

英文原著

1. Shibagaki Y, Matsumoto M, Kokame K, Ohba S, Miyata T, Fujimura Y, and 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** 2006;21:1289-1292.
2. 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** 2006;12:859-869.
3. 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** 2006;46:1444-1452.
4. Sato T, Hanaoka R, Ohshima M, Miwa Y, Okazaki Y, Yajima N, Ishizashi H, Matsumoto M, Fujimura Y, Inokuma S. Analyses of ADAMTS13 activity and its inhibitor in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura secondary to connective tissue diseases: Observations in a single hospital. **Clin Exp Rheumatol**. 2006;24:454-455.
5. Kitano K, Gibo Y, Kamijo A, Furuta K, Oguchi S, Joshita S, Takahashi Y, Ishida F, Matsumoto M, Uemura M, Fujimura Y. Thrombotic thrombo-cytopenic purpura associated with pegylated-interferon alpha-2a by an ADAMTS13 inhibitor in a patient with chronic hepatitis C. **Haemato-logica**. 2006;91: ECR34
6. Morishita T, Matsumoto M, Honoki K, Yoshida A, Takakura Y, Fujimura Y. Successful Treatment of Primitive Neuroectodermal Tumor-associated Microangiopathy with Multiple Bone Metastases. **Jpn J Clin Oncol** 2007; 37:66-69.
7. Kobayashi T, Wada H, Kamikura Y, Matsumoto T, Mori Y, Kaneko T, Nobori T, Matsumoto M, Fujimura Y, Shiku H. Decreased ADAMTS13 activity in plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic

- purpura. **Thomb Res** 2007;119:447-452.
8. Ito S, Okuyama K, Nakamura T, Tetanishi JI, Saito K, Matsumoto M, Fujimura Y, Aihara Y, Yokota S. Intravenous gamma globulin for thrombotic microangiopathy of unknown etiology. **Pediatr Nephrol.** 2007;22:301-305.
9. 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), 2007.
10. Ishizashi H, Yagi H, Matsumoto M, Soejima K, Nakagaki T, Fujimura Y. Quantitative western blot analysis of plasma ADAMTS13 antigen in patients with Upshaw-Schulman syndrome. **Thromb Res.** (in press) 2007.
11. Yagi H, Ito S, Kato S, Hiura H, Matsumoto M, Fujimura Y. Plasma levels of ADAMTS13 antigen, determined by an enzyme immunoassay using the neutralizing monoclonal antibody, parallel to those of the activity. **Int J Hematol.** (in press) 2007
- 日本語原著**
1. 松山友美、植村正人、石川昌利、森岡千恵、藤本正男、櫻井伸也、小嶋秀之、吉治仁志、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血漿 ADAMTS13 活性低下の機序-サイトカインならびにインヒビターの面からの検討-. アルコールと医学生物学. 2006;26:100-107
 2. 洪鉉寿、青山泰孝、山村亮介、太田忠信、麥谷安津子、山根孝久、日野雅之、松本雅則、藤村吉博. Rituximab 投与が奏効し、長期寛解を維持している血漿交換抵抗性重症血栓性血小板減少性紫斑病. 臨床血液 2006;47:1528-1532, 2006.
 3. 金子仁臣, 松本雅則, 岡本浩平, 蝶名林和久, 菱沢方勝, 渡邊光正, 藤村吉博, 通堂満. Rituximab と vincristine 併用が奏効した難治性血栓性血小板減少性紫斑病. 臨床血液 2007;48:144-147.

日本語総説

1. 藤村吉博. 血栓性血小板減少性紫斑病の分子機構. 今日の移植 2006;19:511-517.
2. 藤村吉博. 血栓性微小血管障害症. 臨床血液 2006;47:734-747.
3. 松本雅則、石指宏通、八木秀男、藤村吉博. ADAMTS13 解析による TTP/HUS の診. 奈良医学雑誌 2006;57:1-10.
4. 松本雅則、松山友美、石指宏通、植村正人、秋山暢、富山順治、名取一彦、倉石安庸、今村 豊、井上信正、日笠 聡、清家雅子、小塚輝彦、原雅道、小亀浩市、宮田敏行、藤村吉博. Upshaw-Schulman 症候群:妊娠時の仮面を被った血小板減少症. 日本産婦人科・新生児血液学会誌 2006; 15: 30-40.
5. 八木秀男、伊藤武文、児山紀子、松本雅則、木村弘、椿和央、藤村吉博. ヘパリン起因性血小板減少症の病態と診断、治療. 血液・腫瘍科 2006;53:451-458.
6. 加藤誠司、藤村吉博. 新しい血栓症のマーカー ADAMTS13. Medical Technology. 35;120-122.
1. Matsumoto M, Kato S, Hiura H, Fujimura Y. Japanese experience of novel ADAMTS13 activity-ELISA on patients with TMA and liver transplantation. 52nd Annual SSC meeting. (於: Oslo, Norway, 2006年6月28日)
2. Koyama N, Suzuki T, Yamauchi M, Makinodan K, Tamaki S, Fukuoka A, Tomoda K, Yoshikawa M, Ishizashi H, Yagi H, Matsumoto M, Fujimura Y, Kimura H. Unusually large von Willebrand factor multimers might be involved in cardiovascular events in patients with obstructive sleep apnea syndrome. European Respiratory Society Annual Congress 2006. (於 Munich, Germany, 2006年9月2日)
3. Kim B, Davidson C, Kwaan HC, Zakarija A, Bandarenko N, Pandey DK, Sarode R, McKoy JM, Tevar AD, Cursio JF, Raife TJ, Kiss JE, Raisch DW, Sadler JE, Ortel TL, Zheng XL, Kato S, Matsumoto M, Uemura M, Fujimura Y, Bennett CL. Characteristics of Two Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) Syndromes Associated with

