

原因不明原発初期習慣流産患者夫婦における 主要組織適合抗原系の類似性に関する検討

新潟大学医学部産科婦人科学教室（主任：田中憲一教授）

尾崎 進

Studies on the Compatibility of Major Histocompatibility
Complex Antigen Systems between Couples of
Unexplained Primary Habitual Aborters

Susumu OZAKI

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

Recently, it has been reported that the immune system might be involved with maintaining a successful pregnancy since the fetal tissue contains alloantigens which might induce a protective anti-allograft reactions in the mother. It has also been suggested that lack of certain immunologic factors such as blocking antibodies might cause the unexplained habitual abortions. It is well known that the human leukocyte antigen (HLA) system contains a number of closely linked loci controlling a variety of functions in human including feto-maternal interactions. In order to study the involvement of immunologic or genetic factors in the genesis of unexplained habitual abortions, HLA compatibility has been compared between normal fertile couples and couples who suffered from unexplained habitual abortions. It is, however, still controversial whether or not the significant compatibility exist in patient couples. In this context, the HLA systems were analyzed concerning 51 couples with unexplained primary habitual abortions of early stage of pregnancy, and 26 normal fertile couples in this study. In conclusion, no significant compatibility of HLA systems could be observed in couples with habitual abortions comparing that in normal fertile couples. And it is suggested that the HLA systems have little implication in genesis of unexplained habitual abortions.

Key words: Habitual abortion, HLA, Compatibility
習慣流産, 主要組織適合抗原系, 類似性

Reprint requests to: Susumu OZAKI,
Department of Obstetrics and Gynecology,
Hamamatsu Rosai Hospital, 25-5, Shogen-cho,
Hamamatsu City, Shizuoka Prefecture, 430,
JAPAN.

別刷請求先: 〒430 静岡県浜松市將監町25-5
浜松労災病院産婦人科 尾崎 進

I. 緒 言

近年、妊孕現象の免疫学的解析が進み、特に、半同種移植片である妊卵あるいは胎児・胎盤系の生着が免疫的に障害された状態と理解されるいわゆる免疫的機序に基づく流産が注目され、特に習慣流産の原因としての重要性が指摘されている^{1)~3)}。

このような免疫的習慣流産の原因として、習慣流産患者において、妊娠の継続に重要とされる遮断抗体の産生欠如あるいは低下が指摘されており、そのことと関連して、習慣流産患者夫婦における組織適合抗原系の類似性が検討されている^{4)~7)}が、いまだ結論が得られていない。その理由の一つとして、対象症例の選択の問題が考えられる。

そこで本研究においては、一般的原因検索により原因不明であり、初期流産のみを3回以上反復した、原因不明原発初期習慣流産患者夫婦を対象として、主要組織適合抗原系の検索を行い、その類似性に関し、正常夫婦群との差異の有無につき検討を行った。

II. 研究方法

(1) 対象症例およびコントロール例

新潟大学医学部附属病院産婦人科を受診した習慣流産患者夫婦51例を対象とした。これらの患者は習慣流産に関する一般的原因検索により陽性所見の得られないいわゆる原因不明症例であり、初期流産のみを反復した原発習慣流産症例である。

流産回数は3回が41例、4回が7例、5回が2例、7回が1例であり、平均流産回数は3.3回である。

コントロールとして、2回以上の正常分娩歴を有し、自然流産の既往のない正常夫婦26組につき検索を行った。

(2) HLA タイピング法および検討した各 locus

ヒト主要組織適合抗原系 (HLA) のタイピングは Terasaki らにより報告された微小細胞傷害性試験⁸⁾を基に、NIH 標準法に準じて行った。すなわち、対象症例夫婦およびコントロール夫婦の末梢血より比重遠心分離法によりリンパ球を分離し、トロンピン処理を行った後、SRBC 法によりTリンパ球、Bリンパ球に分離した。次に typing tray (ペリタス社製) を用い、Tリンパ球により HLA class I の各 locus (A, B, C) を、Bリンパ球により HLA class II の各 locus (DR, DRW52/DRW53, DQ) を、補体依存性細胞傷害性試験により判定した。各 locus について抗原が一個しか同定されない場合には他の抗原はブランクと判定した。

今回検討した HLA は以下のとおりである。なお、括弧内はスプリットした抗原の元の抗原を示す。

Class I 抗原

A locus; A1, A2, A3, A9, A10, A11, AW19, A23(A9), A24(A9), A25(A10), A26(A10), A28, A29(AW19), A30(AW19), A31(AW19), A32(AW19), AW33(AW19), AW34(A10)

