

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：抗リン脂質抗体と流死産、産科異常との前方視的関連解析

研究分担者 山田 秀人 北海道大学大学院医学研究科准教授
(生殖・発達医学講座 産科・生殖医学分野)
研究協力者 島田 茂樹 北海道大学病院助教
山田 崇弘 北海道大学病院助教
吉田 伊都子 北海道大学医学研究科助手

研究要旨

抗リン脂質抗体 (aPL) は、流死産のみならず早産、胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群 (PIH)、pre-eclampsia、HELLP 症候群などの産科異常発症に関連すると考えられている。前方視的妊婦スクリーニングによって、aPL と流死産や産科異常との関連を検討することを目的とした。また、抗グリコプロテイン I 抗体 (anti- β 2GPI) と PIH との関係をケースコントロール/コホート研究として調べた。

前方視的研究の結果、喫煙および飲酒が流死産に関係する生活環境因子であることが明らかとなった。生活習慣因子を考慮した多変量解析の結果から、aCL IgG が PIH; aPE IgG が PIH、重症 PIH、 <34 週早産; LA が <37 週早産、低出生体重; それぞれのリスク因子であることが明らかとなった。ケースコントロール研究の結果では、anti- β 2GPI は PIH のリスク因子であることが明らかとなった。

不育症の観点から、妊娠中の禁煙および禁酒指導がその治療方法の一つとして有用である可能性がある。抗リン脂質抗体陽性妊婦では、適切な妊娠管理が必要である。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体 (aPL) は、流死産のみならず早産 (PD)、胎児発育遅延 (FGR)、妊娠高血圧症候群 (PIH)、pre-eclampsia、HELLP 症候群などの産科異常発症に関連すると考えられている。しかしながら、aPL には多様性があり、妊婦における各種 aPL の臨床的意義については未だ不明な点が多い。前方視的妊婦スクリーニングによって、aPL と流死産に産科異常との関連を検討することを目的とした。

また、抗グリコプロテイン I 抗体 (anti- β 2GPI) と PIH との関係をケースコントロール/コホート研究として検討した。

B. 研究方法

倫理委員会の承認を得て、初期採血時 (妊娠 8-14 週) に同意が得られた妊婦に対して各種 aPL 測定を実施した。aPL として、抗カルジオリピン抗体 (aCL) IgG、IgM、IgA、ホ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、IgM、キニノーゲン依存性ホスファチジルエタノールアミン (aPE) IgG、ループスアンチコアグラント (LA) を測定した。陽性判定基準を正常妊婦における 99th %ile に設定した。aCL ないし LA 陽性で、血栓症や不育症の既往歴がある場合

には、低用量アスピリン (LDA) を基本にした抗血栓療法を実施した。1155 人において年齢、初・経産、体重、喫煙、飲酒などの生活習慣因子を考慮して、PIH、早産 (PD <34 GW, <37 GW)、IFGR (<10 th %ile、 <-1.5 SD)、低出生体重、流死産の発症と aPL との関連を解析した。

ケースコントロール研究では、対象は 36 人の PIH 患者であり、コントロールは年齢と分娩歴を合わせた正常分娩 111 人とした。保存血清で anti- β 2GPI IgG、IgM を測定し比較解析した。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントは、研究実施時点で北海道大学において通例行われている方法に則り、患者または家族が研究への参加を自発的に中止しても不利益にならないよう配慮した。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払い、対象者が研究に参加することによって不利益を被ることがないよう配慮した。

C. 研究結果

生活習慣因子の解析として、初産 (経産で $p=0.035$ 、RR 0.47、95%CI 0.23-0.95) と BMI ≥ 25 kg/m² ($p<0.0001$ 、5.3、2.6-11.0) が PIH、喫煙が FGR <-1.5 SD ($p=0.0004$ 、2.6、1.4-4.6) と流死産 ($p=0.019$ 、5.5、1.5-20.7)

飲酒が PD ($p=0.0008$, 2.0, 1.3-3.1) と流死産 ($p=0.027$, 4.5, 1.2-16.8) のリスク因子であることが判明した。

