妊娠末期のマウスにおけるコロイドカーボンの胎盤への沈着と胎児への移行について

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)

胎盤は胎児の維持、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、母体・胎児間の物質交換にある。胎盤における、イオンやアミノ酸といった低分子の物質の母体・胎児間移行については、比較的良好に研究されてきているが、巨大分子や粒子状物質については、必ずしも十分に検討されているとは言い難い¹⁾。さらに、齧歯類においては、絨毛膜尿膜胎盤以外に、卵黄包膜側板も母体・胎児間物質移行に重要な役割をはたしており²⁾、ヒトのように、絨毛膜尿膜胎盤のみが唯一の母体・胎児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。

粒子状物質の胎盤・胎膜等への沈着と胎児への移行に関しては、主として、電顕的に検討されてきており、フェリチン³⁾、鉄デキストラン粒子⁴⁾、脂肪滴^{5,6)}などの粒子状物質が、ヒトの絨毛膜尿膜胎盤を移行することが報告されている。ラットにおいても^{7,9)}、フェリチン粒子が、絨毛膜尿膜胎盤と卵黄包胎盤のいずれの経路でも、母体から胎児へ移行することが、電顕レベルで確認されている。しかしながら、二酸化トリウム粒子(トトロラスト)の胎児への移行は、ヒト³⁾およびラット⁹⁾において否定されている。すなわち、トトロラストは、ヒトの絨毛膜尿膜胎盤では、胎児血管内皮の基底膜によって移行を阻止され、ラットの卵黄包胎盤では、ライヘル膜によって卵黄包腔への移行が阻止される。

今回、著者らは、典型的な生物学的不活性粒子であるコロイドカーボンをトレーサーとして用い、妊娠末期のマウスにおける粒子状物質の胎盤への沈着と胎児への移行経路について検討した。

材料および方法

供試動物は、12~16 週令の C₃H 系マウスである。陰性スメア像で正常性周期を 2 回以上確認したのち、スメア像が発情前期を示した日に雄と同居させ、自然交配を行った。翌朝、陰栓の存在で妊娠を確認し、この日を妊娠第 1 日目とした。妊娠 18~19 日目に、母体に 10 mg のコロイドカーボン (CII/1431 a, Günther Wagner, West Germany) を尾静脈より投与し、投与後 5, 10, 30 分、および、1, 6, 12 時間後にと殺、開腹して、子宮ごと胎児、胎盤等を取り出した。

固定液等の浸透を容易にするために子宮壁に小切開を加えたのち、常法にしたがってパラフィン切片を作製した。染色は、ヘマトキシリン-エオジン染色またはケルネヒトロートによる染色を用いた。後者の染色法によって、非常に微量のコロイドカーボンの組織への沈着も識別が可能となる。電顕用切片は、胎盤を細切したのち、2.5% 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ったのち、エポン 812 に包埋した。包埋した組織塊は、Porter-Blum MT-2B 型超ミクロームで薄切、酢酸ウラニル、クエン酸鉛で二重染色したのち、日立 HU-11B 型電子顕微鏡を用いて観察した。

観察成績

母体へのコロイドカーボン投与後 5 および 10 分で、凝集したカーボン粒子は、絨毛膜尿膜胎盤の迷路部分の母体血液腔内に散在して認められた。また、この時点では、いまだ十分に母体の細網内皮系による貪食をうけていないので、多くのカーボン粒子が、脱落膜、栄養膜海綿体層および子宮筋層の母体血管腔にも認められた(図 1)。

投与後 30 分および 1 時間では、母体血液中には、ほとんどコロイドカーボン粒子は認められなくなった。わずかに、迷路のトロホプラスト細胞の母体血液腔に面した部分に、小球状に凝集したカーボン粒子が付着してい

Placental uptake and transfer of colloidal carbon in near term mice.

TAKAHASHI, Sentaro & Osamu MATSUOKA (Division of Comparative Radiotoxicology National Institute of Radiological Sciences, Chiba 260)

Japan. J. Anim. Reprod., 28 (2), 1982.

