

令和 2 年 5 月 20 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11245

研究課題名(和文) 抗リン脂質抗体症候群関連遺伝子に関する国際共同研究

研究課題名(英文) International collaborative Genome-Wide Association Study of Antiphospholipid antibody syndrome

研究代表者

片野 衣江 (Katano, Kinue)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：90305524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：抗リン脂質抗体症候群APSは不育症の原因の一つであり、GWASによりTSHR, C1D, NGF, SYCP2L, HLA-DRA, GATA3, FRMD4A, PTPROが候補遺伝子であることを明らかにした。今回、多施設で収集した14例にシーケンスを行い、検体収集と解析を進めている。APSではアスピリンと未分画ヘパリンUFHが標準的治療である。ダナパロイドは出血、ヘパリン惹起性血小板減少症HIT、骨粗鬆症の副作用が少ないが、有効性は報告がない。産科APS60人91妊娠を対象として、ダナパロイドの有用性を調べた結果、出産率はUFHと同等であり、安全に使用できることが確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗リン脂質抗体症候群は抗凝固療法により70-80%が出産できるが、20-30%は流死産となり、若年性脳梗塞を起こす難治性疾患である。関連遺伝子が明らかになれば新たな分子標的薬の開発が期待できる。現在の抗凝固療法は未分画ヘパリンが用いられているが、出血、ヘパリン惹起性血小板減少症、骨粗鬆症の副作用が問題となる。ダナパロイドはこれらの副作用が少ないことがわかっているが、出産率改善の効果は本研究によって世界で初めて明らかになった。一日一回の自己注射が保険適用されれば患者の利便性が高まる。

研究成果の概要(英文)：Antiphospholipid syndrome (APS) is one of the causes of recurrent pregnancy loss. We found new susceptibility loci in TSHR, C1D, NGF, SYCP2L, HLA-DRA, GATA3, FRMD4A, PTPRO for APS with the use of genome-wide association study. We examined 14 patients with APS and now continue to collect samples and analyze.

Combination of low dose aspirin and unfractionated heparin (UFH) is a standard treatment for APS. Danaparoid has a fewer side effects such as bleeding, heparin induced thrombocytopenia (HIT) and osteoporosis. We examined 91 pregnancies of 60 patients with APS. After excluding 11 miscarriages with abnormal embryonic chromosomes, one chemical pregnancy and one ectopic pregnancy, live birth rates were 87.5% for the danaparoid group, 90.0% for the UFH group and 63.6% for the LDA group, respectively. No patient given danaparoid and one patient with UFH developed HIT. Danaparoid is effective for improving the live birth rate and is safe for patients with APS.

研究分野：不育症

キーワード：抗リン脂質抗体症候群 不育症 TSHR C1D ダナパロイド アスピリン 未分画ヘパリン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

不育症の頻度は5%、3回以上の習慣流産は1.1%である。高頻度で少子化対策に直結しうるが不育症の認知度は低い。我々の教室は約30年の長きにわたって不育症の研究を行っており、本学の不育症研究センターは日本の不育症研究推進のために平成27年4月から6年間文部科学省「**特色のある共同利用・共同研究拠点**」に認定された。

不育症の原因は抗リン脂質抗体症候群 Antiphospholipid antibody syndrome (APS)、子宮奇形、夫婦染色体均衡型転座、胎児染色体数的異常であるが、半数以上が原因不明であるとされてきた。

**染色体均衡型転座**については世界中で流産予防のための着床前診断が実施される中、2004年に自然妊娠でも68%の保因者が出産可能であることを世界に先駆けて報告し、2015年には着床前診断と自然妊娠では流産は減少するが、出産率の有意差はない(67% vs 65%)ことを世界で初めて報告した。

**子宮奇形**に関しても、2010年に手術をしなくても78%が出産可能であることを世界で初めて報告した。世界中で形成手術が実施されており、手術の是非について一石を投じた。

**胎児染色体異常**に関して、散発流産のみならず、不育症においても胎児染色体数的異常が原因であること、既往流産回数が上昇するにつれて成功率は低下することを世界で初めて明らかにした。胎児染色体異常流産が41%を占め、胎児正常の真の原因不明は25%であることも明らかにした。

### **抗リン脂質抗体症候群**

抗リン脂質抗体が陽性で、動静脈血栓症、習慣流産、子宮内胎児死亡、妊娠高血圧症候群を臨床症状とする自己免疫疾患である。偽陽性を除くため抗体が12週間持続した時にAPSと診断する(Miyakis et al. Thromb Haemost 2006)。SLEの約40%にAPSが合併する。

