

## ヒト胎盤絨毛細胞表面の負電荷とその生物学的役割

東京大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 坂元正一教授)

川 越 厚

## Negative Surface Charge of Human Trophoblast and its Biological Role

Koh KAWAGOE

*Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo**(Director: Prof. Shoichi Sakamoto)*

**概要** ヒト胎盤絨毛細胞の膜表面に存在する負電荷の生物学的役割を解明するために、各種のヒト胎盤絨毛について、その基本的な表面形態、糖蛋白の分布、表面負電荷の存在形態等を観察検討し、以下の結論を得た。1) ヒト胎盤絨毛細胞膜表面には、糖蛋白のシアル酸に由来する負電荷が存在する。この負電荷は15—20m $\mu$ の径を持つた粒子状の aggregate に存在し、隣接する aggregate は互いに50—100m $\mu$ 離れて極めて規則正しく配列する。2) トロホプラストの膜表面に存在する負電荷のもう一つの大きな特徴は、荷電量が極めて大きいことである。これは、胎盤絨毛の表面微細構造が複雑に入りこんでいて表面積が広いこと、又単位長さあたりの負電荷が大きいことによるが、その結果トロホプラストの表面には強力な電場が形成されると考えられる。3) 正常妊娠初期絨毛は、末期絨毛に比して有意に大きな負電荷を持つ。4) 自然流産より得た絨毛では、細胞自体の変性が軽度であつても膜表面の糖蛋白は散在するものをまとめて、より著明な aggregate を形成するようになる。しかしフェリチン粒子の附着数は少なくなるので、逆に負電荷は減少することが認められた。変性がすすむと膜表面負電荷は著明に減少し、糖蛋白の規則的配列の乱れが高度となる。5) 部分奇胎と全奇胎とを膜表面構造、糖蛋白分布、負電荷の存在形態より比較すると、部分奇胎は流産絨毛に、全奇胎は正常絨毛細胞に類似している。

以上より、ヒト胎盤絨毛細胞膜表面の負電荷は、2つの大きな生物学的役割を持つていると考えられる。第1に、静電気的な反撥力によつてリンパ球が胎盤絨毛に近づくのを妨げ、その結果同種移植片であるトロホプラストをリンパ球が抗原として認識する事を不可能にする。第2に、トロホプラスト表面の糖蛋白を隣接する糖蛋白との間に働く静電気的な反撥力で、膜表面上の一定の位置に保たせることである。

**Synopsis** The negative charges on the various trophoblasts were investigated, in order to cast light on the biological roles, by electron microscopy using cationized ferritin as an ultrastructural marker, in comparison with surface glycoprotein. The following results were obtained:

1. The surface glycoprotein distributed on the trophoblastic plasma membrane forming regularly situated aggregates, 15 to 20m $\mu$  in diameter separated by 50 to 100m $\mu$  from neighboring ones.
2. The negative charge on the cell surface was distributed in two different configurations: A strongly negative part and weakly negative one.
3. The placental villi were revealed to carry an extremely high level of negative surface charge.
4. One maternal lymphocyte in a first trimester pregnancy was calculated to carry a  $5.9 \times 10^{-11}$  Coulomb negative surface charge.
5. In a simplified model, the electronic repulsive force between the lymphocyte and placental villus was calculated as  $5.7 \times 10^{-4}$  Newton, showing that the electronegative charge on human trophoblast was strong enough to repel the negatively charged lymphocyte against the lymphocyte gradient.
6. For villi from spontaneous abortion with mild degeneration, the surface glycoprotein was observed to make prominent aggregates on the trophoblastic surface in concomitance with the reduced negative surface charge.
7. With the observation by electron microscopy, the complete mole differed essentially from the partial mole in that former resembled normal villi while the latter spontaneous abortion.

**Key words:** Negative surface charge • Trophoblast • Electrorepulsive force • Surface glycoprotein • Cationized ferritin

## 緒 言

移植免疫学の立場からみると、遺伝的に異なる胎児及びその付属物と、宿主である母体とは、同種移植の關係に相当する。この同種移植片が母体内で長期にわたり拒絶されないで生育することは、古くから免疫学上の大きな問題であつた。この問題に対するいくつかの考え方を整理して Medawar (1953) は4つの仮説を提出した<sup>21)</sup>。即ち、第1に、子宮が免疫学的に特異な場所である<sup>2)</sup>、第2に、妊娠によつて母体血中に増加するある種の物質が免疫抑制的に作用する<sup>11)30)</sup>、第3に、胎児組織には組織適合抗原が存在しない<sup>20)26)</sup>、第4に、胎児と母体の間に両者を隔てる解剖学的な障壁が存在する<sup>6)33)</sup>の4つである。

Kirby et al.<sup>18)</sup>は Medawar の第4の仮説を發展させ、トロホブラスト表面に存在するシアル酸を多量に含んだ糖蛋白が、母体の免疫学的攻撃の障壁として作用する事を提唱した。更に Currie and Bagshawe<sup>8)</sup>によつて、トロホブラスト表面に存在する強力な負電荷が免疫的障壁としての機能を有するという有力な仮説が提起されたものの、その実証はなされていないままである。

そこで本論文では、この点を実証するために各種のヒト胎盤絨毛（正常絨毛、自然流産絨毛、部分奇胎、全奇胎）について、その基本的な表面形態、糖蛋白の分布、表面負電荷の存在形態等を観察し、それらの生物学的役割について考察を行なつた。

