

妊娠時頸管ポリープと頸管粘液顆粒球エラスターゼ活性との関連

浜松医科大学産婦人科教室

金 山 尚 裕 寺 尾 俊 彦

The Relation between Granulocyte Elastase Activity
in Cervical Mucus and Gestational Cervical Polyp

Naohiro KANAYAMA and Toshihiko TERAOKA

Department of Obstetrics and Gynecology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu

概要 頸管粘液顆粒球エラスターゼ (エラスターゼ) 活性および頸管粘液白血球数を妊娠中期の頸管ポリープ例(N=46)と非ポリープ例(N=53)について測定した。エラスターゼはポリープ群で 86 ± 44 U/l, 非ポリープ群は 22 ± 13 U/lでポリープ群が有意 ($p < 0.01$) に高値を示した。白血球数はポリープ群 $1,600 \pm 450/\text{mm}^3$ に対し非ポリープ群は $600 \pm 100/\text{mm}^3$ であった ($p < 0.05$)。さらにポリープ群をポリープ切除群(N=21)とポリープ放置群(N=25)に分けて分析すると, 切除1週後にはエラスターゼ活性は 87 ± 49 U/lから 44 ± 24 U/lとなり ($p < 0.05$)。白血球数は $1,600 \pm 500/\text{mm}^3$ から $1,150 \pm 400/\text{mm}^3$ となり切除前に比較し低値となつた。一方放置群は診断時から1週後のエラスターゼ活性 89 ± 47 U/l, 白血球数 $1,650 \pm 450/\text{mm}^3$ で変化を認めなかつた。

切除したポリープをエラスターゼ抗体を用い免疫組織染色を行つた。エラスターゼの染色弱陽性群の頸管粘液エラスターゼ値は 46 ± 26 U/l, 陽性群は 89 ± 31 U/l, 強陽性群は 114 ± 36 U/lでエラスターゼの染色性の強いものほど頸管粘液エラスターゼ活性が高値を示した。また顆粒球がポリープの間質から頸管内腔へ遊走している像が散見された。頸管ポリープが存在すると頸管粘液エラスターゼ活性上昇が認められること, およびポリープに広範囲のエラスターゼの局在が見られたことから頸管ポリープは炎症のフォーカスと考えられた。

頸管ポリープ切除によりエラスターゼ活性, 頸管内白血球数が有意に低下することが認められた。予後について絨毛羊膜炎の発生頻度は非ポリープ群では5例(9%), ポリープ切除群では3例(14%), ポリープ放置群では10例(40%)であつた。非ポリープ群, ポリープ切除群と比較しポリープ放置群が有意に絨毛羊膜炎の発生が高値であつた。以上より, 上行感染, 絨毛羊膜炎の予防のため, 妊娠中の頸管ポリープは切除あるいは局所の炎症・感染に対する治療が必要と考えられた。

Synopsis Granulocyte elastase activity in cervical mucus (elastase activity) was measured in pregnant women (10~20 gestational weeks) with cervical polyp and controls (gravid with no cervical polyp). Elastase activity in the cervical polyp group was 86 ± 44 U/l, and that in the control group was 22 ± 13 ($p < 0.01$). Elastase activity after polypectomy was 44 ± 24 . It decreased significantly compared with pre-polypectomy ($p < 0.05$). A high level of elastase activity continued in cases without polypectomy.

Immunohistochemical staining of elastase for cervical polyps was also performed. In the low elastase staining group there was low elastase activity (46 ± 26 U/l). Elastase activity in the moderate staining group was 89 ± 31 , and that in the intense staining group was 114 ± 36 . As for the prognosis of patients with cervical polyps, the occurrence rate of chorioamnionitis is 9% in the control group, 14% in the polyp with polypectomy group and 40% in the polyp without polypectomy group. There was a significant difference between the polyp without polypectomy group and other groups ($p < 0.01$). These data suggest that cervical polyp is a focus of inflammation and that it may cause chorioamnionitis. We conclude that cervical polyp during pregnancy should be removed. If polypectomy could not be performed, local anti-inflammatory and anti-infectious therapy would be needed.

