

抗リン脂質抗体の測定法

国際学会診断基準には中等量以上の抗カルジオリピン IgG, IgM(SRL社では18IU以上), β 2GPI 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ます。

対応抗原が多様なため多数の測定法がありますが, 「陽性だと流産する」ことが確認されている検査は限られます。抗カルジオリピン抗体の検査会社の基準値は10IU以上ですが, 私たちはこの検査で弱陽性の場合, 無治療でも流産しないことを確認しました(論文未発表)。日本では陽性率が高い検査が好まれますが, 陽性率が高ければ偽陽性も多く, 不要なヘパリン療法を実施して肉体的, 経済的負担を患者に強いること

になります。

私たちは aPTT 試薬を 5 倍希釈し, 標準血漿と混合試験を行う LA (aPTT-LA 杉浦法) 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ました⁷⁾。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, aPTT-LA 杉浦法) の測定を行っており, 約 10.7% がいずれかの検査が陽性ですが, 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% でした。委託検査法では aPTT 希釈法が杉浦法とほぼ同じ患者を検出することを確認しています。

抗リン脂質抗体は SLE 患者の 30% にみられることから不育症においても抗核抗体がしばしば測定されますが, 抗リン脂質抗体陰性で抗核

抗体だけが陽性の症例は, 陰性の場合と生児獲得率の差はなく, 治療の必要はありません⁸⁾。

抗 PE 抗体は国際学会の診断基準に含まれていませんが, 日本では陽性率が高い (IgG, M あわせて 20 ~ 35%) ためにしばしば測定され, 抗凝固療法が実施されています。私たちの検討では偽陽性が多く, 本物の APS を検出しないことが判明しました⁹⁾。治療の際には「過剰な治療をしている可能性」についても言及すべきです。

産科合併症における抗リン脂質抗体の測定法ははまだ標準化されていない研究領域です。委託検査をする場合, LA-RVVT, β 2GPI 依存性抗 CL 抗体, LA-aPTT 希釈法をお勧めします。これらは国際基準に含まれ, 保険採用もされています。

抗リン脂質抗体症候群の治療

抗リン脂質抗体が 12 週間持続する症例に対する流死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であり, 生児獲得率は 70 ~ 80% です^{10) 11)}。基礎体温を記録し, 高温 14 ~ 15 日に妊娠の自己判定をし, アスピリン内服 (81mg もしくは 100mg/日) とカプロシン[®] (5000IU を 2 回/日 皮下注射) 自己注射を行います (図 4)。診断基準をみたく抗リン

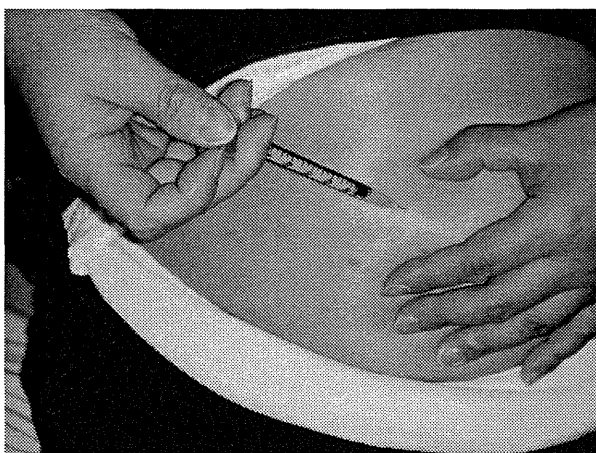


図 4 抗リン脂質抗体症候群の治療
低用量アスピリン+ヘパリン

脂質抗体症候群では2012年1月から保険採用となりました。

LA-RVVT, β 2GPI 依存性抗 CL 抗体, LA-aPTT 希釈法の複数の抗体が強陽性で持続する症例は「本物」の APS であり, 将来的に若年性脳梗塞, 心筋梗塞, 肺梗塞を起こす可能性があり, 分娩後の血栓予防を膠原病内科に依頼する必要があります。

抗リン脂質抗体が陽性を示したが12週間後に陰性となった場合(偶発抗リン脂質抗体), アスピリン単独投与群 84.6% (44/52) では

無治療群 50.0% (8/16) と比較して生児獲得率が高いことを確認しました¹⁰⁾。胎児染色体異常を除くと95.7%であり, 偶発例も治療を考慮します。ただし, LA-RVVT, β 2GPI 依存性抗 CL 抗体, LA-aPTT 希釈法を組み合わせた検査以外では治療の有効性はわかりません。

