

P-215 母体血中の胎児赤芽球を回収・同定する方法の基礎的検討

順天堂大

地主真理、吉田学、淡路正則、宮崎亮一郎、
三橋直樹、桑原慶紀

【目的】近年、非侵襲的な出生前診断として妊婦末梢血中を循環する極微量の胎児由来細胞を分離し、得られた細胞から胎児の遺伝情報を得ようとする試みが行われている。しかし、これらの細胞を効率的で確実に回収する方法は確立されていない。そこで、胎児由来細胞の中で比較的高率に存在するとされる赤芽球に着目し、それらを回収、同定する方法の開発を目的として、臍帯血および母体血を用いた基礎的検討を行った。【方法】正常妊娠例の臍帯血を分娩時に、また正常妊娠母体血を妊娠20週前後で4例ずつ3ml採取し、それぞれヘパリン添加の後、比重遠心法を用いて有核細胞層を分離した。また赤芽球系の細胞表面マーカーであるCD36と全赤血球系の細胞表面マーカーであるGlycopholinA(GA)に対する抗体をそれぞれFITCとPEでラベルした。分離した細胞を 1×10^6 個ずつに分け、それに両ラベル化抗体を反応させてflowcytometry(FCM)で解析した。さらに両抗体陽性の細胞群をFCMでsortingし、得られた分画からcytospin-smear(CS)を作成した。胎児赤芽球の同定のため、これらを形態学的に判定するとともに、ヘムグロビンに対する抗体(抗fetal hemoglobin抗体(UCH γ))を用いABC法(avidin-biotinylated enzyme complex)で染色した。【成績】FCMによる臍帯血中の両抗体陽性細胞率は $60.4 \pm 10.3\%$ であり、母体血中では $4.3 \pm 2.2\%$ であった。いずれのCS上の有核細胞中にも、形態学的に、またUCH γ で染色することにより、胎児赤芽球細胞が存在することが確認された。【結論】本法が母体血中の胎児細胞を回収・同定するのに効率的で信頼性の高い方法であることが確認され、母体血液を用いての出生前診断の可能性が示された。

P-216 レクチン親和電気泳動法を用いた羊水、母体血、臍帯血中 α -フェトプロテインの糖鎖解析

岡山大

太田雅博、河原伸明、工藤尚文

【目的】今日、産科領域では母体血中・羊水中 α -フェトプロテイン(AFP)の測定が診断上有用とされている。我々はレクチンを用いた母体血中・羊水中AFPの糖鎖構造解析について報告を行ってきたが今回、臍帯血中AFPの糖鎖構造解析を追加し比較検討した。

【方法】妊娠6～40週の流産時・羊水穿刺時・臍帯穿刺時・分娩時に得られた母体血・臍帯血・羊水について、コンカナバリンA 1.0mg/ml・レンズマメレクチン0.2mg/ml・赤血球凝集性インゲンマメレクチン0.3mg/mlおよびカプトムシ幼虫レクチン0.3mg/mlを用いたレクチン親和電気泳動法によりAFPを分離し抗体親和転写法により検出した。AFPバンドはデンストメトリーによって定量し、Taketaらの方法により命名した。

【成績】妊娠初期の羊水では、AFP-L2・AFP-P1・AFP-P3f・AFP-A1・AFP-A1sの出現およびAFP-C1・AFP-P5の割合の増加を認めた。母体血・臍帯血ではAFP-C1・AFP-P5の割合が低く、AFP-L2・AFP-P1・AFP-P3f・AFP-A1・AFP-A1sは認めなかったが、妊娠週数が進むに従いAFP-C1・AFP-P5の割合が低下し妊娠末期には三者はほぼ同じパターンを示した。

【結論】母体血・臍帯血・羊水中AFPは妊娠末期にはほぼ同一構造となるが、妊娠初期では異なる構造をとる。特に羊水中AFPの糖鎖構造は、母体血・臍帯血とは著しく異なっていた。母体血中AFPと臍帯血中AFPではAFP-C1の割合のわずかな相違を除いてはほぼ同一であり胎盤を介しての移行が示唆された。従って、母体血から胎児のAFP糖鎖の分化状態を推測できる可能性が示唆された。