

【第 119 回成医学会総会特別講演】

## 免疫学的妊娠維持機構

—— 母と児のクロストーク ——

東京慈恵会医科大学産婦人科学講座

田 中 忠 夫

### POSSIBLE MECHANISMS FOR IMMUNOLOGICAL MAINTENANCE OF PREGNANCY —— MATERNAL-FETAL CROSSTALK ——

Tadao TANAKA

*Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University School of Medicine*

Pregnancy is a paradoxical phenomenon from the view point of transplantation-immunology. Why is the fetus as an allograft not rejected by the maternal immune response? An exquisite immunological mechanism certainly functions to maintain pregnancy, and differences in immune responses between normal pregnancy and recurrent spontaneous abortion of unknown cause may provide clues to clarify this mechanism.

We studied changes in the maternal immune response, particularly the human leucocyte antigen (HLA) system, in normal pregnancy and recurrent first-trimester abortion. We found that blocking antibodies, such as anti-HLA antibodies and anti-idiotypic antibodies specific to paternal (fetal) antigens, were usually present in normal pregnancy but were rarely present in recurrent abortion. We performed immunotherapy by means of inoculation with paternal lymphocytes for women who had had recurrent abortions. In this treatment the maternal immune response is artificially controlled to stimulate production of these antibodies. We found that women who had produced antibodies could successfully maintain pregnancy.

These results suggest that the maternal immune-system recognizes fetal antigens from the early stage of pregnancy and that this response does activate immunosuppressive mechanisms to defend the fetus from maternal immune rejection.

(Tokyo Jikeikai Medical Journal 2003; 118: 229-41)

Key words: immunology, pregnancy, recurrent abortion, HLA system, blocking antibody

#### I. 緒 言

生きるものすべて、ことにヒトをはじめとする哺乳類、胎生動物の存続には妊娠という生殖現象が欠かせないのであるが、妊娠は免疫学的な立場からみると実に逆説的な現象である。すなわち、移植免疫学的にみると、両親からの遺伝子を半分ずつ受け継ぎ、母体内で発育する胎児は拒絶されない同種移植片であり、妊娠は最も成功した自然の

移植モデルと言われる所以である。

一卵性双生児の兄弟を除き、通常血縁者や非血縁者からの腎臓・皮膚などの移植組織片は、免疫抑制剤を使用しない限り、宿主の免疫応答によりおおむね1週間には脱落してしまう。同種移植片の拒絶反応である。ところが、宿主の免疫応答の結果が及ばないようにみえる唯一の移植片がある。それが胎児の組織である。胎児組織は胎盤のところで母体組織と密接にそして広範に接触し、

実際上一体となっている。普通ならばひどい反応が起こりそうな状態なのに、母体内の胎児はずっと上首尾に生き続けて行く。ヒトをはじめとするすべての哺乳動物の生殖はそれを頼みにしているのであるが、このパラドックスはしばしば見過ごされてきた。というのは、もともと哺乳動物の生殖を移植過程だと認識することがなかったからである。

通常の外科的移植片の場合には拒絶されてしかるべき同種移植片としての胎児が、一定期間上首尾に維持されるように自然の工夫した免疫学的仕組みはどのようなものなのであろうか。そこには拒絶反応を克服できるもう一つ高次の仕組みが進化上胎生動物の免疫系に発達し、それが有効に機能しているに違いないことを物語っている。本論文では、母児間の免疫学的認識機構の基本をなす、主要組織適合性抗原の関与する免疫応答の変化を中心として、同種移植片としての胎児が維持される仕組み（妊娠維持機構）について、基礎的・臨床的検討から得られた知見を交えて概説する。

## II. 免疫学的妊娠維持機構の考え方の変遷

### 1. 胎児はなぜ免疫学的に拒絶されないのか

#### — Medawar の仮説 —

1953年、イギリスの免疫学者である Medawar 卿は妊娠維持機構について初めての免疫学的な考察を行ない、3つの可能性を提唱した<sup>1)</sup>。すなわち、1) 母体と胎児は胎盤によって解剖学的に隔てられ、母体の免疫応答が胎児に及ばない。2) 胎児組織の抗原性が未熟なために、効果的な母体の免疫応答が起こらない。3) 妊娠の生理学的変化によって母体の免疫系が抑制され、免疫応答性が低くなっている。というものであり、要約すると、胎児抗原に対する母体の免疫応答性がないか、あるいは低いために拒絶反応が引き起こされず、妊娠が維持されるとした。今では、これらの仮説はそのままでは受け入れられていないが、その後の研究の方向性を示す先見的な提言であった。

### 2. 胎児の抗原で感作される母体の免疫系

受精卵が着床してから、胎児はその生存中の全段階において同種移植片とみなすことができる。その明白な証拠は次ぎの二つの事実に認めることができる：第一は、母体の免疫系は妊娠の極初期

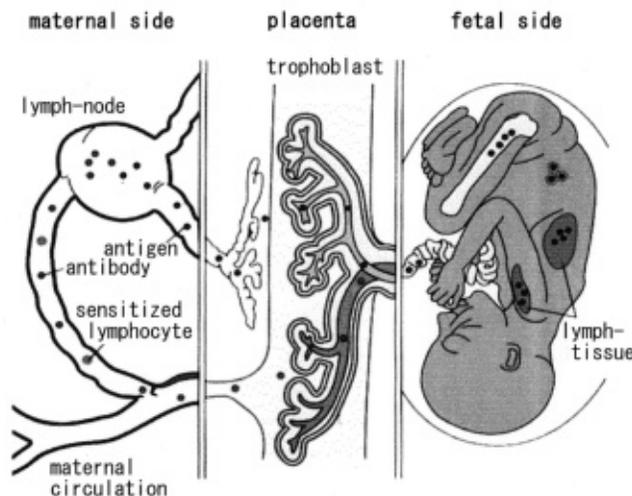


Fig. 1 Maternal immune-system sensitized by fetal antigens.

Maternal immune-system responds to fetal antigens, and then produces antibodies and sensitized-lymphocytes specific to the antigens. Fetal cells such as lymphocytes can move into maternal circulation through placenta, demonstrating in the case of pregnancy with blood-type incompatibility between mother and fetus.

