

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04983

研究課題名(和文) 血管浮腫の観点からみた羊水塞栓症の診断、治療、予知・予防に関する研究

研究課題名(英文) Research on Diagnosis, Treatment, Prediction, and Prevention involving Amniotic Fluid Embolism from the Viewpoint of Angioedema

研究代表者

金山 尚裕 (Kanayama, Naohiro)

浜松医科大学・医学部・理事

研究者番号：70204550

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：日本産婦人科医会委託事業である羊水塞栓症血清診断事業で血液614症例、組織46症例を解析した。羊水塞栓症には子宮型と心肺虚脱型の2つの病型に細分類されることを明らかにした。子宮型羊水塞栓症の早期診断基準と組織診断基準を作成した。羊水塞栓症の子宮でみられた顕著なアナフィラクトイド反応、ブラジキニン受容体の強発現、子宮収縮関連タンパク質の著しい発現低下が羊水塞栓症の子宮弛緩症の本態である事を明らかにした。肺組織で細気管支と肺動脈に肥満細胞脱顆粒を認め、アナフィラクトイド反応を証明した。羊水塞栓症例に対しC1インヒビター投与により子宮収縮の著明な改善を認め羊水塞栓症の新規治療法になることを見出した。

研究成果の概要(英文)：We investigated 614 and 46 patients with serums and tissues respectively for Amniotic Fluid Embolism (AFE) Registry Program. AFE was classified into uterine and cardiopulmonary collapse type, in which we proposed clinical and tissue diagnostic criteria of former type to Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology. Myometrium involving AFE was affected by strong expression of bradykinin type 1 receptor, which may indicate aggravation of uterine edema coincided with anaphylactoid reaction. In addition, we found decreased expression of uterine contractile associated proteins in those uterine tissue. These findings can cause severe uterine atony refractory to uterotonics in AFE. Mast cell degranulation was found in AFE patients' bronchioles and pulmonary artery, which revealed anaphylactoid reaction even in lung. Our multiple center study group found great improvement of uterine contraction after administration of C1 inhibitor concentration.

研究分野：産婦人科

キーワード：羊水塞栓症 血管浮腫 子宮弛緩症 フィブリノーゲン C1インヒビター DIC 線溶亢進

### 1. 研究開始当初の背景

羊水塞栓症は日本における妊産婦死亡の最大の原因であることが種々の調査で明らかになっている。妊産婦死亡は当事者にとっては大変ショッキングなことであり、係争にも発展しやすく社会的にも大きな問題である。しかし、羊水塞栓症は未だに病因、病態が不明な点が多く、羊水塞栓症の救命法、予知・予防法はなく有効な対策が立てられないのが現状である。浜松医科大学産婦人科は1990年代初頭に羊水塞栓症の血清診断法を提唱した。羊水・胎便特異マーカーである亜鉛コプロポルフィリン (Kanayama N et al Clin Chem 1992) として sialyl Tn (STN) (Kobayashi H et al. Am J Obstet Gynecol 1993) を発見し羊水塞栓症の血清マーカーとして開発し広く普及させた。その結果、これらのマーカーを母体血清で測定することにより羊水塞栓症の生前診断、臨床診断を可能にした。平成15年には日本産婦人科医会の委託を受けて羊水塞栓症血清診断事業を全国展開するようになった。毎年妊産婦死亡例及びニアミス例の血清や組織が送付されるようになり、浜松医科大学には日本で発生しているほとんどの羊水塞栓症の情報と血清、組織が集まるようになっていく。その結果浜松医科大学は日本の羊水塞栓症の拠点となり、羊水塞栓症の救命法、予知、予防に対して様々は情報発信を行い産婦人科医療の向上に貢献している。具体的には平成22年度に妊産婦死亡剖検マニュアルを完成し、また簡易版を平成25年に発刊し全国の剖検施設に配布し妊産婦死亡の剖検レベルの向上に繋がり、死因究明の精度を上昇させ高い評価を得ている。最近では全国の病理学教室、そして法医学教室からも子宮や肺の解析依頼も増加している。平成22年度より厚生労働省の事業として「妊産婦死亡の調査と分析センターとしての研究」がスタートしている。これは国立循環器病研究センターが事務局となり浜松医科大学と日本産婦人科医会の3者が連携し妊産婦死亡の全例登録とその病因解析を行っている。この委員会のなかでも当大学の羊水塞栓症に関する情報の集積が死因究明に多いに貢献している(妊産婦死亡症例検討評価委員会、母体安全への提言1~4巻)。臨床データの登録を行っている国はあるが、血清や組織までバンキングし解析を行っている国は世界にない。羊水塞栓症に関して世界に類を見ない情報を蓄積している背景もあり、最近我々は羊水塞栓症の病因に直結する事象を発見した。羊水塞栓症ではキニン系、補体抑制系、凝固線溶系が同時に作動し、子宮弛緩症、アナフィラクトイド反応、DICが発生すること(Kanayama N, Tamura N. J Obstet Gynecol Res 2014) その共通の病態形成因子としてC1 エステラーゼインヒビター (C1 インヒビター) があることを見出し発表した (Tamura N, Kanayama N et al Critical Care Medicine 2014)。羊水塞栓

