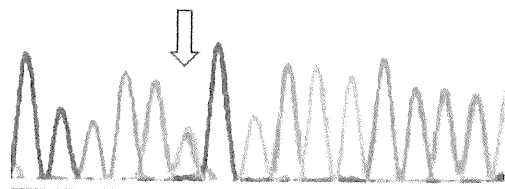


**Figure 2** Sequencing analysis of *SERPINC1* for patient 10 (A), patient 8 (B), patient 11 (C), and patient 14 (D). Electropherograms show the missense mutation (arrow) and surrounding nucleotides.

A) Patient 10 (exon 1)

Met/Thr  
G G C C A T/c G T A T T C C A A

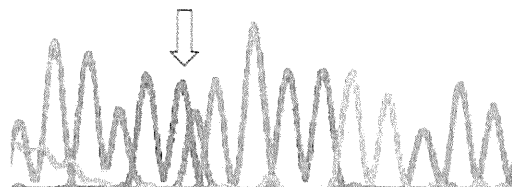
72 T>C



B) Patient 8 (exon 2)

Ala/Thr  
C C A A G G/A C C A A T T C C C

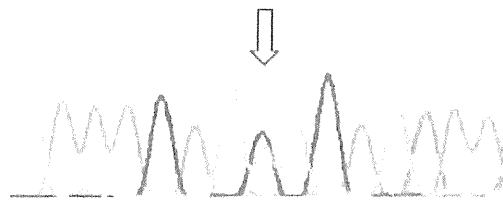
2624 G>A



C) Patient 11 (exon 2)

Phe/Cys  
T C C C G C T T/G T G C T A C C

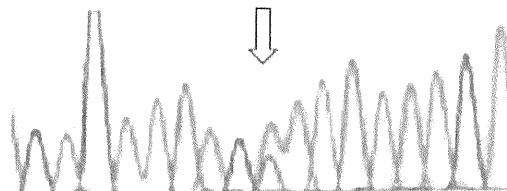
2637 T>G



D) Patient 14 (exon 4)

Ala/Glu  
G T G T T C A G C/A A T C T A T G A

7457 C>A



# 8

## 不育症・習慣流産

杉浦真弓\* *Mayumi Sugiura* 尾崎康彦\* *Yasubiko Ozaki* 片野衣江\* *Kinue Katano*  
佐藤 剛\* *Takeshi Sato* 北折珠央\* *Tamao Kitaori* 後藤志信\* *Shinobu Goto*

不育症の原因は、抗リン脂質抗体、子宮奇形、夫婦どちらかの染色体構造異常、胎児染色体数的異常である。胎児の検査は実施率が低いために原因不明となることが多いが、真の原因不明は25%にとどまる。原因不明において不育症易罹患性遺伝子が50以上報告されている。原因不明に対する薬剤投与、着床前スクリーニングの出産率改善は証明されていない。既往流産ごとに2回：80%、3回：70%、4回：60%、5回：50%が薬剤投与をしなくても出産可能である。特に胎児異常は次回出産の予知因子である。

### はじめに

不育症とは、妊娠はするが流産・死産を繰り返して児を得られない場合をいう。習慣流産は3回以上の連続流産であり、不育症に含まれる。習慣流産は1%、不育症は5%の頻度である。反復流産(2回以上連続流産)を対象とした研究も増加している。なお、化学妊娠は流産には含めない。

不育症の原因は抗リン脂質抗体約10%、夫婦染色体異常6%、子宮奇形3.2%の頻度に見られる(図1a)<sup>1)</sup>。国際抗リン脂質抗体学会診断基準に従って12週間持続する抗リン脂質抗体症候群は約4%である。内分泌異常には糖尿病、甲状腺機能低下、多嚢胞性卵巣症候群が含まれるが、この領域は質の高い研究が限られている。約70%は原因不明である。

胎児染色体検査を含めた482組の異常の分布を図1bに示す。胎児染色体数的異常は41%を占め、胎児染色体正常の真の原因不明は約25%だった<sup>2)</sup>。

Branchらは総説 Recurrent Miscarriage のなかで、一般臨床家が行う検査として、抗リン脂質抗体、夫婦染色体、子宮奇形、胎児染色体の検査を推奨しており、糖尿病、甲状腺機能の検査については臨床症状があれば実施すると述べている<sup>3)</sup>。

具体的な検査と保険点数(習慣流産で保険適用)を表1に示した。日本産科婦人科学会、日本産婦人科医会の産科診療ガイドライン「CQ204 反復流産・習慣流産」では胎児染色体はすべての産婦人科医師が実施できないために推奨レベルCとなった。

\*名古屋市立大学産婦人科

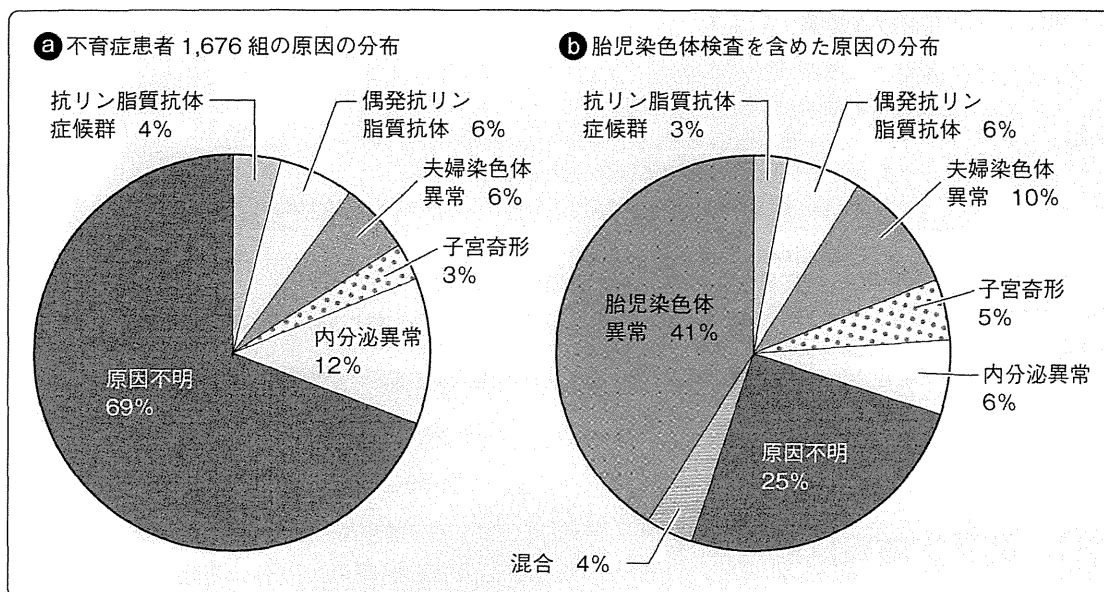


図1 不育症の原因  
a : 1,676 組, b : 482 組。

(文献 1, 2 より引用)

表1 不育症の検査と保険点数

不育症の原因	有用な検査と保険点数	日産婦ガイドライン 推奨レベル	N Engl J Med
抗リン脂質抗体	ループスアンチコアグラント* (リン脂質中和法 290) ループスアンチコアグラント (希釈ラッセル蛇毒法 290) 抗β2glycoprotein I・カルジオリピン複合体 抗体 (223)	A	★
子宮奇形	子宮卵管造影 (518), 超音波検査 (530) 子宮鏡 (800)	A	★
夫婦染色体異常	G 分染法 (3127)**	B	★
胎児染色体異常	絨毛染色体 G 分染体	C	★
(内分泌異常)	糖尿病: 空腹時血糖 (11) 甲状腺機能異常: TSH (112), FT4 (114) 多嚢胞性卵巣症候群	—	—

\* : リン脂質中和法と希釈ラッセル蛇毒法は同時には保険適用されない。 \*\* : 習慣流産では保険適用とならない。  
(平成 26 年 4 月)

