

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09467

研究課題名（和文）羊水塞栓症の病態解明のための全身主要臓器の特異的反応の検討

研究課題名（英文）Examination of specific responses in major organs to elucidate the pathology of amniotic fluid embolism

研究代表者

田村 直顕（Naoaki, Tamura）

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：90402370

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：羊水塞栓症と診断された13例の肺、子宮、心筋、肝臓、腎臓、副腎を集積し、ホルマリン固定切片を作成し、トリプターゼ、c-Kit、C5a受容体について、それぞれ特異的抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、1平方マイクロメートルあたりの陽性面積を計測し、非羊水塞栓症のコントロール群と比較検討した。トリプターゼ陽性面積は羊水塞栓症の肺胞で有意に大きく、C5a受容体陽性面積は羊水塞栓症の肺胞と子宮筋にて有意に大きかった。また、臓器間比較では、他臓器と比べ、肺と子宮においてトリプターゼ陽性面積が有意に大きかった。これらの結果は、羊水塞栓症におけるアナフィラクトイド反応が肺と子宮に生じやすいことを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

羊水塞栓症は妊産婦死亡の原因となる疾患の一つであり、その病態として羊水・胎児成分の母体循環内への流入による機械的塞栓や母体のアナフィラクトイド反応が関与することが示唆されているが、今日でも不明な点は多く、突然の発症と急激な全身状態の悪化に対して確立した治療法がないことが問題である。本研究は羊水塞栓症における主要臓器の病理組織検体を用いて病態との関連を調べ、羊水塞栓症では特に肺と子宮におけるアナフィラクトイド反応が特徴的であることが分かった。羊水塞栓症のターゲット臓器を同定した本研究成果は、これらの臓器障害を軽減させる治療が必要であることを裏付けるもので治療戦略の解明に寄与する可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：The lungs, uterus, myocardium, liver, kidneys, and adrenal glands of 13 cases diagnosed with amniotic fluid embolism were collected, formalin-fixed sections were prepared, and specific antibodies were used for tryptase, c-Kit, and C5a receptors. Immunohistochemical staining was performed, the positive area per square micrometer was measured, and comparisons were made with a control group with non-amniotic fluid embolism. The tryptase-positive area was significantly larger in the alveoli of patients with amniotic fluid embolism, and the C5a receptor-positive area was significantly larger in the alveoli and myometrium of patients with amniotic fluid embolism. Furthermore, in comparison between organs, the tryptase-positive area was significantly larger in the lungs and uterus than in other organs. These results suggest that anaphylactoid reactions in amniotic fluid embolism are likely to occur in the lungs and uterus.

研究分野：周産期医学

キーワード：羊水塞栓症

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

羊水塞栓症は本邦の妊産婦死亡の主要な原因疾患の一つであり、羊水・胎児成分が母体循環に流入することにより心肺機能不全・意識障害・DIC・危機的産科出血などの重篤な症状を呈する疾患である。母体の循環血液中における羊水・胎児成分の検出については、血清診断法として亜鉛コプロポルフィリン1 (ZnCP-1) と sialyl Tn (STN) が応用可能となり、2003年から羊水塞栓症血清診断事業として全国展開され、本研究開始当初も本邦で発生している羊水塞栓症の妊産婦死亡例およびニアミス例の臨床情報と血液検体は集積、解析されていた。さらに、本研究開始当初には、全国からの組織検体の解析依頼も増加しつつあり、子宮については約120例、肺については約20例の組織を検討していた。これらの検討の結果、心肺機能不全を認める症例では血清中にZnCP-1とSTNが検出される一方、DICと出血を主とする症例では血清中で補体の活性化(C3値、C4値、C1インヒビター活性値の低下)が顕著であり、羊水塞栓症ではアナフィラキシー様反応の関与する病態の存在が示唆されていた。また、肺と子宮の病理組織学的検討では、従来考えられていたような肺動脈が羊水・胎児成分により有意に閉塞されている症例は限られおり、特徴的な所見として、肺水腫および子宮筋層に及ぶ炎症と間質浮腫を呈する例が多く、同組織内ではアナフィラトキシン受容体(C5aR)および肥満細胞トリプターゼの陽性率が高く、病理組織学的にもアナフィラキシー様反応が深く関与していることが示唆されていた。さらに子宮においては子宮収縮に必要なタンパク質(コネクシンとオキシトシン受容体)の発現が減少していることも明らかにしていた。

