

摘出灌流ヒト臍帯動脈の薬理学的検討

吉川文彦

信州大学医学部産科婦人科学教室

(主任: 福田 透教授)

Pharmacological Analysis of Isolated and Perfused Human Umbilical Arteries

Fumihiko YOSHIKAWA

Department of Obstetrics and Gynecology,

Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Toru FUKUTA)

Using the cannula inserting method, the effects of vasoactive agents on isolated and perfused human umbilical arteries were studied.

Acetylcholine (ACh) produced vasoconstriction of the arteries in a dose-dependent manner, but not vasodilation. The ACh-induced vasoconstrictions were markedly depressed by atropine and slightly but significantly depressed by methysergide, but were unaffected by ketanserin. It was suggested that the ACh-induced vasoconstriction might be mediated by muscarinic receptors and partially by 5-hydroxytryptamine (5HT)₁ receptors. The vasoconstrictive response to ACh was not influenced by removal of the endothelium.

5HT caused a dose-dependent vasoconstriction, but not vasodilation. It was suggested that the 5HT-induced vasoconstrictions were mediated by 5HT₁ receptors because they were suppressed by methysergide, but not by ketanserin. Histamine and 2-pyridylethylamine (2PEA) also elicited only vasoconstrictions, which were depressed by chlorpheniramine. However, in 7 of 28 preparations precontracted by 10⁻⁵ mol/l prostaglandin F₂α, dimaprit produced vasodilations, which were suppressed by cimetidine or by the removal of the endothelium. These results indicate that histamine-induced vasoconstrictions are mediated by H₁ receptors and that H₂ receptors are present, though sparse, on endothelium.

Norepinephrine and epinephrine, potent vasoconstrictor agents, did not cause a significant constriction in the umbilical arteries, even though high doses were used. This may suggest that there are few adrenergic α-receptors in human umbilical arteries.

These observations indicate that human umbilical arteries exhibit different pharmacological responses from the vessels of other organs. *Shinshu Med. J.*, 39: 63-79, 1991

(Received for publication September 20, 1990)

Key words: human umbilical artery, cannula inserting method, endothelium

ヒト臍帯動脈, カニューレ挿入法, 血管内皮

I 緒 言

ヒト臍帯血管には新生児側の一部を除いては神経支配がなく^{1)~3)}、その循環調節には局所的に働く血管作動性物質やホルモンが主要な役割を演じていると考えられるが、そのメカニズムについては不明な点が多い。妊娠中、胎児と母体をつなぐ臍帯血管は他の部位の血管系と異なり胚外中胚葉起源であり、他の血管系と異なった薬物反応性が介在し、胎児胎盤循環調節機構を調節している可能性も考えられる。

1983年、HongoとChiba⁴⁾により新しい摘出血管灌流実験方法が考案され、TsujiとChiba⁵⁾によりカニューレ挿入法として改良された。この実験方法によって摘出血管標本は適切な灌流圧が得られ、37°Cの恒温下に長時間の安定した定流量灌流実験が可能となった。さらにこの実験方法により同一の摘出灌流血管標本を用いて同一実験条件下で、内膜剥奪前後の薬剤に対する血管の反応性の相違をみることも可能となった。いままでも、この実験方法を用いてイヌ、ラットなどの様々な部位の摘出灌流血管の薬物に対する反応性が検討され、幾多の知見が明らかにされている^{6)~8)}。しかし、ヒト臍帯動脈に対する検討はいままでなされていない。

本研究では、このカニューレ挿入実験法を用いて血管作動性薬物に対する摘出灌流ヒト臍帯動脈の反応性について検討した。

II 材料と方法

実験に用いた臍帯動脈は、正常正産婦73人(分娩週数 40 ± 1 週、年齢 29.5 ± 0.7 歳、経産数 1.0 ± 0.2 回、新生児体重 $3,249 \pm 61$ g)の経陰分娩直後の臍帯より得た。合併症(妊娠中毒症、子宮内発育遅延、胎児仮死、糖尿病など)のある症例、ならびに陣痛誘発剤、陣痛増強剤を用いた症例は除いた。分娩直後すみやかに新生児と胎盤の中間部分約10cmを切断して、氷冷した4°CのKrebs-Henseleit液中で膠様組織を取り除き臍帯動脈を摘出し、長さ1.5cm、外径1.5~2.0mmの円筒状標本を実験に供した。盲端より2mmに側孔を有する直径1.1~1.3mmのsteel製のカニューレを血管の内膜に傷つけることなく挿入し、TsujiとChiba⁵⁾の方法にしたがってFig. 1のように灌流実験を行った。

灌流液はKrebs-Henseleit液(組成: NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0, MgSO₄ 1.2, glucose 10.0 (mmol/l))を用い、前収縮を加えた実験を行う場合にはPGF_{2 α} を 10^{-6} mol/lの濃度になるようにKrebs-Henseleit液に加えて灌流した。95% O₂と5% CO₂の混合ガスを通気し、かつ常に循環式温熱ポンプ(Model FE2; Haake, Karlsruhe, FRG)で温度を37°Cに保ちながら、拍動ポンプ(Harvard Apparatus Model 505-1210)にて定流量灌流を行った。血管の収縮反応あるいは拡張反応を灌

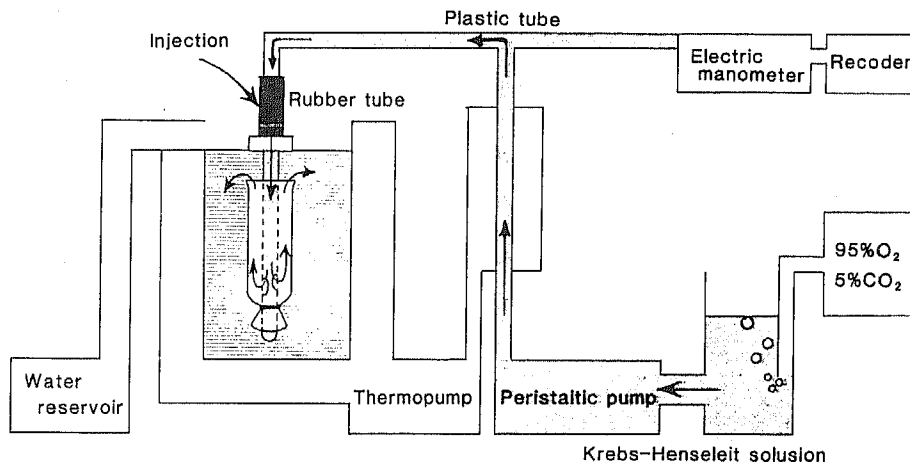


Fig. 1 Diagram of the perfusion circuit of an isolated arterial preparation inserted with a stainless steel cannula connected to the rubber tube. The cannula has 3 small holes 2 mm from the distal seal's end. Arrows indicate the stream of the perfusing fluid flow.

流圧の増減として圧トランスデューサー (RP-2, 日本光電, 東京) で計測し, レコーダー (WT-685 G, 日本光電) に記録した。なお, 基本灌流圧が40~80 mmHg となるよう流量を調節し, 0.8~1.4ml/min で定流量灌流を行った。全ての実験は約1時間の前灌流を行い灌流圧が一定に達してから実施した。

用いた薬剤は以下の通りである。Acetylcholine chloride (ACh: 第一, 東京), 5-hydroxytryptamine

creatinine sulfate (5HT: Sigma, St. Louis, USA), histamine dihydrochloride (和光, 大阪), dl-epinephrine hydrochloride (Epi: 三共, 東京), dl-norepinephrine hydrochloride (NE: 三共), 2-pyridylethylamine dihydrochloride (2PEA: Smith, Kline & French Laboratories, Philadelphia, USA), dimaprit dihydrochloride (Smith, Kline & French Laboratories), prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$: 小野, 大

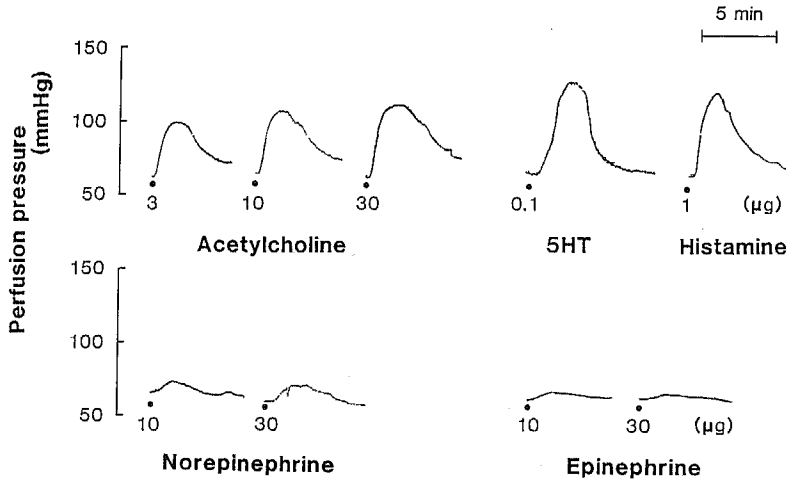


Fig. 2 Typical tracings of the responses of the isolated and perfused human umbilical arteries to acetylcholine, 5-hydroxytryptamine (5HT), histamine, norepinephrine and epinephrine.

