

抗リン脂質抗体陽性不育症々例における 患者夫婦染色体異常に関する研究

新潟大学医学部産科婦人科学教室（主任：田中憲一教授）

浅野 堅 策

Chromosome Analysis for Couples with Recurrent Abortion
Positive for Anticardiolipin Antibody

Kensaku ASANO

*Department of Obstetrics and Gynecology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Kenichi TANAKA)*

Chromosome analysis of patients with recurrent abortion who were positive for anticardiolipin antibody was performed in order to elucidate whether the frequency of chromosome abnormalities of the patient couples is significantly different from that in general population or not. Between January, 1987 and June, 1995, 487 patients with recurrent abortion were registered at the Outpatient Clinic for Infertility of Niigata University School Hospital. Anticardiolipin antibody was positive in 79 out of the 487 women (positive rate: 16.2%) and negative in the remaining 408 (negative rate: 83.8%). Chromosomes of the patients and their husbands were examined with their informed consent. Two out of the 158 individuals of 79 positive cases (1.27%) revealed chromosome abnormalities (a triple X of the patient in one case and a reciprocal translocation of the husband in the other). Twenty-one of the 816 individuals of 408 patient couples (2.57%) negative for anticardiolipin antibody (the patients in 12 cases and their husbands in 9) had chromosome abnormalities. These frequency of chromosome abnormalities were compared with that in general population previously reported by Jacobs P.A. et al. analyzing 11,680 newborn infants. No significant difference was observed between the rate of chromosome abnormalities in patient couples with recurrent abortion positive for anticardiolipin antibody and that in general population. However, the frequency of chromosome abnormalities in patient

Reprint requests to: Kensaku ASANO,
Department of Obstetrics and Gynecology,
Niigata University School of Medicine,
1-757, Asahimachi-dori, Niigata City,
951-8510, JAPAN.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通1-757
新潟大学医学部産科婦人科学教室

浅野 堅 策

couples with recurrent abortion negative for anticardiolipin antibody was significantly higher than that in general population ($p < 0.0001$). The statistically similar frequency of chromosome abnormalities of couples in recurrent aborters positive for anticardiolipin antibody as that in general population strongly suggests that the anticardiolipin antibody is implicated in the genesis of recurrent abortions in the patients.

Key words: Anticardiolipin antibody, Chromosome, Patient couples, Recurrent abortion
抗リン脂質抗体, 抗カルジオリピン抗体, 染色体異常

I. 緒言

妊娠はするものの流・死産を反復するいわゆる不育症の原因は多岐にわたるが、近年免疫異常による不育症の存在が注目され、特に自己免疫異常が重要視されつつある。10年くらい前より主として内科領域において新たな自己抗体である抗リン脂質抗体の存在が注目され、新しい疾患単位として「抗リン脂質抗体症候群」が認知され¹⁾、さらに周産期領域において「Reproductive Autoimmune Failure Syndrome」(RAFS) という疾患概念が提唱されている²⁾。また、実際の臨床においてもこのような症例に対する免疫抑制療法、抗凝固療法などの有効性が報告されている³⁾⁻⁵⁾。さらに最近では前方視的検討により、抗リン脂質抗体陽性妊娠婦人において流・死産、妊娠中毒症などが高率に発症することが認められている⁶⁾。一方、抗リン脂質抗体による不育症の発症原因として絨毛間腔における血栓の形成⁷⁾、抗リン脂質抗体の絨毛細胞に対する直接障害⁸⁾なども指摘されている。

このように、不育症の発症要因として抗リン脂質抗体の重要性が強く示唆されるが、一方で不育症の原因として、患者夫婦の染色体異常が存在することが従来から指摘されている⁹⁾¹⁰⁾。そして、抗リン脂質抗体陽性婦人においても患者夫婦の染色体異常が不育症発症に関与している可能性は否定できない。このような観点から、今回の研究においては不育症々例を抗リン脂質抗体陽性、陰性症例に分類し、それぞれにおける患者夫婦の染色体異常の陽性率を検討し、すでに報告されている一般人口における染色体異常の陽性率と比較した。

II. 対象症例および方法

症例：

昭和62年1月から平成7年6月までの間に新潟大学医学部附属病院産婦人科不育外来を受診した不育症々例487例を対象とした。いずれの症例も2回以上の流・死産を反復している症例である。これらの症例に対し、原因検

