

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16744

研究課題名（和文）オキシトシンによる妊娠ラット子宮筋収縮に対する麻酔薬の影響と機序

研究課題名（英文）Effects of anesthetic agents on oxytocin induced contractions of the pregnant rat myometrium in vivo and in vitro

研究代表者

君塚 基修（Kimizuka, Motonobu）

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：30758686

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：デクスメデトミジンはプロポフォルやセボフルランよりもオキシトシンによる妊娠ラット子宮筋収縮を増強する。カルシウム感受性の抑制がセボフルランによる子宮筋収縮抑制の原因である可能性がある。アラキドン酸はデクスメデトミジンによる子宮筋収縮増強に重大な役割を果たしている。デクスメデトミジンは帝王切開における有効な鎮静薬である可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

帝王切開中に使用する麻酔薬には子宮筋収縮を抑制する効果があり、弛緩出血などの原因とされてきた。しかし、今回の研究成果をもとに今後はデクスメデトミジンを帝王切開中の鎮静薬として使用することにより、今後弛緩出血を減らし、妊産婦死亡症例を減らすことができる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：This study demonstrated that dexmedetomidine enhances oxytocin-induced contractions of pregnant rat myometrium more than propofol and sevoflurane. Inhibition of myofilament calcium sensitivity may have caused the inhibition of myometrial contraction by sevoflurane. Arachidonic acid may play an important role in the enhancement of myometrial contraction induced by dexmedetomidine through enhancing myofilament calcium sensitivity. Dexmedetomidine would be an advantageous anaesthetic agent during caesarean sections.

研究分野：麻酔科学一般

キーワード：子宮筋収縮 デクスメデトミジン 帝王切開

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 1. 研究開始当初の背景

帝王切開術における母体死亡の要因の一つに弛緩出血がある。弛緩出血は、児の娩出後に子宮筋が良好な収縮をきたさないこと（子宮弛緩症）により起こる出血で、そのリスク因子として麻酔薬の影響が指摘されている。特に吸入麻酔薬による子宮筋への収縮抑制効果は濃度依存性に増加することが示されている。帝王切開術において、胎児娩出後腹部の不快感や重だるさ、吐き気などを理由に鎮静を希望される場合がある。その場合、現在は鎮静薬としてプロポフォールを用いることがある。しかし、プロポフォールは多くの麻酔薬と同様に呼吸抑制があり、子宮収縮も抑制することが示されている。一方、デクスメデトミジンは呼吸抑制が少ない鎮静薬で、子宮収縮を増強する可能性が報告されている。

平滑筋の収縮は、リン酸化したミオシン軽鎖とアクチンの相互作用により生じ、その制御は細胞内カルシウム濃度の上昇とカルシウム感受性の亢進による経路が指摘されている。子宮平滑筋の収縮機構については、オキシトシンがカルシウム濃度の上昇を引き起こし、律動的な子宮収縮をもたらすことが示されている（図1）。プロポフォールは電位依存性カルシウムチャネルを介して子宮筋収縮を抑制し、デクスメデトミジンはG蛋白を介する経路を介して子宮収縮を引き起こす。しかし、これらは単離した子宮筋に対する麻酔薬の影響を検討した報告である。妊娠時の生体内においては、子宮平滑筋のオキシトシン収縮は性ホルモンの調節によって膜電位や活動電位および感受性が変化している。従って、性ホルモンの影響下での麻酔薬による子宮筋への影響は未だ不明である。

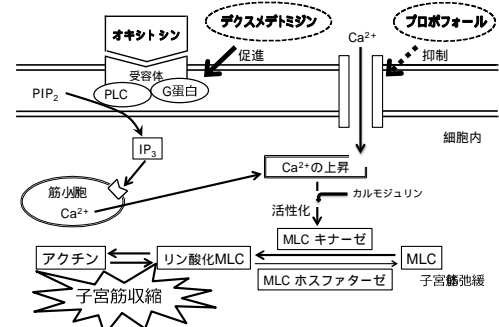


図1 オキシトシンの子宮筋収縮に対する麻酔薬の影響

MLC:ミオシン軽鎖 PIP<sub>2</sub>:ホスファチジルイノシトール2リン酸  
IP<sub>3</sub>:イノシトール3リン酸 PLCβ:ホスホリパーゼβ

## 2. 研究の目的

本研究では、生体内における妊娠ラット子宮筋のオキシトシンによる収縮力、収縮周期の変化を示し、妊娠子宮筋収縮に対する麻酔薬の効果を明らかにする。さらに単離子宮筋および培養細胞を用いてオキシトシン収縮に対する麻酔薬の影響を検討する。同時に麻酔薬の影響に対する機序解明のためにウェスタンブロッティング法を用いて、オキシトシン適用時の子宮平滑筋のPKC、MLC、MAPK、チロシンキナーゼ活性の程度を測定し、麻酔薬のカルシウム感受性増強への影響を明らかにするとともに、蛍光指示薬を用いて、カルシウムの細胞内濃度変化を評価する。