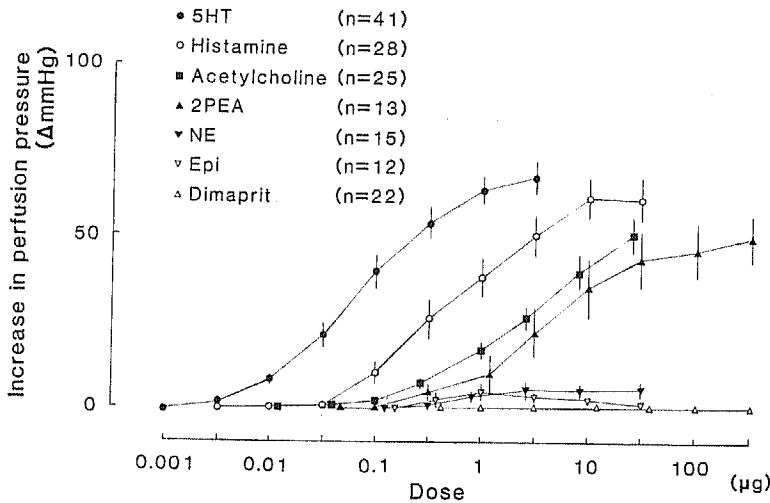


Fig. 3 Log dose-response curves for 7 vasoactive agents in the isolated and perfused human umbilical arteries. Points represent mean values, and vertical bars represent SEM. 5HT, 5-hydroxytryptamine; 2PEA, 2-pyridylethylamine; NE, norepinephrine; Epi, epinephrine.

阪), atropine sulfate (武田, 大阪), methysergide maleate (田辺, 東京), ketanserin (Janssen Pharmaceutical Co., Belgium), dl-chlorpheniramine maleate (塩野義, 大阪), cimetidine (藤沢, 東京), saponin (Merck, Rahway, USA)。Ketanserin はまず 0.1M の酒石酸水溶液に溶解させ、実験前に生理食塩水で希釈して用いた。薬剤は、カニューレに接続されたゴム管よりマイクロインジェクター (テルモ, 東京) を用いて 10~30 μ l を約 4 秒間で注入した。

また, saponin 投与前後での内皮細胞の有無の光顕的検索は, 標本を磷酸緩衝 10%ホルマリンで固定後, パラフィン包埋し光顕標本を作成, ヒト血管内皮細胞

を特異的に染色する *Ulex europaeus agglutinin-I* (UEA-I : E. Y. Laboratories, San Mateo, USA)⁹⁾ で染色して行った。

結果はそれぞれの平均値と標準誤差で示し, 統計学的分析は, 二元配置分散分析と Student's t-test を用いて行い, $p < 0.05$ を有意とした。

III 結 果

A 血管作動性物質 ACh, 5HT, histamine, 2PEA, dimaprit, NE および Epi に対する反応

薬剤を反復投与した際, 基本灌流圧に復した後に再投与した場合には, ACh, 5HT, histamine および NE

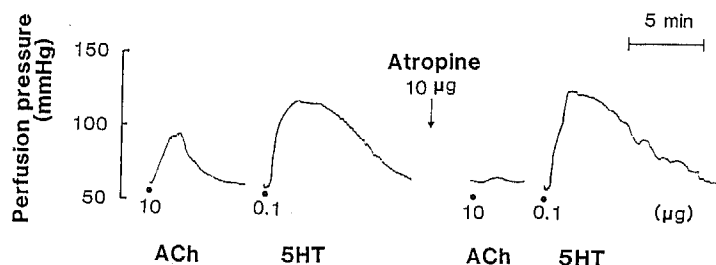


Fig. 4 Typical tracings of the effects of 10 μ g atropine on vasoconstrictions induced by acetylcholine (ACh) and 5-hydroxytryptamine (5HT) in isolated and perfused human umbilical arteries.

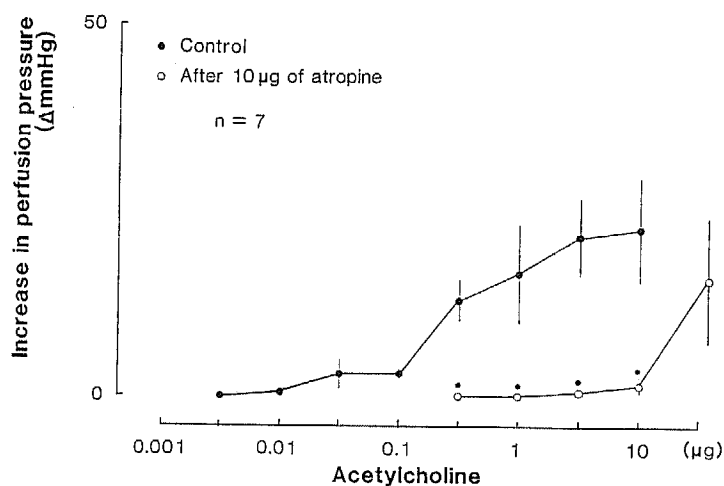


Fig. 5 The effects of 10 μ g atropine on the dose-response curve for acetylcholine in isolated and perfused human umbilical arteries. *, Significantly different from control values at $p < 0.05$.

において tachyphylaxis は認められなかった。

ACh を前収縮をおこさせていない摘出灌流ヒト臍帯動脈標本に投与すると血管拡張反応はまったく認められず、用量反応性の収縮反応のみが認められた (Fig. 2)。5HT, histamine も ACh と同様に拡張反応は認められず、用量反応性の強力な収縮反応のみ認め

られた (Fig. 2, 3)。NE と Epi は投与量を $30\mu\text{g}$ まで増量してもわずかの収縮反応しか認められず、ほとんどの場合その灌流圧の変化は 5mmHg 以下であった。2PEA では histamine と同様に収縮反応のみを認めた。しかし、dimaprit では収縮反応も拡張反応もどちらも認められなかった。本実験に使用した血管作動性薬

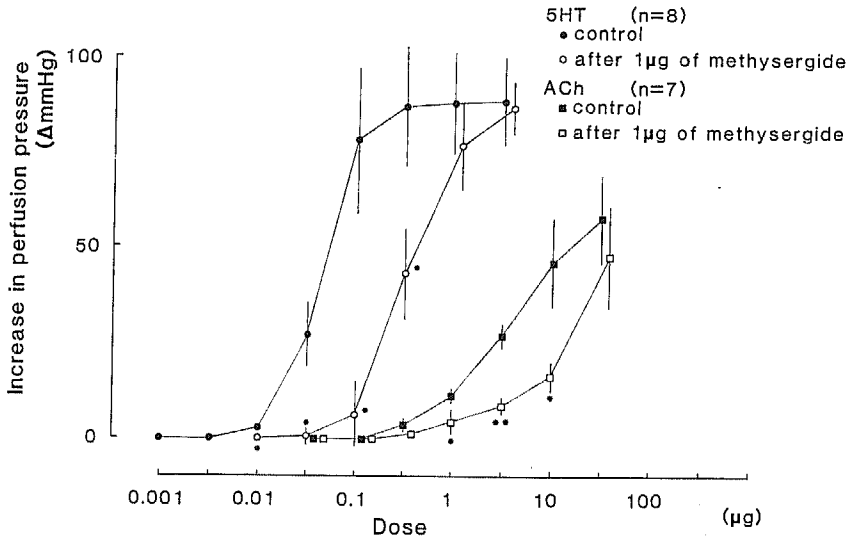


Fig. 6 The effects of $1\mu\text{g}$ methysergide on the dose-response curves for 5-hydroxytryptamine (5HT) and acetylcholine (ACh) in the isolated and perfused human umbilical arteries. *, Significantly different from control values at $p < 0.05$. **, $p < 0.01$.