症 (AFE) ではC1 インヒビターが正常妊婦に比較し有意に低く、死亡例ではさらに低値をとる。「Critical Care Medicine」は世界的に有名な雑誌であるがの誌上で「C1 インヒビター」は新しい羊水塞栓症のバイオマーカーそして新規治療法として取り上げられた (Kocsis I et al. Crit Care Med. 2014)。C1 インヒビターが減少して発症する疾患に遺伝性血管浮腫があるが、C1 インヒビター低下症例にストレスなどの侵襲が加わると血管浮腫が発生することが知られている。羊水塞栓症も遺伝性血管浮腫の機序が当てはまると推測している。すなわちC1 インヒビターが低下している症例に異種蛋白を含む羊水が流入しアタックするとC1 インヒビターによって抑制されている系の破綻が発生する。具体的にはキニン系、補体系、凝固線溶系が過剰に活性化し、アナフィラクトイド様ショック、子宮弛緩症、肺水腫、DIC、などの病態が発生するという仮説まで現在辿り着いた。今後この仮説を検証することにより長い間病因が不明であった羊水塞栓症の病因、病態、早期診断法、治療法などを明らかにする段階に来ていた。

### 2. 研究の目的

羊水塞栓症の病因、病態は未だに不明で有効な治療法、予知・予防法がないのが現状である。浜松医科大学は日本産婦人科医会の委託事業として羊水塞栓症の血清診断事業を平成15年度より行い、多数の臨床情報、血清、子宮・肺組織が集積・保管されおり、羊水塞栓症の拠点施設となっている。これらの解析により羊水塞栓症ではアナフィラキシー様反応による血管浮腫が発生していること、血管浮腫が羊水塞栓症の致命的原因となる子宮弛緩症や肺水腫の本態であることが明らかになりつつある。本研究の目的は以下の4点である。

1) 全国から集積された臨床情報、血清、組織をさらに解析し血管浮腫の視点から羊水塞栓症の病因・病態を明らかにすること。

2) 羊水塞栓症は出血量に見合わない血圧低下、脈拍の増加でよく裁判の争点となる。これを急激に発生した血管浮腫の観点から説明可能にし、臨床的早期診断法を確立すること。

3) 血管浮腫の要因としてやC1 インヒビターの低下が示唆されているが、C1 インヒビターを用いた羊水塞栓症の新規治療法を開発すること。

4) C1 インヒビター値と羊水流入の関係から羊水塞栓症の予知・予防法を確立すること。

### 3. 研究の方法

1) 浜松医科大学に寄せられる血清と組織の解析

浜松医科大学に送付される全国の羊水塞栓症疑いの血清・組織解析依頼は年々増加している。浜松医科大学に過去14年間に送付さ

れた 1700 例を超す症例の臨床データ、血清、組織データを解析する。血清診断事業として採用しているマーカーは羊水特異物質の亜鉛コプロポルフィリンと STN である。これは母体血中に羊水が流入したか否かを検出するものである。発症から測定までの時間、及び輸液量を勘案するとこれらのマーカーの大小で流入した羊水量がおおよそ推察できる。羊水流入量と病態との関係を検討する。また羊水塞栓症が疑われる症例の死亡例では厚生労働省の妊産婦死亡分析センター及び日本産婦人科医会と浜松医科大学が協議し病態と死因を明らかにする。

