

# 卵管留水腫と体外受精

## —卵管留水腫摘出の有用性—

### *Hydrosalinx and IVF-Usefulness of Salpingectomy before IVF*

北澤 正文      中野 貴史      河津 剛      星野 恵子  
野口 崇夫      三ツ矢和弘      深澤 一雄      稲葉 憲之

MASAFUMI KITAZAWA, TAKASHI NAKANO, TAKESHI KAWATSU, KEIKO HOSHINO,  
TAKAO NOGUCHI, KAZUHIRO MITSUYA, ICHIO FUKASAWA, NORIYUKI INABA

*Dokkyo University School of Medicine, 880 Kitakobayashi, Mibu, Shimotsuga-gun, Tochigi 321-0293, Japan*

要旨：性行為感染症の一つであるクラミジア感染症の体外受精(IVF)への影響について検討するとともに、卵管留水腫(HYD)のIVFへの影響とHYD摘出の有用性について検討した。対象は、1993年1月から2002年12月までの10年間にIVFを施行した699周期とした。①クラミジア抗体陽性(IgA, IgGの両方、あるいはいずれか一方が陽性)の212周期では、妊娠率36.8%、流産率25.6%で、抗体陰性の120周期の妊娠率60.0%、流産率12.5%に比較して、妊娠率の低下と流産率の上昇がみとめられた。②HYD(+)で妊娠した11周期中6周期が流産、2周期が外妊で、妊娠あたりの生産率は27.3%であり、HYD(-)周期の生産率76.4%と比べ有意に低かった。③HYDを摘出した15例に19周期のIVFを行い、14周期で妊娠し(妊娠率73.7%)、流産は5周期であった(生産率64.3%)。妊娠率、生産率ともにHYD摘出前に比べ有意に改善した。以上から、クラミジア感染はIVFの妊娠率、生産率を低下させる。また、HYDの存在はIVFの生産率を低下させ、HYDの摘出は妊娠率および生産率を有意に改善させることが確認された。

キーワード：性器クラミジア感染症、卵管留水腫、体外受精、卵管切除、妊娠率

**ABSTRACT:** The objective of this study was to assess the clinical effects of Chlamydia trachomatis (CT) infection and hydrosalpinx (HYD) on IVF outcomes, and evaluate the usefulness of salpingectomy prior to IVF treatment. Enrolled were 699 IVF-cycles which were done in our clinic during 1993–2002. Compared with the CT antibody-negative group (120 IVF-cycles), the pregnancy rate (PR) was significantly lower (PR: 36.8 vs 60.0%) and the abortion rate (AR) was higher (AR: 25.6 vs 12.5%) in the CT antibody (IgG and/or IgM)-positive group (212 IVF-cycles). As regards the delivery rate (DR), the HYD-positive group (27.3%) was significantly lower than the negative one (76.4%). In addition, salpingectomy prior to IVF treatment was found to significantly improve both PR and DR by comparing the 2 group of salpingectomy (19 IVF-cycles, PR/DR: 73.7/78.6%) and non-salpingectomy (29 IVF-cycles, PR/DR: 37.9/27.6%) in the hydrosalpinx patients. Our study clearly demonstrates that the surgical removal of the hydrosalpinx improves pregnancy rates as well as delivery rates in IVF treatment.

**Key words:** chlamydia trachomatis infection, hydrosalpinx, IVF, salpingectomy, pregnancy rate

## 緒 言

不妊原因の一因である卵管性不妊は、若年層の性行為感染症 (sexually transmitted disease; STD) の波及に伴い増

加の一途をたどっている。卵管性不妊は主に子宮内膜症や卵管炎に起因することが多く、また、障害の進行程度によっては不可逆的な変化をもたらす結果となる。従来、卵管に炎症を起こす原因としては、細菌感染がその大部分を占めており、かつて淋菌性卵管炎は全卵管炎の70～80%を占めていた。しかし、最近では無症候性のクラミジア卵管炎が若年層の間に急速に拡大し、卵管性不妊の主因となっている。クラミジア卵管炎は、これに引き続く合併症として骨盤腹膜炎やダグラス窩膿瘍などが

受付日：2003年12月15日／受理日：2003年12月27日

獨協医科大学産科婦人科学教室 〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880  
TEL: 0282-87-2166 FAX: 0282-86-6856  
e-mail: kitazawa@dokkyomed.ac.jp

周期数

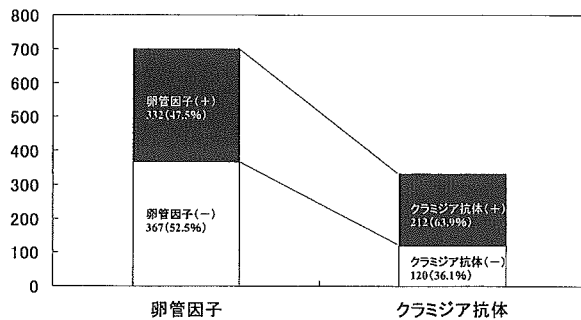


図1 不妊原因における卵管因子の割合

あるが、後遺症としての卵管周囲癒着や卵管留水腫 (hydrosalpinx; HYD) を引き起こす結果となる。卵管周囲癒着は子宮外妊娠の一因となり、また、HYD例では体外受精 (in vitro fertilization; IVF) での着床率、妊娠率が低下し、流産率は上昇するとの報告が多く、生殖補助医療技術 (assisted reproductive technology; ART) での取り扱いをめぐり問題となっている。HYDには、膨大部のみに腫大を観察できるType Iと子宮卵管角部から膨大部にかけて腫大を観察できるType IIに大別できる。これらHYDを対象とした卵管開口術施行後の妊娠率などの成績は悪く、また、術後の経過観察期間をどの程度にするか検討の余地がある。今回、STDの一つであるクラミジア感染症のIVFへの影響について検討するとともに、HYDのIVFへの影響とHYD摘出の有用性について、当教室において施行したIVFの成績をretrospectiveに比較検討してみた。

## 研究方法

対象と方法：1993年1月から2002年12月までの10年間にIVFを施行した452例699周期 (未受精のためETキャンセル周期を除く) のうち卵管性不妊が原因による212例332周期を対象とした。クラミジア感染の診断は、酵素免疫測定法 (ELISA法) の一つセロイバライザIgA・IgGにて行い、HYDの診断は、主に経陰超音波および子宮卵管造影にて行った。また、一部の患者では腹腔鏡や開腹時に発見され診断された。

卵管性不妊が原因の332周期のうちHYDが存在しないものが303周期、HYDの存在を確認したものが29周期 (8.7%, 17症例) であった。このうち15症例では、HYD摘出後に再度19周期にIVFを施行した。妊娠は子宮内に胎嚢の存在をもって判定し子宮外妊娠も含めたが、前臨

表1 卵管因子 (+) 群の臨床的背景

	卵管因子 (+) 群	卵管因子 (-) 群	P value
	182例 332周期	270例 367周期	
年齢 (歳)	32.4 ± 4.5	34.4 ± 4.3	p < 0.01
不妊期間	5.5 ± 3.6	5.7 ± 3.6	N.S.
採卵数	13.1 ± 7.7	11.9 ± 7.4	N.S.
受精卵数	8.7 ± 5.6	7.2 ± 5.1	N.S.
G1胚数	1.4 ± 2.4	1.1 ± 2.1	N.S.
胚移植数	4.6 ± 2.0	4.2 ± 2.1	N.S.

mean ± S.D.

表2 卵管因子の妊娠率、流産率への影響

	妊娠率	流産率
卵管因子 (+)	45.2%	19.3%
卵管因子 (-)	56.9%*	23.0%

\*p < 0.01.

床的妊娠を除外した。

なお、有意差検定はStudent's t検定、 $\chi^2$ 検定とFisherの直接確率検定を用いた。

## 結果

### 1. 性器クラミジア感染症のIVFへの影響

- ①卵管性不妊の332周期中クラミジア抗体が、IgA, IgGいずれも陽性である周期といずれか一方のみ陽性の周期を合わせると212周期 (63.9%) であり、対象の699周期では30.3%を占めていた (図1)。
- ②卵管性不妊因子 (+) 群と (-) 群452例699周期の臨床的患者背景を検討した結果、年齢のみで卵管性不妊因子 (+) 群が有意に若いという結果を得た (表1)。
- ③卵管性不妊因子 (+) 群の332周期での妊娠率は45.2%、流産率は19.3%で、卵管性不妊因子 (-) 群の367周期では、妊娠率56.9%、流産率23.0%であった。流産率において有意差は認められなかったが、妊娠率において卵管性不妊因子 (-) 群で有意に高かった (表2)。
- ④クラミジア抗体 (+) 群とクラミジア抗体 (-) 群182例332周期の臨床的患者背景を検討した結果、不妊期間においてクラミジア抗体 (+) 群が有意に長い結果であった (表3)。
- ⑤さらに、クラミジア抗体 (+) 群をIgGのみ (+) 群、IgAのみ (+) 群、IgGおよびIgA両方とも (+) 群の3群分け、臨床的患者背景について検討してみた。ここでは、受精卵数において、IgG (+) 群が、他の二つの群

表3 クラミジア抗体 (+) 群の臨床的背景

	クラミジア抗体 (+) 群	クラミジア抗体 (-) 群	P value
	90例 212周期	92例 120周期	
年齢(歳)	32.5 ± 4.9	33.1 ± 4.9	N.S.
不妊期間	5.4 ± 4.7	4.2 ± 2.7	p < 0.01
採卵数	14.8 ± 7.9	13.9 ± 9.7	N.S.
受精卵数	9.6 ± 6.2	8.7 ± 7.3	N.S.
G1胚数	2.0 ± 3.0	1.6 ± 3.1	N.S.
胚移植数	4.5 ± 2.1	4.2 ± 2.3	N.S.

mean ± S.D.

表4 クラミジア抗体陽性患者の臨床的背景

	IgG (+) 群	IgA (+) 群	IgG, IgA (+) 群
	例 28周期	例 23周期	例 161周期
年齢(歳)	33.7 ± 3.9	31.6 ± 4.9	32.4 ± 5.1
不妊期間	4.9 ± 2.1	5.9 ± 3.1	5.3 ± 5.2
採卵数	12.6 ± 7.4	16.2 ± 9.4	14.9 ± 7.7
受精卵数	7.6 ± 4.3*	10.8 ± 6.4	9.8 ± 5.4
G1杯数	1.3 ± 2.5	1.9 ± 2.6	2.1 ± 3.1
胚移植数	4.0 ± 1.5	4.9 ± 1.8	4.6 ± 2.2

\*P < 0.05 vs IgA (+) 群, IgG, IgA (+) 群.

mean ± S.D.

