

ヒト胎盤のグルタチオンに関する研究

日本医科大学第2産婦人科学教室 (指導: 室岡 一教授)

小 宅 正 博

Studies on Glutathione of Human Placenta

Masahiro OYAKE

The 2nd Department of Obstetrics and Gynecology, Nippon Medical School, Kanagawa

(Director: Prof. Hajime Murooka)

概要 正常および異常妊娠の胎盤組織中に存在する還元型グルタチオン (以下 GSH と略記), 酸化型グルタチオン (以下 GSSG と略記) の量的変動と臨床症状との関係につき検討し次のような結果をえた。

1) 正常妊娠経過中における胎盤 GSH 量は, 妊娠24週で最も低値 ($2.80 \pm 1.76 \text{mg}/100 \text{g tissue}$) を示し, 妊娠末期と妊娠初期とではほぼ同値を示した ($18.84 \pm 5.6 \text{mg}/100 \text{g tissue}$, $16.45 \pm 5.9 \text{mg}/100 \text{g tissue}$). GSSG 量は, 妊娠中期にやや低値を示したが全期を通して大きな変動はなかつた。GSH/GSSG 比は, 妊娠8週より低下しはじめ妊娠28週で0.57と最も低値を示し, 妊娠末期では妊娠初期とほぼ同値を示した。

2) 流産胎盤の GSH 量は, 正常胎盤の値の約1/5であつた。GSH/GSSG 比は, 正常胎盤の約1/13の低値を示した。

3) 妊娠中毒症胎盤における GSH 量は, 軽症例では低値を示し, 重症例では正常妊娠に近い値を示した。GSH/GSSG 比は, 正常妊娠例に比して妊娠中毒症軽症例で約1/9, 重症例で約1/2の低値を示した。

4) Light for dates infant の胎盤の GSH 量, GSH/GSSG 比は Appropriate for dates infant (以下 AFD と略記) の胎盤の約1/2の低値を示した。

5) 児の出生体重とその胎盤の GSH 量および GSH/GSSG 比についてみると, 2,000gr 以下の低出生体重児群と4,001gr 以上の巨大児群は, 2,001gr~4,000gr の児より低値を示した。

6) 新生児仮死の胎盤の GSH 量は, 非仮死群より低値を示し, 仮死の程度が進むにつれてより低値を示した。

7) 正常胎盤組織の細胞分画において, GSH/GSSG 比は, 可溶分画, ミトコンドリア分画, ミクロゾーム分画ともにはほぼ同値を示した。

Synopsis Levels of GSH and GSSG, and GSH/GSSG ratio in placental tissue from normal, high risk pregnancies and mothers who had light for date infants were investigated. Results obtained are as follows.

1) GSH level during normal pregnancy in terms of mg per 100 g of placental tissue was 16.45 ± 5.9 at first trimester, 5.60 ± 3.4 at second trimester and 18.84 ± 5.6 at third trimester.

2) In the abortion, GSH level of placenta was about one fifth and GSH/GSSG ratio was about one thirteenth, as compared with those of normal placenta.

3) In the light for date infant, GSH level and GSH/GSSG ratio showed one half value of AFD.

4) GSH level and GSH/GSSG ratio of severe toxemias of pregnancy were higher than those of mild toxemias.

5) In cases of neonatal asphyxia, GSH level and GSH/GSSG ratio were generally found to be lower than those of nonasphyxiated neonate.

6) In the study of subcellular distribution, GSH/GSSG ratio of placental tissue in light for date infant was lower in mitochondria and microsome fractions, and that of placental tissue in toxemias was also lower in microsome and soluble fractions, as compared with those of placental tissue in normal pregnancy, respectively.

Key words: Glutathione (GSH, GSSG) • Placenta • Toxemia of pregnancy • Light for dates infant • Neonatal asphyxia

緒 言

グルタチオンは、赤血球および肝臓、副腎など生活機能の旺盛な臓器の細胞内に多く含まれている²¹⁾。このグルタチオンには GSH と GSSG があり、glutathione reductase の存在によりそのほとんどが生体内では GSH として存在している³¹⁾。生体内における生化学的意義としては、諸種 SH 酵素および二価鉄酵素の活性維持と賦活、Co-A の活性化、補酵素としての作用、glutathione peroxidase による赤血球内 H_2O_2 の処理、抱合解毒、ascorbic acid の酸化の防止など広範囲にわたる機能を有している^{14) 22) 25)}。

したがって、種々の臓器に疾患を生じる場合、GSH の減少が認められることが報告されている^{10) 14) 15)}。とくに肝疾患時には、血中 GSH 量が著明に減少し、これに対するグルタチオン製剤の投与が自他覚症状や肝機能の改善に効果をもたらすことが報告^{9) 14)}されており興味深い。他方、最近になつて産科領域においても血中グルタチオンの妊娠に伴う変動^{11) 6)}、および胎児・新生児の発育に伴う変動⁹⁾の研究も散見されるようになってきた。

しかしながら、胎盤におけるグルタチオン含有量を GSH、GSSG およびその比から求めた検索はあまりみられていない。その量的変動と臨床症状の関連の有無については今後検討すべき問題点である。