**表 2** 抗リン脂質抗体症候群診断基準

臨床所見	動静脈血栓症 妊娠合併症 ・妊娠 10 週未満の 3 回以上連続した原因不明習慣流産 ・妊娠 10 週以降の原因不明子宮内胎児死亡 ・妊娠 34 週未満の重症妊娠高血圧腎症・子癇や胎盤循環不全による早産
検査所見 (12 週間以上の間隔で 2 回以上陽性)	・Lupus anticoagulant 陽性 (試薬として aPTT と RVVT の 2 種類を用いる) ・( $\beta$ 2glycoprotein I 依存性)抗カルジオリピン抗体 IgG もしくは IgM が中高力価(健常人の 99 パーセントイル以上) ・抗 $\beta$ 2glycoprotein I 抗体 IgG もしくは IgM が陽性

(文献 4 より引用)

## 1. 抗リン脂質抗体症候群

国際抗リン脂質抗体学会が提唱する抗リン脂質抗体症候群 (antiphospholipid syndrome ; APS) 診断基準を表 2 に示した<sup>4)</sup>。初期流産よりも子宮内胎児死亡との関連が強く、子宮内胎児発育不全、羊水過少、血小板減少症を伴うことも特徴である。抗リン脂質抗体の測定法は多岐にわたるが、産科的有用性が確認されていない検査が多い。産科的有用性は、陽性のときに抗凝固療法を行うと出産率が上昇する、もしくは、陽性のときに無治療だと出産率が悪い場合と考えられる。

Lupus anticoagulant (LA) リン脂質中和法は健常人の 99 パーセントイルの基準値を用いた場合 (SRL 社では 1.59 秒)、出産率は陽性治療例、陽性無治療例が 82.4%、58.8% であり、有用であった<sup>5)</sup>。わが国では委託可能となったのが最近のことであるため 13% の施設しか測定を行っていないが、欧米での普及率は高く、LA-希釈ラッセル蛇毒法とは陽性患者が異なるため、測定すべきである。

筆者らは、aPTT 試薬を 5 倍希釈し、mixing test を行う LA-aPTT について、無治療では 53.8% の次回流産率が抗凝固療法によって 19.6% に改善できることを確認した後に臨床応用している。この方法とリン脂質中和法は試薬の違いがあるために陽性患者が異なり、両者ともに産科的有用性が認められている。今後は試薬ごとの LA の産科的有用性を研究する必要がある。

一方、抗カルジオリピン IgG, IgM は国際学会の診断基準にも含まれているが、検査会社の基準値、健常人の 99 パーセントイルの両者を検討しても産科的有用性が確認できなかった<sup>5)</sup>。Harris の変法と記載されていても、Harris らの古典的抗カルジオリピン抗体の陽性率、陽性患者とは異なっていた。抗カルジオリピン IgG, IgM は健常妊婦において異常妊娠の予知因子とならないという否定的な論文も散見される。抗カルジオリピン IgG, IgM 単独陽性例の治療は必要性が乏しいと思われる。

$\beta$ 2GlycoproteinI 依存性抗カルジオリピン抗体 ( $\beta$ 2GPI 依存性抗 CL 抗体 = 抗  $\beta$  2GPI・CL 複合体抗体) については開発当時、名古屋市立大学の妊婦 1,125 人に前方視的

研究を行い、陽性の人に子宮内胎児死亡、子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群の発症が有意に多いことを証明した。ただし健常人の99パーセントイル1.9 IUを基準とし、 $\beta$ 2GPI非依存性抗CL抗体を同時に調べて、“依存性抗体>非依存性抗体”を確認して判定する。この研究では不育症の大多数を占める反復初期流産における産科的有用性は確認できないため、 $\beta$ 2GPI依存性抗CL抗体単独陽性例に治療が必要かどうかは今後の検討が必要である。

抗フォスファチジルエタノールアミン抗体(抗PE抗体)は不育症患者における陽性率が高い(10~15%)のために、わが国では測定施設が多い。しかし、抗PE IgGの出産率は陽性治療例、陽性無治療例が66.7%、71.4%であり、産科的有用性は認められなかった<sup>6)</sup>。

いずれの検査も偽陽性が多いため、12週間後の持続性の確認を要する。持続性が確認されたAPSは不育症の約4%だった。

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常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みられなかった<sup>7)</sup>。抗核抗体の測定や抗核抗体のみ陽性の症例に対する薬剤投与は必要ない。

## 2. 夫婦どちらかの染色体均衡型転座

相互転座では減数分裂の際に、四価染色体を形成し、交互分離が起これば均衡型、隣接第一分離、隣接第二分離などが起これば不均衡な配偶子が発生する。そのため一定の確率で流産が生じるが、出産も可能である。

名古屋市立大学の世界初の妊娠婦結についての報告では、相互転座を持つ夫婦と染色体正常夫婦の診断後初回自然妊娠の出産率は31.9%(15/47)と71.7%(849/1,184)であり、均衡型相互転座を持つ夫婦は流産率が有意に高かったが、累積生児獲得率は68.1%であった(表3)<sup>8)</sup>。

オランダのコホート研究では累積生児獲得率について転座の夫婦83%、染色体正常夫婦84%と報告しており、転座保因者の予後は正常群と変わらないと結論づけた<sup>8)9)</sup>。

習慣流産を契機として均衡型転座が判明し、妊娠継続した場合、不均衡型転座を持つ児を妊娠継続する確率は0~2.9%と報告されている<sup>8)9)</sup>。

1998年に流産予防のための着床前診断が報告されたが、現在までに着床前診断による出産率改善は証明されていない。日本産婦人科学会は倫理的な理由から、症例ごとに審議をして重篤な遺伝性疾患に限って認める見解を示している。

現在転座保因者に対する着床前診断の出産率を示す論文は5つあり、採卵あたりの出産率は6.2~47.2%と報告されている(表3)。年齢、流産回数、男性不妊など患者背景が異なるため、単純な比較はできない。比較ゲノムハイブリダイゼーション法を用いた研究も出産率38.9%にとどまっている。



表3 相互転座保因者の生児獲得率

報告者	着床前診断					自然妊娠			
	Chun KL	Otani T	Feyereisen E	Fischer J	Fiorentino F	Sugiura M	Stephenson M	Japan多施設	Franssen MTM
患者数	43	29	35	192	16	47	20	46	157
年齢(歳)	31.5	32.7	—	34.0	37.1	29.1	—	31.0	—
流産回数	—	3.4	—	—	—	—	—	3.1	—
採卵	59	36	81	272	18	—	—	—	—
診断法	FISH	FISH	FISH	FISH	aCGH	—	—	—	—
妊娠	22	17	—	69	7	—	—	—	—
分娩	14	17	5	60	7	15	13	29	131
出産率	32.6%	58.6%	14.3%	31.3%	43.8%	31.9%	65.0%	63.0%	—
/採卵	23.7%	47.2%	6.2%	22.1%	38.9%	—	—	—	—
累積生児獲得率	—	—	—	—	—	68.1%	90.0%	—	83.0%
掲載誌発表年	Pren Diag 2004	RBM 2006	F & S 2007	F & S 2010	HR 2011	F & S 2004	HR 2006	JHG 2008	BMJ 2006

### 3. 子宮奇形

手術・非手術を比較した前方視的研究はなく、子宮奇形に対する手術によって出産率が上昇することは証明されていない。

筆者らの1,676例の検討では双角子宮、中隔子宮、単角子宮、重複子宮は3.2%にみられた<sup>1)</sup>。弓状子宮は不育症の原因ではない。子宮奇形は初期流産、子宮内胎児死亡、早産と関与する。