表5 クラミジア感染症の妊娠率, 流産率への影響

	妊娠率	流産率
クラミジア抗体 (+) 群	36.8%	25.6%**
クラミジア抗体 (-) 群	60.0%*	12.5%

\*P < 0.01, \*\*P < 0.05.

に比較して有意に少なかった(表4)。

⑥クラミジア抗体 (+) 群の212周期では, 妊娠率36.8%, 流産率25.6%であったが, クラミジア抗体 (-) 群の妊娠率は60.0%, 流産率は12.5%であり, 妊娠率および生産率においてクラミジア抗体 (+) 群の方が有意に低かった(表5)。

2. 卵管留水腫のIVFへの影響とその摘出の有用性

332周期中HYDの存在が確認されたのは17例, 29周期(8.7%)であり, うち15例では, HYD摘出後に再度19周期にIVFを施行した。

①HYD (-) 群のIVF 303周期の移植あたり妊娠率は45.9% (179周期) に対し, HYD (+) 群の29周期では37.9% (11周期) であり有意に低かった(図2)。

移植当り妊娠率(%)

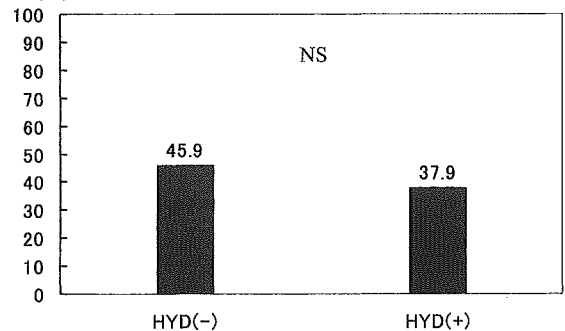


図2 HYDの有無とIVF妊娠率

②HYD (+) 群で妊娠した11周期中6周期が流産, 2周期が子宮外妊娠で, 妊娠当りの生産率は27.3%で, HYD (-) 群の生産率76.4%と比較し有意に低かった(図3)。

③流産に至った症例の異常染色体出現について調べた結果, HYD (+) 群7例中3例, HYD (-) 群18例中9例に異常核型を認めたと両群間に有意差は認めなかった(表6)。

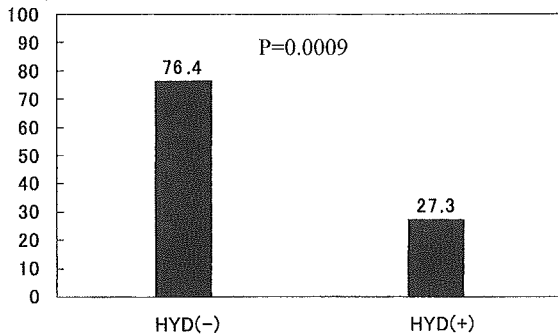
妊娠当り  
生産率(%)

図3 HYDの有無と生産率

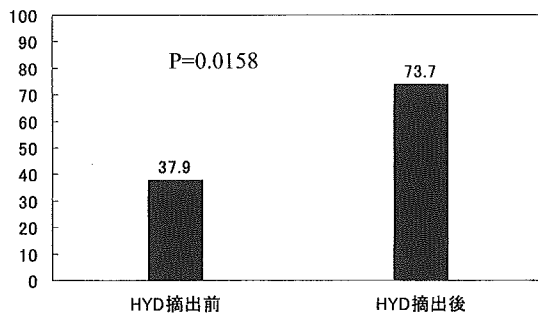
移植当り  
妊娠率(%)

図4 HYD摘出の妊娠率への影響

④HYDを摘出した15例に19周期のIVFを行い、14周期で妊娠し(妊娠率73.7%),流産は3周期であった(生産率78.6%)。妊娠率,生産率ともHYD摘出前に比べ有意に改善していた(図4,5)。

### 考 察

1999年4月1日から施行された感染症新法で性感染症として指定された疾患は,梅毒,淋菌感染症,尖形コンジローマ,性器ヘルペスウイルス感染症,性器クラミジア感染症の5疾患であるが,この中で淋菌感染症および性器クラミジア感染症は年々その感染者は増加してきている<sup>1)</sup>。一方,女性側の不妊原因で最も多いのは卵管因子で,性器クラミジア感染症が原因と考えられている卵管因子は,近年,若い世代を中心に増加している<sup>2)</sup>。我々の施設で過去10年間にIVFを施行した452例699周期のうち,332周期47.5%に何らかの卵管因子を認め,その内

表6 HYD(+)群, HYD(-)群における異常染色体発生頻度

	HYD(+)群	HYD(-)群
症例数	7	18
正常核型	4(57.1%)	9(50.0%)
異常核型*	3(42.9%)	9(50.0%)

\*2群間に有意差なし。

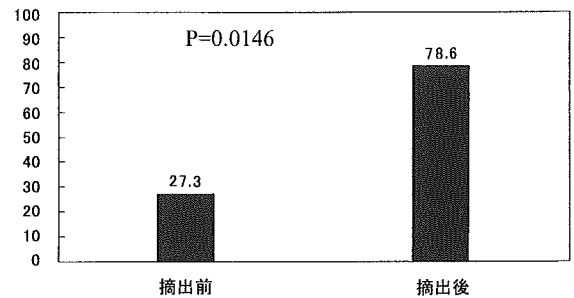
妊娠当り  
生産率(%)

図5 HYD摘出の生産率への影響

212周期63.9%がクラミジア抗体陽性であった。Shararaらは,卵管性不妊患者の70%以上に性器クラミジア感染症が認められたと報告している<sup>3)</sup>。このことから,性器クラミジア感染症の不妊症への影響は大きいといえる。一般的にIVFの適応因子の中でも卵管因子の妊娠率は良好で,我々の施設での妊娠率も45.2%と比較的高い結果であった。また,クラミジア抗体陽性周期と陰性周期との妊娠率と流産率の比較では,クラミジア抗体陽性周期で妊娠率が低下し,流産率が上昇するという結果であった。今回,クラミジア抗原の検索を施行した症例が少なかったため,抗原の有無での検討は行っていないが,IVF施行時にクラミジアが持続感染していれば当然妊娠率および流産率が影響されるであろうことが推測出来る。しかし,現在の抗原検索は子宮頸管のみで,簡単な方法での子宮内膜や卵管上皮までの検索は難しく,また,抗体検査で治癒の判定が出来ない以上クラミジアの持続感染を確認することは困難である<sup>4)</sup>。Shararaらは,ARTを施行する予定のカップルに抗生物質を投与することによって,妊娠率および流産率を有意に改善出来たと報告している<sup>3)</sup>。しかし,Pattonらは,薬物治療後の患者においても,卵管組織に高率にC. Trachomatisが存在したと報告している<sup>5)</sup>。今後,IVF予定クラミジア抗体陽性者全例に,抗生物質を事前に投与する必要があるかどうか検討する余地がある。

1991年にLejeuneらがIVFでの低い着床率は、HYDと関連していることを発表している<sup>6)</sup>。続いて、1994年にはStrandellらやAndersenらが、HYDが存在するとIVFでの妊娠率、着床率や分娩率が低下し、流産率が増加するという報告している<sup>7,8)</sup>。また、Ngらは子宮外妊娠率が増加すると報告し<sup>9)</sup>、その後、数多くの同様な報告がなされ、今日ではHYDが有害なことに疑問の余地がない状況である。いずれもHYD存在下で移植胚の着床が阻害され、着床しても何等かの作用で流産してしまうことを示している。今回我々が示した結果では、妊娠率には有意差は認められなかったが流産率では有意差を認めた。

これまでの報告と比較してみると妊娠率においては異なった結果であったが、流産率においてはほぼ同様な結果となった。このことは、我々のHYDに対する診断基準に問題がある可能性は否定出来ない。しかし、Camusらの過去の成績をまとめた報告では、妊娠率のOdds ratioで0.25から2.07、着床率のOdd ratioでも0.26から1.01の幅があることが記載されている<sup>10)</sup>。

次に、HYDが存在すると何故、妊娠や着床に悪影響をおよぼすのであろうか。我々は不妊原因が卵管因子でHYDを伴う群とそうでない群について流産例の染色体を分析した結果、両群間に有意差はなかった。以前、我々の施設で染色体分析したIVF妊娠流産例での結果とほぼ同様であった<sup>11)</sup>。このことから移植胚自体が原因でないことが理解できる。現在、その機序として考えられるのは、HYDの貯留液が子宮腔内に逆流する機械的な要因が主流のようである<sup>12)</sup>。一方、貯留液の胚に対するembryotoxicを指摘する報告もある<sup>7)</sup>。このembryotoxicについては、炎症反応過程に認められるサイトカイン、プロスタグランジンや成長因子の関与が示されているが、ヒトでは胚の発育に影響はなかったとの報告<sup>13-15)</sup>もあるため、機序としては未だ十分に確立されていない。

不妊検査でHYDを認めた場合、まず行うべきことは十分なHYDへの評価であろう。HYDは卵管膨大部のみに腫大の観察されるI型と、卵管峡部から卵管膨大部までの全長に腫大を認めるII型との2型に分類できる。保存手術の対象になるのはHYD I型で、卵管開口術、あるいは切除開口術の適応となる。HYD II型は走査電顕による検討では、卵管内腔の線毛が萎縮または消失しているので保存手術の意義を有しないと考えられている<sup>16)</sup>。長田らは、国内の卵管形成2524例の治療成績(アンケート調査)で、卵管開口術後の妊娠率は22.6%と報告しており、その成績を最も低いと評価している<sup>17)</sup>。また、卵管開口術などで卵管の通過性が回復しても約1~2年間の経過観察が必要となり、平均年齢の比較的高い不妊カップ

ルにとっては不利な条件となる<sup>17)</sup>。今回我々は、HYDを有する17例のうち同意の得られた15例に対し腹腔鏡下あるいは開腹手術で卵管を摘出した。卵管摘出後、その回復を待ってIVFを19周期に行った結果、14周期で妊娠(妊娠率73.7%)し流産は3周期であった(生産率78.6%)。このようにHYDに対する卵管摘出効果は、絶大であった。HYDの貯留液が子宮腔内に逆流することの防止策として「卵管切除術：salpingectomy」があるが、これ以外には卵管の近位端の結紮や「卵管焼灼術：cauterization」<sup>18)</sup>などの方法もある。しかし、残存する卵管は機能性に乏しく、感染巣に成り得る可能性を合わせ持つため組織を温存することに対しやや問題があるように思える。但し、卵管を摘出した結果、卵巣への血流低下などに起因する採卵数の極端な減少<sup>19)</sup>などの卵管切除による副産物を回避できる点において、有用性は十分あるように思われる。現在のところHYDに対する処置は、HYD摘出が当教室での第一選択である。当科では卵管性不妊のIVF妊娠率は移植胚当たり約45%なので卵管開口術後に自然妊娠を期待するよりは卵管切除の処置を行った後、IVFを施行する方が妊娠効率は高いと考えている。しかし、Dechaudは、卵管切除の適応を超音波検査などの視覚的所見で決定するのではなく、卵管鏡での卵管粘膜の状態を評価し摘出すべき卵管と修復すべき卵管を区別することにより、安易な卵管切除をすべきでない<sup>20)</sup>と論じている。今後、我々も卵管切除に際しては、卵管鏡を用いた卵管粘膜の評価を十分検討していく必要があると思われた。

