

## 遊離脂肪酸の胎盤通過性について

## Transfer of Free Fatty Acids Across the Placenta

倉敷成人病センター産婦人科(院長:須原銀兵衛)

吉 岡 保 Tamotsu YOSHIOKA

岡山大学医学部産婦人科教室(主任関場香教授)

武 田 佳 彦 Yoshihiko TAKEDA 江 口 勝 人 Katuto EGUCHI

**概要** ヒト胎盤における遊離脂肪酸(F.F.A.)の通過性について Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C 又は Linoleic Acid-1-<sup>14</sup>C を含む medium で incubation 実験を行ない次の如き結果を得た。

(1) これら脂酸は胎盤組織中で、燐脂質、中性脂肪、ステロール、ステロールエステルの各分画にとりこまれた。胎盤組織中にとりこまれたこれら脂酸の量は medium の F.F.A. 濃度に比例した。

(2) Incubation 開始5分で胎盤組織の F.F.A. 分画には大量の <sup>14</sup>C が認められ、その後2時間に亘る実験中、その濃度はほぼ一定値を示した。その他の脂質分画にとりこまれた量は incubation 時間と共に一直線に増加した。

(3) Incubation を37°Cの代りに0°Cで行なった実験において、これら脂酸の胎盤組織の F.F.A. 分画へのとりこみは、対照として行なった37°Cの場合と同量であり、有意の差は認められなかった。又、F.F.A. 分画以外の脂質へのとりこみはほとんど認められなかった。

(4) Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C で前もって incubate した胎盤組織を Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C と F.F.A. を含まない medium で再び incubate したところ、胎盤組織の F.F.A. 分画に含まれていた <sup>14</sup>C の大部分が medium 中に放出された。F.F.A. 分画以外の脂質分画に含まれている <sup>14</sup>C の量はほとんど変化がみられなかった。以上のことより、胎盤における F.F.A. の通過は能動移送(Active Transportation)のほかに、拡散(Passive Diffusion)ともいふべき、エネルギーを必要としない様式によっても行なわれていることが強く示唆される。

## はじめに

胎盤におけるステロイドホルモンの合成についてはよく研究されているけれども、脂質代謝についてはまだよく知られてないことが多い。この大きな理由は、胎盤における脂質の量が少ないことや、胎児の脂質は胎児自身で合成されると考えられており、胎盤における脂質代謝の重要性が認識されなかつた為と考えられる。

母体血中の遊離脂肪酸(以下 F.F.A. と略)濃度に比べて臍帯血中の濃度が非常に低値であり構成脂酸についても両者に差がみられるが、胎盤の F.F.A. の通過性はその大きな原因の1つであると考えられる。

今回、Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C 及び Linoleic Acid-

1-<sup>14</sup>C を用いてヒト胎盤組織と incubate することにより、胎盤におけるこれら脂酸の通過について検討した。

## 実験材料及び方法

ヒト満期産胎盤組織の中央部の一部を分娩後直ちに氷冷した後、9%の冷食塩水で充分脱血し、約600mgの組織片を Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C(Specific Activity 15 $\mu$ Ci/mMol) 又は Linoleic Acid-1-<sup>14</sup>C(Specific Activity 15 $\mu$ Ci/mMol) に1.0~3.0 mMol の F.F.A., 3%の牛アルブミン(Fraction V), 10mMol の Glucose を含む Krebs Ringer 燐酸緩衝液(pH 7.4)を medium として、2時間 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> のもとで incubate した。なお F.F.A. は母体の皮下脂肪を鹼化して得たもので

ある (Yoshioka, 1971, 吉岡他1972). フラスコの中央部には1.25 N—NaOH 液 0.2ml を含む濾紙をおき, 組織が出す呼吸性炭酸ガス ( $^{14}\text{CO}_2$ ) を吸着させた (Villem, 1958).

