

習慣流産に対する免疫療法の有効性とその免疫細胞学的機序

—習慣流産マウスを用いた検討—

東北大学医学部産婦人科

円谷 隆 岡村 州博 上原 茂樹 濱崎 洋一
高林 俊文 倉林由美代 矢嶋 聡

Immunological Mechanism of Pregnancy and Miscarriage —A Study with a Murine Spontaneous Miscarriage Model

Takashi TSUMURAYA, Kunihiro OKAMURA, Shigeki UEHARA,
Yoichi HAMASAKI, Toshifumi TAKABAYASHI, Yumiyo KURAHAYASHI
and Akira YAJIMA

Department of Obstetrics and Gynecology, Tohoku University School of Medicine, Sendai

概要 マウス流産モデル(CBA/J 雌×DBA/2雄)を用い免疫学的流産の機序と免疫療法の際の免疫担当細胞特にNK細胞の動態につき検討した。

この系の流産率は26.1%であり、対象群の7.5%より有意に高かった。この系と対象群につき脾細胞のfluorescence cytometryを用い妊娠による免疫の動きを検討すると

1) 妊娠によりLFA-1, 及びAsialo-GM1陽性細胞は、細胞数, intensityともに減少し, IL-2R陽性細胞は、細胞数, intensityともに増加した。

2) 免疫療法有効群ではLFA-1, 及びIL-2R陽性細胞は、細胞数, intensityともに更に減少した。MAC-1及び, Asialo-GM1陽性細胞の数は減少した。

3) 免疫療法無効群では、LFA-1陽性細胞は、細胞数は減少した。IL-2R陽性細胞は、細胞数は減少したが、intensityは増加した。Asialo-GM1陽性細胞は、細胞数, intensityともに増加した。

4) L3T4陽性細胞は、免疫療法無効群に比べて有効群で細胞数, intensityともに減少した。胎盤の免疫染色により流産胎盤ではAsialo-GM1陽性細胞の増加が顕著であった。妊娠の維持, すなわち免疫療法の成否はヘルパーT細胞の抑制, それに伴うNK細胞, マクロファージの抑制が重要であることが示唆される。

Synopsis In order to investigate the immunological mechanisms of pregnancy, fluorocytometric and immunohistochemical analysis of the cells was performed in the placenta and spleen of a murine spontaneous miscarriage model (CBA/J×DBA/2) and control (CBA/J×BALB/c). There was a significant difference between the miscarriage rate for the miscarriage model and that for the control, even though H-2 in these two group is matched. The analysis also was performed in a miscarriage model immunized with male splenocytes. Moreover, the effect of γ -interferon, a potentiator of NK cell activity, on pregnancy was examined. Interferon treatment increased the miscarriage rate. In pregnancy, the number of splenocyte positive Asialo-GM1 or LFA-1 decreased and the intensity of these antigens decreased, as well. Interleukin-2R positive cell increased in number as well as intensity. In the miscarriage model group successfully treated by immunization, the number of Asialo-GM1 positive cells and L3T4 positive cells decreased, whereas they increased in the unsuccessfully treated group. Asialo-GM1 positive cells in the placenta of successful pregnancy decreased in number, and those in miscarried pregnancy increased. In conclusion, the success of the immunization treatment for habitual abortion depends on how to suppress NK cell activity in a linkage with the helper T-cell.

