

原 著

抗リン脂質抗体陽性妊婦における凝固線溶系動態に関する研究

東京女子医科大学 産婦人科学教室 (主任：武田佳彦教授)

アメリヤ テルコ ナカバヤシ マサオ アダチ トモコ タケダ ヨシヒコ
雨宮 照子・中林 正雄・安達 知子・武田 佳彦

(受付 平成9年6月25日)

**Coagulation and Fibrinolysis in Pregnant Women with
Antiphospholipid Antibodies****Teruko AMEMIYA, Masao NAKABAYASHI, Tomoko ADACHI and Yoshihiko TAKEDA**

Department of Obstetrics and Gynecology (Director: Prof. Yoshihiko TAKEDA)

Tokyo Women's Medical College

We investigated the coagulation and fibrinolysis systems in antiphospholipid antibody (APA) positive pregnant women, and the effects of their purified IgG on cultured human endothelial cells from umbilical cord vein (HUVEC) and human placental trophoblasts.

Anticardiolipin antibody (ACA), antithrombin III (AT III), FDP D-dimer, thrombin-AT III complex (TAT), plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex (PIC), tissue plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and thrombomodulin (TM) were measured in 46 normal and 12 APA positive pregnant women.

Five APA positive pregnancies resulted in fetal loss in women who had no treatment and were ACA positive. Seven resulting in live birth showed lower titers of ACA after treatment with prednisolone and low-dose aspirin. The activities of these patients' coagulation systems were severely elevated while the fibrinolytic systems were not changed. Elevated serum TM, tPA and PAI-1 in the fetal loss group suggested endothelial cell and placental trophoblast damage.

Release of PAI-1 by cultured HUVEC and placental trophoblasts increased with ACA IgG, whereas the amount of TM antigen in HUVEC was decreased by ACA IgG, and the activity of TM in placental trophoblasts was significantly decreased by ACA IgG. Therefore, it is suggested that the coagulation system enhancement in APA positive pregnant women can be explained by partially reduced TM.

緒 言

抗リン脂質抗体 (antiphospholipid antibody : APA) とは細胞膜の主要な構成成分であるリン脂質二重層に対する自己抗体のことであり、ループスアンチコアグラント (lupus anticoagulant : LAC), 抗カルジオリピン抗体 (anticardiolipin antibody : ACA) などは APA の一つである。1985年 Harris らは APA 陽性例に特徴的な臨床所見を報告し、「抗リン脂質抗体症候群」(antiphospholipid antibody syndrome : APS) という

疾患概念を提唱した¹⁾。APS の臨床的特徴として、動静脈血栓症、習慣流産、血小板減少症などが記載されており、産婦人科領域では習慣流産を含む不育症の原因の一つとして APS が近年注目されている²⁾。APS における不育症の病態について、胎盤局所の血栓形成による胎児胎盤循環障害説³⁾が最も有力であるが、その詳細は未だ不明である。

本研究では APA 陽性妊婦における臨床像と凝固線溶系の関連について検討した。更に APA 陽性妊婦における不育症の病態を明らかにするた

め、血管内皮細胞、絨毛細胞の培養系を用いて、抗リン脂質抗体の血栓形成機序への関与について基礎的検討を行った。

対象および方法

1. 抗リン脂質抗体陽性妊婦に対する臨床的検討

対象は1989～1991年に東京女子医科大学病院母子総合医療センターで管理した正常妊婦46例とAPA陽性妊婦12例である。APA陽性妊婦12例を、流死産した5例（流死産群）と生児を得た7例（生産群）の2群に分けて、その臨床経過および治療法について retrospective に解析した。

血中抗体測定ならびに凝固線溶系マーカーの測定は次の方法に従った。

1) 抗リン脂質抗体の測定

抗リン脂質抗体としてLACとACAの測定を行った。LACはprothrombin time (PT) 希釈法で測定し、PT比が3以上の症例をLAC陽性とした。なおPT比3以上の症例については、正常血漿を添加するmixing testを行い、PTが補正されないことを確認した。ACAはMELISA法(Walker laboratory社, UK)で測定し、GPL unit (IgG phospholipid unit) で表現した⁴⁾。正常妊婦(n=46)のACAは 2.2 ± 1.0 GPL u/ml (mean \pm SD)で、正常妊婦はすべてmean \pm 3SDの5.2GPL u/ml未満に分布したため、5.2GPL u/ml以上をACA陽性とした。

2) 抗リン脂質抗体以外の自己抗体の測定

抗核抗体(ANA)は蛍光抗体法で測定し、40倍以上を陽性とし、抗DNA抗体(ADA)はPHA法で測定し、80倍以上を陽性とした。抗SSA抗体(ASSA)はELISA法で測定し、20倍以上を陽性とした。

3) 凝固線溶系マーカーの測定

凝固系マーカーとしてantithrombin III (AT III)をラテックス凝集法(ダイヤヤトロン社)、thrombin-AT III complex (TAT)をEIA法(TATテスト, 帝人)で測定した。線溶系マーカーとして、FDP-D-dimerをELISA法(フジビデオ社)、plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex (PIC)をEIA法(PICテスト, 帝人)で測定した。

血管内皮分子マーカーとしてtissue plasminogen activator (tPA)をELISA法(Biopool社, Sweden)、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)をELISA法(Monozyme社, Denmark)、thrombomodulin (TM)抗原量をELISA法(ELISA kit, 三菱ガス化学)で、thrombomodulin (TM)活性をprotein C-MCA基質法(黒沢らの方法⁵⁾)で測定した。

