

通し番号	薬剤(オキシトシン orPGF2α or PGE2)	タイトル	著者	雑誌名等	概要
I-1	オキシトシン PGF2α	Oxytocicsの薬効と安全性の評価 OxytocinとPGの優劣を問う	寺木 良巳(三井会さがみ松が枝クリニック)	新薬と臨牀(0559-8672). 61 (2012)2526-2532	オキシトシンとPGF2αは生体内で産生される内因物質である。PGF2α投与時の子宮収縮反応は用量にかかわらずオキシトシンよりも遅い。PGF2αとオキシトシンは用量の単位が異なることから著者は換算表を作成した。オキシトシンは、計算上PGF2αよりも少量で有効であるが、治療量はPGF2αよりも広範囲である。PGF2αは有効閾値と中毒の幅が狭く、オキシトシンに比べて中毒域に入りやすい。さらに、PGF2αはオキシトシンに比べて半減期が長く、陣痛計上の波形も不規則なことが多い。PGF2αの波形が十分に把握できない場合、オキシトシンの波形を参考に投与すべきであり、添付文書通りPGF2α0.1μg/min/kgのみで加減して用いることにより、オキシトシンと同様に十分な効果が得られる。
I-2	オキシトシン プロstagランジン(PGs)	ガイドラインの件	不明	不明	1.プロスタグランジン(PGs)は使用開始時から分娩監視装置で自然収縮のパターンが見られないことが多く、子宮感受性テストや分娩の予測・誘発が難しい。 2.陣痛促進薬の投与量について、添付文書通りの正しい用量をわかりやすく提示すべきで、インフュージョンポンプの設定も表に頼らず患者を観察しながらとするべきである。 3. PGsはオキシトシンに比べて用量範囲が狭く、作用発現も遅く、持続時間が長い性質があり、適量を得るのが難しい。また、PGsでは血圧と子宮胎盤血流量に対する作用を考慮する必要がある。過度の子宮収縮は母体子宮胎盤血流量を減少させ、胎児への乏血、児死亡につながる。添付文書の用法用量に従うべきである。 4.PGsは用量により強力な中絶作用を示し、中絶薬でもあるとの認識をもって対応すべきである。PGsはトコグラムでは測り知れない強力な陣痛増強作用があるが、一般には使用の難しい薬だと思う。
I-3	オキシトシン プロstagランジン(PGs)	OxytocinとPGの優劣	寺木 良巳 佐藤 和雄ら	第53回日本産婦人科学会関東地方部会 群馬大学 昭和51年パネルディスカッションIV	<寺木氏の要旨> オキシトシン(O)とプロスタグランジン(PG)は内因物質であり、OはPよりも用量の力値が高い。両薬剤で収縮剤の効果はほぼ同じであるが、陣痛計上の波形は、Oが生理的収縮に近く観察や調節が容易であるのに対し、Pは波形への反応が複雑で用量による陣痛曲線が得難く、陣痛発現の認識や過強陣痛の予知、調節方法などに難点を持つ。 <佐藤氏ら(東京大学)の要旨> オキシトシンとプロスタグランジン(PG)の優劣について、必ずしも結論は出ていない。用量について、PGF2αはオキシトシンよりも用量の範囲が狭く、慣れれば至適量を見つけ易い。収縮パターンは、オキシトシンは初めからcoordinateの形をとるものが多いが、PGF2αは初めだらだらした形の曲線のため不足と見て過剰投与になることがある。感受性については、Bishop score 5以下ではPGF2αの方がオキシトシンよりも低用量で有効であり、子宮開大度や分娩時間に差がみられた。頸管成熟例では両者に差は認めないが、頸管未成熟例及び未破水例では分娩時間等からPGの方が有効であり、PGの方がオキシトシンよりもや適応が広いと考えられる。なお、PGは全身的な副作用をあらわすことがあるが、誘発等に用いる量ではほとんど問題にならない。
I-4	オキシトシン PGF2α	ヒト摘出、妊娠子宮に対する Prostaglandin F2αならびにOxytocinの 効力比について	寺木 良巳	日本産科婦人科学会雑誌.25 (1973)1213-1222	摘出子宮筋および妊娠、分娩、後産期におけるプロスタグランジン(PG)F2α及びオキシトシン(Oxyt)の作用について、日本で唯一施設に入院した女性62例を対象としてin vitro及びin vivoにて比較検討した。 in vitroでは、摘出ヒト子宮筋を用いてMagnus法で検討したところ、子宮筋収縮作用はPGF2αの方がOxytよりも強かった。一方、帝王切開時の子宮片にTyrode液を用いた場合は、Oxytの方がPGF2αよりも収縮が強かった。 In vivoでは、内側または外側陣痛計を用いて子宮の活動及び薬に対する反応を測定したところ、妊娠中期の陣痛誘発ではPGF2αはOxytほど反応を示さなかった。また、PGF2αの作用はトコグラム上、単位時間および用量当たりでOxytに及ばなかった。さらに、Planimeterで分娩第1期陣痛を測定したところ、PGF2αはOxytに比べて陣痛増強作用が明らかでなく、ときに自然陣痛を減弱する傾向が見られた。

I-5	オキシトシン PGF2α	人妊娠末期子宮のProstaglandin F2α、Oxytocin投与による感受性と半減期の測定ならびに血中濃度について	寺木 良巳	日本産科婦人科学会雑誌. 26 (1974)1175-1183	妊娠末期のヒト子宮におけるプロスタグランジン(PG)F2α及びオキシトシン(Oxyt)の感受性、間接的半減期、投与後の初発子宮収縮時の血中濃度について、日本で妊娠38週以降の妊婦を対象に外側障壁曲線を用いて検討した。その結果、感受性について、Oxytでは投与後速やかに反応がみられた症例が多くあったが、PGF2αでは反応が鈍く投与後の反応時間と分娩開始時期に関係性はみられなかった。投与後の初発子宮収縮については、PGF2αはOxytに比べて反応時間が遅延する傾向がみられた。初発子宮収縮を誘発する血中濃度はOxytが0.003mU/mL、PGF2αが0.0107μg/mLで、生物学的半減期についてAugsbergerの算定方式で算出したところ、Oxytは3-4分、PGF2αは16-19分であった。
I-6	オキシトシン PGF2α PGE2	子宮平滑筋に対するProstaglandinsの作用様式	寺木 良巳	岩手医誌.31(1979)199-210	子宮平滑筋に対するプロスタグランジン(PGs: PGA1、A2、F1α、F2α、E1、E2)の影響について、ラット摘出子宮を用いて検討した。その結果、PGE1の反復投与による収縮の減弱はみられず、作用濃度曲線上PGE1、E2、F2α、オキシトシンの各収縮閾値は、それぞれ 1×10^{-8} 、 8×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 5×10^{-11} g/mlであり、用量反応関係がみられた。また、同濃度のアセチルコリンによる収縮と比較すると、PGF2αは強縮様で作用時間も長かった。また、セロトニンの収縮はmethysergideにより抑制され、PGsの収縮はイソプロテレノールにより抑制された。なお、PGsの収縮は無酸素状態、ジニトロフェノール、Ca(-)Krebs液において抑制されたが、脱分極筋においてはPGF2αの収縮が認められ、Mg(-)Krebs液においてはPGE1、E2、E2αの収縮が増強する傾向が示された。
II-1	-	5-HTによる胎児致死作用の機序とその拮抗剤の影響について	寺木 良巳	日本産科婦人科学会雑誌. 20 (1968)1639-1645	セロトニン(5-HT)による胎児致死作用の機序とその拮抗剤(lysergic acid diethylamide(LSD)、methysergide)の影響について検討した。妊娠マウスに5-HTを皮下投与したところ、子宮内死亡率は86.2%であったが、LSD、methysergideでそれぞれ前処置を行った場合の胎児死亡率は20.2%、11.9%と著しく胎児死亡が減少した。また、5-HT投与による死亡胎児胎盤の組織所見では著名な出血が認められた。また、ラット生体子宮間膜血管に対して、5-HTでは明らかな血管収縮作用は認められなかつた。よって、胎盤における5-HTのセロトニンの拮抗作用が認められた。
II-2	-	Homochlorcyclizineの5-HTに対する拮抗について	寺木 良巳、北川 行夫	臨床婦人科産科. 23(1969) 817-822	セロトニン(5-HT)の拮抗物質であるホモクロルシクリジン(HC)の影響を検討した。胎盤における5-HT拮抗については、5-HT 15mg/kg単独投与時の胎児生存率の13.8%に対し、HC 0.5mg/mouse前処置後に同様に5-HTを作用した場合は75.9%であり、HCによる拮抗が認められた。また、ラット摘出子宮において、5-HT及びブラジキニンによる子宮収縮がHCにより抑制されることが認められた。
II-3	PGF2α	Prostaglandin F2α卵膜外注入による初期・中期妊娠中絶の実際とPGs中絶法に対する考察	寺木 良巳、前村 実満、川原 隆、南雲 秀晃	産婦人科の世界. 26(1974) 677-684	プロスタグランジン(PG)F2αの卵膜外注入による中絶について調べるため、妊娠第6週から20週までの人工妊娠中絶例または胞状奇胎、子宮内胎児死亡例等38例において検討した。その結果、全例で子宮収縮や出血がみられ、妊娠初期では内容物の不完全排出が多く、中期では完全排出がみられた。副作用としては、痙攣様子宮収縮のための疼痛が最も多く認められたが、重大な合併症はなかった。また、PGF2αの子宮筋に対する感受性についてラットを用いて検討した。その結果、非妊娠ラット摘出子宮において強直様の収縮がみられ、子宮膜血管への静注により血行停止、局所滴下により血流減少がみられた。
II-4	PGF2α	Influence of Prostaglandins and Serotonin on the Fetus and Uterus and Effects of Those Antagonists	Teraki Yoshimi(Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine)	新薬と臨床(0559-8672). 62 (2013)169-176	セロトニン(5-HT)、5-HT拮抗剤(lysergic acid diethylamide(LSD)、methysergide、ホモクロルシクリジン)、プロスタグランジン(PG)F2αが胎児、子宮に及ぼす影響について検討した。その結果、妊娠マウスにおいて、拮抗剤前投与により5-HT投与による胎児生存率の減少が認められ、妊娠ラットにおいて、5-HT単独投与により死亡胎児の胎盤における著名な出血が認められ、PGF2α単独投与により用量依存的に胎児死亡率が増加した。また、妊娠初期の患者へのPGF2α投与により、子宮内容物の排出が認められた。子宮と胎盤の組織病理学的の知見については、妊娠ラットにおいて、PGF2α投与により胎盤蓄血、死亡胎児胎盤での出血が、セロトニン投与により死亡胎児での胎盤における蓄血及び出血が認められた。一方、ラットから摘出した子宮筋において、5-HT誘発性子宮収縮が拮抗剤により抑制された。
II-5	PGF2α	胎児死亡と子宮収縮剤(PG)及びserotonin-胎盤は胎児肺-	不明	不明(未刊との記載あり)	セロトニン(5-HT)とプロスタグランジン(PG)F2αが妊娠マウスやラットの胎盤、胎児に対して及ぼす影響を検討した。妊娠マウスの胎盤ではlysergic acid diethylamide、methysergideにより5-HT作用が拮抗された。妊娠ラットにおいて、5-HT及びPGF2αによる胎児致死作用が認められた。また、妊娠ラットへのPGF2α皮下投与により生存胎児では子宮粘膜における小出血が、死亡胎児では胎盤での出血が認められ、5-HT皮下投与により死亡胎児の胎盤における蓄血及び出血が認められた。

III-1	PGF2 α	Prostaglandinsの子宮胎盤循環によ ぼす影響	寺木 良巳	26回日産婦総会 昭和49年、 1974年	PGE1、PGE2、PGF2 α の子宮胎盤循環への影響について、ラット(妊娠、非妊娠)、ウサギ、娩出ヒト胎盤を用いて検討したところ、ラット子宮間膜ではPGF2 α 静注により血管収縮を認めた。また、ラットにPGF2 α 50 μ g/kgを静注したところ、血圧は非妊娠時に比し著しく上昇した。
III-2	オキシトシン PGF2 α PGE2	Prostaglandinsおよび各種血管作動物質の脳室内、動・静脈内注射による血圧、呼吸、血流への影響	寺木 良巳(日本歯科大学新潟歯学部歯第2口腔解剖)、前村実満	歯学(0029-8484)76巻6号 Page1246-1257(1989.02)	オキシトシン、PGF2 α 、PGE2が投与経路や動物種差により呼吸、血圧、血流等にいかなる影響を及ぼすかを検討した結果、家兎ではPGF2 α 15 μ g/kg静注により血圧下降が見られ、オキシトシンは15 μ g/kg静注により血圧に変化は見られなかった。ラットにおいては、血圧はPGE2の0.01、0.1、1、100 μ g/kg静注により下降し10 μ g/kg静注では45mmHgの下降がみられた。 PGF2 α は0.1 μ g/kg静注で血圧に変化無く、1 μ g/kg静注でわずかに下降した後25mmHg上昇し、10 μ g/kg静注で17mmHg下降した後上昇し、1000 μ g/kg静注では90mmHg下降しその後は元の血圧以下に維持された。オキシトシンは25 μ g/kg静注により血圧に変化無く、250,500 μ g/kg静注により血圧上昇を認めた。 ラットの側脳室内にPGF2 α 0.1 μ g/kgを投与した結果、血圧の上昇がみられた。
III-3	PGF2 α	ラットにおいて、プロスタグランジン、セロトニン、ポリペプチドが子宮胎盤循環と子宮収縮に与える影響 オータコイドと妊娠(II)(Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides on Uteroplacental Circulation and Uterine Contraction in Rats: Autacoids and Pregnancy(II))(英語)	Teraki Yoshimi(Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine)	新薬と臨牀(0559-8672). 62(2013)902-916	PGE2、PGF2 α 、オキシトシンが、血圧に与える影響を、妊娠後期ラット(PR)と非妊娠ラット(NP)を用いて検討した。その結果、PRへのPGE2 50 μ g/kg静注により血圧が低下したが、投与5分後には2倍の血圧値に急激に上昇し、20分間持続した。また、PRへのPGF2 α 50 μ g/kg静注では、投与2分後に1.69倍の血圧値に上昇し、その後1.48倍の血圧値が20分間持続し、PRへのオキシトシン100 μ g/kg静注では、投与7~8分後にわずかに血圧が低下した。
III-4	PGF2 α	ラットにおいて、プロスタグランジン、セロトニン、ポリペプチドが腸間膜と子宮間膜の微小循環に与える影響 オータコイドと妊娠(III)(Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides on the Mesenteric and Mesometrial Microcirculation in Rats: Autacoids and Pregnancy(III))(英語)	Teraki Yoshimi(Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine)	新薬と臨牀(0559-8672). 62(2013)918-929	腸間膜と子宮間膜の微小循環に対するPG等の効果について、ウィスター系ラットを用いてin vivoで検討した。PGF2 α については、腸間膜血管及び子宮間膜血管に10 μ g静注したところ、顕微鏡下で血管収縮と血流の停滞が観察された。また、100 μ g/kg静注したところ血圧が上昇した。100 μ gを投与した個体では、皮膚と子宮の血流が減少し、微小循環の血流減少に伴って腸間膜と子宮間膜の血管が収縮した。PGEIIについては、子宮間膜血管に10 μ g静注したところ、血管拡張、血流の増加を認めた。また、0.1 μ gを脳室内に投与したところ、皮膚血流が増加し血圧が持続的に上昇した。
IV-1	—	妊娠とセロトニン(特に妊娠中毒との関連について)(抄)	寺木 良巳	日本産科婦人科学会雑誌. 24(1972)779-780	妊娠末期にセロトニン(5-HT)が胎盤機能に及ぼす影響について検討した。妊娠マウスへの5-HTによる子宮内胎児致死率は86.2%であったが、拮抗剤であるlysergic acid diethylamide(LSD)、methysergideで前処置すると20.2%、11.9%に減少した。満期分娩後のヒト胎盤において、5-HTによる著名な灌流液量減少を認め、これはMethysergideにより抑制された。また、ラットにおける5-HTの体内分布は肺、心、肝、腎等において高かったが、胎盤へは僅かであった。また、正常及び異常妊娠時の胎盤5-HT値は、正常分娩時の12.0に対し、妊娠中毒症では28.3、死産では34.8であることが示された。

IV-2	PGF2α PGE2	Experimental approaches to the placental dysfunction caused by serotonin and prostaglandins(abstract) 実験的妊娠中毒症の研究	Yoshimi Teraki, Hdeaki Nagumo	不明	<p>セロトニン(5-HT)及びプロスタグランジン(PG)による胎盤機能障害について検討した。マウスにおいて、5-HTによる子宮内胎児死亡率がLSD25, methysergideにより抑制された。ラットにおいて、子宮腹膜血管へのPGF2α局所滴下により血流のうっ滞が、PGF2α静注により血管収縮、血流のうっ滞が、セロトニン静注により血管拡張、血流のうっ滞が認められた。また、非妊娠ラットにおいて、子宮血流及び胎盤血流がセロトニン静注により低下し、PGF2α静注により一過性の減少後に上昇した。また、ヒト胎盤血管への影響を検討したところ、PGE2, PGF2α, 5-HTによる臍動脈及び総毛膜板血管の収縮が誘発された。一方、ウサギにおいて、PGF2α静注によるPO₂上昇及びPCO₂減少が認められ、骨盤動脈の血管造影により、5-HT投与による腸骨動脈の収縮、及びPGF2α投与による僅かな収縮が示された。</p> <p>また、5-HTと14-C 5-HTの体内分布及び胎盤通過を調べたところ、様々な臓器への取込が認められたが、胎盤への取込は非常に僅かであった。</p>
V-参考論文	一	研修ノート「妊娠中毒症」	不明	不明	<p>血管収縮は血管収縮物質と拡張物質のアンバランスに起因し、妊娠中毒症では、血管作動物質が収縮側に偏位していると考えられる。</p> <p>妊娠中毒症の血管収縮に関係する血管作動性物質としては、カテーテコールアミン、NO、エンドセリン、セロトニン、PG系のプロスタサイクリン(PGI2)、トロンボキサン(TXA)、アンジオテンシンⅡがあり、妊娠中毒症では血管内皮で産生され血管拡張作用・抗血小板作用のあるPGI2の産生が減少し、PGI2とは逆の作用をもつTXA2が増加し、バランス失調が起こっている。その結果、血管収縮の要因となる。</p>
V-参考論文		分娩時の高血圧発症機序と母胎リスク	日高敦夫、廣田憲二、福田洋、西村淳一、中本収	産婦人科治療. 101(2010)434-441	<p>分娩時高血圧発症のリスクと背景因子を解析した結果、背景としては、高血圧家族歴、妊娠時蛋白尿、妊娠20週にて白血球増加、36週以降の収縮期血圧>130mmHgなどが認められた。分娩時高血圧は正期分娩の12%に認められ、分娩時に初めて高血圧を発症する頻度は12~45%程度認められる。血圧上昇の機序として、子宮収縮が招く子宮筋層から全身循環への血液の再分配、疼痛による心拍出量の増加、妊娠子宮による腹部大動脈圧迫。分娩第一期後半から第二期の強い疼痛を伴う陣痛による強力な子宮収縮に痛みが加わる共圧陣痛、疼痛によるカテーテコールアミン分泌の増量等が考えられる。また、子宮収縮による子宮胎盤血流量の減少(妊娠ウサギやイスにおいて平均30%, 最大60%の減少)がみられ、炎症性サイトカイン等を誘導する可能性が示唆され、胎盤乏血に起因した妊娠時preeclampsiaの病態との間の相関が認められている。妊娠時正常血圧例の分娩時も分娩進行に伴い軽度ながら上昇傾向をみる。筆者の経験から分娩初期正常血圧であっても数時間ごと、活動期は30分ごとに血圧測定を提案したい。</p>
V-1	一	摘出人胎盤血管におよぼすserotoninおよび関連物質の影響	寺木 良巳	日本産科婦人科学會雑誌. 24(1972)207-214	Serotoninおよび関連物質の胎盤血管に対する影響を検討するため、満期分娩した新鮮なヒト胎盤を用いた胎盤灌流実験を行った。その結果、serotonin 1~10μgの単独管注により灌流液量は著明に減少した。またこれらの作用はserotoninの拮抗剤であるLSD-25, Methysergide前処置及び抗bradykinin剤であるhomochlorcyclizineによって抑制された。さらに総毛膜板血管や臍帯血管の収縮に対するserotoninの影響について検討したところ、高濃度のserotoninを投与しても反応は認められなかった。
V-2	PGF2α	Prostaglandinsのヒト胎盤血管におよぼす影響	寺木 良巳、坂本 洋	医学と生物学. 90(1975)275-280	Prostaglandins(PGA1,A2,E1,E2,F1a,F2a)や各種血管作動物質及び拮抗剤の摘出ヒト胎盤血管に及ぼす影響について満期分娩の新鮮なヒト胎盤を用いて検討したところ、PGE1を除く各種PGsは他の血管作動物質であるserotonin, acetylcholine, octapressin, vasopressin, noradrenalineと共に血管収縮作用を示し、bradykinin, octapressin, oxytocinでは軽度の血管収縮作用を示した。PGsのうち、PGE1の作用は濃度に応じて作用が異なり、低濃度で弛緩と高濃度で収縮の両反応が認められた。なお未熟胎盤血管は成熟胎盤血管と比較して薬物に対する感受性が低いことも示された。またPGF2αの作用はPGE1により拮抗された。さらに様々な薬物を用いたPGsや他の血管作用物質の作用様式の検討がなされている。

V-3	PGF2α	Prostaglandinのヒト胎盤灌流に及ぼす影響	寺木 良巳	医学と生物学. 90(1975)185-188	胎盤血流調節機構の解明のため平滑筋収縮物質であるprostaglandin及び活性amineを用い、摘出ヒト胎盤の灌流実験により胎盤血管に及ぼす影響を検討したところ、以下の成績が得られた。1)serotonin 1または10μg単独注入により胎盤灌流液量の減少が認められた。その後液量は回復傾向に至るもの、10μg投与した数例で胎盤灌流流出が停止し、回復不能なものもあった。2)PGE1 1μg管注ではほとんど液量に変化はなく、10μg管注では胎盤灌流液量のやや減少または軽度の増加が観察され、100μg管注では著しい胎盤灌流液量の減少が認められた。3)PGF2α1, 10, 50, 100μg/0.1ml管注による胎盤灌流液量の最大減少率は平均初値(100)の79.3%, 67%, 28.8%, 15.7%となり、この作用はPGE1により拮抗された。4) 胎盤血管に対するadrenalineの感受性は高くなく、反応しない胎盤もあった。adrenaline 1μg以下の管注では変化は乏しいが、10μg/0.1ml管注により著しい胎盤灌流液量の減少がみられ、この作用はPGE1により拮抗された。
V-4	PGF2α	Effects of Prostaglandins and Serotonin on Placental Blood Vessels and Effects of Antagonists	Yoshimi Teraki	不明(新薬と臨床2013年7月掲載予定との記載あり)	胎盤の血液循環に及ぼすProstaglandins(PGA1,A2,E1,E2,F1α,F2α)やserotonin、その他の血管作動物質の影響について検討するため、単離した胎盤血管を用いた実験及び胎盤灌流実験を行った。単離した胎盤血管を用いた実験においてPGE1を除く各種PGsやserotonin, vasopressin, noradrenalineは血管収縮作用を示し、oxytocin, octapressin, bradykininでは軽度の血管収縮作用を示した。なおserotoninの作用は拮抗薬のmethysergideにより拮抗された。PGE1は濃度により作用が異なり、低濃度では弛緩、高濃度で収縮の両反応が認められた。また未熟胎盤血管は成熟胎盤血管と比較して薬物に対する感受性が低かった。胎盤灌流実験ではhistamine, bradykinin, adrenaline, PGF2α, serotonin処置により灌流液量の減少が認められた。Serotoninの作用はその拮抗薬LSD-25やmethysergide及びhemochlorcyclizineにより拮抗された。PGF2αの作用はPGE1により僅かに抑制された。これらのオータコイドのうちPGF2αやserotoninは強力な血管収縮作用を発揮した。
VI-1	—	ラットに ¹⁴ C-Serotoninおよび ¹⁴ C-Histamineの臓器分布と胎盤通過性について(全身オートグラフィーによる検討)	寺木 良巳、北川 行夫	応用薬理. 8(1974)191-198	妊娠17-20日にあるラットにおける ¹⁴ C-serotoninおよび ¹⁴ C-histamineの臓器分布及び胎盤通過性について全身オートラジオグラフィーを用いて検討したところ、両者の全身分布には相違が認められ、 ¹⁴ C-serotoninでは心、肺、腎、腸管に高濃度、肝、腸管に中程度のラジオ活性を示すが、 ¹⁴ C-histamineではこれらの臓器に加え、膀胱への蓄積、唾液腺の分布が認められた。胎盤通過性についても両者で相違が認められ、 ¹⁴ C-histamineは容易に胎盤に取り込まれ、胎仔への移行が認められたが、 ¹⁴ C-serotoninでは胎盤への取り込みは緩徐であり、胎仔への移行は識別不能であった。またserotonin拮抗薬methysergide前処置により ¹⁴ C-serotoninの胎盤への取り込みは増加した。
VI-2	PGF2α	Tissue distribution and fetal uptake of ³ H-Prostaglandin F2α in rats	Yoshimi Teraki	応用薬理. 18(1979)125-136	3H-PGF2αを用いて妊娠後期のラットにおけるPGF2αの組織分布及び胎盤通過性を検討したところ、低容量の3H-PGF2α投与では子宮、胎盤、胎仔への取り込みは高いが、高濃度の3H-PGF2α投与ではむしろ子宮、胎盤、胎仔への取り込みは著しく減少した。また胎盤や胎仔への3H-PGF2αの取り込みは妊娠期間の経過に伴って増加した。
VI-3	PGF2α	A study on Distribution in Organs and Transplacental Passage Using Radiolabeled Autacoids(¹⁴ C-5-HT and ³ H-PGF2α)	Yoshimi Teraki	不明	低濃度のserotonin投与では子宮、胎盤、胎仔へ容易に取り込まれた。高濃度のserotonin投与では低濃度のserotonin投与と比較して子宮、胎盤への取り込み及び胎盤通過性が減少したが、serotonin拮抗薬の併用によりこれら的事象は改善した。3H-PGF2αにおいても同様に低濃度処置では、高濃度処置時と比較して子宮・胎盤への取り込み及び胎盤通過性は高かった。
VI-4	PGF2α	胎児死亡と子宮収縮剤(PG)及び妊娠中毒症とセロトニン(IV)臓器分布と胎盤通過性、アイソトープによる検討	寺木 良巳	不明(未刊との記載あり)	妊娠ラットを用い、妊娠末期にトリチウムで標識したPGF2αを投与し、子宮、胎盤、胎児への移行状態を検討した結果、3H-PGF2α静脈内投与5分後に子宮、胎盤への取り込みが見られ、胎児にも5分後に到達している。この取り込みは濃度により差が見られ、特にPGF2αの高濃度300μg/kg.i.v.では、心臓、肺、肝臓、腎臓への取り込みが、低濃度のPGF2α20μg/kg.i.v.に比して少なく、血流の影響が大きいと思われる。同じく子宮、胎盤への取り込みも低濃度のほうが高く、特に胎盤への取り込みは、高濃度の2.64dpm/kgに対し、低濃度では36.8dpm/kgと十数倍も高かった。妊娠19日目のラットに3H-PGF2α静脈内注射を投与すると、投与直後から各臓器への移行があり、子宮、胎盤への取り込みも見られ、特に胎盤への移行は容易であった。胎児への標識物質の移行が投与15分後から観察された。

VII-1	—	Serotonin 及び関連化合物の鶏胎仔毒性ならびに奇形発生について	北川 行夫	昭和医学会雑誌. 33(1973)40-54	セロトニンを孵卵4日目の卵黄囊内に注入し、鶏胎仔発育に及ぼす影響を検討した結果、セロトニンの毒性は濃度依存的な傾向を示し、薬物の卵黄囊内投与後10日間のLD50は0.45mg/eggであった。催奇形性は0.09mg以上のセロトニン投与群において数種認められ、セロトニン投与群96例中78例で外形、内臓、骨格の奇形が認められた。また、14C-セロトニンを投与し得られたオートラジオグラムからは、セロトニンが卵黄囊、尿囊、卵殻、胃、腸、腎、目などに分布することが明かとなった。
VII-2	オキシトシン PGF2α PGE2	ProstaglandinならびにOxytocinの鶏胎仔に及ぼす影響について	寺木 良巳、 南雲 今朝雄	聖マリアンナ医大誌. 3(1975)26-33	PGF2α、PGE2、オキシトシンを孵卵3日目の卵黄囊内に注入し、死亡率又は催奇形性について検討した結果、蒸水対照群の死亡率28%に対し、PGF2αは10μg/卵投与群では蒸水対照群と差はないが、50μg/卵から100μg/卵と投与することにより死亡率が42%、59%とそれぞれ増加し、PGE2においても100μg/卵投与群において58%と高い死亡率が見られた。オキシトシンは0.5IU/卵は蒸水対照群と大きな差はみられなかった。奇形の頻度や種類は、PGF2α群で、足の強度鷄屈曲、脊椎の変形等が数例認められた。
VII-3		meaning of intra air sac administration of drugs in the process of chickembryo growth. Experiment by means of RI		聖マリアンナ医大誌. 6(1978)49-56	鶏卵気質内への薬物投与の意義を検討するため、色素(カルミン、フェノールフタレン)及び放射性化合物(トリチウムで標識したヒスタミン及びセロトニン)を中期段階の孵化の気質へ投与した。その結果、カルミンの卵殻への拡散、フェノールフタレンの尿膜腔液及び羊膜腔液への移行がみられた。放射性化合物については、いずれも投与30分後に尿膜腔液または羊膜腔液への移行がピークに達したが、羊膜腔液への移行は尿膜腔液よりも低く、ヒスタミンよりもセロトニンの方が移行速度が速く、放射性活性が高かった。また、ニコチンを気質内、卵白内、卵黄内いずれに投与しても、ニコチンによる水腫の発生に差はなかった。
VII-4		Morphogenetic Study on Embryonal Deformity and Polyembryony Induced in Chicken	Yoshigoro Ono, Waka Onodera, Tsugumichi Chiba.Nobuh ito	The St.Marianna Medical Journal. 6(1978)539-545	形態発生の現象と因果関係を明らかにするため、ラットの脾臓を誘導元として用い、早期に鶏胚下に挿入した結果、異常胚子ならびに多胚子発生を誘因することが明らかとなった。胚盤下に挿入する誘導元の種類や挿入部位によって重複奇形、双胚子、多胚子発生傾向等は今後の検討が必要である。
VII-5	—	Respiration of the developing chick embryo in nicotine treated hen egg	Yoshimi Teraki	The St.Marianna Medical Journal. 7(1979)325-334	ニコチン投与による鶏胚の発育に与える影響を検討するため、有精鶏卵にニコチン0.1、1.0、3.0mg/卵を卵白内に注入し孵卵し、孵卵後尿膜早静脈の血液量、血液ガス分析、鶏胎仔の体重、身長、孵卵能力等の観察を行った結果、ニコチン投与群は鶏胚血液が对照群より低値を示し、血液ガスの不均衡が見られた。また、ニコチン投与群は対照群と比較し、鶏胎仔の体重、身長が低く、ニコチンの用量依存的に孵卵が抑制された。ニコチン投与3.0mg/卵投与群では孵卵は全例阻止された。
VII-6	—	Protein and Nitrogen Metabolism in Blood and Allantoic and Amniotic Fluids of Chick Embryos in Nicotine-Injected Hen Eggs	Yoshimi Teraki	The St.Marianna Medical Journal. 8(1980)1-14	ニコチン投与による鶏胚の水症の発症、発育遅延の成因を明らかにするため、有精鶏卵にニコチン3.0mg/卵を卵白内に注入し孵卵し、孵卵後の外的奇形等の観察、尿のう水、羊水量の測定を行った結果、ニコチン投与群は対照群に比し発育遅延、尿のう水の減少、水症の発現、高い死亡率が認められた。また、ニコチン投与群は対照群と比較し、尿膜静脈血中の血清蛋白質の低下が見られた。
VII-7	オキシトシン	脳下垂体後葉ホルモンの鶏胎仔に及ぼす影響について	河村 潤之輔	昭和医学会雑誌. 22(1962)18-28	食用獣の脳下垂体後葉から抽出分離したアトニン、アトニン-O、また合成オキシトシンであるシントシンを用いて、鶏胎仔に及ぼす影響を検討するため、有精鶏卵0.5単位/卵、1単位/卵を卵白内に注入し孵卵し、孵卵後の死亡率、鶏胎仔体重、尿のう水量、羊水量の測定を行った結果、死亡率と平均体重、尿のう水量、羊水量の測定を行った結果、死亡率と平均体重、尿のう水量、羊水量は蒸留水対照群と有意な差を認めなかつた。孵卵9日目の鶏胎仔心臓の組織学的所見からオキシトシン投与群全例で心筋層内の浮腫が見られたが、孵卵12日目、15日目、18日目では浮腫は見られず、その他の奇形等の所見も見られなかつた。

平成25年6月27日

関係各位

上記の実験結果を表に纏めると次の様になる

	Oxytocin	PGF2 α	Serotonin
分子量	1007	356	176.2
半減期	3.3分	17~19分	17時間(腸)
呼吸作用	ない	軽度抑制	抑制
血圧作用	ない	高血圧	3相性
子宮収縮	強い	最強力	弱い、若干減少
子宮血流	間歇的	極度減少	極度減少
胎盤血流	間欠的	収縮	収縮
胎盤血管	ない	減少	減少
胎盤靜脈	ない	減少	減少
胎盤微小循環	ない	減少	減少
流産作用	なし	あり	あり
子宮内胎死	ない	あり	あり
奇形性	ない	あり	あり
胎兒毒性	なし	あり	あり

以上の結果から次の事が示唆される。オキシトシン自体、薬物としては収縮以外、特に作用はなく安全な薬なのに、何故、事故例が多く見られるのは帰するところ過量投与にある。子宮収縮剤の開発当初から PG の子宮取縮のみが論じられ、血圧、末梢血流など、ヒトに用いる時、参考になる基礎的動物実験などが、十分に為されないまま臨床に応用された結果が、今日の事故の背景にあるのではないかと思われる。また、最近の臨上には、胎盤乏血が妊娠高血圧の本態であるとの論説がみられる。著者は1974年、5-HT (Serotonin,セロトニン)による胎児致死作用とほぼ類似の薬理作用を持つことが知られた。何れも生理活性物質として妊娠、分娩に重要な役割を果たしているが、薬物の過剤投与は中毒を招くことになる。

今回の実験で、PGF2 α の場合、子宮取縮作用を除けば、同じオータコイドであるセロトニンとほぼ類似の薬理作用を持つことが示された。PG が子宮取縮作用をもつが故に、妊娠に対する薬物の安全性の観点から大いに危惧するところである、この度の資料をご検討され、善処下さいます様お願い申し上げます。なぜアメリカでは PG は未だに承認されてないのでしょうか。

子宮収縮剤の使用に関する申し立て趣意書

この度、各位へ申し立てを行うまでの理由と経緯は次の通りです

近日、産婦人科学会の事例報告をもとに、胎兒・新生児の脳性麻痺発症の原因を巡って、陣痛促進剤との関係を示唆する報道が数多く見られる。陣痛促進剤の副作用による胎兒の仮死・真死は同葉剤の使用認可後、現在に至るまで永きに渡って発生しており、学会においても使用ガイドラインの作成や、添付文書で警告し対応を行っているが、筆者の研究によればこの対応は不十分であり、早期に使用見合せの措置を取ることが必要であると思われる。

筆者は取縮剤 (PG) の使用が認可される以前の (1968 年) に、その特性を解明すべく、昭和大学にて数多くの動物実験を行い、適正用量と PG の特性を研究した。その結果、PG はオキシトシンには見られない特有の性質があり、人体に対して非常に大きな影響力をもつ事が判明している。当時ににおいても筆者の研究結果は十分に踏まえられた上で同葉剤は認可されたと思われるが、多様の事故事例が発生している現状から考えると、筆者の研究内容をご検討の上、再度見直す必要があるのではないかと感ずる所存であり、今回このように申し立て趣意書を送らせていただく次第である。

現在、妊娠中嘔吐の一因として、セロトニンが挙げられているが、PG も同じく内因性物質のオータコイドで、セロトニンと類似の機序作用をもっている。実験にはオータコイド、ボリペプチド、各種の血管活性物質などを用い、ヒト、マウス、ラット、ウサギの子宮、胎盤、血圧、血流などづきの各項目について検討した。

- I. PG と Oxytocin の性質
- II. PGF2 α の子宮内胎児致死作用 (動物実験)
- III. PG の血圧、末梢血流に及ぼす影響
- IV. PG の妊娠中嘔吐症候群作用 (妊娠高血圧症候群)
- V. PG の胎盤血管、胎盤静脈への影響
- VI. PG の胎盤通過性 (アイントープ実験)
- VII. PG の毒性と畸形性 (鶴胎仔) 実験

問題は PGF2 α が非臨床試験と GLP の承認なしに妊娠に対する薬物として現在も使用されていることにあると存じます。

敬白

略歴 日本解剖学会会員
日本薬理学会永年会員
元日本歯科大学教授

連絡先 相模原市南区松が谷町 23-14
TEL 0427-67-7887
FAX 0427-67-7886

I PG と Oxytocin の性質

はじめに
これまで子宮収縮剤の不適切投与が指摘され、使用上の問題、添付文書の警告、ガイドラインの作成、管理体制の強化など様々な対策が取られてきているが、事故は回避されない。
この問題の始まりは、今日で、いわゆる新薬承認のための非臨床試験、動物実験などを経ずに 1974 年（昭和 49 年）、臨床薬として承認された事にある。その後 1988 年再承認されたが、事故が報告されているのに、解決策が見出されず今日に至っているのが現状であると考えられる。小生も 2008 年、学会へ提言を行ったが単なる訂正にとどまった。今回、妊娠動物の実験データをもとに問題点を明らかにしてゆきたい。まず、第一次に過量投与の問題がある。過量投与とは治療量以上のことである。何故、過量投与かを次に論文で明らかにする。

資料 I-1 Oxytocin の薬効と安全性の評価
— Oxytocin PG の優劣を問う —
新薬と臨床 61巻 70—76 頁 2012 年（平成 24 年）

資料 I-2 産婦人科ガイドライン 平成 20 年 2 月 15 日
改訂のための提言と回答（学会提出内容）

- 添付文書と学会指針の用量について
子宮収縮剤の投与は慎重でなければならない。なぜなら PGF2 α は用量範囲が狭いので容易に中毒を起こしやすい。
添付文書 PGF2 α 0.1 μ g/kg/分
学会指針 PGF2 α 初回量 6 μ g/分
維持量 6～15 μ g/分
安全限界 25 μ g/分
ガイドライン変更前と変更後をみると
平成 18 年（2006 年）

表 4 非選択性の投与方法			
	オキシトシン	プロstagランдин	プロstagランディン
初回投与量	1～2mIU/分	0.1 μ g/60 分	0.1 μ g/60 分
以後 30～40 分ごとに ながらびに 增量	1～2mIU/分増量	15～30 分ごとに 1.5 μ g/6 分増量	15～30 分ごとに 1.5 μ g/6 分増量
維持量	6～16 μ g/分	6～16 μ g/分	6～16 μ g/分
安全限界	20mIU/分	安全限界 25 μ g/分	安全限界 25 μ g/分

改訂後 2011年(平成23年)

用量反応曲線 dose-response curve

薬の用量を増してゆけば効き目が出てくる。しかし増やし続けると頭打ちになる。これは用量反応曲線 dose response curve で表される。例えば下の図(14頁の図)でみるとヒトの摘出子宮片では、左側の一一番薄い濃度 PGF2 α で 10-10U/ml から収縮が始まり右の方へ濃度を上げてゆくと 10-7g/ml で頭打ちになり、それ以上にしても収縮は強くならない。

PGF α	絶対活性点濃度 (極めてシグナルを示す)		
	絶対活性点濃度 (μg/ml)	絶対活性点濃度 (μg/min)	安全限界
3000μg を5mlに溶解する 蒸水50ml/1に溶解 (fg/g/ml)	15-20μg/ml	6-15μg/min	25μg/min

図3

結果は初回投与量を小生の指摘により削除したことと、per kg から body weight を省き per 分に、初回 1.5-3.0 μg/min に少しく減量したことである。これでも多い。不十分と思う。オキシトシンの 3mU/min は PGF2 α の 1.5 μg/min である。分娩 I 期様の収縮はこの程度の量で十分である。PGF2 α 3 μg/min は oxytocin 6mU/min に、添付書の 0.1 μg/kg/min は 6 μg に、Oxytocin では 12 mU/min となる。改訂前の指針では、初回量、すなわち、始めるからオキシトシンの 12mU/min を使用を PGF2 α で指示していたことになる。オキシトシンは 8mU/min で分娩第 2 期様の刺激を与えることが出来るると Caldeyro-Barcia は述べている。維持量 12-24mU/min、安全限界に至っては 50 mU/min のオキシトシン相当量を投与していることになる。これは通常の 10 倍近い用量となる。過量投与とならないのか。この過剰投与の危険性を改訂時に考えてもらいたいと、学会へ提言したが、時間がないとの返事なので、これを申添える。

指針をみると、用量の変更のみならず、安全限界 25 μg/min を超えると危険域に入るとと思われる。ここで問題となるのは、最小中毒量である。最大有効量以上は中毒量であり、薬物の急性毒性に入ることになる。すなわち、図3に示す様に有効範囲を超えてそのまま投与を続けるとゆけば中毒閾値に入る。オキシトシンではなく決められないが最大有効量 16mU/min、PGF2 α 12 μg/min (オキシトシンの用量比では 8 μg/min) とみられている。しかし実際に使用している量と合はない。この固定化された量が如何に不合理なものであるかを説明したい。

オキシトシン 0.5mU ~ 50mU/min
PGF2 α 1.5 μg ~ 12 μg/min が用いられている。

用量範囲

薬はある一定量以上でなければ効果がないが、用量を増すと次第に強くなるが、効果は頭打ちになる。それ以上続けると中毒症状が現れてくる。この間が治療量、すなわち用量範囲になる。用量はどの様にして、何時から決められたか分からないが、臨上に多くみられていてる。しかし実際に使用している量と合はない。この固定化された量が如何に不合理なものであるかを説明したい。

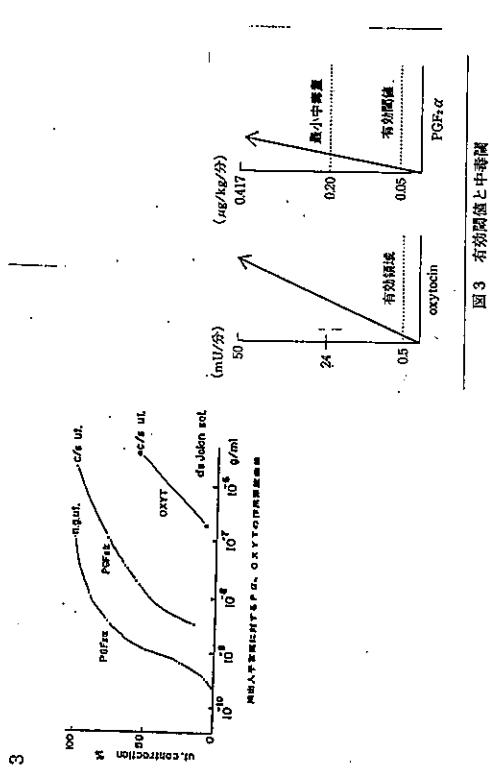


図3 有効閾値と中毒閾

また、14頁の図1をみるとオキシトシンの効き目は 0.05mU/kg/min からみられ、PGF2 α の効き目は 0.025 μg/kg/min からである一方、効き目の限度はオキシトシン 0.4mU/kg/min で、PGF2 α は 0.4 μg/kg/min である。

この効き始めの最小有効量と限度の最大有効量が治療量となる。これは 10 頁の Caldeyro-Barcia の述べている如くある一定以上の量を投与しても中毒作用が出るだけである。

オキシトシンは通常 8mU/min を超えると危険域に入るとと思われる。PGF2 α では 0.20 μg/kg/min が限界とされている。ここで問題となるのは、最小中毒量と最大有効量の間が有効量で、治療に入ることになる。すなわち、図3に示す様に有効範囲を超えてそのまま投与を続けるとゆけば中毒閾値ではとくに決められていないが最大有効量 16mU/min、PGF2 α 12 μg/min (オキシトシンの用量比では 8 μg/min) とみられている。これ以上投与すれば子宮は過度緊張 hypertonus となる。図の様に急速投与は容易に中毒範囲に入る。

2 PG の評価

学会の討論会が開かれ小生も参加した。課題は Oxytocin と PG のどちらが良いかである。

資料 I-3 ペルチスカッション

Oxytocin と PG の優劣

日本婦児地方法部会 群馬大 1976 年 (昭 51)

発表されて 6 年経過した時、PG について、從来のオキシトシン以上の効力があるだらうかなど期待されて、上記の題で討論が行われた、小生は從来通り安全なオキシトシンを、東大からは脇谷、増強には両者の差を認めることは出来ない。PG の方がオキシトシンよりも適応が広いと考えられると。医科歯科大からはオキシトシンよりも PG の誘発効果はやや勝る程度、増強効果は PG が勝る。都立墨田からは脇谷と増強は PG が Ox より勝る。PG で頻脈、頭痛、prolonged contraction など報告された。

ここで、用量について話し合われた。この時、東大から発表された用量は、PGF_{2α} は 3~25 μg/min と用量範囲が狭い。Oxytocin では個体差が大きく 0.5~128 mU/min と広範囲であり、PG が懸念していると、また誌上でも述べておられます。しかし、ここで問題となるのは、用量範囲のことです。

先の図 3 で示す様に用量範囲が広いといふことは、誰でも適度に安全に使用できるといふ事です。これに対し用量幅が狭いと有効閾値に達してから直ぐ中毒閾値に達してしまう。使用が難しい事で、注意して投与しなければならない。この点、オキシトシンでは安全範囲が広く、使いやすい。

PG の場合、オキシトシンの様な考え方で使用していることが、過剰投与の原因になつているのではないか。また波形についても Oxytocin では coordinate の形をとるが、PG では始めただらした形の曲線のため、不足のためと考へて過剰投与になることがありますと述べられているが、オキシトシンは波形で分娩進行状態を把握できるが、PG では初期には当て不出来ない。分娩監視装置に進行状態の波形が表れてこない。

討論で安全限界(この時はこの次句はなかったが)を 25 μg/min までとしたことが、今日、問題を引き起こしている。指針の遵守で安全でしょうか。維持量とか、安全量など何故、決められているのでしょうか。添付文書の通り基本用量 0.1 μg/kg/min で用量で加算するのが良いではないでしょうか。指針そのものが過量投与を薦めている様に見受けられます。この時の討論で安全性の面から、小生はオキシトシンの優位を訴えたが、PG の使用の難しさ、副作用多いことなどから、現在でも PG がオキシトシンに取って替わる程のものではないと信じている。事故の大きさを考えると一考に値すると思う。

3 効力比の算定

資料 I-4 ヒト摘出、妊娠子宮に対する Prostaglandin F_{2α} ならびに Oxytocin の効力比について

日産婦誌 25 卷 1213~1222 頁 1973 年 (昭 48)

従来のオキシトシンは国際単位であるが、PG は重量で用量を表しており、何かと不便であった。そこで著者は、Oxytocin と PGF_{2α} の用量比を 1973 年に、産婦誌に発表している。Oxytocin の mU と PGF_{2α} の μg を同じ単位にし、相當する用量を算定し使用し易いようにした。Oxytocin の mU/min を PGF_{2α} の μg/min と同列に換算したのが次の表に示す通りである。

例えばオキシトシン 3mU/min を使用している場合、PGF_{2α} の用量は半分の 1.5 μg/min になる。PGF_{2α} 3 μg/min を使用するとオキシトシン 6mU/min 使用することになる。添付文書の 0.1 μg/kg/min は 6.0 μg/min となり、オキシトシンの 12mU/min になる。

表 1 Oxytocin と PGF_{2α} の用量比

μg*	oxytocin		PGF _{2α}	
	mU/min/body	μg/min/kg	μg/min/kg	μg/min/body
1.0	2.0	0.016	0.025	15
1.5	3.0	0.025	0.035	30
3.0	6.0	0.050	0.050	30
4.0	8.0	0.067		
5.0	10.0	0.083		
6.0	12.0	0.100	0.100	60
7.0	14.0	0.117		
8.0	16.0	0.133		
9.0	18.0	0.150	0.150	90
10.0	20.0	0.166		
11.0	22.0	0.183		
12.0	24.0	0.200	0.200	120
13.0	26.0	0.216		
14.0	28.0	0.233		
15.0	30.0	0.250		
16.0	32.0	0.266		
17.0	34.0	0.283		
18.0	36.0	0.300	0.300	180

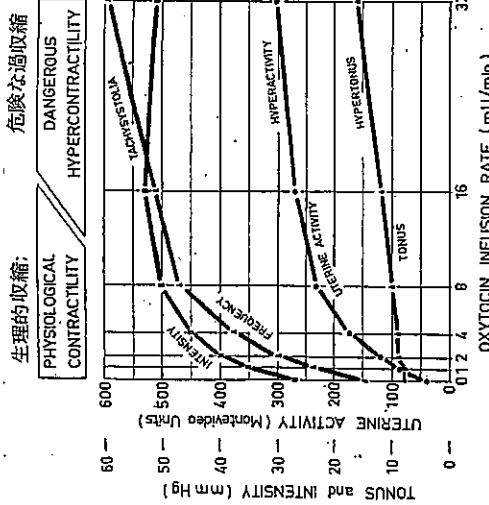
* body weight 60kg に Oxytocin の 1 μg
† 各種 Oxytocin は 200 μg の 1 μg

4 Oxytocin の投与量と子宮収縮の関係

従来より世界各国で使用されてきた oxytocin の用量を定評のある Calleyro-Barcia の論文から引用した。すなわち、Oxytocin の注入量と妊娠末期子宮の収縮とは密接な関係があり、頸管 2cm 開大の時、Oxytocin 1~2 mU/min と妊娠末期の子宮収縮を、8 mU/min で分娩第 1 期の子宮収縮を、8 mU/min で分娩第 2 期様の刺激を与えることが出来る。第 2 期の最も強い収縮は 16mU/min によってもたらされる。また Roberts ら(1976)は Oxytocin 6~8 mU/min は PGF₂α 3 μg/分に相当すると述べている。

このことは図によつて理解することが出来ると思う。下の図は Calleyro-Barcia が 1957 年に発表したもので、オキシトシンの投与量と子宮収縮の強まりを示している。図で 0 は自然の収縮をあらわしている。これにオキシトシン 1,2,4,8,16,32 mU/min と点滴量を増やしていくと、子宮収縮のトーヌス、強さ、頻度が用量に応じて増えてくる。それを掛け合わせると子宮活動(Uterine Activity, U.A.) Montevideo 単位となり子宮活動の大きさを表すことになる。1 分当たり 2mU で 121, 4mU で 169 に、8mU で 218 単位と大きくなる。この様にオキシトシンの投与量と子宮収縮の強さは比例する。

一方、PG にはこれと対応する様なスタンダードとなる陣痛曲線は得られない。分娩監視装置で進展状況を把握することは困難である。PGF₂α には第 2 期の終わり頃までは、良い陣痛曲線が得られない。



R. Calleyro-Barcia y S.V. Poce;

前の頁で子宮活動(U.A.)は Montevideo 単位で表されることを述べたが、続けて増量していくても上の図で見られる様にある一定のところどまり横ばいになる(用量反応曲線)。図は左側に自然収縮を、右に危険な過収縮になることを表している。オキシトシン点滴速度を上げてゆくと、2mU/min で 121, 4mU で 169, 8mU で 218 Montevideo 単位となる。これまでの投与であれば生理的な子宮収縮が可能である。しかし、16mU/min より増やして、32mU/min になると 323 Montevideo 単位になり、で危険な過収縮 hypercontractility の領域に入る。結局、オキシトシンでも 16mU/min 以上の投与は危険だとすることになる。流産も可能となる。

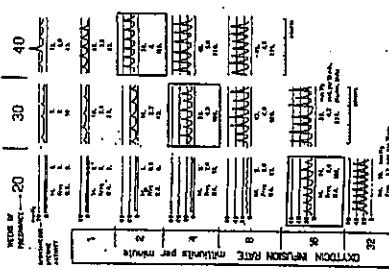
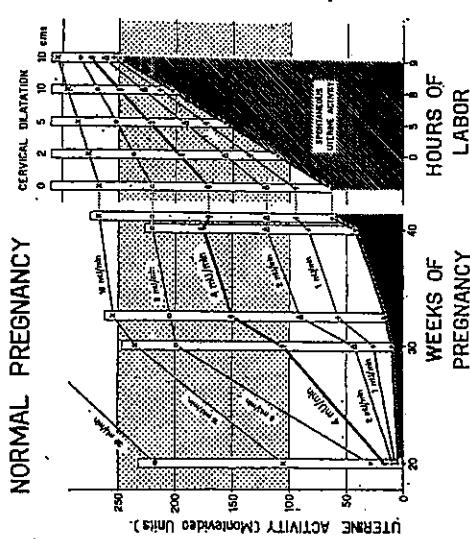
オキシトシンでも人工妊娠中絶はできるか。
1962 年、N.Y. の病院で妊娠中期(18~26 週)の患者 7 例中 5 例に中絶が出来たとの報告がある。投与量は 440mU から 3400mU 要した。24 時間内 2 例、54 時間毎 3 例であった。副作用として顔面紅潮、めまい、頭痛、恶心、一過性の血圧上昇などであった。図では妊娠 20 週の中絶に 16mU/min の点滴静注により、U.A. 105 となり、32mU/min U.A. 217 の強い子宮収縮をもたらすことが出来、流産を惹きおこすことができるとの事例であつた。感受性が低くとも投与速度が問題である。

R. Calleyro-Barcia y S. V. Poce

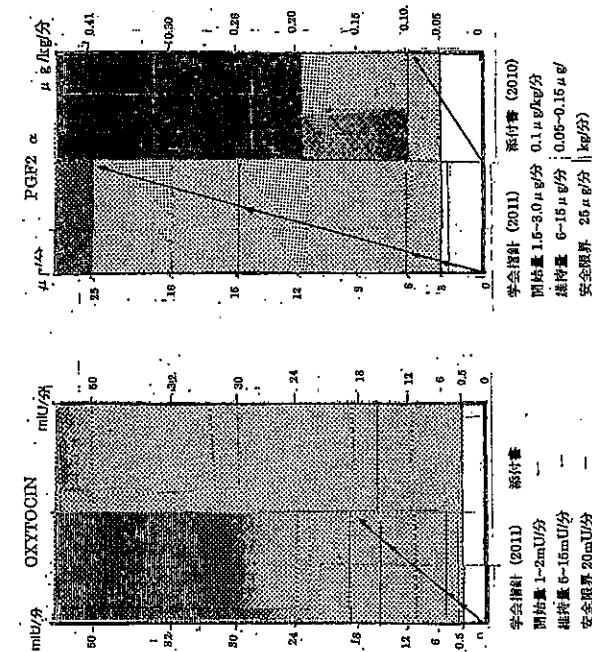
Tonus	CONTRACCTIONS INTENSITY mm. Hg	LITERINE ACTIVITY FREQUENCY per 10 min.	MONTEVIDEO UNITS
0	40	12.30 hours	121
1	40	13.30 hours	169
2	40	14.30 hours	218
3	40	15.30 hours	323
4	40	16.30 hours	
5	40	17.30 hours	
6	40	18.30 hours	
7	40	19.30 hours	
8	45	2.7	
9	58	2.9	
10	66	3.2	
11	75	3.6	
12	75	4.2	
13	77	4.2	
14	77	4.2	

下の図5は妊娠週数と頸管熟化(開大)度とオキシトシンの感受性を、まとめて示している。図では満期40週での促進の適正な量は、少なくとも100から200 U.A.の範囲内である。点滴滴投与を行うことであり、それにはオキシトシン2mU/minより4mU/min、または8mU/minまでの使用が原則であると考えられる。

5 動痛の誘発と促進に対するPGとOxytocinとの相違
従来のオキシトシンの使用に比べてPGの使い方は難しい。誘発がどこから始まり、どこから陣痛へ移行しているか、陣痛曲線で把握できない。そこで使い慣れているオキシトシンと比べ、PGF2 α はどの位に相当するか、分かり易く示したのが下の図である。



先のバーネルデスカッシュョンで感受性はBishop scoreで7以上は殆ど差を認めないが、5以下ではPGF2 α の方が有効で通常の3倍量でよいがオキシトシンでは10~20倍が必要であると発表された。図4で見られる通りである。



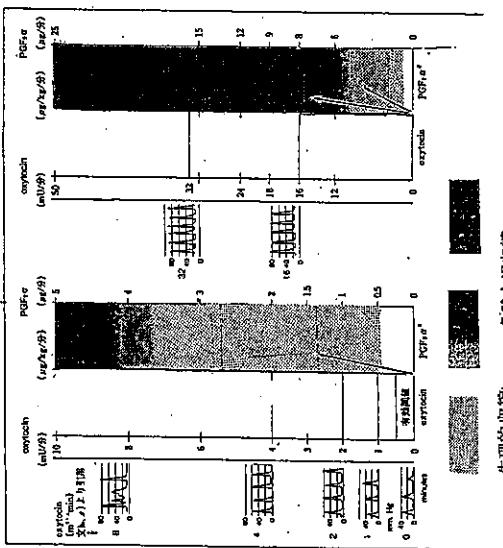
図で見るとPGF2 α 0.1 μ g/minは6.0mU/minでOxytocinの12mU/minとなる。オキシトシン1~2mUで誘発、促進するのに、PGの場合はOxytocinに換算すると12ミリ単位分から始める事になる。しかも規則的な波形が得られないでの、分娩の進行状態把握には困難がある。PGの場合、最小中毒量 0.20 μ g/min/kgと思われるが、安全限界 25 μ /minは0.417 μ g/min、でオキシトシンの50mU/minに相当する。オキシトシンでは通常2~8mU/minである。次いで学会の指針はオキシトシンの用量 1~2 mU/minから始め、維持は5~15mU/min、安全限界 20 mU/minとしており、用量比の取り方に疑問が残る。オキシトシンで安全限界が記載されている文献は見当たらないが Caldeyro-Barciaは16mU/minまでを安全限界とみている。

Figures 5, 6, 7. Comparison of PGF2 α and Oxytocin. Figure 5: Normal pregnancy graph showing cervical dilation over hours of labor and weeks of pregnancy for various oxytocin doses. Figure 6: Normal pregnancy graph showing uterine activity over hours of labor and weeks of pregnancy for various oxytocin doses. Figure 7: Graph comparing PGF2 α (μg/min) and Oxytocin (μg/min) with conversion factors from学会指針 (2011) and 指付書 (2010).

Oxytoxin と PGF₂_α過量投与回避のための提案

現在指針で示されている投与量は Oxytoxin と PGF₂_αとともに高く設定されている様に思われる。事故 2 例を挙げて指針の量が妥当かどうかを考える。最初の一件目はオキシトシン 2.5 ~ 5mU/min で陣痛 7 分間隔、さらに 10, 15, 20mU/min で 3 分間隔となつていて、結果として帝王切開で娩出、重症新生児死の状態であった。低酸素症の後遺症である脳性麻痺の診断、暗黙を求められた。2 例目は未産婦に頸管狭窄化していないのに PGF₂_α 総量 6000 μ 投与なく帝王切開、高血圧持続、膣出血後死亡している。オキシトシン安全限界 20mU/min としても 8mU/min を上回る量を投与し続けていること、過収縮、子宮血流量減少、低酸素持続、妊娠となりたものと考えられる。後者の高血圧は PGF₂_αによる子宮収縮が胎盤の乏血があり、それが引き金となり、昇圧因子が出て高血圧を来たし、膣内出血を来たし、脳内出血に至ったものと思われる。何れにしても過量投与にすることは間違はない。

以上の事から一度、原点に戻り用量を見直して見る必要があると思われる。誇張、促進の意味を考え、低量で時間を掛けて誘導するようにする。上記の様な事故は起きないと思う。この度、引用した Caldeyro-Barcia の文献は古典的ななもので、各国で広く用いられている。用量もこれに準じてオキシトシン対 PGF₂_αで考えてみたのが、下に示す図である。危険な領域の用量を避ける為には、事故を防ぐには思い切って用量削減以外に方法はないと思う。



Physiological contractility / Dangerous hypercontractility
生理的収縮 / 危険な過収縮
Oxytoxin 2~8 mU/min 8~16 mU/min 16 mU/min ~
PGF₂_α 1~4 μg/min 4~8 μg/min 8 μg/min

資料 1-5
人妊娠末期子宮の Prostaglandin F2_α、Oxytocin 投与による
感受性と半減期の測定ならびに血中濃度について
発表誌 26 卷 1175~1183 頁 1974 年 (昭 49)

Oxytoxin と PGF₂_αの感受性と半減期の問題
子宮収縮剤の使用に当たっては、どの位の量まで使えるかを考慮に入れておかなければならない。オキシトシンと PG では性質が違う。子宮収縮剤はオキシトシン、PG 共に点滴静注で使用される。これは半減期が比較的短く調節し易いからである。Oxytoxin の半減期は 3.3 分であるのに PGF₂_αでは 17~18 分と長い。オキシトシンの場合、作用発現も消退も早い。波形が良く協調的でコントロールし易く、過度の子宮収縮が起こっても、投与を中止すれば直ぐ終わる。しかし PGF₂_αでは収縮の発現が遅く、しかも、だらだら波形で進行状態を把握出来ない。強い収縮を器めて中止しても容易に止まらない。これが PG でよく見られる hypertonus の原因となる。

図 4 は Oxytoxin の注入量と初発子宮収縮との関係をみたもので、0.1mU/kg/min で反応時間は 3.8 分であった。図 4 は PGF₂_αの 0.10 μg/min 投与で初発収縮まで 16.6 分要した。この結果 PGF₂_αの子宮収縮までの時間はオキシトシンよりも遅く、PGF₂_αの 0.025 μg/kg/min 以下の用量では反応しなかった。

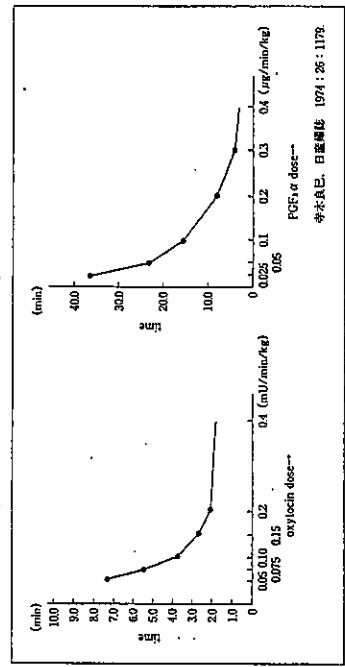


図 1 Oxytoxin と PGF₂_αの用量反応曲線

子宮収縮薬の強さの比較

資料 1-6

The Mode Action of Prostaglandins on the Uterus Muscle
岩手医誌 31巻 199-210頁 1979年(昭和54年)

安全域は動物を用いて実験的に決められるものであり、これをそのまま臨床に当てはめることは出来ないが、およその目安にはなる。用量を増してゆけば作用の強さが何の様に変化してゆかを調べたのが用量反応曲線 dose response curve である。例は図1の様に非妊娠ラット子宮は Oxytocin で 10^{-11} g/ml から収縮が始まり 10^{-9} g/ml で最大の収縮に PGF₂α は 10^{-9} g/ml から収縮がみられ 10^{-6} g/ml で最大最大の収縮がみられる。

図3はヒトの子宮片で PGF₂α は 10^{-10} g/ml より収縮がみられ、 10^{-7} g/ml で最大収縮になる。Oxytocin では 10^{-7} g/ml より収縮が 10^{-5} g/ml の濃度で最大収縮になる。最大量以上投与してもそれ以上強くならないで中毒になる。

図2はラット子宮で PGF₂α 10^{-8} g/ml で痙攣性の収縮がみられる。しかし Oxytocin では一度の収縮で終わる。

図4は妊娠末期のヒト子宮片に PGF₂α 5×10^{-11} g/ml の濃度で収縮反応がみられず 5×10^{-10} g/ml で収縮、痙攣性の収縮がみられる。

ちなみに μ Mマイクログラム (1グラムの100万分の1) である。非常に微量であり PGF₂α の投与の際、中毒にならない様に慎重に投与しなければならない理由である。

図1

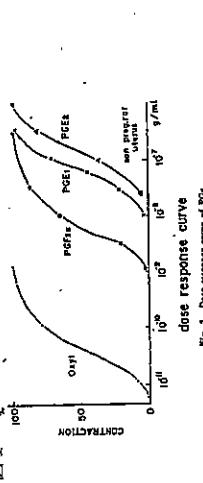


Fig. 1. Dose-response curve of PGF₂α.

図2

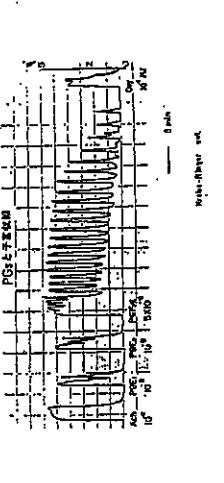


図3

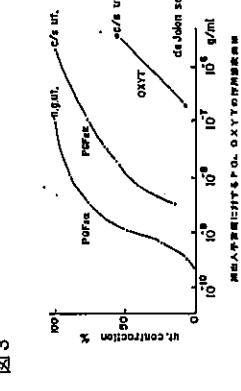
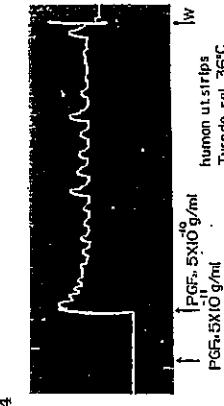


図4



II 5-HT および PGF₂α の子宮内胎児致死作用 (動物実験)

はじめに

妊娠に薬物が投与される場合、その殆どは母体の診断、治療の為であり、胎児が対照とされることは例外的である。したがって薬物の胎児に及ぼす影響についての研究は、あまり重要視されてこなかった。しかしながら影響が大きい。こと、子宮収縮剤でも今日、胎児に重要な影響を与える事実である。

分娩促進剤により胎児死亡、胎児に重大な副作用である。著者は薬物により子宮内胎児が死亡する事に、その原因を追究することは困難である。著者は薬物により内因性の物質で前重大な関心を持ち、実験し、実験し、その原因の解明を長年にわたり試みてきた。分娩時、正常の陣痛にはよくに収縮剤を投与する必要がない。なぜ使用するか、陣痛促進のためである。陣痛癒来の機序は未だ十分明らかでないが、現在、オキシトシンとプロスタグランジンが oxytocics として考えられている。これらは、もとより内因性の物質で前者は脳下垂体ホルモンである。これらは各臓器よりの局所ホルモンである。これらは妊娠の維持、分娩時などに重要な生理的調節作用をしている。

しかし、分娩誘発、微弱陣痛などの場合、分娩促進のために、母体に投与される子宮収縮剤は製剤された薬物である。体内の動向に応じて産生される局所ホルモンでもない。必要な量に關係なく投与される外からの物質である。必要な量は果となるが、過剰な場合は中毒作用を表す。内因性の不足を補うために止むを得ず使用することになるが、適用を誤れば過量投与になり、中毒作用が惹かれてくる。

著者は妊娠中毒症の研究中、オータコイドの中にも、子宮収縮作用も持つが、胎児致死作用を持つ 5-hydroxytryptamine (5-HT), Serotonin に興味を持ち、なぜ子宮内の胎児に直接作用するか、その機序を明らかにするべく実験を行ってきた。

また、妊娠中毒症の患者に、しばしば子宮内胎児死亡がみられる事から、その toxic 物質が何であるか、当時、昇圧物質の CA などを中心に研究が行われていた。5-HT の名見により毒性は知られたが、果たして高血圧作用があるかどうか、1982 年の論文でも Does 5-hydroxytryptamine play a role in hypertension? と疑問視されていた。しかしカテコールアミンと異なる毒性を持つことから研究を始めた。

セロトニンと胎児死亡

一般に子宮収縮剤の過量投与が胎児死亡へ導くと取りめがされているが、子宮收縮によつてなぜ胎児死亡がおこるだらうか。オキシトシンでは中々流産させることができない。PGでは治療的流産が可能である。何故違うのか、素朴な疑問ではあるが重大な差異がある。また子宮内胎児死亡は妊娠中難症などにもみられる。これには子宮収縮は伴わないが、妊娠末期に高血圧と浮腫を伴う妊娠高血圧とも呼ばれる。その原因是 toxic 物質によるものとされ研究が続けてきた。そして現在、子宮内の胎児の死を惹き起す物質にセロトニンが知られている。内因性物質でヒスタミン、アンギオテンシンなど同じくオーダーコイド、または局所ホルモンと呼ばれる。プロスタグランジンもこの中にに入る。セロトニンは、今日では、脳膜ホルモンとして知られているが、子宮平滑筋に対しては PG や Oxytocin 程ではないが、腸管、子宮、血管などに作用し、また血圧、血流にも影響を与える。このセロトニンについて重要な作用があること分かった。

資料 II-1 5-HT による胎児致死作用の機序とその拮抗剤の影響について

(動物実験) 日産婦臨 20巻 1639-1645頁 1968年(昭43)

薬剂により母体への影響なしに、子官内の胎児を死なせせるという論文を投稿したところ、動物実験を入れる様指示された。今日では考えられない程の実験だった。妊娠後半期のマウスにセロトニンを皮下注射し、剖検したところ母体に影響ないが、一腹中の胎児が死んでいたのがみられた。生存、死亡の割合は投与量によつて決まる。例えばセロトニンを妊娠 16~19 日目のマウスに 16mg/kg 皮下注射すると、胎仔 101 匹中 14 匹しか生存していないかった(表1)。さらには倍量の 30mg/kg を投与では全例死していた。生存率 0% である。この作用は予め、セロトニンの拮抗剤 LSD-25 または Methysergide を投与しておくと、防禦されることが分かった。すなわち LSD 30μg/kg, と 90 μg/kg を、前もって投与しておくと、胎仔は 144 匹中 48 匹が生存、3 倍投与では 134 匹中 107 が生存していた。セロトニンの有効な作用は拮抗薬 LSD によって拮抗されたことになる。この拮抗は胎盤によって行わされたと思われる(表1)。拮抗とは 2つの薬物の併用でおのおのの作用が減弱することをいう。

*1 Protective effects of LSD against the deleterious action of 5-HT in preg. on the 17-19th day.

Group	Treatment	No. of preg. mice	No. of foetus (live/total)
	5-HT 15μg/kg	13	14/101
A	5-HT 30μg/kg	9	9/89
	LSD 30μg/kg +5-HT	20	48/144
B	LSD 90μg/kg +5-HT	17	107/154
C	LSD 30μg/kg	4	35/35

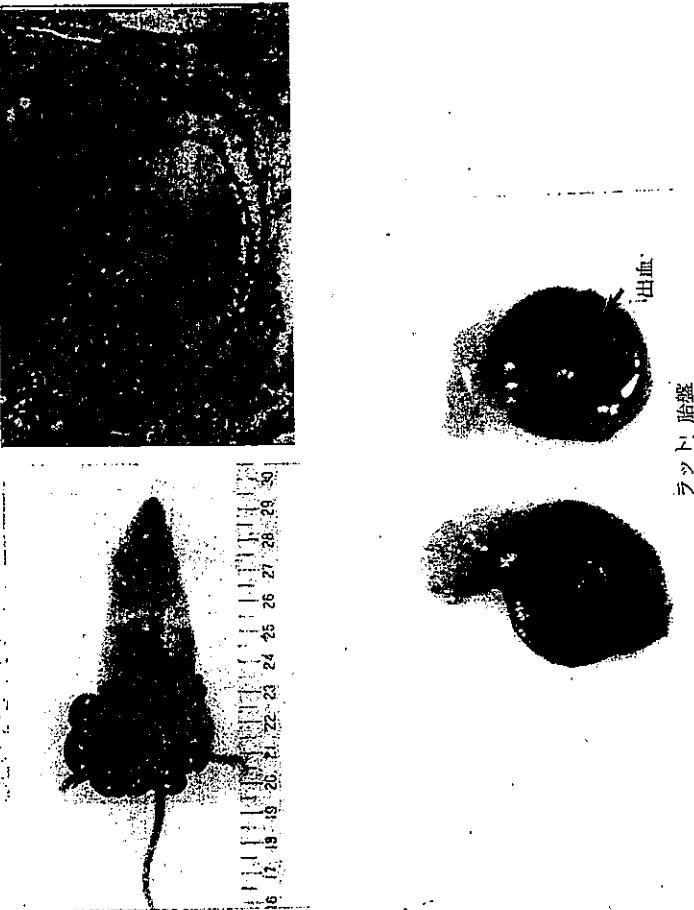


写真 4 子宮副臍血管: ラット

本来、セロトニンは体内にある。そして、各臓器は局所ホルモンなど特有の生理作用により調節されている。これが外部から過剰に与えられた場合、この場合はセロトニンだが、臓器(子宮、胎盤)は直ちに反応して病態生理へ陥る。この結果、子宮胎盤障害など胎盤を中心とした研究を行わないと、胎児死に到る経緯を明らかにすることが出来ない。写真 4 はラットの剖検図で子宮副臍血管の中に分かれて子宮がある。双角子宮である。写真 1 は 5-HT 2mg/mouse i.c. 投与の剖検所見で一腹中、胎児は左右に 5~6 匹位みられ死亡、吸收胎兒もみられる。写真 3 は死亡胎兒もみられる。写真 4 は新生胎兒もみられる。写真 3 は毛細血管の拡張が著明である。



資料 II-2
Homochlorcyclizine の 5-HT に対する拮抗について
臨床婦人科産科 23巻 89-94頁 1969 (昭44)

セロトニンの胎児に対する有害な作用は抗セロトニン、抗ブラジキニン剤、抗ヒスタミン剤である Homochlorcyclizine(HC)によってもブロックされないかを検討した。先の妊娠マウスに対して生存率 13.5% を HC 0.5mg/mouse に前処置することにより 75.9% まで、引き上げることが知られた(表1)。また、マダガス法により、マウス摘出子宮の収縮は HC の作用によりブロックされた。

図1はセロトニン 2×10^{-8} g/ml で一定の収縮が見られた後、洗浄し直ちに HC 10^{-6} g/ml を加え、8分間接触し、セロトニンを重加したが収縮はみられなかつた。繰り返しても反応はなかつた。この様に拮抗が見られるることは、セロトニンと HC とは子宮の受容器を競合していると思われる。

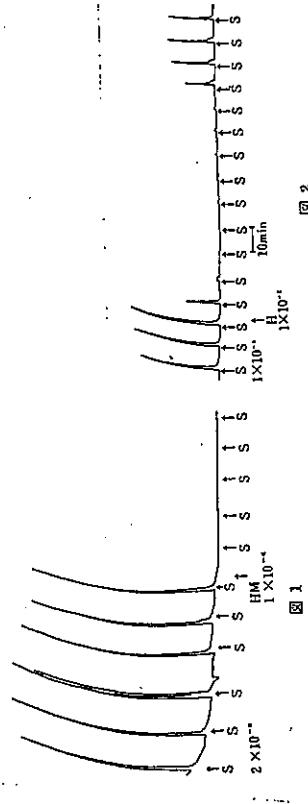


図1

この図1はセロトニン(S)で子宮内の胎兒は死亡するが、その拮抗剤を投与しておらず生存している。セロトニンの中毒作用を Homochlorcyclizine, HC が抑えるからである。生体内で行われるいるものを、直接見ることは出来ない。胎盤にも作用するが、子宮にも受容器があつて、同じことが行われてと思われる。そこで、ラットの子宮片をマグヌス装置にかけ、セロトニンを入れてみると。すると子宮は収縮する(S)。これを繰り返し、観察後、HC を加えると、子宮片の動きが止まる。すなわちセロトニンの作用は抑えられたことになる。これが拮抗されたという。実験で明らかにできる。

2. プロstagランジンの妊娠中絶作用

資料 II-3

Prostaglandin F2 α 邪膜外注入による初期中期妊娠中絶の実験と PGs 中絶法に対する考察

産婦人科の世界 26巻 59-66頁 1974年 (昭49)
プロstagランジンは子宮収縮剤として他のに流産作用がある。すなわち、子宮内胎児致死作用をもつていることになる。言わば流産薬である。その効力を纏めた症例である。PGF2 α の邪膜外投与により妊娠初期、中期の中絶を起こすことが、まだ静注によつても流産を引き起こすことが知られた。この胎盤の病理組織所見では胎盤による胎盤の乏血による胎盤出血がみられた。

図4は PGF2 α $500\mu\text{g}$ 点滴静注によって子宮内圧は上昇し高度の緊張状態が続く、図5の卵膜外投与 $1500\mu\text{g}$ 投与によつても同じく内圧の過度緊張が続き、2時間後におかでも持続的な収縮がみられた。Oxytocin 0.5 単位、静注しても内圧の変化はみられない。また Estradiol 处理した非妊娠ラット摘出子宮に PGF2 α $\cdot 5 \times 10^{-8}$ の濃度で痙攣性の子宮収縮が長く続いている(図2)。しかし Oxytocin では一回の収縮のみで反復しての収縮はない。如何に PGF2 α の収縮力が強いかが知られる。

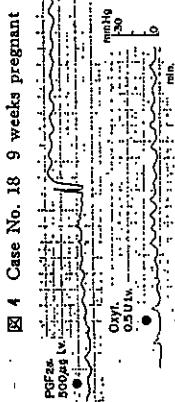


図2

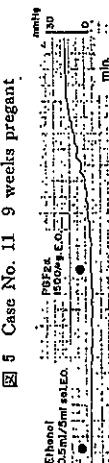


図4



図5

胎児は閉ざされた環境の中で生きている。胎盤は胎児肺とも呼ばれ、胎盤を通して酸素や栄養物を得ている。血流が減少したりすると胎盤は変性し、十分に胎児へ血液を送ることが出来なくなる胎盤の虚血が起こり、胎児は死んでしまう。そして流産となり体外に排出される。現在、abortifacient 流産を促す物質として知られているのに PG とセロトニンなどがある。

資料 II-4 Influence of prostaglandins and serotonin on the fetus and uterus and effects of those antagonists - Autocoids and Pregnancy (I)

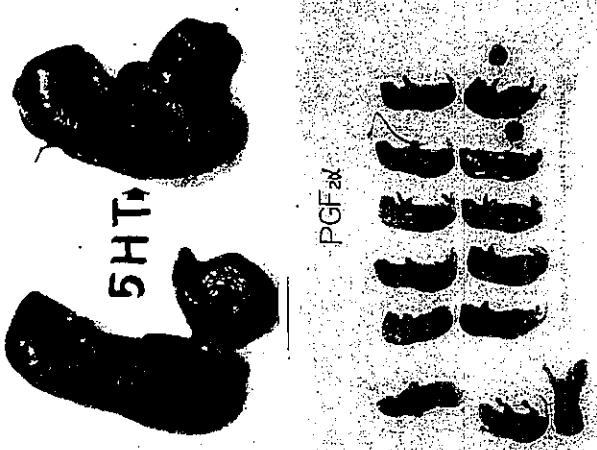
その拮抗剤の効果 一妊娠とオータコイド (1)
新薬と臨床 49-56 頁 2013 年

妊娠マウスに対するセロトニンの胎児死と子宮に及ぼす影響と PGF_{2α} の効果をまとめて発表した。胎盤の機能低下が原因と推定された。Homochlorcyclizine の効果によって発表した。胎盤の病理組織学的所見から胎盤の乏血が原因であろうと考えられた。実験に用いた妊娠 18 日から 20 日までのラットにおいて、PGF_{2α} 6mg/kg s.c. で子宮内胎児死亡率は 20-30% であったが妊娠末期、分娩直前の死亡率はほぼ 70-80% になった。母体の死亡例は剖検時のみられた。また PGF_{2α} の用量 50μg/kg i.v. でも母体の死亡はなかった。しかし、生存胎児の子宮、胎盤においても軽度の病理学的变化が、まだ死亡胎児の胎盤には強度の出血が観察されており、投与量と時間の経過によっては死亡、流産にいたるものと解釈される。PGF_{2α}、セロトニンは妊娠ラット、マウス胎盤に対して類似の薬理作用を及ぼすものと考えられる。

写真は妊娠 19 日目のラットの胎児と胎盤である。左は正常な胎児と胎盤で胎盤に附着した頸部はあるが出血はない。

写真の右はセロトニン (5-HT) 20 mg/kg s.c. 投与のラット胎児で死亡している。

胎盤には著明な出血が見られる。



右の写真は PGF_{2α} 0.5mg/kg s.c. 投与妊娠 21 日目のラット一頭中の胎児で、4 時間後、剖検した結果、左の 3 回は生存、動きがみられる。右の 10 回はすべてで死亡していた。

資料 II-5 胎児死亡と子宮収縮剤 (PG) および及び serotonin (II)

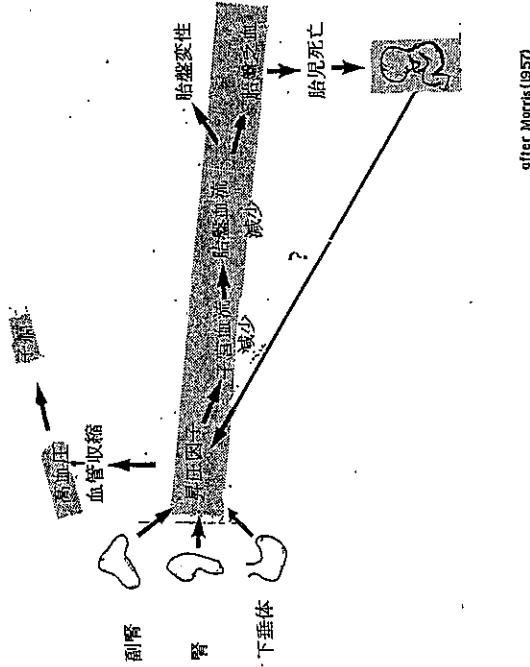
— 胎盤は胎児肺 —

2,011年 10月 11日 原稿完了 (未刊)

上記の題で PG が子宮内の胎児を死亡させるることをまとめたが、発表する機会がなく日に至っている。しかしその内容は前資料 II-3 に載せてある。英文とカラー写真がないので理解されにくいくらいと思われる。それを補う意味で重複する部分もあるが、敢えて資料として提供する。実験の目的は、なぜ薬物によって子宮内の胎児が死亡するか、その機序を明らかにすることにあつた。Morris(1957)によれば副腎、腎、下垂体からと、未知の昇圧因子が子宮筋層の血流を減少させ、さらに胎盤血流も減少へ、そして胎盤の変性あるいは胎盤乏血を招き、やがて胎児死亡に至る。一方、胎盤乏血は昇圧因子を産生し、母体に高血圧を招き、子宮 eclampsia を引き起こすことになる。

セロトニンによる胎児死亡はセロトニン拮抗剤によって防禦出来た。と言うことは胎盤が胎児生存の鍵を持つことと考えられる。

本実験は 1958 年夏セロトニンで始め PG と併行して各種の実験を行つたもの一部である。



after Morris(1957)

III PG の血圧、末梢血流に及ぼす影響

PG 発売以来、血圧の問題は昭和 48 年 6 月の第 184 回日産婦会で、日本医大の鈴村

教授から Prostaglandin の血圧に対する作用も臨床上には大切な問題であると。しかしながら、動物での実験の難しさ（イス、ウサギ以外のラット、マウス）から今まで、妊娠動物での成績の報告は小生の知る限り実験例を見受けない。筆者は昭和 49 年、第 26 回、日産婦会においてラットで PGF₂α の血圧上昇作用をみている。今日、妊娠高血圧が問題にされている事に鑑み、永年話上にて発表していかなかった。今回、問題解決の糸口になるのを期待して詳しく述べる。すなわち、血圧と末梢血流とくに妊娠動物の子宮血流と胎盤血流、微小循環はあるかどうか、重要な課題と考えられる。

血管作動物質およびオータコイドの中に子宮内胎児致死作用或いは流産作用を持つものにセロトニンとプロスタグランジンの 2 種類がある。他の血管収縮や拡張物質と異なり、なぜこの両物質に該作用がみられるかに興味を持ち、血圧と子宮、胎盤など末梢血流量について検討した。

資料 III-1 Prostaglandins の子宮胎盤循環に及ぼす影響

26 回日産婦会 昭和 49 年、1974 年

セロトニンによる子宮内胎児致死作用は胎盤出血が致命的などと考えられ、胎盤血流の報告をした。子宮胎盤血流の測定は右図の交差熱電対法によった。

妊娠ラットの子宮は薄く、胎盤と共に測定は困難で子宮と胎盤の血流は別々に測定した。

ラットでは著しい高血圧と胎盤血流の減少がこの当時から観察されていた。セロトニンは血管平滑筋に収縮と拡張作用があり部位により差がみられる複雑な三相性の変化がみられる。また微小循環の実験で知られた。

PGF₂α では呼吸抑制、血圧の高度上昇、胎盤血流の減少がみられた。セロトニンではなく、血液は凝集し、その血管を収縮させ、細い血管は拡張する。PG の循環系に対する反応は複雑で PGRE1, PGF₂α の PGA は拡張作用を示すが PGF₂α の作用は動物種によつて変動する。

PG の呼吸、血圧に及ぼす影響

資料 III-2 (1989)

Effects of prostaglandins and several vasoactive substances on blood pressure, respiration and blood flow by intra-ventricular, intra-arterial and intravenous routes.

医学 76巻 1246-1257頁 1989年(昭64)

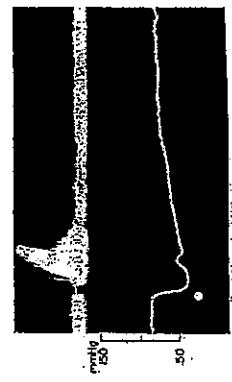


Fig. 1. Effects of intravenous PGF₂α on the blood pressure and respiration in rabbits.



Fig. 2. Effects of intravenous PGRE1 on the blood pressure and respiration in rabbits.

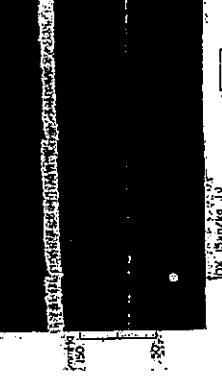


Fig. 3. Effects of intravenous PGF₂α on the blood pressure and respiration in rabbits.

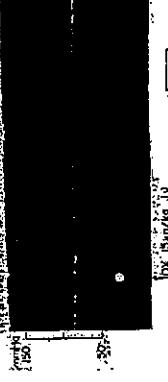


Fig. 4. Effects of intravenous oxytocin on the blood pressure and respiration in rabbits.

ラット血圧に及ぼす PG, Oxytocin の影響
投与量により血圧は変動する。ラットの場合、PGF₂α では作用が異なる。

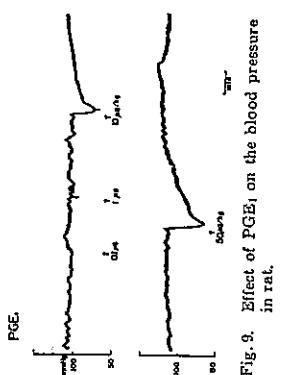


Fig. 9. PGF₂α 1 μg/kg から 10mmHg の血圧低下がみられ、50 μg/kg で 50mmHg の血圧下降がみられた。

PGF₂α (Fig. 11) PGF₂α 0.1, 1.0, 100 μg/kg i.v. でそれぞれ下降し、10 μg/kg で 45mmHg 下降がみられた。

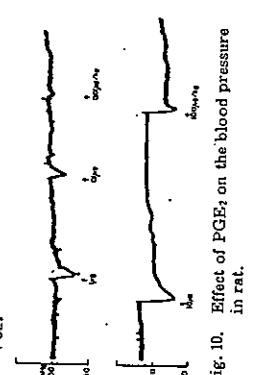


Fig. 10. Effect of PGF₂α on the blood pressure in rat.

PGF₂α (Fig. 11) PGF₂α 0.1, 1.0, 100 μg/kg で変化なく 1.0 μg/kg で僅かに下降後 25mmHg 上昇、10 μg/kg で 17mmHg 下降後、上昇、1000 μg/kg では 90mmHg も下降後 再び上昇に転じたが 20 分ごとに元の血圧に戻れなかつた。

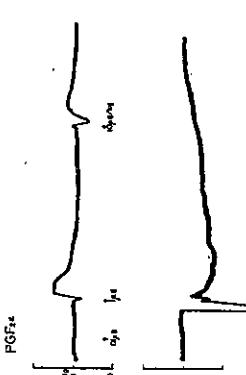


Fig. 11. Effect of PGF₂α on the blood pressure in rat.

Oxytocin (Fig. 12) Oxytocin 25 μg/kg 接与によりかなりの血圧の上昇を認めた。

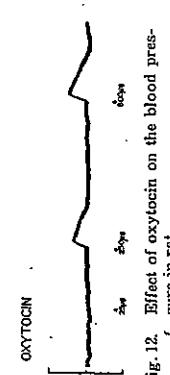


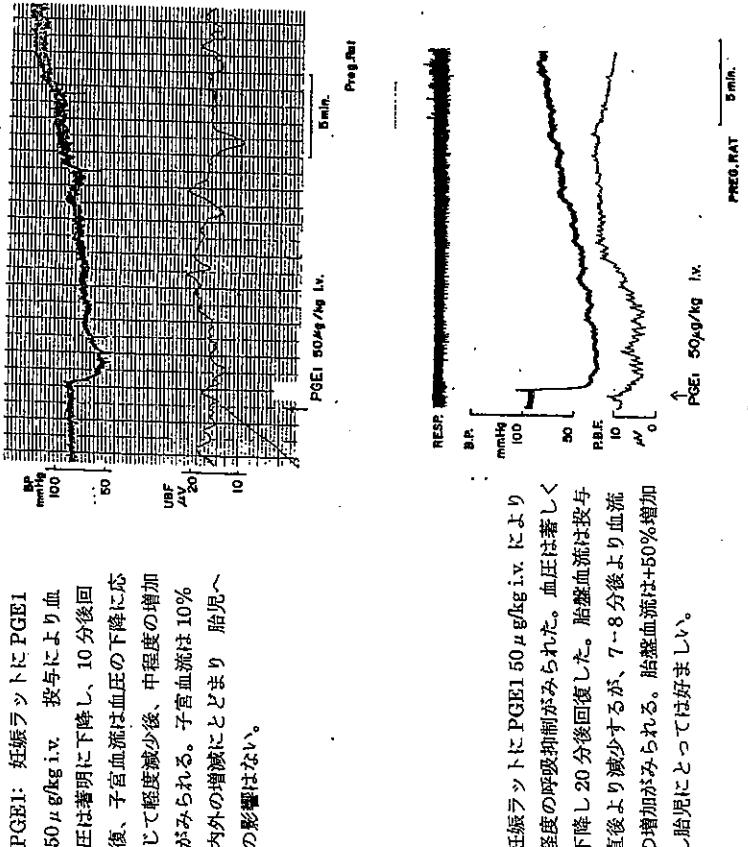
Fig. 12. Effect of oxytocin on the blood pressure in rat.

PG の循環系に対する反応は複雑で PGF₂α の作用は動物種によっても変動する。ヒトに近いと言われるラットについて、その血圧、子宮平滑筋の収縮と子宮血流、胎盤血流との関連などについて妊娠ラットを用いて検討した。

資料 III-3

Effects of prostaglandins, serotonin and polypeptides on uteroplacental circulation and uterine contraction in rats
新薬と臨床 62巻 10-24頁 2013年

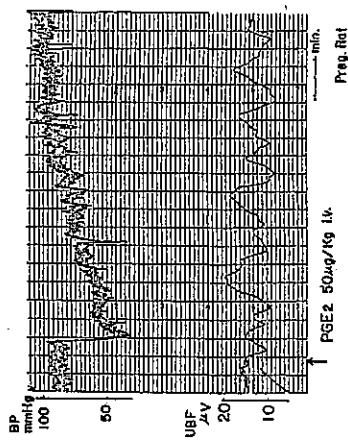
PG その他の薬物の子宮収縮、血圧、子宮血流、胎盤血流などに及ぼす影響を妊娠ラット、非妊娠ラットを用いて実験した。



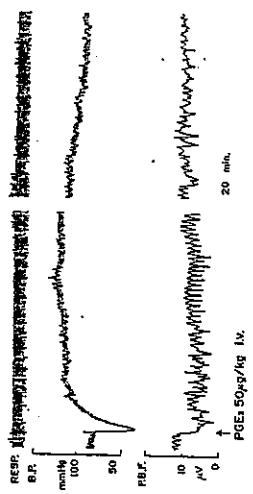
PGE₁: 妊娠ラットに PGE₁ 50 μg/kg i.v. 接与により血圧は著明に下降し、10分後回復、子宮血流は血圧の下降に応じて軽度減少後、中程度の増加がみられる。子宮血流は 10% 内外の増減にとどまり 胎児への影響はない。

妊娠ラットに PGE₁ 50 μg/kg i.v. により軽度の呼吸抑制がみられた。血圧は著しく下降し 20 分後回復した。胎盤血流は授与直後より減少するが、7~8 分後より血流の増加がみられる。胎盤血流は +50% 増加し胎児にとつては好ましい。

PGE2: 妊娠ラットにPGE2 50 μg/kg i.v.により血圧下降がみられ、10分後に回復する。子宮血流は程度減少後、間欠的な増加がみられる。この程度の子宮血量の減少は20%位であった。



PGE2: 妊娠ラットにPGE2 50 μg/kg i.v.により軽度呼吸の抑制、血圧の下降後直ちに回復し、さらに持続的な血圧上昇が40分以上みられた。胎盤血流は血圧の上昇とともに減少し-50%と減少しした。-20%まで回復した。



妊娠後半期（妊娠18日目）のラット子宮ではPGE1が最も強い収縮を示し、次いでPGF2α、PGE2α、Oxytocinの順であつた。Serotoninはとくに強い収縮曲線を示さなかつた。

妊娠ラットにPGF2α 50 μg/kg i.v.により、血圧の著明な上昇が20分以上も持続した。子宮血流は段階数分後より漸次減少がみら30分以上持続した。この実験で血圧の上昇と子宮血流の持続的減少は胎盤の乏血を招き、胎盤出血、胎兒機能不全へと導かれる事になると考えられる。

PGF2α：PGF2αは摘出子宮に対してても10-8 g/mlで強烈な収縮を起こす。この長い過収縮は胎盤への血流阻の原因になると思われる。

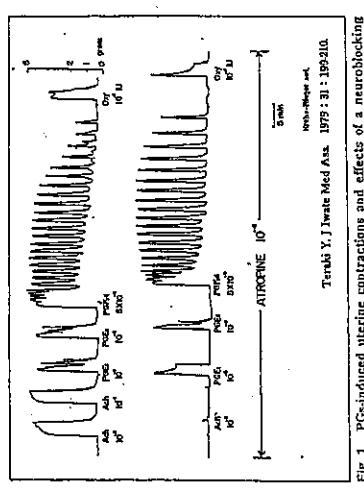
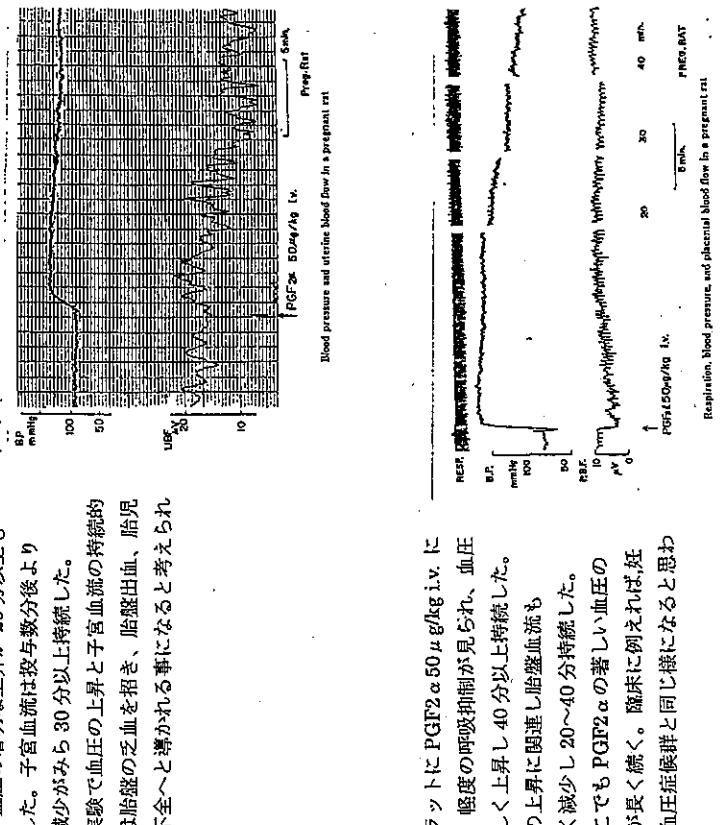


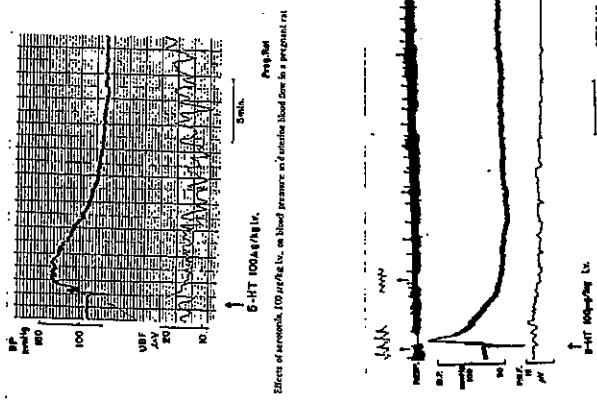
Fig. 1 PGs-induced uterine contractions and effects of a neuroblocking agent (atropine)

Tenki Y. J. Fac Med Ans. 1979; 31: 199-210.



妊娠ラットにPGF2α 50 μg/kg i.v.により、軽度の呼吸抑制が見られ、血圧は著しく上昇し40分以上持続した。血圧の上昇に関連し胎盤血流も著しく減少し20~40分持続した。ここでもPGF2αの著しい血圧の上昇が長く続く。臨床に例えれば妊娠高血圧症候群と同じ様になると思われる。

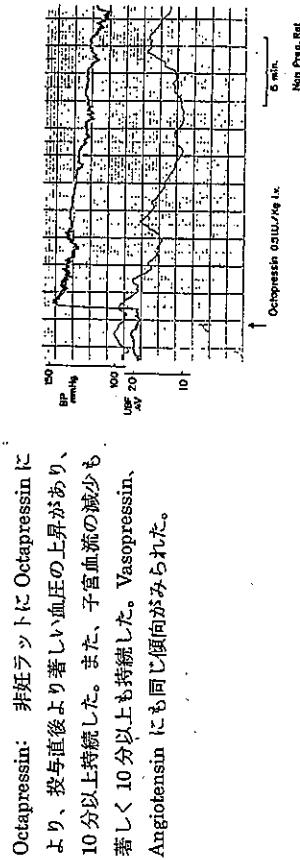
5-HT、Serotonin
妊娠ラットに 5-HT 50 μ g/kg i.v. により血圧は一過性の下降後、さらに上昇さらに下降と 3 相性の変化を示す。同時に子宮血流は漸次減少し 10 分後もとに戻るのがみられた。
血圧の高度上昇と子宮血流の減少は、妊娠中毒症の一因とされている。セロトニンの血圧作用は複雑な 3 相性の変化を次の図で見られる。



妊娠ラットに 5-HT 100 μ g/kg i.v. により血圧は 3 相性の変化を示した。一方、胎盤血流は著明に減少し、持続的であり 30 分後殆ど静止した。胎児死には妊娠中毒症でしばしば見られるがセロトニンの胎盤血流に対する影響は最も厳しい。殆ど血流がない状態になる。胎児死亡へ繋がる。

Oxytocin 通常量では血圧作用をもたないが、Oxytocin 100 mU/kg i.v. により血圧はやや下降の傾向がみられた。子宮血流は 50% 近く間欠的に減少ご回復した。オキシトシンの通常投与量では例え 50% の子宮血流減少しても、収縮と弛緩が交互にあり、絞り込まれる程はないだろう。過量の収縮剤投与により、長時間、過収縮が続くと胎盤への血流が減少し、PGF₂ α と同じ結果になるだろう。PG と異なり血圧作用はない。

Octapressin: 非妊娠ラットに Octapressin により、投与直後より著しい血圧の上昇があり、10 分以上持続した。また、子宮血流の減少も著しく 10 分以上も持続した。Vasopressin、Angiotensin にも同じ傾向がみられた。



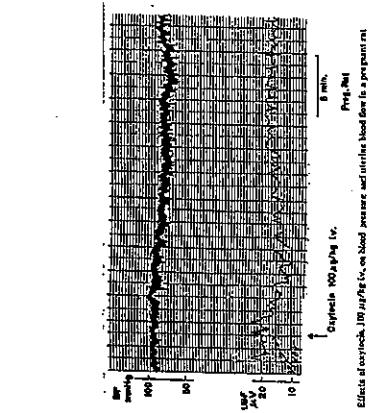
血圧と子宮血流との関係

一般に血圧が高くなれば、末梢の血管は収縮し、血流は減少するものと考えられている。しかし、子宮の間欠的収縮は子官胎盤血流を減少させますが、絨毛間隙の血液が問題になるほど絞り出される事はないとも言われてる。血圧が +80% の上昇は Octapressin に、+90% は PGF₂ α に見られた。

子宮血量は Octapressin に最大 -50% の減少を示したが、20 分後 -20% に回復している。これに比べて PGF₂ α は 10 分後 -60%、20 分後 -65% と持続している。PGE2 の血圧上昇は 10 分後 +80% と統一しているが、

子宮血流は -10% で推移した。

PGE1 は投与後から血圧 -60% 下降し漸次回復、20 分ご +20% に、子宮血流は 10% の増加がみられた。また Oxytocin の血圧作用は弱く -10% 前後にあるが、子宮血流は -30 ないし -50% の減少がみられるが、リズミカルな収縮で回復が速い。一方、セロトニンは 3 相性の血圧変化を示し、下降後、直ぐ +70% 上昇、5 分後には +8% まで下降、20 分後には -60% 前後の低血圧状態が持続した。しかし子宮血流は最大 -20% で 10 分後やや增加した。この様に血圧と子宮血流はある程度の関連は見られるものの明らかでない。



Effects of oxytocin (100 mU/kg i.v. on blood pressure and uterine blood flow in a pregnant rat.