## 材料と方法

1) 材料. 正常胎盤絨毛として妊娠初期16例、中期4例、末期10例、異常胎盤絨毛として自然流産15例、部分奇胎2例、全奇胎2例、より得られた胎盤組織を用いた。リンパ球は、正常妊婦11例（妊娠初期5例、中期2例、末期4例）より採つた末梢静脈血を Lymphoprep 上に重層し、遠沈して分離した。

2) 表面微細構造の観察. 採取した組織は、ただちに Karnovsky 変法固定液 (2.5% glutaraldehyde, 4% paraformaldehyde in 0.1M cacodylate buffer, pH7.3) で前固定し、続いて1%オスミウム酸で後固定した。透過型電顕試料はその後、

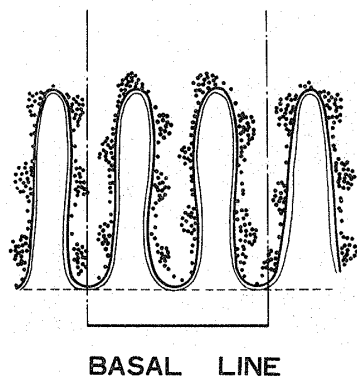
上昇アルコール系列で脱水し、エポニーアララルダイトに包埋した。走査型電顕試料は上昇アルコール系で脱水後、臨界点乾燥し、carbon-gold の蒸着を行なつた。電顕観察は、H-700型透過型電顕、S-700型走査型電顕で行なつた。

3) ルテニウムレッド (ruthenium red=R.R. と略す) 染色. 採取した組織を以下に述べる溶液で1時間固定した。固定液: 0.5ml of 3.6% glutaraldehyde, 0.5ml of 0.2M cacodylate buffer (pH 7.3) and 0.5ml of ruthenium red stock solution (1.500ppm in water)。続いて0.1Mのカコジル酸緩衝液2~3回洗浄後、以下の固定液で3時間後固定を行なつた。固定液: 0.5ml of osmium tetroxide, 0.5ml of 0.2M cacodylate buffer (pH7.3) and 0.5ml of ruthenium red stock solution, 以後は通常の電顕用試料作製法に従つた。

4) 膜表面負電荷の標識 (Danon et al. 1967)<sup>9)</sup> と付着フェリチン数の計測. 採取した組織片を Veronal/HCl-buffered NaCl solution (pH7.3) で洗滌し、Karnovsky 変法固定液で固定(5分間)後、又は固定前に以下の標識溶液中に30分間浸漬した。標識溶液: 0.1ml of cationized ferritin (Miles Yeda Ltd., Israel)+0.4ml of Veronal/HCl buffered saline. 試料はその後、2~3回 Veronal 緩衝液で洗滌後、Karnovsky 変法固定液で固定し、以後は通常の電顕用試料作製法に従つた。付着したフェリチンの数は、次のような方式により定量的にあらわした。即ち、絨毛細胞表面の基底部に平行な直線を引き、これを基準線 (basal line) とし、この基準線に垂直な1 $\mu$ の間隔を持つた2本の垂線を引き、この2本の平行線内に含まれるフェリチンの総数を計測した (図1)。

5) ニューラミニダーゼ (Neuraminidase=VCN と略す) 処理. 組織片を Hank's balanced salt solution (HBSS) でよく洗滌後、10U/ml, 50U/ml の各濃度の VCN (Burroughs Wellcome Co. England) を37℃で30分間作用させた。試料は HBSS で素早く洗滌した後、Veronal/HCl 緩衝液で2~3回洗滌し、膜表面負電荷の標識を行な

図1 フェリチン粒子の計測。トロホプラストの pit の底に平行な長さ $1\mu$ の直線をひき、これに対して直角な二本の平行線を引いた(基準線=basal line)。この基準線内に含まれている微絨毛全表面長とフェリチン粒子の総数を計測した。



った。

## 結 果

### 1. 正常絨毛細胞の表面微細形態

基準線(basal line)  $1\mu$ あたりの延べの表面長をみると、妊娠初期絨毛で $21.5\mu$ 、末期で $6.3\mu$ 、10 U/mlのVCN処理を施した末期絨毛で $5.2\mu$ であつた(図2)。走査型電顕で観察すると妊娠初期絨毛は末期絨毛と比べて、微絨毛の数ははるかに多く、表面構造は複雑な網目状の形をとっている。

### 2. 正常絨毛細胞表面の糖蛋白

R.R.で染色すると、絨毛細胞表面の微絨毛、micropinocytic vesicleは陽性に染まる。染色された糖蛋白の厚い層の部分是一定の間隔( $50-100m\mu$ )をもつて分布し、各々は $15-20m\mu$ の直径、 $5-20m\mu$ の高さをもっている(図3)。この分布は妊娠初期、末期の正常絨毛の間で基本的な差異を認めなかつた。

### 3. 正常絨毛細胞表面の負電荷

C.F.はトロホプラスト表面にかなり多量に付着している。5分間Karnovsky変法固定液で固定した後フェリチン粒子を付着した場合にはその分布は均一ではなく、多数のフェリチン粒子がaggregateを形成する所と、1~2個のフェリチンが付着する薄い層を形成する所があつた。前者は一定の大きさを持ち、隣接するaggregateの部分と $50-100m\mu$ の距離をもつて規則正しく存在し、R.R.で染色される糖蛋白の分布と非常によく