非手術の前方視的検討では、子宮奇形(双角子宮、中隔子宮)を持つ人と正常子宮を持つ人の診断後初回妊娠における出産率は59.5%(25/42)、71.7%(1,096/1,528,  $p=0.084$ )、累積成功率は78%、85.5%であり、子宮奇形を持つ人の出産率が低い傾向がみられた<sup>1)</sup>。胎児染色体異常率はそれぞれ15.4%(2/13)、57.5%(134/233,  $p=0.006$ )であり、子宮奇形は胎児染色体正常流産の原因であった。また、欠損部分が大きいほど有意に流産率が増加した( $p=0.006$ )。ただし、手術を施行しなくても累積的に78%の患者が出産に至った。

双角子宮に対する子宮形成術、中隔子宮に対する内視鏡下中隔切除術が実施され、手術後の出産率は54~66%と報告されている<sup>10)</sup>。しかし、対照の設定はなく、手術によって出産率が改善することは証明されていない。

表4 受精卵スクリーニングによる生児獲得率

報告者	受精卵スクリーニング					自然妊娠	
	Wilding M	Platteau et al.		Munne S		Otani et al.	Sugiura-Ogasawara M
分類		37歳未満	37歳以上	35歳未満	35歳以上		既往流産5回 40歳以上
患者数	48	25	24	21	37	97*	78 43
年齢(歳)	35.4	31.5 (2.7)	40.2 (2.5)	32.6	39.5	39.1	32.5 40歳以上
既往流産回数	3.7	4.5 (2.1)	4.9 (2.4)	3.7	4.1	—	5 2.9
方法	FISH	FISH		FISH		CGH	— —
胚移植	—	—	—	—	—	53	— —
妊娠	—	9	1	—	—	39	— —
流産	—	—	—	23%	12%	3	— —
出産率	45.8%	36%	4.2%	47.6%	40.5%	37.1%	51.3% 58.1%
掲載誌発表年	F & S 2004	F & S 2005		F & S 2005		読売新聞	F & S 2000 AJRI 2009

\*：不妊症，習慣流産の患者が混在している。

#### 4. 胎児(胎芽)染色体異常流産

散発流産の50～80%に胎児染色体異常がみられ，女性の加齢によって頻度は上昇する。反復流産患者の1,309妊娠について既往流産回数別流産率と胎児染色体異常率を調べたところ，既往流産回数が増えるに従って出産成功率と染色体異常率は減少した<sup>11)</sup>。

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だった(62% vs 38%，オッズ比2.6)。つまり，胎児染色体数異常は次回出産成功の予知因子であった。

胎児染色体検査を系統検査の1つとして482組に調べた研究では胎児異常流産は41%にみられ，多くは異常を反復していた(図1b)<sup>3)</sup>。

比較ゲノムハイブリダイゼーションを用いた研究では，さらに高頻度に胎児染色体異常が報告され，片親性ダイソミー，メチル化異常といった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。

欧米では原因不明習慣流産に対する着床前スクリーニングが実施されているが，日本産科婦人科学会は，着床前スクリーニングを承認していない。

Platteauらは，4.5回流産歴のある25人の原因不明の習慣流産患者に着床前スクリーニングを行い，妊娠継続は25%であり，胚スクリーニングの有効性は認められないと述べた(表4)。既往流産5回の患者の51%が次回自然妊娠で出産に至っており，スクリーニングのほうが出産率は低い現状である(表4)<sup>11)</sup>。40歳以上，既往流産2.9回の患者の

次回自然妊娠における出産率は58.1%であり、不妊症合併例でなければ40歳代でも出産のチャンスは多い。

比較ゲノムハイブリダイゼーション法を用いた受精卵診断の研究では、トリソミーとモノソミーは1:1で認められた。流産検体では45,Xを除くモノソミーはみられない。これは重篤な異常ほど早期に淘汰されることを意味する。着床が成立したトリソミー児は妊娠初期が寿命と考えられる。また、着床前と流産の間に位置する生化学妊娠も染色体異常によって起こることが推定される。

## 5. 原因不明不育症

血栓性素因であるプロテインC, プロテインS, アンチトロンビン欠損症と不育症、特に子宮内胎児死亡の関係が報告されている。横断研究が多く、それらの測定を行って、抗凝固療法を行うと出産率が改善できるとする前方視的研究は限られている。

ループスアンチコアグラントLA陽性例ではⅫ因子活性が低下する。LA陽性例を除くと、反復流産患者では健常人と比較して遺伝子変異CTが高頻度だったが、次回妊娠において遺伝子変異もⅫ因子活性低下もまったく影響しないことが明らかになった。

Branchの総説、米国胸部外科学会の妊娠中の血栓予防ガイドライン2012ともに「妊娠合併症を理由とした血栓性素因の検査を推奨しない」と記載している。

1981年、原因不明習慣流産の治療として夫リンパ球による免疫療法が症例報告された。その後、免疫療法は世界中で約20年間行われてきたが、1999年の二重盲検無作為割付試験によって免疫療法は生理食塩水と同等の出産率であり、無効であるという結果が示され、米国のFDAは感染、対宿主移植片反応の危険性もあるため、夫リンパ球を用いた免疫療法を「研究目的以外に行わない」ことを勧告した。

原因不明不育症に対して薬剤投与の必要性はなく、過去の流産が2回なら、化学妊娠を除外して、2回:81%(309/381), 3回:71%(99/139), 4回:65%(17/26), 5回:50%(3/6)が次の妊娠で出産に至った<sup>12)</sup>。

アスピリン、ヘパリン、ピシバニール(OK-432)、ステロイド、イムノグロブリンは出産成功率を改善することが証明されていない。原因不明習慣流産に対するアスピリン・ヘパリン療法、アスピリン単独、偽薬による無作為割り付け試験の結果、有用性がないことが立証された<sup>13)</sup>。

反復・習慣流産関連遺伝子が100個以上報告されている。胎盤の凝固抑制物質アネキシンA5のANXA5遺伝子多型頻度が習慣流産患者において健常人よりも高いという横断研究が4つ報告されている。筆者らも横断研究では、SNP5が反復流産に高頻度であることを確認した。しかし、前方視的研究では、変異が有・無の間で、次回妊娠出産率の差がないことが明らかになった<sup>14)</sup>。反復・習慣流産関連遺伝子が数多く存在するときに流産回数が増加するが、個々の遺伝子のオッズ比は小さく、臨床的に調べる必要性は乏しいと考えられる。



## おわりに

約15%の不育症患者が抑うつ、不安障害を呈すること、流死産によって離婚率が増加することが報告されている。女性は自分を責めたり、自尊心が低下する傾向にある。夫婦に対して不安を取り除くことは重要である。

## 文献

- 1) Sugiura-Ogasawara M et al : Midline uterine defect size correlated with miscarriage of euploid embryos in recurrent cases. *Fertil Steril* 93 : 1983-1988, 2010
- 2) Sugiura-Ogasawara M et al : Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 27 : 2297-2303, 2012
- 3) Branch DW et al : Clinical practice : recurrent miscarriage. *N Engl J Med* 363 : 1740-1747, 2010
- 4) Miyakis S et al : International consensus statement of an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 4 : 295-306, 2006
- 5) Kitaori T et al : Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and cutoff levels for obstetric antiphospholipid syndrome. submitted.
- 6) Obayashi S et al : Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be independent risk factors for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 85 : 41-45, 2010
- 7) Ogasawara M et al : Are antinuclear antibodies predictive of recurrent miscarriage? *Lancet* 347 : 1183-1184, 1996
- 8) Sugiura-Ogasawara M et al : Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril* 81 : 367-373, 2004
- 9) Franssen MTM et al : Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages : case-control study. *BMJ* 332 : 759-762, 2006
- 10) Sugiura-Ogasawara M et al : Müllerian anomalies and recurrent miscarriage. *Curr Opin Obstet Gynecol* 25 : 293-298, 2013
- 11) Ogasawara M et al : Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 73 : 300-304, 2000
- 12) Katano K et al : Peripheral natural killer cell activity as a predictor of recurrent pregnancy loss : a large cohort study. *Fertil Steril* 100 : 1629-1634, 2013
- 13) Kaandorp SP et al : Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. *N Engl J Med* 362 : 1586-1596, 2010
- 14) Hayashi Y et al : Genotyping analyses for polymorphisms of ANXA5 gene in patients with recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 100 : 1018-1024, 2013

