

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

神戸大学医学部附属病院での抗リン脂質抗体陽性不育症患者の現状と既往妊娠歴および、抗リン脂質抗体陽性妊娠の予後に関する検討

研究分担者 山田 秀人 神戸大学大学院医学研究科 外科系講座 産科婦人科学 教授
研究協力者 出口 雅士 神戸大学医学部附属病院 周産母子センター 産科 講師

【研究要旨】

神戸大学医学部附属病院での抗リン脂質抗体陽性不育症患者の現状と既往妊娠歴および、抗リン脂質抗体陽性妊娠の予後を後方視的に解析し、抗リン脂質抗体陽性女性における妊娠管理においてどういった情報が重要であるかを検討した。その結果、抗リン脂質抗体症候群 (APS) 診断基準を持たず抗リン脂質抗体複数陽性例、ループスアンチコアグラント陽性例で妊娠 10 週以降の流死産が多くなり、妊娠予後が悪くなることを確認した。また、妊娠例では積極的治療により、抗リン脂質抗体陽性妊娠においても、抗リン脂質抗体のレパートリーの別にかかわらず積極的治療により 80%前後の生児獲得率が得られた。ただ、抗リン脂質抗体複数陽性例や APS 診断基準を満たす症例では流死産以外の産科合併症による早産が多くなっていった。妊娠予後の評価には抗リン脂質抗体症候群の臨床基準、特に過去の産科合併症の発症歴の有無が重要であることがうかがわれた。本研究の結果からは、抗リン脂質抗体陽性妊娠において、妊娠 10 週以降の流死産歴を有するもの、過去に APS 関連産科合併症による早産の既往のあるもの、診断基準を持たず抗リン脂質抗体複数陽性例、ループスアンチコアグラント陽性例では特に嚴重な妊娠管理が重要と考えられた。

A. 研究目的

古くから自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス (Systemic lupus erythematosus; SLE) 患者の妊娠では、流産や死産が多いことが知られていた。1980 年代中頃から、この流死産と関連する自己抗体として抗リン脂質抗体 (Antiphospholipid antibody) が注目されてきた。抗リン脂質抗体はリン脂質だけではなく、リン脂質に結合する β 2-グリコプロテイン-I (β 2GPI)、プロトロンビン、キニノーゲンなどの分子に対する自己抗体からなる。

抗リン脂質抗体症候群 (Antiphospholipid antibody syndrome; APS) は抗リン脂質抗体を有し、臨床症状

として動静脈血栓塞栓症ないし産科合併症、すなわち妊娠高血圧症候群 (Pregnancy induced hypertension; PIH)、子癇、胎盤機能不全、胎児発育不全 (Fetal growth restriction; FGR)、不育症 (習慣流産、死産) をきたす症候群である。他に、心弁膜症、神経疾患、皮膚疾患、微小血栓による腎障害、血小板減少などが抗リン脂質抗体と関連する疾患とされる。

我々は、抗リン脂質抗体陽性の女性にしばしば遭遇する。しかしながら、APS の病態解釈および治療方針に関して、血栓止血専門医および不育症・周産期専門医の間に大きな隔りがある。その最大の理由は、産婦人科領域で習慣流産、PIH や

FGR などで発見された抗リン脂質抗体陽性患者に血栓症の既往・現症がないことが多いからである。2つ目には、ワーファリン、抗血小板薬投与にともなう副作用のため、妊娠中は内科的治療法をそのまま同一には実施できないことが挙げられる。加えて、生殖医療領域では、APS 検査基準外の抗リン脂質抗体の陽性をもって APS と拡大解釈し、低用量アスピリンとヘパリン治療を行っている現状がある。

世界的にも APS の範疇に入る妊婦に対して低用量アスピリンとヘパリン治療を行うことは標準的治療となっているが、APS の範疇に入らない抗リン脂質抗体陽性妊婦の管理指針については依然一定の治療指針がないのが現象である。さらに現在日本で行われている抗リン脂質抗体検査のうち、抗カルジオリピン抗体検査の基準値は 95 パーセンタイル未満であり、国際基準の 99 パーセンタイルまたは 40GPL または MPL (U/ml) ではない現状もあり、症例の解析を困難なものとしている。

本研究では以下のことを行う。1) 神戸大学不育外来を受診し他患者の中から抗リン脂質抗体陽性患者を抽出し、その既往流産歴を抗リン脂質抗体のレパトリー別に解析し、治療すべき抗リン脂質抗体陽性妊婦の臨床像を検討する。2) 神戸大学で妊娠・分娩管理した抗リン脂質抗体陽性妊婦について、その妊娠経過と産科異常の発生状況、分娩時期について抗リン脂質抗体のレパトリー別に解析し、治療すべき抗リン脂質抗体陽性妊婦の臨床像を検討する。

B. 研究方法

1) 不育外来受診女性についての検討

神戸大学では 2009 年 6 月に不育外来を開設して以来、一貫して反復・習慣流産

患者のリスク因子の検討と治療に当たってきた。過去 4.5 年の間に神戸大学不育外来を受診した患者については、リスク因子の検討のため抗リン脂質抗体のループスアンチコアグラント（希釈ラッセル蛇毒時間法；LA）、抗カルジオリピン抗体 (aCL) IgG および IgM、抗カルジオリピン $\beta 2$ グライコプロテイン I 抗体 (a β 2GP-I) の測定を全例で行っている。これらのスクリーニング検査で抗リン脂質抗体陽性となった患者を抽出し、抗リン脂質抗体のレパトリー別に既往流産回数、既往流産週数について診療情報の記載をもとに調査して比較検討した。

2) 神戸大学で妊娠・分娩管理した抗リン脂質抗体陽性妊婦の検討

神戸大学には以前より免疫内科（膠原病内科）があり SLE 等の自己免疫疾患を有する女性が多く通院している。当院で管理する妊婦の中には、自己免疫疾患を合併している妊婦も多数存在し、自己免疫疾患の精査の過程で抗リン脂質抗体が陽性と確認された妊婦が存在する。これらの妊婦と不育外来で抗リン脂質抗体が陽性と確認された妊婦をあわせた、抗リン脂質抗体陽性妊婦を対象とし、抗リン脂質抗体のレパトリー別にその妊娠経過と産科異常の発生状況、分娩時期について診療情報の記載をもとに調査して比較検討した。

なお、神戸大学では抗リン脂質抗体陽性妊娠を下に示す管理指針に則って管理しており、解析した症例もその方針に則って管理された。

<抗リン脂質抗体陽性妊婦

管理指針（神戸大）【図 1】>

- ✓ 既往歴のないものでは LDA 単独療法
- ✓ 産科的既往歴のあるものや血栓の既往歴のあるものでは LDA とヘパリンの併用

療法

- ✓ LDA は妊娠 27 週 6 日まで投与
- ✓ 産科的既往歴が反復流産・習慣流産であるものは予防量へパリンを妊娠初期より妊娠 15-22 週まで投与
- ✓ 産科的既往歴が IUFD, FGR, 重症 PIH である場合は予防量へパリンを妊娠初期より妊娠 36 週～分娩前まで投与
- ✓ 血栓症の既往歴のあるものは治療域へパリンを妊娠初期より分娩前まで投与
- ✓ 抗リン脂質抗体の強陽性・複数陽性例では治療強度を一段階あげる

