

$P<0.01$)。治療介入は 140 例(87.0%)で行われ、生児獲得は治療群 115 例(82.1%)、無治療群 15 例(71.4%)であった。無治療で生児を得た症例は 15 例(全体の 9.3%)であった。先行妊娠、後続妊娠共に治療を行っても転帰不良であった例は 17 例(10.6%)であった。

D. 考察

今回の対象において、抗血小板・抗凝固療法を行った先行妊娠の転帰によってその後の妊娠転帰は有意に異なっていた。原因不明の不育症を適応とした治療介入を行った妊娠の転帰が、以後の妊娠における独立した予後予測因子であるかについては、交絡因子を踏まえた多変量解析が必要である。今回の検討では後続妊娠時無治療でも転帰良好であった例を認め、特に先行妊娠転帰良好群では後続妊娠時に無治療であった 15 例中 12 例 (80%) が予後良好であり、流産率は 13%程度と一般的な流産の頻度と同程度であった。このことから本研究の対象には無治療でも妊娠予後が変わらない例が含まれている可能性がある。一方で先行妊娠、後続妊娠共に治療を行っても転帰不良であった例を 17 例(161 例中 10.6%)認めた。抗凝固療法に抵抗性である原因不明の不育症に対して確立された有効な治療法は無いが、免疫グロブリン投与が症例によっては有効である可能性は否定できず国内においてもその有効性が検討されている。

E. 結論

原因不明の不育症に対する抗凝固療法既往のある妊婦に、無治療でも予後良好の例や、治療下においても予後不良の例が認め

られた。原因不明の不育症に対する抗凝固療法の適応を吟味し、一定の基準で治療介入と治療効果の評価を行うことが必要と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

本研究結果は日本周産期・新生児学会誌に投稿中である。

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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（成育疾患克服等総合研究事業）

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)には原発性と自己免疫疾患の合併による二次性があるが、このような母体から出生した新生児の病態を明らかにするために、児の臍帯動静脈血中の 17 種類のサイトカインのプロファイルを解析した。7 名の合併症母体から出生した児を検討し、この内、4 名は自己免疫疾患合併で、1 名は Protein S 低下症だった。全例、APS の診断基準は満たしていなかった。この中で、全身性エリテマトーデス (SLE) 合併母体からの児の臍帯血は、IL-6 の 31382pg/ml を始め多くのサイトカインが極めて高値だった。また、強皮症母体からの児でも多くのサイトカインが異常高値で、さらに Protein S 低下症母体からの児でもケモカインなどの高値が見られた。この 3 名の母体は妊娠中、低用量アスピリン (LDA) などの治療を受けていた。以上から、母体がこれらの合併症を有している場合、胎児が高サイトカイン血症を呈している場合があることが明らかとなった。今後、APS 合併の場合に同様のことが起きているかどうか、また、さらにこれらの児の高サイトカイン血症の発生機序について検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体症候群(APS)には原発性と全身性エリテマトーデス (SLE) などの自己免疫疾患の合併による二次性があり、おおむね同数の患者がいると推測されている。原発性、二次性に関わらず、APS 合併の母体から出生した児は胎児発育不全(FGR)などの合併症をきたすことが少なくない。しかし、このような

APS や自己免疫疾患合併の母体の胎児や新生児の病態はほとんど解明されていない。

本研究事業において、APS 母体に対する新たな治療法を確立するために、このような APS や自己免疫疾患合併の母体からの新生児の病態を詳細に検討する必要がある。

昨年度は本分担研究において、FGR の

児の血中サイトカインプロファイルを検討したが、今年度は、研究内容をさらに進めて、このようなAPSや自己免疫疾患の合併症をもつ母体からの新生児の臍帯血中のサイトカインプロファイルを直接、解析することとした。

これらは、今後、本事業で行われる臨床試験において、その治療が新生児にどのように影響するのかを明確にし、将来新生児の予後を改善するのに役立つと期待される。

また、臍帯血中のサイトカインがどこで産生されるのか、母体・胎盤由来か胎児由来かを明確にするために、臍帯血は動脈血と静脈血の両方で採取し、プロファイルと比較することも併せて行った。

B. 研究方法

東京大学医学部附属病院産婦人科で加療中のAPS、自己免疫疾患、妊娠高血圧症候群(PIH)などを合併した妊婦とその新生児を対象とした。分娩の前に母体より研究参加の同意を取得し、出生時に新生児の臍帯動静脈血を採取し、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 suspension array法を用いた。測定した項目はIL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17、IFN γ 、TNF α 、G-CSF、GM-CSF、MCP-1、MIP-1 β の17種類。

(倫理面への配慮)

研究は東京大学医学部倫理委員会へ申

請を行い、承認を得た(審査番号10480、平成26年5月15日承認)。その申請内容に基づき、検体・資料の匿名化を行い、個人情報保護した。検体が臍帯血であり、新生児に負担をかけずに研究を行った。

C. 研究結果

平成26年9月より検体採取を開始し、合計7名の母体からの新生児の採血・解析を行った。この内、2名の母体はそれぞれギランバレー症候群と気管支喘息の方で、気管支喘息合併の方の新生児臍帯血のサイトカイン値は概ね低値であり、他の対象との比較対照として用いることができると考えられた。その臍帯静脈血の値は、IL-1 β 0.45、IL-2 <0.1、IL-4 0.3、IL-5 0.95、IL-6 0.55、IL-7 1.42、IL-8 27.8、IL-10 <0.1、IL-12 6.3、IL-13 1.2、IL-17 21.6、IFN γ <0.1、TNF α 12.4、G-CSF 55.9、GM-CSF 34.5、MCP-1 71.2、MIP-1 β 275.0(単位:g/ml)だった。ギランバレー症候群の方の新生児ではIFN γ が82.1pg/mlと高値だったが、それ以外はこの気管支喘息の方の新生児と同様の値だった。