以上、STDの一つである性器クラミジア感染症およびHYDの存在がIVFの着床率および妊娠予後に悪影響を与えることと、HYD摘出の有用性について報告した。今回の検討から、性器クラミジア感染症とその性器クラミジア感染症が原因として発生する頻度が高いHYDのARTへの影響が極めて深刻な問題であることが改めて認識された。また、如何に性器クラミジア感染症の感染拡大を予防していくことが、今後の不妊治療において重要な鍵になるものと予想された。

## 謝 辞

今回のシンポジウム発表に際して、機会を与えて下さった第48回日本不妊学会会長の伊藤晴夫先生、第21回日本受精着床学会会長久保春海先生ならびに座長の労をお取り頂いた野口昌良先生、塚本泰司先生に心から感謝申し上げます。

## 引用文献

- 1) 野口靖之・野口昌良・藤田 将: わが国におけるSTDの現状とその対策. 産婦人科治療, 86: 781-786, 2003.
- 2) 熊本悦明・塚本恭司・西谷 巖・赤座英之・野口昌良・守殿貞夫・碓井 亞・柏木征三郎・寰輪眞澄・谷畑健生: 日本における性感染症(STD)サーベイランス-2001年度調査報告-STD Surveillance 2001 in Japan. 日本性感染症学会誌, 13(2): 147-167, 2002.
- 3) Sharara, F.I., Scott, R.T., Marut, E.L., Queenan, J.T.: In-vitro fertilization outcome in women with hydrosalpinx. Hum. Reprod., 11(3): 526-530, 1996.
- 4) Lucisano, A., Morandotti, G., Marana, R., Leone, F., Branca, G., Dell'acqua, S., Sanna, A.: Chlamydia genital infections and laparoscopic findings in infertile women. Eur. J. Epidemiol., 8: 645-649, 1992.
- 5) Patton, D.L., Askinenazy-Elbhar, M., Henry-Suchet, J., Campbell, L.A., Cappuccino, A., Tannous, W., Wang, S., Kuo, C.C.: Detection of Chlamydia trachomatis in fallopian tube tissue in women with postinfectious tubal infertility. Am. J. Obstet. Gynecol., 171: 95-101, 1994.
- 6) Lejeune, B., Vandromme, J., Delvigne, A., Puissant, F., van Rysselberge, M., Barlow, P., Leroy, F.: Lower implantation rate in IVF tube indications (abstract). The 7 th World Congress on IVF and Assisted Procreation, Paris, France, p. 407, 1991.
- 7) Strandell, A., Waldenstrom, U., Nilsson, L., Hamberger, L.: Hydrosalpinx reduces in-vitro fertilization/embryo transfer pregnancy rate. Hum. Reprod., 9(5): 861-863, 1994.
- 8) Andersen, A.N., Yue, Z., Meng, F.J., Petersen, K.: Low implantation rate after in-vitro fertilization in patients with hydrosalpinges diagnosed by ultrasonography. Hum. Reprod., 9(10): 1935-1938, 1994.
- 9) Ng, E.H., Yeung, W.S., Ho, P.C.: The presence of hydrosalpinx may not adversely affect the implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization treatment. J. Assis.t Reprod .Genet., 14: 508-512, 1997.
- 10) Camus, E., Poncelet, C., Goffinet, F., Wainer, B., Merlet, F., Nisand, I., Philippe, H.J.: Pregnancy rates after in-vitro fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies. Hum. Reprod., 14(5): 1243-1249, 1999.
- 11) 河津 剛・正岡 薫・根本 央・田中壮一郎・深澤一雄・渡辺 博・稲葉憲之: ARTを含めた不妊治療後の初期流産における染色体異常の発生頻度. 受精着床誌, 17: 79-81, 2000.
- 12) Eytan, O., Azem, F., Gull, I., Wolman, I., Elad, D., Jaffa, A.J.: The mechanism of hydrosalpinx in embryo implantation. Hum. Reprod., 16(12): 2662-2667, 2001.
- 13) Granot, I., Dekel, N., Segal, I., Fieldust, S., Shoham, Z., Barash, A.: Is hydrosalpinx fluid cytotoxic? Hum. Reprod., 13(6): 1620-1624, 1998.
- 14) Chen, C.D., Yang, J.H., Lin, K.C., Chao, K.H., Ho, H.N., Yang, Y.S.: The significance of cytokines, chemical composition, and murine embryo development in hydrosalpinx fluid for predicting the IVF outcome in women with hydrosalpinx. Hum. Reprod., 17(1): 128-133, 2002.
- 15) Ajonuma, L.C., Chan, L.N., Ng, E.H.Y., Chow, P., Kung, L.S., Cheung, A.N.Y., Briton-Jones, C., Lok, I.H., Haines, C., Chan, H.C.: Characterization of epithelial cell culture from human hydrosalpinges and effects of its conditioned medium on embryo development and sperm motility. Hum. Reprod., 18(2): 291-298, 2003.
- 16) 澤田富夫・青木豊和・佐藤匡昭・塚田和彦: マイクロサージェリーの可能性とその限界. 産婦人科・マイクロサージェリー学会誌, 8: 77-79, 1995.
- 17) 永石匡司・長田尚夫・川島真人・田中 均・角田郁夫・津端捷夫・佐藤和雄: 3回妊孕能保存手術施行後妊娠に至った卵管留症の一例. 産婦人科・マイクロサージェリー学会誌, 13: 23-26, 2000.
- 18) Stadtmayer, L.A., Riehl, R.M., Toma, S.K., Talbert, L.M.: Cauterization of hydrosalpinges before in vitro fertilization is an effective surgical treatment associated with improved pregnancy rates. Am. J. Obstet. Gynecol., 183(2): 367-371, 2000.
- 19) 伊藤理廣・関 守利・竹内 巧・伊吹令人: 体外受精胚移植後の子宮外妊娠. 産婦人科の実際, 47(13): 2241-2245, 1998.
- 20) Dechaud, H.: Hydrosalpinx and ART. Hum. Reprod., 15(12): 2464-2465, 2000.

## 臨床報告

## 当院における10代妊娠の臨床統計

## A Clinical Study of Teenage Pregnancy

獨協医科大学産科婦人科

望月 善子

渡辺 博

大石 曜

Yoshiko MOCHIZUKI

Hiroshi WATANABE

Akira OISHI

大津 礼子

稲葉 憲之

Reiko OHTSU

Noriyuki INABA

Department of Obstetrics and Gynecology, Dokkyo University School of Medicine

抄 録：ハイリスク妊娠や産科救急を取り扱う総合周産期センターにおける10代妊娠についてその実態を調査し、産科学的問題点や社会的背景につき検討した。1998年1月からの5年間に管理した10代妊婦96例（分娩例59，人工妊娠中絶例23，その他14）を対象とした。10代分娩の総分娩数に占める割合は毎年1.5%前後であった。早産率は30.5%，帝王切開率は20.3%であり，当センターでの平均%と有意差はなかったが，低出生体重児の割合は45.0%と高かった。分娩例の88.1%が無職，8.5%が未婚であり，中絶施行者の47.8%が学生であった。10代分娩者のパートナーの平均年齢は21.2歳であった。クラミジア陽性者が13.5%，子宮頸部スメア異常は2例いた。ハイリスク妊婦を多数取り扱う当院のような周産期センターでも10代妊娠は産科学的異常よりは社会的背景が問題となることが示され，思春期には正確な性の知識を伝えるとともに具体的な避妊指導・性感染症予防を含めた性教育の重要性が示唆された。

**Synopsis :** We conducted a clinical study of teenage pregnancy at our general perinatal center to review its obstetrical problems and sociomedical backgrounds. The study period was from 1998 to 2002. A total of 96 teenage pregnancies were examined, of which there were 59 deliveries and 23 induced abortions. There were 14 others cases. The percentage of teenage delivery was about 1.5% per year. The premature birth rate and the cesarean section's rate were 30.5% and 20.3%, respectively. The percentage of low birth weight births was 45.0%, which was significantly higher than that of all age groups who were treated at our center. The mean age of partners was 21.2 years old. While 76.3% of pregnant teenagers were married during or after their gestational period, unmarried pregnant teenagers were 5 (8.5%). Thirteen (13.5%) pregnant adolescents were seropositive with Chlamydia trachomatis, and two pregnant adolescents were found positive through the Papanicolaou test. To prevent an unwanted pregnancy and sexually transmitted infection among teenagers, the family, the school, the media and the local health-care provider should focus on accurate information and education about safer sexual behavior.

