

原 著

〔東女医大誌 第67巻 第12号〕
〔頁 973～982 平成9年12月〕子宮内胎児発育遅延における絨毛の抗血栓機能の
意義に関する研究

東京女子医科大学 産婦人科学教室（主任：武田佳彦教授）

*同 母子総合医療センター

ナカタニ アキコ ナカバヤシ マサオ タケダ ヨシヒコ
中谷 明子・中林 正雄*・武田 佳彦

（受付 平成9年7月28日）

The Involvement of the Antithrombotic Function in the Chorionic Villi with the Onset of Intrauterine Growth Retardation**Akiko NAKATANI, Masao NAKABAYASHI* and Yoshihiko TAKEDA**

Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. Yoshihiko TAKEDA),

*Maternal and Perinatal Center, Tokyo Women's Medical College

It is suggested that a hemoconcentration and hypercoagulation are strongly related to the onset of intrauterine growth retardation (IUGR) through the deterioration of the placental circulation. The chorionic villi in the placenta will maintain the microcirculation and fetomaternal transportation in the placenta by its strong anticoagulant activity, which is affected with maternal blood hypercoagulation.

In this study, two kinds of anticoagulant [maltose-heparin (M-H) or antithrombin III (ATIII)] were given to pregnant women with IUGR. The patients were divided into two groups according to their maternal hematocrit (Hct) levels, a normal Hct (N-H) group ($32.4 \pm 1.3\%$, mean \pm SE) and a high Hct (H-H) group ($40.0 \pm 0.5\%$). The M-H therapy was effective in the N-H group (the increment of estimated fetal body weight measured by ultrasound was 26.6 ± 3.7 g/day), but it was not effective in the H-H group (11.1 ± 2.1 g/day), while the ATIII therapy was effective in the H-H group (20.6 ± 4.0 g/day).

To clarify the effects of ATIII on the placental circulation, the culture system of chorionic villi was applied. By the addition of ATIII to the culture medium, the production and release of prostacyclin by villous cells and the contents of cellular thrombomodulin, which acts as an inhibitor of thrombin, which acts as an inhibitor of thrombin, were significantly increased.

It is suggested that ATIII therapy will improve placental circulation through the increase of anticoagulant activity in the chorionic villi, all of which result in the improvement of IUGR.

緒 言

子宮内胎児発育遅延 (intra uterine growth retardation: IUGR) は、胎児仮死、子宮内胎児死亡の原因となる可能性が高く、IUGR の発症機序の解析およびその治療は、周産期領域における重要な課題である。IUGR の発症機序として、母児間の物質交換の場である胎盤の循環障害が重要な役

割を果たしていると推測されている。代表的な IUGR の原因である重症妊娠中毒症の胎盤では、梗塞やフィブリン沈着が多くみられることから¹⁾、胎盤の循環障害の病態には局所での血液凝固亢進が関与していると考えられている。

また重症妊娠中毒症では母体の血液性状に大きな特徴がある。すなわち、血管透過性の亢進によ

り血液濃縮が起こり、循環血漿量が低下して末梢循環不全となることと、血液凝固亢進が起こり慢性 disseminated intravascular coagulation (DIC) ともいえる状態となることである。胎児発育に直接的に関係する胎盤循環は、このような母体側の要因により大きな影響を受けるものと推測される。

こうした病態の解析から、IUGR の胎内治療としてヘパリンや antithrombin III (ATIII) を用いた抗凝固療法が試みられ、その効果が期待されるようになってきた。

最近の研究により血液の抗血栓機能調節に血管内皮が重要な役割を持つことがわかってきた。すなわち、血管内皮細胞は強い血小板凝集抑制作用と、平滑筋弛緩作用を持つ PGI_2 を産生し、またその細胞膜上にはトロンビンと結合して、抗血栓的な働きをする thrombomodulin (TM) が存在している。さらに細胞膜上のヘパラン硫酸 (heparan sulphate: HS) は、ATIII をコファクターとして、トロンビン・ATIII 複合体を作りトロンビンを失活させる作用を有している²⁾³⁾。

一方母体血が流入する絨毛間腔は母児間の物質交換の場であるが、絨毛上皮はその機能的立場から血管内皮と類似し、抗血栓機能調節機序を有している可能性が極めて高いと考えられる。事実血管内皮細胞表面にみられる TM は、絨毛表面の栄養合胞細胞に豊富に存在することが明らかとなっている。IUGR の胎内治療として効果が期待される抗凝固療法は、母体の全身的な血液性状の改善だけでなく絨毛細胞に対しても何らかの作用をすることが推測される。

本研究では、IUGR に対して抗凝固療法を行い、その治療成績を母体の血液性状とともに解析し、さらに胎盤絨毛細胞の抗血栓機能について基礎的研究を行った。

対象および方法

1. IUGR 例に対する抗凝固療法

対象は妊娠34週未満の妊婦で、超音波検査で IUGR と診断され、当院に入院管理となった23例である。多胎、胎児奇形、染色体異常児は除いた。23例中、マルトース・ヘパリン療法 (以下 M-H 療

法) を行った例は16例、ATIII 補充療法 (以下 ATIII 療法) を行った例は7例である。

M-H 療法は、10%マルトース液500ml にヘパリン5,000単位を加え、12時間毎に点滴静注した。ヘパリンによる抗凝固効果は activated partial thromboplastin time (APTT) の著しい延長が認められなくても、5,000単位投与で有効である⁴⁾とされており、APTT 値は1.5~2 倍以上に延長しないように注意し、1週間連日投与した。

ATIII 療法は母体 ATIII 活性が80%以下の例に対して、ATIII 製剤を1日量1,500単位から3,000単位を ATIII 活性値100%を目安として2~3日間、静脈内投与した。

