

- syndrome with congenital diaphragm hernia and NIPBL gene mutation *Congenital Anomalies* 2010; 50: 2 129~132
2. Namba F, Hasegawa T, Nakayama M, Hamanaka T, Yamashita T, Nakahira K, Kimoto A, Nozaki M, Nishihara M, Mimura K, Yamada M, Kitajima H, Suehara N, Yanagihara I. Placental Features of Chorioamnionitis Colonized With *Ureaplasma* Species in Preterm Delivery. *Pediatric Research* 2010; 67:166~172
 3. Ito Y, Goldschmeding R, Kasuga H, Claessen N, Nakayama M, Yuzawa Y, Sawai A, Matsuo S, Weening J, Aten J. Expression patterns of connective tissue growth factor and of TGF- β isoforms during glomerular injury recapitulate glomerulogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: 545~558
 4. 中山雅弘. CMV感染症の胎児・胎盤の病理 第16回ヘルペス感染フォーラム, エムディエス 2010 40~43
 5. 中山雅弘. 胎盤の組織学的所見 周産期医学 2010; 40: 1007~1013
 6. 中山雅弘, 木本哲人, 植田初江. 羊水塞栓症における肺・子宮での組織および免疫組織学的検討 産科と婦人科 2011; 78: 178~185
- 2) 学会発表
1. 中山雅弘. 「SGAの胎児・胎盤病理」 nordiscience forum 2010 Program & Abstracts 2010.6.5 京都市 教育講演
 2. 味村和哉, 藤田富雄, 中山雅弘, 光田信明, 柳原格. 「当センターにおける原因不明不育症患者の1st trimester 流産検体における病理学的所見の分類」 第46回日本周産期・新生児学会 総会および学術集会 2010.7.11~13 神戸市 一般演題
 3. 藤田太輔, 藤田富雄, 中山雅弘, 湯口裕子, 荘園へき子, 檜原敬二郎, 山下能毅, 亀谷英樹, 大道正英. 「初期絨毛病理所見で Massive Intervillous Fibrin Deposition を繰り返す原因不明不育症」 第46回日本周産期・新生児学会 総会および学術集会 2010.7.11~13 神戸市 一般演題
 4. 馬場幸子, 中山雅弘, 藤田富雄, 末原則幸. 「不育症リスク要因に関する疫学研究」 第46回日本周産期・新生児学会 総会および学術集会 2010.7.11~13 神戸市 一般演題
 5. 大幡泰久, 大藪恵一, 山崎美和, 岡田知子, 中山雅弘, 平井治彦, 道上敏美. 「合胞体栄養膜層は Klotho と FGFR1 を共発現しており, FGF23 シグナルを受容する」

第 18 回日本胎盤学会学術集会・
第 28 回日本絨毛性疾患研究会
2010.9.30～10.1 熊本市 一般演
題

6. 河野通晴、三浦清徳、山崎健太郎、
中山大介、吉浦孝一郎、中山雅弘、
増崎秀明 . 「 Placental
mesenchymal dysplasia の一例」
第 18 回日本胎盤学会学術集会・
第 28 回日本絨毛性疾患研究会
2010.9.30～10.1 熊本市 ワーク
ショップ
7. 中山雅弘、桑江優子、松岡圭子、
白石淳、北島博之. 「新生児慢性
肺疾患と胎盤病理 —CLD 分類
再評価のために—」 第 55 回日
本未熟児新生児学会・学術集会
2010.11.5～7 神戸市 シンポジ
ウム

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

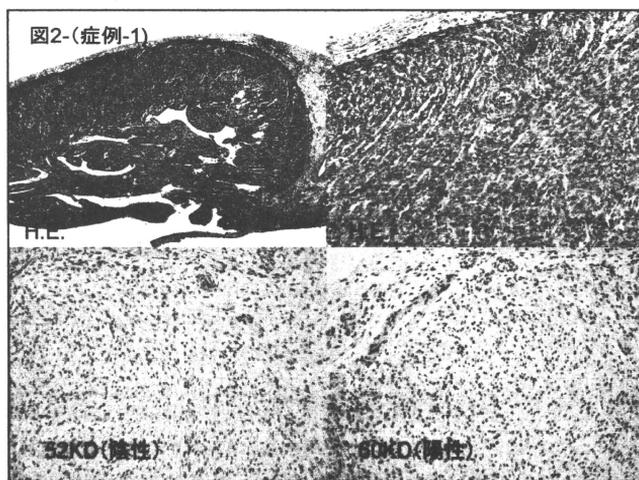
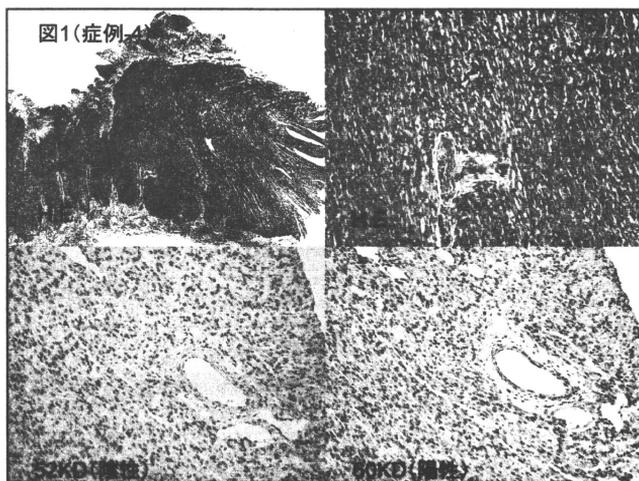
なし

