

〔特別掲載〕

(東女医大誌第30巻第8号)
(頁1389—1392昭和35年8月)

人胎盤の解糖能について

東京女子医科大学学生化学教室 (主任 松村義寛教授)

小 野 恵

(受付 昭和35年5月20日)

妊娠月数の進行に伴う人胎盤の活性度について Villee¹⁾ はグリコーゲン含量, 酸素消費能の観察を行い, 細谷, 青島²⁾, 斎藤³⁾, 荒川⁴⁾ らは酸素消費能, 滝本⁵⁾ は酸素消費能, 酸生成能を観察し, 活性度の減少して行くことを報告している⁶⁾。しかしながら好氣的解糖能は妊娠月数の進行に伴い増大して行くともいう⁶⁻⁸⁾。

一方好氣的酸化が減少し, 乳酸生成の増大することは癌細胞の増殖する場合にも観察され, このことは癌細胞の悪性化による結果であると Warburg は報告している⁹⁻¹⁰⁾。

胎盤組織は妊娠を維持するための必要な臓器であり, 病的組織ではない。しかし組織増大の早いことなどから胎盤組織は癌組織に類似しているともいう。

そこで著者は人胎盤について, このような現象を観察すると共に, またその現象は如何なる機構により起る現象であるかを解明するために, 早期胎盤, 成熟胎盤, 娩出胎盤についてグリコーゲン含量, 酸素消費能, 酸生成能, 乳酸生成能, グリコーゲン消費率を比較検討してみた。

実験方法

1. 人胎盤組織

早期胎盤は正常妊娠の経過中, 経済的理由のため優生保護法の適用をうけて人工妊娠中絶手術をした妊娠14~18週の胎盤を用い, 成熟胎盤は正常妊娠ではあるが狭骨盤などの理由のため帝王切開手術をして取り出される妊娠40週の胎盤を用い, 娩出胎盤は正常分娩において胎児娩出後30分以内に娩出する妊娠40週の正常胎盤を用いた。取り出された胎盤は卵膜を除き, 小葉を切り取り, 0°C の Krebs-Ringer リン酸緩衝液 (KRP, pH 7.4) にて軽く2~3回洗い, 付着している血液を洗い落とし, ただちに実験に供した。組織切片は夏目製のスライサーを用いて約1cm平方, 厚さ0.5mm以下の大きさ(約0.3g)の組織切片を作った。浮遊液はKRPまたは

Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (KRB) を用いた。

2. ワールブルグの検圧計における酸素消費能の測定
胎盤組織の酸素消費能の測定は, ワールブルグの検圧計を用いて行つた。ワールブルグ反応フラスコ中の組成は主室にKRP (pH 7.4) を2.5mlとり, これに胎盤組織0.3g (乾燥重量25~30mg) を加え, 副室には, 30g/dl 水酸化ナトリウム0.2mlを添加した。全量は3.0mlとした。

ワールブルグ検圧計の反応フラスコの主室において発生するCO₂は, 副室中の水酸化ナトリウム中に吸収させた。この場合折りたたんだ濾紙片(約25×10mm)を副室に挿入してCO₂の吸収を容易にした。温度平衡に達するまで10分間空振りした。そのうち始めの7分間は酸素ガスを通気してガス相を酸素で置き換え, コックを閉じて後3分間空振りし, 以後時間と共に酸素の消費量を10分ごとに60分間観察した。実験温度は37°C, ワールブルグの振盪回数は120回/分である。組織切片の酸素消費量は, 組織切片の乾燥重量1mg当りが, 1時間に消費する酸素量を百万分の1立の単位で表わし(QO₂)。一つの胎盤については, 可能な限り3本のマンメーターを使用して測定を行い, 平均値を求めた。

3. 酸生成能の測定法

組織切片の酸生成能を測定する場合には, ワールブルグの主室に Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液 (KRB) を2.5mlとり, これに胎盤組織を約0.3g (乾燥重量25~30mg) 加える。全量は3.0mlとした。温度平衡のために10分間空振りを行い, そのうち始めの7分間は95% N₂ + 5% CO₂の混合ガスを通気してガス相をこの混合ガスで置き換え, コックを閉じて後3分間空振りを行い, 以後10分ごとに60分間生成する酸に応じて発生するCO₂量を測定した。37°C, 振盪回数120回/分。酸生成能は, KRB中で組織の乾燥重量1mgが1時間に発生するCO₂量を百万分の1立の単位で表わし(QCO₂), 一

