は SLO，すなわち溶連菌の exoenzyme なので，これらの共通抗原を確認しながら，研究を進めていかなければならないのではないかと思っております．他に何か御意見ございますか．ありがとうございました．次は産婦人科の高桑先生に，習慣流産との関係をお願い致します．

4）習慣流産と組織適合抗原

新潟大学医学部産科婦人科学教室（主任：田中憲一教授）

高桑　好一・上田　宏之
山田　　潔・浅野　堅策
東野　昌彦・安田　雅子
石井　史郎・風間　芳樹
金沢　浩二・田中　憲一

Recurrent Abortion and Histocompatibility Complex

Koichi TAKAKUWA, Hiroyuki UEDA, Kiyoshi YAMADA,
Kensaku ASANO, Masahiko HIGASHINO, Masako YASUDA,
Shiro ISHII, Yoshiki KAZAMA, Koji KANAZAWA,
and Kenichi TANAKA

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

Reproduction is a ubiquitous and mandatory phenomenon for eternal maintenance of all species. In mammalians including human-beings, certain immunologic escape mechanisms are considered to exsit when an individual has become pregnant because an embryo or fetus has paternally derived antigens which might generate immunologic rejection reaction of mother. We have previously reported the importance of Mixed Lymphocytes Culture Reaction Blocking Antibodies (MLR-BAbs) observed in normal pregnant women which inhibit maternal immune response against paternal antigens in vitro, and also reported that the MLR-BAbs were scarse or absent in most of unexplained recurrent aborters. Moreover, we elucidated the efficacy of the sensitization with husband's lymphocytes as a treatment for immunologically explainable recurrent abortion which delibelitely induced the MLR-BAbs in patients. In order to explain the lack of production of MLR-BAbs in recurrent aborters, the compatibility of HLA antigens between spouse of recurrent aborters has been examined. Although, for these two decades, the compatibility has been energetically examined by many investigators,

Reprint request: Koichi TAKAKUWA,
Department of Obstetrics and Gynecology,
1-757, Asahimachi-dori, Niigata, 951,
JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1-757
新潟大学医学部産科婦人科学教室
高桑好一

the conclusion has not yet been obtained. In this presentation, we reported the implication of MLR-BAbs with normal pregnant women and unexplained recurrent aborters. Moreover, the results of examination of HLA antigen systems analyzed by both conventional serological method and newly developed DNA typing method were presented in order to discuss the immunogenetical aspects of recurrent abortion.

Key words: Recurrent abortion, Major histocompatibility complex, Immunotherapy
習慣流産，主要組織適合抗原，免疫感作療法

I. 緒　　言

妊孕現象とは，種族保持のために必要欠くべからざる生物現象であり，遺伝学および免疫学両面からのアプローチがなされている．特に後者に関しては，近年，妊孕現象に関する免疫学すなわち生殖免疫学の進展が認められ，妊孕現象に伴う免疫反応の解析が進んでいる．

妊卵は母体にとって半同種移植片であり，妊娠に伴い種々の免疫反応が生ずることが指摘されており，とくに妊孕現象の免疫学的破綻状態と推察される習慣流産に関する免疫学的解析がなされている．今回の検討においては習慣流産と主要組織適合抗原系の関連性について，夫婦間リンパ球混合培養抑制抗体産生の有無，および患者夫婦間における主要組織適合抗原系の類似性の有無について検討を加え，習慣流産の免疫学的発症機序についての考察を行った．

II. 夫婦間リンパ球混合培養抑制抗体（MLR-BAbs）と習慣流産

上述のように，妊卵は母体にとって半同種移植片であり，移植免疫学的観点から捉えた場合，母体による拒絶反応が生ずることが推察される．しかしながら，多くの場合そのような反応は惹起されず，胎児・胎盤系への分化，増殖が観察される．このように，妊卵が母体よりの免疫学的拒絶を免れる機序としてわれわれは，従来より妊婦血清中に観察される夫婦間リンパ球混合培養抑制抗体（MLR-Blocking Antibodies，BAbs）に注目し，その解析を行ってきた[1)2)3)]．MLR-BAbs 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に対する妻自身の血清の抑制活性により測定されるものである．その本体は不明の部分もあるが，われわれは血清中の IgG 分画によりその作用が mediate されること，および主として夫リンパ球の表面抗原に対して作用していることを指摘している．