他の4名は自己免疫疾患合併で、Sjögren症候群、SLE、関節リウマチ(RA)、強皮症が各1例、残りのもう1名はProtein S低下症だった。全例、APSの診断基準は満たしていなかった。

この内、SLE合併母体は初回妊娠で妊娠中、低用量アスピリン(LDA)およびプレドニゾロン(PSL)の治療を受けて

いた。児は前期破水後に原因不明の胎児機能不全 (NRFS) を来し、超緊急帝王切開で出生した。在胎 39 週、2439g の FGR だった。UApH (臍帯動脈血 pH) は 7.18 で、新生児仮死はなく、新生児経過は黄疸を呈した以外は問題なく、通常どおりに退院した。しかし、この児の臍帯静脈血で、IL-1 β 1694、IL-2 26.1、IL-4 18.4、IL-6 31382、IL-8 18696、IL-10 140.7、IL-12 36.7、IL-13 16.0、IL-17 350.2、IFN γ 705.3、TNF α 1146.5、G-CSF 659.6、GM-CSF 138.3、MCP-1 2833、MIP-1 β >測定感度・単位・g/ml) とほとんど全てのサイトカインの異常な高値を認めた。絨毛膜羊膜炎 (CAM) は病理検査でも全く認めなかった。

強皮症合併母体も初回妊娠で、妊娠中に LDA とヘパリンの治療を受けていた。児は予定の帝王切開で在胎 39 週、2646g で出生した。UApH は 7.25 で新生児仮死はなく、新生児経過も問題なく通常どおりに退院した。しかし、この児の臍帯静脈血で、IL-1 β 58.2、IL-6 385.7、IL-8 3696、IL-12 36.7、IL-13 115、IL-17 179.5、IFN γ 62.1、TNF α 104.7、MIP-1 β 5721・単位・g/ml) と複数のサイトカインの異常な高値を認めた。CAM はなかった。

Protein S 低下症合併母体は 3 回妊娠と 1 回の出産歴があり、今回の妊娠中に LDA および PSL の治療を受けていた。児は分娩停止による帝王切開で在胎 36 週、3326g で出生した。UApH は 7.01 だったが、新生児仮死はなく、新生児経過も問題なく通常どおりに退院した。し

かし、この児の臍帯静脈血で、IL-1 β 39.95、IL-8 311、MCP-1 169.3、MIP-1 β 548・単位・g/ml) とケモカインと IL-1 β の高値を認めた。CAM は病理でも認めなかった。

それぞれ Sjögren 症候群と RA を合併した 2 人の母体は妊娠中も特に何の治療も受けず、新生児の臍帯血サイトカインもほぼ正常であった。いずれの児も特に問題なく退院した。

このように、臍帯静脈血のサイトカインの異常高値を認めた例が 3 例あったが、これらの児の臍帯静脈血と臍帯動脈血において、サイトカインの値には大きな違いはなく、異常高値を認めた例は、動脈血でも静脈血でも異常高値を認めた。

以上の結果から、母体が自己免疫疾患、特に SLE や強皮症を合併している場合、新生児に大きな異常を認めなくても、胎児期に高サイトカイン血症を呈している場合があることが確認された。

D. 考察

今回の解析では、APS の合併による影響は検討できなかったが、母体が自己免疫疾患を合併している場合、胎児が高サイトカイン血症を呈する可能性があることが示された。特に、SLE と強皮症で、炎症性サイトカイン、ケモカインが極端に高値となる場合があることが示された。SLE の例からは高サイトカイン血症が NRFS の原因となっていた可能性があり、今まで不明であったこのような母体から出生した児の病態にサイトカイン血症が関わっている可能性が考えられた。

しかし、今回の自己免疫疾患および Protein S 低下症合併母体からの 5 例全ての新生児が、生後、特に問題なく経過しており、出生時、児の免疫能が亢進していたというよりも、胎盤を介して胎児に移行したサイトカインによる高サイトカイン血症だった可能性が高いと思われた。いずれにしろ、この高サイトカイン血症の原因は現段階では不明であり、今後、さらに症例を増して検討するとともに、母体血のサイトカインプロファイルも同時に解析すべきと考えられた。この点はすでに検討を開始している。

本事業との関係から見て、今回の情報は新知見で、大変重要と考えられる。今回の例のみでは、APS 自体の影響は依然として不明だが、母体の凝固異常の管理を要した 3 例で胎児の高サイトカイン血症を認めており、今後、APS 母体からの児のサイトカインプロファイルの解析は必ず行うべきと考えられた。

臍帯動静脈血のサイトカインの比較で、両者に大きなずれがなかったことから、今回の結果は計測ミスや誤差ではなかったと考えられる。臍帯動静脈血については、一部の血液が胎盤を一回通過しただけの違いなので、この比較だけでは、高値だったサイトカインの由来は解明できないものと考えられた。この病態解析には、今後、母体血との比較が必須と考えられた。

E. 結論

母体が自己免疫疾患、特に SLE や強皮

症を合併している場合、胎児が炎症性サイトカイン、ケモカインが高値の状態にさらされている可能性が示唆された。さらに極端な高サイトカイン血症の場合、NRFS を呈し、児の状態を非常に悪くしている可能性も示唆された。今後、APS 合併の場合に同様のことが起きているのかどうか、さらにこの高サイトカイン血症の発生機序について検討する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Takahashi N, Takahashi K, Kobayashi M, Yada Y, Koike Y, Kono Y. Constitutively high-level expression of TGF β isoforms in cord blood and its relationship to perinatal findings. Cytokine 2015 (in press).

