

流早死産の免疫学的研究

抗精子抗体による早期流産の病理組織学的解明

兵庫医科大学産科婦人科学教室

儀 島 晋 三
鎌 田 敏 雄
香 山 浩 二
宮 本 敬 子

研究目的

抗精子抗体保有婦人の不妊の原因は精子不動化抗体 Ig-G が頸管粘液内に浸出して来て、上昇してくる精子に障害を与える為であることを多年の研究で証明しえたが、他方、動物実験で、受精卵が胞胚に至る迄、精子特異抗原を細胞膜上に保有していることを明らかにした点より、もし、母体が抗精子抗体を保有しているならば、その力価が弱い場合頸管内を通過して受精が成立するかも知れない。そのような場合、受精卵が分裂して卵管内を下降し、子宮内膜に着床する迄、及びたとえ着床したとしても、妊卵が発育する過程で常に抗体の洗礼を受けることになる為、受精卵が障害を受けて、着床障害、発育障害を起すことが考えられる。これが、見かけ上不妊症として扱われている可能性もある。このような見地より、我々は、昭和49年度は、受精卵が、*in vitro* で抗精子抗体に接触した場合、偽妊娠ラットの子宮内に移植された後、如何なる経過をとるかを調べてみたところ、殆んどどの受精卵は着床して、ある程度発育するが、途中で発育停止を来して、吸収されてしまうことを見出した。そこで、昭和50年度は予め、能動的に免疫しておいた場合、このような偽妊娠免疫動物の子宮内に、受精卵を移植した場合、如何なる変化が見られるかを調べた結果、受働免疫動物子宮で起ったのとはほぼ同様な結果、即ち、受精卵は高率に着床はする(L₁₅の時点で)が殆んど吸収されてしまうことが判明した。

昭和51年度は、前年度に十分成し遂げられなかった実験を行うと共に、被免疫母体の各臓器が障害を受けているか否か、又、幸いに吸収されず

に分娩に至った新生児(外見上は一例を除いて異常は認められなかった)の肝、腎、脾の組織学的な検討を行い、抗精子抗体保有動物より生れた新生児に、奇形等の異常があるか否かを確認すると共に、自己組織核蛋白に対する抗体によって障害を受ける自己免疫疾患(膠原病)の場合分娩する新生児に外見及び組織学的異常が発生するか否かも併せて検討してみた。

研究方法

- (1) 抗原の調製：(A)精子抗原：成熟 sprague Dawley(S.D.系)ラット副睪丸を分離し、vas deference より精子を採取、生食水にて洗浄後(1×10⁸ml)、ドライアイス・アルコールで10回凍結融解を行い、glass homogenizerにて磨砕した。(蛋白量：10mg/ml) (B)Deoxy-ribonucleo-protein (DNP)：ラット肝臓を灌流後分離し、0.025M EDTA, 0.01M Sodium citrate を含有した0.04M NaCl でhomogenizeした後よく振盪し、10,000×G、20分間遠沈、沈殿物にdistilled waterを加えて、よく振盪した後、遠沈上清を用いた。
- (2) 免疫法：ラット精子抗原(蛋白量：10mg/ml) 1ml又は、DNP(蛋白量：10mg/ml)1mlにComplete Freund's adjuvantを混合し、その1mlを成熟雌ラット(250g 前後の正常性周期を有するもの)の背部皮内に0.2mlづつ分割注射した。2週間後同様の注射を行い、3週間後よりbooster injectionとして、精子抗原(蛋白量：10mg/ml)浮遊液0.5ml、又はDNP(蛋白量：10mg/ml)溶液0.5mlを腹腔内に2日

間隔で3~4回注射後、1週間以内に陰細胞診で proestrus と判定した被免疫ラットと、精管結紮雄ラットを交配せしめて偽妊娠状態とした。

(3) 抗体価測定：被免疫雌ラットの血液を最終注射1週間後に採取、血清を分離する。他方タンニン酸処理羊赤血球(3%)に、精子抗原(蛋白質:10mg/ml)で感作し、血清を倍数稀釈して、赤血球凝集反応で抗体価を測定した。

(4) 交配法(偽妊娠ラット)：被免疫ラットの proestrus のものを選び、6:00 P.M. に精管結紮雄ラットをケージに入れ、翌朝陰口に Vaginal plug が発見された日を交配日(L₀)とした。対照として免疫されていない未処理ラットも同様に精管結紮ラットと交配せしめ偽妊娠状態とした。

(5) 採卵及び受精卵移植法：免疫群及び対照未処理偽妊娠雌ラットの交配第5日目(L₄)を用意し、他方正常雄ラットと proestrus 雌ラットを交配せしめて5日目に開腹し、子宮を切断し25% normal rat serum in Hank's balanced salt solution 液を用いて、ウェルスライドグラス上に子宮の一部より洗い出す。倒立顕微鏡で受精卵をさがし、これを移植用ピペットを用いて吸引後、シリコン加工プラスチックシャーレに移し、予め用意した偽妊娠ラットの子宮内に移植した後、閉腹し、L₁₅で再開腹して子宮の外より卵の着床の有無を調べ再び閉腹した後、L₂₂迄待ち、分娩しなかった場合に開腹して、着床卵の発育状態を観察した。

