

のもつ要求に答えるべく、その培養法と分析法を中心に検討を行い以下の結果を得た。

羊水細胞は胎児由来の剝離細胞であり、その大きさと形は極めて多様である。培養の対象となる生存細胞は、トリパン青染色法で見ると、妊娠16週ないし20週では30～50%の範囲にあるが、分裂増殖能を有する細胞はこの10%以下であろうと推測される。

増殖の initiation には、細胞の容器壁への attachment とそれにひきつづく stretching が重要であるが、細胞接種の際に積極的にこの attachment を促がすことにより培養成績を著しく向上せしめた。

遠沈操作による重力負荷の影響に関する検討では、500r.p.m. 5分間の遠沈では増殖に影響はないが、少なくとも1,000 r.p.m. 以下に抑える方がよいとの結果を得た。

培養液は F-10、あるいは羊水に母体血清を加えた培地が最も優れていた。しかし、継代培養では培養液組成の影響はみられなかった。

染色体標本作成に際しては、操作中の cell loss を防ぐ目的で、培養容器内で低張・固定・染色を行う“直接法”を用いたが、分裂細胞はカルノア固定の際に界面張力により容器壁より剝れ易いので、低張処理後、細胞を半乾燥させ、この後に固定液を静かに注入することにより、中期細胞の効率のよい捕捉をなし得た。

以上の培養法・分析法を用いて、昭和49年および昭和50年初頭にかけて、70例の羊水診断を行い、69例の培養に成功し、このうち、培養日数6～18日(平均9.2日)で、67例の染色体分析に成功した。

質問 (慶応大) 長島 勇

慶応大学では、羊水穿刺の基準として、40歳以上の妊婦、前回染色体異常児を出生した妊婦について行っていますが、松本先生の所での基準はいかがでしょうか。

応答 (大阪市立大) 松本 雅彦

適応に関しては、両親のいずれかが保因者と判明しているもの、40歳以上の妊婦および特に要求のある35歳以上の妊婦、前回染色体異常児、あるいは重篤な伴性遺伝病の子を生んだ経験のある妊婦をその適応とし、このうち両親が希望するものを対象としている。

139. 羊水穿刺時の **bloody tap** とその処理法に関する研究

(大阪市立大)

長谷川博規, 荻田 幸雄, 松本 雅彦  
亀井 輝二, 島本 雅典, 石河 修

北村 吉宗, 須川 信

遺伝的異常児の出生前診断に際しては、羊水穿刺法及び羊水細胞培養法は、必要不可欠の手技であるが、超音波断層法による胎児位置の確認にもかかわらず bloody tap を経験する。かかる tap は Jacobson 等が指摘した如く以後の羊水細胞培養を困難にするのみならず、胎盤、胎児由来であれば、母児に対する合併症を懸念せねばならぬ。ゆえに我々は、出来得る限り再穿刺を避け、しかも検体を有効に活用する目的で bloody tap の処理法を検討した。結果として、我々の培養系では羊水への混入血球数は最終培養液内で 200/mm<sup>3</sup> を境として、細胞の増殖阻害が左右され、又溶血液添加の検討より血球混入が羊水細胞培養系に阻害的に働くのはビリルビン様物質の細胞毒的作用では無く、血球が disk 低面に附着する事による単純物理的増殖阻害である事を明らかにし得た。さらに中、大量血混入の際は Hb-F 検索により、10%以上に認めた場合は通常の白血球培養により核型分析し、逆に診断素材として利用し、母体血でも低張処理液にて血球の撰択的破壊除去で通常の羊水細胞培養法で満足すべき結果が得られた。

この如く従来我々を悩ませた血性羊水に遭遇しても、有効に処理しうる方法を考案し、診断効果を飛躍的に向上せしめ得た。

質問 (広島大) 大浜 紘三

1) 羊水穿刺によつて生ずる母体、胎児の合併症の頻度や種類と、羊水培養によつて得られる染色体異常の頻度とのかねあいによつて、羊水穿刺を積極的に行うかどうかを決定すべきと考えますが、先生のところのデータからどのようにお考えになられますか。

2) 培養液としては F-10 が最適だとの御報告ですが、私共は MEM で十分な結果を得ております。コロニー数以外に F-10 が秀れている点についてお教え願いたい。また全ての例において F-10 が MEM より良好な結果であつたのでしょうか。

応答 (大阪市立大) 長谷川博規

1) 基本的には穿刺の適応は穿刺法がもたらす危険率としての demerit と、患者側にもたらす merit との balance の上で行われるべきであると考えます。

2) その origin として胎児側、胎盤側が考えられるが、tap の白血球培養で核型分析をし得た8例には、娩出児の胎盤、娩出児の観察及びその後の follow では認むべき異常は見えていない。

