

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 ± 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 ± 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 ± 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。

新潟県中越地震4年目の被災地 DVT 検査

新潟大学大学院呼吸循環外科 榛沢和彦

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。例年通り県や市の広報、新聞やFM ラジオで検査日時をあらかじめ被災者に知らせ、またこれまでに検査を受けたうち血栓が見つかった方とその他 1000 人に葉書で検査日時を知らせて行った。下肢静脈エコー検査のエコー装置はメーカーから借用し下腿静脈のみ座位で検査した。血液検査は D ダイマー値などを測定した。小千谷市の検査では236人が検査を受け、そのうち174人が女性、平均年齢 64.6 ± 11.4 歳(29-89 歳)であった。また236人中21人が初めて検査を受けた方であった。血栓(DVT)は初めて検査を受けた21人中1人(4.76%)、それ以外で215人中19人(8.83%)に見つかった。小千谷市の被検者236人のDダイマー値平均は 553.2 ± 729.7 ng/ml であった。一方、十日町市では133人が検査を受け、そのうち94人が女性、平均年齢 67.8 ± 10.3 歳(26-83 歳)であった。また133人中81人が初めて検査を受けた方であった。血栓(DVT)は初めて検査を受けた81人中10人(12.3%)に認め、それ以外では52人中6人(11.6%)に血栓を認めた。十日町市の被験者全体のDダイマー値は 510.4 ± 393.3 ng/ml であった。以上より小千谷市、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。また小千谷市よりも十日町市で DVT 頻度が高い可能性があると考えられ、今後検討する必要があるものと思われた。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。また中越地震2年目と3年目の被災者の tPAI-1 は血栓有り者でそれぞれ $32.0 \pm 21.8 \mu\text{g/ml}$ 、 $16.7 \pm 8.1 \mu\text{g/ml}$ 、血栓無し者でそれぞれ $18.0 \pm 7.7 \mu\text{g/ml}$ 、 $13.6 \pm 13.5 \mu\text{g/ml}$ であり、中越地震3年目では血栓の有無に関係なく有意に tPAI-1 が低下していた。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。

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班

第 1 回班会議

日時：平成 21 年 8 月 6 日（木）午前 10 時～午後 5 時終了予定

場所：慶應義塾大学医学部新教育研究棟 2 階講堂 1

プログラム・抄録集

研究代表者 村田 満

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班

第 1 回班会議 プログラム

日時：平成 21 年 8 月 6 日（木）午前 10 時～午後 5 時終了予定

場所：慶應義塾大学医学部新教育研究棟 2 階講堂 1

（サブグループ研究計画：20 分 各個人研究計画：10 分 討論含む）

10：00～ 研究代表者 挨拶 村田 満
厚生労働省健康局疾病対策課 御挨拶

10：10～ 特発性血栓症研究班 研究計画 小嶋 哲人
サブグループリーダー：小嶋 哲人 名古屋大学医学部
班員： 坂田 洋一 自治医科大学
川崎 富夫 大阪大学医学部
宮田 敏行 国立循環器病センター研究所
横山 健次 慶應義塾大学医学部

10：30～ TMA研究班 研究計画 藤村 吉博
サブグループリーダー：藤村 吉博 奈良県立医科大学
班員： 宮田 敏行 国立循環器病センター研究所
和田 英夫 三重大学医学部
研究協力者：森木 隆典 慶應義塾大学医学部・ 日笠 聡 兵庫医科大学血液内科

10：50～ I T P研究班 研究計画 藤村 欣吾
サブグループリーダー：藤村 欣吾 広島国際大学薬学部
班員： 池田 康夫 早稲田大学理工学術院
桑名 正隆 慶應義塾大学医学部
富山 佳昭 大阪大学医学部
倉田 義之 四天王寺国際仏教大学
研究協力者：降旗 謙一 株式会社エスアールエル
野村 昌作 市立岸和田市民病院

11：10～ 静脈血栓塞栓症研究班 研究計画 小林 隆夫
サブグループリーダー：小林 隆夫 県西部浜松医療センター
班員： 榛沢 和彦 新潟大学教育研究院
研究協力者：佐久間聖仁 国立循環器病センター心臓血管内科
中村 真潮 三重大学大学院・山田 典一 三重大学大学院

