

令和元年9月2日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20184

研究課題名(和文)CD8陽性リンパ球による絨毛炎の病態解析

研究課題名(英文)Clinical analysis of VUE by CD8 lymphocyte

研究代表者

磯村 直美 (Isomura, Naomi)

浜松医科大学・医学部附属病院・診療助教

研究者番号：80647595

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：2010年から2016年6月までの当院分娩の1,222個の胎盤の中から絨毛炎のあった症例を抽出し感染による絨毛炎を除外し正常症例との比較を行った。Diffuse type症例10例についてCD3・CD8・HLA-DR・細胞性免疫経路であるTh1細胞転写因子のT-bet・Th1細胞に特異的なケモカイン受容体のCXCR3に対する免疫組織染色を行い臨床像との相関について比較検討した。病変の絨毛ではHLA-DR陽性であった。リンパ球はT-bet、CD8、CXCR3陽性であった。いずれの染色性においても臨床像との相関は明らかでは無かった。VUEにおいて細胞性免疫経路(Th1経路)の活性化が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Villitis of unknown etiology(VUE)は胎盤の絨毛間質に認められるリンパ球を主体とした細胞浸潤であり胎児発育不全等のハイリスク群となる。近年VUEは胎児由来組織である絨毛に対する母体の免疫反応であることが明らかとなり注目されているが免疫学的な背景は十分に解明されていない。病変が広範囲な場合(diffuse type)胎児発育不全(FGR)胎児機能不全(NRFS)胎児死亡(IUFD)に至る場合もあり当院でのVUE症例の免疫組織染色を行い細胞性免疫経路の解析を試みた結果Diffuse typeにおいて細胞性免疫経路(Th1経路)の活性化が確認された。

研究成果の概要(英文)：Villitis of Unknown Etiology (VUE) is hypothesized to be associated with mother's immune response to villi, sometimes causes fetal growth restriction, intrauterine fetal death, non-reassuring fetal status etc. We report that clinical characteristics and pathological findings of VUE from the pregnant women at Hamamatsu University Hospital. High grade VUE were associated with poor obstetrical histories. Pathology of high grade VUE commonly demonstrated fetal vascular malperfusion, which may be linked with poor fetal and neonatal outcome. Activation of the cellular immune pathway (Th1 pathway) of VUE was confirmed using immunohistological staining.

研究分野：胎盤

キーワード：VUE CD8 母児間免疫

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

## 1. 研究開始当初の背景

母児間の免疫異常による villitis of unknown etiology (VUE) の臨床における重要性 近年、卵膜や胎盤など胎児付属物における種々の炎症と児の短期的、長期的な健康や予後との関わりが注目されている。卵膜における炎症の病理所見は Chorioamnionitis (CAM: 絨毛羊膜炎) と Villitis (絨毛炎) に大別される。前者の CAM (絨毛羊膜炎) は卵膜や胎児側胎盤表面における好中球を主体とした炎症であり、バクテリアなどの病原体による腔内からの上行性感染と考えられている。

一方、後者の Villitis (絨毛炎) は胎児由来の絨毛間質に認められるリンパ球を主体とした細胞浸潤である (図 1)。Lnox らは、Villitis (絨毛炎) は全ての満期産の中で 3 ~ 5 % 程で起こると報告している (Lnox WF, Fox H Placenta 1984; 5: 395-402)。さらに、特発性の胎児発育不全症例、胎児機能不全症例 (分娩時の胎児モニタリング異常)、胎児死亡症例において広範な Villitis (絨毛炎) を認めた症例が少なからず報告されており、新生児予後悪化因子の一つとして注目されてきた。旧来、絨毛炎の原因として

TORCH 症候群など母体血由来のウイルス感染が考えられてきたが、大半の症例において母体血清において原因ウイルスが同定されず、胎盤においてもウイルスの封入体など特異的な病理所見が検出されないことから長く原因不明とされ、villitis of unknown etiology (VUE) と呼ばれてきた (図 1)。

