

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460738

研究課題名(和文) 母児間免疫寛容に注目した絨毛膜羊膜炎を伴う早産の予防戦略

研究課題名(英文) Prevention strategy focused on maternal anti-fetal rejection for preterm delivery in women with chorioamnionitis

研究代表者

小畠 真奈 (Obata-Yasuoka, Mana)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：20420086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、母児間免疫寛容に着目した早産の新しい予防戦略をたてることを目的とした。第一段階として行った病理組織学検査と診療録の後方視的検討からは、母児間免疫寛容の破綻による早産は一定頻度存在するものの、絨毛膜羊膜炎を伴う早産の主要な機序である可能性は低いと考えられた。次に、妊娠初期・中期・後期の妊婦について母児間免疫寛容で主要な役割を果たす血漿中の可溶性HLA-G値を測定し、早産との関連を評価した。早産発症の指標としての妊婦血漿中のHLA-G値の有用性を明らかにすることはできなかった。最後にスクリーニングに基づいた介入による絨毛膜羊膜炎を伴う早産の予防プロトコルを作成した。

研究成果の概要(英文)：Our aim was to develop a prevention strategy focused on maternal anti-fetal rejection for preterm delivery in women with chorioamnionitis. Although a considerable number of preterm deliveries are related to maternal anti-fetal rejection, we could not find evidence of their prevalence. We analyzed plasma soluble HLA-G levels in the first trimester of each of the 23 pregnant women. Owing to the limited number of cases, we could not establish the utility of plasma soluble HLA-G level in early pregnancy as an index marker of preterm delivery. We set the prevention protocol for preterm delivery, including screening for bacterial vaginosis and asymptomatic bacteriuria, measurement of uterine cervical length, and intervention with progesterone supplementation.

研究分野：産婦人科学

キーワード：早産 母児間免疫寛容 絨毛膜羊膜炎

1. 研究開始当初の背景

自然早産や前期破水の主要な原因の一つに絨毛膜羊膜炎 chorioamnionitis がある。胎児付属物である絨毛膜や羊膜に炎症が及んだ状態であるが、組織学的に絨毛膜羊膜炎と診断された症例の羊水や胎盤、臍帯あるいは児から原因となりうる微生物が培養同定されるのは約 37% にすぎない。

一方、妊娠の維持には、母体と胎児間の免疫寛容が関与していると考えられており、これが破綻することが早産発症につながる可能性が指摘されている。絨毛膜、羊膜と同じく胎児付属物である胎盤の絨毛の炎症 villitis of unknown etiology (VUE) は胎児発育不全や反復する胎児死亡の原因として、注目されており、自然早産でも約 19% に見られる。VUE の発症機序は、臓器移植における宿主対移植片反応と類似した母児の相互拒絶反応と推測されている。

母児間免疫寛容で主要な役割を果たす human leukocyte antigen-G (HLA-G) は絨毛細胞に発現し、母体の NK 細胞の阻止受容体のリガンドとなるため、NK 細胞の攻撃を免れることで妊娠を維持する。絨毛細胞上の HLA-G は、T リンパ球、B リンパ球、マクロファージ、抗原提示細胞のリガンドとなることが知られている他、羊水中の可溶性 HLA-G の発現量が正常産と早産で異なるという報告がある。さらに早産の予防薬として有望視されるプロゲステロンが、HLA-G 遺伝子の発現を促進するという報告は、母児間免疫寛容と早産の関連を示唆している。

以上より、自然早産の原因の一つとして細菌感染を伴わない絨毛膜羊膜炎が存在し、そこには免疫学的な機序が関与していることが推測される。しかしながら、免疫学的機序に注目した早産予防に関する臨床研究や、早産予防薬の使用に関するガイドラインは本邦にはなく、米国産婦人科学会においても、いまだ明確な勧告はなされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「自然早産の発症機序として、母児間免疫寛容の破綻がある」という仮説のもとに、母児間免疫寛容の維持を基盤とした、自然早産の予防のためのプロトコルを作成し検証を行うことである。

感染制御および免疫学的観点からのスクリーニングと介入によって早産の予防を試みる本研究によって、早産が予防可能となれば、新生児の短期・長期予後の改善につながり、未熟児医療にかかる莫大な費用が削減できる。

3. 研究の方法

研究の方法を三段階に設定した。第一段階では、母児間免疫寛容が関係すると推測される早産の頻度を後方視的に明らかにし、そのような早産のリスク因子を明らかにする。第二段階では、母児間免疫寛容に関わる因子として、母体の血漿 HLA-G を測定し、自然早産例と正常産例における相違を検討し、早産の予測マーカーとしての利用可能性を検討する。最後に、臨床的なリスク因子と血漿 HLA-G 値に基づいて母児間免疫寛容が関連する早産のハイリスク妊婦を抽出し、プロゲステロン投与を行うという早産予防プロトコルを作成する。

(1) 2004 年 4 月 1 日から 2014 年 3 月 31 日までに筑波大学附属病院で自然早産となった妊娠 22 週 0 日から妊娠 34 週 6 日までの症例の病理組織学的検査および診療録を後方視的に検討した。臨床的絨毛膜羊膜炎の診断は、表 1 に準拠した。