Key words: Granulocyte elastase • Cervical mucus • Cervical polyp • Chorioamnionitis

緒 言

子宮頸管ポリープ (ポリープ) は妊娠時においても散見される。しかしその処置に関しては、意

見が分かれている。すなわち切除すると子宮内膜に障害を与え流産する可能性があるため切除には否定的な考えと、またポリープ自体が出血・感染

源となるので予防的に切除した方がよいという見解がある。

顆粒球エラスターゼ（エラスターゼ）は肺気腫⁶⁾、関節リウマチ等⁸⁾の組織破壊性疾患を引き起こすプロテアーゼとして最近注目されている。われわれはこのエラスターゼが PROM を発症させること⁵⁾や頸管粘液エラスターゼ値が絨毛羊膜炎²⁾と深く関係することを報告してきた。そこでポリープの有無とエラスターゼとの関連を検討することが妊娠中のポリープ処置の可否に関する一つの糸口となると考えられるので以下の研究を行った。すなわちポリープとエラスターゼの相互関係を生化学的、免疫組織化学的手法を用いて研究した。

研究方法

対象

妊娠10～20週の間に見られた小豆大以上のポリープ例ではかに合併症のない46例と対照群として上記週数の53例の正常妊婦を対象とした。またポリープ群は次の2群に分類した。(A) ポリープ切除群(21例)、(B) ポリープ放置群(25例)とした。

方法

1. 頸管粘液エラスターゼ活性、頸管粘液白血球数測定法

ポリープ群ではポリープ発見時と1週後に、対照群では妊婦検診時に頸管粘液を採取した。頸管粘液は頸管内を Abott 社製綿棒で360度軽く擦過し頸管粘液を採取した。これを1ml のリン酸緩衝液に浸しバイブレーターで10秒攪拌した。この0.5 ml 中の白血球数を測定した。エラスターゼ活性は残りの0.5ml を2,000G×10min. 遠心し、上清を採取し、その50 μ l をマイクロプレート上に取り、それに0.1M トリス緩衝液 pH 8.3(+0.96M NaCl) を50 μ l 加えた。そして37℃でインキュベーション後発色性合成基質 S2484 (第一化学) を加え、405 nm における吸光度変化 $\Delta A/\text{min}$ を BIO-RAD 社製 EIA リーダーで測定した。測定はすべて2回行った。

2. 免疫組織化学におけるエラスターゼの局在 切除したポリープは10%ホルマリン固定しパラ

フィン包埋後切片を切りだした。脱パラフィン後20%BSA 加50mM トリス緩衝液 pH 7.3(125mM NaCl)にてブロッキングした(23℃, 30min.)。続いて、50mM トリス緩衝液 pH 8.5 (125mM NaCl)で3回洗浄後エラスターゼモノクローナル抗体(DAKO)で反応させた(23℃, 60min.)。その後2次抗体の抗マウス IgG(ラビット)(23℃, 30min.)、アルカリフォスファターゼ抗アルカリフォスファターゼコンプレックス(23℃, 30min.)後ナフトール ASMX, FAST RED TR SALT にて発色させた。エラスターゼの局在が部分的に認めるものを(+), 散在性に中等度に認めるものを+, びまん性に強度に認めるものを++とした。染色性と頸管粘液エラスターゼ活性との関連も検討した。

次に各症例の転帰について検討した。妊娠・分娩経過を follow up し、前期破水、切迫早産等の合併症および分娩時胎盤羊膜の病理学的検索を行った。絨毛羊膜炎は Blanc 分類II度以上とした。

