

平成 21 年度 特発性血栓症サブグループ

- グループリーダー：小嶋哲人 名古屋大学医学部 保健学科 教授
- 班員：坂田洋一 自治医科大学 教授
- 宮田敏行 国立循環器病センター研究所 部長
- 川崎富夫 大阪大学医学部 心臓血管外科 助教
- 横山健次 慶應義塾大学医学部 内科 講師
- 研究協力者：窓岩清治 自治医科大学
- 根木玲子 国立循環器病センター
- 池田智明 国立循環器病センター
- 特別協力者：(疫学班) 杉田稔 東邦大学医学部衛生学
- 島田直樹 昭和大学医学部公衆衛生学

グループ総括

研究分担者：小嶋哲人

研究要旨

本研究班における特発性血栓症サブグループ研究は、近年増加している我が国における静脈血栓塞栓症（VTE）のエビデンスを収集するとともに、VTEの発症原因と発症メカニズムを明らかにし、エコノミークラス症候群として国民から注目されるVTEの予知・予防のための対策の確立を目的とする。本研究は、全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究と日本人VTE患者を対象とした調査研究から構成される。本年度は、アンケート調査研究として「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」を実施し、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た。また、「先天性血栓傾向（アンチトロンビン[AT]、プロテインC[PC]、プロテインS[PS]欠損症）日本人患者の実態調査」を実施し、計162例の詳細な情報が得られた。一方、日本人VTE患者を対象とした調査研究として、妊娠と関連したVTEと血栓性素因を検討した結果、妊娠中および産褥期に深部静脈血栓症（DVT）を発症した44名中17名が血栓性素因をもち、なかでもPS欠損症が7名で最も多かった。また、女性ホルモン・ 17β -estradiolによるPS α 遺伝子（*PROS1*）発現抑制分子機構を明らかにし、妊娠や経口避妊薬服用による女性ホルモン 17β -estradiolの上昇が、PS血中濃度低下をもたらすVTEリスクとなることが示唆された。その他、凝固因子のインヒビター測定法として、より簡便で低コストのBethesda法変法を開発した。

A. 研究目的

本研究班における特発性血栓症サブグループ研究は、近年増加している我が国における静脈血栓塞栓症（VTE）のエビデンスを収集するとともに、VTEの発症原因と発症メカニズムを明らかにし、エコノミークラス症候群として国民から注目されるVTEの予知・予防のための対策の確立を目的とする。

B. 研究方法

特発性血栓症研究班サブグループ研究は、以下に示す如く全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究と日本人VTE患者を

対象とした調査研究から構成される。

・全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究 —

（1）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研究：

平成21年4月1日から6月30日までの3ヶ月の調査期間内にワルファリン療法を実施している静脈血栓塞栓症症例全例（入院および外来患者）を登録用紙に記入する形式で行う前向き調査を行った（添付資料1-1～1-4）。

（2）先天性血栓性傾向（AT、PC、PS欠損症）日本人患者の実態調査：

先天性血栓傾向を有する日本人患者の血栓症発症時年齢、血栓症発症の誘因、抗凝固療法の現状などを明らかにすることを目的としてアンケート調査を施行した（添付資料2-1-2-2）。

・日本人静脈血栓塞栓症患者を対象とした調査研究 —

(1) 妊娠と関連したVTEと血栓性素因を検討した結果、妊娠中および産褥期に深部静脈血栓症(DVT)を発症した44名中17名が血栓性素因をもち、なかでもプロテインS欠損症が7名で最も多かった。

(2) 女性ホルモン・ 17β -estradiol (E2) によるPS α 遺伝子(*PROS1*)発現抑制について、ヒト肝癌細胞株HepG2由来のER α 安定発現細胞株(HepG2-Era)を樹立し、E2処理前後でのPS発現量に及ぼす影響について解析した。

(3) 凝固因子のインヒビター測定法として、より簡便でより低コストのBethesda法の変法を開発した。

(倫理面への配慮)

本研究のアンケート調査は自治医科大学生命倫理委員会(1)、あるいは慶應義塾大学医学部倫理委員会(2)の承認を得た後実施した。また、遺伝子解析研究では、国立循環器病センターおよび大阪府立母子保健総合医療センターの倫理審査委員会(3)にて承認され、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して行った。研究対象者には人権を配慮し、研究への参加は自由意思で書面にてインフォームドコンセントを得て施行した。

C. 研究結果

・全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究 —

(1) 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研究：

38施設58診療科から678症例の調査票が回収され、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を実施し、併用薬剤、基礎疾患および誘因などの背景因子との関連を明らかにした。今後、静脈血栓塞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の調査研究として、「PT-INR簡易型迅速測定装置の導入に関する全国調査」を実施予定である。

(2) 先天性血栓性傾向(AT、PC、PS欠損症)日本人患者の実態調査：

先天性血栓傾向を有する日本人患者の血栓症発症時年齢、血栓症発症の誘因、抗凝固療法の現状などを明らかにすることを目的としてアンケート調査を施行し、計162例(AT欠損症42例、PC欠損症54例、PS欠損症55例、複数因子欠損症12例)の詳細な情報が得られた。

・日本人静脈血栓塞栓症患者を対象とした調査研究 —

(1) 44名のDVT発症患者のうち、16名のPS活性を測定したところ4名(25%)がPS欠損症と判定された。また、37名および39名のPC活性およびAT活性を測定し、5名(14%)および4名(10%)の欠損症を見出した。APSは37名中2名(5%)に同定された。

(2) 女性ホルモン・ 17β -estradiol (E2) による*PROS1*遺伝子発現抑制における分子機構が明らかとなり、妊娠や経口避妊薬服用によるE2の上昇がPS血中濃度低下をもたらし、VTEリスクとなることが示唆された。

(3) 凝固第VIII因子インヒビター測定法である改良Bethesda法を開発し、この測定

法は従来法よりも安定性が高く、また検査時間と費用が共に約 1/2 と実用性が高いと思われた。

また、特定疾患・特発性血栓症のなかで治療費の公的助成の対象とする病型として「家族性血栓性素因重症型の認定基準（診断基準）：(素案)」について討議した（添付資料3）。

D. 考察

本邦におけるワルファリン使用の実態調査研究は、静脈血栓塞栓症の再発や出血と併用薬剤、基礎疾患や誘因などの背景因子との関連を解析し、個々の症例に応じたより安全なワルファリン療法へと繋げる必要がある。今後、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全国調査」へと展開することにより、個々の症例に応じたより安全なワルファリン療法へと繋がるものと思われる。

先天性血栓性傾向（AT、PC、PS 欠損症）日本人患者の実態調査は、今回の解析以降にも回答が寄せられており、さらに解析が必要と思われた。

妊娠と関連した静脈血栓塞栓症の解析では、ほとんどの血栓性素因保有者は妊娠初期と中期に DVT を発症し、PS 欠損症を血栓性素因にもつ者が多く、一方、女性ホルモン・ 17β -estradiol (E2) が *ROS1* 遺伝子発現抑制を惹起する分子機構も明らかとなり、PS 欠損症患者での妊娠や経口避妊薬服用時は VTE 発症に注意が必要と思われた。

