原 著

ヒト胎盤絨毛組織の物質輸送機構に関する研究

—特に Adenylate Cyclase, cyclic AMP および
Ca-ATPase と臨床像との関連について—

Studies on the Transport Mechanism of the Human
Placenta with Special Reference to Interrelationship between Adenylate
Cyclase, cyclic AMP as well as Ca-ATPase of the Chorionic
Tissues and Clinical Findings.

清 田 明 憲*

AKINORI SEIDA, M.D.

胎盤の絨毛膜を介する物質の輸送機構とこれが胎児発育に及ぼす影響との関連性を知るためにヒト胎盤絨毛膜のCa-ATPase 活性およびNa・K-ATPase 活性を測定し、同時に Adenylate Cyclase-cyclic AMP 系を測定し臨床像との関連性を検討し次の成績を得た。

1. ヒト胎盤絨毛 Ca-ATPase 活性を比活性 ($\mu\text{moles Pi/mg protein/30min}$) でみるとその値は、妊娠初期・中期および後期 AFD で、各々 21.4 ± 2.4 , 31.4 ± 6.7 および 25.8 ± 4.4 であった。

2. ヒト胎盤絨毛 Na・K-ATPase 活性を比活性 ($\mu\text{moles Pi/mg protein/30min}$) でみるとその値は妊娠初期・中期および後期 AFD で、各々 0.95 ± 0.10 , 1.86 ± 0.40 および 1.58 ± 0.44 であった。

3. LFD および SFD 症例におけるヒト胎盤絨毛 Ca-ATPase 活性と Na・K-ATPase 活性を比活性で示すと、Ca-ATPase 活性は LFD で 27.9 ± 1.9 , SFD で 21.2 ± 1.8 であり、Na・K-ATPase 活性では LFD で 1.50 ± 0.35 , SFD で 1.68 ± 0.34 であった。

4. ヒト胎盤絨毛 Adenylate Cyclase 活性を比活性 ($\text{p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15min}$) で示すと妊娠初期・中期および後期 AFD の値は、各々 59.9 ± 19.7 , 100.9 ± 19.9 および 115.2 ± 27.8 であった。

5. ヒト胎盤絨毛 cyclic AMP 濃度は妊娠初期・中期および後期 AFD で、各々 21.3 ± 8.0 , 12.8 ± 2.8 および 15.2 ± 5.6 p moles/mg protein であった。

6. LFD および SFD 症例におけるヒト胎盤絨毛 Adenylate Cyclase 活性は比活性で示すと LFD では 149.7 ± 13.8 , SFD では 95.0 ± 11.4 であり、また cyclic AMP 濃度は、LFD で 19.2 ± 2.4 , SFD で 9.9 ± 1.6 p moles/mg protein であった。

以上の結果、測定したこれらの物質は妊娠中期より高値を示し、胎児発育がスパートする状態とほぼ一致する傾向にあり、これらの物質の代謝調節機構の中で果す役割から考察すると、胎盤における物質のTransport 機構及び胎児発育の一部にそれぞれ重要な役割を担っている事が示唆された。

* 順天堂大学医学部助手 (産婦人科学教室)
Department of Obstetrics and Gynecology,
Juntendo University School of Medicine
(Sept., 25, 1979 受付)

胎盤は母体環境と胎児環境の接点に存在し、母体に対してはその妊娠に対する適合性の維持と調節の役割をもち、さらに胎児に対しては胎児環境に対応するための巧妙な生物学的機構を介してその発育・成長に関与して重要な働きをおこなって

いる。一般に細胞が物理的・化学的情報を受容する最初の反応は細胞膜上でおこなわれ、次いでそれに応答して細胞内代謝反応が進行するという事は、近年の生体膜についての生化学的研究が進むにつれて次第に明らかにされ、膜を介する情報の伝達や物質の輸送機構などの生命現象を分子レベルで解析する事が可能になりつつある。

そこで胎盤の絨毛膜を介する物質の輸送機構と、胎児発育に及ぼす影響との関連性を知るために、ヒト胎盤絨毛膜の Ca-ATPase 活性および Na・K-ATPase 活性を測定し、同時に Adenylate Cyclase-cyclic AMP 系を測定し、能動輸送の観点より臨床像との関連性を検討したのでここに報告する。

実験方法

材料の妊娠各期の胎盤は、人工妊娠中絶あるいは分娩時に採取した新鮮なものを用いた。また胎盤は胎児の発育が、AFD, LFD ならびに SFD を示す 3 群にわけた。

