

胎児の成熟に伴う羊水中のリン脂質量とアラキドン酸量の動態

高山美佐子・前田隆子*・高橋弘幸**

Misako TAKAYAMA, Takako MAETA and Hiroyuki TAKAHASHI

The weekly change in amniotic fluid levels for phospholipids and arachidonic acid during advancing gestation

未熟児を含む新生児の主な死因の一つに肺の未成熟に関連があるとされている。胎児肺に含まれる脂質のうちで約90%がリン脂質であり¹⁾、これは胎児肺の成熟にともなって羊水中に移行する²⁾。従って羊水中のリン脂質量の測定は胎児肺成熟度の診断の一つとされている。一方、プロスタグランジンの前駆体であるアラキドン酸を羊水中へ投与すると陣痛が発来することはアラキドン酸のもつ興味ある生物学的活性と考えられると共に羊水中のアラキドン酸量も胎児成熟に関連する事が考えられる。一般に不飽和脂肪酸であるアラキドン酸はリン脂質のsn-2位の位置にエステル結合して存在している³⁾。本研究は羊水中のアラキドン酸量がリン脂質量に代わる胎児肺成熟度の指標となるか否かを明らかにすることを目的とした。

材料および方法

鳥取大学医学部附属病院産科において、羊水穿刺もしくは分娩時に採取した羊水のうち、血液や胎便の混入しているものを除いた19例の試料を分析に供した。羊水は凍結保存したのち、2,500rpm, 5minで遠心し、その上清を用いた。羊水中のリン脂質量の測定にはリン脂質B-テストワークキットを用いた。測定原理は試料中のリン脂質をホスホリパーゼDの作用により加水分解してコリンを遊離させ、次にコリンオキシダーゼの作用によりベタインに酸化させ、同時に過酸化水素を遊離させる。生成した過酸化水素をペルオキシダーゼの作用によりフェノールと4-アミノアンチピリンとで定量的に酸化縮合

させ、この縮合体の赤色の色素を505nmで吸光度測定するものである。

羊水中のアラキドン酸量の測定には著者ら⁴⁾の高速液体クロマトグラフィによる脂肪酸分析法を羊水に応用して行った。すなわち、羊水0.4mlに0.03mlのクロロホルムに溶かした3mmol/lヘプタデカノイン酸を内部標準物質として加え、3mlの有機溶媒(クロロホルム:メタノール=2:1)で抽出した。この有機溶媒層を40℃、N₂気流中で蒸発乾固し、90%メタノールに溶かした1N-水酸化ナトリウム5mlを加え、75℃、15min加水分解した。n-ヘキサン洗浄後、水層を6N-塩酸でpH1~2に調整し、n-ヘキサン3.0mlで脂肪酸を抽出した。有機溶媒層を水で洗浄しその2mlを40℃、N₂気流中で蒸発乾固した。残渣を0.5mlメタノールで溶解し、0.5mlの酢酸エチルに溶かした9-アンスリルジアゾメタンを加えて1hr反応させ、その5μlを高速液体クロマトグラフに注入し、アラキドン酸の検量線よりアラキドン酸量を定量した。

結 果

在胎週数の進行にともなう羊水中のリン脂質量の変化をFig. 1に示した。リン脂質量は妊娠週数の進行にともない増加し、妊娠39週でピークに達し、40週で減少した。図中実線で結んだ数値は双生児を出産した同一妊産婦に関する測定結果である。

羊水中アラキドン酸量をFig. 2に示した。アラキドン酸量に関しては妊娠週数の進行するにつれ増加したが40週にピークに達した。したがって、リン

脂質量におけるピークの動態とは異なっていた。

Fig. 1 および Fig. 2 の中で児の出生時体重が 2,500 g 以下であったものを●印で示し、出生 1 分後と 5 分後のアプガールスコアの低い児の測定値を⊗印で示した。妊娠 31 週出産の双生児（出生時体重 1,440 g と 2,192 g）のうち体重の多い児のアプガールスコアは 3 点と 6 点であったが、その後細菌性肺炎による肺出血をともない心停止した。妊娠 33 週出産の新生児は出生時体重 3,380 g であり胎児水腫であった。アプガールスコアは 1 点と 2 点であり間も

なく死亡した。在胎 38 週新生児のうち、出生時体重が 2,680 g の 1 例ではアプガールスコアが 2 点と 7 点であり、他の新生児においてはアプガールスコアはすべて 8 点以上であった。また今回対象とした 19 例の中には新生児呼吸窮迫症候群（IRDS）と診断されるものはなかった。測定結果から得られた羊水中リン脂質量とアラキドン酸量の相関を Fig. 3 に示した。これらの間には $r = 0.802$, $y = 2.2 + 0.012x$ の高い正の相関が認められた。

