

第 63 回日本産科婦人科学会・学術講演会

シンポジウム 1 「流産の原因と対策」

1) 不育症における遺伝学的探索

名古屋市立大学大学院医学研究科

教授 杉浦 真弓

Genetic Factors as a Cause of Recurrent Miscarriage

Mayumi SUGIURA

Department of Obstetrics and Gynecology, Nagoya City University, Graduate School of Medical Sciences

はじめに

不育症の原因は抗リン脂質抗体、夫婦の染色体異常、子宮奇形と考えられているが、半分以上が原因不明とされている。一方、散発流産の 50~70% に胎児の染色体異常がみられるが、それは偶然起こることであって、反復流産の原因としては認識されてこなかった。胎児染色体異常は女性の年齢と関係し、昨今の女性の妊娠年齢の高齢化によって本邦の反復流産患者が増加していることも推測される。本研究では原因不明不育症における胎児染色体異常、遺伝学的原因の探索、女性の年齢、既往流産回数、治療の有効性と生児獲得率について検討してみた。

1986 年から 2010 年に名古屋市立大学で系統検査(表 1)を受けて 1 回以上の妊娠経過を観察した不育症患者(2~20 回)の 2,900 妊娠について患者背景、検査所見を入力したデータベースを作成し、それをもとに解析を行った。

臨床研究の Evidence level は

Level I : メタアナリシス

Level II : 前向き比較試験

Level III : 横断研究

Level IV : 権威者の意見

として知られているが、ある因子が不育症の原因かどうかは健常人と比較する横断研究では証明できない。不育症研究において Level II 以上のデザインによる研究を実施することが難しいが、必要である。

不育症(反復流産)の頻度

Recurrent miscarriage は古典的には 3 回以上連続する流産であるが、最近の論文では 2 回以上とするものも多い。そもそも本邦では流産の定義は 22 週未満の娩出であるが、FIGO および WHO では 500g 以下の児の娩出とされており、流産の世界共通の定義はない。一方、不育症は infertility, recurrent pregnancy loss, recurrent fetal loss と表現され、対象はそれぞれ若干異なっている。本邦初の疫学調査を愛知県岡崎市で実施した。健康診断を受けた 35 歳から 79 歳の女性の妊娠歴から習慣流産は 0.9%、不育症は 4.2%、妊娠経験のある女性の 38% が流産を経験していることが明らかになった(投稿中)。

Key Words: Recurrent miscarriage, Embryonic karyotype, Antiphospholipid antibody, Uterine anomaly, Translocation

【表1】

不育症の原因	名古屋市立大学において実施している検査	日産婦	N Engl J Med
抗リン脂質抗体	β 2glycoprotein I 依存性抗カルジオリピン抗体 (230) ループスアンチコアグラント (dRVVT 290) ループスアンチコアグラント (希釈 aPTT 希補法)	A	★
子宮奇形	子宮卵管造影 (512) と超音波検査 (530)	A	★
夫婦染色体異常	G 分染法 (2600)	B	★
内分泌異常	糖尿病: 空腹時血糖 (11) 甲状腺機能異常: TSH (115), FT4 (140) 多嚢胞性卵巣症候群	C	
凝固系検査	aPTT (18), XII 因子活性	C	
胎児染色体異常	絨毛染色体 G 分染法	C	★

A ~ C: 日産婦ガイドライン推奨レベル
★: Branch らが推奨する検査

【表2】 子宮奇形をもつ夫婦の生児獲得率

	Success rate per pregnancy			Cumulative success rate		
	With anomalies (n=42)	Without anomalies (n=1528)	P	With anomalies (n=41)*	With out anomalies (n=1528)	P
1 st	25/42 (59.5%)**	1096/1528 (71.7%)	0.084	25 (61.0%)	1096 (71.7%)	0.133
2 nd	5/9 (55.6%)	166/275 (60.4%)	0.772	30 (73.2%)	1262 (82.6%)	0.119
3 rd	2/2 (100%)	38/69 (55.0%)	0.207	32 (78.0%)	1300 (85.1%)	0.215
4 th	—	4/18 (22.2%)	—	—	1304 (85.3%)	—
5 th	—	3/9 (33.3%)	—	—	1307 (85.5%)	—
6 th	—	0/6 (0%)	—	—	1307 (85.5%)	—
Final follow up	—	—	—	32 (78.0%)	1307 (85.5%)	—

Sugiura-Ogasawara et al. F&S 2010 II

*1例は流産後に手術をした

** 胎児染色体異常 (子宮奇形: 正常子宮)
15.4% (2/13) vs 57.5% (134/233)

夫婦染色体均衡型転座保因者の自然妊娠帰結

1,284組の夫婦染色体を調べたところ、7.8% (100/1,284) に9番逆位を含めた異常を認めた。均衡型転座は4.5%の頻度であり、相互転座保因者と染色体正常夫婦の診断後初回妊娠生児獲得率は31.9% (15/47)、71.7% (849/1,184) であり、転座が流産の危険因子であることを世界で初めて明らかにした⁹⁾ (Level II)。累積生児獲得率は68.1%であった。

その後転座保因者の自然妊娠による帰結調査はいくつか行われ、本邦の多施設共同研究の診断後初回生児獲得率は63%であり、オランダのコホー

ト研究でも累積生児獲得率83%と高い成績を示した²⁾。

着床前診断による生児獲得率を明記している報告は4つあり、採卵あたり23.7%、47.2%、6.2%、22.1%である。しかし、着床前診断によって自然妊娠よりも出産成功率が改善できるとした比較研究 Level IIはない。着床前診断は体外受精が前提なので1回当たりの妊娠率は女性の年齢に依存し、約10~30%にとどまる。成功率は年齢、過去の流産回数に依存して減少することが推察される。染色体均衡型相互転座の減数分裂において(正常である)交互分離がどの割合で起きるかは個々の症例で異なり、現時点では予測不可能である。しか

【表3】 反復流産の原因としての胎児染色体異常

Karyotype	散发流産 (114)	反復流産 (234)
Normal	27 (23.7%)	114 (48.7%)
Abnormal	87 (76.3%)	120 (51.3%)
Trisomy	63 (72.4%)	63 (52.5%)
Double trisomy	0 (0%)	7 (5.8%)
Monosomy	5 (5.7%)	5 (4.2%)
Triploidy	14 (16.1%)	18 (15.0%)
Others	5 (5.7%)	27 (22.5%)

Ogasawara et al. F&S 2000

【表4】 既往流産回数別流産率と胎児染色体異常率

過去の流産回数	流産率	染色体異常率
2	23.2 (105/452)	63.6 (35/55)
3	32.4 (149/460)	59.0 (46/78)
4	37.0 (71/192)	55.3 (21/38)
5	48.7 (38/78)	38.9 (7/18)
6	64.1 (25/39)	28.6 (4/14)
7	66.7 (16/24)	50.0 (4/8)
8	70.6 (12/17)	0 (0/7)
9	78.6 (11/14)	28.6 (2/7)
10 or more	93.9 (31/33)	11.0 (1/9)

し、均衡型転座と判明した直後の自然妊娠において30~60%の高い生児獲得率が得られるにもかかわらずすべての保因者に着床前診断を行うことは過剰治療であり、交互分離の割合を推測する方法をみつけることが今後の課題である。

なお、G分染法によって正常核型と診断された患者に比較ゲノムハイブリダイゼーション法(CGH)を用いて微細欠失をみつけたとする報告もある。

子宮奇形(非手術)を持つ夫婦の生児獲得率

弓状子宮を除くMajorな子宮奇形は1,676人のうち3.2%にみられた。双角子宮、中隔子宮において手術なしでも診断後初回妊娠において59.7%が生児獲得できたが、胎児染色体正常流産が有意に多く、子宮奇形が流産の危険因子であることを世界で初めて証明した²(Level II)。累積生児獲得率は子宮奇形群78.0%、正常子宮群85.5%であった(表2)。

双角子宮に対して形成手術、中隔子宮に対して内視鏡的中隔切除術が実施されている。しかし、手術をすると生児獲得率が改善できるという比較試験Level IIは報告されていない。手術に関する報告はおおむね非手術対照の設定のないものである。

子宮奇形の発症にはTCF2, MKKS, MIS, MISR2, HOXA13 遺伝子変異の関与が報告されている。

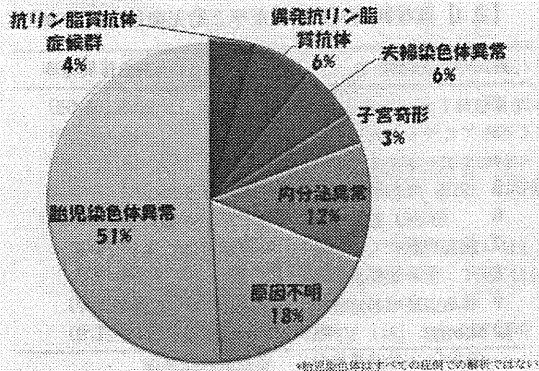
胎児染色体異常流産

反復流産患者の1,309妊娠について、胎児染色体に着目して検討した。散发流産群の76.3%に対し、不育症においても51.3%に胎児染色体異常を認めた⁴(Level III, 表3)。特にDouble trisomyは反復流産の集団に特異的に認められた。既往流産回数が増えるに従って流産率は高くなり、染色体異常率は有意に減少した(表4)。胎児染色体異常がみられた時の次回妊娠の成功率は胎児染色体正常であった時よりも有意に高率であった(62% vs 38%, 比2.6)。

