

## 不妊・不育症例における抗核抗体スクリーニングの検討

岡山大学医学部産科婦人科学教室

中塚 幹也    吉田 信隆    長谷川 淳    錦織 恭子  
 平野由紀夫    片山 隆章    新谷 恵司    野間 純  
 清水 健治    工藤 尚文    関場 香

## Antinuclear Antibody Measurement as a Screening Test for Sterile and Infertile Women with Immunological Abnormality

Mikiya NAKATSUKA, Nobutaka YOSHIDA, Atsushi HASEGAWA,

Kyoko NISHIKORI, Yukio HIRANO, Takaaki KATAYAMA,

Keiji SHINTANI, Jun NOMA, Kenji SHIMIZU,

Takafumi KUDO and Kaoru SEKIBA

*Department of Obstetrics and Gynecology, Okayama University Medical School, Okayama*

**概要** 原因不明とされている不妊・不育症例のうちに、自己免疫に関連した原因を見出せる症例があるのではないかと考え、抗核抗体のスクリーニングを施行した。

対象は、男性不妊、染色体異常、子宮奇形など明らかな病因のある症例や、SLE の診断基準を満たす症例を除外した116症例とした。不育を主訴とした症例については、流産又は死産を連続3回以上繰り返したA群 (n=23)、連続2回流産を繰り返したB群 (n=21) の2群に分類し、また不妊を主訴とした症例については、1回流産のみでほかに妊娠歴のないC群 (n=10) と分娩経験があるD群 (n=12)、原発不妊であるE群 (n=50) の3群に分類した。対照群は18~46歳の健常婦人 (n=54) とした。血清中の抗核抗体価を間接蛍光抗体法 (MBL 社 kit) にて測定し、20倍以上を陽性とした。

抗核抗体の陽性率は、A群43.5%、B群38.1%、C群30.0%、D群16.7%、E群22.0%、対照群22.4%であり、A群は対照群に比して有意に高値であつた ( $p<0.1$ )。

また30症例、のべ35回の既往分娩があり、妊娠中毒症の発生率は抗核抗体陽性群では41.7%、陰性群では4.3%で、抗核抗体陽性群で有意に高率であつた ( $p<0.05$ )。早期産の発生率も抗核抗体陽性群で41.7%、陰性群で8.7%で、抗核抗体陽性群で高値の傾向がみられた ( $p<0.1$ )。35週以降の分娩例における出生体重は抗核抗体陽性群で2,976g、抗核抗体陰性群では3,122gであつた。

抗核抗体陽性者では妊娠維持を妨げる免疫学的な機序が不育症の原因となつていることが示唆される。また原発不妊症例中に、比較的抗核抗体価の高い症例が含まれており、これら一部の不妊症例に免疫学的機序が関与している可能性がある。これらの症例の抽出には抗核抗体のスクリーニングが簡便かつ有効である。

**Synopsis** The efficacy of examining antinuclear antibody (ANA) was investigated as a screening test detecting subclinical immune disorders in infertility and sterility.

ANA was measured in 116 unexplained infertile or sterile patients.

The ANA positive rate was 43.5% in group A (habitual abortion, n=23), 38.1% in group B (consecutive miscarriages, n=21), 30.0% in group C (one miscarriage, n=10), 16.7% in group D (one or more deliveries n=12) 22.0% in group E (primary sterility, n=50), and 22.4% in the control group (n=54). The positive rate for all the infertile patients (group A+B) was 40.9% and significantly higher than that in for the control group ( $p<0.05$ ).

Ten patients with positive ANA had 12 deliveries and 20 patients with negative ANA had 23 deliveries. The frequency of preeclampsia in the patients with positive ANA was higher than in those with negative ANA (41.7% versus 4.3%,  $p<0.05$ ). A higher incidence of premature deliveries was recognized in the patients with positive ANA than in those with negative ANA (41.7% versus 8.7%,  $p<0.1$ ). Average birth weight (>35 week) for patients with and without positive ANA was 2,976g (n=8) and 3,122g (n=19)

respectively. The former tends to be smaller than the latter ( $p<0.1$ ).