## 抗リン脂質抗体症候群 (APS)

北折 珠央 片野 衣江 尾崎 康彦 杉浦 真弓

### はじめに

抗リン脂質抗体症候群(anti-phospholipid syndrome: APS)は抗リン脂質抗体を有し、臨床的に、習慣流産、子宮内胎児死亡、妊娠高血圧症候群などの産科合併症や動静脈血栓症、血小板減少を起こす疾患である。SLEを始めとする自己免疫疾患に認められる続発性APSと原発性APSがある。

診断基準を満たし、APSと診断された場合はアスピリン・ヘパリンによる抗凝固療法が標準的治療である。標準的治療で約7割の成功率が得られるが、重症なものでは治療抵抗性を示すものもあり、慎重な管理を必要とする。重症なAPSでは肺梗塞や脳梗塞など若年に発症することもあり、非妊時でも治療が必要となる。

### 頻度

流産や死産を反復する不育症の頻度は4.2%であり、不育症患者において抗リン脂質抗体は約10%に認められ、国際抗リン脂質抗体学会診断基準を満たすAPSと診断されるものは4.5%である<sup>1)</sup>。SLE患者では約40%にAPSを合併する。

### 抗リン脂質抗体の測定法

抗リン脂質抗体はリン脂質に対する自己抗体とされていたが、真の対応抗原は、 $\beta_2$ glycoprotein I, prothrombin, kininogen, protein S, Protein C, AnnexinやXII因子などであることがわかって

きたおり たまお, かたの きぬえ, おごき やすひこ,  
すぎうら まゆみ  
名古屋市立大学産科婦人科学教室  
〒467-8601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1  
E-mail address: tama-og@med.nagoya-cu.ac.jp

表1 我が国で測定できる抗リン脂質抗体

#### ELISA法

- ・抗カルジオリピン $\beta_2$ グリコプロテイン複合体抗体(抗CL- $\beta_2$ GPI抗体)
- ・抗カルジオリピン抗体IgG, IgM(どちらか一方が保険採用されている)
- ・抗フォスファチジルエタノールアミン抗体IgG, IgM
- ・プロトロンビン抗体
- ・フォ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)
- ・抗フォスファチジルセリン抗体(保険適用はない)

#### ループスアンチコアグラント

- ・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)
- (リン脂質中和法とラッセル蛇毒法の一方しか保険適用されていないが、国際学会は二つ以上の試薬を用いることを推奨している)

きた。表1に示すように多くの種類があるが、そのほとんどが産科的有用性が確認されていない。後述する診断基準にある測定法や産科的有用性が確認されている測定法で測定すべきである。不育症や習慣流産で陽性率が高い抗体が必ずしも病的とはいえない。

### 1) 抗カルジオリピン抗体(anti-cardiolipin antibody: aCL)

APSでみられるaCLは梅毒などの感染症にみられるaCLと異なり、カルジオリピンと結合することによって構造変化した $\beta_2$ glycoprotein I(GPI)とよばれる糖蛋白を認識する。よって $\beta_2$ GPI非依存性でなく $\beta_2$ GPI依存性aCLを指標とすべきである。偽陽性が多い可能性も指摘されている。

表2 各検査の99パーセンタイル値

	BML社99パーセンタイル	SRL社99パーセンタイル
ループスアンチコアグラント (希釈ラッセル蛇毒時間法)	1.2	1.3
ループスアンチコアグラント (リン脂質中和法)	6.2	1.59
抗CL・ $\beta_2$ GPI複合体抗体	1.9 U/mLかつ $\beta_2$ GPI依存性抗体 $>$ $\beta_2$ GPI 非依存性抗体の時陽性と判断する	1.8 U/mLかつ $\beta_2$ GPI依存性抗体 $>$ $\beta_2$ GPI 非依存性抗体の時陽性と判断する
抗カルジオリピン抗体IgG	14 U/mL	10.2 U/mL
抗カルジオリピン抗体IgM	9.0 U/mL	9.0 U/mL

国際抗リン脂質抗体学会は健常人の99パーセンタイルを基準値とすることを推奨しているために、上記に記載した。ただし、この値は測定方法、試薬によって変動するため、その都度基準値を再考することなど、精度管理が重要である。

## 2) $\beta_2$ glycoprotein I(GPI)依存性カルジオリピン抗体

ELISA法による測定で客観性・定量性に優れている。リン脂質存在下に凝固系・線溶系や動脈硬化に関連する分子に作用する。この抗体の陽性例では子宮内胎児死亡、子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群の発症リスクが高いことが前方視的研究で明らかにされている<sup>2)</sup>。ただし初期流産との関連は明らかにはされていない。前述のように非依存性aCLは炎症性であり、非依存性抗体値<依存性抗体値の時に陽性と判断する。

## 3) ループスアンチコアグラント(lupus anticoagulant : LA)

LAはaPTTなどのリン脂質依存性の凝固時間が延長することでスクリーニングし、健常人血漿との混和(ミキシングテスト)により凝固時間が正常化せず、リン脂質を抑える吸収中和試験で凝固時間が正常化することによりLAの存在が確認される。LAの対応抗原は $\beta_2$ GPIやプロトロンビンなどさまざまなものが考えられており、LAの同定にはいくつかの検査を組み合わせて行う必要がある。定量性に欠ける問題点がある。

当教室では産科的有用性が確認された5倍希釈aPTTを用いたLA-aPTT杉浦法を確立したが<sup>3)</sup>、これは研究室でしか行えない。外注検査でできるLA測定法にはラッセル蛇毒法と、前述のLA-aPTT杉浦法と原理が同じリン脂質中和法がある。リン脂質中和法は国内に導入されて数年であり、産科医にあまり認知されていないが、国際学会は二つ以上の試薬による測定を推奨しており、産科

的有用性も確認されたため、測定するべきである<sup>4)</sup>。なお、検査会社の設定した基準値が必ずしも有用とは限らず、国際的に推奨されている99パーセンタイルの値を表2に示す。

しかし、LA測定は非常に不安定な検査であり、検体の保存法や試薬の種類、ロット番号、血小板の除去不良などによって影響を受け、測定値が変動することに留意されたい。

## 4) 抗フォスファチジルセリン・プロトロンビン(aPS/PT)抗体

最近注目されている抗リン脂質抗体で、国際基準にも加えられる可能性のある抗体である。産科的有用性も確認されている<sup>4)</sup>。ELISA法であり客観性・定量性に優れて検査法も標準化されている。

### 具体的な検査の方法

不育症患者で陽性率が高い検査が本当に病的であるとは限らない。偽陽性が多い可能性がある。治療すべき患者を逃さず、かつ治療が必要ない患者を判断するためには、陽性率が低くても特異度の高い検査を複数組み合わせるべきである。

例えば、ループスアンチコアグラント(ラッセル蛇毒法)、ループスアンチコアグラント(リン脂質中和法)、 $\beta_2$ GPI依存性抗カルジオリピン抗体、aPS/PT抗体などは不育症患者における陽性率はそれぞれ3~5%程度であるが特異度が高い。この中から三つほど組み合わせると良いと考えられる。陽性であれば診断基準に沿って、12週間あけて再検する。

## 診断基準

### 1. 検査の対象

産婦人科で抗リン脂質抗体の検査の対象となる患者は不育症・習慣流産患者がほとんどであるが、診断基準にあるように、早発型の重症妊娠高血圧症候群や胎盤機能不全による34週未満の早産の患者もAPSの可能性があり、抗リン脂質抗体検査の対象である。診断基準にはないが、産科臨床的には胎盤病理検査で梗塞像があった患者や妊娠中・分娩前後に血栓症を発症した患者や、APSを合併しやすいSLE患者で検査しておくこと抗リン脂質抗体の有無で次回妊娠時の方針が立てやすい。なお、妊娠中は凝固系の生理的変化があるため、非妊時に検査する。

