

Immunohistochemical study of annexin V expression in placentae of preeclampsia

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 束, 放 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1160

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 307号	学位授与年月日	平成12年 3月27日
氏名	束 放		
論文題目	Immunohistochemical study of annexin V expression in placentae of preeclampsia (妊娠中毒症胎盤絨毛におけるアネキシンV発現の免疫組織化学的研究)		

博士(医学) 束 放

論文題目

Immunohistochemical study of annexin V expression in placenta of preeclampsia

(妊娠中毒症胎盤絨毛におけるアネキシンV発現の免疫組織化学的研究)

論文の内容の要旨

[はじめに]

妊娠中毒症は子宮内胎児発育遅延(IUGR)をよく伴う周産期医療における重要な疾患のひとつであるが、その機序は十分解明されていない。特に妊娠中毒症における胎児発育障害の原因の一つとしては血管攣縮と血液凝固能亢進の結果引き起こされた子宮胎盤血流の低下が挙げられている。ところで、胎盤で初めて発見されたCaイオンーリン脂質依存性細胞内タンパク質であるアネキシンVはフォスファチジルセリンなどの陰性荷電のリン脂質と結合することにより、FVa、FXaのリン脂質への結合に競合的に作用して抗凝固的に働くことが過去報告されてきている。このアネキシンVは胎盤の合胞栄養細胞内に局在していると考えられ、細胞膜上における抗凝固タンパク質としての意義は不明とされてきた。しかし最近、細胞表面にその局在が認められたことから、胎盤絨毛間腔での抗凝固因子としての意義が再び注目されつつある。そこで、妊娠中毒症患者胎盤におけるアネキシンVの染色性と各種凝固線溶系マーカーならびに胎児発育との関連性を検討した。

[方法]

当科で分娩管理を行ったGestosis Index (GI) 3点以上の早期発症型を含む妊娠中毒症妊婦17例(日本産科婦人科学会の判定基準による)および対照として正常妊婦7例について後方視的に検討した。

- 1) 免疫組織化学的検討：分娩後ただちに脱落膜層を含む胎盤組織を採取し、10%中性ホルマリンにより固定、パラフィン包埋ののち、免疫染色を行った。染色方法はhorseradish peroxidase conjugated streptavidin biotin法を用いた。一次抗体として抗ヒトアネキシンV単クローン抗体(濃度40 μ g/ml)及び抗ヒトフィブリン単クローン抗体(濃度40 μ g/ml)を用いた。
- 2) アネキシンV染色性とthrombin-antithrombin III complex (TAT) 値、fibrin degradation products (FDP)、仁志田の胎児発育曲線に基づいた在胎週数時の児標準体重から算出した標準偏差(SD)、妊娠中毒症患者のGIとの関係について統計学的に検討した。検定方法としてスピアマン順位相関法を用いた。

[結果]

- 1) 免疫組織化学的検討：妊娠中毒症患者の胎盤におけるHE染色では、一部の絨毛細胞がその構築を失い、同部分にフィブリンの沈着が認められた。アネキシンVの染色像では、正常胎盤の絨毛細胞及び脱落膜細胞の細胞質に同程度に強く染色されていた。一方、妊娠中毒症患者胎盤のアネキシンV染色像は、絨毛細胞および脱落膜細胞に局在を示し、正常胎盤と比較して染色性が減弱していた。

2) 患者背景と染色性についての検討

胎盤におけるアネキシンV染色性の減弱に伴い患者入院時GI値が上昇する傾向を示した(相関係数 $r = -0.814$, $P < 0.001$)。在胎週数時の児標準体重のSDはアネキシンV染色性の減弱に伴い減少する傾向を示した(相関係数 $r = 0.48$, $P < 0.05$)。また、アネキシンV染色性の減弱に伴い、患者のFDP値及びTAT値

が増加している傾向が示された(相関係数 $r = -0.643$, $P < 0.05$; $r = -0.482$, $P < 0.005$)。

[考察]

本研究において、我々は妊娠中毒症患者胎盤絨毛間腔では正常妊婦胎盤と比較してフィブリン沈着の増加、並びにアネキシンV発現が正常胎盤絨毛細胞より減弱していることを組織化学的に明らかにした。また、臨床検査上もアネキシンVの染色の減弱に相関して凝固線溶系マーカー値が増加しており、妊娠中毒症患者においてはトロンピンが通常より多く形成されている事を示唆している。もちろん妊娠中毒症患者絨毛細胞におけるアネキシンV発現の減弱化はトロンピン産生の増加の直接的原因となっているのか、結果であるのかはまだ不明の点がある。しかしながら、アネキシンVと妊娠中毒症例の臨床データも示すように、その減弱につれて在胎週数時の児標準体重のSDが減少、さらに中毒症の病状の指標であるGIが増加しており、アネキシンV発現の減弱の結果子宮胎盤循環内の過凝固状態を惹起、子宮胎盤血流量が減少し、妊娠中毒症の重症化と同時にIUGRを惹起した可能性があるといえる。このように過去、胎盤における発現の臨床的な意義が不明であったアネキシンVが妊娠中毒症における発症機序に関与し、胎児発育遅延の形成にも深く関わっている可能性があり、今後臨床的一指標となりうると考えられる。