**Key words:** Antinuclear antigen・Sterility・Infertility・Preeclampsia・Preterm delivery

## 緒 言

SLEは生殖年齢にある女性に好発することから、自己免疫疾患のうちでも比較的妊娠との関係が注目されている。SLE妊婦において流・死産を繰り返す例が多くみられることは以前より知られている<sup>1)</sup>が、原疾患の嚴重な治療、管理により妊娠継続が可能な例が増えつつある。私達は、現在のところ原因不明とされている不妊・不育症例のうち、母体自身は臨床的発病に到らないものの、自己免疫に関連した病態の存在する症例が含まれているのではないかと考え検討してきた。今回は自己免疫疾患領域で広く使用されている検査である抗核抗体価のスクリーニングが、このような不妊・不育症例の抽出に有効かどうかを検討した。また、抗核抗体と既往妊娠における妊娠中毒症や早期産などの発生率についても考察した。

## 研究方法

1990年8月より1991年7月の1年間に当科不妊・不育外来を受診した症例のうち約150名の血清中の抗核抗体価を測定した。このうち、乏精子症など男性不妊因子の考えられる症例、染色体異常、子宮奇形など不妊・不育に関与していると考えられる他の明らかな因子が存在する症例、また臨床的にSLEの診断基準に適合する症例を除外し116名を対象とした。

不育を主訴とした症例については、流産又は死産を連続3回以上繰り返した症例をA群、2回連続して流産を繰り返した症例をB群とし、2群に

分類した。また、不妊を主訴とした症例については、1回流産のみでほかに妊娠歴のない症例をC群、分娩経験がある症例をD群、原発不妊症例をE群とし、3群に分類した。また対照群は内科検診を受診した18～46歳の健常婦人のうち承諾を得た54名とし、同様の測定を施行した(表1)。

測定はHEp-2細胞を使用した間接蛍光抗体法(MBL社 kit)にて行い、20倍希釈以上でも蛍光のみられた場合を陽性と判定した。また蛍光 patternについても分類した。統計学的な検討はStudent's t-test,  $\chi^2$ 検定およびFisherの直接確率法を用いた。

## 研究成績

抗核抗体の陽性率は全体では29.3%であり、A群では43.5%、B群では38.1%、C群では30.0%、D群では16.7%、E群では22.0%であつた。また対照群では22.4%であつた。流・死産回数の多い群ほど抗核抗体の陽性率が高い傾向がみられ、分娩既往のあるD群が最も低値であつた(表2)。不育(連続2回以上の流・死産)を主訴に受診した群であるA、B群をまとめると抗核抗体陽性率は40.9%で、対照群に比して有意に高値であつた( $p<0.05$ )<sup>2)</sup>が、不妊を主訴としていたC、D、E群では、いずれも対照群との有意差は認められなかつた。

各群の抗核抗体価の比率を検討した(図1)。抗体価は20～320倍の範囲であつたが、対照群では320倍陽性者はなく、160倍陽性者も1名のみであ

表1 対象(当科不妊・不育外来受診者)

症 例	例数	年齢 (mean±S.D.)
不育症例		
A群: 習慣性流産 (連続3回以上流・死産)	23	33.4±4.4
B群: 反復流産 (連続2回流産)	21	30.5±3.8
不妊症例		
C群: 続発不妊 (1回流産のみ)	10	37.1±4.7
D群: 続発不妊 (既往分娩あり)	12	31.7±2.2
E群: 原発不妊	50	33.0±4.4
合 計	116	
対照群 (18～46歳の健常婦人)	54	25.4±8.9

