

グループ研究報告書

ITP（特発性血小板減少性紫斑病）サブグループ研究報告

グループリーダー：富山 佳昭 大阪大学医学部附属病院 病院教授
班員：藤村 欣吾 安田女子大学 教授
倉田 義之 四天王寺大学 教授
桑名 正隆 慶應義塾大学医学部 准教授

研究協力者：降旗 謙一 株式会社エスアールエル
宮川 義隆 埼玉医科大学医学部
総合診療内科 教授
野村 昌作 関西医科大学 第一内科
松原由美子 慶應義塾大学医学部
高蓋 寿朗 呉医療センター・中国がんセンター
柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科
西本 哲也 慶應義塾大学医学部
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 国際医療福祉大学

グループ総括

分担研究者：富山 佳昭

研究要旨

ITP に関して、1)疫学調査、2)診断および治療の標準化（特に治療の参照ガイドの作成および改訂）、3)病態解析および新規治療法の開発、を中核としてグループ研究および個別研究を継続して行った。疫学研究は臨床個人調査表を基に平成 23 年度の本邦における ITP の実態を調査把握した。平成 23 年度においても発症年齢、更新年齢とも中高年の男女に最も多い事が確認された。新たな取り組みとして個別症例の臨床経過の解析を行った。本研究班にて臨床個人調査表の改訂（案）を作成し、新たに妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成に向け、産科、小児科、麻酔科の専門家も参加した作成委員会を組織し、「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」を作成中である。診断に関しては、引き続き検査の標準化を検討した。個人研究では、血小板減少時の機能検査法の検討、トロンボポエチン受容体作動薬に関する有効性、安全性に関する検討、新たに開発した ITP マウスモデルを用いた新規治療法の検討を行った。

A．研究目的

ITP は特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、本研究班では本疾患の疫学を初めとして、その診断ならびに治療法を向上させることは急務の課題であることを常に念頭おいている。この目的のために、本研究班では ITP に関して、1)疫学調査、2)診断および治療の標準化（特に病態に則した新たな診断基準の作成、治療の参照ガイドの作成および改訂）、3)疾患のさらなる病態解析と新規治療法の開発、などを目的として検討してきた。

まず特定疾患治療研究事業の対象疾患であることから、ITP の臨床疫学的研究を経年的に行い最近の ITP の臨床実態を明らかにする。治療に関しては治療プロトコルを履行するに当たり保険医療上の制約を克服すると共に、本疾患の治療の標準化をめざし「治療の参照ガイド」の

作成および啓蒙を行ってきた。本年度は、さらに妊娠合併 ITP に対する妊娠、分娩管理の参照ガイド作成へ向けて作成委員会を立ち上げその草案を作成中である。

B．研究方法

1．疫学研究に関しては特定疾患治療研究事業の対象疾患にともなって毎年行われる ITP 臨床個人調査表を基に、新規発症症例数、更新症例数、発症年齢、性、分布、さらには罹病期間、治療内容、合併症、現在の QOL,等を解析した。さらに ITP 臨床個人調査表の改訂作業を計画した。

2．治療の標準化に関しては、妊娠合併 ITP の診療については従来のガイドラインの改訂をめざし、産婦人科、小児科などの専門家も参画した作成委員会を組織し、治療の参照ガイドの作成に取り組んだ。

3. ITP の病態解析 (個別研究)

ITP の病態解析として、血小板減少状態での血小板機能解析、ITP モデルマウスを用いた分子病態解析と新規治療法の開発、TP0 受容体作動薬による ITP 病態修飾など ITP 病態の解析を行った。

C. 研究結果

1. ITP の疫学研究 (倉田班員)

1) 登録症例数と性差

平成 15 年から開始し本年は平成 23 年度をまとめることが出来た。平成 23 年度の推定新規発症症例は 3,235 名で昨年に比べほぼ同程度であった。3,235 名は調査できた都道府県での発症実数であるため、日本の総人口 (127,799 千人) をもとに推計するとわが国では 3,567 名の患者が発症したと推計された。その内訳は急性型 1,127 名、慢性型が 2,306 名であった。ここ数年の傾向であるが、急性型の申請人数の減少が続いている。

推定更新症例は 19,201 名であった。これらの症例数は平成 16 年度より低下傾向にあったが平成 19 年度、20 年度の解析では再び増加し平成 16 年のレベルに近似しあるいは増加していたが、平成 22 年にくらべ増加している。

2) 年齢分布

発症年齢分布についてはここ 5 年間変化なく、ITP は中高年齢者に多い疾患であることが定着している。新規・急性型では男女とも 56~85 歳に幅広いピーク (最大ピークは男女とも 71~75 歳) があり、加えて女子では 31~35 歳に小さなピークがあった。男女とも 5 歳以下にも小さなピークがあった。新規・慢性型では、男

女とも 51~85 歳に大きなピーク (男では 76~80 歳、女では 71~75 歳に最大ピーク) を認めた。女では更に 16~40 歳に幅広いピーク (26~30 歳に最大ピーク) を認めた。16~75 歳で女は男の約 1.3~5.9 倍多かった。一方、76 歳以上では男女差を認めなかった。

しかし、前述のように急性型の申請人数の減少が続いており、実患者数の減少か、申請者のみの減少かを検証する必要がある。

3) 治療

新規・急性型、慢性型ともにプレドニゾロン投与が最多で 84%、62%、次いで急性型では大量 IgG で 31%、慢性型では平成 22 年度より保険適応となったピロリ除菌が 35%であった。平成 22 年 12 月に発売が開始された TP0 アゴニストは平成 23 年度にはレボレード 665 名、ロミプレート 117 名で投与されていた。

ピロリ除菌は、この 3 年間、急性型、慢性型とも 30% 台で変化はなかった。

4) 難治症例の頻度

難治症例の定義は明確ではないが、摘脾を含む各種治療を行っても血小板数が低く (血小板数 2 万以下) 出血傾向を示している症例と考え、臨床調査個人票から上記条件にて絞り込み、難治症例数を推計した。

更新申請症例で慢性型 14,992 例を対象とした。まず血小板数 2 万以下の症例に絞り込むと 2,783 例 (18.6%) の症例が対象となった。血小板数 2 万以下の症例を、さらに出血傾向を示していた症例に絞り込むと 2,204 例 (14.7%) が対象となった。出血傾向を示している症例のう

ちプレドニゾロン治療をされていた症例は 1,641 例（10.9%）であった。各種治療に抵抗性であるとの考えに従い、摘脾済み症例に絞り込むと大幅に減少し、420 例（2.8%）が難治例に相当すると考えられた。

5）新規症例の検査

新規症例における骨髓検査、PAIgG、抗血小板自己抗体検査、網状血小板検査の実施率を検討した。骨髓検査は急性型で 90%、慢性型で 87%とほぼすべての症例で実施されていた。ITP に特異的な検査である抗血小板自己抗体検査は 5～6%、網状血小板検査は 11～14%と実施率は非常に低かった。

ただし、普及しつつある網状血小板比率測定法である IPF 法の感度、特異性は、本研究班で検証した結果では、ともに 60%台であったことを念頭におく必要がある。

臨床調査表に基づく疫学研究の問題点はすべての都道府県からのデータが含まれていないことである。これらの欠損データを補うために、人口統計から補正を行い本邦の推定データとしている。従って発症例数が年によって変動するのは欠損データの数に関係している可能性もある。いずれにしてもより多くの都道府県に協力していただきより正確な傾向を把握したい。さらに、この調査表は基本的には治療が必要となる ITP 患者の実数の把握という理解である。

6）個別症例解析の試み

臨床調査表は各年度ごとにデータを厚生労働省より提供頂いているが、本年度では、個別の症例に関し経年的な追跡調

査を試みた。

7）個人調査表の改訂作業

国際的見地からすると、最近 ITP 国際作業部会において本疾患の呼称や、急性および慢性 ITP の定義の見直しが提唱された。ITP は、血小板減少が 6 ヶ月以内に寛解する急性 ITP と 6 ヶ月以上持続する慢性 ITP に分類されている。しかしながら急性との表現は、その曖昧さと 6 ヶ月経過後にレトロスペクティブに診断されるという理由により、その使用は好ましくないと判断された。ITP がどのぐらいの期間持続するかを予測するマーカーが無いため、新規の ITP はすべて newly diagnosed ITP と表記する。また新たなカテゴリーとして血小板減少が 3 ヶ月～12 ヶ月持続する場合は、persistent ITP と表記する。この範疇には自然寛解しなかった症例や治療を止めた後に血小板が減少した症例も含む。Persistent ITP では自然寛解する可能性がまだ残っていると考えられる。そのため摘脾などのより強力な治療法は persistent ITP に関しては延期しても良いとの意見である。また、この期間設定により chronic ITP は 12 ヶ月以上持続する場合、としている。研究班として、これらの国際的な動向を考慮し、さらに臨床医に対して調査票記入の労力を軽減すべくより簡便に記載できるように配慮し、個人調査表の改訂を協議し、改訂案を作成した。厚生労働省に改訂案を提出済み。

2 . I T P 治療の参照ガイドと妊娠合併 I T P 管理の参照ガイド（藤村班員、桑名班員、倉田班員、富山班員、村田班長、

宮川研究協力者、高蓋研究協力者、柏木研究協力者)

研究班では、前回の治療ガイドラインのような司法においても用いられる可能性のある拘束性の強いメッセージではなく、拘束性を若干弱めた形での治療の参照ガイドを作成し「臨床血液」誌(53巻4号:433-442, 2012; 2012年4月)に掲載し公開した。その理由のひとつには、実際にITPに用いられている薬剤の保険適用が無いことがあげられる。

妊娠合併ITP診療の参照ガイドの作成に関しては、表に示す参照ガイド作成委員会を組織した。若年ITPは女性に多く出産適齢期であるためにこのような管理ガイドラインは必要である。約15年前にも特発性造血器障害調査研究班で提案されたが、医療環境、医療に対する意識、医療手段の変化により必ずしも適切なガイドラインとはいえない状況となってきた。一方では、妊娠合併ITPに関しては、妊婦という特殊事情もあり治療のエビデンスは皆無であり、今後も臨床試験を行うことは不可能に近い。なぜなら、ほとんどの妊婦は臨床試験に消極的であるからである。そのため、産婦人科、小児科、麻酔科のITPのエキスパートに参画頂き、専門家のコンセンサスの形で診療の参照ガイドを作成する。また、理解を深めるためクリニカルクエスション(CQ)形式も取り入れ作成中である。今後、「臨床血液」誌に投稿予定しており、広く公開する予定である。

3. 個人研究

1) トロンボポエチン受容体作動薬の有

効性と有害事象(藤村班員、高蓋研究協力者)

トロンボポエチン受容体作動薬(TRAs)として、2010年に経口製剤エルトロパグ、2011年に注射製剤のロミプロスチムが本邦でも発売され、難治性ITPの治療薬として使用されている。最近、TRAsによる治療によって血小板数が回復した症例の中に、治療を中断しても長期寛解が得られる症例の報告がある。一方、海外で再生不良性貧血に対するTRAsによる治療研究が行われており、少数ではあるが染色体異常を伴う異常クローンが出現した症例があるとの報告がある。今回我々の経験したITP症例の中から、TRAs投与中止後も血小板数が維持された症例と投与開始後数ヶ月で急性骨髄性白血病へと進展した症例を提示した。これらの経験を基に、TRAsの有効性と有害事象についてさらに検討する必要性を明らかにした。

2) 血小板減少患者における血小板機能解析(富山班員、柏木研究協力者)

特発性血小板減少性紫斑病(ITP)は抗血小板自己抗体による血小板破壊および産生障害に基づく血小板減少がその主たる病態であるが、自己抗体の結合部位によっては血小板機能が障害され、出血症状を増悪させる可能性がある。しかしながら血小板減少患者の血小板機能を把握することは従来の血小板機能検査では困難であった。本研究ではフローサイトメトリーを用いた血小板機能の多角的な評価方法を確立し、インテグリン α IIb β 3変異に起因する遺伝性血小板減少症患者における血小板機能異常を解析した。

3(L718P)ヘテロ患者の細胞表面

IIb 3 発現は正常の 50-60%程度であった。未刺激時に軽度の PAC1 結合を認めたが、ADP あるいは PAR1p 刺激後の PAC1 結合は著明に障害されていた。更に ADP、PAR1p 刺激後の 顆粒放出、および PAR1p 刺激後の濃染顆粒放出も著明に障害されていた。一方、IIb(R995W)ヘテロ患者における顆粒放出障害は軽度であった。

FCA 法を用いることにより、血小板数 2-3 万程度の血小板減少患者においても、経時的に PMA、ADP、PAR1p およびコラーゲン刺激後の血小板凝集能を検討することが可能となった。ITP の一例においては FCA 法および PAC1、CD62P 発現を検討し、血小板機能の軽度の低下が示唆された。

3)モデルマウスを用いたITPの根治的治療法の開発(桑名班員、西本研究協力者)

私たちはこれまで制御性 T 細胞 (Treg) 欠損マウスの約 35%が抗 GPIb 抗体産生による ITP 病態を自然発症することを報告した。そこで、ITP に対する新たな治療として抗 CD154 抗体を用いた免疫寛容導入療法に着目し、本モデルマウスを用いた検討を予定した。理論的に副刺激遮断は抗原曝露時に最大の効果が得られることから、トロンボポエチン (TP0) 投与後の血小板増加時に抗 CD154 抗体を投与するプロトコルを立案した。予備実験では、予想に反して TP0 投与のみで血小板が長期に渡って増加した。そこで、TP0 投与が ITP 病態に及ぼす効果とそのメカニズムについて検討するため、ITP マウスに TP0 または溶解液のみを 5 日間連日静脈内投与し、血小板数、GPIb 反応性 CD4⁺T

細胞の抗原特異的な増殖反応を 4 週間以上に渡って観察した。さらに、血小板増加に伴い Treg が誘導された可能性を検証するため、脾細胞における Treg 比率、血漿中 TGF- β 濃度を測定した。TP0 投与マウスでは血小板数の持続的な回復が再現された。TP0 投与マウスの脾細胞では GPIb 反応性 T 細胞の増殖反応の抑制と CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺Treg 比率の増加がみられ、その機序として TGF- β による Treg 誘導促進が想定された。以上の結果から、TP0 投与は血小板産生促進だけでなく Treg 分化誘導を介して ITP の自己免疫病態を是正する可能性ある。本作用メカニズムは免疫寛容を誘導する ITP の根治的治療法の開発に応用可能である。また、ITP モデルマウスは新規治療法の開発にきわめて有用であることが確認された。

D. 考案

ITP の診療は、近年大きく変化している。妊娠合併 ITP の診療の標準化をめざし、班会議の枠を超え、小児科、産科、麻酔科のエキスパートと妊娠合併 ITP 治療の参照ガイドを作成し、その完成の近い所まできている。今後もさらに ITP 研究班の果たす役割は大きくなると考えられる。今後も、研究班として確実に成果をあげ正しい情報を発信していく予定である。

E. 結論

ITP の現状把握し、問題点を早期把握すると共に、新たな薬剤に関してその適正使用を含めた情報発信が急務であり、今後の課題として継続して取り組む予定で

ある。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tomiyama Y. Thrombopoietin receptor agonists. In Current & Emerging Treatments for Immune Thrombocytopenia. (Salama A edit) Future Medicine, UK, 2013, pp88-106.
- 2) Tomiyama Y. Guest editorial: Pathophysiology and management of thrombocytopenia: possible clinical application of TPO receptor agonists. Int J Hematol 98:8-9, 2013.
- 3) Kashiwagi H, Tomiyama Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia. Int J Hematol 98:24-33, 2013.
- 4) Kashiwagi H, Kunishima S, Kiyomizu K, Amano Y, Shimada H, Morishita M, Kanakura Y, Tomiyama Y. Demonstration of novel gain-of-function mutations of IIb 3: association with macrothrombocytopenia and glanzmann thrombasthenia-like phenotype. Molecular Genetics & Genomic Medicine 1:77-86, 2013.
- 5) Nakazawa T, Tadokoro S, Kamae T, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. Agonist stimulation, talin-1, and kindlin-3 are crucial for IIb 3 activation in a human megakaryoblastic cell line, CMK. Exp Hematol 41:79-90, 2013.
- 6) Katsutani S, Tomiyama Y, Kimura A, Miyakawa Y, Okamoto S, Okoshi Y, Ninomiya H, Kosugi H, Ishii K, Ikeda Y, Hattori T, Katsura K, Kanakura Y. Oral eltrombopag for up to three years is safe and well-tolerated in Japanese patients with previously treated chronic immune thrombocytopenia: an open-label, extension study. Int J Hematol 98:323-330, 2013.
- 7) Honda S, Shirotani-Ikejima H, Tadokoro S, Tomiyama Y, Miyata T. The Integrin-Linked Kinase-PINCH-Parvin Complex Supports Integrin IIb 3 Activation. PLoS One 8:e85498, 2013.
- 8) Satoh T, Miyazaki K, Shimohira A, Amano N, Okazaki Y, Nishimoto T, Akahoshi T, Munekata S, Kanoh Y, Ikeda Y, Higashihara M, Takahashi S, and Kuwana M. Fc γ receptor IIB gene polymorphism in adult Japanese patients with primary immune thrombocytopenia (letter). Blood. 2013; 122(11): 1991-1992.
- 9) Kuwana M. *Helicobacter pylori*-associated immune thrombocytopenia: clinical features and pathogenic mechanisms. World J. Gastroenterol. 2014; 20(3): 714-723.
- 10) Kuwana M, Okazaki Y, and Ikeda Y. Detection of circulating B cells producing anti-GPIb autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia. PLoS One. 2014;

- 9(1): e86943.
- 11) Kuwana M. Dysregulated negative immune regulators in immune thrombocytopenia. *ISBT Sci. Ser.* In press.
- 12) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 今日の治療指針 2013 年版 (山口徹, 北原光夫, 福井次矢編), 医学書院, 東京, 2013, pp621-623.
- 13) 富山佳昭. 急性特発性血小板減少性紫斑病. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 血液症候群 (第 2 版) No.22:338-340, 2013
- 14) 富山佳昭. 難治性特発性血小板減少性紫斑病. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 血液症候群 (第 2 版) No.22:351-354, 2013
- 15) 富山佳昭, 清水一亘, 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病の病態と診断. 臨床血液 54:343-349, 2013
- 16) 富山佳昭, 清水一亘, 柏木浩和. 免疫性血小板減少性紫斑病の免疫病態. 臨床免疫・アレルギー科 59:649-657, 2013
- 17) 富山佳昭. 血小板数, MPV, PDW. 臨床に直結する血栓止血学 (朝倉英策編) 中外医学社, 東京, 2013, pp70-72
- 18) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 検査と技術 41:1114-1119, 2013
- 19) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). *medicina* 50(11 増刊号):310-314, 2013
- 20) 柏木浩和, 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の分子病態と新規治療法. 血液フロンティア 23:357-366, 2013
- 21) 加藤 恒, 富山佳昭. インテグリン活性化とその制御 ~ 腫瘍細胞のコントロールにむけて. 日本血栓止血学会誌 24:507-515, 2013
- 22) 清水一亘, 柏木浩和, 富山佳昭. Primary ITP における抗 IIb/3 自己抗体のエピトープ解析: 抗 IIb/3 抗体はプロペラドメイン内の高度に限定された領域を認識する. 日本血栓止血学会誌 24:392-395, 2013
- 23) 藤村欣吾. ループスアンチコアグラント (LA). 臨床検査ガイド 2013 ~ 2014 (和田功, 大久保昭行, 矢崎義雄, 大内尉義編), 文光堂, 東京, 2013, pp651-653
- 24) 藤村欣吾. 出血性疾患. 臨床病態学 1 (北村 聖編), ヌーヴェルヒロカワ, 東京, 2013, pp613-627
- 25) 藤村欣吾. *H. pylori* 感染症関連疾患と除菌治療の意義 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 日本臨床 71:1436-1441, 2013
- 26) 高蓋 寿朗. 特発性血小板減少性紫斑病 - 病態と診断のすすめかた - Medical Practice 31:53-57, 2014
- 27) Asano J, Ueda R, Tanaka Y, Shinzato I, Takafuta T: Effects of Immunosuppressive Therapy in a Patient with Aplastic Anemia-Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (AA-PNH) Syndrome during Ongoing Eculizumab Treatment. *Internal Med.* 53:125-128, 2014
- 28) 宮川義隆. 国内外の ITP ガイドラインの特徴と課題. Annual Review 血液

- 2013 (高久史磨, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉 譲, 小島勢二編), 中外医学社, 東京, 2013, pp195-200
- 29) 宮川義隆. 特発性血小板減少性紫斑病. 臨床に直結する血栓止血学(朝倉英策編) 中外医学社, 東京, 2013, pp98-102
- 30) 宮川義隆. 本邦における特発性血小板減少性紫斑病の診療. 臨床血液 54:350-356, 2013
- 31) 倉田義之. 抗血小板抗体. 臨床検査ガイド 2013~2014 (和田功、大久保昭行、矢崎義雄、大内尉義編), 文光堂, 東京, 2013, pp690-691
- ## 2. 学会発表
- 1) Tomiya Y, Kiyomizu K, Kashiwagi H. (Oral) Autoantigenic epitopes on GPIIb-IIIa in ITP. SSC Meeting. The 24th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (2013.6.29-7.4, Amsterdam, Netherland, Rosendaal F)
- 2) Kashiwagi H, Kunishima S, Kiyomizu K, Amano Y, Shimada H, Morishita M, Kanakura Y, Tomiya Y. (Poster) Demonstration of novel gain-of-function mutations of IIb 3: association with macrothrombocytopenia and glanzmann thrombasthenia-like phenotype. The 24th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (2013.6.29-7.4, Amsterdam, Netherland, Rosendaal F)
- 3) Michel M, Wasser J, Godeau B, Aledort L, Cooper N, Tomiya Y, Khellaf M, Wang X, Woodard P. (Poster) Efficacy and Safety of Romiplostim in Patients ≥ 65 Years With Immune Thrombocytopenia. The 18th Congress of European Hematology Association (2013.6.13-16, Stockholm, Sweden, Sierra J)
- 4) Miyakawa Y, Ktasutani S, Yano T, Nomura S, Nishiwaki K, Tomiyama Y, Higashihara M, Shirasugi Y, Nishikawa M, Ozaki K, Kikuchi K, Abe T, Sato Y, Kanakura Y, Fujimura K, Ikeda Y, Okamoto S. Rituximab as second-line treatment for chronic immune thrombocytopenia: investigator-initiated clinical trial in Japan. The 55th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition (2013.12.7-10, New Orleans, USA,)
- 5) 富山佳昭. (ランチョンセミナー) 血小板減少症の病態と治療. 第 35 回日本造血細胞移植学会総会 (2013.3.7-9, 石川, 中尾眞二)
- 6) 富山佳昭. (教育講演) 血小板減少症の病態と診断. 平成 25 年日本検査血液学会静岡支部学術集会 (2013.3.23, 静岡, 石橋孝文)
- 7) 富山佳昭. (講演) 血小板減少症の病態・鑑別と治療: ITP を中心として. 豊中市医師会平成 25 年度第 1 回学術講演会 (2013.4.13, 大阪, 伊藤直人)
- 8) 富山佳昭. (ランチョンセミナー) ITP の病態と TP0 受容体作動薬の位置づけ. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会 (2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)

- 9) 柏木浩和, 清水一亘, 田所誠司, 富山佳昭, 金倉 譲. (口演) IIb 3 細胞内活性化変異と血小板顆粒放出異常. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会 (2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)
- 10) 加藤 恒, Sanford J. Shattil, 富山佳昭. (口演) 腫瘍細胞インテグリン 1 活性化の転移における重要性. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会 (2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)
- 11) 清水一亘, 柏木浩和, 加藤 恒, 田所誠司, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭. (ポスター) Primary ITP 患者の血小板関連抗 IIb 3 抗体のエピトープの同定と臨床経過に関する検討. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会 (2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)
- 12) 富山佳昭. (ランチョンセミナー) 特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の分子病態と診療の最前線. 第 14 回日本検査血液学会学術集会(2013.7.27-28, 東京, 福武勝幸)
- 13) 林 悟, 柏木浩和, 清水一亘, 西口修平, 金倉 譲, 富山佳昭. (ポスター) Pathophysiology of thrombocytopenia associated with chronic hepatitis C. 第 75 回日本血液学会学術集会 (2013.10.11-13, 札幌, 澤田賢一)
- 14) 宮川義隆, 菊池佳代子, 藤村欣吾, 富山佳昭, 倉田義之, 岡本真一郎, 桑名正隆, 阿部貴行, 村田満, 佐藤裕史, 金倉譲, 池田康夫: 特発性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの医師主導治験の調整管理研究 第 75 回日本血液学会学術集会(2013.10.11-13, 札幌, 澤田賢一)
- 15) 宮川義隆, 勝谷慎也, 矢野尊啓, 野村昌作, 西脇嘉一, 富山佳昭, 東原正明, 安藤潔, 西川政勝, 尾崎勝俊, 菊地佳代子, 金倉譲, 藤村欣吾, 池田康夫, 岡本真一郎: 慢性型特発性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの R-ITP 医師主導治験. 第 75 回日本血液学会学術集会(2013.10.11-13, 札幌, 澤田賢一)
- 16) Yamaguchi M, KFujimura K, Kanegane H, Toga H, Okamura N: Molecular characterization of mutated SBDS gene products. 第 75 回日本血液学会学術集会 (2013.10.11-13, 札幌, 澤田賢一)

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

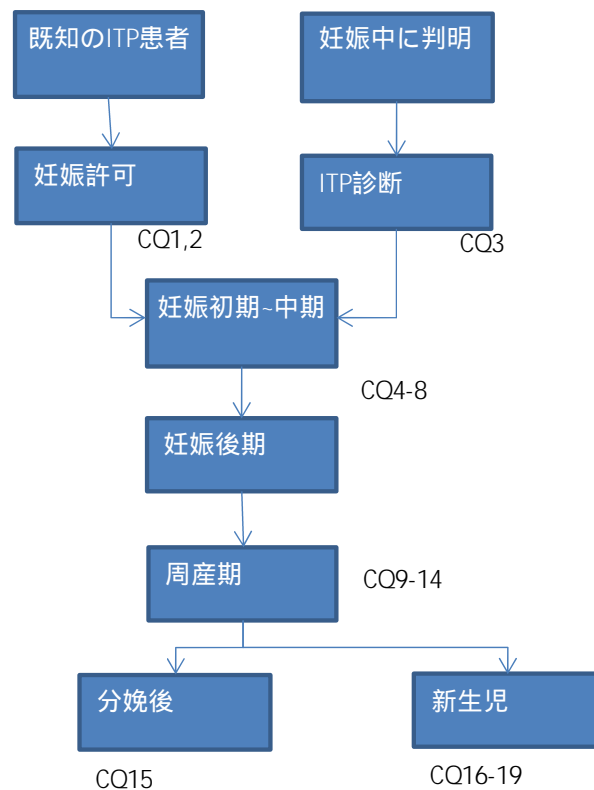
3. その他

なし

表．妊娠合併 ITP 診療の参照ガイド作成委員会名簿

専門分野	委員名（所属）
血液内科	宮川義隆（埼玉医大）、柏木浩和（阪大）、高蓋寿朗（呉医療センター・中国がんセンター）、藤村欣吾（安田女子大）、桑名正隆（慶大）、倉田義之（四天王寺大）、村田満（慶大）、富山佳昭（阪大）
小児科	今泉益栄（宮城県立こども病院）、高橋幸博（奈良医大）、松原康策（西神戸医療セ）
産科	小林隆夫（浜松医療センター）、木村正（阪大）、安達知子（愛育病院）、渡辺尚（自治医科大学）
産科麻酔科	照井克生（埼玉医大）

Clinical Questionのフローチャート



- CQ1 妊娠前のITP患者に妊娠を許可する基準はあるか？
 CQ2 妊娠を希望するITP患者に脾臓摘出術を勧めるか？
- CQ3 妊婦の血小板減少症の鑑別のために行うべき検査は何か？
- CQ4 妊娠中の血小板数の目標値は？
 CQ5 妊娠中の治療法は？
 CQ6 ヘリコバクター・ピロリ菌陽性患者に対する除菌療法の安全性と施行時期
 CQ7 妊娠中のトロンボポエチン受容体作動薬の使用は可能か？
 CQ8 妊娠中における脾臓摘出術の適応
- CQ9 分娩時期をどのように計画するか？
 CQ10 分娩時の血小板数の目標値は？また治療方法は？
 CQ11 静脈血栓塞栓症(VTE)予防を行うべきか？
 CQ12 分娩様式はどのように選択するか？
 CQ13 分娩時の麻酔はどのように選択するか？
 CQ14 帝王切開時にはどのような点に注意すべきか？
- CQ15 ITP治療中の患者に授乳は可能か？
- CQ16 新生児の出血のリスクは？また分娩前に児の血小板数を予測する方法はあるか？
 CQ17 胎児血小板数を測定すべきか？
 CQ18 出生した児の評価はどのようにするのか？
 CQ19 新生児の血小板減少の治療法は？

血小板減少患者における血小板機能解析

研究分担者：富山 佳昭 大阪大学医学部附属病院輸血部

研究協力者：柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科

研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は抗血小板自己抗体による血小板破壊および産生障害に基づく血小板減少がその主たる病態であるが、自己抗体の結合部位によっては血小板機能が障害され、出血症状を増悪させる可能性がある。しかしながら血小板減少患者の血小板機能を把握することは従来の血小板機能検査では困難であった。本研究ではフローサイトメトリーを用いた血小板機能の多角的な評価方法を確立し、インテグリン α IIb β 3 変異に起因する遺伝性血小板減少症患者における血小板機能異常を解析した。今後、ITP 患者を含めた血小板減少患者における血小板機能を評価することにより、出血傾向に対してより適切な対応が可能となることが予想される。

A. 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) [primary ITP (primary immune thrombocytopenia)] に代表される血小板減少症患者においては、紫斑や粘膜出血などの出血症状が臨床上問題となるが、血小板数と出血傾向が必ずしも相関しないことがしばしば経験される。これには血小板機能の異常が関与している可能性がある。

我々は前年までの研究で、ITPの病態において主要な役割を果たしている血小板結合 (PA) 抗 α IIb β 3 抗体のエピトープのほとんどが α IIb β 3 のプロペラドメイン内の限定された領域に存在することを明らかにした (Kiyomizu K et al. *Blood* 120:1499-1509, 2012)。プロペラドメ

インはリガンド結合部位でもあることから、自己抗体の結合が血小板機能に影響する可能性が示唆された。

また我々は本邦の遺伝性血小板減少症例の解析から、 α IIb β 3 の主に細胞内領域における遺伝子変異を複数見出すことに成功した (Kashiwagi H, et al. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* 1:77-86, 2013)。興味深いことにこれらの変異は発現細胞においては α IIb β 3 の恒常的活性化を誘導した。しかし患者は無症状のものから、軽度～中等度の出血症状を認める例があり、それぞれの変異が血小板機能に与える影響が異なっている可能性が示唆されていた。

従来、臨床的に使用される血小板機能

検査は出血時間測定および比濁法を用いた血小板凝集能検査であるが、いずれの検査も血小板減少患者においては正確な測定ができない。このことがITPなどの血小板減少患者における出血傾向を把握する際の障害となっている。

フローサイトメトリー (FCM) は従来より血小板機能異常症の診断・解析に使用されてきた。FCMでは少数の血小板で解析を行うことが可能であることから、本研究ではFCMを用いることにより血小板減少患者における血小板機能測定法を確立することを目的とし、遺伝性血小板減少患者やITP患者における血小板機能評価を試みた。

B . 研究方法

1) 症例

3 (L718P) 変異をヘテロで有する一家系 (母、息子および娘)、IIb (R995W) 変異ヘテロ患者、およびITP患者の血小板を使用した。3 (L718P) 変異をもつ母は紫斑、鼻出血に加え、46歳時に月経止血困難からHb 4g/dlまで低下し、子宮内膜焼却術を受けた。息子は16歳時に頭部外傷後の硬膜下血腫、脳ヘルニアにて手術を受けるも術中止血困難、術後創部出血が持続した。いずれも血小板数は4-7万/ μ l程度であった。一方、IIb (R995W) ヘテロ患者では血小板数は7-10万程度であり、出血症状はほとんど認め

なかった。

本研究は大阪大学医学部倫理委員会の承認を得ており、患者からは研究協力に関し、十分な説明の上で書面による同意書を得ている。

2) 方法

FCMを用いて、以下の解析を行った。

- a) IIb 3活性化：未刺激および血小板アゴニスト刺激後、活性化 IIb 3を特異的に認識するPAC1の血小板への結合を検討した。
- b) 顆粒放出：血小板膜上のCD62P発現にて評価した。
- c) 濃染顆粒放出：メパクリンは濃染顆粒に特異的に取り込まれる。アゴニスト刺激前後のメパクリン取り込みの変化にて濃染顆粒放出能を評価した。
- d) 血小板凝集能：血小板を蛍光色素CFSEまたはPKH26で染色した後、混合しアゴニストで刺激して凝集塊の形成を経時的にFCMを用いて評価した (FCM-based platelet aggregation assay; FCA, De Cuyper et al. *Blood* 2013; 121:e70-80)。

C . 研究結果

3(L718P) ヘテロ患者の細胞表面 IIb 3発現は正常の50-60%程度であった。未刺激時に軽度のPAC1結合を認めたが、ADPあるいはPAR1p刺激後のPAC1結合は著明に障害されていた。更にADP、

PAR1p刺激後の 顆粒放出、およびPAR1p刺激後の濃染顆粒放出も著明に障害されていた(図1)。一方、I1b(R995W)ヘテロ患者における顆粒放出障害は軽度であった。

FCA法を用いることにより、血小板数2-3万程度の血小板減少患者においても、経時的にPMA, ADP, PAR1pおよびコラーゲン刺激後の血小板凝集能を検討することが可能となった。ITPの一例においてはFCA法およびPAC1, CD62P発現を検討し、血小板機能の軽度の低下が示唆された(図2)。

D . 考察

血小板機能検査として、臨床的には出血時間測定あるいは比濁法を用いた血小板凝集能検査が行われるが、血小板減少患者では正確に評価することが困難であった。今回、我々は各種アゴニストに対する血小板の反応を、1) I1b 3活性化：PAC1結合、2) 顆粒放出：CD61P発現、3)濃染顆粒放出：メパクリン染色、4)血小板凝集能：FCA法、というFCMを利用した4つの方法を用いることにより多角的に評価することが可能であることを示した。これらの方法では、血小板数が2万あるいはそれ以下であっても検討することが可能である。

3(L718P)変異はI1b(R995W)と同様に血小板減少をきたすが、3(L718P)ヘ

テロ患者においてはI1b(R995W)ヘテロ患者よりもより強い出血傾向をきたす傾向にあった。今回、FCMを用いた血小板機能評価を行うことにより、3(L718P)ヘテロ血小板ではI1b(R995W)ヘテロ血小板に比して血小板機能、特に顆粒放出がより強く障害されていることが示された。

また今回、新たな血小板機能評価法であるFCA法が血小板減少患者における血小板機能評価に有用であることをITP患者血小板を用いて確認することができた。我々はITP患者におけるPA抗I1b 3抗体の多くがリガンド結合部位の近傍を認識することを明らかにしているが、これらの抗体の一部は血小板機能に影響を与える可能性が示唆されている。今後、これらの方法を用いてITP患者血小板の血小板機能の評価し、その臨床症状との相関を明らかにすることは、ITPの病態理解の一助になると考える。

