

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tskitishvili E, Nakamura H, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K. Temporal and Spatial Expression of Tumor-Associated Antigen RCAS1 in Pregnant Mouse Uterus. Am J Reprod Immunol. 2010 in press
- 2) Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K. Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells. Mol Hum Reprod. 2010 in press
- 3) Matsuo K, Shimoya K., Kimura T. Elective cesarean delivery at 38 weeks' gestation: is the timing too early? J Perinat Med. 2009;37(5):569. No abstract available
- 4) Matsuo K, Shiki Y, Yamasaki M, Shimoya K. Use of uterine fundal pressure maneuver at vaginal delivery and risk of severe perineal laceration. Arch Gynecol Obstet. 2009 Nov;280(5):781-786
- 5) Fushimi S, Wada N, Nohno T, Tomita M, Saijoh K, Sunami S, Katsuyama H. 17 β -Estradiol inhibits chondrogenesis in the skull development of zebrafish embryos. Aquat Toxicol. 2009;95:292-298
- 6) Katsuyama H., Tomita M, Okuyama T, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Fushimi S, Saijoh K. : 5HTT polymorphisms are associated with job stress in the Japanese workers. Leg Med 2009; 11: s473-s476
- 7) Katsuyama H., Arii M, Tomita M, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Okuyama T, Fushimi S, Maeda N, Higashimura T, Fukunaga M, Saijoh K. : Association between estrogen receptor α polymorphisms and equal production, and its relation to bone mass. Int J Mol Med 2009: 23; 793-798.
- 8) Weng H, Weng Z, Lu Y, Nakayama K, Morimoto K. : Effects of cigarette smoking, XRCC1 genetic polymorphisms, and age on basal DNA damage in human blood mononuclear cells. Mutat. Res. 2009 Jul;679:59-64
- 9) Koetaka H., Ohno Y., Morimoto K. : Long-term effects of lifestyle on multiple risk factors in male workers. Environ Health Prev Med. 2009 May;14(3):165-172
- 10) Lu, Y., Morimoto, K. : Is habitual alcohol drinking associated with reduced electrophoretic DNA migration in peripheral blood leukocytes from ALDH2-deficient male Japanese? Mutagenesis. 2009 April 13;24(4):303-308
- 11) Huang P, Huang B, Weng H, Nakayama K, Morimoto K. : Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in Japanese hard-metal workers. Prev Med. 2009 Jan 22;48:383-388
- 12) Takahashi K, Otsuki T, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Shirahama T, Miura Y, Morimoto K. : Two weeks of permanence in negatively-charged air conditions causes alteration of natural killer cell function. Int J Immunopathol Pharmacol. 2009 Apr-Jun;22(2):333-342.
- 13) 下屋浩一郎 : わかりやすい周産期・新生児の輸血療法 (大戸斉、大久保光夫編) メジカルビュー 2009年1月発刊 page148-152 ITP 合併妊娠
- 14) 下屋浩一郎 : 周産期救急そのときどうする! ? (光田信明編) メディカ出版 ペリネイタルケア 2009年新春増刊号 page 30-33 切迫早産の治療中、妊婦が全身のだるさや痛みを訴えた○塩酸リトドリンの副作用

2. 学会発表

- 1) 体外受精-胚移植における着床とストレスとの関連について 唾液中コルチゾールは着床と相関する 潮田まり子, 塚本麻美,

松林秀彦, 富山達大, 石田剛, 潮田至央,
張良実, 勝山博信, 森本兼曩, 下屋浩一郎
日本生殖医学会雑誌(1881-0098)54 卷 4 号
Page377(2009. 10)

- 2) 着床とストレスとの関連について一母体ス
トレスレベルは着床と相関する— 潮田ま
り子、戸田雅裕、富山達大、森本兼曩、勝
山博信、下屋浩一郎 ストレス科学 24 卷 2
号 Page83

