

原 著 妊娠初期母体血液中の抗炎症性サイトカイン
IL-10 による切迫早産の予知の可能性

昭和大学医学部産婦人科学講座

徳中真由美 大槻 克文 大場 智洋
太田 創 千葉 博 岡井 崇

要約：サイトカインの均衡がとれている正常の状態と比較して、炎症性サイトカインと抗炎症性サイトカインの均衡が崩れ、炎症性サイトカインが増加することが早産を誘発する可能性があると考えた。通常血中炎症性サイトカインは早産間近でないとは上昇しないが、抗炎症性サイトカインは妊娠早期から変化が認められる可能性がある。妊娠初期において抗炎症性サイトカインである IL-10 を測定し、妊娠早期の早産および切迫早産の発症予知につながるかどうかを調べる目的で本研究を実施した。2010年5月から2012年7月までの間に昭和大学病院で妊娠初期から妊婦健診を受けた患者のうち、本研究に対して書面により同意し、2012年7月までに出産した149人を対象とした。妊娠初期（妊娠7週～14週）に血液検体を採取し、血漿中 IL-10 を測定した。測定には High Sensitivity Human ELISA Kit (abcam, Cambridge, United Kingdom) を用いた。IL-10 の計測値と妊娠・分娩経過との関連を以下の比較により検討した。検討①：早産群（妊娠22～36週分娩）と正常産群（37～41週分娩の正常産群）との比較。検討②：切迫早産入院あり群（切迫早産治療の目的で入院し安静・点滴・手術での治療をした）と切迫早産入院なし群との比較。6症例の早産群と143症例の正常産群では、母体年齢や経産回数に差は認めなかった。両群間の IL-10 値に有意差を認めなかった。17症例の切迫早産入院あり群と132症例の切迫早産入院なし群では、母体年齢に差は認めなかったが経産回数には有意差を認めた。切迫早産入院あり群では入院なし群と比較し、IL-10 が有意に高値であった。妊娠初期母体血液中の IL-10 値を測定することが、切迫早産の予知の指標となる可能性が示唆された。

キーワード：抗炎症性サイトカイン, IL-10, 切迫早産, Anti-inflammatory cytokine, IL-10, imminent preterm delivery

早産による低出生体重児の出生は、その児の発達に重大な影響を及ぼすばかりでなく、家族および社会の経済的負担を増やすという問題も残す¹⁾。近年においても早産率は減少しておらず、過去20年間に早産児は増加し続けている^{2,3)}。2005年には世界での早産率は9.6%、日本では全分娩の5.7%前後をしめている。

早産の原因は多種多様であり一元的にはとらえられないものであるが、早産発症の主たるメカニズムとしては細菌性膣炎から子宮頸管炎を経て絨毛膜羊膜炎に至るという上行性感染が誘因であるとされている⁴⁻⁶⁾。また、妊娠という免疫寛容とそれに続く感染や炎症の増長というメカニズムが関与している

ことも既に報告されている^{7,8)}。更に、早産に至った症例ではその分娩前後で子宮頸管・羊水内・母体血中において IL-6 や TNF- α 、IL-8 といった炎症性サイトカインが上昇することも既知のことである⁹⁾。そのため、数日から数週間後の早産予知には炎症性サイトカインが有効と考えられている^{7,8)}。

また、一般には炎症性サイトカインが上昇し抗炎症性サイトカインが低下すると炎症が持続し、疾患を引き起こすことが知られている。従って、早産発症にもサイトカインのバランスが関与していると思われる。しかしながら、早産発症へのプロセスが進んでしまっている妊娠中期から後期の段階では、早産予防を目的とした抗生物質^{10,11)}、Urinary trypsin

inhibiter¹²⁾などの抗炎症療法や子宮収縮抑制剤⁶⁾の使用は後手に回っていることは否めない。

一方、早産発症のリスク因子として妊娠初期の細菌性膣炎や頸管炎の存在、歯周病¹³⁾などの炎症性疾患の存在が指摘されており、妊娠初期での炎症の増えないしは炎症と抗炎症のバランスの破綻が契機となり、早産発症プロセスは既に開始されている可能性が考えられる。言い換えれば、切迫早産発症のメカニズムとして、妊娠初期に免疫応答の破綻が既に存在し、抗炎症性サイトカインの動態が変化していることが示唆される。

代表的な抗炎症性サイトカインである IL-10 は炎症性サイトカインの産生を始めとする免疫機能を抑制的に制御したり、リンパ球に抑制作用を示すなど、抑制性のサイトカインである。妊娠を継続維持していくために重要なサイトカインであると考えられている¹⁴⁾。