推計学的有意差検討には χ^2 検定を用い $p < 0.05$ を有意差ありとした。

2. 抗リン脂質抗体の血栓形成機序に関する基礎的検討

1) ヒトIgGの精製

正常妊婦3例およびACA陽性妊婦3例より採血し、血清を0.1M phosphate buffer (pH 8.0)で2倍希釈し、protein A sepharose column affinity chromatographyを用いてIgGを精製した。なお正常妊婦3例のACA値は各々2.0, 2.3, 3.0 GPL u/mlであり、ACA陽性妊婦3例のACA値は各々20.5, 50.9, 90.4 GPL u/mlであった。

2) ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の培養

正期産の正常経膈分娩例より産婦の了解を得て臍帯を採取し、臍帯静脈内をへパリン加生食液および生食液で十分洗浄し、血液を除去した。Jaffeの方法⁶⁾に準じて内皮細胞を分離後、Eagle MEM培養液を用いて、37°C, 5% CO₂+95% air下に細胞がconfluentになるまで培養を行った。

3) 絨毛細胞の培養

正期産の正常妊娠帝王切開例の胎盤より絨毛を採取し、collagenase処理、percol gradient法を用いて分離し、medium 199で 20×10^4 cell/wellに調整して、37°C, 5% CO₂+95% air下で48時間の単層培養を行った⁷⁾。

4) HUVECおよび絨毛細胞へのACA負荷実験

(1) HUVECを用いた負荷実験

培養したHUVECにACA陽性妊婦のIgG (ACA IgG)あるいは正常妊婦のIgG (control IgG)を終濃度15, 30, 60mg/mlになるように添加し、37°C, 5% CO₂+95% air下で、3, 6, 12,

24時間の培養を行った。上清中の PAI-1 を ELISA 法で測定した。更に上清を除去後 HUVEC を 1% triton X で可溶化した後に thrombomodulin (TM) の抗原量を ELISA 法で測定した。各測定は triplicate で行った。

(2) 絨毛細胞を用いた負荷実験

培養絨毛細胞に ACA IgG あるいは control IgG を終濃度 10mg/dl になるように添加し、30分、6時間の培養を行った。HUVEC と同様、上清中の PAI-1 を測定し、上清を除去後、培養絨毛細胞を 1% triton X で可溶化後に TM 抗原量を測定した。また、TM 活性を protein C-MCA 基質法で測定した。なおタンパク定量は Bradford の方法を用いた⁸⁾。各測定は triplicate で行った。

また、(1)、(2)の各実験とも ACA IgG 3 検体、control IgG 3 検体について行いその平均値を示した。

結 果

1. APA 陽性妊婦の臨床像

APA 陽性妊婦 12 例の臨床像を表 1 に示した。

流死産群 5 例の ACA 値は正常妊婦の mean + 3SD である 5.2 GPL u/ml 以上と高値であり、LAC 陽性は 4 例であり、自己抗体である抗核抗体 (ANA) は全例に認められた。流死産群では今回の妊娠中抗リン脂質抗体陽性のための積極的治療を行ったものはなく、妊娠 17~28 週の妊娠中期に

流死産となった。一方生産群 7 例は ACA 値 0.9~4.0 GPL u/ml とほぼ正常域に分布しているが、LAC は全例陽性であった。そのため患者のインフォームドコンセントを得たうえで、7 例中 6 例に積極的治療 (低用量アスピリン療法: 小児用バファリン 81mg/日を妊娠 12 週より連日投与、または低用量アスピリン療法 + プレドニゾロン療法: プレドニン 10~30mg/日を妊娠初期から投与) を行ったところ、5 例に LAC の陰性化を認めた。ANA または抗 DNA 抗体 (ADA) などの自己抗体陽性者は 7 例中 4 例であった。生産群では妊娠 28~39 週で AGA (appropriate for gestational age) の生児を得た。流死産群における母体年齢は 29.2 ± 2.5 歳 (mean \pm SD)、流死産歴は 1.0 ± 1.4 回であり、一方生産群の母体年齢は 29.7 ± 2.6 歳、流死産歴は 1.1 ± 1.1 回で両群間に差を認めなかった。

2. 母体血中凝固線溶系の変化

1) 凝固系パラメーター

凝固系パラメーターの AT III 値と TAT 値を正常妊娠、生産群、流死産群の母体血で測定した (図 1)。

測定時期は分娩または流死産の 1~2 週前の時期であり、流死産群では 20.0 ± 5.8 週 (mean \pm SD)、生産群は 35.8 ± 4.0 週であったので各々の妊娠週数に対応して正常妊婦の 20 週と 36 週の測定値

表 1 抗リン脂質抗体陽性妊婦の臨床像

症例	ACA (GPL u/ml)	LAC	自己抗体	基礎疾患	今回流死 産週数	積極的 治療	
流死産群	1	90.4	+	ANA	—	17w	—
	2	50.9	+	ANA	—	28w	—
	3	6.1	—	ANA	—	28w	—
	4	5.5	+	ANA ADA	SLE	18w	—
	5	5.2	+	ANA ASSA	SLE	17w	—
生産群	1	4.0→1.6	+→-	ADA	—	生産 (36w)	A+P
	2	3.2→1.2	+→-	—	IDDM	生産 (38w)	A
	3	2.8→1.7	+→-	ANA ADA	—	生産 (39w)	A+P
	4	1.0→5.4	+→-	ANA ADA	SLE	生産 (38w)	A+P
	5	2.6→1.7	+→+	—	—	生産 (28w)	—
	6	1.1	+→+	—	—	生産 (36w)	A
	7	0.9	+→-	ANA	RA	生産 (36w)	A+P

