

- formation in vivo. *Circulation* 111: 808-815, 2005.
2. Yagita M, Uemura M, Yamahara H, Kitano T, Kunitomi A, Konaka Y, Nakamura T, Matsumoto M, Ishizashi H, Fukui H, Fujimura Y. Development of ADAMTS13 inhibitor in a patient with hepatitis C virus-related liver cirrhosis causes thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Hepatology* 42: 420-421, 2005.
 3. Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Ishikawa M, Iwamoto T, Mori T, Wanaka A, Fukui H, Fujimura Y. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood* 106:922-924, 2005.
 4. Kosugi S, Matsumoto M, Ohtani Y, Take H, Ishizashi H, Fujimura Y, Kuyama J. Rituximab provided long-term remission in a case with refractory relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 81:433-436, 2005.
 5. Fujisaki K, Matsutani K, Yoshimitsu T, Nakanishi K, Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Fujimura Y, Takeda K, Hirakata H, Iida M. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with polyarthritis nodosa: demonstration of the inhibitor against von Willebrand factor-cleaving protease. *Clinical Nephrology* 64:305-310, 2005.
 6. Sugimoto T, Saigo K, Kaneda Y, Manabe N, Narita H, Wakuya J, Imoto S, Murashima T, Matsumoto M, Fujimura Y, Nishimura R, Koizumi T, Kumagai S. Von Willebrand factor-cleaving protease activity remains at the intermediate level in thrombotic thrombocytopenic purpura. A CML case treated with interferon-alpha. *Acta Haematologica* 113:198-203, 2005.
 7. Fujimura Y. Down-regulation of ADAMTS13 activity by serine proteases. In: *Inside Blood. Blood (Review)* 105: 911-912, 2005.
 8. Hatakeyama K, Hao H, Imamura T, Ishikawa T, Shibata Y, Fujimura Y, Eto T, Ogawa H, Asada Y. Decreased CD39 expression in coronary atherosclerotic lesions is implicated in plaque instability and thrombus formation. *Am J Cardiol* 95: 632-635, 2005.
 9. Uemura M, Ishikawa M, Matsuyama T, Fujimoto M, Kojima H, Sakurai S, Toyohara M, Yamazaki M, Yoshiji H, Yamao J, Matsumoto M, Ishizashi H, Fujimura Y, Fukui H. Decreased activity of plasma ADAMTS13 may contribute to the development of liver disturbance and multiorgan failure in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 29:264-271, 2005.
 10. Matsumoto M, Kawaguchi S, Ishizashi H, Yagi H, Iida J, Sakaki T, Fujimura Y. Platelets treated with ticlopidine are less reactive to unusually large VWF multimers than are those treated with aspirin under high shear stress. *Pathophysiology Haemost Thromb*

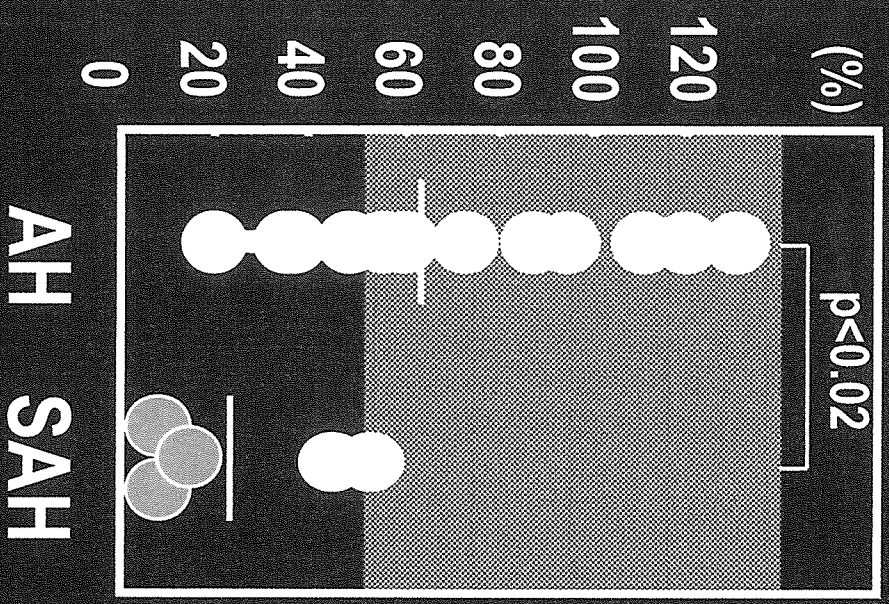
- 35: 35-40, 2005.
11. Shibagaki Y, Matsumoto M, Kokame K, Ohba S, Miyata T, Fujimura Y, Fujita T. Novel compound heterozygote mutations (H234Q/R1206X) of the *ADAMTS13* gene in an adult patient with Upshaw-Schulman syndrome showing predominant episodes of repeated acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. (in press). 2006
 12. Matsuyama T, Uemura M, Ishikawa M, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Morioka C, Fujimoto M, Kojima H, Yoshiji H, Fujimura Y, Fukui H. Increased von Willebrand factor over decreased ADAMTS13 activity may contribute to the development of liver disturbance and multiorgan failure in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* (in press), 2006.
 13. Ko S, Okano E, Kanehiro H, Matsumoto M, Ishizashi H, Uemura M, Fujimura Y, Tanaka K, Nakajima Y. Plasma ADAMTS13 activity may predict early adverse events in living donor liver transplantation: Observations in three cases. *Liver Transplant* (in press) 2006。
 14. Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* (in press). 2006
- 日本語原著
1. 大渡五月、松本雅則、高塚祥芝、竹内章吾、牧野虎彦、魚住公治、藤村吉博、宇都宮興. 胃癌の骨髓転位に併発した血栓性血小板減少性紫斑病. *臨床と研究*. 2005 ; 1379-1382.
 2. 山根隆志、田中千尋、村田美紀、柱本照、三浦靖史、塩沢俊一、宮本宣友、前川修司、金澤健司、橋本正良、秋田穂東、松本雅則、石指宏通、藤村吉博. 血漿交換が著効した SLE に合併した TTP の 1 例. *臨床リウマチ* 2005 ; 17 : 48-52
 3. 松山友美、植村正人、石川昌利、藤本正男、小寫秀之、櫻井伸也、石井禎庸、浪崎正、豊原眞久、山崎正晴、吉治仁志、山尾純一、福井博、松本雅則、石指宏通、加藤誠司、藤村吉博、瀧村力. アルコール性肝炎における ADAMTS13 と von Willebrand 因子の動態—重症度との関連—. *アルコールと医学生物学*. 2005 ; 25 : 112-117
- 日本語総説
1. 松本雅則、藤村吉博. 周術期の輸液・輸血療法. 遅発型輸血副作用. *麻酔科診療プラクティス* 18 pp122-123, 2005
 2. 松本雅則、藤村吉博. 血栓性血小板減少性紫斑病(TTP). *三輪血液病学*. pp1776-1782, 2005
 3. 八木秀男、藤村吉博. 溶血性尿毒症症候群(HUS). *三輪血液病学*. pp1782-1786, 2005
 4. 松本雅則、藤村吉博. 血栓性血小板減少性紫斑病. *血液疾患ハンドブック*. pp216-227
 5. 藤村吉博、石西綾美、石指宏道、八木秀男、松本雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病(TTP) *血液フロンティア* 2005 ; 15 : 725-736

