

羊水中の抗菌物質に関する検討

千村 哲朗・森崎 伸之

山形大学医学部産婦人科教室*

(平成元年3月31日受付)

妊娠 26~42 週 of 非感染時の羊水 (N=19) を対象とし、羊水中の抗菌物質とそれに関連した物質を測定し、以下の成績をえた。

1) 妊娠週数に伴って増加する物質は、lysozyme ($y=x/92.68-0.305x$, $\gamma=0.907$), transferrin ($y=x/57.87-0.170x$, $\gamma=0.893$), IgG ($y=2.08 \times 10^{-19}x^{0.45769}$, $\gamma=0.921$), C_3 ($y=x/328.65-0.771x$, $\gamma=0.719$) であった。

2) 妊娠経過に伴い一定の相関関係を認めない物質として、elastase では妊娠末期で 62.22 ± 11.51 ng/dl を、Zn で 18.0 ± 6.13 μ g/dl を示した。また C_4 , C_5 , Fe でも相関関係を認めない。 α_1 -antitrypsin は <45 mg/dl を示した。羊水中の amino acid のパターンは、9 種類の amino acid 以外で正常健人の血中より低値を示した。

以上、羊水中の抗菌物質は妊娠週数の増加に伴い増量する物質が存在するが、これらは胎児発育と代謝に関連し、感染の発生と生体防御面から重要な役割を果していることが示唆される。

Key words: 羊水, 抗菌物質

子宮内における局所的防御機構である羊水は、妊娠経過とともに量および質的に変動し、羊水中の各種物質の抗菌作用が検討されてきた。

これら物質の中で、妊娠中に増量する物質とほぼ一定状態を保つ物質が認められるが、在胎週数に伴って増量する物質は胎児の発育度と関連し、胎児の代謝を反映するものと考えられている。羊水中の抗菌物質は、侵入した微生物に対し生体防御機能を発揮すると考えられ、これらの物質は単一物質によるのではなく、相乗効果による複合的物質による可能性が高い。

したがって、ここでは非感染時の羊水中の各種抗菌物質および関連物質の妊娠経過に伴う変動について検討したので報告する。

I. 研究方法

当大学産科に入院した症例中より、妊娠 26~42 週の 19 症例を対象とし、帝王切開時、経膈分娩時、経腹的羊水穿刺などにより羊水 (10 ml 以上) を採取した。各症例の背景因子を Table 1 に示す。検査項目は、lysozyme (比濁法), transferrin (免疫比濁法), amino acid (アミノ酸分析計), C_3 , C_4 (ネフェトリー), C_5 (免疫拡散法), IgG, IgM (ネフェトリー), Zn, Fe (原子吸光法), α_1 -antitrypsin (免疫拡散法), elastase (RIA 2 抗体法) であり、測定は三菱油化ビーシーエルに依頼し行

なった。

II. 成績

妊娠 26 週から 42 週までの羊水中の 12 物質についての変動は、妊娠週数とともに変動する物質と変動を認めない物質に分類された。

1) 変動物質

Lysozyme および transferrin は、妊娠経過とともに増量し、lysozyme は $y=x/92.88-0.305x$ ($\gamma=0.907$), transferrin は $y=x/57.87-0.170x$ ($\gamma=0.893$) と相関関係を認めた (Fig. 1)。IgG は $y=2.08 \times 10^{-17}x^{0.45769}$ ($\gamma=0.921$) を、 C_3 は $y=x/328.65-0.771x$ ($\gamma=0.719$) と相関関係を認めた。

2) 無変動物質

妊娠経過に伴い一定の相関関係を認めない物質は、elastase, Zn などであり (Fig. 3), elastase は、妊娠 35~42 週 (N=9) で 62.22 ± 11.51 ng/dl を示した。一部症例で異常高値を示したが、これらの症例の臨床的背景との関連性や、他の測定値との関連性は認められなかった。

