

2、早産発来の内分生化学的研究

①-②. ヒト妊娠子宮における oxytocin receptor および steroid receptor について

日本大学医学部産科婦人科学教室

高木 繁夫・吉田 孝雄
田 根 培・山本 幸一
小山 陽一・坂元 秀樹

目 的

ヒトの陣痛発来に関連する主要因子の一つとして oxytocin (OT) があることに異論はない。しかしその標的臓器である子宮筋での動態と作用機構についての検討、報告は未だ認められず、ヒトにおける陣痛発来機序を解明する隘路となっている。よって我々は、ヒト子宮筋における OT receptor について kinetic な分析を行い、さらに OT に関連して作働するものとされる estradiol (E_2) と progesterone (Δ^4P) についてもそれぞれの receptor level での検討を行い、それと陣痛発来との関連についての機構の一端を明らかにすることを目的とした。

研究 方 法

非妊時、妊娠初期および妊娠末期において子宮全摘出術または帝王切開術に際して得た子宮筋、さらにポロー氏手術で得た子宮筋については、底部、胎盤附着部、その対側部、頸部を区分し、それらについての実験を行った。それぞれの試料は 4℃以下に Tyrode's buffer とともに homogenize し、20,000xG pellet は OT receptor assay に、105,000xG supernatant は E_2 、 Δ^4P receptor assay に供した。また 3H -labeled OT は我々が新しく合成に成功したものであり、その specific activity は 19 Ci/mM, biologic activity は 350 U/mg であった。実験条件は前者で、20℃, pH 7.4, 90 分間の incubation, 後者で 4℃, pH 8.0, 120 分間の incubation を設定した。また receptor kinetics をその親和性および結合部位数により分析し、前者の指

標として apparent dissociation constant (Kd), 後者の指標として number of binding site (NBS) を用い、それぞれ Scatchard plot から算出した。

成 績 と 考 案

非妊子宮筋における OT, E_2 と Δ^4P receptor の Kd はそれぞれ、1.66, 0.5 と 1.0 ($\times 10^{-9}$ M), NBS はそれぞれ、 1.0×10^{-12} , 8.3×10^{-13} と 0.8×10^{-13} (moles/mg protein) となり、妊娠初期の Kd は、1.64, 1.7 と 0.7 ($\times 10^{-9}$ M), NBS は 1.1×10^{-12} , 4.3×10^{-13} と 7.0×10^{-13} (moles/mg protein) となった。つぎに自然陣痛未発来例と発来例について比較すると、前者の Kd はそれぞれ、1.25, 1.7 と 0.3 ($\times 10^{-9}$ M), NBS は 4.7×10^{-12} , 4.3×10^{-13} と 7.0×10^{-13} (moles/mg protein), 後者の Kd は、1.25, 0.2 と 0.7 ($\times 10^{-9}$ M), NBS は 1.6×10^{-12} , 4.10×10^{-13} と 1.20×10^{-13} (moles/mg protein) となった。したがってこれらの成績から、OT receptor の親和性は妊娠経過あるいは陣痛発来の有無によっても有意の変動がなく、その結合部位数のみが妊娠末期に約 4 倍に増加し、また陣痛発来例ではそれが約 $1/4$ に減少することになる。一方、 E_2 の結合親和性、結合部位数は妊娠時むしろ低下するが、陣痛発来例ではそれぞれ妊娠初期の約 10 倍、9 倍の上昇となる。 Δ^4P の結合親和性は妊娠末期には非妊時の約 3 倍、結合部位数は約 9 倍の上昇となるが、陣痛発来例では両者ともに低下する。すなわち、妊娠初期においては E_2 親和性は Δ^4P のその約 $1/2$ にとどまるのに対し、妊娠末期陣痛発来例で

は約3倍となり、KdとNBSの E_2/Δ^4P 比をみると、妊娠初期では2.43と0.61、末期では0.67と3.4となる。したがって、結合親和性と部位数ともに妊娠初期では Δ^4P が E_2 を上まわりますが、妊娠末期、就中、陣痛発来例では E_2 優位となることが証明された。一方、採取した子宮筋の各部位で比較すると、OTのKdはいずれの部位でも一定して変動がなく、NBSは胎盤附着部で 44.0×10^{-3} (moles/mg protein)となりもっとも高く、また E_2 と Δ^4P とはそれらの局圧変動を認めることができなかった。すなわち従来、ヒト子宮筋のOTに対する感受性は妊娠の進行に比例し上昇することが知られているが、今回の成績から、この機序の一端は、妊娠の進行に伴って増加するOT receptorの結合部位数にあるものと推測された。また陣痛発来例での結合部位数が未発来のそれに比べて低いことは、OT receptorの一部が陣痛発来機序中で消費されたとも考えられる。 E_2 、 Δ^4P receptorの親和性、結合部位数の変動が陣痛発来に関与する機序については、今後の検討に待たねばならない。