妊婦血液中のサイトカイン濃度と早産発症の関係を述べた論文は少ない。早産間近でなく妊娠初期の母体血液中の炎症性サイトカイン値について、一定した見解は得られていない^{7,15)}。母体血中の IL-10 が低下すると早産のリスクが上昇すると報告している論文がある^{14,16)}。一方、血中の抗炎症性サイトカイン濃度が高値である人は早産のリスクが高いと主張する報告もある^{17,18)}。

IL-10 に関しては前述の論文のほか、妊娠初期や中期の妊婦と比較して満期の陣発来前の妊婦では胎盤内の IL-10 発現が減少していたことから、IL-10 の減少が陣痛発来時の免疫に影響を与えているのだという報告もある⁵⁾。

以上の背景から、われわれは、サイトカインの均衡がとれている正常の状態と比較して、炎症性サイトカインと抗炎症性サイトカインの均衡が崩れ、炎症性サイトカインが増加することが早産を誘発する可能性があると考えた。通常、血中炎症性サイトカインは早産間近でないと上昇しないが、抗炎症性サイトカインは妊娠初期から変化が認められる可能性がある。

そこで、妊娠初期に抗炎症性サイトカインである IL-10 を測定し、妊娠早期の早産および切迫早産の発症予知につながるかどうかを調べる目的で本研究を実施した。

研究方法

2010年5月から2012年7月までの間に昭和大学病院で妊娠初期から妊婦健診を受けた患者のうち、本研究に対して書面により同意し、2012年7月までに出産した149人を対象とした。本研究は医の倫理委員会の承認を得て行われた。

妊娠初期（妊娠7週～14週）に血液検体を採取した。2000回転で10分間遠心分離をした後にプラスチックチューブに分注し、 -80°C で凍結保存した。その後、血漿中 IL-10 を測定した。測定には High Sensitivity Human ELISA Kit (abcam, Cambridge, United Kingdom) (IL-10 測定限界は 1.3 pg/ml) を用いた。IL-10 の計測値と妊娠・分娩経過との関連を以下の比較により検討した。

検討①：早産群（妊娠22～36週分娩）と正常産群（37～41週分娩の正常産群）との比較。

検討②：切迫早産入院あり群（切迫早産治療の目的で入院し安静・点滴・手術での治療をした）と切迫早産入院なし群との比較。

なお、切迫早産による入院治療としては、妊娠26週未満で頸管長が25mm未満の症例や既往歴に異常がある症例の一部には頸管縫縮術を施行した。また子宮収縮抑制剤の点滴投与や、児の成熟目的で母体への betamethasone の投与を行った。

今回の検討では羊水や頸管粘液の採取といった侵襲的な方法ではなく、一定の検体量が得られ、かつ簡便である血液検体を用いた。

統計的検討には JMP (version 10, SAS Institute) を用いた。結果が正規分布を示す際は Student's t-test を用い、非正規分布を示した場合は Wilcoxon test を用いた。p < 0.05 の場合に有意差ありと判断した。

結果

6症例の早産群（4.0%）と143症例の正常産群の検討では、母体年齢や経産回数に差は認めなかった。両群間の IL-10 値に有意差を認めなかった。ただし、平均値が低く Control よりも低値である可能性がある。また、早産症例数が少ないため、症例を増やしての検討が必要である（Table 1）。

17症例の切迫早産入院あり群（11.4%）と132症例の切迫早産入院なし群の検討では、切迫早産入院あり群では入院なし群と比較し、IL-10 が有意に高

値 ($p < 0.05$) であった。母体年齢に差は認めなかったが、経産回数には有意差 ($p < 0.05$) を認めた (Table 2)。

考 察

早産発症のプロセスは先述のように妊娠初期から既に始まっている可能性があるが、今回の結果でも早産群では正期産群と比較して有意ではないものの IL-10 が低値傾向を示した (Table 1)。早産徴候を示す症例、すなわち妊娠中期以降に子宮頸管長の短縮・子宮口の開大・子宮収縮などを認める切迫早産の症例に対しては、様々な医療介入を行うことで妊娠期間の延長を図っている。治療をしなければ早産に至ったであろうが、治療の結果として早産を免れた症例は本研究では正期産群に含まれている。このことは、早産群についての検討で有意差が認められなかった一因として考慮されると考えた。したがって、抗炎症性サイトカインの低下は妊娠による免疫寛容に加えて感染防御機能や免疫機能の低下を意味し、その後の細菌性膣炎や頸管炎から子宮内感染へ至るプロセス、つまり切迫早産へとつながっていく可能性が高くなると考えられる¹⁹⁾。