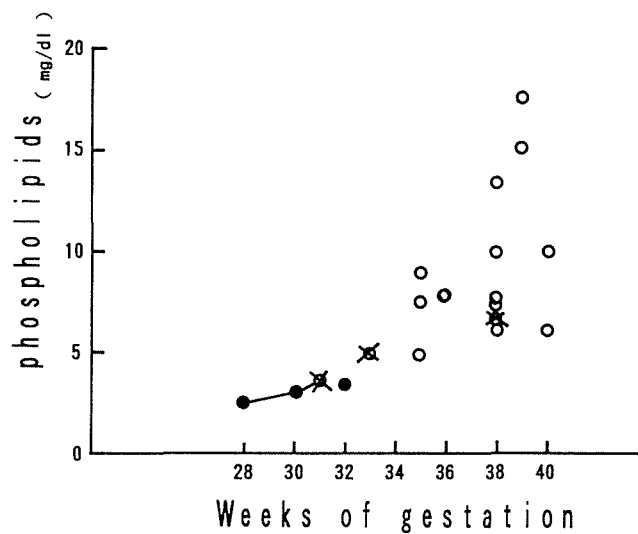


Fig. 1 Weekly changes of the amniotic fluid-phospholipid contents in 19 cases of advancing fetal maturity. —; changes in the same pregnant woman with twins. ●; Point shown to be less than 2,500 g of born body weight. ⊗; Point shown to be less than 8 of appgal scores when 1 min and 5 min after birth.

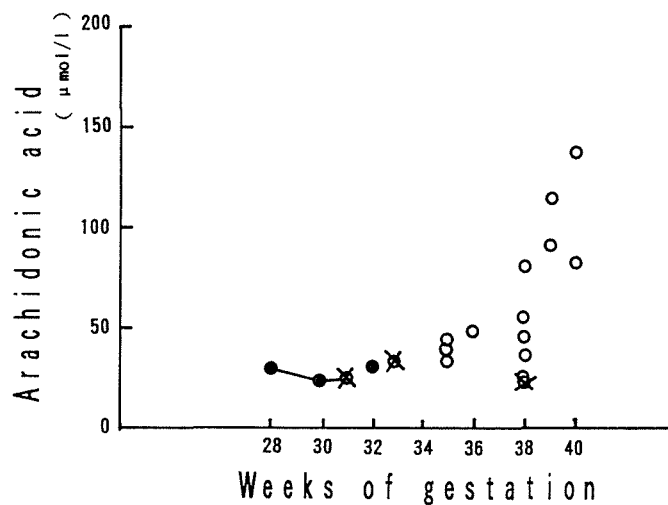


Fig. 2 Weekly changes of the amniotic fluid-arachidonic acid contents in 19 cases of advancing fetal maturity. See the foot note in Fig. 1.

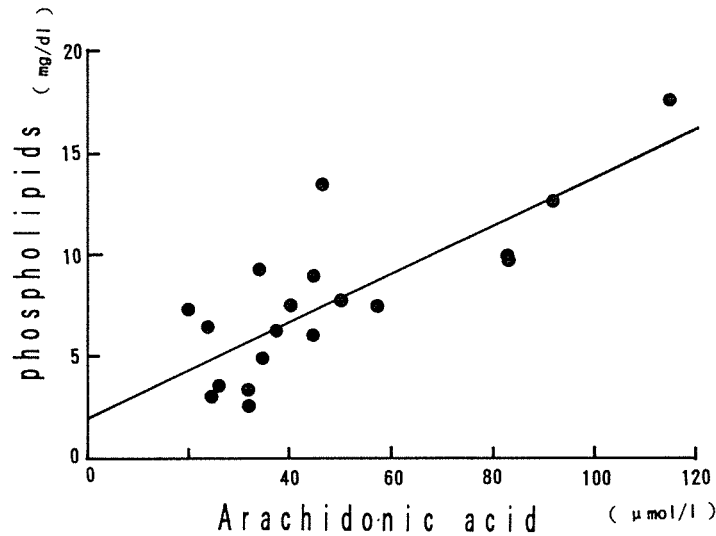


Fig. 3 Correlation between phospholipid contents and arachidonic acid contents in the amniotic fluids.

考 察

Gluck ら⁵⁾ は羊水中レシチン量に関して妊娠25週頃から増加しはじめ、33週頃に急増し、妊娠38週をすぎると徐々に減少すると述べているが、今回の結果は妊娠39週でピークとなり40週で減少していた。

アラキドン酸カスケードの代謝産物の1つであるプロスタグランジンに関して、Salmon ら⁶⁾ は羊水中プロスタグランジン値は妊娠15~35週では比較的一定 (0.3~0.6ng/ml) であるが、36~37週で0.81ng/ml、38~39週で1.33ng/ml、40~43週で4.2ng/mlと急増すると報告している。今回の結果から、羊水中アラキドン酸の動態はプロスタグランジンの動態と密接に関係していることが明らかである。

