



Title	原因不明の不育症における抗C1q自己抗体の病原性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大村, 一将
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第14513号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81512
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2599
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Kazumasa_Ohmura_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 大 村 一 将

学位論文題名

原因不明の不育症における抗 C1q 自己抗体の病原性に関する研究
(Pathogenic role of anti-C1q autoantibodies in recurrent pregnancy loss of unknown etiology)

【背景と目的】不育症 (recurrent pregnancy loss : RPL) は妊娠の約 5%の頻度で認められ、胎児染色体異常や母体側要因等の原因検索によっても約 25%が原因の特定ができずに原因不明と分類される。この原因不明の不育症 (unexplained recurrent pregnancy loss : uRPL) の患者血清における補体価高値、胎盤組織における補体の著明な沈着から不育症と補体活性化との関連が示唆され、uRPL 患者の胎盤組織に古典的補体活性化経路の指標である C4d の沈着が認められる。不育症の原因の 1 つである産科的抗リン脂質抗体症候群 (obstetric antiphospholipid syndrome: OAPS) においても C4d 沈着の程度と胎児予後が相関することが示され、OAPS において流産予防として用いられるヘパリンには抗凝固作用による効果のみならず補体活性化を制御することで抗炎症効果を持つことが流産予防の作用として重要であることが明らかとなった。uRPL は多彩な病因を含んだ疾患群であり、流産予防にはアスピリンおよびヘパリンによる抗凝固療法や免疫抑制療法などが用いられるが効果は限定的である。有効な治療が確立していない uRPL の中でどのような患者で補体活性化を認めるか、また抗補体治療が有効な患者群が存在するかどうかの知見は十分得られていない。一方で正常妊娠では Maternal-fetal interface において豊富に存在している補体制御因子による補体活性化の制御が妊娠維持に重要であるとされ、補体蛋白 C1q は不育症のみならず正常妊娠においても胎盤組織に広く沈着し、母子間の感染制御などの役割を担っている。この C1q を抗原とする抗 C1q 自己抗体は古典的補体経路の活性化を介して全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus: SLE) における腎炎の病勢と関連が示されており、抗 C1q 抗体価は疾患活動性のマーカーの 1 つとされる。本研究では妊娠において胎盤に広く沈着している C1q に着目し、uRPL において抗 C1q 自己抗体が C1q と結合することで過度の補体活性化を引き起こすことで病原性をもちうるのではないかと仮説を立てた。第一章では uRPL および OAPS と抗 C1q 抗体との関係を明らかにすることを目的とした。第一章で得られた結果をもとに、第二章では妊娠において抗 C1q 抗体の胎児へ与える影響を明らかにすることを目的とし、妊娠マウスに抗 C1q モノクローナル抗体を投与し胎仔、胎盤に与える影響および補体活性化について検討した。第三章では抗 C1q 抗体を投与した妊娠マウスにおいて補体活性化経路の遮断による胎仔および胎盤における影響を検討した。

第一章：uRPL 患者および OAPS 患者における抗 C1q 抗体価の検討

【方法】不育症の原因が特定できなかった患者 134 例 (uRPL 群)、OAPS 患者 27 例、妊娠合併症の既往のない出産歴のある全身性自己免疫疾患患者 (CTD 群) 27 例、健常者 (HC 群) 27 例の血漿検体を用いて ELISA 法によって抗 C1q 抗体価を測定した。

【結果】抗 C1q 抗体の陽性率は uRPL 群において HC 群と比較して有意に高頻度であり (35 % vs. 7 %、 $p<0.01$, Wilcoxon 検定)、OAPS 群においても HC 群と比較して有意に高頻度であった (30 % vs. 7 %、 $p<0.05$, Wilcoxon 検定)。CTD 群と HC 群の間には統計学的な有意差はなかった。抗 C1q 抗体価は uRPL 群において HC 群と比較して有意に高力価であり

($p < 0.0001$, Dunn's post hoc test)、OAPS 群も HC 群と比較して有意に高力価であった ($p < 0.001$, Dunn's post hoc test)。uRPL 群における抗 C1q 抗体価と血漿 C1q 値の間に統計学的に有意な相関関係は認められなかった。

