Studies on the Biological Action of Human Placental Lactogen (hPL) during Pregnancy

Yoshiko TANAKA

Department of Obstetrics and Gynecology, Kobe University, School of Medicine,
Kobe, Japan (Director : Professor Shimpei Tojo, M.D.)

In the previous reports, it was demonstrated that hPL had the remarkable promoting action on lipolysis, glucose uptake of the adipose tissue and insulin secretion *in vivo*.

The purpose of this paper is to describe the results of the studies on the biological action of this hormone during pregnancy in detail.

First, in the preliminary experiment, the author examined the effect of hPL on the foetal growth *in utero*.

Namely, by the continuous administration of the various doses of hPL to the pregnant rats, the significant increase in the content of glucose, free fatty acid (FFA), triglyceride (TG), total nitrogen (T-N) and body weight of the foetuses was noted.

At the next step of experiment, in order to know this effect of hPL in the foeto-placental maternal system, the maternal adipose tissue was labeled with oleic acid- 1-C_{14} , and four hours after the administration of hPL, C_{14} -FFA and cold FFA of maternal blood and foetal carcass, and C_{14} -TG of maternal fat tissue and foetal carcass were measured.

C_{14} -FFA and cold FFA of blood and C_{14} -TG of fat tissue increased remarkably in the mother rats treated with hPL and, at the same time, the foetuses from the hPL treated mother rats showed also the marked increase in C_{14} -FFA and C_{14} -TG content.

In the other experiment, the pregnant rats on L_{16} (16th day of pregnancy) were injected with hPL following the pretreatment with D-glucose- C_{14} , and then C_{14} -glucose and cold glucose in the foetal liver were estimated.

As the result, the concentration of C_{14} -glucose and cold glucose of the foetal liver was about two times as high as that of the foetuses from the control rats.

On the other hand, the suspected immediate action of hPL on the foetuses was studied also with direct injection of it to the foetuses in one uterine horn using them in another horn as the control.

Furthermore, the author measured and compared the activities of lipoprotein lipase (L.P.L.) and hormone sensitive lipase (H.S.L.) of the foetuses, new borns and adult rats.

With the direct intraperitoneal administration of hPL to the foetuses *in utero*, the author could not find any remarkable change in the content of glucose, FFA, TG and serum T-N of the foetuses, even four hours after the injection.

Moreover, the activities of both lipases in foetuses were lower than those in newborns or adult rats.

From these experimental results, the following conclusion might be drawn: hPL secreted from the placenta affects primarily the maternal metabolism of carbohydrate and fat (glucose-fatty acid cycle), and induces hyperlipemia and hyperglycemia which influence the foetal metabolism via placenta.

The transported carbohydrate might be utilized as an energy source, but on the other hand, FFA might be utilized for synthesis of neutral fat of the foetus.

Furthermore, suspectedly, amino acids transported into the foetus through the placenta, might participate in protein synthesis in cooperation with hydrogen ion from glycolysis and actions of pituitary growth hormone, insuline etc.

In conclusion, hPL effects primarily the metabolism, especially glucose-fatty acid cycle of the maternal body, which supplies very important materials (FFA and glucose etc.) to the foetus for his anabolic process in growth.

Namely, the author may be able to emphasize that hPL is one of the very important "metabolism regulating factors" during pregnancy.

(See pp. 698~715)

妊娠時における hPL の生物学的意義に関する基礎的研究

神戸大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 東條伸平教授)

田 中 敏 子

(昭和47年9月19日受付)

HPL を妊娠ラットに連続的に投与し、母体における glucose-fatty acid cycle の変化や胎仔の発育状態を検討した結果、hPL により母体の glucose, FFA, TG, T-N 量が有意に増加し、しかもこの場合胎仔の体重、各臓器重量の有意な増加をも認めることができた。

HPL を子宮内胎仔に直接投与してもこれらの変化をひき起こすことはできなかった。これらのことから hPL は妊娠中母体に対して直接作用する重要な「代謝調節ホルモン」であると考えられ、その作用の一義的な場は placentomaternal unit にあり、このホルモンにより上記の変化をうけた母体が胎盤を介して胎児の発育に有用な同化資材を提供する可能性が推察できた。

序 論

Human Placental Lactogen (hPL) に関する研究は伊藤, 東 (1961), Josimovich and MacLaren (1964) および Kaplan and Grumbach (1964) らによつて始められ、このホルモンは抗ヒト成長ホルモン血清と交叉反応を示し、またヒト成長ホルモン (hGH) やプロラクチン (hPRL) に似た生物活性をもつことが明らかになってきた。

このホルモンは胎盤で産生される単純蛋白質である。

HPL の分泌は妊娠後半期にたかまり、妊娠末期にむかつて著増するという特異なパターンを示すが、このホルモンの妊娠個体における生物学的意義については今日なお見解が統一されておらず、妊娠に関する内分泌あるいは代謝研究上の一つの焦点となつている。

すでに協同研究者村田⁸⁾ (1972) は hPL のもつ生物学的性格の一つとして、このホルモン自身が直接 adenyl cyclase の活性をたかめ、cyclic-AMP を介して脂肪組織中の hormone sensitive lipase (H.S.L.) を活性化するという、つまり lipolytic action をもつことを示し、この作用が妊娠時の母体における代謝に影響を与え、間接的にしろ胎児の代謝発育に意義をもつのではなからうかと推察した。

そこで著者は、feto-placental maternal system における hPL の意義を「代謝調節ホルモン」としてのあり方から検討すべく、特にこのホルモンが母体および胎児の糖質および脂質代謝にどのような影響を与え、胎児の発育にどのように関与するのかについて系統的な基礎的研究を行ない興味ある知見を得たので報告する。

I. 研究計画と使用した hPL について

A. 研究計画

Lipolytic action を中心として、hPL の生物学的性格が、feto-placental maternal system のうち placentomaternal unit でどのように発揮され、かつ妊娠個体の glucose-fatty acid cycle にどのような影響をおよぼすか、またそれが胎児の発育にどのように影響するかということを知る目的で、著者はまず Wistar 系妊娠ラットに妊娠のある時期から一定期間 hPL を連続投与し、その血清中の glucose, free-fatty acid (FFA), triglyceride (TG) ならびに total nitrogen (T-N) 量の変化を検討し、さらに hPL の投与をうけ

た妊娠ラットの胎仔の体重, 身長, 臓器重量と臓器の glycogen 量, ならびに胎仔 carcass の glucose, FFA, TG と T-N 量を hPL 非投与母体胎仔のそれと比較検討した。

次いで hPL の連続投与をうけた母体と胎仔間の glycogen, FFA および TG 量の推移を知る目的で, 標識 oleic acid と標識 D-glucose を使用し, あらかじめ妊娠ラットの脂肪組織を標識したのちに被検妊娠ラットに hPL を投与し, 母血清と脂肪組織ならびに胎仔 carcass につき cold および hot glucose, FFA および TG 量を比較検討した。

一方直接子宮内胎仔腹腔内に hPL を投与し, 胎仔, 母体の糖質ならびに脂質代謝に与える影響を検討した。

著者は, 以上の如く hPL の作用を placento-maternal unit と feto-placental unit の二つのユニットにつき先づ別個に検討し, その成績から妊娠時のいわゆる feto-placental maternal system における hPL の生物学的意義を考察した。

B. 使用した hPL について

HPL には今日なお他の蛋白ペプチドホルモンのような国際的標品がないため, hPL を使った研究には, 研究者達が各自で製精した hPL か, あるいは 95/98% pure Lederle Preparation Lot. #prep. 4508-C75 の hPL を使用しているのが普通である。

そこで本章では著者が本実験に使用した hPL についてあらかじめ説明しておきたい。著者の使用した hPL は共同研究者の望月, 森川ら (1970⁷⁾, 1971³⁰⁾ によつて, 新鮮末期胎盤から Friesen¹⁷⁾ (1966) の改良法で抽出した粗 hPL を製精したものであつて, きわめて高い純度を有しており, 我々は本物質を hPL-Kobe と名づけている¹⁾⁻⁴⁾。