2. 学会発表

なし

G. 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（成育疾患克服等総合研究事業）
分担研究報告書

抗リン脂質抗体の全身性エリテマトーデスの病型への影響について

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（APS）は、習慣性流産を特徴とする不育症及び血栓症を引き起こす事で知られている。APS は基礎疾患のない原発性と膠原病などに合併する続発性に分けられるが、各種膠原病の中でも全身性エリテマトーデス（SLE）は抗リン脂質抗体（aPL）陽性率が他の膠原病疾患に比べて多く続発性 APS の代表的な基礎疾患とされている。SLE は病型の異なるヘテロな患者集団から構成されているが、我々は aPL が SLE の病型にどのような影響を与えるのかを明らかにする目的にて本研究を施行した。当科に入院歴のある SLE 患者のデータベース（Juntendo University Database of Erythematosus: JUDE）に登録されている 617 症例から aPL 陽性 SLE 患者 47 名を抽出し、同数の aPL 陰性患者を比較対象として解析した。aPL 陽性 SLE 患者群は aPL 陰性 SLE 群と比べて、血栓症および習慣性流産を呈した症例が有意に多かったのに加えて、中枢神経病変、皮疹（炎症性紅斑）、低補体血症、抗 DNA 抗体価高値を認める傾向にあった。血栓症の内訳においては、そのほとんどが脳血栓でそれ以外の血栓症の頻度は少なかった。さらに 47 例の aPL 陽性 SLE 患者群の中で血栓症、習慣性流産を呈した患者群とそれらのイベントが無い患者群に別けて比較検討した。血栓症（+）群（23 例：習慣性流産との重複患者 3 例を含む）は、イベント（-）群（17 例）と比べて、シェーグレン症候群の合併、血小板減少、脂質代謝異常を多く認めていた。さらに、習慣性流産（+）群（10 例：血栓症との重複患者 3 例を含む）とイベント（-）群との比較では習慣性流産（+）群において血栓症頻度が高かったが、それ以外の SLE の病型において統計学的に有意な差は認められなかった。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体症候群(APS) は、習慣性流産を特徴とする不育症及び血栓症を引き起こす事で知られている。APSは基礎疾患のない原発性と膠原病などに合併する続発性に分けられるが、各種膠原病の中でも全

身性エリテマトーデス（SLE）は抗リン脂質抗体（aPL）陽性率が他の膠原病疾患に比べて多く続発性APSの代表的な基礎疾患とされている。SLEは病型の異なるヘテロな患者集団から構成されているため、我々はaPL陽性SLE患者が習慣性流産を特徴と

する不育症及び血栓症以外にもなにか特徴的なSLEの病型を有するのかを調べて、aPLがSLEの病型に対してどのような影響を与えるのかを明らかにするため本研究を施行した。

B. 研究方法

当科に入院歴のある SLE 患者のデータベース (Juntendo University Database of Erythematosus: JUDE) に登録されている 617 症例から、aPL 陽性 SLE 患者 47 名を抽出して、性別・年齢や活動性などをマッチさせた同数 (47 例) の aPL 陰性患者を比較対象として患者基本情報 (性別、生年月日、体重、合併症) 及び臨床病型、合併症について比較解析して aPL 陽性 SLE 患者の臨床的特徴を調べた。統計学的手法として Fisher's exact test (又はカイ二乗検定) を用いて有意差の有無を調べた。また、aPL 陽性 SLE 患者において、血栓症 (+) 群、習慣性流産 (+) 群、イベント (-) 群にわけて、aPL 陽性 SLE 患者において血栓症や習慣性流産を呈する患者は、そのようなイベントを起こさない患者と臨床的特徴においてなにが違うのかについて比較検討を行った。

(倫理面への配慮)

当研究は、疫学研究的指針に則って施行した。

C. 研究結果

aPL 陽性 SLE 患者 47 名を抽出して同数の aPL 陰性患者を比較対象として解析した。aPL 陽性 SLE 患者群は aPL 陰性 SLE 群と比べて、血栓症および習慣性流産を呈した症例が有意に多かったのに加えて、中

枢神経病変、皮疹 (炎症性紅斑)、低補体血症、抗 DNA 抗体価高値という臨床的特徴を有していた (表 1)。血栓症の内訳においては、そのほとんどが脳血栓でそれ以外の血栓症の頻度は少なかった。さらに 47 例の aPL 陽性 SLE 患者群の中で血栓症、習慣性流産を呈した患者群とそれらのイベントが無い患者群に別けて比較検討した。血栓症 (+) 群 (23 例: 習慣性流産との重複患者 3 例を含む) は、イベント (-) 群 (17 例) と比べて、血小板減少を呈する患者が多く、関節炎の頻度が少ないという臨床的特徴を有していた (表 2)。さらに、習慣性流産 (+) 群 (10 例: 血栓症との重複患者 3 例を含む) とイベント (-) 群との比較では、習慣性流産 (+) 群においては、SLE に由来する皮疹を呈する頻度が低いという臨床的特徴を有していた (表 3)。また、血栓症 (+) 群と習慣性流産 (+) 群との比較では、SLE の病型においてははっきりとした違いは認められなかった。

D. 考察

aPL 陽性 SLE 患者群は aPL 陰性 SLE 群と比べて、血栓症および習慣性流産を呈した症例が有意に多かったのに加えて、中枢神経病変、皮疹 (炎症性紅斑)、低補体血症、抗 DNA 抗体価高値を認める傾向にあった。この事は、aPL 陽性 SLE 患者は免疫学的にも SLE の活動性が高い事を示唆している。また、統計学的な有意差は認められなかったが、aPL 陽性 SLE 患者は aPL 陰性 SLE 群と比べて再燃率が高い傾向にある事も認められた。近年は SLE 患者全体の治療成績が向上しているため、aPL 陽性 SLE 患者と aPL 陰性 SLE 群において長期予後に関し

