

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462497

研究課題名(和文) 羊水特異マーカーSCCを用いた母体への羊水流入の影響に関して

研究課題名(英文) Eucidate using SCC how effect when amniotic fluid entered into maternal circulation

研究代表者

大井 豪一 (OI, Hidekazu)

近畿大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：10283368

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：羊水/血清濃度が非常に高い羊水特異マーカーであるSCCを用い、羊水が母体血中に流入した量により、後産期出血量に違いがあるかを検討した。後産期出血量が異常値(500ml以上)であった群の母体血中SCC値の分娩前後の差は、正常量であった群に比して有意に高値を示した。このことより、羊水が母体血中へ流入した量が多い症例は、分娩時の出血量も多いということが統計学的に証明された。この現象は、臨床的羊水塞栓症例と頸管裂傷症例に多く認められ、母体血中のSCC値の上昇以外にも、FDP-DDの上昇率も有意に高かった。また、血中のSCC値上昇を惹起させるIL-4とIL-13は、後産期出血量の増加とは無関係であった。

研究成果の概要(英文)：Using maternal serum SCC level which was the amniotic fluid specific marker because of very high amniotic fluid / serum levels, we evaluated the correlation between the the quantity of amniotic fluid entered into the maternal circulation and the amount of postpartum hemorrhage(PPH). When PPH was abnormal(more than 500ml), the difference of maternal serum SCC level before and after the delivery between 2 groups of the abnormal PPH and the normal PPH was clear (SCC:  $5.6 \pm 2.1$ ng/ml vs  $4.1 \pm 2.8$ ng/ml,  $P < 0.05$ ) statistically. This result was proved statistically that a large amount of amniotic fluid entered into the maternal circulation occurred the abnormal PPH. Especially the cases with clinical AFE and cervical laceration increased the maternal serum SCC level. And the difference of FDP-DD level before and after the delivery was also high statistically. However maternal serum level of both IL-4 and IL-13 derived the rise of serum SCC level had no correlation with the large amount of PPH.

研究分野：産科婦人科

キーワード：squamous cell carcinogen 後産期出血 羊水 インターロイキン4 インターロイキン13

### 1. 研究開始当初の背景

羊水塞栓症は、その原因も予防も確立していない疾患のため、先進諸国においては周産期死亡原因のトップクラスに位置する周産期疾患である。また、その症状も多彩のため診断も困難であり、臨床症状より他の疾患を除外して診断されるため、診断の信憑性にも多少問題が残る疾患でもある。正確な診断がなければ、その病態の本質もつかめないため、今後の周産期死亡率減少に大きな壁となっているのが現状である。そこで、日本産婦人科医会の事業として、羊水塞栓症の血清学的診断マーカーを確立すべく、胎便中に多く含まれる物質である Sialyl Tn (STN) と Zinc coproporphyrin-1 (Zn-CP1) を用いた方法が検討されている。その結果、STN 値と Zn-CP1 値は、診断時における感度が低い (それぞれ 26% と 46% : 1992-2006 年のデータ) と報告された。この感度の問題を解決すべく新たな血清学的診断マーカーを作成する必要があった。このマーカーを、母体血中には無く (または微量に存在) 羊水中に多く含まれる羊水特異物質であり、さらには陣痛の有無に左右されないという特徴を持つタンパク質とした。先ず、羊水特異物質を二次元電気泳動・質量分析技術を駆使して網羅的に探索し、Interleukin-6 (IL-6), squamous cell carcinoma antigen (SCC), carcinoembryonic antigen (CEA) など 44 種類の物質を羊水特異タンパク質として同定した (小林他. : The open Women's Health journal. 2011.5)。次に、この中で羊水/血清の値が高く、市販のキットで測定ができる 6 種類 (IL-6, SCC, Insulin growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), osteopontin, CA125, Sialyl-Tn(STN)) のタンパク質に対し、陣痛の有無によりその濃度に差がない物質の同定をした。結果として最終的に、SCC が最も有力な羊水特異マーカーとなった (成瀬他. : Open Journal of Obstetrics and Gynecology, 2012.2)。我々はこの様に理論上最も優れた羊水特異マーカー SCC を世界で初めて発見することに成功した。羊水塞栓症の原因は、羊水などの胎児成分が母体血中に流入し発症することが必要条件である。しかし一方で、病理学的に正常の分娩周辺期において羊水の母体血中への流入が証明されている (Lee W. et al. Am J Obstet Gynecol. 1986, Kobayashi H. Front Immunol. 2012, Benson MD. et al. Gynecol Obstet Invest. 2012)。しかし、この事象を生化学的に捉えた報告はいまだ存在しない。今回、我々の SCC を用いた pre-liminary study では、この事象を分娩周辺期に連続採血をすることにより証明することができた。

1992年から2006年までに登録された羊水塞栓症例を post-hoc test 用いて統計学的に解析をしたところ、少なくとも次の2つの特徴があることを確認した (大井他. : 産婦人科の実際 62. (1))。1. 呼吸困難を主体とした