胎児発育については超音波検査により、大横径 biparietal diameter (BPD)、軀幹前後径 anteroposterio trunk diameter (APTD) 値、軀幹横径 transverse trunk diameter (TTD) 値、大腿骨長 femur length (FL) 値を測定し、APTD×TTD 値が、胎児発育曲線⁵⁾の-1.5SD 以下の例を IUGR とした。推定児体重は、東大篠塚の式 ($1.07 \times \text{BPD}^3 + 3.42 \times \text{APTD} \times \text{TTD} \times \text{FL}$)⁶⁾により算出した。また、BPD 値、APTD×TTD 値、推定児体重について、治療期間中の1日あたりの成長を算出した。

母体の血液性状としては、血液濃縮の存在に注目し、ヘマトクリット (Ht) 値を中心に検討した。Ht 値については、妊娠30週の合併症のない正常妊婦20例をコントロール群とした。さらに、血小板数、ATIII 値について検討した。

2. 絨毛細胞における抗血栓機能の調節について

1) 細胞培養・使用薬剤について

妊娠6~11週の妊娠中絶例の絨毛を、患者の同意を得た上で採取し、生理食塩水で洗浄後、細切した。0.1%コラゲナーゼ (和光純薬、大阪、日本)、0.01%デオキシリボヌクレアーゼ (フナコシ、東京、日本) で処理し、濾過、遠心した後、40%パーコール (Pharmacia, Uppsala, Sweden) に重層して遠心し、絨毛細胞を含む分画を採取した。これを fetal calf serum 添加 medium 199 (GIBCO BRL, Rockville, MD, USA) で48時間5%CO₂,

95%O₂下で静置培養し、実験に用いた。

2) 絨毛細胞上のトロンビン結合, ATIII 結合について

培養細胞にトロンビン (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany) 1IU/ml を添加し、上清中の残存トロンビン活性を経時的に測定し、ATIII (日本ヘキスト・マリオン・ルセル社, 東京, 日本) 0.25unit/ml を加えた場合、ヘパリチナーゼ (SIGMA, St. Louis, MO, USA) 1IU/ml により前処理し、ATIII 0.25unit/ml を加えた場合について検討した。

3) 絨毛細胞の PGI₂ 産生に対する ATIII の作用

培養細胞に ATIII を添加し、prostaglandin (PG) I₂ 産生および human chorionic gonadotropin (hCG) 産生を、時間依存性 (3~9 時間)、用量依存性 (0.5~2unit/ml) について検討した。また培養細胞にヘパリン (関東ケミカル, 東京, 日本) 25μg/ml と ATIII 1unit/ml を添加した場合と、ヘパリチナーゼで前処理した後 ATIII を添加した場合における PGI₂ 産生について検討した。

4) 細胞内 TM 量について

培養絨毛細胞に ATIII を添加し、細胞内 TM 量を測定した。また、ATIII を添加した場合の PGI₂ 産生と細胞内 TM 量の関係について検討した。

5) 測定項目

PGI₂ の安定代謝物質として、培養上清中の 6 keto-PGF_{1α} を RIA 法 (SRL), hCG を ELISA 法 (エルモテックキット, 持田製薬), トロンビン活性を Chromozym TH (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany) による合成基質法でそれぞれ測定した。細胞内 TM は上清除去後、細胞をトライトン X で可溶化し、EIA 法 (三菱ガス化学) で測定した。

3. 統計学的検討

胎児発育, 母体 Ht 値, 血小板数の結果, 治療開始週数, 分娩時週数, 出生体重は mean±SE で表し, 治療別群間の比較検討に分散分析, Fisher's PLSD 法を用い, 治療前後 ATIII 値の比較に

Student's dependent t-test を用いた。母体の重症妊娠中毒症合併, 治療前胎児プロポーション, 出生時 IUGR の有無についての検討はカイ 2 乗検定を用いた。また, 細胞上トロンビン活性, PGI₂ 産生についての結果の解析には Student's t-test を用いた。

結 果

1. IUGR 例に対する抗凝固療法の検討

1) 母体 Ht 値について

IUGR 例の母体要因として母体の血液濃縮に注目し, Ht 値について検討した。本研究で対象とした IUGR 例の治療前 Ht 値は $36.6 \pm 0.9\%$ (mean±SE) であり, 妊娠30週正常妊婦 (コントロール群) の Ht 値 $32.4 \pm 0.6\%$ に比べ, 有意 ($p < 0.01$) に高値であった。M-H 療法, ATIII 療法施行例 (ATIII 群) の治療前母体 Ht 値をコントロール群の Ht 値と比較すると, コントロール群では $32.4 \pm 0.6\%$, M-H 療法群では $36.2 \pm 1.2\%$, ATIII 群では $37.5 \pm 1.2\%$ であり, M-H 群, ATIII 群ではコントロール群に比し有意 ($p < 0.01$) に高値であった。さらに M-H 療法群を, コントロール群の mean+1.5SD 値である 36.8% をカットオフ値とし, M-H 正常 Ht 群と M-H 高 Ht 群とに分けた。M-H 正常 Ht 群では $32.4 \pm 1.3\%$, M-H 高