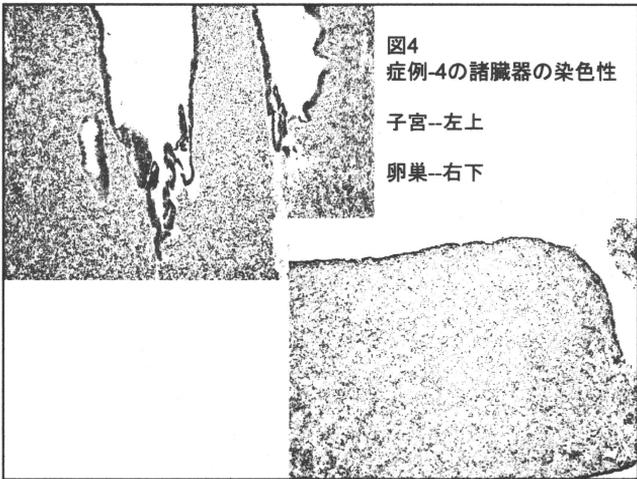
3. その他

なし

表1-各症例のSS-A染色結果

症例	週数(w)	体重(g)	診断	SSA-A(52) 心筋	SS-A(52) その他	SS-A(60) 心筋	SS-A(60) その他
1	16	76	無頭蓋症	-	肝(-) 脾(-)	+	肝(++) 脾(+)
2	16	121	中絶	-	腎(-) 副腎(-) 大腸(-) 卵巣(-)	±	腎(+) 副腎(±) 大腸(-) 卵巣(-)~(±)
3	19	310	単心室	-	未	+	未
4	21	338	骨奇形	-	肺(-) 消化管(-) 脾(-) 子宮(-) 卵巣(-)	++	肺(+) 脾(++) 消化管(++) 子宮(+++) 卵巣(++)
5	25	348	PIH	-	肺(-)	-	肺(-)
6	29	320	IUGR PIH	-	肺(-) 胸腺(-)	±	肺(+) 胸腺(+)
7	30	504	Potter IUGR	-	肺(-)	±	肺(+)
8	38	3108	IUFD	-	肺(-)	-	肺(-)
9	39	2386	肺動脈閉鎖	-	肺(-)	-	肺(-)





厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）
分担研究報告書

児に房室ブロックを伴った母親における 52-kDa SSA/Ro p200 peptide に対する免疫反応

研究分担者 宮野 章 大阪府立母子保健総合医療センター検査科主任
中山 雅弘 大阪府立母子保健総合医療センター検査科部長

研究要旨

妊娠婦結の明らかな 77 例の女性（臍帯血 3 例含む）について、抗 SS-A 52-kDa、抗 SS-A 52-kDa p200 peptide、抗 SS-A 60-kDa 抗体価ならびに 8M 尿素を用い avidity を測定した。52-kDa と 52-kDa p200 の抗体価の相関関係は、房室ブロック陽性群は陰性群に比べて、52-kDa p200 抗体価の傾きが高く（1.084 対 2.511）、両群とも正の相関関係を認めた（ $r=0.695$ と $r=0.732$ ）。60-kDa と 52-kDa p200 の抗体価の相関関係は、房室ブロック陽性群は陰性群に比べて、52-kDa p200 抗体価の傾きが少しだけ高い（0.839 対 0.876）。両群とも正の相関関係を認めた（ $r=0.574$ と $r=0.438$ ）。房室ブロックを伴った児を出産した女性の各抗体価は伴わなかった例に比べて有意に高値であった。その有意差は 60-kDa（ $p=0.0334$ ）、52-kDa（ $p=0.0010$ ）、52-kDa p200（ $p=0.0002$ ）の順に低く、52-kDa p200 が一番低い結果であった。各測定値の房室ブロックでの感度は 52-kDa、52-kDa p200 共に 100%であったが、60-kDa は 89.5%であった。特異度は 60-kDa（34.5%）、52-kDa（27.6%）、52-kDa p200（22.4%）の順に低かった。52-kDa p200 の抗体価と avidity index (AI) の関係において、房室ブロック陽性群において 52-kDa p200 抗体価が低かった 3 例以外は低値を示した。以上の結果より母親の抗 52-kDa p200 抗体を測定することにより児の房室ブロックを予測するマーカーとして利用できる可能性がある。

A. 研究目的

新生児エリテマトーデス（NLE）は、胎盤移行抗体により、新生児の皮膚に出現する紅斑、または先天性房室ブロックを主症状とする比較的まれな疾患であり、抗 SS-A/Ro 抗体が NLE の診断の血清学的マーカーとして重要視されている。近年このアイソフォームである、52-kDa と 60-kDa に対する抗体のみを測定する試薬が開発されその有用性が検討されている¹⁾。しかし、これらの抗体を持つ母親から生まれた子

供が必ずしも NLE になるわけではない。

52-kDa のアミノ酸配列を Table1 に示すが、52-kDa はタンパク質、またはこれをコードする遺伝子のシンボルである。p200 は 52-kDa を構成するサブユニットのひとつと考えられる（Table1 のアンダーラインの部分）。p200 のアミノ酸部位 200-239（40a. a.）を抗原とする抗体についての論文があり²⁾、房室ブロックが重症なほどこの抗体価が高いという報告がある³⁾。そこで今回 52-kDa p200 抗体価の有用性を検討

した。また、8M尿素を用いた抗体の質(avidity)を調べた。

B. 研究方法

1. 患者血清

大阪府立母子保健総合医療センターに52-kDaと60-kDaに対する抗体のあった妊婦結の明らかな77例の女性(臍帯血3例含む)を対象とした。

2. 52-kDa p200 peptide enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) プレート

