

分担研究者：小林隆夫（県西部浜松医療センター）

榛沢和彦（新潟大学大学院医歯学総合研究科呼吸循環外科）

研究協力者：佐久間聖仁（女川町立病院内科）

中村真潮、山田典一（三重大学大学院医学系研究科循環器内科）

## 1. 研究目的

深部静脈血栓症（DVT）/肺塞栓症（PE）は、わが国においては発生頻度の少ない疾患としてこれまで重要視されて来なかったが、生活習慣の欧米化や社会の高齢化、さらには手術を含めた医療処置の複雑化に伴い、その発生数は急激に増加している。この結果、本症は入院患者の突然死の原因として、医療界ばかりでなく社会的にも非常に注目を集める疾患となっている。本研究ではわが国において様々な状況下で発症する本疾患の現況を調査し、「日本人のエビデンスを明確にする」ことにより、「医療従事者はもちろん、国民にも本疾患を広く周知徹底する」とともに、「医療行政や災害対策にも役立て」、「本疾患での死亡例減少に貢献する」ことが本研究の目的である。

## 2. 研究方法

上記目的達成のため静脈血栓症/肺塞栓症グループでは平成 17 年から平成 19 年までの 3 年間に、1) 産婦人科領域の静脈血栓塞栓症（VTE）の調査、2) 肺塞栓症と深部静脈血栓症の頻度・臨床的特徴に関する研究、3) 精神科病棟入院患者における肺塞栓症に関する検討、4) 新潟中越地震など震災後の被災者における深部静脈血栓症調査、5) うっ血性心不全症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査を行った。平成 20 年度は引き続きこれらの調査を進めるとともに、さらに今後は VTE 発症予知に踏み込んだ臨床研究も行う予定である。

## 3. 研究結果及び考察

1) 産婦人科領域の静脈血栓塞栓症の調査、2) 全国医療機関における深部静脈血栓症および肺塞栓症の前向き調査、3) 精神科領域の肺塞栓症発症調査に関しては、結果を解析して現在論文執筆もしくは投稿中である。4) 新潟県中越地震など震災後の深部静脈血栓症調査：2008 年 11 月 9 日に新潟県小千谷市、11 月 16 日に新潟県十日町市で新潟県中越地震から 4 年目の被災地 DVT 検査を行った。小千谷市、十日町市ともに新規発症の DVT 頻度は中越地震対照地である阿賀町一般住民の DVT 頻度 1.8% よりも未だ高く、地震の影響が残っているものと考えられたが、小千谷市よりも十日町市で DVT 頻度が高い可能性がある。なお、新潟県中越沖地震 1 年目の柏崎市で行った DVT 検査では 269 人中 14 人 (5.2%) に血栓が認められている。小千谷市ではこれより低く十日町市では高い。これらのことから中越地震被災地では地震による DVT はほぼ安定したと考えられたが、十日町市では未だ頻度が高いため注意が必要であり、その原因について検討していく必

要がある。5) うっ血性心不全症例における静脈血栓塞栓症の発生頻度調査：三重大学にうっ血性心不全で入院した連続161例に対して、下肢静脈超音波検査にて血栓の有無を検索した結果、11.2%(18/161)にDVTを認めた。特にNYHA IV度の重症例では25.5%と欧米と同様高頻度にDVTが発生していた。また、NYHA機能分類以外にも、超音波検査上、右房圧上昇が疑われる例ではDVT発生のリスクが高く、今後はこうした症例に対して一次予防の徹底が重要と考えられた。6) 院外発症静脈血栓症の危険因子に関する研究：院外発症PEとDVTの危険因子、およびPEを伴ったDVT(PE+群)とDVT単独例(PE-群)でのfree floating血栓の頻度差を調査する目的で、全国医療機関への前向きアンケート調査用紙を発送し、平成21年2月と3月(2ヶ月間)の新規発症PE、DVT症例につき解析する予定である。7) 入院患者における静脈血栓症発症予知に関する研究：入院患者、とくに術前患者において内因性トロンビン産生能に基づくAPC感受性比を測定し、後天性APC抵抗性の状態を把握することによってVTEリスクを評価し、適切な予防方法を選択できるシステムを開発する研究を行う予定である。現在、妊婦での一連の測定を行っているが、今後は広く入院患者に広げていく。

#### 4. 今後の研究計画

3年計画として以下の研究を計画している。研究には複数年を要し、その継続の有無は各年度末に検討する。

1. 静脈血栓塞栓症症例のサーベイ (複数年：佐久間聖仁、中村真潮)
2. 入院患者における静脈血栓症発症予知に関する研究 (複数年：小林隆夫)
3. 新潟県中越沖地震後の被災者における深部静脈血栓症調査 (複数年：榛沢和彦)
4. うっ血性心不全症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査 (複数年：山田典一、中村真潮)