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

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
下屋浩一郎	ITP合併妊娠	大戸斉、大久保光夫	わかりやすい周産期・新生児の輸血療法	メジカルビュー		2009年1月発刊	148-152
下屋浩一郎	切迫早産の治療中、妊婦が全身のだるさや痛みを訴えた○塩酸リトドリンの副作用	光田信明	周産期救急そのときどうする!?	メディカ出版		2009	30-33

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
Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K.	Temporal and Spatial Expression of Tumor-Associated Antigen RCAS1 in Pregnant Mouse Uterus.	Am J Reprod Immunol			in press 2010
Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, Fukuda H, Kimura T, Tomimatsu T, Shimoya K.	Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells.	Mol Hum Reprod.			in press 2010

Matsuo K, Shimoya K, Kimura T. J	Elective cesarean delivery at 38 weeks' gestation: is the timing too early?	J Perinat Med.	37(5)	569.	2009
Matsuo K, Shiki Y, Yamasaki M, Shimoya K	Use of uterine fundal pressure maneuver at vaginal delivery and risk of severe perineal laceration.	Arch Gynecol Obstet.	280(5)	781-786.	2009
Fushimi S, Wada N, Nohno T, Tomita M, Saijoh K, Sunami S, Katsuyama H.	17 β -estradiol inhibits chondrogenesis in the skull development of zebrafish embryos.	Aquat Toxicol	95	292-298	2009
Katsuyama H, Tomita M, Okuyama T, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Fushimi S, Saijoh K.	5HTT polymorphisms are associated with job stress in the Japanese workers.	Leg Med	11	S473-S476	2009
Katsuyama H, Arii M, Sunami S, Tomita M, Hidaka K, Watanabe Y, Tamechika Y, Okuyama T, Fushimi S, Maeda N, Higashimura T, Fukunaga M, Saijoh K.	Association between estrogen receptor α polymorphisms and equol production, and its relation to bone mass.	Int J Mol Med	23	793-798	2009
Weng H, Weng Z, Lu Y, Nakayama K, Morimoto K.	Effects of cigarette smoking, XRCC1 genetic polymorphisms, and age on basal DNA damage in human blood mononuclear cells.	Mutat. Res.	679	59-64	2009

Koetaka H., Ohno Y., <u>Morimoto K.</u>	Long-term effects of lifestyle on multiple risk factors in male workers.	Environ Health Prev Med.	14(3)	165-172	2009
Lu Y, <u>Morimoto K.</u>	Is habitual alcohol drinking associated with reduced electrophoretic DNA migration in peripheral blood leukocytes from ALDH2-deficient male Japanese?	Mutagenesis	24(4)	303-308	2009
Huang P, Huang B, Weng H, Nakayama K, <u>Morimoto K.</u>	Effects of lifestyle on micronuclei frequency in human lymphocytes in japanese hard-metal workers.	Prev Med	48	383-388	2009
Takahashi K, Otsuki T, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Shirahama T, Miura Y, <u>Morimoto K.</u>	Two weeks of permanence in negatively-charged air conditions causes alteration of natural killer cell function.	Int J Immunopathol Pharmacol.	22(2)	333-342	2009

潮田まり子、 塚本麻美、 松林秀彦、 富山達大、 石田剛、 潮田至央、 張良実、 勝山博信、 森本兼曩、 下屋浩一郎	体外受精-胚移植にお ける着床とストレスと の関連について 唾液 中コルチゾールは着床 と相関する	日本生殖医学 会雑誌 (1881-0098)	54(4)	377	2009
潮田まり子、 戸田雅裕、 富山達大、 森本兼曩、 勝山博信、 下屋浩一郎	着床とストレスとの関 連について一母体スト レスレベルは着床と相 関する一	ストレス科学	24(2)	83	2009

分担研究報告 14

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：制御性 T 細胞の着床、妊娠維持に関する役割についての研究

研究代表者 齋藤 滋 富山大学産科婦人科学教授
研究協力者 島 友子 富山大学産科婦人科学大学院生
中島彰俊 富山大学産科婦人科学助教
伊藤実香 富山大学産科婦人科学助教