学会発表

- Ticlopidine and Clopidogrel: Results From the Surveillance, Epidemiology, and Risk Factors for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (SERF-TTP) Research Group. AHA Scientific Sessions 2006 (於 Chicago, Illinois, 2006 年 11 月 12 日)
4. Bandarenko N, Zakarija A, Kim B, Kwaan HC, McKoy JM, Pandey DK, Hay SN, Sarode R, Tevar AD, Cursio JF, Raife TJ, Kiss JE, Davidson C, Sadler JE, Ortel TL, Zheng XL, Kato S, Matsumoto M, Uemura M, Fujimura Y, Bennett CL. Two Mechanistic Pathways of Ticlopidine- and Clopidogrel-associated TTP: Results From the Surveillance, Epidemiology, and Risk Factors for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (SERF-TTP) Research Group. 59th AABB Annual Meeting (於 Miami Beach, Florida, 2006 年 10 月 21 日)
 5. Uemura M, Kato S, Matsumoto M, Isonishi A, Ishizashi H, Hiura H, Matsuyama T, Yagi H, Ishikawa M, Fujimoto M, Kojima H, Yoshiji H, Fujimura Y, Fukui H. Increased plasma VWF antigen over decreased ADAMTS13 activity in patients with liver disturbance and clinical features. The 48th Annual Meeting of the American Society of Hematology (於 : Orlando, Florida, 2006 年 12 月 9 日)
 6. Matsumoto M, Kawa K, Yagi H, Yong-Dong Park, Takeshima Y, Kosaka Y, Hara H, Kai S, Yamamoto M, Kanemaru A, Fukuhara S, Hino M, Sako M, Hiraoka A, Ogawa H, Hara J, Fujimura Y. Infusions of fresh frozen plasma to the patients with a high-risk group for hepatic VOD associated with stem cell transplantation reduce its occurrence. (於 : Orlando, Florida, 2006 年 12 月 9 日)
 7. 藤村吉博. HIT と TMA-今話題の血小板減少症. 第 10 回神戸臨床内科研究会 (特別講演、於 : ニューオータニ神戸ハーバーランド、平成 18 年 2 月 2 日)
 8. 藤村吉博. Upshaw-Schulman 症候群-仮面を被った血小板減少症. 第 109 回日本小児科学会学術集会 (分野別シンポジウム於 : 金沢全日空ホテル. 平成 18 年 4 月 2

- 1-23日)
9. 藤村吉博. 血栓性微小血管障害症. 第47回日本神経学会総会 (シンポジウム、於:京王プラザホテル. 平成18年5月11-13日)
 10. 松本雅則、藤村吉博. ADAMTS13 研究の展望:多彩表現型 TMA の病態解析. 第54回日本輸血学会 (シンポジウム、於:大阪国際会議場 平成18年6月9日)
 11. 伊藤晋、竹嶋俊介、山本茂一、千葉桂子、林司、川瀬雅子、和田光雄、加藤誠司、日裏久英、松本雅則、藤村吉博. ADAMTS13 活性測定試薬の開発. 第54回日本輸血学会 (於:大阪国際会議場 平成18年6月9日)
 12. 藤村吉博. TMA 診断における ADAMTS13 活性測定の意義. 第5回九州血液検査研究会 (特別講演. 於:第一製薬九州営業所会議室. 平成18年6月24日)
 13. 藤村吉博. 血栓性血小板減少性紫斑病と ADAMTS13 第11回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会 (シンポジウム「難治性疾患におけるプロテアーゼ/インヒビター:循環器難治性疾患を中心として」、於:東北大学川内キャンパス、平成18年8月25-26日)
 14. 藤村吉博. ADAMTS13 分子異常症、その病態と治療、第3回 Organ microcirculation forum. 慶応義塾大学総合医科学研究棟 日時:平成18年9月29日)
 15. 藤村吉博. TMA 診断における ADAMTS13 活性測定の意義. 第68回日本血液学会・第48回日本臨床血液学会合同総会. (教育講演、於:福岡国際会議場、平成18年10月6日)
 16. 加藤誠司、今野武津子、田中亮二郎、日裏久英、松本雅則、石西綾美、藤村吉博. 高感度 ADAMTS13 活性 ELISA で測定した同活性血中半減期 第68回日本血液学会第48回日本臨床血液学会合同総会 (於:福岡国際会議場 平成18年10月6日)
 17. 志田泰明、杉本充彦、水野智寛、濱田匡章、西尾健治、加藤誠司、松本雅則、藤村吉博. 血流下での ADAMTS13 活性測定法の確立. 第68回日本血液学会第48回日本臨床血液学会 合同総会 (於:福岡国際会議場 平成18年10月6日)
 18. 松山友美、松本雅則、猪熊茂子、加藤誠司、石指宏通、石西綾美、植村正人、藤村吉博. 膠原病に合併した血栓性微少血管障害症 (TMA) の ADAMTS13 解析. 第68回日本血液学会第48回日本臨床血液