Incubation 終了後, 組織片は冷 0.9%食塩水でよく洗浄し, 組織表面に付着している  $^{14}\text{C}$  を充分に洗い落した. 次に25ml のクロロフォルム・メタノール (2:1) と共に組織片をホモジナイズして Folch 法 (1957) により脂質を抽出した. さらに薄層クロマトグラフィーにより, ヘキサン, ジエチルエーテル, 氷酢酸 (90:10:1) を含む展開槽にて磷脂質 (P.L と略), ステロール (S.T と略), F.F.A., 中性脂肪 (T.G と略) 及びステロールエステル (S.E と略) の5分画に分離した (Stahl, 1965). そして各脂質分画にとりこまれた  $^{14}\text{C}$  を Carb-O-Sil と B.B.O.T. を含むトルエン液で混和しシンチレーションカウンターにて  $^{14}\text{C}$  を測定した. 呼吸性炭酸ガスの測定は  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  により  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  の白色沈澱物としたのち乾燥させて  $^{14}\text{C}$  の量を測定した (Villem, 1958).

### 実験成績

#### (I) Medium の F.F.A. 濃度の影響

胎盤組織を  $37^\circ\text{C}$  95%  $\text{O}_2$ -5%  $\text{CO}_2$  の条件下で1時間 incubate した. Palmitic Acid- $^{14}\text{C}$  の胎盤組織内へのとりこみは Medium 中の F.F.A. 濃度に比例して増加した (第1図, 第1表). すなわち Medium 中の F.F.A. 濃度が増加するにつれて, 胎盤組織の F.F.A. 分画中に認められた  $^{14}\text{C}$  の量は放物線を描いて上昇し, 又中性脂肪, 磷脂質などの脂質分画にとりこまれた  $^{14}\text{C}$  も増加し

図1 Palmitic acid- $^{14}\text{C}$  incorporation into term placental tissue lipids

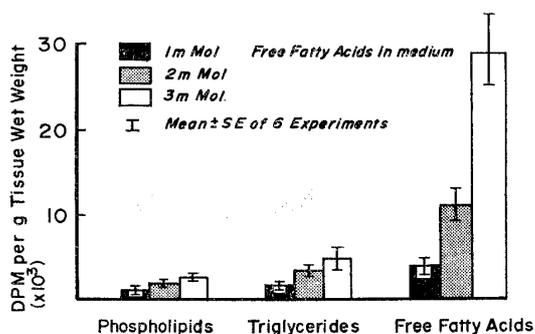


表1 Effect of concentration of free fatty acids in medium on Palmitic acid- $^{14}\text{C}$  incorporation into placental lipids and conversion to respiratory  $\text{CO}_2$

	1 mMol	2 mMol	3 mMol
Phospholipids	1983±67	3342± 216	5149±34
Free Fatty Acids	5632± 933	25441 ±7873	63768 ± 11148
Tryglycerides	2269±1000	6989± 427	9478±2361
Sterol Esters	79± 8	76± 3	112±14
Respiratory $^{14}\text{CO}_2$	530±77	530±84	502± 145

\* Results are expressed as dpm/gram wet weight and represent mean±SE of 6 experiments.

\*\* Tissue was incubated at  $37^\circ\text{C}$  in 95%  $\text{O}_2$ -5%  $\text{CO}_2$  for one hour.

た. 一方, 胎盤組織が産出した呼吸性炭酸ガス ( $^{14}\text{CO}_2$ ) は Medium の F.F.A. 濃度に拘らず単位重量当りの量がほぼ一定であつた (第1表).

#### (II) Incubation 時間の影響

$37^\circ\text{C}$  95%  $\text{O}_2$ -5%  $\text{CO}_2$  の条件下で Palmitic Acid- $^{14}\text{C}$  を用いた 2 mMol の F.F.A. を含む medium で incubate して胎盤組織内へのとりこみの時間的変動について検討した.

胎盤組織は incubation 開始後5分という短かい接触のうちに medium 中の Palmitic Acid- $^{14}\text{C}$  を多量にその組織内の F.F.A. 分画にとりこんだ. そして2時間に亘る incubation 実験の終了まで胎盤組織の F.F.A. 分画に含まれた  $^{14}\text{C}$  の量は一定値をしめした (第2図, 第2表). その他のエステル化された脂質 (中性脂肪, 磷脂質, ステロール, ステロールエステル) へのとりこみは時間の経過と共に直線的な増加が認められた. 又, 呼吸性炭酸ガスの産生も incubation 時間と共に直線的な増加がみられた.