2) 羊水塞栓症を血管浮腫の観点から病型を明確化

羊水塞栓症にはショック、呼吸困難を主症状となる心肺虚脱型と出血を主症状となる子宮型 (DIC 先行型) があることを予備的に報告してきた (Kanayama J Obstet Gynecol Res 2011)。さらに解析を進めて羊水塞栓症の病型を明らかにする。

3) 血管浮腫の観点からの新規マーカー開発  
心肺虚脱型羊水塞栓症では破水後に突然心配虚脱症状を停止、短時間で死に至るものが多い。羊水マーカーは陽性であることが多く、肺の組織解析などでも肺血管に羊水成分が検出されることが多い。羊水塞栓症の中でも子宮型羊水塞栓症は胎盤娩出直後より子宮弛緩症と DIC が発生し、重症弛緩出血が特徴である。早期に FFP などの投与をしっかりと行わないと短時間 DIC が進行し救命できないことも多い。血管浮腫の重要な因子として C1 インヒビターがあり、予備的研究から C1 インヒビター低下が羊水塞栓症に高頻度に伴うことが示唆されている。子宮という局所にブラジキニンが大量発生し、血管浮腫が生じていることが原因ではないかと推測している。C1 インヒビターが先天的低下する遺伝性血管浮腫では体内のある 1 カ所に浮腫が発生しそれが浸潤性に広がることが知られている。子宮型羊水塞栓症では子宮に最初に浮腫が発生しこれが子宮全体場合によっては体全体に拡大することが予想される。これを検証するために全国から送付された子宮及び肺の組織を解析し、血管浮腫、DIC、アナフィラクトイド反応の状態を症例毎に調査する。最終的には血管浮腫が羊水塞栓症の中心病態であるか検証する。

4) 血管浮腫とアナフィラクトイド反応の関連

浜松医科大学に保存されている組織のブロックを用いて引き続き子宮、肺のアナフィラキシー関連物質 (C3a 受容体 C5a 受容体)、トリプターゼ、肥満細胞、好酸球の動態を免疫染色にて解析し組織学的にもアレルギー・アナフィラキシー様機序の証明を行う。臨床症例解析は引き続き国立循環器病研究センター、日本産婦人科医会と連携し新規羊水塞栓症の解析を続ける。浜松医科大学で保管し前年度に測定できなかった残余の血清、

組織については継続して解析を進める。引き続き全国から送付された子宮及び肺の組織を解析し、血管浮腫、アナフィラクトイド反応の状態を症例毎に調査する。さらに子宮の血管浮腫を主病態とする羊水塞栓症に子宮型羊水塞栓症があることを明確化する。

5) 羊水塞栓症の早期臨床診断の確率

羊水塞栓症の早期診断法として急激な血管透過性因子として末梢循環低下、脈拍数増加、そして子宮弛緩症、血中フィブリノーゲン低値を把握することが肝要である。

臨床像としては出血量に見合わないショック、DIC を認める。出血量が 1000mL にも満たないのに頻脈を呈したり、またフィブリノーゲン値が発症 30 分も経たないのに 100mg/dL を切る例も多い。またオキシトシンなどの子宮収縮薬に反応しない子宮弛緩症も特徴である。子宮の硬度と子宮の大きさフィブリノーゲン値を主体に早期診断基準を作成する。

6) C1 インヒビターを用いた羊水塞栓症の新規治療法の開発

先行研究で羊水塞栓症では C1 インヒビターが低下していることを報告してきた。C1 インヒビター低下症によって惹起される既存の疾患として遺伝性血管浮腫、後天性血管浮腫が知られている。羊水塞栓症の子宮や肺は血管浮腫であることが示唆されている。C1 インアクチベーターは遺伝性血管浮腫の治療薬として既に保険採用されており安全性も証明されている。C1 インヒビターが羊水塞栓症に有効であるか否かについて多施設共同研究を行う。