11：30～12：30 昼休み

12 : 30～13 : 30

特発性血栓症班研究計画：司会 小嶋 哲人

小嶋哲人 「血栓傾向の分子病態解析」

坂田洋一・窓岩清治

「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」

川崎富夫 「静脈血栓症の基礎研究と医療訴訟問題解決」

横山健次 「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の進捗状況・2型糖尿病患者のD-ダイマー測定
の意義」

13 : 30～14 : 30

TMA班研究計画：司会 藤村 吉博

藤村吉博・松本雅則 「TTP 治療製剤としての血漿分画の検討」

宮田敏行 「ADAMTS13-DTCSドメインの結晶構造解析と

von Willebrand 因子結合エキソサイトの同定」

和田英夫 「TMA 患者における VWF propeptide の測定」

森木隆典・山口雄亮 「ADAMTS13 活性を阻害するモノクローナル抗体の

エピトープマッピングによる機能ドメイン解析」

14 : 30～14 : 45 休憩

14 : 45～15 : 45

I T P 班研究計画：司会 藤村 欣吾

藤村欣吾 「当院における I T P 合併妊娠の管理について」

池田康夫・宮川義隆

桑名正隆・西本哲也 「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」

富山佳昭 「1. 網状血小板比率測定法に関する比較検討 2. ITP の病態解析」

松原由美子 「I T P における血小板産生能の評価に関する基礎的検討」

15 : 45～16 : 45

静脈血栓塞栓症班研究計画：司会 小林 隆夫

小林隆夫 「内因性トロンビン産生能(ETP)を用いた活性化プロテインC感受性比(APC-sr)

榛沢和彦 「地震とDVTとの関連についての研究」

佐久間聖仁 「院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子（中間報告）」

終了

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班 研究代表者：村田 満

事務局：慶應義塾大学医学部臨床検査医学 村田教授室 電話：03-5363-3838 内線 62553

サブグループ研究

特発性血栓症研究班サブグループ研究報告

班員 小嶋哲人 名古屋大学医学部
宮田敏行 国立循環器病センター研究所
坂田洋一 自治医科大学
辻 肇 京都府立医科大学
川崎富夫 大阪大学医学部
横山健次 慶應義塾大学医学部

目的

近年増加している静脈血栓塞栓症（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、VTE の予知・予防のための対策の確立を目指す。

特発性血栓症サブグループは、これまでに、

- 1) 日本人の静脈血栓症の遺伝的背景の検討
 - 2) 特発性血栓症予防法として「ヘパリンの在宅自己注射」に関するアンケート調査
 - 3) 特発性血栓症再発予防に対するワルファリン療法に関するアンケート調査
 - 4) 先天性血栓性傾向（AT、PC、PS 欠損症）日本人患者の実態調査
- 等を行ってきた。これらの活動を今後更に発展させ、日本人を対象としたエビデンスの収集とそれに基づいた指針の策定を目指す。

計画・方法

特発性血栓症サブグループは、全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究と血栓症患者を対象とした研究から構成される。

1) アンケート調査研究：

平成 18 年度にワルファリンの適正使用の指針づくりのため、「ワルファリンの使用に関するアンケート調査」を実施した。これに基づき二次調査「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の確立を目指す。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」を実施中である。これらの調査を継続し、日本人のエビデンスを収集する。

2) 日本人 VTE の遺伝的背景に関する調査研究：

これまでの研究により、凝固制御因子の先天性欠損症が静脈血栓症の高リスク群であることが確認された。この高リスク群の患者の同定を進めると共に、再発予防に関するエビデンスを収集し、再発予防に資する。

TTP(TMA)サブグループ研究班
目的:TTP(TMA)の病態解析と治療法の開発

班員：

藤村吉博（奈良医大）

和田英夫（三重大学）

宮田敏行（国立循環器病センター研究所）

協力者：

森木隆典（慶応大学）

日笠 聡（兵庫医大）

（秋山正志、国立循環器病センター研究所）

（松本雅則、奈良医大）

総括報告（藤村吉博）

- 1) 膠原病合併 TMA の特徴とその ADAMTS13 解析（論文掲載）
- 2) TTP/HUS の全国アンケート調査報告（09 ISTH 報告、論文投稿）
- 3) 奈良医大輸血部での TMA919 例のデータベース構築（論文投稿）
- 4) Upshaw-Schulman 症候群の ADAMTS13 遺伝子-表現型解析（09 ISTH 報告）
- 5) TTP 患者の血漿交換後に見られる ADAMTS13 inhibitor boosting（解析中）
- 6) その他：難病 TTP のマスコミ取材（朝日新聞）、TTP 診断基準作成（厚労省）