3) 統計解析

抗リン脂質抗体のレポーター別に既往流産回数、既往流産週数、妊娠継続期間等の分布を比較する際の 2 群間の比較にはマン・ホイットニーの U テストによる両側検定を利用、P 値 0.05 未満を有意とした。また、2 群間の生児獲得率等の比較にはカイ二乗検定を適用し、P 値 0.05 未満を有意とした。統計計算ソフトは医療統計解析ソフト GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, CA, USA) を使用した。

なお、本研究では aPL を APS 検査基準を満たす抗リン脂質抗体とし、aCL IgG/IgM 40 U/ml 未満は aCL 弱陽性として aPL には含めなかった。なお、aβ 2GP-I IgG、LA については検査機関の基準値に従って陽・陰性の判定を行った。

(倫理面の配慮)

本研究は、後方視的に診療録に記載されている情報より必要な医学情報を抽出し、個人情報情報を排除、匿名化したうえで解析したものであり、個人情報情報が漏れることがないよう、適切に行われた。

C. 研究結果

1) 不育外来受診女性についての検討

神戸大学不育外来の過去 4.5 年間の受診患者数は 235 人であった。平均年齢は 35.1 ± 4.3 歳で既往流死産回数は 3.4 ± 2.2 回であった。全例に aCL IgG/IgM, aCL β 2GP-I IgG, LA を測定した。

不育外来受診女性の上記 4 種類の抗リン脂質抗体陽性率は重複ありで aCL IgG 5.1%, aCL IgM 4.3%, aCL β 2GP-I IgG 3.8%, LA 3.0% の順であった。ただ、上記頻度での aCL IgG および IgM のカットオフは 95 パーセンタイルとなっており、国際基準の 40IU/ml を適用した場合は aCL IgG 1.3%, aCL IgM 0.4% であり、aCL の陽性率は非常に低いものとなった。

不育外来受診者 235 人の上記 4 種の抗リン脂質抗体陽性率(重複無し)は 11.5% で、APS の診断基準を満たすもの 3.4%, APS の検査基準のみを満たすもの 1.3%, aCL 弱陽性 (95 パーセンタイル以上 40IU/ml 未満) のもの 6.8% であった。

抗リン脂質抗体陽性例の平均年齢は 33.2 ± 3.9 歳で陰性例の 35.3 ± 4.3 歳に比して、若年であったが ($p=0.014$)、既往流死産回数 (抗リン脂質抗体陽性群 3.2 ± 1.7 回、陰性群 3.4 ± 2.3 回) には差を認めなかった。

抗リン脂質抗体のレポーター別の既往流産回数、既往流産週数を比較すると【図 2】、APS 診断基準を満たす aPL (aCL 弱陽性は除く) が 1 種類陽性のものに比べ、2 種類以上陽性のもので既往流死産時期が遅い傾向にあった ($p=0.0055$)。10 週以降の流産に注目してみると、表 1 の通りとなり、aPL 複数陽性例で 10 週以降の流産が有意に多い結果となった

【表 1】

流産時期	10 週未満	10 週以降
aPL 1 種類陽性	14	1
aPL 複数陽性	12	9

($p=0.017$)。aCL 弱陽性を含む抗リン脂質抗体陽性だが、APS 診断基準を満たさない

非 APS 群と APS 群を同様に比較してみると、表 2 の通りとなり、APS 群で 10 週以降の流産が有意に多い結果となった ($p=0.016$)。LA 陽性の有無で既往流死産週

【表 2】

流産時期	10 週未満	10 週以降
非 APS 群	49	8
APS 群	17	10

数分布を解析したところ【図 3】、LA 陽性群で有意に ($p=0.007$) 妊娠週数が進んでからの流産が多い結果が得られた。

なお、同様の解析を既往流産回数について行ったが、特に明らかな傾向や有意差は得られなかった。

2) 神戸大学で妊娠・分娩管理した抗リン脂質抗体陽性妊婦の検討

2009 年 6 月以降 4.5 年の間に神戸大学で管理した APS 検査基準に含まれる抗リン脂質抗体陽性の妊娠は合計 44 妊娠で、不育外来通院中に妊娠したものが 20 妊娠であった。残る 24 妊娠は自己免疫疾患、FGR、PIH の精査等で抗リン脂質抗体陽性が判明したもので、うち 4 例が妊娠中期以降での紹介例または抗リン脂質抗体陽性が確認されたものであり、管理指針に則って必要な抗凝固治療は診断時点で開始した。他の 20 例は妊娠初期より当院で

【表 3】

病型分類	妊娠数	頻度 (44 例中)	流死産 (正染)	生児獲得	流死産 (異染)	生児獲得率
APS	17 妊娠	38.60%	3	12	2	80%
APS 検査基準のみ満たす	7 妊娠	15.90%	1	6	0	85.70%
aCL 弱陽性	20 妊娠	45.50%	4	15	1	78.90%
合計	44 妊娠	100%	8	33	3	80.50%

管理され、妊娠初期より管理指針に則って管理された。

抗リン脂質抗体陽性 44 妊娠の病型と生児獲得率を表 3 に示す。APS 群、APS 検査基準のみ満たす群、aCL 弱陽性群で生児獲得率はいずれも 80%前後であり、特に差は認めなかった。抗リン脂質抗体の陽性数別でも生児獲得率を見てみたが (表 4)、特に差は認めなかった。

生児獲得例の病型別の妊娠期間を見て

【表 4】

	流死産 (正染)	生児獲得	流死産 (異染)	生児獲得率
aCL 弱陽性	4	15	1	79%
aPL 1 種陽性	3	9	1	75%
aPL 複数陽性	1	9	1	90%

みると【図 4】SLE の合併の有無と妊娠期間には有意差は認めなかった。APS 群と非 APS 群 (aCL 単独弱陽性または APS 検査基準の満たすもの) を比較すると、有意に APS 群で妊娠期間が短く、全例が早産となっていた。早産の原因としては FGR、PIH、胎児機能不全、母体肝腎機能障害、母体血小板定低下により、人工早産となっていた。

抗リン脂質抗体の陽性数別に妊娠期間を見てみると【図 5】、aCL 弱陽性群、aPL1 種陽性群、aPL 複数陽性群の順に妊娠期間は短くなり、aCL 弱陽性群と aPL1 種陽性群または aPL 複数陽性群の間では統計学的有意差を認めた。また、aPL 複数陽性群では全例が早産となっていた。

D. 考察

H25 年度の研究班研究の成果として、神戸大学不育外来の過去 4.5 年間の受診患者 235 人の既往流死産歴、同時期に神戸大学で管理した APS 検査基準に含まれる抗リン脂質抗体陽性の 44 妊娠の産科経過を解析した。

