

● 各群別の抗SS-A抗体価と児の罹病との関係  
 A~G群の各群における抗SS-A抗体価とCAVB  
 ならびにNLE発症との関係を示した。  
 \*B群に1例抗体価不明のCAVBあり

なかった。

### ③ 膠原病の病勢と児の罹病

膠原病と診断されていた症例 (A~D群) での母体膠原病治療目的のプレドニン (PSL) 投与量とCAVB発症との関連性について検討を行った。今回は妊娠時の膠原病の病勢がPSL投与量として反映されるのではないかと考え、さらにPSL投与量を20 mg/日未満と20 mg/日以上で比較した。A, B群でCAVBを発症した症例は6例で、PSL投与量が20 mg/日以上で発症した症例は4例、20 mg/日未満の症例は2例であった。CAVBを発症しなかった症例は41例であり、PSL投与量が20 mg/日以上で発症した症例は17例、20 mg/日未満の症例は24例であった。この症例分布において $\chi^2$ 検定を行ったが結果は $p=0.235$ であり、PSL投与量 (20 mg/日以上) とCAVB発症との間には明らかな関連は認めなかった。

### ④ 胎児への治療と予後

胎児への治療の有無と児の予後に関しての検討を行った。CAVB予防的に妊娠中に母体にステロイド投与を行った症例は18例 [17%: 全体数を今回妊娠時のCAVB発症で抗SS-A抗体陽性が判明した症例10例 (F群) を除く108例中] であった。投与薬剤はリンデロンが16例、PSLが2例であった。児の予後はCAVB発症が1例 (発症率6%)、NLE発症が1例 (発症率

6%) であった。CAVB発症した18症例のうち、胎内治療を行われた症例は13例 (72%) あり、治療内容はベタメタゾン投与が11例、プレドニゾン投与が1例、血漿交換が行われた症例が1例であった。

### 3. 考 察

膠原病と診断されていた群のなかで、妊娠前から治療していた群では未治療群に比し、CAVBの発症率が高い傾向にあった。PSL投与量とCAVB発症の間には明らかな関連性はなかった。今回の検討では、妊娠時の膠原病の病勢がPSL投与量に反映されると考えPSL投与量で発症率の検討を行ったが、内科的側面からの詳細な膠原病病勢の評価が不十分であり、また投与量を20 mg/日のほかの量でも検討を行うなど母体の妊娠時における病勢を踏まえた再検討が必要であると考えられる。

抗体価とCAVB発症の間には明らかな関連性は認められなかったものの、膠原病と診断され妊娠前から治療を受けていた群においては抗体価が高いと罹患率が高くなる傾向があり、反面、抗体価16倍以下の症例はCAVB発症がないことなど、一定の条件下で予後因子となる可能性も示唆された。CAVB予防的にステロイド投与を受けた18例中に発症は1例のみであったことから、予防目的のステロイド投与は有効な可能性があるが、施設間でのステロイド投与のプロトコールは様々であり、今後統一した方法での検討を要すると思われる。さらには、CAVB発症後に母体の抗SS-A抗体陽性が判明し、膠原病の診断がつかないケースが多いことが今回の調査であらためて浮き彫りとなった。今後この集団のピックアップについての対策を要することが示唆された。

今回は4施設でのCAVB発症症例18症例を含む抗SS-A抗体陽性症例118例について、後方視的な検討を行った。一定の規模の症例数ではあるが、全症例に対するカバー率としては十分とはいえず、今後、症例を集積していく必要がある。しかし、複数の診療科の異なる視点か

ら母体の病状と児の罹病の関与についてさらに検討を深めていくことで、これまでに得ることができなかった知見を生じる可能性を示すものであるとも考えられた。

本研究の一部は平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「胎児・新生児障害の原因となる自己抗体陽性女性の妊娠管理指針の作成」研究班、平成 22 年度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「自己抗体陽性女性の妊娠管理指針の作成及び新生児ループスの発症リスク軽減に関する研究」研究班（主任研究者 国立成育医療研究センター母性内科村島温子）および、平成 22 年度公益信託九州大学医学部婦人科学産科学研究助成金により行われた。

#### 文 献

1) Jaeggi ET et al : Outcome of children with fetal, neonatal or childhood diagnosis of isolated congenital atrioventricular block. A

single institution's experience of 30 years. J Am Coll Cardiol 39 : 130-137, 2002

- 2) Brucato A : Prevention of congenital heart block in children of SSA-positive mothers. Rheumatology (Oxford) 47 (suppl 3) : iii35-37, 2008
- 3) Brucato A et al : Risk of congenital complete heart block in newborns of mothers with anti-Ro/SSA antibodies detected by counterimmunoelectrophoresis : a prospective study of 100 women. Arthritis Rheum 44 : 1832-1835, 2001
- 4) Llanos C et al : Recurrence rates of cardiac manifestations associated with neonatal lupus and maternal/fetal risk factors. Arthritis Rheum 60 : 3091-3097, 2009
- 5) Buyon JP et al : Neonatal lupus : review of proposed pathogenesis and clinical data from the US-based Research Registry for Neonatal Lupus. Autoimmunity 36 : 41-50, 2003
- 6) Jaeggi ET et al : Transplacental fetal treatment improves the outcome of prenatally diagnosed complete atrioventricular block without structural heart disease. Circulation 110 : 1542-1548, 2004

## 学 会 案 内

### 第 19 回日本乳癌学会学術総会

テーマ Challenge to the Future 未来のために、今できること

会長 大内憲明（東北大学大学院医学系研究科外科病態学講座腫瘍外科学分野）

会期 2011 年 9 月 2 日（金）・3 日（土）・4 日（日）

会場 仙台国際センター，東北大学百周年記念会館

<http://www2.convention.co.jp/19jbcs/>

問い合わせ先：事務局

東北大学大学院医学系研究科外科病態学講座腫瘍外科学分野

〒980-8574 仙台市青葉区星陵町 1 番 1 号

TEL. 022-717-7214 FAX. 022-717-7217

運営準備室

日本コンベンションサービス株式会社東北支社

〒980-0824 仙台市青葉区支倉町 4-34 丸金ビル 6 階

TEL. 022-722-1311 FAX. 022-722-1178

E-mail. 19jbcs@convention.co.jp

# 産科と婦人科 別刷

Vol. 78 No. 2 (2011年2月1日発行)

発行所 株式会社 診断と治療社

---



## 妊産婦死亡と病理学

## 4. 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

なか やま まさひろ      きもと あきひと      うえだ はつえ  
 中山雅弘\*<sub>1</sub>・木本哲人\*<sub>1</sub>・植田初江\*<sub>2</sub>

大阪府立母子保健総合医療センター検査科\*<sub>1</sub>      国立循環器病研究センター臨床病理科\*<sub>2</sub>

羊水塞栓症の診断のために、alcian blue 染色が極めて有用である。これに加えて、STn1 抗体やサイトケラチン抗体で確認することが望ましい。アナフィラキシーの形成に重要なアナフィラトキシン (C3aR, C5aR) の免疫染色を行い、羊水塞栓症診断例とほかの疾患とを比較し、肺や子宮において羊水塞栓症例で有意に炎症細胞などでのマーカーの増加が認められた。サイトカインに関して、IL6 や TGF- $\beta$  など診断に役立つ可能性があるものの、大部分は否定的であった。

