

シンポジウム 母体・胎児間の免疫現象に関する研究

絨毛を中心とする母体，胎児間免疫現象に関する研究

名古屋大学医学部産科婦人科学教室(主任：石塚直隆教授)

友 田 豊

共同研究者(名古屋大学)

堀 好博，夫馬 昌一，三輪 忠人，佐伯 明彦，柿原 正樹，後藤 節子，岩瀬みつ子
 山内 雅子，日比 道昭，山田 和順，浅井 淳平，山下 和雄，(浜松医科大学) 吉田
 孝人，(愛知県癌センター) 星野 宗光，赤座 達也，(愛知県総合保健センター) 青木
 孝允，(名古屋第一赤十字病院) 風戸 貞之，山田 猛

緒 言

胎児は父からの遺伝子を受け母体の組織とは異なっている。従つて，胎児とその附属物は母体よりみれば同種移植とみなす事が出来る。しかるに，正常の条件下では妊娠期間中胎児は免疫学的破壊をまぬがれて同種移植が成立している。この母体，胎児間免疫現象は Rh 不適合妊娠を除いては未だ不明のまま残されている。更に臨床面では本現象を背景に持つ絨毛性腫瘍，妊娠中毒症，流産等の疾患があり，これらの病態生理を解明する為には本現象の基礎的検討と同時にそれぞれの疾患について免疫学的検討が必要と考えられる。今回我々は以下の4点に研究の重点をおいて母体胎児間の免疫現象を解析せんとした。すなわち第1に， α -Fetoprotein，癌胎児性抗原，絨毛特異抗原，ABO式血液型物質，組織適合抗原が母体に対して抗原性を発揮するのではないかと推定し，これら5物質を研究対象としてとりあげ，これら物質の母体への移行又は母体の免疫応答を出来る限り追求した。

第2に，特異な内分泌環境にある妊娠母体の免疫監視機構について検討を加えた。

第3に，母児間の接点である絨毛細胞における免疫反応を超微形態レベルより追求した。

第4に，以上の研究を正常妊娠と移植腫瘍である絨毛性腫瘍(以下絨腫瘍と略す)に適応し，正常と異常とを対比させつつ，正常妊娠における母児間免疫現象の把握につとめると共に，絨腫瘍の病態について免疫学的考察を加え若干の知見を得たので報告する。

研究材料及び研究方法

研究材料

- 1) 正常妊娠婦人のリンパ球，血清，血漿，絨毛組織
- 2) 胎児リンパ球，血漿
- 3) 絨腫瘍患者のリンパ球，赤血球，血清，血漿，腫瘍組織
- 4) 絨腫瘍患者の夫のリンパ球，赤血球
- 5) 健康成人のリンパ球，血清，血漿

研究方法

- 1) α -Fetoprotein の測定：2抗体法 Radioimmunoassay
- 2) 癌胎児性抗原の測定：Zゲルによる Radioimmunoassay
- 3) α -Fetoprotein 抗体及び癌胎児性抗原に対する抗体の検出：血清の標識蛋白への結合率を人 γ -globulin 抗体で分離する2抗体法。
- 4) 絨毛特異抗原に対する抗体：倉田らの方法で精製

図1 リンパ球混合培養法(MLC)およびリンパ球芽球化テスト(PHA)

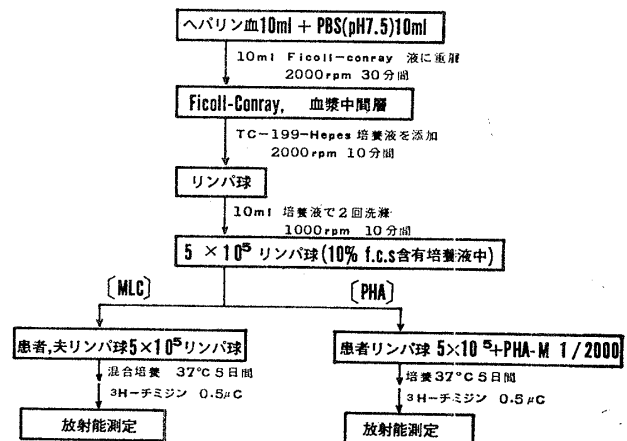
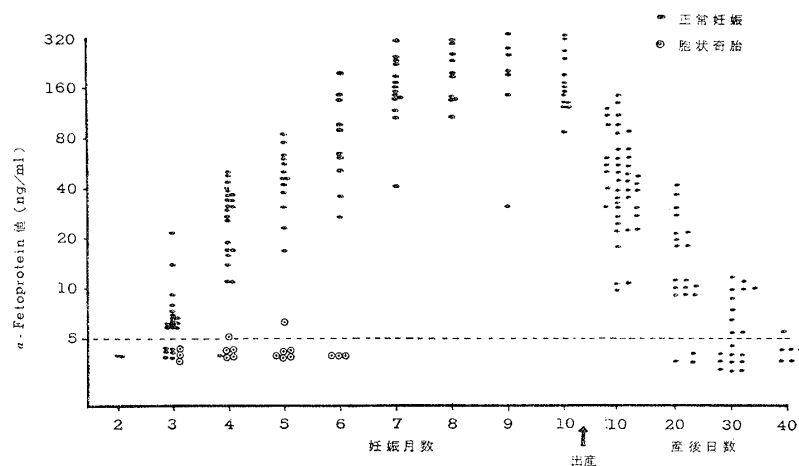


