

## ADAMTS13 が著減しない TMA と肝移植における VWF プロペプチド

和田英夫、波部尚美

### 【目的】

Thrombotic microangiopathy (TMA)は、ヴェロトキシンによるもの (TMA/O157)、ADAMTS13 著減によるもの (TMA/ADAMTS13)、その他の原因によるもの (TMA/other) に分けられる。ADAMTS13 測定法の普及により、今後は TMA/other の診断が重要と考えられる。

### 【対象・方法】

TMA 患者ならびに肝移植患者で von Willebrand factor (VWF)、VWF propeptide (VWFpp) ならびに thrombomodulin(TM)を測定した。

### 【結果・方法】

TMA/other 群では VWFpp は著しく高値を示した。また、生存群に比べ死亡群の VWFpp は著しく高値を呈した。TM が eGFR と相関するのに比べ、VWFpp は eGFR とは相関せず、VWFpp は腎機能の影響を受けにくいと考えられた。

肝移植例での検討では、術後 1 日目に VWF は減少傾向を示し、VWFpp は変動しないため、VWFpp/VWF 比は増加を示した。また、TMA 非合併例に比し、TMA 合併例では VWFpp/VWF 比は有意に高値を示した。

以上、VWFpp の測定は TMA の診断に有用である可能性が示唆された。

## 臨床医学への貢献を目指した ADAMTS13 に関する基礎研究

国立循環器病研究センター 分子病態部

小亀浩市

ADAMTS13 は von Willebrand 因子 (VWF) を特異的に切断する血漿プロテアーゼであり、その遺伝子異常や自己抗体などによる活性損失は、血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) の要因となる。本研究は「ADAMTS13 の作用メカニズムを解明し、血栓性血小板減少性紫斑病とそれを含む血栓性微小血管障害症の発症メカニズムを明らかにすること」を目的として、平成 20 年度から 3 年間の計画で開始した。まず初年度には、血漿 ADAMTS13 の活性を促進あるいは抑制する可能性をもつ相互作用タンパク質を同定するために、酵母 2-ハイブリッドスクリーニングを行い、ADAMTS13 とプラスミノゲンが直接結合することを見出した。ADAMTS13 と線溶系の関連を示唆する知見である。また、血漿 ADAMTS13 活性を指標にして抽出した日本人一般住民 128 人のシーケンシング解析を行い、既知のミスセンス多型 6 個に加え、稀有な非同義変異を 14 個検出した。これを統計学的に計算し、日本人の先天性 ADAMTS13 欠損症者数を 80~150 人と推定した。平成 21 年度には、VWF 認識部位を含む ADAMTS13 の部分領域 DTCS ドメインの X 線結晶構造を報告した。得られた立体構造をもとに作製した多数の ADAMTS13 変異体を解析した結果、VWF と相互作用するエキソサイトが少なくとも 3 箇所存在することが明らかになった。一方、血漿 ADAMTS13 活性の測定は診断にとって重要であるにもかかわらず、国際標準試料が存在しないため、各医療施設のプール血漿の活性を 100%とみなした相対値が用いられている。そこで平成 22 年度には、日本人一般住民 3486 人の ADAMTS13 活性データを利用して、プール血漿を調製する場合に何人以上の血漿試料を混和すべきであるかを検討した。その結果、被検試料の活性値をほぼ正確に得た場合、少なくとも男女各 20 試料以上からなるプール正常血漿を調製すべきであり、一方、TTP 診断の指標として重要な低活性領域に照準をあてる場合には、男女各 10 試料からなるプール血漿でも使用可能であるという結論が得られた。今後、これらの成果をさらに発展させつつ、医療現場で役立つよう展開していきたい。

## $\alpha$ IIb $\beta$ 3 (GPIIb/IIIa) 変異をもつ遺伝性血小板減少症例の解析

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科

柏木 浩和、富山 佳昭

インテグリン  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 (GPIIb/IIIa) はフィブリノゲンや VWF の受容体として血小板血栓形成の中心的役割を担う。 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 に認められる遺伝子変異は、その変異部位により  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 の発現・機能に影響を与え血小板無力症の原因となるものや、 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 の発現・機能には影響を与えないが allo 抗原として血小板輸血不応などの原因となる変異が報告されている。しかしこれら  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 変異においては血小板数の低下は認められないことから、 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 の変異は血小板数や血小板産生には直接影響を与えないと考えられてきた。國島および我々は遺伝性血小板減少症例の解析から、 $\alpha$  IIb 細胞膜直下の R995W 変異を有する家系を本邦において 4 家系みいだした。血小板数は 7~10 万程度に低下しており、血小板は大小不同であるが、全体的には大きな血小板が多く認められた。 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 の発現は正常の 70~80% 程度に低下していた。 $\alpha$  IIb (R995) は  $\beta$  3 (D723) との水素結合を介して、 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 を非活性化状態に保つために重要であることが知られているが、実際、 $\alpha$  IIb (R995W)  $\beta$  3 を発現させた CHO 細胞や 293T 細胞においては  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 の恒常的活性化と FAK のリン酸化が認められた。また固相化フィブリノゲン上において細胞質の ruffling と突起を伴う特異な形態異常を認めた。本症例以外にも、 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 の細胞膜周辺の複数の変異において遺伝性血小板減少例が見いだされている。また、我々および國島らは、 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 活性化が抑制される新たな細胞外領域における遺伝子変異を他の遺伝性血小板減少症例の解析から複数見いだしている。これらの結果から、 $\alpha$  IIb  $\beta$  3 活性化制御およびそれに付随する細胞内シグナルの異常が血小板産生あるいは血小板数の恒常性維持と関連している可能性を示すことができた。

