

診 療

母体血清中 Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A)の動態に関する研究

東京医科大学産科婦人科学教室

鈴木 良知 杉山 力一 高田 淳子 井坂 恵一 高山 雅臣

Serum Levels of Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP-A) in Pregnant Women

Yoshichika SUZUKI, Rikikazu SUGIYAMA, Junko TAKADA,
Keiichi ISAKA and Masaomi TAKAYAMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tokyo Medical University, Tokyo

Abstract Recently an immunoradiometric assay (IRMA) for pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) has been developed by Ortho-Clinical Diagnostic. In this study we confirmed that this IRMA for PAPP-A is very sensitive, specific and reproducible. Serum levels of PAPP-A during gestation in normal pregnancy continued to rise until term and reached $831 \pm 386\text{mg/l}$ at 39 weeks of gestation. In the case of incomplete abortion, missed abortion and ectopic pregnancy, maternal serum PAPP-A levels were significantly lower than in normal pregnancy, but we could not find significant differences between maternal serum PAPP-A levels in 7 cases of Down's syndrome and normal pregnancy. It is suggested that we should discuss the usefulness of PAPP-A as a marker for the detection of abnormal pregnancy in a greater number of cases, and it would appear that combination assay for PAPP-A with other pregnancy-associated proteins such as hCG and hPL etc. might be more effective for screening for abnormal pregnancy.

Key words : Pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) · Pregnancy · Clinical applications

緒 言

妊娠時には、非妊娠時には存在しない、もしくは存在してもごくわずかししか発現しない種々の妊娠関連蛋白質が母体血清中に出現してくる。その代表的なものとして、human chorionic gonadotropin (hCG)や human placental lactogen (hPL)などがよく知られており、臨床応用されてきた。一方 pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A)も妊娠関連蛋白質として1974年、Lin et al.¹⁾によってヒト母体血漿中より分離抽出された高分子量糖蛋白質である。以前より多くの研究者によって母体血清中の PAPP-A の動態が報告されているが、最近になり、欧州諸国において PAPP-A が妊娠初期における21トリソミースクリーニングのマー

カーとして有効であるとの報告が相次ぎ、再び脚光を浴びるようになった^{2)~4)}。今回 Ortho-Clinical Diagnostic 社が新たに PAPP に対する Immunoradiometric Assay を開発し、PAPP-A の測定が我々臨床家にも容易に施行できるようになった。本研究ではこの新しい測定系の基礎的検討を行うとともに日本人における母体血清中 PAPP-A 濃度の変動を観察し、さらに異常妊娠時における母体血清中 PAPP-A 濃度測定の臨床的有用性に関して検討を行った。

方法および対象

母体血清中 PAPP-A の測定は Ortho-Clinical Diagnostic 社により開発されたサンドイッチ法による Immunoradiometric Assay を用い、そのキット

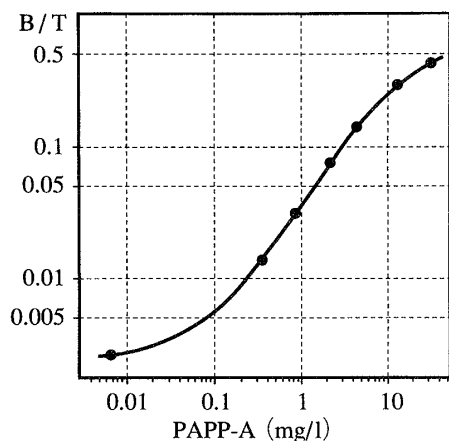


図1 PAPP-A に対する Immunoradiometric Assay の標準曲線

の手順に従った。

測定キットの基礎的検討として、標準曲線を作成し最小検出感度を求め、さらに特異性試験、希釈試験、再現性試験および添加回収試験を施行した。

測定した血液サンプルは妊娠5週から41週までの正常妊婦967例、切迫流産78例、不全流産78例、稽留流産66例、子宮外妊娠42例、21トリソミー合併妊娠7例、妊娠中毒症(軽症)合併妊娠45例、妊娠中毒症(重症)合併妊娠24例、HELLP症候群合併妊娠5例、双胎妊娠14例より得られ、採血後遠心分離された血清は測定まで -20°C にて保存された。異常妊娠におけるPAPP-A濃度はMultiple of Median(MoM)値により表示した。正常妊娠群と異常妊娠群との有意差検定はt検定により分析し、 $p<0.05$ をもって有意と判定した。また正常妊娠に