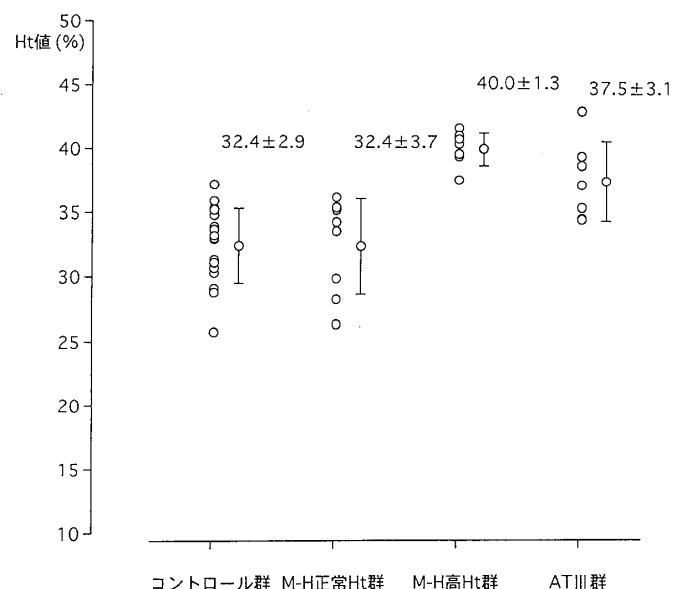


図1 治療前母体ヘマトクリット値
mean±SD 値を示す。コントロール群は妊娠30週正常妊婦。

表1 各群の臨床データ

| | M-H 正常 Ht 群 (n=8) | M-H 高 Ht 群 (n=8) | ATIII 群 (n=7) | |
|---------------------------------|----------------------|---------------------|------------------|-----------|
| 年齢(歳) | 29.4±1.2 | 30.0±1.7 | 28.3±1.6 | n.s. |
| 重症妊娠中毒症合併例数 | 1 | 4 | 4 | p<0.01*** |
| 治療開始週数(週) | 32.1±0.6 | 30.4±0.9 | 31.5±0.9 | n.s. |
| 分娩時週数(週) | 37.5±1.2* | 34.5±1.0 | 33.7±1.4* | p<0.05* |
| 出生体重(g) | 2,047±233* | 1,372±238* | 1,466±224 | p<0.05* |
| 出生時体重-1.5SD 以下例数 | 4 | 7 | 4 | p<0.01*** |
| 治療前母体 Ht 値(%) | 32.4±1.3** | 40.0±0.5** | 37.5±1.2* | p<0.001** |
| 治療後母体 Ht 値(%) | 32.4±1.3** | 38.6±1.1** | 36.1±1.1* | p<0.001** |
| 治療前母体血小板数(×10 ⁴ /μl) | 23.3±2.2 | 28.2±2.2 | 22.7±1.4 | n.s. |

mean±SE, n.s.: not significant, M-H: maltose-heparin, ATIII: antithrombin III, Ht: ヘマトクリット, *, **: 分散分析, Fisher's PLDS 法による, ***: カイ 2 乗検定による。

Ht 群では40.0±0.5%となり、コントロール群と M-H 正常 Ht 群では有意差はなかった。ATIII 群と M-H 正常 Ht 群とを比較すると有意に ATIII 群は高値であった。M-H 高 Ht 群と ATIII 群は有意差は認めなかった(図1)。

以下の検討を、M-H 正常 Ht 群、M-H 高 Ht 群、ATIII 群の3群に分けて行った。

治療後の Ht 値については、表1に示すごとく各群について治療の前後で差は認めなかった。

2) 母体の臨床症状について

重症妊娠中毒症合併例が、M-H 正常 Ht 群8例中1例、M-H 高 Ht 群8例中4例、ATIII 群7例中4例あり、Ht 値が高値である群で、重症妊娠中毒症が約半数を占めており、M-H 正常 Ht 群に比し有意(p<0.01)に高率であった。

3) 母体血小板数について

治療前の母体血小板数は表1に示すごとく、各群間で差は認めなかった。また治療前後での差も認めなかった。

4) 母体 ATIII 活性値について

ATIII 群について、治療前後の ATIII 活性値を検討した。図2に示すごとく ATIII 療法後の ATIII 活性は治療前に比して有意に改善した。

5) 治療開始妊娠週数について

治療開始妊娠週数は、表1に示すごとく3群間で有意差は認めなかった。

6) 胎児発育について

治療前の胎児発育については、M-H 正常 Ht

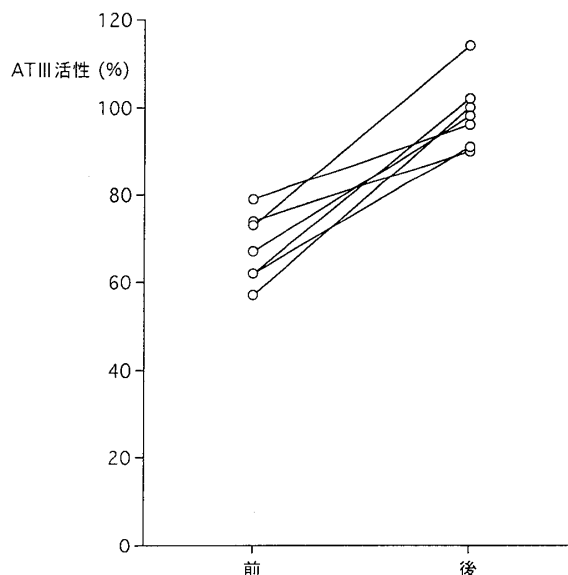


図2 ATIII 療法前後の ATIII 活性値

表2 治療前胎児発育

| | BPD 値 (cm) | APTD×TTD 値 (cm ²) | 推定児体重 (g) |
|-------------|---------------|----------------------------------|---------------|
| M-H 正常 Ht 群 | 7.5±0.2 | 45.8±2.8 | 1,311.6±99.7 |
| M-H 高 Ht 群 | 7.2±0.4 | 40.6±4.5 | 1,073.5±167.4 |
| ATIII 群 | 7.5±0.2 | 45.4±4.0 | 1,280.0±123.3 |

mean±SE, BPD: biparietal diameter, APTD: antero-postero trunk diameter, TTD: transverse trunk diameter.