Key Words: 羊水塞栓症, 肺・子宮病理所見, 免疫染色

妊産婦の死亡は重篤かつ急激な経過をとり、その基礎疾患については臨床的に診断困難なことが多い。妊産婦死亡の正確な診断を行うべく、剖検輯報から死亡症例の解析を行うことは極めて重要である。1989～2004年までの日本病理学会剖検輯報に登録された妊産婦死亡例について、妊産婦死亡の死因として、羊水塞栓症 (24.3%) が最も多く、DIC による出血死が 21.2%、肺血栓塞栓症 13.0%、子宮破裂・子宮内反・頸管腔裂傷等の産道裂傷が 11.4%、敗血症・死胎児症候群による DIC が 4.1%、前置胎盤・癒着胎盤が 1.6%であった<sup>1)</sup>。羊水塞栓症は、死因として最も頻度が高く、また分娩後 DIC、原因不明弛緩出血、常位胎盤早期剥離として臨床診断されている症例のなかにも多く含まれている可能性が高い。一方、病理学的診断においても典型的に多数の羊水内容物が肺血

管内に認められ、広範に塞栓を生じている例以外では、診断に困難な症例も少なくない。一方で、羊水塞栓症の進展には、物理的な羊水内容物の肺血管内での貯留自体よりも、アナフィラキシーを含め生体の反応が重要であるともいわれている。このような観点から、アナフィラキシーや炎症関連物質の関与をみるために、剖検症例の肺組織と当センターの摘出子宮症例において、免疫組織化学を中心に後方視的解析を行った。HE 染色、STn1 抗体、サイトケラチン抗体、alcian blue 染色に加えて、アナフィラキシー反応と関連する補体関連物質 C3aR, C5aR, C-kit, IL2-R および炎症関連物質として種々のサイトカイン (IL-6, IL-8, IL-10, IL1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) を用いて検討した。

## 対象と方法

1989～2004年までの16年間の日本病理学会剖検輯報に登録された妊産婦死亡129例のうち、55例が集積された。19例につき後方視的解析を行った。肺と子宮について、通常のHE染色に加えて、羊水中ムチンを証明するために、alcian blue 染色 (Merck), STn1 抗体 (Abcam) を行い、胎児表皮扁平上皮細胞の検出のためにサイトケラチン抗体 (DAKO) を用いた<sup>2)</sup>。さらに、アナフィラキシーとの関連をみる目的で、C3aR (Santa Cruz) の免疫染色を施行した。

次いで、妊婦における産後の大出血等により子宮摘出を予後なくされた当センター症例と羊水塞栓症例につき、アナフィラキシー反応に関与する補体関連物質および種々のサイトカインの免疫染色を行い、羊水塞栓の可能性を検討した。アナフィラキシー反応に関しては、C-kit (ニチレイ), C3aR (Santa Cruz), C5aR (Santa Cruz), また、炎症関連物質として種々のサイトケラチン, IL-6 (Santa Cruz), IL-8 (Santa Cruz), IL-10 (Santa Cruz), IL1 $\beta$  (Santa Cruz), TNF- $\alpha$  (コスモバイオ), TGF- $\beta$  (Santa Cruz), IL2R (ニチレイ) を用いた。

## 結果

### 1. 妊産婦死亡症例の検討

#### 1) 肺における組織学的検討

19例中、3例(症例1, 9, 18)は、肺組織において羊水成分の混入が認められ、再評価で羊水塞栓症候群とされた(表1)。3例中1例は当該施設で羊水塞栓症と診断されていた。alcian blue 染色が極めて有用で、これら3例に明らかな陽性所見が得られた。STn1 抗体は2例に陽性であった。サイトケラチン抗体陽性は1例

のみであった。代表的な陽性2例を図に示す(図1, 2)。

C3aR の免疫染色において、3例の羊水塞栓診断症例は炎症細胞に強い陽性所見を示した(図3)。細胞の形態からリンパ球と考えられた。非羊水塞栓症例では、軽度あるいは中等度の陽性所見しか示さなかった(図4)。

#### 2) 子宮における組織学的検討

子宮内の静脈内の羊水成分の混入については、羊水塞栓症候群3例のうち2例に混入がみられた。しかし、非羊水塞栓症候群16例のうち、3例に子宮内静脈に羊水成分の混入がみられた。

#### 2. 摘出子宮および羊水塞栓例子宮の免疫組織学的検討

子宮標本におけるアナフィラキシーなどの免疫染色の結果を表2に示す。C3aR は粘膜において、5例に陽性であった。3例は、羊水塞栓確定例であり、1例は当センターで臨床診断が不明であるが羊水塞栓が強く疑われた例であった。ほかの1例は頸管裂傷例であった(図5)。筋層においては、羊水塞栓症のみならずほとんどの例において陽性であった。早剥の1例にのみ陰性であった。陽性部位は血球成分と考えられ、活性化リンパ球の可能性が考えられた。C5aR はほとんどが陰性であったが、羊水塞栓症の1例と羊水塞栓疑い症例にのみやや強い陽性像を示した(図6)。陽性部位は血管内皮あるいは線維芽細胞などが考えられた。この例は羊水塞栓が疑われた症例であった。しかし、羊水塞栓確定例においては陽性像を示さなかった。筋層においては、全例において陰性であった。肥満細胞の浸潤の有無をみるために CD117 (Ckit) の染色を行ったが、すべての例で陰性であった。また、IL2R の発現もみたが陰性であった。

サイトカインの発現をみたのが表3である。IL6 は、3例において陽性像を示した。2例は

表1 肺の臨床病理所見

症例 番号	臨床診断	剖検時診断	肺				子宮			子宮内静脈		今回病理 再評価
			HE & Mucin	STn1	AE1/ AE3	C3aR	HE/al B	STn1	Keratin	HE & Mucin	AE1/ AE3	
1	DIC ショック	羊水塞栓症	陽性明らかな	陽性	陽性	3+	血管周囲に陽性?	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	羊水塞栓症候群
2	HELLP+小脳出血	小脳 AVmal 破裂	鬱血	陰性	陰性	1+	羊水-	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	HELLP+小脳出血
3	帝切後 DIC	DIC+MOF	羊水混入なし	陰性	陰性	±	内膜出血	陰性	陰性	羊水混入あり	陰性	DIC+子宮内羊水
4	甲状腺クリーゼ	出血傾向	羊水混入なし	陰性	陰性	±	羊水混入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	DIC?
5	産科 DIC	分娩後 DIC	羊水混入なし	陰性	陰性	1+	羊水混入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	DIC
6	子癇+肺炎	帝王切開後状態	肺動脈に血栓	陰性	陰性	2+	羊水混入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	子癇+肺動脈血栓
7	出血性ショック	SLE, 長期ステロイド	羊水土	陰性	陰性	±	羊水混入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	SLE, 肺羊水?
8	出血性ショック	腔壁裂傷+全身出血	出血・浮腫強	陰性	陰性	±	出血	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	肺・子宮出血
9	帝王切開術後状態	HELLP 症候群	血栓多, 羊水一部	陰性	陰性	3+	出血	陰性	陰性	血栓+, 羊水一部	STn-, CK-	DIC+羊水塞栓
10	播種性血管内凝固	全子宮筋弛緩症	羊水混入なし	陰性	陰性	±	羊水混入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	弛緩出血?
11	胎盤早期剥離	胎盤剥離	羊水混入なし	陰性	陰性	±	出血著明	陰性	陰性	一部に羊水あり	STn+	早剥, 子宮内羊水
12	胎盤早期剥離	胎盤早期剥離	出血	陰性	陰性	±	出血	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	早剥, DIC
13	帝切後ショック	羊水塞栓症	(肺標本なし)	未	未	±	内膜出血	陰性	陰性	一部に羊水あり	陰性	肺は剖検なし
14	常位胎盤早期剥離	常位胎盤早期剥離	N.P	陰性	陰性	1+	瀰漫性出血	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	早剥, DIC
15	肺塞栓	突然死	羊水流入なし	陰性	陰性	±	出血	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	DIC, HELLP
16	慢性腎不全	終末期腎	明らかな混入なし	陰性	陰性	2+		陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	腎不全
17	窒息死	溶連菌感染症	鬱血・水腫	陰性	陰性	±	羊水混入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	GAS, 肺浮腫
18	子宮破裂	子宮破裂	陽性明らかな	陽性	±	3+	出血	陰性	陰性	一部に羊水あり	陰性	羊水塞栓症候群
19	MOF+DIC	MOF+DIC	出血・水腫	陰性	陰性	±	羊水流入なし	陰性	陰性	羊水混入なし	陰性	MOF+DIC