図2 正常妊娠および胎状奇胎における血清 α -Fetoprotein 値

した絨毛特異抗原を感作した人O型赤血球を用いた血球凝集反応。

5) HL-A の型分類及び HL-A 抗体の検出: Amos 変法 (Amos 1970)

6) 組織適合性及び細胞性免疫能の測定: 図1に示すリンパ球混合培養法 (MLC) とPHAによるリンパ球芽球化テスト (PHAテスト)

7) 免疫電顕 (Singer 1959)

8) 透析鉄反応 (Hardin 1971)

研究成績

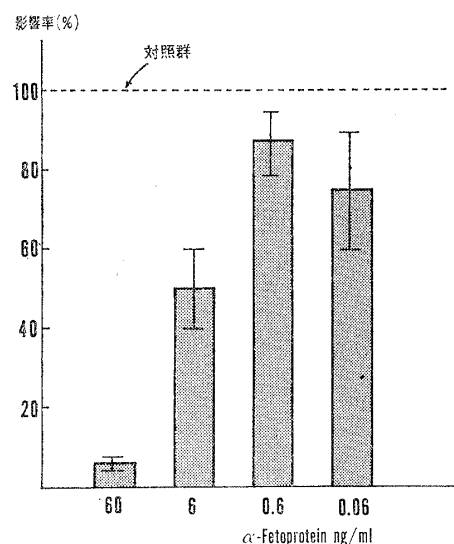
1. α -Fetoprotein に関する成績

母体中 α -Fetoprotein は図2に示す如く、妊娠経過につれて上昇し7—8カ月でプラトーに達した。出産後は徐々に減少し、約30日—40日で検出不能となつた。

一方、胎状奇胎、破壊性奇胎及び絨毛上皮腫においては本物質を検出出来なかつた。この結果、正常妊娠では胎児由来の α -Fetoprotein が母体に移行するも、胎児を有しない絨毛性腫瘍患者ではこれを認めず、この測定は臨床診断の一助になる事が明らかになった。

次に α -Fetoprotein に対する抗体を、正常人6例、産褥20例、絨腫瘍13例において検討したがいずれの症例においても抗体を認める事は出来なかつた。すなわち、 α -Fetoprotein は母体に対して抗原性を発揮しない事が判明した。

最後に本物質が細胞性免疫能に及ぼす影響を検討した。図3はPHAテストにおけるリンパ球芽球化に及ぼす影響を示し、 α -Fetoprotein 6 ng/ml 以上の濃度で芽球化を抑制した ($P < 0.01$)。更に、MLCにおける芽球化も抑制する傾向も認め、 α -Fetoprotein は

図3 リンパ球芽球化 (PHAテスト) におよぼす α -Fetoprotein の影響

母体の免疫監視機構に対して抑制的に作用する事が明らかとなつた。

2. 癌胎児性抗原に関する成績

Gold らによつて見出された癌胎児性抗原 (以下CEAと略す) は主として胎児の消化器、成人の消化器癌で産生される胎児性蛋白質である。

母体血、臍帯血中のCEA値を図4に示した。臍帯血のCEA値は健康成人に比較してやや高値 ($P < 0.01$) を示し、組織中より血中への流出が認められた。母体中のCEA値は健康成人と殆んど同様の値であるが、高値を示す症例もあり時として母体への移行が推定された。図5は婦人科領域におけるCEA値で卵巣癌、胎状奇胎、破壊性奇胎において高値を認める事があつた。今後

図4 妊婦及び胎児血漿中の癌胎児性抗原(CEA)値

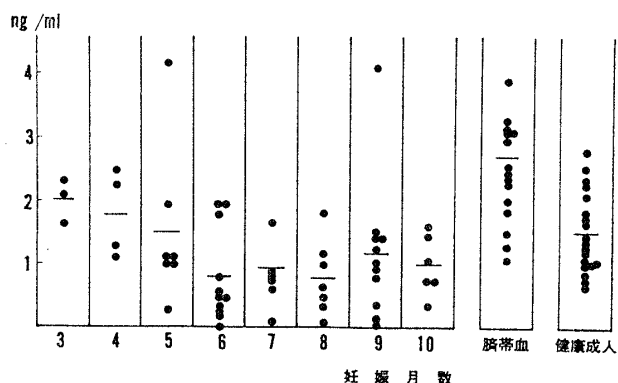
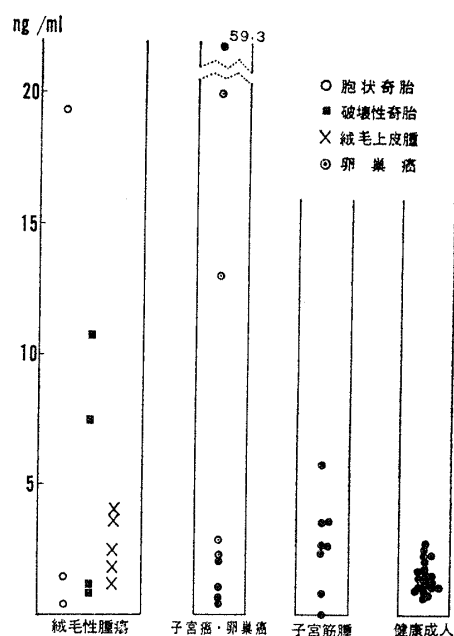