なお統計学的処理は Student t-test, χ^2 検定で行った。

研究結果

表1にポリープ群と非ポリープ群のエラスターゼ活性、白血球数を示した。ポリープ群でエラスターゼ86 \pm 44U/l, 白血球数1,600 \pm 450/mm³, 非ポリープ群はそれぞれ22 \pm 13U/l, 600 \pm 100/mm³で有意にポリープ群で高値であつた(p<0.01, p<0.05)。次にポリープ群におけるポリープ切除の前後におけるエラスターゼ活性、白血球数の変化を示す(図1)。切除群のほとんどの例でエラスターゼも白血球数も低下しているのがわかる。エラスターゼは切除前87 \pm 49U/l, 切除後44 \pm 24U/l (p<0.05), 白血球数は切除前1,600 \pm 500/mm³, 切除後1,150 \pm 400/mm³となつた。一方ポリープ

表1 頸管粘液エラスターゼ活性・白血球数とポリープ

	エラスターゼ活性 (U/l)	白血球数 (/mm ³)
ポリープ群	86 \pm 44*	1,600 \pm 450**
非ポリープ群	22 \pm 13	600 \pm 100

*p<0.01, **p<0.05

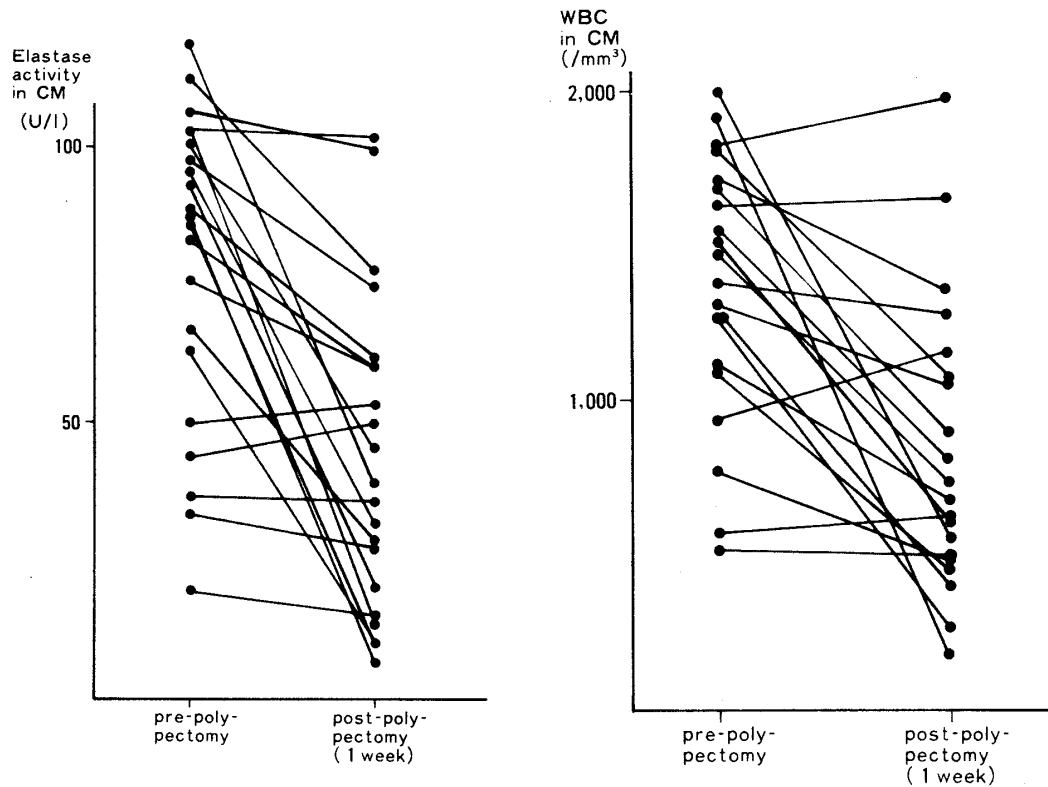


図1 (左) 頸管ポリープ切除前後における頸管粘液エラスターゼ活性の変化,
(右) 頸管ポリープ切除前後における頸管粘液白血球数の変化

表2 頸管ポリープ切除による頸管粘液エラスターゼ活性・白血球数の変化

	エラスターゼ活性 (U/l)	白血球数 (/mm³)
ポリープ切除 (前)	87±49	1,600±500
ポリープ切除 (後)	44±24*	1,150±400
ポリープ放置 (初診)	85±45	1,600±450
ポリープ放置 (1週後)	89±47	1,650±450