羊水塞栓症であった。しかし、非羊水塞栓例(症例5)においても強陽性を示す例もあり、特異な所見とは考えられなかった。IL8, IL10, TNF-αにおいては全例陰性であった。IL1-βは少数の例で陽性像であったが、羊水塞栓例に特異な所見とはいえなかった。TGFβは多くの例で陽性を示した。粘膜側はほぼ全例に陽性であったが、筋層側で、羊水塞栓例に強く発現される傾向があった。

### 考案

羊水塞栓症は、重篤かつ急激な経過をとり、臨床的に診断困難なことが多い。今回の検討でも、3例中1例は当該施設で羊水塞栓症と剖検診断されていたが、臨床的には診断がなされていない。羊水塞栓症の診断のために、alcian blue 染色が極めて有用であり、これに加えてSTn1抗体やサイトケラチン抗体で確認す

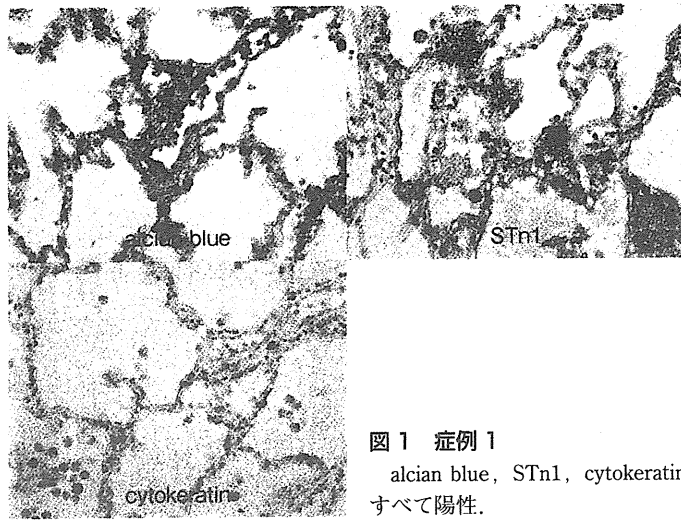


図1 症例1  
alcian blue, STn1, cytokeratin  
すべて陽性.

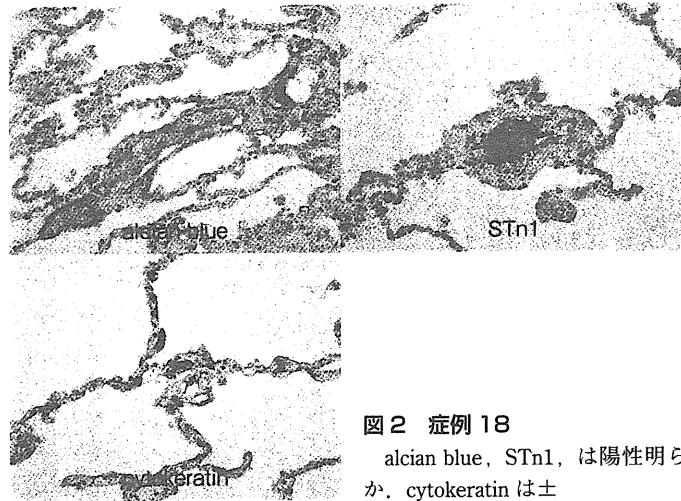


図2 症例18  
alcian blue, STn1, は陽性明らか.  
cytokeratin は土

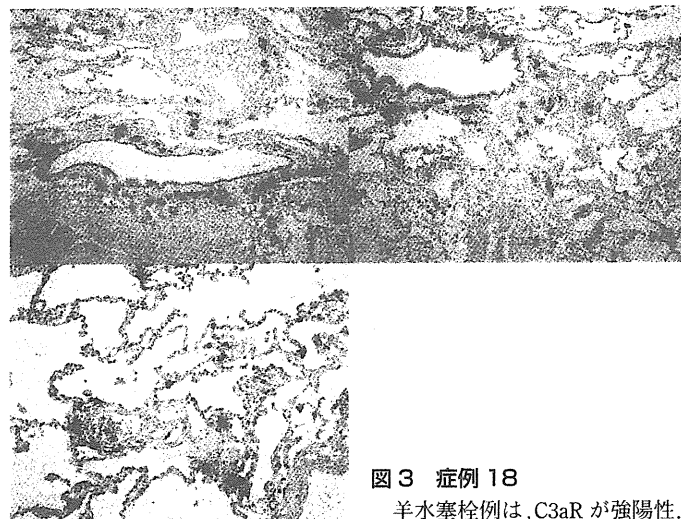


図3 症例18  
羊水塞栓例は, C3aR が強陽性.

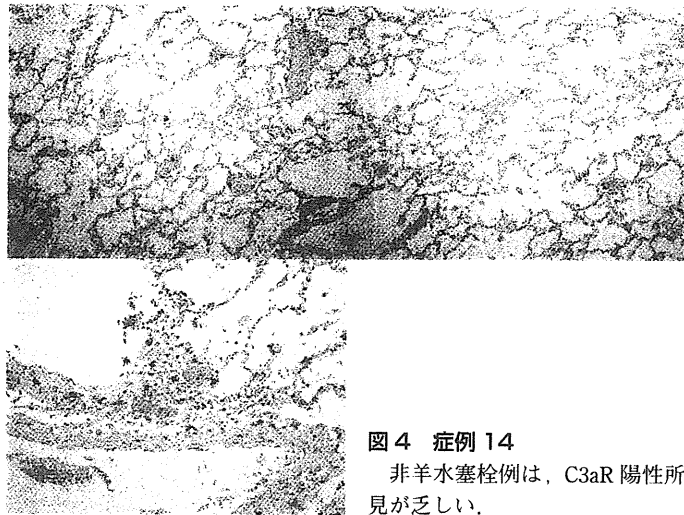


図4 症例14  
非羊水塞栓例は、C3aR 陽性所見が乏しい。

表2 アナフィラキシー関連の免疫染色

症例 No.	診断	C3AR		C5AR		C-Kit		IL2R		STN	
		粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層
1-1 (体部)	不明 DIC	—	++	++	+	—	—	—	+	—	—
1-2 (頸部)	不明 DIC	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
2-1 (体部)	早剥+DIC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2-2 (頸部)	早剥+DIC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3-1 (体部)	頸管裂傷	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
3-2 (破裂部)	頸管裂傷	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
4 (体部)	頸管裂傷	±	++	—	—	—	—	+	—	—	—
5 (体部)	頸管裂傷	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—
6 (破裂部)	羊水塞栓	++	++	±	+	—	—	—	—	—	—
7	羊水塞栓	+	+	+	±	—	—	—	—	—	—
8	羊水塞栓	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