また、特定疾患・特発性血栓症のなかで治療費の公的助成の対象とする病型・「家族性血栓性素因重症型の認定基準（診断基準）」についてはさらに検討が必要と思われた。

E. 結論

日本人での静脈血栓塞栓症のエビデンスを収集するとともに、発症原因・発症メカニズムの解明は、我が国における静脈血栓塞栓症の予知・予防のための対策の確立に重要な知見が得られると思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M Miyachi, H Yazawa, M Furukawa, K Tsuboi, M Ohtake, T Nishizawa, K Hashimoto, T Yokoi, T Kojima, T Murate, M Yokota, T Murohara, Y Koike, K Nagata: Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Hypertension*. 53(4): 701-707, 2009.
- 2) K Yamamoto, K Takeshita, T Kojima, J Takamatsu: Stress-induced PAI-1 expression is suppressed by pitavastatin in vivo. *Int J Hematol*. 89(4), 553-554, 2009.
- 3) A Takagi, R Tanaka, D Nakashima, Y Fujimori, T Yamada, K Okumura, T Murate, M Yamada, Y Horikoshi, K Yamamoto, A Katsumi, T Matsushita, T Naoe, T Kojima: Definite diagnosis in Japanese patients with protein C deficiency by identification of causative PROC mutations. *Int J Hematol*. 89(4): 555-557, 2009.
- 4) 小嶋哲人: 血栓性疾患 先天性凝固阻止因子欠乏症 (antithrombin, protein C, protein S 欠損症) 日本血栓止血学会誌 20(5), 484-486, 2009.

- 5) K Yamamoto, S Shibayama, K Takeshita, T Kojima, J Takamatsu: A novel cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, decreases adipose-derived and vascular PAI-1 expression in vivo. *Thromb Res.* 124(5): 644-645, 2009.
- 6) A Furuhata, A Kimura, K Shide, K Shimoda, M Murakami, H Ito, S Gao, K Yoshida, Y Tagawa, K Hagiwara, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, A Abe, T Noae, T Murate: p27 deregulation by Skp2 overexpression induced by the JAK2V617 mutation. *Biochem Biophys Res Commun.* 383(4): 411-416, 2009.
- 7) A Furuhata, M Murakami, H Ito, S Gao, K Yoshida, S Sobue, R Kikuchi, T Iwasaki, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, A Abe, T Noae, T Murate: GATA-1 and GATA-2 binding to 3' enhancer of WT1 gene is essential for its transcription in acute leukemia and solid tumor cell lines. *Leukemia.* 23(7): 1270-1277, 2009.
- 8) T Yamada, Y Fujimori, A Suzuki, Y Miyawaki, A Takagi, T Murate, M Sano, T Matsushita, H Saito, T Kojima: A novel missense mutation causing abnormal LMAN1 in a Japanese patient with combined deficiency of factor V and factor VIII. *Am. J. Hematol.* 84(11): 738-742. 2009.
- 9) R Tanaka, D Nakashima, A Suzuki, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, K Yamamoto, A Katsumi, T Matsushita, T Naoe, T Kojima: Impaired secretion of carboxyl-terminal truncated factor VII due to an *F7* nonsense mutation associated with FVII deficiency. *Thromb Res.* in press.
- 10) T. Yin, T. Miyata: Venous thromboembolic risk and protein S deficiency: ethnic difference and remaining issues. *J Geriatr Cardiol,* (review) 6(1), 12-20, 2009.
- 11) T. Miyata, Y. Sato, J. Ishikawa, H. Okada, S. Takeshita, T. Sakata, K. Kokame, R. Kimura, S. Honda, T. Kawasaki, E. Suehisa, H. Tsuji, S. Madoiwa, Y. Sakata, T. Kojima, M. Murata, Y. Ikeda: Prevalence of genetic mutations in protein S, protein C and antithrombin genes in Japanese patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res,* 124(1), 14-18, 2009.
- 12) S. Honda, H. Shirotani-Ikejima, S. Tadokoro, Y. Maeda, T. Kinoshita, Y. Tomiyama, T. Miyata: Integrin-linked kinase associated with integrin activation. *Blood,* 113(21), 5304-5313, 2009.
- 13) F. Banno, AK. Chauhan, K. Kokame, J. Yang, S. Miyata, DD. Wagner, T. Miyata: The distal carboxyl-terminal domains of ADAMTS13 are required for regulation of in vivo thrombus formation. *Blood,* 113(21), 5323-5329, 2009.
- 14) J. Ishikawa, H. Okada, H. Kato, S. Takeshita, S. Honda, T. Kawasaki, E. Suehisa, H. Tsuji, S. Madoiwa, Y. Sakata, T. Kojima, M. Murata, Y. Ikeda, Y. Kokubo, T. Okamura, H. Tomoike, T. Miyata: Association of Asn221Ser mutation in tissue factor pathway

- inhibitor-b with plasma total tissue factor pathway inhibitor level. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 20(1), 22-26, 2009.
- 15) M. Akiyama, S. Takeda, K. Kokame, J. Takagi, T. Miyata: Production, crystallization and preliminary crystallographic analysis of an exosite-containing fragment of human von Willebrand factor-cleaving proteinase ADAMTS13. *Acta Cryst*, 65(7), 739-742, 2009.
- 16) Y. Fujimura, M. Matsumoto, K. Kokame, A. Isonishi, K. Soejima, N. Akiyama, J. Tomiyama, K. Natori, Y. Kuranishi, Y. Imamura, N. Inoue, S. Higasa, M. Seike, T. Kozuka, M. Hara, H. Wada, M. Murata, Y. Ikeda, T. Miyata, JN. George: Pregnancy-induced thrombocytopenia and TTP, and the risk of fetal death, in Upshaw-Schulman syndrome: a series of 15 pregnancies in 9 genotyped patients. *Br J Haematol*, 144(5), 742-754, 2009.
- 17) K. Maekawa, N. Harakawa, E. Sugiyama, M. Tohkin, SR. Kim, N. Kaniwa, N. Katori, R. Hasegawa, K. Yasuda, K. Kamide, T. Miyata, Y. Saito, JI. Sawada: Substrate-dependent functional alterations of seven CYP2C9 variants found in Japanese subjects. *Drug Metab Dispos*, 37(9), 1895-1903, 2009.
- 18) M. Akiyama, S. Takeda, K. Kokame, J. Takagi, T. Miyata: Crystal structures of the non-catalytic domains of ADAMTS13 reveal multiple discontinuous exosites for von willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106(46), 19274-19279, 2009.
- 19) F. Banno, A. K. Chauhan, T. Miyata: The function of ADAMTS13 in thrombogenesis in vivo: insights from mutant mice. *Int J Hematol*, (review) 91(1), 30-35, 2010.
- 20) M. Fujioka, K. Hayakawa, K. Mishima, A. Kunizawa, K. Irie, S. Higuchi, T. Nakano, C. Muroi, H. Fukushima, M. Sugimoto, F. Banno, K. Kokame, T. Miyata, M. Fujiwara, K. Okuchi, K. Nishio: ADAMTS13 gene deletion aggravates ischemic brain damage: a possible neuroprotective role of ADAMTS13 by ameliorating post-ischemic hypoperfusion. *Blood*, 2009 Nov 13. [Epub ahead of print]
- 21) 神出 計、宮田敏行、河野雄平、友池仁暢「高血圧テーラーメイド治療を目指した薬理遺伝学的アプローチ」循環器専門医、第17巻、第1号、62-67頁 (2009)
- 22) 宮田敏行、岡田浩美、川崎富夫、辻 肇、窓岩清治、坂田洋一、小嶋哲人、村田 満、池田康夫「日本人の血栓性素因」臨床血液、第50巻、第5号、381-388頁 (2009)
- 23) 宮田敏行「血栓症の遺伝的素因と抗血栓薬の効き目にかかわる遺伝子」Animus 2009 夏、30-33頁 (2009)
- 24) 宮田敏行、塘 義明「深部静脈血栓症の遺伝的背景」血栓と循環、第17巻、第2号、118-120頁 (2009)
- 25) 宮田敏行、根木玲子「わが国における血栓性素因」Heart View、第13巻、第8号、84-88頁 (2009)
- 26) 神出 計、宮田敏行、花田裕典、河野雄平「高血圧のテーラーメイド医療の展