Oxytocin により子宮筋はリズミカルに収縮と弛緩を繰り返しており、間歇的に血液は流入し、持続的な hypertonus を引き起こすことは通常ない。PGE1 では投与前の 62mmHg より 10 分後 126mmHg と収縮の増強しているが、子宮血流は 10% 内外の増減にとどまっている。PGF2 α の収縮は 20% の増加に対し子宮血流は 10% 内外の増減にあつた。PGF2 α は 10 分後で 170% 以上の子宮収縮強度に対し、子宮血流は -60% 減少した。子宮収縮は PGE1, PGF2 α は強いが、PGE2 と Oxytocin は強くはない。ある程度、収縮と血流は関連があるが適度に離節されていると思われる。しかし、PGF2 α の場合、血圧の上昇、強度の子宮収縮、と子宮血流の減少は極度であり長く持続した。

胎盤血流への影響

胎盤の血流は子宮の血流の流れと必ずしも歩調を合わせているものではない。胎盤は胎盤独自の機能を有しているものと考えられる。PGE1 の機能は一時減少するものの、10 分経過時 +50% の血流増加がみられた。PGE2 α は投与直後、胎盤血流 -50% の減少より 20 分後 -20% まで回復した。しかし PGF2 α の胎盤血流は、投与直後より -80% の減少がみられ、20 分後まで -50% の減少が持続していた。セロトニンの胎盤血流は投与 5 分後から -50% と大きく減少、さらに 20 分後 -80% となり、以後血流停止状態となつた。

まとめ
本稿では PG と Oxytocin およびセロトニンの子宮胎盤血流に対する作用を薬理学的手法を用いて血圧と末梢血流、とくに子官収縮と血流、血压と子宮、胎盤血流などについて検討した。その結果、血压の上昇、子宮収縮力の強さ、子宮血量の減少、胎盤血流の減少と長い持続が PGF2 α においてみられた。一方、血压の上昇、胎盤血流の強度の減少、静止がセロトニンにおいて観察された。これら両薬物は何れも内因性物質であり、過量投与が中毒作用をもたらすとも考えられる。

微小循環に及ぼす PG, セロトニンの影響

微小循環の実験には腸間膜血管、さらには子宮間膜血管について、静脈注射または局所に適用して血流の流れを顕微鏡下で観察した。

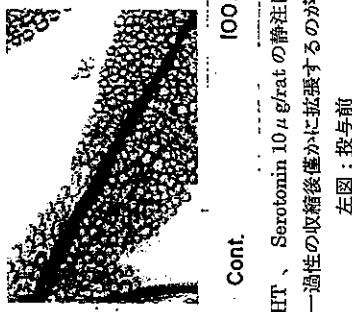
資料 III-4

Effects of prostaglandins, serotonin and polypeptides on the mesenteric and mesometrial microcirculation in rats. Autacoids and pregnancy (III)
新業と臨床 26-37 頁 2013

微小循環の研究は 1973 年に Prostaglandin abtracts に発表された。Effects of prostaglandin, 5-hydroxytryptamine and polypeptides on circulation and uterine contraction in rodents から始まる。ラットの子宮間膜ならびに腸間膜を用い、PGE1, PGF2 α および血管作動物質の微小循環に及ぼす影響を検討した。

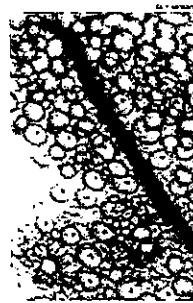
PGE1 ラットの子宮間膜血管に対し PGE1 10 μ g/rat 静脈投与により、細動脈以下の血管拡張、血流の増加がみられた。

左図：投与前 右図：投与後



5-HT、Serotonin 10 μ g/Rat の静注により、2 分後より血流の著しい停滞がみられ、血管は一過性の収縮後僅かに拡張するのがみられた。：

左図：投与前 右図：投与後



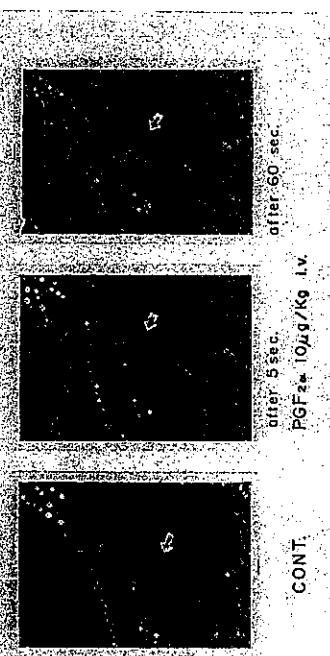
Cont. 200X

5-HT 10 μ g/Rat

PGF₂α：腸間膜血管に PGF₂α 10 μg/rat 静注し metaarteriole 以下の血管の収縮などに血流の停滞が 5 秒後よりはじまり、60 秒後においてもなお回復が見られなかつた。

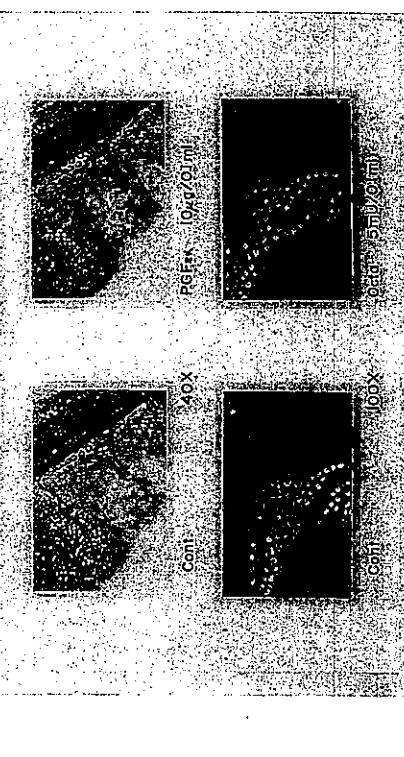
左：投与前 中：投与 5 秒後 右：投与 60 秒後

Effect of PGF₂α on rat mesenteric microcirculation



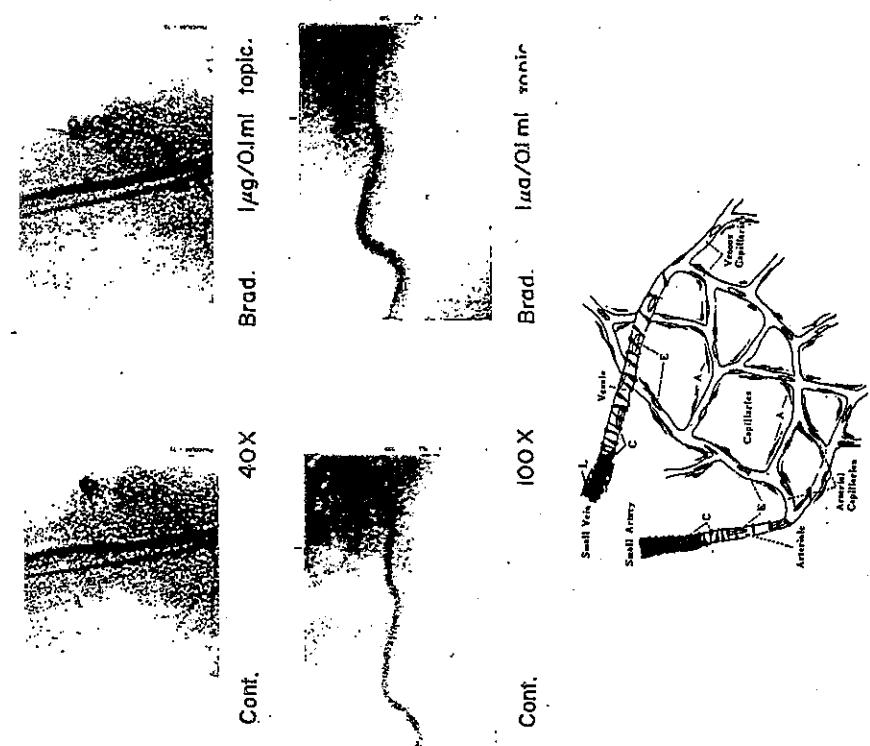
PGF₂α：ラット子宮間膜血管に対する静注と局所投与による毛細血管への影響
PGF₂α 10 μg/rat 静注により子宮間膜血管の収縮と血流の停滞が観察された
(写真上 左：投与前 右：投与後)

Rat mesentrium. (topical application)



PGF₂α：腸間膜血管に PGF₂α 10 μg/rat 静注し metaarteriole 以下の血管の収縮などにより血流の停滞が 5 秒後よりはじまり、60 秒後においてもなお回復が見られなかつた。
左：投与前 中：投与 5 秒後 右：投与 60 秒後

Permeability of Bradykinin on the rat mesentrium



毛細血管の構造
細動脈—メタ細動脈—細動脈
平滑筋が存在する。

IV 妊娠中毒症とPGならびにセロトニン

今回、特にこの問題に関心を寄せているのはプロstagラジンもセロトニンと同じく妊娠中毒症の発症の要因と思われるからである。

現在、妊娠中毒症の toxic 物質（毒性作用）はセロトニンにあると言われる様になつたが、著者は当時から妊娠中毒症の解明に向けて研究を行つていた。

資料 IV-1 妊娠とセロトニン（特に妊娠中毒症との関連について）
第24回 日産婦総会 1972年（昭47年）

妊娠中毒症とは所謂、妊娠高血圧のこと、死産、死産を引き起す。学会でも2001年の研修ノート No.64 に妊娠中毒症の病態としてセロトニンも挙げている。胎児に対する強力な toxic action は胎盤と密接な関係があるようと思われる。胎盤血流の減少、変性と乏血、出血である。胎児の生存にとって重大な胎盤の hypoxia に導く物質こそセロトニンなのである。すでに前項で胎盤循環の減少を述べたが、5-HT の異常な増加を来たさることになる。セロトニンの異常な増加が妊娠中毒症患者に見られるか、胎盤含水量はどうかなどを調べた結果を得た。

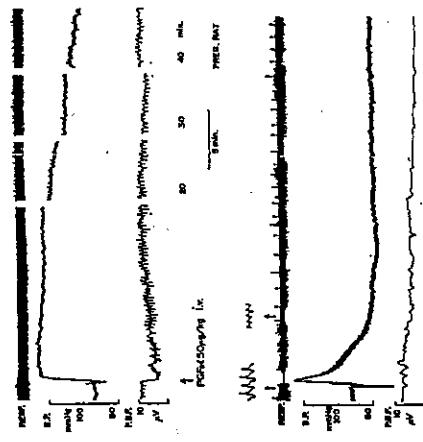
分娩における母体の血液、臍帶血。胎盤中のセロトニンを正常分娩、妊娠中毒症、死産とに分けてみると、正常分娩者の血液には0.17、中毒者は0.13、死産 0.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で大差はない。胎盤では 2.17、3.24、4.59 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で中毒に含量が多い。胎盤含水量を血液で割ると、比率で 13.7、28.5、34.8 となり、妊娠中毒症患者の胎盤セロトニンは正常の 2 倍多い。さらには死産では 3 倍近いセロトニンが胎盤に含まれてすることになる。これら妊娠中毒症、子宮内胎児死亡の患者の胎盤に多く蓄積が多いと言うことは、局所胎盤の代謝異常にによるものか、あるいは胎児、母体何れの原因によるものか、不明である。いずれにしてもセロトニンの異常な増加は胎盤の機能を低下させるものと考えられざらに妊娠中毒症の成因と密接な関連があると思われる。

資料 IV-2

Experimental approaches to the placental dysfunction caused by serotonin and prostaglandins

6th Asian congress of obstetrics and Gynecology
Abstract 271 271-279 頁 1974 年 Kuala Lumpur Malaysia

実験的に妊娠中毒症の動物モデルを作り、さまざまな角度より検討したものである。セロトニンと PGR2α を用いて、ラットの血圧に対する作用、胎児に対する致死作用、末梢血管におよぼす影響、アイントープによる胎盤通過性、胎盤灌流、胎盤血流、子宮血流など妊娠中毒症類似の作用をもつことを実験によって明らかにすることが出来た。これらの実験結果、セロトニンおよびプロstagラジンが、実験的妊娠中毒症の病態にもっとも近い物質であることを証明するきっかけになったと思われる。



この中でも、ともに PGR2α 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. により急激な血圧の上昇、高血圧の持続、胎盤血流の減少などが見出された。しかも持続が永く 40 分経過しても元の値に回復はみられない。下段のセロトニンも 5-HT 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. により血圧の S 相性の変化を示した。この血圧の下降、上昇も大きく、呼吸は大きく抑制されが著明であった。胎盤血流は著明に減少し、20 分後ごの観察では血流は殆ど見られなかつた。これらの結果は胎盤の乏血、出血を招き、やがて、胎児死亡に繋がるものと思われる。

Results of 5-HT assays in placenta					
	Intrauterine blood	Postpartum b1	cord blood	Placenta	Placenta
	(Range-Max-Min)	(Range-Max-Min)	(Range-Max-Min)	(Range-Max-Min)	(Range-Max-Min)
Normal	0.776-0.786(109)	0.225-0.02(59)	0.777-0.01(64)	2.777-0.15(86)	3.277-1.77(77)
	(0.77-0.05)	(0.67-0.05)	(0.75-0.05)	(5.74-0.42)	(39.6-2.25)
Toxemia	0.36-0.02 (19)	0.105-0.01(11)	0.122-0.03 (6)	3.219-0.36 (19)	28.37-2.39 (19)
	(0.18-0.09)	(0.16-0.04)	(0.28-0.06)	(5.68-0.91)	(52.5-9.97)
still birth	0.931-0.019 (13)	0.403-0.19 (4)	0.182-0.03 (3)	4.579-0.39 (13)	34.03-9.16 (13)
	(0.28-0.05)	(0.91-0.08)	(0.25-0.11)	(5.90-0.75)	(81.2-11.6)

Mean-S.E. / $\mu\text{g}/\text{ml}$ or g. () No. of subj.
(Range-Max-Min) based on Weisbach method.

妊娠中毒症の参考資料として学会でまとめた次のものがある。

参考資料

妊娠中毒症 研修ノート No.64
母性保健医会 平成13年3月 (2001年)

妊娠中毒症の病態としてカテコールアミン、NO、セロトニン、PG系、アンジオテンシンIIなどを挙げている。この中で5-HTは妊娠中毒症で上昇している。欧米でもセロトニンは妊娠中毒症の発生要因と考えられている。

また、妊娠高血圧の成因についての総説

参考資料 分娩時の高血圧症発症機序と母児リスク

日高 敏夫教授 他4名

産婦人科治療 2010年 434-441頁

妊娠中毒症と妊娠高血圧の定義と分娩兒子宮官能症と間歇持続の子宮胎盤のischemia乏血を招く、こうした現象は胎盤乏血に起因した妊娠時 preeclampsia の病態との間の相関性が認められるとしている。セロトニン、PGF2 α による胎盤乏血が高血圧を招く原因になっているのではないか。

セロトニンによる血圧作用は複雑である。Bezold-Jarisch 反射により短時間収縮する。次いで血圧は上昇する。これは直接的な血管平滑筋取締する。肺血管は微量のセロトニンで取締すると言われる。次いで血管は再び下降する。骨格筋の拡張のためといわれる。高度の血圧低下が持続する。血圧の著明な低下は胎盤血流の停止となつて現れる。微小血管では停滞 stasis の状態がみられる。胎児死亡もみられる。PGF2 α 大量投与時には高血圧を呈する胎盤血流も減少する。

胎児死亡と流産に至る経緯
これは PGF2 α によって治療的流産を起こすメカニズムと同じで、資料 II-3 (PGs 中絶法) の考察で述べているように胎盤の乏血が PGF2 α から子宮官能症を経由し、子宮血流の減少、子宮胎盤への障害となり、胎児に血液が行かなくなり、仮死さらに死亡、流産へと進行してゆくことになる。セロトニンの場合は胎盤血流の減少、凝血などにより胎盤の乏血、出血で胎児の死亡につながると思われる。

V PG および5-HTの胎盤血管、胎盤灌流への影響

自律神経を持たないと言われる胎盤血管の血流割合は如何にして行なわれているか興味が持たれる。未熟胎盤血管の薬物に対する反応は鈍いが成熟するにつれてよく反応する。胎盤血流量の実験では抽出直後の新鮮なヒト胎盤を用いて胎盤灌流を行い血管收縮薬物を注入し、胎盤梳毛を経て流出する灌流液量の変化をもって胎盤血管の收縮度を調べた。

資料 V-1 摘出人胎盤血管における serotonin および関連物質の影響
日本婦誌 24巻 207-214頁 1972年(昭47)

この結果、セロトニン 1.10 μg の管注により灌流液量の減少がみられ、セロトニンの拮抗物質 LSD, i-Metherglide によりブロックされた。この事からセロトニンの胎盤における拮抗が成り立つと考えられる。他の血管收縮物質 adrenaline, acetylcholine, histamine, bradykinin などについても同様に灌流実験を行ったが、セロトニンが最も強力であった。

図2. Serotonin 10 μg , 1 μg による灌流液量の減少率=100とする。

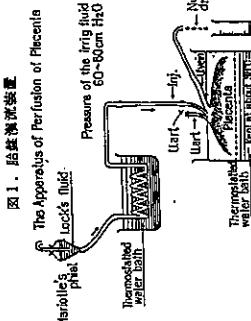
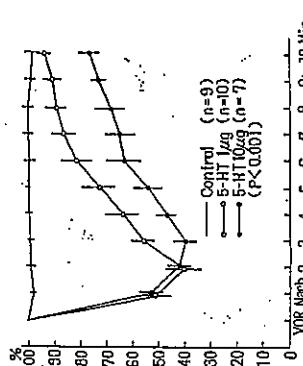


図1. 胎盤灌流装置

表1 人胎盤灌流量の経時変化率

分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
対照 (n=9)	100.00	98.36 ± 1.06	98.62 ± 0.54	98.74 ± 0.66	99.87 ± 0.94	99.20 ± 1.44	99.62 ± 1.35	98.61 ± 2.09	98.85 ± 2.20	97.28 ± 2.31	
Serotonin 10 μg (n=7)	100.00	51.70 ± 5.23	41.19 ± 5.24	39.75 ± 4.54	46.02 ± 4.39	53.86 ± 5.04	63.21 ± 5.99	64.71 ± 6.39	68.11 ± 6.39	73.21 ± 7.26	76.79 ± 8.00
Serotonin 1 μg (n=10)	100.00	50.57 ± 6.11	46.80 ± 6.33	55.18 ± 5.20	63.37 ± 7.17	72.19 ± 6.84	81.02 ± 6.36	86.89 ± 6.36	90.86 ± 6.36	93.46 ± 6.36	97.22 ± 6.22

資料 V-2 Prostaglandins のヒト胎盤血管の摘出切片について、各種 PG の血管収縮反応を調べた
医学と生物学 第90巻 1975年(昭50年)

摘出血管で PGA2, PGE2、PGF2 α および Serotonin は同一濃度で最大収縮を示し、ついで Vasopressin, Noradrenalin が、さらに PGA1, PGF1 α の順序であった。Bradykinin, Octapressin, Oxytocin の血管作用は弱かった。5HT では強い収縮がみられた。

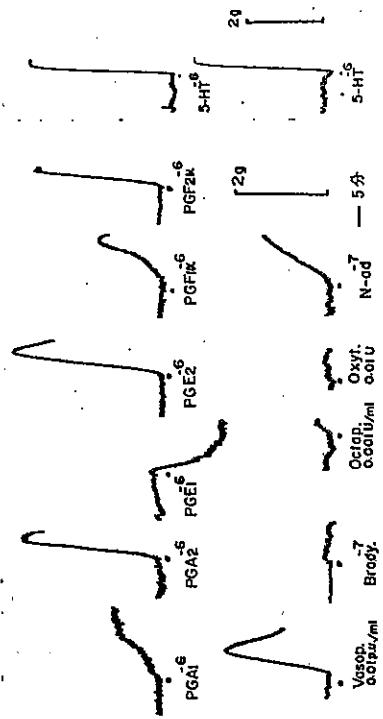


図 1 PGs の胎盤血管における影響

次に PG の胎盤灌流の実験を行なった結果を得た。

資料 V-3 Prostaglandin のヒト胎盤灌流における影響
医学と生物学 90巻 1975年(昭50年)

PGF2 α 10 μ g 管注により灌流液量は著しく減少した。PGF2 α では用量により灌流液量の減少がみられ、10 μ g で 67.0%, 100 μ g で 15.7% と減少した。この灌流液量の減少は PGE1 により拮抗された。

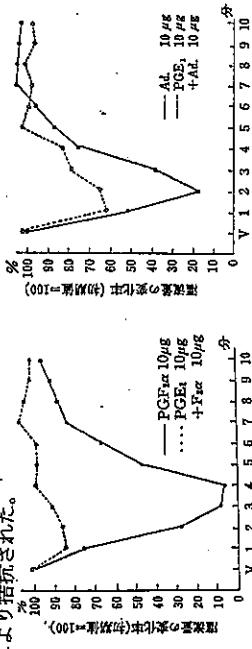


図 2 人胎盤灌流における PGF2 α ならびに PGE1 前処置による影響
adrenaline ならびに PGF2 α 前処置による影響

資料 V-4 Effects of Prostaglandins and Serotonin on Placental Blood Vessels and Effects of Antagonists
新薬と臨床 2013年8月掲載予定

オータコイドと妊娠の(IV) PGs とセロトニンの胎盤に及ぼす影響と拮抗剤の効果をまとめて発表する。胎児は胎盤を通じて生命を維持している。すなわち胎盤は胎児肺と言われる程、胎児のその生存にとって重要である。その機能は胎盤隔壁を通して胎児へ酸素や栄養物質を送っている。臍動脈から入る血液は絨毛膜板、絨毛幹、絨毛茎を経て絨毛に入り、母体血流との物質交換をへて臍静脈から胎児へ移行する。これら絨毛幹、茎、および绒毛



図 1 ヒト成熟胎盤の胎児面
臍帶と絨毛膜板血管が浮き出て走行しているのが見られる。

にも毛細管前小動脈にも平滑筋が存在することから、これらが胎児の血行調節に与り、絨毛を拡張または収縮して絨毛間腔内、母体血液を調節していると考えられる。胎盤の基礎的な研究はヒト娩出胎盤の灌流実験、胎盤血管に対する薬物の作用で胎盤血流の動態を再現できる。セロトニンの胎盤血管収縮作用は、拮抗剤でブロック出来るか、また PG は胎盤血管にどう作用するか、興味が持たれる。今回、セロトニンとプロスタグランジンをまとめて実験の結果を報告する。

資料 V-5 胎児死亡と子宮収縮剤及び妊娠中毒症と serotonin (III)

胎盤血管の動態

2012年11月 原稿完了 未刊

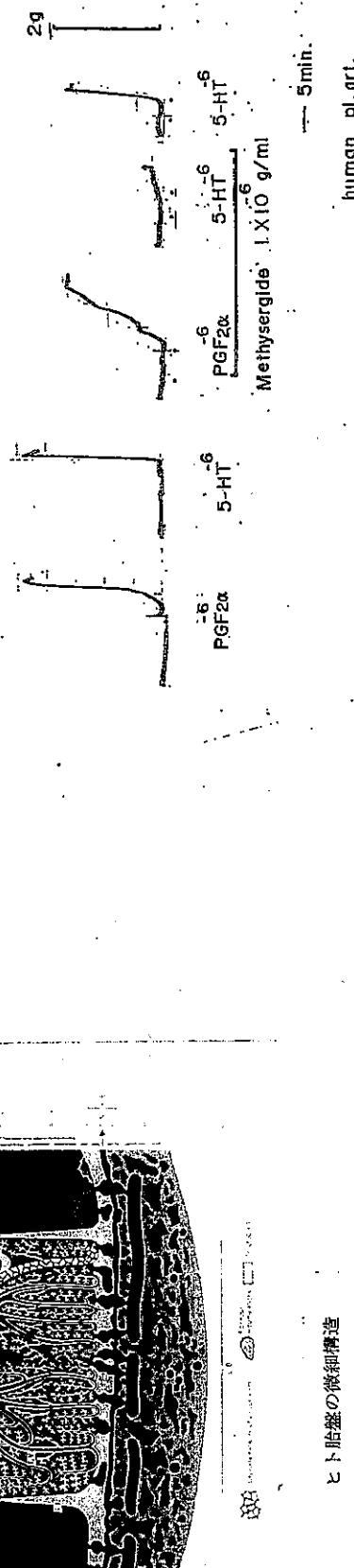
妊娠高血圧、所謂、妊娠高血圧の本態は胎盤における機能障害が大きく関与していることがわかった。セロトニンによる胎児致死作用はその拮抗剤によって防禦出来ることが、明らかになった。拮抗作用の行われるところは、胎盤は、血流をどう調節しているのか。臍血管か、絨毛膜板血管か、あるいは、もっと微細な毛細血管か、これらの血管に血管作動物質はどう作用するのか、これらの点を明らかにしなければならない。プロスタグランジンは胎盤血管にも含まれていることから、血管作用を持つものと思われる。また絨毛内の毛細管前小動脈にも平滑筋が存在する事から、これが胎児の血行調節に与り、絨毛を拡張または収縮して絨毛間腔内母体血液を調節していると考えられる。

まず臍帯正常分娩に至った娩出直後の胎盤を、著者考案の灌流装置を用いて、臍動脈より生理液とともに薬液を入れ、臍静脈から流出液下させ、その滴下速度により胎盤を循環する薬物の胎盤血管に対する反応を知ることができた。

さらに、自律神経を持たないとされる胎盤血管が各種の血管作動物質に、どのように反応するか、未熟胎盤と成熟胎盤で調べた。胎盤血管に対するセロトニンの収縮は各種、拮抗剤によってブロックされた。このことより、さきに *in vivo* で行った胎児致死作用は胎盤で行われ、そして胎盤において拮抗されることが分かった。

もともと胎盤血管には各種のプロスタグランジン (PGEl, E2, F1 α , F2 α) が豊富に含有することとは Karim によって見出されている。娩出ヒト胎盤血管とくに絨毛膜板動脈に対する各種 PGs すなわち PGA1, A2, E2, F1 α , F2 α によって血管収縮作用を示した。この中で同じ濃度 ($1.0 \mu\text{g/ml}$) では PGF2 α とセロトニンの血管収縮作用は強力であった。

PGF2 α とセロトニン (5-HT) の胎盤血管の収縮は serotonin の拮抗剤である methysergide の浴中ににおいて、PGF2 α に影響がみられないで serotonin の作用のみ抑制された。



ヒト胎盤の微細構造



VI PG の胎盤通過性（アイソトープ実験）

資料 VI-2

Tissue Distribution and Fetal Uptake of 3H-Prostaglandin F₂α in Rats

薬物の胎児に及ぼす影響の作用を知るには、その薬物が胎盤を通して直接胎児に作用するとか、胎盤に変化を来すことにより二通りに作用することが考えられる。これまでの実験でセロトニンの胎盤に出血が見られる事より、最も多く胎児の死亡は胎盤の変性によるものであると推定される。そこで、まず薬物の胎盤通過性が問題となる。脳一血波門があるように胎盤には placental barrier 脱離門がある。アイソトープによる胎盤通過の分析法は、少なくとも現在、最も敏敏な生物学的方法に比べ非常に感度が高いと思われる。このことから、妊娠末期の動物に isotope を投与し、その動態を知ることは重要なことと思われる。この事から著者は、まずセロトニンとヒスタミンについて検討した。

ラットにおける 14C-Serotonin やび 14C-Histamine の臟器分布と胎盤通過性について（全身オートラジオグラフィーによる検討）

応用薬理 第 8 卷 191-198 頁 1974 年 (昭 46)



胎盤通過性をセロトニンとヒスタミンと比較したが、ヒスタミンは胎盤を容易に取り込まれた（写真 9）が、セロトニンの取り込みは緩徐で高濃度では容易に取り込まれなかつた。これに対し Methylsergide の前処置により取り込みがみられた。ここでも胎盤におけるセロトニン結合が成り立つ。



Photo 1 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 5 min. after intravenous injection of 3H-labeled prostaglandin F₂α (50 μCi/kg). A slight concentration of radioactivity is seen in the myometrium.



Photo 2 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 5 min. after the intravenous injection of 3H-labeled prostaglandin F₂α (50 μCi/kg). Note the high concentration in the placental tissue.

ラット胎盤にアイソトープの取り込み（黒点）が無数にみられる。

A study on distribution in organs and trans placental passage using
radio-labeled autacoids(^{14}C -HT and PGF 2α)

Autacoids and Pregnancy(V)

新薬と臨床—2013年8月掲載予定

妊娠ラットを用いて ^{14}C -Serotonin (5-HT) および ^{3}H -PGF 2α の母体内分布を全身オートラジオグラフィー、液体シンチレーション、および microautoradiogram で調べた。その結果、セロトニンでは胎盤通過性が遅延し、拮抗剤で回復した。PGF 2α では低濃度で速やかに胎盤を通過するが、高濃度で減少がみられた。セロトニンによる胎盤への血流障害がみられた。また PGF 2α により子宮ならびに胎盤への血流障害が観察された。

資料 VI-4

胎児死亡と子宮収縮剤 (PG) 及び妊娠中毒症とセロトニン (V)
一臓器分布と胎盤通過性、アイソトープによる検討

本論文は2012年1月6日に纏めた原稿であるが、掲載予定がない。内容は上記VI-3とほぼ同じで読者に読み易いと考え、今回、資料として提出する。
妊娠中毒症とセロトニンが関連することが知られ、セロトニンは高濃度では胎盤に与える影響をより正確に知ることが出来た。すなわち、セロトニンは静止状態、微小循環で見られた血管内に凝血し、血管の収縮はなくとも、うつ血し、血液の流れが停止してしまうと思われる。一方、PGF 2α の場合、低濃度では速やかに胎盤バリアを通して胎盤を通過するが、濃度が高くなると血管の収縮により血流が減少して胎盤の変性をもたらすことに、なると考えられる。妊娠中毒症患者では胎盤セロトニンが血液比で2倍ほど高い。

図3は低濃度のセロトニン投与15分後、 ^{14}C 標識のセロトニンが胎盤に三日月状の形)取り込まれていることを示す。



図3 は低濃度のセロトニン投与 15 分後、 ^{14}C 標識のセロトニンが胎盤に三日月状の形)取り込まれていることを示す。

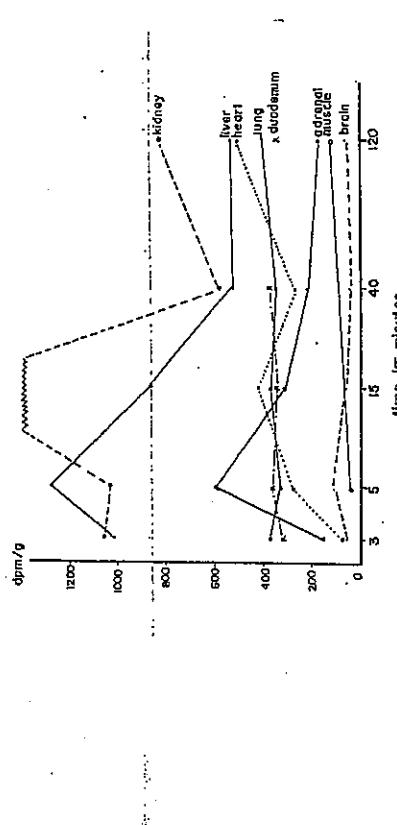


図3 は低濃度のセロトニン投与 15 分後、 ^{14}C 標識のセロトニンが胎盤に三日月状の形)取り込まれていることを示す。

III PGの毒性と催奇形性（鶏胚仔による実験）

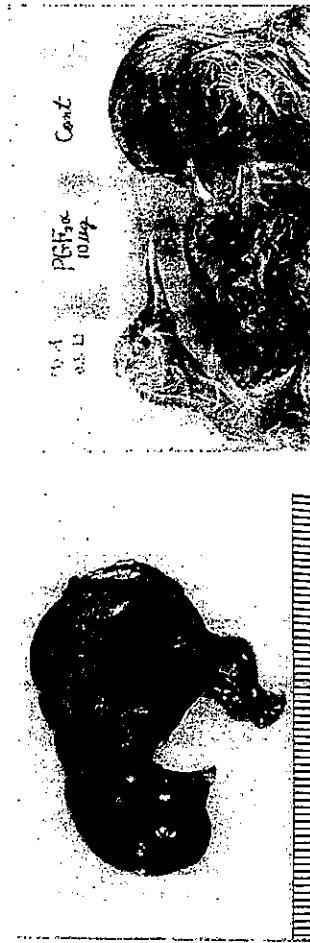
昭和48年、日産婦地方会でプロスタグランジンのシンボジウムで、慶大野嶽教授より
毒性検査について質問がありました。PGで催奇形性を考慮するのかと、主に実験を通して
毒物検出の参考になり、また異常発生の傾向を知ることが出来るるお答えしました。
雛卵での実験の目的は卵では喫尿障が哺乳動物の胎盤に相当する。閉ざされた子宮と卵
殻内では同じ様な環境にあり、雛卵を用いての催奇形性、胎兒毒性の検索に有用であると
思われる。妊娠と薬を考る時、まず催奇形性について留意しなければならない。とくに
妊娠初期に投与される場合である。子宮収縮剤としてのみ使用されるのであれば、問題と
なることがないが、薬の毒性は妊娠初期の胎児の形態形成に大きく関与する。著者はニコ
チンでの奇形を雛胚仔で認め、ついでセロトニンで雛胚仔に奇形の発生を認めた。よって
今回はPGについても催奇形の実験を試みに至った。PG、Serotonin, Bradykininなど
にも催奇形性がみられるることはマウスで、Thompson(1969)に報告されている。
著者らはセロトニン、ニコチン、プロスタグランジンの胎尾致死作用に关心を持ち雛卵を
用いて種々の実験を行った。

資料・VII-1 Serotonin より間連物質の雛胚仔毒性ならびに奇形発生について (北川行夫)
昭和医誌 第33巻 40-50頁 1973年 (昭48年)
セロトニンの雛胚仔に対する毒性は高く LD₅₀ 0.45mg/egg とし、ほぼ 10mg/kg となり
ラットの 15-80mg に相当すると述べている。高い死亡率と、骨骼ならびに内臓異常の奇
形が多くみられた。

資料 VII-2
Prostaglandins ならびに Oxytocin の雛胚仔における影響について
聖マ大誌 第3巻 26-33頁 1975年 (昭50年)

有精卵に蒸留水 0.1ml 負荷したときの死亡率は 28% に比し、PGF2 α 50, 100 μ g 投与群の死
亡率は 42 および 59% であった。PGE2 群においても 58% と高い死亡率がみられた。
ラットにおける実験で PGF2 α 0.5 μ g/kg で死胚率が 61.9% と有意に増加すると著藤ら
(1973) は述べている。また藤田ら(1974) はラット奇形性の実験において、マウス、ラット共
に大量の PGE2 投与量の増加に伴う吸収胚の増加がみとめられたと報告している。これに
比べ Oxytocin 0.5 IU/卵 PGE1 100 μ g/卵 投与群では蒸留水群と大きな差はなかった。
雛卵 18 日までの死亡率とは別に孵化能力をみると蒸留水 76.4%, PGF2 α 10 μ g/卵
で 53.1% の孵化がみられた。しかし PGF2 α 50-100 μ g/卵 および PGE1, PGE2 100 μ g/卵
卵投与群では全例孵化に至らなかつた。

雛胚仔にみられる奇形の種類については水腫、化骨形成異常、嘴奇形、内臓異常などがみ
られる。PGF2 α で多くみられたのは足の強度屈曲、水腫、浮腫、嘴奇形などが観察され
た。

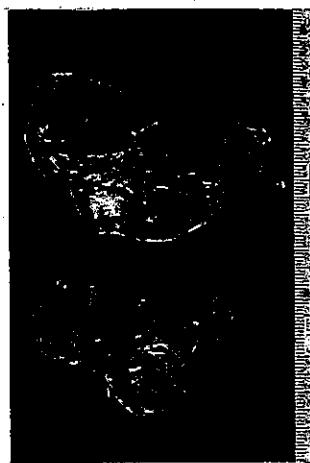


PGF2 α 3mg 投与 17 日胚
全身に水腫がみられる。

左よりオキシトシン、PGF2 α 投与胚。
右は対照
全身に水腫がみられる。



セロトニン 1mg 投与 15 日胚
背部水腫



セロトニン 3mg 投与 14 日胚、発育不良
が左におみられる。右は対照

資料 VII-2
Meaning of intra air sac administration of drugs in the process of chick embryo
growth experimental by means of RI

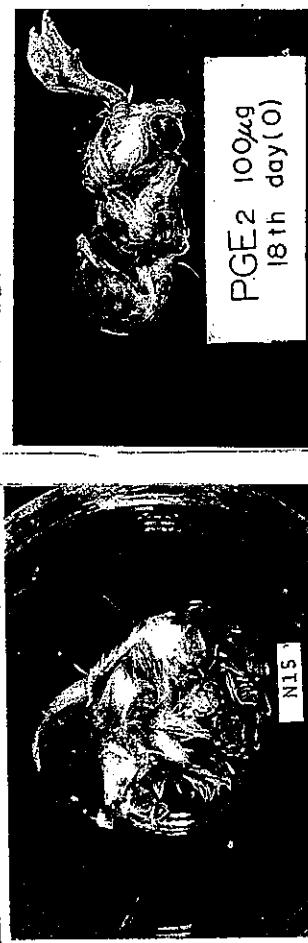
聖マ大誌 第6巻 49-56頁 1978年 (昭53年)
ここではトリチウムで標識したセロトニンヒビスタミンが、鶏卵気室内に投与された場合、
羊水、尿膜水にどの程度移行するかを実験によって確かめた。薬物を、気室内、卵白内、
卵黄内向れに投与してもニコチンによる水痘発生に差はなかった。

資料 VII-3 Respiration of the developing chick embryo in nicotine treated hen egg
聖マ大誌 第7巻 325-334頁 1979年 (昭54年)

これはニコチンによる雛胚仔の死亡、発育不良の成因を呼吸との関連説明べた。血液ガス
の分析を行い孵化に至る過程を明らかにした。

資料 VII-4 Protein and nitrogen metabolism in blood and allantoic and
amniotic fluids of chick embryos in nicotin-injected hen eggs

聖マ大誌 第8巻 1-4頁 1980年 (昭55年)
ニコチン水添などの奇形発生、高い死亡率、解化能力の低下、発育不良などタンパク合成
能の低下がみられるかどうかを検討した。



PGE 2 100 μ g 18th day(O)

N15

参考資料 脳下垂体後葉ホルモンの雛胚仔に及ぼす影響について (河村潤之輔)

昭和医誌 第22巻 18-28頁 1962年 (昭37年)
高濃度のオキシトシンの投与でも水痘、浮腫を数例認めただけで、とくに死亡率、奇形
の発生例はみなかつた。

アキシトシン
PGE 2 μ g

Oxytocicsの薬効と安全性の評価

— OxytocinとPGの優劣を問う —

医療法人社団三井会 さがみがが技クリニッタ
寺木 良巳

「新薬と臨牀」第61巻第12号別冊
(平成24年12月10日発行)

医薬情報研究所

Oxytocicsの薬効と安全性の評価

—OxytocinとPGの優劣を問う—

医療法人社団三井会 さがみ松が枝クリニック
寺木 良巳

はじめに
子宮収縮剤として導入されたプロstaglandin (prostaglandin : PG) については、発売以来、有用な反面、様々な問題が提起されている。PGはオキシトシン (oxytocin) より歴史が浅く、導入時に用量など十分に検討されたとは言い難く、そのまま今日に至っていることが原因の1つと思われる。今回、問題点を明らかにし、安全に使用し得るように提言をしたい。

I Oxytocicsの性質

PGにはPGE₁, PGF₂ α , PGE₂, PGF₂ α , PGE₃, PGF₃ α の6種類がある。この中ではPGF₂ α が最も子宮収縮作用が強い¹⁾。分娩時には、oxytocinにより子宮内膜でPGF₂ α が産生され、子宮体部筋が取締される。PGはもともと生理活性の強いautacoidの1つで子宮収縮作用以外にも腸管、循環系への影響が大きい。一方、oxytocinは脳下垂体後葉から産生されるpolypeptideで、分娩時に増加する。いずれも生体で産生される内因性物質であり、生理的に重要な役割を持つている。しかし、外性投与の投与量によってはregulationを要することになり、過量投与の恐れがある。OxytocinとPGの作用は、幾つかの点で異なる。以下に主な相異点を挙げる。

1. Oxytocin, PGF₂ α の用量反応曲線
本来、子宮はoxytocinの一一定の血中濃度、すなわち閾値で最初の収縮反応が現れるものと考えられる。OxytocinおよびPGF₂ α の各用量静注による初発子宮収縮までの時間を見图1に示す。Oxytocinでは用量0.05mU/min/kgより収縮反応がみられるが7.3分を要した。漸次用量を増すと子宮の収縮反応は早くなり、0.4mU/min/kg投与で1.2分であった。また0.04mU/min/kg以上投与しても1.2分より早い反応はみられなかった。

同様にPGF₂ α の場合、图1のとおり、少量の0.025μg/min/kgの静注で37.3分で反応がみられた。用量を増せば反応発現の時間は早くなるが、0.3μg/min/kgを超える量を與えても取締反応は3.6分より早く反応しなかった。また、少量のPGF₂ α 0.025μg/min/kg以下の用量では反応の発現がみられなかつた。これは障害計測上でもPGF₂ α では特に取締反応が遅れることを示している。

2. 用量の単位

OxytocinとPGF₂ α の使用に際しては用量を留意しておかなければならぬ。質量を量るのと同じ単位で表わすことが望ましいが、従来、oxytocinはmUを、PGF₂ α はμgを使用しており、用量についての認識の差が問題になる。元来、子宮収縮剤は長い間、oxytocinが唯一の製品で安定して使用されてきた。Oxytocinの効力は、当初、生物学的検定の下に脳下垂体後葉抽出物から、子宮の効力を決めたものであり、脳下垂体後葉末0.5mgに相当するものを国際単位(IU)と決められた。すなわち、国際単位1toxytocin 1IU = 10⁶mU = 10⁶μUとなる。PGF₂ α は10⁶gのμgで表わす。したがって、oxytocin 1mUはPGF₂ α の1μgではない。

さらにoxytocinは從来どおりmU/min/bodyするか体重より計算しているのにに対し、PGF₂ α はkg単位の用量であり使用に不便である。この不便さを解消するため、筆者²⁾はoxytocinとPGF₂ α の用量比、μgとmUの換算表を作成し、1973年に発表した(表1)。この表は日本人の妊娠体重を60kgとし、重量比からμgに相当するoxytocinの量を算定したものである。例えば添付文書³⁾に書いてあるPGF₂ α の投与量0.100μg/min/kgを表でみると6.0μg/min/bodyとなる。

Oxytocinで0.100μg/min/kgは6.0μg、12.0mU/min/bodyとなる。すなわち、PGF₂ α 1.0μg/minはoxytocinの2.0mU/minに相当する。しかし、現在でも両者は從来どおり使用されている。このmUとμgの違いが、どのような意味を持つのかを明らかにすることが本稿の目的である。

要旨

PGF₂ α の投与量はoxytocinに比して安定して投与できる。今回、PGF₂ α の用量をoxytocinと比べて相当する量を算定した。有効・中華閾値、有効範囲、半減期、薬効力価などoxytocinの国際単位mUとPGのμg単位に直し比較した。その結果、通常、用いられるPGF₂ α の量は既来のoxytocinの量に比して高めの設定にあるようと思われる。両者の用量比を同列に配して図示し、利用し易いようにした。

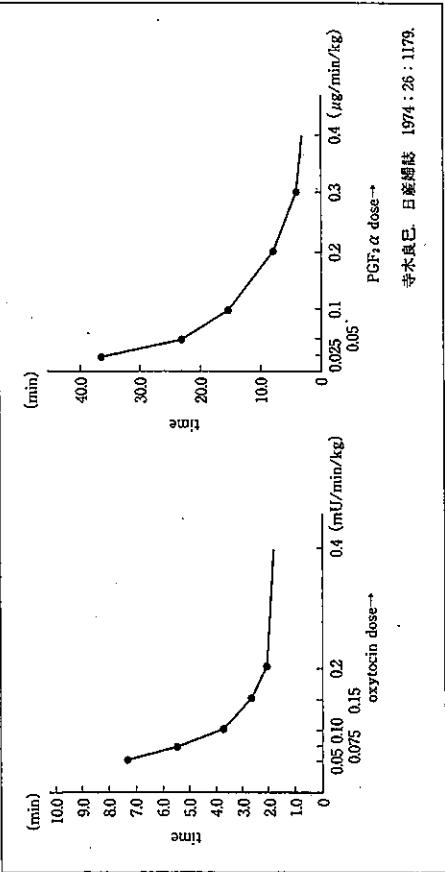
Efficacy and Safety Evaluation of Oxytocics

—An Inquiry Concerning Relative Merits of Oxytocin and Prostaglandin—

TERAKI Yoshimi

Sagami Matsugae Clinic

連絡先：医療法人社団三井会さがみ松が枝クリニック 院長 寺木良巳
〒252-0313 神奈川県相模原市南区松が枝町23番14号 Tel 042-767-7887 Fax 042-767-7886
キーワード：oxytocin, PGF₂ α , 用量比、単位 (mU, μg)、半減期

図 1 OxytocinとPGF α の用量反応曲線表 1 OxytocinとPGF α の用量比

μg^*	oxytocin		PGF α	
	mU/min/body	$\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$	$\mu\text{g}/\text{min}/\text{body}$
1.0	2.0	0.016	0.025	1.5
1.5	3.0	0.025	0.050	3.0
3.0	6.0	0.050	0.150	9.0
4.0	8.0	0.067	0.200	12.0
5.0	10.0	0.083	0.250	15.0
6.0	12.0	0.100	0.300	18.0
7.0	14.0	0.117	0.333	20.0
8.0	16.0	0.133	0.400	24.0
9.0	18.0	0.150	0.450	27.0
10.0	20.0	0.166	0.500	30.0
11.0	22.0	0.183	0.550	33.0
12.0	24.0	0.200	0.600	36.0
13.0	26.0	0.216	0.650	39.0
14.0	28.0	0.233	0.700	42.0
15.0	30.0	0.250	0.750	45.0
16.0	32.0	0.266	0.800	48.0
17.0	34.0	0.283	0.850	51.0
18.0	36.0	0.300	0.900	54.0

* body weight 50kg
as: 合成oxytocinは200分の1 μg

II 有効投与量の算定

1. 有効投与量

分娩誘発や微弱陣痛など、目的により oxytocin は選択され、用量も各自の判断によって加減される。例えば oxytocin では通常 4~8 mU/min 使用される。1974年の PGF α 導入時の添付文書⁹に PGF α 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{分}$ の使用が記載されている。1971年の誌上¹⁰発表には次の用量化がみられる。

Oxytocin 0.5~30 mU/body/min

PGF α 0.05~0.20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$

そして1976年の第53回日産婦門東方部会では次のような発表¹¹がみられる。

Oxytocin 0.5~128 mU/min

PGF α 3~25 $\mu\text{g}/\text{min}$

これにより bodyでの用量が用いられるようになつた。この PGF α 3~25 $\mu\text{g}/\text{min}$ を kg 単位で表わすと PGF α 0.05~0.417 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ となる。その後、長い時間が経過したが、これのが指標となって現在でも用いられていると思われる。単位の異なるものを比較するには、単に用量のみならず、子宮収縮の様式、蓄積と消退、循環系などの影響などから考慮する必要があると考えられる。

重要な点なので用量について、なお詳しく検討したい。筆者¹²は1973年の日産婦門上にて PGF α と oxytocin の用量比について次のような見解を発表している。坂元ら¹³は上記のようく oxytocin は 0.5~30 mU/min/body と広範囲であるのに比し、PGF α の場合の用量は 0.05~0.2 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ と狭い範囲にあり、使用し易いと述べているが、mU と μg と比較して論ずることには無理がある。したがって、これを μg 単位で両者とも表現すると、oxytocin 0.5~50 mU/min/body は 0.25~25 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{body}$ となり、PGF α 0.05~0.20 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{body}$ と body、または 3~25 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{body}$ (図 2) となる。

さらに kg 当たりに直すと oxytocin 0.5 mU となる。

0.0042 μg 、50 mU は 0.417 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ となる。すなわち、oxytocin 0.0042~0.417 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ は PGF α 0.050~0.417 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ となるが、oxytocin は通常 16 mU/minまでであり 50 mU/min の投与は考えられない。

また用量を薬理学的にみると分子量を考慮に入れが必要がある。すなわち、oxytocin の分子量は 107 であるのに PGF α は 356 である。上記の式をモル濃度比に直すと、次のようになる。

Oxytocin 0.0000041~0.00042 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$
PGF α 0.0001404~0.00056 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$
換算すると oxytocin は 0.004~0.42 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ 、PGF α は 0.14~0.56 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ となる。このように oxytocin は広い範囲にわたり、ごく少量化から取締反応性を持っており、最高でも 0.42 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ 有効であり、PGF α は 0.14 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ から量高 0.56 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ の範囲内にある。Oxytocin は PGF α よりも少量で有効なこと、すなわち potency が高いことになる。ただし、これはあくまでも計算上のことであり、PGF α の子宮の取締力は表現されないのが非常に強い¹⁴。

2. 有効閾値

上記のように投与量の算定がなされたが、実際どの程度の点滴量で子宮の取締反応がみられるか、その最初に取締反応がみられた時量を最小有効量とすると、oxytocin では 0.5 mU/min、PGF α では 0.05 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$ となる。そこで、先に坂元ら¹⁵は上記の用量が最も中等量、または安全限界量といわれている。薬の効果がみられる閾値を有効閾値 (effective threshold) という。ここから最小中等量までの間を治療量といい、この範囲内の治療量が望まれる。さて、先に坂元ら¹⁵は oxytocin の注入量について言及し、oxytocin の広範囲な治療量より PGF α は狭い範囲で有効であると述べているが、狭い範囲で有効であるということは逆に逆に治療量から中毒量に入り易いといふことでもある。安全性からみれば広範囲の薬ほど安全なのである。例えば digi-

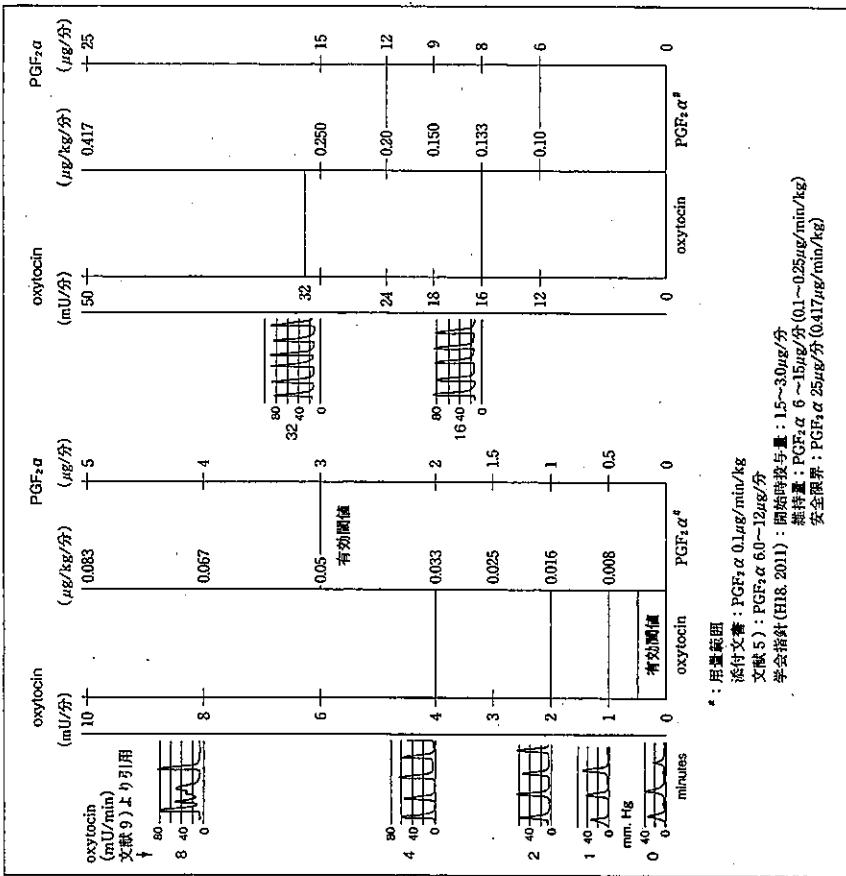
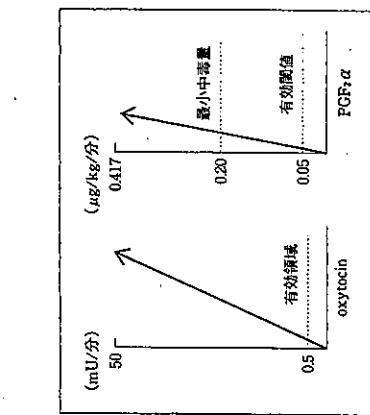
図2 OxytocinとPGF₂αの比較表

図3 有効閾値と中毒閾値

oxytocinを筋注、または静注していた時代であった。過量投与の恐れのためではなく点滴そのものが一般に行われていなかったのである。米国で点滴の行われている理由は、oxytocinの半減期は3.3分と短いので点滴投与が必要であつたことが後にわかった。

筆者は1974年にヒト妊娠末期子宮のoxytocinとPGF₂αの半減期と血中濃度をAugsberger⁹⁾の算定方式により測定し、oxytocinの生物学的半減期は3~4分、PGF₂αでは16~19分と考えられると発表した。半減期が長いとその分、消退が遅く臓器への蓄積も多くなり、特に急速な点滴静注の場合は過量になる危険が多い。Oxytocinは半減期が短いので、たとえhypertonusになつても中止すればすぐに回復する。しかしPGF₂αの場合、その効力が排出子宮でもみられたようになり込まれた後も収縮分解が速くとも臓器へ取り込まれた後も収縮作用が続いていると思われる。しかもPGF₂αの陣痛計上の波形は不規則なことが多く、正確に分娩の進行状況を把握できない。トースス(tonus)が高くなつてから中止してもなお収縮が持続している。分娩監視装置による連続モニタリングを行っても、分娩監視装置に頼ることができないのである。トコグラム上、知り得るのはトーススと収縮の強度(intensity)と頻度(frequency)のみであり、PGF₂αではoxytocinのように規則的な用量反応の波形はみられないという欠点がある(図2)¹⁰⁾。

しかし、投与方法、点滴速度と用量によってはabortifacientともなり得る⁶⁾。これがoxytocinと異なるところであり、子宮収縮のみの問題ではないと思われる。

4. OxytocinとPGF₂αの用量比(図2)

臨床的には、外側陣痛計測により子宮収縮の度合いを観察しながら点滴速度を調整していくことになるが、PGF₂αの波形が十分把握できない場合、やはりoxytocinの波形を参考にしながら投与すべきものと考えられる。筆者は添付文書のとおりPGF₂α 0.1μg/min/kgのみ

で加減して用いることによりoxytocinと同様、十分な効果が得られると思う。

参考までに代表的な諸家の意見を次のように挙げるが、それぞれご検討の上、図2を参考にoxytocinとPGF₂αの用量を見比べて使用されることを、お薦めしたい。

1) Oxytocinの注入量と妊娠末期子宮の収縮とは密接な関係があり、頻繁2cm間隔の時、oxytocin 1~2mU/minの点滴静注により分娩第1期様の子宮収縮を、8mU/minで分娩第2期様の刺激を与えることができ、第2期の最も強い収縮は16mU/minによつてもたらされるだろう¹¹⁾。

2) 微弱陣痛にoxytocinを初期1mU/min、20分ごとに2mU/min、4mU/min、8mU/minと増量し、その後は4mU/minずつ適宜增量していく¹⁰⁾。

3) 微弱陣痛にPGF₂α 0.5μg/min、最大投与量は20μg/minとする。20分ごとに1μg/min、2μg/min、4μg/min、8μg/minと増量し、その後は4μg/minずつ臨床的に有効な陣痛が得られるまで¹⁰⁾とする。

4) Oxytocin 6~8mU/minはPGF₂α 3μg/minに相当する¹¹⁾。

文 献

- 1) 寺木良巳. 子宮平滑筋に対するprostaglandinの作用様式(英文). 岩手医誌 1979; 31: 199-210.
- 2) 寺木良巳. ヒト摘出、妊娠子宮に対するProstaglandin F2αならびにOxytocinの効力比

- について、日産婦誌 1973; 25 : 1213-1222.
- 3) 科研製薬会社 添付文書「ロースタグランジンF2 α 注射液」[科研]1000(裏面取扱説明書)1978年4月)
- 4) 扳元正一、我妻 雄、木下勝之ほか、Prostaglandin F2 α による分娩誘発。産科と婦人科 1971; 46 : 120-128.
- 5) 佐藤和雄、安永光彦、木下勝之ほか、OxytocinとPGの優劣。第53回日産婦開東地方部会抄録 1976.
- 6) 寺木良巳、前村実滿、川原 単はか、Prostaglandin F2 α 卵巣外注入による初期、中期妊娠中絶の実験とPGs中絶法に対する考察。産婦人科の世界 1974; 28 : 59-66.
- 7) 寺木良巳、人胚胎末期子宮のProstaglandin F2 α 、Oxytocin投与による感受性と半減期の測定ならびに血中濃度について。日産婦誌 1974; 26 : 1175-1183.
- 8) Augsberger A. Quantitatives zur therapie mit herzglykosiden. II. Mitteilung: Kurumulation und abfallen der wirkung. *Klin Wschr.* 1954; 32 : 945-951.
- 9) Caldeyro-Barcia R, Sica-Blanco Y, Posiero JJ, et al. A quantitative study of the action of synthetic oxytocin on the pregnant human uterus. *J Pharmacol Exp Ther.* 1957; 121 : 18-21.
- 10) 瓦林達北古、微弱陣痛、産と婦 2005; 72 (Suppl) : 92-94.
- 11) Roberts G, McGarry J, Turnbull AC. Absence of antidiuresis during administration of prostaglandin F2 α . *Brit Med J.* 1970; 2 : 152.
- 12) 寺木良巳、OxytocinとPGの優劣。第53回日産婦開東地方部会抄録 1976.

Oxytocin と PG の 優 劣

ノベルティスカッショングループ

第53回日本産婦人科学会関東地方部会
群馬大学 昭和51年{1976年}

障害弱化と増強に対する Oxytocin と Prostaglandins の効用

東京大学産婦人科教室
佐藤和雄、安永光彦、木下勝之
金子義體、福岡秀泉、坂元正一

障害弱化と増強に対する Oxytocin と Prostaglandins の効用

障害における Oxytocin (以下 O) と Prostaglandins (以下 PG) の作用について両者の間に密接な関連があることが示唆されているが、現在 O は障害の弱化と増強に対する第一に選択されるべきものとされる。両者とも内生性質で生理的であるが用量の点で O は PG に比し力値が高い。

障害弱化薬の目標として Bishop score と OBT が用いられるが通常的意義は絶対的ではない。両者の弱化効果は等しく O の弱化効果を何ら妨げるものではない。OBT は分娩開始の予知、*natural labour*、頸管の成熟度を知る上に有用な資料を提供し得るが、P の場合 committee がそのものにははづきが少られ、まだ OBT は確立されていない。

障害弱化効果、O、P とともに取締剤としての利点を有している。子官の感受性ならびに効力は O で 2~20 mU/min、P は 5~25 mU/min の範囲内で十分。その目的は過せられ効果もほぼ同じとされている。用量については O の 6 mU (0.015 g) が P の 0.5 g で相当するものと思われる。O の弱化効果は障害計上、生理的子官収縮の経過や程度を標準化して、開筋でも容易であるが、P では物具の張れと持続ながらびに過温への反応の複雑さなど問題点を残す。また routine 使用に際しては安全性が強く用量の制約も考慮すべきと思われる。

障害増強効果 O では注入速度と子官収縮の間には量的な比例関係がみられ限界の程度に応じて持続時間、強さ、頻度を調節することができる。主な作用の発現と消退が速やかで、*hypertonus* が避けられる。しかし P では用量反応曲線の比例関係が明らかでなく、従つて頻度への適用が難しく確実な増強効果を示さないばかりか一部に減弱の傾向もみられる。

その他 O、P 共通の副作用の他に P はとくに過強陣痛、児心音の変化などへの留意が必要と思われる。また完治医家にとって困惑することは P では用量による障害曲線が得難く障害現象の認識や過強陣痛の予知、調節方法などに種々の難点をもつことがあると思われる。

Prostaglandins (PG) が臨床的に分娩誘導剤に使用されはじめから約 6 年を経過し、これまでにも Oxytocin との比較が多く論文で論じられている。しかし優劣をはさばねどちらが優れているかは必ずしも結論は出ていない。適応は、PG F_{2α}、Oxytocin とも糖尿病、中等症、血液型不適合、胎盤機能不全例などに説明剤として用いられることは多い。投与法はそれぞれ点滴で行われているが、今後 PGK については、經口錠剤が用いられる可能性がありその点では PG の方が便利となるがかもしれない。量は Oxytocin では個体差が大きく 0.5 ~ 1.28 mU/min と広範囲であるが、PG F_{2α} は 3 ~ 25 mU/min と範囲が狭い。これは至適量で用いるためには、慣れれば PG F_{2α} の方がその点を見つけ易いと思われる。吸盤パターンは、我々の data では PG は coordinate から coordinate へと自然順序に近いが、Oxytocin でははじめから coordinate の形をとるものが多い。それ故陣痛曲線より投与量を決めるとき、PG でははじめたらした形の曲線のため、不足のためと手えて過剰投与になることがある。感受性は Bishop score 7 以上ではほとんど差を認めないが、5 以下では PG F_{2α} の方が有効で通常の 3 倍量でよいが、Oxytocin では 10 ~ 20 倍量が必要である。また子宮口開大度、分娩時間に差がみられた。未破水例でも分娩時間に差がみられ、PG F_{2α} 6 時間、Oxytocin 18 時間と差があった。分娩時出血には差はない。副作用では Oxytocin には抗利尿作用があるため中止症例では必ずしも適していなかった。一方 PG F_{2α} も環内膜、喘息患者には禁忌である。また PG は全身的な副作用をあらわすことがあるが、説明に用いる量ではなくほとんど問題にならない。

以上類似成熟剤の説明、増強には両者の差を認めたことは出来なかつた。しかし類似成熟剤、未破水例では始時間等から PG の方が有利であることから、PG の方が Oxytocin よりや適応が広いと考えられる。使用年について両者の併用についても今後考慮すべきであろう。

ヒト摘出、妊娠子宮に対する Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ならびにOxytocin の効力比について

Comparative Potency of Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and Oxytocin in the Isolated
and Human Pregnant Uterus

大森赤十字病院産科婦人科
昭和大学医学部第一薬理学教室
寺木 良巳 Yoshiaki TERAKI

摘要 Oxytoxics と考えられる Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$)、Oxytocin のヒト摘出子宮ならびに妊娠、分娩における効果を比較検討した。その結果、つぎのようことが明らかになった。
 1. 薬物の効力比較は原則として同一患者による matching bioassay 方式により行った。
 2. 用量については従来の Oxytocin の国際単位（現在、純粋に精製されたものは 1 国際単位当り 450—500 IU）から PG と同様、重量比からにモル濃度比にて両者の効力を比較した。
 3. 摘出ヒト子宮筋に対する収縮効果は作用濃度曲線上、PGF $_{2\alpha}$ が Oxytocin より強かつた。しかし帝切仔子宮、Tyrode 浴液用の場合は Oxytocin の方が PGF $_{2\alpha}$ より強い収縮がみられた。
 4. 妊娠中期の陣痛発免に対する効果は PGF $_{2\alpha}$ では Oxytocin ほどの反応を示さなかつた。
 5. 分娩発効の効果は内、外側陣痛曲線上より明らかた。PGF $_{2\alpha}$ の作用はトコラム上、振幅、頻度、トースス何れも単位時間、用量あたりよりみて Oxytocin の効果に及ばなかつた。
 6. 分娩期 I 期陣痛は Planiometer 値にて計測した。Oxytocin は著明に増強効果を示すが、PGF $_{2\alpha}$ では増強作用が明らかでなく、ときに自然陣痛を減弱する傾向がみられた。
 以上のことより摘出子宮片については PGF $_{2\alpha}$ が Oxytocin より強く、生体子宮（妊娠中期、末期、分娩）においては重量比、モル濃度比、トコラム上などより PGF $_{2\alpha}$ が Oxytocin よりも potency が高いことを証明することができた。

Oxytoxics と考えられる Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$)、Oxytocin のヒト摘出子宮ならびに妊娠、分娩における効果を比較検討した。その結果、つぎのようことが明らかになった。
 1. 薬物の効力比較は原則として同一患者による matching bioassay 方式により行った。
 2. 用量については従来の Oxytocin の国際単位（現在、純粋に精製されたものは 1 国際単位当り 450—500 IU）から PG と同様、重量比からにモル濃度比にて両者の効力を比較した。
 3. 摘出ヒト子宮筋に対する収縮効果は作用濃度曲線上、PGF $_{2\alpha}$ が Oxytocin より強かつた。しかし帝切仔子宮、Tyrode 浴液用の場合は Oxytocin の方が PGF $_{2\alpha}$ より強い収縮がみられた。
 4. 妊娠中期の陣痛発免に対する効果は PGF $_{2\alpha}$ では Oxytocin ほどの反応を示さなかつた。
 5. 分娩発効の効果は内、外側陣痛曲線上より明らかた。PGF $_{2\alpha}$ の作用はトコラム上、振幅、頻度、トースス何れも単位時間、用量あたりよりみて Oxytocin の効果に及ばなかつた。
 6. 分娩期 I 期陣痛は Planiometer 値にて計測した。Oxytocin は著明に増強効果を示すが、PGF $_{2\alpha}$ では増強作用が明らかでなく、ときに自然陣痛を減弱する傾向がみられた。
 以上のことより摘出子宮片については PGF $_{2\alpha}$ が Oxytocin より強く、生体子宮（妊娠中期、末期、分娩）においては重量比、モル濃度比、トコラム上などより PGF $_{2\alpha}$ が Oxytocin よりも potency が高いことを証明することができた。

緒 言

従来より Oxytoxics としては Oxytocin が最もつともよく知られ、臨床広く用いられてきたが、最近 Prostaglandin の効果についても注目すべき報告がみられる。Prostaglandin の作用機序が Oxytocin と類似したものかどうか現在分らないが、今回 Prostaglandin の基本的な性質を明らかにするため、摘出子宮筋および妊娠、分娩、後産期における Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (以下 PGF $_{2\alpha}$) の作用を Oxytocin (以下 Oxy) と比較検討した。

ml) 中に子宮片をかけ、子宮の運動を紙面紙上に記録する Magnus 法により行つた。つぎに in vivo における子宮の活動ならびに薬物に対する反応は内測、外測車滴計 (Atom, Tottu tocomonitor) を用いグラフに記録した。すなわち外側の場合には腹壁上に外測用 head をのせ、内測は破膜後、子宮内圧用 small balloon を子宮腔内へ挿入し、それ pressure transducer につなぎ子宮の運動を oscillograph に記録した。薬物は PGF $_{2\alpha}$ 1000-2000 μg , Oxy 5 IU をそれぞれ 5 % 脂肪液に溶解し点滴静注を行つた。

実験方法

最近当科に入院した患者62例を対象とした。ヒト摘出子宮片は非妊娠子宮（ミオーム）ならびに妊娠子宮（帝王切開時）を用いた。実験の方法は寺木ら (1972) が報告したごく 25—37°C に加温した de Jalon 液ならびに Tyrode 液の浴槽（容量10

ml) 中に子宮片をかけ、子宮の運動を紙面紙上に記録する Magnus 法により行つた。つぎに in vivo における子宮の活動ならびに薬物に対する反応は内測、外測車滴計 (Atom, Tottu tocomonitor) を用いグラフに記録した。すなわち外側の場合には腹壁上に外測用 head をのせ、内測は破膜後、子宮内圧用 small balloon を子宮腔内へ挿入し、それ pressure transducer につなぎ子宮の運動を oscillograph に記録した。薬物は PGF $_{2\alpha}$ 1000-2000 μg , Oxy 5 IU をそれぞれ 5 % 脂肪液に溶解し点滴静注を行つた。

1. ヒト摘出子宮に対する作用

- i) 糜養液・摘出子宮の自動運動は栄養液と温度によつて左右される。今回、de Jalon, Tyrode 液の 2 種類を用いた。組成を比較すると表 1 の如

表1 栄養液組成の比較(1例中)

	Le Jalon et al (1945)	Tyrode (1910)
NaCl	9,000	8,00
KCl	0,420	0,20
CaCl ₂	0,012	0,10
MgCl ₂	0,005	0,005
NaHCO ₃	0,500	1,00
NH ₄ PO ₄	—	0,05
Glucose	0,500	1,00

くなる。de Jalon 液では Ca, Mg イオン含有が少なく自動運動が抑制され、また液温は低温で運動は弱く36°C前後で亢進するのがみられた。

ii) 非妊娠子宮に対する作用

同一標本における非妊娠子宮の運動は Oxyt, PGF_{2α} 各々 100ng, Bradykinin 100ng の濃度で収縮を示すが PGF_{2α} は Oxytに比して強い(写真1)。PGF_{2α} は 5×10^{-9} g/ml より収縮を、PGE₁ 2 × 10^{-8} g/ml で弛緩作用を示す(写真2)。さらに作用濃度曲線を得たため、de Jalon 液で実験を行い図1の如き結果を得た。すなわち、PGF_{2α} 5 × 10^{-9} g/ml より収縮し、最大収縮は 1×10^{-8} g/ml の濃度と得られる。これに対し Oxyt 10^{-8} g/ml の濃度においても反応はみられない。

iii) 妊娠子宮に対する作用

帝切時子宮片を用い、Tyrode 液中に最終濃度 10^{-8} g/ml の各薬物を適用写真3のような結果を得た。それぞれの收縮高は Oxytを 1 とすれば PGF_{2α} 0,20, Brad. 0,62,5-HT 1,18 であった。すなわち

帝切時子宮片においては Oxyt が PGF_{2α} よりも感受性が高く非妊娠の場合と逆の結果が得られた。また de Jalon 液により作用濃度曲線を調べたところ、PGF_{2α} は 5×10^{-9} g/ml より収縮がみられ、最大収縮率は 1×10^{-8} g/ml で到達する。一方、Oxytでの収縮は 2×10^{-8} g/ml よりはじめ Brad. 1 × 10^{-8} g/ml で最大の収縮がみられる(図2)。しかし Oxytによる最大収縮でも PGF_{2α} の最大収縮のおよそ 55%にしか到達しないことが分る。また図2から知られるように妊娠子宮は非妊娠子宮に比して PGF_{2α} の場合、作用濃度曲線上、多少反応

写真2

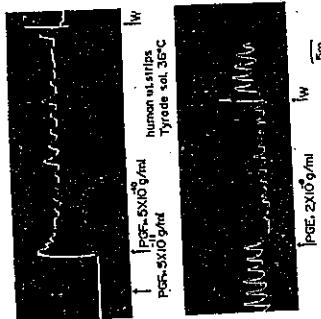
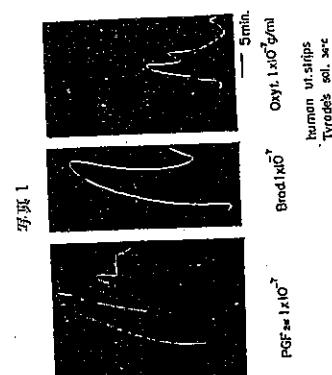
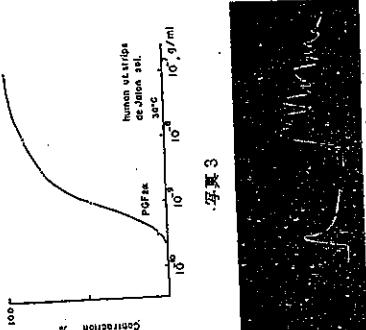


写真3

表2 PGF_{2α} and Oxytocin の効力比

Case No.	PGF _{2α}		Oxyt.		Para Grav.	Matu- Men- branes	Cervix cm	Rate μg/min.	Infus. time (hrs.)	Total dose (μg).	Stimulatory effect	Induction interval (hrs.)	Indication
	Dose	Effect	Dose	Effect									
1-1st Ox.	1	U	27	R	U 1		7,5	5	6	1800	±	—	Next day PRM
2nd Ox.					U 1,5		12,5	5 ^{1/2}	5 ^{1/2}	1730	±	—	Next day
3rd Ox.					I 1,5		12,5	5	3	1050	±	—	PRM
2	Ox	0	0	31	R	I 1	7,5-12,5	2	1200	±	—	39,5	
3	Ox	2	0	27	R	I 1,5	7,5	4	5	450	±	—	41,5 PRM
4	Ox	0	0	20	A R	U 1	2-8	3	1080	±	—	27	Stillb.

Membran: U=Unruptured, R=Ruptured, AR=Art. Ruptured.
Cervix: F=Favourable, U=Unfavourable, I=Intermediate.
PRM=Premature Rupture of Membranes.

図2 用量反応曲線

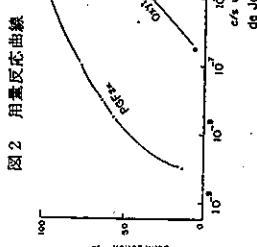
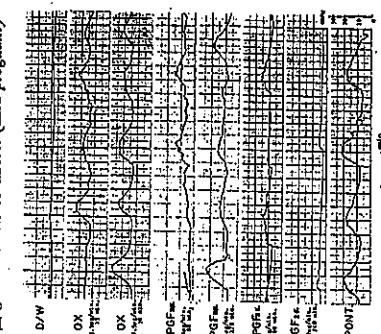


図3 制産効果曲線



が鈍くなる傾向があると思われる。

2. 妊娠中期の陣痛誘発

妊娠中期で前期破水、胎内死などにより誘発の適応となる4例について PGF_{2α}, Oxyt の誘発効果を試みた。取締効果の判定は鈴村(1966)の方法に準じて行った。結果は表2、図3の如く PGF_{2α} 適用時は湿巾、頻度、トーススいずれも Oxyt ほど強効果を認めなかつた。しかし両者の併用においては誘発効果がみられた。

3. 分娩誘発作用

妊娠10カ月で予定日超過、妊娠中毒症または前期破水などで誘発の適応患者12例について PGF_{2α}, Oxyt 単独または併用により誘発を行つた。未破水の患者については外側、破水後の患者について内側陣痛誘発剤を使用した。PGF_{2α}ならびに Oxyt の点滴静注を種々の濃度ながら組合せを行い、各々原則として薬物の投与を繰返し、そのつなぎには D/W 液を少くとも 30 分以上注入し、前者の薬物の反応を消失せしめた。本実験の目的は誘発過程において PGF_{2α} ならびに Oxyt がそれそれ如何なる子宮反応を示すかを調べるために、実験の結果は表3にまとめて示すところである。

ヒト摘出、妊娠子宮への PGF_{2α}, Oxytocin の効力比較表3 Induction of Labour by Prostaglandin F_{2α} and Oxytocin

Case No.	PGF _{2α} Oxy.	Pars Grav.	Matu- rity	Cervix cm	Mem- branes	Dosage	Stimulatory effect		Induct. deliv. interval hrs.	Deli. v.	Indica- tion
							Rate μg/min.	Infus. time (hrs.)	Total dose (μg)	Ampplitude and Frequency	
1	F _{2α} Ox	0	0	44	U	1 1.5	6—8	3	1320	±	N.D.
2	F _{2α} Ox	0	0	39	R	U 1.5	4—6	1	450	±	P.M.
3-1	F _{2α}	0	0	33	U	U 1	7—5	3	980	—	PRM
3-2	F _{2α} Ox	0	0	43	U	U 1.2	4—10	10	450	±	Tox.
4	F _{2α} Ox	0	0	43	U	I 3	6—8	5	150	±	P.M.
5-1	F _{2α} Ox	0	0	40	U	I 2	6—10	3	1400	±	P.M.
5-2	F _{2α} Ox	0	0	40	U	I 3	7.5	3	1100	±	P.M.
5-3	F _{2α} Ox	0	0	46	U	F 10	4	230	±	P.M.	
5-4	F _{2α} Ox	1	0	42	U	F 3	3—6	7	460	±	P.M.
6	F _{2α} Ox	0	0	40	R	I 2	5—12	4	1400	±	P.M.
7	F _{2α} Ox	0	0	42	AR	I 3	4—5	3	1200	±	P.M.
8	F _{2α} Ox	0	0	42	U	U 1	7.5	1	450	±	P.M.
9	F _{2α} Ox	0	1	42	U	U 1	5—10	2	1000	±	P.M.
10	F _{2α}	0	0	39	R	F 1.5	2—4	2	400	±	P.M.
11	F _{2α} Ox	0	2	42	U	U 1.5	4—6	4	1200	±	PRM
12	F _{2α} Ox	1	3	41	R	F 2	5—12.5	4	1250	±	P.M.
							5—12.5	4	600	—	P.M.
							5—12.5	4	240	—	PRM
							5—12.5	4	450	±	P.M.

Membrane: U=Unruptured, R=Ruptured, AR=Art. Ruptured.

Cervix: F=Favourable, U=Unfavourable, I=Intermediate.

PRM=Premature Rupture of Membrane. N.D.=Normal delivery.

P.M.=Post Mature. F.Failed. B.D.=Breech Delivery.

図4 Induction of labour

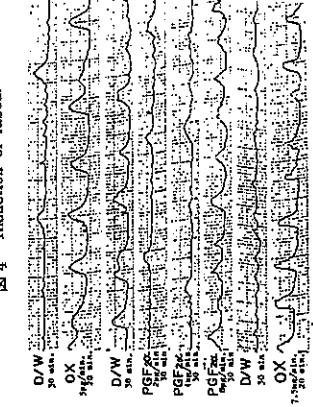


図5 Induction of labour

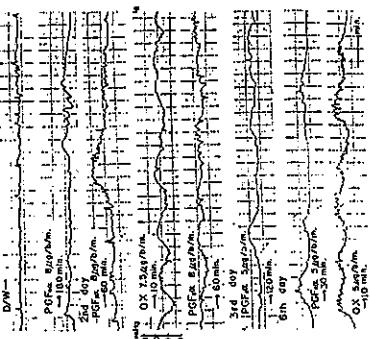


図6 収縮頻度の変化

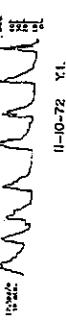


図7 1st stage of labour



図8 Comparison of ext-int. tocography



図9 Comparison of ext-int. tocography

は用量と反応の比例関係が明らかでなく Oxyt に比べて確実に増強効果を示さない。また前記同様 matching assay 方式により継続的にトコラムを追つてゆくごとくなる。すなわち Oxyt により律動的な収縮がみられるが、PGF_{2α} 3.8-μg/ml. 投与においては十分な収縮波型がみられない。以上外頭陣痛計上、規則的な収縮波型がみられなかつたが子宮内圧の変化について外頭陣痛では困難である。そこで内測、外測同時測定し

た。1例を示すと図 8 のごとくなる。すなわち PGF_{2α} における子宮収縮波型は内外測トコグラムともにはほぼ比例しており、休息期におけるトコラムはとくに上昇はしてない。しかし PGF_{2α} の収縮はこの例では 4 分 30 秒持続する。Oxyt の場合は 2 分でつぎの収縮へ移行する。最大振巾は両者とも変りないが PGF_{2α} においては収縮から弛緩への移行が緩徐である。以上のことより外頭陣痛曲線で得られた不規則な小波型は PGF_{2α} によってトーススの増加している状態ではなく休息期である。

しかし陣痛曲線上 PGF_{2α} に対する反応が弱くとも投与中止 20 時間後、自然陣痛が発来し始出した例がなかった。

4. 分婬第 1 期における作用

分婬開始後の自然陣痛が PGF_{2α}, Oxyt によつて増強促進されるものかどうかについて調べた。すなわち頸管の開大に応じて收縮曲線は一般に増強してゆくと思われるが、同一患者について観察すると図 9 のごとくになる。自然陣痛のあるものに Oxyt 10-μg

図9 PI値の変化

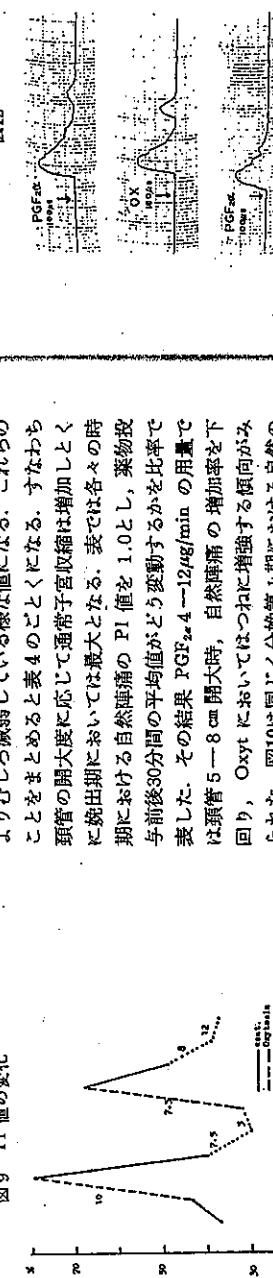


表4 子宮収縮のPI値の推移

Cx. dilat.	3—4 cm	5—6 cm	7—8 cm	9—10 cm	deliv.
Spontaneous	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
PGF _{2α} 4-12 μg/min/body	1.116	1.124	1.033	1.034	1.594
Oxytocin 4-10 μg/min/body	1.274	0.913	1.087	1.094	
PGF _{2α} + Oxytocin 8 μg/ml	1.421	1.966	2.154	1.660	

before→after 30min. mean value n=19

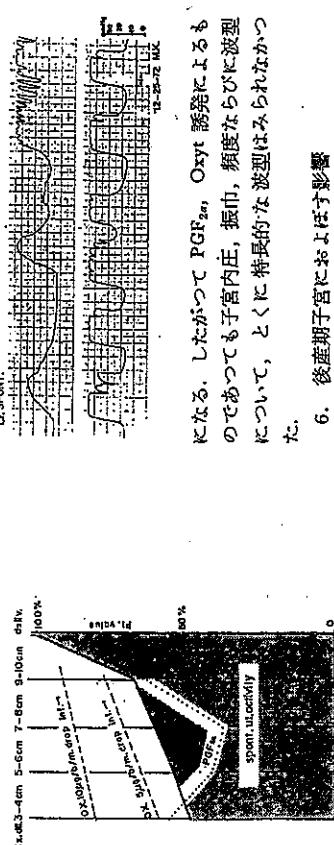
5. 分娩第2期における陣痛曲線

分娩第1期の終わりから第2期にかけて得られる陣痛曲線も多様である。自然陣痛でも図11の如く

図11 分娩第2期における陣痛曲線



図10 PI値の推移



6. 後產期子宮における影響

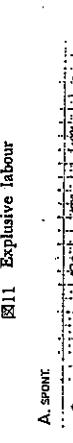
胎兒娩出後2時間以上経過した子宮について外側陣痛計にて子宮の運動を記録した。PGF_{2α}-Oxyt-PGF_{2α}の順に投与した。結果は図12に示す通りで PGF_{2α} 100 μg の単独静注により60秒後収縮反応があらわれた。また Oxyt 200 mU 静注により50秒後に収縮が PGF_{2α} により再び自然陣痛に昇る。D/Wによって再び自然陣痛に移行する。さらには PGF_{2α} 8, 12 μg/min. 投与しても自然陣痛

よりむしろ減弱している様な値になる。これらのことをまとめると表4のこととなる。すなわち頸管の開大度に応じて通常子宮収縮は増加していくに分娩期においては最大となる。までは各々の時期における自然陣痛のPI値を1.0とし、薬物投与前30分間の平均値がどう変動するかを比率で表した。その結果 PGF_{2α} 4-12 μg/min の用量では頸管5-8 cm 開大時、自然陣痛の増加率を下回り、Oxytにおいてはそれに増強する傾向がみられた。図10は同じく分娩第2期における自然の子宮収縮に両薬物がどう影響するかを PI 値で示したものである。

5. 分娩第2期における陣痛曲線

分娩第1期の終わりから第2期にかけて得られる陣痛曲線も多様である。自然陣痛でも図11の如く

図11 分娩第2期における陣痛曲線



分娩第2期における陣痛曲線は、分娩第1期よりも複雑である。自然陣痛では、分娩第1期と同様に陣痛の頻度が高くなるが、陣痛の強度は分娩第1期よりも低くなる傾向がある。分娩第2期における陣痛曲線は、分娩第1期における陣痛曲線よりも複雑である。分娩第2期における陣痛曲線は、分娩第1期における陣痛曲線よりも複雑である。

参考文献

ヒト子宮に対する薬物の作用は oxytocics でも Oxyt や Noradrenaline のように in vitro と in vivo ともに類似した potency をもつものと、Adrenalin, Bradykinin (Stürmer et al. 1963) のように摘出子宮においては引続き律動的な類回の収縮がみとめられた。

0.5 μg/ml で収縮がみられるとしているが、著者の実験では PGF_{2α} 0.02 μg/ml で抑制 PGF_{2α} 0.5 μg/ml (何れも Tyrode 液) より収縮がみられた。また作用濃度曲線より PGF_{2α} の場合は 5 ng/ml の濃度より作用がみられ効果であった。しかし希に時摘出子宮片においては感受性が若干異なる傾向がみられた。Bygdeman (1964) は妊娠4ヶ月、摘出子宮片は非妊娠よりも PGF_{2α} で増加したと述べているが、末期 PGF_{2α} の作用は多少異にすると思われる。

さて分娩と Oxyt, PGF_{2α} の作用について述べる前にこれらとの投与量について若干考察してみたい。従来 Oxyt の一般的な用量としては Cadet-Price (1957) の報告などがある。それにによる関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩末期子宮の収縮とは密接な関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩第2期様の子宮収縮を 8 mU/min で分娩第2期様の刺激を与えることができ、第2期のもつとも強い収縮は 1.6 mU/min によつてもたらされると述べている。

ヒト子宮に対する薬物の作用は oxytocics でも Oxyt や Noradrenaline のように in vitro と in vivo ともに類似した potency をもつものと、Adrenalin, Bradykinin (Stürmer et al. 1963) のように摘出子宮においては引続き律動的な類回の収縮がみとめられた。

6. 後產期子宮における影響

胎兒娩出後2時間以上経過した子宮について外側陣痛計にて子宮の運動を記録した。PGF_{2α}-Oxyt-PGF_{2α} の順に投与した。結果は図12に示す通りで PGF_{2α} 100 μg の単独静注により60秒後収縮反応があらわれた。また Oxyt 200 mU 静注により50秒後に収縮が PGF_{2α} により再び自然陣痛に昇る。D/Wによって再び自然陣痛に移行する。さらには PGF_{2α} 8, 12 μg/min. 投与しても自然陣痛

図12 PI値について述べる

の実験では PGF_{2α} 0.02 μg/ml で抑制 PGF_{2α} 0.5 μg/ml (何れも Tyrode 液) より収縮がみられた。

また作用濃度曲線より PGF_{2α} の場合は 5 ng/ml の濃度より作用がみられ効果であった。しかし希に時摘出子宮片においては感受性が若干異なる傾向がみられた。Bygdeman (1964) は妊娠4ヶ月、摘出子宮片は非妊娠よりも PGF_{2α} で増加したと述べているが、末期 PGF_{2α} の作用は多少異なると思われる。

さて分娩と Oxyt, PGF_{2α} の作用について述べる前にこれらとの投与量について若干考察してみたい。従来 Oxyt の一般的な用量としては Cadet-Price (1957) の報告などがある。それにによる関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩末期子宮の収縮とは密接な関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩第2期様の子宮収縮を 8 mU/min で分娩第2期様の刺激を与えることができ、第2期のもつとも強い収縮は 1.6 mU/min によつてもたらされると述べている。

Barcia (1957) の報告などがある。それにによる関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩末期子宮の収縮とは密接な関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩第2期様の子宮収縮を 8 mU/min で分娩第2期様の刺激を与えることができ、第2期のもつとも強い収縮は 1.6 mU/min によつてもたらされると述べている。

参考文献

Barcia (1957) の報告などがある。それにによる関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩末期子宮の収縮とは密接な関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩第2期様の子宮収縮を 8 mU/min で分娩第2期様の刺激を与えることができ、第2期のもつとも強い収縮は 1.6 mU/min によつてもたらされると述べている。

参考文献

Barcia (1957) の報告などがある。それにによる関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩末期子宮の収縮とは密接な関係があり、銀管 2 cm 開大のとき Oxyt 1-2 mU/min の点滴静注により分娩第2期様の子宮収縮を 8 mU/min で分娩第2期様の刺激を与えることができ、第2期のもつとも強い収縮は 1.6 mU/min によつてもたらされると述べている。

当時においては body weight で per kg の注入量ではないと思われる。妊娠末期における外人の平均体重は 70kg と思われるが、わが国における平均体重を 60kg とし、一応 bodyweight とみなすと Oxyt 2, 4, 8, 16, 32 mU/body は 0.033, 0.067, 0.133, 0.266, 0.533 mU/min/kg となる (表 5)。われわれは通常 5 IU を 5% D/W 500ml に希釈し、これを点滴静注しているが 1 ml 中 Oxyt は 10mU 含有することになる。すなわち 1 IU = 10³mU = 10⁶μU である。また Oxyt 1 IU 中に含まれる脳下垂体後葉抽出液は国際基準によれば 0.45—0.5mg である。従つて Oxyt 1IU は 500μg = 1000mU となる。さらに点滴液 17滴はほぼ 1 ml になることから 1 分間に 17滴の点滴速度で上記稀釀液を使用するときは 10mU (5 μg) 投与したことになる。従つて 8 mU/min/body の点滴を行ふ場合には約 4滴とえる必要がある。普通は Oxyt を 10滴から 43滴の間に子宮収縮の頻度、トースス、振巾を考慮して使用していくので 6—25mU/min/body 手えることになる。また μg 投与したことによる。従つて 8 mU/min/body の点滴の容易なことが利点とされている。一方、PGF_{2α} の half-life について現在検討中であるが Oxyt よりないと思われる。

さて妊娠各期における Oxyt の感受性は月数が進むにつれて増加し、40週で 2 mU で反応する子宫においても 30週では 1 mU, 20週では 16mU/min 必要であると Caldeyro-Barcia (1957) は述べている。今回、妊娠 25~27 週の誘発に對し Oxyt 15mU/min で 10 分後より律動的な収縮が PGF_{2α} 4μg/min で 70 分後より不規則な 120 分後より規則的な収縮がときどきみられた。このことは妊娠中期における脳下垂体後葉抽出液の効果を期待できると思われる。

つぎに妊娠末期における脳下垂体後葉抽出液を PGF_{2α} Oxyt 単独で、または PGF_{2α}, D/W, Oxyt の組合せ方式により調べた結果、トコグラム上 Oxyt 0.08 μg/min/kg より反応があらわれるが PGF_{2α} 0.064 μg/min/kg ではほとんど反応がなく 0.12 μg/min/kg で若干、不規則な反応がみられる程度である。し

かも Oxyt の反応は投与もなく出現するのに比し PGF_{2α} は 0.14mMg から 0.42mMg となる。従つて Oxyt は広い範囲にわたり、ごく少量から反応性をもつており、最高でも 0.42mMg で有効であり、PGF_{2α} は 0.14mMg から最高 0.56mMg の範囲内にある。実際 Oxyt の用量は通常 8 mU/min 前後が多く 16mU/min で hypertonus に移行するとされているので Oxyt は 0.1mMg 以下の量で反応をもつことになる。PGF_{2α} よりも少量で有効なこと、すなわち potency が高いことになる。ただしこれはあくまでも計算上のことであって Prostaglandin が分娩時ににおいて Oxyt よりはかかるに血中濃度が上昇する可能性もあり一概に用量比のみを云々することはできないかも知れない。さらに薬物の使用に際してはその薬物の体内における代謝とくに消滅速度を知る必要がある。Prostaglandin の代謝過程についてはまだ Oxyt はよく知られていないが、half-life についてもその定量の困難などからまだ明らかにされていない。Oxyt の half-life は静注の場合 3~4 分とされており (Saameli 1962) 点滴投与の必要性とともに、その調節の容易なことが利点とされている。一方、PGF_{2α} の half-life については現在検討中であるが Oxyt よりないと思われる。

さて妊娠各期における Oxyt の感受性は月数が進むにつれて増加し、40週で 2 mU で反応する子宮においても 30週では 1 mU, 20週では 16mU/min 必要であると Caldeyro-Barcia (1957) は述べている。今回、妊娠 25~27 週の誘発に對し Oxyt 15mU/min で 10 分後より律動的な収縮が PGF_{2α} 4μg/min で 70 分後より不規則な 120 分後より規則的な収縮がときどきみられた。このことは妊娠中期における脳下垂体後葉抽出液の効果を期待できると思われる。

こと (Kalbauer 1959), 用量は 10—20mU/min の割合で総量 1—15.2IU 必要であること (Engeström 1958)などの報告がみられる。また Oxyt 点滴による分娩誘発の無効率について 5—33%と報告者によつて非常に差があるが、眞の無効頻度はよく吟味すれば 5%以下であろうと Muth et al. (1966) が述べていることは注目される。Proglandin がこれらを上回る成績か否かは今後の検討を待つことになると思われる。もちろん、これらを左右する因子として妊娠月数、頸管の成熟度、被水の有無などを考えられるが、今回一患者による bioassay 方式において限り Oxyt 誘発による効果と思われるのが症例上多かつた。また両者を併用した場合も良い結果を得た。

Scher et al. (1972) は分娩誘発にかなりの量 PGF_{2α} 5~10 μg/min, Oxyt 4.125mU/min 投与し Oxyt も効果がみられると報告しているが、これらを通常量とみなすことができるかどうかは疑問である。また誘発が成功するか否かは頸管の状態によると大きく未熟な頸管では Oxyt と同じ効果、成熟の状態であれば PGF_{2α} の方がより効果的であると述べている。しかし、Oxyt についても Embrey (1962) が既に同様のこととを報告しており PGF_{2α} 特有の作用とは思われない。

また被水の有無も分娩誘発の効果を左右するとの報告 (Nixon et al. 1959) がある。これらのことより今回、同一患者についての assay を行い同じ条件下における両薬物の感受性を比較するよう試みた。

つぎに PGF_{2α} の hypertonus が問題となるが重量比からみた場合 Francis et al. (1970) は 64 μg/min でも hyper-tonus はみられないといし、一方 Roberts et al. (1971) は反対の意見を述べている。何れにしても過量投与は十分注意が必要があると思われる。著者の説例において用量上、適当なのかどうかは Roberts et al. (1970) の Oxyt 6—8 mU/min は PGF_{2α} 3 μg/min に相当するとも思われる。

つぎに妊娠末期における脳下垂体後葉抽出液を PGF_{2α} Oxyt 単独で、または PGF_{2α}, D/W, Oxyt の組合せ方式により調べた結果、トコグラム上 Oxyt 0.08 μg/min/kg より反応があらわれるが PGF_{2α} 0.064 μg/min/kg ではほとんど反応がなく 0.12 μg/min/kg で若干、不規則な反応がみられる程度である。し

られることを指摘している。

1222 ヒト摘出、妊娠子宮への PGF_{2α}、Oxytocin の効力比 日産雑誌25巻11号

さて薬物の効果判定に障害のよくなきねあめで自然に発来するものの対照例を得ることは難しい。また個々の状態によっても千差万別であることは論をまたない。しかし一応の傾向を知るためには同一条件下にて薬物の反応をみるとが望ましいと考えられ、今回 matching assay 方式により調べた。その結果 Oxyt は分娩陣痛があることがで PGF_{2α} はむしろ自然陣痛に対する効果があるよう傾向がみられた。微弱陣痛に Oxyt で比較的、規律性のある收縮波型がみられるに比し、PGF_{2α} の場合にはある種の uterine inertia と思われるような波型がしばしばみられた。また Oxyt は用量に応じて子宮収縮力の増強がみとめられるが PGF_{2α} においては用量比による生理的な收縮曲線が得がたいためにその効果の発現の難點や調節方法に極々の難点を有していると思われる。しかしこれは単にトコラム上より推測したもので、トコラム上有効な波型が得られなくとも実際に娩出効果をもたらすようないわば priming 様の作用をもつかも知れない、その場合、Oxyt との併用も有意義と思われる。

また副作用について考えてみると Roth-Brandel と Adams (1970) は両者に質的な差はないが、PGF_{2α} Oxyt のような抗利尿作用がないので、妊娠中絶症や心疾患などの合併時に有用であると述べている。しかし PGF_{2α} 類によつて血流の変化、血圧、体温の変化、嘔吐、下痢、炎症など一過性にみられるることは事実であり、これらについても今後さらに詳細な薬理学的検討が必要と思われる。稿を終るにあたり角尾謙教授のご校閲に深く感謝致します。また実験にご協力いたしました当教室宮坂宗男君に感謝します。なお本論文の要旨は第 184 回日産婦東京地方部会例会において発表しました。

文 献
坂元正一、我妻 錦、木下勝之、渡辺正輔、野末洋

人妊娠末期子宮の Prostaglandin F_{2α}、Oxytocin 投与による

感受性と半減期の測定ならびに血中濃度について

Comparison of Uterine-Stimulating Actions, Calculated Blood Levels and Half-Lives of Prostaglandin F_{2α} and Oxytocin Following Administration to Pregnant Women Near Term

大森赤十字病院産婦人科 (昭和大学医学部第 1 産科学教室)
寺木 良巳 Yoshimi TERAKI

- 子、王 明華、龜持和子 (1971): 產科と婦人科, 38: 120.
清水哲也、藤本征一郎、遠藤一行 (1971): 產科と婦人科の世界, 23: 847.
鈴村正勝 (1966): 日本生理誌, 28: 147.
寺木良巳、前村美満 (1972): 産婦人科の世界, 24: 417.
東條伸平、金沢清一、望月重人、新谷 鍾、坂井孝至、西田芳夫 (1971): 日産雑誌, 23: 441.
Berger, E. and Marshall, J.M. (1961): Am. J. Physiol., 201: 931.
Bygeman, M. (1964): Acta Physiologica Scand., 63: Suppl. 242.
Caldiero-Bavaia (1957): J. Pharmacol. Exper. Therap., 121: 18.
Caldiero-Bavaia, R. and Rosine, J.J. (1959): Ann. N.Y. Acad. sci., 75: 813.
Effer, S.B., Bartola, R.P., Vratlos, A. and Caldiero-Bavaia, R. (1969): Am. J. Obstet. Gynec. 105: 909.
Embrey, M.P. (1962): J. Obstet. & Gyn. Brit. Comm., 119: 910.
Engeström, L. (1958): Acta obstetr. gyn. Scand., 37: 303.
Francis, J.G., Turnbull, A.C. and Thomas, F.F. (1970): J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwth. Med., 1: 702.
Kathauer, B. (1959): Wien. med. Wschr. 109: 102.
Karim, S.M.M., Trussell, R.R., Hiller, K. and Patel, R.C. (1969): J. Obstet. Gynaec. Brit. Commn., 76: 769.
Math, H.G., Markhaus, G. (1966): Geburtsh. u. Frauenheilk. 26: 1441.
Nixon, W.C.W., Smyth, C.N. (1959): Amer. J. Obstet. Gynec. 77: 393.
Roberts, G., Anderson, A., Mc. Gary, J. and Turnbull, A.C. (1970): Brit. Med. J. 2: 152.
Roberts, G. and Turnbull, A.C. (1971): Brit. Med. J. 1: 702.
Roth-Brandel, U. and Adams, M. (1970): Acta Obstet. Gynec. Scand. 49: Supp. 9.
Sameli, K. (1963): Am. J. Obst. & Gynec. 85: 186.
Scher, J., Dowey, D.A., Radlis, P., Friend, J. and Friend, D.M. (1972): S.A. Medical J. 46: 2009.
Stürmer, E. and Bernd, B. (1963): J. Pharm. and Exper. Therap. 140: 349.
Whitney, A.J. (1962): Lancet 1: 5.
(No. 2560 昭48・5・7受付)

妊娠末期子宮の Prostaglandin F₂ α , Oxytocin 投与による

いと、中間の測定を示す。

Comparison of Uterine-Stimulating Actions, Calculated Blood Levels and Half-Lives of Prostaglandin F_{2α} and Oxytocin Following Administration to Pregnant Women Near Term

摘要 人妊娠末期子宮の Prostaglandin F₂α, Oxytocin の静注投与による感應性試験, PGF₂α, Oxyt の半減期の測定および血中濃度などについて外側廻筋曲線により検討した結果、つきの成績が得られた。
 1) 妊娠末期子宮は Oxyt に高い感應性を示し、Oxyt 0.2mU/kg/min 静注 2 分以内に反応した症例の多くは 48 時間以内に分娩に至った。PGF₂α 0.24μg/kg/min では反応が強く反応時間と自然陣痛発来までの期間開始時刻を推定し得るよう妊娠はみられなかった。

2) Oxyt, PGF_{2α} 投与と初発子宮収縮との関係を用置反応曲線より求めた。すなわち Oxyt の各種用置量 0.05, 0.075, 0.10, 0.15, 0.20, 0.40mU/kg/min 雌性接合による初発子宮収縮は、それぞれ 7.3, 5.5, 3.8, 2.8, 2.1, 1.9 分であり用置を増せば反応時間が遅くなることが知られた。同じく PGF_{2α} の各種用置量 0.025, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30μg/kg/min 雌性に上り脚筋針上、初発子宮収縮反応のあらわれは、それぞれ 37.3, 23.4, 15.6, 7.8, 3.6 分であり Oxyt に対して反応時間が遅延する傾向がみられた。

3) 用置と反応時間の結果より Augsberger (1954) の算定方式により、それぞれの半減期を試算した。その結果 Oxyt の生物学的半減期は 3 ~ 4 分、PGF_{2α} で 16 ~ 19 分と考えられる。

4) Oxyt, PGF_{2α} 雌性接合後、初発子宮収縮が認められる前中濃度は Oxyt で 0.0073mU/ml (= 3.3 mU/6.2

Pg/ml), $\text{PGF}_2\alpha$ $\approx 0.0107 \mu\text{g/ml}$ ($= 10.7 \text{ ng/ml}$) と思われる。

130

現在、血中 Prostaglandins (以下 PGs) ならびに Oxytocin (以下 Oxy) を定量できる確立した方法はない。PGsについては、はじめ各種動物の脳脊髄液に対する作用反応を利用して主に生物的試験法が用いられてきたが、ついで酵素学的方法や Radioimmunoassay (RIA) による方法さ

どが開拓されてきている。

実験には最近、当科外来を訪れた妊娠第36週以後の妊娠を対象に選んだ。薬物投与による子宮収縮などの点について oxyt と比較検討した。

六十一

がしばしば用いられてきた。そしてこれら陣痛曲線より間接的に得られた成績と免疫化学的な方法による成績とかなり類似した値が得られている。今回、著者はこの点に注目し、妊娠末期子宮における PGF α の子宮感受性はどうか、あるいは用反応曲線より間接的に生物学的半減期を求めることが可能かどうか、そしてさらに PGF α 授与による初絶子宮収縮の血中濃度を推測できるかなどを検討した。

