

## 羊水塞栓症の成因並びに病態に関する実験的研究

## —殊に胎便成分の果たす役割について—

## Experimental Studies on the Pathophysiology of Amniotic Fluid Embolism

## —The Effect of the Chemical Substances in Meconium—

名古屋大学医学部産婦人科学教室(主任:石塚直隆教授)

今井 信 昭 Nobuaki IMAI

**概要** 羊水塞栓症は、従来、羊水中の微粒物質による肺動脈の物理的塞栓によつて、発症すると考えられて来た。本症にはショックが必発し、極めて重篤な経過を辿るが、死亡した患者の剖検所見では、重篤なショック症状を惹起する程、肺に大量の微粒物質が証明されるとは限らず、従つて本症の成因や病態をこの物理的塞栓のみで説明することは出来ない。共同研究者の棚瀬(1975)、尾池(1976)は、胎便上清の化学的成分に血液凝固亢進性物質が存在し、これは羊水塞栓症の起因物質の1つであろうと推論した。

そこで著者は、この物質を胎便から抽出し、次いでこの抽出物質の各種生物学的作用を明らかにして、抽出物質が本症の成因や病態に如何なる役割を果たしているかを検討した。その結果、1) 胎便から血液凝固亢進性蛋白分解酵素を抽出した。至適pH 7.4, 分子量 $35.4 \times 10^4$ であつた。2) 抽出した物質の生物学的作用について検討した。本物質は *in vitro* でも *in vivo* でも血液凝固亢進作用、及び血小板凝集作用をもち、著明な血液凝固異常を発生せしめることがわかつた。更に蛋白分解作用をもち、この作用は *Trasylol* では阻害されるが、*EACA*, *trans-AMCHA* では阻害されない。また本物質の投与により血圧下降、血管透過性亢進、白血球遊走などもひき起こされることがわかつた。抽出物質のもつ、これらの作用が羊水塞栓症に伴うショック発生に関与するものと思われた。尚これらの作用は、*trypsin* のもつ生物学的作用に類似し、従つて本物質は胎便に存在する *trypsin* 様物質ではないかと考えられた。3) 羊膜には *trypsin* の *inhibitor* である  $\alpha_1$ -*antitrypsin* が存在することを蛍光抗体法により明らかにした。これは上記物質の血中流入への防禦機構になつていると考えられる。

以上、羊水塞栓症の成因には、胎便の化学的成分、即ち血液凝固亢進性蛋白分解酵素(恐らくは *trypsin*) が関与すること、更にこの物質は羊水塞栓症に必発するショックの病態にも関与することを明らかにした。

## 緒 言

羊水塞栓症の成因は、従来、羊水中の微粒物質 *particulate matters* (胎脂、毳毛、扁平上皮、胎便など) が血中へ入り、肺細動脈に塞栓を起こすために発生すると考えられていた。しかしながら羊水塞栓症で死亡した患者の剖検所見では重篤なショック症状を惹起する程、肺にこれら微粒物質が証明されるとは限らず、従つてこの物理的塞栓のみでこの疾患の病態を説明することは出来ない。

共同研究者の棚瀬(1975)は、胎便に大量の *trypsin* 様蛋白分解酵素が存在することを証明し、この酵素と羊水塞栓症発生とに関連性があるかも知れぬと述べ、更に共同研究者の尾池(1976)

は、これを明らかにする目的で胎便を遠沈により分離し、その上清成分を家兎に静注、*Thromb-elastograph* (TEG) を用いて血液凝固学的に検討し、胎便上清成分には血液凝固亢進作用のあること、及びこの上清成分だけの静注で血管内血液凝固 (*disseminated intravascular coagulation: DIC*) を伴う羊水塞栓症が発生することを明らかにした。即ち、羊水塞栓症は、羊水中の微粒物質による単なる物理的塞栓のみならず、胎便中の化学的物質がひき起こす血栓によつても生ずることを見出した。

そこで著者は、この胎便中の化学的物質を抽出し、更に抽出した物質の各種生物学的作用を検索し、羊水塞栓症の病態生理にこの物質が果たす役

割について検討した。

前述の共同研究者らの研究によつて、胎便には **trypsin** 様蛋白分解酵素が大量に存在すること、他方 **trypsin** が凝固亢進作用を有することが既にわかっているため、本物質の抽出に当つては蛋白分解作用 (**casein** 分解作用) を指標として行い、同時に血液凝固亢進作用をチェックしながら抽出した。次いで抽出したこの物質が羊水塞栓症に必発するショック症状の病態に如何に関与するかを明らかにせんとした。

### 実験材料及びに実験方法

1. 血液凝固亢進性蛋白分解酵素の抽出に関する材料及び方法

i) 抽出のステップ

抽出は表1のステップに従つて行つた。

表1 Extraction of protease in meconium

meconium kept at 2°C
↓
meconium suspended in distilled water (5%)
↓
add (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 114g/l meconium suspended in distilled water. (20% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution) keep in cold room overnight
↓
centrifugation 3,000 rpm for 10 min. at 4°C
↓
supernatant
↓
add (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 123 g/l supernatant. (40% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> solution)
↓
centrifugation 3,000 rpm for 15 min. at 4°C
↓
precipitate
↓
solution in distilled water
↓
dialysis in distilled water to excrete amine excess at 2°C
↓
Sephadex G-100 column chromatography at 2°C
↓
spectrophotometry at 280 mμ
↓
fraction collector at 2°C
↓
concentration
↓
dialysis in 0.01 M phosphate buffer at 2°C
↓
DEAE column chromatography at 2°C