- 学会 合同総会(於：福岡国際会議場 平成18年10月6日)
19. 上條敦、北野嘉良、城下智、宜保行雄、石田文宏、植村正人、松本雅則、藤村吉博。ADAMTS13 inhibitor 出現により発症した Peginterferon 関連血栓性血小板減少性紫斑病. 第68回日本血液学会第48回日本臨床血液学会合同総会(於：福岡国際会議場 平成18年10月6日)
 20. 岩重淳司、葛城武文、東丈裕、毛利文彦、森本浩章、松浦愛、田中綾、溝部高光、塚田順一、田中良哉、松本雅則、加藤誠司、藤村吉博。リツキシマブ抵抗性を示した重症血栓性血小板減少性紫斑病. 第68回日本血液学会第48回日本臨床血液学会 合同総会(於：福岡国際会議場平成18年10月6日)
 21. 小林稔彦、松本剛史、森美貴、兼兒敏浩、和田英夫、登勉、珠玖洋、松本雅則、藤村吉博。血栓性血小板減少性紫斑病における、各種測定方法による ADAMTS13 測定. 第68回日本血液学会第48回日本臨床血液学会 合同総会(於：福岡国際会議場 平成18年10月6日)
 22. 藤村吉博。最近注目されている血小板減少症-HIT と TMA (thrombotic microangiopathy)-の治療と EBM. 第180回近畿外科学会(特別講演、於：大阪国際交流センター. 平成18年11月25日)
 23. 藤村吉博。小児 TMA の診断と治療. 第48回日本小児血液学会(特別講演、於：大阪国際会議場、平成18年11月25日)
 24. 松山友美、植村正人、松本雅則、石指宏通、加藤誠司、石川昌利、森岡千恵、田村信宏、櫻井伸也、藤本正男、小嶋秀之、吉治仁志、瀧村力、藤村吉博、福井博。健常人における中等量エタノール摂取後の ADAMTS13 活性と VWF 抗原の動態. DDW-JAPAN 2006 (於：札幌コンベンションセンター 平成18年10月11日~14日)
 25. 藤村吉博。小児 TMA の診断と治療. 第48回日本小児血液学会。(於：大阪国際会議場、平成18年11月25日)
 26. 今野武津子、高橋美智子、佐藤孝平、松本雅則、加藤誠司、植村正人、狩野吉康、藤村吉博。Peginterferon 療法によって TTP の憎悪をきたした Upshaw-Schulman の1例. 第48回日本小児血液学会。(於：大阪国際会議場、平成18年11月25日)
 27. 松本雅則、松山友美、加藤誠司、石西綾美、八木秀男、日裏久英、

- 藤村吉博. ADAMTS13 の臨床応用-測定とその解釈 適正な血小板輸血医療を行うのに必須のADAMTS13 活性と HIT 抗体の測定. 第 29 回血栓止血学会学術集会 (学術推進 SPC シンポジウム 於: 栃木県総合文化センター 平成 18 年 11 月 16 日)
28. 加藤誠司、今野武津子、田中亮二郎、石指宏通、松本雅則、石西綾美、松山友美、八木秀男、日裏久英、藤村吉博. 新規 ADAMTS13act-ELISA の応用. 第 29 回血栓止血学会学術集会 (於: 栃木県総合文化センター 平成 18 年 11 月 16 日)
29. 松本雅則、西田幸世、前田美和、辻内智美、門池真弓、結石杏奈、丹羽欣正、藤村吉博、杉山幸正、谷奥正俊. 当院におけるアルブミン製剤使用削減の取り組みについて. 第 50 回日本輸血学会 近畿支部総会 (シンポジウム 於: 大阪赤十字会館 平成 18 年 12 月 2 日)
30. 松本雅則、加藤誠司、石西綾美、八木秀男、藤村吉博、日裏久英. ADAMTS13 活性・抗原解析法の開発進歩状況. 日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2007 (於慶応義塾大学医学部、平成 19 年 2 月 17 日)
31. 藤村吉博、松本雅則、加藤誠司、小亀浩市、宮田敏行、村田満. 本邦 Upshaw-Schulman 症候群の診断と治療における問題点. 日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2007 (於慶応義塾大学医学部、平成 19 年 2 月 17 日)
- 知的財産権の出願・登録** (予定を含む)
なし

