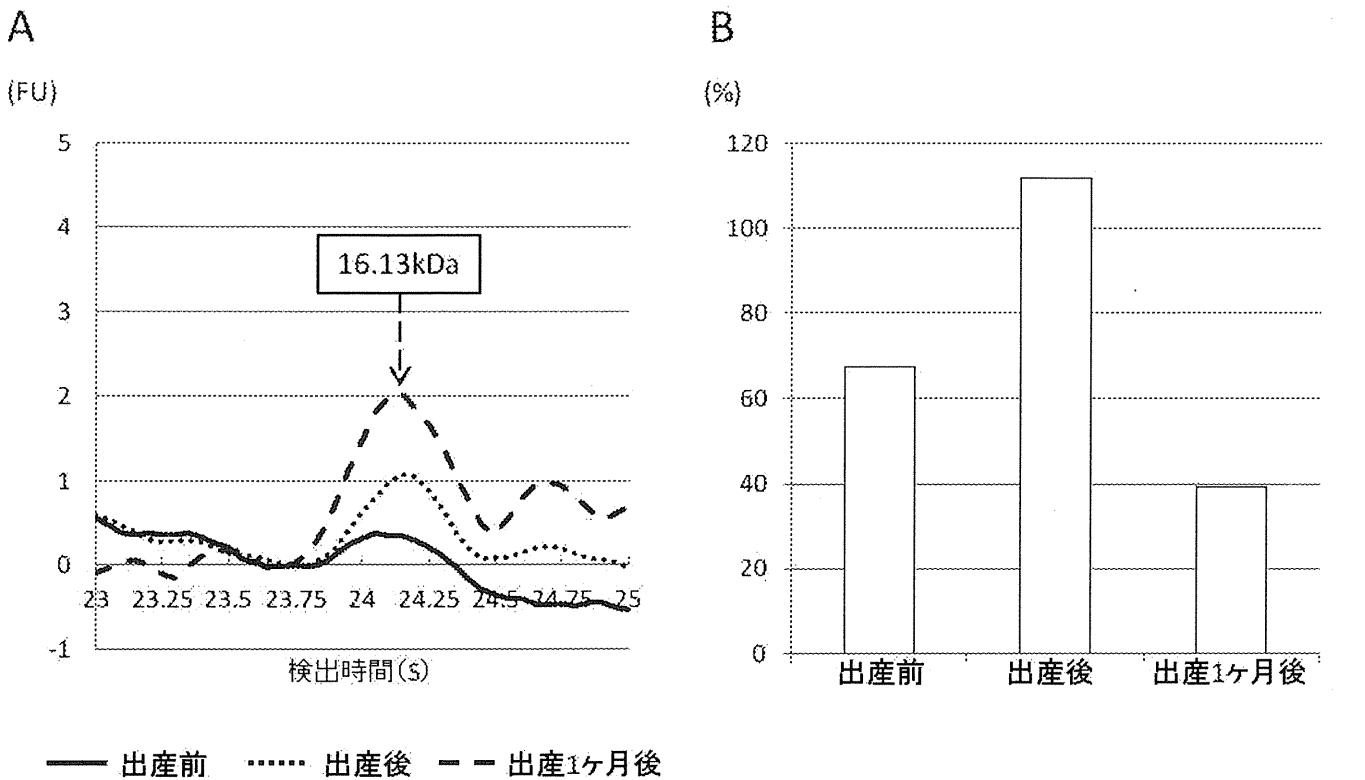


Figure.1-1-1 Control ① 測定結果



C

	年齢	経過日数	身長(cm)	体重(kg)	喫煙歴	妊娠歴
非妊娠時	27歳0ヶ月		161.0	60.0	-	2G1P
産前		40週1日		71.4		
産後		産褥3日		66.5		
1ヶ月後		産褥34日		62.3		

	分娩方法	分娩週数	出生体重	授乳
	自然	40週2日	3800g	-

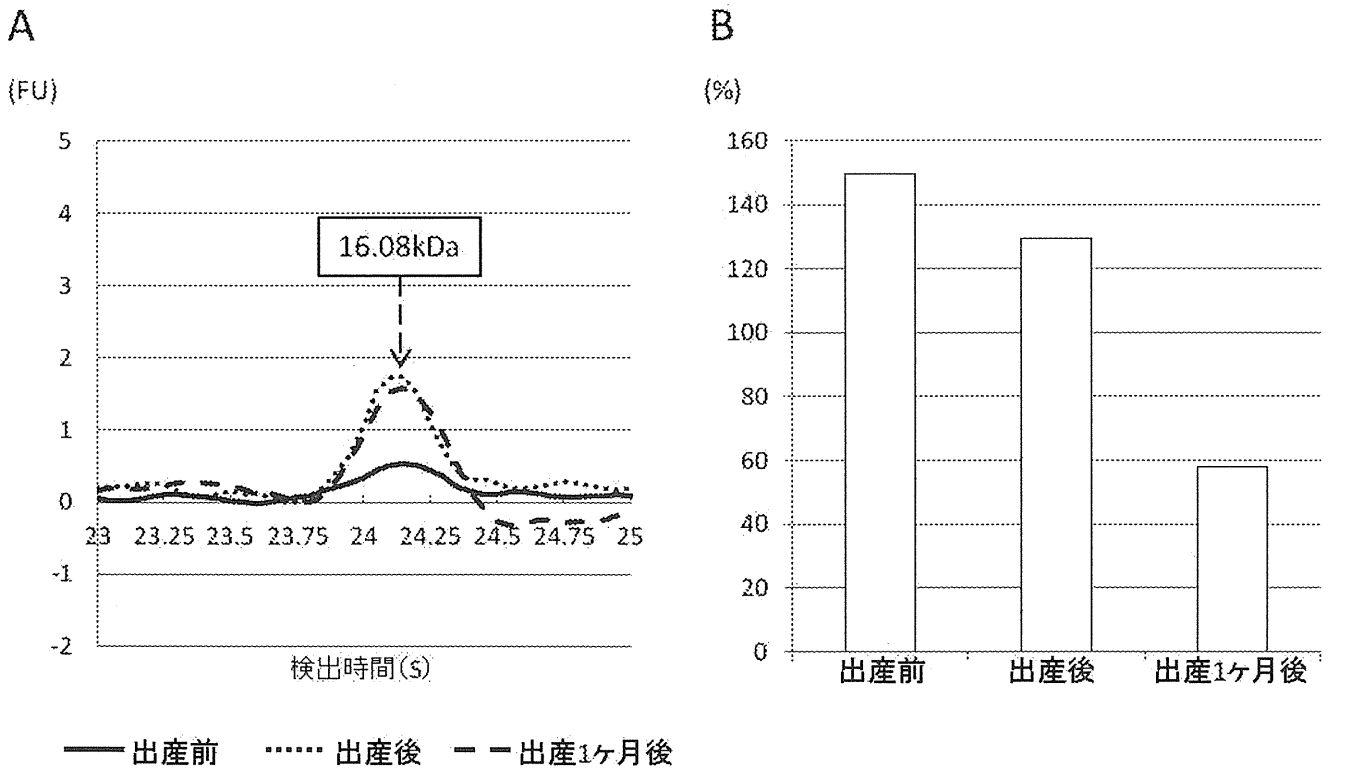
	血圧		血液検査							A	NA	DA
	収縮期	拡張期	PRL	BNP	TP	Alb	Cre					
産前	120	70	193.5	3.4	5.9	3.1	0.3	5<	150	5<		
産後	108	72	203.6	20.5	5.7	3	0.39	5<	51	5<		
1ヶ月後	117	63	53.28	27.8	7.1	4.5	0.46	33	101	5<		

	蓄尿				新鮮尿				内服薬
	PRL	TP	Alb	Cre	PRL	A	NA	DA	
産前	0.09	41.3	7.7	0.66	0.05<	2.7	115.2	996.6	なし
産後	1.98	97.5	41.8	0.95	3.5	1.4	44.6	480	なし
1ヶ月後	-	-	-	-	0.05<	8.5	35	636.7	なし

妊娠歴 G:妊娠回数 P:出産回数 A:アドレナリン -未測定
 BNP:脳性ナトリウム利尿ペプチド NA:ノルアドレナリン
 TP:総タンパク質 DA:ドーパミン
 Alb:アルブミン
 Cre:クレアチニン

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

Figure.1-1-2 Control ② 測定結果



C

	年齢	経過日数	身長(cm)	体重(kg)
非妊娠時	35歳4ヶ月		154.0	52.0
産前		39週2日		63.1
産後		産褥4日		57.3
1ヶ月後		産褥28日		54.8

