胎盤抽出液中の血小板凝集能に対して 相反する作用物質について

佐山 尚子* 小川 俊隆* 柏木 博之* 井坂 恵一*
高山 雅臣* 吉田 啓治* 相馬 広明* 安孫子雍史**

Identification of pro-and anti-platelet aggregatory substances in human placental extract.

Shoko SAYAMA*, Toshitaka OGAWA*, Hiroyuki KASHIWAGI*,
Keiichi ISAKA*, Masaomi TAKAYAMA*, Keiji YOSHIDA*,
Hiroaki SOMA* and Yasushi ABIKO**

Key words: human placental extracts, placental protein,
inhibition and acceleration of platelet aggregation, ATP release, supernatant fraction

In the preliminary report, we have demonstrated that the supernatant obtained by centrifugation at 10,000 xg from human placental extracts shows a potent inhibitory effect on platelet aggregation, and that placental protein (PP 5; Bohn, 1977) has also an inhibitory effect of platelet aggregation as well. In this report, the two contrary effects on platelet aggregation were found in the process of the purification of platelet antiaggregatory substances from human placental extracts.

Results; 1) The supernatant obtained at 10,000xg for 15 min. and the precipitate obtained at 104,000xg for 60 min. from human placental extracts showed the strong inhibitory effects on platelet aggregation which was prominent in the precipitate of microsomal fraction. 2) A definite fraction of the supernatant obtained at 104,000xg for 60 min. after gel-filtration showed an acceleration of platelet aggregation. 3) Although PP5 was demonstrated in the supernatants at 10,000xg for 15 min. and at 104,000xg for 60 min. by the use of an immunoperoxidase technique, PP5 was not found in the precipitate at 104,000xg for 60 min.

* 東京医科大学産婦人科〔〒160 新宿区西新宿 6-7-1〕, Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Medical College, Tokyo, Japan.

** 第一製薬株研究所, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.

In conclusion, it is evident that there are least two contrary substances showing inhibition and stimulation on platelet aggregation in human placental extracts.

はじめに

前回演者らは、胎盤抽出液の遠心分離 10,000 xg 15 分上清に血小板凝集作用のあることを発表した。その作用は胎盤蛋白やホルモン、酵素などにみられなかったが、胎盤特異糖蛋白 PP5 (Bohn) には類似の血小板凝集抑制作用のあることを認めた¹⁾。特に PP5 は、ヘパリンと結合能をもち、AT-III 類似作用のあることや, trypsin と plasmin の活性を抑制する protease inhibitor の作用をもち、妊娠中毒症や胎盤早剥時に増量し凝固障害との関係が問題となっている^{2,3)}。その意味からも 10,000 xg 15 分上清の血小板凝集抑制物質と PP5 との鑑別が必要である。また胎盤抽出液の血小板凝集抑制物質の分離精製過程上で、血小板凝集抑制作用だけでなく、相反する血小板凝集能亢進作用物質の存在をみいだしたので報告する。

II. 方 法

新鮮満期産胎盤組織片を洗滌し、血液や組織

液を吸着したもの 1 に対して、0.25M Saccharose と 0.145 M NaCl を含む 0.01 M Tris HCl pH 8.0 Buffer を 9 の割合に混合し、ホモジナイズ後、核とミトコンドリア分画をのぞき、その上清を分離し血小板凝集能抑制作用のある 10,000 xg 上清を作成した。さらにその上清は 104,000 xg 60 分にて再分離し、上清分画とミクロゾーム分画である沈殿物とに分けた。上清分画は Sephadex G-200 superfine にてゲル濾過し分画した。沈殿物は、洗滌後 Buffer に懸濁し、Nonidet P-40 を加え Sonication 処理後、再び超遠心分離し、上清分画を Bio-Beads SM-2 カラムにかけて、濾液を濃縮した。血小板凝集能、ATP 放出能は Lumi-aggregometer にて測定した。

II. 結 果

1) 胎盤抽出液上清 (10,000 xg 15 分) と沈殿物 (104,000 xg 60 分) に血小板凝集抑制作用がみられたが、特にミクロゾーム分画の沈殿物にかなり強い抑制作用が認められた (図 1)。

Fig. 1 Effect of placental tissue extracts on platelet aggregation and secretion induced by ADP (10^{-6} M)

Table 1 Effects of inhibition and potentiation on platelet aggregation in each supernatant and precipitate of human placental extracts.

Inducer		104000 xg 60 min. supernatant	104000 xg 60 min. Pellet	10000 xg 15 min. supernatant
ADP	aggregation	☆☆	★★★	★★
	ATP-release	☆☆☆	★★★	★★★★
Collagen	aggregation	☆	★★	★★
	ATP-release	☆	★★	★★
Epinephrin	aggregation	☆☆	★★	★★
	ATP-release	☆☆	★★	★★
Ristocetin	aggregation	☆	★	★
	ATP-release	☆	★★	★★

inhibition {
 ★★★ marked
 ★★ weak
 ★ none
 acceleration {
 ☆☆☆ marked
 ☆☆ weak
 ☆ none

2) 104,000 xg 60 分上清をゲル濾過すると一定の分画に血小板凝集亢進作用をもつ物質が存在した。その作用は ADP 凝集において著明であり, ATP 放出をも促進した (表 1)。3) オクタロニー法及び酵素抗体法を用いて各分画中の PP5 の存在を認めたものの, 強い凝集能抑制作用を示した 104,000 xg 60 分の沈殿物にはほとんどみとめられなかった。

III. 考察および結論

胎盤抽出液中には, その分画において血小板凝集能抑制作用と亢進作用を示す物質が存在し, 強い抑制作用を示す物質は PP5 と異なる物質であると考えられる。また全体としては, 抑制作用が強いように思われる。このことは, 妊娠時の母体血の変化により胎盤内循環血の血栓化を招来しやすい状態を防止しているもので, 子宮-胎盤間の血行動態に及ぼす血小板凝

集能の作用機序を知る手がかりとなると考える。

文 献

- 1) 佐山尚子, 小川俊隆, 柏木博之, 相馬広明: ヒト胎盤抽出液の血小板凝集能抑制作用。血液と脈管, **13**(3): 422~425, 1982.
- 2) Salem, H.T., Obiekwe, B.C., Al-ani, A.T. M., Seppälä, M. and Chard, T.: Molecular heterogeneity of placental protein 5 (PP 5) in late pregnancy serum and plasma: Evidence for a heparin-PP5 polymer. Clin. Chim. Acta, **107**: 211~215, 1980.
- 3) Salem, H.T., Seppälä, M. and Chard, T.: The effect of thrombin on serum placental proteins 5 (PP5): is PP5 the naturally occurring antithrombin III of the human placenta? Placenta, **2**: 205~210, 1981.