In recent years, non-invasive prenatal diagnosis using fetal cells in maternal blood has been studied.

から胎児の移植抗原の刺激に応答し、特異的な抗体を産生することである。第二は、子宮組織液を輸入する局所リンパ節と傍大動脈リンパ節が腫大し、それらリンパ節から胎児移植抗原と特異的に反応するリンパ球が検出されることである (Fig. 1)。

### 3. 免疫学的妊娠維持機構 — 最近の考え方 —

そして現在では、母体は受精後の早期から胎児抗原を認識しており、その結果として誘導されるいわゆる遮断抗体による拒絶反応の抑制機構、あるいは産生されるサイトカイン・ホルモンなどによる抑制機構、また、サイトカインによる絨毛組織に対する増殖促進機構、さらに Th1/Th2 リンパ球のバランスのとれた仕組みが、妊娠維持に関わる免疫学的機構として重要であることが明らかになってきている。

すなわち、拒絶反応の抑制機構であれ増殖促進機構であれ、それらの機構が作動するためには、まず母体が胎児抗原を認識すること — 母と児の密接な会話 (クロストーク) — から始まらねばならないのである。

## III. 免疫応答と HLA 抗原

### 1. 外来物質の摂取と排除

1672年にペルシャで描かれた人体の機能系の解剖図である (Fig. 2)。ヒトは食餌物質の摂取と排除のため、消化機能系・循環機能系・排泄機能系を発達させたが、食餌を含む外来物質には細菌やウイルスのような病原微生物など、生体にとって有害なものが無数に存在する。したがって、それらの有害な外来物質を処理して生体を防御する機能を分担する免疫系は、生体が本来から発達させなければならなかった機能系であるといえる。その機能を営むためには、まず排除すべき異質な相手 (非自己) と守るべき組織 (自己) とを正確に区別するという過程、ついで区別した相手を処理し排除するという過程、そしてそれらの過程を調節する機構が必要である。

それではどのようにして自己と非自己を識別するのか。自己と非自己を区別するには何か目印が必要である。非自己には自己にはない何かがあるから非自己だと判る。その目印となる物質のことを抗原といい、そのような抗原を T リンパ球およ

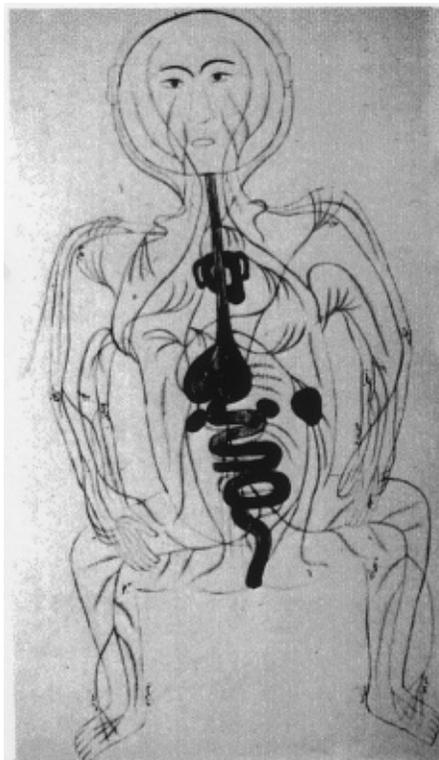


Fig.2 Ingestion and exclusion of the foreign substances.

Human being has developed required functions such as ingestive, circulatory, and exclusive systems in order to ingest and exclude the food. Furthermore, immune-system has been developed essentially to treat harmful substances including the food. (Persian diagram of the circulatory system, from a manuscript dated 1672.)

び B リンパ球の表面にある抗原レセプターで認識する。

### 2. 主要組織適合性遺伝子複合体

移植拒絶反応に関わる細胞上の同種抗原を組織適合抗原といい、そのおもなものを支配する遺伝子の遺伝子座はいくつか存在し、それらは染色体上の一定部位に集まっている。これを主要組織適合性遺伝子複合体 (MHC) といい、ヒトの場合 HLA (human leucocyte antigen) と呼び、HLA 遺伝子複合体は第 6 染色体の短腕上に位置する。これにコードされる HLA 抗原には、HLA-A, B, C, E, F, G という class I 抗原と呼ばれるものと、HLA-DP, DQ, DR という class II 抗原と呼ばれるものがある。class I 抗原はヒトのすべての有核

Table 1. HLA locus and genes.

HLA							
class II				class I			
DP	DQ	DR	D*	B	C	A	
DPw1	DQw1	DR1	Dw1	B5	B51 (5)	Cw1	A
DPw2	DQw2	DR2	Dw2	B7	Bw52 (5)	Cw2	A2
DPw3	DQw3	DR3	Dw3	B8	Bw53	Cw3	A3
DPw4	DQw4	DR4	Dw4	B12	Bw54 (w22)	Cw4	A9
DPw5	DQw5 (w1)	DR5	Dw5	B13	Bw55 (w22)	Cw5	A10
DPw6	DQw6 (w1)	DRw6	Dw6	B14	Bw56 (w22)	Cw6	A11
	DQw7 (w3)	DR7	Dw7	B15	Bw57 (17)	Cw7	Aw19
	DQw8 (w3)	DRw8	Dw8	B16	Bw58 (17)	Cw8	A23 (9)
	DQw9 (w3)	DR9	Dw9	B17	Bw59	Cw9 (w3)	A24 (9)
		DRw10	Dw10	B18	Bw60 (40)	Cw10 (w3)	A25 (10)
		DRw11 (5)	Dw11 (w7)	B21	Bw61 (40)	Cw11	A26 (10)
		DRw12 (5)	Dw12	Bw22	Bw62 (15)		A28
		DRw13 (w6)	Dw13	B27	Bw63 (15)		A29 (w19)
		DRw14 (w6)	Dw14	B35	Bw64 (14)		A30 (w19)
		DRw15 (2)	Dw15	B37	Bw65 (14)		A31 (w19)
		DRw16 (2)	Dw16	B38 (16)	Bw67		A32 (w19)
		DRw17 (3)	Dw17 (w7)	B39 (16)	Bw71 (w70)		Aw33 (w19)
		DRw18 (3)	Dw18 (w6)	B40	Bw70		Aw34 (10)
			Dw19 (w6)	Bw41	Bw72 (w70)		Aw36
		DRw52	Dw20	Bw42	Bw73		Aw43
			Dw21	B44 (12)	Bw75 (15)		Aw66 (10)
		DRw53	Dw22	B45 (12)	Bw76 (15)		Aw68 (28)
			Dw23	Bw46	Bw77 (15)		Aw69 (28)
			Dw24	Bw47			Aw74 (w19)
			Dw25	Bw48	Bw4		
			Dw26	B49 (21)	Bw6		
				Bw50 (21)			

