

平成 22 年 5 月 13 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008 ～ 2009

課題番号：20791132

研究課題名（和文）p57<sup>KIP2</sup>免疫染色による異常妊娠における続発症発生のリスク分類研究課題名（英文）Risk Evaluation of molar pregnancy by p57<sup>KIP2</sup> immunohistochemistry

研究代表者 木原 真紀 (KIHARA MAKI)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20375760

研究成果の概要（和文）：全胞状奇胎は続発症のリスクが高く、部分奇胎や胞状奇胎以外の流産ではリスクが低いとされる。全胞状奇胎の絨毛は父由来の DNA のみで構成され、全奇胎以外の異常妊娠は父母双方由来の DNA から構成されるという特徴から、異常妊娠に対して免疫染色や DNA 解析による診断を行った。今回の研究により、肉眼や組織診断からは全胞状奇胎を診断できていないケースが少なくない、という現状が判明した。現行の胞状奇胎の取り扱い規約の問題点が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：As correct diagnosis of hydatidiform moles in the first trimester is difficult, ancillary diagnostic examination, such as p57<sup>KIP2</sup> immunostaining and DNA polymorphism analysis, is recommended for accurate diagnosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

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：胞状奇胎

## 1. 研究開始当初の背景

近年、早期に異常妊娠と診断されて掻爬される胞状奇胎症例が多くなってきた。この結果、全奇胎でありながら、嚢胞径が十分に大

きく成長していないため部分奇胎あるいは流産などと誤って診断される症例が多くなってきている可能性がある。実際、われわれは、部分奇胎と診断された後に発症した続発

症の症例について、先行妊娠の標本を後方視的に解析したところすべて全奇胎であった。これは、現行の肉眼所見を中心とする診断基準では、続発症リスクの高い全奇胎を見逃していることを示しており、奇胎後の管理にとって重大な問題を投げかけている。

全奇胎は、発生機序に基づく DNA 診断により確定することができる。しかしながら、妊娠初期の標本ではサンプルの量が少なく、DNA 診断を妊娠初期に施行することは容易ではない。また、あらかじめ胞状奇胎を想定して絨毛標本を採取し、脱落膜から分離しておく必要があり、掻爬前に胞状奇胎を想定していないことが多い妊娠初期症例に DNA 診断を行うことは実際には困難である。

これまで、われわれは p57<sup>KIP2</sup> (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1C, CDKN1C) 免疫染色による全胞状奇胎の診断法を報告してきた。父性インプリンティングを受ける p57<sup>KIP2</sup> は、母由来のアリルを有する細胞にのみ発現する。したがって、父由来の DNA のみで構成される全奇胎絨毛には発現せず、部分奇胎や流産といった母由来 DNA を有する絨毛には発現する。したがって、妊娠初期絨毛に p57<sup>KIP2</sup> 免疫染色を行うと、全奇胎は p57<sup>KIP2</sup> 陰性、部分奇胎・流産は陽性となることから、全奇胎のみを他の妊娠から正しく鑑別することができる。免疫染色では、DNA 診断と異なり少量の絨毛サンプルで診断可能で、かつあらかじめ脱落膜などと分離しておく必要がない。したがって、妊娠初期の診断にとって極めて有用な診断法となる可能性がある。

そこで、われわれは p57<sup>KIP2</sup> 免疫診断法を妊娠早期の胞状奇胎診断に適用し、胞状奇胎後の管理方針の決定に生かすことができると考えた。しかし、このような本格的な介入研究を行う前段階として、p57<sup>KIP2</sup> 免疫診断法を

用いて診断を行い、正しくその後の予後を判定できたことを確認する前方視的研究を行う必要があると判断した。

## 2. 研究の目的

県内の一般婦人科施設や当院において掻爬された症例について、病理学的に全奇胎ではないとされたものの中からどのくらいの雄核発生全奇胎が拾い上げられるのかを検討する。また、それら症例の予後について追跡し、p57<sup>KIP2</sup> 陰性妊娠と陽性妊娠のそれぞれにおける続発症の発生率を明らかにする。

## 3. 研究の方法

研究は、学内の生命倫理委員会の承認のもと、文書による患者の同意を得て実施した。

【対象】臨床的に胞状奇胎あるいは異常妊娠を疑って千葉県内で掻爬され、絨毛組織が採取でき、妊娠母体から研究参加について文書による同意が得られた症例を対象とした。

【方法】患者紹介または、病理標本の紹介により、研究に参加してもらった。掻爬後の管理は、絨毛性疾患取り扱い規約にそった診断に基づいて行った。得られた情報を整理して、p57<sup>KIP2</sup> 免疫染色や DNA 診断に基づいた場合とで、続発症発生リスクの予測精度を比較した。

① 肉眼診断および病理組織学的診断  
肉眼診断は、臨床医が行う。病理診断は、二名の病理医が独立して検鏡を行い、流産組織・部分奇胎・全奇胎の鑑別を行う。

### ② DNA 分析

DNA 多型解析: 母体末梢血中リンパ球および奇胎絨毛組織より、QIAamp DNA mini kit (Qiagen Inc, Valencia, CA) を用