2. 学会発表

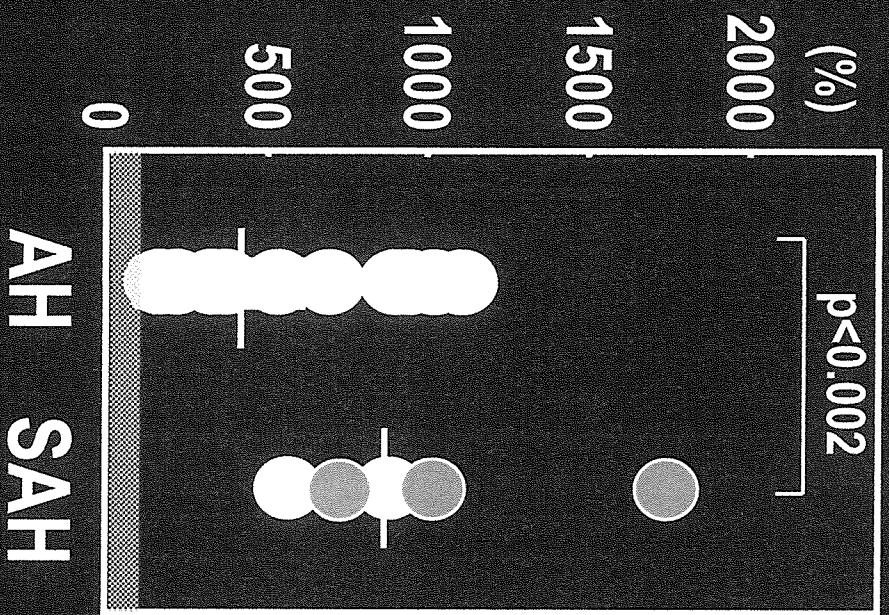
1. Matsumoto M, Kato S, Hiura H, Fujimura Y. Novel ELISA assay for ADAMTS13 activity using MoAbs against the N-terminal decapeptide of VWFA2 domain. 51st Annual SCC Meeting. SSC Subcommittee on VWF. (於: Sydney Australia, 2005年8月7日)
2. Furukoji E, Matsumoto M, Yamashita A, Yagi H, Sakurai Y, Marutsuka K, Hatakeyama H, Morishita K, Fujimura Y, Tamura S, Asada Y. Adenovirus-Mediated Transfer of Human Placental Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase to Vascular Smooth Muscle Cells Suppresses Platelet Aggregation in vitro and Arterial thrombus Formation in vivo. The XXth Congress of the International Society on Thrombosis & Haemostasis. (於: Sydney Australia, 2005年8月7日)
3. Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Isikawa M, Iwamoto T, Mori T, Wanaka A, Fukui H, Fujimura Y. Stellate cells produce ADAMTS13 in human liver. (於: Sydney Australia, 2005年8月8日)
4. Matsuyama T, Matsumoto M, Kato S, Akiyama N, Tomiyama J, Natori K, Kuranishi Y, Imamura Y, Inoue N, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y. Upshaw-Schulman syndrome: a masqueraded thrombocytopenic purpura (TTP). 47th ASH Annual Meeting (於 Atlanta Georgia, 2005年12月12日)
5. Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Hiura H, Fujimura Y. Monoclonal antibodies to a VWF -A2 decapeptide with the C-terminal residue Try1605, generated by ADAMTS13 cleavage, develop a highly sensitive ELISA for its activity and characterize Upshaw-Schulman syndrome. 47th ASH Annual Meeting (於 Atlanta Georgia, 2005年12月12日)
6. 洪鉉寿、青山泰孝、山村亮介、太田忠信、麦谷安津子、日野雅之、松本雅則、八木秀男、石指宏道、藤村吉博. rituximab 投与が非常に有効であった血漿交換抵抗性の難治性 TTP. 第102回日本内科学会講演会 (於: 大阪国際会議場, 平成17年4月9日)
7. 松山友美、植村正人、石川昌利、松本雅則、石指宏道、森岡千恵、櫻井伸也、藤本正男、小寫秀之、安辰一、石井禎暢、藤村吉博、福井博. アルコール性肝炎における von Willebrand factor 抗原と ADAMTS13 の動態. 第41回日本肝臓学会総会 (於: 大阪国際会議場, 平成17年6月16日)
8. 松本雅則、藤村吉博、小亀浩市、宮田敏行. TTP/HUS 患者における ADAMTS13 解析. 第42回補体シンポジウム (於: 名古屋大学, 平成17年8月19日)
9. 野村明彦、大賀正一、高田英俊、松本雅則、藤村吉博、原寿郎. TTP と複数の抗血球・凝固因子抗体による血液障害で発症した SLE 小児例. 第67回日本血液学会・第47回日本臨床血液学会合同総会 (於: パシフィコ横浜, 平成17年9月17日)
10. 加藤誠司、松本雅則、日裏久英、藤村吉博. ADAMTS13 活性の新規 ELISA 測定系の開発: VWF-Tyr 84

- 2 を特異的に認識する新規モノクロナール抗体作成を利用. 第 6 7 回日本血液学会・第 4 7 回日本臨床血液学会合同総会 (於: パシフィコ横浜, 平成 1 7 年 9 月 1 7 日)
11. 今村豊、木村芳三、野見山敬太、長部誠志、松本雅則、藤村吉博、小亀浩市、宮田敏行. 妊娠を契機に発症した Upshaw-Schulman 症候群の姉妹例. 第 6 7 回日本血液学会・第 4 7 回日本臨床血液学会合同総会 (於: パシフィコ横浜, 平成 1 7 年 9 月 1 7 日)
12. 松本雅則、石指宏道、松山友美、加藤誠司、八木秀男、藤村吉博. 奈良医大輸血部にて集積した本邦 TMA 5 6 4 例の ADAMTS 1 3 解析. 第 6 7 回日本血液学会・第 4 7 回日本臨床血液学会合同総会 (於: パシフィコ横浜, 平成 1 7 年 9 月 1 9 日)
13. 植村正人、辰巳晃子、松本雅則、石川昌利、松山友美、藤本正男、岩本顕聰、森敏俊雄、小寫秀之、吉治仁志、和中明夫、藤村吉博、福井博. ADAMTS13 は肝星細胞 (伊藤細胞) で産生されている. DDW-JAPAN 2 0 0 5 (於: 神戸国際会議場、平成 1 7 年 1 0 月 5 日)
14. 松山友美、植村正人、石川昌利、松本雅則、石指宏道、森岡千恵、加藤誠司、櫻井伸也、浪崎正、藤本正男、小寫秀之、石井禎暢、安辰一、瀧村力、藤村吉博、福井博. アルコール性肝炎における ADAMTS13 活性と血漿サイトカインの動態. 第 3 6 回日本肝臓学会西部会 (於: 鈴鹿サーキット フラワーガーデンホテル, 平成 1 7 年 1 月 2 5 日)
15. 加藤誠司、松本雅則、日裏久英、藤村吉博. 新規 ADAMTS13 活性測定 ELISA の 開 発 : VWF の R834EQAPNLVY842 に特異的エピトープを有するモノクロナール抗体の産生と利用. 第 2 8 回日本血栓止血学会学術集会 (於: 福岡国際会議場、平成 1 7 年 1 1 月 2 5 日)
16. 古小路英二、田中直子、山下篤、松本雅則、八木秀男、櫻井嘉彦、丸塚浩助、畠山金太、藤村吉博、山本隆一、浅田祐士郎. 胎盤由来 ecto-NTP Diphosphohydrolase 1 は ADP, ATP による障害動脈の収縮を抑制する. 第 2 8 回日本血栓止血学会学術集会 (於: 福岡国際会議場、平成 1 7 年 1 1 月 2 4 日)
17. 植村正人、辰巳晃子、松本雅則、石川昌利、松山友美、藤本正男、福井博、藤村吉博. ADAMTS 1 3 は肝星細胞 (伊東細胞) で産生されている. 第 2 8 回日本血栓止血学会学術集会 (於: 福岡国際会議場、平成 1 7 年 1 1 月 2 5 日)
18. 松本雅則、石西綾美、藤村吉博、石指宏道、秋山暢、富山順治、名取一彦、倉石安庸、今村豊、井上信正、小亀浩市、宮田敏行. 妊娠経過中に診断された Upshaw-Schulman 症候群の 4 家系 7 症例. (於: 福岡国際会議場、平成 1 7 年 1 1 月 2 5 日)
- H. 知的財産権の出願・登録 (予定を含む)
1. ADAMTS13 の分離精製方法
出願人: 高山正法
発明人: 日裏久英、藤村吉博、松本雅則、加藤誠司
2005 年 1 2 月 2 8 日国内出願
2. ADAMTS13 の安定化方法
出願人: 高山正法
発明人: 日裏久英、加藤誠司、藤村吉博、松本雅則
2005 年 1 2 月 2 8 日国内出願