7) 羊水塞栓症の予知・予防法の開発

羊水塞栓症はホスト側の羊水に対する防御能 (代表的なものは C1 インヒビター) と刺激因子 (羊水流入) とのバランスの崩れで発症するとの仮説を引き続き証明する。前年度の血清の後方視的研究成果を踏まえ、C1 インヒビターを測定しハイリスク群を抽出できるか否か前方視的検討を行う。浜松医科大学及びその関連施設で妊娠後期に C1 インヒビターの測定を行い、低値群でリスクが亢進するかについて研究する。また刺激因子である羊水流入のリスク因子 (帝王切開、吸引・鉗子分娩、クリステル圧出法、人工破膜、前期破水の誘発分娩、羊水混濁など) を臨床情報から抽出する。宿主側の羊水に対しての防御能と刺激因子の関係から予知予防法を提案する。

#### 4. 研究成果

##### 1) 血清と組織の解析

3 年間で血液検体は 614 例・813 検体 (母体死亡例を 36 例含む)、組織は 46 症例 (子宮、肺、心臓) の解析を行った。羊水塞栓症の診断につながった例も多く、特に母体死亡例では日本産婦人科医会妊産婦死亡症例検討評価委員会で評価後病名が判明している 22 例のうち羊水塞栓症 8 例が確定診断につながり、8

例で羊水塞栓症を否定し別の疾患と評価することができた。

## 2) 羊水塞栓症の病型の明確化

羊水塞栓症の臨床経過からは分娩後早期に消費性凝固障害を伴う子宮収縮剤に反応しない弛緩出血として症状を呈するタイプ(子宮型羊水塞栓症)が存在する。子宮は腫大し軟らかく、フィブリノーゲンの著しい低下(しばしば50mg/dl未満)を伴い、止血のために子宮摘出されることも多い。このようにして得られた羊水塞栓症の子宮組織解析により、我々は羊水塞栓症の子宮筋層では通常では存在しない好中球、マクロファージといった炎症細胞が浸潤していること、補体受容体(C5a receptor)の発現、肥満細胞の脱顆粒所見を報告し、アナフィラクトイド反応が子宮に存在していることを証明した。子宮間質にみられる強い浮腫の原因として、炎症によるものに加えて、血管浮腫の観点からブラジキニンの子宮浮腫への関与を検討した。ブラジキニン受容体 B1R(炎症部位で発現)は羊水塞栓症の子宮では強く発現しており、浮腫増悪への関与が示唆された。子宮収縮関連タンパク質(オキシトシン受容体、コネキシン 43、プロスタグランジン E2 受容体(EP1))は羊水塞栓症で両者の発現が著しく低下していた。以上のような検討から、子宮がターゲットとなった羊水塞栓症として「子宮型羊水塞栓症」の名称を用い、子宮底高が臍上2指以上(臍上3~4cm以上)、子宮筋層が非常に軟らかい、フィブリノーゲン値が150mg/dl以下という項目を子宮型羊水塞栓症発症時の臨床診断(案)として日本産科婦人科学会周産期委員会に提出した。さらに組織学的検討から子宮間質浮腫を認め、子宮血管に羊水成分検出あるいはHE染色で炎症細胞浸潤あるいはC5aR染色で陽性細胞を認めるものを子宮型羊水塞栓症の組織診断(案)として同様に提出した。実際、組織診断基準で子宮型羊水塞栓症と診断した症例(22例)では分娩後2時間以内に子宮出血で発症しており、その時のフィブリノーゲン値が150mg/dl未満の症例は16例(73%)であり残りの6例中3例が150mg/dl台であった。

分娩中、産後早期に心停止、ショック、呼吸不全を呈する心肺虚脱型羊水塞栓症の臨床経過については、呼吸困難から意識消失、けいれんを起こす症例がよく見られた。死亡例の心停止時の心電図は75%がショックの適応でない波形(PEAやAsystole)であった。剖検により肺組織が解析できた症例では6例中3例にC5a receptorの発現がみられたが、肥満細胞の脱顆粒所見は6例全例に細気管支と肺動脈を取り囲むように認められた。このアナフィラクトイド反応による急激な呼吸不全は臨床経過とよく合致するものと判断している。