喫煙歴	妊娠歴
-	1G1P

分娩方法	分娩週数	出生体重	授乳
自然	39週5日	3456g	-

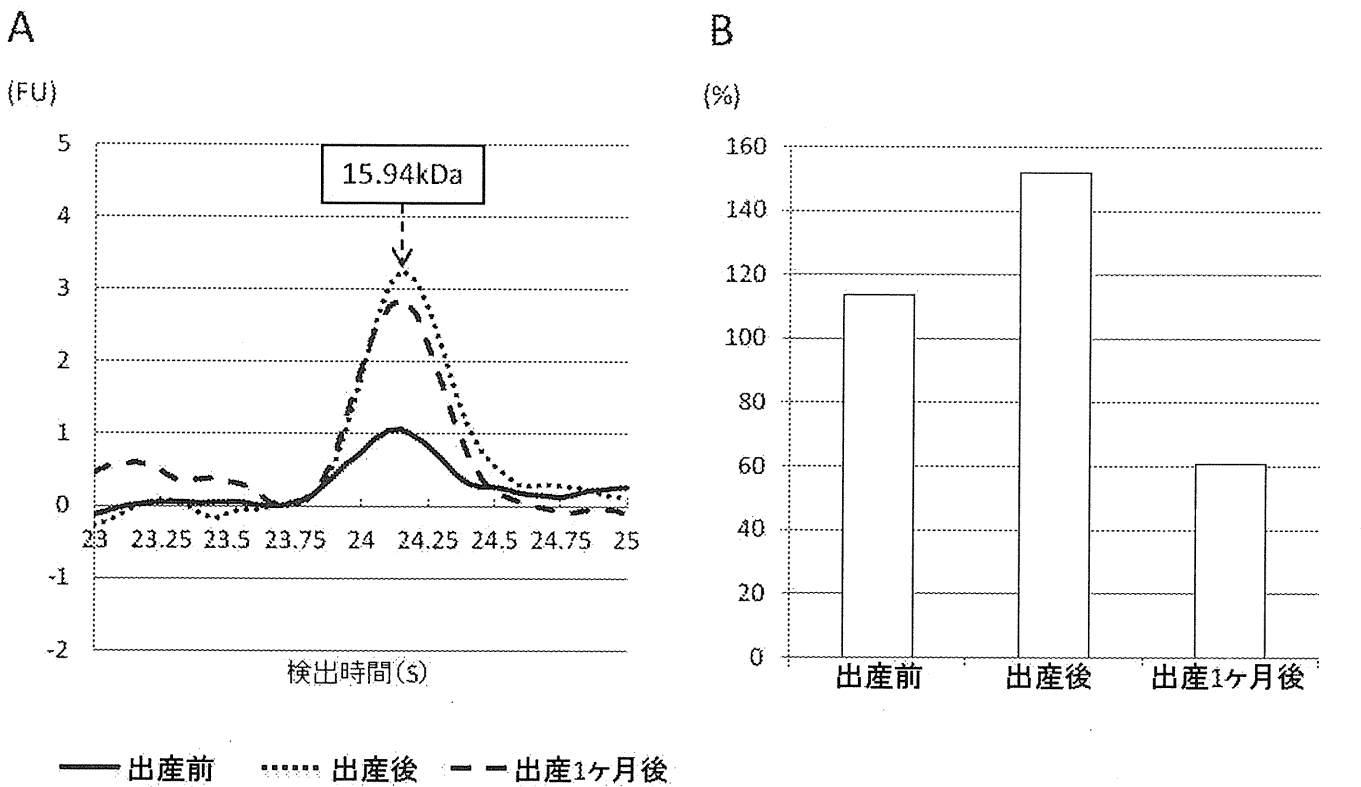
	血圧		血液検査							
	収縮期	拡張期	PRL	BNP	TP	Alb	Cre	A	NA	DA
産前	108	52	457.5	11.6	5.8	3.1	0.34	5<	69	5<
産後	112	86	468	23.4	5.8	3	0.38	12	149	5<
1ヶ月後	118	79	260.7	20.6	7.2	4.3	0.47	60	207	5<

	蓄尿		新鮮尿							内服薬
	PRL	TP	Alb	Cre	PRL	A	NA	DA		
産前	0.3	52.6	5.8	0.73	0.41	1.9	65.7	683.9	なし	
産後	0.53	21.5	7.7	0.5	0.38	3.7	61.2	617.9	なし	
1ヶ月後	-	-	-	-	0.66	10.7	92.7	954.6	なし	

妊娠歴 G: 妊娠回数 P: 出産回数 A: アドレナリン — 未測定
 BNP: 脳性ナトリウム利尿ペプチド NA: ノルアドレナリン
 TP: 総タンパク質 DA: ドーパミン
 Alb: アルブミン
 Cre: クレアチニン

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

Figure.1-1-3 Control ③ 測定結果



C

	年齢	経過日数	身長(cm)	体重(kg)	喫煙歴	妊娠歴
非妊娠時	35歳3ヶ月		155.0	47.0	-	1G1P
産前		38週6日		56.0		
産後		産褥5日		53.5		
1ヶ月後		産褥24日		54.4		

	分娩方法	分娩週数	出生体重	授乳
	自然	38週6日	2318g	-

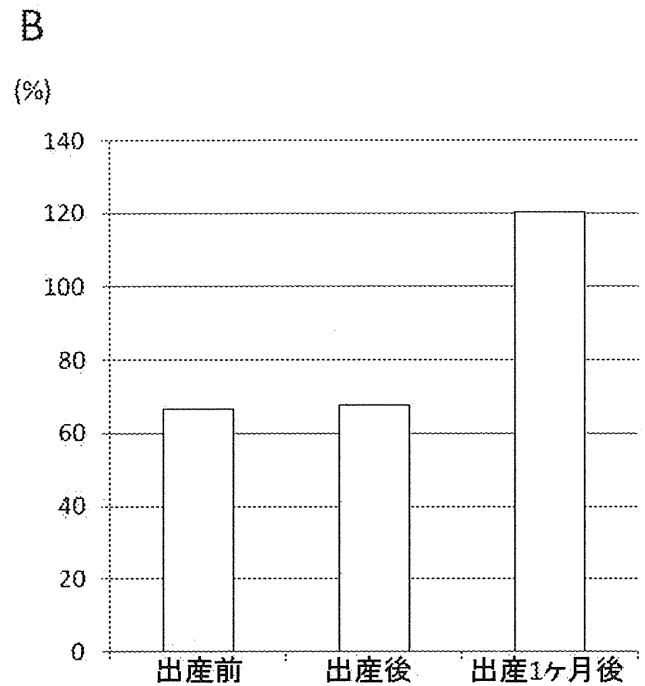
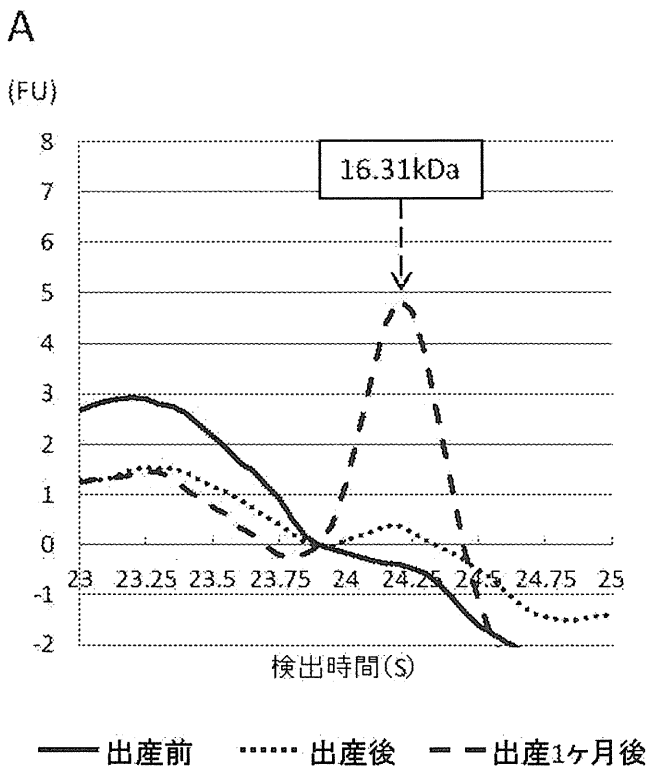
	血圧		血液検査							
	収縮期	拡張期	PRL	BNP	TP	Alb	Cre	A	NA	DA
産前	118	72	342.7	5	6	3.4	0.48	21	216	14
産後	116	72	818.1	28.1	6.5	3.5	0.49	49	125	5<
1ヶ月後	123	80	11.95	3.4	7.1	4.3	0.61	36	403	5<

	蓄尿				新鮮尿				内服薬
	PRL	TP	Alb	Cre	PRL	A	NA	DA	
産前	0.36	75	4.9	0.75	0.37	3.6	205.5	1699.5	なし
産後	3.41	141.5	41	0.89	0.17	2.8	38.6	1101.5	なし
1ヶ月後	-	-	-	-	0.05<	14.8	134.4	1011.4	なし

妊娠歴 G:妊娠回数 P:出産回数 A:アドレナリン -未測定
 BNP:脳性ナトリウム利尿ペプチド NA:ノルアドレナリン
 TP:総タンパク質 DA:ドーパミン
 Alb:アルブミン
 Cre:クレアチニン

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

Figure.1-1-4 PIH ① 測定結果



C

	年齢	経過日数	身長(cm)	体重(kg)
非妊娠時	35歳6ヶ月		156.0	44.0
産前		33週6日		48.1
産後		産褥3日		45.8
1ヶ月後		産褥30日		46.2

喫煙歴	妊娠歴	NYHA
-	G3P1	I

分娩方法	分娩週数	出生体重	授乳
OS	34週0日	1314g	-

	血圧		血液検査							
	収縮期	拡張期	PRL	BNP	TP	Alb	Cre	A	NA	DA
産前	130	80	600.44	14.4	7.3	3	0.54	-	-	-
産後	130	76	428.67	-	-	3	0.55	-	-	-
1ヶ月後	126	74	44.54	-	-	4.5	0.56	-	-	-

	蓄尿					新鮮尿				内服薬
	PRL	TP	Alb	Cre		PRL	A	NA	DA	
産前	2.26	0.39	215	0.63	1.38	101	86.4	848.4		Ca拮抗剤
産後	0.88	0.15	47.4	0.71	0.6<	2.3	72.1	723.9		なし
1ヶ月後	-	-	-	-	0.6<	3.2	149.2	5390.7		なし

妊娠歴 G: 妊娠回数 P: 出産回数
 BNP: 脳性ナトリウム利尿ペプチド
 TP: 総タンパク質
 Alb: アルブミン
 Cre: クレアチニン

A: アドレナリン
 NA: ノルアドレナリン
 DA: ドーパミン

— 未測定

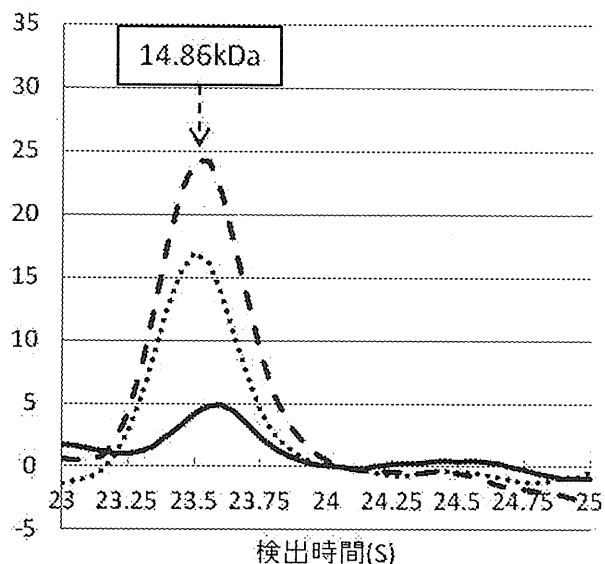
CS: 帝王切開

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

Figure.1-1-5 PIH ② 測定結果

A

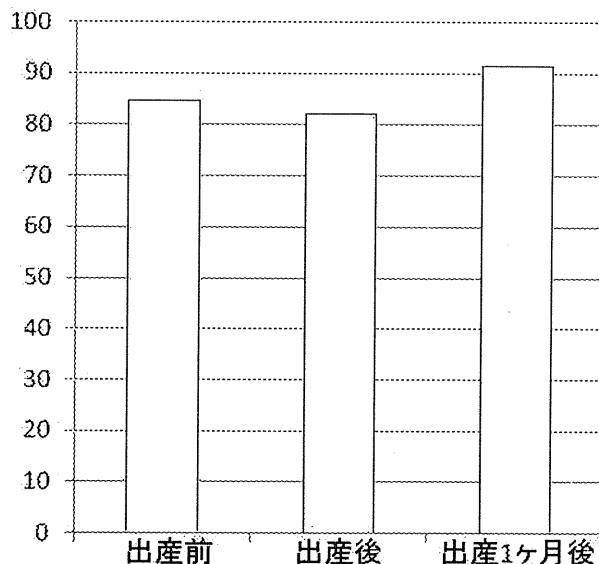
(FU)