図2 正常妊娠初期絨毛、末期絨毛、ニューラミニダーゼ処理末期絨毛における、基準線 $1\mu$ あたりの全表面長。

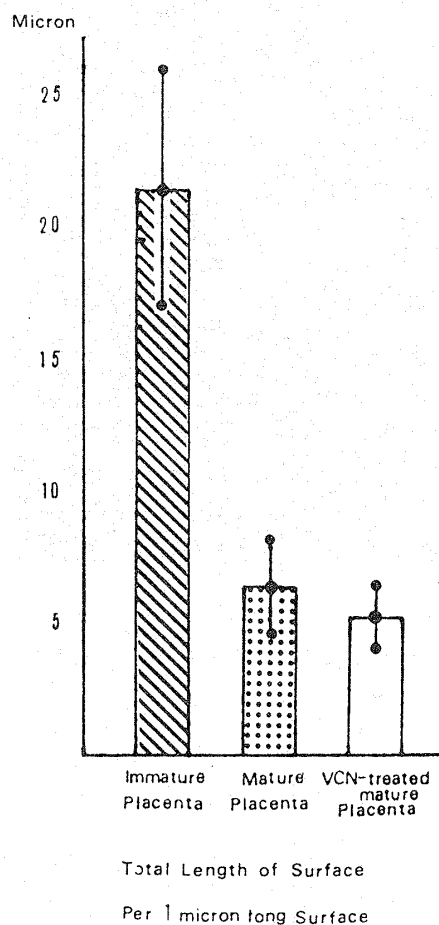
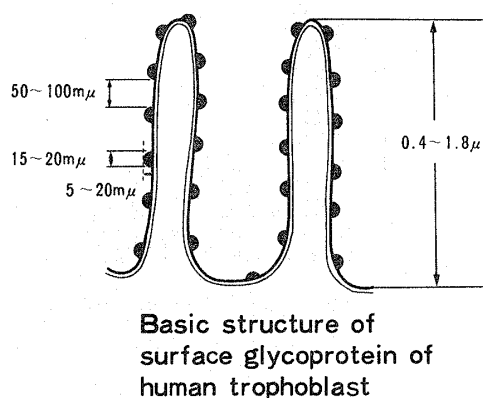
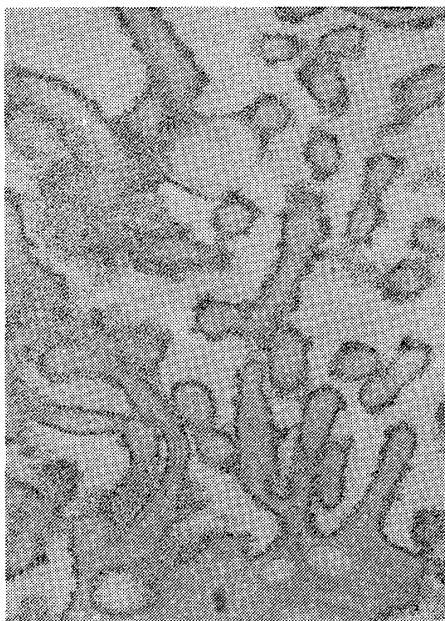
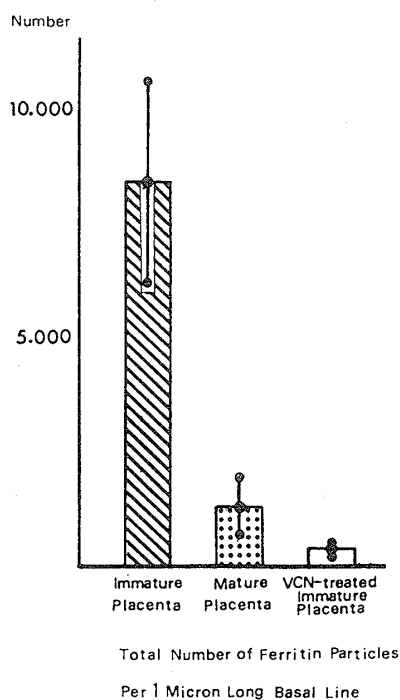


図3 ヒト絨毛細胞の膜表面糖蛋白の基本構造



一致した。このフェリチン粒子の基本的分布形態は透過型電顕のみならず、走査型電顕でも確認された(図4)。正常妊娠初期と末期の絨毛細胞の表面負電荷をもつ部分の数を比較すると、妊娠初期では基準線  $1\mu$  あたりにつき、 $8,400 \pm 2,100$ 個、末期では $1,300 \pm 600$ 個のフェリチン粒子が付着

図4 正常絨毛細胞におけるフェリチン粒子の電顕像

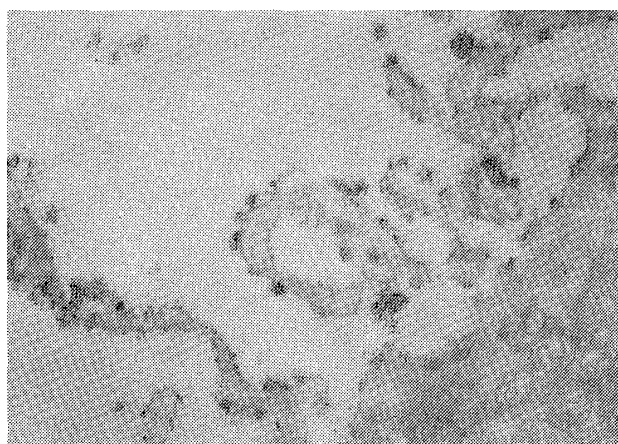
図5 基準線1  $\mu$  あたりに付属するフェリチン総数

し、妊娠初期絨毛の負電荷が後期絨毛と比較して有意に大きいことが判明した(図5)。トロホブラストの膜表面に付着するフェリチン粒子の数を同一視野内に観察される赤血球と比較すると、トロホブラスト表面には極めて多量の、フェリチンが付着することが観察された(図6)。試料を固定する前に C.F. を作用させると、フェリチン粒子は一

