



Title	妊娠高血圧症候群における補体系の関与および臓器障害の指標としての血小板減少についての検討
Author(s)	眞山, 学徳
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第14617号
Issue Date	2021-06-30
DOI	10.14943/doctoral.k14617
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/82963
Type	theses (doctoral)
Note	配架番号 : 2638
File Information	Michinori_Mayama.pdf



[Instructions for use](#)

学位論文

妊娠高血圧症候群における補体系の関与および臓器

障害の指標としての血小板減少についての検討

(Complement activation in preeclampsia and thrombocytopenia as a sign of maternal organ damage)

2021年6月

北海道大学

眞山 学徳

目次

1. 発表論文目録および学会発表目録	1 頁
2. 要旨	3 頁
3. 略語表	6 頁
4. 緒言	7 頁
5. 第 1 章 HELLP 症候群における補体活性化の検討	9 頁
5-1. 緒言	9 頁
5-2. 目的	9 頁
5-3. 予備実験 1 HELLP 症候群モデルラットの作成	10 頁
5-3-1. 方法	10 頁
5-3-1-1. HELLP 症候群モデルラットの作成	10 頁
5-3-1-2. 血圧測定	11 頁
5-3-1-3. 血液および尿検査	11 頁
5-3-1-4. 病理組織検査	11 頁
5-3-2. 結果	12 頁
5-3-2-1. 血圧推移	12 頁
5-3-2-2. 血液および尿検査結果	12 頁
5-3-2-3. 病理組織検査	13 頁
5-3-3. 考察	14 頁
5-4. アルゼット®浸透圧ポンプへの薬液注入量、流出速度の確認	15 頁
5-4-1. 方法	15 頁
5-4-1-1. アルゼット®浸透圧ポンプへの薬液注入量の確認	15 頁
5-4-1-2. アルゼット®浸透圧ポンプからの流出速度の確認	15 頁
5-4-2. 結果	16 頁
5-4-2-1. アルゼット®浸透圧ポンプへの薬液注入量	16 頁
5-4-2-2. アルゼット®浸透圧ポンプからの流出速度	16 頁
5-4-3. 考察	17 頁
5-5. 予備実験 2 HELLP 症候群モデルラットの作成 (投与期間の延長)	18 頁
5-5-1. 方法	18 頁
5-5-2. 結果	19 頁
5-5-2-1. 薬剤投与量	19 頁
5-5-2-2. 血圧推移	19 頁
5-5-2-3. 血液および尿検査結果	20 頁
5-5-2-4. 病理組織検査	20 頁
5-5-3. 考察	21 頁

5-6. 予備実験 3 HELLP 症候群モデルラットの作成 (Flt-1 投与量の増量)	22 頁
5-6-1. 方法	22 頁
5-6-2. 結果	23 頁
5-6-2-1. 薬剤投与量	23 頁
5-6-2-2. 血圧推移	23 頁
5-6-2-3. 血液および尿検査結果	24 頁
5-6-2-4. 病理組織検査	24 頁
5-6-3. 考察	25 頁
6. 第 2 章 日本における妊娠高血圧症候群の診断基準の変更にもなう病型分類の変更と周産期予後に関する検討	26 頁
6-1. 緒言	26 頁
6-2. 目的	26 頁
6-3. 方法	27 頁
6-3-1. 対象および研究デザイン	27 頁
6-3-2. 新診断基準および病型分類	27 頁
6-3-3. 周産期予後	29 頁
6-3-4. 統計解析手法	29 頁
6-4. 結果	30 頁
6-4-1. 病型分類の変化および周産期予後	30 頁
6-4-2. 重症度の変更および周産期予後	32 頁
6-4-3. 母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全の周産期予後に対する影響	34 頁
6-5. 考察	35 頁
7. 第 3 章 妊娠高血圧症候群における母体の臓器障害の指標としての血小板減少のカットオフ値についての検討	36 頁
7-1. 緒言	36 頁
7-2. 目的	36 頁
7-3. 方法	37 頁
7-3-1. 対象および研究デザイン	37 頁
7-3-2. 血小板減少の定義および調査項目	37 頁
7-3-3. 統計解析手法	37 頁
7-4. 結果	38 頁
7-4-1. 妊婦背景および周産期予後	38 頁
7-4-2. 血小板減少の周産期予後に対する相対リスク	41 頁
7-5. 考察	43 頁
8. 第 4 章 血小板の減少率と妊娠高血圧症候群における母体の臓器障害、周産期予後についての検討	45 頁

8-1. 緒言	45 頁
8-2. 目的	45 頁
8-3. 方法	46 頁
8-3-1. 対象および研究デザイン	46 頁
8-3-2. 血小板数減少率の計算および調査項目	46 頁
8-3-3. 統計解析手法	46 頁
8-4. 結果	47 頁
8-4-1. 妊娠高血圧症候群発症時の血小板減少率による予後予測	47 頁
8-4-2. 妊娠高血圧腎症妊婦における分娩時の血小板数減少率による周産期予 後	49 頁
8-5. 考察	52 頁
9. 結論	54 頁
10. 謝辞	55 頁
11. 利益相反	56 頁
12. 引用文献	57 頁

1. 発表論文目録・学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Michinori Mayama, Mamoru Morikawa, Takeshi Umazume, Kinuko Nakagawa, Ami Hosokawa, Masahiro Yamaguchi, Kentaro Chiba, Satoshi Kawaguchi, Hidemichi Watari. Increase in the number of patients diagnosed using the new classification of hypertensive disorders of pregnancy in Japan. J Obstet Gynaecol Res, 45: 1118-1126, (2019)
2. Michinori Mayama, Mamoru Morikawa, Takashi Yamada, Takeshi Umazume, Kiwamu Noshiro, Kinuko Nakagawa, Yoshihiro Saito, Kentaro Chiba, Satoshi Kawaguchi, Hidemichi Watari. Mild thrombocytopenia indicating maternal organ damage in pre-eclampsia: a cross-sectional study. BMC Pregnancy Childbirth, 21: 91, (2021)
3. Michinori Mayama, Mamoru Morikawa, Takashi Yamada, Takeshi Umazume, Kiwamu Noshiro, Kinuko Nakagawa, Yoshihiro Saito, Kentaro Chiba, Hidemichi Watari. Decrease rate of platelet count as a marker for complications of preeclampsia. (Pregnancy Hypertens に投稿中)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. 眞山学徳、山口正博、細川亜美、中川絹子、馬詰 武、千葉健太郎、川口 哲、森川 守、渡利英道
妊娠高血圧症候群の定義・分類の変更による妊娠高血圧症候群の診断への影響についての検討
第 39 回妊娠高血圧学会学術集会、2018 年 11 月 2 日、大阪
2. 眞山学徳、山口正博、細川亜美、中川絹子、馬詰 武、千葉健太郎、川口 哲、森川 守、渡利英道
妊娠高血圧症候群の定義・分類の変更による妊娠高血圧症候群の診断への影響
第 71 回日本産科婦人科学会学術講演会、2019 年 4 月 13 日、名古屋
3. 眞山学徳、山口正博、細川亜美、中川絹子、馬詰 武、千葉健太郎、川口 哲、森川 守、渡利英道
妊娠高血圧症候群における母体の臓器障害の指標としての血小板数低下についての検討
第 55 回日本周産期・新生児医学会学術集会、2019 年 7 月 14 日、松本
4. 眞山学徳、秋江惟能、今泉 翠、齋藤良玄、中川絹子、馬詰 武、千葉健太郎、川口 哲、森川 守、渡利英道
妊娠高血圧症候群における母体の臓器障害の指標としての血小板数についての検討
第 40 回日本妊娠高血圧学会学術集会、2019 年 9 月 21 日、埼玉

5. 眞山学徳、齋藤良玄、中川絹子、馬詰 武、千葉健太郎、川口 哲、森川 守、渡利英道

The effect of low platelet count on the timing of termination of pregnancy in early onset hypertensive disorders of pregnancy

第 72 回日本産科婦人科学会学術講演会、2020 年 4 月 25 日、東京（オンライン）

2. 要旨

【背景と目的】

らせん動脈のリモデリング不全とそれに引き続き起こる血管内皮細胞障害が妊娠高血圧症候群(hypertensive disorders of pregnancy, HDP)の発症機序と考えられている。HDP では血管内皮細胞障害により様々な臓器障害を示す。HELLP 症候群は溶血、肝機能障害、血小板減少を3主徴とし、HDP の最重症型の一つとされる。HELLP 症候群では補体の異常活性化が報告されているがその機序は不明である。

HELLP 症候群は妊娠終了で改善するため、胎盤由来の因子の関与を想定し、第1章ではHELLP 症候群モデルラットを作成し、補体の活性化とHDP で上昇している血管新生関連因子との関連を調べることを目的とした。

2018年5月に日本におけるHDPの診断基準が変更され、母体の臓器障害が診断基準に含まれた。第2章では診断基準の変更で病型分類が変更となる頻度およびその妥当性について検討することを目的とした。

血管内皮細胞障害により消費性の血小板減少が起こるとされ、血小板減少はHDPにおける母体の臓器障害の一つとされる。血小板減少のカットオフ値として日本および国際妊娠高血圧学会は15万/ μL 未満を使用し、米国産婦人科学会は10万/ μL 未満を使用する。第3章では血小板数10-15万/ μL の軽度の血小板数減少がHDPの重症度を反映しているかを検討した。

母体の臓器障害に伴う血小板減少は進行性であるため、第4章では血小板数減少率とHDPの重症度について検討することを目的とした。

【対象と方法】

第1章では妊娠Sprague Dawleyラットにsoluble fms-like tyrosine kinase-1(s-Flt-1)とsoluble endoglin(sEng)を4.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ および7.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ で7日間持続投与し、血圧測定、血液・尿検査、肝臓、腎臓、胎盤の病理組織検査を施行し、HELLP 症候群モデルラットが作成可能か検討した。

第2章では2011年2月から2017年12月に北海道大学病院で分娩となったHDP妊婦181人を対象とし、診断基準の変更に伴う病型分類の変更の頻度および病型分類の変更の有無による周産期予後の違いを検討した。

第3章では2010年4月から2019年5月に北海道大学病院またはJCHO北海道病院で分娩となったHDP妊婦のうち、妊娠高血圧腎症(preeclampsia, PE)と分類された妊婦264人を対象とした。分娩時の血小板減少の程度により正常群(15万/ μL 以上)、軽症群(15万/ μL 未満かつ10万/ μL 以上)、重症群(10万/ μL 未満)の3群に分け、PEの臨床症状、周産期予後について検討した。

第4章では第3章と同じコホートを対象とし、妊娠初期の血小板数のデータが得られたHDP妊婦319人に対して解析を行った。PE発症および妊娠34週未満の早産と

なる妊娠初期から HDP 発症時までの血小板数減少率のカットオフ値を Receiver operating characteristic カーブにより求めた。妊娠初期から分娩までの血小板数減少率 30%以上をカットオフとした場合の PE 妊婦における血小板数減少率と PE の臨床症状、周産期予後について検討した。

【結果】

第 1 章：sFlt-1(4.7 μ g/kg/day)および sEng(7.0 μ g/kg/day)では血圧の上昇傾向を認めたが、血小板数低下、肝逸脱酵素の上昇は軽度であり、病理組織検査でも Control と比較し、有意な変化は認めず HELLP 症候群モデルラットの作成に至らなかった。投与期間の 17 時間の延長、および sFlt-1 の投与量の増量 (7.4 μ g/kg/day) を行ったが、HELLP 症候群モデルラットの作成には至らなかった。

第 2 章：診断基準の変更により HDP 妊婦 181 人中 17 人(9.4%)で病型分類が変更された。旧診断基準で妊娠高血圧と診断された症例のうち、新診断基準での病型分類が変更された妊婦では変更されなかった妊婦に比較し、HDP 発症時および分娩時の妊娠週数は有意に早く、NICU 入室率も有意に高率であった。

第 3 章：血小板減少重症群では正常群、軽症群に比較し、発症時および分娩時の妊娠週数は有意に早く、妊娠 34 週未満の早産率、NICU 入室率、血小板減少を除く母体の臓器障害の頻度も有意に高率であった。一方、正常群と軽症群ではいずれも差を認めなかった。

第 4 章：PE 発症、妊娠 34 週未満の早産の予測のための妊娠初期から HDP 発症時までの血小板数減少率のカットオフ値は 23.1% (感度 56%、特異度 85%)、30.0% (感度 51%、特異度 76%) であった。分娩時の血小板数減少率が 30%以上の PE 妊婦では血小板減少を除く母体の臓器障害、妊娠 34 週未満の早産の頻度が有意に高率であった。分娩時の血小板数が正常 (15 万/ μ L 以上) な PE 妊婦に限った解析でも血小板数減少率 30%以上の妊婦では重症高血圧、妊娠 34 週未満の早産の頻度が有意に高率であった。

【考察】

過去の報告と同様の方法で HELLP 症候群モデルラットの作成を試みたが、HELLP 症候群モデルラットの作成には至らず、補体の活性化の検討を行うことが出来なかった。HELLP 症候群の発症には補体の制御因子に関する遺伝的な素因、妊娠に伴う免疫系の変化、胎盤形成異常に伴う sFlt-1 や sEng などの血管新生関連因子の上昇の 3 者が影響している可能性が考えられ、過去の報告と同系統のラットを使用したか、使用したラットの sFlt-1, sEng への感受性の違いが表現型に影響した可能性がある。PE では原則入院管理が推奨されており、診断基準の変更により入院管理を要する PE へ病型分類が変更となる症例が 10%程度存在することが示された。病型分類が変更された症例では変更されなかった症例と比較し、早産率や NICU 入院率が高率であり、母体の臓器障害による病型分類の変更は妥当と考えられる。

血小板減少のカットオフ値については血小板数 10 万/ μ L 以上かつ 15 万/ μ L 未満の軽度の減少は PE の臨床症状や周産期予後と関連しておらず、血管内皮細胞障害の結果ではなく、妊娠に伴う生理的な血小板減少である可能性が示された。

妊娠初期から HDP 発症時の血小板数の減少率という簡便な指標で PE 発症や妊娠 34 週未満の早産のリスクが評価できる可能性が示された。正常妊娠でも非妊娠時と比べ 17%程度まで血小板数は低下するとされている。血小板数減少率 30%以上は生理的な血小板減少の範囲を超えていると考えられ、血小板数が正常な妊婦においても 30%以上の血小板数の減少が重症高血圧や妊娠 34 週未満の早産と関連しており、血管内皮細胞障害による消費性の血小板減少を反映している可能性が高いことが示された。

【結論】

sFlt-1、sEng の持続投与による HELLP 症候群モデルラットの作成は困難であり、補体活性化の検討のためには他の方法での HELLP 症候群モデル動物の作成が必要である。HDP の母体の臓器障害による病型分類の変更は妥当と考えられる。一方、母体の臓器障害の一つである血小板減少については血小板数 10 万/ μ L 以上かつ 15 万/ μ L 未満の軽度の減少は HDP の病態を反映していない可能性がある。血小板数の減少率は PE の病態を反映し、妊娠初期から 30%以上の減少は早産や重症高血圧のリスク因子である。

3. 略語表

AOG	American college of Obstetricians and Gynecologists
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
CH	chronic hypertension
CI	confidence interval
Cr	creatinine
DIC	disseminated intravascular coagulation
GH	gestational hypertension
GT	gestational thrombocytopenia
HDP	hypertensive disorders of pregnancy
HIF-1 α	hypoxia-inducible factor-1 α
ISSHP	the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy
LDH	lactate dehydrogenase
NICU	neonatal intensive care unit
OR	odds ratio
P/C	protein/ creatinine
PE	preeclampsia
PIGF	placental growth factor
ROC	receiver operating characteristic
RR	relative risk
sEng	soluble endoglin
sFLt-1	soluble fms-like tyrosine kinase-1
HE	Hematoxylin Eosin
sPE	superimposed preeclampsia
TGF	transforming Growth Factor
U-Alb	urine albumin
U-Cre	urine creatinine
VEGF	vascular endothelial growth factor

4. 緒言

妊娠時に高血圧を発症した場合、妊娠高血圧症候群 (hypertensive disorders of pregnancy, HDP)と診断され、高血圧の発症時期や蛋白尿や母体の臓器障害の有無により、4病型に分類される(Watanabe K, et al., 2018)。妊娠20週以降に高血圧のみを新規に呈するものは妊娠高血圧症 (gestational hypertension, GH)と分類され、高血圧に加えて蛋白尿を呈する場合は妊娠高血圧腎症 (preeclampsia, PE)と分類される。国際妊娠高血圧学会(the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy, ISSHP)の診断基準との齟齬がないように2018年に日本における妊娠高血圧症候群の診断基準が変更され、蛋白尿を伴わない場合でも母体の肝機能障害、腎機能障害、神経障害、血液凝固障害、胎盤機能不全やそれに伴う胎児発育不全を認める場合はPEと分類することになった。妊娠前に高血圧を認める場合、または妊娠20週までに高血圧を認める場合は高血圧合併妊娠 (chronic hypertension, CH)と分類される。CHのうち、妊娠20週以降に蛋白尿もしくは母体の臓器障害を認めた場合、加重型妊娠高血圧腎症 (superimposed preeclampsia, sPE)と分類される。