1. ヒト胎盤絨毛 Ca-ATPase および Na・K-ATPase 活性の測定法

胎盤より絨毛組織を分離採取し切片とし、4℃ 0.25M sucrose で洗浄し、血液を可及的に除去した。この絨毛組織を Post et al¹⁾ の方法に準じ、この研究目的に適合するように検討した方法（図 1）で membrane fraction まで preparation をおこなった。すなわち、絨毛組織 20g を磨碎し溶液 A (0.25M sucrose, 0.02M NaCl, 5mM Na₂H₂EDTA, 1mM MgCl₂, 10mM imidazole, pH 7.2) で 9 倍容にし、300×g 10 分間遠心後、得られた上清を 10,000×g 20 分間遠心し、その上清に溶液 A を加えて 250ml にする。これを 35,000×g 30 分間遠心後、得られた沈殿に溶液 B (0.25M sucrose, 2mM Na₂H₂EDTA, 0.1mM MgCl₂, 4mM imidazole, 0.02% (W/V) sodium heparin, pH 6.9) を加えて 25ml に suspend する。これを再度磨碎し 35,000×g 30 分間遠心後、上清を除去し沈殿物の上層 (membrane fraction) を採取し、溶液 C (0.5mM imidazole histidine,

Preparation Procedure

図 1

5mM Tris EDTA, pH 7.6) に suspend し、これを ATPase 測定の試料とした。以上の操作はすべて 0°~4°C でおこなった。また得られた membrane fraction については、電顕像および succinate cytochrome C reductase 活性を測定し mitochondria の contamination が非常に少ない事を確認した。

Ca-ATPase 活性測定のための反応系は、20mM Tris-HCl buffer pH 8.2, 70mM NaCl, 基質 5mM Tris-ATP, 試料 0.2ml を加え、さらに 5mM CaCl₂ を加えた系と加えない系で全量を 1ml としたもので、37°C 15 分間 incubate し、10% SDS 0.05ml を加えて反応を停止した。この溶液の無機磷を Fiske-Subbarow 法²⁾ で測定し、total ATPase 活性値より Ca-independent ATPase 活性値を差し引いた値を Ca-ATPase (Ca-dependent ATPase) 活性値とした。

Na・K-ATPase 活性測定のための反応系は、20

mM imidazole-HCl pH 7.4, 140mM NaCl, 14mM KCl, 5mM MgCl₂, 0.5mM imidazole-EDTA, 基質 3mM Tris-ATP, 試料0.2ml を加え, これに ouabain 0.2mM を加えた系と加えない系とし, いずれも全量を 1 ml としたものである. これらを 37°C 15 分間 incubate した後, 10% SDS 0.05ml を加えて反応を停止した. この溶液の無機磷を Fiske-Subbarow 法²⁾ で測定した. 次に total ATPase 活性値より ouabain insensitive ATPase 活性値を差し引いたものを Na⁺·K-ATPase (ouabain sensitive ATPase) 活性値とした.

2. ヒト胎盤絨毛 Adenylate Cyclase 活性の測定法

採取した絨毛組織を切片とし, 4°C 生理食塩水で洗浄し血液を可及的に除去した. これらを 0.25 M sucrose, 0.02M glycylglycine buffer (pH 7.6), 0.001M Mg SO₄ 溶液で 30% に suspend した後, Waring blender で磨砕し, さらに Teflon homogenizer で磨砕し 4°C 3,000×g 15 分間遠心して得られた crude membrane fraction を 0.02M glycylglycine buffer (pH 7.6), 0.001M MgSO₄ で suspend し, これを測定の試料とした.

反応系および精製法と測定法は G.krishna et al に準拠した奥山³⁾の方法を用いた.

3. ヒト胎盤絨毛 cyclic AMP 濃度の測定法

採取した絨毛組織を切片とし, 4°C 生理食塩水で洗浄し血液を除去し, 最終濃度が 5% になるように Trichloroacetic acid (TCA) を加えて碎磨し, 4°C 30 分間放置後 3,000r.p.m 10 分間遠心し, 上清に ether を加え加温して TCA を除去したものを測定の試料とした. 測定は The Radiochemical Centre 社の assay kit を用い toluene-triton scintillation mixture 10ml に封入し, liquid scintillation spectrometer (Pakard 3385 型) により測定した.

4. 蛋白量測定は Lowry⁴⁾ 変法を用いた.

5. 母体血中 HPL と progesterone 値の測定分娩時, 母体血を採取し血清を遠心分離後,

(mEq/l)

Maternal Blood	Cord Blood	
	Artery	Vein
4.7	4.9	5.5
4.9	5.4	5.5
4.2	4.2	4.6
4.2	4.4	4.6
4.4	4.2	4.7
4.5	4.7	5.1
4.4	4.6	4.9
4.5	4.7	4.9
4.48±0.22	4.64±0.37	4.98±0.34

(mean±S.D.)