細胞と血小板の細胞膜に表現されており，class II 抗原は樹状細胞，マクロファージ，精子，Bリンパ球など限られた細胞だけに存在する。HLA-A, B, C, DR 抗原はいずれも体液性免疫応答を引き起こす強力な同種抗原である。つまり，タイプの異なった抗原を担った細胞や組織が移入されると，たとえば，輸血・臓器移植そして妊娠などによりヒトはこれらの抗原に対して特異的な抗体（抗 HLA 抗体）を産生する。HLA 遺伝子産物の特徴は著しい数の変異体の存在である。Table 1 に示すように，class I 抗原，class II 抗原ともに各遺伝子座において極めて多数の対立遺伝子が存在する。ヒトは 2 本の相同染色体上の対立遺伝子と

してその中の 2 つを持っている。したがって，その組合せは天文学的な数となり，それゆえに，それらの抗原性すべてが個人間で一致する確率は非常に低く，非自己と自己の識別に役立つわけである。

### 3. HLA ハプロタイプの遺伝様式

HLA の各遺伝子座は近接して存在するので，一本の染色体上の各遺伝子座は通常そのままのセット（ハプロタイプ）として親から子に伝えられ，その結果として，子供は両親のハプロタイプの半分づつを持つことになる（Fig. 3）。その多型性ゆえに，将来父親と母親になる二人のタイプが同じ確率はゼロに近いはずであり，したがって母

児間の HLA 抗原タイプは 99% 以上が不適合である。すなわち、母児間の同種抗原性はほとんど遺伝的に異なっており、したがって、そこには非自己である胎児を拒絶・排除しようとする何らかの免疫応答が起こってくるはずである。

4. T 細胞, B 細胞による抗原認識と免疫応答の制御

リンパ球の一つである T 細胞は抗体の関与なしに細胞性免疫機能を担当し、細胞傷害 T 細胞へと分化し、侵入してきた自己と異なる抗原を持つ細胞・組織を破壊する。ここで大切なことは、抗

原と反応するにあたって、CD4 を持つもの (T-helper 細胞) は HLA-class II 抗原を、CD8 を持つもの (T-cytotoxic 細胞/T-suppressor 細胞) は HLA-class I 抗原を利用することである。もう一つのリンパ球, B 細胞は抗体の働きによる体液性免疫機能を担当し、侵入してきた他の抗原に反応し、それに対する抗原レセプター (抗体) を大量に作り遊離して相手に結合させるが、その際、T 細胞レセプターのように HLA 抗原との関連 (拘束性) はない。

抗原の侵入後、急激な免疫応答が生じる。しかし、必要な程度の反応がおさまれば、それ以上無駄な過剰な反応が続かないように制御する必要がある。それには、抑制 (suppressor) T 細胞あるいは抗イデオタイプ (idiotype) 抗体と呼ばれる免疫抑制体による制御機構が働いている。

抗イデオタイプ抗体は重要な免疫応答制御機構である。抗体分子は各々固有の抗原結合部位を持っており、それはまた抗原としての性質を持つ、これをイデオタイプという (Fig. 4)。すなわち、抗原の侵入に対しそれに対する抗体が作られると、最初のごく微量であった抗体のイデオタイプは急激に増加することになり、それがあたかも免疫したと同じ効果を現しそのイデオタイプに対する抗体が作られる。これを抗イデオタイプ抗体といい、前の抗体の産生を抑える。さらに抗イデオタイプ抗体のイデオタイプに対する抗体も作られ、次々とその様な反応が連なっていく。これをイデオタイプネットワークという。

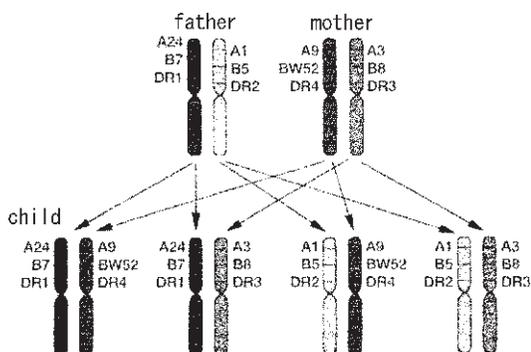


Fig. 3 Hereditary manner of HLA antigens. HLA antigens inherit by way of haplotype. The compatibility of HLA antigens between the parent is low, consequently the compatibility between mother and fetus is extremely low, more than 99%. In other words, allo-antigenicity between mother and fetus is different, and then maternal immune-responses to reject and exclude the fetus as not-self ought to be occurred.

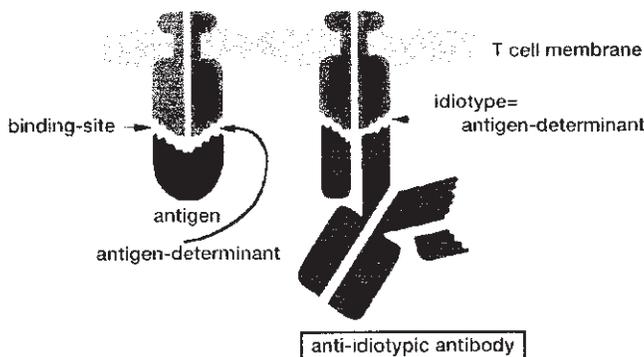


Fig. 4 Idiotype and anti-idiotypic antibody. Idiotype is defined as an antigen-determinant site that acts as an antibody-binding site to another antigen. Anti-idiotypic antibody is the antibody to the idiotype. Figure shows anti-idiotypic antibody against T-cell receptor.