Zn の変動では、妊娠 38~42 週 (N=6) で 18.0 ± 6.13 μ g/dl を示した。

C_4 の変動では、 <1.0 mg/dl 以下の症例が 14/19 (73.7%) に認められ、 C_5 も <4.6 mg/dl を全例に認め

* 山形市飯田西 2 丁目 2-2

Table 1. Characteristics and data of study cases

Case no.	Maternal age (yrs)	Gestation at delivery (wks)	Route of delivery	C ₄ (mg/dl)	C ₅ (mg/dl)	IG-M (mg/dl)	Fe (μg/l)	α ₁ -AT (mg/dl)
1	30	39	C/S	<1.0	<4.6	<1.0		<45
2	32	39	VD	<1.0	<4.6	<1.0	20	<45
3	30	38	C/S	<1.0	<4.6	<1.0		<45
4	25	39	VD	<1.0	<4.6	<1.0	158	<45
5	31	42	C/S	<1.0	<4.6	<1.0	43	<45
6	30	42	VD	1.1	<4.6	2.6		<45
7	38	38	C/S	<1.0	<4.6	1.9	58	<45
8	29	40	VD	<1.0	<4.6	1.7	21	<45
9	25	40	VD	1.3	<4.6	1.8		<45
10	36	39	C/S	1.2	<4.6	3.0		<45
11	25	34	C/S	<1.0	<4.6	<1.0		<45
12	28	33	C/S	<1.0	<4.6	<1.0	18	<45
13	25	41	C/S	<1.0	<4.6	2.0		<45
14	26	38	C/S	1.9	<4.6	8.5	58	<45
15	28	37	VD*	<1.0	<4.6	<1.0	9	<45
16	24	35	C/S	<1.0	<4.6	<1.0		<45
17	24	35	C/S	<1.0	<4.6	2.0		<45
18	25	26	VD	1.0	<4.6	<1.0		<45
19	24	26	VD*	<1.0	<4.6	<1.0	404	<45

C/S : cesarean section VD : vaginal delivery

* Transabdominal amniocentesis

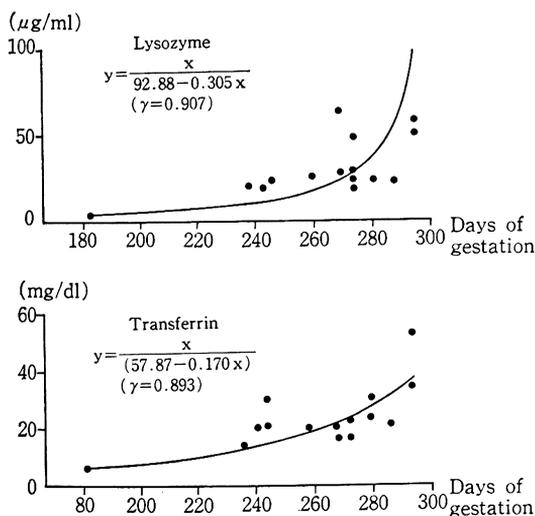
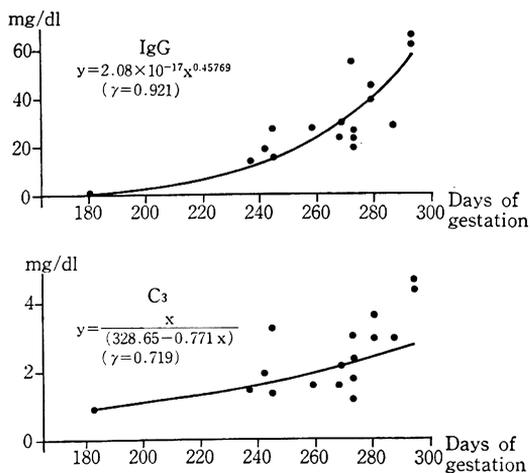


Fig. 1. Lysozyme and transferrin contents of amniotic fluid in relation to gestation

た。IgM も<1.0 mg/dl が 11/19 (57.9%) に認められ一定の関係は示していない。Fe は、9~404 μg/l の値を示したが、一定の関係は認められない。

Fig. 2. IgG and C₃ contents of amniotic fluid in relation to gestation

また α₁-antitrypsin は全例において<45 mg/dl であった (Table 1)。

一方、羊水中の amino acid の変動 (Table 2, Fig. 4) では、正常人血漿値に比し尿素 (Urea), タウリン (Tau), モノエタノールアミン (MEA) で高く (p<