不育外来受診者の抗リン脂質抗体陽性率は 11.5%で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）「不育症治療に関する再評価と新たな治療法の開発に関する研究」で報告された 10.2%と大差を認めなかった。本研究では抗リン脂質抗体陽性患者を aCL 弱陽性のみの患者、APS 検査基準のみを満たす患者、APS と診断される患者に分けて解析したところ、それぞれ不育外来受診者の 6.8%、1.3%、3.4%であり、aCL 弱陽性の患者が多く含まれることが判明した。aCL のみ弱陽性の患者でも 10 週以降の既往流死産があり、aCL の弱陽性の基準値をどこに設定するかは今後の課題であると考えられた。また、aPL 1 種類陽性者よりも、複数陽性者で妊娠 10 週以降の既往流死産が多く、LA 陽性例でも 10 週以降の流死産が多いことが確認された。これらのことより、これまでの他家らの報告の通り、抗リン脂質抗体陽性妊娠の中でも、aPL 複数陽性例、LA 陽性例で妊娠予後の悪いことが確認された。なお、既往流死産回数の比較では aPL 複数陽性例、LA 陽性例が多いという傾向はなく、本研究結果からは抗リン脂質抗体陽性妊不育症患者

者の既往妊娠歴については流死産回数よりも流産時期に着目することが重要と考えられた。

抗リン脂質抗体陽性の 44 妊娠の産科経過の解析では、我々の治療指針に沿って管理した場合の抗リン脂質抗体陽性女性の生児獲得率は 80%であった。この生児獲得率は SLE 合併の有無にかかわらず、aCL 弱陽性のみの患者、APS 検査基準のみを満たす患者、APS と診断される患者、いずれの群でも大差なく 80%前後であった。生児獲得率は変わらないものの、生児獲得例の妊娠期間をみると、aCL 弱陽性のみの患者や APS 検査基準のみを満たす患者に比して APS 患者で有意に短く、FGR、PIH、胎児機能不全、母体肝腎機能障害、血小板減少により人工早産となっていた。APS 検査基準のみ満たすものの妊娠予後は aCL 弱陽性と大きく変わらず、産科異常の発生の予知には抗リン脂質抗体の存在に加えて、APS の臨床基準、特に過去の産科合併症の発症歴の有無が重要であることがうかがわれた。

また、aCL 単独弱陽性、aPL1 種陽性、aPL 複数陽性例の各群間での比較では生児獲得率には優位差を認めなかったが、生児獲得例の妊娠期間は、aCL 単独弱陽性、aPL 種陽性、aPL 複数陽性例の順に短くなった。以上のことから、積極的に治療を行った場合、抗リン脂質抗体のプロファイルは抗リン脂質陽性女性の生児獲得率を左右しないが、妊娠期間（分娩時期）に影響する可能性が示唆された。抗リン脂質抗体陽性妊娠の中でも、aPL 複数陽性例や APS 診断基準を満たす症例では産科合併症や母体合併症の発生に注意して厳重な妊娠管理が重要と考えられた。

E. 結論

1. 不育外来の過去 4.5 年間の受診患者

235 人の既往流死産歴を解析し、aPL 複数陽性例、LA 陽性例で妊娠 10 週以降の流死産が多くなり、妊娠予後が悪くなることを確認したが、流死産回数には影響を認めなかった。抗リン脂質抗体陽性妊不育症患者の既往妊娠歴については流死産回数よりも流産時期に着目することが重要と考えられた。

2. aCL のみ弱陽性の患者でも 10 週以降の既往流死産があり、aCL の弱陽性の基準値をどこに設定するかは今後の課題であると考えられた。
3. 抗リン脂質抗体陽性の 44 妊娠の産科経過の解析では、aPL 陽性妊娠については、その抗リン脂質抗体のレポートリーの別にかかわらず積極的治療により 80%前後の生児獲得率が得られることが分かった。
4. APS と診断される患者の全例が早産に終わっており、生児獲得率は変わらないものの流死産以外の産科合併症・血小板減少や肝腎機能障害などの母体合併症が多くなるものと考えられた。ただ、APS 検査基準のみ満たすものの妊娠予後は aCL 弱陽性者と大差なく、妊娠予後の評価には過去の産科合併症の発症歴などの APS の臨床基準の有無が重要であることがうかがわれた。
5. aPL 複数陽性例や APS 診断基準を満たす症例では早産の多いことが確認され、こういった例では厳重な妊娠管理が重要と考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 出口雅士, 谷村憲司, 山田秀人 : 抗リン脂質抗体症候群と妊娠・分娩, 止血・血栓ハンドブック 鈴木重統ら

編, 西村書店. 東京 (印刷中)

- 2) 出口雅士, 蝦名康彦, 山田秀人 : 自己抗体検査, ペリネイタルケア 33 (2014 新春増刊): 166-170, 2014
- 3) 山田秀人. 流産 (習慣流産・不育症を含む). 今日の治療指針 2013 年版. 医学書院. 東京 : 1117-1118, 2013

2. 学会発表

- 1) 山田秀人 : 抗リン脂質抗体と産科異常. 日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ第 1 回学術集会 (ランチョンセミナー), 2014 年 2 月 8 日, 東京
- 2) 山田秀人 : 不育症の基礎知識～現状と課題. 母子保健指導者研修会. (招請講演), 2013 年 12 月 10 日, 福岡
- 3) 出口雅士, 谷村憲司, 白川得朗, 篠崎奈々絵, 前澤陽子, 蝦名康彦, 山田秀人 : 抗リン脂質抗体症候群に対する大量免疫グロブリン療法の現状, 第 28 回日本生殖免疫学会, 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日, 兵庫
- 4) 篠崎奈々絵, 出口雅士, 伊勢由佳里, 中島由貴, 白川得朗, 前澤陽子, 蝦名康彦, 山田秀人 : プロテイン S 低下不育症の妊娠帰結, 第 28 回日本生殖免疫学会, 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日, 兵庫
- 5) 中島由貴, 出口雅士, 伊勢由香里, 白川得朗, 前澤陽子, 篠崎奈々絵, 蝦名康彦, 山田秀人 : 原因不明かつ治療抵抗性・難治性習慣流産 14 人に対する 60g 免疫グロブリン療法, 第 28 回日本生殖免疫学会, 2013 年 11 月 30 日-12 月 1 日, 兵庫
- 6) 伊勢由香里, 出口雅士, 中島由貴, 白川得朗, 前澤陽子, 篠崎奈々絵, 蝦名康彦, 山田秀人 : 不育症女性の末梢血 NK 細胞活性と妊娠帰結, 第 28 回日本生殖免疫学会, 2013 年 11 月 30 日-12