索の一環として十分な説明の後、抗リン脂質抗体の一種である抗カルジオリピン抗体および夫婦の染色体分析を行った。

抗カルジオリピン抗体の測定：

抗カルジオリピン抗体は、患者末梢血より分離された血清を用い、Loizou らの方法を基にした酵素免疫測定法により行った¹¹⁾。その詳細はすでに報告している通りであり⁶⁾、概略は以下の通りである。カルジオリピンをマイクロプレートに固相化し、ブロッキングの後、希釈被検血清を添加した。インキュベーションおよび洗浄の後、peroxidase 標識抗体を添加し、さらにインキュベーションを行い過酸化水素水添加 α -phenylene diamine を反応させ発色させた。吸光度計により吸光度を測定し、抗カルジオリピン抗体陽性血清から作成した吸光度曲線との比較により陽性、陰性を判定した。

染色体分析：

末梢静脈血リンパ球を材料とし、Gibco 社製クロモゾームメジウムキットを用いて72時間培養法により行った。分染法は、主として G-banding 法を用いたが、症例によっては必要に応じ、Q-banding、C-banding を追加した。一般人口における染色体異常のコントロールとして、Jacobs らの報告による11,680人の新生児における染色体異常の頻度を参考にした¹²⁾。

III. 統計学的検討

抗カルジオリピン抗体陽性および陰性症例夫婦における染色体異常頻度が、一般人口における染色体異常の頻度と比較して、有意差があるか否かは、正規分布表に基づき判定した。

IV. 結果

(1) 抗カルジオリピン抗体陽性率

不育症487症例中抗カルジオリピン抗体陽性例は79例(16.2%)であり、陰性例は408例(83.8%)であった。

(2) 染色体異常の頻度

全不育症々例487例の夫婦974名中、染色体異常を示した例は23例(2.36%)であった。その内訳は、患者本人が13例であり、夫が10例であった。对患者487例に対する頻度は4.72%であった。抗カルジオリピン抗体陽性症例79症例の夫婦158例における染色体異常は2例(1.27%)であった。1例は患者本人の47,XXXであり、他の1例は夫の相互転座であった(表1)。Jacobsらの報告による一般人口における染色体異常の陽性率は0.45%(11,680名の新生児中53例;その内訳はXクロ

マチン陰性男児における性染色体異常12例、Xクロマチン陽性男児における性染色体異常12例、女児における染色体異常7例、常染色体の構造異常22例)である¹²⁾。抗カルジオリピン抗体陽性症例夫婦における染色体異常頻度を一般人口における異常頻度と比較した場合有意の差は観察されなかった($p=0.14$)。一方、抗カルジオリピン抗体陰性症例夫婦では、21症例に染色体異常が観察された(表2)。21例中12例は患者本人に認められ、9例は夫に認められた。21例中1例は46,XX/47,XXXのモザイクであり、5例はロバートソン型転座、15例は

表1 抗カルジオリピン抗体陽性不育症々例における染色体異常

Case No.	Age of patient	Parity*		Chromosome
1	25	0-0-2-0	wife	47,XXX
2	29	0-0-2-0	husband	46,XY, t(7;8)(p15;q11.2)

* 正期産数—早産数—流産数—生児数を示す。

表2 抗カルジオリピン抗体陰性不育症々例夫婦における染色体異常

Case No.	Age of patient	Parity*		Chromosome
1	28	0-0-2-0	wife	46,XX/47,XXX, Mosaic
2	25	0-0-4-0	wife	45,XX, t(13q;14q)
3	26	0-0-3-0	wife	46,XX, t(1;15)(p;q)
4	32	0-0-4-0	wife	45,XX, t(14q;15q)
5	30	0-0-2-0	wife	46,XX, t(2;3)(q21;p25)
6	27	0-0-3-0	wife	46,XX, t(1;2)(q44;q33)
7	28	0-0-2-0	wife	46,XX, t(7;20)(q22;q13.1)
8	29	1-0-3-1	wife	45,XX, t(14q;22q)
9	33	0-0-2-0	wife	46,XX, t(11;22)(q23;q11.2)
10	34	0-0-2-0	wife	46,XX, t(8;15)(q22;q15)
11	26	0-0-3-0	wife	46,XX, t(6;7)(p25;p15)
12	31	1-0-3-1	wife	45,XX, t(13q;14q)
13	25	0-0-2-0	husband	46,XY, t(4p+;10q-)
14	30	0-0-3-0	husband	46,XY, t(1;17)(q43;p12)
15	28	1-0-3-1	husband	46,XY, t(11;21)(q23;q22)
16	38	0-0-3-0	husband	46,XY, t(11;22)(q23;q11.2)
17	34	1-0-2-1	husband	46,XY, t(1;9)(p31;p13)
18	37	2-0-3-1	husband	46,XY, t(1;17)(q43;p12)
19	30	0-0-2-0	husband	46,XY, t(4;16)(p16;p13.1)
20	30	0-0-4-0	husband	45,XY, t(13q;14q)
21	27	0-0-4-0	husband	46,XY, t(8;21)(q24.2;q21.1)