ACA: 抗カルジオリピン抗体, LAC: ループスアンチコアグラント, ANA: 抗核抗体, ADA: 抗 DNA 抗体, ASSA: 抗 SSA 抗体, P: プレドニゾロン, A: アスピリン, →: 妊娠中の変化。

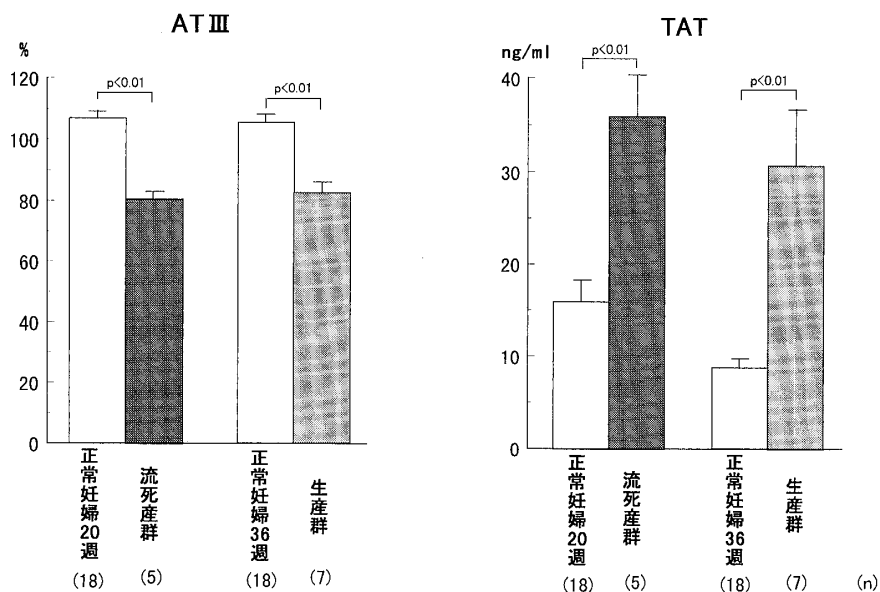


図1 抗リン脂質抗体陽性妊婦の凝固系パラメーター

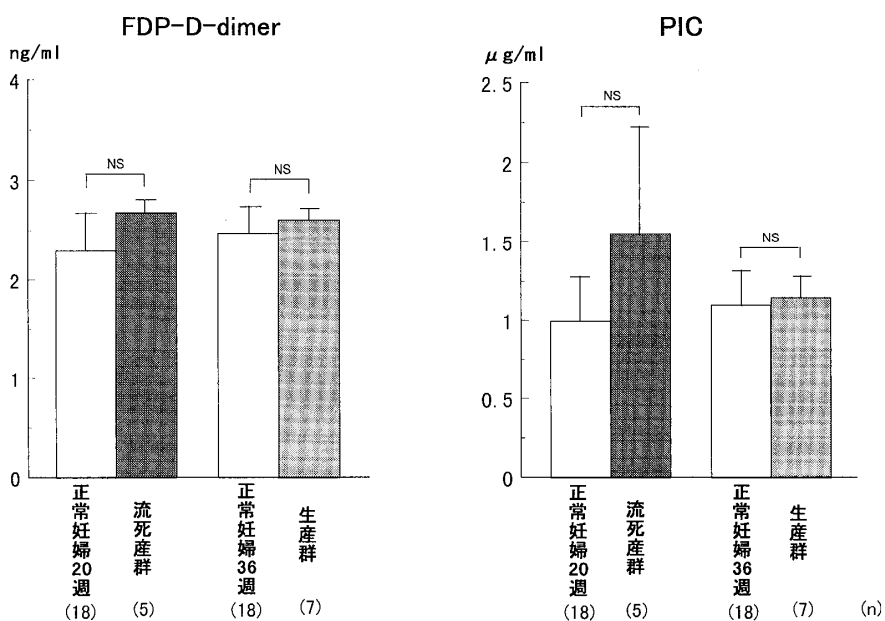


図2 抗リン脂質抗体陽性妊婦の線溶系パラメーター

と比較した。AT III 値は APA 陽性妊婦では生産群 ($82.6 \pm 4.8\%$)、流死産群 ($80.7 \pm 4.6\%$) ともに同時期の正常妊婦 (105.6 ± 4.3 , $106.9 \pm 4.1\%$) に比較して有意に低値を示した。同様に TAT 値は APA 陽性妊婦の流死産群 ($36.0 \pm 8.2\text{ng/ml}$)、生産群 ($30.8 \pm 9.6\text{ng/ml}$) で同時期の正常妊婦 (16.0 ± 2.7 , $8.8 \pm 1.3\text{ng/ml}$) に比較して有意に高値を示した。しかし、APA 陽性妊婦の中の生産群と流死産群では差を認めなかった。

