

〔特別掲載〕

(東京女医大誌 第29巻 第1号)
(頁1—6 昭和34年1月)

人胎盤の物質代謝に関する研究

磷各分割及び核酸代謝について

東京女子医科大学産婦人科学教室 (主任 柚木祥三郎教授)

高橋 キミ・吉田 茂子
ツカ ハシ キ ミ・ヨシダ シゲコ

(受付 昭和33年12月12日)

緒言

胎盤が生体を構成する諸臓器の中で、種々の著しい特徴を有していることは広く認められよう。物質代謝の面に限つてみても、この臓器は母体から胎児へ供給される全ての栄養素の通過せねばならぬところであり、同時に胎児より母体へ排泄される代謝産物の経路である。更に上述のごときいわば受動的な作用のみに止まらず、胎児の発育に対して積極的な代謝活動を営んでいることも充分に考えられ、その代謝産物を通じて母体にも大きな影響を与えていることは多くの知見¹⁻⁴⁾の示すところである。また胎盤自らの発育、したがつてそのための代謝活動も極めて著しいことは容易に理解されようが、ことにこのような激しい代謝活動が、受胎より娩出までの短い期間に生起し終了することは注目に値しよう。すなわち胎盤の物質代謝は極めて旺盛であると同時に短い期間に著しい変動を伴っているであろうことが想像される。

当柚木教室においては人胎盤の物質代謝について広汎な研究⁵⁻¹⁰⁾を行い、胎盤を構成する諸種化学物質または酵素作用に対して検討を加えて来た。今迄調べられた多くの物質濃度は季節的変動を示し⁵⁻⁹⁾、これは母体の栄養条件の変化を反映するものであろうことが推察された。⁶⁻¹⁰⁾また産児の発育状況に関連ある変動を呈するものも認められた³⁻⁷⁾。さらに在胎期間の進捗に伴つて種々興味ある変動が観察され、これは前述の胎盤代謝

活動の消長を物語るものであろうことを考察して来た⁵⁻¹⁰⁾。

磷は生体中の必在元素として早くより認められており、磷酸またはその誘導体の形で全ての生物に、そしてほとんどの組織に広く分布している。その生理学的な役割に対しても極めて多くの研究が進められているが、これまた非常に広い範囲に涉つて重要な意義を有することが認められている。ことにエネルギー代謝に関しては、今迄調べられた全ての生物がエネルギー転換に際していわゆる高エネルギー磷酸結合の型を経ることが知られている。また多くの物質がその代謝過程において磷酸と何等かの形で関連を有することが認められており、磷酸誘導体の形の間接代謝産物の確認されているものも少なくなく、さらに補酵素のほとんどが磷酸、ことにピロ磷酸をその成分として含有していることは周知のことである。

このように磷酸は代謝経路上に直接参画して活潑に行動するのみならず、身体構成成分としても重要である。すなわち骨歯等の硬組織の主成分として大量に存在する以外に、磷脂質として蛋白成分とともに細胞成分の成形にも重要な役割を果していることが認められてきた。これは磷脂質の界面活性の性質によるものでもあろうか、生体膜の特異な透過性を担う一因子として看過し得ない。この磷脂質はさらに神経組織の重要成分であり、また脂質の代謝の上にも大きな関係を有している

Kimi TAKAHASHI and Shigeko YOSHIDA: (Department of Gynecology & Obstetrics, Tokyo Women's Medical College); Studies on the metabolism of human placenta. On the metabolism of the various fractions of phosphor compounds & nucleic acids.

と考えられている。

近時その生理的意義が次第に明らかにされ、そしてその重要性が増大しつつある磷酸化合物として核酸あるいは核蛋白がある。デオキシリボ核酸(DNA)は遺伝作用との関連が次第に明かになりつつあり、したがって細胞の代謝能力を決定する基礎的物質とも考えられよう。この物質の細胞中の量はほぼ一定であるといわれ、組織中のDNA量は細胞数に深い関連があると思われる。またこの物質の代謝は細胞分裂の進行とも関係しよう。リボ核酸(RNA)は酵素を含めて蛋白質の生成に関与する物質であるといわれ、したがってこの物質の存在および代謝は細胞の活動を意味すると考えられる。

