

宿題報告（自由演題）

胎児附属物ならびに新生児の生理，病理に関する研究

山口大学医学部産科婦人科学教室

教授 鳥 越 正

共同研究者

大村 久雄，森脇 一浩，伊東忠一郎，延谷寿三郎，加藤 紘，庄島 秀明，
石津 延，広沢 豊彦，木戸 雄一

各種のホルモンを産生した酵素の宝庫と目される胎盤の形態，機能に関しては，以前から多くの研究が行なわれ新知見を加えつつあるが，なお未解決の分野も少なくない．胎盤以外の胎児付属物すなわち卵膜，臍帯，羊水などについては未解明の問題が山積している現状といえよう．

一方，新生児の成熟度はこれまで生下時体重，在胎期間，臨床症状などによつて判定されてきたが，新生児自体の生理，代謝面から再検討されるべき問題と考えられる．

本研究はこれら胎児付属物を形態，内分泌，酵素，細菌など多方面から追求して，その生理，病理の解明に幾らかでも寄与することを主な目的とし，あわせて新生児の成熟度を客観的，合理的に判定できる新しい基準の開発をも目標として進められた．

第1編 胎児付属物の生理，病理

I 胎盤の生理

1. 形態

まず特異的な機能を有する胎盤の老化現象ないしは

agingの動向を形態学的にうかがい知る目的で，光顕，電顕レベルで追求した．

1) 光顕的観察

妊娠経過を追って検討したが，ここでは胎盤の fibrinoid 沈着の所見についてのみ述べる．

胎盤の老化現象ないし変性に関する形態学的な変化としては，従来，1) fibrinoid 沈着，2) 絨毛間腔血栓，3) 硬塞形成，4) 石灰化などが報告されているが，そのうち妊娠経過と胎盤の fibrinoid 沈着所見について，HE染色の他，VG染色，AZM染色及びPTAH染色を行ない観察した（表1）．

妊娠5週までの胎盤には fibrinoid は見られず，6週胎盤の basal trophoblast の細胞層に初めて観察された．8週になると絨毛膜板の上皮部に沈着がみとめられ，17週頃よりはこれに近い部分の絨毛幹上皮をとりまくように沈着する傾向がみられ，この頃から絨毛上皮とくにS細胞層にも fibrinoid 沈着がみられるようになる．32週になると細胞島，胎盤隔壁にも出現し，退行変性におち入った絨毛を囲むように fibrinoid が沈着し，隣接した

表 1

妊娠週数	絨毛膜板		絨毛幹			絨毛枝			細胞島	胎盤隔壁	絨毛間腔	脱落膜基底板
	間質	上皮	間質	L細胞	S細胞	間質	L細胞	S細胞				
～16	—	+	—	—	±	—	—	±	±	—	—	+
17～24	—	+	—	—	+	±	—	±	±	±	—	+
25～32	±	++	—	—	+	±	—	+	+	+	—	++
33～36	+	++	±	—	+	+	—	++	++	++	+	+++
37～41	+	+++	±	—	++	+	—	++	+++	++	++	+++
42～	+	+++	±	—	++	+	—	++	+++	++	+++	+++

絨毛ともあわせて包埋されているものがみられ、或いは絨毛が退行変性になつたあと fibrinoid で置換されたものもみられる。末期になると絨毛間腔にも fibrinoid がみられ、これは予定日超過例などではかなり著明に観察される。

fibrinoid 発現部位は胎盤の部分によつて異なるが、一般的には表 1 の如く妊娠の経過と共に、その沈着範囲、沈着量の増加がみられる。fibrinoid の成因については諸説があるが、一般に恐らく fibrin を含む血漿蛋白が浸淫したものであらうと考えられている。即ち絨毛上皮の退行変性がおき、絨毛間腔よりの血漿蛋白が上皮下に浸淫して fibrinoid 沈着巣を形成し、これが次第に拡大して上皮層を消失させてしまい、ついには fibrinoid 物質で一部絨毛組織が置換されたり、更にはこれらが互いに接着して血行を遮断し、硬塞を形成するにいたるものと推定される。

2) 電顕的観察

妊娠各期絨毛の輪状切断面について電顕的に観察し胎盤における母児間の物質代謝を行なう部分は S 細胞、L 細胞、間質結合織及び絨毛毛細血管内皮細胞の 4 層から成り立っていることをみとめた。

2. ホルモン

1) HCG

A. HCG の産生部位

胎盤から分泌される蛋白ホルモンの中で重要な役割をはたす HCG の産生部位を知る目的で、妊娠各期胎盤を用い組織化学 (PAS 染色, acridine orange 核酸染色), 蛍光抗体法 (直接法), 電顕所見など種々の検索を加えた結果, HCG 産生には S 細胞が最も強く関与しているものと推定できる成績を得た。

B. 妊婦血中, 尿中の HCG 動態

RIA (二抗体法) を用いて測定した。使用した抗 HCG 血清は HGH, HTSH, ACTH, Prolactin などとは殆ど反応しない特異性の高いものであり、実験の初期段階では 4 日間 incubation を行なう方法を用いていたが、その後諸条件を検討した結果 6 時間 incubation で十分測定可能なことがわかつたので、現在では試料の種類によつてこの両法を適宜使用している。

