

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390379

研究課題名(和文) 羊水塞栓症の救命法と予知・予防法の開発

研究課題名(英文) Amniotic Fluid Embolism: new strategies for management, prediction and prevention

研究代表者

金山 尚裕 (NAOHIRO, KANAYAMA)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：70204550

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：羊水塞栓症の主な臨床所見として心肺虚脱型とDIC先行型の2つがあることが判明した。また羊水塞栓症ではC3、C4が低値をとることを見出した。C3、C4を調節している因子としてC1インヒビターがあり、羊水塞栓症発症のkey moleculeではないかと推定した。羊水塞栓症発症直後のC1インヒビター値を測定すると、正常妊婦と比較し有意に低値であることが判明した。C1インヒビターは遺伝性血管浮腫の治療薬としても保険採用されており、羊水塞栓症の新しい治療法としてC1インヒビター投与が有望であることが示唆された。また妊娠後期にC1インヒビターを測定することは羊水塞栓症の予知・予防に繋がることが予想された。

研究成果の概要(英文)：We found that serum C3 and C4 levels were very low compared to normal pregnant women. We hypothesized that a marked reduction of C3 and C4 involved in C1 esterase inhibitor which controls complement system. We collected 106 cases of AFE had applied to the Japan AFE registration center in Hamamatsu University School of Medicine. In AFE cases, 85 cases were nonfatal and 21 cases were fatal. 88 women who delivered without AFE were regarded as a control. C1INH activity levels were significantly lower in AFE patients than in control women. C1INH activity levels in fatal AFE cases were significantly lower than those in nonfatal AFE cases. These results demonstrated that low C1INH activity levels was closely associated with the pathogenesis of AFE, suggesting that C1INH activity levels have potential as a prognosis factor of AFE. Also C1 esterase inhibitor may be a promising candidate of treatment of AFE.

研究分野：産婦人科学

キーワード：羊水塞栓症 C1インヒビター DIC 羊水マーカー アナフィラキシー 補体

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、病態が不明なため、その救命法、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。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、平成26年末までに1100症例を超える臨床情報、血清、組織が浜松医科大学で管理されている。

2.研究の目的

- (1)集積された臨床情報、血清、組織をさらに解析しアレルギーあるいはアナフィラキシーの視点から病因・病態を明らかにする。
- (2)基礎研究、後方視的及び前方視的な臨床研究から羊水塞栓症の新しい救命法、新たな予知・予防法を見いだす。

3.研究方法

- (1)本邦の羊水塞栓症の病因病態解析
浜松医科大学に過去10年間に送付された臨床的羊水塞栓症症例の臨床、血清、組織データを解析する。アナフィラキシー様機序が関与しているか否かについて検討する。組織については、今までの解析はHE染色、アルシアンブルー染色が中心で、DIC関連物質、アレルギー・アナフィラキシー関連物質の免疫染色は行ってきていない。補体、補体受容体、IL-8、好酸球、肥満細胞およびアレルギー関連物質の発現、局在を検討し病因、病態を明らかにする。

- (2)アレルギー・アナフィラキシー様機序からみた病因解明の研究

羊水塞栓症、特にDICタイプではC3、C4が低値、IL-8が高値を取ることからアレルギーあるいはアナフィラキシー様機序が関与していることが予備的研究で示唆されている。また帝王切開では補体の減少が著しいことを報告した。アレルギーとDICを結びつけるkey moleculeに血液凝固XII因子がある。補体が活性化するとXII因子が活性化する接触系がアレルギーと血液凝固を結ぶ系として注目されている。この系を抑制している主な因子にC1インアクチベーターがある。C1インアクチベーターの先天的欠損症では血管性浮腫を示すことが知られている。羊水塞栓症ではこの接触系が異常に亢進していることが予想されている。C1インアクチベーターを測定しC1インヒビターが羊水塞栓症の病態把握の指標となるかについて検討する。