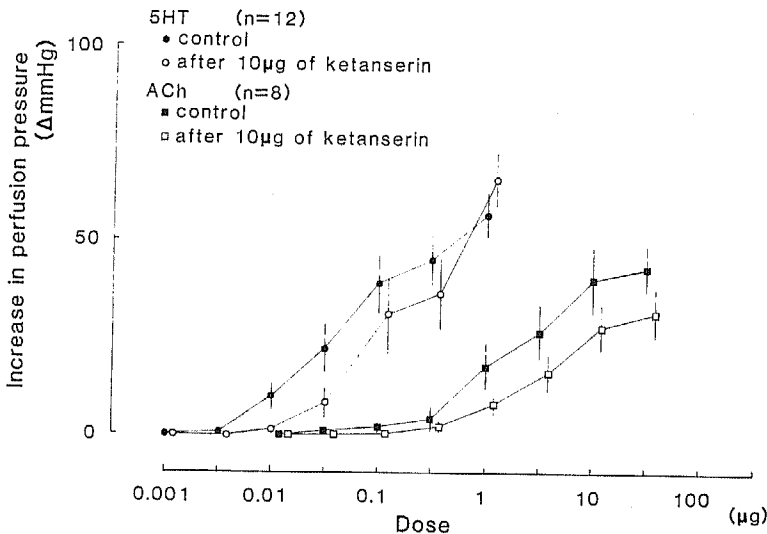


Fig. 7 The effects of $10\mu\text{g}$ ketanserin on the dose-response curves for 5-hydroxytryptamine (5HT) and acetylcholine (ACh) in the isolated and perfused human umbilical arteries.

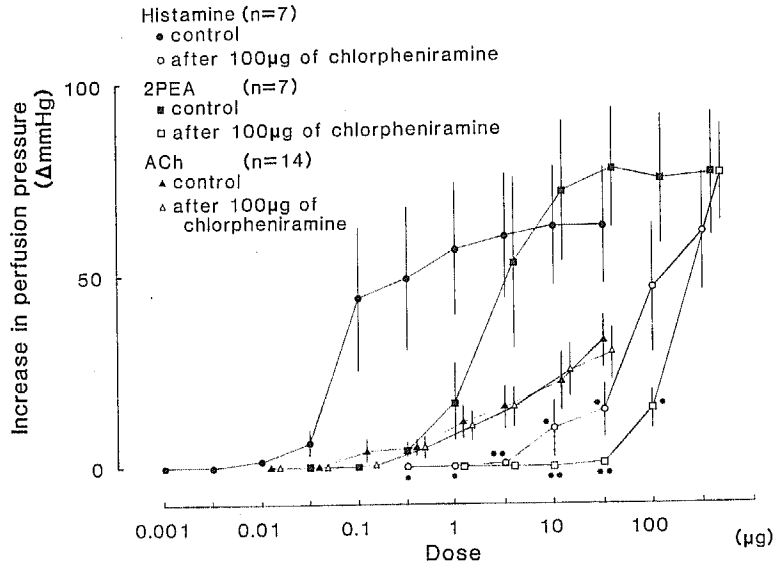


Fig. 8 The effects of 100 μg chlorpheniramine on the dose-response curves for histamine, 2-pyridylethylamine (2PEA) and acetylcholine (ACh) in the isolated and perfused human umbilical arteries. *, Significantly different from control values at $p < 0.05$. **, $p < 0.01$.

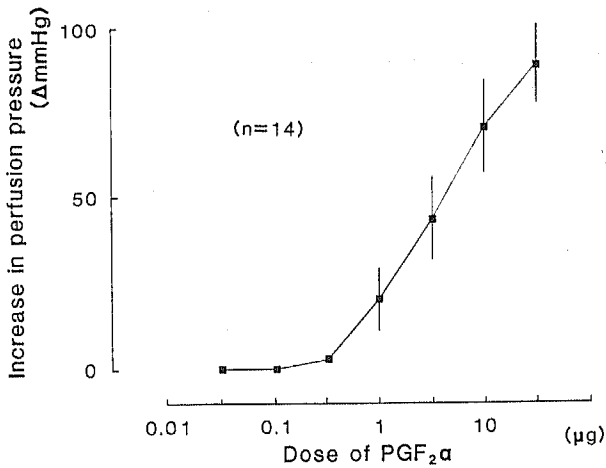


Fig. 9 The log dose-response curve for $\text{PGF}_2\alpha$ in the isolated and perfused human umbilical arteries. Points represent mean values, and vertical bars represent SEM.

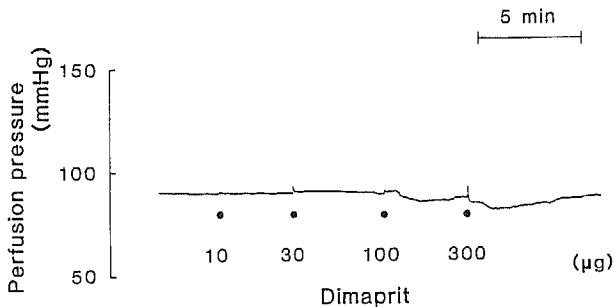


Fig. 10 Typical tracings of responses of isolated and perfused human umbilical arteries to dimaprit in precontracted state.

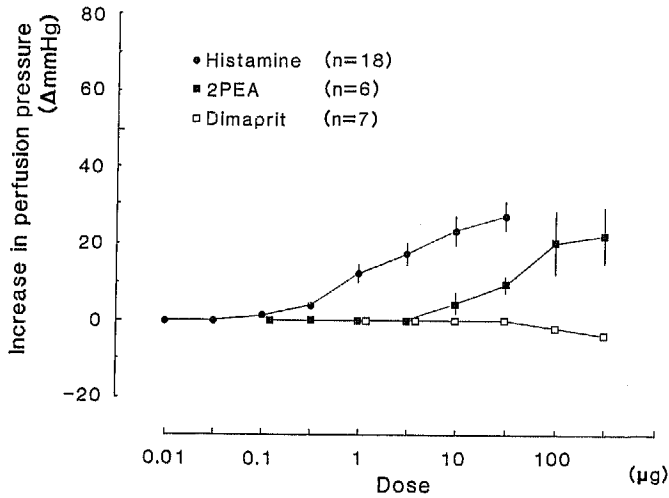


Fig. 11 Log dose-response curves for histamine, 2-pyridylethylamine (2PEA) and dimaprit in the isolated and perfused human umbilical arteries in precontracted state. Points represent mean values, and vertical bars represent SEM.

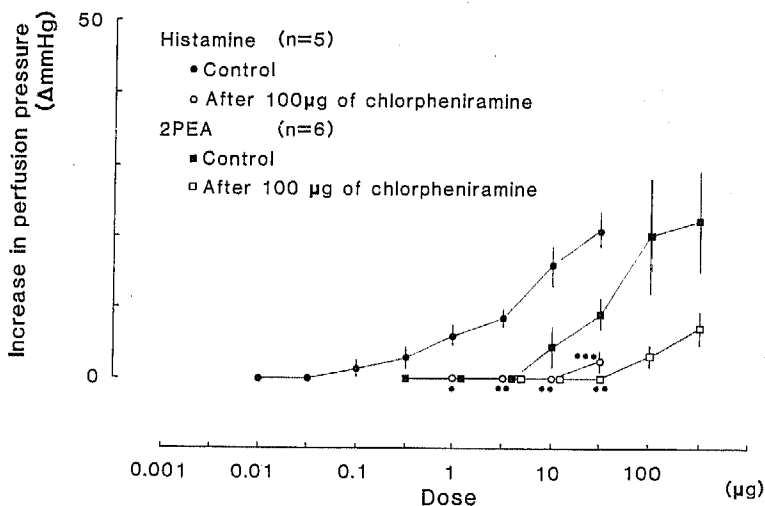


Fig. 12 The effects of 100 μg chlorpheniramine on the dose-response curves for histamine and 2-pyridylethylamine (2PEA) in the isolated and perfused human umbilical arteries in precontracted state. *, Significantly different from control values at $p < 0.05$. **, $p < 0.01$. ***, $p < 0.001$

剤の典型的な反応を Fig. 2 に、7 剤の用量反応曲線を Fig.3 に示す。ED₅₀で比較した反応の強さは 5HT > histamine > ACh > 2PEA > > NE = Epi > dimaprit の順であった。

B Atropine 前処置による ACh と 5HT に対する血管収縮反応の変化

10μg の atropine を前投与すると ACh の収縮反応は Fig.4 に示すように有意に抑制された。そして ACh の血管収縮反応の用量反応曲線は右方移動した (Fig. 5) が、5HT の収縮反応は抑制されなかった。