この hPL-Kobe は, 7%ポリアクリルアミドディスク電気泳動法でシャープな単一バンドをしめし, hGH よりも強い酸性荷電傾向をもち, 超遠心分離法では均一な沈降像をしめし, 沈降系数は, $S_{20w} 2.09$, 分子量は約 25000 で, 酸性アミノ酸が主体をなし, 糖を含まない単純蛋白体である。

蛋白体としての立体構造は, 水素結合よりも結合力の弱い酸性アミノ酸と塩基性アミノ酸間のイオン化結合か, あるいは nonpolar アミノ酸間の hydrophobic 結合が主体をなすと考えられ, 一鎖ペプチドの可能性が強く, helix の少い平坦な構造をなしていると思われ, 三次構造は恐らく, hPL 一分子中に二個存在する S-S 結合で決められるものであると考えられる。したがつて蛋白体としてはきわめて不安定である。

免疫学的性格としては, hGH と部分交叉反応をしめすものの, ヒトプロラクチン (hPRL) や絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG) とはなんら交叉反応をしめさない。

また, これら hPL のもつ生物学的, 免疫学的両活性基のうち, 生物活性基は N-末端に, 免疫活性基は C-末端に分離して存在するようである。

II. 妊娠ラットにおける hPL の作用

—母体への投与実験—

A. 実験材料と方法

1. 実験材料

i. HPL

実験に使用した hPL は, hPL-Kobe. M-10-70 である。

なお, 同一実験には同一バッチ番号の hPL-Kobe を使用するようにし, hPL-Kobe は 0.2% glucose と 0.1% BSA を含む pH 7.4 に調整された滅菌生理食塩水に 15 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml となるようにそれぞれ溶解し, 小分けにして -20°C で実験に使用するまで保存した。

ii. 実験動物

a. Wistar 系妊娠ラットとその胎仔

Wistar 系雌ラットをオリエンタル固形飼料を用いて恒温飼育室内で一定期間飼育し, 生活条件がほぼ一定となつた体重 150gr 前後のものを使用した。またラットは, 膣スメア検査により, 精子の発見出来た日を

Lo と定め、その妊娠初期と中期から、あるいは妊娠随時の時期に、妊娠ラットとその胎仔を実験に供した。

b. Sprague-Dawley (S.D.) 系妊娠ラットとその胎仔

標識 oleic acid を使用した実験には、上述の Wistar 系妊娠ラット以外に、体重 350gr 前後の妊娠 L₁₆ の S.D. 系ラットとその胎仔を使用した。

2. 実験方法

i. 胎仔の発育と胎仔および妊娠ラット血中の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量におよぼす hPL の影響

ラット群別内わけ：

コントロール 1 群 (5 匹)：滅菌生理食塩水 1ml を一日量として L₃ から L₂₁ まで腹腔内へ連続投与した。

コントロール 2 群 (5 匹)：滅菌生理食塩水 1ml を一日量として L₃ から自然分娩日まで腹腔内へ連続投与した。

A-1 群 (5 匹)：HPL 15 μ g を滅菌生理食塩水 1ml にとかし、それを一日量として L₃ から L₂₁ まで腹腔内へ投与した。

A-2 群 (5 匹)：HPL 15 μ g を滅菌生理食塩水 1ml にとかし、それを一日量として L₁₀ から L₂₁ まで腹腔内へ投与した。

B-1 群 (5 匹)：HPL 50 μ g を滅菌生理食塩水 1ml にとかし、それを一日量として L₃ から L₂₁ まで腹腔内へ投与した。

B-2 群 (5 匹)：HPL 50 μ g を滅菌生理食塩水 1ml にとかし、それを一日量として L₁₀ から L₂₁ まで腹腔内へ投与した。

C-2 群 (5 匹)：HPL 100 μ g を滅菌生理食塩水 1ml にとかし、それを一日量として L₁₀ から L₂₁ まで腹腔内へ投与した。

Wistar 系妊娠ラットを各 5 匹に群別し、前記の如く hPL および生理的食塩水をその腹腔内にそれぞれ連続投与した。その後、コントロール 2 群は自然分娩直後の新生仔について、また他の群は L₂₁ にエーテル麻酔下で帝王切開によつて妊娠ラットよりとり出した新生仔について、その身長と体重ならびに肝臓、心臓、腎臓などの臓器の重量を測定したあと、胎仔 carcass の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量と、肝臓、心臓および腎臓の glycogen 含有量を測定した。

一方血清中の glucose, FFA, TG と T-N 量は、分娩時子宮血管より採血した血清を利用して測定した。Glycogen, FFA, TG ならびに T-N 量の測定方法は以下の如くである。

臓器の glycogen 含量：感度 1mg までのトーシオンバランスでその重量を秤量した後、30% KOH を用いる Good²⁰⁾ (1932) の方法で glycogen を抽出し、2N H₂SO₄ による加水分解で還元 glucose にしたあと、Hoffman²³⁾ (1937) ならびに Auto Analyzer Technicon Laboratory 法²⁴⁾ (1965) で測定した。

胎仔 carcass の glucose 量：胎仔の体重を測定した後、シャーレ中で細断し冷生理食塩水 2ml を加えて Potter-Elvehjem 型 homogenizer で homogenize した後、その homogenate の上清について Hoffman ならびに Auto Analyzer Technicon Laboratory 法で測定した。また、母血清中の glucose 量は、血清から直接 Hoffman ならびに Auto Analyzer Technicon Laboratory 法で測定した。

FFA 量：胎仔 carcass については前述の homogenate 1ml から、母体ではその血清 1ml から、イソプロピルアルコールを基質とした混合抽出溶液 (イソプロピルアルコール 40：ヘプタン 10：1N H₂SO₄ 1) で FFA を抽出した後、Dole¹³⁾ (1956) の変法で測定した。

TG 量：胎仔 carcass では homogenate 1ml から、母体ではその血清 1ml から Bloor の抽出溶液 (エタノール 3：エーテル 1v/v) で TG を抽出したあと、Fletcher のアセチルアセトン法¹⁴⁾ (1968) にて測定した。

T-N 量：胎仔 carcass では homogenate 1ml を、母体ではその血清 1ml について Koch and Hanke²⁷⁾ (1948) の方法で測定した。

胎仔各臓器の重量については、前記のトーシオンバランスで各臓器の湿重量を測定した後、各臓器を凍結

乾燥し同様にそれらの重量を測定した。

ii. 母体および胎仔の glucose, FFA ならびに TG 量の変化に与える hPL の影響

a. Wistar 系妊娠ラットに oleic acid- 1-C_{14} を使用した場合

日本放射性同位元素頒布の oleic acid- 1-C_{14} Lot. No. 248-14, $100\mu\text{Ci}$ につき、溶媒のベンゼンを flash Evaporator で蒸発乾固させたあと、滅菌生理食塩水けんだく混合溶液 (cold oleic acid 0.2%, glucose 0.1%, BSA 0.1%) 2ml を用いて emulsion とし、これを12時間絶食させた妊娠 L_{16} の Wistar 系ラット (体重 200gr 前後) の尾静脈より注入した。hot oleic acid 投与後、12匹のそれら処置ラットのうち4匹は6時間目にと殺し直ちに血液および子宮周囲の脂肪組織を採取しこれをコントロール1とした。一方他の8匹の処置ラットのうち4匹は、 C_{14} -oleic acid 投与後6時間目にさらに1匹あたり hPL $100\mu\text{g}$ を尾静脈より注入し、その後4時間目にと殺して血清および脂肪組織と胎仔を採取し、残りの4匹はコントロール2として hot oleic acid 投与後10時間目にと殺し同様の測定に供した。