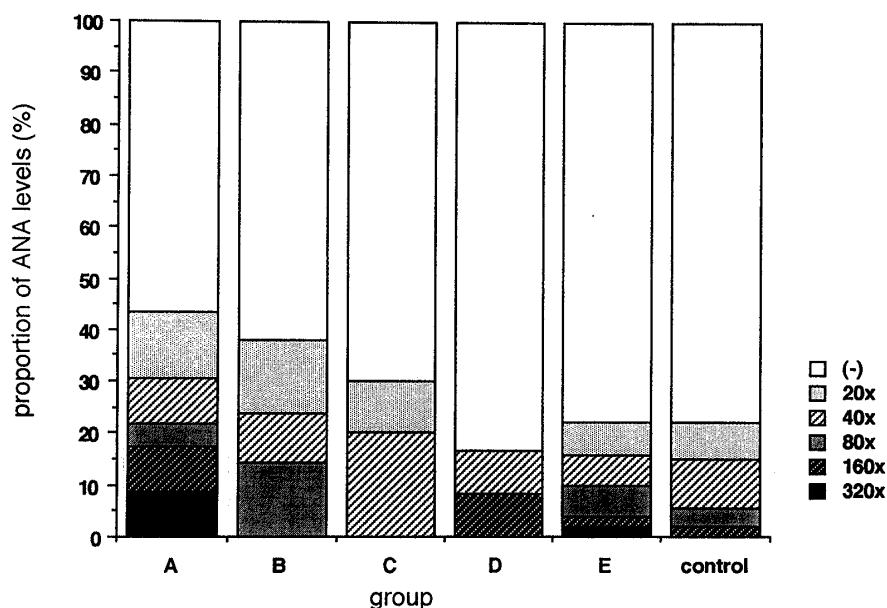


図1 各群における抗核抗体価の比率

表2 抗核抗体 (ANA) 陽性率

症 例	陽性率 (例数)
不育症例	40.9(18/ 44)*
A群: 習慣性流産 (連続3回以上流・死産)	43.5(10/ 23)**
B群: 反復流産 (連続2回流産)	38.1( 8/ 21)
不妊症例	22.2(16/ 72)
C群: 続発不妊 (1回流産のみ)	30.0( 3/ 10)
D群: 続発不妊 (既往分娩あり)	16.7( 2/ 12)
E群: 原発不妊	22.0(11/ 50)
計	29.3(34/116)
対照群	22.4(12/ 54)***

\* $\chi^2$ 検定 ( $p < 0.05$ ), \*\* $\chi^2$ 検定 ( $p < 0.1$ )

つた。

抗核抗体陽性者のうち抗体価が20~40倍と比較的低値の症例が、不妊・不育症群で79.4%、対照群で75.0%といずれも多数を占め、しかも両群とも同等の比率であつた。A群には抗核抗体価の比較的高値例が集積しており、80倍以上の症例の割合が対照群に比して高率の傾向があり ( $p < 0.1$ )、160倍以上の症例は、有意に高率であつた ( $p < 0.05$ )。また原発不妊であるE群には、比較的低値から320倍陽性と高値の症例まで広範囲に含まれていたが、対照群との有意差は認められなかつた。

蛍光の pattern を検討すると(表3), speckled pattern (47.1%), homogeneous pattern (17.6%),あるいは、その両者(20.1%)を同時に認めた症例が多く、全体の84.8%を占めていた。対照群でも同様に speckled pattern (58.3%), homogeneous pattern (25.0%)が大多数(全体の83.3%)を占めていたが、両 pattern を同時に認めた症例はなかつた。また speckled pattern, homogeneous pattern の両者を同時に認めた7症例中、5例は80倍以上の比較的高値症例であつた。

次に、抗核抗体と妊娠継続時に発生する障害との関連について考察するため、全症例の既往分娩について検討した。全体では30症例にのべ35回の分娩があり、そのうち抗核抗体陽性群では10症例(12回)、抗核抗体陰性群では20症例(23回)の既往分娩がみられた。

妊娠中毒症の発生率を比較すると(表4)、抗核抗体陽性群では41.7%、陰性群では4.3%であり、抗核抗体陽性群に妊娠中毒症の発生が有意に高率であつた ( $p < 0.05$ )。

また早期産の発生率についても(表5)、抗核抗体陽性群では41.7%、陰性群では8.7%であり、抗核抗体陽性群に早期産の発生率が高い傾向が認められた( $p < 0.1$ )。抗核抗体陽性群では分娩週数は

表3 抗核抗体の蛍光 pattern

症例	pattern and titer							合 計
	sp.	sp.+homo.	homo.	homo.+nucl.	nucl.	centr.	PCNA	
A群	4	2	2	1	0	1	0	10
B群	4	2	2	0	0	0	0	8
C群	2	0	1	0	0	0	0	3
D群	0	1	1	0	0	0	0	2
E群	6	2	0	0	1	0	2	11
例数 (%)	16(47.1)	7(20.6)	6(17.6)	1(2.9)	1(2.9)	1(2.9)	2(5.9)	34(100)
対照群	7(58.3)	0	3(25.0)	0	2(16.7)	0	0	12(100)

pattern

sp.: speckled, homo.: homogeneous, nucl.: nucleolar, centr.: centromere, PCNA: proliferating cell nuclear antigen