Palmitic Acid- $^{14}\text{C}$  の実験と同様のシステムにより Linoleic Acid- $^{14}\text{C}$  (S.A.  $15\mu\text{Ci}/\text{mMol}$ ) を用いて行なつた. 胎盤組織内脂質へのとりこみや呼吸性炭酸ガスの産生は Palmitic Acid- $^{14}\text{C}$  と同じ傾向がみられた. Linoleic Acid- $^{14}\text{C}$  における組織内脂質へのとりこみは Palmitic Acid- $^{14}\text{C}$  に比べて F.F.A. 分画に認められた  $^{14}\text{C}$  の量が少なく, 中性脂肪分画に多くの  $^{14}\text{C}$  が検出されたことが特徴的である (3図, 3表).

図2 Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into term placental tissue lipids

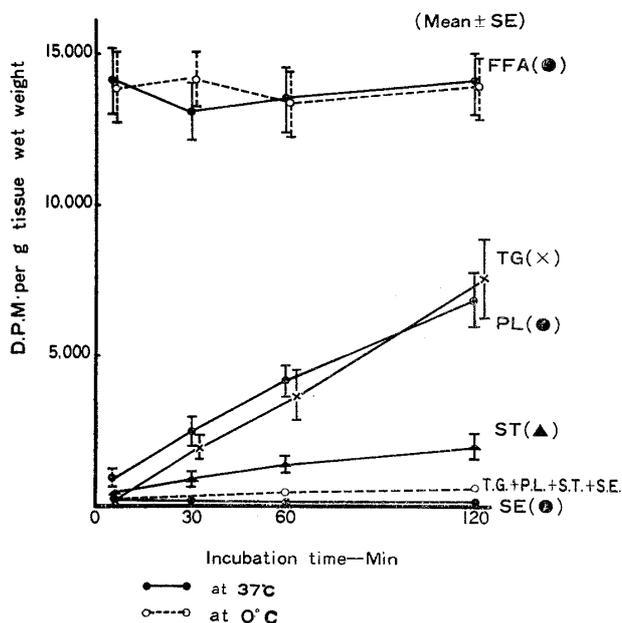


表2 Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into placental tissue lipids and conversion to respiratory CO<sub>2</sub>

	5 min.	30min.	60min.	120min.
Phospholipids	829±80	2340 ± 236	4222 ± 321	6628 ± 521
Sterol	401±58	739±95	985±84	1446 ± 197
Free Fatty Acids	13413 ± 679	12833 ± 561	13170 ± 680	13421 ± 743
Tryglycerides	167±26	1635 ± 275	3685 ± 522	7087 ± 994
Sterol Esters	21± 4	61± 9	120±21	202±34
Respiratory <sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	75±20	315±45	696±63	1357 ± 100

\* Results are expressed as dpm/gram wet weight and represent mean±SE of 14 experiments.

\*\* Tissue was incubated at 37°C in 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> for 2 hours in 2.0mMol palmitic acid-1-<sup>14</sup>C

(Ⅲ) Incubation 温度の影響

Incubation 温度の影響をみるために 37°Cの代わりに 0°Cの氷の浮遊している水中で 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> の条件下で 2.0mMol F.F.A., Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C を含む medium で incubate した。胎盤組織の F.F.A. 分画にみとめられた <sup>14</sup>C の量は 37°C における場合とほぼ同様であり、13,000~14,000 dpm/g 湿重量 という高い値を示した。しかしな

図3 Linoleic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into term placental tissue lipids