群、M-H 高 Ht 群、ATIII 群の各群の超音波検査による推定児体重は、各群間で差はなかった(表2)。プロポーションについてみると、頭部発育を示す BPD 値が-1.5SD 以下である例は、M-H 正常 Ht 群は8例中3例、M-H 高 Ht 群は8例中3

表3 治療期間中の1日当たり胎児発育

| | BPD 値 (mm/day) | APTD×TTD 値 (cm ² /day) | 推定児体重 (g/day) |
|-------------|-------------------|--------------------------------------|------------------|
| M-H 正常 Ht 群 | 0.40±0.08 129% | 0.86±0.14 134% | 26.6±3.7 113% |
| M-H 高 Ht 群 | 0.13±0.04 42% | 0.23±0.07 36% | 11.1±2.1 47% |
| ATIII 群 | 0.36±0.10 116% | 0.49±0.11 77% | 20.6±4.0 87% |

mean±SE, BPD: biparietal diameter, APTD: anteroposterio trunk diameter, TTD: transverse trunk diameter.

%: 妊娠26～36週の胎児発育標準曲線より算出した発育を100%として表わした。

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$.

例, ATIII 群は7例中2例であり, 有意差はなかった。軀幹発育を示す APTD×TTD 値は全例-1.5SD 以下であり, いずれの群も軀幹発育は遅延していても頭部発育は保たれている例が多かった。

超音波検査によって計測した治療期間中の胎児発育を1日あたりに換算し, 表3に示す。妊娠中期の胎児発育はほぼ直線的であり, 妊娠26～36週の超音波検査による胎児発育標準曲線から1日当たりの胎児発育を算出すると, BPD 値は0.31 mm/day, APTD×TTD 値は0.64cm²/day, 児体重は23.6g/day の伸びを示す。これを標準値として, 治療期間中の胎児発育についてこの標準値の%で表し, 表3に示した。M-H 正常 Ht 群では児発育は頭部, 軀幹ともに良好な発育を示したが, M-H 高 Ht 群では頭部, 軀幹とも発育は不良であり, この2群間の児発育は頭部, 軀幹とも有意差 ($p<0.05$) を認めた。ATIII 補充療法では, 頭部は標準値以上の良好な発育を示し, 軀幹は統計的に差は認めなかったものの, 平均値は HM 高 Ht 群よりも高値を示した。

7) 分娩時週数について

表1に示すごとく M-H 高 Ht 群, ATIII 群は M-H 正常 Ht 群に比して, 有意 ($p<0.05$) に早い週数で分娩になった。

8) 出生体重について

表1に出生体重を示す。M-H 高 Ht 群では M-H 正常 Ht 群に比して有意 ($p<0.05$) に出生体重は低かった。出生体重が-1.5SD 以下である例

は, M-H 正常 Ht 群では8例中4例, M-H 高 Ht 群では8例中7例, ATIII 群では7例中4例であり, M-H 高 Ht 群では他2群に比して, 有意 ($p<0.01$) に高率であった。

2. 絨毛細胞の抗血栓性について

1) 絨毛細胞のトロンビン結合について

培養細胞上清中にトロンビンを添加するとトロンビン活性は5分後は98%, 15分後には45%に減少した。ATIII をトロンビンとともに添加した場合は5分後のトロンビン活性は81%とトロンビン単独添加の場合に比して有意 ($p<0.01$) に減少し, トロンビン活性減少の促進が認められた。またヘパリチナーゼによる前処理を行いトロンビンを添加した場合には, 5分後のトロンビン活性は91%となり, ATIII を加えた場合に比して有意 ($p<0.05$) に高値であり, 活性減少は認めなくなった (図3)。

2) 絨毛細胞の PGI₂ 産生に対する ATIII の作用

培養系の培地を無血清培地に替えて ATIII を終濃度1U/ml で添加し, 3, 6, 9 時間後の上清中6keto-PGF1 α を ATIII 無添加の場合と比較した。無血清培地 (以下これをコントロールとする) の6keto-PGF1 α は経時的に増加し, ATIII の添加により, 6 時間後 (36.3±3.9pg/ml) でコントロール (25.5±2.3pg/ml) に比して有意 ($p<0.05$) に亢進を示した (図4)。ATIII を0.5～2unit/ml の各終濃度で添加すると, 6keto-PGF1 α は用量依存性に増加し, 生理的濃度の1unit/ml で

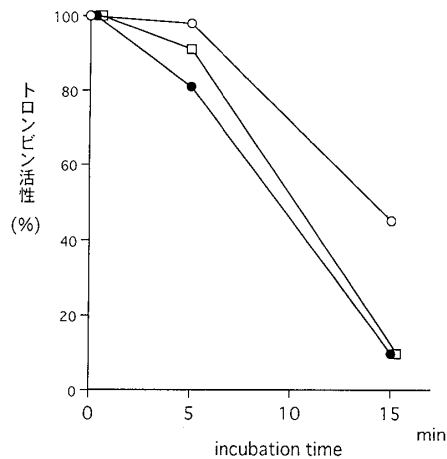


図3 トロンビン活性に対する ATIII の影響

○：コントロール，培養細胞上清中にトロンビンを添加し，経時的に上清中トロンビン活性を測定，●：トロンビンとともに ATIII を添加，□：培養細胞をヘパリチナーゼにより前処理した後トロンビンと ATIII を添加。

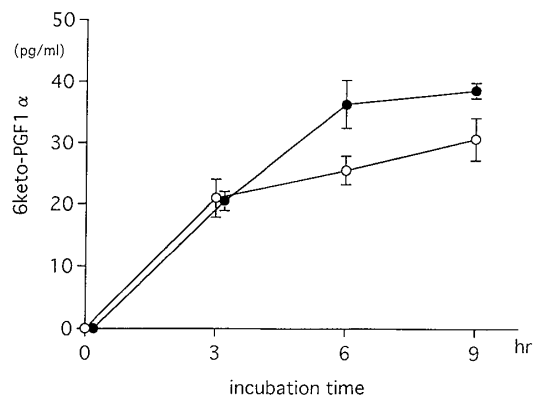


図4 絨毛細胞における PGI₂ 産生

○：コントロール，●：ATIII 添加，n=4，mean±SE.