↓  
concentration and dialysis by Zeineh micro-concentrator and dialyzer at 2°C  
↓  
spectrophotometry at 280 mμ  
↓  
freeze-dry  
↓  
DISC electrophoresis

a) 胎便

胎便は骨盤位分娩の娩出時に排泄したもの、または、分娩後新生児が始めて排泄したものを無菌的に採取し、5 g/dlの割合で蒸留水に懸濁し、3,000 rpm, 15分間遠沈し不溶部分を除去した。この上清部分を胎便原液とした。

b) 硫酸分画

胎便原液に硫酸を加え塩析して抽出した。硫酸の20—40%飽和で析出する分画に蛋白分解作用が最も高いことがわかつたので、この分画を透析し以後の抽出に用いた。

c) column chromatography

硫酸分画を更に精製する目的で、次の様なゲル濾過、及びイオン交換体によるcolumn chromatographyを用い抽出した。

イ) Sephadex G-100 (Pharmacia Fine Chemicals 社製, Uppsala, Sweden), 1.8×75cm columnを用い、蒸留水にて25ml/hourで流出し、3.5ml毎にfraction collector (東洋科学産業, SF-160K型, 東京)を用い採集した。

ロ) DEAE-Cellulose (0.89/g, 生化学工業製)は、あらかじめ0.01M磷酸緩衝液 (pH 7.4) で平衡化したcolumn (2×30cm)上に試料を重層し、磷酸緩衝液イオン強度階段法 (0.01M, 0.035M, 0.05M, 0.1M, 0.1M+1M NaCl)で溶出、流速約30ml/hour, 3.5ml毎に採集した。

透析、濃縮はZeineh (Model L-UF-I), (Model L-D-I)を用い、更にセロファンチューブにて蒸留水で透析し、これを凍結乾燥した。

d) DISC電気泳動

DEAE-Cellulose column chromatographyで抽出した分画を、ポリアクリルアミドゲルを用いてDISC電気泳動 (ミツミ科学産業)にかけた。

## e) 分子量の推定

Sephadex G-100 column (1.8×75cm) を用いて、分子量既知の物質 (Combithek; Protein Calibration Kit, Size I, Boehringer Mannheim 社製) を流出し、標準曲線を得た。更に胎便より抽出した物質の分子量を得るために同様に column に流出し、標準曲線に plot し、その分子量を推定した。

## ii) 蛋白濃度の測定

column の各分画の濃度は、自記紫外線吸収計 (Toyo, Uvicon 540M型) によつて 280m $\mu$  における吸光度を自動的にチャートに記録すると共に、分光々度計 (島津製作所製 UV 200型) を用い 280m $\mu$  及び 260m $\mu$  における吸光度を測定した後、Layne (1941) の方法にて算出した。column 以外の蛋白量は Biuret 試薬で測定した。

## 2. 抽出物質の生物学的作用に関する実験材料及び方法

## i) 血液凝固亢進作用

## a) Ca 再加凝固時間の測定: Howell 変法

b) Thromb-elastograph (TEG) (Hellige 社製) を用いた。

## ii) 蛋白分解作用

## a) casein 分解作用: Kunitz, 真木変法

胎便の蛋白分解作用は、至適 pH 7.4 によつて最も活性が認められたので、casein 溶液 (第 2 磷酸ソーダ溶液) の pH を HCl, NaOH にて 7.4 に調整した。

b) fibrin 分解作用: Fibrin-Plate 「北研」を用いた。

## iii) 血小板凝集作用

EEL aggregation meter (Model 169, Evans 社製), 自動記録装置 (日立製作所, QPD-53 型) を用い測定した。

## iv) 血圧下降作用

正常家兔に静脈麻酔 (Isozol 10mg/kg) を行い、Bradykinin triacetate (Sigma 製) 50 $\mu$ g/kg, trypsin (持田製薬製) 2 × 10<sup>4</sup>HUM/kg, 及び抽出物質 100mg/kg を静注し、動脈圧を測定した。動脈圧の測定は Multipurpose polygraph KM-150 (日本光

電) を用い、下大動脈にて行つた。

## v) 血管透過性作用

正常家兔の腹部を刈毛し、検体を 0.5ml 皮内注射し、2 時間後に Evans-blue (第一製薬製) を静注、更に 3 時間後に色素斑を判定した。

## vi) 白血球遊走作用

上記の血管透過性作用を測定した後、注射部位の組織を切除し、組織標本を作成し鏡検した。

vii) 羊膜細胞の  $\alpha_1$ -antitrypsin

二重抗体法を用いて測定した。

試薬は Anti- $\alpha_1$ -Antitrypsin Serum (Behringwerke 社製), Anti-Kaninchen- $\gamma$ -Globulin (Behringwerke 社製) を用い 螢光顕微鏡 (Olympus) により鏡検、写真撮影した。