ることが望ましい。

アナフィラキシーの形成に重要な anaphylatoxin は肥満細胞を刺激し、ヒスタミンなどの放出に関与する (図7)<sup>3)</sup>。anaphylatoxin の重要な一部である C3aR の免疫染色を今回施行した。C3aR は、C3a に対応するレセプターで、脳や活性化 B リンパ球において、喘息等のアレルギー状態の時に発現がみられる<sup>4)</sup>。3 例の

羊水塞栓診断症例は強い陽性所見を示し、肺での羊水塞栓診断の補助診断として利用される可能性が考えられる。一方、C5aR は肝臓・肺や血管内皮細胞にアレルギー疾患や炎症性疾患時に発現される<sup>5)6)</sup>。

子宮内の静脈内の羊水成分の混入については、今回の検討では有用と思われる結果は得られなかった。今後さらに検討したい。



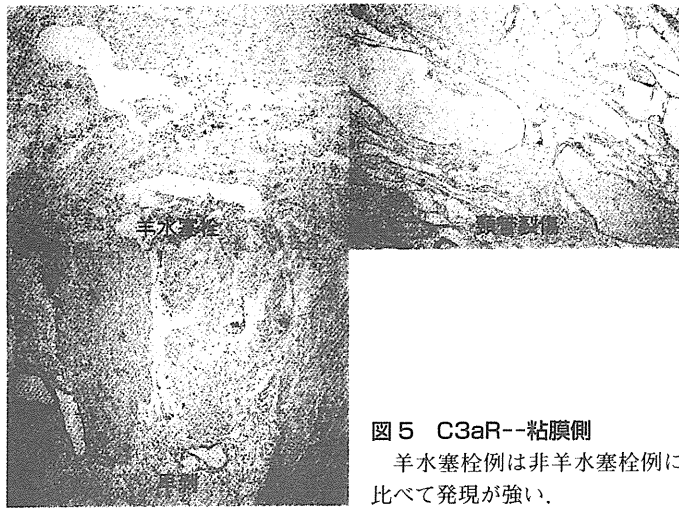


図5 C3aR--粘膜側  
羊水塞栓例は非羊水塞栓例に  
比べて発現が強い。

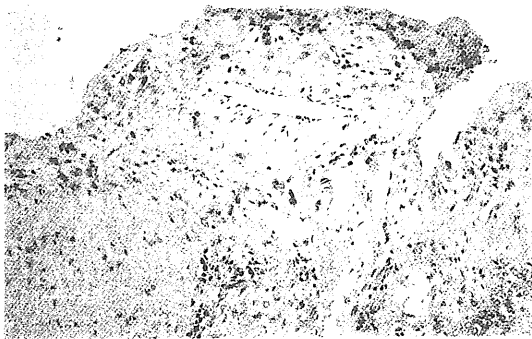


図6 C5aRの粘膜陽性像(症例1 体部)

子宮標本におけるC3aRやC5aRの検討では羊水塞栓症例により強く発現がみられた。一方、子宮の羊水流入の検討では有意な差が得られず、子宮ではむしろアナフィラトキシンのほうが羊水塞栓症の補助診断として役立つ可能性がある。炎症関連のサイトカインに関して、IL6やTGF- $\beta$ など診断に役立つ可能性があるものの、大部分は否定的であった。今後多くの症例で検討したい。

## おわりに

①羊水塞栓症の診断のために、alcian blue 染

色が極めて有用である、これに加えて、STn1抗体やサイトケラチン抗体で確認することが望ましい。

②肺組織において、アナフィラトキシン(C3aR)の免疫染色を行い、羊水塞栓症例とほかの疾患とを比較し、羊水塞栓症例で有意に炎症細胞などでのマーカーの増加が認められた。

③子宮組織において、アナフィラトキシン(C3aR, C5aR)の免疫染色を行い、羊水塞栓症例とほかの疾患とを比較し、肺組織において羊水塞栓症例で有意に炎症細胞などでのマーカーの増加が認められた。

④子宮組織において、種々の免疫染色を行い、羊水塞栓症例とほかの疾患とを比較したが、有意な結果は乏しかった。

## 謝辞

剖検肺・子宮組織の検討において、以下の病理施設の症例を検討させていただきました。

鳥取赤十字病院、前橋赤十字病院、取手協同病院、青森市民病院、宮崎大学、熊本大学北里大学、静岡赤十字病院、九州大学、名古屋市大、北里大学、宮崎県立病院、豊橋市民病院、埼玉医大、東京女子医大の病理の諸先生方に感謝いたします。

表3 サイトカイン等の免疫染色

症例 No.	診断	IL6		IL8		IL10		IL1β		TNF-α		TGFβ	
		粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層	粘膜側	筋層
1-1 (体部)	不明 DIC	-	-	-	-	+	-	+	±	-	-	+	+
1-2 (頸部)	不明 DIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
2-1 (体部)	早剥+DIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±
2-2 (頸部)	早剥+DIC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
3-1 (体部)	頸管裂傷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
3-2 (破裂部)	頸管裂傷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
4 (体部)	頸管裂傷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±
5 (体部)	頸管裂傷	++	-	-	-	-	-	+	+	-	-	±	±
6 (破裂部)	羊水栓塞	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+
7	羊水栓塞	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++
8	羊水栓塞	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

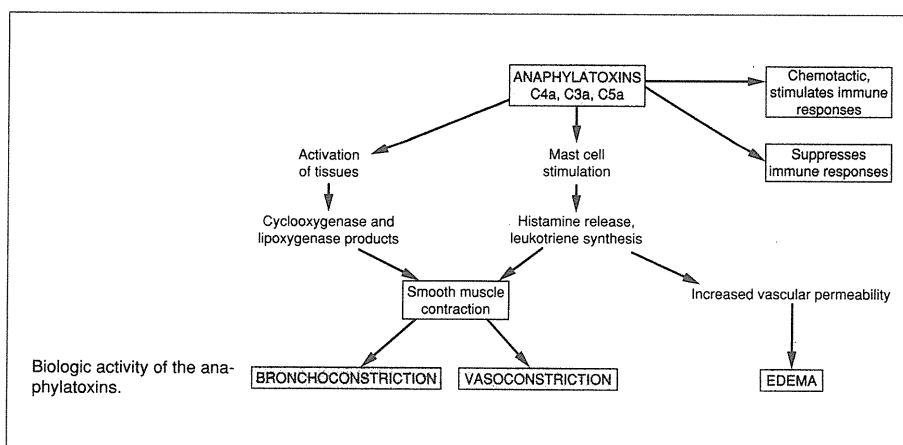


図7 アナフィラトキシンの作用機作

[文献3) より引用]