羊水中リン脂質量またはアラキドン酸量が少ない新生児のなかには体重が少なく、アプガールスコアの低い3例の児が含まれており、およそ50%程度の一致率を示していた。今回、IRDSの診断例はみられなかったとしても羊水中アラキドン酸量もリン脂質量と同様出生直後の呼吸状態を予知する一指標となり得ることが示唆された。Abramovich ら⁷⁾ は羊水中に含まれているリン脂質はその全てが胎児肺に由来するとは限らず、卵膜や胎児と母体の血しょう中にも大量のレシチンが存在しているので、これらが羊水中のリン脂質の供給源となり得ると報告している。よって羊水中リン脂質量が100%の信頼度で胎児肺成熟度を反映するものとは思えない。

妊娠週数の経過によりアラキドン酸量が増加する原因の一つは胎児肺の成熟にともない羊水中に移行するためであり、他の原因としてはリン脂質のsn-2位に結合しているアラキドン酸を加水分解するフォスホリパーゼA₂活性が妊娠週数の進行にともない高くなるため⁸⁾と考えられる。分娩直後の新生児が正常な呼吸を開始するためには呼気時の肺胞の虚脱をふせぐため、気相、液相間の表面張力を低下させるための肺の表面活性物質が必要とされている⁹⁾。この肺の表面活性物質の本体は脂質であるが、このうち約10%は中性脂質、約90%はリン脂質とされている。このリン脂質のうちで最も多いのがホスファチジルコリン (レシチン) である¹⁾。一方、羊水中におけるレシチンの脂肪酸構成はジパルミトイルレシチンが約60%を占めることが特徴とされ¹⁾、アラキドン酸ではなくパルミチン酸とのエステル結合している場合が優位を占めている。卵膜を含む生体膜におけるアラキドン酸に関しては佐川ら³⁾は、レシチンよりもホスファチジルエタノールアミン中に最も多く存在すると報告している。従って、アラキドン酸は胎児肺および卵膜のリン脂質の中のホスファチジルエタノールアミンを構成する脂肪酸として存在し、妊娠週数の経過と共に主に胎児肺と卵膜から羊水中に移行し、羊水中のアラキドン酸濃度が上昇することが推定される。今後更に症例数を増やし、特にIRDSの症例の羊水について検討する必要があるが、今回の成績は少なくとも羊水中アラキドン酸量は羊水中リン脂質量と同様に

胎児の肺成熟度の指標になるものと思われる。

要 約

妊娠週数の増加にしたがって羊水中のリン脂質量およびアラキドン酸量は共に増加した。羊水中アラキドン酸およびレシチンの両者が低濃度の場合には、胎児は低体重であり、その上アプガールスコアの低い新生児が生まれる傾向があった。従って、アラキドン酸量はレシチン量と同様に胎児の肺成熟度の指標になり得ることが示唆された。

本研究は1993年度鳥取大学医療技術短期大学部研究助成費の配分を受けたものである。

文 献

- 1) 森一郎、森田尚武、藤野敏則：産婦人科Mook、羊水中のサーファクタント、pp92-104、金原出版、東京、1984。
- 2) Dawes GS, 日本新生児学会誌、**9**, 158-165, 1973.
- 3) 佐川典正、稲森久美子、長谷川雅明、伊東宏晃、上田博久、小林史典、伊原由幸、森崇英、産婦人科の世界、**45**, 283-290, 1993.
- 4) Takayama M and Sumida M, Med Sci Res, **22**, 519-521, 1994.
- 5) Gluck I, Kulovich MV, Borer RC, Keidel WN, Am J Obstet Gynecol, **120**, 142-154, 1974.
- 6) Salmon JA, Amy JJ, Prostaglandins, **4**, 523-533, 1973.
- 7) Avramovich DR, Keeping JD and Thom H, Brit J Obstet Gynaecol, **82**, 204-207, 1975.
- 8) Okazaki T, Sagawa N, Bleasdale JE, Okita JR, Macdonald, Johnston JM, Biol Reprod, **25**, 103-109, 1981.
- 9) 小川雅之亮：小児科Mook：新生児のIntensive Care, RDSの出生前診断と予防、pp82-102、金原出版、東京、1979. (受付 1994. 12. 1)

Summary

The amniotic fluid levels both of phospholipids and arachidonic acid were determined in 17 cases of the gestation including three appgal score-lower cases at 1 min and 5 min after birth. The gestating periods varied from 28 to 40 weeks. Both levels of phospholipids and arachidonic acid increased gradually through advancing gestation. The phospholipid level reached maximum in week 39, then decreased in week 40. Whereas, arachidonic acid level continued to raise and reached maximum in week 40. Overall, the contents both of phospholipids and arachidonic acid in the amniotic fluids strongly, positively correlated each other. When these contents were low in the amniotic fluids, the newborns were prone to be lower in weight as well as in the appgal scores. It is suggested that the determination of arachidonic acid contents in amniotic fluids is useful as well as that of phospholipids for the judgment of the fetal maturity.