

妊娠経過に伴う子宮頸部蛋白質量 およびアミノ酸濃度の変化

岡山大学医学部産科婦人科学教室(主任：関場 香教授)

佐 藤 勝 美

(昭和55年8月29日受稿)

Key words : 子宮頸熟化, 蛋白質, アミノ酸
collagen, estriol

緒 言

子宮頸部は主として結合組織から構成されており妊娠末期には軟化して伸展性がまして胎児の通過が容易になる。妊娠末期の子宮頸部では、組織学的には collagen 線維の離開と細網線維化そして基質の著明な拡大が認められており、また生化学的には頸部の collagen 量の減少、頸部水分量の増加および glycosaminoglicans の増加が知られている。たとえば、Danforth et al¹⁾ は分娩時のヒト子宮頸部で collagen の減少と glycosaminoglicans の増加を認めさらに基質内の非 collagen 性蛋白の増加を推測し、平川²⁾ はヒト軟化頸部で中性塩可溶性蛋白の増量することを見出し、組織中の蛋白の可溶化が伸展性の増加と重要な関連をもつと推測している。しかしこれらはいづれもヒト頸管を材料にしているため、主として非妊娠時と分娩前後に限られており、妊娠経過に伴う変化あるいは頸部伸展性との関連において検討した報告は見当たらない。畝木³⁾ によるとラットでは、頸部伸展性の変化は妊娠13日目頃より現われ、妊娠経過と共に急速に増加し分娩直後に最大値に達するという。そこで著者はこの伸展性の変化に頸部蛋白質の変化、collagen 量の変化あるいは頸部アミノ酸組成比の変化が如何なる関連を有するかを明らかにする目的で、妊娠各時期のラット子宮頸部について検討したので報告する。また子宮頸部を柔軟化し伸展性を増すといわれる estriol を妊娠15日目ラットに投与し、その変化についても検討した。

実験方法

実験には全て体重150~180gのWistar系virgin ratを用いた。照明を7時から21時迄14時間とし、十分な水と固型飼料(オリエンタル酵母工業KK)給与の下に飼育し実験に供した。妊娠日数は、estrusの膣分泌物中に精子を認めた日を妊娠零日、翌日を妊娠1日目とした。エーテル麻酔下に開復し膣・子宮をひとまとめに摘出した後すばやく子宮頸部を切断し(図1)頸

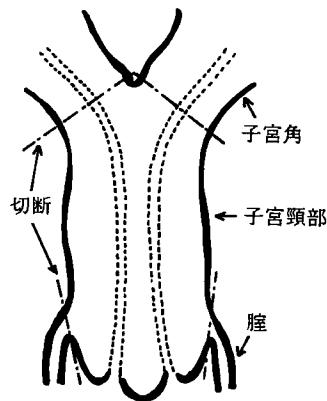


図1 ラット子宮頸部の切断部位

管を開きガラス片にて内膜及び粘液を擦過除去したものを実験材料とした。使用薬剤の estriol は 1 mg/kg を背部皮下に注射した。

a) 子宮頸部蛋白質量

摘出した組織は湿重量を測定後、2 ml の冷水を加えてガラス製ホモジナイザーを用い水中で磨碎し、蛋白質量を Biuret 法⁴⁾ で測定した。懸濁

は15,000 r.p.m.15分間冷却遠沈除去し、その上澄を日立124型 Spectro-photometer で550 m μ 比色定量した。また磨砕した試料に1N NaOHを加え溶解した後測定したものを総蛋白量とした。

b) 中性塩可溶性蛋白量

組織を細切後、アセトンで数回脱水ついでメタノール・クロロホルム混合液(1:1)で数回脱脂し冷アセトン中で水冷下ガラス製ホモジナイザーで磨砕し次いで五酸化燐を入れた減圧デシケーターで20時間乾燥脱水し重量を測定した。この脱脂乾燥した組織に0.45M NaClを含む0.1M phosphate buffer (pH 7.0)を加えて膨潤させその懸濁液を4℃24時間振盪した後13,500r.p.m.30分間超遠沈した。得られた上澄を水で24時間透析後、一定量をLowry変法⁵⁾で定量した。