122.2±20.6pg/ml と，コントロール (85.2±7.3 pg/ml) に比し有意 (p<0.05) に亢進が認められた (図5)。

ATIII とともにヘパリンを添加した場合は培養上清中の6keto-PGF1α の増加は認められなくなり (78.3±6.2pg/ml)，ATIII 単独添加した場合 (95.7±2.0pg/ml) より有意 (p<0.05) に低値を示し，コントロール (78.3±6.0pg/ml) とほぼ同値となった。また，培養細胞をヘパラン硫酸の特異的分解酵素であるヘパリチナーゼで前処理した後 ATIII を添加すると，培養上清中の6keto-PGF1α の増加は認められなくなった (図6)。

3) 絨毛細胞の hCG 産生に対する ATIII の作

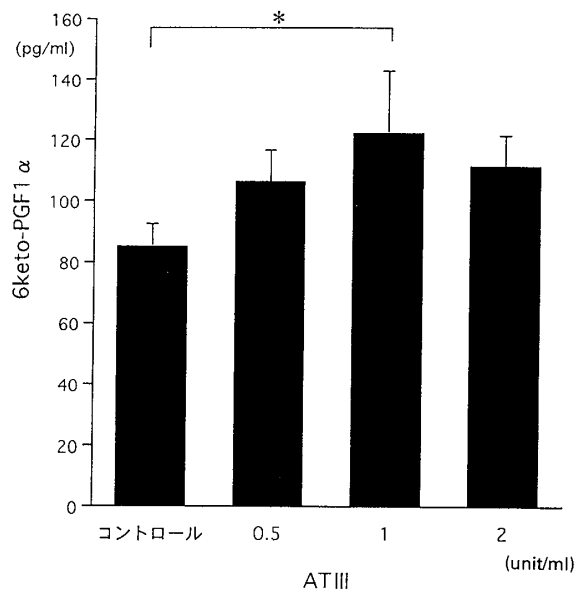


図5 絨毛細胞の PGI₂ 産生に対する ATIII の影響
n=14，mean±SE，*：p<0.05.

用

ATIII を0.5～2unit/ml の各終濃度で添加したが，培養上清中の hCG はそれぞれ有意差はなく，ATIII により hCG 産生は影響を受けなかった (表4)。

4) 細胞内 TM 量について

培養細胞上清中に ATIII を0.5～2unit/ml の各終濃度で添加すると，細胞内 TM 量は1unit/ml で73.6±8.1IU/ml に増加し，コントロール (38.6±4.3IU/ml) に比して有意 (p<0.01) に増加した (表4)。また，培養上清中の6keto-PGF1α と細胞内 TM 量の関係は，相関係数0.72で有意 (p<0.01) に正の相関を示した (図7)。

考 察

IUGR 例に対して M-H 療法と ATIII 補充療法を行った。M-H 療法は胎児発育に不可欠な糖質であり，かつ母体のインスリン発動の少ないマルトースとヘパリンを用いた治療法である。マルトースの胎盤通過性は母児血中濃度比で50%と良好である^{6)~9)}。ヘパリンは胎盤通過性がなく，ATIII の抗トロンビン作用を強力に促進して抗凝固性を発揮するので，胎盤循環の改善を目的に用いられる。

M-H 療法により胎児発育は，母体 Ht 値が正常域では促進されるが，母体 Ht 値が高値の場合は

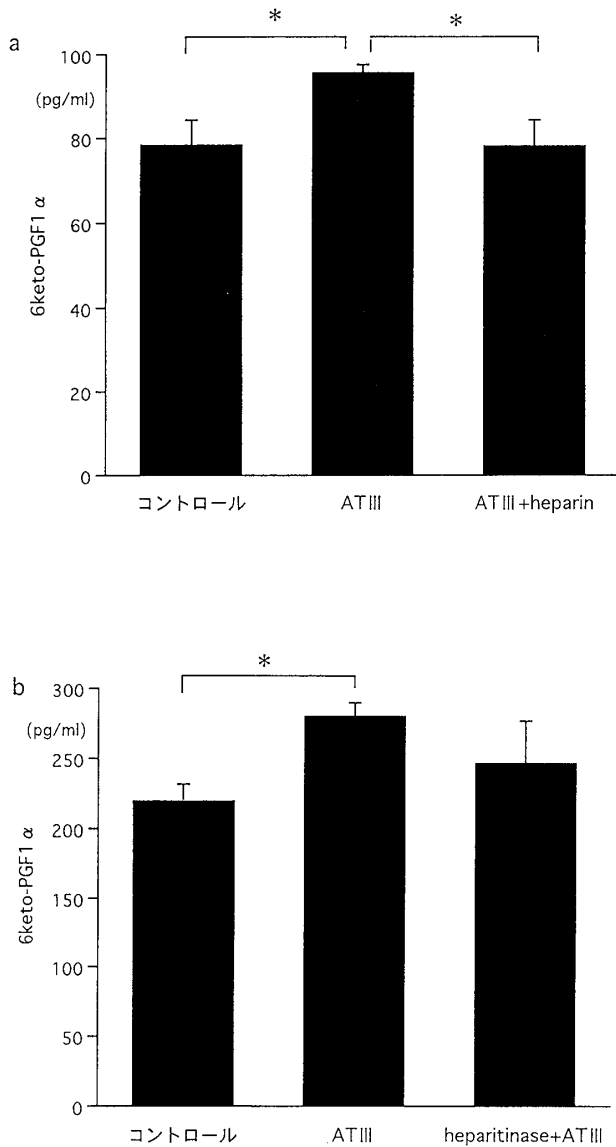


図6 絨毛細胞の PGI_2 産生に対するヘパリン、ヘパリチナーゼの影響

a: ATIII とヘパリンを同時に細胞培養上清中に添加し, 6keto-PGF1 α を測定. $n=6$, $\text{mean} \pm \text{SE}$, *: $p < 0.05$.

b: 培養細胞をヘパリチナーゼで前処理した後 ATIII を添加し, 6keto-PGF1 α を測定. $n=3$, $\text{mean} \pm \text{SE}$, *: $p < 0.05$.

