

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791728

研究課題名(和文) 妊娠子宮の収縮に対するプロゲステロン受容体の役割 ～陣痛発来機序の解明にむけて～

研究課題名(英文) A role of progesterone receptor in uterine smooth muscle as human parturition

研究代表者

藤田 太輔(Fujita, Daisuke)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：90411371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：Real-time PCR法を用いてヒト子宮筋におけるプロゲステロン受容体とエストロゲン受容体の一つであるGPR30及びオキシトシン受容体、バゾプレッシン受容体の発現量を検討することを計画し、これらの受容体が妊娠子宮の子宮収縮に大きな役割を担っていることが示唆された。バゾプレッシン受容体とオキシトシン受容体に関してはヒト子宮筋の免疫組織染色で検討した結果より、弛緩出血時のアゴニストの有用性が示唆されたため、前置胎盤の帝王切開時の出血軽減を目的に、胎盤娩出時に子宮体下部筋にバゾプレッシンを投与することを試みたところ、バゾプレッシン非投与群と比較して有意に出血量が軽減した。

研究成果の概要(英文)：Our objective was to determine how expression of Progesterone receptor and GPR30, vasopressin receptor change in human uterine smooth muscle using real time PCR. It was suggested that PR and GPR30, vasopressin V1 receptor play a important role in uterine contraction and human parturition. The expression of the vasopressin V1 receptor in uterine smooth muscle was evaluated by immunohistochemistry. As a result, patients in placenta previa underwent the local injection of a vasopressin solution into the placental implantation site after placental delivery. The mean estimated blood loss was significantly lower in the vasopressin group than in the control group. The local injection of vasopressin into the placental implantation site significantly reduced the blood loss without increasing the morbidity.

研究分野：医歯薬学

キーワード：プロゲステロン オキシトシン バゾプレッシン GPR30 陣痛発来

1. 研究開始当初の背景

プロゲステロンは妊娠の維持に重要なホルモンであり、欧米では早産既往のある妊婦にプロゲステロン製剤を投与することにより早産の再発率を減少させるが、そのメカニズムについては解明されていない。これらの謎を解くためには、妊娠維持・陣痛発来メカニズムを解明することが重要であるが、陣痛発来メカニズムは動物種によって大きく異なるため (Jenkin G. et al. Anim Reprod Sci 2004, 82: 567-581) ヒト子宮筋による研究がヒト陣痛発来メカニズムの解明に必須である。我々はすでに 2009 年から倫理委員会の承認を得て、帝王切開時に子宮筋を一部採取し研究を進めている。

妊娠により子宮は形態的にも機能的にも劇的な変化をとげる。ヒトにおいては妊娠経過が経つにつれ、子宮筋細胞にオキシトシン受容体などの子宮収縮関連受容体の発現が増加しているにもかかわらず、子宮筋の収縮は抑制されており負の調節を受けている。ところが一転して、陣痛が発来すると収縮という正の調節を受けることになる。

ラットなどにおいては陣痛発来直前にプロゲステロンの減少 (progesterone withdrawal) が陣痛の引き金になることが知られているが、ヒトにおいては、陣痛発来時の母体血中の PR 濃度は不変であるため、濃度自体に減少が見られなくても、受容体の反応性の変化などといったプロゲステロンの作用を抑制する機構 (functional progesterone withdrawal) の存在が推測されていた。プロゲステロン受容体 (PR) は核内受容体で、主に PR-A, PR-B の 2 つの isoform が存在する。どちらも同一の遺伝子上にコードされるが、異なる promoter による制御を受けるため、PR-A は PR-B より N 末端が 164 塩基短い。この 164 塩基には PR としての転写活性を担う unique activation domain (AF3) が含まれるため、PR-A は PR-B の抑制体と考えられている (Horwitz KB et al. J Steroid

Biochem Mol Biol 1995, 53: 9-17)。つまり妊娠中は PR-B により子宮収縮が抑制されるが、陣痛発来とともに PR-A の発現が上昇し、PR-B / PR-A ratio が減少することで PR-B による抑制力が減少し、子宮収縮が引き起されることが予測されている (Madsen G. et al. J Clin End Metab 2004, 89: 1010-1013. Marilino AA. Et al. J Clin End Metab 2007, 92: 1927-1933)。これらの報告は主に Western Blotting 法を用いた検討であり、定量性に欠けたものであった。そこで我々は基礎検討で、real-time PCR 法を用いてヒト子宮筋における PR の発現量を検討することを計画した。またエストロゲンやオキシトシン、バゾプレッシンは分娩、子宮収縮に作用していると考えられている。エストロゲン受容体の一つである GPR30 が子宮平滑筋にも発現しているが、GPR30 の子宮収縮への関与について明らかでない。以上からプロゲステロン受容体とエストロゲン受容体の一つである GPR30 及びオキシトシン受容体、バゾプレッシン受容体の子宮収縮への関与とその役割についてヒト妊娠子宮筋を用いて検討することを計画した。

2. 研究の目的

プロゲステロン受容体 (PR) とエストロゲン受容体 (ER-) の一つである GPR30 及びオキシトシン受容体、バゾプレッシン受容体の子宮収縮への関与とその役割についてヒト妊娠子宮筋を用いて検討することを目的とした。

3. 研究の方法

帝王切開分娩となった 32 週未満の 5 例と 32 週以降の 38 例を対象とし、子宮体下部切開創から少量の子宮筋を採取、cDNA を精製したのち、PR-B, Total PR, GPR30, ER- の mRNA の発現を real time PCR 法で定量し、比較検討した。またバゾプレッシン受容体の妊娠子宮での発現について週数別、子宮の部位