妊婦の血中, 尿中 HCG はいずれも 9~12 週目にピークを示した後速やかに減少し, 21 週より 40 週にかけて再び漸増している。羊水中の HCG 量は妊娠初期に高値を示すものが多い。分娩時母体血と臍帯静脈血の HCG 値の間に相関関係 ($r=0.80$) をみとめ、また新生児血中

HCG 量は生後 16 時間で半減したことから、臍帯静脈血中の HCG は母体血 または胎盤由来のものと考えられる。

2) ステロイドホルモン、とくに妊婦尿中 E_3 の動態
我々は鎌田, 神戸川の開発した E_3 キットとエストロゲンメーターを組合せた簡易測定法を用いて、妊婦尿中 E_3 の変動を追求した。その成績をまとめれば、1) 妊娠中期、後期の連続測定で尿中 E_3 値が平行または上昇して行くものは順調な妊娠経過をたどる、2) 殆どすべての症例で尿中 E_3 値が下降し始めると 2~3 週目に分娩が発来する、3) E_3 値が極めて低い場合には胎児の異常が疑われる。

3. 酵素

近年、胎盤に特異的な酵素やそれらのアイソザイム活性を母体血中より測定して、胎盤機能を判定しようとする試みが諸家により報告されるようになり、実用化への努力が重ねられている。我々も以前からこの問題に着目し検討を続けてきた。

1) 諸酵素活性の検討

A. L-Cystine aminopeptidase (CAP)

本酵素は胎盤に由来するものと考えられているが、組織化学的に胎盤の S 細胞に強い陽性所見を得た。妊婦血清中の CAP は妊娠経過と共に増加し、とくに中期から末期にかけて著増する。本酵素は以前は Oxytocin 分解酵素と考えられていたが、最近ではむしろ胎盤における蛋白、アミノ酸代謝に必要な酵素と考えられるようになってきた。胎盤組織内 CAP は妊娠各期を通じて大きい変動を示さない。

母体血清中と胎盤組織内 CAP 活性値とはかなりの相関がみとめられた。このことから、妊婦血清 CAP 活性を測定することにより胎盤組織内のそれを推定できるが、胎盤重量とも多少の相関をみとめるので、これも若干考慮する必要があるものと思われる。

同一妊婦の血清 CAP 活性を経過を追って測定すると、上昇型、下降型、停滞型、不安定型の 4 型がみとめられ、正常産群では下降型が最も多く上昇型、停滞型、不安定型の順であつたが、予定日超過群では下降型が増え、不安定型も多くなる傾向がみられた。下降型では上昇型より胎盤の硬塞、石灰沈着が多くみとめられ、また一般に不安定型、停滞型に胎盤機能不全が多くみとめられる。

B. Leucine aminopeptidase (LAP)

妊婦血清中の LAP は経過と共に増加し、とくに末期

にかけてその増加は著しく, 組織化学的にS細胞にその局在をみとめた. LAPの生理的意義はなお不明であるが, CAP同様胎盤でのアミノ酸代謝に関与するものと考えられる.

胎盤内LAPの妊娠各期別の活性値には著変をみとめない. 胎盤内LAPと血清中のそれとは $r=0.28$ で余り相関はみとめられず, また胎盤重量とは $r=0.46$ で著しい相関はみられない.

C. heat stable alkaline phosphatase(HSAP)

妊婦血清中のALPは妊娠経過につれて増加し, とくに末期にかけて著増する. 組織化学的に胎盤のS細胞に局在をみとめた.

胎盤組織内のALPは 56°C , 30分加熱してもその活性に変化を生じない. 非妊婦, 臍帯血清のALPは熱処理によつて殆どその活性を失うのに反し, 妊婦血清のそれは余り失活しない. 従つて妊婦血清中に経過と共に増加するALPは胎盤組織内にみとめられるHSAPであると推定される. 胎盤組織内のHSAPは妊娠の経過と共に増加し, また血清中と胎盤組織内のHSAPはよく相関している.

胎盤からHSAPが母体血中へ放出される機序や胎盤における生理的意義についてはなお不明であるが, S細胞のbrush borderに付着していることから考えて物質の膜透過におけるactive transportに関与していることも考えられ, 従つて血清中のHSAPを測定すればある程度胎盤の機能を推定することができるものと思われる. 同一妊婦の血清HSAPをfollow upし, その消長をみると上昇型, 下降型, 停滞型, 不安定型にわけられる. 正期産群では上昇型と下降型がほぼ半数ずつを占め他に若干の停滞型と不安定型をみとめるが, 予定日超過群では下降型が増加する傾向がみられた. また胎盤の石灰沈着, 硬塞のあるものでは下降型を示すものが多く, 一般に不安定型, 停滞型を示すものに胎盤機能不全が多いようである.

D. β -N-acetyl glucosaminidase(β -NAG)

妊婦血清中の β -NAGは妊娠経過と共に増加し, とくに中期から末期にかけてその増加は著しい. 組織化学的にS細胞に強い陽性所見を得た. 本酵素は間質の主な構成成分であるヒアルロン酸の代謝に関与するものと考えられており, 母体血清中の β -NAGを測定しその消長を追求することにより胎盤におけるagingの問題を解明する一つのより所となるかも知れない. 妊娠各期の胎盤組織内 β -NAG活性値の推移をみると, 中期でやや高値を

示すが著しい差はみとめられない. 胎盤組織内 β -NAG活性値と母体血清中のそれが相関していることから, 妊婦血清中の活性値が胎盤組織内におけるその量的関係をよくあらわしているものと考えられるが, 胎盤重量ともかなりの相関を示すためこれも考慮する必要がある.