以上のごとき見地よりすれば胎盤中の磷酸含有量およびその代謝状況は極めて興味深い。すでに数種の報告においてこの種研究主題に基づく研究成果を認めているが、前述のごとき磷酸の広汎な生理作用の故にか、扱い方はそれぞれ異っており、また実験、測定上の困難によつて成果も必ずしも一致していない。本報告文においては種々在胎期間の胎盤(初期にあつては絨毛)を娩出直後において放射性磷酸($H_3P^{32}O_4$)と作用させ、これを種々分割に分つて分析を行い、その結果に基づいて在胎時期の進捗に伴う磷酸濃度の変化、およびそれぞれの時期における磷酸の代謝状況をうかがおうと試みた。

実験方法

材料：当教室入院患者より得た絨毛組織または各期

胎盤を用いた。人工妊娠中絶術によつて得られる初期及び中期の試料は比較的損傷の少ないものを選び、後期胎盤は非中毒症性のものを対象として実験を行った。

試料調製：絨毛は娩出直後ただちに氷冷生理的食塩水にて数回洗滌後、濾紙にて附着せる水分を除いて秤量し、必要量をそのまま以後の操作に供した。胎盤は娩出後ただちに室温の生理的食塩水を臍帯静脈切断端より灌流し、血液を可及的除去した後、臍帯附着部と周辺部のほぼ中間において全層にわたる試料を得る。ただちに氷冷生理的食塩水中にて、表面に垂直の方向の切片(厚さ約3mm)を作製し、濾紙にて水分を除去後、必要量を採取、秤量した。娩出より次の反応開始迄の時間は出来る限り短くし、能う限り氷冷下に行つた。

放射性磷酸の組入れ： $H_3P^{32}O_4$ (約5000 cpm/ml)を含む pH 7.4 の Tris 緩衝液 6.5 ml を容量約 15ml の小瓶に入れ、ワールブルグ検圧計の振盪装置にとりつける。試料約 3g をいれ上層に空気をおいて密栓し、1分間約 80 回の振盪を行いつつ 37°C に 1 時間放置する。

磷酸化合物の分割：反応終了後、直ちに試料を反応液より取出し、氷冷した pH 7.4 の 0.1M 磷酸緩衝液にて 2 回洗滌の後蒸留水で 2 回洗滌する。濾紙にて水分を除き秤量する。同量の氷冷過塩素酸と共に、Potter-Elvehjem 型のホモゲナイザーにてホモゲネートを調製する。ホモゲネートの一部はただちに総磷酸、放射能、総窒素の分析に供し、ほかは主として Schneider Davidson の変法¹¹⁾ 12, 23-28) に準拠した別表のごとき方法にて各磷酸分割に分ち、それぞれの分割につき磷酸、放射能の測定を行つた。

第1表 在胎月数別 磷含量 ($\mu\text{gP/wetg}$)

総 磷	3 カ 月	6 カ月(初期)	6 カ 月	10カ月(初期)	10 カ 月	7カ月(初期) 自然流産
	90	77	83	72	60	53
酸 溶 性 磷	31 (34%)	36 (47%)	43 (52%)	33 (46%)	27 (45%)	25 (47%)
脂 質 磷	37 (41%)	24 (31%)	19 (23%)	25 (35%)	19 (32%)	17 (32%)
蛋 白 磷	12.0(13.3%)	7.4 (9.6%)	9.4(11.3%)	7.0 (9.7%)	6.7(11.2%)	4.2 (7.9%)
R N A 磷	7.8 (8.7%)	5.3 (6.9%)	6.2 (7.5%)	3.6 (5.0%)	3.6 (6.0%)	5.7(10.7%)
D N A 磷	2.4 (2.7%)	3.5 (4.6%)	5.2 (6.3%)	3.9 (5.9%)	3.5 (5.8%)	1.7 (3.2%)

() は総磷に対する百分率

磷酸定量：ホモゲネートの一部及び各分割抽出液の一部をそれぞれキールダール分解管に移し60%過塩素酸 1 ml を加えて加熱分解した。分解には少量の 30%

過酸化水素を酸化剤として添加した。分解液中磷酸の定量は Fiske Subbarow 法^{14, 15)} に準じて比色定量を行つた。比色は発色試薬添加 15 分後に Elma の光