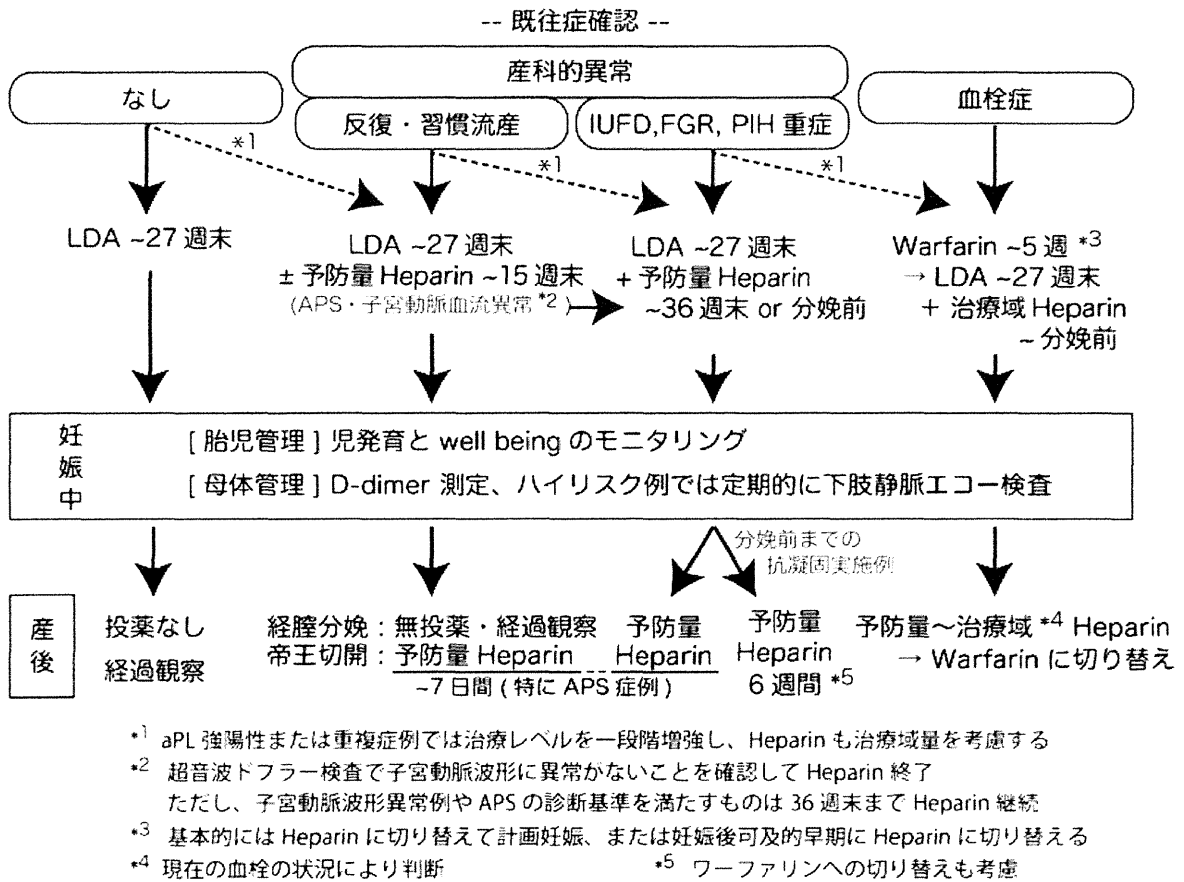
月 1 日，兵庫

- 7) 白川得朗，出口雅士，篠崎奈々絵，谷村憲司，蝦名康彦，山田秀人：不育症および自己免疫疾患における抗リン脂質抗体陽性患者の妊娠帰結，第 28 回日本生殖免疫学会，2013 年 11 月 30 日 -12 月 1 日，兵庫
- 8) 出口雅士，前澤陽子，篠崎奈々絵，谷村憲司，蝦名康彦，山田秀人：抗リン脂質抗体陽性者の妊娠管理，シンポジウム 6～不育症診療における新しい展開，第 58 回生殖医学会，2013 年 11 月 15-17 日，神戸

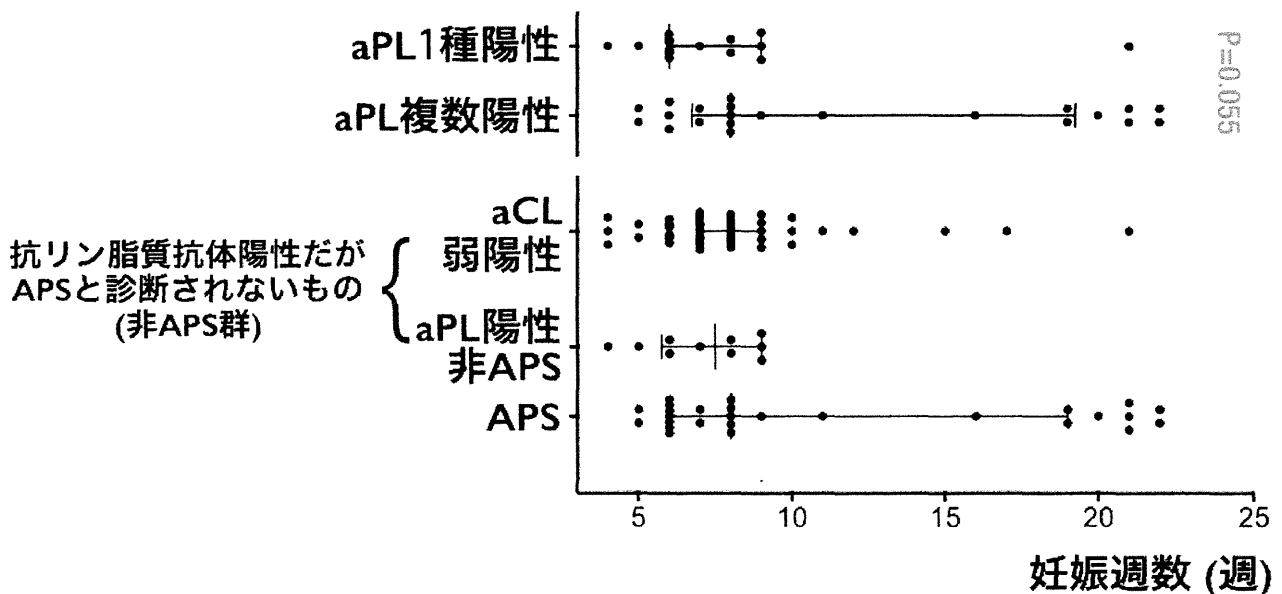
H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

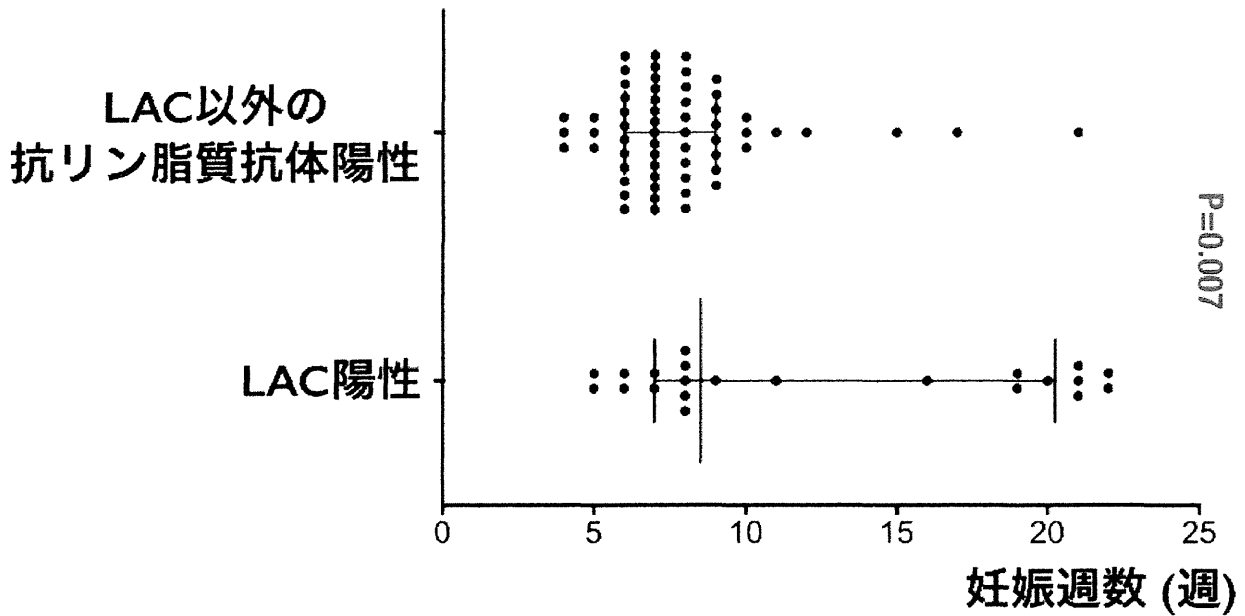
【図1】 抗リン脂質抗体陽性妊娠管理指針 (神戸大)