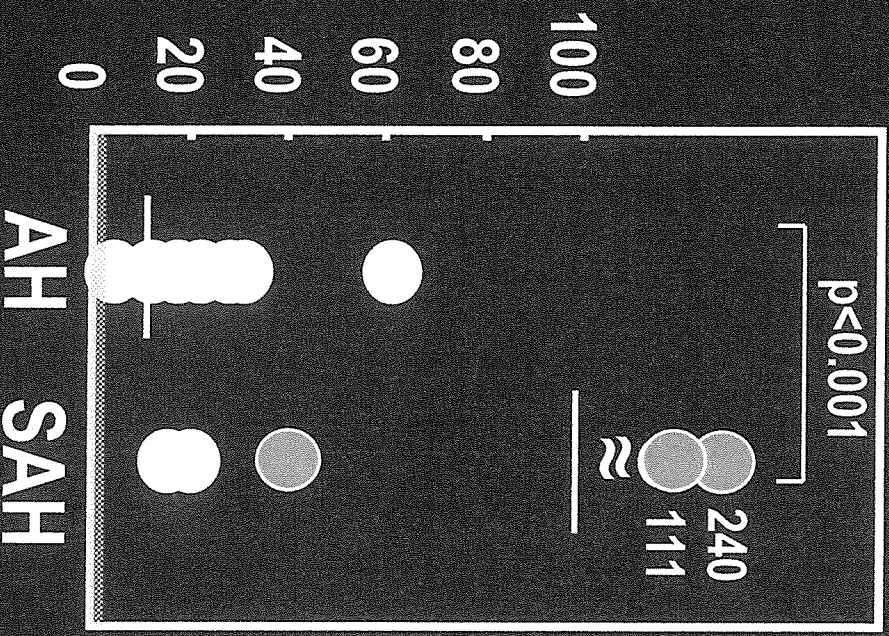
ADAMTS13活性



VWF:Ag



VWF:Ag/ADAMTS13



● 生存例

● 死亡例

■ 正常範囲

図1 アルコール性肝炎におけるADAMTS13およびVWF

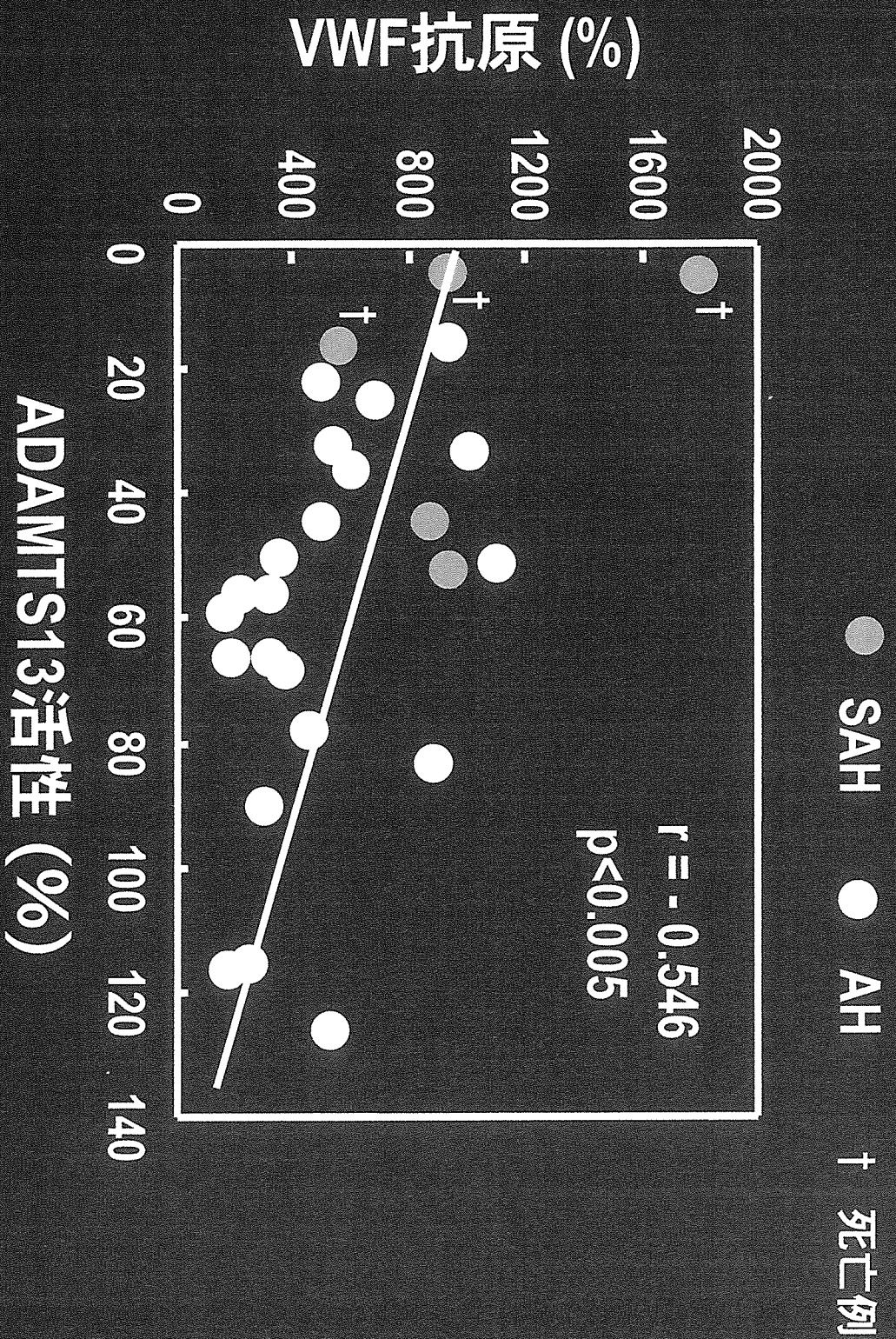
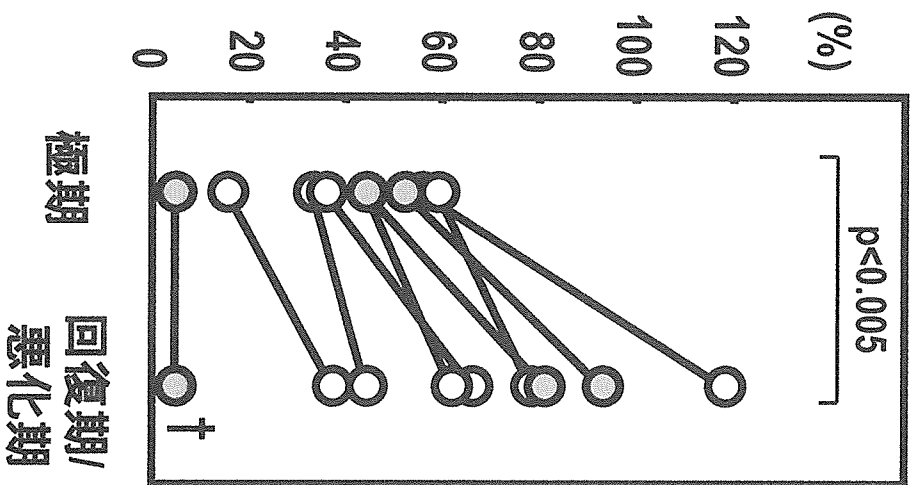
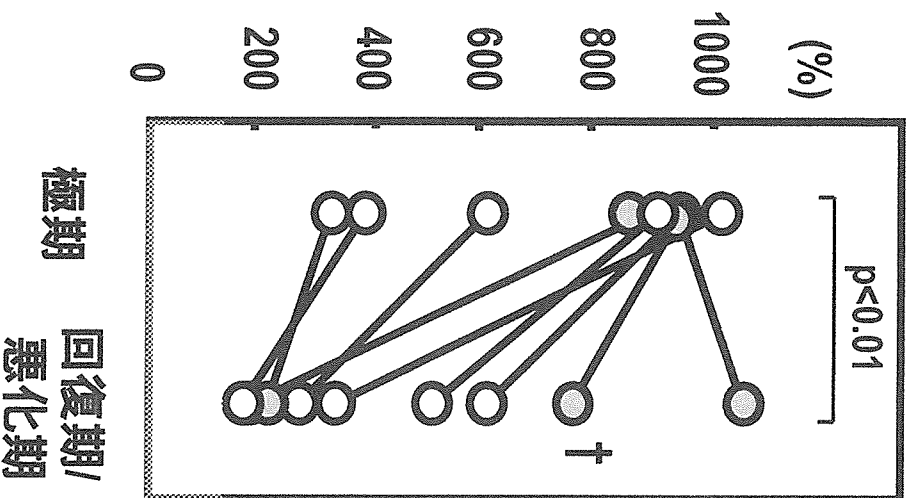