尚蛋白質の電気泳動は、Davis⁶⁾のディスク電気泳動法で行った。7%ポリアクリルアミドを泳動ゲルとし、pH 8.7~9.0、1検体につき2mA 通電、1~1.5時間電気泳動を行った。染色はアミドブラック10Bで約20分間行い、10%酢酸で脱色した。

c) 全アミノ酸組織

摘出した組織をアセトン・ドライアイスで急速凍結後、Hirs et al⁷⁾の方法を一部改変して調整した。すなわち凍結乾燥した約5mgの試料を再蒸留した6N HCl 1mlと共に加水分解用試験管に入れ、真空ポンプで脱気後110℃ \pm 1℃、22時間加水分解した。次いで45℃以下に温度調節されたロータリーエバポレーターで略乾固するまで減圧濃縮し、pH 2.2、3mlに定容、その一部を日本電子製JLC-6AH型全自動アミノ酸分析計にかけて測定した。

d) 遊離アミノ酸組成

遊離アミノ酸抽出液の調整は Tallan et al.⁸⁾

の方法に従った。すなわち摘出した組織をただちに重量測定、除蛋白のため10~15倍量の冷1%ピクリン酸液の中に入れ水冷下ガラス製ホモジナイザーで磨砕した。沈澱物は12,000r.p.m.15分間冷却遠沈除去した。上澄液中の過剰のピクリン酸をDowex 2 \times 8の樹脂で吸着除去後、樹脂を0.01N HClで5回洗滌しアミノ酸の紛失を少くした。これら流出液を45℃以下に温度調節されたロータリーエバポレーターでほぼ乾固するまで減圧濃縮し、次いで水1mlによく溶かした後1N LiOHでpH 7~8に合わせ室温で4時間放置した。1N HClでpH 2.2に合わせた後3mlに定容、その一部を全自動アミノ酸分析計にかけて測定した。

実験結果

I. 子宮頸部蛋白量の変化

a. 水可溶性蛋白量の変化

子宮頸部の湿重量は妊娠経過と共に増加するが、頸部の水可溶性蛋白量(湿重量当り)は表1、図2に示す如くであり非妊時138.7 \pm 10.3 μ g/mg.w.wt.から妊娠3日目151.8 \pm 9.2 μ g/mg.w.wt.と一時増加したのちは妊娠経過と共に徐々に減少し、妊娠20日目には102.7 \pm 6.1 μ g/mg.w.wt.と非妊時に比し有意(p < 0.01, t検定)に減少する。

他方頸部水分量は非妊時82.1%、妊娠12日目83.3%、18日目84.6%、20日目84.4%と軽度に増加するのでこの結果から換算すると、子宮頸部の水可溶性蛋白量は乾燥重量当りでも、非妊時は乾燥組織成分の77.5%、妊娠12日目76.3%、18日目70.8%そして20日目67.5%であり、やはり軽度に減少傾向を認める。組織を磨砕し1N NaOHに溶解後測定した頸部の総蛋白量は、非妊時168.3 μ g/mg.w.wt. (n=6)、妊娠9日目162.9 μ g/

表1 ラット子宮頸部における湿重量および水可溶性蛋白量の変化

	非妊	妊娠 3日目	6日目	9日目	12日目	14日目	15日目	16日目	18日目	20日目	産褥 1日目	産褥 3日目
例数	29	7	6	6	9	14	6	12	14	11	7	5
湿重量 (mg)	54.8 \pm 17.9	38.1 \pm 10.4	36.5 \pm 10.4	38.8 \pm 6.9	64.6 \pm 6.1	93.7 \pm 21.5	104.8 \pm 11.6	111.9 \pm 15.2	142.5 \pm 24.5	148.9 \pm 15.7	156.9 \pm 15.7	100.6 \pm 18.8
水可溶性蛋白量 (μ g/mg. w.wt.)	138.7 \pm 10.3	151.8 \pm 9.2	135.6 \pm 9.5	132.3 \pm 6.4	127.6 \pm 13.7	122.5 \pm 7.0	120.8 \pm 6.1	119.1 \pm 11.0	108.8 \pm 10.4	102.7 \pm 6.1	105.5 \pm 2.5	135.2 \pm 12.9

(mean \pm S.D.)

mg.w.wt. (n=5), 12日目155.4 μ g/mg.w.wt. (n=5), 15日目139.6 μ g/mg.w.wt. (n=5), 18日目127.2 μ g/mg.w.wt. (n=8) そして20日目128.5 μ g/mg.w.wt. (n=6)と上記の水可溶性蛋白質量と類似の経過で変化した。(図3)