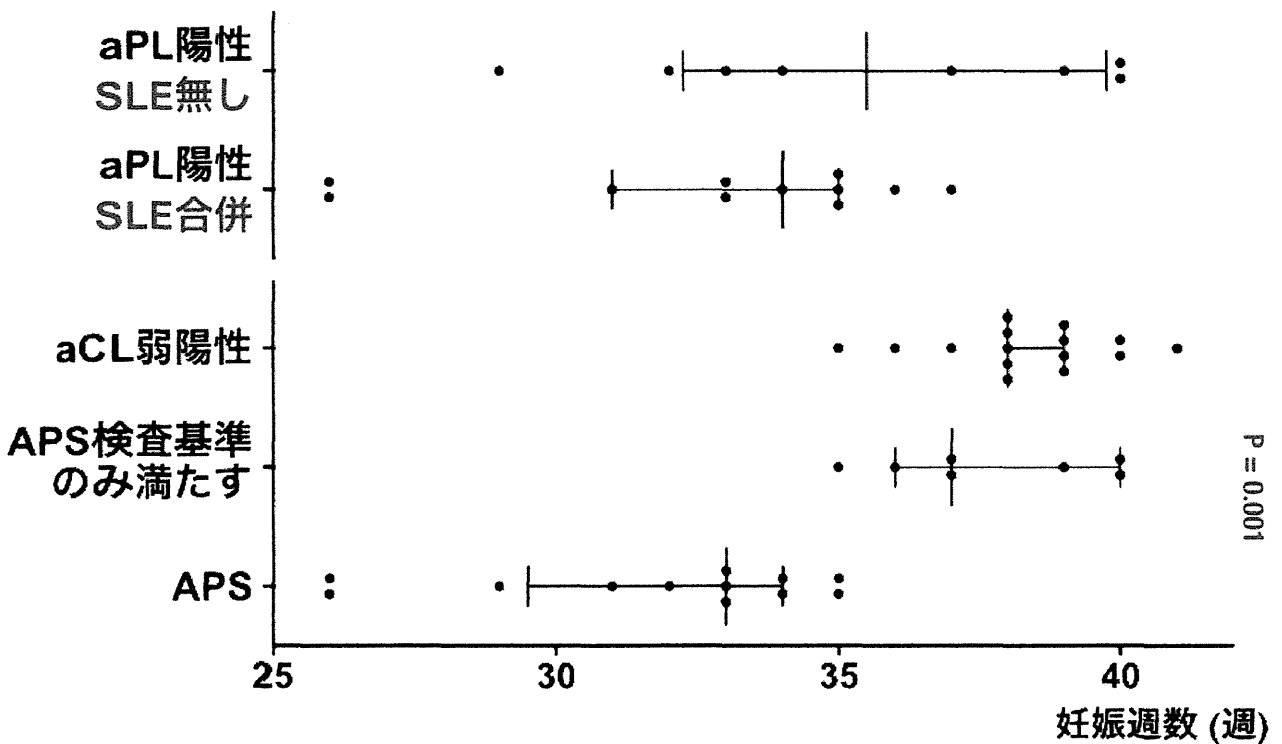
【図2】 抗リン脂質抗体レパートリー別の既往流死産週数分布 (n=29)



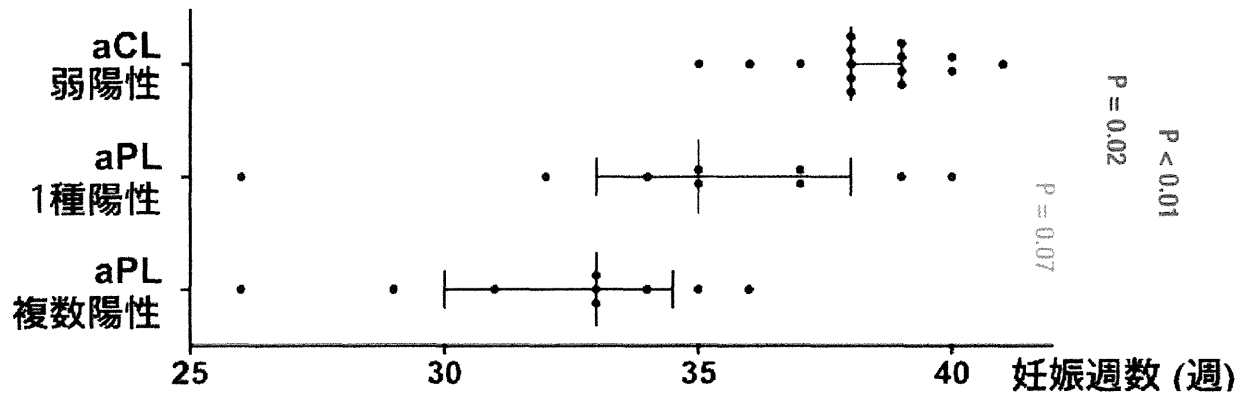
【図3】 LAC陽性の有無別の既往流死産週数分布 (n=27)



【図4】 生児獲得例の病型別妊娠期間



【図5】 生児獲得例の抗リン脂質抗体の陽性数別の妊娠期間



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

不育症妊婦への抗血小板療法、抗凝固療法を反復した予後調査

研究分担者 光田信明 大阪府立母子保健総合医療センター産科 主任部長

研究分担者 中西 功 大阪府立母子保健総合医療センター母性内科 主任部長

研究要旨 予後不良妊娠に対する抗凝固療法の適応は未だに明確ではない。まして、複数回の抗凝固療法妊娠例は少数である。今回は先行研究として、当院で初回の抗凝固療法を受けた方の次回妊娠予後を治療(抗凝固療法)の有無から調査した。まずは、次回妊娠も治療した群の結果である。1回目予後良好+2回目予後良好：94例、1回目予後良好+2回目予後不良：8例、1回目予後不良+2回目予後良好：43例、1回目予後不良+2回目予後不良：19例であった。つまり、初回治療で予後不良であっても、次回も治療を行えば、43/43+19例(69.4%)が生児を得ていた。次に、次回妊娠は無治療であった群をみたところ、1回目予後良好+2回目予後良好：20例、1回目予後良好+2回目予後不良：2例、1回目予後不良+2回目予後良好：3例、1回目予後不良+2回目予後不良：4例であった。初回治療で予後不良であっても、次回に無治療であった場合には、3/3+4(42.9%)が生児を得ていた。今回の研究は抗凝固療法の適応などが、他院で導入されている場合も多く、詳細が明確ではない部分を残している。次年度にはより精度の高い調査を予定する。

