

機関番号：24601

研究種目：基盤研究C

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591927

研究課題名（和文） 羊水塞栓症診断のための新規マーカー探索と診療ガイドライン作成

研究課題名（英文） Investigate the new serum markers and create clinical guidelines for the diagnosis of amniotic fluid embolism

研究代表者

大井 豪一 (OI HIDEKAZU)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10283368

研究成果の概要（和文）：

羊水/血清比が高い羊水特有な物質を、プロテオミクス技術を用いて同定することにより、感度に優れた血清診断マーカーが確立する可能性が示唆された。登録された羊水塞栓症データを用い、 χ^2 検定により解析した結果、経産婦、満期産、経膈分娩、血清 STN 値 47U/ml、IL-8 値 100pg/ml 以上、呼吸困難、心停止および意識消失が致死因子として抽出された。各症例における致死因子の存在割合が増加することにより、死亡率が上昇するため、予後スコアとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The new serum marker would be identify from the protein specially or exclusively present in amniotic fluid by proteomic analysis. The method for detecting circulating levels of the new marker which is high ratio of amnion/serum level may be a sensitive method for diagnosis of AFE. One hundred and thirty-five patients met the criteria of AFE, which included fatal (n=65) and non-fatal AFE (n=70). Maternal full term gestational weeks, multiparous, non-cesarean sections, Sialyl Tn (STN) levels, IL-8 levels, cardiac arrest, dyspnea and loss of consciousness were the risk factors for death found in this study using by chi-square analysis ($p < 0.01$). In regard to each case, an increase in the proportion of lethal factor will also lead to the increase of mortality. It would be adequate for creating the prognostic score of AFE.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	2,100,000	630,000	2,730,000
21年度	700,000	210,000	910,000
22年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：産科学, 血清診断マーカー, Sialyl Tn, 統計, 致死因子, 予後スコア

1. 研究開始当初の背景

(1) 羊水塞栓症の血清学的補助診断マーカー：

本邦における羊水塞栓症の血清学的補助診断法として、母体血清中 Sialyl Tn (STN) と Zinc copropolpyrin1 (Zn-CP1) 値測定の2つ

が存在し、2003年より日本産婦人科医会の羊水塞栓症血清事業として実施されている。しかし、その感度および特異度は、STNが25.8%、97.3%、Zn-CP1が47.7%、73.0%であり、感度に関して不満が残る値である。(1992-2006 AFE 登録症例のデータ解析による)

(2) 致死因子と予後スコア

羊水塞栓症の発症 risk 因子に関する論文報告は存在するが、致死因子を統計的に解析した論文は今までに存在しない。そのため、予後スコアも存在しない。本研究がこれらを解明する初めての試みである。

2. 研究の目的

羊水塞栓症は、分娩中や直後に突然心肺停止に陥り、血圧低下、呼吸困難、出血傾向などを引き起こし、妊婦の約 60% が死亡すると言われている疾患である。原因も不明であり死後の剖検以外に確定診断方法は無い。我々は胎便に特異的な物質である STN の血清中の値を測定するという新たな血清学的診断法を 1992 年に提示し、その有用性を随時報告したため、羊水塞栓症の症例が集約されるに至った。2003 年に日本産婦人科医会の羊水塞栓症血清診断事業がスタートしたため、登録症例は加速的に増加し、2006 年までに予後が明らかな症例は 135 例に及んだ。しかし、従来のマーカーである母体血清中 STN と Zn-CP1 値のみでは、特異度は高いが感度が低いという問題点が浮かび上がってきた。この欠点を補うために、母体血中流入後に分解された低分子 STN を効率良く捕らえる方法を検討する必要がある。その他に、新規マーカーとして、羊水/血清比が高い特異的な物質を探索する必要も考えられる。さらに、1992 年より 2006 年までに羊水塞栓症と診断され登録された予後の明らかな 135 症例を、統計的に処理することにより致死因子を解明し、最終的にはこれら因子を用いた「予後スコア」の構築を行うことにより、訴訟に発展することが多いこの疾患の社会的問題点を解決する糸口を少しでも提供することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 羊水塞栓症血清学的診断マーカー STN と Zn-CP1 値の有用性 :

