子宮筋 Calmodulin の妊娠時, Estradiol, Progesterone 投与時における動態と子宮筋収縮

奈良県立医科大学 産婦人科学教室

高山辰男, 飯岡秀晃, 小坂井秀宣
平岡克忠, 森山郁子, 一條元彦

BEHAVIOUR OF UTERINE MUSCLE CALMODULIN AND CONTRACTION DURING PREGNANCY AND UNDER ESTROGEN, PROGESTERONE ADMINISTRATION

Tatsuo TAKAYAMA, Hideaki IIOKA, Hidenobu KOSAKAI,
Katsutada HIRAOKA, Ikuko MORIYAMA
and Motohiko ICHIJO

Department of Obstetrics and Gynecology, Nara
Medical University, Kashihara

The calmodulin levels of human and rat myometrium were measured during pregnancy and under estrogen, progesterone administration, and uterine muscle contraction at the same time was also measured. The calmodulin concentration in the uterine muscle was increased as the stage of pregnancy advanced. This increase also intensified the maximum contractility of the uterine muscle together with the increase of growth during pregnancy. The calmodulin levels were increased by the administration of estrogen and this increase was restricted by progesterone. As a result, the adjustment of the calmodulin level by administration of these steroid hormones was found to be a very interesting mechanism for studying the physiology of uterine muscle contractions.

I. 緒 言

生体各臓器に分布する Calmodulin (以下 CaM) の役割は, 平滑筋収縮機構のみならず, Ca^{2+} 輸送, 細胞増殖, 血小板の凝集, 神経伝達物質の合成と放出など, 基本的な細胞機能に関与することが明らかにされて来ている。今回, ヒ

ト及びラットの妊娠時, estrogen, progesterone 投与時の子宮筋 CaM 濃度を測定し, 同時に子宮筋収縮力をも測定して, これらホルモンと CaM 産生量, ならびに子宮筋収縮について興味ある知見を得たので報告する。

II. 研 究 方 法

1. ウィスター系幼若ラット (生後 20~22 日) に estradiol (E) 50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重, または E50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 体重 + progesterone (P) 5

mg/100 g 体重を one shot に 1 回もしくは 2 回 (第 1 回投与の 48 時間後に第 2 回投与) 筋注し, 投与前, および, 投与後 18 時間, 24 時間, 48 時

間, 72 時間, 96 時間, に子宮筋を摘出し, 子宮筋 CaM 量を測定した. また 1 回投与群については子宮筋収縮張力を測定した

2. ウィスター系成熟ラットについて, 去勢 3 週間後より上記同様の濃度で E を 4 日間投与 (E 群), または E を 2 日間投与後 E+P を 2 日間投与 (E+P 群) し, 5 日目に子宮筋を摘出して CaM 量を測定した.

3. ラット妊娠第 9, 16, 18 日のもの 各 3 例の子宮筋を摘出し, その CaM 量を測定した.

4. ヒト子宮筋 CaM 量を非妊子宮筋 5 例, 妊娠 11 週子宮筋 1 例, 妊娠 22 週子宮筋 1 例, 妊娠 40 週子宮筋 4 例について測定した. 妊娠 40

週例は帝王切開時, その他は子宮筋腫合併子宮で, その手術時に摘出したものである.

5. CaM の測定は子宮内膜を除去した後の子宮筋を, 10 mM イミダゾール, 1 mM 2-メルカプトエタノールバッファー中にてホモジネートし, $10,500 \times g$, 1 時間遠心操作により得た上清を試料として, RIA 法により測定した.

6. 子宮筋張力測定は Ca 除去液中にて子宮筋弛緩長を測定し, その後 10 mm 長の子宮筋切片を切り出し, ロックリングル液中につるし, $95\%O_2 + 5\%CO_2$ 通気下で isometric contraction を電気刺激 AC 4~7 V/cm, 5 秒間通電時の最大収縮をもって判定した.

III. 成

績

1. 無処置幼若ラットの子宮筋の CaM 量は, $2.9 \mu g/g$ wet weight であったが, E 単独投与群では 24 時間後には 3.7, 48 時間後には

4.8, 72 時間後には $5.5 \mu g/g$ wet weight と増量した. 一方 E+P 併用投与群では 24 時間後には 3.4, 48 時間後には 3.5, 72 時間後には $3.6 \mu g/g$ wet weight と E 単独投与群に比し, CaM 量の増量が著明に抑圧された (Fig. 1).

2. 無処置幼若ラットの CaM 量は, $2.9 \mu g/g$ wet weight であったが, E 単独投与群では 24 時間後には 3.7, 48 時間後には 4.5, 72 時間後には 5.3, 96 時間後には $5.6 \mu g/g$ wet weight に増量した. 一方, 48 時間後に E+P 併用投与群では, 72 時間後には 3.2, 96 時間後には $2.8 \mu g/g$ wet weight と減少した (Fig. 2).

3. 無処置去勢ラットの子宮筋の CaM 量は, $10.8 \mu g/g$ wet weight であった. 一方 E 単独投与去勢ラット群の子宮筋の CaM 量は $25.2 \mu g/g$ wet weight, E+P 併用投与去勢ラット群の子宮筋の CaM 量は $20.8 \mu g/g$ wet weight であった (Fig. 3).

4. ラット妊娠子宮では, CaM 量は妊娠経過とともに増量し, 妊娠 18 日 ($22.0 \mu g/g$ wet weight) では去勢時 ($10.8 \mu g/g$ wet weight) の 2 倍に達した (Fig. 4).

5. ヒト妊娠子宮では, CaM 量は妊娠経過とともに増量し, 妊娠 40 週 ($5.0 \mu g/g$ wet weight) では非妊時 ($2.8 \mu g/g$ wet weight) の 1.8 倍に達した (Fig. 5).