HDPは全妊娠の約2.7%に発症するとされ(Abalos, E, et al., 2014)、疫学研究から初産、多胎妊娠、HDPの既往、糖尿病、腎疾患、高年妊娠、肥満、抗リン脂質抗体症候群のような過凝固状態はHDP発症のリスク因子として知られている(Wang A, et al., 2009)。World Health Organizationの報告では全妊産婦死亡の14%がHDPに関連したものとされている(Say L, et al., 2014)。またHDPの根本的な治療は妊娠終了しかないと、医原性の早産の大きな原因となる。

らせん動脈のリモデリング不全とそれに引き続き起こる血管内皮細胞障害がHDPの原因と考えられている(Roberts, et al., 2005; Roberts, et al., 2009)。正常妊娠では絨毛細胞が子宮の脱落膜へ侵入し、脱落膜らせん動脈の血管内皮細胞や血管平滑筋に置き換わることにより、らせん動脈のリモデリングが起こる(Pijnenborg R, et al., 1980)。HDPでは絨毛細胞の侵入が脱落膜の表層のみに限られ、らせん動脈のリモデリング不全が起こり、これにより十分な血流が確保できず、胎盤が虚血状態となる(Meekins JW, et al., 1994)。胎盤の虚血、低酸素は絨毛細胞での soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1)の産生を刺激し(Nagamatsu T, et al., 2004)、placental growth factor (PlGF)の産生を抑制する(Khaliq A, et al., 1999)。妊娠初期における脱落膜での低酸素は hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α)の産生を増加させ、HIF-1 α は transforming Growth Factor- β 3 (TGF- β 3)の産生を増加させ、正常胎盤に必要な絨毛細胞の侵入を抑制し(Caniggia I, et al., 1999)、絨毛細胞での soluble endoglin (sEng)の産生を亢進させる(Gilbert JS, et al., 2009)。sEngはTGF- β 1の血管弛緩作用を抑制し、胎盤における低酸素環境をさらに悪化させる(Venkatesha S, et al., 2006)。このためHDPでは妊娠初期から胎盤循環の低酸素状態の負のスパイラルが起こっていると考えられている。sFlt-1、PlGF、sEngは胎盤通過性があり、HDP妊婦では母体血清中での

sFlt-1 や sEng の高値、PlGF の低値が報告されている(Levine RJ, et al., 2004; Levine RJ, et al., 2006)。正常な血管内皮細胞機能の維持には vascular endothelial growth factor (VEGF)や TGF- β が重要であるが、sFlt-1 は VEGF、sEng は TGF- β のシグナリングを抑制することにより、血管内皮細胞障害に寄与する(Ahmad S, et al., 2011; Walshe TE, et al., 2009)。HDP では血管内皮細胞障害により、高血圧に加えて蛋白尿や腎機能障害、肝機能障害、神経障害など多彩な病態を示すことが知られている(Wang A, et al., 2009)。また HDP、特に高血圧に加えて蛋白尿や母体の臓器障害を伴う妊娠高血圧腎症の妊婦では、将来の腎不全や循環器疾患を発症するリスクが増加することが報告されており(Ray JG, et al., 2005; Vikse BE, et al., 2008)、妊娠中のみならず母体の長期予後に影響する。このため HDP における母体の臓器障害に着目し、研究を進める方針とした。

5. 第1章 HELLP 症候群における補体活性化の検討

5-1. 緒言

HELLP 症候群は溶血 (Hemolysis)、肝機能障害 (Elevated Liver enzyme)、血小板減少 (Low Platelet count) を 3 主徴とし、HDP の最重症型の一つとされ全妊娠の 0.2–0.8% 程度に発症する (Abildgaard U, et al., 2013)。母体および新生児死亡の原因となる重篤な疾患であるが、現在のところ治療は妊娠終了しかなく、HELLP 症候群の 70% が早産となり、うち 15% は妊娠 28 週以前で妊娠を終了せざるをえず、児の予後に大きな悪影響を与える (Sibai BM, et al., 1993; Van Pampus MG, et al., 1998)。また HELLP 症候群を発症した妊婦の次回妊娠時における、HDP の再発率は 9.3–52%、HELLP 症候群の再発率は 2–19% 程度と報告されている (Jacquemyn Y, et al., 2004; Knapen M, et al., 1998; Morikawa M, et al., 2019; Sullivan CA, et al., 1994; Van Pampus MG, et al., 2001)。このため HELLP 症候群の治療法の確立は母児の周産期予後の改善に大いに寄与することが期待される。近年、HELLP 症候群で補体の異常活性化が報告され (Vaught AJ, et al., 2016)、病態への関与が示唆されているがその機序は不明である。HELLP 症候群は妊娠終了で改善するため、原因として胎盤由来の因子の関与が想定され、動物モデルでは HDP の病態に関与する血管新生関連因子である sFlt-1 と sEng を持続投与すると HELLP 症候群の病態を再現できるとの報告がある (Venkatesha S, et al., 2006)。このため、胎盤由来の血管新生関連因子の増加が補体の異常活性化を引き起こし、HELLP 症候群が発症すると仮説を立て、検討を行うことにした。

5-2. 目的

sFlt-1 と sEng の持続投与による HELLP 症候群モデルラットを作成し、血管新生関連因子と補体の異常活性化の関連について明らかにする。

5-3. 予備実験 1 HELLP 症候群モデルラットの作成

5-3-1. 方法

5-3-1-1. HELLP 症候群モデルラットの作成

先行研究(Venkatesha S, et al. , 2006)に従いアルゼット®浸透圧ポンプ (model 2001: 流量 1.0 μ l/hr、容量 200 μ L, 図 1) に sFlt-1 として Recombinant Mouse VEGF R1/Flt-1 Fc Chimera (R&D systems , Minneapolis, MN)および sEng として Recombinant Rat Endoglin/CD105 Fc Chimera (R&D systems , Minneapolis, MN)を投与速度が sFlt-1 (4.7

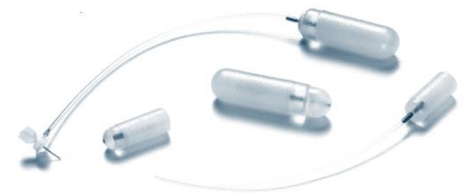


図 1 アルゼットミニ浸透圧ポンプ®

μ g/kg/day)、sEng (7.0 μ g/kg/day)となるように注入した。

Control では同量の生理食塩水を注入した。10 週齢の体重 200-250g の Sprague Dawley ラット (日本エスエルシー) 4 頭を用い、妊娠 12 日目に塩酸メドミジン (0.15mg/kg)、ミタゾラム (2mg/kg)、硝酸ブトルファノール (2.5mg/kg)による 3 種混合麻酔薬を腹腔内へ投与し、麻酔下に 2 頭は sFlt-1 および sEng 入りのアルゼット®ミニ浸透圧ポンプ、Control の正常妊娠ラット 2 頭には生理食塩水入りのアルゼット®浸透圧ポンプを腹腔内へ留置した。妊娠 19 日目に 3 種混合麻酔の腹腔内投与による麻酔下に、全採血を行い安楽死とし、肝臓、腎臓、胎盤を採取した。(図 2)

この研究は北海道大学動物実験委員会の承認を得て、国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定を遵守して実施した。(18-0170)

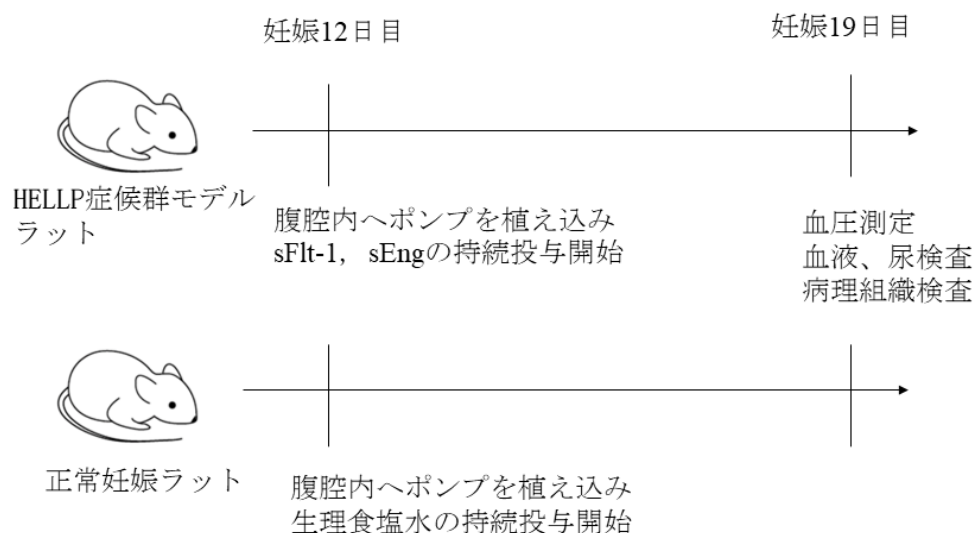


図 2 実験デザイン

5-3-1-2. 血圧測定

CODA[®] Monitor(Kent Scientific Corporation, Torrington, CT)を使用し、非観血的にラットの尾動脈で妊娠 12 日目から妊娠 19 日目まで 1 日 1 回午前中に血圧測定を行った。

5-3-1-3. 血液および尿検査

妊娠 18 日目から妊娠 19 日目にかけて代謝ケージを使用し、24 時間尿を採取した。全採血にて採取した血液で CELL-DYN ruby (Abbott, USA)を使用し、血小板数の測定を行った。血清および尿はオリエンタル酵母工業株式会社に依頼し、aspartate aminotransferase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、lactate dehydrogenase (LDH)、urine albumin (U-Alb)、urine creatinine (U-Cre)を測定した。AST、ALT、LDH については L タイプワコーAST・J2 (和光純薬)、L タイプワコーALT・J2 (和光純薬)、L タイプワコーLD・J (和光純薬)を使用し、JSCC 標準化対応法にて測定した。U-Alb はレビス尿中アルブミン-ラット S タイプ (シバヤギ)を使用し、免疫比濁法にて測定した。U-Cre は L タイプワコーCRE・M (和光純薬)を使用し、酵素法にて測定した。

5-3-1-4. 病理組織検査

摘出した肝臓、腎臓、胎盤は 10%中性緩衝ホルマリンでの固定後に、株式会社モルフオテクノロジーへ依頼し、パラフィンブロックの作成、および Hematoxylin Eosin (HE)染色標本作製した。

5-3-2. 結果

5-3-2-1. 血圧推移

Control ラットでは妊娠中期にかけて平均血圧が低下し、妊娠後期にかけて再び血圧が上昇した。sFlt-1 + sEng 投与ラットでは妊娠中期の血圧低下を認めず、妊娠後期にかけても Control ラットより平均血圧の上昇傾向を認めた。(図 3)

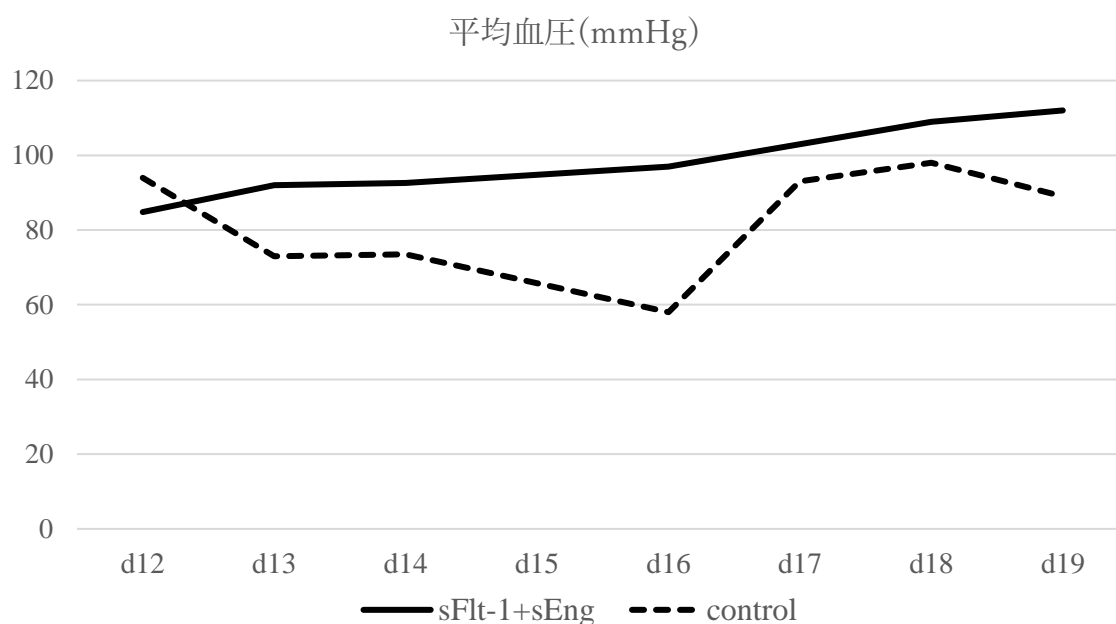


図 3 Control および sFlt-1 + sEng 投与ラットの血圧推移

5-3-2-2. 血液および尿検査結果

Control に比べ、sFlt-1 + sEng 投与ラットで AST、LDH の上昇を認めた。血小板数の低下、ALT 上昇は Control と比較し、軽度であった。sFlt-1 + sEng 投与ラットでクレアチニン比での尿中アルブミン排出量 (U-Alb/U-Cre) の上昇は認めなかった。(表 1)

表 1 Control および sFlt-1 + sEng 投与ラットの血液および尿検査結果

	control (n = 2)	sFlt-1 + sEng (n = 2)
血小板数($\times 10^3/\mu\text{L}$)	141.4 \pm 30.3	129.6 \pm 18.5
AST (IU/L)	83.0 \pm 4.2	114.5 \pm 2.1
ALT (IU/L)	31.0 \pm 7.1	37.0 \pm 4.2
LDH (IU/L)	1257 \pm 259	2080 \pm 424
U-Alb/U-Cre	0.033 \pm 0.014	0.021 \pm 0.020

5-3-2-3. 病理組織検査

肝臓、腎臓、胎盤とも Control と比較し、明らかな変化は認めなかった。(図 4)

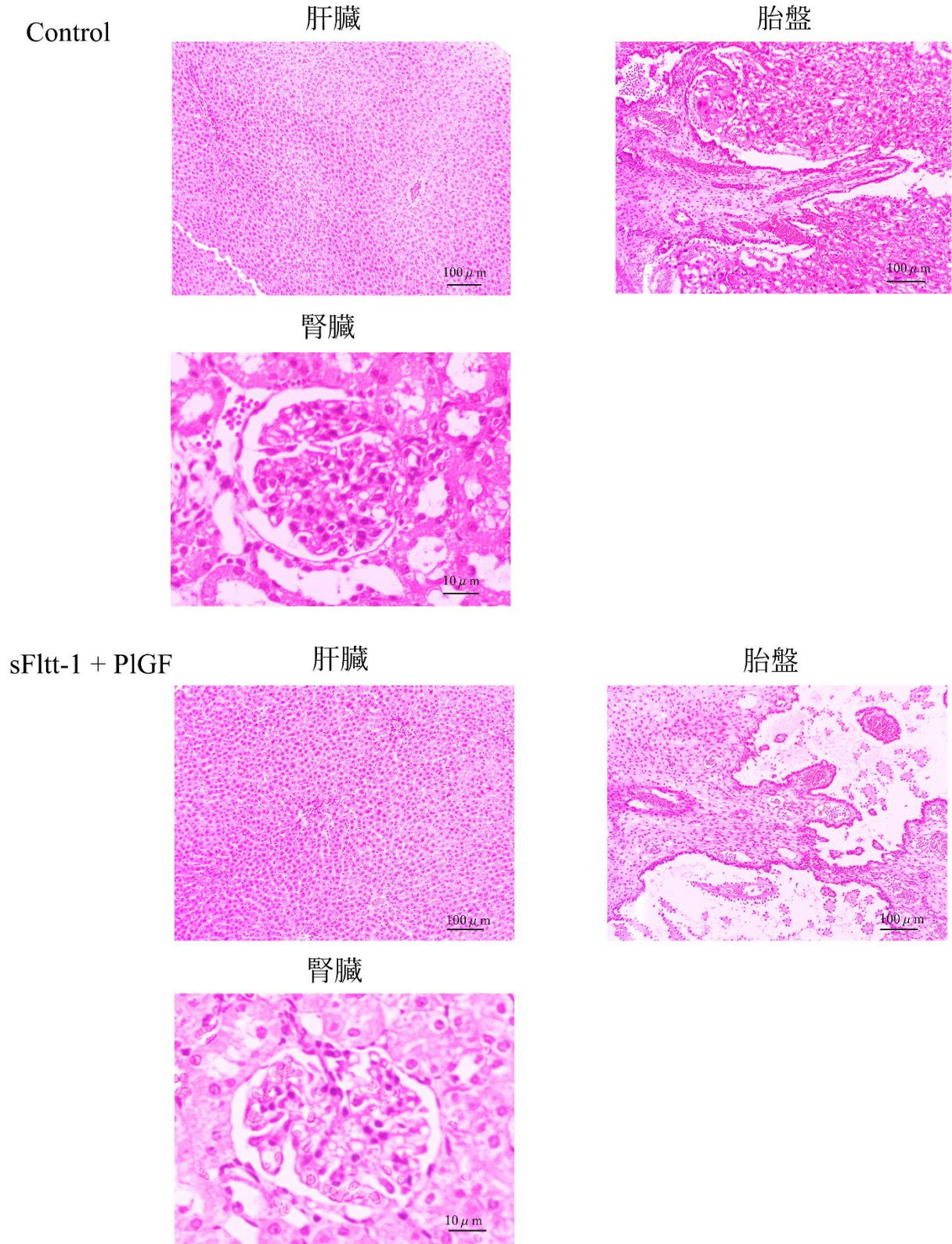


図 4 Control、sFlt-1 + sEng 投与ラットの腎臓、胎盤、肝臓の病理組織所見 (HE 染色)

