

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

産婦人科の実際 (1988.07) 37巻7号:1005～1009.

[胎児機能アセスメント]  
肺成熟度の生化学的評価

石川睦男, 佐々木公則, 清水哲也

## 肺成熟度の生化学的評価

石川 睦男\* 佐々木公則\* 清水 哲也\*

### はじめに

胎児が羊水中の環境から、空気中の環境へ移行して適応するためには各種の胎児機能の成熟、ことに肺の機能の成熟が必要不可欠である。すなわち、羊水中において空気に接触していなかった肺が空気呼吸に適応して活動する能力を有していなければならない。

胎児肺は呼吸様運動を行っているほかに肺胞液を分泌している。

ヒトの肺胞形成の開始時期は妊娠 25 週頃といわれている。また、肺胞表面にはその表面張力を著しく低下し、肺胞の虚脱を防止して肺胞の弾性を維持する物質を有しており、「肺表面活性物質」pulmonary surfactant と呼ばれている。この肺表面活性物質を産生する細胞は II 型上皮細胞で、この II 型上皮細胞も胎生の 20 週から 24 週に出現を開始し、妊娠週数とともに増加してくる。そして、II 型細胞が肺表面活性物質を合成しラメ封入体を細胞内蓄積後、肺胞腔へ分泌する。この肺胞腔と羊水は交通しており、羊水中で肺表面活性物質は検出可能である。

肺胞洗浄液から分離された肺表面活性物質の大部分、約 90%が脂質であり、その大半がリン脂質で、phosphatidylcholine (PC) が 80%を占め、その半分は dipalmitoyl phosphatidylcholine (以下 DPPC) である。その他には、

phosphatidylglycerol (PG) が特徴的成分である。肺表面活性物質の約 10%は蛋白質で、分子量 36,000 の糖蛋白で apo-protein からなる。天然の肺表面活性物質は、この apo-protein とリン脂質からなる脂質-蛋白複合体として存在する。

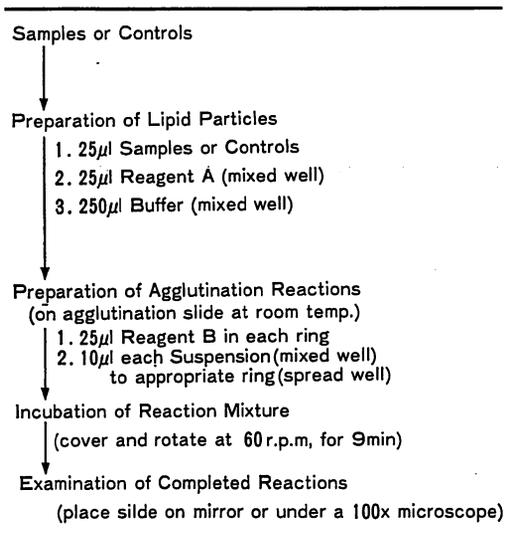
この表面活性物質を出生時に欠乏すれば、肺胞虚脱状態により、呼吸を維持できなくなり未熟児の死亡率の大きな部分を占める RDS を発症するわけである。この RDS の発症の予知-胎児肺成熟度の検討に羊水中の物質の生化学検索が行われてきた。すなわち、従来は羊水中の総リン脂質、lechnin 量、lechnin/sphingomyelin 比 (L/S 比)、shake test (foam stability test) などが行われてきた。しかし、これらの方法は、出生児の肺の成熟度を十分反映していないという報告や、羊水中へ血液、胎便の影響による報告など、依然判定方法について検討の余地を残している。

近年、超音波診断法の進歩により胎児の機能発達、well-being の評価が可能となっており、本特集でも種々の観点から論議されると思われる。最近、前期破水後に pulmonary hypoplasia へ発達するか否かを real-time の超音波により出生前 10 日以内の診断を試みている。すなわち、胎児胸郭周囲径 (thracic circumference, T.C. 胎児 4-chamber 断面の胸郭横断面の周囲径) と腹部周囲径 (abdominal circumference, A.C. 胎児の胃部断面の腹部横断面の周囲径) の比 TC: AC ratio から pulmonary hypoplasia の発生の相関を求めた。すなわち TC: AC ratio は妊娠中はほぼ

\* Mutsuo ISHIKAWA(助教授), Kiminori SASAKI, Titsuya SHIMIZU (教授) 旭川医科大学産婦人科学教室

[別冊請求先] 〒078 旭川市西神楽 4-5  
旭川医科大学産婦人科

表 1 Agglutination test by Amnio Stat-FLM (Hana Biologics, U. S. A.)