このように、個体は非自己の抗原の侵入に対して、それを認識、排除する方向へ向かう。しかし、それらの免疫応答を過不足なく調節する機構も存在しているのである。

#### IV. 免疫学的妊娠維持機構の検討

HLA 抗原系の関与する移植免疫応答が妊娠の維持にどのように関与しているのかを明らかにするため、免疫学的妊娠維持機構が破綻しているのではないかと考えられる、いわゆる原因不明の習慣流産（不育症）症例を対象として、その免疫応答性を検討し、そして人為的に母体の免疫応答を操作することになる免疫療法を施行することによって母児間の免疫応答がどのように変化するか、またその時、妊娠の帰結はどうなるのかを検討した。

##### 1. 不育症の臨床

一般に自然流産の頻度は 10-15% とされているが、既往の流産回数が増えるとその次の妊娠の流産率は高くなる。特に、3 回以上の連続する流産既往のある場合、次の妊娠が流産する頻度は約 50-60% にもなるとされており、挙児を切望する夫婦にとって不育症はある意味では不妊症よりも深刻な状況である。

不育症の原因は子宮形態異常・ホルモン異常・染色体異常・感染症など多岐わたっているが、約半数は検査で異常を認めない、いわゆる原因不明とされるものであり、そこには免疫学的要因が関与している可能性が考えられている。

なお、連続する 3 回以上の流産を習慣流産、2 回の流産を反復流産と呼び、また、習慣（反復）流産は自然流産以外の妊娠既往がないもの（原発性）と、早産・正期産あるいは子宮外妊娠・人工妊娠中絶など、自然流産以外の妊娠既往のあるもの（続発性）に分類される。

##### 2. HLA 抗原系の関与する母児間免疫応答

###### 1) 研究対象

1986 年から 2001 年までの 16 年間に、慈恵医大および国立大蔵病院（現、国立成育医療センター）産婦人科・不育症外来を受診した習慣あるいは反復流産症例を対象とした。また、習慣（反復）流産症例の中、一般的な不育症スクリーニング検査で異常を認めない症例を後述の免疫療法（夫リン

パ球治療）の対象とした。なお、本研究あるいは治療を行うに際しては、対象夫婦からインフォームドコンセントを得た。

###### 2) 日本人習慣流産夫婦における HLA 抗原の適合性

従来、習慣流産夫婦では HLA 抗原タイプの適合性が高いとする報告がなされてきた<sup>2)</sup>。すなわち、夫（胎児）抗原との差異がないために母体がそれを認識し得ず、胎児に対する免疫応答が始動しないとするものである。そこで、原発性および続発性習慣流産症例（反復流産を含む）、そして対照として流産既往のない経産婦の夫婦（正常群）について、各々 80 組、21 組、112 組を対象として、拒絶反応に強く係わる HLA-DR 抗原タイプを血清学的タイピング法および DNA タイピング法にて検索し、それら夫婦間の抗原タイプの適合性を検索した。

その結果、DR 抗原が 2 つとも一致している（mismatch 0）のは、習慣流産では原発性 5.0%、続発性 9.5%、そして正常群 9.8%、また、2 つとも異なっている（mismatch 2）のは、各々、51.3%、47.6%、43.8% であり、それらの間に差はなく、不適合数の平均でも差は認めなかった（Table 2）。

この結果は従来の見解を否定するものであり、また、日本人について DNA タイピング法を用いて検索した最初のものであり、ここに夫婦間 HLA 抗原タイプの適合性の多寡は妊娠の帰結に影響を及ぼさないことが示された<sup>3)</sup>。その後、同様の結果が多く報告され、現在では習慣流産と HLA 抗原タイプの適合性との間には関係がない

Table 2. HLA-DR compatibility in Japanese URSA couples.

HLA-DR	primary URSA n=80	Secondary URSA n=21	normal n=112 (%)
mismatch no.			
0	4 ( 5.0)	2 ( 9.5)	11 ( 9.8)
1	35 (43.8)	9 (42.9)	52 (46.4)
2	41 (51.3)	10 (47.6)	49 (43.8)
mean value of mismatch no.	1.46±0.59	1.38±0.67	1.34±0.65

URSA : unexplained repeated spontaneous aborter

とするのが一般的である。

### 3) 母体血清中抗 HLA 抗体の産生頻度

夫婦間すなわち母児間 HLA 抗原タイプの適合性の多寡が妊娠の帰結に無関係とするならば、胎児抗原に対する母体の免疫応答性は習慣流産ではどのように変化しているのだろうか。そこで、補体依存性リンパ球細胞傷害試験を用い、母児間の HLA 抗原性の違いによって産生される母体血清中抗 HLA 抗体の妊娠初期における出現頻度を、正常妊娠群 (229 例) と (特発的) 流産群 (60 例) そして免疫療法群 (38 例) において検索した。なお、抗 HLA 抗体の産生性は夫婦間の抗原性の違いに左右されるが、これらの各群においても夫婦間 HLA 抗原タイプの適合性に差は認めなかった。

その結果、正常妊娠群 22.3%、流産群 3.3% であり、初妊婦あるいは経妊婦においても流産群では正常妊娠群と較べて有意に抗 HLA 抗体の産生頻度が少なかった。しかし、免疫療法群では 71.1% に抗 HLA 抗体を誘導することができ、中でも妊

娠を維持した症例では 84.6% と高頻度であった (Table 3)。

このことは、妊娠初期において、夫すなわち胎児 HLA 抗原に対してそれを非自己であると認識し、それに対する抗体 (抗 HLA 抗体) を産生する母体の免疫応答性が低いと妊娠の維持に不利であることを示唆しており、そして免疫応答性の低い習慣流産症例においても、胎児抗原を投与することになる免疫療法によって免疫応答性を高めることができ、それらの症例では妊娠が維持される傾向にあることが示された。

### 4) 抗 HLA 抗体の特異性

次に、母体血清中に産生された抗 HLA 抗体が、果たして夫 HLA 抗原に対して特異的なものであるのか否かを検討した。夫婦の HLA 抗原タイプを同定した免疫療法群 5 例を対象に、夫 HLA 抗原タイプに対してホモ接合のリンパ球を用いて補体依存性リンパ球細胞傷害試験を行い、抗 HLA 抗体の特異性を検索した。