C Methysergide と ketanserin 前処置による 5HT および ACh の血管収縮反応の変化

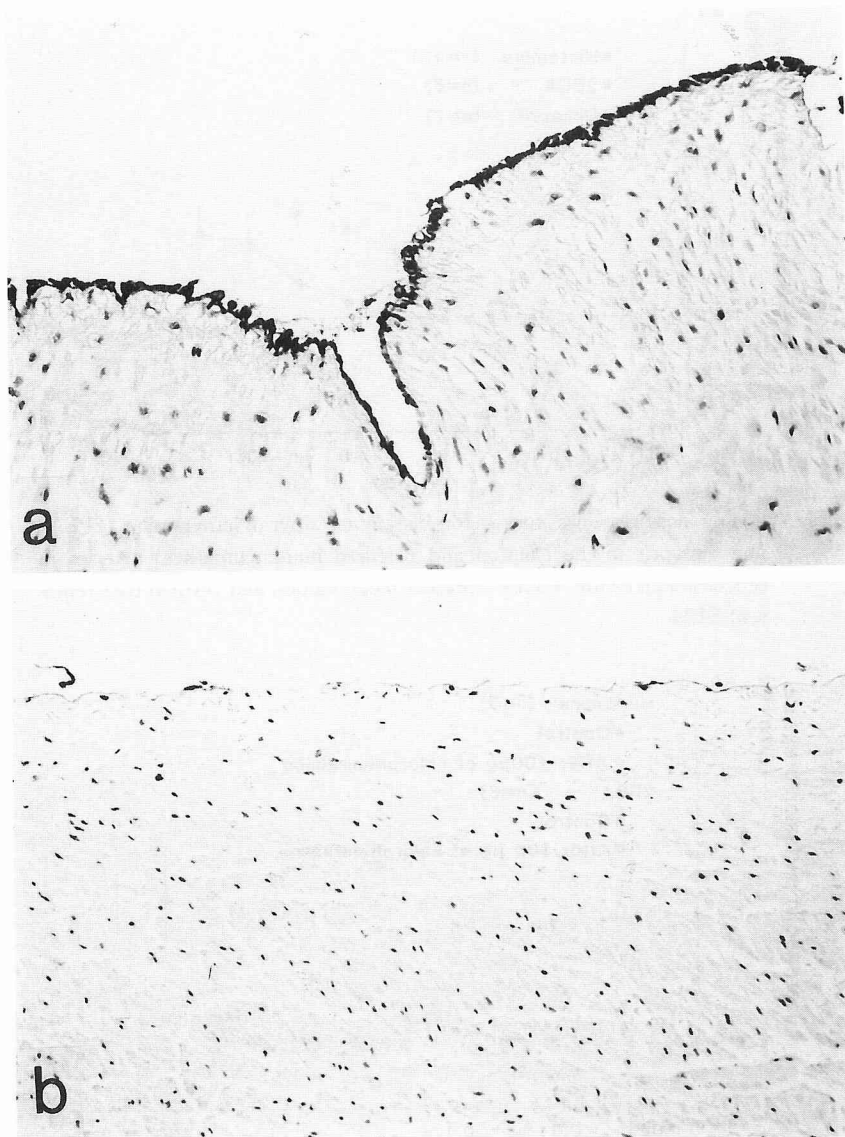


Fig. 13 Control (a) and 1 mg saponin-treated preparations (b) of the human umbilical artery. UEA-I stain, $\times 100$

$1\mu\text{g}$ の methysergide 前投与により 5HT の収縮反応は有意に抑制された。また ACh の収縮反応もわずかであるが、しかし有意に抑制された。その用量反応曲線を Fig.6 に示す。5HT の反応曲線は右方向へ平行に移動している。

一方 $10\mu\text{g}$ の ketanserin を前投与した場合には 5HT と ACh の収縮反応は Fig.7 に示すように、やや抑えられる傾向はあるが、統計学的に有意な変化は認められなかった。

D Chlorpheniramine 前処置による histamine, 2PEA および ACh に対する血管収縮反応の変化

$100\mu\text{g}$ の chlorpheniramine を前投与した後の histamine と 2PEA の血管収縮反応は有意に抑制された (Fig.8)。しかし ACh の収縮反応には chlorpheniramine 投与の前後における有意な差異が認められなかった。

E 前収縮を加えた状態での ACh, 5HT, histamine, 2PEA および dimaprit に対する反応

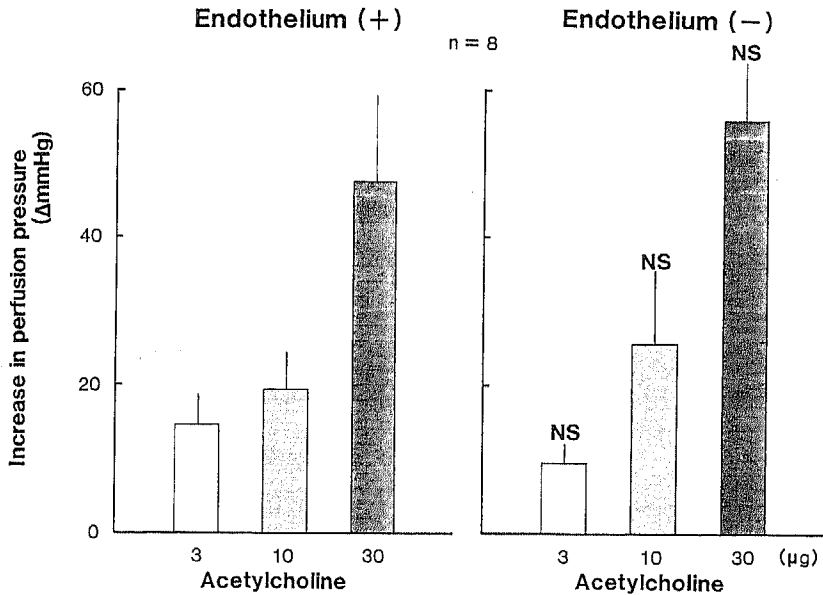


Fig. 14 Vascular responses to acetylcholine of the isolated and perfused human umbilical arteries before and after treatment with 1 mg saponin.

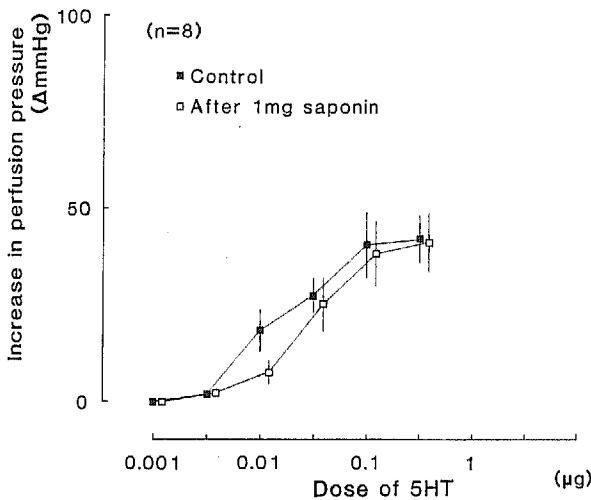


Fig. 15 The effects on the dose-response curve for 5-hydroxytryptamine (5HT) in the isolated and perfused human umbilical arteries before and after treatment with 1 mg saponin.

Fig.9に示すようにPGF_{2α}は、用量反応性の強力なヒト臍帯動脈収縮効果を示した。そこで、灌流液にPGF_{2α}を10⁻⁵mol/lとなるように溶解した溶液で灌流し、前収縮を加えた状態を準備した。灌流液をPGF_{2α}を加えた溶液に替えると、まず灌流圧は上昇しその後漸減して約1時間後に定常状態になった。このため前収縮を加えた状態での実験は灌流圧が安定して定常状態となった後に行った。灌流圧のPGF_{2α}投与前後での変化は33.7±3.4mmHgであった。

AChに対する血管反応は、前収縮を加えた状態でも拡張は認められず収縮反応のみが認められた。また、5HTも前収縮状態では拡張反応は認められなかった。Histamine, 2PEAもともに収縮反応のみを示し拡張反応は示さなかった。しかし、dimapritは28標本のうち21標本においては収縮反応も拡張反応も認められなかったが、7標本にのみ弱い拡張反応を認めた(Fig.10)。Fig.11にその7標本に限ったdimapritの用量反応曲線とhistamineおよび2PEAの用量反応曲

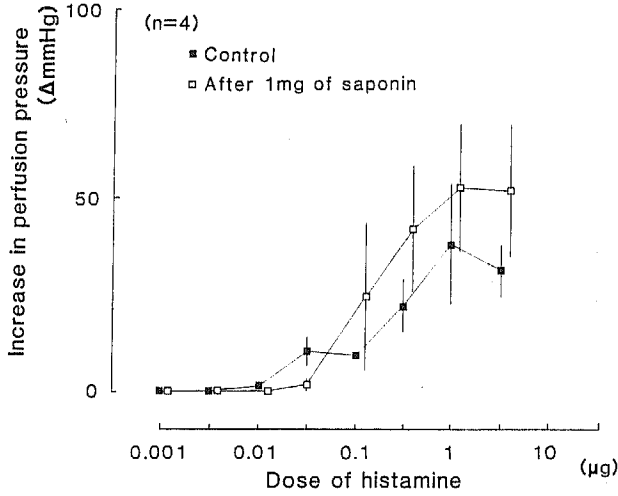


Fig. 16 The effects on the dose-response curve for histamine in the isolated and perfused human umbilical arteries before and after treatment with 1 mg saponin.