図2 ADAMTS13活性とVWF抗原の関係

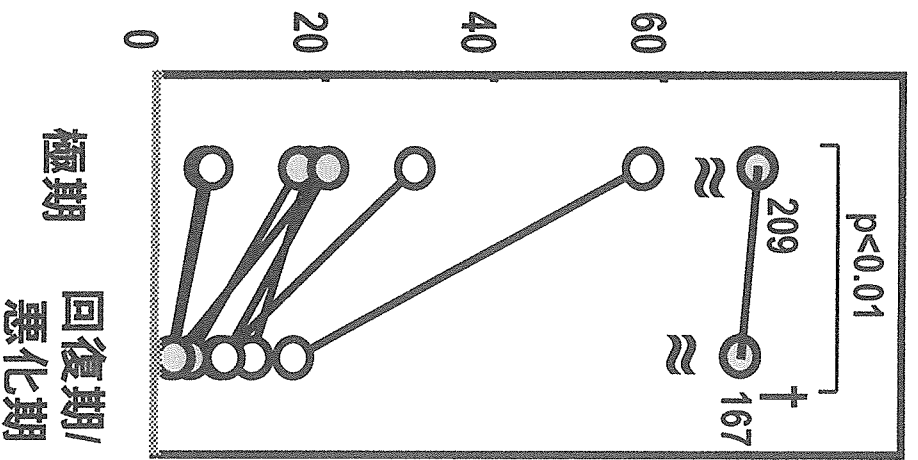
ADAMTS13活性



WFV抗原



WFV / ADAMTS13比



正常範囲 ○—○ AH ○—○ SAH

図3 ADAMTS13活性とWFV抗原の変化

27歳、男性
Budd-Chiari syndrome
兄をドナーとした生体部分肝移植

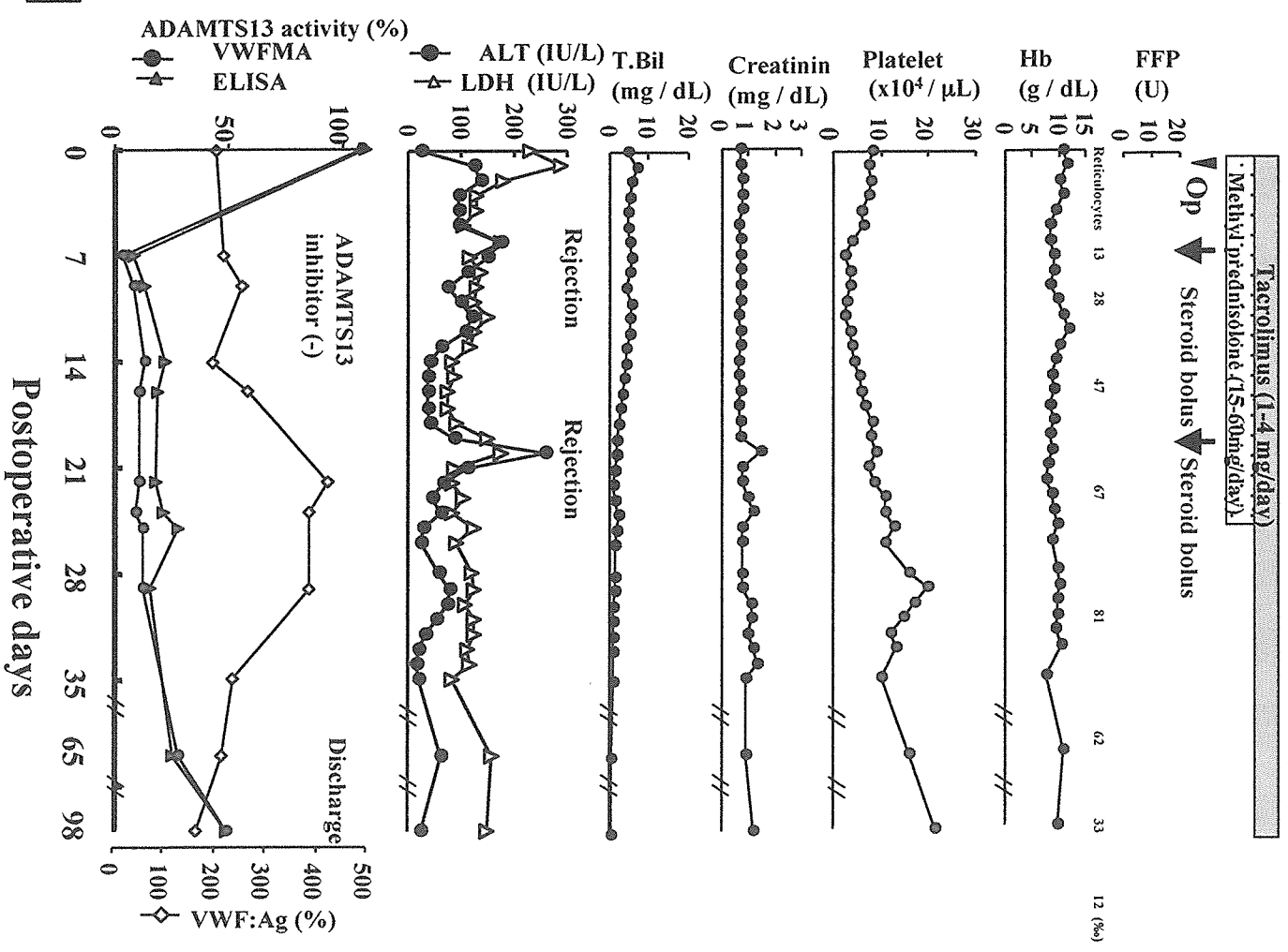
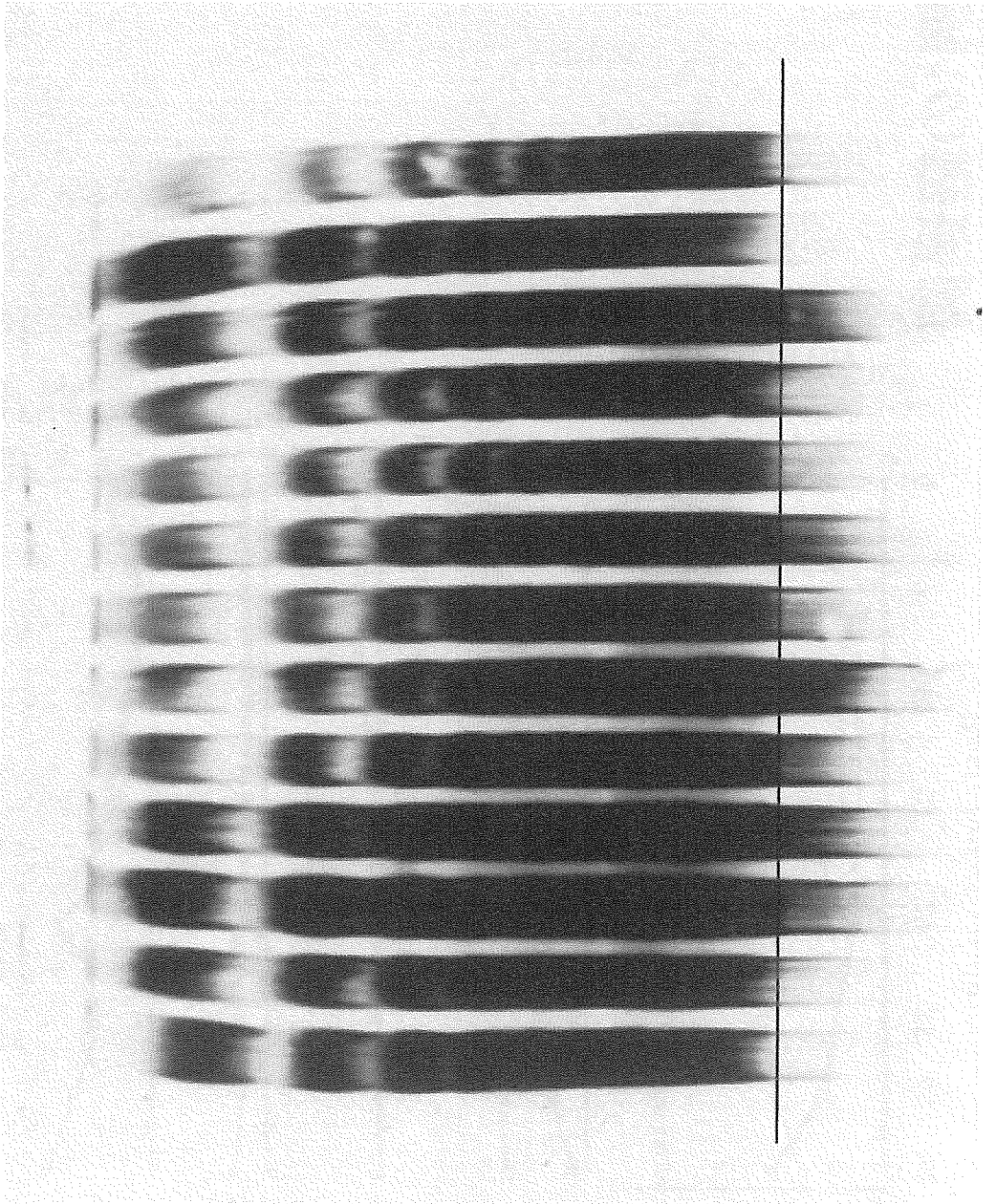
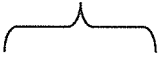


