ラット子宮筋内 Cu 含有量の変動について

東京医科歯科大学 産婦人科学教室

(主任 藤井久四郎教授)

加 藤 宏 一, 新 井 和 夫, 東 恭 彦, 頼 樺 玉

STUDIES ON COPPER CONTENTS IN UTERINE MUSCLE OF RAT

Koichi KATO, Kazuo ARAI, Yasuhiko HIGASHI and Haw Yu LAI

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine,

Tokyo Medical and Dental University

(Director : Prof. K. Fujii)

For the purpose of explaining the mechanism of labor, copper in uterine muscle of rat was measured through each stage of pregnancy, parturition and weaning.

1. Copper contained in the uterine muscle was 22.12 γ/g in pregnant rat.
2. Contents of copper in the uterine muscle of rat decreased with administration of estrogen and progesterone.

緒 言

分娩発来機序解明の一環の実験として、先にラット子宮筋内燐化合物の変動について発表したり、今回は筋収縮性蛋白質 Actomyosin-ATPase (以下 AM-ATPase

と略す) に対し阻害作用を有する Cu について、妊娠経過を追って、子宮筋内の含有量を測定、観察したのでその成績を報告する。

実 験 材 料 お よ び 実 験 方 法

1) 材料 : 体重約 150g の成熟処女ラットを交配、妊娠させ、非妊時、妊娠 10 日目、12 日目、15 日目、18 日目、20 日目、分娩中、分娩後 24 時間、48 時間目に断頭瀉血した後、開腹して子宮を摘出した。摘出子宮より、胎盤、胎児などを除き、蒸留水で水洗して、無灰濾紙で血液および水分を除去した後、秤量し、直ちに実験に供した。すなわち、子宮筋または胎盤を電気炉中で 300°C、20 時間完全に灰化し、灰分を 2N-HCl 2cc で溶解し、蒸留水で一定量に稀釈して測定した。

表中数値は湿性重量 1g 当り検体内に含有される Cu

量を γ で表したものである。これと乾燥重量の場合の比較では、妊娠変化による重量差は 2~3% であったので、本実験は湿性重量当りの Cu 量を測定した。

2) 測定法 : Cartwright, Jones & Wintrobe の Cu 微量測定法²⁾ によった。原理は Cu^{++} は di-ethyl-amino-di-thiocarbamin 酸-Na の溶液を添加すると amyl-alcohol 可溶性の鮮黄褐色の Cu 塩をつくる。これを基準 Cu 液におけるそれと 440m μ で比色測定する方法である。

実 験 成 績

1. 正常妊娠経過中に伴う子宮筋内 Cu 含有量の変動
成熟雌ラットの非妊、妊娠、分娩および産褥時の子宮筋内 Cu 含有量は、表 1 および図 1 に示すごとくである。

非妊時は他の時期に比して最高値を示し、妊娠日数の経過とともに含有量は下降し、12 日目に最低値を示した。その後再び上昇を示すが、分娩直前になると再び急

減し、分娩時もそのまま低値を示した。分娩後は再び上昇を示した。

2. 正常妊娠経過に伴う胎盤内 Cu 含有量の変動
妊娠初期の場合は材料をとることが不可能のため、測定不能である。妊娠 12 日目以後分娩中までの胎盤内 Cu 含有量は表 2 および図 1 に示すごとくである。

図 1. Cu 含有量と AM-ATPase 活性度との関係

表 1. 妊娠経過に伴う子宮筋内 Cu 含有量の変動 (γ/湿性重量 1g)

	例 数	$\bar{x}$	u^2
非 妊	5	22.12	2.540
妊娠 10日目	4	14.18	3.490
12日目	6	5.30	1.385
15日目	7	9.65	8.941
18日目	9	13.23	4.494
20日目	5	7.16	2.112
分 娩 中	3	7.34	12.724
分娩後24時間	8	16.91	6.594
" 48時間	7	17.15	25.905

子宮筋内 Cu 含有量は傾向の点においても、量の点においても変りなかった。やはり分娩予定日直前および分娩中は低値を示した。

3. 妊娠中期、末期のラットに progesterone (以下 Prog. と略す) を投与した場合の子宮筋および胎盤中の Cu 含有量

Prog. 10mg を 1 回投与し、24 時間後測定した。対照として非妊時のラットと比較した。結果は表 3 および図 1 に示すごとくである。

非妊時においては、Prog. 未投与の例に比して、Prog. 投与例では著明な Cu 含有量の減少を示した。しかし胎盤より Prog. が多量生産されている妊娠中期には、たとえ Prog. 投与を行なっても、未投与の場合と差はなかった。妊娠末期においては、Prog. を投与すると、未投