MLR-BAbs は正常妊娠を経験した婦人と比較し，原因不明の習慣流産患者（妊娠はするが妊娠初期において流産を反復する患者，日本産科婦人科学会の定義では3回以上の流産を反復すること）では観察されにくい傾向にある（図 1）．このことが，胎児胎盤系に対する母体の免疫的拒絶反応を惹起させ流産を反復することが推察されている．

このような病態に対し，近年，夫リンパ球による免疫感作療法が試みられ，その有効性が報告されている[4)5)6)7)]．我々は，夫リンパ球による免疫感作療法により，患者血清中に有意の MLR-BAbs が発現することおよび，その後の妊娠継続率が有意に改善することを指摘し，

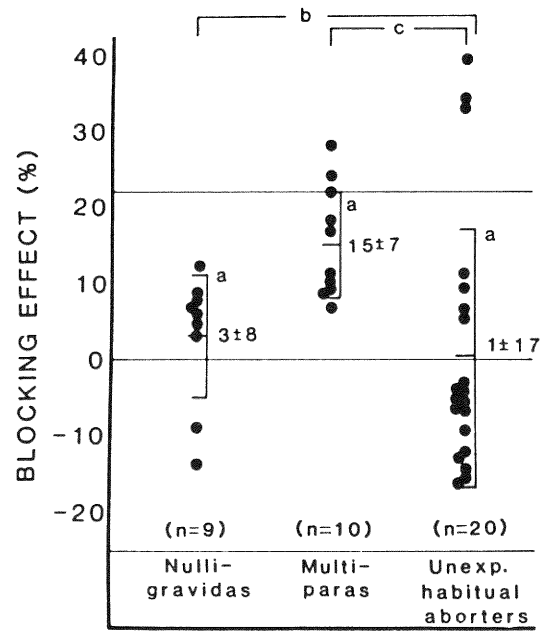

図 1　未妊婦人，経産婦人および原因不明習慣流産患者血清中の夫婦間リンパ球混合培養抑制抗体活性の比較
（a：平均±1S.D.，b：not significant，c：$p<0.05$）．