Key words: Habitual abortion • NK cell • Miscarriage

緒 言

妊娠初期の流産の原因には、染色体異常、子宮

の形態及び機能異常、内分泌疾患、特殊感染症、自己免疫疾患などがある。しかしこれらの異常が

認められないにもかかわらず連続3回繰り返し流産を起こす場合、原因不明の習慣流産と呼んでいる。

一方、妊孕現象を移植免疫の立場から考えると、胎児は父親の染色体を半分受け継いでいるため、母体にとっては同種異系移植 (allograft) と考えられる。したがって、この同種異系移植片である胎児は母体に免疫学的攻撃を受け、妊娠初期に流産する運命にあるはずであるが、実際には分娩まで拒絶反応を受けずに生存している。すなわちこのような胎児の生存に対する免疫学的防御機構の破綻による流産が原因不明習慣流産の一因と考えられている。免疫学的防御機構の破綻が生じる理由として夫婦間の HLA, 特に HLA-D/DR, すなわち class II 抗原の一致率が高いと報告⁴⁾されている。更に正常妊婦の血清中には、夫の HLA class II 抗原に対する抗体が存在し、この血清は夫婦間の Mixed Lymphocyte Reaction (MLR) を特異的に制御する遮断抗体 (blocking antibody) として作用しており、原因不明習慣流産婦人には、この抗体は存在しないことがその理由ともされている²⁾。その他、T 細胞の抗イデオタイプ抗体を始め種々の遮断抗体の報告もあるが不明な点も多々ある。

しかし臨床的には、習慣流産患者の治療に、夫リンパ球移植による免疫療法が行われるようになりある程度の治療効果をあげている³⁾¹⁰⁾¹²⁾。本稿では、免疫学的流産の機序の解明及び原因不明習慣流産に対する治療法である夫リンパ球療法の免疫動態の解析を、習慣流産モデルと考えられているマウスの系を用い調べた。

実験方法

1. マウス習慣流産モデル

習慣流産モデルと考えられているマウスには CBA/J 雌×DBA/2雄の組合わせを、コントロールには CBA/J 雌×BALB/c 雄の組合わせを用い、CBA/J 雌×DBA/2雄を流産群、CBA/J 雌×BALB/c 雄をコントロール群とした。3種類のマウスの H-2 の遺伝子型は、CBA/J (H-2^k), DBA/2 (H-2^d), BALB/c (H-2^d) である。いずれのマウスも8週齢から12週齢で SPF の環境下で飼育

したものを用いた。

CBA/J 雌と DBA/2雄、及び CBA/J 雌と BALB/c 雄を交配させ vaginal plug を確認した日を妊娠0日とした。妊娠12日目から14日目に開腹し、着床数を数え、その中で生存胎児及び、浸軟又は吸収された胎児を判別し、後者の数を流産数とした。流産群とコントロール群との間の着床率に差がないことを確かめるために妊娠黄体数を数え、その数を排卵数とした。流産率及び着床率は以下の式より求め、その評価には χ^2 検定を用いた。

$$\text{流産率 (\%)} = \frac{\text{流産数}}{\text{着床数}} \times 100$$

$$\text{着床率 (\%)} = \frac{\text{着床数}}{\text{排卵数}} \times 100$$

2. 免疫処理

1) 脾細胞投与による免疫処理：免疫療法には DBA/2雄又は BALB/c 雄の脾細胞を CBA/J 雌の腹腔内に投与する方法を用いた。DBA/2雄及び BALB/c 雄の脾臓を摘出し、1%FCS 加 RPMI 1640 を満たしシャーレ内で細切した後、#200 のメッシュを通し、1,200rpm にて5分間遠心し細胞を採取した。0.83%塩化アンモニウム (NH₄Cl) と 0.02M トリス緩衝液 9:1 の混合液にて赤血球を溶血させこれを除去した。PBS にて3回洗浄後、 1.0×10^7 個/mouse になるように調整し、RPMI 1640 培養液中に浮遊させた。得られた DBA/2雄又は BALB/c 雄の脾細胞を CBA/J 雌の腹腔内に 1.0×10^7 個/mouse, total volume 0.5 ml から 1.0 ml を投与し7日後にそれぞれ DBA/2雄又は BALB/c 雄と交配させた。

2) γ -インターフェロン (γ -IFN) 投与による免疫処理：NK 細胞を活性化させる目的のため、 γ -IFN の投与を行つた。まず、CBA/J 雌と BALB/c 雄又は DBA/2雄を交配させ、妊娠0日より7日間、 γ -IFN 80,000IU (塩野義製薬社製マウス・リコンビナント γ -IFN) を連日 CBA/J 雌妊娠マウスの腹腔内に投与した。