### 2. 診断基準

APSは2006年に国際抗リン脂質抗体学会で提言された診断基準(案)がある(表3)<sup>5)</sup>。

習慣流産、10週以上の原因不明子宮内胎児死亡、早発型重症妊娠高血圧症候群や胎児機能不全による34週未満の早産の既往などの臨床症状と、診断基準にある検査方法で12週間以上あけて2回陽性となった場合に診断する。

## 治療

### 1. APSの妊娠中の治療

APSの標準的治療は低用量アスピリンとヘパリン注射による抗凝固療法である。一般的にはヘパリンは未分画ヘパリンを使用する。処方例を示す。バイアスピリン100mg<sup>®</sup>1錠・日、ヘパリンカルシウム<sup>®</sup>10,000単位・日(1日2回自己皮下注射)。

標準的な抗凝固療法により成功率は7~8割とされる。抗リン脂質抗体は血栓形成のみならず、抗体自身が絨毛を障害するとされており、妊娠早期から治療を開始することが望ましい。異所性妊娠を除外するため、胎嚢を確認後に開始している施設も多いようであるが、ヘパリンカルシウム<sup>®</sup>の半減期は短く、拮抗薬もあり、緊急手術となっても臨床的には困るほどの出血となることは少ないことから、当院では妊娠反応が陽性となったら

表3 抗リン脂質抗体症候群診断基準 (Miyakisら, 2006)<sup>5)</sup>

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ブスアンチコアグラント(12週間以上はなれた別の機会に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) 他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(中高力価)(12週間以上はなれた別の機会に2回以上陽性)
3. 標準化されたELISA法による $\beta_2$ GPI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項目以上存在するとき抗リン脂質抗体症候群とする

できるだけ早期に開始するようにしている。患者には自己皮下注射のトレーニングが必要であるため、2~3日間の入院により自己注射手技を確立してもらう。なお、APS合併妊娠では未分画ヘパリンではヘパリンカルシウムの保険適用が認められている。カプロシンも未分画ヘパリンであるが保険適用となっていない。

未分画ヘパリンのほかに抗凝固薬として第Xa因子阻害薬であるダナパロイドナトリウムであるオルガラン<sup>®</sup>1,250単位・日(1日1回自己皮下注射)がある。保険適用がなく、自費となるため高額となるが、1日1回でよいこと、出血傾向や血小板減少、骨粗鬆症などの副作用がヘパリンカルシウムと比較して少ない(論文準備中)。

低分子量ヘパリンは抗Xa/トロンビン活性比が未分画ヘパリンよりも高く、血小板に対する影響

が少なく出血の副作用が少ない。低分子量ヘパリンは不育症に有用であったという報告はあるが、無作為割り付け試験では生児獲得率は改善できなかった<sup>6)</sup>。ダルテパリン(フラグミン<sup>®</sup>)は24時間点滴による治療となるため外来管理では不可能である。エノキサパリン(クレキサン<sup>®</sup>)は術後の血栓予防のための投与は認められている。未分画ヘパリン以外は健康保険の適用はなく、適用外使用であるため同意書の取得が必要である。

ほかに研究的に、大量 $\gamma$ -グロブリン療法も報告されている。かなり高額な治療となるため現在のところ症例数も多くはなく、エビデンスも明らかではない。

ステロイドは抗リン脂質抗体が高値で標準的治療に治療抵抗性を示した既往のある症例や血小板減少などの病態が進行する症例には有効であった経験があり、臨床的に使用されることがある。

柴苓湯はステロイド様の作用があるとされ、投与する施設もあるがエビデンスに乏しい。

## 2. 診断基準を満たさない抗リン脂質抗体陽性例

一回だけ抗リン脂質抗体陽性だが再検で陰性の場合、APSとは診断されないが、低用量アスピリン単独で成功率が上昇することが我々の検討で明らかとなっている<sup>7)</sup>。

また、APLが陽性で12週間あけての再検前に妊娠することも臨床的に多くあり、その抗体値や既往歴を考慮した上で、治療方法について十分説明し治療方針を決めている。ただし診断基準を満たさないため自費診療となる。

## 治療の副作用

低用量アスピリンの副作用は出血と胎児腹壁破裂の増加と報告されているが、臨床的に問題になった経験はない。ヘパリンカルシウムの副作用として、出血、ヘパリン起因性血小板減少症、骨粗鬆症がある。

### 1. 出血

経験的に出血傾向が生じて治療を中断せざるを得ないということはないが、抗凝固療法中は念頭におくべきである。後述の血小板減少を伴う場合

表4 APS合併妊娠の治療法

標準的治療(保険適用あり)
低用量アスピリン+ヘパリン療法(妊娠早期から開始) バイアスピリンまたはバファリンA 81 mg 1錠/日 ヘパリンカルシウム 1万単位/日(1日2回自己皮下注射)
その他の選択肢(ヘパリンカルシウムの代替として)
低分子量ヘパリン(フラグミン、クレキサン) ダナパロイドナトリウム(オルガラン1 A/日 1日1回自己皮下注射)
重症な場合
標準的治療に加え、プレドニゾロン20 mg/日追加(量は適宜調節)
その他臨床的に行われている治療法
大量 $\gamma$ -グロブリン療法 柴苓湯

\*標準的治療以外はまだエビデンスは不十分である。

はさらに注意が必要である。

ダナパロイドナトリウムや低分子量ヘパリンでは血小板への影響が少なく、出血の副作用は少ない。

## 2. ヘパリン起因性血小板減少症(heparin induced thrombocytopenia : HIT)

HITは最も注意すべき副作用である。0.5~5%の頻度とされ、投与開始後4~14日で発症する。ヘパリンを継続する限り血小板減少が進行し、0.5~5万/ $\mu$ Lまで低下することがある。血小板第4因子(PF4)・ヘパリン複合体抗体(抗HIT抗体)が検出される。この抗体により、血小板凝集・内皮細胞の活性化が起き、DICを思わせる強い凝固亢進状態が起こり動静脈血栓を合併する。

HITと診断された場合には速やかにヘパリンを中止する。抗凝固薬が継続して必要な場合はダナパロイドナトリウムを投与する。

未分画ヘパリンに比べて低分子量ヘパリンはHITを起こしにくく、その頻度は1/10程度との報告がある<sup>8)</sup>。

## APSの管理

### 1. 妊娠中

できるだけ早期に抗凝固療法を開始し、脱水や

長期安静に注意する。すなわち、悪阻による脱水に注意し、また切迫早産などで安静を余儀なくされる時は下肢の運動や弾性ストッキング着用を勧める。HITの発症を考慮して、ヘパリン治療開始後1週間後には血小板数をチェックする。時に肝機能障害を認める患者もあるため注意する。その後も定期的に採血する。

APSの重症例では妊娠後期にHITではなく病態の悪化による血小板減少を認めることが少なくない。妊娠高血圧症候群の発症にも注意が必要である。

標準的な抗凝固療法において、アスピリンは抗血小板作用が中止後も1週間程度持続することを考慮して、当科では妊娠35週6日まで投与しその後中止している。ヘパリンは半減期が短いため、陣痛発来時に中止する。手術の場合は前日夜まで投与している。

## 2. 分娩前後

APS合併妊娠では血栓症発症リスクが高いため、十分な予防(間欠的空気圧迫法や弾性ストッキング)をし、分娩・手術後も止血が確認できれば抗凝固療法を再開する。当科では術後0~2日は低分子量ヘパリン、その後退院までは未分画ヘパリンや低分子量ヘパリンを皮下注射で投与する。低用量アスピリンも翌日から産褥1~2カ月間程度投与し、血栓予防のための日常生活指導をしている。

