

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

分担課題： 習慣流産に対する免疫療法ならびに抗凝固療法症例の臨床的検討

研究分担者 田中 忠夫（東京慈恵会医科大学・産婦人科・教授）
研究協力者 川口 里恵，梅原 永能，土橋 麻美子，高橋 絵理，齋藤 幸代，
和田 誠司（東京慈恵会医科大学・産婦人科・助教）
杉浦 健太郎，大浦 訓章（東京慈恵会医科大学・産婦人科・講師）

研究要旨

流産原因としての自己免疫異常、とくに抗リン脂質抗体陽性症例と同種免疫異常症例に対する治療成績を、臨床的背景因子と併せて検討した。

抗リン脂質抗体陽性症例に対する抗凝固療法は、約 90%の症例で妊娠維持に成功したが、抗リン脂質抗体の種類、抗体価、あるいはアイソタイプなどにより抗凝固療法の方法を検討する必要がある。同種免疫異常に対する夫リンパ球用いた免疫療法は、約 70%の成功率であった。同種免疫異常と診断する検査方法・基準を検討する必要がある。

A. 研究目的

妊娠初期の流産を繰り返す不育症（反復あるいは習慣流産）の原因は多岐に渡っているが、特に免疫学的因子が関与する病態はまだ完全には解明されておらず、実際の臨床に際して、その管理指針が定まっていないのが現状である。

そこで本研究では、流産原因とされている自己免疫異常とも関連する血栓性素因、ならびに同種免疫の応答異常の存在を明らかにし、また、それらを検出する適切な検査法ならびに有効な治療法の確立を目指す。

B. 研究方法

妊娠 12 週までの妊娠初期の自然流産を 2 回以上繰り返したために、精査・加療を目的として慈恵医大病院・不育症外来を受診した症例を対象とし、同意を得たうえで、以下に示す検査・治療を施行した。

1. 不育症原因スクリーニングのための検査項目

染色体検査・内分泌学的検査・子宮形態の検査などの一般的検査に加え、以下 (1) に示す自己抗体を含む抗リン脂質抗体ならびに血液凝固因子の検査を行い、それらのすべてに異常を認めない症例に対しては (2) に示す同種免疫関連の検査を行った。

- 1) 抗 DNA 抗体、抗核抗体、抗 cardiolipin 抗体 IgG・IgM (aCL-IgG・IgM)、抗 cardiolipin- β 2GPI 抗体 (β 2GPI)、抗 phosphatidylserine 抗体 IgG・IgM (aPS-IgG・IgM)、抗 phosphatidylethanolamine 抗体 IgG・IgM (aPE-IgG・IgM)、lupus anticoagulant (LA)、protein-C 活性および抗原量、protein-S 活性および抗原量、血液凝固第 XII 因子。
- 2) natural killer (NK) 細胞活性、抗 HLA 抗体、夫婦間混合リンパ球反応 (MLR)、Th1/Th2 細胞比率。

2. 治療方法の選択基準

一般的検査では異常を認めない症例について、前述 (1) の自己抗体、ならびに抗リン脂質抗体の検査結果により、原則的に以下の基準にしたがって治療した。すなわち、(A) β 2GPI を除いた一つの項目のみ陽性を示す症例で、かつ LA 弱陽性、aCL-IgM あるいは aPS-IgM のみ陽性の症例に対しては、アスピリンを単独投与した。(B) LA 強陽性、 β 2GPI 陽性、aCL-IgG 陽性、aPS-IgG 陽性、aPE-IgG あるいは IgM 陽性、あるいは二つ以上の項目が陽性の症例に対しては、アスピリン+柴苓湯+ヘパリンの併用を行った。なお、アスピリン (100mg/日) は妊娠前から服用し、妊娠 32 週まで投与した。柴苓湯 (9g/日) は妊娠前から服用し、妊娠成立後に中止した。ヘパリン (5,000 単位 x2 回/日) は胎嚢確認後から妊娠 37 週まで投与した。

また、一般的検査ならびに前述 (1) の検査で異常を認めない症例については、前述 (2) の同種免疫関連の検査結果により、原則として MLR 低値、抗 HLA 抗体陰性、NK 細胞活性高値、あるいは Th1/Th2 比率亢進のどれかに該当する症例に対して夫 (パートナー) リンパ球を用いた免疫療法を行った。リンパ球は放射線処理後、 $1-5 \times 10^7$ 個/生食水 1ml に調整し、妊娠前に 2 週間毎に 3 回、妊娠成立後にさらに追加免疫として妊娠 12 週まで 2 週間毎に上腕皮内に接種した。

