

不育症管理 ～最近の話題～

座長：竹下 俊行（日本医科大学 名誉教授）

演者：杉 俊隆（杉ウイメンズクリニック 不育症研究所）

不育症（2 回以上の流死産の既往がある場合、および臨床的流死産歴が 2 回未満でも次回妊娠における流死産のリスクが高く原因検索の動機付けとなる状態）の管理については、本邦では 2011 年に初めてガイドライン的な提言が出された。その後、厚生労働科学研究費補助金、成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業研究班により、新しい知見や国内外の新たなエビデンスを反映させた不育症の検査とリスク因子毎の治療を骨子とする「不育症管理に関する提言 2021」¹⁾ が示された。

本提言の検査の項においては、『推奨検査』と『選択的検査』が示されており、推奨検査においては、子宮形態検査、抗リン脂質抗体検査、夫婦染色体検査、内分泌検査、流死産胎児絨毛染色体検査が推奨されている。しかしながら、実臨床においてはこれらの検査だけでは十分とはいえず、『選択的検査』も欠かせない。

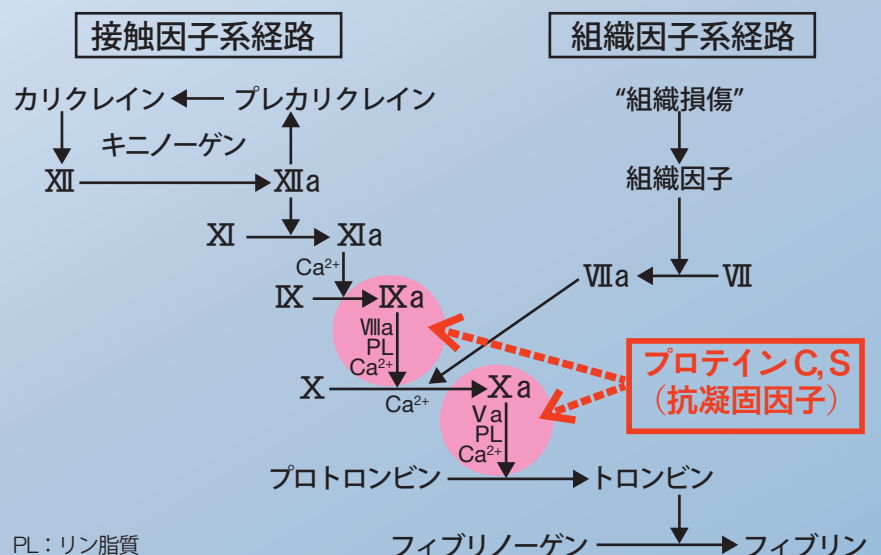
本講演では『選択的検査』のうち、プロテイン S、第 XII 因子活性、抗フォスファチジルエタノールアミン (PE) 抗体を中心に、最近のトピックスを交えて解説・考察する。

プロテイン S

プロテイン S (PS) は活性化プロテイン C の補因子であり、活性化第 VIII 因子と活性化第 V 因子を不活化して血液凝固反応を抑制する (図 1)。PS は血中において 40% が遊離型、60% が C4bBP へ結合した状態で存在しており、結合型 PS には活性がほとんど無い。

PS 欠乏症の検査には PS 活性が測定される。遊離抗原量は基本的には PS 活性を反映するが、PS タンパクに質的な異常がある場合は PS 活性値と乖離する。したがって、PS 欠乏状態を知るためには PS 活性を把握する必要がある。

図 1. 凝固系におけるプロテイン S の作用



PS 徳島変異

日本人の PS 欠乏症は約2%と高頻度であり、白人の10 倍の頻度である。理由としては、その多くに PS 徳島変異 (K196E) がみられるためと考えられる。この PS 徳島は日本人特有の変異であり、欧米だけでなく、中国や韓国などの近隣のアジア諸国でも確認されていない²⁾。