図6 ヒト絨毛細胞表面に存在する赤血球表面の負電荷分布。赤血球表面に付着するフェリチン粒子の数は、トロホブラストの表面に付着する物よりも、はるかに少ない(倍率20,000 $\times$ )。



図7 ニューラミニダーゼ処理を施した末期正常胎盤の負電荷分布を示す電顕像。(倍率36,000 $\times$ )



定の規則性をもった配列をしなくなり、膜表面は極めて大量の ferritin が局在して付着する部と、ferritin が全く付着しない部分とに分かれる。ferritin の局在部位は、微絨毛と微絨毛の間でその間を埋めつくすような形となり、この場合微絨毛根部の pit には、ferritin の付着はみられなかった。

#### 4. 脱シアル酸による絨毛細胞膜表面の負電荷の変化

VCN を10U/ml の濃度で作用させると、作用させない場合と比べて膜に付着する C.F. の量は、約1/4に減少した(図7)。50U/ml の VCN を作用させた場合には、細胞膜表面に付着するフェリチンの数は著しく減少するが、同時に膜表面の微細形態も破壊された。

#### 5. 自然流産におけるトロホブラストの表面微

図8 自然流産の症例より得られた胎盤絨毛表面に存在する糖蛋白。ルテニウムレッドで染色される糖蛋白は膜表面上で極めて規則正しい配置を示している。(倍率20,000×)

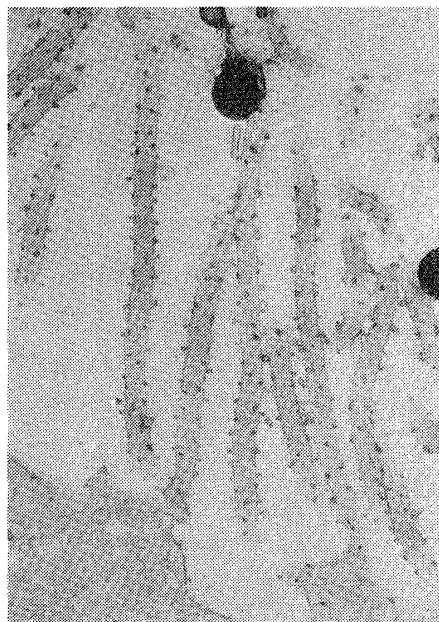


図9 自然流産の症例より得られた高度の変性を示す胎盤絨毛細胞の表面負電荷分布。付着するフェリチン粒子総数は極端に減少し、規則正しい配列は失われる。(倍率20,000×)

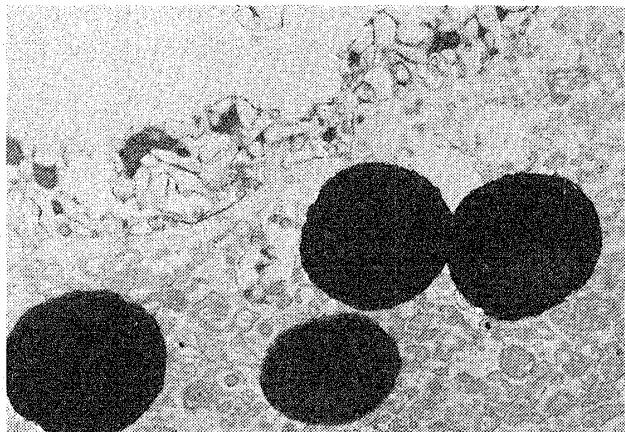
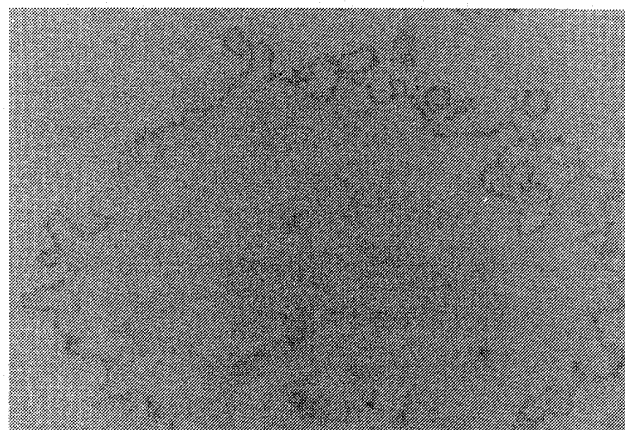


図10 妊娠初期妊婦の末梢血より得られたリンパ球の膜表面負電荷。(倍率10,000×)



#### 細胞形態, 糖蛋白, 負電荷

Syncytiotrophoblast (ST と略す) の変性が電顕レベルでも明らかでない場合は、微絨毛や micropinocytic vesicle 等の数や表面構造は、相当する週数の正常胎盤絨毛細胞と比較して特別な所見は得られなかつた。しかしながら、このような部位でも、C.F.局在の減少即ち膜表面負電荷の減少と糖蛋白の著明な aggregate が観察された(図8)。変性が進むと膜表面の負電荷は著しく減少し、糖蛋白の規則的配列の乱れが高度となつた(図9)。

#### 6. 部分奇胎におけるトロホブラストの表面微細形態, 糖蛋白, 負電荷

部分奇胎では肉眼的に水腫像を呈する部位と、そうでない部分との間では表面微細構造の差異は認められなかつた。R.R.染色で染色される部位は少なくなり、変性が激しい場合には R.R.陽性の部位は殆どみられなかつた。C.F.の膜表面に付着する数は一般に減少し、フェリチン粒子の分布は自然流産の場合と同様に規則性を失なつていた。