A.研究目的

不育症に対する抗凝固療法の有効性の検証は前向き試験が行いにくい。不育症で抗凝固療法を受けた患者さんが次回妊娠での抗凝固療法の有無での予後データがわかれば、抗凝固療法の有効性を推し量る基礎資料になる。そこで、不育症症例において、抗血小板療法、抗凝固療法を行い予後不良であった症例の、次回妊娠での治療の有無と方法及びその転帰を明らかにすることを目的として以下のような検討を行った。

B.研究方法

大阪府立母子保健総合医療センターで不育症を適応として抗血小板療法、抗凝固療

法を行った妊婦(これを先行妊娠とする)のうち、2003年から2013年までに再度当センターで妊娠管理(後続妊娠とする)を行った症例をカルテより抽出した。先行妊娠の転帰が胎児異常による人工妊娠中絶であった1例、先行妊娠転帰不明の2例を除外した202例を対象とした。

検討項目は後続妊娠での治療方法、妊娠転帰とし、予後不良を早期・後期流産、妊娠22週以降の子宮内胎児死亡、早期新生児死亡とした。

(倫理面への配慮)

後方視的先行研究であり、倫理審査は受けていない。次年度は倫理審査の後、詳細調査を予定する。

C.研究結果

対象症例 202 例のうち、先行妊娠の予後良好例が 129 例(63.8%)、予後不良例が 73 例(36.1%)であった。

後続妊娠の治療適応としては Poor obstetrical history(反復流産・習慣流産、妊娠 22 週以降の IUFD,IUGR,早期新生児死亡)が 180 例(89.1%)、抗リン脂質抗体症候群 12 例(5.9%)、proteinS 欠乏症 2 例(1.0%)、proteinC 欠乏症 2 例(1.0%)、適応不明が 6 例(3.0%)であった。

先行妊娠および後続妊娠の転帰について表 1 に示す。後続妊娠の転帰不明は 6 例、胎児異常などによる人工妊娠中絶が 3 例であった。先行妊娠での予後良好群のうち後続妊娠でも予後良好であったものが 114 例(88.3%)、うち無治療であったものは 20 例(15.5%)であった。予後不良例は 10 例(7.7%)であり、うち 1 例は PIH、IUGR を合併していた。一方、先行妊娠が予後不良であった群では、後続妊娠での予後良好が 46 例(63%)あり、うち無治療であったものは 3 例(6.5%)だった。予後不良は 23 例(31.5%)であった。2 回とも予後不良の症例の詳細を表 2 に示す。

後続妊娠での治療については、低用量アスピリン療法のみ 98 例、抗凝固療法のみ 26 例、低用量アスピリン+抗凝固療法 47 例、無治療 31 例であった。各群での予後良好例はそれぞれ 83 例、21 例、32 例、24 例であった。

D.考察

初回抗凝固療法妊婦の次回妊娠予後調査で大規模なものは見られない。今回調査で

も抗凝固療法導入は雑多な適応の下に施行されていた。初回抗凝固療法での生児獲得率は 129/129+73 例(63.9%)であった。しかし、次回妊娠で同様の治療を行った場合には 43/62 の生児獲得率であった。次回妊娠では無治療の場合には 3/7 の生児獲得率であった。この初回予後不良群における次回妊娠時治療の有無によつての予後(43/62 VS 3/7、P=0.158)に有意差はなかったが、症例の蓄積、或いは背景の調査によつては意味が出てくる可能性が示唆された。このことから、初回抗凝固療法予後不良例であっても、再度の抗凝固療法の有効性を期待出来る可能性も残すことにはなる。一方で、初回は抗凝固療法を受けて予後良好であれば、次回妊娠時の抗凝固療法はなくても 20/20+2(90.9%)生児を得ていた。このことは初回抗凝固療法の適応の必要性があったかという検証が必要になる。抗凝固療法の適応が整理されなければならないことを示唆している。

E.結論

不育症妊婦に対する抗凝固療法は有効性は示唆されるものの、その適応が検討されなければならない。

G.研究発表

- 1.論文発表
なし
- 2.学会発表
なし

H.知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1：先行妊娠での予後不良、予後良好群の後続妊娠転帰

	前回予後良好 n=129	前回予後不良 n=73
予後良好	114(88.3%) うち無治療 20	46(63%) うち無治療 3
予後不良	10(7.7%) うち無治療 2	23(31.5%) うち無治療 4
早期流産	7	16
後期流産	2	6
IUFD \geq 22 週	0	1
早期新生児死亡	1	0
TOP	3(2.3%)	0
転帰不明	2(1.6%)	4(5.5%)

表 2：2回とも予後不良であった各症例の詳細

No	先行妊娠			次回妊娠				
	適応	妊娠転帰	治療内容	年齢	流産歴	治療内容	妊娠転帰	検査異常
1	APS	早期流産	LDA	31	3	LDA,UFH,DS	後期流産	抗 β 2GP1 抗体高値
2	POH	早期流産	LDA	43	3	LDA,DS	早期流産	なし
3	POH	早期流産	DS	35	6	LDA	早期流産	なし
4	POH	早期流産	UFH	40	4	UFH	早期流産	なし
5	POH	早期流産	DS	33	5	DS	早期流産	なし
6	POH	早期流産	LDA,UFH	36	11	LDA	早期流産	なし
7	POH	早期流産	DS	26	6	LDA,DS	早期流産	なし
8	POH	早期流産	LDA,DS	35	5	なし	早期流産	なし
9	POH	後期流産	UFH,DS	37	7	DS	後期流産	ProS 欠乏症
10	POH	後期流産	LDA,LMWH	34	4	LDA, LMWH	後期流産	なし
11	POH	早期流産	LDA	41	4	LDA	早期流産	なし
12	POH	早期流産	LDA	38	6	LDA	早期流産	なし
13	POH	IUFD	LDA	34	2	LDA,UFH	後期流産	なし
14	POH	IUFD	LDA,DS	32	3	LDA,UFH	後期流産	なし
15	POH	早期流産	LDA	39	2	LDA	IUFD	なし
16	POH	早期流産	LDA	39	3	なし	早期流産	なし
17	POH	早期流産	LDA,DS	37	6	LDA,UFH	後期流産	なし
18	POH	早期流産	LDA	34	5	なし	早期流産	なし
19	POH	早期流産	LDA	32	3	LDA	早期流産	なし
20	POH	早期流産	LDA,UFH	30	3	LDA,UFH	早期流産	なし
21	POH	早期流産	LDA,DS	30	5	なし	早期流産	なし
22	POH	早期流産	LDA	30	3	LDA	早期流産	なし