## 実験成績

## 1. 血液凝固亢進性蛋白分解酵素の抽出

緒言に述べた如く、胎便には血液凝固亢進作用をもつ蛋白分解酵素 (trypsin 様蛋白分解酵素) が存在すると想定される。そこで胎便から本物質の抽出を試みた。抽出に当つては、蛋白分解作用 (casein 分解能)、及び血液凝固亢進作用 (in vitro における Ca 再加凝固時間短縮能) をチェックしながら行つた。以下抽出のステップに従つてその成績を述べる。

## i) 硫安分画

胎便の蒸溜水懸濁液に硫安を加え、10% 毎に飽和度を高め、各飽和液にて析出する蛋白分画を各々蒸溜水に再溶解し、更に蒸溜水にて透析した後、硫安分画とした。各飽和度毎の casein 分解能は、図 1 に示した如くであつた。30% 飽和液で最

図 1 Caseinolysis of ammonium sulfate fraction

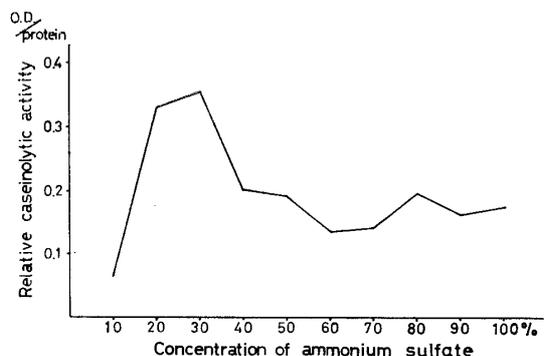
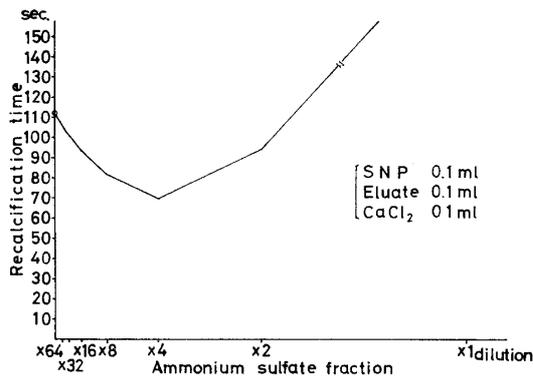


図 2



も高い casein 分解能が認められた。そこで20—40%飽和で析出する蛋白分画を以後の抽出に用いた(以後硫酸分画と呼ぶ)。

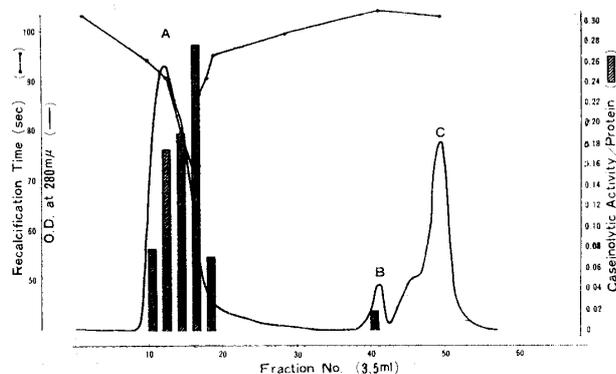
この硫酸分画は Ca 再加凝固時間を短縮せしめた(図2)。

#### ii) column chromatography

a) Sephadex G-100 column chromatography による抽出

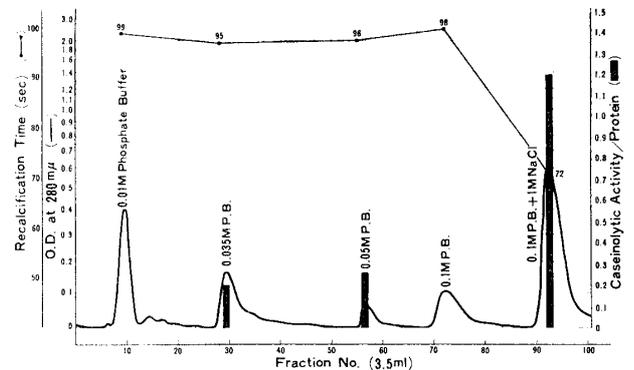
硫酸分画を Sephadex G-100 による column に apply した。その結果図3の如くA, B, Cと3

図3 Gel-filtration of Crude Protease in Meconium on Sephadex G-100



分画に分離出来た。各分画の casein 分解能(図中、斜線棒グラフ)は、A分画の終りに最も認められ、B分画においても軽度に認められた。また、Ca 再加凝固能(図中、折線グラフ)は、A分画中の最も casein 分解能の高い分画に一致して短縮が認められた(Fraction No. 17)。そこで Fraction No. 13—17までを一括し集め濃縮し、以下の抽出に用いた(以後 Sephadex 分画と呼ぶ)。

図4 DEAE Column Chromatography of the Fraction A (Meconium)



