児を出生した妊婦の子宮胎盤血流量が正常妊婦に比して減少しているという Nylund et al.⁹⁾の報告からも明らかであり、胎児の発育における血行の重要性が

広く認められているといえる。

胎児への血行の重要性を研究する際、モデル動物として現在まで多数の動物が用いられてきたが、わが国においては、研究費等の予算的な面からラットやマウス等の小動物がその主流をしめていた。これらの動物は妊娠期間も短く繁殖力も旺盛であるため実験動物として適切なものではあるが、正常性周期を研究する場合、不完全黄体周期であるという欠点があった。そこで今回われわれは、実験動物として完全黄体周期をもち、かつヒトと同じ hemochorial placenta をもつモルモットを用いた。モルモットは生後60日前後で性周期を開始し、通常性周期は16日、妊娠期間は約65日である。腔開口観察によつて性周期を判定でき、腔開口日を Day 0 とすると排卵はふつう Day 1 に認められる。

さて、モルモットにおいてもまた胎盤血流が胎児体重を左右する¹⁰⁾といわれており胎盤血流を支配する因子についていろいろ検討されている。胎盤への血流は、モルモットにおいては図2に示すように、mesometrial artery といわれる子宮動脈分枝がつかさどっており、この動脈を通る血流量の飛躍的な増大なくしては胎児の発育もありえない。血流量の増大のためには、mesometrial artery 内の血流速度が増すか、血管内径の拡大が必要になってくるが、Ramsey et al.¹²⁾, Egund et al.³⁾ら多くの研究者が指摘するように mesometrial artery の増殖・内径の拡大が血流量増加の主役をなしていると考えられる。この動脈の妊娠中における形態的・生化学的变化については Moll et al.⁸⁾の文献に詳しく述べられており、妊娠全期間を通じて長さが約3.5倍、湿重量・蛋白量・DNA 量が30~50倍にも増殖するといわれている。その結果、血管の内径は8倍にも増加し胎盤への血流量増加、ひいては胎児の発育に大きく貢献している。血管壁のこのような急激な増殖はDNA量が増加することからも、単なる hypertrophy ではなく hyperplasia であることが十分示唆されることから、今回著者らは血管壁の増殖性を³H-thymidineを用いた方法によつて検討した。

まず最初に非妊娠時の正常性周期における本血

管の増殖性の変化を carotid artery と比較し測定検討した。それによれば図 3 に示すように mesometrial artery は性周期によく連動した変化を示し、diestrus 期にはきわめて低値を示していたのが、排卵期の Day 1 に近づくにつれ急激な増殖性の亢進を示し、Day 1 で diestrus 期の約 30 倍近い増殖性のピークを呈したのち漸減した。これに対し、carotid artery は性周期には全く影響されず、常に mesometrial artery の diestrus 期レベルの低増殖性を示していた。このことは子宮動脈分枝壁も他の一般臓器と異なり、子宮内膜等の生殖器と同様に、性周期の支配を受け増殖をくりかえしており、性ステロイドの target organ であることを示す所見と考えられる。

性ステロイドの何が本動脈の増殖に大きな影響を与えるかについては、Makinoda et al.⁵⁾が示しているように、卵巣摘出モルモットにおいて estradiol の投与が本動脈壁の増殖性を dose dependent に亢進させることから、estrogen が最も強く疑われている。Estrogen が種々の子宮組織で周期的な mitosis の変化を起こすことを Marcus⁶⁾、Mehrotra et al.⁷⁾が報告しているが、子宮へ血流を供給する子宮動脈分枝においてもこのような増殖性をもつことは大変興味深いといえる。では、妊娠という生殖器官のもつ最大の使命に際して mesometrial artery はどのような増殖性の変化を示すのであろうか。前述した Moll et al.⁸⁾によれば血管内径が 180μ から $1,500\mu$ へと 8 倍もの拡大を示す際に、血管壁の厚さも内径程の拡大ではないが、 30μ から 70μ へと 2.3 倍もの厚さになっているという。この値から求めた血管壁厚/内径比は 0.17 から 0.06 へと減少しているが、血流量の多い妊娠末期の血管壁厚/内径比 0.06 という値は、体内で最も血流量が多い動脈である肺動脈と同じ値であり、妊娠末期の増加した血流量に十分耐えうる値と考えられる。さてこのように、血管壁が肥厚する場合、組織学的に見てもまた DNA 量の増加という点からしても、血管壁の肥厚は hypertrophy ではなくて hyperplasia すなわち血管壁細胞の増殖によつて行われていることが今回われわれの方法によつて明らかにされた。血管壁細胞

の妊娠時における増殖性は妊娠の 1st trimester に非妊時の diestrus 期の $20 \pm 9 \text{Bq/mg} \cdot \text{h}$ に比し 100 倍以上の $2,825 \pm 1,036$ というきわめて高い増殖性を示したのち、徐々に減少していった。Mesometrial artery の妊娠時の湿重量・蛋白量・DNA 量などは、妊娠の進行に伴い急激な増加を示すのに比すと全く対照的な結果となるが、単位重量当りの ^3H -thymidine の up take 量という増殖性は初期にきわめて亢進し、その結果として湿重量・蛋白量・DNA 量などが増して妊娠末期にはネズミ算式に急激な増加を示すと考えると全くよく理解できる現象である。