## 3. 非妊時の管理

上記の期間以外の管理は膠原病内科に管理を依頼する。APSの重症度は個人差が大きいが、重症なものは若年性の脳梗塞など発症することもあり、非妊時も治療が必要なこともしばしばある。抗リン脂質抗体が複数陽性なものや、抗体値が高いものは要注意である。APSは妊娠中のみならず血栓を起こす病気であることを患者にもきちんと説明することが必要である。

## おわりに

不育症患者やそのほか妊娠合併症の既往のある

患者、SLE患者では抗リン脂質抗体を測定する。その際は確かな測定法と基準値で診断基準に沿って診断すべきである。診断されたAPSでは抗凝固療法が標準的治療で成功率は7~8割あり、不育症においては唯一治療可能な原因疾患であるといえるので、その診断は重要である。治療は妊娠確認後、速やかに開始する。重症例では治療抵抗性を示すこともあるのでこまめな妊婦健診や必要時入院管理など慎重な管理が必要である。

非妊時も治療が必要な症例があり、内科と併せて診療にあたることが重要である。

## 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) 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
- 3) Ogasawara M, Aoki K, Matsuura E, et al : Anti  $\beta_2$ glycoprotein I antibodies and lupus anticoagulant in patients with recurrent pregnancy loss : prevalence and clinical significance. *Lupus* **5**(6) : 587-592, 1996
- 4) Kitaori T, Sugiura-Ogasawara M, Oku K, et al : Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and cutoff levels for obstetric antiphospholipid syndrome. submitted
- 5) 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**(2) : 295-306, 2006
- 6) Ziakas PD, Pavlou M, Voulgarelis M : Heparin treatment in antiphospholipid syndrome with recurrent pregnancy loss : a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* **115**(6) : 1256-1262, 2010
- 7) 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 Immuno* **59**(3) : 235-241, 2008
- 8) Watson H, Davidson S, Keeling D : Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in Haematology : Guidelines on the diagnosis and management of heparin-induced thrombocytopenia : second edition. *Br J Haematol* **159**(5) : 528-540, 2012

\* \* \*



## 習慣流産における遺伝子医療の関与

—着床前診断を含めて

Current status of preimplantation genetic diagnosis and polymorphism in patients with recurrent miscarriage



杉浦真弓

Mayumi SUGIURA

名古屋市立大学大学院医学研究科産科婦人科学分野

◎習慣流産の約5%は夫婦どちらかの染色体均衡型転座が原因である。また、夫婦は正常核型であっても胎児染色体数的異常が約40%を占めている。これらは一定の確率で出産に至っている。これらに対して流産予防のために着床前診断(PGD)が行われているが、PGDと自然妊娠を比較した研究はなく、PGDによって出産率が改善するという証拠はない。転座の場合は自然妊娠と同等、胎児染色体数的異常の場合は自然妊娠のほうが出産率が高いのが現状である。胎児染色体正常の真の原因不明習慣流産は約25%であり、遺伝子変異が多数報告されている。しかし、それぞれの習慣流産関連遺伝子の次回妊娠への影響は小さく、臨床的に調べる意義は確立されていない。



習慣流産、不育症、着床前診断(PGD)、遺伝子多型

習慣流産は3回以上連続する流産と定義されているが、近年2回の反復流産を研究対象とすることが多い。不育症は流産を繰り返して児が得られない場合と定義され、習慣流産を含む。習慣流産の原因は抗リン脂質抗体約10%、子宮奇形3.2%、夫婦どちらかの染色体均衡型転座約6%である。習慣流産には、夫婦染色体が正常でも胎児(胎芽)染色体異数性によって流産を繰り返す症例が41%存在することがわかってきた<sup>1)</sup>(図1)。しかし、胎児染色体G分染法は健康保険の適用がなく、限られた施設で行われるために原因不明となることが多い。一般的には原因不明が70%であり、真の原因不明は25%にとどまる。

流産は妊娠最大の合併症であり、約15%に起こる。女性の加齢とともに増加し、40代では40%にも上る(「サイドメモ」参照)。著者らが実施したわが国初の「岡崎コホート研究」によれば、一般集団における頻度は欧米と同様であり、習慣流産0.9%、不育症4.2%、妊娠したことのある女性の38%が流産を経験していた<sup>2)</sup>。

着床前診断(preimplantation genetic diagno-

sis: PGD)とは体外受精・胚移植の技術を前提と

### サイドメモ

#### 卵子の老化

女性の加齢とともに不妊症、流産は増加する。散発流産の80%に胎児染色体異常が認められ、卵子由来であることがわかっている。また、卵子数は胎生期に最大700万個存在し、その後つくられることがなく、50歳の閉経時まで減少の一途をたどることが知られている。昨今の妊娠の高年齢化によって不妊症、不育症患者の増加が推定されており、わが国の体外受精周期数は世界一である。また、社会的適応の卵子凍結もビジネスとして実施されている。著者らは妊娠適齢期に出産することの重要性を一般女性へ啓発してきたが、NHKクローズアップ現代は2012年バレンタインデーに「卵子の老化の衝撃」という番組を報道し、著者も番組制作に協力した。番組の反響はきわめて大きく、「卵子の老化」という言葉が一般用語として使われるようになった。「卵子の老化」には卵子数の減少、染色体異常増加以外にも、BRCA1などのDNA修復遺伝子の関与も報告されている。

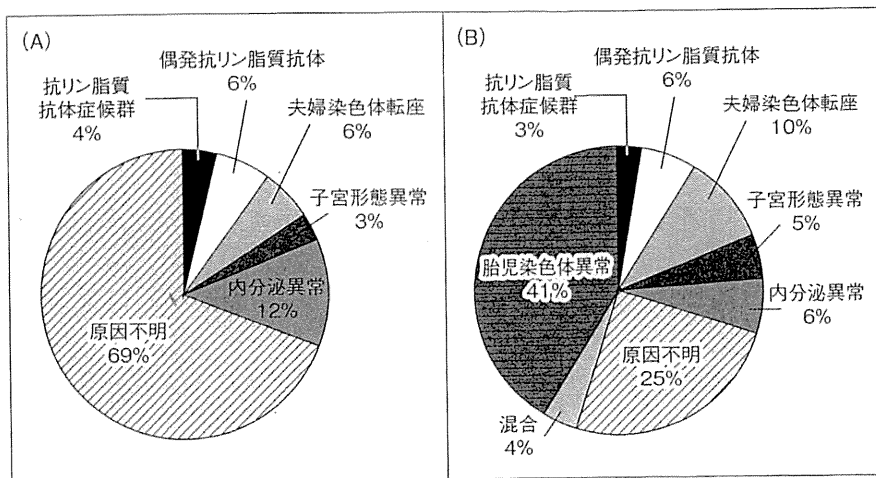


図 1 反復流産・不育症における原因と頻度  
 A : 1,676 組の異常頻度<sup>14)</sup>。  
 B : 胎児染色体も解析した 482 組の異常頻度<sup>1)</sup>。

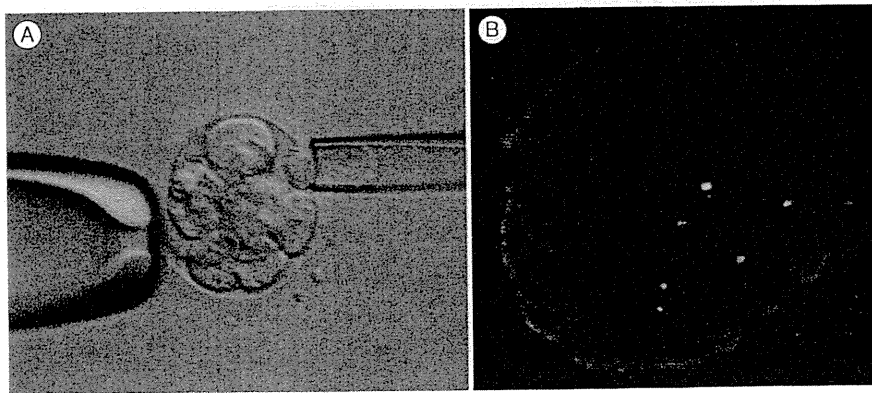


図 2 吸引法による割球採取(A), およびFISH法によって不均衡転座と診断された割球(B)

