分担研究報告書 9

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題：不育症女性に対する精神的支援に関する研究
— 流・死産後の環境と不育症女性の心理 —

研究分担者 中塚幹也 岡山大学大学院保健学研究科教授
岡山県不妊専門相談センター「不妊・不育とこころの相談室」
責任者

研究要旨
不育症女性は、妊娠した喜びから流産や死産の悲しみへ急激な気持ちの落ち込みを繰り返して経験するため、この状態の解析は、精神的支援を行う上で重要である。過去に流死産したときの施設の環境や医療スタッフの対応は、大きく不育症女性の心理に影響しており、これらを念頭に置いた精神的支援が重要である。また、産婦人科医療スタッフに対して啓発することで、医原性の不安やうつを予防できる可能性がある。

A．研究目的

不妊症に比較して不育症の認知度は低く、依然として流死産を繰り返している女性 への対応は必ずしも十分ではない場合も多い[1,2]。本研究では、不育症女性が過去に流死産したときの施設の環境や医療スタッフの対応が、不育症女性の心理にどのような影響を与えているかを検討した。

B．研究方法

2008年7月～10月に岡山大学病院不育症専門外来を受診した女性のうち、同意を得られた 109 名を対象とし、自己記入式質問紙調査を施行した。「気持ちスコア」として、普段の生活での精神状態を±0 点、今まで最も辛かった経験を－100 点、最もうれしかった経験を 100 点とし、気持ちを定量化した.

（倫理面への配慮）

本研究は岡山大学大学院保健学研究科倫理審査委員会の承認のもと，対象者への不利益、危険性等の説明と同意を得たうえで実施した。

C．研究結果

対象の年齢は 33.8±4.5(mean±S.D.)［22～44］歳、既往流死産回数は 2.7±1.2［1～6］回、子供がいる女性は 36.7%、現在妊娠中の人は 42.2%であった。同居している家族は、夫、子供、義母、義父、実父、実母の順であった。「不育症であることを話している人」は夫、実母、実父、義母、義父の順であり、友人にも実母に次いで 55.0%の女性が話していた。同じ不育症の友人を 20.2%が持っていた。

妊娠判明時、気持ちスコアは上昇していたが，初めての妊娠の判明時は 80.0±26.7 点，2 回の流死産後の妊娠判明時は 53.6±34.9 点と流死産回数が増加するほど嬉しさは低下していた。しかし、流死産となったときの気持スコアは平均-80 点以下と低値で，流死産回数が増えても変化なかった。

流死産時の病院の環境について、初めての流死産時は 36.0%、最後の流死産時は 41.0%の女性が、「良くなかった」と回答していた。「他の妊産婦と同部屋」、「他の流産女性と同部屋」では、「個室」と比較して、「赤ちゃんの声が聞こえた」場合は、「聞こえなかった」場合と比較して、「つらかった」との回答率が有意に高かった。

助産師、看護師の対応に関しては、初めての流死産時よりも、最後の流死産時の方が、「良くなかった」との回答率は低下していた。これに比較して、医師に関しては、いずれも約 25%と高率であり、「放っておかれた」、「話しかけにくかった」等の理由が挙がっていた。また、職種に関係なく、つらかった対応として、「あまり話を聞いてくれなかった」、「気持ちを理解してくれていないと感じた」、「泣くのをやめるよう言われた」、「よくあることだと言われた」、「確信もないのに『大丈夫』と言われた」等の回答があった。

亡くなった赤ちゃんの思い出の品に関しては、「残しておきたい」との回答は 39.6%に見られたが、そのうちの1割は、「もらえなかった」としていた。

D．考察

同居家族は義母の方が多かったのに対し、不育症のことを話しているのは実母の方が多く、義母には話しにくい場合も考えられる。友人には、実母と同様に打ち明けており、支援者として重要な役割を果たす可能性がある。しかし、不育症の友人と話す機会は少なく、自助グループの紹介も有効である可能性がある。

流死産回数が増えるほど、妊娠がわかったときの「うれしい気持ち」は抑制されており、自己防御的な気持ちが働いていると考えられる。しかし、うれしい気持ちを抑制しているにもかかわらず、流死産が判明した時の気持ちスコアは、何回目の流死産であっても非常に低値であり、このような防御的な心理では、流死産の悲しみに対処できていないことがわかる。このため、何回目の流・死産であっても悲しみを癒すケアを周囲が行っていく必要がある。

病院の環境の調査では、まだ、不育症女性が「赤ちゃんの死」を十分に受け入れられていない時期に、赤ちゃんを見たり泣き声を聞いたりすることで、流死産の悲しみが増し、喪失感や自責感が増すと考えられる。また、流死産時には、個室で対応するか、少なくとも、声を出して泣くなど悲しみを表出でき、また、家族だけで過ごすことができるような場所を提供することは重要であり、精神的な支援となる。医療スタッフの対応に関する調査からは、医師も、流死産となった女性に対して、医学的事実を告げるだけでなく、共感、傾聴する姿勢を持つことが重要であり、助産師、看護師もチームとして、不育症女性の気持ちに寄り添うように対応をしていく必要があると考えられる。赤ちゃんの思い出の品に関しては、思い出の品を渡せることを全員に提示する、少なくとも希望者には必ず渡すようにするなどの配慮が必要であると考える。