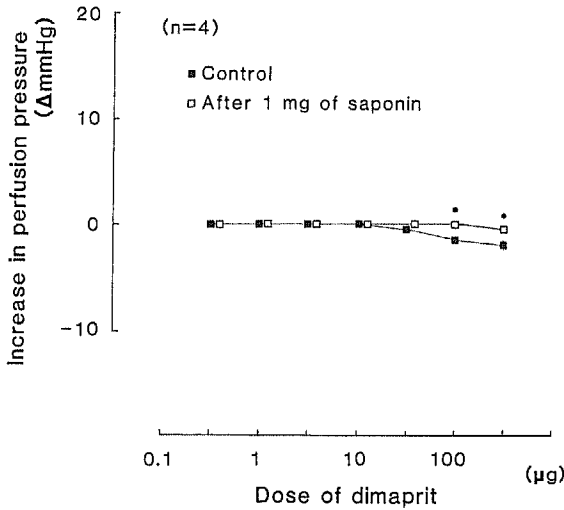


Fig. 17 The effects on the dose-response curve for dimaprit in the isolated and perfused human umbilical arteries in precontracted state before and after treatment with 1 mg saponin. *, Significantly different from control values at $p < 0.01$.

線を示す。

F 前収縮状態で chlorpheniramine 前処置による histamine, 2PEA の血管収縮反応の変化, および cimetidine 前処置による histamine, dimaprit の血管反応の変化

前収縮状態での histamine および 2PEA の血管収縮反応は 100μg の chlorpheniramine の投与によって抑制された (Fig.12)。また 100μg の chlorpheniramine 投与下でも histamine の拡張反応はまったく認められなかった。

一方, 前収縮状態で 100μg の cimetidine を投与した後の histamine の収縮反応にも有意な変化は認めら

れなかった。しかし dimaprit により拡張反応を認めた標本 3 例において 100μg の cimetidine を投与した後, dimaprit の拡張反応は消失した。

G ACh, 5HT および histamine に対する血管収縮反応に及ぼす saponin 処理の影響

このカニューレ挿入法において, 1~3mg の saponin を血管内腔に bolus に投与すると血管内皮を除去しうることがすでに報告されており⁶⁾, 本実験では 1mg の saponin を投与した。UEA-I 染色を行った saponin 投与前後の光顕標本を Fig. 13a, 13b に示す。これより, 1mg の saponin 投与後内皮細胞が完全に剝離していることが確認された。Saponin を投与した

後には saponin 自身の平滑筋収縮作用によると考えられる10~15分に及ぶ長い収縮反応が認められたため、投与後の実験は安定した灌流圧が得られたのちに行った。Fig.14 に示すように ACh の収縮反応は saponin 投与前後で有意な変化は認められなかった。

一方、血管内皮除去後、Fig.15 に示すように 5HT の収縮反応も変化を受けなかった。また、histamine の収縮反応については増強傾向が認められたが、有意な差異は存在しなかった (Fig.16)。

H 前収縮状態での histamine および dimaprit の反応に及ぼす saponin 処理の影響

前収縮状態で saponin 処理により血管内皮を除去して histamine の反応を比較検討したが差異は認められなかった。

一方、前収縮状態で dimaprit により血管拡張反応が認められた4標本では、血管内皮除去後、dimaprit の拡張反応は有意に抑制された (Fig.17)。また、dimaprit によって反応が認められなかった標本5例に対しても同様の処理を行い調べたが、処理後でもその反応はまったく認められなかった。

IV 考 察

本実験ではカニューレ挿入法⁴⁾⁹⁾を用いて摘出灌流ヒト臍帯動脈の血管作動性薬物に対する反応について比較検討した。すでに報告¹⁰⁾¹¹⁾されているように、5HT と histamine はヒト臍帯動脈に対して用量反応性の収縮反応を惹起することが本実験でも確認された。一方 ACh が用量反応性の収縮反応のみを引き起こすことが本実験で明らかになった。また本標本は、NE, Epi に対してはほとんど収縮反応を示さなかった。

カニューレ挿入法⁴⁾⁹⁾は従来の方法と比較して、血管平滑筋のあらゆる方向の収縮反応を灌流圧の変化としてきわめて鋭敏に測定できる点、前収縮状態を予め作らずとも拡張反応を観察することも可能⁹⁾¹²⁾であり、さらに薬物を内臓側のみからも作用させることができ、血管の外側からの薬物の影響を除きうる点でより生理的な血管反応を観察することができる方法である。また、実験条件を変えずに同一標本で内皮細胞の有無による血管反応の変化をみることも可能⁹⁾⁹⁾な優れた方法といえる。

本実験では、胎盤と新生児の中間部分より臍帯動脈を摘出し実験に供した。その理由は、臍帯血管には神経支配が存在しない¹³⁾と以前はされていたが、近年新生児側に限って一部交感神経の存在が確認されてい

る³⁾ことや、またヒト臍帯の胎盤側と新生児側では血管作動性物質に対する反応性の異なる可能性のあること¹³⁾¹⁴⁾が報告されているからである。また、妊娠中毒症、子宮内胎児発育遅延の症例においては臍帯血管の反応性が異なる報告¹⁵⁾¹⁶⁾があるので正常妊娠例のみを実験対象とした。

A ACh

ヒト臍帯動脈の摘出条片を用いた Altura ら¹⁷⁾の報告で、ACh は収縮反応はおこすが標本によってはまったく反応をおこさないものも存在すると言われている。また摘出ヒト臍帯動脈に対して定圧灌流で実験を行った Gokhale ら¹⁸⁾は、標本によって収縮反応をおこすものと拡張反応をおこすものがあり、26例の標本のうち20例は収縮反応あるいは拡張反応を示したが、残る6例はまったく反応を示さなかったと報告している。しかし本実験では全ての標本で ACh は収縮反応のみを示し、拡張反応や反応を示さなかったものは存在しなかった。この差異は、Altura らは摘出条片での実験、Gokhale らは定圧灌流での実験であるのに対して、本実験では摘出血管で定流量灌流で行っているという実験方法の相違に基づくものかも知れない。

ところで、ACh により引き起こされる血管の反応は通常は拡張反応であり、今回のヒト臍帯動脈の反応とは趣を異にしている。本実験方法では前述したように前収縮を加えずとも拡張反応をみるのが可能であり、事実、前収縮を加えなくとも拡張反応を認めている報告⁹⁾¹²⁾はあるが、前収縮を加えていないことが通常反応との相違をもたらしている可能性も否定できない。また、拡張反応が認められないのは、摘出灌流血管標本が完全に弛緩している状態にあり、これ以上の拡張反応がおき得ない可能性も考えられる。そのため、強力な平滑筋弛緩剤である opium alkaloid の一種 papaverine に対する反応を検討したところ、本標本では長く持続する拡張反応を認めた。さらに、PGF_{2α} で前収縮を加えた状態で ACh の反応についても検討したが、やはり拡張反応は認められなかった。以上の事実より、ヒト臍帯動脈は他の血管系と異なる薬物反応性を示す可能性が考えられる。

ACh の収縮反応は atropine により強力に抑制され、その用量反応曲線は右方向へ平行に移動した。これは atropine が ACh の競合性阻害薬剤であることを示しており、ACh のヒト臍帯動脈における血管収縮反応は muscarine 受容体を介する反応であると考えられる。さらに本実験では 5HT の非特異的阻害剤として

知られている¹⁹⁾ methysergide によっても ACh の収縮反応はわずかではあるが、有意に抑制された。しかし 5HT₂ 受容体拮抗薬である ketanserin 前投与では ACh の収縮反応には明らかな変化は認められなかった。これらのことより、ACh の収縮反応は一部 5HT₁ 受容体を介している可能性も示唆される。一方、chlorpheniramine により ACh の収縮反応が抑制されなかったことより、ACh の収縮反応に H₁ 受容体の関与している可能性は否定的である。

