

正常妊娠・分娩時の母体血中および子宮・胎盤組織中 N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) 活性の変動

滋賀医科大学産婦人科教室

*京都博愛会富田病院臨床検査科

曾我 洋士 竹中 章 須戸 龍男
笠原 一彦 吉田 吉信 下山 直樹*

Change of N-acetyl- β -glucosaminidase Activity in the Maternal Plasma and Utero-placental Tissues during Normal Pregnancy and Parturition

Hiroshi SOGA, Akira TAKENAKA, Tatsuo SUDO, Kazuhiko KASAHARA,
Yoshinobu YOSHIDA and Naoki SHIMOYAMA*

Department of Obstetrics and Gynecology, Shiga University of Medical Science, Shiga

**Department of Clinical Laboratory, Hakuai-kai Tomita Hospital, Kyoto*

概要 N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) は lysosome にある加水分解酵素の一つであり、細胞外間質の主成分である glycosaminoglycan (GAG) の分解を司る。今回正常経過の妊婦252名の血漿中 NAG 活性を測定するとともに、44例の帝王切開例で得られた羊膜、脱落膜および絨毛膜について陣痛発来前後の活性の変動を検討した。血中 NAG 活性は妊娠週数とともに上昇し、36週以後で非妊時の約7倍にも達し、陣痛発来後はさらに急激に上昇し、分娩終了後は速やかに低下した。組織中活性は脱落膜と羊膜で陣痛発来後に有意に低下したが、絨毛膜では変化が見られなかった。このことから妊娠・分娩時に増加する血中 NAG の由来が、脱落膜、および羊膜であること、陣痛発来後は、これらの組織から母体血中に NAG が遊離することが示唆された。したがって、NAG が GAG の分解を通じて、子宮頸部熟化に関与する可能性が示唆された。

Synopsis In the ripening of the uterine cervix during parturition, glycosaminoglycan (GAG) in the cervical extracellular matrix has been reported to undergo drastic changes i.e the increase in hyaluronic acid, and the decrease in dermatansulfate and chondroitin sulfate.

N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG; EC3.2.1.30), one of marker enzymes of lysosome, may also degrade extracellular GAG in the uterine cervix. This study is undertaken to determine if NAG plays a role in the ripening of the cervix during parturition.

The maternal plasma were collected from 252 women with normal pregnancy (5~41 weeks gestation). Amnion, chorion and parietal decidua were obtained from 20 patients at more than 36 gestational weeks who had undergone cesarian section (CS) prior to labor, and from 24 who had undergone CS after the onset of labor.

NAG activity in the maternal plasma gradually increased with the advance of gestation, and increased drastically after the onset of labor. The activity in the amnion and decidua, but not in the chorion, decreased significantly in the women who had undergone CS after the onset of labor compared with those who had undergone CS prior to labor.

It is concluded that NAG is released into the maternal circulation from lysosomes in amnion and decidua, and it is also estimated that NAG plays a role in the ripening of the uterine cervix during parturition by degrading GAG in the cervical extracellular matrix.

Key words: N-acetyl- β -glucosaminidase • Glycosaminoglycan • Lysosomal enzyme • Cervical ripening • Labor

緒 言

N-acetyl- β -glucosaminidase(NAG)は lysosome

の marker enzyme の一つであり, glycosaminoglycan(GAG)および糖蛋白の分解に関与する。この

酵素は腎尿細管などで強い活性を持ち、尿中NAG活性の測定は腎性疾患、とくに糖尿病腎症、腎性高血圧、妊娠中毒症などで広く臨床検査に応用されつつある。一方、血清中のNAGは、分子量 $11\sim13\times10^4$ の4量体からなる巨大分子で、腎糸球体を通し得ないことから、尿中NAGとは由来が異なることが知られている⁴⁾。最近では糖尿病、肝障害、心筋梗塞、SLEなどで高値を示すことが知られているが、臨床面の応用はほとんど見られていない。一方、分娩時子宮頸部の熟化に関しては細胞外間質の主成分の一つであるGAG組成に急激な変化が起こることが知られている。NAGはこのGAGの分解に関与することから、NAGが分娩と関係を有することが推測される。妊娠中NAG活性の変動については竹中ら⁷⁾と千住ら⁵⁾の報告が見られ、今回の検討では妊娠中の血中活性の変動とともに、陣痛発来後に本酵素活性が急激に増加することに着目し、子宮・胎盤組織中活性の変化を検討し、陣痛発来の機序についても考察を加え報告する。

