

分担課題: 不育症患者の血小板機能の検討 -レーザー散乱粒子計測法を用いた検討-

研究分担者 杉 俊隆 東海大学医学部産婦人科非常勤教授

研究要旨

抗 phosphatidylethanolamine (PE)抗体や第 XII 因子欠乏症などは不育症、血栓症の原因となると考えられており、その治療として抗血小板療法である低用量アスピリン療法が広く行われているが、不育症患者の血小板機能に関する検討はほとんどなされていない。今回我々は、レーザー散乱粒子計測法を用いて不育症患者の血小板凝集能を検討したところ、抗 PE 抗体および第 XII 因子欠乏と、血小板凝集能亢進との間に有意な相関が認められた。レーザー散乱粒子計測法による血小板凝集能検査は、不育症の risk factor の病原性解明に有用であるのみならず、不育症のスクリーニング検査として有用であると思われた。

A. 研究目的

我々は、新たな不育症の risk factor として抗 phosphatidylethanolamine (PE)抗体と抗第 XII 因子抗体を既に報告してきたが、これらの自己抗体が不育症の原因であるのかを証明するために、疫学的研究と平行して基礎的研究を施行した。不育症患者の中で、抗 PE 抗体陽性者の約 1/3 に第 XII 因子活性低下があり、その多くは抗第 XII 因子抗体を持つ事を我々は既に報告した。抗 PE 抗体陽性者の中でも、第 XII 因子活性低下をもつ症例がもっとも流産率が高いと考えられ、抗 PE 抗体と抗第 XII 因子抗体の関係を追求する事が不育症の病原性解明に重要と思われる。抗 PE 抗体や第 XII 因子欠乏症など thrombophilia は不育症、血栓症の原因となると考えられており、その治療として抗血小板療法である低用量アスピリン療法が広く行われているが、不育症患者の血小板機能に関する検討はほとんどなされていない。我々は、抗 PE 抗体が *in vitro* で血小板凝集能を亢進させることは既に報告したが、従来の aggregometer では感度が悪く、*in vivo* の変化を捉える事が困難であった。

B. 研究方法

今回我々は、インフォームドコンセントのもとでレーザー散乱粒子計測法(PA-20, KOWA)を用いて不育症患者の血小板凝集能を検討した。レー

ザー散乱粒子計測法は、フローサイトメーターに
応用されている方法であり、従来の aggregometer
の 100 倍感度が良いとされている。攪拌のみで生
じる血小板の自然凝集を従来の aggregometer で
検出することはまれであるが、本方法により多く
の不育症患者に自然凝集が見い出された。

(倫理面への配慮)

本臨床疫学研究は、「疫学研究に関する倫理
指針」に基づく倫理的原則を遵守して実施した。
疫学研究に関する倫理指針の第 3 インフォーム
ド・コンセント等によれば、本研究は既存資料の
みを用いる観察研究に相当するため、口頭のみ
の同意とした。また、研究を実施していること・内
容・方法などに関する情報を広報し(ポスターの
公示)、また、研究に参加したくない場合に拒否で
きる機会を設けた。

C. 研究結果

不育症患者 94 人中、自然凝集を認めたのは
40.4%であった。一方、正常対照群では 6.7%に自
然凝集を認めた。さらに、自然凝集を中等度以上
に認めた 51 人について検討すると、抗 PE 抗体陽
性は 39.2%、第 XII 因子欠乏は 37.3%、抗 PE 抗体
陽性 and/or 第 XII 因子欠乏は 64.7%に認められ、
自然凝集の無い 80 人の各陽性率(それぞれ、
28.8%、20.0%、40.0%)に比較して高率であり、抗 PE
抗体陽性 and/or 第 XII 因子欠乏群では、統計学
的に有意(64.7% vs 40.0%; p=0.006)であった。