52-kDa p200 peptide :
ヒトRo52のp200のアミノ酸部位200-239(40a.a.)をThermo Biosciencesにてペプチドを合成した(日本代理店: グライナー・ジャパン)。

炭酸Buffer :

0.005MNaHCO₃

0.005MNa₂CO₃

PBS-Tween :

「PBSタブレット」(シグマ)を規定量精製水に溶解する。

0.05%Tween-20になるようPBS溶液に溶解する。

ブロッキング液 :

1%BSAになるようPBS-Tweenに溶解する。

- 1) 52-kDa p200 peptideが0.1~0.2 μ l含む炭酸Buffer100 μ lを各ウェルに分注。
- 2) プレートシールを張り乾燥を防ぐ。
- 3) これを4℃で1晩インキュベート。
- 4) PBS-Tweenにて4回洗浄。

5) ブロッキング液100 μ lずつ分注。

6) 30分室温放置。

7) PBS-Tweenにて4回洗浄。

3. 52-kDa p200 peptide ELISA測定法

- 1) PBS 201倍検体希釈液100 μ lを各ウェルに分注。
- 2) 室温で1時間インキュベート。
- 3) PBS-Tweenにて4回洗浄。
- 4) 酵素標識抗体液(ヤギ由来ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgGポリクローナル抗体)100 μ lずつ分注。
- 5) 30分室温放置。
- 6) PBS-Tweenにて4回洗浄。
- 7) 基質液(3,3',5,5'-テトラメチルベンチジン、0.009%過酸化水素)100 μ lずつ分注。
- 8) 30分室温放置。
- 9) 反応停止液(0.3mol/L硫酸)100 μ lずつ分注。
- 10) 吸光度(450nm)測定。

PBSのみを患者検体として13回同時測定したODの結果は、mean=0.017、SD=0.0038、mean+3SD=0.028である。このOD以上が陽性と考え、1indexとし、その時に測定した陽性標準液を2.9indexとし、測定毎に使用した。

検体の同時再現性はn=9、mean=1.7indexの検体において、SD=0.3、CV=16.1%であった。

4. 52-kDaと60-kDa ELISA測定法

組み替え蛋白を用いたELISAキットである、「MESACUP 52K SS-A/Roと60K SS-A/Ro」(MBL)により血清を用いて測定した。基準値

は抗 52-kDa 抗体価が index 値 5.1 以下、抗 60-kDa 抗体価が index 値 5.9 以下である。

5. SSA 抗体価の測定

SSA 抗体価は double immunodiffusion (DID) 法「ENA スクリーニング テスト」(MBL)によった。

6. avidity index(AI)の測定

通常の抗 52-kDa 抗体価と抗 60-kDa 抗体価測定操作に avidity 試薬の反応ステップが加わる。すなわち、固相抗原と抗体の反応が終了した後、8M 尿素を含んだ洗浄液を反応させる。8M 尿素を含んだ洗浄液のかわりに洗浄液を用いた試薬を対照として AI を求めた。

検体の同時再現性は $n=7$, $\text{mean}=87.5\%$ の検体において、 $\text{SD}=13.5$, $\text{CV}=15.9\%$ であった。

7. 統計解析

Mann-Whitney' s U Test を用い、危険率 5%以下を有意差ありとした。

C. 研究結果

Fig. 1 に、52-kDa と 52-kDa p200 の抗体価の相関関係を示した。房室ブロック陽性群は陰性群に比べて、52-kDa p200 抗体価の傾きが高い (1.084 対 2.511)。両群とも正の相関関係を認めた ($r=0.695$ と $r=0.732$)。陽性群では 60-kDa は 50index 付近から房室ブロックを起こしているが、52-kDa p200 は 1.3index と比較的低い値から房室ブロックを起こしている。低値を示す 3 例の内訳は、1.3index が 2 例あり、1

例は房室ブロックがあったもののペースメーカーを装着せずに済んでいるので、房室ブロックが軽度のため低値を示したと思われる。52-kDa 抗体価は 100.9index、60-kDa 抗体価は 22.2index であり。妊娠中リンデロンにて治療していた。もう一例は当センターにおいて一番低値の 52-kDa 抗体価 (46.0index) での完全房室ブロック例である。妊娠 21 週より前医より胎児除脈指摘され当センター紹介となった。SSA 抗体価は 32 倍、60-kDa は 55.8index であった。妊娠中リンデロンにて治療していたが、23 週で分娩となった。完全房室ブロックであるため、ペースメーカー装着となった例である。最後の 6.3index を示した例は後述する Table 3 の No2 の症例である。

Fig. 2 に、60-kDa と 52-kDa p200 の抗体価の相関関係を示した。先ほどと同じく房室ブロック陽性群は陰性群に比べて、52-kDa p200 抗体価の傾きが少しだけ高い (0.839 対 0.876)。両群とも正の相関関係を認めた ($r=0.574$ と $r=0.438$) が、陰性群では有意差が認められたが ($p<0.0001$)、陽性群では有意差が認められなかった ($p=0.0607$)。

房室ブロックを伴った児を出産した女性の各抗体価は伴わなかった例に比べて有意に高値であった (Fig. 3)。その有意差は 60-kDa ($p=0.0334$)、52-kDa ($p=0.0010$)、52-kDa p200 ($p=0.0002$) の順に低く、52-kDa p200 が一番低い結果であった。