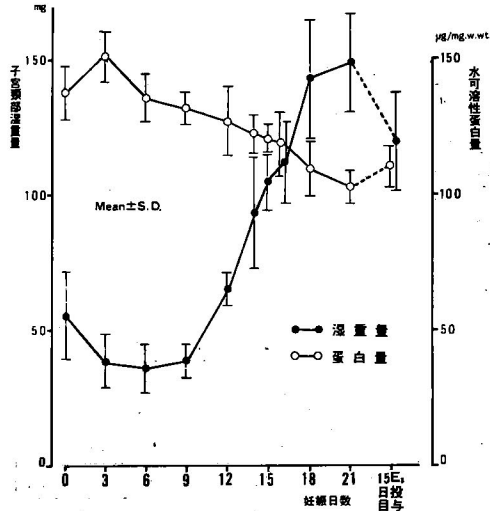


図2 妊娠ラット子宮頸部に於ける湿重量および水可溶性蛋白質量の変化

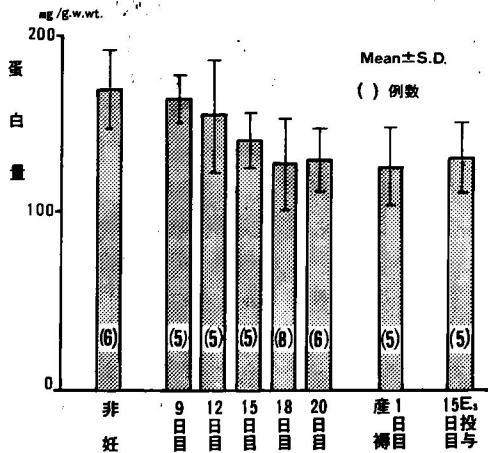


図3 妊娠ラット子宮頸部に於ける1N NaOH可溶性蛋白質量の変化

子宮頸部の熟化を促進するといわれる estriol を妊娠15日目ラットに投与したところ、投与6時間後に頸部水可溶性蛋白質量は減少して110.4 μ g/mg.w.wt.となり、1N NaOHに溶解後測定した頸部総蛋白質量も130.0 μ g/mg.w.wt.(n=5)