3. 脾細胞の fluorescence cytometry

CBA/J 雌 4~5 匹の脾臓を摘出し、pool した脾細胞を 1.0×10^6 /well となるように 1%FCS 加

RPMI 1640にて調整し、各種モノクローナル抗体にて処理した後、コールター社の EPICS を用いて fluorescence cytometry を行つた。陽性細胞はカウントした5,000個の%として表した。陽性細胞とは negative control の細胞が最高1%しか認識されない設定とした。

4. 胎盤の光顕的酵素抗体法

胎盤は、妊娠12日目から14日目に開腹し流産数を確認する際に採取した。コントロール群で生存胎児が存在するものを正常胎盤、流産群で胎児が浸軟しているものを流産胎盤とし、凍結切片を作製し ABC 法による光顕的酵素抗体法染色を施行した。

5. モノクローナル抗体

脾細胞の fluorescence cytometry には、Thy1 (T cell), Lyt2 (killer/suppressor T cell), L3T4 (helper/inducer T cell), B220 (B cell), MAC-1 (macrophage), LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen 1), IL-2R (interleukin 2 receptor), Asialo-GM1 (NK cell) に対する各種モノクローナル抗体を用い、胎盤の光顕的酵素抗体法染色には上記のものに加えて、Ia (class II antigen) に対する抗体を使用した。Thy1, L3T4, B220, MAC-1, LFA-1, IL-2R, Asialo-GM1 に対するモノクローナル抗体は東海大学の西村孝司博士より供与を受け、抗 Lyt2 抗体はベクトンデッキンソン社、抗 Ia 抗体はセロテック社のものを使用した。

研究成績

1. 流産率

流産群 (CBA/J×DBA/2) とコントロール群 (CBA/J×BALB/c) 各々の無処理での妊娠マウス25匹中、着床数188, 生存胎児数139, 浸軟胎児数49, 妊娠黄体数(排卵数)194で、着床率は96.9%, 流産率は26.1%であつた。コントロール群では31匹中、着床数213, 生存胎児数197, 浸軟胎児数16, 妊娠黄体数(排卵数)224で着床率は95.1%, 流産率は7.5%であつた。すなわち流産群とコントロール群間の着床率の差はなく、流産率は0.5%以下の危険率で有意に流産群の方が高かつた(表1)。

流産群に対する免疫療法の効果(投与した脾細胞の種類による比較): 流産群 (CBA/J×DBA/2) に対して BALB/c 雄又は DBA/2 雄の2種類の脾細胞投与による免疫療法の比較を表2に示した。BALB/c 雄の脾細胞にて免疫療法を行つた場合、流産率は17.2%, DBA/2 雄の脾細胞では流産率は29.5%であつた ($p<0.05$)。また流産群での DBA/2 雄脾細胞での免疫療法奏功群の流産率17.2%は、流産群の自然流産率は26.1%より有意に低かつた ($p<0.05$)。したがつて、以下 CBA/J×DBA/2 の流産群に BALB/c 雄の脾細胞による免疫療法を施行した群を「免疫療法有効群」、DBA/2 雄脾細胞によるものを「免疫療法無効群」とした。

γ -IFN 投与による変化: コントロール群 (CBA/J×BALB/c) に、 γ -IFN の投与を行つた場

表1 Resorption rates of CBA/J×DBA/2 and CBA/J×BALB/c

Mouse strain	No. of mouse	No. of implantation	No. of living fetus	No. of dead fetus	No. of corpus luteum	Resorption rate (%)
CBA/J×DBA/2	25	188	139	49	194	26.1*
CBA/J×BALB/c	31	213	197	16	224	7.5

* $p<0.005$

表2 Resorption rate of CBA/J×DBA/2, immunized by splenocytes of DBA/2 or BALB/c male

Splenocyte for immunization	No. of mouse	No. of implantation	No. of living fetus	No. of dead fetus	No. of corpus luteum	Resorption rate (%)
BALB/c	21	157	130	27	164	17.2*
DBA/2	8	61	43	18	64	29.5

* $p<0.05$

表3 Resorption rates of CBA/J×BALB/c, treated by γ -interferon

Treated by interferon*	No. of mouse	No. of implantation	No. of living fetus	No. of dead fetus	No. of corpus luteum	Resorption rate (%)
Yes	9	74	56	18	74	24.3**
No	8	59	53	6	64	10.2