5-3-3. 考察

Wallace K らは今回と同様の方法で HELLP 症候群のモデルラットを作成し、平均血圧(mmHg) control: 95.6 ± 1.5 、sFlt-1 + sEng: 121.0 ± 3.0 、ALT (IU/L) control: 46.8 ± 4.3 、sFlt-1 + sEng: 62.1 ± 4.4 、LDH (IU/L) control: 391.5 ± 150.1 、sFlt-1 + sEng 1156.0 ± 271.3 、血小板数 ($\times 10^3/\mu\text{L}$) control: 522 ± 53 、sFlt-1 + sEng: 300 ± 78 であったと報告している(Wallace K, et al., 2014)。病理組織所見では Venkatesha S らが sFlt-1 と sEng を過剰発現させ作成した HELLP 症候群モデルラットで、腎臓で糸球体の内皮細胞の腫大と空胞形成、胎盤では広範な炎症細胞浸潤と母体の血管を閉塞する出血性梗塞と fibrinoid necrosis、肝臓では多発の虚血性壊死を報告している(Venkatesha S, et al., 2006)。今回の検討では腎臓、胎盤、肝臓とも、Control と比較し、sFlt-1 + sEng 投与ラットで有意な変化は認めなかった。血圧は Wallace K の報告と同程度の変化を認め、LDH も上昇を認めたが、血小板減少、肝逸脱酵素の上昇の程度は軽度であり、sFlt-1 および sEng の投与量が過少であった可能性を考え、アルゼット®浸透圧ポンプへの薬剤注入量および薬剤流出速度について検討する方針とした。

5-4. アルゼット®浸透圧ポンプへの薬剤注入量、流出速度の確認

5-4-1. 方法

5-4-1-1. アルゼット®浸透圧ポンプへの薬剤注入量の確認

アルゼット®浸透圧ポンプへの薬剤注入量の確認のため、200 μ Lの生理食塩水をアルゼット®浸透圧ポンプへ注入し、注入前後のポンプの重量を測定した。十分な量の生理食塩水が注入できていない場合は注入方法を検討する方針とした。また予備実験1で使用後に回収し、 -80°C で冷凍保存していたアルゼット®浸透圧ポンプ2個のポンプ内への残液量を確認した。

5-4-1-2. アルゼット®浸透圧ポンプからの流出速度の確認

アルゼット®浸透圧ポンプの流出速度を確認するため、ポンプ内にトリパンプルー(4mg/mL)を200 μ L注入し、12時間おきに生理食塩水6mLへポンプを留置し、吸光度を測定することにより、ポンプ内からのトリパンプルーの流出速度を検討した

5-4-2. 結果

5-4-2-1. アルゼット®浸透圧ポンプへの薬液剤注入量

付属の針を使用し、図5のようにアルゼット®浸透圧ポンプ内へ200 μ Lの生理食塩水の注入を行った。ポンプの重量を測定したところ、ポンプの重量増加は151 μ gであり、シリンジと針の接続部に生理食塩水の残存を確認した。予備実験1で使用したポンプ内より回収できた残液量は38 μ Lと46 μ Lであった。

ポンプ内への薬液の注入方法を工夫し、付属の針のシリンジとの接合部にピペットチップを挿入し、マイクロピペットを用いて注入することで190 μ g以上の注入ができることを確認した。



図5 アルゼット®浸透圧ポンプへの薬液注入方法

5-4-2-2. アルゼット®浸透圧ポンプからの流出速度

アルゼット®浸透圧ポンプからの流出量が1 μ L/hrである場合、トリパンプルーの濃度は8.0 μ g/mLとなる。測定したトリパンプルーの濃度の推移を表2に示す。

表2 アルゼット®浸透圧ポンプより流出したトリパンプルーの濃度(μ g/mL)

0.5日	1日	1.5日	2日	2.5日	3.0日	3.5日	4日
0.57	7.85	10.01	7.66	7.63	7.78	7.41	8.38
4.5日	5日	5.5日	6日	6.5日	7日	7.5日	8日
0.05	5.38	7.16	7.91	6.72	7.16	8.44	6.26

アルゼット®浸透圧ポンプ留置後、流出量が安定するのは12時間経過後であった。留置後4日目に一時的に流量の低下を認めた。

5-4-3. 考察

アルゼット®浸透圧ポンプは安定した流量を得るために容量 200 μ L の 9 割以上の薬剤の注入が必要とされている。注入方法の検討から予備実験 1 では 150 μ L 程度しか薬剤を注入できておらず、ポンプの残液量から実際に投与された量は 100 μ L 程度であったことが予想された。sFlt-1(4.7 μ g/kg/day)、sEng(7 μ g/kg/day)の投与のためには 1 μ L/hr の速度で 7 日間 (168 μ L) の投与を予定していたため、予備実験 1 では投与量が過少であったと考えられる。アルゼット®浸透圧ポンプでは留置後にすぐに安定した流量を得るためには 37°C で 4-6 時間のプライミングが必要であるとされており、予備実験 1 では 4 時間のプライミング後に埋め込みを行っていたが、流出量の検討の結果、投与量が安定するのは留置後 12 時間以降であるため、アルゼット®浸透圧ポンプの留置を早める必要があると判断した。4 日目に一時的に流量が落ちているが、トリパンプルーを注入する際に 200 μ g にできるだけ注入量を近づけるために何度も注入する処置を繰り返したため、アルゼット®浸透圧ポンプ内に空気が混入してしまったことが原因と考えられた。

5-5. 予備実験 2 HELLP 症候群モデルラットの作成（投与期間の延長）

5-5-1. 方法

アルゼット[®]浸透圧ポンプに sFlt-1 として Recombinant Mouse VEGF R1/Flt-1 Fc Chimera(R&D systems , Minneapolis, MN)および sEng として Recombinant Rat Endoglin/CD105 Fc Chimera(R&D systems , Minneapolis, MN)を投与速度が sFlt-1 (4.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)、sEng (7.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)となるように注入した。注入の際にピペットチップとマイクロピペットを使用し、注入前後にポンプの重さを計測して注入量を確認した。10 週齢の体重 200-250g の Sprague Dawley ラット（日本エスエルシー）1 頭を用い、妊娠 11 日目 16:00 にアルゼット[®]ミニ浸透圧ポンプを腹腔内に留置した。妊娠 19 日目 9:00 に麻酔下に、全採血を行い安楽死とし、肝臓、腎臓、胎盤を採取した。血圧測定、尿、血液検査、病理組織検査については予備実験 1 と同様とした。この研究は北海道大学動物実験委員会の承認を得て、国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定を遵守して実施した。(18-0170)

5-5-2. 結果

5-5-2-1. 薬剤投与量

sFlt-1、sEng 注入前後のアルゼット®浸透圧ポンプの重さを計測し、アルゼット®浸透圧ポンプへの注入量は 192 μ g であった。妊娠 19 日目に回収したアルゼット®浸透圧ポンプ内の薬剤の残量は 2.5 μ g であった。

5-5-2-2. 血圧推移

sFlt-1 + sEng 投与ラットでは妊娠中期の血圧低下を認めなかったが妊娠 19 日目の平均血圧は 100mmHg 程度であった。(図 6)

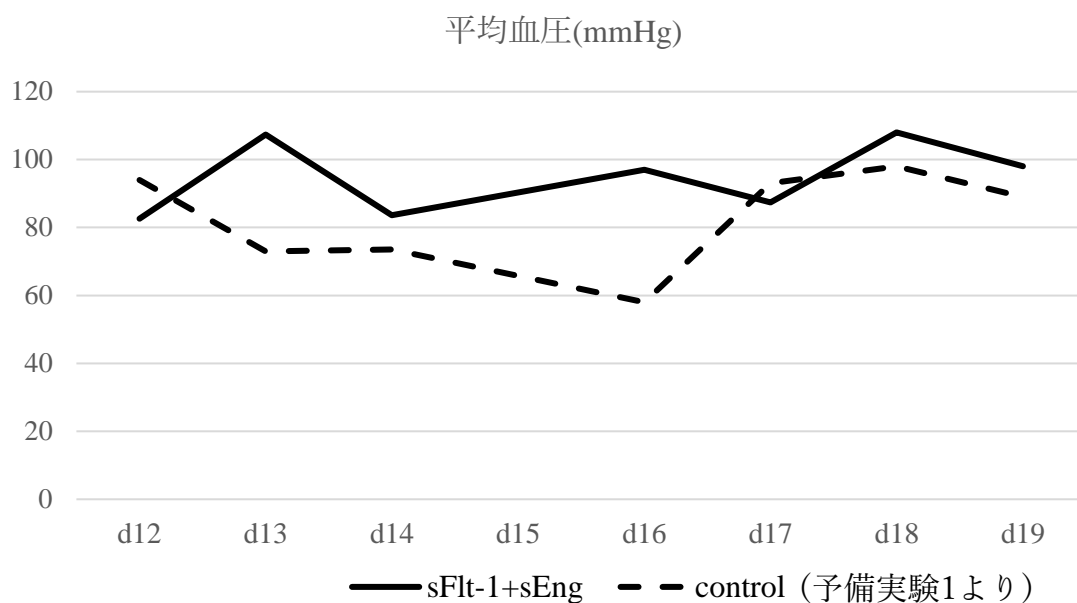


図 6 Control および sFlt-1 + sEng 投与ラットの血圧推移

5-2-3. 血液および尿検査結果

Control に比べ、sFlt-1 + sEng 投与ラットで血小板数の減少を認めたが、AST、ALT の上昇は軽度であった。また LDH の上昇は認めなかった。クレアチニン比での尿中アルブミン排出量も Control と sFlt-1 + sEng 投与ラットで同程度であった。(表 2)

表 2 Control および sFlt-1 + sEng 投与ラットの血液および尿検査結果

	Control* (n = 2)	sFlt-1 + sEng (n = 1)
血小板数($\times 10^3/\mu\text{L}$)	141.4 \pm 30.3	90.2
AST (IU/L)	83.0 \pm 4.2	91
ALT (IU/L)	31.0 \pm 7.1	44
LDH (IU/L)	1257 \pm 259	682
U-Alb/U-Cre	0.033 \pm 0.014	0.037

*:予備実験 1 の結果より引用

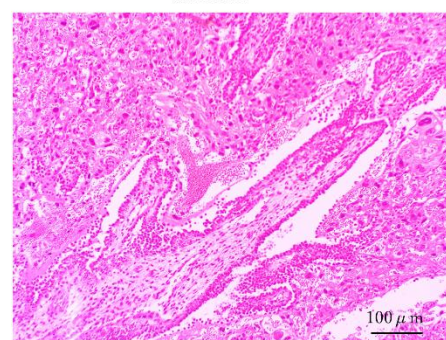
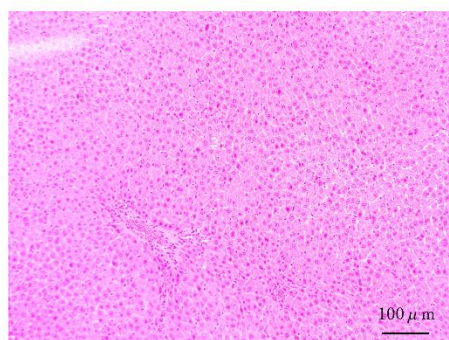
5-5-2-4. 病理組織検査

肝臓、腎臓、胎盤は予備実験 1 の Control と比較し、明らかな変化は認めなかった。(図 7)

sFlt-1 + PIGF

肝臓

胎盤



腎臓

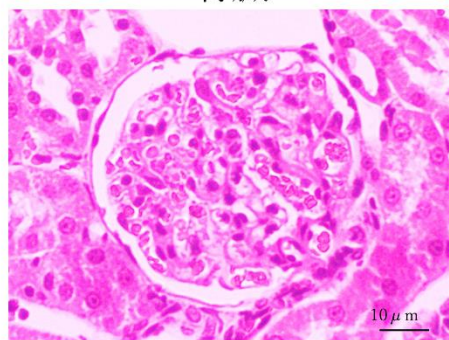


図 7 sFlt-1 + sEng 投与ラットの腎臓、胎盤、肝臓の病理組織所見 (HE 染色)

5-5-3. 考察

アルゼット[®]浸透圧ポンプへの薬剤注入量および回収された薬剤量より、ポンプ内から一部回収しきれない薬剤量があったとしても 180 μ g 程度の薬剤が投与できたと考えられる。ポンプの注入速度は 1 μ L/h であり妊娠 12 日目から 19 日目までの 7 日間で 168 μ L の薬剤が投与できれば良く、アルゼット[®]浸透圧ポンプの留置後 12 時間はほとんど薬剤の流出がないことを考えると十分量の sFlt-1 と sEng が投与できたと考えられる。

一方、血小板数の減少は認めたが、AST, ALT, LDH の結果および病理組織所見から HELLP 症候群モデルラットの作成には至っていなかったと考えられた。病理組織での変化は認めなかったが、血液検査では HELLP 症候群で見られる所見を軽度であったが認めたため、sFlt-1 および sEng の投与量が過少であった可能性を考えた。

George EM らは sFlt-1 (7.4 μ g/kg/day) の妊娠ラットへの持続投与で PE モデルラットの作成が可能であると報告している (George EM, et al. , 2011)。HELLP 症候群では通常蛋白尿の出現を認めるが、予備実験 1、予備実験 2 ともに蛋白尿の出現を認めていなかったため、sFlt-1 の投与量が過少である可能性を考え、sFlt-1 (7.4 μ g/kg/day)、sEng (7.0 μ g/kg/day) の投与で HELLP 症候群モデルラットの作成が可能か検討する方針とした。

5-6. 予備実験 3 HELLP 症候群モデルラットの作成 (sFlt-1 投与量の増量)

5-6-1. 方法

アルゼット®浸透圧ポンプに sFlt-1 として Recombinant Mouse VEGF R1/Flt-1 Fc Chimera(R&D systems , Minneapolis, MN)および sEng として Recombinant Rat Endoglin/CD105 Fc Chimera(R&D systems , Minneapolis, MN)を投与速度が sFlt-1 (7.4 µg/kg/day)、sEng (7.0 µg/kg/day)となるように注入した。注入の際にピペットチップとマイクロピペットを使用し、注入前後にポンプの重さを計測して注入量を確認した。10 週齢の体重 200-250g の Sprague Dawley ラット (日本エスエルシー) 2 頭を用い、妊娠 11 日目 16:00 にアルゼット®ミニ浸透圧ポンプを腹腔内に留置した。妊娠 19 日目 9:00 に麻酔下に、全採血を行い安楽死とし、肝臓、腎臓、胎盤を採取した。血圧測定、尿、血液検査、病理組織検査については予備実験 1 と同様とした。この研究は北海道大学動物実験委員会の承認を得て、国立大学法人北海道大学動物実験に関する規定を遵守して実施した。(18-0170)

5-6-2. 結果

5-6-2-1. 薬剤投与量

sFlt-1、sEng 注入前後のアルゼット®浸透圧ポンプの重さを計測し、アルゼット®浸透圧ポンプへの注入量は①218 μ g、②183 μ gであった。妊娠 19 日目に回収したアルゼット®浸透圧ポンプ内の薬剤の残量は①3 μ g で②では回収できなかった。