表 乳幼児期発症の後天性・特発性TTP 5例のまとめ

	①	②	③	④	⑤
・症例					
・年齢	9m	1y7m	1y7m	1y1m	9m
・生年月	1999.6	1998.12	2000.12	2001.5	2004.6
・性別	女	女	男	男	男
・初発症状	発熱 血小板減少 貧血				
・基礎疾患	ロタウイルス感染	なし	多発性小奇形	なし	なし (母が中国人)
・ADAMTS13: AC (%)	<0.5%	<0.5%	<0.5%	<0.5%	<0.5%
・INH (BU/ml)	481	4.3	1.8	1.85	4
↳ 転帰	略治 (軽度右片麻痺)	死亡	完治?	略治 (右上肢麻痺)	完治?
・ADAMTS13 遺伝子	実施せず	患者実施できず 父母異常なし 但しExon 19 (C>T)の サイレント・ ホモ変異	患者 P475Sの ヘテロ変異	実施せず	患者異常なし、但し exon 5 (C>T)サイレント・ ヘテロ変異 exon 15 (A>G)サイレン ト・ホモ変異 exon 19 (C>T)サイレント・ ホモ変異
・報告 (者)	大阪医大小児科 芦田、玉井ら (Am J Hematol 71:318, 2002)	松戸市立病院 小児科 小森、江口 (未発表)	千葉県こども 病院 落合、 角田、沖本 (第45回小児 血液学会抄録、 2003)	島根医大小児科 遠藤、金井、堀江、 渡辺、山口 (日本小児科学会 107: 810 抄録、2003)	宮城県立こども病院 佐藤、今泉; 国立 成育医療C 恒松; 東京医歯大 佐藤 (第47回 小児血液 学会抄録、2005)

注 本表のADAMTS13:ACは、保存されていた凍結血漿を用い、新規ADAMTS13-act-ELISAで測定したものである。

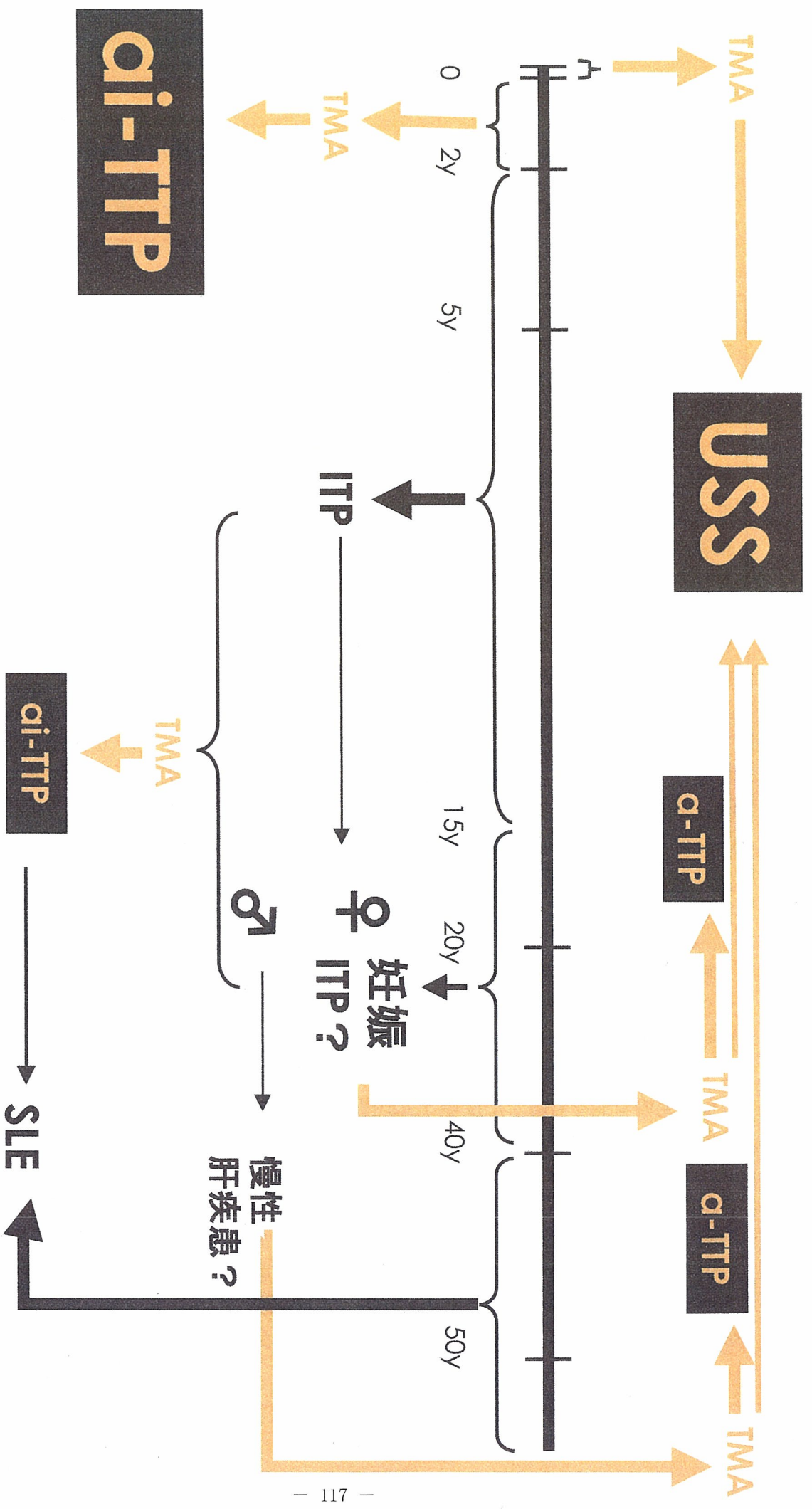


図 ADAMTS13依存性TMAの診断機会 (藤村仮説)