- 望」*血圧*、第16巻、第8号、53-56頁 (2009)
- 27) 宮田敏行「先天性血栓性素因の遺伝子解析」*臨床検査*、第53巻、第10号、1123-1128頁
- 28) 宮田敏行、小久保喜弘、阪田敏幸、根木玲子、池田智明、塘 義明「日本人静脈血栓塞栓症の遺伝的背景：プロテインSK196E変異の意義」*循環器病研究の進歩*、Vol. XXX、No. 1、70-76頁
- 29) Hishikawa, S., Hamano, A., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Kawarasaki, H., Sakata, Y.: Impact of acute cellular rejection on coagulation and fibrinolysis biomarkers within the immediate post-operative period in pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2009 Sep 29. Epub ahead of print
- 30) Ishiwata, A., Mimuro, J., Mizukami, H., Kashiwakura, Y., Takano, K., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K., Sakata, Y.: Liver-restricted expression of the canine factor VIII gene facilitates prevention of inhibitor formation in factor VIII-deficient mice. *J Gene Med*. 11(11):1020-1029. 2009. 11
- 31) Madoiwa, S., Yamauchi, T., Kobayashi, E., Hakamata, Y., Dokai, M., Makino, N., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Mimuro, J., Sakata, Y.: Induction of factor VIII-specific unresponsiveness by intrathymic factor VIII injection in murine hemophilia A. *J Thromb Haemost*. 7(5):811-824. 2009
- 32) 第36回日本血管外科学会総会の新たな挑戦—総会記録集（司会者のまとめ）とコンセンサス— 川崎富夫、小山信彌 *日本血管外科学会雑誌* 18: 42-430, 2009.
- 33) 訴訟に求められる「認識の統合」 川崎富夫、*年報医事法学* 24: 9-24, 2009.
- 34) チーム医療の総責任者が手術説明について患者やその家族に対して負う義務—チーム医療の措定— 川崎富夫 *年報医事法学* 24: 164-169, 2009.
- 35) 未熟児網膜症姫路日赤事件における医療水準の論考—医学的視点から・認識統合のために— 川崎富夫 *Law & Technology* 46: 36-44, 2009.
- 36) Medical Standards Seen from the Perspective of Changes in Academic Society Themes: Investigation of a Lawsuit Concerning the Prevention of Venous Thromboembolism. Tomio Kwasaki, *Annals of Vascular Diseases*, 2, 17-20, 2009.
- 37) 横山健次：血栓症のリスク因子 高感度D-ダイマー *臨床検査*, 53, 1129-1132, 2009.
- 38) 横山健次、池田康夫：日常診療で活かす最新のエビデンス 治す 循環器疾患に関する大規模臨床試験 抗血小板療法 *Heart View*, 13, 428-433, 2009.
- 39) 横山健次：抗血栓療法をめぐって」抗血小板薬 *MEDICO*, 40, 79-82, 2009.
- 40) 横山健次：血栓症の疾患と治療（循環器系を中心に） 深部静脈血栓症/肺塞栓症の臨床 *Medical Science Digest*, 35, 102-105, 2009.
- 41) 横山健次：選択的抗トロンビン薬、抗Xa薬ではINRの計測は不要になる？ *Heart View*, 13, 1364-1367, 2009.

2. 学会発表
 - 1) 宮脇由理、鈴木敦夫、藤森祐多、山田貴之、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：重症血友病 A を引き起こす血液凝固第 VIII 因遺伝子逆位の新解析法～Inverse Shifting-PCR 法～ 第 10 回愛知県医学検査学会、津島
 - 2) 鈴木敦夫、中島大輔、宮脇由理、藤森祐多、山田貴之、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：遺伝性出血性末梢血管拡張症の 1 症例 第 10 回愛知県医学検査学会、津島
 - 3) 山田貴之、藤森祐多、鈴木敦夫、宮脇由理、高木 明、村手 隆、松下 正、佐野雅之、齋藤英彦、小嶋哲人：新規遺伝子変異による血液凝固第 V・VIII 因子合併欠損症の分子病態解析 第 32 回日本血栓止血学会学術集会、北九州
 - 4) 鈴木伸明、松下 正、中山享之、西田徹也、勝見 章、高松純樹、山本晃士、平島寛司、小嶋哲人、直江知：酢酸デスマプレッシン (DDAVP) で小手術管理を行った後天性血友病 A の一例 第 32 回日本血栓止血学会学術集会、北九州
 - 5) 宮脇由理、鈴木敦夫、藤森祐多、山田貴之、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：重症血友病 A における血液凝固第 VIII 因遺伝子の逆位解析法～Long PCR と Inverse Shifting-PCR 法～ 第 10 回日本検査血液学会学術集会、甲府
 - 6) A Suzuki, N Sanda, K Makita, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, H Saito, T Kojima : Down-regulation of protein S expression by 17β -estradiol in HepG2 cells. XXIIIrd Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis, Boston, USA.
 - 7) T Yamada, Y Fujimori, A Suzuki, Y Miyawaki, A Takagi, M Sano, T Matsushita, H Saito, T Kojima : A novel homozygous missense mutation in the *LMAN1* gene in a Japanese patient with combined factors V and VIII deficiency. XXIIIrd Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis, Boston, USA.
 - 8) A Suzuki, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, H Saito, T Kojima : Down-regulation of protein S expression by 17β -estradiol in HepG2 cells. 第 71 回日本血液学会総会、京都
 - 9) 鈴木敦夫、小嶋哲人：血栓性素因部会シンポジウム「血栓性素因・プロテイン S 欠乏症/欠損症をめぐる最近の話題」女性ホルモンとプロテイン S 欠乏症 SSC シンポジウム 2009、東京
 - 10) A Suzuki, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, H Saito, T Kojima : Anticoagulant protein S expression is down-regulated by ERalpha/Spl interaction recruiting NCoR/SMRT and HDAC3 in HepG2 cells. 第 32 回日本分子生物学会年会、横浜
 - 11) 武田壮一、秋山正志、小亀浩市、高木淳一、宮田敏行、「ADAMTS13 の部分結晶構造とフォンビルブロンド因子認識・切断機構」第 9 回日本蛋白質科学会年会、平成 21 年 5 月 20-22 日、熊本
 - 12) 秋山正志、武田壮一、小亀浩市、高木淳一、宮田敏行、シンポジウム 4. 「X 線解析による ADAMTS13 の部分立体構造の決定とエキソサイトの同定」Structural insight of VWF recognition by exosites in the ancillary domains of ADAMTS13 第

