

氏名(本籍)	おさ だ か よ 長 田 佳 世 (静岡県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 乙 第 1,331 号		
学位授与年月日	平成 9 年 11 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	医 学 研 究 科		
学位論文題目	Pregnancy increases ET-1-induced contraction and changes receptor subtypes in uterine smooth muscle in humans (ヒト子宮平滑筋におけるエンドセリン収縮反応と受容体サブタイプの妊娠による変化 - エンドセリン A 受容体拮抗薬の子宮収縮抑制薬 (早産防止薬) としての可能性 -)		
主査	筑波大学教授	薬学博士	相 良 悦 郎
副査	筑波大学教授	医学博士	渡 邊 照 男
副査	筑波大学教授	医学博士	大 野 忠 雄
副査	筑波大学教授	医学博士	大 塚 藤 男
副査	筑波大学助教授	医学博士	山 口 巖

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

エンドセリン (ET) -1は、子宮平滑筋に対して強力な収縮作用を有する。著者らは、ET-1のラット子宮平滑筋収縮作用が、ET受容体の2種類のサブタイプ: ET<sub>A</sub>受容体と ET<sub>B</sub>受容体のうちの ET<sub>A</sub>受容体を介していることをつきとめた。しかし、ET-1の生理作用が ET<sub>A</sub>受容体または ET<sub>B</sub>受容体のいずれかを介しているかは動物種によって異なることが報告されている。そこで著者らは、ヒト子宮平滑筋において ET-1の収縮作用がどちらの ET受容体サブタイプを介して効果を及ぼすのか、また、妊娠症例および非妊娠症例について ET受容体密度 (Bmax) 及び親和性 (Kd) を調べ、そのサブタイプが妊娠により変化する経過を究明した。

### (対象と方法)

妊娠症例14症例 (26~41歳, 妊娠37~40週) と非妊症例 8 症例 (33~39歳) より子宮の検体を採取した。妊娠例では帝王切開時の子宮切開創から、また、非妊例では良性疾患の子宮全摘時に子宮下部から子宮平滑筋を採取した。これらの検体にて、以下 (1 A, IB, 2) を検討した。

(1 A) 筋層にそって約 1×0.5×0.5cmに切り出して子宮標本を作成し、Krebs液中に懸垂して等張性収縮を測定した (Magnus法)。この Krebs液中に ET-1を投与して子宮平滑筋収縮反応の用量反応曲線を求めた。収縮力の表示法として、各濃度における単位時間あたりの AUC (area under curve) を塩化カリウム投与時の最大収縮時の AUC に対するパーセントで示し、収縮力の指標とした。(1 B) 妊娠例では ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬である BQ 123の ET-1の収縮作用に及ぼす影響について検討した。また ET<sub>B</sub>受容体刺激薬である BQ 3020の子宮収縮作用を測定した。(2) ET受容体密度 (Bmax) 及び親和性 (Kd) を求めるために、子宮平滑筋の細胞膜分画を作成し、次にヨードラベル ET-1を用い Scatchard 解析を行った。更に ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬である BQ 123と ET<sub>B</sub>受容体拮抗薬である BQ 788の inhibition curve より ET<sub>A</sub>受容体と ET<sub>B</sub>受容体の比率を求めた。

### (結果)

(1 A) ET-1 ( $10^{-11}$ ~ $10^{-7}$ M) は用量依存的に妊娠及び非妊症例のヒト子宮平滑筋を収縮させた。最大収縮は

妊娠例の方が非妊娠例より有意に大であった（妊娠vs非妊;最大反応=96.7±7.2vs 44.5±5.4 [mean±SE] %, p<0.001)。(1B) ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬であるBQ 123 (10<sup>-6</sup>M)の前投与によりET-1の用量反応曲線は有意に右方に偏位し, ET-1の収縮が抑制されたことを示した (pD<sub>2</sub>値=8.16±0.06 [BQ 123非存在下] vs 7.74±0.09 [BQ 123存在下], p<0.001)。ET<sub>B</sub>受容体刺激薬であるBQ 3020の投与 (10<sup>-11</sup>~10<sup>-7</sup>M)では子宮平滑筋は収縮しなかった。(2) ET受容体のBmax及びKd値は妊娠により変化しなかった(妊娠vs非妊;Bmax値=596.2±107.1 vs 512.1±167.7fmol/mg protein, Kd値=92.8±17.4 vs 72.9±13.3pM)。一方, ET<sub>A</sub>:ET<sub>B</sub>は非妊娠例では68:32であったが, 妊娠例は92:8であり, つまり妊娠により著名なET<sub>A</sub>受容体優位に変化していた。

#### (考察)

本研究において, ET-1はヒト子宮平滑筋を強力に収縮させ, その収縮作用は妊娠で著明に増大することが判明した。ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬であるBQ 123にてET-1の収縮は抑制され, ET<sub>B</sub>受容体刺激薬であるBQ 3020では, 収縮を起こさなかった。従ってヒト子宮平滑筋にてET-1による収縮作用はET<sub>A</sub>受容体のみを介しており, ET<sub>B</sub>受容体は関与していないことが明らかになった。

ヒト子宮平滑筋のET受容体密度は妊娠により変化しなかった。しかし, ET<sub>A</sub>受容体とET<sub>B</sub>受容体の比率は, 妊娠子宮ではET<sub>A</sub>受容体(子宮平滑筋収縮作用を伝達する)が著明に優位に変化していた。このようなET受容体サブタイプの動態が, ET-1によるヒト妊娠子宮の収縮作用の著明な増大に関与していると考えられた。

周産期死亡の一因である早産は, 妊娠中の子宮の収縮が大きな原因である。ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬は新しい子宮収縮抑制剤としての可能性があると考えられた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は, ET-1がヒト子宮平滑筋を強力に収縮させ, その収縮作用は妊娠で著明に増大することを明らかにした。また, ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬であるBQ 123にてET-1の収縮は抑制されるが, ET<sub>B</sub>受容体刺激薬であるBQ 3020では収縮を起こさなかったことから, ヒト子宮平滑筋におけるET-1の収縮作用はET<sub>A</sub>受容体のみを介しており, ET<sub>B</sub>受容体は関与していないことを明らかにした。そして, ET<sub>A</sub>受容体とET<sub>B</sub>受容体の比率が, 妊娠子宮ではET<sub>A</sub>受容体優位に変化しており, このようなET受容体サブタイプの動態が, ET-1によるヒト妊娠子宮の収縮作用の著明な増大に関与していることを示唆した。

ET<sub>A</sub>受容体拮抗薬が新しい子宮収縮抑制剤としての可能性があること, その臨床適用として妊娠中の子宮の収縮が大きな原因である周産期死亡の一因である早産を防止できる可能性を示唆する結論を得たことは評価できる。なお, 本論文はすでに英文原著論文として発表されている。

よって, 著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。