おいて母体血清中PAPP-A濃度と母体体重および母体年齢の相関性を検討した。

成 績

1. PAPP-A 測定系における基礎的検討

(1)標準曲線：本測定系の標準曲線は図1のごとくであり、最小検出感度は 0.04mg/l であった。

(2)特異性試験：hCG, hPL, schwangerschafts protein 1(SP1), placental protein 5(PP5), PP13, PP14, PP19, PP21, PP26との交叉反応率を測定したところ、極めて低率でPAPP-Aの測定に際し影響はなかった。

(3)希釈試験：PAPP-A濃度が 30mg/l を超えると、実測値が本来の濃度より低値を示す傾向が観察された。 30mg/l 以下の検体においては良好な直線性が得られた。

(4)再現性試験：低中高3種類の濃度のサンプル血清における同時再現性の変動係数(%)はおのおの2.8, 1.3, 2.1であり、また低高2種類の濃度のサンプル血清における日差再現性の変動係数(%)は、4.7および3.1となり、良好な再現性を示した。

(5)添加回収試験：異なる2種類の濃度のサンプル血清(1mg/l および 4mg/l)に、3濃度の標準PAPP-A試薬を添加して求めた添加回収率は96.1%~114.8%であり、平均回収率は105.0%と満足できる結果であった。

2. 母体血清中 PAPP-A 濃度測定結果

正常妊娠における母体血清中PAPP-A濃度は妊娠6週より測定可能であり、妊娠週数とともに増

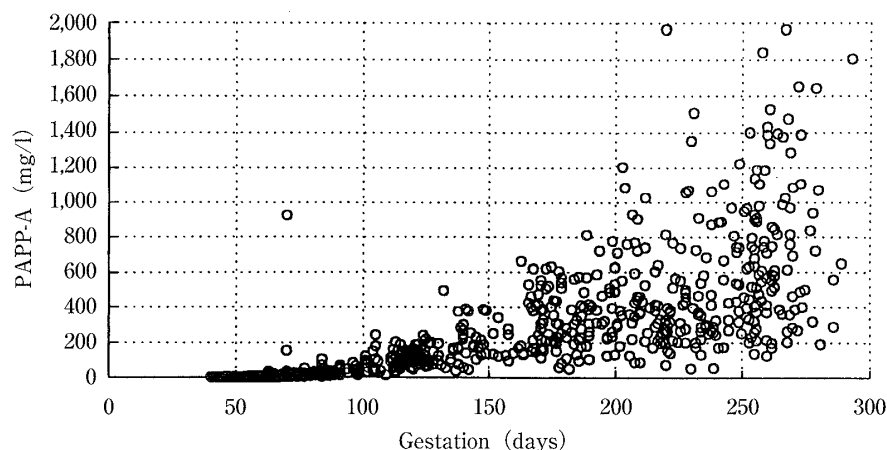


図2 正常妊娠(n=967)における母体血清中PAPP-A濃度の変動

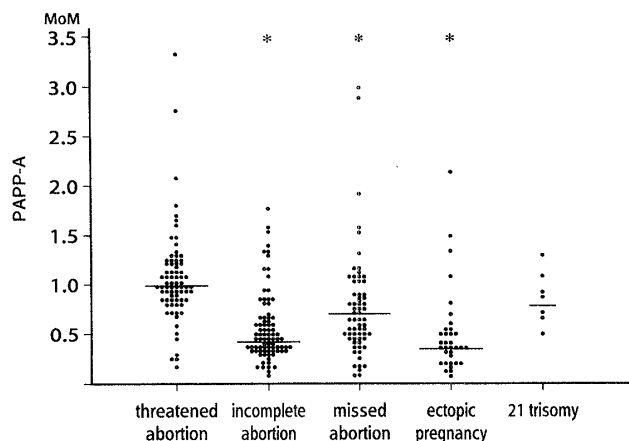


図3 妊娠初期異常妊娠における母体血清中 PAPP-A 濃度 (MoM)
* $p < 0.05$ VS 正常妊娠

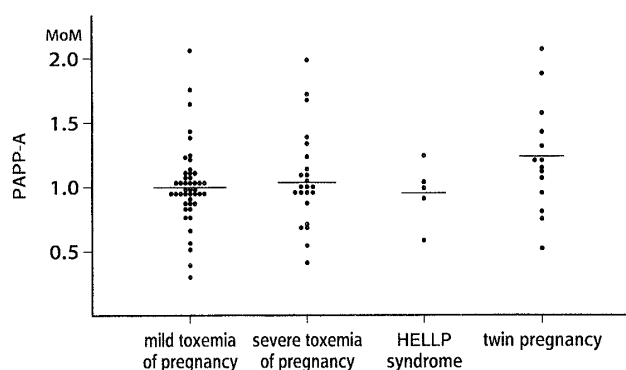


図4 妊娠中毒症, HELLP 症候群合併妊娠および双胎妊娠における母体血清中 PAPP-A 濃度 (MoM)