研究要旨

抗 CD25 抗体 (0.5mg) を妊娠 2 日目のマウス (BALB/c もしくは C57 BL/6) に投与すると、アロ妊娠では妊娠せず (着床障害)、Syngeneic 妊娠では妊娠が確認された。妊娠 4.5 日と 7.5 日に抗 CD25 抗体を投与するとアロ妊娠では高率に流産が生じたが、Syngeneic 妊娠では流産は生じなかった。抗 CD25 抗体投与により制御性 T 細胞が 60% 以上減少すると流産が生じた。一方、妊娠 10.5 日、13.5 日に抗 CD25 抗体を投与しても早産や妊娠高血圧症候群様症状はアロ妊娠でも全く認められなかった。

以上よりアロ妊娠において制御性 T 細胞は着床と妊娠初期の妊娠維持に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

A. 研究目的

アロ妊娠の際、胎児 (仔) は父親抗原を有するが、母体免疫系の変化により胎児は拒絶されずに妊娠は継続される。胎児許容機構の中で CD4+CD25+制御性 T 細胞の果たす役割は大きく、妊娠時に制御性 T 細胞が増加すること、流産例や妊娠高血圧腎症では制御性 T 細胞が減少することはこれまで知られていたが、妊娠のどの時期に制御性 T 細胞が必要なのか、どのくらい制御性 T 細胞が減少すると流産や妊娠高血圧腎症になるのかは知られていなかった。抗 CD25 抗体を妊娠の各時期のマウスに投与することにより妊娠時の制御性 T 細胞の役割を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

BALB/c×B57BL/6 もしくは B57BL/6×BALB/c のアロ妊娠と BALB/c×BALB/c、C57BL/6×C57BL/6 の同系妊娠の系で交配した。交配後 2.5 日 (study1)、4.5 日と 7.5 日 (study2)、10.5 日と 13.5 日 (study3) に抗 CD25 抗体を腹腔内投与し、その後 study1 では 7.5 日目に、study2 では 11.5 日目に、study3 では 18.5 日目に犠牲死させた。制御性 T 細胞は CD4+CD25+Foxp3+細胞とし Flow Cytometry にて検討した。

C. 研究結果

マウスは交配後 4.5 日に着床する。抗 CD25 抗体を投与すると制御性 T 細胞は 2-3 日目で最低値となり、7 日目に元の値に復する。交配後 2.5 日目の抗 CD25 抗体投与は着床期に制御性 T 細胞が最低値となるモデルである。アロ妊娠ではラット IgG 投与群では 11.2±1.7 匹の胎仔が確認されたが、抗 CD25 抗体 (0.5mg) 投与群では胎仔を認めなかった。一方、同系妊娠では抗 CD25 抗体を投与してもコントロールと同様の胎仔数を認めた。

交配後 4.5 日、7.5 日に抗 CD25 抗体を投与すると抗 CD25 抗体量が 0.375mg、0.5mg、1.0g と増量するにつれてアロ妊娠では流産率が高率となり、制御性 T 細胞が約 60%減少して初めて流産が生じた。一方、同系妊娠では制御性 T 細胞が減少しても流産は増加しなかった。

交配後 10.5 日、13.5 日に抗 CD25 抗体を投与すると、制御性 T 細胞は減少したが、血圧、蛋白尿も変化なく、早産率も増加せず、胎仔体重、胎盤体重も差を認めなかった。