論文審査の結果の要旨

妊娠中毒症は子宮内循環不全と血液凝固異常を伴い、子宮内胎児発育不全(IUGR)を生ずる周産期医学の重要な疾患である。妊娠中毒症における胎児発育障害の主たる原因として胎盤血管攣縮と胎盤内血液凝固亢進に伴う胎盤内血流の低下が挙げられている。胎盤で発見されたCaイオンおよびリン脂質依存性細胞内蛋白質であるアネキシンVは、フォスファチジルセリン(PS)などの陰性荷電リン脂質と結合することにより、FVa、FXaのリン脂質への結合に拮抗的に働くと考えられている。アネキシンVは胎盤の合胞栄養細胞で産生され、膜表面に発現することにより絨毛間腔の血液の流動性の保持に重要な抗凝固因子として最近注目されている。本研究は妊娠中毒症患者の胎盤におけるアネキシンVの染色性と各種凝固線溶系マーカーおよび胎児発育との関連性を調べた。

対象は浜松医科大学産婦人科学教室で分娩管理を行ったGestosis Index (GI) 3点以上の妊娠中毒症患者17例および対照として、正常妊婦7例について検討した。胎盤の免疫組織学的検討のために、一次抗体として抗ヒトアネキシンV単クローン抗体および抗ヒトフィブリン単クローン抗体を用いた。胎盤におけるアネキシンVの染色性と、thrombin-antithrombin III complex (TAT) 値、fibrin degradation products (FDP) 値、胎児標準体重から算出した標準偏差(SD)、妊娠中毒症患者GIとの関係について統計学的に検討した。

妊娠中毒症患者の胎盤では一部の栄養細胞がその構築を失い、その部位にフィブリンの沈着を認めた。アネキシンVの免疫染色では、正常胎盤では合胞栄養膜細胞が強く染色された。妊娠中毒症患者の胎盤ではその染色性が減弱していた。アネキシンVの胎盤における染色強度を1+, 2+, 3+, と3段階に分類した。アネキシンVの染色性の減弱に伴い妊娠中毒症患者のGI値が上昇する傾向を示し、在胎週数時の胎児標準体重のSDはアネキシンVの染色性の減弱に伴い減少する傾向を示した。また染色性の減弱に伴い、妊娠中毒症患者のFDP値およびTAT値が増加している傾向を示した。

以上の結果より、妊娠中毒症患者の胎盤絨毛間腔では正常胎盤と比較して、フィブリン沈着の増加と相反してアネキシンVの栄養膜細胞における発現が減弱していること、またアネキシンVの発現の減弱と

妊娠中毒症の重症度および低体重児の程度とが相関し、凝固線溶系マーカー値の増加とも相関することを明らかにした。

論文審査委員会では、本研究がアネキシンVの胎盤絨毛での発現と、妊娠中毒症の重症度、胎児発育遅滞、凝固線溶系マーカーに与える影響との関係を解析した最初の論文として評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) アネキシンVは血清に存在するか、また妊娠に伴って変化するか
- 2) 免疫染色のコントロールについて
- 3) アネキシンVの胎盤の部位による発現の違いについて
- 4) アネキシンVおよびフィブリンに対する抗体の由来と性質について
- 5) アネキシンVの胎盤における発育に伴う変化について
- 6) 胎盤でアネキシンVはどのような機構でその発現が調節されているか
- 7) 胎盤のアネキシンVを定量的に測定するためにどのような方法があるか
- 8) 統計処理方法の選択とその評価について
- 9) 胎児の体重のSDのばらつきが生ずることについて、アネキシンV以外にどのような要因が考えられるか
- 10) 妊娠中毒症と胎盤重量との関係について
- 11) 凝固促進リン脂質投与マウスの実験モデルについて、胎盤で血栓ができるのになぜ肺や腎臓でできないか
- 12) 凝固促進リン脂質投与マウスの実験モデルの胎盤でアネキシンVはどう変化するか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査委員会全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 筒井 祥 博

副査 大 関 武 彦 副査 浦 野 哲 盟