母血清および胎仔 carcass 中の cold glucose, FFA ならびに TG 量は、II-2-i に記述した方法によって測定した。

母血清中ならびに胎仔 carcass の homogenate 中の hot FFA 量は、それぞれの 1ml から前述の抽出溶液 5ml を用いて FFA を抽出した後、さらにヘプタンを加え5分後にヘプタン抽出層 1ml を Bray solution に溶解し、Packard トリカルブ 3320 型の液体シンチレーションカウンターにより C_{14} の放射能を測定した。

母体子宮周囲脂肪組織ならびに胎仔 carcass の hot TG 量については、それぞれ細断した後、組織重量の約20倍量の Bloor 抽出液を加え、Potter-Elvehjem 型 homogenizer で homogenate することによつて TG を抽出し、抽出した粗 TG 分画は、石油エーテルを基質とした展開液 (石油エーテル 90: エーテル 10: 酢酸 1) を用いシリカゲル薄層クロマト法によつて約12時間展開分離したあと、TG にあたる部分を薄層より削りとり、それをトルエンベース溶解液に溶解し、Packard トリカルブ 3320 型の液体シンチレーションカウンターにより C_{14} の放射能を測定した。

b. S.D. 系妊娠ラットに oleic acid- 1-C_{14} を使用した場合

12時間絶食された妊娠 L_{16} の S.D. 系ラット (体重 350gr 前後) を使用し、Wistar 系ラットの場合と全く同様の実験操作を行なった。

c. Wistar 系妊娠ラットに C_{14} -D-glucose (U) を使用した場合

日本放射性同位元素協会頒布の Lot. No. 137-29 の C_{14} -D-glucose $17\mu\text{Ci}$ を、滅菌生理食塩水けんだく混合溶液 (glucose 0.1%, BSA 0.1%, cold oleic acid 0.2%) 2ml で emulsion とし、あらかじめ妊娠 L_{16} より1匹当たり hPL $100\mu\text{g}$ を腹腔内へ連続投与した妊娠 L_{16} の Wistar 系ラット尾静脈に投与した、10時間後にと殺し、母血清中の glucose 量を前述の如く Hoffman と Auto Analyzer Technicon Laboratory 法で測定し、またその一部の血清 1ml は、Bray solution に溶解して C_{14} -D-glucose の放射能を測定した。

一方胎仔については、肝臓をとり出し、トーションバランスによりその重量を秤量したあと、前述の如く Good の方法で glycogen を抽出し、2N H_2SO_4 で還元 glucose としたあと、Hoffman と Auto Analyzer Technicon Laboratory 法で cold glucose を測定し、その一部は Bray solution に溶解した後、液体シンチレーションカウンターにより C_{14} -D-glucose (U) の放射能を測定した。

B. 実験成績

1. 胎仔の発育と胎仔および妊娠ラット血中の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量におよぼす hPL の影響

L_3 から L_{21} までと L_{10} から L_{21} までの期間に、hPL を1日当りそれぞれ $15\mu\text{g}$, $50\mu\text{g}$ および $100\mu\text{g}$ を連日投与した各妊娠ラット群から、 L_{21} に直接開腹によつて得た胎仔の体重、身長、脛骨長ならびに心臓、肝臓および腎臓などの各臓器の重量を Table 1 に示す。

コントロール1群胎仔の体重 3.4gr に比して、C-2群胎仔のそれは 4.5gr であり他の hPL 投与群の胎仔体重は増加を示しているが、特にC-2群についてはコントロール1群のそれに対して 30%以上の体重増

Table 1. Effects of hPL on the development of the foetus. (in Wistar strain)

groups	control 1	control 2	A-1	A-2	B-1	B-2	C-2
treated period	L ₃ -L ₂₁	just delivered	L ₃ -L ₂₁	L ₁₀ -L ₂₁	L ₃ -L ₂₁	L ₁₀ -L ₂₁	L ₁₀ -L ₂₁
daily dose			*hPL 15 μ g		hPL 50 μ g		hPL 100 μ g
body weight g	3.4 $\pm$ 0.2	4.7 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.5	4.5 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.1	4.4 $\pm$ 0.1	4.5 $\pm$ 0.1
body length cm	3.4 $\pm$ 0.0	3.8 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.0	3.8 $\pm$ 0.0	3.8 $\pm$ 0.0
tibial length mm	8.0 $\pm$ 0.0	9.0 $\pm$ 0.1	8.7 $\pm$ 0.3	8.8 $\pm$ 0.1	8.9 $\pm$ 0.0	9.0 $\pm$ 0.0	9.3 $\pm$ 0.0
heart weight mg	20.0 $\pm$ 0.8	26.4 $\pm$ 1.6	33.2 $\pm$ 3.8	28.0 $\pm$ 1.0	24.4 $\pm$ 0.5	28.6 $\pm$ 1.2	29.6 $\pm$ 0.4
liver weight mg	206.2 $\pm$ 9.7	237.9 $\pm$ 12.6	254.7 $\pm$ 69.7	308.7 $\pm$ 8.6	306.3 $\pm$ 9.2	328.7 $\pm$ 14.3	350.5 $\pm$ 12.3
kidney weight mg	25.7 $\pm$ 1.3	44.8 $\pm$ 5.6	40.3 $\pm$ 7.7	45.1 $\pm$ 4.3	35.3 $\pm$ 1.4	36.7 $\pm$ 1.2	34.9 $\pm$ 0.8
placenta mg	420.2 $\pm$ 16.8		470.3 $\pm$ 30.3	465.7 $\pm$ 28.6	456.2 $\pm$ 19.8	461.1 $\pm$ 11.7	480.0 $\pm$ 12.5

*HPL was injected into pregnant rats during L₃-L₂₁ or L₁₀-L₂₁. Pregnant rats were sacrificed on L₂₁ and foetus were weighed out immediately.

Table 2. Ratio of dry weight to wet weight of various organs of the foetus. (in Wistar strain)

organs	control 1	B-2 hPL *50g	C-2 hPL 100g/day
wet weight of liver/body weight	6.5(%)	7.4(%)	7.2(%)
dry weight of liver/wet weight of liver	21.4	23.2	23.0
wet weight of heart/body weight	0.5	0.5	0.5
dry weight of heart/wet weight of heart	15.0	19.0	20.0
wet weight of kidney/body weight	0.7	0.3	0.7
dry weight of kidney/wet weight of kidney	16.1	15.0	14.3

*HPL was administered into pregnant rats (50 μ g per day or 100 μ g per day during L₁₀-L₂₁).

加を認めた。

また hPL 投与の時期については、A 群、B 群ともに L₁₀ から L₂₁ まで hPL を投与した方が体重増加は大であった。

hPL 投与群胎仔の各臓器重量ならびに身長と脛骨長はいずれの群もコントロール 1 群に比し増大しているが特に C-2 群については肝臓で 1.7 倍、心臓で 1.5 倍、腎臓で 1.4 倍と増加しており、かつ身長は 1.1 倍、脛骨長は 1.2 倍であった。

Table 2 は各臓器の湿重量に対する乾燥重量の割合と胎仔の体重に対する各臓器重量の割合を示している。

hPL 母体投与群胎仔の体重に対する各臓器重量の割合は、B-2 群、C-2 群ともにコントロール 1 群に比し肝臓、心臓では大となっているが、腎臓では B-2 群に増加を認めたのみであった。

Fig. 1 は胎仔の体重に対する各臓器重量の割合を

Fig. 1. Ratio of wet weight of organ to body weight of the foetus. (in Wistar Strain)

図示した。

Table 3 と Fig. 2 は、胎仔各臓器の glycogen 含有量をしめす。

hPL 母体投与群胎仔の肝 glycogen 量ならびに心 glycogen 量はコントロール1群に比し増量を示し、特にC-2群においてはそれぞれコントロール1群の2倍、1.7倍と増加しているが、腎臓では glucogen 量の増加を認めなかつた。