D. 考察・E. 結論

アロ妊娠の着床ならびに妊娠初期の妊娠維持に制御性 T 細胞は必須である。これまで、どのくらい制御性 T 細胞が減少すると流産が生じる

のか明らかではなかったが、約 60%減少すると流産が生じることが明らかとなった。また着床にも制御性 T 細胞が重要な役割を果たすことが明らかとなった。

一方、妊娠中期以降に制御性 T 細胞が減少しても妊娠高血圧症候群や子宮内胎児発育遅延も生じないことが明らかとなった。胎児を攻撃する細胞性傷害性 T 細胞のクローン除去が起こっていることが推察されるが、その機序については今後明らかにする必要がある。またヒトとマウスでは妊娠期間も胎盤構造も異なるため、制御性 T 細胞の減少のみでは妊娠高血圧症候群の病態を説明できないのかもしれない。今後ヒトの不育症、着床障害についても検討していく必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shima T, Sasaki Y, Ito M, Nakashima A, Ishii N, Sugamura K, Saito S. Regulatory T cells are necessary for implantation and maintenance during early stage of pregnancy, but not necessary during late stage of pregnancy in allogeneic mice. J.Reprod.Immunol in press.
- 2) Saito S, Shima T, Nakashima A, Lin Y. Immune surveillance during pregnancy. Indian J.Physiol Pharmacol. 54(5):60-63, 2010

2. 学会発表

島友子: 妊娠子宮には胎児抗原特異的制御性T細胞が増加する。第24回日本生殖免疫学会 ワークショップ 2009年11月27-28日 東京(学会賞受賞)

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

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
Shima T, Sasaki Y, Ito M, Nakashima A, Ishii N, Sugamura K, Saito S	Regulatory T cells are necessary for implantation and maintenance during early stage of pregnancy, but not necessary during late stage of pregnancy in allogeneic mice.	J. Reprod. Immunol			in press
Saito S, Shima T, Nakashima A, Lin Y.	Immune surveillance during pregnancy.	Indian J. Physiol Pharmacol	54(5)	60-63	2010

分担研究報告 15

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：正常妊娠と流産における Th17 細胞に関する検討

研究代表者 齋藤 滋 富山大学産科婦人科学教授
研究協力者 中島彰俊 富山大学産科婦人科学助教
島 友子 富山大学産科婦人科学大学院生
伊藤実香 富山大学産科婦人科学助教

研究要旨

Th17 細胞は炎症を惹起し、拒絶反応にも関わる。Th17 細胞が妊娠中どのような変化をするかは明らかでない。そこで flow cytometry を用いて CD4⁺CD17⁺細胞を Th17 細胞として同定し、免疫組織染色にて IL-17⁺細胞を同定した。正常妊娠では妊娠初期、中期、後期とも末梢血中の Th17 細胞は変動せず、流産例でも末梢血中の Th17 細胞は変化しなかった。Th17 細胞は正常妊娠において末梢血よりも脱落膜で増加していた。また流産例で進行流産となると脱落膜中の Th17 細胞は増加し、好中球数と Th17 細胞は正の相関を示した。なお稽留流産では Th17 細胞は増加せず Th17 細胞の増加は流産の原因ではなく結果と考えられた。

A. 研究目的

新たに同定された Th17 細胞は IL-17 を産生し炎症を引き起こし種々の病態を引き起こすことが判ってきている。妊娠時には全身ならびに子宮局所の免疫系は変化するが妊娠時に Th17 細胞がどのように変化し、流産の際に Th17 細胞が変化するか否かは明らかでない。そこで検討を行った。

B. 研究方法

本研究は富山大学倫理委員会の承認を得て行っている。患者の同意を得た上で、末梢血ならびに人工妊娠中絶時の子宮内膜の一部から単核球を分離し、PMA、イオノマイシンとブレフェルدينAを添加し4時間培養後、ホルムアルデヒド同定、細胞膜透過性バッファー処理後、細胞表面マーカー CD4、CD8、CD14、CD56、と細胞内サイトカインIL-17 を染色し flow cytometer にて解析し CD4⁺IL-17⁺細胞を Th17 細胞とした。また免疫組織染色にて脱落膜中の IL-17 陽性細胞を同定した。

C. 研究結果

末梢血、脱落膜とも IL-17 陽性細胞の大部分は CD4⁺T細胞でありごく少数の CD8⁺T細胞にも IL-17 は認められたが、NK細胞、単球成分には IL-17 産