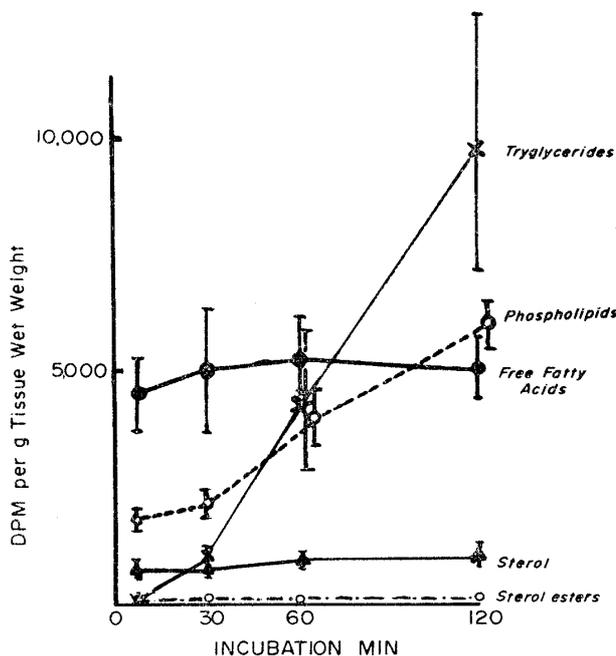


表3 Linoleic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into placental tissue lipids and conversion to respiratory CO<sub>2</sub>

	5 min.	30min.	60min.	120min.
Phospholipids	2022 ± 194	2700 ± 357	4084 ± 771	6313 ± 564
Sterol	978 ± 157	1083 ± 121	1278 ± 169	1347 ± 138
Free Fatty Acids	4555 ± 1033	4926 ± 1449	5162 ± 960	4969 ± 938
Triglycerides	250±28	1126 ± 213	4326 ± 1457	9607 ± 2571
Sterol Esters	17±10	55±18	67±26	170±38
Respiratory <sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	21± 8	202±25	607±57	1500 ± 132

\* Results are expressed as dpm/gram wet weight and represent mean±SE of 5 experiments.

\*\* Tissue was incubated at 37°C in 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> for 2 hours in 2.0mMol Linoleic Acid-1-<sup>14</sup>C

がら F.F.A. 分画以外の脂質 (磷脂質, 中性脂肪, ステロール, ステロールエステル) にとりこまれた <sup>14</sup>C は極く僅かであり、これらの総和は 2 時間値で 800dpm/g 湿重量にしか過ぎなかつた。又 0°C においては呼吸性炭酸ガスの産生はほとんどゼロの状態であつた (2 図, 4 表)。

(Ⅳ) 胎盤組織内 <sup>14</sup>C の放出

表4 Effect of temperature on Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into placental tissue lipids and conversion to respiratory CO<sub>2</sub>

	5 min.	30min.	60min.	120min.
Phospholipids	198	304	236	409
Sterol	151	203	150	297
Free Fatty Acids	13061	14031	13050	13821
Tryglycerides	38	50	73	90
Sterol Esters	8	8	25	20
Respiratory <sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	5	3	12	15

\* Results are expressed as dpm/gram wet weight and represent mean of 3 experiments

\*\* Tissue was incubated at 0 °C in 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> for 2 hours in 2.0mMol palmitic acid-1-<sup>14</sup>C

胎盤組織内にとりこまれた脂酸の動態を知るために胎盤組織を 37°C 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> の条件下で 2.0mMol の F.F.A. と Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C を含む medium で1時間 incubate した. この Pre-incubation 終了後フラスコより組織をとり出し, 冷9%食塩水で数回洗浄し, 組織の表面に付着している <sup>14</sup>C を充分とり除き, 再び新しく用意した F.F.A. と Palmitic Acid-1-<sup>14</sup>C が含まれていない medium のフラスコに移して更に2時間の incubation を行なつた.

Re-incubation 開始後5分で胎盤組織の F.F.A. 分画に含まれていた <sup>14</sup>C のうちの約80%が組織内より medium 中に放出された(4図, 5表).

図4 Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into term placental tissue lipids

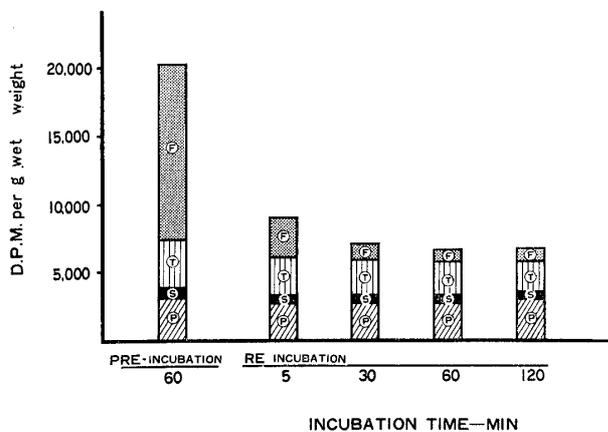


図5 Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C conversion to respiratory CO<sub>2</sub> by placental Tissue