先天性 PS 欠乏症は、①活性、総抗原量、遊離型抗原量のいずれも低下するⅠ型、②総抗原量、遊離型抗原量は正常であるものの活性が低下するⅡ型、③総抗原量は正常であるものの遊離型抗原量と活性が低下するⅢ型に分類され、PS 徳島変異はⅡ型に分類される。

PS 徳島変異のスクリーニングは、本来は PCR による遺伝子変異の検索が望ましいが、手間とコストがかかるデメリットがある。PS 活性から変異を推定する方法もあるが、正常コントロール群の活性値分布が広いいため、PS 徳島の判別には適していない³⁾。そこで PS 比活性という概念を用いて検査を行う。PS 比活性は総 PS 抗原量

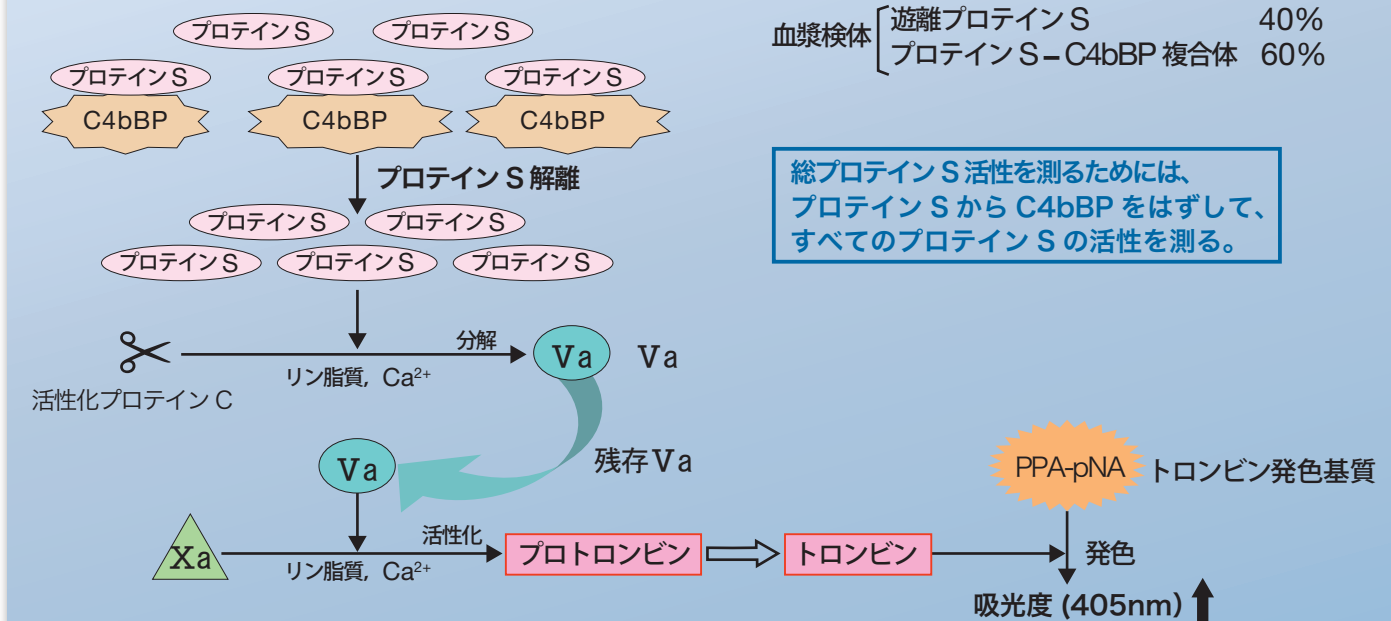
と総 PS 活性を同時測定し、下式により算出する。

$$\text{PS 比活性} = \text{総 PS 活性} / \text{総 PS 抗原量}$$

上述の通り、結合型 PS には活性がほとんどないので、C4bBP から PS を解離させて遊離型とし、トータルの PS 活性を測定することで、総 PS 活性を求めることができる (図 2)。PS 比活性のカットオフ値を 0.78 未満に設定すると、感度 100%・特異度 91% で PS 徳島を判別することができ、この検査は PS Ⅱ型異常症のスクリーニング法としての有用性が高いことが示された (図 3)⁴⁾。

