

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：13802

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670700

研究課題名(和文) PAI-1測定による常位胎盤早期剥離の予知、予防法の開発

研究課題名(英文) Prediction and prevention of abruptio placentae by measurement of PAI-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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：PAI-1欠損症が流産、常位胎盤早期剥離を起こすことを我々は報告してきた。正常胎盤ではPAI-1が脱落膜細胞に強く染色されたが、不全流産例では脱落膜細胞の染色性がほとんどなく認めなかった。不全流産の中に脱落膜細胞のPAI-1発現低下が関与している症例があることを示唆するものである。妊娠初期の血漿PAI-1の測定と切迫流産の関係では子宮収縮と伴った切迫流産はPAI-1が10ng/mL以下の低値取る傾向にあった。常位胎盤早期剥離は3例あったが、そのうち1例はPAI-1が低値であった。常位胎盤早期剥離の発症原因の中にPAI-1低値が含まれることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Previously we reported that the first report of uncontrollable subchorionic and retroplacental haemorrhage inducing preterm labour in complete PAI-1 deficiency in a human To determine the role of PAI-1 in maintenance of pregnancy, we collected the plasma from 1032 pregnant women in the 1st trimester. The outcome of the pregnancy was examined especially on rate of abortion, preterm delivery and abruptio placentae. The PAI-1 level of abortion with uterine contraction tended to be low compared to normal pregnancy. PAI-1 level was less than 10ng/mL(very low level) in a case out of 3 cases of abruptio placentae. These results suggest that PAI-1 is involved in attachment of fetomaternal interface. We found that PAI-1 staining was weak or absence in the cases of abortion with uterine contraction compared to normal pregnancy.

研究分野：産婦人科学

キーワード：常位胎盤早期剥離 絨毛膜下血腫 PAI-1 切迫流産 切迫早産

1. 研究開始当初の背景

産科補償制度の年次報告や種々の報告で脳性麻痺の原因として常位胎盤早期剥離（早剥）がもっとも重要度の高い疾患となっている。世界中の種々の報告でも早剥は周産期死亡の主たる疾患となっており、早剥の70%以上は原因不明と言われている。原因不明の早剥が非常に多いにも係わらず、その原因は全く解明されていない。したがって早剥の病因の解明及びその予知・予防法の確立は周産期分野のもっとも重要な課題といっても過言ではない。我々は妊娠の維持には胎盤と脱落膜の間に存在するフィブリノイド層(Nitabach層)が充分存在し、それが接着性を保つことが必須であることをフィブリノーゲン欠損症妊婦の管理から見いだしてきた。フィブリノーゲン欠損症妊婦では脱落膜内のフィブリノイド層が形成されずに必ず流産し、フィブリノーゲン欠損症妊婦にフィブリノーゲンを定期的に補充するとフィブリノイド層が形成され、妊娠が継続されることを世界で初めて報告した。さらに我々は2011年プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1(PAI-1)の欠損症妊婦で絨毛膜下血腫と早剥が出現することを世界で始めて報告した。

2. 研究の目的

妊娠中のPAI-1低下が難治性の切迫流産である絨毛膜下血腫，早剥にも関係するのではないかと作業仮説を立てた。妊娠中のPAI-1測定により切迫流産、絨毛膜下血腫、早剥の予知に繋がるかについて検討した。

3. 研究の方法

(1)PAI-1とフィブリノイド層形成との関係を明らかにするために、PAI-1欠損症の流産胎盤を病理学的に詳細に検討した。また最近我々は凍結胚移植妊娠では癒着胎盤の頻度が高いことを見出している。PAI-1欠損症

の胎盤とは逆に、胎盤が剥離しにくい凍結胚移植の胎盤にも注目し病理学的解析を行った。

(2)各種流産胎盤のPAI-1の染色を行った。切迫流産で枯死卵の切迫流産5例と胎芽は確認されたが出血が先行して流産となった7例(不全流産)と人工妊娠中絶術の胎盤(正常胎盤)4例の胎盤のPAI-1の免疫染色を行った。

(3)浜松医科大学および関連病院で妊婦健診の各時期の採血時にPAI-1を測定しPAI-1濃度と早剥、絨毛膜下血腫および慢性常位胎盤早期剥離(CAOS)の発症との関連を前方視的に検討した。早剥の発症頻度は1%であることから1000例の妊婦に妊娠初期にPAI-1を測定しその後の転帰を検討した。