電比色計により波長 660 m μ において行つた。

窒素定量：マイクロキールダール法¹⁵⁾によつた。

放射能測定；試料をステインレス試料皿に均一に塗布し、赤外線燈下に乾燥させる。乾燥重量を求めた後、端窓型 G.M. 計数管 (窓厚 1.2 mg/cm², 100 進型スケーラー付神戸工学製) にて放射能を測定した¹³⁾。計数値は自己吸収、減衰等の補正を行つた。

実験成績

第 1 表に総磷および各分割磷含量，および各分割磷に対する百分率を各例別に示す。妊娠月数の増加に伴つて，胎盤単位重量中の磷含量は減少する傾向が認められる。これを各分割別に眺めると脂質磷，蛋白磷，RNA 磷はほぼ同様に妊娠月数進行につれて減少するごとくであるが，酸溶性磷，DNA 磷は中期に高く，これを遠ざかるにつれて低い。

各分割磷の総磷に対する割合は，おおむね酸溶性磷が最も高く，脂質磷がこれに次ぐ。しかし初期の 3 カ月例においてはむしろ脂質磷の方が高値を示した。ついで蛋白磷が多く，RNA 磷は初期より中期にかけては DNA 磷を上廻るが，後期においては DNA 磷とほぼ等しくなる。これを各分割別に妊娠月数の進行による変化で調べると，蛋白磷はほぼ同一の値を維持するが，RNA 磷は漸減，DNA 磷は漸増を示す。酸溶性磷は中期に最も高く，脂質磷は逆に中期に最も低い。

これらの値をさらに DNA 磷に対する比で求めると(第 2 表)，初期の 3 カ月例がとくに高い値を

第 2 表 在胎月数別磷含量 ($\mu\text{gP}/\text{DNA}\mu\text{gP}$)

	3	6(初)	6	10(初)	10	7(初) 自然流産
総	37	22	16	18	17	31
酸	13	10	8.3	8.5	7.7	15
脂	15	6.9	3.7	6.4	5.4	10
蛋	5.0	2.1	1.8	1.8	1.9	2.5
RNA	3.3	1.5	1.2	0.9	1.0	3.4

示しているが，中期以後においては多少の変化はあるがほぼ類似した値が得られる。とくに RNA 磷：DNA 磷の値は次第に小さくなることが示された。

7 カ月初期における自然流産の一例について分析を行つた結果を併記して示す。

第 3 表 10 カ月胎盤における P³² の組み入れ

反 応 時 間	cpm/g
0 (時 間)	1773 (cpm/g)
0.5 "	9510 "
1.0 "	9040 "
1.5 "	8040 "
2.0 "	8910 "
2.5 "	7190 "
3.0 "	6390 "

(緩衝液 2200 cpm/ml)

末期胎盤切片を用いて前記のごとき条件下に P³² (無機磷酸として) を含む緩衝液と接触させた場合，P³² の組織内へ移行する状況は第 3 表のごとくであつた。そこで反応時間 1 時間後における P³² 分布を求めて各分割磷の変化の様子を窺おうとした。

第 4 表には DNA 磷分割の P³² 量を規準として，各分割の相対量を示す。総組み入れ量は妊娠月数の進行につれて減少を示している。最も多く P³² の存在するのは酸溶性磷であり，脂質磷は最も少い酸溶性磷は月数の進行にしたがつて P³² 移行量は減少するが，RNA 磷は逆に増大する。脂質磷，蛋白磷は 6 カ月例において最高の値が得られた。

第 4 表

総 撮 取 量 *	3カ月	6カ月	10カ月
	11%	7%	9%
DNA-P ³² に対する比			
総	13.5	11.0	10.2
酸	9.3	5.5	5.8
脂	0.47	0.74	0.30
蛋	1.51	2.25	1.45
RNA	1.18	1.55	1.62

* $\frac{\text{組織 } 1\text{g 中の count}}{\text{反応液 } 1\text{ml 中の count}} \times 100$