E . 結論

FCMを用いた血小板機能解析により、血小板減少患者における血小板機能の詳細な評価が可能となった。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tomiyama Y. Thrombopoietin receptor agonists. In **Current & Emerging Treatments for Immune Thrombocytopenia.** (Salama A edit) Future Medicine, UK, 2013, pp88-106
- 2) Kashiwagi H, Tomiyama Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia. **Int J Hematol** 98:24-33, 2013
- 3) Kashiwagi H, Kunishima S, Kiyomizu K, Amano Y, Shimada H, Morishita M, Kanakura Y, Tomiyama Y. Demonstration of novel gain-of-function mutations of ILb 3 : association with macrothrombocytopenia and glanzmann thrombasthenia-like phenotype. **Molecular Genetics & Genomic Medicine** 1:77-86, 2013
- 4) Katsutani S, Tomiyama Y, Kimura A, Miyakawa Y, Okamoto S, Okoshi Y, Ninomiya H, Kosugi H, Ishii K, Ikeda Y, Hattori T, Katsura K, Kanakura Y. Oral eltrombopag for up to three years is safe and well-tolerated in Japanese patients with previously treated chronic immune thrombocytopenia: an open-label, extension study. **Int J Hematol** 98:323-330, 2013
- 5) Kato H, Uruma M, Okuyama Y, Fujita H, Handa M, Tomiyama Y, Shimodaira S, Kurata Y, Takamoto S. Incidence of transfusion-related adverse reactions per patient reflects the potential risk of transfusion therapy in Japan. **Am J Clin Pathol** 140:219-224, 2013
- 6) Honda S, Shirotani-Ikejima H, Tadokoro S, Tomiyama Y, Miyata T. The Integrin-Linked Kinase- PINCH-Parvin complex supports Integrin ILb 3 activation. **PLoS One** 8:e85498, 2013
- 7) 富山佳昭 .特発性血小板減少性紫斑病 . **今日の治療指針 2013 年版** (山口 徹, 北原光夫, 福井次矢編), 医学書院, 東京, 2013, pp621-623
- 8) 富山佳昭 . 序 ~ 血小板/巨核球研究の新たな展開 ~ . **血液フロンティア** 23:17-20, 2013
- 9) 富山佳昭 . 急性特発性血小板減少性紫斑病 . 血液症候群 (第 2 版) II - その他の血液疾患を含めて - **別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ** No.22:338-340, 2013
- 10) 富山佳昭 . 難治性特発性血小板減少性紫斑病 . 血液症候群 (第 2 版) II - その他の血液疾患を含めて - **別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ** No.22:351-354, 2013
- 11) 富山佳昭, 清水一亘, 柏木浩和 . 特発性血小板減少性紫斑病の病態と診断 . **臨床血液** 54:343-349, 2013
- 12) 富山佳昭, 清水一亘, 柏木浩和 . 免疫性血小板減少性紫斑病の免疫病態 . **臨床免疫・アレルギー科** 59:649-657, 2013
- 13) 富山佳昭 . 血液製剤の適正使用と安全確保 . **公衆衛生** 77:630-634, 2013
- 14) 富山佳昭 . 血小板数, MPV, PDW . **臨床に直結する血栓止血学** (朝倉英策編) 中外医学社, 東京, 2013, pp70-72
- 15) 富山佳昭 . 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) . **検査と技術** 41:1114-1119, 2013
- 16) 富山佳昭 . 特発性血小板減少性紫斑病

- (ITP) .*medicina* 50(11 増刊号):310-314, 2013
- 17) 富山佳昭 . 自己免疫性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブ療法 . **血液内科** 65:832-837, 2012
- 18) 柏木浩和 , 富山佳昭 . 特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の分子病態と新規治療法 . **血液フロンティア** 23:357-366, 2013
- 19) 柏木浩和 , 富山佳昭 . ステロイド紫斑 . **別冊日本臨床 血液症候群 (第2版) II**, 日本臨床社, 大阪, 2013, pp475-47
- 20) 加藤 恒 , 富山佳昭 . インテグリン活性化とその制御 ~ 腫瘍細胞のコントロールにむけて . **日本血栓止血学会誌** 24:507-515, 2013
- 21) 清水一亘 , 柏木浩和 , 富山佳昭 . Primary ITP における抗 IIb/3 自己抗体のエピトープ解析: 抗 IIb/3 抗体はプロペラドメイン内の高度に限定された領域を認識する . **日本血栓止血学会誌** 24:392-395, 2013
- thrombocytopenia and glanzmann thrombasthenia-like phenotype. The 24th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (2013.6.29-7.4, Amsterdam, Netherland, Rosendaal F)
- 3) Michel M, Wasser J, Godeau B, Aledort L, Cooper N, Tomiyama Y, Khellaf M, Wang X, Woodard P. (Poster) Efficacy and Safety of Romiplostim in Patients ≥ 65 Years With Immune Thrombocytopenia. The 18th Congress of European Hematology Association (2013.6.13-16, Stockholm, Sweden, Sierra J)
- 3) 富山佳昭 . (ランチョンセミナー) 血小板減少症の病態と治療 . **第35回日本造血細胞移植学会総会**(2013.3.7-9, 石川, 中尾眞二)
- 4) 富山佳昭 . (教育講演) 血小板減少症の病態と診断 . **平成25年日本検査血液学会静岡支部学術集会** (2013.3.23, 静岡, 石橋孝文)
- 5) 富山佳昭 . (講演) 血小板減少症の病態・鑑別と治療: ITP を中心として . **豊中市医師会平成25年度第1回学術講演会** (2013.4.13, 大阪, 伊藤直人)
- 6) 富山佳昭 . (ランチョンセミナー) ITP の病態と TPO 受容体作動薬の位置づけ . **第35回日本血栓止血学会学術集会** (2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)
- 7) 柏木浩和 , 清水一亘 , 田所誠司 , 富山佳昭 , 金倉 譲 . (口演) IIb/3 細胞

2. 学会発表

- 1) Tomiyama Y, Kiyomizu K, Kashiwagi H. (Oral) Autoantigenic epitopes on GPIIb-IIIa in ITP. SSC Meeting. The 24th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (2013.6.29-7.4, Amsterdam, Netherland, Rosendaal F)
- 2) Kashiwagi H, Kunishima S, Kiyomizu K, Amano Y, Shimada H, Morishita M, Kanakura Y, Tomiyama Y. (Poster) Demonstration of novel gain-of-function mutations of IIb/3: association with macro-

内活性化変異と血小板顆粒放出異常．**第 35 回日本血栓止血学会学術集会**

(2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)

8) 加藤 恒, Sanford J. Shattil, 富山佳昭．(口演) 腫瘍細胞インテグリン 1 活性化の転移における重要性．**第 35 回日本血栓止血学会学術集会**(2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)

9) 清水一亘, 柏木浩和, 加藤 恒, 田所誠司, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭．(ポスター) Primary ITP 患者の血小板関連抗 IIb/3 抗体のエピトープの同定と臨床経過に関する検討．**第 35 回日本血栓止血学会学術集会**(2013.5.30-6.1, 山形, 一瀬白帝)

10) 富山佳昭．(ランチョンセミナー) 特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の分子病態と診療の最前線．**第 14 回日本検査血液学会学術集会**(2013.7.27-28, 東京, 福武勝幸)

11) 林 悟, 柏木浩和, 清水一亘, 西口修平, 金倉 譲, 富山佳昭．(ポスター)

Pathophysiology of thrombocytopenia associated with chronic hepatitis C.

第 75 回日本血液学会学術集会

(2013.10.11-13, 札幌, 澤田賢一)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1. ADP刺激後のPAC1結合およびCD62P発現。

標記する濃度のADPで刺激後、PAC1結合およびCD62P発現をFCMを用いて検討した。
β3(L718P)ヘテロ血小板においては、コントロールに比べαIIbβ3の活性化およびα顆粒放出の低下が認められた。

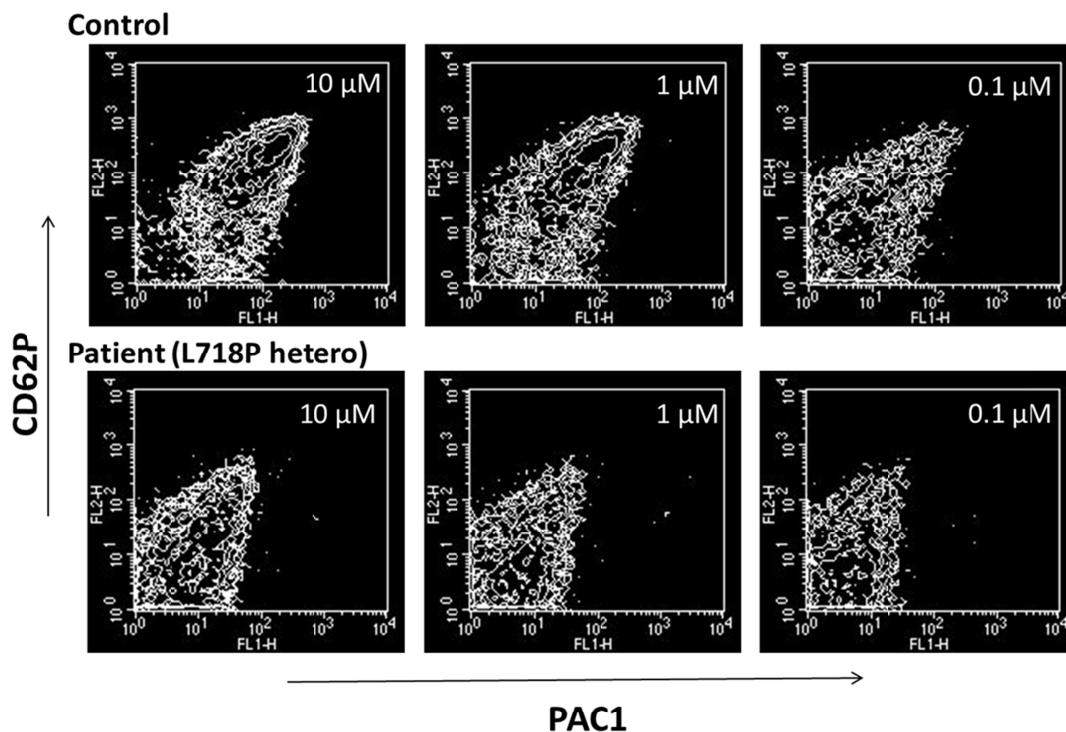
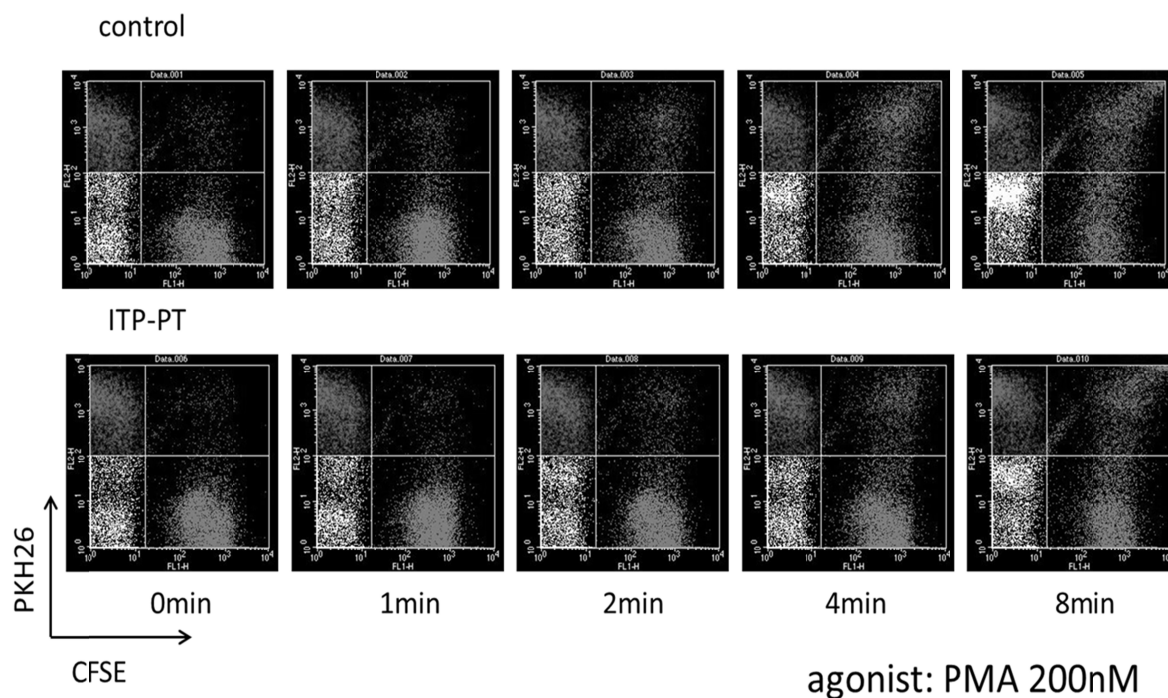


図2. FCMを用いた血小板凝集能検査(FCA)

CFSEまたはPKH26で染色した血小板を混合後、PMAで刺激し、血小板凝集形成をFCMを用いて検出した。本ITP患者では血小板凝集形成の軽度の低下を認めた。



トロンボポエチン受容体作動薬の有効性と有害事象 エルトロンボパグの使用経験から

高蓋 寿朗 呉医療センター・中国がんセンター 血液内科 科長
藤村 欣吾 安田女子大学 薬学部 教授

研究要旨

トロンボポエチン受容体作動薬 (TRAs) として、2010 年に経口製剤エルトロンボパグ、2011 年に注射製剤のロミブロスチムが本邦でも発売され、難治性 ITP の治療薬として使用されている。2012 年に「成人 ITP 治療の参照ガイド」が公表されたが、この中では、third line の治療薬として取り上げられ、現在多くの患者で使用されている¹。最近、TRAs による治療によって血小板数が回復した症例の中に、治療を中断しても長期寛解が得られる症例の報告がある。一方、海外で再生不良性貧血に対する TRAs による治療研究が行われており、少数ではあるが染色体異常を伴う異常クローンが出現した症例があるとの報告がある。今回我々の経験した ITP 症例の中から、TRAs 投与中止後も血小板数が維持された症例と投与開始後数ヶ月で急性骨髄性白血病へと進展した症例を提示した。これらの経験を基に、TRAs の有効性と有害事象についてさらに検討する必要性を明らかにした。

A . 研究目的

TRAs は発売後数年しか経過しておらず、適応症例の選択、投与量の調整、中止は可能か、どのような有害事象があるかなど、いまだ評価の定まらない部分も残されている。これまでの治療経験を再検討することによって、TRAs の適応、使用法の問題点を明らかにしたい。

B . 研究方法

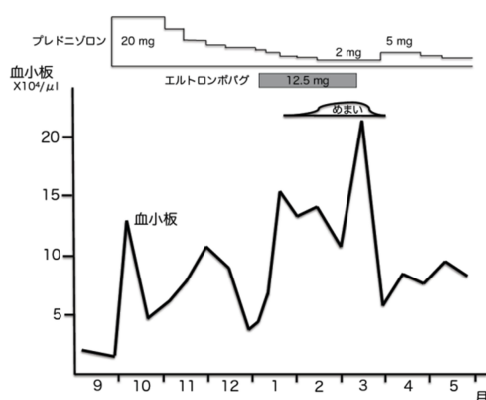
これまでの使用例の中から、TRAs が有効であり中止後も血小板数がある程度維持できた症例と、TRAs 開始後に芽球が急増した症例を取り上げて、今後の課題を検討した。

C . 研究結果 (症例提示)

【症例 1】80 歳台、女性

経過：3 年前に他院にて ITP と診断され、ピロリ除菌により軽快していた。201X 年 8 月血小板数 1 万/ μ l 台に減少し、当科紹介受診となった。9 月よりプレドニゾロン (PSL) 20 mg にて治療開始。11 月血小板数 6 万/ μ l 台で安定していたため、PSL 漸減開始。2013 年 1 月 PSL6 mg とした後、血小板数 4 万前後に減少し出血傾向も出現したため、エルトロンボパグ 12.5mg の内服を開始した。2 週間後には血小板数 15 万/ μ l まで増加し PSL 漸減を開始した。3 月に入り、PSL2mg まで減量しても血小板数は 10 万/ μ l 前後で推移していたが、「めまいが強い」ため、自己判断でエル

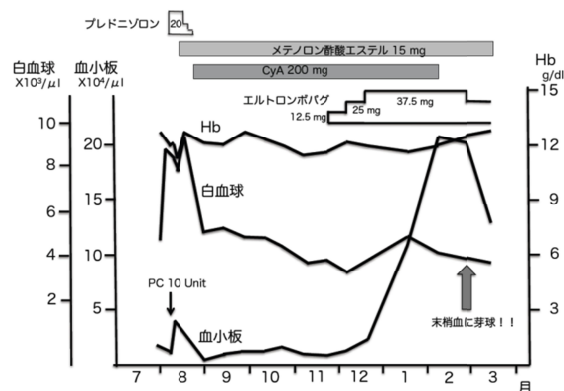
トロンボパグを中止した。中止1週間後の受診時にはめまいは消失し、血小板数25万/ μl に維持されていた。以後、血小板数は一旦5.7万/ μl まで減少したが、PSL少量維持のみで血小板数は8~9万/ μl で安定し、PSLは現在2mgまで減量し経過観察している。



【症例2】70歳台、女性

経過：20XX年7月血小板減少精査のため、当院紹介受診。WBC 4600/ μl (St 3、Seg 54、Eo 1、Ly 37、Mo 5)、Hb 12.7 g/dl、Plt 1.7万/ μl 、骨髓(腸骨)は低形成で、顆粒球系の顆粒減少など軽度異型性を認めるが、染色体異常は認めなかった。ITPと診断しプレドニゾロンを使用したが発熱悪く、再生不良性貧血の初期のような病態も疑われ、8月中旬よりメテノロン酢酸エステル+サイクロスポリンの投与を開始した。しかし、血小板数の増加はみられず、紫斑、眼底出血などをきたし、11月エルトロンボパグ12.5 mg内服を開始した。当初は血小板数の増加が緩徐であり、12月初旬に25 mg、12月中旬に37.5 mgに増量したところ、1月10万/ μl 、2月20万/ μl と血小板数は増加し、出血症状も消失した。しかし、2月下旬の末梢血目視分類にて芽球3%を指摘され、骨髓検

査を施行したところ、芽球が40%以上と増加しており、表面マーカー検査から急性骨髄性白血病(AML)と診断された。染色体検査では47、XX、+21が認められた。以後、家庭の事情で他県の病院にて白血病に対する治療を継続中である。



D. 考案

トロンボポエチン受容体作動薬 (TRAs) は中断することによって、急速に血小板数が減少することに注意が必要とされているが、症例1のように、急に中断しても血小板数が5万以上に維持される症例があることは興味深い。GhadakiらはTRAsによって、血小板数が上昇した31例のうち、9例でTRAs中止後も血小板数が維持されたと報告している²。TRAsによる血小板増加によって、血小板抗原に対する免疫寛容が誘導される可能性も考えられている。これには調節性T細胞(Treg)が増加することが関係しているのではないとする報告もある。今後このような症例を蓄積することによって、TRAsの服薬中止の可能性を検討する必要があると思われる。

症例2は、短期間で芽球が増加し、急性骨髄性白血病を発症したことを考慮すると、再生不良性貧血あるいは骨髓異形成

症候群(MDS)の初期であった可能性は否定できない。しかし、本例では TRAs 開始前に貧血はみられず、芽球の増加もとらえられなかった。このような症例の診断が問題となるが、臨床症状、検査データからは現在の診断基準に照らして I T P に最も近い疾患と言わざるを得ないと考えた。またプレドニゾロンによる血小板増加効果が不十分であり、重要臓器への出血が認められエルトロロンボパグの使用に踏み切った症例である。おそらく今後本例のような症例が、難治性 ITP と判断されて TRAs が使用される可能性はあると考えられる。問題は I T P の診断の難しさにあり、やはり除外診断に加え、I T P に比較的特徴的な現象、例えば網状血小板数、血漿 T P O 値などを今後取り入れた診断基準が必要である。本例では結果的に、エルトロロンボパグが芽球増加に関与した可能性があり、このような症例では TRAs の使用は問題であったと思われる。最近、海外において、再生不良性貧血に対して、TRAs を使用して血小板以外の血球も増加させる可能性が示されているが、やはり投与例の中に染色体異常を持つクローンが出現する症例が存在することが明らかとなっている^{3, 4}。本邦で再生不良性貧血に対する適応が検討される場合には注意が必要である。

E . 結論

TRAs は難治性 ITP に対して、症例によっては非常に有効な薬剤であるが、継続内服が必要であることが問題となっている。症例によっては中止後も寛解が維持される可能性があり、今後前向きな臨床研究

が望まれる。また、難治性 ITP と考えられる症例の中に、再生不良性貧血あるいは MDS が含まれる可能性があり、TRAs 投与による異常クローンの増加には注意が必要であると考えられた。

【参考文献】

1. 藤村欣吾 他：成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド 2012 年版. 臨床血液 53, 433-442, 2012
2. Ghadaki B et al.: Sustained remissions of immune thrombocytopenia associated with the use of thrombopoietin receptor agonists. Transfusion 53, 2807-2812, 2013
3. Olnes MJ et al.: Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory apalastic anemia. N Engl J Med 367, 11-19, 2012
4. Desmond R et al.: Eltrombopag restores tri-lineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia which can be sustained on discontinuation of drug. Blood 2013 (published online December 17)

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1 . 高蓋寿朗：特発性血小板減少性紫斑病 - 病態と診断のすすめかた -. Medical Practice 31, 53-57, 2014
- 2 . Asano J., Ueda R., Tanaka Y.,

Shinzato I., Takafuta T. Effects of Immunosuppressive Therapy in a Patient with Aplastic Anemia-Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria(AA-PNH) Syndrome during Ongoing Eculizumab Treatment. Internal Med. 53: 125-128, 2014

- 3 . 藤村欣吾:V. *H.pylori* 感染症関連疾患と除菌治療の意義 特発性血小板減少性紫斑病(ITP) 日本臨床 71、8 : 1436 - 1441、2013
- 4 . 藤村欣吾: 内科 Q. 特発性血小板減少性紫斑病で *H.pylori* 陰性例の除菌治療 A. *H.pylori* 陰性 ITP 症例に対する除菌療法について6つの報告を基にした系統的レビュー報告によると、血小板増加反応が認められた頻度は有意に *H.pylori* 陽性 ITP 症例に高い
日本医事新報 No4634 : 56-57、2013

2 . 学会発表

- 1 . 宮川義隆、菊池佳代子、藤村欣吾、富山佳昭、倉田義之、岡本真一郎、桑名正隆、阿部貴行、村田満、佐藤裕史、金倉譲、池田康夫
特発性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの医師主導治験の調整管理研究
第75回日本血液学会学術集会 2013 , 10 札幌市
- 2 . Masafumi yamaguchi , Kingo Fujimura , Hirokazu Kanegane , Hanae Toga , Naoki Okamura Molecular characterization of mutated SBDS

gene products The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology 2013.10.11-13

Sapporo city

- 3 . Yoshitaka Miyakawa, Shinya Katutani, Takahiro Yano, Shosaku Nomura, Kaichi Nishiwaki, Yoshiaki Tomiyama, Masaaki Higashihara, Kiyoshi Ando Masakatu Nishikawa, Katsutosi Ozaki, Kayoko Kikuchi, Takayuki Abe, Yuji Sato, Yuzuru Kanakura, Kingo Fujimura, Yasuo Ikeda, Shinichiro Okamoto, R-ITP study group. Rituximab as second-line Treatment for Chronic Immune Thrombo-cytopenia: Investigator-initiated Clinical Trial in Japan. 55th ASH Annual Meeting and Exposition Dec.7-10, 2013
New Orleans

H . 知的財産権の出願・登録状況

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

臨床調査個人票（平成 23 年度）集計による特発性血小板減少性紫斑病の 全国疫学調査及び平成 23～25 年度の研究のまとめ

研究分担者 倉田 義之 四天王寺大学人文社会学部人間福祉学科教授

研究要旨

我が国における特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の発症頻度、年齢分布、患者の病状や治療、生活状況を平成 23 年度の臨床調査個人票をもとに解析した。

平成 23 年度における新規患者数は 10 万人あたり 2.8 人であった。日本全体では 3,567 人が発症したと推計された。更新患者数は 10 万人あたり 15.0 人で日本全体では 19,201 人の患者がいたと推計された。

A．研究目的

特発性血小板減少性紫斑病（以下 ITP）は、しばしば治療に難渋し、長期間にわたって治療を必要とする難治性疾患である。厚生労働省も ITP を特定疾患に指定し、患者への支援を実施してきている。今後の ITP 患者への治療計画、支援計画をたてるにあたりわが国における ITP 患者の実態を把握することは非常に重要であると考え。本研究では ITP 患者より厚生労働省へ提出された臨床調査個人票をもとに平成 23 年度における ITP 患者の実態を解析したので報告する。

B．研究方法

厚生労働省健康局疾病対策課より平成 23 年度の ITP 症例の臨床調査個人票をもとに入力されたデータの提供を受けた。データの提供を受けた時点（平成 25 年 11 月）では一部の県のデータが厚生労働省に届いていなかった。新規申請分でデータが届いていなかった県は新潟県、滋賀県、奈良県、徳島県、福岡県、佐賀県の 6

県であった。更新申請分で届いていなかった県は福島県、滋賀県、奈良県、広島県、徳島県、香川県、福岡県、佐賀県の 8 県であった。

C．研究結果および考察

1．ITP 患者発生数

平成 23 年度に発症した患者数を表 1、表 2 に示す。新規患者登録数は男女合わせて 3,235 名であった。3,235 名を調査都道府県の人口（115,919 千人）で除し人口 10 万人あたりで計算すると発症頻度は 10 万人あたり 2.79 人であった。3,235 名は調査都道府県での発症数であるので日本の総人口（127,799 千人）をもとに推計するとわが国では 3,567 名の患者が発症したと推計された。

表 3 に平成 17 年度～23 年度の 7 年間の新規患者発生数の推移を示す。推定患者発生数はこの 7 年間で多少の変動は認められるが約 3,000 人前後で推移していた。

2．新規患者年齢分布

急性型の年齢分布を図 1 に示す。男女と

も 56～85 歳に幅広いピーク（最大ピークは男女とも 71～75 歳）があり、加えて女子では 31～35 歳に小さなピークがあった。男女とも 5 歳以下にも小さなピークがあった。

慢性型の年齢分布を図 2 に示す。男女とも 51～85 歳に大きなピーク（男では 76～80 歳、女では 71～75 歳に最大ピーク）を認めた。女では更に 16～40 歳に幅広いピーク（26～30 歳に最大ピーク）を認めた。16～75 歳で女は男の約 1.3～5.9 倍多かった。一方、76 歳以上では男女差を認めなかった。

従来認められた小児 ITP のピークは平成 23 年度も殆ど認められなかった。小児 ITP においては、小児医療費助成制度や小児慢性特定疾患治療研究事業が行われている。これらの制度や研究事業に申請すると特定疾患に申請するよりも一部負担金の免除など有利との考えで、小児 ITP 症例は特定疾患に申請せず、小児医療費助成制度や小児慢性特定疾患治療研究事業のほうへ申請が行われていると推測された。そのため従来認められた小児における発症のピークが消失したものと考えられた。

3 . ITP 更新患者数

平成 23 年度に更新申請があった患者数を表 4、表 5 に示す。更新患者数は男女合わせて 16,894 名であった。16,894 名を調査都道府県の人口（112,444 千人）で除して求められる人口 10 万人あたりの ITP 更新症例数は 15.02 名であった。また 16,894 名は調査都道府県での更新数であるので日本の総人口（127,799 千人）でもって推計するとわが国では平成 23 年度に

19,201 名の患者が更新申請をしたと推計された。

表 6 に更新申請症例の平成 17 年度～23 年度の症例数の推移を示す。推定患者数はこの 7 年間、18,000 人前後で推移しているものと思われた。

4 . 更新・慢性型患者の年齢分布

慢性型の更新患者の年齢分布を図 3 に示す。女では 51～85 歳に大きなピーク（61～65 歳に最大ピーク）があり、21～50 歳にも小さなピークがあった。男では 56 歳より増加傾向を示し、56～80 歳にピークを認めた。女が男の 2.46 倍多かった。

5 . 身体障害者手帳、介護認定、日常生活の不自由度

身体障害者認定の有無を表 7 に示す。身体障害者手帳を交付されている症例は 4.4～8.0% のみで、大多数の症例は身体障害者の認定を受けていなかった。身体障害者の認定が ITP によるものか、他の身体的要因によるものかは不明であった。介護認定の有無を表 8 に示す。要介護、要支援認定者もごく一部の症例のみであった。

日常生活不自由度を表 9 に示す。28～35% の症例がやや不自由あるいは介護を要するとの回答であったが ITP 症例が非常に高齢化しているため高齢による身体の不自由さを反映しているのではないかと推測された。

6 . 生活状況

生活状況を表 10 に示す。新規・急性型症例では 55% の症例が就労、就学、家事など社会生活を保っていた。一方、新規・慢性型や更新・慢性型では 72～79% の症例が社会生活を保っていた。

7. 受診状況

受診状況を表 11 に示す。新規・急性型症例では 53% の症例が入院していた。新規・慢性型症例においても 20% の症例が入院していた。一方、更新・慢性型症例では入院中の症例は 1% とごく一部で大半の症例は主に通院であった。

8. 出血症状

出血症状を図 4～6 に示す。新規・急性型では出血症状を示す症例が多く、紫斑を 88% の症例において認めた。その他、歯肉出血（35%）、鼻出血（22%）など、粘膜出血の頻度も高かった。新規・慢性型においても紫斑を 88% に認めたが、急性型に比べ粘膜出血の頻度は 22%、16% と低かった。更新・慢性型においても紫斑を 89% に認めたが粘膜出血はいずれも 15% と新規申請症例に比べると頻度は低かった。治療の結果、出血症状が軽減しているためと思われた。

9. 血小板数

血小板数を図 7 に示す。新規・急性型症例においては血小板数 1 万以下の症例が 67% と多かった。新規・慢性型においても血小板数 1 万以下の症例を 32% に認めたが、2 万～5 万を示す症例も多く認められた。一方、更新・慢性型症例においては血小板数が 5 万以下の症例は少なく、52% の症例で 5 万以上であった。

10. 特殊検査

新規症例における骨髓検査、PAIgG、抗血小板自己抗体検査、網状血小板検査の実施率を表 12 に示す。骨髓検査は急性型で 90%、慢性型で 87% とほぼすべての症例で実施されていた。ITP に特異的な検査である抗血小板自己抗体検査は 5～6%、網

状血小板検査は 11～14% と実施率は非常に低かった。

表 13 に最近の 7 年間における特殊検査の実施率の推移を示す。骨髓検査は 90% 前後、PAIgG は約 60% の症例で実施されていた。一方、自己抗体検査は 6% 前後、網状血小板検査は増加の傾向を示しているが 11～14% の症例で実施されているのみであった。これらの特殊検査は一部の施設を除き施行できないためと思われた。早急に検査センターなどで可能となる必要があると考えられた。

11. 治療

新規症例において選択された治療法を図 8、9 に示す。新規・急性型ではプレドニゾロン治療が 84% の症例において選択されていた。次いで大量 IgG 療法が 31%、ピロリ除菌が 30% の症例で施行されていた。また新規・慢性型においてもプレドニゾロン治療が 62% の症例で選択されていた。次いでピロリ除菌、大量 IgG 療法が実施されていた。ピロリ除菌療法は、平成 22 年度から保険適用されるようになった治療法である。

新規症例におけるピロリ除菌療法の年度別の推移を図 10 に示す。この数年間は 35% 前後で推移していた。

図 11 が更新症例でこの 1 年間に試みられた治療法、図 12 が全経過で実施された治療法を示している。更新症例においてもこの 1 年間ではプレドニゾロン治療が最多で 56% の症例で実施されていた。各種治療法に抵抗性で、プレドニゾロンによる維持療法が行われていたものと推察された。一方、全経過でみるとプレドニゾロン治療が 78%、次いでピロリ除菌療法、

大量 IgG 療法、摘脾など各種の治療が行われていた。

その他の薬剤の使用状況を表 14 に示す。平成 22 年 12 月～平成 23 年 4 月に発売された新規薬剤（レボレード、ロミプレート）である TP0 アゴニストが一部症例で投与開始されていた。表 15 にその他の薬剤の年度別推移を示す。セファランチン、ビタミン C、加味帰脾湯などに変化はなかったがレボレード、ロミプレートは平成 23 年度には顕著な増加を示していた。

12. この 1 年間の経過

この 1 年間の経過を表 16 に示す。更新・慢性型症例では、この 1 年間、不変であった症例が 71%、軽快した症例が 20%、徐々に悪化した症例が 5%などであった。ITP は良性疾患ではあるが治癒する疾患でもないことがうかがわれた。

13. 罹病期間

更新症例（慢性型）における罹病期間を図 13 に示す。罹病期間は 1 年未満の症例から 50 年以上に及ぶ症例まで幅広く分布していた。ITP が慢性疾患であることを示しているとともに基本的には予後良好な疾患であることを意味しているものと思われる。

14. 合併症

ITP は罹病期間が長期にわたることが多い。その間には多くの合併症を併発することが懸念される。特にプレドニゾロン治療が長期にわたって行われるためプレドニゾロンによる副作用が懸念される。調査表に記載されていた合併症を図 14 に示す。

プレドニゾロンの影響と考えられる糖尿病の頻度が高い。またプレドニゾロンや

免疫抑制剤の長期投与が原因ではないかと考えられる脊椎骨折、重症感染症、悪性腫瘍の合併も報告されていた。最も重篤な合併症である脳出血は、この 1 年間で 68 例、全経過では 313 例報告されていた。その他の合併症として高血圧症、脂質異常症（高脂血症）、大腿骨頭壊死などが報告されていた（図 15 参照）。

15. 難治症例の頻度

難治症例の定義は明確ではないが、摘脾を含む各種治療を行っても血小板数が低く（血小板数 2 万以下）、出血傾向を示している症例と考え、臨床調査個人票から上記条件にて絞り込み、難治症例数を推計した。

更新申請症例で慢性型 14,992 例を対象とした（表 17）。まず血小板数 2 万以下の症例に絞り込むと 2,783 例（18.6%）の症例が対象となった。血小板数 2 万以下の症例を、さらに出血傾向を示していた症例に絞り込むと 2,204 例（14.7%）が対象となった。出血傾向を示している症例のうちプレドニゾロン治療をされていた症例は 1,641 例（10.9%）であった。各種治療に抵抗性であるとの考えに従い、摘脾済み症例に絞り込むと大幅に減少し、420 例（2.8%）が難治例に相当すると考えられた。

表 18 に難治症例頻度の年度別推移を示す。難治症例頻度は 2.5～2.8%で推移していた。

D. 結語

1. 新規症例数は 3,567 人と推計された。
この 3 年間は 3,000 人前後で推移していた。

2. 更新症例数 19,201 人と推計された。
この3年間は18,000人前後で推移していた。
3. 特殊検査では、骨髄検査実施率 90%前後、PAIgG 60%前後、自己抗体検査 6%、網状血小板 14%前後であった。この3年では網状血小板検査が増加傾向を示していた。
4. 治療では TP0 アゴニスト（レボレード、ロミプレート）が登場した。ピロリ除菌療法はこの3年間は35%程度であった。
5. 難治症例頻度は2.8%であった。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato H, Uruma M, Okuyama Y, Fujita H, Handa M, Tomiyama Y, Shimodaira S, Kurata Y, Takamoto S: Incidence of transfusion-related adverse reactions per patient reflects the potential risk of transfusion therapy in Japan. Am J Clin Pathol, 140; 219-224, 2013.
- 2) 倉田義之: 抗血小板抗体。臨床検査ガイド 2013～2014。P690-691、文光堂