本邦における静脈血栓症に対するワルファリン使用の実態調査研究

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

静脈血栓症の再発や進展予防に対するワルファリン療法に関して、危険因子の強度や持続性、および再発の有無を考慮した投与方法が、本邦の静脈血栓塞栓症ガイドラインで提言されている。静脈血栓症に対する日本人に適したワルファリン療法を確立するためには、このようなワルファリン使用の現状を把握することは極めて重要であり、適正使用の指針づくりのための基礎データを収集する意義は深い。アンケート調査の対象は、先天性および後天性要因による静脈血栓塞栓症症例でワルファリン療法を施行している大学附属病院本院及び500床以上の一般病院の血液内科・循環器内科・心臓血管外科・産婦人科施設（1271件）と、血栓症研究の主導的立場を担う日本血栓止血学会評議員（199件）の合計1470件とした。調査項目は、ワルファリンの抗凝固能の指標を設定するための検査方法（プロトロンビン時間 INR 値、トロンボテスト）およびその指標値、血栓症分子マーカー（Dダイマー）の併用の有無と検査間隔である。さらに危険因子（先天性、後天性）によるワルファリン使用期間との関連、ワルファリン使用時の併用薬（とくに抗血小板剤）と指標設定値との関係、観血的処置（特に抜歯）時の対応、およびワルファリン使用中の出血例および血栓症再発例の有無などを調査し、平成19年2月19日現在で485件（33.0%）が回収された。

1. 研究目的

本邦の静脈血栓塞栓症予防ガイドライン2004年度版では、静脈血栓症の再発や進展予防に対するワルファリン療法について、危険因子の強度や持続性、および再発の有無を考慮した投与方法が提言されている。しかしながら実際の抗凝固療法を施行している医療機関におけるワルファリンの投与量および投与期間、治療中の合併症などについては、必ずしも明らかにされていない。日本人に適した静脈血栓症に対するワルファリン療法を確立するためには、ワルファリン使用

の現状を把握することは極めて重要であり、適正使用の指針づくりのための基礎データを収集する意義は深いと考える。

2. 研究方法

アンケート調査の対象は、先天性および後天性要因による静脈血栓塞栓症症例でワルファリン療法を施行している大学附属病院本院及び500床以上の一般病院の血液内科・循環器内科・心臓血管外科・産婦人科施設（1271件）と、血栓症研究の主導的立場を担う日本血栓止血学会評議員（199件）の合計1,47

0件とする。(別紙1)。調査項目は、ワルファリンの抗凝固能の指標を設定するための検査方法(プロトロンビン時間およびINR値、トロンボテスト)およびその指標値、血栓症分子マーカー(Dダイマー)の併用の有無等である。さらに静脈血栓塞栓症の危険因子(先天性、後天性)によるワルファリン使用期間との関連、ワルファリン使用時の併用薬(とくに抗血小板剤)と指標設定値との関係、観血的処置時の対応、およびワルファリン使用中の出血例および血栓症例の有無を調査する(別紙2)。

3. 研究結果

平成19年2月19日現在で485件(33.0%)が回収された。

4. 考察

今後の展開として、本調査結果の解析に基づき、出血という副作用の形でひとまとめにされているワルファリンによる出血の実態をさらに検討する予定である。つまり、実際はワルファリンが不足で血栓が生じ、梗塞後出血を助長したのか、純粋に過量であったのか、だとすればその出血の契機は何かまで解析したいと考えている。

5. 結論

日本人に適した静脈血栓症に対するワルファリン療法を確立するための実態調査を行った。

6. 健康危険情報

特記事項なし。

7. 研究発表

1)論文発表

Madoiwa S, Someya T, Hironaka M, Kobayashi H, Ohmori T, Mimuro J, Sugiyama Y, Morita T, Nishimura Y, Tarumoto T, Ozawa K, Sakata Y: Annexin 2 and hemorrhagic disorder in vascular intimal carcinomatosis. *Thromb Res* 2007; 119: 229-240.

Madoiwa S, Nunomiya S, Ono T, Shintani Y, Ohmori T, Mimuro J, Sakata Y: Plasminogen activator inhibitor 1 promotes a poor prognosis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol* 2006; 84: 398-405.

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: 528-534.