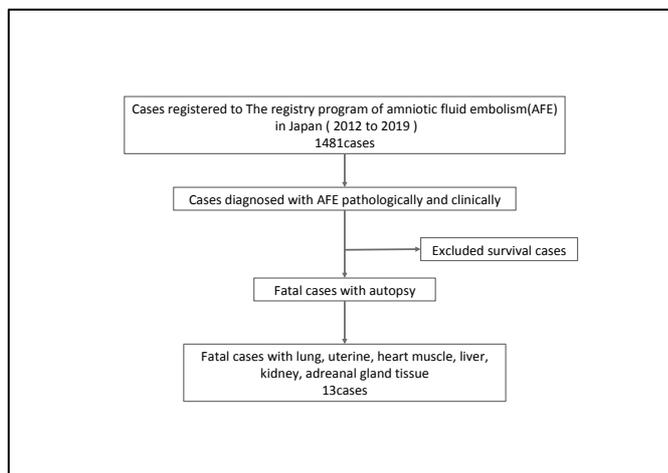
2. 研究の目的

これまでの病理組織学的解析は、子宮と肺以外の全身臓器については検討されておらず、そもそも羊水塞栓症の主たるターゲット臓器が肺と子宮であるのか、すなわち肺と子宮に優位な特異的反応であるのか、他の臓器の障害の有無については明らかになっていなかった。そこで本研究は子宮と肺以外の主要な組織も集積して病理組織学的にその生体反応を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

2012年から2019年に羊水塞栓症登録事業に登録された1481症例の中から、本邦だけでなく米国で提唱されている診断基準に適合する症例を抽出し、且つ剖検されており主要な全身臓器が解析可能な症例の組織検体を最終的に13例収集した。コントロール症例群は羊水塞栓症以外の母体死亡の剖検例10例より組織検体を収集した。

肺、心筋、肝臓、腎臓、副腎皮質、子宮を対象臓器とし、それぞれ組織切片を抗トリプターゼ抗体、抗c-kit抗体、抗C5a受容体抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、Winroof Image Analysis Softwareを用いて1平方マイクロメートルあたりの発現の陽性面積を計測し、Prizm Softwareを用いて、羊水塞栓症群とコントロール群の発現レベルを比較検討した。



4. 研究成果

羊水塞栓症群 (ARE; 13 例) と非羊水塞栓症群 (Non-AFE; 10 例) の子宮筋層、心筋、肺、肝臓、腎臓、副腎皮質におけるトリプターゼの発現量の中央値および最小値-最大値を Table 1 に、c-kit の発現量の中央値および最小値-最大値を Table 2 に、C5a 受容体 (C5aR) の発現量の中央値および最小値-最大値を Table 3 に示した。また、Figure にそれぞれ代表的な染色像を示した。トリプターゼ、c-kit、C5aR の染色画像とトリプターゼの発現量は羊水塞栓症の肺胞においてコントロール群と比較して有意に増加していた。C5aR の発現量は、羊水塞栓症群の子宮筋層と肺胞において有意に増加していた。一方、心筋、肝臓、腎臓、副腎については、両群間に有意差を認めなかった。

Figure 1; トリプターゼの発現

Table 1. Tryptase-positive area per cell between non-AFE and AFE.

	Non-AFE (n = 10)	AFE (n = 13)	P value
Myometrium (μm^2)	347 (212-976)	473 (153-3172)	0.26
Lung (μm^2)	108 (15-383)	493 (51-799)	< 0.01
Myocardium (μm^2)	141 (39-691)	200 (25-1521)	0.25
Liver (μm^2)	46 (0-134)	96 (0-338)	0.13
Kidney (μm^2)	101 (23-356)	88 (39-666)	0.92
Adrenal gland (μm^2)	105 (0-277)	119 (0-1022)	0.52

Table 2. c-kit-positive cell number per field between non-AFE and AFE.

	Non-AFE (n = 10)	AFE (n = 13)	P value
Myometrium	1.8 (0-15.0)	2.3 (0.08-5.0)	> 0.99
Lung	9.3 (2.5-34.6)	18.1 (0.3-30.4)	0.15
Myocardium	1.5 (0-2.5)	1.6 (0-4.5)	0.71
Liver	1.1 (0-6.3)	1.4 (0-5.5)	0.93
Kidney	1.8 (0-57.3)	3.6 (0-19.9)	0.25
Adrenal gland	0.1 (0-1.0)	1.1 (0-8.5)	< 0.01

Table 3. C5aR-positive cell number per field between non-AFE and AFE.