教科書的には散发流産における胎児染色体数異常は50~70%と書かれており、この頻度の幅は女性の年齢に依存する。最近のCGH法を用いた研究によれば流産の80%に染色体微細欠失を含む胎児染色体異常が確認された。胎児染色体異常をn回繰り返している確率は(0.8)ⁿと推定できる。すなわち平均3回流産歴をもつ習慣流産集団の約51%は胎児染色体異常によるものと考えられる。

そのため、胎児染色体数異常に対する着床前スクリーニングが欧米では広く行われている。理論的には有効のように思われるが、生児獲得に関する有効性は全く示されておらず、ヨーロッパヒト生殖医学会も「有効性がないまま着床前スクリーニングが広まってしまったことがIVFの問題点である」と、コメントしている。

胎児異常による流産は前述のとおり、生児獲得もしやすく、「いい結果」であることを伝える遺伝



【図1】名古屋市長大学の不育症患者1,676組の異常頻度

カウンセリングが重要と考えられた。

胎児染色体G分染法を用いて正常と診断された絨毛組織について200カ所のマイクロサテライト多型解析を行い、両親の由来を調べたところ、84例中2例に7番、14番染色体の片親性ダイノミーを発見した²⁾。コピー数多型、エピゲノム異常などの胎児異常の報告も散見され、私たちの想像以上に胎児異常流産が存在すると考えられた。

原因不明不育症

欧米の総説では原因不明が半数以上を示すと書かれている。胎児染色体異常流産は通常の原因精査項目に含まれていないので、実施されていない。しかし、これらは原因であることは明白であり、胎児異常も含めると不育症集団の異常頻度は図1のグラフのようになる。胎児正常の真の原因不明はおおよそ20%と推定できる。

先天性血栓性疾患、絨毛膜羊膜炎などの感染症、細胞性免疫、精神的因子の関与が報告されている。原因不明不育症患者において57種類の遺伝子多型が報告されている。その中で再現性があり、メタアナリシスによって関与が肯定的なのはLeiden変異とProthrombin変異だけであるが、これらはアジア人にはみられない。MTHFRとeNOS遺伝子多型に関しては私たちが追試を行い、反復流産と関与しないことを確認した³⁾(Level III)。

先天性血栓性疾患Protein C(PC), Protein S

(PS), Antithrombin(AT), FXII欠乏症は後天性血栓性疾患と同様に子宮内胎児死亡を起こすことが報告された。しかし、胎盤形成以前の反復初期流産には関与しないことが理論的に推定された。私たちは希釈aPTT-Lupus Anticoagulant陽性例を除外した場合、PC, PS, AT低下症例の流産率が正常群と変わらないことを明らかにした⁴⁾(Level II)。一方、FXII低下症例は有意に高い流産率を示した。LancetのメタアナリシスでもPSのみが子宮内胎児死亡と関与することが証明された⁵⁾(Level I)。これらの研究では初期流産と子宮内胎児死亡が分けて検討されていない問題がある。

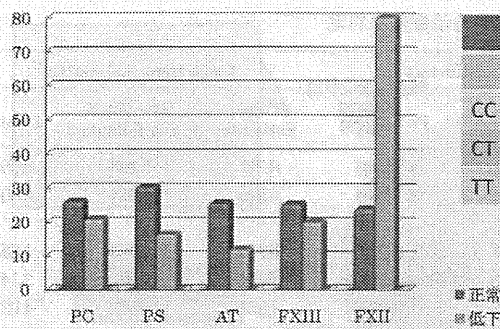
さらに抗リン脂質抗体症候群ではPC, PS, XIIが低下すること、PC, PS, XIIは抗リン脂質抗体の真の対応抗原であることが報告されており、抗リン脂質抗体の測定法の違いによってPSの低下が不育症と関与するかどうか、結果に違いが出るということが推定される。

凝固第XII因子遺伝子多型と反復流産

FXII因子遺伝子多型頻度の差により日本人は白人よりもXII因子活性が低いことが知られている。XII因子活性低下と流産の関係は私たちの報告だけではなく、欧米でも報告されている。では、その原因は遺伝子なのか活性なのかという検討が必要である。私たちは反復流産患者と健常人を比較してC/T頻度に差を認めなかったが、反復流産患者のXII因子活性が低いことを明らかにした⁶⁾(Level III, 図2)。これはXII因子活性低下には自己抗体等の後天的なものが介在することを示す結果である。最近のメタアナリシスでもFXII活性低下が流産と関与することが示されているが⁷⁾(Level I)、FXII活性値だけに着目しては取りこぼしがあることになる。例えば活性値100%は一見正常だが、この患者のgenotypeがCC群であった場合は明らかに低下していることになる。同様のことがPC, PS, AT, Protein Zにも当てはまる可能性がある。

抗リン脂質抗体症候群のゲノムワイド関連解析

抗リン脂質抗体は10.7%が陽性であったが国



XII因子活性は患者群で低下しているが
46C/T多型頻度は変わらない

Iinuma et al. F&S 2002

XII因子活性低下は流産の危険因子 Ogasawara et al. F&S 2001

【図2】凝固第XII因子活性と遺伝子多型の関与

際抗リン脂質抗体学会の診断基準にある、抗体が12週間持続する抗リン脂質抗体症候群は4.7%であった。しかし、偶発抗リン脂質抗体症例は低用量アスピリン単独でも84.6% (胎児異常を除くと95.7%)が生児獲得しており、この部分も重要と考えられた¹¹⁾ (Level II)。

私たちはaPTT-Lupus Anticoagulant (LA)、RVVT-LA、 β 2glycoprotein I dependent anticardiolipin antibodyの3種類の検査を「陽性だと流産が起こる」ことを証明した後に臨床検査として用いている。委託検査の中ではこのような証明がされている方法が少ないのが実情である。また、同じ名前の検査でも測定法のわずかな違いによって検出される患者が異なることもある。医師も患者も抗リン脂質抗体が陽性で治療ができると安心できるため、陽性率の高い測定法が用いられるが、その場合偽陽性が多いことが問題となる。アスピリン・ヘパリン療法が有用な“本物”の抗リン脂質抗体症候群の頻度はそれほど高くはない。これらの患者は妊娠が終了すれば終わりではなく、心筋梗塞、脳梗塞などにより寿命も短く、生涯血栓予防が必要である。これらの患者は区別される必要がある。

抗リン脂質抗体に関連する遺伝子にはSTAT4、 β 2Glycoprotein I、HLA、BANK1、BLK、TNFSF4などが報告されている。私たちは複数の抗体が強陽性で持続する150症例を多施設において収集し、Affymetrix社のアジア系集団に最適化

した60万SNPを搭載したSNP arrayを用いてAPS150例、健常人200人のゲノムワイド関連解析GWASを実施している。現在、患者79例と健常人191例を比較するGWASによってP値が 10^{-7} オーダーの有意差をもつSNPが遺伝子Aのintronにひとつ認められた。 10^{-6} オーダーの有意差を持つSNPはB、C、D、E、F遺伝子に6つ認められた。今後はマルチプレックスSNP解析法、DigiTag2法を用いて検出された候補遺伝子の周辺のSNPを網羅的に解析し、高密度関連マッピングを行うことで抗リン脂質抗体関連遺伝子を特定する予定である。

染色体不分離に関与するSYCP3遺伝子変異は 胎児染色体異常流産と関与するか？

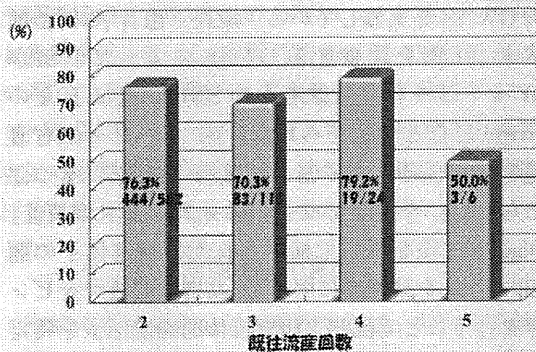
2009年に染色体不分離に関与するSYCP3遺伝子変異が習慣流産患者26例中2例に発見されたと報告された¹²⁾ (Level III)。もしそうであれば、7.7%の頻度であり、夫婦染色体転座よりも高頻度の原因を占めることになる。原因不明習慣流産患者102例について追試を行った。患者1例、対照1例にexon8の657T>C変異を認めたが既報告の他の変異はみられなかった¹³⁾ (Level III)。患者の過去の流産の絨毛染色体は46,XYと46,XYであったことからこの変異は染色体異常流産と関係しない遺伝子多型と考えられた。