表 1 Serum Ca Concentration

(10W~22W)

Case No.	Gestational Weeks	Ca-ATPase	Na ⁺ ·K-ATPase
1	10	21.3	0.99
2	11	22.3	0.96
3	11	23.6	0.91
4	11	19.8	0.96
5	11	24.4	0.98
6	11	22.6	1.09
7	13	24.1	1.05
8	14	17.2	0.95
9	18	18.1	0.68
10	22	20.1	0.95
Mean±S.D.		21.4±2.4	0.95±0.10

(μ moles Pi/mg protein/30min)

表 2 Ca-ATPase and Na⁺·K-ATPase Activities in Human Placenta

(28W~34W)

Case No.	Gestational Weeks	Ca-ATPase	Na ⁺ ·K-ATPase
11	28	39.3	0.95
12	29	36.6	2.10
13	30	40.7	2.35
14	30	22.2	2.10
15	30	32.6	1.80
16	31	28.2	1.70
17	31	29.5	1.80
18	34	22.1	2.05
Mean±S.D.		31.4±6.7	1.86±0.40

(μ moles Pi/mg protein/30min)

表 3 Ca-ATPase and Na⁺·K-ATPase Activities in Human Placenta

(36W~42W)

Case No.	Gestational Weeks	Ca-ATPase	Na·K-ATPase
19	36	17.5	0.75
20	36	26.4	1.50
21	36	23.9	2.40
22	38	33.2	1.95
23	39	26.8	1.50
24	39	23.6	1.60
25	40	27.9	1.20
26	40	22.7	1.85
27	40	22.6	2.20
28	41	31.7	1.25
29	41	26.7	1.85
30	42	31.7	1.25
31	42	20.8	1.25
Mean ± S.D.		25.8 ± 4.4	1.58 ± 0.44

(μ moles Pi/mg protein/30min)

表 4 Ca-ATPase and Na·K-ATPase Activities in Human Placenta

(10W~22W)

Case No.	Gestational Weeks	Adenylate Cyclase	cyclic AMP
1	10	32.3	32.1
2	11	56.7	14.4
3	11	28.9	16.4
4	11	73.6	19.5
5	11	47.5	17.9
6	11	59.1	21.1
7	13	77.3	33.9
8	14	98.4	32.8
9	18	65.5	12.6
10	22	59.9	12.7
Mean ± S.D.		59.9 ± 19.7	21.3 ± 8.0

adenylate cyclase : p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15min
cyclic AMP : p moles/mg protein

表 5 Adenylate Cyclase Activities and Concentration of cyclic AMP in Human Placenta

(28W~34W)

Case No.	Gestational Weeks	Adenylate Cyclase	cyclic AMP
11	28	132.1	10.8
12	29	92.3	14.7
13	30	62.7	8.1
14	30	87.7	12.1
15	30	121.0	17.8
16	31	110.4	11.5
17	31	100.1	12.1
18	34	100.9	15.3
Mean ± S.D.		100.9 ± 19.9	12.8 ± 2.8

adenylate cyclase : p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15min
cyclic AMP : p moles/mg protein

表 6 Adenylate Cyclase Activities and Concentration of cyclic AMP in Human Placenta

HPL は The Radiochemical Centre 社の assay kit を用い, また progesterone は第 1 RI 社の kit を用いて γ -scintillation counter により測定した。

実験成績

1. 血清 Calcium 濃度

表 1 に示すように Ca 濃度は母体血・臍動脈血および臍静脈血の順に高値であり, 各々の平均値は 4.48, 4.64 および 4.98 mEq/l であった。

2. 妊娠各期におけるヒト胎盤絨毛 Ca-ATPase 活性

表 2, 表 3 および表 4 に示すように妊娠初期 (10W~22W), 中期 (28W~34W) および後期 (36W~42W) AFD 群についての測定成績は比活性 (μ moles Pi/mg protein/30min) でみると各々 21.4 ± 2.4, 31.4 ± 6.7 および 25.8 ± 4.4 であり, 妊娠初期と後期は同程度の比活性を示し, 中期にやや高い傾向を認めた。

3. 妊娠各期におけるヒト胎盤絨毛 Na·K-ATPase 活性

表 2, 表 3 および表 4 に示すように妊娠初期・中期, および後期 AFD 群についての測定成績は比活性 (μ moles Pi/mg protein/30min) でみると各々 0.95 ± 0.10, 1.86 ± 0.40 および 1.58 ± 0.44 であり, 妊娠初期が中期および後期よりも低値を示した。

4. 妊娠各期におけるヒト胎盤絨毛 Adenylate Cyclase 活性

表 5, 表 6 および表 7 に示すように妊娠初期・中期, および後期 AFD 群についての測定成績は比活性 (p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15min) でみると各々 59.9 ± 19.7, 100.9 ± 19.9 および 115.2 ± 27.8 であり, 妊娠初期は低値を示したが中期以後は活性が高くなった。

5. 妊娠各期におけるヒト胎盤絨毛 cyclic AMP 濃度

表 5, 表 6 および表 7 に示すように妊娠初期・中期および後期 AFD 群についての測定成績は各々 21.3 ± 8.0, 12.8 ± 2.8 および 15.2 ± 5.6 p moles

(36W~42W)

Case No.	Gestational Weeks	Adenylate Cyclase	cyclic AMP
19	36	112.8	21.3
20	36	72.3	11.8
21	36	84.2	8.8
22	36	115.2	18.4
23	39	101.5	8.3
24	40	123.9	20.2
25	40	119.7	13.6
26	40	139.7	14.6
27	40	99.3	10.1
28	41	93.4	16.5
29	41	187.7	28.1
30	42	113.1	9.3
31	42	134.3	16.4
Mean $\pm$ S.D.		115.2 $\pm$ 27.8	15.2 $\pm$ 5.6