促進はみられなかった. 以上の理由としては, これら 2 群は IUGR の病態に違いがあることが推測される.

妊娠中期の IUGR の成因には, 胎児奇形, 染色体異常などの胎児の素因的な要因によるもの, 母体心疾患合併や, 高地居住者等の母体の酸素運搬能異常によるものなど挙げられるが, 母体合併症に伴う胎盤循環不全によるものが多くを占める. 特に重症妊娠中毒症は, 約半数に IUGR を発症することが知られており¹⁰⁾, その発症機序は母体の病態と深く関与するといわれている. 重症妊娠中毒症の病態は末梢血管抵抗の増大がその基本であるが, 血管透過性の亢進により血液濃縮が起こり, 血液粘度が上昇し末梢血管抵抗は増大する. また凝固線溶系が亢進し, そのマーカーである血中 ATIII 活性の減少, トロンビン・ATIII 複合体の増加, $\alpha_2\text{PI}$ ・プラスミン複合体, FDP・D ダイマーの増加がみられ, 慢性 DIC ともいえる状態となる. 線溶系に比べて凝固系の亢進は著明であるため, 子宮胎盤および全身に微小血栓が生じることによって末梢循環不全は進行する. そして子宮胎盤循環障害が生じれば, 母児間の物質交換が障害され, IUGR が発症する.

また重症妊娠中毒症が発症していなくても, 母体の血液濃縮は胎児発育に重大な影響を及ぼすと考えられる. すなわち胎盤循環の血流は約 100~500ml/min と生体内で最も緩やかであるため, 血液濃縮があると血液粘度が上昇し, 循環障害が起こる. また血液粘度の上昇により, 血液は凝固亢進傾向となるであろう. 妊娠中期は生理的血液希釈が起こる時期であり, 胎児発育の最も顕著な時期でもある. 胎児発育の点から胎盤の血流を考えると, 血液希釈は血液の流動性を増すことになり, 合目的ともいえる. 貝原ら¹¹⁾の報告では,

表4 絨毛細胞に対する ATIII の影響

| | コントロール | ATIII (unit/ml) | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|--------------|
| | | 0.5 | 1.0 | 2.0 | |
| hCG (mIU/ml) | 1,029 \pm 162 | 941 \pm 266 | 1,027 \pm 188 | 878 \pm 206 | n.s. |
| 細胞内 TM (IU/ml) | 38.6 \pm 4.3* | 40.8 \pm 11.2 | 73.6 \pm 8.1* | 12.5 \pm 0.2 | * $p < 0.01$ |

$\text{mean} \pm \text{SE}$, n.s. = not significant.

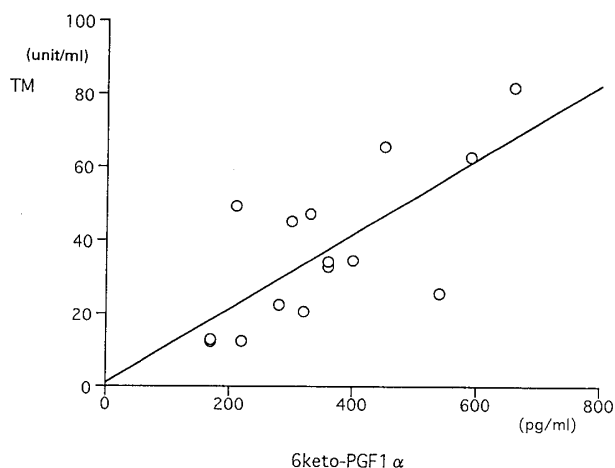


図7 PGI₂とTMとの回帰直線
 $y = 0.101x + 1.013$, $r = 0.718$, $p < 0.01$.

妊娠28～32週の母体 Ht 値が36%以上では、Ht 値28.0～31.9%の場合より有意に出生体重は低値であるという。また光井¹²⁾も、妊娠28～36週で母体 Ht 値が36.4%以上である重症妊娠中毒症では、36.4%以下の例に比して低出生体重であったとしている。このように、妊娠中期に血液希釈が起こらない何らかの要因が IUGR の発症に関与しているであろう。

本研究において、M-H 正常 Ht 群では、M-H 療法により胎児発育は促進された。つまり、Ht 値が正常域にあれば、胎盤局所での循環障害は著しくはないため、糖代謝の改善とヘパリンの作用により、母児間代謝が亢進し、治療効果が認められたと考えられる。

ヘパリンの作用として期待される点として、トロンビンを抑制して胎盤循環を改善する他に、近年、成長因子との関連が考えられるようになってきた。胎児発育と密接な関係がある成長因子として、主に母体肝臓から産生される、insulin like growth factor I (IGF-1) が知られている。妊娠中は、胎盤から分泌される human placental lactogen (hPL) などの影響を受け増加し、妊娠24～36週の母体血中 IGF-1 値と出生時児体重とは相関するという¹³⁾。IGF-1は、胎盤の母体から胎児への物質輸送を活性化することで、胎児発育を促進していると考えられている¹⁴⁾¹⁵⁾。しかし、IGF-1は血中では結合蛋白との結合体として生物学的に非活性な形で存在しており、生体内では血管内皮