表4 妊娠中毒症の発生率

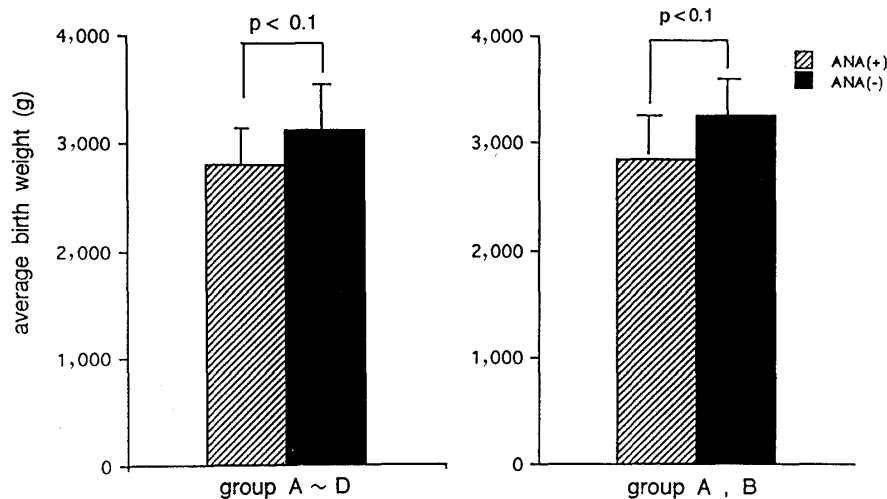
	妊娠中毒症(+)	妊娠中毒症(-)	計
抗核抗体陽性	5(41.7%)	7(58.3%)	12
抗核抗体陰性	1(4.3%)	22(95.7%)	23
計	6(17.1%)	29(82.9%)	35

p=0.02

表5 早期産の発生率

	早期産(+)	早期産(-)	計
抗核抗体陽性	5(41.7%)	7(58.3%)	12
抗核抗体陰性	2(8.7%)	21(91.3%)	23
計	7(20.0%)	28(80.0%)	35

p=0.02

図2 抗核抗体の有無と出生時体重  
左: 全症例 (A~D群), 右: A, B群のみ

34.5±5.65 (mean±S.D.) 週, 陰性群では38.3±3.4週であつた。

出生時体重を両群で比較すると子宮内胎児死亡や死産の多かつた34週以前の分娩を除外すると, 抗核抗体陽性群は2,796±415(mean±S.D.)g(n=8), 陰性群は3,122±427g (n=19) となり, 抗核

抗体陽性群の方が低出生体重の傾向がみられた(p=0.087). このうち, 抗核抗体陽性率の高かつたA, B(不育症)群に限つて検討すると抗核抗体陽性群は平均2,855±412g (n=7), 陰性群は3,266±389g (n=12) となり, さらに抗核抗体陽性群の方が低出生体重が起こりやすい傾向が強

なつた ( $p=0.059$ ) (図 2)。

### 考 案

SLE 症例にみられる反復する流・死産は以前より知られており<sup>2)</sup>、さまざまな免疫学的機序が考えられている<sup>3)~6)</sup>。母体に臨床的な SLE 発症がみられない症例においても、subclinical な免疫機構の破綻が存在し、それが不育症の病因となつている可能性があると考えられる。このような不育症群の一方の延長線上には流・死産を免れた一部の早期産や妊娠中毒症があり、また、逆方向の延長線上に一部の原因不明の不妊症があるとも考えられる。そこで原因不明とされている不妊・不育症例のうち、何らかの免疫学的異常を背景因子として持つていると考えられる群を、自己免疫疾患領域で広く使用されている検査である抗核抗体のスクリーニングにより抽出し、その有効性を検討した。

A 群、あるいは不育症全体 (A, B 群) の抗核抗体陽性率は、対照群に比して高値であり、自己免疫疾患的素因が関与している症例が含まれていることが示唆される。Harger et al. は、SLE の臨床症状がなく first~early third trimester で 2 回以上の流産・死産を繰り返した 120 例中、9 例 (7.5%) に抗核抗体を認めている<sup>7)</sup>が、今回の結果に比してかなり低率である。同報告では control 群の陽性率が 2% であることより測定法又は cut off 値が異なつていると推測される。また、子宮奇形や染色体異常などによる流産症例が含まれていることも低率となつた原因であろう。私達と同様の方法、基準での報告では Schinfeld et al.<sup>8)</sup>は 31 例の 2 回以上の流産、長期の続発不妊、その他の異常妊娠歴を持つ 31 例中 7 例 (22.6%) に、また De La Torre et al.<sup>9)</sup>は 3 回以上の流産症例 20 例中 6 例 (30%) に、抗核抗体を認めている。これらの報告および今回の結果を考慮すると、特に不育 (2 回以上連続流産) を主訴とした症例では、抗核抗体検査が必須であり、1 回流産後、続発不妊のため受診した群でもその経過等より選択的な抗核抗体検査が必要であろう。

蛍光 pattern により核内のどの構成成分に specificity を持つ抗核抗体であるかが推測される

が、今回の検討では不妊・不育症群、対照群とも homogeneous および speckled pattern が多かつた。しかし、不妊・不育症群では両 pattern が同時に検出された例がみられ、2 種類以上の抗核抗体が存在する可能性のあることや、80 倍以上の高値陽性例が比較的多かつたことから、今回使用した間接蛍光抗体法により抗体価、蛍光 pattern を測定することにより、自己免疫的機序の関与の強さを評価できる可能性があると考えられた。さらに追加して検査を施行した一部の症例では、抗 DNA 抗体や、heart block との関連が注目されている抗 SS-A 抗体の陽性例も認められた。しかし現在、抗核抗体も 20 種以上が分類されており、临床上、全例に全検査を施行することは困難であり、その選択には今後の検討が必要である。