E．結論

流・死産後の医療施設の環境や医療スタッフの対応は、その後の不育症女性の心境に大きく影響している。これらは、流・死産後の女性のうつ状態など精神状態が悪化したり、次回の妊娠に挑む気持ちになるまでの期間が長引いたりする原因として大きな因子となっていると考えられる。また、次回妊娠中の不安にもつながる可能性がある。

不育症女性の妊娠中の不安への精神的支援は重要であるが、不安を増幅している要因である1回目、2回目の流・死産後の精神的支援も重要である。

［参考文献］

1) 佐藤久恵，江國一二美，秦久美子，田部尚子，中塚幹也：子どもをなくした母親への精神的支援～胎児死亡となった不育症症例を通じて～．日本不妊カウンセリング学会誌 6:71-72，2007.
2) 因來実里，中塚幹也，秦久美子，佐藤久恵，大谷友夏，永井真寿美，佐々木真美，松井たみこ：死産後のグリーフケアの有用性．岡山県母性衛生 24：69-70，2008.

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1. 論文発表

矢冨茜，久下さくら，三谷久美子，奥村永里子，難波沙由里，米藤由貴，江見弥生，中塚幹也「流・死産後の環境と不育症女性の心理」岡山県母性衛生 2009（印刷中）.

2. 学会発表

矢冨茜，久下さくら，三谷久美子，奥村永里子，難波沙由里，米藤由貴，江見弥生，中塚幹也：「流・死産後の環境と不育症女性の心理」.岡山県母性衛生学会．2008年11月.

H．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書　籍　名	出版社名	出版地	出版年	ページ
品川克至，中塚幹也，谷本光音	不妊について	特定非営利活動法人全国骨髄バンク推進連絡協議会冊子編集員会	全国協議会ニュース臨時増刊号「改訂版」白血病と言われたら ―発症間もない患者さんとご家族のために―疾患・治療編	特定非営利活動法人全国骨髄バンク推進連絡協議会	東京	2008	147-155
中塚幹也	IV. 感染症の検体検査 4．生殖器感染症	大学検査科学専攻微生物学教員懇談会編	メディカルサイエンス微生物検査学	近代出版	東京	2008	293-298
中塚幹也	IV. 思春期・更年期・その他 7．性同一性障害	「産科と婦人科」編集員会	産婦人科ホルモン療法マニュアル	診断と治療社	東京	2008	234-240
中塚幹也	卵巣凍結保存の境界線	篠原駿一郎 石橋孝明	よく生き、よく死ぬ、ための生命倫理学	ナカニシヤ出版	京都	2009	印刷中

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
矢冨茜，久下さくら，三谷久美子，奥村永里子，難波沙由里，米藤由貴，江見弥生，中塚幹也	流・死産後の環境と不育症女性の心理	岡山県母性衛生	25	印刷中	2009
大谷友夏，因來実里，秦久美子，佐藤久恵，永井真寿美，中塚幹也	流産・死産のグリーフケア：母親と医療スタッフの捉え方	日本不妊カウンセリング学会誌	7 (1)	57-58	2008
江見弥生，藤原順子，相澤亜紀，中塚幹也	生殖医療を専門としたカウンセリングに対する認知度と要望	日本不妊カウンセリング学会誌	7 (1)	68-69	2008
川上舞子，藤井友紀，田上志保，溝口祥代，吉田真奈美，山下真由，中塚幹也	凝固障害を伴う不育症患者のヘパリン注射に対する希望調査	岡山県母性衛生	24(1)	42-43	2008
後藤由佳，山中祥栄，莎如拉，中塚幹也，奥田博之	自律神経機能と卵巣機能との関連―心拍変動解析を用いて―	岡山県母性衛生	24(1)	48-49	2008
江見弥生，中間みちよ，藤原順子，秦久美子，佐藤久恵，江國一二美，中塚幹也	不妊症・不育症治療におけるカウンセリングへの認知度と要望	岡山県母性衛生	24(1)	61-62	2008
因來実里，中塚幹也，秦久美子，佐藤久恵，大谷友夏，永井真寿美，佐々木真美，松井たみこ	死産後のグリーフケアの有用性	岡山県母性衛生	24(1)	69-70	2008

Hao L., Noguchi S., Kamada Y., Sasaki A., Adachi M., Shimizu K., Hiramatsu Y., Nakatsuka M.	Adverse Effects of Advanced Glycation End Products on Embryonal Development.	Acta. Medica. Okayama.	62(2)	93-99	2008
Emi Y., Adachi M., Sasaki A., Nakamura Y., Nakatsuka M.	Increased arterial stiffness in female-to-male trans-sexuals treated with androgen.	J. Obstet. Gynaecol. Res.	34(5)	890-897	2008
Ueda N., Kushi N., Nakatsuka M., Ogawa T., Nakanishi Y., Shishido K., Awaya T.	Study of Views on Posthumous Reproduction, Focusing on its Relation with Views on Family and Religion in Modern Japan.	Acta. Medica. Okayama.	62(5)	285-296	2008
Goto Y., Nakatsuka M., Okuda H.	Effects of aging on heart rate variability and its relationship to psycho-somatic complaints in women.	Journal of the Japan Society of Neurovegetati-ve Research	45(6)	1-9	2008