抗リン脂質抗体が原因となる流産予防のためにアスピリン・ヘパリン療法が有効であるが、出産率は70-80%にとどまっている。とくに抗体が複数強陽性の症例では出産率は低く、若年性に脳梗塞、心筋梗塞を起こすこともある難治性疾患である。申請者は $\alpha$ 2glycoprotein I 依存性抗カルジオリピン抗体がその後の子宮内胎児死亡、妊娠高血圧症候群の予知因子であること、ループスアンチコアグラント(LA)が産科APSの予知因子であることを明らかにした。平成22年難治性疾患克服事業(杉浦班)により申請者らはAPSのゲノムワイド関連解析GWASを行った。最終的に155症例の検体を収集し、複数抗体強陽性の115例に絞り込むことでTSHRが関連遺伝子であることを見出した。さらにimputation解析によってCIDとHLA-DQB1\*05:01も有意水準に到達した。さらにNGF, SYCP2L, HLA-DRA, GATA3, FRMD4A, PTPROに有意水準に近いSNPが認められた。しかし、APS複数抗体強陽性の症例は低頻度であり、国内でのこれ以上の検体収集は困難であった。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では国際共同研究により8種類の候補遺伝子についてTaqMan PCR法を用いて症

例対照研究を行い、APS 関連遺伝子を同定することを目的とする。

( 2 ) 現在の日本の標準的治療では未分画ヘパリンが保険適用されているが、出血、ヘパリン惹起性血小板減少症 HIT、骨粗鬆症の副作用のリスクがある。一方、ダナパロイド ( オルガラソン<sup>®</sup> ) はこれらの副作用が少ないことが知られているが、APS に対する有効性は報告がない。産科 APS に対して、未分画ヘパリン、アスピリンと比較して出産率がどの程度かを調べる。

( 3 ) 不育症の認知度は低いですが、流産についても同様であり、米国国民調査では、流産の原因を長期にわたるストレス、ストレスフルな仕事と答えるなどの誤認があることが報告された。愛知県民調査を行い日本人の流産に対する認識を明らかにすることを目的としてアンケート調査を実施した。

### 3 . 研究の方法

#### ( 1 ) 抗リン脂質抗体症候群関連遺伝子

対象症例: 2 回以上の初期流産、子宮内胎児死亡、妊娠高血圧症候群、血栓症の既往があり、Lupus anticoagulant ( LA ) が希釈ラッセル蛇毒法とリン脂質中和法両方とも強陽性の 100 人。夫婦染色体異常、子宮奇形を除外する。年齢、身長、体重、既往流産回数、死産回数、血栓症の有無、SLE の有無、臨床症状、抗カルジオリピン抗体価、希釈ラッセル蛇毒法とリン脂質中和法の測定値の情報を収集する。

正常群: 流産歴がなく出産歴のある健常人女性 100 人 ( 収集済 ) 。

国際共同研究施設 ( 代表者名・施設名および検体人数 )

Stephenson M: Department of Obstetrics and Gynecology, University of Illinois at Chicago, USA ( 20 人 )

Branch W: Department of Obstetrics and Gynecology, University of Utah Health Sciences Center and Intermountain Healthcare, Salt Lake City, UT, USA ( 30 人 )

Bertolaccini, ML: St Thomas Hospital, London, UK ( 20 人 )

Quenby S: Division of Reproductive Health, University of Warwick, UK ( 30 人 )

Atsumi T: Division of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology, Hokkaido University Graduate School of Medicine; Sapporo, Japan. ( 北海道大学膠原病内科教授渥美達也研究協力者 )

遺伝子多型解析: *C1D*, *NGF*, *SYCP2L*, *HLA-DRA*, *GATA3*, *FRMD4A*, *PTPRO*, *HLA-DQB1* の SNP から p 値の低い 20SNP を選択する。

DNA は末梢血中から QIAamp DNA Blood Midi Kit ( QIAGEN, Tokyo ) を用いて抽出する。

プライマーを準備する。

候補 SNP について TaqMan PCR 法を用いてタイピングを行う。

( 2 ) 産科 APS 患者 60 人の 91 妊娠を対象として、ダナパロイド + アスピリン、無分画ヘパリン + アスピリン、アスピリン単独の症例の出産率、副作用を調べた。

( 3 ) 住民台帳を用いて愛知県民 5000 人に調査票を郵送し、回答を返送してもらった。抽選でクオカードを送ることで回答率を上げる計画とした。

### 4 . 研究成果

( 1 ) 国際共同研究では、研究協力の契約は締結したが、倫理委員会の審査等で時間を費やしたため、国内共同研究として現在 26 検体を収集した。14 検体の 8 か所の SNPs のシーケンスを終了した。今後も検体収集し、解析を完了する予定である。