#### b) DEAE-Cellulose column chromatography

この Sephadex 分画を0.01Mの磷酸緩衝液に平衡化し、DEAE-Cellulose column に apply した。図4の如く磷酸イオン強度階段法にて溶出分離した。図4の如く5分画に分離されたが、磷酸緩衝液0.035M, 0.5M並びに0.1M磷酸緩衝液+1M NaClの3分画で casein 分解能が認められ(図中、斜線棒グラフ)、このうち0.1M磷酸緩衝液+1M NaCl分画に最も強い casein 分解能が認められた。また Ca 再加凝固能(図中、折線グラフ)は、0.1M磷酸緩衝液+1M NaClの分画で凝固時間短縮が認められ、他の分画では認められなかった。この casein 分解能が最も認められた分画(Fraction No. 93)は、Ca 再加凝固時間を短縮せしめた分画と一致した。そこで Fraction No. 92—94を集め濃縮し、蒸溜水に透析しDEAE分画とした。

#### c) D I S C電気泳動

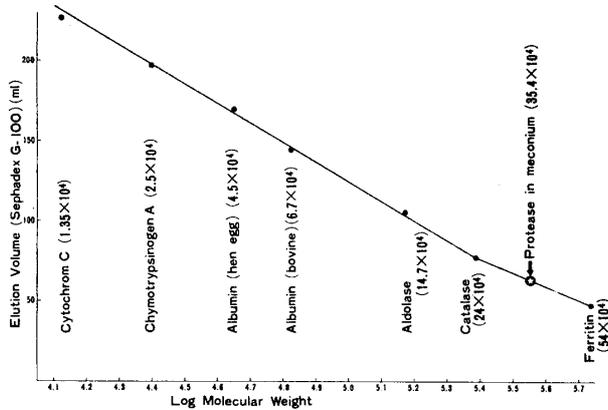
上記DEAE分画が精製されているかどうかをみるために、D I S C電気泳動に apply した。その結果、可成良く精製されていることがわかった。

#### d) 抽出物質の分子量の推定

抽出物質の分子量を Protein Calibration Kit を用いて測定したところ、図5の如く約 $35.4 \times 10^4$ であった。

小括：胎便から血液凝固亢進作用を有する蛋白分解酵素を抽出精製した。この分画は、良く精製されていることがD I S C電気泳動で確認され

図5 Plots of Elution Volumes against Log (Molecular Weight.) for Proteins on Sephadex G-100 Columns (1.8cm×75cm)



た。

この物質の分子量は、約 $35.4 \times 10^4$ であつた。

## 2. 抽出物質の生物学的作用

上記抽出物質の生物学的作用について検討し、羊水塞栓症において、この物質が果たす病態生理学的役割と意義について追求した。

生物学的作用として、血液凝固に及ぼす影響、蛋白分解作用、血小板凝集作用、血圧下降作用、血管透過性亢進作用、白血球遊走作用などについて検討したところ、次の様な作用を有していた。

### i) 血液凝固亢進作用

#### a) *in vitro* での血液凝固に及ぼす作用

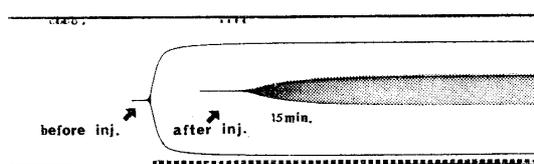
抽出物質が Ca 再加凝固時間を短縮させることは既に述べた (図4)。

#### b) *in vivo* での血液凝固に及ぼす作用

抽出物質が *in vivo* で血液凝固に如何なる影響を及ぼすかを検討した。

家兎にこの物質を静注し、TEG上での変化を観察した。静注15分後には図6の如くTEG上で、反応時間 reaction time (r) の延長、最大振幅 maximal amplitude (ma) の著明な減少を認