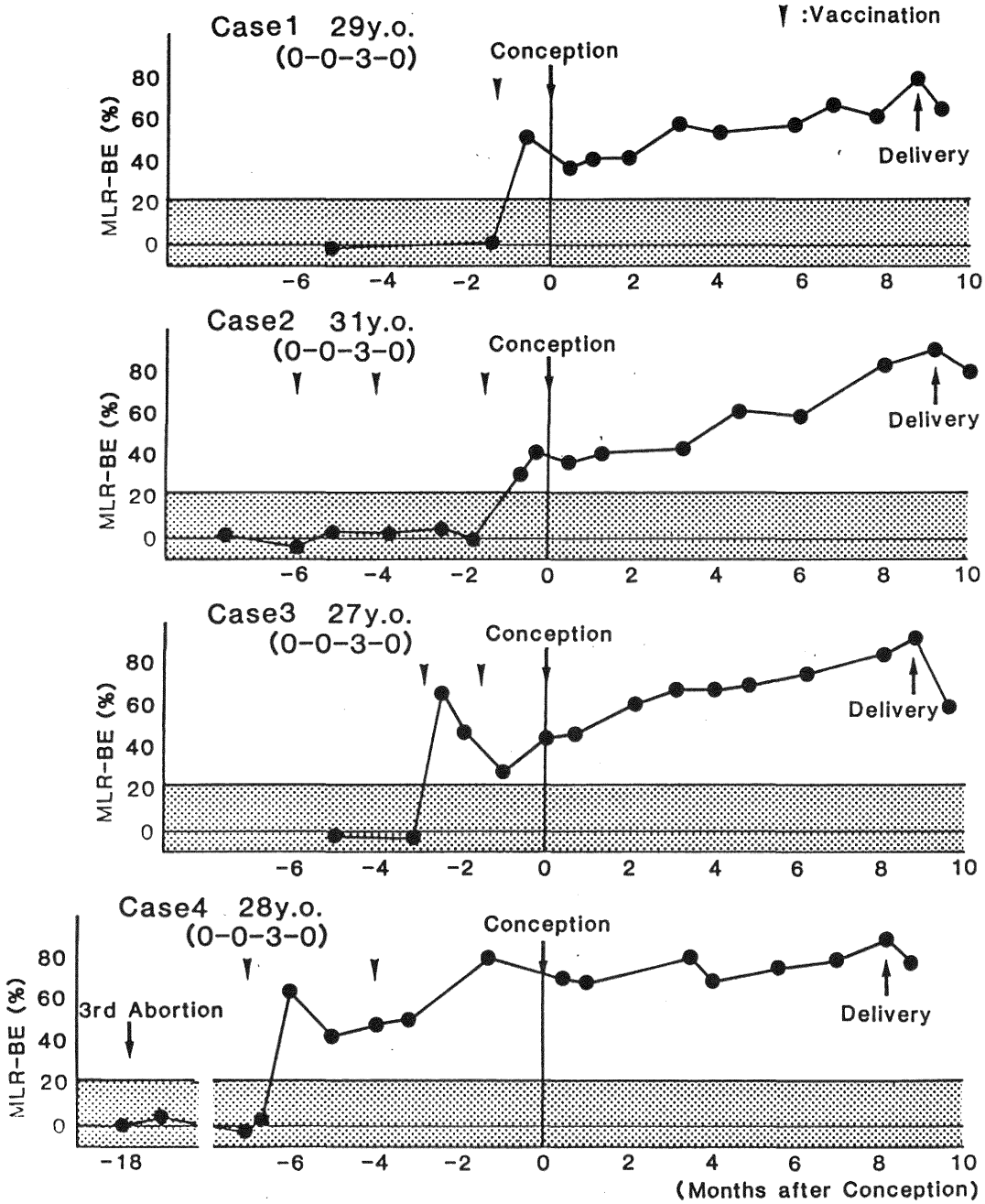

図 2　習慣流産患者4症例における免疫療法前後および妊娠経過中の夫婦間リンパ球混合培養抑制抗体活性の推移

いずれの症例においても夫リンパ球による免疫感作療法により有意の抑制抗体活性が観察されており，妊娠の経過に伴い，活性の上昇を認めている．

表 1 原因不明習慣流産患者に対する夫リンパ球免疫感作療法の有効性に関する検討—免疫療法施行例および免疫療法未施行例における妊娠継続率の比較

	No. of Pregnancy	Outcome of Pregnancy	MLR-BE in New Pregnancy	Success Rate
Patients undergoing immunothrapy	45	good; 36 poor; 9	all yes yes; 5 no; 3	80.0%**
Control group	14	good; 4 poor; 10	yes; 3 not tested; 1 no; 7 not tested; 3	28.6%**

$p<0.001$

さらに出生児の発達に異常の観察されないことを報告し，その有用性を明らかとしてきた（**図 2，表 1**）[1)8)9)]．

以上のように，原因不明習慣流産患者において，MLR-BAbs が産生されにくいことが，流産の原因のひとつとして推察されるが，そのことと関連して，従来より，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報告がなされている．次項においては，当科における習慣流産患者夫婦の主要組織適合抗原系の類似性に関する検討の結果について述べることとする．

III. 習慣流産患者夫婦における主要組織適合抗原系（HLA）について

原因不明習慣流産患者夫婦間の HLA 抗原系の類似性に関する報告は以前より認められるが，有意の類似性を指摘する報告がある一方，これを否定する報告も認められ，いまだ結論を得るに至っていない[5)7)10)11)]．