生は認められなかった。妊娠初期、中期、後期とも末梢血の Th17 細胞は不変で非妊婦人と差を認めなかった。一方、脱落膜中の Th17/CD4⁺率は 3.2% (0.4-9.1%) と末梢血の値 1.1% (0.4-2.9%) に比し有意に低値であった。一方、流産例においては末梢血中の Th17 細胞率は変化しなかったが、進行流産では脱落膜中の Th17 細胞率は有意に (P<0.05) 高値となったが、稽留流産では変化しなかった。

D. 考察・E. 結論

妊娠中の Th17 細胞は正常妊娠では変化しなかった。Th17 細胞は慢性関節リウマチ (RA) を引き起こすが、妊娠中は RA の臨床症状が軽快するため、Th17 細胞は減少するであろうとする予想を覆す結果であった。おそらく Th17 細胞以外の機序で妊娠中の RA は軽快するのであろう。Th17 細胞は炎症以外に拒絶反応にも関与するので、進行流産例での Th17 細胞の増加は予想通りであった。一方、臨床症状の伴わない流産の比較的初期と考えられる稽留流産では Th17 細胞の増加はなかった。以上より Th17 細胞は流産の原因と考えるより結果として増加し、炎症を惹起させ流産を引き起こしている可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nakashima A, Ito M, Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S. Circulating and decidual Th17 cell level in healthy pregnancy. Am. J Reprod. Immunol 63:104-109, 2010

2) Nakashima A, Ito M, Shima T, Bac ND, Hidaka T, Saito S. Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases. Am. J Reprod. Immunol. in press

2. 学会発表

なし

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

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
<u>Nakashima A,</u> <u>Ito M,</u> Yoneda S, Shiozaki A, Hidaka T, Saito S.	Circulating and decidual Th17 cell level in healthy pregnancy.	Am. J Reprod. Immunol	63	104-109	2010
<u>Nakashima A,</u> <u>Ito M,</u> <u>Shima T,</u> Bac ND, Hidaka T, Saito S.	Accumulation of IL-17-positive cells in decidua of inevitable abortion cases.	Am. J Reprod. Immunol.			in press

分担研究報告 16

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：「習慣流産に対する免疫療法ならびに抗凝固療法症例の臨床的検討」

分担研究者 田中 忠夫（東京慈恵会医科大学・産婦人科・教授）
研究協力者 川口 里恵，梅原 永能，高橋 絵理，土橋 麻美子，齋藤 幸代，
和田 誠司（東京慈恵会医科大学・産婦人科・助教）
杉浦 健太郎，大浦 訓章（東京慈恵会医科大学・産婦人科・講師）

研究要旨

反復あるいは習慣流産の原因として，原発性あるいは続発性流産にかかわらず，抗リン脂質抗体（aPL）陽性の頻度が70%を超え，最も多かった。aPL陽性症例に対する抗凝固療法は，全体として約90%の症例で妊娠維持に成功した。aPLの種類，抗体価の多寡，あるいはアイソタイプ別の治療成績は，各層別間での差はなく同等に良好であった。同種免疫異常に対する夫リンパ球を用いた免疫療法は，約70%の成功率であった。同種免疫異常と診断する検査方法・基準をさらに検討する必要がある。

A. 研究目的

妊娠初期の流産を繰り返す不育症（反復あるいは習慣流産：RSA）の原因は多岐に渡っているが，特に免疫学的因子が関与する病態は未だ完全には解明されておらず，実際の臨床に際して，その管理指針が定まっていないのが現状である。

そこで本研究では，RSAにおける血液凝固異常，あるいは自己免疫ならびに同種免疫異常の存在を明らかにし，それらを検出する適切な検査法，および効果的かつ個別的な治療法の確立を目指す。

B. 研究対象と方法

妊娠12週までの妊娠初期自然流産を2回以上繰り返しているために，原因精査・加療を目的として慈恵医大病院・不育症外来を受診した症例を対象とし，同意を得たうえで，以下に示す検査・治療を施行した。なお，その施行に際しては事前