* 正期産数—早産数—流産数—生児数を示す。

相互転座であった。抗カルジオリピン抗体陰性症例 408 例の夫婦 816 例における染色体異常陽性率は 2.57% であり、これは、上記の一般人口における陽性率と比較し有意に高率であった ($p < 0.0001$)。

V. 考 察

今回の研究においては新潟大学医学部附属病院産婦人科不育外来において管理した 487 例の不育症々例の夫婦 974 例についてその染色体異常検査を行い、抗リン脂質抗体 (抗カルジオリピン抗体) 陽性、陰性との関連性を検討した。

近年、不育症の原因として、非生理的免疫反応である自己免疫反応が注目され、特に新たに発見された自己抗体である抗リン脂質抗体が発症要因として重要であることが指摘されている。Gleicher らは不育症、妊娠中毒症、子宮内胎児発育遅延などの妊娠に伴う各種異常がループス循環型抗凝血素 (lupus anticoagulant, LAC)、抗リン脂質抗体などにより発症することを指摘し、Reproductive Autoimmune Failure Syndrome (RAFS, 生殖関連自己免疫異常症候群) という疾患概念を提唱している²⁾。これより先、Hughes らは抗リン脂質抗体が陽性であり不育症、全身の血栓症などが認められる症例について抗リン脂質抗体症候群という疾患単位の存在を指摘し¹⁾、すでに認知されているが、RAFS の概念はこれに包含されるものと考えられる。抗リン脂質抗体による各種異常の発症機序として、抗リン脂質抗体が血栓形成を促進することが指摘されている。Carreras らは、LAC あるいは抗リン脂質抗体が血管内皮細胞を傷害し、強力な血小板凝集阻止作用および血管弛緩作用を有するプロスタサイクリンの産生を阻害し、結果としてプロスタサイクリンに拮抗するトロンボキサン A₂ が優位となり、血栓形成が亢進することを報告している⁷⁾。また、前述の Gleicher らは、胎盤組織を構成する絨毛細胞を用いた実験により、抗リン脂質抗体が絨毛細胞を直接障害し、その結果不育症が発症することを指摘している⁸⁾。

一方、抗リン脂質抗体陽性不育症々例に対する治療に関する報告も近年多く認められる。用いられる薬剤は主として、免疫抑制作用を有する副腎皮質ステロイドホルモンおよび抗凝固を目的とした低用量アスピリンの併用である³⁾⁴⁾。筆者の教室においても、同様の治療を行いその有効性を報告しており⁵⁾¹³⁾、最近では副腎皮質ステロイドホルモンの副作用を考慮し、副腎皮質ステロイドホルモン類似の作用が報告されている漢方合剤を用いその有効性を確認している¹⁴⁾。以上のような報告から、

抗リン脂質抗体が不育症の発症要因として重要であることが強く示唆される。一方、不育症の原因として、患者夫婦における染色体異常は常に考慮すべきものである。今回の研究における不育症患者夫婦における染色体異常の頻度は対患者数では 4.7% (487 例中 23 例) であった。従来の報告によれば、Osztovics らは 418 例で検討し 4.3%¹⁰⁾、Fryns らは 1,068 例で検討し 5.5% という頻度を報告している。従って、今回の研究による頻度も従来の数字とほぼ同様であると言え、不育症々例夫婦における染色体異常の頻度は、4% から 6% と考えられる。このように患者夫婦いずれかの染色体異常は不育症の原因として無視しえないものであり、抗リン脂質抗体陽性症例においても患者夫婦いずれかの染色体異常がその発症に関与している可能性が考慮されるが、このことに関する報告は国際的にも全く認められない。今回の検討では、この点について検討を行い、結果として、抗リン脂質抗体 (抗カルジオリピン抗体) 陽性夫婦における染色体異常の頻度は 1.27% (158 例中 2 例) であり、一般人口における染色体異常の頻度と有意の差は観察されなかった。一方、抗リン脂質抗体 (抗カルジオリピン抗体) 陰性症例では 2.57% (816 例中 21 例) であり、一般人口における頻度に比べ有意に高率 ($p < 0.0001$) であった。仮に、不育症の原因として抗リン脂質抗体の関与が低いものであると仮定すれば、抗リン脂質抗体陽性症例においても、陰性症例と同様の染色体異常の頻度、すなわち一般人口におけるよりも有意に高率な頻度、が観察されるはずである。今回の研究では、抗リン脂質抗体陽性症例での染色体異常の頻度は一般人口と比較し有意差はなく、抗リン脂質抗体の不育症の発症要因としての重要性を再度示唆する結果であると判断される。