2)

学会発表

小野智子、三室 淳、窓岩清治、副島見事、大森 司、石渡 彰、柏倉裕志、新村真則、坂田洋一：敗血症性DIC患者におけるADAMTS 13欠乏と臓器障害
2006.10/6-8 第68回日本血液学会、第48回日本臨床血液学会合同総会 福岡国際会議場

石川淳子、木村利奈、本田繁則、川崎富夫、末久悦次、辻 肇、窓岩清治、坂田洋一、小嶋哲人、村田 満、竹下 聡、池田康夫、宮田敏行：日本人静脈血栓症

における関連遺伝子の変異解析
2006.11/16-18 第 29 回日本血栓止血学
会学術集会 栃木県文化センター

8. 知的財産権の出願・登録
特記事項なし。

厚生労働省難治性疾患克服研究班
「血液凝固異常症」に関する調査研究班
主任研究者 池田 康夫

「ワルファリンの使用に関するアンケート調査」のお願い

本研究班におきましては、原因が明らかでない血栓症(特発性血栓症)の成因の解明、診断あるいは治療法の確立を研究目標のひとつとして、調査研究活動を行っております。

ワルファリンは、血栓症の治療および予防において広く用いられている有用な抗凝固薬であります。静脈血栓塞栓症の診断・治療・予防に関するガイドライン(2004年)においても、静脈血栓塞栓症の薬物的予防法として用量調節ワルファリンが推奨されております。

今般、ワルファリンの使用に関するご意見を、貴診療科で血栓症の診療に携わっておられます先生から賜り、安全で有用な使用法の確立に役立てたく存じます。ご多忙のところ、大変恐縮ではありますが、本アンケート調査にご協力賜りますようお願い申し上げます。

なお、勝手ではありますが調査結果の整理の都合上、同封の返送用封筒を用いて平成19年 1月31日までにご回答いただければ幸いに存じます。

以上、よろしく願い申し上げます。

平成18年12月12日

慶応義塾大学医学部内科	池田康夫(主任研究者)
国立循環器病センター研究所病因部	宮田敏行
自治医科大学分子病態治療研究センター	坂田洋一
名古屋大学医学部保健学科	小嶋哲人
慶応義塾大学医学部中央臨床検査部	村田 満
大阪大学医学部心臓血管外科	川崎富夫
信州大学医学部保健学科	小林隆夫
京都府立医科大学輸血細胞医療部	辻 肇

別紙 2

ワルファリンの使用に関するアンケート調査

深部静脈血栓症および肺血栓塞栓症の予防を目的としたワルファリン使用の実際について、使用のご経験がある先生におたずねします。

各質問(Q)のいずれかを選択、あるいは空白部に自由に記載して下さい。

#ご回答いただく先生のプロファイルをご教示ください。(Q1-2)

Q1:勤務先

A 施設 a. 大学附属病院、b. 病院、c. 医院・診療所、d. その他() 【 】

B 病床数 a. 100 床未満、b. 100-500 床未満、c. 500-1000 床未満、d. 1000 床以上 【 】

Q2:専門領域 a. 内科系、b. 外科系、c. その他() 【 】

#ワルファリン使用の実際についてお尋ねします。

Q3:実施症例数(年間)a. 5 例未満、b. 5-10 例未満、c. 10-20 例未満、d. 20 例以上 【 】

Q4:平均使用期間について

A:先天性血栓素因(先天性アンチトロンビン-III、プロテインC、プロテインS欠損症等)を有する症例

a. 1ヶ月未満、b. 1-2ヶ月未満、c. 2ヶ月-6ヶ月未満、d. 6ヶ月以上 【 】

B:後天性血栓素因(抗リン脂質抗体症候群、ヘパリン起因性血小板減少症等)を有する症例

a. 1ヶ月未満、b. 1-2ヶ月未満、c. 2ヶ月-6ヶ月未満、d. 6ヶ月以上 【 】

C:血栓性素因が明らかでない症例

a. 1ヶ月未満、b. 1-2ヶ月未満、c. 2ヶ月-6ヶ月未満、d. 6ヶ月以上 【 】

参考:静脈血栓塞栓症の付加的危険因子(静脈血栓塞栓症予防ガイドライン作成委員会)

