

## 不育症における抗リン脂質抗体標準化に関する研究

研究協力者 北折珠央 名古屋市立大学大学院医学研究科産科婦人科学助教  
研究分担者 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授  
研究分担者 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  
研究協力者 奥 健志 北海道大学大学院医学研究科免疫代謝内科学分野助教  
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

ループスアンチコアグラント(PL 中和法)とフォスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体の産科的有用性が明らかになった。PL 中和法は国際学会の基準にも含まれており、欧米では普及しているが、国内では13%の施設でしか使用されていないため、早急な啓発が必要と考えられた。抗カルジオリピン IgG/M は国際学会の基準に用いられているが、古典的抗カルジオリピン IgG/M とは全く異なっており、産科的有用性に疑義が示された。

### A. 研究目的

抗リン脂質抗体は不育症の原因の10%を占め、唯一治療可能な原因であるが、抗リン脂質抗体は多様な抗体の集まりであるため測定法は多数あり、標準化されていない。「抗リン脂質抗体測定法に関するアンケート調査」でも明らかのように、医療者側も正しい知識が不足していることが多いため、不適切な検査、過剰な抗凝固療法をなされていることが少なくないことが本邦の不育症診療の問題点である。本研究では一般臨床医が測定可能な11種類の委託検査法の産科的有用性を明らかにすることを目的とする。

### B. 研究方法

子宮奇形と夫婦染色体異常を除く同意を得た560名の不育症患者を対象とした前向き研究を行った。非妊時に採血し、従来法 $\beta$ 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 法の有用性が証明された3種の検査法と、11種類の外注検査可能なLA-リン脂質(PL)中和法、フォスファチジルセリンプロトロンビン(aPS/PT) IgG・M、古典的 aCL IgG・M、aCL IgG・M・A、 $\beta$ 2GPI IgG・M・A(Phadia)を測定

した。臨床的検査である従来法3種が陽性の場合には抗凝固療法を行った。検証する11種の測定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。

その後の出産率と胎児染色体異常を除外した出産率を陽性・治療群、陽性・無治療群、陰性無治療群の3群間で多変量解析を行った。陽性の時に治療によって出産率が上昇する場合、無治療群で陽性の場合に出産率が低下する場合を「産科的有用性あり」とした。検査法についてはそれぞれの相関、特異度を検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言(「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」)に則り倫理面への配慮を行い名古屋市立大学倫理審査委員会の承認を得ている。本研究は、臨床検査時の採血で同時に採取し保存していた血漿検体を用いた為、研究対象者に対する不利益はない。対象者には文書で検体保存と研究目的の使用に同意を得ている。

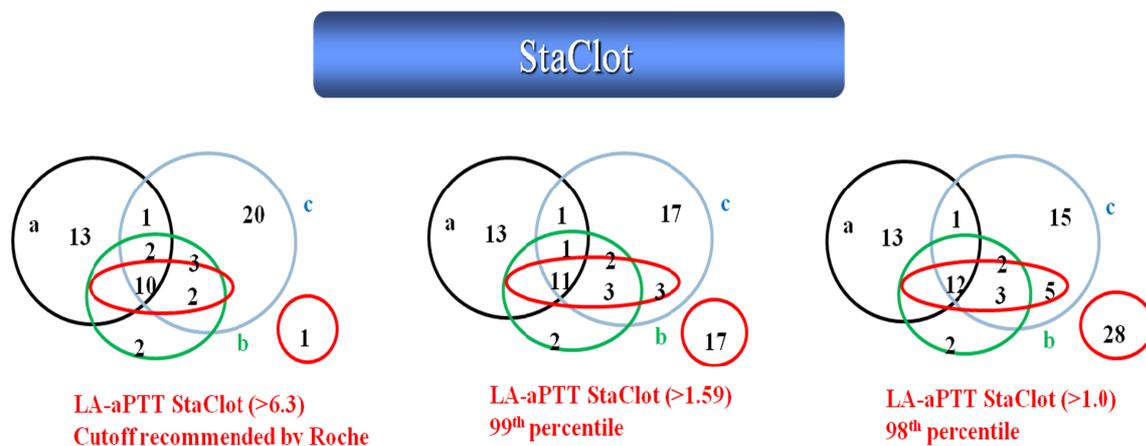
### C. 研究結果

陽性率は従来法 $\beta$ 2GPIaCL4.6%、LA-aPTT6.8%、LA-RVVT3.4%だった。11種類の測定法の健常人の99パーセントイルを基準とした陽性率はLP 中和法