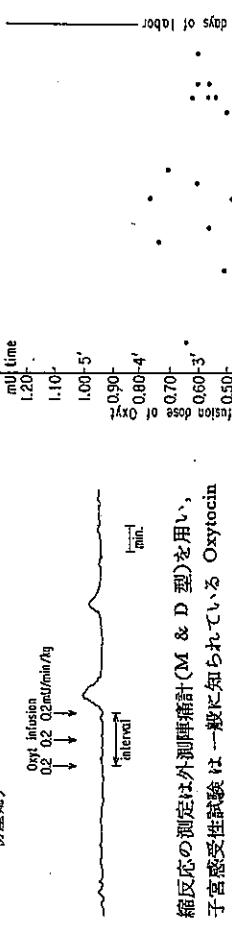
0.268 [kg/min T 檢計] 在

実験結果

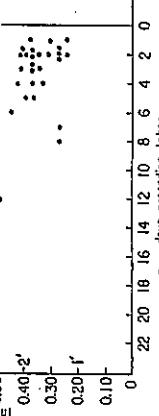
1. 子宮感受度試験

- i) Oxytocin: 妊娠10ヵ月, 子宮日超過を含む妊娠41例について感受性試験を行つた。実験の結果は図2に示す通りである。すなわち、0.2mU/kg 静注で反応がみられた20例中3例は24時間以内に、8例が48時間以内に、そして7例が5日以内に自然陣痛発来し分娩に至つた。また0.4mU/kg 静注で反応した妊娠13例中10例は6日以内に分娩に至つた。0.6mU/kg 以上の量で反応した者8例中6日以内に分娩したものは3例であつた。以上のとおり Oxyt. 0.2mU/kg 静注にあり

図 1 外側卵巣軸による初発子宮収縮(妊娠第40週、剖葉標)



2

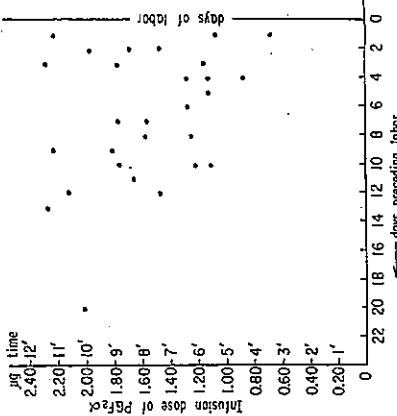


→ days preceding labor

速やかに反応のみられた症例においては自然分娩の発来と密接な関係があると考えられる。

ii) PGF_{2α}: 同じ妊娠末期、予定日臨過を含む妊婦28例について PGF_{2α}による感受性試験が実行された。結果は図3に示す如く 0.6 μgまでの群で反応した6例中5例は5日以内に分娩至った。また 1.2から2.1 μgまでの量に反応した23例中 6日以内に分娩至ったもの9例、7日から20日まで分娩にならなかったもの9例である。

図3 PGF_{2α}感受性試験と自然分娩発来



以上のように Oxyt 0.2mU/kg 離乳により

表1 Oxytocin持続注入開始より初発収縮までの時間(分)

Case No.	Name	Term *	Date of delivery after Oxy test				Oxytocin infusion rate (mU/min/kg)		
			0.05	0.075	0.100	0.150	0.200	0.400	
1 M. A.		2	2		3.2		1.3		
2 K. U.		2	1		3.3		1.2		
3 H. M.	-1	2			2.0		1.2		
4 I. S.	1	2			3.5		1.3		
5 S. N.	3	3					1.7		
6 S. T.	9	2			6.6		1.8		
7 T. M.	14	7			5.0		1.3		
8 H. S.	9	17	7.4				2.7		
9 U. K.	12	2			3.4	2.0	1.3		
10 I. Y.	8	10			3.8	3.8	2.0		
11 N. M.	15	2					2.7		
12 K. Y.	14	5					2.8		
13 I. U.	4	15	8.0		3.2		1.8		
14 T. M.	1	4					1.2		
15 E. T.		6	7.0	4.0	1.7				
16 M. M.	1	2			3.0				
17 F. K.	4	3			3.4		1.8		
18 O. T.	2	4			2.8		2.3		
19 Y. K.	2	2	8.0			1.7			
20 H. S.	-3	17				2.5	1.7		
21 N. T.	11	3	7.5	5.0	2.2		1.8		
22 T. M.	10	5	7.8	5.3	3.1				
23 N. R.	-9	11	6.5		3.0				
24 F. J.	1	5	5.5	5.0					
25 T. T.	-2	13	8.3	7.1					
26 M. T.	9	4	7.0	4.0					
27 K. S.	-12	1	7.3		1.5				
28 T. K.	10	2				1.6			
29 I. Z.	5	12	7.2						
30 U. B.	5	3			3.0	1.8	1.7		
31 K. K.	-8	14	5.0			2.8	2.5		
32 N. N.	6	6					3.3		
33 S. Z.	0	2				1.5			
34 S. S.	8	4			3.3	1.6			
35 T. K.	2	15				3.7			
36 K. M.	23	12				3.8			
37 Y. N.	0	12				2.4			
38 I. S.	4	2				2.0			
39 N. K.	0	5			5.0		1.8		
40 S. F.	-8	4					2.1		
41 A. M.	9	4				3.0			
42 H. N.	0	16				(10M.mg)			
43 S. G.	12	2			3.2	1.8			
44 F. K.	2	6				2.5			

*— テスト時、予定前日数
+ 予定超過日数

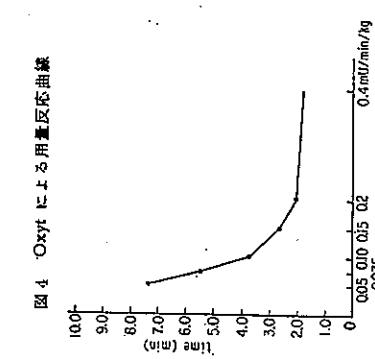
表2 PGF_{2α}持続注入開始より初発収縮までの時間(分)

Case No.	Name	Term *	PGF _{2α} infusion rate (μg/min/kg)			
			0.025	0.05	0.10	0.20
1 S. T.		9	7	25.3		7.7
2 S. N.		14	3	31.0	22.0	
3 K. Y.		17	8			6.2
4 O. T.		1	10			17.8
5 M. R.		5	10			5.5
6 U. K.		3	10			20.8
7 S. Y.		24	1			12.2
8 S. N.		3	2			12.3
9 M. N.		2	1			9.7
10 A. F.		16	4			16.3
11 M. U.		14	1			24.0
12 A. O.		8	9			6.7
13 S. K.		5	6			12.0
14 A. F.		19	1			22.2
15 Y. Y.		-16	2			21.2
16 O. T.		2	12			24.3
17 K. T.		11	2			18.4
18 U. K.		9	11			18.6
19 G. K.		8	3			16.5
20 M. S.		10	6			35.0
21 N. N.		7	9			2.0
22 V. N.		3	20	38.0		10.0
23 M. T.		5	2			8.2
24 K. K.		3	9	49.0		3.3
25 I. K.		12	13			26.8
26 O. M.		12	4			6.3
27 H. N.		2	12			16.7
28 U. N.		1	9			2.2
29 O. K.		-6	3			20.0

		予定日歟日数	予定日超過日数(何れもテスト時)	
30	K. H.	-16	6	6.3
31	S. H.	5	0	16.8
32	T. K.	8	6	39.2
33	K. B.	3	4	5.5
34	F. T.	10	7	35.5
35	I. N.	16	2	9.8
36	M. M.	15	5	3.3
37	E. B.	7	3	43.0
38	Y. R.	3	11	44.0
39	M. Y.	5	4	8.2
40	N. N.	6	6	20.4
41	H. N.	16	8	7.9
42	K. S.	7	7	3.2
43	S. Z.	6	12	7.2
44	I. K.	9	3	8.8
45	S. F.	-9	4	29.5
46	K. A.	2	10	4.3
47	F. S.	2	9	6.0
48	T. M.	5	9	9.0
49	W. M.	3	5	15.5
50	S. K.	2	7	5.5
	Mean			8.8
	S. E.			37.3
				15.6
				7.8
				3.6 (2.9)
				6.9
				3.0
				2.0
				1.6

*一 予定日歟日数
+ 予定日超過日数(何れもテスト時)

図4 Oxytによる用量反応曲線



**2: 用量反応曲線

たもの12例であった。これららの結果から PGF_{2α}においては分娩日を推定得るような反応時間と分娩発来との間にとくに関連は見出せなかつた。

*3: 反応時間

- Oxytocin: Oxyt の各用量すなわち 0.05, 0.075, 0.10, 0.150, 0.20, 0.40 mU/kg/min 等による初発子宮収縮までの時間を表1に示す。これら Oxyt の各用量注入による反応時間の平均をとると、それぞれ 7.3, 5.5, 3.8, 2.8, 2.1, 1.9分であつた。この用量反応時間曲線は図4のようにならう。図より用量 0.05 mU より収縮反応がみられるが 7.3 分要した。増すと子宮の収縮反応は速くなり 0.4 mU 投与で 1.2 分であつた。また 0.4 mU 以上与えても 1.2 分より速く反応はみられなかつた。
- PGF_{2α}: PGF_{2α} の各種用量 0.025, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 μg/kg/min の静注により陣痛曲线は図5のようにならう。図より用量 0.05 μg/min/kg/min の用量で Oxyt に比し収縮反応が遅く、発現時間と分娩との間に関連があることを見出しえなかつた。さてつきに Oxyt の消退について考えてみると Oxyt が腎によつて排泄されるか、血中で不活性化されるか、或は組織に移行されるのかなどについては現在まだ明らかでない。

Caldeyro-Barcia et al. (1957) は Oxyt の点滴静注投与中止後の子宮収縮反応の消失をみて Oxyt の消退を調べているが、その後 half-life の測定について生物学的検定法、コラム、免疫化学的方法などによつて、それを成績が得られている。これらの報告より妊娠末期婦人における Oxyt の生物学的半減期はおよそ 1 ~ 4 分以内にあると思われる。

一方 Augerberger (1954) は或る物質の消退する割合の有無について現在實験的試験がある。今

回 Oxytocin 感受性試験の結果、例歟は少ないが

Mc Caughy et al. (1961) の報告と一致しな

表3 Oxyt (微弱質) の血中濃度ならびに半減期

Year	Reference	Condition	Method	half-life	Concentration
1957	Gonzalez-Panizza et al.	Pregnant at term during oxyt inf.	tocographic studies	9 min	10~30 μU/ml plasma
1960	Caldeyro-Barcia	during not labour	MERR	—	0.1~0.2 mU/ml plasma
1961	Fitzpatrick et al.	24hrs p.p.	MERR	—	0.02 μU/ml plasma
1961	Gonzalez-Panizza et al.	in labour 2 days p.p.	MERR	—	100~200 μU/ml plasma
1961	Müller	pregnant near term	tocographic studies	1~3 min	—
1963	Saameli	pregnant near term	tocographic studies	3~4 min	3 μU/ml blood
1972	Gibbens	during labour	RIA	3 min	0.005~0.01 μU/ml plasma
1973	加藤 純、他	正常婦人 分娩 2 期陣痛発作時	RIA	0.040~0.05 μU/ml plasma	0.026~0.03 μU/ml plasma

MERR=milk ejection response rabbit

本はつぎの通りである。

$$Wt = \frac{D}{D - (1 - e^{-Pt})}$$

すなはち D = 単位時間当たりの注入量

t = 反応出現までの注入時間

$P = h/\sqrt{0.6}$: h = 半減期

以上の式により今回 Oxyt 注入による血中よりの半減期の計算を試みた。表 4 は半減期を 1 ～ 7 分としたときの Wt (体内の血中残存量) を計算したものである。はじめ半減期を 1 分とし投与用量を増加してゆくと Wt 値も増加する。半減期を 2 分、3 分としたときも同様であるが、半減期を 5 分、あるいはそれ以上とすると用量を増加してもかえつて減少していく。この表より Oxyt のおよそ半減期は 3 ～ 4 分の間にあると考えられる。

この値は Gonzalez-Panizza et al. (1961) の報告と一致する。さらに、Oxyt の半減期について Gibbens et al. (1972) は分娩時に合成 Oxyt を投与した場合その血中濃度は 1 分後にピークに達し以後 3 分間で半減したと報告している。また動物における成績として妊娠家兔で Oxyt の半減期は 3 ～ 5 分と加藤ら (1973) は報告し Wheeler and Glick (1966) も同じ数値をみている。以上のことから Oxyt の生物学的半減期は 3 ～ 4 分が妥当なものであると考えられる。

さて本来、子宮は Oxyt の一定の血中濃度をもち臓器で最初の収縮反応があらわれるものと考へられる。そこで表 4 より Oxyt の半減期を 3 ～ 4 分として Oxyt の収縮反応がみられるものと考へられる。そこで表 4 より Oxyt の半減期を 3 ～ 4 分とし投与量と体重比あたり 0.169 ～ 0.29mU/kg となり平均とすれば 0.225mU/kg である。Saameli (1963) の計算と同様にこれら外性投与 Oxyt の血中における濃度を推測すると体重 70kg の婦人の血流量 5,000ml とすると 1 ml 中 $0.225 \times 70 \div 5000$ すなはち 0.0035mU/ml となる。従つて Oxyt 接種による血中の濃度は 0.0035mU/ml (= 3.0 $\mu\text{U}/\text{ml} = 6.39\text{ng}/\text{ml}$) となる。勿論 Oxyt 注入前の妊娠末期婦人の血中 Oxyt 濃度はゼロでなくある濃度にあると思われる。加藤ら (1973) は RIA 法で正常婦人の Oxyt 血中濃度を測定した結果、

0.005mU/ml 以下であらうと述べている。これらのことから妊娠末期婦人において、すでに内生 Oxyt の產生遊離がありさらに入れてにより 3.0 $\mu\text{U}/\text{ml}$ 上昇みされることにより、有効閾値に到達し肺曲線上、有効な子宮取締となつて表れるものと考えられる。すなわち内在性の Oxyt が貯蔵範囲内にあり、豈か 3 $\mu\text{U}/\text{ml}$ の増加により影響をうけるものと思われる。

一方、PGF_{2α}についての半減期をもとに血中有效閾値を Oxyt と同様に計算し表 5 の如き結果を得た。すなわち半減期を 1 分から 16 分とした時の Wt (体内血中残存量) は用量 ($0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3$) の増加に応じて増大していくが用量が 0.10, 0.20 の時、半減期は 17 分、18 分と同じ値となり、19 分より用量 0.20 の時の Wt の値は用量 0.10 の時のそれよりも下回るようになる。このことから PGF_{2α} の半減期は 16 ～ 19 分の間ではないかと思われる。この時の有効閾値の範囲を 0.45 ～ 1.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と考えるとその平均は 0.765 $\mu\text{g}/\text{kg}$ となる。同じく体重 70kg の婦人の血流量 5,000ml として子宮取締反応をひきおこす外性 PGF_{2α} の血中濃度は $0.765 \times 70 \div 5000$ すなはち 0.0107 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ($= 10.7\text{ng}/\text{ml}$) となる。このことは少くとも PGF_{2α} の血中濃度が 10ng/ml 増加するごとによつて子宮取締反応がみられるとも考えられる。

さて PGF_{2α} の血中よりの定量はまだ確立した方法はなく大部分が RIA 法によるもので、その成績は表 6 にまとめて示す通りである。より非妊娠、妊娠時 PGF_{2α} の血中濃度は 1 ～ 30ng/ml までの範囲内にあると思われる。それが Oxyt と同様に PGF_{2α} の注入によって有効閾値に達し、陣痛曲線上、子宮取締がみられるものと思われる。

最近、Gillespie et al. (1972) は PGE₂, F_{2α} の注入 (静脈内) によつて下垂体を刺激し、Oxyt が遊離され Oxytocic 作用がみられるだろうと報告している。今後さらに検討されるべき問題と考えられる。

表 4 各々の半減期における血中 Oxyt (標物質) の量

D	t	Wt					
		h= 1 min	h= 2 min	h= 3 min	h= 4 min	h= 5 min	h= 6 min
0.05	6.2	0.07	0.12	0.16	0.19	0.20	0.22
0.075	4.4	0.10	0.16	0.20	0.23	0.25	0.26
0.10	2.7	0.12	0.17	0.20	0.21	0.23	0.23
0.15	1.7	0.14	0.19	0.21	0.22	0.23	0.23
0.20	1.0	0.14	0.16	0.17	0.18	0.18	0.19
0.40	0.8	0.24	0.27	0.29	0.30	0.30	0.30

D = Oxytocin infusion dose. (mU/kg/min).
t = time interval from start of infusion to first ut. contraction, corrected by 1.1min.
h = assumed half-life of oxytocin.
Wt = amount of exogenous supplied oxytocin present in the organism in an active form at time t (mU/kg)

表 5 各々の半減期における血中 PGF_{2α} (標物質) の量

D	t	Wt					
		h= 11 min	h= 12 min	h= 13 min	h= 14 min	h= 15 min	h= 16 min
0.025	35.4	0.35	0.38	0.40	0.42	0.44	0.45
0.05	21.5	0.59	0.62	0.64	0.66	0.68	0.70
0.10	13.7	0.92	0.95	0.97	0.99	1.02	1.03
0.20	5.9	0.99	1.00	1.01	1.02	1.03	1.04
0.30	1.7	0.48	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49

D = PGF_{2α} infusion dose. (μg/kg/min).
t = time interval from start of infusion to first ut. contraction, corrected by 1.9min.
h = assumed half-life of PGF_{2α}.
Wt = amount of exogenous supplied PGF_{2α} present in the organism in an active form at time t (μg/kg)

表 6 PGF_{2α} の血中濃度

Year	Reference	Condition	Method	Concentration
1968	Karim	in Labour		6.3 ng/ml blood
1971	Caldwell et al	luteal phase Pregnancy (1st trimester) Labour (peak of ut. cont.) delivery	RIA	200—300 pg/ml plasma 600—900 pg/ml plasma 1.2—3.0 ng/ml plasma 3.0—5.0 ng/ml plasma
1972-a	Cernosek et al	female	RIA	0.25—0.40 pg/ml plasma
1972-b	Cernosek et al	second trimester third trimester	RIA	0.3—0.8 ng/ml serum
1972	平田 文雄, 他	正常人	RIA	1.54—2.74 ng/ml serum 0.14—0.95 ng/ml plasma
1973	鈴木 国典, 他	月经経了後	RIA	27—30 ng/ml
1973	木下 駿之, 他	分娩発来 分娩 1 期 分娩 2 期	RIA	2.93 ng/ml plasma 3.55 ng/ml plasma 1.77 ng/ml plasma 1.97 ng/ml plasma

1974年11月

1183

寺木

以上、PGF_{2α}, Oxytについて陣痛曲線上得られた成績から子宮の感受性、生物学的半減期、血中濃度、有効閾値などを測定した。しかし現在、PGs, Oxytについての完成した定量法はなく得られた成績の解釈や研究の進展に支障を来していると思われる。今後RIA法による Gas chromatography-Mass spectrometryなどによつて、より正確な定量法が確立されることがのぞまれる。これら二つの方法によって PGs の代謝過程や半減期、血中濃度などについても一定した成績が得られるものと考えられる。この見地から著者らは GC-Msにより検討中である。

終りに角尾洋教授ならびに日医大、鈴村正剛教授に感謝します。また、アドバイスを戴きました新大、丸山昇治先生に感謝します。なお本論文の要旨は第7回世界産婦会議(1973)において発表した。

参考文献

- Caldwell, B.V., Bernstein, S., Brack, W.A. and Speroff, L. (1971): J. Clin. Endocr. 33, 171.
- Cernak, R.M.G., Zuckerman, J. and Levine, L. (1972-a): Prostaglandins on the Uterus Muscle オキシトシン
PGE F 2α
PGE F 2β
- Cernak, R.M.G., Moril, L.M. and Levine, L. (1972-b): Prostaglandins 1, 71.
- Fitzpatrick, R.J. (1961): In Caldero-Barcia, R. and Heller, H.H., editors: Oxytocin London, 1961, Pergamon Press, Ltd.
- Gibbons, D., Boyd, N.R.H., Crocker, S., Baumbecker, S. and Chard, T. (1972): J. Obst. and Gynaec. Brit. Commonwealth, 79, 644.
- Gillepsie, A., Brummer, H.C. and Chard, T. (1972): Brit. Med. Journal 1, 543.
- Gonzalez-Panzica, V.H., and Sica-Blanco, Y. (1957): Proc. 2nd Uruguayan Congr. Obst. & Gynec. 2, 330.
- Gonzalez-Panzica, V.H., Sica-Blanco, Y., and Mendoza-Bauer, C. (1961): In Caldero-Barcia, R., and Heller, H.H., editors: Oxytocin, London, 1961, Pergamon Press, Ltd.
- Hussein, H., Baumgarten, K. (1963): Int. Fed. Obst. & Gyn., Vienna, Band 2, 491.
- Karin, S.M.M. (1968): Brit. Med. J. 4, 618.
- McCarthy, J.C., Fugo, N.W. (1961): Obstetrics & Gynecology 17, 531.
- Müller, A. (1958): Arch. Gynäk. 191, 65.
- Müller, H.A. (1961): In Caldero-Barcia, R., and Heller, H.H., editors: Oxytocin. London 1961, Pergamon Press, Ltd.
- Nixon, W.C.W. and Smyth, C.N. (1957): J. Obstetr. Gynaec. Brit. Empire 64, 35.
- Page, E.W. (1954): West. J. Surg. 62, 125.
- Sammel, K. (1963): Am. J. Obst. & Gyn. 85, 186.
- Smyth, C.N. (1954): Exposition Scientifique congress Int. Gyn. et Obst. Genève, pub. Sandoz, Basle.
- Augstberger, A. (1954): Klin. Wschr. 32, 945.
- Caldero-Barcia, R., Sica-Blanco, Y., Puerto, J.J., Gonzalez-Panzica, V., Mendoza-Bauer, C., Fidetz, C., Alvarez, H., Potts, S.V. and Hendricks, C.H. (1957): J. Pharmacol. Exper. 121, 18.
- Caldero-Barcia (1960): Advance abstr. First International Congress of Endocrinology, Copenhagen, 1960.

当手医誌 31巻, 2号(昭和54年4月), 199-210頁。
J. Iwate med. Ass. Vol. 31, No. 2 (Apr. 1979) p. 199-210.

The Mode of Action of Prostaglandins on the Uterus Muscle
オキシトシン
Yoshimi TERAKI
Department of Pharmacology, School of Medicine,
Iwate Medical University, Morioka, Japan (Prof. S. NAKAYA)
p. 6 F 2
p. 6 F 2

子宮平滑筋に対する Prostaglandins の作用様式

寺木良巳
岩手医科大学医学部、薬理学講座(主任: 中塙重綱教授)

(No. 2782 昭49・5・15受付)

The Mode of Action of Prostaglandins on the Uterus Muscle

Yoshimi TERAKI

Department of Pharmacology, School of Medicine,
Iwate Medical University, Morioka, Japan (Prof. S. NAKAYA)

子宮平滑筋に対するProstaglandinsの作用様式

寺木良巳

岩手医科大学医学部、病理学講座（主任：中屋正綱教授）

(Received on July 6, 1978 & Accepted on July 7, 1978)

Introduction

There are a few reports on actions of Prostaglandins on smooth muscle, especially uterus smooth muscle, however, the mechanism of action is complicated and there are many unknown aspects. It seems that it is due to different behavior of actions dependent upon the kind of Prostaglandins, difference of animal species, sexual cycle, etc.

This time, I have studied the histological structure of rat uterus muscle which has high sensitivity to agonists and mode of actions of various PGs and other smooth muscle contracting agents on uterus muscle.

Experimental Methods

For the histological examination of rat uterus, mature Wistar rats were used. After subcutaneous administration consecutively for 7 days of 1.0 mg of Hexestrol and 1.0 mg of Progesteron, the rat uterus was isolated and fixed with Bouin's solution and then stained with Haematoxylin-Eosin for microscopic examination.

For the experiment of action of uterus muscle contraction, similarly Wistar rats

weighing about 150 g were employed. Before the experiment, animals were administered subcutaneously for 3 days 0.1 mg per rat of diethylstilbestrol. The rats were sacrificed and uterus was isolated and uterus movement was recorded on Kymograph or by means of F. D. Pick up. The bath temperature was kept at 18-22°C to inhibit spontaneous movement of uterus. The bath solution was aerated with 95% O₂ and 5% CO₂.

As the nutrient solutions, solutions of various composition, i.e. de Jalon solution, improved Krebs' solution, KCl-Krebs' solution, Ca-free and Mg-free-Krebs' solutions etc. were used. Comparison of composition of respective physiological solutions is as follows.

	Krebs-Ringer	KCl-free Ringer	K-Krebs
NaCl	120.7 mM	—	—
KCl	5.9	120.2 mM	120.2 mM
NaHCO ₃	15.5	15.5	15.5
NaH ₂ PO ₄	1.2	1.2	1.2
CaCl ₂	2.5	2.5	—
MgCl ₂	1.2	1.2	1.2
Glucose	11.5	11.5	11.5

Drugs used for the experiment are as follows. Prostaglandins (PGAs, A_a, E₁, E₂, F₁, F_{2a}) (Ono Yakuhin), Oxytocin (Sandoz), Acetylcholine (ACh) (Daiichi Seiyaku),

Yoshimi TERAKI

5-Hydroxytryptamine (Sigma), Bradykinin (Sandoz). Buffer solutions were prepared to dissolve Prostaglandins.

Results

1. Structure of rat uterus muscle and effects of administration of sexual hormone and PGs.
Photo 1 is a cross section of uterus of non-pregnant rat subcutaneously administered 1.0 mg of Hexestrol for 7 days, and further 1.0 mg of Oxyt. In dose-response curves, contraction thresholds were Oxyt 5×10⁻⁸ g/ml, PGF_{2a} 1×10⁻⁹, PGE₁ 1×10⁻⁶, PGE₂ 10⁻¹¹, PGF_{2a} 1×10⁻⁹ g/ml, respectively and the maximum finding such as hyperemia or hemorrhage in muscle layer and it is considered that effect of PGs on tissue is absent.

On the other hand, Photo 2 shows histological finding of cross section of uterus obtained 24 hours after i.p. administration of 1.0 mg of PGF_{2a} with pretreatment of consecutive s.c. administration of 1.0 mg of Progesteron for 7 days. It is considered that no remarkable effect of PGs on uterus muscle is observed.

2. Tachyphylaxis
1×10⁻⁸ g/ml of PGE₁ was administered repeatedly for 10 minutes by 3 minutes interval on the isolated rat uterus in Krebs-Ringer solution, but attenuation of contractile power, so-called tachyphylaxis was not observed (Fig. 1).

3. Dose-response Curve of PGs
In the isolated uterus of rats treated with Diethylstilbestrol, contractile response to PGs and Oxytocin (Oxyt) were examined in normal Krebs-Ringer solution. In dose-response curves, contraction thresholds were Oxyt 5×10⁻⁸ g/ml, PGF_{2a} 1×10⁻⁹ g/ml, PGE₁ 1×10⁻⁶ g/ml, PGE₂ 10⁻¹¹, PGF_{2a} 1×10⁻⁹ g/ml, respectively and the maximum contraction thresholds were Oxyt 1×10⁻⁸ g/ml and PGF_{2a} 5×10⁻⁹ g/ml (Fig. 2).

4. Uterus contracting action of PGs
Response of uterus muscle to various PGs in normal Krebs-Ringer solution was compared with that to ACh and Oxyt. At the concentration of 1×10⁻⁸ g/ml, contractions elicited by PGE₁ and PGE₂ are inferior to that by ACh but recognizable. Uterus contraction due to PGF_{2a} 5×10⁻⁹ g/ml is powerful.

Photo 1. Cross section of rat uterus under the influence of oestrogen and PGF_{2a}.

Photo 2. Gross section of rat uterus after treatment of progesteron and PGF_{2a}.



How influenced are the uterus contractions elicited by PGE₁, E₂ 1×10^{-8} , PGF_{2α} 5×10^{-6} g/ml, Oxyt 1×10^{-6} U/ml in Krebs-Ringer solution in bath of Atropine 1×10^{-6} g/ml was examined. Results are, as shown in Fig. 5, that PGs, Oxyt contractions are not changed but contraction of ACh 1×10^{-9} g/ml was inhibited completely in Atropine bath (Fig. 5). 7. PGs contractions and effect of ρ -receptor agonist Contractions elicited by various PGs and

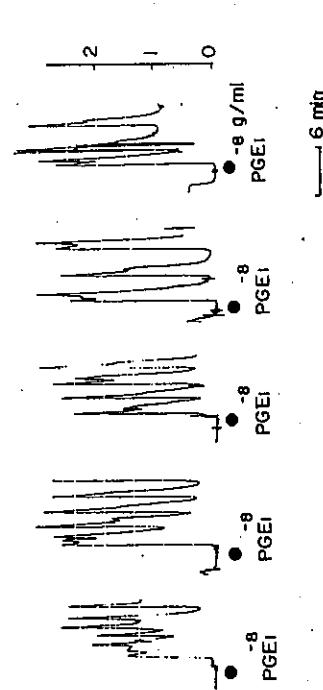


Fig. 1. Repeated administration of PGE₁

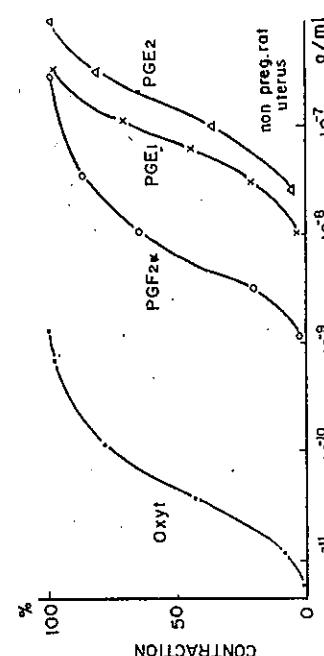


Fig. 2. Dose response curve of PGs

and the action did not vanish readily even by washing with water several times and continuous contraction was observed for more than 30 minutes. On the other hand, contraction due to Oxyt 1×10^{-6} U/ml disappeared by washing with water once (Fig. 3).

5. Effect of antagonists on PGs contraction

In the bath of Methylsergide 1×10^{-6} g/ml and an antagonist against Serotonin (5-hydroxy-tryptamine, 5-HT), ACh, PGs, Bradykinin were not influenced, however, only 5-HT was observed to antagonize in solution of Methylsergide 2×10^{-6} g/ml (Fig. 4).

6. PGs contractions and effect of neuro-blocking agent

5. Effect of antagonists on PGs contraction
6. PGs contractions and effect of neuro-blocking agent

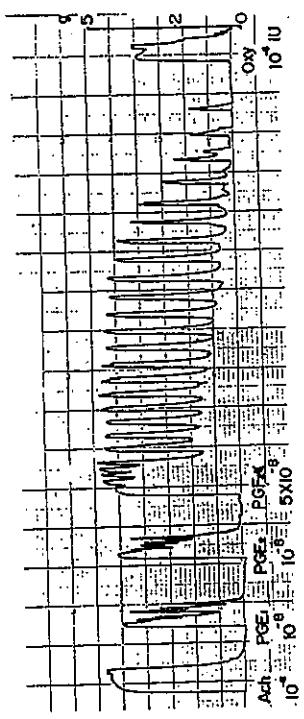


Fig. 3. Uterus contracting action of PGs.

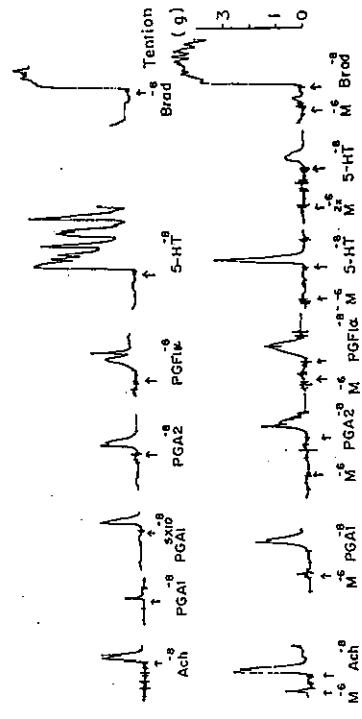


Fig. 4. Effect of antagonists on PGs contraction
Krebs-Ringer solution Rat uterus

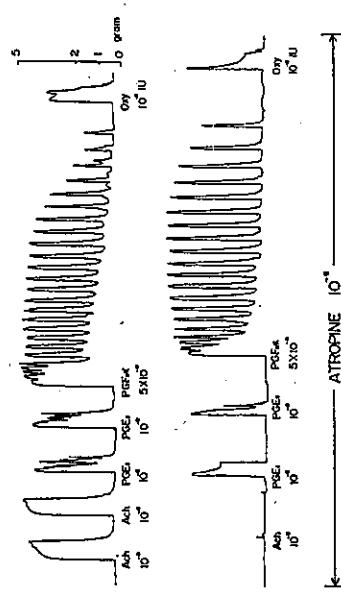


Fig. 5. PGs contraction and effects of neuroblocking agent

Tension(g) Contractions due to various PGs, ACh, Oxyt were not inhibited by pretreatment with Propranolol (P) 1×10^{-8} g/ml, a β -receptor blocking agent (Fig. 6).

8. PGs contractions and effect of metabolism inhibitor

i) For the purpose of metabolism inhibition, O_2 was not introduced into normal Krebs solution bath and response of uterus to contractile agent was examined. In the state of anoxia, at first inhibition of ACh 1×10^{-8} g/ml contraction was observed and with lapse of time, contractions due to PGE₁, PGE₂, PGF_{2α} and Oxyt were almost inhibited and after 30 minutes, contraction of ACh also was inhibited completely. When aerated with O_2 again, response to contractile agents was observed again (Fig. 7).

ii) In Krebs solution bath containing DNP (Dinitrophenol) 1×10^{-3} M, a metabolism inhibitor, contractions due to ACh 1×10^{-8} , PGF_{2α},

ACh 1×10^{-8} g/ml, Oxyt 1×10^{-6} IU/ml in normal Krebs solution were inhibited by pretreatment with Isoproterenol (Isp, IP) 1×10^{-6} g/ml, a stimulant of β -receptor (Fig. 6).

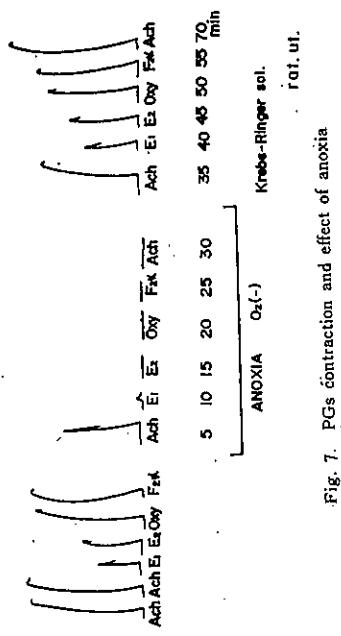


Fig. 7. PGs contraction and effect of anoxia

Also maximum contraction can be obtained. Also by replacement with normal Krebs-Ringer solution, contractions due to drugs appear again (Fig. 10).

10. PGs contractions and depolarized muscle

When normal Krebs solution is exchanged for KCl-Krebs solution in order to observe effect of ACh and PGF_{2α} on depolarized muscle, contractions were observed. When contraction height was examined after administration of ACh 1×10^{-7} g/ml and PGF_{2α} 1×10^{-7} g/ml, the contractions were more or less inferior to those in normal Krebs solution but the maximum contractions were observed (Fig. 11).

i) When the bath solution is exchanged with Ca free Ringer solution which is a normal with Ca free Ringer solution removed Ca, soon after Krebs-Ringer solution removed Ca, soon after the exchange, uterus contraction effect by the exchange, uterus contraction effect by ACh, PGF_{2α}, PGE₂, PGE₁ began to be inhibited with course of time, and about 70 minutes after, PGE₂, PGE₁ contractions were completely inhibited and approximately 90 minutes after, both PGF_{2α} and ACh contractions were inhibited to 10-20% of the initial contraction height (Fig. 9).

ii) When 5 mM EDTA-Na was added to Ca free Ringer solution in order to remove Ca of nutrient solution, ACh contraction was completely inhibited even after 10 minutes and similarly contractions of PGF_{2α}, Oxyt, PGF_{2α}, PGE₂ were completely inhibited. By addition of Ca-agent into this state, the phylaxis occurs by Prostaglandins differs

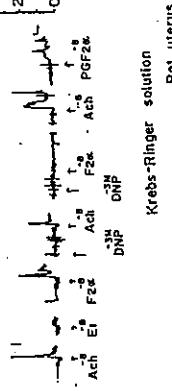


Fig. 8. PGs contraction and effect of DNP

Krebs-Ringer solution Rat uterus

Tension(g) In Mg free Krebs solution in which Mg is removed from normal Krebs solution, contractions elicited by ACh 1×10^{-8} , PGF_{2α} 1×10^{-8} , PGF_{2α} 5×10^{-8} g/ml, Oxyt 1×10^{-6} IU/g showed tendency of a little enhancement (Fig. 12).

Discussion

It is considered that whether or not tachyphylaxis occurs by Prostaglandins differs

for KCl-Krebs solution in order to observe effect of ACh and PGF_{2α} on depolarized muscle, contractions were observed. When contraction height was examined after administration of ACh 1×10^{-7} g/ml and PGF_{2α} 1×10^{-7} g/ml, the contractions were more or less inferior to those in normal Krebs solution but the maximum contractions were observed (Fig. 11).

In Mg free Krebs solution in which Mg is removed from normal Krebs solution, contractions elicited by ACh 1×10^{-8} , PGF_{2α} 1×10^{-8} , PGF_{2α} 5×10^{-8} g/ml, Oxyt 1×10^{-6} IU/g showed tendency of a little enhancement (Fig. 12).

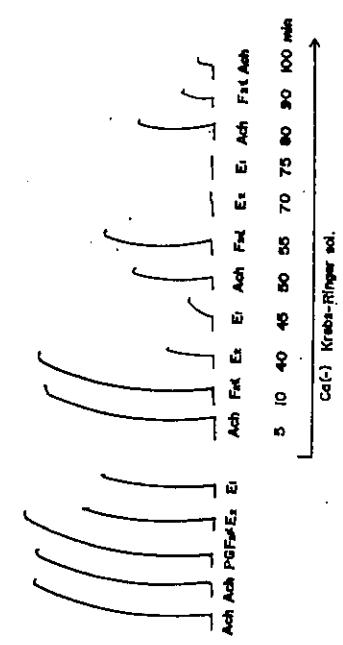


Fig. 9. PGs contraction and effect of external Ca.

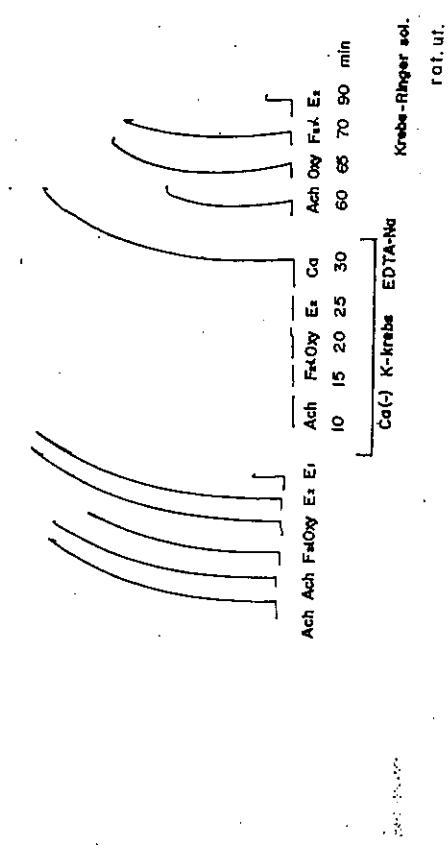


Fig. 10. PGs contraction and effect of external Calcium

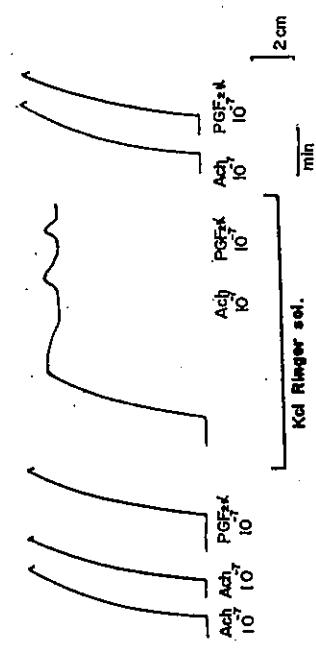


Fig. 9. PGs contraction and depolarized muscle

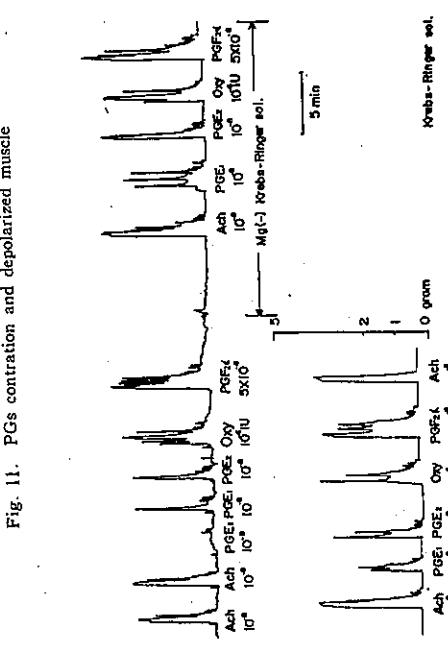


Fig. 11. PGs contraction and depolarized muscle

depending upon kind and concentration of sex cycle. Namely, they reported that PGs, repeated administration time, animal appearance of tachyphylaxis was observed by Paton et al. (1967) mention that no tachyphylaxis was not observed. Bitbring et al. (1960) report that tachyphylaxis is observed with serotonin in taenia coli of guinea-pig and explain that it is provoked by repolarization of membrane of smooth muscle followed by unstable membrane potential. However, they state that isolated rat uterus has high sensitivity to serotonin species, etc. Paton and Danie (1967). In both cases sensitivity of uterus to PGs is considered to be high. However, since PGs is observed from 0.05 ng/ml, the contraction threshold expressed in Oxytocin is elicit no tachyphylaxis in isolated rat uterus (Eliasson and Braudekiewicz 1969).

However, Eliasson et al. (1969) mention that tachyphylaxis is also influenced by

than that of PGE₂ 25 ng/ml (Paton and Danie 1967). In both cases sensitivity of uterus to PGs is considered to be high. However, since PGs is observed from 0.05 ng/ml, the contraction threshold expressed in Oxytocin is elicit no tachyphylaxis in isolated rat uterus (Eliasson and Braudekiewicz 1969). Dose response curves of PGE₂, PGF_{2α} and PGF_{2α} in isolated non-pregnant rat uterus are almost similar. Contraction threshold of PGF_{2α} is 1-10 ng/ml and the contraction is stronger than that of PGE₂ 25 ng/ml (Paton and Danie 1967). In both cases sensitivity of uterus to PGs is considered to be high. However, since PGs is observed from 0.05 ng/ml, the contraction threshold expressed in Oxytocin is elicit no tachyphylaxis in isolated rat uterus (Eliasson and Braudekiewicz 1969).

Proportional relationship is observed between dose of PGs and response time, and generally speaking, rapid response to Oxytocin was observed, while in case of PGs, the

response was relatively slow.

Mechanism of uterus contraction by PGs has not been elucidated, but first of all, direct action on cell membrane is considered. Pickles (1966) and Clegg (1974), in his electrophysiological experiment showed that PGs first stimulated uterus muscle cells and accelerated contraction due to electric activity of membrane. In the present experiment, in pharmacological standpoint, we have examined behavior of muscle contraction due to increase or decrease of various electrolytes, by preparing solutions of various composition.

In normal Krebs solution, PGs contractions showed tetanus like state, especially contraction by PGF_{2α}, was different from others and duration of action was long and the action did not disappear readily by washing with water. This is considered because PGs has strong combining property with receptors inside membrane and it is not readily released or dropped by enough washing. The strength of the combination is considered to be different among PGs because degree of combination with receptors differs among PGE₁, PGE₂ and PGF_{2α}. Next, contraction of uterus muscle and behavior of Ca is considered. Klaus (1967) et al. mention that PGs enhance the permeating speed of Ca ion at cell membrane. Nakajima (1974) states that PGs readily passes through membrane and combines intracellular receptors and thus combined PG has action to release intracellular bound form Ca. From these facts, it is considered that uptake of Ca into cell is accelerated by PGs. But Paton and Daniel (1967) state that Ca loosely bound to smooth muscle membrane plays the role in

Yoshimi TERAKI

contraction due to PGE₁.

In our experiment, contractions due to drugs may be repeated also in Ca free Krebs solution, and contraction by PGE₁ disappear rapidly, contraction by PGF_{2α} lasts relatively long, and contraction of ACh is fairly long, however, when Ca was removed by addition of EDTA, no contraction was observed in any case at usual concentration. This fact suggests that extracellular Ca is essential for muscle contraction as mentioned by Sonlyo (1968) and it is considered that there is limitation of uptake and storage ability of Ca in smooth muscle where endoplasmic reticulum develops poorly.

In our experiment also, it has been demonstrated that contraction of smooth muscle may be elicited by ACh and PGF_{2α} in the presence of Ca, even when cell membrane is immersed in KCl-Ringer solution and is perfectly depolarized. This agrees with the views of Clegg (1966) and Paton and Daniel (1967) that actions of drugs may be more enhanced even in depolarized muscle and rise in intracellular Ca may be possible not due to action potential.

Just like reports of Schatzmann (1964) and Shanes (1965) on depolarization of membrane due to ACh and muscle contraction, it is considered that Ca ion is influenced by PGs and muscle is contracted by release of Ca ion due to PGs.

Next, in order to consider effect of various antagonists on PGs contraction, whether or not PGs are influenced by anti-cholinergic, anti-adrenergic, and anti-serotonergic agents was examined. As antagonist of serotonin, Methysergide was used. Effects of Methysergide on contraction by PGA, PGAs, PGF_{1α}, 5-HT and Daniel (1967) state that Ca loosely bound to smooth muscle membrane plays the role in

muscle by ACh, BaCl₂, etc. is inhibited by Mg polypeptide by Mg ion is specific. In our experiment this time, actions of PGs were a little enhanced in Mg-free Krebs solution. Accordingly, different from Oxytocin, PGs seem to display inhibitory action by Mg ion. It is considered because is inhibitory action in the process of Ca release as pointed out by Mori (1973).

Summary

Mode of actions of various Prostaglandins (PGAs, A₂, F_{1α}, F_{2α}, E₁, E₂) were examined in isolated rat uterus and the following results were obtained.

- 1) No tachyphylaxis was observed by repeated administration of 1×10⁻⁸ g/ml of PGE₁.
- 2) Contraction threshold of PGE₁, E₂, F_{2α} and Oxytocin on dose-response curves were 1×10⁻⁸, 8×10⁻⁷, 1×10⁻⁹, 5×10⁻¹¹ g/ml, respectively.
- 3) Contraction heights of PGE₁ and PGE₂ at 1×10⁻⁸ g/ml showed a little inferior tendency to that by ACh at the same concentration. However, contraction of PGF_{2α} was long and strong.
- 4) Contractions by PGs were not influenced by Serotonin, ACh and Propranolol but inhibited by Isoproterenol.
- 5) Contracting action of PGs was inhibited by Anoxia and DNP.
- 6) It was found that PGs contractions inhibited with course of time in Ca-free Krebs solution.

Generally, contracting action of smooth

7) In K Krebs-Ringer solution, contract-

tion due to PGF_{2α} was observed also in ii) 作用濃度曲線上 PGE₁, E₂, F_{2α}, Oxyt depolarized muscle.

8) In Mg-free Krebs solution, contractions by PGE₁, E₂, F_{2α} showed enhancing tendency.

From above results, it has been suggested that PGs act different action site from that of ACh in muscle cell membrane, accelerate Ca permeability through cell membrane, bring about Ca influx into cell and elicit contraction.

Outline of this paper was presented at 47th General Meeting of Japan Pharmacological Association.

内容抄録 ラットの摘出子宮を用いて Prostaglandins (PGA₁, A₂, F_{1α}, F_{2α}, E₁, E₂) の子宮収縮作用様式について検討しつきの結果を得た。

i) PGF_{1α} 1×10⁻⁹ g/ml の反復投与でもヒメイリキシードはみられたかった。

viii) Krebs 液において PGE₁, E₂, F_{2α} の収縮は増強する傾向を示した。以上の事より PGs は筋細胞膜に対し ACh とは異なった作用点に働き細胞膜の Ca 透過性を促進し Ca を細胞内に流入させ収縮を惹起することなどが示唆される。

References

- Breeman, C., Daniel, E. E. and Breeman, D.: Calcium distribution and exchange in the rat uterus. *J. Gyn. Physiol.* 49, 1265-1298, 1966.
- Büllring, E. and Burnstock, G.: Membrane potential changes associated with tachyphylaxis and potentiation of the response to stimulating drugs in smooth muscle. *Brit. J. Pharmacol.* 15, 611-624, 1960.
- Clegg, P., Hall, W. J. and Pickles, V. R.: The action of ketonic prostaglandins on the guinea-pig myometrium. *J. Physiol.* 183, 123-144, 1966.
- Coceani, F. and Wolf, L. S.: On the action of Prostaglandin E₁ and prostaglandins from brain on the isolated rat stomach. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 44, 933-950, 1966.
- Eliasson, R.: Mode of action of Prostaglandins on the human non pregnant myometrium. *Biochem. Pharmacol.* 15, 755, 1966.
- Eliasson, R. and Braddekiewicz, Z.: Tachyphylactic response of the isolated rat uterus
- Pflüg. Arch. ges. Physiol. 214, 295-310, 1961.
- Shanes, A. M.: Possible mechanisms of acetylcholine action in muscle. In proceeding of the second international pharmacological meeting Vol. 3 Pharmacology of cholinergic and adrenergic transmission. Pergamon Press, Ltd., Oxford, 1965.
- contractile response of the isolated rat uterus to Prostaglandin E₁. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 45, 795-804, 1967.
- Pickles, V. R., Hall, W. J., Clegg, P. C. and Sullivan, T. J.: Some experiments on the mechanism of action of prostaglandins on the guinea-pig and rat myometrium. *Mem. Soc. Endocrinol.* 14, 89, 1966.
- Schatzman, H. J.: Calcium aufnahme und abgabe am Darmmuskel des Meerschweinchens. *14) 16)*
- Yoshimi TERAKI
- smooth muscle. *Pharmacol. Rev.* 20, 197-241, 1968.
- 15) 16)
- 17) 18)
- 19) 20)

5-HTによる胎児致死作用の機序とその拮抗剤の影響について（動物実験）

東京大研赤十字病院産科婦人科
昭和大学医学部第一病理学教室（主任：角尾 滉教授）
寺木 良巳

概要 セロトニン(5-HT)は妊娠の時期を問わざずすべてその妊娠を中断することができる。妊娠後半においてはプロダストロンは少量しか産生されずセロトニンが直接受子宮内腔に作用し、胎児を死亡に到らしめると思われる。この胎盤は uterine lung といわれることは重要なものでありこの胎児致死が胎盤が障害していると思われる。この胎盤を介してセロトニンの拮抗剤である LSD, Methysergide を用い妊娠マウスの病理的検査を試みた。

剂によつて如何に防禦されるかを調べた。また死胎児胎盤などの病理的検査結果を述べた。また死胎児死作用は起きるが、胎児致死作用は強なものであるかどうかについて検討を試みた。またセロトニンによる子宮内胎児死作用は子宮血管の収縮により胎盤灌流が減退する原因によつて胎児死が発生する。またセロトニンによる子宮内胎児死作用は子宮内胎児死の状態を調べた。実験の結果からおこるのではないかと考えられた。

1) 在錠16～19日目のマウスにセロトニン15mg/kgを下注射したところ子宮内死亡率は86.2%であった。2)

これに対し LSD 30μg/kg, Methysergide 11.1μg/kg でそれ以前置したものとの胎児死亡率は20.2%, 11.9% と著しく胎児死亡が減少した。3) セロトニン投与による死胎児胎盤の組織所見では著明な出血が認められた。

4) ラット情出子宮の実験ではセロトニンによる取締は低濃度で抑制した。5) ラット生体子宮間質血管にセロトニンでは明らかな血管取締作用は認められなかつた。

以上、胎盤におけるセロトニンの拮抗作用を認めめたが、子宮内胎児死作用は認められなかつた。胎児致死作用の本體については、まだ不明であるが胎盤の機能低下が主因をなすものであると推測される。

結論

アドレナリン、ノルアドレナリン、ヒスタミンとならんで最近セロトニン(5-HT, 5-hydroxytryptamine)なる物質が生体アミンの1つとして注目されてきた。はじめイタリヤの Erspanier らりは1940～1950年にかけて胃粘膜から Enteramin を抽出した。これとは別にアメリカの Rapport, Green, Page ら²³⁾も1947～1949年によんと Trombocytin なる物質を見出した。あとでこれら2つの物質は化学構造上、同一のものであることが確認されセロトニンと名づけられた。

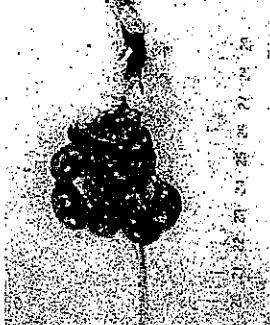
セロトニンは動物植物の種々の組織中に見出され多くの報告があるが、我々の興味は人胎盤。胎児にセロトニンが含有され、妊娠の発達につれて増加するか、ということである。また羊水中にもやや高濃度のセロトニンが含有されている事実である。

一方、セロトニンは妊娠に対するべきわめて特異的な作用を示す。すなわち妊娠の時期をとどめ、すべてその妊娠を中断することができる。妊娠初期においては中枢性に作用して黄体の働きを抑え、後期においては直接、子宮内容に作用して胎児を死亡させるものと考えられる。ことに妊娠後期においては、胎児に対して酸素や血液を充分に供給している血管の働きは重要と思われる。もしもこれらの血管の平滑筋が何らかの原因によって血流の障害をおこせば胎児の生存は危険なものとなる。セロトニンは平滑筋に作用するから、子宮に流入する血管の収縮、子宮収縮による血流の減少、胎盤血流の減少あるいは胎盤の低下、胎盤血管の収縮などが惹きおこされるならば、これらは胎児を anoxia に導く要因とも考えられる。今回、私はセロトニンによる胎児致死作用の機

序を明らかにする目的でつぎの実験を行なつた。
1) 胎盤内平滑筋に作用すると思われるセロトニンと、その作用を遮断する拮抗剤を用いた胎児の生死を指標としてその拮抗作用を調べた。2) セロトニンによる胎児死亡の胎盤、子宮および胎児肺にについて病理組織変化を調べた。

実験方法
5-HT 投与により死亡した胎児肺、子宮および胎児肺について組織標本を作り鏡検に供した。
実験成績
5-HT の大量皮下投与 2 mg/mouse による死亡胎児の変化は著明で胎盤の強度出血、見の浸軟等がみられた(写真1)。

写真1 5-HT 2mg i.c.



妊娠後半期のマウス、ラットに 5-HT を注射すると、母体に明らかな影響を与えることなしに胎児に対する有害な作用をおぼえ、胎児を死亡させることがができる。
胎盤は uterine lung といわれるくらい胎児にとっては大切なものであり、したがって胎盤におけるその機能の低下は胎児に対するアノキシアとなり、ひいては胎児を死に到らしめるものと考えられる。5-HT が如何なる部位に作用するかはまだ明らかではないが、おそらく胎盤に作用するものと考えられる。この想定のもとに 5-HT の強力な拮抗剤をあらかじめ妊娠マウスに与え前処置することによって 5-HT の有害な作用を防禦できると思われる。今回はセロトニンによる胎児致死の確認とその拮抗剤の如何なる置で胎児致死から保護することができるかについて実験を行なつた。

実験方法
動物は妊娠17～19日目のD.D 系マウス26例の胎児数 181中57に生存を認めた。同じく 3 倍量の LSD, Methysergide 11.1 μg/kg を投与した後 5-HT を皮下投与した。拮抗剤としては、LSD, Methysergide を使用し 5-HT 投与 30 分前にそれぞれ皮下注射した。5-HT および拮抗剤投与 12～24時間後、屠殺調査し、一臍中の胎児について生存、死亡しているものの数を確認した。

実験成績

表1に示すように 5-HT 単独投与の場合 15mg/kg

観察されている。今回は 5-HT 投与により死亡した胎児の胎盤、子宮および胎児肺について病理組織変化を調べた。

5-HT 投与により死亡した胎児肺について組織標本を作り鏡検に供した。

実験成績
5-HT の大量皮下投与 2 mg/mouse による死亡胎児の変化は著明で胎盤の強度出血、見の浸軟等がみられた(写真1)。

写真1 5-HT 2mg i.c.

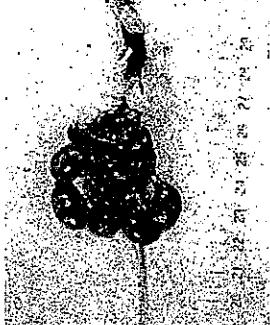


表1 Protective effects of LSD against the deleterious action of 5-HT in pregnant mice on the 17-19th day

Group	Treatment	No. of preg. mice	No. of focus (live/fetal)
A	5-HT 15mg/kg	13	14/101
A	5-HT 30mg/kg	9	0/89
B	LSD 30μg/kg +5-HT	20	48/144
B	LSD 90μg/kg +5-HT	17	107/134
C	LSD 30μg/kg	4	35/35

表2 Protective effects of Methysergide against the deleterious action of 5-HT in pregnant mice on the 17-19th day

Group	Treatment	No. of preg. mice	No. of focus (live/fetal)
A	5-HT 15mg/kg	13	14/101
A	5-HT 30mg/kg	9	0/89
B	Methy. 3.7 μg/kg +5-HT	26	57/181
B	Methy. 11.1 μg/kg +5-HT	8	52/59
C	Methy. 3.7 μg/kg	3	27/27

のでは妊娠マウス20例の胎児数 144中48に生存を認めた。さらに 3 倍量の LSD 90μg/kg を与えて同様 5-HT を作用させたものでは、妊娠マウス17例の胎児数 134中107に生存を認めた。したがつて生存の割合は 33.3% から 79.8% になつた(表1)。

一方、Methysergide 3.7μg/kg で前処置し 5-HT 15mg/kg を投与した群では妊娠マウス26例の胎児数 181中57に生存を認めた。同じく 3 倍量の LSD, Methysergide 11.1 μg/kg を投与した後 5-HT を作用させた場合、妊娠マウス 8 例の胎児数 59中52に生存を認めた。したがつて胎児生存の割合は 31.5% から 88.1% になつた(表2)。

なお LSD, Methysergide それ自体は胎児に対しても特に影響を与えない。

5-HT 投与による胎盤、子宮および胎児肺における病理学的変化
5-HT 投与による胎児致死の病因は主として胎盤にあることが推定されるが、5-HT は腎臓や他の器管にも作用して該部に拘束的にも梗塞現象が



写真3 5-HT 2mg i.c. および血管収縮物質による胎児肺の変化

があつた。また胎児肺については生、死胎児ともうつ血や出血などの所見はみられなかつた。

子宮間膜血管における 5-HT および血管収縮物質の作用

末梢循環の動態については特に妊娠中毒症における重要な意義をもつこから腎血流、脳循環、網膜等にについてはかなり知られている。しかしこ日まで人子宮における終末血管床の in vivo における直接の観察はなされていない。さきに Landesman と Mendelsohn⁶ はラット子宮間膜血管の解剖と血管の反応をみている。今回、末梢血管縮約とみなされている 5-HT が子宮間膜血管の作用を調べた。Hestesiol 1 mg/kg 下投与し Oestrusol⁷ と非妊娠ラットにについて Secobarbital 3.5mg/kg で麻酔した。ついで背側位に固定し腹部中央より子宮間膜血管の作用を調べた。

実験方法

成熟ラット、体重 150～180g のものを使用し、前日 Hestesiol 1 mg/kg 下投与し Oestrusol⁷ とした非妊娠ラットについて Secobarbital 3.5mg/kg で麻酔した。

写真4 子宮間膜血管: ラット



病理組織の所見として生胎児胎盤において豊富な毛細血管を認めるが出血はみられない(写真2)。これに対し死胎児の胎盤においては新鮮な出血が比較的限局してみられ、毛細血管の拡張も著明である(写真3)。

生胎児の子宮における変化は血管の著明な拡張をみると、出血をみるともの等あるが死胎児の子宮においては一般に生胎児のそれよりも高度の感

5-HTによる胎児致死作用の機序とその拮抗剤について

日本解剖学会20巻12号

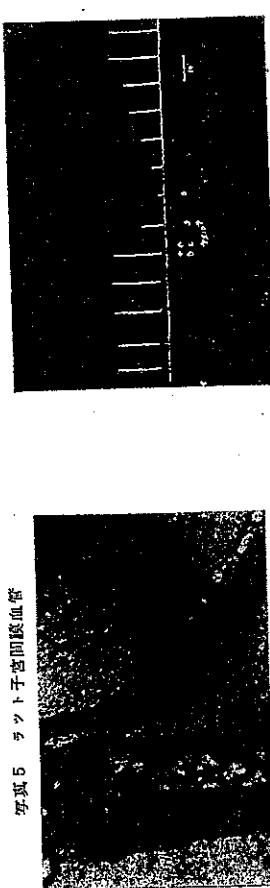
長さ2~3cmの正中切開を加え、一侧の子宮間膜血管を縫合にて露出せしめ、これを鏡検できるよう装置した板上にのせた。

そしてあらかじめ37°Cに加温したゼラチン添加リンガル溶液を滴下乍ら中等度の小動脈、小静脈を鏡検下にて選んだ。これについて、血管の大さ、血流の状態を観察した。

なおラット子宮間膜血管の解剖図は写真4に示すところである。

実験成績
アドレナリン 1×10^{-8} から 10^{-6} 濃度の適用において滴下直後より著明な血管の収縮、血流の減少停滯がみられ2~3分で最高に達し10分以上持続するが次第に恢復していく。これに対し5-HT 1×10^{-8} から 10^{-6} 各濃度の適用においてもアドレナリンによる影響は認められない。

写真5 ラット子宮間膜血管

写真6 ラット子宮間膜血管
5-HT 1×10^{-8} 

アドレナリン 1×10^{-8} 濃度の血管の収縮、血流の減少などはみられなかつた(写真5, 6)。

ラット摘出子宮における5-HT拮抗
5-HTはきわめて低濃度でラット摘出子宮に對

一定の収縮がみられた後 LSDならびに Methysergideを10分間接触せしめた後 5-HTを適用させその収縮高を媒膜紙上に記録した。

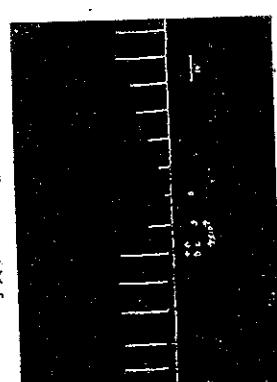
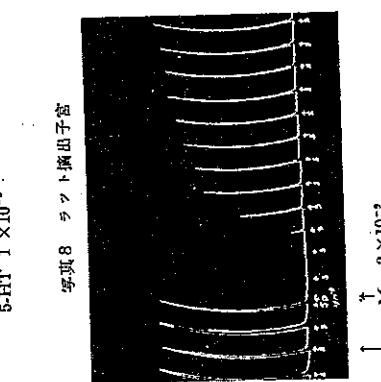
実験成績
5-HT 1×10^{-8} の濃度の適用における子宮の収縮を LSD 4×10^{-9} , Methysergide 2×10^{-9} の濃度においてそれぞれ50%以上の抑制が10分後からみられ、20分後に強くなり30分後から漸次恢復してゆくのがみられた(写真7, 8)。

結括ながらに考察
血液が凝固すると血管の収縮力が強まるが、血液中に血管取締物質が生ずることがわかり、この物質がセロトニン(5-HT)と命名された。しかしその生理学的意義はまだ充分明らかではない。

ただ血液中の血小板に存在することから止血に關係ある物質と考えられており、その止血作用は血管の収縮によるものとみられている。セロトニンの現在までに知られている作用はつきの様なものである、1) 平滑筋に対する興奮作用、2) 神経組織に対する作用、3) 組織の透過性増加、疼痛の程度増大、4) 結合組織の炎症、増生の促進。

5) アレルギー反応時、ヒスタミンとともに遮蔽され、血流の状態を観察した。
実験方法
成熟ラット、体重150~180gのものを用いた。成熱ラット、当日屠殺後子宮を摘出しJalon液浴に接続を飽和したものの中に滴出しJalon液浴に接続を保つようにした。5-HTかけ、水浴の温度を30°Cに保つようにした。Jalon液は10分間隔で与え収縮をみた直後 Jalon液で流出させしめた。5-HTの濃度は実験中同一に保つた。

写真7 ラット摘出子宮

写真8 ラット摘出子宮
5-HT 1×10^{-8} 

Na²²を用いてセロトニンの胎盤通過を調べた結果

はさらに強い子宮収縮作用があるが、このメチルエルゴメトリレンのイソドール塗素につく水素をメチル基で置換するとセロトニンのもつとも強い拮抗物質を得る¹⁰。これががなすわち 1-methyl-D-lysergic acid butanolamideで Methysergideと呼ばれている(図1)。

またアドレナリン、ヒスタミンの拮抗薬の研究中にセロトニンの平滑筋作用に対する新しい知見が見出された。すなわち交感神経抑制薬、抗ヒスタミン薬は個々にセロトニン作用を抑制するが効果は微少である。例えば DHEは摘出子宮や家兔耳血管管では微量でセロトニン作用を弱めるが、アドレナリンには影響がないと Gaddum¹¹は述べている。

抗セロトニン作用が抗アドレナリン作用とはほとんど無関係なことが分つてから、要角カルコイドの抗セロトニン作用の研究が始まり、エルゴメトリレン類似のLSD(Lysergic acid diethylamide)¹²に強い抗セロトニン作用のあることが分つた。今回は LSDと Methysergideを 5-HT 拮抗剤として使用した。
以上、セロトニンとその拮抗剤について述べたが、つきにセロトニンと妊娠との関係について考察したい。

さきに述べた如くセロトニンは妊娠の時期をとむべてその妊娠を中断することができるといわれている^{13,14}。妊娠初期、胎落膜形成段階においてセロトニンの有害な作用はプロゲステロンやプロラクチンによつて弱められる。しかし妊娠後期においては、これらプロゲステロンの産生は微かでプロラクチンは産生されない、それで5-HTの有害な作用を防禦することが難しくなる。とくに妊娠末期においては胎盤循環が問題となる。

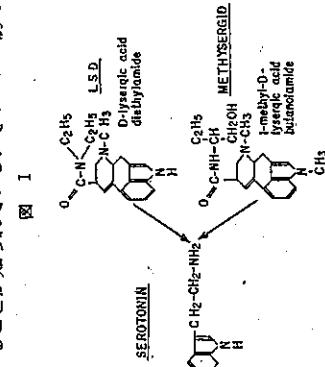
Craig¹⁵はセロトニンをラットに $10\text{mg}/\text{kg}$ 注射し

て子宮内胎児死亡を認め、同時に注射した India inkが胎盤、腎管環に流入するのが著明に減少す

ることを見出した。また Koren¹⁶は妊娠ラッ

トに C^{14} -セロトニンを投与したこと、そして Honey¹⁷も

Na²²を用いてセロトニンの胎盤通過を調べた結果



果、いざれも減少していることを認めた。さらにRobsonら²⁰も投与したセロトニンが胎盤を通して胎児に入ることはきわめて少ないと認っている。

以上のことよりセロトニンによる胎児致死性に胎盤が関与し、その透過機能低下にも一因があると推測される。

さて拮抗剤によつてセロトニンの作用が抑制ないし减弱されるならば、当然胎児致死なる現象もまたおこり難くなると考えられる。

セロトニンの拮抗剤として、Rothlinら¹²はLSDその他他の拮抗剤を調べ、Sollero²¹はMethysergидがトリプタミン誘導体を抑制することを見出している。その他クロルプロマジン、メプロバメートなども妊娠動物へのセロトニン作用を防禦することができるとの報告がある^{16,22}。これらのことより、セロトニンおよびその拮抗剤は妊娠マウスの如何なる部位に作用するか、また末梢血管とともに胎盤血管の平滑筋への作用などを知ることができれば、胎児致死の解明に貢献するものと思われる。胎盤の機能は胎児の生存を指標としてみた場合、拮抗があれはその量によつてセロトニンによる致死率は減少することが予測される。これがすなわち胎盤におけるセロトニン拮抗である。実験の結果からつきのことが分った。すなわちLSD、Methysergидでそれ以前処置した後、セロトニンを投与した群においては子宮内胎児致死率を減少させることができた。ところに拮抗剤を3倍に增量した場合、著しかつた。これら死亡率の減少は拮抗剤の投与によつておそらく胎盤内で拮抗され、その結果胎児は死より防禦されたと考えられる。

つきに胎盤の出血について言及するとCraigmillら²³によつて肉眼的な出血が認められているが、Lindsayら²⁴は実験によつてこれはセロトニンの直接作用ではなく、胎児循環の結果、二次的に惹きおこされることが明らかになつた。したがつてセロトニン投与15～30分後に胎児がおこり、剖見までの時間の経過によつて以上のような胎盤出血が二次的にあらわれてくると思われる。

表3 Comparison between the antiserotonin effects

Test substances	in vivo		isol. rat uterus 5-HT 2 × 10 ⁻⁷ contraction	% Fetal mortality
	Protect. effect	in preg. mice.		
LSD	30 µg/kg	66.7	50%	inhib.
1-methyl-D-Isocysteic acid Butanolamide	90 µg/kg	20.2	4 × 10 ⁻⁸	
	3.7 µg/kg	69.5	/	
	11.1 µg/kg	11.9	2 × 10 ⁻⁸	

10⁻⁹でそれを50%以上の抑制を示すことが分つた、このことは摘出子宮においてもMethysergидの方がLSDよりもセロトニンに対して強く拮抗することを示している。

以上のことよりセロトニンによる胎児致死作用の機序について考えてみると(i)セロトニンを直接胎児に注射しても胎児死はないこと、ii)子宮の強烈な収縮によつても胎児死は必ずしもおこるものではないこと、iii)子宮に入る子宮間膜血管に対する明らかな収縮を来たさないこと、iv)胎帯血管の収縮は胎児を致死せしめる原因とはなり得ないこと、そしてv)妊娠後期においては少量のプロゲステロンではセロトニンの悪作用を防禦できないこと、これら胎児致死につながる種々の問題点を一応否定してみるとセロトニン投与によってのみ胎児死が惹きおこされることとは、やはり胎盤の機能そのものが胎児致死と関連があると思われる。

そこで、はたしてセロトニンの胎盤に対する作用が血管の収縮ひいては血流の減少を来し、胎児をアノキシアにして死亡させるのか、あるいはまたセロトニンそのものが血液中に含まれる重要な物質の通過を胎盤において妨げる特質を有しているのか、この2つの点にあると思われるがまだ充分明らかにし得ない。しかも羊水、子宮、胎盤に含まれるセロトニンの役割について、またセロトニン投与に胎児死がおこり、剖見までの時間の経過によつて以上のような胎盤出血が二次的にあらわれてくると思われる。

一方、摘出ラット子宮において、5-HT 1 × 10⁻⁶の收縮に対しLSD 4 × 10⁻⁹、Methysergid 2 ×

ニンを分解するMAOの働きについても詳しく述べられていない。今後なお検討すべき興味ある問題であると考えられる。

尚本論文の要旨は第20回日本産科婦人科学会総会ならびに第41回日本理学総会において発表した。

- 文 献
- Erspamer, V. and Astero, B.: Nature, 169, 800, 1952. —2) Rapport, M.M., Green, A.A. and Page, I.H.: Fed. Proc., 6, 184, 1947. —3) Rapport, M.M., Green, A.A. and Page, I.H.: J. Biol. Chem., 176, 1243, 1948. —4) West, G.B.: J. Pharmacol., 10, 589, 1958. —5) Roj, J.M. and Parrott, J.R.: J. Pharm. Pharmacol., 12, 360, 1960. —6) Phillip, J.H.: Nature, 178, 932, 1956. —7) Korn, Z., Pfeiffer, Y. and Salmon, F.G.: Am. J. Obst. & Gynec., 93, 411, 1965. —8) 鹿永高弘: 日産婦誌, 14, 769, 1962. —9) Landerman, R. and Mandelsohn, B.: Amer. J. Obst. & Gynec., 72, 84, 1956. —10) Cariati, A. and Dugifner, W.: J. Pharmacol. exp. Ther., 122, 124, 1958. —11) Gadomski, J.H., Part, W.S. and Vogt, M.: J. Physiol., 108, 467, 1949. —12) Rothlin, E. and Cestelli, A.: Ann. N.Y. Acad. Sci., 86, 688, 1957. —13) Batros, M., Lindgren, D., Paulson, E. and Rothlin, J.M.: Biochem. Pharmacol., 8, 102, 1961. —14) Paulson, E., Batros, M. and Rothlin, J.M.: J. Endocrinol., 20, 11, 1960. —15) Pape, G. and Garman, N.J.: J. General Physiol., 45, 575, 1962. —16) Marois, M.: Compt. rend. Soc. Biol., 154, 1200, 1960. —17) Craig, J.M.: Arch. Path., 81, 257, 1966. —18) Koren, Z., Pfeiffer, Y. and Salmon, F.G.: Am. J. Obst. & Gynec., 99, 250, 1966. —19) Honey, D.P., Rothlin, J.M. and Sultman, F.M.: Am. J. Obst. & Gynec., 99, 255, 1967. —20) Rothlin, J.M. and Sultman, F.M.: J. Physiol., 184, 717, 1966. —21) Rothlin, J.M. and Sultman, F.M.: J. Endocrinol., 25, 558, 1963. —22) Soltero, L., Kurtz, G.S.: Hospital (Riedel), 62, 1, 1962. —23) Fliektiger, E. and Salzmann, R.: Experientia, 17, 131, 1961. —24) Lindsay, D., Paulson, E. and Rothlin, J.M.: J. Endocrinol., 80, 101, 1978. —25) Astain, A. and Samuels, U.: Brit. J. Pharmacol., 12, 410, 1957. (No. 2168 国43・7・15受付)

Homochlorcyclizine の 5-HT に対する拮抗について

【薬の臨床】

Homochlorcyclizine の 5-HT に対する拮抗について

寺木良巳 北川行夫

寺木良巳 北川行夫**

はじめに

セロトニン (5-HT) 拮抗物質としては、LSD や methysergide などがあげられるが、最近開発されたホモクロールサイクリジン (homochlorcyclizine, HC) は、抗セロトニン作用のみならず、抗ブライキニン、抗ヒスタミン作用などのあることで注目されている。

セロトニン作用の中でも、摘出臘器の平滑筋に対する作用はよく検討されているが、*in vivo* の実験的研究は多くはない。

著者は、さきに外性的セロトニンを妊娠後半期のマウスに与えた場合、子宮内胎仔を致死させることを認め、その拮抗剤である LSD, methysergide で前処置することによって、セロトニンの有効な作用から防護できることが示された。この子宮内胎仔の生死を指標として、拮抗剤の影響をみるとために、今回、セロトニンの拮抗剤である HC を用いて実験を試み、LSD の拮抗力などを比較検討した。

一方、摘出臘器についてはラット子宮を用い、セロトニンによる子宮の収縮を LSD, methysergide を用いて抑制することをさきに示した。今回は、HC がどの程度セロトニンに拮抗するか、またブライキニン (bradykinin) による子宮の収縮をいかなる量で抑制しうるかについて実験を行なった。

I. 胎盤における 5-HT 拮抗

妊娠後半期のマウスなどに 5-HT を注射すると、母体には明らかな影響をあらわさなくても胎仔は子宮内で死亡する。

これは、おそらく 5-HT が胎盤に有効に作用し、その機能を低下させる結果として、胎仔を死亡に導くものと考えられる。

このことから、強力な拮抗剤をあらかじめ投与しておいて 5-HT を作用させた場合、胎仔致死を軽減することができるることは、前回の実験で明らかにしえた。今回も同様な実験で、HC がどの程度 5-HT の有効な作用を防歰するかについて調べた。

1. 実験方法

実験動物は妊娠 17~19 日目の dd 系マウスを用い、5-HT は生理的食塩水に溶解したものを使用した。拮抗剤はホモクロミン (HC) の注射液 (1 ml 中 5 mg 含有) を用い、拮抗剤皮下投与 30 分後に 5-HT を皮下投与した。薬物投与 12~24 時間後、尾被離し、一箇中の胎仔について生存しているもの、死亡しているものの数を確認した。

2. 実験成績

表 1 に示すごとく、セロトニン単独投与の場合には、5-HT 15 mg/kg で 13 例の胎仔数 101 中 14 のみの生存率は 13.8%、2 倍量の 5-HT 30 mg/kg で 9 例の胎仔数 89 の全部に死亡がみられた。これに対し、あらかじめ HC 0.5 mg/mouse で前処置した後、5-HT を同様に作用させたものでは 9 例の胎仔数 58 中 44 の生存が、また HC 0.5 mg/mouse で前処置し 5-HT を倍量の 30 mg/kg 作用させたものでは、11 例の胎仔 72 中 43 に生存が認められた。しかし HC 0.5 mg/mouse を皮下に単独投与したものは、子宮内の胎仔に対してなんら影響を及ぼさなかつた。同時に bradykinin 0.0075 mg/mouse 単独投与 5 例の全部に胎仔生存が認められた。さらに progesteron 2 mg/mouse に皮下投与後 5-HT を与えたものでは、全部に死亡が認めた。

* Yoshimi Teraki : 駒澤大学医学部第一薬理学教室
** Yukio Kitagawa : 駒澤大学医学部第一薬理学教室
人科
全

表 3

test substances	antiserotonin activity (LSD=100)	
	in vitro isolated rat uterus	in vivo
D-lysergic acid diethylamide (LSD)	100	100
2-bromo-LSD (BOL 148)	103	29
1-methyl-D-lysergic acid butanolamine (UML 49)	400	440

after Cerletti & Dopfner
Dopfner & Cerletti

表 4 Comparative spasmodic activity of homochlorcyclizine and chlorcyclizine

test substances	antiserotonin activity	
	in vitro isolated rat uterus	in vivo serotonin oedema in the rat's paw
homochlorcyclizine	0.0169/g/ml 50% inhib. of S. 0.0283/ μ g/ml 80% inhib. of S. 0.0575/g/ml 100% inhib. of S.	10mg/kg i.v. marked antagonism 10-15mg i.p. marked antagonism
chlorcyclizine	0.0254/g/ml 35% inhib. of S.	10mg/kg i.v. none to mild antagonism

after Kimura, Young, and Richards J. allergy p. 237, May-June, 1960.

また婦人ににおいて、妊娠の初期と末期においてセロトニンは尿中に通常の3～4倍も排泄される(2)。さらに妊婦にセロトニンの投与は陣痛を誘発する(2)といわれる。しかしこの作用は、他の研究者によつては報告されない(2)。

われわれもこのセトニンによる胎盤致死作用の選択性について検討を重ねてきた。まず子宮に流入する血管の取締が、胎児への血流量の減少をきたすのではないかと考え、in vivo の子宮間膜血管へのセロトニンの影響をみたが、アドレナリンのようないくつかの血管取締はみられなかった。さらに強力な子宮取締剤であるオキシトシン投与でも胎仔死亡は認められなかつた。また臍帯血管の取締により感受性が鈍いと思われる。結局、胎盤の血管が重要な因子と考えられる。そこで分娩後の胎盤について、胎盤灌流により血管取締物質と考えらるものの実験を行なつたところ、セトニンにおいても著明な灌流液量の減少を見出した。そして、おそらくは綫毛幹、綫毛茎、および綫毛内の毛細管前小動脈にも平滑筋が存在すると考えられることから、これらの血管が取締し、胎児血行の調節が障害されるのではないかと思われる。しかし in vivo でこれらを直接観察するまでには至つていな

い。

このセロトニンの胎仔致死に関連して、胎盤の胎児血管に入る母体循環からの物質通過障害の問題も重要であるが、そのいくつかの点について目下検討中である。

また外性的セロトニンによる胎児致死作用とは別に、胎盤、子宮、羊水中にはかなりの量のセロトニンが含まれている(2)。これらが MAO との関連において妊娠特異的、難産陰院などに引金帶の役割をなしているかどうかについて現在のところ明らかではない。

さて妊娠とヒスタミンとの関係について、Kahlson (2) はラットの胎仔において妊娠後半期の間、急速にヒスタミンの濃度が増加することに注目した。そして Lalita (2) らは、そのヒスタミンの意義について、この物質は臍帯、胎盤血管に拡張作用をもたらし、胎児の血行調節に関与していることがわかつた。しかしながら、今回、われわれの実験結果でも抗ヒスタミン剤であり、抗セロトニン作用があり、しかも抗ブライディキニン作用を持つ HC が in vivo でセロトニンの有害な作用に拮抗することが知られ、また抽出ラット子宮においては高い感受性の抗アドレナリン、抗セロトニン作用が認められた。

しかししながら、われわれの実験からでも子宮内胎仔に対して特に作用がなく、HC によつてもなんら影響されないことがわかつた。しかしながら、今回、われわれの実験結果でも抗ヒスタミン剤であり、抗セロトニン作用があり、しかも抗ブライディキニン作用を持つ HC が in vivo でセロトニンの有害な作用に拮抗することが知られ、また抽出ラット子宮においては高い感受性の抗ヒスタミン、抗セロトニン作用が認められた。

おぞらくセロトニンヒスタミン、ならびにブライディキニンなどは妊娠の維持、分娩の発達などになんらかの役割をもつことは十分考えられる。

これは反対の作用を持つかもしれない述べている。ついで妊婦とブライディキニンとの関係について、最近、ヒト血清においてブライディキニンが自然に形成され、分離時に集中するとの報告がある。このことはキニンの生成と分離時、ヒト子宮の取締に関係しているかもしれない。これには内性、外性のコグラフについて研究され(2)、またラット、ネコ、ウサギの in vitro、in vivo の子宮についての実験がある(2-4)。これらの研究結果、抽出ラット子宮などにおいては、感受性が高く、が、in situ においては人子宮においても bradykinin は、in situ における胎盤は人子宮実験上、効能作用を欠如する。したがつて胎盤は人子宮において bradykinin は oxytocic とはみなしえないようである。

以上のことより、生体内におけるセロトニンの効用、すなはち妊娠の発達などに該物質の増加しやすく事実と、それを分解する MAO の働き、また同じようにヒスタミンも妊娠の発達につれてラットなどの胎盤に増加する事実とヒスタミナーゼとの関係、そして妊娠末期、特に分娩時ににおけるブライディキニンの増加と子宮取締との関係、これまでの生理的意義についてはまだ十分知られていない。

さきにおわれわれは妊娠後半期におけるマウスについて、セロトニンによる子宮内胎仔への有害な作用は抗セロトニンにより拮抗できることを示した。これら抗セロトニン剤の中でも、methysergide が最も強く、抗セロトニンの顕著な効果である。これら抗抗剤の単独投与においては、マウスの子宮内胎仔に対して、特に影響はみられない(1,3)。

一方、Lalita (2) によればヒスタミンは胎盤血管拡張作用をもつゆえに、抗ヒスタミン剤の一つである propranololなどを注射すると、ヒスタミンと拮抗して胎盤に流れる血流の減少をきたして胎仔を死亡させることになるのではないかと述べている。

さて妊娠とヒスタミンとの関係について、Kahlson (2) はラットの胎仔において妊娠後半期の間、急速にヒスタミンの濃度が増加することに注目した。そして Lalita (2) らは、そのヒスタミンの意義について、この物質は臍帯、胎盤血管に拡張作用をもたらし、胎児の血行調節に関与していることがわかつた。しかしながら、今回、われわれの実験結果でも抗ヒスタミン剤の強化作用があり、しかも抗ブライディキニン作用を持つ HC が in vivo でセロトニンの有害な作用に拮抗することが知られ、また抽出ラット子宮においては高い感受性の抗ヒスタミン、抗セロトニン作用が認められた。

おぞらくセロトニンヒスタミン、ならびにブライディキニンなどは妊娠の維持、分娩の発達などになんらかの役割をもつことは十分考えられる。

セロトニン作用と人における精神作用とは無関係なことがわかつてから、methysergide の末梢作用は LSD のそれよりも4倍も強力であることが知られている。これはこれまでの研究があるが、まだ多くの指折物質は見出されていない。

さて今回、われわれは主として homoclonin を用いて抗-HIT 抗-BT の作用を in vivo, in vitro で観察した。そしてこれらの実験結果と合わせて妊娠とセロトニン、ヒスタミン、ブライディキニンなどの関係などについて考察してみようと思う。

Kimura (2) は抗ヒスタミン剤である homochlorcyclizine の抗セロトニン作用をラット子宮、足趾などにおいて chlorcyclizine と比較し、2～5倍の抗セロトニン作用と、かなり強い抗ヒスタミン作用を認めている。また homochlorcyclizine は抗ヒスタミン薬としての特徴を有しながらも、抗セロトニン作用を示す薬物と考えられる。そして chlorcyclizine はラット摘出子宮において LSD の約 1/2 の抗セロトニン作用をもつともとみなされている。

最近、特に注目されている bradykinin は、Rocha e Silva (2) によつて 1949 年発見されて以来、多くの薬理学的研究がなされているが、現在、この物質は平滑筋の収縮をもたらし、毛細血管の透過性を増加し、そして血圧を下降させる傾向があることが知られている。

この胎子致死作用は、おそらく循環の障害、さらには臍帯血管への物質の通過の減少、血圧の下降、羊膜囊の破裂、胎盤取締の減少や子宮の取締、さらには臍帯血管の収縮などによるものであると報告されている(2)。

そしてまた、子宮内胎仔の死には胎盤におけるセロトニンの含量が正常値の 3 倍程度、増加したとき起こるにちがいないと Poulson (2) らは述べている。

Prostaglandin F_{2α} 卵膜外注入による初期・中期
妊娠中絶の実際と PGs 中絶法に対する考察

- またセロトニンによる子宮内胎仔致死作用より考えた場合、それがもし胎盤隔離低下に導かれるとしても、血管に対する作用が、胎盤の物質透過性によるものかは今後よく検討されなければならない。生体または摘出子宮の收縮および末梢血管収縮物質など平滑筋興奮作用をもつものであっても、その作用の強弱からみでは、胎仔致死作用の機序解明をするのに十分ではないことがわかる。
- 血流の停滞、減少、胎仔への栄養供給ならびに機器供給の問題などが胎盤内でかかる懸念ではあるが、興味ある問題であると考えられる。
- ま と め
- homochlorcyclizine の 5-HT に対する拮抗の様式を妊娠17～19日目のマウスを用いて、その胎仔の子宮内における致死率より観察し、この物質はおそらく胎盤内で 5-HT に拮抗するであろうと推察することができた。
- また摘出ラット子宮において 5-HT ならびに bradykinin に対する取扱を homochlorcyclizine は抑制した。
- そしてこの物質に抗セロトニン、抗ブラチキニン作用のあることを認めた。
- 尾角歯数授の御校閲を深謝致します。
- なお本論文の要旨は第 164 回昭和医学全体会議において発表した。
- 文 献
- 1) 寺木良巳：日本婦生誌，20，1639，1968.
 - 2) Woolley, D.W. & Shaw, E.: J. Am. Chem. Soc., 74, 2948, 1952.
 - 3) Cerletti, A. & Deneffner, W.: J. Pharmacol. exp. Ther., 122, 124, 1958.
 - 4) Deneffner, W. & Cerletti, A.: Int. Arch. Allergy, 12, 89, 1958.
 - 5) Page, I. H. & McCubbin, J. W.: Am. J. Physiol., 174, 436, 1953.
 - 6) Kimura, E.T., Young, P. & Richards, R.K.: J. Allergy, 31, 237, 1960.
 - 7) Rocha e Silva, M., Beraldo, W. T. & Rosenfeld, G.: Amer. J. Physiol., 156, 261, 1949.
 - 8) 紫木多喜雄：医学のおゆみ，51, 443, 1964.
 - 9) Poulson, E., Botros, M. & Robson, J.M.: Science, 131, 1101, 1960.
 - 10) Waugh, D. & Pearl, M.J.: Am. J. Pathol., 36, 431, 1960.
 - 11) West, G.B.: J. Pharm. Pharmacol., 14, 325, 1962.
 - 12) Pepeu, G. & Giarmar, N.J.: J. General Physiol., 45, 575, 1962.
 - 13) Botros, M., Lindsay, D., Poulson, E. & Robson, J.M.: Biochem. Pharmacol., 8, 102, 1961.
 - 14) Craig, J.H.: Federation Proc., 21, 276b, 1962.
 - 15) Poulson, E., Botros, M. & Robson, J.M.: J. Endocrinol., 20, 11, 1960.
 - 16) Robson, J.M. & Sullivan, F.M.: J. Endocrinol., 25, 553, 1963.
 - 17) Åström, A. & Samuelius, U.: Brit. J. Pharmacol., 12, 410, 1957.
 - 18) Pepeu, G. and Giarmar, N.J.: J. General Physiol., 46, 575, 1962.
 - 19) Poulson, E., Robson, J.M. & Seniors, J.: Summer Meeting, Brit. Pharmacol. Soc., Oxford, 1962.
 - 20) Kuriati, K. & Inoue, T.: Compt. rend. soc. biol., 150, 1835, 1956.
 - 21) Walsecchi, A.: Minerva ginecol., 10, 898, 1958.
 - 22) Garrett, W.J.: Arch. intern. pharmacodyn., 117, 435, 1968.
 - 23) 寺木良巳・北川行夫：印葉理誌，65，55，1969.
 - 24) Koren, Z., Preifer, Y. & Sulman, F.G.: Am. J. Obst. & Gyn., 93, 411, 1965.
 - 25) Kahnson, G., Rosengren, E. & White, T.: J. Physiol., 151, 131, 1960.
 - 26) Laitila, K., Pennefacher, J.N. & West, G.B.: J. Physiol., 164, 138, 1962.
 - 27) Goodman, L.S. & Gilman, A.: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 2nd ed., P. Macmillan, New York, 1958.
 - 28) Armstrong, D.A.J. & Stewart, J.W.: Nature, 188, 1193, 1960.
 - 29) Bainbridge, M.N., Nixon, W. C. W., Schild, H.C. & Smyth, C. N.: Brit. Med. J., 1, 1133, 1956.
 - 30) Smyth, C.N.: J. Obstet. Gynec. Brit. Emp., 64, 59, 1957.
 - 31) Caldeyro-Barcia, R. & Posseiro, J.J.: Clin. Obstet. & Gynec., 3, 366, 1960.
 - 32) Berde, B. & Saameli, K.: Acta Endocrinol., 32, 391, 1959.
 - 33) Berde, B., Dopfuer, W. & Konzett, H.: Brit. J. Pharmacol., 12, 209, 1957.
 - 34) Rohlin, E.: Schweiz med. Woch., 68, 971, 1958.
 - 35) ニューザイ株式会社研究所病理室：Plasmakinin & Homoclostimin Eisai Co., Ltd. 1968.

Prostaglandin F_{2α} 卵膜外注入による初期・中期妊娠中絶の実際と PGs 中絶法に対する考察

寺木 良巳* 前村 実満**
川原 駿** 南雲 秀男***

はじめに

Prostaglandins による妊娠中絶は投与法が異なつて最も結局は target である妊娠子宮に作用し子宮内容物を一観管を介して室外に排泄せしめることである。この目的のために現在 4 の投与法(点滴静注、羊膜内内、羊膜腔外または卵膜外、屋内)が考へられている。そして妊娠の過歴、子宮の感受性、副作用、技術などの点からいわゆるかの方法が用いられているが、まだ満足すべき方法は見だされてない。いわゆる、WHO 方式も一つの基準となるが、わが国における人工流産の現況なわち、妊娠初期には外来処置として取扱い慣習を許すなどとの習慣から、これを入院の上、毎回の手術操作を必要とすると果して薬物による中絶が從来の器械的除絶法以上にメリットをもつかうが考へてみなければならぬ。

そこで今回、妊娠初期(6 ~ 12週)の症例を中心にしてPGs 中絶法による有用と思われる PGF_{2α} 卵膜外注入法による中絶が実際に、そして容易に可能かどうかについて検討した。すなわち、PGF_{2α} の投与法、投与量と子宮感受性、臨床効果、副作用などの点について調べ、さらに中絶の機序などについて考察した。なお受精直後のごく初期の妊娠、すなわち月経が遅延しているものに対し PGs で誘発できるかについては目下検討中である。

対象ならびに方法

最近、各施設外来を訪れた妊娠第 6 週から 20 週までの患者で人工妊娠中絶の対象となつたもの、また一部は施設受胎、子宮内胎兒死に例など 38 例について検討した。使用薬物は Prostaglandin F_{2α} (以下 PGF_{2α}) 1 ml 中 1,000 μg 含有 50% エタノール溶液(小野薬品)を用いた。薬物の投与は PGF_{2α} 溶液を 2 ~ 5 倍量の生理食塩水で稀釈溶解し、注入針(写真 1)を類似より子宮壁と

また中絶を受けた患者には感染予防のため、抗生素を投与した。なお PGF_{2α} の流産作用機序解明のため子宮筋に対する感受性や卵膜血管への影響をラットを用いて基礎的な検査を行なった。

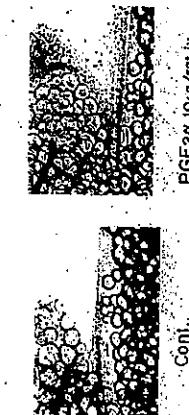
成績

- PGF_{2α} のラット子宮ならびに子宮間膜血管に対する作用
- Estradiol 处理した非妊娠ラット摘出子宮の PGF_{2α}に対する作用を Krebs-Ringer 液で及ぼす影響

より検討した。その結果、図 2 のごとく PGF_{2α} 5×10^{-8} g/ml において強直様の収縮がみられ、しかも作用の持続がなく、Ach や Oxyt と異なり水洗い後も容易に

写真 2 ラット子宮間膜血管

Rat uterine omentum



患者に PGF_{2α} を卵膜外に注入して子宮収縮やトーススがみられた(図 4)。一方、同じく妊娠第 9 週の患者に PGF_{2α} 1,500 μg 稀釈液 5 ml 注入により注入 2 分後より PGF_{2α} を漸次上昇し 2 時間後に注入しても持続的卵膜外に注入しても子宮収縮やトーススに変化はみられない。

また妊娠第 11 週の患者に PGF_{2α} を卵膜外に注入し子宮内腔の経時的变化をみると図 6 のごとくなる。すなわち、Oxyt 1 単位の卵膜外注入によつても子宮内腔に何

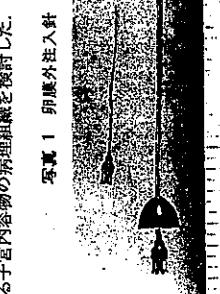


写真 1 卵膜外注入針

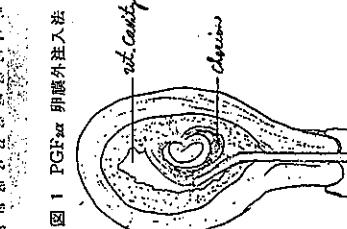


写真 2 Krebs-Ringer sol.

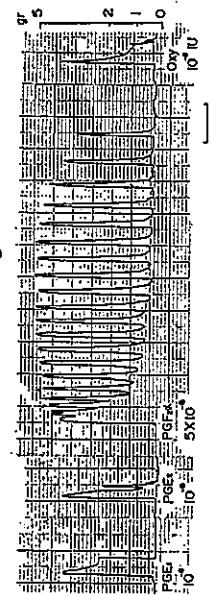


写真 3 PGs, Oxyt の子宮収縮

* 明和大学医学部第一病理講師

** 大森赤十字病院産婦人科

*** 南雲産婦人科病院

図 4 Case No. 18 9 weeks pregnant



図 5 Case No. 11 9 weeks pregnant



図 6 K.S. 28 years 11 weeks pregnant curretage 12 hrs post inf.