考 按

人胎盤の磷含量について，渡辺¹⁶⁾は初期に最も高く，中期，後期となるにつれて減少する結果を示したが，宮川¹⁷⁾によれば中期が最も大きく，初期はむしろ小さな値が得られている。今回の分析例では妊娠月数の進行に伴い減少する傾向が認められた。

各分割磷について宮川¹⁷⁾は中期における酸溶

性燐の増加、後期における燐脂質の増加を報告しているが、われわれの結果は酸溶性燐では一致するが、脂質燐に関しては初期の高値が目立ち、中期以後の変化は明かでない。

核酸についての検討は、これが蛋白代謝、細胞増殖に密接な関係を有することが期待されるためにさらに多くの研究がある。宮川¹⁷⁾は初期に比して中期、後期に核酸燐の増加することを認めているが、われわれの結果はDNA、RNA両分割燐の和は中期において最も高い。沢崎¹⁸⁾の報告も亦中期において増加する結果を示している。

これを両核酸別に調べると沢崎はDNA燐の初期より中期へかけての増加に注目し、これが胎盤完成への細胞の活動を示すものであると考察している。RNA燐はその組織当りの分量はむしろ初期に少ないが、しかしこれをDNA燐に対する比でみるならば初期に最高値を与えることを示し、組織化学的知見と一致することを述べた。Brody¹⁹⁾も亦RNA燐とDNA燐の比が在胎期間の進行に伴い減少することを述べている。本報告の結果もやはりRNA燐/DNA燐は妊娠月数が進行するにつれて減少することを示している。このことは初期における胎盤の蛋白代謝活動の旺盛なことを示す指標となるものではなからうか。

しかし家兎つについての丹沢²⁰⁾の報告、ラットについてのSchmering²¹⁾の結果はいずれも妊娠進行に伴ってDNA燐の減少を報告し、したがってRNA燐/DNA燐は晩期において高値を示している。

DNA量はほぼ細胞数に比例するものと考えられる。そこでDNA燐に対する各分割燐の比は近似的に細胞当りの成分量を代表するものといえよう。第2表に示すごとく初期にこれ等の値の高いのは、初期胎盤の活潑な代謝を反映するものと見做される。

各時期における胎盤の燐含量およびその分割操作による検索は、その時期の燐代謝と同時にその時期に達するまでの代謝の結果にも大きく影響を受けるであろう。そこでP³²を指標として用いることにより、娩出直後の試料につきその時期における代謝を直接求めようと試みた。実験条件の変動による値の不統一を避けるためにDNA分割を規準として表示したが、第4表のごとき結果を得た。

酸溶性燐分割に最もP³²の組み入れの大きいことはこれが各分割中量的に大きな部分であること、またその化学組成のより単純なこと、また反応時間の比較的短いことより考えて予期されることであろう。妊娠月別にすれば前期に最も大きな値を得ており、したがって総組み入れ量もまた前期に最大である。しかし今回の実験条件では胎盤のいわば能動的な代謝の面に重点がおかれているので胎盤の行う重大な機構、すなわち物質の移動に關しての知見は与えられることが少ないのではなからうか。

脂質燐、蛋白燐共に中期に最高値が得られた。今まで行われた研究結果の多くが、胎盤活動の変化は妊娠進行につれて早期に変化せずしばしば中期程高値を有するもののあることを示している。すなわち胎盤の代謝は単に量的のみならず質的にも前期、後期を区別するものであろう。

RNA燐についてはむしろ後期程高値を得た。丹沢²²⁾の家兎についての結果は母体に与えられたP³²は胎盤のRNA・DNA燐共に中期に高く後期に低い比放射能を得たという。しかし比放射能の比ではほとんど差を認めていない。沢崎¹⁸⁾はラットを用い、母体に注射されたP³²の胎盤への移行は単位量についてみれば初期程大であることを示している。

われわれの実験はin vitroのP³²の組み入れについてであつて、母体よりの移行とは幾分異なることが予期される。しかし測定例が未だ少なく、かつ実験条件、値の整理にも多々不備のあるのを免れ得ない。種々検討の後、さらに多数について測定を行つて充分な結果を得たいと思う。

