

平成21年 6月 1日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19790754

研究課題名（和文）ラット卵巢動静脈結紮による発育遅延モデル-血管系の発達に及ぼす影響-

研究課題名（英文）Vascular function of isolated arteries in growth retarded rat pups -ligation of both ovarian vessels

研究代表者

山本 善光（YAMAMOTO YOSHIMITSU）

弘前大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：70374824

研究成果の概要：妊娠17日目の妊娠ラットの両側卵巢動静脈を結紮することによって、子宮内発育遅延モデルを作成することに成功した。今回の発育遅延モデルでは、正常発育群と比較すると異なる血管反応を認めた。特に高濃度のノルアドレナリンによる血管拡張反応などの血管内皮を介する血管拡張反応において変化が大きく、将来の血圧上昇との関連が強く示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	500,000	0	500,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,000,000	150,000	1,150,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・胎児・新生児医学

キーワード：子宮内発育遅延、卵巢動静脈、血管内皮、ラット、生活習慣病

1. 研究開始当初の背景

「小さく産まれた児は、成人期での高血圧、虚血性心疾患、糖尿病に罹患しやすい」という D. J. P. Barker の疫学調査以来、生活習慣病の発症の起源が胎児期における子宮内の胎児環境にまで関心が寄せられるようになってきた。このメカニズムを解明すべく、子宮内発育遅延モデルを用いた動物実験が行われている。母獣の栄養制限による子宮内発育遅延モデルでは、成獣期での血圧上昇、血管反応物質による血管反応性の変化が報告されている。しかしこの栄養制限によるモデルは、ヒトで見られる胎児の子宮内発育不全とは基本的に病因が異なったものである。ヒトで見られる児の子宮内発育遅延は妊娠後半の（比較的急な）胎児胎盤循環不全が主たる原因と考えられており、したがって、胎児胎盤循環不全を原因とする低出生体重モデルによる検討が強く望まれる。

2 研究の目的

本研究では胎児胎盤循環不全が子宮内の胎児発育に与える影響と、その病的状態の発生のメカニズムを明らかにし、子宮内胎児発育不全の治療法の開発を目指すことを目的とする。まず循環不全の影響のみを検討できるよう片側の卵巣動静脈結紮を行い、分娩前に開腹を行って結紮側、非結紮側で比較する。

また子宮内発育遅延ラットの生後における血管機能をみる目的で両側卵巣動静脈結紮を行い、生後20日目、90日目のラットの頸動脈、肺動脈、腎動脈、大腿動脈を用いて、その血圧、血管の収縮拡張機能、血管平滑筋のフェノタイプの変換、mitogen-activated protein kinase (MAPキナーゼ)発現に関して結紮群と非結紮群で比較検討する。

3. 研究の方法

(1)子宮内発育遅延モデル作成

妊娠 17 日目の Wistar ラットをエーテル麻酔下で無菌的に開腹し、両側の卵巣動静脈を結紮し閉腹する（IUGR 群）。一方、コントロール群は特に処置をせず、両群の母獣を自然分娩させ生後 20 日目までそれぞれの成長を観察する。

また、子宮内発育遅延のメカニズムを検索するため、同様に片側の卵巣動静脈の結紮を行い、自然分娩前に開腹、結紮側、非結紮側で、胎盤重量、脳、肺、肝臓、腎臓、心臓の重量を比較する。

(2)成育後の各種血管の薬理的反応の比較

生後 20 日目に、動脈血圧測定後、ペントバルビタール大量投与（腹腔内 200mg/kg）下で安楽死後、実体顕微鏡下に内頸動脈、肺動脈、腎動脈、大腿動脈を剥離する。それらの血管を、すでに当教室で所有している wire-myograph (model 610M, JP Trading, Denmark)に固定し、血管作動性物質に対する反応をみる。具体的には、noradrenaline (NA) [0.01 30 $\mu\text{mol/l}$]、トロンボキサン A_2 類似物質である U46619 [1 1000 nmol/l]に対する収縮性、また、U46619 1 $\mu\text{mol/l}$ による前収縮後に、拡張物質である acetylcholine [0.01 100 $\mu\text{mol/l}$]、nitric oxide (NO)のドナーである sodium nitroprusside (SNP) [0.01 100 $\mu\text{mol/l}$]、NA [0.01 30 $\mu\text{mol/l}$]の反応をみる。各々最大効果である E_{max} を算出し、sigmoid curve が得られた反応については、感受性の比較のため pEC_{50} を算出し、推計学的に比較検討する。

有意な差が得られた反応については、NO synthase 阻害剤である N^G -nitro L-arginine methyl ester (L-NAME)、 α -adrenoceptor antagonist や agonist を投与してメカニズムを検索する。

4. 研究成果

(1)

片側の卵巣動静脈結紮による、結紮側と非結紮側の比較では、妊娠 20 日目での胎子の体重は、結紮側で $3.19 \pm 0.21\text{g}$ 、非結紮側で $3.42 \pm 0.13\text{g}$ であり結紮側で有意に体重減少が見られた ($p < 0.05$)。胎盤重量は、結紮側で $0.50 \pm 0.02\text{g}$ 、非結紮側で $0.49 \pm 0.03\text{g}$ であり両者に差は見られなかった。