## 個別研究

## 難治性 I T P 治療について

広島国際大学 薬学部 藤村 欣吾

### 目的：

臨床上 I T P が最も問題になるのは重篤な出血時の対策、及び出血傾向の防止であり、これらの病態は急性 I T P や難治性 I T P に頻度が高い。この中で難治性 I T P は長期間にわたって日常生活の制限を余儀なくされることが多く、多くの治療法が試みられてきたが満足の行くものは少ない。最近治験が行われている薬剤をレビューすると共に T P O アゴニスト使用症例のその後について報告する。

### 結果と考案：

1. T P O アゴニストについてはすでに外国では I T P に対して緊急時の血小板増加薬としてその効果が明らかにされている。2 年前より 3 例の難治性 I T P に対して長期間 Romiplostim (AMG531) を用いてきた。その結果血小板増加効果は少なくとも治療前に比し十分に認められ、出血傾向も認められなくなった。また副腎皮質ステロイドなど他の I T P 治療薬も漸減、中止することが出来ている。従って Q O L は飛躍的に向上したが、中にはレチクリン線維が増加し、薬剤に対する血小板増加反応が低下する症例も認められた。本例においては投与量を減量し治療を継続したところ再び満足すべき血小板増加反応が認められる様になった。いずれの症例とも薬剤の投与量は増加傾向にあり、また血小板増加の程度も小幅になる傾向である。同一量の薬剤を注射しても時期によって血小板増加反応に差があることは、免疫反応が動揺する事によるものか、血小板産生能に変動があるのか今後明らかにすべき点である。

2. R788 (R935788) は生物学的に活性のある R406 の小分子プロドラッグで選択的に Syk を抑制する経口薬である。現在米国で R A, I T P, A I H A に対して使用が検討されている。I T P については第 I I 相臨床治験が行われ、16 例中 12 例に血小板増加反応が認められ、この内 9 例が投与継続により血小板数が良好に維持されている。F c レセプター依存性の血小板減少が主因である I T P に対して今後注目される薬剤と思われる。

3. 13-keto-octadecadienoyl glycerol が巨核球の proplatelet 形成を促進する報告がなされている。これはピーナツ種皮エキス中に多く含まれ中国では複方花生衣シロップとして I T P を中心に難治性血液疾患に使用され効果があるとされている。本邦では健康補助食品として発売される予定で今後難治例に使用可能か検討してみたい。

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の病態として、血小板破壊が中心であると長い間考えられてきた。一方、ITP の患者血清に含まれる自己抗体が巨核球コロニー形成を抑制すること、ITP の骨髄中の巨核球が小型化していることから、巨核球造血が十分でないといふ仮説を立てた。2002 年に私達はポリエチレングリコールで修飾した巨核球成長因子 (Megakaryocyte Growth and Development Factor, MGDF) 製剤が ITP に有効であることを報告した (BLOOD, 2002)。さらに、ITP 患者の約 75% において、血小板減少があるにもかかわらず血中トロンボポエチン (TPO) 濃度が正常であることが報告され、私達の仮説が正しいことが証明された。しかしながら、米国で行われた治験で MGDF 製剤の投与を受けた健常人において、体内で産生された抗 MGDF 抗体が内因性の TPO の機能を阻害し、重篤な血小板減少症を合併した。これを受けて 1998 年に、すべての TPO 製剤の開発が中断された。TPO 受容体は、血小板増加薬を開発する上でもっとも理想的な標的分子であり、TPO に対する中和抗体の産生を誘導しない第二世代の血小板増加薬の開発競争が始まった。2008 年、難治性 ITP に対する新規治療薬として 2 種類の TPO 受容体作動薬が米国とオーストラリアで承認された。本研究報告では、海外で承認された経口製剤エルトロンボパグと皮下注製剤ロミプロスチムの臨床治験成績を中心に、臨床開発が進められているペプチド化合物 RWJ-800088、非ペプチド化合物 AKR-501, LGD-4665, S-888711、前臨床段階の hVB22B、私達が開発した NIP-004 とブチザミドについて報告する。さらに、インターフェロンによる血小板減少症の病態解明と TPO 受容体作動薬による治療モデルに関する私達の最新の研究成果を紹介する。

制御性 T 細胞が特発性血小板減少性紫斑病の発症を抑制する

○桑名正隆 西本哲也 佐藤隆司 池田康夫 慶應義塾大学内科

【目的】特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 患者において制御性 T 細胞 (Treg) の減少や機能異常が報告され、病態との関連が考えられている。そこで、動物モデルを用いた *in vivo* 解析により ITP の病態における Treg の役割を検証した。