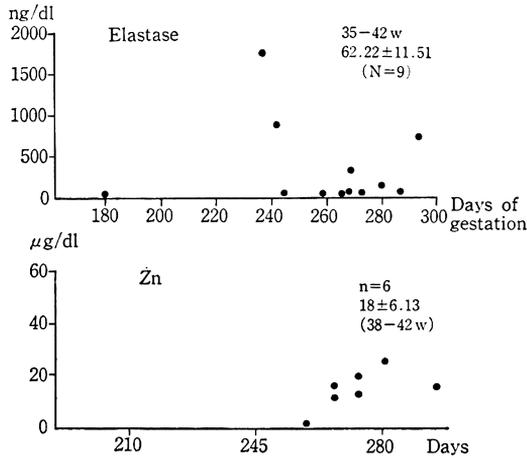


Fig. 3. Elastase and Zn contents of amniotic fluid in relation to gestation

0.001), グリシン (Gly), リジン (Lys), トレオニン (Thr), シスチン (Cys-Cys), グルタミン酸 (Glu), アスパラギン酸 (Asp) を除いた amino acid の各値で有意な低値を認めた ($p < 0.001$)。なお妊娠週数による amino acid のパターンでの特記すべき相違点は認められない。

III. 考 案

妊娠 21~26 週以降の羊水は、羊膜腔・胎児・母体側による力学的変換による生理的バランスの上に量および質の変動を呈しているが、現在までに各種物質の抗菌作用が報告されてきた。これらの物質は、妊娠期間において胎児の発育に伴って増加していく物質 (lysozyme, β -lysin, peroxidase など) と、ほぼ一定値を保つ物質に分類されよう。妊娠時に増量する物質は、おそらく胎児産生に関連すると考えられる。また感染成立時の羊水中の抗菌物質とそれに関連した物質は、生体防御機構の発動により増量または拮抗的作用を呈することが考えられる。

一方、羊水中の各種抗菌物質による静菌作用や殺菌作用が妊娠各期の羊水で報告されているが、一定の結論を得るに至っていない。

現在までに羊水中に出現する抗菌物質としては、lysozyme, β -lysin, transferrin, peroxidase, cationic peptides, spermine, immunoglobulins, その他 (Zn, fatty acid, progesterone) などが諸家により報告されてきた。

これら物質の中で、lysozyme の抗菌作用が最も多く検討されてきたが、本物質の妊娠経過に伴う増加傾向は一般に認められている。また transferrin についても