以上の研究は浜松医科大学の倫理委員会の承認を受けて行った。

4. 研究成果

(1)PAI-1欠損症と凍結胚移植妊娠の胎盤病理

PAI-1欠損症の流産胎盤を解析した。正常な妊娠中期の胎盤とPAI-1欠損妊婦の早剥の胎盤を図1に示した。正常胎盤の矢印で示したフィブリノイド層がPAI-1欠損症妊婦の胎盤ではほとんど形成されていないことが判明した。欠損しているフィブリノイド層に出血が見られ、これが絨毛膜下血腫であることが認められた。

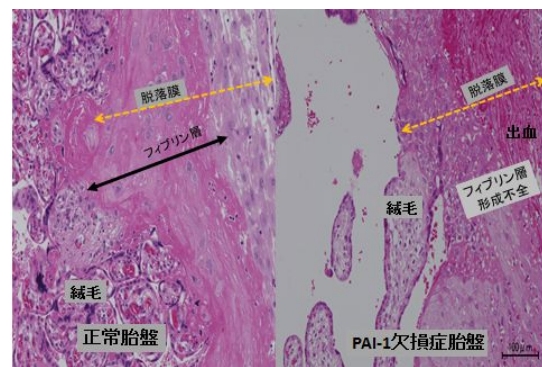


図1 正常胎盤とPAI-1欠損症胎盤のフィブリノイド層(フィブリン層)

凍結胚移植の胎盤(図2)では、正常胎盤(図

3)に比較してフィブリノイド層が肥厚化していた。

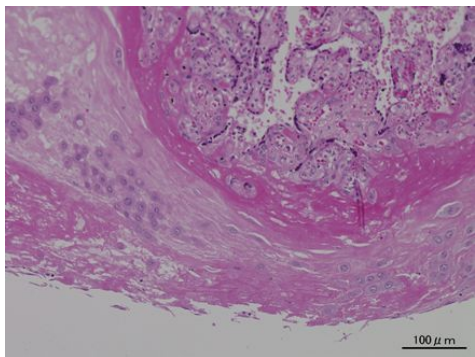


図2 凍結胚移植胎盤

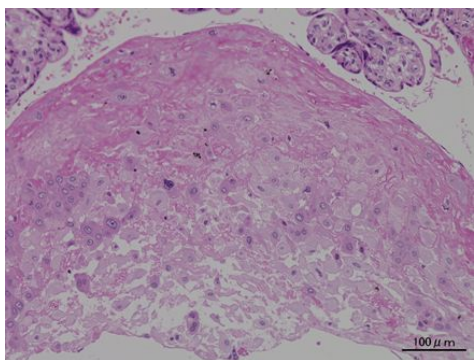


図3 正常胎盤

(2)正常胎盤では脱落膜細胞に PAI-1 が強く染色された(図4)。枯死卵の流産も脱落膜細胞の PAI-1 が比較的強く染色された。しかし不全流産7例ではそのうち4例に脱落膜細胞の染色性がほとんどなく(図4)、3例が弱陽性であった。