正期産群と過期産群の胎盤では後者がやや低く, 母体血清でも過期産群がやや低い. これは胎盤組織における代謝の低下すなわち胎盤の老化を示唆するものとも考えられる.

E. diamine oxidase(DAO)

妊婦血清中のDAOは妊娠初期から増加し始め, 中期より末期に至るまでその活性値はplateauを呈し, 妊娠経過中に増加する他の諸酵素と趣きを異にする. 組織化学的にはS細胞にその活性がみとめられた.

胎盤内DAOの生理的意義は不明であるが, 胎児の出すアミンを分解するために存在するのではないかと考えられている. 胎盤内DAOは妊娠各期を通じ著変をみとめない. 血清中の消長をみると, 重症妊娠中毒症では高値を示し治療によつて次第に下降する. また胎状奇胎では高値を示すことがあり, 切迫流産では一般に低値を示し, 予後の悪いものでは次第に下降して流産に到つた. 無脳児などで胎盤のdysmaturityがみとめられる時は早期より下降する傾向がみられる.

F. β -glucuronidase(β -GL)

妊婦血清中の β -GLは妊娠経過と共に増加し, とくに中期から末期にかけて著増しており, 組織化学的にはS細胞にその局在をみとめた. β -GLの胎盤における生理的意義は不明であるが, 一般に胎盤のステロイド代謝に関与するものと考えられている他, 胎盤の間質の主な構成成分であるヒアルロン酸の代謝に β -NAGと共に関与することも考えられる.

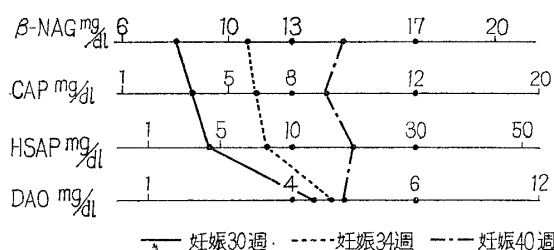
胎盤内 β -GL活性は, 中期で低下しているが, 著しい差はみとめられない. また胎盤内と血清中 β -GLの相関はみとめられず, また胎盤重量とも相関はなかつた.

2) 酵素スペクトル

妊娠の経過と共に増加を示す諸酵素の中でCAP, HSAP, β -NAG, DAOについて酵素スペクトルを作製し, 妊娠の経過によりこのスペクトルがどのように変化するかを観察した.

妊娠8カ月ではスペクトルは左方へ寄つていますが, 月数が進むにつれて右方へ移動し妊娠10カ月ではほぼ中央に位置する. しかしDAOのみは妊娠初期から増加し, その後は末期までplateauの状態を呈するため, 妊

図 1



娠8カ月頃でも既にDAOだけは殆どすべての例で中央あたりに位置している(図1)。

予定日超過群でも胎盤機能不全がみとめられないものでは、スペクトルはほぼ中央に位置する。しかし妊娠中毒症ではスペクトルの位置が変化し、中毒症が重症になるほどその変化は著しく、スペクトルは次第に右方へ片寄る傾向を示しており、急性黄色肝萎縮で母児とも死亡した例では極端に右へ片よっていた。また無脳児などで胎盤の dysmaturity がみとめられるものでは、妊娠が経過するにもかかわらずスペクトルは左方へ片よつたままであることが多い。

従つて妊娠10カ月でその酵素スペクトルがほぼ中央に位置しておれば胎盤機能は正常と思われるが、著しく左右へ片よつたスペクトルを呈する場合は胎盤機能不全が疑われる。

3) LDHアイソザイム

胎盤のLDH活性は妊娠初期から極めて高い値を示すが、妊娠経過と共に増加する傾向はみとめられない。Disc電気泳動法によるLDHアイソザイムパターンは、妊娠初期ではLDH₃, LDH₁, LDH₂の順に活性が高く、妊娠経過と共にLDH₂が増加しLDH₃が減少する。妊娠末期ではLDH₃が減少しLDH₁が最大活性を示した。この結果はHawkinsらの報告とは異なっているが、妊娠末期になるとより好気的環境を必要としているためか、或いは代謝の変調によつてひき起されるのか、この結果だけからでは結論できない。

II 羊膜、羊水の生理

1. 羊膜の形態

1) 光顕的観察

卵膜の矢状切断面についての観察

卵膜を羊水側より、羊膜を上皮、基底膜、緻密層、線維細胞層の4層に、絨毛膜を線維細胞層、偽基底膜、絨毛膜細胞層の3層、更に脱落膜と計8層に分類観察した。

羊膜上皮は妊娠の時期をとわず単層上皮で、妊娠4カ

月までは一層の扁平な細胞であるが、5カ月より8カ月までは卵膜面、胎盤面ともに立方状で、9カ月頃から胎盤面の上皮は円柱状となり核の大多数は羊水側に偏在して位置する。上皮直下に基底膜が存在するが、これはHE染色ではみとめ難くPAS染色、鍍銀法で、容易に識別できる。よく発達した好銀線維から成る膜で細胞成分を含まない。