分担研究報告書 10

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題 ： 日本における不育症のリスク因子の検索と各種治療法の有効性についての前方視的研究

研究分担者　下屋 浩一郎　川崎医科大学産婦人科学教授
勝山 博信　川崎医科大学公衆衛生学教授
戸田 雅裕　大阪歯科大学薬理学講師
森本 兼曩　大阪大学医学部環境医学教授

研究要旨
本年度は不育症患者登録を開始し、ストレスと流産との関連を解析する体制を確立させた。

A．研究目的

2回以上の流産を繰り返す不育症患者の背景因子を検討し、スクリーニング法や治療法の妥当性を検討することを目的とする。①本研究では全国規模の多施設共同研究の一環として、日本人における不育症の各リスク因子の頻度を明らかにするとともに、治療成績についても調査し、将来的に患者さんに、より正確な情報を提供することを目的とする。②妊娠中の母体のストレスによって妊娠中の様々な合併症のリスクが増加することが知られている。最近、妊娠初期のストレス量が妊娠のごく早期の流産に関連する可能性が示唆されている。しかしながら日本人における妊娠初期の流産と母体ストレスの関連や体外受精・胚移植の際の母体ストレスと着床率に関する検討は少ない。この研究では体外受精・胚移植における着床率と妊娠早期の母体ストレスとの関連について明らかにし、体外受精・胚移植の成績向上と母体ストレス要因を解析することによる流産予防のための正確な情報を提供することを目的とする。

B．研究方法

2回以上の妊娠10週未満の流産を繰り返した症例、1回以上の原因不明の妊娠10週以降の流産もしくは死産を有する症例、ならびに1回以上の重症の妊娠高血圧症候群（妊娠中毒症）を有する症例で、平成20年9月以降に川崎医科大学病院産婦人科を受診し、研究の主旨に同意された夫婦を対象とし、不育症のリスク因子を検査した上で、最適の治療を行ない、その後の妊娠帰結（正常妊娠が流産か死産か）を調査する。一方、母体ストレスと流産の関連を検討するため大阪NewARTクリニックにおいて体外受精・胚移植（顕微授精、凍結卵移植を含む）を受けられる患者を対象に平成21年3月から1年間にわたって同意の得られた症例に対して年齢、身長、体重、過去の妊娠歴、合併症の有無、不妊原因などの患者背景を調査し、さらに検査項目として質問表による母体のストレス解析および唾液中のストレス量（唾液中のコルチゾールとクロモグラニンA）の測定を行う。妊娠の帰結としての着床成功率および妊娠予後と上記因子との関連を検討する。

（倫理面への配慮）

倫理面の配慮として研究等の対象とする個人の人権擁護として倫理指針（ヘルシンキ宣言、厚生労働省疫学研究の指針）を遵守し、個人情報が漏れないよう、個人情報を厳重に管理する。また、データ管理者へは匿名化したデータのみを送付する。患者情報の管理はNewARTクリニックで行い、匿名化は研究に関与しない第三者（研究補助員）が行い、外部とアクセスしないコンピューターによる管理を行う。また、研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法として患者様用の説明書を配布し、わかり易く説明し、自由意志での研究の参加を促し、文書で同意書を得る。研究等によって生ずる個人への不利益並びに危険性に対する配慮としては非侵襲性の唾液サンプルの採取であり本研究において個人への不利益や危険性は生じないと予測される。

C．研究結果

本年度は不育症の患者登録に関して「日本における不育症のリスク因子の検索と各種治療法の有効性についての前方視的研究」の課題名にて川崎医科大学倫理委員会に申請し、承認を得て患者登録体制を整備した。さらに、母体ストレスと流産、不育症との関連についての検討を開始し、唾液中のストレスマーカーであるコルチゾールとクロモグアニンAの測定系と質問票によるストレス評価システムを確立させた。唾液中のストレスマーカーの測定およびストレス量の定量化を戸田と森本が担当した。このことを元に着床期および妊娠極初期の母体ストレスと流産との関連を検討する目的で「妊娠初期のストレスが着床に及ぼす影響についての研究」を立案し、同課題名で川崎医科大学倫理委員会に申請し、承認を得た。大阪NewArtクリニックと川崎医科大学、大阪大学環境医学、大阪歯科大学薬理学教室との共同研究で3月より研究を開始する体制を整備した。

D．考察

以前の検討で唾液中のコルチゾール、クロモグアニン A の測定によって妊娠中のストレス量の定量化が可能でさらに質問表によるストレス程度と反応性の差異を見出しており、妊娠初期のストレス量と着床・流産の関連に関する検討によってストレスと着床の因果関係を解明することが期待される。

E．結論

本年度は患者登録を開始し、ストレスと流産との関連を解析する体制を確立させることができた。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1．論文発表

1) Hasegawa M., Toda M., Morimoto K.: Changes in salivary physiological stress markers associated with winning and losing. Biomed. Res. 29:43-46, 2008.