いてDNAを抽出する。Polymerase chain reaction (PCR)によって、アリの複数のshort tandem repeat (STR) markerを増幅し、母体アリと奇胎アリにおける各STRサイズを比較する。奇胎が母体アリなしの構成であれば雄核発生が証明できる。

### ③ p57<sup>KIP2</sup>免疫染色

Lab Vision (Fremont, USA)社の抗p57<sup>KIP2</sup>モノクローナル抗体を用いてEnvision System(Dako Cytomation, Glostrup, Denmark)により免疫染色を行い、絨毛栄養膜細胞(villous trophoblast)および絨毛間質細胞(mesenchyme cell)の核の10%以上に染色を認めるものを陽性と判断する。絨毛外の中間型栄養膜細胞 extravillous trophoblastの核は、正常絨毛だけでなく全奇胎・部分奇胎絨毛においてもp57<sup>KIP2</sup>染色陽性となるので、同一標本内の絨毛外中間型栄養膜細胞を陽性コントロールとして用い、逆に合胞体細胞(syncytiotrophoblast)は正常絨毛・全奇胎絨毛・部分奇胎絨毛いずれにおいてもp57<sup>KIP2</sup>陰性となることから、同一標本内の合胞体細胞を陰性コントロールとする。絨毛栄養膜細胞核と間質細胞核の染色性が一致しないものは判定不能とした。

### ④ 病理組織学的診断とDNA診断とp57<sup>KIP2</sup>免疫染色の結果の検討

病理組織診断とDNA診断とp57<sup>KIP2</sup>免疫染色診断の結果を比較検討する。DNA診断を最終診断として、全奇胎診断についてこれとの一致率をみる。

### ⑤ 症例の追跡、解析

上記の研究対象群においては最低1年以上の追跡期間をおき、続発症の発生について追跡した。

## 4. 研究成果

### 【A群】

千葉県内の17施設より、各施設での肉眼または組織診断において胞状奇胎およびその疑いとされた30症例の研究参加を得た。30例のうち組織学的診断が全奇胎であった9例は、免疫診断ではすべて雄核発生全奇胎であった。組織学的に部分奇胎とされた16例のうち、免疫診断では7例が両親由来、7例は雄核発生全奇胎、1例は雄核発生全奇胎と正常絨毛の双胎(胎児共存全奇胎)と診断され、1例は判定不能であった。組織学的に水腫様流産とされた5例のうち、免疫診断で3例は両親由来、2例は判定不能であった。肉眼診断で全奇胎とは判断されていない症例が18例あったが、そのうち6例が免疫診断で雄核発生全奇胎(1例は胎児共存全奇胎)であった。続発症は、組織診断で全奇胎・免疫診断で雄核発生全奇胎と診断された1例、および、組織診断で部分奇胎・免疫診断で胎児共存全奇胎の1例の合計2例に認められた。免疫診断で両親由来と判断された10例からは続発症は認めなかった。

### 【B群】

院内での経験症例のうち、組織診断と免疫染色診断とDNA診断の三者を比較できた症例が7例あり、これらをB群とした。B群においては、DNA診断で全奇胎が5例、部分奇胎が2例あった。組織診断と免疫染色診断とDNA診断の三者を比較できた症例では、免疫染色診断とDNA診断の結果は完全に一致した。

以上の結果より、肉眼や組織診断で全奇胎とはされていない症例の中に、雄核発生全奇胎が多く含まれている可能性が示された。

## 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 2 件)

① 木原真紀、松井英雄、碓井宏和、ハタケリゲ・ハナゾノヤリ・中村裕美・川野みどり、田中宏一、長田久夫、生水真紀夫  
胎児共存奇胎と部分奇胎  
産科と婦人科、査読無、43 巻、2009、289-293

② 木原真紀、松井英雄、中村裕美、川野みどり、碓井宏和、生水真紀夫  
胞状奇胎が疑われる異常妊娠の診断上の問題点と p57<sup>KIP2</sup> 免疫染色の役割  
日本産科婦人科学会千葉地方部会雑誌、査読あり、1 巻、2008、6-8

[学会発表] (計 2 件)

① 木原真紀、松井英雄、碓井宏和、Baasanjav Batzorig、金谷裕美、川野みどり、田中宏一、長田久夫、生水真紀夫  
胎児と囊胞状絨毛が共存する疾患における p57<sup>KIP2</sup> 免疫染色

第 26 回日本絨毛性疾患研究会  
平成 20 年 11 月 13 日、浜松

② 木原真紀、碓井宏和、Baasanjav Batzorig、田中宏一、加来博志、楯真一、長田久夫、生水真紀夫、松井英雄

p57<sup>KIP2</sup> 免疫組織診断の意義  
第 27 回日本絨毛性疾患研究会  
平成 21 年 10 月 16 日、東京

[その他]

なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

木原 真紀 (KIHARA MAKI)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20375760