対象と方法

血中NAGの測定では、非妊婦27例、正常妊娠(5～41週)婦人252例、産褥婦人12例を対象とし、妊娠中毒症、腎および心臓疾患を有する例、および明らかなIUGRの症例は除外した。血漿は分離後 -20°C に保存し、1週間以内に測定した。組織中活性は全て帝王切開例より得られ、陣痛未発来の症例20例、陣痛発来後のもの24例を対象とした。各々の羊膜、絨毛膜、壁側脱落膜は摘出後湿重量を測定し、図1のような方法では9倍量の0.25 M sucroseで、homogenizeの後に粗核分画を取り除いたのち、上清を10,000G、20分遠沈し、さらにこの上清を粗ライソゾーム分画とし、血漿では20 μl を直接試料とした。NAG活性測定はNAGテスト・シオノギのキットを用い、o-time blankをもつて対照とした。本法の原理はsodio-m-cresolsulfonphthaleinyl-N-acetyl- β -D-glucosaminideを基質として、この分解により生じたm-cresol purpleに0.3M sodium carbonate溶液を加え反応を停止するとともに発色させることにある。活性は1 μmole のm-cresol purpleを生じる量を1

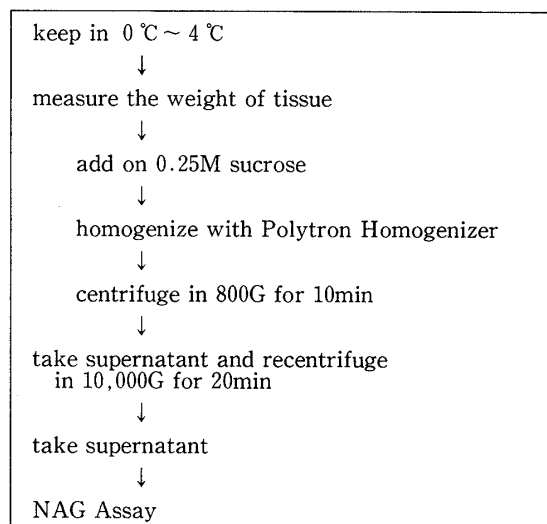


図1 Tissue preparation

単位とし、反応時間は 37°C 15分間、580nmの吸光度で測定を行なった。本法は、Sigma社製のNAG標品を使用して活性を測定したところ、活性は0.2～100units/lの間で完全に直線性を示し、interassay coefficient 5.2%以下、intraassay coefficientは1%以下で、満足すべき範囲であった。なお、活性値はF検定後にt検定により解析した。

結 果

1. 正常経過妊娠における血漿中NAG活性の変動

妊娠5週目ですでに血漿中NAG活性は11.2 IU/Lと非妊時7.3IU/Lに比し有意に上昇し、36週に至るまでゆるやかに上昇、36週以後はplateauとなり陣痛発来まで上昇は見られない。陣痛発来以後はさらに急激に上昇したが、分娩後は急激に低下した(表1)。陣痛との関係を詳細に検討するために、妊娠37週以後の婦人につき、測定日から陣痛開始日までの日数と、血漿中NAG活性の関係を示したものが図2であり、活性が陣痛発来後になり初めて上昇することが判る。

2. 羊膜、脱落膜、絨毛膜組織のNAG活性の変動

図3に示すように、脱落膜で2%の危険率で、羊膜で5%の危険率で、活性値は陣痛発来後に低下したが、絨毛膜では変化が認められなかった。

表 1 血漿中 NAG 活性

	No of cases	NAG activity (IU/l)
non-preg	27	7.3±1.4
5~ 9W	14	11.2±0.6
10~19W	9	14.5±1.2
20~24W	16	24.8±1.4
25~29W	17	31.6±2.4
30~35W	28	38.4±2.0
36~37W	44	42.6±1.5
38W	88	43.8±1.5
After onset of Labor 37W~	36	58.5±3.8
2days after delivery	12	14.43±1.28

p<0.001
p<0.001

考 察

NAG は分子量 12×10^4 の lysosome 酵素の一つで, glycosaminoglycans (GAG) およびムコ多糖類 から N-acetyl- β -glycosamine と galactosamine を遊離することが知られており, 生体内の GAG やムコ多糖類の分解に関与している. GAG は collagen とともに細胞外間質の主成分であり, 分娩時頸部熟化に際し頸部間質中