De Voorde ら²⁰⁾ は ACh では産生されないが、histamine によってヒト臍帯動脈からある種の物質が産生放出され、この物質が内皮細胞を剝離し前収縮させたウサギの大動脈標本を弛緩させると報告している。すなわち、ヒト臍帯血管から histamine により endothelium-derived relaxing factor (EDRF) が遊離されるが、ACh によっては遊離されないと報告している。本実験でも、ヒト臍帯動脈においては、ACh は血管内皮の存在いかんに関わらず拡張反応をおこさず常に収縮反応のみを惹起し、saponin による内皮細胞剝離は ACh の血管収縮反応になんらの影響も与えなかった。しかし、一般的に血管内皮細胞は循環調節機構を司る重要な因子の 1 つであり、ACh は内皮依存性の拡張反応を示すこと²¹⁾⁻²³⁾ がよく知られている。ヒト臍帯動脈における血管反応の他臓器血管系との違いは、1 つにはその発生学的起源の相違に基づいている可能性²⁴⁾ も考えられる。また、White²⁵⁾ は多くの血管で認められている生理的拡張反応の欠如は、児が出生した直後に臍帯動脈が収縮し、臍帯循環を閉塞させ、新しい新生児の循環形態が確立されるのに関係しているのではないかと述べている。

B 5HT

5HT を作用させるとほとんどの大血管および静脈標本では収縮反応が認められるが、細動脈および毛細血管などでは拡張反応が認められることが報告²⁶⁾²⁷⁾ されている。しかしヒト臍帯動脈に関しては実験方法の差異に関わらず一部を除いたすべての報告¹¹⁾¹⁷⁾²⁸⁾ で 5HT は強力な収縮反応のみを引き起こすことが証明されており、今回の実験でも 5HT は諸家の報告に一致して用量反応性の強力な収縮反応のみを示した。

本実験において、5HT の収縮反応は methysergide により有意に抑制され、用量反応曲線は右に平行移動したが、ketanserin によっては抑制されなかった。このことからヒト臍帯動脈に分布する 5HT 受容体は 5HT₁ である可能性が示唆された。Peroutka と

Snyder²⁹⁾ がラット脳膜標本における放射性リガンドの結合実験に基づき 5HT 受容体が 2 つの subtype に分類されることを報告して以来、種々の血管で 5HT 受容体の研究³⁰⁾⁻³³⁾ が行われており、ヒト臍帯動脈においても 5HT 受容体の subtype についての研究³⁴⁾³⁵⁾ がなされている。1985年、Tuncer ら³⁴⁾ は螺旋条片標本で 5HT の収縮反応が 5HT₂ 受容体拮抗薬である ketanserin と mianserin によっても抑制されることを報告し、ヒト臍帯動脈には 5HT₂ 受容体が存在するとしている。一方で 1986年、MacLennan と McGrath³⁵⁾ は、95% 濃度の O₂ 存在下では 5HT に対するヒト臍帯血管の収縮反応は ketanserin 抵抗性であるが、20% O₂ 濃度になると ketanserin により抑制されると報告している。本実験でも 95% O₂ 下で検討を行ったが、MacLennan らと矛盾しない結果が得られた。しかし、やはり 95% O₂ 下で検討している Tuncer らの結果とは異なり、この差異が実験方法の違いによるものなのかはさらに検討が必要と思われる。

イヌ冠動脈、腎動脈ならびに大腿動脈などでは、5HT が血管内皮に存在する 5HT₁ 受容体を介して拡張反応を示すことが報告³⁶⁾⁻³⁸⁾ されているが、本実験では拡張反応は認められず、さらに saponin により内皮細胞を除去した後の 5HT の収縮反応はまったく変化を受けなかった。以上より、ヒト臍帯動脈内皮には 5HT 受容体は存在しないことが示唆された。

妊娠中毒症は、高血圧・蛋白尿・浮腫を 3 主徴とする疾患であり母体への影響のみならず、その結果として胎児の子宮内発育遅延をおこすことも問題となっている。妊娠中毒症妊婦の母体血中、胎盤および臍帯血中で 5HT 濃度は著明に高くなり³⁹⁾⁻⁴¹⁾、中毒症重症度と 5HT 濃度との間には密接な関係⁴²⁾⁴³⁾ があることが報告されている。また、5HT の妊娠ラット腹腔内投与により glomeruloendotheliosis を惹起させ、妊娠中毒症類似病態を発症させるとの報告⁴⁴⁾ もあり、妊娠中毒症における 5HT の役割が注目を浴びている。また一方で、胎児子宮内発育遅延の合併症を有する重症妊娠中毒症妊婦では、ヒト臍帯動脈の Doppler velocimetry において、systolic/diastolic (S/D) ratio の増大¹⁶⁾⁴⁵⁾、すなわち臍帯動脈の慢性的な収縮状態を反映していると考えられる拡張期血流量の減少が認められるという報告もある。したがって、本検討の結果より、妊娠中毒症においては、5HT の強力な臍帯動脈収縮作用が、胎児の子宮内発育遅延をおこす 1 つの要因として働いている可能性が示唆される。

C Histamine

本実験では、histamine はヒト臍帯動脈に対しては諸家の報告^{17)46)~48)}に一致して 5HT ほどではないが強力な用量反応性の収縮反応のみを惹起させ、拡張反応は引き起こさないと成績をえた。H₁ 受容体作用薬である 2PEA によっても、ヒト臍帯動脈は用量反応性の収縮反応のみを示し拡張反応は示さなかった。この収縮反応は H₁ 受容体拮抗薬の chlorpheniramine 投与により抑制され、histamine、2PEA の用量反応曲線はともに右に平行移動した。また通常状態では H₂ 受容体作用薬である dimaprit では収縮反応も拡張反応もまったく反応はおこらなかった。しかし、PGF₂α により前収縮を加えた状態では、histamine および 2PEA に対する反応には大きな変化がなく拡張反応も認められなかったが、dimaprit では 28 標本のうちの 7 標本だけではあるが大量の投与により若干の拡張反応が認められた。この dimaprit による血管拡張反応は H₂ 受容体拮抗薬である cimetidine によって完全に抑制された。以上の実験結果よりヒト臍帯動脈には、H₁ 受容体の存在ときわめて粗な分布ではあるが H₂ 受容体の存在が示唆された。これらの結果は Gokhale ら¹⁸⁾の報告と一致している。

Saponin による血管内皮細胞除去により、前収縮の有無に関わらず histamine による収縮反応には有意な変化が認められなかったが、前収縮を加えた状態での dimaprit による拡張反応は有意に抑制された。このことからヒト臍帯動脈内皮細胞には H₂ 受容体の存在が示唆された。前述のように、De Voorde ら²⁰⁾は、histamine が H₁ 受容体を介してヒト臍帯動脈内皮細胞から EDRF を遊離させ、内皮細胞を剝離し前収縮させたウサギの大動脈標本を弛緩させることを報告している。今回の実験では histamine 投与により拡張反応が認められず EDRF の遊離は確認できなかったが、この差異が感度の高い bioassay を用いているか否かなどの実験方法の違いに基づくものなのかは明らかではない。Histamine によって培養ヒト臍帯動脈内皮細胞より prostaglandins (PGs)^{49)~51)}、Guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate⁵²⁾ や platelet-activating factor⁵³⁾ が産生されることや、細胞内の Ca²⁺ イオンや inositol phosphate 濃度を増加させる⁵⁴⁾⁵⁵⁾ などの報告もあり、histamine による血管内皮細胞刺激により種々の因子が産生され、収縮反応と拡張反応が複雑に絡み合っていることが予想される。このため、histamine に対するヒト臍帯動脈の反応を明らかにする

ためにはさらに検討が必要と考えられる。

Histamine の臍帯循環における意義については今までもいろいろな報告があるが、いまだ不明な点が多い。胎児により histamine が産生された代謝される⁵⁶⁾⁵⁷⁾ という報告、妊娠中の母体尿中の histamine 濃度の増加、また妊娠中毒症において histamine の血中濃度が高い⁵⁸⁾⁵⁹⁾ という報告もある。しかし本実験で用いた histamine の濃度は生理的濃度⁶⁰⁾⁶¹⁾ をはるかにこえるものであり、胎児胎盤循環においては histamine の直接的な作用がどれだけ重要な地位を占めるのかはさらに検討の必要があると思われる。