緻密層は基底膜直下に存在する層で膠原線維より成り、この線維が密に配列し細胞成分を含まない。HE染色ではエオジンに可染され無構造な膜様に見え、卵膜中最も強靱で浮腫によつて厚くなることも少なく、白血球の侵入にもかなりの抵抗性を有している。線維細胞層は比較的大きい膠原線維より成り、線維細胞、Hofbauer細胞などを含んでおり水分結合能力が大で、しばしば浮腫状となり厚さを増す。線維細胞は羊膜上皮とはほぼ平行の方向に拡がっている。

2) 羊膜上皮細胞の電顕的観察

妊娠初期：細胞は基底膜の上に1～2層の円柱状に配列してみられる。羊膜腔に向う遊離面には多くのmicrovilliがみられ、各隣接する細胞間には所々desmosomeで接合されて比較的滑らかであるが、諸所に細胞間腔の拡大したintercellular canalを形成している。Thomasらは述べているように羊膜上皮細胞は、微細構造の所見から2型に分類される。即ち、よく発達したGolgi装置と粗面小胞体や類円形の糸粒体を有するgolgi type cellと、疎な微細線維性物質が多くみられるfibrillar type cellである。しかし妊娠初期では、未だそれほど明確に2型に分れているわけではない。

妊娠末期：中期より末期にかけて細胞間腔は拡大してintercellular canalは著明に発達し、この部分では隣接する両細胞より多数の棍棒状の小細胞突起が突出して互いにいくんだ形となつている。また細胞の基底面に向う細胞膜の凹凸が大きくなり、多くの足突起foot processが突出してみられるが、これらは複雑に交錯して分枝をもっているものもあり、この部分にはpinocytotic vesicleがよくみられる。以上の所見は羊膜上皮を通して羊膜腔内外の物質交換、水代謝がとくに妊娠後期で極めて盛んであることを示しているものと考えられる。

またgolgi type cellでは、初期に比べやや減少したとはいえ定型的なGolgi装置、粗面小胞体などがみられる。一方fibrillar type cellでは更に種々の走行の細線維物質が増加し、細胞小器官は乏しくなる。しかしこれらの両細胞間には移行型がみられることから、同じ種類

の細胞の活動期及び休止期であると考えられる。

2. 羊膜の酵素

1) LDHアイソザイム

羊膜のLDH活性は妊娠各期を通じて著変をみとめない。羊膜内LDH活性は妊婦血清のそれより数倍も高いが、これは羊膜内貯蔵による胎児の生命維持のためか、或いは羊膜それ自身の代謝のために必要なか現段階では断定できない。

LDHアイソザイムは、妊娠初期ではLDH₁とLDH₂が主成分をなすがLDH₃時にはLDH₄の活性もみとめられる。しかし中期以後ではLDH₂活性が減少しており、妊娠末期胎盤のそれと比較的類似している。

2) 羊膜の諸酵素

羊膜にも胎盤組織でみとめられたのと同様の諸酵素が存在している。これら酵素が羊膜でどのような生理的意義を有するのかわ不明であるが、妊娠経過と共に羊膜における酵素活性値の変化がみとめられた。

CAP, β -NAGなどは妊娠経過と共に減少するが、HSA, β -GLは増加し、LAPは著変を示さない。これら諸酵素の消長が何を意味するのか現段階では不明であるが、今後の研究課題として興味ある分野と考えられる。

3. 羊水成分の検討

1) 羊水の蛋白

羊水の蛋白濃度は0.33 g/dlで母体血清の約 $1/_{20} \sim 1/_{30}$ である。この低濃度の試料を濃縮することなしに泳動するために、Disc泳動に用いる試料ゲルの作成に工夫した。Disc電気泳動法による羊水の蛋白分画像は妊娠後期の母体血清と類似したパターンを示している。しかも10カ月令では泳動速度の速い分画（アルブミン、Lipoprotein, Transferrin）は母体血清より相対濃度が高く、遅い分画（ $S\alpha_2$ など）では反対に順に低くなる。

しかし妊娠3、4カ月の羊水中には α_1 -fetoproteinが出現しているし、他の分画配分も胎児血清のパターンに類似したところがあるので、妊娠初期では胎児血清に由来する部分があるといえる。

2) LDHアイソザイム

羊水中のLDH活性は血清のそれより常に低値を示し、また妊娠経過を通じて著しい変化はみられない。アイソザイムパターンは妊娠初期ではLDH₂, LDH₃, LDH₁の順に、中期ではLDH₂, LDH₁, LDH₃、末期ではLDH₁, LDH₂, LDH₁の順に活性が高い値を示した。

この結果から検討すると、妊婦血清のLDHアイソザイムパターンと羊水のそれとは比較的類似しているが、

胎盤及び羊膜のアイソザイムパターンは羊水及び妊婦血清のそれとは明らかに異なっている。このことは羊水のLDHが羊膜及び胎盤のLDHに由来するというよりも、むしろ妊婦血清のLDHに由来する可能性を示しているものと考えられる。

3) 電解質、滲透圧

羊水中の電解質の動きをみると、Naは妊娠中期にやや高くなり次第に下降して分娩時には一段と低値を示す。Kも中期にやや高く次第に下降して分娩に到る。Clも同様の推移をたどり、Pは多少低下しながら分娩に到っており、Caは妊娠経過中殆ど不変である。