**Key words :** Teenage pregnancy, Obstetrical problems, Sociomedical backgrounds, General perinatal center.

## 緒 言

厚生労働省の提案する『健やか親子21』の課題の中に，思春期の保健対策の強化と健康教育の推

進があるが，この課題が提示された背景には，性の早熟化，活発化に伴う若年妊娠の増加や性感染症の増加がある。特に栃木県では20歳未満の人口妊娠中絶率および性感染症の割合が全国平均より

も高く<sup>1)</sup>、「望まない妊娠あるいは継続できない妊娠の予防」「性感染症の予防」についての早急な対策が必要とされ、具体的な取り組みもはじまっているところである。当院は、平成9年1月に総合周産期母子医療センターが設立され、栃木県下のみならず周辺県のハイリスク妊娠・救急を取り扱っており、その数は年々増えている。10代の妊娠出産に関する臨床統計報告はこれまでも数多くなされてきたが、もともと若年・未婚の妊婦は、公的病院や大学病院を受診することが少なく、一般開業産婦人科医を受診することが多いといわれている<sup>2)</sup>ように周産期センターからの報告は限られている<sup>3)</sup>。そこで、当院のような周産期センターで経験した10代妊娠に関し、産科学的問題点や社会的背景につき検討したので報告する。

対象および方法

1998年1月1日より2002年12月31日の5年間に、当センターで管理した20歳未満妊婦96例を対象とした。その内訳は、分娩者(20歳未満で分娩終了)59例、中期中絶6例を含む人工妊娠中絶術施行例23例、その他(他院紹介、逆搬送、子宮外妊娠)14例であった。

診療録、助産録の記載を基に後方視的に検討し、有意差検定には $\chi^2$ 検定を用いた。

結 果

1) 周産期学的因子

1. 分娩数の年次別推移(図1)

5年間の総分娩件数3724件のうち10代分娩件数

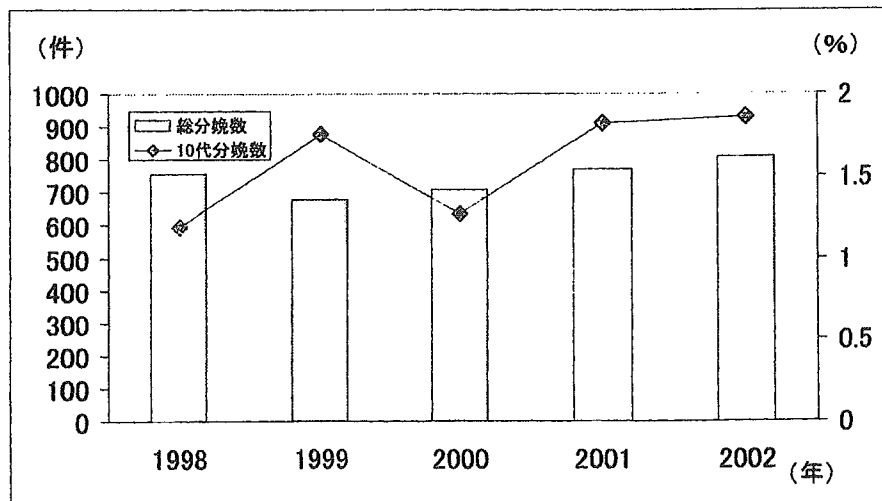


図1 分娩数の推移  
1998年～2002年の5年間に  
おける当センターでの分娩  
数の推移と同時期の10代分  
娩の占める割合を示した。

表1 帝王切開率・早産率  
帝王切開施行数(率)と早産数(率)につき10代妊  
婦59例と2002年当センター分娩数807例で比較した

	10代妊婦(59例)	2002年当科分娩数(807例)
帝王切開	12(20.3%)	203(25.2%)
早産	18(30.5%)	209(24.6%)

は59件(1.58%)であり、毎年1.5%前後でほぼ一定した傾向を示した。

2. 分娩週数・分娩様式(表1)

早産は合計18例あり、全体の30.5%を占めた。2002年当センターでの早産率24.6%と比較し、有意差は認めなかった。また、過期産は認めなかった。

分娩様式は自然分娩が44例(74.6%)、吸引分娩が2例、鉗子分娩が1例、帝王切開施行例が12例(20.3%)であったが、2002年当センターでの帝王切開施行率(25.2%)と同程度であった。帝王切開の適応は重複例を含めて骨盤位が6例、IUGRが4例、前期破水、妊娠中毒症および胎盤早期剥離がおのおの2例であり、児先天異常が1例であった。

3. 新生児所見

双胎1組を含む60例の出生児のうち、子宮内胎児死亡による死産児が1例あり、先天異常児は水頭症・脊髄膜瘤が1例あった。出生体重別分布を表2に示した。2500g未満の低出生体重児は計27例(45.0%)であったが、2002年当センターにおける低出生体重児の割合(32.1%)と比較し、有意に高かった。



表2 児出生体重

児出生体重に関し、10代妊婦の児(60例)と2002年当センター出生児(851例)で比較した。

出生体重(g)	10代妊婦(60例)	2002年当科出生児(851例)
~499	0	8
500~999	3	22
1000~1499	6	42
1500~1999	3	71
2000~2499	15	130
2500~3999	33	567
4000~	0	11

表3 搬送理由

母体搬送された29例に関し、その搬送理由を列挙した。

	10代妊婦	2002年当センター 母体搬送数(187例)
切迫早(流)産	19	71
前期破水	5	51
妊娠中毒症	2	28
IUGR	3	7
骨盤位	5	0
常位胎盤早期剥離	2	3
その他	4	11

#### 4. 母体搬送理由

10代妊婦96例のうち、産褥搬送3例を含む29例(30.2%)が母体搬送で当センターに入院となり、ハイリスク妊婦外来ならびに一般妊婦外来に紹介された妊婦は20例、一度も妊婦健診を受けずに陣痛発来または自宅分娩後に来診した妊婦は3例いた。母体搬送になった理由としては表3に示すように、切迫早(流)産と前期破水が大多数を占めたが、2002年当センターにおける母体搬送理由と変わることはなかった。

#### 5. 授乳状況

1か月検診時における授乳については、母乳のみ栄養の者が17例(28.8%)、混合栄養の者が24例(40.7%)と約70%弱の褥婦が母乳を与えていた。

#### 6. 性感染症の罹患状況

クラミジア陽性(頸管粘液クラミジアDNA)妊婦が13例(13.5%)、ヘルペス感染者が1例認められた。また、子宮頸部細胞診でクラスⅢa以

表4 妊婦ならびにパートナーの年齢

10代妊婦96例とその中の分娩例59例の年齢別構成を呈示し、それぞれのパートナーの年齢構成を5歳毎に呈示した。

年齢	10代妊婦(96例)	分娩例(59例)
14歳	1(1.0%)	0
15歳	5(5.2%)	3(5.1%)
16歳	7(7.3%)	4(6.8%)
17歳	18(18.8%)	11(18.6%)
18歳	20(20.8%)	11(18.6%)
19歳	45(46.9%)	30(50.8%)

パートナーの年齢

年齢	10代妊婦(96例)	分娩例(59例)
~19歳	37(38.5%)	19(32.2%)
20~24歳	40(41.7%)	30(50.8%)
25~29歳	8(8.3%)	7(11.9%)
30~34歳	4(4.2%)	2(3.4%)
35歳~	0	0
不明	7(7.3%)	1(1.7%)

上のスメア異常を呈した妊婦が2例いた。

#### 2) 社会的背景

##### 1. 妊婦ならびにパートナーの年齢(表4)

10代妊婦96例は14歳から19歳にわたり、分娩例の半数は19歳であった。パートナーの年齢は15歳から34歳であったが、その8割強は24歳未満であり、分娩例59例のパートナーの平均年齢は21.2歳であった。

##### 2. 妊娠・分娩歴

妊娠の既往(図2)についてみると、初回妊娠者が72例(75.0%)であったが、1回経産婦5例を含む20例(20.8%)が1回経妊、3例が2回経妊、1例が3回経妊であった。すなわち、19例(19.8%)が人工妊娠中絶術既往者であった。経産婦5人はすべて19歳の1経産であったが、うち2人は前回帝王切開にての分娩であった。

##### 3. 婚姻状況

人工妊娠中絶術施行23例のうち、既婚者は1例のみであり、多数は未婚者であった。分娩例59例について妊娠確定後、妊娠中および出産後に入籍した者が45例(76.3%)で多数を占めた。既婚者は5例あり、一方未婚者も5例であった(図3)。

4. 妊婦ならびにパートナーの有職状況 (表5)

人工妊娠中絶術施行例の約半数は学生であり、約3分の1は無職の者であった。そのパートナーについて、やはり学生が26.1%であり、定職についている者は30.4%しかいなかった。分娩例では無職の者が88.1%と大多数であったが、学生(中学生2人, 高校生4人)も約1割いた。そのパートナーに関しては定職についている者が84.7%と多数を占めた。

5. 家族背景

両親そろった家庭での10代妊婦が73例(76.0%)と多数を占めたが、片親だけの家庭環境の者が12例(12.5%), 父親・母親ともいない家庭環境の者が11例(11.5%)であった。

考 察

少子化が進む中、本邦における10代妊婦の占める率は、過去10年間約1.3%で一定した傾向を示している<sup>1)</sup>が、当センターでも毎年約1.5%とほぼ同じ傾向であった。一方、人工妊娠中絶に関しては、医学的適応がないものはできるだけしない方針であるが、学校の養護教諭からの紹介や児童相談所からの依頼で施行した症例が約半数あり、中期中絶を施行した6例中2例は産婦人科受診が遅れた高校生であった。母子衛生の主なる統計<sup>1)</sup>をみると、10代妊娠の70%近くが人工妊娠中絶されていると考えられ、さらに栃木県における人工

表5 10代妊婦ならびにパートナーの有職状況  
10代妊婦の中の分娩例(59例)と人工妊娠中絶例(23例)の職業の有無に関し検討し、それぞれのパートナーについても同様の検討をした。

	分娩例(59例)	中絶例(23例)
無職	52(88.1%)	8(34.8%)
定職	1(1.0%)	4(17.4%)
学生	6(10.2%)	11(47.8%)

パートナーの有職状況

	分娩例(59例)	中絶例(23例)
無職	4(6.8%)	2(8.7%)
定職	50(84.7%)	7(30.4%)
学生	1(1.7%)	6(26.1%)
不明	4(6.8%)	8(34.8%)

妊娠中絶の実施率(平成12年度:17.4)が全国レベル(12.1)と比較し非常に高いことから、本県では実際的な避妊指導を含めた性教育の徹底が要求される。

年齢分布に関しては19歳が46.9%と約半数であり、日産婦報告<sup>4)</sup>とほぼ同じであったが、小・中学生である15歳以下は6.2%と同報告(2.3%)と比べると明らかに高く、分娩にいたった15歳以下は5.1%とこれも高頻度であった。ハイリスク紹介妊婦が多数を占める周産期センターならではの頻度と思われるが、竹村ら<sup>5)</sup>が指摘するように、