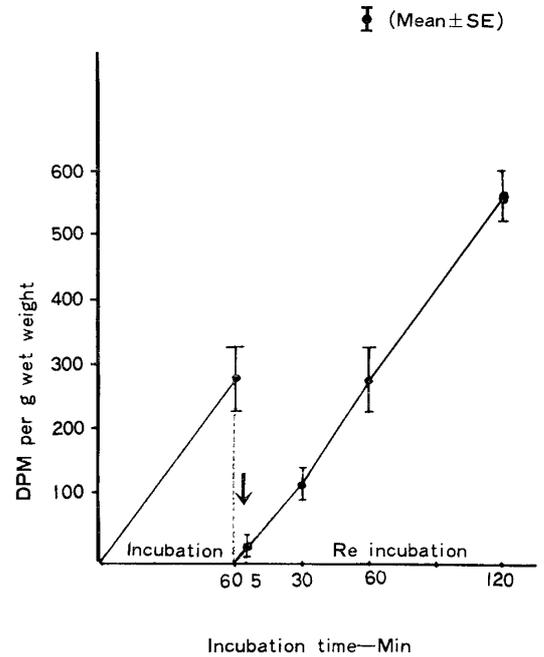


表5 Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C incorporation into placental tissue lipids and conversion to respiratory CO<sub>2</sub>

	Pre- <sup>**</sup> incubation	Re-incubation <sup>***</sup>				
	60min.	5 min.	30min.	60min.	120 min.	
Phospholipids	2949 ± 460	2681 ± 468	2709 ± 238	2642 ± 472	2856 ± 272	
Sterol	582 ± 86	728 ± 193	683 ± 141	552 ± 96	568 ± 57	
Free Fatty Acids	15061 ± 2066	2071 ± 330	1173 ± 159	750 ± 69	746 ± 79	
Tryglycerides	3454 ± 675	2755 ± 935	2595 ± 683	2393 ± 945	2432 ± 595	
Sterol Esters	55 ± 19	31 ± 8	39 ± 6	44 ± 9	67 ± 85	
Respiratory <sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	285 ± 5	16 ± 5	139 ± 6	284 ± 56	519 ± 85	

\* Results are expressed as dpm/gram wet weight and represent mean ± SE of 6 experiments.

\*\* All Tissues were incubated in 95% O<sub>2</sub>-5% CO<sub>2</sub> for one hour in 2.0 mMol Palmitic acid-1-<sup>14</sup>C

\*\*\* Medium contained no free fatty acids but added glucose (10 mMol)

して2時間に亘る Re-incubation において大きな変化はこの F.F.A. 分画中の <sup>14</sup>C の著減だけであり, 他の分画にとりこまれた <sup>14</sup>C の量はほとんど

ど変化がみられなかつた。又呼吸性炭酸ガス産出量は Pre-incubation の1時間値が 285dpmを示したが、Re-incubation の1時間値も 284dpm と同様の値を示した。Re-incubation においても呼吸性炭酸ガスの産生は incubation 時間の経過と共に直線的に増加した(5図, 5表)。

### 考 案

遊離脂肪酸(F.F.A.)の胎盤通過性は動物の種類によつて非常に異なつてゐる。すなわち、ラットではほとんど認められず(Koren & Schafirir, 1964),羊でも少量しか認められないが(Van Duyne 1960),兎(Van Duyne 1962),モルモット(Herschfield & Nemeth, 1968; Kayden 1969)及び猿(Portman 1969)ではよく通過するとされている。ヒトの場合は母体血のF.F.A.値が臍帯血中のそれよりも高値を示す(Burt, 1960; Nelson, 1966)ことより、脂質は胎盤を通過し難く、胎児の脂質の多くは胎児自身によつて合成されたと考えられている(Villee, 1958)。しかしながら、その通過量は少ないといつても質的には非常に重要なものが含まれており、リノール酸やリノレン酸などの必須脂肪酸は母体よりそのままの形で胎盤を通過して胎児に送られるものと考えられる(後藤1960)。パルミチン酸及びリノール酸を用いたこの incubation 実験より胎盤組織はこれらの脂酸と接触すると、速やかにとりこんで、更に高級な脂質である中性脂肪や燐脂質を合成していることが証明され、胎盤で合成される脂質の量もある程度までは接触した液体(ヒトの場合は母体血)のF.F.A.濃度に比例するものと推測される。妊娠中母体は高脂血症の状態におかれてゐるから、胎盤は母体から十分な脂酸の供給を得ることが出来るので constant に脂質を合成し、その一部は胎盤自身の発育に、一部は胎児の発育に利用されているものと考えられる。