るのが認められたが、トロホプラスト細胞内にカーボン粒子が沈着している像を観察することは非常に稀であった(図2)。投与後1時間における、迷路の部位の電顕像を図3に示した。凝集したカーボン粒子が、トロホプラスト第I層細胞の母体血液腔に面した部分に付着しているのが認められたが、トロホプラスト第I, II, III層細胞内や、胎児血管内皮細胞内には認められず、これらの細胞間隙にも認められなかった。一方、これと対照的に、ライヘルト膜に付着したトロホプラスト細胞には、多くのコロイドカーボンが取り込まれ、非常に微細な球状の凝集した粒子として認められた(図2)。しかし、ライヘルト膜内や、壁側内胚葉細胞(parietal endoderm)内には、カーボン粒子はみられなかった。

投与後6ないし12時間を経過すると、コロイドカーボンは迷路の部位には、まったく認められなくなった。一方、ライヘルト膜に付着しているトロホプラスト細胞には、依然、多くのカーボン粒子が沈着しており、さらに、ライヘルト膜内や壁側内胚葉細胞内にも、光顕的に、小球状に凝集したカーボン粒子を認めた(図4, 5)。このようなライヘルト膜へのカーボン粒子の沈着は、胎盤の辺縁部では比較的まれであるが、臍帯付着部付近や、Duvalの内胚葉窩付近のライヘルト膜では、しばしば認められた。電顕的にも、ライヘルト膜に付着するトロホプラスト細胞内に、コロイドカーボンと思われる電子密度の高い粒子を認め、同様の粒子がライヘルト膜内にもみられた(図6)。

考 察

一般に、妊娠後期の齧齒類における母体・胎児間物質移行経路は、絨毛膜尿膜胎盤と卵黄包胎盤の2つであると考えられている。前者の経路では、移行物質は母体血中より三層のトロホプラスト細胞、基底膜、胎児血管内皮細胞を経て胎児血管腔に至る。一方、後者の経路においては、移行物質は母体血中よりライヘルト膜とそれに付着する一層のトロホプラスト細胞、壁側内胚葉、卵黄包腔、卵黄包臓側板を経て胎児に至る。

コロイドカーボン粒子は、光顕的には迷路のトロホプラスト細胞の母体血液腔面に付着してのみ認められ、トロホプラスト細胞内には取り込まれなかった。さらに、電顕的にも、コロイドカーボンと思われる電子密度の高い粒子は、トロホプラスト第I層細胞の母体血液腔側に付着して認められるのみであり、トロホプラスト第I, II, III層細胞内や胎児血管内皮細胞内、あるいは、これらの細胞の間隙には認められなかった。それ故、コロイ

ドカーボン粒子は絨毛膜尿膜胎盤を経由して胎児へは移行せず、そのバリアーは、トロホプラスト第I層細胞であると推察される。この知見は、タンパク粒子の一つであるフェリチンの場合と若干の相違がある。すなわち、TILLACK⁷⁾らは妊娠ラットに静注したフェリチンは、すばやくトロホプラスト細胞第II層にまで到達するが、第III層、基底膜、胎児血管内皮に至るには長時間を要し、かつ、その移行量もわずかであることから、フェリチンの迷路の部位での胎児移行においては、トロホプラスト第III層、胎児血管内皮とその基底膜が有効なバリアーとしての機能を有し、第I, II層にはバリアーとしての機能はないと述べている。したがって、粒子の物理化学的な性質の差によって、母体・胎児間の選択移行のバリアーとして働く細胞層が異なることが推察される。

一方、コロイドカーボンが迷路部分のトロホプラスト細胞にほとんど取り込まれないのと対照的に、ライヘルト膜に付着したトロホプラスト細胞には非常によく取り込まれる。JOLLIE⁹⁾によれば、ライヘルト膜に付着するトロホプラスト細胞は、合胞体性でない、直径700Å程度の有窓構造(fenestration)を有する等の点から、迷路部のトロホプラスト第I層細胞に類似していると報告しており、現在までのところ、このライヘルト膜に付着するトロホプラスト細胞が、機能的、形態的に迷路の部位のトロホプラスト第I層細胞と異なっているとする報告はない。しかし、本実験結果から明らかのように、コロイドカーボン粒子の取り込みの有無という点から、迷路のトロホプラスト第I層細胞と、ライヘルト膜に付着するトロホプラスト細胞が、形態的に類似しているにもかかわらず、機能的には何らかの差異を有していることは明らかである。HEMMINGS¹⁰⁾は、ウサギにおいて、免疫グロブリンは卵黄包胎盤を経由してのみ胎児へ移行し、絨毛膜尿膜胎盤経由の移行はみられないことを報告しているが、このような免疫グロブリンの如き巨大分子の胎児への移行経路が卵黄包胎盤に限定されているという事実と、両トロホプラスト細胞のカーボン粒子取り込みに関して認められた機能的な差が、何らかの関係を有している可能性もあり、今後さらに詳細な検討を要するものと思われる。