Table2 に各測定値の房室ブロックでの感度、特異度、陽性適中率と陰性適中率を示した。感度は 52-kDa、52-kDa p200 共に 100%であったが、60-kDa は 89.5%であった。特異度は 60-kDa (34.5%)、52-kDa (27.6%)、

52-kDa p200 (22.4%) の順に低かった。

Fig. 4 に、52-kDa p200 の抗体価と AI の関係を示した。AI は理論上 100% を超える事がないが房室ブロック陰性群で 200% 位まで分布が広がっている。これは抗体価が低いところでは、本来対照の吸光度の方が高値を示すが 8M 尿素の吸光度の方が高値を示したものが含まれるためである。そのためもあり、房室ブロック陽性群は陰性群に比べて有意に低値であった ($p=0.0038$)。房室ブロック陽性群において 52-kDa p200 が低かった 3 例の AI は高値であったが、これら以外は低値を示した。

Table 3 の No1 は 60-kDa 抗体価陰性でありながら児に房室ブロックを認めた例であり、母と臍帯血の値を示した。母の 52-kDa 抗体価は 96.0index、52-kDa p200 抗体価 127.9index と中程度陽性であるが、AI は 6.3%、13.3% と低値を示した。母の SSA 抗体価は DID 法で 8 倍であった。妊娠中胎児治療は行われていない。No2 は 52-kDa と 60-kDa の両抗体価陽性で児に房室ブロックと心筋炎を認めた例である。母の SSA 抗体価は 16 倍であった。出生後房室ブロックは幾分改善したため、ペースメーカーは装着されていない。52-kDa p200 抗体価は 6.1index と低値を示した。No3 は 52-kDa と 60-kDa の両抗体価陽性で皮膚紅斑を認めた例である。52-kDa 抗体価 128.8index に比べて 60-kDa は 201.0index と高い。AI も 52-kDa 19.2% に対して、60-kDa は 40.0% と高値を示した。母の SSA 抗体価は 128 倍と高値であった。52-kDa p200 抗体価は 55.9index であり高値ではなかった。

D. 考察

52-kDa p200 peptide で免疫されたネズミにおいて出てくる抗体は、IgG1 は少なく、IgG2 がほとんどであったと報告されている⁴⁾。avidity は主に IgG1 を捕らえると考えられるため、房室ブロック陽性群は陰性群に比べて有意に低値であった可能性がある。

52-kDa p200 peptide で免疫されたネズミにおいて生まれる子が房室ブロックを生じたという報告がある⁴⁾。したがって、この抗体価の臨床的意義は高い可能性がある。今回は 52-kDa p200 peptide ELISA プレートを作成しての測定であったが、「WIESLAB SS-A p200 kit」(Euro-Diagnostica USA) が市販されているようである。

52-kDa p200 peptide 抗体価が陰性でも房室ブロックが起こるという報告がある⁵⁾。今回、3 例において房室ブロックを起こしているにもかかわらず抗体価が低値を示した。房室ブロック陽性例においてこの 3 例以外の AI は低値であったことから、52-kDa p200 peptide に対する抗体価はかなり少ないものと思われる。52-kDa のアミノ酸 286-338 が Fc レセプタードメインに結合し抗 Ro 陽性環境においてスーパー抗原として働くという報告がある⁶⁾。つまり、52-kDa p200 peptide に対する抗体以外に胎児に房室ブロックを起こす抗体が存在する可能性がある。今後、症例が増えるに従い、房室ブロック陽性例であるにもかかわらず 52-kDa p200 peptide に対する抗体が検出されない例が出てくる可能性がある。今後の検討が望まれる。

E. 結論

母親の抗 52-kDa p200 抗体を測定することにより児の房室ブロックを予測するマーカーとして利用できる可能性がある。

文献

- 1) 酒井寛, 森勝志, 片山善章: 胎児先天性心ブロックと抗 ENA 抗体の関連性 第 2 報 ELISA 法を用いた解析. 医学検査 45 : 1602-1606, 1996
- 2) Strandberg L et al : Antibodies to amino acid 200-239 (p200) of Ro52 as serological markers for the risk of developing congenital heart block. Clin Exp Immunol 154 : 30-37, 2008
- 3) Klauninger R, et al : Serologic follow-up of children born to mothers with Ro/SSA autoantibodies. Lupus 18 : 792-798, 2009
- 4) Salomonsson S, et al : Ro/SSA autoantibodies directly bind cardiomyocytes, disturb calcium homeostasis, and mediate congenital heart block. J Exp Med 201 : 11-17, 2005
- 5) Clancy RM, et al : Maternal antibody responses to the 52-kd SSA/Ro p200 peptide and the development of fetal conduction defects. Arthritis Rheum 52 : 3079-3086, 2005
- 6) Clancy RM : Anti-Ro60/52 antibodies and cardiac neonatal

lupus: epitope specificity, risk, genetics, and participation in pathogenesis. 第 18 回自己抗体と自己免疫シンポジウム-自己抗体とシェーグレン症候群並びに新生児ループス-抄録集, MBL: 14-15, 2011

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 宮野 章, 中山 雅弘: 妊婦における抗 SS-A 52-kDa と抗 SS-A 60-kDa avidity 抗体に関する研究, 臨床病理. 2011 (印刷中)

2. 学会発表

- 1) Akira Miyano, Toshiaki Kasahara, Masahiro Nakayama, Noboru Inamura, Masako Waguri, Isao Nakanishi : Anti-SSA 52-kDa and anti-SSA 60-kDa Avidity Antibodies in Pregnant Women, The 29th World congress of Biomedical Laboratory Science, 2010. 6. 6-10, Nairobi
- 2) 宮野章, 中山雅弘: 妊婦における抗 SS-A 52-kDa と抗 SS-A 60-kDa avidity 抗体に関する研究, 第 57 回日本臨床検査医学会学術集会, 2010. 9. 9-12, 東京都新宿区