●文献

- 1) 金山尚裕, 松田義雄, 袴 純子, 池田智明: 日本病理剖検輯報の解剖診断に基づく日本の妊産婦死亡の実態. 厚生労働省科学研究費補助金分担報告書 (乳幼児死亡と妊産婦死亡の分析と提言に関する研究 2008; 180-205).
- 2) 植田初江, 竹内 真, 中山雅弘, 池田智明: 妊産婦死亡に対する剖検マニュアル作成に向けて--剖検輯報からの妊産婦死亡症例における子宮および肺での組織及び免疫学的検討-- 厚生労働省科学研究費補助金分担報告書 (乳幼児死亡と妊産婦死亡の分析と提言に関する研究 2008; 206-209).
- 3) Rubin E, Farber JL: Pathology 2<sup>nd</sup> edi. Lippincott, Philadelphia 1994; p48.
- 4) Humbles AA, et al: A role for the C3a anaphylatoxin receptor in the effector phase of asthma. Nature 2000; 406: 998-1001.
- 5) Floreani AA, Heires AJ, Welniak LA, et al: Expression of receptor for C5a anaphylatoxin (CD88) on human bronchial epithelial cells. J. Immunol 1998; 160: 5073-5081.
- 6) Gasque P, Singhrao SK, Nel JW, et al: Expression of the receptor for complement C5a anaphylatoxin (CD88) is upregulated on reactive astrocytes, microglia and endothelial cells in the inflamed human central nervous system. Am. J. Pathol 1997; 150: 31-41.

## 著者連絡先

〒594-1101

大阪府和泉市室堂町 840

大阪府立母子保健総合医療センター検査科

中山雅弘

## 目次

## 特集/生殖医療と周辺領域との関わり

I. 周産期			
1. 多胎	齊藤英和		
2. 早産	村越毅		
3. 胎盤の異常	平田修司		
4. 胎児異常	増崎英明		
5. 着床前診断	杉浦真弓		
II. 腫瘍			
6. ゴナドトロピン投与と卵巣癌発生の問題	万代昌紀		
7. 子宮頸癌の治療と生殖医療の役割	藤井多久磨		
8. 子宮体癌のホルモン療法後の生殖医療の役割	藤原敏博		
9. 卵巣凍結保存	竹田省		
III. 女性ヘルスケア			
10. PCOS	藤井俊策		
11. 閉経年齢と生殖医療	安井敏之		
12. 生殖医療における心理的サポート	詠田由美		
=新連載・産婦人科手技シリーズII 周産期手術=			
第3回 頸管縫縮術② Shirodkar法	大槻克文		
=産婦人科教室 私たちの教室紹介=			
滋賀医科大学産科学婦人科学講座	喜多伸幸		
=エッセイ/外界事情 90=			
	矢沢珪二郎		
=エッセイ/青い血のカルテ 83=			
	早川智		

---

臨床病理 第59巻 第3号 (平成23年3月) 別冊

---

---

原 著

---

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

宮 野 章 中 山 雅 弘

---

日 本 臨 床 検 査 医 学 会

---

原 著

## 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

宮 野 章\*<sup>1</sup> 中 山 雅 弘\*<sup>2</sup>

### The Study of Anti-SSA 52-kDa and Anti-SSA 60-kDa Avidity Antibodies in Pregnant Women

Akira MIYANO, PhD\*<sup>1</sup> and Masahiro NAKAYAMA, MD\*<sup>2</sup>

**Background:** Neonatal lupus erythematosus (NLE) is a rare disorder caused by the transplacental passage of maternal autoantibodies and manifests with characteristic skin eruption and/or congenital heart block. Anti-SSA 52-kDa and 60-kDa antibodies are important serology markers of the diagnosis of NLE. However, women who have these antibodies do not always give birth to children with NLE. Therefore, we investigated the avidity (quality of the antibody) using urea.

**Methods:** The sera of 97 women and 3 umbilical cord blood specimens were measured using commercial ELISA kit (MESACUP 52K SS-A/Ro and 60K SS-A/Ro, MBL). Avidity index was obtained using 8M urea.

**Results:** The 21 mothers with infants demonstrating atrioventricular block (AB) showed higher antibody indexes for 52-kDa ( $p < 0.001$ ) and 60-kDa ( $p = 0.009$ ) proteins than the 76 mothers of infants without AB. The 19 mothers with infants demonstrating AB had both anti-52-kDa and anti-60-kDa antibodies, and the 2 mothers had only anti-52-kDa antibody. They had higher avidity indexes to 60-kDa ( $p = 0.026$ ) than those without AB. A mother with infant demonstrating AB showed anti-52-kDa antibody isolated positive (96.0 Index), and showed low anti-52-kDa avidity antibody (6.3 %). The case was a similar result in umbilical cord blood (75.8 Index, 6.0%).

**Conclusions:** We conjecture that anti-52-kDa and anti-60-kDa avidity antibodies influence the development of AB. Two mothers with infant demonstrating AB showed anti-52-kDa antibody isolated positive. A fetus could develop AB in maternal low anti-52-kDa avidity antibody.

[Rinsho Byori 59 : 219~225, 2011]

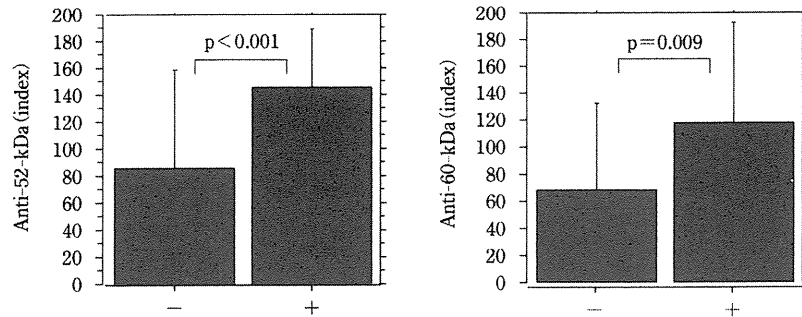
Corresponding author: Akira MIYANO, PhD, Department of Laboratory Medicine, Osaka Prefectural Hospital Organization Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health, Izumi 594-1101, Japan. E-mail: miyano@mch.pref.osaka.jp

**【Key Words】** pregnant woman (妊婦), anti-SSA/Ro antibody (抗 SS-A/Ro 抗体), 52-kDa antibody (52-kDa 抗体), 60-kDa antibody (60-kDa 抗体), avidity (結合力)

受付 2010 年 11 月 1 日・受理 2011 年 2 月 7 日

\*<sup>1,2</sup> 地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立母子保健総合医療センター検査科 (〒594-1101 和泉市室堂町 840)

本論文は第 57 回日本臨床検査医学会学術集会における座長推薦論文である。



**Figure 1** Titers of anti-52-kDa and anti-60-kDa antibody on women of the infants with or without atrio-ventricular block.