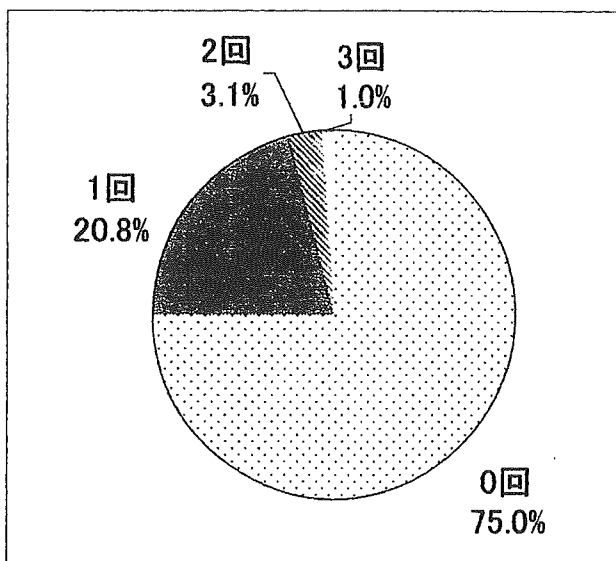


図2 妊娠・分娩歴  
10代妊婦96例の経妊回数を示した。

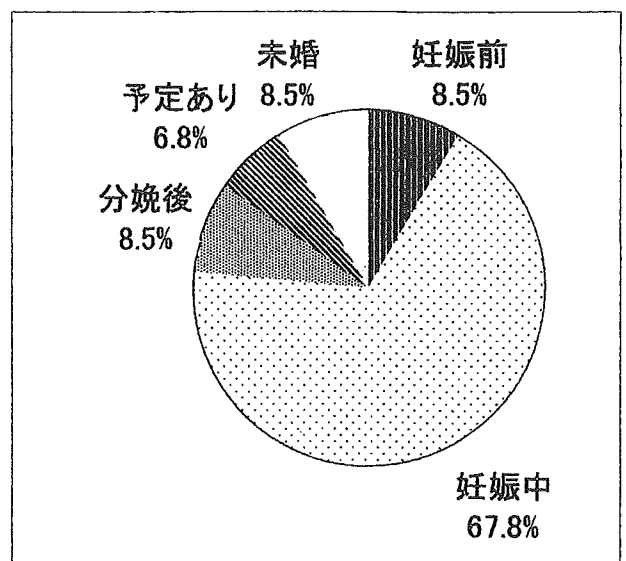


図3 婚姻状況  
10代分娩に至った59例の入籍状況について検討した。

15歳以下ははまだ義務教育中であり、医学的知識も少なく経済力も劣っている。児の虐待など養育に課題を残すものも少なくなく、特別の配慮が必要である。

確実に進んでいる晩婚傾向といわゆる“できちゃった結婚”が4人に1人の割合というご時世にあって、妊娠中の入籍が67.8%と過半数以上を占め、また分娩例59例における約85%という婚姻率は極めて高率と思われる。ただし、パートナーの年齢は、19歳以下が約3割強、24歳以下が約8割と低年齢であった。本人が職をもたず経済的基盤がないうえに、パートナーも学生を含めて約1割は職がなく、定職についていたとしても非常に不安定な収入である状況の中で、堅実な家庭をつくり児の養育をするためには実家・婚家の援助が不可欠であることは容易に推察される。しかし、今回の検討では両親がそろった家庭での10代妊婦は75%にとどまり、両親不在の者も1割いた。10代妊婦者では父親不在が高率であり、家庭内における父親の存在が子どもの精神的・心理的発育に重大な影響を及ぼし、両親健在の意義がうかがわれると報告されている<sup>6)</sup>。家族のバックアップが得られない10代妊婦には、本人の必要性の自覚の有無を問わず地域や福祉からの継続した支援がなされるべきであろう。10代妊娠では周産期からの家庭訪問による育児サポートが乳幼児虐待の予防になる<sup>7)</sup>。

10代妊娠は高齢妊娠とともに周産期死亡率、妊産婦死亡率が高く、産科学的ハイリスクグループであるとされている。その原因として10代妊娠は初診時期が遅い、妊婦健診の回数が少ない、などのために周産期管理が不十分になりやすいからといわれる。今回検討した症例は、母体搬送・ハイリスク外来紹介妊婦あわせて約半数が妊娠途中からの当科での事例であるため、実際の初診時期ならびに妊婦健診の回数は明らかでなかった。おおむね女性としての成熟度が完成する18歳頃には、13歳から15歳の間に認められたような産科リスクはなくなるという報告<sup>8)</sup>もあり、今回の検討でも早産率、帝王切開率など10代妊婦だからといって高率になることはなかった。低出生体重児に関しては10代妊婦の方が多とする報告や同等とする

報告など<sup>9)</sup>さまざまであるが、当センターでは10代妊婦の低出生体重児の出産率は高かった。妊娠中の栄養に対する配慮や指導の不足といった栄養学的問題に加え、生活環境や精神状態なども関与するからであろうか。また、10代妊婦の喫煙率は28.1%と他の年代の妊婦よりも高かった。10代妊娠の周産期管理上、胎児発育に対する注意深い観察評価が要求されることはいうまでもない。

性行動があればだれでも性感染症のリスクを伴い、感染の影響は胎児・新生児感染、不妊など次世代にまで及ぶ。また、性交相手が増すほど性感染症罹患率は高くなる。クラミジアについては、当科における一般妊婦での陽性率が約6%であるから、10代妊婦の13.5%は明らかに高率である。しかし、熊本らが調査した18442例の妊婦での陽性率は16~19歳で20.5%であり<sup>10)</sup>、当科よりさらに高率であった。また、子宮頸癌のリスクは初交年齢が20歳以上に対して16~19歳では3倍、16歳未満では16倍という成績<sup>11)</sup>がある。10代といえども妊婦健診の際には必ず子宮癌検査も不可欠であると常日頃より認識しているが、今回の検討でも子宮頸部スミアⅢaを示した者が2例おり、10歳代・20歳代の子宮癌検診有所見率は30歳代以上と差はなかったとする報告<sup>12)</sup>と一致する。

今回の検討から、ハイリスク妊婦の占める割合が多い当院のような周産期センターでも、10代妊娠は産科学的異常のみならず社会学的背景が問題となることが示された。10代であっても望んで妊娠して生児を得、積極的に育児をこなしている人は、20代以降の人となら変わるところはない。問題は望まない・継続できない妊娠である。人工妊娠中絶そのものも大きな問題であるが、中絶できずに分娩せざるを得なかった人はさらに深刻である。望まない妊娠をしないあるいはさせないためには、確実な避妊以外に方法はない。ただ、10代の若年者が自分の体のことに精通しているとは考えられないし、ほとんどが妊娠の実感がないところでの性行動である。彼らの性意識を確認しつつ、正確な性の知識を伝えるとともに具体的な避妊指導・性感染症予防を含めた保健(性)教育を家庭、学校、社会で展開していかなければいけないと考える。

## 文 献

- 1) 母子衛生研究会：母子保健の主なる統計，2002.
- 2) 日本母性保護産婦人科医会，研修ノートNo61：思春期のケア，pp53，1998.
- 3) 押谷文子，田中都代子，末原則幸，他：10代の妊娠と性教育－10代妊産婦とケアの実際，産婦人科治療，66：296-303，1993.
- 4) 廣井正彦，矢内原巧，玉舎輝彦，他：生殖・内分泌委員会報告（わが国における思春期妊娠第4回調査報告），日産婦誌，49：763-778，1997.
- 5) 竹村 喬，早田憲司，末原則幸，他：10代の妊娠・出産とその問題点，産婦人科治療，84：174-178，2002.
- 6) 田島朝信，中居理恵，上田貴子，他：十代妊娠の家族的背景とその帰結，母性衛生，37：179-187，1996.
- 7) 小林美智子：子供の虐待の現状と対策，日医雑誌，116：563-569，1996.
- 8) Olausson PO, Cnattingius S, Haglund B: Teenage Pregnancies and Risk of Late Fetal Death and Infant Mortality. Br J Obstet Gynaecol 106:116-121, 1999.
- 9) 浜松加寸子，光本恵子，池ヶ谷みどり：若年妊娠と産科異常（第1報），周産期医学，25：1687-1690，1995.
- 10) 熊本悦明：クラミジアの影にエイズありーそのクラミジアは今や性生活の生活環境汚染ー，性と健康，2：21-24，2001.
- 11) 日母・医事紛争対策委員会：これからの産婦人科医療事故防止のために，3：4，1999.
- 12) 佐藤豊美，西田正人，志田京子，他：若年者における子宮頸部細胞診の意義，産婦実際，49：793-796，2000.

（受付：平成16年3月15日）  
（受理：平成16年6月4日）

# 卵巣癌培養細胞株に対する小柴胡湯の増殖抑制作用

獨協医科大学産科婦人科学教室

朱 坤 深 澤 一 雄 古 野 元 子 稲 葉 不 知 之  
山 崎 龍 王 龜 森 哲 香 坂 信 明 大 島 教 子  
太 田 順 子 稲 葉 憲 之

## はじめに

近年漢方製剤のもつ抗腫瘍性については多くの報告がなされているが、漢方製剤の婦人科癌に対する増殖抑制作用に関する報告は少ない。そこで今回筆者らは卵巣癌培養細胞株を用いて4種の漢方製剤(小柴胡湯, 人參養榮湯, 十全大補湯, 補中益氣湯: (株)ツムラ漢方生薬研究所より供与)の癌細胞に対する直接作用を *in vitro* で検討した。

## I 研究方法

### 1. 漢方製剤の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用の検討

漢方製剤の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用の検討はMTT変法のCell Counting Kit-8(同仁化学)を用いて行った。細胞はヒト卵巣癌培養細胞株KF1, A 2780, MN1およびそれらのCDDP抵抗性株であるKFr, A 2780 cp, MNrの6種の細胞を用いた。培養液は10%牛胎仔血清と, penicillin 100 U/ml, および streptomycin 100 U/mlを添加したRPMI 1640(SIGMA)を用いた。それぞれの細胞を96穴プレートに $1 \times 10^4$ 個/100  $\mu$ l/well添加して, 37°C, 5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間培養した。漢方製剤はエキス原末に細胞培養液を加えて, 37°Cで2時間振とう溶解し, 2回遠心を行って沈澱物を除去したのち, filter unit

を通して滅菌したものを用いた。6種の細胞24時間培養後, 4種の漢方薬を100  $\mu$ l/well添加し, それぞれ濃度25, 50, 100, 200, 500, 1,000, 5,000  $\mu$ g/mlに調整した。48時間継続培養後, Cell Counting Kit-8溶液10  $\mu$ l/well添加し, 4時間呈色反応を行った。マイクロプレートリーダーを用いて, 450nmの吸光度を測定した。実験はすべて4回行い再現性を確認した。

### 2. 漢方製剤の卵巣癌細胞に対するアポトーシス誘導能の検討

アポトーシス誘導の測定はMEBCYTO Apoptosis Kit(MBL)を使用した。キットの方法に従い操作して, 12穴プレートに6種の細胞をそれぞれ $2 \times 10^5$ 個/100  $\mu$ l/well添加し, 37°C, 5%CO<sub>2</sub>インキュベーターで24時間培養後, 培養液中に4種漢方製剤を100  $\mu$ l/well添加し, それぞれ濃度200, 1,000, 5,000  $\mu$ g/mlに調整した。48時間継続培養後トリプシン処理を行い, 培養液で1回洗浄後, さらにPBSで1回洗浄した。細胞に85  $\mu$ l binding bufferを加え懸濁した後, 10  $\mu$ l Annexin-V FITCと5  $\mu$ l propidium iodideを加えよく混合し, 暗室室温で15分間反応させた。400  $\mu$ l binding bufferを加え, flow cytometryを用いて測定した。