#### 7. 全奇胎におけるトロホブラストの表面微細形態, 糖蛋白, 負電荷

全奇胎の場合には、相当する週数の正常絨毛細胞と比較して膜表面の微絨毛は数が増し、複雑な入り組んだ形をとり、先端が太くなる傾向がみられた。R.R.で染色される糖蛋白の分布は正常絨毛と同じく、基本的には厚い部分が薄い部分を隔てて一定の間隔で規則正しく配列するのが観察された。基準線単位長さあたりに付着するフェリチンの数は、全奇胎では正常の絨毛と比べてやや増加する傾向が認められたが、有意差はなかつた。

#### 8. 正常妊婦における末梢血リンパ球の表面微細形態, 糖蛋白, 負電荷

リンパ球の表面は絨毛細胞と比較して滑かであり、時折細胞質の突出が認められる。基準線  $1\mu$  あたりの延べの表面長は、妊娠初期リンパ球で2.2

$\mu \pm 0.5\mu$ , 末期で  $2.1 \pm 0.6\mu$  と両者の間で有意差はなかった。リンパ球の膜表面糖蛋白は、ほぼ均等の薄い層として存在し、膜表面の負電荷もほぼ均等に存在していた(図10)。基準線  $1\mu$  あたりには、妊娠初期で  $240 \pm 67$ 個、末期で  $611 \pm 204$ 個のフェリチン粒子が付着し、表面  $1\mu$  あたりに換算すると妊娠初期で  $117 \pm 18$ , 末期で  $301 \pm 65$ と妊娠末期のリンパ球では妊娠初期のものと比べて、有意に大きな負電荷を有することがわかった。

### 考 察

Medawar が1953年に発表した4つの仮説<sup>21)</sup>の内第4の仮説というのは、胎児と母体との間に fibrinoid 層のような解剖学的に両者を隔てる障壁が存在して、その為に同種移植片である胎児由来の組織が母体の免疫学的攻撃より守られるというものである。Nitabuch の層として知られるこの層には hyaluronic acid とシアル酸が多量に含まれており<sup>18)</sup>, トロホプラストの局所浸潤性が強いヒトやモルモット<sup>33)</sup>において典型的に観察される。しかし、この fibrinoid 層は、トロホプラストの全表面を覆っている訳ではなく、又絨毛間腔には母体のリンパ球、マクロファージ等の細胞も現われるのでいわゆる、fibrinoid 層が免疫学的障壁として機能しているとは考え難く、むしろトロホプラストの浸潤より母体組織を保護する可能性が示されている<sup>16)17)</sup>。一方 Nitabuch の fibrinoid 層にかかわって、トロホプラストの膜表面に存在する糖蛋白が胎児を母体の免疫学的攻撃より守る上で本質的な働きをしている、という考えが Kirby et al.<sup>18)19)</sup>によつて提起された。この考えは、トロホプラストの膜表面に存在する糖蛋白が膜表面の抗原決定基を mask してしまうという考え方と、膜表面に存在する強力な負電荷により絨毛細胞に接近する同じく負に帯電した母体リンパ球を静電的反発力で近づけさせないという2つの考え方に発展した。前者はトロホプラスト表面に、局所的免疫抑制作用の強い HCG が存在する<sup>13)23)</sup>, という観察によつて最近注目をあびている。後者は、トロホプラスト表面のシアロムチンが強い負電荷を帯び、静電的反発力で母体リンパ球の接近を妨げるという Currie and Bagshawe<sup>8)</sup>の仮説に拠

つている。

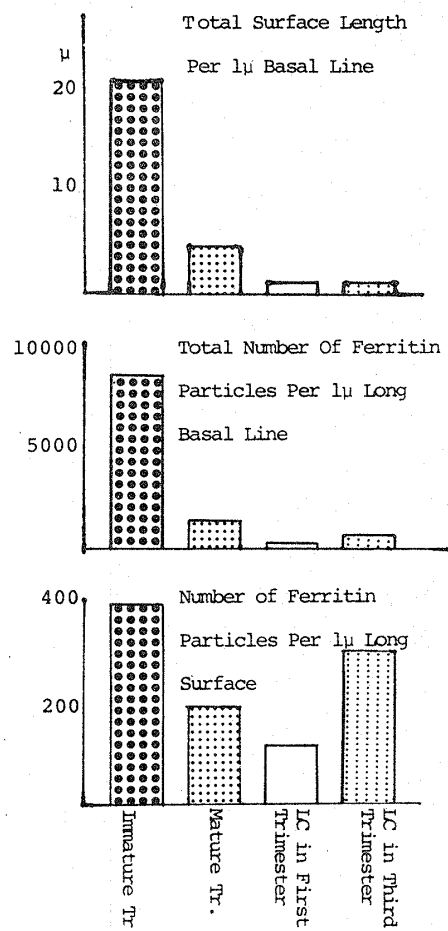
R.R.染色を用いた今回の観察では、トロホプラスト膜表面の糖蛋白には厚い部と薄い部の2種類があり、厚い部は一定の規則性をもつて存在する事が明らかとなつた。Bradbury et al.<sup>6)</sup>は鉄コロイドを用いてトロホプラストの膜表面の糖蛋白に関して同様の報告を行なっている。この糖蛋白の分布は、C.F.を marker として用いて判明したトロホプラスト膜表面の負電荷の分布と一致した。