図6 抽出物質静注時のTEG所見



め、家兎は25分後にショック症状を呈し死亡した。この物質は家兎の血液凝固に著明な変動を与えることがわかつた。

### ii) 蛋白分解作用

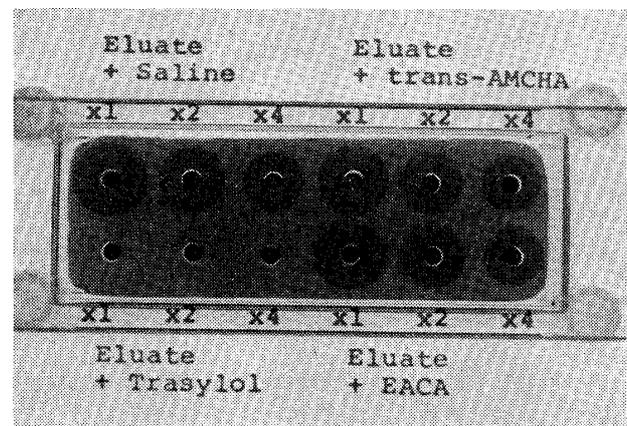
#### a) casein 分解作用

抽出物質が casein 分解作用を有することは既に述べた (図4)。

#### b) fibrin 分解作用

抽出物質が fibrin 分解作用を有するかどうかを fibrin film を用いて測定した。その結果、写真1

写真1 抽出物質による fibrin film の分解と阻止



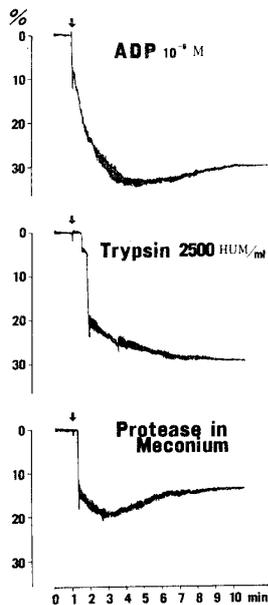
の如く fibrin film は著明に溶解された。またこの物質に Trasylol を加えて同様に行うと、この溶解リングは全く認められなかつた。即ち本物質の fibrin 分解作用は、Trasylol によつて完全に阻止された。また本物質に ipisilon aminocaproic acid (EACA), trans-AMCHA を加えた場合には、その作用は殆ど抑制されなかつた。このことからこの物質は、Trasylol では完全に抑制されるが、EACA, trans-AMCHA では抑制されない種類の蛋白分解酵素であることがわかつた。

### iii) 血小板凝集作用

抽出物質に血小板凝集作用があるかどうかを *in vitro* で観察した。予め血小板凝集計に apply した platelet rich plasma (PRP) に本物質を添加して、血小板凝集が起こるかどうかを観察した。

既に血小板凝集作用があることが知られた adenosine diphosphate (ADP) 及び trypsin についても併せ行つた。

図7 Aggregation of Platelets



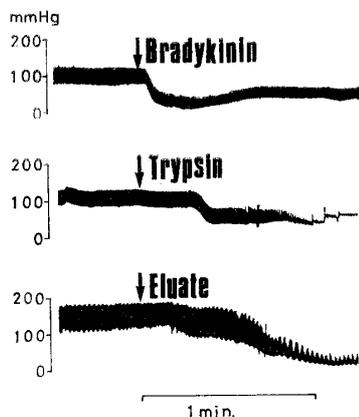
その結果、図7の如くADPでは添加後直ちに凝集が開始し、trypsinでは添加後或るlag phase(約30秒)をもつて凝集が開始した。抽出物質に関しても、trypsinと全く同様のlag phaseをもつて凝集が開始した。しかし、この凝集能は前者に比し軽度であった。

## iv) 血圧下降作用

抽出物質を静注し、下大動脈圧を測定したところ、図8の如く、静注後或るlag phase(約30秒)を以つて血圧は下降し、家兎はショックになり約5分後に死亡した。

またtrypsinについても同じく行つたところ、同様に約25秒のlag phaseを以つて血圧は下降

図8 抽出物質静注時の動脈圧の変動



し、約3分後に死亡した。

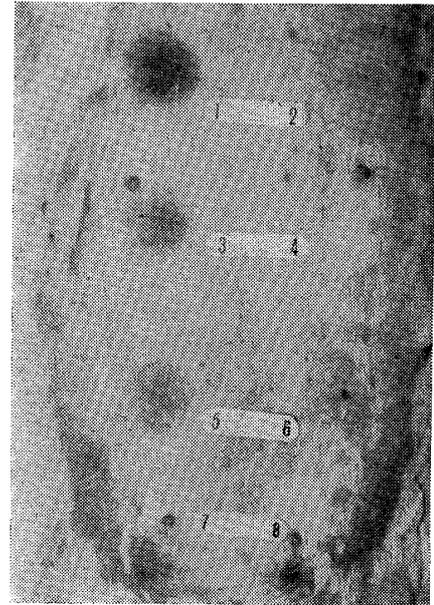
動物にtrypsinを静注するとbradykininが遊離すると云われているので、bradykininについても同様行つた。bradykininでは静注後直ちに血圧は下降した。しかし3分後には血圧は回復し、家兎は死亡しなかつた。

## v) 血管透過性作用

家兎の腹部を刈毛し、抽出ステップの各分画を皮内注射し血管透過性作用をみた。併せて対照(生食水)及びtrypsinについても行つた。

その結果、写真2の如くtrypsinと同様に、各分画とも血管透過性亢進作用を有することがわかつた。

写真2 抽出物質の血管透過性亢進作用



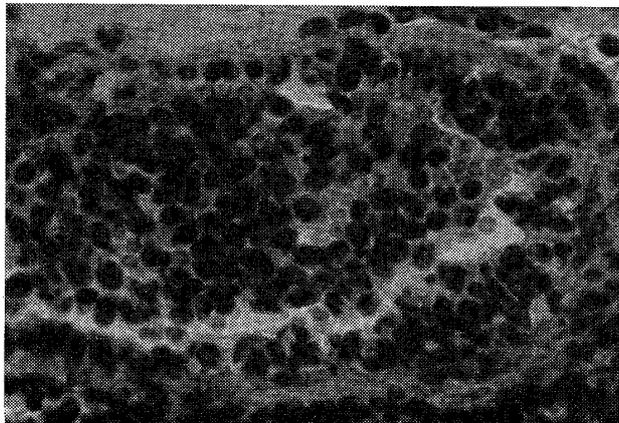
- |                  |                 |
|------------------|-----------------|
| 1) 胎便生食水懸濁液      | 2) trypsin      |
| 3) 硫安分画          | 4) 生食水          |
| 5) } Sephadex 分画 | 7) } D E A E 分画 |
| 6) }             | 8) }            |