胎児染色体異常の集団にこのような遺伝子が多因子遺伝として関与する可能性はあると考えてい

【表5】 Logistic 解析による治療効果判定

Parameter	Analysis of Maximum Likelihood Estimates					Odds Ratio Estimates		
	DF	Standard Estimate	Wald Error	Chi-Square	Pr>ChiSq	Point Estimate	95% Wald Confidence	Limits
Age	1	-0.0763	0.0160	22.5942	<.0001	0.927	0.898	0.956
No. of miscarriage	1	-0.3800	0.0833	20.8025	<.0001	0.684	0.581	0.805
AH	1	-0.1441	0.3897	0.1367	0.7116	0.866	0.403	1.858
ASA	1	0.3343	0.2175	2.3618	0.1243	1.397	0.912	2.140
PA	1	0.3793	0.5174	0.5376	0.4634	1.461	0.530	4.028
IDI	1	-0.3824	0.1998	3.6652	0.0556	0.682	0.461	1.009
OK-432	1	-0.0534	0.2227	0.0574	0.8106	0.948	0.613	1.467
Other	1	0.3985	0.2860	1.9419	0.1635	1.490	0.850	2.609

Sugiura-Ogasawara et al. Am J Reprod Immunol 2009



【図3】 薬物投与なしの成功率

る。習慣流産の胎児染色体には Double Trisomy も特徴的であり¹⁾、胎児異常は偶然繰り返したのではなく必然的に繰り返している可能性があるが、現時点でそれをヒトで証明した報告はない。

胎児異常流産は反復するか？

当院で系統的検査の後に1回以上の妊娠を観察した2,600人の不育症患者のうち、胎児(胎芽)染色体結果が得られているものは480例であった。そのうち2回以上解析されている症例は92例であった。

異常を繰り返す症例は33例、正常を繰り返す症例は35例であり、73.9%はそれぞれ異常、正常を反復していることが判明した。胎児異常の場合は

年齢は有意に高く、流産回数は少なく、生児獲得率は72.7%と有意に高い結果であった。胎児正常の場合の生児獲得率は48.6%と低く、混合型の場合の生児獲得率はその中間の生児獲得率であった。

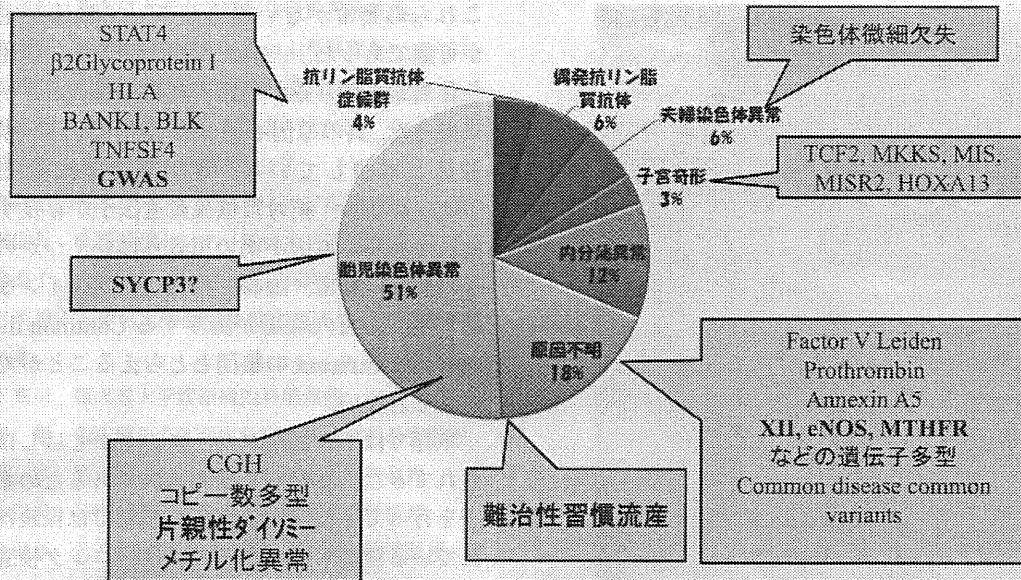
原因不明に対する薬物投与

原因不明不育症患者の年齢、既往流産回数、治療方法と精査後初回妊娠における生児獲得率、累積生児獲得率の関係を調べた。既往流産2回の患者に対しては予薬なし、既往流産3回以上の患者に対し夫リンパ球による免疫療法、OK-432療法、低用量アスピリンもしくは予薬なしを時代に応じて基本的治療方針としていた。

1983年、名古屋市立大学が本邦において初めて免疫療法による出産例を報告した。また、世界で初めて習慣流産におけるOK-432療法の有用性を報告した。

ロジスティック解析から、女性の年齢、既往流産回数は独立した危険因子であることが判明した(表5)。原因不明に対するアスピリン療法、アスピリン・ヘパリン療法、ステロイド療法、免疫療法は薬物投与なし群と比較して治療効果は認められなかった。初回妊娠の生児獲得率Ps、累積生児獲得率Pcはそれぞれ、

$$\text{logit}(p_i) = 3.964 - 0.0652 \times (\text{age}) - 0.408 \times$$



【図4】 不育症に関連する遺伝的要因

(previous number of miscarriages)

$$\text{logit}(p_i) = 6.806 - 0.1130 \times (\text{age}) - 0.514 \times (\text{previous number of miscarriages})$$

と、推定することが可能であった¹⁴⁾(Level III)。オランダのグループも無作為割り付け試験を行い、原因不明に対するアスピリンもしくはアスピリン・ヘパリン併用用法は無効であったと報告している¹⁵⁾(Level III)。イムノグロブリンなど原因不明に対するさまざまな治療が試みられているが、確立された治療法はないのが現状である¹⁶⁾。実際に薬物投与を行わなくても出産に至ることが明らかになっている(図3)。

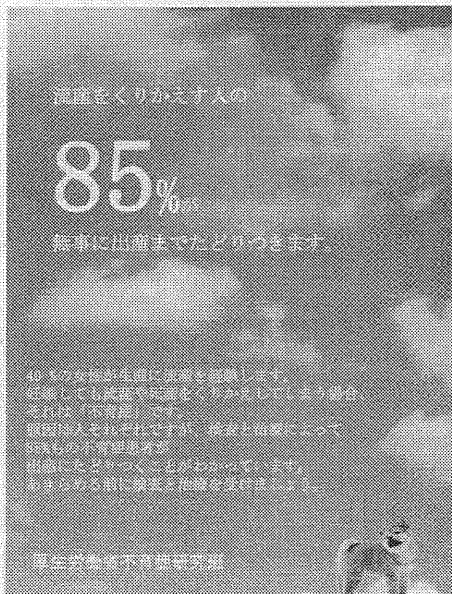
難治性習慣流産

不育症患者の累積生児獲得率は85.5%であるが¹⁷⁾、10回以上繰り返す患者は出産が困難であり難治性習慣流産と考える。頻度は0.83%(17/2,045)であり、単角子宮2例、相互転座2例、原因不明13例である。単角子宮1例相互転座2例は出産しているが、原因不明胎児正常患者は出産に至っていない。24回流産した患者が代理懐胎によって出産できた症例報告は難治性習慣流産が胎児ではなく母体の問題であることを示している。

コピー数多型(CNV)を用いて流産胎児に異常を確認した報告は散見されるが、難治性習慣流産の原因探索に用いた報告はされていない¹⁸⁾。私たちは患者6人とその両親のCNVを調べ、データベースに存在せず、母親由来ではない新規CNVについて、今回の検討では欠失のみに着目し、リアルタイムPCR法による検証を行ったが該当する遺伝子はみつからなかった。今後、重複にも着目して検証を行う必要がある。

最後に

1. 本邦の不育症頻度は4.2%であり、妊娠したことのある女性の38%が流産を経験していた。
2. 夫婦どちらかの染色体転座は反復流産の原因であるが、68%が出産に至っていた。
3. 子宮奇形は胎児正常流産を起こすことから反復流産の原因であることが明らかになったが、78%が出産に至っていた。
4. 胎児(胎芽)染色体異常は不育症においても最も頻度の高い原因であった。胎児染色体異常が確認された場合、次回生児獲得率は胎児正常の場合よりも高い。
5. 凝固第XII因子活性低下は不育症の危険因子



であるが、遺伝子多型は関与していなかった。先天性血拴性疾患は自己抗体を介して不育症に関与すると推測する。

6. 抗リン脂質抗体症候群は約4%の頻度であり、偶発例と区別が必要である。

7. 染色体不分離を起こすSYCP3遺伝子変異は不育症患者ではみられなかった。しかし、偶然ではなく、胎児染色体異常を起こしやすい人がいる可能性はあると推定する。

8. 胎児染色体について異常は異常を、正常は正常を繰り返す傾向にある。

9. 原因不明不育症に対する確立された治療法はない。女性の年齢、既往流産回数が独立した危険因子であり、薬物投与をしなくても出産可能である。子宮奇形、夫婦染色体異常のない患者は85.5%が出産に至っていた。