て差は認められなかったが、aPL 陽性 SLE 患者は再発例も多く認められた事により注意深いフォローアップが必要であろう。また、aPL 陽性 SLE 患者におけるイベントの有無に関する比較解析では、血栓症 (+) 群は、イベント (-) 群と比べて、シェーグレン症候群の合併、血小板減少、脂質代謝異常を多く認めていた。特に血小板減少に関しては、APS 患者の血栓症と相関するといった報告も多い事より、今後 APS 患者における血栓形成と血小板減少の機序を調べる事により APS のより詳細な病態の解析が可能になると思われた。また、習慣性流産 (+) 群とイベント (-) 群との比較では習慣性流産 (+) 群において血栓症頻度が高かったが、それ以外の SLE の病型において統計学的に有意な違いは認められなかった。この事は、APS において習慣性流産と血栓症の発症に関して、aPL は異なった機序でそれぞれの病態に作用している可能性が高いと考えられた。

E. 結論

aPL 陽性 SLE 患者は、aPL 陰性 SLE 患者と比較して免疫学的に活動性が高い傾向にあり、再発例も多い傾向にある事により注意深いフォローアップが必要であろう。また、APS を合併する SLE 患者の血栓形成の機序に関しては血小板減少が強く関連する事が示唆された。また、APS では血栓と習慣性流産は異なった機序で発症する可能性も示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nozawa K, Fujishiro M, Takasaki Y, Sekigawa I. Inhibition of rheumatoid arthritis by blocking connective tissue growth factor. *World J Orthop.* 2014 Nov;18;5(5):653-9. doi: 10.5312/wjo.v5.i5.653. eCollection 2014 Nov 18. Review.
2. Doe K, Nozawa K, Okada T, Tada K, Yamaji K, Tamura N, Takasaki Y. Usefulness of minor salivary gland biopsy in the diagnosis of IgG4-related disease: a case report. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014 Apr 15;7(5):2673-7. eCollection 2014.
3. Doe K, Nozawa K, Hiruma K, Yamada Y, Matsuki Y, Nakano S, Ogasawara M, Nakano H, Ikeda T, Ikegami T, Fujishiro M, Kawasaki M, Ikeda K, Amano H, Morimoto S, Ogawa H, Takamori K, Sekigawa I, Takasaki Y. Antibody against chromatin assembly factor-1 is a novel autoantibody specifically recognized in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2014 Sep;23(10):1031-41. doi: 10.1177/0961203314536245. Epub 2014 May 16.

2. 学会発表

1. 山田佑介、野澤和久、仲野総一郎、満尾晶子、蛭間香織、土江健太郎、松木祐子、山中健二郎、関川巖、高崎芳成 NPSLE の新規バイオマーカーである髄液中抗 microtubule associated protein 2 抗体に

ついて 第58回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪, 東京, 2014年4月24日-26日

2. 蛭間香織、野澤和久、土江健太郎、山田祐介、松木祐子、仲野総一郎、関川巖、高崎芳成 全身性エリテマトーデスにおけるPCNA複合体形成蛋白であるRibonuclease-H (Rnase-H)に対する特異的自己免疫応答について 第58回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪, 東京, 2014年4月24日-26日

3. 土江健太郎、野澤和久、平井琢也、津島浩、林絵利、蛭間香織、安藤誠一郎、仲野総一郎、今高之、天野浩文、高崎芳成 全身性エリテマトーデスにおける2D/4D比の検討 第58回日本リウマチ学会総会・学術集会. グランドプリンスホテル新高輪, 東京, 2014年4月24日-26日

G. 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 抗リン脂質抗体陽性SLE患者の臨床的特徴 (aPL+群とaPL-群の比較)

病型	抗リン脂質抗体陽性 n=46	抗リン脂質抗体陰性 n=46	Odds ratio	p value (Fisher test)
尿所見異常	32%	21.70%	1.8	0.247
中枢神経病変	13%	4%	3.38	0.108
漿膜炎	4.4%	6.5%	0.67	1
発熱	40%	23%	1.69	0.274
関節炎	48.9%	45.8%	1.14	0.835
白血球減少	40.4%	34.8%	1.37	0.522
皮疹	58.3%	32.6%	2.36	0.05
血管炎	6.70%	0%	NA	0.117
脱毛	0%	6.7%	NA	0.242
口腔潰瘍	6.7%	15.2%	0.4	0.315
血小板減少	20%	21.7%	0.9	1
低補体血症	48.9%	30.4%	2.19	0.08
抗DNA抗体高値	75.5%	45.6%	3.68	<0.01
溶血性貧血	8.9%	4.3%	1.15	0.434

表2 抗リン脂質抗体陽性SLE患者の臨床的特徴 (血栓症 vs Event (-) 群の比較)

病型	血栓症 (+) n=23	Event (-) n=16	Odds ratio	p value (Fisher test)
尿所見異常	34.7%	25.0%	1.47	0.728
中枢神経病変	21.7%	6.25%	2.95	0.63
漿膜炎	0%	12.5%	0	0.149
発熱	39.1%	43.8%	0.73	0.743
関節炎	30.4%	62.5%	0.22	0.046
白血球減少	47.8%	25.0%	2.52	0.310
皮疹	56.5%	56.3%	0.87	1.0
血管炎	8.7%	6.25%	1.33	1.00
脱毛	0%	0%	NA	NA
口腔潰瘍	4.34%	6.25%	0.64	1
血小板減少	34.8%	6.25%	7.57	0.061
低補体血症	47.8%	50.0%	0.8	1
抗DNA抗体高値	73.9%	75.0%	0.71	1
溶血性貧血	13.0%	6.25%	2.1	1

表3 抗リン脂質抗体陽性SLE患者の臨床的特徴 (流産 vs Event (-) 群の比較)

病型	流産 (+) n=10	Event (-) n=16	Odds ratio	p value (Fisher test)
尿所見異常	30.0%	25.0%	1.18	1
中枢神経病変	20.0%	6.25%	3.5	0.543
漿膜炎	0%	12.5%	0	0.5
発熱	20.0%	43.8%	0.29	0.229
関節炎	50.0%	62.5%	0.5	0.442
白血球減少	40.0%	25.0%	1.83	0.667
皮疹	20.0%	56.3%	0.17	0.099
血管炎	0%	6.25%	NA	1.00
脱毛	0%	0%	NA	NA
口腔潰瘍	0%	6.25%	NA	1
血小板減少	0%	6.25%	NA	1
低補体血症	40.0%	50.0%	0.58	0.688
抗DNA抗体高値	70.0%	75.0%	0.58	0.653
溶血性貧血	0%	6.25%	NA	1