図4 肝移植症例1の経過図

UL-VWF_M



Normal
plasma

Pre
Tx

1 2 4 7 9 11 15 22 30 45 73

Days after transplantation

図5 肝移植症例1のUL-VWF_M

**酵素活性
(ADAMTS13)**

**基質量
(VWF)**

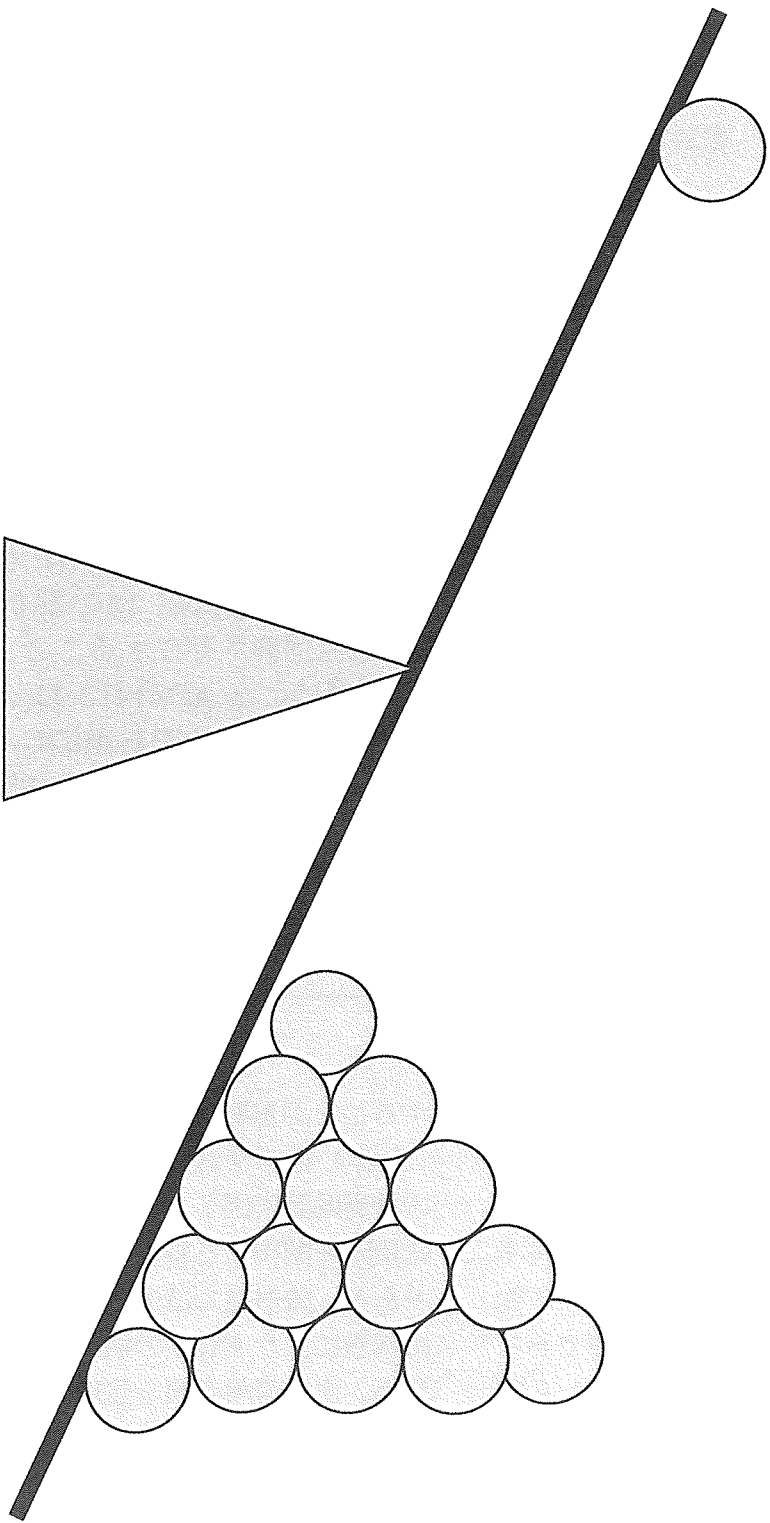


図6 肝疾患におけるADAMTS13とVWFの不均衡

敗血症 DIC の臓器障害における PAI-1 と VWF 切断酵素 (ADAMTS-13) の役割

分担研究者 坂田洋一 自治医科大学医学部分子病態研究部教授
研究協力者 窓岩清治 自治医科大学医学部分子病態研究部講師

研究要旨

敗血症に併発する DIC (敗血症 DIC) は、微小血栓に起因する虚血性障害により多臓器不全を高頻度に合併する予後不良な病態である。本研究では、敗血症 DIC における止血栓の形成と血栓溶解の制御機序と、臓器障害の進展および生命予後について検討した。止血栓の溶解を制御する PAI-1 は、非敗血症 DIC 群と比較して敗血症 DIC 群において有意に高値であった。多変量解析により、DIC 診断時の血漿 PAI-1 値が、敗血症 DIC における生命予後の独立した危険因子であることを明らかにした。一方 DIC の微小血栓形成には、VWF 切断酵素 (ADAMTS-13) の欠乏する病態も関与している。敗血症 DIC 症例では、ADAMTS-13 抗原量に比して活性値が低下する症例群が存在すること、および ADAMTS-13 低下群において白血球エラスターゼによる ADAMTS-13 の酵素学的分解が、敗血症 DIC の病態の進展に関与していることを明らかにした。特に ADAMTS-13 活性が 20%未満の群では、20%以上の群と比較して、急性腎機能障害の合併率が有意に高かった。以上の結果から、PAI-1 の増加と白血球エラスターゼによる ADAMTS-13 分解に起因する ADAMTS-13 の二次的低下が、敗血症 DIC の臓器障害の進展に深く関与する可能性が示された。