10. 胎児染色体正常の難治性習慣流産患者が0.83%存在した。

図4に不育症における遺伝的要因の関与を示した。私たちが研究を行ったものを強調で示した。不育症において絶対不育症の要因はみつからない。明らかな原因である子宮奇形、転座保因者でも介入なく一定の生児獲得が可能である。また、

これらの異常がない場合85.5%に累積生児獲得が可能であった。一方、原因不明の中には胎児染色体異常を繰り返す集団が存在することが明らかになった。真の原因不明は約20%であり、多因子遺伝と推測している。難治性習慣流産患者が0.83%存在し、絶対習慣流産遺伝子が存在する可能性がある。原因不明の患者らはいくつかの遺伝子の関与に加え、加齢、喫煙、カフェインなど生活環境、子宮内環境が関与するCommon disease common variantsの集団ととらえることができるかもしれない。

本邦では不育症スクリーニングがしばしば提唱されてきた。私たちが研究施設であるため系統検査を行ってきた。習慣流産の病名では保険採用されている検査もあるが、スクリーニング検査をすれば自費となり、患者に高額な費用の負担を強いことになる。Branch et al. はN Engl J MedのClinical Practiceにおいて臨床家が行う検査として抗リン脂質抗体、子宮奇形の検査、夫婦染色体検査、胎児染色体検査をあげている¹⁰⁾。保険医としては患者背景によって段階的に検査を行うことが必要ではないかと思う。研究的なものも網羅したいという希望の患者には自費診療でもやむを得ない。

不育症に関するLevel II以上の研究は限られており、特に抗リン脂質抗体の測定法の標準化が最も重要である。エビデンスの乏しい検査、治療を避け、Level II以上の研究によって原因と治療を探索することがこの領域の成績向上あるいは患者の負担軽減につながると考えられる。原因不明に対する確立された治療法がない現在、不育症の理解を深め、精神的支援を行っていくことが私たちにできる唯一のことかもしれない。

謝 辞

第63回日本産科婦人科学会学術講演会学術集会長星谷 吳教授、座長の労をおとりくださった木村 正教授、竹下 俊行教授に心から感謝いたします。

共同研究者

徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科教授

渥美達也 北海道大学大学院医学研究科准教授
 西田奈央 国立国際医療センター上級研究員
 堀田哲也 北海道大学大学院医学研究科助教
 藤田富雄 ふじたクリニック院長
 藤田太輔 大阪医科大学助教
 青木耕治 青木ウイメンズクリニック院長
 小澤伸晃 成育医療センター産婦人科医長
 村島温子 成育医療センター膠原病内科医長
 森下英理子 金沢大学医薬保健学域保健学類検査技術

学准教授

森下真司 順天堂大学膠原病内科准教授
 鈴森 薫 名古屋市立大学大学院医学研究科名誉教授
 中西 真 名古屋市立大学大学院医学研究科教授
 鈴木貞夫 名古屋市立大学大学院医学研究科教授
 尾崎康彦 名古屋市立大学大学院医学研究科准教授
 片野衣江 名古屋市立大学大学院医学研究科講師
 鈴森伸宏 名古屋市立大学大学院医学研究科准教授
 北折珠央 名古屋市立大学大学院医学研究科助教
 山田千里 名古屋市立大学大学院医学研究科技術員
 水谷栄太 名古屋市立大学大学院医学研究科大学院生
 吉浦孝一郎 長崎大学人類遺伝学教授
 原田直樹 三菱化学メディエンス株式会社先端技術研

究センター遺伝子分析研究部所長

文 献

- 1) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sato T, et al. Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril* 2004; 81: 367—373
- 2) Franssen MT, Korevaar JC, van der Veen F, et al. Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: index [corrected]-control study. *BMJ* 2006; 332: 759—763
- 3) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Kitaori T, et al. Midline uterine defect size correlated with miscarriage of euploid embryos in recurrent cases. *Fertil Steril* 2010; 93: 1983—1988
- 4) Ogasawara M, Aoki K, Okada S, et al. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 2000; 73: 300—304
- 5) Tsukishiro S, Li QY, Tanemura M, Sugiura-Ogasawara M, Suzumori K, Sonta SI. Paternal uniparental disomy of chromosome 14 and unique exchange of chromosome 7 in cases of spontaneous abortion. *J Hum Genet* 2005; 50: 112—117
- 6) Makino A, Nakanishi T, Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N, Suzumori K. No association of C677T methylenetetrahydrofolate reductase and an endothelial nitric oxide synthase polymorphism with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2004; 52: 60—66
- 7) Ogasawara MS, Aoki K, Katano K, Ozaki Y, Suzumori K. Factor XII but not protein C, protein S, antithrombin III or factor XIII as a predictor of recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2001; 75: 916—919
- 8) Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003; 361: 901—908
- 9) Inuma Y, Sugiura-Ogasawara M, Makino A, Ozaki Y, Suzumori N, Suzumori K. Coagulation factor XII activity, but not an associated common genetic polymorphism (46C/T), is linked to recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2001; 77: 353—356
- 10) Sotiropoulos A, Makrigiannakis A, Stefanos T, Paraskavidis E, Kalantaridou SN. Fibrinolytic defects and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 1146—1155
- 11) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Nakanishi T, Sato T, Suzumori N, Kumagai K. Occasional antiphospholipid antibody positive patients with recurrent pregnancy loss also merit aspirin therapy: A retrospective cohort-control study. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59: 235—241
- 12) Bolor H, Mori T, Nishiyama S, Ito Y, Hosoba E, Inagaki H, Kogo H, Ohye T, Tsutsumi M, Kato T, et al. Mutations of the SYCP3 gene in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Hum Genet* 2009; 84: 14—20
- 13) Mizutani E, Suzumori N, Ozaki Y, Oseto K, Yamada-Namikawa C, Nakanishi M, Sugiura-Ogasawara M. SYCP3 mutation may not be associated with recurrent miscarriage caused by aneuploidy. *Hum Reprod* 2011; 26: 1259—1266. Epub

- 2011 Feb 26
- 14) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Kitaori T, Suzumori N, Obayashi S, Suzuki S. Live birth rate according to maternal age and previous number of recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol* 2009; 62: 314—319
- 15) Kaandorp SP, Goddijn M, van der Post JAM, et al. Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. *N Engl J Med* 2010; 362: 1586—1596
- 16) Ata B, Tan SL, Shehata F, Holzer H, Buckett W. A systematic review of intravenous immunoglobulin for treatment of unexplained recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2011; 95: 1080—1085
- 17) Rajican-Separovic E, Diego-Alvarez D, Robinson WP, Tyson C, Qiao Y, Harvard C, Fawcett C, Kallousek D, Philipp T, Somerville MJ, Stephenson MD. Identification of copy number variants in miscarriages from couples with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2010; 25: 2913—2922
- 18) Branch DW, Gibson M, Silver RM. Recurrent Miscarriage. *N Engl J Med* 2010; 363: 1740—1747

Synopsis

We analyzed the pregnancy outcome using database including 2,900 pregnancies, background of patients and parameters. Patients with a history of 2~20 consecutive miscarriages or fetal losses visited Nagoya City University hospital wishing for examination of recurrent miscarriage from 1986 to 2010.

We found new findings as follows.

1. The prevalence of recurrent pregnancy loss was 4.2%. 38% of women with pregnancy history experienced at least one miscarriage.
2. The translocation in either partner was cause of recurrent miscarriage. However, 68% of couples with translocation could give live birth cumulatively.
3. Major congenital uterine anomaly was associated with recurrent miscarriage with normal embryonic karyotype.
4. Abnormal embryonic karyotype was the most frequent cause of recurrent miscarriage. Abnormal embryonic karyotype was predictor of subsequent live birth.
5. Not polymorphism of factor XII gene but reduced FXII activity was risk factor of recurrent miscarriage. Thrombophilia was speculated to be associated with intrauterine fetal death by not it's deficiency but autoantibodies.
6. The prevalence of antiphospholipid syndrome was only 4%. APS should be distinguished from occasional antiphospholipid antibodies because patients with APS needed the prevention of thrombosis in the future.
7. The SYCP3 gene mutation was not associated with recurrent miscarriage. Further study is needed because another gene might have the possibility to be associated with miscarriage caused by abnormal embryonic karyotype.
8. Patients with a history of miscarriage caused by abnormal embryonic karyotype tended to repeat miscarriage caused by abnormal embryonic karyotype.
9. There were no established treatment methods for unexplained recurrent miscarriage. The age and the number of previous miscarriage were independent risk factors for recurrent miscarriage. Patients with unexplained causes could give live birth without treatment. 85.5% of patients without uterine anomalies nor translocations could give live birth cumulatively.
10. The prevalence of patients who experienced 10 or more miscarriage was 0.83%.