— 出産前 出産後 - - 出産1ヶ月後

B

(%)



C

	年齢	経過日数	身長(cm)	体重(kg)
非妊娠時	27歳10ヶ月		159.0	52.0
産前		29週2日		55.5
産後		産褥2日		54.4
1ヶ月後		産褥30日		51.8

喫煙歴	妊娠歴	NYHA
-	G1P0	I

分娩方法	分娩週数	出生体重	授乳
CS	33週1日	1220g	母乳のみ

	血圧		血液検査						A	NA	DA
	収縮期	拡張期	PRL	BNP	TP	Alb	Cre				
産前	132	88	469.7	8	65	3.4	0.51	-	-	-	
産後	106	62	383.5	33.1	5.1	2.3	0.73	-	-	-	
1ヶ月後	129	71	60.45	18.1	7.2	4.3	0.57	-	-	-	

	蓄尿				新鮮尿				内服薬
	PRL	TP	Alb	Cre	PRL	A	NA	DA	
産前	0.6<	0.38	271	1.15	0.6<	1.2	49.7	531	なし
産後	4.61	0.99	476	0.91	5.83	1.8	29.9	226.3	Ca拮抗剤
1ヶ月後	-	-	-	-	0.6<	2.5	24.7	225.7	なし

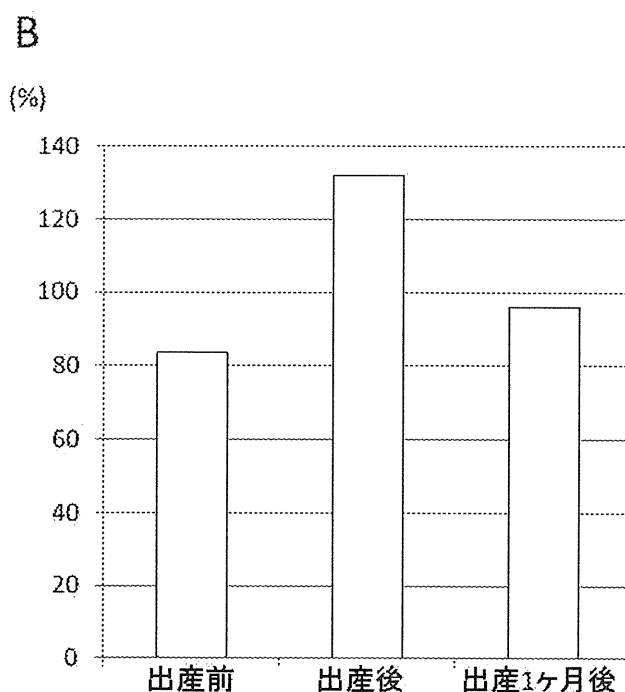
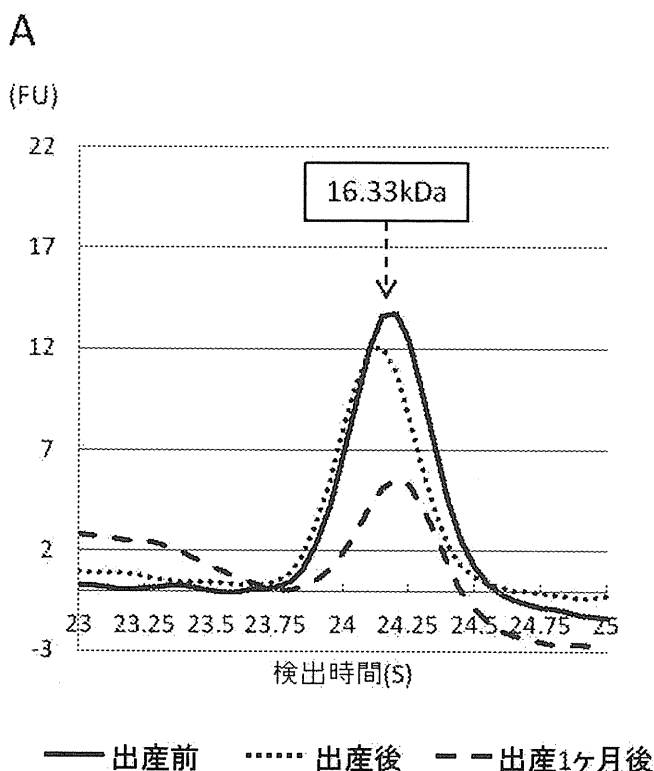
妊娠歴 G: 妊娠回数 P: 出産回数
 BNP: 脳性ナトリウム利尿ペプチド
 TP: 総タンパク質
 Alb: アルブミン
 Cre: クレアチニン

A: アドレナリン ー未測定
 NA: ノルアドレナリン
 DA: ドーパミン

CS: 帝王切開

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

Figure.1-1-6 PIH ③ 測定結果



C

	年齢	経過日数	身長(cm)	体重(kg)
非妊娠時	41歳8ヶ月		158.0	94.0
産前		30週4日		96.1
産後		産褥1日		87.9
1ヶ月後		産褥22日		85.8

喫煙歴	妊娠歴	NYHA
-	G3P2	I

分娩方法	分娩週数	出生体重	授乳
CS	36週4日	①2844g ②2580g	ミルク

	血圧		血液検査							
	収縮期	拡張期	PRL	BNP	TP	Alb	Cre	A	NA	DA
産前	120	90	305.9	6.1	6.2	2.8	0.44	-	-	-
産後	140	62	265	8.6	5.1	2.3	0.51	5<	92	5<
1ヶ月後	147	72	27.52	24.3	7.4	3.9	0.47	5<	146	5<

	蓄尿				新鮮尿				内服薬
	PRL	TP	Alb	Cre	PRL	A	NA	DA	
産前	0.6<	0.07	11.6	1.13	0.6<	0.7	63.9	294.9	なし
産後	0.6<	0.05	14.8	0.6	1.03	5.1	203.3	757.6	なし
1ヶ月後	-	-	-	-	0.6<	1.4	55.3	176	なし

妊娠歴 G:妊娠回数 P:出産回数
 BNP:脳性ナトリウム利尿ペプチド
 TP:総タンパク質
 Alb:アルブミン
 Cre:クレアチニン

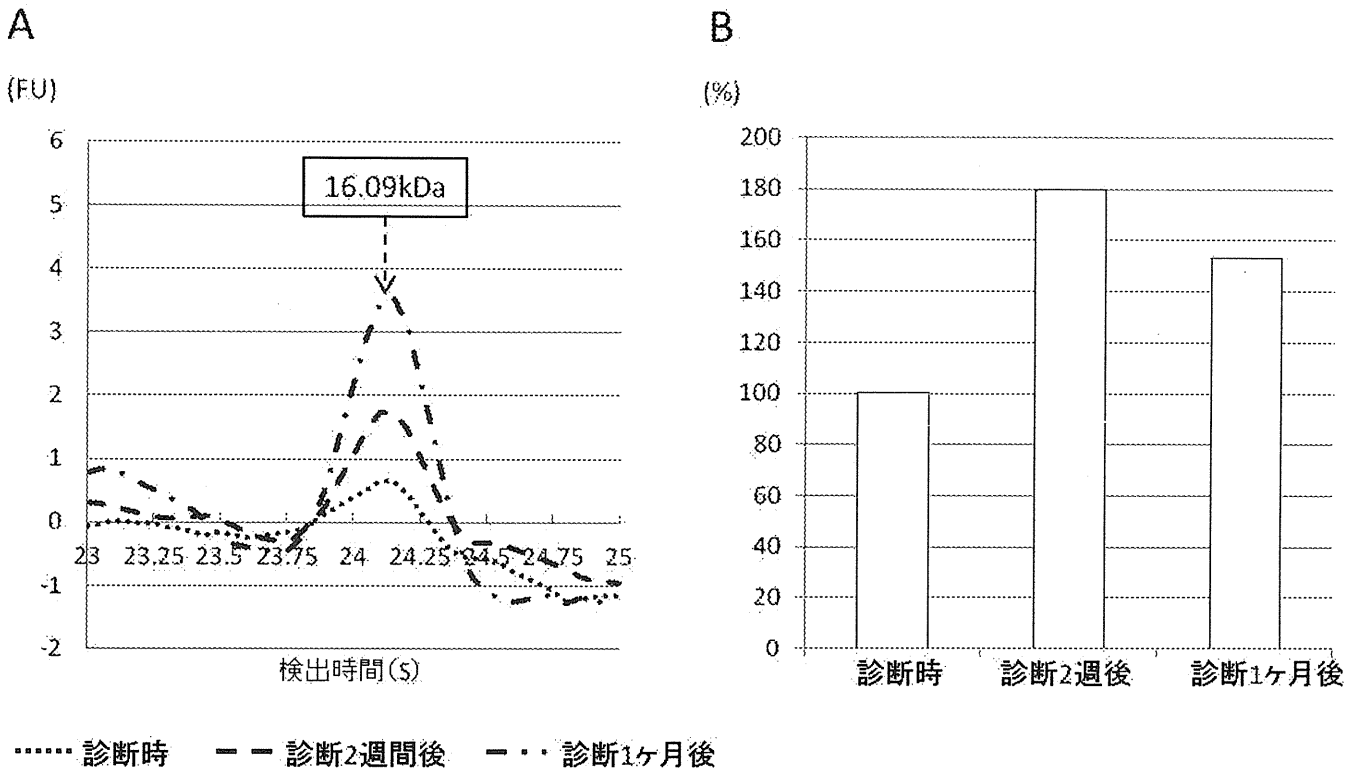
A:アドレナリン
 NA:ノルアドレナリン
 DA:ドーパミン

— 未測定

CS:帝王切開

A:Vi検出波形
 B:CathD活性
 C:測定数値一覧

Figure.1-1-7 PPCM ① 測定結果



C

経過日数		年齢	身長(cm)	妊娠前体重(kg)	妊娠時体重(kg)
診断時	産後14日	29	150.0	40.0	55.7
診断後2週	" 28日				
診断後3ヶ月	" 80日				
診断後半年	" 164日				
診断後1年	" 390日				