【方法・結果】BALB/c ノードマウスに同系マウス由来 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞を移入することで Treg 欠損マウスを作製し、血小板数、網状血小板比率、血小板関連 IgG (PAIgG) を経時的に測定した。Treg 欠損マウスの約 35% は持続的な血小板減少を自然発症し、網状血小板比率と PAIgG の増加を伴っていた。フローサイトメトリーによる検討では、血小板減少マウス由来の血小板溶出液もしくは脾細胞の培養上清中から正常マウス血小板に結合する抗血小板抗体が検出された。さらに、免疫プロット法により血小板減少マウス血漿中に特異的に GPIIb または GPIIIa に対する抗体が検出された。Treg 欠損マウスの作製時に Treg を同時に移植すると、血小板減少の発症が完全に抑制された。

【考察】Treg の欠損により血小板に対する免疫寛容が破綻し、ITP 病態が発症した。したがって、ITP の発症抑制に Treg が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

## 網状血小板比率測定に関する標準化の検討

大阪大学医学部附属病院 輸血部 富山佳昭

慢性ITPの新しい診断基準案において、抗GPIIb-IIIa抗体、血漿TPO値に加え網状血小板比率(RP%)の増加が診断項目として採用されている。しかしながら、その測定法に関する標準化はいまだ確立していない。最近、網状血小板の自動測定装置が汎用され、幼若血小板比率(IPF%, immature platelet fraction)として測定されている。今回、網状血小板比率の標準化を検討する目的にて、チアゾール・オレンジを用いたFlow cytometry法(FCM法)と多項目自動血球分析装置(XE-2100, Sysmex社製)を用いた測定法(IPF法)を比較検討した。

操作の簡便性、迅速性に関しては、IPF法が優れていた。同時再現性に関してはFCMの方が優れており、IPF法は若干難があった。検体の保存に関しては、FCM法では採血検体を4日間保存可能であったが、IPF法では当日測定する必要があった。データの相関は、RP%とIPF%間に比較的良好な相関を認めた( $R=0.634$ )。ITP症例61例と再生不良性貧血(AA)27例の鑑別に関する検討では、感度、特異度ともにFCM法が優れていた。FCM法とIPF法間でデータの解離する症例もあり、IPF法のデータ解釈に関してはさらなる検討が必要であると考えられた。

四天王寺大学人間福祉学科 倉田 義之

【目的】特発性血小板減少性紫斑病（ITP）は難治性疾患として厚生労働省により特定疾患として取り上げられている。今後の ITP 患者の診療・研究に寄与することを目的として患者主治医により記載された臨床調査個人票をもとに我が国における患者数や症状、治療の現状、生活状況を解析した。

【方法】都道府県より厚生労働省に送られた平成 18 年の臨床調査個人票をもとに患者数や治療、生活状況などにつき解析した。

【結果と考按】

1. 患者数と年齢分布

1) 新規患者

全国の新規患者数（推計）は 2,405 名（男 930 名、女 1,475 名）であった。平成 17 年に比べると 707 名の減少であった。急性型が 891 名、慢性型が 1,395 名。年齢分布は急性型では 5 歳以下の小児（特に男児）にピークがあった。慢性型は女性では 30 歳代と 56-80 歳にピークがあった。男性では 56-80 歳が多かった。

2) 更新患者

全国の更新患者数（推計）は 16,873 名（男 4,966 名、女 11,897 名）であった。平成 17 年に比べると 838 名の減少であった。急性型は 1,576 名と少なく慢性型が 14,772 名と多かった。年齢分布は慢性型では男女ともに 56-75 歳に幅広いピークを認め、女性では 30 歳代にも小さなピークを認めた。

2. 実施検査

1) 血小板数：急性型では 1 万以下の症例が大多数であった。慢性型も 3 万以下の症例が多かった。更新症例では 1 万以下の症例は少なく 10 万以上の症例が多かった。

2) 特殊検査：骨髄検査は約 9 割の症例で実施されていた。PAIgG も 43.1-62.4% の症例で実施されていた。抗糖蛋白抗体、網状血小板の実施率は 2.0-3.8% と低かった。

3. 治療

新規患者、更新患者ともにプレドニン治療が最多で 60-80% の症例で行われていた。次いで急性型では大量 IgG 療法、ピロリ除菌療法の順、慢性型ではピロリ除菌療法、大量 IgG 療法の順で実施されていた。

4. 生活状況、受診状況

新規患者は入院、在宅療養が多く、更新症例では入院の症例はごく一部で就労、就学、家事労働など日常生活に戻っていることがうかがわれた。



## 血栓傾向の分子病態解析

名古屋大学医学部 小嶋哲人

生理的凝固制御因子であるアンチトロンビン (AT)、プロテイン C (PC)、プロテイン S (PS) の欠乏は血栓症のリスクファクターとなることが知られている。我々は、これら凝固制御因子の先天性欠損症が疑われた症例において、名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもと、それぞれインフォームドコンセントを得た後に各遺伝子解析により原因と思われる遺伝子変異を解析し、さらに同定した変異分子の発現実験などを通して欠損症発症の分子病態解析を行ってきた。一方、後天性血栓傾向の一つに妊娠があり、とりわけ妊娠時の PS 低下は血栓傾向の大きな要因と考えられている。妊娠時の性ホルモン増加による PS 発現低下機序が推測されているが、その詳細なメカニズムは未だ明らかではない。我々は、ヒト肝癌細胞株 HepG2 を用いてエストロゲン的一种である 17 $\beta$ -Estradiol (E2) によるその受容体 Estrogen Receptor (ER) を介した PS 発現抑制機構の解明を試みている。