APS:高リン脂質抗体症候群、POH: poor obstetrical history、LDA:低用量アスピリン、UFH:未分画ヘパリン、LMWH:低分子ヘパリン、DS: ダナパロイド Na、FGR: 子宮内胎児発育不全

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

抗リン脂質抗体症候群合併母体からの新生児のバイオマーカーに関する研究

研究分担者 高橋尚人 東京大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター
准教授

研究要旨 抗リン脂質抗体症候群(APS)合併母体の治療の評価に、新生児の血中バイオマーカー測定を行う場合、どのバイオマーカーを用いるべきかを検討する目的で、早産児を含む新生児の臍帯血中バイオマーカーを解析した。APS 合併母体からの児は FGR をきたすことが多いが、FGR 児では有意に IL-6 低値、TGFβ1、β2 低値が認められた。TGFβは胎児発育と非常に高い相関があり、これらのバイオマーカーが FGR 児の評価に有用である可能性がある。今後、実際に APS 合併母体からの出生児でこれらのバイオマーカーを用いた検討を行うべきと考えられた。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体症候群(APS)合併の母体より出生した児は胎児発育不全(FGR)をきたす可能性が高い。今後、本研究事業において、新たな治療法が確立した場合、その治療が新生児にどのように影響するのかを明確にするために、合併症の有無や長期予後の調査のみならず、バイオマーカーの面で検討するのが良いと考えられる。しかし、APS 母体から出生した児というだけでなく、FGR 児に関連する新生児のバイオマーカーについても未だ必ずしも明確ではない。

そこで、次年度の臨床試験に向けて、児の評価のためにどのバイオマーカーを用いるべきか、新生児の臍帯血のバイオ

マーカープロファイルを解析した。

B. 研究方法

早産、正期産に関わらず、種々の臨床状況で出生する児の臍帯血を採取し、血清・血漿を分離し、含まれる各種バイオマーカー濃度を測定した。測定には Bio-rad 社の bio-plex system による beads array 法を用いた。測定した項目は IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17、IFNγ、TNFα、G-CSF、GM-CSF、MCP-1、MIP-1β、TGFβ1、TGFβ2、TGFβ3。

その他、APS ではないものの、Sjogren 症候群抗体 SS-A、SS-B 抗体陽性の母体から出生した児のバイオマーカーを臍帯

血と出生後の末梢血について経時的に検討し、母体免疫学的異常が児にどのような影響を与えるかを検討した。

(倫理面への配慮)

研究は大学倫理委員会への申請に基づき、検体・資料の匿名化を行い個人情報を保護し、また採血量も 0.1-2ml と極微量にした。

C. 研究結果

FGR42例を含む臍帯血 224例で検討した。FGRのある児では IL-6 が有意に低値だった。その他、帝王切開例では IL-5、IL-6、GM-CSF、G-CSF、TGFβがいずれも有意に低値であった。また、胎児機能不全 (NRFS) 例では IL-8 が高値、IL-5、IL-12 が低値、母体妊娠高血圧症候群 (PIH) 例では MCP-1 が有意に低値であった。最も多くのサイトカインの変動がみられたのが母体絨毛膜羊膜炎 (CAM) 例で、児の IL-6、IL-8、G-CSF、IL-10、TNFα、MCP-1 が有意に高値だった。

一方、TGFβについては、臍帯血で常に陽性で、特に TGFβ1は 10,000pg/mL 以上と、他のバイオマーカーと比較し血中濃度が非常に高く、また他のサイトカインの動きと関連しないことが確認された。TGFβ1 とβ2 は非常に高い相関を示し ($p<0.001$)、TGFβ1 は男児で有意に高値 ($p=0.021$) で、FGR 児で有意に低値 ($p=0.020$) だった。しかし、他の周産期臨床所見とは必ずしも関連をもたず、帝王切開例、母体 PIH 例、母体 CAM 例、母

体ステロイド投与については、その有無によって児の TGFβには有意差を認めなかった。尚、母体 APS については、診断基準が主治医ごとに曖昧だったため、今回は検討できなかった。

また、SSA、SSB 抗体陽性母体からの出生児 1 例において、臍帯血からすでに IL-6、IL-8 の高値が認められ、その後も長期にわたる末梢血炎症性サイトカイン高値が確認され、母体免疫学的異常が児に長期にわたり影響を与えることが確認された。

D. 考察

臍帯血において、サイトカインを始めとするバイオマーカーは母体と胎児の周産期臨床所見により大きく変化することが確認された。多くのサイトカインが関連して変動し、特に CAM 合併母体からの児では、IL-6 高値を含め、多くのサイトカインが変動する。FGR 児では IL-6 低値が認められ、胎児発育と IL-6 は何らかの関係があると考えられた。また、TGFβ1、TGFβ2 は FGR 例で有意に低値であった ($p=0.020$)。TGFβは通常でも 10000pg/ml 以上の濃度を保ち、TGFβ1 の場合、在胎週数とは $R=0.474$ ($p=0.0001$)、出生体重とは $R=0.503$ ($p=0.0001$) で、胎児発育とも高い相関があったことから、胎児の発育・発達に大きな役割を担っていると推測された。

以上から、APS 母体から出生した児の評価には、臨床所見や長期予後のみなら

ず、これらバイオマーカー測定を用いることが有用と考えられた。次年度にはぜひ、APS 合併母体例において、これらバイオマーカーを測定し、適切な対応法の確立にむけてのひとつの情報にしたい。

また今回、Sjogren 症候群抗体陽性の母体から出生した特殊な新生児において、サイトカインプロファイルを経時的に検討し、病態把握に有用であったことから、可能であれば今後、本事業において多施設共同臨床研究の適応となった母体から出生した児においては、同様の経時的なサイトカインプロファイルの解析を行うのが良いと考えられた。

E. 結論

FGR 児では IL-6 低値、TGFβ1、β2 低値が認められた。これらのバイオマーカーを用いて APS 母体からの児の状態評価を行うことができる可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki Y, Takahashi N, Yada Y, Koike Y, Matano M, Nishimura H, Kono Y. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in a newborn infant born to a mother with Sjogren syndrome antibodies. J Perinatology 2013; 33(7): 569-71.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

ガンマグロブリン大量療法における免疫調整作用について

研究分担者	野澤 和久	順天堂大学医学部膠原病内科 准教授
研究協力者	高崎 芳成	順天堂大学医学部附属順天堂医院 病院長
	松木 祐子	順天堂大学医学部膠原病内科 大学院生
	山口 絢子	順天堂大学医学部膠原病内科 助教