図5 婦人科疾患における血漿中癌胎児性抗原(CEA)値



の研究によつて産婦人科領域における診断学的意義が明らかになるものと思われる。

次に母体中CEA抗体の存在を ^{125}I -CEAと母体血清との結合率によつて検討した。結合陽性例は正常妊娠で20%、産褥31.4%、妊娠中毒症33.3%、絨毛性腫瘍21.8%と認められ、CEAが妊娠母体又は宿主において抗体を産生させている可能性が示唆された。産婦人科領域のCEAに関する研究は未だ不十分で今後の研究の展開が大いに期待される。

3. 絨毛特異抗原に関する研究

絨毛組織には他の臓器には検出されない物質、いわゆる絨毛特異抗原が存在する事を既に我々は報告した(Tomoda 1973)。今回は、絨毛特異抗原の各組織におけ

図6 絨毛特異抗原に対する抗体の検索

症 例		検体数	陽性率 (%)	赤血球凝集価
正常妊娠 婦 人	前 期	3	0	
	中 期	14	21.4	×40～×80
	後 期	40	35.0	×80～×160
産 褥 婦 人		58	20.7	×20～×160
妊娠中毒症患者		9	55.6	×40～×160
絨毛性腫瘍患者		16	6.3	～×20

る分布、その局在性を省略し、本抗原に対する母体の免疫応答を報告する。

絨毛特異抗原に対する抗体は図6に示す如く、妊娠の進行につれてその検出率は高くなり特に妊娠中毒症において高率に抗体を検出した。この成績は、本抗体の免疫生物学的意義を示唆すると思われるが、しかしその詳細は今後の検討課題として残された。

次に絨毛特異抗原に対して妊婦リンパ球は芽球化せず、本抗原に対する細胞性免疫を認める事は出来なかつた。又、絨毛特異抗原はPHAテストにおける芽球化を抑制し、 α -Fetoproteinと同様の作用をあらわして胎児性蛋白質の特異な作用の一面が明らかにされた。

4. ABO式血液型物質に関する成績

ABO式血液型が絨腫瘍と何らかの関係を有するか否かを検討した。絨腫瘍患者1104人のABO式血液型の分布は日本人の分布と比較してほぼ同様の傾向を示した。次にこれを更に分析し、夫、患者間の適合性を検討した結果、図7に示す如く、胎状奇胎、破壊性奇胎における夫、患者の適合性は対照とほぼ同様の分布であつたが、

絨毛上皮腫ではやや異つたパターンが認められた。しかし、児、患者間の適合性は日本人の分布と同傾向で、

絨腫瘍においてABO式血液型と疾患との間に直接的な因果関係を認める事は出来なかつた。

次に免疫電顕によつて絨毛細胞上の型物質の存在を追求した。写真1に示した超微形態像は絨毛と赤血球で、赤血球には矢印で示したFerritinの附着が明らかに認められ、型物質の存在が示されたが、一方、絨毛表面にはFerritinを認めず、型物質の存在が否定された。この成績は今回始めて見出された事実で、他臓器と異なり絨毛の特異な性格が指摘され、母体中にある自然抗体によつて絨毛が障害されない理由が明らかにされた。