PIH、重症 PIH との関連として、aCL IgG ($p=0.006$, 8.0, 2.2-29.4)、aPE IgG ($p=0.005$, 5.9, 1.9-18.0)、および any aPL ($p<0.0001$, 4.2, 1.8-9.5) が PIH リスク因子であった。重症 PIH とは、aPE IgG ($p=0.002$, 14.1, 3.7-54.6)、any aPL ($p=0.007$, 6.5, 1.9-21.5)、複数陽性 ($p=0.040$, 23.9, 2.5-230.3)、および重複陽性 (LA+aCL) ($p=0.003$, 31.9, 3.1-329.5) が関連した。Pre-eclampsia と aPE IgG との間に弱い関連が認められた ($p=0.052$, RR 5.9, 95%CI 1.3-27.1)。

PD<37GW, PD<34GW との関連として、LA ($p<0.0001$, 6.6, 2.2-20.1)、any aPL ($p=0.011$, 2.1, 1.1-4.0)、複数陽性 ($p=0.041$, 5.8, 1.04-31.9)、および重複陽性 ($p=0.022$, 7.7, 1.3-46.6) が PD<37GW のリスク因子であった。PD<34GW とは、aPE IgG ($p=0.004$, 10.1, 2.7-37.5) と any aPL ($p=0.020$, 4.5, 1.4-14.1) が関連した。

一方、LA は低出生体重のリスク因子であった ($p=0.002$, RR 4.6, 95%CI 1.5-13.9)。しかしながら、いずれの aPL も FGR<10th%ile、FGR<-1.5SD や流死産との関連は認められなかった。

最終的に生活習慣因子を考慮した多変量解析の結果、aCL IgG と PIH (OR 11.4, 95%CI 2.7-47.6); aPE IgG と PIH (8.3, 2.4-28.6)、重症 PIH (20.4, 4.5-90.9) および PD<34GW (12.7, 3.1-50); LA と PD<37GW (11.0, 2.8-43.5) および低出生体重 (8.0, 2.1-31.3) が関連することが明らかとなった。

また、aPL 2 種類の組み合わせによる測定 (どちらかが陽性) を想定した場合、aPE IgG + aCL IgG (OR 17.5, 95%CI 4.7-66.7)、ないし aPE IgG + LA (22.2, 5.4-909) 組み合わせ測定によって、感度 30.8%、特異度 99.2% で重症 PIH 発症が予測できた。

一方、anti- β 2GPI のケースコントロール研究の結果として、 ≥ 1.0 Unit/ml の anti- β 2GPI IgG ($p=0.023$, OR 5.7, 95%CI 1.4-22.8) は重症 PIH の、 ≥ 1.2 Unit/ml の anti- β 2GPI IgM ($p=0.001$, OR 8.8, 95%CI 1.6-47.5) は PIH のリスク因子であることが明らかとなった。

D. 考察

本研究によって、喫煙および飲酒が流死産に関係する生活環境因子であることが明らかとなった。また、初産および BMI ≥ 25 が PIH に関係する生活環境因子であることが確認された。

過去の aPL 前方視的研究では、生活習慣因子は解析に考慮されてなかった。生活習慣因子を考慮した本前方視的研究結果から、aPE IgG、aCL IgG および LA は産科異常発症と、特に aPE IgG、aCL IgG、複数陽性、重複陽性 (LA+aCL) が PIH や重症 PIH と関連することが初めて明らかとなった。

また、複数/重複陽性が重症 PIH のリスク因子であることを明らかにしたのは、本研究が世界で初めてである。aPL の単独陽性よりも複数陽性患者では、血栓リスクがより高いことはこれまでに報告されていた。したがって、aPL 複数陽性妊婦では、より厳重な産科管理が必要である。

aPE と流死産、血栓、SLE との関連がこれまでに報告されている。今回の検討で、aPE が PIH、重症 PIH、および PD<34GW のリスク因子であることが初めて明らかとなった。われわれは、キニノーゲン依存性 aPE を測定したが、本抗体はコファクターであるキニノーゲンに結合すると考えられている。カリクレイン-キニン系は、血圧コントロールと血管新生に関与する。血漿カリクレインにより、高分子キニノーゲン (HK) からブラジキニン (BK) が形成される。BK および HK は血管新生と関連する。キニノーゲン欠損マウスでは、高血圧になりやすく、血管新生が抑制される。したがって、aPE は胎児胎盤系における血管の新生・発達を阻害することによって、PIH を惹起する機構が想定される。他に、aPE によるキニノーゲン系の障害が BK など血管拡張物質産生を阻害して PIH を起こすのかもしれない。最近、LA や aCL ではなく、aPE が最も血栓と関連が強い aPL であることが多施設研究で明らかとなった。したがって、胎盤循環での血栓形成が PIH 病態生理に関連する可能性もある。