母体の血液異常 抗リン脂質抗体症候群

杉浦 真弓

はじめに

名古屋市立大学が我が国で初めて行った岡崎コホート研究によれば、3回以上連続する習慣流産は0.9%、不育症は4.2%の頻度であり、38%が流産を経験していることが判明した。

不育症の原因は抗リン脂質抗体約10%、子宮奇形3.2%、夫婦染色体異常5.6%(9番逆位除く)、内分泌異常(糖尿病、甲状腺機能異常、多嚢胞性卵巣症候群)約10%である(図1)。免疫異常、血栓性疾患、遺伝子多型、精神的ストレスなどの関与が報告されているが、原因として確固としたものではない。

散発流産の約70%が胎児(胎芽)染色体数的異常が原因であることはよく知られているが、我々は2000年に反復流産患者の1,309妊娠について検討し、51%に胎児染色体数的異常がみられることを報告した²⁾。最近の比較ゲノムハイブリダイゼーション法による研究によれば、染色体微細欠失を含めた胎児染色体異常が散発流産の約80%に存在することがわかった。2回反復率64%、3回反復率51%である。既往流産3回の習慣流産集団において約51%が胎児染色体異常が原因であることが推測できる。胎児染色体検査を実施していない施設ではこれらの症例は原因不明に含まれる。真の原因不明は約20%と推定できる。

抗リン脂質抗体は染色体正常流産を予防可能という点で重要である。

すぎうら まゆみ
名古屋市立大学大学院医学研究科・産科婦人科
〒467-8601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1
E-mail address : og.mym@med.nagoya-cu.ac.jp

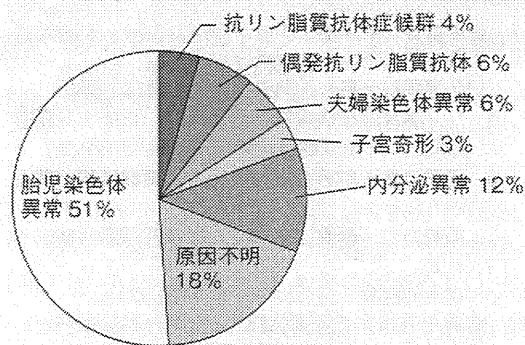


図1 名古屋市立大学の不育症患者1,676組の異常頻度

抗リン脂質抗体症候群の診断方法

1952年に血液中の凝固時間を延長させる物質 circulating anticoagulant として報告されたのが lupus anticoagulant (LA)の最初の報告と思われる。1975年にはこの物質と子宮内胎児死亡の関係が報告された。また、1981年には動脈血栓、子宮内胎児死亡を起こした症例のLAがIgGであることが証明された。1980年代には cardiolipin (CL)、phosphatidylglycerol、phosphatidylcholine、phosphatidic acid、phosphatidylinositol、phosphatidylethanolamine (PE)に対するIgG、IgA、IgMの測定が盛んに行われ、後に抗リン脂質抗体症候群 (antiphospholipid syndrome : APS)と呼ばれるようになった。

1990年に抗CL抗体の真の対応抗原はCLではなくβ2glycoprotein I(β2GPI)であることが判明した。その後、血漿中のリン脂質結合蛋白である prothrombin、high molecular weight kininogen (KN)、annexin V、protein C、protein Sなどが対応

表1 抗リン脂質抗体症候群診断基準(Miyakis, 2006)³⁾

臨床所見
1. 血栓症
2. 妊娠合併症
(a) 妊娠 10 週以降の胎児奇形のない 1 回以上の子 宮内胎児死亡
(b) 妊娠高血圧症もしくは胎盤機能不全による 1 回以上の妊娠 34 週以前の早産
(c) 妊娠 10 週未満の 3 回以上連続する原因不明習 慣流産
検査基準
1. 国際血栓止血学会のガイドラインにそった測定法 のループスアンチコアグラント (12 週間以上離れた別の機会でも 2 回以上陽性)
a: リン脂質依存性凝固時間(aPTT, カオリン凝固 時間, ラッセル蛇毒時間)の延長がみられる。
b: 正常血漿との混合試験によって凝固時間が補正 されない。
c: 過剰のリン脂質に中和されて凝固時間が補正さ れる。
d: ほかの凝固インヒビターが存在しない。
2. 標準化された ELISA 法による抗カルジオリピン 抗体 IgG あるいは IgM 陽性(中陽性以上=40 GPL or MPL 以上)
(12 週間以上離れた別の機会でも 2 回以上陽性)
3. 標準化された ELISA 法によるβ2GPI 依存性抗 CL 抗体 IgG あるいは IgM 陽性(99 パーセンタ イル以上)
臨床症状が 1 項目以上存在し、検査項目が 1 項目以 上存在する時抗リン脂質抗体症候群とする

抗原として報告されているが、現在もこれらを抗リン脂質抗体と呼んでいる。

2006 年に改定された APS 診断基準(表 1)によれば、①妊娠 10 週以降の胎児奇形のない 1 回以上の子宮内胎児死亡、②妊娠高血圧症候群もしくは胎盤機能不全による 1 回以上の妊娠 34 週以前の早産、③妊娠 10 週未満の 3 回以上連続する原因不明習慣流産を妊娠合併症としている³⁾。

反復流産、子宮内胎児発育遅延、子宮内胎児死亡、妊娠高血圧症候群、胎盤早期剝離、羊水過少などに抗リン脂質抗体陽性が疑われ、特に早期流産よりも子宮内胎児死亡との関連が強いと考えられている。

測定法には ELISA 法と凝固時間測定による LA 検出法があり、診断基準には中等量以上の抗カル

表2 我が国で可能な抗リン脂質抗体測定法

株式会社 SRL
抗カルジオリピンβ2 グリコプロテイン I 複合体抗体 (抗 CL-β2GPI 抗体)*
抗カルジオリピン抗体 IgG
抗カルジオリピン抗体 IgM
ループスアンチコアグラント(希釈ラッセル蛇毒時間 法)*
ループスアンチコアグラント(リン脂質中和法)
ループスアンチコアグラント(APTT 凝固時間法)
抗ホスファチジルエタノールアミン抗体
抗プロトロンビン抗体
株式会社 BML
抗カルジオリピンβ2 グリコプロテイン I 複合体抗体 (抗 CL-β2GPI 抗体)
抗カルジオリピン抗体 IgG
抗カルジオリピン抗体 IgM
ループスアンチコアグラント(希釈ラッセル蛇毒時間 法)
ループスアンチコアグラント(リン脂質中和法)
コスミックコーポレーション
ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体 (aPS/PT IgG)*

ジオリピン IgG, IgM(40 GPL, 40 MPL 以上), β2GPI 依存性抗 CL 抗体、LA が含まれており、12 週以上あけて陽性が持続することを条件とすることで疑陽性を除外している。

我が国において外注検査が可能な方法を表 2 に示すが、不育症における意義が確認されているものは*印で示したのだけである。2010 年 4 月にテキサス州 Galveston で行われた国際抗リン脂質学会では診断基準を満たすものを“古典的 APS”と表現して、診断を満たさない抗リン脂質抗体陽性症例が存在することを認めていた。内科領域では SLE 集団の中で抗リン脂質抗体陽性の場合の血栓症の有無について感度、特異度を調べるという手法が用いられる。不育症集団において検査の意義を調べるためには検査陽性・陰性の場合に次回妊娠における生児獲得率を比較する前方視的検討(陽性・陰性の比較もしくは陽性の場合抗凝固療法あり・なしの比較など)が必須である。①不育症患者の前方視的検討は時間がかかり、②一施設の患者数も少なく、③薬物投与しないことを患者が納得しづらく、それが内科領域に比較してエビデ

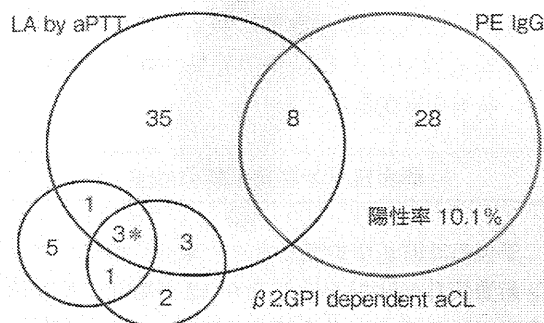
ンスが乏しい理由である。

我々は β 2GPI依存性抗CL抗体が開発された当初、妊婦1,125人の β 2GPI依存性抗CL抗体を妊娠初期に測定し、その後の妊娠帰結を調べる方法によってその意義を調べた⁹⁾。健康人の99 percentileである1.9を基準とした時、 β 2GPI依存性抗CL抗体は子宮内胎児死亡、子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群の危険因子であることを証明した。