我々は原因不明習慣流産患者夫婦のヒト主要組織適合抗原系すなわち HLA 抗原系を，細胞傷害性試験（テラサキ法）により判定し，その類似性を検討した．検索対象はいずれも3回以上の初期流産を反復しており，一般的原因検索により原因不明の習慣流産患者29症例である．また，コントロールとして，2回以上の正常産を経験し他の妊娠歴のない夫婦20組についての検索を行った．この結果，**表 2** および**表 3** に示したように HLA-A，B，C および DR のいずれの抗原系においても両群の類似性に関して有意の差は観察されなかった．

一般に，血清学的な HLA 抗原系の判定の信頼性に関しては，Class I 抗原系については問題がないものの，Class II 抗原系についてはやや問題が残ることが指摘されている．このような問題点に対して，近年とくに Class II 抗原系について，DNA 解析によるタイピングすなわち DNA タイピングが汎用されつつある．そこで我々は，DNA タイピングの一方法であり，瓜生らにより報告された Polymerase chain reaction-Restricted fragment length polymorphism（PCR-RFLP）法[12)]を用い，習慣流産患者夫婦群および正常経産婦夫婦群における HLA-DQ 遺伝子座の類似性に関する検討を行ったが，血清学的タイピングと同様，有意の類似性は観察されていない．

表 2 習慣流産患者夫婦および正常経産婦人夫婦における Class I 抗原系の類似性に関する検討

A Locus

No. of shared Ag	Patients (n=29)	Control (n=20)
0	12 (41.1%)	4 (20.0%)
1	17 (58.6%)	14 (70.0%)
2	0 (0%)	2 (10.0%)

B Locus

No. of shared Ag	Patients (n=29)	Control (n=20)
0	21 (72.4%)	14 (70.0%)
1	8 (27.6%)	6 (30.0%)
2	0 (0%)	0 (0%)

C Locus

No. of shared Ag	Patients (n=29)	Control (n=20)
0	19 (65.5%)	12 (60.0%)
1	9 (31.0%)	8 (40.0%)
2	1 (3.5%)	0 (0%)

いずれも類似性に関し有意の差は観察されない．

表 3 習慣流産患者夫婦および正常経産婦人夫婦における HLA-DR 抗原系の類似性に関する検討

DR Locus

No. of shared Ag	Patients (n=29)	Control (n=20)
0	12 (41.4%)	13 (65.0%)
1	15 (51.7%)	7 (35.0%)
2	2 (6.9%)	0 (0%)

有意の差は観察されない.

IV. ま と め

従来，習慣流産の多くはその原因が不明であり，また有効な治療法もなかったが，近年，前述の夫リンパ球による免疫感作療法が試みられ，妊娠予後の有意の改善を認めている．このような免疫学的機序による習慣流産の背景には，母体の胎児抗原あるいは父系抗原に対する低免疫応答性の存在が推察されている．習慣流産患者夫婦の HLA 抗原系の類似性に関する検討は，この低免疫応答性が患者夫婦間の有意の類似性に基づくものではないかとの仮定によるものである．しかしながら，今回の検討においては，習慣流産患者夫婦間の HLA 抗原系に関し，血清学的タイピングによっても，また，DNA タイピングによっても，有意の類似性は観察されず，母体の低免疫応答性は他の要因に基づくことが推察された．

一方，習慣流産患者夫婦の HLA 抗原系に関し，有意の類似性を指摘する報告者は，ヒトにおいて致死性遺伝子が存在し，その遺伝子がホモ接合体になることにより流産が反復するという仮説を提唱している[11]．習慣流産患者に対する免疫感作療法による高率な妊娠継続率は，このような仮説とは相反するものとも考えられるが，今後さらに検討が必要であると思われる．

参 考 文 献

1) **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.

2) **Takeuchi, S., Takakuwa, K., Kanazawa, K., et al.**: The important role of MLR blocking antibodies in successful continuation of pregnacy. In Human Reproduction, Current Status/Future Prospect. 289～297 (Eds. Iizuka, R. and Semm, K.), Elsevier Science Publishers B. V., 1988.

3) **Goto, S., Takakuwa, K., Kanazawa, K., et al.**: MLR-blocking antibodies are directed agaist alloantigens expressed on syncytiotrophoblast. Am. J. Reprod. Immunol., **21**: 50～53, 1989.