	Non-AFE (n = 10)	AFE (n = 13)	P value
Myometrium	4.0 (0-10.5)	15.0 (0.1-41.9)	< 0.05
Lung	15.9 (1.5-29.4)	39.0 (0-160.3)	< 0.05
Myocardium	3.8 (1.0-20.3)	13.6 (0.3-51.6)	0.12
Liver	6.9 (0-136.0)	22.6 (0.3-157.3)	0.37
Kidney	5.5 (0.3-71.8)	15.0 (0.8-71.9)	0.35
Adrenal gland	47.9 (4.3-146.5)	87.0 (4.0-264.8)	0.43

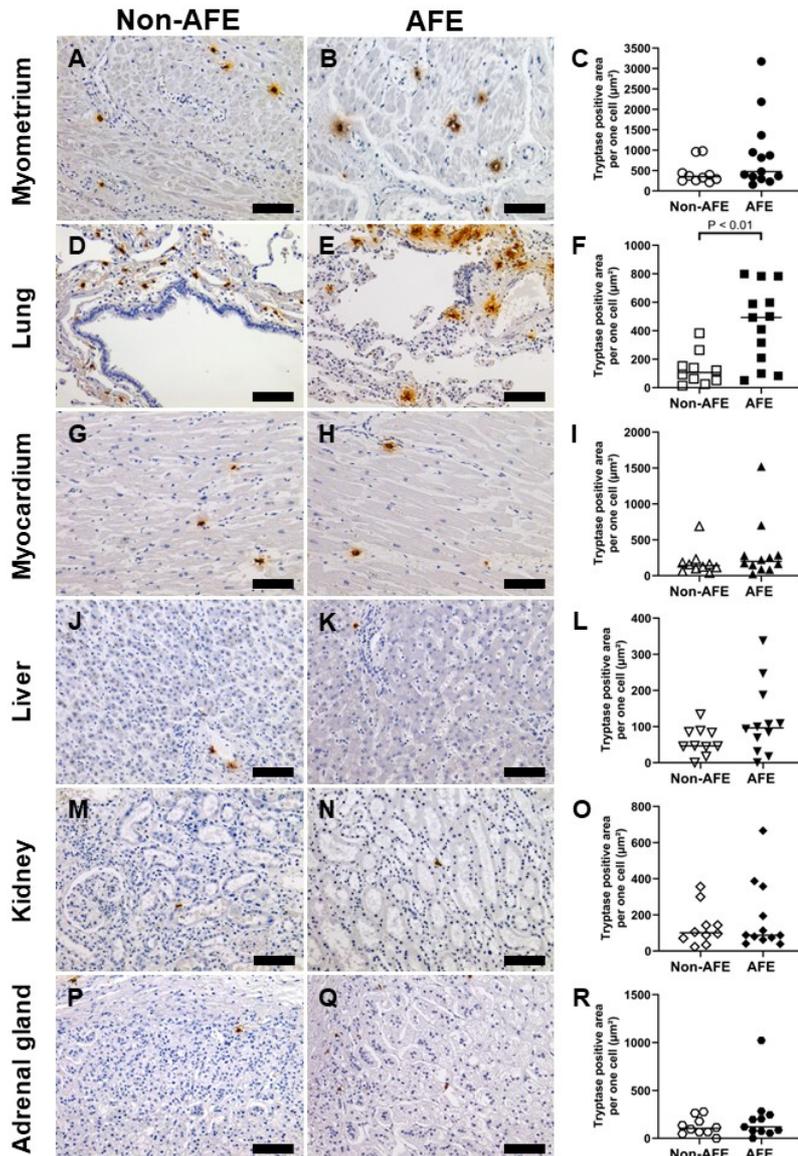
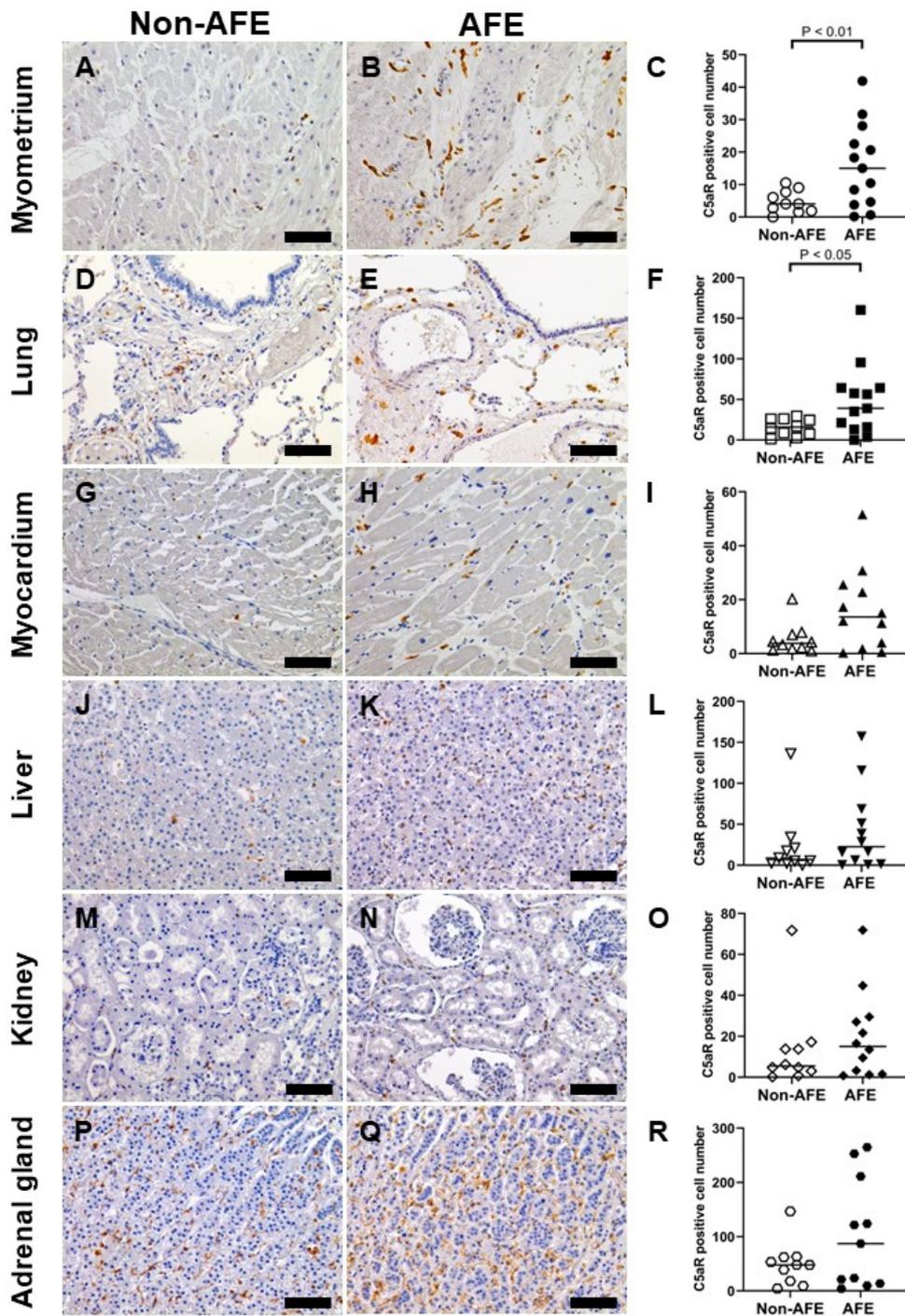