抗 SS-A 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 (SjS) が保有しているばかりでなく、無症候女性の 1% が本抗体を保有し、抗 SS-A 抗体陽性母体の 1% 前後に心ブロック児が出生すると言われている。心ブロックは生涯ペースメーカー装着となることが多く、死亡に至る例もある。現在、母体の抗 SS-A 抗体が胎児へ移行して惹き起こす難治性の病態である新生児ループスの実態が明らかにされ、妊娠管理指針が作成されつつある<sup>1)</sup>。近年、抗 SS-A 抗体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<sup>2)</sup>。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新生児ループスになるわけではない。そこで、我々は、以前に特許である尿素誘導体を用いて avidity を測定し、その成績を報告した<sup>3)</sup>。今回、一般試薬である尿素を用い、その有用性を検討した。

### I. 対象と方法

#### A. 対象

大阪府立母子保健総合医療センター検査科に 52-kDa と 60-kDa に対する抗体の依頼のあった妊娠婦結の明らかな 97 例の女性 (臍帯血 3 例含む) を対象とした。本研究は大阪府立母子保健総合医療センター倫理委員会の承認を得た。

#### B. 方法

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

52-kDa と 60-kDa に対する抗体は、組み替え蛋白を用いた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) キットである、「MESACUP 52K SS-A/Ro と 60K SS-A/Ro」(MBL) により血清を用い測定した。基準

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

avidity index (AI) の測定は通常の抗 52-kDa 抗体と抗 60-kDa 抗体測定操作に 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。

統計解析には Welch の t 検定を用い、危険率 5% 以下を有意差ありとした。統計ソフトには SPSS を用いた。

### II. 結果

本測定法の基礎的検討結果を示すと、52-kDa AI の同時再現性は、 $n=6$ ,  $20.2 \pm 2.1\%$  (mean  $\pm$  SD), CV = 10.3%, 日差再現性は、 $n=6$ ,  $18.9 \pm 3.2\%$ , CV = 16.9% であった。60-kDa AI の同時再現性は、 $n=6$ ,  $38.6 \pm 6.6\%$ , CV = 17.2%, 日差再現性は、 $n=6$ ,  $39.1 \pm 7.0\%$ , CV = 17.8% であった。尿素誘導体との相関は、52-kDa AI は、 $n=11$ ,  $y=0.611x-4.00$ ,  $r=0.662$ ,  $p=0.026$  であり、60-kDa AI は、 $n=9$ ,  $y=0.288x+15.66$ ,  $r=0.526$ ,  $p=0.146$  であった。

Fig. 1 に示したように、房室ブロックを伴った児を出産した女性 21 例の 52-kDa 抗体価は  $145.9 \pm 43.2$  index (mean  $\pm$  SD) であり、房室ブロックを伴わなかった 76 例に比べて有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。60-kDa 抗体価も房室ブロック例は  $118.2 \pm 74.4$  index で有意に高値であった ( $p=0.009$ )。21 例中 19 例は 52-kDa と 60-kDa の両抗体価陽性で、2 例が 52-kDa 抗体価単独陽性であった。Fig. 2 に 52-kDa と 60-kDa の抗体価の相関関係を示した。総 97 例では相関係数 ( $r$ ) = 0.518 ( $p < 0.001$ )、房室ブロック陰性群 76 例は  $r=0.485$  ( $p < 0.001$ )、陽性群 21 例

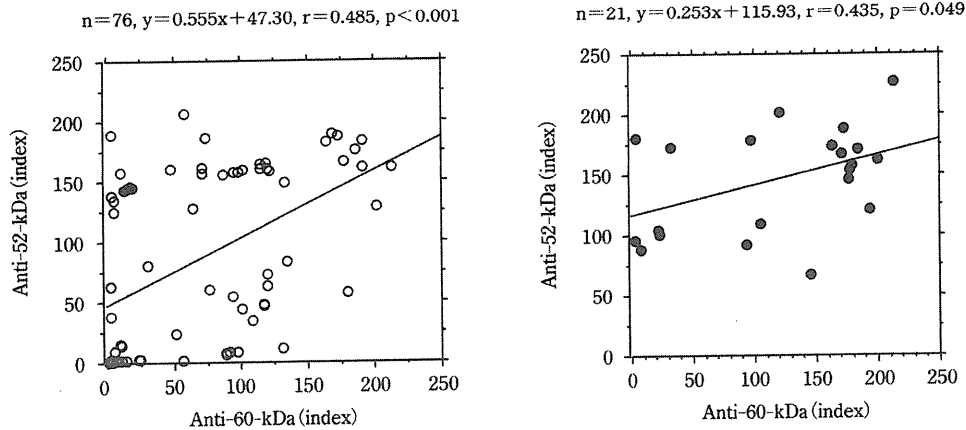


Figure 2 The relationship between anti-52-kDa and anti-60-kDa antibody on women of the infants with (●) or without (○) atrioventricular block.

は  $r=0.435$  ( $p=0.049$ ) であった。52-kDa 抗体価 63 index 以上で房室ブロックが起こり、60-kDa 抗体価 3 index 以上で房室ブロックが起こった。Fig. 3 に抗体価と AI の関係を示した。この分布を見ると、房室ブロック群は 60-kDa 抗体価と AI が高値を示す所で多く見られる。しかし、有意差が出ない。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と考えられる。当施設での房室ブロック例で一番低値を示したのは 52-kDa 抗体価 34.2 index である<sup>4)</sup>。また、基準値上限の 3 倍を異常値ととらえる考え方があるため<sup>5)</sup>、52-kDa 抗体価は 15.6 index 未満、60-kDa 抗体価は 18 index 未満を削除して解析を行った結果、Fig. 4 に示すように房室ブロック 18 例の 60-kDa AI は  $25.1 \pm 17.0\%$  で有意に高値であった ( $p=0.026$ )。Fig. 5 に同様に AI の相関関係を示した。総 56 例では  $r=0.272$  ( $p=0.043$ )、房室ブロック陰性群 38 例は  $r=0.033$ 、陽性群 18 例は  $r=0.349$  であった。52-kDa と 60-kDa の両 AI が高い群で房室ブロックが多いように考えられるので 52-kDa AI と 60-kDa AI の和のデータを比較したところ、Fig. 6 に示したように房室ブロック 18 例のデータは  $64.0 \pm 35.2$  であり有意に高値であった ( $p=0.024$ )。

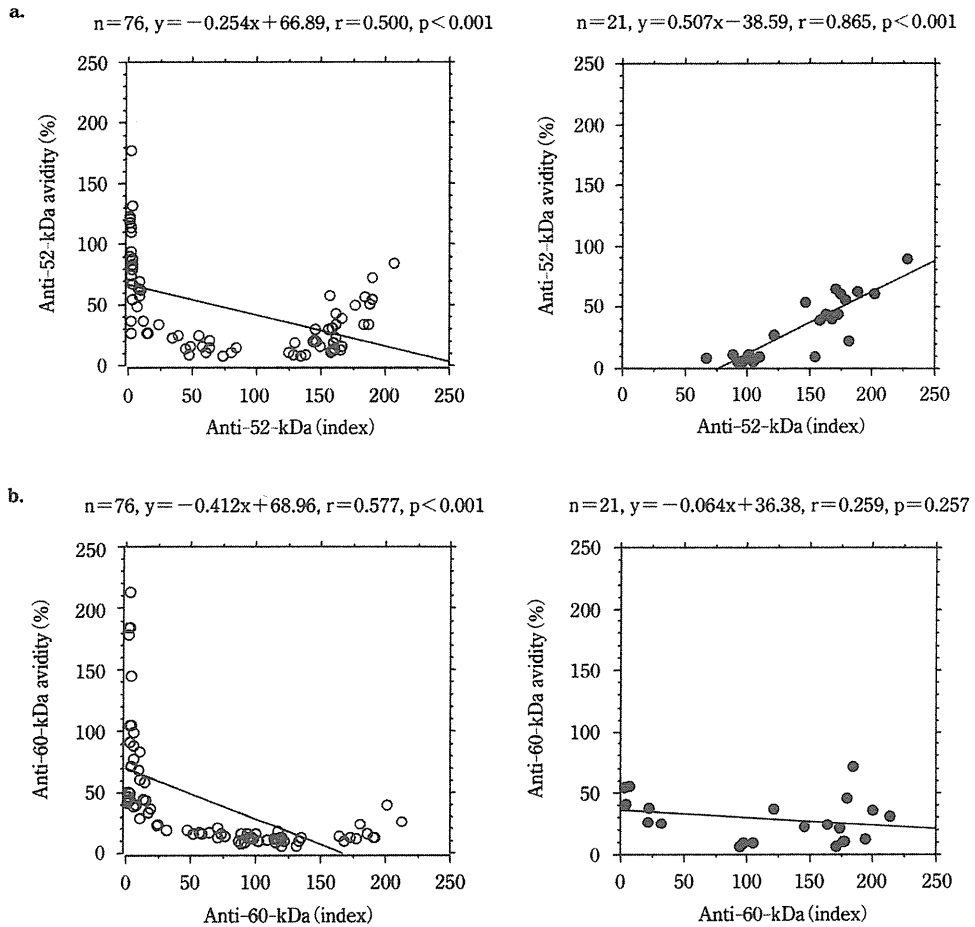
従属変数に房室ブロック、共変量に、52-kDa 抗体価、60-kDa 抗体価、52-kDa AI、60-kDa AI、基準値上限の 3 倍以上の 52-kDa AI と 60-kDa AI、52-kDa AI と 60-kDa AI の和の 7 項目を強制投入法により 2 項ロジスティック回帰分析を行ったところ、