個別報告：

- 1) 宮田敏行（秋山正志）：ADAMTS13 の DTCS ドメインの構造決定による VWF 結合部位の同定（新規）
- 2) 森木隆典：ADAMTS13 活性を阻害するモノクローナル抗体のエピトープマッピングによる機能ドメイン解析結果（継続研究）
- 3) 和田英夫：VWF propeptide の測定成績（新規）
- 4) 藤村吉博（松本雅則）：TTP 治療製剤としての血漿分画の解析（新規）

I T P サブグループ研究要旨

研究分担者	藤村 欣吾	広島国際大学薬学部
	倉田 義之	四天王寺大学人間福祉学科
	富山 佳昭	大阪大学医学部附属病院輸血部
	桑名 正隆	慶応義塾大学医学部内科
	池田 康夫	早稲田大学
研究協力者	降旗 謙一	S R L
	野村 昌作	岸和田市民病院血液内科
特別協力者	杉田 稔	東邦大学医学部衛生学
	島田 直樹	慶応大学医学部衛生学

これまで研究班で行ってきた研究を継続しつつ新たな研究テーマを掲げ I T P 病態の解析と Q O L をより高めることを目的とした。

疫学研究、診断基準の確立、治療研究を3つの柱とした。

- 1) 疫学研究については従来から行ってきた臨床個人調査表からの解析を継続し、高齢化社会、疾病構造の変化の中でどのような変化をとるか明らかにし、I T P の臨床的将来像を予測可能にする。さらに新たな病態解析が可能となるように調査表の項目を一部改める点について具体的内容を検討する。
- 2) 診断基準に関しては S R L との共同作業で特異性、感度、が向上してきたので本年度中に全国からの検体受注を開始し、提案した診断基準の有用性の検討を行う。
診断基準の一つにある網状血小板数の測定に関してはチアゾールオレンジで染色しフローサイトメーターで解析する方法と自動測定装置による I P F 測定法により差が認められ、今後この差の原因を明らかにし、診断基準にどちらを組み入れるか検討する。
- 3) 治療研究については前回の研究班で作成した治療プロトコールを再調整し、プロトコールとしての体裁を整え公開する計画を立てる。また難治症例に対しての治療戦略が必要で、現在治験が進んでいる血小板増加因子製剤の使用、位置づけを検討する。妊娠 I T P の管理・治療プロトコール作成への検討を開始する。
- 4) 研究班として I T P の病態研究のための血液試料の収集、治療研究としての治験や I T P に関する相談センターの設置などについて必要性と可能性を討論する。
- 5) この他難治性 I T P における抑制性 T 細胞の関与など従来通り各自の病態、治療、診断などに関する研究を継続する。

静脈血栓症/肺塞栓症グループ抄録および今後の研究計画

分担研究者： 県西部浜松医療センター 小林隆夫
新潟大学大学院医歯学総合研究科呼吸循環外科 榛沢和彦
研究協力者： 国立循環器病センター心臓血管内科
佐久間聖仁
三重大学大学院医学系研究科循環器内科
中村真潮、山田典一

1) 研究要約

わが国における静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症/肺塞栓症）発症の実態調査を行う。

2) 研究概要

本研究はわが国において様々な状況下で発症する深部静脈血栓症/肺塞栓症の現況を調査することであるが、引き続き研究を継続するとともにその臨床的特徴を明らかにし、入院患者のリスク評価および静脈血栓塞栓症の予知・予防にまで研究を発展させたい。なお、本研究は、厚生労働省の臨床研究の倫理指針および疫学研究の倫理指針に則って施行され、各参加施設の倫理委員会の承認を得た後に実施される。

3) 研究の目的・必要性・特色・独創的な点

前年度までに産婦人科領域の静脈血栓塞栓症の調査、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、精神科病棟入院患者における肺塞栓症に関する検討、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、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い、日本人の特徴を明らかにし得た。特に精神科領域での調査および地震後の発症調査は海外でも例がなく、極めて独創的である。今後はさらに研究を発展させ、医療や福祉行政にも反映させたい。