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, 効果は1~2週間持続するため妊娠36週0日に中止しますが, 出血による問題は臨床的にはあまり心配ありません。先天異常に関して,

腹壁破裂の頻度が上昇すると報告されています。

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ありませんが, 母体の出血傾向, 血小板減少, 骨粗鬆症が重要です。日本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ります。私たちはヘパリン惹起性血小板減少症 (HIT) を起こした本物の APS を経験しており, 不必要な治療は慎むべきと考えています。

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22199組のカップルの染色体異常の頻度をデータベースから調べ, 死産における染色体構造異常の頻度は新生児における頻度(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したが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ました¹¹⁾。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, 流産と関係ありませんでした。また, 夫よりも妻の構造異常の頻度が高いこともわかりました。

私たちは1284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はじめて報告しました¹²⁾。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) とそれぞれ71.7% (849/1184) であり, 均衡型相互転座保因者の流産率が高いことがわかりました。累積生児獲得率は68.1%でした。

その後の日本の多施設共同研究の診断後初回生児獲得率は63%であり¹³⁾, オランダのコホート研究でも累積生児獲得率83%と高い成績でした(表3)。

日本でも流産予防を目的とした着床前診断が始まりました。体外受精によって得られた受精卵の割球を採取して診断し, 均衡型の受精卵のみ

を胚移植して流産を防止する技術です。現在出産成功率を明記している報告は4つあり, 採卵あたりの成功率は23.7%, 47.2%, 6.2%, 22.1%でした。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の報告はありません。着床前診断は体外受精が前提なので1回あたりの妊娠率は女性の年齢に依存し, 約10~30%です。成功率は年齢, 過去の流産回数に依存して減少します。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(正常な配偶子)の割合を推測する方法をみつけるこ

表3 相互転座患者の妊娠成功率¹⁴⁾

	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 (人)	43	29	35	192	47	20	46	157
年齢 (歳)	31.5	32.7		34.0	29.1		31.0	
流産回数 (回)		3.4					3.1	
採卵 (件)	59	36	81	272				
流産 (件)	22	17		69				
分娩 (件)	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
掲載誌					F&S	HR	JHG	BMJ



図5 「着床前診断に反対するシンポジウム」風景

表4 着床前診断に関する見解

- ① 本法はきわめて高度な技術を要する医療行為であり、臨床研究として行われる。
- ② 本法の実施者は、生殖医学に関する高度の知識・技術を習得した医師であり、かつ遺伝性疾患に対して深い知識と出生前診断の豊かな経験を有していることを必要とする。
- ③ 本法を実施する医療機関は、すでに体外受精・胚移植による分娩例を有し、かつ出生前診断に関して実績を有することを必要とする。また、遺伝子診断の技術に関する業績を有することを要する。
- ④ 本法は重篤な遺伝性疾患に限り適用される。適応となる疾患は日本産婦人科学会において申請された疾患ごとに審議される。なお、重篤な遺伝性疾患を診断する以外の目的に本法を使用してはならない。

とが今後の課題です。

着床前診断

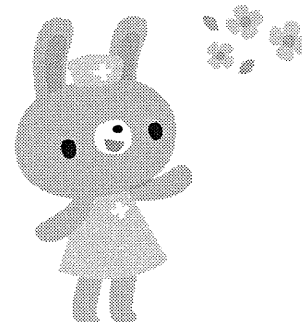
着床前診断には、

- 罹患胚を廃棄することは生命の選別である。
- 優生思想につながる。
- 体外受精の合併症を伴う。

という倫理的問題があり、反対する

マイノリティの存在を明記しておきます (図5)。

日本産科婦人科学会は着床前診断に関する見解を示し、重篤な遺伝性疾患について実施し、各症例を審議して承認する規則を作成しました (表4)。また、臨床遺伝専門医が遺伝カウンセリングを行うことが承認の条件です。



子宮奇形

子宮奇形のスクリーニングとして子宮卵管造影法と超音波検査を行い、MRI・子宮鏡・腹腔鏡を組み合わせで確定診断します。

当院の1676例の反復流産患者の検討で単角単頸子宮、重複子宮、双角子宮、中隔子宮の大奇形は3.2%にみられました。子宮奇形をもつ患者と正常子宮を持つ患者の非手術診断後初回妊娠成功率はそれぞれ

59.5% (25/42), 71.7% (1096/1528, $p=0.084$), 累積成功率は78%, 85.5%であり、子宮奇形を持つ患者の成功率が低い傾向にありました。