- 32 回日本血栓止血学会学術集会、平成 21 年 6 月 4-6 日、北九州
- 13) 山本ひとみ、小亀浩市、柳本広二、奥田智彦、中城有香子、宮本 享、宮田敏行、「NDRG4 欠損は虚血再灌流による脳障害を悪化させる」第 32 回日本血栓止血学会学術集会、平成 21 年 6 月 4-6 日、北九州
 - 14) T Miyata, Antithrombotic enzyme ADAMTS13, from patients to crystal structure, アイオワ大学講演会, July 9, 2009, Iowa, USA
 - 15) T Miyata, Genetic disorders related to coagulopathy prevalent in the Far East, The APSTH-JSTH Joint Symposium, XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, July 11, 2009, Boston, USA
 - 16) M Akiyama, S Takeda, K Kokame, J Takagi, T Miyata. Crystal structure of the exosites-containing fragment of ADAMTS13. Abstract Symposia, XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 17) F Banno, A. K. Chauhan, K Kokame, J. Yang, S Miyata, D. D. Wagner, T Miyata. Imaging analysis of platelet thrombus formation in ADAMTS13-Mutant mice. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 18) H Okada, T Sakata, Y Kokubo, T Okamura, T Miyata. Association between platelet reactivity and genetic variations in Japanese general population. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 19) Y Fujimura, K Kokame, M Matsumoto, A. Isonishi, S. Kato, H. Hiura, T Miyata. Identification of 41 Japanese patients with Upshaw-Shulman syndrome, with special reference to its genotype-phenotype analysis. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 20) K. Nishio, M. Fujioka, K. Hayakawa, K. Mishima, M. Fujiwara, F. Banno, K. Kokame, T Miyata, Y. Shida, M. Sugimoto, T. Ueyama, H. Fukushima, K. Okuchi. Protective property of ADAMTS13 in a mouse-model of ischemic stroke. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 21) S Honda, H Shirovani-Ikejima, S Tadokoro, Y Maeda, T Kinoshita, Y Tomiyama, T Miyata. Integrin-linked kinase associated with integrin activation. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 22) T Sakata, S Kameda, M Mitsuguro, A Okamoto, M Sano, Y Kokubo, Y. Tsutsumi, T Miyata. Type I antithrombin deficiency is more closely associated with venous thromboembolism than type II antithrombin deficiency. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
 - 23) H Yamamoto, K Kokame, H Yanamoto, T Okuda, Y Nakajo, S Miyamoto, T Miyata.

- NDRG4-Null mice are vulnerable to cerebral ischemia. XXII Congress of The International Society on Thrombosis and Haemostasis. July 11-16, 2009, Boston, USA
- 24) M Akiyama, S Takeda, K Kokame, J Takagi, T Miyata. Identification of multiple discontinuous exosites of ADAMTS13. Gordon Research Conference, Matrix Metalloproteinases, Signalling Scissors In Development And Disease, August 30- September 4 2009, Les Diablerets, Switzerland
- 25) 宮田敏行、「遺伝子情報を用いる血栓症の個別化医療」第12回日本栓子検出と治療学会 教育講演2、2009年10月10日、大阪市
- 26) 秋山正志、武田壮一、小亀浩市、高木淳一、宮田敏行、「ADAMTS13 非触媒ドメインの結晶構造解析と von Willebrand 因子に対する複数の非連続エキソサイトの同定」第82回日本生化学会大会、平成21年10月21-24日、神戸市
- 27) 井本(山本)ひとみ、小亀浩市、柳本広二、奥田智彦、中城有香子、宮本 享、宮田敏行、「NDRG 欠損は虚血再灌流による脳障害を悪化させる」 NDRG4-null mice exhibit spatial learning deficits and vulnerability to cerebral ischemia-reperfusion injury. 第82回日本生化学会大会、平成21年10月21-24日、神戸市
- 28) 宮田敏行、根木玲子、「プロテインS欠損症：国立循環器病センターでの研究」血栓性素因部会、血栓性素因・プロテインS欠乏症/欠損症をめぐる最近の話題、第4回日本血栓止血学会 SSC2009シンポジウム、平成21年11月21日、東京都
- 29) Madoiwa S, Yamauchi T, Kobayashi E, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ohmori T, Mimuro J and Sakata Y Intrathymic administration of factor VIII results in immune tolerance by induction of factor VIII-specific regulatory T cells in murine hemophilia A. XXII ISTH Congress July 16, 2009. Boston, USA
- 30) 窓岩清治、三室 淳、大森 司、坂田洋一：敗血症における凝固線溶系異常 第32回日本血栓止血学会学術集会 日本血栓止血学会・日本救急医学会ジョイントシンポジウム 平成21年6月5日北九州
- 31) Madoiwa S, Yamauchi T, Kobayashi E, Dokai M, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ohmori T, Mimuro J, Sakata Y. Development of immune tolerance induction by intrathymic administration of Factor VIII in murine hemophilia A. 2009 East Asia Hemophilia Forum June 7, 2009. -6-Kitakyushu, Japan
- 32) 窓岩清治、大森 司、三室 淳、坂田洋一：感染症DICを考慮した現厚生労働省診断基準の検討。第4回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウムDIC部会。2009年11月21日(土) 東京
- 33) 水上浩明、三室 淳、石渡 彰、八木 洋也、大森 司、窓岩清治、卜部 匡司、久米晃浩、坂田洋一、小澤敬也：Robust and sustained factor IX expression following IV injection of AAV8-based vectors in magaques. 第71回日本血液学会学術集会 2009.10/23-24 京都
- 34) 久米晃浩、八木 洋也、水上浩明、卜部 匡司、塚原 智典、石渡 彰、三室 淳、窓岩清治、大森 司、坂田洋一、小澤敬也：Promoter selection for muscle-directed self-complementary AAV toward hemophilia B gene therapy. 第71回日本血液学会学術集会

2009. 10/23-24 京都

- 35) 大森 司、窓岩清治、三室 淳、坂田洋一: Platelet-directed gene modification by lentiviral vector: Application to therapies for inherited bleeding disorders and research into platelet signal. シンポジウム 第71回日本血液学会学術集会 2009. 10/23-24 京都
- 36) 和田英夫、川杉和夫、久志本成樹、岡本好司、岡村 孝、畑田 剛、内山俊正、関 義信、窓岩清治、丸藤 哲: DIC診断基準作成のためのプロスペクティブスタディの途中経過報告 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009. 6/4-6 北九州
- 37) 伊東哲男、林 司、古寺美加、水上浩明、小澤敬也、三室 淳、坂田洋一、村松慎一: 中和抗体法と相関性のある抗AAV2抗体検出試験の開発 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009. 6/4-6 北九州
- 38) 石渡 彰、三室 淳、柏倉裕志、大森 司、窓岩清治、水上浩明、久米晃啓、小澤敬也、三室 淳、坂田洋一: 高純度AAV8、