その結果、母体血清中に産生された抗 HLA 抗体は、class I 抗原 (A, B), class II 抗原 (DR) とともに夫 HLA 抗原に特異的なものであることが示された (Table 4)。

### 5) 抗 HLA 抗体の性格

しかし、体液性免疫応答において腎臓移植などの臓器移植免疫の場合は、受容者 (recipient) に外科的移植片の抗原に対する抗 HLA 抗体が存在すると拒絶反応を導くというのが一般的な見解である。生殖免疫の分野では、抗 HLA 抗体の存在が妊娠維持に関して本研究結果と同様に good risk-

Table 3. Incidence of anti-HLA antibodies at the 1st trimester of pregnancy.

normal pregnancy	51/229	(22.3%)*
spontaneous abortion	2/60	( 3.3%)*
recurrent abortion with immunotherapy		
success	22/26 (84.6%)**	27/38 (71.1%)*
failure	5/12 (41.7%)**	

\*\*\* $p < 0.01$

positive no./case

Table 4. Specificity of anti-HLA antibodies developed in patients with paternal lymphocytes immunization.

patient	HLA profile			specificity of antibodies	
	A	B	DR	class I	class II
No. 1 husband	11/32 2/24	w61/w62 w52/w54	w11/w14 2/9	A2, 24	DR2, 9, DRw53
No. 2 husband	2/- 2/24	35/w61 w52/w62	9/- 2/w8	A24	DR2, SRw8, 52
No. 3 husband	24/- 2/w33	W55/W59 13/14	4/- w11/w13	none	DRw11, 13, 52
No. 4 husband	1/26 2/11	37/w60 35/w46	w13/w14 4/9	A2	DR4, 9, DQw3
No. 5 husband	24/w33 11/26	44/w52 w56/w67	2/w13 2/-	A11, 26	none

factor であるという報告と、反対に poor risk-factor であるという報告もあり、現在のところ共通の見解はない<sup>4)5)</sup>。そこで、抗 HLA 抗体が胎児にとって保護的なのか、破壊的なのかを知るために、生児を分娩した例を対象に、母体血清中と臍帯血清中における抗 HLA 抗体の存在を、補体依存性リンパ球細胞傷害試験と結合試験を用いて検索した。

その結果、母体血清中の抗 HLA 抗体は臍帯血中にはほとんど検出されず、また、細胞傷害性を示さなかった。すなわち、抗 HLA 抗体は胎児側に移行していないことが示された (Table 5)。

ここに母体と胎児を隔絶する胎盤の役割が示唆されるわけであり、母児間の接点であるトロホプラスト上には、その抗体の標的となる HLA 抗原

が発現していないことも併せて、抗 HLA 抗体が保護的に作用するという直接の証明は無いが、破壊的ではないことを示していると考えられる。いずれにしても、本研究結果から、抗 HLA 抗体の存在が妊娠が維持されている指標の一つであることが明らかとなった<sup>6)</sup>。

6) 抗イデオタイプ抗体の検出と特異性

次に、HLA 抗原を認識し免疫応答を惹起する、母体の T 細胞レセプターに結合する自己の抗イデオタイプ抗体の検出とその特異性の検索を、MLR-inhibition assay を用いて行なった。もしこの抗体が妊婦血清中に産生されていれば、胎児 HLA 抗原への母体 T 細胞レセプターの結合が阻害され、その結果、胎児は母体からの免疫学的攻撃から逃れることになる。

MLR-inhibition assay の結果は、stimulator (夫) と responder (妻) の抗原性が違う場合に MLR は増強され、そして、免疫療法後の母体血清中に抗イデオタイプ抗体が産生されていれば MLR が抑制されて示されてくる (Fig. 5)。抗イデオタイプ抗体の特異性の検索には、HLA-DR タイプのホモ接合のリンパ球を用いた。

その結果、免疫療法により誘導された抗イデオタイプ抗体は夫 HLA-DR 抗原に特異的であり (Table 6)、検索した 9 例中、抗イデオタイプ抗体の誘導された 5 例では全例が妊娠維持に成功し、誘導されなかった 4 例では 3 例が流産に終わった (Table 7)。このことは、妊娠初期の母体血

Table 5. Characteristics of maternal and fetal antibodies reacting to paternal class I HLA antigen.

	maternal serum		fetal serum	
	paternal cells	control cells	paternal cells	control cells
class I bearing target cells				
C' dependent cytotoxicity of target cells	※	(-)	(-)	(-)
binding to target cells	※	(-)	+	(-)
class I type	mother A24/31 father A11/26 control A29/29	B38/51 B35/w61 B44/44	Cw7/- Cw3/- Cw4/w4	

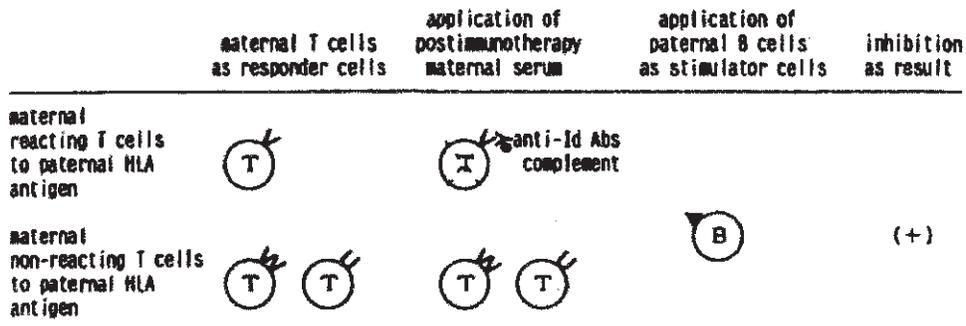


Fig. 5 Method for detection of anti-idiotypic antibody against autologous T-cell receptor.

After the complement-treatment of patient's lymphocytes before immuno-therapy with patient's serum, one-way mixed lymphocyte reaction (MLR) is performed using radiation-treated husband's lymphocytes. If the anti-idiotypic antibody to T-cell receptor against husband's HLA antigens exists in patient's serum, MLR-proliferation is inhibited compared to the case of absence of that antibody.