## vi) 白血球遊走作用

上記血管透過性作用をみた実験で、抽出物質を注射した個所の組織標本を作成し、これを鏡検した。

その結果、写真3の如く多核白血球が血管内皮に鉤着(sticking)し、更に血管壁を通り抜け、次いで組織に向つて遊走(emigration)する像が認められた。

写真3 白血球の血管内皮への sticking 及び emigration



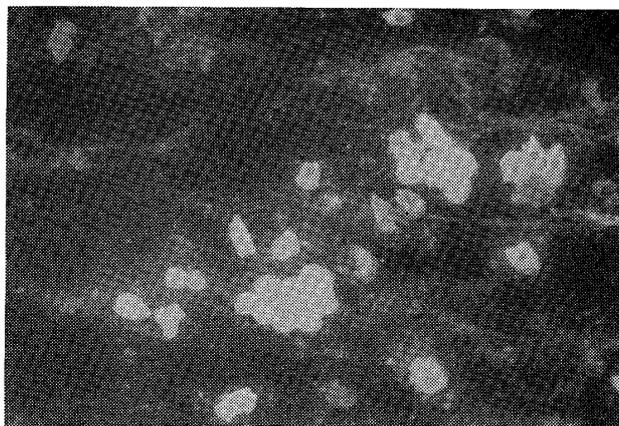
vii) 羊膜細胞の  $\alpha_1$ -antitrypsin

以上の実験から、胎便には trypsin 様の蛋白分解酵素が存在し、羊水塞栓症発生の超因物質になつてゐることがわかつた。一方、羊水中には trypsin の inhibitor である  $\alpha_1$ -antitrypsin が存在することは既に共同研究者らにより明らかにされている。この inhibitor が羊水中に存在することは、羊水塞栓症発生の防禦機構になつてゐるかも知れない。そこで羊水を取りまく羊膜も何等かの役割を果たすかも知れないので trypsin の inhibitor である  $\alpha_1$ -antitrypsin を選んで、これが羊膜に存在するか否かを、蛍光抗体法を用いて測定した。

その結果、写真4の如く多量の  $\alpha_1$ -antitrypsin が存在することがわかつた。

小括：胎便から抽出した物質の生物学的作用に

写真4 羊膜細胞の  $\alpha_1$ -antitrypsin ( $\times 100$ , 蛍光抗体法)



ついて検討した。本物質は in vitro で Ca 再加凝固時間を短縮（血液凝固亢進作用）させ、in vivo では、TEG上rの短縮、maの減少を来たし著明な血液凝固異常を発生せしめることがわかつた。また in vitro で血小板凝集作用も有することがわかつた。更に蛋白分解作用（casein 分解能、fibrin 分解能）をもち、この作用は Trasylol では阻害されるが、EACA, trans-AMCHA では阻害されない。また本物質の投与により血圧下降、血管透過性亢進、白血球遊走などもひき起こされることがわかつた。

抽出物質のもつこれらの作用は、trypsin のもつ作用に類似し、従つて本物質は胎便に存在する trypsin 様物質ではないかと考えられた。この物質が血中へ流入すると、上記の如き多様な生物学的反応をひき起こし、羊水塞栓症にみられるショック症状の発現に関与するものと思われた。

また一方、羊膜には trypsin の inhibitor である  $\alpha_1$ -antitrypsin が大量に存在することを明らかにした。これは血中流入への防禦機構の1つとも考えられた。

### 考 案

緒言で述べた如く、従来の成因論（羊水中の微粒物質による塞栓説）では、この疾患に必発する重篤なショック症状を説明することは出来ない。

共同研究者の尾池（1976）は、家兎に人羊水中の微粒物質を静注し、TEGを用いて血液凝固動態を観察しているが、TEG上maが軽度に増大するのみで著しい変動は認められず、大量に静注しない限り家兎は死亡しなかつたと述べ、一方、胎便生食水懸濁液の遠沈後上清を静注すると、TEG上に著明なrの延長とmaの減少を認め、肺細動脈には血栓形成を来たし、家兎はショック症状を呈し死亡したと述べている。

著者はこの胎便上清成分から凝固亢進性蛋白分解酵素を抽出し、家兎に静注したところ、同様にショック症状を呈し死亡した。著者の本実験に於ても、本症の成因には、従来の塞栓という物理的機序の他に、胎便の化学的物質が関与するとの結果を得た。この化学的物質は、恐らく胎便に存在

する *trypsin* と考えられる。

胎便に *trypsin* が存在することは、既に多くの研究者によつて明らかにされ、Mullinger (1966) らは、先天性膵臓疾患である *cystic fibrosis of the pancreas* の新生児の胎便には、*trypsin* の活性が殆ど認められず、一方、正常新生児の胎便には強い活性を認めたと報告している。