今回、著者は、胎盤機能と酸化還元系との関連を知る一つの指標として胎盤に存在する GSH、GSSG を採りあげた。そしてグルタチオンが妊娠という生理現象のなかでいかなる量的変動を示すか、また、high risk pregnancy として流産胎盤、妊娠中毒症の胎盤、high risk infant として light for dates infant および新生児仮死の胎盤ではどのような変動を示すかを検討した。さらに、胎盤細胞分画における分布についても検討を加えて興味ある結果をえたので報告する。

研究対象および方法

1. 研究対象

昭和51年10月から昭和54年1月までに日本医

科大学第2病院産婦人科で得られた正常胎盤154例、流産胎盤40例、妊娠中毒症胎盤51例、light for dates infant の胎盤24例、新生児仮死の胎盤70例を対象とした。なお、すべての胎盤は、胎盤娩出直後～3時間以内の新鮮なものだけを実験に供した。

新生児仮死に関する分類では、Apgar Score 8点以上のものを非仮死群とし、Apgar Score 7点以下のものを仮死群とした。

妊娠中毒症の分類は、日本産科婦人科学会妊娠中毒症委員会の分類⁷⁾に従つて重症、軽症を分けた。

Light for dates infant および AFD の分類は、船川の在胎週数別出生時体重曲線³⁾から分類した。

正常胎盤、妊娠中毒症胎盤、light for dates infant の胎盤および新生児仮死の胎盤はすべて、妊娠37週以後、42週未満のものを使用した。

2. 研究方法

1) 胎盤組織の採取方法

胎盤の中心から外側に向つて2/3の部分の肉眼的に異常所見のない母体面、すなわち、梗塞・石灰沈着、壊死の認められない部分を free-hand 法¹⁰⁾により胎盤切片をつくつた。この場合、胎盤実質内を求めるために胎盤表層はカミソリで切り落した。

2) 胎盤組織のグルタチオン定量法

図1に示すように Klotzsch-Bergmeyer の酵素的分光光学的定量法²⁸⁾の変法¹³⁾を用いた。

すなわち、

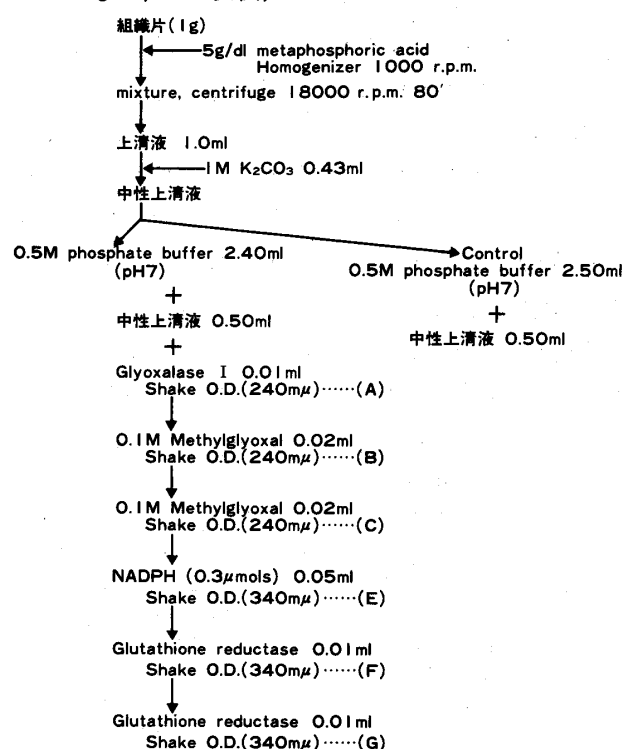
(a) 除蛋白操作

胎盤組織 1g を細挫し、その9倍容量の 5g/dl メタリン酸を加え Teflon 製のホモジナイザーを用いて 1,000rpm 前後の速さでホモジネートをつくつた。つぎに、日立冷却遠沈器 20PR で 24,000 rpm ($60,000 \times g$)、60分間遠沈しその上清液を集めた。

(b) 中性化操作

除蛋白操作で得られた上清液 1ml に 1M K_2CO_3

図1 胎盤 GSH 量・GSSG 量の測定法 (Klotzsch・Bergmeyer の変法)



0.43ml を添加し上清液を中性にし、その中和液を GSH の測定試料とした。

(c) GSH の測定

石英製のキュベット (1cm²) を2本用意し、それぞれ本実験側および対照実験側として下記の実験液を順次加えた。

本実験側

（ 磷酸塩緩衝液 (0.5M, pH 7.0).....2.4ml
 中性上清液0.5ml

対照実験側

（ 磷酸塩緩衝液 (0.5M, pH 7.0).....2.5ml
 中性上清液0.5ml

本実験側に Glyoxalase I (200U/mg) を0.01 ml 加え充分混和した後、両側液を日立分光光度計124を用いて25°Cで波長240mμ における吸光度値を求めた (A)。

つぎに、0.1M Methylglyoxal 0.02ml を本実験側に添加し充分に混和した後、同波長における吸光度値を求めた (B)。さらに、同実験側に0.1 M Methylglyoxal を等量加え吸光度値を求めた (C)。

(d) GSSG の測定

GSH の測定終了後 たちちに分光光度計の波長を340mμ に調整した。GSH 測定終了液に NADPH (6μmoles/ml) 0.05ml を添加し充分に混和した後、波長340mμ における吸光度値を求めた (E)。さらに、glutathione reductase (90U/mg) 0.01ml を加え充分に混和した後、同波長における吸光度値を求めた (F)。また、同実験液に glutathione reductase を等量加え吸光度値を求めた (G)。