Table 1 に示すように 4 項目に絞られた。房室ブロック陰性は 92.1%、陽性は 44.4%、全体で 76.8% の正解率を持つ回帰式が得られた。4 項目共に正(プラス)の傾きを持つが 60-kDa AI にのみ有意差が認められた。

Table 2 の No.1 は 52-kDa 抗体価単独陽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 96.0 index と中程度陽性であるが、AI は 6.3% と低値を示した。母の SSA 抗体価は DID 法で 8 倍であった。No.2 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。No.3 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 128.8 index に比べて 60-kDa 抗体価は 201.0 index 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。このように、母の抗体価ならびに AI は臍帯血に比べ若干高値の傾向が認められるが、ほぼ同程度であった。

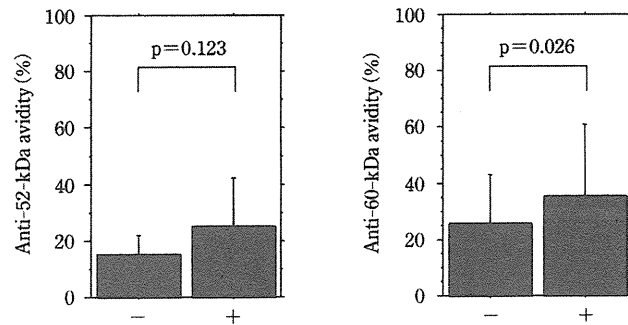
### III. 考 察

SS-A/Ro 抗原は、hY1-5 とよばれる低分子 RNA と 60kDa や 52kDa 蛋白との結合体であることが判明している。SLE や SjS においては 60-kDa 抗体と 52-kDa 抗体が共存している頻度が最も高いが、60-kDa 抗体単独陽性は SLE、一方 52-kDa 抗体単独陽性は SjS に極めて特異性が高く、SLE と SjS の鑑別に役立つ。60-kDa は denature されるとほとんど抗原性



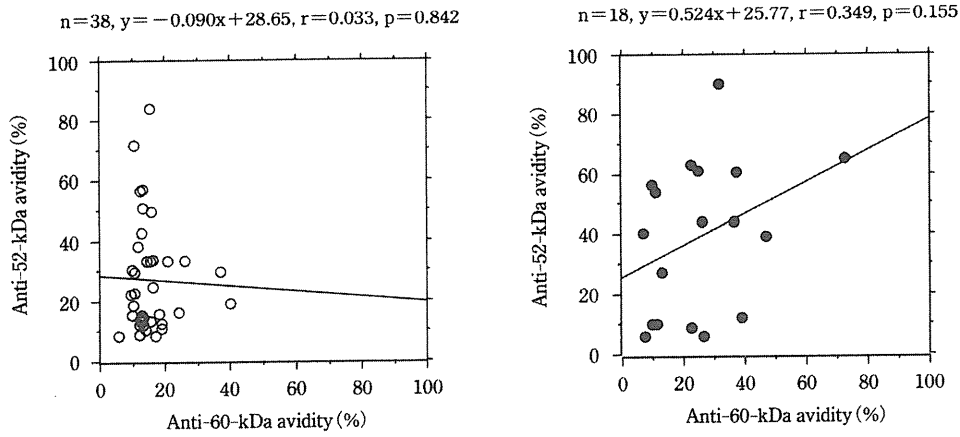
**Figure 3**

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

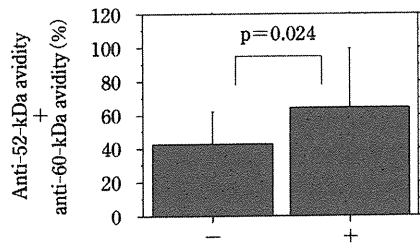


**Figure 4** Titers of anti-52-kDa and anti-60-kDa avidity antibody on women of the infants with or without atrioventricular block.





**Figure 5** The relationship between anti-52-kDa and anti-60-kDa avidity antibody on women of the infants with (●) or without (○) atrioventricular block.



**Figure 6** Titers of anti-52-kDa + anti-60-kDa avidity antibody on women of the infants with or without atrioventricular block.

**Table 1** Logistic regression for stratified data

	Regression coefficient	p-value	Odds ratio	Confidence interval	
				lower 95%	upper 95%
Anti-52-kDa (index)	0.002	0.844	1.002	0.985	1.019
Anti-60-kDa (index)	0.004	0.501	1.004	0.992	1.016
Anti-52-kDa avidity (%)	0.013	0.545	1.013	0.972	1.055
Anti-60-kDa avidity (%)	0.075	0.024	1.078	1.010	1.150
constant	-3.299	0.009	0.037		

**Table 2** Anti-52-kDa and anti-60-kDa avidity antibodies in pregnant women and umbilical cord blood

No	52-kDa		60-kDa		NLE	
	antibody (index)	avidity (%)	antibody (index)	avidity (%)	AB	cutaneous NLE
1 baby	96.0	6.3	< 6.0		+	-
	75.8	6.0	< 6.0		+	-
2 baby	105.0	6.0	21.7	26.2	+	-
	97.3	4.2	12.9	22.6	+	-
3 baby	128.8	19.2	201.0	40.0	-	+
	71.3	13.3	196.0	19.6	-	+

NLE: neonatal lupus erythematosus; AB: atrioventricular block.