加し, 妊娠39週には $831 \pm 386 \text{ mg/l}$ とピークに達した(図2). 妊娠初期のさまざまな異常妊娠における母体血清中 PAPP-A 濃度 (MoM) を図3に示す. 不全流産, 稽留流産および子宮外妊娠における PAPP-A 濃度 (MoM) はおのおの 0.41 ± 0.31 , 0.74 ± 0.43 , 0.37 ± 0.28 であり, 正常群に比べて有意に低値を示した. また21トリソミー合併妊娠では PAPP-A 濃度 (MoM) は 0.84 ± 0.26 であり, 正常群と比較して低値を示したが, 統計学的有意差は認められなかった. さらに切迫流産症例の PAPP-A 濃度 (MoM) は 0.99 ± 0.43 であった. 一方妊娠中期以降における妊娠中毒症, HELLP 症候群および双胎妊娠における母体血清中 PAPP-A 濃度 (MoM) を図4に示す. 妊娠中毒症軽症, 重症および HELLP 症候群において, PAPP-A 濃度 (MoM) はお

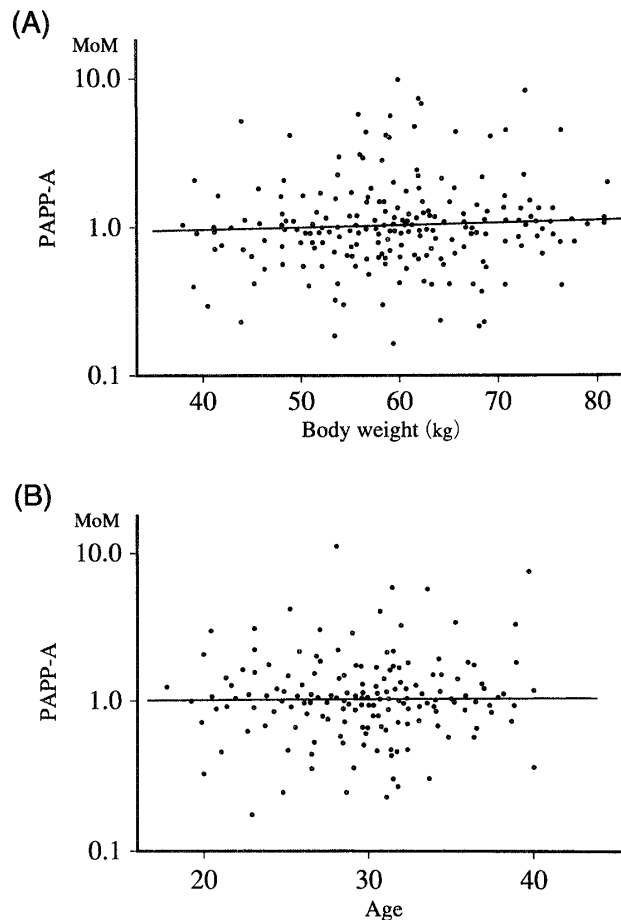


図5 母体体重および母体年齢と血清中 PAPP-A 濃度 (MoM) の相関
(A) 母体体重と血清中 PAPP-A 濃度の相関
(B) 母体年齢と血清中 PAPP-A 濃度の相関

の おの 1.01 ± 0.24 , 1.04 ± 0.26 , 0.93 ± 0.24 であった. 双胎妊娠における PAPP-A 濃度 (MoM) は 1.23 ± 0.42 であり, 正常単胎妊娠に比べやや高値を示したが有意差は認められなかった. 次に血清中 PAPP-A 値と母体体重および母体年齢との相関を観察したが(図5), ともに相関は観察されなかった.