Table 6. Specificity of inhibitory activity with autologous serum.

stimulator phenotype	responder phenotype	proliferation (cpm ± SD)	
		patient	control
HLA-DR/D 2, 9/w12, 13 (husband)	HLA-DR/D w11, 14/w5, 9 (patient)	11,726 ± 3,484	20,198 ± 3,111
2, 2/w12, 12 9, 9/w23, 23 4, 4/KT2, KT2 w13, 13/w9, 19		6,011 ± 3,055 10,555 ± 2,706 17,808 ± 2,774 22,529 ± 4,427	25,327 ± 5,434 19,052 ± 1,272 19,534 ± 4,295 18,745 ± 4,566

MLR inhibition  $p < 0.05$ 

Table 7. Summary of existence of anti-idiotypic antibody.

case	pregnancy history	outcome of pregnancy	anti-Id ab
No. 1	0-0-3-0	successful	(+)
No. 2	0-0-3-0	successful	(+)
No. 3	0-0-3-0	successful	(+)
No. 4	0-0-2-0	successful	(+)
No. 5	0-0-2-0	successful	(+)
No. 6	0-0-2-0	successful	(-)
No. 7	0-0-3-0	failure	(-)
No. 8	0-0-3-0	failure	(-)
No. 9	0-0-2-0	failure	(-)

清中に抗イデオタイプ抗体が存在することが妊娠の維持に重要であり、その抗イデオタイプ抗体は抗 HLA 抗体の存在により誘導されてくることを示している<sup>7)</sup>。

#### 7) 症 例

ここに、それら抗体を経時的に検索し得た 1 例を示す (Table 8)。症例は 3 回の妊娠初期自然流産の既往がある原発性習慣流産婦人であり、不育症スクリーニング検査にて異常のないことを確かめた後に免疫療法を施行した。妊娠の成立をみたが、妊娠 9 週でまた流産であった。その時、母体血清中抗 HLA 抗体は class I 抗原 (A, B, C), class II 抗原 (DR) とともに産生されないか、産生されてもその抗体価は低いものであり、抗イデオタイプ抗体はまったく検出し得なかった。この時点で流産既往は 4 回になった。しばらく後、再度の免疫療法を施行、今度は高い抗体価で抗 HLA 抗体が

産生され、妊娠成立後もそれは続き、また抗イデオタイプ抗体も誘導されてきて、その妊娠維持に成功した。

すなわち、抗 HLA 抗体の産生がないか、あるいはあっても抗体価が低く、抗イデオタイプ抗体が産生されない妊娠は流産に終わることを示す典型的な症例であると思われる。

#### 8) 免疫学的妊娠維持機構の一断面

ここまでの結果を総括すると：1) 正常妊娠例では高い頻度で認められる抗 HLA 抗体・抗イデオタイプ抗体が、流産例ではほとんど存在していなかった。2) 免疫療法を施行することにより、それらの産生性が低い習慣流産症例でも正常妊娠例以上にそれらの抗体 (遮断抗体: blocking antibody) を誘導することができた。3) 遮断抗体を誘導し得た症例では高率に妊娠が維持され、流産例では全例にそれを認めなかった。ここに、HLA 抗原系の関与する免疫応答が妊娠の維持に深く関わっていることが明らかとなった。

HLA 抗原を担った胎児リンパ球の少数は、胎盤を通過して母体に入る。母体リンパ節では、胎児リンパ球に対する免疫応答が発現するが、抑制 T リンパ球の活性により胎児への攻撃が未然に防がれる。また、抗 HLA 抗体あるいは T リンパ球レセプターに対する抗イデオタイプ抗体も、それらの活性を抑制する (Fig. 6)。このように、まず胎児が母体に非自己であると認識され、それに対する抑制機構が働くことが免疫学的な妊娠の維持に重要なのである。しかし、正常妊娠例でも全例に遮断抗体が認められるわけではなく、その産生

Table 8. Therapeutic course and the production of anti-HLA antibodies and anti-idiotypic antibody.

immunization	pregnancy	A, B, C ab	DR ab	anti-Id ab
+		0	0	(-)
+		0	0	(-)
+		0	0	(-)
	6w	2	0	(-)
+	9w	2	1	(-)
	abortion	4	2	(-)
+		4	0	
+		8	8	
+		8	8	
+	5w	16	4	(-)
+	7w	32	16	(+)
+	9w (successful)	64	32	(+)

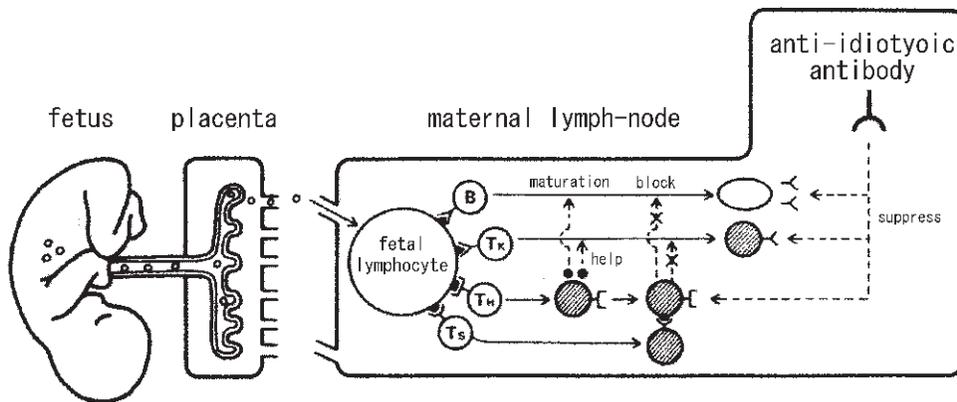


Fig. 6 A segment of possible mechanisms for the maintenance of pregnancy.

In maternal lymph-nodes, immune-responses occur against fetal antigens (lymphocytes) move into maternal circulation through placenta, and then produces antibodies and cytotoxic T-cell against fetus. However, anti-idiotypic antibodies as inhibitory regulator to those effectors are also introduced simultaneously, and then the immunological attack to the fetus may be prevented.

