

妊娠中毒症胎盤絨毛の立体構築変化に関する研究

信州大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 福田 透教授)

平 林 稔 之

Study on the Stereo-architectural Changes in Human Placental Villi of Toxemia of Pregnancy

Toshiyuki HIRABAYASHI

Department of Obstetrics and Gynecology, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto
(Director: Prof. Toru Fukuda)

概要 妊娠中毒症 (中毒症と略) 重症例の胎盤絨毛を走査電顕にて観察, さらに絨毛血管の鋳型を作成し病型別 (蛋白尿: P type, 高血圧: H type, 蛋白尿+高血圧: PH type, 子宮内胎児死亡: IUFD) に絨毛立体構築変化を比較検討した. また胎盤分葉の絨毛の構成変化を画像解析にて分析した. 一方, 構築の基本となる絨毛血管の変化を透過電顕にて観察した.

1) 走査電顕観察では重症中毒症絨毛は正常例に比し著しく錯綜し, 絨毛表面に皺襞形成の増加を認めた. 終末絨毛は重症化に伴い細小化し, 高血圧合併例にその傾向を強く認めた. 終末絨毛は P type で著しく減少を示した. 微絨毛は H type では短小化や滑生化を示し, P type では細長化と微絨毛同士の癒合も観察された.

2) 分葉を, 母体面, 分葉中央, 胎児面の3 zone に分割し, さらに絨毛を立体観察で鑑別可能な幹絨毛, 中間絨毛, 絨毛分枝に分類. 各中毒症病型におけるこれら絨毛の構成変化を画像解析にて検討した. 絨毛分枝の平均径は正常例 24.8μ , P type 23.1μ , H type 17.9μ , PH type 17.7μ , IUFD 13.8μ で, 絨毛数では, 絨毛が豊富な分葉中央と母体面で, 中毒症例は中間絨毛が正常例の約58%の減少を示し, また P type では絨毛分枝の減少も著明で, 絨毛の高度な不育が示唆された.

3) 絨毛血管鋳型の観察では, H type は血管の細小化が, また P type では血管の減少がより著明であった.

4) 絨毛血管の透過電顕観察では内皮細胞の変化が特徴的であり, 重症化に伴い内皮細胞は血管内腔に突出するごとく増加ならびに腫大し, また細胞内にフィラメントの増加が多く観察された.

Synopsis Architectural changes in placental villi in clinical types of toxemia of pregnancy which were divided into four groups according to the main maternal symptoms (hypertension: H type, proteinuria: P type, PH type and IUFD) were studied by scanning electron microscopy and computerized image analysis of serial paraffin step sections. Furthermore plastic casts of villous capillaries were compared and changes in endothelial cells of villous capillaries were observed by transmission electron microscopy.

1) Scanning electron microscopy showed characteristic differences between P type cases and H type cases. Terminal villi were markedly reduced in number and showed few branches especially in P type cases, whereas in H type cases slender terminal villi were observed. The surface structure showed rough degenerative microvilli in H type cases and slender long microvilli in P type cases.

2) Average diameters of terminal branches estimated by image analysis were as follows: Normal cases: 24.8μ , P type: 23.1μ , H type: 17.9μ , PH type: 17.7μ , IUFD: 13.8μ . The reduction in the number of intermediate villi in cases of toxemia of pregnancy was about 58% of that of normal cases.

3) Plastic casts of villous capillaries emphasized these changes in each type.

4) Swelling of the endothelial cell into the capillary lumen was observed and an increase in the number of filamentous structures in the cytoplasm of endothelial cells was detected by transmission electron microscopy.

Key words: Toxemic pregnancy • Image analysis • Electron microscopy

緒 言

中毒症胎盤には母体状況に伴い種々の変化が惹

起されており, 光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いた形態変化は現在まで多く報告されてい

る²⁾³⁾。一方胎盤絨毛は妊娠進行に伴い分葉を単位に3次元的に成長成熟し、中毒症の環境悪化は絨毛構築にも影響をおよぼすことが推察されるが、立体構築変化に関する報告はきわめて少ない⁴⁾。

中毒症の病態生理はいまだ不明であり、複合疾患あるいは症候群としてとらえられている¹⁾。その分類に際しては、主要徴候である高血圧、蛋白尿がとくに重要と考えられ、胎盤絨毛の変化もこれらの重症度に関係することが十分に考えられる。著者は、中毒症を高血圧(H type)、蛋白尿(P type)、両方の症状が重症(PH type)と胎児死亡(IUFD)に分類し、病型別の絨毛の構築変化を観察することにより、中毒症の胎盤への影響を検討した。

研究対象および方法

1. 対象

1980年より1986年まで、信州大学医学部付属病院分娩部にて分娩した日本産科婦人科学会妊娠中毒症委員会分類の重症基準を満たし、症状が2週間以上持続した妊娠36週以前発症の重症妊娠中毒症胎盤29例を、母体症状にてH type, P type, PH type, IUFDの4群に分類した。対照は初産正常妊娠分娩の胎盤10例を用いた(表1)。