胎児染色体異常率は15.4% (2/13), 57.5% (134/233, $p=0.006$)であり、子宮奇形を持つ患者は胎児染色体正常流産を起こすことがわかりました¹⁵⁾ (表5)。また、子宮奇形を持つ患者において欠損が大き

いほど有意に流産率が増加しました ($p=0.006$)。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行われていますが、手術を施行しなくても生児獲得しており、手術例・非手術例の生児獲得率を比較した報告はなく、慎重な説明が必要です。

表5 子宮奇形を持つ患者の非手術生児獲得率¹⁵⁾

	生児獲得率			累積生児獲得率		
	子宮奇形 (n=42)	正常子宮 (n=1528)	P	子宮奇形 (n=41)*	正常子宮 (n=1528)	P
1st	25/42 (59.5%)	1096/1528 (71.7%)	0.084	25 (61.0%)	1096 (71.7%)	0.133
2nd	5/9 (55.6%)	166/275 (60.4%)	0.772	30 (73.2%)	1262 (82.6%)	0.119
3rd	2/2 (100%)	38/69 (55.0%)	0.207	32 (78.0%)	1300 (85.1%)	0.215
4th		4/18 (22.2%)			1304 (85.3%)	
5th		3/9 (33.3%)			1307 (85.5%)	
6th		0/6 (0%)			1307 (85.5%)	
Final follow up				32 (78.0%)	1307 (85.5%)	

*流産後に1例は手術を実施。

胎児染色体数的異常流産

散発流産の50~70%に胎児染色体異常がみられますが、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”の存在は認識されませんでした。反復流産患者の

1309例の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ました (表6)。しかし、既往流産回数2~4回の集団では染色体異常流産率は50%以上で

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です。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した (62% vs 38%, オッズ比 2.6)。

平均年齢31歳の患者の散発性流産（1回の流産）における胎児染色体数異常は76%でした。比較ゲノムハイブリダイゼーション法（CGH法）を用いると流産の80%に染色体微細欠失を含む胎児染色体異常が見つかることが報告されています。胎児染色体異常をn回繰り返している確率は(0.8)ⁿと推定されます。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と考えられます。

胎児染色体数異常に対する着床前スクリーニングも欧米では広く行われています。しかし、生児獲得に関する有効性はまったく示されておらず、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

表6 既往流産回数別流産率³⁾

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 (21/38)
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以上	93.9 (31/33)	11.0 (1/9)

ニングが広まってしまったことがIVFの問題点である」と、コメントしています。

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す。

ここに
注目!

声のかけ方

不育症の半数は胎児染色体異常によって起こります。16番トリソミーのお子さんは妊娠7週が寿命です。「寿命いっぱい育ててあげた」と思うと「流産」が変わるかもしれません。

胎児に関連する遺伝学的要因

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ます。ヒトの染色体は両親から由来しますが、相同染色体の両方が片親から由来した片親性ダイソミー（UPD）に先天異常や流産が起こることが知られています。

絨毛染色体正常の81症例についてマイクロサテライト多型解析を行って両親の由来を調べたところ、7番染色体と14番染色体のUPD2

症例を見つけました¹⁶⁾。習慣流産には胎児先天異常によるものが私たちの想像よりもはるかに多く起こっているのでしょう。

2009年に染色体不分離に関与する遺伝子SYCP3変異が習慣流産患者26人中2人にみつけられました¹⁷⁾。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) が関与するとな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りました。私たちはSYCP3遺伝子変異について追試を行いました¹⁸⁾。

患者101例と出産歴のある対照82例についてエクソン7～8のシーケンスを行ったところ両者に1例ずつ変異が見つかったが、その患者の過去2回の絨毛は46, XY, 46, XYであり、SYCP3変異は胎児染色体異常を起こす遺伝子ではないことが明らかになりました。

内分泌異常

糖尿病，甲状腺機能低下症，多のう胞性卵巣症候群が関与しています。糖尿病，甲状腺機能低下症が不育症の原因かどうかは研究が限られますが，これらを認めた場合，内分泌学的治療が必要です。

国際基準によれば不育症患者の約6%に多のう胞性卵巣症候群を認めました。メトフォルミン療法の有効性が報告されていますが，確立された治療とまではいえません。多のう胞性卵巣症候群では甲状腺機能低下