表 2. 妊娠経過に伴う胎盤内 Cu 含有量の変動 (γ/湿性重量 1g)

	例 数	$\bar{x}$	u^2
妊娠 12日目	3	7.511	5.120
15日目	6	8.17	5.954
18日目	9	14.30	5.222
20日目	4	10.53	9.947
分 娩 中	2	6.93	4.205

表 3. 妊娠中期・末期のラットに progesterone を投与した場合の子宮筋内 Cu 含有量 (γ/湿性重量 1g)

	例 数	$\bar{x}$	u^2
非 妊	3	3.57	0.158
妊娠 15日目	3	10.71	2.652
妊娠 20日目	5	4.03	1.003
末 期 胎 盤	5	8.33	3.524

与の場合に比較して子宮筋内 Cu 含有量は軽度減少を示した。妊娠末期胎盤内 Cu 含有量も妊娠末期子宮筋内 Cu 含有量と同一傾向を示した。

4. 妊娠中期、末期のラットに estrogen を投与した場合の子宮筋および胎盤中の Cu 含有量

生物学的作用において、Prog. に対し拮抗作用を有する estradiol benzoate を 10γ 投与し、24 時間後 Cu 量を測定した。結果は表 4 および図 1 に示すごとくである。

傾向としては Prog. 投与の場合と同様であるが、非

表 4. 妊娠中期・末期のラットに estrogen を投与した場合の子宮筋内 Cu 含有量 (γ /湿性重量 1g)

	例 数	$\bar{x}$	u^2
非 妊	3	8.65	2.960
妊娠 15日目	4	11.18	3.321
妊娠 20日目	5	4.65	0.873
末 期 胎 盤	5	10.24	1.089

妊時においては, Prog. 投与時の場合より Cu 含有量は高値を示した. 妊娠中期では対照とかわらず, 分娩前期では再び低値を示した.

胎盤では対照と全く同じであった.

5. 妊娠中期, 末期のラットに estrogen+Prog. を投与した場合の子宮筋および胎盤内の Cu 含有量

Estradiol benzoate 10 γ +Prog. 10mg を投与し, 24 時間後に子宮筋および胎盤内 Cu 量を測定した. 結果は表 5 に示すごとくである.

Estrogen または Prog. 単独投与の場合より, Cu 含有量は非妊時の場合高値を示した. しかし対照に比しては低値を示している. 妊娠中期, 末期の場合は, 対照と比

表 5. 妊娠中期・末期のラットに estrogen+progesterone を投与した場合の子宮筋内 Cu 含有量 (γ /湿性重量 1g)

	例 数	$\bar{x}$	u^2
非 妊	3	11.99	1.905
妊娠 15日目	3	10.79	3.855
妊娠 20日目	3	9.81	1.158
末 期 胎 盤	3	7.04	0.567

較して有意差を示さなかった. 胎盤においては幾分低値を示した.

6. 各時期の子宮筋 AM-ATPase 活性およびこれにおよぼす Cu^{++} の影響

結果は図1に示すごとく, 非妊時高値を示している AM-ATPase 活性は, 妊娠全期を通じて低値を示した. しかし分娩時には急激な活性の上昇を示した. Cu^{++} は粗 AM-ATPase に対して妊娠 12 日目はむしろ賦活的に作用し, 産褥 24 時間では軽度阻害したが, 他の時期ではすべて無影響であった.

考

按

水および電解質は生体内において, 生命維持に重要であるが, 現在まで Na, K, Ca, Mg などについては多くの報告がなされている. 子宮筋内の電解質については Kochman and Krugen³⁾ が, 1926 年始めて測定して以来, Na, K, Ca, Mg に関する報告は多くなされているが, 子宮内の Cu 含有量については全く報告がない. しかし Cu は生体内に微量存在し, 人体の元素組成分析では 20 γ /g と言われ⁴⁾, 組織酸化に関係し, 重要な物質であるといわれている. またわれわれは分娩発来機序解明のため子宮筋 Actomyosin について一連の実験を行なっているが, 平川⁵⁾ および杉山⁶⁾ の実験によると, Cu^{++} は精製子宮筋 AM-ATPase 活性を阻害するが, 粗 AM-ATPase に対しては, 非妊, 妊娠各期, 分娩期において, あるいは阻害し, あるいは無影響であり, あるいはむしろ賦活すると述べている. このように Cu^{++} は粗 AM-ATPase に対し種々相を示すが, Mg^{++} , Cu^{++} は AM-ATPase を必ず賦活し, Cu^{++} とは異った態度を示している. このように多様性を示す Cu^{++} の存在意義を酵素との関連の上で検討するために, まず子宮筋内 Cu 含有量を測定した.