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(成育疾患克服等総合研究事業)
分担研究報告書

抗リン脂質抗体症候群に対する臨床試験のデータ管理

研究分担者 井上永介 国立成育医療研究センター臨床研究開発センター
データ管理部生物統計室室長

研究協力者 瀧本哲也 国立成育医療研究センター臨床研究開発センター
データ管理部小児がん登録室長

研究要旨

国立成育医療研究センターで計画されている「妊婦における難治・治療抵抗性の抗リン脂質抗体症候群 (APS) に対する大量免疫グロブリン療法についての前方視的臨床試験」について、研究計画書の記載内容や臨床試験の特徴をふまえて、Case Report Form (CRF) やデータ管理手順の作成を支援した。ただし、本臨床試験のように自施設内で実施される臨床試験のデータ管理のあり方については、ひき続き検討の余地があると考えている。

A. 研究目的

国立成育医療研究センター臨床研究開発センターでは、小児領域のさまざまな疾患分野の臨床試験および臨床研究の支援体制の構築を目指している。

このような活動の一環として、国立成育医療研究センターで計画されている「妊婦における難治・治療抵抗性の抗リン脂質抗体症候群 (APS) に対する大量免疫グロブリン療法についての前方視的臨床試験」について、研究計画書の記載に従って Case Report Form (CRF) やデータ管理手順の作成を支援すること目的とする。

B. 研究方法

国立成育医療研究センターの倫理委員会承認を受けた研究計画書の内容に従って、臨床試験を実施する研究事務局の医師と CRF で収集すべき臨床データの内容を検討し、さらに実際のデータ管理の手順を協議・決定する。そのうえで、臨床試験の開始を目指す。

(倫理面への配慮)

現在、国立成育医療研究センターで実施している臨床データの管理は、「疫学研究に関する倫理指針」、あ

るいは「臨床研究に関する倫理指針」に準拠している。すなわち、患者や検体提供者の個人情報を保護し、生体試料の研究利用に際しては提供者の同意の確認を徹底している。また、データ管理業務を担当する者は個人情報の保護にかかわる教育を受けており、収集した臨床データは外部のネットワークに接続しないイントラネットで管理している。

なお、今後は平成 27 年 4 月から施行される「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する必要があるため、これの記載も参照した。

C. 研究結果

(1) CRF で収集する臨床データの決定

臨床試験実施計画書において結果を評価するために CRF で収集するとされていた臨床データ項目は、免疫グロブリン投与開始前の理学所見・画像所見および血液検査所見、投与中の理学所見、投与終了後の理学所見・画像所見および血液検査所見、登録から免疫グロブリン投与終了までの期間の併用薬、合併症および重篤な有害事象である。データセンターと研究事務局との協議によって、これに加えて登録例の適格性を判定するための

項目 (Miyakis らによる APS の診断規準への合致度、「治療抵抗性 APS」と診断された根拠、低用量アスピリン療法やヘパリン療法実施の有無、習慣流産の既往、流死産児の染色体検査結果、28 週末満の妊娠合併症による早産の既往、血液凝固障害や重症妊娠高血圧その他の妊娠合併症の罹患歴など)、および研究計画書に示された除外基準項目 (過敏症の既往、子宮奇形や子宮粘膜下・筋層内腫瘍、検査値異常など)、プライマリーアウトカムの評価のための項目 (妊娠 28 週以降での生児獲得の有無および種々の母児の分娩時情報)、セカンダリーアウトカムの評価のための項目 (前回までの妊娠歴、妊娠合併症の有無、抗リン脂質抗体価の推移、血小板数と血小板機能、臍帯血のサイトカインプロファイルなど) を収集するための CRF を追加で作成し、CRF セットを確定した。

なお、これら以外にも免疫グロブリン投与終了から 36 週までの期間、理学所見や胎児の超音波検査、血液・尿検査などは定期的実施されることになっているが、CRF では改めて収集しないこととした。

(2) データ管理の手順

本臨床試験の実施医療機関は当センターのみであるが、抗リン脂質抗体、臍帯血サイトカイン、母体血 P-セレクチンの測定はセンター外で実施されるため、登録時にデータセンターにおいて匿名化コードを付与する。CRF は病棟において担当医が記入し、データセンターにその都度送付することとした。CRF の記載内容について疑義があればデータマネージャーから担当医に直接問い合わせる。また、重篤な有害事象が発生した場合には当センターの倫理委員会事務局、および施設長に報告することになっているため、このような場合には報告書の作成について担当医と協力を行うこととした。

D. 考察

抗リン脂質抗体症候群は妊娠中に発症・増悪し、合併妊婦に対して流産などの重大な影響を及ぼす疾患である。本研究班では、標準治療である低用量アスピリン療法の効果が不良な例に対するセカンドラインの

治療としての免疫グロブリン大量療法の有効性と安全性を検討する臨床試験を実施することが主眼となっており、このような妊婦にとって大きな福音をもたらす可能性を秘めていると考えられる。

臨床試験としての本研究の特徴として、適格症例の選択基準がやや複雑であること、プライマリーアウトカム (妊娠 28 週以降での生児獲得率) はハードな指標であるが、セカンダリーアウトカムの評価のために必要な項目が多いこと、センター外で実施される検査があること、単施設で目標症例数が 5~10 例と少ないため、詳細な統計学的計画や多施設共同試験の場合のようなモニタリングなどはなじまず、個々の症例の特徴を的確に把握することの意義が大きいこと等が考えられた。CRF の作成にあたってはこれらの点をふまえて、連結可能匿名化のうえで検体提出を行い、試験が目標としている臨床データが適切に収集できるように必要な CRF を追加作成する一方で、有効性や安全性の評価に直接は関連しないと考えられる臨床データについては CRF で収集しないこととして簡略化を図った。