B locus; B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, BW22, B27, B35, B37, B38(B16), B39(B16), B40, BW41, BW42, B44(B12), B45(B12), BW46, BW47, BW48, B51(B5), BW52(B5), BW53, BW54(BW22), BW55(BW22), BW56(BW22), BW59, BW60(B40), BW61(B40), BW62(B15), BW63(B15), BW75(B15), BW76(B15)

C locus; CW1, CW2, CW3, CW4, CW5, CW6, CW7, CW8

Class II 抗原

DR locus; DR1, DR2, DR3, DR4, DR5, DRW6, DR7, DRW8, DR9, DRW10, DRW11(DR5), DRW12(DR5), DRW13(DRW6), DRW14(DRW6), DRW15(DR2), DRW52, DRW53

DQ locus; DQW1, DQW2, DQW3, DQW4, DQW6(DQW1), DQW7(DQW3)

判定された HLA の各抗原系より、対象症例夫婦およびコントロール夫婦間における共有抗原数を ① HLA の各 locus (A, B, C, DR, DRW52/DRW53, DQ), ② Class I の全 locus, ③ Class II の全 locus, ④ HLA の全 locus について算定した。また②③④について平均共有抗原数を算定した。

(3) 統計学的検討

対象症例夫婦およびコントロール夫婦における上記の共有抗原数の有意差の有無は χ^2 乗検定により判定した。また、平均共有抗原数の有意差の有無は non-paired T test により判定した。

III. 結 果

(1) 各 locus における共有抗原数 (表 1~表 6)

A locus については共有抗原数1個の夫婦が対象症例では29例 (56.9%) であり、コントロールでは18例 (69.2%) であった。また共有抗原を有さない夫婦は対象症例では22例 (43.1%)、コントロールでは6例 (23.1%) であった。1個の抗原を共有する夫婦はコントロールに2例 (7.7%) 認められた (いずれも有意差なし)。

B locus については共有抗原数1個の夫婦が対象症例

表 1 A locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	22 (43.1%)	6 (23.1%)
1	29 (56.9%)	18 (69.2%)
2	0	2 (7.7%)
計	51	26

有意差なし

表 4 DR locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	22 (43.1%)	14 (53.8%)
1	27 (52.9%)	12 (46.2%)
2	2 (4.0%)	0
計	51	26

有意差なし

表 2 B locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	40 (78.4%)	18 (69.2%)
1	11 (21.6%)	8 (30.8%)
2	0	0
計	51	26

有意差なし

表 5 DRW52/DRW53 における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	24 (47.0%)	12 (46.2%)
1	26 (51.0%)	13 (50.0%)
2	1 (2.0%)	1 (3.8%)
計	51	26

有意差なし

表 3 C locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	34 (66.7%)	18 (69.2%)
1	16 (31.4%)	8 (30.8%)
2	1 (1.9%)	0
計	51	26

有意差なし

表 6 DQ locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	23 (45.1%)	11 (42.3%)
1	24 (47.1%)	14 (53.9%)
2	4 (7.8%)	1 (3.8%)
計	51	26

有意差なし

では11例 (21.6%)、コントロールでは8例 (30.7%)、共有抗原の認められない夫婦は対象症例で40例 (78.4%)、コントロールで18例 (69.2%) であった (有意差なし)。

C locus については共有抗原の認められない夫婦が対象症例では34例 (66.7%)、コントロールでは18例 (69.2%)、共有抗原数1個の夫婦が前者では16例 (31.4%)、後者では8例 (30.8%) であった。また前者において共有抗原数2個の夫婦が1組認められた (いずれも有意差なし)。

DR locus については共有抗原の認められない夫婦が対象症例では22例 (43.1%)、コントロールでは14例 (53.8%) であり、共有抗原数1個の夫婦が前者で27例 (52.9%)、後者で12例 (46.2%) であった。対象症例

では2個共有例が2組 (4.0%) 認められ、対象症例において共有の程度が若干高い傾向が認められたものの、有意差は観察されなかった。

DRW52/DRW53 については非共有例が対象症例夫婦では24例 (47.0%)、コントロール夫婦では12例 (46.2%)、1個共有する例が前者で26例 (51.0%)、後者で13例 (50.0%) であり、2個とも共有する例がともに1例認められた (有意差なし)。