1999 年の抗リン脂質抗体症候群診断基準 (サッポロクライテリア) は、2006 年に改定された。この改定診断基準の検査項目に、anti- β 2GPI が新たに加わった。これまでの前方視的検討では、anti- β 2GPI が pre-eclampsia/eclampsia に関係するとする報告と、PIH や pre-eclampsia/HELLP 症候

群とは関係しないとする報告があった。しかしながら、今回のケースコントロール研究において、anti- β 2GPIは重症PIHのリスク因子であることが明らかとなった。

患者に血栓、死産、IUGR、PD<34GWや重症PIHの既往や現症があった場合、LA、aCLやanti- β 2GPIの精査が推奨される。抗リン脂質抗体症候群診断基準に上記aPLが含まれているからである。もし、これらaPLが陰性であった場合には、その原因検索としてaPE測定が勧められる。既往歴や現症があるaPE陽性妊婦に対して、抗血栓・抗凝固療法が有効かどうかは、今後の前方視的検討により検証されなければならない。

E. 結論

前方視的研究によって、喫煙および飲酒が流死産に関係する生活環境因子であることが明らかとなった。生活習慣因子を考慮した多変量解析の結果から、aCL IgGがPIH；aPE IgGがPIH、重症PIH、PD<34GW；LAがPD<37GW、低出生体重；それぞれのリスク因子であることが明らかとなった。

ケースコントロール研究の結果では、anti- β 2GPIはPIHのリスク因子であることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada T., Matsuda T., Kudo M., Yamada T., Moriwaki M., Nishi S., Ebina Y., Yamada H., Kato H., Ito T., Wake N., Sakuragi N., Minakami H.: Complete hydatidiform mole with coexisting dichorionic diamniotic twins following testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 34(1):121-124, 2008.
- 2) Morikawa M., Yamada T., Yamada T., Cho K., Yamada H., Sakuragi N., Minakami H.: Pregnancy outcome of women who developed proteinuria in the absence of hypertension after mid-gestation. *J. Perinat. Med.* 36(5):419-424, 2008.

- 3) Morikawa M., Sago H., Yamada T., Hayashi S., Yamada T., Cho K., Yamada H., Kitagawa M., Minakami H.: Ileal atresia after fetoscopic laser photocoagulation for twin-to-twin transfusion syndrome—a case report. *Prenat. Diagn.* 28(11):1072-1074, 2008.
- 4) Yamada H., Atsumi T., Kobashi G., Ota C., Kato EH., Tsuruga N., Ohta K., Yasuda S., Koike T., Minakami H.: Antiphospholipid antibodies increase the risk of Pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes. *J. Reprod. Immunol.* in press.
- 5) Sata F., Toya S., Yamada H., Suzuki K., Saijo Y., Yamazaki A., Minakami H., Kishi R.: Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birth weight in a Japanese population. *Mol. Hum. Reprod.* 15(2):121-130, 2009.
- 6) Nishikawa A., Yamada H., Yamamoto T., Mizue Y., Akashi Y., Hayashi T., Nihei T., Nishiwaki M., Nishihira J.: A case of congenital toxoplasmosis whose mother demonstrated serum low IgG avidity and positive tests for multiplex-nested PCR in the amniotic fluid. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* in press.
- 7) 古田祐, 白銀透, 涌井之雄, 山田秀人, 酒井慶一郎: 双胎妊娠管理中に発症した全身性エリテマトーデス. *北海道産科婦人科学会誌.* 52(1):28-30, 2008.
- 8) 山田秀人: ITP と妊娠中の問題点. 「血栓止血の臨床-研修医のために」 *日本血栓止血学会誌.* 19(2):202-205, 2008.
- 9) 山田秀人, 西川鑑, 山本智宏, 水江由佳, 西平順: 妊婦の感染—胎児への影響と対策 トキソプラズマ. 「今月の臨床 妊婦の感染症」 *臨床婦人科産科.* 62(6):839-843, 2008.
- 10) 山田秀人: TORCH 症候群 18. 産科感染症の管理と治療 D. 産科疾患の診断・治療・管理 (研修コーナー) *日本産科婦人科学会雑誌.* 60(6):N132-136, 2008.
- 11) 山田秀人: 血小板異常と妊娠分娩—特発性血小板減少性紫斑病, 血小板無力症. 「周産期の出血」徹底攻略. *周産期医学.* 38(7):837-842, 2008.