5-6-2-2. 血圧推移

sFlt-1 + sEng 投与ラットでは妊娠中期の血圧低下を認めず、妊娠後期においても control より血圧の上昇傾向を認めた。(図 8)

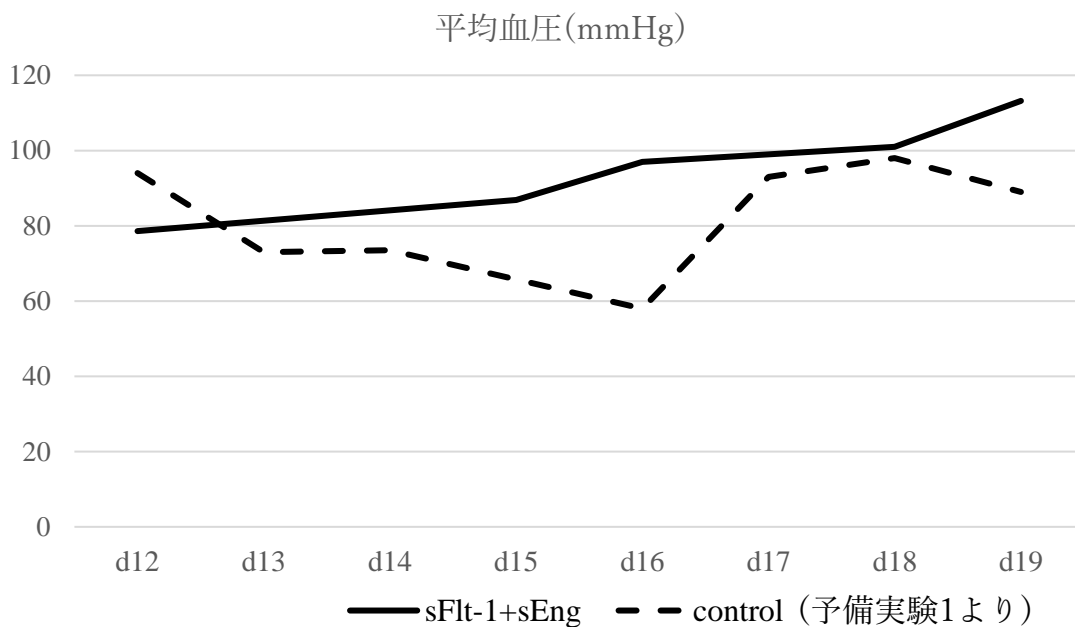


図 8 Control および sFlt-1 + sEng 投与ラットの血圧推移

5-6-2-3. 血液および尿検査結果

Control に比べ、sFlt-1 + sEng 投与ラットで血小板数の減少を認め、軽度だが AST、ALT も Control と比較し上昇していた。一方、LDH の上昇は認めなかった。U-Alb/U-Cre は Control と比較し、sFlt-1 + sEng 投与ラットでやや上昇傾向であった。(表 3)

表 3 Control および sFlt-1 + sEng 投与ラットの血液および尿検査結果

	Control* (n = 2)	sFlt-1 + sEng (n = 2)
血小板数($\times 10^3/\mu\text{L}$)	141.4 \pm 30.3	108.5 \pm 0.4
AST (IU/L)	83.0 \pm 4.2	93.0 \pm 4.2
ALT (IU/L)	31.0 \pm 7.1	40.5 \pm 0.7
LDH (IU/L)	1257 \pm 259	1309 \pm 582
U-Alb/U-Cre	0.033 \pm 0.014	0.041 \pm 0.016

*:予備実験 1 の結果より引用

5-6-2-4. 病理組織検査

肝臓、腎臓、胎盤は予備実験 1 の Control と比較し、明らかな変化は認めなかった。(図 9)

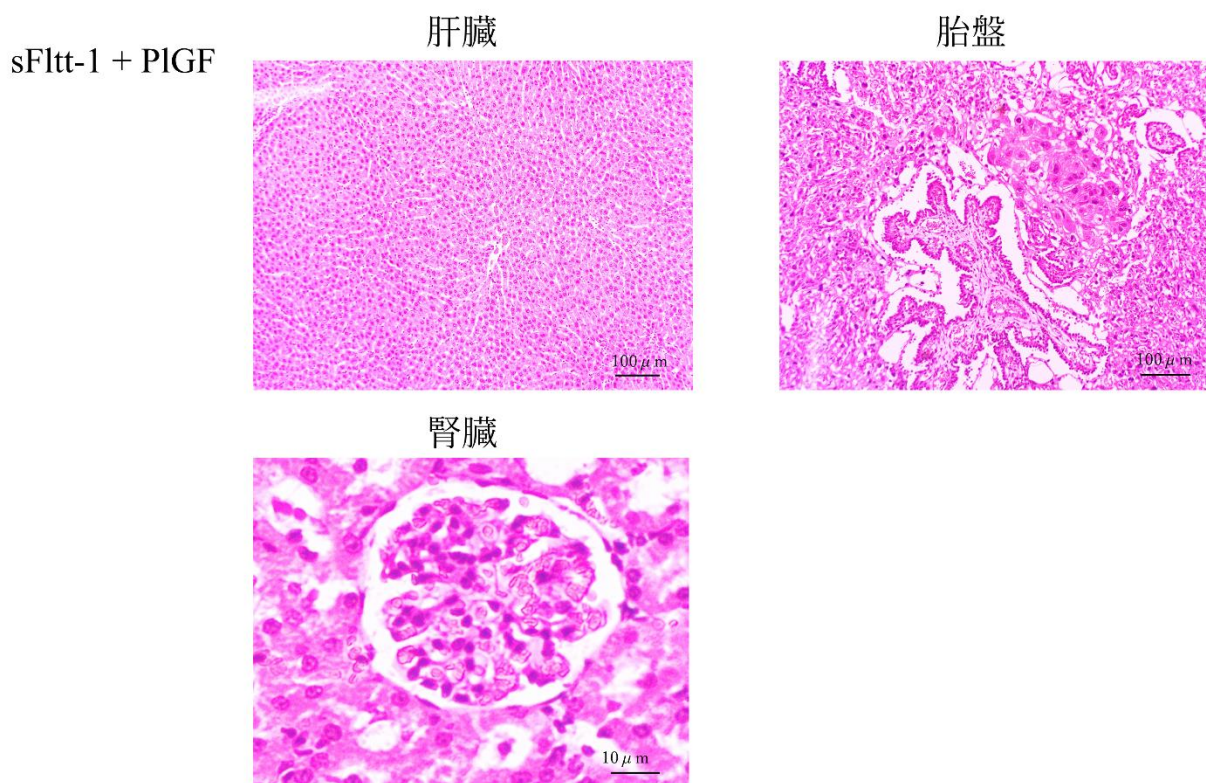


図 9 sFlt-1 + sEng 投与ラットの腎臓、胎盤、肝臓の病理組織所見 (HE 染色)

5-6-3. 考察

sFlt-1 の投与量を増量したが、血液検査所見および病理組織所見は予備実験 2 の場合と同程度であり、投与量の増加に伴う濃度依存性の変化も認めず、アルゼット®浸透圧ポンプの容量からこれ以上の投与量の増量も難しいため、アルゼット®浸透圧ポンプを利用した sFlt-1 および sEng の持続投与による HELLP 症候群モデルラットの作成は困難であると判断した。HELLP 症候群の患者では補体第 2 経路の制御因子に関する germline mutation の頻度が正常妊娠例と比較し高率(46% vs 6%)であるとの報告がある(Vaught AJ, et al. , 2018)。また Wallace K らは非妊娠ラットには sFlt-1 と sEng を持続投与しても HELLP 症候群様の症状は生じないと報告している(Wallace K, et al. , 2014)。このため、HELLP 症候群の発症には補体の制御因子に関する遺伝的な素因、妊娠に伴う免疫系の変化、胎盤形成異常に伴う sFlt-1 や sEng などの血管新生関連因子の上昇の 3 者が影響している可能性が考えられる。予備実験 1-3 では Wallace K らの報告と同系統の Sprague Dawley ラットを使用しているが、Control の血小板数に倍以上の開きを認めており、使用するラットの sFlt-1, sEng への感受性の違いが表現型に影響した可能性が考えられた。予備実験の開始前に HELLP 症候群モデルラットを報告している Wallace K らにモデル作成方法について問い合わせを行い、方法の確認をしているが、予備実験 1 でモデル作成が出来なかった際に再度問い合わせを行ったが返答がなかった。sFlt-1 と Eng の持続投与による HELLP 症候群モデルラット作成の再現性についての確認が必要と考えられるため、予備実験 2、3 の結果も踏まえ、再度モデル作成方法について問い合わせ中である。

HELLP 症候群モデルラットを作成し、血管新生関連因子と補体の活性化の関連を検討する予定であったが、予備実験で HELLP 症候群モデルラットの作成ができず、補体の活性化についての検討が出来なかった。Venkatesha S らはアデノウイルスベクターを使用し、妊娠ラットに sFlt-1 および sEng を過剰発現させ、HELLP 症候群モデルラットを作成したと報告しており(Venkatesha S, et al. , 2006)、今後は他の方法での HELLP 症候群モデルラットの作成や、妊娠ラットに補体の活性化を引き起こすことで HELLP 症候群モデルラットの作成が可能かどうか検討が必要である。

6. 第2章 日本における妊娠高血圧症候群の診断基準の変更に ともなう病型分類の変更と周産期予後に関する検討

6-1. 緒言

2018年まで日本の診断基準では妊娠高血圧腎症の診断は、妊娠20週以降に新規に発症した高血圧に加えて、蛋白尿(300mg/日)を認めた場合とされてきた(Watanabe K, et al., 2013)。一方、HDPの病態が、胎盤形成時のらせん動脈のリモデリング不全とそれに引き続き起こる血管内皮細胞障害であることが明らかになり、ISSHPおよび米国産婦人科学会(American college of Obstetricians and Gynecologists: ACOG)のガイドラインでは、蛋白尿を認めない場合でも高血圧に加えて母体の臓器障害を伴う場合はPEと診断する(American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013; Brown MA, et al., 2018)。海外の主要な診断基準との齟齬をなくすことを目的に、日本における診断基準も2018年5月に改定され、蛋白尿を認めない場合でも母体の臓器障害または子宮胎盤機能不全の所見を認める場合はPEと診断することになった(Watanabe K, et al., 2018)。PEではGHに比べ、母児の合併症のリスクが高く、血圧が軽症域(収縮期: 140 mmHg以上かつ160 mmHg未満、拡張期: 90 mmHg以上かつ110 mmHg未満)であればGHでは外来管理が可能とされているが、PEの妊婦では血圧の重症度に関わらず、原則入院管理が推奨されている(産婦人科診療ガイドライン 産科編, 2020)。またHDPの重症度に関しても、診断基準の変更に伴い血圧が軽症域であっても母体の臓器障害または子宮胎盤機能不全を認める場合には重症型のHDPと判断することになった。診断基準の変更に伴い、入院加療を要するPEと診断される妊婦が増加することが予想されるが、どの程度増加するかについての検討は行われていない。また日本のHDP妊婦における母体の臓器障害の内訳や病型分類が変更された症例の周産期予後についての検討も行われていない。

6-2. 目的

HDPの日本における診断基準の変更に伴う、病型分類および重症度の変更の頻度および変更が妥当かどうか検証するため、病型分類および重症度が変更された症例の周産期予後について検討することを目的とした。

6-3. 方法

6-3-1. 対象および研究デザイン

HDP と診断され、北海道大学病院で 2011 年 2 月から 2017 年 12 月の期間に分娩となった症例を対象とし、後方視的横断研究を行った。児に染色体異常や重度の先天性形態異常を認める症例は除外した。また NICU 満床のため、他院へ母体搬送となった症例も除外した。研究実施について北海道大学病院の倫理委員会で承認を得た (018-0276)。後方視的研究のため個別の同意の取得は行わず、北海道大学病院のホームページ上に研究の実施について情報開示を行い、オプトアウトの機会を提供した。

6-3-2. 新診断基準および病型分類

2018 年 5 月の改定前後の HDP の診断基準、病型分類を表 1 に示す。

表 1 妊娠高血圧症候群の新・旧診断基準および病型分類

旧診断基準・病型分類
1. 妊娠高血圧腎症 妊娠 20 週以降に初めて高血圧を発症し、かつ蛋白尿* ¹ を伴うもので分娩 12 週までに正常に復するもの
2. 妊娠高血圧 妊娠 20 週以降に初めて高血圧を発症し、分娩 12 週までに正常に復するもの
3. 加重型妊娠高血圧腎症 ・高血圧が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、妊娠 20 週以降に蛋白尿* ¹ を伴うもの ・高血圧と蛋白尿* ¹ が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、妊娠 20 週以降にいずれかまたは両症状が増悪するもの ・蛋白尿のみを呈する腎疾患が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、妊娠 20 週以降に高血圧を発症するもの
4. 子癇発作 妊娠 20 週以降に初めて痙攣発作を起こし、てんかんや二次性痙攣が否定されるもの
新診断基準・病型分類
1. 妊娠高血圧腎症 ・妊娠 20 週以降に初めて高血圧を発症し、かつ蛋白尿を伴うもので分娩 12 週までに正常に復するもの ・妊娠 20 週以降に初めて高血圧を発症し、蛋白尿を認めなくても以下のいずれかを認め、分娩 12 週までに正常に復するもの i. 基礎疾患のない肝機能障害 (肝酵素上昇 [ALT もしくは AST>40 IU/L]、治療に

- 反応せず、他の診断がつかない重度の持続する右季肋部痛もしくは心窩部痛)
- ii. 他の腎疾患は否定された進行性の腎障害 (Cr >1.0 mg/dL)
 - iii. 脳卒中、神経障害 (間代性痙攣、子癇、視野障害、一次性頭痛を除く重度の頭痛)
 - iv. 血液凝固障害 (妊娠高血圧症候群に伴う血小板減少 [<15 万/ μ L]、DIC、溶血)
 - ・妊娠 20 週以降に初めて高血圧を発症し、蛋白尿を認めなくて子宮胎盤機能不全 (胎児発育不全*²、臍帯動脈血流異常*³、死産*⁴) を伴うもの
2. 妊娠高血圧
- 妊娠 20 週以降に初めて高血圧を発症し、分娩 12 週までに正常に復するもので、かつ妊娠高血圧腎症の定義に当てはまらないもの
3. 加重型妊娠高血圧腎症
- ・高血圧が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、妊娠 20 週以降に蛋白尿*¹ もしくは基礎疾患のない肝機能障害、腎機能障害、脳卒中、神経障害、血液凝固障害のいずれかを伴うもの
 - ・高血圧と蛋白尿が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、妊娠 20 週以降にいずれかまたは両症状が増悪するもの
 - ・蛋白尿のみを呈する腎疾患が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、妊娠 20 週以降に高血圧を発症するもの
 - ・高血圧が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、子宮胎盤機能不全を伴うもの
4. 高血圧合併妊娠
- 高血圧が妊娠前あるいは妊娠 20 週までに存在し、加重型妊娠高血圧腎症を発症していないもの

ALT: alanine transaminase, AST: aspartate transaminase, Cr: creatinine, DIC: disseminated intravascular coagulation

*1: 24 時間尿で 300mg/日以上 of 蛋白尿が検出された場合、もしくは随時尿で protein/creatinine (P/C)比が 0.3mg/mg · Cr 以上である場合。

*2: 推定体重が-1.5SD 以下となる場合 (染色体異常や奇形症候群の場合を除く)。

*3: 死産は染色体異常や奇形症候群のない死産の場合とする。

改定に伴い、重症型の基準について蛋白尿 ≥ 2.0 g/日が削除され、母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全を認める場合には重症型と判断することになった(Watanabe K, et al., 2018)。新診断基準に基づき、旧診断基準で GH または CH の診断であった症例のうち、新診断基準で PE、sPE と診断される症例の割合および、病型分類が変更された症例での母体の臓器障害の内訳について検討した。また旧診断基準で軽症型に分類される症例のうち、新診断基準で重症型と判断される症例の割合も検討した。薬剤性の肝機能障害など、母体の臓器障害が HDP によらないと判断される症例では病型分類や重症度の変更は行わなかった。

6-3-3. 周産期予後

病型分類の変更が周産期予後にあたえる影響を検討するため、新生児集中治療室 (neonatal intensive care unit, NICU)入室率、HDP 発症時および分娩時の妊娠週数について、病型分類の変更の有無で比較検討を行った。

6-3-4. 統計解析手法

統計解析は STATA/SE version 15.1 (StataCorp)を使用して行った。HDP の発症時の妊娠週数、分娩週数については中央値（四分位範囲）で表し、統計学的有意差は Mann-Whitney U test で計算した。病型分類および重症度の変更率および NICU 入室率については実数（%）で表し、統計学的有意差は Fisher's exact test で計算した。有意水準は $p < 0.05$ とした。NICU 入室および 34 週未満の早産に対するオッズ比(odds ratio, OR)および 95%信頼区間(confidence interval, CI)を計算するため、母体年齢、双胎妊娠、重症高血圧($\geq 160/110$ mmHg)、母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全を共変量として、ロジスティック回帰分析を行った。