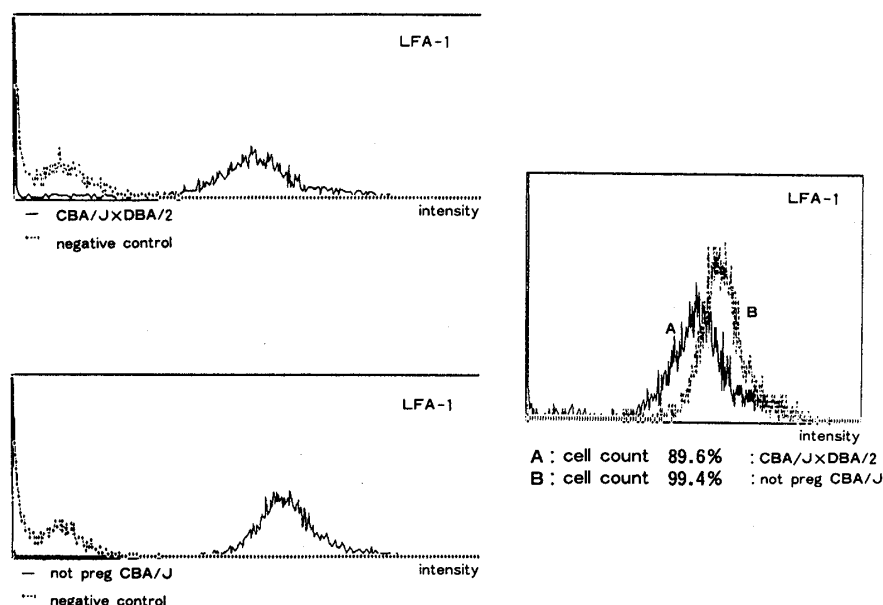
*80,000 IU of γ -IFN was intraperitoneally administered for 7 days** $p < 0.05$ 

図1 非妊娠 CBA/J 及び CBA/J×DBA/2脾細胞の LFA-1抗原

合の非投与群との比較を表3に示した。 γ -IFN投与群の流産率は24.3%，非投与群の流産率は10.2%であった ($p < 0.05$)。

2. 免疫細胞の動態

1) 脾細胞の fluorescence cytometry

図1は非妊娠 CBA/J 及び、妊娠 CBA/J の脾細胞の LFA-1抗原を同一画面上に示したヒストグラムである。ヒストグラムの縦軸は細胞5,000個中の陽性細胞の相対的割合(%)を、横軸は抗原の intensity を示す。LFA-1陽性細胞数は妊娠89.6%，非妊娠99.4%と妊娠時に減少し，intensity も妊娠時には非妊娠時よりも左方へ移動し，減少が認められた。

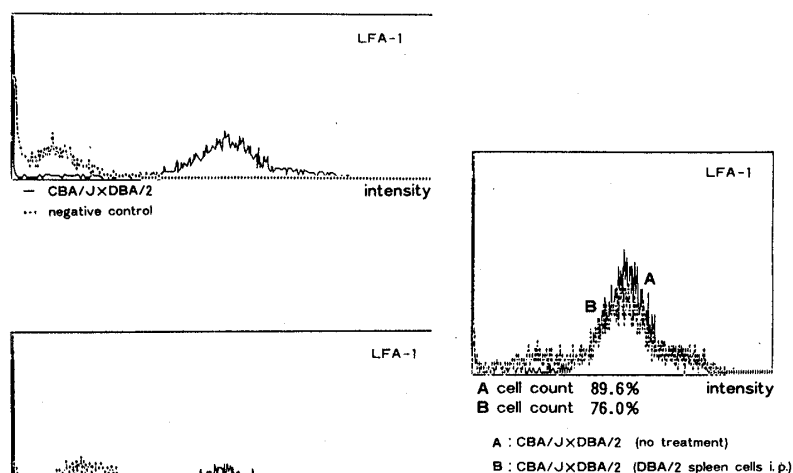
流産群である CBA/J×DBA/2の，Asialo-GM1陽性細胞は非妊娠11.6%，妊娠5.3%と妊娠時には減少し，intensity も同様に減少した。同じ系における IL-2R 陽性細胞数は妊娠56.0%，非妊娠