投与後6時間を経ると、ライヘルト膜や壁側内胚葉にコロイドカーボンが認められ、カーボン粒子がこの経路で母体血中より卵黄包腔へ移行する可能性がある。コロイドカーボンがライヘルト膜を通過できる可能性は、以下の二つの実験事実によって裏づけられる。すなわち、ライヘルト膜は厚いという点を除けば、形態的にも、化

学組成においても、生体内でみられる他の種々の基底膜と同一であるとされているが¹¹⁾、コロイドカーボンがリンパ節の後毛細管静脈の内皮基底膜を通過できることが、すでに知られている¹²⁾。また、コロイドカーボンと生体内での挙動が比較的似ているとされている金コロイド粒子を、妊娠末期のラットに静注したところ、投与後 24 時間で投与量の 0.07% が胎膜に移行した¹³⁾。以上のことから、コロイドカーボンがライヘルト膜を通過して卵黄包腔へ移行することは明らかである。しかし、投与後 6 時間を経て初めて移行がみられること、トロホプラスト細胞に沈着したカーボンの量に比べ、移行したカーボンの量が非常に微量であることなどから、ライヘルト膜がこのような粒子状物質の胎児移行において、バリアーとしての機能を有していることも事実である。

ライヘルト膜、壁側内胚葉を経て卵黄包腔にまで到達したコロイドカーボンは、卵黄包腔側板の内胚葉上皮によって取り込まれ、その後、卵黄包循環を経て胎児へ至るものと思われる。しかし、本実験においては、卵黄包腔にまで到達したコロイドカーボンの量が非常にわずかであったので、卵黄包腔側板より胎児に至る過程についての検討を行うことができなかった。LAMBSON ら⁸⁾は、ラットの卵黄包腔に直接にフェリチンを投与し、卵黄包腔側板によるフェリチンの取り込みと、胎児への移行について検討している。コロイドカーボンの卵黄包腔側板から胎児に至る過程についても、本実験のような母体への静注による投与ではなく、卵黄包腔への投与方法を用いて検討することが必要と思われる。

要 約

コロイドカーボン粒子をトレーサーとして用い、妊娠末期のマウスにおける粒子状物質の胎盤への沈着様式、胎児への移行経路について検討し、以下の結論を得た。

1. 絨毛膜尿膜胎盤の迷路部分のトロホプラスト細胞には、コロイドカーボン粒子の沈着は認められなかった。電顕的にも、カーボン粒子は、トロホプラスト第 I 層細胞の母体血液腔に面した細胞表面にのみ付着して存在していた。それ故、コロイドカーボンは、この絨毛膜尿膜胎盤経由では胎児へ移行せず、トロホプラスト第 I 層細胞が有効なバリアーの役割を有しているものと推察

される。

2. ライヘルト膜に付着しているトロホプラスト細胞には、小球状に凝集した多量のコロイドカーボンの沈着がみられた。この事実は、迷路の部位のトロホプラスト細胞と、ライヘルト膜に付着しているトロホプラスト細胞との間に、何らかの機能的な差異のあることを示唆しているものと思われる。

3. 投与後 6 時間を経過すると、ライヘルト膜内や壁側内胚葉にコロイドカーボン粒子が認められ、それ故、コロイドカーボンがこの経路で卵黄包腔へ移行する可能性がある。しかし、その移行量はトロホプラスト細胞に沈着した量に比べはるかに微量であり、このような粒子状物質の卵黄包腔経由での胎児移行においては、ライヘルト膜が有効なバリアーの一つであることが推察される。

(1982. 1. 11 受付)