6-4. 結果

6-4-1. 病型分類の変化および周産期予後

研究期間内の総分娩件数は2674件で、このうち適格条件を満たした181例で解析を行った。新・旧診断基準での病型分類を図1に示す。旧診断基準でGHと分類された妊婦69人中16人(23.2%)、CHと分類された妊婦2人中1人(50.0%)で病型分類が新診断基準でPEおよびsPEに変更された。HDPの妊婦全体では181人中17人(9.4%)で病型分類が変更された。病型分類の変更理由(重複あり)は血小板減少が7人(41.2%)、胎児発育不全が7人(41.2%)、肝機能障害が4人(23.5%)であった。

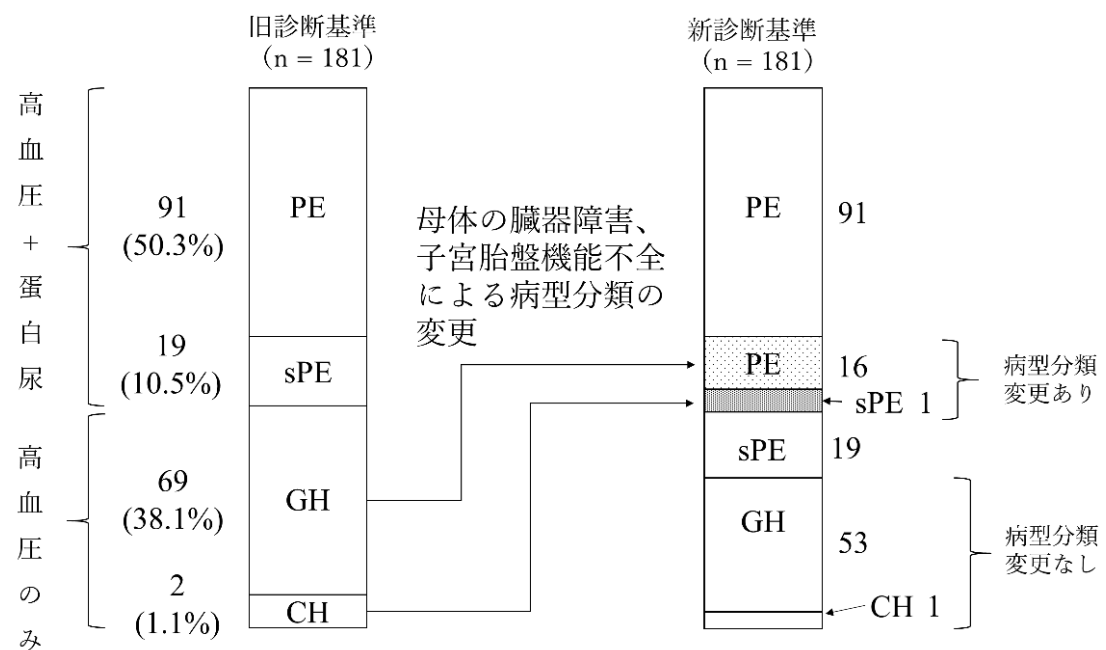


図1. 新・旧診断基準での病型分類の変更

旧診断基準で GH または CH と分類された症例のうち、新診断基準における病型分類の変更の有無による妊婦背景および周産期予後の比較を表 2 に示す。母体年齢や初産、双胎妊娠、HDP の既往については両群間で差を認めなかった。一方、HDP 発症時の妊娠週数(33.6 [29.9–36.1] vs 37.4 [35.7–38.4], $p < 0.001$)、分娩時の妊娠週数(35.9 [32.4–37.3] vs 38.1 [37.3–39.6], $p < 0.001$) は病型分類が変更された症例で有意に早く、NICU 入室率(70.6% vs 20.4%, $p < 0.001$)も有意に高率であった。

表 2. 尿蛋白を伴わない旧診断基準での GH または CH 症例における、新診断基準での病型分類の変更の有無による妊婦背景および周産期予後

	病型分類の変更あり (n = 17)	病型分類の変更なし (n = 54)	<i>p</i>
母体年齢 ^{*1}	36 (35 – 37)	35 (30 – 38)	0.317
初産 ^{*2}	8 (47.1)	30 (55.6)	0.587
双胎妊娠 ^{*2}	3 (17.7)	5 (9.3)	0.387
妊娠高血圧症候群の既往 ^{*2}	3 (17.7)	9 (16.7)	1.000
発症時の妊娠週数 ^{*1}	33.6 (29.9 – 36.1)	37.4 (35.7 – 38.4)	<0.001
分娩時の妊娠週数 ^{*1}	35.9 (32.4 – 37.3)	38.1 (37.3 – 39.6)	<0.001
NICU 入院率 ^{*2}	12 (70.6)	11 (20.4)	<0.001

*1: 中央値 (四分位範囲)

*2: n (%)

6-4-2. 重症度の変更および周産期予後

血圧に関しては 61 人(33.7%)の妊婦で軽症域(≥ 140 かつ $< 160 / \geq 90$ かつ < 110 mmHg)であったのに対し、120 人(66.3%)の妊婦で重症域($\geq 160 / 110$ mmHg)の高血圧を認めた。血圧が軽症域であった 61 人中 19 人(31.1%)で母体の臓器障害または子宮胎盤機能不全のため、重症型の HDP へ重症度の変更が行われた。(図 2) 重症度の変更理由は血小板減少が 10 人(52.6%)、子宮胎盤機能不全が 5 人(26.3%)、肝機能障害が 2 人(10.5%)、腎機能障害、が 1 人(5.3%)、神経障害が 1 人(5.3%)であった。

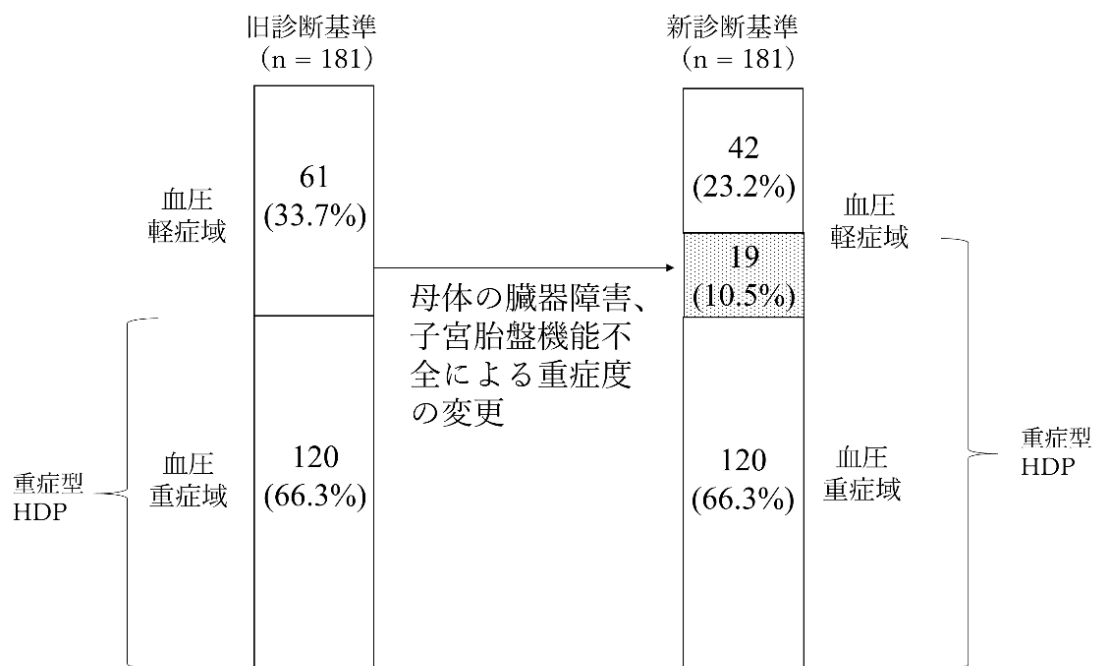


図 2 新・旧診断基準での重症度の変更

血圧が軽症域の妊婦において、新診断基準での重症度の変更の有無による妊婦背景および周産期予後を表3に示す。母体年齢(36 [32–38] vs 34.5 [30–38], $p = 0.048$)は重症度に変更された妊婦で高かったが、初産、双胎妊娠、HDPの既往については両群間で有意差は認めなかった。HDP発症時の妊娠週数(35.9 [31.1–37.3] vs 36.6 [35.3–38.3], $p = 0.048$)、分娩時の妊娠週数(36.1 [32.4–37.9] vs 37.7 [36.9–39.7], $p = 0.004$)は重症度に変更された症例で早かったが、NICU入室率(52.6% vs 35.7%, $p = 0.266$)では有意差は認めなかった。

表3. 血圧が軽症域の妊婦における母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全による重症度

	重症度変更あり (n = 19)	重症度変更なし (n = 42)	<i>p</i>
母体年齢*1	36 (32 – 38)	34.5 (30 – 38)	0.048
初産*2	7 (36.8)	27 (64.3)	0.056
双胎妊娠*2	6 (31.6)	6 (14.3)	0.165
妊娠高血圧症候群の既往*2	2 (10.5)	4 (9.5)	1.000
発症時の妊娠週数*1	35.9 (31.1 – 37.3)	36.6 (35.3 – 38.3)	0.048
分娩時の妊娠週数*1	36.1 (32.4 – 37.9)	37.7 (36.9 – 39.7)	0.004
NICU入院率*2	10 (52.6)	15 (35.7)	0.266

の変更の有無による妊婦背景と周産期予後

*1: 中央値 (四分位範囲)

*2: n (%)

6-4-3. 母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全の周産期予後に対する影響

母体の臓器障害および子宮胎盤機能不全の妊娠 34 週未満の早産と NICU 入室に関するオッズ比を表 4 に示す。妊娠 34 週未満の早産に関しては、母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全、重症高血圧のいずれも有意なリスク因子であったが、NICU 入室に関しては、子宮胎盤機能不全(OR: 22.87, 95%CI: 5.13–102.05)が有意なリスク因子である一方、母体の臓器障害(OR:2.08, 95%CI: 1.00–4.30)、重症高血圧(OR:1.24, 95%CI: 0.63–2.45)については有意差を認めなかった。

表 4. 母体の臓器障害および子宮胎盤機能不全の早産および NICU 入室に対するオッズ比

	OR	95%CI	<i>p</i>
妊娠 34 週未満早産			
母体の臓器障害	4.43	1.86–10.52	0.001
子宮胎盤機能不全	5.62	2.23–14.19	<0.001
重症高血圧	2.51	1.03–6.10	0.042
NICU 入室			
母体の臓器障害	2.08	1.00–4.30	0.050
子宮胎盤機能不全	22.87	5.13–102.05	<0.001
重症高血圧	1.24	0.63–2.45	0.535

6-5. 考察

HDP の診断基準の変更に伴い、蛋白尿を伴わない旧診断基準での GH および CH 妊婦 71 人中 17 人(23.9%)で PE または sPE へ病型分類の変更が行われた。海外の報告では PE 妊婦のうち 20–25%は蛋白尿を伴わないと報告されている(Homer CS, et al. , 2008)。本研究では新診断基準における PE, sPE 妊婦 127 人中蛋白尿を伴わない妊婦は 17 人(13.4%)と海外の報告より少ないが、GH, CH と異なり PE, sPE の症例は、ガイドラインでは原則入院管理を推奨しており、診断基準の変更に伴い入院管理を要する症例が 10%程度増加することが示唆された。

診断基準の変更に伴い、重症高血圧に加えて母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全が重症度の指標として加えられた(Watanabe K, et al. , 2018)。重症高血圧は母体の脳血管疾患のリスクを増大させ Control 不良な場合は妊娠終了が考慮されるため、特に妊娠週数が早い場合には周産期予後に大きな影響を与える(Brown MA, et al. , 2018)。一方、HDP の病態は胎盤の形成不全に伴う血管内皮細胞障害と考えられており、母体の臓器障害や子宮胎盤機能不全は血管内皮細胞障害や胎盤形成不全が進行した状態を反映していると考えられ(Sankaralingam S, et al. , 2006)、重症型の指標として加えられた。実際、本検討でも母体の臓器障害や子宮胎盤機能不全により病型分類や重症度の変更された症例は、有意に分娩週数が早く、NICU 入院率が高い。また多変量解析でも同様の傾向を認め、妊娠 34 週未満の早産および NICU 入室のオッズ比は重症高血圧よりも高かった。このため、母体の臓器障害や子宮胎盤機能の有無による病型分類、重症度の変更は妥当なものと考えられる。

病型分類および重症度の変更の理由としては血小板減少が最多で 47.2%を占め、続いて子宮胎盤機能不全が 33.3%であった。血小板減少は日本および ISSHP、ACOG のいずれのガイドラインでも HDP による母体の臓器障害の一つとされているが、日本および ISSHP のガイドラインでは血小板数 15 万/ μ L 未満、ACOG のガイドラインでは 10 万/ μ L 未満をカットオフとしている(American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013; Brown MA, et al. , 2018; Watanabe K, et al. , 2018)。使用するカットオフ値により病型分類や重症度の変更となる症例が異なるが、HDP における母体の臓器障害の指標として、血小板数 15 万/ μ L 未満と 10 万/ μ L 未満のどちらがより適切か比較した研究はこれまで報告されておらず、さらなる検討が必要と考えた。

本研究の限界としては単一施設での研究であり、症例数が多くなく、かつ大学病院という高次施設での検討であり、本研究の結果が HDP 妊婦全体を反映していない可能性がある。

7. 第3章 妊娠高血圧症候群における母体の臓器障害の指標としての血小板減少のカットオフ値についての検討

7-1. 緒言

HDP 妊婦では血管内皮細胞障害によって、血小板が活性化され消費性の血小板減少が起きるとされており、血小板減少は HDP における母体の臓器障害の一つとされている(Juan P, et al. , 2011; Thalor N, et al. , 2019)。血小板数 10 万/ μ L 未満では HELLP 症候群や DIC などの重篤な合併症のリスクが増加するため、妊娠終了を考慮する必要があるとされている(American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013)。しかし、血小板数 10-15 万/ μ L の扱いは意見が分かれており、日本および ISSHP のガイドラインでは血小板数 15 万/ μ L 未満を HDP の母体の臓器障害の指標としている一方で、ACOG のガイドラインは 10 万/ μ L を指標としている(American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013; Brown MA, et al. , 2018; Watanabe K, et al. , 2018)。カットオフ値はいずれも専門家のコンセンサスにより決定されており、両者を直接比較した検討はこれまでない。

HDP による妊娠終了は血小板数だけではなく、妊娠週数や血圧、その他の血液検査所見を総合的に判断して決定されるが、母体の臓器障害の指標としての血小板減少のカットオフ値の違いは病型分類や重症度の判断に影響し、異なるガイドラインに基づいて行われた研究結果の比較を困難にするため、カットオフ値の統一が望まれる。

7-2. 目的

血小板数 10-15 万/ μ L の軽度の血小板減少が HDP における母体の臓器障害を反映しているか検討するため、血小板数 10-15 万/ μ L が HDP の重症度および周産期予後に与える影響を検討した。

7-3. 方法

7-3-1. 対象および研究デザイン

2010年4月から2019年5月の期間に北海道大学病院または地域医療推進機構(JCHO)北海道病院で分娩となったHDP妊婦を対象とした。HDPでは病型分類ごとに合併症の頻度や予後が異なるため、血小板減少のカットオフ値が診断に影響するPE妊婦に限定し、後方視的横断研究を行った。PEの診断は新診断基準に従って行われた。18歳未満、児に染色体異常や重度の先天性形態異常を認める症例、双胎妊娠、血小板減少がHDPによらないと判断される症例は除外した。またNICU満床のため、他院へ母体搬送となった症例も除外した。研究実施について北海道病院およびJCHO北海道病院の倫理委員会で承認を得た(019-0070 および 2020-4)。後方視的研究のため個別の同意の取得は行わず、北海道大学病院およびJCHO北海道病院のホームページ上に研究の実施について情報開示を行い、オプトアウトの機会を提供した。

7-3-2. 血小板減少の定義および調査項目

分娩前の血小板数に応じて、血小板数15万/ μ L以上の正常群、血小板数10万/ μ L以上かつ15万/ μ L未満の軽症群、血小板数10万/ μ L未満の重症群の3群に分類した。妊婦背景として、母体年齢、初産の割合、PEの既往、予防的低用量アスピリンの使用の有無、帝王切開率について調べた。またPEの臨床症状として重症高血圧($\geq 160/110$ mmHg)、血小板減少を除く母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全について調査し、周産期予後として妊娠34週未満の早産の頻度、およびPEの発症週数、NICU入室率を調べた。

