

令和 3 年 6 月 29 日現在

機関番号：84305

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19700

研究課題名(和文)組織学的絨毛膜羊膜炎の早期診断バイオマーカーとしてのプレセプシンの有用性

研究課題名(英文) Presepsin as the diagnostic biomarker for Histological Chorioamnionitis in preterm infant

研究代表者

北 誠 (KITA, MAKOTO)

独立行政法人国立病院機構(京都医療センター臨床研究センター)・内分泌代謝高血圧研究部・研究員

研究者番号：50767415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,000,000円

研究成果の概要(和文)：早産児の臍動脈血プレセプシン値が臍帯炎で有意に高値であった。プレセプシンはTLRレセプターを介する免疫反応で単球やマクロファージの表面から産生される。これまでに成人領域の敗血症やSIRS、新生児敗血症に関連するバイオマーカーの有用性が報告されてきた。計測は全血あるいは血清のいずれかで可能であり100μl、17分で完了する。単球やマクロファージは絨毛膜羊膜炎を始めとする子宮内炎症で羊水中増殖することが報告されている。本横断研究で、胎盤病理で絨毛膜羊膜炎3度と臍帯炎に対し、母体血および臍動脈血をそれぞれ計測しROC曲線解析を行い臍動脈血計測が 'good test' であることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

切迫早産に関連する子宮内炎症の程度を臍帯血プレセプシン値を出生後調べることで把握することができる。そのため要する時間は出生後の臍帯血で全血を利用するためわずか17分で完了し、胎盤や臍帯の病理診断が数日から1週間程度を要する現状と比較し早期診断が可能である。以上のことは、新生児医療における抗生剤の早期使用、人工呼吸器治療に際し、周産期医療従事者意思決定の重要な判断材料になると思われる。

研究成果の概要(英文)：We report significantly higher umbilical artery presepsin values of funisitis in preterm infants. Intrauterine inflammation and infection are the primary cause of preterm morbidity and mortality. The measurement of presepsin is quick, reliable, and straightforward with point-of-care testing within 17 min, using the only 100μl for each whole blood sample. Presepsin is produced by plasma protease activity and shedding from the surface of immune cells, namely monocytes and macrophages. Moreover, plenty of studies report the proliferation of both cells in the amniotic fluid at the histological chorioamnionitis state. Previously, the gold standard for identifying the magnitude of inflammation has been placental histopathological evaluation. However, the time constraint and the inaccuracy of the diagnosis required reinforcement of biological marker. Finally, we acquired a 'good test' result calculated from the ROC analysis of cord presepsin.

研究分野：新生児

キーワード：切迫早産 絨毛膜羊膜炎 早産児 臍帯炎 プレセプシン 早期診断

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮内感染及び、子宮内炎症では母体由来の白血球が絨毛膜下に浸潤する、浸潤はやがて絨毛、さらに羊膜、さらに臍帯にまで及ぶ。主たる原因は細菌(グラム陽性やグラム陰性) ウイルス、マイコプラズマ科ウレアプラズマである。子宮内感染や子宮内炎症が増悪すれば、胎児由来の白血球も反応し、臍帯炎も惹起される。子宮内の感染や炎症は、周産期合併症である前期破水、切迫早産による早産児出生の原因としてよく知られている。子宮内感染や子宮内炎症の程度は組織学的絨毛膜羊膜炎(hCAM)の重症度(1~3)や臍帯炎として、提出された極一部の検体を病理学的検索を行うことで診断できる。しかしながら、病理学的診断に数日から1週間程度の時間を要することや、子宮内炎症を反映する胎盤や臍帯の炎症が「斑状」の場合があり、このような場合サンプルの信用性の問題がある。したがって提出された病理検体と炎症との正確性が担保できない問題が払拭できない。一方、プレセプシンは soluble CD14-subtype(sCD14-ST)といわれ、新規の敗血症マーカーとして単球系白血球の動態を反映するマーカーとして迅速定量検査が成人領域のみならず新生児敗血症領域で実施されている。子宮内炎症で、胎盤のみならず羊水中に単球、マクロファージが多数存在していることより、子宮内炎症において母体プレセプシンと臍帯血プレセプシンの関連性は濃厚であると仮説を立てた。

2. 研究の目的

周産期管理上、母体の組織学的絨毛膜羊膜炎(hCAM)の重症度、臍帯炎を早期診断することは、保存的治療を続行するか、速やかに分娩させるか時期判断をする上で最重要課題である。周産期医療ではBlanc分類における組織学的絨毛膜羊膜炎3度と臍帯炎が重症子宮内炎症を反映し胎児環境を把握するための、早期診断のバイオマーカーが求められている。バイオマーカーは、短時間、簡便で、一般医療において使用できるものが望ましい。IL-6やIL-8は有用な検査であるが、いまだ迅速性、汎用性に欠けている。成人領域における敗血症の新規マーカーであるプレセプシン(可溶性CD14サブタイプ)は単球系のサイトカインであり迅速定量検査が可能であり医療機器とキットが存在する。検体は、全血と血清の双方が使用可能であり、100µlのごく少量で17分で検査が完了する。子宮内感染、及び子宮内炎症を反映する組織学的絨毛膜羊膜炎3度(hCAM-s3群)の症例と臍帯炎の症例をそれぞれ母体血プレセプシン、臍帯血プレセプシンを用いた横断研究を行い、各々の検体で臍帯炎等の最重症の子宮内炎症の早期診断が可能かどうか検討する。