3. 症例の内訳と臨床的背景因子

- 1) 2004 年 1 月から 2007 年 12 月までの間に受診した症例を対象に、抗凝固療法と免疫療法の治療成績を検討した。抗凝固療法の適応症例は 320 例、免疫療法の適応症例は 71 例であった。
- 2) 2001 年 11 月から 2005 年 7 月までの間に抗凝固療法を行った 156 症例を対象として、その治療成績と特に抗リン脂質抗体を中心とした検査結果ならびに臨床的背景因子との関連について検討した、
(倫理面への配慮)
施行に際しては事前に当院倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. 抗凝固療法と免疫療法の治療成績 (2004 年 1 月から 2007 年 12 月までの症例)
これら症例では、治療成績と検査結果あるいは臨床的背景因子との関連性について現在解析中であり、ここでは、治療成績についてのみ示す。
抗凝固療法を行った 320 例のうち、229 例 (71.6%) に妊娠が成立した。アスピリン単独群では 73 例に妊娠が成立し、そのうち 53 例 (72.6%) の妊娠が維持された。ヘパリン併用群では 156 例に妊娠が成立し、そのうち 132 例 (84.6%) の妊娠維持に成功した。全体としてみると、妊娠が成立した 229 例中 185 例 (80.8%) の妊娠維持に成功した。リンパ球治療を行った 71 例のうち、43 例 (60.6%) に妊娠が成立し、そのうち 28 例 (65.1%) の妊娠維持に成功した。
2. 抗凝固療法の治療成績と検査結果・臨床的背景因子との関連
 - 1) 臨床的背景因子
2001 年 11 月から 2005 年 7 月までの間に抗凝固療法を行った 156 例の臨床的背景因子は、全体としてみると年齢は 33.9 ± 4.9 歳

(平均±標準偏差、以後同様)、流産回数は 2.86 ± 0.96 回であった。156 例のうち原発性流産は 116 例で、年齢は 33.3 ± 4.9 歳、流産回数は 2.80 ± 0.89 回、続発性流産は 40 例で各々 35.6 ± 4.4 歳、 3.03 ± 1.21 回であった。これらの間に統計学的に有意差は認めなかった。

2) 抗リン脂質抗体の出現頻度

156 例についての抗リン脂質抗体の出現頻度は、LA: 34.0%、 β 2GP1: 0.7%、aCL-IgG: 19.9%、aCL-IgM: 53.6%、aPS-IgG: 12.4%、aPS-IgM: 53.7%、aPE-IgG: 22.0%、aPE-IgM: 20.6%であった。それらの出現頻度は、原発性と続発性流産との間に差はなかった。

3) 治療成績

156 例のうち 103 例 (66.0%) に妊娠が成立した。そのうち 91 例 (88.4%) は妊娠維持に成功し、12 例 (11.6%) はまた流産した。流産症例の絨毛染色体検査の結果、10 例は正常核型であったが 2 例に異常を認めた。したがって以後の治療成績の解析からはそれらを除き 101 例を対象とした。

(1) 臨床的背景因子との関連性

妊娠維持に成功した 91 例の年齢は 34.0 ± 4.3 歳、流産回数は 2.76 ± 0.95 回、流産した 10 例のそれは各々 34.0 ± 3.4 歳、流産回数は 3.10 ± 0.88 回で、両者の間に差は認めなかった。

(2) 抗リン脂質抗体の種類との関連性

最も妊娠維持率が低かったのは aPS-IgM 陽性例の 88.1%であり、その他の抗リン脂質抗体陽性例はすべて 90%以上を示した。しかし、陽性抗リン脂質抗体の種類と妊娠維持率との間に差はなかった。また、陽性抗体数別に妊娠維持率をみると、一種類のみ症例では 30 例中 86.7%、複数種類の陽性例では 71 例中 91.5%であり、両者の間に差はなかった。さらに抗体のアイソタイプ別の妊娠維持率をみると、IgM のみの陽性例では 45 例中 88.9%、IgG のみ、あるいは IgG および IgM 陽性例では 56 例中 91.1%であり、これも両者の間に差はなかった。

