

胎盤形成過程における凝固線溶系、免疫系からみた妊娠中毒症発症機序の解析

Immunologic and Fibrinolytic analysis of Toxemia

東京女子医科大学産婦人科、*東京女子医科大学母子総合医療センター

安藤一人、佐倉まり、高眉揚、中林正雄*、武田佳彦*

Tokyo Women's Medical College Department of Obstetrics and Gynecology,
Maternal and Perinatal Center*

Kazuto Ando, Mari Sakura, Gao My, Masao Nakabayashi, Yoshihiko Takeda*

【目的】

胎盤形成過程において絨毛が脱落膜への侵入する機序には悪性腫瘍の浸潤と同様に線溶系酵素の関与が示唆されている。一方妊娠中毒症の発症機序には絨毛の脱落膜への侵入機序異常による胎盤形成不全が関与することが胎盤病理所見などから示唆されておりさらにその原因としては母体と胎児間の免疫応答の存在が推測されるがその詳細は不明である。

本研究では胎盤局所の状態を反映する可能性のある妊娠中期羊水を採取し正常分娩となった群と重症妊娠中毒症を発症した群における羊水中線溶系酵素、細胞外マトリックス (ECM) および各種サイトカインを測定し、妊娠中毒症発症機序における凝固線溶系および免疫系の関与について解析した。

さらに絨毛細胞と脱落膜細胞の培養系および組織抽出液を用い、羊水中線溶系酵素、ECM、サイトカインの由来を検討しサイトカインによる絨毛細胞の線溶活性およびECM産生の調節機序を検討した。

【対象と方法】

羊水は染色体検査を目的に採取した妊娠中期羊水46例 (妊娠15週～19週) と、CPDのため選択的帝王切開となった満期産例15例を対象とした。母体血は妊娠初期、20週、30週、満期の4期に

EDTA採血を行い、これらのうち妊娠経過が正常と判明している症例のtissue type plasminogen activator (tPA)、plasminogen activator inhibitor - 1 (PAI-1)、tPA-PAI-1 Complex、Fetal Fibronectin (FFN) をELISA法により測定した。

胎盤抽出液は正常正期産の胎盤を脱落膜、羊膜絨毛に分離しHomogenate後Tween-80で可溶化し検体とした。培養系は妊娠7～10週の人工妊娠中絶に得られた検体をナイロンメッシュ法、Percoll Gradient法により細胞分離をした。羊水、および培養上清中のTNF α 、IL1 β 、IL6、IL8をELISA法で測定した。

【成績】

妊娠中期羊水の中のtPA、PAI-1、tPA-PAI-1 Complex、FFNの値を妊娠経過正常と判明している群 (正常予備群) の値を100%として将来重症妊娠中毒症を発症した群 (重症妊娠中毒症発症群) と比較すると、tPAとPAI-1は両群に差はなく、tPA-PAI-1 Complexは重症妊娠中毒症発症群が有意 ($p<0.05$) に低く、FFNは重症妊娠中毒症発症群が有意 ($p<0.05$) に高値となった。(表1) 同じ検体を用いてサイトカインを測定するとIL6、IL8では将来重症妊娠中毒症を発症する群では正常予後群に比し有意 ($p<0.05$) に高値を示した。(表2)

表1 重症妊娠中毒症発症群と正常予後群における妊娠中期羊水中線溶系物質の比較

重症妊娠中毒症発症群		
	(正常予後群に対する%)	有意差
tPA	110.02 ± 21.78	NS
PAI-1	81.39 ± 13.16	NS
tPA-PAI-1 複合体	58.12 ± 9.96	p<0.05
FFN	146.95 ± 8.6	p<0.05

n=9 (Mean±SE)

n=9 (Mean±SE)

表2 重症妊娠中毒症発症群と正常予後群における妊娠中期羊水中サイトカインの比較

		重症妊娠中毒症発症群	正常予後群	有意差
		n=9	n=9	
TNF α	(pg/ml)	19.4±15.7	22.7±15.2	NS
IL1 β	(pg/ml)	60.4±7.2	55.0±22.1	NS
IL6	(pg/ml)	492.8±134.9	178.9±116.9	p<0.05
IL8	(pg/ml)	371.0±164.8	120.7±43.3	p<0.05

(Mean±SE)