2) Li Q., Morimoto K., Kobayashi M., Inagaki H., Katsumata M., Hirata Y., Hirata K., Suzuki H., Li YJ., Wakayama Y., Kawada T., Park BJ., Ohira T., Matsui N., Kagawa T., Miyazaki Y., Krensky AM.: Visiting a forest, but not a city, increases human natural killer activity and expression of anti-cancer proteins. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 21:117-127, 2008.

3) Li Q., Morimoto K., Kobayashi M., Inagaki H., Katsumata M., Hirata Y., Hirata K., Shimizu T., Li YJ., Wakayama Y., Kawada T., Ohira T., Takayama N., Kagawa T., Miyazaki Y.: A forest bathing trip increases human natural killer activity and expression of anti-cancer proteins in female subjects. J. Biol. Regul. Homeost. Agents. 22:45-55, 2008.

4) Lu Y., Morimoto K.: Exposure level to cigarette tar or nicotine is associated with leukocyte DNA damage in male Japanese smokers. Mutagenesis. in press.

5) Miura Y., Ishibashi T., Tatsukawa T., Maeda M., Murakami S., Nishimura Y., Kumagai N., Hayashi H., Ying C., Hyodo F., Kojima S., Fujii M., Morimoto K., Otsuki T.: Lifestyle and T-hepler 1 and 2 related cytokines in healthy volunteers. Kawasaki. Med. J. in press.

6) Suda M., Morimoto K., Obata A., Koizumi H., Maki A.: Emotional responses to music: toward scientific perspectives on music therapy. Neuroreport. 19:75-78, 2008.

7) Suda M., Morimoto K., Obata A., Koizumi H., Maki A.: Cortical responses to Mozart's sonata enhance spatial-reasoning ability. Neurol. Res. in press.

8) Takahashi K., Otsuki T., Mase A., Kawado T., Kotani M., Ami K., Matsushima H., Nishimura Y., Miura Y., Murakami S., Maeda M., Hayashi H., Kumagai N., Shirahama T., Yoshimatsu M., Morimoto K.:Negatively-charged air conditions and responses of the human psycho-neuro-endocrino-immune network. Environ. Int. 34:765-772, 2008.

9) Toda M., Makino H., Kobayashi H., Morimoto K.:Health benefits for women staying with their husbands during a long-term trip to a hot springs spa. Arch. Environ. Occup. Health. 63:37-40, 2008.

10) Toda M., Morimoto K.:Effect of lavender aroma on salivary endocrinological stress markers. Arch. Oral. Biol. 53:964-968, 2008.

11) Weng H., Lu Y., Weng Z., Morimoto K.: Diffenrential DNA damage induced by H_2O_2 and bleomycin in subpopulations of human white blood cells. Mutat. Res. 652:46-53, 2008.

12) Weng Z., Lu Y., Wneg H., Morimoto K.: Effects of the XRCCI gene-environment interactions on DNA damage in healthy Japanese workers. Envion. Mol. Mutagen. in press.

13) Katsuyama H., Tomita M., Hidaka K., Fushimi S., Okuyama T., Watanabe Y., Tamechika Y., Otuski T., Saijoh K., Sunami S.: Association between serotonin transporter gene polymorphisms and depressed mood caused by job stresss in Japanese workers. International Journal of Molecular Medicine. 21:499-505, 2008.

14) 勝山博信：労働の場におけるストレスとストレス関連遺伝子多型の健康に及ぼす影響. 産業医学ジャーナル. 31:53-58, 2008.

2. 学会発表

下屋浩一郎, 戸田雅裕, 森本兼曩: 妊娠中のストレスの推移に関する研究. 第 24 回日本ストレス学会. 平成 20 年 10 月 31 日－11 月 1 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hasegawa M., Toda M., Morimoto K.	Changes in salivary physiological stress markers associated with inning and losing.	Biomed. Res.	29	43-46	2008
Li Q., Morimoto K., Kobayashi M., Inagaki H., Katsumata M., Hirata Y., Hirata K., Suzuki H., Li YJ., Wakayama Y., Kawada T., Park BJ., Ohira T., Matsui N., Kagawa T., Miyazaki Y., Krensky AM.	Visiting a forest, but not a city, increases human natural killer activity and expression of anti-cancer proteins.	Int. J. Immunopathol. Pharmacol.	21	117-127	2008
Li Q., Morimoto K., Kobayashi M., Inagaki H., Katsumata M., Hirata Y., Hirata K., Shimizu T., Li YJ., Wakayama Y., Kawada T., Ohira T., Takayama N., Kagawa T., Miyazaki Y.	A forest bathing trip increases human natural killer activity and expression of anti-cancer proteins in female subjects.	J. Biol. Regul. Homeost. Agents.	22	45-55	2008
Lu Y., Morimoto K.	Exposure level to cigarette tar or nicotine is associated with leukocyte DNA damage in male Japanese smokers.	Mutagenesis		in press	