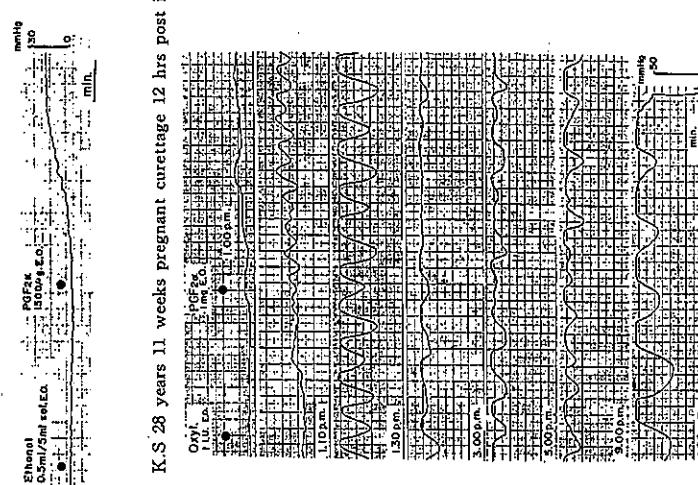
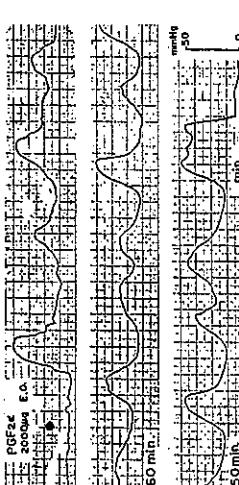


図 7 Case No. 19, 20 weeks pregnant



ら変化はみられない。

これに対し PGF_{2α} 1,000 μg を 5 ml の生理食塩水に稀釀して注入すると、注入直後より子宮の収縮、トーススの上昇がみられ、30分後ではリズミカルな子宮收縮の

波型となり、2時間後もトーススの上昇が持続、4時間後、8時間後においても強い持続的な収縮がみられた。約12時間後、子宮内のハルーンは自然に脱出し、同時に妊娠物の一部が排出された。子宮管は開大し、柔軟と

表 1 PGF_{2α} 部膜外投与による人工妊娠中絶

番号	症例	年齢	妊娠週数	妊娠週数(週十日)	PGF _{2α} 卵	膜外注入量	注入部位	注入後の結果		副作用	参考
								下腹	出血		
1	K.S.	29	0	9+4	1000 μg × 1	++	+ +	完全排出	—	+	ソセゴン im
2	M.T.	34	3	13+3	1000 μg × 1	++	出血のみ	内容除去	—	—	—
3	H.H.	27	0	7+4	1000 μg × 1	—	出血のみ	内容除去	—	—	—
4	I.M.	21	0	7+0	1000 μg × 1	++	一部排出	内容除去	+	—	ソセゴン im
5	F.Y.	21	0	6+6	1000 μg × 1	++	出血のみ	内容除去	—	—	ソセゴン im
6	M.T.	25	0	13+0	2000 μg × 2	—	出血のみ	28時間後 内容除去	—	—	—
7	E.N.	18	0	9+0	2000 μg × 1	++	完全排出	—	—	—	—
8	E.C.	26	0	6+6	2000 μg × 1	—	出血のみ	内容除去	—	—	—
9	K.S.	30	1	19+1	2000 μg × 2	++	出血	11時間半後 完全排出	—	—	—
10	M.I.	38	0	18+4	2000 μg × 1	++	完全排出	—	—	—	トレステン im
11	M.T.	25	0	9+3	1500 μg × 1	++	一部排出	内容除去	廿	—	Oxyt iv.
12	K.H.	26	1	10+4	2000 μg × 1	++	一部排出	内容除去	—	—	—
13	A.R.	33	2	7+1	500 μg × 1	++	一部排出	内容除去	—	—	—
14	H.Y.	24	1	11+4	1000 μg × 1	++	出血のみ	内容除去	—	—	—
15	H.S.	33	2	6+6	1500 μg × 1	++	出血のみ	内容除去	—	—	—
16	I.K.	31	3	7+6	1000 μg × 1	++	出血のみ	18時間後 不完全除去	+	—	—
17	F.K.	35	2	6+1	2000 μg × 1	++	一部排出	内容除去	—	—	—
18	K.S.	28	1	9+2	1000 μg × 1	++	出血のみ	11時間後 不完全除去	—	—	Oxyt
19	F.T.	31	1	20+0	2000 μg × 1	++	完全排出	—	—	—	ベンダンジ
20	I.N.	23	0	16	1000 μg × 2	++	出血のみ	10時間後 完全排出	—	—	ボタロー氏管開存
21	S.K.	18	0	—	1000 μg × 2	++	6時間後 完全排出	—	—	—	胞状奇胎
22	K.S.	23	2	11+0	1000 μg × 1	++	出血のみ	12時間後 不完全除去	—	—	心悸亢進
23	I.C.	31	3	10+0	1000 μg × 1	++	一部排出	内容除去	—	—	—
24	S.S.	25	1	10+3	1000 μg × 1	++	一部排出	内容除去	—	—	冷汗

なり、少量の遺残物の胎盤鉗子による除去は容易であった。つぎに妊娠第20週で子宮内死のみられた症例に PGF_{2α}, 2,000 μg を 10 ml の生理食塩水に稀釀して注入すると、注入直後より子宮の収縮がみとめられ、図 7 のような陣痛曲線を示し注入後2時間半で妊娠物の完全排出がみられた。

(3) PGF_{2α} の卵巣外注入による妊娠中絶の効果 妊娠初期の患者に 1 mg 程度の PGF_{2α} 稀釀液を卵巣外に注入し経過を観察すると、注入直後より種々の程度において下腹前壁痛がみられ30分から1時間以上も持続する例が多くみられる。これは主に強度の子宮収縮のためと思われる。体部の収縮にもかかわらず 1 ~ 2 時間後の所見では子宮底部は柔軟となり經管の開大がみられる。そして外子宮口には暗赤色の出血が種々の程度においてみられる。この時点における子宮内容除去術は容易である。

で Hegar 10~12号、純匙（小中）の挿入も抵抗がなく軽度拡大の必要はないかった。そして子宮の内容物は大部分剝離しているようにも思われ容易に鉗子により除去することができます。出血も少なく内容物を除けば 10~30 ml であった。これら中絶術を行った症例とは別に、PGF_{2α} の卵巣外注入を行なった例について経産回数、年齢、妊娠週数、投与量、投与法、注入後の出血ならびに妊娠物の排出などについて調べた。詳細は表 1 に示す通りである。

妊娠初期に対する PGF_{2α} の作用は妊娠初期（6~13週の患者19例中、注入後6時間までの観察で完全に内容物が排出したものの 2 例、他の子宮収縮と併せて出血、一部排出のみされた例などさまざまである。その後の処置についても表 1 に示す通りである。また妊娠 16~20 週までの中期の症例では 4 例とも 12 時間以内に完全排出をみ

た。なお胎状奇胎の 1 例については注入直後から子宮の収縮がみられ、内容物も完全に排出されて出血量も僅かであった。つぎに卵巣外接合と排出の関係であるが、今回注入量は 1 ~ 2 mg, (1 ~ 2 回) の投与であり、本成績では投与量ならびに反復投与に比例して内容物の排出が高まるところを見いたしかなかった。また經産回数と妊娠物排出の間にも、とくに関係はみられなかった。

4) 妊娠付属物の病理組織学的所見

卵巣外に PGF_{2α} 1,000~2,000 μg 注入し妊娠付属物の変化を 15 分、2 時間、6 時間、18 時間後内容除去し病理組織学的に検討した。試料は各時間とも 3 例である。注入 15 分後の試料では chorionic stroma に anoxia change や degeneration をみとめない、また trophoblast にも変化はない。しかし 2 時間後の所見では各例とも chorionic stroma の一部に hydroptic degeneration, necrobiosis がみられる。また endometrial stroma の充血が著明である。6 時間以後の症例においても同じ

chorionic stroma の hydroptic degeneration がみられる。卵巣子宮の反応をみているがトースス、持続、收縮力いずれも PGF_{2α} の方が強力であると報告している。

5) 血液所見

PGF_{2α} の卵巣外注入によって血球の凝固系、血球数などに変化がみられるかどうかを調べた。結果は表 2 に示す通りである。プロトロンビン値（クイック一段法）においてとくに変化はみられないが、白血球の変動が若干みられた。なお对照として中絶手術そのものの影響かどうかが検討中である。Capo

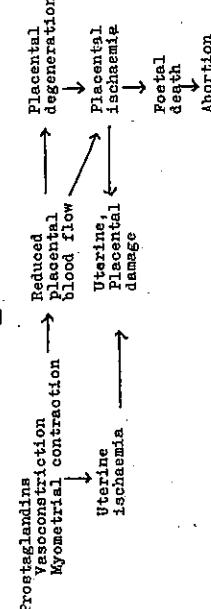
6) 副作用

今回、PGF_{2α} 卵巣外注入により恶心、嘔吐、顔面の紅潮あるいは蒼白、心悸亢進、冷汗などがあげられる例は少なかった。しかももつとも頻度の高いものは下腹部痛、腰痛すなわち墮胎子宮収縮のための疼痛である。これは本来の目的とする子宮収縮のための疼痛で

表 2 PGF_{2α} 卵巣外投与前後の血液所見

症例 番号	PG 投与 前後	プロトロンビン時間 (クイック一段法) も	赤 血 球 数		白 血 球 数		血 色 素 量	
			×10 ⁶	/mm ³	g/dl	%sali	g/dl	mm ³
11	前 48時間後	11.6 11.5	323 322	7700 7800	10.4 10.0	63 62		
12	前 48時間後	11.4 11.0	356 365	10800 9900	12.4 12.0	78 74		
13	前 48時間後	12.4 12.4	348 360	7600 7400	10.6 11.6	66 72		
14	前 24時間後	13.1 13.1	365 260	6500 6700	10.8 10.6	68 66		
15	前 48時間後	13.1 12.4	394 354	6100 5700	11.6 10.8	72 66		
16	前 10時間後	12.6 12.2	394 412	8500 8600	12.4 11.0	78 70		
17	前 24時間後	12.4 11.4	363 357	7200 7000	11.6 11.4	72 72		
21	前 48時間後	12.6 —	390 —	4500 367	12.2 11.6	74 72		
22	前 48時間後	— —	— 367	6900 346	12.8 10.8	74 68		
23	前 48時間後	12.4 11.2	365 —	350 330	11.2 10.8	70 68		
24	前 48時間後	— —	— 330	314 3900	11.0 9100	68 70		

図 8



あって副作用とはみなされないが多くの症例に、そして種々の程度に弱めでみられた。疼痛が強度の症例に対しては鎮痛剤を投与した。いすれの場合でも一過性でよくに重大な合併症などはなかつた。

考 察

PG の abortifacient action のメカニズムについては現在のことろ明らかでない。PGs が妊娠中絶作用をもつとすれば、その作用機序について考えてみる必要がある。はじめ Karimら (1970) によつて PGs は Oxyt

と異なり妊娠初期、中期の子宮に対しても作用を示す点が注目される。また Roth-Brandel ら (1970) は PGF_{2α} に対する感受性は非妊娠子宮の方が妊娠中期の子宮よりも高いと述べている。寺木 (1973a) は人非妊娠摘出子宮において PGF_{2α} は Oxyt よりも取締作用が強く、逆に妊娠子宮においては PGF_{2α} の方が感受性がみられると報告している。生体においてこの二つ

の物質の子宮に対する作用を Roth-Brandel ら (1970) は隔へ PGE₁ 100 μg, Oxyt 3 U.I. 静注による妊娠初期卵巣子宮の反応をみているがトースス、持続、收縮力を調べても PGF_{2α} の方が強力であると報告している。今回、これらのことと対照するため、非妊娠ラット輸出子宮の実験で PGF_{2α} による子宮收縮は Oxyt にくらべ強力なことが知られた。また妊娠初期子宮内に PGF_{2α} を注入することにより強い收縮がみられ、ある症例では 12 時間に持続することが明らかになつた。これら PG による特徴的な PGF_{2α} による子宮收縮が Oxyt や Ergotなどの Oxytocics と異なり流産作用をひき起こすものと思われる。ここで薬物投与により Abortion がおこるまでの過程について考えてみるともの一つの興味がある。Capo

(1972) は PGF_{2α} の作用機序について Myometrial cell の刺激により子宮の收縮をおこし、子宮血流量の減少を招き、さまざまな過程をへて肺脛、Abortion を誘導するだろうと述べている。また Phillips (1973) は妊娠早期に PGF_{2α} (1,000 μg/day) 3 日間静注して妊娠 6 日目に流産または吸收のどちらであること、また妊娠 10~12

日目に PGF_{2α} 225 μg を 5 日間静注投与して流産せしめたと報告している。さきに寺木 (1969) はセロトニンによるラット子宮内の胎仔致死作用について報告し、その機序として、子宮血流量の減少は胎盤の degeneration から ischemia を惹起して子宮内胎仔を死亡または流産させるものと考えた(図 8)。

その後、子宮開膜血管に対する実験 (寺木1973) ならびに胎盤血管に対する実験 (寺木ら1973c) から PG の作用はセロトニンと似て、持続的な子宮胎盤血流量の減少を招き、結果として妊娠物の変性、難死、流産となると思われる。

今回、PGF_{2α}、卵巣外注入による絨毛の経時的変化を調べたところ chorionic stroma に hydropic degeneration や necrosis が投与 2 時間後の標本でみられた。このことは、かなり強力な持続的な子宮収縮、血流量減少の結果とも考えられる。

つきに妊娠中期をひきおこす PGF_{2α} の量と投与法について考えてみたい。PGF_{2α} の静注投与による妊娠初期、中期の中絶量はいかほどであろうか。Southern & (1972) のまとめたものが一般的であると思われる。すなわち、妊娠 6 ~ 20 週の中絶に PGF_{2α} 50 ~ 100 μg/min i.v. の割合で絶量 60 mg 前後、中絶に要した時間平均して 15 時間であると述べている。しかし PGF_{2α} 0.8 ~ 1.6 μg/kg の投与となり通常の 5 倍以上の量となることから当然副作用も強く静注法による妊娠中期の中絶は現在のことろ難しいと思われる。

そこでより少ない用量でしかもも副作用の少ない方法が試みられ、子宮内注入 (extraovular 卵巣外) 法が普及されつつある。本来は中期の中絶として行なわれているが今回、初期のものについても有用であるかどうかが調べた。この場合ネットンカテーテルの代りに内容物は損傷を生じないで、しかも薬液の漏出が少ない点で写真 1 のような注入針は良いと思われる。また注入液量は 3 ~ 10 ml 位で十分と思われる。ただし薬物の卵巣外注入に際してはつぎの事柄に留意することが大切と思われる。

静注時も、また静注時ににおいてもほとんど同様の排泄曲線を示すことを報告している。

これらの実験結果から卵巣外に注入した薬物の一部は卵管は注入液量による圧などによる卵巣剥離にあるものではなく PGF_{2α} の場合、子宮筋に対する直接効果と考えられる。したがって卵巣外注入も一つの静注法と考え、静注でもなんら害をおよぼさない量を用いること

が前提条件と思われる。

さて Capo (1972) は妊娠 9 ~ 10 週の中絶に PGF_{2α} 8 ~ 10 mg を 1 回卵巣外に注入して効果をみたが必ずしも満足すべきものではないと述べている。ただ PGF_{2α} の卵巣外投与後、Oxy: の 50 ~ 100 mU/min の単位静注点滴液を併用することにより中絶の効果は増強したとの報告は注目される。

今回、われわれは、PGF_{2α} の比較的小量 1,000 ~ 2,000 μg を 1 ~ 2 回、卵巣外に注入し内容物の排出を待機しながら、初期においては retention が多く中期において完全に排出されるもののが多かった。本成績においては流産が完全に終了するまでの時間はみてないが、注入 1 ~ 2 時間後、ほぼ全例に出血がみられ、卵管の開大と柔軟化、症例によっては組織片の一部が排出されるのがみられた。これは先藤ら (1972) によつて報告されたように不完全の場合組織の細片が子宮壁から剥離して子宮にひつかつてゐる感じが多くみられた。この時点における内容除去は容易であり、反復注入の必要はなかった。一方進めて考えると 1 ~ 2 mg の注入で内容物は子宮内に剥離、停滞しており、出血などの微候がみられれば排出の時間はそれぞれ異なるが、結局は自然流産の形で排出されるのではないかと考えられる。たとえ大量に注入しても急速に代謝される懸念もあり、完全な流産を短時間内に終了することは困難であり、内容物が子宮内に残留することと、排出されることとは別の問題であるようない用象を受けた。したがつて PGs の追加あるいは oxytropis の投与はこの場合、排出物量に閾値があるといつて思われる。

つきに人工中絶に使用されるバルーンやブジーの効果について考えてみたい。これら的作用機序については不明であるが、Kloek & (1973) は人術子宮片を Ringer 液中で伸展することにより PG の遊離がみられると報告し、Brenner & (1973) は中期の中絶に羊膜内 PGF_{2α} の注入とミナリアを併用することによつて中絶の時間と妊娠し結果をより確実にすると述べている。また Chaudhuri (1973) もラットを用いた実験で I.U.C.D. によって PG 遊離の効果を述べている。これらの文献より器物は子宮壁を刺激し、ある化学物質、PG 様の物質が遊離され中絶の効果をより促進するのではないかと推測される。定量法の進歩とともにこれらの点は明らかになると思われる。

さて PGF_{2α} による流産の問題であるが、WHO 方式で PGF_{2α} の羊膜外注入の基準として 250 μg/ml 生理食塩水に稀釈することをすすめているが、たとえば PGF_{2α} 1 ml 中 1,000 μg 含有の製剤では 2 ~ 5 ml の生食水に稀釈すればよいと思われる。本邦の製剤において、

文 献

- 1) 小島 秋、他：産と婦、20, 407, 1954.
- 2) 佐藤直也、阿部邦栄：産と婦、39, 648, 1972.
- 3) 寺木良巳：日産婦誌、20, 1639, 1969.
- 4) 寺木良巳：日産婦誌、25, 1213, 1973-a.
- 5) 寺木良巳、南雲秀光：第47回日本産婦連合部会、口演抄録集、§ 121, 1973-b.
- 6) 寺木良巳、他：Prostaglandins のセトナムによるラット子宮胎盤血流におよぼす影響、日本病理学会第49回関東部会演題要旨、§ 15, 1973.
- 7) Brenner, W. E., et al.: Laminaria Uterinatio of intraamniotic prostaglandin F_{2α} for the induction of mid-trimester Abortion, Prostaglandins, 3, 879, 1973.
- 8) Chaudhuri, C.: Release of prostaglandins by the I.U.C.D., Prostaglandins, 3, 773, 1973.
- 9) Csapo, A. I.: On the mechanism of the abortifacient action of prostaglandin F_{2α}, The Prostaglandins, Future, 337, 1972.
- 10) Karim, S. M. and Flishie: Brit. Med. J., 3, 186, 1970.
- 11) Kloeck, F. K. and Jung, H.: Am. J. Obst & Gyn., 115, 1066, 1973.
- 12) Phillips, L. L.: Effect of prostaglandins on the Coagulation mechanism of the pregnant rat 15, 227, 1973.
- 13) Roth-Brandel, U., et al.: Acta Obst. Gynec., Scand., 49, supp. 9, 1970.
- 14) Southern, E. M. and Patel, N. C.: Prostaglandins and their clinical applications in human reproduction. The Prostaglandins, Future, 337, 1972.

むすび

Influence of Prostaglandins and Serotonin on the Fetus and Uterus and Effects of Those Antagonists

Influence of Prostaglandins and Serotonin
on the Fetus and Uterus
and Effects of Those Antagonists
— Autacoids and Pregnancy (1) —

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine at Tokyo 142-0064, Japan

— Autacoids and Pregnancy (1) —

Introduction

Autacoids, also termed local hormones, are synthesized *in vivo*. They include histamine, serotonin, prostaglandins and others. These substances have smooth-muscle contractile and some other effects in common. The present paper chiefly deals with serotonin and prostaglandins (PGs) involved in pregnancy such as their influence on the uterine smooth muscle and placental villous smooth muscle.

Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), 5-HTP + MAOI and reserpine are generally recognized as substances affecting the fetus in pregnant rat and mouse dams, and PG as an autacoid is also considered a substance toxic to fetuses. Administration of the substances such as serotonin to pregnant animals results in death of fetuses in the uterus, irrespective of time of dosing during gestation¹⁾. The outcome is fetal asphyxia, death or abortion without appreciable influence on the

maternal condition. This would pose the question whether comparable events might be evoked by administration of PGs. Meanwhile, antagonists of serotonin such as lysergic acid diethylamide (LSD) and methysergide were developed through the process of psychopharmacological research, and were shown to mitigate the effects of serotonin. It has been demonstrated that the fetolethal effect of serotonin is inhibited by these serotonin antagonists.

In view of this, we investigated the site of action and toxic to antagonistic dose ratio of serotonin, and antagonistic effect of serotonin on the uterine muscle. Similarly, we investigated into effects of PGs on the fetus, placenta and uterus in pregnant mice and rats. The studies¹⁾⁻⁴⁾ also included examination of the oxytocic effect of PGF 2α as an abortifacient, in an attempt to clarify the essential nature of the lethal effect of autacoids on the offspring *in utero*.

Present address : Medical Corporation Mitsukai Sagami Matsugae Clinic
Reprint request to : Dr. Yoshimi Teraki, 23-14 Matsugae, Minamiku, Sagamihara, Kanagawa 252-0313, Japan

「新薬と臨牀」第62巻第2号別冊
(平成25年2月10日発行)

医薬情報研究所

I Effects on fetuses *in utero*
1. Actions of serotonin in pregnant mice and effects of antagonists¹²⁾

When injected into mice or rats at the latter half stage of pregnancy, serotonin exerts deleterious effects on fetuses leading to fetal death without causing any appreciable clinical signs in dams.

Experiments in this study were performed using DD strain mice on days 17-19 of gestation. Serotonin was administered subcutaneously as solutions in physiological saline. LSD or methysergide used as a serotonin antagonist was injected subcutaneously at 30 minutes before injection of serotonin. At 12-24 hours after injection of antagonist and serotonin, the mice were sacrificed under anesthesia and laparotomized to count viable and dead fetuses in each litter, with the results presented in Table 1. When serotonin was injected alone, the fetal survival rate was 13.8% (14/101 fetuses) for 13 dams treated at 15 mg/kg s.c. and was 0.0% (0/89 fetuses) for 9 dams treated at a double dose of 30 mg/kg s.c. When dams were pretreated with the antagonist LSD (30 µg/kg), on the other hand, 48 out of 144 fetuses (33.3%) survived in 20 dams injected s.c. with 15 mg/kg of serotonin. In 17 dams pretreated with a 3-fold dose (90 µg/kg) of LSD, the fetal survival rate following injection of the same dose of serotonin increased to 79.8% (107/134 fetuses).

In 26 dams pretreated with the other antagonist methysergide at 3.7 µg/kg, 57 of 181 fetuses (31.5%) survived following injection of serotonin at 15 mg/kg. The fetal survival rate increased to 88.1% (52/59 fetuses) in 8 dams pretreated with a 3-fold dose (11.1 µg/kg s.c.).

Phot. 1.

2. Effects of serotonin on pregnant rats
The fetolethal effect of serotonin observed in mouse experiments as above was also demonstrable in rats. In our experiments on rats mainly concerned with effects on blood pressure and blood flow, more than 80% of littersmates were noted to be asphyxiated or dead in more than 20 dams in a late pregnancy stage which were euthanized several to 10 odd hours after injection of serotonin at 20 mg/kg s.c. or i.v. An example was that a marked placental hemorrhage was evident in fetuses which died after serotonin injection at 20 mg/kg s.c. into 19-day pregnant rat dams (Phot. 1).

3. Effects of prostaglandin on pregnant rats

In 18- to 19-day pregnant rats, the fetal mortality rate was 20-30% following injection of PGF_{2α} at 5 mg/kg s.c. The fetal mortality

Table 1 Protective effect of LSD against the deleterious effect of serotonin in pregnancy on the 17-19th day

group	treatment (s.c.)	No. of pregnant mice	No. of fetuses (viable/total)	survival rate (%)
A-1	serotonin 15 mg/kg	13	14/101	13.8
A-2	serotonin 30 mg/kg	9	0/89	0.0
B-1	LSD 30 µg/kg + serotonin 15 mg/kg	20	48/144	33.3
B-2	LSD 90 µg/kg + serotonin 15 mg/kg	17	107/134	79.8
C	LSD 30 µg/kg	4	35/35	100.0

Table 2 Protective effect of methysergide against the deleterious effect of serotonin in pregnancy on the 17-19th day

group	treatment (s.c.)	No. of pregnant mice	No. of fetuses (viable/total)	survival rate (%)
A-1	serotonin 15 mg/kg	13	14/101	13.8
A-2	serotonin 30 mg/kg	9	0/89	0.0
B-1	methysergide 3.7 µg/kg + serotonin 15 mg/kg	26	57/181	31.5
B-2	methysergide 11.1 µg/kg + serotonin 15 mg/kg	8	52/59	88.1
C	methysergide 37 µg/kg	3	27/27	100.0

Table 3 Protective effect of homochlorcyclizine against the deleterious effect of serotonin in pregnancy on the 17-19th day

group	treatment (s.c.)	No. of pregnant mice	No. of fetuses (viable/total)	survival rate (%)
A-1	serotonin 15 mg/kg	9	0/89	0.0
A-2	serotonin 30 mg/kg	9	14/101	13.8
B-1	HC 0.05 mg/mouse + serotonin 15 mg/kg	2	0/19	0.0
B-2	HC 0.5 mg/mouse + serotonin 15 mg/kg	9	44/58	75.9
B-3	HC 0.5 mg/mouse + serotonin 30 mg/kg	11	43/72	59.7
B-4	HC 0.5 mg/mouse	2	9/9	100.0
C	biradakin 0.0075 mg/mouse	5	34/34	100.0
D	progesterone 2 mg/mouse + serotonin 15 mg/kg	3	0/21	0.0

rate increased to 70-80% when dams were injected with an increased dose (6.5 mg/kg). For example, there were 10 dead fetuses and 3 viable fetuses in a litter from a dam injected with PGF 2α at 6.5 mg/kg s.c. on day 21 of gestation (Phot. 2).

4. Abortifacient effect of prostaglandin³⁾

Effects of intravenous or extramembranous injection of PG were examined in patients at early to middle stage pregnancy in whom induced abortion was indicated. Patients, mostly those at an early stage of pregnancy (6-12 weeks), were injected with 1500 μ g of PGF 2α in 5 mL of physiological saline extramembranously. Uterine contents were expelled 4-12 hours after the injection in almost all cases, possibly in consequence of spastic uterine contraction occurring immediately post-injection.

5. Histopathologic findings of uterus and placenta

From the observations that death of offspring *in utero* occurred in pregnant mice and rats following injection of serotonin or PG, the prenatal loss would be inferred to be consequent on impaired blood flow in uterine placenta. We performed histopathologic examination of the uterus and placentae.

Petechial lesions, slight edema and marginal lymphocyte infiltrates were noted in the uterine mucosa of viable fetuses from rat dams sacrificed 19 hours after injection of PGF 2α at 5.0 mg/kg s.c. on day 19 of gestation.

Placental congestion was also noted in viable fetuses from rat dams sacrificed 130 minutes after PGF 2α injection at 6.5 mg/kg s.c. on day 19 of gestation. Histologic examination revealed marked hemorrhage in fetal placentae of dead offspring 4 hours after maternal

subcutaneous injection of 6.5 mg/kg of PGF 2α on day 19 of gestation.

Pronounced congestion and bleeding were noted in the placentae of fetuses which died 24 hours after maternal injection of serotonin at 20 mg/kg s.c. on day 19 of gestation.

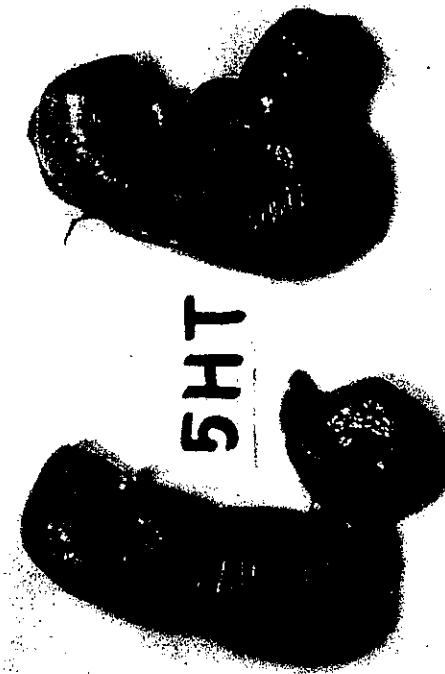
As regards human cases of induced abortion or interruption of gestation³⁾, microscopic examination of uterine contents revealed anoxic change or degeneration in the chorionic stroma, however no changes in trophoblasts at 15 minutes after intravascular injection of 1000 to 2000 μ g of PGF 2α . At 2 hours after the serotonin injection, however, there were hydropic degeneration and necrosis in parts of the chorionic stroma along with marked hypervascularity of the endometrial stroma in all cases. Hydropic degeneration of the chorionic stroma was still evident at 6 hours post-injection and thereafter. It has been shown that placental changes grew increasingly conspicuous with time.

II Oxytocic effects of PGs and serotonin on isolated rat uterus, and antagonists^{2(a)}

1. Serotonin antagonism in isolated rat uterus

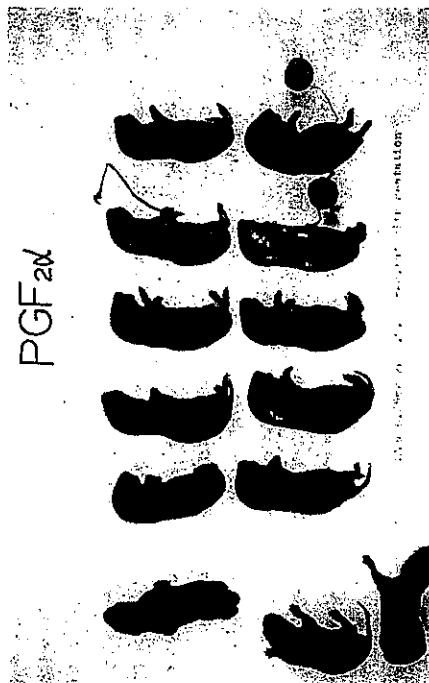
Sexually mature rats weighing 150-180 g were injected with 1 mg s.c. of hexestrol on the day before experiment. On the following day, the animals were euthanized under anesthesia and laparotomized, and the uterus was removed and immersed in a bath of de Jalon solution maintained at 38°C.

LSD at 4×10^{-9} g/ml caused a $\geq 50\%$ inhibition of serotonin (1×10^{-8} g/mL)-induced uterine contraction from 10 minutes of exposure onwards, with a peak contraction at 20



left : A control viable fetus with placenta from a 19-day pregnant rat
right : A dead fetus with placenta from a pregnant rat injected s.c. with 20 mg/kg of serotonin (5-HT) on day 19 of gestation : Note a marked fetal placental hemorrhage

Phot. 1 Effects of serotonin on pregnant rats



left : 3 control viable littersmates
right : 10 dead littersmates
Phot. 2 Effect of PGF 2α (6.5 mg/kg s.c.) injected into 21-day pregnant rat

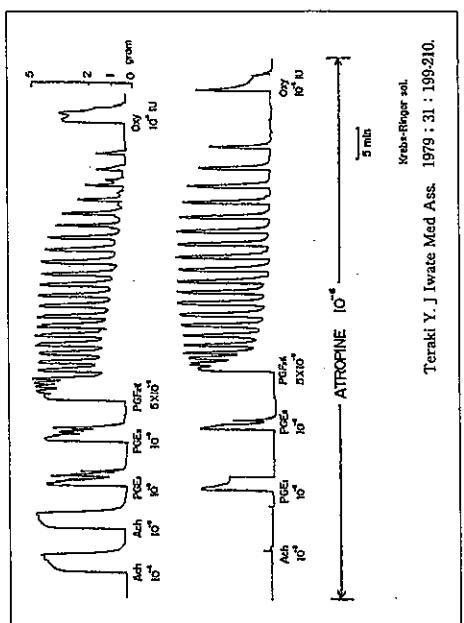


Fig. 1 PGs-induced uterine contractions and effects of a neuroblocking agent (atropine)

minutes and recovery from 30 minutes on. Methysergide applied at 2×10^{-6} g/mL completely inhibited serotonin (1×10^{-6} g/mL)-induced uterine contraction, and a gradual recovery followed from 30 minutes on. Serotonin (2×10^{-6} g/mL)-induced steady uterine contraction was completely blocked following addition of HC at 1×10^{-6} g/mL upon rinsing.

Bradykinin (3×10^{-6} g/mL)-induced uterine contraction was almost completely inhibited by HC at 5×10^{-6} g/mL, followed by a gradual recovery from 15 minutes on. Serotonin (1×10^{-6} g/mL)-induced uterine contraction in a bath of Krebs-Ringer solution was inhibited by methysergide at a concentration of 2×10^{-6} g/mL. Uterine contractions induced by Ach, PGs or bradykinin were not affected by methysergide.

2. PGs-induced uterine contraction and inhibition
An attempt was made to explore whether

flow has chiefly been accounted for the fetal-lethal effect. This toxic effect of serotonin was preventable by administration of LSD or its derivative^{17,18}, or meprobamate¹⁹. In our experiment¹¹ on pregnant mice, the 100% fetal loss caused by a 30 mg s.c. dose of serotonin was reduced to 20% when dams were pretreated with the antagonist LSD at 90 µg/kg. The fetal loss was also reduced to 11.9% by pretreatment with an 11.1 µg/kg s.c. dose of methysergide. HC endowed with antiserotonin, anti-Ach and anti-SRS effects also reduced the survival rate to 59.7% when administered to dams at 0.5 µg/mouse s.c.; hence an antiserotonin effect²⁰. The site of action of these antagonists is yet to be clarified but would seem to consist in the placenta.

Thus, we have examined pharmacologic effects of serotonin and PGF2α on the offspring *in utero*. It would be reasonable to infer that these substances exert deleterious effects not only on the uterus but on the placenta as well. As regards mechanism of abortifacient action of PG, it has been described that PGF2α may give rise to uterine contraction via stimulation of myometrial cells with a consequent reduction in uterine blood flow, leading through various processes to induction of abortion¹⁹, and associated pathological changes of the uterine tissue were noted.

Serotonin is not so potent as PG in contracting the uterus, and it seems probable that there might be difference in mode of action between serotonin and PG which both cause death of the offspring *in utero*.

Using isolated rat uterus, we explored to what extent antiserotonin drugs might inhibit evoked contraction of the uterus via direct stimulation of the uterine smooth muscle, unlike in the *in vivo* setting. The serotonin

antagonist LSD-25 and methysergide exerted potent antiserotonin effects and HC also proved to have a noticeable antiserotonin effect. Uterine contraction induced by Ach or PGs was not blocked by methysergide. Contractions induced by PGs were not inhibited by the neuroblocking antagonist atropine. Contractions of the uterus evoked by PGs, Ach or oxytocin were inhibited by IP and not inhibited by P.

As for relation of pregnancy with serotonin, histamine, bradykinin, etc. as viewed together with consideration of the experimental results, attention has been focused on antihistamines by Page, et al.¹⁹ on the analogy of chemical structure and physiological effects of histamine with those of serotonin (Page, et al.¹⁹). HC has been shown to have antiserotonergic and anti-Br effects. Regarding relationship of pregnancy with histamine, Kahlson, et al.¹⁸ took notice of a rapid production of histamine in rat fetuses during the latter half period of gestation. Lalitta, et al.¹⁸ have stated concerning significance of this histamine production that this substance must be involved in regulation of fetal blood circulation by bringing about vasodilatation of the umbilical cord and placental blood vessels; therefore, antihistamines produce a fetolethal effect via diminished placental blood flow. Bradykinin did not exert any appreciable effect on fetuses in the uterus following administration to pregnant dams, and HC was noted to be antiserotonergic to serotonin both *in vivo* and in isolated uterus. Involvement of PG in the contraction of the uterus is evident even from the experimental finding that aspirin, an inhibitor of PG biosynthesis, caused a long-sustained inhibition of PG-induced uterine contraction. It is recognized

strong spastic contractions of uterus induced by PGF2α at 5×10^{-6} g/mL might be inhibited by atropine, a neuroblocking agent (Fig. 1).

β-receptor agonists were tested for an inhibitory effect on uterine contraction induced by PGF2α. Isoproterenol (IP) at 1×10^{-6} g/mL inhibited PGF2α- or other PG-induced contractions, whereas propranolol (P) caused no inhibition.

A transient enhancement of spontaneous uterine contraction occurred in rabbits following an i.v. injection of 200 mg/kg of aspirin 15 minutes after a 15 µg/kg i.v. dose of PGF2α, and the contraction was completely blocked at 3 hours after the aspirin injection.

III Discussion

It has been documented that serotonin administered in high doses to pregnant dams resulted in death of the offspring *in utero* in rats¹⁹⁻²¹, mice¹⁹⁻²⁰, and rabbits^{19,20}. Uterine contraction or diminished placental blood

that both serotonin and PGs increase in the uterus and placenta during a late stage of gestation. Thus, it is very likely that amines such as PGs, serotonin, histamine and bradykinin have some role in maintaining pregnancy as well as in onset of labor.

Summary and Conclusion

The above results have demonstrated that the fetolethal effect of serotonin is blocked by serotonin antagonists. However, there is no available potent antagonist to PGF_{2α} as yet and the attempt to prevent the fetolethal effect of PGF_{2α} by administration of high-dose antagonists have failed. A problem of clinical concern is that serious apprehensions are entertained about administration of the PG in doses beyond the limits of its physiological role and regulating capacity, namely, overdosage as an extrinsic drug substance, leading to a toxic effect on the offspring in utero.

References

- Teraki Y. An experimental study on the mechanism of fetolethal activity of 5-HT and effects of its antagonists. *Acta Obst Gynec Jpn.* 1968; 20(1): 1639-1645.
- Teraki Y, Kitagawa Y. Antagonism of homochlorcyclizine against 5-HT. *Rinsho Fujinkansha (Clinical Gynecology and Obstetrics).* 1969; 23(9): 817-822.
- Teraki Y, Macamura S, et al. Actual circumstances of early or mid-term induced abortions
- by PGF_{2α} extravetamentous injection. *San-fujinra-no-sekai (The World of Obstetrics and Gynecology).* 1974; 26 : 59-66.
- Teraki Y. The mode of action of prostaglandin on the uterus muscle. *J. Frat Med Ass.* 1979; 31: 199-210.
- Botros M, Lindsay D, Poulson E, Robson JM. *Biochem Pharmacol.* 1961; 8 : 102.
- Cataldo G. *Rivista Ginecol.* 1956; 39 : 3.
- Marosis M. *Compt Rend Soc Biol.* 1960; 154 : 122.
- Flickinger E, Salzmann R. *Experientia.* 1961; 17 : 131.
- Poulson E, Botros M, Robson JN. *J. Endocrinol.* 1960; 20 : 11.
- Poulson E, Botros M, Robson JN. *Science.* 1960; 131 : 1101.
- Morlighi C, Romeo P. *Arch Ostet e Ginecol.* 1961; 66 : 154.
- Pepeu G, Giarrman NJ. *J. General Physiol.* 1962; 45 : 575.
- Caspo AL. On the mechanism of the abortifacient action of prostaglandin F_{2α}. *Prostaglandins.* 1973; 1 : 158.
- Page IH, McCubbin JW. *Am J Physiol.* 1956; 184 : 265.
- Kahlson G, Rosengren E, White T. *J. Physiol.* 1960; 151 : 131.
- Lalita K, Pennerfacher JN, West GB. *J. Physiol.* 1962; 164 : 138.
- Teraki Y, Macamura S, et al. Actual circumstances of early or mid-term induced abortions

I. 胎盤における Serotonin 抗拮抗

妊娠後半期のマウス、ラットに serotonin を注射すると、母体に明らかに影響を与えることなしに胎児に対して有害な作用を及ぼし胎児を死亡させることが出来る。寺木 2) は 1968 年に serotonin による胎児致死作用の実験を行った結果を発表した。胎児とは二つの薬物を併用して、その作用が弱くなることをいう。

実験に使用した動物は 17~19 日目の D.J. ネマウスを使用した。Serotonin は 0.9% 生食水に溶解したものと皮下投与した。拮抗剤としては、LSD-25, Methylsergide を使用し、serotonin 投与、30 分前にそれぞれ皮下注射した。Serotonin および拮抗剤投与 12~24 時間後、麻酔後、屠殺剥離し、一腹中の胎児について生存、死亡しているものの数を確認した。実験の結果、表 1 示した様に serotonin 単獨投与の場合、15mg/kg で 13 例の胎児数 101 中 14 の生存で 13.8% の生存率、倍量の 30mg/kg 投与した 9 例の胎児数 89 の全部に死亡がみられた。これに対して、あらかじめ拮抗剤の LSD-25 30 μ g/kg を投与しておいて serotonin 15mg/kg を 30 分後に作用させたものでは妊娠マウス 20 例の胎児数 144 中 48 に生存を認めた。さらに 3 倍量の LSD-25 90 μ g/kg を与えて同様 serotonin を作用させたものでは、妊娠マウス 17 例の胎児数 134 中 107 に生存を認めた。従って生存の割合は 33.3% から 79.8% になつた。

また別の拮抗剤 Methylsergide 3.7 μ g/kg で前処置し serotonin 15mg/kg を投与した群では妊娠マウス 26 の胎児数 181 中 57 に生存をみとめた。同じく 3 倍量の Methylsergide 11.1 μ g/kg を投与した後 serotonin を作用させた場合、妊娠マウス 8 例の胎児数 59 中 52 に生存を認めた。従って胎児生存の割合は 31.6% から 88.1% になつた。Methylsergide は胎児そのものへの影響は見られなかつた(図 2)。

2) Serotonin による胎児致死作用: Craig (3) 1966) は serotonin 10mg/kg をラットに注射して胎児死亡を認め、同時に注射した India ink が胎盤、腎臓等に流入するのと、著明に減少することを見出している。Serotonin の胎児致死作用はマウスの実験でも明らかにされ、妊娠後半期のラット実験では serotonin の投与により子宮内胎児死亡をもたらす。Serotonin の用量 20 mg/kg s.c. 投与により約 80% 以上、胎児死亡に着しい出血がみられた(図 1)。

3) PGF2 α による胎児致死作用:
また妊娠 18~19 日目のラットに PGF2 α 5mg/kg s.c. 投与したところ胎児死亡の割合は 20~30% 内にみられた。さらに用量を増して 65mg/kg 投与したところ 70~80% 内に死亡がみられた。妊娠 21 日目のラットに PGF2 α 6.25mg/kg s.c. 投与によるラット一腹中の胎児死亡は 10 胎児が死亡、3 胎児に生存がみられた(図 2)。

4) prostaglandin による妊娠中絶:
妊娠中絶は投与方法がことなつても結局はターゲットである妊娠子宮に作用して子宮容物を膜外に排出せしめるのである。寺木 (4) は 1974 年に PGF2 α の膜外投与による人工中絶を報告した。対照としたのは妊娠第 6 週から 20 週までの患者 38 例で人工妊娠中絶の対照となるもの、また一部は胞状奇胎、子宮内胎児死亡例などである PGF2 α

1000~2000MG を膜外注入により中絶は行つられた。結果は寺木らが(1974)臨上に報告している。またある妊娠初期の患者の子宮内に PGF2 α 注入することにより、直後より強い子宮収縮がみられ、ある症例では 1 時間以上も持続がみられた。用量によつては子宮収縮率といふよりは中絶率となり得ることを示している。

5. 子宮、胎盤の病理組織学的所見
妊娠 19 日目のラットに PGF2 α 5.0mg/kg s.c. 投与により 19 時間後の剖検で生存胎児の子宮粘膜に小出血、軽度の浮腫と僅かにリンパ球の浸潤がみられた(図 3)。また、妊娠 19 日目のラットに PGF2 α 6.25mg/kg 投与 130 分後生存胎児の胎盤にうつ血がみられる(図 4)。また妊娠 20 日目ラットに PGF2 α 6.5mg/kg s.c. 投与 4 時間後に死亡胎児胎盤の組織所見では著明な出血がみられた(図 5)。

次に妊娠 20 日目ラットに serotonin 20mg/kg s.c. 投与 24 時間後死亡胎児の胎盤の組織所見では強度のうつ血と出血が認められた(図 6)。
ヒトの人工流産、中絶を行つた症例について、寺木 (4) の報告で中絶した内容物の試料では PGF2 α 1000~2000 を膜腔内に投与後、15 分では chorionic stroma に anoxia change や degeneration を認めない。また trophoblast にも変化はない。しかし 2 時間後の所見では各例とも chorionic stroma の一部に hydropic degeneration, Necrobiosis がみられる。また endometrial stroma の赤血が著明である。6 時間以後の症例においても同じく chorionic stroma, hydropic degeneration がみられる。時間の経過とともに胎盤の変化は著明となる。

考察
以上、Serotonin と PGF2 α について、妊娠中の胎児に対して薬物の影響を検討してきた。子宮収縮のみならず胎盤にも有害な作用を及ぼしていることが知られたが、Osapo (6) (1972) は abortifacient action のメカニズムについて、明らかでないが、PG の PGF2 α の作用機序について myometrial cell の刺激により子宮の収縮を起こし、子宮血流の減少を招き、様々な過程をへて abortion を誘発するだろうとのべている。はじめ Karim (7) によって PG's は oxytocin と異なり妊娠初期、中期の子宮に対しても作用を示す点が注目され、妊娠中絶に使用されてきた。薬物投与により胎児死亡あるいは流産が起るまでの過程について、投与量と方法などにより胎児死亡の時間などは異なるが、何れも子宮、胎盤血流の減少は胎盤の degeneration から ischemia を惹起して子宮内胎児を死亡または流産させるものと考えられる。今回、実験の結果から子宮血流よりも、むしろ胎盤血流の障害が大きく左右していると考えられる。そして胎盤の出血が如何にしておこるか。その解明にあると思われる。

162 Prostaglandins の子宮胎盤循環 におよぼす影響

文献

- 1) Gaddam(Ed.) Polypeptides Which Stimulate Plain Muscle, Livingstone, 1955
- 2) 寺木良巳: β-HT による胎兒致死作用の機序とその拮抗剤の影響について(動物実験)
日産婦誌 20(11), 1639-1645, 1968
- 3) Craig, J.M.: Arch.Path., 81, 257, 1966
- 4) 寺木良巳、前村美満、他: Prostaglandin F₂α 制膜外注入による初期・中期妊娠中絶の実験と PGs の中絶法に対する考察 産婦人科の世界 26, 55-66, 1974.
- 5) Karim, S.M. and Fishie: Brit.Med.J. 3, 198, 1970
- 6) Csapo, A.I.: On the mechanism of the abortifacient action of prostaglandin F₂α. The Prostaglandin, Futura, 37, 1972

東京大森赤十字病院

○寺木良巳

目的) Prostaglandins (PGs) の子宮ならびに血圧作用に關し、末梢血行動態とくに子宮胎盤循環への影響を知ることは PGs の臨床応用に於ける重要な事と思われる。一般

に血流の大小は全身および局部の血圧低減、毛細血管圧ならびに血管平滑筋などの因子によつて決定づけられるが、さらに胎盤血流は子宮収縮などの影響を受けると思われる。PGsなどの薬物がこれらの要因に作用して血流を変化させるものと考えられる。今回、子宮胎盤の血流を中心にして血圧、呼吸などの面から血行動態を観察した。

(方法) 実験には妊娠、非妊娠ラット、サギならびに娩出人胎盤を用い、PGs としては PGF₂α, E₂, および PG_a を使用した。

微小血管系の測定はラット子宮間膜を用いた微量用装置により PGs ならびに血管作動物質の作用を直投下で観察した。子宮胎盤血流量の測定は交叉熱電対法(図1)にて行った。即ち局部組織血流量の変化を子宮ならびに胎盤で調べた。また胎盤血管に対する作用は二期分娩の新鮮な娩出人胎盤を用いた。導流装置により Locke-Ringer 液, O₂ 鮑和下にて導流し灌流液流量による灌流圧の変化を調べた。一方、母体の呼吸、血圧などと共に血液ガスの動態を T.L.メーターにて測定した。また同側に子宮内圧、胎嚢図などをついても検討した。

(成績) a) 子宮間膜血管に対する作用 まず PGF₂α 10⁻⁹ g の局所滴下により多くは Arteriole 以下の血管収縮ならびに血流の停止がみられる。Ad., N-Ad., Vasop.などで血流収縮するが、PGF₂α は血管の輕度弛張と血流増加がみられ、PGF_a, Ad., Angiot. 5-HT に拮抗した。一方、静脈収縮では写真1の如く PGF₂α により血量の収縮と血流の停滞がみられた。

b) 子宮血流についてはラットで調べたが PGF₂α, E₂, Oxyt. 静止投与により夫々の程度において減少がみられた。胎盤血流について図2に示すと PGF₂α 静注投与により呼吸の軽度抑制、血圧非妊時に比し著しく上昇した。胎盤の血流量に減少がみられた。心電図に影響はみられず、子宮筋電図上子宮筋の電気活動亢進がみられた。その他、PGF₂α, E₂, および Oxyt. について、それぞれ異なるパターンがみられた。(c) 娩出人胎盤血管に対し PGF₂α 10⁻⁹ g で変化なく PGF_a 10⁻⁹ g ～100⁻⁹ g の管注により灌流圧の上昇、灌流々出量の減少を認めた。また PGF₂α, Ad の管注は PGF₂α の前処置により拮抗した。(d) 血液中には妊非妊時により多少変動がみられ、PGF₂α 10⁻⁹ g ラット静注により PO₂ の低下と PO₁₀ の上昇が一過性にみられた。

以上、子宮胎盤循環に影響を与えると思われる PGs ならびに関連する薬剤について呼吸、血管、血流などの面から検討した。その結果、PGs の投与量と種類によつて全身ならびに子宮胎盤血流量の変化が種々の程度において惹きおこされるものと考えられる。

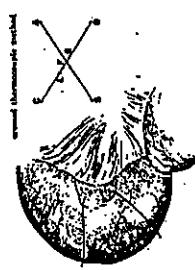


写真1 微小血管環



Cont. PGF2α 10⁻⁹ g/mouse

写真2 子宮胎盤血流

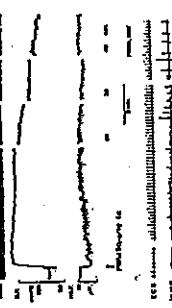


写真3 搞出人胎盤血流

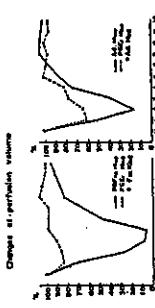


写真4 搞出人胎盤血流

Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides on Uteroplacental Circulation and Uterine Contraction in Rats

Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides
on Uteroplacental Circulation and Uterine Contraction in Rats

— Autacoids and Pregnancy (II) —

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine

Yoshimi Teraki
Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine at Tokyo 142-0064, Japan

— Autacoids and Pregnancy (II) —

Yoshimi Teraki

Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides
on Uteroplacental Circulation and Uterine Contraction in Rats

— Autacoids and Pregnancy (II) —

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine

Abstract

Aim : Regarding prostaglandins (PGs), known as oxytocics, and oxytocin, apprehensions are entertained from the viewpoint of fetal physiology about their effects on uterine and placental circulation, besides their oxytocic effects. Peripheral circulatory dynamics of these agents was investigated in non-pregnant and late pregnant rats.

Methods : PGs, another autacoid serotonin, and the polypeptides oxytocin and octopressin were used and blood flow measurement was carried out using a crossed thermo-couple.

Results : Following intravenous injection of PGF_{2α}, extreme blood pressure elevation, intense uterine contraction, decreased uterine and placental blood flow, and mesenteric/mesometrial vascular constriction with diminished circulation persisted for ≥20 minutes. In rats injected with serotonin, extreme triphasic blood pressure changes, a sustained placental blood flow decrease, mesenteric/mesometrial stasis and placental hemorrhage were observed. Phenylalanine-lysine-vasopressin caused a marked blood pressure elevation and a moderate decrease in uterine blood flow. Blood pressure and uterine blood flow decreased slightly after injection of oxytocin. Blood pressure elevation, enhanced uterine contraction and a moderate decrease in uteroplacental blood flow caused by PGE₂ were most prominent next to those observed after injection of PGF_{2α}. A marked blood pressure decrease and a slight uteroplacental blood flow increase occurred after injection of PGE₂.

「新薬と臨牀」第62巻第5号別冊
(平成25年5月10日発行)

医薬情報研究所

Present address : Medical Corporation Mitsuiki Sagami Matsuge Clinic

Reprint request to : Dr. Yoshimi Teraki, 23-14 Matsuge, Minami-ku, Sagamihara, Kanagawa 252-0313, Japan

Key words : PGs, serotonin, uteroplacental circulation, uterine contraction

Conclusions : PGF_{2α} and serotonin are thought to have important physiological roles as autacoids in pregnancy and parturition. Concurrent administration of extrinsic substance(s) caused extreme elevation or fall in blood pressure and a persistent decrease in uteroplacental blood flow. The decrease in placental blood flow in particular is presumed to impair placental function.

Introduction

Physiological actions of prostaglandins (PGs) are diversified depending on the member of the group and the type of effector organ(s). PGF_{2α} used as an oxytocic agent, among others, is known to be an abortifacient besides its oxytocic effect. It would be reasonable therefore to assume that some other cause(s) than a mere oxytocic effect may exist to contribute to the potential of this PG to give rise to abortion which is deleterious to the fetus. Serotonin, another autacoid, is also known to have an abortifacient effect.

The present author previously ascertained that serotonin had an oxytocic effect, though mild, and also exerted a toxic action upon the placenta and that it induced abortion and caused ischemia, hemorrhage and edema of the placenta in mice and rats¹. The damage to the placenta caused by serotonin was noted to be lessened or blocked by serotonin antagonists. These pathologic findings of placentas were considered to be due to diminution of placental blood circulation, demonstrating a vasoconstrictive effect of serotonin on placental blood vessels.

PGF_{2α}, on the other hand, is a potent oxytocic agent that reduces myometrial blood flow by its contractile effect. It would be possible to infer, therefore, that diminution of uterine blood circulation will result in reduced pla-

cental blood circulation, thereby impairing function of the placenta and giving rise to fetal death and abortion. It is also probable that peripheral blood circulation is subject to influence of systemic blood pressure.

In view of these, the author examined and reviewed effects of PGs, serotonin and vasoactive substances on respiration, blood pressure, uterine contraction, uterine blood circulation, and placental blood flow and microcirculation of late pregnant rats and non-pregnant rats to clarify the relevant circulatory dynamics.

I Material and Methods

Adult female rats of the Wistar strain were used. All animals were quarantined for at least 1 week and accommodated in an animal room maintained at room temperature and relative humidity of 22°C and 50–60%, respectively. Female rats mated with males were checked for formation of a vaginal plug, and their gestational ages were estimated for use in the experiment.

Blood pressure and respiration of rats were determined by pressure transducers (Nihon Kohden, MPU-05) via carotid artery cannulation and via a tracheal cannula, respectively, under pentobarbital sodium anesthesia (35 mg/kg s.c.) and recorded on a polygraph (Nihon Kohden, RM-150). Intrauterine pressure was measured by a pressure transducer

lalanine-lysine-vasopressin (octapeptressin) (Sandoz) were also diluted with physiological saline for use in the experiment.

II Results

1. Effects of PGs and other drugs on uterine contraction

1) Non-pregnant rat uterus

Intrauterine pressure tracings of the uterus in estradiol (20 µg/rat s.c.)-treated non-pregnant rats following intravenous injection of drugs are shown in Fig. 1. The uterine activity data processed in part by the triangle method demonstrated that oxytocin given at 10 µg/kg proved most potent in contracting the uterus (1000 mm²), followed in order by PGF_{2α} at 10–20 µg/kg (also potent, 300 mm² to 2730 mm²). PGE₁ and PGE₂, in contrast, were as weak as about 30–40 mm² even at doses of 1–10 µg/kg.

2) Pregnant rat uterus

In rats at late stage of pregnancy (days 18–19 of gestation), uterine activity data were obtained following intravenous administration of PGs, oxytocin, or serotonin at 20 µg/kg and processed by the planimetric method (n=3), with the results presented in Fig. 2. The intrauterine pressure increased from a pre-injection level of 126 mmHg to 197 and 260 mmHg (+106%) at 5 and 10 minutes after injection of PGE₁, respectively, and from a pre-injection level of 85 mmHg to 175 and 235 mmHg (+170%) after injection of PGF_{2α}, respectively. PGE₂ caused a slight increase in intrauterine pressure, i.e., from an initial level of 143 mmHg to 175 mmHg at 5 minutes and to 174 mmHg (+22%) at 10 minutes postinjection. There was a marginal increase in intrauterine pressure after injection of oxytocin, i.e., from an initial level of

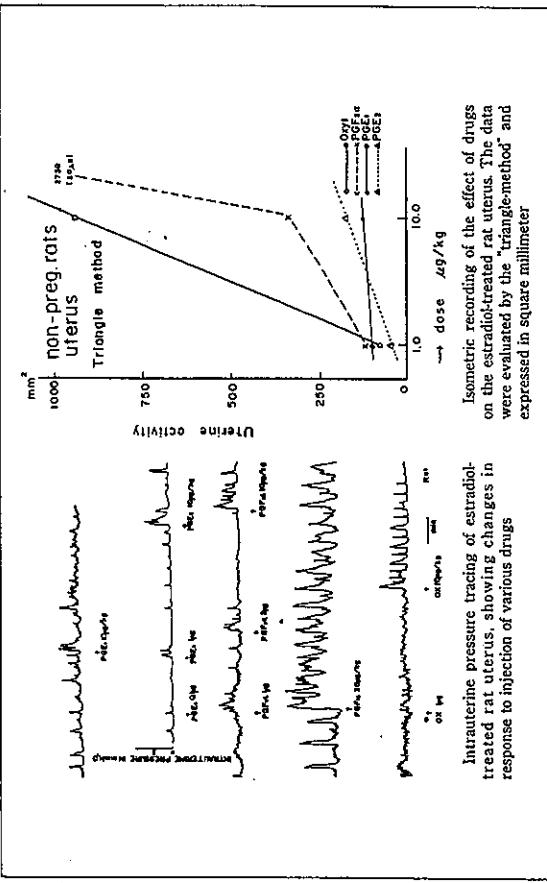


Fig. 1 Effects of drugs on uterine contraction in non-pregnant rats

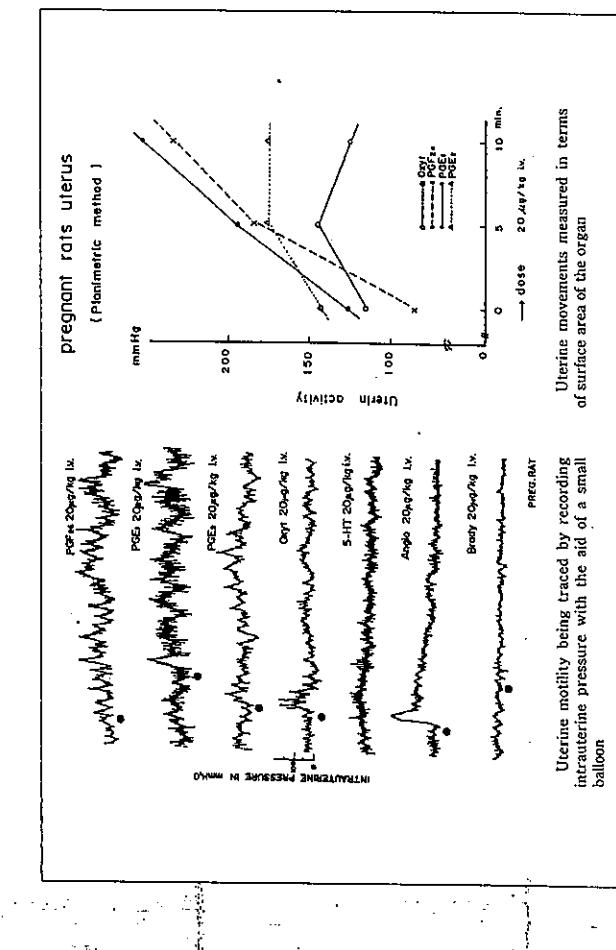


Fig. 2 Effects of drugs on uterine contraction in pregnant rats

143 mmHg at 5 minutes and 126 mmHg at 10 minutes, compared to an initial level of 110 mmHg. Serotonin tended to cause a slight decline in intrauterine pressure.

2. Effects of PGs on respiration, blood pressure, and uterine and placental blood flow

1) PGE₁ : A slight respiratory depression occurred following a 50 µg/kg intravenous dose of PGE₁ in pregnant rats. Blood pressure substantially fell (-50%) immediately after injection, remained low (-30%) at 10 minutes, and returned to a pre-injection level by 20 minutes. The rats showed a 100% increase in intrauterine pressure after injection while UBF decreased 20% immediately after injection and returned to a pre-injection level about 15 minutes post-injection. PBF showed a 60% decrease from 2 minutes post-injection onwards, followed by a gradual recovery to become increased to a +50% level at 10 minutes (Fig. 3).

2) PGE₂ : A transient respiratory depression occurred in pregnant rats immediately after a 50 µg/kg intravenous dose of PGE₂. Blood pressure fell immediately after the injection of PGE₂, then sharply rose to a +200% level in 5 minutes post-injection, and remained elevated for >20 minutes thereafter. Intrauterine pressure was raised by >20%. UBF decreased slightly after the injection, showing high-amplitude sustained fluctuations. PBF, on the other hand, diminished markedly from just after the injection to a -47% level at 10 minutes and was still as low as at a -20% level at 20 minutes (Fig. 4).

3) PGF_{2α} : PGF_{2α} injected at 50 µg/kg i.v. produced a slight respiratory depression, which lasted >20 minutes, in pregnant rats. Blood pressure was elevated markedly from

immediately after the injection to a +69% level at 2 minutes and remained still as high as at a +48% level at 20 minutes. Uterine contraction also persisted long likewise at a +110% level or higher. An associated decrease in UBF occurred and was still at a -30% level or lower at 30 minutes post-injection.

PBF decreased about 40% following the injection and remained decreased not less than 30% even at 20 minutes post-injection (Fig. 5).

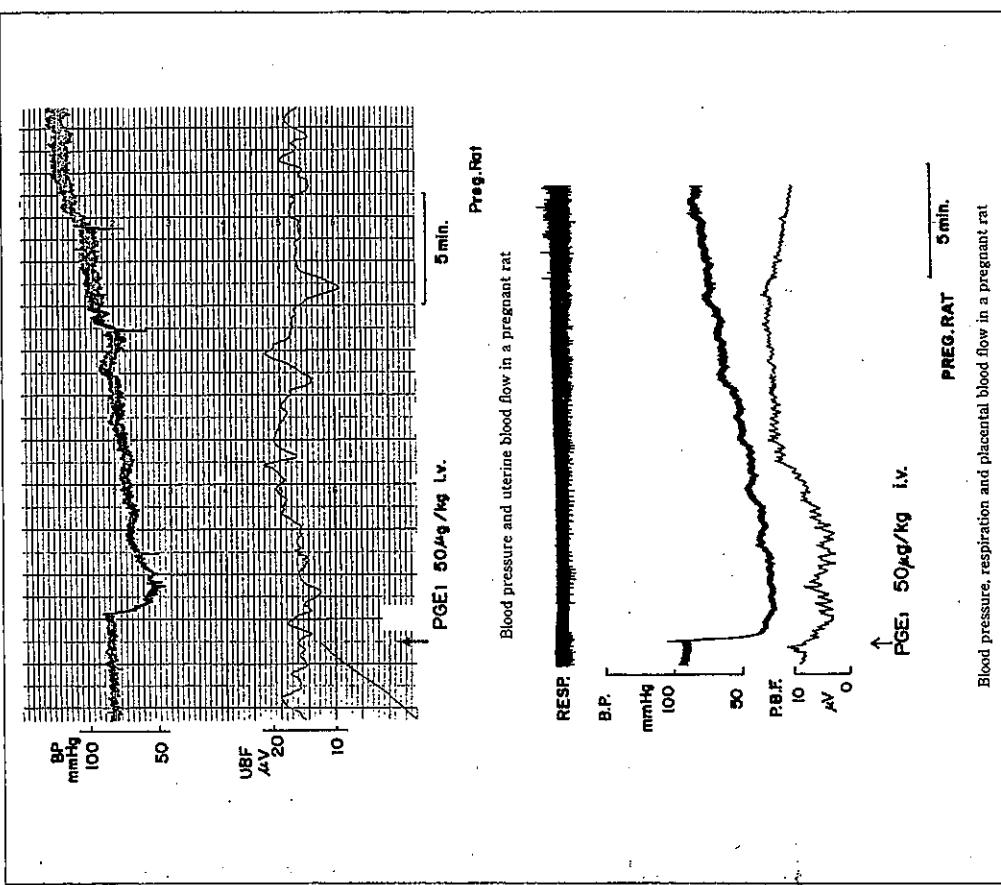
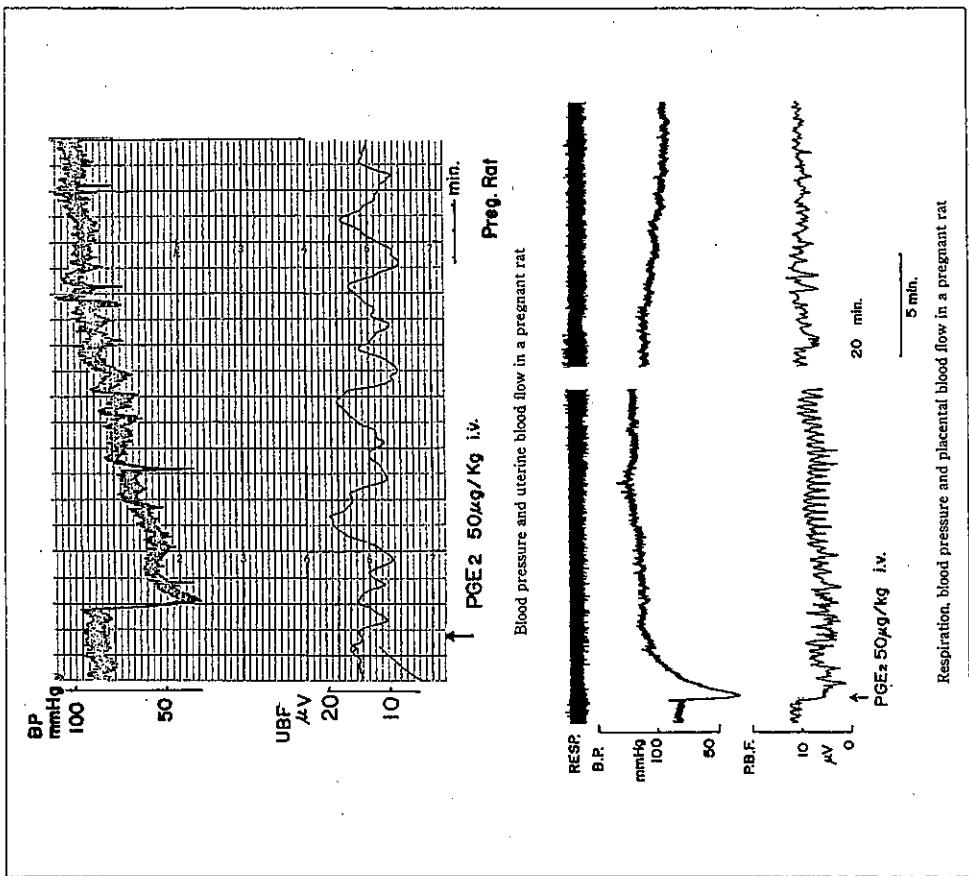
3. Effects of serotonin and polypeptides on respiration, blood pressure, and uterine and placental blood flow

1) Serotonin : A transient pause of respiration occurred in pregnant rats immediately after injection of serotonin at 100 µg/kg i.v. and depressed irregular breathing followed

over 30 minutes. Blood pressure fell rapidly immediately following the injection, was elevated to a +67% level at 2 minutes, then began to re-decrease to remain lowered at a -67% level even at 30 minutes post-injection.

There was little or no effect on uterine contraction, while UBF remained decreased nearly to a -20% level following the injection. PBF, nevertheless, markedly decreased promptly after the injection and remained at a -50% level at 5 minutes and a -60% level at 10 minutes post-injection. PBF became arrested at about 25 minutes post-injection (Fig. 6).

2) Oxytocin : Blood pressure of pregnant rats tended to slightly decline from 7-8 minutes post-injection on but remained rather stable following a 100 µg/kg i.v. dose of oxytocin. UBF showed rhythmic alternations of contraction and relaxation, which slowly subsided to a -50% level at 5 minutes, a -20% level at 10 minutes and a

Fig. 3 Effects of administration of a single 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. dose of PGE₁Fig. 4 Effects of PGEx 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.

phenylalanine-lysine-vasopressin injected at 0.5 IU/kg i.v. in pregnant rats caused blood pressure to rise markedly by $\geq 50\%$ immediately after the injection and then tended to decline, yet being at a +30% level 20 minutes post-injection. UBF began decreasing immediately after the injection, showing a low-amplitude waveform, and continued to decrease thereafter to a -20% level at 5 minutes and as much as to a -50% level at 15 minutes post-injection, followed by recovery to a -10% level at 20 minutes post-injection (Fig. 7).

3) Phenylalanine-lysine-vasopressin :

—10% level at 20 minutes post-injection (Fig. 7). Uterine contraction in this stage was as mild as about +20% as measured in terms of elevated intrauterine pressure.

4. Histopathologic findings of the uterus and placenta
Examination of the offspring from rats sacrificed 19 hours after injection of FGF_{2a} at 5.0

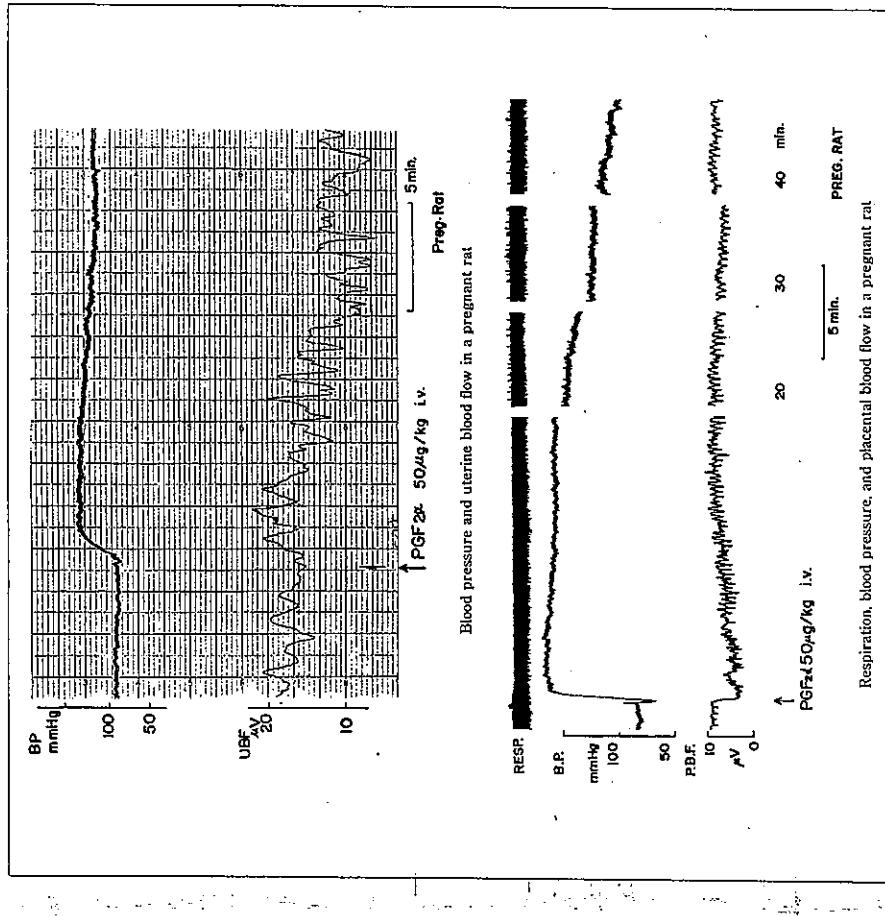
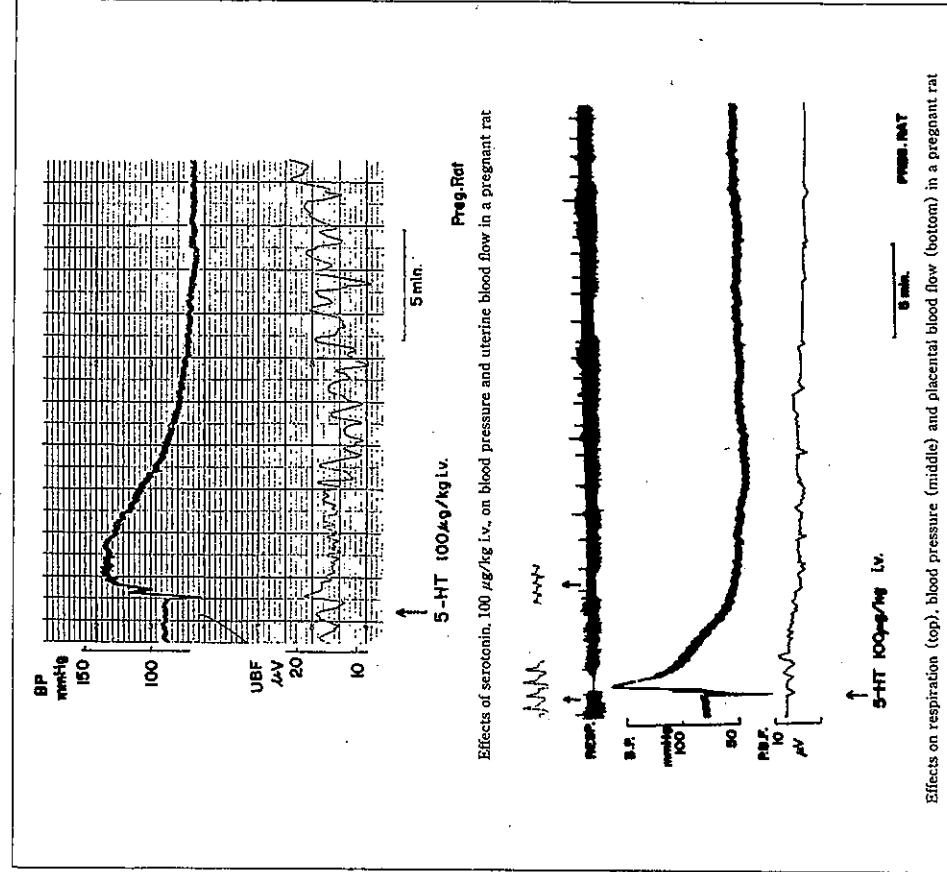
Fig. 5 Effects of PGF_{2α}, 50 µg/kg i.v.

Fig. 6 Effects of serotonin (5-HT) 100 µg/kg i.v.

mg/kg s.c. on day 19 of gestation disclosed 6.5 mg/kg s.c. dose of PGF_{2α} given to rat dams on day 20 of gestation [Phot. 1-(c)]. Severe congestion and hemorrhage were noted microscopically in placentas of dead fetuses from rat dams 24 hours after a 20 mg/kg s.c. dose of serotonin given on day 19 of gestation [Phot. 1-(d)]. There was microscopic evidence of marked hemorrhage in placentas of dead fetuses 4 hours after a

cycle infarct in the fetal uterine mucosa [Phot. 1-(a)]. Placental congestion of viable or dead fetuses was evident in rat dams 130 minutes after a 6.5 mg/kg s.c. dose given on day 19 of gestation [Phot. 1-(b)]. There was no evidence of marked hemorrhage in placentas of dead fetuses 4 hours after a

cycle infarct in the fetal uterine mucosa [Phot. 1-(c)]. It has been reported that UBF diminished 20 to 50% in response to a 30 mmHg increase in intrauterine pressure³. Martin⁴ has described that intermittent contraction of the uterus causes uterine PBF to decrease but not to such an extent that blood in placental intervillous spaces would

III Discussion

1. Systemic blood pressure and peripheral blood flow
- Elevation in systemic blood pressure and peripheral vasoconstriction lead to decrease in blood flow, which correlated with the forego-

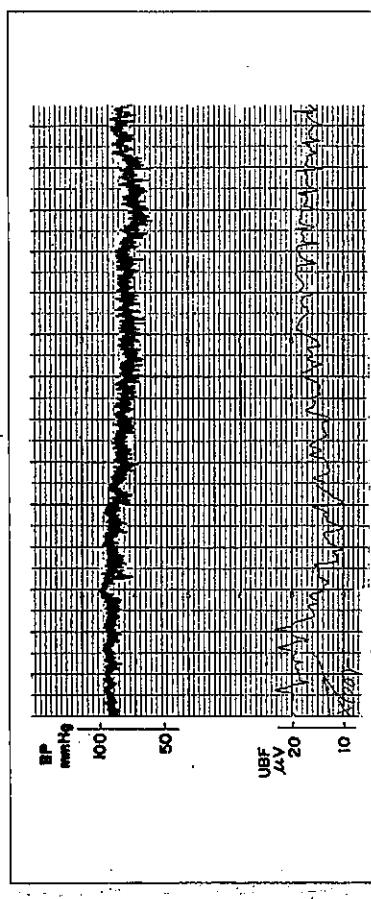
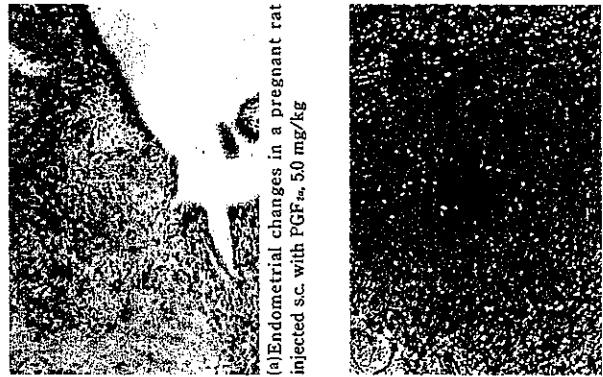


Fig. 7 Effects of oxytocin and octopressin



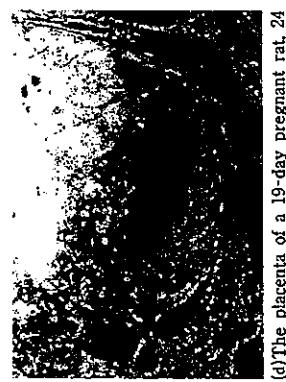
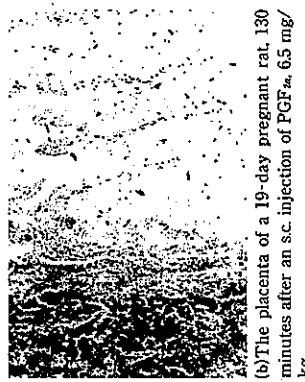
Phot. 1 Histopathologic findings of the uterus and placenta

blood pressure elevation occurred with phenylalanine-lysine-vasopressin and a 90% elevation with PGF_{2α}. Phenylalanine-lysine-vasopressin produced a maximum of 50% reduction in UBF, with a recovery to a -20% level at 20 minutes post-injection. PGF_{2α}, in contrast, produced a 60% reduction at 10 minutes post-injection and the reduction further persisted to be -65% at 20 minutes. Blood pressure elevation caused by PGE₂ persisted at a +30% level at 10 minutes post-injection while UBF remained at a -10% level over time. Blood pressure fell to a -60% level immediately after injection of PGE₂ and then gradually recovered to a +20% level at 20 minutes post-injection,

response varied with the drug applied, and the results were as summarized in Fig. 8.

2. Relation between blood pressure and uterine blood flow

As viewed from Fig. 8 with regard to whether a significant blood pressure elevation gives rise to reduction in UBF, an 80%



while UBF showed a 10% increase. Oxytocin proved to exert only a modest effect on blood pressure, causing a reduction by about 10%, whereas it caused a 30 to 50% reduction in UBF with rhythmic uterine contractions and with a quick recovery. On the other hand, serotonin produced triphasic blood pressure changes, viz. an initial noticeable fall which was promptly followed by a rise to a +70% level, then a fall to a +5% level at 5 minutes post-injection, and to a nearly -60% level at 20 minutes; hence a sustained hypotensive state. However, UBF caused a maximum decrease to a -20% level at 10 minutes after injection of serotonin and slightly increased thereafter. The data have thus showed some

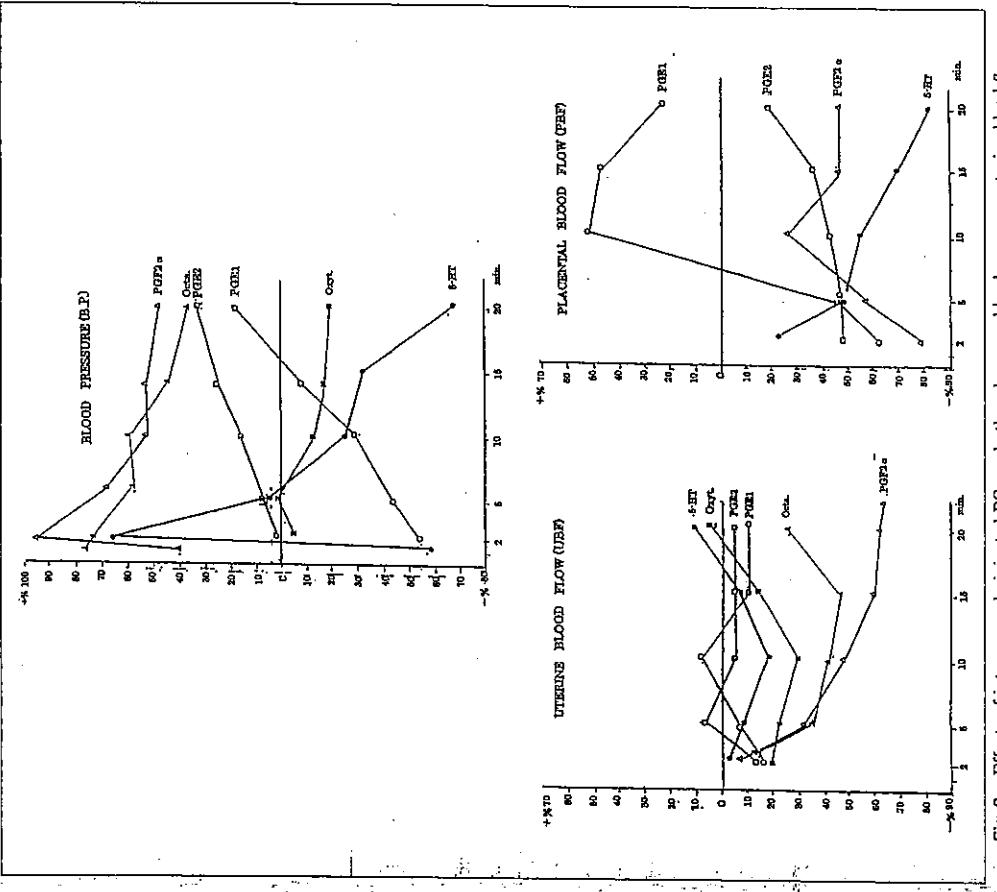


Fig. 8 Effects of intravenously injected PGs and other drugs on blood pressure, uterine blood flow and placental blood flow in pregnant rats

contractions and relaxations of uterine muscles occur due to uterine contraction, so that blood flows into the uterus intermittently, usually causing no persistent hypertonic contraction. Uterine contraction was enhanced by injection of PGE₁ from a pre-injection level of 62 mmHg to 126 mmHg at 10 minutes post-injection whilst UBF showed changes by about 10%. Following administration of PGE₂, uterine contraction increased 20% whereas UBF showed changes by about 10%. Uterine contraction increased $\geq 170\%$ at 10 minutes after injection of PGF_{2α} while UBF diminished to a $\sim 60\%$ level. PGE₁ and PGF_{2α} proved potent in elevating intrauterine pressure (uterine contraction), whereas PGE₂ and oxytocin were found to be not potent in this activity. It would follow that there is some relationship between uterine contraction and UBF, yet the relation between these two parameters seems to be moderately modulated without bringing about any abnormal state. In the case of PGF_{2α}, nevertheless, the blood pressure elevation, uterine contraction and decrease in UBF observed were extremely profound and long-sustained (Fig. 8).

4. Placental blood flow (Fig. 8)
It is considered attributable to placental function that PBF response was not necessarily coupled with UBF response. In response to injection of PGE₁, PBF diminished transiently but showed a 50% increase at 10 minutes after the injection. PGE₂ caused a 50% decrease in PBF immediately after injection and PBF recovered to a $\sim 20\%$ level by 20 minutes post-injection. PBF decreased to a $\sim 80\%$ level immediately following injection of PGF_{2α} and continued to be reduced 50% until 20 minutes post-injection. In pregnant

rats injected with serotonin, PBF decreased noticeably to a $\sim 50\%$ level 5 minutes post-injection and further to a $\sim 80\%$ level at 20 minutes, followed by stasis. These states would be interpreted as follows when viewed from the microcirculatory dynamic viewpoint. As regards difference noted between UBF and PBF, serotonin caused little or no uterine contraction but reduced PBF as did PGF_{2α}. Intravenous administration of PGF_{2α} induced persistent constriction of mesenteric/mesometrial meta-arteriolar vasculature with a reduction in blood flow and stasis. Further, serotonin produced a transient vasoconstriction and subsequent vasodilation with evidence of stasis and blood clots.

The present author has been exploring from various angles the problem of placental blood flow. Firstly, placental blood vessels, especially those of the chorionic plate, are strongly constricted by PGE₂, PGF_{2α} and serotonin⁹. In our placental perfusion experiment involving perfusion of chorionic villi, PGF_{2α} caused a substantial decrease in perfusion volume whereas perfusion volume was increased by PGE¹⁰. We have reported that serotonin also caused a reduction in perfusion volume and this action was blocked by antagonists¹¹. A report demonstrates that the serotonin content is increased in the mouse placenta, amniotic fluid and fetuses during pregnancy¹². This would indicate that serotonin may be playing some role in maintaining pregnancy and in parturition. It is of profound interest, however, why these substances have toxic effects on the offspring *in utero*. The placenta serves an important function of passing substances through it. Most drugs are recognized to pass the placenta by diffusion. Velocity of diffusion depends on

3. Relation between uterine contraction and uterine blood flow
UBF changes due to uterine contraction should also be taken into account besides the effect of blood pressure. Repeated rhythmic

relationship between blood pressure and UBF for certain drugs though it remains yet to be scrutinized.

stage of gestation, thickness of villi, etc., where importance of lipid-solubility and molecular weights of substances has been pointed out by Moya, et al.⁹. However, it has been described by Nishimura¹⁰ that a practical problem does not consist in whether a substance passes across the placenta or not but lies in velocity of passage, that is, if a concentration of the substance passed sufficient and sustained duration of the substance concentration are effected. This is considered to be stressed, namely the toxic effect of serotonin on the fetus varies with its dose and the effect on the placenta also varies with the dose of antagonists. We have already reported about control of the placental effect of serotonin by concurrent use of antagonists¹¹.

Our study with ¹⁴C-5-HT on its passage through rat placenta in relation to dose concentration disclosed that serotonin uptake by placenta was evident at 5 minutes after injection of a 0.72 mg/kg i.v. dose, while there was no serotonin uptake at 10 minutes after injection of a 30 mg/kg i.v. dose but a delayed uptake occurred at 30 minutes post-injection¹⁰.

As for placental passage of PGF_{2α}, tritiated PGF_{2α} uptake by placenta was as low as 2638 dpm/g after a 300 μg/kg i.v. dose, compared to 36787 dpm/g after a low dose of 20 μg/kg i.v.; hence a delayed uptake following administration of a high concentration dose¹². This finding indicates that drugs administered at low concentrations are readily taken up by placenta. We reported that spasmodic contractions of the uterus occurred clinically following injection of a 500 μg i.v. dose of PGF_{2α} for induced abortion, and hydropic degeneration and necrosis were noted in part of chorionic stroma being an adnexum of a fer-

- tile ovum after extravillous injection of a 1000 μg dose¹³. We have already described untoward effects of PGF_{2α} and serotonin on the placenta¹⁴, and documented that the placental serotonin content in patients with toxemia of pregnancy was 3 times as high as that in normal pregnant women¹⁵. PGF_{2α} and serotonin, both being autacoids, thus increase in the placenta of women in the second half period of gestation and have physiologically beneficial effects, yet apprehensions are entertained that their overdose or excessive accumulation will exert a toxic effect on the fetus.
- <Acknowledgement>
- In concluding, the author wishes to extend his heartfelt gratitude to Dr. Muneo Miyasaka, Professor at Tokai University, for his collaboration in the experiments cited herein.
- This experimental study was conducted by the author at Showa University, Tokyo, while the author was affiliated with and on the staff of the department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine.
- References
- Teraki Y. An experimental study on the mechanism of fetotoxicity of 5-HT and effects of its antagonists. *Acta Obst Gynec Jpn*. 1968; 20 : 1639-1645.
 - Hidaka A, et al. Dynamics of the utero-placental circulation. *Sanfujinkan-chiryo (Obstetrical and Gynaecological Therapy)*. 1973 ; 26 : 317-325.
 - Greiss FC. Effect of labor on uterine blood flow observations on gravid ewes. *Am J Obstet Gynecol*. 1965 ; 93 : 917-923.
 - Martin CB. Intrauterine development. In : *The Anatomy and circulation of the Placenta*. Lea & Febiger : Philadelphia, PA : 1968. p.35-67.
 - Teraki Y, Saitaki H. Effects of prostaglandins on the blood vessels in the isolated human placenta. *Med Biol*. 1975 ; 90 : 275-280.
 - Teraki Y. Action of prostaglandins on the perfused human placenta. *Med Biology*. 1975 ; 90 : 185-188.
 - Teraki Y. Studies on the perfusion of the isolated human placenta with serotonin and the related substance. *Acta Obst Gynec Jpn*. 1972 ; 24 : 207-214.
 - Robson JM, Senior JB. The 5-hydroxytryptamine content of the placenta and fetus during pregnancy in mice. *Brit J Pharmacol*. 1964 ; 22 : 380.
 - Moya F, Thorndike V. Passage of drugs across the placenta. *Am J Obst Gynec*. 1962 ; 84 : 1778.
 - Nishimura H. Drug. *Izakuno Ayumi (J Clin Expt Med)*. 1966 ; 59 : 273.
 - Teraki Y, Kitagawa Y. Whole body autoradiographic study on the distribution in the body and the placental transfer of ¹⁴C-Serotonin and ¹⁴C-Histamine in pregnant rats. *Oyo Yakuri (Applied Pharmacol)*. 1974 ; 8 : 191-198.
 - Teraki Y. Tissue distribution and fetal uptake of ³H-prostaglandin F2 in rats. *Oyo Yakuri (Applied Pharmacol)*. 1979 ; 18 : 125-136.
 - Teraki Y, Maenura S. Actual circumstances of early or mid-term induced abortions by PGF_{2α} extravillous injection. *Sanfujinkan-no-sekai (The World of Obstetrics and Gynecology)*. 1974 ; 28 : 59-66.
 - Teraki Y. Experimental approaches to the placental dysfunction caused by serotonin and prostaglandins. The 6th Asian Congress of Obstetrics and Gynecology, Kuala Lumpur, Malaysia ; 1974 p.271-279.
 - Teraki Y. Pregnancy and serotonin—With special reference to relation with toxemia of pregnancy. The 24th Annual Congress of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. Abstracts of Presentations. 1974 ; 1 : 124-125.

ORIGINAL

Effects of Prostaglandins and Several Vasoactive Substances
on Blood Pressure, Respiration and Blood Flow by Intra-
ventricular, Intra-arterial and Intravenous Routes.

Yoshimi TERAKI and Sanemitsu MAEMURA

The Nippon Dental University School of Dentistry at Niigata,
Department of Histology
(Chief : Prof. Yoshimi TERAKI)

Abstract : Differences by routes of administration of the effects of prostaglandins and vasoactive substances on blood pressure, peripheral blood flow and respiration were investigated.

Intravenous prostaglandins evoked respiratory excitation in rabbits, and lowered blood pressure more prominently and longer after intracarotid injection than after the intra-jugular administration. The effects of prostaglandins were apparently more conspicuous after vertebral artery than via carotid artery.

In rats, 1 μ g/kg i.v. of PGE₁ and PGF_{2 α} caused a fall of blood pressure but 1 μ g/kg i.v. of PGF_{2 α} caused a rise. PGF_{2 α} produce a decrease of blood pressure when injected 10 μ g/kg i.v.. A remarkable elevation of blood pressure occurred in rats following injection into the lateral cerebral ventricle of 0.1 μ g/kg of PGE₁ or PGF_{2 α} or of the same dose of 5-hydroxytryptamine (5-HT).

Intra-arterial injection of PGE₁ gave rise to an increase in blood flow of rabbit dorsal skeletal muscle whereas that of PGF_{2 α} resulted in blood flows.

The above results indicate that the effects of prostaglandins on these parameters essentially vary to slight extents with the species of animals and differ in intensity with routes of administration.

Key words : Prostaglandins, Blood pressure, Blood flow, Rats, Rabbits

is known about the mechanism of their hypo-tensive actions.

It seems important to give proper considerations to the following points in assessing the effects of PGs on blood pressure and blood flow.
1) Inactivation of these particular groups of fatty acids in the pulmonary or hepatic blood circulation.

2) The respiratory and circulatory functions of animals are largely under the control of the central nervous system. Experiments were

I. Introduction
The prostaglandins (PGs) are classified structurally into three main groups-prostaglandin E, F and A (PGE, PGF and PGA) and others.
From the clinical viewpoint, members of the E group have been drawing wide attention because of their actions of lowering blood pressure and increasing blood flow, however, little

Reprint from SHIGAKU Vol. 76 No. 6 FEBRUARY 1989

齒学 第76卷 第6号 平成元年2月1日発行 別刷

Received October 26, 1988

conducted, in view of this to investigate effects of PGs on the central nervous system (CNS) by injection direct into the cerebral ventricle or into the vertebral artery.

II. Material and Methods

1. Animals

New Zealand White rabbits weighing about 2 kg and albino rats of the Wistar strain and of the Sprague-Dawley strain, about 250g in weight, were used.

2) Blood flow

The tissue blood flow of rabbit was measured with a crossed thermocouple tissue blood flow-meter (Shincoorder, Model CTE-201) via wire-type elements (Unique Medical Model W-104) inserted into the dorsal skeletal muscle and recorded kymographically with the animal maintained under urethane anesthesia.

For kymographic tracing of hepatic blood flow in the anesthetized rabbit, wire-type elements of the thermocouple flow-meter were inserted into the central hepatic lobe upon median line incision of the abdomen.

The subcutaneous blood flow of rat was recorded in the same manner but inserting the wire-type thermocouple elements into the subcutis of the dorsal back, with the animal kept under pentobarbital anesthesia.

3) Injection into the vertebral artery

The rabbit was anesthetized with urethane and restrained in dorsal position, and 0.2ml of test drug solution was injected within 30 seconds into the left vertebral artery at its bifurcation from the subclavian artery using a very fine needle (24G), according to the method of Murayama¹¹. The areas of diffusion of the injected material were confirmed and assessed afterwards by injecting a dye solution via the same route and by examining the brain.

Blood pressures were recorded on a kymograph through a cannula inserted into the carotid artery. Blood pressures of rats under pentobarbital

sodium (35mg/kg) anesthesia were recorded from a cannula placed in the carotid artery, on a polygraph via a pressure transducer as in the case of rabbits.

Heart rates were also recorded on the polygraph by means of a cardiotachometer (Nihon-kohden, Model RT-2), with the pulse pressure as a trigger. Electrocardiographic tracings were obtained from anesthetized rats in limb lead I with a electrocardiograph (Nihonkohden, Model ECG-1210).

4) Injection into the cerebral ventricle

Effects on the blood pressure of PGs injected into the left lateral ventricle were investigated in Sprague-Dawley rats. By the method of Noble et al¹², a median line incision was made about 2cm in the scalp from a point in the postero-parietal region rostrally, followed by exposure of the underlying skull with removal of the periosteum as wide as practicable.

Then, using a dental drill a hole was made into the skull at 1.5-2.0mm left posterior to the crossing of the sagittal and coronal sutures, with the head kept horizontally, the hole was immediately closed with a thin collodion membrane.

Subsequently, the animal was restrained in dorsal position and PGs were injected into the jugular vein to assess its effect on the blood pressure being recorded from the carotid artery on a polygraph via a pressure transducer. A test compound solution was then introduced slowly with a 50μl Hamilton syringe of which the needle was inserted upright into the brain 4.0-4.5mm through the collodion film over the skull fenestra. The syringe was held in the injecting position for five seconds after completion of injection.

For the intraventricular injection, PGs were dissolved in physiological saline at concentrations as to permit administration of the specified dose in 10μl of solution, of which the pH did not differ from that of plain physiological saline as a control.

Results

I. Effects on Blood Pressure and Respiration in Rabbits

1. Intravenous injection

1) PGF_{2α} (15μg/kg i.v., Fig. 1): The animal showed a transient apnea with a subsequent marked respiratory excitation which lasted for about 90 seconds. The respiratory movement returned to normal about 4 minutes after injection of PGF_{2α}.

The blood pressure declined 45mmHg imme-

dately after the injection, followed in 1 to 2 minutes by a gradual recovery, returning to the initial level in about 7 minutes.

2) PGF_{2α} (15μg/kg i.v., Fig. 2): A trans-

ient apnea was followed by a moderate increase in respiratory amplitude which continued for 4-5 minutes.

The blood pressure fell about 50mmHg imme-

dately after the injection, followed in 1 to 2 minutes by a gradual recovery, returning to the initial level in approximately 5 minutes.

3) PGF_{2α} (15μg/kg i.v., Fig. 3): A mod-

erate respiratory excitation, lasting for a few minutes, occurred. The rabbit displayed a slight transient rise in blood pressure, subsequently

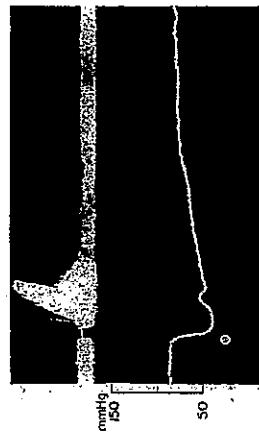


Fig. 1. Effects of intravenous PGF_{2α} on the blood pressure and respiration in rabbits.

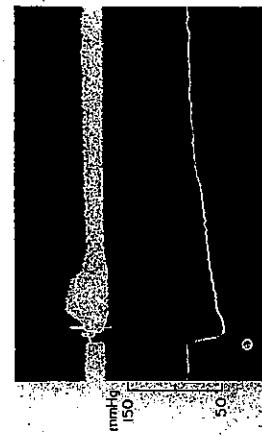


Fig. 2. Effects of intravenous PGF_{2α} on the blood pressure and respiration in rabbit.

tion of PGF_{2α}. The blood pressure fell about 50mmHg immediately after the injection, followed in 1 to 2 minutes by a gradual recovery, returning to the initial level in about 7 minutes.

2) PGF_{2α} (15μg/kg i.v., Fig. 2): A trans-

ient apnea was followed by a moderate increase in respiratory amplitude which continued for 4-5 minutes.

The blood pressure declined 45mmHg imme-

dately after the injection, followed in 1 to 2 minutes by a gradual recovery, returning to the initial level in approximately 5 minutes.

3) PGF_{2α} (15μg/kg i.v., Fig. 3): A mod-

erate respiratory excitation, lasting for a few minutes, occurred. The rabbit displayed a slight transient rise in blood pressure, subsequently

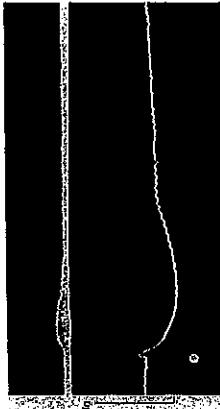


Fig. 3. Effects of intravenous PGF_{2α} on the blood pressure and respiration in rabbit.

with a gradual fall to level 48 mmHg below the initial level in a few minutes, then restoration to normal within 10 minutes.

4) Oxytocin (15 μg/kg i.v., Fig. 4): No appreciable change was caused in respiratory movement or in blood pressure.

5) Angiotensin (10 μg/kg i.v., Fig. 5): A hypertensive effect appeared, through lasting for only about 5 minutes.

6) Vasopressin (10 μg/kg i.v., Fig. 5): A similar effect, somewhat longer sustained, was observed.

2. Intra-arterial injection

a. Injection into the carotid artery (Fig. 7)

1) PGE₁ (15 μg/kg): The blood pressure fell sharply as much as 45 mmHg, followed promptly by a gradual recovery nearly to the initial level in 8 minutes.

2) PGF_{2α} (15 μg/kg): There occurred a rapid fall in blood pressure by about 50 mmHg, and then a gradual restoration to normal in 9 minutes.

3) PGF_{2α} (15 μg/kg): It caused biphasic blood pressure changes, a sharp decline (by a maximum of 52 mmHg) immediately after injection was followed by a slight recovery and a subsequent redecline.

The blood pressure remained still not recovered completely 15 minutes after the injection.

b. Injection into the vertebral artery (Fig. 7)

c. Intra-arterial injection

1) PGE₁ (10 μg/kg): The blood pressure fell about 18–24 mmHg, then recovered gradually from 2–3 minutes after injection onwards to return to the initial level in about 8 minutes.

The same dose of this substance injected into the carotid artery gave rise to a decrease in blood pressure by about 10–12 mmHg with a complete recovery at 5 minutes post injection.

3. Comparison of effects of PGs between intra-arterial and intravenous injection (Fig. 7)

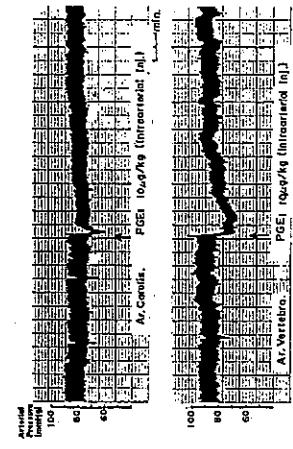


Fig. 4. Effects of intravenous oxytocin on the blood pressure and respiration in rabbit.

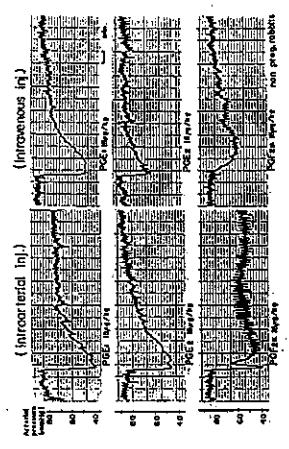


Fig. 5. Effects of intravenous prostaglandins and related substances on the blood pressure in rabbit.

Comparison was made between the effects on blood pressure of PGs injected into the carotid artery and those after injection of these substances into the jugular vein.

1) PGE₁ (15 μg/kg): The maximum degree of blood pressure fall after an intra-arterial injection was 50 mmHg, and that after intravenous administration 47 mmHg.

Subsequent recovery after the intra-arterial injection was delayed as compared to that which followed the intra-venous injection.

2) PGF_{2α} (15 μg/kg): Maximum fall of blood pressure following an intra-arterial injection was 40 mmHg with subsequent restoration to normal in 9 minutes, and that after an intravenous injection 30 mmHg with recovery in 7 minutes.

3) PGF_{2α} (15 μg/kg): The maximum degree of blood pressure fall following intra-arterial injection was 52 mmHg, and that after intravenous administration 25 mmHg.

The depressor effect of this substance by intra-arterial injection was prominent, and sustained longer.

4. Influence of autonomic drugs on the blood pressure effects of PGs (Fig. 8)

Effects of atropine and isoproterenol on the hypotensive action of PGE₁ were explored. Animals showed a transient rise in blood

pressure, with a subsequent slight fall, following an intravenous injection of 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of PGE₁. Neither pretreatment with atropine 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, nor that with isoproterenol (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) caused any demonstrable change in the blood pressure response to PGE₁.

II. Effects on Blood Pressure in Rats

1. Interrelation of dose and blood pressure response

Experiments were performed to clarify interrelation between the dose of PGs and the blood pressure changes.

1) PGE₁ (Fig. 9): When injected i.v. in a dose of 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, PGE₁ produced a 10 mmHg rise in blood pressure. At doses of 1, 10 or 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. the substance caused a fall of blood pressure by 10, 30 or 50 mmHg, respectively.

The results indicate that the minimum hypotensive dose of PGE₁ in rats is 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

2) PGE₂ (Fig. 10): Intravenous administration of PGE₂ in doses of 0.01, 0.1, 1, 10 or 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v. caused a fall of blood pressure by 10, 30, 50 or 70 mmHg, respectively.

100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ gave decrease in blood pressure by 7, 24, 31, 45 or 38 mmHg, respectively.

With 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of PGE₂, the suppression was so pronounced that the blood pressure failed to return to the initial level even in 20 minutes after injection. The hypotensive effect of PGE₂ was demonstrable from a dose level of 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ upward.

3) PGF_{2 α} (Fig. 11): The blood pressure showed no change at all following an i.v. dose of 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of PGF_{2 α} . One $\mu\text{g}/\text{kg}$ of PGF_{2 α} caused a slight fall, with a subsequent rise by 25 mmHg. Ten $\mu\text{g}/\text{kg}$ of PGF_{2 α} produced a 17 mmHg fall and then an elevation.

With 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the blood pressure decreased 90 mmHg and then recovered to about 80% of the initial level 2 minutes after injection though it remained still depressed even at 20 minutes.

Thus, PGF_{2 α} caused elevation of blood pressure at a dose of 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ but lowered the blood pressure when administered in a dose of 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

kg. by intravenous route.

4) Oxytocin (Fig. 12): Oxytocin did not affect the blood pressure at 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, whereas at dose levels of 250 and 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, it produced a significant hypertensive effect.

2. Intravenous injection

1) PGE₁ (Fig. 13): Following an i.v. injection of PGE₁ in a dose of 20 $\mu\text{g}/\text{rat}$ via jugular vein, the blood pressure fell markedly, then returned to the pre-injection level in about 10 minutes while the heart rate decreased with no conspicuous ECG alterations.

At doses of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v., PGE₁ lowered blood pressure by 17 mmHg. Ten $\mu\text{g}/\text{kg}$ of PGE₁ lowered blood pressure by 7 mmHg.

2) PGE₂ (Fig. 14): When injected i.v. in a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, PGE₂ caused a fall of blood pressure by 70 mmHg and continued remained so for 10 minutes after 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v.

3) PGF_{2 α} (Fig. 14): Rats exhibited a rise in blood pressure by as much as 40 mmHg in response to an i.v. injection of PGF_{2 α} , 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with subsequent recovery in 5 minutes.

4) Octapressing and angiotensin (Fig. 14): These drugs, a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i.v., brought about a marked elevation of blood pressure which lasted for about 10 minutes.

3. Intraventricular injection

1) PGE₁ (0.1 $\mu\text{g}/\text{rat}$, Fig. 15): Immediate

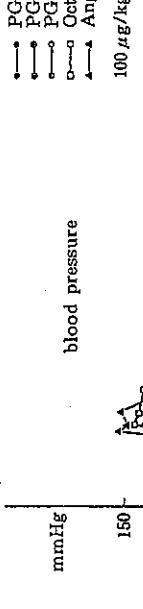


Fig. 13. Effects of PGE₁ on the blood pressure, ECG and heart rate (HR) in rat.

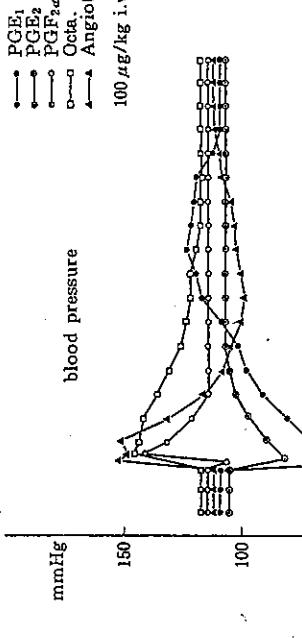


Fig. 14. Blood pressure responses to intravenous injection of various drugs in rat.

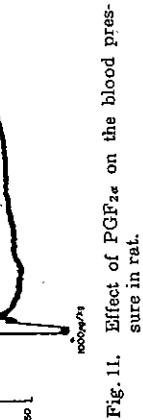
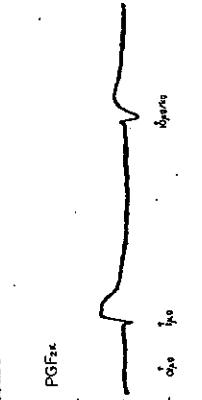


Fig. 11. Effect of PGF_{2 α} on the blood pressure in rat.

Fig. 12. Effect of oxytocin on the blood pressure in rat.

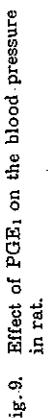
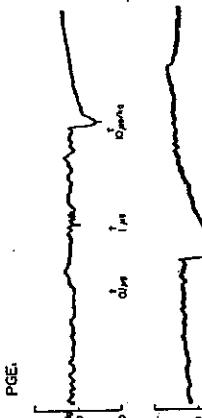


Fig. 9. Effect of PGE₁ on the blood pressure in rat.