弱い: 肥満、エストロゲン治療、下肢静脈瘤

中等度: 高齢、長期臥床、うっ血性心不全、呼吸不全、悪性疾患、中心静脈カテーテル留置、癌化学療法、重症感染症

強い: 静脈血栓塞栓症の既往、血栓素因、下肢麻痺、下肢ギプス帯固定

Q5:ワルファリンのコントロール指標について

A:PT-INR 値 a. 1-1.5 未満、b. 1.5-2.5 未満、c. 2.5 以上、d. その他() 【 】

B:凝固亢進の指標 (FDP、D ダイマー等)を同時に測定し、ワルファリンコントロールの指標としていますか？

a. 測定しない、b. FDP のみ測定、c. D ダイマーのみ測定、d. FDP および D ダイマーを測定

e. その他の検査値を測定(具体的に:) 【 】

Q6:ワルファリン飽和期(投与量がほぼ一定である時期)における検査間隔について

a. 2 週間毎、b. 1 ヶ月毎、c. 2 ヶ月毎、d. 3 ヶ月毎、e. その他() 【 】

Q7:ワルファリン投与中の血栓を再発した症例について

a. あり、b. なし 【 】

Q7 でありの場合の PT-INR はどれくらいですか？

a. 1-1.5 未満、b. 1.5-2.5 未満、c. 2.5 以上、d. その他() 【 】

Q7 でありの場合の再発の誘因について

a. あり(具体的に:)、b. 不明

Q8:ワルファリン投与中の出血例について

a. あり、b. なし

Q8 でありの場合の PT-INR はどれくらいですか？

a. 1-1.5 未満、b. 1.5-2.5 未満、c. 2.5 以上、d. その他() 【 】

Q8 でありの場合の出血の内容について

a. 軽度、b. 主要臓器への出血または輸血を要する出血、c. その他() 【 】

Q9:ワルファリン投与中の抜歯時の対応について

a. ワルファリンの中止、b. PT-INR を下げて持続、c. PT-INR を不変のまま持続 【 】

Q10:抗血小板薬の併用例の割合について

a. 10%未満、b. 10-50%未満、c. 50-100%未満、d. 全例 【 】

ご協力ありがとうございました。

今後、さらに詳細な調査が必要な場合に、ご協力いただける方は、ご連絡先をお願い致します。

氏名:

連絡先住所:

TEL:

FAX:

E-mail:

ファージディスプレイ法による ADAMTS13 内のエピトープ解析

分担研究者 村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学・教授

研究協力者 森木 隆典 慶應義塾大学保健管理センター・講師

研究要旨 ADAMTS13 は、フォンビルブランド因子 (VWF) に結合し切断するメタロプロテアーゼである。VWF は血管内皮細胞で産生され高マルチマー構造をとった状態で血液中に分泌されるが、ADAMTS13 によって適切なサイズに分断されない場合、血液中で血小板血栓を生じ循環障害を引き起こす。これは、高マルチマー VWF が血小板と高い結合反応性を持つためであり、ADAMTS13 の自己抗体による機能抑制は血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の主要な原因と考えられている。ADAMTS13 の機能部位や抗体結合部位を解析するために、ファージディスプレイ法を用いた ADAMTS13 エピトープライブラリーを作成した。これは、ファージ表面に ADAMTS13 を構成する様々なペプチドを発現したものである。最初に、本ライブラリーの性能を確認するため、ADAMTS13 を認識することが知られているマウスモノクローナル抗体およびラビットモノクローナル抗体の結合部位を探索したところ、アミノ酸 20 個前後の結合エピトープを決定することができた。次に、ADAMTS13 内の VWF 結合部位を探索するために、固相化 VWF をプローブとして本ライブラリーをスクリーニングした。これまでの報告で、スパーサーおよびシステインリッチドメインが VWF 結合に重要な領域であることがわかっているが、これと一致して、スパーサー領域から 2 ヶ所、システインリッチ領域から 1 ヶ所、それぞれアミノ酸 20 ~ 30 個程度の結合ペプチド配列が得られた。このアミノ酸配列は ADAMTS13 と VWF の結合に極めて決定的な役割を果たすと考えられる。現在このペプチド配列を化学的に合成し、ADAMTS13 の VWF 切断活性に対する影響や VWF への結合能を検討している。

A. 研究目的

本研究は、VWF 切断酵素である ADAMTS13 の機能に関する重要エピトープを探索することを目的としている。高マルチマー構造をとって血管内皮細胞から血中に分泌された VWF は、

ADAMTS13 によって適切なサイズに分断されないと、その血小板膜蛋白 GPIIb との高い反応性により、血液中で血小板血栓を形成し循環障害をもたらす。ADAMTS13 の先天的欠損および後天的な自己抗体による機能障害は、TTP と

いうきわめて重篤な疾患の主要な原因となる。後天性 TTP は、血小板減少、貧血、神経症状、腎機能障害、発熱などを呈し、致死率の高い疾患である。血漿交換療法が有効であることが示され、救命率は 80% 以上に改善したが、治療抵抗性となり死の転帰をとる患者が未だ存在する。

ADAMTS13 の機能部位に関する詳細な情報を得ることは、TTP の病態解明という観点から重要な意義があると考えられる。我々は、ファージディスプレイ法を用いてアプローチすることにした。本方法は、ADAMTS13 を構成する様々なペプチドをファージ表面に発現するライブラリーを作成することにより、目的のプロープに結合するペプチド配列をスクリーニングすることを可能にする。VWF をプロープとして本ライブラリーをスクリーニングすれば、VWF との結合において重要な役割を担うエピトープを探し出すことが可能になる。スクリーニングによって得られたペプチド配列を化学的に合成し、VWF と ADAMTS13 の結合に対する影響を評価することにより、配列の重要度を確認する。

B. 研究方法

ADAMTS13cDNA を DNA 分解酵素でランダムに切断して得た DNA 断片を、ラムダファージ表面発現用に作成されたベ

クターに組み込み、ADAMTS13 エピトープライブラリーを作成した。ライブラリーの性能を検証するため、すでに ADAMTS13 を認識することがわかっているマウスモノクローナル抗体およびラビットポリクローナル抗体をプローブにして、作成したライブラリーをスクリーニングし、結合エピトープ配列が得られることを確認した。