\* 海外における検体収集が倫理委員会などに時間がかかり困難であることから ( 2 ) ( 3 ) の研究を追加した。

( 2 ) 染色体異数性流産 11 例、生化学妊娠 1 例、異所性妊娠 1 例を除外して、ダナパロイド群 87.5 % ( 14/16 ) 、未分画ヘパリン群 90.0% ( 36/40 ) 、アスピリン単独群 63.6 % ( 14/22 ) がそれぞれ出産に至った。ダナパロイドと未分画ヘパリンの出産率は同等であり、アスピリン単独よりも高い傾向が得られた ( OR 4.0, 95% CI 0.72-22.22 and 5.15, 1.33-20.00 ) 。未分画ヘパリン群で HIT 1 例 ( 死産 ) 、腰椎の圧迫骨折 1 例がみられたが、ダナパロイドでは重篤な副作用は認めなかった。ダナパロイドは未分画ヘパリンの代わりに安全に使用しうると考えられた。

Yoshihara H, Sugiura-Ogasawara M, Kitaori T, Katano K, Ozaki Y. Danaparoid is effective and safe for patients with obstetric antiphospholipid syndrome. *Mod Rheumatol*. 2019; 29: 1-6.

( 3 ) 1219 人で解析を行った。流産の原因を「染色体異常などの遺伝学的要因」と正答したのは 62% であり、「長期にわたるストレス」、「ストレスフルな出来事」、「重いものを持つ」を誤答したのは 75%、65%、49% であり、性別、年齢、流産経験、学歴が有意に正解率や誤答率に關与していた。65% が流産の頻度を実際の 15% より低いと回答した。流産経験者では流産を罪に感じ、防ぐことができたと思う者がいた。日本人の流産の知識が乏しく、啓発が必要と思われた。これらの成果は読売新聞、朝日新聞に報道された。