謝 辞

本研究にあたり、御指導をいただきました新潟大学医学部産科婦人科学教室教授田中憲一先生に深謝いたします。また、直接御指導いただきました同講師高桑好一先生、研究に御協力いただきました教室の生殖免疫グループの先生方に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Hughes, G.R.V., Harris, E.N. and Gharavi, A.E.: The anticardiolipin syndrome. *J. Rheumatol.*, **13**: 486~491, 1986.
- 2) Gleicher, N. and El-Roeiy, A.: The reproductive autoimmune failure syndrome. *Am. J. Obstet.*

- Gynecol., **159**: 223~227, 1992.
- 3) **Branch, D.W., Scott, J.R., Kochenour, N.K. and Hershgold, E.**: Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. *N. Engl. J. Med.*, **313**: 1322~1326, 1985.
 - 4) **Lubbe, W.F., Butler, W.S., Palmer, S.J. and Liggins, G.C.**: Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus-anticoagulant. *Lancet.*, **i**: 1361~1363, 1983.
 - 5) **Hasegawa, I., Takakuwa, K., Goto, S., Yamada, K., Sekizuka, N., Kanazawa, K. and Tanaka, K.**: Effectiveness of prednisolone/aspirin therapy for recurrent aborters with antiphospholipid antibodies. *Hum. Reprod.*, **7**: 203~207, 1992.
 - 6) **Yasuda, M., Takakuwa, K., Tokunaga, A. and Tanaka, K.**: Prospective studies of the association between anticardiolipin antibody and outcome of pregnancy. *Obstet. Gynecol.*, **86**: 555~559, 1995.
 - 7) **Carreras, L.O., Defreyn, G., Machin, S.J., Vermeylen, J., Deman, R., Spitz, B. and Van Assche, A.**: Arterial thrombosis, intrauterine death and "lupus" anticoagulant: detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. *Lancet.*, **i**: 244~246, 1981.
 - 8) **Gleicher, N., Harlow, L. and Zilberstein, M.**: Regulatory effect of antiphospholipid antibodies on signal transduction: A possible model for autoantibody-induced reproductive failure. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **167**: 637~642, 1992.
 - 9) **Fryns, J.P., Kleczkowska, A., Kubien, E., Petit, P. and Van den Berghe, H.**: Cytogenetic survey in couples with recurrent fetal wastage. *Hum. Genet.*, **65**: 336~354, 1984.
 - 10) **Osztovics, M.K., Toth, S.P. and Wessely, J.A.**: Cytogenetic investigations in 418 couples with recurrent fetal wastage. *Ann. Genet.*, **25**: 232~236, 1982.
 - 11) **Loizou, S., MacCrea, J.D. and Rudge, A.C.**: Measurement of anticardiolipin antibody by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Standardization and quantitation of results. *Clin. Exp. Immunol.*, **62**: 738~745, 1985.
 - 12) **Jacobs, P.A., Melville, M., Ratcliffe, S., Keay, A.J. and Syme, J.**: A cytogenetic survey of 11680 newborn infants. *Ann. Hum. Genet.*, **37**: 359~376, 1974.
 - 13) **Yasuda, M., Takakuwa, K., Higashino, M., Ishii, S., Kazama, K., Yoshizawa, H. and Tanaka, K.**: A typical case of reproductive autoimmune failure syndrome in which a patient experienced recurrent abortion, preeclampsia, and intrauterine growth retardation. *Am. J. Reprod. Immunol.*, **29**: 45~47, 1993.
 - 14) **Takakuwa, K., Yasuda, M., Hayata, I., Sekizuka, N., Tamura, M., Arakawa, M., Higashino, M., Hasegawa, I. and Tanaka, K.**: Treatment for patients with recurrent abortion with positive antiphospholipid antibodies using a traditional Chinese herbal medicine. *J. Perinat. Med.*, **24**: 489~494, 1996.

(平成9年7月3日受付)