- (3)C1インアクチベーターを用いた新規治療法の開発

アレルギー・アナフィラキシー関連物質を種々の血清で測定しアレルギー抑制のための治療薬についても検討する。分娩時にステロイドを投与した症例の救命率や臨床経過の解析を行う。我々の組織解析から羊水塞栓症の子宮は血管浮腫状であることが判明している。血管浮腫の治療薬としてC1インアクチベーターがある。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、羊水塞栓症の治療薬になる可能性を秘めている。C1インアクチベーターの免疫学的側面、血液凝固学的側面から治療薬の可能性を探る。

- (4)羊水母体アレルギー反応から見た羊水塞栓症の予知・予防法開発
羊水塞栓症は破水直後に発生することがほ

とんどである。破水によって補体値が短時間で低下することが明らかになっている。破水前後の補体、C1 インアクチベーター、ブラジキニン、カリクレイン、XII 因子等を測定し破水による母体アレルギー様反応について研究する。

4. 研究成果

(1)臨床情報解析

臨床情報の解析から臨床的羊水塞栓症は臨床例の解析から2つに分かれることを見出した。突然の心肺虚脱を主症状とするタイプとDIC・弛緩出血など主症状とするタイプである。それぞれの特徴を以下に示す。

心肺虚脱型羊水塞栓症の特徴

- 初発症状は胸痛、呼吸苦 意識消失、原因不明の胎児機能不全、不穏状態などが多い。
- 初発症状から心停止までの時間は極端に短い。

DIC 先行型羊水塞栓症の特徴

- 胎盤娩出後のサラサラした非凝固性器出血が初発
- 重症の子宮弛緩症を併発
- 短時間に進行するDIC(発症から1時間程度でフィブリノーゲン値が100mg/dL 以下になることが多い)

臨床情報の解析から心肺虚脱型羊水塞栓症はDIC先行型羊水塞栓症より経過が急激で予後が不良であった。

(2)血清マーカーの解析

血清マーカーとして亜鉛コプロポルフィリン(Zn-CP1)・シアリルTn(STN)・C3・C4・インターロイキン8(IL-8)を測定した。Zn-CP1はHPLC(high performance liquid chromatography)法、STNはRIA法、C3・C4はTIA法、IL-8はEIA法にてそれぞれ測定し

ている。Zn-CP1やSTNは羊水および胎便中に多く含まれるもので、これらが母体血中に検出されれば胎児成分が母体血中に流入したと考えられる。C3・C4は抗原抗体反応を補助し、炎症やアレルギーで活性化され低下する。IL-8は炎症性サイトカインの1つであり、DICやSIRS、ARDSなどでも高値となる。羊水マーカーである亜鉛コプロポルフィリン-1とSTNについてマーカーの特性を検討してみた。剖検で羊水塞栓症が確定した24例において肺動脈に羊水成分が検出されるか否かで検討すると、亜鉛コプロポルフィリン-1は感度：73%、特異度：100%、PPV:100%、NPV:69%であり、STNは感度：33%、特異度：100%、PPV:100%、NPV:47%であった。

(3)組織解析

平成26年度までに90例の子宮組織、10例の肺組織が全国から送付された。それらの肺・子宮病理を肉眼的、組織学的に検討した。心肺虚脱型羊水塞栓症は肺の血管に羊水成分あるいは胎児成分がほとんどの例で認められた。一方、DIC先行型羊水塞栓症では子宮の変化が顕著であった。肺と子宮の特徴について以下に述べる。

1) 肺の肉眼所見

肺は浮腫状変化を示していることが多い。濡れ雑巾を絞ったように水分が貯留していることもある。

2) 肺の組織所見

羊水成分の検出

両側各葉から最低1個ずつの肺組織標本を採取する。肺血管内に羊水成分を見出すことが診断に重要である。アルシアンブルー染色(メルク社製)やcytokeratin、シアリアルTn抗原、亜鉛コプロポルフィリン-1の免疫組織化学染色を併用したほうがよい。凍結切片(ホルマリン固定後でも可、ただしパラフィン包埋はしない)でズダンIII