Fig. 10. Effect of PGE₂ on the blood pressure in rat.

only after injection of PGE₁ into the ventriculus lateralis cerebri, the blood pressure began to rise to reach 50 mmHg above the initial level in 4 minutes, and then gradually declined.

The hypertensive response persisted for more than 20 minutes. The animals concomitantly showed an increase in cutaneous blood flow lasting for more than 16 minutes.

2) PGF_{2α} (0.1 μg/rat, Fig. 16) : A slow modest elevation of blood pressure, persisting for about 15 minutes, occurred following intraventricular injection of PGF_{2α}. Increased cutaneous blood flow was also observed.



Fig. 16. Effects on the blood pressure and cutaneous blood flow of PGF_{2α} injected into the cerebral ventricle in rat.

3) 5-HT (0.1 μg/rat, Fig. 17) : Administration of 5-HT in the same dose and by the same route also gave rise to elevation of blood pressure which, however, was less conspicuous as compared to that brought about by PGE₁ or PGF_{2α}.

III. Effects on Tissue Blood Flow in Rabbits

1) PGE₁ (5 μg/kg, Fig. 18) : The blood flow in dorsal skeletal muscles increased immediately following injection of PGE₁ into the carotid artery, and the increase lasted for about 5 minutes.

It remained unchanged or rather decreased slightly after an intra-arterial injection of a comparable dose of PGF_{2α}. Administration of PGE₁ in a dose of 10 μg via the carotid artery gave rise to a slight increase in hepatic blood flow, lasting for approximately 10 minutes.

2) PGF_{2α} (5 μg/kg, Fig. 18) : A 10 μg dose of PGE₁ via the carotid artery caused a decrease of hepatic blood flow, and a comparable dose of PGF_{2α} by the same route a transient decrease (Fig. 18).

Discussion

Cardiovascular effects of PGs, a group of biologically active substances, and other vasoactive substances have been investigated.

The experiments were performed to assess and compare the effects on respiration, blood pressure and blood flow of PGs in various doses and by various routes in different species of animals. The effects were also compared with those of other compounds acting on the blood vessel.

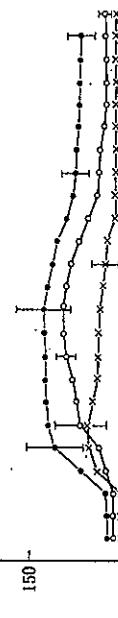


Fig. 17. Effects on the blood pressure of prostaglandins (PGs) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) injected into the cerebral ventricle in rat.

ately following administration, then stimulation of the respiratory center ensues.

Rabbits showed a transient fall of blood pressure invariably in response to administration of PGE₁, PGE₂ or PGF_{2α}, where the hypotensive effect was most pronounced with PGE₁, followed, in order, by PGE₂ and PGF_{2α}.

A single i. v. dose of 10 μg/kg of PGE₁ reduced the blood pressure about 50%, the effect lasting generally for less than 10 minutes.

It has been reported by Bergström, et al.³⁾, and Horton, et al.⁴⁾, that the E group of PGs possesses a more profound hypotensive activity than those of the F group, and the present findings are consistent with these reports. Meanwhile, experiments in rabbits with angiotensin and vasopressin, known as pressor substances, demonstrated a marked elevation of blood pressure lasting for about 5 minutes after a single i. v. injection, whereas low doses of oxytocin did not affect the blood pressure.

Inactivation in the lung of intravenously administered PGs was reported by McGiff, et al.⁵⁾, and Piper, et al.⁶⁾.

Ferreira, et al.⁷⁾, also described that PGs was inactivated by 95% in the pulmonary circulation of dog.

2. Various routes

In the present study; an attempt was made to ascertain whether the effect on blood pressure of PGs might differ with the route of administration, i. e. by comparison of effects between injection via the jugular vein and that via the carotid artery. PGE₁ in an intra-arterial dose of 15 μg/kg lowered the blood pressure about 10% more than that in the same dose by intravenous route, and this effect was longer sustained by the former route. Similar tendencies were noted with PGE₂ and PGF_{2α}, thus suggesting that intra-pulmonary metabolism may have relations to the degree of blood pressure effects of PGs.

Experiments were also conducted to explore

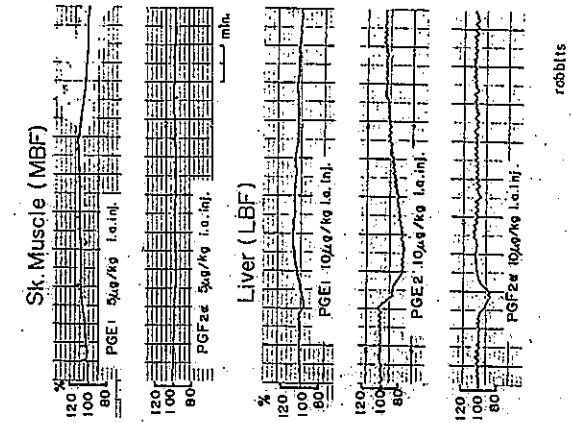


Fig. 18. Effects of intra-arterial prostaglandins (PGs) on the dorsal skeletal muscle blood flow and hepatic blood flow in rabbit.

cardiovascular responses to the substances by injection into the vertebral artery which might have greater influence upon the central nervous system than via the carotid artery.

Lavery, et al¹⁸, observed a markedly more pronounced effect on blood pressure of PGF_{2α} injected into the vertebral artery than by intravenous injection or via the carotid artery in the dog. A similar observation with PGE₁ in cats was reported by Gyang, et al¹⁹. The present experiments with PGE₁ in rabbits yielded findings consistent with these reports. Gyang, et al¹⁹, interpreted the phenomenon as implicating that tissue receptors for PGs might be located at the site supplied by vertebral arteries.

There has as yet been no report of observation of systemic blood pressure changes in rats following injection of PGs into the cerebral ventricle.

In the present study, PGE₁ caused a conspicuous elevation of blood pressure, PGE₂ a slight elevation, and PGF_{2α} an moderate increase in rats when injected into the lateral cerebral ventricle. These blood pressure responses were, therefore, in disagreement with the results obtained in rats by intra-arterial or intravenous administration of the substances.

The data heretofore obtained would suggest that PGs may occur in the central nervous system and vary in concentration, depending upon physiologic conditions, although it seems to remain to be ascertained whether PGs possess centrally mediated activities in the control of blood pressure. It is of interest that the hypotensive response to intravenous injection of PGE₁ and the rise in blood pressure by its injection into the ventriculus lateralis noted in this study may contrast with the hypertensive and hypotensive responses to intravenous or intraventricular injection, respectively, of noradrenaline. Wouldn't this contrast be reflecting a difference in behavior between PGs and catecholamines toward cyclic-AMP¹⁴ which is

conjectured to be a blood pressure regulating factor in the brain?

Meanwhile, both PGE₁ and PGE₂ proved to lower the blood pressure in rabbits as well as in rats, whereas PGF_{2α} caused a fall of blood pressure in rabbits but gave rise to elevation in rats. This finding is consistent with the report of Bergström, et al¹⁰, that blood pressure responses to PGF_{2α} varied with species of animals, i.e. hypotensive in cats and rabbits or hypertensive in the rat and dog. Nakano, et al¹¹⁻¹², described that the elevation of blood pressure in rats by administration of PGF_{2α} might be due to its direct peripheral vasoconstrictive action.

PGE₁ and PGE₂ produced a moderate decrease in blood pressure when injected intravenously in a single dose of 10 or 1 μg/kg, respectively. A single intravenous dose of 1 μg/kg of PGF_{2α} evoked elevation of blood pressure. With regard to effect of PGs on peripheral blood circulation, Nakano, et al¹¹, reported that a regional blood flow was uniformly increased by administration of PGE₁. We observed an increased cutaneous blood flow of rabbit for more than 10 minutes following an intra-arterial injection of 5 μg/kg of PGE₁. The intra-arterial administration of PGE₁ also caused an increase in hepatic blood flow of the animal whereas injection of comparable dose of PGD₂ and PGF_{2α} by the same route failed to produce any noticeable increase.

References

- Murayama, S. : Pharmacological studies on the CNS actions of chlorpromazine with primary reference to effects of intra-arterial injection via the vertebral artery, *Folia Pharmacol. Japon.* 53 : 81-89, 1957.
- Noble, E. P., Wurtman, H. J. and Axelord, J. : A simple and rapid method for injection of H³-norepinephrine into the lateral ventricle of the rat brain, *Life Sci.* 6 : 281-291, 1967.

- Bergström, S. and Euler, U. S. von : The biological activity of prostaglandin E₁, E₂ and E₃, *Acta Physiol Scand.* 59 : 493-494, 1963.
- Horton, B. W. and Main, I. H. M. : A comparison of the biological activities of four prostaglandins, *Brit. J. Pharmacol.* 21 : 182-189, 1968.
- McGiff, J. C., Terragno, N. A., Strand, J. C., Lee, J. B. and Lonigo, A. J. : Selective passage of prostaglandins across the lung, *Nature*, 223 : 742-745, 1969.
- Piper, P. J., Vane, J. R. and Wyllie, J. H. : Inactivation of prostaglandins by lungs, *Nature*, 225 : 600-604, 1970.
- Ferreira, S. H. and Vane, J. R. : Prostaglandins : Their disappearance from and release into the circulation, *Nature*, 216 : 868-873, 1967.
- Lavery, H. A., Lowe, R. R. and Scroop, G. C. : Cardiovascular effects of prostaglandin E₁, *J. Physiol.* 217 : 222-227, 1969.
- Gyang, E. A., Deuben, R. R. and Buckley, J. P. : Interaction of prostaglandin E₁ and angiotensin I on centrally mediated pressor activities in the cat, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142 : 532-537, 1973.
- Bergström, S., Carlson, L. A. and Weeks, J. R. : The prostaglandins : A family of biologically active lipids, *Pharmacol. Rev.* 20 : 1-48, 1968.
- Nakano, J. and McCurdy, J. R. : Cardiovascular effects of Prostaglandin E₁, *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 156 : 538-547, 1967.
- Nakano, J. and Cole, B. : Effects of prostaglandin E₁ and F_{2α} on systemic pulmonary and splanchnic circulation in dogs, *Amer. J. Physiol.* 227 : 222-227, 1969.

Prostaglandins および各種血管作動物質の脳室内、動脈内注射による血圧、呼吸、血流への影響

寺木良巳 前村実満

要旨：Prostaglandins および二、三の血管作動物質が投与経路により、また動物種差により呼吸、血圧、血流などにいかなる影響を及ぼすかを検討した。
家兔では prostaglandins (PGs) 静注により呼吸興奮、血圧下降が見られ、頸動脈注射は頸静脈投与よりも作用が大であった。また椎骨動脈内注射は頸動脈注射よりも血圧作用が強かつた。
家兔背部筋ならびに肝血流に対し、PGE₁で血流増加を、PGF_{2α}では減少した。
ラット血圧は PGE₁、E₁、各 1 μg/kg 静注により下降し、PGF_{2α} 1 μg/kg 静注で上昇した。ラットの側臍室内に PGE₁、PGF_{2α} 各 0.1 μg/kg、serotonin 0.1 μg/kg により、それぞれの血圧の上昇がみられた。

以上のとく PGs の基本的性格は動物によって多少差があり、投与経路によって強さが異なる。

キーワード：Prostaglandins、血管作動物質、血圧、血流、ラット、家兔

Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides on the Mesenteric and Mesometrial Microcirculation in Rats

— Autacoids and Pregnancy (III) —

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine

「新薬と臨牀」第62巻第5号別冊
(平成25年5月10日発行)

医薬情報研究所

Effects of Prostaglandins, Serotonin and Polypeptides on the Mesenteric and Mesometrial Microcirculation in Rats

— Autacoids and Pregnancy (III) —

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, Showa University School of Medicine at Tokyo 142-0064, Japan

Abstract

Experiments were conducted to assess the vasmotor actions of prostaglandins (PGs) and other vasoactive agents on the rat mesenteric and mesometrial microcirculation *in vivo* by direct microscopic observation. After intravenous injection of 10 µg/rat or topical application of 10 µg/0.1 mL of prostaglandin E₁ (PGE₁) arterioles and the ensuing microvasculature showed dilatation with a decrease in blood flow. The peripheral vasodilatation with PGE₁ was greater by topical administration than by intravenous injection. Constriction of microvasculatures with topically applied vasoconstrictors such as adrenaline, vasopressin, angiotensin, noradrenaline or octapressin was suppressed by topical administration of PGE₁. The local hemostatic activity of serotonin was also antagonized by topically applied PGE₁.

After intravenous injection of 10 µg/rat or topical application of prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) showed constriction of metarterioles and ensuing capillaries with blood stagnation. Serotonin evoked a reduction in blood flow and stagnation in the mesenteric and mesometrial blood vessels.

The mesenteric microcirculation was not modified neither by PGE₁ nor by angiotensin which was injected into cerebral lateral ventricle of the rat.

Present address : Medical Corporation Mitsuikai Sagami Matsugae Clinic
Reprint request to : Dr. Yoshimi Teraki, 23-14 Matsugae, Minami-ku, Sagamihara, Kanagawa 252-0313, Japan

Key words : prostaglandins, vasoactive substances, mesenteric-mesometrial microcirculation and antagonistic substances to these drugs.

PGE₁ produced a much less degree of increase in vascular permeability of the rat mesentrium than bradykinin.

Blood gas analysis in rabbits revealed a respiratory depression following intravenous administration of PGE₁. Whereas prostaglandin F_{2α} evoked blood gas changes indicative of respiratory stimulation.

The above data suggest that the action of PGs on microvasculature is direct while the respiratory responses are secondary to the vascular reactions.

Introduction

Prostaglandins (PGs) of the E and F groups are known, among other PGs with vasoactivity, to produce a transient vasoconstrictor effect in a variety of mammalian species. Reported studies have also indicated that larger arterial vessels respond to PGs in a fashion somewhat different from peripheral vascular responses to these substances, i.e. constriction of the former (Strong, et al.¹).

The present series of experiments were carried out to examine, in connection with the vasoconstrictor effect of PGE₁, the peripheral microvascular responses to PGE other vasoactive substances by direct microscopic observation in the rat mesentrium and mesometrium *in vivo*.

I Material and Methods

Adult female rats of the Wistar strain were anesthetized with sodium pentobarbital (Nembutal). The animal was then placed in a thermostat at 33 °C, in which the abdomen was opened and the mesenterium (omentum) or mesometrium exteriorized and extend over a glass plate within the apparatus. Direct microscopic observations were made of the mesenteric or mesometrial capillary bed with transmitted light, the surround-

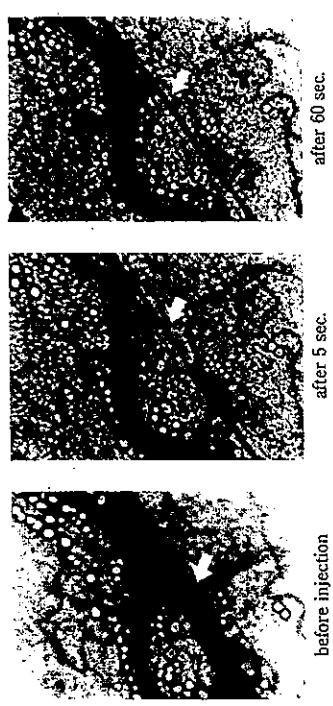
ing area of the tissue being covered with cotton moistened with prewarmed Ringer solution containing 1% gelatin to maintain the tissue at approximately 38 °C as well as to prevent it from dehydration.

The responses of microvasculature to intravenous administration via a polyethylene cannula inserted into the jugular vein of solutions in physiological saline of PGs or other vasoactive substances and to local application of prewarmed solution of these agents in graded concentrations were observed.

The effects of PGs and bradykinin on vascular permeability were also studied by locally (topically) applying these agents after an intravenous injection of a solution of potassium sky blue.

Japanese albino rabbits were injected with the test substances into the carotid artery and serial blood samples obtained at the specified time, followed immediately by blood gas assays with a gas analyser.

The following drugs were used : Prostaglandin E₁, E₂, and F_{2α} (PGE₁, PGE₂ and PGF_{2α} : Ono Pharmaceutical), serotonin, 5-hydroxytryptamine (5-HT ; Sigma), oxytocin (Sandoz), octapressin (Sandoz), vasopressin (Ciba), angiotensin (Ciba), histamine (Sigma) and adrenaline (Sankyo), noradrenaline (Sankyo) and antagonistic substances to these drugs.

Phot. 1 Effect of intravenous PGF₂_α 10 μg/rat on the rat mesenteric blood vessels

II Results

1. Effects of intravenous administration of drugs on the rat mesenteric blood vessels

PGF₂_α, injected i.v. in a dose of 10 μg/rat, produced a slight dilation of peripheral mesenteric arteries with a transient increase of blood flow.

Intravenous injection of PGF₂_α in a dose of 10 μg/rat caused constriction of metarterioles and ensuing capillaries with blood stagnation at 5 seconds after injection, and the vascular response did not recover within 1 minute (Phot. 1).

A slight vasodilation with hemostasis was observed following an intravenous injection of 100 μg/rat of 5-HT. Adrenaline, noradrenaline and vasopressin produced constriction of the mesenteric microvasculature with a decrease in blood flow when these vasoconstrictors were administered in a dose of 1 μg/rat.

2. Effects of local application of drugs on the rat mesenteric blood vessels

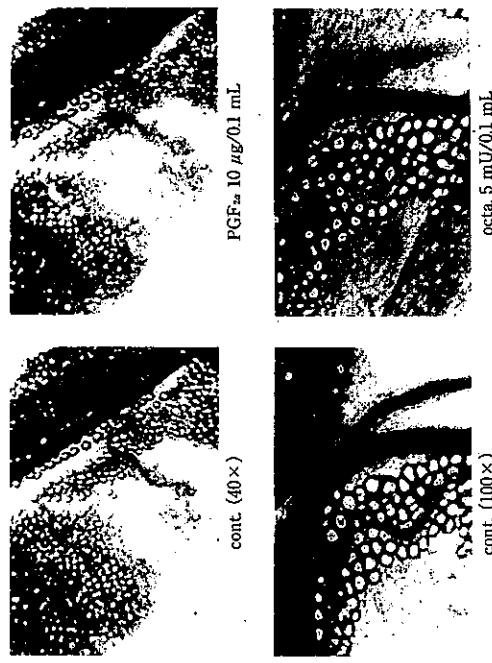
Local (topical) administration of PGE, in a concentration of 10 μg/0.1 mL evoked a simi-

lar vasodilation, accompanied by an increase in blood flow.

With histamine in a dose of 10 μg/0.1 mL, the vasculature showed dilatation while the blood flow decreased to a slight degree. When a comparable dose of PGF₂_α was applied, arterioles and ensuing peripheral vessels responded with constriction and hemostasis which became manifest at 5 seconds after the application and persisted for more than 3 minutes (Phot. 2). Local administration of octapressin in a dose of 5 mU/0.1 mL gave rise to constriction of arterioles to capillary vessels with stagnation (Phot. 2). Similar microvascular responses, i.e. vasoconstriction and blood stagnation, were observed with adrenaline, nordrenadine, vasopressin and angiotensin applied topically in concentrations of 1–10 μg/0.1 mL.

3. Effects of intravenous administration of drugs on the rat mesometrial blood vessels

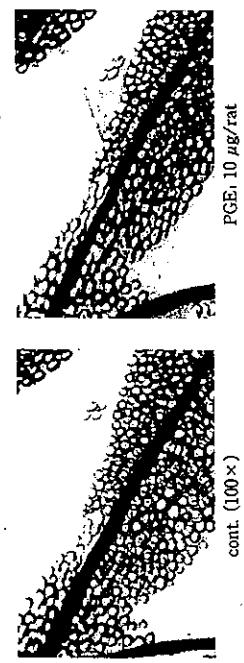
Following an intravenous dose of 10 μg/rat of PGE, mesometrial arteriolar dilatation with an increased flow of blood and a slight venular constriction occurred in 2 minutes (Phot. 3). 5-HT, injected intravenously in a

PGF₂_α 10 μg/0.1 mL

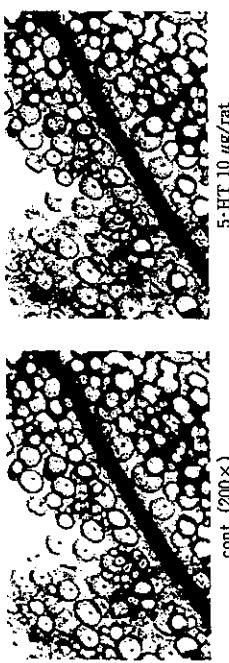
cont. (40×)

Octa. 5 mU/0.1 mL

rat mesentrium (topical application)

Phot. 2 Effects of locally (topically) administered PGF₂_α and octapressin on the rat mesenteric blood vesselsPGF₂_α 10 μg/rat

cont. (100×)

PGF₂_α 10 μg/rat

cont. (100×)

Octa. 5 mU/0.1 mL

rat mesentrium (topical application)

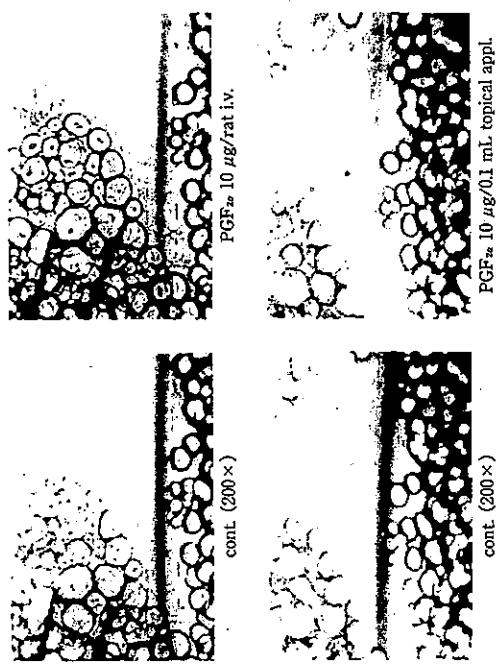
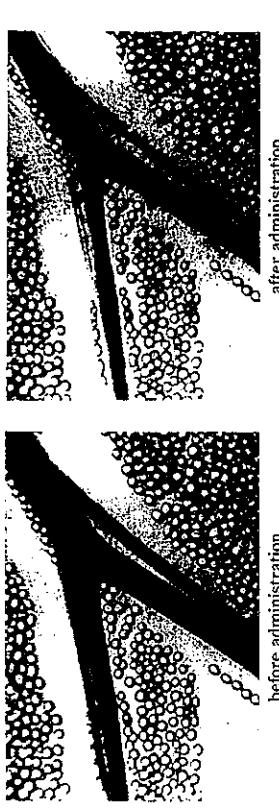
Phot. 3 Effects of intravenous PGE, and 5-HT on the rat mesometrial blood vessels

5-HT 10 μg/rat

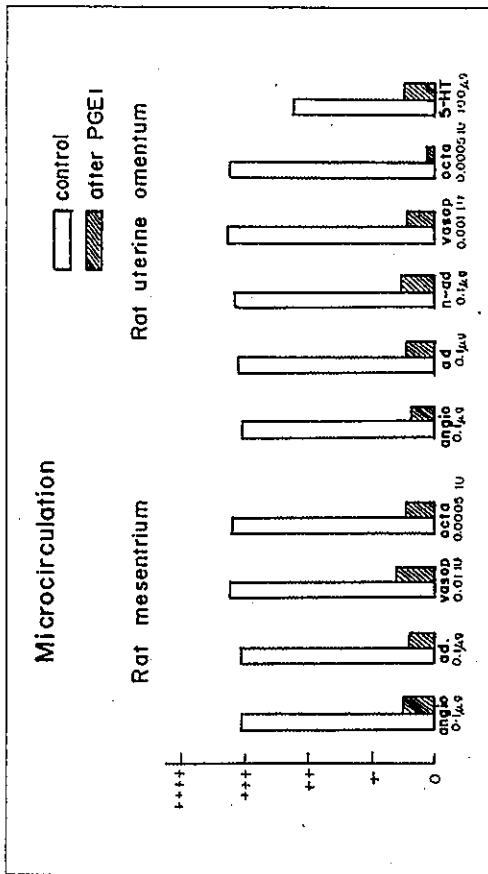
cont. (200×)

5-HT 10 μg/rat

rat uterine omentum (i.v. inj.)

Phot. 4 Effects of intravenous and topical PGF_{2α} on the rat mesometrial blood vessels

Phot. 5 Microvascular change in the rat mesometrium following topical administration of adrenaline, 0.1 µg/0.1 mL

Fig. 1 Mesenteric and mesometrial blood vessels responses to vasoconstrictors and effect of PGE₁

dose of 10 µg/rat, evoked a marked hemostasis which became manifest at 2 minutes after injection and lasted for more than 5 minutes. The blood vessels were observed to be slightly dilated after a transitory constriction (Phot. 3).

To an intravenous injection of 10 µg/rat of PGF_{2α}, the mesometrial microvasculatures responded with constriction and a substantial decrease in blood flow (Phot. 4).

4. Effect of local application of drugs on the rat mesometrial blood vessels

PGF_{2α}, applied topically in a concentration of 10 µg/0.1 mL, produced a greater degree of mesometrial vasoconstriction with more pronounced stagnation of blood than an equal dose of the PGF_{2α} by intravenous route (Phot. 4). Oxytocin evoked either dilatation or constriction of the rat mesometrial microvasculature, depending upon the stage in the

estrous cycle. Vasodilation, with an increase in blood flow, was brought about by local application of PGE₁. Local administration of adrenaline in a concentration of 0.1 µg/0.1 mL gave rise to a marked vasoconstriction with a diminution in blood flow from 5 seconds after the application (Phot. 5).

5. Responses of mesenteric and mesometrial blood vessels to vasoconstrictors and effect of PGE₁.

Constriction of arterioles and ensuing blood vessels of the mesenterium and mesometrium occurred following topical administration of angiotensin (0.1 µg/0.1 mL), adrenaline (0.1 µg/0.1 mL), noradrenaline (0.1 µg/0.1 mL), vasoressin (0.01 IU/0.1 mL), octopressin (0.0005 IU/0.1 mL) or 5-HT (100 µg/0.1 mL). The vasoconstrictive responses to these drugs were suppressed to various degrees by local application of 10 µg/0.1 mL of PGE₁.

flow also diminished after injection. The mesenteric and mesometrial blood vessels responded with constriction, accompanied by a decrease in blood flow in these microvessels [Fig. 2-(b)]. The blood pressure showed triphasic changes after an intravenous dose of 100 µg/rat of 5-HT; it fell and then rose, followed by a reedting. The uterine and skin blood flow decreased in response

6. Effect of PGs and other drugs on blood pressure, blood flow and microcirculation in rats

An intravenous injection of PGF_{2α} in a dose of 100 µg/kg elevation of blood pressure of 100 µg/kg elevation of blood pressure [Fig. 2-(a)], in a dose of 100 µg/rat, blood pressure fell after injection of PGF_{2α}; the skin blood flow decreased and the uterine blood

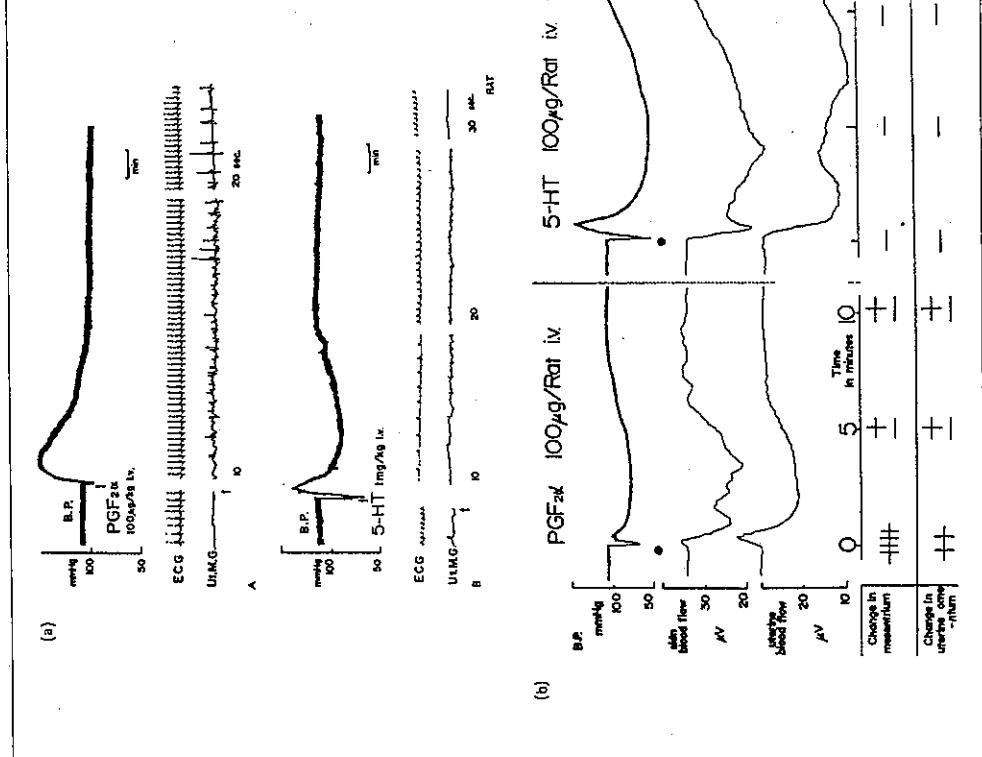


Fig. 2 Effects of PGF₂_α (a) and 5-HT (b) on the blood pressure, blood flow and microcirculation in rats

7. Effect of intraventricular injection of PGs and other drugs on the blood pressure, cutaneous blood flow and mesenteric blood vessels in the cerebral ventricle in rats
PGE₁, injected into the cerebral ventricle in a dose of 0.1 μ g/rat, produced a persistent reduction in blood flow and stagnation in the mesenteric and mesometrial blood vessels [Fig. 2-(b)].

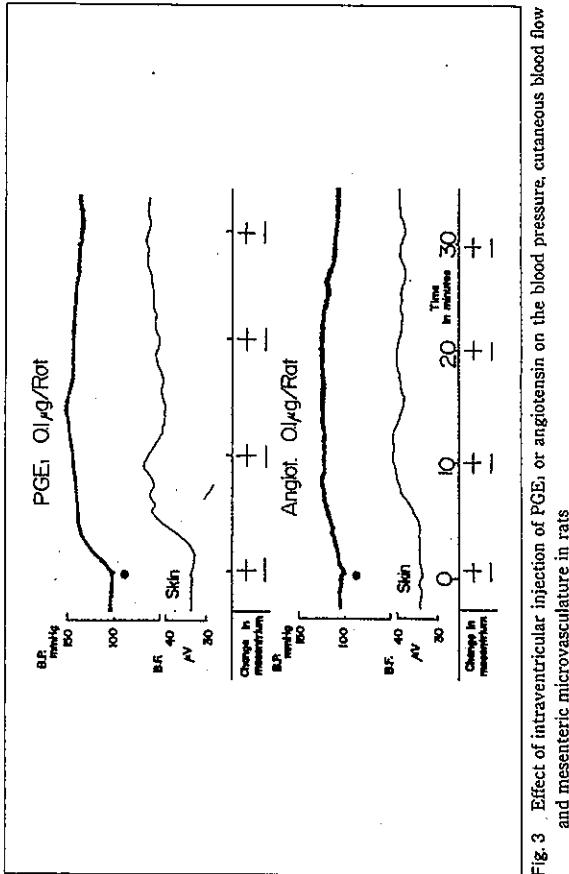


Fig. 3 Effect of intraventricular injection of PGE₁ or angiotensin on the blood pressure, cutaneous blood flow and mesenteric microvasculature in rats

elevation of blood pressure with an increase in skin blood flow.

The injection exerted little or no effect on the mesenteric blood vessels or blood flow [Fig. 3]. In response to intraventricular administration of 0.1 μ g/rat of angiotensin, the blood pressure was increased over a 30 min. period and the cutaneous blood flow also increased. The injection, however, did not affect the mesenteric blood vessels or blood flow to any noticeable extent (Fig. 3).

8. Effects of PGs and bradykinin on vascular permeability of the rat mesentrium

Local application of PGE₁, 1 μ g/0.1 mL, did not evoke any significant enhancement of mesenteric vascular permeability. Vasodilation and an increase in vascular permeability occurred following local administration of 1 μ g/0.1 mL of bradykinin (Phot. 6).

III Discussion

PGs of the E series, noticeably PGE₁, have been reported to possess vasopressor activity in a variety of mammalian species¹³. It has been suggested by Smith, et al.¹³ that the mechanism of vasodepressor activity of the PGE compounds consists in their direct action

cont. (40×)
brad. 1 μg/0.1 mL topic.cont. (100×)
permeability of bradykinin on the rat mesentrium
brad. 1 μg/0.1 mL topic.

Phot. 6 Effect of bradykinin on the vascular permeability of the rat mesentrium

upon the smooth muscle of blood vessels. Experiments to explore the influence of these substances on the peripheral microvasculature by direct *in vivo* microscopic observation, as an attempt to elucidate the underlying mechanism, have been reported. According to Weiner, et al.⁴⁾ PGE₁ applied topically onto the rat mesoappendix produced a diffuse dilatation of arterioles, metaarterioles, precapillary sphincters, and venules with a blood flow increase in the true capillary network. The vasodilator effect, however, was transient and vanished within 1 minute.

The present experiments with PGE₁ by topical administration in doses of 10 μg/0.1 mL demonstrated a similar transient microvascular dilatation of the rat mesenterium and mesometrium with an increase in blood flow.

Many reports in the literature^{5)~7)} have indicated that the vasodilator and blood flow increasing effects of PGE₁ are attributable to its direct dilator action upon the microvasculature although the underlying mechanisms are yet to be clarified.

There have been reports, nevertheless, showing evidence of an antagonistic action of PGE₁ against effects of vasoconstrictors. Weiner, et al.⁴⁾ described that PGE₁ inhibited the constrictor action of adrenaline and other vasoconstrictor agents. It was noted in the present investigation, similarly, that the local vasoconstrictor effects of topically applied adrenaline, vasopressin, angiotensin, noradrenaline or octapeptidin in the rat mesenterium and mesometrium were inhibited approximately 70 to 80% by subsequent topical administration of PGE₁.

In contrast, the local application of PGE₁

produced a significant improvement of blood flow in these microvasculatures against arteriolar spasms and subsequent dilatation and stasis evoked by 5-HT. This finding is somewhat inconsistent with the observation of Weiner, et al.⁴⁾ that the local constrictor response of mesenteric microvasculature to 5-HT was not appreciably modified by topical administration of PGE₁. 5-HT seems to have fairly intricate effects on the blood vessels: it was reported by Svanes⁸⁾ that metarteriolar constriction with a slow blood flow and venular dilatation and stasis occurred in the mouse conjunctival microcirculation following an intravenous injection of 5-HT.

With regard to the antagonistic effect of PGE₁ against vasoconstrictors, Mishima⁹⁾ has postulated that it reflects either a reduction in vascular wall responsiveness to constrictors with a consequent abolition of the vasoconstrictor effect, or a mere deduction of the dilator effect of PGE₁ from their constrictor effect.

Experiments were also conducted to assess the influence of intravenous administration of the vasoactive substances on the microcirculation. These drugs produced various effects upon the heart, blood vessels and blood pressure in animals, which were virtually consistent in general tendency with those observed after topical administration.

Local application of PGF_{2α} in a concentration of 10 μg/0.1 mL gave rise to a greater degree of vasoconstriction and showing of blood flow in the rat mesenterium and mesometrium with a prolonged duration of effects, when compared with responses to an intravenous injection of 10 μg/rat of the same PGF_{2α} compound. Thus the data have demonstrated that PGE₁ and PGF_{2α} exert

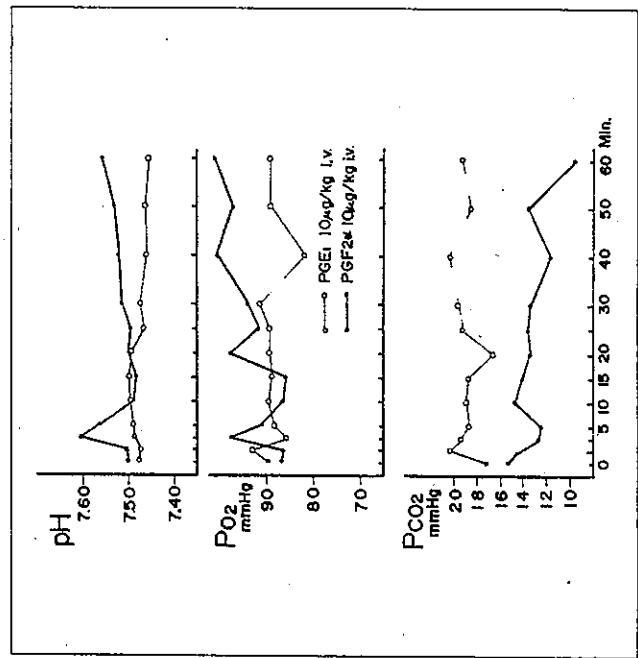


Fig. 4 Effects of PGs on blood gas levels in rabbits

different effects on the microcirculation, and this is essentially in accord with the report of Viguera, et al.¹⁰ on the microcirculatory effects of intravenously administered PGE₁ and PGF_{2α} in the rat mesoecum and cremaster muscle.

It has been described by Lloyd, et al.¹¹ that oxytocin has duality of action upon the blood vessels; it caused vasodilation in the mesenterium of rats in a stage of no estrogen secretion whereas a vasoconstrictor effect was evoked when applied during an estrogen secretion phase. We observed vasoconstrictor responses of the mesometrium in rats at estrus to local application of oxytocin in a subvascular concentration.

When injected into the cerebral ventricle of rats, both PGE₁ and angiotensin altered the systemic blood pressure but did not cause any noticeable change in mesenteric and mesometrial microvasculatures.

The finding with angiotensin is in congruity with the report of Anderson, et al.¹² that this substance did not exert any effect on the peripheral blood vessels when injected intraventricularly in vasopressor doses.

These finding would suggest that the vasoconstrictor effects of PGE₁ and angiotensin are mediated, at least in part, by the central nervous system. And it would seem probable that the peripheral vascular effects of topical application of these substances are due to their direct action in high concentrations upon the vascular wall.

The present results of tests for effect on vascular permeability in the rat mesenterium seem to indicates that PGE₁ is less active than bradykinin in increasing the vascular permeability of this structure. However, it of profound interest that the

- of insulinine of prostaglandin E in man. *Acta Physiol Scand.* 1959; 45 : 145-151.
- 6) Nakano J, Cole B. Effect of prostaglandins E1, A1 and F2α on the peripheral circulation. *Clin Res.* 1958; 16 : 110-110.
- 7) Kannegiesser H, Lee JB. Hormodynamic differences between prostaglandin A and E. *Clin Res.* 1970 ; 18 : 314.
- 8) Svanes K. Microcirculatory changes and general responses to 5-hydroxytryptamine in normothermic and hypothermic mice. *Acta Physiol Scand.* 1968 ; 72 : 404-411.
- 9) Mishima Y. Microcirculation and effects of prostaglandins. *Igaku-no-ayumi.* 1972 ; 81 : 305-307.
- <Acknowledgement>
- In concluding, the author wishes to extend his heartfelt gratitude to Dr. Muneo Miyasaka, Professor at Tokai University, for his collaboration in the experiments cited herein.
- This experimental study was conducted by the author at the Showa University, Tokyo, while the author was affiliated with and on the staff of the Department of Pharmacology I, the Showa University School of Medicine.

References

- 1) Strong CG, Bohr DF. Effects of prostaglandin E1, E2, A1 and F1a on isolated vascular smooth muscle. *Am J Physiol.* 1967 ; 213 : 725-733.
- 2) Nakano J, McCurdy JR. Cardiovascular effects of prostaglandin E1. *J Pharmacol Exp Ther.* 1967 ; 156 : 538-547.
- 3) Smith ER, et al. Mechanism of the hypotensive and vasodilator action of prostaglandin E1. *Clin Res.* 1967 ; 15 : 222.
- 4) Weiner R, Kaley G. Influence of prostaglandin E1 on the terminal vascular bed. *Am J Physiol.* 1969 ; 217 : 563-566.
- 5) Bergstrom S, et al. Observations on the effects

of insulinine of prostaglandin E in man. *Acta Physiol Scand.* 1959 ; 45 : 145-151.

- 6) Nakano J, Cole B. Effect of prostaglandins E1, A1 and F2α on the peripheral circulation. *Clin Res.* 1958; 16 : 110-110.
- 7) Kannegiesser H, Lee JB. Hormodynamic differences between prostaglandin A and E. *Clin Res.* 1970 ; 18 : 314.
- 8) Svanes K. Microcirculatory changes and general responses to 5-hydroxytryptamine in normothermic and hypothermic mice. *Acta Physiol Scand.* 1968 ; 72 : 404-411.
- 9) Mishima Y. Microcirculation and effects of prostaglandins. *Igakuno-ayumi.* 1972 ; 81 : 305-307.

- 10) Viguera MG, Sunahara FA. Microcirculatory effects of prostaglandins. *Can J Physiol Pharmacol.* 1969 ; 47 : 627-634.
- 11) Lloyd S, Pickford M. The responses of the vascular system in different phases of the reproductive cycle. *Proc Physiol Soc.* 1958 ; 21 : 37.
- 12) Anderson B, Westby O. Synergistic action of sodium and angiotensin on brain mechanism controlling fluid balance. *Life Sci.* 1970 ; 9 : 601-608.
- 13) Katori M. Interactions between bradykinin and prostaglandins. *J Jap Med Association.* 1979 ; 92 : 1080-1083.

62. 妊娠とセロトニン(特に妊娠中毒症との関連について)

大森赤十字病院 寺木良巳

A [基礎的研究] セロトニン (Serotonin, 5-hydroxytryptamine, 5-HT) は広く生体内に分布しており、妊娠の発達とともに胎盤、胎仔、羊水中にも見出されている。その生理的意義は明らかでないが本質をマウス、ラット、ウサギなどに大量投与すると子宮内の胎仔に有害に作用し、胎仔死、流産などを引き起こすことが知られている。特に妊娠末期において本物質は胎盤機能を低下する様に作用するのではないかと考えられる。そこでこれらの事項を中心検討した。

- 1) セロトニンによる子宮内胎仔致死と拮抗剤による影響 (表1)
妊娠16~19日目のマウスにセロトニン 15mg/kg 投与した所、子宮内胎仔致死率は 86.2% であった。拮抗剤 LSD 90μg/kg, Methysergide 11.1μg/kg で前処置すると致死率は夫々 20.2%, 11.9% と減少した。
- 2) 胎盤血管におよぼすセロトニンの影響
妊娠10ヶ月、満期分娩後の新鮮な人胎盤を用いて灌流を行ないセロトニンによる著明な灌流水量の減少を認め、この作用は拮抗剤である Methysergide などによって抑制された (図1)
- 3) 摘出セロトニンのラット体内分布ならびに胎盤通過について
C. -5-HT を非標識 5-HT と比較的大量ラットの頭脳より投与 5, 15, 30 分後 -70°C アセトン・ドライアイス中にて全身凍結し Kalberer の法にて処理、オートラジオグラムを得た。投与 5 分後より肺、心、肝、腎などにかなり高い取り込みがみられた。しかし胎盤への移行は緩慢である。30 分後から僅かな取り込みがみられた。しかし胎仔への移行は明らかでない (写真1)。
- 4) ラット体内におけるセロトニン分布ならびにセ負荷後血流、臓器への移行
セ負荷後、肝、腎、心などは血中濃度に比例して高濃度の取り込みがあるが、胎盤、胎仔、

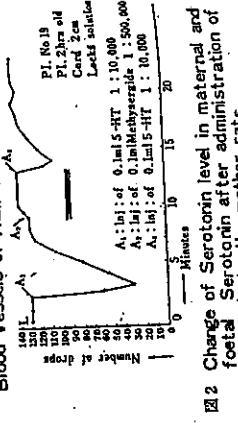
7食荷後、20分後、25分後

2) 胎盤血管におけるセロトニンによる著明な灌流水量の減少を認め、この作用は拮抗剤である Methysergide などによって抑制された (図1)
C. -5-HT を非標識 5-HT と比較的大量ラットの頭脳より投与 5, 15, 30 分後 -70°C アセトン・ドライアイス中にて全身凍結し Kalberer の法にて処理、オートラジオグラムを得た。投与 5 分後より肺、心、肝、腎などにかなり高い取り込みがみられた。しかし胎盤への移行は緩慢である。30 分後から僅かな取り込みがみられた。しかし胎仔への移行は明らかでない (写真1)。

4) ラット体内におけるセロトニン分布ならびにセ負荷後血流、臓器への移行
セ負荷後、肝、腎、心などは血中濃度に比例して高濃度の取り込みがあるが、胎盤、胎仔、
7食荷後、20分後、25分後

表1 Protective effects of LSD against the deleterious action of 5-HT in preg. on the 17-th day.
(Determined by Ashcroft method)

Group	Treatment	No. of pregr. mice	No. of fetuses (live/total)	Mean S.E. ug/ml or g. (No. of subj.) (Range=Min.)	Placenta /Clara *	Placenta /Maternal blood	Ratio
A	5-HT 15mg/kg	13	1/1/101	0.225±0.021(59) (0.77-0.95)	0.131±0.016(59) (0.75-0.93)	1.035±0.150(74) (15.70-12)	12.00±1.06(66)
B	5-HT 30mg/kg	9	0/9	-	-	-	-
C	LSD 30μg/kg	20	4/144	0.122±0.032(6) (0.28-0.66)	-	2.33±0.326(17) (5.75-6.98)	21.34±3.55(17)



Group	Treatment	No. of pregr. mice	No. of fetuses (live/total)	Maternal blood		Placenta		Ratio
				Mean S.E. ug/ml or g. (No. of subj.) (Range=Min.)	PI. No. 19	Postpartum blood	Card. blood	
A	5-HT 15mg/kg	13	1/1/101	0.225±0.021(59) (0.77-0.95)	0.131±0.016(59) (0.75-0.93)	1.035±0.150(74) (15.70-12)	12.00±1.06(66)	
B	5-HT 30mg/kg	9	0/9	-	-	-	-	-
C	LSD 30μg/kg	20	4/144	0.122±0.032(6) (0.28-0.66)	-	-	-	-
D	LSD 90μg/kg	17	10/134	0.101±0.026(10) (0.16-0.04)	-	-	-	-
E	LSD 30μg/kg	4	35/35	0.122±0.032(6) (0.28-0.66)	-	-	-	-

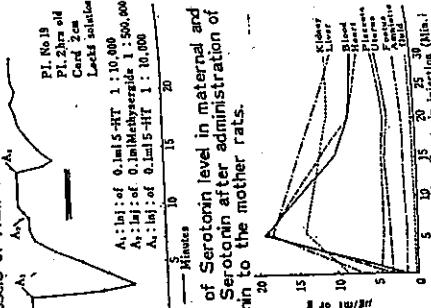


図2 Results of 5-hydroxytryptamine assays in pregnancy
(Determined by Ashcroft method)

Group	Treatment	No. of pregr. mice	No. of fetuses (live/total)	Maternal blood		Placenta		Ratio
				Mean S.E. ug/ml or g. (No. of subj.) (Range=Min.)	PI. No. 19	Postpartum blood	Card. blood	
A	5-HT 15mg/kg	13	1/1/101	0.225±0.021(59) (0.77-0.95)	0.131±0.016(59) (0.75-0.93)	1.035±0.150(74) (15.70-12)	12.00±1.06(66)	
B	5-HT 30mg/kg	9	0/9	-	-	-	-	-
C	LSD 30μg/kg	20	4/144	0.122±0.032(6) (0.28-0.66)	-	-	-	-
D	LSD 90μg/kg	17	10/134	0.101±0.026(10) (0.16-0.04)	-	-	-	-
E	LSD 30μg/kg	4	35/35	0.122±0.032(6) (0.28-0.66)	-	-	-	-

図3 Results of 5-hydroxytryptamine assays in pregnancy
(Determined by Ashcroft method)

図4 Autogram showing the distribution of ¹⁴CH₄ in a pregnant rat 30 min. after i.v. inj. of CH₄-HT

EXPERIMENTAL APPROACHES TO THE PLACENTAL DYSFUNCTION CAUSED BY SEROTONIN AND PROSTAGLANDINS

DR. YOSHIMI TERAKI
DR. HIDEAKI NAGUMO

Tokyo JAPAN

In case of clinical application of Prostaglandins (PGs) which have been lately developed, the utero-placental hemodynamics should be elucidated with their uterotonic actions, since it has been considered hitherto that the intrauterine drohender asphyxia of fetus is partly caused by decrease of utero-placental functions, especially by decrease of utero-placental blood flow. It has been known that serotonin (5-hydroxy-tryptamine) given to rodents in any stage of pregnancy has the actions to produce abortion and intra-uterine fetal death. It is considered that this lethal action of serotonin is partly due to the dysfunction of utero-placental circulation. On the other hand, Prostaglandins are also known to have abortifacient as well as oxytocic action. In the present experiment, effects of both the substances on the utero-placental circulation were investigated and the following results were obtained:

Serotonin antagonism in placenta.

The injection of serotonin to mice in late stage of pregnancy can bring about the intra-uterine fetal death without giving any apparent effect on pregnant rat (Photo. 1). LSD 2S, Methysergide, etc. protect animals against this toxic effect (Table 1).

Table 1. Protective effects of LSD against the deleterious action of 5-HT in pregnant on the 17-18th day.

Group	Treatment	No. of preg. mice	No. of foetus (live/dead)
A	SHT 15mg/kg	13	14/101
	SHT 30mg/kg	9	9/69
B	LSD 30μg/kg +5-HT	20	48/144
	LSD 30μg/kg +5-HT	17	107/134
C	LSD 30μg/kg	4	35/65

Protective effects of Methysergide against the deleterious action of 5-HT in pregnancy on the 17-18th day

Group	Treatment	No. of preg. mice	No. of foetus (live/dead)
A	SHT 15mg/kg	13	14/101
	SHT 30mg/kg	9	9/69
B	Methy. 3.7μg/kg +5-HT	26	57/181
	Methy. 11.1μg/kg +5-HT	8	52/59
C	Methy. 3.7μg/kg	3	27/27

Effects of serotonin and PGs on blood vessels of rat uterine omentum.

In the present experiment, observation of the terminal vascular bed was made by using blood vessels of rat uterine omentum according to the microcirculation method. By the topical application of 10 μg

of PGF2α, vasoconstriction of those vessels minor than arteriole as well as blood flow stasis were observed. Adrenaline (Photo. 2), nor-adrenaline, vasopressin produced vasoconstriction, while PGE1 caused vasodilatation and increase of blood flow, thus PGE1 antagonized against adrenaline, angiotensin, and serotonin (Fig. 1.). On the other hand, the intravenous administration of 10 μg/rat of PGE1 resulted in a transitory blood flow stasis and 10 μg of PGF2α produced vasoconstriction and stasis of blood flow (Photo. 3.). By the administration of 10 mg of serotonin, vasodilatation and blood flow stasis were observed.

3) Effect of PGs etc. on the uterine and placental blood flows were measured by means of the crossed thermocouple. Uterine blood flow in non-pregnant rat was observed to decrease by intravenous administration of 100 μg/kg of PGE1, oxyt. 0.2 I.U. and 1 mg/kg/rat of serotonin (Fig. 2.). However, in some cases with PGF2α, increase after a transitory decrease was observed (Fig. 3.).

The result in the placental blood flow after intravenous administration of PGF2α is shown in Fig. 4. As it is seen in the Fig., slight inhibition of respiration and the marked elevation of blood pressure were observed in non-pregnant rats. Decrease in placental blood flow was also observed, but the degree was slighter than that due to serotonin. It was observed that 50 μg/kg/i.v. of PGE2 decreased placental blood flow and 50 μg/kg of PGE1 first decreased and then increased it (Fig. 5.), while serotonin markedly decreased it.

4) Effect on human placental blood vessels.

Actions of PGs etc. on the human placental blood vessels were determined by placental perfusion with Locke-Ringer solution, using a fresh human placenta of the normal delivery at term (Fig. 6.). The decrease of perfuse volume due to serotonin in the isolated human placental blood vessel was antagonized by the pretreatment with LSD (Fig. 7.). Perfuse volume was slightly increased by intravascular injection of 10 μg of PGE1, and elevation of perfuse pressure and decrease of perfuse flow were observed by intravascular administration of 10-100 μg of PGF2α. Contractions elicited by PGF2α and adenalin were antagonized by the pretreatment of PGE1 (Fig. 8.). PGE1 produced relaxation of umbilical arteries and chorionic plate vessels, while PGF2, PGF2α and serotonin elicited contraction of them.

5) The blood gas measured on blood of rabbit femoral artery showed increase of PO₂ and decrease in PCO₂ by intravenous injection of PGF2α, which were probably due to the result of excess respiration. Slight increase of PO₂ was observed with oxytocin (Fig. 9.).

6) Angiography of pelvic artery in rabbit showed contractions of arteria iliaca externa et interna and arteria ilolumbalis by administration of serotonin and slight contraction provoked by PGF2α (Photo. 4.).

7) Haemorrhages in rat placenta were observed with serotonin in pregnant rats and by the extra-ovular administration of PGF2α, degeneration and necrosis of chorionic stroma were observed in human. 8) Body distribution and placental transfer of serotonin and 14-C serotonin into various organs but the placental uptake was very low, which may be due to lowered placental function (Photo. 5.).

From these results, it is presumed that serotonin, PGF2α, etc. have possibility to provoke placental dysfunction by decreasing uterine and placental blood flow, in case where dose and degree of duration of action is appropriate.

Photo. 5.

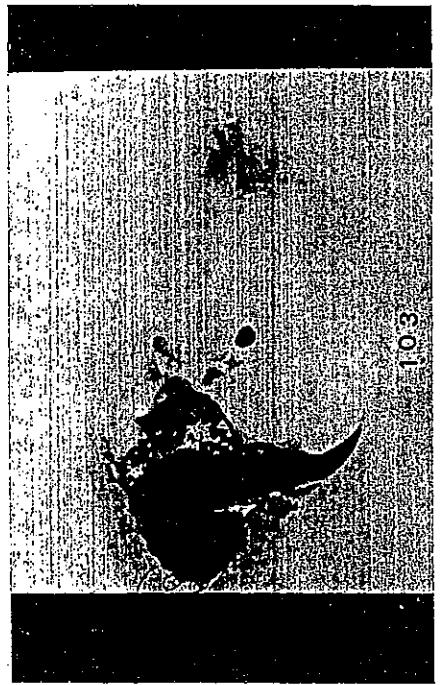
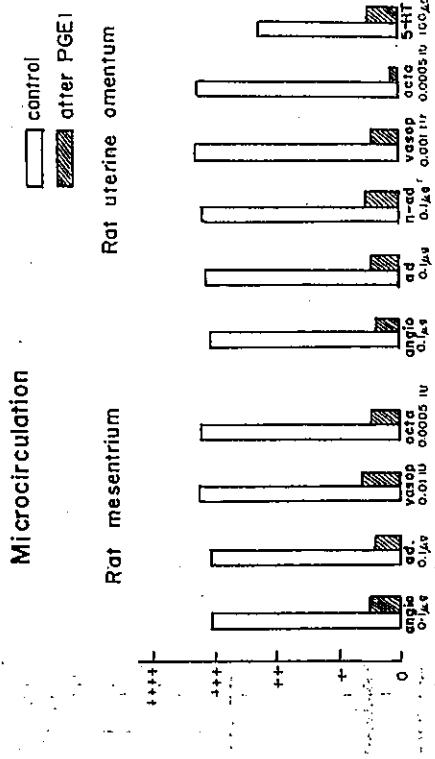


Fig. 1.



275

Fig. 2.

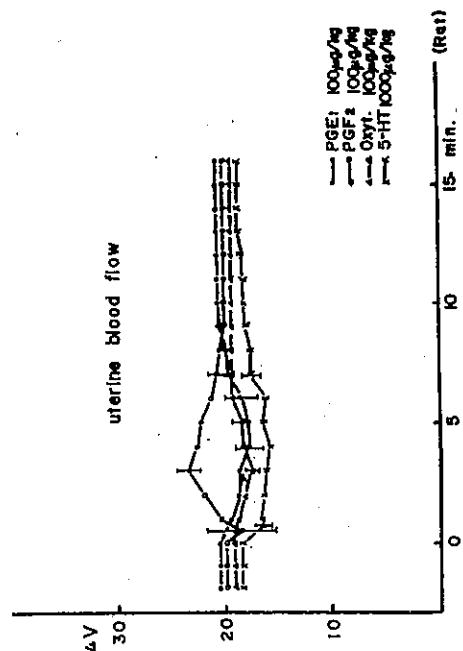
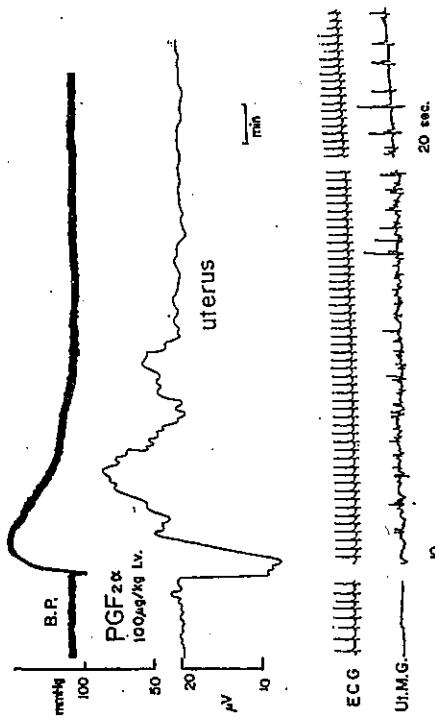


Fig. 3.



276

Fig. 4.

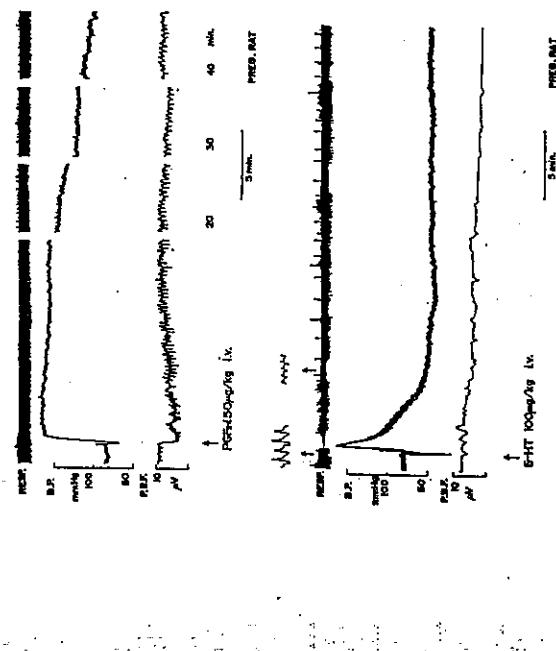


Fig. 6.

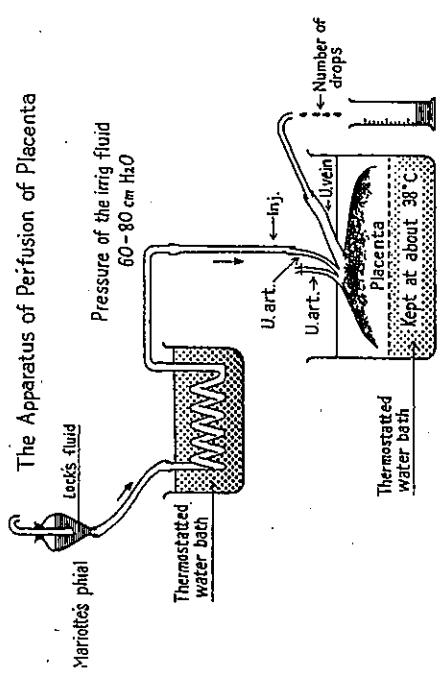


Fig. 5.

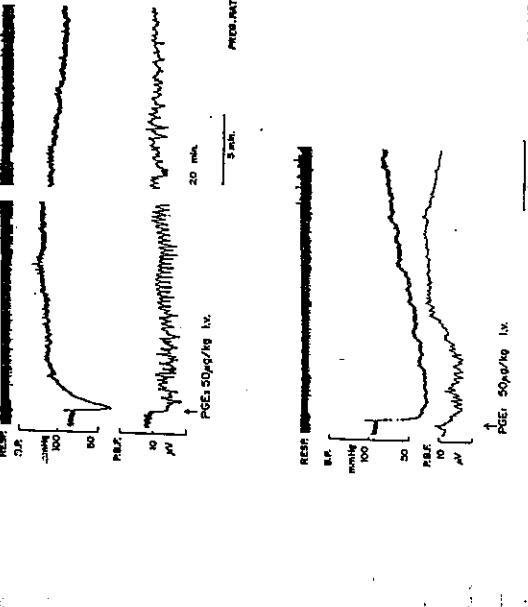
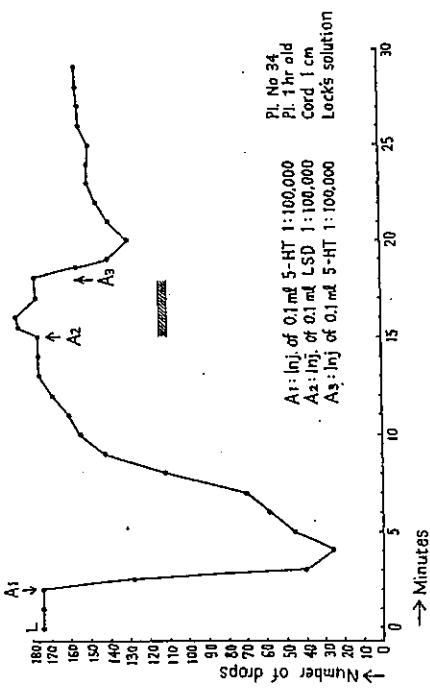


Fig. 7.



研修ノート No.64

妊娠中毒症

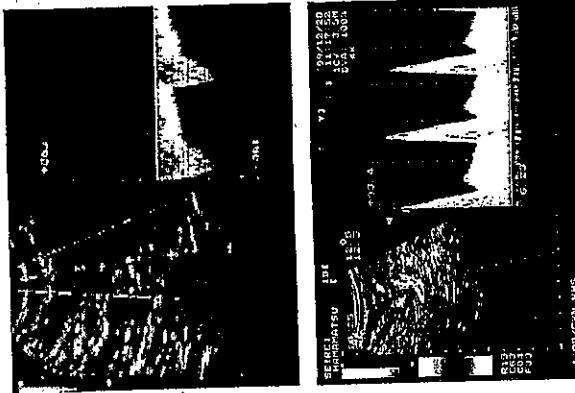


図8 子宮動脈血流波形
上：正常 下：重症妊娠中毒症（妊娠28週）

血管収縮は、血管収縮物質と拡張物質のアンバランスに起因する。すなわち、血管作動物質のバランスが妊娠中毒症では収縮側に偏位していると考えられる。

〔妊娠中毒症の血管収縮に関する血管作動物質〕(表17)

- 1) カテコールアミン
1970年代に血中ノルエピネフリン、エピネフリンの測定から妊娠中毒症は、交感神経の活性化した状態であるということがZuspanらによって指摘された。そして、妊娠中毒症の病因に交感神経がクローズアップされた。しかし、交感神経の活性化を客観的にとらえることの難しさから、その後の研究が遅れていた。最近、カテコールアミン以外の交感神経活動を測定する方法を用いた研究が行われるようになつた。
※交感神経系の刺激により種々の血管作動物質が放出され血管収縮の一因となる。

社団法人
日本母性保護産婦人科医会
—平成13年3月—

表17. 妊娠中毒症の病態 (1)

血管壁細胞 [関与する血管作用物質]	
1) カテコールアミン	α_2 adrenoreceptor ・ニユーロペプタイドY ・ニユーロキニンB
2) NO	
3) エンドセリン	
4) セロトニン	
5) PG系	・プロスタサイクリン ・トロンボキサン
6) アンジオテンシンII	

cGMP産生機構が障害されていると考えられている。NO合成酵素の阻害薬を妊娠動物に投与すると、妊娠中毒症様病態が得られることが知られている。

3) エンドセリン

血管内皮から産生される強力な血管収縮物質である。ET-1～ET-3まで3種のファミリーを形成している。血管平滑筋に存在するET受容体と結合し phospholipase Cを活性化し細胞内カルシウム濃度を上げ平滑筋収縮を起こす。血中ET-1濃度は、重症妊娠中毒症やHELLP症候群では上昇する。重症化には関与していると考えられるが初期の病態に関与するかは不明である。

4) セロトニン

血小板に多量に含まれており血小板の活性化時に血中に放出される。セロトニンの代謝物である5-HTは妊娠中毒症で上昇している。また、セロトニンタイプ2レセプターブロッカーであるケタンゼリンが妊娠中毒症の予防に有効であることが、欧米では報告されている。

5) PG系

妊娠中毒症では血管内皮で産生され血管拡張作用、抗血小板作用のあるプロスタサイクリン(PGI₂)の産生が減少し、血小板で産生されたPGI₂とは逆の作用をもつトロンボキサン(TXA₂)が増加し、バランスの失調が起こっている。その結果、血管攣縮の要因となる。低用量のアスピリントン塗布の理論的背景になっている。また、わが国のデータでは、TXA₂合成酵素は妊娠中毒症の予防に有効である。

6) アンジオテンシンII

アンジオテンシンII(A-II)は、血管平滑筋に直接作用して交感神経を刺激したり、アルドステロンの分泌とナトリウムの貯留を介して昇圧作用を示す。妊娠中毒症では、A-IIに対する不応性が亢進していて血管は収縮しやすい状態にある。

NOは血管平滑筋の細胞質内の可溶型 guanylate cyclaseに結合し cGMPを産生し、カルシウムイオン濃度を低下させ平滑筋を弛緩させる。妊娠中毒症の血中ではNOの代謝産物濃度は、減少している。妊娠中毒症では

(2) 血管内皮障害

血管内皮障害には、thrombophiliaと白血球の活性化が関係している(表18)。



表18. 妊娠中毒症の病態（2）

① thrombophilia : トロンビンが過剰に産生され血栓のできやすい状態

[原因]

- プロテインC低下症
- プロテインS低下症
- APC resistance
- 高ホモシスチン血症
- 抗リン脂質抗体症候群

② 白血球の活性化：

- フリーラジカルの産生
- 過酸化脂質
- エラスター \uparrow
- 炎症性サイトカイン \uparrow

1) thrombophilia

トロンビンが過剰に産生され血栓のできやすい状態を thrombophilia といふ。

妊娠中毒症は血小板の活性化・凝固の亢進によりトロンビンが過剰に産生され、その結果、慢性DIC状態であることが明らかになっている。血管内皮上で凝固が血管内皮障害の原因となる。寺尾らは、妊娠中毒症の臨床症状（高血圧、蛋白尿、浮腫）と血液凝固が互いにきわめてよく相関することを見い出している（図9）。さらに、トロンビンのインヒビターであるアンセトロンビンⅢ（ATⅢ）を妊娠中毒症に投与すると、妊娠中毒症の臨床症状が改善することを報告した（図10）。先天的、あるいは後天的異常によりthrombophiliaの状態となる妊娠中は、妊娠中毒症が高頻度に発生する。

分娩時の高血圧発症機序と母児リスク

Mechanism of intrapartum hypertension and feto-maternal risk

日高 敦夫^{1,2)} 廣田 審一¹⁾ 福田 洋¹⁾
HIDAKA Atsuo HIROTA Keiji FURUDA Hiroshi西村 淳一¹⁾ 中本 収³⁾
NISHIMURA, Zenichi NAKAMOTO Osamu¹⁾医和住吉総合病院 産婦人科 ²⁾元大阪市立総合医療センター 副院長 ³⁾大阪市立総合医療センター

Key Words ■ Intrapartum hypertension, feto-maternal risk, oxidative stress, sFlt-1, blood redistribution, vasa lva maneuver

分娩時の血圧測定的重要性は周知されているが、入院時や分娩初期の血圧が正常を示せば、“多く分娩は正常に経過するだろう”と言う先入観から、その後の血圧測定に關し、とくに準・夜間帯では意外と疎かにされ、少なからず分娩時高血圧が看過されている。しかも、これら症例は入院管理下であるにもかかわらず高血圧を伴い、子宮や脳出血など重篤な症例を時に経験する。なかには医事紛争となつた判例に、分娩初期正常血圧産婦が分娩途中に子宮発作と重症高血圧を認め、脳出血と左半身麻痺を遺した症例がある。この際、血圧監視義務が紛糾の争点となり、血圧測定により上昇傾向を認知しておれば、適切な処置を施し脳出血を防止し得たものと推認されている。いざにせよ、妊娠時高血圧症例の分娩時はもちろんのこと、たとえ妊娠時正常血圧であっても、分娩時には両者ともに血圧が上昇しやすいことから、分娩時並びに産褥早期の血圧が正常に回復するまで血圧測定を繰り返し行う管理体制が必要である。

分娩時の血圧測定間隔に關し、エビデンスに基づいたコンセンサスではなく、任意に行われている。1997年日本妊娠中毒症学会（現・日本妊娠高血压学会）の「妊娠中毒症の分類、定義に関する問題検討小委員会」にて高血圧発症時期として分娩時高血圧を明記する必要性を提唱した（妊娠中誌1998；6）。その後、2001年に発展的解消を遂げ、改めて小委員会が設置され約2年間をかけ15回にわたる精力的な検討のうえ、「妊娠中毒症」を「妊娠高血压症候群の名稱、定義・分類」と改めし（妊娠中誌2002；10, 2003；11）、発症時期として早発しやすく、しかも分娩時・産褥早期に子宮が発症するリスクは高い、たとえば、2005年Sibaiら¹⁾は、子宮発症頻度は妊娠後期の38～53%、分娩

時に18～36%，そして産褥期には11～44%に認めている。他の報告でも、分娩子宮発症頻度（産褥6時間を持む）は全子宮発症例の79%（19/24）を占め、分娩子宮の53%（10/19）がLOH（labor onset hypertension）で、59例は発症前重症高血圧であり、ほかは重症高血圧を認めていない。したがって、分娩子宮発作前の血圧は必ずしも重症高血圧を呈しているとは限らない²⁾。また、愛知県周辺での子宮発症（54例）頻度は妊娠時が13%、分娩時22%，産褥期45%にみられている³⁾。つまり、分娩子宮より短期間での発症であり、分娩密度は高く、しかもほとんどの症例があり、発症密度は高くなる。したがって、産入院管理下でのイベントである。分娩時に上昇しやすい血圧の把握と子宮発症を未然に防止する管理体制の確立による。

ちなみに、分娩時高血圧の分類、定義に関する問題検討小委員会にて高血圧発症時期として分娩時高血圧を明記する必要性を提唱した（妊娠中誌1998；6）。その後、2001年に発展的解消を遂げ、改めて小委員会が設置され約2年間をかけ15回にわたる精力的な検討のうえ、「妊娠中毒症」を「妊娠高血压症候群の名稱、定義・分類」と改めし（妊娠中誌2002；10, 2003；11）、発症時期として早発しやすく、しかも分娩時・産褥早期に子宮が発症するリスクは高い、たとえば、2005年Sibaiら¹⁾は、子宮発症頻度は妊娠後期の38～53%、分娩

代表的国際学会分類に明記されていないこともあり、さらに各国際学会分類との整合性を図るために、今回は見送ることになった。

そこで、分娩時高血圧発症のリスクと背景因子として生理的、並びに生化学的な角度より病態を解析し、分娩時の血圧測定の意義を改めて強調したい。

分娩時高血圧発症の背景 hypertension; LOH)の臨床

1. 分娩時高血圧発症の背景

LOH 発症背景に、高血圧家族歴、妊娠時蛋白尿、妊娠20週にて白眼球増加、36週以降の収縮期圧>130mmHgなどが認められ¹¹。さらに分娩前3週間以上にわたる高血圧は、それ以下に比し分娩時に重症高血圧・子瘤発作を伴いやすい¹²。

LOH は、正常血圧群に比し分娩第一期後半より血圧上昇がみられる¹³。一方、分娩時重症高血圧は、分娩の進行とともに血圧の重症化がみられ、とくに分娩第二期の有意な血圧上昇は、早発型 PIH、加重型 PIH が発症の背景となる¹⁴。

2. 分娩時高血圧発症の頻度

LOH 発症頻度は正期分娩(11,812例)の12% ($P > M$)に認められる¹⁵。そして、全妊娠高血圧症群 PH(393)妊娠3,254例)の45.3%(178/393)が LOH を呈し¹⁶、さらに妊娠高血压症の分娩前8.8/1.8%、分娩時も含めると30/5.6%の増加をみる¹⁷。

したがって、分娩時に初めて高血圧を発症、並びに重症化する頻度は12~45%程度に認められる。

3. 分娩時高血圧発症の母児リスク

LOH の母児予後に關し、(1)母児予後の不良を認めず(ただし MeSO₄を投与)¹⁸、とくに軽症 LOH の児予後は正常例に比し変わらず、むしろ児体重

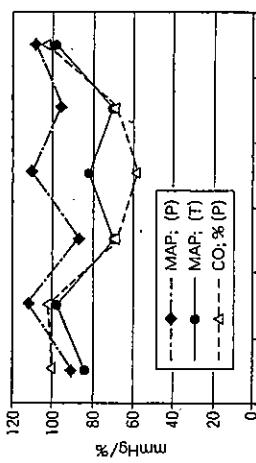


図1 Valsalva maneuver の血圧と心拍出量の変動
圧：40mmHg, 頭位位, (P) : Pott F(n=10); (T) : Tiecks FP(n=10); (Pott F, 2003¹⁹; Tiecks FP, 1995²⁰より改変)

低下に対する交感神経反応、つまり主に carotid sinus の baroreceptor が作動し、血圧の上昇回復と心拍数の増加(IIb相；II相後期)をみると。(3) ここらえを中断すると、胸腔内圧の急な低下が動脈血管系に再び伝播し一過性の血圧低下(IV相)が起こり、一方では心房へ血液が充満される。そして、なおも全身血管抵抗は依然高いままである。次いで、(4)心房への血液充満が正常化された後も交感神経の緊張と全身血管抵抗の高まりが依然持続し、血圧は上昇を持续する(IV相)。このうえ、第二期の産婦では更なる子宮収縮の影響が加わり心拍数は増加するが、一回心拍出量は低下し、これまで分娩第一期でみられたほど的心拍出量増大はみられない¹⁹。しかし、共圧陣痛時の血圧上昇は分娩第一期収縮時より強くなる。

共圧陣痛時の子宮収縮と間欠時子宮収縮による oxidative stress

3. 分娩時子宮収縮と間欠時子宮収縮
Ischemia-reperfusion(hypoxia→reoxygenation)による oxidative stress

分娩時陣痛時の子宮収縮における ischemia-reperfusion(hypoxia→reoxygenation)はやがて ischemia-reperfusion injury となり oxidative stress(酸化ストレス)を招く。その結果として、xanthine dehydrogenase の xanthine oxidase (XO)への転換が、経産分娩後の胎盤組織中では選択的帝王切開後の胎盤に比し高濃度に認め²¹。同じく oxidative stress parameter である thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) も経産分娩の母児で高値を示す²²。

次いで、oxidative stress は、proinflammatory cytokines や anti-angiogenic factors を母児によっても産み出る²³。

2. 分娩時疼痛による stress hormone

分娩時疼痛により stress hormone 分娩時疼痛の母児による VM による動脈波形は 4 相を呈し^{24,25}(図 1)。まず、(1)いきみによる胸腔内圧の上昇が動脈血管に伝播し、初期に血圧が上昇(I相)する。さらに、(2)息こらえの結果は、ICP(頭蓋内圧)の上昇が持続し、同時に静脈還流の減少(心房への血液充満を低下させ)一回心拍出量が減少)に伴う軽度血圧低下を。そして反応性頸脈を呈す(IIa 相；II 相初期)。この際、健康なヒトでは、血圧

体循環中に増量させる。すなわち、syncytiotrophoblastでのnuclear factor-kappa B(NF- κ B) pathwayの活性化、p38、さらにstress-activated protein kinase mitogen-activated protein kinase(MAPK)などの活性化を誘導し、次いで、HIF-1 α の増加安定化とVEGF soluble receptor-1(sfIt-1)の増加を招く、同時に、activin Aの上昇とPIGFの減少(いずれもpreecclampsia)が認められる。そのうえ、apoptosisも伴う。一方、胎盤hypoxiaによるsfIt-1の増加とVEGFの減少が胎盤や血管でのsuperoxide産生を高めるとともに、VEGFRの増加が見られる²⁴。したがって、oxidative stressとantiangiogenic factorsとは互いに悪循環を招く。

こうした変化の程度は分娩の持続期間と相関することから、分娩時に曝された胎盤の分子レベルはもはや妊娠中の正常な状態を反映していない²⁵。子宮収縮を促すPGsは子宮内組織から分泌されるproinflammatory cytokinesにより刺激されたcyclooxygenase(COX)の活性化により誘導される²⁶。さらには、ROS/reactive oxygen species:活性酸素量)はSNS(sympathetic nervous system)の活性化に関与し、高血圧の病態を招く可能性が報告されている。NOは中枢のSNS活性に対し

tonicな抑制をもたらせ、ROSの産生増加はNOの活性化を抑制し、結果としてSNSの活性に繋がり高血圧を招く²⁷。

4. 陣痛時の antiangiogenic factors(sfIt-1, sEng)

陣痛時の antiangiogenic factorsの変化にさきがけ、妊娠経過中の変動から述べる。

1)妊娠経過(正常妊娠、並びにpreecclampsia; PE)における antiangiogenic factors

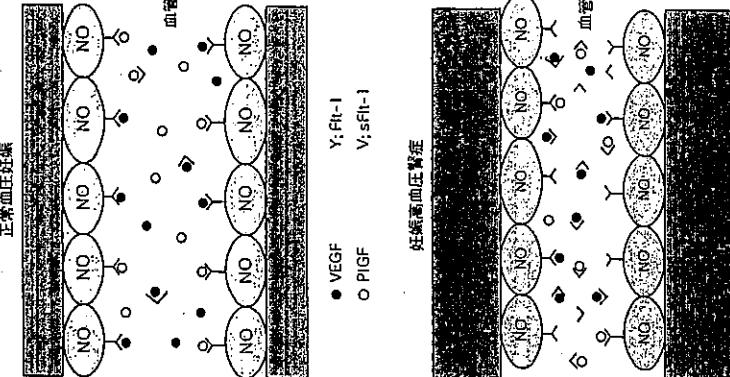
Preeclampsia(PE)でのsfIt-1とsEngは妊娠経過とともに上昇し、いずれも正常妊娠より高値を示す一方(図2)、angiogenic factorのPIGHは逆に低下し、正常妊娠より低値を見る²⁸⁻³⁰。正常妊娠妊娠においても、妊娠中期から後期にかけてPIH診断基準以下の軽度血圧上昇ではあるが、血中sfIt-1の上昇²⁹(図2)、あるいはVEGFの低下²⁹を認める。そして、sEngとsfIt-1/PIGFの正の相關も認められている³⁰。

したがって、妊娠経過に伴う antiangiogenic factorsの上昇はPEだけでなくgestational proteinuria³¹や正常妊娠妊娠においても程度ながら認められる(図2)。

増加したsfIt-1は血中freeのVEGFとPIGFと結合し、freeのangiogenic factorsの血中濃度を低下させる。sfIt-1は血管内皮細胞における

これらproangiogenic factorの有益な効果を低下させ、高血圧や蛋白尿をもたらす(図3)。同じく過度なsEngもtransforming growth factor- β のproangiogenic効果を抑制する。そして、いずれも血管内皮細胞機能を障害し、NO依存の血管拡張とvasomotor効果を阻止する³²⁻³⁴。

さらに、PEにおける病態の重度はangiogenic



2)妊娠時の Preeclampsia と陣痛時における Oxidative stressによる sfIt-1, sEng 変化の相

既述のごとく、PEの病因・病態に関し、angiogenic factors(VEGF, PIGF)のantagonistであるsfIt-1の血中増加は胎盤乏血に起因する oxidative stressが関与し、sfIt-1の増加は同時に freeのPIGFとVEGFの減少を伴う²⁹。こうした現象は、繰り返す分娩時の子宮収縮によっても同様な成績が得られる²⁹。さらに、HIF-1 α も陣痛により増加し、VEGFとsfIt-1の産生制御にかかわり、その安定性はhypoxiaにより增强される。しかし、non-hypoxic conditionでもinflammatory cytokinesによってHIF-1 α が増強される²⁹⁻³²。

したがって、PEを召す病態、並びに陣痛によりもたらされる病態は、いずれも胎盤乏血による oxidative stressによる antiangiogenic factors の上昇を示し、なかには胎盤循環障害が急速に進展し、急激なpreeclampsiaの病態をみることがある。したがって、PIH妊娠の分娩時は、陣痛による oxidative stressの相乗作用による更なる病態の増悪が示唆される。

5. 分娩経過と antiangiogenic factors と placental proteins

子宮発症頻度の半数以上は分娩時と産褥期にみられ、なお産褥期の多くは分娩後48時間以内に発症するが、12%はlate postpartum eclampsia(48時間以後)である³⁵。このように、PEや子宮が分娩時や産褥期に初発する背景に、分娩中や胎盤娩出後の antiangiogenic factorsであるsfIt-1, sEng, そしてplacental proteinsであるinhibin A, activin Aなどの変動が示唆される。

分娩経過と angiogenic、並びに antiangiogenic factorsの変動は、分娩経過中もsfIt-1と

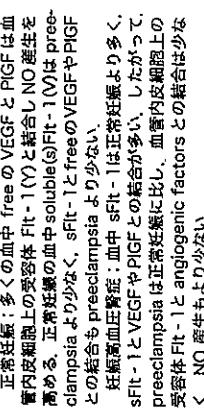


図 3 正常妊娠:多くの血中 free の VEGF と PIGF は血管内皮細胞上の受容体 Fit-1 (Y) と結合し NO 産生を高める。正常妊娠の血中 solubles(s)Fit-1(V) は preeclampsia より少なくて、sfIt-1 と free の VEGFやPIGF の結合も preeclampsia より少ないので、妊娠高血圧発症: 血中 sfIt-1 は正常妊娠よりも多く、sfIt-1 と VEGFやPIGF の結合が多い。したがって、preeclampsia は正常妊娠に比し、血管内皮細胞上の受容体 Fit-1 と angiogenic factorsとの結合は少なく、NO 産生も少ないので、

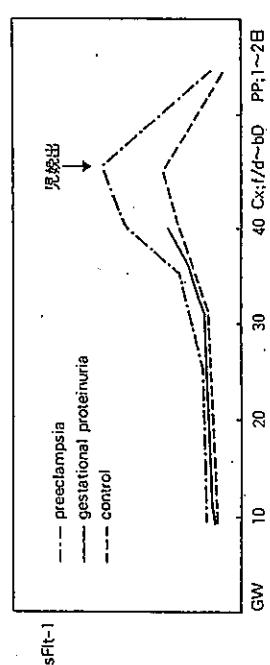


図 4 妊娠、分娩、産後 1~2 日における相対的 sfIt-1 の変動
— preecclampsia
--- gestational proteinuria
- - - control
GW: 頭全周大, BD: 児娩出前, PP: 産後
Cx:f/d: 頭全周大, BD: 児娩出前, PP: 産後
— preecclampsia と angiogenic factorsとの結合は多く、preeclampsia は正常妊娠に比し、血管内皮細胞上の受容体 Fit-1 と angiogenic factorsとの結合は少なくて、NO 産生も少ないので、

頸管全閉大時のPEにおけるsFlt-1は高値を示す(図2)。なお、正常経産分娩頭管全開大時も有意ではないがその傾向をみる。一方、PEのsEngは正常時に比し高く、全閉大時増加傾向をみると明らかでない。さらに、なお正常妊娠でのsEng変動も明らかでない。胎盤分娩の分娩出時ににおいてもsFlt-1血中濃度は正常圧、軽症PE、そして重症PEの順位に高値を示す一方(図2)、児娩出時のfree VEGFとPIGFは正常圧より軽症PE、さらに重症PEの順に低値を示す²³⁾。そして、いずれも分娩48時間後には急速に低下するが、重症PE²³⁾は他に比しなおも高い傾向を持つ。

Activin Aは胎盤のほかに mononuclear cellや血管内皮細胞にて產生され、これはPEでの頸管全閉大時に増加し、また正常血圧例でも絨毛膜全閉大時にて有意ではないが増加傾向をみる²⁴⁾。しかし、inhibin Aは明らかでない²⁵⁾。したがって、分娩頸管全閉大時は頸管発来前に比し sFlt-1と activin Aの増加がPEで明らかであり、有意ではないがこの傾向は正常妊娠婦でもみられる。そして、正常妊娠、並びにPEとともに分娩出24時間後は angiogenic、並びに anti-angiogenic factorsの減少と同様に activin Aや inhibin Aを急速に減少する²²⁾。

胎盤の hypoxia は、activin Aと sFlt-1を *in vitro* で変化させる²⁶⁾。また、oxidative stress は、胎盤や血管内皮細胞から activin A 產生・分泌を高める。つまり、PEでの activin A の增加、また選択的C/Sに比し経産分娩時の activin A の増加は、oxidative stress に起因する可能性が示唆されている²⁷⁾。

Activin A, inhibin A は正常分娩における hypoxic reperfusion による増加は必ずしも明らかではないが、PEにおける chronic placental hypoxia の存在下では、分娩時 activin A の產生が高いため、つまり、PEにおいて proinflammatory cytokines に曝されることも activin A の増加に繋がる。そして、これらの影響は分娩遷延により増加する²²⁾。ところで、分娩経過という短期間の間に sFlt-1

や activin A の上昇が分娩時の血圧上昇に如何にかかわっているのか今後の課題である。しかし、少なくともマウスへの adenovirus carrying sFlt-1 静注による血圧上昇の時間軸は、sFlt-1血中濃度の増加を反映している²⁸⁾。

まとめ

分娩時の血圧上昇は、生理学的には子宮収縮が招く血流再分配により心拍出量の増加、そして妊娠子宮による腹部大動脈圧迫、さらには井圧痛などに伴う valsalva maneuver などに影響される。そして、生化学的には catecholamines を主とする stress hormone、そして繰り返し陣痛がもたらす子宮胎盤 ischemia と reperfusion は oxidative stress を招き、proinflammatory cytokines や anti-angiogenic factors を誘導する。しかも、こうした現象は胎盤乏血に起因した妊娠時 preeclampsia の病態との間に相同意が認められる。そこで、妊娠時 preeclampsia の分娩時は、分娩経過とともに明らかに sFlt-1と sEng、並びに activin A の濃度が増加し、血圧も明らかに上昇する。一方、妊娠時正常血圧例の分娩時も分娩進行に伴い、明らかではないが sFlt-1などの増加傾向がみられ、極して血圧も腫脹ながら上昇傾向をみる。したがって、分娩時の高血圧は、妊娠時に発症する高血圧よりも生理学的、並びに生化学的病態の相乘的影響を受け、比較的短期間に病態を始め新生児アブガードスコアを呈しやすくなる。筆者の経験から、分娩時 preeclampsia の分娩時は更なる血圧上昇を招き、重症高血圧や子宮破裂を始め新生児アブガードスコアを呈しやすくなる。Activin A, inhibin A は正常分娩における hypoxic reperfusion による増加は必ずしも明らかではないが、PEにおける chronic placental hypoxia の存在下では、分娩時 activin A の產生が高いため、つまり、PEにおいて proinflammatory cytokines に曝されることも activin A の増加に繋がる。そして、これらの影響は分娩遷延により増加する²²⁾。さらに測定間隔を短縮した血圧測定を望みたい。

文 献

- 深谷 翼：分娩時発症した脳出血による妊娠左半身麻痺の判断。産婦連歩 54 : 352-366, 2002.
- Sibai BM : Diagnosis, prevention, and management of eclampsia. Obstet Gynecol 105 : 402-410, 2005.
- Lao TT, Chin RK, Leung BF : Labor-related eclampsia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 26 : 97-104, 1987.
- 大野泰正：分娩時発症型妊娠高血圧疾群の実験と管理に関する検討。北中孝司ほか：妊娠中毒症の対策。産婦連歩 44 : 721-729, 1982.
- 白高教夫、友田昭二、北中孝司ほか：妊娠中毒症の分娩後管理。産婦連歩 39 : 511-516, 1990.
- 日本 改：母体胎盤血栓塞リスク因子としての薬物過量と分娩管理指針の提言。妊娠誌 17 : 91-101, 2009.
- Andrews WW, Cox SM, Sherman ML : Maternal peripartal effects of hypertension at term. Am J Prod Med 37 : 73-76, 1992.
- Ales KL, Charlson ME : Prognosis of hypertension first documented during labor. Am J Perinatology 4 : 317-323, 1987.
- Long PA, Oats JN, Beischer NA : Labour-onset preeclampsia. Aust NZ J Obstet Gynaecol 21 : 16-19, 1981.
- Lopez Llera M : Main clinical types and subtypes of eclampsia. Am J Obstet Gynecol 167 : 1481-1482, 1992.
- Zhang J, Klebanoff MA, Roberts JM : Prediction of outcomes by common definitions of hypertension in pregnancy. Obstet Gynecol 97 : 261-267, 2001.
- 日本高教夫、聯合委員会：子宮収縮の妊娠居産胎兒管葉へ及ぼす影響。日産誌 28 : 105-112, 1975.
- 日本高教夫、北中孝司、中本 収ほか：分娩時高血圧の発症と管理。産婦連歩 90 : 334-343, 2005.
- Pott F, Van Lieshout JJ, Ide K : Middle cerebral artery blood velocity during intense static exercise is dominant by a Valsalva maneuver. J Appl Physiol 94 : 1335-1344, 2003.
- Tiecks FP, Lam AM, Surebel S, et al : Effects of Valsalva maneuver on cerebral circulation in healthy adults. A transcranial Doppler study. Stroke 26 : 1386-1392, 1995.
- Hybring E, Maeijer A, MacDonald E, et al : Hormonal changes during parturition in heifers and goats are related to the phases and severity of labour. J Endocrinology 160 : 75-85, 1999.
- 日本高教夫、日高教夫、北中孝司ほか：妊娠高血圧とカテーテルミノ。産婦世界 35 : 237-1242, 1983.
- 日本高教夫、中本 収、平賀義典：妊娠高血圧と血清皮質醇因子。妊娠中毒症最近の動向。-p23-p42, 金原出版、東京、1992.
- Many A, Roberts LM : Increased xanthine oxidase during labour. J Obstet Gynaecol Br Comm 199 : 653, e1-e10, 2008.
- Holston AM, Qian C, YU KP, et al : Circulating angiogenic factors in gestational proteinuria without hypertension. Am J Obstet Gynecol 201 : 392, e1-e10, 2009.
- 平賀義典、大口義美、松原茂樹ほか：妊娠蛋白質、妊婦血圧との比較。妊娠高血圧、妊娠蛋白質、妊婦血圧と血清皮質醇因子の関係。妊娠中毒症最近の動向。-p23-p42, 金原出版、東京、1992.
- Many A, Roberts LM : Increased xanthine oxy-

- placental soluble fms-like tyrosin kinase 1(SF1-1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 111 : 649-658, 2003.
- (34) Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al : Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 12 : 642-649, 2006.
- (35) Douglas KA, Redman MC, Usta I, et al : "Eclampsia in the United Kingdom". *BMJ* 309 : 1395-1400, 1994.
- (36) Manuelpillai U, Schneider-Kolsky M, Thirunavukarasu P, et al : Effect of hypoxia on placen-

- tal activin A and follistatin synthesis. *Placenta* 24 : 77-83, 2003.
- (37) Mandang S, Manuelpillai U, Wallace EM : Oxidative stress increases placental and endothelial cell activin A secretion. *J Endocrinol* 192 : 485-493, 2007.
- (38) Lu F, Longo M, Tamao E, et al : The effect of over expression of SF1-1 on blood pressure and the occurrence of other manifestations of pre-eclampsia in unrestrained conscious pregnant mice. *Am J Obstet Gynecol* 196 : 396, e1-e7, 2007.

摘出人胎盤血管における serotonin

および関連物質の影響

Studies on the Perfusion of the Isolated Human Placenta with Serotonin and the Related Substance

大林赤十字病院産科婦人科 昭和大学医学部第一病理学教室
寺木 良巳 Yoshimi TERAKI

摘出人胎盤血管におよぼすserotonin

繆事物質の影響

Studies on the Perfusion of the Isolated Human Placenta with Serotonin and the Related Substances

大森赤十字病院産科婦人科 昭和大学医学部第一系理学教室

概要 Serotonin を妊娠期のラット、マウス、ウサギなどの動物に与えると、子宮内胎仔致死作用があることが知られている。この serotonin による lethal action は胎盤が関与していることころ大きいと思われる。今回、serotonin の胎盤血管に対する影響をみたため実験を行った。実験の結果は、serotonin 1~10⁻⁶g の単純灌注により鼠尾出液だけ新鮮な胎盤を用いた胎盤血管の状態を観察した。実験の結果は、serotonin 1~10⁻⁶g の単純灌注により鼠尾出液量の減少が 1 分後より最大減少率は 30~50% に達した。約 3 分後より次第に回復するのみなられ、約 10 分後には元の値に戻つた。Serotonin の拮抗剤である LSD-25, Methergide の前処置によりこれら serotonin の胎盤血管取締作用は抑制された。また bradykinin の血管取締は homochlorcyclizine により、histamine の血管取締作用は diphenhydramine によってそれぞれ抑制された。断筋血管に対する serotonin は高濃度適用においても変化なく histamine, barium chloride によって僅かに収縮反応がみられた。

以上のことより serotonin は胎盤血管に対し強力な血管取締作用を有することが知られた。この胎盤における血管取締作用が in vivo における動物実験で胎盤循環障害による血流減少、ひいては胎仔を anoxia にみちびくこととなることも考えられる。

七

以来、胎盤血管の研究は、おもにその神経系についてなされた多くの報告 (Schmitt, 1922; Alakae, 1927; Buddeleman, 1929; Euler, Küstner et al., 1930; Ueda, 1931; Baur et al., Eliasson et al., 1955; Schmitt, 1929; Guarna, 1956) がある。実験も摘出胎盤の灌流ならびに組織的検索による方法が行なわれている。しかしながら胎盤の自律神経支配については、今日なお目的的見解が得られてない。近年血管収縮物質、特に serotonin-を妊娠動物に投与すると、妊娠中期に明らかかな作用を認めない量でも子宮内の胎盤壊死作用を生えることが報告 (寺木, 1968) しており、これらの物質の胎盤機能への影響、それでも胎盤血管に対する作用が問題とされてい、rotonia は 1954 年、Espanier (1956) により

部との高さの差を常に60~80cmに保つた。従つて灌流圧は60~80cm H₂Oとなる。約1時間液が一気に滴下液が透明になり、かつ流れき出量が一気になるのを待つてから実験を行なつた。すなわち0.1mlの試験液をカニューレから注入した。各薬物の投与順序は次のようにした。

- 血管作動薬
1分間の定常滴下数(初期値とする)を測つた後に薬物を投与し毎分の滴下数を計測し、初期値(=100)に対する百分比を求めた。全例はほぼ定期的に復するまで10分間観察した。
- 拮抗薬
i) に続いてi)と同量の血管作動薬を投与し、再投与前の値と比較して百分比を求めた。全例は前値に復するまで10分間観察した。
ii) 再び血管作動薬
ii)に続いてii)と同量の血管作動薬を投与し、再投与前の値と比較して百分比を求めた。全例は前値に復するまで10分間観察した。
iii) 実験方法
1) 胎盤血管造影
胎盤血管の分布をしらべるため摘出した人胎盤より娩出されたできるだけ損傷のない新鮮なものを用いた。
- 2) 標本：人胎盤は妊娠10ヶ月、満期前分娩にて娩出されたときの胎盤を用いた。

実験材料
1) 試験薬物：血管作用酵素とその拮抗薬を次の組合せで用いた。
A. Serotonin-Methyseride, LSD 25(サン R),

図 1 に示した装置を組み、一侧の動脈を結紮して、他側の脛帶動脈にカニューレを挿入し、温度 38°C の Locke 氏液を注入し、灌流を行なつた後、脛帶靜脈から灌流液を流出滴下させ每分の滴下数を測定した。
 Locke 氏液はマリオット瓶に貯え、灌流により脛帶動脈が低下すれば瓶が下へ落ちて灌流が止まるまで脛帶動脈の切片より静脈の切片、約 2.5cm をとり

実験成績

- 1) 胎盤血管造影
脛骨動脈から注入された造影の胎盤被毛膜板血管やその分枝から流出するのを認めた。胎盤（図11）でも造影剤が胎盤分葉中に拡散するのを認めた。これらの成績から標本により胎兒側の胎流ができるである。
- 2) 胎流量に対する各種血管の抵抗の影響

1) 胎盤血管造影
胎盤動脈から注入された造影剤は主として片側の胎盤毛膜板血管やその分枝に入り、胎盤静脈から流出するとのことを認めた。胎盤断面のレ像(写真11)でも造影剤が胎盤分葉中に分布していることを認めた。これらの成績からこの様な胎盤出入胎盤標本により胎兒側の胎流ができる事を示すものである。

2) 灌流量に対する各種血管作用薬ならびにその拮抗薬の影響

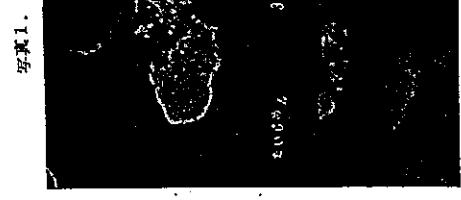


写真1.

A. Serotonin と拮抗薬

i) Serotonin 1 μ g および 10 μ g により流量は著明に減少したが对照群では殆んど変化を認めなかつた。 $(P < 0.001)$ 、表 1 よりび図 2 に灌流量の経時的変化を示す。

ii) Methylsergide

Serotonin 10 μ g による灌流量の減少は、methylsergide 5 μ g で同一標本を処置した後には、Serotonin を再び 10 μ g 投与しても認められず完全に拮抗された。 $(P < 0.001)$ 、表 2 よりび図 3 に Methylsergide 投与前後の灌流量の経時的変化を示す。

iii) LSD-25

Serotonin 1 μ g の作用は LSD-25 1 μ g の処置によりほぼ完全に拮抗された。 $(P < 0.001)$ (表 3、図 4)

表 1 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
対照群 (n=9)	100.00	98.35	98.52	98.74	98.37	99.20	99.73	99.62	98.61	98.85	97.28	
Serotonin 10 μ g (n=7)	100.00	51.70	41.19	39.75	46.02	63.86	63.21	64.71	68.11	73.21	76.79	
Serotonin 1 μ g (n=10)	100.00	50.57	46.80	55.18	63.37	72.19	81.02	86.89	89.13	90.96	93.48	

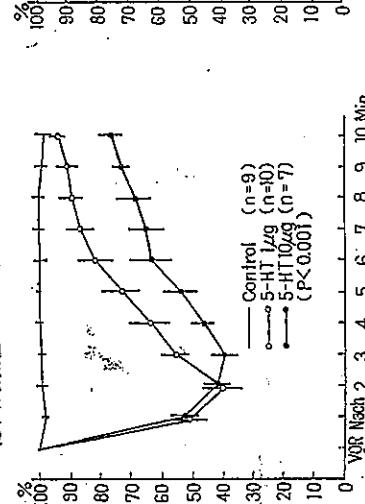
図 2. Serotonin 10 μ g, 1 μ g による分岐流量の変化率各初期値 = 100 とする。

表 2 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Serotonin 10 μ g	100.00	47.82	38.71	45.76	55.73	68.83	74.99	78.70	77.78	78.86	82.26	
Methysergide 5 μ g 無処置	100.00	87.53	84.53	86.20	87.29	89.78	93.94	94.93	98.40	99.29	99.02	
Serotonin 10 μ g	100.00	101.70	103.16	104.01	104.39	104.09	103.57	103.04	103.06	102.56	101.86	

表 3 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Serotonin 1 μ g	100.00	37.41	23.28	28.67	41.20	54.69	67.49	78.30	86.80	91.39	95.57	
LSD 1 μ g 無処置	100.00	96.16	92.34	91.73	92.08	93.04	93.44	93.34	94.16	95.10	96.10	
Serotonin 1 μ g	100.00	100.95	101.71	101.32	101.29	100.78	101.29	100.99	100.78	101.00	101.00	

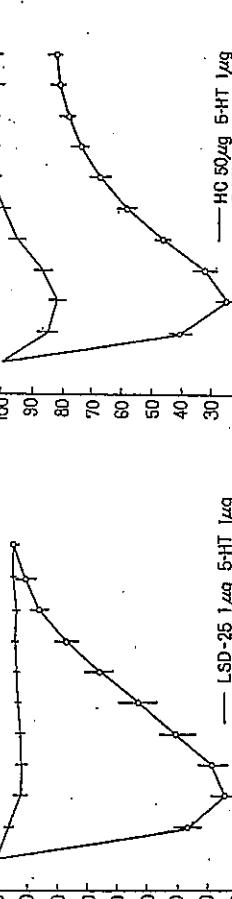
表 4 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
LSD-25 1 μ g	100.00	96.16	92.34	91.73	92.08	93.04	93.44	93.34	94.16	95.10	96.10	
5-HT 1 μ g	100.00	100.95	101.71	101.32	101.29	100.78	101.29	100.99	100.78	101.00	101.00	

表 5 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
HC 50 μ g 無処置	100.00	96.16	92.34	91.73	92.08	93.04	93.44	93.34	94.16	95.10	96.10	
5-HT 1 μ g	100.00	100.95	101.71	101.32	101.29	100.78	101.29	100.99	100.78	101.00	101.00	

図 5. HC 处置前後の Serotonin による流量の変化



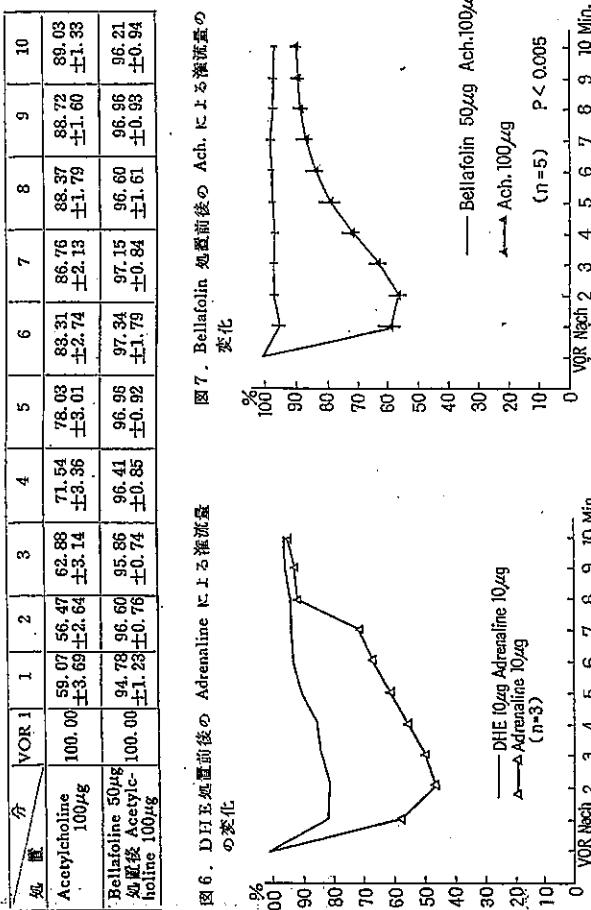
- iv) Homochlorcyclizine
Serotonin 1 μ g の作用は homochlorcyclizine 50 μ g により拮抗された。 $(P < 0.001)$ (図 4, 図 5)
B. Adrenaline と拮抗薬 Dihydroergotamine

- 当標本の adrenaline に対する感受性は鈍く実験に用いた 30例中 15例は何の反応も示さなかつた。比較的よく反応した例で、adrenaline 10 μ g により 50% 近くまで灌流量の減少を認めた。この

表5 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Adrenaline 10μg	100.00	57.60	46.16	49.15	54.97	60.73	66.08	70.72	91.65	92.07	94.26	
DHE 10μg処置後	100.00	81.55	80.68	83.78	84.80	89.21	92.31	93.32	95.42	95.42	95.42	
Adrenaline 10μg												

図6 DHE処置前のAdrenalineによる灌流量の変化



作用はα-アドレナリノ受容体遮断剤であるDHE 10μgにより拮抗された(P<0.001)。(図6,図7)

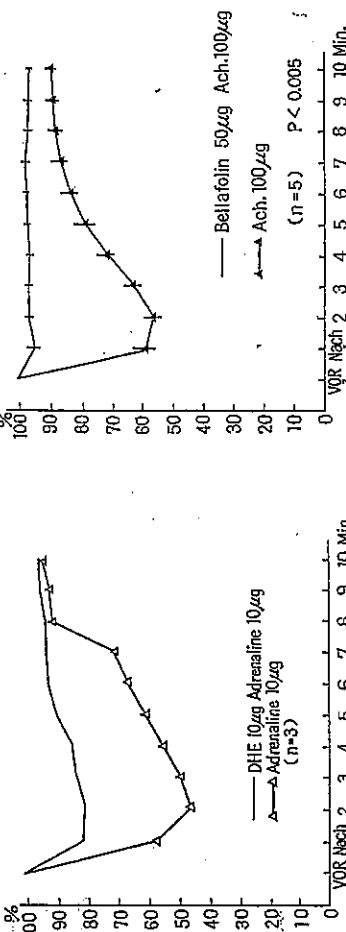
C. Acetylcholineと拮抗剤Bellafoline

Acetylcholine 100μgにより灌流量の減少を認めた。これはbellafoline 50μgによりほぼ完全に拮抗された(P<0.001)。(図6,図7)

D. Histamineと拮抗剤Diphenhydramine HCl

Histamine 10μg以下の用量では変化ないが100μgにより灌流量は減少した。この作用はdiphenhydramine HCl 10μgにより拮抗された

図7 Bellafoline処置前後のAch.による灌流量の変化



(図7,図8).