D. 考察

我々はすでに、不育症患者のもつ抗第 XII 因子抗体の 76.5%が第 XII 因子の heavy chain の N 末端のアミノ酸 1-30 を認識する事を報告した。この部位は、第 XII 因子の血小板 glycoprotein Ib α への結合部位である。高分子キニノーゲンと第 XII 因子は、どちらも glycoprotein Ib α の細胞外サブユニットである glycolocalicin に競合的に結合し、トロンビンによる血小板活性化を阻害する事が報告されている。したがって、抗第 XII 因子抗体は、第 XII 因子が血小板の GP Ib-IX-V に結合する事を阻害し、血栓や流産を引き起こしている可能性がある。ちなみに、高分子キニノーゲンの血小板への結合部位は、キニノーゲン、ドメイン 3 の Cys333-Lys345 (CNA13)であり、抗 PE 抗体の認識部位と同一である事が分かっている。第 XII 因子欠乏不育症患者の 32.4%に抗 PE 抗体が陽性であり、抗第 XII 因子抗体と抗 PE 抗体は、非常に類似した抗体である事を、我々は既に平成 20 年度の合成ペプチドを用いた検討で報告した。まとめると、不育症患者の持つ第 XII 因子とキニノーゲンに対する自己抗体(抗 PE 抗体)は、第 XII 因子とキニノーゲンが血小板の GP Ib-IX-V に結合してトロンビンによる血小板活性化を防ぐ事を阻害し、血栓や流産を引き起こしている可能性がある。今回、我々は、レーザー散乱粒子計測法を用いて不育症患者の血小板凝集能を調べたところ、抗 PE 抗体陽性+第 XII 因子欠乏の患者で亢進がみられ、これらの患者で *in vivo* でも血小板が活性化している事が示唆された。

E. 結論

不育症患者の血小板凝集能は *in vivo* でも亢進している傾向が示唆された。中でも、抗 PE 抗体および第 XII 因子欠乏と、血小板凝集能亢進との間に有意な相関が認められた。一方で抗カルジオリピン抗体やプロテイン S 欠乏症、プロテイン C 欠乏症は、血小板を介さない病原性がある事が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 杉 俊隆。抗 phosphatidylethanolamine 抗体と抗第 XII 因子抗体。医学のあゆみ; 233: 169-174, 2010.
- 2) 杉 俊隆。習慣流産と血液凝固阻害薬。産科と婦人科; 77: 925-930, 2010.
- 3) 杉 俊隆。不育症。講義録 産科婦人科学。編集 石原 理、柴原浩章、三上幹男、板倉敦夫。メジカルビュー社。244-245。2010.
- 4) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群。日産婦誌; 62: N150-154, 2010.
- 5) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体。生殖医療ガイドライン 2010。日本生殖医学会編。金原出版。278-280, 2010.
- 6) 杉 俊隆。不育症とは。月刊地域保健。東京法規出版。2010.6.38-43.
- 7) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群と静脈血栓塞栓症。臨床婦人科産科。(in press)
- 8) Obayashi S, Ozaki Y, Sugi T, Kitaori T, Katano K, Suzuki S, Sugiura-Ogasawara M. Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be an independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss. J Reprod Immunol; 85: 186-192, 2010.
- 9) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群の診療。産婦人科治療。2011 年増刊大特集。不妊診療のすべて。(in press)

2. 学会発表

- 1) 杉 俊隆。抗リン脂質抗体症候群。第 62 回日本産科婦人科学会。生涯研修プログラム。クリニカルカンファレンス4。不育症。東京国際フォーラム。2010。
- 2) 杉 俊隆。不育症診療 Up To Date。第24回横浜市西部地域産婦人科研究会。特別講演。2010。
- 3) Sugi T. Spontaneous small platelet aggregate formation in patients with recurrent pregnancy losses and its association with thrombophilia. International symposium for immunology of reproduction. Icho Kaikan, Osaka University. 2010.
- 4) 杉 俊隆。流産、習慣流産、不育症について。第18回横浜臨床医学会。2010。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
杉 俊隆	不育症	石原 理、 柴原浩章、 三上幹男、 板倉敦夫	講義録 産科 婦人科学	メジカルビ ュー社	東京	2010	244-245
杉 俊隆	抗リン脂質抗体	日本生殖 医学会	生殖医療ガイ ドライン2010	金原出版	東京	2010	278-280

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
杉 俊隆	抗phosphatidylethanolamine抗体 と抗第XII因子抗体	医学のあゆみ	233	169-174	2010
杉 俊隆	習慣流産と血液凝固阻害薬	産科と婦人科	77	925-930	2010
杉 俊隆	抗リン脂質抗体症候群	日産婦誌	62	N150-154	2010
杉 俊隆	不育症とは	月刊地域保健	6	38-43	2010
杉 俊隆	抗リン脂質抗体症候群と静脈血 栓塞栓症	臨床婦人科産科			In press
Obayashi S, Ozaki Y, Sugi T, Kitaori T, Katano K, Suzuki S, Sugiura-Ogasawara M.	Antiphosphatidylethanolamine antibodies might not be an independent risk factor for further miscarriage in patients suffering recurrent pregnancy loss.	J Reprod Immunol	85	186-192	2010
杉 俊隆	抗リン脂質抗体症候群の診療	産婦人科治療			In press