4) 研究の目的・必要性・期待される成果

本研究ではわが国において様々な状況下で発症する深部静脈血栓症/肺塞栓症の現況を調査し、「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。なお、平成19年度には震災被災者における静脈血栓塞栓症の調査結果をもとに「災害緊急避難時の静脈血栓塞栓症（いわゆるエコノミークラス症候群）発症予防指針」の提言を行った。

5) 研究計画・方法

3年計画として以下の研究を計画している。研究施設・研究環境は整っており、調査のフィールド確保も問題ない。分担研究者および研究協力者各自の担当は計画末尾に記載した。研究は単年度で終了するものもあるが、多くは複数年を要し、その継続の有無は各年度末に検討する。

1. 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子（継続、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塞栓症発症予知に関する研究（継続、複数年：小林隆夫）
3. 地震とDVTとの関連についての研究（継続、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（継続、複数年：山田典一、中村真潮）
5. ネフローゼ症候群症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査（新規、複数年：山田典一、中村真潮）

6) 倫理面への配慮

本研究は、厚生労働省の臨床研究の倫理指針および疫学研究の倫理指針に則って施行される。また、本研究は、各参加施設の倫理委員会の承認を得た後に実施される。すべての研究協力は十分なインフォームド・コンセントに基づいてのみ施行される。個人情報及び個人情報の漏洩による研究協力者の心理的・社会的不利益が生じないよう最大限の配慮と対策を講じる。

7) 研究結果

現在中途解析中であり、研究結果の詳細は個々の抄録を参照のこと

個別研究

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) の欠乏は血栓症の発症リスクファクターとなることが知られている。我々は、これまでに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、それぞれ原因とな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。

今年度は、AT 欠乏症がみられた 3 家系 5 症例に関して、*SERPINC1* 遺伝子を解析した結果、1 家系での発端者の男性に新規のナンセンス変異 p.Trp221X (c.663G>A: ミスマッチ PCR 産物の *Kpn* I-RFLP 解析により確認) を同定した。この変異はトロンビンとの結合部位を含む反応ループを欠失することが予想され、本症例における type I AT 欠損症の原因となることが推測された。また、発端者の娘 2 人にも AT 欠乏症を認め、各 *SERPINC1* 遺伝子解析の結果の同一変異をヘテロ接合体として検出し、彼女らの妊娠時には AT 製剤による補充療法を含めた抗血栓治療による血栓予防が必要と思われた。他の 2 症例には、我々の用いた解析法では AT 欠乏症の原因となる *SERPINC1* 遺伝子変異は検出できておらず、今後、PCR 解析法では検出できない遺伝子欠失などの存在やプロモータ領域を含めて蛋白非翻訳領域へ範囲を広げての解析が必要と思われた。

一方、PS 欠損症を疑われた 2 症例の *PROS1* 遺伝子解析で splice site 変異を同定した。一つは intron 4 splicing donor site の新規変異 c.346+1G>C で、同部には c.346+1G>A 変異がヨーロッパのグループから既に報告されている。もう一つは、intron 3 splicing acceptor site の新規変異 c.260-1G>A で、この変異は intron 3 skipping (inframe) を生じ、TSR (Thrombin sensitive Region) を欠失した変異分子を発現することが推測された。しかし、発現実験の結果は分泌障害を起こし、たとえ分泌されても γ -carboxylation 障害とともに Gla ドメインの構造変化を生じ、APC cofactor 活性をもたない異常分子であることが判明した。これらはいずれも、PS 欠損症の原因と思われた。

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

窓岩清治*、坂田洋一（*発表者）

自治医科大学分子病態研究部

静脈血栓塞栓症の治療および予防において広く用いられているワルファリンのエビデンスを集積するために、全国の臨床研修医療機関を対象とした実態調査を進めている。これまでに実施した「ワルファリン使用に関するアンケート調査」から、多く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、ワルファリン療法中にみられる血栓症再発と出血症例や、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。調査対象は、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とした。平成 21 年 7 月 31 日現在において、49 施設から 399 症例の調査票が回収されており解析を進めている。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。

静脈血栓症の基礎研究と医療訴訟問題解決

分担研究者 川崎富夫

社会的研究1として、2003年から大阪大学病院で運用している静脈血栓塞栓症の予防・診断・治療ガイドラインの有効性を実証してきた。このガイドラインにおいては結果をフィードバックすることになっているが、その内容を変更する必要なく現在に至っている。緩やかでやさしい予防法として作成したガイドラインが臨床的に十分対応可能であることを示すことができた。今後その概略データをまとめる。