(adenylate cyclase: p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15min
cyclic AMP: p mole/mg protein)

表 7 Adenylate Cyclase Activities and Concentration of cyclic AMP in Human Placenta

Case No.	Ca-ATPase	Na·K-ATPase	Adenylate Cyclase	cyclic AMP
32	27.4	0.95	141.2	17.3
33	31.2	1.80	154.2	20.4
34	24.4	2.05	129.0	23.2
35	28.7	1.15	174.3	15.7
36	28.0	1.65	160.3	21.6
37	28.9	1.40	139.7	17.1
38	26.8	1.45	149.2	18.9
Mean $\pm$ S.D.	27.9 $\pm$ 1.9	1.50 $\pm$ 0.35	149.7 $\pm$ 13.8	19.2 $\pm$ 2.4

(Ca-ATPase, Na·K-ATPase: μ moles Pi/mg protein/30 min
adenylate cyclase: p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15 min
cyclic AMP: p moles/mg protein)

表 8 Placenta of LFD

Case No.	Ca-ATPase	Na·K-ATPase	Adenylate Cyclase	cyclic AMP
39	22.1	1.14	112.3	12.1
40	17.5	1.30	103.1	10.4
41	22.2	1.90	78.3	9.6
42	22.9	1.52	86.4	7.3
43	20.1	2.10	106.4	11.8
44	21.0	1.88	90.6	8.8
45	22.6	1.95	88.1	9.1
Mean $\pm$ S.D.	21.2 $\pm$ 1.8	1.68 $\pm$ 0.34	95.0 $\pm$ 11.4	9.9 $\pm$ 1.6

(Ca-ATPase, Na·K-ATPase: μ moles Pi/mg protein/30 min
adenylate cyclase: p moles of cyclicAMP formed/mg protein/15 min
cyclic AMP: p moles/mg protein)

表 9 Placenta of SFD

/mg protein であり、妊娠初期は中期および後期よりもやや高値を示す傾向が認められた。

6. LFD および SFD におけるヒト胎盤絨毛 Ca-ATPase 活性, Na·K-ATPase 活性, Adenylate Cyclase 活性および cyclic AMP 濃度

表 8 と表 9 に示すように Ca-ATPase 活性は比活性で示すと, LFD 群では, 27.9 $\pm$ 1.9, SFD 群では 21.2 $\pm$ 1.8 であり, SFD では AFD と比べて低値の傾向がみられた。

また, Na·K-ATPase 活性は比活性で示すと, LFD 群では 1.50 $\pm$ 0.35, SFD 群では 1.68 $\pm$ 0.34 であり, AFD 群と比べて LFD, SFD 面群とも差は認められなかった。

一方, Adenylate Cyclase 活性は比活性で示すと, LFD 群では 149.7 $\pm$ 13.8, SFD 群では 95.0 $\pm$ 11.4 であり, AFD 群と比べて LFD 群は高値で SFD 群は低値であった。

さらに cyclic AMP 濃度は LFD 群では, 19.2 $\pm$ 2.4, SFD 群では 9.9 $\pm$ 1.6 p moles/mg protein であり, AFD 群と比べて LFD 群は高値を示し, SFD 群では低値の傾向がみられた。

7. 母体血中 HPL および progesterone 濃度
表 10 に示すように妊娠初期 (Case No. 1~10), 中期 (Case No. 11~18) および後期 AFD (Case No. 19~31) 群における平均値 HPL は各々 0.78, 4.38 および 5.63 μ g/ml であり, さらに progesterone

(HPL : μ g/ml
Progesterone : ng/ml)

Case No.	HPL	Progesterone	Case No.	HPL	Progesterone	Case No.	HPL	Progesterone
1	0.4	16.5	16	5.1	114.4	31	5.9	167.5
2	0.2	29.6	17	5.0	116.1	32	7.8	227.3
3	0.2	40.2	18	5.1	86.3	33	8.1	205.4
4	0.1	19.2	19	5.1	81.2	34	8.3	187.9
5	0.3	20.7	20	5.9	135.7	35	7.5	168.7
6	0.2	19.4	21	5.4	140.2	36	7.9	210.4
7	1.1	17.8	22	9.4	241.1	37	8.1	175.7
8	1.5	10.1	23	3.9	106.6	38	7.7	195.3
9	1.7	15.9	24	3.6	96.5	39	5.4	124.3
10	2.1	28.6	25	8.0	279.2	40	4.7	96.4
11	5.8	107.9	26	5.2	156.2	41	4.9	139.3
12	3.0	107.3	27	3.8	137.1	42	4.4	114.9
13	3.0	137.1	28	5.8	164.8	43	4.9	101.7
14	4.8	110.1	29	5.8	152.3	44	5.1	128.5
15	3.2	121.5	30	5.2	147.2	45	4.4	126.0

表 10 Concentration of HPL and Progesterone in Maternal Blood

rone は各々 21.8, 112.6 および 154.3 ng/ml であり, 両者とも妊娠中期以後は高値を示した.