を起こす症例があり，共通の原因が存在するのかもしれませんが。

流産に対する黄体ホルモン補充，hCG投与が頻用されていますが，習慣流産に有効かどうかははまだ確証に至っていません。

血栓性疾患

Protein C, S 欠乏症は血栓を起こすことが知られており，これら血栓性疾患と不育症の関与の報告が散見され，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す¹⁹⁾。私たちの報告でも初期流産と PS, PC, AT は関係しませんでした (図6)。胎盤形成後の子宮内胎児死亡と早期流産は発症機序が異なり，それらを区

別した研究は限られています。また，PC, PS, XII 因子は抗リン脂質抗体症候群において低下することが知られており，aPTT-LA 陰性かつ PS 低下初期流産例は治療の必要がありません。

凝固第 XII 因子の低下も不育症との関係が報告されています。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

ます。私たちは患者と健常人の遺伝子多型を調べましたが，多型頻度の差はなく，患者では XII 因子活性のみが低下していることがわかりました (表7)。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ます。

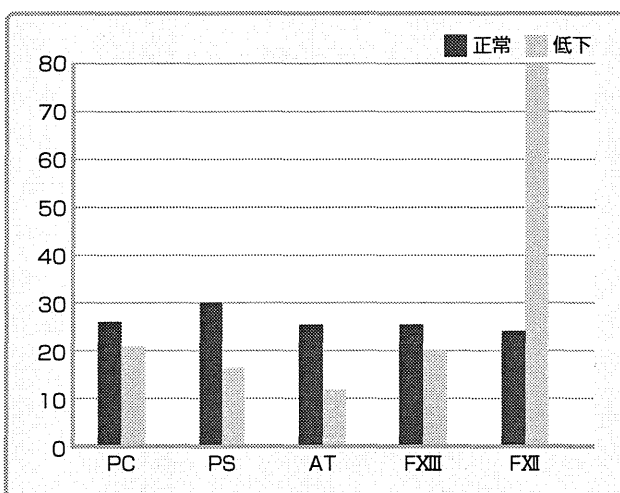


図6 凝固第XII因子活性と遺伝子多型の関与⁷⁾
XII因子活性低下は流産の危険因子

表7 凝固第XII因子活性と遺伝子多型の関与²⁰⁾

	反復流産		健常人	
	頻度 (%)	活性 (%)	頻度 (%)	活性 (%)
CC	9.6	154.8	16.4	164.6
CT	43.4	112.7	29.9	114.3
TT	47	66.2	53.7	70.4

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。

おわりに

不育症において約半数が原因不明とされていますが、絨毛検査を行えば真の原因不明は約20%です。しかし絨毛検査が実施されている症例は限られており、約70%が原因不明になってしまいます。

原因不明不育症には確立された治療法はなく、一定の確率で成功できます。16トリソミーに対して薬物投与をしても有効なはずはありません。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)の無治療成功率でした(論文未発表)。また、次回生児獲得率 p は、下記の計算式で推定できます²¹⁾。

$$\text{logit}(ps) = 3.964 - 0.0652 \times (\text{年齢}) - 0.408 \times (\text{既往流産回数})$$

夫リンパ球免疫療法, ピシバニール療法, アスピリン療法, ステロイド療法などは私たちが先進して実施した治療法ですが、薬物投与なし群と比較して生児獲得率の差はありませんでした。

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はばかられ、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のが現状ですが、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ました²²⁾。

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、と絶望的になりますが、私たちの検討とオランダの報告から不育症夫婦の85%が

ここに
注目!

85%が出産へ

不育症夫婦の85%が最終的に出産に至っているという研究報告があります。伝えることで気が楽になってもらえるかもしれません。

流産をくりかえす人の

85%が

無事に出産までたどりつきます。

40%の女性が生涯に流産を経験します。妊娠しても流産や死産をくりかえしてしまう場合、それは「不育症」です。原因は人それぞれですが、検査と治療によって85%もの不育症患者が、出産にたどりつくことがわかっています。あきらめる前に検査と治療を受けましょう。

厚生労働省不育症研究班

図7 不育症啓発のためのポスター

最終的に出産に至っていることも分かっています^{14, 15)}。患者と社会への啓発も重要です(図7)。

岡崎コホート研究では流産患者の離婚率が高いこともわかりました⁴⁾。患者のなかには流産のショックのために避妊する方も少なくない

ですが、「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、出産の可能性が充分高い」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かもしれません。