6. 幼若ラット子宮筋の最大収縮張力は, E

Fig. 1 Calmodulin concentration in the young rat myometrium was increased by injection of $0.5 \mu g/g$ body weight of estrogen. This increasing was inhibited by injection of $50 \mu g/g$ body weight of progesterone.

Fig. 2. Calmodulin concentration in the young rat myometrium was increased by injection of $0.5 \mu\text{g/g}$ body weight of estrogen. This increasing was inhibited by injection of $50 \mu\text{g/g}$ body weight of progesterone.

Fig. 3. Effect of estrogen and progesterone on the calmodulin level of rat myometrium.

Fig. 4. Calmodulin concentration in the castrated and pregnant rat myometrium.

Fig. 5. Changes of calmodulin concentration in the human myometrium during pregnancy.

および E+P 投与群とも、時間経過に従い増大し、72 時間後には無処置群に比して、約 3 倍に達した。なお P による張力抑制は認められなかった (Fig. 6)。

Fig. 6. Muscular tension (tension/cm length) changes in 24 to 72 hours after administration of estrogen ($0.5 \mu\text{g/g.b.w.}$), estrogen ($0.5 \mu\text{g/g.b.w.}$)+progesterone ($50 \mu\text{g/g.b.w.}$) in the young rat myometrium.

IV. 考

子宮筋収縮機構を解明することは、分娩発来機序を解く鍵である。特に、分娩に先だつホルモン環境の変化に影響を受けた子宮筋の contractility を、 Ca^{2+} 、CaM、収縮蛋白系などの分子レベルで追及することは重要である。現在、平滑筋収縮機構は、骨格筋のごとく十分に解明されていないが、ともかくリン酸化説に従うと $\text{CaM} \cdot 4\text{Ca}^{2+}$ が myosin light chain kinase を活性化し、ついで myosin の light chain にリン酸化が起こり、このことが、myosin と actin の相互作用の場における抑制を解消して収縮をいとなませると解される。またこの収縮は light chain protein phosphatase によって light chain のリン酸が除かれることで弛緩に導びかれる (Adelstein ら, 1978, 1980, 1981)。平滑筋では CaM を含む粗アクトミオシン標本は Ca^{2+} 存在下で超沈殿を起こすが、これらを除外した精製アクトミオシンでは Ca^{2+} と CaM を外から加えてやらなければ超沈殿が起こらないこと、また血管平滑筋の発生張力が CaM 作用阻害剤である w-7 やクロロプロマジンにより抑制される (Hidaka, 1978) こと、さらに子宮筋 skinned fiber の発生張力が CaM 負荷により増

察

強される事実 (Ochiai, 1981) などから平滑筋収縮機構に關与する CaM の意義が次第に明瞭になってきた。

しかしながら妊娠時、分娩時の子宮筋 CaM 動態についての検討はほとんどないといつてよい。これらが、分娩発来機序と何らかの密接な関連をもつことは当然予想されることである。今回のわれわれの成績より、子宮筋の CaM 濃度は妊娠経過にともない増量することを知ったが、この増加は妊娠時の子宮筋の發育増大とあいまって著しい収縮予備力 (分娩予備力) を蓄えることになると考えられた。事実 CaM 濃度の増大は子宮筋の最大収縮能力を著増する成績を得た。さらにわれわれは CaM 量が estrogen により増大し、progesterone によりその増加が抑制されることを知ったが、このように steroids による CaM 量の調節は子宮筋収縮生理を考える上で極めて興味深い。しかし estrogen+progesterone 投与の場合と estrogen 単独投与の場合とで、子宮筋最大収縮力にさほど差異を生じなかった点に関しては再考を要するであろう。収縮力を抑制する因子は多数にのぼるので各方面からの検討をふまえてみたい。われわれ

は現在、妊娠時に大量に存在する progesterone と estrogen の動態を子宮筋の組織濃度レベルで詳細に検討しているが、それらを整理して、本

論文の成績を支持する結果であれば、steroids, CaM を妊娠維持機構、分娩発来機構の制御因子の一つとして理解することが可能と思われる。

V. 結 語

1. ヒトおよびラット子宮筋 CaM 量は妊娠経過にともない増量した。

2. ラット子宮筋 CaM 量は estrogen により増量し、progesterone によりその増加が抑制

された。

3. ラット子宮筋最大収縮力は、estrogen + progesterone 投与の場合と、estrogen 単独投与の場合とでは、さほど差異を生じなかった。

文 献

- Adelstein, R.S., Conti M.A. & Hathaway, D.R. (1978). Phosphorylation of smooth muscle myosin light chain kinase by the catalytic subunit of adenosine 3': 5'-monophosphate-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* **253**: 8347-8350.
- Conti, M.A. & Adelstein, R.S. (1981). The relationship between calmodulin binding and phosphorylation of smooth muscle myosin kinase by the catalytic subunit of 3': 5'cAMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* **256**: 3178-3181.
- Hidaka, H. *et al.* (1978). A novel vascular relaxing agent, N-(6-aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide which affects vascular smooth muscle actomyosin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **207**: 8-15.
- Ochiai, K., Umazume, Y. & Maruyama, M. (1981). Augmentation by calmodulin of Ca^{2+} -induced tension development in saponin-treated (chemically skinned) rat uterine smooth muscle fibers. *Biomedical Research* **2**: 714-717.
- Pato, M.D. & Adelstein, R.S. (1980). Dephosphorylation of the 20,000 dalton light chain of myosin by two different phosphatases from smooth muscle. *J. Biol. Chem.* **255**: 6535-6538.

(1985年3月14日受付)