2. 学会発表

- 1) 宮川義隆、菊池佳代子、藤村欣吾、富山佳昭、倉田義之、岡本真一郎、桑名正隆、阿部貴行、村田 満、佐藤裕司、金倉 譲、池田康夫：特発性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの医師主導治験の調整管理研究。第75回日本血液学会学術集会一般演題。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表 1 . 新規申請症例数

	急性型	男	女
症例数	3,235	1,274	1,961
10 万人あたり	2.79	2.25	3.30
推計症例数	3,567	1,402	2,166

表 2 . 病型別の症例数（新規症例）

	急性型	男	女	慢性型	男	女	型不明
症例数	1,022	466	556	2,092	753	1,339	121
10 万人あたり	0.88	0.82	0.94	1.80	1.33	2.25	0.10
推計症例数	1,127	513	614	2,306	829	1,479	133

表 3 . 新規申請症例数の推移

年度(平成)	17	18	19	20	21	22	23
登録患者数	2,204	1,865	1,955	2,025	2,631	2,695	3,235
推定患者数	3,107	2,405	2,776	3,220	3,075	2,933	3,567

表 4 . 更新申請症例数

	全症例	男	女
症例数	16,894	5,005	11,889
10 万人あたり	15.02	9.13	20.64
推計症例数	19,201	5,676	13,541

表 5 . 病型別の症例数（更新症例）

	急性型	男	女	慢性型	男	女	型不明
症例数	1,425	540	885	14993	4,337	10,656	476
10 万人あたり	1.27	0.98	1.54	13.33	7.91	18.50	0.42
推計症例数	1,620	612	1,008	17,040	4,918	12,136	541

表 6 . 更新症例数の推移

年度（平成）	17	18	19	20	21	22	23
登録患者数	11,971	9,764	8,045	10,009	16,416	13,282	16,894
推定患者数	17,708	16,873	18,994	20,285	17,966	18,407	19,201

表 7 . 身体障害者手帳の有無

	あり	なし	記載なし
新規・急性型	51	862	109
新規・慢性型	80	1,754	158
更新・急性型	103	1,178	144
更新・慢性型	924	12,438	1,630

表 8 . 介護認定の有無

	要介護	要支援	なし	記載なし
新規・急性型	52	22	834	114
新規・慢性型	67	31	1,707	287
更新・急性型	116	42	1,109	158
更新・慢性型	713	383	12,139	1,757

表 9 . 日常生活不自由度

	正常	やや不自由	部分介護	全面介護	記載なし
新規・急性型	625	204	85	42	66
新規・慢性型	1,383	355	135	37	182
更新・急性型	869	283	117	29	127
更新・慢性型	9,747	2,802	770	161	1,512

表 1 0 . 生活状況

	就労	就学	家事	在宅	入院	入所	その他
新規・急性型	226	40	258	127	256	16	35
新規・慢性型	674	60	669	267	211	27	32
更新・急性型	356	56	471	317	57	19	33
更新・慢性型	4,471	507	5,620	2,314	212	156	189

表 1 1 . 受診状況

	入院	入院・通院	通院	入通院なし	その他
新規・急性型	512	132	278	36	9
新規・慢性型	388	180	1,315	22	19
更新・急性型	62	134	1,103	5	17
更新・慢性型	151	384	13,024	32	207

表 1 2 . 特殊検査の実施率

	骨髄検査	PAIgG	抗血小板自己 抗体検査	網状血小板 検査
新規・急性型	90.0	56.4	6.1	14.3
新規・慢性型	87.0	64.6	5.4	11.1

表 1 3 . 特殊検査実施率の年度別推移

年度 (平成)	新規・急性型				新規・慢性型			
	骨髄 検査	PAI g G	自己 抗体	網状 血小板	骨髄 検査	PAI g G	自己 抗体	網状 血小板
17	98.3	43.0	2.8	3.2	98.6	60.0	4.4	2.1
18	87.3	43.1	2.2	2.6	90	62.4	2.0	3.8
19	96.7	56.3	3.1	4.1	95.8	68.6	4.9	4.4
20	88.7	57.4	3.1	7.1	87.7	69.4	3.8	5.8
21	89.3	62.7	6.6	7.6	86.3	66.5	6.1	6.7
22	90.0	63.8	5.0	14.5	86.7	67.4	6.7	10.7
23	90.0	56.4	6.1	14.3	87.0	64.6	5.4	11.1

表 1 4 . その他の薬剤の使用状況

	レボレード	ロミプレート	リツキサン	セファラン チン	V C	加味帰脾湯
新規・急性型	24	9	2	1	0	0
新規・慢性型	103	25	2	18	16	7
更新・急性型	28	5	3	16	3	9
更新・慢性型	510	78	22	402	324	128

表 1 5 . その他の薬剤の年度別推移

年度 (平成)	レボレード	ロミプレート	リツキサン	セファラン チン	V C	加味帰脾湯
21	0	11	22	492	442	152
22	11	30	28	376	321	135
23	665	117	29	437	343	144

表 1 6 . この 1 年間の臨床経過 (更新症例)

	治癒	軽快	不変	徐々に悪化	急速に悪化	その他	記載なし
更新・急性型	49	780	476	40	23	23	34
更新・慢性型	82	3,021	10,529	777	200	260	123

表 1 7 . 難治症例の頻度

	症例数	%
更新・慢性型症例	14,992	100.0
血小板数 2 万未満	2,783	18.6
+ 出血症状あり	2,204	14.7
+ プレドニゾン治療あり	1,641	10.9
+ 摘脾済み症例	420	2.8

表 1 8 . 難治症例頻度（％）の年度別推移

年度（平成）	21	22	23
更新慢性型症例	100	100	100
うち血小板 2 万未満	19.2	21.2	18.6
うち出血症状あり	15.4	16.8	14.7
うちプレドニンあり	11.4	12.3	10.9
うち摘脾済み症例 （難治症例）	2.5	2.6	2.8

図1. 年齢分布（新規・急性型）

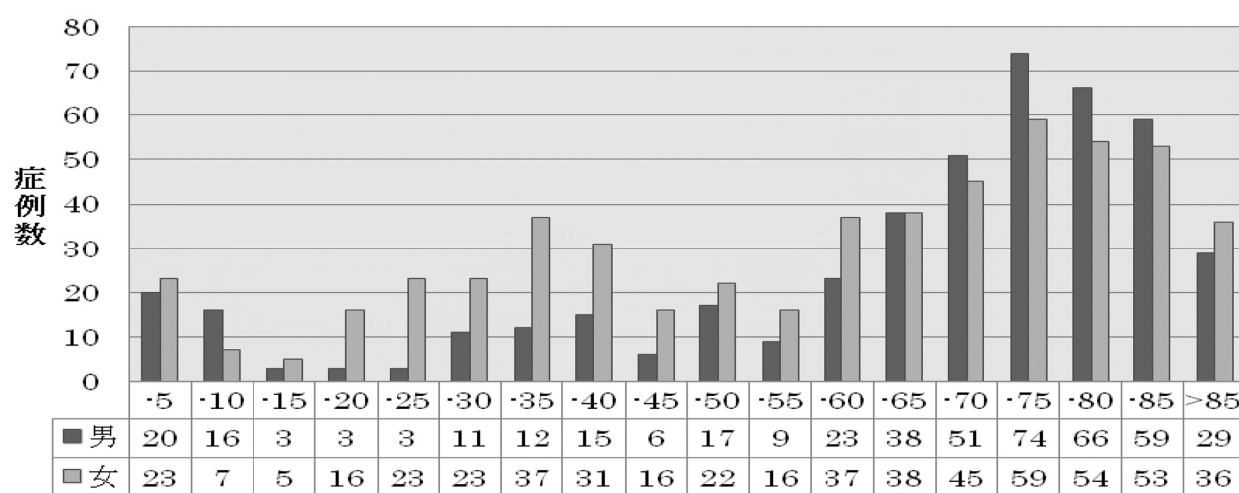


図2. 年齢分布（新規・慢性型）

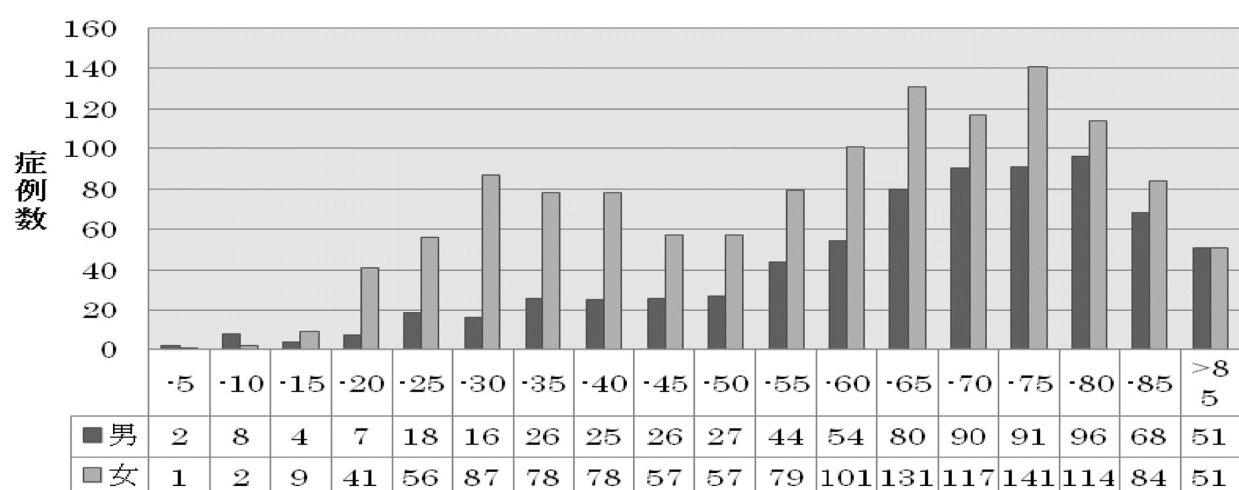


図3. 年齢分布（更新・慢性型）

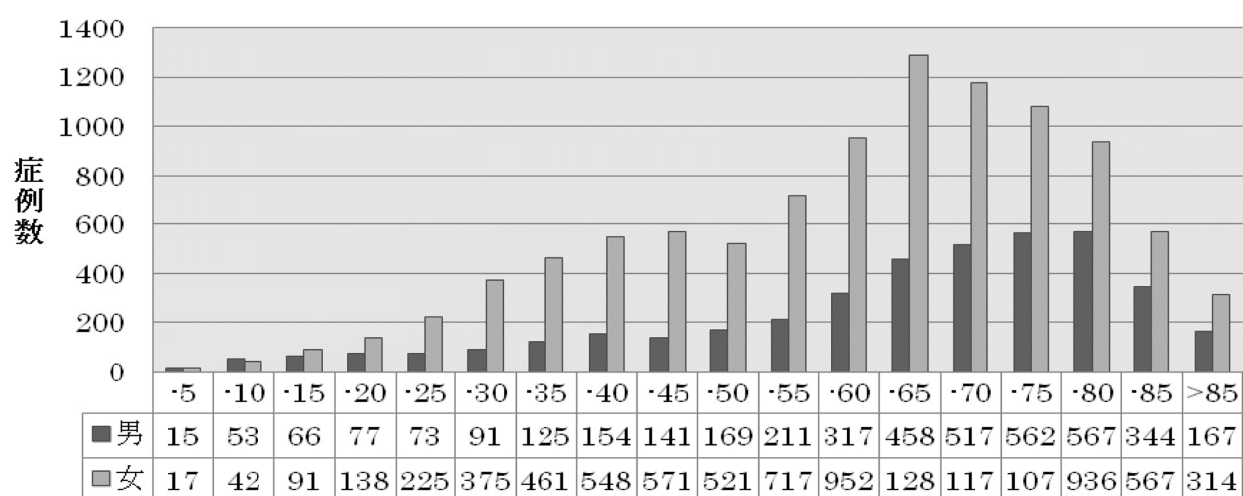


図4. 出血症状（新規・急性型）

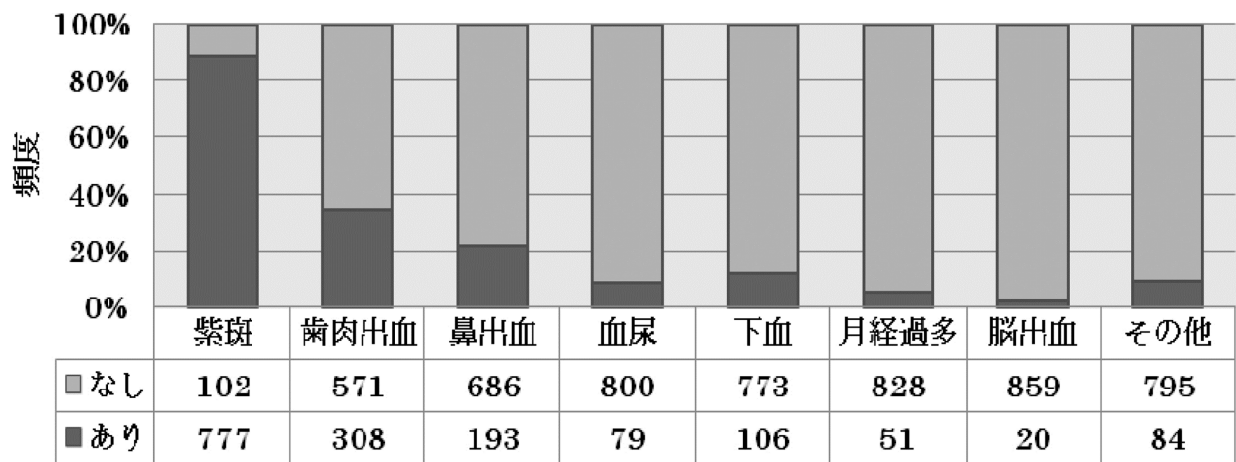


図5. 出血症状（新規・慢性型）

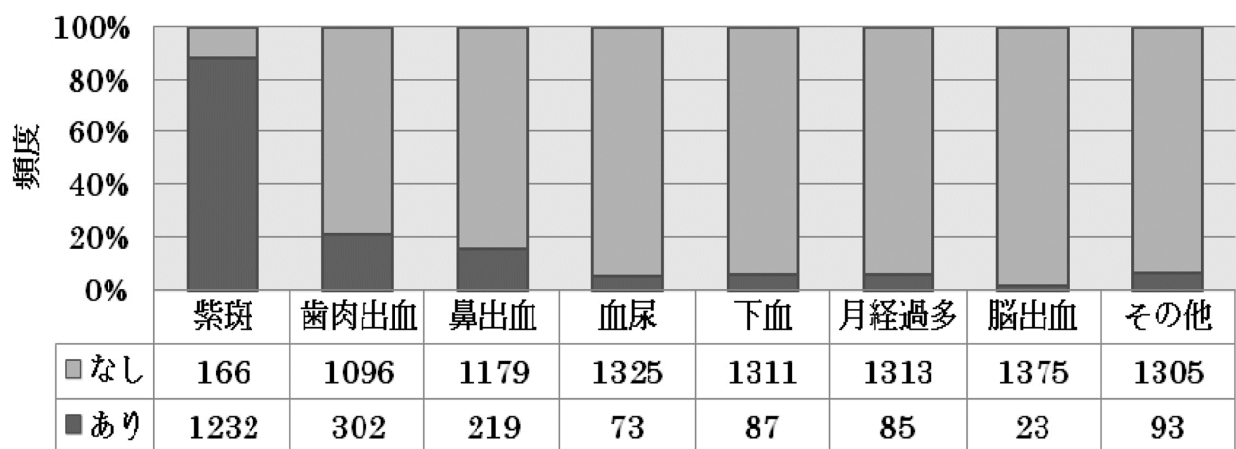


図6. 出血症状（更新・慢性型）

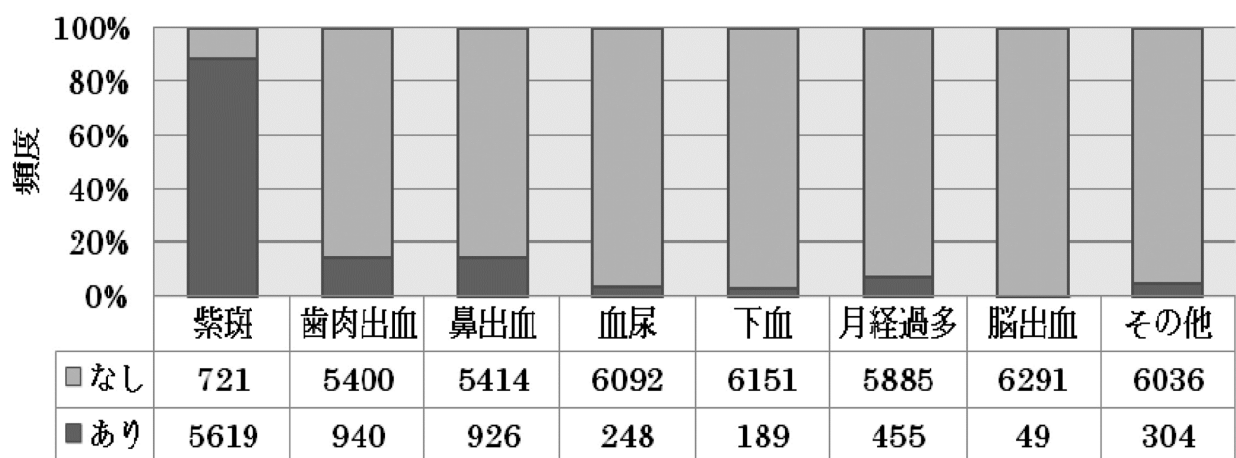


図 7. 血小板数

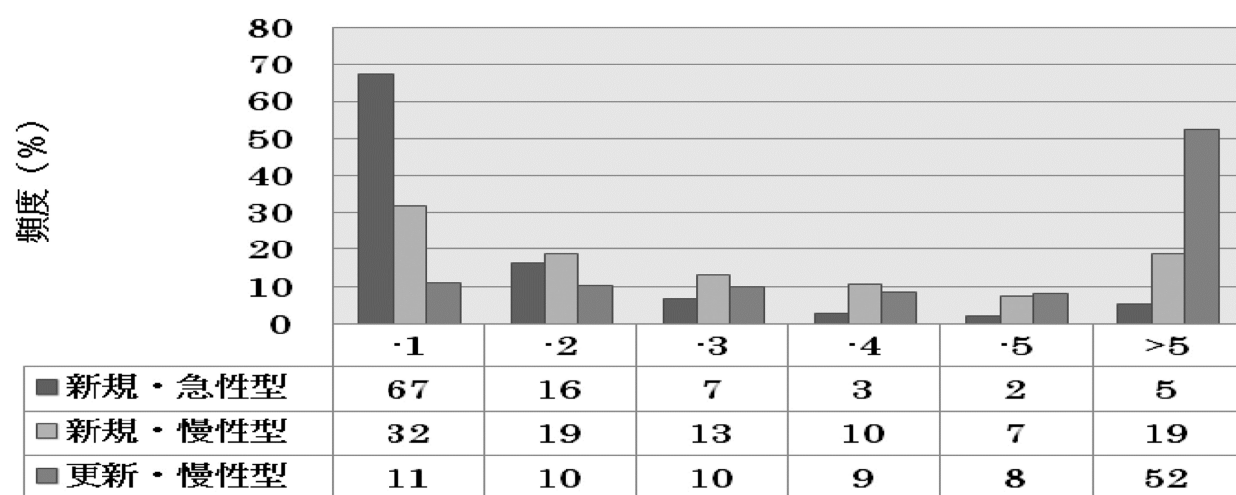


図 8. 治療（新規・急性型）

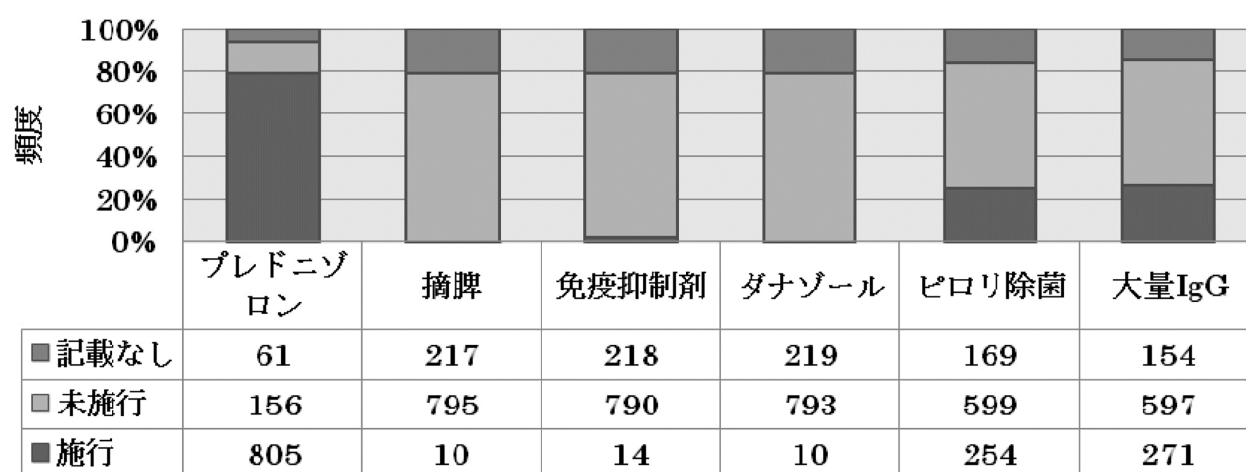


図 9. 治療（新規・慢性型）

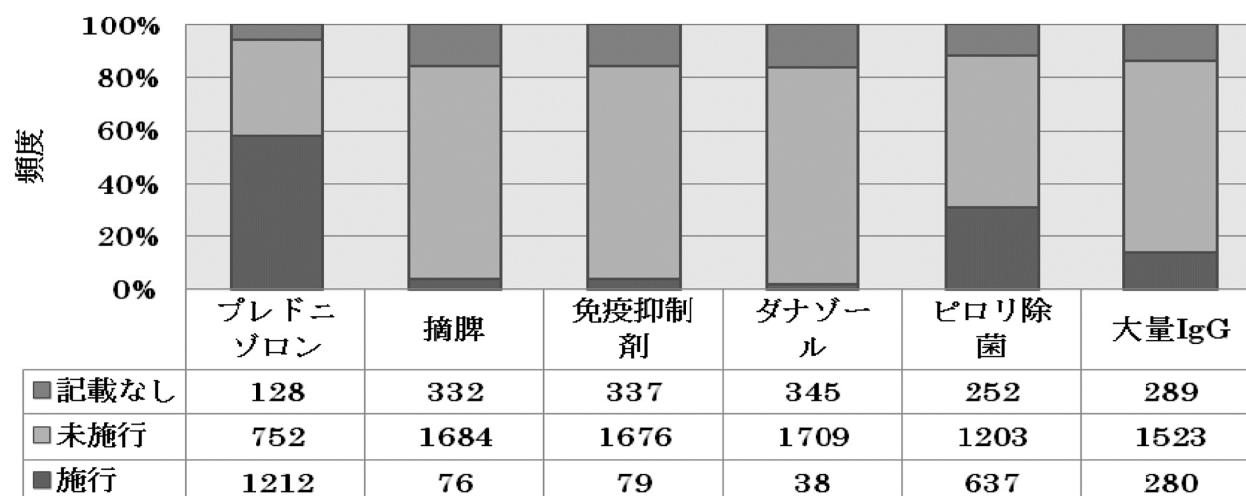


図 10. ピロリ除菌率の年度別推移

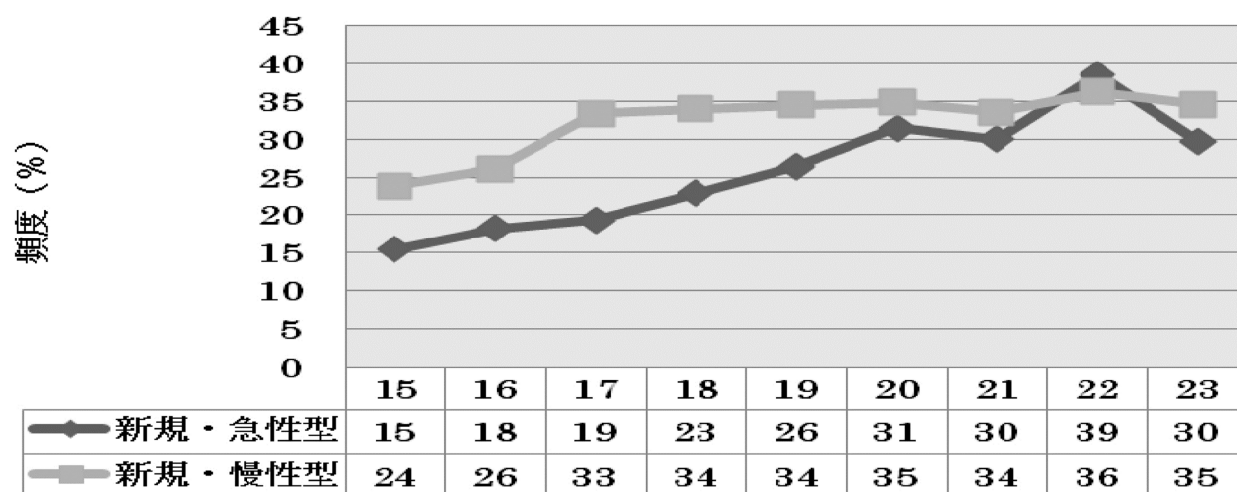


図 11. この1年間の治療（更新・慢性型）

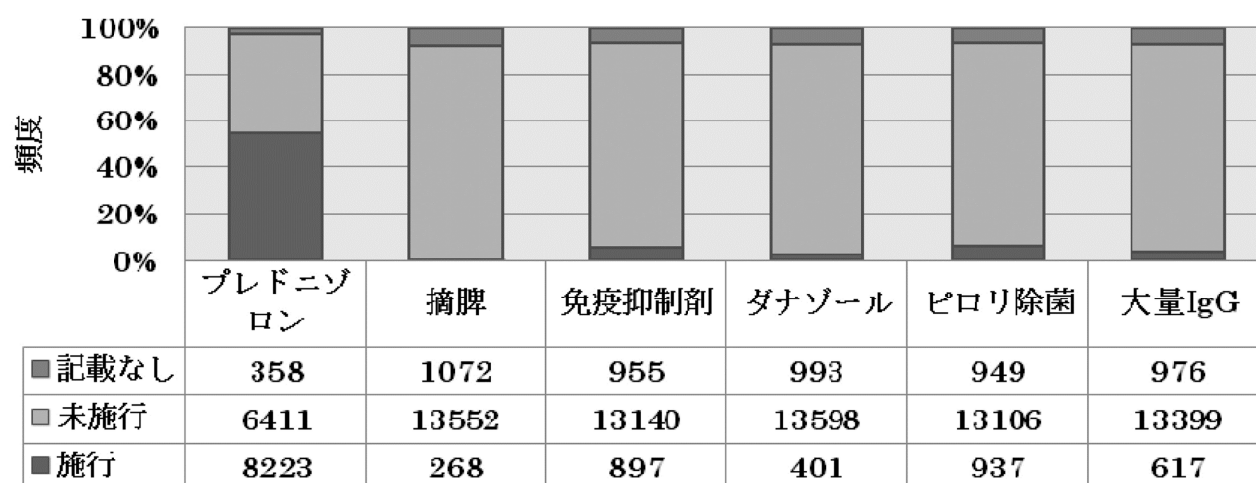


図 12. 全経過での治療（更新・慢性型）

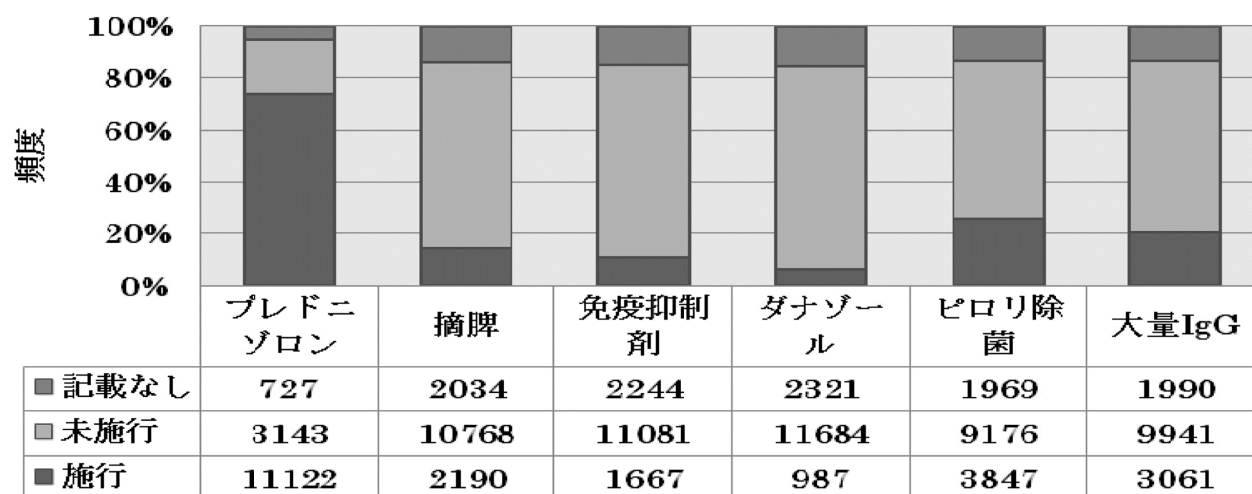


図 1 3. 罹病期間（更新・慢性型）

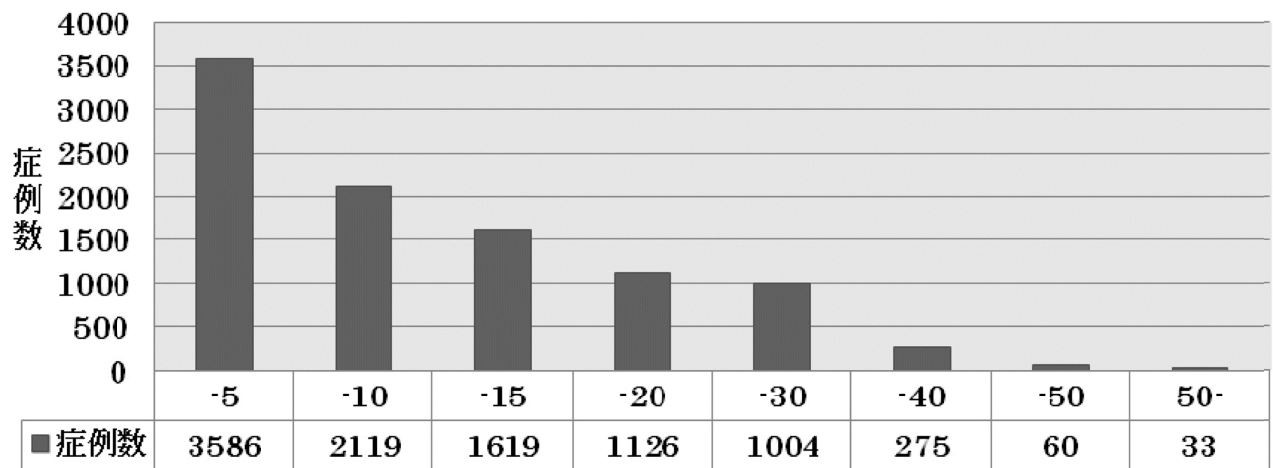


図 1 4. 合併症（更新・慢性型）

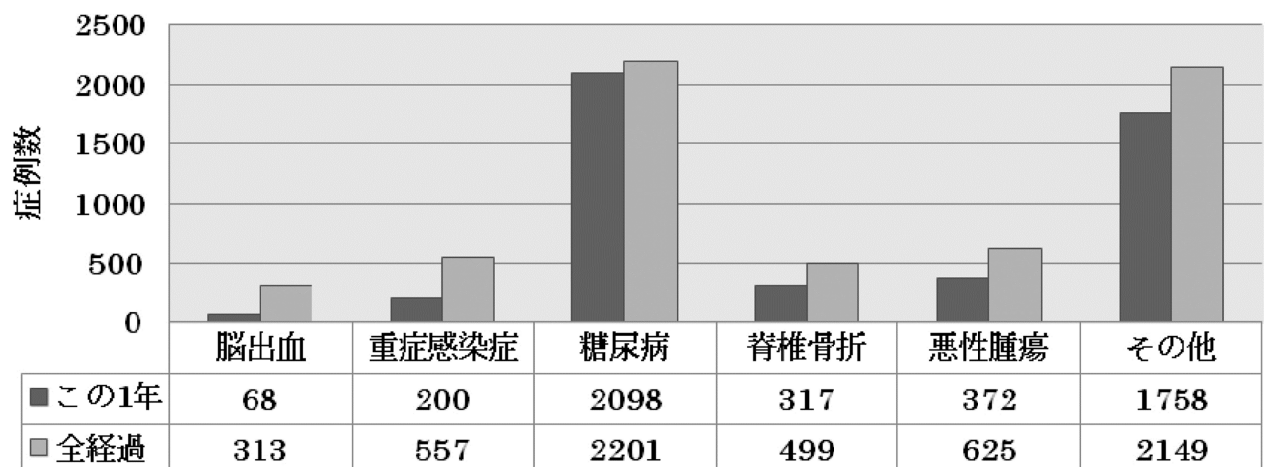
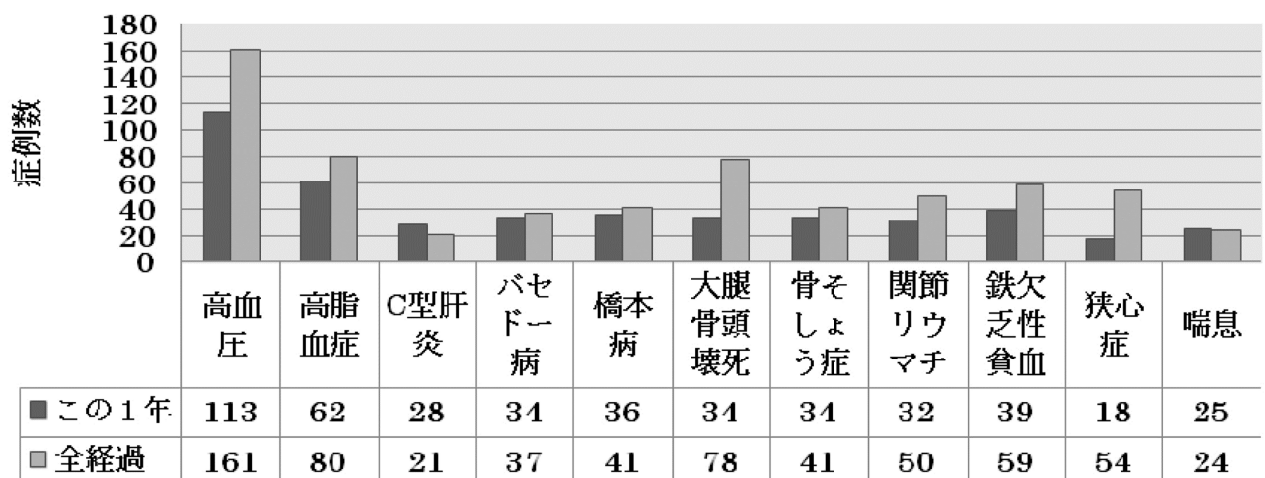


