

妊娠中毒症におけるプロスタグランジンに対するヒト臍帯静脈内皮細胞内のカルシウム反応

Intracellular Calcium Mobilization Stimulated By Prostaglandins to Toxemia of Pregnancy in Human Umbilical Venous Endothelial Cells

金沢医科大学産科婦人科教室

鄒 麗、桑原惣隆

Department of OB/GYN Kanazawa Medical University

Li Zou, Souryuu. Kuwabara

緒 言

一連のプロスタグランジン (PGs)、特に PGE₂, PGF₂ α, PGI₂ および TXA₂ は妊娠中毒症に密接な関係があることが多数報告されている。血管内皮細胞は、血管拡張あるいは収縮物質を産生、分泌し、血管のトーンズの調節に深く関わっている¹⁾。一方、ヒトの臍帯血管は何ら神経支配を受けていないと報告されている²⁾。Cai ら³⁾ は臍帯内皮細胞に多種類の血管作動性物質が存在することを証明し、胎児胎盤系の血管作動性物質の産生源とすることを示唆している。しかし、胎児胎盤系循環調節にはまた不明点が多い。今回は胎児胎盤循環血流量の調節および妊娠中毒症時の変化を解明するために、PGs を単離されたヒト静脈内皮細胞 (HUVEC) に添加して、臍帯内皮細胞内カルシウムイオン [(Ca²⁺)_i] の変動を測定したので報告する。

対象と方法

対象と方法は図1のこく示した。

PGs の刺激としては一視野に 5~10 個の細胞となるよう調整した。刺激する前に、HUVEC の fluo-3 Image 画像は静止状態として記録した。その後、PGs を直接 HUVEC に puff して、連続的に画像を取った。また Ca²⁺ 2mM を含む Medium (Medium)、Ca²⁺-free+1mMEGTA の PBS [PBS (-)] および Nifedipine 前処置後を細胞外液置換

後に加えて同様に (Ca²⁺)_i 画像を観測した。一種類の刺激物質を添加し、画像を取った後、PBS (-) で三回洗浄後、次の刺激を行う前に Medium 中で 10 分間培養させ、細胞内の蛍光強度は静止状態に戻ることを確認した。

成 績

PGs で刺激したとき HUVEC の (Ca²⁺)_i 濃度変化結果は表 1. にまとめた。

PGE₂ の作用により Ca²⁺ 2mM が存在した時、全ての細胞において (Ca²⁺)_i の上昇作用を認め、両群には有意差を見られなかった。妊娠中毒症における PGI₂ の作用は HUVEC 内の (Ca²⁺)_i 濃度を急速に上昇させ (約 40%)、約一分後には下降し、静止状態よりも高いレベルで plateau となることが観察されたが、正常群に対して Ca 反応を惹起できなかった。正常群の HUVEC において PGF₂ α と TXB₂ の作用はほぼ同じで、特に隣接する細胞の反応は不統一で反応する細胞数も少なかった (約 30% を占めた)。また、妊娠中毒症では Ca の反応を認めなかった。

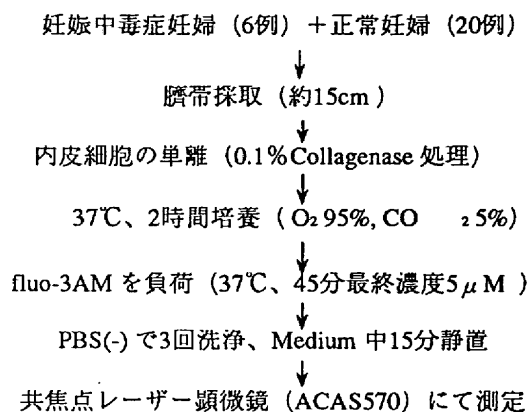
考 察

妊娠中毒症の成因はなお不明である。最近では血圧調節因子としては臓器や組織内で産生され局所で作用する血管作動性物質即ち一酸化窒素、プロスタグランジン、エンドセリンなど関

与が重要視されている。胎盤循環調節の主要因子は自律神経因子ではなく体液性因子であることを報告されている4)。しかし、臍帯静脈内皮細胞内カルシウムの変化はどうなったか、臍帯内皮細胞でのカルシウム増加はPGsによるものかなおわかっていない。我々の成績よりPGE2刺激に対するCa反応は、PGE2投与により $(Ca^{2+})_i$ の上昇反応はL型カルシウムチャネルブロッカーであるNifedipineの影響を受けない、そして細胞外液 Ca^{2+} イオンに依存することが分った。これは内皮細胞におけるCa反応は非選択性陽イオンチャネルによるものと考えられ、PGE2による $(Ca^{2+})_i$ の増加は細胞内 $(Ca^{2+})_i$ の放出と細胞外液からのカルシウム流入によるものと思う。妊娠中毒症および正常妊婦におけるHUVECのPGE2によるCaの持続反応を見られた。これはHUVECもPGE2作用によりある種類の物質を分泌する可能性が示唆した。一方、妊娠中毒症群におけるHUVECのPGI2によるCa反応パターンがBradykinineによる内皮細胞からEDRF分泌時のCa反応パターンとよく似ていることから妊娠中毒症時PGI2は内皮細胞を通じて血管弛緩物質の分泌に働くことを示唆し、同時に内皮細胞の $(Ca^{2+})_i$ 基礎濃度が増加させ、PGE2の作用を増強する相互作用があるかも知れない。細胞内カルシウムによるカリウムコンダクタンスの増大は過分極によって非選択性陽イオンチャネルからのカルシウム流入を増大して内皮由来弛緩因子(EDRF)を放出させることが示唆された。今回の結果より妊娠中毒症群におけるCa反応の特徴からPGI2とPGE2が特に妊娠中毒症における胎児胎盤系の血管拡張因子であることおよび相互作用があることを示唆した。一方、正常妊娠におけるPGF2 α とTXB2の作用において $(Ca^{2+})_i$ の隣接細胞で一致しない現

象は正常生理状態下では血管性疾患発病を防止するための反応と考えられる。

図1 対象と方法



	The peak levels of intercellular calcium (%)		Last time (min)		Cells number of responded (%)	
	Control	Toxemia of pregnancy	Control	Toxemia of pregnancy	Control	Toxemia of pregnancy
Prostaglandin E ₂	70-80%	70-80%	30-45	30-45	90-100%	90-100%
Prostaglandin I ₂	<10%	30-40%	/	1-1.5	/	>90%
Prostaglandin F ₂	60-70%	/	3-4	/	<30%	/
Thromboxane B ₂	200-300%	/	1-1.5	/	<30%	/

Table 1. The parameter of intercellular calcium mobilization stimulated by prostaglandins in the human umbilical venous endothelial cells.

Reference

1. Rubanyi, G. M. : Endothelium-derived relaxing and contracting factors. J Cell Biochem. 46 : 27-36, 1991.
2. Fox, S. B. and Khong, T. Y. : Lack of innervation of human umbilical cord. An immunocytochemical and histochemical study. Placenta. 11 : 59-62, 1990.
3. Cai, W. Q., Dikranian, K., Bodin, P., Turmaine, M. and Burnstock, G. : Colocalization of vasoactive substances in the endothelial cells of human umbilical vessels. Cell Tissue Res. 274 : 533- 538, 1993.
4. Ckark, K. E., Irion, G. L. and Mack, C. E. : Differential responses of uterine and umbilical vasculatures to angiotensin II and norepinephrine. Am J Physiol. 259 : H197-H203 ; 1990.