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Table 1. Amino acid sequence of Homo sapiens Ro52.
 (The part of the underline is p200)

1 masaartmm weevtcpici dpfvepsie cghsfqeci sqvkgggsv cpvcqrqfll
 61 knlrprqla nmvnnikeis qearegtge rcavhgerth lfcekdgkal cwcqasrkh
 121 rdhamvplee aaqeyqeklk valgelrrkq elaekleveli aikradwkkt vetqksriha
 181 efvqgknflv eeeqrqlqel ekdereqliri lgeekakiaq qsqaqlqelis eldrncssa
 241 leliqeviv lerseswnik diditspelr svchvpglkk mirtcavhit lqpdtanpw
 301 lisedrrqvr lqdtqqsipp neerfdsyprn vlgahfhsg khywevdvtg keawdgvcr
 361 dsvrkghfl lsskagfwi wwnkqkyea gtypqtlphi qvppcqvgif ldyeaqmvaf
 421 ynitdhgail ysfsecatlg plrpfspgf ndggkntapi tlcplnigsq gstdy

(From NCBI)

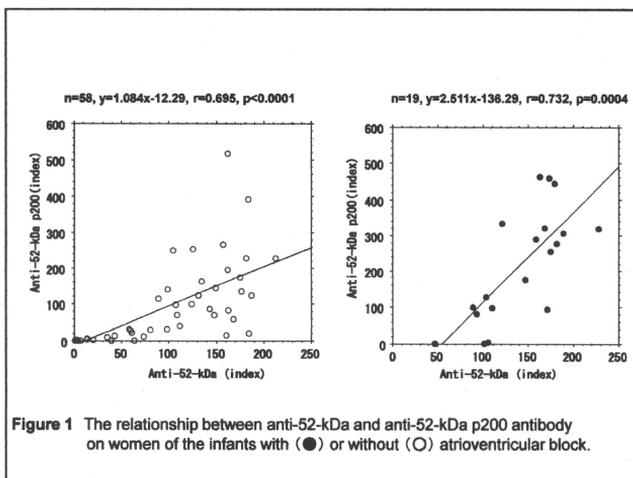


Figure 1 The relationship between anti-52-kDa and anti-52-kDa p200 antibody on women of the infants with (●) or without (○) atrioventricular block.

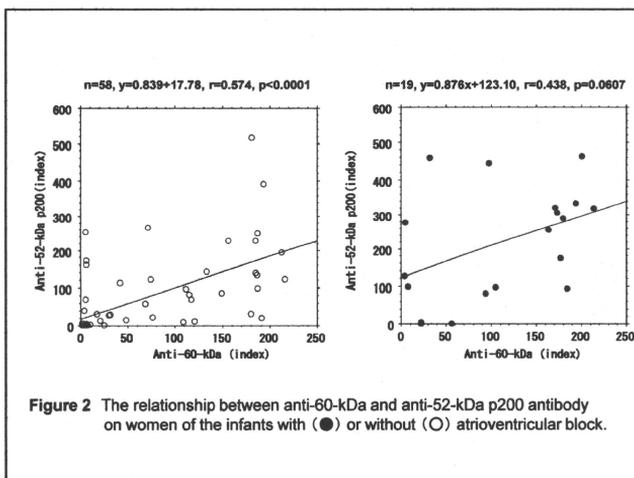


Figure 2 The relationship between anti-60-kDa and anti-52-kDa p200 antibody on women of the infants with (●) or without (○) atrioventricular block.

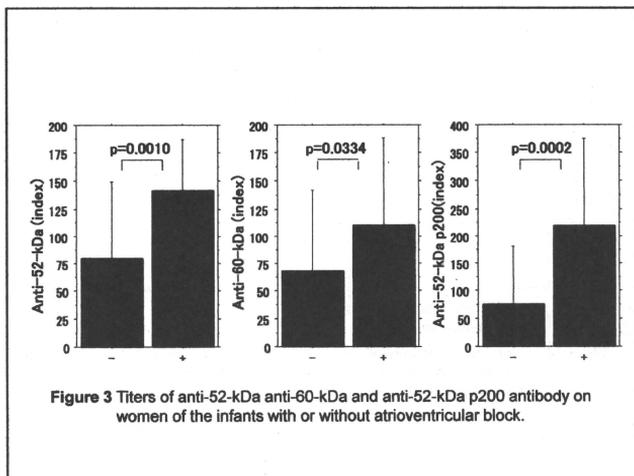


Figure 3 Titers of anti-52-kDa anti-60-kDa and anti-52-kDa p200 antibody on women of the infants with or without atrioventricular block.