## 成人慢性 I T P の治療ガイドラインについて

広島国際大学薬学部	藤村 欣吾
慶應義塾大学医学部免疫内科	桑名 正隆
大阪大学医学部附属病院 輸血部	富山 佳昭
四天王寺大学人文社会学部	倉田 義之
慶應大学義塾医学部血液内科	宮川 義隆
西神戸医療センタ 血液免疫内科	高蓋 寿郎

I T P 治療の今期の目標は 1) 成人 I T P 診療の参照ガイドの確立  
2) 妊娠合併 I T P に対する治療ガイドラインの作成 である。

成人 I T P 治療ガイドラインは除菌療法が保険適応となった事、さらに新たに血小板増加薬として T P O レセプターアゴニストの保険承認が下される目処が年度内についた事、をふまえこの度従来「案」として提出していた治療ガイドラインに一部修正、追加を行い 2010 年度版成人 I T P 診療の参照ガイドを作成した。

妊娠合併 I T P に対する妊娠、分娩時の出血管理については今年度本班員の方々から頂いた意見を集約しコンセンサスを得た点を盛り込み素案を作成した。

1. 妊娠合併 I T P の診断：通常の除外診断疾患に加えに妊娠時特有の血小板減少症を除外する。特に妊娠性血小板減少症は通常妊娠の 5～8% に認められる。

2. インフォームドコンセント：妊娠経過に伴い血小板減少が増悪する。児に血小板減少が認められることがある。など

3. 妊娠時、妊娠中期の I T P 管理：無治療経過観察が原則。治療対象は、出血傾向がある、血小板数 3 万以下、手術を行う場合など。治療薬は副腎皮質ステロイドホルモンが基本、 $\gamma$  グロブリン大量療法、血小板輸血を適宜加える。

4. 妊娠後期の管理：産科的に分娩方法を決定し止血管理を行う。

自然分娩の場合血小板数 5 万以上、帝王切開の場合 8 万以上にコントロールする。

治療として、副腎皮質ステロイドホルモンを中心に、 $\gamma$  グロブリン大量療法、血小板輸血、高用量メチルプレドニゾン療法を適宜追加する。

5. 分娩時の産科的管理：経膈分娩に際し、鉗子分娩、吸引分娩は避ける。緩徐な分娩を心がける。

6. 新生児の管理：出血傾向をチェック、臍帯血の血小板数を測定、血小板減少は 24～48 時間後に起こることが多く、1 週間は連日血小板数を測定する。

治療対象は出血傾向がある、或いは血小板数 2 万以下。治療は  $\gamma$  グロブリン大量療法、血小板輸血 以上が概略である。

## ITPとして診断，治療を受けていた先天性血小板減少症の一例

西神戸医療センター	免疫血液内科	高蓋寿朗
	小児科	松原康策
広島国際大学	薬学部	藤村欣吾

先天性（家族性）血小板減少症はしばしばITPと診断され治療を受けていることがある。今回、小児期よりITPと診断されていたが、第2子の血小板減少症の精査中に先天性血小板減少症であることが判明した症例を経験したので報告する。症例は31歳女性。8歳の時にITPと診断され、 $\gamma$ グロブリン大量療法など受けられたとのことだが詳細は不明。初回妊娠時（25歳）より、当科受診中であり、本人からの問診上家族歴はないとのことであった。

非妊娠期は血小板数5から7万で推移しているが、第1子、第2子妊娠中ともに血小板数は3万から5万と減少し、軽度の紫斑、鼻出血などの出血傾向を呈した。妊娠後期に血小板数は3万台となり、プレドニゾロンを投与するも無効、 $\gamma$ グロブリン大量療法にても効果はなく、血小板輸血の上帝王切開にて分娩を施行した。第2子（女兒）の出生直後の血小板数が6万前後であり、抗体移行に伴う血小板減少と考え経過観察としていた。しかし、数ヵ月後も血小板数は回復しなかった。この時点で、はじめて発端者の父が血小板減少を指摘されていることが判明し、先天性血小板減少症が疑われた。諸検査（名古屋医療センター国島先生に依頼）の結果、 $\alpha$  II bの細胞内ドメインの異常をきたす遺伝子変異が同定された。血小板減少患者における、家族歴聴取の重要性を再認識させられた症例であり、孤発例の可能性も考慮し、ITPの診断時には十分な注意が必要であることを啓蒙する必要があると考えられた。