46.3%と妊娠時に増加し，intensity も妊娠時に増加した。

2) 免疫療法による脾細胞の変化

図2-Iに流産群に対して免疫処理を施行した場合の免疫療法無効群（DBA/2雄脾細胞による免疫）及び非処理群の LFA-1陽性細胞のヒストグラムを示した。細胞数は非処理群89.6%，免疫療法無効群76.9%と免疫療法無効群で減少したが，intensity の変化は認められなかった。すなわち，免疫療法群でも療法無効な群では LFA-1陽性細胞はそれほど抑制されていない。一方，図2-IIに免疫療法有効群（BALB/c 雄脾細胞による免疫）及び非処理群の LFA-1のヒストグラムを示す。細胞数は非処理群89.6%，免疫療法有効群74.4%と免疫療法有効群で減少した。intensity も同様に免疫療法有効群で減少が認められた。すなわち，免疫療法が有効である場合は脾細胞の LFA-1陽性

I



II

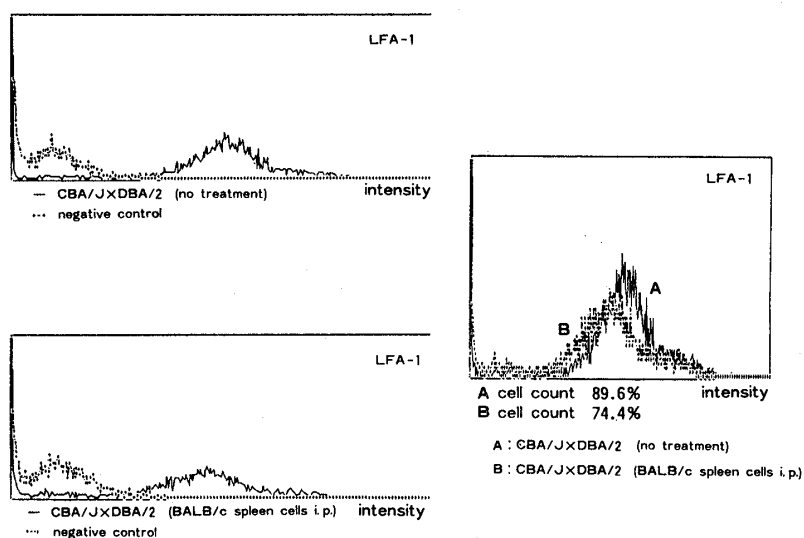


図2 流産群 (CBA/J×DBA/2) に対する免疫療法無効群 (I) 及び免疫療法有効群 (II) 脾細胞の LFA-1抗原

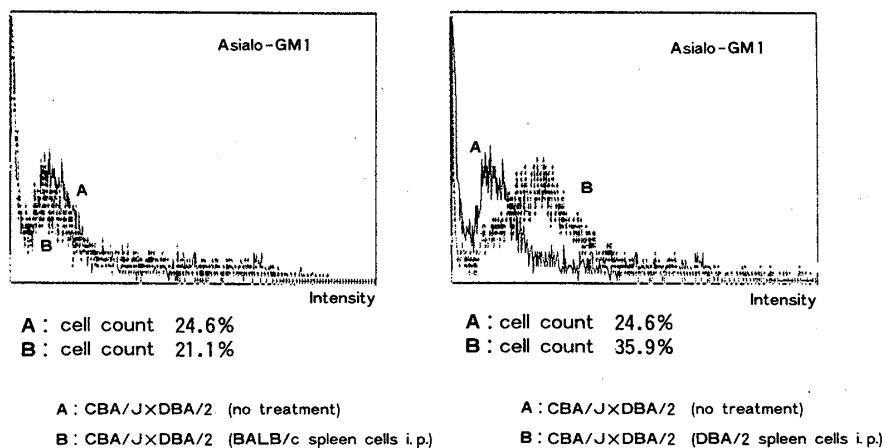


図3 流産群に対する免疫療法無効群 (left) 有効群 (right) の脾細胞の Asialo-GM1陽性細胞

細胞は抑制されている。

免疫療法無効群 (DBA/2雄脾細胞による免疫) 及び非処理群の IL-2R 陽性細胞数は非処理群 56.0%, 免疫療法無効群 43.1% と免疫療法無効群で減少したが, intensity は逆に軽度の増加が認められた。一方, 免疫療法有効群 (BALB/c 雄脾細胞による免疫) 及び非処理群の IL-2R 陽性細胞数は非処理群 56.0%, 免疫療法有効群 9.6% であり, 免疫療法有効群で著明に減少し, intensity も同様に減少が認められた。以上より, IL-2R 陽性細胞は免疫療法が有効な場合著明に抑制される。

図 3 に流産群に対して免疫療法を施行した場合の免疫療法有効群(right)と免疫療法無効群(left)の Asialo-GM1 陽性細胞のヒストグラムを示した。細胞数は非処理群 24.6%, 免疫療法無効群 35.9%, 免疫療法有効群 21.1% であつた。したがって, 免疫療法無効群では Asialo-GM1 陽性細胞の数とその intensity の増加が認められたが, 免疫処理の有効群では intensity は変化しないものの, 細胞数は減少した。