*p<0.05

放置群は発見時エラスターゼ85±45U/l, 白血球数1,600±450/mm³から1週後エラスターゼ89±47U/l, 白血球数1,650±450/mm³となり, 放置群では高値を持続した(表2)。

エラスターゼの局在陽性例の典型的な例を写真1A, 1Bに提示した。1Aではポリープ間質の一部にエラスターゼの分布が見られる弱陽性群である。1Bはエラスターゼの局在が密に分布している強陽性群である。染色が不正な形状をした顆粒球も散見され顆粒球が活性化していることが推測される。さらに円柱上皮下に顆粒球が集積している

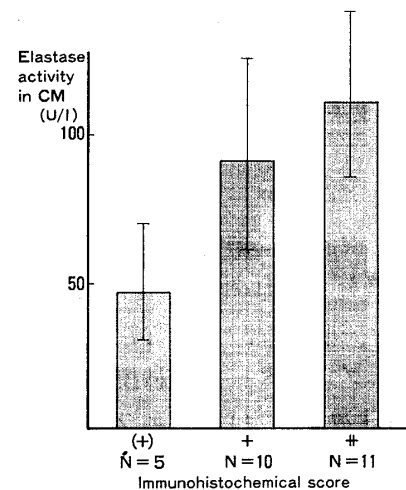


図2 頸管ポリープのエラスターゼ染色と頸管粘液エラスターゼ活性の関連, (+)エラスターゼ染色弱陽性, +エラスターゼ陽性, ++エラスターゼ強陽性

像も認める。1Cに円柱上皮下の顆粒球が基底膜を破り円柱上皮細胞間を遊走し頸管内腔に達している像も見られる。図2に頸管粘液エラスターゼ活性とポリープのエラスターゼの染色との関係を示した。エラスターゼの染色性の強いポリープほど