## 3) 新規マーカー開発

先の検討により子宮型羊水塞栓症では正常後期妊婦とくらべてC1インヒビター活性化

が低い(中央値で30% vs 62%)であることを報告した。このC1インヒビターについて補体系や血液凝固系との関連を検討した。羊水塞栓症発症時のC1インヒビターがA.非常に低下群(<25%)、B.低下群(25~60%)、C.正常群(>60%)の3群に分類すると補体C3、C4値はA、B群でCより有意に低下していた。またフィブリノーゲン100mg/dl未満の症例がA群で有意に多かった。羊水塞栓症においてC1インヒビターがブラジキニンの抑制因子としてだけではなく、補体系や凝固系の制御にも関連していることが示された。

## 4) 羊水塞栓症の子宮における炎症細胞の分布

羊水塞栓症例の臨床経過で摘出された子宮組織の体部、峡部、頸部それぞれで浸潤している好中球の由来と分布を検討するために好中球エラスターゼ免疫染色を行った。頸管熟化した症例(経膈分娩例、分娩進行中に帝王切開となった症例)と予定帝王切開症例を比較した際、後者では頸部の陽性細胞は少なかったが、峡部・体部の陽性細胞は両者とも有意差はなく、好中球は頸管熟化に関わるものとは異なることが判明した。また、羊水塞栓症事業における子宮組織解析例はほとんどが発症後様々な治療を経て早くとも数時間後に摘出されているが、発症後1時間程度の超早期に摘出された子宮組織では子宮峡部の血管内に羊水成分を認め、同部に限局した炎症細胞浸潤とC5a receptor陽性細胞を認めた。時間経過の中で羊水流入部分から子宮全体にアナフィラクトイド反応が広がっていく過程を考える上で重要な所見と考えられる。

## 5) C1インヒビターを用いた羊水塞栓症の新規治療法の開発

多施設共同研究として現在14施設が参加している。子宮型羊水塞栓症例に対するC1インヒビターは9症例に使用され、6例に子宮収縮の著明な改善を認め、有害事象もなく良好な転機をたどっている。ブラジキニンによる子宮間質浮腫、補体系の活性化によるアナフィラクトイド反応を抑制する因子として有用であると確認できている。今後幅広い施設で使用できるよう症例数を増やす。

## 6) DICに関する検討

子宮組織に好中球が浸潤していることから好中球エラスターゼに着目すると、羊水塞栓症例ではエラスターゼによるフィブリン分解産物(エラスターゼXDP)が上昇している症例があり、線溶亢進にかかわる可能性がある。羊水塞栓症発症早期の血漿を用いて線溶系パラメータPIC(プラスミン-アンチプラスミン複合体)、エラスターゼXDPを測定するとPICおよびエラスターゼXDPは心肺虚脱型羊水塞栓症では子宮型羊水塞栓症よりも高値であった。好中球エラスターゼ、PICは死亡例で両者とも高値であった。消費性凝固障害に加え心肺虚脱型羊水塞栓症ではより著明な線溶亢進が認められた。一方で羊水そのも

のが血液凝固に及ぼす作用をROTEM(Rotational thromboelastometry)で検討した。ROTEMは全血を使用してその粘稠度の変化を測定できる。羊水を添加すると血液凝固は促進したが、組織因子経路の活性化状態では血餅はもろく、線溶反応も早期から現れた。羊水が母体血中に流入しただけではDICは生じないこと、またこの現象は妊娠中より産後(特に帝王切開後)に多い肺血栓塞栓症の発症に羊水が関与するものと考えられた。

謝辞：羊水塞栓症の血清診断事業は、日本産婦人科医会おぎゃー献金の支援を受けています。

#### 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 72 件)

Farhana M, Tamura N, Mukai M, Ikuma K, Koumura Y, Furuta N, Yaguchi C, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Itoh H, Kanayama N: Histological characteristics of the myometrium in the postpartum hemorrhage of unknown etiology: a possible involvement of local immune reactions. J Reprod Immunol. 110: 74-80, 2015.