5. 組織適合抗原に関する成績

最初に組織適合抗原でもつとも主要なHL-Aが妊娠中、母体に対して抗原性を発揮するか否かを母体中の

図7 絨毛性腫瘍における患者—夫間A B O式血液型

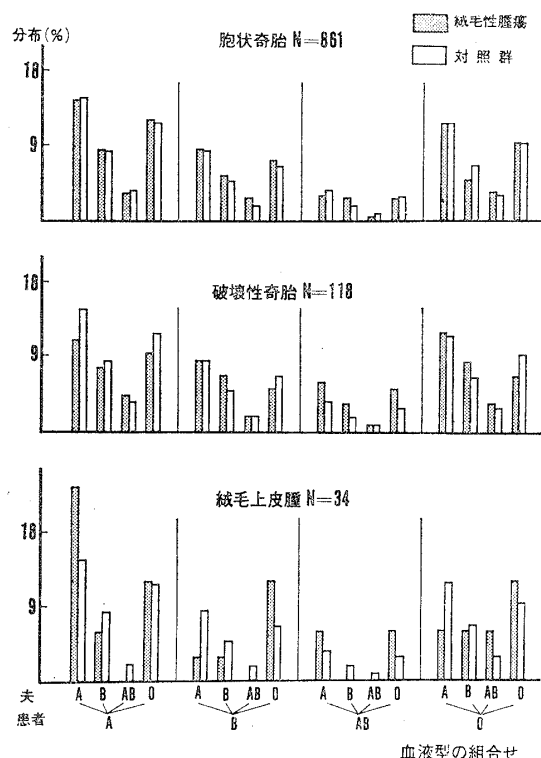
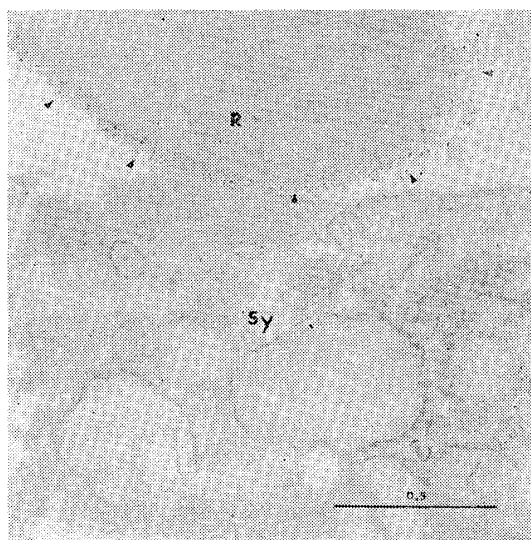


写真1 赤血球と絨毛細胞の免疫電顕像で、Rは赤血球、Syは絨毛細胞、▲はFerritinの附着を示す。



HL-A 抗体を検出することで検討した。図8は妊娠月数とHL-A 抗体の出現との関係を示し、妊娠月数の進行につれてHL-A 抗体の出現は多くなる傾向が認められた。又、HL-A 抗体は分娩回数の多いもの程多く出現

図8 妊婦血清中のHL-A 抗体

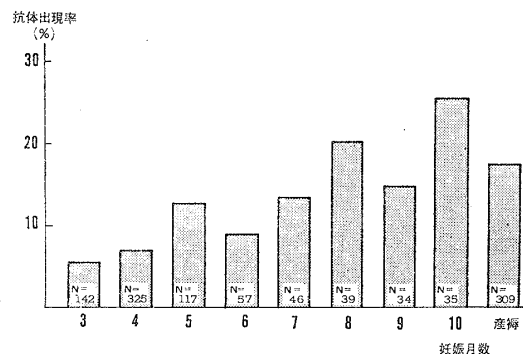


図9 HL-A 抗体と児体重及び胎盤重量との関係

	症例数	重量(g)	♂	♀
抗体	339	体 重	3399.8 ±337	3201 ±383
陰性群	285	胎盤重量	579 ±76.9	561 ±87.2
抗体	40	体 重	3182 ±119	3220 ±79.5
陽性群	28	胎盤重量	519 ±271	547 ±209

し、分娩3回では25.6%に達した。

次にこのHL-A 抗体の免疫生物学的意義について若干の考察を加えた。図9にHL-A 抗体と胎盤及び児重量との関連を示した。すなわち、抗体陽性群においては男児の体重が陰性群に比較して低値の傾向にあり、胎盤重量も低値 ($P < 0.05$) である事が判明した。男女比についてみると、陽性群では男児が65%と多く陰性群の男女比約50%に比較して明らかな相違が認められた。

絨腫瘍においてもHL-A 抗体は出現し、胎状奇胎17.4%、破壊性奇胎37.4%、絨毛上皮腫9.1%と認められた。本成績は輸血例を除外してありこの成績より絨腫瘍組織にHL-A 抗原が存在する事が示唆されたので、絨腫瘍におけるHL-A の分布、患者、夫間の適合性について検索を進めた。

HL-A の分布を疾患別に分類した成績は、図10に示す様に絨毛上皮腫においてHL-A 10が多く出現し、HL-A 5の頻度が少なく、破壊性奇胎ではHL-A 11, 12が少ない傾向を示したが胎状奇胎では特別な分布が認められなかった。

夫、患者間の不適合数は1を中心に分布し、HL-A 別の適合性は図11に示す如く絨毛上皮腫においてHL-A 9, 10, W5不適合が多い傾向を認めた。HL-A の型分類は現在尚進行中であり、型分類と別の方法MLCを用いて