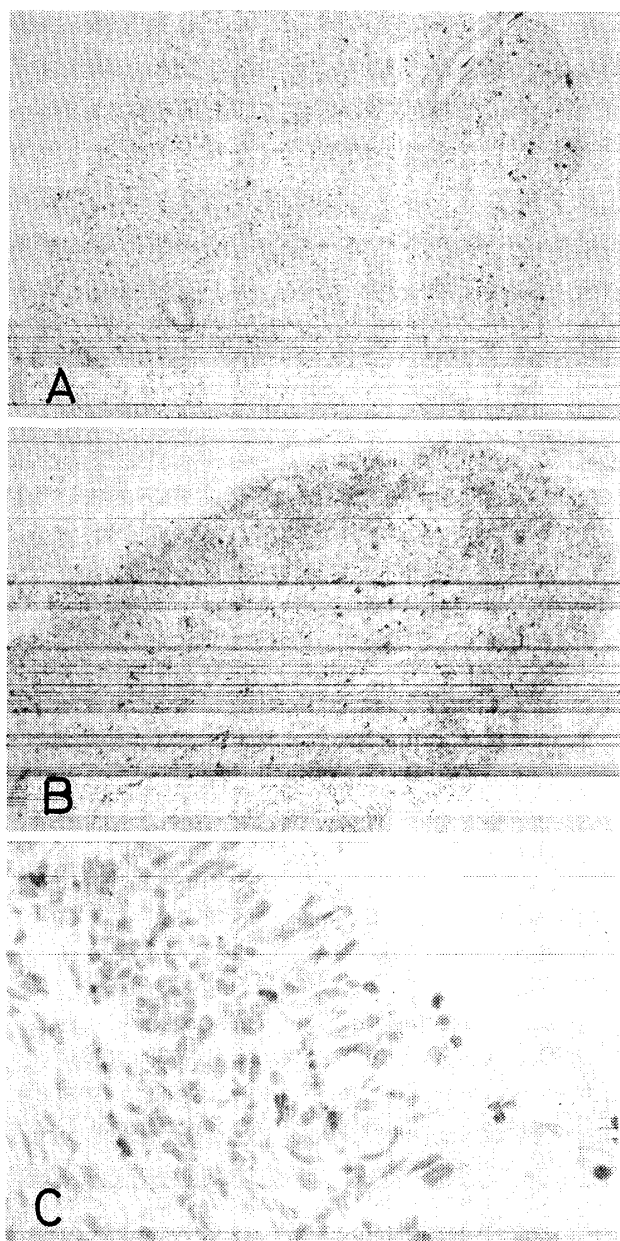


写真1 頸管ポリープのエラスターゼ免疫染色 (APAAP法), (A) エラスターゼ弱陽性例, (B) エラスターゼ強陽性例, (C) ポリープの間質から頸管内腔に遊走する顆粒球

頸管粘液エラスターゼ活性が高いことが判明した。エラスターゼ活性は弱染色群 $46 \pm 26 \text{U/l}$, 陽性群 $89 \pm 31 \text{U/l}$, 強陽性群 $114 \pm 31 \text{U/l}$ であった。

表3は切迫早産, 早産, Preterm PROM, 絨毛羊膜炎の発生頻度である。非ポリープ群では切迫早産7例(13%)を認めたものの早産, Preterm PROMは認めなかった。絨毛羊膜炎が5例(9%)存在した。一方, ポリープ切除群で切迫早産3例

表3 頸管ポリープと切迫早産・早産・Preterm PROM・絨毛羊膜炎発生率

	非ポリープ群	ポリープ切除群	ポリープ放置群
切迫早産	7/53(13)	3/21(14)	8/25(32)
早産	—	—	1/25(4)
Preterm PROM	—	1/21(5)	1/25(4)
絨毛羊膜炎	5/53(9)	3/21(14)	10/25(40)

(): %

(14%), 早産は認めず, Preterm PROMは1例, 絨毛羊膜炎は3例(14%)あった。ポリープ放置群では切迫早産8例(32%)でそのうち1例が早産し, また Preterm PROM 1例が発生し妊娠35週で分娩に至った。すなわち25例中2例(8%)が早産したことになる。絨毛羊膜炎は10例(40%)に認め非ポリープ群, ポリープ切除群と比較し高値であった。また早産した2例はともに絨毛羊膜炎を合併していた。

考 察

ポリープが存在すると頸管内白血球数, エラスターゼ活性が高値を示した。これは写真1のポリープ内間質に顆粒球が遊走していること, また図2の頸管内エラスターゼ活性とポリープ内エラスターゼの局在がよく相関することなどから頸管ポリープは炎症細胞を放出する一つのフォーカスといえよう。しかも頸管内エラスターゼ活性が高いということは顆粒球が活性化して脱顆粒し, ライゾームからエラスターゼが放出されていることを意味している。また今回は検討しなかつたがポリープの炎症病巣からエラスターゼと同時に活性酸素などのフリーラジカルも多量に放出されていると考えられる。実際卵膜においては, エラスターゼやフリーラジカルが組織障害の中心的役割を果すことを, 最近われわれが報告した⁵⁾。したがってポリープは組織障害性の強い炎症病巣であるといえる。

ポリープによる炎症が周辺組織, とりわけ卵膜に波及すると重大な影響をもたらす。絨毛羊膜炎が発生する可能性があるからである。絨毛羊膜炎は難治性切迫早産や前期破水を引き起こすことが明らかになってきた⁴⁾⁷⁾。しかも絨毛羊膜炎が早産