E. Bradykininと拮抗剤Homochlorcyclizine Bradykinin 0.75μgにより灌流量の低下を認めたがこれはhomochlorcyclizine 50μgにより、はじめ幾分抑制されたが有意の差はみられない(P>0.05)。(図8,図9)

3. 胎盤血管に対する作用

i) 線毛膜板血管

Serotoninの200μg/ml以下の各濃度を温浴中に投与したが動静脈とともに反応しなかつた。Histamine 40μgで動脈がわずかに収縮したが、静脈は反応しなかつた。またBaCl₂ 5mg/ml

表7 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Histamine 100μg	100.00	46.64	63.17	86.33	98.50	104.06	103.90	104.91	109.70	108.77	102.77	
Diphenhydramine HCl 100μg	100.00	97.73	92.83	95.10	95.16	92.85	93.75	100.10	101.93	102.37	102.37	
Histamine 100μg												

表8 人胎盤流量の経時変化率

処置	分	VOR 1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Bradykinin 0.75μg	100.00	63.04	55.55	67.89	81.46	89.18	96.21	97.71	99.02	100.72	100.81	
HC 50μg 処置後	100.00	64.21	57.60	61.66	73.47	82.34	92.41	97.02	101.77	101.81	104.23	
Bradykinin 0.75μg	100.00	70.28	64.34	73.02	80.52	84.16	88.60	93.06	94.58	95.21	96.46	
Histamine 100μg												

図9 H.C処置前のBradykininによる灌流量の変化

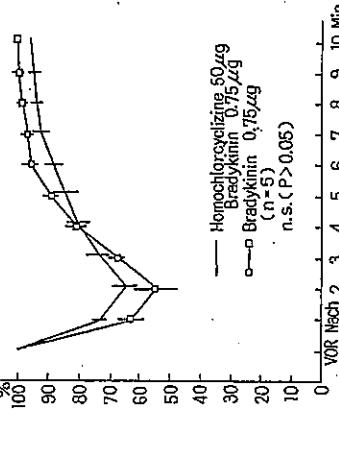


図8 Diphenhydramine処置前後のHistamineによる灌流量の変化

図7 Bellafoline処置前後のAch.による灌流量の変化

図6 DHE処置前のAdrenalineによる灌流量の変化

図5 人胎盤流量の経時変化率

図4 Histamineによる灌流量の変化

図3 Histamineによる灌流量の変化

て臍脈の強い収縮を認めたが胎脈は反応しなかつた(写真2)。

ii) 脐帶血管

Adrenaline, Noradrenaline両物質とも胎盤血管収縮作用があることが知られている(Schmitt, 1922; Kosakae, 1927; Küstner et al., 1930; Ueda, 1931; Euler, 1938; Eliasson et al., 1955). Nyberg et al. (1957) 他, Panigel (1962), Goerke et al. (1961) もこれらによつて血流の著明な減少や妊娠後半には変化はなかった(写真3)。Bach 5mg/mlで動脈とともに強い収縮を認めた。

先天性胎盤における胎児側の血行調節について考へてみると脐帯動脈から入る血液は絨毛膜板, 絨毛幹, 絨毛茎を経て絨毛に至り, 母体血液との物質交換を終えて胎盤静脈から胎足へ移行する。これらは胎盤および絨毛内の毛細管前小動脈にても平滑筋が存在することから, これらが胎児の血行調節にあずから絨毛を拡張または収縮して, 絨毛間腔内母体血流を調節していると考えられる。

胎盤流量はその目的によつて種々の方法が考案されている。胎盤血管の研究では摘出胎盤の胎見側流量のみでその目的を達し得ると思われるのを, 今回は主として Schmitt (1922), Kosakae (1927) の方法を用いて実験を行なつた。滝流液については特に酸性PHが問題となる。即ち Ueda (1932) はPH 7.3以上になれば血管の収縮がみられ, PH 6.4Cにおいて血管の拡張が最大となると述べている。これらの点を考慮し今回比較的簡便な Locke 氏液 (PH 7.1) を使用した結果, 割合一定した瘤流を行なうことができた。ただ長時間の瘤流は胎盤の浮腫形成をもたらすと思われるので瘤流は2~3時間以内にとどめた。また胎盤の瘤流に際しては酸素および炭酸ガスの影響も十分考慮する必要がある。一般に酸素圧の増加は胎盤血管の収縮と瘤流の減少, 血圧の増加を来たすといわれ, 逆に酸素圧の減少が血管の拡張, 血流の増加, 血圧の減少をもたらすと考えられている。

また炭酸ガスは血管擴張作用をもつことが報告 (Ueda 1931, Schmitt 1929, Panigel 1962, Nyberg et al., 1957, Goerke 1961) されている。今回はこれらガスの影響を調べていないが, 実際に血中酸素圧の変化などにより胎盤循環にも影響はあらう。

は拮抗剤 UML-491(*l*-methyl tyrosic acid butanamide) と BOL(*α*-2-brom tyrosic acid diethylamide) によつて拮抗されることが知られており, われわれの実験からも serotonin が瘤流量を強度に減少させ強力な血管収縮物質であることが示唆された。そしてこの作用は LSD-25により, また methysergide によって消失することを見出した。さらに homochlorcyclizine にも serotonin に対する拮抗作用を有することが分った。

(v) 各種の polypeptide: a) Oxytocin: 脳下垂体後葉からの抽出物は胎盤血管の収縮をもたらすと Dawson et al. (1940) は述べている。併し panigel (1962) は胎盤血管の変化を認めていなし、また Domhorst et al. (1952) は oxytocin 自体は胎兒循環に影響を与えないだらうと述べている。b) Euler (1938) によると vasoressin の胎盤血管に対する収縮作用は弱いと報告している。併し Nyberg et al. (1957) は vasopressin と oxytocin を併用すると胎盤血管収縮作用は強くなると述べている。

c) Bradykinin: Eliasson et al. (1955) は bradykinin に胎盤血管収縮作用があることを認めている。今回の実験でも同様な結果を得たが抗 bradykinin 制 homochlorcyclizine によつて僅かに拮抗するのがみられた。

(vi) 細毛膜板血管, 脐帶血管の薬物に対する反応。これらの血管に對し serotonin 高濃度の適用においても反応は認められなかつた。Histamine および barium chloride に収縮反応がみられ, 脐帶血管とも動脈の方が静脈よりやや感受性が高かつた。一方において胎盤血管は serotonin によつて収縮されるという報告 (Eliasson et al., 1955; Bersparn, 1956; Pepen et al., 1962) と, されていないとの (Robson et al., 1966) 両者の意見が提出されているが, われわれが胎帯ならびに臍毛膜板血管について Magnus 法で検討した限りにおいては胎盤血管よりも感受性が鈍かつた。

Nakarmi (1970) は胎盤血管に平滑筋が存在するとの報告しているが, Spivack (1943) はまだ明らか的な神経分布は認められないと述べている。以上, 自律神經作動薬, 生体アミン, キニンなどの作用

搏出人胎盤血管における serotonin および関連物質の影響

214

どの搏出人胎盤血管に対する作用について検討した。その結果 serotonin ははじめ他の血管作動薬とともに瘤流量の減少を認めた。

従つて胎盤血管は収縮するものと考えられる。これらの血管作動薬は serotonin を除き, たゞ外性に妊娠末期の動物に与えても胎仔に対する致死作用は認め難い。これら物質の中で何故に serotonin のみが子宮内胎仔に有害に作用するのか明らかにし得ない。このことは血管取縮の面からのみでは解明し得ない問題であると思われる。筆者等によるあたり脛筋角尾筋接枝のご教訓に結實するとともに実験で脇筋角尾筋接枝の北川行夫学士に御礼申し上げる。なお本文論文の裏表紙は第21回日本産科婦人科学会会員(金沢)において発表した。

文 献

- 寺木良巳 (1968): 日産解説, 20, 1639.
- Aström, A., Sandius, U. (1957): Brit. J. Pharmacol., 12, 410.
- Bauer, M., Range, H. and Hartmann, H. (1929): Arch. Gynäkol., 136, 319.
- Buddeleman, G. (1929): Z. ges. exp. Med., 67, 731.
- Danzen, R.F. and Robson, J.M. (1940): Proc. Soc. exp. biol., 43, 758.
- Domhorst, A.C. and Young, I.M. (1952): J. Physiol., 118, 282.
- Eliasson, R. and Åström, A. (1955): Acta pharm. col. et toxicol., 11, 254.
- Ergammar, V. (1954): Pharmacol. Rev., 6, 425.
- Euler, U.S.O. (1938): J. Physiol., 93, 129.
- Gerns, J., Mc Keon, C., Margolis, A., Glendinning, M. and Page, E. (1961): Am. J. Obst. & Gynec., 81, 1132.
- Gernaia, A. (1934): Ann. ostet. ginec., 56, 1231.
- Koskela, J. (1927): Jap. J. Obstet. Gyn., 10, 2.
- Kristian, H. and Stedmanoff, H. (1930): Arch. Gynäkol., 140, 208.
- Nakarmi, B.B. (1970): Amer. J. Obstet. Gynec., 107, 1132.
- Nyberg, R. and Westin, B. (1957): Acta Physiol. Scandinaav., 39, 216.
- Panigel, M. (1962): Am. J. Obst. & Gyn., 84, 1664.
- Pepen, G. and Giarmann, N.J. (1962): J. General Physiol., 45, 575.
- Robson, J.M. and Sullivan, F.M. (1966): J. Physiol., 184, 717.
- Schmitt, W. (1922): Z. Biol., 75, 19.
- Schmitt, W. (1929): Zbl. Gynäkol. 53, 1282.
- Spivack, M. (1943): Anat. Rec., 85, 85.
- Ueda, K. (1931): Jap. J. Obstet. Gyn., 14, 225.
- Ueda, K. (1932): Jap. J. Obstet. Gyn., 15, 264.
- (No. 2494 年46・12・13受付)

Prostaglandins のヒト胎盤血管におよぼす影響

寺木 良巳(会員) 板木 洋(会員外)
(昭和大学医学部第一薬理学教室)

Prostaglandins (PGE₁, E₁, F_{1α}, および F_{2α}) などの活性物質がヒト胎盤血管に豊富に含有されていることから、これら物質の生理学的な意義について興味がもたれる。とくに、これらの物質が胎盤血流の調節に関与しているのではないかと考えられるからである。さきに、われわれは、PGs を用いて摘出ヒト胎盤の灌流実験を試みた。その結果、PGF_{2α} による灌流液量の減少は PGE₁ により拮抗されることを見出した。一方、胎盤血管にも胎盤表面の绒毛膜板血管ならびに胎盤に付着する臍帶血管など比較的大きい血管の反応も灌流液量に大きく影響をおよぼすものと考えられる。そこで今回とくにこれらの血管に対する PGs の作用ならびに作用様式について検討した。

材料と方法

実験には満期分娩の新鮮なヒト胎盤を用い、臍帯付着部より胎盤表面に走行する绒毛膜板血管ならびに臍帶血管を露出し、長さ 2-3 cm の切片を摘出、O₂-Krebs-Ringer 液をみだした浴中に懸垂し、切片の運動は F. D. pic up を介し transducer につなぎ記録した。使用した薬物は各種の prostaglandins (PGA₁, A₂, F_{1α}, F_{2α}, E₁, および E₂) その他、各種の血管作動物質ならびに拮抗剤などである。

成績

1) 妊娠第 25 週の未熟胎盤血管の胎盤動脈に対しては acetylcholine (ach) をはじめ PGA₁, PGA₂ 1 μg/ml で変化なく PGE₁ 1 μg/ml で若干、弛緩するのがみられ、とくに PGF_{2α}, serotonin (5-HT) 1 μg/ml の濃度において血管の収縮がよくみられた。

2) つぎに妊娠 10 カ月で満期分娩の成熟胎盤について検討した。図 1 は各種の PGs 10⁻⁶ g/ml の濃度における血管の反応を示すもので PGA₁ より PGA₂ が強く収縮し、PGE₁ で弛緩が、PGE₂ では割合強い収縮がみられ PGF_{1α} より PGF_{2α} がより強い収縮を促している。その他、各種の血管収縮物質について vasoressin (vasop.) と noradrenaline (n-ad) が強い収縮を示すものの bradykinin (brad), octapressin (octap), oxytocin に対しては軽度の収縮が認められる。

English Title for No. 7552 : Effects of prostaglandins on the blood vessels in the isolated human placenta. Yoshimi Teraki and Hiroshi Sakaki [1st Department of Pharmacology, Showa University School of Medicine, Tokyo.] Medicine and Biology, 90(3) : 275-280, May 10, 1975.

276 [MEDICINE AND BIOLOGY, Vol. 90, No. 5, May 10, 1975]

3) つぎに PGE₁ の各種濃度における胎盤動脈への影響を調べた。PGE₁ の作用は他と若干異なり PGE₁ 1 × 10⁻⁹ g/ml, 1 × 10⁻⁸ g/ml では変化なく 1 × 10⁻⁷ g/ml より血管の弛緩がみられる。そして 5 × 10⁻⁶ g/ml より収縮し 1 × 10⁻⁵ g/ml の濃度においてはより強い収縮がみられた(図 2)。

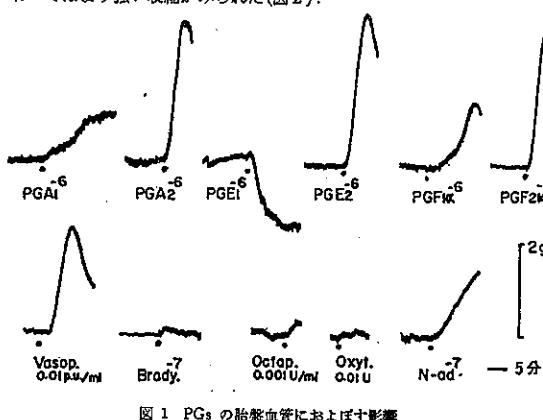
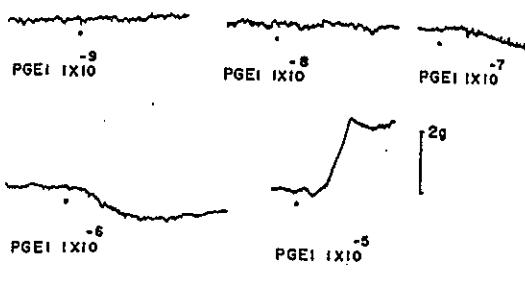


図 1 PGs の胎盤血管におよぼす影響

図 2 PGE₁ の胎盤血管におよぼす影響

4) 各種収縮物質に対する PGE₁ の拮抗。さて各種の血管収縮物質に対し PGE₁ がどの程度拮抗するかを調べた。その結果、PGE₁ 10⁻⁶ g/ml 濃度の bath 中において ach⁻⁵, ad⁻⁷, n-ad⁻⁷ g/ml, vasop. 0.01 P.U. octap 0.005 u/ml の収縮は

[医学と生物学 第90巻 第5号 1975年5月10日]

277

抑制されたが 5-HT 10⁻⁶ g/ml の収縮は抑制されなかった(図 3)。

PGs と神経遮断薬の影響: Ach⁻⁵, PGF_{2α}⁻⁶, 5-HT⁻⁶ g/ml の各種濃度における胎盤血管の収縮をみた後、atropine 1 × 10⁻⁶ g/ml を浴中に追加すると ach. のみ

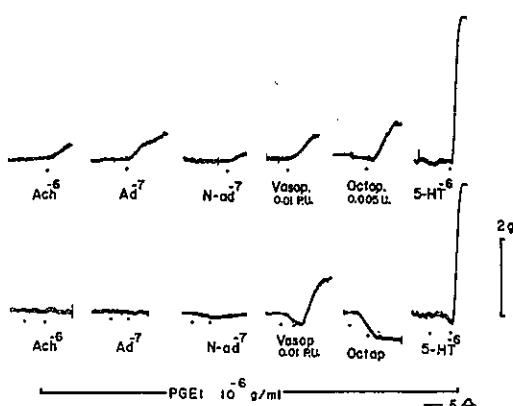
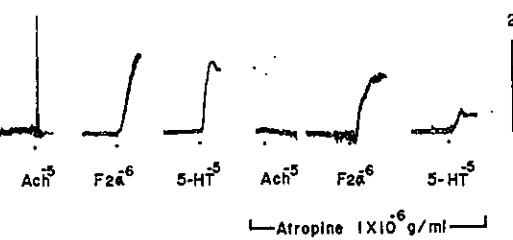
図 3 PGE₁ の拮抗

図 4 PGs と神経遮断薬

が完全に抑制され、PGF_{2α}, 5-HT の収縮は完全に抑制されなかった(図 4)。

ついで adrenalin 作動性 β 受容体遮断作用をもつ isoproterenol と β 遮断薬である propranolol を用いて PGs などの作用が抑制されるかどうか調べた。

Isoproterenol⁻⁵ g/ml の濃度において ach の作用はまったく抑制されている。又、PGF_{2α}においては若干抑制がみられた。しかし propranolol については PGF_{2α}, serotonin ともに影響はみられなかった。

6) PGs と serotonin 抑抗剤: PGF_{2α}⁻⁵ g/ml ならびに 5-HT⁻⁵ g/ml による血管の収縮は serotonin の拮抗剤である methysergide 10⁻⁵ g/ml の浴中において PGF_{2α} に影響はみられないで serotonin の作用のみが抑制された。

7) PGs と代謝阻害剤の影響: 代謝阻害剤として DNP (dinitrophenol) 溶液を用いた。Ach⁻⁵ g/ml の収縮は DNP⁻⁵ M 濃度において弛緩する。これに ach 10⁻⁵ g/ml 作用せても収縮はみられず抑制されたままの状態にある。また PGF_{2α} も同様、DNP によって抑制された。またこれと同様 Krebs-Ringer 液への酸素供給を止め bath 中を anoxia の状態にすると ach, PGF_{2α} の作用は次第に減弱される。

8) 脱分極筋と PGs: Krebs-Ringer 液の NaCl を等張 KCl で置換した

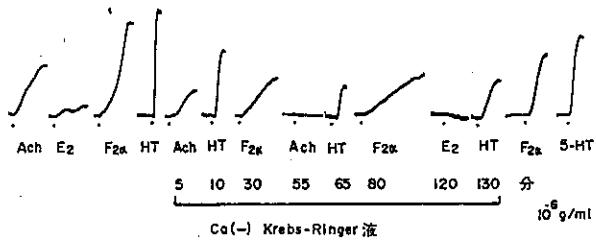


図 5 PGs と Ca の影響

K-Krebs Ringer 液を作り、この液中に標本を入れると血管の筋は脱分極をおこし収縮がみられる。これらの状態に PGF_{2α}, serotonin を加えると通常の Ringer 液に比して若干作用の減弱がみられるが最大張力を示し脱分極筋においても反応がみられる。

9) PGs と Ca の関連: 栄養液 Krebs-Ringer 液から Ca を除いた溶液に交換し時間の経過とともに収縮に対する反応を調べた。その結果、ach, PGE₁, PGF_{2α}, 5-HT をそれぞれ 1×10⁻⁵ g/ml における胎盤血管の収縮は 5 分後までは ach の収縮が抑制ついで 5-HT, PGF_{2α} も抑制されてくる。脱 Ca 液 55 分後には ach の収縮はほとんど抑制され、65 分後 5-HT, 80 分後の PGF_{2α} は軽度の収縮がみられる。これらの状態から正常 Krebs 液に戻すと再び各薬物に対する最大の収縮がみられる。これに EDTA を加えると脱 Ca の影響はさうに強く抑制されるのが認められる(図 5)。

考察

ヒト胎盤血管は神経終末を欠くといわれるが胎盤血流の調節は如何にして行なわれているものであろうか。まずヒト胎盤血管に対する各種の血管作動物質の関与が考えられる。すでに寺木¹⁾は血管作動物質の中、胎盤血管に対し serotonin が adrenaline よりも強力な血管収縮素であることを報告した。これら活性物質は生体内に広く分布していることから各種内性物質の胎盤血管への影響が注目される。さて PGs は胎盤組織中に含有されないが胎盤血管には各種の prostaglandins (PGE₁, E₁, F_{1α}, F_{2α}) を豊富に含有することが Karim²⁾によって見出されている。今回、摘出ヒト胎盤血管とくに绒毛膜板動脈に対する各種 PGs の態度を検討した。その結果、ヒト胎盤血管において各種の PGs すなわち PGA₁, A₁, E₁, F_{1α}, F_{2α} によって血管収縮作用を認め他の血管作動物質 serotonin, ach, octap, vasop. などと共に血管収縮作用を示した。これらの中とくに 1 μg/ml 濃度においては PGF_{2α} と serotonin の収縮作用は強力なものであった。

また PGs の中の PGE₁ の作用態度は若干異なり PGE₁ は低濃度において変化なく 0.1-1.0 μg/ml において弛緩が、5 μg/ml 以上の濃度において収縮が認められた。これら PGE₁ による胎盤血管の弛緩作用は一部 Hillier³⁾ の報告するところであり、また濃度による血管平滑筋への反応の相違を Strong⁴⁾ が述べているが胎盤血管においても、ほぼ一致する見解が得られた。

つぎに神経遮断薬、adrenaline 作動性 β 受容体遮断剤ならびに serotonin 拮抗剤などを用いて PGs および他の血管作動物質による収縮に対して如何なる影響をおぼつかについて検討した。その結果、PGE₁ は PGF_{2α}, ach, ad, n-ad, octap などによる血管収縮に対して拮抗がみられたが serotonin, vasop. については明らかでなかった。これら PGE₁ と各種収縮物質の拮抗については Weiner⁵⁾ がダイコクネズミ大鼠における微小循環の実験でも明らかにしているが、ヒト胎盤血管においても同一の傾向がみられた。また ach と PGF_{2α} の収縮に対し atropin の適用において ach のみが抑制された。また 1 sop. 1 μg/ml の濃度において ach に収縮抑制がみられ、PGF_{2α} では著明でなかった。ついで serotonin の拮抗剤である methysergide によって serotonin の収縮は抑制されるが、PGF_{2α} は影響を受けないことなどが、今回の胎盤血管における実験で観察された。

また、代謝阻害剤である DNP や anoxia の浴中において ach, PGF_{2α} の収縮は抑制された。同じく Ca のない浴中においても収縮の抑制がみられた。さらに高 K 液での脱分極筋に対し両者とも収縮反応を示した。

結局、PGs などの胎盤血管に対する作用と子宮平滑筋(ダイコクネズミ)に対する作用(Paton⁶⁾)を比較した場合、類似する点が多くみられた。

以上、PGs の胎盤血管に対する作用様式について検討したが、従来の ach の

作用とは若干異なる点も見出した。これらの薬物は大部分が胎盤血管の平滑筋に直接作用するものと思われる。

なお未熟胎盤の血管は成熟胎盤におけるよりも薬物に対する反応は鈍く、また绒毛膜板静脈や臍帶動脈の反応は绒毛膜板動脈よりも一般に鈍かった。

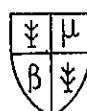
まとめ

Prostaglandins (PGA₁, A₁, E₁, E₂, F_{1α} および F_{2α}) の摘出ヒト胎盤血管によおぼす作用を検討した。各種の PGs は胎盤血管を収縮することが知られた。しかし PGE₁ は濃度により弛緩と収縮の両反応がみられた。また PGs の収縮に対し PGE₁ は拮抗するのが認められた。その他 PGs の胎盤血管に対する作用様式について検討した。

1) 寺木良巳: 摘出人胎盤血管におよぼす serotonin および関連物質の影響、日産婦会誌 24(3): 207-214 1972 -2) Karim, S. M. M.: The identification of prostaglandins in human umbilical cord. Brit J Pharmacol Chemother 29: 230-237 1967 -3) Hillier, K. & Karim, S. M. M.: Effects of prostaglandins E₁, E₂, F_{1α}, F_{2α} on isolated human umbilical and placental blood vessels. J Obstet Gynaec Brit Cwth 75: 667-673 1958 -4) Strong, C. G. & Bohr, D. F.: Effects of prostaglandins E₁, E₂, A₁, and F_{2α} on isolated vascular smooth muscle. Amer J Physiol 213: 725-733 1967 -5) Weiner, R. & Kaley, G.: Influence of prostaglandin E₁ on the terminal vascular bed. 217(2): 563-566 1969 -6) Paton, D. M. & Daniel, E. E.: On the contractile response of the isolated rat uterus to prostaglandin E₁. Canad J Physiol Pharmacol 45: 796-804 1967

(受付: 1975年1月16日)

[通信先 寺木良巳: 聖マリアンナ医科大学第一解剖学教室,
川崎市高津区生 2095 (〒213)]



7534

Prostaglandin のヒト胎盤灌流に及ぼす影響

寺木 良巳(会員)
(昭和大学医学部第薬理学教室)

神経支配をもたないといわれているヒト胎盤組織や胎盤血管が adrenaline, acetylcholine, serotonin などに反応することから胎盤の裁平滑筋ならびに血管平滑筋に対する影響が考えられる。今回、胎盤血流調節機構の解明を試みるために平滑筋収縮物質とみなされる各種の Prostaglandin ならびに活性 amine を用いて抽出人胎盤の灌流を行ない胎盤血管におよぼす影響を検討した。

材料と方法

妊娠10ヶ月、満期分娩により娩出された新鮮な胎盤を用いた。実験に使用した薬物は Prostaglandin E₁ (小野), F_{2α} (Upjohn), serotonin (Sigma), adrenaline (三共), octapressin (Sandoz), などである。寺木の装置を用いて抽出ヒト胎盤の胎児側灌流を行なった。すなわち一侧の臍帯動脈よりカニューレを挿入し灌流液を注入し臍帯静脈から流出せしめた。灌流の条件は前報とほぼ同様であるが、栄養液は今回 Tyrode 液を用いた。

成績

胎盤灌流量の経時変化率

通常の Tyrode 液にて灌流を行なった場合の灌流液量の変化は滴数および液量で表わすことができる。各例の10分間の変動率は平均 10% 以内であった。

Serotonin の灌流液量におよぼす影響

Serotonin に対する胎盤血管の反応は敏感で 22 例中 19 例に収縮がみられた。Serotonin 1 μg, 10 μg 単独注入による液量の変化(図 1)は 1 μg 投与 1 分後ははじめの値を 100 とすると 50.6%, 2 分後 46.7% と著しく減少し、3 分後より次第に回復、9 分後にはほぼ元の値にもどった。10 μg の管注の場合は 3 分後最大の減少率 39.8% を示し 10 分後の回復は 76.8% にとどまった。他の数例においては serotonin 10 μg 管注により灌流液量が停止して回復不能であった。

PGE₁ の灌流液量におよぼす影響

PGE₁ 100 μg 管注(5 例)により灌流液量は初めの 1 分後 54.4%, 2 分後 40.0% となり著しく減少した後、次第に回復するが 57.0% 台にとどまった。PGE₁

English Title for No. 7534: Action of prostaglandins on the perfused human placenta. Yoshimi Teraki [1st Department of Pharmacology, Showa University School of Medicine, Tokyo.] *Medicine and Biology*, 90(4): 185-188, April 10, 1975.

186 [MEDICINE AND BIOLOGY, Vol. 90, No. 4, April 10, 1975]

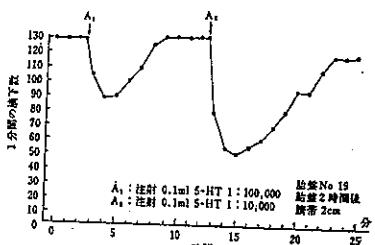


図 1 人胎盤灌流量におよぼす 5-HT の影響

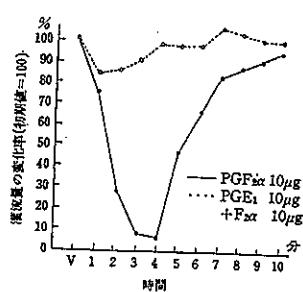


図 2 人胎盤灌流量におよぼす PGF_{2α} ならびに PGE₁ 前処置による影響

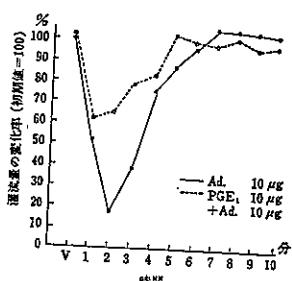


図 3 人胎盤灌流量におよぼす Adrenaline ならびに PGE₁ 前処置による影響

[医学と生物学 第90卷 第4号 1975年4月10日]

187

10 μg 管注によってはやや減少または軽度の増加がみられ、また PGE₁ 1 μg ではほとんど液量に変化はみられなかった。

PGF_{2α} による血管収縮と PGE₁ の拮抗

PGF_{2α} 1, 10, 50, 100 μg/0.1 ml 管注による灌流出量の最大減少率は平均初値(100)の 79.3%, 67.0%, 28.8%, 15.7% となった。1 例を図 2 に示す。すなわち PGF_{2α} 10 μg 管注することにより 4 分後には著明な灌流液量の減少がみられる。この標本においてあらかじめ PGE₁ を投与し 3 分後 PGF_{2α} 10 μg を投与しても減少は軽度でかなり PGE₁ により拮抗されたものと思われる。

Adrenaline による収縮と PGE₁ の拮抗

胎盤血管に対する adrenaline の感受性は必ずしも高くなく反応しない胎盤もしばしばみられる。Adrenaline 1 μg 以下の管注では胎盤灌流液量に変化がないことが多く、10 μg/0.1 ml 管注により概ね反応がみられる。図 3 では adrenaline 10 μg 管注により投与直後より著明な灌流液量の減少がみられる。これに対し PGE₁ 10 μg 前処置し 3 分後同じく adrenaline 10 μg を管注するとかなり灌流液量の減少が抑制された。

考察

従来、胎盤血管には神経の支配がないものとみなされてきた。しかし神経終末を欠く血管においても各種の血管作動物質に対する反応がみられることから一部は平滑筋に直接作用するものと考えられている。

胎盤血管の薬理学的研究は主として抽出人胎盤灌流法による灌流液量ならびに灌流圧の変化などが調べられてきた。多くの血管作動物質の中 Euler³ は adrenaline, acetylcholine, histamine, vasopressin, prostaglandin, adenosin などの胎盤灌流への影響を調べている。注目されることとは、これらの中で prostaglandin によって強い胎盤の収縮すなわち灌流圧の上昇を報告していることである。Jungmannova ら² も PGF_{2α} がかなりの低濃度において胎盤血管の収縮を認めている。また Hillier⁴ は胎盤血管に対し PGE₁ で弛緩、PGF_{2α}, E₁, F_{2α} で収縮がみられる述べている。さきに寺木⁵ はダイコクネズミ子宮間膜ならびに腸間膜血管に対し PGF_{2α}, adrenaline の収縮は PGE₁ により拮抗されることを報告してきた。今回、PGF_{2α} による著明な血流量の減少と PGE₁ による拮抗、adrenaline による灌流液量の減少と PGE₁ による拮抗がみられた。また寺木⁵ は serotonin をはじめ vasoactive amine と polypeptides の胎盤灌流への影響と拮抗剤による作用を検討した結果、各種の拮抗剤により拮抗されることより胎盤血管は必ずしも、神経支配をうけるものでもなくそれぞれ独立して平滑筋に作用するものと考えている。

以上、胎盤灌流実験の成績から PGF_{2α} では 1-10 μg で血管収縮作用が、PGE₁ 1-10 μg においては軽度弛緩作用をもつと思われる。しかしながら胎盤血管

は他の血液ガスなど多くの影響をうけるものと思われ摘出臍器に対する作用と生体内における条件は必ずしも一致するものではないかも知れない。たとえば胎盤内 histamine の役割について Kamaswaran⁶ はダイコクネズミにおける実験で histamine は胎盤血流を増加するとの報告に対し、摘出人胎盤灌流の実験においては Euler² も寺木も血管収縮作用を認めていることの相違、また Novy ら⁷ はヒツジにおける *in vivo* の実験で臍帯血流は PGF_{2α} で増加し、PGE₁ で減少をみている。これらのことから臍帯、胎盤血管に対する薬物の作用は投与量、種属その他の因子によって相違するものと考えられる。

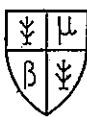
まとめ

摘出ヒト胎盤の灌流実験を行ない、つぎの結果を得た。PGF_{2α} による胎盤灌流量の減少は PGE₁ で前処置することにより拮抗され、同じく adrenaline による灌流量の減少は PGE₁ によって抑制された。PGs は胎盤血管に対し影響をおぼすものと考えられる。

- 1) 寺木良巳：摘出人胎盤血管におよぼす serotonin および間連物質の影響。日産婦誌 24(3) : 207-214 1972
 —2) Euler, U. S. v.: Action of adrenaline, acetylcholine and other substances on nerve-free vessels (human placenta). *J Physiol* 83 : 120-143 1938
 —3) Jungmannová, C., Havránek, F & Hodr, J.: Relationship between F₂-Prostaglandin concentration and the activity of placental vessels in vitro. *Cs. Gynekologie* 38(3) : 141-142 1973
 —4) Hillier, K. & Karim, S. M. M.: Effects of prostaglandins E₁, E₂, F_{2α}, F_{2β} on isolated human umbilical and placental blood vessels. *J Obstet Gynaec Brit Cwth* 75 : 667-673 1968
 —5) 寺木良巳、宮坂宗男、角尾滋：ラット子宮間膜ならびに腸間膜血管におよぼす prostaglandins, 5-hydroxytryptamine, polypeptides の影響。日薬理誌 70(4) : 73 1974
 —6) Kamaswaran, L. & West, G. B.: The formation of histamine in mammals. *J Physiology* 169 : 564-571 1962
 —7) Novy, M. J., Piasecki, G. & Jackson, B. T.: Effect of prostaglandins E₂ and F_{2α} on umbilical blood flow and fetal hemodynamics. *Prostaglandins* 5(8) : 543-555 1974

(受付: 1974年12月17日)

[通信先 寺木良巳：昭和大学医学部第一薬理学教室、
 東京都品川区旗の台 1-5-8 (〒141)]



5

Effects of Prostaglandins and Serotonin on Placental Blood Vessels and Effects of Antagonists

Autacoids and Pregnancy (IV)

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, The Showa University School of Medicine at Tokyo
 142-0064, Japan

0

Present address: Medical Corporation Mitsuikai Sagami Matsugae Clinic

Reprint request to : Dr Yoshimi Teraki, 23-14 Matsugae, Minami-ku Sagamihara, Kanagawa 252-0313, Japan

Abstract

Effects of autacoids (prostaglandins (PGs) and serotonin) and other vasoactive substances on placental blood vessels were investigated. PGA2, PGE2, PGF1 α , PGF2 α , serotonin and noradrenaline caused placental vasoconstriction. Perfusion experiments on expelled placentae showed that histamine, bradykinin, adrenaline, PGF2 α and serotonin proved to reduce dripped perfusate volume. The effect of serotonin was inhibited, hence antagonized, by LSD-25, methysergide and homohydroxycyclizine. The effect of PGF2 α was slightly inhibited by PGE1. Serotonin and PGF2 α in particular among the autacoids tested exerted a potent constrictive action upon placental blood vessels.

Introduction

Many published studies have dealt with autonomic innervation of blood vessels of the placenta, yet there still is no unanimity of opinion. Since discovery of serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), this substance has become demonstrated by Aström et al.¹⁾ to be a placental vasoconstrictor about 10 times as potent as adrenaline and reported to have a fetotoxic effect in rats and other animals (Botros et al.²⁾). Prostaglandins (PGs) being also autacoids are endowed with an oxytocic effect which is so potent as to be regarded as an abortifacient³⁾, whereas serotonin is not so potent in oxytocic action. In considering which accounts more for the fetotoxic action, the uterus or the placenta, therefore, the placenta seems very likely to have a greater bearing. The placenta, referred to as a lung of the fetus, has blood circulation in the following fashion. Placental blood vessels are seen on the fetal aspect of the placenta, and responses of chorionic blood vessels on the placental surface and relatively large blood vessels such as umbilical blood vessels attached to the placenta are considered to take part in the regulation of blood circulation (Photo. 1). Blood streaming from the umbilical artery enters placental villi via the chorionic plate, stem villi and chorionic villi, and goes through exchange of metabolic products with maternal blood, followed by transfer the fetus via the umbilical vein. Since precapillary arterioles in the stem villi, secondary villi and villi also contain smooth muscle, these structures are considered to take part in the regulation of fetal blood circulation as well as in regulating maternal blood volume in intervillous spaces via dilation or constriction of villi. Vascular coursing in the placental villus at 10 months of gestation is shown in Photo. 2.

This study represents an attempt to ascertain whether PGs and serotonin might differ from other vasoactive substances in behavior toward placental blood circulation by experiments on isolated placental blood vessels and by placental perfusion.

I. Isolated Placental Blood Vessels

Experiments were performed with fresh human placentae expelled at full term deliveries. Chorionic and umbilical blood vessels coursing over the placental surface

from the site of umbilical cord attachment were exteriorized and cut into tissue strips 2-3 cm in length. Movement of the strip suspended in a bath filled with Krebs-Ringer solution was recorded via an FD-pickup coupled to a transducer. The test drugs used included PGs, serotonin, various other vasoactive substances and antagonists.

5 1) Effects of PGs on placental blood vessels

PGF_{2α} and serotonin caused vasoconstriction at a concentration of 1 µg/mL in immature placental blood vessels at week 25 of gestation whereas no such reactions occurred upon exposure to PGA1, PGA2 or PGE2. When tested on mature placental blood vessels, PGs applied at a concentration of 10⁻⁶ g/mL produced the vascular responses shown in Figure 1. As seen, PGA2 caused a greater constriction than did PGA1 while PGE1 gave rise to vasorelaxation and PGE2 a relatively strong vasoconstriction. PGF_{2α} was more potent than PGF1_α in constricting the blood vessel. PGE1 caused no response at 10⁻⁸ to 10⁻⁷ g/mL, a slight relaxation at 10⁻⁶ g/mL, a greater relaxation at 10⁻⁵ g/mL, and constriction at 10⁻⁴ g/mL. Vasopressin and noradrenaline produced a marked constriction, while the blood vessels showed a slight constriction with oxytocin, octapressin and bradykinin.

10 2) Effects of serotonin and its antagonist on placental blood vessels

Serotonin exerted a constrictive effect on blood vessels of an expelled placenta, and an intense constriction of those vessels produced at 10⁻⁶ g/mL was inhibited by methysergide at 10⁻⁶ g/mL (Fig. 2).

15 II. Placental Perfusion Experiments

Fresh human placentae expelled at 10 months of gestation, full term deliveries, were subjected to the experiments. Perfusion of the fetal placenta was performed with Tyrode's solution through a cannula placed in an umbilical artery with the contralateral umbilical artery ligated, and perfusate drops from the umbilical vein per minute were counted. Changes in dripped perfusate volume expressed in terms of drop count or perfusion volume. Average percent variation in the count or volume in 10 minutes was within 10%.

20 1) Effects of serotonin on dripped perfusate volume

Placental blood vessels sensitively responded to serotonin; a reduction in circulating perfusate volume, or vascular constriction, occurred in 19 of the 22 placentae tested. In response to exposure to 1 µg/0.1 mL serotonin, the dripped perfusate volume markedly decreased to 50.5% of baseline volume at 1 minute of exposure and to 46.7% at 2 minutes, followed by a gradual recovery from 3 minutes onwards. It returned mostly to the baseline volume at 9 minutes. When serotonin was applied at 10 µg/0.1 mL, a peak reduction to 39.8% was observed at 3 minutes and the dripped perfusate volume returned to 76.8% at 10 minutes (Fig. 3). As a phenomenon of LSD antagonism to serotonin in the placenta had been observed, we attempted to ascertain experimentally whether such antagonistic reaction might also occur in the placental perfusion setting. A maximum reduction in dripped perfusate volume to 23.28% was noted at 2 minutes of exposure to 1 µg/0.1 mL serotonin, whereas only a slight decrease to 81.62% occurred in the placenta pretreated with 1 µg of LSD-25 (Fig. 4). Likewise, methysergide exerted an antagonistic effect.

25 2) Effects of PGs on dripped perfusate volume

PGF_{2α} injected into the perfusion tube caused a decrease in dripped perfusate volume as did serotonin. Maximum decreases in dripped perfusate volume following injection of PGF_{2α} into the perfusion tube at 1, 10, 50 and 100 µg/0.1 mL were to 79.3%, 67.0%, 28.8% and 15.7% of baseline volume, respectively; on the average; hence a dose-dependent placental vasoconstriction. A marked decrease in dripped perfusate volume occurred at 4 minutes after injection of 10 µg/0.1 mL PGF_{2α} into the perfusion tube. When the placenta was pretreated with 10 µg/0.1 mL PGE1, followed by injection of PGF_{2α}, the decrease in dripped perfusate volume was to 85% of baseline at 1 minute post injection of PGF_{2α}, 90% at 2 minutes and 100% at 4 minutes and there was even a 10% increase at 7 minutes. Thus, the vasoconstrictive effect of PGF_{2α} was antagonized by PGE1 (Fig. 5). Placental vascular sensitivity to adrenaline which is involved in peripheral microvascular constriction is not necessarily high, yet this catecholamine produced a noticeable reduction in perfusion volume when injected into the perfusion tube at a dose of 10 µg/0.1 mL. When the placenta was pretreated with 10 µg/0.1 mL

PGE₁, followed in 3 minutes by injection of adrenaline at 10 µg/0.1 mL, there was a considerable inhibition of the reduction in perfusion volume.

3) Effects of vasoactive substances on dripped perfuse volume

The perfusion volume was reduced by histamine at 100 µg, and this effect was antagonized by diphenhydramine hydrochloride at 10 mg. The perfusion volume was also reduced by bradykinin at 0.75 µg. This effect was slightly but not significantly reversed with the antagonist homochlorcyclizine at 50 µg.

Discussion

It is generally recognized that blood vessels of human placenta are devoid of nerve endings. How is placental blood flow regulated, then? Possible involvement of various vasoactive substances acting on human placental blood vessels would be considered at first. Teraki⁴⁾ reported that serotonin, among other vasoactive agents, is a more potent vasoconstrictor than adrenaline. It was found by Karim⁵⁾ that PGs being also autacoids are not contained in placental tissues other than placental blood vessels which contain an abundance of PGs such as PGE₁, E₂, F1 α and F2 α . In the present study, we examined behavior of PGs toward blood vessels of isolated human placenta, particularly chorionic arteries. The results demonstrated vasoconstrictive effects on human placental blood vessels of the PGs (PGA₁, A₂, E₃, F1 α and F2 α), as well as of other vasoactive agents such as serotonin, acetylcholine, octapressin and vasopressin. The vasoconstrictive effects of PGF2 α and serotonin were conspicuous particularly at a concentration of 1 µg/mL. PGE₁ caused vascular relaxation at 1 µg/mL and constriction at ≥5 µg/mL. We thus entertain a view consistent with the report of Strong et al.⁶⁾ showing disparity of effects of PGs on vascular smooth muscle depending on dose concentration.

Serotonin-induced placental vasoconstriction was inhibited by the antagonist methysergide whereas that induced with PGF2 α was not affected by methysergide. Immature placentae were less responsive, compared with mature placentae. The chorionic plate vein and umbilical artery and vein were less responsive than chorionic plate artery.

To examine effects of the drugs on intravillous very small blood vessels, we then conducted a placental perfusion study. Eliasson et al.⁷⁾ and Gautieri et al.⁸⁾ described profound vasoconstrictive effects on human placental blood vessels under perfusion. According to these reports, the constrictive effect of serotonin on placental blood vessels was nearly 10 times as potent as that of adrenaline and was antagonized by the antagonists UML-491 (1-methyl-lysergic acid butanolamide) and BOL (d-2-bromo-lysergic acid diethylamide). Our experiment has also demonstrated a substantial reduction in perfusion volume by serotonin, proving to be a potent vasoconstrictor for these vessels. The present results have shown that the vasoconstrictive effect of serotonin is completely inhibited by the antagonists LSD-25 and methysergide. It follows that the fetolethal effect of serotonin is blocked by the placenta. It would be reasonable to infer that serotonin-induced reduction in placental blood flow was inhibited by the antagonists.

Prostaglandins were found by Karim⁵⁾ to occur in abundance in placental blood vessels. PGs such as PGA₁, A₂, E₂, F1 α and F2 α cause marked constriction of chorionic plate arteries. Of these PGs, PGF2 α even at a concentration as low as 1 µg/mL proved to be as potent as 1 µg/mL of serotonin. Euler⁹⁾ reported a profound placental constriction, that is, a marked elevation of perfusion pressure, with PGs, and Jungmannova et al.¹⁰⁾ also documented that PGF2 α caused placental vascular constriction at considerably low concentrations. The resultant reduction in placental blood flow would exert an adverse effect on the fetus. Hiller et al.¹¹⁾ described that placental blood vessels were relaxed by PGE₁ and constricted by PGF2 α . The PGF2 α -induced reduction in perfusion volume was practically completely inhibited by pretreatment with the same dose of PGE₁. The adrenaline-induced reduction in perfusion volume was also inhibited to some extent by pretreatment with PGE₁. Further, there have been reports demonstrating a potent vasoconstrictive effect of histamine on placental blood vessels (Eliasson et al.⁷⁾, Goerke et al.¹²⁾. While on the other hand, Euler⁹⁾ described that the effect of histamine in this respect is rather weak. In the placental perfusion study, we noted a marked decrease in perfusion volume occurring in response to histamine injection into a perfusion pathway,

and found that the histamine-induced rapid decrease in perfusion volume was inhibited by pretreatment with diphenhydramine. Eliasson et al.⁷ noted that bradykinin is endowed with a placental vasoconstrictive effect. This our experimental study yielded comparable results where, though, the effect of bradykinin was slightly antagonized by homochlorcyclizine, an antagonist to bradykinin.

Meanwhile, two different views have been proffered as to constrictive effect of serotonin on umbilical cord blood vessels: one confirming the effect (Eliasson et al.⁷, Pepen et al.¹³) and the other denying the effect (Robson et al.¹⁴). Blood vessels of the umbilical cord and those of the chorionic plate were noted to be less sensitive to serotonin than placental blood vessels insofar as their responses were assessed by the Magnus method in our study. Nadkarni¹⁵ reported the existence of smooth muscle in umbilical blood vessels whereas Spivack¹⁶ stated that there was as yet no evidence of nerve distribution in those vessels.

Thus, we have examined effects of autacoids and drugs acting on the ANS on isolated human placental blood vessels and placental perfusion, with the results demonstrating constriction of placental blood vessels and a reduction in placental perfusion volume by serotonin and other drugs considered to be vasoactive agents. Therefore, blood vessels of the placenta are constricted by most of such substances. With the exception of serotonin and PGF2 α , these vasoactive substances scarcely exert a lethal effect on fetuses even when administered extrinsically to animals in a terminal stage of gestation. Why do the said two substances only have a fetolethal effect? It would be intriguing to speculate that a key point for resolution of this question lies in the placenta.

Acknowledgment

This experimental study was conducted by the author at Showa University, Tokyo. While the author was affiliated with and on the staff of the Department of Pharmacology¹, Showa University School of Medicine

References

- 1) Astrom, A., Samuelius, U.: Brit. J. Pharmacol., 12, 410, 1957

- 2) Botros, M., Lindsay, D., Poulsom, E. and Robson, J.M.: Biochem. Pharmacol., 8, 102, 1961.
- 3) Teraki Y. et al.: Actual circumstances of early or mid-term induced abortions by PGF_{2 α} extravetamious injection. *Sangfijinsha-no-sekai* (The World of Obstetrics and Gynecology) 26, 59-66, 1974
- 4) Teraki Y. et al.: Effects of serotonin and related substances on isolated human placental blood vessels. *J. Jpn. Soc. Obst. & Gynecol.*, 24(3), 207-214, 1972
- 5) Karim S.M.M.: The identification of prostaglandins in human umbilical cord. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 29, 230-237, 1969
- 6) Strong, C.G. and Bohr, D.F.: Effects of prostaglandins E₁, F₂, A₁ and F_{1 α} on isolated vascular smooth muscle. *Amer. J. Physiol.*, 213, 725-733, 1967
- 7) Eliasson, B. and Astrom, A.: *Acta Pharmacol., Toxicol.*, 11, 254, 1955
- 8) Gautieri, R.F. and Ciuchta, H.P.: *J. Pharm. Sci.*, 51, 55, 1963
- 9) Euler, U.S.v.: Action of adrenaline, acetylcholine and other substances on nerve-free vessels (human placenta). *J. Physiol.*, 93, 120-143, 1938
- 10) Jungmannova, C., Havranel, F. and Hodr, J.: Relationship between F_{2 α} -prostaglandin and the activity of placental vessels *in vitro*. *J. Physiol.*, 213, 141-142, 1973.
- 11) Hillier, K. and Karim, S.M.M.: *Brit. Cwthl.*, 75, 667-673, 1968
- 12) Goerke, J., McKean, C. and Margolia, A.: *Am. J. Obst. and Gynec.*, 81, 1132, 1961
- 13) Pepen, G. and Giarman, N.J.: *J. General Physiol.*, 45, 575, 1962
- 14) Robson, J.M. and Sullivan, F.M.: *J. Physiol.*, 184, 717, 1966
- 15) Nadkarni, B.B.: *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 107, 303, 1970
- 16) Spivack, M.: *Anat. Rec.*, 85, 85, 1943

Photo. 1 Fetal part of a mature human placenta
Note the umbilical cord and the chorionic plate blood vessels.

Photo. 2 A villus of a mature human placenta ($\times 40$)
Note the blood vessels coursing in the villus.

Figure 1 Effects of PGs and other drugs on blood vessels and strips of mature human placenta

Figure 2 Effects of serotonin and an antagonist on perfusion of an expelled human placenta

Figure 3 Changes in placental perfusion volume following injection of 1 and 10 μg of serotonin

Figure 4 Changes in placental perfusion volume following injection of serotonin after pretreatment with LSD-25, compared to without pretreatment

Figure 5 Effects of pretreatment with PGF2 α and that with PGE1

ラットにおける ^{14}C -Serotonin および ^{14}C -Histamine の臓器分布と胎盤通過性について(全身オートラジオグラフィーによる検討)*

寺木良巳, 北川行夫**

Whole Body Autoradiographic Study on the Distribution in the Body and the Placental Transfer of ^{14}C -Serotonin and ^{14}C -Histamine in Pregnant Rats

Yoshimi Teraki, Yukio Kitagawa
(The 1st Department of Pharmacology, Showa University School of Medicine, Hatanodai, Shinagawa, Tokyo)

Exogenous dose of serotonin to the pregnant animal induces toxic action in the foetus, while histamine does not show such action. The presumption that these two substances differ from each other in the pattern of placental transfer leads us to study the distribution of ^{14}C -serotonin and ^{14}C -histamine in pregnant rats. It was found that histamine was rapidly taken up into the placenta and transferred to the foetus, but that serotonin was slowly taken up into the placenta and scarcely transferred to the foetus. Thus histamine differed from serotonin in the pattern of tissue distribution and placental transferance.

Key words : ^{14}C -Serotonin, ^{14}C -Histamine, Whole body autoradiography, Distribution and placental transfer in rats.
(Received April 27, 1973)

緒 言 いて観察されている。このserotoninによる胎仔致死作用はprogesteron (Borros & 1961), LSD α s との構成の発達とともにないラット、マウスなどの胎盤、羊水、胎仔中にserotonin (Bryzainski & 1962, Koren & 1965, Robson & 1964) およびhistamine (Kahlson & 1960, Kameswaran & 1962, Telford & 1961a, b.) が増加することが報告されている。その生物学的意義についてはまだよく判らないが Bryzainski & (1962) および Snyder (1964) らは荷物質とも妊娠の特徴、分娩にならかの役割をなしているものと考えている。興味深いことに、これら荷物質を外的に妊娠動物に与えると子宮内の胎仔にそれぞれ異なる作用を示す。すなわちserotonin の大量を妊娠動物に与えると子宮内の胎仔を致死させることがラット (Borros & 1961, Cataldi 1956, Marois 1960, Waugh & 1960, West 1962), マウス (Flückiger & 1961, Poulsom & 1960a,b)), ヴサギ (Morlanghi & 1961, Pepeu & 1962) などによつてhistamine の形式が増加してくることが報告されている。実際、胎盤の荷物質はserotonin によって著しく減少することが知られている (Honey & 1967, Koren & 1966, Thompson & 1969)。一方、ラットの胎仔には妊娠末期に近づくにつれてhistamine の血流量が増加していくことが報告されている (Kameswaran & 1962)。そしてこのhistamine は胎盤の血行開始におけるばかり、胎盤の荷物質通過を増加するよう作用しているのではないかと West (1962) は述べている。

* 本報の一部は第2回日本薬理学会講演会(1970)で発表した。
** 東京薬科大学准教授 第一薬理学
教室

以上の事実より serotonin と histamine の臓器分布、とくに胎盤への分布のパターンの相違を検討するため全 (1974)

身オートラジオグラフィーにより検討した。

i) 標識化合物および試薬

Serotonin (5-hydroxytryptamine-3-¹⁴C-creatine sulfate) および Histamine (histamine (ring-2-¹⁴C) dihydrochloride) Amersham 社製を用いた。これらのアソートープをそれぞれの非アソートープで希釈して生理食液 0.1 ml に溶解し、体重 1 kg 当り非アソートープに換算した薬物用量 × mg が常に 50 μCi の放射能を有するように調整し用時調整した（以下 50 μCi/kg、kg として表わす）。非アソートープ質としては serotonin と、その拮抗剤 methysergide および histamine である。胎盤への分布はみられない。

実験には妊娠 17~20 日目にある体重 300~370 g のラットを用いた。

ii) 実験方法

妊娠動物をエーテルで麻酔し、その臍靜脈内にカニエーテルを通じて薬物を投与した。投与は通常 5 sec 以内に行い、その後各試験動物をエーテル麻酔して、アセトン、ドライアイス混合液（-60°）中に全身を入れし凍結させた後、更に約 1 hr ドライアイスに包埋して、内臓まで十分に凍結させた。統一 Kalberer (1969) の方法に準じ、全身を正面に平行な面で切断し、厚さ 3~5 mm の凍結切片を作り、表面を滑らかにして両面にフィルム（富士工業用×線フィルム

ム 200）をコンタクトし、遮光して、-20° 中に 14 日間貯蔵させた後、現像してオートラジオグラムを得た。また拮抗剤の影響を調べるためににはアソートープ投与 10 min 前に拮抗剤を前記同様の方法で頭静脈内に投与した。



PHOTO 2 Autoradiogram showing the distribution of ¹⁴C in a pregnant rat 15 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-serotonin (50 μCi/0.72 mg/kg). Moderate concentration of radioactivity is seen in the placenta, but not in the fetus.



PHOTO 3 Whole body autoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 10 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-serotonin (50 μCi/0.72 mg/kg). Note high concentration in the heart, the lung, the kidney and the moderate concentration in the liver and the intestines but no distribution in the placenta and the fetus.

(192)

iii) 実験結果

1. Serotonin 少量投与時の分布
PHOTO 1 は外因性に母体に投与しても子宮内胎仔を致死させない少量の serotonin 0.72 mg/kg 投与 5 min 後のオートラジオグラムである (50 μci/0.72 mg/kg)。胎盤への移行はみられない。肺、腎などに放射活性質の分布がみられる。肝、肺、腸管にも中等度の分布像が認められる。しかし胎盤への分布はみられない。

PHOTO 2 は同じく 15 min 後のオートラジオグラムである。胎盤への分布がみられるが、胎仔への移行は明らかではない。

2. Serotonin 大量投与時の分布

PHOTO 3 は子宮内胎仔を致死させるに十分な量の serotonin 30 mg/kg 投与 10 min 後のオートラジオグラムである (50 μci/30 mg/kg)。この時点では、胎盤への放射活性物質の分布や胎仔への移行はまだ認められない。PHOTO 4 は同じく 30 min 後のオートラジオグラムである。胎盤への分布像が若干確認できる。しかし胎仔への移行は認められない。

3. Serotonin 拮抗剤による影響

Serotonin の強力な拮抗剤である methysergide で前処置したときのオートラジオグラムの変化を調べた。PHOTO 5 は methysergide 30 μg/kg で前処置した serotonin 50 μCi/30 mg/kg 15 min 後のオートラジオグラムである。胎仔への移行はみられない。同じく 30 min 後のオートラジオグラムである。胎仔への移行はみられない。同じく 30 min 後のオートラジオグラムでもある。胎仔への移行はみられない。

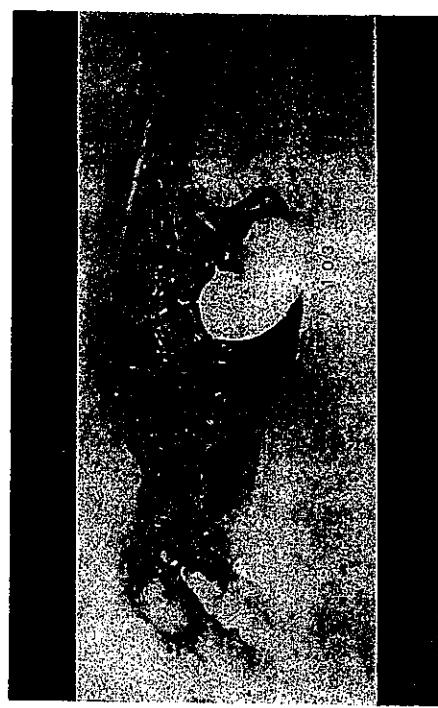


PHOTO 4 Autoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 30 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-serotonin (50 μCi/30 mg/kg). Note high concentration in the heart, the lung, the kidney and the moderate concentration in the liver and the intestines but no distribution in the placenta and the fetus.

(193)

PHOTO 5 Autoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 5 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-serotonin (50 μCi/0.72 mg/kg). Note high concentration in the heart, the lung, the kidney and the moderate concentration in the liver and the intestines but no distribution in the placenta and the fetus.

(192)

104



Photo 4 Whole body autoradiogram showing the distribution of radiation in a pregnant rat 30 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-serotonin (50 μ Ci/30 mg/kg). Some radioactivity appears in the placenta, but none in the fetus.



Photo 5 Autoradiogram showing the distribution of ¹⁴C in a pregnant rat 15 minutes post intravenous infusion of serotonin (50 μ Ci/30 mg/kg) after pretreatment with methysergide, i.e., a serotonin antagonist. Good concentration of radioactivity can be observed in the placenta, but not in the fetus.



Photo 6 Autoradiogram showing the distribution of radioactivity in the pregnant rat 30 minutes post intravenous infusion of ¹⁴C-serotonin (50 μ Ci/30 mg/kg) after pretreatment with methysergide. The concentration is good in the placenta but null in the fetus.



Photo 7 Autoradiogram showing the distribution of ¹⁴C in the pregnant rat 5 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-histamin (50 μ Ci/10 mg/kg). Note high concentration in the heart, the lung, the kidney and the bladder. Good radioactivity appears in the placenta.

示すが、脛への取込みは認められない。一方 ¹⁴C-histamine で腎臓への取込みがみられたが同様の結果から ¹⁴C-serotonin と ¹⁴C-histamine の全身分布ならびに胎盤通過の様相に差異がみられた。すなはざらに ⁵⁰ μ Ci/10 mg/kg i.c. 投与 60 min 後のオートラジオグラムで胎仔への移行が確認できる (Photo 9)。

実験の結果から ¹⁴C-serotonin と ¹⁴C-histamine の全身分布ならびに胎盤通過の様相に差異がみられた。すなはざらに ⁵⁰ μ Ci/10 mg/kg i.c. 投与 60 min 後のオートラジオグラムで胎仔への移行が確認できる (Photo 9)。

このことは両物質の分布、消褪などのパターンがそれ異なるためと考えられる。

この點もあるが現在のところ明らかでない。

(195)

への移行がみられるのに較べ ¹⁴C-serotonin は最後に胎盤へ移行していくが胎仔への取込みは限られた時間内では認められることが出来ない、これらのことより物質の胎盤通過はいかなる因子によって左右されるかを考えてみる必要がある。

薬物の多くは単純拡散によって胎盤を通過するものとみなされている。そしてその拡散速度は妊娠の時期により、絨毛の面積や厚さにによる変化のほかに Moya ら (1962) はイオン化の割合、脂溶性、分子子量などが重要なものであると指摘している。特に外生物質の胎盤通過は脂質解剖によって入る割合が大きく左右される因子、例えば濃度・勾配とか分子子量などは二次的に重要であると述べている。従って serotonin の脂質解剖がきわめて低いことは胎盤隔離の通過を一層困難なものとしていると思われる。併し大部分の薬物は脂質により胎盤を通過する。従って実験的な問題は胎盤を通過するかどうかではなく、その速度であり、また胎児に何等かの障害を及ぼすほどの速度と特異的肺が成立するかどうかという点にあると西村 (1966) は述べている。実際に、少量の serotonin を母体に投与するとマサス胎仔の生存率は高く、大量では生存率が低いことはすでに発表した (寺木ら, 1969)。

以上のことより serotonin による胎仔致死作用の機序としてつきのことが推論される。すなわち serotonin の大量投与により母体から胎盤へ胎仔への血流供給量が減少すること、胎盤血管の收縮などによる胎内酸素の生存が著しく改善されること、胎内酸素の生存が胎仔の条件が改善されるか、或は serotonin の拮抗剤によってその毒性を防禦することにより胎仔は死亡を免れることができる。今回の実験でも methysergide で前処置後 serotonin の高用量を与えた場合には、胎仔に影響を与えない程度の少量の serotonin 投与時のオートラジオグラムと一致するような結果が得られた。果して、これらの拮抗剤がいかなる部位に作用するかは明らかではないが methysergide の近似物質である serotonin 作用をもつ LSD₂₅ についての Inapattan-Hellklia ら (1969) の報告がある。それらによると ¹⁴C-LSD₂₅ は血中から組織の中へは数分内外に高い取込みを示した。それに LSD₂₅ は胎盤通過が容易で輸送投与 5 min 後には胎盤にあらわれ、30 min 後に胎仔の放射活性は最高になったと述べている。

胎盤への取込みと通過について ¹⁴C-histamine ¹⁴Ch. (Robson ら 1963), 母体の全身血流量の減少、血压の下降、胎盤血管の収縮 (Craig 1962), 子宮收縮、胎盤剥離、臍帶血管の取込みが低い理由として一般的につきの理由をあげている。すなわち、serotonin により胎盤や胎仔への胎盤通過

は十分考えられる。一方 histamine の役割について考察してみると、Kameswaran ら (1962) はラット胎仔に histamine の形成がみられるのは、これが胎盤を通じて血流の調整によっているためだと報告している。

また West (1962) によれば histamine に拮抗する様な薬物、例へば quaternary compound (Aprobit) を妊娠ラットに与えると、histamine の血管拡張作用に拮抗することにより子宮内の胎仔が死にすることになるだろうと述べている。

Bradykinin の血管拡張作用に関するして Thompson ら (1969) は histamine よりも血管拡張作用が強いといわれる bradykinin ではマサスにおいて母体血から胎盤への ²²Na の通過量が増大したことを見めている。そしてこれは子宮や胎仔に供給される母体血流量の増加によるものか、あるいは bradykinin が直接胎盤における膜の透過性を増加する様に作用するかの両方がであろうと述べている。

われわれの実験からも ¹⁴C-histamine の胎盤への通過量と母体への移行量も十分認められるとともかく histamine も bradykinin と同じ様な作用をもつのではないかと考えられる。なお今回の実験はマクロのものであり胎仔への標識物質の取込みについてはさらにはクロ・ラジオオートグラフィーにより詳細に解析する必要があると思われ、目下検討中である。



Photo 8 Whole body autoradiogram showing the distribution of ¹⁴C in a pregnant rat 30 minutes after intravenous infusion of ¹⁴C-histamine (50 μ Ci/10 mg/kg). Good content of radioactivity is seen in the placenta and a slight distribution is suspectable in the fetus.



Photo 9 Autoradiogram showing the distribution of ¹⁴C in a pregnant rat 60 minutes after intracutaneous injection of ¹⁴C-histamine (50 μ Ci/10 mg/kg). High concentration of radioactivity is seen in the placenta and some distribution is detectable in the fetus.

(197)

1. 胎盤と胎仔への標識物質の取込みは特異的である。全身への分布と胎盤通過の様相を全身オートラジオグラフierにより調べた。

2. 全身への分布についてそれぞれに変化がみられたが ¹⁴C-histamine の胎盤への取込みは特異的であった。

3. 胎盤通過における両者の相違点は ¹⁴C-histamine は容易に胎盤に取込まれ、胎仔への移行がみられたが、¹⁴C-serotonin では胎盤への取込みは緩徐であり、胎仔への移行は識別できなかった。

4. 抗 serotonin 制 methysergide で前処置することにより ¹⁴C-serotonin の胎盤への取込みは増加したが、

5. ¹⁴C-serotonin および ¹⁴C-histamine は標識分布ならびに胎盤通過においてそれぞれ異なるパターンを呈した。

謝 辞

稿を終るに際み角尾敏教授のご校閲に感謝する。また技術上のアドバイスを戴いたスイス・バーゼル社 Dr. F. Kalberer にお礼を申し上げる。

- 文献
- Morlunghi, C. and Romeo, P. (1961): *Arch. Obst. e Ginecol.*, **66**, 154.
Moya, F. and Thorndike, V. (1962): Passage of drugs across the placenta. *Am. J. Obst. & Gynec.*, **84**, 1778.
- Botros, M., Lindsay, D., Poulsom, E. and Robson, J.M. (1961): *Biochem. Pharmacol.*, **8**, 102.
- Bryszynski, A., Koren, Z., Pfeifer, Y., and Sulman, F.G. (1962): The metabolism of serotonin in amniotic fluid. *J. Obst. & Gynec. Brit. Comm.*, **69**, 661.
- Craig, J.H. (1962): The mechanism of serotonin antagonism in the rat. *Federation Proc.*, **21**, 276.
- Flickinger, E. and Salzmann, R. (1961): Serotonin antagonism at the Placenta. *Experiments*, **17**, 131.
- Hanson, H. and Schmittlow, C.B. (1961): A comparison of the distribution, excretion and metabolism of a tertiary and a quaternary phenothiazine compound labelled with S-35. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **131**, 309.
- Honey, D.P., Robson, J.M., and Sullivan, F.M. (1967): Mechanism of inhibitory action of 5-hydroxytryptamine on placental function. *Am. J. Obst. & Gyn.*, **99**, 250.
- Iidinjärvi-Hellila, J.E. and Schoolar, J.C. (1968): Autoradiographic study on LSD: The physiological disposition of C-14 serotonin in the rat uterus. *Am. J. Physiol.*, **157**, 306.
- Kalberer, F. (1969): Macroradiography of the Rat Placenta. *Placenta*, **21**.
- Kalberer, F. (1971): 大型実験動物のマクロオートラジオグラフィーによる胎児発育作用の機序とその拮抗作用の影響について(動物実験). 日産研
- Kameswaran, L., and West, G.B. (1962): The formation of histamine in mammals. *J. Physiol.*, **160**, 564.
- Katz, J., Gerschwin, M.E., and Hood, N.I. (1963): The distribution of C¹⁴-labelled lidocaine in the rat using whole body autoradiography. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **75**, 389.
- Koren, Z., Pfeifer, Y., and Sulman, F. (1966): Distribution and placental transfer of C-14 serotonin in pregnant rats. *Am. J. Obst. & Gyn.*, **95**, 290.
- Marois, M. (1960): *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **154**, 1200.
- 西村義典, 北川行夫 (1969): Homochlorcyclizine の⁵-HTに対する拮抗作用について. 醫業出版社, **23**, 817.
- Thompson, R.S., and Gautiere, R.F. (1969): Comparison and analysis of the teratogenic effects of serotonin, angiotensin I, and bradykinin in mice. *J. Pharmaceutical Sciences*, **58**, 406.
- Waugh, D., and Pearl, M.J. (1960): Serotonin induced acute nephrosis and renal cortical necrosis in rats. *Am. J. Pathol.*, **36**, 431.
- West, G.B. (1962): *J. Pharm. Pharmacology*, **14**, 828.

Tissue Distribution and Fetal Uptake of ³H-Prostaglandin F_{2α} in Rats*

Yoshimi Teraki**

(Division of Embryology, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki-City, Kanagawa)

Received February 7, 1979

To investigate the tissue distribution and transplacental entrance into the fetus of prostaglandin F_{2α} (³H-PGF_{2α}), the uterine, placental and fetal uptake of prostaglandin was determined by liquid scintillation spectrometry and microautoradiography in rats at the late stage of pregnancy dosed with the ³H-PGF_{2α}.
 The pregnant rats given ³H-PGF_{2α}, together with unlabeled PGF_{2α}, showed a rapid dissipation of radioactivity from the circulation over first 40 minutes, followed by a relatively slow decline, moderate concentrations of PGF_{2α} and/or its metabolites being still demonstrable in the blood at 2 hours after the injection. Prominent levels of radioactivity uptake were noted in liver and kidneys, followed, in order, by the lungs, heart, adrenals and intestines whereas remarkably low concentrations occurred in the brain and dorsal skeletal muscles. There was a moderate distribution in the uterus, and a conspicuous activity in the placenta. The radioactivity detected in each fetus accounted for approximately 0.5% of the dose given to the mother, while the amniotic fluid showed an extremely modest distribution.

Microautoradiograms of fetal tissues revealed demonstrable uptake of radioactivity in the heart, lungs and kidneys 3 minutes after the injection and in the liver, intestines and bones as well at 15 minutes. At 40 minutes post injection, pronounced radioactivity was demonstrated in the liver and other tissues while there was no appreciable uptake by the fetal brain. The data demonstrate a prompt distribution of ³H-PGF_{2α} in the various tissues and fetuses following intravenous injection and seem to indicate that the extent and rate of distribution essentially are dependent upon the drug concentration in dosage, regional blood flow, utero-placental blood flow and degree of placental and fetal development and vary with the sex.

Key words: Prostaglandin F_{2α}, Distribution, Fetal uptake, Microautoradiogram (rat).

The present study was undertaken to investigate the maternal tissue distribution and placental and fetal uptake of prostaglandin F_{2α}, currently in clinical use, under various conditions; attempts were made to assess the time-course of changes in tissue levels of tritiated prostaglandin F_{2α} following intravenous administration and the effect of various drugs on the tissue distribution and excretion of ³H-prostaglandin E₁ in mice and Naltano (1970) reported the results of studies on tritiated prostaglandin E₁ distribution in tissues of rats and dogs. However, reports of such tracer experiments in pregnant animals as yet are few.

* 第28回日本薬理学会北関会 (昭和52年8月 札幌) にて発表
** 神奈川県川崎市高津区富士見205(〒213) 篠山リサーチ医療研究所
学術研究奨励金研究室 寺木良巳

Materials and Methods

($9-^3\text{H}$) prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$; radiochemical Center, Amersham) and unlabeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$; Ono Yakuhiin, Osaka) and prostaglandin THAM (The Upjohn Co., Kalamazoo, Mich.) were used. Drug were made up by dissolving $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$ in physiological saline. These were prepared immediately prior to use at concentrations as to permit administration of the specified dose (x mg) of prostaglandin per kg of body weight in $0.1 \text{ ml}/\text{kg}$ of solution, consistently with $50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$ b.w., where x mg denotes the quantity of $\text{PGF}_{2\alpha}$ converted to an unlabeled basis. Hence, the doses are given hereinafter in terms of $50 \mu\text{Ci}/\text{x mg}/\text{kg}$.

1. Animal and dosing

Rats of the Wistar strain weighing 200 to 370 gm (pregnant females at 17-19 days of gestation, non-pregnant females and males) were employed in all experiments. The animals received the drug solution via a cannula inserted into the jugular vein under ether anesthesia, the injection being completed within 5 seconds in every instance, and were sacrificed for assays at the specified time following injection.

2. Blood level and distribution in tissues

Immediately prior to sacrifice at the specified time intervals following the intravenous injection of $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$ or $\text{PGF}_{2\alpha}$, samples of blood were drawn from the carotid artery of rats. The animals were then exsanguinated and various tissue specimens obtained for radioactivity measurement, viz., the brain, pituitary, heart, lungs, liver, pancreas, spleen, adrenals, kidneys, small intestine, dorsal skeletal muscles, prostate, uterus, placenta, amniotic fluid and fetus. Definite quantities of the blood and tissue specimens were dissolved in a tissue solubilizer and diluted with Bray's solution. The radioactivity in samples of the dissolved tissues was determined by liquid scintillation spectrometry, with conversion of cpm to dpm according to a quench correction curve performed using an external standard.

3. Microautoradiography

Pregnant rats dosed i.v. with $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$ or $\text{PGF}_{2\alpha}$ were killed at various times following injection and the uterus, placenta and fetuses were removed and frozen in a dry ice-acetone mixture. After lyophilization the organs and fetuses were embedded and thin sections cut with a microtome, followed by a 50-day exposure of slides coated by dipping with Sakura NR-M₂ photographic emulsion. The slides were then developed and fixed to prepare radiograms.

Results**1. Absorption, Distribution and Dissipation of $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$ systemic distribution**

Figure 1 illustrates the uptake and dissipation of radio activity in the liver, kidney, heart, lung, duodenum, adrenal, dorsal skeletal muscles and brain of pregnant rats following a single i.v. injection with tritiated prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$. As can be seen, the injection yielded noticeably high concentrations of radioactivity in the liver and kidneys in the initial 5 minutes, with a rapid decline over the ensuing period to 40 minutes and thereafter a slow dissipation. Moderate activities were demonstrated in the adrenals, lungs, duodenum and heart following the injection, whereas in the dorsal skeletal muscles and brain, only very low activity was localized throughout the observation (FIG 1).

2. Fetal and placental distribution

The intravenously administered $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$ was promptly distributed from the circulation into the various organs; the radioactivity dissipated rapidly from the blood from 3 minutes after the injection onwards, and subsequently showed a gradual decline with a fairly persistent moderate level of $\text{PGF}_{2\alpha}$ and/or its metabolites (FIG 2). In FIGURE 2, the data concerning distribution of radioactivity in the uterus, placenta and fetuses of pregnant rats injected i.v. with $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$ are presented. The uterus showed relatively high levels of activity throughout the observation while the placental radioactivity level increased from 15 minutes post injection onwards to reach a substantial concentra-

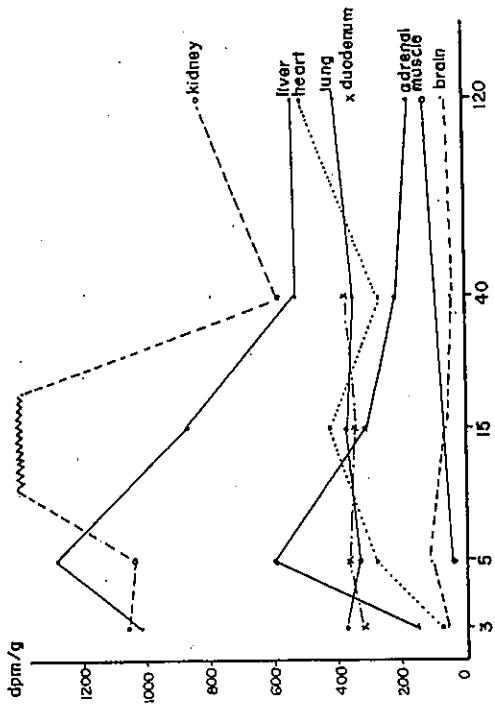


FIG 1 Uptake and disappearance of radioactivity in pregnant rat tissues following a single i.v. dose of $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$, $300 \mu\text{g}/50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$

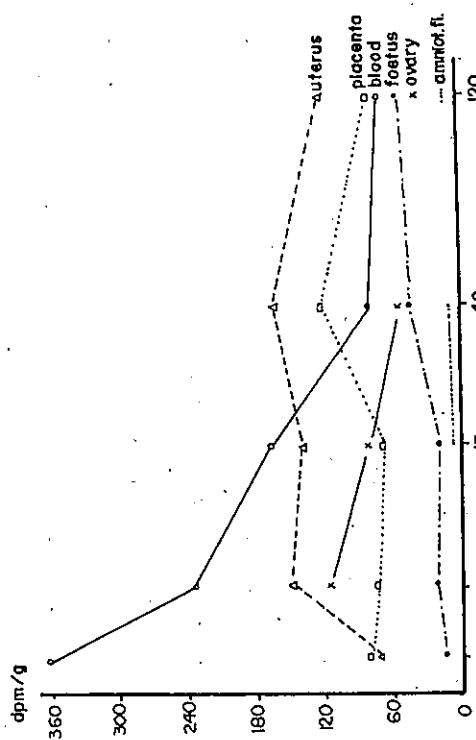
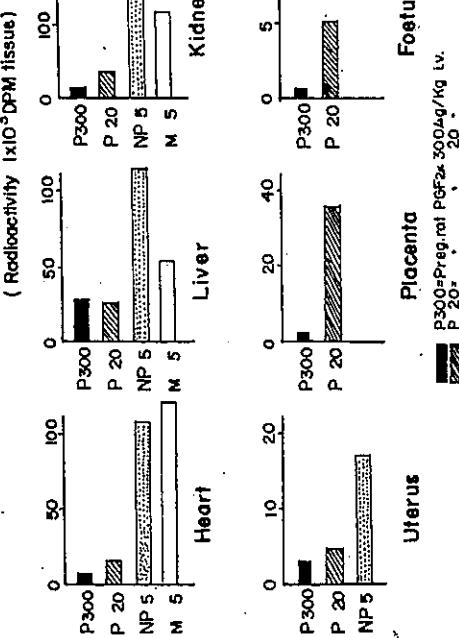
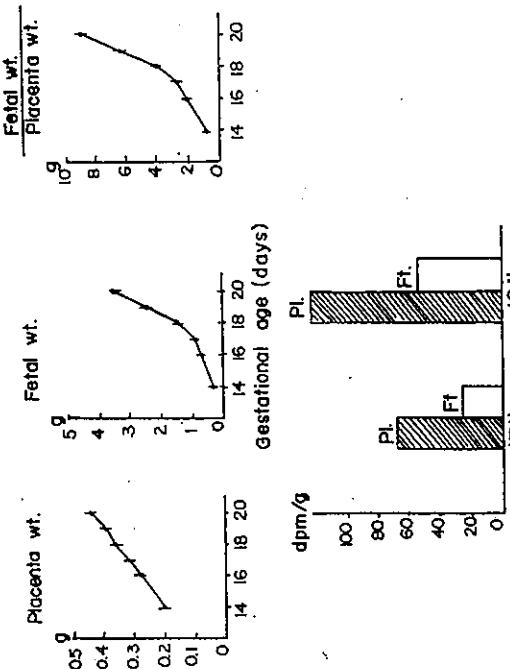


FIG 2 Uptake and disappearance of radioactivity in the uterus, ovary, placenta, blood and fetus of pregnant rats after a single dose of $^3\text{H}-\text{PGF}_{2\alpha}$, $300 \mu\text{g}/50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$

TABLE I Percentage radioactivity detected in various organs after an i.v. injection of $1\mu\text{Ci} \ ^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$ with 5-300 μg $\text{PGF}_{2\alpha}$ per gm b.w.

Organ	Dose Rat B.W.		300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 17th preg. 430 g		20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 17th preg. 310 g		5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ non preg. 220 g		5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ male 250 g		
	Wt.	Activity in samp. mg	Wt.	Activity in samp. mg	Wt.	Activity in samp. mg	Wt.	Activity in samp. mg	Wt.	Activity in samp. mg	
Brain	1.800	2,212	0.18	1,300	3,289	0.27	1,700	10,932	0.85	1,900	13,840
Heart	0.910	5,807	0.24	1,000	17,806	0.80	700	111,245	3.53	800	122,046
Lung	1.500	6,645	0.45	1,450	11,552	0.76	800	51,356	1.86	900	49,986
Liver	20.500	25,763	24.00	17,300	29,215	22.97	9,200	118,636	49.60	12,300	56,884
Kidney	2,170	20,718	2.04	2,350	30,290	3.23	2,000	213,238	19.38	2,300	124,320
Adrenals	0.80	12,081	0.04	100	9,278	0.04	90	71,378	2.91	76	43,346
Jejunum	*	6,945	0.32	*	30,490	1.39	*	36,491	1.65	*	29,888
Muscle	*	—	*	—	2,289	0.10	*	18,285	1.83	*	17,446
Uterus	4,300	3,289	0.64	4,200	4,300	0.87	3,580	17,484	0.79	—	—
Ovaries	—	—	—	—	36	8,321	0.01	34	26,356	0.04	—
Placenta	300	2,638	0.03	300	36,787	0.50	—	—	—	—	—
Foetus	800	810	0.03	800	5,423	0.19	—	—	2,200	—	11,028
Testis	—	—	—	—	—	—	—	—	1,400	24,746	1.57
Prostate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* Per lg tissue killed 5 min. later $1\mu\text{Ci} = 2,200,000 \text{ dpm}$ FIG. 3 Difference of radioactivity detected in various organs of rats 5 minutes after single i.v. doses of $1\mu\text{Ci} \ ^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$ with 5-300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of $\text{PGE}_{2\alpha}$ per gm b.w.FIG. 4 Gestational age and placental up take of $3\text{H-PGF}_{2\alpha}$

tion at 40 minutes. Fetal uptake of radiolabeled $^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$ was modest as compared to the placental groups. The placental and fetal uptake in rats given $\text{PGF}_{2\alpha}$ in and i.v. dose of 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ at day 17 uptake and showed a tendency to increase progressively from 15 minutes after injection onwards. The amniotic fluid contained very little radioactivity.

As can be noted, the tissue uptake of radioactivity, expressed as activity per gm of wet tissue, in such viscera as brain, lungs, heart, liver and kidneys were relatively greater after a dose of 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ $\text{PGF}_{2\alpha}$ than after a dose of 20-300 $\mu\text{g}/\text{kg}$. There occurred a slight uptake in the ovaries and prostate.

3. $^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$ Distribution in Organs

Groups of rat were dosed i.v. with 1 μCi of $^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$ combined with 5-300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of $\text{PGF}_{2\alpha}$, and their viscera and tissues obtained 5 minutes after the injection were assayed for tritium radioactivity to ascertain whether and, if at all, to what extent the tissue uptake of the tracer might vary with the drug concentration, gestational status or sex. The various tissue uptake and their percentage to total radioactivity are depicted in TABLE I. In all rats the liver showed a predominantly high uptake of radioactivity at 5 minutes post injection, followed, in order, by the kidney, heart, lung, and so forth. The data also revealed relatively higher tissue levels of radioactivity inversely proportional to the drug concentration in dosage given, in practically all organs as evident by comparison between the $\text{PGF}_{2\alpha}$ 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ groups as well.

4. Transplacental Distribution of $^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$

In pregnant rats the placenta rapidly increased in weight from about day 14 of gestation onwards, with a sharp increase in fetal weight during the period from day 17-21, and with a consequent step rise in the fetus: placenta weight ratio during this period (FIG. 4). The placenta and fetuses on day 19 of gestation exhibited a noticeably greater uptake of $^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$, expressed in dpm per gm of wet tissue, than those on day 17 (FIG. 4).

5. Microautoradiographic Investigation

The distribution of ^3H -PGF $_{2\alpha}$ in the uterus, placenta and fetal organs was investigated by microautoradiography in rats receiving a single i.v. dose of the tritiated prostaglandin on the 19th day of pregnancy. High levels of radioactivity were demonstrated in the uterus (PHOTO 1) and placenta (PHOTO 2) of rat sacrificed 5 minutes after an i.v. injection, whereas no radioactivity was detectable in the amniotic fluid. A sparse distribution of radioactivity in fetal kidneys, along with very slight activity in the lungs, was observed 3 minutes after the intravenous injection (PHOTO 3). At 5 minutes after the injection radioactivity was demonstrable in the fetal heart, lungs and kidneys while there was no appreciable fetal liver uptake of tritiated prostaglandin by this period. As 15 minutes had lapsed following the intravenous administration, low levels of radioactivity were found distributed in the small fetal heart, liver (PHOTO 4) kidneys, intestines and bones, whereas in the brain of the fetus, the uptake was obscure. Microautoradiogram of the fetal lung (PHOTO 5) heart (PHOTO 6) and liver at 40 minutes post injection disclosed moderate concentrations of radioactivity. The intestine (PHOTO 7) and bone (PHOTO 8) of the fetus also showed some uptake at this stage while there was no demonstrable radioactivity in the brain.

TABLE 2 shows the relative levels of uptake in the various fetal organs following a single intravenous injection of tritiated PGF $_{2\alpha}$ into pregnant rats. It is clear that the intravenously administered ^3H -prostaglandins on the regional blood flow in various organs seems yet to be further assessed.

TABLE 2 Distribution of radioactivity in rat fetal organs following an i.v. injection of ^3H -PGF $_{2\alpha}$

organ	time	3 min	5 min	15 min	40 min
F. brain	-	-	-	-	-
F. heart	±	+	+	+	+
F. lung	+	+	+	++	++
F. liver	-	-	+	+	±
F. kidney	+	+	+	+	+
F. ileum	-	-	±	+	+
F. bone	-	-	-	-	-

- =none ++ =moderate ± =slight
 +++ =high + =low

all rats 5~15 minutes after a single i.v. injection. The intravenously administered labeled prostaglandin dissipated rapidly from the blood during the first 40 minutes and declined slowly thereafter. Practically no significant difference was observed between the sexes or between the pregnant and the nonpregnant as to various tissue uptake of radioactivity. These findings indicate that intravenous administration of ^3H -PGF $_{2\alpha}$ yields essentially the same pattern of distribution in the tissues of rats as that observed with ^3H -PGE $_1$.

Although the exact metabolic pathways of exogenous prostaglandins are yet to be determined, the data heretofore obtained suggest that ^3H -PGF $_{2\alpha}$ and PGF $_{2\alpha}$ are rapidly biotransformed following intravenous injection, and the labeled compound and/or its metabolites distributed from the circulation into various organs.

Meanwhile, it would be important to take regional blood flow into account in assessing the tissue uptake. Certain organs have abundant regional blood flow, e.g. the liver; the regional blood flow is known to vary with the drug as well as with its concentration. Berde (1965) conducted tracer studies of the circulatory effect of oxytocin and related polypeptide oxytocics, and Téraki *et al.* (1974-a, b) observed diminution of uteroplacental blood flow with blood pressure elevation in rats and other laboratory animals following injection of PGF $_{2\alpha}$, an oxytocic.

In view of these, an attempt was made in this investigation to determine whether there might be any significant difference in the tissue distribution of radioactivity among groups of rats receiving a definite dose of tritiated PGF $_{2\alpha}$ simultaneously with graded doses of unlabeled PGF $_{2\alpha}$. The radioactivity uptake levels in various organs, expressed as per cent of total activity, were found to be influenced by the concomitant dose (concentration) of PGF $_{2\alpha}$; the uptake levels in tissues (heart, lung, liver, kidney, etc.) were lower with high doses whilst they increased at low doses. The lowered uptake with high doses might be attributable to diminished blood flow though the effect of different prostaglandins on the regional blood flow in various organs seems yet to be further assessed.

The uterus showed noticeable uptake of radio-

activity from 3 minutes post injection onwards and a relatively high level was sustained even at 2 hours. Placental uptake was likewise evident after 3 minutes and showed a progressive increase from 15 to 40 minutes. Fetuses exhibited a lower uptake than the placenta and their uptake tended to increase progressively with time after injection. As for transfer of labeled substances across the placenta, Rosso (1975) describes that the rate of transplacental passage from maternal circulation into the fetus depends largely on the degree of placental and fetal development.

The distribution of the prostaglandin in placenta and fetuses of rats appeared to be dependent upon the uteroplacental circulation and the gestational stage; increased placental permeability was observed in rats at terminal stage of pregnancy receiving a low concentration of PGF $_{2\alpha}$ in dosage. The ovaries, prostate and testes showed extremely modest uptake of PGF $_{2\alpha}$, thus virtually consistent with the finding reported by Nakano (1970).

As yet, reports of microautoradiographic study on fetal uptake of radioactivity are few. The present investigation by this technic has revealed distribution of radiolabeled substance in the medium but little or no evidence of uptake in the endometrium and amnion. The microautoradiographic study disclosed placental uptake of tritiated PGF $_{2\alpha}$ and/or its metabolites 3 minutes after an intravenous injection, with a subsequent gradual increase. In the fetus, radioactivity became demonstrable in the lungs and kidneys 3 minutes after the injection and appeared to be distributed in many organs by 15 minutes, e.g. the heart, liver, lungs, kidneys, intestines and bones. The rather slow distribution in the liver, becoming evident as late as 15 minutes post injection, might have bearing on the metabolic function of the fetal liver. Tjutte *et al.* (1968) described the limited metabolic capacity of the liver of mouse fetus observed in their study with ^{14}C -nicotine. There was no microautoradiographic evidence of uptake in the fetal brain throughout the 40-minute period of observation. These results of the experiments with ^3H -PGF $_{2\alpha}$ in rats by the liquid scintillation spectrometry and

microautoradiography seem to indicate that the placental and fetal uptake of this prostaglandin and its rate vary essentially with the drug concentration in dosage, regional blood flow and degree of fetal and placental development. The results also suggest importance of adequate consideration for the effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on the maternal circulation and on the fetus since it is a drug prescribed for pregnant women.

References

- Berde, B. (1965) : Circulatory effects of oxytocin. In Advances in Oxytocin Research, Pergamon Press Ltd., Oxford.
- Granström, E. and Samuelsson, B. (1971) : On the metabolism of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in female subjects. *J. Biol. Chem.*, **246**, 5354.
- Hansson, E. and Samuelsson, B. (1965) : Autoradiographic distribution studies of ^3H -labeled prostaglandin E, in mice. *Biochem. Biophys. Acta*, **106**, 379.
- Nakano, J. (1970) : Tissue distribution and subcellular localization of ^3H -prostaglandin E₁ in rats and dogs. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **187**, 106.
- Nissen, H.M. and Anderson, H. (1968) : On the localization of prostaglandin dehydrogenase activity in the kidney. *Histochem.*, **14**, 189.
- Rosso, P. (1975) : Changes in the transfer of nutrients across the placenta during normal gestation in the rat. *An. J. Obst. and Gyn.*, **III**, 761.
- Samuelsson, B. (1971) : Metabolism of prostaglandins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **180**, 138.
- Teraki, Y., Miyasaka, M. and Tsunoo, S. (1974 a) : Effect of prostaglandins on the uteroplacental circulation. *Folia Pharmacol. Japon.*, **70**, 73.
- Teraki, Y., Saitaki, H. and Tsunoo, S. (1974 b) : Mechanisms of action of prostaglandins on the blood pressure. *Folia Pharmacol. Japon.*, **70**, 34.
- Tjäle, H., Hansson, E. and Schmitterlow, C.G. (1968) : Passage of ^{14}C -nicotine and its metabolite into mouse foetus and placenta. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, **26**, 539.

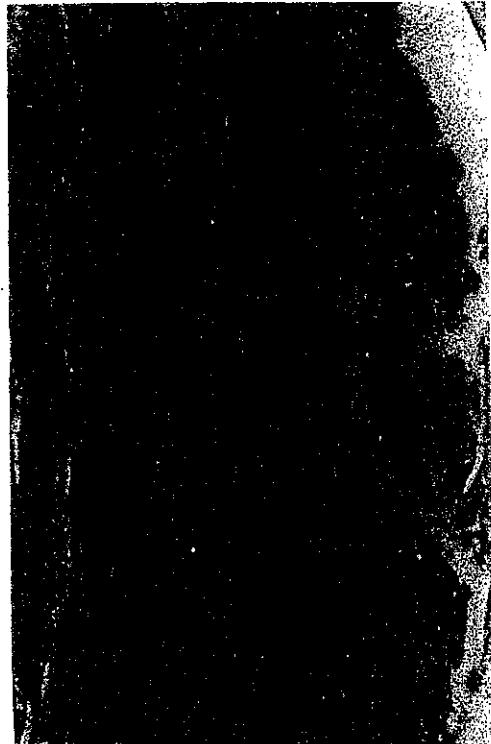


Photo 1 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 5 min. after intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). A slight concentration of radioactivity is seen in the myometrium.



Photo 2 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 5 min. after the intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). Note the high concentration in the placental tissue.

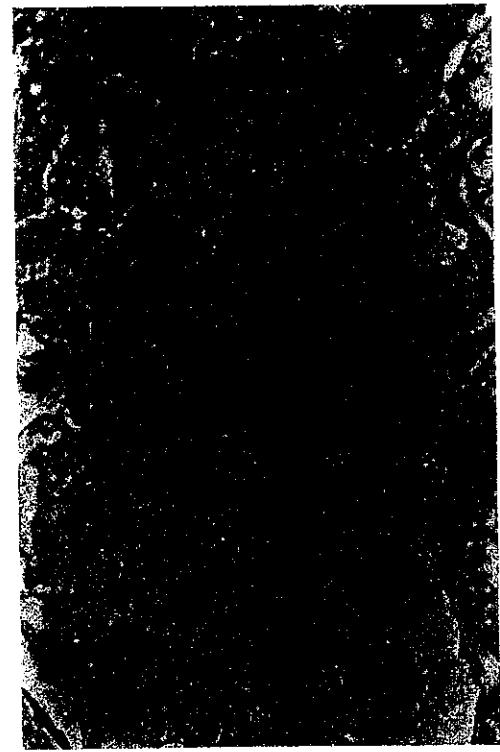


PHOTO 3 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 3 min. after intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). A very low concentration is seen in the fetal kidney



PHOTO 5 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 40 min. after intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). A moderate concentration of radioactivity is seen in the fetal lung

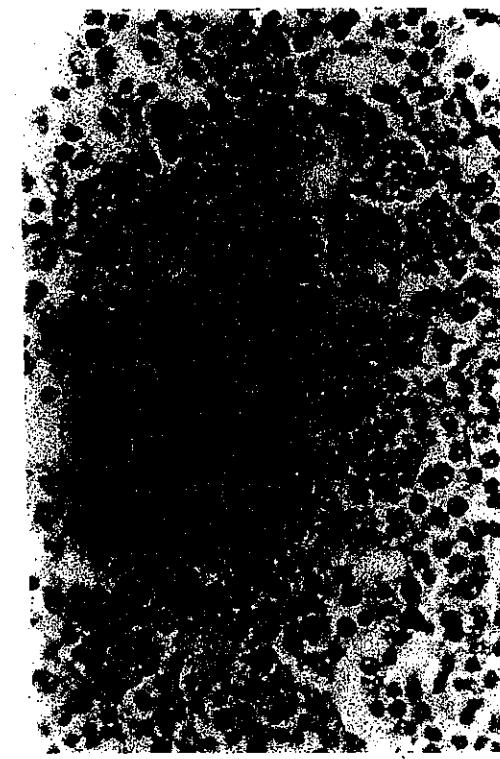


PHOTO 4 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 15 min. After the intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). Note the slight concentration in the fetal liver

PHOTO 6 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 40 min. after the intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$. Note the high concentration in the myocardium of a fetus



PHOTO 7 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 40 min. after the intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). Note the low concentration in the tissue of the fetal intestine.



PHOTO 8 Microautoradiogram showing the distribution of radioactivity in a pregnant rat 40 min. after intravenous injection of ^3H -labeled prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($50 \mu\text{Ci}/\text{kg}$). A moderate concentration is seen in the fetal bone.

A Study on Distribution in Organs and Transplacental Passage Using Radiolabeled Autacoids (^{14}C -5-HT and ^3H -PGF 2α)
—Autacoids and Pregnancy (V)—

Yoshimi Teraki

Department of Pharmacology I, The Showa University School of Medicine at Tokyo
142-0064, Japan

Present address: Medical Corporation Mitsukai Sagami Matsugae Clinic
Reprint request to : Dr Yoshimi Teraki , 23-14 Matsuge, Minami-ku, Sagamihara,
Kanagawa 252-0313, Japan

Abstract

Serotonin is recognized as an etiologic factor responsible for toxemia of pregnancy, and the tissue serotonin level in the placenta is elevated in patients with toxemia of pregnancy. Transplacental passage of serotonin was noted to be substantially delayed and the delay was abolished by administration of an antagonist. Transplacental passage of prostaglandin F_{2α} rapidly proceeded when it was administered in a low dose and was delayed after administration of a high dose. Impairment of placental blood flow is considered to account for the delay associated with the administration of exogenous autacoids.

Key words: Isotope, transplacental passage, ¹⁴C-5-HT, ³H-PGF_{2α}, pregnant rat

Autacoids and Pregnancy (V)

A Study on Distribution in Organs and Transplacental Passage Using Radiolabeled Autacoids (¹⁴C-5-HT and ³H-PGF_{2α})

5 Serotonin is recognized as an etiologic factor responsible for toxemia of pregnancy, and the tissue serotonin level in the placenta is elevated in patients with toxemia of pregnancy.

Transplacental passage of serotonin was noted to be substantially delayed and the delay was abolished by administration of an antagonist. Transplacental passage of prostaglandin

F_{2α} rapidly proceeded when it was administered in a low dose and was delayed after administration of a high dose. Impairment of placental blood flow is considered to

account for the delay associated with the administration of exogenous autacoids.

Introduction

The endogenous substances prostaglandin (PG) and serotonin that are produced within organs act as local hormones for physiological regulation in tissues. Their tissue levels in the uterus and placenta are known to increase in response to pregnancy and parturition; therefore, these substances are thought to have bearing upon development and delivery of the fetus. Administration of an exogenous substance, in this context, results in accumulation of the said substance unlike the case of usual drug administration. This study was conducted to investigate uptake of administered exogenous autacoids in the blood, uterus, placenta, etc. and their transplacental passage in the rodent rat of which placentas are generally thought to resemble human placenta, using radiolabeled compounds, to clarify whether such exogenous autacoids administered might be taken up by target organs and have any influence on uteroplacental circulation.

1. Toxemia of Pregnancy and Serotonin

Currently, serotonin (5-HT) is recognized as a substance with toxic action causally responsible, among other etiologic factors, for toxemia of pregnancy¹⁾. In this study, comparative assessments of plasma serotonin levels during pregnancy, delivery, and puerperium, and of placental serotonin levels in toxemia of pregnancy and their ratios to plasma serotonin level were made. Fig.1 shows plasma and placental serotonin levels at terminal stage of gestation in normal pregnant women and in patients with toxemia of pregnancy. The plasma serotonin level was rather lower in patients with toxemia of pregnancy than in normal pregnant women. However, the placental serotonin level was elevated to placenta-blood serotonin concentration ratios of 28.6 in toxemia of pregnancy and 34.8 in toxemia-related stillbirths, compared to 13.3 in births from normal pregnancies; hence, approximately 3-fold higher placental serotonin levels in cases of gestosis²⁾.

2. Distribution of Serotonin in Organs

In rat dams injected i.v. with 25 mg/kg of radiolabeled serotonin on day 19 of gestation,

a high-concentration uptake in the liver, kidney, and heart occurred in parallel with plasma serotonin concentration from 5 to 180 minutes post-injection, as seen in Fig. 2. A gradual, modest uptake in the uterus also occurred from 3 to 30 minutes post-injection. Uptake in the placenta increased from 30 minutes post-injection onwards to become 2-fold increased at 60 minutes post-injection. Distribution into the fetus and amniotic fluid was also evident²⁾.

3. Distribution of ¹⁴C-Serotonin in Organs – A Whole-Body Autoradiographic Study

Whole-body autoradiograms of pregnant rats were prepared following intravenous injection of ¹⁴C-serotonin or ¹⁴C-histamin between day 17 and day 19 of gestation. When a low dose (0.72 mg/kg) of serotonin was injected, there was no uptake of serotonin in the fetus or placenta at 5 minutes post-injection and a slight uptake in the placenta was observed at 15 minutes. In dams injected with a high dose (30 mg/kg) of serotonin, nevertheless, there was no serotonin uptake in the placenta even at 10 minutes post-injection (Photo.1) and distribution into the placenta was barely detected at 30 minutes post-injection. In matching pregnant dams pretreated with methysergide, an antagonist, in contrast, serotonin uptake in the placenta was demonstrated at 15 minutes post-injection (Photo. 2), and distribution into the fetus was also noted at 30 minutes post-injection. When radiolabeled histamin was injected at 10 mg/kg i.v., on the other hand, a rapid distribution into the placenta was noted at 5 minutes post-injection (Photo. 3), and distribution into the fetus as well as into the placenta was evident.