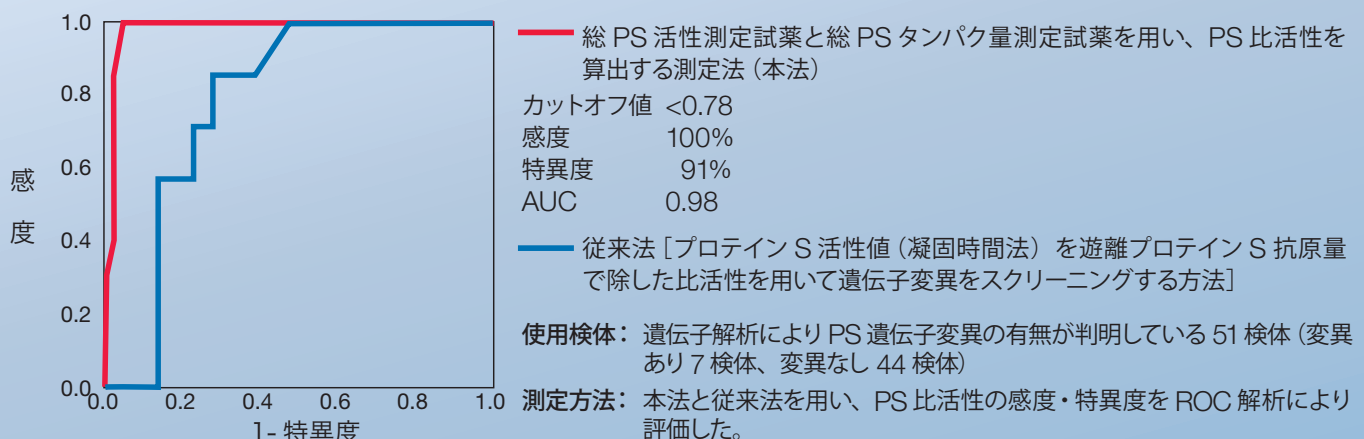
実際、当クリニックの患者さんを(1)初期流産を繰り返す群、(2)妊娠中後期の胎児死亡の既往のある群、(3)流死産歴のない着床障害群に分け、PS 比活性から PS 欠乏症タイプⅡを推定すると、(2)の妊娠中後期の妊娠中後期胎児死亡群における欠乏陽性率が他の2 群に比べて有意に高かった (11/196: 5.61%)⁵⁾。この 11 例を遺伝子解析した結果、10 例が PS 徳島であった。また、3 群いずれも抗 PS 抗体陽性率は 20% 程度で、正常の非妊娠女性の割合 (7.1%) よりも高い傾向にあった。

図 2. 比色法による総プロテイン S 活性測定法



図：杉 俊隆先生ご提供

図 3. プロテイン S 比活性を用いたプロテイン S Ⅱ型異常症のスクリーニング性能



不育症のリスクは、抗 PS 自己抗体か？

不育症を PS 欠乏症あるいは PS 徳島変異の視点からみると、海外では遺伝的血栓性素因は不育症のリスク因子として否定的であるし、我々のデータでも PS 徳島変異者の75%に抗リン脂質抗体などの PS 欠乏以外の不育症リスク因子が見いだされること、原因不明の不育症の患者さんのなかには PS 比活性だけが異常値を示した例があることなどを考え合わせると、PS 徳島変異はリスク因子のひとつではあるものの、独立した強いリスク因子とはいきれない。不育症のより強いリスク因子は、PS 欠乏症というよりは、抗 PS 自己抗体である可能性が仮説として考えられた。