図 1 5. その他の合併症（更新・慢性型）



モデルマウスを用いたITPの根治的治療法の開発

研究分担者 桑名 正隆 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 准教授

研究協力者 西本 哲也 慶應義塾大学医学部リウマチ内科 研究員

研究要旨

私たちはこれまで制御性 T 細胞 (Treg) 欠損マウスの約 35% が抗 GPIb 抗体産生による ITP 病態を自然発症することを報告した。そこで、ITP に対する新たな治療として抗 CD154 抗体を用いた免疫寛容導入療法に着目し、本モデルマウスを用いた検討を予定した。理論的に副刺激遮断は抗原曝露時に最大の効果が得られることから、トロンボポエチン (TP0) 投与後の血小板増加時に抗 CD154 抗体を投与するプロトコルを立案した。予備実験では、予想に反して TP0 投与のみで血小板が長期に渡って増加した。そこで、TP0 投与が ITP 病態に及ぼす効果とそのメカニズムについて検討するため、ITP マウスに TP0 または溶解液のみを 5 日間連日静脈内投与し、血小板数、GPIb 反応性 CD4⁺T 細胞の抗原特異的な増殖反応を 4 週間以上に渡って観察した。さらに、血小板増加に伴い Treg が誘導された可能性を検証するため、脾細胞における Treg 比率、血漿中 TGF- β 濃度を測定した。TP0 投与マウスでは血小板数の持続的な回復が再現された。TP0 投与マウスの脾細胞では GPIb 反応性 T 細胞の増殖反応の抑制と CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺Treg 比率の増加がみられ、その機序として TGF- β による Treg 誘導促進が想定された。以上の結果から、TP0 投与は血小板産生促進だけでなく Treg 分化誘導を介して ITP の自己免疫病態を是正する可能性ある。本作用メカニズムは免疫寛容を誘導する ITP の根治的治療法の開発に応用可能である。また、ITP モデルマウスは新規治療法の開発にきわめて有用であることが確認された。

A . 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は血小板膜糖蛋白に対する自己抗体の産生により血小板の破壊が亢進し、血小板減少をきたす自己免疫疾患である。私たちはこれまで BALB/c ヌードマウスに同系マウス由来 CD4⁺CD25⁺細胞を移入することで作製した制御性 T 細胞 (Treg) 欠損マウスの約 35% が ITP 病態を自然発症することを報告した。昨年度までの本研究班で本 ITP モデルマウスの抗血小板自己抗体の

主な対応抗原は GPIb で、Th1 の免疫環境の関与、GPIb 反応性 CD4⁺T 細胞の活性化を報告してきた。これら自己免疫病態は ITP 患者を対象とした報告と類似性が高く、本モデルは ITP に対する新たな治療法開発にきわめて有用なツールとなる可能性が高い。

そこで、今年度は ITP に対する新たな治療として抗 CD154 抗体を用いた免疫寛容導入療法に着目し、本モデルマウスを用いた検討を予定した。わが国で実施さ

れたヒト化抗 CD154 抗体(トラリズマブ)単回投与の第 相臨床試験では高用量群で一過性の血小板増加が観察された。血小板抗原 GPIIb/IIIa に対する T 細胞、B 細胞の免疫応答は抑制されたが、その効果は一過性で免疫寛容の誘導には至らなかった。理論的に CD154 や CD28 を介した副刺激遮断は抗原曝露時に最大の効果が得られることから、トロンボポエチン (TP0) 投与後の血小板増加時に抗 CD154 抗体を投与するプロトコルを立案した。予備実験では、予想に反して TP0 投与のみで血小板増加が長期に渡って持続した。そこで、本年度は TP0 投与が ITP 病態に及ぼす効果とそのメカニズムについて検討した。

B . 研究方法

1.Treg 欠損マウスの作製

BALB/c マウス(雌、8~11 週齢、日本チャールス・リバー)から脾臓を採取後、比重遠心法により単核球を採取した。さらに磁気細胞分離により回収した CD4⁺CD25⁻細胞(2×10^7 個)を BALB/c ヌードマウス(雌、6~8 週齢、日本チャールス・リバー)に移植することで Treg 欠損マウスを作製した。

2.Treg 欠損マウスの ITP 病態評価

マウス眼窩静脈より採血した末梢血を FITC 標識抗マウス CD41 抗体(clone; MWReg30)と反応させた後、FLOW-COUNT® Fluorospheres(定量用マイクロビーズ)を加え、フローサイトメトリーを用いて、CD41⁺細胞と FLOW-COUNT® Fluorospheres との比により血小板数を測定した。血小板数が正常値の 30%以下のマウスを ITP

マウスと定義した。

3. ITP マウスに対する TP0 の治療効果

ITP マウスに対してリコンビナントマウス TP0(300ng)または PBS を尾静脈より 5 日間連続投与した(各群 n=6)。

4.GPIb 反応性 T 細胞の検出

TP0 または PBS を投与した ITP マウスから脾臓を採取し、比重遠心法により脾細胞単核球を回収した。抗原として maltose-binding protein (MBP) との融合蛋白として大腸菌で発現、精製した GPIb 全長をカバーする 5 つのペプチド(□1~□5)を用いた。96 well プレートに 2×10^5 /well で脾細胞を播種した後、GPIb ペプチド(□1~□5)、MBP を加え(最終濃度:10□g/mL)、CO₂ インキュベーター内で 37 °C、5% CO₂、加湿条件下で 7 日間培養した。その際、培養終了 16 時間前に [³H] 標識 Thymidine (37kBq/well) を添加した。培養終了後、96 well フィルタープレートを用いて細胞を回収し、マイクロプレートシンチレーションカウンターにより各 well の放射線量を測定した。また、T 細胞増殖の陽性コントロールとして phytohaemagglutinin (PHA) 存在下(最終濃度 5□g/mL)で 5 日間培養をおこない、同様に放射線量を測定した。全ての実験は同一条件につき各 3well ずつで検討し平均を求めた。各抗原ペプチドに対する反応性は Stimulation Index (SI) (GPIb ペプチド(□1~□5)刺激時の放射線量/MBP 刺激時の放射線量)として求めた。PHA に対する反応性は PHA 刺激時の放射線量/無刺激時の放射線量で算出した。SI 値が 2 以上を有意な反応と定義した。

5.脾細胞中の Treg 存在比率の検出

TP0 または PBS を投与した ITP マウスから回収した脾細胞を抗 CD4 抗体 (clone GK1.5; BD Biosciences) 抗 CD25 抗体 (clone 7D4; BD Biosciences) で染色後、抗 Foxp3 抗体 (clone FJK-16s; eBioscience) で細胞内染色をおこない、フローサイトメトリーを用いて解析した。

6. 血漿中 TGF- β 濃度の測定

TP0 または PBS 投与前後の ITP マウス、血小板非減少マウスから採血して遠心分離により血漿を回収した。血漿中 TGF- β 濃度は luminex assay (Life Technologies) を用いて測定した。

7. 統計学的解析

各群間の比較には Mann-Whitney U test を用いた。

(倫理面に対する配慮)

本研究はマウスを用いた動物実験を含むため、文部科学省の指針に沿った学内の委員会での承認を受けた。

C . 研究結果

TP0 を投与したマウスは投与 1 週間後から血小板数が徐々に増加し、4 週前後で一旦減少傾向となったが、その後さらに上昇して正常マウスのレベルまで回復した。6 週間以上の観察期間内に減少したマウスはなかった。一方、PBS 投与群では血小板数は低値のまま変動しなかった。脾細胞を用いて GPIb 反応性 T 細胞を検出したところ、PBS 投与 ITP マウスからは GPIb 断片の複数のリコンビナントに対する T 細胞増殖反応が検出されたのに対し (5/7) TP0 投与 ITP マウスでは T 細胞の特異的反応は観察されなかった (0/3)。さらに、TP0 投与 ITP マウスの脾細胞では

CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺ のフェノタイプを有する Treg の比率が PBS 投与 ITP マウスと比較して有意に増加していた ($16.0\% \pm 1.6\%$ vs $7.7\% \pm 5.8\%$, $p < 0.05$)。末梢誘導性 Treg の分化誘導因子の一つである TGF- β の血漿中濃度を測定したところ、TP0 投与マウスでは投与前と比較して有意に増加していた ($0.5 \text{ pg/ml} \pm 0.2 \text{ pg/ml}$ vs $3.1 \text{ pg/ml} \pm 4.7 \text{ pg/ml}$, $p < 0.05$)。一方、PBS 投与群では低値のままで変化はみられなかった。

D . 考察

ITP モデルマウスを用いた検討により、TP0 投与が持続的な血小板回復を誘導することが示された。そのメカニズムとして血小板産生促進のみならず自己免疫病態を改善している可能性が想定された。

TP0 投与 ITP マウスで

CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺Treg 比率が増加していたことから、それらが GPIb に対する自己反応性 T 細胞の抑制に働く可能性がある。Treg 欠損マウス作成時の移入細胞中には Foxp3⁺細胞は存在しないため、TP0 投与により増加した Treg はエフェクター T 細胞から分化した末梢誘導性 Treg と考えられる。末梢誘導性 Treg の分化には TGF- β の存在が必要なことから、TP0 投与により増加した血小板から放出された TGF- β が誘導を促進したと考えられる。このような作用メカニズムで血小板自己抗原に対する免疫寛容が誘導できれば ITP の根治的治療法になりえる。

TP0 受容体作動薬 (ロミプロスチム、エルトロンボパグ) 投与例の一部で、投薬中止後も血小板回復が持続することが報告されている。しかし、その機序はいま

だ明らかでない。エルトロンボパグ投与下では末梢血中の CD4⁺CD25^{high}Foxp3⁺Treg の増加はみられないが、免疫制御能が向上することが報告されている。したがって、TP0 受容体作動薬自身または血小板産生刺激を介して Treg の分化や機能に影響を及ぼす可能性は十分に考えられる。ただし、TP0 受容体作動薬中止後の血小板回復持続が観察される頻度は 5%以下と少ない。したがって、血小板回復持続効果のメカニズムを追究し、さらにそのプロセスを促進する人為的操作を加えることで有効率の向上できる可能性がある。本来は対症療法薬としての位置づけである TP0 受容体作動薬の免疫応答に対する新たな作用機序が解明されれば、長期投与による有害事象（骨髄線維化など）の懸念が払拭されるだけでなく、医療費の大幅な削減にもつながる。

E . 結論

ITP において TP0 投与が末梢誘導性 Treg の誘導を介して自己免疫病態を改善する可能性が示された。ITP モデルマウスは新規治療法の開発にきわめて有用である。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

論文発表

- 1) 桑名正隆：自己免疫疾患・アレルギー疾患（後篇）それぞれの疾患の理解；免疫性血小板減少症．最新医学 68(6, suppl)：1362-1370, 2013.

- 2) Satoh T, Miyazaki K, Shimohira A, Amano N, Okazaki Y, Nishimoto T, Akahoshi T, Munekata S, Kanoh Y, Ikeda Y, Higashihara M, Takahashi S, and Kuwana M. Fcγ receptor IIB gene polymorphism in adult Japanese patients with primary immune thrombocytopenia (letter). *Blood*. 2013; 122(11): 1991-1992.
- 3) Kuwana M. *Helicobacter pylori*-associated immune thrombocytopenia: clinical features and pathogenic mechanisms. *World J. Gastroenterol*. 2014; 20(3): 714-723.
- 4) Kuwana M, Okazaki Y, and Ikeda Y. Detection of circulating B cells producing anti-GPIb autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia. *PLoS One*. 2014; 9(1): e86943.
- 5) Kuwana M. Dysregulated negative immune regulators in immune thrombocytopenia. *ISBT Sci. Ser*. In press.

学会発表

- 1) Kuwana M, Okazaki Y, Ikeda Y: Detection of circulating B cells producing anti-GPIb autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia. International Society on Thrombosis and Haemostasis 2013 (Amsterdam). 2013. 7.

- 2) 桑名正隆: 特別講演; ITP に関する
最近の話題. 第 57 回日本輸血・細胞
治療学会北海道支部例会 (札幌).
2013. 11.

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

TMA サブグループ研究報告

グループリーダー：	藤村 吉博	奈良県立医科大学輸血部 教授
班員：	和田 英夫	三重大学医学部臨床検査医学 准教授
	小亀 浩市	国立循環器病センター研究所 室長
研究協力者：	森木 隆典	慶應義塾大学保健管理センター 准教授
	日笠 聡	兵庫医科大学血液内科 講師
	上田 恭典	倉敷中央病院 血液内科 部長
	宮田 敏行	国立循環器病センター研究所 部長
	宮川 義隆	埼玉医科大学医学部 総合診療内科 教授
	松本 雅則	奈良県立医科大学輸血部 准教授

グループ総括

研究分担者：藤村 吉博

研究要旨

我々は、血栓性微小血管障害症(TMA)の病態解析と治療法の開発を行うため、日本国内の TMA の集積を 1998 年から続行し、2013 年 12 月末で 1251 例となった。この中から先天性 TMA として Upshaw-Schulman 症候群(USS)を 52 例発見し、49 例で ADAMTS13 遺伝子解析を行った。USS の特徴的な症状とされる新生児期重症黄疸を認める症例は 40%に過ぎず、先天性疾患でありながら成人になって診断される成人発症型が多数存在することを発見した。成人発症型のうち、USS 診断前に妊娠した症例が 13 例あり、母児ともに予後不良であった。そこで、今年度は、USS と診断された患者の妊娠時の管理ガイドラインを作成するため、新鮮凍結血漿 (FFP) の積極投与により出産に成功した 4 回の妊娠について解析した。

USS 患者の妊娠時の TTP 発作は妊娠 20 週以降に認められ、これは妊娠後期に von Willebrand 因子が妊娠前の 2-3 倍に上昇することが原因と考えられた。そのため、妊娠時の FFP 投与は、妊娠が進むに従い、投与量と投与回数を増やすプロトコルを計画し、4 回の分娩に成功した。また、FFP に加えて低容量アスピリン内服を 2 例に追加したが、アスピリン内服をしていない新生児に比べて明らかに出生児体重が大きく、アスピリン内服が有効である可能性が高いと考えられる。これは、胎盤の微小血管に血小板血栓が形成されることを防止する効果があるものと考えられた。今後、USS の妊娠管理ガイドラインの作成のために、症例数を増やし、経験を重ねることが重要であると考えられた。

A . 研究の目的

血栓性微小血管障害症 (TMA) グループの目標は、TMA および血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の病態解析と治療法の開発を基礎と臨床の両面から行うことである。

B . 研究方法

平成 25 年度は、グループ全体として下記を重点的に行った。

- 1) TMA 症例の集積
- 2) USS の妊娠時の管理方法の検討
- 3) リツキシマブの TTP への保険適用拡大

4) ADAMTS13 体外診断薬の開発

個別には以下の研究を行った。

分担研究者

藤村吉博 (松本雅則)

- 1) 奈良医大輸血部 TMA データベースの個別解析 (継続)
- 2) USS の妊娠時の管理方法の検討
- 3) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

和田英夫

- 1) 三重県内における TMA 症例の調査・研究の継続

2) 非典型HUSにおける補体活性化マーカーの検討

小亀浩市（宮田敏行）

1) Upshaw-Schulman症候群（USS）患者の遺伝子解析（継続）

2) USS 患者の未解決症例の重点的解析

研究協力者

森木隆典

後天性 TTP における抗 ADAMTS13 自己抗体の定量的測定

日笠聡

新規TMA患者の集積

上田恭典

リツキシマブのTTPへの保険適応拡大と症例集積

宮川義隆

リツキシマブのTTPへの保険適用拡大とADAMTS13体外診断薬の開発

（倫理面への配慮）

検体採取に際しては、主治医より十分な説明を行い、同意を得た。

C . 研究成果

1) 本邦 TMA 1251 例のデータベース

2013 年 12 月までに日本国内の医療機関から ADAMTS13 解析を依頼された TMA 症例は 1251 例となった。詳細は表 1 に示すが、この症例数は、世界でも類を見ないデータベースである。

2) TTP の診断基準の作成

昨年度 TTP 診断基準案を作成したが、

この診断基準について国際的な基準との整合性を保つため、2013 年 11 月に英国の TTP 診断基準作成責任者 Scully 先生を日本にお招きし、当研究班の診断基準作成委員会と意見交換を行った。今後、この診断基準について修正を行い、日本血液学会に提出して承認後に、公表する予定である。

3) USS の遺伝子解析と genotype-phenotype 解析

現在までに 46 家系 52 例の USS を日本国内で発見し、49 例について ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。そのうち、9 例がホモ接合体変異、40 例が複合ヘテロ接合体変異であった。また、典型的な USS と考えられる新生児重症黄疸を認める症例は、わずか 20 例（38%）であることを確認した。

4) USS 患者の妊娠時の管理

我々のデータベースの中で、USS 患者 15 例で 26 回の妊娠を経験した。そのうち、13 例が USS と診断される前に妊娠を経験した。これら 13 例で計 22 回の妊娠を認め、そのうち 13 例の胎児が死亡し、母体死亡も 1 例認めている。以上のように USS 診断前の妊娠は母児ともに非常に危険である。

USS と診断後に新鮮凍結血漿（FFP）を定期的に補充し、分娩管理に成功した 3 症例、4 回の妊娠を経験した。表 1 に症例の詳細を示す。USS G-3 は、14 歳時に遺伝子解析にて USS と確定診断された。20 才以降に通院が不定期になり、FFP の定期輸注は受けていなかった。21 歳時に自然

流産した。22 歳時に 2 度目の妊娠が判明し、図 1 の上段に示すように FFP の定期投与を 5 ml/kg、2 週毎に行った。妊娠 29 週以降 1 週毎とし、最終的には FFP 7ml/kg を投与し、妊娠 35 週で女児を出産した。出生時体重 1446g と低出生体重児であった。24 歳時の 3 度目の妊娠時には同様の FFP 輸注プロトコルに加え、低容量アスピリン内服 100mg/日を妊娠 12-28 週に行った。その結果、妊娠 37 週に 2632g の男児を出産した。

USS K-4 は、25 歳時に 1 回目の妊娠をし、妊娠 20 週で USS と判明後、FFP の定期輸注を行いながら、妊娠 29 週で出産となっている。今回、USS と診断後の 30 歳時に 2 度目の妊娠が判明し、図 1 の 3 段目のような FFP 輸注を行ったが、3ml/kg と投与量は少なかった。妊娠 30 週に 1522g の低出生体重時の女児を出産した。

USS LL-4 は、27 才時に遺伝子検査にて USS と診断された。28 歳時に 1 度目の妊娠が判明したが、USS によるリスクを考慮して中絶した。30 歳時に 2 度目の妊娠となったため、妊娠 9 週から FFP 5ml/kg で 2 週毎に定期投与を開始した。11 週から 7ml/kg に増量したが、本症例では FFP 輸注前後の ADAMTS13 活性を経時的にモニターした。妊娠 17 週目に上気道炎を罹患し、血小板減少を認めたため、FFP 輸注を毎週とした。妊娠 32 週から 9ml/kg とし妊娠 37 週で帝王切開にて、3474g の女児を出産した。本症例も、低容量アスピリン内服（100mg/日）を 9-34 週まで継続した。ADAMTS13 活性は、FFP 輸注前は 3-5%、輸注後は 10%前後を維持した。

5) 後天性 TTP における inhibitor boosting

後天性 TTP で血漿交換を行い、それに不応、もしくは早期に再発する症例が存在する。このような症例で血漿交換治療中に ADAMTS13 インヒビターが急上昇している症例が存在し、我々は inhibitor boosting と呼んでいる。我々の集計では、ADAMTS13 著減例の 42% に inhibitor boosting を認めた。

6) 難治性、再発性 TTP に対するリツキシマブの医師主導治験の開始

TTP に対するリツキシマブの保険適用取得のため、新たに厚生労働科学研究班を組織し、2016 年 1 月より医師主導治験を開始予定である。この治験は、本研究班のメンバーが主体となり、現在まで本研究班で蓄積してきた成果を基に実施する。

D. 考察

TMAサブグループの主たる活動として、TMAの集積がある。2013年12月末までに、日本全国の医療機関からの依頼により解析したTMAの症例数は、1251例となった。この症例数は、海外のデータベースと比べても類を見ない大きさであり、日本国内のTTP,HUSの状況の把握には極めて重要な情報が含まれていると考えられる。

この中から、先天性TTPを52例発見したが、この症例数も世界で最大規模である。USSは、新生児期の重症黄疸という特徴的な症状があるが、わずか20例（38%）に過ぎないことが判明した。残りの症例の中には、成人になるまでUSSと診断されず、

先天性の疾患でありながら成人後に初めて診断されている症例が存在する（成人発症型USS）。成人発症型の中で、最も頻度が高いのが妊娠時に発症する症例である。USSと診断される前に妊娠した場合、流産となる可能性が高く、母体の死亡例も経験されており、母児ともに非常に危険である。そのため、小児期に血小板減少を認めた場合、一度はADAMTS13を測定することが重要であると考えられる。

従来USS患者の妊娠や出産に関しては、リスクを考えて積極的に推進されてこなかった。しかし、USS患者は、FFPの定期輸注の有無にかかわらず日常生活は全く問題がないことが多く、多くの場合で配偶者はwild typeであるため、児はヘテロ接合体異常でありUSSは発症しない。よって、FFPを十分に投与することで妊娠管理をすれば、妊娠維持が可能であることが予想された。現在までの経験から妊娠20週以降にTTP発作が起こっているが、これは妊娠後期にはVWFの抗原量が2-3倍に増加することによる。妊娠週数が進むにつれて、FFPの輸注量と回数を増やすプロトコルで4回の出産を成功させた。さらに、FFPのみでなく低容量のアスピリン内服を併用することで、出生時の体重が増加しており、有効である可能性が高い。これは、胎盤中の微小循環における血小板血栓形成を抑制しているものと考えられる。

E . 結論

日本国内の TMA を 1251 例集積し、USS を 52 例発見した。USS と診断される前の妊娠が 13 例存在し、母児ともに予後不良

であった。USS 患者の妊娠時の管理方法として、FFP の投与量を妊娠週数が進むに従い増加させるプロトコルで 4 回の分娩を成功させた。FFP に加えて、低容量アスピリン内服が有効である可能性があり、今後多数例での検討が必要であると考えている。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

論文発表

英文

- 1) Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Tomomori M, Miyagawa S, Fujimaru R, Yamada H, Sawai T, Ikeda Y, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Aizawa Y, Harada H, Wada H, Ishikawa E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y. Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. **Mol Immunol** 2013;54:238-246.
- 2) Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, Morio T, Imai K, Mitsuiki N, Ohara O, Komada Y. A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura. **Eur J Haematol**. 2013; 90:164-168.
- 3) Bennett CL, Jacob S, Dunn BL, Georgantopoulos P, Zheng XL, Kwaan HC, McKoy JM, Magwood JS, Bandarenko

- N, Winters JL, Raife TJ, Carey PM, Sarode R, Kiss JE, Danielson C, Ortel TL, Clark WF, Ablin R, Rock G, Matsumoto M, Fujimura Y. : Ticlopidine-associated ADAMTS13 activity deficient thrombotic thrombocytopenic purpura in 22 persons in Japan: A Report from the Southern Network on Adverse Reactions (SONAR). **Br J Haematol**. 2013;161:896-898.
- 4) Hori Y, Hayakawa M, Isonishi A, Soejima K, Matsumoto M, Fujimura Y. ADAMTS13 unbound to larger von Willebrand factor multimers in cryosupernatant: Implications for selection of plasma preparations for TTP treatment. **Transfusion**. 2013; 53 : 3192–3202
- 5) Tanaka H, Tenkumo C, Mori N, Kokame K, Fujimura Y, Hata T. A case of maternal and fetal deaths due to severe congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) during pregnancy. **J Obstet Gynaecol Res**. 2013;(Epub ahead of print).
- 6) Nishijima Y, Hirata H, Himeno A, Kida H, Matsumoto M, Takahashi R, Otani Y, Inoue K, Nagatomo I, Takeda Y, Kijima T, Tachibana I, Fujimura Y, Kumanogoh A. Drug-induced thrombotic thrombocytopenic purpura successfully treated with recombinant human soluble thrombomodulin. **Intern Med**. 2013 ;52:1111-1114.
- 7) Fukushima H, Nishio K, Asai H, Watanabe T, Seki T, Matsui H, Sugimoto M, Matsumoto M, Fujimura Y, Okuchi K. Ratio of von Willebrand Factor propeptide to ADAMTS13 is associated with severity of sepsis. **Shock**. 2013; 39: 409-414.
- 8) Morioka M, Matsumoto M, Saito M, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y. The first bout of TTP triggered by herpes simplex infection in a 45-year-old nonparous female with Upshaw-Schulman syndrome. **Blood Transfusion**. 2013; (Epub ahead of print).
- 9) Kawano N, Yokota-Ikeda N, Sugio Y, Yoshida S, Ono N, Kuriyama T, Yamashita K, Makino S, Inoue Y, Himeji D, Kodama K, Uezono S, Shimao Y, Matsumoto M, Iino H, Fujimura Y. Therapeutic modality of 11 patients with TTP: Experience in a single institution in Miyazaki during 2000–2011. **Internal Medicine**. 2013; 52: 1883-1891.
- 10) Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T. Limited renal prophylaxis in regular plasmatherapy for heritable ADAMTS13 deficiency. **Pediatric Blood & Cancer**. 2013; 60: 1557-1558.
- 11) Sawai T, Nangaku M, Ashida A, Fujimaru R, Hataya H, Hidaka Y, Kaname S, Okada H, Sato W, Yasuda T,

- Yoshida Y, Fujimura Y, Hattori M, Kagami S. Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the joint committee of the Japanese society of nephrology and the Japan pediatric society. **Clin Exp Nephrol**. (in press)
- 12) Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T.: Candidate gene analysis using genomic quantitative PCR: identification of ADAMTS13 large deletions in two patients with Upshaw-Schulman syndrome. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**. (in press).
- 13) Muroi C, Fujioka M, Mishima K, Irie K, Okuchi K, Fujimura Y, Nakano T, Fandino J, Keller E, Iwasaki K, Fujiwara M.: Effect of ADAMTS13 on cerebrovascular microthrombosis and neuronal injury after experimental subarachnoid hemorrhage. **J Thromb Hemostasis**. (in press)
- 14) Mansouri MT, von Krogh AS, Fujimura Y, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, Quist-Paulsen P, Schneppenheim R, Lämmle B, Kremer-Hovinga JA. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw- Schulman syndrome) and the hereditary TTP registry. **Hämostaseologie** .2013 ; 33 : 138-143.
- 15) Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y. ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japanese subjects. **Hämostaseologie**. 2013 ; 33 : 131-137.
- 16) Mise K, Ubara Y, Matsumoto M, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Ohashi K, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y, Takaichi K. Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years. **BMC Nephrol** 14; 156 :2013
- 17) Takahashi N, Wada H, Usui M, Kobayashi T, Habe-Ito N, Matsumoto T, Uemoto S, Nobori T, Isaji S: Behavior of ADAMTS13 and Von Willebrand factor levels in patients after living donor liver transplantation. **Thromb Res**. 2013; 131:225-229
- 18) Habe K, Wada H, Ito-Habe N, Suzuki H, Nobori T, Mizutani H : Two patients with antiphospholipid antibody developed disseminated intravascular coagulation. **Intern Med**. 2013; 52: 269-272
- 19) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Nobori T, Mizutani H.: Presence of antiphospholipid antibody is a risk factor in thrombotic events in patients with antiphospholipid syndrome or relevant diseases. **Int J Hematol**. 2013; 97: 345-350

- 20) Toyoda H, Azuma E, Kawasaki Y, Iwasa T, Ohashi H, Otsuki S, Iwamoto S, Hirayama M, Itoh-Habe N, Wada H, Kondo M, Keida Y, Ito T, Komada Y: Cord blood transplantation combined with rituximab for Wiskott-Aldrich syndrome with autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura. **J Allergy Clin Immunol**. 2013;132:226-227
- 21) Hasegawa M, Wada H, Wakabayashi H, Yoshida K, Miyamoto N, Asanuma K, Matsumoto T, Ohishi K, Shimokariya Y, Yamada N, Uchida A, Sudo A: The relationships among hemostatic markers, the withdrawal of fondaparinux due to a reduction in hemoglobin and deep vein thrombosis in Japanese patients undergoing major orthopedic surgery. **Clin Chim Acta**. 2013; 425: 109-113
- 22) Seki Y, Wada H, Kawasugi K, Okamoto K, Uchiyama T, Kushimoto S, Hatada T, Matsumoto T, Imai H; Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC Subcommittee A prospective analysis of disseminated intravascular coagulation in patients with infections. **Intern Med**. 2013;52:1893-1898.
- 23) Yamashita Y, Naitoh K, Wada H, Ikejiri M, Mastumoto T, Ohishi K, Hosaka Y, Nishikawa M, Katayama N: Elevated plasma levels of soluble platelet glycoprotein VI (GPVI) in patients with thrombotic microangiopathy. **Thromb Res**. 2013 (in press)
- 24) Wada H, Thachil J, Di Nisio M, Mathew P, Kurosawa S, Gando S, Kim HK, Nielsen JD, Dempfle CE, Levi M, Toh CH; The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis.: Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines. **J Thromb Haemost**. 2013; 11: 761-767
- 25) Gando S, Wada H, Tachil J; The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis (ISTH). Differentiating disseminated intravascular coagulation (DIC) with the fibrinolytic phenotype from coagulopathy of trauma and acute coagulopathy of trauma-shock (COT/ACOTS). **J Thromb Haemost**. 2013; 11:826-35
- 26) Wada H, Thachil J, Di Nisio M, Kurosawa S, Gando S, Toh CH; The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis.: Harmonized guidance for DIC from the ISTH and the current status of anticoagulant therapy in Japan: a rebuttal. **J Thromb Haemost**. 2013;11: 2078-9.

- 27) Akiyama M, Nakayama D, Takeda S, Kokame K, Takagi J, Miyata T. Crystal structure and enzymatic activity of an ADAMTS13 mutant with the East Asian-specific P475S polymorphism. **J Thromb Haemost** 2013;11: 1399-1406
 - 28) Takizawa Y, Kosuge Y, Awaji H, Tamura E, Takai A, Yanai T, Yamamoto R, Kokame K, Miyata T, Nakata R, Inoue H. Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), silent mating type information regulation 2 homologue 1 (SIRT1) and autophagy-related genes by repeated treatments with resveratrol in human umbilical vein endothelial cells. **Brit J Nutr** 2013; 110:2150-2155
 - 29) Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y. The Satb1 protein directs hematopoietic stem cell differentiation toward lymphoid lineages. **Immunity** 2013; 38: 1105-1115
 - 30) Shinozaki S, Chiba T, Kokame K, Miyata T, Kaneko E, Shimokado K. A deficiency of Herp, an endoplasmic reticulum stress protein, suppresses atherosclerosis in apoE knockout mice by attenuating inflammatory responses. **PLoS One** 2013; 8: e75249
 - 31) Bernasconi R, Galli C, Kokame K, Molinari M. Auto-adaptive ER-associated degradation defines a pre-emptive unfolded protein response pathway. **Mol Cell** 2013;52: 783-793
 - 32) Larkin J, Chen B, Shi XH, Mishima T, Kokame K, Barak Y, Sadovsky Y. NDRG1 deficiency attenuates fetal growth and the intrauterine response to hypoxic injury. **Endocrinology** (in press)
- 和文
- 1 . 岡政史、大塚泰史、稲田由紀子、佐藤忠司、吉田瑤子、藤村吉博、Fan Xinping、宮田敏行、濱崎雄平. 抗CFH抗体陽性およびCFHRI 遺伝子欠失を伴うDEAP-HUS の1 例. 日本小児腎臓病学会雑誌 26 : 109-115, 2013
 - 2 . 吉井由美、松村弥生、朴将源、上辻由里、安田考志、川瀬義夫、松本雅則、藤村吉博、魚嶋伸彦. リツキシマが奏効した標準治療抵抗性血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の1 例 リツキシマブ投与のタイミングについての考察 . 日本内科学会雑誌 102:147-149, 2013
 - 3 . 松本雅則, 藤村吉博. 後天性 TTP に対するリツキシマブ療法 Annual Review 血液 2013, 201-208 . 中外医学社 2013
 - 4 . 植村正人、高済峯、藤村吉博. 症例から学ぶ血栓症 肝移植後TMA/ADAMTS13 診断と治療のポイントとは ? Thrombosis Medicine.

- 3: 81-86. 先端医学社, 2013
5. 吉田瑤子、藤村吉博. 補体制御異常症関連 HUS の診断. 腎と透析. 74: 1103-1108, 2013
6. 八木秀男、藤村吉博、宮田敏行. TMA: 最新の病態. 腎と透析. 74: 1050-1054, 2013
7. 藤村吉博. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) と Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) ~ 病態解明と診断確定のための新たなマーカー ~. 日本血栓止血学会誌 24:680-684, 2013
8. 芦田明、吉田瑤子、範新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博. Atypical HUS における補体制御異常症診断システムの構築と腎移植. 日本臨床腎移植学会雑誌誌. 1:39-44, 2013
9. 藤村吉博、吉田瑤子、宮田敏行. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS). 臨床血液. 54: 1001-1010, 2013
10. 藤村吉博. TMA 病態に対する新鮮凍結血漿由来 ADAMTS13 の治療効果. 平成 24 年度石川県合同輸血療法委員会研究報告書. 61-82, 2013
11. 八木秀男、藤村吉博. TTP の発症機構-ADAMTS13, von Willebrand factor, 血小板の相互関係の新展開. Thrombosis Medicine. 3: 352-356, 2013
12. 藤村吉博、松本雅則、石西綾美、八木秀男、小亀浩市、宮田敏行. 血栓性血小板減少性紫斑病. 臨床血液. 55:93-104, 2013
13. 吉田瑤子、藤村吉博. 非典型溶血

性尿毒症症候群 (aHUS) -病態・診断およびエクリズマブの効果-.