つの胎盤については可能な限り3本のマノメーターを使用して測定を行い、平均値を求めた。

4. 乾燥重量の測定法

乾燥重量は、ワールブルグの反応測定後組織を取り出し、リンゲル液で2回洗い、重量既知の秤量瓶中に入れ、濾紙片にて水分を吸いとり、赤外線ランプ下で焦げないように乾燥した(200ワット、距離30cm)。これをデシケータ中で放冷し、蓋をして直示天秤にて、0.1mgの桁まで秤量した。

5. 乳酸の測定法

Barker, Summersonの方法¹¹⁾を改良した石井の变法¹²⁾によつて行つた。反応終了後直ちにワールブルグの反応フラスコ中より反応液1.0mlをとり、5%三塩化酢酸1.0mlを加えて除蛋白を行い、濾液について除糖操作を行い、稀釈して比色定量した。乳酸の生成量は、ワールブルグの検圧計内において、胎盤組織の乾燥重量1g当りが1時間に生成する乳酸量を百万分の1モルの単位で表わした。

6. グリコーゲン量の測定

Walaas, Walaas¹³⁾の方法を少しく改変して行つた。反応終了後直ちにワールブルグの反応フラスコ中より胎盤組織を取り出し、水分を充分に吸い取り、約二二分する。その一つづつにつきトーションバランスにて正確に秤量した胎盤組織(100~150mg)は遠心沈澱管中にとり、30%水酸化カリウム0.5mlを加え、細いガラス棒を挿入し、5分毎に攪拌しながら、100°C、30分間加温し、組織を液化する。完全に液化したならば、2%硫酸ナトリウムを0.1ml加え、さらにエタノールを終末濃度が65~70%になるように加え、よく攪拌して充分に混和する。一夜冷所に放置したならば3000rpm、30分間遠心沈澱を行い、上清を傾注し、さらに濾紙上に遠心沈澱管を倒置して完全に上清を除却する。次に65%エタノール水を0.5ml加えて、遠心沈澱管の壁や沈澱物を洗い、遠心してエタノール水を捨て去る。遠心沈澱管の底に残る少量のエタノールは70°Cの水浴中に加温し蒸散させるとグリコーゲンが残る。これに1N硫酸0.5mlを加えて溶解し、遠心沈澱管の口をガラス球で覆つて沸騰水浴中で3時間加水分解する。加熱終了後流水中にて冷し、1N水酸化ナトリウムを加え、フェノールレッドを指示薬としてpH7.4に正確に中和する。この液について還元糖量をNelson¹⁴⁾の方法によつて測定した。グリコーゲン量は胎盤組織の乾燥重量1g当りが含有するグリコーゲン量をブドウ糖量で表わし、百万分の一モルの単位で表わした。一つの胎盤については3本のマノメーターを使用して酸素消費能、酸生成能を測定したのでグリコーゲン消費量は6例の平均値を得る。

実験結果

1. 人胎盤のグリコーゲン含量

人胎盤の内在呼吸、ならびに解糖能を観察するに当り、まずその基質として利用されると考えられるグリコーゲン含量を早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤について観察してみた(表1)。平均値について観察してみると、早期

表1 人胎盤のグリコーゲン含量

	早期胎盤	成熟胎盤	娩出胎盤
グリコーゲン含量 (ブドウ糖量と して表わす)	105	49.1	32.8
	118	54.7	42.1
	141	63.6	45.3
	153		47.2
μ moles/g dry weight	164		59.3
	176		
平均	143	55.8	45.3

平均値以外の数値は一つの胎盤について4回測定した平均値である

胎盤のグリコーゲン含量は最も高く、成熟胎盤では早期胎盤に比し、約40%に減量している。娩出胎盤はさらに減量し、成熟胎盤に比し約80%の値を示していた。胎盤に含まれるグリコーゲン量は妊娠月数の進行に伴い減少することが知られた。

2. 好氣的条件下における解糖能

好氣的条件下における酸素消費能、乳酸生成能、グリコーゲン消費量を早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤につい

表2 人胎盤の好氣的条件下における解糖能

	早期胎盤	成熟胎盤	娩出胎盤
酸素消費能 (Q_{O_2})	2.75	1.71	1.38
	2.82	2.14	1.52
	2.88	2.27	1.59
	3.14		1.65
	3.16		1.75
	3.37		1.88
平均	3.02	2.04	1.63
乳酸生成能 (μ moles/g dry weight/h)	22.0	45.9	44.0
	24.3	49.4	47.9
	27.5	64.3	50.6
	27.5		53.4
	37.5		56.1
	38.3		70.6
平均	29.5	53.2	53.8
グリコーゲン 消費量 (μ moles/g dry weight/h)	56.7	44.7	37.6
	59.6	48.1	39.4
	66.2	56.3	45.8
	75.5		47.3
	85.3		52.1
	平均	68.7	49.7