羊水滲透圧の変化を追求すると、妊娠末期次第に低下し分娩時には著しく低下する傾向をみとめたが、これは妊娠末期から分娩時にかけての電解質の著しい低下によるものと考えられる。滲透圧と児体重とは全く相関がみとめられないが、児のmaturityを評価するのに役立つと報告している人もある。我々は滲透圧のほか次に述べる羊水クレアチニン値、細胞診などを参考にすれば尚一層maturity判定の精度が上がるものと考えている。

4) クレアチニン

羊水中のクレアチニンは妊娠月数と共に増加する傾向がみられるが、とくに34週以降の増加傾向は著しい。妊娠10カ月羊水中の平均値は2.1mg/dlである。羊水中クレアチニンの起源については、臍帯血清中のクレアチニン値が羊水中のそれと $r=0.81$ でよく相関する一方、母体血清中のそれとは相関をみとめないことから胎児由来のものと考えられる。

また妊娠経過と共に増加する点については、末期に近付くにつれて羊水量が減少することや羊膜のクレアチニンに対する透過性が変化することなどが考えられる他、胎児側にその原因を求めるならば、胎児の腎機能の変化、また肝におけるクレアチニン生成に関与する酵素系の成熟などが考えられる。従つてこの観点よりみれば、羊水中クレアチニンの量的変化は胎児の腎あるいは肝のmaturityをあらわす指標とも考えられる。

5) 羊水の細胞診

妊娠各期及び分娩時に、経腹壁あるいは経腔的に穿刺して羊水を採取する。ついでスライドグラスに羊水を一滴のせ、0.1% Nileblue sulfate 溶液を一滴加えて鏡検し、500個の細胞の形態及び染色性について観察し、以下の5群に分類した。

I群；大型または中型で多角形・紡錘形或いは円形を示し、胞体は淡青色で核は比較的小さい。

Ⅱ群；Ⅰ群と同様の形，染色性を有し，核のみられないもの。

Ⅲ群；小円形で胞体は濃青色，比較的大きい核を有するもの。

Ⅳ群；小型の卵円形または多角形を呈する無核の細胞で，胞体は均一に明るいオレンジ色乃至ピンク色

Ⅴ群；Ⅳ群と同様の形の細胞であるが，オレンジ色大小の顆粒を有するもの。

これら細胞群の由来について検討した．即ち分娩直後の新生児について smear を作り同様の染色を行ない観察した所，Ⅰ，Ⅱ及びⅢ群の一部は皮膚，粘膜など扁平上皮由来，羊膜上皮細胞はⅢ群，Ⅳ及びⅤ群は手掌，足趾を除いた皮膚に由来するものと思われる成績を得た．妊娠後期に短期間のうちに急激な増加を示すⅣ，Ⅴ群の細胞をとくに脂肪細胞とよぶが，この脂肪細胞は36～38週にかけてそれまでの平均10%以下から一躍平均40%以上にも達する．また38週頃よりその他にオレンジ色の大小の脂肪球と思われる円形顆粒もみられる．脂肪細胞は胎児の皮脂線に関係したものであり，この動向を追求することは胎児皮膚の成熟度を観察することになるものと考えられる．

Ⅲ 胎児付属物の炎症

近年，周産期における児死亡原因の一つとして子宮内感染に注意がはらわれるようになってきたが，本邦では胎児付属物の炎症に関する報告は殆どみられず，また本症に対する関心も余り高くない．そこで分娩期における羊水感染の病理を解明する目的で連続 200例の分娩について卵膜の裂口部，胎盤辺縁部，胎盤の中心部，臍帯の4カ所より組織標本作製し次の結果を得た．

卵膜，胎盤，臍帯のいずれか一つ，或いはそれ以上の部位に炎症所見をみとめるもの96例（48%），所見を全くみとめないもの 104例（52%）であり，裂口部の卵膜炎82例（41%），胎盤辺縁の卵膜炎74例（37%），胎盤炎50例（25%），臍帯炎20例（10%）であつた．炎症をみとめた96例で組織内細菌染色を行ない，その43例で組織内にグラム陽性の球菌またはグラム陰性の桿菌を証明し得た．

卵膜炎では炎症の軽度な場合，脱落膜に多核白血球浸潤がみとめられ，炎症の進行につれて白血球は羊膜腔に向うが，羊膜の緻密層，絨毛膜の偽基底膜は白血球浸潤に抵抗性を有している．羊膜の線維細胞層は浮腫状となり，線維素の析出をみることもある．胎盤炎では初期に母体側の多核白血球が游走し，絨毛膜板下の絨毛間腔に集中する．炎症が進行すると白血球は絨毛膜板に入

り，更に胎児側の血管より多核白血球の游出をみるようになり，羊水感染に対して母体が先ず反応することを証明した．臍帯炎で特異的なことは臍帯の大血管壁を通じて多核白血球が游出することで，そのすべてに静脈炎を伴ない，動脈炎は20例中4例にみとめられたにすぎない．

また破水から分娩までの時間が1時間以内では 102例中40例，1～2時間20例中10例，2時間以上65例中41例に炎症をみとめた．

以上の所見ならびに細菌学的検索から，卵膜，胎盤，臍帯の炎症は細菌感染によることを立証し，細菌の感染経路として 1) 腔から直接羊膜腔へ，2) 腔から頸管を経て羊膜と絨毛膜の間を上昇する，3) 経脱落膜の3種の上行感染路が考えられ，また妊娠末期には卵膜を通して細菌は腔から羊膜腔に入り得るものと推定される．

