

# 胎便に反応するムチン母核構造を認識する抗体を用いた羊水塞栓症の診断に関する基礎的検討

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大井, 豪一 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1426">http://hdl.handle.net/10271/1426</a>

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	医博論第 149号	学位授与年月日	平成 5年 4月16日
氏名	大井 豪一		
論文題目	胎便に反応するムチン母核構造を認識する抗体を用いた羊水塞栓症の診断に関する基礎的検討		

医学博士 大井 豪一

論文題目

胎便に反応するムチン母核構造を認識する抗体を用いた羊水塞栓症の診断に関する基礎的検討

論文の内容の要旨

羊水塞栓症は、稀な産科合併症であるが、その臨床経過は極めて急性でかつ重篤であり、母体死亡率は80%と高く、その確定診断は死後の剖検によりなされることが多い。そこで、発症後直ちに検査可能となる血清学的診断の確立が切望されている。卵巣癌及び大腸癌などの腫瘍マーカーとして使用されている5種類のムチン母核構造を認識する抗体 (TKH-2, MA54, MA61, CC49, B72.3) が、胎便中のムチンと反応すれば、胎便及び羊水が母体血中に流入することにより発症する羊水塞栓症の診断に有用である可能性が推測される。つまり、外因性のムチン流入により、母体血清中のムチン濃度の上昇がムチン母核構造を認識する抗体により確認されることが推測される。そこで、ムチン母核構造を認識する抗体を用いた羊水塞栓症の血清学的診断に関する基礎的検討を行った。ゲル濾過法によりムチン豊富な分画を集めた胎便抽出液を96穴 multiter plate に固相し胎便 plate を作成した。この胎便 plate を用い、ムチン母核構造を認識する5種類のモノクローナル抗体 (TKH-2, MA54, MA61, B72.3, CC49) の胎便抽出液に対する反応性をELISA法にて検討した。同じ plate で、各種 mono-, di-, oligosaccharide, ovine submaxillary mucin (OSM), 合計11種類の糖鎖を用いた competition assay 法により、胎便抽出液に対する各種抗体の特異性を検討した。その結果、すべての抗体が胎便中のムチンと反応し、その中でもTKH-2抗体が最も低濃度で胎便抽出液と反応することを確認した。また、11種類の糖鎖に対する阻害実験の結果TKH-2抗体は、その免疫源であるOSMのみに阻害されるが、TKH-2抗体以外の抗体はOSM以外に、他の糖鎖による阻害も軽度受けた。また、同じ胎便プレートを用い、固相されている胎便由来のムチンをneuraminidase処理することにより、シアル酸分画を切断したところ、TKH-2, MA54, MA61の反応性は消失したが、B72.3, CC49はほとんど影響を受けなかった。以上の実験より、胎便抽出液との反応はTKH-2抗体が最も感度がよく、このTKH-2抗体は他の抗体に比較してNeuAc2-6GalNAc (sialyl Tn; STN) を特異的に認識していることを確認した。そこで、このTKH-2抗体を利用して羊水中のSTN抗原濃度を測定した。測定法は、「STN オーツカ」によるcompetitive radioimmunoassay kitによりduplicateで測定した。肉眼的に混濁のない羊水のSTN抗原濃度のmean±SDは、86.1±100.6U/mlであるのに対し、肉眼的に混濁のあった羊水のSTN抗原濃度は783.2±237.2U/mlであり、後者は前者に比較して有意に高値を示した ( $p < 0.03$ )。この結果より、羊水のSTN抗原濃度の測定により羊水中に混入した胎便の量を客観的かつ定量的に評価することが可能であることが判明した。次に、羊水塞栓症症状を認めなかった分娩直後の母体血清STN抗原濃度を、分娩時羊水混濁を認めた群(13例)及び認めなかった群(10例)の2群に分け検討した。羊水混濁を認めた群は29.6±19.0U/ml、羊水混濁を認めなかった群は17.5±10.6U/mlと、母体血清STN抗原濃度は、羊水混濁を認めた群において少し高い傾向を認めた。この結果は正常分娩時においても、多少の胎児成分の母体血中流入が認められることを示唆する所見と考える。次に、羊水塞栓症により死亡(2例)した患者の母体血清STN抗原濃度を測定した。測定値は189U/ml及び82U/ml(発症14時間後及び6時間後に採取)と高値を示した。以上の結果より、羊水塞栓症により死亡した群(2例)及び羊水塞栓症症状を認めなかった群(23例)の母体血清STN抗原濃度を比較検討すると、羊水塞栓症により死亡した群は明らかに高値を示してい

た。よって、母体血清 STN 抗原濃度測定は、羊水塞栓症の血清学的診断法の有用な検査法の一つであることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

羊水塞栓症は、本邦では1万～5万分娩に1例の頻度で起こる稀な産科合併症である。妊産婦死亡率において、他の産科合併症は年々減少しているにもかかわらず羊水塞栓症は増加している。さらにその臨床経過は極めて急性で重篤であるため、母体死亡率は80%と高い。現在では確定診断は死後の剖検にすることが多い。このため、発症後直ちに検査可能となる血清学的診断の確立が望まれている。

申請者は、羊水塞栓症がムチン豊富な胎便及び羊水が母体血中に流入することにより起こることに着目し、ムチンの母核構造を認識する抗体を用いることにより診断が出来ないかを検討した。

ムチンの母核構造を認識するモノクローナル抗体は5種類あるが、このうち TKH-2 抗体が胎便のムチンと最も特異的に、しかも感度良く反応することを見出した。さらにこの抗体は、胎便ムチンの NeuAc $\alpha$  2 - 6 GalNAc (Sialyl Tn; STN) を特異的に認識していることを見出した。この抗体を用いて competitive radioimmunoassay を行うと、肉眼的に混濁のない羊水の STN 抗原濃度は、 $86.1 \pm 100.6 \text{ U / ml}$  (mean  $\pm$  2 SD) であるのに対し、肉眼的に混濁のあった羊水の STN 抗原濃度は  $783.2 \pm 237.2 \text{ U / ml}$  (mean  $\pm$  2 SD) と後者は前者に比して有意に高値を示した。次に羊水塞栓症を発症した5症例の患者血清の STN 抗原濃度を測定した所、高値を示した。このことから、母体血清 STN 抗原濃度の測定は、羊水塞栓症の血清学的診断法の有用な検査法の一であることが示唆された。

この発表に対して次のような質問が審査員より出された。

- 1) 抗体の特異性とは何か
- 2) 正常人の血清 STN 値はどの位か
- 3) 大腸癌などで STN 値は上昇するか
- 4) 正常の肺組織でも STN は染色されるか
- 5) 胎児小腸・大腸(胎便)以外に STN を分泌する細胞は何か
- 6) STN を測定することにより羊水塞栓症は100%確実に診断できるか
- 7) 羊水はどうして母体へ入るのか

以上の質問に対し、申請者は概ね適確に答え、申請者の研究は博士(医学)の学位授与にふさわしいと審査員全員で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	高田	明和			
	副査	教授	喜納	勇	副査	教授	馬場正三
	副査	助教授	小出	幸夫	副査	講師	前田真