1. 研究目的

敗血症に併発する DIC (敗血症 DIC) は、微小血栓に起因する虚血性障害により多臓器不全を高頻度に合併する予後不良な病態である。敗血症 DIC の生命予後の改善には、感染症の治療が肝要であるものの、そのコントロールは必ずしも容易ではない。このような場合、併発する DIC に対して早期に可及的な抗凝固療法を施し、併発する臓器障害の進展を防止

することが重要な治療戦略となる。

PAI-1 はプラスミノゲンアクチベータの特異的阻害因子であり、線溶反応の開始段階を制御する重要な生理的調節因子である。敗血症では炎症性サイトカインの刺激により PAI-1 の病的な増加を伴うため、血栓溶解を担う生理的な線溶反応が抑制され、止血栓の除去障害をきたす。

ADAMTS-13 は、フォンビレブランド因子 (VWF) を特異的に切断するが、血

栓性血小板減少性紫斑病（TTP）などでは、本酵素の欠乏により、超高分子量 VWF マルチマーが増加し、微小血管に病的な血小板血栓が生じる。

本研究では、敗血症 DIC における止血栓の形成、血栓溶解の制御機序および臓器障害の進展に関わる PAI-1 の役割とともに、ADAMTS-13 の変動と存在様式を解析し、それらの臨床的意義について検討した。

2. 研究方法

旧厚生省の診断基準で DIC と診断された 1,744 症例を対象とした。

全対象症例において、DIC をきたす基礎疾患の検索とともに、凝固線溶系検査項目、補助的検査項目（トロンビン-アンチトロンビン III 複合体：TAT、プラスミン- α 2 プラスミンインヒビター複合体：PIC、D-ダイマー）、および PAI-1 について非敗血症 DIC 群と敗血症 DIC 群との 2 群間での比較解析を行った。さらに敗血症 DIC 群では、DIC 診断時の臓器障害の指標である SOFA スコアと、診断後 28 日目の予後についても評価項目とした。

ヒト ADAMTS-13 に対するモノクローナル抗体（WH10 および WH2-22-1A）を用いて、血漿中 ADAMTS-13 の抗原量測定系を確立した。白血球エラスターゼ分画フィブリン分解物（GE-XDP）は、IF-123 抗体を用いたラテックス凝集法により測定した。

統計解析は、Student's t-test、Fisher exact、one-way ANOVA、Fisher probability test、Multivariate Cox's regression analysis 等による検定を用いた。

（倫理面への配慮）

臨床検体の取り扱いに際して、個人情報保護には充分留意し、各検体を匿名化した上で、諸検査を施行した。

3. 研究結果

血漿 PAI-1 値は、非敗血症 DIC 群と比較して敗血症 DIC 群において有意に高値であった（ 80.23 ± 7.96 ng/mL vs 62.01 ± 4.42 ng/mL, $p < 0.05$ ）。さらに血漿 PAI-1 値は、血漿フィブリノゲン値と正相関、D-dimer 値と負相関を示した。敗血症 DIC 群のうち、DIC 診断時の血漿 PAI-1 値が 90 ng/mL 以上の群は、30 ng/mL 未満の群と比較して臓器障害スコアが有意に高く（ 4.6 ± 0.8 vs 9.1 ± 1.0 , $p < 0.01$ ）、DIC 診断後 28 日目の死亡率も有意に高値であった。多変量解析により、DIC 診断時の血漿 PAI-1 値が、敗血症 DIC の生命予後における独立した危険因子であることが明らかとなった（HR=1.012, 95%CI =1.003-1.020, $p = 0.008$ ）。

敗血症 DIC 症例では、ADAMTS-13 抗原量に比して活性値が低下する症例群（ADAMTS-13 比活性低下群）が存在している。ADAMTS-13 比活性低下群では、低分子サイズの ADAMTS-13 が存在し、ADAMTS-13 関連フラグメントが白血球エラスターゼによる ADAMTS-13 の分解物に相当すること、および ADAMTS-13 活性および抗原量と GE-XDP には有意な負の相関があること

から（ $R_s = -0.399$, $p < 0.01$, $R_s = -0.404$, $p < 0.01$ ）、白血球エラスターゼによる ADAMTS-13 の分解が、敗血症 DIC の病態の進展に関与していることが明らかとなった。さらに ADAMTS-13 活性が 20% 未満の群では、超高分子量 VWF マルチ

マーが認められ、20%以上の群と比較して、急性腎機能障害の合併率 (41.2% vs 15.4%, $p<0.05$) および血清クレアチニン値活性 (1.81 ± 1.70 mg/dL vs 0.95 ± 0.76 mg/dL, $p<0.01$) が有意に高かった。

4. 考察

敗血症 DIC 症例では、非敗血症 DIC 症例と比較して、現厚生労働省 DIC 診断基準で用いられている診断項目のみならず、D-ダイマーやプラスミン- $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体など線溶系分子マーカーの変動が乏しく、早期に DIC を診断することが困難であることが特徴である。ところが、敗血症 DIC における血漿 PAI-1 値は、非敗血症 DIC と比較して、有意に増加していることが明らかにされたばかりでなく、DIC 診断時における血漿 PAI-1 値の多寡が、臓器障害の重症度とともに生命予後の重要な指標となる可能性が示された。このことは、DIC を診断、治療する上で PAI-1 が有用な指標となることを示唆するものである。

敗血症 DIC において、活性化白血球から放出される白血球エラスターゼは、プラスミン非依存性のフィブリン分解機構の一翼を担う可能性がある。しかしながら、本研究結果から、敗血症 DIC において ADAMTS-13 の著減する症例が高頻度で存在すること、白血球エラスターゼが ADAMTS-13 を酵素学的に分解・不活化している可能性があることが示された。さらに、ADAMTS-13 と腎障害の頻度とは負の相関がみられたことから、ADAMTS-13 の低下が敗血症 DIC における臓器障害とくに腎障害の進展に深く関与する可能性が示唆された。

5. 結論

敗血症 DIC における PAI-1 の高値と白血球エラスターゼによる ADAMTS-13 分解に起因する ADAMTS-13 の二次的低下が、臓器障害の進展、生命予後に深く関与することが示唆された。フィブリンの分解機構をモニタリングし、線溶系の動態を把握することは、止血栓形成による臓器障害の進展が予後を大きく左右する敗血症 DIC の診療に極めて重要であると考えられる。

6. 健康危険情報

特記事項なし。

7. 研究発表

A. 論文発表

Madoiwa, Someya T, Hironaka M, Kobayashi H, Ohmori T, Mimuro J, Sugiyama Y, Morita T, Nishimura Y, Tarumoto T, Ozawa K, Saito K, Sakata Y. Annexin 2 and hemorrhagic disorder in vascular intimal carcinomatosis. *Thromb Res* 2006, in press.

Ono T, Mimuro J, Madoiwa S, Soejima K, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Takano K, Ohmori T, Sakata Y. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure. *Blood* 2006; 107, 628-534.

