

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合事業）
分担研究報告書

分担課題：本邦における不育症のリスク因子と各病態の治療成績に関する調査
自然流産に対する遺伝学的解析

分担研究者 小澤 伸晃 国立成育医療センター 周産期診療部 医長

研究要旨

国立成育医療センター周産期診療部不育診療科を受診された不育症患者を対象とし、前年度に引き続き不育症に関連すると考えられる遺伝的要因、免疫学的要因、血液凝固学的要因、子宮形態学的要因等の陽性頻度を明らかにすると同時に、各要因別の治療法の有効性を検討した。今年度は58組の不育症患者が新たに登録された。抗PE抗体陽性患者の妊娠例は当院ではこれまでに83症例みられたが、妊娠成功率は62.3%であった。今後さらに症例数を蓄積すると同時に、多施設での結果を集積して解析する予定である。また流産染色体分析として、通常の染色体分析に加えてアレイCGH法による解析を新たに検討したが、不育診療における有用性が示唆された。

A. 研究目的

全妊娠の約15%に発生する流産を繰り返す場合は不育症と呼称され、全女性の約2~5%は不育症患者であると推定されているが、現状では不育症に対するスクリーニング検査法や治療法は確立されているとは言えない。そのため患者夫婦の精神的ならびに肉体的負担は大きく、不必要な検査あるいは治療が強いられている場合もある。また我が国では不育症に造詣が深い専門医も決して多くはない。

本研究では多施設共同研究により、不育症に関連すると考えられる遺伝的要因、免疫学的要因、血液凝固学的要因、子宮形態学的要因等について統計学的に分析し、各要因別の治療法の有効性を前方視的研究で解析した。最終的にはEBM (evidence-based medicine) に基づいた不育症の診断、検査、および治療に関する指針を確立することを目的とする。また得られた研究成果は一般にも公開して、不育症に対する医療の質を向上させるとともに、患者夫婦が積極的に診療を受けられる環境づくりを行う予定である。

また今年度は流産染色体分析にアレイCGH法も加えてその有用性に関して検討を行った。

B. 研究方法

【研究対象】

国立成育医療センター周産期診療部不育診療科を受診された不育症患者を対象とした。不育症患者の定義は、以下のいずれかを有する夫婦とした。

1. 妊娠10週未満の2回以上の連続する流産（化学流

産を含まない）（続発性を含める）

- 原因不明の妊娠10週以降（CRL(頭殿長)でも10週以上の大きさを有する）の1回以上の流・死産
- 1回以上の重症の妊娠高血圧症候群（妊娠中毒症）の既往

【不育症一般検査】

当院で通常行っている不育症原因検索のための一般検査を患者夫婦に説明後施行した。尚、現在行っている検査項目は以下の通りである。

- 遺伝学的検査
夫婦染色体、流産胎児染色体検査
- 免疫学的検査
抗核抗体
抗カルジオリピン抗体IgG/IgM
抗カルジオリピン-β₂GPI 抗体
抗PE抗体IgG/IgM
抗PS抗体IgG/IgM
- 血液凝固検査
ループスアンチコアグラント
APTT/PT
XII 因子
プロテインC/S活性、抗原
- 内分泌学的検査
FSH、LH
テストステロン
F-T3、F-T4、TSH
プロラクチン
空腹時血糖、インシュリン
高温期プロゲステロン

5. 解剖学的検査

子宮卵管造影

子宮鏡（症例により選択）

MRI（症例により選択）

【不育症患者の管理】

前記の不育症一般検査の結果に基づいて、治療方針を決定し妊娠管理を行った。患者背景、臨床経過、検査結果、治療方法、治療結果などの診療情報を記載したシートを作成し、データを解析した。なお、当院で選択される治療法は以下の通りである。

1. ヘパリン治療
2. 低用量アスピリン療法
3. プロゲステロン補充療法
4. 甲状腺疾患治療、糖尿病治療
5. 高PRL血症治療薬
6. 手術（子宮形成術、内膜ポリープ除去、子宮筋腫核摘出、頸管縫縮術）

尚、治療を行うも流産に至った場合は、流産絨毛染色体検査を行い、胎児側要因による流産であるかどうか検討した。また、Genome-Disorder Array（既知の疾患座位ならびに各染色体のサブテロメア領域を550-660個のBACクローンでカバーしたアレイ）による解析を一部の症例で追加して行った。

（倫理面への配慮）

当院での通常の臨床行為に対する調査研究で必要とされる、「国立成育医療センター診療情報の2次利用に関する規程」に基づいて臨床データを集約し解析を行った。アレイCGH法に関しては施設倫理委員会承認の下に、インフォームドコンセントが得られた症例を対象とした。