ただし、本臨床試験のように研究実施とデータセンターが同一の施設内である場合には、必要な臨床データを後方視的に収集することは比較的容易であるため、CRF を一層簡略化することも許容される可能性がある。このような点も含め、自施設内で実施される臨床試験のデータ管理のあり方について、引き続き検討したいと考えている。

E. 結論

国立成育医療研究センターで計画されている難治・治療抵抗性の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についての前方視的臨床試験について、CRF 作成やデータ管理手順の作成を支援した。

F. 研究発表

1. 論文発表等
該当なし
2. 学会発表等

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsuki Y, Atsumi T, Yamaguchi K, Hisano M, Arata N, Oku K, Watanabe N, Sago H, Takasaki Y, Murashima A.	Clinical features and pregnancy outcome in antiphospholipid syndrome patients with history of severe pregnancy complications.	Mod Rheumatol.	25	215-218	2015
Watanabe N, Yamaguchi K, Motomura K, Hisano M, Sago H, Murashima A.	Combination therapy with anticoagulants, corticosteroids and intravenous immunoglobulin for women with severe obstetric antiphospholipid syndrome.	Clin Exp Rheumatol.	32	299-300	2014
Inada K, Shima T, Ito M, Ushijima A, Saito S.	Helios-positive functional regulatory T cells are decreased in decidua of miscarriage cases with normal fetal chromosomal content.	J Reprod Immunol.	107	10-19	2015
Kambe S, Yoshitake H, Yuge K, Ishida Y, Md. Moksed Ali, Takizawa T, Kuwata T, Ohkuchi A, Matsubara S, Suzuki M, Takeshita T, Saito S, Takizawa T.	Human exosomal placenta-associated miR-517a-3p modulates the expression of PRKG1 mRNA in Jurkat cells.	Biol Reprod	91	129 1-11	2014
Yoshida T, Takasaki I, Kanegane H, Inomata S, Ito Y, Tamura K, Makimoto M, Saito S, Yoshimoto Y, Miyawaki T.	Intrauterine growth restriction modifies gene expression profiling in cord blood	Pediatr Int.	56	559-565	2014
Saito S, Nakashima A.	A review of the mechanism for poor placentation in early-onset preeclampsia; the role of autophagy in trophoblast invasion and vascular remodeling.	J Reprod Immunol	101-102	80-88	2014
Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Saito S, Matsumoto N.	Whole exome sequencing revealed biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss.	Clin Genet	85	592-594	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sugiura-Ogasawara M, Lin BL, Aoki K, Maruyama T, Nakatsuka M, Ozawa N, Sugi T, Takeshita T, Nishida M.	Does surgery improve live birth rates in patients with recurrent miscarriage caused by uterine anomalies?	J Obstet Genocol	35	155-158	2015
Asano E, Ebara T, Yamada-Namikawa C, Kitaori T, Suzumori N, Katano K, Ozaki Y, Nakanishi M, Sugiura-Ogasawara M.	Genotyping analysis for the 46 C/T polymorphism of coagulation factor XII and the involvement of factor XII activity in patients with recurrent pregnancy loss.	PlosOne	9	E114452	2014
Goto S, Ozaki Y, Suzumori N, Yasukochi A, Kawakubo T, Furuno T, Nakanishi M, Yamamoto K, Sugiura-Ogasawara M.	Role of cathepsin E in decidual macrophage of patients with recurrent miscarriage.	Mol Hum Reprod	20	454-462	2014
Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N.	Management of recurrent miscarriage. invited review	J Obstet Gynecol Res	40	1174-1179	2014
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	100	1018-1024	2013
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	6	37-43	2013
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	100	1629-34	2013
Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Suzumori N.	Müllerian anomalies and recurrent miscarriage.	Current Opinion in Obstetrics and Gynecology	25	293-298	2013
Takahashi H, Washio M, Kiyohara C, Tada Y, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Yamamoto M, Horiuchi T.	Psychological stress in a Japanese population with systemic lupus erythematosus: Finding from KYSS study.	Mod Rheumato	24	448-452	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Amengual O, Horita T, Binder W, Norman GL, Shums Z, Kato M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Yasuda S, Atsumi T	Comparative analysis of different enzyme immunoassays for assessment of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies.	Rheumatology International	34	1225-1230	2014
Kono M, Yasuda S, Kato M, Kanetsuka Y, Kurita T, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Oba K, Kondo M, Mukai M, Yanai M, Fukasawa Y, Atsumi T.	Long-term outcome in Japanese patients with lupus nephritis.	Lupus	23	1124-1132	2014
Bertolaccini ML, Amengual O, Andreoli L, Atsumi T, Chighizola CB, Forastiero R, de Groot P, Lakos G, Lambert M, Meroni P, Ortel TL, Petri M, Rahman A, Roubey R, Sciascia S, Snyder M, Tebo AE, Tincani, Willis R.	14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force. Report on antiphospholipid syndrome laboratory diagnostics and trends.	Autoimmun Rev	13	917-930	2014
Devreese KM, Pierangeli SS, de Laat B, Tripodi A, Atsumi T.	Ortel TL; Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid/Dependent Antibodies. Testing for antiphospholipid antibodies with solid phase assays: guidance from the SSC of the ISTH.	J Thromb Haemost	12	792-795	2014
Oku K, Amengual O, Atsumi T.	Antiphospholipid scoring: significance in diagnosis and prognosis.	Lupus	23	1269-1272	2014
Maesawa Y, Yamada H, Deguchi M, Ebina Y.	History of biochemical pregnancy was associated with the subsequent reproductive failure among women with recurrent spontaneous abortion.	Gynecol Endocrinol		[Epub ahead of print] doi:10.3109/09513590.2014	2015
Ebina Y, Nakamachi Y, Tanimura K, Morizane M, Morikami S, Deguchi M, Kawano S, Yamada H.	Management of thromboembolism in pregnant women with inherited antithrombin deficiency: genotype-phenotype analysis.	Exp Clin Cardiol	20	145-159	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
杉浦真弓、尾崎康彦、片野衣江、佐藤剛、北折珠央、後藤志信	不育症・習慣流産	産婦人科の実際	63	1564-1571	2014
北折珠央、片野衣江、尾崎康彦、杉浦真弓	抗リン脂質抗体症候群	周産期医学	44	1197-1201	2014
杉浦真弓	習慣流産における遺伝子医療の関与	医学の歩み	250	389-394	2014
杉浦真弓	不育症—治療法の変遷	周産期医学	44	289-292	2014
出口雅士	習慣流産の検査と治療について (Q&A)	産婦人科の進歩	66	185-186	2014