抗凝固療法の種類と妊娠維持率との関連をみると、抗リン脂質抗体の IgG 陽性例あるいは複数種類の陽性例では、アスピリン単独治療で各々 78.6%と 85.0%、アスピリン+ヘパリン併用療法では各々 95.2%と 94.1%であり、後者の妊娠維持率が高い傾向であったが、それらの間に有意差は認めなかった。

D. 考察

近年、自己免疫異常と関連する抗リン脂質抗体の存在、あるいは血液凝固因子の異常などによる血栓性素因が流産原因として注目され、それらに対する抗凝固療法の有効性が報告されてきた。しかし、抗リン脂質抗体の種類、力価、あるいはアイソタイプの種類などと抗凝固療法の種類、あるいは治療成績との関連は未だ十分に検討されておらず不明な点が少なくない。

今回報告した症例に限っては、陽性抗リン脂質抗体の数あるいはアイソタイプによりアスピリン療法とアスピリン+ヘパリン併用療法を使い分けたが、いずれも高い妊娠維持率を得た。したがって、抗リン脂質抗体の IgM 単独陽性例ではアスピリン療法だけでも有効であり、ヘパリン併用療法は不必要かもしれない。今後、さらに臨床的背景因子との関連も加えて解析する予定である。

また、母児間の同種免疫応答異常に起因する流産の存在も知られているが、それを検出する適切な検査、そして行われている夫リンパ球などを用いた免疫療法の有効性の評価は定まっていない。現在、71 症例の解析中である。

E. 結論

今回は中間報告として、現在までに蒐集した習慣流産例の治療成績を中心にまとめた。抗リン脂質抗体陽性例では抗凝固療法により高い妊娠維持率が得られ、同種免疫異常と思われる症例に対する夫リンパ球免疫治療は約 65%の妊娠維持率であった。

抗凝固療法あるいは免疫療法のより厳密な適応基準を決めることにより、一層の効果を得ることができると思われる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawaguchi R., Shimokawa T., Umehara N., Nunomura S., Tanaka T., Ra C. :Priming of peripheral monocytes with prolactin sensitizes IFN gamma-mediated indolamine 2,3 dioxygenase expression without affecting IFN-gamma signaling. J. Reprod. Immunol. 77 (2) :117-125, 2008.

2. 学会発表

- 1) Kamide T., Kawaguchi R., Tanaka T., et al. :The significance of anti-phospholipid antibodies (aPLs) on obstetrical complications :Analyses from the incidence of aPLs and the placental pathology. 14th International Federation of Placenta Associations Meeting. September 10-13, 2008. Seggau Castle, Austria.
- 2) Dobashi M., Kawaguchi R., Tanaka T., et al. :Serum levels of antiphospholipid antibodies are pathologically induced after the immunization with paternal lymphocytes in patients of recurrent spontaneous abortion ;Incidence and therapeutic outcome. 14th International Federation of Placenta Associations Meeting. September 10-13, 2008. Seggau Castle, Austria.
- 3) Umehara N., Kawaguchi R., Tanaka T., et al. : Possible mechanisms of IUGR caused by antiphospholipid antibodies : Analyses from our IUGRmodel mouse. 14th International Federation of Placenta Associations Meeting. September 10-13, 2008. Seggau Castle, Austria.
- 4) 川口里恵, 田中忠夫他:Prolactinはプライミング作用により IFN- γ による単球IDOの発現を増強し妊娠維持に関与する. 第60回日本産科婦人科学会. 2008年4月12日-15日. 横浜.
- 5) 土橋麻美子, 川口里恵, 田中忠夫他:夫リンパ球免疫療法は抗リン脂質抗体の産生を誘導する. 第60回日本産科婦人科学会. 2008年4月12日-15日. 横浜.
- 6) 上出泰山, 川口里恵, 田中忠夫他:産科合併症における抗リン脂質抗体および凝固因子異常の関与. 第60回日本産科婦人科学会. 2008年4月12日-15日. 横浜.
- 7) 川口里恵:着床から妊娠維持におけるプロラクチンの役割- IDOの発現増強を介して. 第53回日本生殖医学会学術講演会. (シンポジウム) 2008年10月23日-24日. 神戸.

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

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
<u>Kawaguchi R.</u> , <u>Shimokawa T.</u> , <u>Umehara N.</u> , <u>Nunomura S.</u> , <u>Tanaka T.</u> , Ra C.	Priming of peripheral monocytes with prolactin sensitizes IFN gamma-mediated indolamine 2,3 dioxygenase expression without affecting IFN-gamma signaling.	J. Reprod. Immunol.	77(2)	117-125	2008