の原因に占める割合が予想外に高いことが報告されている¹⁾。今回ポリープ症例の予後についてもポリープ放置群から10例(40%)の絨毛羊膜炎が発生し、そのうち2例(8%)が早産した。非ポリープ群、ポリープ切除群から絨毛羊膜炎の発生頻度が15%以下という結果からも、ポリープが絨毛羊膜炎の一つの原因になつていることが推測される。そしてポリープ切除により頸管内エラスターゼ活性、白血球数が有意に減少することも、ポリープと絨毛羊膜炎との関連が強く示唆される。

今回図表には示さなかつたが、ポリープの組織学的所見は90%が内膜ポリープ、および脱落膜ポリープで、残りは繊維状ポリープであつた。内膜ポリープは1層の円柱上皮で覆われているのみでポリープの間質が外部と接近している。そこで腔内の細菌、補体等の走化性物質が透過し多量の顆粒球が間質から外部へ容易に遊走すると考えられる。われわれは広範囲腔部びらん²⁾に絨毛羊膜炎による前期破水が併発しやすいと報告したが³⁾、びらんは円柱上皮が腔に露出している病態でありポリープと類似しているかもしれない。

ポリープがあつても60%は上行性感染による絨毛羊膜炎が発生しないことは、生体の防御機構によるものと考えられる。それらに頸管粘液中のプロテアーゼインヒビター、リゾチーム、IgA さらに卵膜中の α_1 アンチトリプシン、尿中トリプシンインヒビターなどが予想される。これらとポリープから放出されるChemical mediatorsとのインバランスが絨毛羊膜炎を発症させると推測される。

最後に妊娠中に見出されるポリープの処置について述べる。従来から切除か放置かの賛否両論があるが、今回のわれわれの研究から炎症のフォーカスであるポリープは切除すべきと結論される。

しかしポリープ切除に関してはその発生部位も重要な因子となる。まれに子宮の内腔から発生するポリープもあるからである。この場合にはポリープ切除は子宮内膜の損傷につながる可能性もあり注意を要する。ゆえに切除時、鉗子装着した際の可動性、肉眼的所見から発生部位が明らかに頸管由来であれば積極的に切除し、不明確な場合は腔洗浄、イソジン消毒、抗生物質投与により上行感染を予防すべきであろう。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金02771060による。

文 献

1. 今井史郎, 中山雅弘: 早期(妊娠32週未満)早産の成因と胎盤病理の相関性に関する研究. 日産婦誌, 40: 861, 1988.
2. 金山尚裕, 寺尾俊彦: 切迫早産例における頸管内顆粒球エラスターゼ活性と予後との関連. 日産婦誌, 40: 917, 1988.
3. 寺尾俊彦, 金山尚裕: preterm PROMの成因について. 産婦の実際, 37: 159, 1988.
4. Hameed, C., Tejani, N., Verma, U.L. and Archbald, F.: Silent chorioamnionitis as a cause of preterm labor refractory to tocolytic therapy. Am. J. Obstet. Gynecol., 149: 726, 1984.
5. Kanayama, N., Terao, T. and Horiuchi, K.: The role of human neutrophil elastase in the premature rupture of membranes. Asia-Oceania J. Obstet. Gynaecol., 14: 389, 1988.
6. Karlinsky, J.B. and Snider, G.L.: Animal models of emphysema. Am. Rev. Respir. Dis., 117: 1109, 1978.
7. Quinn, P.A., Butany, J., Taylor, J. and Hannah, W.: Chorioamnionitis: Its association with pregnancy outcome and microbial infection. Am. J. Obstet. Gynecol., 156: 379, 1987.
8. Wong, P.S. and Travis, J.: Isolation and properties of oxidized alpha-1-protease inhibitor from human rheumatoid synovial fluid. Biochem. Biophys. Res. Commun., 96: 1449, 1980.

(No. 6861 平2・9・8受付)