(6) 病理組織標本：母体及び新生児各臓器は、ホルマリン固定後、パラフィン埋没、切片は、エオジン、ヘマトキシリン染色を行った。

研究結果

(表1)に示す如く、これら一連の実験操作は極めて熟練を必要とするが、対照群、即ち、無処理 S.D. 系偽妊娠雌ラットの子宮内に L₄ の受精卵を移植した場合、移植卵24ケの中18ケが着床、75%という結果を得た。又 L₁₅で開腹した後、L₂₂に於て、正常分娩した新生仔数13頭で移植卵数の54%に相当する。この群では、着床卵が吸収されて成熟に至らなかったのは5ケであ

り、わずか28%にすぎない。精子で強力に免疫した場合移植卵19ケに対して、着床したと思われる個数は10ケで53%であり、抗精子抗体が存在しても、着床迄の段階では受精卵及び妊卵に影響がないことがわかった。しかるに L₁₅ で已に着床胎仔の形が小さく、明らかに吸収過程にあるものが多く、結局 L₂₂ で分娩に至ったのは4頭、21%しかなかったが、出産した新生仔は一頭(短肢、口蓋破裂)を除いて外見上正常であった。又 DNP で免疫した雌ラットは、移植卵38ケの中、L₁₅ の段階で着床したと思われるものは26ケ、68%であったが、精子で免疫した場合と同様吸収過程にあると思われるものが多く、L₂₂ で分娩に至ったものは3頭即ち7.9%にすぎなかった。しかし、わずかではあるが、生れた仔の外見は対照群に比して変わるところはなく、正常仔と思われた。次に病理学組織検査によると、精子及び DNP で強力に免疫された雌動物の肝、腎、脾は、肉眼的にも組織学的にも全く異常を認めなかった。又、対照群、精子免疫群、DNP 免疫群より生れた新生仔は外見のみでなく、解剖によっても異常はなく、又、肝、腎、脾の組織標本検査によっても、全く異常が認められなかった。免疫群に於て、移植卵は着床はしたが L₂₂ で吸収されてしまっていた母体の子宮を組織学的に調べると、子宮内膜腺の増殖と、腺細胞の背が高くなっている所謂妊娠子宮内膜の後遺と思われる所見が残っているのみで、胎盤片等は認められなかった。

考 察

今迄3年間を通じて明らかになったことは精子で免疫された母体は、たとえ受胎に成功しても、着床後、卵の不育を来し、吸収されてしまう可能性を示す結果を得た。この事実は受精卵が抗精子抗体と接触した場合、母体が受動的にも、能動的にも精子に対して感作された場合に発生しているので、婦人の場合でも、抗精子抗体を保有する場合、頸管粘液内で、精子が不動化されることによる受精障害のみでなく、抗体価が低くて、たとえ受精に成功しても、子宮内で、着床後不育症となり、あたかも早期流産か不妊症の如く見える場合がありうる事が判明した。又、抗精子抗体でな

くても、核蛋白に対して抗体を生ずる場合、即ち、自己免疫疾患の場合も同様な結果を生ずることがわかった。しかし、我々の結果より見ると、精子及びDNPで免疫されていても、少数でも生まれて来た仔には、外見的にも組織学的にも異常が認められなかった点より、精子又は、DNPで免疫

された母体は生児を生むことは少くなるが生まれて来た新生児には、奇形は発生しないのではないかと思わせる。しかし、実験中精子免疫母体より生まれた1頭の奇形仔は、抗体による影響か、又、実験操作中の因子が、奇形を起しめたのかは今のところ不明である。

表1 RESULTS AFTER IMPLANTATION OF FERTILIZED EGGS IN THE UTERUS OF IMMUNIZED AND NON-IMMUNIZED FEMALE RATS.

IMMUNIZATION	NO. OF EGGS TRANSFERRED	NO. OF EGGS IMPLANTATION	FOETAL SURVIVAL
NO TREATMENT (CONTROL)	24	18(75%)	13(54%)
ACTIVE IMMUNIZATION WITH WASHED RAT SPERMATOCYTES	19	10(53%)	4(21%)
ACTIVE IMMUNIZATION WITH RAT LIVER DNP	38	26(68%)	3(7.9%)

↓ 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究目的

抗精子抗体保有婦人の不妊の原因は精子不動化抗体 Ig-G が頸管粘液内に浸出して来て、上昇してくる精子に障害を与える為であることを多年の研究で証明しえたが、他方、動物実験で、受精卵が胞胚に至る迄、精子特異抗原を細胞膜上に保有していることを明らかにした点より、もし、母体が抗精子抗体を保有しているならば、その力価が弱い場合頸管内を通過して受精が成立するかも知れない。