AAV9ベクター精製法ノ確立 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009. 6/4-6 北九州

- 39) Thasinas Dissayabutra、大森 司、青木慎也、石渡 彰、柏倉裕志、窓岩清治、秋葉栄治、長谷川 護、三室 淳、坂田洋一: 血小板への遺伝子発現増強を目的としたGPIIbプロモーターノ改変 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009. 6/4-6 北九州
- 40) 大森 司、青木慎也、Thasinas Dissayabutra、石渡 彰、柏倉裕志、窓岩清治、秋葉栄治、長谷川 護、三室 淳、坂田洋一: GPIIb遺伝子近傍のクロマチンインスレーター配列の同定 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009. 6/4-6 北九州

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

血栓傾向の分子病態解析研究

研究分担者：小嶋哲人 名古屋大学医学部 教授

研究要旨

後天性血栓症リスクの一つである妊娠時にはPS低下が知られ、女性ホルモン増加による低と推測されるが、その詳細なメカニズムは未だ明らかではない。今回、 17β -estradiol (E2) を用いPS α 遺伝子 (*PROS1*) 抑制の分子機構の解明を試みた。初期培養肝細胞やER α 高発現株・HepG2-ER α (+)細胞においてE2によるPS mRNA とPS蛋白の産生抑制がみられ、*PROS1* プロモーター解析においてE2添加による抑制効果がみられ、これには-172のGC-rich motif が重要であることが明らかとなった。E2はSp1/ER α 相互作用により転写抑制因子NCoR、SMRT、HDAC3をこのGC-rich領域へのリクルートし、ヒストン脱アセチル化を通して*PROS1*の転写を抑制していることが推察された。

A. 研究目的

プロテインS (PS)はプロテインC抗凝固経路における活性化プロテインCのcofactorとして機能するビタミンK依存性血漿糖蛋白で、PSの質的あるいは量的欠損または低下は深部静脈血栓塞栓症(VTE)の危険因子となる。血栓症リスクの一つである妊娠時にはPSが低下することが知られており、これは妊娠中に増加する女性ホルモンがPS発現を抑制するためと推測されてはいるが、その詳細なメカニズムは未だ明らかではない。エストロゲン的一种・ 17β -Estradiol (E2)は、妊娠経過とともに増加する女性ホルモンで、その受容体であるEstrogen Receptor (ER)を介して種々の遺伝子発現を調節することが報告されている。その古典的シグナル経路として、リガンド結合ERが核内に移行しホモ二量体となり、標的遺伝子プロモーターのエストロゲン応答配列(Estrogen Response Element : ERE)に結合し転写因子として働くことが知られている。しかし、最近ERがAP-1やNF κ B、Spなどの他の転写因子と協調してリガンド依存的に遺伝子発現を調節する非古典的

経路が報告されている。今回、我々はE2によるPS発現低下分子メカニズムを解析し、E2がこの非古典的経路を通してPS発現低下を来すことを突き止めたので報告する。

B. 研究方法

細胞株はPSの主な産生臓器由来であるヒト肝癌細胞株HepG2を用いた。HepG2はERをほとんど発現していないため、ER α 安定発現株(HepG2-ER α)を樹立し、以下のE2処理前後でのPS発現量に及ぼす影響についての実験に用いた。PS抗原量はELISA、PS mRNA量は定量RT-PCR法(Real-time PCR)を用いて定量した。*PROS1*プロモーター解析はルシフェラーゼレポーター解析、結合転写因子の同定はelectromobility shift assay (EMSA)およびDNA pull-down assay、chromatin immunoprecipitation (ChIP) assayにより行った。また、市販の初期培養肝臓細胞を用いて、E2処理前後でのPS発現量を定量RT-PCR法にて解析した。

C. 研究結果

HepG2-ER α 細胞をE2で刺激したところ、

PS mRNA 量および PS 抗原量がともに約 70% まで低下した (図 1)。

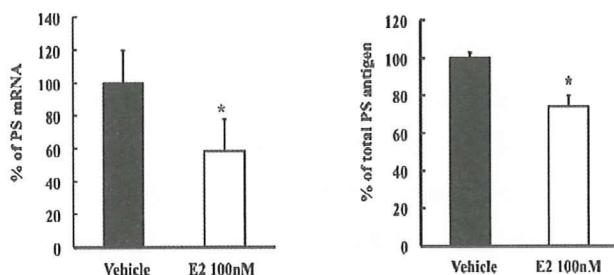


図 1 E2 による PS mRNA、PS Ag 発現抑制 (HepG2-ER α 細胞)

また、ルシフェラーゼレポーター解析では、*PROS1* プロモーター活性は E2 により 50%~60% までの低下がみられ、この E2 による抑制には -168 と -158 に存在する 2 つの隣接する GC-rich motif が必要であった (図 2)。

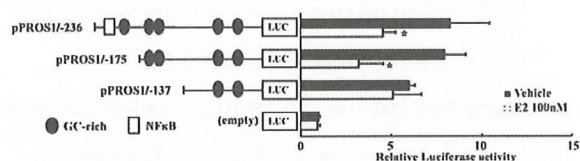


図 2 *PROS1* プロモーター解析

これをもとに EMSA および DNA pull-down assay を行った結果、2 つの GC-rich motif を含む領域には Sp1 および Sp3 に加え、ER α が結合することが示された。さらに siRNA を用いて Sp1 および Sp3 を knockdown したところ、それぞれの knockdown でプロモーター活性自体の低下が見られたが、Sp1 の knockdown では E2 によるプロモーター活性の抑制がみられなくなった。ChIP assay により *PROS1* プロモーター上への種々転写因子の結合を検証したところ、E2 非刺激時では主に Sp3 の結合がみられた。E2 の刺激後は、Sp1 の結合が強くなり、ER α 、抑制補因

子 NCoR/SMRT、ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC3 の結合が確認できた。したがって、RNAi、ChIP assay の結果から、*PROS1* の転写は Sp1 および Sp3 により調節されていることが確認され、これは過去の報告とも一致していた。

D. 考察

我々が報告した世界初の *PROS1* プロモーター変異 (c. -168C>T) による PS 欠損症は、まさに今回同定した GC-rich motif 領域に存在することより、E2 非存在下ではこの GC-rich motif 領域に転写因子 Sp1、Sp3 が結合し転写促進因子複合体を形成し *PROS1* 発現促進に寄与しているものと思われる。

一方、高濃度 E2 の存在下では同じ *PROS1* プロモーター GC-rich motif 領域に、ER α /Sp1 結合に起因する NCoR/SMRT-HDAC3 複合体をリクルートし *PROS1* 遺伝子でのヒストン脱アセチル化を介した負の転写調節を示すことが示唆された (図 3)。