染色を行い胎脂由来の脂肪成分を検出することも時に有用である。

浮腫状変化

HE 染色やアルシアンブルー染色で肺胞や間質の浮腫状変化を観察する

アナフィラクトイド反応の検出

肺にアナフィラクトイド反応がどの程度発生しているかを検討することも重要である。C5a 受容体は骨髄系の細胞のみならず、血管内皮、間質細胞のアナフィラクトイド反応も検出できることから C5a 受容体の免疫染色はアナフィラクトイド反応の発生を判断するのに優れている。

3) 子宮の肉眼所見

子宮の所見としては子宮の血管浮腫すなわち子宮弛緩症である。血管浮腫の指標として子宮重量がある。現在まで浜松医科大学に集積されている臨床的羊水塞栓症(救命例含む)の子宮重量は 34 症例で平均子宮重量は 1013.3g であった。産褥 0~1 日の平均子宮重量が 400g 前後であることを勘案すると、羊水塞栓症では子宮が重いことが判明している。

4) 子宮の組織所見

子宮は頸部、体部、底部の最低左右 6 カ所はブロックにし肺と同様の検索を行う。

子宮の静脈に羊水、胎児成分が検出。染色は HE 染色、アルシアンブルー染色、サイトケラチン染色、亜鉛コプロポルフィリン - 1 染色、シアリアル Tn 抗原
子宮血管に DIC の所見(子宮血管において多発性血栓とエオジン陽性成分の消失。エオジン陽性は血液中のフィブリノーゲンなどの血漿蛋白が十分存在する時に検出される)

間質浮腫 HE 染色やアルシアンブルー染色で間質浮腫像(アルシアンブルー染色は母体血管での羊水成分の検出のみならず、間質の浮腫を観察するにもよい。

アルシアンブルー染色で間質に瀰漫性に染色されれば浮腫が存在していたことを意味する)

間質の炎症性細胞浸潤及び間質のアナフィラクトイド反応の検出(C5aR 染色で間質に広範な陽性像が観察される)

(4) C1 エステラーゼインヒビター

C1 エステラーゼインヒビター活性(C1 インヒビター)が羊水塞栓症で減少していることを報告した。死亡例では特に C1 インヒビターの低下が著しく 25% を切る症例も多数存在していた。C1 インヒビターが羊水塞栓症発症前には低値で、FFP の投与により C1 インヒビターが増加した症例は救命され、増加しなかった症例は死亡していた。

(5) 考察

血清マーカーについては剖検で確定した羊水塞栓症でも、大量輸液、大量輸血後の検体であった場合や遮光が十分されていない検体であった場合、そして胎脂などの脂肪成分が主に肺動脈に塞栓している場合は亜鉛コプロポルフィリン-1やSTNは検出されないことも考えられる。羊水マーカーの羊水塞栓症に対する感度が100%ではないことはそのようなことを反映していると考えられる。一方、DICが先行するDIC先行型羊水塞栓症(組織所見がある場合は子宮型羊水塞栓症)では羊水マーカーの検出率は低く、C3, C4の著明低下、IL-8の高値が特徴であった。これは子宮型羊水塞栓症では母体循環系に流入する羊水は少量でも羊水と母体免疫系との接触により子宮にアナフィラキシー様反応が発生し、凝固線溶系が活性化し、DICが発生したことを意味するものと考えられる。組織解析においては、正常妊娠・分娩でもでも少数のトロホプラストが母体血中に存在する可能性が指摘されている。母体血液は恒常的にトロホ

ブラストと接触しているので正常例でもトロホブラストが母体血中で少量検出されることは想定できる。しかし羊水は母体血液とは直接、接してはいないので羊水成分が肺動脈で検出されれば特徴的所見と考えられた。羊水塞栓症の子宮組織を解析すると子宮弛緩症、DIC、補体の活性化が特徴でありアナフィラクトイド反応が起こっていた。この特徴はDIC先行型羊水塞栓症により顕著であった。子宮弛緩症、DIC、補体活性化を抑制することが羊水塞栓症の病態改善の鍵であることが示唆された。