喫煙歴	妊娠歴	分娩方法	出生体重(g)
なし	OGOP	緊急CS	-

	血液検査				
	PRL	BNP	TP	Alb	Cre
診断時	-	-	-	-	0.55
診断後2週	1.7	106.5	-	-	0.47
診断後3ヶ月	4.1	16.1	-	-	0.50
診断後半年	1.3	8.5	-	-	0.48
診断後1年	2.5	17.6	-	-	0.46

妊娠歴 G: 妊娠回数 P: 出産回数
 BNP: 脳性ナトリウム利尿ペプチド
 TP: 総タンパク質
 Alb: アルブミン
 Cre: クレアチニン

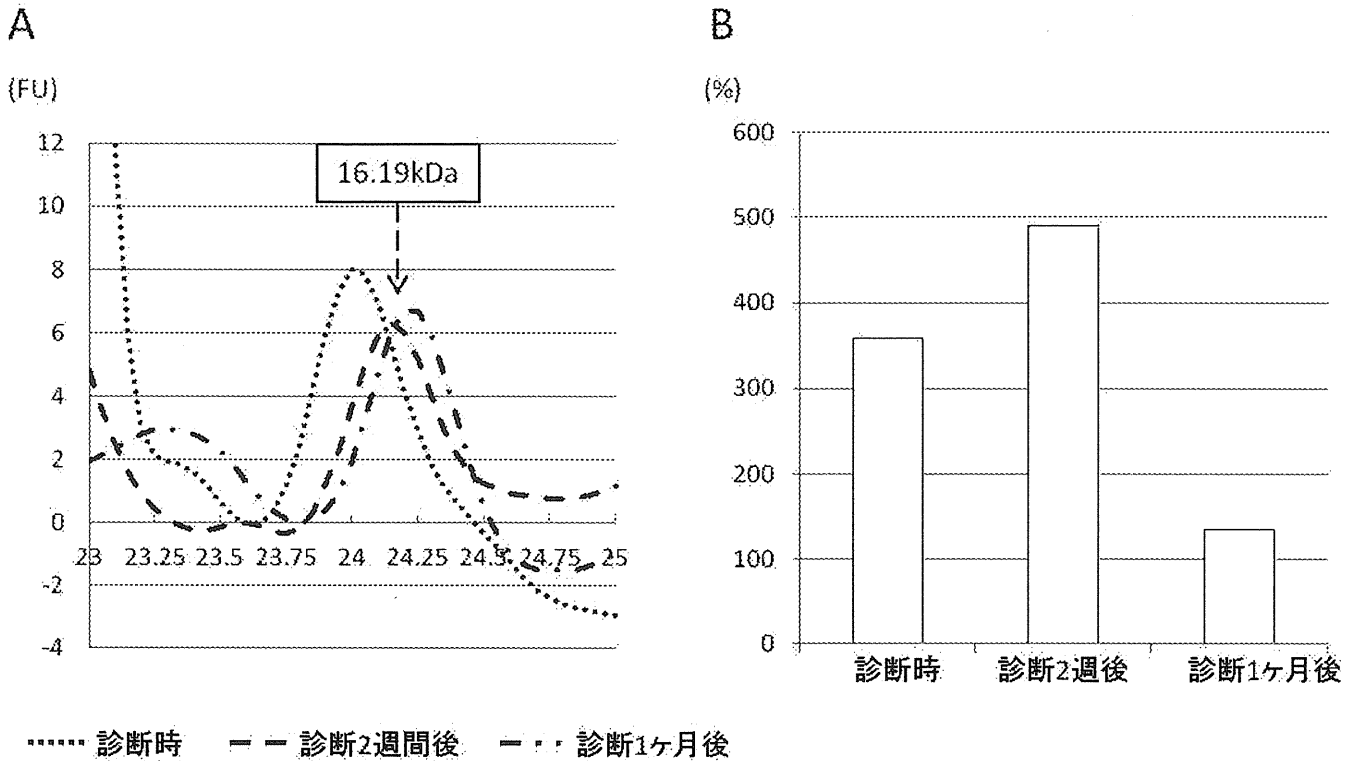
	心エコー				内服薬
	EF	FS	LVEDD	LVESD	
診断時	36.0	18.0	500	41.0	PRL抑制剤
診断後2週	48.0	25.0	440	33.0	PRL抑制剤
診断後3ヶ月	62.0	33.0	440	29.0	PRL抑制剤
診断後半年	67.0	37.0	41.0	26.0	なし
診断後1年	63.0	34.0	43.0	29.0	なし

EF: 左室駆出率
 FS: 左室短縮率
 LVEDD: 左室拡張末期径
 LVESD: 左室収縮末期径

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

- 未測定
 CS: 帝王切開

Figure.1-1-8 PPCM ② 測定結果



C

経過日数	年齢	身長(cm)	妊娠前体重(kg)	妊娠時体重(kg)
診断時	30	-	42.0	58.0
診断後2週				
診断後3ヶ月				
診断後半年				
診断後1年				

既往歴	妊娠歴	分娩方法	出生体重(kg)
なし	3G2P	CS	-

	血液検査				
	PRL	BNP	TP	Alb	Cre
診断時	-	-	4.0	1.8	0.54
診断後2週	-	-	-	-	-
診断後3ヶ月	39.7	5.8	7.2	4.7	0.54
診断後半年	-	-	-	-	-
診断後1年	-	-	-	-	-

	心エコー				内服薬
	EF	FS	LVEDD	LVESD	
診断時	28.0	MD	52.0	42.0	-
診断後2週	54.0	22.2	43.0	33.0	PRL抑制剤
診断後3ヶ月	57.0	32.0	50.0	34.0	PRL抑制剤
診断後半年	-	-	-	-	-
診断後1年	-	-	-	-	-

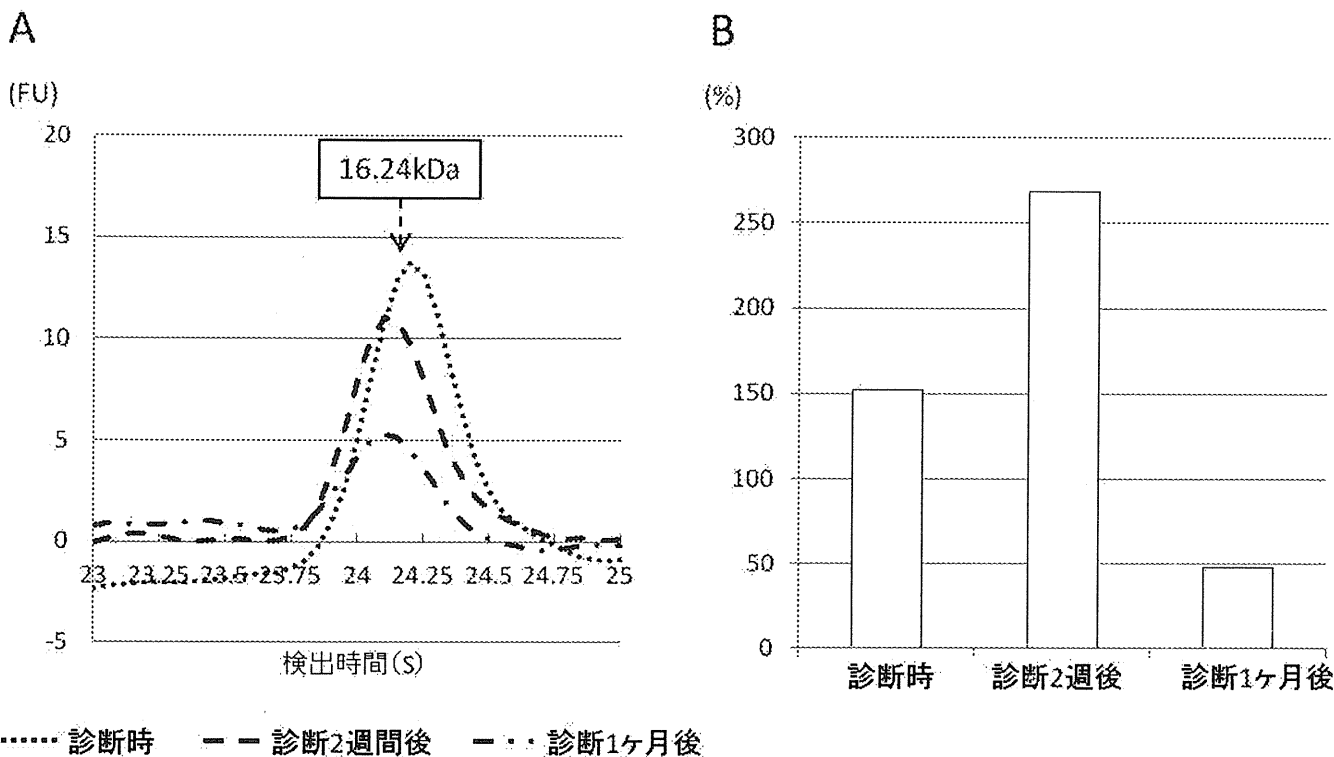
妊娠歴 G: 妊娠回数 P: 出産回数
 BNP: 脳性ナトリウム利尿ペプチド
 TP: 総タンパク質
 Alb: アルブミン
 Cre: クレアチニン