Miura Y., Ishibashi T., Tatsukawa T., Maeda M., Murakami S., Nishimura Y., Kumagai N., Hayashi H., Ying C., Hyodo F., Kojima S., Fujii M., Morimoto K., Otsuki T.	Lifestyle and T-hepler 1 and 2 related cytokines in healthy volunteers.	Kawasaki. Med. J.		in press	
Suda M., Morimoto K., Obata A., Koizumi H., Maki A.	Emotional responses to music:toward scientific perspectives on music therapy.	Neuroreport	19	75-78	2008
Suda M., Morimoto K., Obata A., Koizumi H., Maki A.	Cortical responses to Mozart's sonata enhance spatial-reasoning ability.	Neurol. Res.		in press	
Takahashi K., Otsuki T., Mase A., Kawado T., Kotani M., Ami K., Matsushima H., Nishimura Y., Miura Y., Murakami S., Maeda M., Hayashi H., Kumagai N., Shirahama T., Yoshimatsu M., Morimoto K.	Negatively-charged air conditions and responses of the human psycho-neuro-endocrino-immune network.	Environ. Int.	34	765-772	2008
Toda M., Makino H., Kobayashi H., Morimoto K.	Health benefits for women staying with their husbands during a long-term trip to a hot springs spa.	Arch. Environ. Occup. Health.	63	37-40	2008
Toda M., Morimoto K.	Effect of lavender aroma on salivary endocrinological stress markers.	Arch. Oral. Biol.	53	964-968	2008

Weng H., Lu Y., Weng Z., Morimoto K.	Diffenrential DNA damage induced by H_2O_2 and bleomycin in subpopulations of human white blood cells.	Mutat. Res.	652	46-53	2008
Weng Z., Lu Y., Wneg H., Morimoto K.	Effects of the XRCCI gene-environment interactions on DNA damage in healthy Japanese workers.	Envion. Mol. Mutagen.		in press	
Katsuyama H., Tomita M., Hidaka K., Fushimi S., Okuyama T., Watanabe Y., Tamechika Y., Otuski T., Saijoh K., Sunami S.	Association between serotonin transporter gene polymorphisms and depressed mood caused by job stresss in Japanese workers.	International Journal of Molecular Medicine	21	499-505	2008
勝山博信	労働の場におけるストレスとストレス関連遺伝子多型の健康に及ぼす影響	産業医学ジャーナル	31	53-58	2008

分担研究報告書 11

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題 ： 不育症における抗 PE 抗体と第 XII 因子活性の病原性に関する研究

研究分担者　杉　俊隆　東海大学産科婦人科学准教授

研究要旨
不育症のスクリーニング検査として、抗 PE 抗体と第 XII 因子活性を測定する事の有用性を、基礎的および疫学的に検討した。

A. 研究目的

不育症の原因はいまだ不明の事が多く、これまでのところ不育症例に対するスクリーニング法や治療法の確立には至っていない。我々は、新たな不育症の risk factor として抗 phosphatidylethanolamine (PE)抗体と抗第 XII 因子抗体を既に報告してきたが、これらの自己抗体が不育症の原因であるのかを証明するために、疫学的研究と平行して基礎的研究を施行した。

不育症患者における抗 PE 抗体の病原性として、我々は既に血小板活性化を報告してきた。しかしながら、多くの初期流産は臍帯胎盤循環が始まる前に起こる事もあり、単純に胎盤血栓では流産の説明がつかず、血液凝固系亢進以外の病原性の存在が示唆されている。そこで我々は新たに、抗 PE 抗体の胎盤形成阻害による流産という全く新しい仮説を提唱している。

高分子キニノーゲンは、heavy chain と light chain に分けられ、その間にブラジキニンが存在する。高分子キニノーゲンが分解されると、ブラジキニンを放出し、heavy chain と light chain より成る二本鎖キニノーゲン (HKa)になる。最近の研究で、HKa は血管新生を阻害し、ブラジキニンと一本鎖キニノーゲンは血管新生を促進すると報告されている。高分子キニノーゲンがヘパリン、すなわち肥満細胞由来のグリコサミノグリカンに結合する事は以前より知られていた。最近、高分子キニノーゲンはそのドメイン 3 の LDC27 (Leu331-Met357) およびドメイン 5 (His479-His498) を介して血管内皮細胞のグリコサミノグリカンであるヘパラン硫酸とコンドロイチン硫酸に結合する事が解明された。細胞に結合した高分子キニノーゲンは、グリコサミノグリカンが高分子キニノーゲンを分解から守るため、ほとんどが血管新生を促進する一本鎖である。さらに、LDC27 に対する抗体は高分子キニノーゲンがヘパラン硫酸に結合するのを阻害する事が報告された。我々はすでに、抗 PE 抗体が LDC27 を認識する事を報告しているので、この事は、抗 PE 抗体がキニノーゲンのヘパラン硫酸への結合を阻害する事を強く示唆している。高分子キニノーゲンが細胞表面のグリコサミノグリカンから離れると言う事は、高分子キニノーゲンが分解されて HKa とブラジキニンが生じると言う事である。ブラジキニンの半減期は 30 秒、HKa の半減期は 9 時間であるので、抗 PE 抗体があると結果的に HKa が生じ、胎盤の血管新生を阻害し、流産を引き起こす可能性がある。そして、ヘパリンは高分子キニノーゲンを分解から守る事により、胎盤血管新生を促進し、胎盤形成を助ける事により、流産を防止するという作用機序が考えられる。