Banno C, Sugiura-Ogasawara M, Ebara T, Ide S, Kitaori T, Sato T, Ando K, Morita Y. Attitude and perceptions toward miscarriage: a survey of a general population in Japan. *J Hum Genet*. 2020; 65: 155-164.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshihara Hiroyuki, Sugiura-Ogasawara Mayumi, Kitaori Tamao, Katano Kinue, Ozaki Yasuhiko	4. 巻 29
2. 論文標題 Danaparoid is effective and safe for patients with obstetric antiphospholipid syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2019.1602241	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Banno Chihiro, Sugiura-Ogasawara Mayumi, Ebara Takeshi, Ide Shoko, Kitaori Tamao, Sato Takeshi, Ando Kiwamu, Morita Yoko	4. 巻 65
2. 論文標題 Attitude and perceptions toward miscarriage: a survey of a general population in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 155~164
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1038/s10038-019-0694-1">https://doi.org/10.1038/s10038-019-0694-1</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sugiura Ogasawara Mayumi, Ebara Takeshi, Matsuki Taro, Yamada Yasuyuki, Omori Toyonori, Matsumoto Yosuke, Kato Sayaka, Kano Hirohisa, Kurihara Takahiro, Saitoh Shinji, Kamijima Michihiro, Sugiura-Ogasawara Mayumi, and the Japan Environment & Children's Study (JECS) Group	4. 巻 119
2. 論文標題 Endometriosis and Recurrent Pregnancy Loss as New Risk Factors for Venous Thromboembolism during Pregnancy and Post-Partum: The JECS Birth Cohort	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Thrombosis and Haemostasis	6. 最初と最後の頁 606-617
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1055/s-0039-1677733	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sugiura Ogasawara Mayumi, Ebara Takeshi, Yamada Yasuyuki, Shoji Naoto, Matsuki Taro, Kano Hirohisa, Kurihara Takahiro, Omori Toyonori, Tomizawa Motohiro, Miyata Maiko, Kamijima Michihiro, Saitoh Shinji, Japan Environment, Children's Study (JECS) Group	4. 巻 81
2. 論文標題 Adverse pregnancy and perinatal outcome in patients with recurrent pregnancy loss: Multiple imputation analyses with propensity score adjustment applied to a large scale birth cohort of the Japan Environment and Children's Study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Reproductive Immunology	6. 最初と最後の頁 e13072~e13072
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/aji.13072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sugiura-Ogasawara Mayumi, Omae Yosuke, Kawashima Minae, Toyo-Oka Licht, Khor Seik-Soon, Sawai Hiromi, Horita Tetsuya, Atsumi Tatsuya, Murashima Atsuko, Fujita Daisuke, Fujita Tomio, Morimoto Shinji, Morishita Eriko, Katsuragi Shinji, Kitaori Tamao, Katano Kinue, Ozaki Yasuhiko, Tokunaga Katsushi	4. 巻 62
2. 論文標題 The first genome-wide association study identifying new susceptibility loci for obstetric antiphospholipid syndrome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 831 ~ 838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/jhg.2017.46	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Yoshihara H, Sugiura-Ogasawara M, Banno C, Kitaori T, Ozaki Y, Katano K, Suzumori N.
2. 発表標題 Danaparoid is effective and safe for patients with obstetric antiphospholipid syndrome.
3. 学会等名 34th Annual meeting of ESHRE (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Goto S, Ozaki Y, Ozawa F, Blomgren K, Sugiura-Ogasawara M
2. 発表標題 Role of IL-33 and cathepsin G in cervical mucus of patients with recurrent miscarriage.
3. 学会等名 3d world congress of recurrent pregnancy loss. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshihara H, Sugiura-Ogasawara M, Goto S, Kitaori T, Suzumori N, Katano K, Ozaki Y.
2. 発表標題 Danaparoid can be used instead of unfractionated heparin in patients with obstetric antiphospholipid syndrome.
3. 学会等名 3d world congress of recurrent pregnancy loss. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 少子化時代の妊娠と不妊・流産女性の心のケア
3. 学会等名 第30回医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 エビデンスに基づいた不育症・習慣流産の診療
3. 学会等名 第18回鳥取若手不妊の会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 PGSからPGT-A- ~ 着床前胚染色体異数性検査をめぐる国内外の動き
3. 学会等名 日本産科婦人科学会PGT-Aシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 不育症のエビデンス
3. 学会等名 第4回南房総不妊研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 不育症のエビデンス
3. 学会等名 Werfen血液凝固セミナー in 大阪
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 不育症・不妊症治療の現状と課題
3. 学会等名 第21回長野県母子衛生学会特別講演
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 不育症のエビデンス
3. 学会等名 Werfen血液凝固セミナー in 東京
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 患者に寄り添う愛護的な流産手術：手動真空吸引法（MVA）～従来法との違い～
3. 学会等名 第63回日本生殖医学会ランチョンセミナー3
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 ようやく妊娠したと思ったら、、、流産や死産になったとき
3. 学会等名 日本不妊カウンセリング学会カウンセリングセミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉原紘行、大前陽輔、杉浦真弓、村島温子、藤田太輔、藤田富雄、北折珠央、片野衣江、尾崎康彦
2. 発表標題 ゲノムワイド関連解析を用いた産科抗リン脂質抗体症候群の新たな関連遺伝子の探索
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 あきらめない、妊娠と出産～最先端治療とメンタルケア～
3. 学会等名 不育症そだってねネット宮城
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugiura Ogasawara M
2. 発表標題 The genome-wide association study identifying TSHR and C1D as new susceptibility loci for obstetric antiphospholipid syndrome.
3. 学会等名 The 2nd World Congress on Recurrent Pregnancy Loss. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 免疫学的不育症発症機序-ループスアンチコアグラントと関連遺伝子
3. 学会等名 第35回日本受精着床学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉浦真弓
2. 発表標題 習慣流産における遺伝診療
3. 学会等名 第3回日本産科婦人科遺伝診療学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 片野衣江
2. 発表標題 女性ホルモンとカラダの変化
3. 学会等名 女性の健康フェスタ 健康セミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 杉浦 真弓	4. 発行年 2017年
2. 出版社 金芳堂	5. 総ページ数 233
3. 書名 エビデンスに基づいた不育症・習慣流産の診療	

〔産業財産権〕

〔その他〕

文部科学省共同利用・研究研究拠点名古屋市立大学不育症研究センター  
[http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/w3med/news/obgyne\\_event17\\_01.html](http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/w3med/news/obgyne_event17_01.html)  
 日本不育症学会  
<https://www.jsrpl.jp/>  
 不育症のみなさんへ  
<https://www.nagoyacumedobgyn.com/blank-21>  
 2019年4月4日朝日新聞夕刊  
 2019年5月15日読売新聞夕刊

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	杉浦 真弓  (Sugiura-Ogasawara Mayumi)  (30264740)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授    (23903)	
研究 協 力 者	吉原 紘行  (Yoshihara Hiroyuki)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教    (23903)	