4) **Mowbray, J.F., Gibbings, C., Leddell, H., et al.**: Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunisation with paternal cells. Lancet. (i), 941～943, 1985.

5) **Beer, A.E., Semprini, A.E., Xiaoyu, Z., et al.**: Pregnancy outcome in human couples with recurrent spontaneous abortions: HLA antigen profiles; HLA antigen sharing; female serum MLR blocking factors; and paternal leukocyte immunization. Expl. Clin. Immunogenet., **2**: 137～153, 1985.

6) **Unander, A.M. and Lindholm, A.**: Transfusion of leukocyte-rich erythrocyte concentrates: A successful treatment in selected cases of habitual abortion. Am. J. Obstet. Gynecol., **154**: 516～520, 1986.

7) **Smith, J.B. and Cowchock, F.S.**: Immunological studies in recurrent spontaneous abortion: effects of immunization of women with paternal mononuclear cells on lymphocytetoxic and mixed lymphocyte reaction blocking antibodies and correlation with sharing of HLA and pregnancy outcome. J. Reprod. Immunol., **14**: 99～113, 1988.

8) **Takakuwa, K., Goto, S., Tanaka, K., et al.**: Result of immunotherapy on patients with unexplained recurrent aborion: A beneficial treatment for patients with negative blocking antibodies. Am. J. Reprod. Immunol., **23**: 37～41, 1990.

9) **Takakuwa, K., Goto. S., Kanazawa, K., et al.**: Is immunotherapy for habitual aborters an immunologically hazardous procedure for infants ? Am. J. Reprod. Immunol., **19**: 53～56, 1989.

10) **Mowbray, J.F., Gibbings, C.R., Sidgwick, A.S., et al.**: Effects of transfusion in women with

recurrent spontaneous aborion. Transplant. Proc., **XV**: 896～899, 1983.

11) **Ho, H., Gill, T.J., Nsieh, R., et al.**: Sharing of human leukocyte antigens in primary and secondary recurrent spontaneous abortions. Am. J. Obstet. Gynecol., **163**: 178～188, 1990.

12) **Uryu, N., Maeda, M., Ota, M., et al.**: A simple and rapid method for HLA-DRB and -DQB typing by digestion of PCR-amplified DNA with allele specific restriction endonucleases. Tissue Antigens., **35**: 20～31, 1990.

司会　ありがとうございました．習慣流産に genetics の関与があるかどうか，その辺の問題が一つ大きなテーマになるかと思いますが，御意見ございましょうか．

西村　Blocking antibody の特異性についてですが，夫のリンパ球を target とした場合に B cell と T cell を分けるとどちらにも反応しますか．あるいは B cell だけに反応するのでしょうか．

高桑　B cell を刺激細胞にして混合培養を行った時の方がより明確に検出されます．

西村　染色ではどうですか．

高桑　それはしておりません．

西村　私は，これまで，夫のリンパ球を免疫することにより tolerance を誘導するのではないかと理解していたのですが，そうではないようですね．むしろ，アクティブに感作して抗体を作らせるという治療のようですね．

高桑　検査のうえではこのように明らかに，抑制抗体が認められるのですが，同時に細胞性免疫について検討しています．この治療法は移植における移植前輸血に analogy を求めた治療法ですが，移植前輸血ではサプレッサーが誘導されるという報告がありますので，そちらの方の検討を行っていますが，まだ，結論は得られていません．

西村　少なくとも，先生のおっしゃる blocking antibody を考える限りでは，免疫応答はむしろ夫に対して亢進していると考えていいわけでしょうか．

高桑　あのような反応が出てくるということは間違いないと思います．

西村　ちょっと，難しいかもしれませんが，免疫の前後で奥さんの方のリンパ球をフリーズして保存し，最後に解凍して，同じ夫の stimulator に対して MLR が亢進しているかどうかをご覧になったことはありますか．

高桑　それに関しては今ちょうど行っているところですが，結論はでていません．

司会　他にございますか．よろしいですか．それでは，最後に里方先生に分子遺伝学的な面からの報告をお願いします．