に存在するヘパラン硫酸のようなヘパリン様物質がこの結合蛋白から活性的な IGF-1 を遊離させると考えられている。ヘパリンは IGF-1 を結合蛋白から遊離させ、増加させることが in-vivo, in vitro において示されている¹⁶⁾。M-H 療法のヘパリンはトロンビン抑制だけでなく、遊離型 IGF-1 を増加させることによって、母児間物質輸送を活性化し、胎児発育の促進に関与していると考えられる。

しかし、M-H 高 Ht 群では母体の血液濃縮が起こり、絨毛間腔では凝固亢進状態となり胎盤循環障害が生じていることが推測される。こうした状況では経胎盤輸送のマルトースによる胎児発育の亢進は期待できないのであろう。ヘパリンは ATIII とともにトロンビンを抑制するものであるから、局所的に凝固亢進している場では ATIII は消費性に減少し、ヘパリンのトロンビン抑制効果が不十分な可能性がある。しかし、ヘパリンとトロンビンとの結合は強力であるため、IGF-1 の活性化に対しては不十分になるのであろう。以上の理由から、母体 Ht 値が高値で、子宮胎盤循環障害が成因であると考えられる IUGR 例では、M-H 療法による治療効果が期待できないと考えられた。

一方、子宮胎盤循環障害の存在が推測される高 Ht 例に対して ATIII 補充療法を行ったところ、胎児発育は頭部発育 (BPD 値) が100%以上の良好な伸びを示した。射幹発育 (APTD×TTD 値) は統計的有意差は認められなかったものの、M-H 高 Ht 群の伸びよりも高値を示し、児体重も統計的有意差は認めなかったものの約2倍の高値を示した。頭部の発育がより良好であるのは胎児循環の特性によると考えられる。胎児環境が胎盤循環障害により不良になると、心臓や脳といった生命維持に重要な臓器への血流が相対的に増加する。この状態が慢性的に持続すると胎児は障害されるが、障害の程度は臓器によって異なり、頭部発育は保たれ、軀幹の発育が障害される。M-H 高 Ht 群では治療に抗して胎盤循環障害が長期に持続するために、頭部発育も障害されて発育障害が進行するのであろう。一方 ATIII 群では治療により頭部発育は良好となっており、胎盤循環の改善に

よって胎児循環の特性が維持されていると推測される。出生時頭部発育の不良症例では中枢神経系の予後が悪化することが知られており¹⁷⁾、本治療法による改善の臨床的意義は極めて大きいといえよう。

ATIII の補充が胎盤循環改善に効果的であることは、母体血が接する絨毛上皮に何らかの直接的作用がある可能性を示す。絨毛間腔は母児間の物質交換に重要な場であり、血流循環が滞らないように絨毛には血管内皮と類似の抗血栓機能が存在すると推測される。血管内皮の抗血栓機能としては、細胞表面にヘパラン硫酸プロテオグリカン¹⁸⁾を有し、ATIII と結合してトロンビンを抑制すること、また細胞膜表面の TM がトロンビンと結合してプロテイン C を活性化し、第 V 因子、第 VIII 因子を失活させ、抗凝固作用へと転換することが知られている。さらに、血小板凝集抑制作用、平滑筋弛緩作用を持つ PGI₂ を産生することも挙げられる。

本研究では、絨毛細胞にこれらと同様の調節系が存在することを推定し、まず、ATIII の絨毛に対する作用について、血管内皮様機能としてトロンビン抑制能、PGI₂ 産生能に対する影響を培養絨毛細胞を用いて検討した。細胞上でのトロンビン抑制は ATIII によりヘパラン硫酸を介することによって促進された。また生理的濃度の ATIII は絨毛の PGI₂ 産生を促進し、ヘパリン、ヘパリチナーゼによって阻害された。すなわち、この反応は絨毛細胞上のヘパラン硫酸を介することが示唆された。絨毛上皮上にヘパラン硫酸が存在することは、近年免疫組織学的にも証明されており¹⁸⁾、絨毛上皮にヘパラン硫酸-ATIII 系の抗血栓機能が存在することが明らかとなった。

また、ATIII は血管内皮上のヘパラン硫酸と結合し、PGI₂ の産生を促進することが、in vitro、近年では in vivo で報告されている^{19)~21)}。本研究で、絨毛細胞においても ATIII による PGI₂ 産生促進作用が認められた。この反応により母児間の直接的な物質交換の場である絨毛間腔での抗血栓性はより高まると考えられる。血流の緩やかな場で PGI₂ の強力な血小板凝集抑制作用は血栓形成防

止に効果的であろう。

また PGI₂ は妊娠中毒症の病態に密接に関与することが知られており、妊娠中毒症の胎盤中で PGI₂/トロンボキサン A₂ 比が低下するといわれている^{22)~24)}。ATIII によって絨毛細胞の PGI₂ 産生が促進されることから、ATIII 補充療法は胎盤内での PGI₂/TXA₂ 比の調節に関わる可能性も考えられる。

一方 ATIII は、絨毛が産生する重要なホルモンである hCG の産生系には関与しないことが示された。ATIII は絨毛の抗凝固機能には深く関与するが、絨毛の細胞内代謝の指標となる hCG 産生能とは異なる調節系によると考えられる。

胎盤にはそのほか抗血栓作用を有する物質として TM がある。TM は血管内皮細胞表面でトロンビンと結合し、プロテイン C を活性化することによって抗凝固機能を促進する。TM はまだ絨毛細胞表面に豊富に存在することが知られており²⁵⁾、この点でも絨毛細胞は血管内皮と類似性があり、絨毛間腔の抗血栓機能に重要な役割を果たしていると考えられる。中林は重症妊娠中毒症胎盤では、TM 抗原量が減少していることを報告し、胎盤での抗血栓機能の低下が胎盤循環障害の一因であると指摘している¹⁰⁾。また、最近、絨毛細胞内の TM は胎児発育に重要な役割を持つことが報告されており²⁶⁾、母児間循環の生じる時期に TM の発現しないものは胎児発育不全、子宮内胎児死亡を起こすという。TM が母児間循環に関与し、妊娠の維持に重要な機能を持つことは明らかであるが、その調節系の解明は十分ではない。