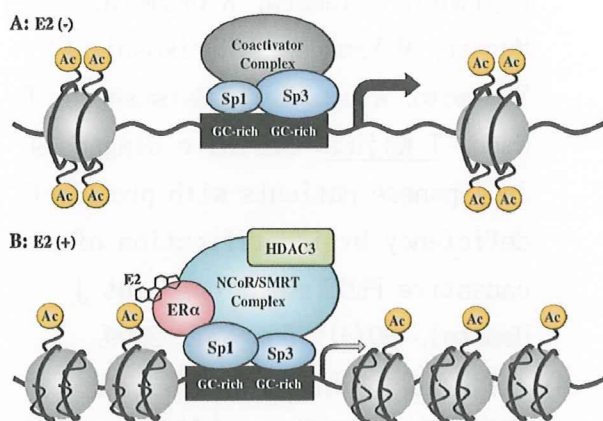


図 3 E2 による *PROS1* 発現抑制機構

E. 結論

妊娠女性での E2 血中濃度の上昇は、肝臓での *PROS1* 遺伝子発現を抑制して血中 PS

活性の低下を招き、VTE 発症リスクとなる
ことが示唆された。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) M Miyachi, H Yazawa, M Furukawa, K Tsuboi, M Ohtake, T Nishizawa, K Hashimoto, T Yokoi, T Kojima, Takashi Murate, M Yokota, T Murohara, Y Koike, K Nagata: Exercise training alters left ventricular geometry and attenuates heart failure in dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Hypertension*. 53(4): 701-707, 2009.
- 2) K Yamamoto, K Takeshita, T Kojima, J Takamatsu: Stress-induced PAI-1 expression is suppressed by pitavastatin in vivo. *Int J Hematol*. 89(4), 553-554, 2009.
- 3) A Takagi, R Tanaka, D Nakashima, Y Fujimori, T Yamada, K Okumura, T Murate, M Yamada, Y Horikoshi, K Yamamoto, A Katsumi, T Matsushita, T Naoe, T Kojima: Definite diagnosis in Japanese patients with protein C deficiency by identification of causative PROC mutations. *Int J Hematol*. 89(4): 555-557, 2009.
- 4) 宮田敏之、岡田浩美、川崎富夫、辻肇、窓岩清治、坂田洋一、小嶋哲人、村田満、池田康夫: 日本人の血栓性素因 臨床血液 50(5), 381-388, 2009.
- 5) 小嶋哲人: 血栓性疾患 先天性凝固阻止因子欠乏症 (antithrombin, protein C, protein S 欠損症) 日本血栓止血学会誌 20(5), 484-486, 2009.
- 6) K Yamamoto, S Shibayama, K Takeshita, T Kojima, J Takamatsu: A novel cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, decreases adipose-derived and vascular PAI-1 expression in vivo. *Thromb Res*. 124(5): 644-645, 2009.
- 7) A Furuhata, A Kimura, K Shide, K Shimoda, M Murakami, H Ito, S Gao, K Yoshida, Y Tagawa, K Hagiwara, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, A Abe, T Noae, T Murate: p27 deregulation by Skp2 overexpression induced by the JAK2V617 mutation. *Biochem Biophys Res Commun*. 383(4): 411-416, 2009.
- 8) A Furuhata, M Murakami, H Ito, S Gao, K Yoshida, S Sobue, R Kikuchi, T Iwasaki, A Takagi, T Kojima, M Suzuki, A Abe, T Noae, T Murate: GATA-1 and GATA-2 binding to 3' enhancer of WT1 gene is essential for its transcription in acute leukemia and solid tumor cell lines. *Leukemia*. 23(7): 1270-1277, 2009.
- 9) T Yamada, Y Fujimori, A Suzuki, Y Miyawaki, A Takagi, T Murate, M Sano, T Matsushita, H Saito, T Kojima: A novel missense mutation causing abnormal LMAN1 in a Japanese patient with combined deficiency of factor V and factor VIII. *Am. J. Hematol*. 84(11): 738-742. 2009.
- 10) R Tanaka, D Nakashima, A Suzuki, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, K Yamamoto, A Katsumi, T Matsushita, T Naoe, T Kojima: Impaired secretion of carboxyl-terminal truncated factor

VII due to an *F7* nonsense mutation associated with FVII deficiency. Thromb Res. in press.

2. 学会発表

- 1) 宮脇由理、鈴木敦夫、藤森祐多、山田貴之、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：重症血友病Aを引き起こす血液凝固第VIII因遺伝子逆位の新解析法～Inverse Shifting-PCR法～ 第10回愛知県医学検査学会、津島
- 2) 鈴木敦夫、中島大輔、宮脇由理、藤森祐多、山田貴之、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：遺伝性出血性末梢血管拡張症の1症例 第10回愛知県医学検査学会、津島
- 3) 山田貴之、藤森祐多、鈴木敦夫、宮脇由理、高木 明、村手 隆、松下 正、佐野雅之、齋藤英彦、小嶋哲人：新規遺伝子変異による血液凝固第V・VIII因子合併欠損症の分子病態解析 第32回日本血栓止血学会学術集会、北九州
- 4) 鈴木伸明、松下 正、中山享之、西田徹也、勝見 章、高松純樹、山本晃士、平島寛司、小嶋哲人、直江知：酢酸デスマプレッシン (DDAVP) で小手術管理を行った後天性血友病Aの一例 第32回日本血栓止血学会学術集会、北九州
- 5) 宮脇由理、鈴木敦夫、藤森祐多、山田貴之、高木 明、村手 隆、小嶋哲人：重症血友病Aにおける血液凝固第VIII因遺伝子の逆位解析法～Long PCRとInverse Shifting-PCR法～ 第10回日本検査血液学会学術集会、甲府
- 6) A Suzuki, N Sanda, K Makita, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, H Saito, T Kojima : Down-regulation of protein S

expression by 17 β -estradiol in HepG2 cells. XXIIIrd Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis, Boston, USA.

- 7) T Yamada, Y Fujimori, A Suzuki, Y Miyawaki, A Takagi, M Sano, T Matsushita, H Saito, T Kojima : A novel homozygous missense mutation in the LMAN1 gene in a Japanese patient with combined factors V and VIII deficiency. XXIIIrd Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis, Boston, USA.
- 8) A Suzuki, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, H Saito, T Kojima : Down-regulation of protein S expression by 17 β -estradiol in HepG2 cells. 第71回日本血液学会総会、京都
- 9) 鈴木敦夫、小嶋哲人：血栓性素因部会シンポジウム「血栓性素因・プロテインS欠乏症/欠損症をめぐる最近の話題」女性ホルモンとプロテインS欠乏症 SSCシンポジウム2009、東京
- 10) A Suzuki, Y Miyawaki, Y Fujimori, T Yamada, A Takagi, T Murate, H Saito, T Kojima : Anticoagulant protein S expression is down-regulated by ERalpha/Sp1 interaction recruiting NCoR/SMRT and HDAC3 in HepG2 cells. 第32回日本分子生物学会年会、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし。
3. その他 なし

