

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）
総括研究報告書

抗リン脂質抗体症候群合併妊娠の治療及び予後に関する研究

研究代表者 村島 温子 国立成育医療研究センター周産期・母性診療センター
主任副センター長

研究要旨

抗リン脂質抗体症候群(APS)は1986年に誕生した新しい疾患群であるが、その中で不育症から中期以降の流死産や妊娠高血圧症候群などの周産期合併症は主要な病態である。本APS合併妊娠のリスクの評価方法ならびにそれにあった治療方法を明らかにし、妊娠管理指針を呈示することを目的とし本研究を開始した。初年度である今年度はまず、抗リン脂質抗体症候群(APS)合併ないしは抗リン脂質抗体陽性妊娠の診療の現状を知ることが目的に、周産期系施設ならびに内科系施設にアンケートを依頼し、それぞれ831施設、159施設から回答を得た。その結果、抗リン脂質抗体の測定方法、APSの診断ならびに治療方針が整理されていない状況であることが認識された。また、APSの診断に不可欠な抗リン脂質抗体について標準化を行った。APS合併妊娠を不育症と標準的治療に抵抗性の(ハイリスク)APSに分けて、それぞれの臨床的特徴について検討した。前者については、既存の不育症データベースにAPS症例を追加し、抗リン脂質抗体のプロフィールと妊娠予後との関連を検討した。その結果、Lupus Anticoagulant(LA)陽性例で成功率が低い傾向があることが示された。研究者施設の自験例の検討からもLAが陽性であることがハイリスクであることが示された。また、研究者施設の不育症のカルテ調査で、抗凝固療法の適応が整理される必要があることが示された。ハイリスクAPS妊娠症例を多く持つ研究施設が共同し症例データベース構築を開始した。ハイリスクAPS妊娠症例に対するIVIg療法の有効性を評価する臨床試験に関するワーキンググループで検討、プロトコルを作成し倫理委員会に提出した。ハイリスクAPS妊娠症例における治療効果は児の子宮内発育不全の有無で評価されるが、そのバイオマーカーについて検討した。

研究分担者

齋藤 滋

富山大学大学院医学薬学研究部

産科婦人科学教室 教授

杉浦 真弓

名古屋市立大学大学院医学研究科産科婦

人科学教室 教授

渥美 達也

北海道大学大学院医学研究科

免疫・代謝内科学分野 教授

山田 秀人

神戸大学大学院医学研究科外科系講座

産科婦人科学分野 教授

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

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

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

野澤 和久

順天堂大学医学部膠原病内科 准教授

A. 研究目的

本研究は抗リン脂質抗体症候群(APS)合併妊娠のリスク度の評価方法ならびにそれにあった治療方法を明らかにし、妊娠管理指針を呈示することを目的としている。今年度は下記項目別に研究を行った。

B. 研究方法

. APS 合併妊娠の現状は？

1) 医師にどうとらえられているのか

- ・全国アンケート調査（産婦人科系）
全国の妊婦健診施設の産婦人科長と不育症専門クリニック施設長を対象にアンケート調査を行った（杉浦 報告書参照）。
- ・全国アンケート調査（内科系）
日本リウマチ学会教育施設責任者ならびに日本血栓止血学会代議員を対象にアンケート調査を行った（奥 報告書参照）。

2) 不育症データベースを用いたAPS合併妊娠の検討

厚生労働研究齋藤班で集計している不育症データベースを用いて、各抗リン脂質抗体陽性例の抗体の種類別の妊娠

予後を検討し、あわせて抗体価や重複例での周産期予後を検討した。（齋藤）

3) 各研究者施設における不育症患者の検討

不育症患者の中から各種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ートリーと妊娠予後について比較検討した。また、APSの診断基準を満たすか満たさないかに関係なく抗リン脂質抗体が陽性の44妊娠をAPS群、APS検査基準のみ満たす群、aCL弱陽性群の3群に分けて生児獲得率を比較した。（山田）。自験の不育症症例を後ろ向きにカルテ調査し、抗凝固療法の有用性について検討した。（光田）

4) 流産・不育症の病理所見に関する検討

自験の流産症例を対象とする流産物の病理学的解析を行うためのチェック項目リストを作成した。（中山）

. 抗リン脂質抗体の測定法・解釈の問題点ならびにその解決方法は？

1) 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）の標準化

aPS/PT-IgG/IgM測定に用いられる計4種の Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(ELISA) キット（in-house, Inova）の抗体測定能を検定した。（渥美）

2) 抗リン脂質抗体の標準化ならびに抗体プロフィールと生児獲得率に関する前向き研究

不育症患者から非妊時に採血し、有用性が証明されている 2GPI 依存性抗カルジオリピン(aCL) 抗体、ループスアンチコアグラント(LA)-希釈ラッセル蛇毒法 RVVT、LA-aPTT 法、いずれかが陽性