また MAC-1 陽性細胞のヒストグラムの検討では細胞数は非処理群 13.4%, 免疫療法無効群 11.9%, 有効群 9.8% と免疫療法有効群において, より減少傾向が認められた。intensity では免疫療法有効群では変化は認められないが, 無効群では増加が認められた。

L3T4 陽性細胞数は免疫療法無効群 28.1%, 有効群 22.5% と免疫療法有効群では減少し, intensity も同様に免疫療法有効群で減少した。

3. 胎盤の光顕的酵素抗体染色法

CBA/J×BALB/c のコントロール群で生存胎児の存在する正常胎盤では, MAC-1, Asialo-GM1 陽性細胞のみが認められほかは陰性であつた。MAC-1 陽性細胞は一部分に局在して存在し, 400 倍の強拡大にて 20 視野中 69 個, 平均 1 視野中 3.5 個であつた。Asialo-GM1 陽性細胞の数は非常に少なく, 14 視野中 3 個, 平均 1 視野中 0.2 個であつた。

一方, CBA/J×DBA/2 の流産群で胎児が浸軟又は吸収されている流産胎盤では, Ia, MAC-1, Asialo-GM1, LFA-1 陽性細胞が認められ, その他は陰性であつた。MAC-1 陽性細胞の分布は, 正常

胎盤とは異なりび漫性に存在し, 400 倍の強拡大にて 17 視野中 256 個, 平均 1 視野中 15.1 個と正常胎盤と比較して約 4 倍の増加が認められた。Asialo-GM1 陽性細胞は 63 視野中 152 個, 平均 1 視野中 2.4 個で, 正常胎盤と比較して約 10 倍の増加が認められた。Ia 陽性細胞は, MAC-1 陽性細胞と同一分布を示しており, Th1, L3T4, Lyt2, B220 陽性細胞は認められなかつたので, Ia を表現している細胞は MAC-1 陽性細胞と同一と考えられた。LFA-1 陽性細胞は認められたが, 数は非常に少なかつた。

考 案

Wegmann et al. のグループ⁸⁾は習慣流産モデルの系 CBA/J 雌×DBA/2 雄では CBA/J 雌×BALB/c 雄のコントロール群に比べて非常に高い自然流産率を示し, この習慣流産系に流産系の雄と同じ H-2 系をもつ BALB/c 雄の脾細胞投与による免疫療法を施行すると流産率を改善し得るが, DBA/2 雄の脾細胞では改善し得ないと報告している。我々はこのマウスの流産実験系を用い, 妊娠及び, 免疫療法による免疫動態の変化を, 主に細胞性免疫について明らかにした。すなわち妊娠によつて LFA-1 の発現と NK 細胞は抑制され, IL-2R は活性化される。一方, NK 細胞とマクロファージが活性化されると流産にいたると考えられた。