を示唆する MLR 抑制試験の結果と妊娠帰結との間に関連性がないとの報告もあり、また無ガンマグロブリン血症患者でも生児を得ていることから考えると、本研究結果から導かれたこの機構も、複雑な免疫学的妊娠維持機構の一つの断面に過ぎないものと思われる。

3. 習慣流産に対する免疫療法の治療成績

1) 免疫療法の適応基準

原発性および続発性の習慣あるいは反復流産症例（患者および夫）に対して、不育症スクリーニ

ング検査として、染色体核型・抗リン脂質抗体を含む自己抗体・視床下部-下垂体-卵巣系および甲状腺ホルモン・線溶-凝固系・性器感染症などの血液検査、子宮奇形の有無、遮断抗体の有無、などについて検査を行った。そして、それらの結果のすべてに異常がない場合、いわゆる原因不明の流産と診断し、免疫療法の適応とした。すなわち、ある検査に異常を認めるので免疫学的流産である、との診断は現時点ではできず、除外診断となっている。

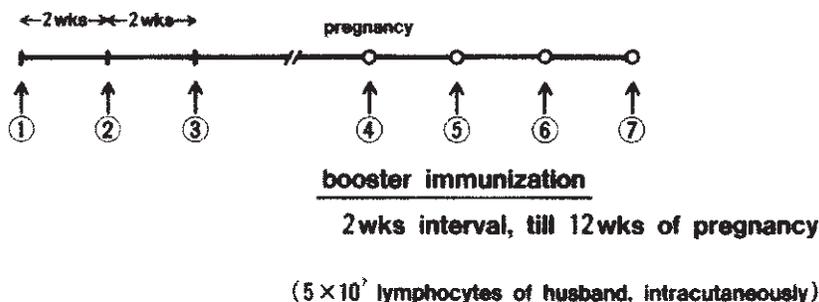


Fig. 7 Schedule of immuno-therapy.

Lymphocytes are separated from husband's peripheral blood and inoculated intracutaneously every two weeks for three times. And after the pregnancy is established, booster immunizations are performed by 12th week of gestation.

Table 9. Reproductive performance of recurrent aborters with the immunotherapy.

no. of abortion	successful	aborted	success-ratio
primary aborter			
2 times	163	30	84.5%
3 times or <	69	21	76.7%

### 2) 免疫療法の方法

夫から末梢血を採取し、Ficoll比重遠心法にてリンパ球を分離、1回につき  $5 \times 10^7$  個のリンパ球を患者皮内に接種する。投与スケジュールは、2週間間隔で3回接種、その後妊娠を許可し、妊娠成立後は早期から（通常妊娠6週頃）boosterとして追加接種を妊娠12週まで行った（Fig. 7）。妊娠12週で投与を中止するのは、その頃には胎児自身で免疫機構が機能するからである。

### 3) 治療成績

#### (1) 夫リンパ球治療

原発性反復および習慣流産症例に対する治療成績を Table 9 に示す。前者では 84.5%，後者では 76.7% に妊娠を維持することができた。この妊娠維持率は、前述した流産後の次回妊娠維持率と較べ高いものであり、基礎的検討結果と併せて考える時、夫リンパ球治療の有効性を示唆しているものと思われる。なお、夫リンパ球治療による母体への影響（アレルギー反応、妊娠合併症、早産など）、新生児に対する影響（出生体重、奇形など）は認めなかった。

#### (2) 第三者リンパ球治療

夫リンパ球治療による妊娠維持率が高いとは言

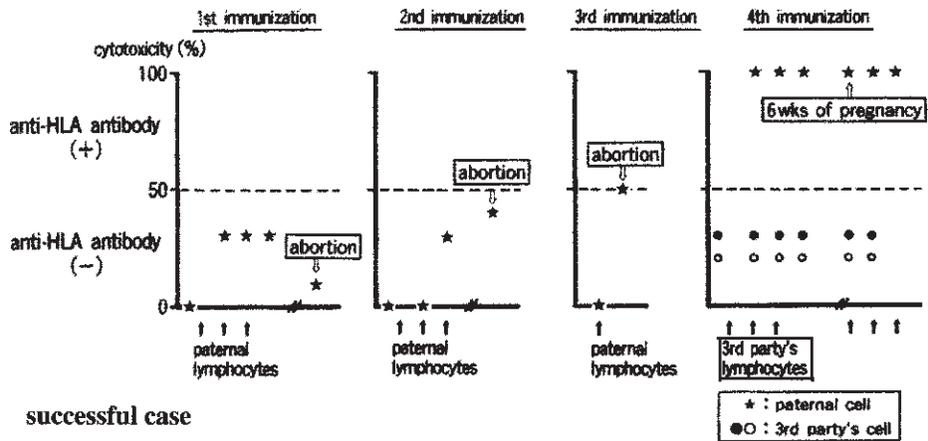
Table 10. Reproductive performance of refractory recurrent aborters with the immunotherapy.

no. of case	successful	aborted	success-ratio
primary aborter			
34	16	5	76.2%
secondary aborter			
18	1	6	14.3%

refractory aborter: aborted case in spite of the therapy

え、なお 15-25% の症例はさらに流産を繰り返しており、それら症例の中には夫リンパ球治療では抗 HLA 抗体を誘導し得なかったものが存在していた。そこで、それら免疫応答性の低い、いわゆる難治性流産症例に対して第三者リンパ球を接種することにより免疫応答性を高める試みを行った。

その結果、夫リンパ球では誘導できなかった抗 HLA 抗体が第三者のそれにより誘導され、高い抗体価を維持し得た症例では妊娠が維持され（Fig. 8-1）、そして産生された抗 HLA 抗体は夫 HLA 抗原に対して特異的なものであった。第三者リンパ球によっても誘導されなかった症例ではまた流産に終わった（Fig. 8-2）。夫 HLA 抗原タイプとは異なる第三者リンパ球の投与によって、夫 HLA 抗原に特異的な抗体が誘導される機序を説明する直接的な証拠はないが、おそらく第三者抗原の交差反応、あるいは全体的な免疫応答性が高められた結果により夫（胎児）抗原に対する抗体が