前者の先天性血栓傾向解明については、AT 欠損症と拡張型心筋症の合併症例について解析し、それぞれ同じ常染色体 1 番の長腕に存在する遺伝子 *SERPINC1* (p. Pro439Thr, AT Budapest5) ならびに *LMNA* (p. Asp357His) に原因と思われる遺伝子変異を同定した。同定した AT Budapest5 (p. Pro439Thr) 変異は、従来 pleiotropic effect 型とされた変異であったが、発現実験の結果 p. Pro439Thr AT はほぼ正常のヘパリン結合能を示し、軽度の分泌障害と軽度の比活性低下を合わせもつ I 型と II 型 AT 欠損症の中間型を示すことが判明した。なお、本研究成果は Internal Medicine 誌に原著論文として掲載された。

後者において、ER $\cdot$ 安定発現 HepG2-株の E2 刺激にて PS mRNA 量および PS 抗原量ともに低下し、*PROS1* プロモーター活性のルシフェラーゼレポーター解析でも E2 による低下がみられ、これは *PROS1* プロモーター領域への ER $\cdot$  $\cdot$  Sp 蛋白の結合に起因することが明らかとなり、現在さらに詳細な分子機構解析を継続中である。すなわち、妊娠女性においての E2 濃度上昇が血中 PS 蛋白量の低下を招き、VTE のリスクとなることが示唆された。

## 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法に関する全国実態個別調査の実施

自治医科大学分子病態研究部

窓岩清治\*、坂田洋一 (\*発表者)

本邦における静脈血栓塞栓症に対する経口抗凝固療法（ワルファリン療法）の現状を把握するために、全国の研修医療機関および日本血栓止血学会評議員を対象に「ワルファリン使用に関するアンケート調査」を実施した。その結果、大半の調査対象施設において静脈血栓塞栓症予防ガイドラインに準じた用量調節ワルファリン療法が行われていた。ところが、調査施設の 32.4%においてワルファリン療法中の血栓症再発例および 52.8%の施設で出血例を経験していた。これらの調査結果を踏まえ、ワルファリン療法中にみられる血栓症の再発および出血症例と、併用薬剤、基礎疾患や誘因などの背景因子との関連を明らかにすることを目的に、二次調査協力施設を対象にワルファリン療法の実態について、個別の症例ごとに前向き調査を実施する。本実態調査により日本人に適したワルファリン療法を確立するための重要な知見が得られるものと考えられる。さらに、ワルファリン療法の合併症の軽減を目的とした PT-INR 簡易型迅速測定装置の導入に関する調査へと展開したい。

## 大阪大学VTEの予防・診断・治療ガイドラインについて

班員 川崎富夫

### 結果が出たテーマ

- 婦人科手術における低用量未分画ヘパリンの有用性と安全性（産婦人科）
- 静脈血栓症危険因子としての凝固第V因子低下の重要性（検査部）

### 進行中のテーマ

- 静脈血栓塞栓症と医療訴訟問題の解決（医療と司法の架橋研究会）  
医療・司法間の合意形成に向けての研究
- 阪大ガイドラインの効用  
整形外科における股関節手術（整形外科）  
消化器進行癌患者の血栓症予防（消化器外科）  
阪大病院における院内発症患者の調査（血管外科）

以下の3テーマのうち、今回は特に「DVTのリスクとしての凝固第V因子低下症」を報告する。

阪大ガイドラインでは低用量未分画ヘパリン（2500Ux2/day）を使用している。現在までの結果では、DVT・PEの発生予防も効果的であり、出血等のインシデントも認められない。低用量未分画ヘパリン（2500Ux2/day）と低分子量ヘパリン等の比較試験は、訪米においても、日本においても、行われていない。医療費抑制を求める厚生労働省の研究班として、phase IVとして比較試験の実施を厚労省に促すことが必要である。

DVT・PEガイドラインに基づく予防が行われていなかったことを理由に、医療訴訟が発生している。日本での予防根拠がまだ不明確である。予防の根拠を得る比較試験とともに、この現状を司法に理解していただくことが重要である。しかし学会は、学会員のコンセンサスを得たうえでの責任有る対応を取っていないのが現状である。現在、‘医療と司法の架橋研究会’を昨年8月に発足させ、司法側（民法と刑法）とこの点を含めて検討中である。