2. 方法

1) 走査電顕による絨毛観察

走査電顕は娩出直後の胎盤中央の分葉を胎児面垂直に2cm幅に切出し、0.1M カコジル酸緩衝液(pH 7.3)にて洗浄後5%glutaraldehyde [0.1M カコジル酸緩衝液(pH 7.3)]にて固定。6時間後、分葉中央を4×4×4mm角に細切し再固定。上昇エタノール系列にて脱水、イソアルミ処理し、日立HCP-1にて臨界点乾燥後、JEOL JFC-1100に

て炭素・金蒸着し、JEOL JCXA-733にて低倍率(180倍)で絨毛構築を、また高倍率(10,000倍)にて絨毛表面の微絨毛を走査電顕観察した。

2) 絨毛径・絨毛数の計測

走査電顕像にて幹絨毛、中間絨毛、絨毛分枝を鑑別。それぞれの症例で分枝10本の絨毛径を計測し平均値を算出した。一方分娩直後、胎盤を半切し100%エタノールで24時間固定後、胎盤中央にあたる分葉を胎児面垂直に切出し、脱水後パラフィン包埋し、10 μ 間隔で3 μ 厚の亜連続切片を4枚作成。順次HE, AZAN, PAM, HE染色。次に分葉各部を母体面、分葉中央、胎児面の3 zoneに分割し、それぞれのzoneの6カ所の部をNikon VBS-2光学顕微鏡にて100倍で写真撮影。焼付け引き延ばした最終倍率200倍光顕亜連続切片の写真(4枚1組)をNEC IN503 image reader(読み取り密度0.1mm=1 pixel: 実長0.5 μ =1 pixel相当)にてcomputer (NEC PC-9800XL)の4 planeのVRAM上に読み込み再構築した。絨毛解析のprogramの基本は、4 planeに重合せずまた血管像のない像は消去し写真縁にかかる50 μ 以下の像も消去。幹絨毛を鑑別カウント後、次に絨毛像周囲をトレースし変曲点を求め絨毛枝を分離。周囲8 dot間隔に対して垂線を引き垂線長を求めた。絨毛分枝はその走行と切片により楕円(円)になることにより、楕円の長軸短軸を垂線長にて算出。短軸を絨毛径とし、分枝を長軸実長50 μ 以下で絨毛直径が走査電顕像で求めた直径+1SD以下を満たす像を絨毛分枝とした。また分枝算出で識別不可とされた像は実写真にて検定し絨毛を3分類し各 zoneにおけるそれぞれの絨毛数と構成変化を求めた(図1)。

表1 検討症例の概要

分 類 (n)	P (7)	H (7)	PH (7)	IUFD (8)	対 照 (10)
症状発現週数(w)	25.2 $\pm$ 6.4	25.1 $\pm$ 5.2	26.1 $\pm$ 2.4	26.1 $\pm$ 4.0	
分娩週数 (w)	36.3 $\pm$ 2.6	36.8 $\pm$ 1.9	34.2 $\pm$ 2.5	31.3 $\pm$ 2.2	37.3 $\pm$ 0.7
児 体 重 (g)	1,904 $\pm$ 489	1,905 $\pm$ 523	1,587 $\pm$ 403	1,017 $\pm$ 403	3,127 $\pm$ 257
胎 盤 重 量 (g)	359 $\pm$ 53	315 $\pm$ 93	246 $\pm$ 71	230 $\pm$ 77	441 $\pm$ 63

(mean $\pm$ SD)

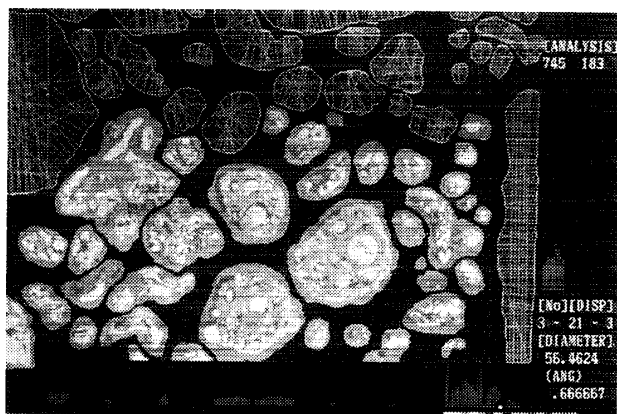


図1 4枚の写真を読み込み処理した合成絨毛像の画像解析中のCRT像。CRTの上半分の絨毛は絨毛輪郭より垂線が引かれ解析終了した像で、右側のグラフ様像は現在解析中絨毛の垂線長のpatternを示す。下段は計測終了した絨毛のpatternを表示する。