また、研究室においてaPTT試薬を5倍希釈したLA(LA-aPTT)を確立し、無治療での次回流産率53.8%が抗凝固療法によって19.6%に改善できることを証明した⁵⁾。我々は現在、国際学会の診断基準にある3種類の抗リン脂質抗体(LA-RVVT、 β 2GPI依存性抗CL抗体、LA-aPTT)の測定を行っており、いずれか陽性率は約10.7%であるが、12週間後の再検査で陽性となり診断基準を満たすAPSは約4.5%だった。

抗リン脂質抗体はSLE患者に30~40%みつかることから、抗核抗体との関係がしばしば報告されてきた。我々は抗リン脂質抗体陰性の反復流産患者において抗核抗体の陽性率は健康妊婦よりも高頻度に検出されるが、次回妊娠において流産率は陽性・陰性例において有意差がないことを明らかにした⁶⁾。

抗PE抗体は国際学会の診断基準に含まれていないが、陽性率が高い(IgG、IgMあわせて20~35%)のためにしばしば行われ抗凝固療法が実施されてきた。我々は反復流産患者367人の凍結保存血清を用いて前方視的検討を行った。PE-IgGと従来法との関係を図2に示した。LA-aPTT法と共陽性8例を除いて、LA-RVVT、 β 2GPI依存性抗CL抗体とは全く独立した患者を検出することがわかった。従来法で陽性の症例は抗凝固療法を行ったため、無治療例について生児獲得率を検討したところ陽性・陰性に差は認めなかった⁷⁾。厚生労働省不育症班において抗PE抗体は35%と報告されたが、図1の不育症集団において抗PE抗体が35%を説明することはあり得ない。抗PE抗体は偽陽性が多いため、治療の際には「治療が必要な可能性」についても言及するべきである。また、「本物のAPS」を検出しない危険性もある。Grisら



LA by RVVT

図2 抗ホスファチジルエタノールアミン抗体と従来法の抗リン脂質抗体との関係

*One case had all kinds of aPLs

は抗PE-IgMがIUGRの危険因子であると報告しているが、測定系がわずかでも違ったり、測定者が変わるだけでも検出される患者は異なるほど抗リン脂質抗体の測定は精度が低い検査である。また、外注検査で推奨される測定法はLA-RVVT、 β 2GPI依存性抗CL抗体LA-aPTT希釈法である。

産科合併症における抗リン脂質抗体の測定法は未だ標準化されていない研究領域である。

抗リン脂質抗体陽性例の治療

APSに対する流産予防としては低用量アスピリンと未分画ヘパリンもしくは低分子ヘパリンによる抗凝固療法が標準的治療法と考えられ、生児獲得率は70~80%とされている^{8,9)}。拳児希望の時点からアスピリン(81 mgもしくは100 mg/日)を開始し、子宮内妊娠が確認できた時点から未分画ヘパリン(5,000iuを2回/日皮下注射)投与するのが一般的であり、我々もカプロシン[®]の自己注射を行ってきた。自己注射ができなかったり、自己注射による問題が発生した症例の経験はない。最近、プレフィルドのヘパリンカルシウムが発売されたが、自己注射が保険採用されれば患者にとって負担軽減になるであろう。

高濃度のヘパリンあるいは低分子ヘパリン(エノキサパリン、フラグミン)も成功率は同等と報告されている。しかし、APSに対する抗凝固療法に否定的な報告も存在する¹⁰⁾。Laskinら¹⁰⁾の報告

には抗核抗体、血栓性疾患も含まれており、また、抗体値も低いものも含んでおり、RCTではあるが、結果の信頼性は乏しい。

偶発抗リン脂質抗体の治療

学会の診断基準を満たさない場合、つまり抗リン脂質抗体が陽性を示したが12週間後に基準値を下回った場合、流産予防が必要かどうかを最近検討した¹⁰⁾。アスピリン単独投与群84.6%(44/52)では無治療50.0%(8/16)と比較して生児獲得率が高いことが判明した。ただしこの結果はLA-aPTT法を用いた場合に当てはまるが、ほかの測定系については個々に検証する必要がある。LA-aPTT法は簡単かつ過不足なく治療が可能な優れた検査方法である。

抗凝固療法の安全性

未分画ヘパリンも低分子ヘパリンも胎盤通過性がないため児の出血は問題ないが、アスピリンは胎盤を通過し、その血小板凝集能抑制は不可逆的であり、休業後もその効果は1~2週間持続するため妊娠36週0日に中止するようにしているが、実際には問題が起こることはないと報告されている。先天異常に関して、アスピリンは腹壁破裂の頻度が高くなる点以外に内服のない妊娠と変わらないと報告されている。ヘパリンの副作用としては出血傾向、血小板減少、骨粗鬆症が重要である。低分子ヘパリン、低分子量ヘパリノイド(オルガラン)は凝固第Xa因子のみに作用して凝固抑制するため比較的出血が少ないと考えられているが、オルガランが不育症に有効かどうかは未だ報告は少ない。

我が国では不育症患者の希望により、過剰な抗凝固療法が実施されている実態がある。我々はヘパリン惹起性血小板減少症を経験しており、救命はできたが重篤な合併症であったため、不必要な治療は慎むべきと考えている。国際学会の診断基準を満たす“本物の”APSに対する抗凝固療法は有用であり、保険採用されてもいいのではないかと

個人的には考えている。ちなみにLancetに10年ごとに総説を執筆しているReganら¹²⁾もAPSに対する抗凝固療法をエビデンスレベルIbで有効と示している。

文献

- 1) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Kitaori T, et al : Midline uterine defect size correlated with miscarriage of euploid embryos in recurrent cases. *Fertil Steril* **93** : 1983-1988, 2010
- 2) Ogasawara M, Aoki K, Okada S, et al : Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* **73** : 300-304, 2000
- 3) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al : International consensus statement of an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* **4** : 295-306, 2006
- 4) Katano K, Aoki K, Sasa H, et al : beta 2-Glycoprotein I-dependent anticardiolipin antibodies as a predictor of adverse pregnancy outcomes in healthy pregnant women. *Hum Reprod* **11** : 509-512, 1996
- 5) Ogasawara MS, Aoki K, Katano K, et al : Factor XII but not protein C, protein S, antithrombin III or factor XIII as a predictor of recurrent miscarriage. *Fertil Steril* **75** : 916-919, 2001
- 6) Ogasawara M, Aoki K, Kajura S, et al : Are antinuclear antibodies predictive of recurrent miscarriage? *Lancet* **347** : 1183-1184, 1996
- 7) Obayashi S, Ozaki Y, Sugi T, et al : Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be independent risk factors for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* (in press)
- 8) Rai R, Cohen H, Dave M, et al : Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). *BMJ* **314** : 253-257, 1997
- 9) Kutteh WH : Antiphospholipid antibodies-associated recurrent pregnancy loss : treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol* **174** : 1584-1589, 1996
- 10) Laskin CA, Spitzer KA, Clark CA, et al : Low molecular weight heparin and aspirin for recurrent pregnancy loss : results from the Randomized, controlled HepASA Trial. *J Rheumatol* **36** : 279-287, 2009
- 11) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Nakanishi T, et al : Occasional antiphospholipid antibody positive patients with recurrent pregnancy loss also merit aspirin therapy : A retrospective cohort-control study. *Am J Reprod Immunol* **59** : 235-241, 2008
- 12) Rai R, Regan L : Recurrent miscarriage. *Lancet* **363** : 601-611, 2006

染色体異常と不育症

杉浦真弓* 尾崎康彦* 片野衣江* 鈴森伸宏*

不育症の原因は夫婦染色体異常、子宮奇形、抗リン脂質抗体である。胎児染色体異常も51%を占め、真の原因不明は約20%と推定できる。染色体均衡型転座保因者に対する着床前診断の自然妊娠に対する優位性は立証されていない。胚スクリーニングも同様である。女性の加齢が最も大きな危険因子であるため、時間を無駄にしないことを遺伝カウンセリングで伝えること、社会に対する啓発も重要である。

はじめに

われわれが実施した疫学研究「岡崎コホート研究」によれば、一般集団における習慣流産頻度は0.9%、不育症は4.2%、妊娠したことがある女性の38%が流産を経験していることがわが国で初めて明らかとなった。

不育症の原因は抗リン脂質抗体約10%、子宮奇形3.2%の頻度でみられる(図1)。糖尿病、甲状腺機能異常、多嚢胞性卵巣症候群などの内分泌異常12%も原因として考えられる。生殖内分泌異常、免疫異常、血栓性疾患、遺伝子異常、精神的ストレスなどの関与が報告されているがまだ研究段階である。

夫婦染色体異常約6%が知られており、わが国でも2006年から均衡型転座に対する着床前診断が始まった。散發流産の約70%が胎児(胎芽を含む)染色体数異常によって起こることはよく知られていたが、不育症の集団にも胎児染色体異常を繰り返している症例が約51%存