では、妊娠時の本血管の増殖性はどのような因子によつて支配されているのであろうか。非妊時の増殖性については estrogen の支配によることが前述されたように明らかであるが、Batra et al.¹⁾が報告しているようにモルモットの末梢血中 estradiol 濃度は、非妊時に $29.8 \pm 6.0 \text{pg/ml}$ 、妊娠中期で 20.5 ± 4.5 と低い。妊娠の進行につれて上昇し妊娠末期には 59.3 ± 8.9 と 3 倍にも増加するという。この結果はわれわれの測定した増殖性の変化とは全く相反する結果を示しており、妊娠時には血管の増殖性が非妊時の estrogen とは全く別の mechanism によつて control されているのか、もしくは非妊時の estrogen による血管壁増殖性の促進も、estrogen が何らかの mediator を介して働き、妊娠時には他の因子がこの mediator を刺激しているのかもしれない。どちらにしろ妊娠時の血管増殖因子については、今後の研究の進展に期待したい。

ところで、いかなる mechanism で mesometrial artery の増殖性が control されているかは不明にしろ、この動脈が胎盤へ血流を供給して妊娠維持に大きな役割を果たしていることは明白な事実である。抗 progesterone 剤である RU38486 は、フランスの Roussel uclaf 社で開発され、強い抗 progesterone 作用により、ヒトをはじめ多数の動物で着床阻止作用や流産誘発作用があり¹¹⁾、morning after pill や流産誘発剤としての臨床応用が考えられている。この RU38486 を 30mg/kg 投与し、24~48 時間後でまた胎児が胎動を示し生

存している例で mesometrial artery の増殖性を測定してみた。その結果は、胎児がまだ生存しているにもかかわらず、mesometrial artery の増殖性は妊娠の2nd, 3rd trimester のいずれにおいても有意に低下していた。RU38486による流産誘発においては、Schindler et al.¹³⁾による電子顕微鏡的観察によると RU38486の target となるのは、胎盤ではなく母体側の脱落膜の成分であり、とくに毛細血管の内皮細胞であるといわれており、臨床的には脱落膜からの子宮出血が RU38486投与4日以内におこりこれが初発症状とされている²⁾。本研究で妊娠中の RU38486投与によつて増殖性の低下が明らかにされた mesometrial artery は、脱落膜の毛細血管のすぐ上位に相当する血管であり、この血管に対しても RU38486が直接作用することは十分考えられることである。RU38486により mesometrial artery の増殖が抑えられ血管の変性をきたし、胎盤への血流量の低下をもたらし、流産発症の一因をつくっていることが十分に推察される。今回のわれわれの実験で正常妊娠期間中に比べ、児の死亡という現象の発現以前に血管壁の増殖性が低下していることが明らかにされたことは、今後より詳細な検討が必要ではあるが、妊娠維持における血管系の重要性を指摘することができた点で意味深いものと考えられる。

文 献

1. *Batra, S., Sjoeborg, N.O. and Thorbert, G.* : Sex steroids in plasma and reproductive tissues of the female guinea pig. *Biol. Reprod.*, 22 : 430, 1980.
2. *Couzinet, B., Le Strat, N., Ulmann, A., Baulieu, E.E. and Schaison, G.* : Termination of early pregnancy by the progesterone antagonist RU486 (Mifepristone). *N. Engl. J. Med.*, 315 : 1565, 1986.
3. *Egund, N. and Carter, A.M.* : Adrenergic and cholinergic responses in the uteroplacental vascular bed of the guinea-pig. *Acta Radiol. Diag.*, 21 : 387, 1980.
4. *Kaufmann, P.* : Die Meerschweinchenplacenta und ihre Entwicklung. *Z. Anat. Entwickl.*, 129 : 83, 1969.
5. *Makinoda, S. and Moll, W.* : Deoxyribonucleic acid synthesis in mesometrial arteries of guinea pigs during oestrous cycle, pregnancy and treatment with oestradiol benzoate. *Placenta*, 7 : 189, 1986.
6. *Marcus, G.J.* : Hormonal control of proliferation in the guinea-pig uterus. *J. Endocrinol.*, 63 : 89, 1974.
7. *Mehrotra, S.N. and Finn, C.A.* : Cell proliferation in the uterus of the guinea-pig. *J. Reprod. Fertil.*, 37 : 405, 1974.
8. *Moll, W., Espach, A. and Wrobel, K.H.* : Growth and dilation of mesometrial arteries in guinea pigs during pregnancy. *Placenta*, 4 : 111, 1983.
9. *Nylund, L., Lunell, N.O., Lewander, R. and Sarby, B.* : Uteroplacental blood flow index in intrauterine growth retardation of fetal or maternal origin. *Brit. J. Obstet. Gynecol.*, 90 : 16, 1983.
10. *Peeters, L.L.H., Grutters, G. and Martin, C.B.* : Distribution of cardiac output in the unstressed pregnant guinea pig. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 138 : 1177, 1980.
11. *Philibert, D., Moguilewsky, M., Mary, I., Lecaque, D., Tournemine, C., Secchi, J. and Deraedt, R.* : Pharmacological profile of RU486 in animals. In the Antiprogesterin Steroid RU486 and Human Fertility Control (eds. E.E. Baulieu and S.J. Segal), 49. Plenum Press, New York & London, 1985.
12. *Ramsey, E.M., Chez, R.A. and Dopppman, J.L.* : Radioangiographic measurement of the internal diameters of the uteroplacental arteries in rhesus monkeys. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135 : 247, 1979.
13. *Schindler, A.M., Zanon, P., Obradovic, D., Wyss, R., Graff, P. and Herrmann, W.L.* : Early ultrastructural changes in RU-486-exposed decidua. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 20 : 62, 1985.

(No. 6577 平1・3・7受付)