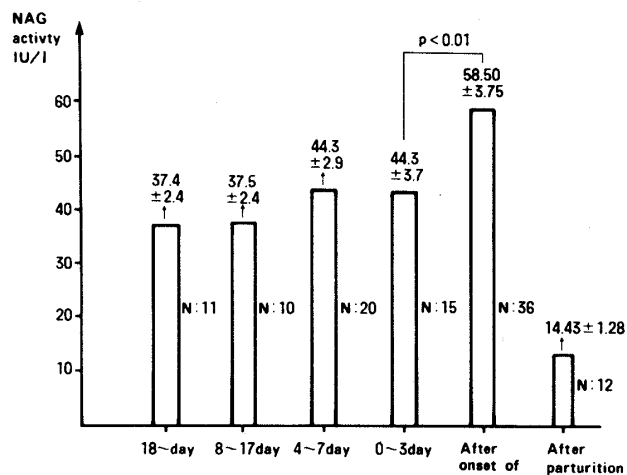


図 2 Plasma NAG activity before and after labor of term pregnancy (37W~)

GAG のうち hyaluron 酸が増加し, dermatan 硫酸, chondroitin 硫酸が減少することが知られているが, 妊娠・分娩時の GAG の合成, 分解の制御メカニズムについてはほとんど知られていない. 今回の検討では, 血中活性は妊娠週数に応じて上昇し, 陣痛発来後は再び急激に上昇すること, また分娩後は急速に低下することが明らかになった. また帝王切開例での組織中活性は, 羊膜と脱落膜で陣痛発来後は陣痛未発来のものに比し有意に低下することが示された. 今回の血中活性の変動は竹中ら⁷⁾, 千住ら⁵⁾の報告とほぼ同様である

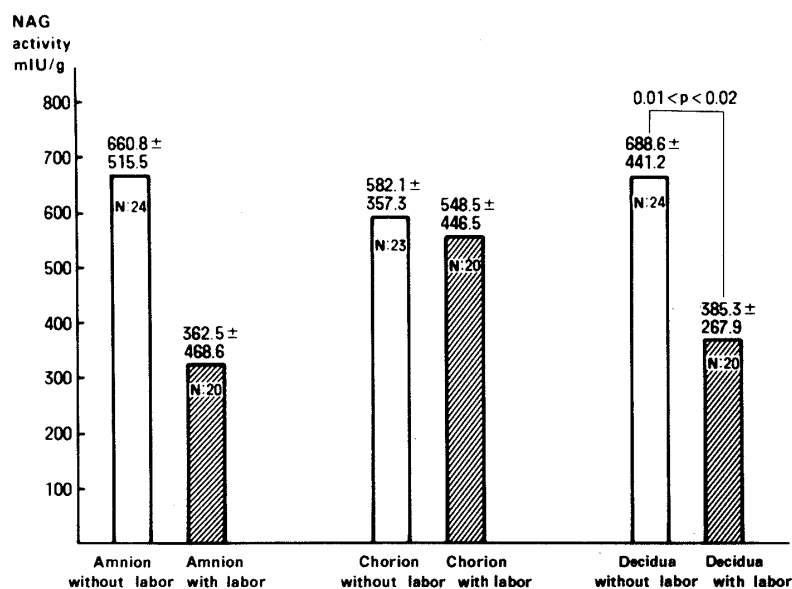


図 3 NAG activity in the tissue

が、NAGの妊娠に対する意義はまだ不明のままである。竹中らは陣痛前後の変動から、陣痛により受動的に組織中から血清へNAGの遊離が行なわれるのではないかと推測している⁷⁾。今回の研究により、陣痛前後でNAG活性が血中と組織中とでそれぞれ鏡面関係を示したこととなり、本酵素が脱落膜、羊膜由来であることが明らかとなった。分娩時には、NAGは陣痛により、あるいは陣痛発来と同様の機序により、これらの組織から母体血中に流出するであろうと推察された。