また, LFD (Case No. 32~38) および SFD (Case No. 39~45) 両群における HPL の平均値は各々 7.9 および 4.8 $\mu\text{g/ml}$, また progesterone は各々 195.8 および 118.7 ng/ml であり, AFD 群に比べて HPL および progesterone 値は共に LFD 群で高値, SFD 群で低値を示した.

考 察 と 結 論

母体-胎盤-胎児系において胎児の発育に必要な物質の輸送は, 胎盤絨毛膜の carrier system によって営まれている. 従来, 胎盤における物質輸送形式としては, 一般的に小分子の物質にみられるような非特異的に膜を通過する単純拡散, 膜内で輸送蛋白を媒介しておこなわれる促進拡散, エネルギーの供与が伴ない濃度勾配に逆らって輸送される能動輸送, さらに endocytosis (pinocytosis および phagocytosis) と呼ばれる形式があると考えられている.

そこで著者は胎盤の能動輸送機構における carrier system に一つの役割をもつと言われている ATPase について検討してみた. Skou⁵⁾ (1957) はカニの神経線維に Na⁺・K⁺-ATPase の存在を見出し, Post et al⁶⁾ (1960) は Na⁺・K⁺-ATPase が Na⁺ と K⁺ の輸送に関与することを明らかにしたが, それ以来多くの組織^{7), 8), 9)} について Na⁺・K⁺-ATPase が測定されている.

一方, Hasselbach et al¹⁰⁾ (1961) は筋小胞体の Ca 輸送に ATPase が関与している事を報告し, さらに Hasselbach¹¹⁾ (1964) は Ca-ATPase が Ca 輸送を担っているものである事を指摘して以来, 小腸粘膜の brush border¹²⁾ や赤血球膜¹³⁾ において Ca-ATPase の存在が発見され, さらにその他の組織においても Ca-ATPase が同様に Ca の輸送に関与している事が明らかにされてきた. また腎の plasma membrane¹⁴⁾ や脳の synaptosome¹⁵⁾ における Ca²⁺ の pumping out に関与している事実, sarcoplasmic reticulum¹⁶⁾ に Ca-ATPase が存在する事も判明している. 母体-胎

盤-胎児系における胎盤の Ca 輸送については, Ca²⁺ は濃度勾配に逆らって母体側から胎児側へ胎盤を通過する事が知られているが¹⁷⁾, 胎盤における Ca-ATPase 活性を測定した報告はきわめて少なく Shami et al¹⁸⁾ (1971), Miller et al¹⁹⁾ (1973) の報告があるが, 詳細にわたっての知見に乏しい.

著者の測定した血清 Ca 濃度の成績を見ても母体血中より臍帯血中が高値の傾向があり, さらに臍静脈と臍動脈で濃度差があるのは, その分だけ胎盤を経て胎児側へ供給されている結果によるものと考えられる. また胎盤の Ca-ATPase 活性の測定値は, Shami et al¹⁸⁾ が guinea pig placenta で測定した値とはほぼ同程度で, すなわち妊娠初期と後期の値を比較すると初期がやや低い活性値を示した. これは胎児の発育速度とこれに伴う需要, いいかえれば要求度の差によるものと考えられる. また妊娠中期に最も高値を示した事は, Twardock²⁰⁾ が指摘している如く, 胎児の骨格形成期と胎児側への Ca²⁺ up take の増加時期とが一致しているという事実によく符合している.

次に胎児発育の程度との関係をみるために妊娠後期における児体重の大小別に胎盤 Ca-ATPase 活性を比較してみると, SFD 胎盤の活性がやや低値の傾向を示した事から, Ca-ATPase は胎児発育に必要とする物質の胎盤能動輸送機構の良否を反映しうる一つの指標となるのではないかと推測される. またこの現象をさらに追求する事により, 胎児発育と密接な関係がある胎盤が持っている物質輸送機能の生化学的機構を一層解明できるのではないかと考えられる.

次に糖・アミノ酸の胎盤通過についてであるが, Crane²¹⁾ (1965) は動物細胞の糖およびアミノ酸の能動輸送は Na との共役によっておこなわれていると報告した. この観点から胎盤における Na⁺・K⁺-ATPase の意義が注目され, 諸家によりこれが測定検討されているが, 胎盤の Na⁺・K⁺-ATPase 活性は腎・脳⁹⁾ などの他組織と比べてそれほど高くはない事が知られている^{22), 23)}, 今回の著者の測定結果も同様に高値は認められなかった. List-

er²⁴⁾ (1966) は正常胎盤と比較して子癇前症の胎盤では組織学的に phosphate 活性が低いとし、Kuhnet al²³⁾ (1977) は逆に両者の間で Na・K-ATPase 活性には差はなかったと報告している。また松田ら²⁵⁾ (1979) は SFD 胎盤の Na・K-ATPase 活性は低値をとったと述べている。著者の測定結果では妊娠初期に低値を示す傾向にあった。しかし中期以後は大体同程度の比活性を示した事から、中期以降の胎盤物質輸送機構の一つを担っている事は想像できるが妊娠後期における児体重との関連についてみると、LFD および SFD 胎盤を比較しては児体重と一定の相関関係は認められなかった。この理由はある水準以上の胎盤機能が保たれている場合は Na・K-ATPase 活性にそれが投影されていないのではと考えられる。