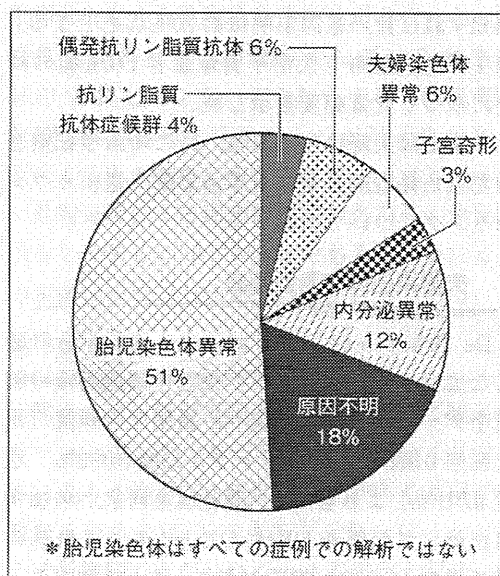


図1 名古屋市立大学の不育症患者1,676組の異常頻度

在することがわれわれの研究をきっかけに明らかになった。多くの研究施設でも胎児染色体検

* Mayumi Sugiura, Yasuhiko Ozaki, Kinue Katano, Nobuhiro Suzumori 名古屋市立大学大学院医学研究科産科婦人科学

表1 相互転座患者の妊娠成功率

	着床前診断				自然妊娠			
	Chun KL	Otani T	Feyereisen	Fischer J	Sugiura M	Stephenson M	Japan	Franssen MTM
患者数	43	29	35	192	47	20	46	157
年齢	31.5	32.7		34.0	29.1		31.0	
流産回数		3.4					3.1	
採卵	59	36	81	272				
流産	22	17		69				
分娩	14	17	5	60	15	13	29	131
出産率%	32.6	58.6	14.3	31.3	31.9	65.0	63.0	
/採卵%	23.7	47.2	6.2	22.1				
累積生児獲得率					68.1	90.0		83.0
					F & S	HR	JHG	BMJ

査は行われていないため、ほとんどの review で「不育症において半数以上が原因不明」と記載されている。しかし、胎児異常も原因として追究すれば真の原因不明は約 20%にとどまる。図 1 に名古屋市立大学不育症患者 1,676 組の検査に基づく異常頻度を示した。

本稿では夫婦染色体異常、特に均衡型転座と胎児染色体数異常、着床前診断、遺伝カウンセリングについて概説する。

1. 夫婦染色体均衡型転座

De Braekeleer らは 2 回以上の流産を経験した 22,199 組のカップルの染色体構造異常の頻度をデータベースから調べ、新生児の頻度（相互転座 0.085%、ロバートソン転座 0.092%、逆位 0.012%）よりも高く、既往流産回数が増加するに従って頻度も上昇することから、これらの構造異常が流産と関係することを示した¹⁾。一方、性染色体の数的異常は新生児にみられる頻度と差がなく、流産と関係がないものと考えられた。また、夫よりも妻の構造異常の頻度が高いことが判明した。

われわれは 1,284 組の反復流産夫婦の染色体を調べ、均衡型転座を持つ夫婦のその後の自然妊娠帰結を世界で初めて報告した (表 1)^{2)~4)}。

相互転座を持つ夫婦と染色体正常夫婦の診断後初回妊娠での生児獲得率は 31.9% (15/47) と 71.7% (849/1,184) であり、均衡型相互転座保因者の流産率が高いことが立証できた。累積生児獲得率は 68.1% であった。しかしその後のわが国の多施設共同研究の診断後初回生児獲得率は 63% であり³⁾、オランダのコホート研究でも累積生児獲得率 83% と高い成績を示した⁴⁾。

2. 均衡型転座を持つ習慣流産患者の着床前診断

Chun らは 43 人の均衡型相互転座保因者と 6 人の Robertson 型転座保因者の着床前診断を行い、相互転座保因者 14 人が生児獲得したと報告している (表 1)。この成功率 (32.6%) は筆者らが示した自然妊娠の成功率 (31.9%) と差がみられない。Otani らは採卵当たり 47% と高い成功率を示しているが、採卵できなかった患者を除外している。Feyereisen らは 14% の成功率を報告し、着床前診断の有効性は疑問であると結論している。現時点で転座が判明した患者が自然妊娠を選択した場合と着床前診断を選択した場合とどちらの生児獲得率が高いかを比較した研究は行われていない。PGD を推奨する研究者はしばしば、対照を設定せずに習慣流産患者が検査のために受診する以前の流産率 (原発

性習慣流産では100%)と次回の流産率を比較して「着床前診断によって成功率が改善できる」と言っているが、これは明らかな研究デザインの間違いである。このような研究デザインの間違いは不育症論文では古くから存在し、現在も散見されるため、若い研究者には論文リテラシーが求められる。

着床前診断は体外受精が前提なので1回当たりの妊娠率は女性の年齢に依存し、約10~30%であり、数回の体外受精+着床前診断を要する場合もある。成功率は年齢、過去の流産回数に依存して減少することが推察される。染色体均衡型相互転座の減数分裂において(正常である)交互分離がどの割合で起きるかは個々の症例で異なり、現時点では予測不可能である。しかし、均衡型転座と判明した直後の自然妊娠において30~60%の高い生児獲得率が得られるにもかかわらずすべての保因者に着床前診断を行うことは過剰治療であり、交互分離の割合を推測する方法を見つけることが今後の課題である。

なお、夫婦の染色体検査を行う場合、検査前に説明を十分行い、夫婦の希望があればどちらが転座保因者であるかを伝えない選択も提示する。日本産科婦人科学会は着床前診断に関する遺伝カウンセリングは臨床遺伝専門医が実施することを承認の条件としている。

3. 原因不明における胎児染色体数異常

散発流産の50~70%に胎児の染色体異常がみられるが、それは偶然起こることであって、習慣流産の原因ではないとして長い間「胎児染色体異常による流産」の存在は認識されなかった。反復流産患者の1,309妊娠について調べたところ、既往流産回数が増えるに従って流産率は高くなり、染色体異常率は有意に減少した(表2)⁵⁾。しかし、既往流産回数2~4回の集団では染色体異常流産は50%以上存在した。反復流産患者においても胎児染色体異常は重要な原因の一つであると思われた。ただし、胎児染色体異常がみられたときの次回妊娠の成功率は胎児染色体正常であったときよりも有意に高率で

表2

過去の流産回数	流産率	染色体異常率
2	23.2 (105/452)	63.6 (35/55)
3	32.4 (149/460)	59.0 (46/78)
4	37.0 (71/192)	55.3 (21/38)
5	48.7 (38/78)	38.9 (7/18)
6	64.1 (25/39)	28.6 (4/14)
7	66.7 (16/24)	50.0 (4/8)
8	70.6 (12/17)	0 (0/7)
9	78.6 (11/14)	28.6 (2/7)
10 or more	93.9 (31/33)	11.0 (1/9)

あった(62% vs 38%, オッズ比2.6)。

平均年齢30歳の患者の散発流産(1回の流産)における胎児染色体数異常は70%にみられる。最近の比較ゲノムハイブリダイゼーション法を用いた研究によれば流産の80%に染色体微細欠失を含む胎児染色体異常がみられた。胎児染色体異常をn回繰り返している確率は(0.8)ⁿと推定できる。すなわち平均3回流産歴を持つ習慣流産集団の約51%は胎児染色体異常によるものと考えられる。

胎児異常による流産は前述のとおり、生児獲得もしやすく、「いい結果」であることを伝えるのが遺伝カウンセリングのポイントである。

4. 胚スクリーニング

欧米では、原因不明習慣流産に対して胚スクリーニングが行われている。Platteauら⁶⁾の報告によると過去に4,46回流産歴のある原因不明習慣流産患者25人に着床前診断を行ったところ妊娠継続できたのはたったの25%だった。われわれの検討では過去5回流産歴のある患者の51%が次回自然妊娠で出産できており、Platteauら⁶⁾も胚スクリーニングの有効性は認められないと述べている。

女性の加齢とともに受精卵の染色体異常率は上昇するため反復体外受精失敗例あるいは高齢女性は胚スクリーニングを行うことで妊娠率が

向上すると推測できる。しかし、出産成功率という患者にとって最も大切な結果を調査した比較試験は非常に少ない。体外受精を行っている高齢不妊女性に、胚スクリーニングを施行・非施行群を無作為割付して成功率を比較した場合、着床前診断を行った群の出産成功率のほうが低い結果であった⁷⁾。ヨーロッパヒト生殖医学会も「有効性がないまま着床前スクリーニングが広まってしまったことがIVFの問題点である」と、コメントしている。

5. 着床前診断の現状

1990年、Handysideらが最初の着床前診断を報告し、2005年には日本でも着床前診断PGDが始まった。これは体外受精後の受精卵が8~16分割した頃に1~2割球を生検して、「非罹患胚」と診断された受精卵を子宮内に胚移植する技術である。遺伝子疾患を回避する目的で行う場合と、不妊症・習慣流産において生児獲得のために行う胚スクリーニングとがあり、胚スクリーニングが年々増加している。