と対照群に比して減少を認めた。

b. 中性塩可溶性蛋白質量について

平川²⁾によると分娩前後のヒト軟化頸部で中性塩(0.45M NaCl)可溶性蛋白質量が著増するという。そこで著者はラット子宮頸部の中性塩可

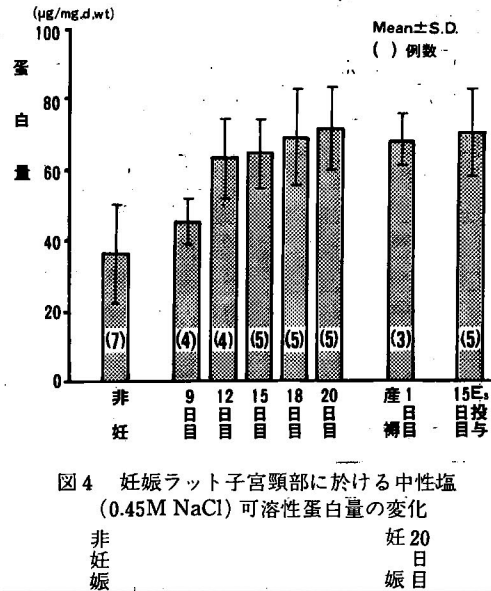


図4 妊娠ラット子宮頸部に於ける中性塩(0.45M NaCl)可溶性蛋白質量の変化

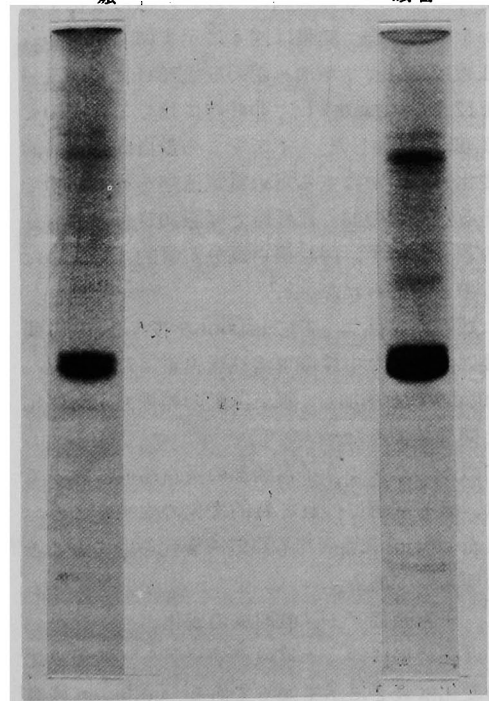


図5 中性塩(0.45M NaCl)可溶性蛋白質の電気泳動写真

表2 妊娠ラット子宮頸部に於ける全アミノ酸組成比の変化

Residues/1000 Residues

	非妊	妊娠9日目	12日目	16日目	18日目	20日目	15日目E ₃ 投与
Aspartic acid	72.5 ± 2.6	69.3 ± 2.3	73.5 ± 3.4	74.3 ± 1.0	76.9 ± 2.3	74.2 ± 1.9	73.9 ± 1.4
Threonine	39.4 ± 2.7	37.3 ± 1.7	41.1 ± 2.8	43.4 ± 1.2	44.8 ± 1.9	40.5 ± 1.1	45.4 ± 2.0
Serine	57.0 ± 4.1	56.6 ± 1.3	60.4 ± 2.1	59.5 ± 1.0	58.3 ± 2.3	55.7 ± 3.0	59.3 ± 2.2
Glutamic acid	108.5 ± 5.0	113.3 ± 4.8	112.9 ± 0.9	113.9 ± 5.6	114.8 ± 4.3	111.9 ± 5.0	110.7 ± 1.7
Proline	84.2 ± 7.6	84.8 ± 5.2	80.6 ± 1.9	79.7 ± 1.7	79.4 ± 4.3	70.3 ± 4.7	77.2 ± 7.2
Hydroxyproline	68.0 ± 18.1	61.0 ± 4.4	44.9 ± 2.8	45.0 ± 8.4	42.6 ± 8.6	47.3 ± 9.3	47.6 ± 5.3
Glycine	188.8 ± 11.9	197.9 ± 14.3	194.4 ± 14.0	176.7 ± 3.8	171.1 ± 9.8	181.0 ± 4.7	176.7 ± 4.2
Alanine	87.6 ± 7.4	94.3 ± 3.0	99.7 ± 4.8	94.3 ± 2.0	95.1 ± 3.8	93.0 ± 1.6	92.9 ± 1.4
Valine	39.5 ± 4.1	39.1 ± 1.2	40.3 ± 0.5	41.5 ± 1.9	42.5 ± 2.2	66.0 ± 3.3	41.9 ± 1.2
Half cystine	6.2 ± 0.8	6.3 ± 1.1	7.6 ± 1.9	8.7 ± 2.1	6.3 ± 1.9	8.3 ± 3.3	6.2 ± 0.6
Methionine	15.0 ± 1.3	13.4 ± 1.1	13.7 ± 1.9	15.2 ± 0.6	15.6 ± 1.2	14.4 ± 0.8	16.8 ± 1.6
Isoleucine	27.8 ± 3.3	26.6 ± 0.7	27.5 ± 0.6	29.6 ± 0.4	30.9 ± 1.4	28.4 ± 1.7	29.8 ± 0.6
Leucine	57.4 ± 4.3	54.3 ± 1.6	57.3 ± 0.7	61.4 ± 1.1	64.8 ± 2.0	57.9 ± 2.2	62.6 ± 3.1
Tyrosine	17.4 ± 2.6	17.1 ± 1.4	16.1 ± 1.8	18.6 ± 1.6	18.7 ± 1.9	18.6 ± 1.7	15.9 ± 2.5
Phenylalanine	26.0 ± 2.0	23.0 ± 1.2	25.2 ± 0.3	26.1 ± 1.3	30.0 ± 1.1	25.8 ± 0.8	30.2 ± 1.4
Lysine	46.4 ± 3.8	45.2 ± 1.1	45.5 ± 3.4	50.2 ± 2.6	48.2 ± 2.5	47.2 ± 1.2	49.7 ± 2.6
Histidine	11.0 ± 0.8	12.1 ± 0.5	11.8 ± 0.5	15.4 ± 1.0	14.5 ± 0.8	13.3 ± 0.8	15.6 ± 1.1
Arginine	47.3 ± 3.6	48.5 ± 1.7	47.5 ± 0.8	46.4 ± 3.4	45.5 ± 2.4	46.2 ± 2.4	47.6 ± 2.2

(Mean ± S.D)

溶性蛋白が、妊娠経過につれどの様に変化するかを検討した。結果は図4に示す如くであり、妊娠12日目より増加を認め妊娠20日目には71.9 ± 12.0 μg/mg.d.wt. と非妊時に比して有意(p < 0.05)に増加した。そこでこの蛋白成分の質的変化を明らかにするため電気泳動を行ったのであるが図5の如く非妊時と妊娠20日目とで有意の差を認めず、同じ蛋白成分が量的に増加したものと考えられた。

妊娠15日目ラットに estriol を投与し、6時間後に測定した中性塩可溶性蛋白量は71.0 μg/mg.d.wt. と増加し、電気泳動の結果も上記変化と同様であった。

以上の結果より子宮頸部の蛋白組成においては、妊娠経過につれて質的変化の生ずること、また estriol によっても類似の変化を生ずることは明らかである。

II. 子宮頸部アミノ酸組成の変化

妊娠経過に伴う子宮頸部の全アミノ酸組成比の変化は表2に示す如くである。collagen 構成アミノ酸についてみると、collagen 特有のアミ

ノ酸である Hydroxyproline は妊娠によって減少し、妊娠20日目には非妊時の69.5%にまで減少する。他方 collagen の約1/3を構成する Glycine あるいは collagen の約1/10をしめる Glutamic acid の妊娠経過に伴う変化は少く、Alanine は非妊時に比して増加の傾向を認める。これらのことから妊娠末期において collagen は減少するが、何らかの非 collagen 性蛋白の増加することが推測される。