従来より原因不明習慣流産の原因として, 夫婦間の HLA 特に class II 抗原の一致が blocking antibody の産生⁹⁾を妨げているためと言われてきた。しかし, blocking antibody が産生されない原因に HLA の一致, すなわち胎児抗原の母体側の認識の低下あるいは消失であるとするならば, blocking antibody の産生系を刺激できないほど弱い抗原である胎児が, 母体からの免疫学的攻撃のみを受けるとは考えにくい。更に Caudle et al.⁵⁾, Oksenberg et al.¹¹⁾, Johnson et al.⁷⁾, Christiansen et al.⁶⁾らは, 習慣流産カップルと正常カップルとの間に HLA の一致に関する差はないと報告している。我々の施設でも本研究とは別に HLA を検索できた習慣流産 30 組につき検討したが, HLA-DR の一致は 15 組 (50%) であり, 他の 15 組 (50%) での一致はなかつた。また免疫療

法による予後にも特に一致，不一致による差は見られなかつた。また本研究でも，CBA/J 雌のパートナーとして用いた DBA/2 雄あるいは BALB/c 雄の MHC である H-2 は，両方とも H-2^d であるにもかかわらず，流産率に有意な差が認められている。したがって，我々の実験からも HLA の一致が習慣流産の大きな要因であるとは考えにくい。しかし，この実験で使用したマウスの，mouse minor MLC-stimulating である Mls 遺伝子系は，CBA/J が Mls^d，DBA/S が Mls^a，BALB/c が Mls^b であり，それぞれ異なっている。したがってヒトにおいても HLA 以外に妊娠の免疫応答を抑制しているものがある可能性は否定できない。

我々は臨床的に，blocking antibody がほとんど産生されない例として IgG，IgM，IgA が認められない CVID (common variable immunodeficiency) 初妊婦の出産を経験している。この症例では，妊娠前，妊娠中，出産後を通して血中の γ -グロブリンはほとんど測定感度以下であり，妊娠中に施行した胎児臍帯穿刺による胎児血，及び分娩後の臍帯血への移行も認められていない。すなわち，妊娠の成立に blocking antibody がそれほど深く関与している可能性は低いと考えられる。

本稿では妊娠により IL-2R の活性化が認められたが，この実験で使用した抗 IL-2R 抗体は，Tac 抗原とも呼ばれている低親和性 IL-2R (p55, α 鎖) を認識する抗体であり， α 鎖は T 細胞が抗原刺激などにより活性化されると急激に，かつ一過性に発現されることが知られている。本研究からも，妊娠により T 細胞が同種異系抗原である胎児抗原を認識して一過性に IL-2R を発現させ，何らかのシグナルにより NK 細胞及び LFA-1 の発現を抑制している可能性が考えられた。また，胎児の光顕的酵素抗体染色法で，流産胎盤では正常胎盤に比べてマクロファージで約 4 倍，NK 細胞で約 10 倍の出現率の増加があることがわかつた。LFA-1 は，キラー細胞が標的細胞を破壊する際に必要な接着分子であるが，マウスでは，in vitro において IL-2 刺激により誘導される Lymphokine-Activated killer (LAK) 細胞が，また in vitro で

は NK 細胞が最も強い LFA-1 発現を示す¹⁾と報告されている。本研究では LFA-1 は T 細胞が発現しているのか又は NK 細胞が発現しているのかは明らかではないが，流産胎盤では LFA-1 陽性細胞，NK 細胞が出現しているが T 細胞は認められないこと，NK 細胞を活性化する γ -IFN を投与すると流産率が増加すること，免疫療法無効群では NK 細胞が活性化されていることなどから，LFA-1 陽性細胞は NK 細胞であろうと考えられる。また流産胎盤で出現する Asialo-GM1 陽性細胞の数は LFA-1 陽性細胞の数よりも圧倒的に多い。LFA-1 は接着分子であることから考えると，NK 細胞は胎盤にて標的細胞と接着していて，その LFA-1 epitope が飽和されているためと解釈できる。