2) 線溶系パラメーター

線溶系パラメーターの FDP-D-dimer 値と PIC 値を正常妊婦、APA 陽性の生産群および流死産群の母体血で測定し、比較した (図 2)。

FDP-D-dimer 値は正常妊婦20週 ($2.30 \pm 0.42\text{ng/ml}$)、36週 ($2.48 \pm 0.35\text{ng/ml}$)、APA 陽性妊婦の生産群 ($2.61 \pm 0.20\text{ng/ml}$)、流死産群 ($2.68 \pm 0.17\text{ng/ml}$) に有意差を認めなかった。また同様に PIC 値も正常妊婦 (1.10 ± 0.22 , $1.00 \pm 0.30\text{ng/}$

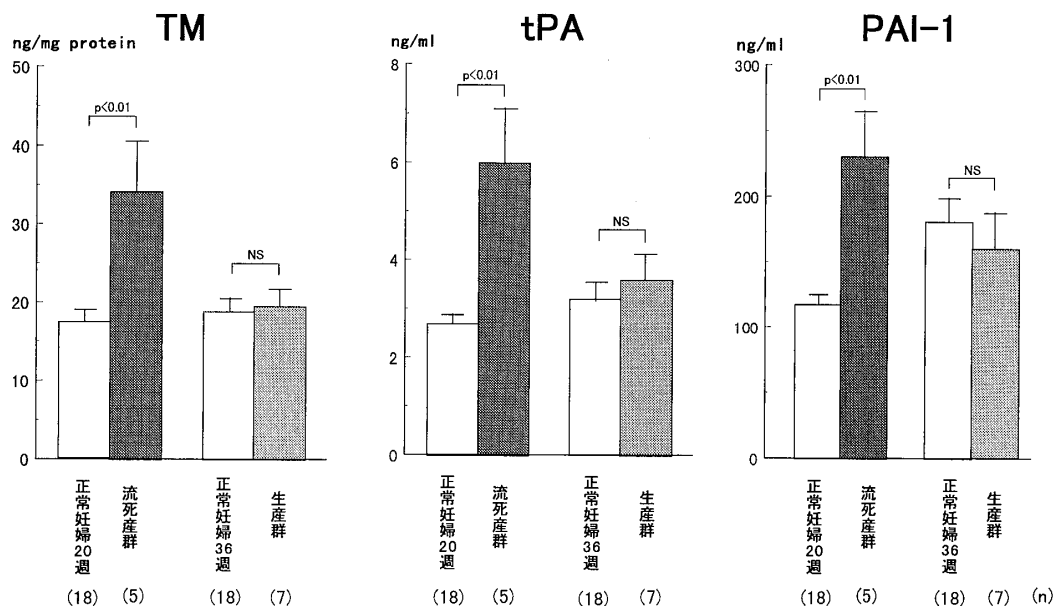


図3 抗リン脂質抗体陽性妊婦の血管内皮分子マーカー

ml) と APA 陽性妊婦の生産群 ($1.15 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$), 流死産群 ($1.56 \pm 0.70 \text{ ng/ml}$) に有意差を認めなかった。

3) 血管内皮分子マーカー

血管内皮分子マーカーの TM 値, tPA 値, PAI-1 値を正常妊婦, APA 陽性の生産群および流死産群の母体血で測定し比較した (図 3)。

血中 TM 値は APA 陽性生産群 ($19.6 \pm 2.4 \text{ ng/mg protein}$) では同時期の正常妊婦 ($18.9 \pm 1.8 \text{ ng/mg protein}$) に比較して差はなく, APA 陽性流死産群 ($34.2 \pm 8.1 \text{ ng/mg protein}$) では同時期の正常妊婦 ($17.4 \pm 1.7 \text{ ng/mg protein}$) と比べて有意に高値を示した。血中 tPA 値も同様に APA 陽性生産群 ($3.62 \pm 0.60 \text{ ng/ml}$) では同時期の正常妊婦 ($3.20 \pm 0.42 \text{ ng/ml}$) と差はなく, APA 陽性流死産群 ($6.00 \pm 1.20 \text{ ng/ml}$) は同時期の正常妊婦 ($2.70 \pm 0.20 \text{ ng/ml}$) と比べて有意に高値を示した。また血中 PAI-1 値も APA 陽性流死産群 ($231 \pm 45 \text{ ng/ml}$) で有意に高値を示した。

3. 培養細胞に対する ACA 負荷による実験的研究

1) HUVEC に対する影響

HUVEC における ACA IgG の PAI-1 産生および TM 抗原量に及ぼす効果を表 2, 図 4 に示した。

培養上清中 PAI-1 は培養 24 時間まで経時的に増加し, ACA IgG (30 mg/ml) を添加したものは control IgG (30 mg/ml) を添加したものより有意に高値を示した。細胞中 TM 量は培養 24 時間まで経時的に減少し, 培養 3 時間までは control IgG (30 mg/ml) 添加と ACA IgG (30 mg/ml) 添加との間に差を認めなかったが, 培養 6 時間以降は ACA IgG を添加したものは control IgG を添加したものより有意に低値を示した (表 2)。