Kimura R, Honda S, Kawasaki T, Tsuji H, Madoiwa S, Sakata Y, Kojima T, Murata M, Nishigami K, Chiku M, Hayashi T, Kokubo Y, Okayama A, Tomoike H, Ikeda Y, Miyata

T. Protein S-K196E mutation as a genetic risk factor for deep vein thrombosis in Japanese patients. *Blood* 2006: 107, 1737-1738.

Sejima T, Madoiwa S, Mimuro J, Sugo T, Okada K, Ueshima S, Matsuo O, Ishida T, Ichimura K, Sakata Y. Protection of plasminogen activator inhibitor-1-deficient mice from nasal allergy. *J Immunol* 2005: 174, 8135-8143.

B. 学会発表

窓岩清治、大森 司、諏合輝子、三室 淳、小澤敬也、坂田洋一：血管内膜癌症に伴う出血傾向は、annexin II を介するフィブリノゲン分解に起因する 第 28 回日本血栓止血学会学術集会 2005 11/23-25 福岡国際会議場

瀬嶋尊之、窓岩清治、三室 淳、諏合輝子、大森 司、岡田清孝、上嶋 繁、松尾 理、石田 孝、市村恵一、坂田洋一：アレルギー性鼻炎における plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)の関わり 第 28 回日本血栓止血学会学術集会 2005 11/23-25 福岡国際会議場

窓岩清治、大森 司、三室 淳、諏合輝子、中原邦彦、田中英之、長濱 裕、桜井錠治、松田道生、坂田洋一：白血球エラスターゼによる血栓溶解機構の検討 (fibrinogen and fibrin degradation products by granulocyte elastase in DIC patients) 第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会 2005 9/17-9/19 パシフィコ横浜

木村利奈、宮田敏行、本田繁則、川崎富夫、辻 肇、小嶋哲人、窓岩清治、坂田洋一、村田 満、池田康夫：日本人の静脈血栓症の危険因子、プロテイン SK196E：血液凝固異常症に関する調査研究班の成績(Protein S K196E mutation as a genetic risk of deep vein thrombosis in Japanese) 第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会 2005 9/17-9/19 パシフィコ横浜

8. 知的財産権の出願・登録

特記事項なし。

危険因子の同定と介入による静脈血栓症のテイラーメイド予防

村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学・教授

研究要旨 深部静脈血栓症 (DVT)の危険因子として protein S 欠損症、protein C 欠損症、antithrombin 欠損症などのほか、欧米では factor V Leiden、prothrombin G20210A 変異等が知られている。高ホモシステイン血症は内皮細胞傷害、凝固の活性化を通じて DVT の発症に関連するとされ、疫学的にも DVT の危険因子であるとの報告が見られる。軽度の高ホモシステイン血症はメチレンテトラヒドロ葉酸 (MTHFR) の C677T 変異など先天的な要因に加え、食習慣の影響が大きい。特に変異を有する個体では葉酸摂取不足により軽度の高ホモシステイン血症を来しやすい。C677T 変異のアリル頻度には大きな人種差が知られており、日本人のアリル頻度は 30%以上と世界中でも比較的高い部類に属する。血漿総ホモシステイン濃度 (tHcy) に対する介入効果に対し MTHFR 多型が影響を与えるか否かを調べることにより、DVT 予防における葉酸摂取の効果が多型ごとに評価することの有用性を検討した。その結果、どの遺伝子型においても介入 1 ヶ月後から実薬群で有意な tHcy 低下が観察され、その減少幅は野生型およびヘテロ変異体と比較してホモ変異体において最大であった。軽度の高ホモシステイン血症は動脈硬化性疾患の独立した危険因子であることが明らかにされているが、DVT 予防にどのように関連するかは明らかではない。遺伝子変異に基づく DVT リスク上昇を、葉酸の摂取推奨により効率的に低減できるテイラーメイド予防が実現できるかどうか、他の危険因子との関連において今後明らかにされる必要がある。

A. 研究目的

本研究は特発性血栓症発症メカニズムを解明し、発症を予防する方法を検討することを目的としている。静脈血栓症の先天性・後天性のリスクを明らかにするため、多施設共同で臨床情報

の収集、遺伝子解析を行う事により、日本人における発症の誘因がそれぞれ明らかになると思われる。これまでの検討で血栓関連因子の日本人での頻度が検討され、欧米との差異が明らかとなった。静脈血栓症患者における遺伝

的背景・環境要因を詳細に検討するため、遺伝子タイピングを行い、5 遺伝子多型（プラスミノゲン A620T、プロテイン S K196E、XII 因子 -4C>T、PAI-1 4G/5G、ADAMTS13 P475S）のタイピングが終了し、1つの多型が静脈血栓症で有意差を示した。

深部静脈血栓症（DVT）の危険因子として protein S 欠損症、protein C 欠損症、antithrombin 欠損症などのほか、欧米では factor V Leiden、prothrombin G20210A 変異等が知られている。高ホモシステイン血症は内皮細胞傷害、凝固の活性化を通じて DVT の発症に関連するとされ、疫学的にも DVT の危険因子であるとの報告が見られる。軽度の高ホモシステイン血症はメチレンテトラヒドロ葉酸（MTHFR）の C677T 変異など先天的な要因に加え、食習慣の影響が大きい。特に変異を有する個体では葉酸摂取不足により軽度の高ホモシステイン血症を来しやすい。C677T 変異のアリル頻度には大きな人種差が知られており、日本人のアリル頻度は 30%以上と世界中でも比較的高い部類に属する。そこで今回、血漿総ホモシステイン濃度（tHcy）に対する介入効果に対し MTHFR 多型が影響を与えるか否かを調べることにより、DVT 予防における葉酸摂取の効果、多型ごとに評価することの有用性を調べることとした。

B. 研究方法

研究デザインとしては MTHFR 遺伝子 C677T 多型で層別化した二重盲検プラセボ使用ランダム化比較試験とした。某企業に勤務する健常者からボランティアを募り、葉酸または葉酸代謝に影響する薬剤の常用者を除外した 203 名の健常男性を対象とした。介入としては葉酸 1mg を含むカプセルおよび同形のプラセボ 1 日 1 錠を経口投与 90 日間とした。主要エンドポイントとしては血漿総ホモシステイン濃度（tHcy）を用い、ベースライン時、介入後 1 ヶ月後・3 ヶ月後に測定を行った。

（倫理面への配慮）

本研究はヒトゲノム遺伝子解析研究であるため、合同指針の則りまず施設の倫理委員会で承認を受けた。すべての検体提供者から十分な説明の後インフォームドコンセントをえた。検体はすべて匿名化した後、解析された。

C. 研究結果

介入群で 1 ヶ月後から有意な葉酸減少を認めた。どの多型においても介入 1 ヶ月後から実薬群で有意な tHcy 低下が観察され、その減少幅は野生型およびヘテロ変異体と比較してホモ変異体において最大で統計的にも有意差があった。さらに変異アリル数と減少幅の間に有意なトレンドが確認された。こ

の現象は3ヶ月後でも同様に観察された。

D. 考察

近年発表された2つのメタアナリシスにより、MTHFR 遺伝子 C677T 多型のホモ変異はマイルドな高ホモシステイン血症を介し動脈硬化性疾患の独立した危険因子であることが明らかにされた。しかしこの多型が、静脈血栓症とどのような関係にあるかは十分に検討されていない。今回の研究では葉酸補充による有意な tHcy 低下はどの遺伝子多型でも観察され、中でも本変異をホモに持つ人（日本人の一般集団での割合は10%以上）における低下量は、変異のない人に比べ約2.4倍であった。

深部静脈血栓症／肺塞栓症予防ガイドラインが平成16年度に日本血栓止血学会などを中心に作成され、周術期における各科領域での発症調査がまとめられつつある。しかし、いわゆる「血栓性素因」と称される状態において、静脈血栓症を如何に予防すべきか、明確なガイドラインはない。本研究は高ホモシステイン血症に着目したが、今後、遺伝的／後天的な血栓性素因に対し、静脈血栓症予防をどのようにしてゆくべき、危険因子一つ一つについて、エビデンスを蓄積してゆく必要がある。