## 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 慶應義塾大学内科

【背景・目的】近年、特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 患者において  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  制御性 T 細胞 (Treg) の減少や機能障害が報告され、病態との関連が考えられている。昨年度までの検討により、BALB/c ノードマウスに同系マウス  $CD4^+CD25^-$  細胞を移入することで作製した Treg 欠損マウスの約 1/3 が慢性的な血小板減少を自然発症し、抗血小板自己抗体陽性の ITP 病態を呈することを明らかにしてきた。また、Treg 欠損マウス作製時に Treg を同時移植すると、ITP 病態の発症が完全に抑制されることから、Treg が ITP の発症抑制に重要な役割を果たしていることが示した。そこで、今年度は ITP モデルマウスにおける抗血小板自己抗体の対応抗原の同定と Treg による ITP 発症抑制効果の分子メカニズムを検討した。

【方法・結果】正常マウス血小板を抗原とした免疫ブロット法を行ったところ、血小板減少 Treg 欠損マウス血漿中に GPIIb、GPIIIa と反応する IgG 自己抗体が検出され、その反応パターンは個体により異なっていた。さらに、血小板溶出液と脾細胞培養上清中 IgG の血小板結合能をフローサイトメトリーにより調べたところ、正常マウス血小板に結合する IgG は血小板減少マウスに特異的に検出された。一部の血小板減少マウスの自己抗体は GPIIIa 欠損マウス血小板への結合能を欠如しており、血小板膜上の GPIIb/IIIa を認識することが確認された。Treg による ITP 発症抑制効果に CTLA4 を介した CD28 シグナル抑制が関わるかを検討するため、 $CD4^+CD25^-$  細胞移植時に Treg とともに抗 CTLA-4 阻害抗体またはコントロール抗体を投与した。コントロール抗体投与マウスでは ITP を発症しなかったが、抗 CTLA-4 阻害抗体を投与することで ITP 発症を誘導できた。また、ITP 発症後に Treg を移入しても血小板増加は観察されず、Treg には確立した ITP 病態を是正する治療効果は認められなかった。

【考察】Treg 欠損により誘導した ITP では、ITP 患者と同様に複数の血小板膜蛋白に対するポリクローナルな IgG 自己抗体産生応答が誘導された。Treg は CTLA4 を介して ITP 発症を抑制するが、ITP に対する治療標的として  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg 単独では不十分と考えられた。

# 臨床個人調査票（平成 20 年度）集計による特発性血小板減少性紫斑病の 全国疫学調査

分担研究者 倉田義之 四天王寺大学人文社会学部人間福祉学科 教授

## 1. 研究目的

我が国における特発性血小板減少性紫斑病（以下 ITP）患者の実態を調査する。

## 2. 研究方法

厚生労働省より全国の ITP 患者の臨床個人調査票入力ファイルの提供を受け、解析を行った。

## 3. 研究結果

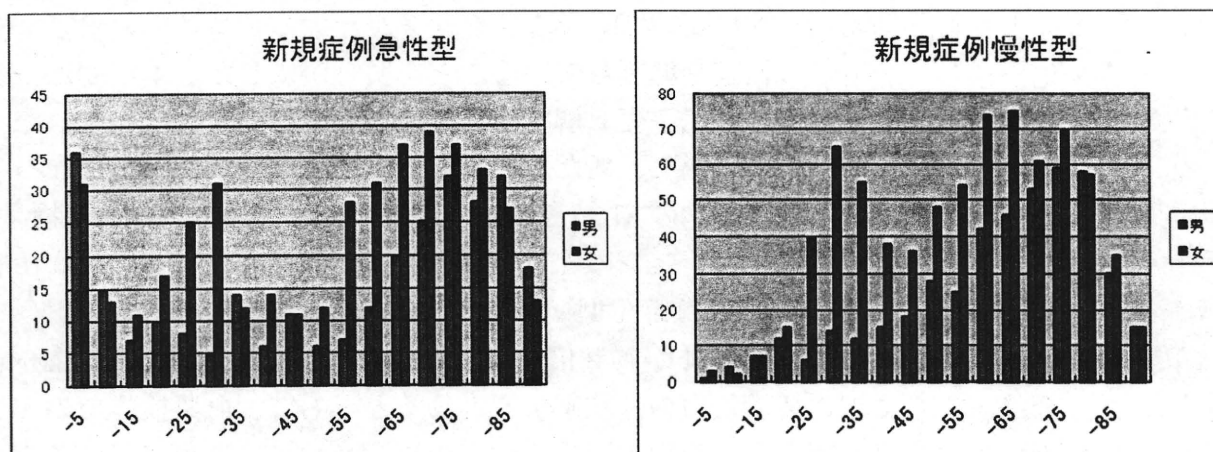
### 1) 新規患者数

新規患者	2004 年度	2005 年度	2006 年度	2007 年度	2008 年度
登録患者数	2054	2204	1865	1955	2025
推定患者数	3277	3107	2405	2776	3220