を失い、反対に 52-kDa は native な状態では抗体は反応できないとされている。現在、SS-A 抗体の測定には、免疫沈降法を用いた DID 法と ELISA 法が主に用いられている。ELISA 法は MBL 社の場合 native な 60-kDa を抗原として用いている。今回、Table 2 の No.1 はリコンビナント 60-kDa を抗原として用いた方法では陰性であったことから、SS-A 抗体のスクリーニングにはリコンビナント 60-kDa を抗原として用いる試薬は適さないことがわかる。

HLA が一致している双生児の報告例で、一方が房室ブロックを呈し、もう一方が正常だったというものがあり、両者の間では抗 SS-B 抗体はじめ他の抗体の比率は同じにも拘らず、抗 SS-A 抗体のみが患児において著明に低値であったという。これは患児においては抗 SS-A 抗体が組織に沈着して消費されたためと考えられる<sup>6)</sup>。今回、児の方が若干低値を示したのもこの原因の可能性はある。

最近の研究により、52-kDa は機能的に IgG1 と相互作用し endoplasmic reticulum associated degradation (ERAD) システムを経て、IgG1 の品質管理を行なっていることが示された<sup>7)</sup>。52-kDa 機能異常は B 細胞またはプラズマ細胞中の unfolded IgG1 蓄積を導き、ER のストレスや異常な免疫学的反応性を導くとしている。

また、なぜ大人の心臓でなく胎児の心臓に異常が起こるかについての説明は、胎児の心臓細胞において、L 型 Ca チャンネルの密度が大人に比べて低く、筋小胞体も少ないことに起因すると考えられている<sup>8)</sup>。自己抗体による膜 Ca チャンネルの調整不良は、Ca チャンネルの機能に負荷を与えるものと考えられる。しかし、同じ抗体価でも起こる場合と起こらない場合がある原因については、遺伝因子、ウイルス、アポトーシス、ホルモン因子があると考えられている<sup>8)</sup>。

Strandberg らは<sup>9)</sup>、52-kDa IgG1 抗体価は妊娠時、IgG2、IgG3、IgG4 に比べ高値を示し、52-kDa IgG1 と IgG4 抗体価は妊娠初期から後期にかけて有意に減少するが、IgG2 と IgG3 はそうではなかったとしている。avidity は主に IgG1 を捕らえると考えられるため、本研究はこの論文に異議を唱えるものではない。また、Tseng らは<sup>10)</sup>、胎児房室ブロックを発症の有無で IgG サブクラスに違いは認めなかったと報告している。

房室ブロックにおいて、52-kDa 抗体でしか捕らえられない症例があるので、52-kDa 抗体の臨床的

意義は高い。しかし、基準値上限の 3 倍を除いた 60-kDa AI で房室ブロック群は有意に高値であった。この原因の一つに、IgG サブクラスが 52-kDa 抗体では種々存在するが、60-kDa 抗体はほとんど、IgG1 であるとの報告があり<sup>10)</sup>、avidity は主に IgG1 を捕らえると考えられており、このような結果になった可能性がある。

我々は、以前に特許である尿素誘導体を用いて avidity を測定し、その成績を報告し、今後の検討が望まれるとした。今回、一般試薬である尿素を用い、その有用性を検討したところ、2 項ロジスティック回帰分析において 60-kDa AI にのみ有意差が認められる回帰式が得られた。これは、基準値上限の 3 倍以上の抗体価の群においては 60-kDa AI がキーになることを意味するが、今後の検討が望まれる。

#### IV. 結 語

1) 妊婦における 52-kDa と 60-kDa の抗体価は房室ブロック群で有意に高値であった。

2) 60-kDa AI は房室ブロックで有意に高値であった。また、52-kDa AI と 60-kDa AI の和のデータを比較したところ房室ブロックで有意に高値であった。

3) 2 項ロジスティック回帰分析において 60-kDa AI にのみ有意差が認められる回帰式が得られた。

4) 妊婦の 52-kDa 抗体価単独陽性で房室ブロックが起こった。低い 52-kDa AI でも房室ブロックが起こった。

本研究の 52-kDa と 60-kDa avidity の測定には平成 21 年度「母と子のすこやか基金」課題名「妊婦における SS-A 52-kDa と 60-kDa 抗体 avidity の測定意義」の研究助成により行われ、また 52-kDa と 60-kDa 抗体測定には平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「胎児・新生児障害の原因となる自己抗体陽性女性の妊娠管理指針の作成」研究課題名「抗 SS-A 抗体陽性女性の妊娠中の管理状況に関する多施設調査」の研究助成により行われ、第 57 回日本臨床検査医学会学術集会にて報告した。

#### 文 献

- 1) 鎌倉洋樹, 山岸良匡, 村島温子. 抗 SS-A 抗体陽性女性の妊娠症例の把握. 日本医事新報 2010; 4491: 62-4.
- 2) 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 1996; 45: 1602-6.
- 3) 宮野 章, 中山雅弘, 和栗雅子, 藤田富雄. 新生児エリテマトーデスを伴った母親における SS-A 52-kDa と 60-kDa 蛋白に対する免疫反応. 臨床病理 2008; 56: 1081-5.
  - 4) 矢原 健, 他. 抗 52kD SS-A/Ro 陽性の妊婦から生まれた先天性完全心ブロックの 1 例. 日本臨床免疫学会誌 1997; 20: 437-41.
  - 5) 田中良哉. 内科疾患の診断基準 病型分類・重症度 VII. 膠原病 関節リウマチ. 内科 2010; 105: 1263-7.
  - 6) 伊藤保彦, 伊藤加寿子. 周生期医学 抗 Ro/SSA 抗体と新生児ループス. 小児科 1992; 33: 631-9.
  - 7) Takahata M, et al. Ro52 functionally interacts with IgG1 and regulates its quality control via the ERAD system. Mol Immunol 2008; 45: 2045-54.
  - 8) Xiao GQ, Qu Y, Hu K, Boutjdir M. Down-regulation of L-type calcium channel in pups born to 52 kDa SSA/Ro immunized rabbits. FASEB J 2001; 15: 1539-45.
  - 9) Strandberg L, et al. Ro52, Ro60 and La IgG autoantibody levels and Ro52 IgG subclass profiles longitudinally throughout pregnancy in congenital heart block risk pregnancies. Lupus 2006; 15: 346-53.
  - 10) Tseng CE, et al. Subclass distribution of maternal and neonatal anti-Ro(SSA) and La(SSB) antibodies in congenital heart block. J Rheumatol 1996; 23: 925-32.

---

## Information

---

### 第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会

会 期：2011 年（平成 23 年）6 月 2 日（木）～  
6 月 4 日（土）

会 場：京都テルサ

会 長：伏木 信次

（京都府立医科大学大学院分子病態病理学・教授）

副会長：福居 顯二

（京都府立医科大学大学院精神機能病態学）

中川 正法

：（京都府立医科大学大学院神経内科学）

URL：http://www.secretariat.ne.jp/jsnp52/

教育コース（6/2 開催予定） 事前登録あり

※詳しくは HP をご覧ください。

問い合わせ先：

学術研究会事務局：

第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会事務局

京都府立医科大学大学院医学研究科

分子病態病理学 伊東恭子

TEL/FAX: 075-251-5849

E-mail: jsnp52@koto.kpu-m.ac.jp

運営事務局：

第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会

運営事務局

コンベンションリンクージ内

TEL：06-6377-2188

FAX：06-6377-2075

E-mail：jsnp52@secretariat.ne.jp

## EVOLIS によるセルフリー N IL-2 R 測定試薬の検討

宮野 章<sup>1)</sup> 江口 政志<sup>1)</sup> 中山 雅弘<sup>1)</sup>

Evaluation of the “CELLFREE N IL-2 R” reagent for measurement of soluble Interleukin-2 receptor, using EVOLIS

Akira MIYANO<sup>1)</sup> Masashi EGUCHI<sup>1)</sup> Masahiro NAKAYAMA<sup>1)</sup>

1) Department of Laboratory Medicine, Osaka Prefectural Hospital Organization Osaka Medical Center and Research Institute for Maternal and Child Health (840, Murodo-cho, Izumi-shi, Osaka, 〒594-1101, Japan)