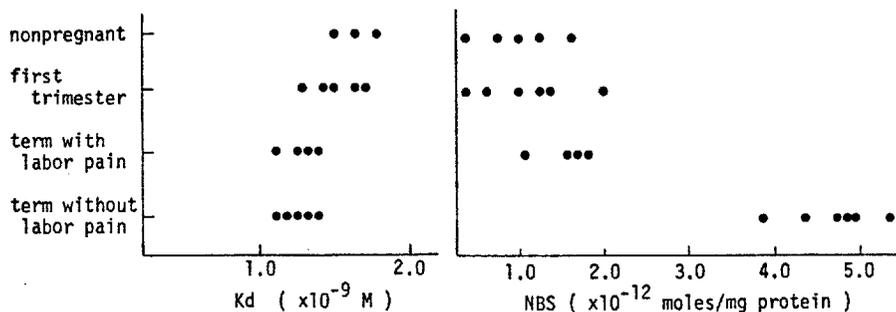
学会発表(昭和53年度)

- 1) 山本幸一, 田根培, 吉田孝雄, 高木繁夫:
ヒト子宮筋における oxytocin receptor
と陣痛発来との関連について
第30回日本産科婦人科学会総会学術講演会
- 2) 坂元秀樹, 小山陽一, 山本幸一, 田根培,
吉田孝雄, 高木繁夫:
第26回日本内分沁学会東部部会総会

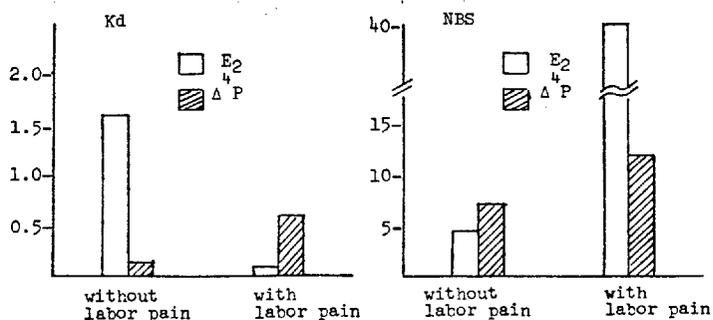
発表文献

- 1) H. Sakamoto, K. Den, K. Yamamoto, T. Arai, S. Kawai, Y. Oyama, T. Yoshida and S. Takagi: Study of oxytocin receptor in human myometrium using highly specific 3H -labeled oxytocin, *Endocrinol. Japan.*, 1979, in press.

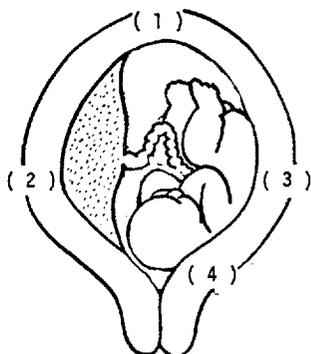
☒ 1 Effects of pregnancy on Kd and NBS of oxytocin receptor



☒ 2 Effects of labor pain on Kd (x10⁻⁹M) and NBS (x10⁻¹³moles/mg protein) of estradiol (E₂) and progesterone (Δ⁴P).



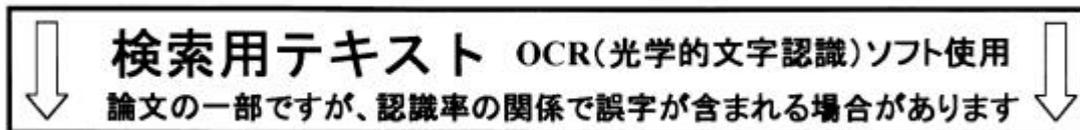
☒ 3 Distribution of oxytocin receptor activity in the human uterus



| | Kd ¹ | NBS ² |
|-------|-----------------|------------------|
| (1) | | 20.4 |
| (2) | 1.72 | 44.0 |
| (3) | | 12.7 |
| (4) | | 33.0 |

1; x 10⁻⁹M

2; x 10⁻¹³ moles/mg protein



目的

ヒトの陣痛発来に関連する主要因子の一つとして oxytocin(OT)があることに異論はない。しかしその標的臓器である子宮筋での動態と作用機構についての検討、報告は未だ認められず、ヒトにおける陣痛発来機序を解明する隘路となっている。よって我々は、ヒト子宮筋における OT receptor について kinetic な分析を行い、さらに OT に関連して作働するものとされる estradiol(E2)と progesterone(4P)についてもそれぞれの receptor level での検討を行い、それと陣痛発来との関連についての機構の一端を明らかにすることを目的とした。