### 2) 更新患者数

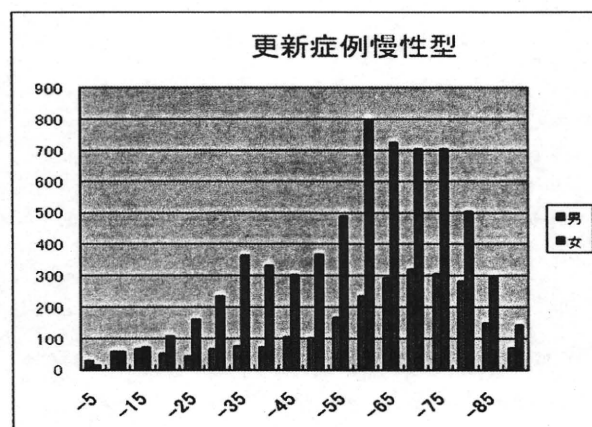
更新患者	2004 年度	2005 年度	2006 年度	2007 年度	2008 年度
登録患者数	12925	11971	9764	8045	10009
推定患者数	18261	17708	16873	18994	20285

### 3) 年齢分布



## まとめ

- 1) 新規患者数、更新患者数ともにこの数年間増減はないと思われた。
- 2) 年齢分布も 21・40 歳よりも高齢者のほうが多いというここ数年の結果は平成 20 年度も変わらなかった。



平成22年度 厚生労働省科研費補助金 難治性疾患克服事業  
「血液凝固異常症に関する調査研究」村田班  
第2回班会議

血栓傾向の分子病態解析

名古屋大学医学部 小嶋哲人

我々は、これまで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、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。平成20年度においては、家族内発生の見られた先天性AT欠損症ならびに拡張型心筋症 (DCM) 合併症例において、それぞれ原因と思われる遺伝子変異 (*SERPINC1*; c.1391C>A: p.Pro439Thr [AT Budapest5]、および *LMNA*; c.1283G>C: p.Asp357His) を同定し、p.Pro439Thr (AT Budapest5) 変異は発現実験の結果 pleiotropic effect を示さず、軽度の分泌低下と軽度活性の低下を合わせもつAT欠損症の原因であることを報告した。また、平成21年度は後天性血栓症リスクの一つである妊娠時にはPS低下が女性ホルモン・ $17\beta$ -estradiol (E2) により引き起こされる機序を解明した。すなわち、E2は *PROS1* プロモーターの-172にある GC-rich motif に Sp1/ER $\alpha$  相互作用により転写抑制因子 NCoR、SMRT、HDAC3 をリクルートし、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を明らかにした。本年度は、今までの先天性血栓傾向の遺伝子変異解析研究で未だ原因の同定に至っていなかった遺伝性血栓症症例において、新たな候補遺伝子の変異探索解析を行なった。その結果、プロトロンビンのAT結合領域の遺伝子変異を認め、その組換え蛋白発現実験では変異型トロンビンのAT結合能が低下し、Thrombin generation assay において Peak height は野生型 トロンビンと同程度であったが、Essential thrombin potential が約2倍、Start tail に3倍以上の延長を認めた。今後、さらにこの変異蛋白の性状解析を進めるとともに、血漿検体でのAT抵抗性検出検査法を開発し、原因未同定症例での検索をさらに進めて行く予定である。



## 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の簡易モニタリングに関する臨床研究

窓岩清治\*、坂田洋一 (\*発表者)

自治医科大学分子病態研究部

本邦における静脈血栓塞栓症に対する抗凝固療法の現状と問題点を把握するために、全国の臨床研修医療機関を対象とした「静脈血栓塞栓症に対するワルファリン使用に関するアンケート調査」や、二次調査として「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」を実施した。その結果、ほとんどの施設でワルファリン療法の抗凝固モニタリングとしてPT-INR値が用いられており、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、医療機関での測定値が治療域内と思われる例でも出血イベントや血栓症がみられた。このことは、医療機関での測定時と実際のイベント時でPT-INR値が乖離していたためか、あるいはワルファリンの用量そのものに問題がある可能性を示唆するものであると考えられた。これらを明らかにするために、簡易型PT-INR測定機器を導入して、患者自身の測定による詳細なPT-INR値を測定し、出血および血栓症イベントの関わりを検討する。これらのエビデンスの蓄積により、ワルファリンの最も重要な副作用である出血予防案の作成へと研究を展開したい。

H 2 2 年度 血液凝固異常症研究班第 2 回会議 2011. 1. 28  
研究分担者 大阪大学心臓血管外科 川崎富夫  
2008 年度 ~ 2010 年度

1. 大阪大学病院ガイドラインの運用結果  
過去 3 年間死亡患者ゼロ  
safety and efficacy of LDUF for prophylaxis of DVT and PE ; BCF2008.
2. DVT 遺伝子解析
3. 止血関連研究  
凝固第 V 因子低下と DVT  
mild FV, FVII, FX deficiencies in Japanese; TR 2008.  
low level of FV and DVT; BCF 2008, TR 2008.  
  