以上のことより習慣流産の原因は blocking antibody の産生障害ではなく，ヘルパー T 細胞を中心とした cell-cell interaction が何らかの原因により破綻し，NK 細胞らのキラー細胞活性を抑制することができないために生じると考えるのが妥当である。つまり妊娠するとヘルパー T 細胞から移植片である胎児を排除すべく NK 細胞を活性化させる命令が出される。しかし，妊娠においては同時に NK 細胞の LFA-1 を抑制する何らかの指令もまた出されていると考えられる。正常妊婦の場合には LFA-1 抑制の方が優位であるため結果的に NK 細胞は抑制されて妊娠が継続する。ここでもし NK 細胞の活性化の方を優位にした場合，つまり γ -IFN を投与した場合には正常妊娠でも流産を起こす。一方，原因不明習慣流産妊婦の場合は，LFA-1 抑制が何らかの原因でうまくできないため，NK 細胞活性化の方が優位となり流産するのではないかと考えられる。しかしなぜ習慣流産では LFA-1 抑制がうまくできないのかは不明である。免疫療法は，指令センターであるヘルパー T 細胞自体を抑制するように作用しており，その IL-2R を抑制することにより，NK 細胞の活性化を優位とすることができず結果的に LFA-1 が抑制され妊娠が継続すると考えられる。したがって，免疫療法によりヘルパー T 細胞が抑制され，それに伴う NK 細胞，マクロファージの

抑制が治療の成否の鍵を握つていると言える。

文 献

1. 西村孝司：LFA分子と免疫応答。Annual areview 免疫, 1988：106, 1988.
2. Aoki, K.：HLA-DR compatibility in couples with recurrent spontaneous abortions. Acta Obst. Gynaec. Jpn., 34：1773, 1982.
3. Aoki, K., Tanaka, H. and Yagami, Y.：Specific immunotherapy for habitual abortion of unknown etiology. Am. J. Reprod. Immunol. Proc., 7：137, 1985.
4. Beer, A.E., Quebbeman, J.F., Ayers, J.W.T. and Hains, R.F.：Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immunoresponses and chronic habitual abortions in humans. Am. Obstet. Gynecol., 141：987, 1981.
5. Caudle, M.R., Rote, N.S., Scott, J.R., Dewitt, C. and Barney, M.F.：Histocompatibility in couple with recurrent spontaneous abortion and normal fertility. Ferti. Steril., 39：793, 1983.
6. Christiansen, O.B., Riisom, K., Lauritsen, J.G. and Grunnet, N.：No increased histocompatibility antigen-sharing in couples with idiopathic habitual abortions. Human Reproduction, 4：160, 1989.
7. Johnson, P.M., Barnes, R.M.R., Risk, J.M., Molloy, C.M. and Woodrow, J.C.：Immunogenetic studies of recurrent spontaneous abortions in humans. Exp. Clin. Immunogenet., 2：77, 1985.
8. Kiger, N., Chaouatm, G., Kolb, J.P., Wegmann, T.G. and Guenet, J.L.：Immunogenetic studies of spontaneous abortion in mice. Preimmunization of females with allogenic cells. J. Immunol., 134：2966, 1985.
9. McLntyre, J.A. and Faulk, W.P.：Recurrent spontaneous abortion in human pregnancy：Results of immunogenetical, cellular, and humoral studies. Am. J. Reprod. Immunol., 4：165, 1983.
10. Mowbyay, J.F., Gibbings, C., Liddel, H., Reginald, P.W., Underwood, J.L. and Beard, R. W.：Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by ommunization with paternal cells. Lancet, 1：941, 1985.
11. Oksenberg, J.R., Persiz, E. and Brautbr, A.A. C.：Maternal-paternal histocompatibility：Lack of association with habitual abortions. Fertil. Steril., 42：389, 1984.
12. Quebbeman, J.F., Semprini, A.E. and Beer, A. E.：Clinical and immunologic consequences of female immunization with paternal leukocytes in couples with recurrent abortion. Fertil. Steril. (Supple.), 22S. 1984.

(No. 7086 平3・10・7受付)