Table 4 と Fig. 3 は胎仔 carcass の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量をしめす。

hPL 投与群胎仔 carcass の glucose 量は、コントロール1群胎仔のそれに比しB-2群での1.1倍、C-2群で1.1倍、FFA量はB-2群でコントロール1群の1.2倍、C-2群で1.3倍、TG量はB-2群でコントロール1群の1.5倍、C-2群で1.9倍、T-N量はB-2群で1.4倍、C-2群で1.7倍でいずれも増加した。

また hPL の投与量の差によるこれらの物質の量的な比較では、一日当り 50 μ g 投与よりも 100 μ g 投与群の方が glucose, FFA, TG ならびに T-N 量増加の割合が大であつた。

Table 3. Total glycogen in liver, heart and kidney of the foetus. (in Wistar Strain)

organs	groups	control 1	B-2 hPL *50 μ g/day	C-2 hPL 100 μ g/day
liver mg/g		28.7 $\pm$ 2.4	58.3 $\pm$ 6.8	54.7 $\pm$ 5.6
heart mg/g		10.8 $\pm$ 0.6	18.7 $\pm$ 2.3	17.33 $\pm$ 3.1
kidney mg/g		2.3 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.3	2.32 $\pm$ 0.18

*HPL was administered into pregnant rats (50 μ g or 100 μ g per day during L₁₀-L₂₁).

Fig. 2. Total glycogen in liver, heart and kidney of rat foetus. (in Wistar strain)

*HPL was injected into pregnant rats (50 μ g or 100 μ g per day during L₁₀-L₂₁).

Table 4. Glucose, FFA, TG and T-N in the carcass of the foetus on L₂₁. (in Wistar strain)

groups	hPL	glucose mg/g	FFA meg/g	TG mg/g	T-N mg/g
control 1	—	8.36 $\pm$ 0.6	3.37 $\pm$ 0.4	1.36 $\pm$ 0.3	97.6 $\pm$ 4.3
B-2	50 μ g/day*	9.02 $\pm$ 0.4	4.01 $\pm$ 0.2	2.05 $\pm$ 0.2	134.2 $\pm$ 5.6
C-2	100 μ g/day*	9.12 $\pm$ 0.2	4.39 $\pm$ 0.5	2.55 $\pm$ 0.4	165.0 $\pm$ 10.1

*HPL was injected into pregnant rats during L₁₀-L₂₁.

Fig. 3. Total nitrogen, triglyceride and glucose in the carcass of the foetus on L₂₁. (in Wistar strain)

*HPL was injected into pregnant rats during L₁₀-L₂₁.

一方, L₁₀ から L₂₁ まで hPL を一日当たり 50 μ g あるいは 100 μ g 連続投与をうけた妊娠ラット血清中の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量を Table 5 と Fig. 4 に示す。

妊娠ラット血清中の glucose 量は, B-2 群ではコントロール 1 群の 1.6 倍, C-2 群では 1.7 倍であり, FFA 量は B-2 群で 1.7 倍, C-2 群で 1.8 倍, TG 量は B-2 群で 1.1 倍, C-2 群で 1.3 倍, T-N 量は B-2 で 1.1 倍, C-2 群で 1.2 倍であった。

2. 母体および胎仔の glucose, FFA ならびに TG 量の変化に及ぼす hPL の影響

i. Wistar 系妊娠ラットに oleic acid-1-C₁₄ を使用した場合

HPL 投与群および非投与群母血清中の C₁₄-FFA と cold FFA 量, ならびに脂肪組織中の C₁₄-TG 量を Fig. 5 にしめす。

コントロール 1 は oleic acid-1-C₁₄ 投与後 6 時間目の, コントロール 2 は投与後 10 時間目の成績をしめすが, hPL 投与群の成績は, oleic acid-1-C₁₄ 投与 6 時間目に更に hPL を投与し, その後 4 時間目のものである。

母血清中の C₁₄-FFA と cold FFA ならびに脂肪組織の C₁₄-TG 量は, コントロールに比べコントロール 2 ではいずれも軽度上昇しているが, hPL 投与群ではコントロール 2 に比べて血清中の C₁₄-FFA 量は約 7.4 倍, cold-FFA 量は約 2 倍, また脂肪組織中の C₁₄-TG 量は約 10 倍と著増している。

Table 5. Glucose, FFA, TG and T-N in the serum of the pregnant rat on L₂₁. (in Wistar strain)

groups	hPL	glucose mg/dl	FFA μ eg/dl	TG mg/dl	T-N mg/dl
control 1	—	68.2 $\pm$ 3.2	78.3 $\pm$ 8.0	173.5 $\pm$ 10.3	45.6 $\pm$ 2.1
B-2	50 μ g/day*	110.2 $\pm$ 5.8	135.2 $\pm$ 9.5	190.6 $\pm$ 5.8	51.1 $\pm$ 1.8
C-2	100 μ g/day*	116.8 $\pm$ 6.2	141.8 $\pm$ 6.3	230.8 $\pm$ 8.8	52.8 $\pm$ 1.5

*Pregnant rats were injected with hPL (50 μ g per day or 100 μ g per day during L₁₀-L₂₁).

Fig. 4. Triglyceride, total N and glucose in the serum of the pregnant rat on L₂₁. (in Wistar strain)

*HPL (50 μ g or 100 μ g per day) was injected into the pregnant rats during L₁₀ to L₂₁.

Fig. 5. Effect of the administration of hPL on concentrations of C₁₄-FFA, cold FFA in the serum and C₁₄-TG in the fat pad. (Pregnant rats in Wistar strain)

またこの際の母血清中の cold glucose, FFA ならびに TG 量は Fig. 6 にしめす。コントロール 2 ではコントロール 1 のそれと比べ、FFA と TG 量は増加しているものの、glucose 量はやや減少している。また hPL 投与群ではコントロール 2 に比して glucose 量はその 1.4 倍、FFA 量は 2 倍、TG 量は 5.5 倍といずれも著増していた。

一方、胎仔 carcass の C₁₄-FFA, cold FFA, C₁₄-TG 量は Fig. 7 に示めす。コントロール 2 ではコントロール 1 に比べいずれも軽度の増加傾向をしめしているが、hPL 投与群胎では、コントロール 2 に比して、C₁₄-FFA はその 3.9 倍、cold FFA は 2 倍、C₁₄-TG は 4.3 倍といずれも著増した。

ii. S.D. 系妊娠ラットに oleic acid-1-C₁₄ を使用した場合

HPL 投与群および非投与群母血清中の C₁₄-FFA と cold FFA 量ならびに脂肪組織の C₁₄-TG 量を Fig. 8

Fig. 6. Effect of the administration of hPL on concentrations of FFA, TG and glucose in the serum. (Pregnant rats in Wistar strain)

Fig. 7. Effect of the administration of hPL on C_{14} -FFA, cold FFA and C_{14} -TG contents of the foetus. (Pregnant rats in Wistar strain) Fig. 8. Effect of the administration of hPL on concentrations of C_{14} -FFA, cold FFA in the serum and C_{14} -TG in the fat pad. (Pregnant rats in S.D. strain)

にしめす。

HPL 投与群では、コントロール 2 に比して血清中の C_{14} -FFA 量は 4.7 倍、cold FFA 量は 1.7 倍、脂肪組織の C_{14} -TG 量は 1.8 倍と増加している。しかし前述の Wistar 系ラットの場合と比較するとその量的増加は高度ではない。

母血清中の cold glucose, FFA と TG 量を Fig. 9 にしめす。

コントロール 1 に比べてコントロール 2 の FFA 量と TG 量はわずかに増加しているが、glucose 量はむしろやや減少している。一方、hPL 投与群ではコントロール 2 に比して glucose 量は 1.3 倍、FFA 量は 1.5 倍、TG 量は 1.5 倍でいずれも増加した。