NAGはlysosomeの標識酵素の一つであり、今回の成績はlysosomeの分娩への関与を強く示唆する。羊水中のsurfactantなどの増加により¹¹⁾、あるいは子宮壁の物理的な進展により、あるいはまた妊娠末期のprogesterone低下に伴うestrogenの優位状態により、脱落膜および羊膜中のlysosome膜が不安定となりlysosome中のNAGなどのglycosidase類が母体組織および血中に流出し、extracellular matrix中のGAGに変動が起こり、頸部熟化が進むと言う仮説が提示可能であろう。

妊娠中に血中NAGが持続的に増加する事由は明らかでないが、羊膜、脱落膜の発育による重量増加を反映したものと推測される。あるいは、NAGが子宮内膜間質のGAGを分解することにより、絨毛の侵入を容易とする可能性も考えられる。

分娩に対する子宮・胎盤組織のlysosome酵素の役割は、今後検討されるべき重要な問題であるが、通常lysosome酵素の指標とされる酸性phosphataseおよび β -glucuronidaseではNAGのような変動は報告されておらず、本酵素を代表とするglycosidaseの検討が、分娩および頸部軟化とlysosome酵素の関係を明らかとする一助となるであろう。

今後は、切迫早産などの異常妊娠時のNAG活性の変動についても報告予定であり、また分娩時のlysosomeの役割を明らかとするために、本酵素活性を指標として、実験動物での人工早産時の検討も行なっており、臨床面および基礎的な研究

での応用が大いに期待される。

文 献

1. 飯村康夫, 島田 勇, 大貫佳子, 野口英郷, 河合忠, 浅野 泰, 川名廣明: 尿中NAG測定法の基礎的検討ならびに年代別におけるN-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)活性の正常値. 臨床病理, 31: 179, 1983.
2. 小橋隆一郎, 田代 護, 白石瑛盛, 座波嘉輝, 田坂哲哉, 池田忠子, 池田須枝子, 江上照夫, 伊藤武雄: Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Ratにおける血清N-Acetyl- β -D-glucosaminidaseの変動と動脈血管壁の組織化学的検討. 杏林医会誌, 16: 171, 1985.
3. 北橋 繁, 佐伯成子, 中 恵一, 赤井俊洋, 奥田清, 河野雅和, 安成憲一, 武田忠直: 高血圧症における尿中酵素活性一特に尿中NAG活性について. 最新医学, 40: 388, 1985.
4. 北橋 繁, 佐伯成子, 下條信雄, 中 恵一, 奥田清, 河野雅和: 血清中N-Acetyl- β -glucosaminidase (NAG)活性の臨床的意義. 臨床病理, 34: 687, 1986.
5. 千住 紀, 矢沢直行, 石井康夫, 鶴澤龍一, 高木康, 五味邦英, 樋口和海, 矢内原巧: 妊娠中の血清N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)活性とそのisoenzyme. 臨床病理, 34: 433, 1986.
6. 副島昭典, 長沢俊彦: 尿中N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) isoenzymeの分画測定と腎疾患におけるその測定の臨床的意義. 日内会誌, 73: 8, 1984.
7. 竹中 章, 松本治朗, 高橋良樹, 吉田吉信, 下山直樹, 富田 仁: 正常妊娠例における血清中N-Acetyl- β -glucosaminidase活性の変動. 産婦の進歩, 38: 159, 1986.
8. 高木繁夫, 田 根培, 坂元秀樹: 陣痛の起こり方, 進み方. 臨床と研究, 64: 120, 1987.
9. Barret, A.J. and Health, M.F.: Lysosomal enzyme. In Lysosomes, A. Laboratory Handbook (ed. J.T.P. Dingle), 81. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 1977.
10. Okasaki, T., Okita, J.R., MacDonald, P.C. and Johnson, J.M.: Initiation of human parturition. X. Substrate specificity of phospholipase A₂ in human fetal membranes. Am. J. Obstet. Gynecol., 130: 432, 1978.
11. Sbarra, A.J., Selvaraj, R.J., Cetrulo, C.L., Thomas, G., Louis, F. and Kennison, R.: Phagocytosis and onset of human labour. Am. J. Obstet. Gynecol., 146: 622, 1983.

(No. 6382 昭63・6・7 受付)