一定であるからである。出生後の pulmonary hypoplasia と TC: AC ratio は強い相関があり、その比が 0.89 以上は良好な新生児予後を示したが、0.79 以下は、ほとんど pulmonary hypoplasia で死亡したと Johnson らは報告している<sup>1)</sup>。

以上のように、胎児肺の成長に関して、超音波診断法などの生理学的手段では、肺の呼吸様運動の計測と、胸郭、肺の発達測定のみで胎児肺成立の判定までは不可能である。最近は、phosphatidylcholine 分画中の dipalmityl phosphatidylcholine (DPPC) や phosphatidylglycerol (PG), apo-protein が注目されている。とくに、PG に関しては、胎児肺成熟度の指標としては有用であるという報告が多いため、今回はとくに PG の測定法ならびに診断精度に関して検討したわれわれの成績を中心に概説する。

## I. PG の測定法とその臨床成績

### 1. PG の測定法

1976 年 Hallman らが胎児肺成熟度判定の手段として、羊水中 PG 定量を報告して以来、PG 測定の有用性を支持する報告が相次いだ

が、その煩雑さからいまだ臨床面での一般的手段とはなっていない<sup>2)</sup>。従来より PG の存在下では RDS の発症が少ないという報告は数多く、PG の測定では疑陰性が少ないとされてきた。さらに、PG は肺に特異的に存在するため、血液、胎便混入による影響を受けないなど利点を有している。しかし、検出するためには大量の羊水を必要とすること、測定の困難さなどから臨床面ではあまり有用な手段とはなりえなかった。しかし、免疫学的凝集反応を利用した PG の半定量法の導入により、検体の羊水量が 25  $\mu$ l と微量で済むこと、1 検体 15 分以内で PG の存在が確認できること、一度に多数の検体を処理できるなどの利点がある。今回、われわれは Amnio Stat-FLM (Hana Biologics U. S. A. 富士レビオ提供) (以下 AFLM) を用いた免疫学的凝集反応によって PG 半定量を行った<sup>3)</sup>。方法は表 1 に示す通りで、抗 PG 血清は Regent B 中に含まれている。Hana 社の原法では control として PG をまったく含有していない negative (-) と、PG を 2  $\mu$ g 含有する positive (H), PG を 4  $\mu$ g 含有する strong positive (HH) に分けている。われわれは、100 倍の顕微鏡下でその凝集様式から (-), (H), (+), (HH), (HHH) の 5 段階に分類して判定した。本法を含め抗 PG 血清を用いた免疫学的測定の報告がほとんどないため、本キットの PG に対する特異性を検討した。図 1 はその結果を示したものである。PG は 0.4 nmole/25  $\mu$ l から凝集を始め、0.5~0.6 nmole から (H) 以上を示した。これに対し、phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine などの肺主要リン脂質は cardiolipin を除いて 5.0 nmole/25  $\mu$ l まで凝集を認めなかった。cardiolipin は 4.0 nmole/25  $\mu$ l から凝集を認めたが、これは PG の検出領域の 8~10 倍の濃度であり、本法は PG の検出、半定量に十分な特異性を有すると考えられる。