文献

- 1) Klebanoff MA, Shiono PH, Rhoads GG: Outcomes of pregnancy in a national sample of resident physicians. *N Engl J Med*, 323: 1040-1045, 1990.
- 2) Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, et al: Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ*, 320: 1708-1712, 2000
- 3) 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.
- 4) Sugiura-Ogasawara M, Suzuki S, Ozaki Y, et al: Frequency of recurrent miscarriage and its influence on further marital relationship and illness: The Okazaki Cohort Study in Japan. submitted.
- 5) Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ: Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med*, 345: 1400-1408, 2001.
- 6) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al: International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*, 4: 295-306, 2006.
- 7) Ogasawara MS, Aoki K, Katano K, et al: Factor XII but not protein C, protein S, antithrombin III or factor XIII is a predictor of recurrent miscarriage. *Fertil Steril*, 75: 916-919, 2001.
- 8) Ogasawara M, Aoki K, Kajiura S, et al: Are antinuclear antibodies predictive of recurrent miscarriage? *Lancet*, 347: 1183-1184, 1996.
- 9) Obayashi S, Ozaki Y, Sugi T, et al: Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol*, 85: 186-192, 2010.
- 10) 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
- 11) De Braekeleer M, Dao TN: Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Human Reprod*, 5: 519-528, 1990.
- 12) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sato T, et al: Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril*, 81: 367-373, 2004.
- 13) Sugiura-Ogasawara M, Aoki K, Fujii T, 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.
- 14) Franssers MTM, 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*, 332: 759-763, 2006.
- 15) 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.
- 16) Tsukishiro S, Li QY, Tanemura M, et al: Paternal uniparental disomy of chromosome 14 and unique exchange of chromosome 7 in cases of spontaneous abortion. *J Hum Genet*, 50: 112-117, 2005.
- 17) Bolor H, Mori T, Nishiyama S, et al: Mutations of the SYCP3 gene in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Hum Genet*, 84: 14-20, 2009.
- 18) Mizutani E, Suzumori N, Ozaki Y, et al: SYCP3 mutation may not be associated with recurrent miscarriage caused by aneuploidy. *Hum Reprod*, 26: 1259-1266, 2011.
- 19) Rey E, Kahn SR, David M, et al: Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*, 361: 901-908, 2003.
- 20) Iinuma Y, Sugiura-Ogasawara M, Makino A, et al: Coagulation factor XII activity, but not an associated common genetic polymorphism (46C/T), is linked to recurrent miscarriage. *Fertil Steril*, 77: 353-356, 2002.
- 21) Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Kitaori T, et al: Live birth rate according to maternal age and previous number of recurrent miscarriages. *Am J Reprod Immunol*, 62: 314-319, 2009.
- 22) Kaandorp SP, Goddijn M, van der Post JA, et al: Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. *N Engl J Med*, 362: 1586-1596, 2010.

Profile

杉浦真弓 (すぎうら まゆみ)

名古屋市立大学大学院 医学研究科 産科婦人科学 教授

1985年 名古屋市立大学医学部卒業。国立浜松病院産婦人科勤務、名古屋市立緑市民病院産婦人科勤務などを経て、2006年1月より現職。生殖医学、とくに習慣流産(不育症)のエビデンスが専門。

北折珠央 (きたおり たまお)

名古屋市立大学大学院 医学研究科 産科婦人科学 助教

2001年 名古屋市立大学医学部卒業、2006年同大学大学院卒業を経て、2007年より現職。医学博士。専門は不育症、周産期。

尾崎康彦 (おざき やすひこ)

名古屋市立大学大学院 医学研究科 産科婦人科学 准教授

1986年 杏林大学医学部 医学科卒業。同年名古屋市立大学 産科婦人科教室入局。名古屋市立城西病院、名古屋市立大学生化学生物学教室、スウェーデン・イエテボリ大学周産期センターを経て2010年より現職。主に不育症を中心に生殖医学とプロテオームの関連を研究。またヒト補助生殖技術の稀少動物繁殖計画への応用を試みている。

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回反復確率64%、3回反復確率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。

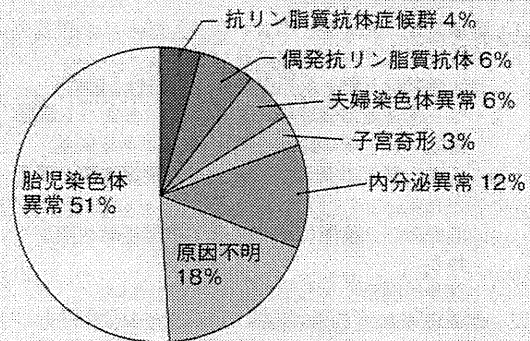


図1 名古屋市立大学の不育症患者1,676組の異常頻度

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 β 2glycoprotein I (β 2GPI) 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