3) 血管鋳型観察

娩出直後の半切した胎盤の臍帯動脈枝より分葉をheparin加生食で洗浄後、1.0%glutaraldehyde [0.1M カコシル酸緩衝液 (pH 7.3)] にて還流固定。大日本インキ化学 K.K. 製の毛細血管注型用樹脂 Mercocox CL-2B を注入 (注入圧90mmHg) し硬化後20%KOH 液にて胎盤実質を溶解し血管鋳型を作成。分葉全体を写真撮影し脱水後、走査電顕観察した。

4) 透過電顕による絨毛血管観察

透過電顕材料は、走査電顕用洗浄前のブロックより2mm角の小片を採取し、5%glutaraldehyde [0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.3)] にて固定、1% osmium tetroxide [0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.3)] にて60分再固定、上昇エタノール系列にて脱水しエポン包埋後、LKB2088 Ultratome にて60nmの超薄切片を作成し uranyl acetate, lead citrate による二重電子染色後 JEOL JEM-1200 EX にて観察した。

研究成績

1. 走査電顕による絨毛観察

1) 絨毛構築の変化 (走査電顕低倍率観察)

正常例に比し中毒症例の絨毛は錯綜し、皺襞形成の増加を認めた。P type では絨毛および分枝の減少が著明で、終末絨毛同士の癒合も観察された。また不完全な絨毛芽の増加を認めた。一方 H type

例は重症化に伴い機能絨毛の細小化が著明で、いわゆる grape-like terminal branch の形成が乏しく棍棒状の終末絨毛を認めた。PH type, IUFD ではその傾向が一層高度で、絨毛の太さもきわめて不揃いで表面に皺襞形成の増強を認め、絨毛間腔にフィブリン網の形成を認めた (写真1)。

2) 絨毛表面構造の変化 (走査電顕高倍率観察)

終末絨毛の微絨毛は正常例はいずれもベルベット状の短い微絨毛が密生している。しかし重症中毒症の各病型においては特徴的所見が認められた。すなわち H type では微絨毛が短小で変性しており重症化に伴いモザイク的に滑生化し、一方 P type はあたかも妊娠初期の微絨毛のごとく粗生細長化し、微絨毛の癒合像も観察された。PH type と IUFD は微絨毛構造が認識できない部位が多く、表面にフィブリン様物質の沈着を認めた (写真1: inset)。

2. 画像解析による絨毛構成変化

画像解析にて算出した各群における絨毛分枝の平均径は、正常例 $24.8\mu \pm 4.6$, P type $23.1\mu \pm 4.0$, H type $17.9\mu \pm 2.5$, PH type $17.7\mu \pm 2.4$, IUFD $13.8\mu \pm 3.2$ で高血圧合併例は有意に低値を示した (t 検定にて $p < 0.001$)。分葉垂直面における絨毛数の変化は、分葉中央と母体面でその変化が著明であり、中毒症例では中間絨毛は約58%の減少を示した。しかし絨毛分枝は H type では正常例に比しても増加し、絨毛構成変化として、H type では絨毛分枝と中間絨毛との構成が分葉中央、母体面で1:1であるのに対し、P type では分枝の比率が2:1の結果であつた (図2)。

3. 絨毛血管鋳型による絨毛血管観察

各 type ともその特徴が本法により強調された結果となつた。正常例に比し中毒症各群ではいずれも絨毛血管の減少が著しく、とくに P type で著明であつた。H type では絨毛血管は細小化し正常例で認められるコイル状の終末絨毛血管が乏しい傾向が観察された (写真2)。