VCN 処理を行なうと膜表面の糖蛋白の脱シアル酸化、膜表面の負電荷の減少、細胞の形の変化等が生ずる事が知られている<sup>32)</sup>。腫瘍免疫の立場よりみると腫瘍細胞の膜表面の糖蛋白よりシアル酸を除去してから移植すると、腫瘍の発育速度が遅くなり<sup>28)</sup>, 腫瘍の抗原性が増す<sup>4)</sup>, 等の興味ある報告がなされている。今回の観察では、10U/ml の VCN は細胞表面の形態をほとんど変えることなく、リンパ球ではその表面負電荷の全てを、又、トロホプラストでは約3/4の表面負電荷を除去することが認められた。VCN の作用に対するリンパ球とトロホプラストの膜表面より脱シアル酸化される程度の違いは、両者の持つシアル酸含量と膜表面の微細形態の相違によるものと考えられる。50U/ml の VCN を作用させた場合には脱シアル酸化のみならず、膜表面の微細形態変化も著しいので、VCN を作用させる場合には、適当な濃度と作用時間を選択しなければならない。

細胞膜表面の負電荷を観察する上で、C.F.を電顕上の marker として用いる方法は、鉄コロイドを用いる等の他の方法と比較して優れている。その理由は、第1に生理的 pH で C.F.を作用させることができることと、第2に膜表面負電荷の定量的測定が可能である<sup>9)</sup>ことによる。今回の観察では、基準線単位長さあたりに付着するフェリチンの数をもとに計算すると、妊娠初期絨毛は末期絨毛に比して6—7倍程度大きい負電荷を有することとなり、これはヒトトロホプラストの酸性粘多糖体を測定した生化学的データと一致することが判つた<sup>22)</sup>。妊娠初期絨毛が末期絨毛と比較して極めて大きな負電荷をもつことは、妊娠初期絨毛が表面の単位長さあたりに有する負電荷の量が末



図11 ヒトの正常胎盤絨毛細胞と比較した正常妊婦リンパ球の基準線単位長さあたりの延べの表面長、付着するフェリチンの総数、及び単位長に付着するフェリチン数。

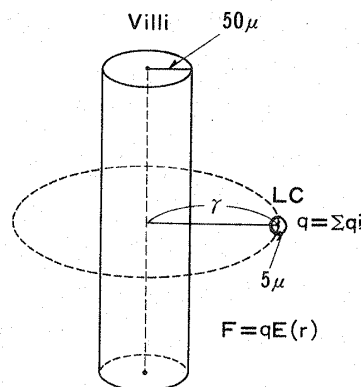


期絨毛の約2倍多いことと、細胞膜表面が複雑に入りこんで表面積が大きいことによるものと考えられる。

これに対してリンパ球の場合は、妊娠の進行とともに膜表面の負電荷はむしろ大きくなる。正常妊娠初期のリンパ球は末期のものと比較して、単位基準線あたり約1/2の負電荷しかもたない。リンパ球は強い負電荷を有する細胞であることが知られているが<sup>3)</sup>、妊娠末期のリンパ球でも妊娠初期の正常胎盤絨毛と比較して、単位基準線あたり約1/15の負電荷しかもたない。これは正常胎盤絨毛の負電荷がいかに大きいかを示していると思われるが、各々の細胞の膜表面形態の違い、単位表面長あたりの負電荷の大きさの違いによるものと考えられる(図11)。

この様に膜表面に強い負電荷をもつトロホブラ

図12 リンパ球と胎盤絨毛との間に働く静電的反働力の計算モデル。胎盤絨毛(Villi)は半径 $50\mu$ の円柱で、中心より $r$ の地点に半径 $5\mu$ のリンパ球(LC)が存在すると仮定する。リンパ球の総負電荷量を $q$ とし、胎盤絨毛が $r$ の地点で作る電場の強さを $E(r)$ とすると、 $F=qE(r)$ より求められる。



ストが作る電場にリンパ球が置かれた場合、どれだけの静電的反働力を受けるか計算してみよう。リンパ球表面に存在するフェリチン総数を $N$ 個とすると、 $N=N_0S$ である。ここに $N_0$ は単位面積あたりに付着するフェリチンの数で、 $S$ はリンパ球の表面積である。今、電顕切片の厚さを $50\mu$  (silver-greyの切片とする)、リンパ球の半径を $5\mu$ とすると $N_0=\frac{n}{1 \times 0.05}$ で、ここで $n$  ( $=242$ )はリンパ球の単位基準線あたりに付着するフェリチンの数で、従つて $N=\frac{n}{1 \times 0.05}4\pi r^2=1.5 \times 10^6$ 個となる。1個のC.F.の持つ電荷は $Z=244^{23)}$ なので、リンパ球表面の総負電荷量 $Q$ は、 $Q=ZeN=5.9 \times 10^{-11}$  Coulombとなる。

リンパ球が胎盤絨毛より受ける静電的な力を以下の方式に従つて計算した。1本の胎盤絨毛は $50\mu$ の半径を持ち、表面に負電荷が均等に分布する細長い円筒と仮定し、リンパ球は半径 $5\mu$ の球とする。溶媒は純粋の水としその中の陽イオンと膜表面の負電荷との間には電気的な相互作用はないと仮定する(図12)。リンパ球が胎盤絨毛より受ける静電的な力を $F$ 、リンパ球の負電荷量を $q$ 、胎盤絨毛が中心より $r$ だけ離れた部位で作る電場の強さを $E(r)$ とすると、 $F=qE(r)$ となる。ここで、 $E(r)=\left(\frac{Q}{l}\right)\frac{1}{2\pi r\epsilon}$ 、 $\left(\frac{Q}{l}\right)$ は胎盤絨毛の長軸に沿った単位長さあたりの負電荷密度で、 $\epsilon(=\epsilon^0\epsilon^*)$ は水の比電率を表す。リンパ球がトロホブ