近年、VUE において浸潤するリンパ球は細胞障害性 T リンパ球が主体であることから、種々の免疫組織染色や *in situ* hybridization の研究により VUE は胎児由来組織である絨毛に対する母体の免疫反応であることが明らかとなり注目されている (Redline RW, Patterson P. Am J pathol 1993; 143: 473-9)。すなわち、母体におけるある種の graft versus host disease (GVHD) に類似した母体の免疫反応により絨毛が攻撃を受けることが想定され、時として胎児発育不全、胎児機能不全や胎児死亡の原因となる可能性が

注目されている。しかしながら、母体免疫機構がどのような機序で胎児由来組織に対して感作を受けるのかその具体的な機序は明らかでない。

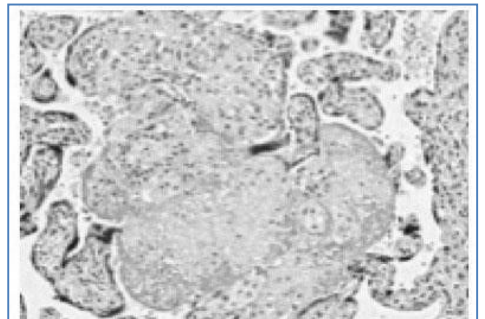


図 1 : Villitis of unknown etiology (VUE) の HE 像

## 2. 研究の目的

研究の目的 villitis of unknown etiology (VUE) は胎盤の絨毛間質に認められるリンパ球を主体とした細胞浸潤であり、胎児発育不全、胎児機能不全あるいは胎児死亡などのハイリスク群となる。近年、VUE は胎児由来組織である絨毛に対する母体の免疫反応であることが明らかとなり注目されている。研究代表者の古田直美は胎便特異的な亜鉛コプロポルフィリン免疫染色を開発している (Furuta et al., Placenta 33; 24-30, 2012)。脱落における胎便の染色所見をもとにして、脱落膜の Mφ が胎便に含まれている胎児由来成分を貪

食することにより母体の T 細胞が胎児成分に対する感作を受け、絨毛構造を攻撃することで VUE が発症するという仮説を着想した。免疫組織学的かつ分子生物学的な検討によりこの仮説の検証を行う事が本研究計画の目的である。

### 3. 研究の方法

1) 研究対象の抽出 2010 年から 2014 年までの当院分娩症例において胎盤病理検査に提出された胎盤の中から胎盤組織学的所見にて絨毛炎の存在した症例を抽出。臨床的背景から感染による絨毛炎を除外し、VUE の症例 100 例と妊娠週数を合わせた非 VUE のコントロール症例 100 例を抽出し研究対象とする。2) HE 染色による、一般的な胎盤病理の検索 上記 100 例の VUE 症例および 100 症例の非 VUE 症例の胎盤に対して、HE 染色で一般的な胎盤病理所見“*Atherosclerosis*”、“*Immature terminal villi*”、“*Multiple branched terminal villi*”、および“*Thrombus*”についての有無の検討を行う。3) 新生児の臨床所見のデータベース化 上記 100 例の VUE 症例および 100 症例の非 VUE 症例の胎盤に対して、電子カルテのデータより、胎盤重量、胎盤計測値、出生体重、出生児の身長、body mass index (BMI)、ponderal index (PI)、アプガースコア、臍帯動脈血 pH、合併症の有無を調べる。一ヶ月検診時点での体重、身長 BMI、PI、合併症の有無を調べる。これらをデータベース化する。

### 4. 研究成果

研究実績の概要 Villitis of unknown etiology は保体由来のリンパ球を主体とした絨毛炎である。その免疫学的な背景は必ずしも十分に解明されていない。とりわけ VUE の病変が広範囲な場合(diffuse type)には胎児発育不全(FGR)、胎児機能不全(NRFS)、胎児死亡(IUFD)に至る場合もあり、当院で経験した VUE について免疫組織染色を行い、細胞性免疫の経路について解析を試みた。1) 研究対象の抽出 2010 年から 2016 年 6 月までの当院分娩症例において胎盤病理検査に提出された 1,222 個の胎盤の中から胎盤組織学的所見にて絨毛炎の存在した症例を抽出。臨床的背景から感染による絨毛炎を除外し、正常症例との比較を行った HE 染色による、一般的な胎盤病理の検索 HE 染色で一般的な胎盤病理所見“*Atherosclerosis*”、“*Immature terminal villi*”、“*Multiple branched terminal villi*”、および“*Thrombus*”についての有無の検討を行った。diffuse type 症例 10 例について CD3・CD8・HLA-DR・細胞性免疫経路である Th1 細胞転写因子の T-bet・Th1 細胞に特異的なケモカイン受容体の CXCR3 に対する免疫組織染色を行い、染色の有無・発現範囲・児の予後等臨床像との相関について比較検討した。Diffuse VUE において病変の絨毛では HLA-DR 陽性であった。Diffuse VUE のリンパ球は T-bet、CD8、CXCR3 陽性であった。いずれの染色性においても臨床像との相関は明らかでは無かった。Diffuse type VUE において細胞性免疫経路(Th1 経路)の活性化が確認された。