Figure 3; C5aR の発現



本研究の結果から、羊水塞栓症でみられるアナフィラクトイド反応は全身臓器の中でも、肺と子宮に特徴的な反応であることが判明した。本結果は羊水塞栓症の主な症状が呼吸不全と危機的産科出血であることを裏付けるものである。今後は、このような臓器特異的な反応を引き起こすメカニズムを解明することが必要であり、有効な治療法の発見につながる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Jain Divyana, Oda Tomoaki, Kawai Kenta, Horikoshi Yoshimasa, Matsumoto Masako, Narumi Megumi, Kohmura-Kobayashi Yukiko, Furuta-Isomura Naomi, Yaguchi Chizuko, Uchida Toshiyuki, Suzuki Kazunao, Kanayama Naohiro, Itoh Hiroaki, Tamura Naoaki	4. 巻 53
2. 論文標題 Inhibitory effects of amniotic fluid on the activated protein C anticoagulation system in maternal plasma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thrombosis and Thrombolysis	6. 最初と最後の頁 208～212
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11239-021-02513-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ide Rui, Oda Tomoaki, Todo Yusuke, Kawai Kenta, Matsumoto Masako, Narumi Megumi, Kohmura-Kobayashi Yukiko, Furuta-Isomura Naomi, Yaguchi Chizuko, Uchida Toshiyuki, Suzuki Kazunao, Kanayama Naohiro, Itoh Hiroaki, Tamura Naoaki	4. 巻 14
2. 論文標題 Comparative analysis of hyperfibrinolysis with activated coagulation between amniotic fluid embolism and severe placental abruption	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-50911-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Oda Tomoaki, Tamura Naoaki, Yata Daisuke, Oda-Kishimoto Ayako, Itoh Toshiya, Kubota Naohiro, Suzuki Yasuyuki, Kanayama Naohiro, Itoh Hiroaki	4. 巻 16
2. 論文標題 A Case of Consumptive Coagulopathy Before Cardiopulmonary Failure in Amniotic Fluid Embolism and Review of Literature: A Perspective of the Latent Onset and Progression of Coagulopathy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cureus	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7759/cureus.55961	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村直顕
2. 発表標題 羊水塞栓症の最新知見：血清・組織の診断からゲノム解析
3. 学会等名 第146回関東連合産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	小田 智昭 (Oda Tomoaki) (00884743)	浜松医科大学・医学部附属病院・医員 (13802)	
研究 分担者	磯村 直美 (Isomura Naomi) (80647595)	浜松医科大学・医学部附属病院・助教 (13802)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------