両側卵巣動静脈による比較では、出生時（自然分娩時）体重は、コントロール群で $5.33 \pm 0.49\text{g}$ 、IUGR 群で $5.04 \pm 0.48\text{g}$ であり後者で有意に小さかった ($p < 0.05$)。20 日齢の体重は各々 $46.0 \pm 1.2\text{g}$ 、 $44.1 \pm 1.8\text{g}$ であり両群で差はなかった。出生時での臓器の重量は、脳、心臓、腎臓では差はなかったが、コントロール群、IUGR 群で肝臓の重量は各々 $5.64 \pm 0.89\text{g}$ 、 $4.83 \pm 0.66\text{g}^*$ 、肺の重量は $1.89 \pm 0.20\text{g}$ 、 $1.61 \pm 0.18\text{g}^{**}$ ($^*p < 0.05$, $^{**}p < 0.005$) と IUGR 群で有意に小さくなっていった。

(2)

K、NA、U46619 添加時の E_{max} については、両群で差はなかった。しかし、U46619 添加時の pEC_{50} は、コントロール群で 7.24 ± 0.09 、IUGR 群で 6.81 ± 0.04 ($-\log \text{mol L}^{-1}$) で IUGR 群で有意に低かった ($p < 0.05$)。また、NA 添加時の pEC_{10} は、コントロール群で 7.35 ± 0.22 、IUGR 群で 6.27 ± 0.28 ($-\log \text{mol L}^{-1}$) であり IUGR 群で有意に低かった ($p < 0.005$)。濃度 収縮曲線では、高濃度 NA 添加時の血管拡張は IUGR 群で消失していた ($p < 0.05$)。

Ach、SNP 添加時の E_{max} 、 pEC_{50} 、濃度反応曲線において、両群間で差はなかった。U46619 による前収縮後の NA 添加による血管拡張の E_{max} はコントロール群で 60.6 ± 10.8 、IUGR 群で $17.7 \pm 6.8\%$ であり、IUGR 群で有意に低下していた ($p < 0.01$)。L-NAME 添加によりこの反応の差は消失した。

IUGR は臨床的にはある週数の平均 -1.5SD 以下の体重の胎児を意味する。今回のコントロール群の平均体重と比較して、IUGR 群では -1.8SD であり、IUGR 群は IUGR モデルとして適切であると判断した。

現在の動物実験において、IUGR モデルとしては栄養制限モデルが一般的である。今回の妊娠 17 日目の両側卵巣動静脈結紮による IUGR モデルは、一般臨床でよく見かける、妊娠後半の胎盤機能不全と病態的には類似していると思われる。本研究では、IUGR モデルにおいて正常と異なる血管反応性が見られたことから、妊娠高血圧症候群などの症例に見られる、IUGR 症例において将来高血圧症などの正常と異なる血管反応が出現する可能性が示唆される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

福山麻美、山本善光、田中幹二、尾崎浩士、水沼英樹「最近の VBAC の動向と当科における現状」青森県臨床産婦人科医会誌、23 巻、1-6、2008、査読なし

福山麻美、田中幹二、山本善光、尾崎浩士、水沼英樹、「妊娠中の子宮筋腫核出術は決して禁忌ではない」青森県臨床産婦人科医会誌、23 巻、83-89、2008、査読なし

山本善光、田中幹二、尾崎浩士、水沼英樹、「妊娠中の肺血栓塞栓症に対し血栓除去術を施行した骨髄異形性症候群合併妊娠の一例」日本産婦人科・新生児血液学会誌、18 巻、97、2008、査読なし

田中加奈子、山本善光、田中幹二、尾崎浩士、水沼英樹、「産科出血を止めるーその予知、予防と対処法ー」、産婦人科の実際、56巻、153-158、2007、査読なし

〔学会発表〕(計6件)

山本善光、「当院で経験した先天性肺疾患の臨床的検討」、第38回青森県周産期医療研究会、2008年11月29日、青森市

Tanaka K, Yamamoto Y, Ozaki T, Mizunuma H 「Development of a novel therapeutic drugs for treatment of preterm delivery」, The XXth Asian and Oceanic of Obstetrics and Gynaecology, 2008年9月21日、東京都

山本善光、「妊娠前のリスク評価」、第271回青森県臨床産婦人科医会、2008年7月19日、八戸市

山本善光、「子宮腔部発症の Wegener 肉芽腫の一例」、第60回日本産科婦人科学会、2008年4月14日、横浜市

山本善光、「妊娠中の肺塞栓血栓症に対し血栓除去術を施行した一例」、日本周産期・新生児医学会、2007年7月8日、東京都

山本善光、「当科での子宮筋腫合併妊娠の転帰について」、第59回日本産科婦人科学会、2007年4月17日、京都市

〔図書〕(計1件)

山本善光、「MFICU マニュアル」メディカ出版、2008

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 善光 (YAMAMOTO YOSHIMITSU)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：70374824

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：