に当院倫理委員会の承認を得た。

1. 検査項目

1) スクリーニング検査：子宮形態・染色体・内分泌・凝固因子などの一般的検査に加え，以下の検査を行った。抗DNA抗体，抗核抗体，抗cardiolipin-IgGおよびIgM抗体（aCL-IgG，-IgM），抗cardiolipin β 2-GP1抗体（ β 2-GP1），抗phosphatidylserine-IgG，-IgM抗体（aPS-IgG，-IgM），抗phosphatidylethanolamine-IgG，-IgM抗体（aPE-IgG，-IgM），lupus anticoagulant（LA），protein-CおよびS活性（抗原量），および血液凝固第XII因子。なお，aPL抗体価の判定基準は，実測値95～99パーセントイルを弱陽性，99パーセントイル以上を強陽性とした。

2) 特殊検査：上記スクリーニング検査で以上

を認めない場合、以下の検査を行った。

natural killer (NK) 細胞活性, 抗 HLA 抗体, 夫婦間混合リンパ球反応 (MLR), および Th1/Th2 細胞比。

2. 治療方法の選択基準

1) 抗凝固療法: 一般的検査では異常を認めない症例について, 自己抗体ならびに aPL の検査結果により, 原則的に以下の基準にしたがって治療した: (A) β 2-GP1 を除いた一つの項目のみ陽性を示す症例で, かつ LA 弱陽性, aCL-IgM あるいは aPS-IgM のみ陽性の症例に対しては, アスピリンを単独投与した。 (B) LA 強陽性, β 2-GP1 陽性, aCL-IgG 陽性, aPS-IgG 陽性, aPE-IgG あるいは IgM 陽性, あるいは二つ以上の項目が陽性の症例に対しては, アスピリン+柴苓湯+ヘパリンの併用を行った。なお, アスピリン (100mg/日) は妊娠前から服用し, 妊娠 32 週まで投与した。柴苓湯 (9g/日) は妊娠前から服用し, 妊娠成立後に中止した。ヘパリン (5,000 単位 x2 回/日) は胎嚢確認後から妊娠 37 週まで投与した。

2) 夫リンパ球免疫療法: スクリーニング検査で異常を認めない症例について, 同種免疫関連の特殊検査結果により, 原則として MLR-BE 低値, 抗 HLA 抗体陰性, NK 細胞活性高値, あるいは Th1/Th2 比亢進のどれかに該当する症例に対して夫 (パートナー) リンパ球を用いた免疫療法 (LIT) を行った。リンパ球は放射線処理後, $1\sim 5 \times 10^7$ 個/生食水 1ml に調整し, 妊娠前に 2 週間毎に 3 回, 妊娠成立後にさらに追加免疫として妊娠 12 週まで 2 週間毎に上腕皮内に接種した。

3. 対象症例の内訳

- 1) スクリーニング検査の異常出現頻度: 2004 年 1 月から 2008 年 12 月までに初診受診した 415 症例 (原発性 317 例: 続発性 98 例, 反復流産 219 例: 習慣流産 196 例) を対象とし, 以下の 9 項目について検討した。子宮形態, 染色体, 内分泌, ANA, aDNA, aPLs, proein-C, protein-S, 血液凝固第 XII 因子。
- 2) aPL 出現頻度と抗凝固療法の治療成績: 2005 年 11 月から 2009 年 7 月までの間の aPL 陽性 131 症例 (原発性 92 例: 続発性 39 例) を対象に, (1) aPL の出現頻度を, 抗体種別, isotype 別および抗体価別に検討した。(2) 抗凝固療法による妊娠帰結を, それらの検査結果と併せて比較検討した。
- 3) LIT の治療成績: 2002 年 1 月から 2007 年 12 月まで間に LIT を施行した 91 症例を対象に, (1) LIT による妊娠帰結と同種免疫関連の検査結果を併せて比較検討した。(2) LIT 後の 71 症例を対象に aPL, ANA, aDNA の陽転化率を検討した。