の場合には抗凝固療法を行った。今回検証の対象となった、LA-リン脂質(PL)中和法、aPS/PT- IgG・M、古典的 aCL IgG・M、aCL IgG・M・A、 2GPI IgG・M・A (Phadia) の 11 種類については治療バイアスを除外するため、凍結保存して、帰結後に測定して解析を行った (杉浦、北折)。さらに、XII因子多型の有無、活性、抗リン脂質抗体の有無と次回妊娠転帰について検討した。(杉浦)

・標準的治療抵抗性APSに関する治療方法の開発

- 1) 標準的治療に抵抗性のハイリスクAPS 妊娠症例に対し効果が期待される大量ガンマグロブリン療法 (IVIG) の有効性を見るための臨床試験の方法について、ワーキンググループで検討した。(村島、山田)
- 2) 1) の研究の基礎資料とするために IVIG の免疫調節作用について検討した。(野澤)
- 3) 1) の研究の基礎研究として児の子宮内発育不全のバイオマーカーについて検討した。(高橋)

(倫理面への配慮)

疫学研究に関する倫理指針にのっとり施行した。症例調査の際には匿名化によるプライバシーの保護を行うとともに、研究データは情報管理責任者のもとで厳重に管理している。

なお、本研究は、当施設の倫理委員会の承認を受けている。

(平成 25 年 8 月 承認番号 692)

(平成 25 年 9 月 承認番号 703)

(平成 25 年 11 月 承認番号 736)

(平成 26 年 1 月 承認番号 749)

C. 結果

・ APS 合併妊娠の現状は？

1) 医師にどうとらえられているのか

・全国アンケート調査 (産婦人科系)
2700 施設に依頼し 831 施設から回答を得た。不育症を扱う施設で扱う妊娠数のうち約 10% が APS と推定できた。また、APS に関する各種検体検査についての答えからは、測定回数やカットオフ値など、必ずしも国際学会の基準に基づいた判断がなされていない状況が確認できた。

・全国アンケート調査 (内科系) 内科系 (膠原病・血栓関連) 施設 477 施設に調査を依頼し、159 施設から回答を得た。

APS 妊娠症例があったのが合計 53 施設で、延べ人数は 118.7 人/年であった。第 1 部の抗リン脂質抗体の測定についてのアンケートでは分類基準や国際血栓止血学会推奨の測定方法に必ずしも沿っていなかった。

第 2 部の APS 妊娠の治療の実際を検討したアンケートでは、産科的 APS においては治療の initiative は産科医にまかしているという回答が半数近くを占めた。治療の選択肢について治療薬の選択や、治療時期については施設間差が大きかった。

2) 不育症データベースを用いた APS 合併妊娠の検討

不育症データベース 3,391 人中、何らかの抗リン脂質抗体が陽性であったのは、346 例 (10.2%) であった。各抗リン脂質

抗体の陽性率が多い順に、抗CL-IgG抗、CL-IgM、抗₂GPI複合体抗体、LA陽性であった。重複例31/346(9.0%)であった。抗体のプロフィールでは、LA陽性例で生児獲得率が低い傾向にあった。各種抗体価と生児獲得率の間には有意な相関はなかった。(齋藤)

3) 各研究者施設における不育症患者の検討

一施設自験例 235 例を用いての抗リン脂質抗体陽性不育症患者の後方視的解析では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予後が悪くなることが示された。一方で、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ていた。さらに、APS の診断基準を満たすか満たさないかに関係なく抗リン脂質抗体が陽性の 44 妊娠(不育症の検査で aPL 陽性が判明したものの 20 例、自己免疫疾患や妊娠高血圧症候群などの精査判明したものの 24 例)を APS 群、APS 検査基準のみ満たす群、aCL 弱陽性群の 3 群に分けて生児獲得率を比較した結果では 3 群の間に差は認めなかった。(山田)

先行妊娠で抗凝固療法を行い、後続妊娠を管理した不育症 203 例のカルテ調査では、後続妊娠の転帰については、先行妊娠での予後良好群 115 例のうち後続妊娠で無治療としたにもかかわらず予後良好であったものが 20 例あった。一方、先行妊娠が予後不良であった群(88 例)では、後続妊娠での予後良好が 46 例あり、うち無治療であったものは 3 例だった。予後不良は 23 例であった。(光田)

流産・不育症の病理所見に関する検討ではチェック項目リストを作成し、基本的な病理所見を呈示した。(中山)

・抗リン脂質抗体の測定法・解釈の問題点ならびにその解決方法は？

1) 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)の標準化

aPS/PT-IgG/IgM測定に用いられる計4種の ELISAキットの抗体測定能を検定した結果、ELISA間での陽性一致率はCohenの係数はそれぞれ0.962、0.597と良好な一致率を示した。また、異なるELISA間における抗体価の相関も $r=0.749$, $r=0.622$ と良好であった。(渥美)