動脈硬化と凝固：薬・マーカーの半減期と服用時期、内皮・内膜での凝固  
effect of beraprost on coagulation in PAD; JJTH 2010.
4. 社会面からみた DVT・PE 予防の問題  
司法医療水準と医療ガイドラインの間に見られる認識の相違  
DVT・PE の判例紹介; L&T 2008.  
コンセンサス形成／セッション・テーマ解析の重要性;血外学雑誌 2008.  
総会記録集とコンセンサス; 血外学雑誌 2009.  
司法が定義する医療水準の問題点の指摘; L&T 2010.  
  
医療と司法の認識統合に向けた社会活動  
「医療と司法の架橋研究会（代表：早大法 甲斐克則）」の運営

## 地域一般住民を対象とした血小板数および血小板凝集能レベルと血中脂質量との関連

宮田敏行<sup>1</sup>、亀田幸花<sup>2</sup>、阪田敏幸<sup>2</sup>、小久保喜弘<sup>3</sup>、光黒真菜<sup>2</sup>、岡本章<sup>2</sup>、佐野道孝<sup>2</sup>

国立循環器病研究センター、<sup>1</sup>研究所、<sup>2</sup>臨床検査部、<sup>3</sup>予防検診部

【背景と目的】血小板はアテローム血栓症において主要な役割を果たしている。アゴニスト惹起血小板凝集能には大きな個人差が見られる。血小板凝集能の個人差に影響を与える因子を明らかにする目的で、地域一般住民を対象に血小板凝集能を測定した。

【対象および方法】吹田研究として行っている都市部地域一般住民を対象とした疫学研究の一環として、今回、薬剤投与がなく心血管系疾患の既往のない男性 387 名、女性 550 名（年齢：40-69 歳）を対象に、血小板数、血小板凝集能、血清脂質量（LDL-C, HDL-C, LDL-C/HDL-C 比, n-HDL-C）を測定した。血小板凝集能は ADP（1.7  $\mu$ M）とコラーゲン（1.7  $\mu$ g/ml）を惹起剤とし、透過度法による最大凝集率を測定した（PA-200, KOWA 社）。血小板数ならびに血小板凝集能を男女別四分位（Q1-Q4）に分類し、脂質量との関連を年齢等の調整による共分散分析を用いて解析した。

【結果】男女共に、血小板数は年齢と負に相関した（スピアマン相関係数：男性  $r_s = -0.230$ , 女性  $r_s = -0.227$ ,  $p < 0.01$ ）。女性では、血小板数は HDL-C と負に相関し、LDL-C/HDL-C 比とは正に相関した（ $r_s = -0.135$ ,  $0.119$ ;  $p < 0.01$ ）。女性では、ADP 凝集能とコラーゲン凝集能は年齢と相関し（ $r_s = 0.118$ ,  $0.143$ ;  $p < 0.01$ ）、コラーゲン凝集能は LDL-C、LDL-C/HDL-C 比、non-HDL-C と相関した（ $r_s = 0.167$ ,  $0.172$ ,  $0.185$ ;  $p < 0.01$ ）。年齢、収縮期血圧、BMI、喫煙、飲酒で調整したあとも、女性において、血小板数と LDL-C/HDL-C 比との関係、コラーゲン凝集能と LDL-C/HDL-C 比、non-HDL-C との関係は同様であった。

【結論】日本人一般住民を対象にした研究より、血小板数、ADP 凝集能とコラーゲン凝集能の個人差に影響する因子として、性・年齢・脂質量が明らかとなった。

## 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

### 「血液凝固異常症に関する調査研究」

特発性血栓症サブグループ 慶應義塾大学医学部内科 横山 健次

H20-21 年度 D-ダイマーは 2 型糖尿病患者の合併症の指標となるか。

【目的】 静脈血栓塞栓症の指標として有用な D-ダイマーが、同時に動脈硬化、脳梗塞 (CI)、虚血性心疾患 (CHD) などの進展の指標となる可能性が報告されている。動脈硬化性疾患発症率の高い 2 型糖尿病患者において D-ダイマーが合併症の指標となるか、を検討するために研究を行った。【方法】 2 型糖尿病患者 55 人 (64+/-12.7 歳) を対象として D-ダイマーを測定、患者の合併症、他の検査値との関連を解析した。