妊娠経過に伴う子宮筋内 Cu 含有量の変動は全時期の AM-ATPase 活性の変動とは, 理論的には一致しない態度を示した. すなわち Cu^{++} の精製 AM-ATPase に対する作用は必ず阻害作用である. 故に酵素活性が低い

時 Cu 含有量が高く, 酵素活性が高い時, Cu 含有量が低値を示せば, AM という酵素学的見地からみれば理解できるのであるが, 実験成績としては, そのような傾向を示さなかった. これは各時期の酵素活性に対する Cu^{++} の態度のみが, 他の無機イオンの態度と異なり, 一貫性を欠くという特徴を示すものであり, さらに精細な分析を要することを示唆しているものである.

このことはホルモン投与の場合も同様に言えることである. 杉山⁷⁾ によれば Prog. 投与は, AM-ATPase 活性を抑制し, estrogen は酵素活性を賦活すると報告しているが, 子宮筋内 Cu 含有量は Preg. 投与により, 非妊時最低値を示した. これは Cu 含有量と酵素活性度との比較検討において, 相反するものであり, estrogen 投与は, Prog. 投与時よりかえって子宮筋内 Cu 含有量が幾分上昇している. estrogen+Prog. 投与ではさらに Cu 含有量は上昇するが, いずれにしても無処置の場合より, ホルモン投与時は, Cu 含有量は共通して低値を示している. しかし胎盤が完成した妊娠中期では, いずれのホルモン投与においても, 対照値と大差なく, 外部からのホルモン投与は, Cu 含有量には影響を与えないことを示している. しかし胎盤機能が低下する妊娠末期に estrogen または Prog. を投与すると, 非妊時と同様 Cu 含有量の低下を示した. このように子宮内 Cu 存在の意義は非常に複雑であり, AM の方面よりの解明は困難と

思われるが、現在まで全く報告を見なかった子宮筋内 Cu 含有量の測定により、今後なんらかの Cu の存在意義がつかめればと考える次第である。

む す び

1. 現在まで全く報告をみなかった子宮筋内 Cu 含有量を測定し、かつ estrogen および Prog. の Cu 含有量に対する影響をみた。Cu⁺⁺ は粗 AM-ATPase に対し、他の無機イオンと異り、多様性の影響を示したごとく、その存在は AM 方面よりの検討では複雑であるので、さらに精細な検討を要することを知った。

2. 正常非妊時のラット子宮筋内 Cu 含有量は 22.12 γ /g である。

3. ラット子宮筋内 Cu 含有量は Estrogen, Prog. の影響により低値を示した。

稿を終るにのぞみ、御校閲を賜った藤井久四郎教授に感謝致します。

本論文の要旨は第 17 回日本産科婦人科学会総会（昭和 40 年 3 月）における演題「各種条件下のラット子宮筋内無機物質の変動」の中で発表した。

文 献

- 1) 加藤宏一、石田雅己、丸岡利市：ラット子宮筋内リン酸化合物の変動について。日平滑筋誌，**2**，27，1966.
- 2) Cartwright, G. E., Jones, P. J. & Wintrobe, M. M. : Determination of Cu in blood serum. J. Biol. Chem., **160**, 593, 1945.
藤井暢三：生化学実験法，定量篇，訂正，第 11 版 299 頁，南山堂，東京，昭和 33 年より引用
- 3) Kochman, M. & Kruger, R. : Influence of the cations of Ringer sol. on smooth muscula-

ture of guinea pig uterus. Biochem., **178**, 60, 1926.

- 4) 赤松 茂：生化学，1 頁，共立出版社，東京，昭和 35 年.
- 5) 平川浩一：妊娠子宮筋 Actomyosin の酵素学的研究。日産婦誌，**17**, 793, 1965.
- 6) 杉山信雄：子宮筋 Actomyosin の酵素活性に関する研究。日産婦誌，**17**, 37, 1964.
- 7) 杉山信雄：ラット子宮筋 Actomyosin の酵素活性と性 steroid ホルモン。日産婦誌，**17**, 166, 1964.

(1967 年 3 月 6 日 受付)