Sutherland et al²⁶⁾ (1957) により cyclic AMP が代謝調節に関与する事が明らかにされ、Rall et al²⁷⁾ (1958) により Adenylate Cyclase が発見されて以来、Robinson et al²⁸⁾ (1967) は細胞膜にあるホルモンレセプターがペプチドホルモンまたは活性アミンと特異的に結合すると adenylate cyclase を活性化することによってホルモン効果を発揮すると説明し、Krebs et al²⁹⁾ (1971) は cyclic AMP 依存性 proteinkinase を発見して、proteinkinase と第 2 messenger である cyclic AMP によってホルモン作用が代行されるという調節メカニズムを明らかにすることにより、この一連の作用機構が細胞の多彩な代謝機構の制御をおこなっているものと報告した。Satoh et al³⁰⁾ (1971) は胎盤中にも cyclic AMP が存在する事を報告し、奥山³⁾ (1977) は胎盤絨毛組織の adenylate cyclase 活性と cyclic AMP 濃度を測定し、他組織よりも高値である事を認め、phosphodiesterase も高い活性を示した事より phosphorylase と cyclic AMP の関連による active transport 調節機序の存在を指摘している。さらに清田ら³¹⁾ (1978) は妊娠各期の正常症例および LFD または SFD 症例の胎盤絨毛組織で adenylate cyclase 活性と cyclic AMP 濃度を測定し胎児発育におけるこの系と物質輸送機構との関連を

検討報告した。また、松田ら³²⁾ (1976) は SFD 胎盤について絨毛組織中 cyclic AMP 濃度の低値とアミノ酸能動輸送の減弱を示唆している。今回著者は Adenylate Cyclase 活性が妊娠中期以降に高値を示し、さらに臨床的には LFD および SFD 症例で、それぞれ児体重と正の相関関係が認められた事は、この活性を測定する事により胎児発育に関連して絨毛膜の保持している機能の活性度を示す一つの指標を知りうると考えられる。また臨床的に妊娠後期の LFD および SFD 症例において cyclic AMP 濃度が児体重と正の相関関係を示した事は、この cyclic AMP 濃度を測定する事により絨毛組織内の代謝機能の良し悪しを知りうる一つの指標が得られる事を示唆している。

今回測定した steroid hormone の一つである progesterone と peptide hormone の一つである HPL 値が、これまでよく知られているように妊娠中期以降に高値を示していたが、その背景にある機序として胎盤絨毛組織における hormone 合成能が測定した諸因子および他の諸因子の活発な相互作用により高まり、それにより発現していると理解し得る。

以上の結果を総合的に考察してみると、胎盤の持っている種々の機能の一つのモデルとして著者が測定した絨毛膜および絨毛組織中の酵素活性や物質濃度には、妊娠中期より高値を示す傾向が認められ、胎盤における Transport 機構の一部として重要な役割を、各々担っていると考えられる。さらに cyclic AMP 系を介する Ca^{2+} の膜輸送機構の調節を示唆している報告³³⁾ もあり、調和のとれた胎児発育がおこなわれるか否かを、これらの種々の物質の輸送に関与している酵素の状態を明らかにし、臨床像との関連を考察する事は今後重要と考えられる。またこれらに影響をおよぼす諸因子についても今後検討する事によって、胎児発育環境を最適な状態に保ち推進する方策を検討する可能性が開拓しうるものと考えられる。

稿を終るに臨み、ご指導ならびにご校閲を賜った恩師古谷博教授に謹謝するとともに、種々ご教示を賜った生化学教室関根隆光教授に深謝し、本研究を直

接ご指導下さった奥山輝明講師に厚く感謝致します。
また、多大のご助言ご助力を下された教室員各位に厚く謝意を表します。

なお、本論文の要旨は昭和53年2月第1回産婦人科代謝研究会、昭和53年4月第30回日本産科婦人科学会総会学術講演会ならびに昭和54年6月第58回日本産科婦人科学会関東連合地方部会総会において発表した。