また、社会的研究2として、静脈血栓症の予防に関して流布されているガイドラインが医療訴訟に使用される問題の解決を目指している。ガイドラインが医療水準を構成するかどうか司法において問題となっている。結論的には、そのガイドラインが対象とするのが、医師、学会会員、専門医、医師会等、どの範囲であるのか、そしてその範囲でコンセンサスが得られているかどうか明確である必要がある。そのため今後、これらが明確でないガイドラインは、ガイドラインとしての意味をなさないことになるであろう。だがその前提である医療コンセンサスの取り方自体が定まっていないことが現在の問題である。これに対して、日本血管外科学会誌に論文発表を行い、学会運営を通してのコンセンサス形成の実践をはかっている。

さらに基礎的研究においては、深部静脈血栓症患者と凝固第V因子欠乏症との間に密接な関係があることを見いだした。凝固因子欠乏と血栓症の発症とは、一見相反することのように見える。しかし、論理的にそのメカニズムの存在が予想され、この点を論文発表した。今後この研究をさらに発展させたい。

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の進捗状況

日本血栓止血学会、日本静脈学会、日本血管外科学会の各学会の評議員の諸先生の中で、現在病院勤務中と思われる315人を対象にアンケート用紙を送付した。回答締め切りは2009年9月1日、現時点で65人の先生から回答を頂いており、そのうち該当する患者を診療中との回答を頂いたのは10人である。回答締め切り期限の時点での回収率により、再度依頼の手紙を送付するか検討する予定。

2型糖尿病患者のD-ダイマー測定の意義

前回の班会議において2型糖尿病患者ではD-ダイマー値がmicroangiopathyおよびmacrovascular complicationの指標となる可能性があることを報告した。今回は61歳以上の高齢2型糖尿病患者34人を対象としてさらに詳細な解析を加えた。61歳以上の患者では年齢、VWFとD-ダイマーに相関がみられ、Fbg、PAI-1とは弱い相関がみられる傾向があった。またeGFRとは逆相関がみられる傾向があったが、頸動脈IMTとは相関はみられなかった。microvascular complicationの有無でD-ダイマー値の有意差はなかったが、macrovascular complicationを有する13例では624.8 \pm 128.8 ng/ml、有しない21例では472.0 \pm 232.8 ng/mlとmacrovascular complicationを有する患者群で有意に高値であった(p=0.04)。また両患者群間で年齢、高血圧、高脂血症、喫煙、HbA1c、頸動脈IMT、eGFRなどの差はなく、高齢2型糖尿病患者におけるD-ダイマー高値はmacrovascular complicationの既往の指標となる可能性が示唆された。

TTP 治療製剤としての血漿分画の検討

松本雅則, ○藤村吉博

奈良県立医科大学 輸血部

現在、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)での血漿交換療法の置換液として、新鮮凍結血漿 (FFP)が使用されている。しかし、FFP の長期使用ではアナフィラキシーなどの問題があり、感染症予防の観点からも必要な血漿分画のみを使用することが求められている。今回、TTP 治療の適正製剤を検証する目的で、FFP をクリオ沈澱(CP)と上清(CS)に分離し、それぞれの分画製剤中の ADAMTS13 と von Willebrand 因子 (VWF) の動態を解析した。また、ADAMTS13 製剤として遺伝子組み換え製剤が開発中であるが、治験にまで至っていない状況である。我々は、血漿からモノクローナル抗体を使って ADAMTS13 を精製する方法を確立したので、血漿由来 ADAMTS13 について解析した。

FFP を CP(2ml) と CS(10ml)に分離し、検討した。ADAMTS13 活性は、CS に 93%量含まれ、CP には 7%しか含まれなかった。VWF 抗原は CP に 80%量含まれ、高分子量マルチマーも CP に多く含まれた。以上のように、CS には ADAMTS13 が多く含まれ、高分子量マルチマーも少ないことから、TTP の血漿交換の置換液として有用であると考えられる。一方、CP は、高分子量マルチマーを含む VWF や fibrinogen が多く含まれ、手術時の大量出血時に有効であることが最近注目されており、CP、CS ともに有効に使用することが可能である。