DQ locus については共有抗原の認められない夫婦が、対象症例では23例 (45.1%)、コントロールでは11例 (42.3%) であり、共有抗原数1個の夫婦が前者では24例 (47.1%)、後者では14例 (53.9%) であった。対象症例で2個共有例が4例 (7.8%) に認められたが、有意の差は観察されなかった。

(2) Class I の全 locus における共有抗原 (表 7, 表 8)

Class I の全 locus すなわち6個の表現型についての共有抗原数は、表 7 に示したとおりであるが、共有抗原を有さない夫婦が、コントロールで4例 (15.4%) であるのに対し、対象症例では14例 (27.5%) と高い傾向が認められた。また平均共有抗原数についても、コントロールで 1.42 ± 0.95 個、対象症例で 1.12 ± 0.89 個であり同様の傾向が観察されたがいずれについても有意差は認められなかった。

表 7 A, B, C locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	14 (27.5%)	4 (15.4%)
1	20 (39.2%)	11 (42.3%)
2	14 (27.5%)	7 (26.9%)
3	3 (5.8%)	4 (15.4%)
4	0	0
5	0	0
6	0	0
計	51	26

有意差なし

表 8 A, B, C locus における習慣流産症例およびコントロール例の平均共有抗原数

習慣流産症例 (n=51)	コントロール (n=26)
1.12 ± 0.89	1.42 ± 0.95

有意差なし

表 9 DR, DRW52/DRW53, DQ locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	7 (13.7%)	6 (23.1%)
1	11 (21.6%)	4 (15.4%)
2	24 (47.0%)	11 (42.3%)
3	6 (11.8%)	4 (15.4%)
4	1 (2.0%)	0
5	2 (3.9%)	1 (3.8%)
6	0	0
計	51	26

有意差なし

(3) Class II の全 locus における共有抗原 (表 9, 表 10)

Class II の3個の locus (6個の表現型) における共有抗原数を表 9 に示した。共有抗原の認められない夫婦が対象症例では7例 (13.7%)、コントロールでは6例 (23.1%) であり、共有抗原を1個あるいは2個有する夫婦の割合が、対象症例で若干高い傾向が観察された。平均共有抗原数も対象症例で 1.78 ± 1.14 個、コントロールで 1.65 ± 1.23 個であり、Class I とは逆の傾向を示したが、有意の差は認められなかった。

(4) 全 locus における共有抗原 (表 11, 表 12)

Class I および Class II の全 locus (12表現型) における共有抗原数を表 11 に示した。共有抗原数1個、2個、4個の症例の割合に関して対象症例、コントロールの間で差がみとめられるが有意のものではなかった。

表 10 DR, DRW52/DRW53, DQ locus における習慣流産症例およびコントロール例の平均共有抗原数

習慣流産症例 (n=51)	コントロール (n=26)
1.78 ± 1.14	1.65 ± 1.23

有意差なし

表 11 全 locus における習慣流産症例およびコントロール例の共有抗原数

共有抗原数	習慣流産症例	コントロール
0	2 (3.9%)	0
1	4 (7.8%)	7 (26.9%)
2	16 (31.4%)	2 (7.7%)
3	14 (27.4%)	6 (23.1%)
4	7 (13.7%)	6 (23.1%)
5	6 (11.8%)	3 (11.5%)
6	1 (2.0%)	2 (7.7%)
7	1 (2.0%)	0
計	51	26

(注) 8個以上の共有例はなし
有意差なし

表 12 全 locus における習慣流産症例およびコントロール例の平均共有抗原数

習慣流産症例 (n=51)	コントロール (n=26)
2.90 ± 1.45	3.07 ± 1.62

有意差なし

平均共有抗原数は対象症例で 2.90 ± 1.45 、コントロールで 3.07 ± 1.62 であり、これについても有意差は認められなかった。

IV. 考 案

妊孕現象とは、母体にとって半同種移植片である妊卵あるいは胎児が母体よりの免疫的拒絶を受けることなく、生着・発育するという現象であり、移植免疫学的観点から捉えた場合、極めて興味深い生物現象である。

妊娠に伴い種々の免疫反応が生ずることは従来より報告されていたが、近年、妊娠維持に関する免疫的機序の一端が解明され、逆に妊娠の免疫的維持機構の破綻に基づくと考えられる流産の存在が指摘されるようになった。特に従来は原因が不明であるとされてきた習慣流産症例にそのような機序によるものが存在することが指摘されている。