6.1%、aPS/PT IgG4.5%、IgM 0.7%、古典的 aCL IgG 2.1%、IgM 0%、CL IgG/M/A 5.9%、1.4%、2.1%、 $\beta$  2GPI IgG/M/A2.0%、2.9%、8.7%だった。11種類とも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。

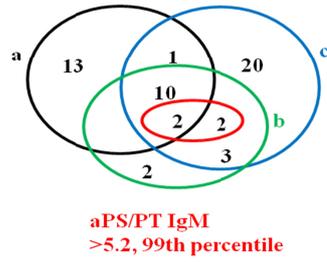
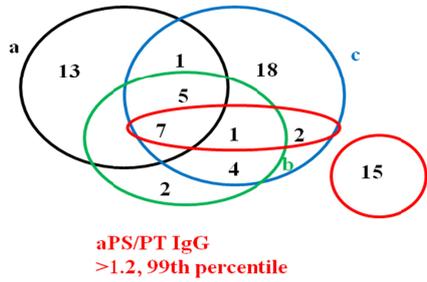
$\beta$ 2GPI aCL、古典的 CL IgG、 $\beta$  2GPI IgG、CL IgG また LA-aPTT、LA- RVVT、PL 中和法の間に関係を認めた。

PL 中和法(StaClot)に関して、検査会社の基準を用いるとおおむね従来法陽性に含まれた。健常人 99  $\mu$ l-セントシル、98  $\mu$ l-セントシルを基準とした場合、陽性治療群・陽性無治療群の出産率は 82.4% vs 58.8% および 85.7% vs 59.3%であり、染色体異常を除いて有意差がみられた。



		Live birth rate % (n)	Multivariable logistic regression		Live birth rate excluding abnormal EK% (n)	Multivariable logistic regression	
			OR (95% CI)	P-value		OR (95% CI)	P-value
StaClot > 1.59	Positive No treatment	58.8% (10/17)	Reference		71.4% (10/14)	Reference	
	Positive treatment	82.4% (14/17)	4.99 (0.77-32.39)	0.09	93.3% (14/15)	53.58 (0.938-3061.24)	0.05
	negative	70.7% (260/367)	1.72 (0.63-4.67)	0.29	79.5% (260/326)	1.57 (0.47-5.24)	0.46
StaClot > 1.0	Positive No treatment	59.3% (16/27)	Reference		66.7% (16/24)	Reference	
	Positive treatment	85.7% (18/21)	6.84 (1.21-38.61)	0.03	94.7% (18/19)	32.95 (1.76-616.95)	0.02
	negative	70.9% (254/357)	1.76 (0.78-3.94)	0.17	80.1% (254/316)	2.11 (0.86-5.21)	0.11

## aPSPT



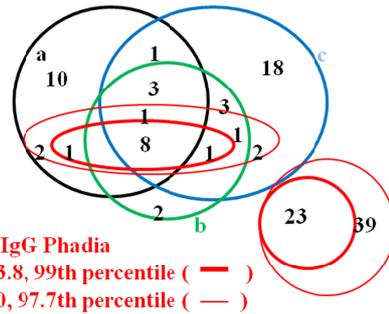
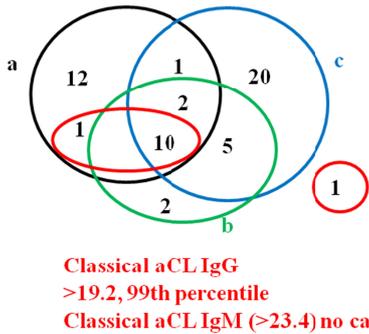
		Live birth rate % (n)	Multivariable logistic regression		Live birth rate excluding abnormal EK % (n)	Multivariable logistic regression	
			OR (95% CI)	P-value		OR (95% CI)	P-value
aPS/PT IgG > 1.2	Positive No treatment	50% (5/10)	Reference		50.0% (5/10)	Reference	
	Positive treatment	73.3% (11/15)	2.49 (0.38-16.26)	0.34	84.6% (11/13)	4.99 (0.58-42.72)	0.14
	negative	71.2% (264/371)	2.61 (0.73-9.35)	0.14	80.7% (264/327)	4.48 (1.23-16.13)	0.02
aPS/PT IgG > 1.0	Positive No treatment	54.5% (6/11)	Reference		54.5% (6/11)	Reference	
	Positive treatment	72.2% (13/18)	2.07 (0.39-10.85)	0.39	81.3% (13/16)	3.26 (0.54-19.77)	0.20
	negative	71.1% (263/370)	2.17 (0.64-7.35)	0.21	80.7% (263/326)	3.70 (1.08-12.66)	0.04