(e) GSH 量および GSSG 量の計算

i) GSH 量

$$D = B - A - (C - B)$$

$$\begin{aligned} 1g \text{ GSH 量} &= D \times 0.87^{*1} \times [1.43 \times 2 \times 10]^{*2} \\ &= D \times 24.88 \text{ moles/g. tissue} \\ 100g \text{ wet weight tissue 中の GSH 量} \\ &= D \times 24.88 \times 30.7^{*3} \\ &= D \times 763.8mg\% \end{aligned}$$

(*1 ...分子吸光係数, *2 ...稀釈係数

(*3 ...GSH の0.1mmole (1μmole × 100) の mg 値

ii) GSSG 量

$$H = E - F - G$$

$$\begin{aligned} 1g \text{ GSSG 量} &= H \times 0.48^{*4} \times [1.43 \times 2 \times 10]^{*5} \\ &= H \times 13.73 \mu\text{mole/g. tissue} \\ 100g \text{ wet weight tissue 中の GSSG 量} \\ &= H \times 13.73 \times 61.2^{*6} \\ &= H \times 840mg\% \end{aligned}$$

(*4 ...分子吸光係数, *5 ...稀釈係数

(*6 ...GSSG の0.1mmole (1μmole × 100) の mg 値

GSH 量, GSSG 量は、組織100g あたりの mg として表わした。

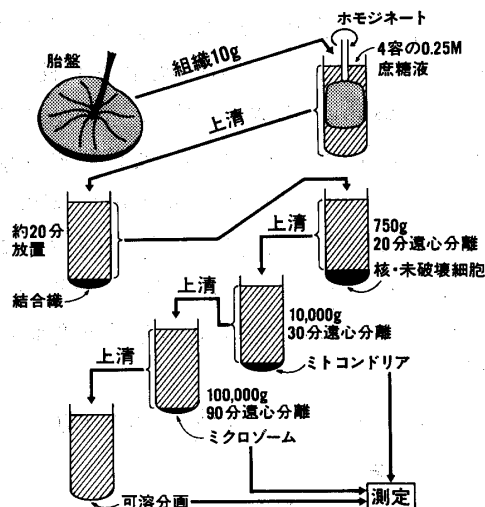
(f) 胎盤組織における細胞成分の分画

細胞成分の分画法²⁴⁾は、図2に示すような順序に従った。すなわち、

i) 胎盤40g を前述検査方法 (1) 項目に従い free-hand 法にて肉眼的に正常な部分を採取した。

ii) 血液付着物を取り除き、0.9% NaCl で2 ~ 3回洗滌し東洋濾紙 No. 2 にて水分を除去した。

図2 細胞成分の分画の手順



- iii) 眼科ハサミで細挫した。
- iv) 0.25M sucrose を4倍容量加えた。
- v) ポリトロンにて組織を充分にホモジネートした。
- vi) 3,000r.p.m. (750×g) で20分間遠沈した。
- vii) 上清を12,000r.p.m. (10,000×g) 30分間冷却遠沈した。

viii) 沈澱物に vii) で得られた上清と等量の 0.25M sucrose を加え、再び12,000r.p.m. 30分間冷却遠沈した。上清をすて沈澱物に0.25M sucrose 1ml を加えガラス棒で suspend し、これをミトコンドリア分画とした。

ix) vi) で冷却遠沈した上清液を、45,000r.p.m. (126,800×g), 100×10^{-3} A.T.M. の真空状態で90分間冷却超遠沈した。上清液を可溶分画とした。また、沈澱物に0.25M sucrose 1ml を加えガラス棒で suspend したものをミクロゾーム分画とした。上記のようにして得られた各分画における GSH 量, GSSG 量を測定した。また、各分画中の蛋白量の測定は、Lowry 法²⁹⁾に準じて行つた。そして、蛋白 1g 中の GSH 量, GSSG 量としてあらわした。以下示すグルタチオン量の成績は、いずれも平均値 (mean±S.D.) をもって比較検討した。

研究成績

1) ラット各臓器における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

ラット各臓器における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比の成績を表1に示す。ラット各臓器における組織100g 当りの GSH 量は、肝臓で最も高く 128.6 ± 17.2 mg であり、胎盤では 39.1 ± 8.1 mg であり肝臓の約1/3、腸管では約1/2、子宮では約1/6、卵巢では約1/12、筋肉では約1/32であつた。また、GSSG 量も肝臓が最も高く 16.6 ± 6.6 mg で腸管、胎盤 (3.0 ± 0.5 mg) 子宮、卵巢、筋肉の順に低値を示した。GSH/GSSG 比は、腸管20.8と最も高値を示し、ついで順に、胎盤(13.2)、肝臓、子宮、卵巢、筋肉となつた。

表1 ラット各臓器における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

臓器	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/ GSSG 比
肝臓	15	$128.6 \pm 17.2^*$	$16.6 \pm 6.6^*$	9.2
腸管	15	64.6 ± 9.8	3.1 ± 0.8	20.8
胎盤	15	39.7 ± 8.1	3.0 ± 0.5	13.2
子宮	15	22.6 ± 7.2	2.6 ± 0.4	8.7
卵巢	15	9.9 ± 2.8	2.6 ± 0.5	3.8
筋肉(四肢筋)	15	3.8 ± 1.1	1.2 ± 0.2	3.2

* Means±S.D.