Medical Practice. 31:100-103, 2014

14. 宮田敏行、小亀浩市, 小久保喜弘: 先天性 ADAMTS13 欠損症. 臨床検査, 57, 556-561, 2013

15. 小亀浩市. ADAMTS13 と血栓性血小板減少性紫斑病. 循環器病研究の進歩 34, 69-75, 2013

16. 小亀浩市, 樋口由佳: Upshaw-Schulman 症候群の ADAMTS13 遺伝子解析. 細胞 46:61-63, 2014

学会発表

- 1) Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Fujimaru R, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y. Genetic analysis of five patients with aHUS. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2013.10.21
- 2) 加藤誠司、藤村吉博. 完全自動化 ADAMTS13 活性測定法の開発: 金コロイド凝集法と汎用全自動分析樹を用いた high-throughput 測定法. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2013.10.21
- 3) 松本雅則、藤村吉博. 後天性 TTP に対する血漿交換療法. 第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会 (パネルディスカッション). 2013.5.16 横浜
- 4) 藤村吉博. Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) と Hemolytic uremic syndrome (HUS) ~ 病態解明と診断のための新たなマ-

- カー～、第 35 回日本血栓止血学会学術集会(シンポジウム) 2013.5.31、山形
- 5) 藤村吉博. 非典型的溶血性尿毒症症候群(aHUS):診断と治療の進歩(ランチョンセミナー) 2013.6.1、山形
 - 6) 福島英賢、西尾健治、關匡彦、杉本充彦、石西綾美、松本雅則、藤村吉博、奥地一夫. VWF-propeptide/ADAMTS13 比は敗血症患者の重症度と相関する. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30 山形国際ホテル
 - 7) 堀有沙、狩野泰輝、松下文雄、浜子二治、松本雅則、藤村吉博、松井太衛. 組換えボトロセチン-2 における VWF および GPIb 結合サイトの解析. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30-6.1. 山形国際ホテル
 - 8) 狩野泰輝、堀有沙、松下文雄、浜子二治、松本雅則、藤村吉博、松井太衛. ヒト VWF に存在する ABO(H)血液型抗原の付加経路の解析. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30-6.1. 山形国際ホテル
 - 9) 小堺貴司、森山雅人、布施一郎、柴崎康彦、増子正義、瀧澤淳、鳥羽健、吉田邦彦、小亀浩市、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、曾根博仁. 妊娠を契機に診断された新規の遺伝子異常を伴う Upshaw-Schulman 症候群(USS) の一例. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30-6.1. 山形国際ホテル
 - 10) 早川正樹、松本雅則、藤村吉博. 造血幹細胞移植後 TMA/VOD における UL-VWFM の解析. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30-6.1. 山形国際ホテル
 - 11) 児山紀子、松本雅則、玉置伸二、吉川雅則、藤村吉博、木村弘. VWF マルチマー解析による閉塞型睡眠時無呼吸症候群における血栓形成亢進状態の病態解明の試み. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30-6.1. 山形国際ホテル
 - 12) 藤本正男、早川正樹、松山友美、加藤誠司、石西綾美、高谷広章、石川昌利、森岡千恵、児山紀子、松本雅則、福井博、藤村吉博、植村正人. 健常人におけるエタノール摂取後の血漿 ADAMTS13 活性の動態と VWFM パターン. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013.5.30-6.1. 山形国際ホテル
 - 13) 門池真弓、西田幸世、前田美和、長谷川真弓、馬場由美、下村志帆、辻内智美、越智智子、内池敬男、早川正樹、松本雅則、藤村吉博. 奈良県立医科大学付属病院における輸血用血液製剤の廃棄状況の推移と今後の課題. 第 57 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会学術講演会. 2013.11.16. 奈良県新公会堂
 - 14) 藤村吉博. 非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS). 第 75 回日本血液学会学術集会(教育講演). 2013.10.11, 札幌
 - 15) Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T. Outcome of renal prophylaxis in

long-term regular plasmatherapy for heritable ADAMTS13 deficiency. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.

- 16) 安部涼平、宮川義隆、山田悠史、吉田瑤子、藤村吉博、岡野裕、野崎博之。当施設で最近 2 年間に経験した TTP と補体制御 H 因子関連異常による非典型 HUS の 5 症例の検討。The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. ロイトン札幌・札幌市教育文化会館。

- 17) Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Katayama N, Miyata T, Fujimura Y. Atypical hemolytic uremic syndrome in patients treated at Mie University. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.

- 18) Senoo N, Nishina S, Ito T, Sekiguchi N, Sakai H, Matsumoto M, Fujimura Y, Maeda T, Miyata S, Ishida F. Heparin-induced thrombocytopenia during treatments for thrombotic thrombocytopenic purpura. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and

Culture Hall.

- 19) Shimura H, Kodama S, Yoshinaga K, Matsumoto M, Fujimura Y, Enomoto Y, Imai Y, Shiseki M, Mori N, Teramura M, Motoji T. Thrombotic thrombocytopenic purpura diagnosed after a twenty-year history of thrombocytopenia. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.

- 20) Noji H, Isonishi A, Fujimura Y, Takeishi Y, Shichishima T. Acquired von Willebrand disease (vWD) in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.

- 21) Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. Unusually large VWF multimers appearing in patient plasmas of HSCT predispose TMA: Management with plasma ADAMTS13 and recombinant soluble thrombomodulin. 57. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung (GTH) Munich, Germany. 2013.2.20

- 22) Fujimoto M, Uemura M, Takaya H, Matsuyama T, Morioka C, Ishikawa M, Kawaratani H, Isonishi A, Hayakawa

- M, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased ADAMTS13 activity associated with endotoxemia may contribute to the development of patients with advanced liver cirrhosis. 57. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose -und Hämostaseforschung (GTH) Munich, Germany. 2013.2.20
- 23) Takaya H, Uemura M, Fujimoto M, Mitoro A, Sawai M, Yoshida M, Yamao J, Morioka C, Kawaratani H, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Evidence of platelet hyperaggregability related to decreased ADAMTS13 activity and enhanced endotoxemia in patients with acute biliary tract infection. 57. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose -und Hämostaseforschung (GTH) Munich, Germany. 2013.2.20
- 24) Fujimura Y. ADAMTS13: Biology and Upshaw-Schulman Syndrome. 23rd Annual Hemophilia Research Study Update Meeting. 2013.3.7-3.10. Dublin, Ireland.
- 25) Matsumoto M, Isonishi A, Kajiwarra M, Ogawa Y, Yamamoto Y, Fujimura Y. Successful management for pregnancy in 3 patients with Upshaw-Schulman syndrome. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.6.29, Amsterdam Netherland
- 26) Uemura M, Fujimoto M, Hayakawa M, Matsuyama T, Kato S, Takaya H, Morioka C, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased plasma ADAMTS13 activity during moderate to much consumption of ethanol in healthy volunteers: Differences between normal and heterozygous mutant aldehyde dehydrogenase-2 Alleles. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.1 Amsterdam, Netherland
- 27) Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. Quantitative PCR assay demonstrated exon deletions of ADAMTS13 in two unrelated patients with Upshaw Schulman. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.1 Amsterdam, Netherland
- 28) Yagi H, Kato S, Konno M, Tanaka R, Hasegawa Y, Kanai R, Yamaguchi S, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y. Kinetics and half-life of plasma ADAMTS13 after plasma infusion in four patients with Upshaw-Schulman Syndrome. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.1 Amsterdam Netherland
- 29) Takaya H, Uemura M, Fujimoto M, Ishii S, Morioka C, Kawaratani H,

- Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased ADAMTS13 activity and its clinical significance in patients with idiopathic portal hypertension. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.2 Amsterdam Netherland.
- 30) Sorvillo N, Kaijen P, Matsumoto M, Fujimura Y, Fabian V, Zwaan C, Fijnheer R, Voorberg J, Meijer A. Identification of glycosylation sites in plasma derived ADAMTS13 employing tandem mass spectrometry. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.4 Amsterdam Netherland
- 31) Teleghani M M, Fujimura Y, George J, Hrachovinova I, Lämmle B, Knoebl P, Paulsen P Q, Schneppenheim R, Hovinga J. International registry for patients with hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura(TTP)- Upshaw Schulman syndrome. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.4 Amsterdam Netherland
- 32) Fujimura Y, Yoshii Y, Matsumoto M, Isonishi A, Hayakawa M, Yoshida Y, Yagi H, Kokame K, Miyata T. A long-term phenotype analysis of 51 patients with Upshaw -Schulman Syndrome in Japan, with special references to pregnancy and renal failure that requires hemodialysis. **The 55th Annual Meeting of American Society of Hematology**. New Orleans (USA), 2013.12.7
- 33) Hayakawa M, Matsumoto M, Yoshii Y, Yagi H, Kimura H, Fujimura Y. HSCT-associated hepatic VOD is initiated with preceding appearance of unusually large von Willebrand factor multimers in patient plasmas. The 55th Annual Meeting of American Society of Hematology. New Orleans (USA), 2013.12.9
- 34) Yoshida Y, Xinping F, Ohyama Y, Kokubo T, Matsumoto M, Yagi H, Shirohani-Ikejima H, Miyata T, Fujimura Y. Atypical hemolytic uremic syndrome in Japan characterized by the inhibitory antibody-based hemolytic assay and the gene analysis. The 55th Annual Meeting of American Society of Hematology. New Orleans (USA), 2013.12.8
- 35) 和田英夫：旧厚生省基準などスコアリングによる DIC 診断基準のエビデンス、DIC 部会、第 7 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2013 年 1 月 12 日、東医健保会館
- 36) 和田英夫：DIC、医師シンポジウム「救急から集中治療へ・臓器不全対策」、第 21 回日本集中治療医学会東海北陸地方会、2013 年 6 月 15 日、岐阜、じゅうろくぷらざ

- 37) 和田英夫：2013 年に公表される新しい ISTH の DIC 診療ガイドランス、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 6 月 1 日、山形、山形国際ホテル
- 38) Wada H: Guidance for diagnosis and treatment of DIC, 59th SSC meeting, Amsterdam, June 29-30, 2013
- 39) 小亀浩市：ADAMTS13 の基準値と遺伝子多型. 第 7 回日本血栓止血学会 SSC シンポジウム，東京，2013 年 1 月 12 日
- 40) 小亀浩市，秋山正志，宮田敏行：ADAMTS13 の正常な分泌にはシクロフィリン B によるプロリン残基異性化が必要である．第 35 回日本血栓止血学会学術集会，山形，2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日
- 41) 坂野史明，喜多俊行，柳本広二，田嶋優子，小亀浩市，宮田敏行：プロテイン S 徳島 (PS-K196E) 変異ノックインマウスの樹立と解析．第 35 回日本血栓止血学会学術集会，山形，2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日
- 42) 小堺貴司，森山雅人，布施一郎，柴崎康彦，増子正義，瀧澤淳，鳥羽健，吉田邦彦，小亀浩市，宮田敏行，松本雅則，藤村吉博，曾根博仁：妊娠を契機に診断された新規の遺伝子変異を伴う Upshaw-Schulman 症候群 (USS) の一例．第 35 回日本血栓止血学会学術集会，山形，2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日
- 43) 土井政明，松井英人，竹田征治，斎藤能彦，武田麻衣子，松成泰典，西尾健治，嶋緑倫，坂野史明，秋山正志，小亀浩市，宮田敏行，杉本充彦：マウス急性心筋梗塞モデルにおける ADAMTS13 の心筋保護作用．第 35 回日本血栓止血学会学術集会，山形，2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日
- 44) Koichi Kokame: Quantitative PCR-based analysis of ADAMTS13 genetic defects. The 59th Annual Scientific and Standardization Committee Meeting, Amsterdam, The Netherlands, June 29-30, 2013.
- 45) Fumiaki Banno，Toshiyuki Kita，Hiroji Yanamoto，Yuko Tashima，Koichi Kokame，and Toshiyuki Miyata: Exacerbated venous thromboembolism in mice with the protein S Tokushima mutation. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Amsterdam, The Netherlands, June 29-July 4, 2013.
- 46) 樋口 (江浦) 由佳，小亀浩市，松本雅則，藤村吉博，宮田敏行：血栓性血小板減少性紫斑病患者の ADAMTS13 遺伝子に伏在していた変異の発見：ゲノム DNA を用いた定量 PCR 法の開発．第 18 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会，豊中，2013 年 8 月 16-17 日
- 47) 樋口 (江浦) 由佳，小亀浩市，松本雅則，藤村吉博，宮田敏行：日本における先天性 ADAMTS13 欠損症の遺伝子解析．第 86 回日本生化学会大会，横浜，2013 年 9 月 11-13 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 本邦TMA患者1251例のADAMTS13とそのインヒビター活性
(奈良医大輸血部1998. 7-2013. 12)

	先天性TMA (n=129)		後天性TMA (n=1122)											合計
	Upshaw-Schulman 症候群 (n=52)	aHUS (n=77)	特発性* (n=507)		薬物** (n=42)			膠原病 (n=280)	悪性 腫瘍 (n=78)	造血幹細胞 移植 (n=82)	妊娠 (n=21)	Stx- E. coli (n=42)	その他 (n=70)	n=1251
			TTP (n=383)	HUS (n=124)	TC/CL (n=27)	MMC (n=12)	その他 (n=3)							
ADAMTS13 活性 (%)														
<3	49	0	289	0	23	0	3	64	8	0	7	0	24	467
3~<25	2	5	70	24	2	2	0	78	25	24	5	7	20	264
25~<50	0	19	21	60	1	6	0	84	28	38	5	22	12	296
≥50	0	53	3	40	1	4	0	54	17	20	4	13	14	223
インヒビター (Bethesda U/ml)	(n=51)	(n=62)	(n=335)	(n=54)	(n=26)	(n=9)	(n=3)	(n=223)	(n=37)	(n=33)	(n=11)	(n=27)	(n=43)	(n=914)
<0.5	51	50	36	51	2	8	0	100	20	28	4	0	15	389
0.5~<2	0	12	146	3	6	1	3	87	12	5	3	3	13	294
≥2	0	0	153	0	18	0	0	36	5	0	4	24	15	231

* TTPとHUSの鑑別は臨床データによる。

** TC (チクロピジン)、CL(クロピドグレル)、MMC (マイトマイシンC)、他の薬物: PEG-IFN、パイアグラ

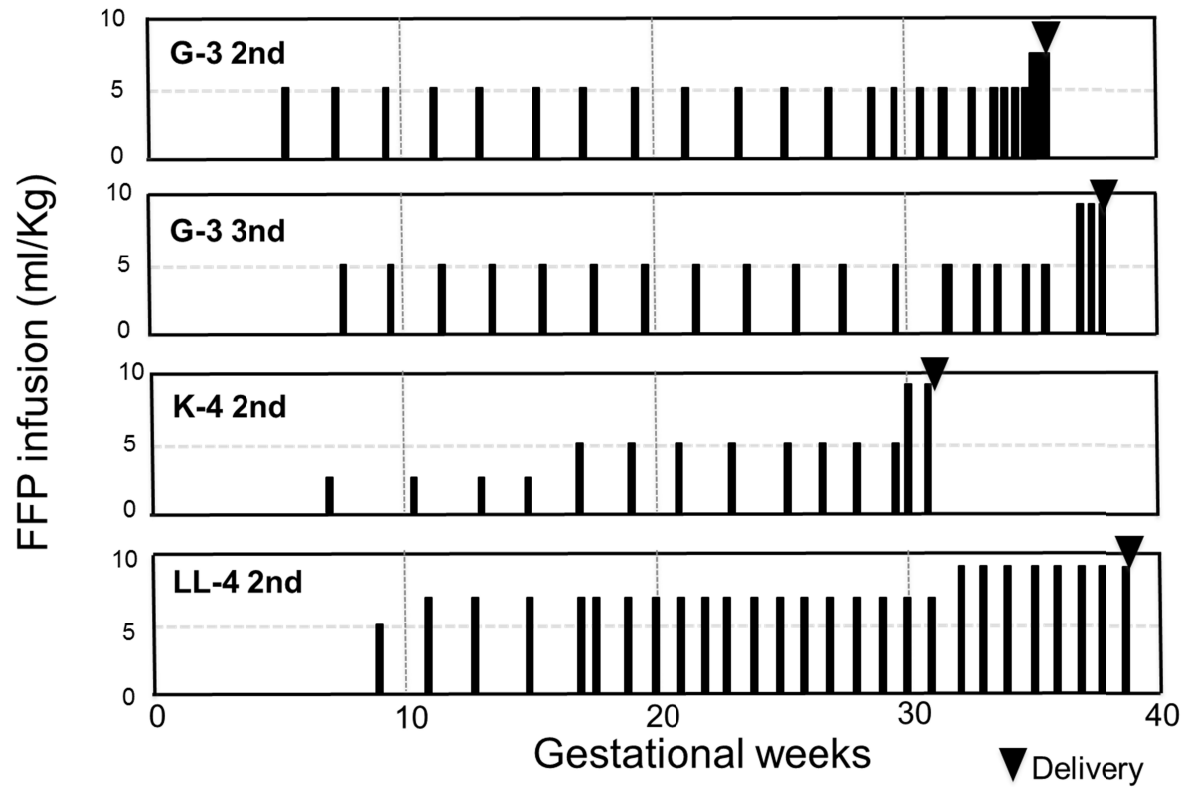
表2 計画的に分娩管理を行った4回の母児の状況

Pregnancy	Mother					Baby				Remarks
	Age (years)	Gestation (weeks)	at just before delivery			Gender	at postpartum			
			Platelet counts (10 ⁹ /l)	ADAMTS13 activity (%)	ADAMTS13 inhibitor (BU/ml)		ADAMTS13 activity (%)	ADAMTS13 inhibitor (BU/ml)		
G-3 2nd	22	35	179	34	<0.5	F	1446	55	<0.5	Ischemic change in placenta
G-3 3rd	24	37	223	10.5	0.5	M	2632	40	<0.5	Aspirin
K-4 2nd	30	30	213	4.7	1.3	F	1522	25	<0.5	Placental infarction, VSD in child
LL-4 2nd	30	37	208	14.9	0.6	F	3474	36	0.7	Aspirin, Placental infarction

VSD: Ventricular septal defect

Shaded areas indicate the patients who took Aspirin during pregnancy. These 2 patients gave birth to mature baby.

図1. FFPの投与量と投与間隔



造血幹細胞移植後の致死合併症である 移植後 TMA と肝中心静脈閉塞症の病態解析

分担研究者 藤村 吉博 奈良県立医科大学 輸血部 教授
研究協力者 松本 雅則 奈良県立医科大学 輸血部 准教授
早川 正樹 奈良県立医科大学 輸血部 医員

研究要旨

造血幹細胞移植後の血栓性微小血管障害症 (TMA) や肝中心静脈閉塞症 (肝 VOD) では、定型的 TTP と異なり ADAMTS13 活性は著減していないことが報告されている。一方で、血管内皮細胞障害により超高分子量 von Willebrand 因子マルチマー (UL-VWFM) が著増することが知られている。移植後 TMA とその類縁疾患である肝 VOD は有効な治療がなく、致死率は 50% を超えると報告されている。今回我々は、当院で行われた同種造血幹細胞移植後の肝 VOD 6 症例と移植後 TMA 1 例について、ADAMTS13 と VWF について検討した。特に、VWF マルチマー解析と、血小板輸血後の効果判定の基準である補正血小板増加数 (CCI) に注目して解析した。

肝 VOD では、全症例で発症前に UL-VWFM の出現を認め、3 症例で肝機能障害時に高分子 VWF マルチマーの欠損を認めた。ADAMTS13 については、6 症例すべてで活性の軽度低下を認めたが、TTP ほどの著明な低下は認めず、インヒビターも認めなかった。CCI は、肝 VOD 発症前に低下していた。また、移植後 TMA についても同様に発症前に UL-VWFM の出現し、ADAMTS13 活性は軽度の低下し、発症時に CCI が低下していた。

造血幹細胞移植早期には、血小板数は低値で血小板が輸血されるが、移植後 TMA や肝 VOD を発症すると血栓へ消費されるため、血小板数は増加せず CCI は低値となる。さらに、VWF も血栓へ消費されるため高分子量 VWFM が欠損する。この血栓形成が、全身で発生すれば TMA、肝臓に限局すれば肝 VOD が発症すると考えられる。また、これらの血栓症の早期診断には輸血翌日の血小板数を用いた CCI が有用であることが示唆された。

A . 研究の目的

造血幹細胞移植 (stem cell transplantation ; SCT) は、広く行われている医療となったが、移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD) や、ウイルス、真菌などの感染症、血栓症などの致死合併症が存在する。GVHD や感染症は、新たな薬剤の登場によって予防・治

療に進展が見られるが、血栓性微小血管障害症 (thrombotic microangiopathy ; TMA)、肝中心静脈閉塞症 (veno-occlusive disease ; VOD) などの血栓性疾患は未だに予後不良であり、病態解明や治療法の開発が急務となっている。

TMA は、血小板減少、溶血性貧血と腎障害や精神神経障害などの臓器障害が特

徴である。移植後 TMA では、もともと血小板数が低いため、血小板減少の評価が困難であり、また GVHD を合併するケースが多いため、臓器障害の評価も困難である。最近、2つの診断基準が報告され、統一した基準で診断する試みが行われている。肝 VOD は、肝の微小静脈の血栓性閉塞が病因と報告されているが、肝臓に局限した TMA という考えもある。McDonald の診断基準が有名であるが、この診断基準では GVHD などの他の疾患も含まれてくるため、特異度に問題がある。

両疾患とも有効な治療法は確立されておらず、致死率は 50% を超えると報告されている。そのため発症早期に診断し、治療を開始することが重要であるが、病態が明らかになっていないため、早期診断が困難であった。そこで、我々は、奈良医大で SCT を実施し、TMA と VOD を発症した症例で、移植前から ADAMTS13 および von Willebrand 因子 (VWF) を解析し、臨床所見との関連を検討した。

B . 研究方法

奈良県立医科大学病院で 2012 年 1 月から 2013 年 12 月に同種造血幹細胞移植を実施した症例で、移植後 TMA を発症した 1 例と肝 VOD の 6 例を対象とした。移植後 TMA の診断は、BMT-CTN の Ho ら診断基準で、肝 VOD は McDonald の診断基準で行った。これらの症例において、ADAMTS13 活性、VWF 抗原量、VWF マルチマー解析を行い、臨床経過と照合した。特に、血小板との反応性が強い超高分子量 VWF マルチマー (UL-VWFM) と補正血小板増加数 (corrected count increment: CCI) に注

目して解析した。CCI は、血小板輸血の効果判定する指標であり、今回は輸血翌日の血小板数を用いて CCI を計算した。

$$CCI = \text{血小板増加数} \times \text{体表面積} / \text{輸血血小板総数}$$

C . 研究成果

図 1 に代表的な肝 VOD の症例 (症例 1) の経過を示す。症例 1 は、58 歳の女性で、びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫にて臍帯血移植を実施された。上段に示すように day 10 日頃からビリルビンが上昇し、day 13 で 2mg/dl を超え、体重増加も認めため肝 VOD と診断された。ADAMTS13 活性は VOD 発症前後を通じて、25-50% と軽度低下していた。VWF 抗原は移植直後では 400% と著増し、その後 VOD 発症時には軽度低下した。VWF マルチマー解析の結果、day7 頃より UL-VWFM の出現を認め、発症時の day10、day14 には最も多く認めた。その後、高分子の VWF が減少し、黄疸がピークの day20 付近では高分子 VWF は最も少ない状況となった。この変化は、肝臓内での血栓に高分子 VWF が消費されたと考えられる。その証拠として、2 段目に示すように血小板輸血後の CCI が day10 以降低値であり、輸血した血小板も血栓に消費されたと考えられた。

肝 VOD 全例においても、全症例で発症前に UL-VWFM の出現を認め、3 症例で肝機能障害時に高分子 VWF マルチマーの欠損を認めた。ADAMTS13 については、6 症例すべてで活性の軽度低下を認めたが著明な低下は認めず、インヒビターも認めなかった。TMA の重要な指標となる血小板減少については、症例 1 と同様に移植後早

期であるため発症前より低値であり、発症に伴う急激な低下は認めなかった。しかし、経過中に出血予防として頻回の血小板輸血が行われていたが、CCI は肝 VOD 発症前より低下していた。

移植後 TMA の症例(症例 2)を図 2 に示す。症例 2 は 25 才の男性で、二次性骨髓異形成症候群に、同種末梢血幹細胞移植を施行し、day 75 に移植後 TMA を発症した症例である。最上段に示すように、移植後 TMA を発症した時期に、ビリルビンや LDH の急激な上昇を認めた。VWF 抗原量は、TMA 発症前より 200% と著増しており、発症直前に急上昇していた。ADAMTS13 活性は、day 61 の約 20% から発症直前に 10% 未満に低下し、典型的な TTP ほどではないが、移植後 TMA の中では比較的低値であった。この症例の VWF マルチマー解析では、day61 に既に UL-VWFM が出現しており、その後徐々に減少し、TMA が発症した時点で急激に高分子 VWF が欠損した。この症例も血小板減少が継続しており、血小板輸血が行われていたが、CCI が day71 から急激に低下した。CCI を解析することで移植後 TMA の診断が day75 から day71 へ 4 日程度早くできた可能性がある。

D . 考察

移植後 TMA の病因として、様々な因子が報告されているが、共通しているのは血管内皮細胞障害である。この原因として、大量の抗がん剤、放射線療法などの移植前処置や、シクロスポリン、タクロリムスなどの免疫抑制剤、GVHD などの影響が報告されている。血管内皮細胞障害によって、様々な変化が報告されている

が、我々は今回 VWF に注目した。VWF は、血管内皮細胞中の Weibel-Palade 小体に著増されている止血因子である。血管内皮細胞の障害や刺激によって血液中に分泌されるが、分泌直後の VWF は UL-VWFM で、血小板との反応が強く、血栓を形成する危険がある。造血幹細胞移植後の多くの症例では、UL-VWFM が血液中に観察されるが、これは抗がん剤や放射線治療などによる血管内皮細胞障害のためと考えられる。

移植早期は、血小板数は低値で血小板輸血が実施されることが多いが、移植後 TMA や肝 VOD を発症すると血栓へ消費されるため、輸血しても血小板数は増加せず CCI は低値となる。また、VWF も血栓へ消費されるが、UL-VWFM のみでなく高分子量 VWFM も消費され、消失するものと予想される。この血栓形成が、全身で発生すれば TMA、肝臓に局限すれば肝 VOD が発症する可能性がある。以上より、造血幹細胞移植後には、血小板輸血の効果確認を行うことが重要で、CCI など客観的に評価することで移植後 TMA や肝 VOD の早期診断が可能であると考えられる。また、SCT 後の安易な血小板輸血は、血栓形成を助長することになり、血小板輸血の適応を慎重に判断する必要がある。

E . 結論

移植後 TMA や肝 VOD の発症には、UL-VWFM の解析が重要であるが、簡便に実施できる検査ではない。そのため、これらの発症を予測する因子として、血小板輸血の効果を判定する CCI が有用であると考えられる。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Tomomori M, Miyagawa S, Fujimaru R, Yamada H, Sawai T, Ikeda Y, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Aizawa Y, Harada H, Wada H, Ishikawa E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y. Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. **Mol Immunol** 2013;54:238-246.
- 2) Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, Morio T, Imai K, Mitsuiki N, Ohara O, Komada Y. A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura. **Eur J Haematol**. 2013; 90:164-168.
- 3) Bennett CL, Jacob S, Dunn BL, Georgantopoulos P, Zheng XL, Kwaan HC, McKoy JM, Magwood JS, Bandarenko N, Winters JL, Raife TJ, Carey PM, Sarode R, Kiss JE, Danielson C, Ortel TL, Clark WF, Ablin R, Rock G, Matsumoto M, Fujimura Y. : Ticlopidine-associated ADAMTS13 activity deficient thrombotic thrombocytopenic purpura in 22 persons in Japan: A Report from the Southern Network on Adverse Reactions (SONAR). **Br J Haematol**. 2013;161:896-898.
- 4) Hori Y, Hayakawa M, Isonishi A, Soejima K, Matsumoto M, Fujimura Y. ADAMTS13 unbound to larger von Willebrand factor multimers in cryosupernatant: Implications for selection of plasma preparations for TTP treatment. **Transfusion**. 2013; 53 : 3192-3202
- 5) Tanaka H, Tenkumo C, Mori N, Kokame K, Fujimura Y, Hata T. A case of maternal and fetal deaths due to severe congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) during pregnancy. **J Obstet Gynaecol Res**. 2013;(Epub ahead of print).
- 6) Nishijima Y, Hirata H, Himeno A, Kida H, Matsumoto M, Takahashi R, Otani Y, Inoue K, Nagatomo I, Takeda Y, Kijima T, Tachibana I, Fujimura Y, Kumanogoh A. Drug-induced thrombotic thrombocytopenic purpura successfully treated with recombinant human soluble thrombomodulin. **Intern Med**. 2013 ;52:1111-1114.
- 7) Fukushima H, Nishio K, Asai H, Watanabe T, Seki T, Matsui H, Sugimoto M, Matsumoto M, Fujimura

- Y, Okuchi K. Ratio of von Willebrand Factor propeptide to ADAMTS13 is associated with severity of sepsis. **Shock**. 2013; 39: 409-414.
- 8) Morioka M, Matsumoto M, Saito M, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y. The first bout of TTP triggered by herpes simplex infection in a 45-year-old nonparous female with Upshaw-Schulman syndrome. **Blood Transfusion**. 2013; (Epub ahead of print).
 - 9) Kawano N, Yokota-Ikeda N, Sugio Y, Yoshida S, Ono N, Kuriyama T, Yamashita K, Makino S, Inoue Y, Himeji D, Kodama K, Uezono S, Shimao Y, Matsumoto M, Iino H, Fujimura Y. Therapeutic modality of 11 patients with TTP: Experience in a single institution in Miyazaki during 2000-2011. **Internal Medicine**. 2013; 52: 1883-1891.
 - 10) Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T. Limited renal prophylaxis in regular plasmatherapy for heritable ADAMTS13 deficiency. **Pediatric Blood & Cancer**. 2013; 60: 1557-1558.
 - 11) Sawai T, Nangaku M, Ashida A, Fujimaru R, Hataya H, Hidaka Y, Kaname S, Okada H, Sato W, Yasuda T, Yoshida Y, Fujimura Y, Hattori M, Kagami S. Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the joint committee of the Japanese society of nephrology and the Japan pediatric society. **Clin Exp Nephrol**. (in press)
 - 12) Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T.: Candidate gene analysis using genomic quantitative PCR: identification of ADAMTS13 large deletions in two patients with Upshaw-Schulman syndrome. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**. (in press).
 - 13) Muroi C, Fujioka M, Mishima K, Irie K, Okuchi K, Fujimura Y, Nakano T, Fandino J, Keller E, Iwasaki K, Fujiwara M.: Effect of ADAMTS13 on cerebrovascular microthrombosis and neuronal injury after experimental subarachnoid hemorrhage. **J Thromb Hemostasis**. (in press)
 - 14) Mansouri MT, von Krogh AS, Fujimura Y, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, Quist-Paulsen P, Schneppenheim R, Lämmle B, Kremer-Hovinga JA. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) and the hereditary TTP registry. **Hämostaseologie** .2013 ; 33 :

- 138-143.
- 15) Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y. ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japanese subjects. *Hamostaseologie*. 2013 ; 33 : 131-137.
 - 16) Mise K, Ubara Y, Matsumoto M, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Ohashi K, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y, Takaichi K. Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years. *BMC Nephrol* 14; 156 :2013
 - 17) 岡政史、大塚泰史、稲田由紀子、佐藤忠司、吉田瑤子、藤村吉博、Fan Xinping、宮田敏行、濱崎雄平. 抗CFH抗体陽性およびCFHRI遺伝子欠失を伴うDEAP-HUSの1例. 日本小児腎臓病学会雑誌. 2013 ; 26 (2): 109-115.
 - 18) 吉井由美、松村弥生、朴将源、上辻由里、安田考志、川瀬義夫、松本雅則、藤村吉博、魚嶋伸彦. リツキシマが奏効した標準治療抵抗性血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の1例. リツキシマブ投与のタイミングについての考察. 日本内科学会雑誌. 2013
 - 19) 松本雅則、藤村吉博. 後天性TTPに対するリツキシマブ療法. Annual Review 血液. 中外医学社 2013
 - 20) 植村正人、高済峯、藤村吉博. 症例から学ぶ血栓症 肝移植後TMA/ADAMTS13診断と治療のポイントとは? *Thrombosis Medicine*. 2013; 3 : 81-86. 先端医学社.
 - 21) 吉田瑤子、藤村吉博. 補体制御異常症関連 HUS の診断. 腎と透析. 2013; 74 : 1103-1108
 - 22) 八木秀男、藤村吉博、宮田敏行. TMA: 最新の病態. 腎と透析. 2013 ; 74 : 1050-1054.
 - 23) 藤村吉博. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) と Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) ~ 病態解明と診断確定のための新たなマーカー ~. 日本血栓止血学会誌; 2013; 24: 680-684
 - 24) 芦田明、吉田瑤子、範新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博. Atypical HUSにおける補体制御異常症診断システムの構築と腎移植. 日本臨床腎移植学会雑誌誌. 2013 ; 1(1): 39-44.
 - 25) 藤村吉博、吉田瑤子、宮田敏行. 非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS). 臨床血液. 2013; 54(10) : 1001-1010.
 - 26) 藤村吉博. TMA病態に対する新鮮凍結血漿由来ADAMTS13の治療効果. 平成24年度石川県合同輸血療法委員会研究報告書. 2013 ; 61-82.
 - 27) 八木秀男、藤村吉博. TTPの発症機構 -ADAMTS13, von Willebrand factor, 血小板の相互関係の新展開. *Thrombosis Medicine*. 2013 ; 3 (4): 352-356.
 - 28) 藤村吉博、松本雅則、石西綾美、八木秀男、小亀浩市、宮田敏行. 血栓

性血小板減少性紫斑病． 臨床血液.2013；55:93-104

- 29) 吉田瑶子、藤村吉博．非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）-病態・診断およびエクリズマブの効果-．Medical Practice． 2014;31：100-103

2. 学会発表

1. Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Fujimaru R, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y. Genetic analysis of five patients with aHUS. 第 74 回日本血液学会学術集会.2013.10.21
2. 加藤誠司、藤村吉博．完全自動化 ADAMTS13 活性測定法の開発：金コロイド凝集法と汎用全自動分析樹を用いた high-throughput 測定法．第 74 回日本血液学会学術集会.2013.10.21
3. 松本雅則、藤村吉博．後天性 TTP に対する血漿交換療法．第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会（パネルディスカッション） 2013.5.16 横浜
4. 藤村吉博．Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) と Hemolytic uremic syndrome (HUS) ～病態解明と診断のための新たなマーカー～、第 35 回日本血栓止血学会学術集会(シンポジウム) 2013.5.31、山形
5. 藤村吉博．非典型的溶血性尿毒症症候群(aHUS):診断と治療の進歩(ランチョンセミナー) 2013.6.1、山形
6. 福島英賢、西尾健治、關匡彦、杉本充彦、石西綾美、松本雅則、藤村吉博、奥地一夫．VWF-propeptide/ADAMTS13 比は敗血症患者の重症度と相関する．第 35 回日本血栓止血学会学術集会．2013.5.30 山形国際ホテル
7. 堀有沙、狩野泰輝、松下文雄、浜子二治、松本雅則、藤村吉博、松井太衛．組換えボトロセチン-2 における VWF および GPIb 結合サイトの解析．第 35 回日本血栓止血学術集会．2013.5.30-6.1．山形国際ホテル
8. 狩野泰輝、堀有沙、松下文雄、浜子二治、松本雅則、藤村吉博、松井太衛．ヒト VWF に存在する AB0(H)血液型抗原の付加経路の解析．第 35 回日本血栓止血学術集会.2013.5.30-6.1.山形国際ホテル
9. 小堺貴司、森山雅人、布施一郎、柴崎康彦、増子正義、瀧澤淳、鳥羽健、吉田邦彦、小亀浩市、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、曾根博仁．妊娠を契機に診断された新規の遺伝子異常を伴う Upshaw-Schulman 症候群（USS）の一例．第 35 回日本血栓止血学術集会．2013.5.30-6.1.山形国際ホテル
10. 早川正樹、松本雅則、藤村吉博．造血幹細胞移植後 TMA/VOD における UL-VWFM の解析．第 35 回日本血栓止血学術集会．2013.5.30-6.1．山形国際ホテル
11. 児山紀子、松本雅則、玉置伸二、吉