VWF をマイクロタイタープレートに固相化してプローブとし、ADAMTS13 エピトープライブラリーをスクリーニングした。得られたファージの DNA 塩基配列を解析することにより、VWF に結合するアミノ酸配列を求めた。

エピトープと予想されるアミノ酸配列を化学的にペプチド合成した。ADAMTS13 の VWF 切断活性をみる評価系を用い、ペプチド添加時の阻害効果などを確認した。また、表面プラズモン共鳴を用いた測定法により、固相化した VWF に対するペプチドの結合力を比較した。

C. 研究結果

およそ 100 万個の ADAMTS13 ペプチド配列を有するエピトープライブラリーが構築された。ADAMTS13 を認識するマウスモノクローナル抗体およびラビットポリクローナル抗体をプローブとしてスクリーニングしたところ、それぞれアミノ酸配列 20 個前後からなる結

合エピトープが決定された。

VWF との結合部位を探索するため、VWF を固相化し、上記ライブラリーを用いてスクリーニングを行ったところ、スパーサー領域から 2 ヶ所、システインリッチ領域から 1 ヶ所、それぞれアミノ酸 20～30 個程度の結合ペプチドが得られた。現在この配列を化学的に合成したペプチドを用いて、ADAMTS13 の VWF 切断活性に対する影響や結合力を検討している。

D. 考察

ADAMTS13 の機能ドメインは、N 末からメタロプロテアーゼ領域、ディスインテグリン領域、TSP1-1、システインリッチ領域、スパーサー領域、7 個の TSP-1 リピート、2 個の CUB 領域から構成されている。C 末断端ミュータントを用いた報告では、メタロプロテアーゼからスパーサー領域までが活性部位として必要であることが示されている。中でもシステインリッチおよびスパーサー領域が、VWF 結合部位として特異的に重要であることが予想されている。

ファージ表面発現系を用いた VWF 結合部位の探索により、スパーサー領域から 2 ヶ所、システインリッチ領域から 1 ヶ所、それぞれアミノ酸 20～30 個程度の結合ペプチドが得られた。本結果は、これまでの報告と良く一致するのみならず、さらに詳細なエピト

ープ配列の情報が得られたと考えられる。

興味深いことに、後天性 TTP における自己抗体の結合部位を解析した報告によると、システインリッチおよびスパーサー領域への結合が極めて高頻度に認められることが分かっている。自己抗体による VWF への結合阻害が、TTP 発症の引き金になっている可能性があると考えられる。今後、本実験系を用いた TTP 患者自己抗体のエピトープ解析についても試みる予定である。

E. 結論

ファージディスプレイ法を用いて、ADAMTS13 内の VWF 結合エピトープを探索した結果、スパーサー領域から 2 ヶ所、システインリッチ領域から 1 ヶ所、それぞれアミノ酸 20～30 個程度の結合ペプチド配列が得られた。今後は、合成ペプチドを用い、エピトープ配列の性質について検証するとともに、後天性 TTP 患者の自己抗体の結合エピトープとの関連を含めた研究を進める予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 研究成果の刊行に関する一覧

なし

肝移植症例における
ADAMTS13、フォンウイルブランド因子、破碎赤血球の変動についての検討

分担研究者

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

小林稔彦 三重大学大学院医学系研究科血液内科

森 美貴 三重県赤十字血液センター

臼井正信 三重大学大学院医学系研究科肝胆膵外科

上本伸二 京都大学大学院医学系研究科肝胆膵外科・移植外科

研究要旨

近年、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の原因分子として、ADAMTS13 が同定されたが、この ADAMTS13 は骨髄移植後や肝移植後の VOD(veno-occlusive disease)や TMA(thrombotic microangiopathy)にも関与するとされ、注目を受けている。今回、肝移植前後の ADAMTS13、Von Willebrand factor (VWF)、破碎赤血球(FRC)の変動を測定し、病態との関係を検討したので報告する。

対象症例は 81 例の肝移植例 (女:男=35:46) で、その基礎疾患は肝癌 24 例、ウイルス性肝炎・肝硬変 20 例、原発性胆汁性肝硬変 11 例、その他の原因による肝硬変・重症肝炎 10 例、先天性胆道閉鎖症 7 例、胆汁うっ滞 6 例、その他 3 例であった。ADAMTS13 活性ならびに VWF 抗原の測定は、それぞれ FRETS-VWF73 ならびにバイダスアッセイキット vWF によりおこなった。FRC の測定は全自動血球計測器(XE-2100)にて行った。

FRC は肝移植後で高頻度に高値を呈し、多くの症例は移植後 14-28 日に増加を示した。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。VWF 抗原は移植前より高値を示し、移植後種々の変動を呈したが、ADAMTS13 低値例では VWF 抗原はより増加傾向を示した。

以上、肝移植後の TMA の診断に、ADAMTS13、VWF 抗原、FRC の測定は有用と考えられた。

1. 研究目的

医療技術の進歩に伴い、日本では生体部分肝移植が積極的に行われているが、thrombotic microangiopathy

(TMA) の合併が予後に大きく影響するとされている。しかし、現在のところ肝移植における TMA の診断基準は確立されていない。一方、血栓性血