また培養上清中 PAI-1 は培養時間 6 時間で, ACA IgG, control IgG とともに IgG の濃度依存性に増加し, ACA IgG を 15 mg/ml 添加したものは $145 \pm 12 \text{ ng/ml}$, 30 mg/ml 添加では $163 \pm 3 \text{ ng/ml}$, 60 mg/ml 添加では $290 \pm 13 \text{ ng/ml}$ に対し, control IgG を 15 mg/ml 添加したものは $116 \pm 8 \text{ ng/ml}$, 30 mg/ml 添加では $125 \pm 5 \text{ ng/ml}$, 60 mg/ml 添加では $181 \pm 10 \text{ ng/ml}$ であり, ACA IgG では control IgG に比べて培養上清中 PAI-1 は有意に高値を示した。また細胞中 TM 量は培養 6 時間で, ACA IgG は 15~30 mg/ml の範囲, control IgG は 15~60 mg/ml の範囲で IgG の濃度依存性に減少した。ACA IgG を 15 mg/ml 添加したものは $130 \pm 13 \text{ ng/mg protein}$, 30 mg/ml 添加では $70 \pm 10 \text{ ng/mg protein}$, 60 mg/ml 添加では $70 \pm 20 \text{ ng/mg protein}$ に対し, control IgG を 15 mg/ml 添加した

表2 HUVEC における ACA IgG の PAI-1 産生, TM 量に及ぼす効果 (経時的変化)

		0	3	6	12	24hrs
PAI-1 (ng/ml)	ACA IgG (30mg/ml)	0	106±4.4*	162±3*	285±20*	540±9*
	control IgG (30mg/ml)	0	80±10	122±5	200±17	360±10
TM (ng/mg protein)	ACA IgG (30mg/ml)	250±20	220±17	70±16*	40±14*	30±4*
	control IgG (30mg/ml)	264±18	240±20	150±8	115±8	55±6

* : p<0.01, n=3.

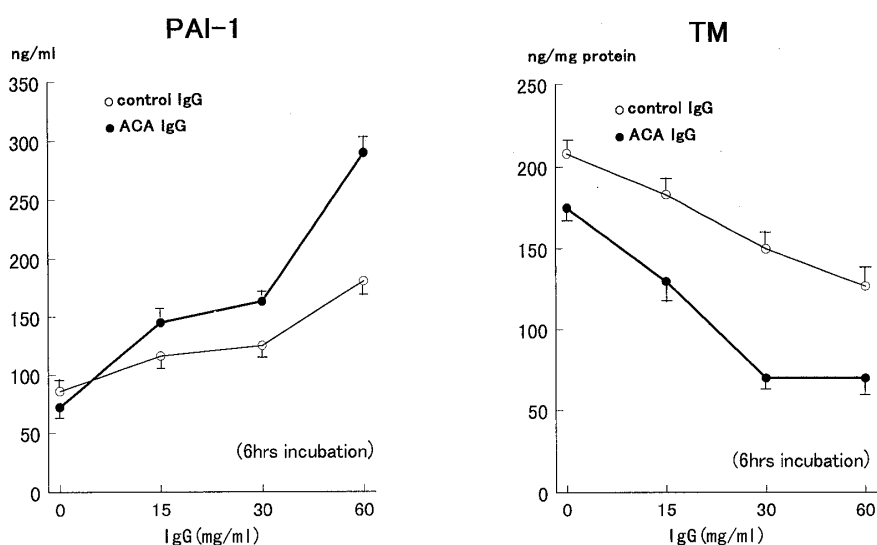


図4 HUVEC における ACA IgG の PAI-1 産生, TM 量に及ぼす効果

ものは183±12ng/mg protein, 30mg/mlでは150±8ng/mg protein, 60mg/mlでは127±18ng/mg proteinであり, ACA IgGではcontrol IgGに比べて細胞中TM量は有意に低値を示した(図4).

2) 絨毛細胞に対する影響

ACA IgGが絨毛細胞のPAI-1産生に及ぼす効果を図5に示した. 培養上清中PAI-1は経時的に増加し, ACA IgG (20mg/ml) 添加で30分培養(25±8ng/ml), 6時間培養(225±8ng/ml)ともにcontrol IgG (20mg/ml) 添加(5±14, 50±24ng/ml)に比較して有意に高値を示した.

ACA IgGが絨毛細胞のTM抗原量, TM活性, TM比活性(単位TM抗原量あたりのTM活性)に及ぼす効果を図6に示した. TM抗原量は経時的に減少し, ACA IgG (20mg/ml) 添加は140±11から95±10ng/mg proteinに減少し, control