当班では、DVTのリスクとして、凝固系制御系の異常を報告してきた。その結果、未解明な凝固異常はほとんど無くなったと思われる。今回、DVT患者において、凝固第V因子低下症例が多いことを見出した。新たな危険因子として検討結果を報告する。

## ヘパリン在宅自己注射療法の指針」に関するアンケート調査

京都府立医科大学 輸血・細胞医療部 辻 肇

ヘパリンは、血栓症の治療や予防に有用な、最も広く用いられている抗凝固薬である。継続的なヘパリン注射を必要とする在宅患者においては、自らヘパリンを注射すること（ヘパリン在宅自己注射）により、通院の身体的、時間的、経済的負担が軽減され、より質の高い社会生活を送ることが可能になる。「ヘパリン在宅自己注射療法の指針」は、本治療を有効かつ安全に実施するために作成されたものである。

今回、本指針に対する一般的意見を収集することを目的としてアンケート調査を実施した。対象は、本療法の対象患者が最も多いと考えられる産婦人科領域とし、全国の大学付属病院産婦人科教室（79施設）にアンケート用紙を送付し、34施設（43%）から回答が得られた。

アンケートは、I. 目的および意義、II. 適応基準、III. 患者教育、IV. 患者の遵守事項、V. 方法VI. 認可、VII. 管理と記録のそれぞれの項目に関して、その適切性や意見を求めるものであり、概ね適切との回答が得られた。さらに、個々の寄せられた意見、要望などについて、その詳細を提示し、検討を行う予定である。

## プロテインSK196E 変異を保有する日本人の静脈血栓塞栓症患者

宮田 敏行 国立循環器病センター研究所

「特発性血栓症サブグループ」として、日本人の静脈血栓塞栓症(VTE)患者 173 名を登録し、遺伝子試料を収集し、VTE のリスクとなる 3 つの遺伝子 (プロテイン S、プロテイン C、アンチトロンビン) の全シーケンスを行い、32%にあたる 55 名に、原因と考えられる変異を同定した。ここで同定した変異の中で、プロテイン SK196E 変異はヘテロ接合体 13 名、ホモ接合体 2 名であり、最も多くの患者に見られた。また、15 名中 1 名はプロテイン SR101C 変異との複合ヘテロ体であり、5 名はプロテイン C 遺伝子にもミスセンス変異が同定された。本研究成果を、Thrombosis Research 誌に原著論文として投稿し受理された。また、「臨床血液」誌に依頼総説として執筆し投稿した。

プロテイン SK196E 変異の VTE 発症への寄与を更に検討するため、K196E 変異保有患者 15 名の臨床症状を検討し、次の結果を得た。

1) 既に述べたように、15 名中、6 名は他の変異との複合ヘテロ接合体、2 名は K196E 変異のホモ接合体であった。即ち、プロテイン SK196E 変異保有者の半数以上の患者が、別の変異 (ホモ接合体も含めて) を併せ持っていた。

2) 男性 8 名、女性 7 名であった。女性は妊娠時などでプロテイン S 活性の低下が見られるので、プロテイン S 遺伝子変異保有者の女性に VTE 発症が多いのではないかと考えられるものの、今回の結果では女性患者が多いということではなかった。

3) 家族歴を示す患者は 3 名 (男性 1 名、女性 2 名) であった。そのうち、2 名は別の変異を持つ複合ヘテロ接合体であった。

4) VTE の再発は 3 名 (男性 2 名、女性 1 名) であった。そのうち、2 名は別の変異を持つ複合ヘテロ接合体であった。

5) プロテイン S 活性もしくは遊離プロテイン S 抗原量が測定されている例は 3 例および 5 例であり、両方が測定されていたのは 1 例だけであった。このように、ほとんどの症例ではプロテイン S 活性 (抗原量) を測定していなかった。

Vidas D-dimer assay による血栓性疾患の評価 — 動脈硬化性疾患発症のリスクを有する高齢者での検討

慶應義塾大学医学部内科 横山 健次

[目的]凝固線溶系活性化のマーカーである D-ダイマー高値と、心筋梗塞、脳梗塞などの動脈硬化性疾患発症の関連を示す報告がある。今回動脈硬化性疾患発症率が高い糖尿病患者における D-ダイマー値の意義を検討することを目的として D-ダイマー値を測定、患者背景、検査データなどとの関連を解析した。