考 察

PAPP-A は1974年に Lin et al. によってヒト妊婦血漿中より分離抽出された高分子量糖蛋白質であり, 19%の糖質を含有し, ヘパリン結合性を有することが知られている¹⁾. その生物学的活性については免疫抑制作用や顆粒球エラスターゼ・インヒビターとしての役割を指摘する報告⁵⁾⁶⁾がみられ, 妊娠関連蛋白質である PAPP-A が妊娠の維持

および胎児発育に重要な役割を演じていることが示唆されている。

PAPP-A の生体内動態についてはこれまでに PAPP-A の Radioimmunoassay を用いて多くの報告がなされてきているが、非妊娠時血清中に検出されない PAPP-A が、妊娠とともに血中に出現し、妊娠週数とともに血清中 PAPP-A 濃度の上昇が観察されることより、PAPP-A が胎児発育の指標の一つとして有用であるとの報告が多い^{7,8)}。特に Grudzinskas et al. のグループは、不全流産症例や子宮外妊娠症例では母体血清中 PAPP-A 濃度が低値を示し、また妊娠初期に胎児死亡となる症例において、超音波断層法にて胎児心拍確認時にすでに母体血清中 PAPP-A 濃度が正常域と比較し有意に低値を示すことなどを報告している^{9,10)}。また Westergaard et al.¹¹⁾ は Cornelia de Lange 症候群合併妊娠において母体血清中 PAPP-A 濃度が正常妊娠に比べ有意に低値を示すことを報告している。また最近欧州諸国を中心に21トリソミー合併妊娠における妊娠初期母体血清中 PAPP-A 濃度が有意に低値を示すとの報告が相次ぎ、PAPP-A が21トリソミースクリーニングの有効なマーカーとなりうる事が明らかとなり注目を集めるようになった^{2)~4)}。我々も Grudzinskas et al. と共同し、妊娠8週から13週の正常妊娠118例と21トリソミー合併妊娠16例の母体血清中 PAPP-A 濃度を測定し、21トリソミー合併例における MoM 値が0.31と有意に低値を示すこと、また hCG との double marker test が21トリソミースクリーニングの検出率を高めることを報告している¹²⁾。

今回 Ortho-Clinical Diagnostics 社 が新たに PAPP-A に対する Immunoradiometric Assay を開発し、これまで複雑な手間を要した RIA に変わって、PAPP-A の測定が我々臨床家にも容易に実施できるものとなった。この新たな PAPP-A の測定系は、今回の我々の基礎的検討により検出感度は 0.04mg/l と高感度であり、特異性、再現性に優れた測定系であることが確認された。しかし PAPP-A 濃度が30mg/l を超える検体においては実測値が本来の濃度より低値を示す傾向が認められたため、検体を希釈して測定することが必要であるこ

とが明らかとなった。

母体血清中 PAPP-A 濃度はこれまでの報告と同様に、妊娠週数とともに上昇し妊娠末期にピークを示した。PAPP-A は胎盤絨毛の syncytiotrophoblast より産生分泌されることより、絨毛の発育が障害された場合に血清中 PAPP-A 濃度は低値を示すことが予想されるが、これまでの報告と同様今回の研究においても不全流産症例や子宮外妊娠症例では正常群に比べ有意に低値を示した。一方、切迫流産症例における PAPP-A 濃度 (MoM) は約 1 であるのに対し、稽留流産症例の MoM 値は 0.74 ± 0.48 と低値を示し、正常群との間で有意な差が観察された。特に稽留流産症例の中には絨毛の発育は正常であるものの胎児の発育が観察されないもの、また染色体異常を伴うものが多く存在することが知られているが、これらと母体血清中 PAPP-A 濃度低値との因果関係は依然不明である。しかしながら先に述べたように、21トリソミー合併妊娠における血清中 PAPP-A 濃度は低値を示すことが明らかにされており、これは稽留流産症例の母体血清中 PAPP-A 濃度低値は、21トリソミーを含めた染色体異常妊娠が関与している可能性が示唆される。今回の研究で測定された21トリソミー合併妊娠7例の妊娠初期母体血清中 PAPP-A 濃度 (MoM) は 0.77 ± 0.21 であり、正常妊娠群との間に有意な差は観察されず、PAPP-A 単独でのスクリーニングマーカーとしての有用性は観察されなかった。日本人における PAPP-A の21トリソミースクリーニングマーカーとしての有用性に関してはさらなる症例の蓄積のため、多施設での共同研究が望まれると同時に、Nicolaidis et al.¹³⁾ が述べているように、PAPP-A 単独ではなく、hCG 測定や超音波断層法を組み合わせた多変量解析が必要であることが示唆された。妊娠中期以降において、今回検討した妊娠中毒症軽症および重症、HELLP 症候群における母体血清中 PAPP-A 濃度は正常群と有意な差は観察されなかったが、さらに症例数を増やして検討することが必要と思われた。さらに今後胎児発育および胎盤機能と母体血清中 PAPP-A 濃度との関係に関しても検索してゆくことが必要であると思われた。PAPP-A の周産期管