【結果】 2 型糖尿病患者の D-ダイマーは年齢、血漿 VWF 抗原量と相関がみられたが、血糖、HbA1c、LDL などとは有意な相関はみられなかった。また網膜症合併例で高値となる傾向がみられたが、腎障害合併の有無で差はみられなかった。さらに 61 歳以上の 2 型糖尿病患者では CI、CHD の既往を有する症例で有意に D-ダイマーが高値であった。【結論】 2 型糖尿病患者では凝固線溶系活性化の指標である D-ダイマーと血管内皮障害の指標である VWF との間に一定の関連があること、61 歳以上の 2 型糖尿病患者では、D-ダイマー高値が CI、CHD の既往と関連する可能性があることが示唆された。

H21-22 年度 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

【目的】 先天性血栓傾向を有する日本人患者における血栓症発症、抗凝固療法の実態を調査することを目的として本研究を行った。【方法】 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 321 人を対象にアンケート用紙を送付した。【結果】 103 人の先生から回答を頂き解析を行った (回収率 32%)。詳細な情報を得られた症例は AT 欠損症 50 例、PC 欠損症 62 例、PS 欠損症 59 例、複数の因子欠損症が 12 例の計 183 例であり、AT 欠損症 38 例、PC 欠損症 46 例、PS 欠損症 47 例の 142 例で 1 回以上静脈血栓塞栓症 (VTE) を発症していた。40 歳未満の若年者での VTE 発症は AT 欠損症男 12 例中 8 例、女 26 例中 15 例 (うち 8 例は妊娠・出産に関連)、PC 欠損症男 21 例中 9 例、女 25 例中 11 例 (うち 3 例は妊娠・出産に関連)、PS 欠損症男 22 例中 10 例、女 25 例中 11 例 (うち 6 例は妊娠・出産に関連)、であり、PC、PS 欠損症と比較して AT 欠損症では男女ともに 40 歳未満の若年で初回の VTE を発症した症例が多い傾向がみられた。また 2 回以上 VTE を発症した症例は AT 欠損症 15 例、PC 欠損症 8 例、PS 欠損症 8 例と、AT 欠損症に多くみられた。VTE の既往のある患者の中で現在も抗凝固薬内服中の症例は AT 欠損症 38 例中 34 例、PC 欠損症 46 例中 29 例、PS 欠損症は 47 例中 35 例であった。【結論】 AT 欠損症患者は、PC 欠損症、PS 欠損症患者と比較して若年で VTE を発症する例が多く、また再発の危険性も高いことが示唆された。また VTE を発症した先天性血栓傾向を有する患者の多くでは、発症後長期間抗凝固薬を継続している傾向がみられた。

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、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。

【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  $\text{CaCl}_2$  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  $\alpha_2$ 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。リスク評価されたそれぞれの県西部浜松医療センター入院患者 (産婦人科、整形外科、外科等) で、研究に同意が得られた患者血漿の ETP および APC-sr を測定するが、同時にまた、従来の静脈血栓塞栓症のマーカーである D ダイマー、フィブリンモノマー複合体、プロテインS活性および抗原も測定して個々の相関を検討し、リスク評価に反映する。入院患者や手術予定患者は、術前 (入院時)、術後 1 日、(術後 4 日)、術後 7 日、術後 14 日もしくは退院前の 4~5 回の採血となる。なお、研究対象患者は、入院時 (手術前) および退院前に超音波検査で深部静脈血栓症の有無を検索し、臨床経過の参考にする。

【結果および考察】整形外科下肢手術 (13 例)、外科悪性腫瘍 (14 例)、帝王切開 (4 例) と症例数が少なく、また超音波検査にて DVT 症例なかったため、現時点では明確な結論は出ていない。現在判明していることとして、妊産婦では ETP と APC-sr はともに高く、PS 抗原・活性はともに低かった。悪性腫瘍患者では術前の ETP と APC-sr はやや高く、術後にさらに増加した。整形外科患者では術前の ETP と APC-sr は正常より低いものの、術後に増加した、などである。

## 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子：検診症例との比較

佐久間聖仁<sup>1)</sup>、中村真潮<sup>2)</sup>、中西宣文<sup>1)</sup>、山田典一<sup>2)</sup>、白土邦男<sup>3)</sup>、伊藤正明<sup>2)</sup>、  
小林隆夫<sup>4)</sup>

- 1) 国立循環器病研究センター心臓血管内科、2) 三重大学循環器内科、  
3) 齋藤病院、4) 県西部浜松医療センター

### 【背景と目的】

外来新患者を対照とした場合、静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism; VTE) の危険因子として長期臥床、活動性癌が有意な危険因子であり、外傷・骨折は統計学的有意とまではいえない事、更に生活習慣病との関連では糖尿病、高血圧、高脂血症は有意な危険因子ではなく、血液型との関連も認めない事を報告した。しかし、外来新患者を対照とすれば、本症例登録での回答が多かった診療科の疾患を引き起こす危険因子が VTE の危険因子であるか否かについては正確な判断が困難である。