[方法] 2型糖尿病患者 55 人(64.6±12.7 歳)を対象として EFLA (バイダス D-ダイマー)により D-ダイマー値を測定した。また同時に健診受診者 192 人(46.6±5.1 歳)の D-ダイマー値も測定した。[結果] 2型糖尿病患者の D-ダイマー値は、472.4±289 ng/ml であった。D-ダイマー値は年齢と相関がみられた。また 60 歳以下の 20 例では D-ダイマー値がマニユファクチャーの呈示する cut off 値 500 ng/ml 以上の症例は 1 例のみであったが、61 歳以上の 35 例中 21 例は cut off 値以上であった。また D-ダイマー値は血漿 vWF 抗原量と弱い相関がみられたが、BMI、FBS、HbA1c、LDL などとの相関はみられなかった。さらに網膜症合併例では D-ダイマー値が高い傾向がみられ、虚血性心疾患または脳梗塞の既往を有する症例では D-ダイマー値が有意に高かった。一方健診受診者の D-ダイマー値は 230.1±159.5 ng/ml であり、やはり年齢と相関がみられ cut off 値以上の症例は 192 例中 9 例であった。[考案] 2型糖尿病患者においては、D-ダイマー高値が microangiopathy あるいは macroangiopathy を示すマーカーとなる可能性がある。今後さらに症例を加えて検討する予定である。

## 膠原病 TMA における ADAMTS13 解析と臨床所見との関連

奈良県立医科大学 輸血部 藤村吉博、○松本雅則

慶応義塾大学 内科 桑名正隆

SLE に TTP が合併することは古くから認識されているが、膠原病に合併する TMA について少数の症例での解析のみで、後天性特発性 TTP(ai-TTP)との相違などは明らかになっていない。奈良医大輸血部では 1998 年から本邦における TMA 解析センターとして機能しており、多数の膠原病合併 TMA 症例も経験している。2006 年末までに日本全国の医療機関の依頼により 783 例の TMA を解析し、そのうち膠原病合併 TMA を 187 例経験した。今回、SLE 64 例、強皮症(SSc)42 例、多発筋炎/皮膚筋炎(PM/DM)11 例、慢性関節リウマチ 10 例の 4 疾患、計 127 例を解析した。対照として 2006 年 3 月から 2008 年 4 月に経験した 64 例の ai-TTP も検討した。

ADAMTS13 活性は、膠原病 TMA では正常人と比べ有意に低下していたが、ai-TTP との比較では有意に高値であった。ADAMTS13 活性が 0.5%未満に著減する症例の割合は、SLE 23%, SSc 38%, PM/DM 9%, RA30%と基礎疾患によって異なるが ai-TTP 70%と比較すると有意に低い頻度であった。ADAMTS13 に対するインヒビターを有する症例(0.5 Bethesda Unit/ml 以上)の頻度は、SLE 53%, SSc 52%, PM/DM 64%, RA 60%, ai-TTP 83%であった。膠原病 TMA のインヒビターについて検討するため、IgG 型抗体を検出するウエスタンブロットを施行し、ADAMTS13 活性 0.5%未満の症例では 18/23 例(86%)、同活性 0.5-25%では 2/40 (2.5%)、同活性 25%以上では 0/66 例(0%)の陽性率であった。ADAMTS13 活性と臨床所見との関連を検討すると、膠原病 TMA では同活性著減例はそれ以外の症例に比べて、血小板数と血清クレアチニン値が有意に低く、予後が良好である傾向が認められた。

以上の結果より、膠原病合併 TMA には IgG 型の自己抗体により ADAMTS13 活性が著減するタイプと、著減しないタイプの最低 2 種類の病因の存在が予想された。また、ADAMTS13 活性著減例は高度の血小板減少を認めるが腎機能障害が軽度で予後が良い傾向が認められ、これは膠原病 TMA でも ai-TTP でも同様であることが確認された。

## シーケンシング解析による先天性 ADAMTS13 欠損症者数の推定

国立循環器病センター研究所 宮田敏行 (小亀浩市)

ADAMTS13 は、von Willebrand 因子 (VWF) マルチマーを特異的に切断するプロテアーゼである。ADAMTS13 遺伝子の異常や ADAMTS13 に対する自己抗体の出現などで血漿 ADAMTS13 の VWF 切断活性が失われると、血小板凝集能の高い異常高分子量の VWF マルチマーが蓄積し、血栓性血小板減少性紫斑病 (Thrombotic Thrombocytopenic Purpura; TTP) の要因となる。これまでの解析では、TTP を発症する先天性 ADAMTS13 欠損症 (Upshaw-Schulman 症候群; USS) 患者のほとんどに、複合ヘテロあるいはホモ接合体で ADAMTS13 遺伝子異常が同定されている。数年前に我々は、VWF の A2 ドメインを改変した消光性蛍光基質 FRETS-VWF73 を開発し、簡便な活性測定系を確立した。これを利用して一般住民 3,616 人の血漿 ADAMTS13 活性を測定した結果、平均値 100%、中央値 97%、最大値 242%、最小値 38%、標準偏差 27%という値が得られた。今回、血漿 ADAMTS13 活性の最大値群 (平均活性値 183%)、中央値群 (同 98%)、準最小値群 (同 53%)、最小値群 (同 47%) としてそれぞれ 32 人を抽出し、ADAMTS13 遺伝子のシーケンシングを行った。その結果、既知のミスセンス多型 6 個が全群に見出されたのに加え、稀有な非同義変異 (ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト) がヘテロ接合体として最大値群に 2 個、中央値群に 2 個、準最小値群に 3 個、最小値群に 7 個、検出された。このうち準最小値群の 1 個および最小値群の 2 個は、USS 患者ですでに同定されていた原因変異と同一であった。そこで、二つの仮定、すなわち、(1) 稀有な非同義変異を有する ADAMTS13 遺伝子アレルが、血漿 ADAMTS13 活性に関係なく、32 人に 2 個の頻度で存在することと、(2) 準最小値群の変異 1 個および最小値群の変異 5 個が活性損失につながる変異であることを想定すると、約 114 万人に 1 人の割合で先天性 ADAMTS13 欠損症 (複合ヘテロあるいはホモ) が存在すると算出された。したがって、日本には ADAMTS13 欠損症者が 100~150 人ほど存在すると推定された。