7-3-3. 統計解析手法

統計解析はSTATA/SE version 15.1 (StataCorp)を使用して行った。連続変数は平均 \pm 標準偏差で表し、統計学的有意差はanalysis of varianceで計算した。名義変数は実数および%で表し、統計学的有意差はFisher's exact testで計算した。多重比較は連続変数に関してはBonferroni methodを使用し、名義変数に関してはHochberg methodを使用した。有意水準は $p < 0.05$ とした。後方視的研究では相対リスク(relative risk, RR)の推定のため、ロジスティック回帰分析によって求められるORが多用されるが、アウトカムの頻度が10%を超える場合は相対リスクを過大評価してしまう(McNutt LA, et al., 2003)。このため、RRの推定のためPoisson regression analysis with a robust error varianceを使用し、母体年齢を共変量として血小板減少の程度による重症高血圧、子宮胎盤機能不全、血小板減少を除く母体の臓器障害発症のRRを計算した。血小板減少の妊娠34週未満早産およびNICU入室に対するRRの算出の際には母体年齢に加え、重症高血圧、子宮胎盤機能不全、血小板減少以外の母体の臓器障害を共変量に含めた。

7-4. 結果

7-4-1. 妊婦背景および周産期予後

研究期間中に HDP と診断された妊婦は 436 人おり、除外基準により 172 人が除外され、264 人の PE 妊婦で検討を行った (図 1)。解析対象の 264 人中血小板数正常群が 189 人、軽症群が 51 人、重症群が 24 人であった。

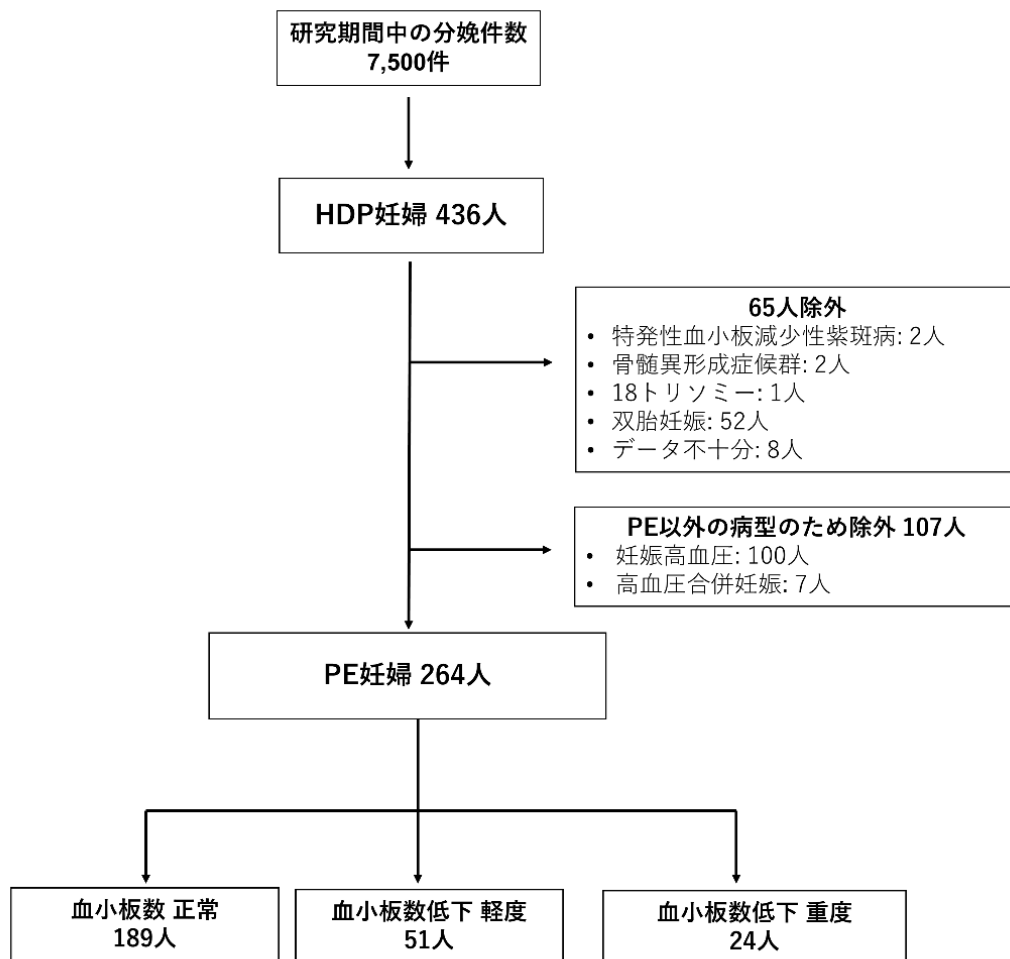


図 1. 対象妊婦および除外妊婦

各グループの妊婦背景を表 1 に示す。母体年齢、初産、PE の既往、PE 発症予防のための低用量アスピリン療法、帝王切開率のいずれも 3 群間で差を認めなかった。

表 1. 血小板数減少の程度による妊婦背景

	正常群 (n = 189)	軽症群 (n = 51)	重症群 (n = 24)	<i>p1</i>	<i>p2</i>	<i>p3</i>
母体年齢*1	33.9 ± 5.2	34.5 ± 5.1	35.7 ± 4.8	1.000	0.333	1.000
初産*2	115 (61.2)	33 (64.7)	15 (62.5)	1.000	1.000	1.000
PE の既往*2	19 (10.1)	3 (5.9)	1 (4.2)	1.000	1.000	1.000
PE 発症予防のため の低用量アスピリ ン療法*2	2 (1.1)	2 (3.9)	1 (4.2)	0.597	0.605	1.000
帝王切開*2	146 (77.3)	41 (82.0)	22 (91.7)	0.565	0.355	0.565

*1: 平均 ± 標準偏差、統計学的有意差は analysis of variance および Bonferroni method による多重比較で検討

*2: 実数 (%), 統計学的有意差は Fisher's exact test および Hochberg method による多重比較で検討 *p1*: 正常群 vs 軽症群、*p2*: 正常群 vs 重症群、*p3*: 軽症群 vs 重症群

血小板数減少の程度による周産期予後および PE の臨床症状を表 2 に示す。正常群と軽症群で PE 発症時および分娩時の妊娠週数、妊娠 34 週未満の早産、NICU 入室率に関しては差を認めないが、重症群では正常群、軽症群に比較し、発症時(重症群: 29.7 ± 5.5 、正常群: 34.1 ± 4.4 、 $p < 0.001$ 、軽症群: 33.7 ± 3.8 、 $p = 0.001$)および分娩時(重症群: 31.4 ± 5.2 、正常群: 35.1 ± 3.9 、 $p < 0.001$ 、軽症群: 34.9 ± 3.6 、 $p = 0.001$)の妊娠週数は有意に早く、妊娠 34 週未満の早産率(重症群: 66.7%、正常群: 34.9%、 $p = 0.011$ 、軽症群: 35.3%、 $p = 0.028$)、NICU 入室率(重症群: 87.5%、正常群: 53.4%、 $p = 0.005$ 、軽症群: 56.9%、 $p = 0.019$)は有意に高率であった。重症高血圧、子宮胎盤機能不全の頻度は 3 群間で差を認めなかったが、血小板減少を除く母体の臓器障害の頻度(重症群: 54.2%、正常群: 12.2%、 $p < 0.001$ 、軽症群: 11.8%、 $p < 0.001$)は重症群で正常群、軽症群より有意に高率であった。

表 2. 血小板数減少の程度による周産期予後および PE の臨床症状

	正常群 (n = 189)	軽症群 (n = 51)	重症群 (n = 24)	$p1$	$p2$	$p3$
PE 発症時の妊娠週数* ¹	34.1 ± 4.4	33.7 ± 3.8	29.7 ± 5.5	1.000	<0.001	0.001
分娩時の妊娠週数* ¹	35.1 ± 3.9	34.9 ± 3.6	31.4 ± 5.2	1.000	<0.001	0.001
妊娠 34 週未満の早産* ²	66 (34.9)	18 (35.3)	16 (66.7)	1.000	0.011	0.028
NICU 入室* ²	101 (53.4)	29 (56.9)	21 (87.5)	0.752	0.005	0.019
重症高血圧* ²	126 (66.7)	36 (70.6)	13 (54.2)	0.736	0.516	0.516
子宮胎盤機能不全* ²	54 (28.6)	17 (33.3)	7 (29.2)	1.000	1.000	1.000
血小板減少を除く母体の臓器障害* ²	23 (12.2)	6 (11.8)	13 (54.2)	1.000	<0.001	<0.001

*1: 平均 \pm 標準偏差、統計学的有意差は analysis of variance および Bonferroni method による多重比較で検討

*2: 実数 (%), 統計学的有意差は Fisher's exact test および Hochberg method による多重比較で検討 $p1$: 正常群 vs 軽症群、 $p2$: 正常群 vs 重症群、 $p3$: 軽症群 vs 重症群

7-4-2. 血小板減少の周産期予後に対する相対リスク

重症高血圧、子宮胎盤機能不全、血小板減少を除く母体の臓器障害に対する母体の年齢で調整した RR を表 3 に示す。血小板減少は軽症、重症ともに重症高血圧、子宮胎盤機能不全に関与していなかった。一方、血小板減少を除く母体の臓器障害に関しては軽症群(RR: 0.97, 95%CI: 0.41–2.26)では有意差を認めなかったが、重症群 (RR: 4.46, 95%CI: 2.59–7.68)は RR の増大に関与していた。

表 3. PE の臨床症状に対する血小板減少の RR

	RR	95%CI	<i>p</i>
重症高血圧			
母体年齢 ^{*1}	1.02	0.93–1.11	0.689
血小板減少 軽症群 ^{*2}	1.06	0.86–1.30	0.597
血小板減少 重症群 ^{*2}	0.81	0.55–1.18	0.273
子宮胎盤機能不全			
母体年齢 [*]	1.03	0.86–1.23	0.734
血小板減少 軽症群 ^{*2}	1.16	0.74–1.82	0.512
血小板減少 重症群 ^{*2}	1.01	0.52–1.96	0.977
血小板減少を除く母体の臓器障害			
母体年齢 [*]	0.99	0.79–1.25	0.949
血小板減少 軽症群 ^{*2}	0.97	0.41–2.26	0.939
血小板減少 重症群 ^{*2}	4.46	2.59–7.68	<0.001

*1: 母体年齢が 5 歳あがった際の RR

*2: Reference は血小板数正常群

妊娠 34 週未満の早産、NICU 入室に対する母体の年齢、重症高血圧、子宮胎盤機能不全、血小板減少を除く母体の臓器障害で調整した血小板減少の RR を表 4 に示す。軽症群は妊娠 34 週未満の早産(RR: 0.91, 95%CI:0.62–1.35)、NICU 入室(RR: 0.97, 95%CI: 0.76–1.24)ともに有意なリスク因子とはならなかったが、重症群は 34 週未満の早産(RR: 1.61, 95%CI: 1.06–2.45)、NICU 入室(RR: 1.35, 95%CI: 1.06–1.73)の RR を増大させた。

表 4 周産期予後に対する血小板数減少の RR

	RR	95%CI	<i>p</i>
妊娠 34 週未満の早産			
母体年齢 ^{*1}	1.07	0.92–1.25	0.359
血小板減少 軽症群 ^{*2}	0.91	0.62–1.35	0.649
血小板減少 重症群 ^{*2}	1.61	1.06–2.45	0.026
重症高血圧	1.30	0.93–1.82	0.121
子宮胎盤機能不全	2.22	1.66–2.96	<0.001
血小板減少を除く母体の臓器障害	1.49	1.05–2.12	0.025
NICU 入室			
母体年齢 ^{*1}	1.09	0.99–1.20	0.071
血小板減少 軽症群 ^{*2}	0.97	0.76–1.24	0.814
血小板減少 重症群 ^{*2}	1.35	1.06–1.73	0.016
重症高血圧	1.17	0.94–1.44	0.158
子宮胎盤機能不全	2.23	1.87–2.67	<0.001
血小板減少を除く母体の臓器障害	1.50	1.22–1.84	<0.001

*1: 母体年齢が 5 歳あがった際の RR

*2: Reference は血小板数正常群

7-5. 考察

本研究の結果からは血小板数 10 万/ μ L 以上かつ 15 万/ μ L の軽度の血小板数減少は PE の重症度の指標である重症高血圧や子宮胎盤機能、母体の臓器障害と相関しないことが示された。血小板減少は母体の臓器障害の指標に含まれており、特に血小板数 10 万/ μ L 未満では妊娠終了を考慮する指標とされているため、早産や NICU 入室に関してはリスクを過大評価する可能性がある。しかし、血小板減少軽症群では妊娠 34 週未満の早産や NICU 入室に関しても、血小板数が正常な妊婦と比較し、リスクの上昇は認めなかった。PE では発症週数が早いほど母児の予後に悪影響を与えることが知られているが(Khodzhaeva ZS, et al. , 2016)、血小板数によるバイアスを受けない PE の発症週数に関しても、軽症群では正常群と比較し有意差を認めないのに対し、重症群では有意に発症週数が早かった。これらの結果より、血小板数 10 万/ μ L 以上かつ 15 万/ μ L 未満の軽度の血小板減少は PE の重症度を反映しておらず、母体の臓器障害の指標としては血小板数 10 万/ μ L 未満が妥当である可能性が示された。

血小板減少を含む血液凝固障害は HDP における母体の臓器障害の指標であるため、血小板減少を認める症例は血圧が 160/110mmHg 未満で他の母体の臓器障害の指標を認めなくても重症型の PE と判断される(American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013; Brown MA, et al. , 2018)。このため、軽度の血小板減少が PE の病態を反映していない場合、血小板数 15 万/ μ L 未満を母体の臓器障害の指標として使用すると、血小板減少が PE の病態を反映していない症例でも重症型の PE と判断され、不必要な入院や医原性の早産を増加させる可能性がある。

妊娠中は生理的に血小板数が減少し、他の原因が否定された場合、血小板数が 15 万/ μ L 未満に低下すると妊娠性血小板減少症(gestational thrombocytopenia, GT)と診断される(Minakami H, et al. , 1998)。GT は全妊娠の 4.4–11.6%に発症し、妊娠中の血小板減少の 75%を占めるとされる(Burrows RF, et al. , 1990; Gernsheimer T, et al. , 2013)。GT と PE による血小板減少を区別するバイオマーカーはなく、PE における血小板減少の一部は PE の病態を反映したものではなく、GT による血小板減少をみている可能性がある。GT による血小板減少で血小板数が 10 万/ μ L 未満となるのは 1–5%しかなく、GT は母児の予後に影響を与えないとされている (Cines DB, et al. , 2017)。本研究で軽症の血小板減少が母体の臓器障害や早産と関連していなかったのも、軽症群の血小板減少が PE の血管内皮細胞障害による血小板減少ではなく、生理的な血小板減少を反映したものであった可能性が考えられる。

本研究では分娩時の血小板数に基づいて血小板数 10–15 万/ μ L は PE の病態を反映していない可能性が示されたが、PE は妊娠継続中は徐々に増悪していくため、血小板減少が軽度の妊婦でも病態の進行とともに血小板数が 10 万/ μ L 未満へ増悪する可能性がある。先行研究では平均血小板容積や血小板分布幅などの血小板容積指数が PE の発症や重症度と関連しているとの報告がある(AlSheeha MA, et al. , 2016; Freitas

LG, et al. , 2013; Yang SW, et al. , 2014)。血小板数に加えて、血小板容積指数や血小板数減少スピードやベースラインからの減少率を評価することにより、より正確に PE の病勢を把握できる可能性がある。

本研究の限界としては後方視的研究のため、妊娠終了のタイミングは主治医の判断による点が挙げられる。また PE の発症や予後予測に有用とされる sFlt-1 や PlGF のような血清マーカーは日本では保険診療で行えないため、血小板低下の程度と、sFlt-1 や PlGF の関連については検討できていない。PE 発症のハイリスク妊婦に対する予防的な低用量アスピリンの投与の有用性が報告されているが(Rolnik DL, et al. , 2017)、本研究の対象妊婦では予防的な低用量アスピリンの投与を受けている妊婦はほとんどおらず、本研究で得られた知見が予防的に低用量アスピリンを内服している妊婦にも適応できるかどうかは不明である。

8. 第4章 血小板の減少率と妊娠高血圧症候群における

母体の臓器障害、周産期予後についての検討

8-1. 緒言

先の研究で血小板数 10 万/ μ L 以上かつ 15 万/ μ L 未満の軽度の血小板減少は PE の病態を反映していない可能性が示された。しかし、PE は妊娠継続中は徐々に増悪し、発症週数が早い場合は慎重な経過観察のもと妊娠期間の延長を目指すため、血小板数の減少が軽度であった症例でも経過中に重度の血小板減少に至る可能性がある。このため、HDP の管理中に血小板減少が軽度であったとしても、リスクが低いとは言いきれない。