研究要旨

抗リン脂質抗体症候群は、習慣性流産を特徴とする不育症及び血栓症を特徴とする疾患である。現在、習慣性流産歴がある抗リン脂質抗体症候群合併妊娠の流産の予防にはヘパリンをはじめとする抗凝固療法が標準的な治療となっているが、出血などの危険性があるためより安全性の高い治療法の開発が求められている。習慣性流産の原因には、種々の免疫異常が認められる事が報告されている事より、IVIg は、抗リン脂質抗体症候群合併不育症患者におけるサイトカインバランスの不整を改善する事により治療効果を発揮している可能性が示唆される。そこで、我々はIVIgのサイトカインに対する影響を過去の文献を調べ網羅的に解析して、どのような薬理作用でIVIgが不育症の治療に寄与するのかについて検討をおこなった。IVIgには各種サイトカイン制御を含む様々な免疫調節作用があり、IVIgによる治療効果に寄与していると考えられたが、特に、IVIgにはTh-1細胞反応抑制及びTh-2細胞反応増強効果が報告されており、この機序が習慣性流産治療に対する主な薬理作用と考えられた。また、ヒトの原因不明不育症においても、末梢血でも脱落膜でもTTh-17が増加する事が報告されている（Wang et al. J Reprod Immunol 2008;84;164-170）。IVIgはTh-17抑制作用効果を持つので、この点でも習慣性流産における免疫異常の是正に寄与していると考えられた。IVIgには補体や免疫複合体活性化による組織障害を抑える作用やTreg増強作用も報告されているので、この点においても習慣性流産治療に寄与していると考えられた。それ以外にもIVIgはこれら以外の機序にても習慣性流産治療に対して薬理作用を有する可能性も考えられた。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体症候群は、習慣性流産を特徴とする不育症及び血栓症を特徴とする疾患である。現在、習慣性流産歴がある抗リン脂質抗体症候群合併妊娠の流産の予防にはヘパリンをはじめとする抗凝固療法が標準的な治

療となっているが、出血などの危険性があるためより安全性の高い治療法の開発が求められている。

ガンマグロブリン大量療法（IVIg）は低・無ガンマグロブリン血症や特発性血小板減少症、重症感染症、川崎病などに保険

適応のある治療法であるが、その薬理作用については不明な点が多い。IVIGは、近年国内外で難治性自己免疫性疾患や難治性習慣流産に対しても有用である可能性が示唆されており、抗血栓療法やステロイド製剤によっても妊娠が安全に継続できない抗リン脂質抗体症候群合併不育症患者に対して、本治療の有効性が期待されている。現在、不育症に対する診療指針は確立しているとは言えず、挙児を希望し妊娠に至るも出産に結び付かない不育症患者も数多く存在する。その中で本治療の有効性が証明されれば、重要な意義があると言える。

習慣性流産の妊娠におけるサイトカインの役割に関してはWegmannらによると、正常妊娠では胎児胎盤系はIL4、IL5やIL10などのTh2-typeのサイトカインを分泌しTh2優位な状態にあるとされ (Wegmann TG et al, Immunol Today 14 : 353-356, 1993)、Th1 typeサイトカインは流産に、Th2 typeサイトカインは妊娠維持に関与すると考えられている。習慣性流産の原因には、種々の免疫異常が認められる事が報告されている事より、IVIGは、抗リン脂質抗体症候群合併不育症患者におけるサイトカインバランスの不整を改善する事により治療効果を発揮している可能性が示唆される。そこで、我々はIVIGのサイトカインに対する影響を過去の文献を調べ網羅的に解析して、どのような薬理作用でIVIGが不育症の治療に寄与するのかについて、検討することを目的とした。

B. 研究方法

PubMed により、キーワードを「Intravenous immunoglobulin (IVIG)」

と「cytokine」

と設定して、過去に報告されている関連文献を網羅的に集めた。その集積された論文の中で、IVIGの薬理作用に関して免疫反応やサイトカインの関連性について記載されているものをさらに抽出して、各々の具体的な機序についてまとめた。

(倫理面への配慮)

当研究は、臨床検体を用いた物ではないため、患者の同意取得など倫理面に関する配慮の必要性は無いと判断した。

C. 研究結果

IVIGの免疫反応制御機構において下記の物が報告されていた。

1. Fc 受容体への作用

マクロファージやエフェクター細胞における Fc 受容体阻害
抗体依存性細胞傷害活性の誘導
抑制性 Fc 受容体の誘導

2. 抗炎症作用

補体依存性組織障害の軽減
免疫複合体を介する組織障害・炎症の軽減
内皮細胞活性化の抑制
微生物毒素の中和

3. B 細胞への作用

Fc 受容体を介する抑制シグナル伝達
抗体産生の抑制
抗イディオタイプ抗体による中和

4. T 細胞への作用

ヘルパーT 細胞からのサイトカイン産生抑制
T 細胞スーパー抗原の中和

5. 細胞増殖への作用

リンパ球増殖反応抑制

アポトーシスの制御などが報告されていた。

また、IVIg のサイトカイン制御における関与としては、下記の報告があった。

1. Th-1 細胞反応抑制
2. Th-2 細胞反応増強
3. Th-17 細胞における IL-17 産生抑制
4. Treg (免疫調節性 T 細胞) における TGF- β 、IL-10 産生抑制
5. マクロファージにおける TNF- α 産生抑制
6. マクロファージにおける IL-6 産生抑制
7. マクロファージにおける BAFF 産生抑制
8. リンパ球からの GM-CSF 産生抑制などの報告があった。

D. 考察

IVIg には各種サイトカイン制御を含む様々な免疫調節作用があり、IVIg による治療効果に寄与していると考えられた。IVIg は複数の作用機序がある事により、習慣性流産治療に対しても複数の機序で作用している可能性が高い。特に、IVIg には Th-1 細胞反応抑制及び Th-2 細胞反応増強効果が報告されており、この機序が習慣性流産治療に対する主な薬理作用と考えられた。また、ヒトの原因不明不育症においても、末梢血でも脱落膜でも TTh-17 が増加する事が報告されている (Wang et al. J Reprod Immunol 2008;84:164-170)。IVIg は TH-17 抑制作用効果を持つので、この点でも習慣性流産における免疫異常の是正に寄与していると考えられた。また、胎児は母体にとって異物であるため、母体の免疫系は胎児

を許容するように変化するが、その中の重要な機構のひとつとして、胎盤表面における補体制御分子の存在が知られている。もしも、この補体制御分子の作用が障害されたなら補体活性化の原因となり得る。IVIg は補体や免疫複合体活性化による組織障害を抑える作用も報告されているので、この点においても IVIg による習慣性流産治療に対する薬理作用になり得ると推察された。

また、妊娠における胎児抗原特異的免疫寛容の誘導に Treg の重要性が示唆されているが、IVIg には Treg 増強作用も報告されているので、この点においても習慣性流産治療に寄与していると考えられた。

以上のことより習慣性流産治療に対する IVIg の薬理作用として、これら以外の機序の可能性もあるが、これについては今後の研究が望まれる、

E. 結論

習慣性流産の治療に対して、理論的に IVIg 療法は有効であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表
1. Yanagida M, Kawasaki M, Fujishiro M, Miura M, Ikeda K, Nozawa K, Kaneko H, Morimoto S, Takasaki Y, Ogawa H, Takamori K, Sekigawa I. Serum proteome analysis in patients with rheumatoid arthritis receiving therapy with tocilizumab: an anti-interleukin-6 receptor antibody. Biomed Res Int. 2013;2013:607137.doi:10.1155/2013/607137. Epub 2013 Aug 22. PubMed PMID: 24058910.