不育症患者の中で、抗 PE 抗体陽性者の約 1/3 に第 XII 因子活性低下があり、その多くは抗第 XII 因子抗体を持つ事を我々は既に報告した。抗 PE 抗体陽性者の中でも、第 XII 因子活性低下をもつ症例がもっとも流産率が高いと考えられ、抗 PE 抗体と抗第 XII 因子抗体の関係を追求する事が不育症の病原性解明に重要と思われる。

B．研究方法

先ず、抗 PE 抗体の認識部位である、kininogen D3 の合成ペプチド、LDC27 と、抗第 XII 因子抗体の認識部位である、第 XII 因子 heavy chain の合成ペプチド、IPP30 を作成した。我々は既にこれらの合成ペプチドを抗原に用いて、ELISA 法にて抗 PE 抗体陽性患者血清を用いて epitope mapping を施行したところ、多くの不育症患者の抗 PE 抗体が LDC27 だけでなく、IPP30 を認識する事を報告した。そこで、今回我々は、これらの合成ペプチドをウサギに免疫し、ポリクローナル抗体を作成し、その認識部位を検討した。さらに、これらのポリクローナル抗体を妊娠ラットに投与し、その妊娠に対する影響に関して検討した。

さらに、疫学研究としては、2006 年から 2008 年までの間で、抗 PE 抗体陽性、第 XII 因子活性低下のどちらか、あるいは両方を満たす症例の治療方針と妊娠予後の多施設調査を行った。

（倫理面への配慮）

本臨床疫学研究は、「疫学研究に関する倫理指針」に基づく倫理的原則を遵守して実施した。疫学研究に関する倫理指針の第 3 インフォームド・コンセント等によれば、本研究は既存資料のみを用いる観察研究に相当するため、口頭のみの同意とした。また、研究を実施していること・内容・方法などに関する情報を広報し（ポスターの公示）、また、研究に参加したくない場合に拒否できる機会を設けた。

C．研究結果

ELISA 上、LDC27 に対するポリクローナル抗体は IPP30 を認識した。また、IPP30 に対する抗体は LDC27 を認識した。これらのデータより、LDC27 を認識する抗 PE 抗体と、IPP30 を認識する抗第 XII 因子抗体は、類似した抗体である事が示唆された。

また、レトロスペクティブ研究では、抗 PE 抗体陽性、かつ第 XII 因子活性低下不育症例アスピリン+ヘパリン療法を施行した群での妊娠成功率は 12/15 (80.0%) で良好であったが、残念ながら、無治療群は一人も無く、アスピリン単独群は一人しかいなかったため、治療の有用性に関しては不明であった。第 XII 因子活性低下不育症症例では、アスピリン+ヘパリン療法を施行した群での妊娠成功率は 24/31 (77.4%)、アスピリン単独群では 12/20 (60%)、無治療群はいなかった。抗 PE 抗体陽性不育症症例では、アスピリン+ヘパリン療法を施行した群での妊娠成功率は 18/25 (72%)、アスピリン単独群では 5/7 (71.4%)、無治療群　は一人であった。

D．考察

キニノーゲンは、LDC27 を介して、第 XII 因子は、IPP30 を介して血小板上のトロンビンレセプターである GP Ib-IX-V に競合的に結合し、血小板活性化を抑制する事が知られている。LDC27 と IPP30 のアミノ酸配列は全く異なるが、同じレセプターに競合的に結合するという事は、立体構造が類似しており、抗原性が似ている事を示唆している。そして LDC27 と IPP30 に対するポリクローナル抗体は、どちらもそれぞれ LDC27 と IPP30 の両方を認識したという今回の結果により、抗 PE 抗体と抗第 XII 因子抗体が類似した、または同一の抗体である事が示唆された。我々は既に、抗 PE 抗体の約 60%が LDC27 を認識し、第 XII 因子活性低下の約 50%が抗第 XII 因子抗体を持つ事を報告した。したがって、どちらも単独では不育症のリスクファクターとしては不十分である。しかしながら、現時点で全員に抗体の epitope mapping を行う事は不可能である。そこで、抗 PE 抗体と第 XII 因子活性の組み合わせで不育症患者を評価する事を提案する。