2) ヒト正常胎盤組織における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

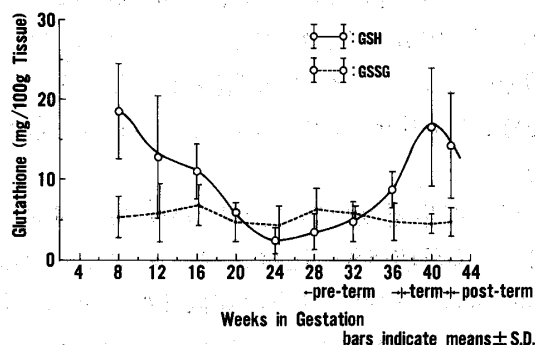
妊娠各週における正常胎盤の GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比を求めた成績は、表2、図3に示す。組織100g 当たりの GSH 量は、妊娠8週で 18.76 ± 6.01 mg であるが妊娠の進行と共に徐々に減少し妊娠24週では 2.80 ± 1.76 mg と最

表2 妊娠各週における胎盤の GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

妊娠週数	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/GSSG 比
8週	29	$18.76 \pm 6.01^*$	$5.31 \pm 2.42^*$	3.53
12	13	12.95 ± 7.43	5.70 ± 3.40	2.27
16	9	11.07 ± 3.43	6.84 ± 2.67	1.62
20	8	6.40 ± 2.16	4.85 ± 2.42	1.31
24	7	2.80 ± 1.76	4.21 ± 2.60	0.67
28	6	3.44 ± 2.16	6.04 ± 2.31	0.57
32	10	4.73 ± 2.34	5.78 ± 1.04	0.81
36	21	8.72 ± 2.16	4.72 ± 2.20	1.85
40	41	16.85 ± 7.44	4.52 ± 1.32	3.73
42	10	14.20 ± 6.39	4.85 ± 1.84	3.06

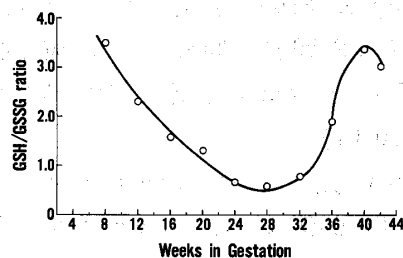
* means±S.D.

図3 胎盤 GSH 量および GSSG 量の妊娠経過に伴う変化



も低値を示した。しかし、妊娠28週以降は再び緩徐に増加し妊娠40週では、 $16.85 \pm 7.44 \text{mg}$ と妊娠初期とほぼ同値を示した。他方、GSSG量は、妊娠16週と妊娠28週にやや高値を示したが妊娠全期を通しては大きな変動を示さなかつた。従つて、GSH/GSSG比もまたGSH量の変動と同じ経過を示した。すなわち、妊娠8週で3.53であつたものが妊娠28週では約1/7の0.57と最も低値を示し、その後緩徐に増加し妊娠末期では3.73と妊娠初期とほぼ同値を示した。図4でみられるようなU字型の曲線を示した。

図4 妊娠経過に伴う胎盤 GSH/GSSG 比の変化



3) High risk pregnancy および high risk infant の胎盤における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

(1) 流産胎盤

妊娠9週から16週までの流産40例の胎盤組織におけるGSH量, GSSG量およびGSH/GSSG比の成績を表3に示す。

GSH量は、 $3.62 \pm 1.42 \text{mg}$ であり、正常胎盤 $16.45 \pm 5.9 \text{mg}$ にくらべて約1/5の低値を示した ($p < 0.01$)。GSSG量は、正常胎盤 $4.38 \pm 2.02 \text{mg}$ に比して流産胎盤では、 $13.28 \pm 4.28 \text{mg}$ と約3

表3 流産の胎盤組織におけるGSH量, GSSG量およびGSH/GSSG比

胎 盤	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/GSSG 比
正常胎盤	51	$16.45 \pm 5.9^*$	$4.38 \pm 2.02^*$	3.76
流産胎盤	40	3.62 ± 1.47	13.28 ± 4.24	0.27

* means $\pm$ S.D.

倍の高値を示した ($p < 0.01$)。GSH/GSSG比は、流産胎盤0.27で正常胎盤3.76の約1/13の低値を示した。

(2) 妊娠中毒症胎盤

妊娠中毒症胎盤40例におけるGSH量, GSSG量およびGSH/GSSG比を求めてみると表4に示すような成績をえた。すなわち、妊娠中毒症におけるGSH量は、軽症25例では $6.20 \pm 2.72 \text{mg}$ 、重症15例では正常妊娠に近い $16.42 \pm 4.96 \text{mg}$ を示し、重症は軽症よりも約3倍の高値を示した ($p < 0.01$)。GSSG量は、軽症25例では $13.46 \pm 4.14 \text{mg}$ 、重症15例では $9.19 \pm 3.20 \text{mg}$ であり両者を比較すると軽症例に高値を示した ($p < 0.01$)。GSH/GSSG比は、軽症25例では0.46であり、正常妊娠57例4.08の約1/9の低値を示した。他方、重症15例は1.79であり正常妊娠57例4.08と比して約1/2の低値を示した。

表4 妊娠中毒症における胎盤GSH量, GSSG量およびGSH/GSSG比

	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/ GSSG 比
正 常 妊 娠	57	$18.84 \pm 5.60^*$	$4.62 \pm 1.76^*$	4.08
妊娠中毒症 軽 症	25	6.20 ± 2.37	13.46 ± 4.14	0.46
妊娠中毒症 重 症	15	16.42 ± 4.96	9.19 ± 3.20	1.79

* means $\pm$ S.D.