C. 研究結果

1. スクリーニング検査の異常出現頻度

原発性, 続発性にかかわらず, 何らかの aPL が陽性であった症例が各々 70.7%, 74.5% であり最も多かった。次いで, 内分泌異常 (20.7% : 10.7%), 染色体異常 (6.0% : 6.3%), 血液凝固第 XII 因子 (7.4% : 6.4%) であった。流産回数別 (2 回, 3 回, 3 回以上) にみると, aPLs 陽性頻度はその回数の多寡にかかわらず約 70% 以上であったが, 染色体異常の頻度は, 原発性の場合, 流産回数が増えるにつれて増加した (3.9% : 7.8% :

10.7%)

2. aPL 出現頻度

1) 抗体種別の出現頻度：8種類の aPLs の中で最も出現頻度が高かったのは、全体（原発性+続発性）としてみると aPS-IgM (55.7%)、次いで aCL-IgM (54.2%)、LA (35.9%) と続き、最も低いのは β 2-GP1 (0.3%) であった。この傾向は原発性と続発性に分けてみても変わりはなく、またこの両者間の aPL 出現頻度に有意差は認められなかった。

2) 抗体価別の出現頻度：全体としてみると、いずれの aPL においても弱陽性の頻度が強陽性の頻度を大きく上回り、aPS-IgM では各々 38.9% : 16.8%、aCL-IgM (38.2% : 16.0%)、LA (34.4% : 1.5%) であった。この傾向は原発性と続発性とに分けてみても変わりはなかった。

3. 抗凝固療法の治療成績

抗凝固療法を行った aPL 陽性 131 例中 82 例が妊娠した。その中、妊娠が成功裡に維持されたのは 74 例、また流産に終わった症例が 8 例であった。流産例中 1 例には絨毛の染色体異常を認めた。したがって、治療成績はその 1 例を除いた 81 例を対象に検討した。

1) 抗体種別の治療成績：いずれの aPL 陽性例においても妊娠維持率は高く、最も低いものでも aPS-IgM の 88.1% であり、他の aPL のそれは 90% を超えていた。aPL の種類による妊娠維持率に有意差は認めなかった。

2) 抗体価別の治療成績：いずれの aPL においても、弱陽性あるいは強陽性にかかわらず妊娠維持率は高く、最も低いものでも aPS-IgM 強陽性の 82.9% であった。いずれの aPL においても、抗体価の多寡による妊

娠維持率に有意差は認めなかった。

3) isotype 別の治療成績：IgG 陽性例と IgM 陽性例の妊娠維持率は各々 91.2% : 90.0% であり、両者の間に有意な妊娠維持率の差は認めなかった。

4) aPL 陽性数別の治療成績：aPL の単独陽性例と複数陽性例の妊娠維持率は各々 91.2% : 91.5% であり、両者の間に有意な妊娠維持率の差は認めなかった。

5) 治療法別の治療成績：アスピリン単独療法 (LDA) とアスピリン+ヘパリン(+柴苓湯) 併用療法 (LDA+Hep) を、isotype 別あるいは陽性抗体数別に比較した。いずれにおいても高い妊娠維持率であり、最も低いものでも LDA 群の IgG 陽性例の 80.0% であった。それら aPL-profile と両治療法による妊娠維持率との間に有意な関連性は認めなかった。

4. LIT の治療成績

LIT を行った 91 例の中 54 例に妊娠が成立し、そのうち 39 例 (72.2%) の妊娠維持に成功した。15 例が流産したが、絨毛染色体を検査できたのは 4 例であり、その中 2 例は異常であった。LIT 前後での同種免疫関連の特殊検査結果 (MLR-BE の有無、抗 HLA 抗体陽転の有無、NK 細胞活性の変動、あるいは Th1/Th2 比の変動) と妊娠維持率との間に有意な関連性は認めなかった。また、LIT 後の抗体出現の有無を継続的に検査し得た 71 例において、aCL-IgG が 14 例 (19.7%) で陽転化した。その他 (ANA, β 2-GP1, LA) は各 1 例であり、aDNA が陽転化した例は認めなかった。aCL-IgG が陽転化した 14 例中 9 例 (64.3%) は 1 年後には陰性化した。