- 川雅則、藤村吉博、木村弘．VWF マルチマー解析による閉塞型睡眠時無呼吸症候群における血栓形成亢進状態の病態解明の試み．第 35 回日本血栓止血学界学術集会．2013.5.30-6.1．山形国際ホテル
12. 藤本正男、早川正樹、松山友美、加藤誠司、石西綾美、高谷広章、石川昌利、森岡千恵、児山紀子、松本雅則、福井博、藤村吉博、植村正人．健常人におけるエタノール摂取後の血漿 ADAMTS13 活性の動態と VWF パターン．第 35 回日本血栓止血学界学術集会．2013.5.30-6.1．山形国際ホテル
13. 門池真弓、西田幸世、前田美和、長谷川真弓、馬場由美、下村志帆、辻内智美、越智智子、内池敬男、早川正樹、松本雅則、藤村吉博．奈良県立医科大学付属病院における輸血用血液製剤の廃棄状況の推移と今後の課題．第 57 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会学術講演会．2013.11.16．奈良県新公会堂
14. 藤村吉博．非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)．第 75 回日本血液学会学術集会(教育講演)．2013.10.11，札幌
15. Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T. Outcome of renal prophylaxis in long-term regular plasmapheresis for heritable ADAMTS13 deficiency. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.
16. 安部涼平、宮川義隆、山田悠史、吉田瑤子、藤村吉博、岡野裕、野崎博之．当施設で最近 2 年間に経験した TTP と補体制御 H 因子関連異常による非典型 HUS の 5 症例の検討．The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. ロイトン札幌・札幌市教育文化会館．
17. Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Katayama N, Miyata T, Fujimura Y. Atypical hemolytic uremic syndrome in patients treated at Mie University. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.
18. Senoo N, Nishina S, Ito T, Sekiguchi N, Sakai H, Matsumoto M, Fujimura Y, Maeda T, Miyata S, Ishida F. Heparin-induced thrombocytopenia during treatments for thrombotic thrombocytopenic purpura. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.
19. Shimura H, Kodama S, Yoshinaga K, Matsumoto M, Fujimura Y, Enomoto Y, Imai Y, Shiseki M, Mori N, Teramura

- M, Motoji T. Thrombotic thrombocytopenic purpura diagnosed after a twenty-year history of thrombocytopenia. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.
20. Noji H, Isonishi A, Fujimura Y, Takeishi Y, Shichishima T. Acquired von Willebrand disease (vWD) in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology. 2013.10.11-13. Royton Sapporo, Sapporo Education and Culture Hall.
 21. Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. Unusually large VWF multimers appearing in patient plasmas of HSCT predispose TMA: Management with plasma ADAMTS13 and recombinant soluble thrombomodulin. 57. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung (GTH) Munich, Germany. 2013.2.20
 22. Fujimoto M, Uemura M, Takaya H, Matsuyama T, Morioka C, Ishikawa M, Kawaratani H, Isonishi A, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased ADAMTS13 activity associated with endotoxemia may contribute to the development of patients with advanced liver cirrhosis. 57. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose -und Hämostaseforschung (GTH) Munich, Germany. 2013.2.20
 23. Takaya H, Uemura M, Fujimoto M, Mitoro A, Sawai M, Yoshida M, Yamao J, Morioka C, Kawaratani H, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Evidence of platelet hyperaggregability related to decreased ADAMTS13 activity and enhanced endotoxemia in patients with acute biliary tract infection. 57. Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose -und Hämostaseforschung (GTH) Munich, Germany. 2013.2.20
 24. Fujimura Y. ADAMTS13: Biology and Upshaw-Schulman Syndrome. 23rd Annual Hemophilia Research Study Update Meeting. 2013.3.7-3.10. Dublin, Ireland.
 25. Matsumoto M, Isonishi A, Kajiwarra M, Ogawa Y, Yamamoto Y, Fujimura Y. Successful management for pregnancy in 3 patients with Upshaw-Schulman syndrome. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.6.29, Amsterdam Netherland
 26. Uemura M, Fujimoto M, Hayakawa M, Matsuyama T, Kato S, Takaya H, Morioka C, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased plasma ADAMTS13

- activity during moderate to much consumption of ethanol in healthy volunteers: Differences between normal and heterozygous mutant aldehyde dehydrogenase-2 Alleles. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.1 Amsterdam, Netherland
27. Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. Quantitative PCR assay demonstrated exon deletions of ADAMTS13 in two unrelated patients with Upshaw Schulman. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.1 Amsterdam, Netherland
 28. Yagi H, Kato S, Konno M, Tanaka R, Hasegawa Y, Kanai R, Yamaguchi S, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y. Kinetics and half-life of plasma ADAMTS13 after plasma infusion in four patients with Upshaw-Schulman Syndrome. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. 2013.7.1 Amsterdam Netherland
 29. Takaya H, Uemura M, Fujimoto M, Ishii S, Morioka C, Kawaratani H, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y, Fukui H. Decreased ADAMTS13 activity and its clinical significance in patients with idiopathic portal hypertension. 2013.7.2.
 30. Sorvillo N, Kaijen P, Matsumoto M, Fujimura Y, Fabian V, Zwaan C, Fijnheer R, Voorberg J, Meijer A. Identification of glycosylation sites in plasma derived ADAMTS13 employing tandem mass spectrometry . 2013.7.4.
 31. Teleghani M M, Fujimura Y, George J, Hrachovinova I, Lämmle B, Knoebl P, Paulsen P Q, Schneppenheim R, Hovinga J. International registry for patients with hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura(TTP)- Upshaw Schulman syndrome.2013.7.4.
 32. Fujimura Y, Yoshii Y, Matsumoto M, Isonishi A, Hayakawa M, Yoshida Y, Yagi H, Kokame K, Miyata T. A long-term phenotype analysis of 51 patients with Upshaw -Schulman Syndrome in Japan, with special references to pregnancy and renal failure that requires hemodialysis. **The 55th Annual Meeting of American Society of Hematology.** New Orleans (USA), 2013.12.7
 33. Hayakawa M, Matsumoto M, Yoshii Y, Yagi H, Kimura H, Fujimura Y. HSCT-associated hepatic VOD is initiated with preceding appearance of unusually large von Willebrand factor multimers in

patient plasmas. The 55th Annual Meeting of American Society of Hematology. New Orleans (USA), 2013.12.9

34. Yoshida Y, Xinping F, Ohyama Y, Kokubo T, Matsumoto M, Yagi H, Shirohani-Ikejima H, Miyata T, Fujimura Y. Atypical hemolytic uremic syndrome in Japan characterized by the inhibitory antibody-based hemolytic assay and the gene analysis. The 55th Annual Meeting of American Society of Hematology. New Orleans (USA), 2013.12.8

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし

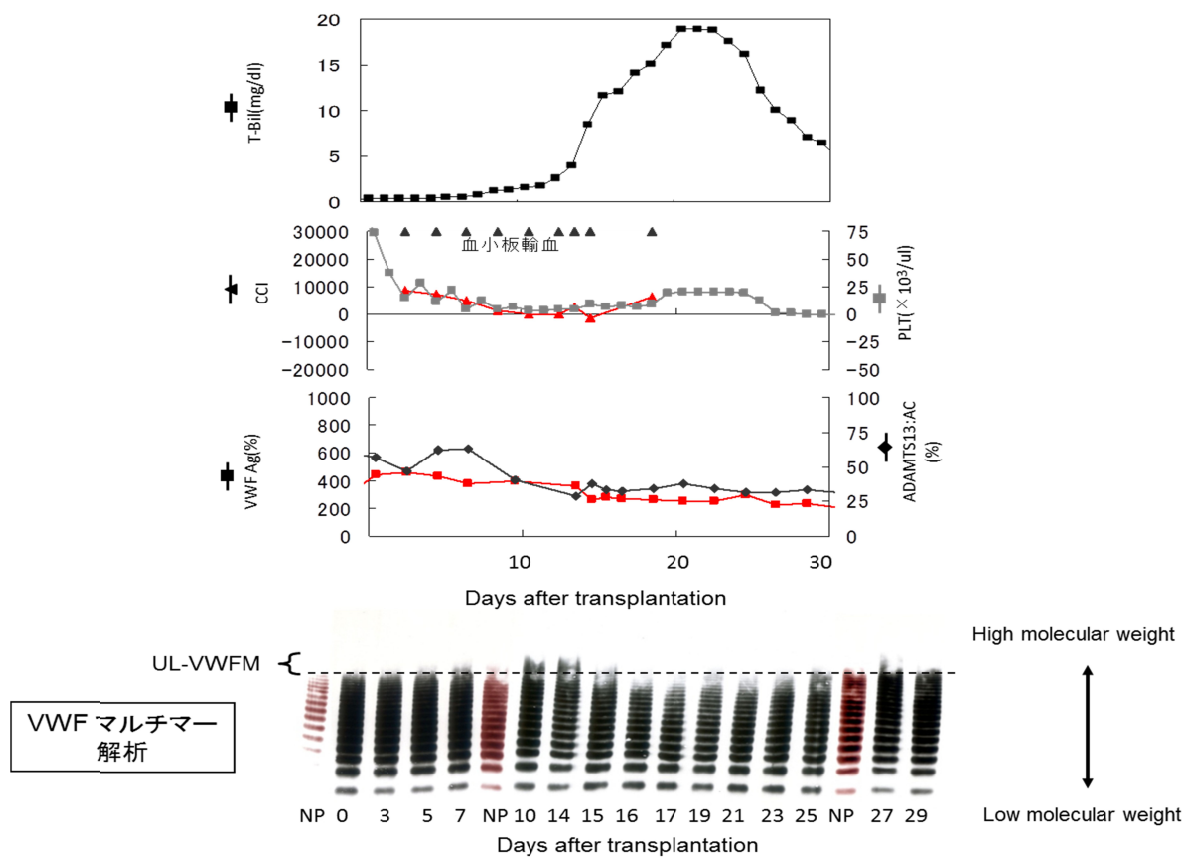


図1 肝VODの代表例の臨床経過とVWFマルチマー解析

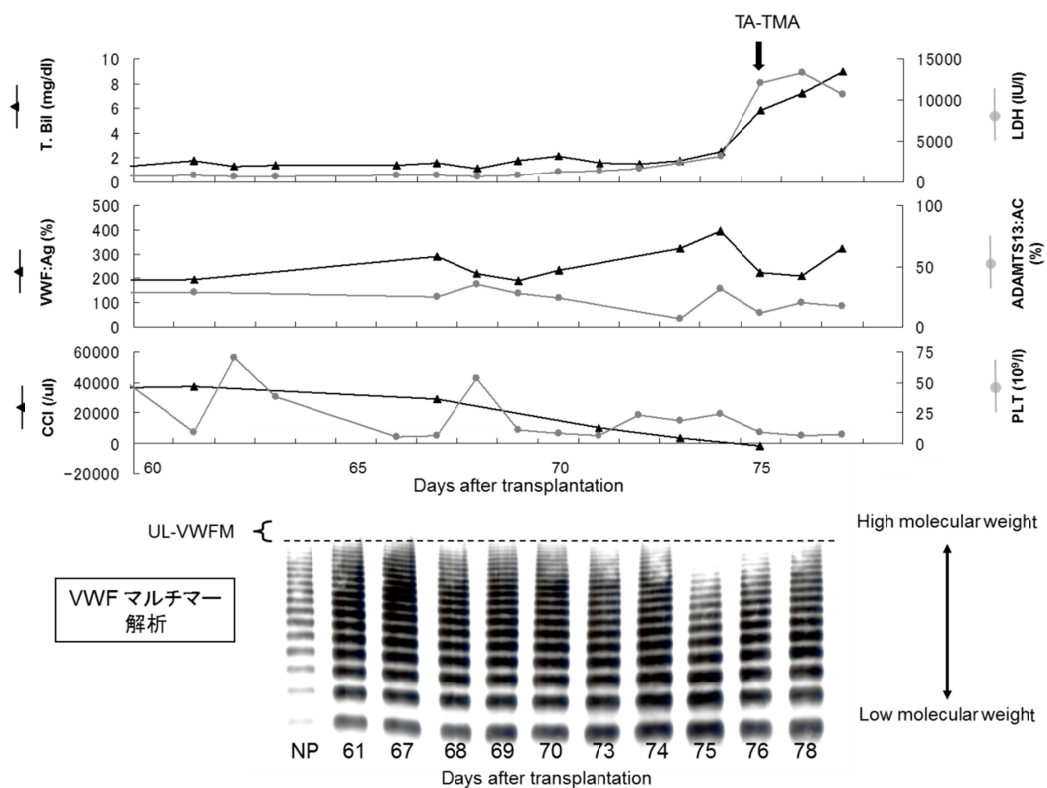


図2 移植後TMAの臨床経過とVWFマルチマー解析

補体活性化のマーカーである C5b-9 の測定

研究分担者 和田 英夫 三重大学 医学部臨床検査医学 准教授

研究要旨

非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)は補体活性化により、溶血、血小板減少ならびに微小血栓を併発する全身性の疾患である。補体活性化の指標として、C5b-9 値をサンドイッチ ELISA にて測定した。健常人の C5b-9 の正常値は 82.5 ng/ml (59.9 - 128.7ng/ml) で、クエン酸ならびに EDTA で補体の活性化は抑制できたが、一部高値を示す健常人も見られた。また、古い検体や凍結融解を繰り返した検体では、C5b-9 値は著しい高値を示した。1 例だけの検討ではあるが、aHUS 症例では C5b-9 値 229ng/ml と高値を示し、Eculizumab 投与後正常値以下に低下した。

以上、aHUS の診断ならびに治療効果の判定に、C5b-9 の測定が有用である可能性が示唆された。

A . 研究目的

近年、ADAMTS13 に関連する TMA 以外に、aHUS が注目されるようになってきた。aHUS の発症は、補体調節因子である CFH, MCP, CFI, THBD 遺伝子の機能消失型変異、もしくは補体因子である C3 と CFB 遺伝子の機能亢進型変異が原因となる。本邦では、遺伝子解析を含めて aHUS の検討は充分進行していない。

今回は、補体系活性化のマーカーである C5b-9 について、健常人ならびに TMA 患者で検討した。

B . 研究方法

対象：健常成人 78 名と Eculizumab を投与された aHUS 患者

方法：C5b-9 の測定検体は EDTA 血漿、クエン血漿ならびに血清を用いた。

C5b-9 測定はベクトンデッキソン(BD)社の BD OptEIA™ の Human C5b-9 ELISA キットを用いて、サンドイッチ ELISA 法に

て測定した。aHUS 患者については、Eculizumab 投与前。3 日後、7 日後、10 日後、14 日後に、C5b-9 値を測定した。
(倫理面への配慮)

本研究は三重大学の倫理審査委員会で研究計画の承認を受けており、研究参加者からインフォームドコンセントを得た。

C . 研究結果

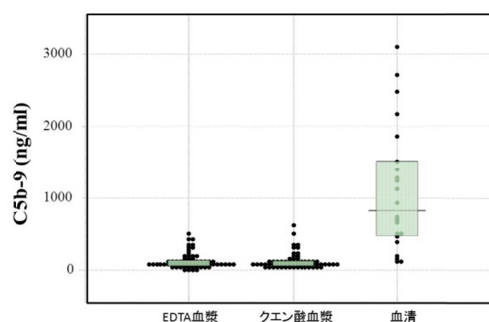


図1 健常人における C5b-9 値

健常人における C5b-9 値{中央値(25 - 75%tile)}は、クエン酸血漿 86.5 ng/ml (60.0 - 136.1 ng/ml)、EDTA 血漿 82.5

ng/ml (59.9 - 128.7)、血清 825.0 ng/ml (475.0 - 1515.0 ng/ml) であった(図 1)。血清中の C5b-9 値は、クエン酸血漿ならびに EDTA 血漿の約 10 倍であったが、クエン酸血漿ならびに EDTA 血漿の一部でも高値を示した(図 2)。

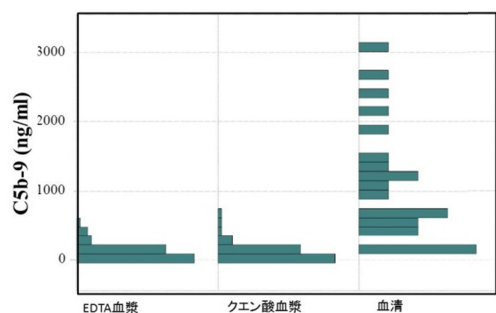


図 2 クエン酸ならびに EDTA 血漿、血清名の C5b-9 の分布

Eculizumab 投与前の aHUS 患者の C5b-9 値は 229ng/ml と高値を示し、投与後著しく低下した。

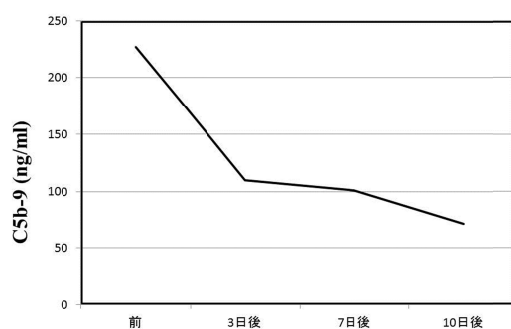


図 3 aHUS 患者における Eculizumab 投与前後の C5b-9 値

また、凍結融解を繰り返した検体ならびに古い検体では、C5b-9 値は 2000ng/ml 前後と著しい高値を示した。

D . 考察

今回の血清、クエン酸ならびに EDTA 採血による健常人 C5b-9 値の検討から、血清では補体は著しく活性化されるが、クエン酸採血あるいは EDTA 採血にて抑制されることがわかった。以降、健常人の C5b-9 の正常値はクエン酸血あるいは EDTA 血で検討され、60 ~ 136 ng/ml と決定された。しかし、C5b-9 の分布幅は広く、著しく高値を呈する健常人も見られた。aHUS 症例の C5b-9 値は著しく高値であったが、検討症例数は少なく、他疾患との鑑別に用いるには、多数例での検討が必要と考えられた。一方、抗 C5 抗体である Eculizumab 投与により、aHUS 症例の C5b-9 は著しく低下し、Eculizumab の治療効果の判定には有用と考えられた。

E . 結論

健常人の C5b-9 は、EDTA あるいはクエン酸の添加により、補体系の活性化を防ぐことができ、正常値を 82.5 ng/ml (59.9 - 128.7 ng/ml) と確定できた。ただし、血清、古い検体、凍結融解を繰り返した検体では補体系が活性化され、C5b-9 は著しい高値を示す。また、一部の健常人では C5b-9 が高値を示し、さらなる検討が必要である。また、Eculizumab 投与により C5b-9 は著しく低下し、治療効果の判定にも有用であった。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, Morio T, Imai K, Mitsuiki N, Ohara O, Komada Y: A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*. 2013; 90: 164-168
- 2) Takahashi N, Wada H, Usui M, Kobayashi T, Habe-Ito N, Matsumoto T, Uemoto S, Nobori T, Isaji S: Behavior of ADAMTS13 and Von Willebrand factor levels in patients after living donor liver transplantation. *Thromb Res*. 2013; 131:225-229
- 3) Habe K, Wada H, Ito-Habe N, Suzuki H, Nobori T, Mizutani H : Two patients with antiphospholipid antibody developed disseminated intravascular coagulation. *Intern Med*. 2013; 52: 269-272
- 4) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Nobori T, Mizutani H.: Presence of antiphospholipid antibody is a risk factor in thrombotic events in patients with antiphospholipid syndrome or relevant diseases. *Int J Hematol*. 2013; 97: 345-350
- 5) Toyoda H, Azuma E, Kawasaki Y, Iwasa T, Ohashi H, Otsuki S, Iwamoto S, Hirayama M, Itoh-Habe N, Wada H, Kondo M, Keida Y, Ito T, Komada Y: Cord blood transplantation combined with rituximab for Wiskott-Aldrich syndrome with autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132:226-227
- 6) Hasegawa M, Wada H, Wakabayashi H, Yoshida K, Miyamoto N, Asanuma K, Matsumoto T, Ohishi K, Shimokariya Y, Yamada N, Uchida A, Sudo A: The relationships among hemostatic markers, the withdrawal of fondaparinux due to a reduction in hemoglobin and deep vein thrombosis in Japanese patients undergoing major orthopedic surgery. *Clin Chim Acta*. 2013; 425: 109-113
- 7) Seki Y, Wada H, Kawasugi K, Okamoto K, Uchiyama T, Kushimoto S, Hatada T, Matsumoto T, Imai H; Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC Subcommittee A prospective analysis of disseminated intravascular coagulation in patients with infections. *Intern Med*. 2013;52: 1893-1898.
- 8) Wada H, Thachil J, Di Nisio M, Mathew P, Kurosawa S, Gando S, Kim HK, Nielsen JD, Dempfle CE, Levi M,

Toh CH; The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis.: Guidance for diagnosis and treatment of DIC from harmonization of the recommendations from three guidelines. J Thromb Haemost. 2013;11: 761-767

- 9) Gando S, Wada H, Tachil J; The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis (ISTH). Differentiating disseminated intravascular coagulation (DIC) with the fibrinolytic phenotype from coagulopathy of trauma and acute coagulopathy of trauma-shock (COT/ACOTS). J Thromb Haemost. 2013;11:826-835
- 10) Wada H, Thachil J, Di Nisio M, Kurosawa S, Gando S, Toh CH; The Scientific Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis Haemostasis.: Harmonized guidance for DIC from the ISTH and the current status of anticoagulant therapy in Japan: a rebuttal. J Thromb Haemost. 2013; 11:2078-2079.
- 11) Yamashita Y, Naitoh K, Wada H, Ikejiri M, Mastumoto T, Ohishi K, Hosaka Y, Nishikawa M, Katayama N: Elevated plasma levels of soluble

platelet glycoprotein VI (GPVI) in patients with thrombotic microangiopathy. Thromb Res. 2013 (in press)

2. 学会発表

- 1) Wada H: Chairman's report, 59th SSC meeting, Amsterdam, June 29-30, 2013
- 2) Matsumoto T, Wada H, Hasegawa M, Wakabayashi H, Yoshida K, Miyamoto N, Asanuma K, Ohishi K, Shimokariya Y, Yamada N, Uchida A, Sudo A: The relationships among hemostatic markers, the withdrawal of fondaparinux due to a reduction in hemoglobin and deep vein thrombosis in Japanese patients undergoing major orthopedic surgery. XXIVth ISTH Congress, Amsterdam, June 29-July4, 2013
- 3) Sakon M, Kobayashi T, Wada H, Seo N: Study of enoxaparin sodium [subcutaneous injection kit] used in clinical setting in patients undergoing abdominal surgery [general surgery and gynecology]-specified drug- use survey. XXIVth ISTH Congress, Amsterdam, June 29-July4, 2013
- 4) Wada H: Educational Lecture, Guidance for diagnosis and treatment of DIC, 59th SSC meeting, Amsterdam, June 29-30, 2013

- 5) 和田英夫：旧厚生省基準などスコアリングによる DIC 診断基準のエビデンス、DIC 部会、第 7 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2013 年 1 月 12 日、東医健保会館
- 6) 和田英夫：DIC、医師シンポジウム「救急から集中治療へ・臓器不全対策」、第 21 回日本集中治療医学会東海北陸地方会、2013 年 6 月 15 日、岐阜、じゅうろくぶらざ
- 7) 和田英夫：2013 年に公表される新しい ISTH の DIC 診療ガイドンス、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 6 月 1 日、山形、山形国際ホテル

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

定量 PCR および次世代シーケンサーを用いた ADAMTS13 遺伝子解析

研究分担者 小亀 浩市 国立循環器病研究センター分子病態部 室長

研究協力者 宮田 敏行 国立循環器病研究センター分子病態部 部長

研究協力者 樋口(江浦)由佳 国立循環器病研究センター分子病態部 派遣研究員

研究要旨

ADAMTS13 はフォンビルブランド因子を切断する血漿プロテアーゼである。遺伝子異常や自己抗体の出現などによる血漿 ADAMTS13 活性の損失は、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の要因となる。特に ADAMTS13 遺伝子の異常によって発症する TTP を先天性 TTP あるいは Upshaw-Schulman 症候群 (USS) と呼ぶ。これまでに我々は奈良県立医科大学輸血部と共に、USS 患者 43 家系の ADAMTS13 遺伝子解析をダイレクト・シーケンシング法を用いて実施し、40 家系の患者 46 名に複合ヘテロ接合性あるいはホモ接合性の非同義変異を同定した。本研究では、定量 PCR を利用した遺伝子解析法を導入することで、ダイレクト・シーケンシング法では検出できなかった欠失異常 c.746_987+373del および c.3751_3892+587del を 2 名の患者にそれぞれ同定した。USS 患者では初めて同定されたタイプの遺伝子異常である。定量 PCR 法でも異常が検出されなかった患者 1 名の家系に対し、次世代シーケンサーを利用して ADAMTS13 遺伝子全体を調べたが、原因と思われる変異は見出されなかった。この患者には、未知のタイプの ADAMTS13 遺伝子異常あるいは ADAMTS13 以外の遺伝子異常が存在するのかもしれない。

A . 研究目的

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) の発症は、フォンビルブランド因子 (von Willebrand factor; VWF) を特異的に切断する血漿プロテアーゼ ADAMTS13 の活性著減で起こる。ADAMTS13 活性の損失は、先天的な ADAMTS13 遺伝子異常あるいは後天的に生じる抗 ADAMTS13 自己抗体によって起こる。特に ADAMTS13 遺伝子異常によって劣性遺伝形式で発症する TTP を先天性 TTP あるいは Upshaw-Schulman 症候群 (Upshaw-Schulman syndrome; USS)

と呼ぶ。我々は、USS 患者の ADAMTS13 遺伝子解析、日本人一般住民の ADAMTS13 活性と遺伝子多型の分析、ADAMTS13 結合タンパク質の探索、ADAMTS13 分子の立体構造解析などに重点をおいて研究を進めてきた。本研究事業では、USS 患者の遺伝子解析、ADAMTS13 変異体の立体構造解析などを主な研究テーマとしている。

我々はこれまで、USS 患者およびその家系構成員を対象に ADAMTS13 遺伝子の塩基配列を調べ、USS 発症の原因となる遺伝子異常を特定してきた。一般に、遺伝性疾患が疑われる患者の遺伝子の塩基配列は、

標的遺伝子の各エクソンを PCR で増幅して塩基配列を解読する方法、すなわちダイレクト・シーケンシング法によって決定される。我々も ADAMTS13 遺伝子に対して定法にしたがい、各エクソンの外側に PCR プライマーを設計し、検体 DNA から各エクソンを選択的に増幅させ、その塩基配列を決定してきた。

これまでに奈良県立医科大学輸血部と共同でダイレクト・シーケンシング法による遺伝子解析を行った USS 患者は 49 名 (43 家系) であるが、うち 46 名 (40 家系) に複合ヘテロ接合性あるいはホモ接合性の非同義変異 (ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト、スプライシング異常) を同定することができた。ADAMTS13 遺伝子の両アレルに非同義変異が存在することは、劣性遺伝形式を示す USS の発症をうまく説明することができる。しかしながら、残りの患者 3 名 (3 家系) のうち、2 名には 1 アレルしか非同義変異が検出されず、1 名には変異が全く検出されなかった。ダイレクト・シーケンシング法では、比較的大きな欠失等の遺伝子異常を見逃す可能性がある。

そこで本研究では、ダイレクト・シーケンシング法を補完することを目的とし、定量 PCR を利用する解析と次世代シーケンサーを利用する解析を試みた。

B . 研究方法

ダイレクト・シーケンシング法では、ある種の遺伝子異常を見逃す可能性がある。ダイレクト・シーケンシング法を補完する目的で、しばしば Multiplex Ligation-dependent Probe

Amplification (MLPA) 法 や ア レ イ Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法が利用されるが、これらにおいても、検出プローブから外れた領域の変異は見逃されるため、ダイレクト・シーケンシング法を完全に補完できるとは言えない。

そこで本研究では、ゲノム DNA を鋳型とするリアルタイム定量 PCR に独自の工夫を加え、ダイレクト・シーケンシング法を効果的に補完できる解析法を開発した。その工夫とは、定量 PCR で用いるプライマーとして、定量 PCR に適した比較的小さいエクソン領域 (< ~500 bp) に対してはダイレクト・シーケンシング法と同一のプライマーペアを、定量 PCR に不向きな大きい領域 (> ~500 bp) に対してはダイレクト・シーケンシング法と同一のプライマーと新たに設計したプライマーのペアを使用することである。この定量 PCR 法とダイレクト・シーケンシング法を組み合わせれば、標的エクソン領域内で生じる異常を見逃す可能性がなくなる。一定量の DNA 試料に対してリアルタイム定量 PCR を行い、標的領域ごとの反応の cycle threshold (Ct) 値を算出し、試料間の Ct 値を比較することで、エクソン領域の相対的コピー数を分析した。Ct 値が 1 大きければその領域のヘテロ接合性欠損を、Ct 値が 0.58 小さければその領域のヘテロ接合性重複を意味する。

また、ダイレクト・シーケンシング法と定量 PCR 法で変異が検出されなかった患者家系を対象に、いずれの方法でも解析対象外であったイントロン領域をすべて含む ADAMTS13 遺伝子全体 (約 45 kbp) の塩基配列を次世代シーケンサーで解析

した。ong-range PCR により、ADAMTS13 遺伝子全体を互いにオーバーラップする 6 個の断片（それぞれ約 10 kbp 長）に分けて増幅調製し、それらを等モル比で混合したのち、次世代シーケンサーシステム MiSeq（イルミナ社）に供した。

（倫理面への配慮）

本研究は国立循環器病研究センターおよび奈良県立医科大学の倫理委員会で研究計画の承認を受けた上で実施した。研究参加者からは書面でのインフォームドコンセントを得た。

C . 研究結果

ダイレクト・シーケンシング法で発症要因が特定できなかった USS 患者 3 名に対し、本研究で開発した定量 PCR 法を行った。その結果、1 名の患者ではエクソン 7 の一部とエクソン 8 が、別の 1 名の患者ではエクソン 27 が、それぞれ片側アレルで欠失していることが明らかになった。両患者の DNA で PCR マッピングを行ったところ、エクソン 7 の一部とエクソン 8 の欠失は c.746_987+373del と表記される 1,782 bp の欠失であり、エクソン 27 の欠失は c.3751_3892+587del と表記される 729 bp の欠失であることが明らかになった。

c.746_987+373del を保有する患者は、すでにダイレクト・シーケンシング法でミスセンス変異 p.G550R を保有していることがわかっていたため、両変異の複合ヘテロ接合体であることが予想された。同患者の両親の ADAMTS13 遺伝子解析を行い、患者の複合ヘテロ接合性を確認した。同様に、c.3751_3892+587del を保有する

患者はミスセンス変異 p.C281S を保有していたため、上述の患者と同様に両変異の複合ヘテロ接合性を確認した。

本研究で定量 PCR 法の解析対象となった 3 名のうち 1 名の患者では、ダイレクト・シーケンシング法だけでなく、定量 PCR 法による解析でも遺伝子異常は検出されなかった。そこで、次世代シーケンサーを利用して患者および両親の ADAMTS13 遺伝子全体の塩基配列を解析した。ダイレクト・シーケンシング法の結果と同様、エクソン領域には原因と思われる異常は全く見つからなかった。イントロン領域には既知および新規の多様性が見られたが、少なくとも現時点において、USS 発症の原因につながると予想される変異は見出されなかった。

D . 考察

遺伝性希少疾患の診断を確定する際、原因変異を特定することはきわめて重要である。次世代シーケンサーの普及に伴い、遺伝子解析の方法は変化していくと予想されるが、希少疾患で、かつ、USS のように責任遺伝子が限定されている場合、依然としてダイレクト・シーケンシング法がコスト面等で優れている。しかし、ダイレクト・シーケンシング法では見逃される遺伝子異常が存在し、そのために確定診断に疑問の余地が残る場合がある。

本研究では、ダイレクト・シーケンシング法で見逃される変異を捕捉する目的で、定量 PCR を利用した遺伝子解析を導入した。その結果、これまで検出できていなかった遺伝子欠失を 2 名の患者に見

出すことができた。USS の診断を支持する重要な成果である。国内外を通して、エクソンを含む大きな領域の欠失を ADAMTS13 遺伝子に見出したのは本研究が初めてである。49 名の USS 患者のうち 2 名が大きな領域の欠失をヘテロ接合性で保有するということは、異常 ADAMTS13 遺伝子の約 2 % にそのようなダイレクト・シーケンシング法で見逃される変異が存在することになる。この事実は、今後の USS 患者の遺伝子解析に対して有用な影響を与えられる。

ダイレクト・シーケンシング法、定量 PCR 法、次世代シーケンシング法のいずれにおいても ADAMTS13 遺伝子に異常が見出されない患者が 1 名残った。この患者には、これらの方法で検出できないタイプの遺伝子異常（例えば逆位や転座等）が ADAMTS13 遺伝子に存在する、あるいは ADAMTS13 の合成や分泌等に関わる他の遺伝子に原因が存在するという可能性が考えられる。

E . 結論

USS 患者の ADAMTS13 遺伝子解析において、定量 PCR を利用した解析法を導入することにより、ダイレクト・シーケンシング法では検出できなかった遺伝子異常を発見することができた。定量 PCR 法の開発および新規変異の発見は高く評価され、国際誌 *Molecular Genetics & Genomic Medicine* に原著論文として掲載された。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

Masanobu Morioka, Masanori Matsumoto, Makoto Saito, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura: A first bout of thrombotic thrombocytopenic purpura triggered by herpes simplex infection in a 45-year-old nulliparous female with Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Transfus*, in press.

Masashi Akiyama, Daisuke Nakayama, Soichi Takeda, Koichi Kokame, Junichi Takagi, Toshiyuki Miyata: Crystal structure and enzymatic activity of an ADAMTS13 mutant with the East Asian-specific P475S polymorphism. *J Thromb Haemost*, 11 (7), 1399-1406 (2013)

Yoshie Takizawa, Yukiko Kosuge, Hiroyo Awaji, Emi Tamura, Ayako Takai, Takaaki Yanai, Reiko Yamamoto, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Rieko Nakata, Hiroyasu Inoue: Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), silent mating type information regulation 2 homologue 1 (SIRT1) and autophagy-related genes by repeated treatments with resveratrol in human umbilical vein endothelial cells. *Brit J Nutr*, 110 (12), 2150-2155 (2013)

Yusuke Satoh, Takafumi Yokota, Takao Sudo, Motonari Kondo, Anne Lai, Paul W. Kincade, Taku Kouro, Ryuji Iida, Koichi

Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoko Habuchi, Keiko Matsui, Hirokazu Tanaka, Itaru Matsumura, Kenji Oritani, Terumi Kohwi-Shigematsu, Yuzuru Kanakura: The Satb1 protein directs hematopoietic stem cell differentiation toward lymphoid lineages. *Immunity*, 38 (6), 1105-1115 (2013)

Koki Mise, Yoshifumi Ubara, Masanori Matsumoto, Keiichi Sumida, Rikako Hiramatsu, Eiko Hasegawa, Masayuki Yamanouchi, Noriko Hayami, Tatsuya Suwabe, Junichi Hoshino, Naoki Sawa, Kenichi Ohashi, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura, Kenmei Takaichi: Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years. *BMC Nephrol*, 14, 156 (2013)

Hirokazu Tanaka, Chiaki Tenkumo, Nobuhiro Mori, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Hata: Case of maternal and fetal deaths due to severe congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) during pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res*, 40 (1), 247-249 (2014)

Shohei Shinozaki, Tsuyoshi Chiba, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Eiji Kaneko, Kentaro Shimokado: A

deficiency of Herp, an endoplasmic reticulum stress protein, suppresses atherosclerosis in apoE knockout mice by attenuating inflammatory responses. *PLoS One*, 8, e75249 (2013)

Riccardo Bernasconi, Carmela Galli, Koichi Kokame, Maurizio Molinari: Auto-adaptive ER-associated degradation defines a pre-emptive unfolded protein response pathway. *Mol Cell*, 52 (6), 783-793 (2013)

Jacob Larkin, Baosheng Chen, Xiao-Hua Shi, Takuya Mishima, Koichi Kokame, Yaacov Barak, Yoel Sadovsky: NDRG1 deficiency attenuates fetal growth and the intrauterine response to hypoxic injury. *Endocrinology*, in press.

Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiro Takafuta, Ryojiro Tanaka, Hikaru Kobayashi, Fumihiro Ishida, Shuichi Hisanaga, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata: Candidate gene analysis using genomic quantitative PCR: Identification of ADAMTS13 large deletions in two patients with Upshaw-Schulman syndrome. *Mol Genet Genomic Med*, in press.

小亀浩市. ADAMTS13 と血栓性血小板減少性紫斑病. 循環器病研究の進歩, 34 (1), 69-75 (2013)

藤村吉博, 松本雅則, 石西綾美, 八木秀

男, 小亀浩市, 宮田敏行: 血栓性血小板減少性紫斑病. 臨床血液, 55 (1), 93-104 (2014)

小亀浩市, 樋口由佳: Upshaw-Schulman 症候群の ADAMTS13 遺伝子解析. 細胞, 46 (2), 61-63 (2014)

2. 学会発表

小亀浩市, 秋山正志, 宮田敏行: ADAMTS13 の正常な分泌にはシクロフィリン B によるプロリン残基異性化が必要である. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会, 山形, 2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日

坂野史明, 喜多俊行, 柳本広二, 田嶋優子, 小亀浩市, 宮田敏行: プロテイン S 徳島 (PS-K196E) 変異ノックインマウスの樹立と解析. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会, 山形, 2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日

小堺貴司, 森山雅人, 布施一郎, 柴崎康彦, 増子正義, 瀧澤淳, 鳥羽健, 吉田邦彦, 小亀浩市, 宮田敏行, 松本雅則, 藤村吉博, 曾根博仁: 妊娠を契機に診断された新規の遺伝子変異を伴う Upshaw-Schulman 症候群 (USS) の一例. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会, 山形, 2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日

土井政明, 松井英人, 竹田征治, 斎藤能彦, 武田麻衣子, 松成泰典, 西尾健治, 嶋緑倫, 坂野史明, 秋山正志, 小亀浩市, 宮田敏行, 杉本充彦: マウス急性心筋梗塞モデルにおける ADAMTS13 の心筋保護作

用. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会, 山形, 2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日

Koichi Kokame: Quantitative PCR-based analysis of ADAMTS13 genetic defects. The 59th Annual Scientific and Standardization Committee Meeting, Amsterdam, The Netherlands, June 29-30, 2013.

Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiro Takafuta, Ryojiro Tanaka, Hikaru Kobayashi, Fumihiro Ishida, Shuichi Hisanaga, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, and Toshiyuki Miyata: Quantitative PCR assay demonstrated exon deletions of ADAMTS13 in two unrelated patients with Upshaw-Schulman syndrome. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Amsterdam, The Netherlands, June 29-July 4, 2013.

Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, and Toshiyuki Miyata: Exacerbated venous thromboembolism in mice with the protein S Tokushima mutation. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Amsterdam, The Netherlands, June 29-July 4, 2013.

樋口 (江浦) 由佳, 小亀浩市, 松本雅則, 藤村吉博, 宮田敏行: 血栓性血小板減少

性紫斑病患者の ADAMTS13 遺伝子に伏在していた変異の発見：ゲノム DNA を用いた定量 PCR 法の開発．第 18 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会，豊中，2013 年 8 月 16-17 日

樋口（江浦）由佳，小亀浩市，松本雅則，藤村吉博，宮田敏行：日本における先天性 ADAMTS13 欠損症の遺伝子解析．第 86 回日本生化学会大会，横浜，2013 年 9 月 11-13 日

Yoshihiro Fujimura, Yumi Yoshii, Masanori Matsumoto, Ayami Isonishi, Masaki Hayakawa, Yoko Yoshida, Hideo Yagi, Koichi Kokame, and Toshiyuki Miyata: A long-term phenotype analysis of 51 patients with Upshaw-Schulman syndrome in Japan, with special references to pregnancy and renal failure that requires hemodialysis. The 55th ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, USA, December 7-10, 2013.

H．知的財産権の出願・登録状況

- 1．特許取得
なし
- 2．実用新案登録
なし
- 3．その他
なし

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	教授
研究分担者：	坂田 洋一	自治医科大学医学部	教授
	宮田 敏行	国立循環器病研究センター研究所	部長
	川崎 富夫	厚生会第一病院 健康医学研究所	所長
	横山 健次	慶應義塾大学医学部	講師
	小林 隆夫	浜松医療センター	院長
	榛沢 和彦	新潟大学大学院	講師
研究協力者：	中村 真潮	三重大学大学院	教授
	山田 典一	三重大学大学院	講師
	太田 覚史	三重大学大学院	助教
	平井 久也	浜松医療センター	副医長
	尾島 俊之	浜松医科大学	教授
	杉浦 和子	浜松医科大学	博士課程

平成 25 年度（総括）研究報告書

特発性血栓症サブグループ研究

グループリーダー：小嶋 哲人 名古屋大学大学院

研究分担者：坂田 洋一 自治医科大学

宮田 敏行 国立循環器病研究センター

川崎 富夫 厚生会第一病院

横山 健次 慶應義塾大学

小林 隆夫 浜松医療センター

榛沢 和彦 新潟大学大学院

研究協力者：中村 真潮 三重大学大学院 / 山田典一 三重大学大学院

太田 覚史 三重大学 / 平井久也 浜松医療センター

尾島 俊之 浜松医科大学 / 杉浦和子 浜松医科大学

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、近年我が国でも増加している静脈血栓塞栓症のエビデンス収集とともに、その発症要因や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静脈血栓塞栓症の予知・予防の対策確立を目的とする。数年来の本研究班活動を通じた特発性血栓症の診療・予後改善に向けた医療行政上の成果として、日本人に多いプロテイン S 異常症の診断に欠かせない「プロテイン S 活性測定検査の保険収載」、ならびに「ヘパリン在宅自己注射の保険適用」があげられる。また、個別研究として「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の全国調査研究」、「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」、「日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略に関する研究」、「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」、「日本人の血栓性遺伝素因プロテイン S K196E 変異の地理的分布」、「特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の有効性と安全性に関する臨床研究」、「日本人血栓症患者における血栓性素因の調査研究」、「Bortezomib が巨核球、血小板に与える影響の解析、および多発性骨髄腫患者における静脈血栓塞栓症発症の解析」、「震災後の静脈血栓塞栓症に関する長期的観察研究」が行われた。

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、近年我が国でも増加している静脈血栓塞栓症の日本人でのエビデ

ンスを収集するとともに、静脈血栓塞栓症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静脈血栓塞栓症の予

知・予防のための対策確立を目的とする。

B．研究方法

特発性血栓症研究班 / 静脈血栓症サブグループ研究は、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静脈血栓塞栓症患者を対象とした調査研究等から構成される。本年度の各個研究においては、それぞれ「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の全国調査研究」、「日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略に関する研究」、「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」、「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」、「日本人の血栓性遺伝素因プロテイン S K196E 変異の地理的分布」、「特発性血栓症 / 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の有効性と安全性に関する臨床研究」、「日本人血栓症患者における血栓性素因の調査研究」、「Bortezomib が巨核球、血小板に与える影響の解析、および多発性骨髄腫患者における静脈血栓塞栓症発症の解析」、「震災後の静脈血栓塞栓症に関する長期的観察研究」が行われた。

(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り、また、遺伝子解析研究においても「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、各施設の倫理委員会の承認を得た後に実施した。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として「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の全国調査研究」では、9383施設(医育機関 2797 講座、病院 6586 施設)にアンケートを送付した結果、推定で肺血栓塞栓症は年間 16096 件、深部静脈血栓症は 24538 件発症しており、経年的に増加していることが示された。また、「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」では、9,318 診療科の一次調査(回収率 44.2%)、「症例あり」回答の 500 診療科に対し二次調査(現時点での回答率は 68.2%)を行っており、得られた調査結果を今後解析する予定である。「日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略に関する研究」では、止血検査精度の向上と血栓予防・治療薬の安全性の向上に貢献した。「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」では、VTE 高リスク患者の APC-sr および PS 抗原と PS 活性の比活性測定が VTE 予知に寄与する可能性が判明した。「日本人の血栓性遺伝素因プロテイン S K196E 変異の地理的分布研究」では、本変異は日本人にだけ見られる血栓性遺伝子変異で比較的新しく生じたものと考えられることが示された。「特発性血栓症 / 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の有効性と安全性に関する臨床研究」では、ワルファリン療法における PT-INR 自己測定の導入は、安全で有効な手法であることを明らかにした。「日本人血栓症患者における血栓性素因の調査研究」では、*SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 遺伝子変異の発見率は欧米諸国の知見と同様、AT 欠損症 > PC 欠損症

>PS 欠損症の順であったことが報告された。「Bortezomib が巨核球、血小板に与える影響の解析、および多発性骨髄腫患者における静脈血栓塞栓症発症の解析」では、Bortezomib は血小板機能に影響を与えるものの、巨核球分化、血小板産生には影響を与えなかったこと、また多発性骨髄腫患者の VTE 発症率は欧米の報告と同等であること、が報告された。「震災後の静脈血栓塞栓症に関する長期的観察研究」では、震災後の DVT は様々な因子によるものである。しかし自家用車による車中泊避難は本研究により国内外で危険性が特に高いことが示唆された。

D . 考察

数年来の本研究班活動を通した「日本人に多いプロテイン S 異常症の診断に欠かせないプロテイン S 活性測定検査の保険収載」、ならびに「ヘパリン在宅自己注射の保険適用」の医療行政上の成果は、日本人での特発性血栓症での診療・予後改善に寄与することが期待される。今年度の全国調査研究では特に肺血栓塞栓症の経年的増加が示され、また周産期血栓症にも関わる女性ホルモンと血栓症の関連調査では日本人における貴重なエビデンスの収集が期待される。肺血栓塞栓症の予防・診断・治療ガイドラインは国民を対象としたもので、患者のみならず社会のメリットが最大限になることが求められる。APC-sr および PS 比活性測定が日常臨床で応用されれば入院患者における VTE 予知に寄与でき、厚労行政にとって大きなメリットとなることが期待できる。プロテイン S K196E 変異は日本人特有の

血栓性素因であることが示され、その簡便な診断法が開発され日本人の特発性血栓症予防医療に生かされることが期待される。日本人患者におけるワルファリン療法中の PT-INR の自己測定は安全で有効な手法であると考えられ、今後の普及が期待される。AT 欠損症、PC 欠損症、PS 欠損症でのそれぞれ正確な遺伝子変異診断は病態解析に重要と思われる。多発性骨髄腫患者では欧米人と同様に VTE 発症に注意が必要と思われる。震災後の車中泊は欧米においても肺塞栓症発症の危険性が明らかになり、震災後の車中泊時では肺塞栓症予防が特に重要と思われる。

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、その発症原因・発症メカニズムの解明は、我が国における特発性血栓症の予知・予防のための対策確立に重要と思われる。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura M, Miyata T, Ozeki Y, Takayama M, Komori K, Yamada N, Origasa H, Satokawa H, Maeda H, Tanabe N, Unno N, Shibuya T, Tanemoto K, Kondo K, Kojima T: Current venous thromboembolism management and its outcomes in Japan: the nationwide JAVA observational study. Circ J. 2014

- in press.
- 2) Murata M, Takagi A, Suzuki A, Okuyama E, Takagi Y, Ando Y, Kato I, Nakamura Y, Murate T, Matsushita T, Saito H, Kojima T: Development of a new laboratory test to evaluate antithrombin resistance in plasma. *Thromb Res.* 133(2): 293-298, 2014.
 - 3) 安藤裕実、小嶋哲人：新規抗凝固薬（抗Xa、抗トロンビン薬）のポテンシャル 血液疾患 最新の治療 2014-2016 直江知樹、小澤敬也、中尾眞二編 南江堂 東京 pp54-58, 2014.
 - 4) 小嶋哲人：血栓症・血栓性素因の臨床検査 日本内科学会雑誌 102(12), 3147-3153, 2013.
 - 5) 村田萌、小嶋哲人：アンチトロンビンレジスタンス *International Review of Thrombosis* 8(4), 30-33, 2013.
 - 6) Djordjevic V, Kovac M, Miljic P, Murata M, Takagi A, Pruner I, Francuski D, Kojima T, Radojkovic D.: A novel prothrombin mutation in two families with prominent thrombophilia- the first cases of antithrombin resistance in a Caucasian population. *J Thromb Haemost.* 2013 Oct;11(10):1936-9.
 - 7) 小嶋哲人：凝固障害、線溶障害 改訂第8版 内科学書 Vol. 6 血液・造血器疾患、神経疾患 小川聡編 中山書店 東京 pp187-192, 2013.1
 - 8) 高木 明、小嶋哲人：凝固因子 臨床に直結する血栓止血学 朝倉英策編 中外医学社 東京pp67-69, 2013.
 - 9) Suzuki N, Kunishima S, Ikejiri M, Maruyama S, Sone M, Takagi A, Ikawa M, Okabe M, Kojima T, Saito H, Naoe T, Matsushita T. Establishment of Mouse Model of MYH9 Disorders: Heterozygous R702C Mutation Provokes Macrothrombocytopenia with Leukocyte Inclusion Bodies, Renal Glomerulosclerosis and Hearing Disability. *PLoS One.* 2013 Aug 20;8(8):e71187.
 - 10) 竹下享典、小嶋哲人：動脈硬化、血栓性疾患の発症と予防における抗凝固薬の役割 動脈硬化予防 12(2), 85-93, 2013.
 - 11) Okuyama E, Suzuki A, Murata M, Ando Y, Kato I, Takagi Y, Takagi A, Murate T, Saito H, Kojima T: Molecular mechanisms of syndecan-4 upregulation by TNF- in the endothelium-like EAhy926 cells. *J Biochem.* 2013 Jul;154(1):41-50.
 - 12) Fukuda T, Kamisato C, Honda Y, Matsushita T, Kojima T, Furugohri T, Morishima Y, Shibano T.: Impact of antithrombin deficiency on efficacy of edoxaban and antithrombin-dependent anticoagulants, fondaparinux, enoxaparin, and heparin. *Thromb Res.* 2013 Jun;131(6):540-6.
 - 13) Mizutani N, Kobayashi M, Sobue S,

- Ichihara M, Ito H, Tanaka K, Iwaki S, Fujii S, Ito Y, Tamiya-Koizumi K, Takagi A, Kojima T, Naoe T, Suzuki M, Nakamura M, Banno Y, Nozawa Y, Murate T.: Sphingosine kinase 1 expression is downregulated during differentiation of Friend cells due to decreased c-MYB. *Biochim Biophys Acta*. 2013 May; 1833(5): 1006-16.
- 14) 高木タ希、小嶋哲人: 活性化プロテインC (APC) レジスタンス 別冊 日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.23 血液症候群 (第2版) (III) – その他の血液疾患を含めて– 日本臨牀社 大阪 pp27-30, 2013.
 - 15) 鈴木敦夫、小嶋哲人: 新規抗凝固薬の薬力学的特徴 呼吸と循環61(5). 402-409, 2013.
 - 16) 小嶋哲人: 新しい経口抗凝固薬 検査と技術 41(5). 430-434, 2013.
 - 17) Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y: ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japan (review). *Hamostaseologie*, 33(2), 131-137, 2013
 - 18) Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Tomomori M, Miyagawa S, Fujimaru R, Yamada H, Sawai T, Ikeda Y, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Aizawa Y, Harada H, Wada H, Ishikawa E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y: Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. *Mol Immunol*, 54(2), 238-246, 2013
 - 19) Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y: The Satb1 Protein Directs Hematopoietic Stem Cell Differentiation toward Lymphoid Lineages. *Immunity*, 38(6), 1105-1115, 2013
 - 20) Akiyama M, Nakayama D, Takeda S, Kokame K, Takagi J, Miyata T: Crystal structure and enzymatic activity of an ADAMTS-13 mutant with the East Asian-specific P475S polymorphism. *J Thromb Haemost*, 11(7), 1399-1406, 2013
 - 21) Mise K, Ubara Y, Matsumoto M, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Ohashi K, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y, Takaichi K: Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years: a case report. *BMC Nephrol*, 14:156, 2013
 - 22) Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X,

- Koizumi A, Miyata T: Protein S K196E mutation, a genetic risk factor venous thromboembolism, is limited to Japanese. *Thromb Res*, 132, 314-315, 2013
- 23) Muratsu J, Morishima A, Mizoguchi K, Ataka K, Yamamoto H, Fan X, Miyata T, Sakaguchi K: Budd-Chiari Syndrome with multiple thrombi due to a familial Arg42Ser mutation in the protein C gene. *Case Reports in Medicine*, Volume 2013, Article ID 270419, 6 pages, 2013
- 24) Shinozaki S, Chiba T, Kokame K, Miyata T, Kaneko E, Shimokado K: A deficiency of Herp, an endoplasmic reticulum stress protein, suppresses atherosclerosis in apoE knockout mice by attenuating inflammatory responses. *PLoS ONE*, 8(10), e75249, 2013.
- 25) Kamide K, Asayama K, Katsuya T, Ohkubo T, Hirose T, Inoue R, Metoki H, Kikuya M, Obara T, Hanada H, Thijs L, Kuznetsova T, Noguchi Y, Sugimoto K, Ohishi M, Morimoto S, Nakahashi T, Takiuchi S, Ishimitsu T, Tsuchihashi T, Soma M, Higaki J, Matsuura H, Shinagawa T, Sasaguri T, Miki T, Takeda K, Shimamoto K, Ueno M, Hosomi N, Kato J, Komai N, Kojima S, Sase K, Miyata T, Tomoike H, Kawano Y, Ogiwara T, Rakugi H, Staessen JA, Imai Y: Genome-wide response to antihypertensive medication using home blood pressure measurements: a pilot study nested within the HOMED-BP study. *Pharmacogenomics*, 14(14), 1709-1721, 2013
- 26) Honda S, Shirotani-Ikejima H, Tadokoro S, Tomiyama Y, Miyata T: The integrin-linked kinase-PINCH-parvin complex supports integrin $\alpha 11\beta 3$ activation. *PLoS ONE*, 8(12), e85498, 2013
- 27) Yin T, Miyata T: Dysfunction of protein C anticoagulant system, main genetic risk factor for venous thromboembolism in Northeast Asians (review). *J Thromb Thrombolysis*, 2013 Nov 15. [Epub ahead of print]
- 28) Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T: Candidate gene analysis using genomic quantitative PCR: Identification of ADAMTS13 large deletions in two patients with Upshaw-Schulman syndrome, *Mol Genet Genomic Med*, 2014, in press.
- 29) 宮田敏行、森下英理子「先天性血栓性素因」血栓と循環、第21巻、第1号、6-11頁、2013
- 30) 宮田敏行、小亀浩市、小久保喜弘「先天性ADAMTS欠損症」臨床検査、第57巻、第5号、556-561頁、2013
- 31) 坂野史明、宮田敏行、藤岡政行、杉本充彦「遺伝子改变血栓モデル：

- ADAMTS13遺伝子欠損マウスを中心に」 *Thrombosis Medicine*, 第3巻、第2号、36-43頁、2013
- 32) 芦田 明、吉田瑶子、範 新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博「Atypical HUSにおける補体制御異常症診断システムの構築と腎移植」*日本臨床腎移植学会雑誌*、第1巻、第1号、39-44頁、2013
 - 33) 藤村吉博、吉田瑶子、範 新萍、宮田敏行「非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)」*臨床血液*、第54巻、第10号、351(1897)-360(1906)頁、2013
 - 34) 岡 政史、大塚泰史、稲田由紀子、佐藤忠司、吉田瑶子、藤村吉博、Fan Xinping、宮田敏行、濱崎雄平「抗CFH抗体陽性および*CFHR1*遺伝子欠失を伴うDEAP-HUSの1例」*日本小児腎臓病学会雑誌*、第26巻、第2号、109(285)-115(291)頁、2013
 - 35) 秋山正志、武田壮一、宮田敏行「東アジア人特有のP475S変異を持つADAMTS13の立体構造と機能解析」*血栓止血学会誌*、第25巻、第1号、2014、印刷中
 - 36) 宮田敏行、水口純、鈴木敦夫、小嶋哲人「特集 血液凝固の制御機構と臨床応用への展望：プロテインC/プロテインSの基礎」*血栓止血学会誌*、第25巻、第1号、2014、印刷中
 - 37) Sakata, A., Ohmori, T., Nishimura, S., Suzuki, H., Madoiwa, S., Mimuro, J., Kario, K. & Sakata, Y. Paxillin is an intrinsic negative regulator of platelet activation in mice. *Thrombosis journal* 12, 1, 2014.
 - 38) Koyama, K., Madoiwa, S., Nunomiya, S., Koinuma, T., Wada, M., Sakata, A., Ohmori, T., Mimuro, J. & Sakata, Y. Combination of thrombin-antithrombin complex, plasminogen activator inhibitor-1, and protein C activity for early identification of severe coagulopathy in initial phase of sepsis: a prospective observational study. *Critical care* 18, R13, 2014.
 - 39) Kashiwakura, Y., Ohmori, T., Mimuro, J., Madoiwa, S., Inoue, M., Hasegawa, M., Ozawa, K. & Sakata, Y. Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. *Haemophilia: the official journal of the World Federation of Hemophilia* 20, e40-44, 2014.
 - 40) Yasumoto, A., Madoiwa, S., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Mizukami, H., Ozawa, K., Sakata, Y. & Mimuro, J. Overexpression of factor VII ameliorates bleeding diathesis of factor VIII-deficient mice with inhibitors. *Thrombosis research* 131, 444-449, 2013.
 - 41) Watanabe, H., Kikkawa, I., Madoiwa, S., Sekiya, H., Hayasaka, S. & Sakata, Y. Changes in Blood Coagulation-Fibrinolysis Markers By Pneumatic Tourniquet During Total Knee Joint Arthroplasty With

- Venous Thromboembolism. The Journal of arthroplasty, 2013.
- 42) Mimuro, J., Mizukami, H., Shima, M., Matsushita, T., Taki, M., Muto, S., Higasa, S., Sakai, M., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K. & Sakata, Y. The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. Journal of medical virology, 2013.
 - 43) Mimuro, J., Mizukami, H., Hishikawa, S., Ikemoto, T., Ishiwata, A., Sakata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ono, F., Ozawa, K. & Sakata, Y. Minimizing the inhibitory effect of neutralizing antibody for efficient gene expression in the liver with adeno-associated virus 8 vectors. Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy 21, 318-323, 2013.
 - 44) Madoiwa, S., Kitajima, I., Ohmori, T., Sakata, Y. & Mimuro, J. Distinct reactivity of the commercially available monoclonal antibodies of D-dimer and plasma FDP testing to the molecular variants of fibrin degradation products. Thrombosis research 132, 457-464, 2013.
 - 45) Koyama, K., Madoiwa, S., Tanaka, S., Koinuma, T., Wada, M., Sakata, A., Ohmori, T., Mimuro, J., Nunomiya, S. & Sakata, Y. Evaluation of hemostatic biomarker abnormalities that precede platelet count decline in critically ill patients with sepsis. Journal of critical care 28, 556-563, 2013.
 - 46) Ashizawa, M., Kimura, S., Wada, H., Sakamoto, K., Sato, M., Terasako, K., Kikuchi, M., Nakasone, H., Okuda, S., Kako, S., Yamazaki, R., Oshima, K., Matsuura, K., Ohmori, T., Madoiwa, S., Nishida, J., Mimuro, J., Tabei, K., Sakata, Y. & Kanda, Y. Acquired factor V inhibitor associated with life-threatening bleeding and a mixing test result that indicated coagulation factor deficiency. Hematology 18, 300-304, 2013.
 - 47) 小林隆夫：ヘパリン在宅自己注射療法の適応と指針. Thrombosis Medicine 3(4): 71-75, 2013
 - 48) 小林隆夫：II. 各論 1. 産婦人科 A 産科. 瀬尾憲正, 古家仁編集, 周術期深部静脈血栓/肺血栓塞栓症. 克誠堂出版, 東京, 101-119, 2013
 - 49) 小林隆夫：ヘパリン在宅自己注射療法の適応と導入方法. 脈管学 53(No. November): 167-170, 2013
 - 50) 小林隆夫：研修コーナー. 妊産婦救急疾患の管理 1) 重症妊娠悪阻に対する肺塞栓症とウェルニッケ脳症の予防. 日本産科婦人科学会誌 65(10) 別冊: N244-N249, 2013
 - 51) 小林隆夫：妊婦の静脈血栓塞栓症.

- Medical Practice 30(9): 1621-1622, 2013
- 52) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症発症の予知と早期診断. 心臓 45(7): 924-927, 2013
- 53) 小林隆夫: 深部静脈血栓症/肺塞栓症. 産婦人科当直医マニュアル. 臨床婦人科産科 67(4): 73-77, 2013
- 54) 榛沢和彦「深部静脈血栓症」糖尿病患者のための災害時糖尿病診療マニュアル、文光堂 2013 (in printing)
- 55) K Hanzawa, S Matsuoka, H Takahashi, H Takekawa, M Tsuchida, T Nakajima, M Ikura. Frequency of Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis in Japanese Residents: Control Study for Residents in the Area Without Earthquake. International Angiology 2013, vol 32 suppl 1 to No 5, 56
- 56) K Hanzawa, M Ikura, T Nakajima, T Okamoto, M Tsuchida. Pulmonary Embolism or Ischemic Stroke Increase 8-Year after Mid Niigata Prefecture Earthquake 2004 in the Residents with Asymptomatic Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis. International Angiology 2013, vol 32 suppl 1 to No 5, 78
- 57) Yokoyama K. Involvement of glycoprotein Ib, IIb/3 and von Willebrand factor in platelet production. J Bone Marrow Res. 2013;1: 102.
- 58) Hosokawa R, Ohyama M, Murakami K, Abe D, Yokoyama K, Okamoto S, Amagai M. Improvement of mucocutaneous involvement of immunoglobulin light chain amyloidosis after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma. J Dermatol. 2013; 40: 768-9.
- 59) 横山健次. 多発性骨髄腫治療の最近の動向について。東京内科医会会誌 2013;29:37-41.
- 60) 竹尾映美、末久悦次、川崎富夫、徳雅幸、林 貞夫、日高 洋: 凝固因子インヒビター測定法における血漿 pH の安定化法. 日本検査血液学会雑誌 第14巻第1号 2013年
- 61) 川崎富夫 生体移植と医師倫理規範 生命倫理 Vol23 (通巻24号) 31-37, 2013

2. 学会発表

- 1) Ando Y, Suzuki A, Murata M, Takagi Y, Kato I, Nakamura Y, Takagi A, Murate T, Kojima T: Pleiotropic effect of anti-HCV agent, ribavirin; upregulation of clotting factor mRNA expressions in HepG2 cells. 第36回日本分子生物学会年会、神戸、平成25年12月
- 2) Takagi Y, Takagi A, Okuyama E, Murata M, Ando Y, Kato I, Nakamura Y, Murate T, Saito H, Kojima T: Evaluation of antithrombin resistance in the prothrombin

- mutants at R596. 第 75 回日本血液学会学術集会、札幌、平成 25 年 10 月 11-13 日
- 3) Kojima T: Genetic risk factors for thrombophilia in Japanese. 2013 Annual Meeting of Korean Society on Thrombosis and Haemostasis, Seoul, Korea 平成 25 年 9 月 6 日
 - 4) Ando Y, Suzuki A, Murata M, Takagi Y, Kato I, Nakamura Y, Takagi A, Murate T, Kojima T: Ribavirin effects on expression of coagulation factors in HepG2 cells. XXIV ISTH, Amsterdam 平成 25 年 6 月 29 日-7 月 4 日
 - 5) Kato I, Ando Y, Takagi Y, Suzuki A, Okuyama E, Murata M, Takagi A, Nakashima T, Matsushita T, Saito T, Kojima T: Molecular analysis of SERPINC1 abnormalities in 19 Japanese patients with hereditary antithrombin deficiency. XXIV ISTH, Amsterdam 平成 25 年 6 月 29 日-7 月 4 日
 - 6) Takagi Y, Takagi A, Murata M, Suzuki A, Ando Y, Kato I, Matsushita T, Saito T, Kojima T: Effects of prothrombin Yukuhashi mutation on thrombomodulin-protein C system. XXIV ISTH, Amsterdam 平成 25 年 6 月 29 日-7 月 4 日
 - 7) Murata M, Takagi A, Suzuki A, Takagi Y, Kato I, Ando Y, Murate T, Matsushita T, Saito T, Kojima T: A clinical laboratory test detecting antithrombin resistance of the new thrombophilia. XXIV ISTH, Amsterdam 平成 25 年 6 月 29 日-7 月 4 日
 - 8) Kojima T: Abstract Symposium 11: New genetic determinants of venous thrombosis; A novel mechanism of hereditary thrombosis by antithrombin resistance. XXIV ISTH, Amsterdam 平成 25 年 6 月 29 日-7 月 4 日
 - 9) 高木夕希、高木 明、鈴木敦夫、奥山恵理子、村田 萌、加藤衣央、安藤裕実、中村友紀、松下 正、齋藤英彦、小嶋哲人: プロトロンビン Yukuhashi 由来変異型トロンビンのトロンボモジュリン・プロテイン C 系に及ぼす影響 第 14 回日本検査血液検査血液学会学術集会、東京、平成 25 年 7 月 27-28 日
 - 10) 村田 萌、高木 明、中村友紀、加藤衣央、安藤裕実、高木夕希、村手隆、松下 正、小嶋哲人: アンチトロンビン抵抗性解析法の改良と評価 第 14 回日本検査血液検査血液学会学術集会、東京、平成 25 年 7 月 27-28 日
 - 11) 加藤衣央、安藤裕実、高木夕希、中村友紀、村田 萌、高木 明、村手 隆、鈴木伸明、岸本磨由子、松下 正、齋藤英彦、中島忠亮、小嶋哲人: アンチトロンビン欠損症症例に見られた大規模なアンチトロンビン遺伝子全欠失 第 35 回日本血栓止血学会学術集会、山形、平成 25 年 5 月 30 日-6 月 1 日

- 12) 小嶋哲人：新規血栓性素因:アンチトロンビン・レジスタンス・会長要望シンポジウム 第35回日本血栓止血学会学術集会、山形、平成25年5月30日-6月1日
- 13) 宮田敏行、宮田茂樹、長束一行、第35回日本血栓止血学会学術集会、日本血栓止血学会・日本循環器学会ジョイントシンポジウム、抗血小板療法の多様性について、「Pharmacogenomicsは抗血小板剤の個別化医療の救世主となり得るか？」2013年5月30日-6月1日、山形市
- 14) 小亀浩市、秋山正志、宮田敏行、「ADAMTS13の正常な分泌にはシクロフィリンBによるプロリン残基異性化が必要である」、第35回日本血栓止血学会学術集会、2013年5月30日-6月1日、山形市
- 15) Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Generation of protein S-Tokushima mutant mice to provide an in vivo evaluation system for thrombosis in Japanese, SPC シンポジウム4, 第35回日本血栓止血学会学術集会、2013年5月30日-6月1日、山形市
- 16) 土井政明、松井英人、竹田征治、斎藤能彦、武田麻衣子、松成泰典、西尾健治、嶋緑倫、坂野史明、秋山正志、小亀浩市、宮田敏行、杉本充彦、「マウス急性心筋梗塞モデルにおけるADAMTS13の心筋保護作用」、第35回日本血栓止血学会学術集会、2013年5月30日-6月1日、山形市
- 17) 松井英人、土井政明、武田麻衣子、松成泰典、西尾健治、嶋緑倫、副島見事、粕田承吾、坂野史明、宮田敏行、杉本充彦、「マウス骨髄移植モデルにおけるADAMTS13の移植ドナー細胞生着促進効果」、第35回日本血栓止血学会学術集会、2013年5月30日-6月1日、山形市
- 18) 小堺貴司、森山雅人、布施一郎、柴崎康彦、増子正義、瀧澤淳、鳥羽健、吉田邦彦、小亀浩市、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、曾根博仁、「妊娠を契機に診断された新規の遺伝子変異を伴うUpshaw-Schulman症候群(USS)の一例」、第35回日本血栓止血学会学術集会、2013年5月30日-6月1日、山形市
- 19) 平井秀憲、秋山正志、宮田敏行、「哺乳類細胞を用いたADAMTS13ドメインの一過性大量発現」、第13回日本蛋白質科学会年会、2013年6月12日-14日、鳥取市
- 20) 宮田敏行、医薬基盤研究所セミナー、「疾患モデルマウスを用いた血栓性疾患の研究」、2013年6月28日、箕面市
- 21) 吉田瑶子、範新萍、本田繁則、芦田明、服部元史、松本雅則、大山良文、古久保哲郎、南学正臣、宮田敏行、藤村吉博、「本邦の非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)の患者登録とその表現型-遺伝子型解析」、第48回日本小児腎臓病学会学術集会、2013年6月28日-29日、徳島市
- 22) Yoshihiro Fujimura, Yoko Yoshida, Xinpeng Fan, Toshiyuki Miyata,

- “Registry of congenital atypical HUS in Japan”, ISTH-APSTH joint symposium, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29 - July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands
- 23) Jun Muratsu, Atsuyuki Morishima, Masayoshi Kukida, Anzu Tanaka, Xinping Fan, Toshiyuki Miyata, Katsuhiko Sakaguchi, “Familial screening in the case of Budd-Chiari syndrome with multiple thrombi due to Arg42Ser mutation in the protein C gene”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29 - July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands
- 24) Yuko Tashima, Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Yasuyuki Matsuda, Hiroji Yanamoto, Toshiyuki Miyata, “Generation and characterization of homozygous plasminogen-Tochigi mutant mice bearing reduced fibrinolytic activity”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands
- 25) Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, “Exacerbated venous thromboembolism in mice with the protein S Tokushima mutation”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands
- 26) Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiro Takafuta, Ryojiro Tanaka, Hikaru Kobayashi, Fumihiro Ishida, Shuichi Hisanaga, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata, “Quantitative PCR assay demonstrated exon deletions of ADAMTS13 in two unrelated patients with Upshaw-Schulman syndrome, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands
- 27) 宮田敏行、ミニシンポジウム：補体系と凝固系、「凝固系・補体系の接点としての血管内皮細胞障害」、第 50 回補体シンポジウム、2013 年 7 月 5-6 日、旭川市
- 28) 光黒真菜、根木玲子、岡本章、城ノ内芳枝、宮田茂樹、佐野道隆、宮田敏行、吉松淳、「妊産婦における長期ヘパリン療法のモニタリング-APTT および抗 Xa 活性の比較検討」、第 14 回日本検査血液学会学術集会、2013 年 7 月 27 日-28 日、東京都
- 29) 樋口（江浦）由佳、小亀浩市、松本雅則、藤村吉博、宮田敏行、「血栓性血小板減少性紫斑病患者の ADAMTS13 遺伝子に伏在していた変異の発見：ゲノム DNA を用いた定量 PCR 法の開発」、第 18 回日本病態プロテアーゼ

- 学会学術集会、2013 年 8 月 16 日-17 日、吹田市
- 30) 田嶋優子, 坂野史明, 喜多俊行, 松田泰幸, 柳本広二, 宮田敏行, 「マウスプラスミノゲン栃木変異は血漿プラスミン活性を低下させるが血栓塞栓症の原因にはならない」, 第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日-13 日、横浜市
 - 31) 樋口 (江浦) 由佳, 小亀浩市, 松本雅則, 藤村吉博, 宮田敏行, 「日本における先天性 ADAMTS13 欠損症の遺伝子解析」, 第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日-13 日、横浜市
 - 32) 宮田敏行, 「血栓性細小血管障害症の発症機構と診断・治療」, 第 33 回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会、 「国立循環器病研究センターにおける研究活動、循環器病対策に向けた予防・診断・治療戦略」2013 年 9 月 24 日、吹田市
 - 33) 和田英夫、松本剛史、大石剛史、片山直之、宮田敏行、藤村吉博, 「三重で経験した非典型溶血性尿毒症症候群」, 第 75 回日本血液学会学術集会、2013 年 10 月 11 日-13 日、札幌市
 - 34) Yoshihiro Fujimura, Yumi Yoshii, Masanori Matsumoto, Ayami Isonishi, Hideo Yagi, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, A long-term phenotype analysis of 51 patients with Upshaw-Schulman syndrome in Japan, with special references to pregnancy and renal failure that requires hemodialysis, 55th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, New Orleans, December 7-10, 2013
 - 35) Yoko Yoshida, Xiping Fan, Yoshifumi Ohyama, Tetsuro Kokubo, Masanori Matsumoto, Hideo Yagi, Hiroko Shirotani-Ikejima, Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura, “Atypical Hemolytic Uremic Syndrome In Japan Characterized By The Inhibitory Antibody-Based Hemolytic Assay and The Gene Analysis”, 55th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, New Orleans, USA, December 7-10, 2013
 - 36) Takuya Okata, Kazunori Toyoda, Akira Okamoto, Toshiyuki Miyata, Kazuyuki Nagatsuka, Kazuo Minematsu, “Anticoagulation intensity of low-dose rivaroxaban for Japanese patients with nonvalvular atrial fibrillation”, International Stroke Conference 2014, San Diego, USA, February 12-14, 2014.
 - 37) Takuya Okata, Kazunori Toyoda, Akira Okamoto, Toshiyuki Miyata, Junji Takasugi, Masatoshi Koga, Kazuyuki Nagatsuka, Kazuo Minematsu, “Successful resolution of the cardiac thrombus using novel oral anticoagulants”, International Stroke Conference 2014, San Diego, USA, February 12-14, 2014.