第2編 新生児の生理，とくに成熟度の判定

近年，新生児学の進歩に伴つて周産期死亡は徐々に減少してはいるが，未熟児または奇形による死亡はなお跡を絶たない現状である．従つて胎児が出生した際，はたして新生児として成熟状態に至っているか否かを的確に判定することは，現在でも産科学の当面する重要な課題の一つといえる．

従来，未熟児の判定は生下時体重，在胎期間などに基いてなされてきたが，新生児自体の内部環境の成熟度を検討すべきものと考えられる．我々はこの問題について，主として血液の面から種々検索してきたのでその成績を報告する．

I 血清蛋白

1. 胎児，新生児の血清蛋白

10カ月正常分娩例の母体血，臍帯血及び羊水を一組として採取し，また人工妊娠中絶手術，早産により妊娠各期の例からも同様に採取して，Disc電気泳動法による蛋白分画を比較検討した．

胎児の血清蛋白量は胎令6カ月で 3.6 g/dl，9カ月で 4.9，10カ月で 5.7 g/dlと胎令と共に増加するが母体の 7.2 g/dlよりは少ない．また Disc 泳動法による分画像は母体のそれとは異なる部分がある．妊娠初期，中期ほどアルブミン分画が殆どを占め，他のグロブリン分画は少ない．胎児性蛋白である α_1 -fetoprotein が6カ月令まではアルブミンに次いで多量に存在し，4カ月で21.7%，5カ月13.4%，6カ月で 7.9%をしめる．その後漸減し，9カ月では 1.3%になり肉眼で判別できるが，10カ月になると50例中12例にみとめられる位に減少する．

生下時臍帯血は母体血清に比較して 1) $S\alpha_2, \beta\gamma$ が濃く、一方 $S\beta$ が著しく少ない、2) $F\alpha_2$, ポストアルブミン、ハプトグロビンが殆どみとめられないのが特長的で、このように胎児の成長につれて血清蛋白に変動がみられることは興味深い。胎児の胎令を血清分画の面からみると、 α_1 -fetoprotein 分画が肉眼で確認されなければ10カ月令であり、また $\beta\gamma$ が20%位まで増加しておれば9カ月令以降にあるといえる。

2. 胎児性蛋白 α_1 -fetoprotein

前項で述べたように胎児血清及び妊娠初期羊水の中に Disc 泳動法によりアルブミンと αL の間に泳動する分画を発見した。

一方、北大第1生化学教室より提供をうけた精製 α_1F を泳動すると、アルブミンと αL の中間に出現した。よって我々の発見した分画も α_1F と思われる。この分画は母体血には全く見出されないで、これが胎児の特異血清蛋白であるかどうかを検討した。

まず妊娠6カ月の胎児血清を家兎に免疫して得た抗血清を成人血清で吸収し抗胎児特異血清を作った。ついで胎児血清及び初期羊水を Disc 泳動しゲルを切断して各蛋白分画の抽出液をつくり、抗胎児特異血清と免疫反応を行ない、その結果 α_1F 分画との間に沈降線をみとめた。

胎生期の蛋白分画を Disc 泳動法で検討した報告は本研究以外にはみかけない。Disc 泳動法による α_1F の相対濃度は4カ月胎児血で21.7%であるが、以後急速に減少して10カ月では50例中12例にみとめられたにすぎず、同じ10カ月でも在胎週数の少ないほど出現頻度が高い。 α_1F は Disc 泳動ではアルブミンと αL の間に独立した明瞭な分画として出現するのでアミドブラック染色で容易に判別できる。この点将来 Disc 泳動法が広く応用されれば、操作が簡便であるから、免疫学的方法に感度は及ばないが α_1F 検索の簡便法として利用できるものと考えられる。

II 臍帯血赤血球 Score

赤血球内酵素活性の研究は最近急速に進歩し、先天性疾患の病因解明、遺伝形式の決定などの鍵をにぎる興味深い研究分野を形成している。しかし臍帯血赤血球のそれに関する報告は極めて少なく、よく知られている酵素についてもその正常値すら十分定められていない現状である。

成熟児とその母体群、未熟児及びその母体群の赤血球各酵素活性の平均値をみると、未熟児では赤血球 G-6-PD

が明らかに低く GSH 及び DPNH diaphorase も低値を示し、また平均値だけでは明らかでないが未熟児では GOT が高く LDH の低い傾向が見出された。各酵素活性値を表2の基準に従って高低または高中低の2～3段階にわけ、未熟児赤血球の示す酵素活性側に1または2点を配り、成熟児側には0点を与えてこれら酵素活性値を Score として表現することを試み、これに HbF、網赤血球数を加えて完全成熟は0点、完全未熟は10点になるよう配点した。

表 2

HbF (%)	>87	87~84	83~80	<80
G-6-PD (u)		> 5	5~ 7	< 7
DPNH-d (u)			<50	
GSH (u)			<70	
LDH (u)			< 0.7	
GOT (u)			> 2.5	
Reticulocyte (%)			> 4	
配 点	3	2	1	0

この臍帯血赤血球 Score と生下時体重または在胎期間との関係をしらべると、低体重及び在胎期間の短い新生児はいずれも赤血球 Score が著明に大きいことがわかった。この Score は我々の考案した新しい試みであり、酵素活性変動の基準のとり方、配点法については参考とすべき文献が見当たらないので自験成績から割り出した。

