

主論文の要旨

Pain-reducing anesthesia prevents oxidative stress in human term placenta

〔 麻酔薬の使用は、分娩時胎盤の酸化ストレスを軽減する 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
生体管理医学講座 麻酔・蘇生医学分野

(指導：西脇 公俊 教授)

都築 葉子

【緒言】

近年、正常分娩の際に硬膜外麻酔による「無痛分娩」がしばしば行われるようになってきているが、胎児への影響については未だ明らかでない。一方、妊娠と酸化ストレスに関する研究は数多くなされており、胎児の発育に一定量の活性酸素は必要であるが、過剰な活性酸素(酸化ストレス)は胎児の成長を阻害するとの報告もある。しかし、分娩時の麻酔薬使用の有無による酸化ストレスの程度については解明されていない。母体と胎児を繋ぐ胎盤は、胎児の生命維持の役割をはたす重要な臓器であり、胎盤の酸化ストレスは胎児に及ぶ可能性があると考えられる。本研究では、2種類の酸化ストレスマーカーについて免疫染色法を用いて、正常経膈分娩 および麻酔薬を使用した帝王切開ないしは無痛分娩の胎盤における酸化ストレスの量について比較し、麻酔薬の使用による違いを検討した。

【方法】

今回われわれは、21例の正常経膈分娩(Vグループ)、麻酔薬を使用した20例の帝王切開(Cグループ)、17例の無痛分娩(Eグループ)の胎盤における酸化ストレスの量を、2種類の酸化ストレスマーカーを用いた免疫染色法を施行し、比較、検討を行った。すべての胎盤について、提供者に書面による許可をいただき、名古屋大学および各医療法人の生命倫理委員会による審査を経て本研究を行った。酸化ストレスマーカーとしてはDNA損傷に対しては8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン(8-OHdG)を、過酸化脂質に対しては4-ヒドロキシ-2-ノネナール(HNE)をそれぞれ用いた。3つのグループそれぞれの母と子の臨床データについて、Table 1にまとめた。娩出された胎盤は、出産後すぐに10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、24時間以内に切り出した。さらに、切り出し24時間以上、娩出48時間以内までにPBSバッファーに置換した。その後通常の行程を経てパラフィン包埋し、薄切した3 μ mの切片をLeica BOND-III自動免疫染色装置で染色した。免疫染色結果はキーエンス BZ9000にて画像を撮影し、8-OHdGは付属の解析ソフトを用いて絨毛20本あたりの染色強度を測定し、HNEについては単位面積あたりの陽性絨毛内血管数をカウントし、1例あたり3箇所ずつ測定した。得られた結果について分散分析とスチューデントのt検定を用いて分析した。p<0.05を統計的に有意であるとみなした。

【結果】

3つのグループそれぞれの母と子の臨床データについて、Table 1にまとめた。陣痛開始から出産までの時間は、Vグループで3時間17分~27時間23分(中央値10時間55分)、Eグループで2時間5分~16時間55分(中央値6時間50分)であった。また母の年齢と新生児の体重は、3つのグループの間で差はなかった。使用したすべての胎盤において、絨毛羊膜炎や腫瘍は認められなかった。また胎盤の大きさ、合胞体性結節の数、梗塞部の範囲ではグループ間の差は認められなかった。H&E染色および酸化ストレスの解析のための免疫組織化学染色の代表的な結果を図1に示す。

8-OHdG は V グループの胎盤の絨毛の栄養膜細胞の核に高頻度で観察された (Figure 1A)。対照的に C グループ、E グループではあまり認められなかった (Figure 1B、Figure 1C)。染色強度の測定の結果、V グループで有意に高く染色され (V-C, V-E ともに $p < 0.001$)、C-E グループ間では有意差が見られなかった ($p = 0.792$) (Figure 2) HNE は絨毛血管内の血漿成分に存在し、V グループ (Figure 1D) と C (Figure 1E), E (Figure 1F) グループの単位面積当たりの陽性血管数を比較すると、V グループのみで有意に高く (V-C, V-E ともに $p < 0.001$)、C-E 間では有意差がなかった ($p = 0.128$)。

【考察】

本研究は、硬膜外無痛分娩と胎盤の酸化ストレスとの関係を報告した最初の研究である。麻酔薬の使用は新生児のアプガースコアや臍帯血の pH に影響を及ぼさないことが報告されている。一方で、ある程度の活性酸素は正常な胎児の発育のためには必要であるが、酸化ストレスは、母体肥満、喫煙および高血圧によって発生し、胎児の健康に悪影響を及ぼすとされる。活性酸素は母体・胎児間を輸送することができる小分子である。したがって、胎盤における酸化ストレスマーカーの陽性像は、母体の酸化ストレスを反映していると考えられる。本研究では、2 つの酸化ストレスマーカーによって、酸化ストレスが母体への麻酔薬投与により軽減されることが示された。我々の研究では、8-OHdG は胎盤の絨毛の栄養膜細胞の核で観察された。8-OHdG は、DNA の酸化損傷マーカーであり、Fe-NTA を腹腔内注射したマウスの腎臓では、1 時間以内に 8-OHdG と HNE の上昇が観察されることが知られている。したがって、これら 2 つのマーカーの陽性染色は、分娩中または帝王切開の外科手術中のような比較的短い期間における母体の酸化ストレスマーカーとしても有効であると考えられる。HNE は、通常では細胞の細胞質で観察される過酸化脂質のマーカーであるが、本研究では絨毛血管内に観察された。HNE は糖尿病患者における酸化血清アルブミンなど蛋白質の酸化マーカーとしても知られており、本研究においても血清の蛋白質の酸化を反映しているのではないかと考えた。

今回我々は、正常経膈分娩、帝王切開、および硬膜外無痛分娩という 3 つの異なる分娩法で胎盤の酸化ストレスを比較、検討した。正常経膈分娩と帝王切開の 2 つの分娩法で比較すると酸化ストレスレベルは帝王切開患者において低いことがこれまでに報告されている。我々は、硬膜外無痛分娩する E グループを加えることにより、麻酔薬使用の有無に焦点を絞って比較することができると考えた。ただし、V、E、および C 群における分娩時間の中央値は、それぞれ 10 時間 55 分、6 時間 50 分、および 0 時間 0 分であり、V グループで酸化ストレスが多く認められたことに対して分娩時間の長さが影響している可能性も否定はできない。しかし、各グループの分娩時間と酸化ストレスマーカーの染色性を比較すると、8-OHdG の信号強度または HNE 陽性血管数 (Figure 3) において明らかな相関関係は認められず、また、分娩時間が全く異なる E と C 群の間で有意な差は認められなかった。したがって、酸化ストレスマーカーで観察された違いは、麻酔薬投与による母親の分娩中の痛みの軽減によるもので

ある可能性が示唆された。

【結論】

本研究は、無痛分娩の胎盤では酸化ストレスが減少していることを示した。麻酔薬の使用によって母体の痛みが軽減することは、胎児に対しても好影響があるのではないかと考えた。