Table 2. Test results of anti-52-kDa, anti-60-kDa and anti-52-kDa p200 antibody on women of the infants with or without atrioventricular block.

anti-52-kDa antibody			
test results	atrioventricular block		total
	+	-	
+	19	42	61
-	0	16	16
total	19	58	77

sensitivity 100.0 %
 specificity 27.6 %
 positive predictive value 31.1 %
 negative predictive value 100.0 %

anti-60-kDa antibody			
test results	atrioventricular block		total
	+	-	
+	17	38	55
-	2	20	22
total	19	58	77

sensitivity 89.5 %
 specificity 34.5 %
 positive predictive value 30.9 %
 negative predictive value 90.9 %

anti-52-kDa p200 antibody			
test results	atrioventricular block		total
	+	-	
+	19	45	64
-	0	13	13
total	19	58	77

sensitivity 100.0 %
 specificity 22.4 %
 positive predictive value 29.7 %
 negative predictive value 100.0 %

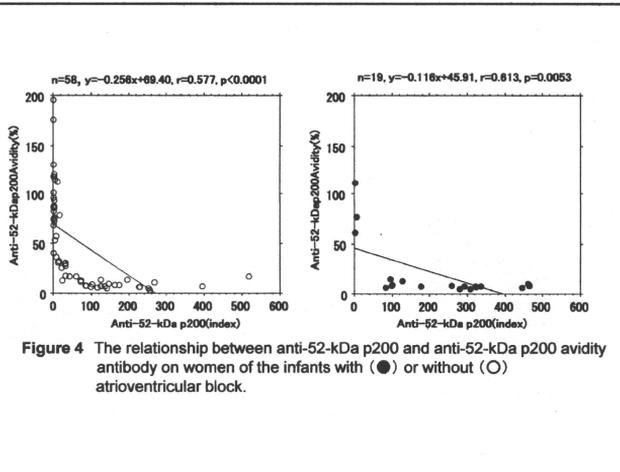


Figure 4 The relationship between anti-52-kDa p200 and anti-52-kDa p200 avidity antibody on women of the infants with (●) or without (○) atrioventricular block.

Table 3. Anti-52-kDa, anti-60-kDa and anti-52-kDa p200 avidity antibodies in pregnant women and umbilical cord blood.

No	anti-52-kDa		anti-60-kDa		anti-52-kDa p200		NLE	
	antibody(index)	avidity(%)	antibody(index)	avidity(%)	antibody(index)	avidity(%)	AVB	cutaneous NLE
1	96.0	6.3	<6.0		127.9	13.3	+	-
baby	75.8	6.0	<6.0		59.8	23.5	+	-
2	105.0	6.0	21.7	26.2	6.1	77.1	+	-
baby	97.3	4.2	12.9	22.6	2.6	72.1	+	-
3	128.8	19.2	201.0	40.0	55.9	20.0	-	+
baby	71.3	13.3	196.0	19.6	25.6	31.1	-	+

NLE : neonatal lupus erythematosus ; AVB : atrioventricular block

抗SS-A抗体陽性妊婦のステロイド療法に関する検討

研究分担者	和栗雅子	大阪府立母子保健総合医療センター	母性内科副部長
研究協力者	中西 功	大阪府立母子保健総合医療センター	母性内科部長
研究協力者	若林可奈	大阪府立母子保健総合医療センター	母性内科医員

研究要旨

抗52kDa抗体・抗60kDa抗体とCHB発症との関連、およびCHB発症予防としてのステロイド治療法について検討した。抗SS-A/Ro抗体陽性で妊娠帰結の明らかな170分娩を対象とし、52kDa、60kDaを測定し、母体の自己免疫疾患の有無、ステロイド内服の有無、胎児のCHB発症の有無、分娩週数、生下時体重、予後などについて検討した。その結果、CHB発症には52kDa \geq 100が強く関与していることが示唆された。また、CHB発症予防にはプレドニゾロンの選択が望ましいと考えられた。今後さらに調査・検討を進める必要があると考えられた。

A. 研究目的

抗SS-A/Ro抗体陽性女性の妊娠では、胎児心房室ブロックが発生する危険性が指摘されている。近年、抗SS-A/Ro抗体のアイソフォームである抗52kDa抗体と抗60kDa抗体の関与が示唆されており、特に抗52kDa抗体がより強く関与するとの報告が多い。しかし具体的な発症機序は明らかになっておらず、またその予防法も確立されていない。そこで、抗52kDa抗体・抗60kDa抗体とCHB発症との関連、およびCHB発症予防としてのステロイド治療法について検討し、今後の妊娠管理指針作成に繋げたい。

B. 研究方法

1982～2010年の間に大阪府立母子保健総合医療センターで分娩した妊婦のうち抗SS-A/Ro抗体陽性で妊娠帰結の明らかな170分娩を対象とした。抗SS-A/R抗体陽性妊婦の血清で52kDa、60kDaを測定し、全患者カルテから、母体の年齢、既往歴、自己免疫疾患の有無、抗核抗体の有無、ステロイド内服の有無を調査した。なおステロイド内服は、妊娠成立以前から服用、または妊娠18週までに服用開始した者を内服ありとし、CHB発症後のステロイド投与者は内服なしとした。また胎児情報として、CHB発症の有無、CHB発症時期、分娩週数、生下時体重、Apgar score（1分・5分）、性別、予後について調べた。なお、52kDa、60kDaの測定は組み換え蛋白を用いたenzyme-linked

immunosorbent assay (ELIZA) キットである、「MESACAP 52k SS-A/Ro と60k SS-A/Ro」(MBL)を用いて行った（基準値は52kDa \leq 5.1 index、60kDa \leq 5.9 index）。統計的解析は2標本t検定、 χ^2 検定、および多重ロジスティック回帰分析で行った。

（倫理面への配慮）

本研究は既存検体、資料等のみを用いる研究である。「疫学研究に関する倫理指針」（平成14年6月17日付、平成19年8月16日全部改正）によると、このような研究では、研究対象者からインフォームド・コンセントを受けることを必ずしも要しないが、研究者等は当該研究の目的を含む研究の実施についての情報を公開しなければならない。