胎仔 carcass の C_{14} -FFA, cold FFA, C_{14} -TG 量を Fig. 10 にしめす。

HPL 投与群胎仔では、コントロール 2 に比べ C_{14} -FFA 量は 2.8 倍、cold FFA 量は 1.9 倍、 C_{14} -TG 量は 2.9 倍となりいずれも増加した。

iii. Wistar 系妊娠ラットに C_{14} -D-glucose を使用した場合

Fig. 9. Effect of the administration of hPL on concentrations of FFA, TG and glucose in the serum. (Pregnant rats in S.D. strain)

Fig. 10. Effect of the administration of hPL on C_{14} -FFA, cold FFA and C_{14} -TG contents of the foetus. (Pregnant rats in S.D. strain)

母血清中の glucose および C_{14} -D-glucose の量を Fig. 11 に示す。

HPL 非投与群に比して hPL 投与群母血清の cold glucose 量は 1.5 倍と増加しているが, C_{14} -D-glucose 量は非投与群のそれよりも 30% 減少した。

一方, 胎仔肝臓中の cold glucose および C_{14} -D-glucose の量は Fig. 12 の如くで, 非投与群に比し, 投与群胎仔の glucose 量は 1.2 倍, C_{14} -D-glucose 量は 1.4 倍と増加した。

Fig. 11. Effect of the administration of hPL on contents of glucose and D-glucose- C_{14} (U) in the serum. (Pregnant rats in Wistar strain)

Fig. 12. Effect of the administration of hPL on contents of glucose and D-glucose- C_{14} (U) in foetal liver. (Pregnant rats in Wistar strain)

C. 小括と考按

HPL のもつ固有の生物学的性格の一つである lipolytic action が妊娠時, 胎児の発育に対してどのような影響をしめすか, つまり児の発育が hPL の投与によって妊娠個体で惹起された glucose fatty acid cycle の変化にどのように影響されるかを知らうとして, 著者はまず Wistar 系妊娠ラットに妊娠初期あるいは中期から末期まで hPL を連続的に投与し, 妊娠末期に開腹によって胎仔をとり出し, その時期の胎仔の発育の状態や, 胎仔 carcass の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量と, 母血清中の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量を hPL 非投与群母体および胎仔のそれらと比較することによって検討した。

これらの成績は先述した如くであつて, L_{10} より L_{21} まで一日当り $100\mu\text{g}$ の hPL を連続投与した妊娠ラットより得られた胎仔の体重は, hPL 母体非投与群胎仔のそれより約 25% 増加し, 各臓器の湿重量ならびに乾燥重量も同様に投与群において有意に増加した。

また, これらの臓器の glycogen 含有量は, 非投与群胎仔のそれよりも約 2 倍の増加をしめし, かつ, 胎仔 carcass の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量も有意に増加していたが, 一方, 母体においても血清中の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量はすべて非投与群のそれらに比して著増しているという興味ある成績が得られた。

つまり, 妊娠ラットに hPL を連続投与することによって, 胎児の発育に必要であると考えられる母血清中の glucose, FFA, TG, ならびに T-N 量が先ず増加し, かつ, この増加傾向と胎仔の発育は, hPL の投与量と投与時期に左右されるようであつて, hPL の量は一日当り $50\mu\text{g}$ より $100\mu\text{g}$ が, 妊娠初期からの投与よりは妊娠中期からの投与の方がこのような変化をおこすためにはより効果的であつた。

次に, feto placental-maternal system における glucose fatty acid cycle の動きを検討する目的から, 標識 oleic acid であらかじめ母体の脂肪組織を標識した後に hPL を母体に投与し, その後の母体脂肪組織内 C_{14} -TG 量, 母血清中の C_{14} -FFA 量の推移と, さらに cold FFA, cold TG, cold glucose 量ならびに

胎仔 carcass の C_{14} -FFA と C_{14} -TG ならびに cold FFA 量を測定した。

その結果は、hPL 投与群妊娠ラットにおいて脂肪組織におけるきわめて有意な C_{14} -TG の蓄積と、血清中での C_{14} -FFA 量および cold FFA 量の増加が認められ、一方胎仔では、特に hPL 母体投与群胎仔において C_{14} -FFA, cold FFA ならびに C_{14} -TG 量の増加が認められた。また hPL 投与によつて妊娠ラット血清中の cold FFA, TG, glucose 量は著明に増加していた。

つまり、被検動物に Wistar 系妊娠ラットあるいは S.D. 系妊娠ラットを使用しても、あらかじめ脂肪組織を標識しておいたこれらの妊娠ラットに hPL を投与すると、血清中の C_{14} -FFA の増加が認められるとともに、脂肪組織では C_{14} -TG の蓄積が増すことと、胎仔では、母体のこれらの濃度の変化につれて、著明な C_{14} -FFA, C_{14} -TG, cold FFA 量の増加が認められた。ただし、使用動物の種類によつて、hPL のこのような作用に量的差が認められたことは興味ある成績であるが、この原因は、おそらく使用した Wistar 系と S.D. 系ラットの H.S.L. や Lipoprotein Lipase (L.P.L.) 活性を考慮した年令的な差、また体重あたりの投与量の差によるものと思われる。

また、Wistar 系妊娠ラットに標識 glucose を投与した後 hPL を投与し、母血清中の C_{14} -glucose と cold glucose の量的な変化ならびに胎仔肝臓での両者の量的な割合を検討すると、hPL 投与によつて、母血清中の cold glucose 量の増加と、逆に C_{14} -glucose 量の減少が認められ、一方胎仔肝臓では cold glucose ならびに C_{14} -glucose 量の著増が確認できた。

以上の標識脂肪組織を使用した実験ならびに本実験の成績をまとめて考察すると、hPL の母体投与によつて、母体では脂肪分解、次いで合成が共に亢進し、母体血中に遊離された FFA はおそらく胎児にも移行するであろうが多くは母体で利用される可能性が強く、母体の glucose fatty acid cycle は、fatty acid が優位となる結果、glucose は当然母体血中に増量し、かつ、胎児の発育に最も重要な因子であるこの glucose は、母体血中の濃度に従つて胎児へ移行するものと考えられる。従つて、妊娠ラットに hPL を連続投与した結果、その胎児の発育が30%以上にも亢進するという原因は、恐らくは妊娠個体つまり母体側における hPL の lipolytic な作用に起因するものと推察される。

III. 胎仔に対する hPL の直接作用

—胎仔への直接投与実験—

A. 実験材料と方法

1. 実験材料

実験材料には II-1-i, II-1-ii-a に記載した hPL と被検動物を利用した。

また胎仔の L.P.L. ならびに H.S.L. 活性の測定には、 L_{21} の Wistar 系妊娠ラットの胎仔、生後1日目と10日目の新生仔と3ヶ月後の Wistar 系ラットならびに老鼠を使用した。

2. 実験方法

i. hPL を胎仔に直接投与した際の妊娠ラットならびに胎仔における glucose, FFA, TG および T-N 量の変化

妊娠 L_{21} Wistar 系ラットをエーテル麻酔下で開腹し、一側子宮角内の胎仔腹腔内へ一匹当たり hPL 50 μ g をそれぞれ投与した後、直ちに開腹し、hPL 投与4時間目に子宮周囲血管より採血し、その血清より glucose と FFA 量を、一方胎仔では hPL を投与した胎仔と非投与他側子宮角内胎仔についてそれぞれ先述の如く生理食塩水 2ml で homogenate を作成し、これらの胎仔 homogenate について glucose, FFA, TG ならびに T-N 量を II-2-i に記載した方法で測定した。

ii. 胎仔 carcass ならびに新生仔の Lipase 活性の検討

L.P.L. の測定は、中田氏法⁹⁾ (1969)、つまりそれぞれの胎仔 carcass をトーションバランスにより正確に秤量したあと、約20倍量のドライアイス冷却アセトンを加え、佐久間式 homoblender により15分間粉砕乳化し、直ちに東洋ろ紙 No. 50 をひいた Büchner ろ斗にて吸引ろ過し、残渣が完全に乾燥するまで数回アセ