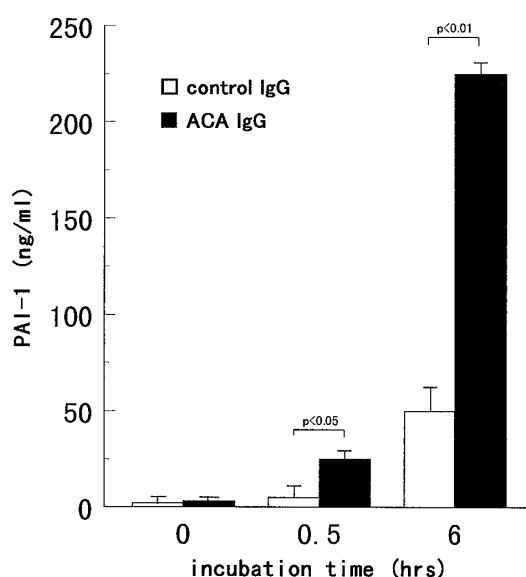


図5 ACA IgGの絨毛細胞のPAI-1産生に及ぼす効果

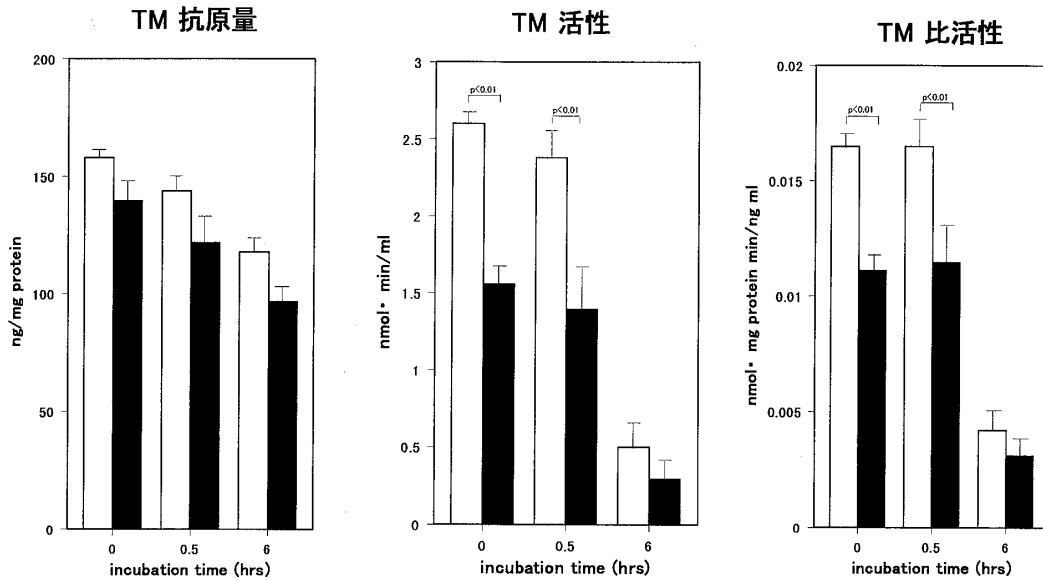


図6 ACA IgGの絨毛細胞のTM抗原量, TM活性, TM比活性に及ぼす効果
IgG: 25mg/ml, □: control IgG, ■: ACA IgG.

IgG (20mg/ml) 添加では 158 ± 8 から 118 ± 7 ng/mg proteinに減少したが, 有意差は認めなかった. TM活性は経時的に減少し, 30分培養でACA IgG添加では 1.40 ± 0.35 nmol·min/mlとcontrol IgG添加の 2.38 ± 0.20 nmol·min/mlに比べ有意に減少した. TM比活性は, 同様に30分培養でACA IgG添加はcontrol IgG添加に比べ有意に減少した.

考 察

APAの一つであるLAC陽性妊婦が流産, 胎内死亡を繰り返し, 習慣流産, 不育症となることはかなり以前から指摘されていた⁹⁾. Branchらの報告¹⁰⁾によればLAC陽性妊婦で生児を得られたのは14%であり, 51%が妊娠前期に流産となり, 29%は妊娠中期に胎内死亡となっており, 無治療のままであれば, 生児を得る確率は低いといわれている. LACやACA陽性のAPA陽性妊婦は自己免疫疾患に準じて, ステロイド療法が有効であることが報告されており¹¹⁾¹²⁾, 更に, その病態から血栓形成抑制を目的として, ヘパリンなどによる抗凝固療法の併用が試みられ, 良好な成績が報告されている¹³⁾¹⁴⁾.

今回我々はAPA陽性妊婦を流産群と生産群に分け, 各々の臨床的背景および凝固線溶系について検討した.

LACに関しては, 流産群は5例中4例陽性で, 生産群は全例陽性であったが妊娠経過中治療により7例中5例が陰性化した. ACAに関しては, 流産群は全例陽性で, 生産群は全例陰性であり, 1例のみ妊娠経過中に陽性となった. 流産群は1989年の症例であり, 積極的治療を行わないうちに流産となった. 生産群は1990年以降の症例であり, 1例は治療前に28週早産となったが, 他は治療により良好な成績を得た. ACA低値が生産につながったのか, 治療による効果なのかは今回の成績のみでは明らかではない. 一方治療の効果について, プレドニンは抗体抑制効果, アスピリンは血栓予防効果があり, ACA値が不変であっても児の予後の改善が期待できると推測された.

CosgriffとMartinはLAC陽性患者のAT III活性が低下していることを報告し¹⁵⁾, 線溶系のtPAはLAC陽性者で低下していることがAngles-Canoらにより報告された¹⁶⁾. また, 線溶系の阻害因子であるPAIに関してFerroらは流産を繰り返すLAC陽性妊婦では, 血中PAIが有意に高値を示したと報告した¹⁷⁾.

今回検討したAPA陽性妊婦では, TAT高値, AT III低値であったことより, 凝固亢進によりTATは増加し, AT IIIは消費され低下したもの

と考えられた。一方、線溶系では FDP-D-dimer, PIC ともに正常妊婦と有意な差を認めなかったことより、線溶系は不変であると考えられた。その結果、母体血液は相対的に凝固優位の状態にあることが示唆された。

TM は生体内では主に血管内皮および絨毛細胞膜表面にトロンビンのリセプターとして存在して血中に生成したトロンビンと複合体を形成してトロンビンの凝固活性を失活させ、さらに protein C を活性化することにより凝固を抑制することが知られている。細胞膜上の TM は凝固抑制の重要な因子であるが、血中に存在する TM は血管内皮細胞が障害され、細胞膜表面の TM が血中に遊離したものである血管内皮分子マーカーの一つと考えられている¹⁸⁾¹⁹⁾。