2) 抗リン脂質抗体の標準化ならびに抗体プロフィールと生児獲得率に関する前向き研究

不育症患者 560 名の従来法を用いた抗リン脂質抗体陽性率は \square 2GPIaCL4.6%、LA-aPTT6.8%、LA-RVVT3.4%だった。今回の検証の対象となった 11 種類の測定法(PL 中和法、aPS/PT IgG、IgM、古典的 aCL IgG/IgM、CL-IgG/M/A、2GPI-IgG/M/A)は従来法を基準としたAPSに対して90-100%の強い特異度を認めた。PL 中和法(StaClot)に関して、健常人 98 μ -セントルを基準とした場合でも生児獲得率に有意差がみられた。aPS/PT-IgG の陽性群で生児獲得率が低かった。さらにXII因子活性と遺伝子多型の検討から、XII因子低下があっても次回妊娠の流産率に影響がないことが示された。(杉浦)

標準的治療抵抗性APSに関する治療方法の開発

- 1) 標準的治療に抵抗性のハイリスクAPS妊娠症例に対する大量ガンマグロブリン療法 (IVIG)の有効性を見るための臨床試験の方法について、ワーキンググループ会議の結果ならびに生物統計学、倫理学の専門家によるアドバイスを得て前向き介入試験のプロトコルを作成し、倫理委員会に提出した。(村島、山田)
- 2) IVIG の免疫調節作用に関する文献的考察では Th1、Th2、Th-17、Treg、補体を介して習慣性流産治療に効果を発揮していることが推察された。(野澤)
- 3) 児の子宮内発育不全 (FGR) のバイオマーカーについて FGR42 例を含む臍帯血 224 例で検討した。FGR 児では有意に IL-6 低値、TGF β 1、 β 2 低値が認められた。TGF β 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示された。(高橋)

D. 考察

本領域を扱うと思われる全国の産婦人科系施設を対象としたアンケート調査で、取り扱っている施設に偏りがあること、診断に混乱がある現状が明らかになるとともに、必ずしも国際学会の基準に則って診断されていない状況がわかった。産科的に有用な PL 中和法の普及率が 13%と極めて低いこと、抗カルジオリピン抗体、PE 抗体、PS 活性、PC 活性、XII 活性の測定が高頻度に行われている実態が明らかになるとともに、

本領域の検査について整理してほしいとの要望も寄せられた。内科系対象のアンケート調査で APS 妊娠例の診療実績が低いこと、aPL の検査自体が十分に行われていない実態が明らかになり、今後内科領域にも関心をもってもらうことも検討する必要がある。aPL の測定方法の選択ならびに解釈について内科系と産科系との間に差があるかどうか、今回のアンケート調査を用いてさらに解析する必要がある。治療方針については半数近くの内科医は産科医に委ねており、産科・内科間の連携を構築していくことが重要な課題であると考えられた。全国規模の不育症データベースならびに研究者が所属する施設での検討で、APS の妊娠予後に最もリスクとなる aPL は LA であることが示された。

不育症では確固たる根拠がなくても抗凝固療法が行われがちで、その治療効果の検証は難しい。本研究で、先行妊娠で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高率に生児を得ていたという結果が得られたことは、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すものである。

不育症の病理診断のためのチェックリスト作成することによって、客観的病理診断につなげることができた。

本研究でも示されたように APS 合併妊娠で最も予後に関係している aPL は LA である。しかし、LA は機能的(凝固検査により)に検出されるため、ヘパリンの使用下では当てにできない。そのため、LA の責任抗体と考えられる aPS/PT の測定で代替することが求められている。本研究で、キットによらず aPS/PT は APS のマーカー抗体と

なりうる事が確認されたことで、今後産科的 APS の診断に普及していく道が示された。

抗リン脂質抗体の標準化ならびに抗体プロファイルと生児獲得率に関する前向き研究では LA-PL 中和法(StaClot)と aPS/PT が産科的に有用なことが示され、今後多くある aPL の中から有用なものが選別されていく可能性が示された。また、過去に XII 因子活性低下が流産の危険因子であるという報告は LA の影響をみていたことを示唆する結果は、不育症患者で XII 因子活性を測定する意義について再考する促すものとなった。

標準的治療に抵抗性の APS 妊娠症例に対する IVIG の有効性を見るための臨床試験について倫理委員会に承認され、開始となったが、これに先立って IVIG の免疫学的作用ならびに APS 合併妊娠のアウトカムとして最も重要な FGR のバイオマーカーの検討を行い、この臨床試験の基礎固めができたと考えている。

E . 結論

現状を知るための全国アンケート調査ではその診断方法ならびに治療方法について、臨床の現場で混乱している状況が明らかになった。APS 妊娠の予後を規定する aPL の種類や標準化、ハイリスク APS に関する IVIG 療法のプロトコール作成など、今後 APS 合併妊娠のリスク因子の同定や、IVIG 療法の臨床試験につながる成果を上げることができた。

F . 健康危険情報

特記すべき事項なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

なし

2 . 学会発表

- 1 . 村島温子 : 母性内科から見た抗リン脂質抗体関連不育症. 第 58 回日本生殖医学会学術講演会・総会, 神戸, 2013.11.16

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