3. 研究の方法

当院で入院管理した在胎週数37週未満の切迫早産症例の母児を検討する。出生後に胎盤を病理学的に精査しBlanc分類を用いて組織学的絨毛膜羊膜炎3度(hCAM-s3群)と非CAM群を抽出する。各群における臍帯動脈血プレセプシンと母体血のプレセプシンをそれぞれ計測する。上

記より横断研究の手法で ROC 曲線を求め、カットオフ値と AUC を求め比較する。プレセプシン値以外の項目として白血球数と CRP 値（母体、臍帯動脈血）を同時計測した。

4 . 研究成果

33 名の妊婦と新生児を解析した。出生週数の中央値は 34 週 3 日（27 週 4 日から 36 週 6 日）、平均体重は 2097g±581 g であった。23 名(69%)が late preterm 児であり、それぞれの内訳は 1000-1500g は 5 名(15%)、1500-2500g は 18 名(55%)、そして 2500g 以上は 10 名(30%)の背景因子であった。1 名のみ胎盤未提出で研究より脱落した。最終的に 32 名の胎盤と臍帯動脈血が解析された。Table 1 は、組織学的絨毛膜羊膜炎 3 度（hCAM-s3）群と臍帯炎群の背景因子を示しているが出生週数のみ差を認めた。臍帯炎は 32 名中 6 名に合併し、hCAM-s3 は 32 名中 3 名に合併した。Table 2 では臍帯動脈血プレセプシン値が臍帯炎群で高値であることが判明した。（臍帯炎群：605.5 pg/ml [328.3-785.3] vs. 非臍帯炎群：257.5 pg/ml [177.8-323.3] p=0.018, hCAM-s3: 258.0 pg/ml [215.5-540.5] vs. 非 hCAM-s3: 272.0 pg/ml [200-354] p=0.872)。また、臍帯炎群では新生児白血球数が有意に高値(WBC count: median 14,883/μl vs. 9,509/μl, p=0.015)であった。CRP 値は hCAM-s3 群と臍帯炎群でそれぞれ差を認めたが臨床的に非有用性であった。(0.02 mg/dl in the hCAM-s3 group and 0.01 mg/dl in the funisitis group; p=0.037)。また、出生一日目に早期脳出血を呈した 1 例があり、臍帯動脈血のプレセプシン値は 847 pg/dl であった。本横断研究では ROC 曲線を作成し AUC は 0.81 (95% CI: 0.61-1.00)を記録した。またカットオフ値は 539 pg/ml であった。特異度、陽性陰性適中率は、それぞれ 92.3%と高値であった。（Table 3）。

本研究は子宮内炎症の代表疾患として病理学的臍帯炎と組織学的絨毛膜羊膜炎 3 度を抽出した。プレセプシンは臍帯動脈血、母体血を計測した。臍帯動脈血プレセプシンは臍帯炎と関連し、ROC を曲線から高い精度を誇り、簡便で早期診断できる新しいバイオマーカーであることが証明された。

Table 1 Patient descriptive data

Variables	Total Population (N=33)	Funisitis (n=6)	No Funisitis (n=26)	p-value	hCAM-s3 (n=3)	No hCAM-s3 (n=29)	p-value
GA (weeks)	34w3d [32w3d 35w5d]	33w3d [31w5d 35w2d]	34w4d [33w2d 35w4d]	0.664	31w4d [31w2d 32w2d]	34w4d [34w0d 35w4d]	0.045*
BW (g)	2097±581	2074±557	2071±585	0.989	1685±285	2111±581	0.224
Gender, n. (M/F)	24/9	6/0	17/9	0.15	2/1	21/8	1.000
Cesarean delivery	16/33 (48%)	1/6	14/26	0.178	2/3 (67%)	13/29 (45%)	0.589
Apgar Score at 1 min	8 [7.0 8.0]	8.00 [8.00 8.00]	7.50 [7.00 8.00]	0.199	8.00 [7.00 8.00]	8.00 [7.00 8.00]	0.973
Apgar Score at 5 min	9 [9.0 9.0]	9.00 [8.25 9.00]	9.00 [9.00 9.00]	0.356	8.00 [7.50 9.00]	9.00 [9.00 9.00]	0.045*
Maternal age (year)	35 [31 36]	33 [29 35.5]	35 [31.5 36.0]	0.560	34 [31 35]	35 [31 36]	0.770
nulliparity	13/33 (39%)	4/6 (67%)	9/26 (35%)	0.194	2/3 (67%)	11/29 (38%)	0.552
PPROM	16/33 (48%)	5/6 (83%)	11/26 (43%)	0.172	3/3 (100%)	13/29 (45%)	0.226
PPROM (>24h)	10/33 (30%)	3/6 (50%)	7/26 (27%)	0.346	2/3 (67%)	8/29 (28%)	0.224
PPROM (<48h)	6/33 (18%)	3/6 (50%)	3/26 (12%)	0.063	2/3 (67%)	4/29 (14%)	0.083
GBS (%)	3/27 (9%)	0/6 (0%)	3/20 (15%)	1.000	0/3 (0%)	3/26 (12%)	1.000
maternal antibiotics (%)	16/33 (48%)	5/6 (83%)	11/26 (42%)	0.172	3/3 (100%)	13/29 (45%)	0.226
maternal steroid (%)	10/33 (30%)	2/6 (33%)	8/18 (44%)	1.000	2/3 (67%)	8/29 (28%)	0.224