EF: 左室駆出率
 FS: 左室短縮率
 LVEDD: 左室拡張末期径
 LVESD: 左室収縮末期径

- 未測定
 CS: 帝王切開

A: Vi検出波形
 B: CathD活性
 C: 測定数値一覧

Figure.1-1-9 PPCM ③ 測定結果



C

	経過日数
診断時	産後14日
診断後2週	"29日
診断後3ヶ月	"98日
診断後半年	"189日
診断後1年	"370日

年齢	身長(cm)	妊娠前体重(kg)	妊娠時体重(kg)
23	-	47.0	66.3

喫煙歴	妊娠歴	分娩方法	出生体重(kg)
なし	4G1P	経膣	-

	血液検査				
	PRL	BNP	TP	Alb	Cre
診断時	-	-	-	-	-
診断後2週	-	-	-	-	-
診断後3ヶ月	-	-	-	7.2	0.70
診断後半年	-	6.8	-	7.6	0.70
診断後1年	-	9.8	-	-	0.63

妊娠歴 G:妊娠回数 P:出産回数
BNP:脳性ナトリウム利尿ペプチド
TP:総タンパク質
Alb:アルブミン
Cre:クレアチニン

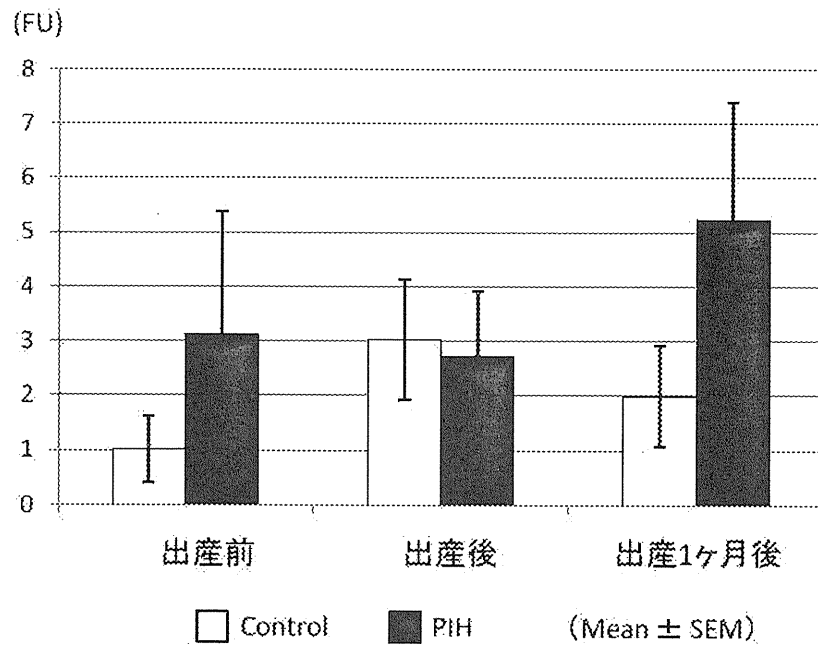
	心エコー				内服薬
	EF	FS	LVEDD	LVESD	
診断時	24.0	9.0	55.0	50.0	PRL抑制剤
診断後2週	29.0	14.0	53.0	46.0	PRL抑制剤
診断後3ヶ月	52.0	-	48.0	35.0	PRL抑制剤
診断後半年	62.0	33.0	44.0	30.0	なし
診断後1年	62.0	33.0	43.0	28.0	なし

EF:左室駆出率
FS:左室短縮率
LVEDD:左室拡張末期径
LVESD:左室収縮末期径

A:Vi検出波形
B:CathD活性
C:測定数値一覧

-未測定

A



B

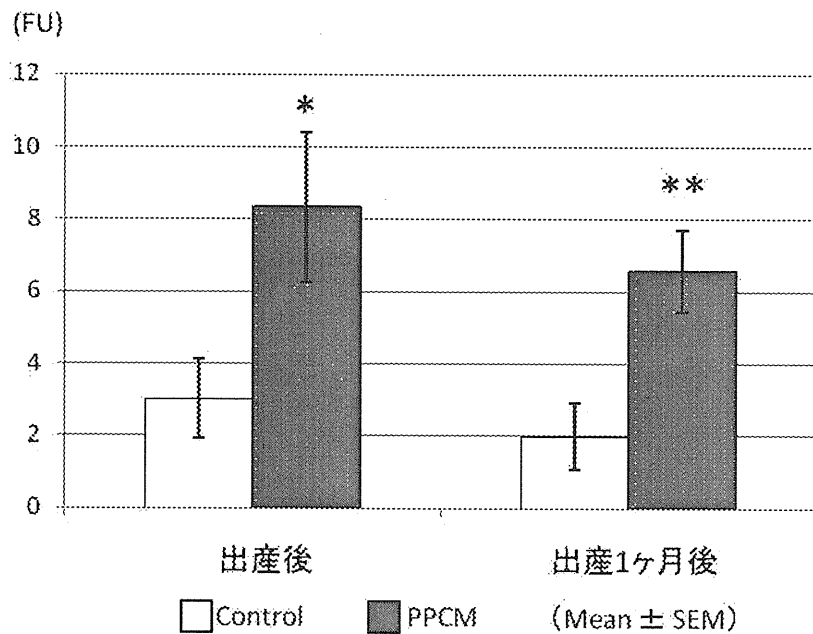


Figure.1-2 Control、PIH、PPCMにおけるVi平均値

A: ControlとPIHの出産前、出産後、出産1ヶ月後の平均値

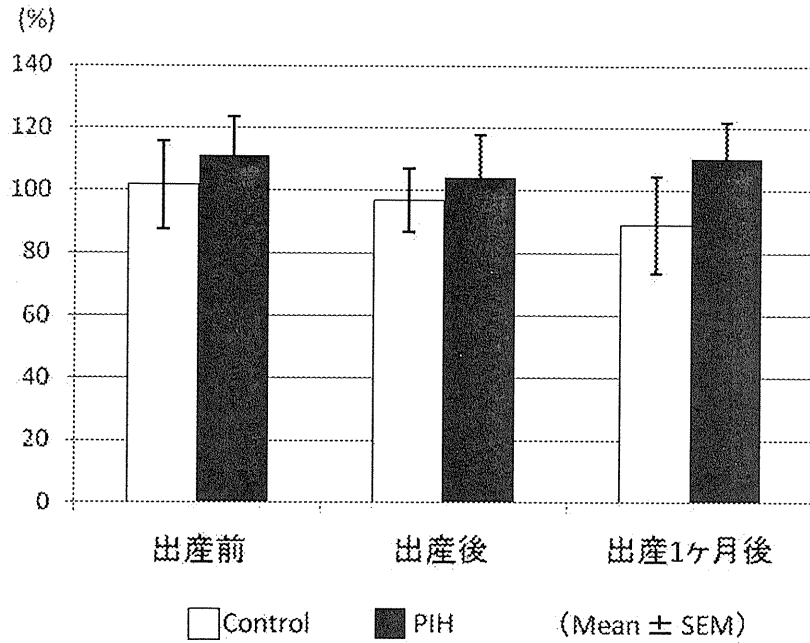
(Control: n = 11、PIH: n = 9)

B: Control出産後およびPPCM診断時(産後2週)、Control出産1ヶ月後およびPPCM診断2週後(出産1ヶ月後)の平均値

(Control: n = 11、PPCM診断時: n = 10、PPCM診断2週後: n = 9)

* = $p < 0.05$ ** = $p < 0.01$

A



B

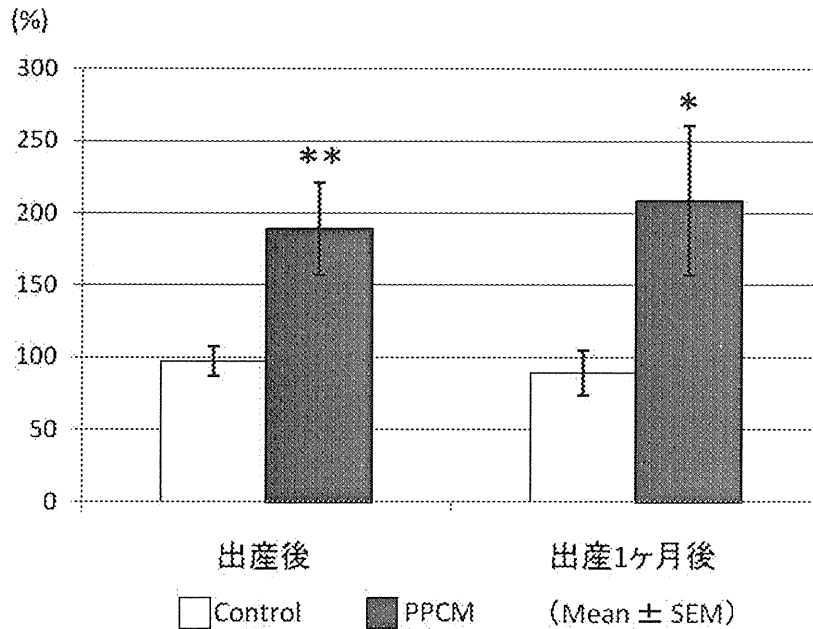


Figure.1-3 Control、PIH、PPCMにおけるCathD活性平均値

A: ControlとPIHの出産前、出産後、出産1ヶ月後の平均値

(Control: n = 10、PIH: n = 9)

B: Control出産後およびPPCM診断時(産後2週)、Control出産1ヶ月後およびPPCM診断2週後(出産1ヶ月後)の平均値

(Control: n = 10、PPCM診断時: n = 9、PPCM診断2週後: n = 7)