結 語

正常人胎盤中の燐各分割の測定、および放射性燐酸を用い燐各分割への組み入れを妊娠各月において測定し、つぎの結果を得た。

1) 総燐含量は妊娠月数進行にしたがいやや減少傾向を認め、DNA比は初期から中期にかけて減少し、それ以後は変化が少ない。P³²組み入れ量のDNA比もまた、妊娠月数の進行に伴い漸減の傾向にある。

2) 酸溶性燐含量は妊娠初期を除きほかは最も高い値を示し、百分率では中期が最高を示しているが、これに反しDNA比は初期に最高を示し、P³²組み入れ量のDNA比もまた初期に最高を示す

した。

3) 脂質燐含量は妊娠初期に最高を示し、百分率においては中期に最低を示し、DNA比もまた中期に最低を示した。これに反し P^{32} 組み入れ量のDNA比は中期に最高を示した。

4) 蛋白燐含量は妊娠初期に最高を示しているが、百分率においてはほとんど各期共同値を示している。DNA比は初期に最高を示し、 P^{32} 組み入れ量のDNA比は中期に最高を示した。

5) RNA燐含量は妊娠初期に最高を示し、百分率と共に妊娠月数進行にしたがい減少を示した。DNA比においても同様である。しかるに P^{32} 組み入れ量のDNA比は月数進行にしたがい増加の傾向を示した。

6) DNA燐含量および百分率は共に妊娠初期に最低を示し、中期へかけての増加が著明でその後やや漸増の傾向を示していた。

本研究は文部省科学研究費の援助を受けた。

本論文の要旨は第9回日本産婦人科学会総会において報告した。

拙筆に当り御懇篤なる御指導、御校閲を賜った恩師 柚木教授に深謝すると共に、生化学的方面の御指導 御校閲を賜った本学生化学教室 松村教授、細谷助教授並びに松村剛講師に深謝いたします。なお実験材料提供に対して御援助をいただいた大内助教授及び産婦人科教室員一同に心から御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) 九嶋勝司・他；日産婦誌，10（2）180（昭33）
- 2) 橋爪一男・他；日産婦誌，10（2）179（昭33）
- 3) 渡辺行正，日産婦誌，7（5）619（昭30）
- 4) 赤須文男，日産婦誌，7（5）655（昭30）
- 5) 柚木祥三郎・他；日産婦誌，9（4）368（昭32）
- 6) 大内広子・他；日産婦誌，7（2）178（昭30）
- 7) 千葉ヨリエ；日産婦誌，8（1）37（昭31）
- 8) 菊地るい子；東京女子医大誌，27（6）304，（昭32）
- 9) 秋山牧子；東京女子医大誌，28（3）140（昭33）
- 10) 高野敬子；日産婦誌，10（6）687（昭33）
- 11) Peter, S. & Vilee, V. : J. Biol. Chem., 212, 179 (1955)
- 12) Chargaff, E. & Davidson, J.N. : Academic Pres New York, 1, 555 (1955)
- 13) 吉川春寿・他；アイソトープ実験 技術第一集 トレーサー・テクニックス 化学の領域増刊，17，南江堂
- 14) 斎藤正行；光電比色計による臨床化学検査，南山堂
- 15) 吉川春寿・他；臨床生化学定量編（1955）
- 16) 林 苗香；解剖学及び生理学計数 501
- 17) 宮川和幸；日産婦誌，7（11）1375（昭30）
- 18) 沢崎千秋；日産婦誌，5（6）545（昭28）
- 19) Brody, S. : Exptl. Cell. Research., 3, 702 (1952)
- 20) 丹沢章八；日産婦誌，9（7）719（昭32）
- 21) Schmering, Z.G. : Biokimiya, 19, 336(1954)
- 22) 丹沢章八；日産婦誌，9（9）963（昭32）
- 23) 三浦義彰；最新医学，10（1）19（昭30）
- 24) Schneider, W.C. : J. Biol. Chem. 164, 747 (1946)
- 25) Schmidt, G. and Thanheuser, S. : J. Biol. Chem. 161, 83 (1945)
- 26) Hogeboom, G.H. and Schneider, W.C. : J. Biol. Chem. 186, 417 (1950)
- 27) Ogur, M. and Rosen, G. : Arch. Biochem. 25, 262 (1950)
- 28) Schneider, W.C. and Hogeboom, G.H. : Cancer. Res. 11, 1 (1951)