細部については今後の検討により改良の余地があるかと考えられるが、この Score の大きいもののほどその赤血球性状からみて胎生期的といえるのであり、これは真の意味の未熟児に近いものといえよう。しかし臨床上の問題として、これら諸検査を日常すべて行なうことは困難な場合が多いと考えられるが、そのような時には赤血球 HbF の定量だけでも行なえば成熟、未熟の判定はある程度可能であろう。

III 臍帯血の酵素とザイモグラム

1. 赤血球酵素活性及びザイモグラム

臍帯血と母体血との相関をしらべたところ、赤血球 GSH, G-6-PD, GOT, LDH いずれも1%の危険率で有意の相関関係と判定された。これは新生児の赤血球各酵素活性が母体血のそれと関連を有することを示すものであり、未熟児の成因には母体も関与していることを示唆するものと考えられ興味深い。

GOT のザイモグラムでは、臍帯血、母体血赤血球とも陽極側に1本の縞をみるが殆ど常に臍帯血の方が濃

染した。またこのアイソザイムは新生児が未熟と考えられるものほど濃く染まる傾向にあつた。

G-6-PD のザイモグラムでは陽極側に 2 本の淡い縞、あるいは 1 本の比較的幅の広い縞が出現するが、女児では一般に濃く染まるものが多い。

DPNH-diaphorase のザイモグラムでは陽極側に 2 本の縞の出現をみたが、未熟児、成熟児の両者間では肉眼的に著明な差は見出せない。

LDH のザイモグラムでは 5 または 4 本の縞が出現するが、臍帯血赤血球では母体血に比べて LDH₃ が特長的に濃染され、また未熟児ほど LDH_{3,4} とくに LDH₄ が濃染するが、LDH₅ は検出されないことが多い。LDH アイソザイムは現在知られているアイソザイムの中で最もくわしく研究され報告も多いが、臍帯血赤血球のそれに関する発表は見当たらない。

本研究では LDH₃ がかなり強くあらわれ、未熟児では LDH₄ も明瞭に染め出され、さらに 5 カ月及び 8 カ月で流早産した未熟児の臍帯血をしらべたところ、LDH₄ は一層強く検出された。このことから LDH₄ の濃染するものほど、その赤血球は髄外造血への依存度が高い、すなわち未熟であると解釈して間違いのないであろう。

2. 臍帯血の各酵素

母体血清中に妊娠の経過に伴つて増加する諸酵素と同様の活性を有するものが臍帯血清中にもみとめられるが、これらが胎盤より由来するものかどうかは断定できない。たとえば臍帯血清中には ALP の活性値が非常に高いが、熱処理によつてその活性は殆ど失われる。臍帯血清中にみとめられる諸酵素の活性値と児体重との相関をみると、比較的相関のあるのは CAP, β -GL であり、その他のものには余り強い相関はみとめられない。

IV 胎児性ヘモグロビン HbF

1. 臍帯血の HbF %

柴田法により赤血球から溶血液をつくり、Betke のアルカリ抵抗試験で HbF を定量し、全血色素に対する HbF の割合 % で示した。

成熟児群の HbF 平均値は 74.3% (51.1~88.0)、未熟児群はこれより高濃度で 86.5% (71.4~91.1) を示し、とくに在胎期間 37 週未満では平均 87.5% (86.5~92.0) の高値をみとめた。HbF % と生下時体重または在胎期間との関連をみると、体重 2,500 g 以下または在胎 265 日以下の新生児の HbF は一様に高濃度を示している。

現在、HbF と在胎期間及び児体重との間に相関があり、分娩時に HbF を測定すればその増減の程度から胎

児の成熟度を決定しようと主張するものと、これに反対の成績、見解を述べるものがあり、現今なおこの問題に対する定説は得られていないが、我々の成績では未熟児で HbF の明らかな増加がみられたので、臍帯血 HbF % の測定は成熟度の判定に役立つものと判断した。

2. HbF の分離

1) HbF の分離、精製

HbF はアルカリに対して著しい抵抗性を有し、 $1/12 \sim 1/10$ N KOH による 1 分間処理で変性せず、この点健康人ヘモグロビン HbA を始め他の如何なる Hb とも異なる。従来 HbF の分離には Amberlite IRC chromatography などの方法が用いられてきたが、我々は CM Sephadex C50 column chromatography を用いることによつて、比較的簡単な操作で、能率よく HbF を分離精製し得た。さらに溶出液は塞天電気泳動 (pH 7.1) によつて、純粋な HbF であることを確認した。

なお、この方法で分離精製した HbF に complete Freund's adjuvant を加えて家兎に免疫し、抗 HbF 血清を作製して現在蛍光抗体法による HbF 検索法の実施を試みつつある。

2) 異常血色素 HbF Ube の発見

現在までに世界中より報告された異常 HbF は 11 種類であるが、このうち γ 鎖のアミノ酸置換がつきとめられているのは数種にすぎず、本邦では未だアミノ酸置換の報告をみない。我々は HbF の一次構造の研究を行ない、これに基いて異常 HbF を検出した。

臍帯血について HbF のスクリーニング試験を行ない、abnormal peptide を検出するために finger print 法によつて peptide map を作り、その斑点の一次構造上の位置を明らかにして検討した。その結果新しい異常 HbF が発見され、これを HbF Ube と命名した。