疫学調査では、抗 PE 抗体陽性、かつ第 XII 因子活性低下不育症症例にアスピリン+ヘパリン療法を施行した群での妊娠成功率は 12/15 (80.0%) で良好であったが、残念ながら、無治療群は一人も無く、アスピリン単独群は一人しかいなかったため、治療の有用性に関しては不明であった。第 XII 因子活性低下不育症症例では、アスピリン+ヘパリン療法を施行した群での妊娠成功率は 24/31 (77.4%)、アスピリン単独群では 12/20 (60%) であり、ヘパリン併用群の成功率が高い傾向にあった。第 XII 因子活性低下不育症症例の場合、それなりの治療をしなければ予後が悪いのかもしれない。

E. 結論

不育症のスクリーニング検査として、抗PE抗体と第XII因子活性の組み合わせで不育症患者を評価する事を提案する。これらのリスクファクターが不育症の原因なのか、また、その治療法は何かに関しては、プロスペクティブスタディーの結果を待つ。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsubayashi H., Sugi T., Uchida N., Suzuki T, Izumi S-I, Mikami M.: Decreased factor XII activity is associated with recurrent IVF-ET failure. Am. J. Reprod. Immunol. 59:316-322, 2008.

2) 杉俊隆. 特集 周産期診療プラクティス、不育症とその対策. 産婦人科治療. 第96巻増刊号. 550-554. 2008.

3) Inomo A., Sugi T., Fujita Y., Matsubayashi H., Izumi S-I., Mikami M.: The antigenic binding sites of autoantibodies to factor XII in patients with recurrent pregnancy losses. Thromb. Haemost. 99:316-323, 2008.

4) Sugiura-Ogasawara M., Aoki K., Fujii T., Fujita T., Kawaguchi R., Maruyama T., Ozawa N., Sugi T., Takeshita T., Saito S.:Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement. J. Hum. Genet. 53:622-628, 2008.

5) Sugi T.:Autoantibody associated disruption of kallikrein-kinin system in patients with recurrent pregnancy losses. J. J. Obstet. Gynecol. Neonat. Hematol. in press.

6) 杉俊隆:不育症. 産科と婦人科. 第75巻増刊号. 41-46, 2008.

7) 杉俊隆:不育症学級. 全65ページ. 金原出版. 2008.

2. 学会発表

1) Sugi T., Fujita Y.:aPE which recognize LDC27 are associated with factor XII deficiency in patients with recurrent pregnancy losses. American Society for. Reproductive Immunology - 28th Annual Meeting, June 10-14, 2008. Chicago, USA.

2) 杉俊隆, 三上幹男:不育症患者におけるLeu331-Met357を認識するkininogen依存性抗PE抗体と第XII因子活性との関係. 第60回日本産科婦人科学会. 2008年4月12日-15日. 横浜. .

3) 大林伸太郎, 尾崎康彦, 杉俊隆, 熊谷恭子, 中西珠央, 杉浦真弓:不育症患者におけるphsophatidylethanolamine (PE)結合蛋白を認識する抗PE抗体の有用性の検討. 第60回日本産科婦人科学会. 2008年4月12日-15日. 横浜.

4) 熊谷恭子, 尾崎康彦, 杉俊隆, 大林伸太郎, 中西珠央, 杉浦真弓:反復流産病態におけるカルパイン・カルパスタチン系の存在と意義及びphosphatidy- lethanolamine結合蛋白を認識する抗PE抗体との関連. 第60回日本産科婦人科学会. 2008年4月12日-15日. 横浜.

5) 杉浦真弓, 川口里恵, 丸山哲夫, 小澤伸晃, 杉俊隆, 竹下俊行, 齋藤滋:染色体転座をもつ反復流産患者の生児獲得率に関する多施設共同研究. 第53回日本生殖医学会. 2008年10月23日-24日. 神戸.

6) 大林伸太郎, 尾崎康彦, 杉俊隆, 熊谷恭子, 中西珠央, 杉浦真弓:不育症患者におけるphosphatidylethanolamine (PE)結合蛋白を認識する抗PE抗体の有用性の検討。第53回日本生殖医学会. 2008年10月23日-24日. 神戸.

7) 大林伸太郎, 尾崎康彦, 杉俊隆, 熊谷恭子, 中西珠央, 杉浦真弓:不育症患者におけるphosphatidylethanolamine (PE)結合蛋白を認識する抗PE抗体の有用性の検討. 第23回日本生殖免疫学会. 2008年12月6日-7日. 富山.

8) 杉俊隆:不育症の診断と治療 up-to-date. 第443回横浜産婦人科医会. 2008.

9) 杉俊隆:カリクレイン-キニン系と血栓、流産.第 18 回日本産婦人科新生児血液学会. 2008 年 6 月 27 日-28 日.福岡. (シンポジウム)

10) 杉俊隆:不育症診療 up-to-date.厚木市産婦人科医会.特別講演.2008.