ラスト表面に接して存在すると仮定すると、 $E(r) = 9.7 \times 10^6$  となり、 $F = 5.7 \times 10^{-4}$  (N) となる。この値はリンパ球1個の重量約  $9.8 \times 10^{-12}$  (M.K.S.) と比してはるかに大きい。この様に両者の間に働く反撓力の値が非常に大きく出るのは、主に溶液中の陽イオンは  $10^{-1}$  Mole/ml の濃度で約 10nm の厚さの電気二重層を作る<sup>1)</sup>。従つてより正確にはリンパ球と胎盤絨毛が別個に形成する2つの電気二重層の間に働く相互作用を計算せねばならず、實際上この因子は無視できないものと考えられる。又、リンパ球が絨毛細胞に近づいた場合の、各々の膜表面における負電荷の移動や、さらに絨毛相互の各々の電場を打ち消すような作用も無視できないと考えられる。この様に、この静電的な反撓力は計算値よりもかなり小さくなると予想されるものの、リンパ球を胎盤絨毛に近づけさせないだけの十分な静電的な力が両者の間に働くものと考えられる。

大部分の哺乳動物の細胞で、膜表面負電荷の主な担い手は、糖蛋白部分のシアル酸であることが示されている<sup>7)</sup>。VCN で脱シアル酸を行なうと、膜表面の負電荷は約70%減少した事は、上記の報告を支持するものである。膜表面の糖蛋白と、それが含有するシアル酸の量は、細胞の特性を決定するといえる。悪性腫瘍細胞についてみると、細胞の癌化は必ずしも細胞のもつシアル酸含量の増加を伴わない<sup>24)31)</sup>が腫瘍細胞は通常多量のシアル酸を有し<sup>10)32)</sup>、膜に付着するシアル酸を含む糖蛋白の質的变化と分布の変化は細胞の特質変化と密接に関係していると考えられている<sup>8)25)</sup>。ヒト胎盤絨毛に関しては、膜表面の糖蛋白と負電荷に関して詳細な観察があり、両者の分布が極めてよく一致し、かつ規則的な配列をなしていることが報告されている<sup>15)</sup>。トロホブラストのもついくつの特異性と、この特徴的な糖蛋白及び負電荷の分布がどの様に関わっているかが興味ある問題である。

試料を固定する前に C.F. で標識するとフェリチン粒子は膜表面上で著明な aggregate を形成し、その代わりに膜表面にフェリチンの全く付着しない部位が生じた。この現象は Singer and

Nicolson<sup>29)</sup>の膜流動モザイク説と、膜表面の負電荷がフェリチンを付着させることにより電氣的に中和されることを考えるとよく理解できる。このことは膜表面の個々の糖蛋白は隣接する糖蛋白より電氣的な反撓力を受けて、その反撓力が均衡をとる部位に位置する可能性を示している。トロホブラストの場合には、個々の糖蛋白の負電荷が大きい為、極めて規則的な配列をし、又、一度その反撓力が失なわれると蛋白の分布はバラバラになつてしまうと考えられる。この事がトロホブラストの膜特異性と密接に関連していると考えられる。

自然流産の絨毛では、変性の極く初期に膜表面の負電荷が減少し、糖蛋白が著明な aggregate を形成することが観察された。これが流産という現象の原因なのか、結果なのかは明らかではないが、この様な絨毛では負電荷の絶対量が減少し、その結果膜表面の糖蛋白は正常の分布を示すことができなくなり、トロホブラストの膜特異性も表現できなくなるものと思われる。

膜表面の微細形態、糖蛋白及び負電荷の分布を分析すると、部分奇胎と全奇胎が本質的に異なるものであることが判明した。部分奇胎では肉眼的に正常な部も水腫化をおこした部も、共に自然流産と類似した膜表面の変化を呈する。一方全奇胎では S.T. の表面には、相当する週数の正常絨毛よりも若干大きい負電荷が存在するが、糖蛋白および負電荷の分布は基本的に同じである。この観察は部分奇胎と全奇胎が本質的に異なるものである事を示しており、近年の両奇胎に関する多数の報告<sup>12)14)</sup>とよく一致する。

著者は本研究だけではなく、臨床的にも常に暖かい励ましと御指導を賜つた坂元正一教授に深い謝意を表します。又、水野正彦教授、川名尚助教授、山口和克助教授(病理学教室)には本論文の作成にあたり、貴重な御助言と御批判を賜わり深謝いたします。

#### 文 献

1. 近藤 保：コロイド科学序論。三共出版、1972。
2. Adcock, E.W.III, Teasdale, F., August, C.S., Cox, S., Meschia, G., Bettaglia, F.C. and Naughton, M.A.: Human chorionic gonadotropin: Its possible role in maternal lymphocyte sup-