II 研究結果

1. 漢方製剤の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用

漢方製剤の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用を図1~4に示す。図1に示すように、培養液中に小柴胡湯を添加した場合、MN1, MNrでは濃度200  $\mu\text{g/ml}$ より、A2780, A2780cpでは濃度500  $\mu\text{g/ml}$ より、KF1, KFrでは濃度1,000  $\mu\text{g/ml}$ より明らかな増殖抑制作用が認められた。親株とCDDP抵抗性株による相違は認められなかった。人参養栄湯、十全大補湯、補中益気湯を添加した場合は6種の細胞とも濃度1,000  $\mu\text{g/ml}$ までは著明な増殖抑制は認められなかったが、5,000  $\mu\text{g/ml}$ ではいずれの細胞にも増殖抑制作用が認められた(図2~4)。

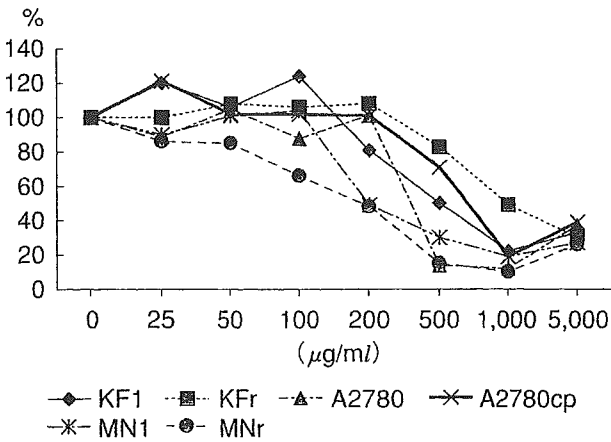


図1 小柴胡湯の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用

2. 漢方製剤の卵巣癌細胞に対するアポトーシス誘導能

図5に flow cytometry によるアポトーシス検出法を示す。このキットではLR(右下)領域がアポトーシス細胞, UR(右上)領域がネクローシス細胞となる。漢方製剤の卵巣癌細胞に対するアポ

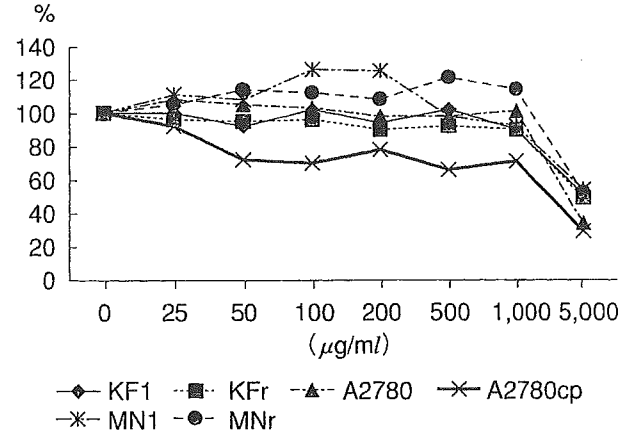


図3 十全大補湯の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用

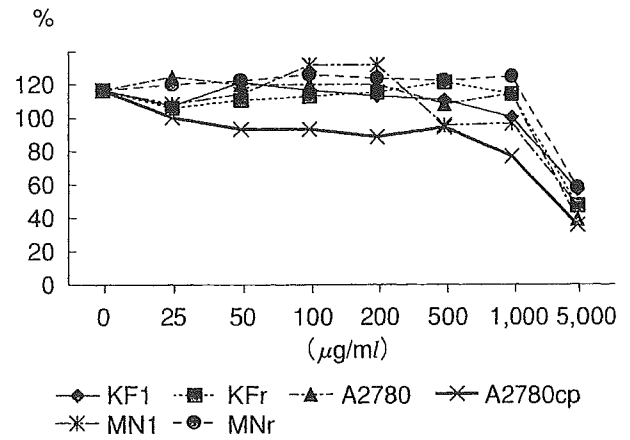


図4 補中益気湯の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用

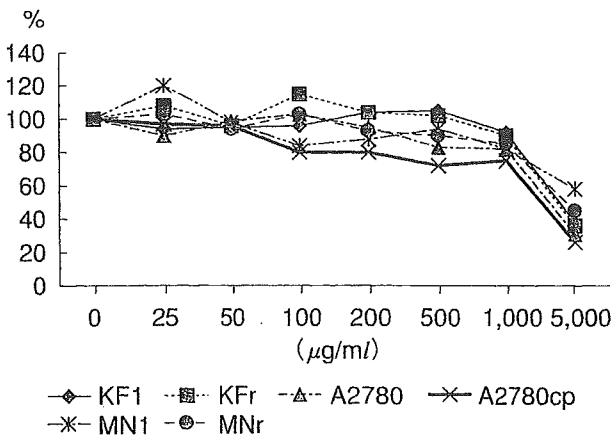


図2 人参養栄湯の卵巣癌細胞に対する増殖抑制作用

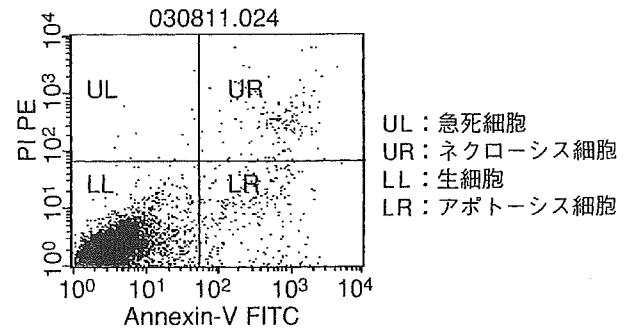


図5 flow cytometry によるアポトーシス検出

トーシス誘導能を図6, 7に示す。培養液中に小柴胡湯を添加した場合、6種の細胞とも濃度1,000  $\mu\text{g/ml}$  でコントロールと比較してアポトーシスの誘導が認められた。5,000  $\mu\text{g/ml}$  では細胞はネクローシスに陥った(図6)。人參養榮湯, 十全大補湯, 補中益氣湯を添加した場合には6種の細胞とも1,000  $\mu\text{g/ml}$  でコントロールと比較してアポトーシスの誘導は認められなかった。5,000  $\mu\text{g/ml}$  ではいずれの細胞にもネクローシスが認められた(図7十全大補湯で代表した)。

III 考 察

小柴胡湯は日本で慢性肝疾患に対して汎用されている漢方薬の1つであり、柴胡、半夏、黄芩、大棗、人參、甘草、生姜の7つの生薬からなる合剤である。小柴胡湯の肝細胞癌に対する有用性は報告されている<sup>1,2)</sup>が、婦人科癌に対する報告は少ない。今回の実験結果から、小柴胡湯は6種の卵巣癌培養細胞に対して濃度1,000  $\mu\text{g/ml}$

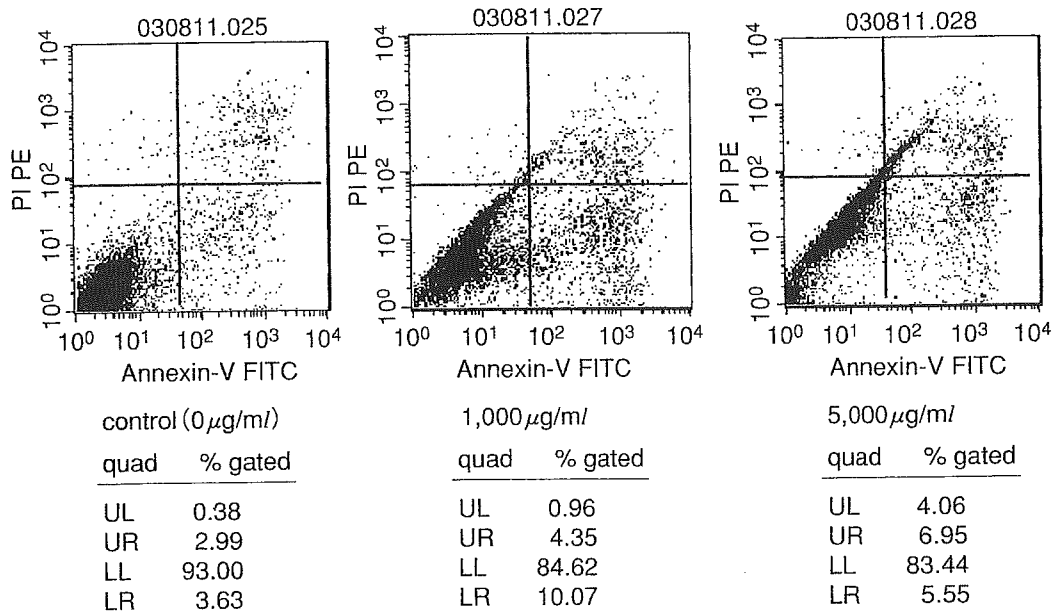


図6 小柴胡湯の卵巣癌細胞に対するアポトーシス誘導能

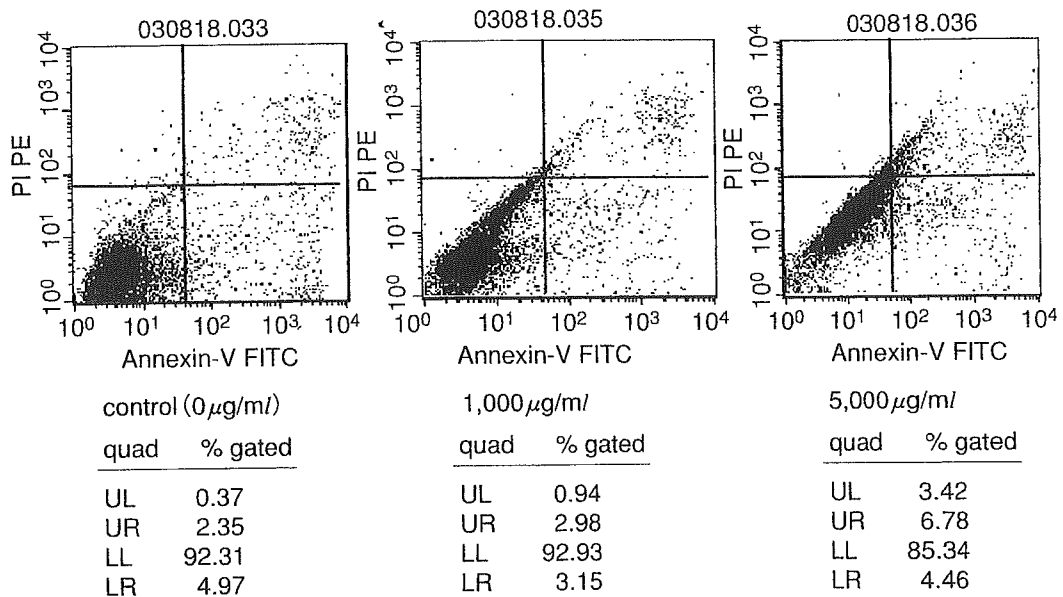


図7 十全大補湯の卵巣癌細胞に対するアポトーシス誘導能

までに増殖抑制作用を認めた。小柴胡湯成分中のグリチルリチン<sup>3)</sup>、バイカレイン<sup>4)</sup>などが癌細胞に対して増殖抑制作用を示すことが報告されていることから、これらにより小柴胡湯が直接的に卵巣癌細胞の増殖を抑制したと考えられる。その増殖抑制機序は濃度 1,000  $\mu\text{g/ml}$  でアポトーシス誘導の結果であることが示唆されたが、この濃度は 1 日分の投与量 7.5 g が 100% 吸収された時の血中濃度に相当し、臨床的効果が期待される。高濃度 (5,000  $\mu\text{g/ml}$ ) では細胞はネクローシスに陥った。