次に、Table 2 に示すように切迫早産入院あり群では切迫早産入院なし群と比較し IL-10 が有意に高

値を示した。切迫早産治療を有する症例では炎症性サイトカインの上昇に呼応し、対償的に抗炎症性サイトカインも上昇している病態が考えられた。

一般に、侵襲時のサイトカインを中心とした免疫炎症反応で抗炎症性サイトカインが優位となる状態を代償性抗炎症反応症候群と呼ぶ。侵襲に対して炎症性サイトカイン IL-1・IL-6・TNF- α などを誘導し、一方生体の恒常性維持のために抗炎症性サイトカインである IL-10・IL-4などが誘導される¹⁹⁾。

われわれの検討では、入院が必要であった切迫早産症例では、妊娠初期の血中 IL-10 の平均値が高値であった。妊娠中に切迫早産入院治療が必要となる症例の中には炎症性サイトカインが妊娠初期から増加している症例が存在し、それを抑制的に制御せざるを得ない状況、あるいは対償的に抗炎症性サイトカインが上昇する状況となっていた症例で IL-10 が高値を呈したのではないかとわれわれは考えている。そのような症例がその後入院治療を必要とする状況になったのではないかと推察される。過去の報告と今回のわれわれの結果から、IL-10 の増加は、妊娠中の免疫防御機構破綻の一端を示していると考えられる。

上記のような考え方的一方で、Progesteron に IL-10 産生増強効果があり、progesteron を投与した妊婦で

Table 1 Background of patients. Comparison between “Preterm birth group” and “Term birth group” (Comparison 1)
Data is expressed as mean [± SD] (minimum ~ maximum)

Variable	Preterm delively (n = 6)	Term deliverly (n = 143)	P value
IL-10 (pg/ml)	1.22 [± 10.71] (0 ~ 6.56)	8.07 [± 2.20] (0 ~ 196.17)	0.88
Maternal age (years)	34.33 [± 4.80] (30 ~ 41)	34.19 [± 5.04] (20 ~ 46)	0.97
Times of delivery	0.50 [± 0.55] (0 ~ 1)	0.53 [± 0.66] (0 ~ 2)	0.95
Gestational age at delivery (days)	246.50 [± 5.99] (238 ~ 254)	273.76 [± 8.95] (259 ~ 292)	< 0.0001

Table 2 Background of patients. Comparison between “hospitalizations group” and “Non-hospitalizations group” (Comparison 2)
Data is expressed as mean [± SD] (minimum ~ maximum)

Variable	Hospitalizations (n = 17)	Non-hospitalizations (n = 132)	P value
IL-10 (pg/ml)	24.30 [± 6.21] (0 ~ 196.16)	5.67 [± 2.23] (0 ~ 122.02)	0.04
Maternal age (years)	35.12 [± 4.43] (27 ~ 43)	34.08 [± 5.09] (20 ~ 46)	0.45
Times of delivery	0.94 [± 0.75] (0 ~ 2)	0.48 [± 0.62] (0 ~ 2)	0.01
Gestational age at delivery (days)	264.00 [± 14.34] (238 ~ 285)	273.78 [± 9.21] (252 ~ 292)	0.01

はIL-10が上昇し妊娠期間も延長する、という報告もある²⁰⁾。また、妊娠初期にはprogesteronによりtrophoblastからprogesteron inducing blocking factor (PIBF)が分泌され、それがIL-10を誘導し免疫抑制に働くという報告もある²¹⁻²³⁾。これらを考慮すると、前述した考え方とは逆の発想が生じる。すなわち、PIBFが過剰に産生されたとすれば、感染症を受けやすくなり、すなわちそれが後期流産や切迫早産の原因となる可能性もあると考えられる。いずれにせよ、炎症性サイトカインやprogesteronを測定していないため、この2つの考えは、今後の検討により明らかにしていくべきであろう。

今回の結果から妊娠初期母体血液中のIL-10値を測定することが、切迫早産の予知の指標となる可能性が示唆された。今後さらに症例を増やした検討と、またIL-10以外のサイトカインやprogesteron値、PIBFなどのホルモン値を母体血清で測定していくことで早産・切迫早産原因の解明、予防につながると思われる。