### 2. PG の臨床成績

PG の測定結果と RDS の発症と関連に関する診断の精度につき述べる。ここで、診断精度

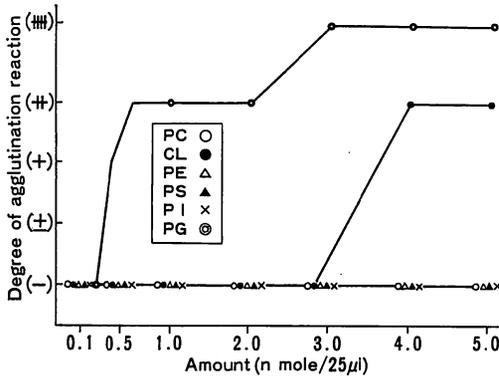


図 1 Phospholipid Specificity of Amnio Stat-FLM test

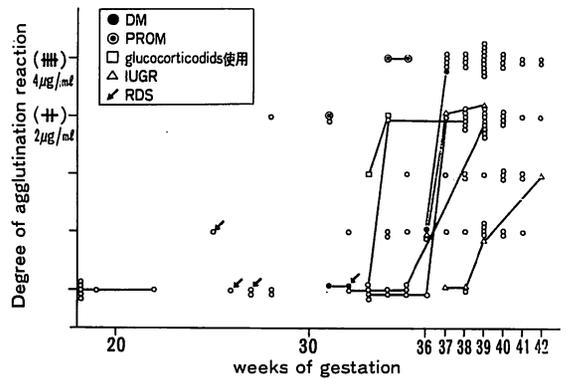


図 2 ヒト羊水中の phosphatidylglycerol (PG) の妊娠週数による変化

表 2 PG 測定による RDS 診断精度

区 分		スクリーニング検査		
		(+)	(-)	計
疾 病 異 常		PG < 2ng/ml	PG > 2ng/ml	
	RDS +	真陽性 (TP) 4	偽陰性 (FN) 0	疾病あり (TP + FN) 4
	no RDS -	偽陽性 (FP) 20	真陰性 (TN) 66	疾病なし (FP + TN)
計		検査陽性 (TP + FP) 24	検査陰性 (FN + TN) 66	検査総数 (T) 90

1. 敏感度 (Sensitivity, ST) =  $\frac{TP}{TP + FN} = \frac{4}{4 + 0} = 100\%$
2. 特異度 (Specificity, SP) =  $\frac{TN}{TP + FP} = \frac{66}{66 + 20} = 77\%$
3. 陽性反応適中度 (PVP) =  $\frac{TP}{TP + FP} = \frac{4}{4 + 20} = 17\%$
4. 陰性反応適中度 (PVN) =  $\frac{TN}{TN + FN} = \frac{66}{66 + 0} = 100\%$
5. False positive rate (FPR) (偽陽性率) =  $\frac{FP}{TP + FP} = \frac{20}{4 + 20} = 83\%$
6. False negative rate (FNR) (偽陰性率) =  $\frac{FN}{TN + FN} = \frac{0}{66 + 0} = 0\%$

に關与する PG の成績は、羊水採取後 72 時間以内に分娩に至った症例である。PG の診断精度を述べる前に言葉の定義を明確にしておく。スクリーニング検査と疾病異常の關係においては、スクリーニング検査で陽性-positive (+) というのは疾病が予測される。すなわち肺が未熟で RDS が予測されるということである。逆にスクリーニング検査で陰性 negative とは、疾病が予測されない。ここでは肺が成熟してお

り、RDS の発症がないことが予想されるという意味である。往々にして  $2 \mu\text{g} > \text{ml}$  以上 AF LM では positive という表現を使用するため、スクリーニングで positive と混同して発表された論文が国内外を問わずみられる<sup>4)</sup>。したがって、敏感度 (sensitivity) は罹患しているものを陽性と判定する率、特異度 (specificity) は罹患していないものを陰性と判定する率である。表 2 に RDS の発症の予測に關する成績を

示す<sup>5)6)</sup>。

検体数は 109 で経腹的、経腔的採取、新生児からの吸引により採取したものを使用した。図 2 に示すように、羊水中 PG は妊娠 35, 36 週頃より増加する傾向を示した。経腹的に観察できた症例、9 例は直線で結んで示した。

AFLM による判定が (+), (H), (H) の PG 陽性群は 66 例、判定が (-), (H) の PG 陰性群が 24 例であった。RDS を発症した 4 例はいずれも PG 陰性群であった。よって、肺が感熟していると判定されたにもかかわらず、RDS を発症した例 (falsely mature value) 疑陰性率 (false negative rate) は 0% であった。また、肺が成熟していないと判定されたにもかかわらず RDS を発症しない例 (falsely immature rate), 疑陽性率 (false positive rate) は 83% であった。すなわち、AFL 法は RDS 発症の予想に関しては、sensitivity は 100%, FNR は 0% と優れていたが、specificity 77%, FPR は 83% とスクリーニング法としては問題点を有している。つまり RDS 発症例を見落とす危険はないが、逆に肺成熟例についても RDS 発症を疑う確率が高いという結果であった。