## TMA の全国アンケート調査における、治療に関する報告

伊藤尚美、和田英夫（三重大学）、杉田稔（東邦大学）、松本雅則、藤村吉博（奈良県立医大）、村田満（慶応大学）

2004年の第一回アンケート調査185例（1999年～2003年）と2005年の第2回アンケート調査のアンケート調査212例での、治療についての解析結果を報告する。

先天性TMAは、第1回アンケート調査では13例、第2回アンケート調査6例であり、そのうち、ADAMTS13の異常によるものは第1回8例、第2回5例であった（未測定は第1回4例、第2回0例）。後天性TMAは第1回172例、第2回206例で、ADAMTS13の異常によるものは第1回35例、第2回35例であった（未測定は第1回49例、第2回56例）。

後天性TMAの治療における血漿交換療法は、ADAMTS低下例に高頻度に（第1回94.3%、第2回88.6%）、原因不明TMAでは中等度に（第1回77.3%、第2回56.3%）、0157関連には殆ど行われなかった（第1回7.6%、第2回16.2%）。主治医判定の治療効果に一定の傾向が見られなかった。FFPの投与は、先天性のADAMTS13低下例で有効であった。後天性TMAに対するステロイド治療は、ADAMTS低下例に高頻度に（第1回49.5%、第2回85.7%）、原因不明TMAでは中等度に（第1回19.2%、第2回68.7%）、0157関連には殆ど行われなかった（第1回3.1%、第2回7.1%）。主治医判定の治療効果は、原因不明群よりADAMTS13低下例でステロイドの治療効果が良い傾向にあった（第1回29.4% vs 0%、第2回43.3% vs 27.3%）。後天性TMAの治療における抗血小板療法は、ADAMTS低下例（第1回57.1%、第2回45.7%）、原因不明TMA（第1回59.1%、第2回37.5%）に行われ、0157関連には（第1回3.0%、第2回12.1%）少なかった。後天性TMAに対する透析療法は、ADAMTS低下例（第1回2.8%、第2回28.6%）、原因不明TMA（第1回31.8%、第2回31.2%）、0157関連（第1回37.8%、第2回32.3%）にある程度行われた。抗凝固療法は、0157関連TMAのみに有効な症例が見られた。

以上、後天性TMAの治療としての血漿交換療法は、ADAMTS13低下群で最も多く施行されたが、他群との間に明確な差は見られなかった。一方ステロイド治療は、ADAMTS13低下例で有効な傾向が見られた。FFPの投与は先天性ADAMTS13低下例で、透析療法ならびに抗凝固療法は0157関連TMAで有効な傾向を示した。

## 抗 ADAMTS13 モノクローナル抗体のエピトープマッピング

中川央充 (てるみち)、森木隆典

### 要旨

既に報告されている抗 ADAMTS13 モノクローナル抗体につき、ADAMTS13 内の結合アミノ酸エピトープ配列を探索することを目的とした。対象は、化血研 (副島先生ら) にて作成された 13 種類のモノクローナル抗体 (MoAb①~⑬) および奈良県立医科大学において作成された A10 の計 14 種類とした。既に各モノクローナル抗体が結合する機能ドメインについての情報は得られているが、詳細なアミノ酸エピトープ配列については明らかになっていない。今回、我々は ADAMTS13 を構成するペプチドを表面に発現するファージライブラリーを用いて、各々の抗体についてエピトープマッピングを行った。