VUE は胎児発育不全(FGR)や胎児機能不全の重要な原因の一つとなっている他、胎児死亡に至る場合もある。2010 年から 2017 年の 8 年間で提出された当院の胎盤病理検体の中で VUE high grade と診断された症例においてその臨床像や病理所見について検討した。Amsterdam 分類に基づき ungradable-possible high grade も high grade に含め検討した。2010 年 1 月から 2017 年 12 月までに当院で出生した症例において、胎盤病理組織学的所見で VUE の診断となった 88 例のうち high grade について妊娠経過・出生時所見・胎盤病理所見について検討した。VUE 全 88 症例中 high grade が 28 例あった。(diffuse 8 例、ungradable-possible high grade 20 例) 2 絨毛膜 2 羊膜双胎が 1 例該当した。NRFS 5 例、HDP 7 例、36 週未満の早産 8 例であった。SGA 児が 8 例、NICU 管理入院は 19 例であった。IUFD が 1 例、重度新生児仮死が 3 例あり、そのうち 1 例は早期新生児死亡であった。胎盤病理所見では絨毛血管の閉塞やそれに伴う無血管絨毛等胎児血管障害の所見が主に認められたが、HDP の症例では脱落膜血管の硝子様変性や血栓等母体側の血管障害も認められた。VUE の病態は胎児循環障害が主な病態であることが症例を検討し確認できた。Ungradable-possible high grade の症例も high grade 同様に胎児・新生児への影響が確認できた。

絨毛炎の中でもサイトメガロウイルス等の特定の病原微生物の関与を認めないものは Villitis of unknown etiology (VUE) と診断されるがその原因として母体の免疫系の関与が考えられている。VUE は胎児発育不全 (FGR) や胎児機能不全の重要な原因の一つとなっている他、胎児死亡に至る場合もある。2010 年から 2017 年の 8 年間で提出された当院の胎盤病理検体の中で VUE high grade と診断された症例においてその病理所見について Amsterdam 分類に基づき検討した。VUE 全 88 症例中 high grade が 28 例あった。

(diffuse8 例、ungradable-possible high grade20 例) VUE の胎盤病理肉眼的所見では病変が広範囲な場合、断面はやや白色調となる。胎盤病理組織学的所見では Thrombosis・Avascular villi・Intramural fibrin deposition・Villous stromal vascular karyorrhexis・Stem vessel obliteration・Vascular ectasia 等の胎児側の灌流障害 (Fetal vascular malperfusion)の所見が主に認められたが、HDP の症例では Infarcts・Retroplacental hemorrhage・Chronicity of Infarction・Distal villous hypoplasia・Accelerated villous maturation・Decidual arteriopathy 等母体側の灌流障害 (Maternal vascular malperfusion)も認められた。VUE の病態は主に胎児循環障害が主な病態であることが症例を検討し確認できた。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

#### 2. 学会等名

2016 年 11 月 25 日～和歌山 (アバローム紀の国) 第 24 回日本胎盤学会学術集会  
VUE におけるリンパ球の解析 免疫組織染色による検討

2016 年 04 月 23 日～2016 年 04 月 23 日  
第 63 回日本産婦人科学会学術集会  
Villitis of Unknown etiology51 症例の検討

2017 年周産期新生児学会

2018 年 IFPA2018Tokyo meeting (国際学会)  
Clinical and pathological findings in 28 cases of high grade VUE

〔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。