利益相反

本研究に関し開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Green NS, Damus K, Simpson JL, *et al.* Research agenda for preterm birth: recommendations from the March of Dimes. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193:626-635.
- 2) Dubicke A, Fransson E, Centini G, *et al.* Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in human preterm and term cervical ripening. *J Reprod Immunol.* 2010;84:176-185.
- 3) Peltier MR. Immunology of term and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1:122.
- 4) Yoon BH, Romero R, Yang SH, *et al.* Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174:1433-1440.
- 5) Romero R, Espinoza J, Goncalves LF, *et al.* The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med.* 2007;25:21-39.
- 6) Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000;342:1500-1507.
- 7) Von Minckwitz G, Grischke EM, Schwab S, *et al.* Predictive value of serum interleukin-6 and -8 levels in preterm labor or rupture of the membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2000;79:667-672.
- 8) Lamont RF, Nhan-Chang CL, Sobel JD, *et al.* Treatment of abnormal vaginal flora in early pregnancy with clindamycin for the prevention of spontaneous preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;205:177-190.
- 9) Romero R, Yoon BH, Mazor M, *et al.* The diagnostic and prognostic value of amniotic fluid white blood cell count, glucose, interleukin-6, and gram stain in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169:805-816.
- 10) Guise JM, Mahon SM, Aickin M, *et al.* Screening for bacterial vaginosis in pregnancy. *Am J Prev Med.* 2001;20:62-72.
- 11) Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, *et al.* Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189:139-147.
- 12) Kanayama N, el Maradny E, Halim A, *et al.* Urinary trypsin inhibitor suppresses premature cervical ripening. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1995;60:181-186.
- 13) de Melo Neto JP, Melo MS, dos Santos-Pereira SA, *et al.* Periodontal infections and community-acquired pneumonia: a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013;32:27-32.
- 14) Ruiz RJ, Jallo N, Murphey C, *et al.* Second trimester maternal plasma levels of cytokines IL-1Ra, Il-6 and IL-10 and preterm birth. *J Perinatol.* 2012;32:483-490.
- 15) Tsiartas P, Holst RM, Wennerholm UB, *et al.* Prediction of spontaneous preterm delivery in women with threatened preterm labour: a prospective cohort study of multiple proteins in maternal serum. *BJOG.* 2012;119:866-873.
- 16) Blanco-Quiros A, Arranz E, Solis G, *et al.* Cord blood interleukin-10 levels are increased in preterm newborns. *Eur J Pediatr.* 2000;159:420-423.
- 17) Makhseed M, Raghupathy R, El-Shazly S, *et al.* Pro-inflammatory maternal cytokine profile in preterm delivery. *Am J Reprod Immunol.* 2003;49:308-318.
- 18) Simhan HN, Bodnar LM, Kim KH. Lower genital tract inflammatory milieu and the risk of subsequent preterm birth: an exploratory factor analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2011;25:277-282.
- 19) Haveman JW, Muller Kobold AC, Tervaert JW, *et al.* The central role of monocytes in the

- pathogenesis of sepsis: consequences for immunomonitoring and treatment. *Neth J Med* 1999;55:132-141.
- 20) Hudic I, Szekeres-Bartho J, Fatusic Z, *et al.* Dydrogesterone supplementation in women with threatened preterm delivery— the impact on cytokine profile, hormone profile, and progesterone-induced blocking factor. *J Reprod Immunol.* 2011;92:103-107.
- 21) Raghupathy R, Al-Mutawa E, Al-Azemi M, *et al.* Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. *J Reprod Immunol.* 2009;80:91-99.
- 22) Hudic I, Fatusic Z, Szekeres-Bartho J, *et al.* Progesterone-induced blocking factor and cytokine profile in women with threatened preterm delivery. *Am J Reprod Immunol.* 2009; 61:330-337.

ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE FIRST TRIMESTER FOR PREDICTION OF PRETERM DELIVERY

Mayumi TOKUNAKA, Katsufumi OTSUKI, Tomohiro OBA,
Hajime OTA, Hiroshi CHIBA and Takashi OKAI

Department of Obstetrics and Gynecology, Showa University School of Medicine

Abstract — The aim of the present study was to evaluate the values of anti-inflammatory cytokines (IL-10) in the first trimester of pregnancy and its association with threatened preterm delivery. The subject group consisted of 149 pregnant women who delivered live infants at Showa University Hospital from January 2011 to July 2012. In this study, we measured and analyzed the IL-10 levels in two comparative conditions. As a result, in Comparison 1, there was no significant difference between the IL-10 levels of “preterm birth group” and “term birth group”. In Comparison 2, the IL-10 levels of those hospitalized due to threatened preterm delivery were significantly higher than the IL-10 levels of those not requiring early hospitalization. In conclusion, to determine the levels of IL-10 in first trimester maternal serum may have the potential to predict imminent preterm delivery from an early stage of pregnancy.

Key words: anti-inflammatory cytokine, IL-10, imminent preterm delivery

[受付：1月8日，受理：2月1日，2013]