して、体外において受精卵の割球あるいは極体を生検して診断し、“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(図2)。PCR法などを用いて遺伝子疾患、FISH法などを用いて染色体均衡型転座を診断する狭義の着床前遺伝子診断に対して、染色体数的異常をスクリーニングする場合を着床前遺伝子スクリーニング(preimplantation genetic screening: PGS)とよぶ。遺伝子疾患を避ける目的と不妊治療・流産予防に大別できるが、後者では15年の歴史を経ても出産率改善に寄与していないことも明らかになってきた。

### ● 着床前診断の歴史

1990年、Handysideらは伴性劣性遺伝性疾患で

あるDuchenne型筋ジストロフィーの性別診断を世界ではじめて報告した<sup>3)</sup>。その後、βサラセミアや嚢胞性線維症などの遺伝子診断があいついで報告された。1998年には染色体均衡型転座が原因の習慣流産に対する流産予防を目的としたPGDが報告された。また同年、原因不明習慣流産患者の受精卵の異数性を診断して、流産を回避するPGSも実施されるようになった。さらに、染色体数的異常の増加する高齢女性にもPGSが応用されるに至った。遺伝性疾患をもつ児を回避する目的で行われてきたこの技術が、その適応を大きく拡大する契機となった。

ヨーロッパ生殖医学会の登録調査によれば、2009年までに5,216人の児が生まれており、総周

期数は 33,271 周期, PGD 12,388 周期, PGS 20,207 周期, 性別診断 676 周期が登録されており, Down 症候群の診断も含むスクリーニングが多数を占めるようになった。

着床前診断によって生まれた児の体重は標準的であり, 先天異常は 5.8% (47/813) と顕微授精と同等であり, 発達に関しても 4 歳時点では自然妊娠との差はみられていない。

着床前診断はドイツ, スイス, オーストリア, オーストラリア(ビクトリア州除く), アイルランドでは法律(胚保護法など)によって禁じられているが, 極体診断は認められている。イギリス, フランス, スペイン, スウェーデンでは法律によって, オランダ, イタリア, ベルギー, ギリシャ, イスラエルは国家機関のガイドラインによって規制されている。アメリカ, 韓国は法律, ガイドラインは存在せず, 実質的な規制はない。

### ● 倫理的諸問題とわが国の現状

わが国では生殖技術の進歩に法整備が追い付かず, 学会が自主規制しているのが現状である。

この技術の問題点は,

① 受精卵の操作や罹患胚の廃棄は生命の尊厳を脅かす。

② 優生思想であり, 差別を助長する。

③ 自然妊娠が可能な女性に対し臓器損傷, 感染症, 卵巣過剰刺激症候群など体外受精の負担を背負わせる。

④ 児の長期的予後が不明。

といった点に要約される。

わが国では, 患者団体などが障害をもつ人たちの生きる権利を阻害するとして出生前診断に反対してきた。世界的な PGD の実施状況を鑑み, 日本産科婦人科学会(学会)は 1998 年に“着床前診断に関する見解”を作成した。要点は, 重篤な遺伝性疾患に限って一例一例を個別に審議して, 臨床研究として PGD を行うという点である。

2004 年 6 月に Duchenne 型筋ジストロフィー症例の着床前診断が承認され, 日本でも着床前診断がはじまった。2005 年には染色体均衡型転座を原因とした習慣流産(反復流産含む)が重篤な遺伝性疾患と別のカテゴリーとして実施が認められた。

2014 年 2 月現在, Duchenne 型筋ジストロフィー, 筋強直性ジストロフィー, Leigh 脳症, 副腎白質ジストロフィー, オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症を含めた 300 例の PGD が承認されているが, 均衡型転座保因者の習慣流産症例が 227 例と大多数を占めている。“遅くとも 20 歳までに寝たきりあるいは死亡する状態”が重篤と解釈され, 欧米のような Down 症候群や性別の診断は承認されていない。

### ● 染色体均衡型転座保因者の習慣流産

習慣流産は 3 回以上連続する流産と定義されているが, 学会は 2 回でも PGD を認めている。

均衡型相互転座の減数分裂においては転座している染色体が 4 価染色体を形成し, その後(正常である)交互分離をすれば出産可能な配偶子を形成し, (不均衡である)隣接第 1 分離, 隣接第 2 分離, 3:1 分離, 4:0 分離を起こすと流産に至る。つまり一定の確率で自然妊娠可能という意味である。

著者らは 1,284 組の反復流産患者について転座保因者の自然妊娠の帰結を世界ではじめて報告した<sup>4)</sup>。相互転座をもつ夫婦の 31.9% (15/47) が診断後初回妊娠で出産に至った。一方, 染色体正常夫婦の 71.7% (849/1,184) が出産に成功しており, 均衡型相互転座保因者の流産率が高いのは明らかであるが, 累積的には 68.1% が生児を得ることができた。

その後同様の報告があいつぎ, 日本の多施設共同研究では 63% が次回妊娠で出産に至ることがわかった<sup>5)</sup>。オランダのコホート研究では転座保因者と染色体正常習慣流産患者の累積生児獲得率は 83% と 84% と報告しており, 転座保因者の予後は正常群と変わらないと結論づけている<sup>5)</sup>。

PGD は体外受精が前提であり, その出産率は体外受精同様に女性の年齢に依存する。体外受精の出産率は 20 歳代では 20%, 40 歳では 10% 未満にとどまる。現在, 転座保因者を対象とした PGD の論文は 5 つあり, 出産率は 14~58% とされているが, いずれも対照を設定していない(表 1)<sup>6)</sup>。

自然妊娠の診断後初回妊娠出産率は 31.9~65% であり, PGD によって出産成功率が改善できるとした比較研究の報告はない。現在のところ, PGD

表 1 相互転座患者の妊娠成功率

	着床前診断					自然妊娠			
	Chun	Otani	Feyereisen	Fischer	Fiorentino	Sugiura	Stephenson	Japan 多施設	Franssen
患者数	43	29	35	192	16	47	20	46	157
年齢	31.5	32.7		34	37.1	29.1		31	
流産回数		3.4						3.1	
採卵	59	36	81	272	18				
妊娠	22	17		69	7				
分娩	14	17	5	60	7	15	13	29	131
出産率 (%)	32.6	58.6	14.3	31.3	43.8	31.9	65	63	
出産率 / 採卵 累積生児 獲得率%	23.7	47.2	6.2	22.1	38.9	68.1	90		83
	Prenat Diagn., 2004	RBM, 2006	F & S, 2007	F & S, 2010	HR2011, aCGH	F & S, 2004	HR, 2006	JHG, 2008	BMJ, 2006

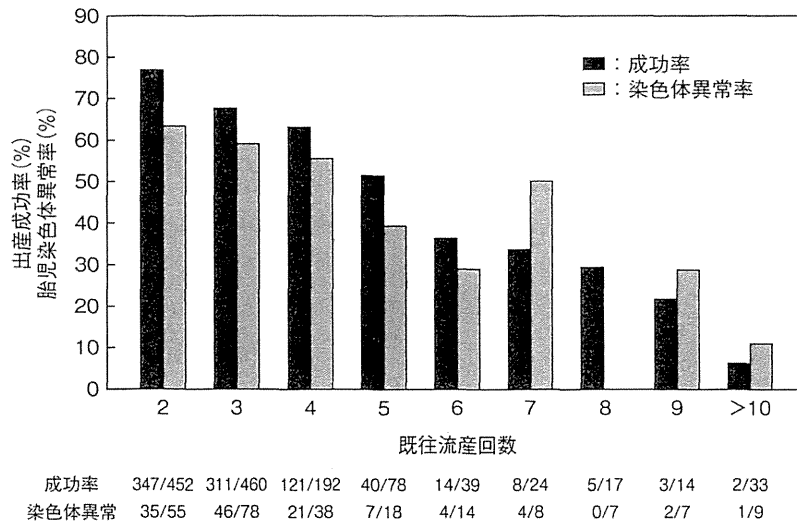


図 3 既往流産回数別出産成功率と流産児の胎児染色体異常の割合<sup>7)</sup>

では出産率は自然妊娠と同等であり、流産は減少するが、体外受精に負担とコストがかかることを説明する必要がある。

### 胎児染色体数的異常とスクリーニング

著者らは反復流産患者の1,309妊娠について、既往流産回数別流産率と胎児染色体異常率を検討した<sup>7)</sup>(図3)。既往流産回数が増えるに従って出産率は低下し、染色体異常も減少した。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あった(62% vs. 38%, オッズ比2.6)。つまり染色体異