小柴胡湯の培養癌細胞に対するアポトーシス誘導機序に関しては、肝細胞癌において p 53 遺伝子非依存性にアポトーシスや細胞周期停止を誘導すること<sup>5)</sup>、トポイソメラーゼ II 活性を阻害することによりアポトーシスを誘導すること<sup>6)</sup>などが報告されている。また、癌細胞以外に小柴胡湯は HIV 感染細胞に対してより選択的にアポトーシスを誘導することも報告されている<sup>7)</sup>。卵巣癌細胞に対するアポトーシス誘導機序の解明は今後の課題である。

#### おわりに

今回の実験結果から、小柴胡湯は卵巣癌細胞に対して直接的な増殖抑制作用をもつこと、その機序はアポトーシス誘導の結果であることが示唆された。卵巣癌化学療法に副作用の少ない安価な漢方製剤を取り入れることの臨床的意義は大きいと

考える。今後も小柴胡湯を含め漢方製剤の婦人科癌に対する有用性について基礎的、臨床的検討を進めたい。

#### 文 献

- 1) Yano H, Mizoguchi A, Fukuda K, Haramaki M, Ogasawara S, Momosaki S, Kojiro M. The herbal medicine sho-saiko-to inhibits proliferation of cancer cell lines by inducing apoptosis and arrest at the G<sub>0</sub>/C<sub>1</sub> phase. *Cancer Res* 1994; 54: 448-454
- 2) 沖田 極, 李 千, 竹本忠良. 小柴胡湯に含まれる肝癌細胞増殖抑制物質の検討. *Prog Med* 1992; 12: 1166-1171
- 3) 佐々木功典, 村上知之, 小賀厚徳・他. ヒト肝癌細胞 HuH 7 の増殖ならびに  $\alpha$ -フェトプロテイン産生に及ぼすグリチルリチンの影響. *BIO THERAPY* 1989; 3: 1515
- 4) 李 千, 沖田 極, 村上知之・他. 小柴胡湯に含まれる薬効成分バイカレインの培養ヒト肝癌細胞 (HuH 7) に対する増殖抑制効果. *BIO THERAPY* 1990; 4: 1664
- 5) 矢野博久, 家村昭和朗, 服巻 誠. 小柴胡湯によるアポトーシス誘導機序について. 第 56 回日本癌学会総会記事 210, 1997
- 6) Matsuzaki Y, Kurokawa N, Terai S, Matsumura Y, Kobayashi N, Okita K. Cell death induced by baicalein in human hepatocellular carcinoma cell lines. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87: 170-177
- 7) Wu X, Akats H, Otada H. Apoptosis of HIV-infected cells follow treatment with Sho-saiko-to and its components. *Jpn J Med Sci Bio* 1995; 48: 79-87



# Macrophage Colony-Stimulating Factor Levels in Amniotic Fluid Before and After the Onset of Labor Do Not Differ in Normal Pregnancies

Hayashi M, Hoshimoto K, Komine F, Ohkura T, Inaba N. Macrophage colony-stimulating factor levels in amniotic fluid before and after the onset of labor do not differ in normal pregnancies. AJRI 2004; 51:329–335 © Blackwell Munksgaard, 2004

**PROBLEM:** Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) promotes placental growth and maintenance. M-CSF also regulates trophoblast invasion into the placental bed. We evaluated whether M-CSF levels in amniotic fluid during labor contributing to subsequent delivery differed from those before the onset of labor in normal pregnancies.

**METHOD OF STUDY:** This study enrolled 48 Japanese women experiencing normal pregnancies with single fetuses who had no infection. Of these pregnancies, 24 were women during labor: 22 led to subsequent term delivery (labors); two had premature delivery. The other 24 were women without labor underwent cesarean section (controls). These two groups (22 labors and 24 controls) were compared. The average gestational age at entry was 38 weeks of gestation. The women's ages and gestational ages did not differ significantly between the two groups. Amniotic fluid was collected and the M-CSF levels were compared between two groups. The M-CSF level was determined by the sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

**RESULTS:** The levels of M-CSF in amniotic fluid did not differ significantly between the women during labor and those without labor.

**CONCLUSIONS:** M-CSF in amniotic fluid may not contribute to the onset of labor in term pregnancy and/or labor resulting in subsequent delivery may not induce the production and secretion of M-CSF into amniotic cavity.

**Masatoshi Hayashi<sup>1</sup>, Kazunori Hoshimoto<sup>2</sup>, Fumiko Komine<sup>2</sup>, Takeyoshi Ohkura<sup>1</sup>, Noriyuki Inaba<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Koshigaya Hospital, Dokkyo University School of Medicine, Minami-Koshigaya, Koshigaya-shi, Saitama, Japan; <sup>2</sup>Daiwa Sanfujinka Clinic, Iwatsuki, Iwatsuki-shi, Saitama, Japan; <sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Dokkyo University School of Medicine, Kitakobayashi, Mibu, Shimotsuga, Tochigi, Japan

Key words: 38 weeks of gestation, amniotic fluid, labor, macrophage colony-stimulating factor, normal pregnancies

Address reprint requests to Masatoshi Hayashi, Department of Obstetrics and Gynecology, Koshigaya Hospital, Dokkyo University School of Medicine, 2-1-50, Minami-Koshigaya, Koshigaya-shi, Saitama 343-8555, Japan.

E-mail: mhayashi@ilac.plala.or.jp

Submitted July 28, 2003;  
revised January 17, 2004;  
accepted February 5, 2004.

## INTRODUCTION

Interleukin-3 (IL-3), macrophage colony-stimulating factor (M-CSF, CSF-1), and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) are potent mediators of cell proliferation and differentiation in hematopoietic tissues and are representative hematopoietic cytokines. *In vitro* studies showed that IL-3, M-CSF, and GM-CSF promoted cellular phagocytosis and proliferation in the placenta.<sup>1–2</sup>

The expression of mRNA for c-fms, the proto-oncogene encoding the M-CSF receptor,<sup>3</sup> has been

detected in endometrial, decidual and placental tissue during pregnancy.<sup>4–6</sup> This expression is correlated with the period of maximal trophoblastic proliferation and placental growth, signifying that M-CSF secreted in the maternal–fetal interface regulates trophoblastic differentiation and development.<sup>7</sup>

In the mouse, a large amount of GM-CSF is present in the maternal–fetal interface<sup>8</sup> and both GM-CSF and CSF-1 are released by maternal tissues immediately adjacent to the invasive trophoblast.<sup>9</sup> CSF-1 bioactivity is high in the uterus, placenta and amniotic fluid.<sup>10</sup> In humans during pregnancy, endometrial, decidual

and placental tissue produce and secrete large amounts of M-CSF<sup>4</sup> and maternal serum M-CSF levels in normal pregnancies increase with gestational age.<sup>4,11,12</sup> We previously demonstrated that maternal blood M-CSF levels were significantly increased before the clinical manifestations of pre-eclampsia in normotensive women at 18 weeks of gestation who later develop pre-eclampsia.<sup>13</sup> As for complicated pregnancy, we have shown a significant increase in blood M-CSF levels not only in pre-eclampsia<sup>14</sup> but also in normotensive pregnancies complicated by intrauterine fetal growth restriction (IUGR)<sup>15</sup> compared with those in normal pregnancies. These reports suggest that M-CSF has various physiological effects on tissues at the maternal-fetal interface.

A large number of cytokines show high activity within amniotic fluid and their production at the maternal-fetal interface has been reported.<sup>16,17</sup>

A large amount of M-CSF was contained in amniotic fluid and we estimated that M-CSF in amniotic fluid has various functions as do many cytokines. Near term, the marked physiological change occurring in pregnant women is the onset of labor. Thus, we focused on the relationship between changes in the M-CSF level in amniotic fluid and labor induction.

On the basis of these findings, we focused on M-CSF levels in amniotic fluid and evaluated whether M-CSF levels in amniotic fluid during labor differed from those before the onset of labor in normal pregnancies. With respect to women during labor, we also examined whether M-CSF levels in amniotic fluid in the established labor group differed from those in advanced labor group.

## SUBJECTS AND METHODS

### Subjects

Informed consent was obtained from all subjects. The subjects were 48 normal pregnant women carrying

single fetuses. Of these women, 24 were women during labor that resulted in subsequent delivery: 22 led to subsequent term delivery (labors); two had premature delivery. The gestational age of 22 labors ranged from 37.3 to 40.6 weeks of gestation. The other 24 were women before the onset of labor without uterine contractions who received cesarean section. Their gestational age ranged from 37.0 to 41.1 weeks of gestation. These 24 served as controls. These two groups (22 labors and 24 controls) were compared. Table I shows the characteristics of 46 subjects. Average gestational age at entry was 38 weeks of gestation. The women's ages, gestational ages and parity did not differ significantly between the two groups. The indications for cesarean section are shown in Table II. All cesarean sections were performed by spinal anesthesia.

Subjects who delivered small-for-gestational-age (SGA) infants were excluded from the study. SGA infants were defined as weighing less than the 10th percentile for gestational age from the standard growth curve for the Japanese,<sup>18</sup> and appropriate-for-gestational-age (AGA) infants were defined as having weights within normal ranges (10–90th percentile).