妊娠中は循環血漿量の増加により血液希釈が進行する(Abduljalil K, et al. , 2012)。また非妊娠時は血小板の 1/3 程度は脾臓の網内系に存在するとされているが、妊娠時には脾臓のサイズが 50%増加すると報告されている(Aster RH, 1966; Maymon R, et al. 2006)。また胎盤の血流も脾臓の網内系に類似するため(Jönsson V, et al. , 1985)、妊娠中は脾臓や胎盤にトラップされる血小板数が増加する。これらの生理的な変化により、正常妊娠でも非妊娠時と比較し血小板数の分布は左方に移動し、4.4–11.6%の妊婦では血小板数が 15 万/ μ L 未満まで低下し、GT と診断される(Burrows RF, et al. , 1990; Gernsheimer T, et al. , 2013)。このため、分娩時の血小板減少が軽度で HDP の病態を反映していないと考えられる症例では HDP に併存している生理的な血小板減少をみている可能性がある。血小板の絶対数の評価だけでなく、血小板数の減少率を評価することにより HDP における血管内皮細胞障害による血小板減少をより正確に評価できると仮説を立てた。

8-2. 目的

妊娠初期から HDP 発症時および分娩時までの血小板数の減少率が HDP の重症度および周産期予後に関連しているかを検討する。

8-3 方法

8-3-1. 対象および研究デザイン

2010年4月から2019年5月の期間に北海道大学病院またはJCHO北海道病院で分娩となったHDP妊婦を対象とし、後方視的横断研究を行った。18歳未満、児に染色体異常や重度の先天性形態異常を認める症例、双胎妊娠、血小板減少がHDPによらないと判断される症例、妊娠初期の血小板数の情報が得られない症例は除外した。またNICU満床のため、他院へ母体搬送となった症例も除外した。HDP発症時の血小板率による予後予測の研究ではHDP妊婦全体を対象とし、分娩時の血小板数減少率とPEの臨床症状、および周産期予後の研究では、新診断基準でのPE妊婦に限定して検討を行った。研究実施について北海道病院およびJCHO北海道病院の倫理委員会で承認を得た(019-0070 および 2020-4)。後方視的研究のため個別の同意の取得は行わず、北海道大学病院およびJCHO北海道病院のホームページ上に研究の実施について情報開示を行い、オプトアウトの機会を提供した。

8-3-2. 血小板数減少率の計算および調査項目

妊娠9–13週間に測定した血小板数を妊娠初期の値として使用した。HDP発症時および分娩時の血小板数減少率は以下の式で計算した。HDP発症時： $(\text{妊娠初期の血小板数} - \text{HDP発症時の血小板数}) / \text{妊娠初期の血小板数}$ 、分娩時： $(\text{妊娠初期の血小板数} - \text{分娩時の血小板数}) / \text{妊娠初期の血小板数}$ 。HDP発症時の血小板数の減少率からPEの発症および妊娠34週未満の早産を予測するためのカットオフ値を検討した。妊娠中は正常妊婦でも生理的変化として10–20%程度血小板減少が起こるため、分娩時の血小板数の減少率は30%をカットオフ値とし、血小板数減少率とPEの臨床症状、周産期予後の関係を検討した。PEの臨床症状として重症高血圧($\geq 160/110$ mmHg)、血小板減少を除く母体の臓器障害、子宮胎盤機能不全について調査し、周産期予後として妊娠34週未満の早産の頻度、およびPEの発症週数を調べた。また分娩時の血小板数を血小板数15万/ μL 以上、10万/ μL 以上かつ15万/ μL 未満、10万/ μL の3群に分け、血小板数減少率毎の分娩時の血小板数についても検討した。またサブ解析として、分娩時の血小板数が15万/ μL 以上の妊婦に限定して、血小板数減少率とPEの臨床症状、周産期予後の関係について検討した。

8-3-3. 統計解析手法

統計解析はSTATA/SE version 15.1 (StataCorp)を使用して行った。連続変数は平均 \pm 標準偏差で表し、統計学的有意差はindependent t-testで計算した。名義変数は実数および%で表し、統計学的有意差はChi-square testで計算した。HDP発症時の血小板数減少率とPEの発症および妊娠34週未満の早産に関して、Receiver operating characteristic (ROC) カーブを作成し、カットオフ値はYouden indexを使用し求めた。分娩時の血小板数で調整した分娩時の血小板数減少率30%以上のPEの臨床症

状、周産期予後に関する RR を Poisson regression analysis with a robust error variance を用いて計算した。

8-4. 結果

8-4-1. HDP 発症時の血小板数減少率による予後予測

研究期間内に 436 人の妊婦が HDP を発症し、117 人が除外基準のため除外され 319 人の HDP 妊婦で検討を行った (図 1)。

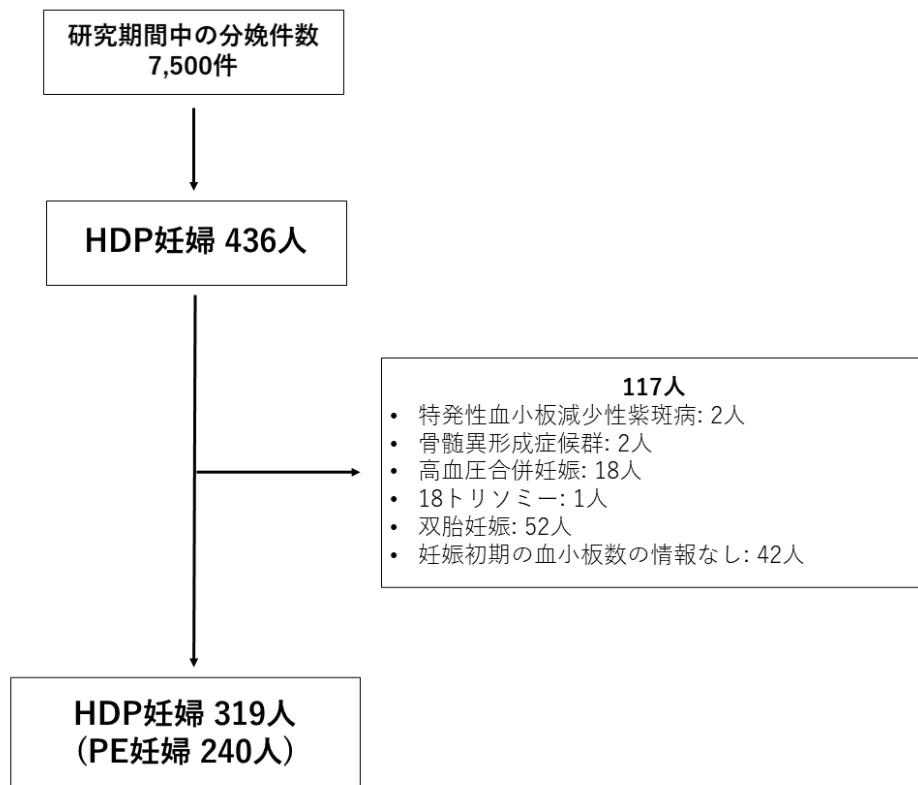


図 1 対象妊婦および除外妊婦

319 人中、最終的に PE と診断された妊婦は 240 人(75.2%)で 34 週未満の早産となった妊婦は 91 人(28.5%)であった。PE 発症および妊娠 34 週未満の早産に対する妊娠初期から HDP 発症までの血小板数減少率の ROC カーブを図 2 に示す。Youden index による PE 発症、妊娠 34 週未満の早産の予測のためのカットオフ値は 23.1%、30.0%であった。HDP 発症時に血小板数減少率が 23.1%以上の症例は 102/319 人(32.0%)であり、減少率が 30%以上の症例は 61/319 人(19.1%)であった。血小板数減少率が 23.1%以上であった 102 人中 93 人(91.2%)が PE を発症したのに対し、23.1%未満であった 217 人中 PE を発症したのは 147 人(67.7%)であった($p < 0.001$)。血小板数減少率が 30%以上であった 61 人中 26 人(42.6%)が妊娠 34 週未満の早産となったのに対し、30%未満の 258 人中妊娠 34 週未満の早産となったのは 65 人(25.2%)であった($p = 0.007$)。

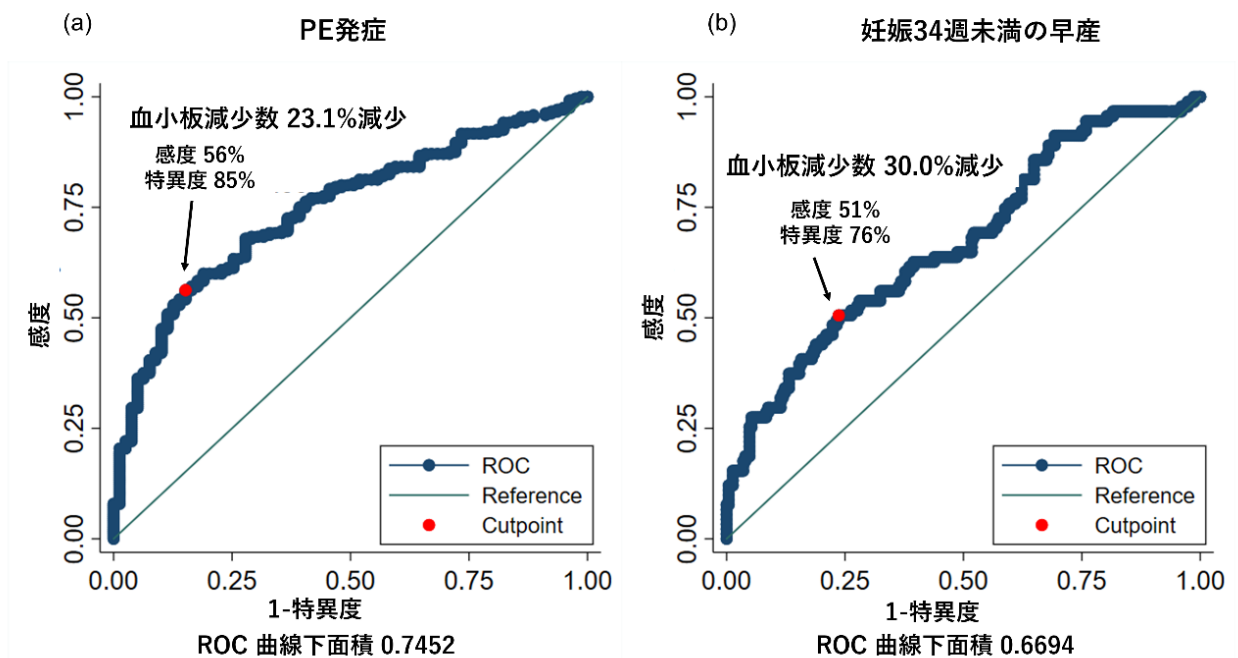


図 2 PE 発症(a)および妊娠 34 週未満の早産(b)に対する血小板数減少率の ROC カーブ

8-4-2. PE 患者における分娩時の血小板減少率による周産期予後

PE 妊婦 240 人における分娩時の血小板数減少率による妊婦背景および周産期予後を表 1 に示す。血小板数減少率によらず妊娠初期の血小板数は同程度であるが、95/240 人(39.6%)が 30%以上の血小板数減少を認めた。減少率が 30%以上の症例では 34.7%が軽度の血小板減少を認め、22.1%で重度の血小板減少を認めた。一方で減少率が 30%未満の症例でも 7.6%で軽度の血小板減少を認めた。また血小板減少を除く母体の臓器障害(減少率<30%: 12.4%, 減少率 ≥30%: 22.1%, $p=0.047$)、妊娠 34 週未満の早産(減少率<30%: 30.3%, 減少率 ≥30%: 48.4%, $p=0.005$)は減少率 30%以上の群で有意に高率であった。

表 1. 分娩時の血小板数減少率による妊婦背景および周産期予後

	減少率 <30.0%	減少率 ≥30.0%	<i>P</i>
	(n = 145)	(n = 95)	
母体年齢 ^{*1}	33.8 ± 5.2	34.5 ± 5.0	0.312
初産 ^{*2}	96 (66.2)	57 (60.0)	0.328
PE の既往 ^{*2}	11 (7.6)	7 (7.4)	0.950
PE 発症予防のための低用量アスピリン療法 ^{*2}	2 (1.4)	2 (2.1)	0.667
重症高血圧 ^{*2}	94 (64.8)	72 (75.8)	0.072
子宮胎盤機能不全 ^{*2}	47 (32.4)	20 (21.1)	0.055
血小板減少を除く母体の臓器障害 ^{*2}	18 (12.4)	21 (22.1)	0.047
妊娠 34 週未満の早産 ^{*2}	44 (30.3)	46 (48.4)	0.005
妊娠初期の血小板数 ^{*1} ($\times 10^9/L$)	249 ± 53	254 ± 59	0.442
分娩時の血小板数 ^{*1} ($\times 10^9/L$)	219 ± 52	138 ± 47	<0.001
分娩時の血小板減少の程度 ^{*2}			
>150 $\times 10^9/L$	133 (91.7)	41 (43.2)	
< 150 $\times 10^9/L$ and $\geq 100 \times 10^9/L$	11 (7.6)	33 (34.7)	<0.001
< 100 $\times 10^9/L$	1 (0.7)	21 (22.1)	

*1: 平均 ± 標準偏差、統計学的有意差は independent t-test で検討

*2: 実数 (%), 統計学的有意差は Chi-square test で検討

分娩時の血小板数が正常な PE 妊婦 174 人における血小板数減少率による妊婦背景および周産期予後を表 2 に示す。血小板数が正常な PE 妊婦においても血小板数減少率が 30%以上の群で重症高血圧(減少率<30%: 66.2%, 減少率 ≥30%: 85.4%, $p = 0.018$)、妊娠 34 週未満の早産(減少率<30%: 30.8%, 減少率 ≥30%: 51.2%, $p = 0.017$)は有意に高率であった。一方、子宮胎盤機能不全(減少率<30%: 33.1%, 減少率 ≥30%: 12.2%, $p = 0.009$)は血小板数減少率 30%未満の群の方が高率であった。

表 2 血小板数 15 万/ μ L 以上の PE 妊婦における血小板数減少率による妊婦背景および周産期予後

	減少率 <30.0% (n = 133)	減少率 ≥30.0% (n = 41)	<i>p</i>
母体年齢* ¹	34.0 ± 5.1	34.0 ± 5.5	0.538
初産* ²	88 (66.2)	22 (53.7)	0.147
PE の既往* ²	9 (6.8)	5 (12.2)	0.264
PE 発症予防のための低用量アスピリン療法* ²	1 (0.8)	0	0.578
重症高血圧* ²	88 (66.2)	35 (85.4)	0.018
子宮胎盤機能不全* ²	44 (33.1)	5 (12.2)	0.009
血小板減少を除く母体の臓器障害* ²	16 (12.0)	6 (14.6)	0.661
妊娠 34 週未満の早産* ²	41 (30.8)	21 (51.2)	0.017
妊娠初期の血小板数 * ¹ ($\times 10^9/L$)	256 ± 50	297 ± 49	<0.001
分娩時の血小板数* ¹ ($\times 10^9/L$)	226 ± 47	179 ± 25	<0.001

*1: 平均 ± 標準偏差、統計学的有意差は independent t-test で検討

*2: 実数 (%), 統計学的有意差は Chi-square test で検討

分娩時の血小板減少の程度で調整した血小板数減少率の周産期予後に対する RR を表 3 に示す。調整後も 30%以上の血小板数減少は重症高血圧(RR: 1.28 [1.07–1.53])、妊娠 34 週未満の早産(RR: 1.62 [1.11–2.37])の有意なリスク因子であった。しかし、子宮胎盤機能不全(RR: 0.56 [0.34–0.93])ではリスクの低下を認めた。

表 3. 分娩時の血小板減少の程度で調整した血小板数減少率の周産期予後に対する RR

	RR	95% CI	<i>p</i>
重症高血圧	1.28	1.07–1.53	0.006
子宮胎盤機能不全	0.56	0.34–0.93	0.025
血小板減少を除く母体の臓器障害	1.12	0.52–2.41	0.777
妊娠 34 週未満の早産	1.62	1.11–2.37	0.013

8-5. 考察

本研究より HDP 発症時の血小板数の減少率が PE の発症や妊娠 34 週未満早産のリスクを反映することが示唆された。PE における予後予測としては sFLt-1 と PIGF の比率が有用との報告がある(Zeisler H, et al. , 2016)。しかし、これらの血清マーカーは実臨床では多くの発展途上国では使用できず、日本でも保険適応はない。PE を発症した場合は特に慎重な母児の状態のモニタリングが必要とされ(産婦人科診療ガイドライン 産科編, 2020a)、妊娠 34 週未満の早産では児の肺成熟や頭蓋内出血の予防を目的とし、ベタメタゾンの投与および高次医療機関での管理が推奨されている((産婦人科診療ガイドライン 産科編, 2020b)。このため、評価が容易な血小板数の減少率でこれらのリスクが評価できることは有用と考えられる。