今回検討した APA 陽性妊婦のうち流死産群では母体血中 TM は高値を示したが、その理由として、胎盤局所で凝固亢進などにより胎盤の絨毛細胞が障害され、絨毛細胞表面に多量に存在する TM が母体血中に流入した可能性が示唆される。

血管内皮分子マーカーである血中 tPA と PAI-1 は種々の血管刺激物質により血管内皮細胞から放出されるが、トロンビンもその刺激の一つとして知られている²⁰⁾。今回の検討では APA 陽性妊婦の流死産群では母体血中 tPA, PAI-1 ともに高値を示したが、その理由として血中トロンビンの上昇、APA による血管内皮細胞刺激などの関与が示唆された。

一方 APA 陽性妊婦の生産群と流死産群を比較することは採血時の週数が異なるので厳密な比較は困難である。しかし、血中 AT III, TAT, FDP, PIC などの液相の凝固線溶系は両群ともコントロール群（正常妊婦20週および36週）に比して同様の成績、すなわち凝固亢進、線溶不変で相対的に凝固優位の状態である。血管内皮分子マーカーについては生産群ではコントロール群とほぼ同値を示しているのに対して、流死産群では上記のように血中 TM, tPA, PAI-1 ともコントロール群に比して高値を示した。これは生産群と流死産群の ACA の抗体価の違い、胎盤局所の絨毛細胞の障害程度の差などが関与するものと推察される。

APA による血栓形成機序について、APA は血管内皮の機能に直接または間接的に作用していると考えられている。Comp や Cariou らは HUVEC を用いてトロンビン存在下での TM による protein C の活性化を測定し、LAC 陽性患者の IgG により有意な低下を示したと報告している^{21)~23)}。また Carreras らは LAC の IgG が PGI₂ 生成を抑制すると報告し²⁴⁾、Schorer らも LAC IgG により内皮細胞においてトロンビン刺激による PGI₂ 遊離が約50%低下したと報告した²⁵⁾。しかし、LAC が内皮細胞から PGI₂ 遊離を抑制しないとの報告もある²⁶⁾。LAC 陽性妊婦において病理学的には胎盤、脱落膜の血栓が認められ、梗塞、壊死をもたらすことが明らかになっている³⁾が、絨毛細胞を用いた実験的研究に関しては報告されていない。

そこで今回 ACA 陽性妊婦の血清が HUVEC および絨毛細胞の凝固線溶系に及ぼす効果を検討した。培養系に ACA IgG を添加することにより、HUVEC, 絨毛細胞ともに上清中 PAI-1 は増加した。これは ACA IgG が血管内皮および絨毛細胞に対して、PAI-1 産生、放出を刺激し、線溶抑制的に作用しているものと推測された。また、HUVEC において ACA IgG 添加により TM 抗原量は減少した。絨毛細胞でも TM 抗原量は減少し、TM 活性は有意に低下した。この機序として、HUVEC では細胞膜上で ACA IgG がリン脂質と抗原抗体反応を起こし、その時に TM も結合して細胞内で分解され、細胞中の TM が減少すると考えられた。また、絨毛細胞では TM のトロンビン結合部位が抗体によって block されて、TM 機能を低下させる可能性が考えられた。

ACA IgG がカルジオリピンに結合するには他の APA と同様に co-factor (β_2 -glycoprotein 1 : β_2 -GPI) が必要であることが1990年に報告された²⁷⁾。血栓症との関係で重要なのは自己免疫疾患で検出される β_2 -GPI 存在下でのみカルジオリピンと結合する β_2 -GPI 依存性 APA であり、梅毒や感染症などで認められる APA は β_2 -GPI 非依存性であり、血栓症との関係は少ないことが知られている²⁸⁾²⁹⁾。今回の実験では精製した ACA IgG

を用いており、 β_2 -GPI は加えておらず、 β_2 -GPI の効果は不明であるが自己抗体陽性であることから多くは β_2 -GPI 依存性であると推測された。

これらの成績から APA 陽性妊婦では、妊娠経過中にその抗体価の推移、凝固線溶系および血管内皮分子マーカーを定期的に検査することが必要である。そして流早産、血栓症の予防のため、プレドニゾンなどによる抗体産生抑制、低用量アスピリン、ヘパリンなどによる抗凝固療法など積極的治療を行う必要がある。更に胎児 well-being の評価を厳重に行い適切な分娩時期を決定し、分娩後には血栓症に対する予防、治療に留意する必要があると思われた。

結 論

1) APA 陽性妊婦12例のうち流死産群 5 例は全例 ACA 陽性で LAC は 4 例陽性で積極的治療を行っていなかった。生産群 7 例は ACA 低値で低容量アスピリンとプレドニゾン療法により LAC は 5 例に陰性化を認めた。

2) APA 陽性妊婦では正常妊婦に比し凝固系は亢進し、線溶系は不変であった。APA 陽性妊婦流死産群で血管内皮分子マーカーは高値を示し、血管内皮および絨毛細胞障害が示唆された。

3) HUVEC, 絨毛細胞に ACA IgG を添加することにより培養上清中 PAI-1 は増加した。また HUVEC では ACA IgG 添加により TM 抗原量は減少し、絨毛細胞においても TM 抗原量は減少し、TM 活性は低下した。