本研究で、絨毛細胞の TM 抗原量は ATIII の投与により増加した。また、TM 抗原量と PGI₂ には正の相関関係が認められた。血管内皮細胞において TM はサイクリック AMP を介して、PGI₂ により up regulate される。また生体内では、発生したトロンビンは ATIII と TM によって失活するが、ATIII が減少していれば、TM への結合は増加する。TM はトロンビンによって down regulate され、さらに、抗血栓性は低下すると考えられる。ATIII の補充は、この血栓形成傾向への悪循環を断ち切る役目も果たすことが期待される。

結 論

1. Ht 値が正常域の IUGR 例に対しては、M-H 療法が有効であった。

2. Ht 高値の IUGR 例は凝固亢進による子宮胎盤局所の循環不全の存在が示唆され、これらの症例に対しては ATIII 補充療法が有効であった。

3. 胎盤絨毛は ATIII-HS 系、PGI₂ 産生系、TM といった血管内皮と極めて類似した抗血栓機能を有し、胎盤循環を維持していることが示された。

文 献

- 1) Sandstedt B: The placenta and low birth weight. *Curr Topic Pathol* 66: 1-55, 1979
- 2) Esmon CT: The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 246: 4732-4746, 1989
- 3) Rosenberg RD, Damus PS: The purification and mechanism of action of human antithrombin-heparin cofactor. *J Biol Chem* 247: 6490-6505, 1973
- 4) Shinozuka N, Okai T, Kohzuma S: Formulas for fetal weight estimation by ultrasound measurements based on neonatal specific gravities and volumes. *Am J Obstet Gynecol* 157(5): 1140-1145, 1987
- 5) Kakkar VV: Low-dose heparin-present status and future trends. *Scand J Haematol* 36(Suppl): 158-180, 1980
- 6) 荒木 勤: 胎児発育遅延の出生前治療。産婦の世界 32(10): 1065-1075, 1980
- 7) 相良祐輔: IUGR の出生前治療をめぐる。周産期医 16(2): 213-218, 1986
- 8) 山縣猛日: IUGR の胎内治療に関する研究 1. 糖質加ヘパリン療法の胎児発育および胎児-胎盤機能におよぼす効果。新生児会誌 17: 245-251, 1981
- 9) 久間正幸, 辻 祥雅, 森山郁子ほか: IUGR の胎生期治療における intrauterin fetal alimentation の基礎研究。産婦の世界 34: 395-398, 1982
- 10) 中林正雄: 凝固線溶系からみた妊娠中毒症の発症病態。日産婦会誌 40(8): 1000-1009, 1988
- 11) 貝原 学, 丸本百合子, 小林拓朗: 妊婦における血液希釈ならびに貧血と胎児の発育。日産婦会誌 36: 1893-1900, 1984
- 12) 光井行輝: 妊婦におけるヘマトクリット値の変化と児体重に関する統計的検討。産婦の実際 40(6): 835-842, 1991
- 13) Iwashita M, Kobayashi M, Matsuo A et al: Feto-maternal interaction of IGF-1 and its binding proteins in fetal growth. *Early Hum Dev* 29: 187-191, 1992

- 14) Takeda Y, Iwashita M: Role of growth factors on fetal growth and maturation. *Ann Acad Med (Singapore)* 22(2): 134-141, 1993
- 15) 岩下光利: 胎児発育・成熟における IGF-1 とその結合蛋白の意義。日産婦会誌 46(8): 660-672, 1994
- 16) 岩下光利: IUGR 児発育改善のためのマルトース・ヘパリン療法。臨婦産 44(10): 947, 1990
- 17) 三石知佐子, 原 仁, 山口規容子ほか: 胎内発育障害の臨床的研究。日新生児会誌 30(2): 234-239, 1994
- 18) Nanaev AK, Milovanov AP, Demogatsky SP: Immunohistochemical localization of extracellular matrix in perivillous fibrinoid of normal human term placenta. *Histochemistry* 100: 341-346, 1993
- 19) Yamauchi T, Umeda F, Inoguchi T et al: Antithrombin III stimulates prostacyclin production by cultured aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 163(3): 1404-1411, 1989
- 20) Horie S, Ishii H, Kazama M: Heparin-like glycosaminoglycan is a receptor for antithrombin III-dependent but not thrombin-dependent prostacyclin production in human endothelial cells. *Thromb Res* 59: 895-904, 1990
- 21) Uchiba M, Okajima K, Murakami K et al: Effects of antithrombin III (AT III) and TRP49-modified AT III on plasma level of 6 keto-PGF_{1α} in rats. *Thromb Res* 80(3): 201-208, 1995
- 22) Walsh SW, Behr MJ, Allen NH: Placenta prostacyclin production in normal and toxemic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 151(1): 110-115, 1985
- 23) Walsh SW: Preeclampsia: An imbalance in placental prostacyclin and thromboxane production. *Am J Obstet Gynecol* 152(3): 335-340, 1985
- 24) Sato K, Seki H, Sakamoto H: Role of prostaglandins in pregnancy-induced hypertension. *Am J Kid Dis* 17(2): 133, 1991
- 25) Maruyama I, Bell CE, Majerus PW: Thrombomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and lymphatics, and on syncytiotrophoblast of human placenta. *J Cell Biol* 101: 363-371, 1985
- 26) Healy AM, Rayburn HB, Rosenberg RD et al: Absence of the blood-clotting regulator thrombomodulin causes embryonic lethality in mice before development of a functional cardiovascular system. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 850-854, 1995