文 献

- 1) Post, R.L. and Sen, A.K.: Sodium and potassium-stimulated ATPase.: *Methods Enzymol.*, **10**, 762~768, 1967.
- 2) Fiske, C.H. and Subbarow, Y.: Colorimetric determination of phosphorus.: *J. Biol. Chem.* **66**, 375~400, 1925.
- 3) 奥山輝明: 胎児発育における蛋白合成調節機構に関する基礎的研究, 特に胎盤絨毛組織における adenyl cyclase と cyclic AMP について: *日産婦誌*, **29**, 79~87, 1977.
- 4) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265~275, 1951.
- 5) Skou, J.C.: The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerver.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **23**, 394~401, 1957.
- 6) Post, R.L., Merritt, C.R., Kinsolving, C.R. and Albright, C.D.: Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte.: *J. Biol. Chem.*, **235**, 1796~1802, 1960.
- 7) Banerjee, S.P., Dwosh, I.L., Khanna, V.K. and Sen, A.K.: Solubilization of guinea pig kidney ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) -ATPase with Lubrol W and Triton X_{100} .: *Biochim. Biophys. Acta.*, **211**, 345~355, 1970.
- 8) Kahlenberg, A., Dulak, N.C., Dixon, J.F., Galsworthy, P.R. and Hokin, L.E.: Studies on the characterization of the sodium potassium transport adenosintriphosphatase.: *Arch. Biochem Biophys.*, **131**, 253~262, 1969.
- 9) Nakao, T., Tashima, Y., Nagano, K. and Nakao, M.: Highly specific sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase from various tissues of rabbit.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **19**, 755~758, 1965.
- 10) Hasselbach, W. und Makinose, M.: Die Calciumpumpe der Erschlaffungsgrana des Muskels und ihre Abhangigkeit von der ATP-Spaltung.: *Biochem. Z.*, **333**, 518~528, 1961.
- 11) Hasselbach, W.: Relaxing factor and the relaxation of muscle.: *Progr. Biophys. Mol. Biol.*, **14**, 169~222, 1964.
- 12) Martin, D.L., Melancon, M.J. and Deluca, H.F.: Vitamin D stimulated, calcium-dependent adenosine triphosphatase from brush borders of rat small intestine.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **35**, 819~823, 1969.
- 13) Schtzmman, H.J. and Rossi, G.L.: ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$) - activated membrane ATPase in human red cells and their possidle relations to cation transport.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **241**, 379~392, 1971.
- 14) Parkinson, D.K. and Radde, I.C.: Properties of a Ca^{2+} -and Mg^{2+} -activated ATP-hydrolyzing enzyme in rat kidney cortex.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **242**, 238~246, 1971.
- 15) Nakamara, Y., Kosakai, M. and Konishi, K.: Some properties of brain microsome adenosine triphosphatases activated by magnesium and calcium.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **120**, 15~21, 1967.
- 16) Maclellann, D.H.: Purification and properties of an adenosine triphosphatase from sarcoplasmic reticulum.: *J. Biol. Chem.*, **245**, 4508~4518, 1970.
- 17) Maria, D.P., Battaglia, F.C., Bruns, P.D. and Mechia, G.: Total, protein-bound, and ultrafilterable calcium in maternal and fetal plasmas.: *Am. J. physiol.*, **213**, 363~366, 1967.
- 18) Shami, Y. and Radde, I.C.: Calcium-stimulated ATPase of guinea pig placenta.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **249**, 345~352, 1971.
- 19) Miller, R.K. and Berndt, W.O.: Evidence for Mg^{2+} - dependent, $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ - activated

- ATPase and Ca^{2+} -ATPase in the human term placenta.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **143**, 118 ~ 122, 1973.
- 20) Twardock, A.R.: Placental transfer of calcium and strontium in the guinea pig.: *Am. J. Physiol.* **213**, 837~842, 1967.
- 21) Crane, R.K.: Na^{+} - dependent transport in the intestine and other animal tissues.: *Fed. Proc.* **24**, 1000~1006, 1965.
- 22) Ishii, S., Ikeura, T., Nakamura, I. and Nagai, K.: Some observation on the activity of transport ATPase in the human placenta.: *Wakayama Med. Rept.*, **14**, 133~138, 1971.
- 23) Kuhnert, B.R., Kuhnert, P.M., Murray, B.A. and Sokol, R.J.: Na/K -and Mg -ATPase activity in the placenta and in maternal and cord erythrocytes of pre-eclamptic patients.: *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **127**, 56~60, 1977.
- 24) Lister, U.M.: Ultrastructure of the placenta in hypertensive states.: *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.*, **73**, 439~451, 1966.
- 25) 松田哲式, 中野義一, 辻 祥雅, 西川義雄, 山口龍二: 正常及びSFD発生胎盤におけるTrophoblast膜レベルでの Na^{+} , K^{+} ATPase の特性と c-AMP の関係: *日産婦誌*, **31**, 425~430, 1979.
- 26) Rall, T.W., Sutherland, E.W. and Berthet, J.: The relationship of epinephrine and glucagon to liner phosphorylase.: *J. Biol. Chem.*, **224**, 463~475, 1957.
- 27) Rall, T.W. and Sutherland, E.W.: Formation of a cyclic adenosine ribonucleotide by tissue particles.: *J. Biol. Chem.*, **232**, 1065 ~ 1076, 1958.
- 28) Robison, G.A., Butcher, R.W. and Sutherland, E.W.: Adenyl cyclase as an adrenergic receptor.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **139**, 703~723, 1967.
- 29) Reimann, E.M., Brostrom, C.O., Corbin, J.D., King, C.A. and Krebs, E.G.: Separation of regulatory and catalytic subunits of the cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate-dependent protein kinase of rabbit skeletal muscle.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **42**, 187~194, 1971.
- 30) Satoh, K. and Ryan, K.J.: Adenyl cyclase in the human placenta.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **244**, 618~624, 1971.
- 31) 清田明憲, 奥山輝明, 古谷 博: 胎盤における胎児発育調節機構に関する研究, 特に胎盤能動輸送における Adenylate Cyclase-cyclic AMP 系と臨床像との関連について: *日産婦誌*, **30**, 707~714, 1978.
- 32) 松田哲式, 中野義一, 竹井啓裕, 石橋尚武, 上羽捷之, 西川義雄, 山口龍二: 異常妊娠, 特に SFD における母児間アミノ酸環境と胎盤c-AMPの役割: *日産婦誌*, **28**, 1465~1472, 1976.
- 33) Rassmussen, H., Goodman, D.B.P. and Tenenhouse, A.: The role of cyclic AMP and calcium in cell activation.: *Crit. Rev. Biochem.*, **1**, 95~147, 1971.