臨床症状を持ち、母体血中 STN 値が高く、死亡率も高率であることより、大量の胎便の母体血中流入による機械的な肺塞栓が原因と考えられる。2. 出血を主体とした臨床症状を持ち、母体血中 C3 と C4 値が低く、死亡率も高率ではないことより、羊水の大量流入 (羊水には凝固作用を持つ物質が含まれている) かまたはアレルギー反応が関与し DIC が惹起されたと考えられる。この2つの原因論の存在は、すでに 1972 年に Courtney により報告されている原因論に一致するものであった。1. のタイプは、STN が高値であるという結果より胎便の流入が強く示唆される。しかし、2. のタイプにおいては、羊水の流入が主体と考えられる。この羊水流入は、我々の発見した SCC にて、感度よく捉えることが可能であると推測される。しかし、羊水成分の母体血中流入が正常分娩時においても起こっている事象ならば、羊水塞栓症の発症とどこに差があるのだろうか。アレルギー反応として捉えるならば、本症の診断マーカーとして考えている SCC は IL-13 により誘導される物質である。SCC が、アレルギー性疾患の原因物質である IL-13 に結びつくことは非常に興味深い。

### 2. 研究の目的

羊水塞栓症は、胎児成分の母体血中への流入により惹起される疾患である。我々は羊水塞栓症例のデータ解析より、本症の原因には胎便成分の流入による物理的閉塞が引き起こす心肺停止と羊水成分の流入によるアレルギー反応が引き起こす子宮出血・DIC をきたす二つのタイプが存在する可能性があることを報告した。また、羊水特異マーカーである squamous cell carcinoma antigen (SCC) を用いて、正常分娩時においても羊水成分が母体血中に流入していることも確認した。そこで今回、羊水特異マーカーである SCC を用いて、羊水が分娩時に母体血中へ流入した時に、どのような影響を及ぼしているかを検討する。また、この SCC 値測定が、羊水塞栓症の血清学的診断法に有用であるかも同時に検討する。

### 3. 研究の方法

(1) 正常妊婦における SCC 値と IL-4 値、IL-13 値の分娩周辺期および妊娠週数による変化 (推移)

(2) 羊水塞栓症患者における血中 SCC 値の測定

(3) 正常分娩周辺期の SCC 値および IL-4 値、IL-13 値と母体出血量の関連性に関して

### 4. 研究成果

(1) 正常経陰分娩 174 症例と帝王切開 54 症例における分娩前後の母体血中 SCC, STN, FDP-DD 値に関して Mann-Whitney U 検定による統計学的解析を実施した。

陣痛発来時と分娩直後、分娩 3 日目の母体血中 SCC 値

A) 正常経膈分娩

それぞれ  $1.8 \pm 1.5$ ,  $4.8 \pm 2.5$ ,  $1.8 \pm 1.5$  ng/ml であった。分娩直後の SCC 値は、陣痛発来時と分娩 3 日目の SCC 値に比し有意に高値を示した。(P<0.05)

B) 帝王切開

各時期の間に有意差を認めなかった。

陣痛発来時と分娩直後、分娩 3 日目の母体血中 STN, FDP-DD 値

A) 正常経膈分娩

STN: それぞれ  $17.1 \pm 6.1$ ,  $15.6 \pm 5.2$ ,  $15.8 \pm 1.7$  ng/ml であった。

FDP-DD: それぞれ  $4.2 \pm 6.1$ ,  $4.1 \pm 1.6$ ,  $3.9 \pm 1.8$  ng/ml であった。

2 つのマーカーともに各時期の間に有意差を認めなかった。

B) 帝王切開

各時期の間に有意差を認めなかった。

正常経膈分娩：頸管裂傷のある症例における分娩直後の SCC 値( $4.9 \pm 2.8$  ng/ml)は、裂傷の無い症例の SCC 値( $4.2 \pm 2.0$  ng/ml)に比し有意に高値を示した。P<0.05 また、分娩前後における FDP-DD 値上昇率も有意に高値を示した。

正常経膈分娩：後産期異常出血(分娩後 2 時間までの合計出血量が 500ml 以上)を認めた症例の SCC 値( $5.6 \pm 2.1$  ng/ml)は、正常出血量であった症例の SCC 値( $4.1 \pm 2.8$  ng/ml)に比し、有意に高値を示した。P<0.05

成果： 正常経膈分娩時の特に頸管裂傷症例においては、分娩後母体血中 SCC 値が分娩前 SCC 値に比して有意に増加するため、母体血中により多くの羊水が流入している可能性が示唆された。また、羊水が多く流入した症例(SCC 値が高値)における FDP-DD の値が高値となるため、羊水流入により凝固が促進する結果として後産期異常出血が惹起される可能性も示唆された。

(2) 4000ml 以上の分娩後出血量を認めた臨床的羊水塞栓症 16 例における血中 SCC 値の解析

臨床的羊水塞栓症例と正常経膈分娩例の分娩後血中 SCC 値はそれぞれ  $9.5 \pm 10.3$  ng/ml と  $4.1 \pm 2.8$  ng/ml であった。これを Mann-Whitney U 検定すると有意に臨床的羊水塞栓症例は高値を示した。