4. 透過電顕による絨毛血管の観察

透過電顕の終末絨毛血管観察では内皮細胞が血管腔に突出する形で血管を狭小化し、核は腫大し核膜湾入を認める。また P type は内皮細胞の増加

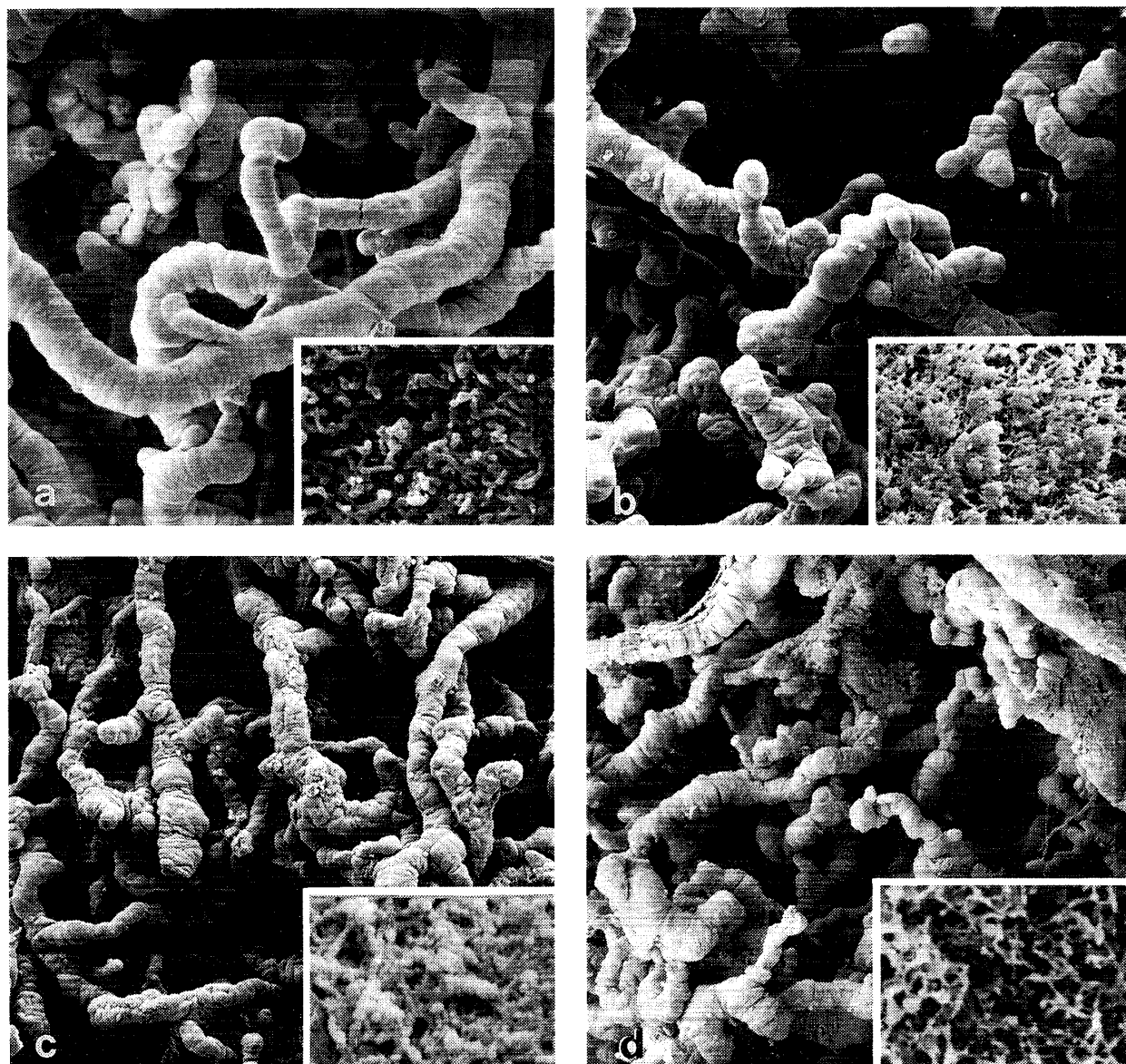
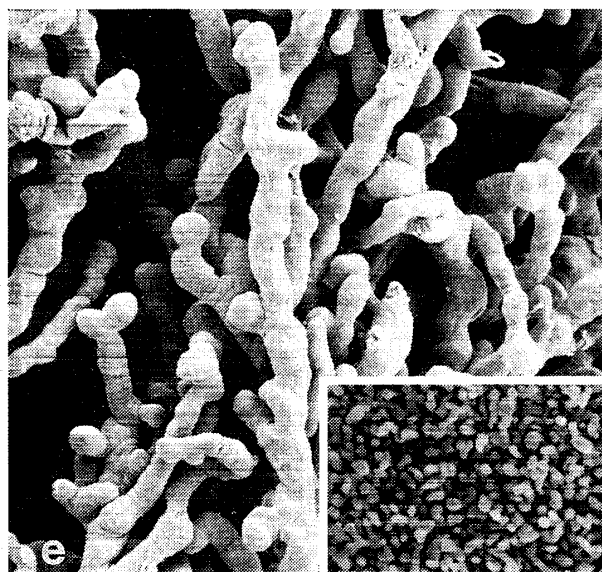


写真1 分葉中央絨毛の走査電顕像(×180)と
微絨毛走査電顕像(inset: ×10,000)

- a: 高血圧例(eH: 分娩週数36週, 児体重1,100g)
細く棍棒状の終末絨毛を認める。また微絨毛は短小, 滑生化を認める。(inset)
- b: 蛋白尿例(eP: 分娩週数36週, 児体重1,545g)
終末絨毛は分枝に乏しく不正な絨毛芽を認める。
微絨毛は粗生細長化し微絨毛の癒合も認める。
(inset)
- c: 高血圧蛋白尿例(ePH: 分娩週数34週, 児体重1,450g) 終末絨毛径も不揃いで, 皺襞形成を認める。
微絨毛には癒合変性が高度に認められる。
(inset)
- d: 胎児死亡例(EPH: 分娩週数31週, 児体重760g)
皺襞形成を示し錯綜する終末絨毛, 微絨毛は著明な減少と変性を認める。(inset)
- e: 正常例(分娩週数38週, 児体重3,010g)
均一で, 豊富な grape-like terminal branch を認める。
ベルベット状の密生した微絨毛(inset)。