そこで、検診症例 (学校検診、健康診断、住民検診) との比較から院外発症 VTE の危険因子を検討した。

### 【方法】

全国医療機関へのアンケート調査により、2009年2月と3月の二ヶ月間での新規発症例を前向きに登録した。それぞれの症例に対応した同性、年齢差が5才以内という条件を満たす最初の検診症例も同時に登録し、コントロール症例とする matched case-control study の研究デザインとした。

### 【結果】

登録総数 561 例、この内訳は院外発症が明らかなのは 230 例であり、住民検診症例とのペアが作れたのは 161 (70%) であった。高齢者ほどコントロール症例が得られなかった。

住民検診症例との matched case-control study の解析結果は単変量解析では長期臥床、活動性癌、最近の大手術、骨折・外傷が有意な危険因子であった (全て  $P < 0.0001$ )。肥満 (body mass index  $> 25$ ) は VTE で少なかった ( $P = 0.01$ )。活動性癌で BMI が有意に低く、それ以外の条件では BMI は症例と対照間に有意差がなかった。生活習慣病との関連では糖尿病、高脂血症は有意な危険因子ではなく、高血圧は VTE で少ない傾向にあった ( $P = 0.09$ )。血液型では A 型が多く ( $P = 0.02$ )、O 型で少なかった ( $P = 0.02$ )。

### 【まとめ】

住民検診症例との比較では、長期臥床、活動性癌、最近の大手術、骨折・外傷が有意な危険因子であり、血液型との関連も示唆された。

## 震災後の DVT についての検討 新潟大学大学院呼吸循環外科 榛沢和彦

### 1. 中越地震3年後の DVT 検診結果

平成 22 年 7 月 17 日、18 日に国立新潟病院で新潟県中越沖地震被災者の DVT 検診を行った。被災者には広報とコミュニティーFM、葉書で通知して行った。検診受診者総数は 374 人（男 102 人、女 272 人、平均年齢  $67.7 \pm 11.0$  才）で、このうち初めて検診を受けた方は 93 人であった。検査は下腿静脈のエコー検査と血液検査を行った。DVT は 27 人に認め、このうち初めて受けた方で 6 人（6.5%）に DVT を認めた。これは新潟県阿賀町で行った対照地 DVT 検査結果（1.8%）よりも高い頻度であった。また DVT 有り群の D ダイマー値は  $828.6 \pm 553.8$  ng/ml、平均年齢  $75.5 \pm 8.2$  才で、DVT 無し群の D ダイマー値（ $489.2 \pm 379.2$  ng/ml）、平均年齢  $67.2 \pm 11.2$  才と DVT 有り群でそれぞれ有意に大であった（ $p < 0.001$ ）。一方、DVT 無し群の D ダイマー値は 60 才未満  $282 \pm 159$  ng/ml、61-69 才  $430 \pm 374$  ng/ml、70-79 才  $551 \pm 284$  ng/ml、80 才以上  $898 \pm 661$  ng/ml で年齢とともに有意に増加した（ $p < 0.01$ ）。そのため D ダイマー 500 ng/ml 以上は 145 人（48.5%）となり陰性除外閾値としては不適であった。高血圧既往および検査時に 2 回以上収縮期血圧（SBP）141 mmHg 以上の受診者（高血圧群）は 204 人で、このうち 19 人に DVT を認め（9.3%）、高血圧既往無く SBP 140 mmHg 以下では 4.7% であり、高血圧群で有意に多く DVT を認めた（オッズ比 1.98）。一方、糖尿病と高脂血症は DVT と関連を認めなかった。DVT 有り群の tPAI-1 値は  $20.5 \pm 11.3$   $\mu$ g/ml、DVT 無し群では  $19.2 \pm 9.7$   $\mu$ g/ml で有意差は認めず、震災直後及び 1 年後の検査結果より両者とも有意に低かった。また SBP と D ダイマーとの間に相関は認めなかったが、SBP と tPAI-1 との間に相関を認めた（Pearson 法で  $r = 0.29$ ）。

### 2. 新潟県中越地震6年後の DVT 検診結果

平成 22 年 11 月 13 日、14 日に小千谷市で、11 月 28 日に十日町市で中越地震被災者の検診を行った。これまでに検査していることを知らなかったという被災者の声があったことから今回はテレビ 1 社、AM ラジオ 1 社、FM ラジオ 2 社、新聞 4 社、コミュニティーFM2 社により事前に広告 CM を流してできるだけ多くの被災者に通知した。エコー装置は医療機器メーカー各社から借用し、計 14 台で下腿の静脈エコー検査を行った。血栓の有無は圧迫法により判断し、複数の技師、医師で診断した。また血液検査を希望者に行い、その場で遠心分離して凍結血漿とし後で D ダイマーを ELISA 法で測定した（VIDAS）。さらに自動血圧計とポータブル酸素飽和度計で血圧と酸素飽和度を測定した。検査および問診は新潟県内外からの医師・検査技師のべ 70 人で行い、厚生労働省科学研究費補助金で行った。