第二章および第三章：抗 C1q モノクローナル抗体を用いた流産モデルマウスの確立および抗 C1q モノクローナル抗体投与妊娠マウスにおける補体活性化経路遮断による影響に関する検討

【方法】8-12 週齢の妊娠が成立した BALB/cAJcl マウスへ抗 C1q マウスモノクローナル抗体 (JL-1) を尾静脈より投与した。雄マウスと mating を行い翌日に膣プラグを確認した日を妊娠 day1 とした。胎仔重量が十分増加する妊娠日齢を検討し評価日を妊娠 day16 と定めた。JL-1 投与スケジュールは投与回数および 1 回あたりの容量で 4 つの群について胎仔吸収率を比較することで検討し、妊娠 day8 および day12 に 1 回あたり 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を投与することを決定した。JL-1 を投与した JL-1 群、isotype 対照群としてモノクローナル IgG2b 投与群 (mIgG 群) および PBS 投与群 (PBS 群) について、妊娠 day16 における胎仔吸収率、胎仔重量、胎盤重量、血清 C3a 値をそれぞれ測定し、胎盤組織の補体蛋白の免疫組織化学染色を行った。次に、妊娠 day8 において JL-1 を投与する 30 分前に抗 C5aR 抗体を投与し、抗 C5aR 抗体投与群 (anti-C5aR 群) とともに isotype 対照群として ratIgG2b 抗体投与 (ctrIgG 群) について同様の検討を行った。

【結果】JL-1 群は 9 匹、mIgG 群は 6 匹および PBS 群は 5 匹であった。胎仔吸収率は、JL-1 群で他の 2 群と比較して有意に高く、胎仔重量および胎盤重量は他の 2 群と比較して有意に低値であった。血清 C3a は JL-1 群で有意に高値であり、胎盤組織の C1q、C3、C4d 免疫組織化学染色では他の 2 群と比較して有意に広範な沈着を認めた。次に、JL-1 を投与した anti-C5aR 群は 8 匹、mIgG を投与した anti-C5aR 群は 5 匹、JL-1 を投与した ctrIgG 群は 10 匹、mIgG を投与した ctrIgG 群は 5 匹であった。anti-C5aR を前投与した JL-1 群において、ctrIgG を前投与した JL-1 群と比較して胎仔吸収率、胎仔重量、胎盤重量、血清 C3a 値の有意な差を認め、mIgG を投与した 2 群といずれの評価項目でも同程度の値であった。血清 C3a は JL-1 群で有意に高値であり、胎盤組織の免疫組織化学染色においては、anti-C5aR を前投与した JL-1 群において、ctrIgG を前投与した JL-1 群と比較して C1q、C3、C4d それぞれの沈着の程度は弱く観察された。

【考察】第一章では抗 C1q 抗体が uRPL 患者血漿において高頻度かつ高力価で検出され、不育症の原因の 1 つである OAPS 患者においても同様であることを明らかとした。APS 患者および他の自己抗体を有する不育症患者において抗 C1q 抗体が高頻度で検出されたという既報はあるものの、明らかな原因を有さない不育症患者においても高頻度で検出された点は新たな知見であった。本臨床研究デザインの限界から経時的な抗体価の推移および多施設での検討については行えておらず今後の課題である。

第二章では、抗 C1q 抗体の妊娠へ与える影響を検討するため妊娠マウスに抗 C1q モノクローナル抗体を投与することで、高率に胎仔死亡、子宮内胎仔発育不全が観察され、血清および胎盤病理において補体活性化を確認することで、抗 C1q 抗体が不育症における新たな病因の 1 つである可能性が示唆された。第三章では、抗 C1q モノクローナル抗体を用いた流産モデルマウスに抗 C5aR 抗体によって補体活性化経路を阻害することで流産モデルマウスにおいて観察された妊娠合併症の所見が緩和されることを示し、補体活性化経路の遮断が不育症において流産予防治療となる可能性が考えられた。

【結論】抗 C1q 抗体は原因不明の不育症の新たな病因の 1 つである可能性を見だし、原因不明の不育症患者のうち抗 C1q 抗体を有する患者群においては抗補体治療が有効な治療となる可能性が示された。