*trypsin* が各種の生物学的作用を有することは、良く知られている。

血液凝固に及ぼす作用に関しては、*in vitro* でも *in vivo* でも、血液凝固を亢進させることが知られ、Seegers (1967) によれば *prothrombin* から *thrombin* への転化促進作用をもつという。また Movat (1971) によれば、血小板を凝集するという。実際、*trypsin* は血管内血液凝固惹起物質として、動物実験に広く用いられている。

著者が抽出した蛋白分解酵素も *trypsin* と同様に、血液凝固系に作用すること、血小板を凝集させることがわかつた。抽出物質を家兎に静注すると、TEG上著明な *r* の延長、*ma* の減少がみられ、この変動は *trypsin* 静注時の変動〔尾池 (1976) が前述の実験の際に行つた〕と全く類似した変化であつた。血小板凝集作用については、血小板凝集計を用いて *in vitro* で測定したが、*trypsin* と同様の凝集がみられた。抽出物質を家兎に静注すると著明な血液凝固異常が起つたが、この物質がもつ血液凝固亢進、血小板凝集作用に基づく血管内血液凝固、更にこの物質が本来もつ蛋白分解作用に基づく、血中 *fibrinogen* などの分解によつて、血液凝固系に大きな変動を来たしたためと考えられた。

*trypsin* は更にショックを発生させる薬物としても知られている。

急性膵炎には、屢々ショックを伴うが、このショック発生の機序として、炎症で破壊された膵臓から *trypsin* が血中へ逸脱し、この逸脱した *trypsin* が *kallikreinogen* を活性化して *kallikrein* とし〔Werle (1955)〕、これらは更に血清  $\alpha_2$ -globulin 分画に存在する *bradykininogen*, *kallidinogen* を活性化して〔Rocha e Silva (1949)〕, *brady-*

*kinin*, *kallidin* とし、これらがいずれも血管拡張、細胞透過性亢進、疼痛作用を有するため、ショック症状が発生するものと考えられている。

動物に *trypsin* を静注すると血圧は下降する。Corrado (1966) らは、*trypsin* を犬に静注すると、投与量の増加に応じて血圧下降が増大し *kinin* が検出出来ると共に、*kininogen* の消費がみられたと報告している。

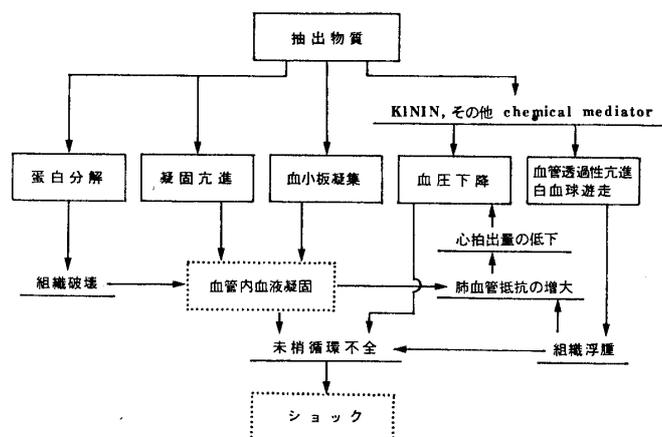
著者が家兎に同様静注した実験でも、静注後直ちに血圧は下降した。*kinin* の血圧下降作用は強力であり、この血圧下降は主として、血管拡張作用によつて末梢血管抵抗が減少し、末梢の血流が増加するためと考えられている。

著者の抽出した物質も、家兎の血圧を下降せしめた。この変動は *trypsin* 静注時の変動に類似し、静注後、或る lag phase をもつて下降し始めた。この lag phase は、*kinin* 遊離に要する時間か、または血管内血液凝固などが発生するまでの時間とも考えられる。抽出物質や *trypsin* では静注後、家兎はショックになり死亡したが、*kinin* の静注では血圧は下降するも、数分後には回復し家兎は死亡しなかつた。これは、抽出物質、及び *trypsin* では、*kinin* 放出以外に血管内血液凝固などの機序も手伝つて、循環動態に大きな異常を来たしたためと思われた。

更にまた、抽出物質は血管透過性を亢進させることがわかつた。

血管透過性が *kinin* により亢進することは、良く知られ〔Bhoola (1960), Majno (1961)〕, 抽出物質によつてみられた透過性亢進も、前述の *kinin* を介したものかも知れない。しかし、血管透過性の亢進は、種々の chemical mediator 即ち *histamine*〔Holdstock (1957)〕, *serotonin*〔Rowley (1964)〕, *permeability factor*〔Miles (1964)〕などによつても亢進することが知られ、その機序は明らかでない。抽出物質は血小板凝集作用をもつので、血小板破壊によつて、血小板から遊出した *serotonin* によるとも考えられよう。また、本物質の注射部位に、白血球が遊走することがわかつたが、この白血球を介した透過性の亢進も考