* = $p < 0.05$ ** = $p < 0.01$

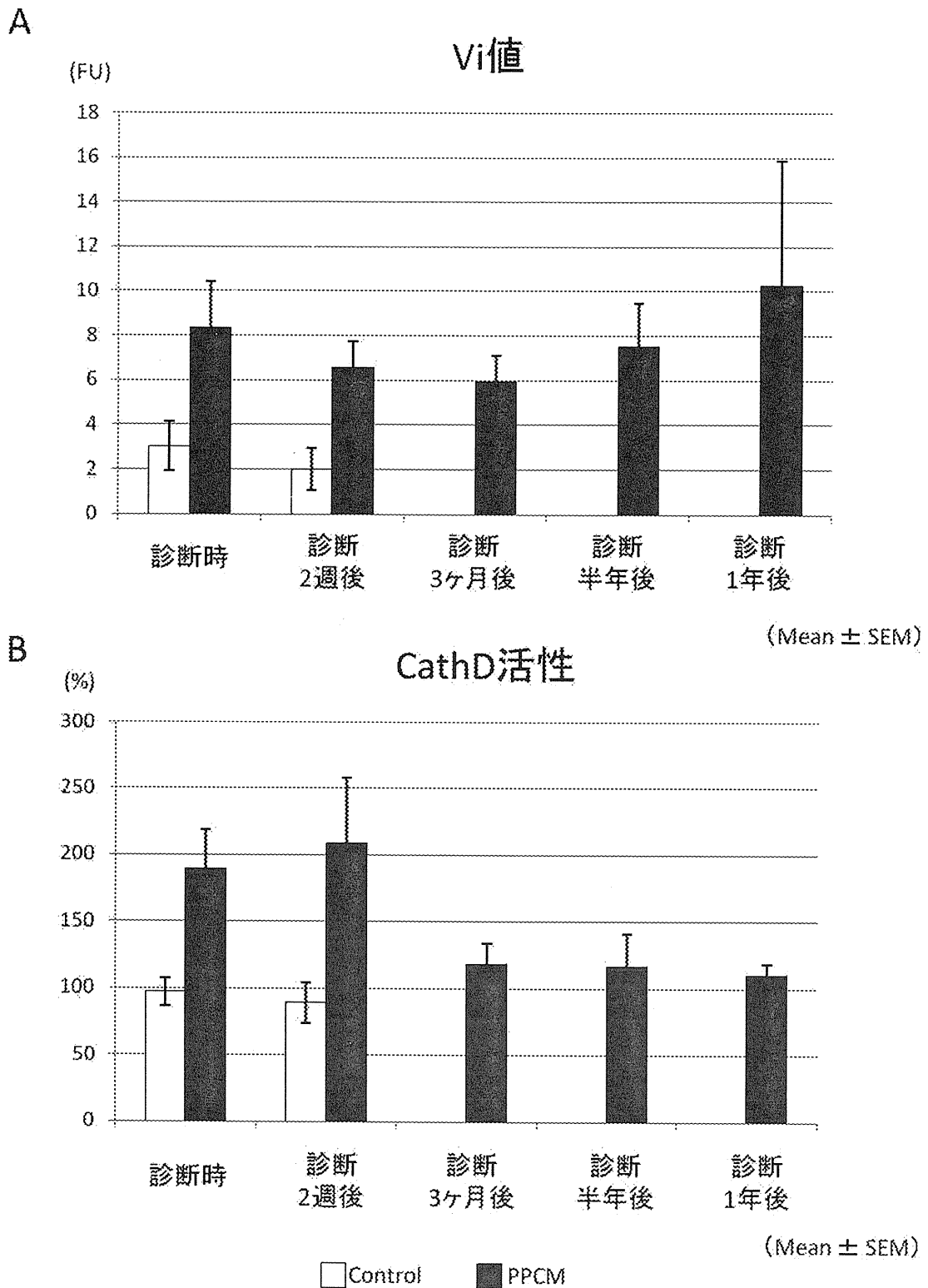


Figure.1-4 PPCMにおける
診断1年後までのVi値、CathD活性平均値

A: Vi測定値平均

(診断時 n = 10、診断2週後 n = 9、診断3ヶ月後 n = 6、診断半年後 n = 4、診断1年後 n = 2)

B: CathD活性平均

(診断2週後 n = 8、他の時期はAと同数)

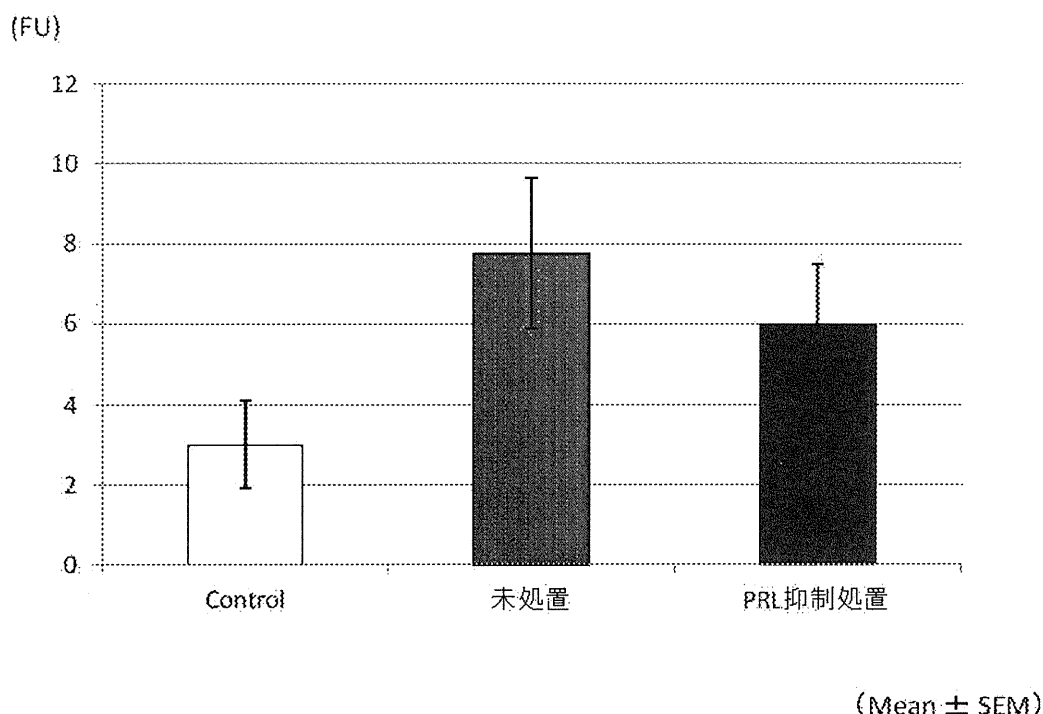


Figure.1-5 PRL抑制処置の有無によるVi値の変化

Control: 健常妊娠出産1ヶ月後

未処置: PRL抑制処置なしPPCM診断2週後(出産1ヶ月後)

PRL抑制処置: PRL抑制処置をしたPPCM診断2週後(出産1ヶ月後)

Control: n = 12、未処置: n = 3、PRL抑制処置: n = 6

Control		n	11kDa	14kDa	16kDa	18kDa
	出産前	12	0%	41.7%	33.3%	8.3%
	出産直後	12	0%	25.0%	58.3%	16.7%
	出産1ヶ月後	12	0%	25.0%	41.7%	8.3%

PIH		n	11kDa	14kDa	16kDa	18kDa
	出産前	9	0%	22.2%	55.6%	0%
	出産直後	9	0%	22.2%	66.7%	0%
	出産1ヶ月後	9	0%	22.2%	77.8%	0%

PPCM		n	11kDa	14kDa	16kDa	18kDa
	診断時	10	0%	10.0%	100%	0%
	診断2週後	9	22.2%	0%	100%	0%
	診断3ヶ月後	6	0%	16.7%	100%	0%
	診断半年後	4	25.0%	0%	100%	0%
診断1年後	2	0%	0%	100%	0%	

Figure.1-6 検出されたViの分子量と、検出された検体の割合

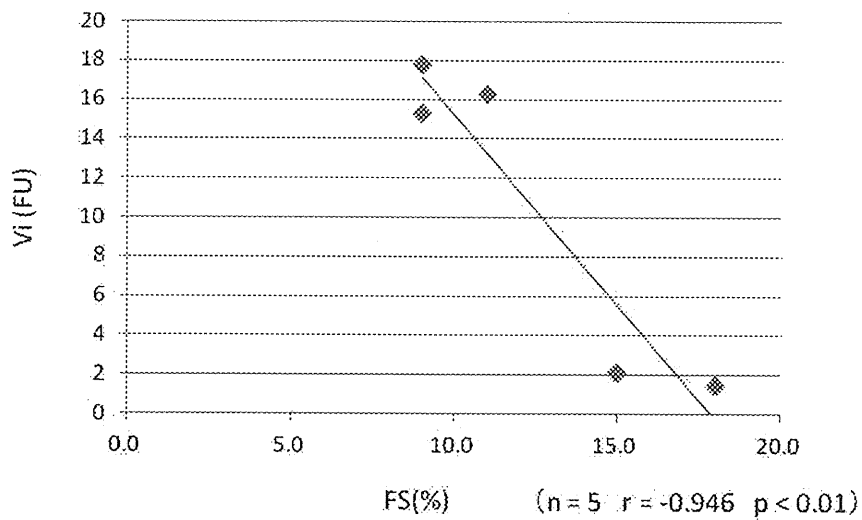
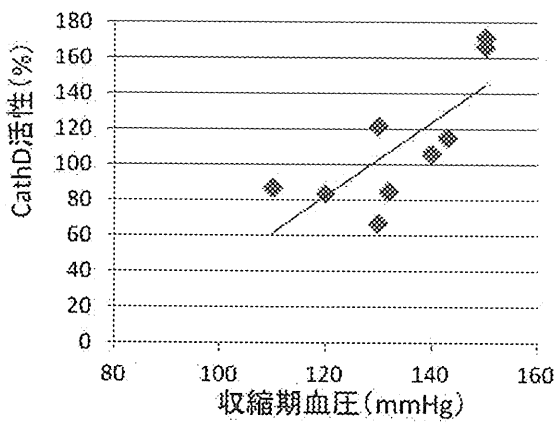