Subjects with any symptom of infection or abnormal C-reactive protein level were excluded from the study. Hyperglycemia was not detected in any subject under fasting conditions. There were no subjects with any comorbid condition such as diabetes, asthma, congenital heart disease, kidney disease, connective tissue disorders, and autoimmune disease. None of the subjects smoked tobacco. All neonates had normal anatomies.

### Verification of Uterine Contractions

The presence or absence of uterine contractions was verified by cardiotocogram (CTG). The instrument used for CTG monitoring was MT-430 (Toitu, Tokyo, Japan). At admission, all patients in the third trimester of pregnancy and those with suspected uterine contractions underwent a CTG. All patients in labor were additionally monitored by CTG from 5 cm cervical dilatation to delivery.

TABLE I. The Characteristics of 46 Subjects

	Age (years)	Gestational age (weeks)	Parity	Systolic BP (mmHg)	Diastolic BP (mmHg)	<i>n</i>
With labor	31.1 ± 4.2	38.8 ± 0.8	(0) = 12;	116 ± 13.7	70 ± 13.7	22
(range)	(24–42)	(37.3–40.6)	(≥1) = 10	(94–138)	(32–88)	
Without labor	33.4 ± 3.9	38.3 ± 0.9	(0) = 7;	109 ± 12.0	65 ± 9.8	24
(range)	(24–40)	(37.1–41.1)	(≥1) = 17	(85–129)	(40–80)	
Significance	NS	NS	NS	NS	NS	

Data and results are mean ± S.D.

BP, blood pressure; NS, not significant.

TABLE II. The Indication for Cesarean Section

	Indication for C-S	<i>n</i>
With labor	Repeated C-S	1
Without labor	Repeated C-S	14
	Breech presentation	4
	Previous myomectomy	3
	Placenta previa	2
	CPD	1

C-S, cesarean, section; CPD, cephalopelvic disproportion.

#### Selection of Women During Labor

We applied the following inclusion criteria to the selection of women during labor: (1) established labor group who were in active labor with regular uterine contractions at intervals of less than 10 min and progression of cervical dilatation on consecutive vaginal examination of 2–5 cm at the time of delivery; and (2) advanced labor group who were in active labor with cervical dilatation greater than 5 cm.

The established labor group and advanced labor group consisted of 10 and 12 women, respectively.

#### Amniotic Fluid Sampling

As for samples from women before the onset of labor, 24 samples of amniotic fluid were collected from the uterine cavity during cesarean section.

Samples from women during labor were collected at delivery: one sample from the uterine cavity during cesarean section; six from the vagina immediately after artificial rupture of membranes; 15 from the vagina immediately after spontaneous rupture of membranes.

When amniotic fluid flowed from the uterus into the vagina during labor in the absence of bleeding, we carefully collected only amniotic fluid using a syringe with an 18G-needle to avoid contamination by vaginal discharge.

Samples were centrifuged at  $1600 \times g$  for 10 min at room temperature. The separated supernatant was collected and stored at  $-30^{\circ}\text{C}$  for subsequent determination of the M-CSF level.

#### Determination

The M-CSF level was determined by the sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method

with three antibodies: equine antihuman M-CSF antibody coated on a microtiter plate; an antibody solution containing highly purified rabbit antihuman M-CSF antibody; and caprine enzyme-conjugated antirabbit IgG antibody, according to the method reported by Hanamura et al.<sup>19</sup>

The % recovery of exogenous M-CSF mixed with sera collected from healthy volunteers was between 94 and 107%. Intra- and inter-assay coefficients of variation were 2.4 and 2.6% at concentrations of 632 U/mL and 2.1 and 1.8% at 1034 U/mL, respectively. The calculated M-CSF level in the serum gradually decreased as the serum concentration increased, proceeding in order from 20 to 40 to 60 to 80 to 100%. The M-CSF level calculated from data obtained from 100% serum added reached 75% of that obtained from 10% serum added. However, calculated M-CSF levels remained almost constant when the assay was carried out using more than fivefold diluted serum. This indicates that human serum samples should be diluted more than fivefold for the determination of M-CSF level to avoid interference from contaminating proteins. During determination, serum samples were diluted 11-fold in the present study.

#### Statistical Analysis

Parity was statistically analyzed by the chi-square test. M-CSF levels were statistically analyzed by Mann-Whitney *U*-test. All other data were statistically analyzed by the unpaired *t*-test. Significance was established at the  $P < 0.05$  level.

## RESULTS

Table III shows a summary of the results.

#### M-CSF Levels in Amniotic Fluid in Women with Labor and Those Without Labor

M-CSF levels in amniotic fluid were slightly higher in women with labor than in women without labor, but the difference was not significant. Fig. 1 is a scatter diagram with bar graphs for values of M-CSF in amniotic fluid. Although the M-CSF values were distributed across wide ranges: 1910–8690 U/mL in women with labor; 1910–10,400 U/mL in women

TABLE III. Determined Values of M-CSF in Amniotic Fluid, and Other Results in Normal Pregnancies

	M-CSF (U/mL)	Neonatal birth weight (g)	Placenta weight (g)	<i>n</i>
With labor (range)	4290 (1910–8690)	3004 ± 224 (2628–3530)	547 ± 76 (440–730)	22
Without labor (range)	3435 (1910–10400)	3068 ± 344 (2552–3680)	574 ± 100 (370–800)	24
Significance	NS ( $P = 0.12$ )	NS ( $P = 0.46$ )	NS ( $P = 0.32$ )	

M-CSF values are median (range). Other results are mean ± S.D. (range). NS, not significant.

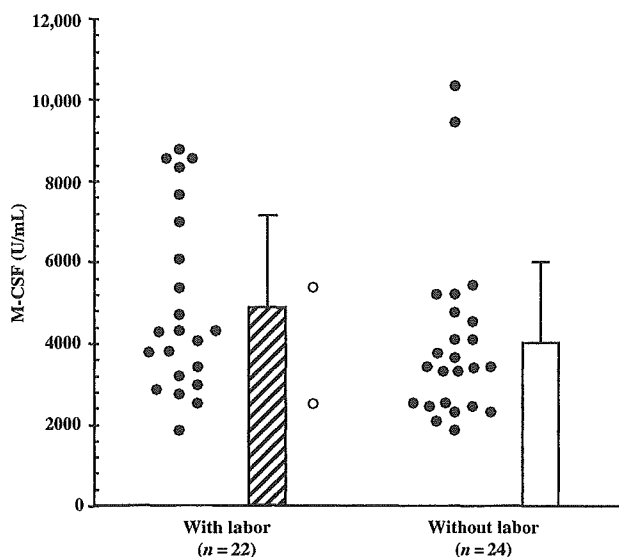


Fig. 1. A scatter diagram with bar graphs of M-CSF values in amniotic fluid in women with labor and those without labor. Bars indicate mean values and the vertical lines on the bars indicate S.D. M-CSF levels in amniotic fluid did not differ significantly between the two groups. In women with labor, closed circles indicate M-CSF values for 22 mothers who had term deliveries, and open circles indicate two mothers who had premature babies.

without labor, these median values showed a concentration of 4290 U/mL in women with labor, and of 3435 U/mL in women without labor.

There were no pre-term deliveries among the women without labor. However, there were two patients who had babies prematurely due to pre-term labor among the women with labor; they delivered at 34.7 and 36.4 weeks of gestation and their M-CSF levels were 5390 and 2430 U/mL, respectively.

#### *M-CSF Levels in Established Labor Group and Advanced Labor Group*

Fig. 2 is a scatter diagram with bar graphs for values of M-CSF in amniotic fluid. The M-CSF values were distributed across wide ranges: 2510–8590 U/mL in the established labor group; 1910–8690 U/mL in the advanced labor group. M-CSF levels in amniotic fluid in the established labor group were 4485 U/mL (median; range, 2510–8590 U/mL) and those in the advanced labor group were 4180 U/mL (1910–8690 U/mL). The M-CSF levels were nearly the same between the two groups, and the difference was not significant ( $P = 0.95$ ).

#### *Neonatal Birth Weight*

Neonatal birth weights were nearly the same between the women with labor and those without labor. There was no significant difference in neonatal birth weight between the two groups.

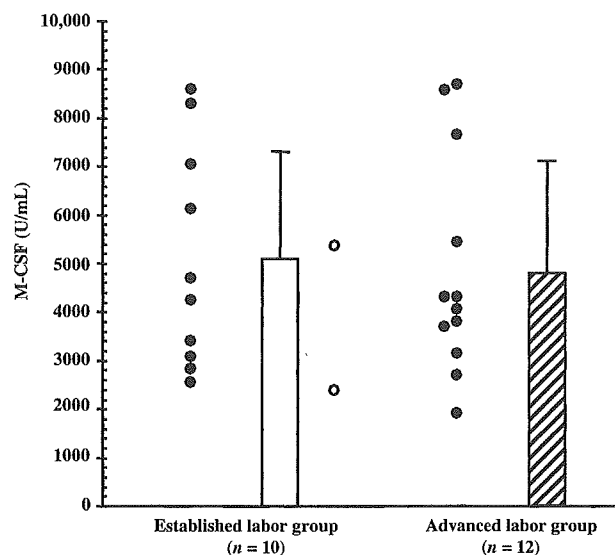


Fig. 2. A scatter diagram with bar graphs of M-CSF values in amniotic fluid in the established labor group and the advanced labor group. Bars indicate mean values and the vertical lines on the bars indicate S.D. Significant differences were not seen in M-CSF levels in amniotic fluid in the established labor group compared with those in the advanced labor group. In established labor group, closed circles indicate M-CSF values for 10 mothers who had term deliveries, and two open circles indicate two mothers who had premature babies.

#### *Placenta Weight*

Placenta weights were nearly the same in women with labor as in women without labor, and the difference was not significant.

## DISCUSSION

We evaluated M-CSF levels in amniotic fluid in women whose average gestational age at entry was 38 weeks of gestation. In the present study, discussing the volume and composition of amniotic fluid is beneficial. Amniotic fluid volume shows rather marked individual differences and increases with progression of pregnancy. From the time of amniotic sac formation, the amniotic fluid volume rapidly increases to the average peak volume of about 1000 mL at 36–38 weeks.<sup>20,21</sup> In some but not all pregnancies, the volume decreases as term approaches. There are many mechanisms that will account for all the variations in composition and volume of amniotic fluid. Amniotic fluid in early pregnancy is primarily produced by the amniotic membrane covering the placenta and cord. As pregnancy progresses, from about the fourth month, the fetus participates in modulating amniotic fluid composition and volume by urinating and swallowing progressively larger amounts of fluid. At the same time, movement of fluid into and out of the respiratory