先述の通り、実際に約 20% の不育症患者で PS に対する自己抗体が確認されている。エピトープ解析の結果、自己抗体が認識する部位は PS タンパクの EGF-like domain のセグメント 1～4 であることが明らかになった⁶⁾。特に EGF1, 2 は PS が活性化プロテイン C コファクターと相互作用する部位なので、これを認識する自己抗体は PS 活性の低下を招くと考えられる。

不育症患者 (n=300) における抗 PS 抗体価と PS 欠乏の頻度を解析した結果、抗体価依存的に PS 欠乏の頻度が上がることが示された (図 4)。生殖領域における EGF は、Growth factor として胎盤血管新生を促進する役割があり、EGF 系が破綻すると胎盤形成不全を引き起こしたり、妊娠高血圧症候群の原因になるとの報告がある。

当クリニックの検討では、EGF 2 の異常を起こす PS 徳島変異は、中後期子宮内胎児死亡との有意な関連が認められたが、反復初期流産や着床障害との関連は認められなかった。一方で、EGF 1～4 を認識する抗 PS 抗体は、不育症・着床障害との関連が認められたことから、抗 PS 抗体は PS 徳島よりも強いリスク因子であることが示唆された。

その他の不育症リスク因子

1) 抗第XII因子自己抗体

第XII因子欠乏が不育症および深部静脈血栓症 (deep venous thrombosis: DVT) のリスク因子とする報告がある一方、それを否定する報告もある。第XII因子欠乏症患者を対象とした AMED (日本医療研究開発機構) 研究班の報告では、低用量アスピリン投与群および低用量アスピリン+ヘパリン投与群では無治療群においては、無治療群と比較して、有意に生児獲得率が高かったと報告されている⁷⁾。

我々は第XII因子欠乏不育症患者には第XII因子に対する自己抗体が存在することを明らかにした⁸⁾。さらに、自検例では第XII因子欠乏の有無と抗第XII因子抗体の有無の間に統計学的有意性が認められ、抗第XII因子抗体が第XII因子欠乏を引き起こしている可能性が示唆された。

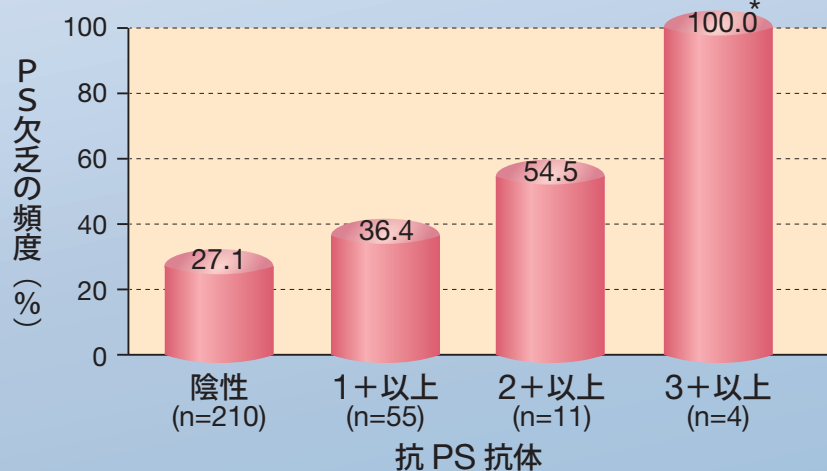
また、第XII因子は重鎖 N 末端の (IPP30) を介し GP1b-IX-V (トロンビン受容体) に結合して血小板の活性化を抑制しているが、抗第XII因子抗体は IPP30 を認識するため、第XII因子に対する自己抗体があると血小板が活性化されて容易に血栓傾向となる⁹⁾。さらに抗体のエピトープ解析を進めたところ、抗第XII因子抗体は IPP30 に加えて EGF 2 を認識することも明らかとなった⁹⁾。

不育症患者や着床障害患者の第XII因子や PS に対する自己抗体は、両者の EGF-like domain のみならず、他の EGF family をも認識し、生殖に必須である EGF 系を破綻させ、着床障害を起こしたり、胎盤形成を阻害して流産を引き起こす可能性がある。