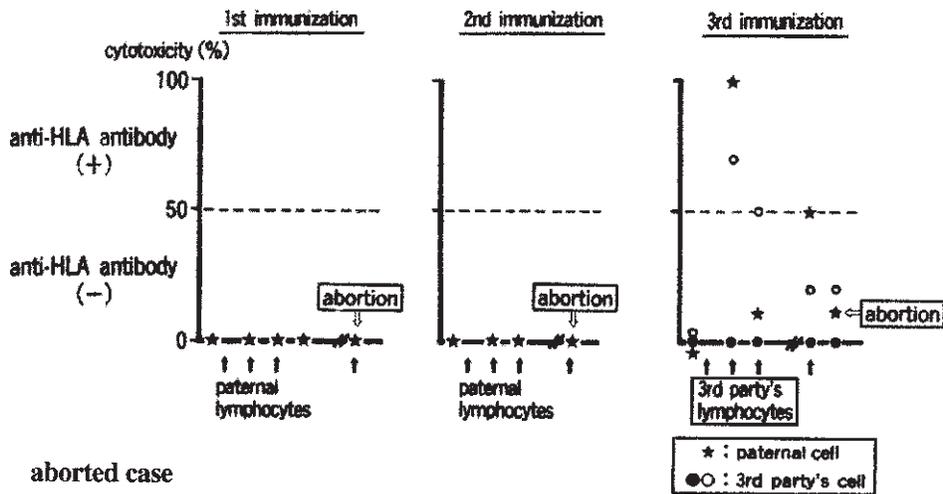
successful case

Fig.8-1 Incidence of anti-HLA antibodies and the outcome of pregnancy with third party's lymphocytes immuno-therapy (case of maintained pregnancy).

Immuno-therapy was introduced because of previous spontaneous abortions recurred three times. After the first immuno-therapy, abortion occurred without the production of any anti-HLA antibody. Although second and third immuno-therapy using husband's lymphocytes were performed, the pregnancy outcome were failed and the antibodies were not detected also. Then third party's lymphocytes immuno-therapy was introduced, anti-HLA antibodies that could not be produced by husband's lymphocytes were produced continuously soon after the inoculation and the pregnancy was successfully maintained.

★ : anti-HLA antibodies specific to husband's HLA antigens.

○● : anti-HLA antibodies specific to third party's HLA antigens.



aborted case

Fig.8-2 Incidence of anti-HLA antibodies and the outcome of pregnancy with third party's lymphocytes immuno-therapy (case of abortion).

Immuno-therapy was introduced because of previous spontaneous abortions recurred three times. After the first immuno-therapy, abortion occurred without the production of any anti-HLA antibody. Although second immuno-therapy using husband's lymphocytes were performed, the pregnancy outcome were failed and the antibodies were not detected also. Then third party's lymphocytes immuno-therapy was introduced, anti-HLA antibodies were produced, but transiently, and the pregnancy was aborted again.

★ : anti-HLA antibodies specific to husband's HLA antigens.

○● : anti-HLA antibodies specific to third party's HLA antigens.

産生されたものと推測される。

原発性流産では、76.2%と夫リンパ球治療と同様比較的高い維持率であったが、続発性のものではほとんどがまた流産であった (Table 10)。このことは、続発性のものでは同種免疫とは異なる異常が流産の発症にかかわっていることを思わせる。

## V. おわりに

妊娠の成立と維持には多くの機構が関与しており、その全容はいまだ解明されているとは言えない。しかし、胎児は同種移植片であるが故に、そこには免疫学的機構が深く係っていることが容易に推察される。本研究では、父親 (胎児) HLA 抗原に対して、それを非自己と認識する母体の免疫応答性が低い場合、拒絶反応を阻止する遮断抗体が産生されず、拒絶反応>生着反応となり、免疫学的に流産を来す。そして、同種抗原性のある父親 (胎児) HLA 分子を投与する免疫療法は母体の免疫応答性を高め、免疫調節体 (抗イデオタイプ抗体) の産生を誘導し、生着反応>拒絶反応に導き妊娠は維持される、という結論を得たが、この機構も複雑な妊娠維持機構の一つに過ぎないことは明らかであり、さらなる検討が必要である<sup>8)</sup>。

本研究の要旨は、第 19 回成医会総会・特別講演において発表した。発表の機会を与えていただいた栗原敏会長をはじめ会員の先生方に深甚なる謝意を表します。また、本研究の遂行にあたっては、産婦人科学教室・同窓各位ならびに教室員のご支援・ご協力を賜りました。ここに改めて感謝いたします。

## 文 献

1) Medawar PB. Some immunological and en-

docrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol* 1953; 7: 320-38.

- 2) Thomas ML, Harger JH, Wagener DK, Rabin BS, Gill TJ. HLA sharing and spontaneous abortion in humans. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 1053-8.
- 3) Ito K, Obata F, Tanaka T, Tsutsumi N, Kashiwagi N. Analysis of HLA-DR types of unexplained recurrent spontaneous aborters in the Japanese population by oligonucleotide-DNA typing. *Tissue Antigens* 1992; 40: 204-9.
- 4) Reznikoff-Etievant MF, Durieux I, Huchet J, Salmon C, Netter A. Human MHC antigens and paternal leucocyte injections in recurrent spontaneous abortions. In: Beard RW, Sharp F, editors. *Early Pregnancy Loss*. London: Springer-Verlag; 1983, p. 375-84.
- 5) Beer AE. Pregnancy outcome in couples with recurrent abortions following immunological evaluation and therapy. In: Beard RW, Sharp F, editors. *Early pregnancy loss*. London: Springer-Verlag; 1983. p. 337-49.
- 6) Tanaka T, Tsutsumi N, Ito K, Kashiwagi N. Analysis of alloantibodies with respect to maintenance of pregnancy. *Proceeding of the 1st Annual Meeting of Japan Society for Medical Reproductive Immunology* 1986; 44.
- 7) Tanaka T, Shu G, Shinohara Y, Amano N, Kurashima T, Tsutsumi N, et al. Detection of anti-idiotypic antibody responsible for immunological maintenance of pregnancy. *Acta Obstet Gynaecol Jpn* 1988; 40: 1901-2.
- 8) 田中忠夫. 妊娠維持機構に関わる HLA 抗原系の意義. *日産婦会誌* 1997; 49: 604-9.