胎盤組織においてパルミチン酸とリノール酸の代謝を比較した場合、この実験においてリノール酸はF.F.A.分画にとどまつている時間が短期間であり、中性脂肪や燐脂質などに早く変換することが認められた。このことは胎盤組織中にとりこまれたリノール酸はパルミチン酸よりも早く代謝

されるものと考えられる。

モルモットの胎盤ではリノール酸はパルミチン酸の約2~2.5倍の早さで通過されるという報告や(Herschfield & Nemeth, 1968),  $^{181}\text{I}$ のリノール酸を用いたマウスの実験でリノール酸は容易に胎盤を通過したとの報告(後藤1960)と併せ考えて必須脂肪酸がこのような状態で胎盤を通過して胎児に送られることは胎児にとつてきわめて有利なことである。

呼吸性炭酸ガス( $^{14}\text{CO}_2$ )の産生は、胎盤組織がパルミチン酸やリノール酸などの脂酸から高級な脂質を合成する能力を有するばかりでなく、これら脂酸を分解する酵素系が確立されていることを意味するものである。MediumのF.F.A.濃度の増加に伴つて組織内脂質へのとりこみは増加するが、呼吸性炭酸ガスの産生はmediumのF.F.A.濃度に関係なく、単位重量当りの量はほぼ一定していた。このことは胎盤組織内 $^{14}\text{C}$ の放出実験においても証明されている。

胎盤組織はmediumのF.F.A.濃度に関係なく incubation 時間に比例して、constantに呼吸性炭酸ガスを産出しており、胎盤組織内にとりこまれた脂質の極く僅かのもものが燃焼されてエネルギーを放出したのち、炭酸ガスに分解されているものと考えられる。とりこまれた脂酸の大部分は胎盤で更に高級な脂質に合成されるものと考えられる。

0°Cにおける実験で、F.F.A.分画においてのみ37°Cにおける対照群とほぼ同様の $^{14}\text{C}$ のとりこみが認められ、他の脂質分画へのとりこみは少なく、呼吸性炭酸ガスの産生もほとんどゼロに近い状態であつた。このような悪条件下では組織中の酵素的活動は停止の状態にあると考えられるのでF.F.A.分画にみられた多量の $^{14}\text{C}$ のとりこみは注目に値する。同様のとりこみがHypoxicな条件下においてもみられた。即ちF.F.A.分画へのとりこみは対照群と有意差がなく、他の脂質へのとりこみも対照群に比べて軽度の低下のみみられただけであつた。又呼吸性炭酸ガスの産生は非常に僅かであつた(橋本他1972)。

F.F.A.とPalmitic acid-1- $^{14}\text{C}$ を含まないMediumで $^{14}\text{C}$ を含む胎盤組織をRe-incubateしたと

きに実験開始5分間で胎盤組織の F.F.A. 分画中に含まれていた  $^{14}\text{C}$  のうちの80%が Medium 中に放出されて Medium 中の F.F.A. 濃度と平衡状態になつたのに対して, その他の脂質分画に含まれていた  $^{14}\text{C}$  の量はほとんど変化なく, 呼吸性炭酸ガスは実験時間の経過と共に直線的に増加した. このことは胎盤組織内でこれらの脂質が代謝されていることを物語っている.

ヒト胎盤の灌流実験 (Szabo, 1969) や, 赤毛猿における *in vivo* の実験 (Portman, 1969) により F.F.A. は母体から胎児側に, 又逆に胎児より母体側の両方向に移送される可能性があることが証明されている. この場合, 胎児側及び母体側のアルブミン量の変化は認められておらず, F.F.A. は胎盤を通過するに当たっては, アルブミンを結合したまま移送されるのではなく遊離された状態でなされているものと思われる.