2) 抗 PE 抗体

我々は全身性エリテマトーデス患者や不育症患者の血中に存在する抗 PE 抗体が kininogen を認識することを見出した¹⁰⁾。キニノーゲン依存性抗 PE 抗体のうち、70.8% が kininogen domain 3 の LDC27 (cell binding site および protease inhibitory site, Leu331-Met357)

図 4. 不育症患者 (n=300) における抗 PS 抗体価と PS 欠乏の頻度



* P=0.0061 (vs. 陰性, Fisher's exact test), OR 24.03

対象：不育症と診断された 300 名のうち、抗 PS 抗体が陰性であった 210 名と、明らかに陽性であった 55 名
測定方法：抗 PS 抗体価はウェスタンブロット法で測定した。
解析方法：抗 PS 抗体陰性群と抗体価 3+ 以上群の PS 欠乏症頻度を Fisher's exact test により解析した。

を認識した¹¹⁾。LDC27は血小板のトロンビン受容体との結合部位であるため、これに対する自己抗体は病理性を発揮するものと思われる。

第XII因子はIPP30を、kininogenはLDC27を介して血小板上のトロンビン受容体に結合して血小板凝集の抑制作用を発揮するが、抗第XII因子抗体・抗PE抗体が存在すると血小板はトロンビンによって刺激されて活性化し、血栓・流産を起こすことになる(図5)。

3) 抗EGF抗体

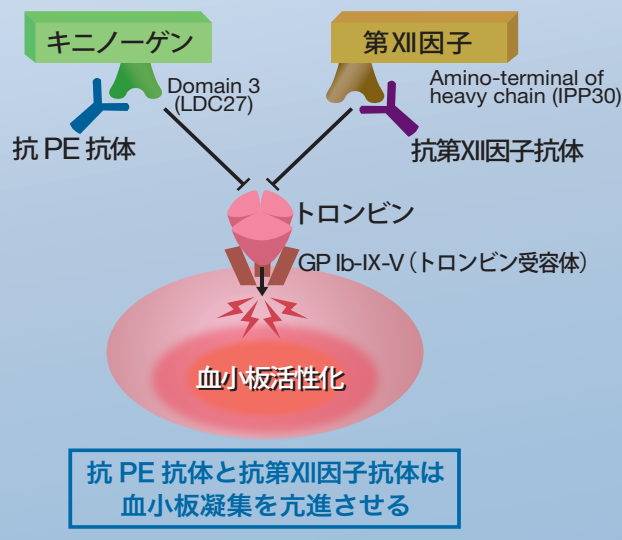
不育症・着床障害患者における抗EGF抗体を測定したところ、抗EGF抗体は、PS欠乏、抗PS抗体、抗第XII因子抗体、抗HB(Heparin-binding)-EGF抗体との間に統計学的に有意な相関が認められた。これに加え、EGF系とcross-reactiveなプロトロンビンに対する抗体、抗PS/PT抗体も不育症に関与することも示唆されている。