文 献

- 1) SCHULTZ, R. L.: *Obstet., Gynecol. Surv.*, 25, 979, 1970.
- 2) BEAUDOIN, A. R.: *Embryology and Teratology. In The Laboratory Rat*, Vol. 2, p. 75, Academic Press, New York, 1980.
- 3) ASHLEY, C. A.: *Arch. Path.*, 80, 377, 1965.
- 4) HATA, T., K. AMANO, A. KAWADA, K. OHKAWA, K. AIHARA, M. YAJIMA & K. UCHIDA: *Acta Obst. Gynaec. Jpn.*, 31, 208, 1979.
- 5) NAKANO, M.: *Tohoku J. Exp. Med.*, 78, 398, 1963.
- 6) YAMAGUCHI, R., M. NAKANO & M. SEKI: *J. Jap. Obst. & Gyn. Soc.*, 11, 151, 1964.
- 7) TILLACK, T. W.: *Lab. Invest.*, 15, 896, 1966.
- 8) LAMBSON, R. O.: *Am. J. Anat.*, 118, 21, 1966.
- 9) JOLLIE, W. P.: *Am. J. Anat.*, 122, 513, 1968.
- 10) HEMMINGS, W. A. & F. W. R. BRAMBELL: *Brit. med. Bull.*, 17, 96, 1961.
- 11) CLARK, C. C., R. R. MINOR, T. R. KOSZALKA, R. L. BRENT & N. A. KEFALIDES: *Dev. Biol.*, 46, 243, 1975.
- 12) NOPAJAROONSRI, C. & G. T. SIMON: *Am. J. Pathol.*, 65, 25, 1971.
- 13) TAKAHASHI, S. & O. MATSUOKA: *J. Radiat. Res.*, 22, 242, 1981.

PLATE I

PLATE II

Explanation of Plates

Plate I

Fig. 1. Five minutes after the injection of colloidal carbon. Colloidal carbon is observed distributing only in the maternal blood space of labyrinth (Lab) and spongiotrophoblast (ST).

Fig. 2. One hour after the injection. A large amount of colloidal carbon is deposited in trophoblast cells adhering to the Reichert's membrane (Rm). Ysc, yolk sac cavity; vYs, visceral yolk sac.

Fig. 3. One hour after the injection. Colloidal carbon is observed in the maternal blood space (large arrow). Colloidal carbon is also observed being attached to the first layer of the trophoblast (small arrows). There was no evidence that carbon particles are deposited in the second and third layers of trophoblast and fetal endothelium. Fbs, fetal blood space; Mbs, maternal blood space.

Fig. 4. Six hours after the injection. Carbon particles are found to localize in the Reichert's membrane or parietal endodermal cells (small arrows).

Plate II

Fig. 5. Twelve hours after the injection. Carbon particles are observed distributing in the Reichert's membrane, parietal endoderm (small arrows) and allantoic endoderm (large arrows, aEn).

Fig. 6. Twelve hours after the injection. Aggregated carbon particles are observed deposited in the trophoblast cells. A few particles are also found distributing in the Reichert's membrane.

The bar in each figure shows 50 μ m in the light micrograph and 1 μ m in the electron micrograph, respectively.

Summary

In order to investigate how particulate materials are transferred across the placenta and how they are deposited in the system, colloidal carbon particles were injected into pregnant mice intravenously at the 18-19th day of gestation, and the placenta and fetal membranes were examined by light and electron microscopy.

In the labyrinth of chorioallantoic placenta, all the colloidal carbon particles observed were attached on the surface of the first layer of the trophoblast being exposed to the maternal blood space, which suggests that this layer constitutes a barrier to the transport of colloidal carbon from maternal blood to the fetus. While colloidal carbon particles were rarely deposited in trophoblast cells of a labyrinth, a large amount of these particles was deposited in trophoblast cells adhering to the Reichert's membrane. Therefore, the trophoblast cells at two different sites may play a different role in exchange of material between the mother and fetus. As a small amount of colloidal carbon particles was found to localize in the Reichert's membrane or parietal endodermal cells 6 to 12 hours after the injection, the result may suggest that these particles had been transferred from maternal blood to the fetal yolk sac cavity. The amount transferred, however, was much smaller than that deposited in trophoblast cells. Therefore, the Reichert's membrane appears to act as a barrier to the passage of colloidal carbon particles from maternal blood to the fetal yolk sac cavity.