今回の  $0^\circ\text{C}$  における実験や Re-incubation の実験, 更に Hypoxia における F.F.A. 分画にとりこまれた  $^{14}\text{C}$  の動態からみて, F.F.A. の胎盤における通過の様式には拡散 (Passive Diffusion) が考えられエネルギーを必要としない様式の存在が強く示唆される.

母体血と胎児血の F.F.A. の濃度勾配の主役は能動移送 (Active Transport) であろうと考えられているけれども, この能動移送というのは1つ1つの異なつた F.F.A. に対して胎盤組織の細胞膜がつよい親和性をもっているという性質のものである. 従つて母児間の F.F.A. にみられる炭素鎖の長短や飽和度の相違やリノール酸など必須脂肪酸の胎盤通過性の問題が能動移送だけで説明出来にくい点がみられ, 拡散や Pinocytosis (Yamaguchi, 1960) などの通過様式によつても F.F.A. が胎盤組織にとりこまれているものと考えられる. すなわち胎盤組織においてはこれら3つの異なつた様式が有機的に関連しあつて効果的に F.F.A. が移送されているものと考えられる. しかしこれらの3つの異なつた様式の含める割合や胎盤から胎児への F.F.A. の移送は母体から胎盤への移送と同じであるか否かについては今後の検討が必要である.

Boyd (1936) は臍帯動静脈に含まれる脂質の差より計算して胎児が1日に利用する総脂質量は約40gであると報告し, Nelson(1966)も双生児において死産児の臍帯血中濃度は生存児の濃度の約2.5倍ほど高く, ほぼ母体血に近い値を示したと報告している. このことは胎盤からの F.F.A. の連続的な移送様式が存在しており, たまたま児が死亡したために胎児内で利用されることなく, 臍帯血中 F.F.A. 値はそのまま高値を示したものと考えられる. 更に母児間の F.F.A. 濃度勾配について考えるときに, 母体の F.F.A. が容易に胎盤を通過したと考えても, それらの F.F.A. は胎児の肝にとりこまれ, 再合成が行なわれた後に再び胎児血中を循環するために臍帯血中の F.F.A. 濃度及びその構成脂酸が母体血のそれと異なつたものになるものと考えられる.

稿を終るに当り, 御指導御校閲頂きました恩師橋本清前教授ならびに関場香教授に深謝致します.

#### 参考文献

- 後藤忠雄 (1960): 産婦の進歩, 12: 354.  
 橋本 清, 武田佳彦, 吉岡 保 (1972): 第25回日産婦中四国部会総会要旨.  
 吉岡 保, 小島嗣雄, 武田佳彦 (1972): 新生児誌, 8: 178.  
 Boyd, E.M. (1936): Amer. J. Obst. Gynec. 52: 1319.  
 Burt, R.L. (1960): Obst. & Gynec. 15: 460.  
 Folch, J. (1957): J. Biol. Chem. 226: 497.  
 Hershfield, M.S. and Nemeth, A.M. (1971): J. Lipid. Res. 9: 460.  
 Kayden, H.J. (1969): Amer. J. Obst. Gynec. 104: 564.  
 Koren, Z. and Shafir, E. (1964): Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 116: 411.  
 Nelson, G.H. (1966): Amer. J. Obst. Gynec. 94: 310.  
 Portman, O.W. et al. (1969): Amer. J. Physiol. 216: 143.  
 Stahl, E. in "Thin-layer chromatography. (1965): p. 147 Academic Press, New York.  
 Szabo, A.J. (1969): Metabolism, 18: 406. Yoshioka, T. (1971): Acta Obst. Gynec. Jap. 18: 165.  
 Yamaguchi, R. (1960): J. Jap. Obst. Gynec. Soc. 7: 1960.  
 Van Dwyne, C.M. et al. (1960): Amer. J. Physiol. 199: 987.  
 Van Dwyne, C.M. (1962): Amer. J. Obst. Gynec. 84: 1069.  
 Villee, C.A. (1958): Pediatrics. 22: 953.

(No. 2657 昭48・5・7 受付)