以上のような臨床所見と病理所見から、羊水塞栓症について、以下のような内容を提唱している。臨床的羊水塞栓症で剖検のないものは心肺虚脱型羊水塞栓症とDIC先行型羊水塞栓症に分類する。臨床的羊水塞栓症で剖検のあるもので肺に羊水成分を認めるものを羊水塞栓症、臨床的羊水塞栓症であるが肺に羊水成分を認めず、子宮に子宮弛緩症、子宮血管に羊水成分を検出、アナフィラクトイド反応を認めるものを子宮型羊水塞栓症と呼ぶことを提案している。

C1インヒビターの測定は羊水塞栓症の病態把握に有用であることが判明した。妊娠後期にC1インヒビターが低値例は羊水塞栓症のリスク因子であることが推測された。C1インヒビターは遺伝性血管浮腫の治療薬として保険収載されている。このC1インヒビターを羊水塞栓症に投与することにより羊水塞栓症の病態を改善させる可能性があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 49 件)

1. Kanayama N, Tamura N. Amniotic fluid embolism: pathophysiology and new strategies for management. J Obstet Gynaecol Res. 2014

Jun;40(6):1507-17.

2. Tamura N, Kimura S, Farhana M, Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Itoh H, Ikeda T, Kanayama N. C1 esterase inhibitor activity in amniotic fluid embolism. Crit Care Med. 2014 Jun;42(6):1392-6.

3. Tamura N, Nagai H, Maeda H, Kuroda RH, Nakajima M, Igarashi A, Kanayama N, Yoshida K. Amniotic fluid embolism induces uterine anaphylaxis and atony following cervical laceration. Gynecol Obstet Invest. 2014;78(1):65-8.

4. Masuzaki H, Unno N, Kanayama N, Ikeda T, Minakami H, Murakoshi T, Nakata M, Ishiwata I, Itoh H, Yoshida A. Annual report of Subcommittee for Examination of Causes of Maternal Death and their Prevention in Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology, 2013. J Obstet Gynaecol Res. 2014 Feb;40(2):336-7.

5. Oi H, Naruse K, Koike N, Tsunemi T, Shigetomi H, Kanayama N, Kobayashi H. Predictor of mortality in patients with amniotic fluid embolism. J Obstet Gynaecol Res. 2014 Apr;40(4):941-5.

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 田村直顕, 木村聡, 古田直美, 谷口千津子, 内田季之, 鈴木一有, 杉村基, 杉原一廣, 伊東宏晃, 金山尚裕: 臨床的羊水塞栓症の子宮体部筋層の病理組織学的検討 日本産科婦人科学会第 66 回学術講演会 4 月 東京 2014.

2. 田村直顕, 伊東宏晃, 谷口千津子, 幸村友季子, 内田季之, 鈴木一有, 金山尚裕: 弛緩出血症例の子宮局所における免疫応答

反応の解析 第50回日本周産期・新生児
医学会学術集会 7月 浦安 2014.

3. 田村直顕：臨床的羊水塞栓症における
C1インヒビター活性の検討 日本産科婦
人科学会第65回学術講演会 5月 札幌
2013.

〔図書〕(計3件)

1. 金山尚裕： .産科疾患 C .異常分娩
14 羊水塞栓症 産科婦人科疾患最新の治
療 2013-2015 :131-132, 2013. 南江堂

2. 金山尚裕： .産科疾患 C .異常分娩
14 羊水塞栓症 産科婦人科疾患最新の治
療 2013-2015 :131-132, 2013. 南江堂

3. 金山尚裕：4.分娩・産褥時の症候 3 異常
出血 羊水塞栓症 症例から学ぶ周産期診
断ワークブック メジカルビュー社:
149-153, 2012.

〔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・教授

研究者番号：70204550

(2)研究分担者

杉原 一廣 (SUGIHARA, Kazuhiro)

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00265878

谷口 千津子 (YAGUCHI, Chiduko)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20397425

鈴木 一有 (SUZUKI, Kazunao)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20397425

田村 直顕 (TAMURA, Naoaki)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90402370

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

(3)連携研究者