羊水中の各物質の由来を知る目的で培養系を用いて産生の場合を調べた。正常胎盤の脱落膜、羊膜、絨毛の組織抽出液中のtPAとPAI-1を測定すると、tPAは脱落膜細胞培養中では 0.38 ± 0.05 ng/mg protein (Mean±SE)、絨毛細胞培養中では 0.59 ± 0.08 ng/mg protein、羊膜細胞培養中では 0.43 ± 0.06 ng/mg proteinであり絨毛細胞培養液が有意 (p<0.01) に高値でありtPAの羊水中の主たる産生のは絨毛細胞と考えられた。PAI-1は脱落膜細胞培養中では 268.3 ± 42 ng/mg protein、絨毛細胞培養中では 61.4 ± 20 ng/ml protein、羊膜細胞培養中では 88.1 ± 12.0 ng/ml proteinであり脱落膜細胞液が有意 (p<0.01) に高値でありPAI-1の羊水中の主たる産生のは脱落膜と考えられた。

IL6、IL8、FFNについても同様に培養液中の濃度を測定すると、IL6は脱落膜細胞培養上清中で 3960 ± 467 pg/mlと絨毛細胞培養上清中の 22.3 ± 2.8 pg/mlに比して有意 (p<0.01) に高値であった。IL8は脱落膜細胞培養上清中で 55980 ± 19820 pg/mlと絨毛細胞培養上清中の 126.8 ± 44.6 pg/mlに比し有

意に高値であった。IL6とIL8の羊水中の主たる産生のは脱落膜細胞と考えられた。FFNについては脱落膜細胞培養上清中では測定感度 (50ng/ml) 以下、一方絨毛細胞培養上清中では 55.4 ± 20.5 ng/mlであり、羊水中の主たる産生のは絨毛細胞と考えられた。

tPAとPAI-1について、正常妊娠例の羊水中と母体血中の変動を検討すると、tPAは母体血中、羊水中ともに妊娠20週頃にピークに達し以後羊水中では減少し血中ではほぼ横這いとなるが、妊娠のどの時期においても母体血中の濃度が羊水中濃度より高値 (妊娠20週ごろで母体血中濃度 4.28 ± 0.45 ng/ml、羊水中濃度 2.83 ± 0.78 ng/ml) も示した。PAI-1は母体血中、羊水中ともに妊娠20週まではほぼ同濃度 (約25ng/ml) であるがその後羊水中のPAI-1は直線的に急速に増加し、妊娠週数にともなってゆるやかに上昇する母体血中に比べて極めて高値を示した。FFNは羊水中で高く妊娠15～20週でピークがありその後減少した。ピーク時は 101.8 ± 20.7 μ g/mlありこれは母体血中FFN濃度のおおよそ10

図1 The fetal fibronectin levels in amniotic fluid and maternal plasma

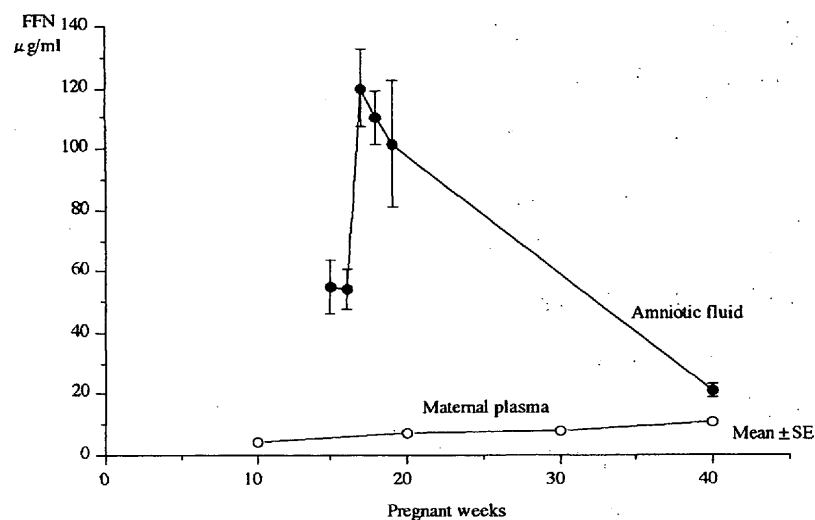
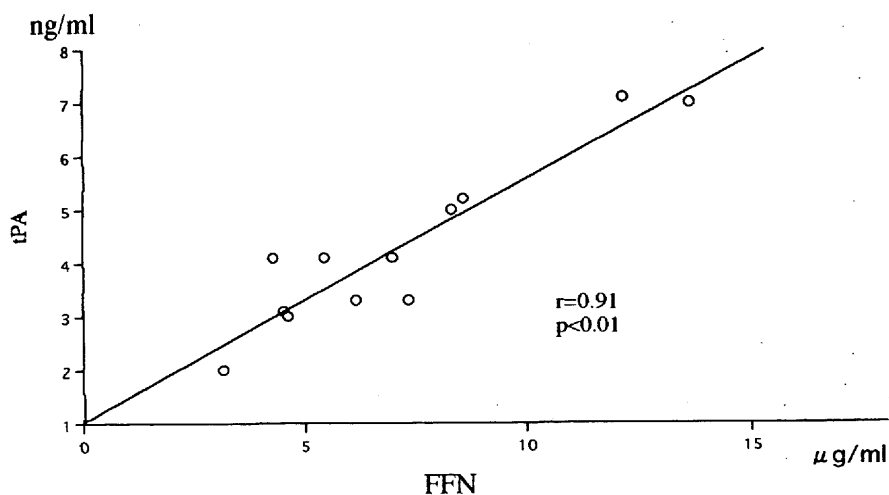