妊娠の継続を困難にする代表的疾患である妊娠中毒症の発生率は、今回の対象となつた 116 例全体では 17.1% であり、一般の報告にみられる妊娠中毒症の発生率<sup>10)</sup>と比較しても高率である。不妊・不育症例で妊娠中毒症の発生率が高い結果となつたのは、抗核抗体陽性群での 41.7% という高い中毒症発生率を反映したものと考えられる。De La Torre et al.<sup>9)</sup>も妊娠中毒症 40 例中 6 例 (15%) に、抗核抗体を認めており、妊娠中毒症と抗核抗体との関連が強く示唆される。抗核抗体のみが妊娠中毒症の病態の主役を演じるとは考えにくい。抗核抗体陽性群において、血管内皮、血小板などに障害を及ぼすその他の自己抗体が産生されていたり<sup>11)</sup>、免疫複合体の産生が亢進し、胎盤や腎臓等に沈着する可能性もある。また、細胞性免疫の関与した病態を合併している可能性もある。

今回検討した既往分娩のうち子宮内胎児死亡や死産の多かつた 34 週以前の症例を除外しても、抗核抗体陽性群の方が低出生体重の傾向がみられた。これには抗核抗体陽性群では妊娠中毒症の発生が高率であり、早期産や IUGR (intrauterine growth retardation) が発生しやすいことが影響していると考えられた。

以上、不育症や原発不妊症の患者の一部には抗核抗体陽性者が多く、また抗核抗体陽性妊娠例では妊娠中毒症の発生が多いなど、何らかの免疫学

的な機序が妊娠成立極初期に作用すれば不妊症, 妊娠維持に対して障害となれば不育症や妊娠中毒症の原因となつている可能性が示唆された。さらに, これらの症例の抽出には抗核抗体のスクリーニングが簡便かつ有効であることも示唆された。

# 文 献

1. *El-Roeiy A, Gleischer N, Friberg J, Confino E, Dudkiewicz A.* Correlation between peripheral blood and follicular fluid autoantibodies and impact on in vitro fertilization. *Obst Gynecol* 1987; 70: 163—170
2. *Fraga A, Mintz G, Orzoro J, Orzoro JH.* Sterility and fertility rates, fetal wastage and maternal morbidity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1974; 1: 293—295
3. *Bresnihan B, Grigor RR, Oliver M, Lewkonja RM, Hughes GRV, Lovins RE, Faulk WP.* Immunological mechanism for spontaneous abortion in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1977; II: 1205—1207
4. *Carreras LO, Machin SJ, Deman R, Defreyn G, Vermeylen J, Spitz B, Van Assche A.* Arterial thrombosis, intrauterine death and “lupus” anticoagulant: Detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. *Lancet* 1981; I: 244—246
5. *Grennan DM, McCormick JN, Wojtacha D, Carty M, Behan W.* Immunological studies of the placenta in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1978; 37: 129—134
6. *Scott JS, Maddison PJ, Tayler PV, Esscher E, Scott O, Skinner RP.* Connective-tissue disease, antibodies to ribonucleoprotein, and congenital heart block. *N Engl J Med* 1983; 309: 209—212
7. *Harger JH, Archer DF, Marchese SG, Muracca-Clemens M, Garver KL.* Etiology of recurrent pregnancy losses and outcome of subsequent pregnancies. *Obstet Gynecol* 1983; 62: 574—581
8. *Schinfeld JS, Gupta RC, Dugdalr MD, Piat S, Taslimi M, Sibai BM.* Recurrent reproductive failure-Relationships to lupus anticoagulant and antinuclear antibodies: Problems with methodology and treatment. *Infertility* 1987; 10: 23—26
9. *De La Torre G, Vazquez LH, Vazquez JA, Ornelas R.* Prevalence of antinuclear antibodies in patients with habitual abortion and toxemic pregnancies. *Rheumatol Int* 1984; 4: 87—89
10. 江口勝人, 平松祐司, 米沢 優, 佐伯和彦, 野田清史, 関場 香. 混合妊娠中毒症の疫学. *産婦実際* 1988; 36: 305—311
11. *Rappaport VJ, Hirata G, Yap HK, Jordan SC.* Anti-vascular endothelial cell antibodies in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 138—146

(No. 7334 平5・2・12受付)