11) 杉俊隆:キニノーゲンを認識する抗 PE 抗体と angiogenesis について. 第 23 回日本生殖免疫学会. 2008 年 12 月 6 日-7 日. 富山. (シンポジウム)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書　籍　名	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉　俊隆	不育症学級	杉俊隆	不育症学級	金原出版	東京	2008	全65ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsubayashi H., Sugi T., Uchida N., Suzuki T., Izumi S-I., Mikami M.	Decreased factor XII activity is associated with recurrent IVF-ET failure.	Am. J. Reprod. Immunol.	59	316-322	2008
Inomo A., Sugi T., Fujita Y., Matsubayashi H., Izumi S-I., Mikami M.	The antigenic binding sites of autoantibodies to factor XII in patients with recurrent pregnancy losses.	Thromb. Haemost.	99	316-323	2008
Sugiura-Ogasawara M., Aoki K., Fujii T., Fujita T., Kawaguchi R., Maruyama T., Ozawa N., Sugi T., Takeshita T., Saito S.	Subsequent pregnancy outcomes in recurrent miscarriage patients with a paternal or maternal carrier of a structural chromosome rearrangement.	J. Hum. Genet.	53	622-623	2008
Sugi T.	Autoantibody associated disruption of kallikrein-kinin system in patients with recurrent pregnancy losses.	J. J. Obstet. Gynecol. Neonat. Hematol.		in press	
杉　俊隆	特集 周産期診療プラクティス、不育症とその対策	産婦人科治療	第96巻増刊号	550-554	2008
杉　俊隆	不育症	産科と婦人科	第75巻増刊号	41-46	2008

分担研究報告書 12

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題 ： 習慣流産に対する夫リンパ球免疫療法
－わが国における実態調査と今後の展望に関する研究－

研究分担者　竹下俊行　日本医科大学産婦人科教授

研究要旨

習慣流産に対するリンパ球輸注療法（夫リンパ球免疫療法）は、最初に行われてから4半世紀を経た現在に至っても作用機序に関する研究は殆ど進展を見ていない。最近のメタアナリシスでは、免疫療法の有効性は確認出来ておらず、米国FDAが発した、免疫療法は有効性と安全性が確認出来るまではしばらく行わないという勧告により、本療法は過去の遺物のような存在になってしまった。

わが国では2002年に竹下が行った全国アンケート調査の結果、約70%の施設が何らかの形で夫リンパ球免疫療法を行っていた。その後、日産婦生殖内分泌委員会の不育症に関する小委員会での調査でもほぼ同様の結果を得た。この時、同時に、輸注するリンパ球に放射線照射を行っていない施設が少なからず認められることが判明した。そこで、その警鐘も含めて日産婦誌（Vol.56(6)）に夫リンパ球免疫療法実施にあたってのガイドライン的な報告書を発表している。あれから数年の時間的経過を経て、不育症学も進歩し、過去に行われた免疫療法が必ずしも適切な形で行われていなかったことも明らかになってきた。本研究では本療法に関する文献の検索を行い、最近の世界の考え方を考察すると共に、わが国の過去の実態調査を踏まえて日産婦誌での勧告後の実施状況等を調査することにより、わが国での最近の動向を分析する。

A．研究目的

習慣流産に対するリンパ球輸注療法（夫リンパ球免疫療法）は、1981年Taylor（第三者単核球）、Beer（夫リンパ球）により相次いで成功例が報告されたことに始まった。臓器移植で行われた輸血療法（Donor specific transfusion）にヒントを得たものであるが、当時不育症に対する有効な治療法が少なかった時期に、画期的な治療法として大いに期待を集めたものであった。当初からメカニズムは不明であり、4半世紀を経た現在に至っても作用機序に関する研究は殆ど進展を見ていない。その後、1985年のMowbrayらのRCTを皮切りに、多くのRCTが行われた。2001年、Scottが行った18のRCTをまとめたメタアナリシスによると、夫リンパ球免疫療法の有効性は確認出来なかった。決定的となったのは、米国FDAが発した勧告であった。すなわち、免疫療法は有効性と安全性が確認出来るまではしばらく行わないというものであった。その結果、免疫療法は過去の遺物のような存在になってしまった。

わが国の現状はどうであろうか。2002年に竹下は、全国の大学病院を中心に、免疫療法に関するアンケート調査を行った。その結果、約70%の施設が何らかの形で夫リンパ球免疫療法を行っていた。その後、日産婦生殖内分泌委員会の不育症に関する小委員会での調査でも、ほぼ同様の結果を得た。この時、同時に、輸注するリンパ球に放射線照射を行っていない施設が少なからず認められることが判明した。そこで、その警鐘も含めて日産婦誌（Vol.56(6)）に夫リンパ球免疫療法実施にあたってのガイドライン的な報告書を発表している。

あれから数年の時間的経過を経て、不育症学も進歩し、過去に行われた免疫療法が必ずしも適切な形で行われていなかったことも明らかになってきた。そこで本研究では、夫リンパ球免疫療法に対する世界の動向を把握するための文献検索を行い、今後わが国の免疫療法をどのように考えて行くべきかを考える上で基盤となる全国調査、分析を行うことを目的とした。