金山尚裕：子宮型羊水塞栓症と凝固線溶・補助系の異常 血液フロンティア 25(10): 71-79, 2015.

金山尚裕：【産科】治療 羊水塞栓症のマーカー 周産期医学 46(11): 1345-1348, 2016.

Oda T, Tamura N, Kanayama N: Japanese viewpoint on amniotic fluid embolism. Am J Obstet Gynecol. 217 (1): 91, 2017.

小田智昭, 田村直顕, 金山尚裕：8. 子宮型羊水塞栓症 産科と婦人科 5(43): 563-570, 2017.

Tamura N, Farhana M, Oda T, Itoh H, Kanayama N: Amniotic fluid embolism: Pathophysiology from the perspective of pathology. J Obstet Gynaecol Res. 43 (4): 627-632, 2017.

[学会発表](計 167 件)

金山尚裕：羊水塞栓症の病態と戦略 第 42 回日本産婦人科医会学術集会 2015 年 10 月 17 日 新潟

上田めぐみ, 田村直顕, 向 麻利, 松家まどか, 幸村友季子, 古田直美, 谷口千津子, 内

田季之, 鈴木一有, 杉原一廣, 伊東宏晃, 金山尚裕：臨床的羊水塞栓症に対する C1 インヒビター濃縮製剤投与症例の報告 第 130 回関東連合産科婦人科学会総会・学術集会 2015 年 10 月 24 日 千葉

Oda T, Tamura N, Kanayama N, et al. The Relationship between C1 Esterase Inhibitor Activity and the Complement and Coagulation Systems During Amniotic Fluid Embolism. 19th Congress of the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies (FAOPS 2016). December 1-4, 2016. Taipei

田村直顕。治療抵抗性の後産期出血における急性子宮筋層炎 子宮型羊水塞栓症の病態解明と新規治療法の開発を目指して 第 69 回日本産科婦人科学会学術講演会シンポジウム 1. 2017 年 4 月 13-16 日。広島

小田智昭, 田村直顕, 金山尚裕 他。羊水塞栓症における重症子宮弛緩の病態解析。第 69 回日本産科婦人科学会学術講演会。2017 年 4 月 13-16 日。広島

Oda T, Tamura N, Kanayama N, et al. The Pathophysiology of Severe Uterine Atony in Amniotic Fluid Embolism. 44th Annual Meeting Fetal and Neonatal Physiological Society. September 2-5, 2017. Osaka.

[図書](計 10 件)

金山尚裕：羊水塞栓症 止血・血栓ハンドブック 西村書店 326-331, 2015.

内田季之, 金山尚裕：DIC 合併症例の子宮全摘術 OGS now 22 メジカルビュー社 124-131, 2015.

金山尚裕：13. DIC 産科婦人科疾患最新の治療 2016-2018 南江堂 159-160, 2016.

田村直顕：14. 羊水塞栓症 産科婦人科疾患最新の治療 2016-2018 南江堂 161-162, 2016.

田村直顕：羊水塞栓症 今日の治療指針 2017 医学書院 : 1299-1300, 2017.

Itoh H, Kanayama N: Development origins of health and disease (DOHaD): perspective toward preemptive medicine. Precision medicine in gynecology and obstetrics. Editors: Konishi Ikuo. Springer : 237-250, 2017.

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

金山尚裕 (KANAYAMA, Naohiro)  
浜松医科大学・医学部・理事  
研究者番号：70204550

### (2) 研究分担者

内田季之 (UCHIDA, Toshiyuki)  
浜松医科大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：90570234

田村直顕 (TAMURA, Naoaki)  
浜松医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90402370

安立匡志 (ADACHI, Masashi)  
浜松医科大学・医学部附属病院・診療助教  
研究者番号：40749446

谷口千津子 (YAGUCHI, Chizuko)  
浜松医科大学・医学部附属病院・特任助教  
研究者番号：20397425

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )