



Collagen types in normal and prematurely ruptured amniotic membranes

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 金山, 尚裕 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/908

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 55号	学位授与年月日	昭和63年 3月25日
氏 名	金 山 尚 裕		
論文題目	Collagen types in normal and prematurely ruptured amniotic membranes (正常及び前期破水羊膜におけるコラーゲンタイプ)		

Collagen types in normal and prematurely ruptured amniotic membranes
(正常及び前期破水羊膜におけるコラーゲンタイプ)

論文の内容の要旨

妊娠満期以前に前期破水が発生すると未熟児が出生することが多い。また、未熟児出生の30%は前期破水が原因である。しかし前期破水の原因に関する報告は少ない。最近、羊膜の弾力低下により前期破水が発生するという報告や、また前期破水の羊膜は、コラーゲン量が有意に低いという結果などから前期破水の羊膜の質的な異常が注目されている。一方結合組織の強靱性は、コラーゲン、エラスチンに左右されている。そこで我々は、羊膜中のコラーゲン量、コラーゲンタイプ、エラスチン量について前期破水群、非前期破水群の比較検討を行った。

方法：妊娠24～41週の羊膜を分娩直後に40例採取した。妊娠37週未満(Preterm)の群は19例(前期破水群9例、非前期破水群10例)妊娠37週以降(Term)の群は21例(前期破水群11例、非前期破水群10例)であった。各試料はホモゲナイズし、遠心後、脂質を除くために、アセトンで洗浄し、乾燥させた。試料10mgを6M塩酸、110℃18時間で加水分解し、Kivirikkoらの方法でハイドロキシプロリンを測定し総コラーゲン量を求めた。また、加水分解した試料を0.1M塩酸に溶解し、ホスホセルロースカラム(H⁺型)に添加後0.5M塩酸で溶出した。蒸発乾固後アミノ酸をトリニトロフェニル化し高速液体クロマトグラフィーにてデスモシン、イソデスモシンを測定し、それらの値よりエラスチン量を求めた。

残りの乾燥試料100mgを、0.5M酢酸のもとで、ペプシン消化を行った。この操作で溶解したコラーゲンを可溶性コラーゲンとし、これを7.5%ポリアクリルアミドゲル電気泳動にて分析し、タイプ別コラーゲン量を測定した。また、可溶性コラーゲン、不溶性コラーゲン画分のコラーゲン量をKivirikkoらの方法で測定し、コラーゲンの可溶性率を計算した。

結果：総コラーゲン量は、Pretermの前期破水群 $350 \pm 70 \mu\text{g}$ コラーゲン/mg dry weight、非前期破水群 587 ± 84 、危険率1%以下で有意差を認め、Termの前期破水群 490 ± 41 、非前期破水群 560 ± 62 で有意差を認めなかった。エラスチンは前期破水群、非前期破水群の両者の羊膜に検出されなかった。可溶性率は、Preterm、Termとも前期破水群、非前期破水群に関係なく、70%前後であった。タイプ別コラーゲン量は、Pretermにおいて、前期破水群で非前期破水群に比しタイプⅢコラーゲンが有意に減少し、タイプⅠ、Ⅴコラーゲンは不変であった。Termにおいては前期破水群、非前期破水群ともタイプⅠ、Ⅲ、Ⅴコラーゲン量に有意差は認められなかった。

考察：羊膜の強靱性はコラーゲンによる。Pretermの前期破水群の羊膜ではコラーゲンの減少により脆弱化している。その結果、前期破水が発症すると考えられる。Pretermの前期破水の羊膜のコラーゲン減少はタイプⅢコラーゲンの減少によることが判明した。コラーゲンを分解する酵素はタイプ特異性があり、タイプⅢコラーゲンは好中球エラスターゼ、トリプシンで選択的に分解される。これらの酵素とタイプⅢコラーゲンとの関係については、副論文にて明らかにした。

論文審査の結果の要旨

羊膜の満期前における前期破水は未熟児出産のもっとも重要な原因であり、前期破水の原因としては羊膜の脆弱化が重視されている。絨毛羊膜炎や腔内細菌叢に羊膜脆弱化の原因を求めるものは多いが、羊膜の弾力性の低下やコラーゲン量の低下については少数の報告があるにすぎない。申請者は主論文において羊膜中の総コラーゲン量、タイプ別コラーゲン量、エラスチン量を測定し、前期破水群と非前期破水群について比較し、副論文においては、コラーゲン量低下のおこる機序について検討した。

本研究で明らかにされた主なる点は次のごとくである。

1. 羊膜はⅠ型、Ⅱ型、Ⅴ型コラーゲンを含み、エラスチンはほとんどない。

2. 羊膜中コラーゲン量が満期前（妊娠37週未満）の前期破水群では非破水群に比し有意に低下するが、満期（妊娠37週以降）の前期破水ではほとんど低下しない。
3. 満期前の前期破水で低下するコラーゲンはⅢ型であり、Ⅰ型、Ⅴ型には変化はない。
4. 満期前の前期破水における羊膜Ⅲ型コラーゲン低下は、羊水中 α_1 アンチトリプシン低下によるトリプシンの活性化、あるいは絨毛羊膜炎に浸潤する好中球の酵素作用と関係がある。
5. α_1 アンチトリプシンおよびトリプシンの濃度は陣痛や破水によって変化するものではなく、羊膜の脆弱化に一義的意義をもつものと考えられる。

これらの結果は委員会において高く評価された。なお、本論文の審査の過程において、以下のような問題について論議があった。

1. 分析のために採取された羊膜の部位に対する考慮は充分か。
2. エラスチンの証明は生化学的方法のみでよいか。
3. 羊膜の弾力性の変化にコラーゲンの立体的構造変化を考慮する必要はないか。
4. 満期における早期破水ではコラーゲン量の変化がないが、この場合の早期破水の原因は何か。
5. トリプシン活性測定において、人工基質に対する活性をもってコラーゲンに対する活性とみなすことができるか。
6. トリプシン活性上昇と α_1 アンチトリプシンの低下ないし絨毛羊膜炎との症例ごとの関係を明示する図は作れないか。

などであるが、これらに対する申請者の応答は適切であり、本審査委員会は本論文が医学博士の学位授与に値する充分の内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 白 澤 春 之

副査 教授 藤 瀬 裕 副査 教授 茂 木 克 俊

副査 助教授 太 田 英 彦 副査 講師 早 田 隆