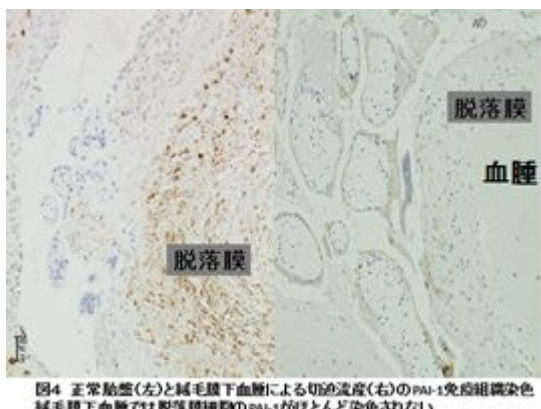


図4 正常胎盤(左)と絨毛膜下血腫による切迫流産(右)のPAI-1免疫組織染色。絨毛膜下血腫では脱落膜細胞のPAI-1がほとんど染色されない。

(3)妊娠初期の PAI-1 値と妊娠予後

平成27年3月までに約1600例の妊婦の採血を行い、平成27年3月末には1032例が分娩を終了した。1032例について解析を行ったところ、平均年齢 31.8 ± 5.0 歳、平均 BMI は 21.2 ± 3.6 、平均分娩週数は 38.2 ± 2.6 であった。全体の平均 PAI-1 値は 18.2 ± 12.3 ng/mL で、PAI-1 値は BMI や年齢との間に相関を認めなかった。切迫流産は174例に見られた。切迫流産群 (18.6 ± 12.7 ng/mL) と非切迫流産群 (18.2 ± 12.2 ng/mL) の間の PAI-1 値に有意差を認めなかった。しかし切迫流産で子宮収縮を伴った群(84例)と伴わない群(90例)で見ると、子宮収縮を伴った群では PAI-1 が 10 ng/mL 以下の低値群では20例あり、子宮収縮を伴わない群では3例のみであった。絨毛膜下血腫を伴った切迫流産と絨毛膜下血腫を伴わない切迫流産群の間で PAI-1 値は有意な差を認めなかった。切迫早産の有無と PAI-1 については切迫早産あり群は PAI-1 値が 17.8 ± 11.4 ng/mL、切迫早産無し群は 18.4 ± 12.6 ng/mL であり有意差を認めなかった。全症例中に常位胎盤早期剥離が3例あったが、そのうち1例が PAI-1 値 10 ng/mL 以下であった。

(4)考察

胎盤と子宮の接着において絨毛細胞については研究されてきたが、脱落膜のフィブリノイド層についてはほとんど検討されてこなかった。我々は脱落膜にある絨毛細胞と脱落膜の接点にあるフィブリノイド層に着目した。PAI-1 欠損症の胎盤ではこのフィブリノイド層が形成不全であることが明らかになった。PAI-1 欠損症では組織プラスミノゲンアクチベーターが活性化しプラスミンの産生が増加、増加したプラスミンがフィブリノイド層を分解し脆弱化することが考えられた。凍結胚移植の胎盤では肥厚していることを発見した。その結果癒着胎盤が発生しやすくなっていることが判

明した。胎盤の剥離性疾患や癒着性疾患におけるフィブリノイド層の重要性が明らかになった。

流産胎盤の解析では人工妊娠中絶の胎盤や枯死卵の流産も脱落膜細胞の PAI-1 が比較的強く染色された。しかし胎児心拍が確認されて流産した不全流産例では脱落膜細胞の染色性がほとんどなく認めなかった。この結果は流産の原因が胎児・胎盤に由来する流産は脱落膜細胞の PAI-1 の発現と直接関係なく、不全流産は脱落膜細胞の PAI-1 発現低下が関与している症例があることを示唆するものである。初期流産は一般的に染色体異常などが原因になることが多く、予防が難しいと言われてきたが、脱落膜の PAI-1 発現低下による不全流産があることが本研究で明らかになった。PAI-1 発現低下に伴う切迫流産は線溶系の抑制、たとえばトラネキサム酸などにより予防できる可能性を示すものと推察している。トラネキサム酸投与により流産が予防できる症例があることを示唆する貴重な成果と思われる。

血漿 PAI-1 値は非妊娠時では BMI と相関すると言われている。PAI-1 は血管内皮細胞、脂肪細胞、血小板などに存在する。今回の検討では妊娠初期の PAI-1 値と BMI は相関しなかったことにより、妊娠時の PAI-1 の起源は非妊娠時と異なることが示唆された。妊娠初期の胎盤子宮収縮を伴った切迫流産では PAI-1 の低値がその発症に関与している例があることが考えられた。流産時の子宮収縮の機序として胎盤と子宮の間に出血が発生し子宮収縮が起こることが考えられる。前述の出血を伴った流産のなかに脱落膜細胞の PAI-1 発現が低下しているものがあるとの結果を合わせて勘案すると、血中 PAI-1 低値は脱落膜細胞の PAI-1 含有の低下となり、その結果、切迫流産が発症する症例があることを示すもの

と考察される。

絨毛膜下血腫症例と正常例の PAI-1 値に差を認めなかったが、絨毛膜下血腫と出血や子宮収縮を伴う切迫流産の鑑別基準が明確でないことが挙げられる。軽度の絨毛膜下血腫は単なる切迫流産として判断されることもある。また不全流産例のなかに絨毛膜下血腫があったが、エコーで観察した時は子宮収縮により血腫が輩出され絨毛膜下血腫が消失していた症例などが含まれている可能性がある。いずれにしても切迫流産例での母体血中 PAI-1 測定は流産の原因検索に有用であることが示された。

常位胎盤早期剥離は 3 例のみであったが、そのうち 1 例は低値であったことから、常位胎盤早期剥離の発症原因の中に PAI-1 低値が含まれることが示唆された。常位胎盤早期剥離の原因として妊娠高血圧症候群や切迫早産、外傷などが指摘されているが、今回常位胎盤早期剥離を発症した PAI-1 低値例は妊娠高血圧症候群、切迫早産、外傷の合併はなかった。他の 2 例中 1 例が切迫早産を合併していた。正常妊娠では PAI-1 値は妊娠中期、後期に向けて上昇する。常位胎盤早期剥離は一般的に妊娠中期以降に発生するので、今回の PAI-1 測定は妊娠初期であったため、発症までに時間が長く、予知できなかった症例もあると考えている。今回の研究成果から、妊娠中期の PAI-1 測定がより常位胎盤早期剥離の発症と関連することが予想されるので、今後は妊娠中期の血液を用いて PAI-1 と常位胎盤早期剥離の関連を継続して検討していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