- 12) 山田秀人:先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法. 日本産科婦人科学会雑誌. 60(9) : N288-295, 2008.
 - 13) 山田秀人:先天性サイトメガロウイルス感染症と免疫グロブリン療法. 産婦人科治療. 97(5) : 485-493, 2008.
 - 14) 森川守, 山田俊, 山田秀人, 水上尚典:妊娠中の暫定的診断「妊娠蛋白尿」の病的意義. 腎と透析. 61 : 717-723, 2008.
 - 15) 山田秀人:羊水過多・過少. 今日の治療指針 2008 版, 山口徹, 北原光夫, 福井次矢編, 医学書院, 東京, 950-951, 2008.
 - 16) 山田秀人:胎児医療の現状と将来一母子感染治療と予防における新たな試み, 周産期診療プラクティス. 産婦人科治療第 96 巻増刊号, 松浦三男編, 永井書店, 大阪, 459-466, 2008.
 - 17) 山田秀人:妊娠, 授乳「各論 II 多臓器, 組織におけるホルモン相互作用」ホルモンの病態異常と臨床検査. 臨床検査 2008 年増刊号 52 巻 11 号, 藤枝憲二, 伊藤喜久編, 医学書院, 東京, 1351-1354, 2008.
 - 18) 山田秀人:血液型不適合妊娠. 「各種病態で必要な検査 (合併症妊娠で必要な母体の検査)」。周産期臨床検査のポイント産科編. 周産期医学第 38 巻増刊号, 周産期医学編集委員会編, 東京医学社, 東京, 240-243, 2008.
 - 19) 山田俊, 山田秀人, 水上尚典:絨毛膜羊膜炎の診断. 切迫早産の診断と治療. 岩下光利監修, メジカルビュー社, 東京, 98-109, 2008.
 - 20) 白銀透, 古田祐, 池田研, 涌井之雄, 酒井慶一郎, 山田秀人:胎児治療を行なった先天性パルボウイルス感染症の 1 例. 北海道産科婦人科学会会誌. 53(1) : 32-36, 2009.
2. 学会発表
 - 1) Yamada H., Atsumi T., Kobashi G., Minakami H. : Antiphospholipid antibody and the risk of serious adverse pregnancy outcomes. The 21st European Congress of Perinatal Medicine. September 10-13, 2008. Istanbul, Turkey.

- 2) 山田秀人:先天性サイトメガロウイルス感染症に対する免疫グロブリン療法. 第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会 (クリニカルカンファレンス), 2008 年 4 月 12 日-15 日. 横浜.
- 3) 山田秀人, 出口圭三, 南真志穂, 涌井之雄, 峰松俊夫, 水上尚典:免疫グロブリンによる CCMVI 予防研究の結果. 第 4 回免疫グロブリン胎児医療研究会, 2008 年 4 月 14 日. 横浜.
- 4) 山田秀人:先天性ウイルス・トキソプラズマ感染症に対する新たな出生前医療. 第 30 回和歌山周産期医学研究会 (特別講演). 2008 年 9 月 6 日. 和歌山.
- 5) 山田秀人, 渥美達也, 小橋元, 太田智佳子, 敦賀律子, 平山恵美, 太田薫里, 小池隆夫, 水上尚典:抗リン脂質抗体の妊婦スクリーニングによる産科異常の前方視的関連解析. 第 29 回日本妊娠高血圧学会学術集会「妊娠高血圧症候群の病態に迫る」(シンポジウム). 2008 年 10 月 11 日-12 日. 福島.

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

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
<u>山田秀人</u>	羊水過多・過少	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢編	今日の治療 指針 2008 版	医学書院	東京	2008	950-951
<u>山田秀人</u>	胎児医療の 現状と将来 一母子感染 治療と予防 における新 たな試み, 周産期診療 プラクティ ス	松浦三男編	産婦人科治療 第 96 巻増刊号	永井書店	大阪	2008	23-30
<u>山田秀人</u>	妊娠, 授乳 「各論 II 多 臓器, 組織に おけるホル モン相互作用」ホルモンの病態異常 と臨床検査	藤枝憲二, 伊藤喜久編	臨床検査 2008 年増刊号 52 巻 11 号	医学書院	東京	2008	1351-1354
<u>山田秀人</u>	血液型不適 合妊娠. 「各種病態で 必要な検査 (合併症妊娠 で必要な母体 の検査)」 周産期臨床検 査のポイント 産科編	周産期医学 編集委員会 編	周産期医学 第 38 巻増刊号	東京医学社	東京	2008	240-243
山田 俊, <u>山田秀人</u> , 水上尚典	絨毛膜羊膜 炎の診断	岩下光利 監修	切迫早産の 診断と治療	メジカル ビュー社	東京	2008	98-109