そこで本研究においては、大阪府立母子保健総合医療センター掲示板等において、当該研究の実施について告知している。本研究により得られた成果は学会や論文に発表されるが、個人情報が開示されることはない。個人情報保護について担当医師、一部のコメディカルが検査結果の内容を確認する場合があるが、患者個人のプライバシーが外部に漏れることがないように厳重に取り扱う。検査結果を医学雑誌、学会などで発表する場面があるが、この場合も患者のプライバシーに関する情報が外部に漏れないよう管理し、個人情報を特定できないようにする。

C. 研究結果

患者背景をTable1に示す。対象とした170分娩のうち、24分娩例でCHB発症を認めた。

CHB 発症群と非発症群について、各指標における2群間比較を Table2 に示す。CHB 発症群は非発症群に比し、有意に 52kDa が高値を示し、分娩週数は早く、生下時体重は軽く、Apgar score は1分、5分とも低かった。年齢、抗 SS-A/Ro 抗体価、60kDa、母体の SLE やシェーグレン症候群など自己免疫疾患の有無、児の性別には有意差を認めなかった。CHB 発症に関与する因子、ステロイド内服の効果などを検討するため、ロジスティック回帰分析を行った。CHB 発症有無を独立因子とし、二項ロジスティック回帰分析を行った結果を Table3 に示す。52kDa \geq 100 index の群では 52kDa<100 index の群と比較し、CHB 発症危険率が有意に上昇していた(オッズ比 7.394、95%信頼区間 2.113~25.873、 $P=0.002$)。またプレドニゾン服用群では、非投与群と比較し、有意に CHB 発症が抑制されていた。(オッズ比 0.050、95%信頼区間 0.007~0.379、 $P=0.004$)。その他、抗 SS-A/Ro 抗体価や SLE・シェーグレン症候群など自己免疫疾患の有無では有意差は認めなかった。ベタメタゾン服用群についても、有意差は認めなかった。二項ロジスティック解析結果で有意な指標のみを抽出し、CHB 発症有無を独立因子として多変量ロジスティック回帰分析を行った。結果は、52kD \geq 100 index で有意に CHB 発症率が上昇(オッズ比 10.936、95%信頼区間 3.009~39.750、 $P=0.000$)し、プレドニゾン服用群で CHB 発症が有意に抑制(オッズ比 0.034、95%信頼区間 0.004~0.267、 $P=0.001$)されることが示唆された。プレドニゾン \geq 10mg 服用群とベタメタゾン \geq 1mg 服用群の生下時体重の比較を Fig. 1 に示す。プレドニゾン \geq 10mg 服用群の平均分娩週数は 37 \pm 3 週、ベタメタゾン \geq 1mg 服用群の平均分娩週数は 38 \pm 2 週で両群間の分娩週数に有意差は認めなかったが、平均生下時体重を比較すると、プレドニゾン \geq 10mg 服用群では 2542 \pm 584g、ベタメタゾン \geq 1mg 服用群では 2274 \pm 458g で有意に子宮内胎児発育遅延を認めた($P=0.038$)。

D. 考察

自己免疫疾患の特徴である自己抗体の中で、抗 SS-A/Ro 抗体が胎児心房室ブロック(CHB)の発生に関与することが示唆されているが、詳しい発症起序については明らかになっ

ていない。抗 SS-A/Ro 抗体は、全身性エリテマトーデス(SLE)やシェーグレン症候群の患者が多く保有しているだけでなく、無症候性女性でも保有している。抗 SS-A/Ro 抗体陽性女性の妊娠では、約 1-2%の頻度で CHB が発生すると報告されているが¹⁾、妊娠 18 週~24 週の間、胎児徐脈で発見されるケースが多い²⁻³⁾。CHB は不可逆性であり、出生後ベースメーカーの適応となることが多く、また心筋炎や心筋症を合併し、死亡に至る例もある。近年、抗 SS-A/Ro 抗体のアイソフォームである抗 52kDa 抗体(52Da)と抗 60kDa 抗体(60kDa)の CHB 発症関与が示唆されている。特に 52kDa がより強く関与すると報告されているが³⁻⁷⁾、具体的な機序は明らかになっていない。今回の結果から、52kDa \geq 100index では<100index の症例と比較し、著明に CHB 発症頻度が高くなっており、約 10.9 倍危険率が上昇することが示唆された。Table2、3 の結果より、52kDa は 60kDa より CHB 発症により強く関与することが示唆された。また CHB の予防法についても、コルチコステロイド投与が有効とする報告⁷⁾やベタメタゾンが有効であるとの報告、ガンマグロブリン投与が有効であるとの報告があるが、確立されたものはない。当院の解析結果からはベタメタゾン服用有効は認めず、プレドニゾン服用効果が示唆された。また、プレドニゾン \geq 10mg 服用群とベタメタゾン \geq 1mg 服用群の比較では、平均分娩週数は両群間に有意差は認めなかったが、平均生下時体重はベタメタゾン \geq 1mg 服用群ではプレドニゾン \geq 10mg 服用群に比し有意に小さく、子宮内胎児発育遅延を認めたことより、CHB 発症予防にはプレドニゾンの選択が望ましいと考えられた。

E. 結論

CHB発症および予後増悪には52kDa \geq 100が強く関与していることが示唆された。また、CHB発症予防にはプレドニゾンの選択が望ましいと考えられた。今後抗SS-A/Ro抗体のアイソフォーム別およびindex別、およびステロイド治療の種類・治療量とCHB発症頻度や予後についてさらに調査・検討を進め、妊娠管理指針作成に繋げたい。