1. Nakamura Y, Yaguchi C, Itoh H, Sakamoto R, Kimura T, Furuta N, Uchida T, Tamura N, Suzuki K, Sumimoto K, Matsuda Y, Matsuura T, Nishimura M, Kanayama N. Morphological

characteristics of the placental basal plate in IVF pregnancies: a possible association with the amount of bleeding in delivery. Hum Pathol in press 2015.

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. 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.

4. Kubota K, Itoh H, Tasaka M, Naito H, Fukuoka Y, Muramatsu Kato K, Kohmura YK, Sugihara K, Kanayama N; Hamamatsu Birth Cohort (HBC) Study Team. Changes of maternal dietary intake, bodyweight and fetal growth throughout pregnancy in pregnant Japanese women. J Obstet Gynaecol Res. 2013 Sep;39(9):1383-90.

5. Kubota K, Itoh H, Tasaka M, Naito H, Fukuoka Y, Muramatsu Kato K, Kohmura YK, Sugihara K, Kanayama N; Hamamatsu Birth Cohort (HBC) Study Team. Changes of maternal dietary intake, bodyweight and fetal growth throughout pregnancy in pregnant Japanese women. J Obstet Gynaecol Res. 2013 Sep;39(9):1383-90. doi: 10.1111/jog.12070. Epub 2013 Jul 2.

6. Kohmura Kobayashi Y, Kanayama N, Muramatsu K, Tamura N, Yaguchi C,

Uchida T, Suzuki K, Sugihara K, Aoe S, Sasaki T, Suganami T, Ogawa Y, Itoh H: Association between body weight at weaning and remodeling in the subcutaneous adipose tissue of obese adult mice with undernourishment in utero. Reproductive Sciences 20(7), 2013.

7. Nagahashi K, Umemura K, Kanayama N, Iwaki T: Fusion of fluorescent protein to puromycin N-acetyltransferase is useful in Drosophila Schneider S2 cells expressing heterologous proteins. Cytotechnology 65(2): 173-178, 2013.

8. 金山尚裕 : 羊水塞栓症 Amniotic Fluid Embolism 日本産科婦人科学会研修コーナー 65(5): N20-26, 2013.

9. 金山尚裕 : 産婦人科当直医マニュアル - 慌てないための虎の巻 産科編 1 緊急対応を要する分娩時・分娩後疾患 羊水塞栓症 臨床婦人科産科 67(4): 108-111, 2013.

10. 金山尚裕 : 血栓・止血の異常と妊娠 産科と婦人科 診断と治療社 80(1): 9, 2013.

11. 内田季之 , 金山尚裕 : 分娩時異常出血をきたす疾患 産婦人科の実際 金原出版 62(2): 147-152, 2013.

12 金山尚裕 : 弛緩出血 DIC 先行羊水塞栓症 周産期医学 東京医学社 43(1): 25-27, 2013.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 長橋ことみ, 妊娠初期 PAI-1 低値群の臨床的背景、日本産科婦人科学会第 66 回学

- 術講演会、2014年4月18日、東京国際
フォーラム（東京都）
2. 長橋ことみ、妊娠初期 PAI-1 低値群の臨
床的背景と妊娠分娩転帰の解析、第 50
回日本周産期・新生児医学会学術集会、
2014年7月14日、シェラトン・グラン
デトーキョーベイホテル（千葉県）
 3. Kotomi N.、Is the phenotype manifested
by complete PAI-1 deficiency in human
compatible to that in mouse?、XIVth
International workshop molecular &
cellular biology of plasminogen
activation、June 5, 2013、University of
Notre Dame、State of Indiana (USA).

〔図書〕(計1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

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：プラスミノゲンアクチベーターインヒ
ビター1による流産・早産治療薬
発明者：金山尚裕、岩城孝行、梅村和夫、浦
野哲盟、伊熊ことみ
権利者：浜松医科大学
種類：
番号：PCT/JP2012/007348
出願年月日：H24年11月5日
国内外の別：米国、欧州等

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔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・医学部付属病院・助教
研究者番号：20397425

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

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

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

伊熊ことみ (IKUMA, Kotomi)