図10 絨毛性腫瘍における HL-A の分布

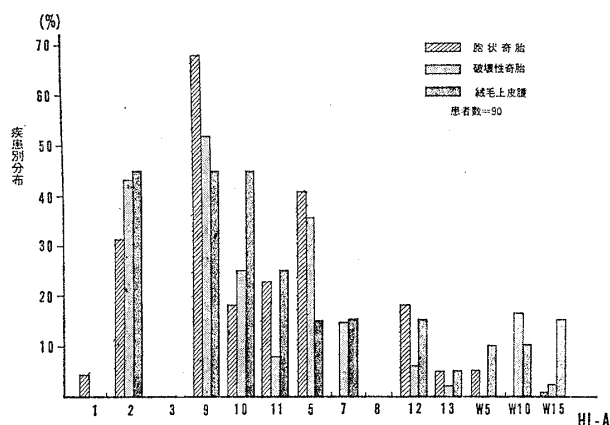
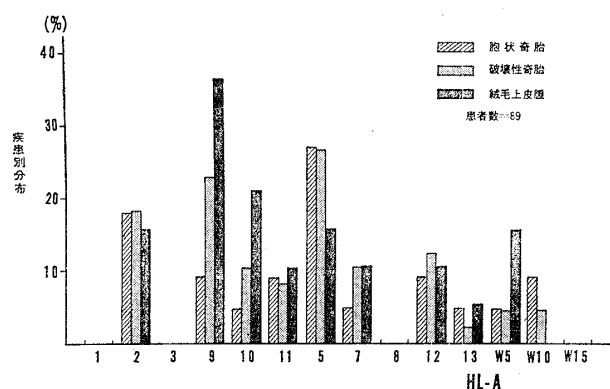


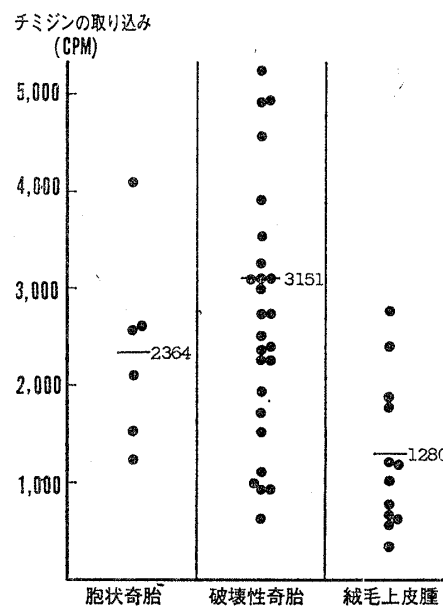
図11 絨毛性腫瘍における HL-A の夫→妻不適合



夫、患者間の組織適合性を検討した結果は図12に示す如く、絨毛上皮腫のMLC値は破壊性奇胎に比較して低値であり ($P < 0.01$) 夫、患者間の適合性は、より適合している事が推定された。

本成績より組織適合抗原の絨腫瘍への関与が示唆されたので、研究対象を絨毛上皮腫にしばって HL-A 適合性、MLC値を個々の症例について検討した。図13は死

図12 絨毛性腫瘍のリンパ球混合培養 (MLC)



亡例と一年以上治療を続行している難治例を示し、図14に寛解例を示した。死亡例、難治例の HL-A 不適合を分析すると9, W10, 5, W15, 12が認められ、寛解例においてのみ見出される HL-A 不適合は11, W5, 10, 13であつた。この結果、死亡例、難治例において認められた HL-A 不適合は絨毛上皮腫において抗原性が弱く腫瘍、宿主間に不適合が成立せず宿主より腫瘍が排除され難いのではないかと推定された。一方、寛解例の HL-A 不適合は腫瘍、宿主間に抗原性が発揮され腫瘍、宿主間に免疫応答がおこり宿主より腫瘍が排除されやすい条件が形成されるのではないかと考えられた。MLC値も寛解例が死亡例より高値を示し、絨毛上皮腫の予後因子に組織適合抗原の関与が示唆された。今後の検討によつてその詳細を明らかにしたい。

図13 絨毛上皮腫における HL-A およびMLC (I)

症例	予 後	患 者	HL-A	夫	夫→妻不適合	MLC (cp m)	ABO (患者/夫)
K.A	死 亡	10,11/12,w15	9,10/7,w10	9,7,w10	---	---	AB/A
H.K	死 亡	2,11 /w10	9,11/5,w15	9,8,w15	2771	A/A	
I.K	死 亡	10 /12,w5	2	2	2387	A/A	
Y.S	死 亡	2,11	9	9	1228	A/O	
Y.S	死 亡	2 /12,13	9 /5,12	9,5	334	A/B	
K.M	1年加療中	9 /5,12	9 /5	(-)	2236	A/B	
R.O	7年加療中	9,10 /5,w15	9 /12,w10	12,w10	786	A/O	
Y.Y	2年加療中	9,10 /7	-----	---	---	A/	
H.O	1年加療中	9,11	9 /5	5	593	B/A	

平均値 1476

□ 予後良好例に主としてみられたHL-A不適合
 ▨ 死亡例および難治例に主としてみられたHL-A不適合

図14 絨毛上皮腫における HL-A および MLC (II)