化血研にて作成された 13 種類のモノクローナル抗体 (MoAb①~⑬) について、MoAb③, ④, ⑤を除く計 10 個のモノクローナル抗体のエピトープを決定することができた。特に、メタロプロテアーゼ領域を認識する MoAb①およびディスインテグリン領域を認識する MoAb②は、*in vitro* 静止系において ADAMTS13 の活性を阻害することが報告されており、得られたエピトープ配列は、酵素活性に重要な役割を果たす部分であることが予想された。また、MoAb⑥~⑬は、それぞれ TSP1-2 から C 末端までの領域を認識するが、これらのエピトープはフローの系で ADAMTS13 の活性に影響を及ぼす可能性があり、今後の検討が必要であると考えられた。エピトープ配列が決定できなかった MoAb③, ④, ⑤については、それぞれ Tsp1-1、システインリッチ、スパーサー領域を認識すると予想されているが、その結合領域が複雑な立体構造を呈しているために、本ライブラリーが発現する ADAMTS13 内のアミノ酸 80 個前後の範囲ではエピトープが決定できなかった可能性が示唆された。

奈良県立医科大学にて作成された A10 については、ADAMTS13 の活性抑制抗体であり、97 アミノ酸より構成されるディスインテグリン領域を認識することが既に判明していたが、今回の解析の結果得られた結合エピトープは、ディスインテグリン領域内の 72 アミノ酸という長い配列にわたっていた。このことより同部の立体構造が酵素活性と強く関連していることが予想された。

## 院外発症静脈血栓症の危険因子に関する研究

佐久間聖仁（女川町立病院内科）、中村 真潮（三重大学大学院医学系研究科循環器内科）、小林 隆夫（県西部浜松医療センター院長）

### 【目的】

肺塞栓症（PE）と深部静脈血栓症（DVT）は基本的に同一の疾患の異なった臨床型と考えられ静脈血栓塞栓症（VTE）として取り扱われることがある。しかし、肺塞栓症を起こすDVTと臨床的に単独でDVTとして発見される場合ではDVT発生機序が異なる可能性がある。また、本邦での院外発症静脈血栓症の危険因子は明確でない。

目的は以下の2点を明らかにすることである。1. 院外発症PEとDVTの危険因子、2. PEを伴ったDVT（PE+群）とDVT単独例（PE-群）でのfree floating血栓の頻度差。

### 【方法】

全国医療機関への前向きアンケート調査により、平成21年2月と3月（2ヶ月間）の新規発症PE、DVT症例につき解析する。

### 【結果及び考察】

平成20年12月にアンケート用紙を発送した。アンケート回収後、データ解析する。

## うっ血性心不全症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査

三重大学大学院医学系研究科循環器内科学 山田典一、中村真潮

### 1. 研究目的

欧米ではうっ血性心不全は静脈血栓塞栓症の危険因子として認識されているが、日本人における発生頻度は明らかでない。本研究では日本人におけるうっ血性心不全症例の深部静脈血栓症(DVT)発生頻度を明らかにするとともに、高リスク群の特徴を明らかにすることを目的とする。

### 2. 研究方法

三重大学にうっ血性心不全で入院した連続 161 例(男性 117 例、平均年齢  $69.3 \pm 10.8$  歳、原因:虚血性心疾患 73 例(45.3%)、弁膜症 29 例(18.0%)、拡張型心筋症 25 例(15.5%)、その他 34 例(21.2%))に対して、下肢静脈超音波検査(圧迫法)にて鼠径部より下腿まで血栓の有無を検索した。但し、静脈血栓塞栓症の既往、悪性疾患、下肢の麻痺、術後 3 ヶ月以内の症例は除外した。

### 3. 研究結果及び考察

入院後  $11.8 \pm 11.5$  日後に施行した下肢静脈超音波検査にて、全体では 11.2%(18/161)に DVT を認めた。血栓は両側 4 例、左側 6 例、右側 8 例で、存在部位(重複あり)はヒラメ静脈が最も多く 16 例、腓骨静脈 7 例、膝窩静脈 3 例、後脛骨静脈 3 例、浅大腿静脈 1 例であった。心不全の重症度別の頻度は NYHA II 度 4.4%、III 度 4.8%、IV 度 25.5%と重症ほど発生頻度が高かった。また、検査時に 43.5%の患者に抗凝固療法が施行されていたが、PT-INR は平均  $1.6 \pm 0.6$  と低く、施行群、非施行群で DVT 頻度に有意差はなかった。年齢、性別、BMI、安静期間、左室駆出率、BNP 値は DVT 陽性群陰性群間で差はなく、三尖弁逆流速度から算出した圧較差(TR-PG)や下大静脈径呼吸性変動から求めた推定右房圧は両群間で有意差を認めた。以上より、うっ血性心不全症例では欧米に匹敵する DVT 発生頻度を認め、特に NYHA 機能分類 IV 度、超音波検査から推定肺動脈圧、右房圧上昇例がリスクと考えられた。

### 4. 結論

日本人においても、うっ血性心不全症例、特に NYHA 機能分類 IV 度の重症例では 25.5%と欧米と同様の高頻度に深部静脈血栓症が発生していた。また、NYHA 機能分類以外にも、超音波検査上、右房圧上昇が疑われる例では DVT 発生のリスクが高く、今後はこうした症例に対して一次予防の徹底が重要と考えられた。