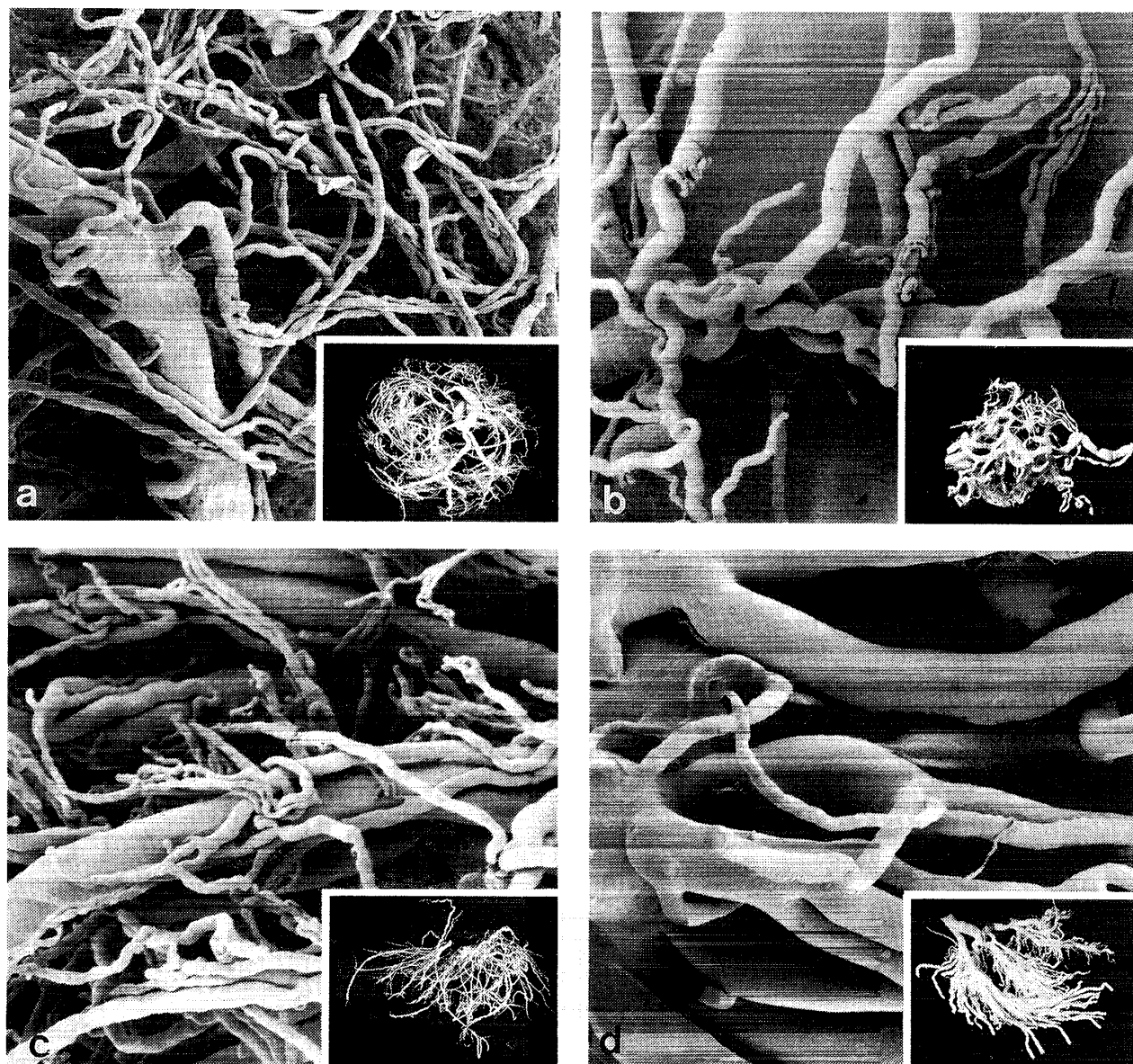
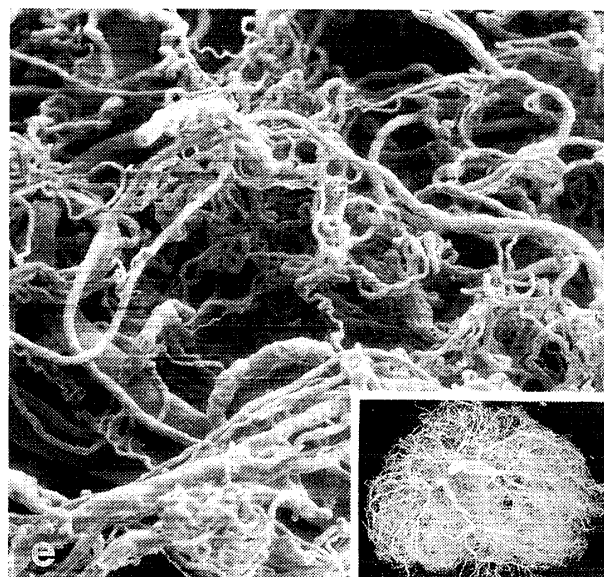


写真2 分葉血管鑄型の走査電顕像(×45)と
分葉全景(inset:×1)