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解析

研究分担者：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

研究要旨

静脈血栓塞栓症（VTE）の治療および予防に対するワルファリン療法中の血栓症再発と出血症例における併用薬剤、基礎疾患および誘因などの背景因子を明らかにすることを目的に、二次調査への協力に同意した 268 施設を対象に「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」を実施した。平成 20 年度の本研究事業で実施した「ワルファリン使用に関するアンケート調査」の調査協力施設において、平成 21 年 4 月 1 日から 6 月 30 日までの 3 ヶ月間に静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法を施行した全症例を調査対象とした。その結果、平成 21 年 12 月 28 日現在において、38 施設 58 診療科から 691 症例（男性 264 例、女性 427 例）の調査票を回収することができた。調査対象者の平均年齢は 61.8 ± 16.9 歳（男性 61.2 ± 16.8 歳、女性 62.2 ± 16.9 歳）であり、罹患部位は深部静脈血栓症（DVT）単独 439 例、DVT+肺動脈血栓塞栓症（PTE）143 例、PTE 単独 49 例などであった。ワルファリン療法期間は平均 3.2 ± 4.8 年と長期間にわたり施行されていた。VTE の先天性危険因子として、プロテイン S 欠乏 42 例、アンチトロンビン III 欠乏 24 例、プロテイン C 欠乏 16 例であり、悪性腫瘍に関連する静脈血栓塞栓症罹患によるワルファリン療法施行症例が 54 例、抗リン脂質抗体症候群 52 例、外科手術関連が 51 例、長期臥床・ADL 低下が 34 例であった。ワルファリン療法施行中において 8 例に出血症状、17 例に血栓症再発の合併症がみられた。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た。

A. 研究目的

日本循環器学会等による「肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症の診断・治療・予防に関するガイドライン静脈血栓塞栓症予防ガイドライン」2004 年度版（以下、静脈血栓塞栓症予防ガイドラインと略す）では、本邦での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。平成 20 年度の本研究事業において実施した「ワルファリン使用に関するアンケート調査」から、ほとんどの医療機関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。しかしながら、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がみ

られ、52.8%の施設でワルファリン療法に伴う出血症例を経験していた。これらの調査結果を踏まえて本研究では、ワルファリン療法中にみられる血栓症再発例や出血症例における併用薬剤、基礎疾患および誘因などの背景因子との関連を明らかにすることにより、ワルファリン適正使用の指針づくりのための基礎データを収集することを目的とする。

B. 研究方法

平成 18 年 12 月 15 日-平成 19 年 1 月 31 日に実施した「ワルファリン使用に関するアンケート調査」（一次調査）では、各施設におけるワルファリン療法に伴う血栓症再発および出血症例の有無のみを把握することが主たる目的であっ

たため、ワルファリン療法を受けている各々の症例ごとにワルファリン療法の実態や合併症を含む詳細な背景因子を明らかにするとは困難であった。

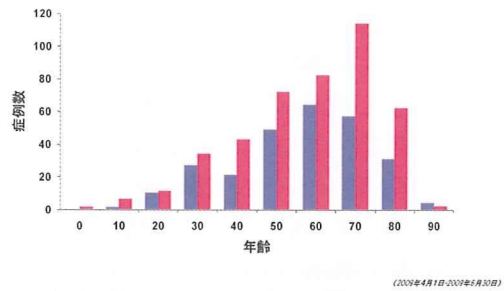
そこで本研究では、「静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法に関する全国実態個別調査」を二次調査として実施した。対象施設は、一次調査の際に二次調査に協力する旨の同意を得た268施設である。調査期間は平成21年4月1日から6月30日までの3ヶ月間とし、調査期間内にワルファリン療法を実施している静脈血栓塞栓症症例全例（入院および外来患者）を登録用紙に記入する形式で行う前向き調査である（別紙1-3参照）。本調査は、自治医科大学生命倫理委員会において承認されている（自治医科大学生命倫理委員会承認研究「疫08-52」）。

C. 研究結果

二次調査の協力同意の得られた268施設のうち、「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」調査票への回答のあった施設は、49施設（18.3%）であった。このうち38施設（58診療科）から695症例について個別登録票が返送され（別紙4）、記載項目の欠落例を除いた691症例（男性264例、女性427例）を解析対象とした。

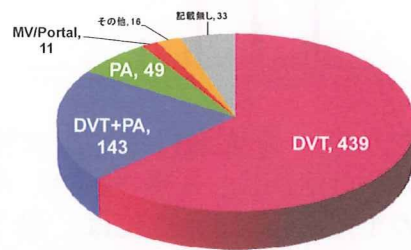
調査対象症例は61.8±16.9歳（男性264例 61.2±16.8歳、女性427例、62.2±16.9歳）であり、女性が男性の1.6倍でこの差は70歳台および80歳台で顕著であった（図1）。

図1. 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の全国実態個別調査
一性別・年齢別一



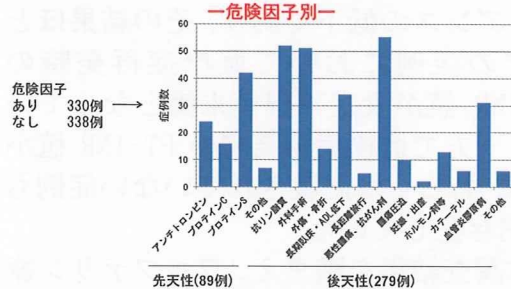
罹患部位別では、深部静脈血栓症単独が439例（63.5%）で、肺動脈血栓塞栓症合併例143例を含める84.2%を占めていた（図2）。

図2. 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の全国実態個別調査
一罹患部位別一



静脈血栓塞栓症の危険因子を有している症例は約半数の330症例であった。このうち89例に先天性危険因子が存在し、プロテインS欠乏が42例で最も多く、アンチトロンビンIII欠乏24例、プロテインC欠乏16例の順であった。一方、後天性危険因子を有する症例は279例で、悪性腫瘍に関連する静脈血栓塞栓症罹患によるワルファリン療法施行症例が54例、抗リン脂質抗体症候群52例、外科手術関連が51例、長期臥床・ADL低下が34例であった（図3）。

図3. 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の全国実態個別調査
一危険因子別一

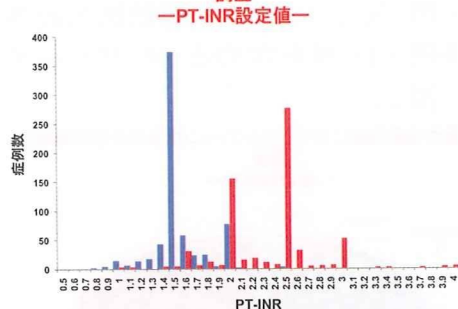


ワルファリン服用期間1年未満の症例が203例と半数であったものの、5年以

上服用している症例も158例存在しており、平均服用期間が3.2±4.8年と長期間にわたり施行されていた。

ワルファリン療法のPT-INR設定下限値が1.5としたものが374例(54.1%)と半数以上であったが、上限値は2.5が277例(40.0%)、2.0が155例(22.4%)、3.0が52例(7.5%)と、上限値の設定にはある程度の幅がみられた(図4)。

図4. 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の全国実態個別調査



ワルファリン療法施行中に出血性合併症を来した症例は、8例(1.1%)存在した(表1)。主な出血部位は、皮下出血や性器出血などであり、本調査において出血に起因する死亡例はみられなかった。出血例の多くは、PT-INR値が5.0を超えていたか、抗血小板薬の併用や転倒などの何らかのリスクおよび誘因を有していたが、PT-INR値が設定値以内でありかつ明確な誘因がみいだされていない症例が2例存在した。