4. Distribution in Organs and Transplacental Passage of ³H-PGF2α⁴⁾

Distribution of PGF2α into the uterus, placenta, and fetus was investigated in rats injected i.v. with tritiated PGF2α at a terminal stage of gestation. Dams were sacrificed under anesthesia at serial time points, and organ specimens were collected upon laparotomy and assayed by liquid scintillation spectrophotometry. A high uptake in the liver, kidney, etc. was noted from 5 minutes injection of ³H-PGF2α onwards, followed by a gradual dissipation. Fig. 3 depicts distribution of ³H-PGF2α into the uterus, placenta, and fetus over time. As seen, ³H-PGF2α uptake in the uterus and placenta was already evident at 5 minutes post-injection and the compound was found to have reached the fetus by that time.

However, the uptake varied with concentration of ³H-PGF2α administered. Particularly, when ³H-PGF2α was injected at a high concentration of 300 µg/kg i.v., the uptake in the lung, liver, and kidney was low, relative to the uptake after administration of ³H-PGF2α at

a low dose of 20 µg/kg i.v., thus suggestive of a possible substantial influence of regional blood flow. Likewise, the uptake in the uterus and placenta was greater after injection of the low dose; particularly, the uptake in these organs after the high dose was 36.8 dpm/kg, being some dozen times greater than that (2.64 dpm/kg) after the low dose.

5. Microautoradiographic Study with ³H-PGF2α⁴⁾

Serial microautoradiograms of pregnant rats injected i.v. with ³H-PGF2α on day 19 of gestation were prepared. Distribution of the radiolabeled compound into various organs was noted from immediately after the injection onwards, and a slight uptake in the uterus and a high intake in the placenta were evident at 5 minutes post-injection (Photo.4). There was a high uptake in the fetal kidney at 3 minutes, in the fetal liver at 15 minutes, and in the fetal myocardium, with an uptake in the fetal small intestine, lung, etc., at 40 minutes post-injection.

Discussion

It is widely recognized that serotonin exerts a fetolethal effect in pregnant rats or mice when administered in high doses in the latter half period of gestation. Regional circulatory disturbances (e.g., reduced quantities of substances that enter the placenta and fetus, hypotension, amniotic degeneration, reduced placental blood circulation, and umbilical vasoconstriction) have been accounted for the fetolethal effect⁵⁾. Notably, Pepeu et al. described that such fetal death seemed likely to occur in cases where intraplacental serotonin level was increased at least 3 times as high as usual level⁶⁾. There is a report, however, stating that urinary serotonin excretion increases 3- to 4-fold in humans during at the early and terminal stage of gestation⁷⁾. The present author's study demonstrated that the placenta to blood serotonin concentration ratio was found to be 28.5:1 in toxemia of pregnancy and 34.8:1 in intrauterine fetal death, compared to 13.2:1 in normal pregnancies, indicating involvement of elevated placental serotonin concentration³⁾. This is in line with the experimental finding that the fatality rate of pregnant mice was 100% following injection of serotonin at 30 mg/kg i.v., compared to 13.9% following injection of serotonin at 1.5 mg/kg i.v.⁸⁾ The present mouse autoradiographic study showed that distribution into the uterus and placenta was demonstrable at 3 to 5 minutes after serotonin injection in a low dose; whereas after serotonin injection in a high dose, there was no uptake of serotonin

in the placenta even at 30 minutes post-injection, suggesting that placental blood flow was substantially reduced in the latter instance. In the liquid scintillation study, nevertheless, the uptake in the placenta rapidly increased from 30 minutes after the high dose on. It would seem reasonable to assume that placental serotonin accumulation might be related to fetal death. The reduced regional blood flow, or circulatory disturbance caused by a high dose of serotonin, is considered to give rise to impairment of placental function, serotonin accumulation in the placenta, hemorrhage, and edema.

Following administration, PGF 2α was rapidly taken up by various organs and its uptake varied with dose concentration. When tritiated PGF 2α was administered i.v. in a dose of 20 or 300 μ g/kg in rats on day 17 of pregnancy, the uptake of tritiated PGF 2α in various organs was faster and greater after a low dose than after a high dose. The uptake in the placenta, in particular, after a low dose was 14 times as high, and the uptake in the fetus was about 6 times as high as that after a high dose. As was the case with serotonin, the fetolethal effect of PGF 2α also was scarcely seen at a low dose and it is considered that fetal deaths occurred as a result of circulatory disturbance of the uterine placenta due to excessive accumulation of PGF 2α following administration in a toxic dose or overdosage.

Acknowledgement

This experimental study was conducted by the author at Showa University, Tokyo. While the author was affiliated with and on the staff of the Department of Pharmacology, Showa University School of Medicine.

References

- 1) Teraki Y: Toxemia of Pregnancy Workshop Note No. 64, the Japan Association of Obstetricians and Gynecologists, March 2001
- 2) Teraki Y: Pregnancy and serotonin - With special reference to relation with toxemia of pregnancy. Collection of Abstracts, the 24th General Conference of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology, 1: 164, 1972
- 3) Teraki Y and Kitagawa Y: Distribution in organs and transplacental passage of ^{14}C -serotonin and ^{3}H -histamine in rats - A whole body autoradiographic study. *Oyo-Yakuri (Applied Pharmacology)* 8:191-198, 1974
- 4) Teraki Y: Tissue distribution and fetal uptake of ^3H -prostaglandin F 2α in rats.

- 5) Robson J M and Sullivan F M: Journal of Endocrinol, 25:553, 1963
- 6) Pepeu G and Giaman N J: General Physiology, 45:575, 1962
- 7) Valsecchi A: Mineva Ginecol, 10, 898, 1958
- 8) Teraki Y: Mechanism of the fetolethal effect of 5-HT and influence of antagonists - An experimental study. Acta Obstetrica et Gynecologica Japonica, 20(12); 1639-1645, 1968

Table and Figure Legends

Table 1 Percentage radioactivity

Fig. 1 Toxemia of pregnancy and serotonin

Fig. 2 Distribution of serotonin into blood, uterus, and placenta in pregnant rats following administration of serotonin at 25 mg/kg i.v.

Fig. 3 Uptake and disappearance

Photo. 1 Autoradiogram 104

Photo. 2 Autoradiogram 105

Photo. 3 Whole body autoradiogram 103

Photo. 4 Whole body autoradiogram 101

Photo. 5 Autoradiogram 106

Photo. 6 Autoradiogram 107

Photo. 7 Autoradiogram 120

Photo. 8 9

Photo. 9 Microautoradiogram of the myometrium

Photo. 10 Microautoradiogram of the placenta

Photo. 11 Microautoradiogram of the myocardium

中	毒	症	と	セ	ロ	ト	ニ	ン	《	IV	》
一	臓	器	分	布	と	胎	盤	通	過	性	、
二	る	機	對							ア	イ
三	て	ら	き	よ	し	み				ソ	ト
四	寺	木	良	日						ー	ー
五	日本	歯科	大	学	新	潟	齒	學	部	ー	ー
六	第	二	解	剖	學	教	室			ー	ー
七	元	232-0313	相	模	原	市	南	区	松	が	枝
八	電	電話	042-767-7886							ク	リ
九										ー	ー
十										ー	ー
十一										ー	ー
十二										ー	ー
十三										ー	ー
十四										ー	ー
十五										ー	ー
十六										ー	ー
十七										ー	ー
十八										ー	ー
十九										ー	ー
二十										ー	ー
二十一										ー	ー
二十二										ー	ー
二十三										ー	ー
二十四										ー	ー
二十五										ー	ー
二十六										ー	ー
二十七										ー	ー
二十八										ー	ー
二十九										ー	ー
三十										ー	ー
三十一										ー	ー
三十二										ー	ー
三十三										ー	ー
三十四										ー	ー
三十五										ー	ー
三十六										ー	ー
三十七										ー	ー
三十八										ー	ー
三十九										ー	ー
四十										ー	ー
四十一										ー	ー
四十二										ー	ー
四十三										ー	ー
四十四										ー	ー
四十五										ー	ー
四十六										ー	ー
四十七										ー	ー
四十八										ー	ー
四十九										ー	ー
五十										ー	ー
五十一										ー	ー
五十二										ー	ー
五十三										ー	ー
五十四										ー	ー
五十五										ー	ー
五十六										ー	ー
五十七										ー	ー
五十八										ー	ー
五十九										ー	ー
六十										ー	ー
六十一										ー	ー
六十二										ー	ー
六十三										ー	ー
六十四										ー	ー
六十五										ー	ー
六十六										ー	ー
六十七										ー	ー
六十八										ー	ー
六十九										ー	ー
七十										ー	ー
七十一										ー	ー
七十二										ー	ー
七十三										ー	ー
七十四										ー	ー
七十五										ー	ー
七十六										ー	ー
七十七										ー	ー
七十八										ー	ー
七十九										ー	ー
八十										ー	ー
八十一										ー	ー
八十二										ー	ー
八十三										ー	ー
八十四										ー	ー
八十五										ー	ー
八十六										ー	ー
八十七										ー	ー
八十八										ー	ー
八十九										ー	ー
九十										ー	ー
九十一										ー	ー
九十二										ー	ー
九十三										ー	ー
九十四										ー	ー
九十五										ー	ー
九十六										ー	ー
九十七										ー	ー
九十八										ー	ー
九十九										ー	ー
一百										ー	ー
一百零一										ー	ー
一百零二										ー	ー
一百零三										ー	ー
一百零四										ー	ー
一百零五										ー	ー
一百零六										ー	ー
一百零七										ー	ー
一百零八										ー	ー
一百零九										ー	ー
一百一〇										ー	ー
一百一一										ー	ー
一百一二										ー	ー
一百一三										ー	ー
一百一四										ー	ー
一百一五										ー	ー
一百一六										ー	ー
一百一七										ー	ー
一百一八										ー	ー
一百一九										ー	ー
一百二十										ー	ー
一百二十一										ー	ー
一百二十二										ー	ー
一百二十三										ー	ー
一百二十四										ー	ー
一百二十五										ー	ー
一百二十六										ー	ー
一百二十七										ー	ー
一百二十八										ー	ー
一百二十九										ー	ー
一百三十										ー	ー
一百三十一										ー	ー
一百三十二										ー	ー
一百三十三										ー	ー
一百三十四										ー	ー
一百三十五										ー	ー
一百三十六										ー	ー
一百三十七										ー	ー
一百三十八										ー	ー
一百三十九										ー	ー
一百四十										ー	ー
一百四十一										ー	ー
一百四十二										ー	ー
一百四十三										ー	ー
一百四十四										ー	ー
一百四十五										ー	ー
一百四十六										ー	ー
一百四十七										ー	ー
一百四十八										ー	ー
一百四十九										ー	ー
一百五十										ー	ー
一百五十一										ー	ー
一百五十二										ー	ー
一百五十三										ー	ー
一百五十四										ー	ー
一百五十五										ー	ー
一百五十六										ー	ー
一百五十七										ー	ー
一百五十八										ー	ー
一百五十九										ー	ー
一百六十										ー	ー
一百六十一										ー	ー
一百六十二										ー	ー
一百六十三										ー	ー
一百六十四										ー	ー
一百六十五										ー	ー
一百六十六										ー	ー
一百六十七										ー	ー
一百六十八										ー	ー
一百六十九										ー	

胎児死亡と子宮収縮剤(PG)及び妊娠中毒症との関連についての検討一 器器分離による胎盤通過性、アイソトープによる胎盤内での産生される内因性物質PGならびにセロトニン(W)

胎児死亡と子宮収縮剤(PG)及び妊娠中毒症との関連についての検討一 器器分離による胎盤通過性、アイソトープによる胎盤内での産生される内因性物質PGならびにセロトニンは局所ホルモンとして、それぞれ組織内での生理的調節を行なつてゐる。子宮、胎盤における含量が妊娠、分娩に応じて増加することは知られており、胎児の発育、分娩に与えていいると考えられてゐる。この点、外因性物質の投与は通常の薬物投与と異なり該物質が累加することになる。外性投与物質が果して標的器官に取り込まれるのか、または子宮胎盤循環に影響を及ぼすのか、これら等を明らかにする為、アイソトープを用いて血液、子宮、胎盤などへの取り込み、胎盤通過性などについて検討した。

1. 妊娠中毒症とセロトニン

今日では、妊娠中毒症の成因の一につき toxic action

を持つものとしてセロトニンが挙げられる事が多い。今回、妊娠、分娩、産褥の各期を通じて、血中セロトニンの動態、妊娠中毒症における胎盤セロトニンの値および血液に対する濃度比などを比較検討した、図1に妊娠末期におけるセロトニンの含有量を正常と妊娠中の毒症の患者について示す。セロトニンの血液度は中毒症患者においては、むしろ正常分娩者のそれよりも低下している、しかし胎盤においては中毒症患者において胎盤含有量は増加し、血液に対する胎盤含有量は正常で13.8、中症28.6死産34.8と胎児死亡の胎盤に3倍もの増加がみられた(2)。

2. セロトニンの臓器分布

妊娠19日目のラットにセロトニン 25mg/kg 静注後、各臓器への移行をみると図2の様に投与5分後から180分後まで肝、腎、心など血中濃度に比例して高濃度の取り込みが見られる。子宫への取り込みも3分後より若干みられ、30分後まで漸次増加している。胎盤への取り込み

胎児水中にもセロトニンの移行が見られた。
た2) 3. ^{14}C -セロトニンの臓器内分布一全身オートラジオグラフィによる検討③

^{14}C -Seotoninおよび ^{14}C -Histaminで標識したセロトニンとヒスタミンを妊娠17-19日目のラットに静注し、全身オートラジオグラムを作製した。その結果、低濃度のセロトニン $0.7\text{mg/kg}^{\text{iv}}$ 投与15分後、胎盤への取り込みが見られた(図3)しかし高濃度のセロトニン 30mg/kg では15分後でも取り込みはみられず(図4)拮抗剤methylene ergot処置により胎盤に、取り込みがみられた。これに比し、ヒスタミンでは5分後、速やかに胎盤への移行がみられた(図5)。

4) ^{3}H -PGF2 α の臓器分布と胎盤通過性

妊娠ラットを用いた妊娠末期にトリチウムで標識したPGF2 α を投与し子宮、胎盤、胎児への移行状態を検討した。麻酔下、経時的に尾部

開腹後、試料を採取しliquid scintillation spectrophotometryにて測定した。 ^{3}H -PGF2 α 静注投与5分後より肝腎などに高く取り込まれ漸次消退される、図6は ^{3}H -PGF2 α の子宮、胎盤、胎児への移行をみたもので静注投与5分後にすでに子宮、胎盤への取り込みがみられ、胎児にも5分後到達している。しかし、この取り込みも濃度により差がみられ、特にPGF2 α の高濃度 $300\mu\text{g/kg}^{\text{iv}}$ では心、肺、肝、腎への取り込みが、低濃度のPGF2 α 20 $\mu\text{g/kg}^{\text{iv}}$ に比して少なく血流の影響が大きいと思われる。同じく子宮、胎盤への取り込みも低濃度の方が大で特に胎盤への取り込みは高濃度の 2.64dpm/g に対し、低濃度では 36.8dpm/g と十数倍も高かった(図6)。

5) ^{3}H -PGF2 α のマイクロオートラジオグラフ

3. ^{3}H -PGF2 α で標識したPGF2 α を妊娠19日目のラットに静注しmicroautoradiographyを作製した。投与直後から各臓器への移行があり、子宮、胎盤への取り込みも見られ、特に胎盤への移行は

容易であつた(図7)。胎児へ標識物質の移行は投与15分後から観察された。

セロトニンを妊娠後半期のラット、マウスに与えると子宮内胎児に致死作用を持つことが知られている。そしてその要因として循環障害(胎盤や胎児に入れる物質の量の減少や血圧の低下、羊膜の壞死、胎盤循環の減少、臍帶血管の収縮など言われている)がある。

おりわけPeperらのは胎児の死亡は胎盤内のセロトニン量が少くとも通常の3倍に増加した時に起こると思われる」と述べている事である。ただ、セロトニンは妊娠の初期と末期において尿中に3-4倍増加する事がヒトで知られているとの報告がある。今回、著者(3)の実験から妊娠中毒症の患者血液に対する胎盤セロトニンの含量比は正常の132に対し、妊娠中毒症では28.5子宮内胎児死亡は34.8で高いセロトニン含量を示している、このことには妊娠マウスの実験でセロトニン15mg/kgの致死

率13.9%に対し、增量のセロトニン30mg/kgでは100%であつた(8)。またオートラジオグラム上、低用量では3ないし5分後に子宮、胎盤に移行するのに比べ、高濃度では30分後でも胎盤への取り込みがみられず血流の減少が示唆された。しかし液シンでは30分後より胎盤への取り込みが急増し、セロトニンの蓄積が胎児死亡と関連するのではないかと推測される。

この血流の減少、すなわち多量のセロトニンによる循環障害が胎盤機能の障害、胎盤への蓄積、出血、浮腫等を惹き起すことになると思われる。

一方、PGR2αについては授与後、速やかに各臍器へ取り込まれるが、授与濃度により差がある。例えば妊娠17日のラットにPGR2α $20\mu\text{g}/\text{kg}$ と $300\mu\text{g}/\text{kg}$ のトリチウムで標識し静注授与したところ、各臍器への取り込みは低濃度の方が速く高濃度よりも高い。特に胎盤への取り込みは高濃度よりも14倍に達している。また胎児に対するも約6倍もの高い取り込みがみら

同様、低濃度では殆んど影響はないが、中等量あるいは過剰に投与により胎盤に過剰に蓄積し、子宮胎盤循環障害を来たし、胎児死亡が惹き起されるものと考えられる。

れた。PGF₂αによる胎児死もセロトニンと

- I) 妊娠中毒症 研修ノート No.64 日本母性保健
産婦人科医学 平成13年3月
- II) 寺木良巳、妊娠とセロトニン(特に妊娠中毒症との関連について): 第24回日産婦人科総会抄録集 1:164-1972
- 3) 寺木良巳、北川行夫、「ラットにおける14C-Septotoninおよび14C-Histamineの臓器分布と胎盤通過性について」(全身オートラジオグラフィーによる検討、応用病理 8: 191-198, 1974)
- 4) 寺木良巳(英文): Tissue distribution and Fetal Uptake of 3H-Prostaglandin F₂α in Rats. *Oto Yakuri* 18(1):125-136, 1979
- 5) Robson, J.M. and Sullivan, F.M., *J. Pharmacol.*, 553, 1963
- 6) Pepeu, G. and Giampi, N. *J. General Physiol.*, 45, 55, 1962
- 7) Valsechi, A. *Minerva Ginecol.*, 10, 898, 1958
- 8) 寺木良巳: 5-HTによる胎児致死作用の機序とその拮抗剤の影響について(動物実験)
日産婦人誌 20(12):1639-1645, 1968

卷之三

図 1 妊娠中毒症とセロトニン
図 2 妊娠ラットにセロトニン $[25\text{mg/kg i.v.}]$ 投与後
の血液ならびに子宮、胎盤への分布動態

図 5. ^{14}C -histamine(60 $\mu\text{Ci}/10\text{mg}(\text{Ag})$)を投与 5 分後の
オートラジオグラフ。

図 6 妊娠ラットに 3H-PGF2 α [300 μ g/50 μ Ci/kg] 投与後の血液、臓器への取り込みと消退

盤のオーディオラジオグラフ

Time	Distance	Speed
1 hr.	10 miles	10 miles per hour
2 hrs.	20 miles	10 miles per hour
3 hrs.	30 miles	10 miles per hour
4 hrs.	40 miles	10 miles per hour
5 hrs.	50 miles	10 miles per hour
6 hrs.	60 miles	10 miles per hour
7 hrs.	70 miles	10 miles per hour
8 hrs.	80 miles	10 miles per hour
9 hrs.	90 miles	10 miles per hour
10 hrs.	100 miles	10 miles per hour

20×20

the first time, and I am now in a position to do so. I have been writing to you for some time past, but have not had time to get my thoughts down on paper. I have been thinking a great deal about the future, and I have come to the conclusion that we must have a new government. The old one is not fit for us, and we must have a new one. I have been thinking about this for a long time, and I have come to the conclusion that we must have a new government. The old one is not fit for us, and we must have a new one.

图	1	.	妊	娠	中	毒	症	比	七	口	卜	二	シ
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

正常分娩	母体血液	脐带	胎龄
	0.170+0.009(93)	0.179+0.016(59)	1.963+0.150(74)

	母体血液	脐带	胎盤
正常分娩	0.170+0.009(93)	0.179+0.016(59)	1.963+0.150(74)
妊娠中毒症	0.134+0.024(17)	0.122+0.032(6)	2.938+0.326(17)
子宮內胎兒死亡	0.183+0.028(7)	0.182+0.039(3)	3.933+0.790(7)

Mean±S.E. n: g/ml (No.of subj.)

	Mean±S.E., μg/ml (No.of subj.)
子宮内胎兒死亡	0.133±0.028(7) 0.182±0.039(3) 3.933±0.700(7)

the first time in the history of the world, the people of the United States have been compelled to go to war with their own neighbors, and to do so under circumstances which render the conduct of the war difficult, if not impossible, to sustain. The conduct of the war will be determined by the character of the conflict, and the extent of the damage done to the country. The conduct of the war will also depend upon the character of the conflict, and the extent of the damage done to the country.

— 11 —

図 1 . 妊娠 母体 血液	脛器	胎盤
0.170+0.009(93)	0.179+0.016(59)	1.963+0.150(74)

	母体血液	脐带	胎盤	胎盤／母体血 液
正常分娩	0.170±0.009(93)	0.179±0.016(69)	1.963±0.160(74)	12.00±1.06(66)
妊娠中毒症	0.134±0.024(17)	0.122±0.032(6)	2.938±0.326(17)	28.38±3.56(17)
子宫内胎儿死亡	0.183±0.028(7)	0.182±0.039(3)	3.933±0.700(7)	34.83±9.46(7)

Mean±S.E. n=8/ml (No. of subj.)

— 1 —

$$= \prod_{i=1}^n \left[\frac{1}{\alpha_i} \left(\frac{\partial}{\partial x_i} - \frac{\partial}{\partial y_i} \right) \right]$$

図	3	^{14}C -serotonin(50 μg)	Gi0.72mg/kg	投与、15分後	の全				
身	オ	ー	ト	ラ	ジ	オ	グ	ラ	フ。

図 2 妊娠ラットにセロトニン 25mg/kg.i.v.投与後の
血液ならびに子宮、胎盤への分布動態

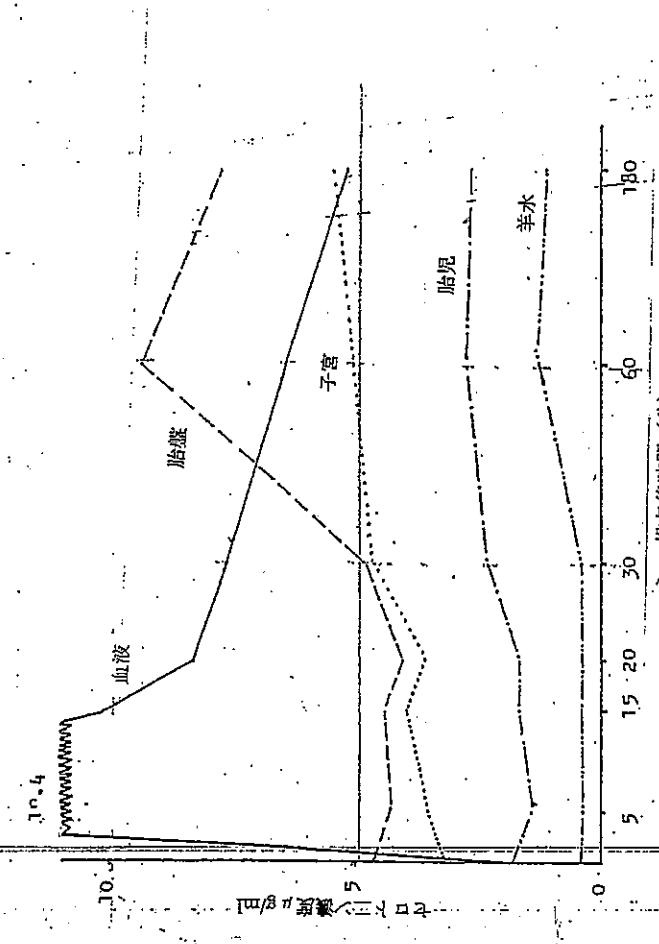


図 4' . ^{14}C serotonine(50 μ Ci/30 mg/kg) i.v. 投与 10 分後の全身
オートラジオグラフ。



図 5 . ^{14}C histamine(50 μ Ci/30 mg/kg) i.v. 投与 5 分後 ϕ
オートラジオグラフ。



図 6. 妊娠ラットに ^{3}H -PGF₂ α 300 μg /50 μl の投与後
与後の血液、臓器への取り込みと消退

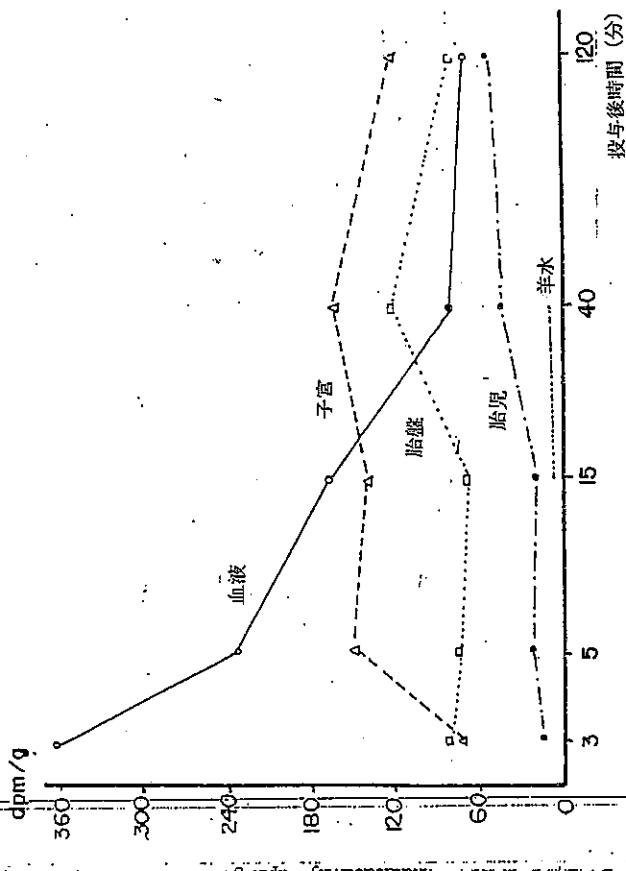


図 7. ^{3}H -PGF₂ α 60 μg i.v. 投与後
胎盤のオートラジオグラフ



Serotonin および関連化合物の鶏胎仔毒性 ならびに奇形発生について

昭和大学医学部第一薬理学教室（主任：角尾 泰教授）
北川 行夫

Serotonin および関連化合物の鶏胎仔毒性 ならびに奇形発生について

昭和大学医学部第一薬理学教室（主任：角尾 泰教授）

北川 行夫

[受付：2月21日，1973]

目 次
I 緒 言
II 実験材料及び方法
1 飼養葉物
2 実験動物及び方法
III 実験成績
1 胎仔に及ぼす毒性
2 健康性
3 病理組織学的所見
4 全身オートラジオグラフィーによる Serotonin の分布
IV 考 察
V 緒 言

味ある成績を得ている。即ち角尾等の報告を初めとして、当教室から既に多数の成績が報じられ、特に Nicotine 及荷の鶏胎仔に著明に認められる水腫形成に関する多角的に詳しい検討が続かれてきた。ここに於て著者は、胎生期の薬理学的研究の一環として Serotonin 及びその代謝物質である 5-Hydroxyindole acetic acid の鶏胎仔発育に及ぼす影響を検討した。また Serotonin と関連化合物を食荷し胎仔に対する毒性を観察し、外形、内臓異常、骨格異常を調べ、病理組織学的検索を試み、放射性 Serotonin 授与における胎仔体内分布を調べた。

II 実験材料および方法

1 試験葉物

下記に示す各葉物の各用量を生理食塩水 0.2 ml 中にそれぞれ溶解して無菌操作の下に卵黄嚢内に注射した。

- ① Serotonin
Serotonin creatinine sulfate complex monohydrate (米シグマ社製) として 0.03, 0.09, 0.27, 0.81, 2.43 及び 7.29 mg の各用量を用いた。なお黒として生理食塩水 0.2 ml のみを授与した。
- ② Creatinine
上記の Serotonin 試葉中に占める Creatinine sulfate 部分が大きいので、この影響をも考慮して Creatinine sulfate monohydrate を合成して第 2 の对照とした。すなわち用液として Serotonin 試葉 1 mg に相当する 0.57 mg 制とした。
- ③ 5-Hydroxyindole acetic acid (5-HIAA)
5-Hydroxyindole acetic acid (米シグマ社製) 0.5, 1, 2, 4 mg の各用量を用いた。

他方当教室に於ては、胎生期の薬理学的研究として諸葉物の鶏胎仔に及ぼす影響を系統的に検討し、多数の異

表 1 Serotonin および関連化合物の卵黄試験
内投与による結果

	負荷薬物 mg/0.2ml	10 日間の死亡率	死亡卵数	死亡率 (%)
対照	生理食塩水 0.2ml	2 / 216	12.5	
Serotonin 群	タレチニン硫酸 0.57mg	1 / 16	6.25	
Serotonin 群	0.03mg	2 / 216	12.5	
0.09	4 / 16	25.0		
0.27	7 / 16	43.8		
0.81	4 / 16	25.0		
2.43	11 / 16	68.7		
7.29	12 / 16	75.0		
H-A	0.5 mg	2 / 216	12.5	
A-A	1.0	2 / 216	12.5	
A-A	2.0	2 / 216	12.5	
A-A	4.0	3 / 16	18.75	

各薬物の基礎用薬を卵 1 個当たり、0.2ml の生理食塩水に溶かして、解卵 4 日目の卵黄葉内に投与した。投与後 10 日間ににおける LD₅₀ (Litchfield-Wilcoxon 法) Serotonin LD₅₀ = 0.45mg/egg (0.39~0.52mg)
5HTAA LD₅₀ > 4mg/egg

各群の最終死量を第 1 表にまとめた。

- 1) 鵪胚に及ぼす毒性
薬物投与後 10 日間ににおける死亡卵数より LD₅₀ in 10 days を Litchfield-Wilcoxon 法により算定した。
- 2) 鵪胚仔稚奇形性
解卵 4 日目に生存卵の全例を破殻し、胎仔の外形及び内臓を肉眼的に観察した。さらに金子例を Karotofsky²⁰ の方法に準じて、アリザリンレッド染色骨標本にした。
- 3) 病理組織学的検索
病理組織学的検索のために使用した標本は Serotonin 0.5及び 1 mg/卵を同投法で投与して得られた奇形の著明な胎仔の器官を摘出し、型の如く 10% 中性ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋組織切片を作製して、ヘトキシン・エオジンの核染色をおこなつた。なお大部分では脱肛操作を行つた。また一部において深粘切片を作製し、Sudan III による脂肪染色をおこなつた。

- 4) 全身オートラジオグラフィー
解卵 4 日目の卵黄葉内に標識化合物として比放射能 2.5 μCi/0.8mg の C¹⁴-Serotonin を投与し、18 日目にライアイスアセトン (-78°C) 中で凍結後 Kalberer¹⁹ の変法により全身オートラジオグラムを作製した。

III 実験成績

1) 鵪胚に及ぼす毒性

2)

2) Serotonin 群

表 2 Serotonin, 5HTAA, クレアチニン硫酸の卵黄葉内投与による 18 日鶏鶏仔

奇形・異常の種類	実験群			对照群			Serotonin 投与群 (mg)			SHIAA 投与群 (mg)			
	生食水:CR-S 0.2ml:0.57mg	0.030:0.027	0.030:0.027	生食水:CR-S 0.2ml:0.57mg	0.030:0.027	0.030:0.027	8	12	1	3	1	5	
外 形 ・ 内 臓 不 全							1	3	1	2	8		
内 臓 出 血							2	2	3	2	12		
内 臓 低 着							1	1	3	1	6		
肝 肥 大 姿 形							1	1	1	1	2		
所 脂 肪 沈 着							1	1	2	3	3		
心 肥 大 症							1	1	1	1	2		
門 脈 淤 滞							1	1	1	1	6		
全 身 下 出 血							2	2	1	1	2		
お う む 嘴							1	2	1	1	9		
脊 椎 曲 折							1	1	1	1	1		
上 腕 骨 度 異 常							1	1	2	2	6		
大 腿 胫 脛 角 度 異 常							1	1	2	1	1		
尾 端 面 内 反							1	1	2	1	1		
腰 椎 中 足 骨 伸 展 直							3	1	1	1	1		
趾 趾 骨 内 反							1	1	2	1	1		
趾 趾 骨 外 反							1	1	2	4	2		
細 脚							1	1	1	1	1		
全 身 化 骨 不 全							1	1	1	1	1		
異常胚仔発育 様生胚仔発育実数							2/15	0/143/12/6/9/5/12/5/5	4/4	23/56	3/145/14/11/13/10/55		
異常胚仔発育率 (%)							7.1	13.3	0	25	67* 41	100** 41.1** 21.4 35.7	7.1 7.7

* P<0.05 ** P<0.01
0.09 mg 以上の投与例において数値の奇形・異常がみられ (P<0.01), その程度は重篤であった。すなわち Serotonin を投与した生存卵 66 例中 18 日目まで生存した卵は 56 例であり、このうち奇形または異常を呈したものは 23 例 (41.1%) であった。奇形・異常の延べ数は 76 例を算え、23 個の外見から外部に突出し、軸内には無色透明ヘルニアを伴つた陰茎症で、透明な被膜状膜が脱出した臍器を包みこむように覆っている (写真 12 及び 16)。この裏膜にはブルーランドとされた膜によって形成された腫瘍が脱出器の開口から外部に突出し、軸内には無色透明な体液が脱出器の貯留部に聚められた。a) 外形・内臓異常: 变形(8例), 腹下浮腫, 腹腔膨脹(6例)などがみられた。b) 化学的刺激に対しても強く、青色染色標本作製のため、アルコール、アセトン、KOH、グリセリンなどに数回間浸漬しても破れることではなく、なおも茎水漏の形態を保つていた。門脈静脈繩は胎仔の所歎大に及ぶものが 1 例 (写真 8) にみられ、他の 5 例では軽度で

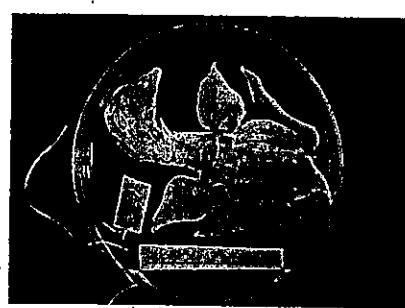


写真 1 対照例：生食水 0.2 ml 卵黄素内投与。解卵18日目。対照例の卵黄素変形と正常な骨格構造を示す。

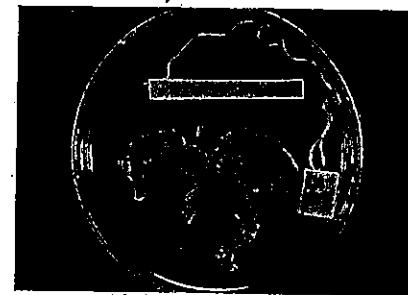


写真 2 同アザリレンクド染色標本。骨格形成十分类別がみられる。



写真 3 5 HT 0.27 mg 卵黄素内投与。解卵18日目。死亡例。骨格形成十分类別がみられる。



写真 4 同骨格標本。下半身捻軸。腰椎捻軸。大腿骨角度異常。

あつた。その他肝臓の肥大変形 3 例、肝臓への脂肪沈着、複数臓器の瘀着、全身皮下出血各 2 例、内臓出血、心肥大変形などがみられた。

b) 骨格異常：脊椎の彎曲（写真 11 及び 15, 17）や捻軸したもの（写真 13）が見られ、これらは合併症である腹部臓器肥大変形と並水腫、義水腫などによる圧迫の影響と見受けられた。その差し引きは、写真 11 のように脊椎の断絶している例さえあつたが、これらは強制時に生存を

写真 8 5 HT 0.81 mg 卵黄素内投与。解卵18日目。生存例。門脈静脈瘤。

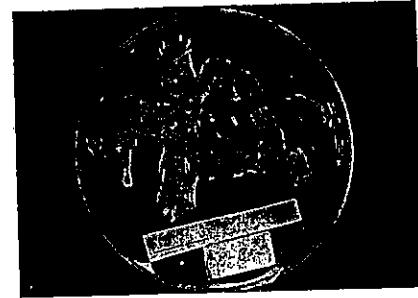
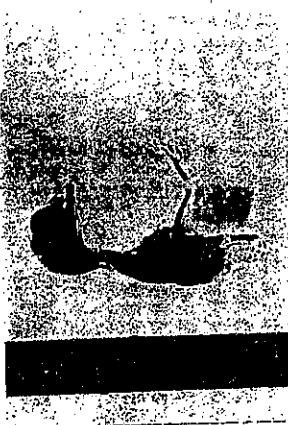


写真 9 5 HT 0.81 mg 卵黄素内投与。解卵18日目。生存例。内臓ヘルニア、脾腫肥大変形低養水足、心肥大、肝肥大腹腔防炎、腰椎屈曲左右腰骨一中足骨關節異直、趾骨内反。



骨格異常に拘らず、全例に於て骨の欠損や融合、著明な短縮を認めず、また頭蓋骨にも異常所見を認めなかつた。

3) FHAA 群
写真 7 5 HT 0.27 mg 卵黄素内投与。解卵18日目。生存例。趾水腫、義水腫不全、化膿不全、腰椎捻軸、右大腿角度不全、左腰骨一中足骨關節異直、右趾骨内反。

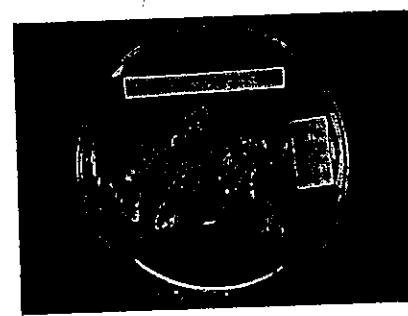


写真 5 5 HT 0.27 mg 卵黄素内投与。解卵18日目。死亡例。全身皮下出血、全身皮膚変形出。毛羽不全。羽毛発達不全。四肢未発達。



写真 6 同骨格標本。下半身捻軸。大腿骨角度異常。化骨不全。

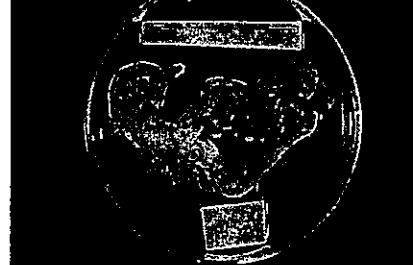


写真10 5HT 2.43 mg 鳥黄素内投与。孵卵18日目
生存例、内臓水症ヘルニア、肝肥大変形。

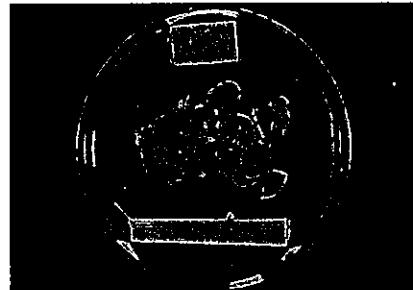


写真12 5HT 2.43 mg 鳥黄素内投与。孵卵18日目
生存例、著明な発育不全、内臓水症ヘルニア
ア、肝肥大、臟器萎縮。

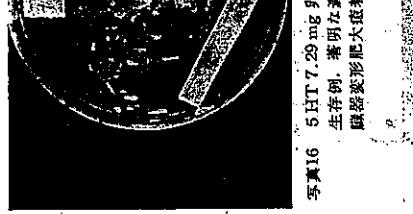


写真16 5HT 7.29 mg 鳥黄素内投与。孵卵18日目
生存例、著明な発育不全、内臓水腫及び内臓ヘルニア、
臟器萎縮肥大を有す。



写真11 同骨格標本。脊椎屈曲、腰椎断絶、左右脛
骨一足閉鎖伸硬直、蹠骨内反、

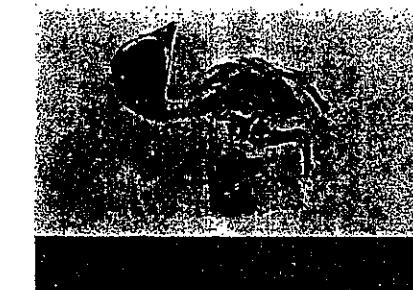


写真13 同骨格標本。脊椎扭曲屈曲、左右脛骨一中
足骨閉鎖不全、趾骨内反。

3 病理組織学的所見

後発の対象とした生存卵の被投時ににおける肉眼的所見
は次の如くであった。

- 1) 対照例：異常所見はなかった。
- 2) Serotonin 群

- i) 0.5 mg 投与例：心臓部から下腹部に至る広範囲
の肥水症、心臓肥大、肝臓充血変形、著明な内臓脱出等
- a) 大脳所見（写真23）
- b) 小脳所見（写真24）
- c) 脊髄所見（写真25）
- d) 脊髄外膜所見（写真26）

写真14 5HT 7.29 mg 鳥黄素内投与。孵卵18日目
死亡例、臟器出血、膝、趾部出血斑、
ア、肝肥大、臟器萎縮。

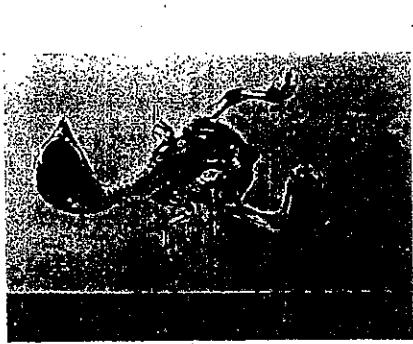


写真15 同骨格標本。脊椎屈曲、大腿骨角度異常、
脛脛窩等の変化はみられないが、所々の血管に充血像が
認められる。脛窩に於ては出血、血管充盈、血管周囲の
細胞浸潤などの組織学的変化はみられないが、一部に膨らま
るグリア細胞の増殖像が程度であるが、一部に膨らま
る、脱髓鞘葉、水腫、壊死あるいは神経細胞の変性は認
められない。

- ii) 1.0 mg 投与例：背側大脳脈血管腫大、腎と膀胱
池底に乾着あり、排泄道内腔滲液は褐色に着色している
のが認められた。

以下これら 3 群の組織学的所見をのべる。
a) 大脳所見（写真23）
i) 対照例：軟膜所見として、充血、出血あるいは細
胞浸潤、出血などの変化は認められず、又脂肪たんこ
も出

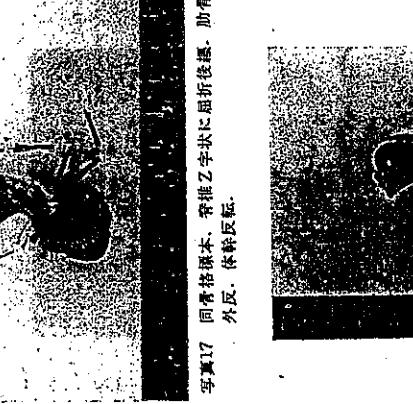


写真17 同骨格標本。脊椎乙字状折に屈折後屈、肋骨
外反、体幹反転。

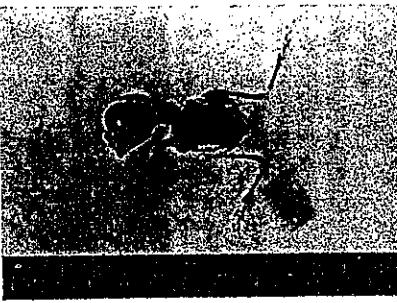


写真18 同骨格標本。脇部外反

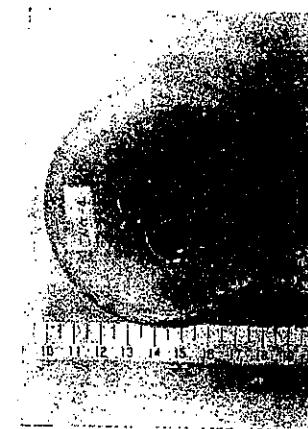


写真19 Nicotine 2.5 mg 卵黄囊内投与、孵卵18日
目生存例、全身の堅弾薄皮下及び体腔に不透明な液体貯留した水泡。

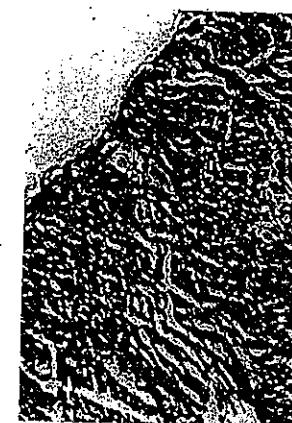


写真20 5 HT 1.0 mg 投与例の骨髄標本



写真21 5 HT 0.5 mg 投与例の心臓標本

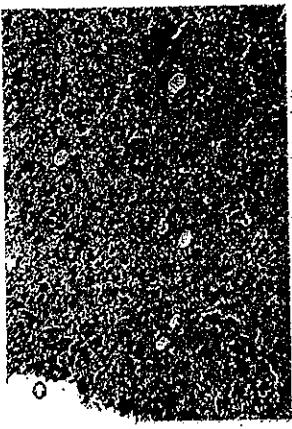


写真22 5 HT 1.0 mg 投与例の肝標本



写真23 5 HT 0.5 mg 投与例の大脳標本

ii) 1.0 mg 投与例：胸膜に於ては肥厚及び細胞浸潤はなく、また肺、気管支及び血管支周囲に於ても細胞浸潤は認められない。なお間質に於て血管充盈像が認められ、また所々の血管周囲に結合織の増殖像が軽度にみられる。

d) 心臓所見（写真21）

1) 対照例：

心外膜所見としては、細胞浸潤及び血管充盈像が著明に認められる。心筋層に於ては、間質の一部に軽度の細胞浸潤が認められるが、心筋自身では、肥大、萎縮あるいは脂肪変性などの変化は認められない。なお心筋核にも何ら組織学的变化は認められない、また心筋層血管の血液充盈像および血管周囲の細胞浸潤が乏しみられる。心内膜に於ては、内皮細胞の増殖像が一部に軽度に認められるのみである。

2) Serotonin 群

i) 0.5 mg 投与例：心外膜に於ては、血管充盈像や細胞浸潤は認められない。心筋層に於ても何ら組織学的变化は認められない。また、心内膜にも变化はない。

ii) 1.0 mg 投与例：心外膜に於ては、軽度の細胞浸潤が限局して認められるが、血管充盈像は認められない。心筋層に於ては心筋自身には何ら組織学的变化は認められないが、心筋層血管の所々に充盈像がみられる。心内膜では、一部に軽度の内皮細胞の増殖および内膜下組織に水腫像が認められる。

e) 腎臟所見（写真25）

1) 対照例：

糸球体に於ては一部に軽度の円形細胞の浸潤を認める。糸球体自身の肥大及び萎縮像などの変化はみられない。糸球体自体に於ては出血などは認めないが、糸球体には強張、患者あるいは出血などの歴史は認めない。糸球管では、死後変化と思われる腫瘍像は認めない。糸球管に於ては、出血、脂肪変性及び空泡化などは認められない。なお一部に管子様円柱がみられるが、細胞浸潤などの変化は認められない。又、肾孟粘膜に於ては組織学的变化はみられない。

2) Serotonin 群

i) 0.5 mg 投与例：被膜、糸球体及びボーマン氏囊列は所々に於て認められており、肝細胞の萎縮、脂肪変性及び壊死性空胞化等の進行変性の変化が認められる。クッペル氏星網細胞は反応していない。なお中心静脈及び毛細管は所々に於て強張像を呈している。グリソン氏精では、結合織の増殖あるいは円形細胞の浸潤は認められないが、血管充盈像が著明にみられる。

ii) 1.0 mg 投与例：肝細胞の配列は整然としており、小葉内に於ては中心静脈に血管充盈像が認められる。他の所々に於て認められる他の特徴的変化はない。クッペル氏星網細胞は反応していない。グリソン氏星網細胞には変化はない。グリソン氏精に於ては血管充盈像が軽度に認められるのみである。

c) 肺所見（写真22）

1) 対照例：

小葉内所見としては、肝細胞の配列は整然としており、肝細胞に萎縮、空胞変性、脂防変性及び壊死などの進行変性は認められない。クッペル氏星網細胞は何ら反応していない。また出血はみられないが、血漿充盈像が中心静脈に著明に認められる。グリソン氏精に於ては、円形細胞の浸潤及び結合織の増殖等はみられないが、グリソン氏精血管の充盈が著明に認められる。

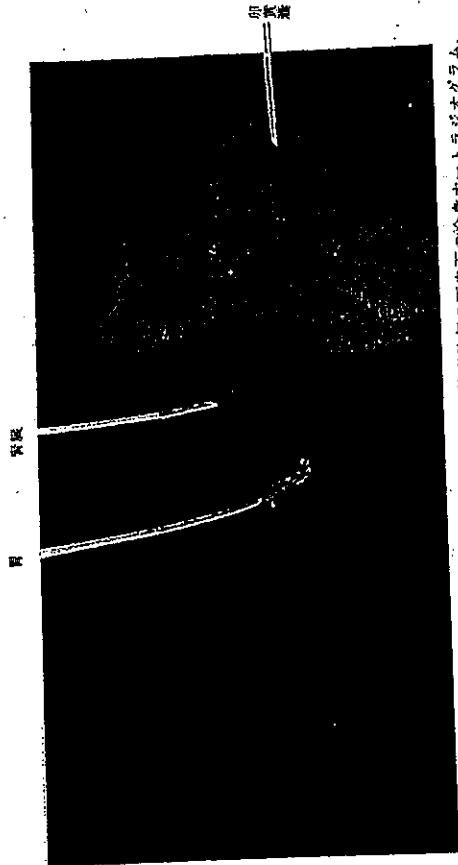


写真27 Cu^{65}HT 2.5 μCi 投与解卵18日目の卵殻外放出胎仔の正中面の全身オートラジオグラム。卵黄囊と胃内に著明な放射活性を認める。脛端にも分布像を幾分認める。

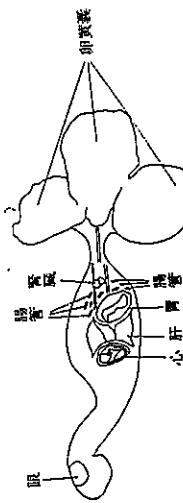


図1 写真27に示した実験例の全身正中断面図

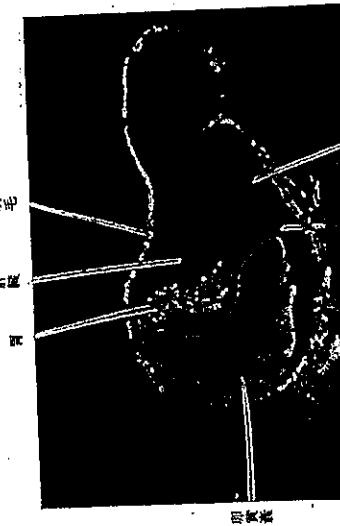


写真28 Cu^{65}HT 2.5 μCi 投与した孵化直後の雛の全身オートラジオグラム。体内に吸収された卵黄囊に大量の放射活性を認めるほか、胃内、心臓に著明な分布像を認める。

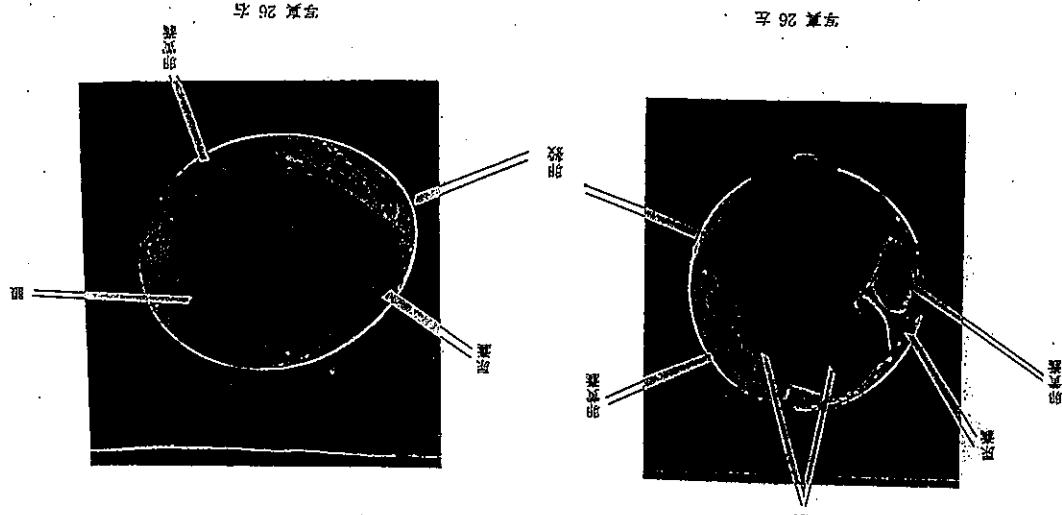


写真26 雉
写真28 雉
Cu⁶⁵-HT 2.5 μCi 投与解卵18日目の卵殻内胎仔。照相（写真26）及び放能（写真28）は平行な剖面切面である。卵黄囊及び胚葉は著明な分布像を認める。頭部周辺は中心部よりもかかれてる。

細胞浸潤が見られ、また憩室像が著明に認められる。

1) 胎兒見（写真20）

1) 対群例：

骨器部に於て、軟骨細胞及び細胞核の変性が軽度にみられる。又一部に軟骨細胞及び細胞核の変性が軽度に認められる。なお軟骨膜形化像が一部に於てみられる。骨幹部に於て、骨細胞からびに核の変性像あるいは骨梁形成が不全等の変化は認められない。骨幹部に於ても、組織学的変化はほとんどみられない。

2) Serotonin 群

i) 0.5 mg 投与例：骨器部に於て軟骨細胞及び軟骨細胞核の変性像が認められる。また軟骨膜の発育も遅延しており、骨梁形成が不全像が軽度であるが認められる。なお骨幹部に於ては特記すべき組織学的变化は認められない。

ii) 1.0 mg 投与例：骨端部及び骨幹部に於て特記すべき組織学的变化は認められず、また骨幹部に於ても同様である。

4 全身オートラジオグラフィーによる Serotonin の分布

1) 解剖前

18日目卵巣内在位製胎仔のオートラジオグラムは、写真26に示す如く、卵殻、卵黄嚢、尿囊嚢に著明な放射能分布像を認めたほか、眼球周辺と中心部にわざかに分布像がみられた。また同日胎仔卵巣より摘出した卵巣仔の全身オートラジオグラムでは、卵黄嚢、腎内及び腎に高濃度の分布像を認めた。しかしその他の器官にはほとんどどの像を認めることができなかった（写真27）。

2) 解剖後

21日目孵化直後のヒナでは、体内に吸収された卵黄と、胃及び羽毛に著明に、又腸管にも微かながら影像を認めた。肝臓、心臓に斑状の像がみられるが、その他の器官には分布像を認めることができなかった（写真28）。

IV 考 素

胚毒性に対する Serotonin の毒性 LD₅₀ は 0.45 mg/kg であった。これは約 10 mg/kg 胎児量に相当する。一方マウス、ラットに於ては 15~80 mg/kg 母体重量を妊娠初期乃至末期の母鼠に皮下投与して、10% 至 100% の胎仔死亡を認めたとの報告^[10, 11]がある。一方で、マウス、ラット胎仔とほぼ同程度のオーダーの毒性が示されたといえる。なおこの量は母鼠に何ら急性毒性は示さなかった。

症状を呈さない量とされたおり^[12]、マリス、ラットについて報告されている LD₅₀（皮下）の各々のオーダーの一である。

腫瘍形性

セロトニン奇形の種類は、第3表にまとめた如くで、神経系の異常、骨格欠損、浮腫、内臓形化などであり、特に眼や頭などに macro な異常所見が多く報告されているが、鶏胎仔に於ては、眼に Cu-Serotonin のとりこみを認めたにもかかわらず、これらの筋や脛に macro な形態異常を認めず、また脛の組織学的異常所見もなかつた。骨格系において、骨欠損、骨管の組織学的所見は認められなかつたが、一部に軟骨細胞の変性と骨形成不全像を認めた。発生した奇形の大部分が皮下浮腫及び浮腫部とそれに伴う膜形化、肥大、発達、ヘルニア等であり、またこれらに圧迫された影響と思われる骨格の著しい歪形が認められた。その他、発育不全、門脈静脈瘤、全身皮下出糞などがみられた。鶏胎仔の Serotonin による水痘は、1954年角尾ら^[13]が報告して以来多數の研究がなされているニコチニン水痘とは殆々類を異にしている。即ちニコチニン水痘に於ては関節^[24]によれば、「大腿部を中心として片側性又は両側性に現われるか、或は軸幹全体に及び…」、「全身の髪部筋膜下や体腔に不透明な液体が貯留している」という。著者がニコチニンを投与した少數の雛胎仔に於ても、関節の描写に相当するような首の起始より下方全身にわたって強力に乏しいダルマ状に浮腫を来しているものを数例認めた（写真19）。

木村^[25]によれば、ニコチニン水痘では、「浮腫液は多くの場合、表皮網状層内に貯留し、一部水痘液が心窓膜内、腹膜腔内にもみられる」。一方 Serotonin による鶏胎仔水痘では、前述の如く透明球膜状の腹膜で脱出した腹部臍器を包括する状態になつており、被膜内に浮腫液の貯留をみると、あるいは腹部臍器の間隙からブルーン状となつて突出した透明な腹膜の蓋水瘤を形成していた。心臍内に皮膚細胞の増殖と水腫を認めた例もある。著者のニコチニン水痘例では、皮膚は機械的刺激に脆弱で被膜易く、浮腫液は流失し易いが、一方 Serotonin 水痘の表膜は著しく丈夫で、機械的刺激にも、Ethanol, KOH, Glycerol, Acetone 等の化学的処理を行つても破壊されずに、なおも蓋水瘤の形状を保つている様本もあつた。

以上諸報告より、鶏胎仔の Serotonin による皮膚の機能的、器質的変化、心臓障害などが必要因をなしているであろうと推測することは困難ではない。しかしながら、本実験に於ては、C₁₄-Serotonin は腎にとり込まれたオートラジオグラムを呈したが、Serotonin による腎の変化として、ニコチニン水痘の成因として大筋的には、血管の透過性障害、腎細胞の変性及び心臓障害などを挙げているが、Serotonin についてはラットに著明な浮腫を起し^[26]、

表 3 脱胎の報告による Serotonin によるマウス・ラットの奇形

奇形の種類	報告者・文献	動物種	Marley ^[14]	Reddy ^[15]	Poulton ^[16]	Seller ^[17]	Thompson ^[18]
			ラット	ラテ	マウス	マウス	マウス
脛水 痘			○	○	○	○	○
脛 脱 出				○	○	○	○
脊 骨・胸 骨・頭 頭				○	○	○	○
頭・脊椎出血				○	○	○	○
短 鼻				○	○	○	○
OPEN EAR			○				
小 眼				○	○	○	○
眼 疣 疮					○	○	○
兩 眼 疮					○	○	○
單 眼					○	○	○
無 限					○	○	○
腋 欠 捲					○	○	○
多趾 捲					○	○	○
尾 欠 捲					○	○	○
尾 捲					○	○	○
腹・尾 变 形					○	○	○
化 骨 遅 延					○	○	○
短 軸 骨			○	○	○	○	○
水 腹					○	○	○
腎 水 痘					○	○	○
腹壁 開 裂					○	○	○
肝 ヘ ル ニ ア					○	○	○
肝 尾 大					○	○	○
無 腎					○	○	○

して門脈圧の亢進を認め、Rowley^[19]は微小循環静脈の取縮に次ぐ弛緩・暮血・靜脈圧上昇・透通性的亢進などと報告しているが、本実験に於ては、肝への脂肪沈着、肝肥大、門脈靜脈瘤などを macro に察察し、また組織学的には肝細胞の退行性変化を認めたものもあつた。下肢筋肉の異常もみられ、これが骨盆關節の変形や接合角度の異常もみられ、これが骨盆關節の異常などによるものとも推察された。筋の異常などによるものとも推察されたが、一部には直接軟骨組織に変性を見たものもあつた。

1 µg の Serotonin は皮下組織に約 2 ml の水分貯留を来たすことが報告され^[20]、Serotonin はこれまでに知られている最も強い浮腫誘物質であり^[21]、末梢静脈の弛緩、豊血と透通性的亢進を来たすとの結果がある。Waugh^[22]、Craig^[23]は、Serotonin 投与ラットの腎に虚血性変化、急性 nephritis、皮質のリンパ管液、あるいは壊死を認め、Pape^[24]はウサギの腎系球体に障害を報告している。以上の諸報告より、鶏胎仔の Serotonin による水痘では、皮下組織を多く含む部位に浮腫を来たすが、これは第 3 表に示すマウス、ラットの Serotonin 奇形の種類とは類似性を示していない。また脛の浮腫は脛骨膜が心窓膜内、末梢静脈の弛緩による脛骨膜内に貯留する。一方 Serotonin による鶏胎仔水痘では、前述の如く透明球膜状の腹膜で脱出した腹部臍器を包括する状態になつており、被膜内に浮腫液の貯留をみると、あるいは腹部臍器の間隙からブルーン状となつて突出した透明な腹膜の蓋水瘤を形成していた。心臍内に皮膚細胞の増殖と水腫を認めた例もある。著者のニコチニン水痘例では、皮膚は機械的刺激に脆弱で被膜易く、浮腫液は流失し易いが、一方 Serotonin 水痘の表膜は著しく丈夫で、機械的刺激にも、Ethanol, KOH, Glycerol, Acetone 等の化学的処理を行つても破壊されずに、なおも蓋水瘤の形状を保つている様本もあつた。

517

Rowley^[19]は胎盤静脈に於て、Reigard^[25]がイヌに Serotonin を静脈注入した際の胎盤の充血を認めた。

容易に達するが、胎仔には取りこまれ難いことが明らかにするよりも、むしろ間接的影響によることが示唆された。この示唆は、次の様な報告によつても支持される。即ち幾種の血管収縮物質 Adrenalin¹³, Vasopressin^{14,15,16,17}, Angiotensin II¹⁸等についても Serotonin 同様の奇形発生とその成因が報告されている。これらの血管収縮物質の胎仔形態がニズムが、母体～胎子間の栄養物質通過障害や anoxia にあることを立証する目的で、Brenton¹⁹はラット子宮血管をクランプし、又 Ingalls²⁰は妊娠マリスを低酸素条件下に置いて、いざれも Serotonin をはじめとする血管収縮物質による形態と板状に類似した奇形を作ることに成功している。一方、鶏卵對於ても低酸素条件下で孵すると無腿、小眼、脊椎裂、心臓欠損、心逸所、四肢欠損、短肢等が出現することが Rubbaamen²¹により報告されている。しかしながら、このような奇形は今回の Serotonin 投与による実験では、1例も出現しなかつた。薬物一般について、鶏胚胎仔と哺乳類胎仔の催奇形性は必ずしも類似性を示さないことが Karnofsky²²により綜説されている。

- 以上、今回の著者の実験、既報の著者らの実験成績からびに諸家の報告から考察すると、鶏胚仔の Serotonin 奇形は、胎仔への直接作用により、米粒微細腫瘍の透過性が亢進され、水分代謝に障害を来たし、水症を惹起し、その直後の影響により内臓の変形・接着ならびに骨格の歪形等の異常を生じたものとの解釈を強く支持する印象を得た。
- V 結 語
- Serotonin を孵卵 4 日目の卵黄囊内に投与すると鶏胚仔に著明な外形・内臓・骨骼の奇形を発生した。病理組織学的には、脳、肺、腎、肝、心、骨において特記すべき変化は認められなかつた。C₁₄Serotonin を卵黄囊内に投与して得られた全骨オートラジオグラムでは卵黄、尿管、卵巣、胃、腸、腎、骨などに明らかなる分布を認めた。
- VI 考 文 献
- 寺木良巳：日産婦会誌, 20 : 107-113, 1968.
 - Brotton, E., Botros, M., Robson, J. M. J. Endocr., 20 : XI, 1960A.
 - Brotton, E., Botros, M., Robson, J. M. J. Science, 131 : 1101-1102, 1960.
 - Robson, J. M., Sullivan, F. M., J. Endocrinol., 25 : 553-564, 1963.
 - Flickinger, E., Salzman, R. : Experientia, 17 : 131, 1961.
 - Waugh, D., Pearl, M. J. : Am. J. Pathol., 36 : 431-454, 1961.
 - West, G. B. : J. Pharm. Pharmacol., 14 : 828-830, 1962.
 - Correl, J. T., Lyth, L. F., Long, S., Vandenberg, J. : Am. J. Physiol., 169 : 537-544, 1952.
 - 寺木良巳, 北川行夫 : 臨場誌, 22 : 817-822, 1970.
 - Pepeln, G., Giarmann, N. J. : Gen. Physiol., 45 : 575-583, 1962.
 - Marley, P. B., Robson, J. M., Sullivan, E. M. : Brit. J. Pharmacol., 31 : 494-505, 1967.
 - Reddy, D. V., Adams, F. H., Baird, C. J. Pediatr., 63 : 394-397, 1963.
 - Poulton, E., Robson, J. M., Sullivan, F. M. : Science, 141 : 717-718, 1963.
 - Seller, M. J. : Brit. Med. J., 1 : 308, 1964.
 - Sullivan : Embryopathic Activity of Drugs, Churchill, London, 110-112, 1965.
 - Thompson, R. S., Gautieri, R. F. : J. Pharm. Sci., 58 : 406-412, 1969.
 - Sedowsky, A., Pfeifer, Y., Sadovsky, E., Tsur, C., Sulman, F. G. : Obstet. Gynecol., 22 : 778-781, 1963.
 - Leiper, S. W., Brown, H., Rosenburg, H. S. : Am. J. Obstet. Gynecol., 94 : 340-342, 1966.
 - 寺木良巳, 北川行夫 : 日産婦会誌, 65 : 655, 1963.
 - Robson, J. M., Sullivan, F. M. : J. Physiol., 184 : 717-732, 1966.
 - Robson, J. M., Judith, B. Senior, Brit. J. Pharmacol., 22 : 380-391, 1964.
 - Honey, D. P., Robson, J. M., Sullivan, F. M. : Am. J. Obstet. Gynecol., 99, 250-257 (1967).
 - Craig, J. M. : Arch. Pathol., 81, 257-263, 1966.
 - Karnofsky, D. A. : Teratology, Univ. Chicago, 194-213, 1965.
 - Litchfield, J. T., Wilcoxen Jr. F. J. Pharmacol. Exp. Ther., 96 : 99-113, 1949.

- Jost, A. : C. R. Soc. Biol. (Paris), 145 : 1805-1809, 1951.
- Carter, A. M., Lewis, P. J., Bengtsson, L. P. : Acta Pharmacol. 24 : 435-442, 1966.
- Carter, A. M., Nilssen, R., Bengtsson, L. P. : Acta Pharmacol. 26 : 29-34, 1968.
- Brent, R. L., Franklin, J. B., Science, 132, 89-90 (1960).
- Ingals, T. H., Curley, F. J., Prindle, R. A. : N. Engl. J. Med., 247 : 758-767, 1952.
- Rübsamen, H. : Beitr. Pathol. Anat., 112 : 336-379, 1952.
- Panigzal, M. : Am. J. Obstet. Gynecol., 84 : 1694-1693, 1982.
- 寺木良巳, 北川行夫 : 日産婦会誌, 66 : 8175, 1970.
- Kalberer, F. : 第 9 回日本アイトーブ会議, 1969.
- Teraki, Y., Kitagawa, Y. : Jap. J. Pharmacol. Suppl. 22 : 51, 1972.
- 北川行夫, 角尾 三 : 日産婦会誌, 66 : 169, 1970.
- Liebig : Ann. Chem., 62 : 309-310, 1847.

Prostaglandins ならびに Oxytocin の 鶏胎仔におよぼす影響について

寺木 良巳
 聖マリアンナ医科大学第一解剖学教室
 (主任: 保倉 造教授)
 南雲 今朝雄
 聖マリアンナ医科大学解剖学発生研究室
 (主任: 南雲今朝雄客員教授)

はじめに

Prostaglandins (以下 PGs) は生体内に広く分布し生理学的にも薬理学的にも chemical regulator として重要な役割をもつと考えられる。

PGs の平滑筋刺激作用は他の活性物質 serotonin, bradykinin などと同様みられるが、すでに serotonin などに chick embryo や mouse に対する teratogenic 作用がおこり得ることが報告され、これから同じ PGs などによる possible teratogenic risk もまた考慮されるべきものと考える。また PGs が臨床的に分娩誘発、妊娠中絶、避妊に用いられることが、今回、鶏卵を用い PGs ならびに Oxytocin が鶏胚仔発育に teratogenic あるいは embryotoxic 作用をもつかどうかを中心にして胚仔発育、水分代謝などに対する影響を調べた。

た。

材料と方法

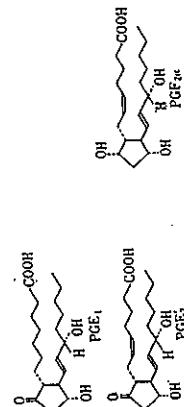
聖マリアンナ医科大学雑誌
 第3巻第3号 別刷
 1975年12月

Prostaglandins ならびに Oxytocin の 鶏胎仔におよぼす影響について

寺木 良巳
 聖マリアンナ医科大学第一解剖学教室
 (主任: 保倉 造教授)
 南雲 今朝雄
 聖マリアンナ医科大学解剖学発生研究室
 (主任: 南雲今朝雄客員教授)

移植は一日二回行った。薬物の投与は鶏卵の尖端部を酒精にて消毒し、該部に小孔を穿ち、ソベルクリン用注射器および 1/4 注射針を使用し、胚を損傷しないよう卵白内に所要の薬液を注入した。ついで注射部位をハフキンにて完全に封入した。また使用薬物としては Prostaglandin E₁, E₂ および PGE₂ (Upjohn) は 0.2% CMC を含有する 0.05 M リン酸緩衝液で懸濁液として使用し、Oxytocin (Sandoz) は注射用蒸留水に溶解して使用した。なお対照として無処置および蒸水注射のみのものも同時に入卵し、薬物の液量は 0.2 ml を超えないようにした。薬物の投与は解卵前、解卵 3 日目に行った。解卵は解卵 5 日目および 9, 12, 15, 18 日目の各解卵日の被膜直前に行い無精卵を除去し、吸収卵又は死卵は破殻して肉眼的に確認した。ついで生卵の各期のものについて胎仔の外形および内臓の異常、発育状態などを観察した後 10% ホルマリン液にて固定し、病理組織検査に供し、また骨格透明標本は Karsnitsky の方法に準じて 95% アルコールで固定、アリザニンレッド S により作製し、骨格異常および化骨状況を観察した。また破殻後は尿のう膜、羊膜および卵黄包を損傷しないよう注意し、注射器で尿のう水ならびに羊水をそれぞれ採取し各総量、電解質など測べた。

PG 類の構造式は次の通りである。



成 織

1. 死亡率(第1表)発育途上にある鶏胚仔に対する死亡率を百分率で表した。その結果、各薬物の投与による各例の死亡率を表1に示す。表の如く各例とも無精卵を除く終

成精卵に対する死亡率は百分率で表した。その結果、蒸水投与群では無処置群に比して28%と若干死亡率が高くなる。PGF_{2α} 10μg/卵投与群では

写真 1 PGF_{2α} 投与による吸啜胚

Resorption of chick embryo due to PGF_{2α}

PGF_{2α} CONT.

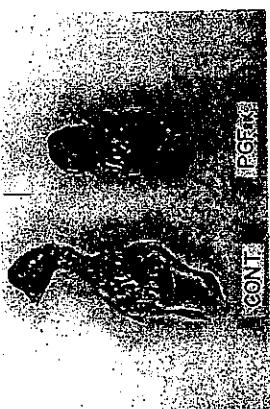


写真 2 PGE₁, PGF_{2α} 投与による足の彎屈曲と骨格標本

Contracture of leg by administration of PGE₁ and PGF_{2α}.

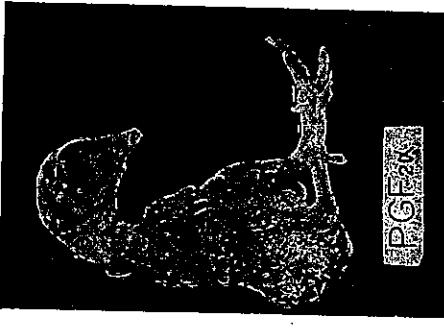


写真 2 PGF_{2α} 投与による足の彎屈曲と骨格標本

Contracture of leg by administration of PGE₁ and PGF_{2α}.



写真 3 雌卵 18 日目の骨格標本

Preparation of skeleton on 18th day of incubation

蒸水对照群と差はないが、PGF_{2α} 50 μg から

100 μg/卵と投与することにより死亡率が、42%、59%とそれぞれ増加していくことが知られる。同じく PGF_{2α} 群においても 58%と高い死

亡率がみられた。Oxytocin 0.5 IU/卵および PGE₁ 100 μg/卵投与群においては蒸水对照群と大きな差はみられなかった。

なお予備実験において PGF_{2α} (0.0246 M μg/卵)と同じく PGF_{2α} (3) 投与群の死亡率を比較すると孵卵 0 日群よりも 3 日目投与群が高かった(表2)。

2. Malformation (奇形) の頻度ならびに種類については表1に示す通りである。

(1) とくに目立つてみられたものは Contralateral

Hydrops (水腫) が PGF_{2α} 群に多くみられた(写真3)。

3. PGE₁ 群に 1 例みられておりこれらは尾椎部などに多くみられた(写真4)。

表 1 死亡率ならびに外形の異常

Drugs	Concen- tration	Number of cases	Mortality Number of death	Mortality (%)	Hatch Drugs	No. of Con- tracture cases	Hydrop s	Edema	Mal- form- ation	Other
					Aq	Oxyt.	PGF _{2α}	PGF _{2α}	PGF _{2α}	PGF _{2α}
Aq	—	98	16	16	54/74	90	2	3	4	1
Oxyt.	0.5 IU	398	110	28	25/34	146	3	1	1	ocel- lus
PGF _{2α}	10 μg	165	54	33	12/32	Oxyt.	2	4	1	
	50 μg	129	36	28	34/64	PGF _{2α}	8	3	1	
	100 μg	176	74	42	—	—	—	—	—	
	278	163	59	—	—	—	—	—	—	
PGE 1	100 μg	102	36	36	—	PGE 1	102	2	1	hemato- ma
PGE 2	100 μg	113	66	58	—	PGE 2	98	3	1	1

表 2 薬物投与時期による死亡率の相違

Influence of Prostaglandin (P ₂ α) and Oxytocin on chick embryo ... Mortality...			
(0)	(0)	(0)	(0)
Aq	Ox	PGE _{2α}	PGF _{2α}
number of cases	54	55	68
number of death	20	18	33
mortality (%)	37.0	32.7	48.52
			78.5

(1) The drugs were administered on the day of incubation
(2) The drugs were administered on the third day of incubation

III) Edema (浮腫) 全身とくに頭部の浮腫は Oxytocin 投与群において4例、PGF_{2α}群で1例みられた(写真5)。

IV) 嘴苟形 嘴の異常は PGF_{2α}、PGE₂、Oxytocin 投与群に若干みられ多くは上瞼の短縮がみられた(写真6)。その他、蒸水対照群の1例に内膜脱出がみとめられ腹直筋解離による干減少の傾向を示した。

II) 尿のう水、羊水量におよぼす影響(図1)
尿のう水、羊水は解卵7日目より採取可能でとくに解卵中期において増加し後、次第にそれれ減少してゆく、尿のう水、羊水の色調、透明度が減少の傾向を示した。

写真5 PGF_{2α}投与による浮腫Edema due to administration of PGF_{2α}

Edema

due to

administration

of

PGF_{2α}

投与

による

浮腫

浮腫

による

浮腫

(角尾ら 1954)⁹などが報告されている。一方、Prostaglandin については鶏胎仔への報告はみられないが妊娠ラットに PGE₂ を用いた実験では胎仔に developmental effect がみられないとしても出血や浮腫が、また PGs の羊水内投与で foetal death と resorption がみられる。また serotonin, bradykinin のよのうな他の活性物質についてもマウスにおいて teratogenic 作用がみられることが Thompson (1969)¹⁰によって報告されている。

以上のように活性物質とよばれるものの中に催奇形性などみられるのもあり、今回、各種の Prostaglandin について、これら物質が embryogenesis に如何なる影響を及ぼすか鶏胎仔を用いて検討した。

まず鶏胎仔に対する死亡率について PGF_{2α}, 10 µg/卵投与では対照と差はないが 50~100 µg/卵と用量を増すことににより死亡率が 59% と増加した。また PGE, 100 µg/卵投与群においても 58% の死亡率がみられた。さて用量について考えるべくラットにおける実験で PGF_{2α}, 0.5 µg/kg では死胎率が 61.9% と有意に増加するという斎藤ら (1973)¹¹の報告と似ている。

ただ藤田ら (1974)¹²は、催奇形性の実験においてマウス、ラットと共に大量の PGE₂ 120~240 mg/kg においてのみ投与量の増加に伴う吸収胚の増加が認められたと述べている。さて PGs の投与量について通常の鶏卵が果してラットやマウスなどの母体体重に対する胎仔への毒性を換算するものであるかは問題となるが、普通入卵時の卵重量は 50~60 g であり、鶏卵重量ヒラウスのどの程度の用量すなわち per kg が妥当なものであろうか問題となるが、nicotine は胎仔に對し著明な水分代謝障害を惹起せしめるものであろうと考えられている。木脇 (1956)¹³は nicotine 水痘発生の原因として血管の透過性障害、腎尿細管の変性さらに心臓解剖などをあげている。serotonin も血管壁の透過性を亢進させることと考えられているが、PGE₁ の血管透過性の亢進作用や PGF_{2α} の腎尿細管上皮へ

の 15~80 mg に相当するものであると述べてある。このような吸収胚ならびに死胚の増加は発育のごく初期、孵卵開始より薬物が鶏胚の生活環境に対し有害に作用した結果と思われる。この場合、鶏胎仔発生過程と薬物の投与時期が問題となるが、鶏胚の分化、浮腫が孵卵 3 日目頃までに完成するところから解明 3 日目投与群の方がより強く作用し吸収胚、催奇形性を増加させることになると考へられる。

さてお形発生について鶏胎仔においては一般に化学物質で比較的容易に説明されるものようであり、他の哺乳類の実験とは多少趣きが異なると思われる。しかし投与薬物によって一定の種類の奇形もみられることからスクーリングに適切、有用な点もあると思われる。さて鶏胎仔にみられる奇形の種類については水痘、化骨形成異常、陥奇形、内臓異常等が多くみられている。そして薬物によってはある程度の傾向がみられる。たとえばサルファ剤では短脚、ニコチンでは水痘、セロトニンでは皮下浮腫及び腔水痘とそれに伴う臓器変形などである。

さて今回の実験において PGF_{2α} 投与群に足の伸展あるいは屈彎曲が多くみられた。すでにラットにおいて化骨形成遅延がみられたとの報告 (斎藤 1973)¹¹があり、今回の実験で骨格の変形はみられるが組織学的に異常な所見はみられないかった。つぎに hydrops 水痘の発生について今回、PGF_{2α}, PGE₂ 群にみられたが Oxytocin 群や对照群においては見出されなかつた。すでに水痘の発生が nicotine (角尾ら 1954)¹⁰, serotonin (北川 1953)⁹などによつて惹起することが報告されている。そして nicotine 水痘発生の機序は不明であるが、nicotine は胎仔に對し著明な水分代謝障害を惹起せしめるものであろうと考へられている。木脇 (1956)¹³は nicotine 水痘発生の原因として血管の透過性障害、腎尿細管の変性さらに心臓解剖などをあげている。

すでに北川 (1973) は、鶏卵に serotonin を投与した時の鶏胚に対する LD₅₀ を Litchfield-Wilcoxon 法¹⁴により算定し、serotonin LD₅₀ = 0.45 mg/egg はほぼ 10 mg/kg となりラットへ

よりもより各臓器への影響度はるかに少いと思われる。

なお解卵中期において卵黄内および気室内、物投与による催奇形性の問題については現在、検討中である。

結論

今回、Prostaglandins (PGE, E₂, F_{2α}) ならびに Oxytocin を鶏卵に投与してその鶏胎仔に及ぼす影響を検討した。その結果、PGs の投与量によつては吸収胚の増加がみられるごと、また二、三に水痘、浮腫の発生が PGF_{2α} 群においてみられた。

一方、Oxytocin によつては水痘の形成はみられないが浮腫が PGs と同様みとめられた。これはすでに鶏胎仔について河村 (1962)¹⁵が報告しているところであり、発生原因を Oxytocin の抗利尿作用に求めている。一方これらの薬物が哺乳動物に与える影響について serotonin によりラット胎仔の水痘を惹起せしめた (Marley, 1967)¹⁶)との報告があるが nicotine については明らかでない。PGs については現在のところ水痘発生などの報告はみあたらぬが Persaud (1973)¹⁷は PGF_{2α} でラットに浮腫を見出している。このことは Karnofsky (1965)¹⁸の指摘した如く鳥類と哺乳類とでは若干異なる態度を示すものと考へられる。以上のようにある種の薬物により水痘ならびに浮腫の発生がおこり得ることから、これらの薬物による水分、電解質代謝に影響があるものと考えられる。

(32)

文献

- 1) 北川行夫: Serotonin および関連物質の鶏胎仔整性ならびに奇形発生について、昭和医誌, 33 : 40~55, 1973.
- 2) Thompson, R.S. and Gautieri, R.F.: Comparison and analysis of the teratogenic effects of serotonin, angiotensin II, and bradykinin in mice. J. Pharm. Sci., 58 : 406~412, 1969.
- 3) 角尾, 他: Nicotine の鶏胎仔一般発育に及ぼす影響と発生について、昭和医誌, 14 : 223~245, 1954.
- 4) Persaud, T.W.N.: Pregnancy and progeny in rats treated with prostaglandin E₂. Prostaglandins, 3 : 299~305, 1973.
- 5) 斎藤千尋: 基礎と臨床, 7 : 632, 1973.
- 6) 藤田常夫, 他: Prostaglandin E₂ の毒性和より催奇形性試験、応用薬理, 8 : 787~796, 1973.
- 7) Litchfield, J.T. and Wilcoxon, Jr.F.: Pharmacol. Exp. Ther., 96 : 98, 1949.
- 8) 角尾, 他: 鶏胎仔奇形に関する研究、日薬理誌, 55 : 1051~1060, 1959.
- 9) 木脇 蘭: Nicotine の鶏胎仔に及ぼす影響について、日薬理誌, 52 : 136~213, 1956.
- 10) 河村禎之輔: 国下垂体後葉ホルモンの鶏胎仔に及ぼす影響について、昭和医誌, 22 : 18~28, 1962.
- 11) Marley, P.B., Robson, J.M. and Sullivan, E.M.: Brit. J. Pharmacol. 31 : 493, 1967.
- 12) Karnofsky, D.A.: Teratology, Univ. Chicago, 194 : 1965.
- 13) 関谷准幸: Nicotine 水痘と Purine 誘導剤との關係について、日薬理誌, 52 : 398~

Prostaglandins ならびに Oxytocin の作用仔におよぼす影響について 195

428, 1956. 鎌田 兼 : Benzotheiadiazine誘導体による Nicotine 水痘抑制に関する研究. 昭和医誌, 20 : 555, 1960.

Abstract

Influences of Prostaglandins and Oxytocin on Chick Embryo

Yoshimi Teraki and Kesa Nagumo

Prostaglandins are distributed extensively in a living body and are considered to play a physiologically and pharmacologically important role as the chemical regulators. Stimulating action of prostaglandins on smooth muscles is observed just as other active principles such as serotonin, bradykinin, and since possible teratogenic action of serotonin on chick embryo and mouse has been already reported, possible teratogenic risk by prostaglandins should be expected.

In this study the teratogenic or embryotoxic actions of prostaglandins and oxytocin on chick embryo, and the effect of these compounds on water metabolism were examined using chicken eggs. As the experimental result with prostaglandins (PGE₁, PGE₂ and PGF_{2α}), 50~100 µg/egg of PGE₁, 100 µg/egg of PGE₂ and 100 µg/egg of PGF_{2α} on chick embryo produced an increase in absorbed embryos. As the deformity in shape, a few cases of contracture of legs, hydronephrosis, and edema, were observed in the group given PGF_{2α} with Oxytocin, edema was observed.

Meaning of Intra air sac Administration of Drugs in the Process of Chick Embryo Growth. Experiment by Means of RI

Yoshimi Teraki

(Director : Prof. Kesa Nagumo)

Reprinted from
The St. Marianna Medical Journal
Vol. 6, No. 1, 1978
Without change in paging

Ist Department of Anatomy, St. Marianna University School of Medicine. (Director : Prof. S. Hokura)



Meaning of Intra air sac Administration of Drugs in the Process of Chick Embryo Growth. Experiment by Means of RI

Yoshimi Teraki

Abstract

This time, meaning of intra air sac drug administration in chicken egg has been examined. Namely, transfer of intra air sac injected compound into allantoic fluid and amniotic fluid was examined. Pigment and radioactive compound (^{3}H -histamine, ^{3}H -5-hydroxytryptamine) were administered intra air sac in the middle stage of incubation. As a result, a high level transfer into allantoic and amniotic fluids was observed from 15 to 30 minutes after administration.

From above facts, intra air sac administration is considered to be a useful method to examine effect of drugs on growth of chicken embryo which is applicable to each stage of incubation without injury or infection to embryo.

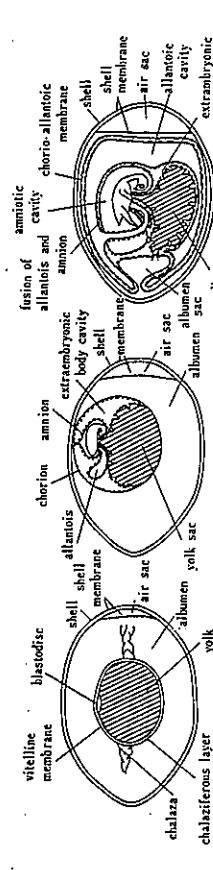
Introduction

Although intra-albumen, intra yolk sac and intra-amniotic administration have been conventionally used as the way of administration in order to investigate effect of drugs on chick embryo growth, intra air sac administration seems to have various merits with respect to change of location structure inside egg, prevention of injury or infection, repeated administration, etc.

However, mechanism in what way intra air sac administered drugs are absorbed into embryo and eliminated from it has not been well known. This time, for the purpose of elucidating this mechanism, pigments and radioactive labelled compounds were administered intra air sac, and transfer into allantoic fluid, amniotic fluid and elimination have been examined to clarify usefulness of intra air sac administration of drugs.

Experimental Method and Materials

White Leghorn eggs from hens mated to males obtained in the same cage were used and during the incubation period, pigments were injected intra air sac and after injection, diffusion of the pigment into egg shell, transfer of it into allantoic fluid and amniotic fluid have been examined. As the labelled compound, tritium was used and it was dissolved into distilled water with other non-labelled compound. Namely, each 0.1 ml of ^{3}H -5-hydroxytryptamine/ ^{3}H -histamine $0.5 \mu\text{ci}/1.0\text{mg}/\text{egg}$, and ^{3}H -histamine $0.5 \mu\text{ci}/1.0\text{mg}/\text{egg}$ were injected intra air sac. The shell of eggs were broken 5, 15, 30, 60 minutes



after L. N. Payne

Fig. 1 schematic drawing of a chick embryo

after injection and transfer of radioactive compounds into allantoic fluid and amniotic fluid was measured by liquid scintillation counter. Anatomical locations inside eggs in each incubation period are shown in Fig. 1.

Experimental Results

1. Examination on pigment transfer.

- i) Carmine test : In order to examine diffusion of the pigment administered intra air sac, into the egg shell, 1% carmine solution was administered intra air sac of eggs of the 8th day of incubation, and eggs shell were broken after 30, 60, 120 and 240 minutes to observe diffusion intra air sac of eggs of the 13 day incubation. As shown in photo 2, a slight transfer into allantoic fluid was observed from 15 minutes after the administration and a pretty much transfer was observed from after 30-60 minutes.



Photo 1 30 min. ~ 60 min. 120 min. 240 min. Carmine test
Photo 2A, Allantoic fluid 15' 30' 60' 120'
± ++ + + - + ± -

B, Amniotic fluid 15' 30' 60' 120'
± ++ + + - + ± -
Phenolphthalein test

Into amniotic fluid, a moderate transfer was observed 30 minutes after the administration and it disappeared from after 60 minutes.

II. Histological findings of chorio allantoic membrane and amnion

The ectoderm of chorio allantoic membrane

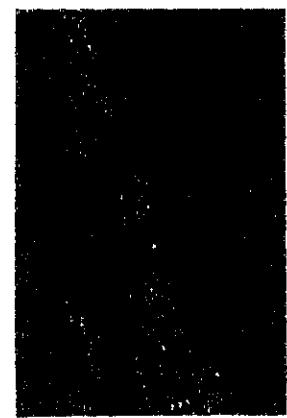


Photo 3 Histological structure of chorioallantoic membrane

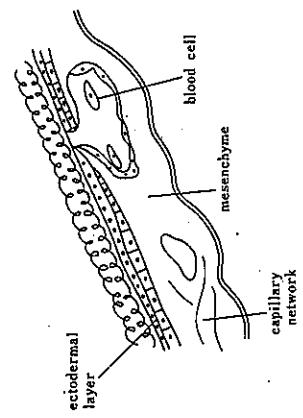


Fig. 2

Histological structure of chorioallantoic membrane

In the amnion, ectoderm tissue becomes gradually to form cylindrical epithelium and especially many vacuoles are observed inside cells, which is considered to be related with secretion of amniotic fluid. In mesodermal tissue, cells prolong like spindle and each of them becomes muscle fiber. It is considered that by the action of this muscle, contractile movement which is original to amnion is initiated. (Photo 4, Fig. 3)

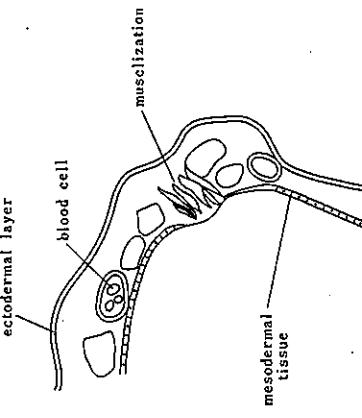


Fig. 3 Histological structure of amnion

(51)

is the epithelial tissue composed of 2-4 layers and capillary net distributed in mesendhyme is well developed forming time capillary network and this membrane is used as respiratory membrane (Photo 3, Fig. 2).

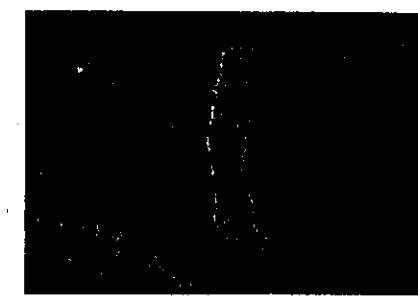


Photo 5 Cross section of chorioallantoic membrane

Table 1 Dose of 3H-histamine: 0.5 μ Ci intra air sac in 0.1ml aq. solution: 14th day of incubation. (n=5)

sample	time	5 min.	15min.	30 min.	60 min.
allantoic fluid		95	64	1260	185
amniotic fluid		26	102	353	255

radioactivity (dpm/ml)

Table 2 Dose of 3H-5 hydroxytryptamine: 0.5 μ Ci intra air sac in 0.1 ml aq. sol: 14th day of incubation (n=5)

sample	time	5 min.	15 min.	30 min.	60 min.
allantoic fluid		262	2545	2429	1528
amniotic fluid		87	1182	1378	939

radioactivity (dpm/ml)

(52)

administration to eggs of 12th day incubation is slight after 5 minutes but attained its peak from 15 minutes and still after 30 minutes it continues a high level. After 60 minutes, elimination is observed. Transfer into amniotic fluid is rather lower than that into allantoic fluid and a high radioactivity was observed from 15 to 30 minutes after and tendency of decrease is seen

A little difference in transfer between above two labelled compounds was observed. It was observed that $3\text{H-5-hydroxytryptamine}$ is more rapid in transfer into allantoic and amniotic fluids and shows higher radioactivity than 3H-histamine (Fig. 4).

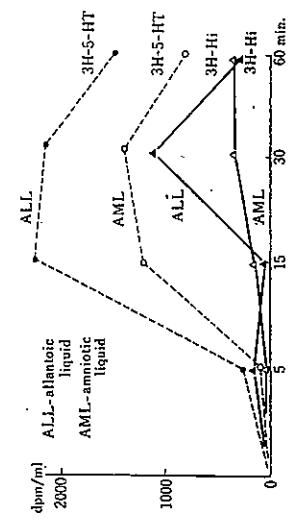


Fig. 4 Transfer into allantoic and amniotic fluid of 3H-histamine and $3\text{H-5-hydroxytryptamine}$

Discussion

Mechanism in what way the drugs administered intra air sac reach to allantoic fluid in the process of chick embryo growth has not been well known. However, Bloom & Gordon (1955) have observed transfer of penicillin into allantoic fluid by intra air sac administration. Ruggier & Skauen (1962) have reported that ^{131}I reached thyroid of chick embryo through shell membrane and chorio-allantoic membrane. Marrian et al (1956) have observed labelled formate administered intra air sac was absorbed into chick embryo after several hours. It is considered that drugs are transferred into allantoic and amniotic fluids from air sac and taken up into embryo.

When process of formation of chorio-allantoic membrane and amnion is considered, trans-

fer into amniotic fluid is considered the result of accumulation of excreta from mesonephros although it is not clear. However, at the initial stage, development of chorio-allantoic membrane is not observed in inner surface of air sac. Accordingly, it is considered that the drug administered intra air sac at this stage enters at first into albumen through inner shell membrane and then reaches embryo.

Whether or not there is difference between drug absorption administered intra air sac and

Table 3

adm. methods	induced hydrops			
	day of incub. inj.	9th	12th	15th
intra albumen ^a	Aq. 0.1ml/egg	0/3	0/3	0/3
intra yolk sac ^b	Ni. 2.0mg/egg	0/3	3/3	2/3
intra air sac ^b	Aq. 0.1ml/egg	0/3	0/3	0/3
	Ni. 2.5mg/egg	0/3	3/3	2/3
	Aq. 0.1ml/egg	0/9	0/10	0/11
	Ni. 2.5mg/egg	6/6	5/5	2/6
		0/5	4/5	4/5

experiments, the period of administration is from 0th to 3rd of incubation and a marked anomaly was induced. Generally it is said that differentiation and growth of chick embryo is completed up to 4th day of incubation but in case with Nicotine, in spite of different way and different time of administration, it is considered that Nicotine is absorbed immediately after administration and it has strong effect on embryo.

According to Shepard (1973), in early stage growth of chick embryo, it takes 5-6 days until implantation in rats and appearance of somite takes 10 days, but in chicken eggs, appearance of somite is observed in one day. Therefore, it is considered that organization of chicken is

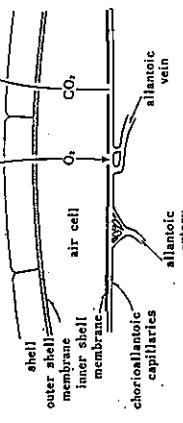


Fig. 5 Schematic drawing of gas exchange
(After Wangsteen, 1972)

almost the same mortality and teratogenic effect are observed. There observed little difference according to the site and way of administrations. Although it is not clear in which stage the anomaly of shape formation appear due to Nicotine, according to the above

almost completed within 3rd day of incubation.

This means that test of chemical teratogens using chicken eggs should be carried out in early stage of incubation. As the route of administration, both intra yolk and intra albumen are used but considering from the preventive point of view of eggs such as injury and infection, intra air sac administration has also a merit. Especially, when respiratory and circulatory effects due to drugs are examined in middle and late stage of incubation, owing to the change of anatomical location inside shell, injection into yolk, albumen, amniotic membrane are difficult. In these stage, administration of drugs into air sac is considered an appropriate way since chorio-allantoic blood vessels have been well developed. The time when intra air sac administered pigment or labelled compounds are transferred into allantoic or amniotic fluids was examined and already 5 minutes after administration, some portion of the compound is transferred into allantoic fluid and amniotic fluid. It has been known that from 15 minutes to 30 minutes after administration, these compounds were transferred at a high level. And after 60 minutes, they are gradually eliminated from allantoic or amniotic fluid. It is considered that embryo absorbs amniotic fluid and eliminates it into allantoic fluid. This time, using labelled compounds, variation of them in a certain period has been examined. A little difference was observed in transfer between 3H-histamine and 3H-5-hydroxytryptamine into allantoic and amniotic fluids. Generally, histamine is known to have vasodilating action and 5-hydroxytryptamine to have vasoconstricting action, however, according to the results of this time experiment, radioactivity of 5-hydroxytryptamine was high both in allantoic and amniotic

fluids, and that of histamine was low. From this fact, difference in pattern of absorption and elimination between histamine and 5-hydroxytryptamine was observed. Change of amount of circulatory blood and other factors seem to participate in this fact.

REFERENCES

- 1) Bloom, H. H. and Gordon, J. B.: Introduction of antiviral drugs into eggs by the air sac route, *J. Bact.*, 70 : 261-264, 1955.
- 2) Ruggiero, J. S. and Skauer, D. M.: Chick embryo technique for the evaluation of absorption of radioactive iodide from ointment bases, *J. Pharm. Sci.*, 51 : 233-235, 1962.
- 3) Marijan, D. H., Hughes, A. F. W. and Werbar, S. M.: Nucleic acid metabolism of developing chick embryo, *Biochem. biophys. Acta*, 19 : 318-323, 1956.
- 4) Shigeru Tsunoo, Toshihiko Mato, Yasutoku Karaki, Atsushi Yamada, Tsutomu Kiwaki, Tadao Iwakura, Hisao Togami, Takashi Fujimura, Kimiko Oku, Takenori Hayashida, Haruki Fujikawa and Mitsuo Watanabe; Pharmacological studies on nicotine, on the influences and the toxicity of nicotine on the general development of chick embryo, *Showa med. J.*, 14, 41-63, 1954.
- 5) Satoru Kanaki, Keigo Hasegawa, Yasutoshi Mishima, Masaji Kobayashi and Kimiko Motonishi: The action of nicotine in the egg yolk, *Showa Med. J.*, 17 : 21-26, 1967.
- 6) Kenzo Takahashi, Tatsuo Marumo, Akiyo Kinohira und Nijo Sai: Über die Beeinflussung von Nicotine auf die Entwicklung des Hühnerembryos, *Showa Med. J.*, 27 : 72-79, 1967.
- 7) Shepard, H. T.: Catalog of teratogenic agents, The Johns Hopkins University Press, Baltimore and London, 1973.

抄 錄

鶏胎仔発育過程における鶏卵気室内
薬物投与の意義, RI による実験

寺木 良巳

(主任: 南雲今朝雄名譽教授)

鶏胎仔発育過程における薬物の影響を調べるた。同じく羊水中にも投与30分後から中等度の移行がみられ60分後より消褪するのがみられた。また標識化合物の気室内投与による尿の水中への移行は3H-Histamineでみると投与5分から15分後わずかな移行があり、30分後の放射活性は最高濃度に達し60分後消褪の傾向がみられた。また羊水中への移行も投与15分後より増加し30分後に最大となり60分後より減少の傾向にあることが知られた。以上のことから鶏卵気室内におよぼす薬物の影響を調べるために気室内投与法は胚への損傷や感染などをもたらすことなく、お卵各期に適用できる一つの有用な方法と考えられる。

Morphogenetic Study on Embryonal Deformity and Polyembryony Induced in Chicken

Yoshigoro Ono, Waka Onodera, Tsugumichi Chiba.
Nobuhito Nagumo, Qureshi Abid Husain, Yoshimi Teraki
and Kesso Nagumo

(Director : Prof. Kesso Nagumo)

Morphogenetic Study on Embryonal Deformity and Polyembryony Induced in Chicken

Yoshigoro Ono, Waka Onodera, Tsugumichi Chiba,
Nobuhito Nagumo, Qureshi Abid Husain, Yoshimi Teraki
and Kesso Nagumo

Introduction

The history of study in this field, aimed at elucidation of morphogenetic phenomena, dates back many decades though most of the experimental studies including those of Spemann¹, Holtfreter², and Roux³ have dealt with amphibians.

Since, especially, the introduction of the "Entwicklungsmechanik" theory by Roux³ a considerable amount of research aimed at clarification of causal relations in the genesis of embryonal deformities and polyembryony has been reported in the literature. Our previous report⁴ described a case of induced chick twin embryos. This report presents the results of further investigation on induced embryonal abnormalities and polyembryony in chicken.

Material and Methods

Experiments were performed mostly with the procedure devised by the late Dr. Morita⁵ who had studied under the guidance of Dr. Roux³ and described elsewhere, using freshly laid

White Leghorn eggs maintained in the pre-blastular stage wherever feasible. Small sections of the rat spleen, previously devitalized by heating and desiccation at 100°C for 45 minutes, were inserted at the specified sites beneath the embryo in spontaneous position within the eggshell. The eggs were then incubated at 38±0.5°C with a relative humidity of 70% for 72 hours to make morphologic observation of twin embryos developed as mutually independent entities within the irregularly elliptic zone surrounded by a dark zone of masses of cells. Specimens including the discus prolixus were fixed in 10% formalin, embedded in celloidin, and serially sectioned at 10μ. These were examined by light microscopy with hematoxylin and eosin or in some instances with azan stain.

Results

Gross Observation

Twin embryos, designated as embryo A and B, are both poorly grown, the degree of poor growth being conspicuous in the former hence

Division of Embryology (Director : Dr. Kesso Nagumo, Professor Emeritus) St. Marianna University School of Medicine

Without change in paging

with practically indiscernible somites. In embryo B eleven somites are confirmed on the left and twelve on the right. Vitelline blood vessels are poorly developed and indistinct in both embryos A and B (Fig. 1).

