

シンポジウム 子宮内環境と胎児

胎児の生体防御機構としての羊水、卵膜の役割とその破綻

浜松医科大学講師 金山 尚 裕

目 的

胎児尿は羊水腔へ排出され羊水の主成分となり、胎児の生活の場を形成するとともに卵膜にも一部吸収される。その後胎児尿は羊水として嚥下され小腸で再吸収される。羊水腔は胎児環境そのものであり、卵膜は胎児の生活の場と外界とを隔てる境であり胎児の生体防御機構の最前線と考えられる。したがって羊水の主成分である胎児尿はこれらの部位における胎児防御機構を担う重要な因子である。

胎児はさまざまな侵襲を妊娠全期間にわたって受ける。外界からの侵襲として腔、子宮頸管からの微生物、炎症性ケミカルメディエーターなどが挙げられる。一方、hypoxia等のストレスによって排出される胎便はトリプシン(Try)、サイトカインなどのケミカルメディエーターを多量に含み内因性の侵襲因子となる。我々はこのような外因性及び内因性の侵襲に対して胎児尿に含まれるトリプシンインヒビター(urinary trypsin inhibitor, UTI)の作用について研究を行った。

方 法

基礎的検討—胎児尿中 UTI の意義

1) 細胞外での意義—プロテアーゼ抑制能

正常新生児第1尿を採取し遠心後上清をとり、これを胎児尿と仮定し使用した。UTIは成人尿から精製したものを使用した。測定するプロテアーゼとして顆粒球エラスターゼ(Ela)、Try、アミノペプチダーゼN(APN)を用い、酵素活性は合成基質法で行った。

2) UTI の細胞への結合

UTI抗体を用いて、UTIが培養羊膜上皮細胞、子宮筋細胞に結合するか共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

3) 細胞での UTI の作用

①細胞内に結合したUTIがどんな機能を持つか分析した。fura-2を用いUTI存在下で羊膜上皮細胞、子宮筋細胞、好中球でのCa⁺の動態を観察した。UTIを各細胞とプレインキュベートしfura-2を負荷し30分後、エンドトキシン(LPS)を添加し細胞内Ca⁺の変化を経時的にみた。②UTIが上記細胞からのサイトカイン(IL-1 β , IL-8)の産生を抑制するかmRNA、蛋白レベルで検討した。③UTIが羊膜組織、培養羊膜細胞、羊膜線維芽細胞からのプロスタグランジン、コラゲナーゼの放出を抑制するか否か測定した。④in vivoにおいてのUTIとサイトカイン産生の関係を見るため、IL-8による頸管熟化反応をUTIが抑制するか否か家兎を用いて検討した。

UTI の臨床的意義

1) 前期破水

前期破水、非前期破水の羊水、卵膜を採取した。羊水は破水時、卵膜は分娩時採取した。羊水中のUTI量、Ela、Try活性、IL-1 β 、IL-6、IL-8を測定した。卵膜中のUTI、Ela、IL-1 β 、IL-8の局在を免疫染色し分析した。

2) 切迫早産

切迫早産、及び早産例の羊水を経腔、経腹的に採取した。UTI量、Ela、Try活性、IL-1 β 、IL-6、IL-8を測定した。

成 績

1) 基礎的検討

胎児尿、UTIはdose-dependentにEla、Try、APN活性を抑制した。UTIは羊膜上皮細胞、子宮筋細胞に結合した。羊膜上皮細胞、好中球は30分以内に結合した。

羊膜上皮細胞、子宮筋細胞にUTIはLPS刺激に対してCa⁺の細胞内への流入を完全に抑制した。またIL-1 β 、IL-8産生はUTI投与群で著しく

減少した。UTIはプロスタグランジンE₂産生、コラゲナーゼ活性も抑制した。動物実験においてUTIの局所投与はIL-8の頸管熟化反応を抑制した。

2) UTIの臨床的意義

正常群の羊水中Ela値、Try活性は低値、UTIは高値、IL-1 β 、IL-6、IL-8は低値をとった。前期破水の羊水中Ela値、Try活性は高値、UTIは低値とプロテアーゼがそのインヒビターに対し優位であった。IL-1 β 、IL-6、IL-8は前期破水で有意に高値をとった。前期破水の卵膜では絨毛羊膜炎が高頻度に合併していて、そのような例ではElaが線維層に幅広く分布していた。羊膜上皮細胞ではUTIの染色性が減弱しIL-1 β 、IL-8の染色性が亢進していた。絨毛羊膜炎例ではUTIは線維層に強く染色された。切迫早産では羊水中Ela値、Try活性は高値、UTI低値、サイトカイン量はすべて高値をとった。

結 論

胎児尿には強力なEla、Try抑制活性、サイトカイン抑制能がありこれらが胎児の外部及び内部からの侵襲に対する重要な防御因子であることを見

出した。ことにUTIはこの防御因子の中心的役割を占めるものである。卵膜ではプロテアーゼアタック、サイトカインアタックに対して羊水腔からUTIを速やかに吸収しプロテアーゼを中和する。またUTIは羊膜細胞にバインディングしセカンドメッセンジャーであるCa⁺⁺の流入を遮断しサイトカインの産生を抑制する。子宮筋でのサイトカインアタックは子宮収縮を引き起こすがUTIが子宮筋細胞へ結合し、Ca⁺⁺流入を抑制し子宮筋を弛緩させる。UTIは子宮収縮抑制因子でもある。一方、羊水が胎便で汚染されるとUTIにより種々の胎便中プロテアーゼを中和する。UTIは前期破水、切迫早産、羊水混濁などの侵襲に対して防御因子として作用し胎児環境の整備を行うと推測される。したがってUTIの腔、羊水腔内投与はそのような疾患の補充療法として有用であろう。

胎児は閉鎖された狭い羊水腔で発育しているが、その限られた空間で自分自身で環境整備を行っている。外界からの炎症、排便といった環境破壊因子に対して胎児は自分自身の尿で制御する図式が本研究で明らかにされた。