IV. 研究成果の刊行物・別刷

ORIGINAL ARTICLE

Clinical features and pregnancy outcome in antiphospholipid syndrome patients with history of severe pregnancy complications

Yuko Matsuki^{1,2}, Tatsuya Atsumi³, Koushi Yamaguchi¹, Michi Hisano¹, Naoko Arata¹, Kenji Oku³, Noriyoshi Watanabe¹, Haruhiko Sago¹, Yoshinari Takasaki², and Atsuko Murashima¹

¹Center of Maternal-Fetal, Neonatal and Reproductive Medicine, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan,

²Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan, and ³Department of Medicine II, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan

Abstract

Objective. To clarify the clinical significance of antiphospholipid antibody (aPL) profile in patients with obstetric antiphospholipid syndrome (APS).

Methods. Clinical records of 13 pregnant patients (15 pregnancies) with obstetrical APS were reviewed over 10 years. Patients who met the Sapporo Criteria fully were studied, whereas those with only early pregnancy loss were excluded. In addition to classical aPL: lupus anticoagulant (LA), anticardiolipin antibody (aCL), and anti- β 2-glycoprotein I (a β 2GPI); phosphatidylserine-dependent anti-prothrombin antibody (aPS/PT) and kininogen-dependent anti-phosphatidylethanolamine antibody (aPE) were also examined in each case.

Results. Cases were divided into two groups according to patient response to standard treatment: good and poor outcome groups. All cases with poor outcome presented LA, with IgG a β 2GPI and IgG aPS/PT were also frequently observed. IgG aPE did not correlate with pregnancy outcome.

Conclusion. aPL profile may predict pregnancy outcome in patients with this subset of obstetric APS.

Keywords

Antiphospholipid syndrome, Lupus anticoagulant, Phosphatidylserine-dependent anti-prothrombin antibody, Pregnancy

History

Received 9 May 2014

Accepted 4 July 2014

Published online 22 August 2014

Introduction

Antiphospholipid syndrome (APS) is a state characterized by arterial or venous thrombosis and/or pregnancy morbidity in women with laboratory evidence of antiphospholipid antibodies (aPL) [1].

Pregnancy morbidity in APS is defined as unexplained death of a morphologically normal fetus (≥ 10 weeks' gestation); one or more premature births before 34 weeks of gestation due to eclampsia, preeclampsia, placental insufficiency; or three or more embryonic (< 10 weeks' gestation) pregnancy losses unexplained by maternal or paternal chromosomal abnormalities or by maternal anatomic or hormonal causes [2,3]. Serious antiphospholipid-associated pregnancy complications include pregnancy-related maternal thrombosis, late fetal death (≥ 10 weeks' gestation), early severe preeclampsia, and fetal growth restriction [4].

The major obstetrical morbidity in APS is pregnancy loss, mainly in the second or third trimester. However, many of the cases that are treated as APS are recurrent pregnancy losses before 10 weeks of gestation. Although there are many causes of these recurrent early pregnancy loss, such as chromosomal abnormality, uterine malformation, hormonal causes, and idiopathic, about 70% of the causes of recurrent pregnancy loss in our clinical experience are unidentifiable. Those cases are diagnosed as APS by the

current criteria [3], leading to inappropriate treatment. It remains controversial whether cases with history of recurrent early pregnancy loss (in the absence of other typical and serious manifestations) should be included as a conception of obstetric APS. Some investigators believe aPL is not responsible for embryonic loss before 10 weeks [5–7]. On the other hand, kininogen-dependent anti-phosphatidylethanolamine (aPE) antibodies are reported to have significant correlation with recurrent early pregnancy losses [8].

To clarify the clinical features of serious obstetric APS, we retrospectively analyzed a case series of pregnant women who fulfilled the criteria for APS. We determined the correlation between aPL profiles and obstetrical outcomes.

Methods

Patients characteristics

A total of 15 pregnancies in 13 individuals who were managed during pregnancy and at delivery in our hospital, National Center for Child Health and Development (NCCHD), between 2002 and 2011, were enrolled in this study. APS was diagnosed according to established criteria [2,3]. Patients who only met the clinical criteria of three or more miscarriages before 10th week of gestation were not included for the study. Potential risk factors for thromboembolic events or pregnancy loss in the follow-up period were taken into account; including age, history of venous/arterial thrombosis and autoimmune diseases, treatment and profile of aPL. Obstetrical outcome of each treatment was assessed by the gestational period at delivery and the birth weight of the infant.

Correspondence to: Yuko Matsuki, MD, Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University School of Medicine, 2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8421, Japan. Tel: +81-3-5802-1067. Fax: +81-3-5800-4893. E-mail: ymatsuki@juntendo.ac.jp

All patients were treated with heparin and low-dose aspirin (LDA), which is the current standard treatment for pregnant patients with APS [9]. On the basis of their response to the treatment, the cases were divided into two groups: the good outcome group, which was controlled by heparin and LDA without any clinically significant complications in both the mother and the infant; and the poor outcome group, who required further therapy and/or was involved with adverse obstetrical events.