上述のように、正常妊娠においては妊卵あるいは胎児は母体からの免疫的拒絶を免れ、生着・発育していくが、そのような妊娠の免疫的維持機構において重要な役割を果たしている因子として、遮断抗体が注目されている。Rocklin らは、夫リンパ球を刺激細胞とした際に妻リンパ球から産生されるマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) を用い、その産生に対する遮断抗体活性を測定し、習慣流産患者においてその発現が有意に低いことを報告している¹⁾²⁾。また、Takakuwa らは、夫リンパ球を刺激細胞、妻リンパ球を反応細胞とした混合培養系を用い遮断抗体の活性を検討し、原因不明習慣流産患者において、観察されにくいことを報告し、遮断抗体産生の欠如が、習慣流産の原因として重要であることを指摘している³⁾。これらの報告に基き、近年、習慣流産患者に対し、遮断抗体の産生を目的とした免疫感作療法が施行され、その有効性が強く指摘され^{9)~13)}、そのような事実から習慣流産の原因として遮断抗体産生の欠如がさらに注目されている。

移植免疫において、移植片の供与者と受容者の間の主要組織適合抗原系が一致あるいは類似することが移植片の生着に有利に作用することは周知の事実である。習慣流産を同種移植である妊娠現象の破綻した状態として捉える考え方は以前よりなされておられ、そのような観点から、習慣流産患者夫婦における主要組織適合抗原系 (HLA) に関する検討がなされてきた。しかしながら、習慣流産患者夫婦間において有意に高い差異が認められるという報告はなく、有意の類似性を指摘する報告、あるいは類似性は観察されないという報告が主である^{4)~7)}。

上述の習慣流産の原因として遮断抗体の産生欠如を考慮した場合、患者夫婦間における HLA の類似性の存在することが合理的とも考えられるが、今回の研究においては Class I, Class II の抗原系について詳細な検討を行ったが、有意の類似性は観察されなかった。従来の有意の類似性が観察されるという報告との相違は症例の選択、症例数などによるものとも考えられる。今回の研究では、原因不明の原発習慣流産症例のみ51例を集積し、詳細に検討しており、信頼性の高い結果であると判断される。今回の結果すなわち習慣流産患者夫婦間において HLA の有意の類似性が観察されないという結果は習慣流産患者における遮断抗体産生の欠如の原因が、夫婦間の組織適合抗原系の類似性によるものではなく、母体の父系抗原に対する低免疫応答性によるものであることを示唆するものと考えられる。

また、習慣流産患者夫婦間の HLA 抗原系の類似性に関して、一致した見解が得られない理由として HLA タイピングの方法、特に Class II 抗原系の検索方法の信頼性の問題も関与していると考えられる。すなわち、血清学的検索ではブランクが多数生ずる可能性があり、各種報告の不一致の原因となっている可能性がある。この点に関しては最近、DNA タイピングによる類似性の検討も行われており、有意の類似性は観察されないとの報告が認められる¹⁴⁾。

習慣流産発症と主要組織適合抗原系の関連性を論ずる場合、母児間の接点に存在する胎盤特に絨毛組織における主要組織適合抗原の発現が問題となる。従来 Class II 抗原は発現しておらず、不完全な Class I 抗原が発現していることが報告されていた¹⁵⁾¹⁶⁾が、最近 Class I 抗原の一種である HLA-G 抗原が発現していることが明らかになっており¹⁷⁾、前述の遮断抗体の対応抗原としての可能性も含め、その意義について今後検討されていくものと考えられる。

一方、Gill らはマウスの致死性遺伝子に類似した遺伝子がヒトにも存在するとの仮説を提唱している⁷⁾¹⁸⁾。彼らは習慣流産患者夫婦間における HLA の有意の類似性により、そのような致死性遺伝子が胎児において homozygous となり、流産を反復するものとの推察を行っているが、今回の検討はそのような仮説とは相反する結果であった。

V. 結 語

妊孕現象を同種移植の自然成立例と捉えた場合極めて、興味深い現象であり、特に習慣流産症例における組織適

合抗原系の検索は重要であると考えられる。今後、前述の DNA タイピング法の応用も含めた解析により、判断していくことが重要と考えられる。

謝 辞

今回の研究に関し、終始ご指導いただいた新潟大学医学部産科婦人科学教室 田中憲一教授に深甚なる謝意を表する次第です。また、研究にご協力いただいた同教室不育グループの諸先生方に深謝する次第です。