常は予後良好因子である。

欧米では、胎児染色体数的異常流産に対してFISH法を用いたPGSが行われてきた。Platteauらの報告によると、4.46回流産歴のある25人の原因不明習慣流産患者にPGSを行い、妊娠継続例は25%であった<sup>8)</sup>。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<sup>7)</sup>、PGSの有効性は認められなかった。現時点で自然妊娠のほうが出産率は高い状況である(表2)。

高齢不妊女性における胚スクリーニングの生児獲得率を調べた無作為割付試験では着床前診断を行った群のほうが低いという結果であり、診断に

表 2 受精卵染色体スクリーニングによる生児獲得率

	受精卵スクリーニング					自然妊娠		
	Wilding	Platteau ら		Munne		Otani ら	Sugiura-Ogasawara	
		37 歳未満	37 歳以上	35 歳未満	35 歳以上		既往流産 5 回	40 歳以上
患者数	48	25	24	21	37	97	78	43
年齢	35.4	31.5(2.7)	40.2(2.5)	32.6	39.5	39.1	32.5	40 歳以上
既往流産回数	3.7	4.46(2.1)	4.93(2.4)	3.7	4.1		5	2.91
方法	FISH	FISH		FISH		CGH		
胚移植						53		
妊娠		9	1			39		
流産				23%	12%	3		
生児獲得率 (%)	45.8	36	4.2	47.6	40.5	37.1	51.3	58.1
	F & S, 2004	F & S, 2005		F & S, 2005		読売新聞	F & S, 2000	AJRI, 2009

よって妊娠率が低下する可能性が指摘された<sup>9)</sup>。

現時点で転座保因者、原因不明習慣流産、高齢不妊女性のいずれも PGS によって出産率が改善できたという報告はない。ヨーロッパヒト生殖医学会、アメリカ生殖医学会、アメリカ産婦人科学会いずれも、出産率改善が立証されていない PGD を推奨していないが、世界中で実施されているのが現状である。

### ● 習慣流産と遺伝子の関与

2009 年に染色体不分離に関与する SYCP3 遺伝子変異が習慣流産患者 26 例中 2 例に発見されたと報告された<sup>10)</sup>。もしそうであれば 7.7% の頻度であり、夫婦染色体転座よりも高頻度の原因を占めることになる。原因不明習慣流産患者 101 例について追試を行った。患者 1 例、対照 1 例に exon 8 の 657 T>C 変異を認めたが、既報告の他の変異はみられなかった<sup>11)</sup>。患者の過去の流産の絨毛染色体は 46, XY と 46, XY であったことから、この変異は染色体異常流産と関係しない遺伝子多型と考えられた。

凝固第 V 因子 Leiden 変異, prothrombin 変異をはじめとする 100 個以上の遺伝子多型と習慣流産の関与が報告されている。多くは横断研究であり、追試によって関与を否定されているものも多い。

Annexin A5 は絨毛組織に存在する凝固抑制蛋白であり、抗リン脂質抗体の対応抗原とも報告されている。この遺伝子多型が不育症に関与すると

いう横断研究が 3 つ報告されている。著者らはこれを追試し、横断研究では ANXA5 SNP5 の頻度に有意差を認めたが、患者 264 人の次回妊娠の生児獲得率はリスクアレルの有無によって差がないことを明らかにした<sup>12)</sup>。このリスクアレルのオッズ比は 2 未満であり、危険因子であっても臨床的影響は小さいことを示した。

胎児染色体正常の真の原因不明習慣流産は、オッズ比の小さいリスクアレルが多数集積して、“流産しやすい体質”を形成していると思われる。この習慣流産易罹患性遺伝子は多数存在するが、臨床的に調べる意義の確認には至っていない。

### ● おわりに

近年、FISH 法に代わって比較ゲノムハイブリダイゼーション法 (CGH 法) を用いた PGS によって出産率が改善できたとする報告が散見されるようになった。Scott らが不妊女性に体外受精のみとスクリーニングを行った場合を無作為割付けした結果、出産率は 67.5% と 84.7% であり、PGS の有効性が示された<sup>13)</sup>。しかし、患者は平均 32 歳であり、17 個の採卵がされ、体外受精の妊娠率が 67.5% と非常に高く、もともと出産しやすい集団を対象としていた。このことから、PGS はあらたな技術を用いても難治性不妊症、習慣流産に寄与する技術ではなく、もともと産める人がすこし早く産めるようになる技術ということが出来る。

子どもに恵まれない人は藁をもつかむ思いで新しい技術に過度な期待をする。妊娠に至らなくて

も80~100万円の費用のかかるこの技術について, “出産率改善につながっていない” 事実が患者に伝わっていないことが懸念される。医療において, よいことだけでなく, 悪いことも患者に伝えることが重要であるが, 生殖医療にかかわる者のモラルが守られないのであれば法整備が必要である。

#### 文献

- 1) Sugiura-Ogasawara, M. et al. : Abnormal embryonic karyotype is the most frequent cause of recurrent miscarriage. *Hum. Reprod.*, **27** : 2297-2303, 2012.
- 2) Sugiura-Ogasawara, M. et al. : Frequency of recurrent spontaneous abortion and its influence on further marital relationship and illness : The Okazaki Cohort Study in Japan. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, **39** : 126-131, 2013.
- 3) Handyside, A. H. et al. : Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature*, **344** : 768-770, 1990.
- 4) Sugiura-Ogasawara, M. et al. : Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil. Steril.*, **81** : 367-373, 2004.
- 5) 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.
- 6) Franssen, M. T. M. et al. : Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages : case-control study. *BMJ*, **332** : 759-762, 2006.
- 7) Ogasawara, M. et al. : Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil. Steril.*, **73** : 300-304, 2000.
- 8) Platteau, P. et al. : Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in patients with unexplained recurrent miscarriages. *Fertil. Steril.*, **83** : 393-397, 2005.
- 9) Mastenbroek, S. et al. : *In vitro* fertilization with preimplantation genetic screen. *N. Engl. J. Med.*, **357** : 9-17, 2007.
- 10) Bolor, H. et al. : Mutation of the SYCP3 gene in women with recurrent pregnancy loss. *Am. J. Hum. Genet.*, **84** : 1-7, 2009.
- 11) Mizutani, E. et al. : SYCP3 mutation may not be associated with recurrent miscarriage caused by aneuploidy. *Hum. Reprod.*, **26** : 1259-1266, 2011.
- 12) Hayashi, Y. et al. : Genotyping analyses for polymorphisms of ANXA5 gene in patients with recurrent pregnancy loss. *Fertil. Steril.*, **100** : 1018-1024, 2013.
- 13) Scott, R. T. Jr. et al. : Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases *in vitro* fertilization implantation and delivery rates : a randomized controlled trial. *Fertil. Steril.*, **100** : 697-703, 2013.
- 14) Sugiura-Ogasawara, M. et al. : Midline uterine defect size is correlated with miscarriage of euploid embryos in recurrent cases. *Fertil. Steril.*, **93** : 1983-1988, 2010.

\* \* \*