(3) Light for dates infant の胎盤におけるGSH量, GSSG量およびGSH/GSSG比は表5に示す。

Light for dates infant 24例のGSH量は $7.61 \pm 2.21 \text{mg}$ であり、AFD 167例のGSH量は、 $13.49 \pm 2.82 \text{mg}$ であり前者は後者の約1/2の低値を示した ($p < 0.01$)。GSSG量は、light for dates infant

表5 Light for dates infant における胎盤 GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/ GSSG 比
Light for dates infant	24	7.61±2.21*	13.16±2.40*	0.58
AFD	167	13.49±2.82	11.16±4.30	1.20

* means±S.D.

24例で13.16±2.40mg, AFD 167例で11.16±4.30 mg であり両群ともほぼ同値であつた. GSH/GSSG 比でみると light for dates infant で0.58, AFD で1.20と前者は後者の約1/2の低値を示した.

(4) 児の出生体重とそれぞれの胎盤 GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比との関係を検討すると表6のようになる. すなわち, 出生体重と GSH 量との関係についてみると, 2,000gr 以下群8例の低出生体重児群では, 7.68±1.81mg, 4,001gr 以上群15例の巨大児群では5.34±2.29mg となり, 2,001gr~4,000gr までのものと比して低

表6 生下時体重と胎盤 GSH 量, GSSG 量
および GSH/GSSG 比

体 重 (gram)	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/ GSSG 比
1501~2000	8	7.63±1.81*	10.92±4.10*	0.70
2001~2500	15	13.58±2.59	7.98±2.31	1.70
2501~3000	31	14.28±2.76	5.27±2.00	2.71
3001~3500	49	12.45±2.73	4.60±1.98	2.71
3501~4000	34	13.66±3.93	2.94±2.12	4.64
4001~	15	5.34±2.29	4.70±2.42	1.14

(上記の症例は妊娠37週以降の
ものを選んだ) * means±S.D.

表8 胎盤の細胞分画における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

		正 常 妊 娠 (n=22)	Light for dates infant (n=7)	妊 娠 中 毒 症 (n=12)
ミトコンドリア分画	GSH (mg/g prot.)	5.81±2.45*	1.46±0.88	3.73±1.57
	GSSG (mg/g prot.)	5.70±3.20*	6.28±2.67	4.30±2.83
	GSH/GSSG 比	1.02	0.23	0.87
ミクロゾーム分画	GSH (mg/g prot.)	5.13±3.01*	1.48±0.92	0.69±0.41
	GSSG (mg/g prot.)	4.55±2.87*	3.78±1.44	2.65±1.34
	GSH/GSSG 比	1.13	0.39	0.26
可 溶 分 画	GSH (mg/g prot.)	4.57±2.41*	19.38±4.60	2.30±1.73
	GSSG (mg/g prot.)	3.33±1.97*	11.40±4.11	13.01±4.95
	GSH/GSSG 比	1.37	1.70	0.18

* Means±S.D.

値を示した (いずれも, $p<0.01$).

GSH/GSSG 比においても, 2,000gr 以下群が0.70, 4,001gr 以上群で1.14となり2,001gr~4,000gr のものと比して低値を示した. 全群のなかでは, 3,501gr~4,000gr のものが4.64と最も高値を示した.

(5) 新生児仮死群の胎盤 GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比は, 表7のようになる. Apgar Score 10点~8点の非仮死群93例の GSH 量は, 15.45±3.84mg であり, Apgar Score 7点~4点の第1度仮死群58例の GSH 量4.67±1.71mg と比して約3倍の高値を示した ($p<0.01$).

表7 新生児仮死における胎盤 GSH 量・GSSG 量
および GSH/GSSG 比

Apgar score	例数	GSH (mg/100g tissue)	GSSG (mg/100g tissue)	GSH/GSSG 比
10~8	93	15.45±3.84*	3.69±1.52*	4.19
7~4	58	4.67±1.74	10.76±4.61	0.43
3~	11	2.80±1.30	13.59±4.70	0.20

非仮死群と仮死群との間には * means±S.D.
 $P<0.01$ で有意差あり.

また, Apgar Score 3点以下の第2度仮死群11例の GSH 量2.80±1.30mg は, 非仮死群93例の GSH 量15.45±3.84mg と比して約1/5の低値を示した ($p<0.01$).