D. 考察

近年、自己免疫異常と関連する aPL の存在、あるいは血液凝固因子の異常などによる血栓性素因が流産原因として注目され、それらに対する抗凝固療法の有効性が報告されてきた。しかし、aPL の種類、抗体価、あるいはアイソタイプの種類などと抗凝固療法の種類、あるいは治療成績との関連は未だ十分に検討されておらず不明な点が少なくない。

今回検討した症例では、陽性 aPL の数あるいはアイソタイプにより LDA 療法と LDA+Hep 療法を使い分けることによって、いずれも高い妊娠維持率を得た。したがって、aPL の IgM 単独陽性例では LDA 療法だけでも有効であり、aPL-profile によっては LDA+Hep 療法は必ずしも必要ないかもしれない。今後、aPL 抗体価なども加味したさらに詳細な aPL-profile と治療法別の関連を解析する予定である。

また、母児間の同種免疫応答異常に起因する流産の存在も知られているが、それを検出する適切な検査、そして行われている LIT の有効性の評価は定まっていない。

今回の検討では、いずれの特殊検査も有意な関連性を示せなかった。LIT 前後のIDO の発現など、新しいマーカーとなり得るものを検討する予定である。

E. 結論

今回は昨年度に続く第2年度の中間報告として、現在までに蒐集した RSA 症例について、その原因の頻度および治療成績を中心にまとめた。aPL 陽性例では抗凝固療法により約 90% の高い妊娠維持率が得られ、同種免疫異常と思われる症例に対する LIT は約 70% の妊娠維持率であった。

抗凝固療法あるいは免疫療法のより厳密な適

応基準を決めることにより、一層の効果を得ることができると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okamoto S, Tanaka T, et al. Mesenchymal to epithelial transition in the human ovarian surface epithelium focusing on inclusion cysts. *Oncol Rep* 21 : 1209~1214, 2009.
- 2) Omi H, Kawaguchi R, Tanaka T, et al. Establishment of an immortalized human extravillous trophoblast cell line by retroviral infection of E6/E7/hTERT and its transcriptional profile during hypoxia and reoxygenation. *Int J Mol Med* 23 : 229~236, 2009.
- 3) Kawaguchi R, Tanaka T, et al. Priming of peripheral monocytes with prolactin sensitizes IFN-gamma-mediated indolamine 2,3-dioxygenase expression without affecting IFN-gamma signaling. *J Reprod Immunol* 77 : 117-125, 2008.
- 4) Itoh H, Tanaka T, et al. A case-control study of the association between urinary cadmium concentration and endometriosis in infertile Japanese women. *Science of the Total Environment* 2008 ; 402 : 171~175.
- 5) Ueda K, Tanaka T, et al. Association of extracellular matrix metalloprotease inducer in endometrial carcinoma with

patient outcomes and clinicopathogenesis using monoclonal antibody 12C3. *Oncol Rep* 17 ; 731-735, 2007.

なし
3. その他
なし

- 6) Takao M, Tanaka T, et al. Increased synthesis of indolamine-2,3,-dioxygenase protein is positively associated with impaired survival in patients with serous-type, but not with other types of, ovarian cancer. *Oncol Rep* 17 ; 1333-1339, 2007.

2. 学会発表

- 1) 高橋絵里, 川口里恵, 田中忠夫, 他. 不妊症と不育症, その移行症例の臨床的解析. 第61回 日本産科婦人科学会学術講演会 2009.04 (京都).
- 2) Takahashi E, Kawaguchi R, Tanaka T, et al. Clinical analyses for transitional cases of infertility and recurrent pregnancy loss. 15th Conference of International Federation of Placental Association 2009.10 (Adelaide, Australia).
- 3) Umehara N, Kawaguchi R, Tanaka T, et al. Therapeutic outcome in recurrent spontaneous abortions with antiphospholipid antibodies ~ The influence of titers, varieties, isotypes, positive numbers of antiphospholipid antibodies~. 15th Conference of International Federation of Placental Association 2009.10 (Adelaide, Australia).

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