This retrospective study was approved by the ethics committee of NCCHD and the Department of Women's Health.

Anti-phospholipid antibody measurement

The presence of LA was detected by clotting assays using an opto-mechanical coagulation analyzer (ST art 4, Diagnostica Stago, Asnières, France) according to the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Phospholipid-Dependent Antibody guidelines [10]. Kaolin clotting time (KCT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) were determined using a sensitive reagent (PTT-LA, Diagnostica Stago). KCT and aPTT were used for a screening and mixing procedure, followed by confirmation by the Staclot LA kit (Diagnostica Stago) or dilute Russell's viper venom time (dRVVT) using LA test Gradipore OR (Gradipore, Frenchs Forest, NSW, Australia). LA was considered positive when screening clotting time was prolonged, in addition to one of these tests being positive.

Levels of IgG, IgM, IgA, and aCL were measured using aCL ELISA [11]. IgG a β 2GPI was tested as described before [12]. IgG, IgM, and aPS/PT were detected using ELISA [13]. IgG aPE was tested using ELISA established by Sugi et al. [8].

Non-irradiated microtiter plates (Sumilon type S, Sumitomo Bakelite, Tokyo, Japan) were coated with 30 μ L of 50 μ g/mL phosphatidylserine (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA), and dried overnight at 4°C. Plate wells were then blocked with Tris-buffered saline (TBS) containing 1% fatty-acid free bovine serum albumin (BSA, A-6003, Sigma) and 5 mM CaCl₂ (BSA-Ca). After three washes in TBS containing 0.05% Tween 20 (Sigma) and 5 mM CaCl₂ (TBS-Tween-Ca), 50 μ L of 10 μ g/mL human

prothrombin (Diagnostica Stago, Asnières, France) in BSA-Ca were added to half of the wells. The same volume of BSA-Ca only (as sample blank) was added to the other half. After incubation, plates were washed. 50 μ L of serum diluted in BSA-Ca in 1:100 were then added in duplicate. The plates were incubated again, followed by addition of alkaline phosphatase (ALP)-conjugated goat anti-human IgG and substrate. The optical density (OD) of the wells coated solely with phosphatidylserine was subtracted from that of the wells containing phosphatidylserine-prothrombin. The titer of each sample was derived from the standard curve according to dilutions of the positive control.

The presence of aPE was tested using an ELISA established by Sugi et al. [8] that uses adult bovine plasma with a high concentration of intact kininogen as a sample diluent. When the results of a positive test measured with phosphatidylethanolamine coupled with a negative test without phosphatidylethanolamine were obtained, the presence of aPE was determined.

A total of 105 cases of pregnant women who delivered a healthy neonate without pregnancy morbidity in out hospital were used as reference to determine the 99th percentile cut-off values of each aPL [14]. The values were as follows: normal ranges for IgG aCL, 9.6 GPL; IgM aCL, 9.9 MPL; IgG a β 2GPI, 2.2 U/mL; IgG aPS/PT, 3.4 U/mL; and IgG aPE, 0.4918_{OD}₄₀₅.

Statistical analysis

Statistical evaluation was carried out using Fisher's exact test (SPSS®). *P* values of less than 0.05 were considered significant.

Results

Characteristics of cases with good outcome (n = 6)

The mean age at diagnosis was 35.6 years (range: 31–41 years). One case had previous history of thrombosis. Considering autoimmune diseases, one patient presented Graves' disease and two were accompanied with systemic lupus erythematosus (SLE) with low disease activity (a SLEDAI score [15] of less than 3).

Looking at aPL profiles, most of the cases were IgG aCL positive. LA was positive in two cases (#4 and #5 in Table 1),

Table 1. Characteristics of the cases (the good outcome group and the poor outcome group).

	age	past history	LA dRVVT	Staclot	IgG a β 2GPI	IgG/M aCL	IgG aPS/PT	IgG aPE	treatment	Gestational week of delivery, birth weight (SD)
Good outcome group										
1	34	Grave's disease	-	-	-	22/-	-	-	LDA, He	38 w, 1.07
2	31	cerebral infarction	-	-	-	50/-	n.e	n.e	LDA, He	36 w, -0.18
2'	34	cerebral infarction	-	-	-	42/-	n.e	n.e	LDA, He	37 w, -0.27
3	38	SLE	-	n.e	-	21/-	-	-	LDA, He	38 w, -1.26
4	36	SLE	+	+	-	24/-	n.e	n.e	LDA, He	38 w, 0.43
5	41	-	+	+	21.7	15/-	-	-	LDA, He	37 w, 0.05
Poor outcome group										
6	35	renal/cerebral infarction	+	+	-	-	n.e	-	LDA, He, PE	24 w, -2.53
7	32	DVT	+	+	95.7	36/23	n.e	n.e	LDA, He	30 w, -0.15
8	32	migraine headache	-	+	11.9	15/-	n.e	-	LDA, He	31 w, 0.59
8'	37	visual field defect	-	+	14.6	23/-	50<	-	LDA, He, PSL,	26 w, -0.88
9	33	SLE	+	+	192	350/80<	19	-	LDA, He, IVIg, PSL	12 w [†]
10	36	SLE	-	+	73.3	80/-	19	-	LDA, He, PE, PSL	26 w, -0.2
11	34	SLE	+	+	19.9	33/53	32	-	LDA, He, IVIg	35 w, -1.47
12	35	SLE, AIH, PE	+	n.e.	349	230/-	n.e.	-	PSL, LDA, He, PE(21-22 w), IVIg(14 w)	27 w, -3.93
13	27	DVT	+	+	21.7	45/7.7	40	n.e.	LDA, He	29 w, -1.34

AIH autoimmune hepatitis, DVT deep vein thrombosis, He heparin (unfractionated), IVIg intravenous immunoglobulin, LA lupus anticoagulant,

LDA low-dose aspirin, n.e. not examined, PE plasma exchange, PSL prednisolone

[†]Stillbirth.