症例	加療期間	患者	HL-A	夫	夫→妻不適合	MLC (cpm)	ABO (患者/夫)
Y.Y	2ヶ月	10	/w10	9,11/7,w10	9 11 7	2890	O/A
M.I	5ヶ月	9,10		2,9	2	6571	A/A
K.K	2ヶ月	2,10		2 /w5	w5	---	A/A
T.I	2ヶ月	9	/7	10 /w5,w10	10 w5 w10	4217	O/B
T.H	5ヶ月	2,9	/5	9 /5	(-)	1792	AB/A
S.H	1年	2,9	/7	11 /13	11 13	5281	B/B
H.O	6ヶ月	2		2	(-)	1021	O/AB
K.O	4ヶ月	2	/12	2,9	9	1229	A/O
A.M	4ヶ月	2,9		9,10/7,w5	10 7 w5	2761	B/O
Y.S	5ヶ月	9,11	/w5	2,10	2 10	---	A/O
K.T	6ヶ月	10		10	(-)	1829	A/A
M.A	3ヶ月	10	/5	9 /5	9	657	A/A
平均値						2825	

予後良好例に主としてみられたHL-A不適合
 死亡例および難治例に主としてみられたHL-A不適合

図15 妊婦リンパ球のPHAによる芽球化

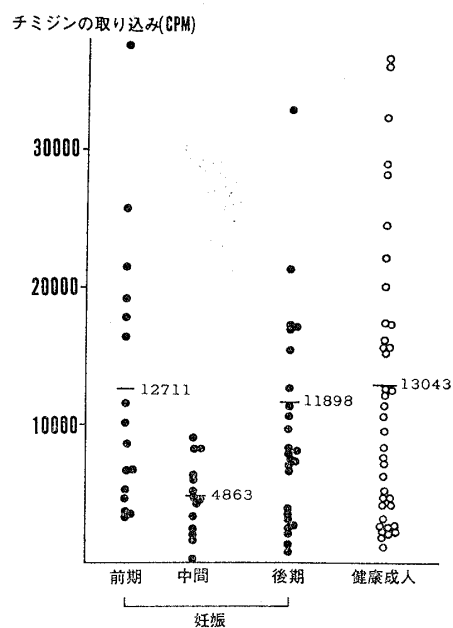
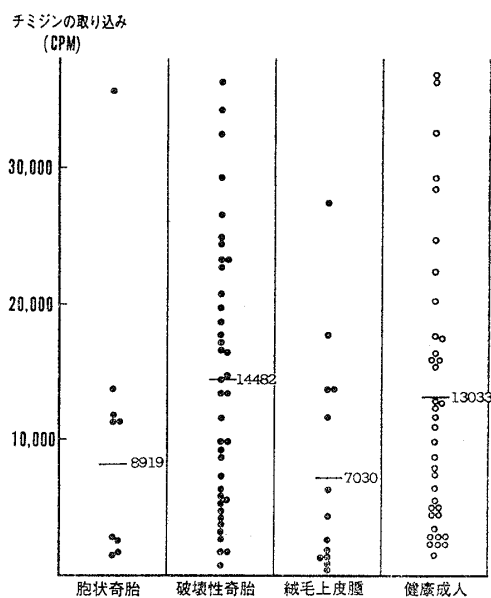


図16 絨毛性腫瘍患者リンパ球のPHAによる芽球化



6. 母体の免疫監視機構に関する研究

妊娠という同種移植が成立している母体の免疫監視機構がいかなる状態にあるかについては種々の見解があるも未だ明らかではない。

本研究ではPHAによるリンパ球芽球化試験とリンパ球混合培養法(MLC)を用いてこれを検討した。図15に示す様に細胞性免疫能を表現するPHAによるリンパ球の芽球化は妊娠中期においてかなり低下し($P<0.01$)妊娠全体を通じて低値を示した($P<0.05$)。図16は絨腫瘍のリンパ球芽球化を示し、絨毛上皮腫において低

値であり($P<0.05$)、本疾患で細胞性免疫能が低下している事がうかがわれた。

次に妊婦及び絨腫瘍患者の血清が芽球化に及ぼす影響について検討を加えた。図17は正常妊婦血清の影響を示し、妊娠中期、後期において芽球化を抑制する事が認められた($P<0.01$)。図18の如く絨腫瘍においては胎状奇胎血清が芽球化を促進する傾向を示し、破壊性奇胎、絨毛上皮腫血清は抑制した($P<0.01$)。芽球化に及ぼす血清因子を分析する為、妊婦血清を24時間透析し、前後の芽球化の変化及びホルモン量の変動を検討した。この結