ヨーロッパヒト生殖学会ESHRE PGD consortiumの集計によれば、2008年までに27,630周期の診断が実施され、4,047人の児が出生した。

この技術には、①受精卵を操作廃棄することに対する生命倫理的問題、②障害を持つ人々からの優性思想であるとの批判、③自然妊娠が可能な人に対して体外受精を行う、といった問題があると考えられる。出生前診断や生殖医療技術については技術が先行して倫理的議論があまりされないまま実施された背景がある。日本産科婦人科学会はこのような批判を考慮して1998年に「着床前診断に関する見解」を作成し、重篤な遺伝性疾患に限って申請された症例ごとに審査して認可することを定めた。現時点で均衡型転座による習慣流産、筋ジストロフィーなど約200例が承認されている。

着床前診断に関する諸外国の規制のあり方は多様である。米国、韓国にはまったく規制がない。イギリスは体外受精と着床前診断はヒトの受精および胚研究認可庁により規制され、対象

疾患に限られている。スウェーデンでは社会省指針によって重篤な進行性遺伝的疾患の診断であるときに認められる。オーストリア、スイス、ドイツは事実上法律によって禁止されてきたが、2010年からドイツでは実施され始めた。

6. 原因不明不育症に対するカウンセリング

片親性ダイソミー、メチル化異常などのエピゲノム異常も流産に関与していることが報告されている。習慣流産には胎児先天異常によるものがわれわれの想像よりもはるかに多く起っていると考えられる。

2009年に染色体不分離に関与する遺伝子SYCP3の変異が習慣流産患者26人中2人に見つかった⁹⁾。世界で初めての習慣流産遺伝子として新聞報道もされたが、もし事実であれば、偶然ではなく必然的に胎児染色体異常流産を起こしていることを示唆しており、7.7% (2/26) が関与するとすれば不育症における転座、子宮奇形の原因よりも大きな割合を占めることになる。われわれはSYCP3遺伝子変異について追試を行った⁹⁾。患者101例と出産歴のある対照82例についてエクソン7-9とイントロンの配列を調べたところ両者に1例ずつ同じ変異が見つかったが、患者の過去の絨毛は46,XX, 46,XYであり、SYCP3変異は胎児染色体異常を起こす遺伝子であるというヒトでの証明はできなかった。

生殖内分泌異常、免疫異常、血栓性疾患、遺伝子異常、精神的ストレスなどの関与が報告されているがまだ研究段階である。Protein C, Sの関与が報告されており、LancetのメタアナリシスによればPS欠乏症と子宮内胎児死亡は関係しそうである¹⁰⁾。われわれの報告でも反復初期流産とPS, PC, ATは関係しないことが明らかであった(図2)¹¹⁾。この結果の差は抗リン脂質抗体の測定項目によると考える。わが国の外注検査の中で産科的有用性が証明されているのは β 2 glycoprotein I依存性抗カルジオリピン抗体とRussel's viper venom timeを用いたLupus anticoagulant (LA)のみである。われ

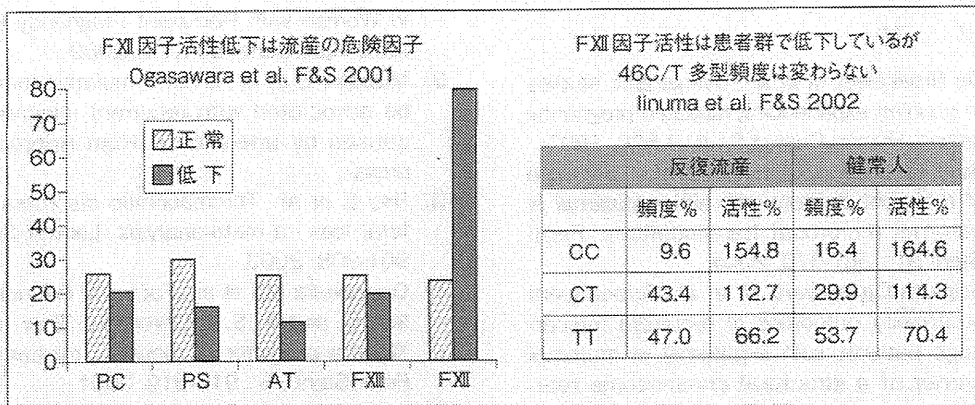


図2 凝固第Ⅻ因子活性と遺伝子多型の関与

われらの経験では抗カルジオリピン抗体は低抗体価のときには流産を起さなかった。われわれはaPTT 試薬を用いたLA を行っており、PS 低下には抗リン脂質抗体が関与しているため、aPTT-LA を測定していれば抗リン脂質抗体陰性かつPS 活性低下症例は治療の必要がない。抗フスファチジルエタノールアミン抗体は偽陽性が多く、本物の抗リン脂質抗体症候群を検出できない問題がある。抗リン脂質抗体は治療のメリットが明確だが、検査方法が標準化されていない点が不育症診療の問題点である。研究施設には過不足なく治療するための抗リン脂質抗体測定法の工夫が求められる。

凝固第Ⅻ欠乏症も不育症との関係が報告されている。Ⅻ因子活性は遺伝子多型が関与しており、日本人は低いことが知られている。われわれは患者と健常人の遺伝子多型を調べたが、多型頻度の差はなく、Ⅻ因子活性のみが低下していることを明らかにした(図2)¹²⁾。最近のメタアナリシスでも同様の結論が述べられており、PS、Ⅻ活性低下は抗リン脂質抗体を介して不育症に関与すると考えている。いずれの研究も胎児異常と真の原因不明を区別していないが、今後の不育症研究において真の原因不明を対象とすることが必要になってくるであろう。

原因不明不育症には必ずしも薬剤投与の必要性はなく、一定の確率で成功できる。胎児異常が51%を占めており、16トリソミーに対して薬

物投与をしても有効なはずはない。当院の検討で、2回流産なら76% (444/582)、3回70% (83/118)、4回79% (19/24)、5回50% (3/6)の成功率が得られた(論文未発表)。また、次回生児獲得率pはlogit (ps) = 3.964 - 0.0652 × (年齢) - 0.408 × (既往流産回数)の計算式で推定できる¹³⁾。

臨床家の多くは流産の患者に対して治療をしないことが憚られ、低用量アスピリン、アスピリン・ヘパリン療法を行っている現状があるが、原因不明習慣流産に対し無作為割り付け試験を行い、これらの治療の有効性がないことが証明された¹⁴⁾。ステロイド、イムノグロブリンなども生児獲得に関する確証の得られていない治療であり、薬物投与なしに対して成功率が上昇していないことを説明する必要がある。保険適用外診療のため患者自己負担であり、倫理委員会の承認と同意書が必要である。

患者らは流産を繰り返すと生涯子どもに恵まれないのか、と絶望的に思うようだが、われわれの検討とオランダの報告から不育症夫婦の約85%が出産に至っていることもわかっている⁴⁾¹⁵⁾。患者の中には流産のショックのために避妊するものも少なくないが、「女性の加齢は流産の危険因子なので避妊している時間はもったいなく、出産の可能性が十分高い」ことを説明し、励まし続ける精神的支援が原因不明不育症の唯一の治療なのかもしれない。

文献

- 1) De Braekeleer M et al : Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Human Reprod* 5 : 519-528, 1990
- 2) Sugiura-Ogasawara M et al : Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril* 81 : 367-373, 2004
- 3) Sugiura-Ogasawara M et al : 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
- 4) Franssen MTM et al : Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages : case-control study. *BMJ* 332 : 759-762, 2006
- 5) Ogasawara M et al : Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 73 : 300-304, 2000
- 6) Platteau P et al : Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in patients with unexplained recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 83 : 393-397, 2005
- 7) Mastenbroek S et al : In vitro fertilization with preimplantation genetic screen. *N Engl J Med* 357 : 9-17, 2007
- 8) Bolor H et al : Mutations of the SYCP3 Gene in Women with Recurrent Pregnancy Loss. *Am J Hum Genet* 84 : 1-7, 2009
- 9) Mizutani E et al : SYCP3 mutation may not be associated with recurrent miscarriage caused by aneuploidy. *Hum Reprod* (in press)
- 10) Rey E et al : Thrombophilic disorders and fetal loss : a meta-analysis. *Lancet* 361 : 901-908, 2003
- 11) Ogasawara MS et al : Factor XII but not protein C, protein S, antithrombin III or factor XIII as a predictor of recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 75 : 916-919, 2001
- 12) Inuma Y et al : Coagulation factor XII activity, but not an associated common genetic polymorphism (46C/T), is linked to recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 77 : 353-356, 2001
- 13) Sugiura-Ogasawara M et al : Live birth rate according to maternal age and previous number of recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol* 62 : 314-319, 2009
- 14) Kaandorp SP et al : Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. *N Engl J Med* 362 : 1586-1596, 2010
- 15) Sugiura-Ogasawara M et al : Midline uterine defect size correlated with miscarriage of euploid embryos in recurrent cases. *Fertil Steril* 93 : 1983-1988, 2010