植物性機能の神経学は19世紀の半ば以後, クロード・ベルナール Claude Bernard (1813~1878) やストリッケル S. Stricker (1834~1898) の研究を経て, 英国のガスケル W.H. Gaskell (1847~1914) およびラングレイ J.N. Langley (1852~1925) が出るによんで, 大いに進歩するにいたった。そして autonomic nervous system (自律神経系) の名前はラングレイが初めて用い (1898), また parasympathetic (副交感) という言葉もラングレイにはじまったのである (1905)。

自律神経系のこと

また自律神経のことを Lebensnerven すなわち生活神経の名前でよぶことがあるが, その起源は甚だ古いと思われる。英国のウイリス Thomas Willis (1621~1675) が脳を二つの主要部すなわち大脳と小

ある神経 vital nerves がここから発して, 呼吸や心臓のはたらきなどを支配すると考えた (1683). この辺がその起こりであろう。 (小川 鼎三)

脳にわけて, 大脳は意識運動にたずさわる神経を出し, 小脳はそれより固くできていて, すべての無意識運動をおこすものであり, 生命の保持に密接な関係の

Summary

Studies on the Transport Mechanism of the Human Placenta with Special Reference to Interrelationship between Adenylate Cyclase, cyclic AMP as well as Ca-ATPase of the Chorionic Tissues and Clinical Findings

The activities of Ca-ATPase, Na · K-ATPase and adenylate cyclase, and the concentration of cyclic AMP in the human placental chorionic tissue obtained in each gestational trimester were determined in relation to the transport mechanism of the placenta.

The findings obtained in this study were as follows:

1. The activities of Ca-ATPase (μ moles Pi/mg protein/30 minutes) were 21.4 ± 2.4 , 31.4 ± 6.4 and 25.8 ± 4.4 in the 1st, 2nd and 3rd trimester respectively.
2. The activities of Na · K-ATPase (μ moles Pi/mg protein/30 minutes) were 0.95 ± 0.10 , 1.86 ± 0.40 and 1.58 ± 0.44 in the 1st, 2nd and 3rd trimester respectively.
3. The activities of Ca-ATPase and Na · K-ATPase in cases of LED infants were 27.9 ± 1.9 and 1.50 ± 0.35 respectively, and those in cases of SED infants were 21.2 ± 1.8 and 1.68 ± 0.34 μ moles Pi/mg protein/30minutes respectively.
4. The activities of adenylate cyclase (p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15 minutes) were 59.9 ± 19.7 , 100.9 ± 19.9 and 115.2 ± 27.8 in the 1st, 2nd and 3rd trimester respectively.
5. The concentration of cyclic AMP (p moles/mg protein) in the human placental chorion tissue were 21.3 ± 8.0 , 12.8 ± 2.8 and 15.2 ± 5.6 in the 1st, 2nd and 3rd trimester respectively.
6. The activities of adenylate cyclase (p moles of cyclic AMP formed/mg protein/15 minutes) in cases of LFD and SFD infants were 149.7 ± 13.8 and 95.0 ± 11.4 respectively. The concentration of cyclic AMP (p moles/mg protein) in both infants were 19.2 ± 2.4 (LFD) and 9.9 ± 1.6 (SFD) respectively.

From the above results, the followings were concluded. Those placental enzymes which has been considered to be characteristic indicators of the placental functions showed a tendency of increasing in the activities after the second trimester of pregnancy, and from the clinical points of view, the changes of the enzyme activities were roughly parallel to the grade of the fetal growth. These enzymes, therefore, may play an important role in the placental metabolism, especially in the transport mechanism of the substances across the placenta.

AKINORI SEIDA, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology
Juntendo University School of Medicine*