参考文献

- 1) Brucato A et al. Risk of Congenital Complete Heart Block in Newborns of Mothers With Anti-Ro/SSA Antibodies Detected by Counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum.* 2001; 44: 1723-7.
- 2) Buryon JP et al. Autoimmune-associated congenital heart block: demographics, mortality, morbidity and recurrence lupus registry. *J Am Coll Cardiol.* 1998; 31:1658-66. rates obtained from a national neonatal
- 3) Hervier B et al. Clinical significance of anti-Ro/SSA-52 kDa antibodies: a retrospective monocentric study. *Rheumatology.* 2009; 48: 964-7.
- 4) Strandberg L et al. Antibodies to amino acid 200-239 (p200) of Ro52 as serological markers for the risk of developing congenital heart block. *Clin Exp Immunol.* 2008; 154:30-7.
- 5) Sonesson SE et al. Signs of first-degree heart block occur in one-third of fetuses of pregnant women with anti-SSA/Ro 52-kd antibodies. *Arthritis Rheum.* 2004 ;50:1253-61.
- 6) Salomonsson S et al. A serologic marker for fetal risk of congenital heart block. *Arthritis Rheum.* 2002; 46:1233-41.
- 7) Buryon JP et al. Identification of mothers at risk for congenital heart block and other neonatal lupus syndromes in their children. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot for measurement of anti-SS-A/Ro and anti-SS-B/La antibodies. *Arthritis Rheum.* 1993; 36:1263-73.

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

Wakabayashi K, Waguri M, Iwata M, Miya no A, Nakayama M, Nakanishi I: Outcome of Prenatally Diagnosed Congenital Heart Block Associated with Maternal Anti-SSA/Ro 52kD and 60kD Antibodies. International Society of Obstetric Medicine.

1-3 Oct.2010, Melbourne, Australia

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Table 1. Characteristics of the patients

Number of patients	170
Age (years)	30±4
ANA positive (%)	99
Anti SSA/Ro (titer)	48±60
52kD (index)	100±63
60kD (index)	71±69
AD positive (%)	71
SLE (%)	43
RA (%)	5
SjS (%)	40
MCTD (%)	7
APS (%)	8
others (%)	15

ANA,antinuclear antibody; AD, auto immune disease; SLE, systemic lupus erythematosus; RA, rheumatoid arthritis; SjS, Sjögren's syndrome; MCTD, mixed connective tissue disease; Table 2. Comparison between CHB positive group and negative group APS, antiphospholipid syndrome.

	CHB positive	CHB negative	P value
Number of patients	24	146	
Age (years)*	31± 6	30±4	0.111
Anti SSA/Ro (titer)*	70±70	45±58	0.063
52kD (index)*	154±47	91±61	0.000
60kD (index)*	96±80	67±66	0.054
SLE (%)	33	45	0.280
RA (%)	8	5	0.479
SjS (%)	33	41	0.473
MCTD (%)	0	8	0.710
APS (%)	0	9	0.699
others (%)	8	16	0.317
Gastational age (week)*	33±5	37±3	0.000
Birth weight (gm)*	2013±827	2412±584	0.004
1-min Apgar*	5±3	8±1	0.000
5-min Apgar*	6±4	9±2	0.000
Gender, female (%)	48	55	0.553

* mean ± standard deviation (SD).

SLE, systemic lupus erythematosus; RA, rheumatoid arthritis; SjS, Sjögren's syndrome; MCTD, mixed connective tissue disease; APS antiphospholipid syndrome.

Table 3. Binomial Logistic Regression Analysis
(CHB positive or negative as dependent variables)

variables	odds ratio	95% CI	P value
Age (years)	1.085	0.981~1.201	0.111
Anti SSA/Ro (titer)	1.006	1.000~1.012	0.063
52kD \geq 100 vs. 52kD<100[ref.] (index)	7.394	2.113~25.873	0.002
60kD \geq 100 vs. 60kD<100[ref.] (index)	2.242	0.929~5.414	0.073
Anti SSB/La (titer)	0.990	0.961~1.020	0.497
SLE, positive vs. negative[ref.]	0.606	0.244~1.504	0.280
RA, positive vs. negative[ref.]	1.805	0.352~9.256	0.479
SJS, positive vs. negative[ref.]	0.717	0.288~1.781	0.473
MCTD, positive vs. negative[ref.]	0.002	0.000~ ∞	0.710
APS, positive vs. negative[ref.]	0.002	0.000~ ∞	0.699
PSL, positive vs. negative[ref.]	0.050	0.007~0.379	0.004
Betamethasone, positive vs. negative[ref.]	0.155	0.020~1.191	0.073

CI, confidence interval.

ANA, antinuclear antibody; SLE, systemic lupus erythematosus; RA, rheumatoid arthritis; SJS, Sjögren's syndrome; MCTD, mixed connective tissue disease; APS, antiphospholipid syndrome; PSL, prednisolone.

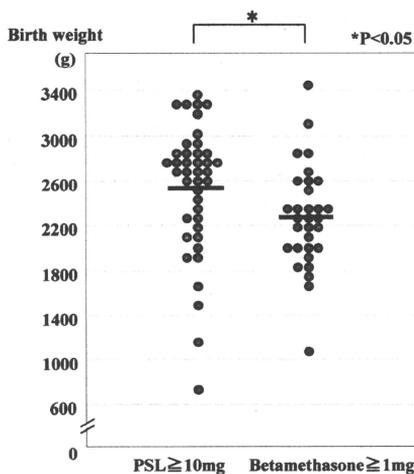


Fig. 1. Fetal birth weight compared as an outcome of maternal PSL or betamethasone therapy