図9 抽出物質のショック発生機序



えられ、その機序は複雑である。しかし、いずれにせよ、抽出物質によつて血管透過性は亢進し、これによつて血中から血管外への水分の漏出、次いで血圧下降、末梢循環不全、肺浮腫へと繋がり、ショックの病態に關与する要素の一つになっているとも考えられる。

以上の成績をまとめると、図9の如くなる。

抽出物質は *trypsin* と全く同様の生物学的作用をもち（従つて抽出物質は恐らくは胎便に存在する膵臓由来の *trypsin* と考えているが）、即ち蛋白分解作用、血液凝固亢進作用、血小板凝集作用、更に二次的に発生する血圧下降作用、血管透過性亢進作用、白血球遊走作用などの作用を持ち、羊水塞栓症にみられるショックの病態に關与しているものと思われる。血管内血液凝固に伴う血栓形成、更には蛋白分解酵素が引き起こす多様な生体反応により、ショックが発生すると考えている。

しかし実際には、羊水塞栓症は稀な疾患であり、生体にはその防禦機構が存在すると考えられる。通常、胎便 (*trypsin*) が排泄されても、羊水、羊膜、血中などの  $\alpha_1$ -antitrypsin などによつて不活性化されるものと思われる。共同研究者の蔡 (1971) は、羊水中には  $\alpha_1$ -antitrypsin が血中 (200—400mg/dl) の $1/3$ 以下ながら存在することを明らかにし、著者も羊膜には  $\alpha_1$ -antitrypsin が存在することを明らかにした。しかし、大量の胎便の排泄では、この防禦機構も破綻することもあり得よう。

卵膜が大量の胎便によつて汚染 (meconium-stained amnion) されると脆弱化することは、屢々経験することであるが、これは卵膜が胎便中の *trypsin* などによつて分解されるのかも知れない。この卵膜の胎便汚染は、脆弱化、破水、胎便の血中流入へと繋がり、羊水塞栓症発生の場合を作ることにもなる。

羊水塞栓症では、多くの症例で肺に胎便由来の *mucin*、胆汁色素などが証明され、また Peterson and Taylor (1970) の綜説によれば、本症の35%に羊水の胎便汚染がみられたという。しかし、羊水の胎便汚染度については、すべての報告に記載があるとは限らず、今後注目して行く必要がある。

以上、羊水塞栓症の成因は、羊水中微粒物質の物理的塞栓に加え、胎便の化学的成分が關与することを明らかにした。即ち、胎便に存在する血液凝固亢進性蛋白分解酵素（恐らくは *trypsin*）が、起因物質の1つになっていると考えられ、更にこれは羊水塞栓症に必発するショックの病態にも關与するものと推察した。

稿を終るにあたり、御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師石塚直隆名古屋大学学長に深甚の謝意を表します。また直接の御指導を戴いた寺尾俊彦浜松医科大学助教授をはじめ数々の御援助を戴いた教室の各位及び共同研究者に厚く御礼申し上げます。

尚、本論文の要旨の一部は、第25回日本産科婦人科学会総会（昭和48年6月）のシンポジウムに於て発表した。

## 文 献

- 尾池純子 (1976) : 日産婦誌, 28, 359.  
 蔡 衍華 (1971) : 日産婦誌, 23, 125.  
 鈴木友二, 鹿取 信 (1973) : キニンとその周辺, 中外医学社.  
 棚瀬澄雄 (1975) : 日産婦誌, 27, 15.  
 寺尾俊彦, 竹内忠倫, 蔡 衍華, 棚瀬澄雄, 寺島寿一, 今井信昭, 尾池純子 (1973) : 日産婦誌, 25, 1009.  
 Bhoola, K.D., Calle, J.D. and Schachter, M. (1960): J. Physiol., 152, 75.  
 Corrado, A.P., Reis, M.L., Carvalho, I.F. and Diniz, C.R. (1966): Biochem. Pharmacol., 15, 959.  
 Holdstock, D.T., Matias, A.P. and Schachter, M. (1957): Br. J. Pharmacol., 12, 149.

- Majno, G. and Plalade, G.E.* (1961): J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 571.
- Miles, A.A. and Wilhelm, D.L.* (1955): Br. J. Path., 36, 71.
- Moviat, H.Z.* (1971): Inflammation immunity and hypersensitivity, 1st edition, 548, Harper & Row, N.Y. .
- Mullinger, M. and Palasi, M.* (1966): Pediatrics, 38, 657.
- Peterson, E.P. and Taylor, H.B.* (1970): Obstet. Gynecol., 35, 787.
- Rocha e Silva, M., Beraldo, W.T. and Rosenfeld, G.* (1949): Am. J. Physiol., 156, 261.
- Rowley, D.A.* (1964): Br. J. Exp. Path., 45, 56.
- Seegers, W.H., Marciniak, E., Kipfer, R.K. and Yasunaga, K.* (1967): Arch. Biochem. Biophys., 121, 372.
- Spector, W.G. and Willoughby, D.A.* (1964): J. Path. Bact., 87, 341.
- Werle, E., Forell, M.M. and Maler, L.* (1955): Arch. Exp. Path. Pharmacol., 225, 369.

(No. 3033 昭 51・1・12 受付)