文 献

- 1) Harris EN, Gharavi AE, Hughes GRV: Antiphospholipid antibodies. Clin Rheum Dis 11: 591-609, 1985
- 2) Lockshin MD, Druzin ML, Goli S et al: Antibody to cardiolipin as a predictor of fetal distress or death in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 313: 152-156, 1985
- 3) Wolf FD, Carreras LO, Moerman P et al: Decidual vasculopathy and extensive placental infarction in a patient with repeated thromboembolic accidents, recurrent fetal loss, and lupus anticoagulant. Am J Obstet Gynecol 142: 829-834, 1982
- 4) 山本美保子, 石井啓子, 川合陽子ほか: MELISA Kit を用いた抗カルジオライピン抗体の測定. 臨検 34: 1684-1687, 1990
- 5) Kurosawa S, Aoki N: Preparation of thrombomodulin from human placenta. Tromb Res 37: 353-364, 1985
- 6) Jaffe EA: Endothelial cells and the biology Factor V. N Engl J Med 296: 377, 1977
- 7) Iwashita M, Watanabe M, Adachi T et al: Effect of gonadal steroids on gonadotropin-releasing hormones stimulated human chorionic gonadotropin release by trophoblast cells. Placenta 10: 103, 1989
- 8) Bradford M: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72: 248-254, 1976
- 9) Nilsson IM, Astest B, Hedner U et al: Intra-uterine death and circulating anti-coagulant. Acta Med Scand 197: 153-159, 1975
- 10) Branch DW, Scott JR, Kochenour NK et al: Obstetric complication associated with lupus anticoagulant. N Engl J Med 313: 1322-1326, 1985
- 11) Scott JR, Rote NS, Branch DW: Immunologic aspects of recurrent abortion and fetal death. Obstet Gynecol 70: 645-653, 1987
- 12) Lubbe WF, Butler WS, Palmer SJ et al: Fetal survival after prednisone suppression of maternal lupus anticoagulant. Lancet 1: 1361-1363, 1983
- 13) Rosove MH: Heparin therapy for pregnant women with lupus anticoagulant and anti-cardiolipin antibodies. Obstet Gynecol 75: 630, 1990
- 14) Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F et al: The management of thrombosis in the antiphospholipid antibody syndrome. N Engl J Med 332: 993-997, 1995
- 15) Cosgriff TM, Martin BA: Low functional and high antigenic antithrombin III level in a patient with the lupus anti-coagulant and recurrent thrombosis. Arthritis Rheum 24: 94-96, 1981
- 16) Angles-Cano E, Sultan Y, Clauvel JP: Predisposing factors to thrombosis in systemic lupus erythematosus. J Lab Clin Med 94: 312-321, 1979
- 17) Ferro D, Violi F, Quintarelli C et al: Fibrinolytic balance and lupus anti-coagulant in patients with repeated spontaneous fetal loss. Br Med J 305: 504-505, 1992
- 18) Maruyama I, Bell CE, Majerus PW: Throm-

- bomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and lymphatics, and on syncytiotrophoblast of human placenta. *J Cell Biol* 101 : 363-371, 1985
- 19) **Kurosawa S, Galvin JB, Esmon NL et al** : Proteolytic formation and properties of functional domains of thrombomodulin. *J Biol Chem* 262 : 2206-2212, 1987
 - 20) **中村正雄** : 凝固線溶系からみた妊娠中毒症の発症病態. *日産婦会誌* 40 : 1000-1009, 1988
 - 21) **Comp PC, DeBault LE, Esmon NL et al** : Human thrombomodulin is inhibited by IgG from two patients with non specific anticoagulants. *Blood* 62 : 1099, 1983
 - 22) **Cariou R, Tobelem G, Bellucci S et al** : Effect of lupus anticoagulant on anti-thrombogenic properties of endothelial cells-inhibition of thrombomodulin-dependent protein C activation. *Thromb Haemost* 60 : 54-58, 1988
 - 23) **Cariou R, Tobelem G, Soria C et al** : Inhibition of protein C activation by endothelial cells in the presence of lupus anticoagulant. *N Engl J Med* 314 : 1193-1194, 1986
 - 24) **Carreras LO, Defreyn G, Machin S et al** : Arterial thrombosis, intrauterine death and lupus anticoagulant: Detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. *Lancet* 31 : 244-246, 1981
 - 25) **Schorer AE, Wickham NWR, Watson KV** : Lupus anticoagulant induces a selective defect in thrombin-mediated endothelial prostacyclin release and platelet aggregation. *Br J Haematol* 71 : 399-407, 1989
 - 26) **Peaceman AM, Rehnberg KA** : The immunoglobulin G fraction from plasma containing antiphospholipid antibodies causes increased placental thromboxane production. *Am J Obstet Gynecol* 167 : 1992
 - 27) **Galli M, Comfurius P, Maassen C et al** : Anticardiolipin antibodies (ACA) directed not to cardiolipin but to a plasma protein cofactor. *Lancet* 30 : 1544-1547, 1990
 - 28) **Oosting JD, Preissner KT, Derksen RWM et al** : In vitro studies of antiphospholipid antibodies and its cofactor, β_2 glycoprotein 1, show negligible effects on endothelial cell mediated protein C activation. *Thromb Haemost* 66 : 666-671, 1991
 - 29) **Galli M, Comfurius P, Barbui T et al** : Anticoagulant activity of β_2 -glycoprotein 1 is potentiated by a distinct subgroup of anticardiolipin antibodies. *Thromb Haemost* 68 : 297-300, 1992