これまで子宮頸部の遊離アミノ酸についての報告はまったく見あたらない。これは結合組織中の遊離アミノ酸の量が少ないため見過されてきたものと考えられるが、今回ラット子宮頸部について検討するとその組成比の変化は図6に示す如くである。妊娠20日目の子宮頸部 (n = 5) においては非妊時の頸部 (n = 6) と異なり Glutamic acid (Glutamine を含む) の増加と Glycine の減少が認められ、また Proline が出現する。遊離の Proline は妊娠12日目15.3 Residues/1,000 Residues, 16日目12.8, 18日目15.6, 20日目12.9と変化し、Hydroxypro-

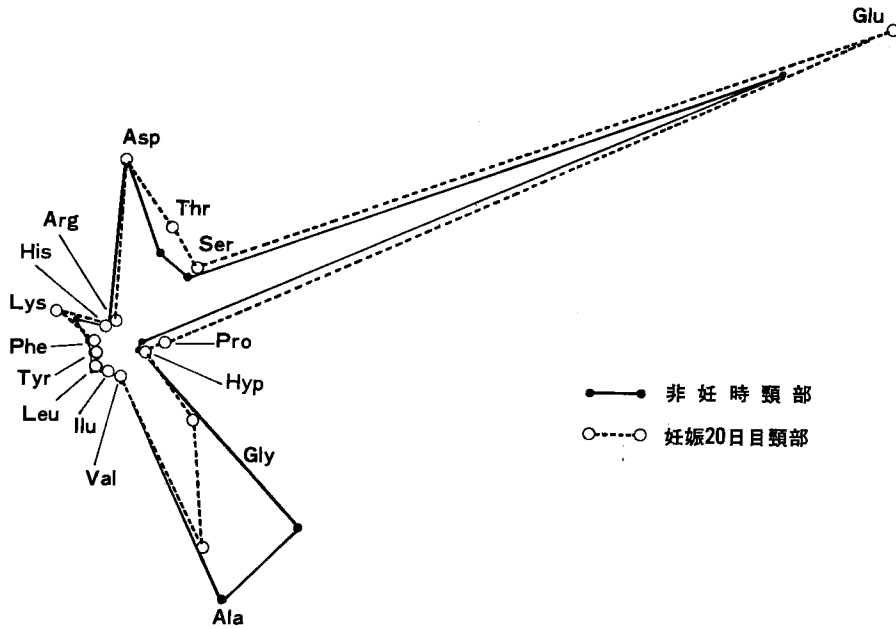


図6 ラット子宮頸部に於ける遊離アミノ酸組成の変化

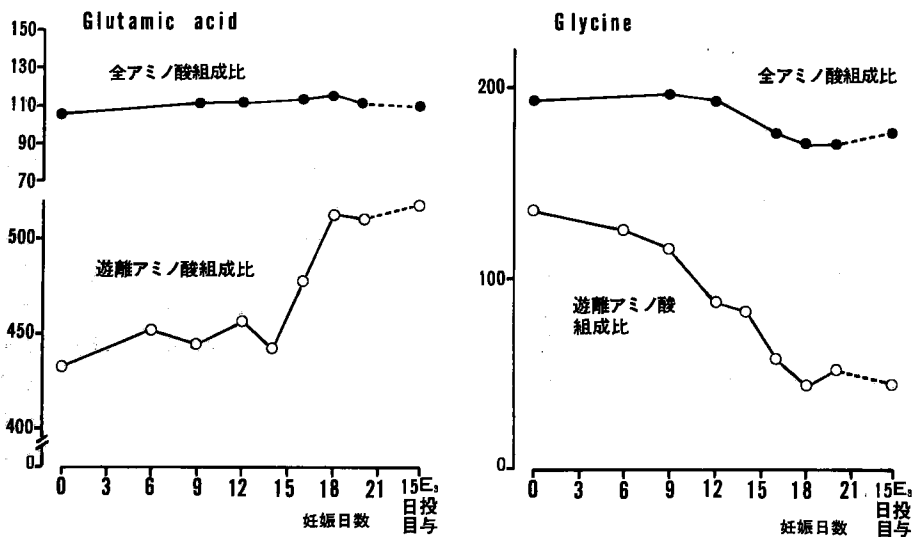


図7 妊娠ラット子宮頸部に於ける Glutamic acid および Glycine の組成比の変化

line もごく少量ではあるが類似の変化を示した。遊離の Glutamic acid, Glycine の妊娠経過に伴う変化は図7に示す如くであり, Glutamic acid は妊娠12日目より次第に増加し, Glycine は妊娠経過につれ次第に減少する。し

かし両アミノ酸とも全アミノ酸組成成分についての変化は軽度である。

estriol を妊娠15日目ラットに投与したところ, 6時間後の全アミノ酸及び遊離アミノ酸組成比は, ともに妊娠20日目に類似した組成比となった。

考 案

上述の実験結果より子宮頸部は妊娠中一方においては collagen が減少し、他方においては何らかの非 collagen 性蛋白が増加するという蛋白組成に質的な変化を生じ、その変化は妊娠12日目頃より妊娠20日目に至るまで徐々に進行することが明らかである。子宮頸部の固形成分の約90%は結合組織よりなり、その主構成成分は蛋白質であり、とりわけ collagen がその大部分を占めている。従って子宮頸部熟化の機構を解明するには頸部蛋白量、collagen およびそれらを構成するアミノ酸分析の検討は重要である。これまでの子宮頸部についての生化学的検討は、ほとんど非妊時と分娩前後のヒト頸部についてなされたものであり、妊娠経過に伴う変化、伸展性変化との関連についての研究に乏しい。