て測定してみると表2の通りである。平均値について観察してみると酸素消費能 (Q_{O_2}) は早期胎盤において最も高く、成熟胎盤では減少して早期胎盤の約2/3の活性度となり、娩出胎盤ではさらに減少し、成熟胎盤に比し約80%の活性度を示していた。胎盤の酸素消費能は妊娠月数の進行に伴い減少することを示している。

乳酸生成能は早期胎盤においては低く、成熟胎盤は80%の活性度の上昇を示し、娩出胎盤は成熟胎盤と同程度の活性度を示していた。胎盤の乳酸生成能は妊娠月数の進行に伴い増大することを示している。

グリコーゲンの消費量は早期胎盤においては最も多く、成熟胎盤は早期胎盤に比し約70%に減少し、娩出胎盤はさらに減少し、成熟胎盤に比し約90%に減少していた。反応前のグリコーゲン含量(表1)に対し、反応1時間に消費されるグリコーゲンの割合は早期胎盤においては約50%のグリコーゲンが消費され、成熟胎盤では約90%、娩出胎盤では殆どのグリコーゲンが消費されていることを示している。

また酸素の消費量を乾燥重量1g当りが消費する百万分の一モルの単位に換算し、グリコーゲンを構成するブドウ糖1分子が消費された場合の酸素の消費能、乳酸生成能を比較してみた。早期胎盤においては約2分子の酸素が消費され、約1/2分子の乳酸が生成しており、成熟胎盤では約2分子の酸素が消費され、約1分子の乳酸が生成しており、娩出胎盤では約2分子の酸素が消費され、約1.2分子の乳酸が生成している。

3. 嫌氣的条件下における解糖能

嫌氣的条件下における酸生成能、乳酸生成能、グリコーゲン消費量を早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤について観察してみると表3の通りである。平均値について観察してみると、酸生成能は早期胎盤において最も高く、成熟胎盤では減少して約80%の活性度となり、娩出胎盤ではさらに減少し、成熟胎盤に比し約80%の活性度を示していた。胎盤の酸生成能も妊娠月数の進行に伴い減少して行くことを示している。また酸素消費能に対する酸生成能の比率を計算してみると早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤ではそれぞれ0.75, 0.89, 0.87の値である。

乳酸生成能に早期胎盤において同様に最も高く、成熟胎盤は減少して約80%の活性度となり、娩出胎盤はさらに減少し、成熟胎盤に比し12%の活性度の減少を示していた。胎盤の乳酸生成能も妊娠月数の進行に伴い減少していることを示している。また好氣的条件下における乳酸生成能に対する嫌氣的条件下における乳酸生成能の比率を計算してみると早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤ではそれぞれ約3.7, 1.6, 1.4の値である。

グリコーゲン消費量も早期胎盤において最も多く、成熟胎盤は早期胎盤に比して15%の減少を示し、娩出胎盤はさらに減少し成熟胎盤に比し、約10%の減少を示して

表3 人胎盤の嫌氣的条件下における解糖能

	早期胎盤	成熟胎盤	娩出胎盤
酸生成能 (Q_{CO_2})	2.01	1.62	1.17
	2.07	1.78	1.23
	2.22	2.05	1.38
	2.35		1.46
	2.44		1.62
	2.61		1.66
平均	2.27	1.82	1.42
乳酸生成能 (μ moles/g dry weight/h)	89.5	70.2	54.9
	99.2	82.5	65.2
	103.8	103.3	74.2
	114.9		79.4
	120.4		86.8
	126.6		90.6
平均	109.1	85.3	75.2
グリコーゲン 消費量 (μ moles/g dry weight/h)	46.7	40.2	33.6
	50.6	46.3	37.1
	53.5	56.7	42.4
	59.6		44.3
	62.3		48.7
	66.3		49.8
平均	56.5	47.7	42.5

いた。また反応前のグリコーゲン含量(表1)に対し、反応1時間に消費されるグリコーゲンの割合は早期胎盤においては約40%のグリコーゲンが消費され、成熟胎盤で約85%、娩出胎盤では殆どのグリコーゲンが消費されている。好氣的条件下におけるグリコーゲン消費量に対する嫌氣的条件下におけるグリコーゲン消費量の比率を計算してみると早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤ではそれぞれ約0.82, 0.96, 0.96の値であった。