D NE と Epi

一般的に強力な血管収縮性薬物として知られている 5HT や histamine はヒト臍帯動脈に対しても同様に強力な血管収縮作用を示したが、ヒトの各種血管や他の種々の動物の血管に対して強い収縮反応を示す NE や Epi はこの標本ではほとんど収縮作用を示さなかった。これらの結果は Tuncer³⁴⁾の報告と同様であり、ヒト臍帯動脈には α 受容体はほとんど存在しないことを示すものと考えられる。また、胎児がなんらかの stress を受けた場合⁶²⁾あるいは子宮内発育遅延の際には羊水中の catecholamine の代謝産物濃度が上昇する⁶³⁾ という報告があり、胎児胎盤循環における胎児自身の stress から自分自身を防御するのに有利に働くのではないかと考えられる。今回は他の血管作動性薬物を投与し前収縮を加えた状態で NE と Epi の反応は検討していないため β 受容体に関してはその存在は明らかではないが、Gokhale ら¹⁸⁾は isoprenaline では何らの反応も示さなかったと報告している。

本研究では、ACh に対しては拡張反応がみられず収縮反応のみを示し、NE、Epi に対してはほとんど収縮反応を示さないなど、ヒト臍帯動脈は他の多くの血管標本とは異なった反応様式を示すことが明らかになった。また、5HT および histamine は他の血管系と同様ヒト臍帯動脈にも収縮反応を惹起させることが明らかになったが、胎児胎盤循環という特殊な環境では、特に妊娠中毒症の際に問題となる可能性も考えられた。このような薬物反応性の特殊性が、ヒト臍帯動脈の発生の学的差異に起源しているのか否か不明であるが、ヒト臍帯循環の調節機構を解明するためには、今後さらに妊娠中から分娩時まで経時的に変化し、胎盤循環に大きな影響を及ぼしていると思われる PGs を含め、各種血管作動性物質に関して更なる検討を加える必要

があると考えられる。

V 結 語

カニューレ挿入法を用いて摘出灌流ヒト臍帯動脈に対する血管作動性薬剤の反応について検討した。

1 AChは用量反応性の収縮反応のみを惹起させ、拡張反応はおこさなかった。またこの収縮反応は、atropineにより有意に抑制され、methysergideによりわずかではあるが有意に抑制された。しかし、ketanserinによっては抑制されず、AChの収縮反応はmuscarinic受容体と一部5HT₁受容体を介している可能性が示唆された。また、saponin処理による内皮細胞除去はAChの収縮反応に影響を与えなかった。

2 5HTも強力な用量反応性の収縮反応のみをおこし、拡張反応は認められなかった。5HTの収縮反応はmethysergideにより抑制されたが、ketanserinでは抑制されず、5HT₁受容体を介する反応であることが示唆された。一方、histamineおよび2PEAも収縮反応のみを惹起させ、histamineと2PEAの収縮反応はchlorpheniramineにより抑制された。Dimapritでは前収縮状態で28標本のうちの7標本にのみ拡張反

応が認められ、この拡張反応はcimetidineにより抑制され、また内皮細胞除去により抑制された。これらの結果よりhistamineの収縮反応はH₁受容体を介する反応であることが示唆され、また、内皮細胞にはH₂受容体が粗な分布ではあるが存在することが確認された。

3 一方、強力な血管収縮性薬剤であるNEやEpiは、ヒト臍帯動脈に対しては大量の投与にも関わらず、弱い収縮反応しかおこさず、 α 受容体はほとんど存在しないと考えられた。

以上より、ヒト臍帯動脈には他臓器血管系とは異なる薬物反応性が存在していることが示唆された。

なお、本研究の要旨は、第42回日本産科婦人科学会総会（1990年4月、東京）で発表した。

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました福田透教授、薬理学教室千葉茂俊教授に深甚なる謝意を表します。また病理標本作成に御協力御指導下さいました第1病理学教室伊藤信夫助教授に深謝致します。

文 献

- 1) Spivack, M.: On the presence or absence of nerves in the umbilical blood vessels of man and guinea pig. *Anat Rec*, 85: 85-109, 1943
- 2) Spivack, M.: The anatomic peculiarities of the human umbilical cord and their clinical significance. *Am J Obstet Gynecol*, 52: 387-401, 1946
- 3) 河野通久, 森 憲正: ヒト臍帯における交感神経線維の存在の電子顕微鏡による証明. *日産婦誌*, 41: 833-836, 1989
- 4) Hongo, K. and Chiba, S.: A new method for measuring vascular responsiveness of relatively larger arteries of dogs. *J Pharmacol Methods*, 9: 83-91, 1983
- 5) Tsuji, T. and Chiba, S.: Potentiating effect of methysergide on norepinephrine-induced constriction of the isolated internal carotid artery of the dog. *Jpn J Pharmacol*, 34: 95-100, 1984
- 6) Chiba, S. and Tsukada, M.: Comparison of vasoconstrictor actions of norepinephrine and potassium chloride before and after damage of endothelium by saponin. *Heart Vessels*, 2: 1-5, 1986
- 7) Chiba, S. and Tsukada, M.: Blocking effects of nifedipine on vasoconstrictor responses to periarterial nerve stimulation and α -adrenoceptor agonists in isolated and perfused canine mesenteric arteries. *Pharmacology*, 35: 112-120, 1987
- 8) Nakane, T., Itoh, N. and Chiba, S.: Responses of isolated and perfused dog coronary arteries to acetylcholine, norepinephrine, KCl, and diltiazem before and after removal of the endothelial cells by saponin. *Heart Vessels*, 2: 221-227, 1986
- 9) Holthöfer, H., Virtanen, I., Kariniemi, A. L., Hormia, M., Linder, E. and Miettinen, A.: Ulex europaeus I lectin as a marker for vascular endothelium in human tissues. *Lab Invest*, 47: 60-66, 1982
- 10) Panigel, M.: Contribution to the physiology of feto-placental circulation. *J Physiol (Paris)*, 51: 941-969,

1959

- 11) Somlyo, A. V., Woo, C. and Somlyo, A. P. : Responses of nerve-free vessels to vasoactive amines and polypeptides. *Am J Physiol*, 208 : 748-753, 1965
- 12) Chiba, S., Itoh, N. and Tsuji, T. : Vascular responses to intraluminal acetylcholine in isolated, perfused canine and simian basilar arteries. *J Auton Pharmacol*, 6 : 101-107, 1986
- 13) Tulenko, T. N. : Regional sensitivity to vasoactive polypeptides in the human umbilicoplacental vasculature. *Am J Obstet Gynecol*, 135 : 629-636, 1979
- 14) Bjørø, K. and Stray-Pedersen, S. : Effects of vasoactive autacoids on different segments of human umbilicoplacental vessels. *Gynecol Obstet Invest*, 22 : 1-6, 1986
- 15) Johnstone, F. D., Ugaily-Thulesius, L., Thulesius, O. and Nasrat, A. N. : Umbilical artery reactivity and ultrastructural changes in pregnancy-induced hypertension and other complicated pregnancies. *Clin Physiol*, 7 : 493-502, 1987
- 16) Trudinger, B. J., Giles, W. B., Cook, C. M., Bombardieri, J. and Collins, L. : Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance : clinical significance. *Br J Obstet Gynaecol*, 92 : 23-30, 1985
- 17) Altura, B. M., Malaviya, D., Reich, C. F. and Orkin, L. R. : Effects of vasoactive agents on isolated human umbilical arteries and veins. *Am J Physiol*, 222 : 345-355, 1972
- 18) Gokhale, S. D., Gulati, O. D., Kelkar, L. V. and Kelkar, V. V. : Effect of some drugs on human umbilical artery *in vitro*. *Br J Pharmac Chemother*, 27 : 332-346, 1966
- 19) Walsh, J. A. : Antagonism by methysergide of vascular effects of 5-hydroxytryptamine in man. *Br J Pharmac Chemother*, 30 : 518-530, 1967
- 20) De Voorde, J. V., Vanderstichele, H. and Leusen, I. : Release of endothelium-derived relaxing factor from human umbilical vessels. *Circ Res*, 60 : 517-522, 1987
- 21) Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V. : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288 : 373-376, 1980
- 22) Furchgott, R. F. : Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res*, 53 : 557-573, 1983
- 23) Furchgott, R. F. : The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 24 : 175-197, 1984
- 24) Vanhoutte, P. M. and Miller, V. M. : Heterogeneity of endothelium-dependent responses in mammalian blood vessels. *J Cardiovasc Pharmacol*, 7 (Suppl. 3) : S12-S23, 1985
- 25) White, R. P. : Comparison of vasorelaxants in human basilar arteries and umbilical arteries. *Eur J Pharmacol*, 155 : 109-115, 1988
- 26) Van Nueten, J. M. : Serotonin and the blood vessel wall. *J Cardiovasc Pharmacol*, 7 (Suppl. 7) : S49-S51, 1985
- 27) Hollenberg, N. K. : Large and small vessel responses to serotonin in the peripheral circulation. *J Cardiovasc Pharmacol*, 7 (Suppl. 7) : S89-S91, 1985
- 28) McGrath, J. C., MacLennan, S. J. and Whittle, M. J. : Comparison of the effects of oxygen, 5-hydroxytryptamine, bradykinin and adrenaline in isolated human umbilical artery smooth muscle. *Q J Exp Physiol*, 73 : 547-559, 1988
- 29) Peroutka, S. J. and Snyder, S. H. : Multiple serotonin receptors: differential binding of [³H]5-hydroxytryptamine, [³H]lysergic acid diethylamide and [³H]spiropiperidol. *Mol Pharmacol*, 16 : 687-699, 1979
- 30) Leysen, J. E., Niemegeers, C. J. E., Van Nueten, J. M. and Laduron, P. M. : [³H]Ketanserin (R41 468), a selective ³H-ligand for serotonin₂ receptor binding sites: binding properties, brain distribution, and