ワルファリン療法中に血栓症の再発をきたした症例は17例であった(表2)。ワルファリン服用期間が3年以上の長期間に及ぶ症例が半数であり、また血栓性素因を有する症例が半数近くを占めていた。誘因の多くはワルファリンコンプライアンスの低下であり、その結果ほとんどの症例において血栓症再発時のPT-INR値が設定下限値未満となっていた。一方で血栓症再発時のPT-INR値が把握、もしくは記載されていない症例も10例存在していた。

本調査結果を踏まえ、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全

国調査」へと展開することにより、個々の症例に応じたより安全なワルファリン療法へと繋がるものと考えられる。

「ワルファリン療法中の静脈血栓塞栓症患者を対象としたPT-INR簡易型迅速測定装置の導入に関する調査研究」ワルファリン療法中の自己測定による随時PT-INR値と合併症(血栓症の再発、出血症状)発症との関連を明らかにすることを目的とし、1) 外来受診時における患者実施PT-INR簡易型迅速測定装置と通常検査値との相関、2) 外来受診時のPT-INR値と自宅での自己測定PT-INR値の差異、3) 血栓症症状や出血症状時の自己測定PT-INR値の確認、4) 自己測定PT-INR値から、ワルファリン内服量の調節の順に進める。PT-INR値の自己測定が、ワルファリン療法に起因する合併症の軽減に寄与するか否かを検討したい。

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を実施し、併用薬剤、基礎疾患および誘因などの背景因子との関連を明らかにした。今後、静脈血栓塞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の調査研究として、「PT-INR簡易型迅速測定装置の導入に関する全国調査」を実施予定である。

D. 健康危険情報

特記事項なし。

E. 研究発表

1. 原著論文

Mimuro, J., Mizuta, K., Kawano, Y., Hishikawa, S., Hamano, A., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Kawarasaki, H., Sakata, Y.: Impact of acute cellular rejection on coagulation and fibrinolysis biomarkers within the immediate post-operative period in

pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 2009 Sep 29. Epub ahead of print

Ishiwata, A., Mimuro, J., Mizukami, H., Kashiwakura, Y., Takano, K., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K., Sakata, Y.: Liver-restricted expression of the canine factor VIII gene facilitates prevention of inhibitor formation in factor VIII-deficient mice. *J Gene Med.* 11(11):1020-1029. 2009. 11

Ishikawa, J., Okada, H., Kato, H., Takeshita, S., Honda, S., Kawasaki, T., Suehisa, E., Tuji, H., Madoiwa, S., Sakata, Y., Kojima, T., Murata, M., Ikeda, Y., Kokubo, Y., Okamura, T., Tomoike, H., Miyata, T.: Association of Asn221Ser mutation in tissue factor pathway inhibitor-[beta] with plasma total tissue factor pathway inhibitor level. *Blood Coagulation & Fibrinolysis.* 20(1):22-26, 2009. 1

Madoiwa, S., Yamauchi, T., Kobayashi, E., Hakamata, Y., Dokai, M., Makino, N., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Mimuro, J., Sakata, Y.: Induction of factor VIII-specific unresponsiveness by intrathymic factor VIII injection in murine hemophilia A. *J Thromb Haemost.* 7(5):811-824. 2009

Miyata T, Sato Y, Ishikawa J, et al. Prevalence of genetic mutations in protein S, protein C and antithrombin genes in Japanese patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res.* 2009;124:14-18.

2. 学会発表

Madoiwa S, Yamauchi T, Kobayashi E, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ohmori T, Mimuro J and Sakata Y Intrathymic administration of factor VIII results

in immune tolerance by induction of factor VIII-specific regulatory T cells in murine hemophilia A. XXII ISTH Congress July 16, 2009. Boston, USA

窓岩清治、三室 淳、大森 司、坂田洋一：敗血症における凝固線溶系異常 第 32 回日本血栓止血学会学術集会 日本血栓止血学会・日本救急医学会ジョイントシンポジウム 平成 21 年 6 月 5 日北九州

Madoiwa S, Yamauchi T, Kobayashi E, Dokai M, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ohmori T, Mimuro J, Sakata Y. Development of immune tolerance induction by intrathymic administration of Factor VIII in murine hemophilia A. 2009 East Asia Hemophilia Forum June 7, 2009. Kitakyushu, Japan

窓岩清治、大森 司、三室 淳、坂田洋一：感染症 DIC を考慮した現厚生労働省診断基準の検討。第 4 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム DIC 部会。2009 年 11 月 21 日（土）東京
水上浩明、三室 淳、石渡 彰、八木洋也、大森 司、窓岩清治、卜部 匡司、久米晃浩、坂田洋一、小澤敬也：Robust and sustained factor IX expression following IV injection of AAV8-based vectors in maguques. 第 71 回日本血液学会学術集会 2009.10/23-24 京都

久米晃浩、八木 洋也、水上浩明、卜部 匡司、塚原 智典、石渡 彰、三室 淳、窓岩清治、大森 司、坂田洋一、小澤 敬也：Promoter selection for muscle-directed self-complementary AAV toward hemophilia B gene therapy. 第 71 回日本血液学会学術集会 2009.10/23-24 京都

大森 司、窓岩清治、三室 淳、坂田洋一：Platelet-directed gene modification by lentiviral vector: Application to therapies for

inherited bleeding disorders and research into platelet signal. シンポジウム 第71回日本血液学会学術集会 2009.10/23-24 京都

和田英夫、川杉和夫、久志本成樹、岡本好司、岡村 孝、畑田 剛、内山俊正、関 義信、窓岩清治、丸藤 哲：DIC 診断基準作成のためのプロスペクティブスタディの途中経過報告 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009.6/4-6 北九州

伊東哲男、林 司、古寺美加、水上浩明、小澤敬也、三室 淳、坂田洋一、村松慎一：中和抗体法と相関性のある抗AAV2 抗体検出試験の開発 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009.6/4-6 北九州

石渡 彰、三室 淳、柏倉裕志、大森司、窓岩清治、水上浩明、久米晃啓、小澤敬也、三室 淳、坂田洋一：高純度 AAV8、AAV9 ベクター精製法ノ確立 第32回

日本血栓止血学会学術集会 2009.6/4-6 北九州

Thasinas Dissayabutra、大森 司、青木慎也、石渡 彰、柏倉裕志、窓岩清治、秋葉栄治、長谷川 護、三室 淳、坂田洋一：血小板への遺伝子発現増強を目的とした GPIIb/IIIa プロモーターノ改変 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009.6/4-6 北九州

大森 司、青木慎也、Thasinas Dissayabutra、石渡 彰、柏倉裕志、窓岩清治、秋葉栄治、長谷川 護、三室 淳、坂田洋一：GPIIb/IIIa 遺伝子近傍のクロマチンインスレーター配列の同定 第32回日本血栓止血学会学術集会 2009.6/4-6 北九州

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特記事項なし。