グリコーゲンを構成しているブドウ糖1分子が消費された場合の酸生成能、乳酸生成能を比較してみると、早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤とも約2分子の乳酸が生成し、それに匹敵する量の炭酸が駆出されたことになる。

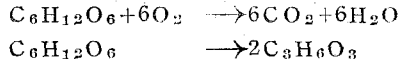
考 按

人胎盤においては妊娠の進行に伴い、単位重量についてみれば、グリコーゲン含量、グリコーゲン消費量、酸素消費量は減少するが、好氣的条件下における乳酸生成能は増大する。

グリコーゲンの消費量は早期胎盤においては、好氣的条件の場合は嫌氣的条件の場合に比して約20%程度多いけれども、成熟胎盤、娩出胎盤では好氣的、嫌氣的いずれの条件の場合にもほぼ等しい値を示している。

今グリコーゲンを構成しているブドウ糖が Embden-Meyerhof の経路を経て代謝されるならば、ブドウ糖1

分子が完全燃焼するためには、6分子の酸素を必要とし、またブドウ糖が嫌氣的に乳酸に分解した場合には2分子の乳酸を生成する。



嫌氣的条件下においては消費されたグリコーゲンは乳酸に変化しており、それに当量の炭酸の駆出が観察されることは、乳酸以外の有機酸の発生がないことを示すもので、Embden-Meyerhofの経路を経て嫌氣的解糖されているものと解せられる。

好氣的条件下においては消費されるグリコーゲンの代謝様相は、早期胎盤においてはブドウ糖の約1/2分子がEmbden-Meyerhofの経路を経て代謝される。すなわちブドウ糖の約1/4分子は乳酸を生成しており、約1/3分子は完全燃焼している。ブドウ糖の残りの約1/2分子は何か他のものに代謝されている。しかるに成熟胎盤、娩出胎盤ではブドウ糖の約1/3分子は完全燃焼しており、乳酸への解糖はそれぞれ約1/2分子、約3/5分子であり、何か他のものに代謝されて行く割合はそれぞれ約1/6分子、約1/10分子である。成熟胎盤、娩出胎盤ではグリコーゲンの大部分は乳酸を生成するか、または完全燃焼してしまうことを示している。完全燃焼される割合はそれぞれ約1/3分子で一定であり、乳酸生成の増大は他のものへの代謝、他の物質への合成反応が妊娠の進行に伴い減弱して行く結果ではなかろうか。

結 語

人胎盤について早期胎盤、成熟胎盤、娩出胎盤の酸素消費能、酸生成能、乳酸生成能、グリコーゲン消費量を測定した。

早期胎盤に比し、成熟胎盤、娩出胎盤においては、グ

リコーゲン含量、酸素消費能、酸生成能、グリコーゲン消費量は減少しているが好氣的条件下における乳酸生成量増大していた。

嫌氣的条件下においてはグリコーゲン消費量、乳酸生成量、酸発生量はほぼ当量であつた。

好氣的条件下においてはグリコーゲンを構成しているブドウ糖の消費量、酸素消費能、乳酸生成能の比率は早期胎盤ではそれぞれ約1:2:0.5、成熟胎盤では1:2:1、娩出胎盤では1:2:1.2であつた。

御指導頂いた松村義寛教授、細谷憲政助教、御援助頂いた川田展子博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Vilee, C. A. : J. Biol. chem., 205 113 (1959)
- 2) 細谷憲政・青島雄吾 : 生化学, 30, 65, (1956)
- 3) 斎藤正実 : 日産婦誌 9 709 (1957)
- 4) 荒川義衛 : 日産婦誌 10 89 (1958)
- 5) 滝本 巖 : 日産婦誌 11 2021 (1959)
- 6) 細谷憲政 : 生体の科学 10 274 (1959)
- 7) Murphy, J. B., Hawkins, J. A. : J. Gen. physiol., 8 115 (1925)
- 8) Loeser, A. : Zbl. Gynaek., 50 365 (1926)
- 9) Warburg, O. : Biochem. Z., 142 317 (1923)
- 10) Warburg, O. : Science, 124 309 (1956)
- 11) Barker, S. B., Summerson, W.H. : J. Biol. chem., 138 535 (1941)
- 12) 石川 暢 : 生化学 22 108 (1950)
- 13) Walaas, O. Walaas, E. : J. Biol., chem., 187 769 (1950)
- 14) Nelson, N. : J. Biol. chem., 152 375 (1944)