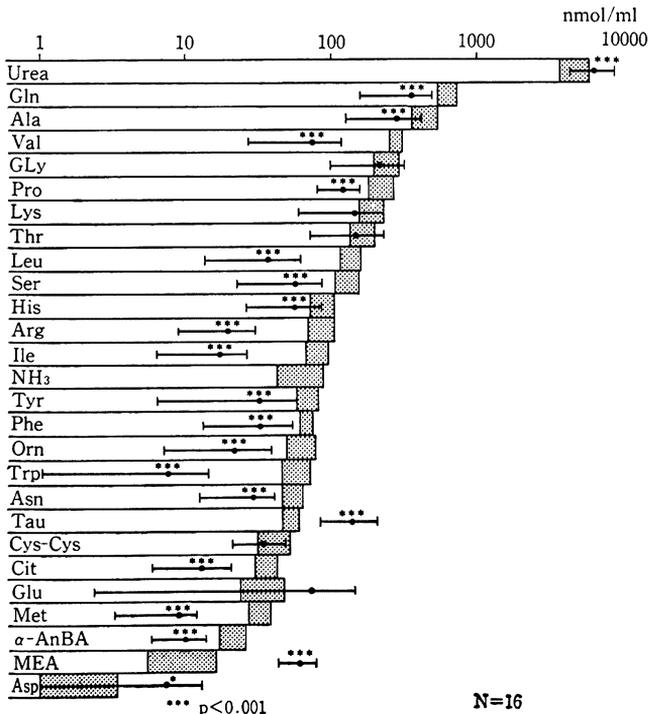


Fig. 4. Free amino acid concentration in amniotic fluid

Table 2. Composition of amino acids in amniotic fluid samples of 16 pregnancies

Amino acid	M±SD (n mol/ml)
Urea	5,729.000±1,463.834
Gln	294.362± 153.703
Ala	245.019± 129.504
Val	67.356± 41.596
GLy	185.825± 95.720
Pro	109.544± 35.021
Lys	135.537± 80.340
Thr	134.800± 68.891
Leu	35.756± 23.089
Ser	49.831± 29.054
His	51.687± 27.338
Arg	18.325± 10.045
ILe	15.631± 9.677
NH ₃	
Tyr	30.831± 24.799
Phe	31.487± 19.342
Orn	21.444± 14.824
Trp	7.1 ± 6.5
Asn	24.869± 13.141
Tau	128.612± 49.637
Cys-Cys	33.7 ± 13.0
Cit	12.569± 6.908
Glu	68.125± 65.777
Met	8.357± 3.250
αANBA	9.275± 3.677
MEA	57.156± 16.450
Asp	8.029± 7.712

同様な増加傾向が報告²⁾されている。今回の検討でもこの2物質についての増加傾向を認めた。

また immunoglobulins に関しては, IgG の羊水中の存在は USATEGUI-GOMEZ ら (1966) 以来多くの報告で認められるが, 母体血中の約1%の存在し, 抗菌的免疫作用を呈すると考えられてきた。今回の成績では, IgG

の妊娠週数に伴う増加を認めたが, IgM での相関性は認められなかった。SHARMA ら (1983)⁴⁾は, 羊水中における C₃ の存在を最初に報告したが, その後 STABILE ら (1988)⁵⁾ は, complement factors (C₃, C₄, C₅, Factor B, H, I) の妊娠時の母体・胎児・羊水中濃度に関する検討で, これら factor は母体>胎児>羊水中の関係認め, 妊娠週数に伴って胎児の C₃, C₄, Factor H および羊水中の C₃, Factor B の上昇傾向を報告している。こうした因子の変動は, 免疫不全や胎児感染の診断と管理に有用であろうという。今回の成績からも, IgG および C₃ の有意な上昇傾向を認めたが, C₄, C₅ については有意な結果は得られなかった。

Zn, Fe に関しては, 今回の成績で妊娠週数との相関関係は認められず, Zn と hexapeptide の抗菌作用 (LARSEN ら, 1974) が報告されてきたがこれら両物質の作用と意義については不明な点が多い。

炎症性反応の1つの重要なマーカーとして近年 granulocyte-elastase が注目され, また一方 elastase の protease inhibitor である α₁-antitrypsin (α₁-AT) の変動も注目され, elastase より早くから報告されてきた。妊娠中の母体血中の α₁-AT (GANROT ら, 1967)⁶⁾, elastase (LANGNER ら, 1986)⁷⁾ の測定報告がみられる。羊水中の変動については寺尾ら (1986)⁸⁾ が, α₁-AT の妊娠30週前後での peak を認めている。今回の成績からは, <45 mg/dl でそれ以下の変動については検討できなかった。

一方, 羊水中の elastase の変動については, 恐らく最初の報告であると思われるが, 妊娠末期での値は 62.22 ± 11.51 ng/dl を示した。Elastase の感染マーカーとしての羊水中の値の臨床的意義は高いと思われるが, 今後の検討が望まれる。

羊水中の amino acid 値に関しては, すでに母体血中との関連で胎児発育面より検討 (RENAUD ら, 1972) され, 多くの報告をみる。正常妊娠時の臍帯血中濃度は母体血中より高く, 羊水中濃度は母体血中濃度より低い傾向が報告 (HEINRICH ら, 1974, NEUBÜSER ら, 1974, DALLAIRE ら, 1974¹⁰⁾) されている。

すでに我々は, 胎内発育遅延児の母体血中・臍帯血中の amino acid の変動について報告⁹⁾してきたが, 母体血中レベルは, 正常群, IUGR 群で有意差を認めず, 臍帯血中レベルでもほぼ同一傾向を示したが, Aln, Val, Ilen, Leu, Phe の5種類でやや低い傾向を認めている。今回の成績では, 9種類の amino acid を除いた各値で正常人の血中値より低く, 妊娠時の母体血中値⁹⁾との比較でも低い傾向を認めた。しかし, amino acid の羊水中レベルと抗菌作用の関連性は直接的には考えにくく, こ