この HbF Ube は電気泳動では slow moving で、78% の強いアルカリ抵抗性を示し、紫外吸収曲線で 289 m μ の所で tryptophan notch が明瞭にみとめられ、finger print にあらわれた異常ペプチドスポットのアミノ酸分析により、その γ 鎖 108 番目のアミノ酸残基 Asn が Lys に置換されていると推定できた。

また HbA₂ の増加がみられたことは、 γ 鎖異常の Hb を産出する他の症例と異なる点で注目し、HbF Ube は世界で発見された 12 番目の異常 HbF であり、本邦ではアミノ酸置換を推定できた最初の症例である。

結 語

胎児付属物の生理ならびに病理の解明と、新生児成熟

度の合理的な判定をめざして進められた本研究で我々の得た知見, 成果は余りにも乏しいものである。

しかし臨床家の立場よりすれば, 容易に採取できる母体の血液, 尿, 羊水のホルモン動態, 酵素活性の消長, 細胞診その他から胎盤機能の判定や胎児情報のより明確な把握に些かでも貢献することができ, また胎児, 新生児の血液とくにその赤血球性状の検討によつて新生児の成熟度判定に新しい知見を加えられたものと思われる。しかし reproductive physiology の面には未解明の問題がなお多く残されており, 我々は今後もこの方面の研究, 努力を続けて行きたいと考えている。

本研究を宿題報告として発表する機会を与えられた日本産科婦人科学会橋本清会長, 故足高善雄前々会長を始め会員の皆様に対して厚く感謝致します。

本研究の成果は, 藤生太郎前教授のご鞭撻の賜であるとともに, 共同研究者諸氏の献身的な努力によつてなされたものであり, 深甚の謝意を表します。

また, 本研究は山口大学, 生化学, 第一病理, 第三内科, 中検, 皮膚科ならびに北大第一生化学各教室諸先生のご教示, ご援助と, 教室真仁会, 京都大温知会の温いご後援に負う所が大きく, 厚く御礼申し上げます。

終りに, 私にこの領域研究の道を示して頂いた恩師三林隆吉京大名誉教授ならびに故大橋敏郎先生のお二人に心から感謝の誠を捧げます。

質問 (東京大) 坂元 正一

極めて困難な主題に広汎な point から approach され幾多の新知見を得られたことに心から敬意を表します。

3つの点について先生の御考えを御伺いしたいと思ひます。

1. 形態学的な御検討のなかで胎盤組織の fibrinoid deposition を aging ではなくして, 胎盤を母体と胎児の抗原抗体反応の場であることもその原因ではないかと御述べてなつています。妊卵保持の免疫現象という点から考えると重要な説ですし, そうならば異常例の胎盤或は早期の胎盤にも出ていいのではないかと思います。どのように御考えでしょうか。

2. 胎盤に於いて形態学的に aging をお示しになりましたが, 酵素活性の面から aging はあるとお考えでしょうか。

3. 児の成熟度の示標に臍帯血赤血球内酵素 score を取り上げられたことはすぐれた着眼でありますし, 殊に児の未熟性を問題にした場合, 同酵素系が母体のそれと相関するという知見, 又母体が児の未熟性に関与するで

あろうとの御説は新しく且極めて重要な知見であります。それが遺伝的なものか或は母体酵素活性異常が児の造血系に影響してそうなるのか, その mechanisms によつては常に未熟児の生れる可能性も出てまいります。大変興味がありますので, speculation を御教え下さい。

答弁 (山口大) 鳥越 正

1) われわれは胎盤の aging 解明の目的で, 予定日超過, 妊娠中毒症などを重点的にとりあげ, これらでは fibrinoid の沈着範囲, 量の増加をみとめました。

流早産については少数例ではありますが同様の所見を得ており, 今後免疫学的な立場からの追求も大切であると感じ, 検討したいと考えております。

2) 妊婦血清中の各酵素活性平均値をみますと, いずれも妊娠40週をピークとして以後漸減しておりますが, 各ケース毎の follow up, パターンによる判定が大切で, この他に妊婦尿中 E₃ の動態, 羊水鏡所見などをも併せて追求すべきであると考え, 日常実施しております。

3) 母体血と臍帯血の赤血球酵素活性の間に有意の相関をみとめました。今後はこの問題をさらに深く掘り下げてその背景の究明に努力したいと存じます。

質問 (東北大) 安達 寿夫

胎児または新生児の出生前後の成熟度の判定は, 母体合併症など胎児環境との関連, および分娩誘発時期の決定の適否など, 産科臨床に直結する重要な問題であり興味深く講演を聞いた。

私は, この周産期のこどもの成熟度(未熟度)判定について考えるとき, いつも一体, 私どもは何を, より信頼できるより絶対に近い基準として比較検討すべきであるかという壁につきあたる。

この点について演者が今回の研究をすすめられながら考えてこられた「より信頼できる成熟度の基準」とはどのようなもので, どのようにしてつくられるべきものか, という問題について, 演者のお考えを伺いたい。

答弁 (山口大) 鳥越 正

新生児の成熟度判定を的確に行なうことは今日なお困難であります。

私たちは, 主として血液の面からこの問題を追求致しましたが, これはほんの一端でありまして, 出生の時点だけの検査のみでは不十分であり, 一カ月後または3才児検診時の follow up など時間をかけ, また小児科を始め他科との共同研究によつて今後成熟度の判定の基準確立をめざして進むべきものと考えております。