トンで再抽出をくり返す。得られたアセトン乾燥粉末を正確に秤量し、50mg 当り 1ml の 0.025M, のアンモニア液を加え、0℃で1時間抽出したあと、3000 廻転 15 分間遠沈して得た上澄層を enzyme として Korn²⁸⁾ (1959) の方法によつて FFA を測定し、incubation による FFA の増加量を求め、1時間当り 100 $\mu\text{eq/l}$ の FFA 増加を示めす酵素活性を 1 単位とし、湿重量 1gr 当りに換算した。

H.S.L. 活性の測定は、松原氏法⁹⁾ (1970)によつた、H.S.L. の抽出は、それぞれの時期のラットを 2gr ずつとして、5% BSA を含有する Krebs-Ringer phosphate buffer (pH 7.4) 5ml を入れた 50ml Erlenmyer 型フラスコに投入し、metabolic shaker で 37℃, 30分間大気中にて振盪し、まず preincubation を行なう。その後、組織片をとり出しトーションバランスにより秤量したあと、氷冷 sucrose 溶液を加え氷冷しながら Potter-Elvehjem 型 homogenizer で 2分間、homogenize し、4℃, 12000 × g の条件で 10分間遠沈して上清を採取した。この上清に H.S.L. が抽出されているが、H.S.L. 活性の測定は次の如くした。即ち、有栓試験管中に抽出液 0.2ml をとり、Fatogen 0.1ml, 1N KOH で pH 6.8 に調整した 20% BSA solution 0.5ml, pH 6.8 の 0.06M phosphate buffer 0.2ml を混じ再蒸留水で全量を 2.0ml としたあと、37℃水溶液中で 60分間 incubation し、それぞれの medium 中に遊出される FFA を Dole の方法によつて測定し、incubation 前と後の両測定値の差から酵素活性を計算した。

B. 実験成績

1. HPL を直接胎仔に投与した際の妊娠ラットならびに胎仔における glucose, FFA, TG および T-N 量の変化について

HPL の直接胎仔投与群および非投与群の妊娠ラット血清中の glucose, FFA 量の変化は Fig. 13 に示す。HPL 直接胎仔投与前と投与後 4 時間目のものを比較すると glucose 量の軽度の減少と FFA 量の軽度の上昇がみられたのみである。

一方、hPL 直接胎仔投与群および非投与群の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量を、Fig. 14 に示すが、glucose, FFA, TG ならびに T-N 量は、hPL 直接胎仔投与群と非投与群の間に有意差はみられなかった。

2. 胎仔 carcass ならびに新生仔における両 Lipase 活性の検討

L₂₁ の時期の胎仔、娩出直後の新生仔、生後 10 日目の新生仔ならびに 3 ケ月目のラットおよび老鼠の L.P.L. と H.S.L. の活性は、Table 6 に示す。L₂₁ の胎仔の L.P.L. 活性は 11.3U/gr であるが、新生仔では胎仔の約 2 の活性をしめし、10 日目新生仔では胎仔の約 3 倍と活性の亢進がみられた。

一方、H.S.L. 活性は、L.P.L. 活性と同様に新生仔では胎仔の約 2 倍で 10.1U/gr, 10 日目の新生仔では様 3 倍と高くなつていた。

C. 小括と考按

妊娠ラットに hPL を連続投与することによつて、その胎仔の発育が 30% 以上にも亢進するというこの原因は、hPL の妊娠個体 (母体側) における lipolytic な作用に起因するものであらうと推察したが、hPL が直接胎児という「場」においてその発育になんら影響をおよぼさないのかという疑問が残る。

そこで著者は妊娠末期にラットを開腹し、胎仔に直接 hPL を投与し、その後、hPL の投与をうけなかった他側子宮角内胎仔と、投与をうけた胎仔の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量を比較検討した。その結果、hPL を妊娠ラットに投与した際にみられたような glucose, FFA, TG ならびに T-N などの量的な変化は、hPL 直接投与胎仔や非投与

Fig. 13. Contents of FFA and glucose in the serum. (Pregnant rats in Wistar strain)

Fig. 14. Contents of total nitrogen (TN), triglyceride (TG), glucose and FFA in the carcass after direct administration of hPL to the foetus in utero. (in Wistar strain)

胎仔さらにはこの実験条件下での母体において全く認められなかった。

また著者は、胎仔ならびに新生仔期のラット carcass の L.P.L. および Lipase 活性を同時に測定してみたが、両 Lipase の活性は生後急激な上昇傾向を示したのに反し、胎仔の両 Lipase 活性は、きわめて低いという成績を得た。

以上の成績から考えると、hPL は fetoplacental unit においてその生物作用を発揮せず、placental unit においてのみ有効に働き、その作用にもとづいて間接的に胎児の発育に関与し、母体由来の同化資材を提供する因子であると思われる。

Table 6. Lipase activity of foetus and newborn (carcass in Wistar strain)

	LPL (U/g)	HSL (U/g)
foetus (L ₂₁)	11.3 ± 1.5	5.3 ± 0.65
new born	20.7 ± 2.6	10.1 ± 1.2
10 days after	36.0 ± 3.8	15.0 ± 1.4
3 months after	25.0 ± 2.7	8.0 ± 0.76
old	8.0 ± 0.65	10.04 ± 1.46

IV. 総括と考按

HPL のもつ主として二つの生物学的作用から、本物質の妊娠個体における意義を論ずる場合、プロラクチン (hPRL) 様作用に目を向けると、Ito²⁹⁾ (1961), Josimovich²⁶⁾ (1961), Friesen¹⁶⁾ (1965), Florini¹⁵⁾ (1966), Turkington and Topper³⁵⁾ (1966) や Prop³²⁾ (1967) らの報告からでもわかるように、hPL は「乳汁分泌促進に働くよりはむしろ乳腺の発育を促す」ようである。しかしながら、hPL のこの作用は単独ではかなり弱く、インスリンやステロイドホルモンなど他のホルモンと協調してはじめて乳腺への作用を発揮するものようである。

ところで妊婦血中の hPRL の量的な動態を RI によつて検討した Friesen¹⁸⁾ (1972) の最近の報告によると妊娠初期に 50ng/ml であった hPRL は、妊娠末期では約 250ng/ml と増加しており、その妊娠経過のパターンは、末期に向つての漸増傾向を示している。Friesen は妊娠中に増量する hPRL の意義を分娩後の乳汁分泌に対する準備として、妊娠中に認められる他の mammatropic factor と共同してまず乳腺の発育を促進するものであり、また妊娠時の sodium homeostasis を維持するものであろうと説明している。ところが、妊娠時のこの hPRL のパターンは、我々の測定した hPL の妊娠経過的な上昇のパターンとき

わめて類似しているので、彼の使用した RI-hPRL 系が純化されていないのではないのかという懸念もある。しかし、蛋白化学的な知見からみた hPL は、hPRL とは類似せず、かつ免疫学的にも全く交叉性を有さないところから、両者はまったく別個の蛋白ホルモンと考えられ、従つて、両者の妊娠時のこのような動態から判断すると、妊娠時における乳腺の発育には hPL の働きが主役であるのか、あるいは hPRL の働きが主役であるのかという問題になると、Freisen のいう様には説明が出来ない。

そこで著者は、hPL の妊娠個体における意義を、hPRL 様作用からではなくて、hPL が蛋白化学や免疫化学の立場からみて hPRL よりむしろ、hGH と類似しているところから本物質について hGH アナログの作用を検討し、それらの成績をもとにして、妊娠時における hPL の意義を妊娠個体における「代謝調節ホルモン」としてのあり方から考えてみた。

さて教室村田は、hPL の固有の生物学的作用を検討する意味で、Wistar 系ラットの glucose fatty acid cycle に与える影響や in vitro でのラット副こう脂内 H.S.L. や L.P.L. 活性におよぼす hPL の影響を検討し、hPL は被検動物血清中の FFA 量の増加を惹起し、かつ副こう脂の両 Lipase の活性を共に亢進させるというような脂肪分解作用をもつことを明らかにした。

このような hPL の脂肪分解作用は、Grumbach¹⁹⁾ (1966) らも確認しており、しかも彼は、hPL の脂肪分解作用は、必ずしも hGH の協調作用を必要とせず、hPL 自身にその hormonal action としての脂肪分解作用があるものであると主張している。

そこで著者は、この hPL の脂肪分解作用が、妊娠個体において胎児の発育にどのように影響するかというのを、まず、妊娠ラットに hPL を連続投与し、その胎仔の発育におよぼす影響から検討してみた。

その結果、妊娠ラットに hPL を連続投与すると、母血清中の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量は有意に増加し、かつ、それにつれて胎仔の発育も促進されるという興味ある成績が得られ、また胎仔の体重、各臓器の glycogen 量ならびに胎仔 carcass の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量には、hPL の投与量との間に dose response 的な増加関係がみられた。また、妊娠初期から hPL を投与するよりは、妊娠中期から末期にかけて投与する方が、これらの物質の量的な増加や胎児の発育に対してより効果的であることもわかった。

さらに、あらかじめ脂肪組織を標識しておいた妊娠ラットに hPL を投与すると、血中 C_{14} -FFA 量の増加とともに、脂肪組織では C_{14} -TG 量の蓄積が亢進すること、また胎仔では母体でのこれらの動きに伴つて、著明な C_{14} -FFA と C_{14} -TG ならびに cold FFA 量の増加が認められた。

一方、 C_{14} -D-glucose を母体に投与した後、hPL を母体に投与すると、母血清中の cold glucose 量は増加するが、 C_{14} -glucose 量は逆に減少し、胎仔では cold glucose および C_{14} -glucose 量の著増が認められた。

つまり、hPL を妊娠ラットに妊娠中期から末期にかけて連続的に投与することによつて、母体に惹起された glucose-fatty acid cycle の変化が、胎仔の発育を促進するという興味ある成績が得られたのである。

また著者は、胎仔の発育に対する hPL の直接的な作用を検討する意味から、直接胎仔に hPL を投与し、その後の胎仔の glucose, FFA, TG ならびに T-N 量と、母体のそれらについて検討を加えた。その結果、hPL の直接投与をうけた胎仔と非投与群胎仔間では、これらの物質の量的な変化に差はみられず、また胎仔に hPL を直接投与しても母体におけるこれらの物質の動きには全く影響が認められなかつた。

以上の二つの実験から、少くとも以下のことが推察されるようである。

その一つとして、hPL は feto-placental maternal system のうち、feto-placental unit ではその生物作用を発揮し難い。

その二は、hPL は placenta-maternal unit においてのみその生物作用を発揮し、その作用に基づいて間接的に胎児の発育が促進されるということである。

さて、hPL を妊娠ラットに投与した際にみられた血中の FFA 量の著増と、脂肪組織における再エステル化の亢進という現象は、村田がすでに報告した hPL によつて活性化される両 Lipase 活性の亢進状態に差がみられること、つまり脂肪組織内の H.S.L. 活性は、hPL 投与後きわめて短時間で急上昇し、しかもその

活性亢進の立ち上りは、L.P.L. 活性のそれよりも早く、また数時間後には H.S.L. 活性は降下傾向をしめすのに、lipogenic action をもつ L.P.L. 活性は数時間後でもむしろ漸増傾向をしめしているという両 Lipase 活性の亢進パターンの相違や、hPL 投与によつて脂肪組織への glucose uptake がたかまり、さらには insulin 分泌の増加がみられたという成績を考え併せると、hPL はまず脂肪組織内の H.S.L. 活性を亢進させて脂肪分解作用を促進する。この場合 glycerol-phospho-kinase のない脂肪組織では、glucose uptake のたかまりと共に糖代謝が活発となり、 α -グリセロリン酸が増加する結果、再エステル化するわけ TG の合成がたかまるものと考えられる。

また、妊娠個体のもつ glucose-fatty acid cycle が、hPL の投与によつて FFA 優位の状態になると、筋肉の glucose uptake は逆に減少し、インスリン感受性が低下する一方、筋肉組織のエネルギー源は、FFA に依存するようになると考えられ、その結果、血中には当然 glucose が過剰となるものと思われる。

さて、このように hPL によつて増加した母血清中の FFA と glucose の胎児への移行については、すでに Van Duyne et al³⁶⁾ (1962), Chen et al¹⁰⁾ (1965) らの脂肪酸の胎児への転送や、Davies, J.¹²⁾ (1958) らの glucose の転送、さらには Page et al³¹⁾ (1957) や Dancis¹¹⁾ (1962) のアミノ酸の Stereo-specific active transport などに関する報告もあるが、著者の実験成績からでもわかるように、胎仔の FFA と glucose の量は母体のこれらの物質の動きに平行しているようであり、しかも glucose の胎児への転送は、hPL の投与によつてきわめて亢進するようでもある。

ところで、胎児の発育はこれらの物質の胎児への転送のいかんによつて明らかにコントロールされているようであるが、妊娠初期から hPL を妊娠ラットに投与するよりはむしろ、妊娠中期から投与する方が、胎児の発育に対してより効果的であったという著者の成績は、Claud A. Villee, PH. D.³⁷⁾ (1970)³⁸⁾ (1953)³⁹⁾ (1954) の妊娠初期胎盤では glycogenesis に働らく glucose-6-phosphatase 活性が高まっているが、胎児の発育時期である妊娠中期以後になると、glucose-6-phosphatase 活性はむしろ低下し、citric acid cycle や pentose phosphate pathway あるいは glycolysis に働らく酵素の活性がたかまつていること、また胎児においては母体より十分に glucose の供給をうけている時には、glyconeogenesis に関する酵素の活性は低く、逆に glycokinase, pyruvate kinase など glycolysis に働らく主たる酵素の活性が亢進しているという Hahn, P.²¹⁾ (1968), Burch, H.B.⁹⁾ (1963) らの報告や、また glucose の供給が不十分になると glyconeogenesis に働らく酵素の活性が逆に亢進するのだという Hahn, P.²⁰⁾ (1970)などの報告を考えると、hPL によつて惹起された過剰の glucose は、妊娠中期以後の胎児においては glycogen として蓄積されるよりは、むしろ胎児の発育のための重要なエネルギーとして利用されていると可能性がきわめてたかい。しかし、hPL はラットに対しては異種蛋白であるので、その長期投与により抗体の生成がおこり、これにより hPL 本来の生物学的作用がある程度相殺されてしまった可能性もあり、このことについては将来検討しなければならない。

また、胎児肝臓では glucose-6-phosphatase 活性が妊娠中期より急上昇することや、Shelley³³⁾ (1966) の娩出前の胎児では glycogen synthetase や phosphoglucomutase などの glycogen synthesis に関する他の酵素活性の亢進のために、glycogen の蓄積が亢進するといった報告からみると、hPL の投与をうけた妊娠ラットの末期胎仔では、過剰の供給をうけている glucose は、肝臓で FFA が glycolysis を抑制することによつて、glycogen として肝臓に多量に蓄積され、これが分娩後の胎児の予備能に重大な影響を与えていることも推察される。

一方、あらかじめ妊娠ラットの脂肪組織を、C₁₄-oleic acid で標識しておいたあと、hPL を投与すると、胎仔に高い C₁₄-FFA と C₁₄-TG の蓄積がみられたが、この現象は胎仔で lipolysis に働らく H.S.L. の活性がきわめて低く、逆に acetyl Co A carboxylase 活性が亢進していることや、このような胎仔にみられるより旺盛な解糖系からの α -グリセロリン酸の増量などによつて、母体から転送された FFA は、胎仔におけるエネルギー源として利用されるよりはむしろ、速やかに TG へと合成されてゆくためであろう。

また、蛋白合成も Lister²⁹⁾ (1961) や Thomson and Hytten³⁴⁾ (1960) らによると、妊娠後半期の胎児では、特に旺盛となるが、著者の実験においても hPL 投与群胎仔の T-N 量は、非投与群胎仔のそれよりもはるか

に高いという成績が得られている。

いずれにしても、hPL 投与妊娠ラットの胎仔では、全体的な代謝の傾向は非投与群胎仔のそれよりも同化作用の結果がきわめて著明であるといえる。

以上の如き胎児の代謝に関する諸家の報告や、著者のこれまでの成績から妊娠個体における hPL の意義を「代謝調節ホルモン」としての立場からみると Fig. 15 の如く考えることが出来る。つまり、hPL は妊娠時の母体の糖脂質代謝に影響をおよぼし、その結果母体側に過脂血症や過血糖が惹起され、母体のエネルギー源は遊離脂肪酸に依存する一方、胎盤を介してそれらが胎児に転送され、糖質は主として胎児でのエネルギー源として利用されるが、遊離脂肪酸は解糖系からの多量の α -グリセリン酸と合して中性脂肪として合成され、さらに胎盤を通過したアミノ酸は解糖系からの水素イオンを利用して、あるいは胎児自身のインスリンや生長ホルモンの作用と相いまって旺盛な蛋白合成に関与する。

つまり、hPL は母体への作用にもとづき間接的に胎児の発育に対してきわめて有意義な同化資材を絶え間なく提供しているものと考えられ、さらに胎児固有の同化的性格もこれらの物質の増量によって、より亢進するものと思われる。

結 語

妊娠時における hPL の意義は、その固有の生物学的性格の一としての lipolytic action を中心とした「代謝調節ホルモン作用」にあり、しかもその作用は placental maternal unit においてのみ発揮され、かつその作用に基づいて、間接的に胎児の発育に対してきわめて有意義な同化資材を絶え間なく母体側から提供するものと考えられる。

なお、本論文の要旨は、第四十五回日本内分泌学会(東京・1972)、第四回国際内分泌学会(ワシントン D. C. 1972) および Rockfeller 大学における Seminar (N.Y. 1972) において発表した。

謝 辞

稿を終るに臨み、御指導御校閲をいただいた恩師東條伸平教授に深謝致します。また直接御指導御鞭達をいただいた望月真人講師および教室の蛋白ホルモングループの諸兄姉に感謝し、種々御援助いただいた神戸大学第二内科新光毅講師、中田晃博士、亀野靖郎先生をはじめとする諸兄に感謝致します。

また、hGH の提供をしていただいた NIA, NIAMD R.W. Bates ならびに National Pituitary Agency の A.E. Wilhelmi 博士に感謝します。

参 参 文 献

- 1) 東條伸平, 望月真人, 村田孝美, 森川 肇, 都倉康正, 水沢富一, 椋田 享: 臨床婦人産科, 23, 1027, 1969.
- 2) 望月真人, 村田孝美, 森川 肇, 椋田 享, 東條伸平: 日産婦誌, 22, 245, 1970.
- 3) 望月真人, 森川 肇, 岡部桂一郎, 曹 洙銘, 東條伸平: 日産婦誌, 23, 320, 1971.
- 4) 望月真人, 森川 肇, 椋田 享, 曹 洙銘, 東條伸平: 日産婦誌, 23, 450, 1971.
- 5) 中田 晃: 神大医紀要, 31, 106, 1969.
- 6) 松原嘉雄: 日内分泌誌, 46, 163, 1970.
- 7) 望月真人, 森川 肇, 村田孝美, 椋田 享, 東條伸平: 日産婦誌, 22, 245, 1970.
- 8) 村田孝美: 日内分泌誌, 48, 6, 1972.
- 9)

Fig. 15. Possible physiological effects of hPL on foeto-placental maternal system

- Burch, H.B. : Ann. N.Y. Acad. Sci., 111, 176, 1963. 10) Chen, C.H., Adam, P.A., Laskowski, D.W., Mccann, M.L. and Schwartz, R. : Pediatrics 36, 843, 1965. 11) Dancis, J. : Amer. J. Obstet. Gynec., 84, 1749, 1962. 12) Davies, J. : Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 97, 867, 1958. 13) Dole, V.P. : J. Clin. Invest., 35, 150, 1956. 14) Fletcher, M.J. : Clin. Chem. Acta., 22, 393, 1968. 15) Florini, J.R., Tonelli, G., Breuer, C.B., Coppola, J., Ringler, I. & Bell, P.H. : Endocr., 79, 692, 1966. 16) Friesen, H. : Endocr., 76, 369, 1965. 17) Friesen, H.G. : Endocr., 79, 212, 1966. 18) Friesen, H. et al. : Growth and growth hormone (Editors : A. Pecils and E.E. Muller), Excerpta Medica, Amsterdam, 234, 1972. 19) Grumbach, M.M., Kaplan, S.L., Abrams, C.L., Bell, J.J., Conte, F.A. : J. Clin. Endocr., Metab. 26, 478, 1966. 20) Good, C.A., Kramer, H. & Somoggi, M. : J.B.C., 100, 485, 1932. 21) Hahn, P., & R. Greenberg : Experientia, 24, 428, 1968. 22) Hahn, P.D. Sc. : Fetal growth and Development (Edited by Harry A. Waisman and George Kerr), McGraw-Hill, 297, 1970. 23) Hoffman, W.S. : J. Biol. Chem., 120, 51, 1937. 24) Hoffman ならびに Auto Analyzer Technicon Laboratory 法 : Technicon Auto Analyzer Methodology, method file N-9a, 1965. 25) Ito, Y. and Higashi, K. : Endocr. Jap., 8, 279, 1961. 26) Josimovich, J.B. and MacLaren, J.A. : Endocr., 71, 209, 1962. 27) Koch, F.C., and Hanke, M.E. : Practical Methods in Biochemistry, Williams and Wilkins (Baltimore), 1948. 28) Korn, E.D. : Method of Biochemical Analysis, 7, 1959. 29) Lister, U.M. : J. Obstet. Gynec., Grit. Comm., 68, 405, 1961. 30) Morikawa, H., Mochizuki, M. and Tojo, S. : Endocr. Jap., 18(5), 417, 1971. 31) Page, E.W., Glendening M.B., Margolis, A. and Harper, H.A. : Amer. J. Obstet. Gynec., 73, 589, 1957. 32) Prop, F.J.A. : Protein and Polypeptide Hormone, Part II, Excerpta Medica Foundation, 508, 1967. 33) Shelley, H. and H. Neligan : Brit. Med. Bull., 22, 34, 1966. 34) Thomson, A.M. and Hytten, F.E. : Proc. Nutr. Soc., 19, 5, 1960. 35) Turkington, R.W. and Topper, Y.J. : Endocr., 79, 175, 1966. 36) Van Duyne, C.H., Havel, R.J. and Felts, J.M. : Amer. J. Obstet. Gynec., 84, 1069, 1962. 37) Villee, C.A. Ph. D. : Fetal growth and Development (Edited by Harry A. Waisman and George Kerr), Mc Graw.Hill, 11, 1970. 38) Villee, C.A. : J. Applied Physiol. 5, 437, 1953. 39) Villee, C.A. : Cold Spring Harbor Symposia on Quant. Biol., 19, 186, 1954.

日本内分泌学会雑誌 第48巻 第9号

昭和47年12月15日印刷 昭和47年12月20日発行
(毎月1回発行) 1年金 3500 円

編集兼 吉 田 秀 雄
発行人 前 田 政 昭
印刷人

発行所 日本内分泌学会 (振替京都12902番)
京都市上京区河原町通広小路ル梶井町456
京都府立医科大学第一内科教室内

印刷所 株式会社前田進行堂印刷所
京都市中京区西ノ京南上合町81