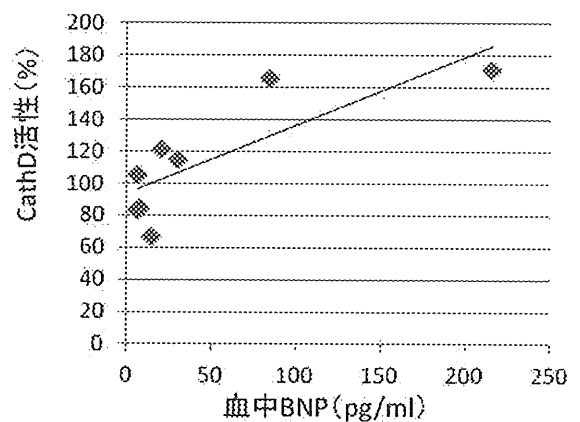
Figure.1-7 PPCM診断時におけるViとFSの相関

A



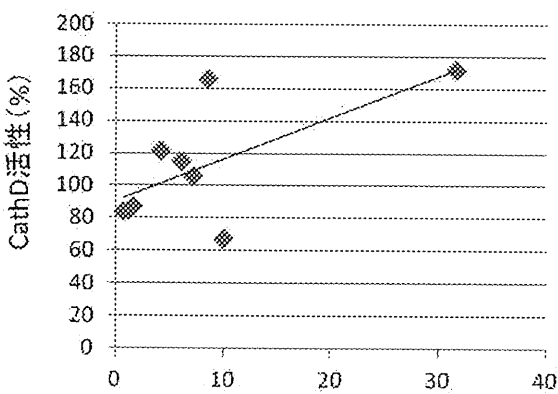
($n=9$ $r=0.763$ $p<0.05$)

B



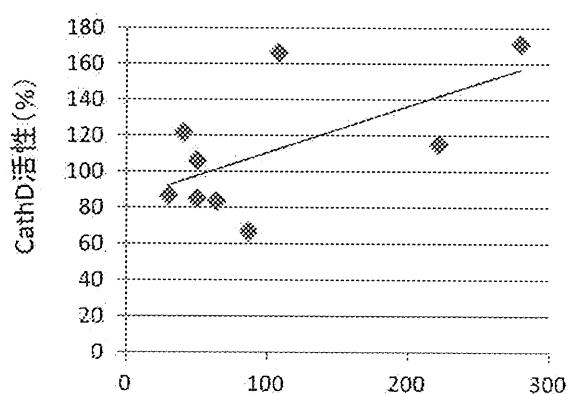
($n=7$ $r=0.813$ $p<0.01$)

C



($n=9$ $r=0.666$ $p<0.05$)

D



($n=9$ $r=0.621$ $p<0.10$)

Figure.1-8 PIH出産前におけるCathD活性との相関

A: 収縮期血圧 B: 血中BNP C: 新鮮尿中A D: 新鮮尿中NA

E. 考察

Vi について

Control と比べて PPCM では有意に Vi 値が高く、PIH においても有意ではないが Control よりも高い傾向を示した。このことから、既に海外での報告があるように、日本においても PPCM および PIH において Vi が関与している可能性が示された。

Vi の分子量に着目すると、Control においてはおよそ 14kDa の Vi において Vi 値が高く、16kDa の Vi は検出されても低い Vi 値を示した。一方 PIH、PPCM において検出された Vi は 16kDa が大半を占め、14kDa の Vi が検出され例は少数であった。14kDa の Vi が検出された Control では心不全を発症することなく正常な出産を終えている。よって、16kDa の Vi は心臓において局所的に産生されたと考えられる。Vi が心臓ではない器官で産生され、血流に乗り心臓へ至ることによって心不全を発症すると仮定すると、Control において 14kDa の Vi が検出されたにも関わらず心不全を発症していないことに矛盾が生じる。そのため、PPCM において検出された Vi は心臓で産生され、その一部が体循環へと乗り検出に至ったと推察する。

PPCM では、心エコーで心機能の改善が確認された半年後、1 年後の検体においても Vi 値は減少しておらず、同様に出産によって症状が回復する PIH においても出産 1 ヶ月後に高い値を示した。ここから妊娠、出産によって Vi が増加したのではなく、これらの女性では非妊娠状態にお

いても Vi が高いと推測される。本研究において PPCM と診断された妊産婦は初産が 5 例 (56%)、出産歴 3 回以上が 3 例 (33%) であった。これと同様に神谷らの報告によると、日本国内の PPCM のうち 58% が初産婦である。対して、海外における報告では 71% が 3 回以上の妊娠で初産は 8% であった。この報告は米国内での調査であるため日本とは人種による差があると考えられ、また当時の PPCM の認知度の低さも関係していると考えられる。加えて、PPCM は発症後に再び妊娠すると発症率が大きく上がることから、それまでの妊娠では現れなかった心不全が、妊娠出産を重ねることで悪化し顕在化したのかもしれない。そのため初産時に PPCM が発症していたが、当時の医療機関に見逃されていた可能性を考慮すべきである。以上から、恒常的に Vi が高い者が妊娠、出産を契機に PPCM を発症する可能性が示唆された。この仮説を裏付けるためには、発症時点から原因を究明するだけでなく、発症前からの Vi 値測定が望まれる。

CathD 活性について

CathD 活性は PIH、PPCM とともに Control よりも高い傾向を示した。出産前のみならず、出産後においても PIH、PPCM では高い値を示したことから、妊娠負荷により CathD が増加したのではなく、Vi と同様に非妊娠状態でも CathD 活性が高い女性が PIH、PPCM を発症する可能性が考えられる。本研究では血中の CathD 活性を測定したが、CathD は酸性条件下で PRL を切断

するため、血中において PRL が切断されることはなく、心臓や胎盤において産生された Vi が局所的に作用し疾病発症に至ると考えられる。CathD はヒト PRL を 16kDa に切断することから、本研究の PIH、PPCM において検出された主な Vi が CathD により産生された可能性は極めて高い。

相関関係について

PIH 出産前の、CathD 活性と測定因子の間に相関関係が見られた。一方で PIH の出産後、出産 1 ヶ月後では相関が見られなかった。PIH では出産によって症状が改善することから、CathD が胎盤で産生される可能性も考えられる。しかし、出産後も CathD 活性の増加が見られたことから、胎盤に限らず、CathD が多く産出される女性が PIH を発症するのかもしれない。

PPCM 診断時において、Vi 値と FS (左室内径短縮率) が負の相関関係にあった。この結果は、Vi が心機能障害に関与している可能性を裏付けるものとなった。PPCM 発症患者は診断後に治療を受けるためか、診断 2 週間後には Vi 値が高いままであるにもかかわらず、FS との相関を示さなかった。本研究での PPCM 症例は検体の収集および検査が完了していない症例があるため、相関関係を論ずるに至らない面があったことは否定出来ない。加えて、Vi 測定値は症例によって差が大きく、相関が見出しづらかった可能性もある。現在の Vi 測定方法は作業過程が多く、同一サンプルでも Vi 値に誤差が生じてしまう。同

様の理由で、本研究において Vi 測定値と CathD 活性の間に相関関係を見出すことが出来なかったと考えられる。

今後の課題

先に述べたように Vi 測定の問題点は、測定値の誤差が多いことにある。免疫沈降を行う過程や、検出器に掛ける段階で誤差が生じていると考えられ、操作や使用している試薬の見直しが必要である。また、CathD 活性測定においても、現在の方法では血中に CathD の活性を阻害する物質が含まれるため、この活性値は直接 CathD 量を表していない。しかし、診断の指標とすることを考慮すると、見かけ上の血中 CathD 活性を示す現行の方法が簡便で良いのかもしれない。

加えて、Vi、CathD を標準的な単位で表す必要があるだろう。Vi は現在用いている基準値の FU から、血中濃度 (ng/ml) を算出することが望ましい。当研究室で所有している組換え体の Vi を用いて検量線を作成することで、濃度の算出が可能となるだろう。

Vi、CathD はリスクファクターとなりうるか

リスク基準設定においては、PPCM にて PRL 抑制処置により 16kDa の Vi 値が 8 FU から 6 FU に減少し、症状の改善が起きたことを考慮すべきであろう。以上から、採血時期に関わらず、血中に 16kDa の Vi が 6 (FU)、CathD 活性が 190 (%) 存在すると PPCM を発症する可能性が高まると結論づける。

F.発表

抄録

妊娠高血圧症候群および周産期心筋症患者血中におけるバソインヒビン、カテプシンDの検出
中嶋亮順、廣田飛鳥、鈴木美香、大田千景、神谷千津子、池田智明、石田充代、針谷敏夫 171-172
2012 日本妊娠高血圧学会雑誌

学会発表

1. Involvement of 16kDa prolactin on spermatogenic cell apoptosis in mice with experimental cryptorchid Y. Yanagisawa, M. Shimada, K. Sobue, M. Ishida, T. Harigaya The Endocrine Society's 92th Annual Meeting 2011年6月4-7日(ボストン)
 2. Analysis of cleaved prolactin in heart and cardiomyocyte R. Nakajima, H. Nakamura, K. Yanagiya, M. Suzuki, M. Ishida, T. Harigaya The Endocrine Society's 92th Annual Meeting 2011年6月4-7日(ボストン)
 3. The effect of cleaved prolactin on involution of the mouse mammary gland M. Maehara, M. Suzuki, M. Ishida, T. Harigaya The Endocrine Society's 92th Annual Meeting 2011年6月4-7日(ボストン)
 4. 妊娠高血圧症候群および周産期心筋症患者
- G.知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

血中におけるバソインヒビン、カテプシンDの検出 中嶋亮順、廣田飛鳥、鈴木美香、大田千景、神谷千津子、池田智明、石田充代、針谷敏夫 下垂体研究会 2011年8月25-27(岡山)

5. 心筋細胞における切断プロラクチン及びプロラクチンレセプターの解析 廣田飛鳥、中嶋亮順、石田充代、針谷敏夫 下垂体研究会 2011年8月25-27(岡山)
6. マウス乳腺における切断プロラクチンの機能解析 渡辺つかさ、吉田考宏、平井倫太郎、前原みどり、石田充代、針谷敏夫 下垂体研究会 2011年8月25-27(岡山)
7. 妊娠高血圧症候群および周産期心筋症患者血中におけるバソインヒビン、カテプシンDの検出 中嶋亮順、廣田飛鳥、鈴木美香、大田千景、神谷千津子、池田智明、石田充代、針谷敏夫 日本妊娠高血圧学会 2011年10月21-22日(金沢)
8. 腸管上皮における受容体タンパク質 RAGE の発現解析 松本朋大、小暮優太、石田充代、針谷敏夫、早瀬文孝、渡辺寛人 第34回日本分子生物学会年会 2011年12月13-16日(横浜)
9. S100A12 タンパク質は腸管上皮細胞において RAGE 依存的な細胞死を抑制する 松本朋大、小暮優太、石田充代、針谷敏夫、早瀬文孝、渡辺寛人 日本農芸化学会 2012年度大会 3月22-26日(京都) 発表予定