- functional role. *Mol Pharmacol*, 21 : 301-314, 1982
- 31) Cohen, M. L., Fuller, R. W. and Wiley, K. S. : Evidence for 5-HT₂ receptors mediating contraction in vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther*, 218 : 421-425, 1981
 - 32) Peroutka, S. J., Noguchi, M., Tolner, D. J. and Allen, G. S. : Serotonin-induced contraction of canine basilar artery : mediation by 5-HT₁ receptors. *Brain Res*, 259 : 327-330, 1983
 - 33) Feniuk, W., Humphrey, P. P. A., Perren, M. J. and Watts, A. D. : A comparison of 5-hydroxytryptamine receptors mediating contraction in rabbit aorta and dog saphenous vein : evidence for different receptor types obtained by use of selective agonists and antagonists. *Br J Pharmacol*, 86 : 697-704, 1985
 - 34) Tuncer, M., Dogan, N., Oktay, S. and Kayaalp, S. O. : Receptor mechanisms for 5-hydroxytryptamine in isolated human umbilical artery and vein. *Arch Int Pharmacodyn*, 276 : 17-27, 1985
 - 35) MacLennan, S. J. and McGrath, J. C. : Evidence for "5-HT₁-like" receptors in human umbilical artery (HUA). *Br J Pharmacol*, 89 : 587P, 1986
 - 36) Cohen, R. A., Shepherd, J. T. and Vanhoutte, P. M. : Inhibitory role of the endothelium in the response of isolated coronary arteries to platelets. *Science*, 221 : 273-274, 1983
 - 37) Cocks, T. M. and Angus, J. A. : Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, 305 : 627-630, 1983
 - 38) Cohen, R. A., Shepherd, J. T. and Vanhoutte, P. M. : 5-Hydroxytryptamine can mediate endothelium-dependent relaxation of coronary arteries. *Am J Physiol*, 245 : H1077-H1080, 1983
 - 39) Senior, J. B., Fahim, I., Sullivan, F. M. and Robson, J. M. : Possible role of 5-hydroxytryptamine in toxemia of pregnancy. *Lancet*, 2 : 553-554, 1963
 - 40) Ramadan, M. A., Sammour, M. B., Ibrahim, F. K. and Eisa, E. A. : Serotonin (5-hydroxytryptamine) concentration in blood and placenta of normal and pre-eclamptic patients. *Int J Biochem*, 4 : 111-115, 1973
 - 41) Gujrati, V. R., Shanker, K., Parmar, S. S., Vrat, S., Chandrawati and Bhargava, K. P. : Serotonin in toxemia of pregnancy. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 12 : 9-18, 1985
 - 42) Patel, I. M. and Dass, A. : Placental serotonin in eclampsia and toxemia of pregnancy. *Indian J Obstet Gynecol*, 12 : 433-440, 1962
 - 43) Fahim, I. and Botros, M. : The role of placental 5-hydroxytryptamine in the pathogenesis of toxemia of pregnancy. *Obstet Gynecol*, 23 : 603-607, 1964
 - 44) Waugh, D. and Pearl, M. J. : Serotonin-induced acute nephrosis and renal cortical necrosis in rats : a morphologic study with pregnancy correlations. *Am J Pathol*, 36 : 431-455, 1960
 - 45) Cook, C. M., Connelly, A. J. and Trudinger, B. J. : Doppler assessment of the umbilical circulation. *Semin Ultrasound CT MR*, 10 : 417-427, 1989
 - 46) Dyer, D. C., Gant, D. W. and Park, M. : Actions of histamine on human, sheep and monkey umbilical vasculature. *Pharmacology*, 7 : 101-108, 1972
 - 47) Nair, X. and Dyer, D. C. : Responses of human umbilical artery to oxygen, bradykinin and histamine. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 7 : 381-388, 1974
 - 48) White, R. P. : Pharmacodynamic study of maturation and closure of human umbilical arteries. *Am J Obstet Gynecol*, 160 : 229-237, 1989
 - 49) Alhenc-Gelas, F., Tsai, S. J., Callahan, K. S., Campbell, W. B. and Johnson, A. R. : Stimulation of prostaglandin formation by vasoactive mediators in cultured human endothelial cells. *Prostaglandins*, 24 : 723-742, 1982
 - 50) Hong, S. L., McLaughlin, N. J., Tzeng, C. and Patton, G. : Prostacyclin synthesis and deacylation of phospholipids in human endothelial cells : comparison of thrombin, histamine and ionophore A23187. *Thromb Res*, 38 : 1-10, 1985

- 51) Revtyak, G. E., Johnson, A. R. and Campbell, W. B.: Prostaglandin synthesis in bovine coronary endothelial cells: comparison with other commonly studied endothelial cells. *Thromb Res*, 48: 671-683, 1987
- 52) Brotherton, A. F. A.: Induction of prostacyclin biosynthesis is closely associated with increased guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate accumulation in cultured human endothelium. *J Clin Invest*, 78: 1253-1260, 1986
- 53) Camussi, G., Aglietta, M., Malavasi, F., Tetta, C., Piacibello, W., Sanavio, F. and Bussolino, F.: The release of platelet-activating factor from human endothelial cells in culture. *J Immunol*, 131: 2397-2403, 1983
- 54) Rotrosen, D. and Gallin, J. I.: Histamine type I receptor occupancy increases endothelial cytosolic calcium, reduces F-actin, and promotes albumin diffusion across cultured endothelial monolayers. *J Cell Biol*, 103: 2379-2387, 1986
- 55) Pollock, W. K., Wreggett, K. A. and Irvine, R. F.: Inositol phosphate production and Ca^{2+} mobilization in human umbilical-vein endothelial cells stimulated by thrombin and histamine. *Biochem J*, 256: 371-376, 1988
- 56) Kahlson, G., Rosengren, E. and White, T.: The formation of histamine in the rat foetus. *J Physiol (Lond)*, 151: 131-138, 1960
- 57) Kameswaran, L., Pennefather, J. N. and West, G. B.: Possible role of histamine in rat pregnancy. *J Physiol (Lond)*, 164: 138-149, 1962
- 58) Bjurö, T., Lindberg, S. and Westling, H.: Observations on histamine in pregnancy and the puerperium. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 40: 152-173, 1961
- 59) Achari, G., Achari, K. and Rao, K. K.: Histaminase and histamine in normal and toxæmic pregnancy. *Jpn J Pharmacol*, 21: 33-40, 1971
- 60) Mitchell, R. G. and Porter, J. F.: Histamine and granulocytes in the umbilical cord blood of infants at birth. *Br J Pharmacol*, 40: 310-316, 1970
- 61) Porter, J. F., Young, J. A. and Rasheed, S.: Umbilical cord blood histamine levels in newborn infants with and without perinatal anoxia. *Biol Neonate*, 15: 300-303, 1970
- 62) Lagercrantz, H., Sjöquist, B., Bremme, K., Lunell, N. and Somell, C.: Catecholamine metabolites in amniotic fluid as indicators of intrauterine stress. *Am J Obstet Gynecol*, 136: 1067-1070, 1980
- 63) Divers, W. A., Wilkes, M. M., Babaknia, A., Hill, L. M., Quilligan, E. J. and Yen, S. S. C.: Amniotic fluid catecholamines and metabolites in intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*, 141: 608-610, 1981

(2. 9. 20 受稿)