## 3. 研究の方法

### （1）単離子宮筋を用いたオキシトシン収縮に対する麻酔薬の影響の検討

妊娠後期のWistar雌性ラットの子宮角より、リング状の子宮筋標本作製し、標本を95%酸素-5%二酸化炭素でバブリングしたクレブスリンゲル液中に懸垂する。自動収縮が安定した後、オキシトシン（ $10^{-9}\text{M}$ ）を適用し、子宮筋の収縮力と収縮周期の変化を15分間計測する。その後、セボフルラン（0、2.4%、4.8%）、プロポフォール（ $10^{-7}\text{M}$ ～ $10^{-4}\text{M}$ ）、デクスメデトミジン（ $10^{-9}\text{M}$ ～ $10^{-6}\text{M}$ ）を累積適用し、各濃度での子宮筋の収縮力と収縮周期の変化を計測する。

### （2）MLC活性の測定

妊娠後期のWistar雌性ラットの子宮角より、リング状の子宮筋標本作製し、標本を95%酸素-5%二酸化炭素でバブリングしたクレブスリンゲル液中に懸垂する。自動収縮が安定した後、オキシトシン（ $10^{-9}\text{M}$ ）を適用し、子宮筋の収縮力と収縮周期の変化が安定後セボフルラン4.8%、プロポフォール $10^{-4}\text{M}$ 、デクスメデトミジン $10^{-6}\text{M}$ を適用し、急速凍結させた試料から細胞抽出液を得る。ウェスタンブロッティング法により、全MLC中のリン酸化MLCの割合MLC活性とする。

### （3）生体内における妊娠ラット子宮筋を用いた子宮筋収縮に対する麻酔薬の影響の検討

妊娠後期のWistar雌性ラットをセボフルランを用いた鎮静下に、気管切開による気道確保と大腿静脈より静脈路を確保、大腿動脈より動脈圧ラインを確保する。一体の胎児を取り出し、そこに子宮内圧カテーテルを挿入し子宮内圧を測定する。その後、セボフルランを継続して用いる群とセボフルランを止めプロポフォール、デクスメデトミジンによる鎮静群の3群に分類し、各群における子宮収縮力の変化を計測する。

#### 4. 研究成果

単離子宮筋を用いたオキシトシン収縮に対し、デクスメデトミジンによる子宮筋収縮増強効果は認められなかったが、プロポフォール、セボフルランにより濃度依存性に子宮筋収縮が抑制された。一方で、生体内における妊娠ラット子宮筋収縮に対しデクスメデトミジンは子宮筋収縮を増強し、プロポフォールとセボフルランは子宮筋収縮を増強しなかった（図2）。

セボフルランとプロポフォールが子宮筋収縮を抑制した機序として、カルシウム感受性の変化に注目し、カルシウム感受性を変化させるMLCの調節性サブユニットであるMYPT1のリン酸化の割合について検討した。結果として、セボフルランで抑制が見られたことから、セボフルランによる子宮筋収縮に対する抑制効果の機序として、セボフルランがカルシウム感受性の亢進を抑制することの関与が示唆された。また、デクスメデトミジンが子宮筋収縮を増強する機序としてアラキドン酸が関与すると仮説を立て、それらをインドメタシンを用いて検証した。その結果、インドメタシンを使用することで、デクスメデトミジンによる子宮筋収縮増強が抑制されたことから、デクスメデトミジンによる子宮筋収縮増強にアラキドン酸の関与が示唆された。

今後は妊娠週数による麻酔薬による子宮筋収縮への影響の変化についてさらなる研究を行い、帝王切開時もしくは妊婦に使用する麻酔薬、鎮静薬を選択するための根拠につながるものと考えられる。

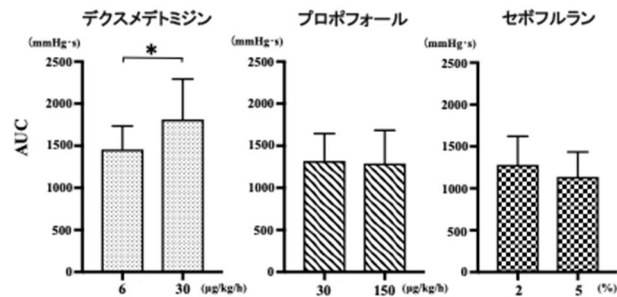


図2. 子宮筋収縮に対する麻酔薬の影響 (in vivo)

妊娠後期ラットにデクスメデトミジン、プロポフォール、セボフルランにて異なる2種類の濃度で麻酔を維持し、各濃度での子宮筋収縮を計測した。(各群: n=8). \*:  $p < 0.05$ , AUC: Area Under the Curve

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kimizuka M.
2. 発表標題 Mechanisms and influence of anaesthetic agents on contractions of the pregnant rat myometrium in vivo
3. 学会等名 European Society of Anesthesiology（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 君塚基修
2. 発表標題 オキシトシンによる妊娠ラット子宮筋収縮に対するプロポフォールとデクスメトミジンの影響
3. 学会等名 日本麻酔科学会第64回学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 君塚基修
2. 発表標題 Influence of propofol and dexmedetomidine on oxytocin-induced contractions of isolated pregnant rat myometrium.
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2017（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 君塚基修
2. 発表標題 Influence of anaesthetic agents on contractions of the pregnant rat myometrium in vivo.
3. 学会等名 Euroanaesthesia 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	時永 泰行  (Tokiniga Yasuyuki)		