この AFL 法の診断精度を高める目的で、さらに種々の試みを行った。

### 3. PG 測定法の改良<sup>7)8)</sup>

AFLM 法による PG 判定陰性症例の羊水を用いて、PG 酵素法による再検を行った。さらに、disaturated phosphatidylcholine (DSPC) の酵素法による測定値とも比較を行った。肺の成熟度の判定を宗重らの報告を参考にし、PG 値を 3.6 nmole/ml 以上を肺成熟とした<sup>9)</sup>。その結果、AFLM 判定値と酵素法の値は、ほぼ正の相関を示した。さらに、RDS を発症した例はすべて、PG 3.6 nmole/ml 未満であった。また、AFLM 法の (+) は、PG 酵素法値 16 nmole/ml 前後からみられるようになり、AFLM (H) は PG 酵素法値 20 nmole/ml より観察された。さらに、DSPC の酵素法により DSPC 10 nmole/ml 以上の肺の成熟と

した、AFLM による PG 陰性例の中から、肺成熟例を一部除外できた。

PG は cardiolipin の合成前駆物質として肺以外には微量存在するにすぎないが、肺には比較的多く含まれている。PG の作用は、現在のところ、肺表面活性物質の主体である DSPC-apo-protein 複合体形成を促進すると考えられている。このことは、RDS 児の肺泡排出液中の PG 含有が痕跡程度である臨床報告とも合致し、PG は胎児肺成熟度の指標として有用性が高いと考えられている。胎児肺成熟度の指標として、PG は DSPC に比し糖尿病合併妊娠例での FNR の低い、血液や胎便の混入でも影響を受けない、薄層クロマトグラフィーなどを使用し羊水中にごく微量でも検出できれば胎児肺成熟の確認ができるなど長所を有している。しかし、微量検出で判定できるという事実は、裏返せば RDS 発症に関して FPR が高くなる危険性を有することを意味する。このことは、PG の羊水中への出現が他の肺表面活性物質に比し遅く、妊娠 34 週頃より出現しはじめるという PG 自体の性格とあわせて、PG による胎児肺成熟度判定を難しくしているといえる。これらの PG 判定の短所は PG 酵素法の開発により克服されつつあるが、PG 酵素法は長い時間と熟練した技術を必要とし、いまだ臨床的には一般的技術に至っていない。そこで、1982 年以降 PG 半定量法として AFLM 法が普及してきたが、本法は肺成熟例の判定には非常に優れた方法であるが SP が低く、FPR が高い点にスクリーニング法として問題を残している。PG の酵素法による再検の結果、AFLM 法の臨床的境界値が PG 16~20 nmole/ml と、かなり高値であることが判明した。われわれは AFLM 法の (+) の判定を設定することにより成績を若干改善できたが、FNR を上昇させない、新たな control 値を設定できれば、さらに診断精度の向上が望める。実際に製造元 (Hana 社, USA) では新たに 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の control を含む新キットを作成したようであるが、臨床的成績の報告はいまだなく、今後の検

討を要するところである。

文 献

- 1) Johnson, A.J. et al.: Ultrasonic ratio of fetal thoracic to abdominal circumference: An association with fetal pulmonary hypoplasia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **157**: 764, 1987.
- 2) Hallman, M. et al.: Phosphatidylinositol and phosphatidylglycerol in amniotic fluid: Indices of lung maturity. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **125**: 613, 1977.
- 3) Garite, T.J. et al.: A new rapid slide agglutination test for amniotic fluid phosphatidylglycerol: Laboratory and clinical correlation. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **147**: 681, 1983.
- 4) Kogoh D.P. et al.: Amniotic fluid phosphatidylglycerol and phosphatidylcholine phosphorus as predictors of fetal lung maturity. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **154**: 226, 1986.
- 5) Sasaki, K., Ishikawa, M. and Shimizu, T.: Evaluation of The Amniostat-FLM Assay: A Rapid Slide Agglutination Test For Amniotic Fluid Phosphatidylglycerol. 4th Asia-Oceania Congress of Perinatology, 27, 1986.
- 6) 佐々木公則: 自然発症糖尿病チャイニーズハムスターの胎仔肺成熟度の検討: 日産婦誌 **39**: 1607~1614, 1987.
- 7) Sasaki, K. et al.: Fetal lung phospholipids in Chinese Hamster with spontaneous diabetes. *International J. of Feto-Maternal Medicine*, in press.
- 8) 佐々木公則, 他: AmnioStat-FLM による Phosphatidylglycerol 測定の臨床的意 に関する検討. 日本新生児学会誌, 投稿中.
- 9) 宗重 彰, 他: ヒト羊水中肺活性物質の新しい測定法-dipalmitoylphosphatidylcholine の酵素定量ならびにその臨床応用: 日産婦誌. **34**: 845, 1982.

\* \* \* \*

\* \* \*