GSH/GSSG 比において Apgar Score 10点~8点の非仮死群93例は4.19, Apgar Score 7点~4点の第1度仮死群58例は0.43, Apgar Score 3点

以下の第2度仮死群11例は0.21となり、仮死群は非仮死群と比して著しく低値を示した。

4) 胎盤の細胞分画における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比

胎盤組織の細胞内におけるミトコンドリア分画, ミクロゾーム分画, 可溶分画について GSH 量と GSSG 量の変動がどのようなものであるか調べた成績を表8に示した。まず, 正常妊娠のみについて三分画における検討を22例について行くと蛋白1g 当たり GSH 量は, ミトコンドリア分画 $5.81 \pm 2.45\text{mg}$, ミクロゾーム分画 $5.13 \pm 3.01\text{mg}$, 可溶分画 $4.57 \pm 2.41\text{mg}$ とほぼ同値を示した。GSSG 量は, ミトコンドリア分画が最も高値を示し, 順にミクロゾーム分画, 可溶分画となつた。また, GSH/GSSG 比は, 可溶分画1.37, ミクロゾーム分画1.13, ミトコンドリア分画1.02と三分画ともほぼ同値を示した。

Light for dates infant 7例の GSH 量は, 可溶分画 $19.38 \pm 4.60\text{mg}$ でありミトコンドリア分画, ミクロゾーム分画の約18倍の高値を示した。GSSG 量においても, 可溶分画 $11.40 \pm 4.11\text{mg}$ でありミトコンドリア分画の約2倍, ミクロゾーム分画の約3倍の高値を示した。さらに, また, GSH/GSSG 比においても, 可溶分画1.70, ミクロゾーム分画0.39, ミトコンドリア分画0.23で可溶分画は, ミクロゾーム分画の約4倍, ミトコンドリア分画の約8倍の高値を示した。

つぎに, 妊娠中毒症12例の GSH 量についてみるとミトコンドリア分画は $3.73 \pm 1.57\text{mg}$ でミクロゾーム分画の約5倍, 可溶分画の約1.5倍の高値を示した。GSSG 量は, 可溶分画 $13.01 \pm 4.95\text{mg}$ でありミトコンドリア分画の約3倍, ミクロゾーム分画の約4倍の高値を示した。GSH/GSSG 比は, ミトコンドリア分画0.87, ミクロゾーム分画0.26, 可溶分画0.18となりミトコンドリア分画が最も高値を示した。

Light for dates infant と妊娠中毒症の GSH/GSSG 比について検討すると, light for dates infant では, 可溶分画が高く, ミトコンドリア分画が低く, 妊娠中毒症では, ミトコンドリア分画が

高く, 可溶分画が低くなり逆の順序となつた。

考 案

産婦人科領域において, 非妊婦および妊婦の血中グルタチオンに関する研究報告^{2) 6) 11) 12) 27) 34)}, 悪阻, 黄疸などの臨床症状とグルタチオン製剤の治療効果に関する研究^{4) 5)}は多いがいまだ胎盤組織におけるグルタチオンの研究報告はほとんどなされていない。

山村¹⁴⁾, 竹内¹³⁾は, ラットの各臓器におけるグルタチオンの含有について報告している。著者も同様の研究を試みた結果, 表1のごとく GSH 量は, 肝臓に最も多く存在しており, ついで腸管に比較的少量存在していることも確認できた。また, 興味あることに産婦人科領域における臓器のうち子宮, 卵巣にも GSH, GSSG が確認され, さらに, 胎児付属物である胎盤組織中にも $39.7 \pm 8.1\text{mg}/100\text{g tissue}$ と腸管について多量に存在していることが明らかにされた。そこで, 著者は, ヒト胎盤組織の正常妊娠経過における GSH 量, GSSG 量および GSH/GSSG 比につき検討した。

今日迄, 正常妊娠経過に伴う GSH 量の変化は, 妊娠血^{6) 11)}および胎児血⁸⁾について報告されている。武井¹¹⁾によると妊娠血の GSH 量は, 妊娠16週で $27.0 \pm 6.15\text{mg}/\text{dl}$ を示し在胎週数の進行とともに低下しはじめ妊娠28週で最低値 $15.80 \pm 6.77\text{mg}/\text{dl}$ を示し, それ以後極めて緩徐に回復したと報告している。

また, 三浦⁹⁾によると胎児血の GSH 量は在胎週数18週で $36.8 \pm 0.4\text{mg}/\text{dl}$ を示し, 在胎週数の進行とともに徐々に下降し在胎26週で最低値 $26.3 \pm 1.78\text{mg}/\text{dl}$ となりそれ以後は再び上昇の傾向を示し, 在胎週数37週後では, ほぼ妊娠前半期の値にまで回復したと報告している。

著者は, 正常胎盤における GSH 量を検索したが胎盤組織 GSH 量においても, 妊娠8週より徐々に減少しはじめ, 妊娠24週にて $2.80 \pm 1.76\text{mg}/100\text{g tissue}$ と最も低値を示し, 妊娠末期では妊娠初期とほぼ同値を示した。このことから, 胎盤組織, 妊婦血および胎児血を総合的にみた場合, 妊婦の体内のグルタチオンは妊娠中期に最も低値

を示すことが確認された。この現象は、この時期における SH 基による過酸化処理系の低下ないし障害をきたしていることが示唆される。妊娠24週前後における子宮内の胎児の環境が好ましくない時期であることが考えられる。武井ら¹¹⁾¹²⁾は、過酸化処理系として重要な GSH 量は、MetHb 濃度に逆比例しながら減少すると述べている。この結果から、妊娠28週を頂点として妊婦は、程度の差こそあれごく軽度の MetHb 血症の状態におかれていることがわかる。また、GSH は直接 MetHb に作用し非酵素的にこれを Hb に還元するといわれているが *in vivo* での還元作用は無効であるという Allen et al.¹⁷⁾ の報告と、有効であるという Strömme et al.³³⁾ の報告があり未だ明らかでない。