- a: 高血圧例(eH: 分娩週数37週, 児体重1,930g)
細小化と延長化した絨毛血管鑄型像。
- b: 蛋白尿例(EP: 分娩週数33週, 児体重1,120g)
終末絨毛血管の減少を高度に認める。
- c: 高血圧蛋白尿例(ePH: 分娩週数34週, 児体重
1,450g) 細小化と減少を示す終末絨毛血管。
- d: 胎児死亡例(EPH: 分娩週数30週, 児体重1,260g)
幹絨毛の血管鑄型のみで終末絨毛血管は高度に減
少。
- e: 正常例(分娩週数38週, 児体重3,010g) 絨毛像と同
様にコイル状の豊富な終末絨毛血管を認める。



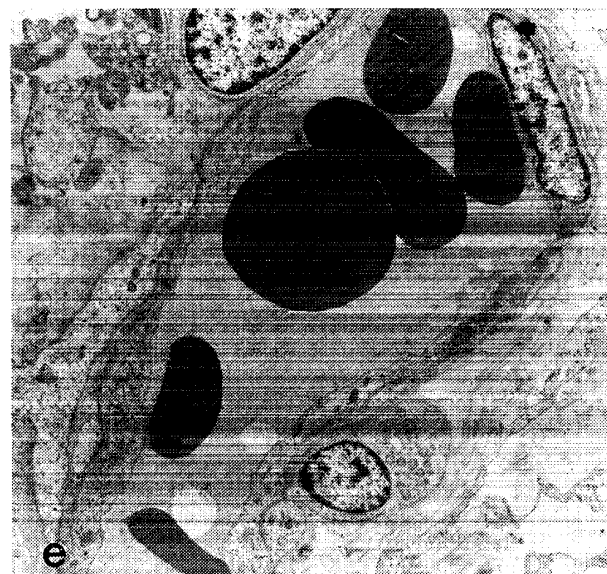
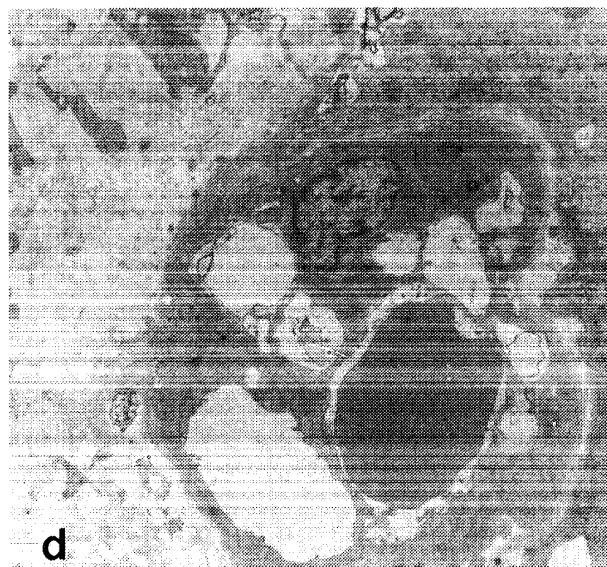
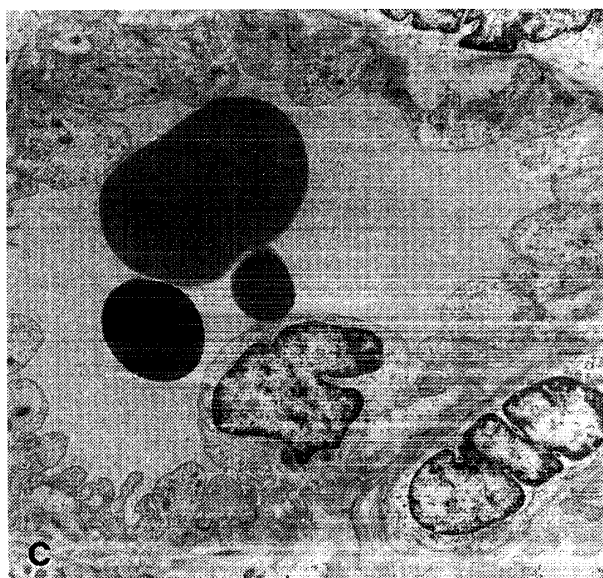
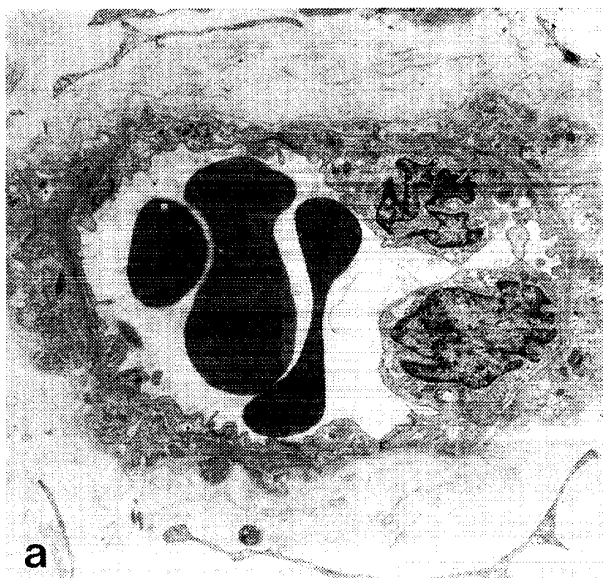


