

### 153 Calphobindin によるホスホリパーゼA<sub>2</sub> 阻止活性に関する検討

秋田大

内海 透, 佐藤宏和, 村田 誠, 真木正博

〔目的〕当教室で分離精製し, アミノ酸配列を決定した胎盤性Ca<sup>2+</sup>リン脂質結合蛋白Calphobindin (CPB)は抗凝固作用を示す. 一方, 構造的にはlipocortin (LC)と約50%のホモロジーがあることから, CPBのphospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>)阻止活性について基礎的検討を行った.

〔方法〕PLA<sub>2</sub>は, ブタ臍由来のものをを用い, <sup>14</sup>C-phosphatidylcholine (PC), <sup>14</sup>C-phosphatidylethanolamine (PE)を基質として遊離されるarachidonic acid (AA)をRIAにより活性を測定した. CPB I, CPB II, CPB IIIは我々の報告した方法により, またLCはHuangらの方法に準じて精製した. PLA<sub>2</sub>阻止活性は, PLA<sub>2</sub>活性測定系に種々の阻止物質を加え, AA遊離の減少率で示した.

〔成績〕(1) CPB IのPLA<sub>2</sub>阻止能は, Ca<sup>2+</sup>依存性であり, 最大効果発現には10mM以上のCa<sup>2+</sup>を必要とした. また, CPB濃度依存性の抑制が見られた. (2) CPB I, CPB II, CPB III, LC 1.5×10<sup>-6</sup>Mでの阻止能は, それぞれ80%, 100%, 45%, 30%であり, 抗凝固活性と平行であった. (3) 基質濃度を充分高めることにより, 阻止活性は低下し, PC 300μM, PE 50μMでほとんど認められなくなった.

〔結論〕従来LCによるPLA<sub>2</sub>阻止効果が報告されているが, その同族蛋白であるCPB I, CPB II, CPB IIIにもCa<sup>2+</sup>存在下にLCよりも強いPLA<sub>2</sub>阻止活性が認められた. その阻止活性は濃度依存性であり, かつCPBがPLA<sub>2</sub>の基質であるリン脂質の利用障害をきたすものと考えられる. 胎盤中にそれらの蛋白が存在することは, 子宮収縮抑制機構への関与が示唆される.

### 154 胎盤 carbonic anhydrase 活性の経胎盤CO<sub>2</sub>排泄に対する意義

—モルモット胎盤の人工灌流モデルを用いて—

日本医科大学, 仁泉会医学研究所\*

○波多野久昭, 河村 堯, 米山芳雄, 土居大祐, 高田秀一, 佐藤喜一\*, 荒木 勤

〔目的〕carbonic anhydrase (CA)活性は重炭酸をH<sub>2</sub>OとCO<sub>2</sub>に転換し, 血液のpH調節に重要な役割を果たしている. 我々は, 胎盤に依存するCA活性が, 胎児の母体へのCO<sub>2</sub>排泄にどのような意義を有しているか, モルモット胎盤を用いて検討した.

〔方法〕妊娠50~65日のモルモット胎盤をLeichtweisの方法で摘出し, cell freeの灌流液を用いてin vitroで灌流した.<sup>14</sup>C-重炭酸と<sup>3</sup>H-L-Glucose(対照)をsingle injection法にて母獣または胎仔側に注入し, 重炭酸の取り込みを測定した. CAの特異的阻害剤であるacetazolamide (AA)とaminothiadiazole (AT)を用い, 重炭酸の取り込み抑制率を指標としてCA活性を検討した. AA (0.1または1.0 mmol)を含む灌流液を用いたI群, isotopeと共にAA (5mmol)をsingle injectionしたII群, 組織内へ取り込みのないAT (1.0mmol)を含む灌流液を用いたIII群に分け, 実験を行った.

〔成績〕AAのCA活性に対する抑制効果は用量反応性かつ可逆性であった. I, II, III群の重炭酸取り込み抑制率は, 胎仔側でそれぞれ39.8±4.2%, 38.1±6.0%, 52.2±7.8%母獣側でそれぞれ25.2±3.6%, 22.4±4.9%, 19.7±4.7%であり, いずれの群においても胎仔側で優勢に認められた.

〔結論〕胎盤のCA活性は胎仔側に優勢であり, 多くの重炭酸がCO<sub>2</sub>に転換されていることが示唆された. この結果は胎児のpH調節が, CO<sub>2</sub>の経胎盤の母体排泄に依存していることから考えると極めて合目的である. また, 組織内移行のないCA抑制剤であるATにもCA活性抑制効果を認めたことから, CAは主としてplacental barrierの外側に存在することが示唆された.