検診受診者総数は 869 人（男 233 人、女 636 人）、平均年齢  $65.9 \pm 11.2$  才で、初めて検査を受けた方は 292 人であった。エコー検査で下腿静脈の DVT を 85 人に認め、このうち 17 人（5.8%）は初めて受診した方であったことから、現在でも

中越地震被災者では対照地域（新潟県阿賀町）の DVT 頻度(1.8%)よりも高いと推測された。また初めて検査を受けた方の DVT 頻度は十日町市 8.4%、小千谷市 3.7%と十日町で多く認められた。被災者の平均年齢は小千谷市で  $65.4 \pm 11.2$  才 ( $n=570$ )、十日町市で  $66.5 \pm 11.0$  才 ( $n=299$ )と差を認めず、受診者の糖尿病、高血圧、高脂血症、そのほかの疾患などの頻度にも差を認めなかったことから十日町市における DVT の方が震災の影響をより強く受けている可能性が示唆された。D ダイマー値は DVT 有り群 ( $792 \pm 637$ ng/ml) で DVT 無し群 ( $538 \pm 489$ ng/ml) より有意に高値であり、また DVT 有り群の 40-59 才  $301.8 \pm 96.9$  ng/ml、60-69 才  $733 \pm 633$ ng/ml、70-79 才  $939 \pm 756.6$ ng/ml、80 才以上  $941.3 \pm 332.2$ ng/ml、血栓無し群で 40-59 才  $330 \pm 409.4$ 、60-69 才  $460.8 \pm 445.5$ ng/ml、70-79 才  $663.7 \pm 519.5$ ng/ml、80 才以上  $801.0 \pm 363.2$ ng/ml であり、血栓有り群、無し群とも年齢と関連を認めた。酸素飽和度は血栓無し群 97.4%、血栓有り群 97.6%で差は認めなかったが、95%以下の頻度は血栓有り群(7.8%)で血栓無し群(6.7%)よりも高い傾向を認めた。さらに今回の被災者全体の DVT のリスク因子を分析したところ高血圧が有意なリスク因子で ( $p < 0.005$ )、高血圧を合併した被災者では有意に DVT が多かった(オッズ比 1.86、 $p < 0.0001$ )。また糖尿病、高脂血症では有意差はなかった。

3. 以上の震災被災者の検診結果から、DVTは震災後に発生すると遷延することが確認され、6年以上も影響が残っている。また中越地震、中越沖地震の両者の被災者においてDVTは高血圧既往または検診時に測定した血圧が高い方で有意に多いことから、震災時において高血圧や血圧が高い傾向（白衣高血圧など）がある方ではDVTにより注意する必要があると考えられた。



## ネフローゼ症候群患者における深部静脈血栓症の発生頻度調査

太田覚史、山田典一、中村真潮 (三重大学大学院医学系研究科循環器内科学)

【目的】 欧米では周術期や周産期だけでなく、内科領域の入院患者に対する静脈血栓塞栓症予防の必要性が認識され、普及しつつあるが、本邦における内科領域入院患者における疫学的調査はほとんど行なわれていない。我々は、これまでに日本人においてもうっ血性心不全による入院患者に高頻度に深部静脈血栓(DVT)が発生していることを示してきた。欧米にて内科領域の入院患者における危険因子とされているネフローゼ症候群患者で、日本人におけるDVTの発生頻度ならびにネフローゼ症候群の中でのDVT発生のリスクを明らかにする。

【方法】 三重大学にネフローゼ症候群で入院した連続53例(男性30例、平均年齢 $63.8 \pm 17.5$ 歳)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。

【結果】 全体では24.5%(13/53)、検査時ワルファリン服用例9例を除くとDVT発生率は30.0%(13/44)と高率であった。血栓は両側7例、左側4例、右側2例で、存在部位(重複あり)はヒラメ静脈が最も多く12例、腓骨静脈4例、後脛骨静脈3例、膝窩静脈1例、小伏在静脈1例であった。DVT陽性例と陰性例の間には、ネフローゼ症候群をきたした基礎疾患やステロイド薬服用の有無に明らかな差はなく、Dダイマー値( $\cdot$ g/ml)( $10.4 \pm 7.4$  vs  $6.1 \pm 6.2$ , p:n.s.)、血中アルブミン値(g/dl)( $2.5 \pm 0.7$  vs  $2.6 \pm 0.5$ , p:n.s.)、尿たんぱく量(g/gCrea)( $10.0 \pm 11.4$  vs  $6.9 \pm 5.3$ , p:n.s.)にも有意差はみられなかった。

【結論】 日本人においても、ネフローゼ症候群患者では欧米と同程度の高頻度に深部静脈血栓症が発生しており、内科領域における危険因子として捉え、一次予防の徹底が必要と考えられた。