応答 (大阪市立大) 松本 雅彦

症例別にみると、F-10よりMEMの方が良好な増殖をみることがあります。しかし、多数の症例を全体としてみた場合、F-10による培養成功率が高いことが認められた。100%成功を要求される出生前診断では少しでも成功率の高いmediumを選ぶことが必要であり、我々はF-10を用いている。

羊水穿刺のriskに関しては、羊水穿刺は基本的には盲目的手技であるため、合併症を全く否定することはできない。我々は超音波断層法を用いて胎盤位置を決定するなど慎重な配慮をはらっているが、穿刺前にriskに関して十分に患者に話す必要がある。

応答 (大阪市立大) 萩田 幸雄

従来、羊水診断の適応は、遺伝的負荷を有する児を出産する危険率と、穿刺のrisk(1%以下)との関連に於て決定されているが、我々は、穿刺のriskではなく“児の生命及び知能に対する予後”と云う意味合で決定されるべきと考える。また、染色体異常の診断は67例中4例と云う診断結果からしても、羊水診断の意義はむしろ胎児が正常と診断することにより、不安を解消し無差別な淘汰を防ぐところにあるとも考えられる。

質問 (慶応大) 長島 勇

慶応大では40歳以上の妊婦、あるいは前回染色体異常児を生んだ妊婦を適応として羊水穿刺を行っている。大阪市大の基準は如何でしょうか。

応答 (大阪市立大) 長谷川博規

母体の年齢に関しては40歳以上、希望があれば35歳以上を適応としております。

両親のいずれか一方が転座型の保因者であることが確定されているものおよび前回に染色体異常児を生んだ妊婦に対して行っております。

応答 (大阪市立大) 須川 侑

羊水穿刺に対してわれわれは積極的な意味を求めている。羊水穿刺の意義としては、前回異常児を出生した母親が今回の妊娠でも異常児の出生を恐れるのあまりその心配だけで止むを得ず中絶に踏み切ろうとする場合、羊水穿刺によつて染色体異常がない事を確めてやると安心して妊娠を継続できるという点に意義があると考えられる。

#### 140. ラットの発育過程における羊水及び胎仔肺組織中の磷脂質の動態と Glucocorticoid の意義

(岡山大)

江口 勝人, 吉岡 保, 関場 香

(目的) 近年胎児の成熟度を知る方法として、羊水の

磷脂質を測定し、L/S ratio などにより肺の成熟度を評価するようになった。また肺の成熟度と Glucocorticoid との関連についても注目されている。そこで今回妊娠ラットを用い、羊水と肺組織(胎仔)の磷脂質の動態を観察し、さらに Glucocorticoid の果たす役割について検討した。

(方法) ラットの妊娠17日目から21日目(Term)の羊水及び胎仔肺を採取し、磷脂質を測定すると共に、Dexamethazone, さらに Glucocorticoid 合成阻害剤である Metyraphone ditartrate を母体に投与してその影響について検討した。磷脂質は抽出後アセトン処理と未処理の2方法により行い、T.L.C 後に Morrison の変法の微量定量法によつた。

(成績) 妊娠19日目より羊水及び胎仔肺の Lecithin 量は増加し始め、21日目には羊水では18日目の3倍、肺組織では2.5倍に上昇した。アセトン処理を行つた Surface active Lecithin は肺では第19日目より、羊水では20日目より急激に上昇したが、羊水と肺組織とでは約1日のずれがみられた。Dexamethazone の母体投与により、羊水および胎児肺の Lecithin は約2倍の増加がみられ、逆に阻害剤の投与により減少がみられた。

(独創点) 胎児肺の成熟度の判定に用いられている磷脂質の変動を羊水及び肺組織で同時に測定した。羊水中の surface active Lecithin は肺より1日遅れて増加すること、又、Glucocorticoid およびその阻害剤の母体投与による影響につき検討し、Glucocorticoid の意義を立証した。

質問 (秋田大) 樋口 誠一

1) Aceton 処理による surfactant lecithin の分離に対する基礎的データを持つていたら教えてほしい。

2) 我々が蔗糖密度勾配超遠心分画法によつて得られた surfactant lecithin を aceton 処理した結果、約50%づつが aceton 溶解層不容解層に移行した。したがつて、surfactant lecithin の分離に aceton 処理は意味がないと思つている。

glucocorticoid の効果と判定する場合の marker としては出来れば surfactant lecithin (DPL) を測定して貰いたかつた。

応答 (岡山大) 江口 勝人

surfactant としてDPLを測定することは現在のところ容易ではありませんので、アセトン処理という非常に簡便な方法で surface active lecithin を測定できるとすれば、非常に有用であると考えます。