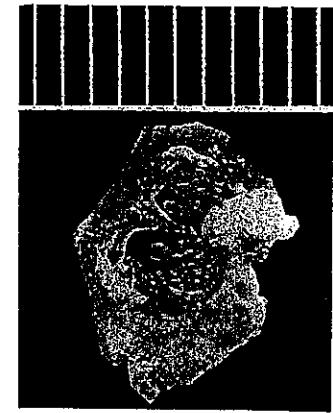


Fig. 1. Photomicrograph of induced chick twin embryos, A (left) and B (right), at 72 hours. (x9.5)

Embryo A measures 1.5 mm and embryo B 1.8 mm in full length. To the longitudinal axis of the discus proligerus, embryo A is situated with the cephalic region at the 11:30 position and with the caudal region at the 06:20 position while embryo B is situated with the cephalic region at the 14:20 position and with the caudal region at the 6 o'clock position. Both twins have been induced on the septum, being an extension of the dark tissue zone, as well as on the light zone over two irregularly elliptic structures.

Their caudal ends are buried deep in the dark zone of tissue. A control embryo measures 7.5 mm in full length with somites countable to 32. The formation of the neural tube, notochord, heart, dorsal arteries and veins, mandibular arch and optic vesicles are clearly demonstrable. No significant alterations and noted in the

control with normal development of both the left and right vitelline blood vessels, in contrast to those in the induced twins (Fig. 2).



Fig. 2. Photomicrograph of a control embryo. (x1.6)

Microscopic Observation

Figure 3 is a semischematic representation of the specimen in Figure 1, showing the levels at which the histologic sections described herein were obtained.

In the section presented in Figure 4, embryo A is not demonstrable whereas embryo B is seen surrounded by both the ecto- and entoderm layers, with the small cells interconnected with fine delicate processes showing no epithelioid arrangement. The primordial neural tube and amniotic cavity are recognized within the mesenchym which forms tissue-like structures. In the section shown in Figure 4, embryo A is still undemonstrable, whereas in embryo B, the primordial neural tube (brain vesicle), notochord, pharynx, amniotic cavity and vessels such as arteries and veins are seen within the mesenchyme, with the somites clearly discernible. The mesenchymal tissue

around the brain vesicle are coarse with occasional interspaces. The notochord accompanies the medullary tube, and the mesoderm, corresponding in length to the primitive streak, extends from beneath the sulcus of this streak in between the ectoderm and entoderm to both sides. Somites present features indicating that mesodermal cells separating from the medial regions of the spinal cord have gained in thickness, arising caudal at regular intervals.

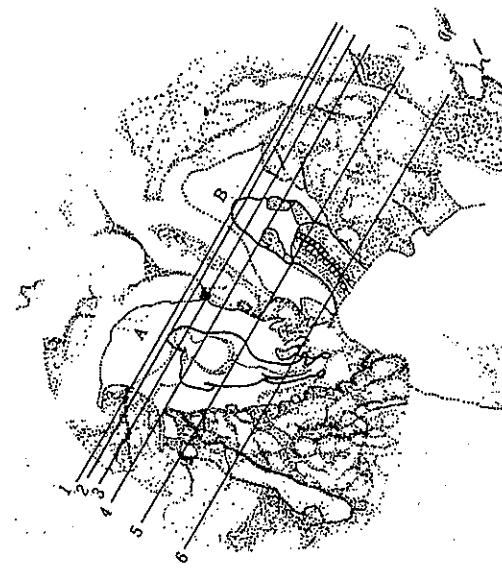


Fig. 3. Map of a twin embryo. Section planes are indicated by lines 1-6.



Fig. 5. Photomicrograph of twin embryos at 72 hours (x 40). Plane of section as indicated by line 1 in Fig. 3.



Fig. 4. Photomicrograph of a twin embryo at 72 hours (x 40). Plane of section as indicated by line 2 in Fig. 3.

The amnion is derived from both the ectoderm and entoderm, and vasculature arises as capillary net within the mesenchymal tissue as the primitive streak develops. Later, larger blood vessels come out, possibly in consequence of increase in size or fusion of the capillaries per se. Embryo A manifests itself first at the level of the section presented in Figure 6; the primordial brain vesicle, amniotic cavity and cross-section of arterial and venous vessels are seen

in the mesenchyme surrounded with ectodermal cell layers. In embryo B at this level, cross section of the neural tube (brain vesicle) and arterial and venous vessels can be demonstrated, as in Figure 5.

The section at the next level shown (Figure 7) reveals, as in Figure 6, the distinct neural tube and cross sections of relatively small vessels within the mesenchyme of embryo A. The neural tube is prominent with distinct formation of the notochord, amnion and amniotic cavity in Embryo B.



Fig. 6. Photomicrograph of twin embryos at 72 hours ($\times 40$). Plane of section as indicated by line 3 in Fig. 3.



Fig. 8. Photomicrograph of twin embryos at 72 hours ($\times 40$). Plane of section as indicated by line 5 in Fig. 3.

Figure 10 is a schematic representation of the control specimen shown in Figure 2.

The section from the control presented in Figure 11 shows a conspicuous neural tube, notochord, dorsal arteries and primordial nerve cell mass, and the intraembryonic amnion, digestive canal (foregut) and heart are found protruding into extraembryonic cavity. In this section, the optic vesicle is seen only on the right side of cephalic part, and the dienceph-

The neural tube, notochord and cross sections of arteries and veins on the dorsal aspect of the developing ganglion layer are distinct within the mesenchymal tissue, encircled by the ecto-

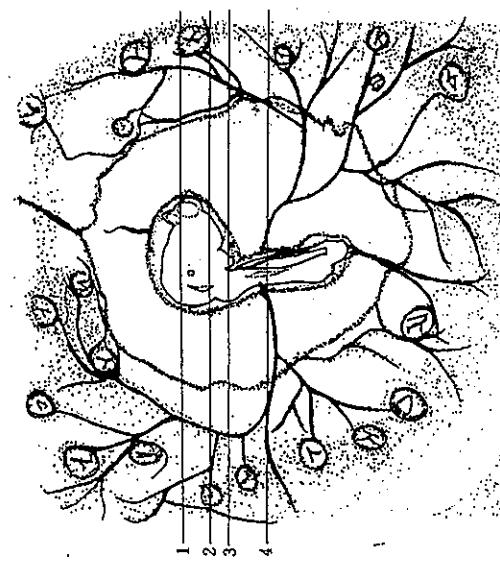


Fig. 10. Map of control embryo, with section planes indicated by lines 1, 2, 3 and 4.



Fig. 11. Photomicrograph of control embryo at 72 hours ($\times 40$). Plane of section as indicated by line 1 in Fig. 10.

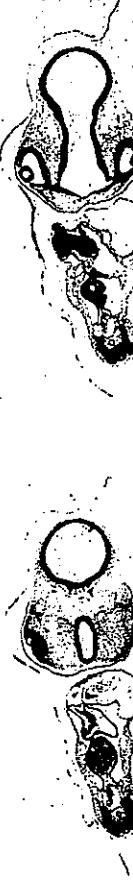


Fig. 12. Photomicrograph of control embryo at 72 hours ($\times 40$). Plane of section as indicated by line 2 in Fig. 10.

ectoderm and endoderm. Within the embryonic connective tissues are noted the developing primordial brain vesicle and notochord as well as the amnion. And, as seen in Figure 5, the primordial neural tube, notochord, somites,

Discussion

Twin chick embryo B of 72 hours possesses histoid structures interconnected with fine delicate processes and surround by both the

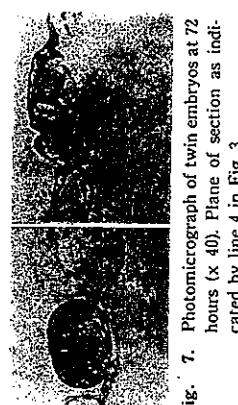


Fig. 7. Photomicrograph of twin embryos at 72 hours ($\times 40$). Plane of section as indicated by line 4 in Fig. 3.



Fig. 9. Photomicrograph of twin embryos at 72 hours ($\times 40$). Plane of section as indicated by line 6 in Fig. 3.

along, mesencephalon, etc. are also prominent. Meanwhile, cross sections of small vessels are sporadically seen within the mesenchyme.

This section from the control (Fig. 12) demonstrates the neural tube, notochord, dorsal arteries and digestive canal (foregut) which are prominent. The heart is conspicuous, protruding into the body cavity. The optic vesicles, already provided with the primordial lens, are present bilaterally.

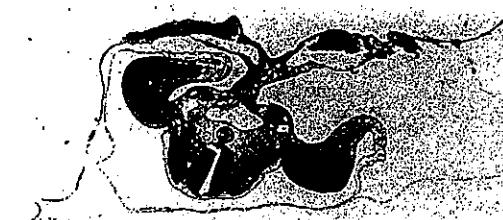


Fig. 13. Photomicrograph of a control embryo at 72 hours ($\times 40$).
Plane of section as indicated by line 4 in Fig. 10.

Consequently, at a certain period in the course of its growth, the anterior and posterior ends of the neural tube come to open into the amniotic cavity.

It would be reasonable to assume from the results that the notochord of chick embryo develops as follows: The mesoderm, corresponding in length to the primitive trace, bilaterally extends from beneath the sulcus of this streak in between the ectoderm and endoderm, and its anterior portion would develop into the cephalic process and later into the notochord. Somites of the chick embryo consist of cells that have proliferated in the medial margin of the mesoderm previously separating from the mediolateral region of notochord. When viewed from the dorsal side, therefore, the transverse sulci would appear, at arising at regular intervals in the cephalo-caudal direction.

Thus the somites may arise from the center of the discus proligerus, that is, the cephalic side of the future neck, and extend caudal with gradually increasing numbers. However, no more than 3 to 4 somites appear to develop on the opposite side.

With the developing ectoderm and endoderm, the extraembryonic cavity grows in size and, concurrently, the epithelium lining the ectodermal deuthyalosome, especially that part covering the embryo becomes to overlie the embryonal surface while the remaining part covering other regions develops into the amniotic epithelium. The latter epithelium becomes reinforced with the external layer of adjoining connective tissue to constitute the amnion.

The cephalic vesicle of embryo B later develops into the medullary tube, and in accordance with this, the notochord comes out, extending in the anterior and posterior directions in the surrounding of the cephalic vesicle.

Conclusions

The results of the present study would lead to

the following conclusions.

- An inductor inserted beneath the early developing chick embryo in egg gives rise to embryonal abnormalities and polyembryony.
- Insertion of devitalized tissue beneath the discus proligerus of chick embryo prior to appearance of the primitive streak affects the subsequent development of the streak, with branching or duplication, depending upon the type of tissue inserted and giving rise to polyembryonal development such as multiple-deformed embryos, twins or triplets.
- The inductive capacity of the inductor varies with the degree of spontaneous growth of the host as well as with the site of inductor insertion.

The authors wish to extend heartfelt gratitude to Dr. K. Nagumo, professor emeritus, for the valuable guidance in this investigation and review of the manuscript. (Y. O.)

References

- Spermann, H.: Über die Determination der
- Roux, W.: Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo. Nr. 5. Über die Kunstliche Herabbringung 'heiter' Embryonen durch Zerstörung eines der beiden ersten Furchenzellen, sowie über die Nachentwicklung der fehlenden Körperhälfte. Virchow's Archiv. 114 : 113-153. 1888.
- Ono, Y., Onodera, W., Chiba, T., Teraki, Y. and Nagumo, K.: A research in regard chicken blastoderm resulting in to abnormality in embryo as well as polyembryonic genesis. St. Mariana Medical J. 5 : 504-511. 1977.
- Morita, S.: Die Künstliche Erzeugung von Einzelmissbildungen von Zwillingen, Drittlingen und Mehrlingen im Hühnerei. Anat. Anz. 82 : 81-102. 1936.

Respiration of the Developing Chick Embryo in Nicotine-Treated Hen Egg

Yoshimi Teraki
(Director Prof.: Kesa Nagumo)

Respiration of the Developing Chick Embryo in Nicotine-Treated Hen Egg

Yoshimi Teraki*

Introduction

Developing embryos in nicotine-injected hen eggs showed a high mortality, disturbance of growth and increased incidence of various deformities (Tsuno et al, 1954). The development and respiration of the chick embryo are considered to be closely interrelated. The embryonic respiration in nicotine-treated eggs with suppression of growth seems to differ from that in normal untreated eggs. There have been studies published concerning respiration of the normal chick embryo at various stages of incubation (Tazawa, 1973; Chiudi, 1965; Freeman, 1970), but there is a dearth of information about embryonic respiration in an abnormal environment, e. g. drug-injected eggs, as yet are very few.

The present study was to investigate changes in respiration of developing chick embryos in nicotine-treated eggs, by comparison with normal chick embryos.

in distilled water at concentrations as to permit administration of 0.01, 0.1, 1.0, or 3.0mg in 0.1ml of solution per egg (hereinafter referred to as N01, N01, N1 and N3 respectively). injections of nicotine solution were made was injected into the albumen immediately prior to incubation. Controls receiving comparable volumes of sterile distilled water.

All eggs were candled at 5 days of incubation and blood samples drawn via the allantoic vein or artery from days 9-18 of incubation for hematological studies and blood gas analysis. After collection of blood specimens, the allantoic and amniotic fluids were obtained. The embryo was weighed and examined for external morphological abnormalities.

To determine the hatchability in relation to doses of nicotine, portions of eggs from the various groups were further maintained in the incubator till the 22nd day after injection.

Materials and Methods

Fresh, fertilized white Leghorn eggs were used. Incubation was carried out in an automatic incubator at 38°C and 60% relative humidity. Nicotine was made up

Results

1. Embryonic Weight, Length and Hatchability (Fig. 1, Table 1)
- The embryonic weight increased rapidly

* The first Department of Anatomy (Direct. Prof. emeritus K. Nagumo) St. Marianna University School of Medicine, 2095 Sugao, Takatsu-ku, Kawasaki 213, Japan

with age, the mean weight being 1.6, 5.1, 11.2 and 21.5g on days 9, 12, 15 and 18 of incubation, respectively.

The nicotine-treated groups showed a conspicuous dose-related depression of embryonic weight gain; the differences from the control group, not demonstrable yet at 9 days of incubation, increased progressively to range from 3-5g at 18 days in the N1 and N3 groups.

The embryos also exhibited a rapid increase in body length with advancing stage of development in ovo. There was a marked suppression of embryonic growth in this respect in nicotine-injected eggs at days

15-18 of incubation (N3 group).

The nicotine-treated groups (N0, N1, N1, N3) showed hatching rates of 57.1, 26.6, 15.7 and 0%, compared to 72.0% for the control group; hence a dose-related decrease in hatchability.

2. Hematologic Findings (Fig. 2, Table 2)

The embryonic blood volume from the controls increased progressively with incubation time. In Figure 2 and Table 2, the data obtained for hematological parameters in the eggs treated with 3.0mg of nicotine (N3 group) and in the controls are compared. Both groups displayed a progressive increase in erythrocyte count (RBC) as the embryos grew although the average values were lower in the N3 group during the period up to 15 days of incubation, viz. 0.68, 1.15, 1.77 and 2.6×10^6 cells/mm³ at days 10, 12, 15 and 18, respectively, compared to corresponding control levels of 1.16, 1.28, 2.30 and 2.54×10^6 cells/mm³.

The hemoglobin content (Hb) showed a marked increase from 7.7g/dl at day 10 of incubation to 15.0g/dl at day 15 in the controls, followed by a rather modest increase to 16.9g/dl at day 18. In the N3 group the hemoglobin value was lower than the control at days 10 and 15 of incubation (3.9 and 10.6g/dl respectively) and subsequently approximated close to the control level (16.7g/dl at 18 days).

In the controls the hematocrit level (Hct) increased with embryonal age, i.e. 17.5, 18.8 and 33.7 at day 10, 12 and 15, respectively.

The eggs injected with 3.0mg of nicotine had lower levels of 11.2, 16.3 and 23.9 on these days of incubation and the value

Table 1 Interrelation between nicotine dose and embryonic weight.

Incubation days	No. of eggs	Treatment		
		Aq. wt. g.	No1 wt. g.	N1 wt. g.
9.0	98	1.61±0.31	1.40±0.14	1.45±0.12
11.0	122	3.12±0.12	3.25±0.29	3.08±0.21
12.0	146	5.12±0.19	4.68±0.30	4.43±0.39
13.0	98	6.85±0.38	6.60±0.42	5.88±1.21
14.0	88	8.10±0.43	7.84±1.15	7.49±0.44
15.0	124	11.22±1.38	11.14±0.38	10.77±0.63
18.0	114	21.53±1.49	21.44±1.42	19.63±0.71

Mean±S.D.

increase to 16.9g/dl at day 18. In the N3 group the hemoglobin value was lower than the control at days 10 and 15 of incubation (3.9 and 10.6g/dl respectively) and subsequently approximated close to the control level (16.7g/dl at 18 days).

In the controls the hematocrit level (Hct) increased with embryonal age, i.e. 17.5, 18.8 and 33.7 at day 10, 12 and 15, respectively. The eggs injected with 3.0mg of nicotine had lower levels of 11.2, 16.3 and 23.9 on these days of incubation and the value

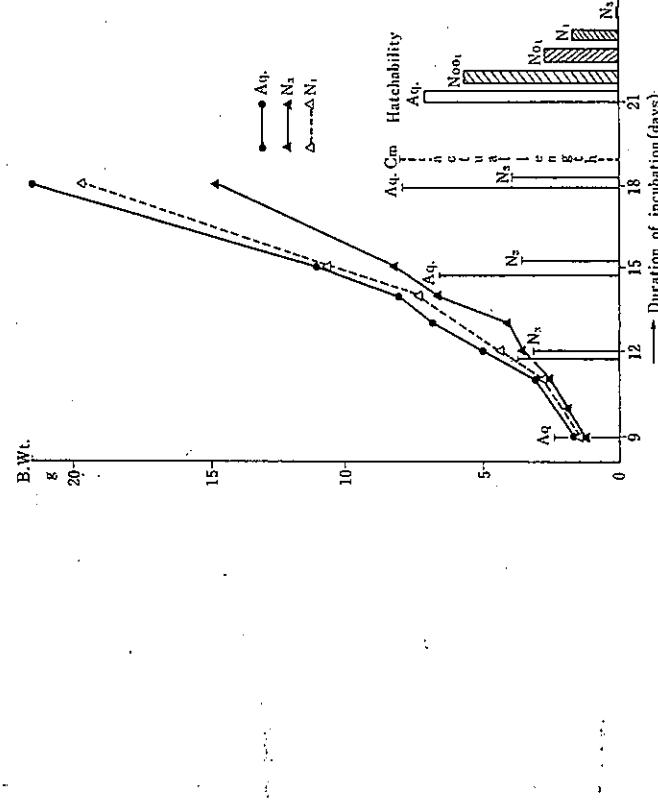


Fig. 1 Embryonic weight and body length-curves and hatchability of nicotine-treated eggs.

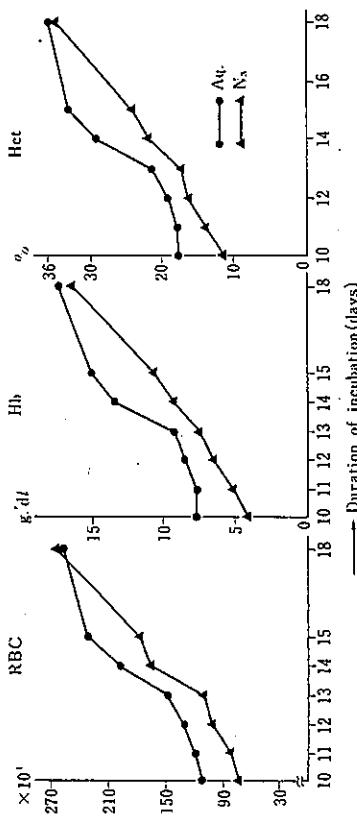


Fig. 2 Changes of hematologic parameters in the developing chick embryo.

Table 2 Hematologic data for embryonated hen eggs at days 10-18 of incubation

Incubation days	No. of eggs	Treatment						No. of eggs	Treatment			
		Control (Aq.)			Nicotine (N3)				Aq.	N3	P _{O₂} mmHg	pH
		RBC 10 ⁹ /mm ³	Hgb gm%	Hct %	RBC 10 ⁹ /mm ³	Hgb gm%	Hct %		Aq.	N3		
10.0	33	1.16±0.17	7.77±0.72	17.53±1.88	0.68±0.12	3.97±1.06	11.22±1.98					
11.0	21	1.19±0.18	7.57±1.10	17.87±2.91	0.84±0.24	5.10±1.23	14.0±1.15	11.0	12	87.00±4.00	12.12±1.61	7.64±0.02
12.0	26	1.28±0.10	8.43±1.06	18.87±1.42	1.15±0.14	6.50±1.08	16.35±2.87	12.0	19	82.44±5.19	13.72±1.00	7.62±0.04
13.0	32	1.49±0.15	9.57±1.33	21.37±2.03	1.19±0.11	7.27±0.97	17.43±1.63					7.56±0.05
14.0	30	2.05±0.10	13.35±0.78	29.35±0.49	1.66±0.16	9.60±1.29	22.26±3.83	13.0	21	78.95±2.70	17.07±2.47	7.58±0.01
15.0	28	2.30±0.03	15.00±0.35	33.70±1.99	1.77±0.31	10.60±2.48	23.96±6.01	14.0	19	70.68±4.22	24.16±3.20	7.53±0.07
18.0	30	2.54±0.16	16.90±0.99	36.98±1.43	2.60±0.29	16.75±2.16	36.0±4.69					7.54±0.03
		Mean±S. D.										
		1.16±0.17	7.77±0.72	17.53±1.88	0.68±0.12	3.97±1.06	11.22±1.98					
		1.19±0.18	7.57±1.10	17.87±2.91	0.84±0.24	5.10±1.23	14.0±1.15					
		1.28±0.10	8.43±1.06	18.87±1.42	1.15±0.14	6.50±1.08	16.35±2.87					
		1.49±0.15	9.57±1.33	21.37±2.03	1.19±0.11	7.27±0.97	17.43±1.63					
		2.05±0.10	13.35±0.78	29.35±0.49	1.66±0.16	9.60±1.29	22.26±3.83					
		2.30±0.03	15.00±0.35	33.70±1.99	1.77±0.31	10.60±2.48	23.96±6.01					
		2.54±0.16	16.90±0.99	36.98±1.43	2.60±0.29	16.75±2.16	36.0±4.69					

became close to the control level at day 18.
 3. Blood Gas Analysis
 i) Blood P_{O₂} (Fig. 3, Table 3)
 The arterial blood P_{O₂} in the allantoic vein of controls decreased progressively with incubation time; it became lowered to 56 mmHg at day 18 from 87 mmHg at day 11.

The N3 group showed lower arterial P_{O₂} mmHg than the control group at day 11. The N3 group showed lower arterial P_{O₂} mmHg at day 11 to 39.3 mmHg at day 18.

ii) Blood P_{CO₂} (Fig. 3, Table 3)
 The incubated control eggs displayed a progressive increase in blood P_{CO₂} from 12 mmHg at day 11 to 39.3 mmHg at day 18.

iii) Blood pH (Fig. 3, Table 3)
 There was a sharp decline in blood pH

with incubation time in the control group; the blood showed a marked shift of pH to the acid side during incubation, from 7.64 at 11 days to 7.43 at 18 days. In the N3 group, the blood pH was 7.57 at 11 days of incubation, thus lower than the control, and began to decrease sharply at 14 days though

Mean±S. D.
 BE

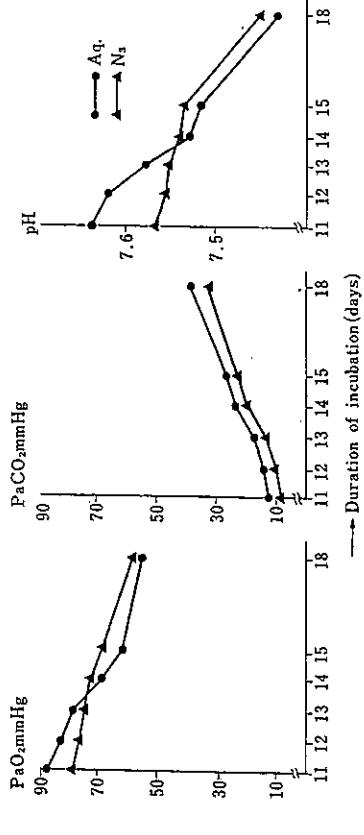


Fig. 3 Blood gas changes during incubation.

Fig. 4 Blood gas changes during incubation.

(18)

(19)

Table 4 Arterial blood HCO_3^- and base excess in changes in embryonated eggs.

Incubation days	No. of eggs	Treatment			
		Aq. N3	Aq. N3	N3	BE
11.0	12	13.10±1.44		-9.32±0.95	-10.48±1.68
	13		10.24±1.74		
12.0	19	13.19±2.08		-8.40±1.99	-10.27±2.10
	15		12.50±2.64		
13.0	21	16.22±2.19		-5.85±1.45	
	15		14.32±2.24		-6.56±2.78
14.0	19	20.82±1.92		-4.58±0.53	
	13		18.88±2.71		-4.66±0.57
15.0	28	23.53±2.94		-3.13±0.85	
	19		21.26±1.62		-3.64±0.87
18.0	20	24.98±2.15		1.15±0.60	
	16		22.03±1.00		-2.73±2.26
Mean±S.D.					

slightly higher than the control thereafter at all periods to a level of 7.45 at 18 days.

iv) HCO_3^- (Fig. 4, Table 4)

The bicarbonate content in arterial blood of incubated control eggs increased progressively with time, from 13.1 mEq/lit at day 11 to nearly 25.0 mEq/lit at day 18. It was 10.2 mEq/lit in the nicotine-treated eggs at day 11 and, thereafter exhibited a progressive increase, yet slower than the controls, to only 22 mEq/lit at day 18.

v) Base Excess (Fig. 4, Table 4)

Controls showed a gradual change in base excess of arterial blood plasma, determined by the use of the Siggaard-Andersen nomogram, from minus toward plus with incubation time; the base excess being -9.5

at day 11 became elevated to +1.1 at day 18.

In the N3 group the base excess increased gradually, being lower than the control throughout the period of observation, from -10.4 at day 11 to -2.7 at day 18.

Discussion

In the chick embryo, interchange of gases is carried on with the air which penetrates the shell, shell membrane and serosa via the chorioallantoic vascular plexus lying close beneath the egg shell, where the blood gives off its carbon dioxide and acquires a fresh supply of oxygen into circulating erythrocytes. In embryos well along in development, toward the end of incubation period, when

the lungs become functional, the chorioallantoic blood vessels start to undergo gradual involution. A schema illustrating this mode of respiration was published by Wangsteen (1972), and photomicrographs of transverse sections of the chorioallantois of a developing chick embryo have been presented in the literature (Teraki, 1978).

The blood volume in an embryonated hen egg increases with incubation period. Hematologic and blood volume studies in developing normal chick embryos were reported by Barnes et al. (1959) and Tazawa et al. (1971). The results of the present study are essentially consistent with these reports.

Nicotine-treated embryos, however, displayed lower values for RBC, Hb and Hct than the normal control during the incubation period up to the 15th day.

This might be attributed at least in part to depression of Hb synthesis by nicotine. Of the parameters reflecting the acid-base balance of blood in the embryonated hen egg studied, the Po_2 showed a progressive decrease and the Pco_2 a progressive increase with incubation time while the blood pH declined. The HCO_3^- level became elevated from 13.0 mEq/lit at day 11 of incubation to 25 mEq/lit at day 18. There was a gradual rise in base excess, determined according to the Siggaard-Andersen curve nomogram from -9.5 to +1.1 during this period.

(20)

shifts over to respiratory acidosis, compensated to some extent with the elevation of HCO_3^- as it enters the late stage of life in ovo.

Besides the progressive decrease in Po_2 with time, there was a shift of the oxyhemoglobin dissociation curve to the left with advancing age of the embryo, suggesting an increasing oxygen affinity with depression of oxygen release from tissues and that the embryo may thus fall in a markedly anoxic state at 18 days of incubation. Freeman et al. (1970) associated these events with pipping which takes place at this stage of embryonal development.

It would follow that the Po_2 decline is owing to the effect of the egg shell with a constant diffusibility throughout the incubation period as well as to the rate of progressive increase in blood flow. In addition, the embryonal heart rate has been described to reach a certain limit of increase from days 15-18 of incubation (Takadama, 1961). At this stage, the development of the chorioallantoic vascular plexus may fail to progress sufficiently to keep up with the embryonal growth. Nicotine-treated eggs showed significantly lower values for hemoglobin content than the control at 10 days of incubation, at which period no appreciable difference in embryonic weight was observed between two groups. It is suggested, therefore, that the embryos were anemic in the nicotine treated group at this stage of development.

(21)

The nicotine-treated embryos exhibited lower values for Po_2 than the control despite their lower weights during the

period from days 11 to 13, although the P_{O_2} normally decreases with gain in weight as viewed with respect to interrelations of anemia and blood gases.

It can be noted from the blood gas data, accordingly, that the embryos in nicotine-treated eggs remained anemic during this period up to the 13th day.

A significant increase of heart rate was observed by Takadama (1961) in nicotine-treated embryos during the mid-incubation period. The increase in heart rate might represent a rather compensatory response to cope with the anemia in the nicotine-treated.

The abnormal values for blood gases and hemoglobin content noted from the 14th day of incubation onwards in the nicotine-treated group seemed to be ascribable to the depression of embryonic weight gain, and the embryos were unlikely to continue to be anemic under these circumstances. It appears that the anemic condition which lasted till the 13th day of incubation hindered subsequent growth of the embryo, thereby probably contributing in a way for reversing the condition.

The mechanism whereby nicotine exerts such an anemizating effect on chick embryos is not clear, but inhibition of hemoglobin synthesis and effects on the cardiovascular system of this substance are likely to be implicated. Whatever the underlying mechanism, it is obvious that injection of nicotine led to upsetting the blood gas equilibrium in the developing chick embryo till the 14th day of incubation. It would be reasonable to infer, in this

context, that respiratory disturbance forms a cause for the development of hydrpos and skeletal and visceral deformities in chick embryos of nicotine-injected eggs.

Conclusions

1. Injection of nicotine into fresh fertilized hen eggs resulted in a high mortality, a marked disturbance of growth (weight, length, etc.) and increased incidence of deformities of the embryo during incubation.
2. The embryonal blood volume increased with incubation time. Embryos of nicotine-treated eggs showed lower values for this parameter than untreated controls during the intermediate and late period of incubation.

3. The developing chick embryos displayed changes in acid-base balance of the blood; the P_{O_2} decreased and the P_{CO_2} became elevated progressively with incubation time, along with a decline in pH, thus making the embryo noticeably anoxic and ready for pipping at the late stage of development in ovo.

In the nicotine-injected eggs, in contrast, blood gas imbalance occurred as the embryo grew during intermediate stage of incubation.

(This paper was presented in part before the 17th General meeting of the congenital anomalies research association of Japan, Nagasaki, July, 1977.)

References

- 1) Tsunoo, Sh. et al.: Pharmacologic studies of nicotine. *Showa Med. J.* 14:223, 1954.
- 2) Tazawa, H.: Respiration in the chicken embryo. *Resp. & Circul.* 21, 388, 1973.
- 3) Siegrard-Andersen, O.: Blood acid-base alignment nomogram. *Scandinav. J. Clin. Invest.* 15, 211, 1963.
- 4) Wangsteen, O.D.: Gas exchange by a birds embryo. *Resp. Physiol.* 14: 64, 1972.
- 5) Teraki, Y.: Meaning of intra air sac administration of drugs in the process of chick embryo growth. Experiment by means of R. I. St. Marianna Med. J., 6: 49, 1978.
- 6) Barnes, A. E. and Wallace, N. J.:
- 7) Chioldi, H. and Terman, J. W.: Arterial blood gases of the domestic hen. *Am. J. Physiol.* 208: 798, 1965.
- 8) Piper, J., Dress, F. and Scheid, P.: Gas exchange in the domestic fowl during spontaneous breathing and artificial ventilation. *Respir. Physiol.* 9: 234, 1970.
- 9) Freeman, B. M. and Mission, B. H.: pH, P_{O_2} and pCO_2 of blood from the foetus and neonate of *Gallicus Domesticus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 33: 763, 1970.
- 10) Takadama, M.: Pharmacologic studies of nicotine hydrops. *Folia Pharmacol. Japonica* 54, 1335, 1958. 54, 1335, 1958.
- 11) Tazawa, H., Mikami, T. and Yoshimoto, C.: Respiratory properties of chicken embryonic blood during development. *Respir. Physiol.*, 160, 1971.

Nicotine 投与時の雛胚発育における呼吸について

寺木 良巳*

雛胚仔に Nicotine を投与することにより各種の奇形、著明な発育障害、高度の死亡率等がみられる。著者は雛胚発育過程における呼吸錐式について雛胚血のガス分析を行ない、正常状態ならびに Nicotine 負荷雛胚の呼吸を比較検討した。すなわち有精鶏卵に Nicotine 0.1, 1.0 ならびに 3.0 mg/卵を卵白内に注入し 38°C にてふ卵各期における血液を尿酸脱水脈から採血し、血液検査ならびに血液ガス分析を行った。

実験の結果、雛胚血液はふ卵日数とともに増加するが Nicotine 投与群ではふ卵中期、後期ともに对照群より低値を示した。つきに雛胚血の酸塩基平衡は雛胚の成長とともに変化する。すなわち、ふ卵日数とともに P_{CO_2} の低下、 pH の減少がみられ、ふ卵末期に高度のアノキシアになり、Pippins が準備される。これに対し Nicotine 投与群においては成長とともに違う血液ガスの不均衡がある中期内においてみられた。また Nicotine 3.0 mg/卵投与群のふ化は完全に阻止された。

Protein and Nitrogen Metabolism in Blood and Allantoic and Amniotic Fluids of Chick Embryos in Nicotine-Injected Hen Eggs

Yoshimi Teraki

The First Department of Anatomy

(Div. of Embryol.; Director: Prof. Emeritus K. Nagumo)

Reprinted from
The St. Marianna Medical Journal
Vol. 8, No. 1, 1980
Without change in paging

* マリアンナ医科大学 第1解剖学教室(南義研究室)

Protein and Nitrogen Metabolism in Blood and Allantoic and Amniotic Fluids of Chick Embryos in Nicotine-Injected Hen Eggs

Yoshimi Teraki*

Introduction

In 1954, Tsunoo et al. reported an observation of considerable interest that marked embryonal hydrops and undergrowth occurred in incubated hen eggs injected with nicotine. It is generally believed that the development of hydrops bears a close relationship to formation of urine. From this viewpoint, Enomoto (1959) and Sekiya et al. (1960) investigated pathogenesis of embryonic hydrops in respect of metabolism of protein, nitrogen compounds and electrolytes in the allantoic fluid, with the findings suggestive of suppression of embryonic renal function by nicotine.

There have been several other reports concerning nicotine-induced hydrops in embryonated hen eggs (Sekiya, 1956; Miyashita, 1957; Mishima, 1959), yet the pathogenesis of nicotine hydrops is not elucidated.

The purpose of this study is, first, to provide a partial characterization of the optimal environment for normal developing chick embryos *in ovo*, that is, metabolism of

Fresh fertilized white Leghorn chicken eggs of an inbred line were used in all experiments. They were incubated at 38°C and received a single intra-albuminal injection of 3.0 mg nicotine in 0.1 ml of solution per egg at initiation of incubation. Controls received comparable volumes of sterile distilled water. All eggs were candled on the 5th day of incubation, and those found embryonated were subjected to collection of the allantoic and amniotic fluids, and examined for deformities during the period from days 9 to 18 of incubation.

Samples of blood were also drawn from the allantoic artery and vein of the embryos at various stages of development.

Experimental Results

1. Mortality and incidence of malformations (Table 1) Eggs injected with 3.0 mg of nicotine were observed for mortality during the incubation period up to day 18 to assess toxicologic potential of the compound to developing chick embryos. The nicotine-dosed eggs showed an embryonic mortality of as high as 78.0%, compared to 29.6% for the untreated controls. Hydrops and skeletal abnormalities were noted as malformations in the nicotine-treated group. The hydropses were all of anasarca and monocular type (Photo. 1).
2. Effect on chick embryonic weights (Fig. 1) The embryos showed a conspi-

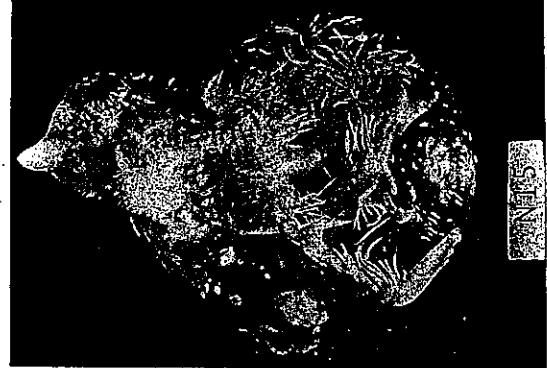


Photo 1 Hydropic 15-day-old embryo in a nicotine (3.0 mg) treated egg.

Table 1 Mortality, incidence of malformations and hatchability of embryonated hen eggs injected with 3.0 mg nicotine into albumen immediately prior to incubation.

Drug	No. of Eggs	1-7 days Mortality	8-14 days Mortality	Malformed	Survived	15-18 days Mortality	Hatchability	Malformed	Overall Incidence of Malformed Embryos
Aq. dest. 0.1ml/egg	152	12 (7.9%)	19 (12.5%)	B: 1	107 (70.3%)	B: 6	93/107	C: 2	9/152
Nicotine 3mg/egg	437	98 (22.4%)	74 (16.9%)	A: 20 B: 15 C: 6 D: 3	96 (21.9%)	28/31 A: 20 B: 15 C: 6 D: 3	89/98 A: 28 B: 52 C: 13 D: 56	C: 28 B: 52 C: 13 D: 56	117/139 (85.6%)

* Type of malformations

- A: Hydrops
B: Undergrowth
C: Ruptured abdominal wall
D: Skeletal anomalies

* The First Department of Anatomy (Div. of Embryol.; Director: Prof. Emeritus K. Nagumo)
St. Marianna University School of Medicine, 2055, Sugao, Takatsu-ku, Kawasaki 213, Japan

weight between the nicotine-treated group and the control group on the 12th day of incubation, the embryos in the treated group all showed hydrops and suppression of growth at this period. The edema began to subside gradually on day 15 and the embryos became noticeably undersized by day 18, in marked contrast with the normal controls (Photo. 2).

3. Effect on allantoic fluid volume
The allantoic fluid volume increased from day 9 of incubation to reach a peak at day 12 in both groups, but it was consistently lower in the nicotine-treated group throughout the period of observation. The treated group displayed a rather slow decline after the 15th day whereas a sharp decrease occurred in the control group (Fig. 1).

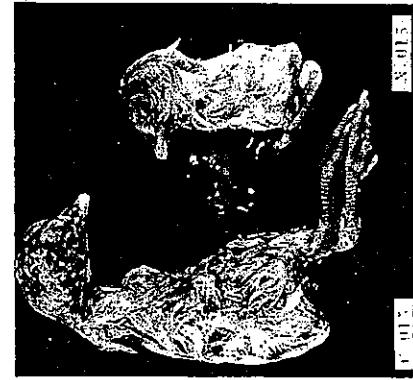


Photo 2 Undersized 15-day-old embryo from an egg injected with nicotine. A control embryo is at left.

4. Effect on amniotic fluid volume
The amount of amniotic fluid increased from the early to intermediate periods of incubation, reaching a maximum level at day 12, followed by a gradual resorption. No conspicuous difference was observed in this respect between the nicotine-treated group and the control group (Fig. 1).

5. Total protein, urea nitrogen and creatinine levels in allantoic fluid (Table 2)

i) Total protein: The allantoic fluid showed a remarkably low total protein content of less than 0.03 g/dl at day 9, the value being increased to 0.1, 0.3 and 0.6 g/dl at day 12, 15 and 18, respectively, in the controls. Slightly greater values were found for this parameter in the nicotine-treated eggs, i. e. 0.1, 0.4 and 0.9 g/dl at those periods.

ii) Urea nitrogen: A marked increase of urea nitrogen content in the allantoic fluid was observed from day 9 onwards, especially during the intermediate to late stage of embryonic development. It can be seen from the data that the urea nitrogen concentration tended to be increased at all periods in the nicotine-treated group (Table 2).

iii) Creatinine: The creatinine level increased progressively in the allantoic fluid of controls with incubation time, namely, 0.4, 0.8, 2.3 and 8.2 mg/dl at days 9, 12, 15 and 18, respectively. The nicotine-treated group had greater concentrations of 0.6, 1.0, 3.1 and 8.4 mg/dl at these periods.

6. Protein, urea nitrogen and creatinine levels in the amniotic fluid (Table 3)

i) Total protein: In the control group, the amniotic fluid showed a total protein concentration of 0.1 g/dl at day 9 of incubation and the concentration increased markedly during the intermediate to late stage, with a peak value of 15.5 g/dl at day 15.

The nicotine-treated eggs displayed greater concentrations at days 9 and 12 and somewhat lower concentrations at days 15 and 18 than the control levels.

ii) Urea nitrogen: The urea nitrogen level increased approximately 4.9-fold from the 9th to 12th day of incubation, i. e. 1.87 to 9.3 mg/dl, and then declined to 0.32 mg/dl on the 15th day in the controls. Essentially the same tendency of changes was observed in the nicotine-treated group.

iii) Creatinine: No creatinine was demonstrated in the amniotic fluid of controls on the 9th day of incubation. At day 12 the fluid showed a creatinine level of 0.37 mg/dl, which then increased to 1.7 mg/dl at day 15. Slightly greater values were noted in the nicotine-treated group: 0.1, 0.44 and 1.88 mg/dl at days 9, 12 and 15, respectively.

7. Serum total protein, urea nitrogen and creatinine levels (Table 4)

i) Total protein: The total protein concentration in serum increased progressively with time, the control levels being 1.25, 1.45, 1.8, 2.9 and 3.0 g/dl at days 11, 12, 13, 14 and 15, respectively. The nicotine-dosed group showed lower values at all periods.

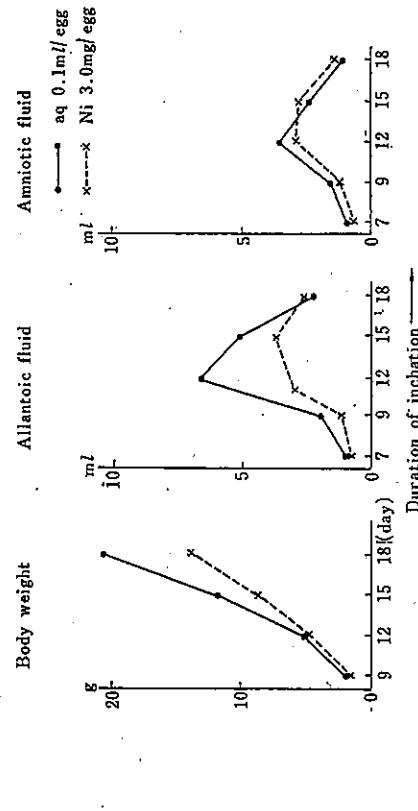


Fig. 1 Embryonic weights and allantoic and amniotic fluid volumes of eggs treated with nicotine.

Table 2 Total protein, urea nitrogen and creatinine concentrations in the allantoic fluid of embryonated hen eggs.

Incubation period Days	No. of samples	Total protein g/dl		Urea nitrogen mg/dl		Creatinine mg/dl	
		Aq.	N.	Aq.	N.	Aq.	N.
9	16	0.63 ± 0.1	0.63 ± 0.1	4.6 ± 1.1	6.7 ± 1.6	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.2
12	18	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.06	7.05 ± 1.0	10.9 ± 4.3	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.04
15	16	0.3 ± 0.04	0.4 ± 0.1	18.5 ± 2.0	21.4 ± 4.2	2.3 ± 0.04	3.1 ± 0.3
18	13	0.6 ± 0.2	0.9 ± 0.1	44.5 ± 7.5	55.7 ± 1.0	8.2 ± 1.2	8.4 ± 1.6
		Mean ± S.D.					

Table 3 Total protein, urea nitrogen and creatinine concentrations in the amniotic fluid of embryonated hen eggs.

Incubation period Days	No. of samples	Total protein g/dl		Urea nitrogen mg/dl		Creatinine mg/dl	
		Aq.	N.	Aq.	N.	Aq.	N.
9	20	0.1 ± 0.04	0.4 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.9 ± 0.4	•	0.1 ± 0.1
12	18	1.1 ± 0.9	4.1 ± 1.8	9.3 ± 4.4	12.4 ± 5.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.3
15	17	15.5 ± 3.0	12.3 ± 0.4	0.3 ± 0.1	0.8 ± 0.4	1.7 ± 0.3	1.8 ± 0.4
18	15	11.8 ± 1.6	11.2 ± 0.6	2.7 ± 1.0	3.0 ± 1.0	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.04
		Mean ± S.D.		• Not detected			

ii) Urea nitrogen: The urea nitrogen level of controls increased from 1.7 mg/dl on the 11th day to 3.9 mg/dl on the 12th day. The nicotine-treated group had lower serum urea nitrogen levels.

iii) Creatinine: There was a modest, progressive increase of serum creatinine with time. This parameter did not reveal any significant difference between the control and nicotine-treated group.

8. Electrophoretic analysis of allantoic fluid proteins (Fig. 2)

As obvious in Figure 2 illustrating densitometric scans of cellulose acetate zone electrophoretic bands, the allantoic zone electrophoretic analysis of allantoic fluid proteins (Fig. 3)

Prominent peaks occurred in the albumin and globulin regions of zone electrophoresis of allantoic fluid proteins, hence relatively similar to the pattern of normal serum proteins and distinct from that of allantoic fluid proteins.

9. Electrophoretic analysis of amniotic fluid proteins (Fig. 3)

The electrophoretic pattern did not differ particularly between the nicotine-dosed groups and the control group.

at 12-18 days of incubation.

Fig. 2 Electrophoretic patterns of allantoic fluid proteins of embryonated hen eggs

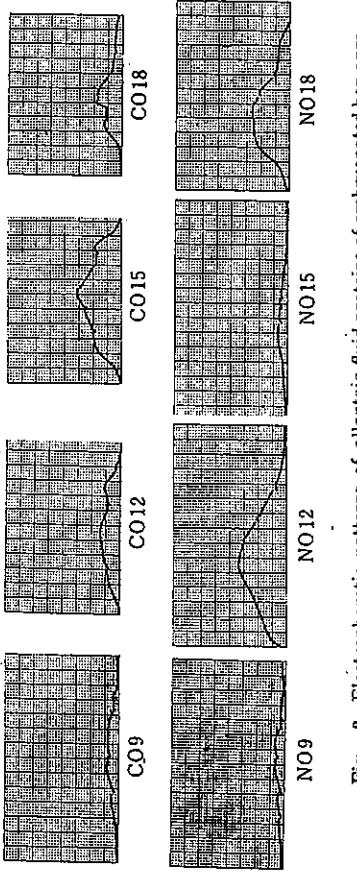


Table 4 Serum total protein, urea nitrogen and creatinine concentrations of embryonated hen eggs.

Incubation period Days	No. of samples	Total protein g/dl		Urea nitrogen mg/dl		Creatinine mg/dl	
		Aq.	N.	Aq.	N.	Aq.	N.
11	16	1.2 ± 0.04	0.5 ± 0.2	1.7 ± 0.4	0.8 ± 0.7	0.2 ± 0.07	0.1 ± 0.04
12	15	1.4 ± 0.6	1.3 ± 0.2	3.9 ± 1.1	2.0 ± 1.4	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.16
13	13	1.8 ± 0.1	3.2 ± 0.1	1.5 ± 0.3	2.6 ± 0.8	0.3 ± 0.05	0.3 ± 0.04
14	15	2.9 ± 0.2	2.2 ± 0.3	4.6 ± 0.3	4.2 ± 1.4	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.3
15	16	3.0 ± 0.5	2.1 ± 0.7	4.0 ± 1.8	6.9 ± 0.6	0.6 ± 0.4	2.1 ± 0.2
18	12	1.5 ± 0.4	1.4 ± 0.04	8.8 ± 1.9	8.9 ± 0.6	1.0 ± 0.3	1.0 ± 0.3

Mean ± S.D.

Essentially the same patterns were noted in the control and nicotine-treated groups although the albumin and globulin concentrations were generally lower in the latter group.

11. Electrophoretic analysis of proteins of hydropic fluid in nicotine-treated embryonated eggs (Fig. 5)

Intracocular fluid of chick embryos with nicotine-induced hydrops may be sanguineous or clear. Zone electrophoresis demonstrated that the clear hydropic fluid

was virtually devoid of proteins on the 9th day of incubation. Specimens of clear fluid contained proteins consisting mostly of globulins though at low concentrations.

Discussion

Since Tsunoo et al. (1954) described that a characteristic hydroptic condition occurred in embryonated hen eggs incubated after

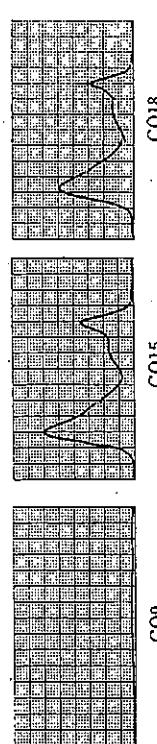


Fig. 3 Electrophoretic patterns of amniotic fluid proteins of embryonated hen eggs at days 12-18 of incubation.

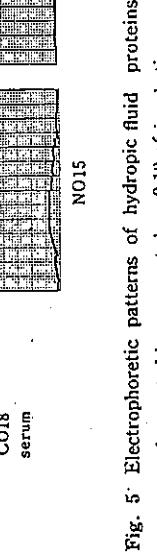


Fig. 5 Electrophoretic patterns of hydropic fluid proteins in nicotine-treated embryonated hen eggs at days 9-18 of incubation.

injection of nicotine, several studies on nicotine-induced hydrops in chick embryos have been reported.

Renal dysfunction, particularly impairment of the renal tubular function, was attributed as an important factor in the pathogenesis of nicotine-induced hydrops by Sekiya (1960) on the ground of experimental findings of disturbance in water metabolism in such embryonated hen eggs. Enomoto (1959) investigated the condition with particular reference to the allantoic fluid and described that the undergrowth of the chick embryo might result from some functional alternations of protein and nitrogen metabolism in nicotine-injected eggs. Histopathologic evidence of nephrotoxic effects of nicotine in chick embryos has been reported by Kiwaki (1956).

As yet, much remains to be clarified as to nicotine-induced hydrops. The aim of this study was to investigate the proteins and nonproteinous nitrogen compounds in serum and allantoic and amniotic fluids of developing chick embryos by zone electrophoretic analysis of protein and effects of nicotine on these parameters, to clarify pathogenesis of growth disturbance and hydrops of chick embryos in nicotine-treated eggs.

Blood can be drawn from the allantoic vein or artery of embryonated eggs during the intermediate period of incubation toward the 18th day, after which it is usually no longer practicable to obtain blood via the shell membrane. The allantoic fluid volume reaches a maximum (about 6 ml) at day 13 of incubation, followed by a gradual resorption to disappear by the time of hatching. It is practicable to collect amniotic fluid from the 7th day of incubation onwards, with a peak volume (3 to 4 ml approx.) reached at day 13. It diminishes

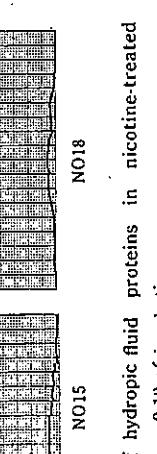


Fig. 4 Electrophoretic patterns of allantoic blood serum proteins of embryonated hen eggs at days 12-18 of incubation.

gradually thereafter and disappears before hatching. Thus incubated hen eggs show conspicuous environmental changes for the developing embryo.

Nevertheless, both allantoic fluid and amniotic fluid retain their physiologic function during the incubation period up to late stage of life in ovo and therefore cannot be placed in the same physiologic category as human amniotic fluid.

The human amniotic fluid forms, needless to mention, an optimal environment for growth of the fetus and thus has a definite physiological significance. Consequently, it provides information of great diagnostic value for assessing the degree of fetal maturity as well as for detecting malformation of the offspring.

The present study was conducted to assess the amniotic fluid as well as allantoic fluid and serum of embryonated hen eggs to obtain information on embryonic development under physiological and pathological conditions.

It has been described that the total protein concentration in normal human amniotic fluid is approximately 1/10 of a total protein content in normal serum. In normal embryonated hen eggs, the serum protein level was determined to be 1.4 and 3.0 g/dl on the 12th and 15th days on incubation, respectively.

The allantoic fluid showed protein contents of 0.1 and 0.35 g/dl and the amniotic fluid 1.1 and 1.55 g/dl at these stages, hence lower than the serum protein level till the 12th day and higher on the 15th day. There are, in fact, many articles dealing

with relation of serum protein to fetal growth and edema in humans. Crosby et al. (1977) described that maternal cigarette smoking with consequent reduction in plasma levels of amino acids had a significant bearing upon reduced fetal growth. According to Moore et al. (1930) and Bruckmann et al. (1930) fetal edema develops with lowered serum albumin concentration below a certain level.

Chick embryos showed a progressive increase in the serum protein concentration during incubation. Those in eggs injected with nicotine exhibited somewhat lower serum protein levels with reduced A/G ratios than the control at all periods of incubation.

Protein is demonstrable, though in small quantities, in the allantoic fluid of eggs on the 9th day of incubation with a rapid increase during the latter half period of embryonic development. In nicotine-treated eggs, the allantoic fluid protein content was greater than the control during the period from 11-15 days of incubation.

It would be suggested, as described by Sekiya et al. (1960), that the injection of nicotine might evoke some pathologic change to facilitate protein leakage through the kidney of the embryo.

The protein level in amniotic fluid of embryonated hen eggs, similarly, displayed a progressive increase with time unlike human amniotic fluids. The amniotic fluid protein content normally ranges between 200 and 700 mg/dl in humans according to Seeds (1965); whereas in embryonated hen eggs, the amniotic fluid protein concentra-

tion increases remarkably from the 12th to 15th day of incubation, viz. from 1.10 to 15.5 g/dl.

Nicotine-treated eggs show greater amniotic fluid protein concentrations than the control level during the period from days 9 to 12 of incubation and slightly lower concentrations from days 13 to 15. As for relation of fetal growth and amniotic fluid proteins, it has been described that the amniotic fluid protein content tends to be increased in fetal abnormal conditions, such as fetal deformities and hydrops fetalis in pregnancy with Rh incompatibility. The present series of nicotine-induced embryonic hydrops showed values consistent with this view during the period from days 9 to 12 of incubation.

Meanwhile, the following findings were noted in this investigation as to levels of nonproteinous nitrogen compounds, i. e. urea nitrogen and creatinine, in embryonated eggs.

Both urea nitrogen and creatinine were demonstrable at considerable levels in the embryonic serum, showing no significant change with incubation time, that is remaining at practically constant levels throughout the observation period. The nicotine-treated group displayed lower serum levels of both substances than the control from days 9 to 12 of incubation.

In the allantoic fluid both parameters exhibited a progressive increase during incubation, the increment being approximately two-fold from the intermediate to late stage.

Urea nitrogen content in allantoic fluid

was consistently higher than the serum level; it increased to a level about five times as high as the level in serum on the 15th day. Both urea nitrogen and creatinine contents were prone to be increased in the nicotine-treated group, compared to the control group. These are in congruity with the increased protein excretion and may bear relation to renal function.

Urea nitrogen concentration in amniotic fluid reaches a peak at day 12 of incubation and then declines to become lower than the levels in serum and allantoic fluid in the later stage. Creatinine increases in the amniotic fluid with incubation time and does not differ significantly between the nicotine-treated group and the control group.

Protein fractions of the embryonic serum and amniotic fluid, generally, exhibited similar zone electrophoresis patterns on cellulose acetate strips. Proteins from allantoic fluids showed patterns distinct from them and characteristically mountain-shaped with elevated spikes for α_1 -and α_2 -globulins.

Rarely, the densitometric scan of zone electrophoretic bands from amniotic and allantoic fluids of embryonated eggs demonstrated pre-albumin, which, in humans, has been reported to arise from the fetus and reach a peak concentration in amniotic fluid during the terminal stage of gestation (Touckton et al., 1972). The finding therefore provides no information as to relationship of prealbumin to embryonic growth in incubated hen eggs. In the serum, albumin was demonstrable on assays

at days 12 and 15 of incubation, accounting for 13.5 to 16.6% of the entire serum protein fraction.

In the amniotic fluid, albumin constituted the greatest proportion of proteins and appears to play an important role in maintaining the normal colloid osmotic pressure.

The role of plasma proteins, particularly that of albumin, is of great pathophysiological significance in the genesis of edema. In view of this, we assessed the effect of nicotine on the albumin fraction of amniotic and allantoic fluids and serum in embryonated hen eggs injected with this alkaloid at start of incubation. The analysis revealed lowered serum albumin levels in the nicotine-treated group. Allantoic fluid showed relatively low albumin concentrations as compared to serum and amniotic fluid.

Avian allantoic fluid, according to Nedham (1931), is hypotonic throughout the course of incubation and shows a sudden drop of tonicity during the period from days 15 to 18 due to excretion of hypotonic urine by embryonal renal function.

The osmolality of amniotic fluid of birds is virtually constant throughout the incubation period, as described by the investigator, although it is greater than that of the embryo during the first half-period and becomes hypotonic during the latter half period. Sekiya et al. (1960) stressed the relationship of nicotine-induced hydrops to embryonal kidney function on their observations. It would be necessary to measure the osmolality of amniotic fluid, as well as

that of allantoic fluid in embryonated eggs injected with nicotine, to explore further their relationship to edema of the embryo.

It has been reported that α -globulin content in human amniotic fluid is increased in cases of low-weight fetus (Mukerjee et al., 1973). Our data demonstrate that allantoic fluids of nicotine-treated embryonated hen eggs showed high α_1 -globulin values (40-50% of total protein), somewhat greater than the control level.

β -Globulin was found at concentrations of 10-15% of total protein in the serum of chick embryos. There was no significant difference in β -globulin content of allantoic or amniotic fluid between the nicotine-treated group and control group.

In the nicotine-treated group serum γ -globulin was frequently demonstrated whereas the serum protein fraction from the controls contained little or no γ -globulin. Conversely, the nicotine-treated group exhibited lower γ -globulin values for the allantoic and amniotic fluids than the control group.

Hydronic fluid specimens from embryonated eggs injected with nicotine were either sanguineous or clear. In the protein fraction of sanguineous fluids, albumin accounted for the largest proportion, followed by α_1 -globulins. By contrast, globulins constituted the greatest percent of total protein in the clear fluid.

Thus we have investigated pathogenetic factors for embryonic hydrops and inadequate growth in nicotine-treated hen eggs, with respect to protein and nitrogen metabolism. Further studies with par-

ticular reference to electrolytes and blood gases are under way in our laboratory.

Summary

1. Fresh fertilized hen eggs were injected with 3 mg of nicotine into albumin, incubated and observed over the period up to the 18th day of incubation. The nicotine-treated group displayed an increased incidence of embryonic undergrowth and marked hydrops with a noticeably high mortality.
2. The embryonated hen eggs were assessed for total protein, urean nitrogen and creatinine levels in the allantoic fluid, amniotic fluid and serum during the intermediate and late periods of incubation to detect influence of the injection of nicotine. The assays revealed lowered serum protein concentrations, diminution of the allantoic fluid volume and increased protein excretion in the allantoic fluid.
3. Serial allantoic fluid, amniotic fluid and serum specimens as well as hydronic fluids, collected during the embryonic development, were subjected to zone electrophoretic analysis of proteins. A decline in serum albumin concentration was evident in the nicotine-treated embryonated hen eggs.
- 4) Miyashita, Y.: Effects of theophylline derivatives on nicotine-induced hydrops. *Ibid.* 53, 1086, 1957.
- 5) Miyashita, Y.: Effects of theophylline derivatives on nicotine-induced hydrops. *Ibid.* 52, 370, 1956.
- 6) Mishima, K.: Effect of glucuronic acid on nicotine-induced hydrops of chick embryos. *Ibid.* 55, 1278, 1959.
- 7) Kiwaki, T.: Effects of nicotine on the chick embryo. *Ibid.* 52, 186, 1956.
- 8) Crosby, W. C., Metcalf, J., Costloe, J. P., Mamesh, M., Sandstead, H. H., Jacob, R. A., McClain, P. E., Jacobson, G., Reid, W. and Burns, G.: Fetal malnutrition: An appraisal of correlated factors. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 128, 22, 1977.

- 1) Tsuno, Sh., Muto, T., Karaki, Y., Yamada, A., Kiwaki, T., Iwakura, T., Togami, H., Fujinuma, T., Oka, K., Hayashida, T., Fujikawa, H. and Watanabe, M.: Pharmacological studies on nicotine. On the influences and toxicity of nicotine on the general development of chick embryo. *Showa Med. J.*, 14, 223, 1954.
- 2) Enomoto, Y.: Pharmacology of 1, 3, 5-Triamino-triazine. *Folia Pharmacologica Japonica*, 55, 198, 1959.
- 3) Sekiya, Y., Kanai, S., Kimura, I., Suzuki, B., Kubota, A. and Yamanoi, G.: Influence of the nicotine-loading on the allantoic fluid of chick embryo. *Showa Med. J.* 20, 66, 1960.
- 4) Sekiya, Y.: Embryonic hydrops in incubated chicken eggs after injected with nicotine. *Folia Pharmacologica Japonica*, 52, 370, 1956.
- 5) Miyashita, Y.: Effects of theophylline derivatives on nicotine-induced hydrops. *Ibid.* 53, 1086, 1957.
- 6) Mishima, K.: Effect of glucuronic acid on nicotine-induced hydrops of chick embryos. *Ibid.* 55, 1278, 1959.
- 7) Kiwaki, T.: Effects of nicotine on the chick embryo. *Ibid.* 52, 186, 1956.
- 8) Crosby, W. C., Metcalf, J., Costloe, J. P., Mamesh, M., Sandstead, H. H., Jacob, R. A., McClain, P. E., Jacobson, G., Reid, W. and Burns, G.: Fetal malnutrition: An appraisal of correlated factors. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 128, 22, 1977.

Metabolism in Nicotine-Injected Hen Eggs

13

- 9) Moore, N. S. and Van Slyke, D. D.: J. Clin. Invest. 8, 337, 1930.
- 10) Bruckmann, F. S. and Peters, J. P.: *Ibid.* 8, 591, 1930.
- 11) Seeds, A. E.: Water metabolism of the fetus. Am. J. Obstet. Gynec. 92, 727, 1965.
- 12) Touchtone, J. C., Glazer, L. G., Bolognese, R. J. and Corson, S. L.: Gynec. 115, 858, 1973.
- tional age and amniotic fluid protein patterns. *Ibid.* 114, 58, 1972.
- 13) Needham: Chemical Embryology. Cambridge, 1931.
- 14) Mukerjee, A. K. and Sankha, H. B.: Amniotic fluid mucoprotein in severe pre-eclamptic toxemia. Am. J. Obstet. Gynec. 115, 858, 1973.

脳下垂体後葉ホルモンの鶏胎仔に及ぼす
影響について
昭和医科大学薬理学教室（指導 角尾滋教授・金木信助教授）
河村潤之輔

INFLUENCE OF POSTERIOR PITUITARY HORMONES
ON CHICK EMBRYO

Junnosuke Kawamura

Department of Pharmacology, Showa Medical School
(Director : Prof. Sh. Tsunoo & Asst. Prof. S. Kaneki)

(昭和 37 年 5 月 28 日)
昭和医学会雑誌 第 22 卷 第 1-2 号 別刷

脳下垂体後葉ホルモンの鶏胎仔に及ぼす 影響について

昭和大学薬理学教室 (指導: 角尾滋教授・木本洋助教授)
河村潤之輔

INFLUENCE OF POSTERIOR PITUITARY HORMONES ON CHICK EMBRYO

Junnosuke Kawamura
Department of Pharmacology, Showa Medical School
(Director: Prof. Sh. Tsunoo & Ass. Prof. S. Kanaki)

概 論

現在脳下垂体は腺性下垂体と神経性下垂体とにわけられる傾向があり、下記に示すごとくある。便宜上これを脳下垂体前葉と後葉とに分ける。

脳下垂体の区分	
Pars distalis	(anterior lobe)
Adenohypophysis	Pars tuberalis
	Pars intermedia
	Pituitary stalk
Neurohypophysis	Infundibular stem
	Median eminence
	or tuber cinereum

従来脳下垂体後葉抽出液は抗利尿作用、血管の收縮および血圧上昇、子宮平滑筋を刺激収縮、乳腺の清平筋刺激等の因子があると考へられており、牛の脳下垂体エキスとして上記のごとき四つの作用を各分率に全てを具備した物質が取りだされていた¹⁾。最近 du Vigneaud は牛の脳下垂体より counter-current distribution 法で oxytocin, vasopressin を純粋に分離し、また構造式の決定および研究室での合成に成功した²⁾。したがつて現在では脳下垂体後葉からは vasopressin と oxytocin の二つのホルモンが分離されていると考えられている。du Vigneaud 等によれば牛の vasopressin では八つの amino acid が入り cystine, tyrosine, phenylalanine, glutamate, asparagine, proline, arginine (豚では lysine) glycine の octapeptide である。また近年 van Dyke

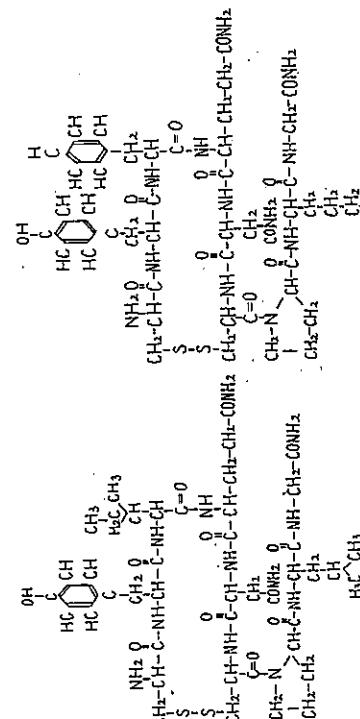
等³⁾によりヒトの vasopressine と arginine-type であることが判った。oxytocin も同様に cystine, tyrosine, isoleucine, glutamate, asparagine, proline, leucine, glycine の八つの amino acid からなり vasopressine の phenylalanine, arginine の代りに leucine, isoleucine が入っているという点が相違し、その活性は S-S linkage Kc 多いに依存し、競争還元操作でも急速に破壊されその活性を失う⁴⁾。vasopressin および oxytocin の構造式は次頁の通りである。

脳下垂体後葉ホルモンの薬理作用は各研究者あるいは各動物によつて多少の相違がある。水分および塩類代謝について、Cl⁻排泄促進、Na⁺の非選択的増加をきたすとするもの^{5), 6)}、水利尿を抑制するが人間では直腸排泄には一定の変化が認められないとするもの^{7), 8)}、あるいはこれに反した報告がされている⁹⁾。このように脳下垂体後葉ホルモン特に塩類排泄について種々の報告があるが、私は食用油の脳下垂体後葉から抽出分離した Atotin および Atotin-O または合成 oxytocin である Syntocinon を用いて、鶏胎仔に及ぼす影響特に尿のり水および尿水中の Na, K の増長について、更に鶏胎仔心臓、腎、肝臓の組織学的検索を試みたので報告する。

実験方法

実験材料として平均 50~55g 前後の新鮮な白色レグホン種の鶏卵を使用し、自動調節器付電気平面解剖器によつて解剖した。解剖法、薬物投与法は当教室既往の方で解説した。解剖法、Atotin, Atotin-O 注射卵は Aq 雉卵および Syntocinon 注射卵につれて検討した。実験法は下記に準じて行い、薬物は Atotin 0.5 単位および 1.0 単位、Syntocinon 0.5 単位および 1.0 単位注射卵を各々 Aq 雉卵、A1 雉卵、S05 雉卵、A-01 雉卵、S1 雉卵と略) して对照卵(以下 Aq 雉卵と略)として被試蒸煮水 0.1ml を注射したものと同時に注入した。第 1 実験は Aq 雉卵および Syntocinon を各々 0.5 単位、Atotin 1.0 単位となるように溶解して卵白部に注射し (Atotin

vasopressin



第 1 表 鶏胎仔死亡率 (A)

	孵卵 9 日 目			孵卵 12 日 目			孵卵 15 日 目			孵卵 18 日 目			Total
	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	
Aq 雉	1/39	2.5	2/33	6.0	2/26	7.5	3/19	16.7	8/39	20.5			
A05 雉	3/37	8.1	1/29	3.4	3/23	13.0	3/15	20.0	10/37	27.0			
A1 雉	3/38	7.9	0/30	0	3/25	12.0	5/17	29.4	11/38	28.9			
A-05 雉	4/40	10.0	0/31	0	3/26	11.5	5/18	27.7	12/40	30.0			
A-01 雉	5/39	12.8	2/29	6.8	1/22	4.5	1/16	6.2	9/39	23.0			

(注) 分子数/分母数: 各孵化期における死亡例数/孵化数

	孵卵 9 日 目			孵卵 12 日 目			孵卵 15 日 目			孵卵 18 日 目			Total
	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	死亡例	死亡率 (%)	
Aq 雉	2/27	7.4	0/20	0	1/15	6.6	2/9	22.2	5/27	18.5			
S05 雉	0/28	0	2/23	8.6	2/16	12.5	3/9	33.3	7/28	25.0			
S1 雉	2/27	7.4	2/20	10.0	2/13	15.3	1/6	16.6	7/27	24.9			

(注) 分子数/分母数: 各孵化期における死亡例数/孵化数

法) に準じて行い、薬物は Atotin (1ml 中に日本製局単位 0.5 単位および 1.0 単位 Atotin-O 0.5 単位および 1.0 単位、Syntocinon 0.5 単位および 1.0 単位注射卵を各々 A05 雉、A1 雉、S05 雉、S1 雉と略) 他に对照卵 (以下 Aq 雉と略) として被試蒸煮水 (以下 Aq 雉と略) として被試蒸煮水 0.1ml を注射したものと同時に注入した。第 1 実験は Aq 雉および Atotin, Atotin-O 注射卵、Aq 雉および Syntocinon 注射卵について検討した。実験法は下記に準じて行い、薬物は Atotin (1ml 中に日本製局単位を含有する) Atotin-O (1ml 中に 10 オキシトシン単位を含有する) および Syntocinon (1ml 中に 10 オキシトシン単位を含有する) を使用し、これを注射用滅菌蒸溜水 (以下 Aq と略) 0.1ml 中に Atotin, Atotin-O および Syntocinon を各々 0.5 単位、1.0 単位となるように溶解して卵白部に注射し (Atotin

察は解剖9, 12, 15, 18日目にAq卵およびAtomin, Atonin-O, Syntocinon注射卵各々5コずつを投与して、切片はヘマトキシン・エカジン複染色を行つた。

鷄胎仔体重、尿のう水量、半水量の測定を行ひ、更に尿のう水および半水中のNa, Kの定量を実施した。NaおよびKの定量はベックマン型光電分光光度計によつて行つた。また鷄胎仔の心臓、腎、骨膜、所膜を摘出して型

第2表 鷄胎仔の体重、尿のう水量、半水量 (A)

		解卵 9日目			解卵 12日目			解卵 15日目			解卵 18日目		
		体重	尿のう水 (ml)	半水 (ml)	体重	尿のう水 (ml)	半水 (ml)	体重	尿のう水 (ml)	半水 (ml)	体重	尿のう水 (ml)	半水 (ml)
Aq卵	1	1.5	2.5	1.7	2.8	4.8	3.0	8.1	8.1	1.0	19.8	5.8	
	2	1.5	2.4	1.6	3.4	5.6	2.8	6.7	6.5	0.3	18.8	4.0	
	3	1.4	2.5	0.2	2.9	5.3	2.7	8.8	6.7	1.7	16.1	2.7	
	4	1.4	1.2	1.2	2.8	5.2	1.0	9.2	7.1	2.0	19.8	2.0	
	5	1.3	1.5	0.2	4.1	4.0	2.6	11.6	8.5	3.0	19.4	2.8	
	平均	1.4	2.0	1.0	6.4	3.1	4.6	6.8	2.4	5.8	9.8	3.5	5.9
AO5卵	1	1.2	2.4		3.5	4.1	1.7	7.4	7.4	0.2	19.9	3.8	
	2	1.2	2.3	1.7	4.1	8.7	3.1	6.6	11.7	1.7	19.1	2.1	
	3	1.1	1.2	1.3	3.4	7.9	2.4	8.6	10.2	1.7	20.8	6.0	
	4	1.3	2.1	1.0	4.5	6.8	3.6	9.2	6.9	3.0	14.4	8.0	
	5	1.0	2.0		3.9	4.7	3.3	8.5	10.5		19.2	3.2	
	平均	1.2	2.0	0.7	1.3	6.6	4.0	5.6	8.1	9.3	5.6	19.8	5.8
A1卵	1	1.5	1.7	1.5	3.2	6.1	3.0	8.4	4.9	3.2	20.4	4.0	
	2	1.5	1.0	0.2	3.0	6.2	3.2	9.7	8.0	1.5	19.3	6.5	
	3	1.3	1.0	1.3	3.4	6.7	3.1	10.6	7.8	0.8	12.7	1.9	
	4	1.3	1.8	0.5	3.2	4.8	2.7	10.6	7.0	0.3	19.7	2.5	
	5	1.3	1.2	1.0	2.5	4.0	3.2	9.3	6.2	2.2	20.3	4.6	
	平均	1.4	1.3	0.9	3.1	5.6	7.0	3.0	5.6	9.7	6.8	5.7	5.7
AO05卵	1	1.3	2.2	1.8	3.4	5.5	3.2	9.5	5.9	3.5	20.9	5.2	
	2	1.3	1.0	0.9	3.8	6.0	3.5	8.5	4.7	0.8	19.0	4.5	
	3	1.0	1.2	0.3	2.8	4.7	3.0	7.7	10.5	0.3	18.5	4.6	
	4	1.3	1.2	0.5	4.2	7.5	1.2	7.8	9.2		20.2	2.5	
	5	1.4	1.5	1.6	3.8	4.4	3.1	10.0	11.0	1.5	14.7	3.0	
	平均	1.3	1.5	7.6	1.0	6.1	3.6	5.6	7.0	2.8	5.9	18.7	5.7
AO1卵	1	1.2	1.5	1.5	3.6	5.5	2.0	8.0	11.0		17.5	6.3	
	2	1.1	1.3	1.6	3.3	4.0	0.6	8.5	5.0	0.8	19.9	4.2	
	3	1.1	1.9	1.6	3.7	5.2	2.8	6.8	8.5	2.4	16.9	6.0	
	4	1.0	0.5	0.5	3.8	4.5	3.5	8.8	8.3	1.7	20.5	3.1	
	5	1.3	2.2	2.0	3.3	4.7	3.7	8.3	6.5		16.0	2.9	
	平均	1.1	1.5	7.4	1.4	6.2	3.5	4.8	7.0	2.5	5.8	18.2	5.7

実験成績

(B)

		Aq卵			AO5卵			A1卵			AO05卵		
		1	2	3	4	5	平均	1	2	3	4	5	平均
死亡率		1	1.4	2.0	1.6	3.7	4.9	2.6	10.0	9.0	1.4	18.3	6.6
鷄胎仔死亡率		2	1.4	2.3	1.7	3.7	6.9	2.8	11.9	9.4	1.9	19.6	4.0
鷄胎仔死亡率の半定		3	1.5	2.5	1.5	3.9	4.8	2.8	9.4	4.5	1.0	20.5	4.5
鷄胎仔死亡率の半定		4	1.3	2.2	1.4	3.9	7.2	3.0	11.9	3.9	1.5	21.6	2.3
鷄胎仔死亡率の半定		5	1.1	2.0	1.8	3.2	7.5	2.9	11.3	8.4	1.5	21.5	4.1
半定		平均	1.3	2.2	1.6	5.0	3.7	6.3	5.5	3.0	5.4	19.0	5.5
半定		1	1.6	1.7	1.5	4.5	7.2	2.5	9.1	8.0	0.7	19.5	5.5
半定		2	1.7	1.9	1.5	4.4	5.6	3.5	9.0	9.0	1.5	20.6	5.0
半定		3	1.6	1.8	1.3	5.0	8.5	2.3	11.0	4.6	1.8	21.0	4.3
半定		4	1.3	1.8	1.7	3.7	8.0	2.5	10.3	8.8	1.7	20.7	5.2
半定		5	1.4	2.0	1.0	3.6	5.0	2.2	10.5	0.0	2.6	20.7	0.9
半定		平均	1.5	1.8	1.4	5.0	4.2	6.9	5.6	5.6	2.7	5.4	2.0

で、頭部より検卵器で観察したが、該方法で死卵の判斷しない卵は直ちに放棄して、胎仔心搏動の肉眼的観察によって決定した。先づ解卵5日目に全例を検卵し無精卵、死亡卵を検出除去し、残った有精卵のみの解卵を持續し、解卵9, 12, 15, 18日目に実験に先立つて、再び全例を検卵し死亡卵を除外し、これより死亡率を算出した。

鷄胎仔死亡数および半水中のNa, K濃度解卵金経過を通じてAtonin, Atomin-O, Syntocinon注射卵の死亡率はAq卵のそれと比較して一般にやや高い傾向を示すが、その間に有意の差は認めなかつた。

2. 体重および浮腫

鷄胎仔体重は第2表A, Bに示す通りである。各解卵期間はAq卵を含め、いずれの群も減耗期に増加するが、Aq卵とAtomin-O, Syntocinon注射卵との間に有意の差を認めなかつた。

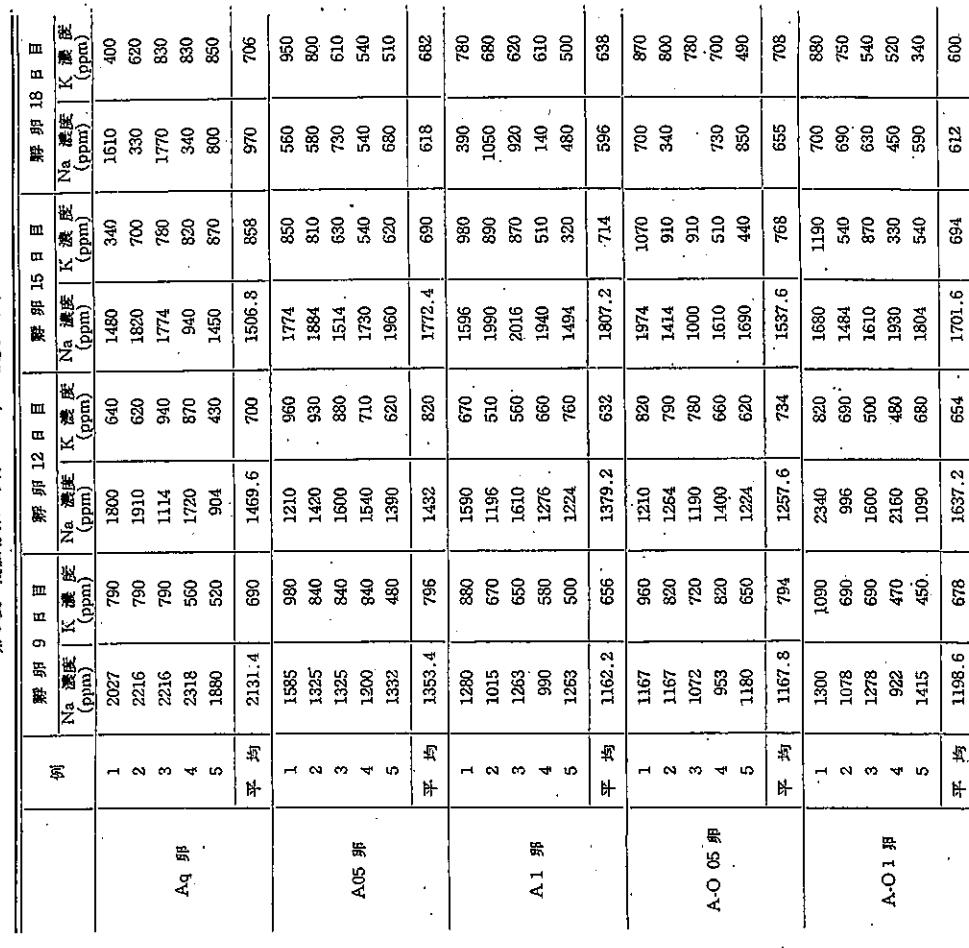
各投卵卵の5例における浮腫発生についてみると、解卵12日目ではA05卵、A1卵、AO05卵、A-O1卵の各1例に、解卵15日目ではA05卵1例、A-C1卵では解卵19, 20日目に半水中の平均NaおよびK濃度は第4表A, Bに示すごとく各投卵卵ともAq卵と同様な傾向を示す。

3. 尿のう水量および半水量

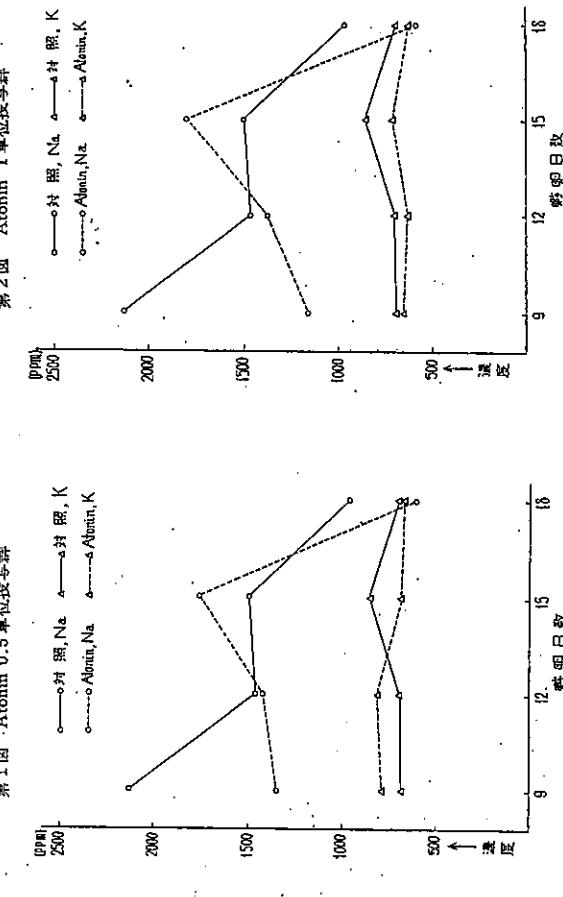
(B)

例	孵卵 9 日 目			孵卵 12 日 目			孵卵 15 日 目			孵卵 18 日 目			SOS 鳥	S1 鳥	Aq 鳥	A-O 鳥	A-O SOS 鳥	A-O S1 鳥	A-O Aq 鳥	对照 鳥	对照 K 鳥
	Na 濃度 (ppm)	K 濃度 (ppm)	Na/K 比	Na 濃度 (ppm)	K 濃度 (ppm)	Na/K 比	Na 濃度 (ppm)	K 濃度 (ppm)	Na/K 比	Na 濃度 (ppm)	K 濃度 (ppm)	Na/K 比									
Aq 鳥	1	2027	790	1860	640	1480	340	1610	400	1	2430	520	2225	140	2325	700	1190	525	210		
	2	2216	790	1910	620	1820	700	330	670	2	2350	520	1950	340	1325	330	805	325	270		
	3	2216	790	1114	940	1774	780	1770	830	3	2550	970	1650	620	1975	550	350	330	330		
	4	2318	560	1720	870	940	820	340	830	4	2410	260	2075	140	900	450	950	950	450		
	5	1880	520	904	430	1450	870	800	850	5	2625	560	1825	310	1525	710	780	780	295		
平均			2131.4	690	1469.6	700	1506.8	858	970	706	平均			1945.0	310	1610.0	710	835.3	351		
A-O 鳥	1	1585	980	1210	960	1774	850	560	950	1	2150	670	1950	390	1375	325	800	325	270		
	2	1325	840	1420	930	1884	810	580	800	2	2100	480	2225	450	1275	270	465	465	465		
	3	1325	840	1600	880	1514	630	730	540	3	1900	530	1700	450	1375	315	1350	1350	315		
	4	1200	840	1540	710	1730	540	540	540	4	1835	720	2200	160	1900	800	800	800	280		
	5	1332	480	1390	620	1960	620	680	510	5	2000	280	1785	350	1575	710	820	820	300		
平均			1353.4	796	1432	820	1772.4	690	618	682	平均			1972.0	360	1500.0	761	819.0	325		
A-O SOS 鳥	1	1280	880	1590	670	1596	980	390	780	1	2000	1000	2000	800	2000	800	2000	2000	2000		
	2	1015	670	1196	510	1980	890	1050	680	2	1263	650	2016	870	920	620	920	620	920		
	3	1072	720	1190	650	1610	560	2016	870	3	990	580	1276	660	510	140	610	140	610		
	4	953	820	1400	660	1400	1940	510	730	4	1180	650	1224	760	1494	320	480	320	480		
	5	1162.2	656	1379.2	632	1807.2	714	596	638	5	1167.8	794	1257.6	734	1537.6	768	655	708	600		
平均			1162.2	656	1379.2	632	1807.2	714	596	638	平均			1701.6	694	1701.6	612	600	600		
A-O S1 鳥	1	1300	1090	2340	820	1974	1070	700	870	1	1278	690	1630	540	690	750	880	880	23		
	2	1073	690	996	630	1484	910	340	800	2	1415	450	1610	870	630	540	540	540	23		
	3	922	470	2160	480	2075	140	900	780	3	1198.6	678	1637.2	654	1804	540	590	340	340		
	4	1415	450	1090	680	2075	140	900	780	4	1198.6	678	1637.2	654	1701.6	694	612	600	23		
	5	1198.6	678	1637.2	654	1701.6	694	612	600	5	1198.6	678	1637.2	654	1701.6	694	612	600	23		

第3表 蝶斑仔尿のう水の Na, K 濃度 (A)

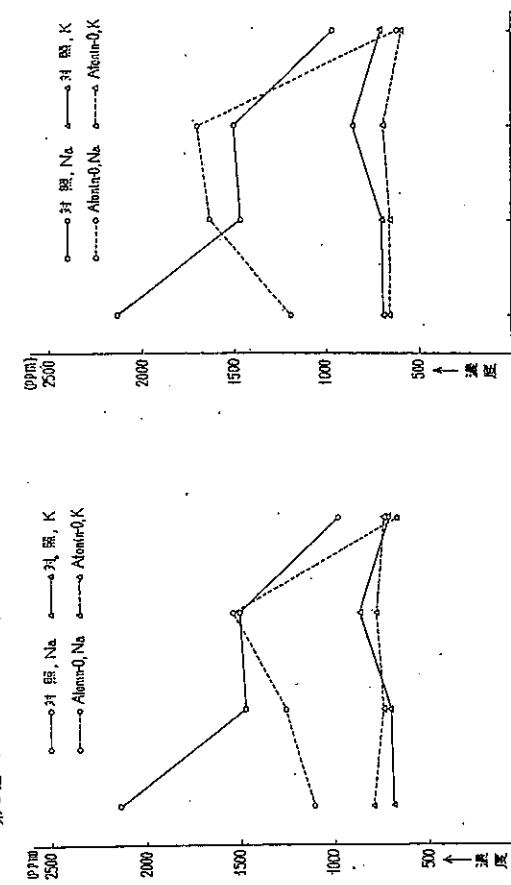


第1図 Atomin 1単位投与群

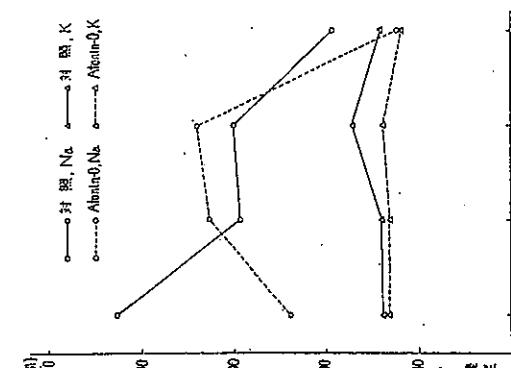


第2図 Atomin 0.5単位投与群

第3図 Atonin-O 0.5単位投与群



第4図 Atonin-O 1単位投与群



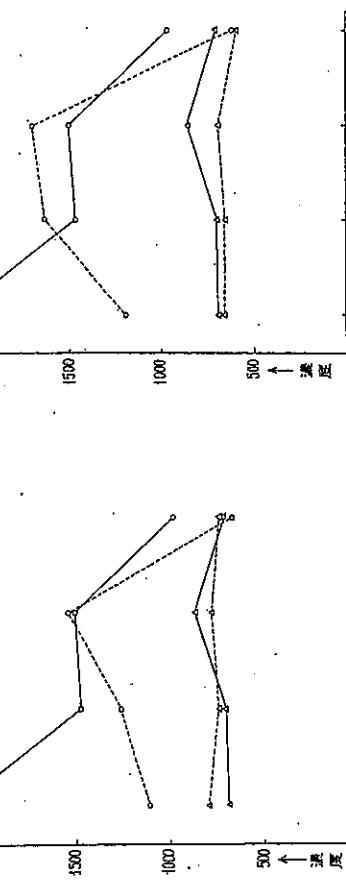
認めたが(写真1, 2)その他の解卵12日目の注射卵

および解卵15, 18日目のAtonin, Atonin-O, Syntocinon注射卵のいずれにも浮腫を認めなかつた。浮腫以外他の内臓脱出あるいは奇形等の変化は全例に認められなかつた。

鶏胎仔腎、腎臓、肝臓における解卵経過中特別の所見を認めなかつた。

見を認めなかつた。

脳下垂体後葉ホルモンを鶏胎仔に投与した場合、その死亡率についでは対照との間に有意の差を認めなかつた。すなわち鶏胎仔に対する脳下垂体後葉ホルモンの投与



第4表 鶏胎仔羊水のNa, K濃度(%)

剖	解卵9日目	解卵12日目		解卵15日目		解卵18日目	
		Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)
1	2800	135	2640	590	2160	670	1704
2	2450	160	2460	570	2190	330	1590
3	2830	140	2450	720	1990	640	1660
4	2725	185	2250	630	1874	750	1850
5	2600	190	2450	630	1640	600	2075
平均	2681.0	162.0	2462.0	628.0	1970.8	598.0	1804.8

解卵12日目

剖	解卵9日目	解卵12日目		解卵15日目		解卵18日目	
		Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)
1	2890	155	2302	630	1920	580	1760
2	2540	165	2340	720	2100	910	1350
3	2700	170	2300	740	2130	280	1930
4	2700	170	2286	890			1850
5	2700	170	2330.4	722.0	2043.3	590.0	1770.8
平均	2710.0	163.0					1770.8

解卵15日目

剖	解卵9日目	解卵12日目		解卵15日目		解卵18日目	
		Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)
1	2950	190	2350	630	2200	330	1654
2	2050	130	2925	630	2560	760	1804
3	2350	180	2390	760	1670	660	1690
4	2890	185	2390	740	1520	990	1620
5	2800	210	2430	780	1930	450	1770
平均	2608.0	179.0	2487.0	708.0	2016.0	638.0	1729.5

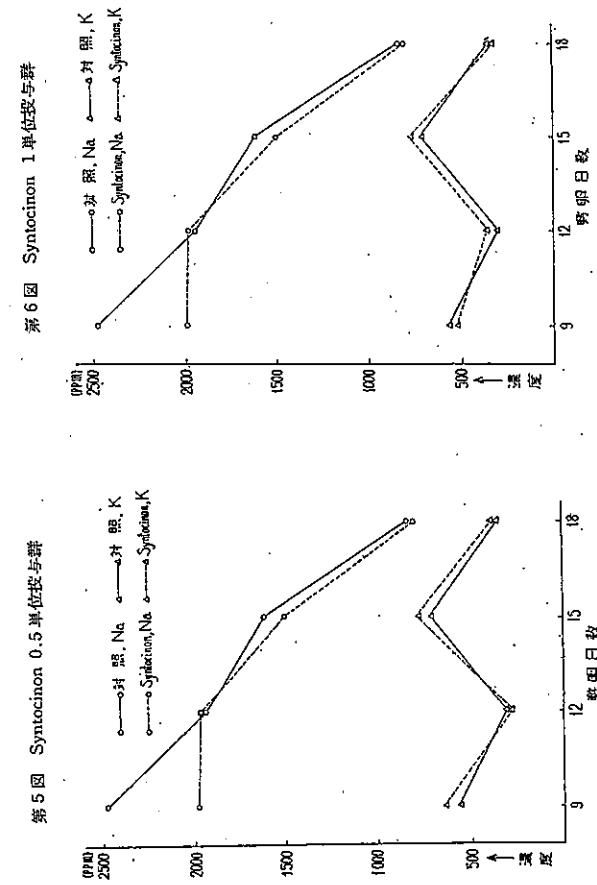
解卵18日目

剖	解卵9日目	解卵12日目		解卵15日目		解卵18日目	
		Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)
1	3050	170	2244	850	2690	520	1850
2	1900	160	2470	750	1950	910	1794
3	2850	230	2470	940			780
4	2700	180	2360	950			1654
5	2450	125	2360	480	1760	460	1494
平均	2590.0	173.0	2380.8	794.0	2106.7	630.0	1732.4

解卵15日目

剖	解卵9日目	解卵12日目		解卵15日目		解卵18日目	
		Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)	Na濃度(ppm)	K濃度(ppm)
1	2750	185	2340	780			1554
2	2640	140	2340	610	2150	730	1480
3	2980	205	2272	800	2000	410	1950
4	2300	170	2376	800	2160	660	1730
5	2700	180	2470	910			1600
平均	2674.0	176.0	2359.6	780.0	2103.3	600.0	1662.8

解卵18日目



(B)

		写真1・解剖9日目 心臓 Aq 雉										写真2・解剖9日目 心臓 Aq 雉									
		S1 雉					Aq 雉					S1 雉					Aq 雉				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	平均	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890
	1	2525	112	3400	30	2350	700	2575	745	805	840	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890
	2	2400	147	3475	70	2060	920	2300	740	805	840	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890
	3	2450	130	3670	70	2300	310	2825	840	840	840	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890
	4	2150	185	3200	40	2025	655	2650	750	750	750	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890
	5	2205	185	3350	20	2300	715	2850	890	890	890	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890
	平均	2346.0	151.8	3405.0	48.0	2207.0	646.2	2835.0	796.0	796.0	796.0	2377.0	159.2	3652.0	44.0	2134.0	629.0	2814.0	780.0	745	890

中 Na 濃度についてみると、解剖9日目に於ける Atomin-O, Syntocinon 注射卵の Na 濃度は Aq 雉のそれと比較して有意の低値を示しており、尿のう水中 Na 濃度を解剖全経過にわたって観察すると、Aq 雉では解剖日数が進むにつれその濃度が低下する傾向を示すが、Atomin, Atomin-O 注射卵では解剖15日目にビーカーとして上昇し、解剖18日目に低下を示した。また Syntocinon 注射卵では解剖9、12日目にほぼ一定し、以後解剖日数にしたがつて低下を示した。以上のことからこれらの下垂体後葉ホルモンが、解剖早期の鶏仔の Na 代謝に影響を与えることが推定され、解剖早期における Na の体内貯留の可能性を考えられる。なお尿のう水および半水の量、K 濃度、あるいは半水中の Na 濃度については影響がみられなかつた。また腎臓および肝臓の組織学的検索によつて特別の変化が認められなかつた。

下垂体後葉ホルモンの抗利尿作用は、元来 vasopressin によるものと考えられてきたが、Fraser¹¹ は水を過剰した大で、Burn の方法¹² を用いて oxytocin の抗利尿効果を認め、これら実験は更に Syntocinon で Berde¹³, Brunner¹⁴ によって確認された。van Dyle¹⁵ は oxytocin と vasopressin の作用をそれぞればれ利尿 3 : 600, 血圧上界 7 : 600, 乳汁分泌 500 : 100, 子宮に対する作用を 500 : 30 と発表しており、Ans-low 等¹⁶, Brooks 等¹⁷ も水を負荷した大で利尿効果はないとい述べている。尿中に排泄した Na, K について Brooks 等¹⁸ は大の実験で Na のみ増加し、K は不变であるという。Fraser¹¹, Kuschnitsky 等¹⁹, Schumann²⁰, Berde 等¹⁶, Croxatto 等²¹, Brunner 等¹⁴ はラットで Na, K, Cl の尿中排泄が明らかに増加するとしている。

以上のことと oxytocin にも抗利尿作用を認めた報告

が比較的多いが、ラットの尿中電解質排泄については殆どが Na, K, Cl 等の排泄増加を認めている。今回の鶏仔における Na の結果はこれらの報告と全く逆ではあるが、さきに述べた解剖9日目に於ける尿中 Na 濃度の低下、心臓筋肉内の容積および低率ではあるが無視しえない全身性浮腫の発現から鶏仔早期における鶏仔の Na および水分代謝に及ぼす影響、いわては抗利尿作用についてこれを否定することができない。また天然の下垂体後葉精製エキスである Atomin および天然 oxytocin に相当する Atomin-O 注射卵の肉眼的評価生頸度が合成 oxytocin である Syntocinon 注射卵に比して

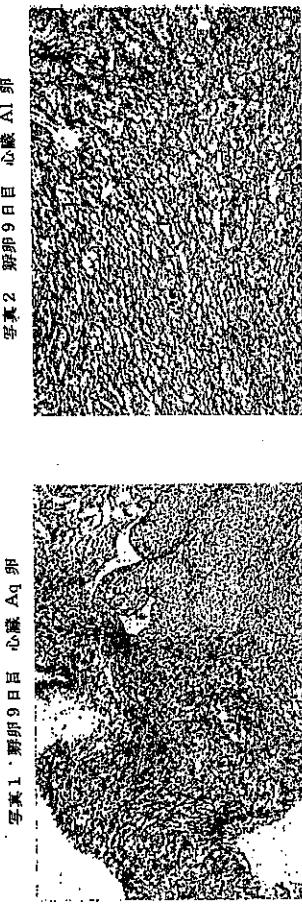
1. 鶏仔の死亡率は Aq 雉と Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵との間に有意の差がない。
2. 鶏仔体重量は Aq 雉と Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵との間に有意の差を示さない。
3. 尿のう水量、半水量とともに Aq 雉と Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵との間に有意の差を示さない。
4. Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵の尿のうち水中 Na 濃度は解剖9日目に Aq 雉と比較して有意の差がない。
5. 鶏仔子心臓のマトキシリン・エオジン染色によつて組織切片で、解剖9日目の Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵との間に有意の差を示さない。
6. Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵の解剖早期において Na 代謝あるいは水分代謝に影響を与えるものと思われる。

本研究の要旨は第34回日本薬理学会総会(1961)で報告した。

1) van Dyke, H. B., Chow, B. F., Greep, R. A. and Rothen, A.: J. Pharmacol. and Expl. Therap., 74, 190, 1942.

2) Livermore, A. H. and du Vigneaud, V.: J. Biol. Chem., 191, 21, 1951.

3) Turner, R. A., Pierce, J. G. and du Vigneaud, V.: J. Biol. Chem., 200, 559, 1953.



O 注射例では計20例中3例(15%) Syntocinon 注射例では計20例中1例(5%) の鶏仔の全身体重を認めめた。解剖全経過からみると Atomin および Atomin-O の浮腫発生率は4%前後の低い値であるが、解剖12, 15日目の時期における前記の発生率は、先述の如きにおいて検討した結果から無視することでの多數の薬物に於けるNaの差があると述べていふ。これとの相違は動物と投与時期の差違および投与量の問題もあり、更に検討すべき点であろう。

次に脳下垂体後葉ホルモンと関係の深い尿のう水変化についてみると解剖12, 15日目の Atomin, Atomin-O 代謝に於ける影響が認められた。更に水分代謝と関係の深い尿のう水変化についてみると解剖9日目の Atomin, Atomin-O, Syntocinon 注射卵に比して

- 4) du Vigneaud, V., Lawler, H. C. and Popeno, H. A.: J. Am. Chem. Soc., 75, 4880, 1953.
- 5) du Vigneaud, V., Resseler, C., Swan, J. M., Robert, C. W., Katsouyanis, P. G. and Gordon, S.: J. Am. Chem. Soc., 75, 4879, 1953.
- 6) 中尾 優: 間下垂体と腎臓, 172, 1957.
- 7) 加藤謙一: 呼吸と循環, 6, 223, 1958.
- 8) van Dyke, H. B., Engel, S. L. and Adams, K. Jr.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 91, 484, 1956.
- 9) Silverte, H.: Am. J. Physiol., 128, 747, 1940.
- 10) Shannon, J. A.: J. Exper. Med., 76, 371, 1942.
- 11) Weston, R. E., Hansen, I. B., Crossman, J., Berdasco, G. and Wolfman, M.: J. Clin. Invest., 32, 611, 1953.
- 12) Chalmers, T. M. and Lewis, A. A. G.: Lancet, 2, 1158, 1951.
- 13) Murphy, R. J. F. and Stead, E. A. J. R.: J. Clin. Invest., 30, 1055, 1951.
- 14) Sartorius, O. W. and Roberts, K.: Endocrinol., 45, 273, 1949.
- 15) 和田善二: 明和医誌, 12, 179, 1952.
- 16) 伊藤義次: 日内科学会誌, 717, 49, 1960.
- 17) Fraser, A. M.: J. Pharmacol. Exp. Therap., 60, 89, 1957.
- 18) Fraser, A. M.: J. Physiol., 101, 236, 1942.
- 19) Burn, J. H.: Quart. J. Pharmacy, 4, 517, 1931.
- 20) Berde, B. and Cerletti, A.: Helv. physiol. Acta, 14, 129, 1956.
- 21) Brunner, H., Kuschinsky, G. and Peters, G.: Arch. exper. Path. Pharmakol., 228, 457, 1956.
- 22) van Dyke, H. B., Adams, K. Jr. and Engel, S. L.: Recent Progr. Hormone Res., N.Y., 11, 1, 1956.
- 23) Arslow, W. P. Jr. and Wesson, L. G. Jr.: Amer. J. Physiol., 182, 561, 1955.
- 24) Brooks, F. P. and Pickford, M.: The Neurohypophysis, 141, 1957.
- 25) Kuschinsky, G. and Bundschuh, H. E.: Arch. exper. Path. Pharmakol., 192, 683, 1939.
- 26) Schaumann, O.: Experiencia, 5, 360, 1949.
- 27) Croxatto, H., Rosas, R. and Barnaföldi, L.: Acta physiol. latinoamer., 6, 147, 1956.
- 28) Brunner, H., Kuschinsky, G., Münchow, O. and Peters, G.: Arch. exper. Path. Pharmacol., 230, 80, 1957.

In the present study, fertilized eggs received the injection of 0.5 U or 1 U per egg of posterior pituitary hormones (Atoxin: A, Atoxin-O: A-O and Syntocinon: S).

Toxic effects of A, A-O and S were not so significant.

In the 9th day of incubation, the sodium concentration of the allantoic fluid of the egg injected with A, A-O and S were lower than the control. In the 12th to 18th day of incubation, such an influence was not observed.

In the histological investigation, the edema was observed in the heart of embryo which received A, A-O and S injections and also a few case of hydrops were observed in the early stage of incubation.

It is considered that A, A-O and S had influence on sodium metabolism or water metabolism of chick embryo.

