

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22791514

研究課題名（和文）免疫染色による胞状奇胎妊娠後続発症リスクの評価

研究課題名（英文）Risk Evaluation of post-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。28 例の検討から、一精子受精による全奇胎よりも二精子受精による全奇胎のほうが続発症の発生が高い可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In order to evaluate the post molar persistent diseases, we examined the DNA profile in abnormal conceptions. From the result of 28 cases, Heterozygous CHM had a higher risk for GTN than homozygous CHM.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

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、臨床医が行った。

### 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を抽出した。Polymerase chain reaction (PCR)によって、アリルの複数のshort tandem repeat (STR) markerを増幅し、母体アリルと奇胎アリルにおける各STRサイズを比較する。奇胎が母体アリル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。絨毛外の間中型栄養膜細胞 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

28例において、DNA多型解析を行った。そのうち24例がHOMOZYGOUS(一精子受精由来)全奇胎、4例がHETEROZYGOUS(二精子受精由来)全奇胎であった。

続発症は、24例の一精子受精全奇胎のうちの6例、および二精子受精由来全奇胎の全奇胎4例全例に認められた。

免疫染色診断は、時に診断不能であり、DNA多型解析に比べると確実性において劣る可

能性が示された。

以上の結果より、一精子受精による全奇胎よりも二精子受精による全奇胎のほうが続発症の発生が高い可能性が示唆された。

#### 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 Usui H, Kaku H, Kihara M, Shozu M. Molecular distinction of consecutive molar pregnancies. *Obstet Gynecol.* 査読あり、117巻(2, Part 2)、2011、492-495.
- ② B. Baasanjav, H. Usui, M. Kihara, H. Kaku, E. Nakada, S. Tate, A. Mitsuhashi, H. Matsui and M. Shozu. The risk of post-molar gestational trophoblastic neoplasia is higher in heterozygous than in homozygous complete hydatidiform moles. *Hum Reprod.* 査読あり、25巻5号、2010、1183-91.

[学会発表](計2件)

- ① 木原真紀、碓井宏和、楯真一、加来博志、藤田真紀、三橋暁、長田久夫、生水真紀夫. 雄核発生全奇胎の超音波像:部分奇胎と鑑別困難な超音波像を示す例が少ない. 第63回日本産科婦人科学会学術講演会. 平成23年8月29日、大阪
- ② 木原真紀、碓井宏和、加来博志、植原貴史、金谷裕美、川野みどり、田中宏一、長田久夫、生水真紀夫. p57<sup>KIP2</sup>免疫染色の有用性:肉眼・組織診断では雄核発生全奇胎の見逃しがある. 第62回日本産科婦人科学会学術講演会. 平成22年4月23日、東京

〔図書〕

なし

〔産業財産権〕

なし

〔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