写真3 終末絨毛血管の透過電顕像(×4,000)

- a: 高血圧例(eH: 分娩週数37週, 児体重1,930g)
狭小化した絨毛血管内腔と核膜弯入を認める内皮細胞。
- b: 蛋白尿例(eP: 分娩週数37週, 児体重1,780g)
内皮細胞は腫大し細胞質内にフィラメントの増加を認める。
- c: 高血圧蛋白尿例(ePH: 分娩週数32週, 児体重1,180g) 血管内腔に突出する内皮細胞と細胞質の腫大を認める。
- d: 胎児死亡例(EPH: 分娩週数31週, 児体重760g)
内皮細胞の変性に伴う絨毛血管の高度の障害像。
- e: 正常例(分娩週数38週, 児体重3,010g) 扁平な内皮細胞と十分拡張した絨毛血管腔を認める。

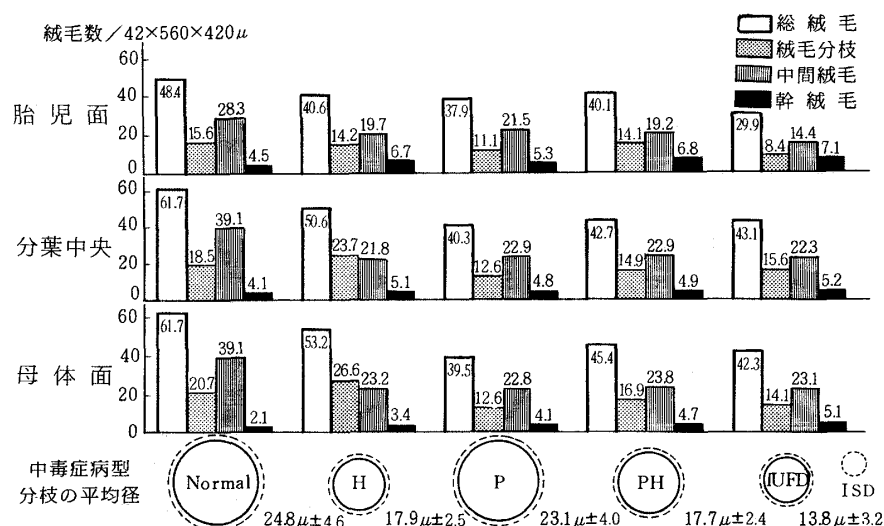


図2 中毒症病型と胎盤分葉中央垂直断面の3 zone の各絨毛数 (各症例 1 zone は6カ所計測) ならびに絨毛分枝の平均径 (各症例分枝10本計測の平均)

と瀰漫性の細胞腫大と細胞質内にフィラメントの増加を多く認めた (写真3)。

考 察

近年中毒症は新たな知見や考え方により見直しが行われており、主要徴候である高血圧と蛋白尿については、中毒症の本態はPIH (Pregnancy induced hypertension)で、蛋白尿は別の機序として考えるべきとの見解が強い。これら中毒症の変化や影響を究明するため、超音波断層法などにより胎盤の in vivo の変化をとらえる試み¹⁰⁾もなされているが、集約された変化を観察するには依然として光顕、電顕による組織所見が重要である。形態学的検索法では、以前は2次元の観察が主体であつたが、Kaufmann et al.⁸⁾, Schuhmann et al.⁹⁾は、胎盤では分葉を単位に、胎児面と母体面では構造的にも、組織所見上も差異を認め、実態像は3次元の見地にたつた検討が必要と述べている。そこで今回は走査電顕所見と光顕連続切片による3次元の解析にて、絨毛数と絨毛の形態変化、さらに表面構造と絨毛血管に着目し、中毒症病型間の構築変化を検討した。まず絨毛数の変化であるが、Francois⁵⁾は、正常例に比し中毒症重症例は、終末絨毛数の52%もの減少と逆に幹絨毛の増加を認めたと報告している。今回の検討でも中毒症各群とも中間絨毛数は58%内外の減少を示した。しかし立体的観察により絨毛分枝を鑑別する