C. 研究結果

1) 不育症患者におけるリスク因子の抽出と治療効果の判定

2008年11月から2009年10月までの当院初診患者で一般検査を当院で行った症例をデータベース上に登録したが、今年度の登録患者は57組であり、これまでに計80組の患者夫婦が登録されたことになった。登録患者の平均年齢は35.9歳、平均BMIは20.4、平均既往流産回数（10週未満）は2.5回であった。主な検査陽性率を以下に示す。

子宮内腔異常（弓状子宮や内膜ポリープも含む）：16.2%、甲状腺機能異常：8.3%、高プロラクチン血症：7.0%、染色体異常（低頻度モザイク、正常変異を除く）：3.0%、抗カルジオリピン β 2GPI抗体陽性：1.4%、LAC陽性：0%、抗カルジオリピン

抗体IgG：9.5%、抗カルジオリピン抗体IgM：11.4%、抗PE抗体IgG：17.5%、抗PE抗体IgM：6.4%、APTT（正常値26.6-40.3秒）延長：0%、短縮：42.5%、XII因子活性（正常値50-150%）低下：1.4%

2) 抗PE抗体陽性患者の妊娠予後

2002年1月から2009年12月までの当院初診患者を対象に、抗PE抗体IgG/IgM陽性で妊娠の成立した患者を抽出し、その後の妊娠成績を検討した。尚、各々のカットオフ値は以下のように設定し、APTT延長、LAC陽性、抗カルジオリピン β 2GPI抗体陽性、抗カルジオリピン抗体IgG陽性、抗カルジオリピン抗体IgM陽性者は除外した。

抗PE抗体IgG（キニノーゲン+）：0.300

抗PE抗体IgM（キニノーゲン+）：0.450

抗PE抗体IgG陽性患者の妊娠例は54例認められ、妊娠成功例は34例（63.0%）（平均妊娠時母体年齢34.0歳）で、不成功例は20例（37.0%）（平均妊娠時母体年齢34.4歳）であった。治療の内訳はヘパリン+低用量アスピリン併用療法22例、低用量アスピリン単独治療31例であり、明らかな治療成功率の差は認められなかった。一方、抗PE抗体IgM陽性患者の妊娠例は29例認められ、妊娠成功例は18例（62.1%）（平均妊娠時母体年齢34.8歳）、不成功例は11例（37.9%）（平均妊娠時母体年齢35.9歳）であった。治療の内訳はヘパリン+低用量アスピリン併用療法10例、低用量アスピリン単独治療17例であり、IgG陽性例と同様に明らかな治療成功率の差は認められなかった。抗PE抗体IgGとIgM陽性を併せた症例の妊娠成功率は、62.3%（52/83）となった。

3) 自然流産に対する遺伝学的解析

これまでに計168例の自然流産に対して染色体分析が行われたが、21例（12.5%）は培養不良のため結果が得られなかった。したがって147例の分析結果となったが、染色体異常は113例に観察され、常染色体トリソミーで、Xモノソミー、倍数体、不均衡型構造異常の順に高頻度に検出された。自然流産に至った症例の一部ではGDアレイを用いたアレイCGH分析を行ったが、異数体や不均衡型染色体異常などの染色体異常の検出が可能であり、解析を行った83症例中52例（62.7%）に異常が観察された（平均妊娠時母体年齢35.8歳）。

D. 考察・E. 結論

本研究では、多施設共同研究により不育症に対する診療体系を確立することを目指している。今

回の分担研究成果である、当院で不育症患者に対して行っている一般的なスクリーニング検査の陽性率や抗PE抗体陽性者に対する抗凝固療法など各種治療法の妊娠成績は、他の施設における臨床成績と併せて本研究の主幹施設に集積し、今後統計学的解析により不育症患者におけるリスク因子の抽出と治療効果の判定を行っていく予定である。また、流産が母体要因であるか胎児要因であるかを判定することは不育診療上きわめて重要であるが、アレイCGH分析による染色体異常の解析は従来のG分染法の問題点を解決できる可能性があり、不育診療においては有用であると考えられた。

F. 健康危険情報
該当せず。

G. 研究発表

1. 論文発表

小澤伸晃：【産婦人科専攻医の研修 何を教える?何を学ぶ?(生殖医療編)】 不育症の管理(解説/特集). 産科と婦人科. 76(6), 703-708. 2009.

2. 学会発表

- 1) 小澤、他：アレイCGHによる分析（第54回日本人類遺伝学会）
- 2) 小澤、他：夫婦染色体異常と胎児染色体異常（第45回日本周産期・新生児医学会）
- 3) 小澤、他：Cytogenetic investigation of miscarriage by DNA-based analysis combined with FISH analysis (25th Annual Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology)

H. 知的財産件の出願・登録状況
(予定も含む)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

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
小澤伸晃	【産婦人科専攻医の研修 何を教える?何を学ぶ?(生殖医療編)】 不妊症の管理(解説/特集)	産科と婦人科	76(6)	703-709	2009