これまでの研究成績を通覧すると、子宮頸部の単位湿重量当りの蛋白質量について野田⁹⁾は家兔の実験から非妊時、妊娠末期ともにその値は変わらないと報告し、後藤¹⁰⁾は妊娠末期は非妊時に比し約54%減少すると報告しその結果は一定していない。今回著者のラットの実験では、水可溶性蛋白量は妊娠3日目以降徐々に減少し、妊娠20日目には102.7 μ g/mg.w.wt. と非妊時に比し約26%減少する。1 N NaOH に溶解後測定した総蛋白量も、同じ様な経過を示した。

平川²⁾は妊娠末期のヒト軟化頸部における中性塩(0.45M NaCl)可溶性蛋白量が、非妊時の437%に著増することを述べている。著者のラットを用いた実験でも、妊娠12日目より徐々に増加する傾向が認められた。頸部水分量から換算した乾燥重量当り蛋白量が減少するにもかかわらず、このように中性塩可溶性蛋白(脱脂・乾燥重量当り)が増加すること、さらにこれが電気泳動の結果単一の物質の増加によると同定できたことは、頸部蛋白質が妊娠経過につれて質的变化をおこしていることを示すものである。またこの変化の経過は、妊娠初期より12日目まではほぼ一定した値が続きその後急速に増加する伸展性の変化と類似している点興味深い。

つぎに collagen については、Harkness et al.¹¹⁾がラット子宮頸管を用いての実験で妊娠末期に

その濃度が減少すると報告し、それ以後の Buckingham et al.¹²⁾, Bryant et al.¹³⁾ および畝木³⁾等の研究成績もそれと同様の成績を報告している。collagen の構成アミノ酸については、Danforth et al.¹⁴⁾がヒト子宮頸部のアミノ酸分析から Hydroxyproline は分娩直後に非妊時の約64%に減少するが他方 Tyrosine, Phenylalanine が逆に増加する事を認め、この事から分娩直後の頸管では collagen は減少するが非 collagen 蛋白の増加する事を示唆した。Karube et al.¹⁵⁾, 平川¹⁶⁾は collagen 除去後の分析から分娩直後では 8 Murea 可溶性画分の著増、さらにこれが酸性構造糖蛋白であろうと報告している。しかしこれらはいづれも非妊時と分娩前後を比較した実験である。著者がラット子宮頸部の全アミノ酸を分析した結果では、Hydroxyproline の乾燥重量当りの組成比は妊娠12日目より徐々に減少し、20日目には非妊時の69.5%になる。つまり collagen が約30.5%減少する。他方全アミノ酸分析から算出される妊娠期間中の蛋白量の減少率は12.5%となり、前述の総蛋白量の定量から得られた減少率10.0%とはほぼ一致した。この蛋白量の減少と collagen 量の減少との分離は、非 collagen 性蛋白の増量を意味する。

子宮頸部の蛋白特に collagen の減少の原因としては次の様なことが推測される。第一には、collagen 生成の減退である。一般に蛋白質を構成するアミノ酸は、それぞれの遊離のアミノ酸に由来するが collagen に於いては、遊離の Hydroxyproline は collagen 中にはとりこまれず遊離の Proline としてとりこまれた後水酸化され、collagen 中の Hydroxyproline になるとされている¹⁷⁾。今回の遊離アミノ酸分析によると、Proline は妊娠12日目より増加し、更にその前駆物質ともなりうる Glutamic acid は妊娠14日目以降増加する。このことは遊離の Proline の組織内とりこみの減少、したがって Hydroxyproline の生成減少すなわち collagen の生合成が減弱しているものと考えられる。

第二には collagen 蛋白の分解の亢進である。これは collagen 線維生成・分解に関与するといわれる線維芽細胞の著増(吳¹⁸⁾)、肥満細胞の著

減(井上¹⁹⁾)および不安定な状態にある collagen 線維を異物と認識、貧食してしまう大喰細胞の増加等の結果から考えられることである。が、しかし、その分解の量は著者のアミノ酸分析からみて多くはないと考えられる。すなわち遊離アミノ酸の量は全アミノ酸に比して少量であるので、蛋白質の微量の変化でも遊離アミノ酸は大きく変動すると思われる。ところが遊離アミノ酸のうち特に collagen と密接な関係にある Proline および Hydroxyproline の妊娠経過にともなう変化はわずかであり、したがって collagen の急速な分解が起きているとは考えにくいからである。