Data are given as mean ± SD (standard deviation) or IQR [interquartile range]

Abbreviations: GA, gestational age; BW, birth weight; M/F, Males/Females; PPRM, prolonged premature rupture of membranes; GBS, Group B Streptococcus; hCAM-s3, histopathological chorioamnionitis stage 3

* p <0.05

Table 2 Neonatal or maternal blood values between placental inflammation and funisitis

Variables	Total Population (N=33)	Funisitis (n=6)	No Funisitis (n=26)	p-value	hCAM-s3 (n=3)	No hCAM-s3 (n=29)	p-value
Presepsin (pg/ml) umbilical artery	272 [200 354]	605.5 [328.3 785.3]	257.5 [177.75 323.3]	0.018*	258.00 [215.5 540.5]	272.00 [200.00 354.0]	0.872
Presepsin (pg/ml) maternal	123 [91.5 179.0]	150 [123.5 176.5]	112 [90.33 173.0]	0.176	109.00 [106.00 144.0]	123.00 [91.3-178.0]	0.974
WBC (µl) neonatal	10560 ± 4887	14883±6046	9509±4172	0.015*	12466±7655	10343±4756	0.491
WBC (µl) maternal	11073 ± 3617	11283±3098	11104±3857	0.917	12800±3306	10950±3711	0.417
CRP (mg/dl) neonatal	0.01 [0.00 0.01]	0.01 [0.00 0.01]	0.01 [0.00 0.01]	0.219	0.02 [0.00 0.11]	0.01 [0.00 0.01]	0.037*
CRP (mg/dl) maternal	0.51 [0.15 1.07]	1.42 [0.44 2.06]	0.47 [0.15 0.90]	0.161	1.75 [0.93 3.21]	0.51 [0.17 1.03]	0.352
Cord Blood pH umbilical artery	7.30 ± 0.07	7.32±0.05	7.30±0.08	0.418	7.33±0.06	7.30±0.08	0.572
Cord Blood BE umbilical artery	-3.70 ±3.35	-5.33±3.78	-3.19±3.20	0.163	-3.00±1.73	-3.66±3.50	0.753
IgM (mg/dl) neonatal	7.0 [5.0 12.0]	9.5 [7.0 12.8]	7 [5.0 11.0]	0.158	10.00 [8.5 11.0]	7.00 [5.0 11.5]	0.419

Data are given as mean ± SD (standard deviation) or IQR [interquartile range]

Abbreviations: hCAM-s3, histopathological chorioamnionitis stage 3; WBC, white blood cell; CRP, c-reactive protein; BE, base excess

* p <0.05

Table 3 Comparison of blood samples for predicting funisitis between mothers and neonates

Variables	Cutoff	Sensitivity, %	Specificity, %	PPV, %	NPV, %	Likelihood ratio of a positive test	Likelihood ratio of a negative test	AUC (95% CI)
Presepsin (pg/ml) (umbilical artery)	539	66.7	92.3	66.7	92.3	8.67	0.36	0.81 (0.61-1.00)
Presepsin (pg/ml) (serum, maternal)	109	100	46.2	0.3	100	1.86	0	0.68 (0.48-0.88)
CRP (mg/dl) (serum, neonatal)	0.02	50	96	75	88.9	12.5	0.52	0.65 (0.32-0.97)
CRP (mg/dl) (serum, maternal)	1.08	66.7	90.5	50	90.5	3.83	0.4	0.69 (0.39-0.98)
WBC (μ l) (EDTA, neonatal)	12,700	66.7	80	44.4	90.9	3.33	0.42	0.74 (0.47-1.00)
WBC (μ l) (EDTA, maternal)	7,900	100	26.1	26.1	100	1.35	0	0.55 (0.30-0.79)
IgM (serum, neonatal)	6	100	36	27.3	100	1.56	0	0.69 (0.46-0.91)

PPV: positive predictive value, NPV: negative predictive value, AUC: area under the curve, CRP: C reactive protein, WBC: White blood cell, IgM: immunoglobulin M, EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid

5 . 主な発表論文等

The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine に投稿中

〔雑誌論文〕(計 1 件)

投稿中 (上記)

〔学会発表〕(計 1 件)

第 75 回国立病院総合医学会発表予定

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。