Placental Deposition and Transfer of Iron Dextran to Fetuses in Mice at Near Term

Sentaro TAKAHASHI and Osamu MATSUOKA

Division of Comparative Radiotoxicology, National Institute of Radiological Sciences, Anagawa 4-9-1, Chiba-shi, Chiba 260, Japan

(Received for publication : January 4, 1982)

Deposition of iron dextran particles in the fetoplacental system was investigated by light and electron microscopy after intravenous injection into pregnant mice on days 18–19 of gestation. Thirty minutes after injection, the labyrinth trophoblast cells were strongly positive for iron whereas the fetal capillary endothelium was weakly stained. Electron microscopy revealed the transfer of iron dextran particles to the intercellular space between the first and second layers of trophoblasts, as well as within the vacuoles of the second layer trophoblasts. Transport through the second layer trophoblasts, however, was not evidenced, suggesting that the trophoblast layer may constitute a significant barrier. Three hours after injection, heavy iron reaction was observed in Reichert's membrane, trophoblast cells lined with this membrane, and visceral yolk sac. Electron microscopic examination of parietal yolk sac revealed the aggregation of iron dextran particles in the trophoblast cells with little penetration into the Reichert's membrane and parietal endoderm, suggesting that the Reichert's membrane and adhering trophoblast cells may be a significant barrier for selective transport of particulate materials in the yolk sac placenta.

妊娠末期のマウス胎盤における鉄デキストランの沈着と胎仔への移行について

高橋千太郎・松岡 理

放射線医学総合研究所内部被ばく研究部

序 文

胎盤は胎仔の維持、発育に必須の器官であり、そのもっとも重要な機能の一つは、母・胎仔間の物質交換である。胎盤におけるイオンやアミノ酸のような低分子物質の移行に関しては比較的よく検討されているが、高分子物質や粒子状物質に関しては不明な点も多い[12]。さらに、うさぎ類やげっ歯類においては、絨毛尿膜胎盤以外に卵黄包膜側板も母仔間物質交換に重要な役割をはたし

ており、ヒトのような絨毛尿膜胎盤が唯一の母仔間物質移行経路である動物に比べ、移行経路や選択移行の機序はより複雑である[2,5]。

粒子状物質の母仔間移行に関しては、鉄デキストラン粒子[6]、フェリチン[1]、脂肪滴[11,16]などの粒子が、ヒトの絨毛尿膜胎盤を通過することが明らかにされ、ラットにおいても、フェリチンが絨毛尿膜胎盤と卵黄包胎盤の両経路で胎仔へ移行することが確認されている[7,8,14]。また、ラットの母血中や子宮粘膜層に投与された放射性金粒子は、微量ながら胎仔へ移行する[3,13]

が、二酸化トリウム粒子（トロトラスト）の移行は、ヒト[1]およびラット[7,8]で否定されており、選択的な移行が行なわれていると推察されるが、その機序などについては不明な点が多い。

本実験に用いた鉄デキストラン粒子は光顕的に存在が容易に同定でき、さらに電顕的検討も可能である利点を有するが、現在までのところ、げっ歯類における粒子状物質の経胎盤移行を検討するためのトレーサーとして用いた報告はない。そこで、著者らは、妊娠末期のマウス胎盤への鉄デキストラン粒子の沈着様式と、胎仔への移行経路について検討し、従来のフェリチンやトロトラストをトレーサーとした場合の知見と比較検討した。

材料および方法

動物：12～16週齢の C_3H マウスを用い、陰スミア像で2サイクル以上にわたって正常性周期を確認したのち、発情前期に雄と同居させた。翌朝、交配を陰栓により確認し、妊娠第1日とした。妊娠18日に、鉄デキストラン（フェジン、吉富製薬株式会社製）を鉄量として10～20mg 尾静脈投与し、投与後1, 15, 30分および1, 3, 6時間にと殺、胎仔および胎盤を含む妊娠子宮を摘出した。各実験区ごとに3～5匹、総計26匹のマウスを用いた。

子宮壁に小切開を加えたのち固定、常法にしたがいパラフィン切片を作製、ベルリンブルー反応ケルネヒトロート染色を施した。電顕用切片は、細切した胎盤を2%グルタルアルデヒドで前固定、2%四酸化オスミウムで後固定を行ない、エボン812に包埋、Porter-Blum MT-2B 型超ミクロトームで薄切したのち、酢酸ウラニル・クエン酸鉛二重染色を施して、日立 HU-11B 型電子顕微鏡を用いて観察した。

成 績

静注後1分では、鉄デキストランは、絨毛尿膜胎盤母血流内のみ凝集して存在し、栄養膜細胞（T細胞）やReichert's 膜（R膜）、卵黄包臓側板には認められなかった（Fig. 1）。投与後15分では、絨毛尿膜胎盤迷路部のT細胞にもわずかながら鉄の反応が認められた。また、R膜に付着したT細胞には、凝集した鉄デキストランを認め、あたかもR膜内に拡散するとき像を呈していた（Fig. 2）。

投与後30～60分を経過すると、迷路部のT細胞には、

比較的強い鉄の反応がみられ、一部凝集していたが、胎仔血管腔周辺の内皮細胞と思われる部位では鉄の反応は弱く、凝集像はほとんど認められなかった（Fig. 4）。電顕的には、T細胞第Ⅰ・Ⅱ層の細胞間隙および第Ⅱ層細胞の空胞内に、鉄デキストラン粒子の凝集を認めたが、T細胞第Ⅲ層や、胎仔血管内皮には凝集粒子はみられなかった（Fig. 9）。一方、この時期のR膜における鉄の反応は、部位によって大きな差があり、胎盤の周辺部のR膜においては微弱であったが、臍帯付着部や Duval 内胚葉窩付近は強い鉄反応を示した（Fig. 3）。

投与後3～6時間では、迷路部のT細胞は、依然、鉄の反応を示し、R膜もほぼ全域で強い鉄反応が認められた（Fig. 6）。さらに、卵黄包臓側板の内胚葉上皮にも比較的強い鉄反応が認められ、いわゆる核上部（supranuclear region）の細胞部分では一部凝集像を示した（Fig. 5）。また、Duval 内胚葉窩付近のT細胞にも鉄デキストランは非常によく取込まれ、この部位でR膜、壁側内胚葉、尿膜内胚葉を経て尿膜循環へ移行する可能性も示唆された（Fig. 7）。壁側卵黄包の電顕像では、R膜に付着したT細胞内に電子密度の高い粒子の凝集を認めたが、R膜内にはまれであった（Fig. 10）。

投与後いずれの時期においても、子宮粘膜の血管内には鉄反応が認められたが、粘膜上皮には、認められなかった（Fig. 8）。

考 察

妊娠末期のげっ歯類における母仔間の物質移行経路は、絨毛尿膜胎盤あるいは卵黄包胎盤であるとされている[2]が、妊娠後期のマウスでは、鉄デキストラン粒子は、これらいずれの経路からも胎仔へ移行するものと思われる。

げっ歯類絨毛尿膜胎盤迷路部で、母血流と胎仔血流は、三層のT細胞層、基底膜、胎仔血管内皮によって隔てられている[4, 14, 15]が、鉄デキストラン投与後60分の観察では、鉄反応はT細胞付近で強く、胎仔血管内皮付近では弱かった。電顕的にも、凝集した鉄デキストラン粒子は、T細胞第Ⅰ、Ⅱ層の間隙および第Ⅱ層細胞の空胞内には認められたが、第Ⅲ層、基底膜、胎仔血管内皮には認められなかった。したがって、この部位での鉄デキストラン粒子の胎仔移行に関しては、T細胞第Ⅱ層がバリアーの役割を果し、ここで、鉄デキストラン粒子は微細粒子化されるか、あるいは可溶性となって胎仔へ移行することが考えられる。Tillack [14]も、妊娠ラッ

トに静注したフェリチン粒子は、早期にT細胞第Ⅱ層にまで達するが、第Ⅲ層、基底膜、内皮細胞に至るには長時間を要し、かつ、その量もわずかであることから、フェリチン粒子の母仔間移行においては、T細胞第Ⅱ・Ⅲ層がバリアーであると述べている。

母マウスへの鉄デキストラン静注後3～6時間で、卵黄包臓側板の内胚葉上皮にも強い鉄反応が認められ、卵黄包胎盤経由の母仔移行が推察されたが、電顕的には、凝集鉄デキストラン粒子は、R膜に付着したT細胞内のみ認められ、R膜自体および壁側内胚葉細胞内にはまれであった。したがって、R膜および付着するT細胞が、鉄デキストランの母仔移行に関してバリアーの機能を有し、ここで、鉄デキストラン粒子は微細化または可溶化されたのち、卵黄包腔へ到達するものと考えられる。Jollieら[7,8]は、妊娠20日齢のラットにトロトラスト粒子とフェリチン粒子を同時投与し、フェリチンは容易にR膜を通過して卵黄包臓側板内胚葉上皮にとり込まれるのに対し、トロトラストは、R膜付着T細胞にはとり込まれても、R膜を通過しえないことを報告している。

このように、鉄デキストランは、絨毛尿膜胎盤の母血流よりR膜とそれに付着するT細胞、壁側内胚葉を経て卵黄包腔に移行し、卵黄包臓側板内胚葉上皮によって取込まれるものと思われる。ラットやモルモットにおいて、卵黄包腔に注入されたフェリチンなどの物質が活発に臓側板内胚葉上皮にとりこまれ、核上部の細胞質部分に沈着することが報告されている[9,10]。一方、妊娠後期のげっ歯類においては、壁側卵黄包の被包部分は開裂し、卵黄包腔と子宮腔は一体となっているから、母血中の鉄デキストランが卵黄包腔へ到達する経路としては上記の経路のほか、子宮粘膜内の母血管から子宮粘膜上皮、子宮腔を経て卵黄包腔への経路が考えられる。しかし、Fig. 8に示すように、鉄デキストラン投与後いずれの時期においても子宮粘膜上皮細胞には鉄反応が認められなかったので、鉄デキストランが、この子宮粘膜上皮を経由して移行することは考えられない。

投与後30～60分を経過すると、鉄デキストランは、絨毛尿膜胎盤と卵黄包の接点、いわゆる Duval 内胚葉窩付近のT細胞にとくによく取込まれていた。さらに、Fig. 7に示したように、隣接するR膜、壁側内胚葉、尿膜内胚葉にも鉄反応が認められ、鉄デキストランがこの部位で尿膜循環を経て胎仔へ移行する可能性が示唆されたが、げっ歯類でこのような移行経路を示唆した報告は、これまでのところ見当たらない。

以上のごとく、鉄デキストラン粒子の母血中から胎仔への移行経路は、絨毛尿膜胎盤の迷路部、絨毛尿膜胎盤の母血流から壁側卵黄包、卵黄包腔を経て卵黄包臓側板に至る卵黄包胎盤、および Duval 内胚葉窩付近での移行の三経路が推定されたが、各経路による母仔間移行の相対的な重要性、鉄デキストランの移行にともなう物理化学的变化、妊娠日令によるバリアーの反応の差などについては、今後検討を要する問題である。

要 約

鉄デキストラン粒子をトレーサーとして、妊娠末期のマウス胎盤への粒子状物質の沈着と胎仔への移行経路について検討した。母体静注後1分で、鉄デキストラン粒子は絨毛尿膜胎盤の母血流内にも凝集して存在し、栄養膜細胞(T細胞)や Reichert's 膜(R膜)には認められなかった。投与後30～60分で、迷路部のT細胞に強く、胎仔血管内皮に弱く鉄反応が認められた。電顕的にも、第Ⅰ、Ⅱ層のT細胞間隙や、第Ⅱ層細胞内に、鉄デキストラン粒子を認めたが、第Ⅲ層から胎仔側には認められなかった。投与後3～6時間を経ると、卵黄包臓側板にも鉄の反応が認められ、この経路での胎仔移行も示唆された。電顕的には、R膜に付着したT細胞内に鉄デキストラン粒子の凝集がみられたが、R膜内には認められなかった。また、Duval の内胚葉窩付近のT細胞にも、鉄デキストランは非常によく取り込まれ、この部位のR膜は強い鉄反応を呈していた。投与後いずれの時期においても、子宮粘膜の血管内には鉄反応が認められたが、粘膜上皮には認められなかった。

文 献

- [1] Ashley, C. A. (1965). Study of the human placenta with the electron microscope. *Arch. Path.*, **80**, 377-390.
- [2] Beaudoin, A. R. (1980). Embryology and Teratology. In *The Laboratory Rat*, Vol. 2, pp. 75-101, Academic Press, Inc., New York.
- [3] Challier, J. C., and Panigel, M. (1973). Uptake of colloidal ^{198}Au by fetal liver in rat, after direct administration. *In J. Nucl. Med. Biol.*, **1**, 101-109.
- [4] Ender, A. C. (1965). A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. *Am. J. Anat.*, **116**, 29-68.
- [5] 藤原公策 (1972). 母子免疫, その比較生物学, 科学, **42**, 114-124.
- [6] Hata, T., Amano, K., Kawada, A., Ohkada, K., Aihara, K., Yajima, M., and Uchida, K. (1979). An ultrastructural study on the transfer of iron dextran

- in the chorionic villi of early gestational stage. *Acat Obst. Gynaec. Jpn.*, **31**, 208-216.
- [7] Jollie, W. P., and Jollie, L. G. (1966). Visualization of transport of electron opaque colloids in placenta membranes of the rat. In *Electron Microscopy*, Uyeda, R. (editor), Maruzen, Tokyo.
- [8] Jollie, W. P. (1968). Changes in the fine structure of the parietal yolk sac of the rat placenta with increasing gestational age. *Am. J. Anat.*, **122**, 513-532.
- [9] King, B. F., and Enders, A. C. (1970). Protein absorption and transport by the guinea-pig visceral yolk sac placenta. *Am. J. Anat.*, **129**, 262-288.
- [10] Lambson, R. O. (1966). An electron microscopic visualization of transport across rat visceral yolk sac. *Am. J. Anat.*, **118**, 21-52.
- [11] Nakano, M. (1963). Electron microscopic study of the transport mechanism of the human placental villi. *Tohoku J. Exper. Med.*, **78**, 398-409.
- [12] Schultz, R. L. (1970). Placental transport: A review. *Obstet. Gynecol. surv.*, **25**, 979-1020.
- [13] Takahashi, S., and Matsuoka, O. (1981). Cross-placental transfer of ^{198}Au -colloid in near term rats. *J. Radiat. Res.*, **22**, 242-249.
- [14] Tillack, T. W. (1966). The transport of ferritin across the placenta of the rat. *Lab. Invest.*, **15**, 896-909.
- [15] Wisloki, G. B., and Dempsey, E. W. (1955). Electron microscopy of the placenta of the rat. *Anat. Rec.*, **23**, 33-63.
- [16] Yamaguchi, R. Nakano, M., and Sekii, M. (1964). Electron microscopic observations on transference of fat through the human placenta. *J. Jap. Obst. & Gyn. Soc.*, **11**, 151-161.

Explanation of Figures

Abbreviations

aEn, allantoic endoderm
Bm, basement membrane
En, fetal endothelium
FC, fetal capillary
Lab, labyrinth
Mbs, maternal blood space
pE, parietal endoderm

Rm, Reichert's membrane
Th I, layer I of trophoblast
Th II, layer II of trophoblast
Th III, layer III of trophoblast
vYs, visceral yolk sac
Ysc, yolk sac cavity

- Fig. 1. One minute after iron dextran injection. Iron dextran in the maternal blood space of labyrinth.
- Fig. 2. Fifteen minutes after injection. Note heavy iron reaction in the trophoblast cells which are adherent to Reichert's membrane (arrow).
- Fig. 3. Thirty minutes after injection. A strong iron reaction of Reichert's membrane in the central region of chorioallantoic placenta, while slight in the marginal region.
- Fig. 4. A portion of labyrinth 60 min. after injection. A strong iron reaction of the trophoblast cells of labyrinth, while weak in the endothelium of fetal capillary (arrow).
- Fig. 5. The endodermal cells of visceral yolk sac at 3 hr. postinjection. Iron reaction in the supranuclear region of the cells.
- Fig. 6. At 3 hr. postinjection. Heavy iron reaction in Reichert's membrane, trophoblast cells which are adherent to this membrane, and in visceral yolk sac.
- Fig. 7. A portion of Duval's sinus 3 hr. after injection. Note the presence of iron reaction in the parietal yolk sac and allantoic endoderm.
- Fig. 8. Three hours after injection. A slight iron reaction in the capillary of uterine wall, and no reaction in the uterine epithelium (arrow).
- Fig. 9. Electron opaque particles probably of iron dextran in the maternal blood space of labyrinth (large arrow). The particles seem to be transferred to the intercellular space between the layers I and II of trophoblast, and to the channels and vacuoles of the layer II. No iron dextran particles are present in the layer III.
- Fig. 10. Electron micrograph of the parietal yolk sac at 6 hr. postinjection. Aggregated iron dextran in the trophoblast cells practically without passing into Reichert's membrane.