estriol 投与により妊娠子宮柔軟化が促進されることは、臨床的によく経験されることである。森等²⁰⁾は Strain Gauge を用いた transducer でラット子宮頸部伸展性が増すことを確認し、畝木²¹⁾は水分量の増加と collagen 濃度の減少を認めこのことが伸展性増加と密接な関係があると指摘し、いづれも熟化促進作用を認めている。今回著者の妊娠15日目ラットに 1 mg/kg, 1 回皮下注射した実験では、頸部湿重量及び脱脂・乾燥重量当り中性塩可溶性蛋白質量の増加、湿重量当り水可溶性蛋白質量及び乾燥重量当り蛋白質量の減少、そしてアミノ酸分析に於ける妊娠末期により近似した数値等の結果が得られた。これらの結果は、estriol の子宮頸熟化促進作用に蛋白質の量的・質的面より新たな支持を与えるものである。安藤等²¹⁾はアミノ態窒素量及び ³²P uptake の増加から子宮頸部組織中の蛋白質量の増加を認め、野田⁹⁾も単位重量当り蛋白質量が 1.3 倍に増加したと報告しており今回の実験成績と一致しない。が、彼等の報告とは、estriol の投与量とその日数が異なり、実験動物がモルモット、家兎と異なっている点、さらに去勢後であり妊娠15日目でない点等に起因するものと考えられ、子宮頸熟化作用とは別にして考えなければならぬことと思われる。

以上の様な点より、これら子宮頸部蛋白質量、collagen 量、アミノ酸組成等の妊娠経過に伴う変化は頸部伸展性の変化に先行し近似しているのであるが、伸展性にみられる様な分娩直前の急激な変化はなく、従って今回の検討から得ら

れた頸部蛋白質代謝は、伸展性の変化にひとつの大きな役割を果していると考えられるが、更に他の因子たとえば glycosaminoglycans の変化¹⁾等も加わって総合的な結果として熟化が完成されるものと考えられる。

結 語

妊娠時の子宮頸部熟化機序を解明する目的で、ラットを用い妊娠経過に伴う子宮頸部の蛋白質量、collagen 量の変化およびアミノ酸組成比の変化を検討した。また妊娠15日目ラットに estriol を投与した効果も検討し、これらと伸展性の変化を対比し、次の様な結論を得た。

1. 子宮頸部に於ける蛋白質のうち、水可溶性蛋白質量は妊娠3日目以降徐々に減少し妊娠20日目には非妊時の74.0%となり、また 1N NaOH に溶解後測定した総蛋白質量も同じような経過で減少する。他方、中性塩(0.45 M NaCl)可溶性蛋白質量は妊娠経過と共に次第に増加した。このことは妊娠経過につれて子宮頸部の蛋白質組成に質的变化の生じていることを示すものである。

2. 子宮頸部全アミノ酸分析の結果で、collagen に特有なアミノ酸である Hydroxyproline の組成比が妊娠20日目には非妊時の69.5%に減少するが、collagen の約1/3を構成する Glycine 及び約1/10をしめる Glutamic acid の妊娠経過に伴う変化は少く、Alanine は増加の傾向を認める。このことから妊娠末期には collagen は減少するが非 collagen 性蛋白質の増加することが推測される。

3. 妊娠15日目ラットに estriol を投与すると頸部の水可溶性蛋白質量および総蛋白質量は減少するが、中性塩可溶性蛋白質量は増加し、またアミノ酸分析の結果、collagen の減少も認められ妊娠末期に近い数値が得られた。このことは estriol に子宮頸部熟化促進作用があるとする今までの見解に新たな支持を与えるものである。

4. 子宮頸部蛋白質量、collagen 量およびアミノ酸組成の妊娠経過に伴う変化は、頸部伸展性の変化に類似し、頸部蛋白質代謝と頸部伸展性の変化に密接な関係があると考えられる。