STN と Zn-CP1 値の感度と特異度に関しては、以前より調査し、上記の結果 (1. 1)) を得ていたが、それらの有用性に関しては未だ、実施していなかった。羊水塞栓症と鑑別が必要な症例も同時に登録されていたため、これらをコントロール群として、 χ^2 検定にて統計学的解析することにより、これらマーカーの有用性を再度検討した。実際に、1992 年から 2006 年までに登録された羊水塞栓症の血清 128 例と、羊水塞栓症と鑑別が必要な疾患であった血清 77 例コントロール群として、STN の閾値を 47U/ml, Zn-CP1 の閾値 1.6 pmol/ml に設定した時の、 χ^2 検定による統計学的解析を施行する。また、それぞれのマーカーの感度・特異度・有病率・偽陽性率・偽陰性率・陽性予測値・陰性予測値・陽性尤度比・陰性尤度比を算出した。これらにより、STN と Zn-CP1 が羊水塞栓症の血清学的診断に有用であるかを再検討する。(投稿中)

(2) 新たな血清学的補助診断マーカーの探索 :

羊水や胎便成分が、母体血中に流入し羊水塞栓症は発症される。3. (1) の方法により STN と Zn-CP1 は、胎便中に特有な物質であり、本症の診断補助マーカーとして有用であることが統計的に証明された。そのため、母体血清中/羊水比が高い羊水中に特有な物質を特定できれば、その物質 (蛋白質) を本症の血清学的診断方法に用いられることが推測された。この蛋白質を、プロテオミクスとタンパクアレイを用いて同定する。(投稿中)

(3) 致死因子の検出

1992 年から 2006 年までに羊水塞栓症として登録され、予後が明らかな 135 例 (死亡 65 例、生存 70 例) を用いる。これら症例の臨床データ 24 項目に関して、生存例と死亡例を比較した χ^2 検定により致死因子を解明する。(投稿済)

(4) 予後スコアの検討

3. (3) で見出された致死因子より、予後スコアの作成を検討する。(投稿準備)

1. 研究成果

(1) STN, Zn-CP1 値の統計値と χ^2 検定

STN と Zn-CP1 の統計値

	STN	Zn-CP1
感度	25.8	47.7
特異度	97.3	73.0
有病率	63.1	60.0
偽陽性率	2.7	27.0
偽陰性率	74.2	52.3
陽性予測値	94.3	72.6
陰性予測値	43.5	48.2
陽性尤度比	9.67	1.77
陰性尤度比	0.76	0.72

STN と Zn-CP1 値の χ^2 検定結果

	STN	Zn-CP1
P-value	0.00003	0.01158

感度に関しては、今までの統計値と同様に低値を示した。しかし、 χ^2 検定において、両マーカー母体血清 STN と Zn-CP1 値とも、AFE の診断に際して有用であることが確認された。低分子 STN の考えによる方法論も重要ではあるが、STN と Zn-CP1 は、胎便に特有な物質のため、胎便が母体血中に流入した場合にのみ陽性となるのが強く予測された。そのため、思考の方向転換を行った。AFE の必要条件として胎児成分の母体血中流入が必要であるが、その成分は胎便主体でも羊水主体でもどちらでも起こりうるため、我々が実施

してきた胎便中に多く含まれるムチン糖鎖のみの研究 (STN 関連) だけではなく、「母体血中に流入した羊水」を証明する必要性が生まれた。そのため、母体血中に比較し羊水中に多く含まれるタンパク質の解析と研究も必要になった。

(投稿中)

(2) 羊水/母体血清比が高いタンパク質を探索するために、新規技術であるプロテオミクス解析を実施し、この比が 100 以上であり実用可能である 6 種類のタンパク質を以下の表の如く見出した。

羊水・血清比	蛋白質
500	IL-6
450	PIPNI
400	SCC
200	CEA
150	IGFBP-1
100	CA125

(投稿中)

(3) 1992 年から 2006 年までに登録された羊水塞栓症データ (IRB 承認) 135 例 (死亡例 65 例と生存例 70 例) を用い、患者背景因子、臨床所見や血液データ (血清 Zn-CP1 値、STN 値、IL-8 値、血清補体価) などの因子を SPSS15.0J を用い統計学的に解析し、致死的风险の高い因子を探索した。その結果、患者背景では経産婦、満期産、経膈分娩が、血清マーカーでは血清 STN 値 47U/ml と IL-8 値 100pg/ml 以上が、臨床症状では、呼吸困難、心停止および意識消失が、羊水塞栓症における母体死亡の危険因子 ($p < 0.05$) として抽出された。