と、H type と P type では中間絨毛に対し絨毛分枝数が2倍近く異なる結果をえたが、その分枝径はH type で著しい細小化を示した。さらに絨毛血管の鋳型では、絨毛数の減少以上に中毒症胎盤は高度の血管減少を示した。この結果は鋳型作成上樹脂の注入がされず強調された可能性もあるが、鋳型像も病型間にて差異を認めることにより中毒症では機能絨毛血管の狭小化と減少を示唆する結果と考えられた。中毒症胎盤には以前より中毒症固有の所見や変化はないとされ、さらに絨毛の形態変化としてFox et al.⁶⁾は、悪環境に対応する反応性と修復性変化ならびに効率化をめざした所見が混在すると述べている。さらにHustin et al.⁷⁾は、絨毛細胞のDNA合成の検討にて、中毒症では絨毛血管内皮細胞の³H-thymidineの取り込みはきわめて高く、これは合胞細胞の障害に対する内皮細胞の代償性増殖能を示し、さらに血管の補空性代償性増生をも示すとしている。しかし重症中毒症で子宮内胎児発育遅延 (IUGR) の胎盤の検討では、終末絨毛にても血管は減少しているとの結果で²⁾、これは障害が代償機能を上回った結果とも推論されている⁵⁾。今回の観察にて認められた内皮細胞の細胞質の腫大やフィラメントの増生を、田中³⁾は絨毛の生物学的輸送能力の低下および胎盤血流障害を惹起し、IUGR発生の一因になりうると推論している。著者は、これらの内皮

細胞変化は、代償性血管増生さらに絨毛の発生成長障害に至る悪循環の障害像とも推察している。絨毛のごとく短期間に成長し機能形態を変化する組織は、成長成熟加齢の観点からその変化所見を検討する必要がある。villous tree constructionより考察すると、H typeでは、絨毛分枝は細長化や微絨毛の滑生化などの障害像を示すも、分葉中央と母体面にて豊富であり、さらに透過電顕にてcollagenの増加、基底膜の肥厚などの反応性と解釈される所見も多く認めることより、絨毛の加齢の促進が示唆された。一方P typeでは、細長化した微絨毛、また絨毛分枝の不全と減少などは、絨毛の発育不全と未熟性が推察された。今回の検討例は長期重症例であり、H typeとP typeの母体病態の差異とあえてこの絨毛形態変化を関連づけると、H typeの絨毛変化は、純粹型中毒症胎盤病変の主因子とされている子宮胎盤循環不全によるhypoxiaが^{5)~7)}、同様に絨毛形態変化の原因とも考えられる。しかしP typeでは、絨毛形成不全や未熟性変性などの見解と病態より、他の因子またはその加重、例えば母体の蛋白漏出に伴う栄養代謝異常などが、関与するものと推察された。血管内皮細胞の変化も、近年加齢変化との関連よりも重視されているが、その微細な変化の成因また生成機序は解明されておらず、今後生化学的研究方法も含め多方面より検討究明されることが望まれる。

稿を終わるにあたり、御指導を賜りました福田 透教授、塚原嘉治助教授また松本歯科大学生物学教室、川原一祐教授そして本論文を御校閲頂いた第一解剖、永田哲士教授に厚く感謝の意を表します。さらに電顕撮影に際し御助力を頂きました総合研究室市川良治技官、教室の中山明子技官、松本歯科大学赤羽章司電顕室室長に感謝します。

なお本論文の要旨は第13回日本臨床電子顕微鏡学会（久

留米、1981年）、第35回日本産科婦人科学会学術講演会（大阪、1983年）、第1回国際中毒症学会（仙台、1985年）、第39回日本産科婦人科学会学術講演会（東京、1987年）において発表した。

文 献

1. 飯沼博朗：妊娠中毒症—その病態論的アプローチ—Follow up 症例を中心として。日産婦誌，40：980，1988。
2. 中村正雄：妊娠中毒症胎盤の形態学的研究。日産婦誌，36：1831，1984。
3. 田中敏幸：未固定組織凍結法による妊娠中毒症胎盤絨毛の毛細血管内皮細胞の超微形態学的研究。日産婦誌，40：1543，1988。
4. 椿 修：妊娠中毒症胎盤絨毛の走査電顕による観察。日産婦誌，31：537，1979。
5. Franqois, T.: Histomorphometry of the human placenta in pre-eclampsia associated with severe intrauterine growth retardation. Placenta, 8: 119, 1987。
6. Fox, H. and Jones, C.J.P.: Pathology of trophoblast. In Biology of Trophoblast (eds. Y.W. Loke and A. White), 137. Elsevier, New York, 1983。
7. Hustin, J., Foidart, J.M. and Lambotte, R.: Cellular proliferation in villi of normal and pathological pregnancies. Gynecol. Obstet. Invest., 17: 1, 1984。
8. Kaufmann, P., Luckhardt, M., Schweikhardt, G. and Cantle, S.T.: Cross-sectional features and three-dimensional structure of human placental villi. Placenta, 8: 235, 1987。
9. Schuhmann, R.H. and Wynn, R.M.: Regional ultrastructural difference in placental villi in cotyledons of a mature human placenta. Placenta, 1: 345, 1980。
10. Siekmann, U., Heilmann, L., Klosa, W., Quass, L. and Schillinger, H.: Simultaneous investigations cardiac output and fetal blood flow during hypervolemic hemodilution in pre-eclampsia—Preliminary observation. J. Perinat. Med., 14: 59, 1986。

（特別掲載 No. 6885 平2・10・13受付）