稿を終るに臨み、御指導御校閲を賜りました恩

師関場香教授に深く感謝すると共に、御教示戴きました脳代謝機能生化学教室森昭胤教授ならびに終始御協力を戴きました森巍講師に心から御礼申し上げます。

文 献

1. Danforth, D.N., Veis, A., Breen, M., Weinstein, H.G., Buckingham, J.C., and Manalo, P.: The effect of pregnancy and labor on the human cervix: Changes in collagen, glycoproteins, and glycosaminoglycans. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **120**, 641-649, 1974.
2. 平川 舜: シンポジウム 妊孕現象と子宮頸部 子宮頸部の軟化機序に関する生化学的研究. 日産婦誌, **30**, 885-894, 1978.
3. 畝木克己: 妊娠時子宮頸部熟化に関する研究. 日産婦誌, **29**, 927-934, 1977.
4. Gornall, A.G., Bardawill, C.J., and David, M.M.: Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* **177**, 751-766, 1949.
5. Hartree, E.F., Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *An. Biochem.* **48**, 422-427, 1972.
6. Davis, B.J.: Disc electrophoresis-II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **121**, 404-427, 1964.
7. Hirs, H.W., Stein, W.H., and Moore, S.: The amino acids composition of ribonuclease. *J. Biol. Chem.* **211**, 941-950, 1954.
8. Tallan, H.H., Moore, S., and Stein, W.H.: Studies on the free amino acids and related compounds in the tissues of the cat. *J. Biol. Chem.* **211**, 927-939, 1954.
9. 野田信之: ウサギ子宮筋乳酸脱水素酵素アイソザイムパターンとその妊娠並びに性ホルモン投与による変動. 日産婦誌, **23**, 83-92, 1971.
10. 後藤政明: 子宮筋のDNA, RNA, 蛋白質量の妊娠及び性ホルモンによる変化. 日産婦誌, **30**, 1251-1260, 1978.
11. Harkness, M.L.R., and Harkness, R.D.: Changes in the physical properties of the uterine cervix of the rat during pregnancy. *J. Physiol.* **148**, 524-547, 1959.
12. Buckingham, J.C., Selden, R., and Danforth, D.N.: Connective tissue changes in the cervix during pregnancy and labor. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **97**, 733-742, 1962.
13. Bryant, W.M., Greenwell, J.E. and Weeks, P.M.: Alterations in collagen organization during dilatation of the cervix uteri. *Surg. Gynecol. Obstet.* **126**, 27-39, 1968.
14. Danforth, D.N. and Buckingham, J.C.: The effects of pregnancy and labor on the amino acid composition of the human cervix. In *The Biology of the Cervix*. ed. R. J. Blandau and K. Moghissi, The University of Chicago Press, Chicago and London. pp. 351-355, 1973.
15. Karube, H., Kanke, Y., Mori, Y., Hirakawa, S. and Hayashi, M.: Increase of structural glycoprotein during dilatation of human cervix in pregnancy at term. *Endocrinol. Spn.* **22**, 445-448, 1975.
16. 平川 舜: ヒト子宮頸部ヘキソサミン含有物質に及ぼすエストロールの影響について. 結合組織, **6**, 155-157, 1974.
17. 藤本大三郎: コラーゲンの生合成, "コラーゲン" (野田春彦・永井 裕・藤本大三郎編) 南江堂, 東京, pp.99-116, 1978.
18. 呉 英浩: 子宮頸管熟化に関する研究. 日産婦誌, **22**, 1227-1234, 1970.
19. 井上 久: 妊娠時子宮頸部浮腫に対する頸部 histamine の意義. 日産婦誌, **31**, 239-246, 1979.

20. 森 巍, 畝木克己, 渡辺誠祐: 子宮頸部熟化に及ぼす Estriol の効果. 産婦の実際, **25**, 925—928, 1976.
21. 安藤晴弘, 森脇千秋, 須藤忠満: Estriol, Estradiol および Progesterone による子宮頸部の生化学的および組織学的変化. 産婦の世界, **14**, 1557—1560, 1962.

**Changes of protein contents and amino acid compositions
of the uterine cervix during pregnancy**

Katsumi SATO

Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Medical School,
Okayama

(Director : Prof. K. Sekiba)

In order to elucidate the increase in cervical dilatability and softening towards the end of gestation, the relationship between the changes in the extensibility and proteins, collagen contents and amino acid compositions of the uterine cervix in rats was studied.

1. Water-soluble proteins increased from the beginning of gestation to approximately third day of pregnancy, after then decreased gradually to the 20th day. Changes of total protein which was measured after solved by 1N NaOH was found to be similar to that of water-soluble proteins. On the other hand, 0.45M NaCl-soluble proteins increased gradually during gestation, whereas gel electrophoresis pattern of nonpregnant and 20th day of pregnancy showed the same pattern. This indicates the qualitative changes of cervical proteins during gestation.
2. In the cervix at 20th day of pregnancy, on the amino acid composition, Hydroxyproline values by which collagen was characterized were 69.5% of those in the nonpregnant cervix, whereas upon certain amino acids, Glycine and Glutamic acid, no significant change was observed. This indicates the decline of collagen and the increase of noncollagenous proteins.
3. Estriol caused some decrease in the water-soluble proteins and 1N NaOH-soluble total proteins of cervix of the 15th day pregnant rats, whereas increase in the 0.45M NaCl-soluble proteins, and on amino acid composition similar to that of 20th day pregnant rats. This indicates the stimulating effect of estriol on ripening of the uterine cervix in rats.
4. From these findings changes of proteins, collagen contents and amino acid composition of the uterine cervix in rats is generally similar to the changes of extensibility during gestation, thus it is assumed that the protein metabolism is intimately related with ripening of cervix uteri.