の分野での臨床的意義は少ないといえよう。

以上、羊水中の抗菌物質とその関連物質について妊娠時の変動を検討したが、胎児・胎盤系の発育と関連し、母体血中での有意な変動を示さない物質では、胎児産生度と関連する可能性が高いといえる。一方、感染の成立時の羊水中のこれら物質は、生体防御機構の発動により増量する可能性も高く、これらの機構に参与する物質は、単一物質というよりは、複合的な協同作用によるものと考えられる。

文 献

- 1) 萩尾洋介：羊水の抗菌作用と Lysozyme。日産婦誌，37：2369～2375，1985
- 2) 竹下敏光，大石 孝，野村雪光，齊藤 勝，蓮尾 豊：羊水中 Transferrin 濃度と羊水の抗菌作用との関連性。日新生児誌，16：295～298，1980
- 3) BLANCO J D, GIBBS R S, KREBS L F: A controlled study of amniotic fluid immunoglobulin levels in intraamniotic infection. *Obstet. Gynecol.* 61: 450～453, 1983
- 4) SHARMA A, PRABHAKAR P, SHARMA D P, JAYASINGHE R G: Immunoglobulin and C₃ levels in normal human amniotic fluid. *W. I. Med. J.* 32: 140～146, 1983
- 5) STABILE I, NICOLAIDES K H, BACH A, TEISNER B, RODECK C, WESTERGAARD J G, GRUDZINSKAS J G: Complement factors in fetal and maternal blood and amniotic fluid during the second trimester of normal pregnancy. *Brit. J. Obstet. Gynecol.* 95: 281～285, 1988
- 6) GANROT P O, BJERRE B: α_1 -antitrypsin and α_2 -macroglobulin concentration in serum during pregnancy. *Acta Obst. Gynec. Scandinav.* 46: 126～131, 1967
- 7) LANGNER K, DUDENHAUSEN J W, SÖNMEZ M: Granulocyte elastase as a predictor of infections morbidity in PROM. 10th European congress of perinatal medicine. Leipzig, German Democratic Republic August 12～16, 1986
- 8) 寺尾俊彦，金山尚裕：PROM の成因に関する生化学的アプローチ。周産期医学シンポジウム No. 4, 76～84, 1986, メジカルビュー社
- 9) 千村哲朗，橋詰晴敏：胎内発育遅延 IUGR における母体血中・臍帯血中のアミノ酸値の検討。日新生児学会誌，15：461～467，1979
- 10) DALLAIRE L, POTIER M, MELANCON S B, PATRICK J: Feto-maternal amino acid metabolism. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth* 81: 761～766. 1974

ANTIBACTERIAL SUBSTANCES IN AMNIOTIC FLUID

TETSURO CHIMURA and NOBUYUKI MORISAKI

Department of Obstetrics and Gynecology,
School of Medicine, Yamagata University,
2-2-2 Iidanishi, Yamagata 990-23, Japan

Antibacterial and related substances in amniotic fluid were determined using amniotic fluid samples obtained from 19 infection-free pregnant women between weeks 26 and 42 of pregnancy.

1) The following substances increased as pregnancy progressed:

Lysozyme [$y = x / (92.68 - 0.305x)$, $r = 0.907$]

Transferrin [$y = x / (57.87 - 0.170x)$, $r = 0.893$]

IgG [$y = 2.08 \times 10^{-9} x^{0.45769}$, $r = 0.921$]

C₃ [$y = x / (328.65 - 0.771x)$, $r = 0.719$]

2) The following substances were not correlated with the progression of pregnancy: elastase, C₄, C₅, Fe, Zn and α_1 -antitrypsin. Elastase, Zn and α_1 -antitrypsin showed concentrations of 62.22 ± 11.5 , 18.0 ± 6.13 and $< 45 \mu\text{g/dl}$, respectively, at the end of pregnancy. The concentration of nine amino acids in amniotic fluid was lower than in blood obtained from normal subjects.

Thus, some antibacterial substances were found to increase in the amniotic fluid with the progression of pregnancy. These substances appear to be closely related with fetal development and metabolism and play major roles in the prevention of infections.