aPS/PT-IgG に関して、陽性無治療群・陰性無治療群の出産率は 50.0% vs 71.2%であり、染色体異常を除くと陽性群の出産率が有意に悪いことが判った。

た。頻繁に測定されている Harris の変法を用いた CL IgG, IgM はいずれの基準を用いても有用性は認められなかった。

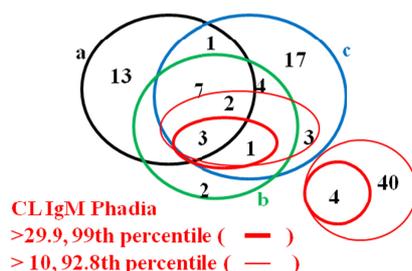
CL IgG 陽性例は従来法陽性におおむね含まれ

## Anticardiolipin IgG



		Live birth rate % (n)	Multivariable logistic regression		Live birth rate excluding abnormal EK % (n)	Multivariable logistic regression	
			OR (95% CI)	P-value		OR (95% CI)	P-value
CL IgG > 23.8	Positive No treatment	64.3% (9/14)	Reference		69.2% (9/13)	Reference	
	Positive treatment	68.4% (13/19)	1.41 (0.29-6.76)	0.67	72.2% (13/18)	1.60 (0.27-9.62)	0.61
	negative	70.6% (274/388)	1.36 (0.44-4.17)	0.60	80.4% (274/341)	1.83 (0.54-6.17)	0.33
CL IgG > 10	Positive No treatment	74.4% (32/43)	Reference		82.1% (32/39)	Reference	
	Positive treatment	61.1% (22/36)	0.624 (0.23-1.71)	0.36	68.8% (22/32)	0.56 (0.17-1.87)	0.35
	negative	69.9% (251/359)	0.81 (0.39-1.67)	0.56	79.7% (251/315)	0.87 (0.36-2.07)	0.75
Classical CL IgG > 19.2	Positive No treatment	0% (0/2)	Reference		0% (0/2)	Reference	
	Positive treatment	77.8% (7/10)	-	-	87.5% (7/8)	-	-
	negative	70.8% (267/377)	-	-	80.2% (267/333)	-	-

## Anticardiolipin IgM



		Live birth rate % (n)	Multivariable logistic regression		Live birth rate excluding abnormal EK % (n)	Multivariable logistic regression	
			OR (95% CI)	P-value		OR (95% CI)	P-value
CL IgM > 29.9	Positive No treatment	80% (4/5)	Reference		80% (4/5)	Reference	
	Positive treatment	100% (3/3)	-	-	100% (3/3)	-	-
	negative	70.3% (279/397)	0.56 (0.06-5.21)	0.61	80.7% (279/349)	1.00 (0.11-9.45)	1.00
CL IgM > 10	Positive No treatment	65.9% (27/41)	Reference		79.4% (27/34)	Reference	
	Positive treatment	78.6% (11/14)	1.87 (0.44-7.93)	0.40	84.6% (11/13)	1.35 (0.24-7.77)	0.74
	negative	70.9% (256/361)	1.24 (0.62-2.48)	0.54	80.0% (256/320)	1.04 (0.43-2.51)	0.93