表 1. 臨床的絨毛膜羊膜炎の診断の目安

臨床所見

- ・母体発熱 38 かつ次の所見の 1 つ以上
 - 1) 母体頻脈 100/分
 - 2) 子宮の圧痛
 - 3) 膣分泌物/羊水の悪臭
 - 4) 母体白血球数 15,000/μL
- ・体温 < 38 であっても 1)~4) 全て認める場合かつ他の臓器に明らかな感染がない

(2) 筑波大学附属病院産婦人科を妊娠 12 週までに受診した、当院で分娩予定の妊娠女性に、本研究の意義・目的・方法・想定される不利益などについて文書および口頭にて充分説明し、このうち文書で同意の得られた妊娠女性に対して妊娠初期・妊娠中期・妊娠後期の 3 回にわたり採血を行った。血液は各回とも 5mL 採取し、1 時間以内に遠心分離、血漿として -20 で保存した。可溶性 HLA-G は 1 検体につき 2 回、ELISA 法 (BioVendor 社, RD194070100R sHLA-G ELISA) を用いて測定した。

また、これらの女性について、流産あるいは早産の有無および早産の進行状況を含む母体の臨床経過と胎児・新生児の臨床経過を解析した。血漿中の可溶性 HLA-G 値と母児の臨床経過との関連を評価し、血漿 HLA-G 値が早産予防の指標となりうるかを検証した。

(3) 上記の方法 (1) と (2) で得られた結果を踏まえ、筑波大学附属病院で分娩予定の妊娠女性に対する早産予防プロトコルを作成し、これに基づいた臨床研究を計画した。

4. 研究成果

(1) 母児間免疫寛容が関与する早産の頻度

筑波大学附属病院で2004年4月1日から2014年3月31日までに自然早産となった妊娠22週0日から妊娠34週6日までの妊婦335例について検討を行った。分娩時の妊娠週数の分布と破水の有無を図1に示した。

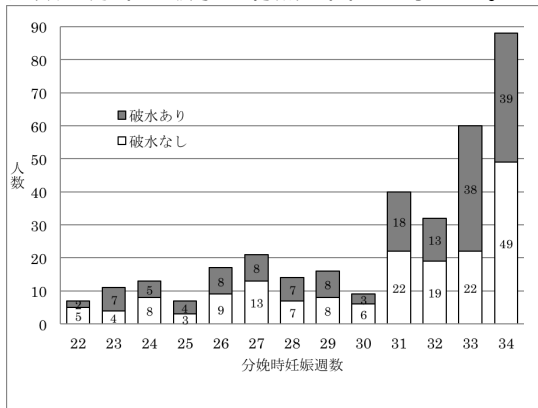


図1. 自然早産の症例

早産335例中、破水を伴うものは52%であり、早産児の妊娠週数による破水の頻度に差は認められなかった。検討の結果、臨床的に絨毛膜羊膜炎が疑われた症例については組織学的絨毛膜羊膜炎が存在していた。

一方、臨床的に絨毛膜羊膜炎が疑われなかった症例で組織学的に絨毛膜羊膜炎と診断された症例は認められたが、VUEと診断された症例は認められなかった。当院の早産症例におけるその存在頻度は明らかにできなかったものの、臨床的に絨毛膜羊膜炎が疑われなかった症例のうち、組織学的に絨毛膜羊膜炎を認めた症例については、母児間免疫寛容が関与する早産である可能性が示唆された。

(2) 血漿中可溶性 HLA-G 値の早産予測マーカーとしての利用可能性

23人の妊婦についてそれぞれ妊娠初期、妊娠中期、妊娠後期に血液を採取し可溶性HLA-Gの測定を行った。対象となった妊婦において、自然早産は認められず、HLA-G値による早産予測が可能であることを示唆する結果は得られなかった。経時的な検体採取と測定が可能であった9症例の妊娠経過に伴う血漿HLA-G値の推移を図2に示した。

妊娠経過に伴うHLA-G値の変化に一定の傾向は認められなかった。早産は、妊娠33週に妊娠高血圧症候群のため人工早産となった1例のみであった。この症例では、妊娠高血圧症候群を認めなかった他の症例よりも血漿HLA-Gは高値であったが、妊娠高血圧症候群等の妊娠合併症の有無によるHLA-Gの値の変動は明らかではなかった。