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
Yamada T., Matsuda T., Kudo M., Yamada T., Moriwaki M., Nishi S., Ebina Y., <u>Yamada H.</u> , Kato H., Ito T., Wake N., Sakuragi N., Minakami H.	Completehydatidi- form mole with coexi- sting dichorionic diamniotic twins following testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection.	J. Obstet. Gynaecol. Res.	34(1)	121-124	2008
Morikawa M., Yamada T., Yamada T., Cho K., <u>Yamada H.</u> , Sakuragi N., Minakami H.	Pregnancy outcome of women who deve- loped proteinuria in the absence of hypertension after mid-gestation.	Perinat. Med.	36(5)	419-424	2008
Morikawa M., Sago H., Yamada T., Hayashi S., Yamada T., Cho K., <u>Yamada H.</u> , Kitagawa M., Minakami H.	Ileal atresia after fetoscopic laser photocoagulation for twin-to-twin transfusion syndrome a- case report.	Prenat. Diagn.	28(11)	1072-1074	2008
<u>Yamada H.</u> , Atsumi T., Kobashi G., Ota C., Kato EH., Tsuruga N., Ohta K., Yasuda S., Koike T., Minakami H.	Antiphospholipid antibodies increase the risk of preg- nancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes.	J. Reprod. Immunol.		in press	
<u>Sata F.</u> , Toya S., <u>Yamada H.</u> , Suzuki K., Saijo Y., Yamazaki A., Minakami H., Kishi R.	Proinflammatory cytokine poly- morphisms and the risk of preterm birth and low birth weight in a Japanese population.	Mol. Hum. Reprod.	15(2)	121-130	2009

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishikawa A., <u>Yamada H.</u> , Yamamoto T., Mizue Y., Akashi Y., Hayashi T., Nihei T., Nishiwaki M., Nishihira J.	A case of congenital toxoplasmosis whose mother demonstrated serum low IgG avidity and positive tests for multiplex-nested PCR in the amniotic fluid.	J. Obstet. Gynaecol. Res.		in press	
古田 祐, 白銀 透, 涌井之雄, <u>山田秀人</u> , 酒井慶一郎	双胎妊娠管理中 発症した全身性 エリテマトーデス	北海道 産科婦人科 学会会誌	52(1)	28-30	2008
<u>山田秀人</u>	ITPと妊娠中の問題 点. 「血栓止血の臨床 -研修医のために」	日本血栓止血 学会誌	19(2)	202-205	2008
<u>山田秀人</u> , 西川 鑑, 山本智宏, 水江由佳, 西平 順	妊婦の感染-胎児へ の影響と対策 トキソ プラズマ. 「今月の臨 床 妊婦の感染症」	臨床婦人科 産科	62(6)	839-843	2008
<u>山田秀人</u>	TORCH 症候群 18. 産科感染症の管理 と治療 D. 産科疾患の診断・ 治療・管理 (研修コーナー)	日本産科婦人 科学会雑誌	60(6)	N132-136	2008
<u>山田秀人</u>	血小板異常と妊娠分 娩-特発性血小板減 少性紫斑病, 血小板無 力症. 「周産期の出 血」徹底攻略.	周産期医学	38(7)	837-842	2008
<u>山田秀人</u>	先天性サイトメガロ ウイルス感染症に対 する免疫グロブリン 療法	日本産科婦人 科学会雑誌	60(9)	N288-295	2008
<u>山田秀人</u>	先天性サイトメガロ ウイルス感染症と免 疫グロブリン療法	産婦人科治療	97(5)	485-493	2008
森川 守, 山田 俊, <u>山田秀人</u> , 水上尚典	妊娠中の暫定的診断 「妊娠蛋白尿」の病的 意義	腎と透析	61	717-723	2008
白銀 透, 古田 祐, 池田 研, 涌井之雄, 酒井慶一郎, <u>山田秀人</u>	胎児治療を行なった 先天性パルボウイル ス感染症の1例	北海道 産科婦人科 学会会誌	53(1)	32-36	2009