- pression. *Science*, 181 : 845, 1973.
3. Ambrose, E.J. : Possible mechanism of the transfer of information between small groups of cells. In *Cell Differentiation*. (Ciba Found. Symp.). Eds. Reauk, A. and Knight, J., London : J. & A. Churchill, 1967.
  4. Bekesi, J.G., St. Arneault, G., Walter, L. and Holland, J.H. : Immunogenicity of leukemia L1210 cells after neuraminidase treatment. *J. Natl. Cancer Inst.*, 49 : 107, 1972.
  5. Borland, R., Loke, Y.W. and Wilson, D. : Immunological privilege resulting from endocrine activity of trophoblast in vivo. In *Immunology of Trophoblast*, ed. by R.G. Edwards, C. W.S. Howe and M.H. Johnson, 157. Cambridge University Press, Cambridge, 1975.
  6. Bradbury, S., Billington, W.D. and Kirby, D.R. S. : A histochemical and electron microscopical study of the fibrinoid of the mouse placenta. *J.R. Microsc. Soc.*, 84 : 199, 1965.
  7. Cook, G.M., Heard, D.H. and Seaman, G.V. : A sialomucopeptide liberated by trypsin from the human erythrocyte. *Nature*, 188 : 1011, 1960.
  8. Currie, G.A. and Bagshawe, K.D. : The masking of antigens of trophoblast and cancer cells. *Lancet*, i : 708, 1967.
  9. Danon, D., Goldstein, L., Marikovsky, Y. and Skutelsky, E. : Use of cationized ferritin as label of negative charges on cell surface. *J. Ultrastruct. Res.*, 38 : 500, 1972.
  10. Grimes, W.J. : Glycotransferase and sialic acid levels of normal and transformed cells. *Biochemistry*, 12 : 990, 1973.
  11. Han, T. : Inhibitory effect of human chorionic gonadotropin on lymphocyte blastogenic response to mitogen, antigen and allogenic cells. *Clin. Exp. Immunol.*, 18 : 529, 1974.
  12. Kajii, T. and Ohama, K. : Androgenetic origin of hydatidiform mole. *Nature*, 268 : 633, 1977.
  13. Kawagoe, K., Sugase, M. and Machinami, R. : Ultrastructural evidence of human chorionic gonadotropin on trophoblastic surface. *Acta Histochem. Cytochem.*, 11 : 187, 1978.
  14. Kawagoe, K. : An electron microscopic study on hydatidiform mole : With special reference to early changes of syncytiotrophoblast of hydatidiform mole with coexistent fetus. *J. Clin. Electron Microscopy*, 12 : 179, 1979.
  15. Kawagoe, K., Kawana, T. and Sakamoto, S. : Ultrastructural demonstration of the negative surface charge on human trophoblast. *Acta Histochem. Cytochem.*, 13 : 254, 1980.
  16. Kawagoe, K., Kawana, T. and Sakamoto, S. : Ultrastructure of the nidatory site in tubal pregnancy. *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 33 : 403, 1981.
  17. Kawagoe, K., Kawana, T. and Sakamoto, S. : Localization of human chorionic gonadotropin at the nidatory site of tubal pregnancy. *Acta Histochem. Cytochem.*, 14 : 308, 1981.
  18. Kirby, D.R.S., Billington, W.D., Bradbury, S. and Goldstein, D.J. : The antigen barrier of the mouse placenta. *Nature*, 204 : 548, 1964.
  19. Kirby, D.R.S., Billington, W.D. and Janes, D. A. : Transplantation of eggs to the kidney and uterus of immunized mice. *Transplantation*, 4 : 713, 1966.
  20. Luft, J.H. : Ruthenium red and violet. Chemistry, purification, methods of use for electron microscopy and mechanism of action. *Anat. Rec.*, 171 : 347, 1971.
  21. Medawar, P.B. : Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution viviparity in vertebrates. In : *Symp. Soc. Exptl.*, 7 : 320, 1953.
  22. Nakagawa, M. : Chemical analysis of acid mucopolysaccharides content of human trophoblast. *Acta Obstet. Gynaec. Jpn.*, 30 : 148, 1978.
  23. Naughton, M.A., Merrill, D.A., McManus, L. M., Fink, L.M., Berman, E., White, M.J. and Martinez-Hernandez, A. : Localization of the beta-chain of human chorionic gonadotropin on human tumor cells and placental cells. *Cancer Res.*, 35 : 1887, 1975.
  24. Patinkin, D., Schlesinger, M. and Doljanski, F. : A study of surface ionogenic groups of different types of normal and leukemic cells. *Cancer Res.*, 30 : 489, 1970.
  25. Sanford, B.H. : An alternation in tumor histocompatibility induced by neuraminidase. *Transplantation*, 5 : 1273, 1967.
  26. Schlesinger, M. : Uterus of rodents as site for manifestation of transplantation immunity against transplantable tumor. *J. Natl. Cancer Inst.*, 28 : 927, 1962.
  27. Simmons, R.L. and Russel, P.S. : The immunologic problem of pregnancy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 99 : 717, 1962.
  28. Simons, R.L., Rios, A., Lundgren, G., Ray, P. K., Mckhann, C.F. and Haywood, G.R. : Immunospecific regression of methyl-cholanthene fibrosarcoma with neuraminidase. *Surgery*, 70 : 38, 1971.
  29. Singer, S.J. and Nicolson, G.L. : The fluid

- mosaic model of the structure of cell membrane. *Science*, 175 : 720, 1972.
30. *Taylor, P.V. and Hancock, K.W.* : Antigenicity of trophoblast and possible antigen masking effects during pregnancy. *Immunol.*, 28 : 973, 1975.
31. *Vassar, P.F.* : Electrophoretic mobility of human tumor cells. *Nature*, 197 : 1215, 1963.
32. *Weiss, L., Mayhew, E. and Ulrich, K.* : The effect of neuraminidase on the phagocytic process in human monocytes. *Lab. Invest.*, 15 : 1304, 1966.
33. *Wyne, R.M.* : Comparative electron microscopy of the placental junctional zone. *Obstet. Gynecol.*, 29 : 644, 1967.
- (No. 4992 昭56・11・9受付)
-