1. 特許取得

「該当なし」

2. 実用新案登録

「該当なし」

3. その他

研究協力者 中嶋亮順、廣田飛鳥

妊娠・授乳期間における内因性ANP・BNPの心保護作用に関する研究

研究分担者 大谷 健太郎 国立循環器病研究センター研究所

研究要旨

妊娠・授乳期間における内因性ナトリウム利尿ペプチド(心房性【ANP】及び脳性【BNP】)の生理的役割の解明を目的として、ANP・BNPの共通受容体であるguanylyl cyclase-A(GC-A)の遺伝子欠損(GC-A-KO)マウスの妊娠・授乳期間における心血管フェノタイプの解析を行った。GC-A-KOマウスでは授乳期間終了時に線維化を伴う著明な心肥大及び肺重量の増加を認めた。野生型マウスでは出産・授乳後においても心機能は保持されていたのに対して、GC-A-KOマウスでは有意な左室壁厚及び左室径の増大、心収縮力の低下が認められた。出産直後に胎児を隔離し、授乳させなくすることでGC-A-KOにおける産褥期の心肥大は有意に抑制された。これらの結果より、内因性ANP及びBNPは産褥期、特に授乳期間において心保護的に作用している可能性が示唆された。

A. 研究目的

妊娠に伴い、血液量(血漿量)の増大や心拍数の増加など、女性の体内では血行動態に様々な変化が生じる。妊娠中に増大した血漿及び血中ナトリウムは出産後徐々に排出されることが知られており、そこにはナトリウム利尿ペプチドが関与していると従来から考えられている。また、妊娠高血圧症候群や子癩前症患者では、血中のナトリウム利尿ペプチド濃度が高値を呈することが報告されており、周産期疾患とナトリウム利尿ペプチドとの関連が近年注目を浴びている。しかし、産褥期及び周産期疾患におけるANP・BNP/GC-Aシステムの生理的及び病態生理的意義については未だ不明である。

心房性(ANP)及び脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)は共通の受容体 guanylyl-cyclase-A (GC-A)を介して、血圧低下や利尿・ナトリウム利尿、血管拡張等の生理作用を発揮する。GC-A遺伝子を欠損したマウス(GC-A-KOマウス)では高血圧及び線維化を伴う心肥大を呈することが知られている。また、GC-A-KOマウスにおける心肥大は血圧非依存的な変化であることも報告されている。

近年、ANPのプロセッシング酵素であるCorinの遺伝子欠損(Corin-KO)マウスが妊娠中に顕著な血圧上昇を呈することが報告された(*PNAS* 2005)。しかし、GC-A-KOマウスが妊娠及び授乳によりどのような表現型を呈するかは未だ明らかではない。本研究の目的は、妊娠・授乳期間におけるGC-A-KOマウスの心血管系フェノタイプ変化を調べることにより、内因性ANP・BNPの妊娠・授乳期間における生理的意義について検討することである。

B. 研究方法

10週齢の雌性野生型(WT)及びGC-A-KOマウスを対象とした。

1. 妊娠中の血圧の経時的測定

雌性WT及びGC-A-KOマウスを雄性マウスと同じ飼育箱に入れて交配させ、翌朝膣栓の有無で妊娠の確認を行った。妊娠前、妊娠4.5日、7.5～8.5日、11.5日、14.5～15.5日、18.5日及び出産後1～2日における血圧・心拍数を非観血的的手法により測定した(ソフトロン社、BP-98A)。

2. 妊娠・出産・授乳期における心血管系変化

妊娠前、妊娠後期(18.5日目)・出産直後(1～2日)、4週間の授乳期間終了時において母親マウスの心重量及び肺重量の計測を行った。妊娠中は母体の体重は劇的に変化するため、心重量及び肺重量の標準化は体重ではなく、脛骨長を用いて行った。

3. 産褥期における母体心機能の評価

産褥期の母体心機能は経胸壁心エコー図法 (Vevo770, Visualsonics社)により評価した。

4. 母体の心血管系に対する授乳の影響

母体の心血管系に対する授乳の影響を調べるために、出産直後に胎児を隔離した母親マウスを準備した。4週間(授乳期間と同期間)後に心重量及び肺重量の測定を行った。

(倫理面への配慮)

実験動物に対する倫理的配慮として、動物実験は国立循環器病研究センターの動物実験指針を遵守し施行した。

C. 研究結果

1. 妊娠中の血圧の経時変化

妊娠前の時点において、雌性GC-A-KOマウスの血圧は雌性WTマウスよりも有意に高値であった。しかし、Corin-KOマウスと異なり、GC-A-KOマウスでは妊娠中に有意な血圧上昇は認められなかった(図1)。

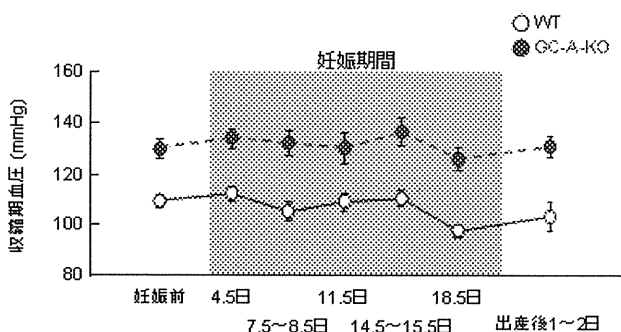


図1. 妊娠中及び出産直後の血圧の経時変化

WT及びGC-A-KOマウスのいずれにおいても、妊娠期間中及び出産直後に心拍数の有意な変動は認められなかった(図2)。

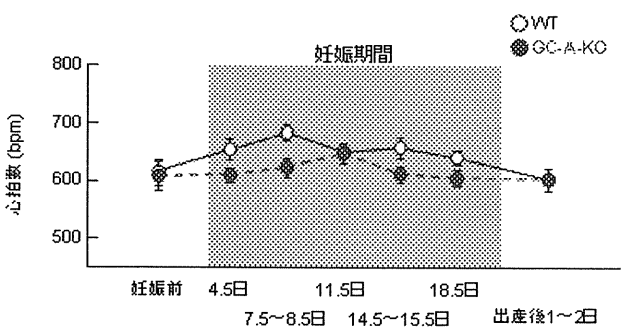


図2. 妊娠中及び出産直後の心拍数の経時変化

2. 妊娠後期及び出産直後における心臓の変化

妊娠前の時点において、GC-A-KOマウスの心臓はWTマウスに比べて有意に大きかった。しかし、WT及びGC-A-KOマウスのいずれにおいても、妊娠後期(18.5日)及び出産直後には心重量はほとんど変化していなかった(図3)。

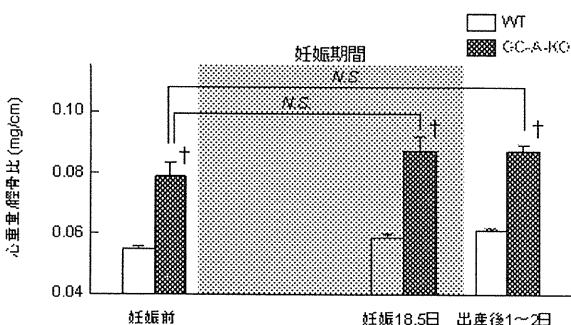


図3. 妊娠後期及び出産直後での心重量の推移

3. 授乳期における心臓の変化

出産・授乳回数を重ねることでWTマウスでも若干の心肥大を認めた。しかしながら、GC-A-KOマウスでは出産・授乳を経験することで著明な心肥大を呈することが明らかになった(図4)。また、GC-A-KOにおいて産褥期に誘発される心肥大は出産・授乳回数を重ねることで有意に増悪した。

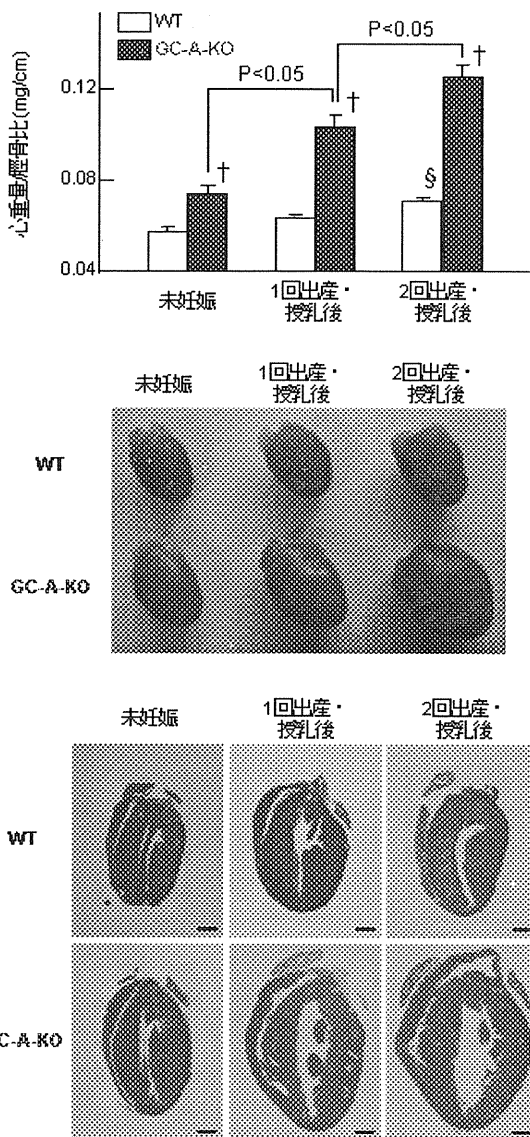


図4. 授乳期終了時における心臓の変化

未妊娠の時点では、WT及びGC-A-KOマウスの間で心線維化面積に有意な差は認められなかった。WTマウスでは、出産・授乳を経ても心線維化面積に有意な変化は認められなかったが、GC-A-KOマウスでは出産・授乳に伴って有意な心線維化の進行が認められた(図5)。