また、GSH/GSSG 比もやはり妊娠8週より低下しはじめ、妊娠28週で0.57と最も低値を示し、妊娠末期では妊娠初期とほぼ同値を示した。このことは、GSSG 量はほぼ全期間を通して変化しないことからして GSH/GSSG 比は、GSH 量の増減により決定される。

つぎに、high risk pregnancy および high risk infant の胎盤につき検討した成績のうちで流産例では GSH 量の減少、GSSG 量の増加、すなわち GSH/GSSG 比の低下が著明であつた。これは、流産例では酸化系が還元系より優位にたち組織細胞での呼吸に大きな障害をきたしていることが示唆される。Schmitz³⁰⁾、Askari et al.²⁰⁾、武井¹¹⁾は、MetHb 血症が流産あるいは胎児死亡の一つの原因となりうると述べている。

妊娠後期の異常で晩期妊娠中毒症例において重症例に GSH 量の増加、軽症例に GSH 量の減少を示し、一方、GSSG 量は著明な差はみられなかったが軽症例は重症例より増加をみた。このことは、生体における緩衝作用とも考えられる。

巨大児群において GSH 量の低下がみられるが、原因ははつきりしない。

新生児仮死について検討すると、仮死群は非仮死群に比して GSH 量の減少、GSSG 量の増加が認められた。これは、新生児の血中 MetHb が正

常新生児に比して高値を示すという荒木ら¹⁾の報告と考え合わせると胎盤組織での GSSG 量の増加による組織呼吸の障害が新生児仮死の発症と関係することもあると考えられる。

胎盤においても、肝臓同様に細胞内での呼吸酵素系と ATP を主体とするエネルギー産生機構の中心はミトコンドリアである。その胎盤ミトコンドリアの機能も high risk pregnancy により大きな変化を受ける可能性が考えられる。そこで、ミトコンドリア分画、ミクロゾーム分画、可溶分画についての GSH および GSSG についての検討も重要と思われる。ヒト胎盤におけるミトコンドリアについては、Arturo et al.¹⁸⁾¹⁹⁾ の報告が、また、ラット肝臓におけるミトコンドリアのグルタチオンについては Jocelyn²⁶⁾ の報告があるが、正常および異常妊娠における GSH の細胞分画の分布についての報告はあまりみられていない。

著者は、正常妊娠の胎盤および異常妊娠として light for dates infant と妊娠中毒症の胎盤につき、ミトコンドリア分画、ミクロゾーム分画および可溶分画の三分画についての GSH、GSSG の分布状態を検討した。正常妊娠の胎盤における GSH 量は、ミトコンドリア分画、ミクロゾーム分画、可溶分画の三分画ともほぼ同量に存在していることが明らかにされた。また、light for dates infant の胎盤では、ミトコンドリア分画、ミクロゾーム分画の GSH 量は著減し、逆に可溶分画の GSH 量は著増している。この現象は、ミトコンドリア分画およびミクロゾーム分画における GSH の合成の障害によるためか、あるいは、また、GSH の分解促進の結果であるのか、あるいは、酸化的燐酸化反応の障害に起因するのかなどが考えられるが結論をうるにいたっていない。一般にミクロゾーム分画には、種々の代謝酵素²²⁾³²⁾の存在が確認されている。胎盤においてもこれらの代謝酵素が存在し酸化還元反応を行いながら胎盤機能の維持に役立っている。ゆえに、胎盤における組織の酸化還元系の障害が胎児発育に影響をおよぼす一因となることが示唆される。

妊娠中毒症の胎盤では、ミクロゾーム分画にお

ける GSH 量の存在は最も低く、ミトコンドリア分画の GSH 量の存在は最も高いのでミトコンドリア分画の酸化還元系の障害はさほどでない。このことは、light for dates infant 例と妊娠中毒症例の病態像の差異を反映するものとして興味深い。

また、light for dates infant の胎盤の可溶分画において GSH 量が約5倍、GSSG 量が約4倍も正常胎盤のものよりも高い値を示すが、このような変化がどのような機序によるものか、さらに、検討を進める必要があるものと考えられる。

稿を終るに臨み、本研究を行うにあたり直接ご指導をいただいた荒木勤助教授ならびに武井邦彦博士に謝意を表わすとともに、論文のご校閲をいただいた日本医科大学鈴木正勝教授、宿谷良一教授、大川公康教授に、また終始ご援助いただいた教室員各位に心から感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨は、第54回日本産科婦人科学会関東連合地方部会総会（1977年7月）および第31回日本産科婦人科学会学術講演会（1979年4月）において発表した。