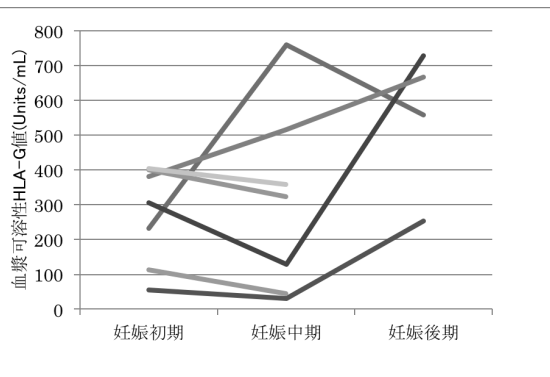


図2. 妊娠経過に伴う血漿 HLA-G 値の推移

(3) 早産予防プロトコルの作成

自然早産をI型早産：感染を伴う絨毛膜羊膜炎、II型早産：感染を伴わない絨毛膜羊膜炎、III型早産：VUE、IV型早産：それ以外、のI~IV型に分類した。母児間免疫寛容の破綻が関与する可能性が高いII型早産あるいはIII型早産が予測される妊娠女性に対する、プロゲステロン補充による早産予防プロトコルを作成し(図3)、筑波大学附属病院で分娩予定の妊娠女性を対象とした臨床研究を計画した。

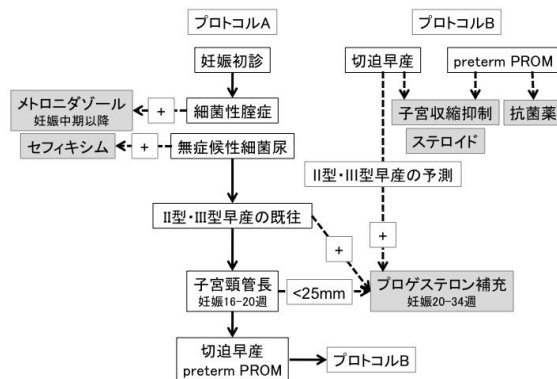


図3. 早産予防プロトコル

早産予防の介入は、図3に示すようにプロトコルA：ハイリスク群の抽出と予防(二次予防)、プロトコルB：発症後の急性期治療と維持療法(三次予防)の二通りのアプローチで行う。

プロトコルAは、妊娠初期からのスクリーニングによるハイリスク群の抽出と予防である。ハイリスク群の抽出にあたっては、妊娠初期における問診(過去の早産歴があれば上記I~IV型の鑑別)、細菌性膣症のスクリーニング、無症候性細菌性尿のスクリーニング、子宮頸管長の測定を行う。予防介入は、妊娠中期以降の細菌性膣症の治療(メトロニダゾール経口投与)、無症候性細菌尿の治療(セフィキシム経口投与)、母児間免疫寛容が関与する可能性があるII型早

産と III 型早産の既往がある女性へのプロゲステロン補充（妊娠 20～34 週のヒドロキシプロゲステロンカプロン酸エステル筋注）、妊娠 16～20 週に測定した子宮頸管長が 25mm 未満の女性に対するプロゲステロン補充である。

プロトコル B は、切迫早産あるいは preterm PROM を発症後の急性期治療と維持療法である。切迫早産発症例に対しては、胎児肺成熟を目的としたステロイドを投与する間（48 時間）の子宮収縮抑制剤（第一選択：塩酸リトドリン，第二選択：硫酸マグネシウム）投与による急性期治療を行う。II 型早産と III 型早産と予測される症例に対してはその後、維持療法として妊娠 34 週までのプロゲステロン補充を行う。preterm PROM 発症例に対しては、胎児肺成熟を目的としたステロイドを投与する間（48 時間）の子宮収縮抑制剤（第一選択：塩酸リトドリン，第二選択：硫酸マグネシウム）および抗菌薬経静脈的投与を行う。維持療法としては抗菌薬投与のみで、プロゲステロンは投与しない。

上記のような早産予防のプロトコルを作成したが、研究期間中に本邦において腔内プロゲステロン補充による介入を組み込んだ多施設共同研究が開始されているため、当施設およびエントリー数が少ない場合にリクルートを検討していた県内の 2 施設を加えた規模の研究による症例の集積で有用性を証明することは難しいと考えられ、研究期間中にはプロトコルの遂行と検証には到らなかった。

<引用文献>

The frequency, clinical significance, and pathological features of chronic chorioamnionitis: a lesion associated with spontaneous preterm birth. Kim CJ, et al., *Modern Pathology* 2010; 23(7): 1000-11.

Villitis of unknown etiology: noninfectious chronic villitis in the placenta. Redline RW, et al., *Human Pathol.* 2007; 38(10): 1439-46.

HLA-G and immune tolerance in pregnancy. Hunt JS, et al., *FASEB J.* 2005; 19(7): 681-93.

Progesterone supplement in pregnancy: an immunologic therapy? Ragusa A, et al., *Lupus* 2004; 13(9): 639-42.

Amniotic fluid soluble human leukocyte antigen-G in term and preterm parturition, and intra-amniotic infection/inflammation. Kusanovic JP, et al. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009; 22(12): 1151-66.

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

小島真奈、臨床的絨毛膜羊膜炎が疑われる分娩を管理する、第 68 回日本産科婦人科学会学術講演会、2016 年 4 月 24 日、東京国際フォーラム（東京都千代田区）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 真奈 (Mana Obata-Yasuoka)
筑波大学・医学医療系・准教授
研究者番号：20420086

(2) 研究分担者

濱田 洋実 (Hiromi Hamada)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：60162799