図17 リンパ球芽球化 (PHAテスト) におよぼす妊婦血清の影響

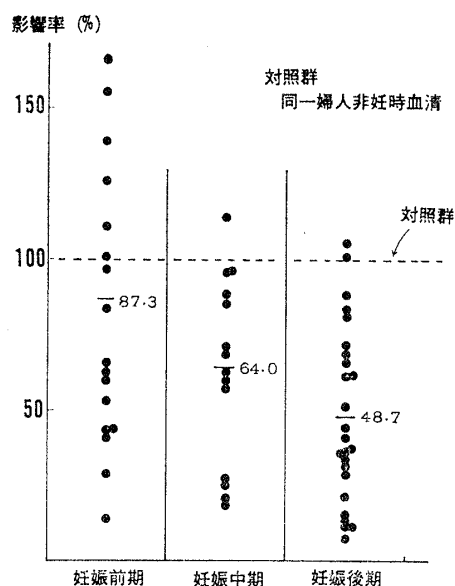
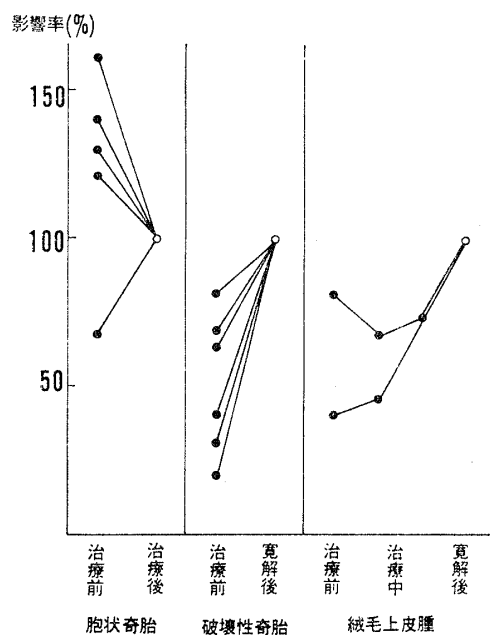


図18 リンパ球芽球化 (PHAテスト) におよぼす絨毛性腫瘍血清の影響



果, 芽球化は 270%増加したが Cortisol 33%, Progesterone 50%と減少した. この成績よりホルモンの免疫能への関与が推定されたので更に検討を進めた. 図19に示す様に Cortisone が最も強く 100ng/ml の濃度で著明に抑制作用を示した ($P < 0.01$). Progesterone, hCG も若干の影響を及ぼした. MLCにおいても Cortisone の抑制傾向が認められた. 以上, 妊娠母体, 絨毛上皮腫患

図19 リンパ球芽球化 (PHAテスト) におよぼす各種ホルモンの影響

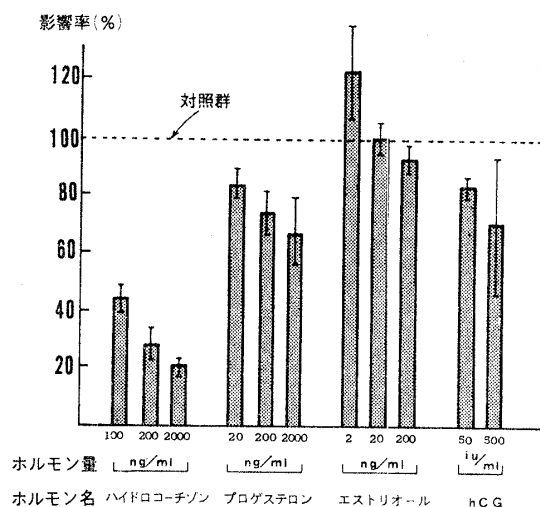
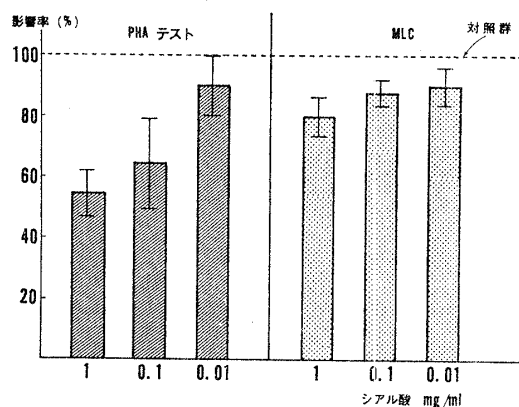


図20 リンパ球芽球化 (PHAテスト) およびリンパ球混合培養 (MLC) におよぼすシアル酸の影響



者におけるリンパ球の免疫能は低下し, 更に血清因子, ホルモン等によつて細胞性免疫能が抑制されると考えられた. この結果, 母体, 宿主の免疫監視機構に攪乱が起り, 胎児, 絨毛組織の維持に好都合な環境が形成されていると推定された.

7. 絨毛の超微形態学的研究に関する成績

1) 絨毛細胞表面の構造に関する成績

絨毛表面は多糖質によつておおわれ, この物質が免疫学的 Barrier として働くのではないかと考える. 本研究では透析鉄反応による超微形態学的方法を用い, 酸性ムコ糖を染色し, その微細構造の変化及び免疫学的意義について若干の検討を加えた. 写真2は妊娠初期絨毛の超微形態像でかなり強く染色された酸性ムコ糖は Microvilli 表面を連続的に均一におおっているのが認め

