

172 妊娠ラット子宮筋におけるK channel openerの収縮抑制反応に関するnucleotide cyclaseの役割

福島県立医大

大川敏昭、浅野仁覚、加藤克彦、野村泰久、北野原正高、鈴木庸介、柳田薫、佐藤章

【目的】cAMPやcGMPは子宮筋において妊娠中期に増加するため、子宮収縮抑制に重要な働きをしている。また、K channelは活性化されると子宮収縮が抑制されることが知られている。今回妊娠中期(14日目)及末期(21日目)のラット子宮筋を用いて、K channel opener による収縮抑制反応におけるこれらのcAMPやcGMPの関与について検討した。【方法】5%CO₂+20%O₂で飽和させた37℃のKrebs-Henseleit 液に摘出子宮筋標本を懸垂し、Magnus装置にて等尺性の収縮を観察した。薬物はCa-dependent K (KCa) channel opener; NS1619 (NS) 及KATP channel opener; levcromakalim (LCK)、adenylate cyclase inhibitor; MDL12330(MDL; 10⁻⁵M)とSQ22536 (SQ;10⁻⁴M)、guanylate cyclase inhibitor; LY83583(LY; 10⁻⁶M)を使用した。【成績】NSとLCKは妊娠中期及末期の子宮筋収縮を容量依存性に抑制し、LCKの方がNSより作用が強く認められた。NSの最大反応は妊娠末期に比し有意に中期に増大したが、LCKの反応に妊娠時期による差は認められなかった。MDLは妊娠中期及び末期のLCKとNSの反応を有意に減弱させたが、SQはこれらの反応に影響を与えなかった。LYは妊娠中期のLCKによる収縮抑制反応を減弱させたが、末期の反応には関与しなかった。また、LYはNSの反応には影響を与えなかった。【結論】(1)自然子宮収縮におけるadenylate cyclase とguanylate cyclaseの活性は妊娠時期で異なる。(2)cAMPはKCa及 KATP channel の開口に関与している。(3)cGMPは KATP channel の開口に関与しており、また妊娠時期で反応が異なる。(4)cAMP及cGMPはK channel を介して、妊娠中期の子宮収縮抑制作用に重要な働きをしていることが示唆された。

173 妊娠末期ヒト子宮筋におけるL型及びT型電位依存性Ca²⁺チャンネル遺伝子の発現動態

山形大

手塚尚広、廣井正彦

【目的】子宮平滑筋の興奮収縮連関には、電位依存性Ca²⁺チャンネル(VDCC)の役割が重要である。現在まで、その遺伝子発現に関する報告はL型のみである。最近、T型VDCC cDNAが漸くクローニングされた。そこで本研究では、ヒト子宮筋におけるL型及びT型VDCC mRNAの発現と陣痛との関係を調べ比較検討した。【方法】妊娠末期の帝王切開時、患者の同意のもとに子宮下部横切開創上縁より採取したヒト子宮筋を、陣痛未発来(NL)群と陣痛発来(OL)群に分けた。全RNAを抽出した後、我々が独自に設計したL型、T型VDCC cDNAの一部を規定するprimerを用いてRT-PCRを行った。その際のPCRは、指数増加期にあることが確認されている。PCR産物を電気泳動・染色の後、デンシトメーターにて計測し比較定量した。【成績】NL群(n=8)とOL群(n=7)の患者背景に有意差を認めなかった。両群共に、検討した全ての子宮筋において発現パターンに差異は無かった。PCRの反応特異性は、L型、T型共にPCR産物の塩基配列が既に報告されている配列と高率に一致したことによって確認された。NL群とOL群を比較すると、大小2つのL型VDCC増幅遺伝子の発現はそれぞれOL群で23.2%、25.7%に減弱していた。また、T型VDCC増幅遺伝子の発現は両群間に有意差を認めなかったが、L型と同様の傾向を示していた。【結論】ヒト子宮筋におけるT型VDCC mRNAの発現を初めて検出確認した。OL群で示されたL型VDCC mRNA発現の抑制は、NL群の高いmRNAレベルの結果として合成され増加したVDCC蛋白による制御の可能性がある。妊娠末期ヒト子宮筋の収縮には、L型のみならずT型VDCCをも介する分子機構の関与が推定された。

174 絨毛脱落膜における陣痛発来前後の発現遺伝子の比較

大阪大

荻田和秀、木村 正、松村洋子、楠井千賀、藤川智之、信永敏克、徳川吉弘、古山将康、東 千尋、村田雄二

【目的】陣痛発来の機序は様々な説があり、今だ明らかになっていない。そこで我々は陣痛を調節する遺伝子群を明らかにする目的で、以下の実験を行った。【方法】自然経膈分娩群(以下L+群)及び予定帝王切開群(以下L-群)の妊娠満期絨毛脱落膜における発現遺伝子の差を検討するため、各3症例の絨毛脱落膜からmRNAを抽出しcDNA合成を行った。両群cDNAをsuppressive subtraction PCR法を用いて選択し、subtractive cDNAライブラリーを作成した。これらのクローンの塩基配列を決定し、homology searchを行ない、更にNorthern blottingにて発現量の差を確認した。組織内での発現の局在を、in situ hybridizationにて検討した。【成績】L-群からL+群を引いたsubtractive cDNAライブラリーにおいて、fibronectin(FN)、decorin(DCN)のクローンが得られた。Northern blottingにて、FN、DCNともにL-群でL+群より強いシグナルを検出した。In situ hybridizationでは、FNはL-群の絨毛膜に多く発現し、一方DCNはL-群の脱落膜に多く発現していた。【結論】今回我々は絨毛脱落膜上で陣痛の有無によってダイナミックに制御されている遺伝子群の存在を初めて明らかにした。FNは破水の診断に用いられており、DCNはTGFβのinhibitorとして知られているが、これらの陣痛発来における役割は更なる検討が必要である。同様な発現差を示す新規遺伝子を複数個得たが、これらについても現在解析を進めている。