E. 結論

軽度の高ホモシステイン血症は動脈硬化性疾患の独立した危険因子であることが明らかにされているが、DVT 予防にどのように関連するかは明らかではない。遺伝子変異に基づくDVTリスク上昇を、葉酸サプリメントなどの摂取推奨により効率的に低減できるテーラーメイド予防が実現できるかどうか、特に他の危険因子との関連において今後明らかにされる必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Matsubara Y, Murata M, Hayashi T, Suzuki K, Okamura Y, Handa M, Ishihara H, Shibano T, Ikeda Y. Platelet glycoprotein Ib alpha polymorphisms affect the interaction with von Willebrand factor under flow conditions. *Brit J Haematol* 128: 533-539, 2005

Isshiki I, Favier R, Moriki T, Uchida T, Ishihara H, Van Dreden P, Murata M, Ikeda Y. Genetic analysis of hereditary factor X deficiency in a French patient of Sri Lankan ancestry: in vitro expression study identified Gly366Ser substitution

as the molecular basis of the dysfunctional factor X. Blood Coagulation and Fibrinolysis 16: 9-16, 2005

Miyaki K, Sutani S, Kikuchi H, Takei I, Murata M, Watanabe K, Omae K, Increased risk of obesity resulting from the interaction between high energy intake and the Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene in healthy Japanese men. J Epidemiol 5(6): 203-10, 2005.

Miyaki K, Murata M, Kikuchi H, Takei I, Nakayama T, Watanabe K, Omae K. Assessment of tailor-made prevention of atherosclerosis with folic acid supplementation: randomized, double-blind, placebo-controlled trials in each MTHFR C677T genotype. J Hum Genet 50(5): 241-8. Epub 2005

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

TTP、TMAにおける全自動測定器機によるFRC（破碎赤血球）の測定 ならびにADAMTS13値の評価

分担研究者名 和田英夫 三重大学大学院医学系研究科
病態解明学講座臨床検査医学分野
研究協力者名 森 美貴 三重県赤十字血液センター

研究要旨

TMAの診断には破碎赤血球（FRC）の増加が必須であるが、今まで客観的な評価は困難であった。今回XE2100を使用してFRCを測定したので、血小板減少性疾患におけるFRC測定の有用性について報告する。

対象症例：健常人120名、肝移植21例、その他の肝疾患46例、再生不良性貧血11例、DIC基礎疾患74例（DIC13例）、化学療法19例、ITP42例である。健常人でのFRCは平均0.04%（最小0%—最大1.02%）であり、1.0%以上を異常値とした。各種疾患の検討では、肝移植で著しく高値を示した。検討前にTMAが疑われた症例は21例中3例であったが、FRCは10例に高値であり、より鋭敏と考えられた。しかし、再生不良性貧血で高値傾向にあり、小球性貧血の影響を受けるのが欠点と考えられた。また、肝移植でFRCが増加するのは、1例を除いて14-28日であった。一方、ADAMTS13は術後1日目で全例著しい低下を示し、7日目には増加を示すが、TMA合併例では14日以降も著しい低値を示した。以上、TMAの診断にFRCは有用と考えられた。

1. 研究目的

破碎赤血球（FRC）はTTPやTMA診断における、最も重要なマーカーの一つであるが、定量ならびに標準化の問題があった。近年、全自動血球計測装置(XE2100)により、FRCを定量的に測定することが可能になった。また、肝移植では高頻度にTMAを合併することが報告されている。

このため、肝移植症例におけるFRCならびにADAMTS13値の変動を調べ、肝移植におけるTMAの発症ならびにADAMTS-13の役割を検討した。

2. 研究方法

対象は健常人120名、肝移植21例、その他の肝障害46例、再生不良性貧血11例、DIC基礎疾患74例（DIC13例、非DIC61例）、化学療法による骨髄抑制19例、ITP42例。

（倫理面への配慮）

三重大学の倫理委員会の指針に従い、個人情報保護に留意して患者名は匿名化しておこなった。

FRCの測定は図1に示すように、全血の血球分画をXE-2100にて測定後、ソフトウエア(XE RET master)によ

り FRC として換算された。

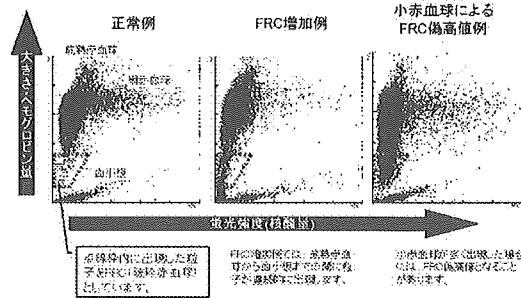


図1 FRC の測定

血漿中の ADAMTS13 活性は、FRET-VWF73 により測定された。

3. 研究結果

健常人における FRC(平均 ; 範囲)は、0.04 % ; 0 - 1.02 % で、男性では 0.02% ; 0 - 0.21 %、女性で 0.08% ; 0 - 1.02 % であった。女性の 1 例で高値を呈したことが、平均値を上げたと考えられる。この成績から、FRC の正常範囲を 1 % 以下とした(図 2)。

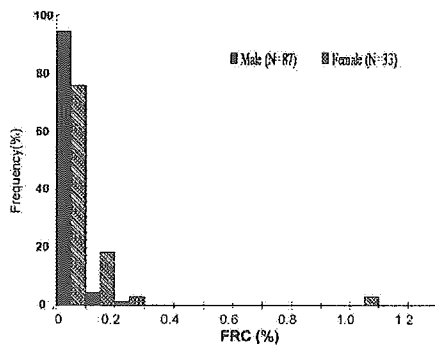


図2 健常人における FRC 分布

各種疾患での FRC は、肝移植(2.50 % ; 0.38 - 10.61 %)ならびに再生不良性貧血(1.42 % ; 0 - 6.41 %)で有意に高

値を示した($p < 0.01$)。特に、肝移植 21 例中 10 例で FRC の高値が認められた。肝移植が行われなかったその他の肝疾患では、有意な FRC の増加は認められなかった(図 3)。

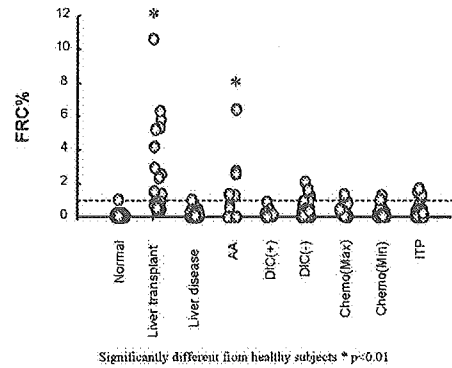


図3 各種疾患における FRC

肝移植の経過中の FRC を図 4 に示す。移植前に FRC の増加が 4 例で認められたが、移植 1 日後に FRC は著しく低下した。その後 FRC は徐々に増加し、術後 14 日目には 3 例が異常高値を示し、21 日目には 6 例が異常高値であったが、28 日後には低下傾向を示した。術後 35 日目から FRC が増加した

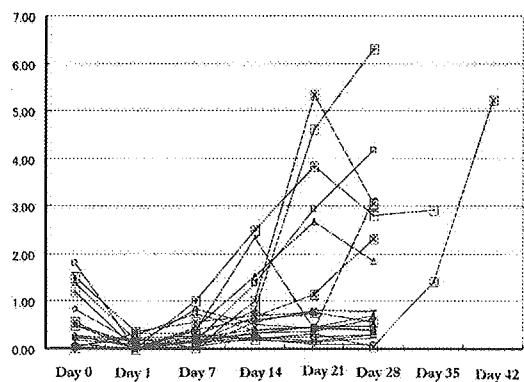


図4 肝移植の経過中の FRC

症例が、1 例認められた。

肝移植の経過中の ADAMTS13 値を図