不育症の機序に関する仮説

以上を総合的に考察すると、不育症患者・着床障害患者にはEGFを認識する自己抗体が存在し、EGFを

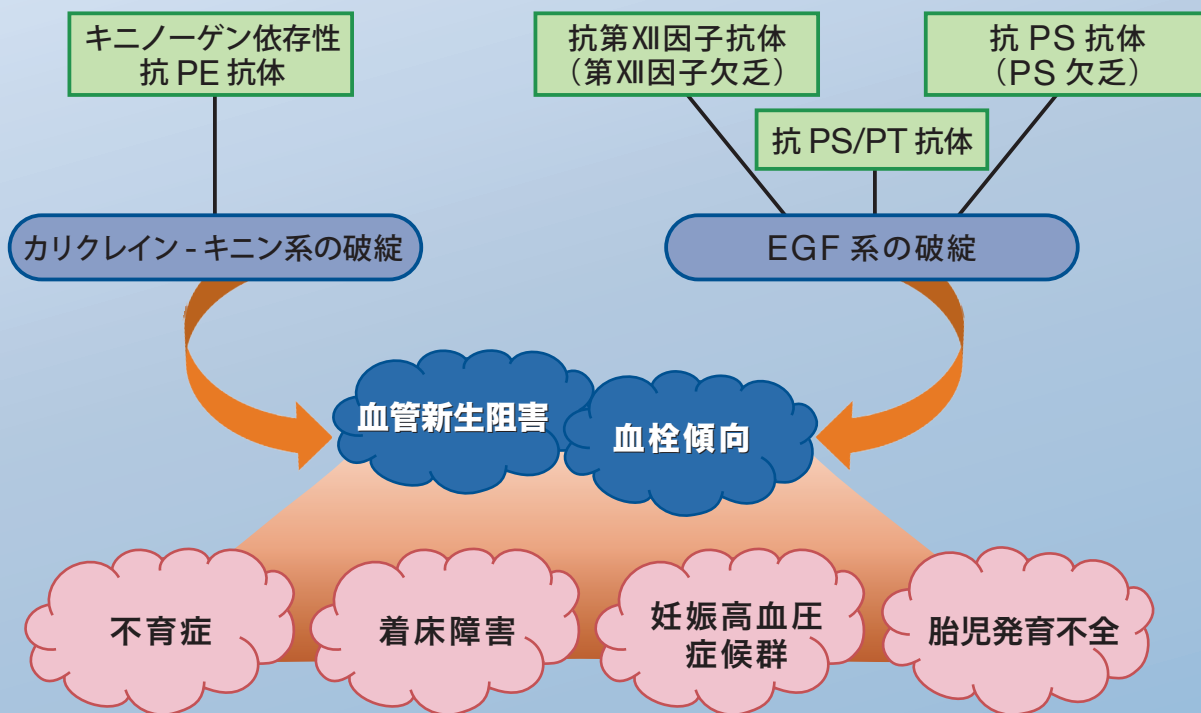
認識する自己抗体は、EGF family proteinだけでなく、EGF-like domainを持つ第XII因子やPS、さらにプロトロンビンも認識し、EGF系を破綻させるとともに、血栓傾向を引き起こし、不育症・着床障害を起こしていると考えられる(図6)。

図5. 抗PE抗体および抗第XII因子抗体による血栓・流産惹起リスクの機序



図：杉 俊隆先生ご提供

図6. 自己抗体を介したEGF系の破綻による不育症・着床障害の新しい仮説



図：杉 俊隆先生ご提供

引用文献

1. 令和2年度厚生労働省科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業(健やか次世代育成総合研究事業分野)。不育症管理に関する提言 2021。
2. Liu W, Yin T, Okuda H, et al. Thromb Res 2013; 132: 314-315.
3. 宮田敏行. 臨床検査 2009; 53: 1123-1128.
4. 津田友秀, 金 秀日, 芳村 一. 臨床化学 2019; 48: 245-251.
5. Sato Y, Sugi T, Sakai R, et al. J Reprod Immunol 2022; 150: 103476, available online 11 January 2022 <https://doi.org/10.1016/j.jri.2022.103476>
6. Sato Y, Sugi T, Sakai R. Res Pract Thromb Haemost 2018; 2: 357-365.
7. Morita K, Ono Y, Sugi T, et al. J Obstet Gynaecol Res 2019; 45(10): 1997-2006.
8. Inomo A, Sugi T, Fujita Y, et al. Thromb Haemost 2008; 99(02): 316-323.
9. Sato Y, Sugi T, Sakai R, et al. TH Open 2019; 3:e263-e272.
10. Sugi T, McInyre JA. Blood 1995; 86: 3083-3089.
11. Katsunuma J, Sugi T, Inomo A, et al. J Thromb Haemost 2003; Jan; 1(1):132-138.