別に検討するため術前から穿通胎盤の診断を受け、帝王切開術直後に摘出された妊娠子宮 (n=3) を、子宮体部と、胎盤付着部位である子宮体下部にわけ子宮筋を採取した。それぞれの子宮平滑筋に免疫組織染色をおこない、オキシトシン受容体 (OTR)、バゾプレッシン受容体 (VP1 R) の発現を比較検討した。

4. 研究成果

PR-B, total PR とともに 32 週以降の症例で有意に発現量の低下を認めた。又、32 週以降の症例で、子宮収縮がある群で、両群ともに発現量の低下を認めた。次に GPR30 を検討し、32 週以降は有意に発現量の低下を認めた。又、GPR30 と妊娠維持に関与する PR-B、分娩に関与する ER- との mRNA 発現の相関関係をみたところ、PR-B と正の相関、GPR-30 と負の相関関係を示した。子宮収縮メカニズムの一旦を担っている PR-B、TotalPR の減少は、mRNA レベルで制御されていた。GPR30 と PR, ER- の相関関係より GPR30 は妊娠維持に必要な受容体である可能性が示唆された。また GPR30 と同様の 7 回膜貫通型であるバゾプレッシン受容体が妊娠子宮に高発現していることを新たに確認した。バゾプレッシン受容体は妊娠初期から発現しており、妊娠後期に向けてその発現は維持されていた。一方、妊娠子宮の収縮に重要なオキシトシン受容体に関しては、妊娠初期の発現は認められず、妊娠後期に上昇していた。子宮筋の免疫組織染色における陽性細胞占有率と染色強度を組み合わせた Allred score を用いた半定量をおこなったところ、オキシトシン受容体は体部と比較し、体下部での染色は弱いものであったが、対照的に、バゾプレッシン受容体は子宮体部および、体下部の平滑筋で強い染色を示していた。つまり分娩後の弛緩出血で問題となる子宮体下部筋におけるオキシトシン受容体の発現は少なく、一方バゾプ

レッシン受容体の発現は有意に多いものであった。この知見から、弛緩出血時のアゴニストの有用性が示唆されたため、前置胎盤の帝王切開時の出血軽減を目的に、胎盤娩出時に子宮体下部筋にバゾプレッシンを投与することを試みたところ、バゾプレッシン非投与群と比較して有意に出血量が軽減した。またバゾプレッシン投与における有害事象は認めなかった。よって前置胎盤の帝王切開術における胎盤剥離面へのバゾプレッシン投与は、出血軽減に寄与する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

Neki R, Miyata T, Fujita T, Kokame K, Fujita D, Isaka S, Ikeda T, Yoshimatsu J. Nonsynonymous mutations in three anticoagulant genes in Japanese patients with adverse pregnancy outcomes. *Thromb Res*. 査読あり 2014 May;133(5):914-8. doi:10.1016/j.thromres.2014.02.012. Epub 2014 Feb 21. PubMed PMID: 24613695.

Kato S, Tanabe A, Kanki K, Suzuki Y, Sano T, Tanaka K, Fujita D, Terai Y, Kamegai H, Ohmichi M. Local injection of vasopressin reduces the blood loss during cesarean section in placenta previa. *J Obstet Gynaecol Res*. 査読あり 2014 May;40(5):1249-56. doi: 10.1111/jog.12356. Epub 2014 Apr 21. PMID: 24750470

Tanaka T, Ashihara K, Nakamura M, Kanda T, Fujita D, Yamashita Y, Terai Y, Kamegai H, Ohmichi M. Associations between the pre-pregnancy body mass index and gestational weight gain with pregnancy outcomes in Japanese women. *J Obstet Gynaecol Res*. 査読あり 2014 May;40(5):1296-303. doi:10.1111/jog.12353

藤田太輔、寺井義人、大道正英. **早産に対する黄体ホルモン療法**の展望 臨床婦人科産科 査読なし 69(3), 313-319, 2015-04

田中 健太郎, 藤田太輔, 佐野匠. 胎児動脈管早期閉鎖および肺動脈弁欠損症を合併したFallot四徴症の1例. 産科と婦人科 査読あり 81(3), 399-402, 2014-03

多賀 紗也香, 藤田太輔, 藤田富雄. 治療抵抗性の原因不明不育症 産科と婦人科 査読あり 81(3), 393-397, 2014-03

[学会発表](計 5 件)

神吉一良、藤田太輔、大道 正英.胎盤形成不全における母体骨髄由来血管内皮前駆細胞の関与についての検討. 2014年 第66回日本産科婦人科学会

佐野匠、藤田太輔、大道 正英.習慣性流産および胎児発育不全におけるAnnexinA5の発現の免疫組織学的検討) 2014年 第66回日本産科婦人科学会

神吉一良、藤田太輔、大道正英.
反復性流産マウスモデルにおける骨髄由来血管内皮前駆細胞の胎盤形成期血管新生に対する関与の検討 2013年 第65回日本産科婦人科学会

加藤壮介, 田辺晃子, 藤田太輔, 大道正英. 前置胎盤における帝王切開時のバソプレシン局所投与の有用性 2013年 第65回日本産科婦人科学会

加藤壮介, 藤田太輔, 大道 正英
妊娠子宮筋におけるプロゲステロン受容体とGPR30の筋収縮に対する発現意義
2012年 第64回日本産科婦人科学会

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤田 太輔 (Fujita Daisuke)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号 : 90411371