有意差のある項目	χ^2 検定時の P 値	OR	95%CI
呼吸困難	<0.001	5.19	2.15-12.54
心停止		93.33	17.28-504.10
STN		4.78	2.00-11.46
経膈分娩		11.94	3.86-36.93
意識消失	0.001	3.26	1.58-6.71
正期産	0.002	5.00	1.67-14.99
経産婦	0.006	2.76	1.33-5.72
IL-8	0.033	3.86	1.08-13.75

(投稿)

(4) 1992 年から 2006. 年までに登録された羊水塞栓症データ 135 例 (生存例 70 例、死亡例 65 例) を用いて、致死因子 (A【有意差 $P < 0.001$: 経膈分娩、STN 47U/ml 以上、心停止、呼吸困難】、B【有意差 $0.001 \leq P < 0.01$: 意識消失、満期産、経産婦】、C【有意差 $0.01 \leq P < 0.05$: IL-8 100pg/ml 以上】) の各症例における存在割合により、死亡率が変化するかを検討した。致死因子を含む割合が 0-29%、30-59%、60-79%、80-100%における症例の死亡率は、0%、28.5%、70%、91.4%であり、致死因子を含む割合が 60%以上の場合、その症例が死亡する確率は極端に上昇した。有意差が大きな因子をそれぞれ 2 倍 (致死因子 B) および 4 倍 (致死因子 A) に加点した場合の存在加算割合率を計算すると、その加算割合率が 0-29%、30-59%、60-79%、80-100%における症例の死亡率は、3.4%、26.2%、72.2%、96.4%となり、その傾向は更に強くなった。羊水塞栓症発症例において、致死因子を含む割合をみることで、救命の指標となり、またさらに、致死因子を有意差別に加点した予後スコアの作成が、本症における訴訟という社会的な問題を解決する一つの方法になる可能性も示唆された。

(投稿準備)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

① 大井豪一 会員質問コーナー Q&A 羊水塞栓症の診断に関して 産婦人科の進歩 査読無し 2008;60(3):301

② 大井豪一、野口武俊 (5 番目)、小林浩 (8 番目) 症状別解析からみた羊水塞栓症の致死因子 日本産婦人科・新生児血液学会誌 査読無し 2009;19(1):21-22

③ 河元洋、大井豪一 (10 番目)、小林浩 (11 番目) 帝王切開術中に呼吸困難をきたし母体血清亜鉛コプロポルフィリン 1 の著名高値を示した 1 例 周産期医学 査読無し 2010; (40): 1681-1684

④ Oi H、Noguchi T (3 番目)、Kobayashi H. (8 番目): Fatal factors of clinical manifestations and laboratory testing in patients with amniotic fluid embolism. Gynecol Obstet Invest. 査読あり 2010; 70(2):138-144.

[学会発表] (計 4 件)

① 大井豪一 妊婦さんが目の前で羊水塞栓症を発症したら 最善の対処法に関して 第 6 回三河地区学術研修会 H20.11.8 岡崎

- ②大井豪一 致死的羊水塞栓症における危険因子の解明 日本産科婦人科学会 H21.4.3 京都
- ③大井豪一 症状別解析からみた羊水塞栓症の致死的因子 日本産婦人科・新生児血液学会 H21.6.12 札幌
- ④大井豪一 羊水塞栓症における血清 Sialyl Tn 値の意義に関して 日本産科婦人科学会 H22.4.23 東京

〔図書〕(計2件)

- ①大井豪一 創元社 医療の最先端－奈良医大からの発信－羊水塞栓症 まれな病気が突然死に至ることも 2008:P125-129
- ②大井豪一 海馬書房 産婦人科研修ハンドブック 羊水塞栓症 2010:P117-118

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

名称：破水および羊水塞栓症の検査方法
発明者：小林 浩、大井豪一、成瀬勝彦
権利者：アルフレッサファーマ株式会社
種類：特許
番号：特願 2009-151914
出願年月日：26.06.2009
国内外の別：国内

名称：破水および羊水塞栓症の検査方法
発明者：小林 浩、大井豪一、成瀬勝彦
権利者：アルフレッサファーマ株式会社
種類：国際特許 G01N 33/53(2006.01)
番号：PCT/JP2010/060616
出願年月日：23.06.2010
国内外の別：国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大井 豪一 (OI HIDEKAZU)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：10283368

(2) 研究分担者

小林 浩 (HIROSHI KOBAYASHI)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：40178330

野口 武俊 (TAKETOSHI NOGUCHI)
奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：10464661