文 献

1. 荒木 勤, 武井邦彦: 妊婦の血中メトヘモグロビン濃度と還元型グルタチオンとの相関性, 日産婦誌, 25: 1247, 1973.
2. 荒木 勤, 武井邦彦, 庄野哲史, 近藤 伸: 妊娠とメトヘモグロビン. 産婦人科治療, 27: 672, 1973.
3. 船川幡夫: 低体重新生児についての統計的観察および在胎週別体重および身長基準について. 小児科臨床, 17: 872, 1966.
4. 久永幸生, 天ヶ瀬慶彦, 高橋英博, 宮本茂樹: 新生児重症黄疸の薬物療法, 還元 glutathione の効果に関する検討. 産婦人科の世界, 20: 1239, 1968.
5. 細道太郎, 吉田 裕, 赤山紀昭, 池浦達雄, 横田栄夫, 和田 脩: 妊娠悪阻及び晩期妊娠中毒症に対する還元型 Glutathione の大量療法. 産婦人科の世界, 22: 1043, 1970.
6. 飯塚貞男: 正常妊婦における Glutathione を中心とした血中非蛋白性 SH 化合物の動態に関する研究. 日産婦誌, 30: 1718, 1978.
7. 真柄正直, 室岡 一: 最新産科学 (異常編), 2, 文光堂, 1976.
8. 三浦宏平: 胎児および新生児の発育に伴う赤血球内諸物質の動態に関する研究. 日本新生児誌, 13: 343, 1977.
9. 須川幸彦, 辻本兵博, 滝川寅一, 榎村陽太郎, 半田ふみ子, 満谷夏樹, 井上憲一, 常俊 章: グルタイドの臨床 (1) 慢性肝疾患に対する還元型グルタチオン大量療法の治療経験. 臨床のあゆみ, 22: 17, 1968.
10. 高橋榮徳, 大西慎二, 須山 繁: 癌尿中の癌腫毒及び癌悪液質の本態に関する研究 (第94報) 悪性腫瘍と血液還元グルタチオンとの関係について. 北海道医学雑誌, 29: 1348, 1954.
11. 武井邦彦: 妊娠時における母体血メトヘモグロビンと還元型グルタチオンの動態に関する研究. 日医大誌, 43: 252, 1976.
12. 武井邦彦, 荒木 勤: 産婦人科領域における還元型グルタチオンの意義. 産婦人科の実験, 24: 297, 1975.
13. 竹内重雄, 国添興二, 市村信夫, 河野 嵩, 平出 香, 伊藤孝徳, 山岡桂子: SH 化合物に関する生化学的研究 (第1報) 動物組織中の Glutathione および類縁 SH 化合物の分別定量法ならびにこれらの SH 化合物の臓器分布について. 日大医誌, 31: 263, 1972.
14. 山村雄一: グルタチオンの基礎と臨床応用. 臨床のあゆみ, 22: 2, 1968.
15. 横田昭男: 子宮癌における SH 代謝に関する研究. 日産婦誌, 11: 2016, 1959.
16. 吉川春寿, 井阪三郎, 柴田章夫: 化学の領域 (増刊) 南江堂, 東京, 13: 164, 1956.
17. Allen, D.W. and Jandle, J.H.: Oxidative hemolysis and precipitation of hemoglobin. II. Role of thiols in oxidant drug action. J. Clin. Invest., 40: 454, 1961.
18. Arturo, A. Olivera and Robert, A. Meigs: Mitochondria from human term placenta, I. Isolation and assay conditions for oxidative phosphorylation. Biochemica et Biophysica Acta, 376: 426, 1975.
19. Arturo, A. Olivera and Robert, A. Meigs: Mitochondria from human term placenta, II. Characterization of respiratory pathways and coupling mechanisms. Biochemica et Biophysica Acta, 376: 436, 1975.
20. Askari, A. and Hodas, J.H.: Methemoglobinemia during pregnancy with subsequent death of infant. Am. J. Obstet. Gynec., 63: 437, 1952.
21. Bhattacharya, S.K., Robson, J.S. and Stewart, C.P.: The determination of glutathione in blood and tissue. Biochem. J., 60: 696, 1955.
22. Cooper, D.Y. and Rosenthal, O.: Action of noradrenaline and ascorbic acid on C-21 hydroxylation of steroid by adrenocortical microsomes. Arch. Biochem. Biophys., 96: 331, 1962.

23. *Haringston, C.R. and Mead, T.H.*: Synthesis of glutathione. *Biochem. J.*, 29: 1602, 1935.
24. *Hogeboom, G.H., Kuff, E.L. and Schneider, W.C.*: Recent approaches to the cytochemical study of mammalian tissues. *Int. Rev. Cytol.*, 6: 425, 1957.
25. *Hopkins, F.G.*: On glutathione, a reinvestigation. *J. Biol. Chem.*, 84: 269, 1929.
26. *Jocelyn, P.C.*: Some properties of mitochondrial glutathione. *Biochem. Biophys. Acta.*, 369: 427, 1975.
27. *Kay, W.W. and Murfitt, K.C.*: The determination of blood glutathione. *Biochem. J.*, 74: 203, 1960.
28. *Klotzsch, H. and Bergmeyer, H.U.*: Glutathione, "Methods of enzymatic analysis" Ed. Bergmeyer, H.U., 363, Acad. Press New York, 1963.
29. *Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.*: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265, 1951.
30. *Schmitz, J.T.*: Methemoglobinemia—A cause of abortion. *Obstet. Gynec.*, 17: 413, 1961.
31. *Srivastava, S.K. and Beutler, E.*: Accurate measurement of oxidized glutathione content of human, rabbit and rat red blood cells and tissues. *Analyt. Biochem.*, 25: 70, 1968.
32. *Strittmatter, P.*: The Enzymes, Academic Press., 8: 113, 1963.
33. *Strömme, J.H. and Eldjarn, L.*: The role of pentose phosphate pathway in the reduction of methemoglobin in human erythrocytes. *Biochem. J.*, 84: 406, 1962.
34. *Woodward, G.E. and Fry, E.G.*: The determination of blood glutathione. *J. Biol. Chem.*, 97: 465, 1932.

(特別掲載 No. 4787 昭55・10・3 受付)