図2 Correlation of tPA and fetal fibronectin in 20th weeks



倍を示した。(図1) 妊娠20週における母体血中のtPAとFFNの相関は極めて良好 ($r=0.91$, $p<0.01$) であった(図2)。羊水中のFFNとIL6、IL8も将来妊娠中毒症を発症する群で高値をとっていることから絨毛細胞由来のFFNと脱落膜細胞由来のIL8の相互作用をみるために、絨毛細胞培養系に種々の濃度のIL8を添加し24時間培養後の上清中FFNを測定したところコントロール群に比べ3倍に増加することが示唆された。IL6も同様の添加実験を行ったが濃度依存性の産生亢進は明らかでなかった。

【考察】

将来妊娠中毒症を発症する群において妊娠中羊

水中のIL6、IL8が高値を示したことより母児間の免疫応答が妊娠中毒症の発症機序に関わりをもつことが示唆された。絨毛細胞由来であるFFNの羊水中濃度は妊娠20週頃がピークになることおよび羊水中tPA(絨毛細胞由来)が同時期にピークを示すことより妊娠20週ごろの胎盤形成期にFFNとtPAが密接に関与していることが示唆される。また将来妊娠中毒症を発症する群において羊水中FFNとIL8がともに高値を示し、かつIL8の添加実験によって培養絨毛細胞のFFN産生が亢進することより羊水中のFFNの増加は脱落膜のIL8による可能性が示唆され胎盤局所における免疫系、FFN、tPAの相互関係の存在が示唆された。

【結論】

1. 将来重症妊娠中毒症を発症する群では、正常予後群に比べて妊娠中期羊水中のFFN、IL6、IL8が有意に高値であった。2. 羊水中のIPA、FFNの由来は絨毛でありIL6、IL8の由来は脱落膜細胞と考えられた。3. 胎盤形成には、線溶系酵素が密接に関連し羊水は胎盤局所を反映し、母体血は胎盤局所の凝固線溶系動態の影響をうけることが示唆された。4. IL8は絨毛細胞の培養系で濃度依存性にFFN産生を亢進させた。5. 妊娠中毒症の発症には母体免疫系、主としてIL8が高値となり胎児の絨毛細胞に作用して絨毛のFFN産生を亢進させることが示唆され、妊娠中毒症の発症に母児間の免疫応答が存在することが示唆された。

【文献】

- 1) 佐倉まり、高眉揚、安藤一人、中林正雄、武田佳彦
妊娠中毒症における母体血漿中
FetalFibronectin値の変化
日本妊娠中毒症学会雑誌 1993. Vol1 :p55-56
- 2) Lockwood CJ,Senyei AE,et al.
FetalFibronectin in cervical and vaginal secretions
as a predictor of preterm delivery
New England Journal of Medicine 1991;
Vol325:p669-674
- 3) Roberts JM,Taylor RN,et al
Preeclampsia:An endothelial cell disorder
Am J Obstet Gynecol 1989;Vol 161:p1200-1204