成果： 分娩時に羊水が大量に母体血中に流入した場合、凝固系が促進し消費をきたし、その結果、後産期異常出血を来す可能性が示唆された。

(3) 妊娠前期、中期および末期における母体血中 IL-4, IL-13 値に関して

IL-4: 各時期においてそれぞれすべて 0 ± 0 であった。

IL-13: 各時期においてそれぞれ  $8.2 \pm 14.2$ ,  $6.4 \pm 10.0$ ,  $5.4 \pm 9.4$  pg/ml であったが、各群間に有意差を認めなかった。

成果: IL-4 値は妊娠期間中ほとんど分泌されていない。IL-13 値は妊娠期間中にごく微量

に分泌されているが変動を示さない。

(4) 血中 SCC 値が分娩前後で上昇し、後産期異常出血を伴った症例の血中 IL-4 と IL-13 値の分娩前後の変動に関して(アレルギーの関与に関して検討)

SCC 値上昇多く( $6.3 \pm 3.3$  ng/ml)後産期出血異常出血(500ml 以上:  $899 \pm 409$  ml)を伴った症例

IL-4: 陣痛発来時  $0.46 \pm 0.08$  pg/ml,

分娩直後  $0.48 \pm 0.08$  pg/ml

IL-13: 陣痛発来時  $2849 \pm 3130$  pg/ml,

分娩直後  $2121 \pm 1463$  pg/ml

SCC 値上昇少なく( $0.4 \pm 0.2$  ng/ml)後産期出血正常(500ml 未満:  $321 \pm 148$  ml)であった症例(コントロール群)

IL-4: 陣痛発来時  $0.38 \pm 0.02$  pg/ml,

分娩直後  $0.38 \pm 0.03$  pg/ml

IL-13: 陣痛発来時  $1112 \pm 927$  pg/ml,

分娩直後  $4498 \pm 6470$  pg/ml

成果: 分娩前後及び両群の比較をすると、有意差を認めなかった。そのため、分娩直後の SCC 値の上昇は、アレルギー反応によるものではなく羊水の母体血中への流入によるものと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Koike N, Oi H, Naruse K, Tsunemi T, Akasaka J, Sado T, Kobayashi H. Evaluation of vaginal fluid squamous cell carcinogen test in diagnosis of premature rupture of membranes. J Matern Fetal Neonatal Med. 査読有、30,2017. 334-337

<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/14767058.2016.1172565>

2. Kobayashi H. Amniotic Fluid Embolism: Anaphylactic reactions with Idiosyncratic Adverse Response. Obstet Gynecol Surv. 査読有、70. 2015. 511-517  
DOI 10.1097/OGX.0000000000000197.

3. Oi H, Naruse K, Tsunemi T, Shigetomi H, Kanayama N, Kobayashi H. Predictor of mortality in patients with amniotic fluid embolism. J Obstet Gynecol Res, 査読有、40,2014,941-945. DOI 10.1111/jog.12278

4. Ito F, Akasaka J, Koike N, Uekuri C, Shigemitsu A, Kobayashi H. Incidence, diagnosis and pathophysiology of amniotic fluid embolism. J Obstet gynecol. 査読有、34, 2014, 580-584.  
DOI 10.3109/01443615.2014.919996

[学会発表](計 5 件)

1. 小池 奈月, 成瀬 勝彦, 小林 浩, 大井 豪一 他. 母体血中への羊水流入マーカーとしての SCC と分娩時の変化 第 52 回日本産婦人科新生児血液学会 2016.7 富山

2. 小池 奈月, 岩井 加奈, 成瀬 勝彦, 大

井 豪一, 小林 浩 他. 分娩経過における母体血中羊水流入マーカーとしての SCC の有用性 第 51 回日本産婦人科新生児血液学会 2015.6 東京

3. 成瀬 勝彦, 岩井 加奈, 小池 奈月, 大井 豪一, 小林 浩 他. 羊水特異マーカーによる羊水塞栓症の新たな血清学的診断法の確立 第 67 回日本産科婦人科学会学術講演会 2015.4 横浜

4. 大井 豪一, 成瀬 勝彦, 小池 奈月, 岩井 加奈, 小林 浩 他. 正常分娩時における母体血中への羊水流入の弛緩出血への影響. 第 66 回日本産科婦人科学会学術講演会 2014.4 東京

〔図書〕(計 1 件)

1. 大井 豪一 他 (分担執筆) 産科診療 Q&A 一つ上を行く診療の実践 中外医学社 2015

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大井豪一 (OI, Hidekazu)  
近畿大学・医学部附属病院・教授  
研究者番号 : 10283368

### (2) 研究分担者

小林浩 (KOBAYASHI, Hiroshi)  
奈良県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号 : 40178330  
成瀬勝彦 (NARUSE, Katsuhiko)  
奈良県立医科大学・医学部・講師  
研究者番号 : 70453165  
小池奈月 (KIOKE, Natsuki)  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号 : 20526785

岩井加奈 (Iwai, Kana)  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号 : 60588531  
重光愛子 (SHIGEMITSU, Aiko)  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号 : 50553244

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :

### (4) 研究協力者

( )