理マーカーとしての有用性を評価するにあたり、母体体重および母体年齢と血清中 PAPP-A 濃度との相関を観察したが、有意な相関は観察されず、PAPP-A 測定値の母体体重および母体年齢による補正の必要性はないことが明らかとなった。

今回我々は新たに開発された PAPP-A に対する Immunoradiometric Assay を用い、まず日本人における血清中 PAPP-A 濃度の妊娠週数に伴う変動を観察し、次に異常妊娠における PAPP-A の周産期管理マーカーとしての有用性に関して検討した。本研究で、さらなる大規模な症例検体の収集と統計学的解析が望まれるとともに、他の妊娠関連蛋白質つまり hCG や hPL などのマーカーを組み合わせたコンビネーション・アッセイにより PAPP-A 測定の新たな臨床応用への道が開かれるものと考えられた。

文 献

1. Lin TM, Harbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, YGall S. Characterisation of four pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 1974 ; 118 : 223—236
2. Brambati B, Macintosh MCM, Teisner B, Maguinness S, Shrimanker K, Lanzani A, Bonacchi I, Tului L, Chard T, Grudzinskas JG. Low maternal serum level of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in the first trimester in association with abnormal fetal karyotype. *Br J Obstet Gynecol* 1993 ; 100 : 323—326
3. Brambati B, Tului L, Bonacchi I, Shrimanker K, Suzuki Y, Grudzinskas JG. Serum PAPP-A and free β -hCG are first-trimester screening markers for down syndrome. *Prenatal Diagn* 1994 ; 14 : 1043—1047
4. Bersinger NA, Brizot ML, Johnson A, Snijders RJM, Abbott J, Schneider H, Nicolaidis KH. First trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein A and pregnancy-specific β 1-glycoprotein in fetal trisomies. *Br J Obstet Gynaecol* 1994 ; 101 : 970—974
5. Martin-Du-pan RC, Bischof P, Bourrit B, Lauber K, Girard JP, Herrmann WL. Immunosuppressive activity of seminal plasma and pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) in men. *Arch Androl* 1983 ; 10 : 185—188
6. Sinosich MJ, Davey MW, Ghosh P, Grudzinskas JG. Specific inhibition of human granulocyte elastase by human pregnancy-associated plasma protein-A. *Biochem Int* 1982 ; 5 : 777—786
7. 高田淳子, 鈴木良知, 井坂恵一, 高山雅臣. Pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) を用いた妊娠初期における染色体異常スクリーニングの検討. *日産婦誌* 1997 ; 49 : 243—248
8. Folkersen J, Grudzinskas JG, Hindersson P, Teisner B, Westergaard JG. Pregnancy associated plasma protein A : Circulating levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981 ; 139 : 910—914
9. Grudzinskas JG, Westergaard JG, Teisner B. Pregnancy-associated plasma protein A in normal and abnormal pregnancy. In : Bichof P, Kloppe A, eds. *Protein of the Placenta*. 5th Int Congr on Placental Proteins, Annecy 1984 ; 184—197
10. Westergaard JG, Sinosich MJ, Bugge M, Madsen LT, Teisner B, Grudzinskas JG. Pregnancy-associated plasma protein A in the prediction of early pregnancy failure. *Am J Obstet Gynecol* 1983 ; 145 : 67—69
11. Westergaard JG, Chemnitz J, Teisner B, Poulsen HK, Ipsen L, Beck B, Grudzinskas JG. Pregnancy-associated plasma protein A : A possible marker in the classification and diagnosis of cornelia de lange syndrome. *Prenat Diagn* 1983 ; 3 : 225—232
12. 鈴木良知, 高田淳子, 岩城妙子, 井坂恵一, 高山雅臣. 母体血清中 PAPP-A 及び free β -hCG 濃度測定による妊娠初期21トリソミースクリーニングの試み. *日産婦誌* 1998 ; 50 : 37—40
13. Nicolaidis KH, Brizot ML, Snijders RJM. Fetal nuchal translucency : Ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994 ; 101 : 782—786
(No. 8054 平11・4・3 受付, 平11・8・2 採用)