非妊娠時の血小板数は通常は妊娠管理中には得られないため、本研究では妊娠初期からの減少率を使用した。妊娠初期でも非妊娠時と比較すると血小板数は低下し、合併症のない妊婦での非妊娠時から分娩時までの血小板数の減少率は 17%程度であるため(Reese JA, et al. , 2018)、今回の検討で算出された妊娠初期からの血小板数減少が 23.1%、30.0%というカットオフ値は生理的な減少の範囲を超えており、血管内皮細胞障害による消費性の血小板減少を示唆していると考えられる。

妊娠中の生理的な血小板減少の程度は個人差が少なく、非妊娠時の血小板数が正常下限に近い症例ほど GT の発症リスクが高いとされ、GT の既往のある妊婦での GT の再発リスクは既往のない妊婦の 14.2 倍との報告がある(Reese JA, et al. , 2018)。本研究で分娩時の血小板数減少率が 30%未満の症例で軽度の血小板減少を認めた割合は 7.6%であり、GT の一般集団での発症率とほぼ同じであった。このため、血小板数減少率 30%未満の症例での血小板減少は生理的な血小板減少であった可能性が高いと考えられる。一方、分娩時の血小板数が正常である症例でも 30%以上の血小板数減少は重症高血圧や 34 週未満の早産のリスク因子であり、これらの症例は血小板減少が血管内皮細胞障害によるものであるが、非妊娠時の血小板数が高いため 15 万/ μ L のカットオフ値に達しなかった可能性がある。

らせん動脈の形成不全による胎盤の血流障害は HDP 発症と胎児発育不全の原因となる(Genbacev O, et al. , 1996; Khong TY, et al. , 1986)。しかし胎児発育不全の原因は多岐にわたり、HDP によるものか臍帯の胎盤付着部位の異常や子宮筋腫などによる胎盤血流障害など他の要因によるものかの鑑別は困難である。このため日本および ISSHP のガイドラインでは胎児発育不全を含む子宮胎盤機能不全を母体の臓器障害の指標として含まれている一方で、ACOG のガイドラインでは子宮胎盤機能不全を母体の臓器障害の指標として含んでいない(American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013; Brown MA, et al. , 2018)。本研究では PE の診断は日本の新診断基準に基づいて行ったため、子宮胎盤機能不全を伴う場合は蛋白尿や母体の臓器障害を認めない場合でも PE と診断される。このため子宮胎盤機能不全によって PE と診断された症例では子宮胎盤機能不全に対する血管

内皮細胞障害の関与が低く、血小板数の減少率が30%未満となる症例が多かった可能性がある。

本研究の限界としては妊娠初期の血小板数が悪阻による血液濃縮の影響を受け、後方視的研究のためカルテ情報からは悪阻の程度についての客観的な評価が困難である点が挙げられる。血小板数の減少率によって妊娠初期の血小板数には差がないため、血小板数減少率と周産期予後の関連への悪阻の影響は少ないと考えるが、減少率のカットオフ値を決める際に影響を及ぼす可能性がある。また日本では sFlt-1 や sEng といった血清マーカーを日常臨床で使うことは困難であるため、血小板数減少率とこれらの血清マーカーとの関連については検討できていない。

9. 結論

本研究では以下の点を明らかにした。

- ・ sFlt-1 および sEng の腹腔内への持続投与による HELLP 症候群モデルラットの作成が困難である。
- ・ 母体の臓器障害のため病型分類が変更された HDP 症例では母体の臓器障害を伴わない症例に比べ、有意に早産や NICU 入院のリスクが高い。
- ・ 妊娠高血圧症候群における母体の臓器障害の指標としての血小板減少のカットオフ値として 10 万/ μ L 未満が適当である。
- ・ 血小板数の絶対値のみならず、妊娠初期からの血小板減少率が周産期予後と相関する。

本研究の意義であるが、sFlt-1 および sEng の腹腔内への持続投与では病理組織所見で有意な変化を認めなかったが、血液検査では軽度であるが肝機能障害を認めしており、今後はウイルスベクターを使用した sFlt-1、sEng の過剰発現など他の方法での HELLP 症候群モデル動物の作成の可能性が示された。今後、他の方法で HELLP 症候群モデル動物が作成され、補体の抑制による HELLP 症候群の治療が可能か検討されることが期待される。

母体の臓器障害を診断基準に入れた HDP の新診断基準では PE と診断される症例が増加するが、病型分類が変更された症例では有意に早産や NICU 入院リスクが高く、周産期管理を行う上で注意を要することが示された。母体の臓器障害の頻度としてもっとも多い血小板減少においては 10 万/ μ L 以上かつ 15 万/ μ L 未満の血小板数減少は PE の重症度を反映していない可能性が示され、日本の新診断基準が採用する血小板数 15 万/ μ L 未満というカットオフ値では不必要な入院や早期の娩出による医原性の早産の原因となる可能性がある。また血小板数と独立して、血小板減少率が周産期予後と相関することが示されており、血小板減少率を考慮することでより HDP の病態に即した管理ができる可能性がある。血小板数のカットオフ値や血小板減少率については、今後診断基準の改定にむけて sFlt-1 や PlGF といった血清マーカーを含めた前向き試験で検討が期待される。本研究の結果は母体の臓器障害の指標としての血小板減少のカットオフ値の再考に向けた一助となると考える。

10. 謝辞

本研究の一部は JSPS 基盤研究 C 19K09745 の助成を受けたものである。

本研究全般と本文の執筆にあたり、ご指導頂いた北海道大学大学院医学研究院生殖・発達医学分野産婦人科学教室の渡利英道教授ならびに森川守准教授、実験手技をご指導頂いた古田伊都子助手、データ収集にご協力頂いた JCHO 北海道病院産婦人科部長の山田俊先生へ心より御礼申し上げます。また研究にご協力頂いた妊婦の皆様へ深く感謝申し上げます。

11. 利益相反

本研究に関して開示すべき利益相反状態はありません。

12. 引用文献

Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JP, Souza JP; WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health Research Network. (2014). Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. *121*, 14–24.

Abduljalil K, Furness P, Johnson TN, Rostami-Hodjegan A, Soltani H. (2012). Anatomical, physiological and metabolic changes with gestational age during normal pregnancy: a database for parameters required in physiologically based pharmacokinetic modelling. *Clin Pharmacokinet*. *51*, 365–396.

Abildgaard U, Heimdal K. (2013). Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. *166*, 117–123.

Ahmad S, Hewett PW, Al-Ani B, Sissaoui S, Fujisawa T, Cudmore MJ, Ahmed A. (2011). Autocrine activity of soluble Flt-1 controls endothelial cell function and angiogenesis. *Vasc Cell*. *13*, 15.

AlSheeha MA, Alaboudi RS, Alghasham MA, Iqbal J, Adam I. (2016). Platelet count and platelet indices in women with pre-eclampsia. *Vasc Health Risk Manag*. *12*, 477-480.

American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. (2013). Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' task force on hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol*. *122*, 1122–1131.

Aster RH. (1966). Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of “hypersplenic” thrombocytopenia. *J Clin Invest*. *45*, 645–657.

Brown MA, Magee LA, Kenny LC, Karumanchi SA, McCarthy FP, Saito S, Hall DR, Warren CE, Adayi G, Ishaku S; International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). (2018). Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension*. *72*, 24–43.

Burrows RF, Kelton JG. (1990). Thrombocytopenia at delivery: A prospective survey of 6715 deliveries. *Am J Obstet Gynecol*. *162*, 731-734.

- Caniggia I, Grisaru-Gravnosky S, Kuliszewsky, Post M, Jye SJ. (1999). Inhibition of TGF- β_3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. *J Clin Invest.* 103, 1641–1650.
- Cines DB, Levine LD. (2017). Thrombocytopenia in pregnancy. *Blood.* 130, 2271-2277.
- Freitas LG, Alpoim PN, Komatsuzaki F, Carvalho Md, Dusse LM. (2013). Pre-eclampsia: are platelet count and indices useful for its prognostic? *Hematology.* 18, 360-364.
- Genbacev O, Joslin R, Damsky CH, Polliotti BM, Fisher SJ. (1996). Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation/invasion in vitro and models the placental defects that occur in preeclampsia. *J Clin Invest.* 97, 540-550.
- Gernsheimer T, James AH, Stasi R. (2013). How I treat thrombocytopenia in pregnancy. *Blood.* 121, 38-47.
- Gilbert JS, Gilbert SA, Arany M, Granger JP. (2009). Hypertension produced by placental ischemia in pregnant rats is associated with increased soluble Endoglin expression. *Hypertension.* 53, 399–403.
- Homer CS, Brown MA, Mangos G, Davis GK. (2008). Nonproteinuric pre-eclampsia: A novel risk indicator in women with gestational hypertension. *J Hypertens.* 26, 295–302.
- Jacquemyn Y, Jochems L, Duiker E, Bosmans JL, Van Hoof V, Van Campenhout C. (2004). Long-term renal function after HELLP syndrome. *Gynecol Obstet Invest* 57, 117–120.
- Jønsson V, Bock JE, Nielsen JB. (1992). Significance of plasma skimming and plasma volume expansion. *J Appl Physiol* (1985). 72, 2047–2051.
- Juan P, Stefano G, Antonella S, Albana C. (2011). Platelets in pregnancy. *J Prenat Med.* 5, 90-92.
- Khaliq A, Dunk C, Jiang J, Shams M, Li XF, Acevedo C, Weich H, Whittle M, Ahmed A. Hypoxia down-regulates placenta growth factor, whereas fetal growth restriction up-regulates placenta growth factor expression: molecular evidence for "placental hyperoxia" in intrauterine growth restriction. (1999). *Lab Invest.* 79, 151–170.
- Khodzhaeva ZS, Kogan YA, Shmakov RG, Klimenchenko NI, Akatyeva AS, Vavina OV, Kholin AM, Muminova KT, Sukhikh GT. (2016). Clinical and pathogenetic features of early- and late-onset pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 29, 2980-2986

Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. (1986). Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol.* *93*, 1049-1059.

Knapen M, VanAltena A, Peters WHM, Merkus HMWM, Jansen JJ, Steegers EA. (1998). Liver function following pregnancy complicated by the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol.* *105*, 1208–1210.

Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, et al. (2006). Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med.* *355*, 992–1005.

Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, et al. (2004). Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* *350*, 672–683.

Maymon R, Strauss S, Vaknin Z, Weinraub Z, Herman A, Gayer G. (2006). Normal sonographic values of maternal spleen size throughout pregnancy. *Ultrasound Med Biol.* *32*, 1827–1831.

McNutt LA, Wu C, Xue X, Hafner JP. (2003). Estimating the relative risk in cohort studies and clinical trials of common outcomes. *Am J Epidemiol.* *157*, 940-943.

Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. (1994). A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol.* *101*, 669–674.

Minakami H, Kohmura Y, Izumi A, Watanabe T, Matsubara S, Sato I. (1998). Relation between gestational thrombocytopenia and the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP syndrome). *Gynecol Obstet Invest.* *46*, 41-45.

Morikawa M, Umazume T, Nakagawa K, Chiba K, Kawaguchi S, Watari H. (2019). Low antithrombin activity before delivery predicts subsequent hypertensive disorders in pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* *147*, 375-381.

Nagamatsu T, Fujii T, Kusumi M, Zou L, Yamashita T, Osuga Y, Momoeda M, Kozuma S, Taketani Y. (2004). Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. *Endocrinology.* *145*, 4838–4845.

Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. (1980). Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta.* *1*, 3–19.

Ray JG, Vermeulen MJ, Schull MJ, Redelmeier DA. (2005). Cardiovascular health after maternal placental syndromes (CHAMPS): population-based retrospective cohort study. *Lancet*. 366, 1797–1803.

Reese JA, Peck JD, Deschamps DR, McIntosh JJ, Knudtson EJ, Terrell DR, Vesely SK, George JN. (2018). Platelet Counts during Pregnancy. *N Engl J Med*. 379, 32-43

Rolnik DL, Wright D, Poon LC, O'Gorman N, Syngelaki A, de Paco Matallana C, Akolekar R, Cicero S, Janga D, Singh M, et al. (2017). Aspirin versus placebo in pregnancies at high risk for preterm pre-eclampsia. *N Engl J Med*. 377, 613-622.

Roberts JM, Gammill HS. (2005). Preeclampsia: recent insights. *Hypertension*. 46, 1243-1249.

Roberts JM, Hubel CA. (2009). The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 30, S32-S37.

Sankaralingam S, Arenas IA, Lalu MM, Davidge ST. (2006). Preeclampsia: Current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *Expert Rev Mol Med*. 8, 1–20.

Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller AB, Daniels J, Gülmezoglu AM, Temmerman M, Alkema L. (2014). Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2, e323–333.

Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. (1993). Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol*. 169, 1000–1006.

Sullivan CA, Magann EF, Perry KG, Roberts EW, Blake PG, Martin JN Jr. (1994). The recurrence risk of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP) in subsequent gestations. *Am J Obstet Gynecol*. 171, 940–943.

Thalor N, Singh K, Pujani M, Chauhan V, Agarwal C, Ahuja R. (2019). A correlation between platelet indices and pre-eclampsia. *Hematol Transfus Cell Ther*. 41, 129-133.

Van Pampus MG, Wolf H, Mayruhu G, Treffers PE, Bleker OP. (2001). Long-term follow-up in patients with a history of (H)HELLP syndrome. *Hypertens Pregnancy*. 20, 15–23.

- Van Pampus MG, Wolf H, Westenberg SM, van der Post JA, Bonsel GJ, Treffers PE. (1998). Maternal and perinatal outcome after expectant management of the HELLP syndrome compared with preeclampsia without HELLP syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 76, 31–36.
- Vaught AJ, Gavriilaki E, Hueppchen N, Blakemore K, Yuan X, Seifert SM, York S, Brodsky RA. (2016). Direct evidence of complement activation in HELLP syndrome: A link to atypical hemolytic uremic syndrome. *Exp Hematol.* 44, 390-8.
- Vaught AJ, Braunstein EM, Jasem J, Yuan X, Makhlin I, Eloundou S, Baines AC, Merrill SA, Chaturvedi S, Blakemore K, Sperati CJ, Brodsky RA. (2018). Germline mutations in the alternative pathway of complement predispose to HELLP syndrome. *JCI Insight.* 3, e99128.
- Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, et al. (2006). Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 12, 642–649.
- Vikse BE, Irgens LM, Leivestad T, Skjaerven R, Iversen BM. (2008). Preeclampsia and the risk of end-stage renal disease. *N Engl J Med.* 359, 800–809.
- Wallace K, Morris R, Kyle BP, Cornelius C, Darby M, Scott J, Moseley J, Chatman K, Lamarca B. (2014). Hypertension, inflammation and T lymphocytes are increased in a rat model of HELLP syndrome. *Hypertens Pregnancy.* 33,41-54.
- Walshe TE, Saint-Geniez M, Maharaj AS, Sekiyama E, Maldonado AE, D'Amore PA. (2009). TGF-beta is required for vascular barrier function, endothelial survival and homeostasis of the adult microvasculature. *PLoS One.* 4, e5149.
- Wang A, Rana S, Karumanchi SA. (2009). Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology (Bethesda).* 24, 147–158.
- Watanabe K, Matsubara K, Nakamoto O, Ushijima J, Ohkuchi A, Koide K, Makino S, Mimura K, Morikawa M, Naruse K, et al. (2018). Outline of the new definition and classification of “Hypertensive Disorders of Pregnancy (HDP)”: a revised JSSHP statement of 2005. *Hypertens Res Pregnancy.* 6, 33–37.
- Watanabe K, Naruse K, Tanaka K, Metoki H, Suzuki Y. (2013). Outline of definition and classification of ‘pregnancy induced hypertension (PIH)’. *Hypertens Res Pregnancy.* 1, 3–4.

Yang SW, Cho SH, Kwon HS, Sohn IS, Hwang HS. (2014). Significance of the platelet distribution width as a severity marker for the development of pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 175, 107-111.

Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, Olovsson M, Brennecke SP, Stepan H, Allegranza D, et al. (2016). Predictive Value of the sFlt-1:PlGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med.* 374, 13-22.

CQ302 切迫早産の診断と管理の注意点は?, 産婦人科診療ガイドライン 産科編 2020b, 日本産科婦人科学会/日本産婦人科医会, (東京, 杏林社), 136-141.

CQ309 妊娠高血圧症候群と診断されたら?, 産婦人科診療ガイドライン 産科編 2020a, 日本産科婦人科学会/日本産婦人科医会, (東京, 杏林社), 172-176.