### D. 考察

PL 中和法と aPS/PT IgG は産科的に有用であった。国際学会の基準は健常人の 99 パーセントイルを推奨しているが、産科的な基準は 98 パーセントイルでも有用なこともあり、さらなる研究が必要と思われた。

LA-aPTT と PL 中和法は試薬が異なることで別の患者を特定するため、aPTT 試薬に関する研究が必要と思われた。

CL IgG/M は「抗リン脂質抗体測定法に関するアンケート調査」でも多くの施設が測定しており、国際学会の基準に用いられているが、古典的 CL IgG/M とは測定法、陽性率、陽性となる患者、産科的有用性の点で全く異なっており、産科的有用性に疑義が示された。

### E. 結論

PL 中和法の産科的有用性が明らかになった。国際学会の基準にも含まれており、欧米では普及しているが、国内では 13% の施設でしか使用されていないことがアンケート調査で明らかになっている。PL 中和法の有用性と CL IgG/M の有用性がないことを、医師に対しては学会のガイドライン、総説、講演

を通じて、患者に対してはホームページ、講演を通じて、普及啓発を行う予定である。

PL 中和法と LA-RVVT は同時に測定することは保険採用されていない。両者の測定が可能になるように厚生労働省に働きかける予定である。

aPS/PT IgG に関しては北大研究室で測定したため、委託検査会社で再度測定し、再現性の確認を行う予定である。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

Kitaori T, Sugiura-Ogasawara M, Oku K, Papisch W, Ozaki Y, Katano K, Atsumi T. Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and cutoff levels for obstetric APS. submitted.

Sugiura-Ogasawara M, Suzuki S, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N, Kitaori T. Frequency of recurrent spontaneous abortion and its influence on further marital relationship and illness: The Okazaki Cohort Study in Japan. J Obstet Gynaecol Res. 2013; 39: 126-31.

Hayashi Y, Sasaki H, Suzuki S, Nishiyama T, Kitaori T, Mizutani E, Suzumori N, Sugiura-Ogasawara M. Genotyping analyses for polymorphisms of ANXA5 gene in patients with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2013; 100 (4): 1018-1024.

Nakano Y, Akechi T, Furukawa T, Sugiura-Ogasawara M. Cognitive behavior therapy for psychological distress in patients with recurrent miscarriage. *Psychology Research and Behavior Management* 2013; 6: 37-43.

Katano K, Suzuki S, Ozaki Y, Suzumori N, Kitaori T, Sugiura-Ogasawara M. Peripheral natural killer cell activity as a predictor of recurrent pregnancy loss: a large cohort study. *Fertil Steril* 2013; 100 (6): 1629-34.

Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N. Management of recurrent miscarriage. invited review *J Obstet Gynecol Res* in press.

Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N. Müllerian anomalies and recurrent miscarriage. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 2013; 25: 293-298.

## 2 学会発表

Sugiura-Ogasawara M, Kitaori T, Ozaki Y, Katano K, Atsumi T. Trial for standardization of the measurement for antiphospholipid antibodies in recurrent pregnancy loss. 14<sup>th</sup> International congress on Antiphospholipid antibodies. 2013. 18-21. Rio de Janeiro.

北折珠央、林裕子、水谷栄太、尾崎康彦、鈴森伸宏、杉浦真弓「シンポジウム不育症診療における新しい展開：原因不明不育症における遺伝子の関与」第 58 回日本生殖医学会. 2013. 11. 15-16. 神戸ポートピアホテル.

杉浦真弓「不育症の検査と治療」第 45 回日本臨床検査自動化学会サテライトセミナー. 2013. 10. 11. パシフィコ横浜.

杉浦真弓「不育症の検査と治療」第 50 回関甲信支部医学検査学会サテライトセミナー. 2013. 10. 6. つくば国際会議場.

杉浦真弓「いつか子どもを持ちたいあなたへ」福島県民公開講座. 2013. 7. 27. 会津大学.

杉浦真弓「不育症」第 135 回東北連合産科婦人科学会招請講演. 2013. 6. 9. 山形テルサ

杉浦真弓「抗リン脂質抗体症候群と不育症」第 35 回日本血栓止血血液学会サテライトセミナー. 2013. 6. 1. 山形

## 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