写真2 透析鉄反応によつて染色された正常妊娠3カ月の絨毛細胞で microvilli 表面は酸性ムコ糖によつて均一に連続的におおわれている。

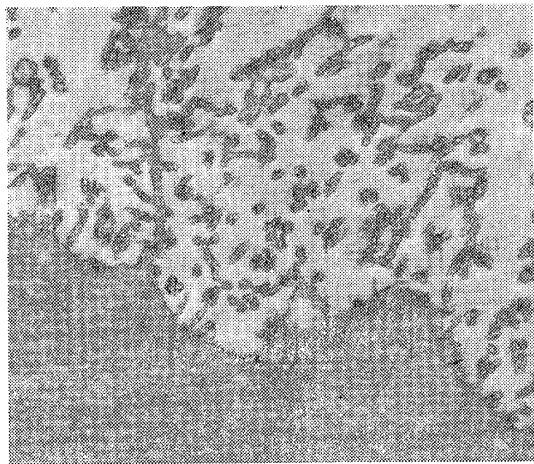
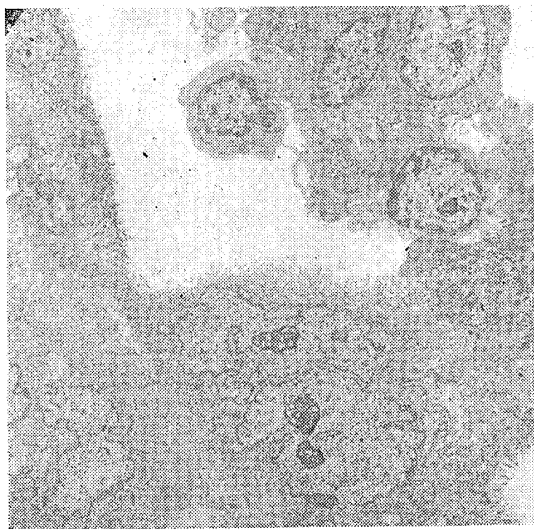


写真3 絨毛上皮腫の超微形態像で腫瘍細胞に小リンパ球が接近し macrophage の出現が認められる。



られた。妊娠10カ月の絨毛では Microvilli 間底部の染色性はよく保たれていたが、酸性ムコ糖はやや薄くなつてきた。胎状奇胎においては、染色性は正常妊娠に比較してやや減弱し糖層は薄くなつていることが認められた。絨毛上皮腫の細胞表面の染色性は弱く薄く不連続となり、糸状構造が認められた。

この様に酸性ムコ糖は、妊娠の進行についてあるいは絨毛の腫瘍化に伴つて微細に変化した。次に、酸性ムコ糖の一つであるシアール酸を用いて、これが細胞性免疫能に及ぼす影響を検討した。PHAテスト及びMLCにおいてシアール酸は0.1mg/ml以上の濃度でリンパ球の芽球化を抑制し ($P < 0.05$), 酸性ムコ糖の免疫反応の

場における意義の一部が明らかになつた。

2) 免疫担当細胞と絨毛に関する成績

免疫活性を持つリンパ球は標的細胞に接触し標的細胞を破壊する。この様に標的細胞とリンパ球の接触が細胞性免疫の成立する条件と考えられている。リンパ球と絨毛との接触像は正常妊娠の全過程において認める事は出来なかつたが、絨腫瘍においては見出された。写真3は絨毛上皮腫の超微形態像で絨毛細胞に小リンパ球が接触し、多数の Macrophage がリンパ球に接近している所で、同様の像は胎状奇胎、破壊性奇胎においても認められた。

以上の成績より、正常妊娠においては絨毛、母体間に細胞性免疫は成立せず、一方、絨腫瘍においては免疫担当細胞と絨毛との接触が認められ、細胞性免疫の成立が示唆された。

結 語

(1) 胎児性蛋白質は母体の免疫監視機構に対して抑制的に作用した。

(2) 妊娠母体の免疫監視機構は低下の傾向にあり、これが妊娠維持の一要因と考えられた。

(3) ABO式血液型物質は絨毛に存在せず、絨毛、宿主間免疫に関与しない事が明らかになつた。

(4) 組織適合抗原に対する抗体が妊娠母体で産生され、胎児、胎盤に何らかの作用を及ぼした。

(5) 絨毛性腫瘍の病態に組織適合抗原が関与すると考えられた。

(6) 超微形態レベルにおいて正常妊娠では絨毛に細胞性免疫反応を認めず、一方、絨毛性腫瘍では反応の成立を示唆する所見が認められた。

謝 辞

本研究を終るに当つて石塚直隆教授の御指導、御鞭撻に心より感謝の意を表します。多大の御援助を頂いた名古屋大学産婦人科学教室同窓会尚和会の各位に御礼申し上げます。研究材料の提供を受けた東京標準血清(株)早川善郎博士、大垣市民病院梅村鋸三博士、常滑市民病院東郷市太郎博士、中部労災病院林治生博士、名古屋掖済会病院丸山孝夫博士、愛北病院稲垣寿夫博士に深謝致します。

文 献

- Amos, D.B. (1970): Manual of tissue typing technique, NIH = Page 1.
- Singer, S.J. (1959): Nature, 163: 1523.
- J.H. Hardin and S.S. Spicer (1971): J. Cell Biol., 48: 368.
- Tomoda, Y., Saiki, N., Goto, S., Kawashima, Y. and Ishizuka, N. (1973): Acta Obst. Gyneco. Japonica, 20: 14.