参 考 文 献

- 1) **Rocklin, R.E., Kitzmiller, J.L., Carpenter, C.B., Garovoy, M.R. and David, J.R.:** Maternal-fetal relation: Absence of immunologic blocking factor from the serum of women with chronic abortions. *N. Engl. J. Med.*, **295**: 1209~1213, 1976.
- 2) **Rocklin, R.E., Kitzmiller, J.L. and Garvoy, M.R.:** Maternal-fetal relation; II. Further characterization of an immunologic blocking factor that develops during pregnancy. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **22**: 305~315, 1982.
- 3) **Takakuwa, K., Kanazawa, K. and Takeuchi, S.:** Production of blocking antibodies by vaccination with husband's lymphocytes in unexplained recurrent aborters: The role in successful pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, **10**: 1~9, 1986.
- 4) **Gerencer, M., Drazancic, A., Kuvacic, I., Tomaskovic, Z. and Kastelan, A.:** HLA antigen studies in women with recurrent gestational disorders. *Fertil. Steril.*, **31**: 401~404, 1979.
- 5) **Johnson, P.M., Barnes, R.M.R., Risk, J.M., Molloy, C.M. and Woodrow, J.C.:** Immunologic studies of recurrent spontaneous abortions in humans. *Exp. Clin. Immunogenet.*, **2**: 77~83, 1985.
- 6) **Smith, J.B. and Cowchock, F.S.:** Immunological studies in recurrent spontaneous abortion: effects of immunization of women with paternal mononuclear cells on lymphocytotoxic and mixed lymphocyte reaction blocking antibodies and correlation with sharing of HLA and pregnancy outcome. *J. Reprod. Immunol.*, **14**: 99~113, 1988.
- 7) **Ho, H., Gill, T.J. III, Nsieh, R., Hsieh, H. and Lee, T.:** Sharing of human leukocyte antigens in primary and secondary recurrent spontaneous abortions. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **163**: 178~188, 1990.
- 8) **Terasaki, P.I. and McClland, J.D.:** Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*, **204**: 998~1000, 1964.
- 9) **Beer, A.E., Quebbeman, J.F., Ayers, J.W.T. and Haines, R.F.:** Major histocompatibility antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **141**: 987~999, 1981.
- 10) **Mowbray, J.F., Gibbings, C., Liddell, H., Reginald, P.W., Underwood, J.L. and Beard, R.W.:** Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal cells. *Lancet.*, **i**: 941~943, 1985.
- 11) **Unander, A.M. and Lindholm, A.:** Transfusion of leukocyte-rich erythrocyte concentrates: A successful treatment in selected cases of habitual abortions. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **154**: 516~520, 1986.
- 12) **Beer, A.E., Semprini, A.E., Xiaoyu, Z. and Quebbeman, J.F.:** Pregnancy outcome in human couples with recurrent spontaneous abortions: HLA antigen sharing; female serum MLR blocking factors; and paternal leukocyte immunization. *Exp. Clin. Immunogenet.*, **2**: 137~153, 1985.
- 13) **Takakuwa, K., Goto, S., Hasegawa, I., Ueda, H., Kanazawa, K., Takeuchi, S. and Tanaka, K.:** Result of immunotherapy on patients with unexplained recurrent abortion: A beneficial treatment for patients with negative blocking antibodies. *Am. J. Reprod. Immunol.*, **27**: 37~41, 1989.
- 14) 高桑好一, 後藤重則, 長谷川 功, 上田宏之, 山田 潔, 金沢浩二, 田中憲一: 習慣流産患者夫婦における HLA-DQ 遺伝子領域の類似性に関する検討—PCR-RFLP 法による解析—. *日本産科婦人科学会雑誌*, 第43回日本産科婦人科学会学術講演会講演抄録集, S-379, 1991.
- 15) **Redman, C.W.G., McMichael, A.J., Stirrat, G.,**

- Sunderland, C.A. and Ting, A.:** Class I major histocompatibility complex antigens on human extravillous trophoblast. *Immunology*, **52**: 457~468, 1984.
- 16) **Sunderland, C.A., Redman, C.W.G. and Stirrat, G.M.:** HLA A, B, C antigens are expressed on non-villous trophoblast of the early human placenta. *J. Immunol.*, **127**: 2614~2615, 1981.
- 17) **Kovats, S., Main, E.K., Librach, C., Stubblebine, M., Fisher, S.J. and DeMars, R.:** A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science*, **248**: 220~223, 1990.
- 18) **Gill, T.J.III:** Genetic factors in fetal losses. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, **15**: 133~139, 1987.

(平成4年2月12日受付)