すぎうち 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

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 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 2 回以上陽性)
3. 標準化された ELISA 法による β 2GPI 依存性抗 CL 抗体 IgG あるいは IgM 陽性 (99 パーセントイル以上)
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 β 2 グリコプロテイン I 複合体抗体 (抗 CL- β 2GPI 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 β 2 グリコプロテイン I 複合体抗体 (抗 CL- β 2GPI 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), β 2GPI 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*印で示したものだけである。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

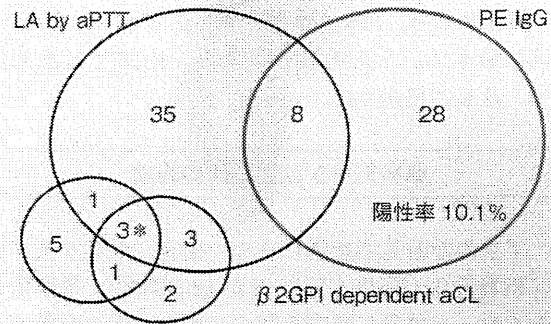
ンスが乏しい理由である。

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、その後の妊娠婦結を調べる方法によってその意義を調べた⁴⁾。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% 見つかることから、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%) 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 IUPD 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¹¹⁾。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、低分子量ヘパリンノイド(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, Kajiura 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* **368** : 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%の頻度で見られる(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。散発流産の約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

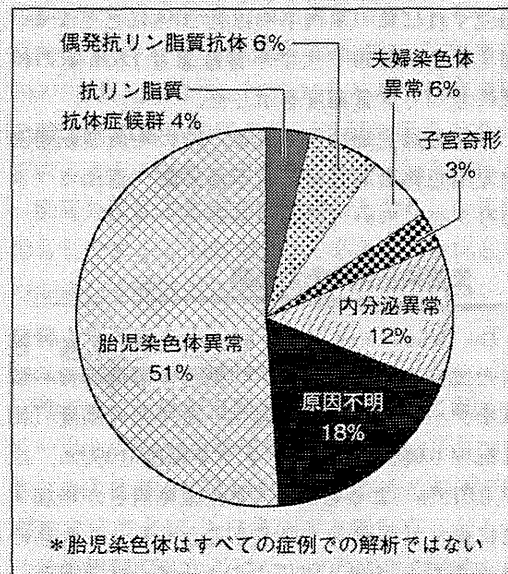


図1 名古屋市立大学の不育症患者1,676組の異常頻度

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違いである。このような研究デザインの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的異常

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的異常は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障害を持つ人たち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

疾患が限られている。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. 原因不明不妊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こ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⁸⁾。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) が関与するとなれば不妊症における転座、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

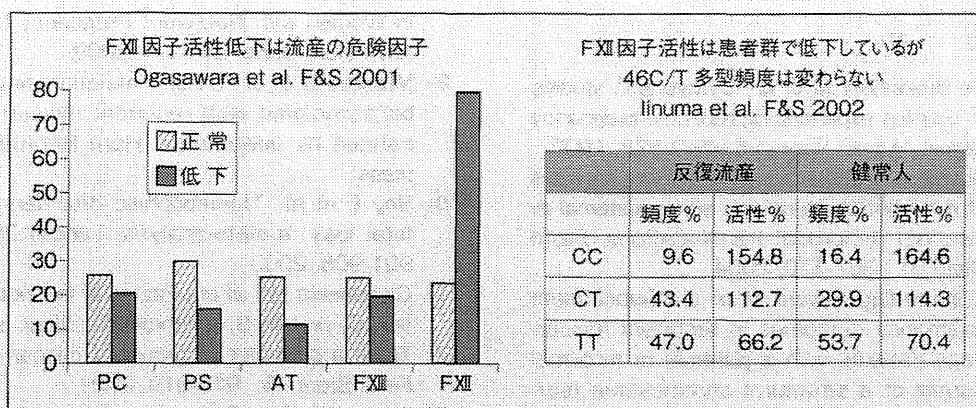


図2 凝固第XII因子活性と遺伝子多型の関与

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 $\text{logit}(ps) = 3.964 - 0.0652 \times (\text{年齢}) - 0.408 \times (\text{既往流産回数})$ 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) Iinuma 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