血漿由来 ADAMTS13 の精製は、Disintegrin ドメインを認識する抗 ADAMTS13 モノクローナル抗体 A10 を結合させたカラムで精製し、その後 DEAE-Sepharose, Superdex200 で濃縮した。最終的に血漿の約 25,000 倍に精製した。得られた血漿由来 ADAMTS13 をトロンビンとプラスミンで切断させ、切断産物の N 末端アミノ酸を解析した。その結果、トロンビンは 4 カ所、プラスミンでは 3 カ所の切断部位が同定された。

TTP 治療には、リツキサンのような有望な治療薬が登場してきているが、急性期の治療には ADAMTS13 の補充療法が必須である。FFP を使った血漿交換療法の確立によって、TTP の致死率は劇的に改善した。今後これをさらに改善させるには、CS や ADAMTS13 製剤などの血漿分画の検討が必要であると考えられる。

入院患者における静脈血栓塞栓症発症予知に関する研究
—内因性トロンビン産生能 (ETP)を用いた活性化プロテインC感受性比
(APC-sr) —

県西部浜松医療センター 小林 隆夫
浜松医科大学産婦人科 平井 久也

【研究目的】 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 (Endogenous Thrombin Potential : ETP) に基づく、活性化プロテイン C 感受性比 (Activated Protein C sensitivity ratio : APC-sr) 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ことを目的とする。現在、浜松医科大学倫理委員会で承認された妊婦での一連の測定を行っているが、今後は産婦人科以外の入院患者にも広げていく。

【方法】 ETP とは、合成基質 (S-2238) を用いて血漿中のトロンビン産生を経時的に測定する方法として Hemker らが報告した手法で (Thromb Haemost .56(1): 9-17, 1986)、現在では合成基質に変わり蛍光基質 (ZGGR-AMC) を用いた測定法となっている。すなわち、クエン酸加血漿にリン脂質、ヒトリコンビナント組織因子を添加し 37°C 加温の後、蛍光基質及び CaCl₂ を添加し外因系凝固反応を惹起する。生成されたトロンビンは蛍光基質の発色基を切断し、その後アンチトロンビンにより中和され、反応が終結する。一部トロンビンは α_2 マクログロブリンとも結合し、蛍光基質との反応を続けるため、コンピュータ解析によりその影響を除外する。このような蛍光基質の水解反応を一次微分した曲線がトロンビン産生曲線であり、その Area under the curve : AUC を ETP として算出する。本測定系に APC を添加・反応させることで ETP を抑制することができる。患者血漿と正常男性コントロール血漿に 8.7nM の APC を添加した際の ETP の抑制率を比で表したものを APC-sr として算出する。

本測定により得られた APC-sr と静脈血栓塞栓症発症に関する統計学的検討を行い、本測定法による静脈血栓塞栓症予知スクリーニング法を確立する。

【結果】 現在までに測定結果が得られた妊婦およびコントロールである成人男女のデータを示す。

ITPにおける血小板産生能の評価に関する基礎的検討

松原由美子

ITPの発症には、抗血小板抗体による血小板破壊および血小板産生低下が関与している。この血小板産生低下には抗血小板抗体が巨核球に作用して巨核球分化を抑制する機序の関与も示唆されている。本研究は、ITPにおける巨核球分化・血小板産生機序を詳細に解明することを目的として行っている。方法は幹細胞から *in vitro* 分化誘導にて巨核球・血小板産生を行い、種々の条件における血小板産生過程に関与する因子を解析する。今回は以下の2つの実験経過について報告する。

- (1) ヒト正常造血幹細胞として骨髄 CD34 陽性細胞から血小板を *in vitro* 分化誘導にて得る各過程で抗 GPIb alpha 抗体を添加した結果、抗体添加条件で培養された細胞では巨核球・血小板の著しい産生低下を認めた。
- (2) 幹細胞を用いた血小板 *in vitro* 分化誘導の実験は血小板産生研究において、また血小板製剤の有用性向上の為に重要であるが、現状ではその **starting material** 候補(CD34 陽性細胞、ES 細胞、iPS 細胞)それぞれに検討に用いる際の長所・短所を有している。これら細胞の短所を殆ど有さず、長所を有する細胞として最近、私たちはヒト皮下脂肪組織がその候補となることを見いだした。現在はヒト皮下脂肪組織の中で巨核球や血小板に成りうる細胞の同定を目指した検討を行っている。