

3、子宮収縮の早期発来に関する研究

②-b. ヒト羊膜における prostaglandin, thromboxane 及び mono hydroxy fatty acid の産生

東京大学医学部産科婦人科学教室

佐藤和雄・木下勝之
安水洗彦・坂元正一

研究目的

arachidonic acid より各種の prostaglandin が産生されるが、例えば、ヒト platelet で TXB₂, pig aorta で PGI₂, rat brain では PGD₂ であるように、各組織、細胞でその main product は違い、その生理作用も異なる。しかるに、ヒト妊娠分娩時における PG の生理的意義に関する知見は乏しく、PG 産生組織における main product はまだ知られていない。そこで絨毛膜、脱落膜に比し、著しく高い PG 産生能を有する羊膜の whole homogenate を用いて、external cofactor を加えず、可及的 natural な状態のもとでは、arachidonic acid より、いかなる種類の PG が産生され、どの PG が main product であるかを明らかとすることを研究目的とした。

研究方法

(i)組織：ヒト正常分娩時に得た卵膜より羊膜(約20g)を剝離し、0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.4, 4℃)を加え homogenate とした。(ii)incubation：(1-¹⁴C)arachidonic acid (58mCi/mmol) 10μCi を加え、external cofactor を加えず 37℃, 30分間 incubation した。structure study には、10μCi/1mg の substrate を使用し、5回の異なる incubation より得た products を集めて分析に用いた。(iii)抽出分離：ethanol を加え、反応を止め、acidify (pH 4)後、ethyl acetate (ethy. ace.) で products を抽出した (recovery 89%)。水にて洗浄 neutralize 後、evaporate し、silicic acid column chromatography

(solvent system:toluen, 10% ethy. ace./toluen, ethy. ace., 10% MeOH/ ethy. ace., MeOH) で粗分離した。次いで各 fraction を TLC (ethy. ace.:acetic acid:trimethyl pentane (TMP):water (aqu.) 110:20:30:100) にて展開し、分離された各 radioactive peak を溶出後、その polarity に応じて solvent system を変えた reversed phase partition chromatography または、AgNO₃ 加 TLC にて分離精製した。(iv)誘導体：diazomethane で物質の methyl ester を調整後、trimethyl silyl ether (TMS) または、O-methyloxime-TMS-ether (MD-TMS) 誘導体を作成した。(v)radio GLC:column は 1% SE30 を用い、product の retention time は、normal fatty acid の methyl ester のそれと比較し、C-value として表現した。(vi)GC-MS:column 1% SE30, electron energy 22.5 eV, trap current 60μA を set し、mass spectra は m/e 50-700 の範囲で repetitive magnetic scanning により記録し、物質の同定に用いた。

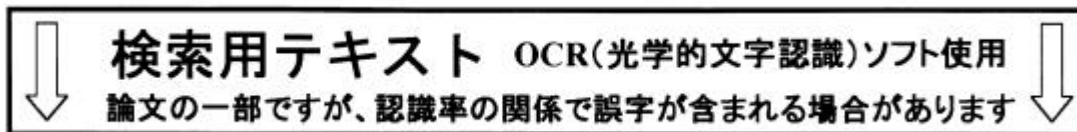
成績

(i)monohydroxy fatty acid の同定:10% ethy. ace./toluen で溶出された物質を methyl 化し、TLC (ethy. ace.:TMP: aqu. 50:100:100) にて展開し、1個の main radioactive peak (R_f 0.46, 転換率 5.8%) を得た。溶出後 AgNO₃ 加 TLC (ethy. ace.:TMP: aqu. 175:25:100) にて再度展開すると、3個の peak (I (R_f 0.30), II

(0.43), III (0.76)) に分離された。GLC, GC-MS 分析の結果より物質 I は 15-hydroxy-5, 8, 11, 13-eicosa tetraenoic acid (転換率 2.9%), II は 11-hydroxy-5, 8, 12, 14-eicosa tetraenoic acid (2.0%), III は, 12-hydroxy-5, 8, 10-heptadecatrienoic acid (HHT) (0.8%) と同定された。(ii) PG, thromboxane の同定: ethy. ace. で溶出された物質を TLC で分離し, 4 個の main radioactive peak (I (Rf 0.30), II (0.47), III (0.78), IV (0.89)) を得た。さらに peak II は reversed

phase chromatography (Solvent system C-45) で 2 個の peak II-a (retention volume 60ml), II-b (114ml) に分離された。GLC, GC-MS の分析結果により I : PGF₂α (転換率 0.17%), II-a : PGE₂ (4.9%), II-b : TXB₂ (0.27%), III : 15 Keto PGE₂ (1.1%) と同定され, IV は Keto group を含む物質 (1.0%) と思われる。

以上ヒト羊膜における main product は PGE₂ であり, 他に TXB₂, PGF₂α, 15 keto PGE₂, mono hydroxy fatty acids の産生が明らかとなった。



研究目的

arachidonic acid より各種の prosta-glandin が産生されるが,例えば,ヒト platelet で TXB₂, pig aorta で PGI₂, rat brain では PGD₂ であるように,各組織,細胞でその main product は違い,その生理作用も異なる。しかるに,ヒト妊娠分娩時における PG の生理的意義に関する知見は乏しく,PG 産生組織における main product はまだ知られていない。そこで絨毛膜,脱落膜に比し,著しく高い PG 産生能を有する羊膜の whole homogenate を用いて,external cofactor を加えず,可及的 natural な状態のもとでは,arachidonic acid より,いかなる種類の PG が産生され,どの PG が main product であるかを明らかとすることを研究目的とした。