- 38) 坂田 飛鳥, 大森 司, 西村 智, 鈴木 英紀, 窓岩 清治, 三室 淳, 荻尾 七臣, 坂田 洋一. Paxillin は Rap1b の修飾を介して血小板活性化を負に制御する. 第35回日本血栓止血学会学術集会 2013年5月30日(山形).
- 39) 窓岩 清治, 小山 寛介, 坂田 飛鳥, 大森 司, 三室 淳, 坂田 洋一. 重症患者の凝固線溶系異常とその対策 エキスパートの管理 血液凝固線溶系と敗血症. 第40回日本集中治療医学会学術集会. 2013年2月28日(松本)
- 40) 窓岩 清治, 大森 司, 三室 淳, 小澤 敬也, 坂田 洋一. 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法施行患者における PT-INR 自己測定的安全性に関する臨床研究. 第60回日本臨床検査医学会学術集会. 2013年10月31日(神戸).
- 41) 窓岩 清治, 牧野 伸子, 大森 司, 三室 淳, 坂田 洋一. 【細胞間応答と線溶】 組織再生・免疫応答における プラスミノゲンアクチベータ-プラスミン系. 第35回日本血栓止血学会学術集会. 2013年5月30日(山形)
- 42) Kobayashi T, Hirai K, Kasamatsu K, Kobayashi M, Iwase T, Kanai T, Matsuoka T, Sugiyama K, Tsuda T. Normalized activated protein C sensitivity ratio and protein S-specific activity are useful predictive markers for venous thromboembolism. XXIVth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Amsterdam, 2013.6.29-7.4
- 43) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と肺塞栓症. 鳥取産婦人科研修会. 米子, 2013.12.19
- 44) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 名古屋医療センター静脈血栓塞栓症予防セミナー. 名古屋, 2013.12.5
- 45) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 和歌山ろうさい病院静脈血栓塞栓症予防教育セミナー. 和歌山, 2013.11.15
- 46) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と肺塞栓症. 埼玉県産婦人科医会東部ブロック勉強会. 越谷, 2013.11.13
- 47) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と肺塞栓症. 第6回大和市産婦人科医会研究会. 大和, 2013.11.12
- 48) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 長野赤十字病院医療安全講習会. 長野, 2013.11.5
- 49) 小林隆夫: 肺塞栓症予防と医療訴訟. 徳島県立中央病院院内セミナー. 徳島, 2013.10.11
- 50) 小林隆夫: 妊産婦における静脈血栓塞栓症の予防対策 - ヘパリン在宅自己注射の役割 -. 第34回日本妊娠高血圧学会ランチョンセミナー. 富山, 2013.10.5
- 51) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓症. 薬の安全処方を考える会. 仙台, 2013.9.27
- 52) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と肺塞栓症. 一宮産婦人科医会講演会. 一宮,

2013.9.21

- 53) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．拡大一土会特別講演．静岡，2013.9.4
- 54) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．宮崎市郡産婦人科医会学術講演会．宮崎，2013.8.26
- 55) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．千葉市地区産婦人科医会講演会．千葉，2013.8.22
- 56) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症．薬の安全処方を考える会．広島，2013.8.10
- 57) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．町田市産婦人科医会学術講演会．町田，2013.8.8
- 58) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．月経困難症学術講演会．大阪，2013.8.3
- 59) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．中信産婦人科医会学術講演会．松本，2013.8.2
- 60) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．沖縄県産婦人科学術講演会．那覇，2013.7.26
- 61) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．練馬区産婦人科医会研修会．東京，2013.7.20
- 62) 小林隆夫：産婦人科における肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症（静脈血栓塞栓症）の現状と予防対策．第10回肺血栓塞栓症研究会．宇都宮，2013.7.19
- 63) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．第214回大分市医師会産婦人科臨床検討会特別講演．大分，

2013.7.12

- 64) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．熊谷市産婦人科医会学術講演会特別講演．熊谷，2013.7.11
- 65) 小林隆夫：肺塞栓症予防対策と肺塞栓症予知は可能か．平成25年度第2回血液研究班研修会．静岡，2013.7.6
- 66) 小林隆夫：月経困難症治療におけるルナベル配合錠の安全処方とは？～血栓症リスクを回避するコツ～．Webカンファレンス．浜松，2013.6.20
- 67) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症．薬の安全処方を考える会．名古屋，2013.6.14
- 68) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．第135回東北連合産科婦人科学会学術講演会特別講演．山形，2013.6.9
- 69) 小林隆夫：手術後の静脈血栓塞栓症（肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症）の現状と予防．いばらきVTEシンポジウム．笠間，2013.5.17
- 70) 小林隆夫：重症妊娠悪阻に対する肺塞栓症とウェルニッケ脳症の予防．第65回日本産科婦人科学会学術講演会生涯研修プログラム．札幌，2013.5.12
- 71) 小林隆夫：産科領域における肺塞栓症予防と医療訴訟．第65回日本産科婦人科学会モーニングセミナー．札幌，2013.5.11
- 72) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．日産婦日産医群馬県支部集談会．前橋，2013.4.13
- 73) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症．

- 薬の安全処方を考える会．東京，2013.4.12
- 74) Kazuhiko Hanzawa, Venous Thrombo-Embolism from Car Shelter after Emilia Earthquake in Italy, 第 77 回日本循環器学会総会 2013.4.17、パシフィコ横浜
- 75) 榛沢和彦「避難所の静脈血栓症(エコノミークラス症候群)と簡易ベッドの必要性、新潟県中越地震~東日本大震災及びイタリア北部地震における検討」防災シンポ in Suita, 2013.5.18, 関西大学, 吹田市
- 76) 榛沢和彦「大震災後における血栓症の慢性期医療と次への備え：静脈血栓/肺塞栓症」第 35 回日本血栓止血学会シンポジウム、2013.5.30-6.1 山形
- 77) 榛沢和彦「東日本大震災後における D-ダイマーと NT-proBNP の POCT(point of care testing)の有用性について」第 35 回日本血栓止血学会ランチョンセミナー 2013.5.30-6.1 山形
- 78) 榛沢和彦「大規模災害からの教訓と課題下肢深部静脈血栓症・肺塞栓症」第 19 回日本心臓リハビリ学会教育講演、2013.7.13. 仙台国際センター
- 79) K Hanzawa, S Matsuoka, H Takahashi, H Takekawa, M Tsuchida, T Nakajima, M Ikura. “Frequency of Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis in Japanese Residents: Control Study for Residents in the Area Without Earthquake” UIP/ACP2013, 2013.9.9-14, Boston
- 80) K Hanzawa, M Ikura, T Nakajima, T Okamoto, M Tsuchida. “Pulmonary Embolism or Ischemic Stroke Increase 8-Year after Mid Niigata Prefecture Earthquake 2004 in the Residents with Asymptomatic Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis”, UIP/ACP2013, 2013.9.9-14, Boston
- 81) Hanzawa K, Ueda S, Shibata M, Kashiwaya G, Sasaki K, Chiba H, Taniguchi T, Takase S, Yamamura O, Okamoto T, Tsuchida M, Severe circumstances of evacuation facility induced deep vein thrombosis after East Japan Great Earthquake 2011, European Society of Vascular Surgery 2013.9.19-21, Budapest
- 82) 榛沢和彦「震災と静脈血栓症」シンポジウム 3「東日本大震災と血栓・塞栓症」第 16 回日本栓子検出と治療学会、2013.10.11-3、名古屋
- 83) 榛沢和彦「新潟県中越地震被災者の下腿 DVT による二次的健康被害について」日本栓子検出と治療学会、2013.10.11-3、名古屋
- 84) 榛沢和彦「イタリア北部地震被災者における DVT と車中泊との関連」第 16 回日本栓子検出と治療学会、2013.10.11-3、名古屋
- 85) 榛沢和彦「エコノミークラス症候群を予防しよう！~災害避難所での雑魚寝の危険と簡易ベッド~」第 42 回埼玉県医学検査学会市民公開講座、2013.12.1.ソニック大宮

- 86) K. Hanzawa, T. Okamoto, O. Namura, K. Aoki, H. Sato, Stephan Stipa, Marzia Lugli, Keiko Kitagawa, DVT increase and relate with sleeping in car after North Italian Earthquake 2012 (Emilia Earthquake), 2013 Disaster Risk Management Symposium, 2013.12.13. 佐賀大学
- 87) 榛沢和彦「イタリア北部地震震災地における DVT 検診結果」277 回新潟循環器談話会, 2012.12.14
- 88) 横山健次, 岡本真一郎. 自家末梢血幹細胞移植療法を施行した日本人多発性骨髄腫患者における静脈血栓塞栓症発症の解析. 第 35 回日本血栓止血学会総会. 201305 (口演)
- 89) 太田覚史ら:「全国調査からみた肺血栓塞栓症の治療の現状と変遷」2013 年 9 月 日本心臓病学会総会(於 熊本)
- 90) 太田覚史ら:「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の全国調査研究」2013 年 6 月 日本肺循環学会 (於 東京)
- 91) 太田覚史ら:「The Feature of Deep Vein Thrombosis causing Pulmonary Thromboembolism -National Survey in Japan-」2014 年 3 月(未) 日本循環器学会総会 (於 東京)
- 92) 太田覚史ら:「全国調査からみた深部静脈血栓症の治療の現状」2014 年 5 月(未) 日本静脈学会 (於 沖縄)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

出願番号：特願2013-182541

出願日：2013.9.3

発明の名称：血栓症のリスク検査法

発明者：高木明、小嶋哲人、高木タ希、村田萌

特許出願人：【識別番号】504139662

【氏名又は名称】国立大学法人名古屋大学

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

日本人血栓症患者における血栓性素因の調査研究

研究分担者 小嶋 哲人 名古屋大学医学部 教授

研究要旨

我々はこれまで先天性血栓性素因の原因となるアンチトロンビン(AT)、プロテインC(PC)、プロテインS(PS)欠損症の遺伝子異常解析、さらには新たな先天性血栓性素因のアンチトロンビンレジスタンスの原因遺伝子異常としてプロトロンビン異常症を報告してきた。今回、本研究班の3年間にそれぞれAT欠損症11家系、PC欠損症10家系、PS欠損症9家系の遺伝子解析を行ったのでそのまとめを報告する。特発性血栓症を発症しAT欠損症、PC欠損症、PS欠損症の疑われた症例家系において、それぞれ *SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 遺伝子解析を行った結果、合計29家系中15家系(52%)に遺伝子変異を同定した。また、これらの症例のうち1家系では当初PS欠損症を疑われたが *PROS1* 遺伝子に変異は認められず、今回の解析で *PROC* 遺伝子に変異が同定され、*PROS1* 遺伝子変異は未同定であるものの、PS/PC合併欠損症家系であることが示唆された。

A. 研究目的

日本人にも決して少なくなく、加齢とともに増加する静脈血栓塞栓症の予知・予防の対策は、高齢化社会を迎えた日本において大きな課題である。特発性血栓症の要因となる日本人での先天性血栓性素因にアンチトロンビン(AT)、プロテインC(PC)、プロテインS(PS)などの生理的凝固制御因子の欠乏が知られているが、AT欠損症、PC欠損症は欧米人とほぼ同頻度に、PS欠損症は欧米人に比べ高頻度に見られる。我々は、これまでに本研究班において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同定し、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。

今回我々は、本研究班の3年間に特発性血栓症を発症し、AT欠損症、PC欠損症、PS欠損症の疑われた症例家系において、

それぞれ *SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 遺伝子解析を行ったので報告する。

B. 研究方法

名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもとでインフォームドコンセントを得た後、患者の白血球よりゲノムDNAを抽出し、それぞれ *SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 遺伝子 *S* の全エクソンをそのイントロンとの境界領域を含めてPCR増幅後、直接シーケンス法により塩基配列解析を行った。また、塩基配列解析にて原因遺伝子変異を認めなかった症例については、MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法を用いて遺伝子欠失の有無を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成16年度文部科学

省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)を遵守するとともに、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得て解析した。

C. 研究結果

各エクソン PCR 産物のダイレクトシーケンス法では AT 欠損症 11 家系中 8 家系 (73%) に、PC 欠損症 10 家系中 4 家系 (40%) に、PS 欠損症 9 家系中 2 家系 (22%) にそれぞれ原因と思われる遺伝子変異を同定した (表 1-3)。また、MLPA 法にて遺伝子欠失解析を行った症例には現在のところ遺伝子欠失の同定症例はなかった (表)。なお、1 家系において、当初すでにワルファリン治療中の父親が PS 欠損症を疑われた (PT-INR 2.1, PC 活性 40%、PS 活性 16%) が、*PROS1* 遺伝子配列解析に異常がなく、10 年後にその家族の解析から *PROC* 遺伝子変異が同定された家族を経験した。なお、同家系での *PROS1* 遺伝子の異常は未だ同定に至っていない。

D. 考察

静脈血栓塞栓症を発症し特発性血栓症の原因となる AT 欠損症、PC 欠損症、PS 欠損症の疑われた症例家系において、それぞれ *SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 遺伝子解析を行った結果、合計 29 家系中 15 家系 (52%) に遺伝子変異を同定したが、その発見率は AT 欠損症 > PC 欠損症 > PS 欠損症の順で低かった。また、これらの症例のうち 1 家系では当初 PS 欠損症を疑われたが、*PROC* 遺伝子変異が同定され、*PROS1* 遺伝子変異はいまだ同定できていないものの、PS / PC 合併欠損症家系であることが示唆された。それぞれ、遺伝子変異の未

同定問題については、それぞれ同定方法の改善が必要と思われた。また、解析症例の男女比は 8 : 22 と女性に多く、しかも妊娠合併例が 10 症例、ホルモン療法 2 症例とエストロゲンによる PS 低下の関与が疑われ、リスクの重複が血栓症発症につながっていることが示唆された。

E. 結論

平成 23 年度以降の本研究班にて、特発性血栓症の原因として AT 欠損症、PC 欠損症、PS 欠損症の疑われた症例家系において、それぞれ *SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 遺伝子解析を行った結果、合計 29 家系中 15 家系 (52%) に遺伝子変異を同定したが、それぞれの発見率は従来からの知見と同様、AT 欠損症 > PC 欠損症 > PS 欠損症の順であった。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura M, Miyata T, Ozeki Y, Takayama M, Komori K, Yamada N, Origasa H, Satokawa H, Maeda H, Tanabe N, Unno N, Shibuya T, Tanemoto K, Kondo K, Kojima T: Current venous thromboembolism management and its outcomes in Japan: the nationwide JAVA observational study. Circ J. 2014 in press.
- 2) Murata M, Takagi A, Suzuki A, Okuyama E, Takagi Y, Ando Y, Kato I, Nakamura Y, Murate T, Matsushita T, Saito H,

- Kojima T: Development of a new laboratory test to evaluate antithrombin resistance in plasma. *Thromb Res.* 133(2): 293-298, 2014.
- 3) 安藤裕実、小嶋哲人: 新規抗凝固薬(抗Xa、抗トロンビン約)のポテンシャル 血液疾患 最新の治療 2014-2016 直江知樹、小澤敬也、中尾眞二編 南江堂 東京 pp54-58, 2014.
 - 4) 小嶋哲人: 血栓症・血栓性素因の臨床検査 日本内科学会雑誌 102(12), 3147-3153, 2013.
 - 5) 村田萌、小嶋哲人: アンチトロンビンレジスタンス *International Review of Thrombosis* 8(4), 30-33, 2013.
 - 6) Djordjevic V, Kovac M, Miljic P, Murata M, Takagi A, Pruner I, Francuski D, Kojima T, Radojkovic D.: A novel prothrombin mutation in two families with prominent thrombophilia- the first cases of antithrombin resistance in a Caucasian population. *J Thromb Haemost.* 2013 Oct;11(10):1936-9.
 - 7) 小嶋哲人: 凝固障害、線溶障害 改訂第8版 内科学書 Vol. 6 血液・造血器疾患、神経疾患 小川聡編 中山書店 東京pp187-192, 2013.1
 - 8) 高木 明、小嶋哲人: 凝固因子 臨床に直結する血栓止血学 朝倉英策編 中外医学社 東京pp67-69, 2013.
 - 9) Suzuki N, Kunishima S, Ikejiri M, Maruyama S, Sone M, Takagi A, Ikawa M, Okabe M, Kojima T, Saito H, Naoe T, Matsushita T. Establishment of Mouse Model of MYH9 Disorders: Heterozygous R702C Mutation Provokes Macrothrombocytopenia with Leukocyte Inclusion Bodies, Renal Glomerulosclerosis and Hearing Disability. *PLoS One.* 2013 Aug 20;8(8): e71187.
 - 10) 竹下享典、小嶋哲人: 動脈硬化、血栓性疾患の発症と予防における抗凝固薬の役割 動脈硬化予防 12(2), 85-93, 2013.
 - 11) Okuyama E, Suzuki A, Murata M, Ando Y, Kato I, Takagi Y, Takagi A, Murate T, Saito H, Kojima T: Molecular mechanisms of syndecan-4 upregulation by TNF- in the endothelium-like EAhy926 cells. *J Biochem.* 2013 Jul;154(1):41-50.
 - 12) Fukuda T, Kamisato C, Honda Y, Matsushita T, Kojima T, Furugohri T, Morishima Y, Shibano T.: Impact of antithrombin deficiency on efficacy of edoxaban and antithrombin-dependent anticoagulants, fondaparinux, enoxaparin, and heparin. *Thromb Res.* 2013 Jun;131(6):540-6.
 - 13) Mizutani N, Kobayashi M, Sobue S, Ichihara M, Ito H, Tanaka K, Iwaki S, Fujii S, Ito Y, Tamiya-Koizumi K, Takagi A, Kojima T, Naoe T, Suzuki M, Nakamura M, Banno Y, Nozawa Y, Murate T.: Sphingosine kinase 1 expression is downregulated during differentiation of Friend cells due to decreased c-MYB. *Biochim Biophys Acta.* 2013 May;1833(5):1006-16.

- 14) 高木夕希、小嶋哲人：活性化プロテインC(APC)レジスタンス 別冊 日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.23 血液症候群(第2版)(III)-その他の血液疾患を含めて-日本臨牀社 大阪 pp27-30, 2013.
- 15) 鈴木敦夫、小嶋哲人：新規抗凝固薬の薬力学的特徴 呼吸と循環 61(5). 402-409, 2013.
- 16) 小嶋哲人：新しい経口抗凝固薬 検査と技術 41(5). 430-434, 2013.

2. 学会発表

- 1) Ando Y, Suzuki A, Murata M, Takagi Y, Kato I, Nakamura Y, Takagi A, Murate T, Kojima T: Pleiotropic effect of anti-HCV agent, ribavirin; upregulation of clotting factor mRNA expressions in HepG2 cells. 第36回日本分子生物学会年会、神戸、平成25年12月
- 2) Takagi Y, Takagi A, Okuyama E, Murata M, Ando Y, Kato I, Nakamura Y, Murate T, Saito H, Kojima T: Evaluation of antithrombin resistance in the prothrombin mutants at R596. 第75回日本血液学会学術集会、札幌、平成25年 10月11-13日
- 3) Kojima T: Genetic risk factors for thrombophilia in Japanese. 2013 Annual Meeting of Korean Society on Thrombosis and Haemostasis, Seoul, Korea平成25年9月6日
- 4) Ando Y, Suzuki A, Murata M, Takagi Y, Kato I, Nakamura Y, Takagi A, Murate T, Kojima T: Ribavirin effects on expression of coagulation factors in HepG2 cells. XXIV ISTH, Amsterdam 平成25年6月29日-7月4日
- 5) Kato I, Ando Y, Takagi Y, Suzuki A, Okuyama E, Murata M, Takagi A, Nakashima T, Matsushita T, Saito T, Kojima T: Molecular analysis of SERPINC1 abnormalities in 19 Japanese patients with hereditary antithrombin deficiency. XXIV ISTH, Amsterdam 平成25年6月29日-7月4日
- 6) Takagi Y, Takagi A, Murata M, Suzuki A, Ando Y, Kato I, Matsushita T, Saito T, Kojima T: Effects of prothrombin Yukuhashi mutation on thrombomodulin- protein C system. XXIV ISTH, Amsterdam 平成25年6月29日-7月4日
- 7) Murata M, Takagi A, Suzuki A, Takagi Y, Kato I, Ando Y, Murate T, Matsushita T, Saito T, Kojima T: A clinical laboratory test detecting antithrombin resistance of the new thrombophilia. XXIV ISTH, Amsterdam 平成25年6月29日-7月4日
- 8) Kojima T: Abstract Symposium 11: New genetic determinants of venous thrombosis; A novel mechanism of hereditary thrombosis by antithrombin resistance. XXIV ISTH, Amsterdam 平成25年6月29日-7月4日
- 9) 高木夕希、高木 明、鈴木敦夫、奥山恵理子、村田 萌、加藤衣央、安藤裕実、中村友紀、松下 正、齋藤英彦、小嶋哲人：プロトロンビンYukuhashi由来変異型トロンビンのトロンボモジ

ユリン・プロテインC系に及ぼす影響
第14回日本検査血液検査血液学会学術
集会、東京、平成25年7月27-28日

- 10) 村田 萌、高木 明、中村友紀、加藤
衣央、安藤裕実、高木夕希、村手 隆、
松下 正、小嶋哲人：アンチトロンビン
抵抗性解析法の改良と評価 第14回
日本検査血液検査血液学会学術集会、
東京、平成25年7月27-28日
- 11) 加藤衣央、安藤裕実、高木夕希、中村
友紀、村田 萌、高木 明、村手 隆、
鈴木伸明、岸本磨由子、松下 正、齋藤
英彦、中島忠亮、小嶋哲人：アンチト
ロンビン欠損症症例に見られた大規模
なアンチトロンビン遺伝子全欠失 第
35回日本血栓止血学会学術集会、山形、
平成25年5月30日-6月1日
- 12) 小嶋哲人：新規血栓性素因：アンチト
ロンビン・レジスタンス・会長要望シ
ンポジウム 第35回日本血栓止血学会
学術集会、山形、平成25年5月30日-6
月1日

2. 実用新案登録
なし。

3. その他
なし。

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

出願番号：特願2013-182541

出願日：2013.9.3

発明の名称：血栓症のリスク検査法

発明者：高木明、小嶋哲人、高木夕希、
村田萌

特許出願人：【識別番号】504139662

【氏名又は名称】国立大学法人名古屋
大学

表1. AT遺伝子解析結果

表1. AT遺伝子解析結果

No.	Age	Sex	AT:Ag mg/dl	AT:Ac %	Mutation			memo
					Location	Description DNA	Description Protein	
AT-1	26	F	—	55.7	Exon4	c.728C>T	p.Thr243Ile	妊娠合併DVT(左)
AT-2	32	F	—	49	Exon 2	c.374G>A	p.Gly125Asp	姉・妊娠合併DVT(AT欠)
AT-3	6	M	5.2	25	—	—	—	仮死出生AT欠?
AT-4	38	F	—	45.8	Exon3	c.442T>C	p.Ser148Pro	姉・妊娠合併DVT(AT欠)
AT-5	0	F	15.6	48	—	—	—	父親AT欠:痙攣、脳出血(血栓?)
AT-6	32	F	—	45	Exon3	c.456_458del	p.Phe153del	妊娠合併DVT
AT-7	30	F	—	32.0	Exon2	c.374G>A	p.Gly125Asp	妊娠合併脳静脈洞血栓症
AT-8	29	F	—	46.0	Exon5	c.769T>C	p.Trp257Arg	DVT合併妊娠 WR+
AT-9	34	F	—	49	intron3	c.624+1dupG	p.Glu209Glyfs17*	妊娠中 父親がDVT発症歴有り
AT-10	33	F	—	46.3	—	—	—	脳静脈洞血栓症 WF+
AT-11	17	M	—	40	Exon7	c.1370G>C	p.Arg457Thr	兄DVT, 父親AT欠

表2 PC遺伝子解析結果

表2. PC遺伝子解析結果

No.	Age	Sex	PC:Ag %	PC:Ac %	Mutation			memo
					Location	Description DNA	Description Protein	
PC-1	27	F	41	56	exon7	c.541G>T	p.Phe181Val	ピル服用DVT
PC-2	44	F	47	24	—	—	—	VTE, WR+
PC-3	27	F	30	33	exon8	c.793C>T	p.Leu265Phe	父親DVT(PC欠)
PC-4	60	F	48	—	—	—	—	両下肢DVT+PE
PC-5	1ヶ月	M	28	32	—	—	—	新生児脳梗塞
PC-6	66	M	46	10	—	—	—	PE, WR+
PC-7	53	F	54	17	—	—	—	肺高血圧, WR+
PC-8	28	F	44	40	exon9	c.1213C>T	p.Pro405Ser	妊娠合併左下肢DVT
PC-9	18	F	—	54	exon8	c.691G>A	p.Asp231Asn	父親、兄がDVT
PC-10	76	M	—	24	—	—	—	右DVT, HBDCで肝切・化療

表3. PS遺伝子解析結果

表3. PS遺伝子解析結果

No.	Age	Sex	PS:Ag Total/Free %	PS:Ac %	Mutation			memo
					Location	Description DNA	Description Protein	
PS-1	77	F	-	22	Exon10	c.974C>A	p.Ala325Glu	VTE
PS-2	65	F	27/20	10	Exon 8	c.1187T>G	p.Cys282Trp	OP後VTE
PS-3	29	M	-	10	-	-	-	DVT
PS-4	33	F	29/20	≤10	-	-	-	父親PS:Ac ≤18% 妊娠21週
PS-5	31	F	- /34	36	-	-	-	妊娠時脳静脈洞血栓、WR+
PS-6	31	M	39/49	53	-	-	-	SVC血栓、WR+
PS-7	61	F	-	41	-	-	-	両側肺塞栓
PS-8	42	F	-	27	-	-	-	過多月経、低容量ピル内服
PS-9	20	M	56/41	35	-	-	-	DVT, WR+, 父親がDVT

特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の有効性と安全性に関する臨床研究

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： 背景 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、本研究班において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療法に関する全国実態個別調査」を実施した。その結果、静脈血栓塞栓症予防ガイドラインに準拠した用量調節ワルファリン療法が実施されているにも関わらず、出血合併症（2.4%）や血栓症再発（1.1%）がみられた。これらのことは、医療機関受診時と実際のイベント発症時の PT-INR 値が乖離していたためか、血栓症再発予防に対するワルファリンの用量設定が適切でないことを示唆する。 目的 本臨床研究（自治医科大学臨床研究倫理審査委員会承認 第臨 A10-47 号）は、PT-INR の自己測定を導入により特発性血栓症/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ことを主たる目的とした。 方法 自治医科大学病院血液内科外来における特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対してワルファリン療法を施行している患者を対象に、コアグチェック XS による PT-INR の自己測定を 1 回/週の頻度で PT-INR 自己測定群と中央検査部のみで PT-INR 測定する対照群に分けて、それぞれ 6 ヶ月間ずつ実施するクロスオーバー研究を行い、1) PT-INR 自己測定の安全性、2) PT-INR 自己測定値と医療機関での測定値との乖離の有無、3) PT-INR 自己測定による出血および血栓症合併症の発症をした。 結果 登録症例は 17 例で、離脱 2 例を除く 15 例（男/女=5 例/10 例、年齢 44.4 ± 11.2 歳）を解析した。1) 自己測定 PT-INR 値と医療機関測定 PT-INR 値との間には $y=0.940x+0.141$ 、 $r^2=0.893$ 、 $p<0.001$ 、Bland-Altman プロットによる両測定値の差が -0.08 ± 0.28 と極めて良好な相関関係が認められた。2) 自己測定実施期間（ 273.7 ± 91.5 日）において、手技に伴う合併症や出血性合併症および血栓症の再発はみられなかった。 結語 ワルファリン療法における PT-INR 自己測定の導入は、安全で有効な手法であることを明らかにした。本臨床研究をさらに展開すべく、静脈血栓塞栓症等を合併しワルファリン療法を施行されている血液透析患者を対象に、ワルファリン療法における最も重要な副作用である出血予防案の作成に向けた臨床研究を進めている（自治医科大学倫理委員会申請中）。

A. 研究目的

我々は本研究班において、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療法に関する全国実

態個別調査」を行ない、本邦における特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対する抗凝固療法の現状と問題点を明らかにしてきた。ほとんどの医療機関において日本循環器学

会による静脈血栓塞栓症予防ガイドライン（2008年度版）に準じた用量調節ワルファリン療法を実施しているにも関わらず、半数の医療機関で出血イベントを、また約30%の医療機関で血栓症の再発症例を経験していた。さらに、静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法の全国実態調査（自治医科大学生命倫理委員会承認研究「疫08-52」）では、対象症例691例中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こと、イベント発症時のワルファリン療法の指標であるPT-INRが把握困難であった症例が約半数にみられた。これらのことから、血栓症再発予防を目的としたワルファリンの用量設定を適切に実施することが、本剤の安全で有効な治療に不可欠であると考えられる。

本研究（自治医科大学臨床研究倫理審査委員会承認研究である「第臨A10-47号」）は、特発性血栓症/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に、自治医科大学病院血液内科外来における特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対してワルファリン療法を施行している患者を対象に、1)PT-INR自己測定の実施が可能か否か（特に患者自身の測定に際しての安全な手技の確立）、2)自己測定されたPT-INR値と医療機関でのPT-INR値との差異の解析、3)血栓症および出血性イベント発症時の患者自己測定によるPT-INRとの関連性の有無、4)PT-INR値の自己測定が医師の指導下において出血、塞栓のイベントが軽減ないしは抑制することが可能か否かを検討し、PT-INRの自己測定によりワルファリン療法の安全性と有効性を確立することを目的とする。

B. 研究方法

a. 対象患者：特発性血栓症/静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症、肺動脈血栓塞栓症）を有し、血栓塞栓症の予防目的でワルファリン療法を行っている自治医科大学附属病院血液内科外来通院患者で20歳から80歳未満までの者を対象とする。

b. PT-INRの測定とその管理域：

PT-INR自己測定群：1週間に1回のPT-INRの自己測定を、登録開始日から概ね6ヶ月間実施する。外来受診1回/月（適宜増減）時に、本学附属病院内科外来においてPT-INR値の測定を実施する。患者自身によるPT-INR簡易測定装置（CoaguCheckXS）を用いた自己測定に際しては、担当医師および専門看護師から十分な説明および教育を行い、担当医により安全に実施できることが確認された後に開始する（図1）。

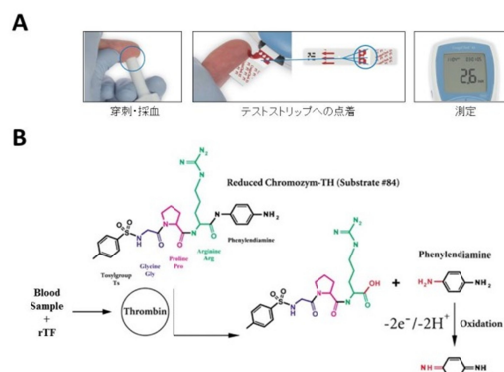


図1 . PT-INR 簡易型自己測定装置

対照群（中央検査部のみでのPT-INR測定群）：自治医科大学附属病院血液内科外来受診時（1回/1-2ヶ月に、本学附属病院内科外来においてPT-INR値の測定を実施する。
c. ワルファリン療法のPT-INR目標治療域の設定

特発性血栓症/静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症、肺動脈血栓塞栓症）ではPT-INR 1.5 - 2.5 とする。さらに血栓性素因を有する患者のうち、抗リン脂質抗体症候群患者で

PT-INR に延長がみられるものは、PT-INR 2.0 - 3.5 とする。

C . 研究結果

平成 25 年 1 月 31 日の時点で 17 例〔男性 6 例/女性 11 例、平均年齢 44.8 ± 10.6 歳〕を登録した。基礎疾患は、肺血栓塞栓症 4 例、下肢深部静脈血栓症 3 例、上腸間膜静脈および門脈血栓症 2 例、その他 4 例であり、プロテイン S 欠乏症、プロテイン C 欠乏症およびアンチトロンビン III 欠乏症などの先天性血栓性素因を有する症例が 3 例、抗リン脂質抗体症候群が 4 例であった。

ワルファリン療法の PT-INR 目標治療域は 13 例が 1.5-2.5 であり、抗リン脂質抗体症候群の 2 例で目標治療域が 2.0-3.5 であった。2 名の患者が自己穿刺に対する恐怖感等の理由により、開始直後に臨床研究から離脱した。

PT-INR 自己測定開始前 6 ヶ月間における中央検査部での PT-INR 値は、15 例中 6 例で複数回以上目標治療域を下回っており、2 例において 1 回以上目標値領域を超えていた。

外来受診時当日の自己測定 PT-INR 値と中央検査部測定値とは高い相関関係 ($r=0.945$, $p<0.0001$) がみられ、Bland-Altman プロット解析においても平均 PT-INR が 1.5-3.5 内での両測定値の乖離値が 0.04 ± 0.13 と極めて軽微であった(図 2)。

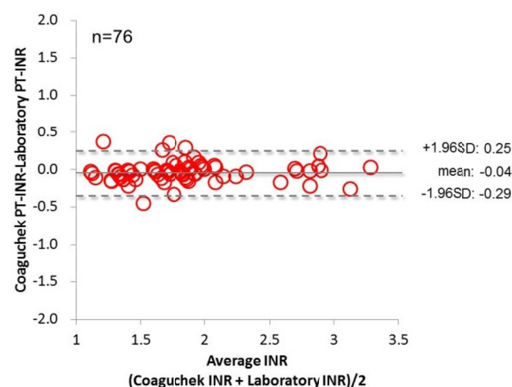


図 2 . 自己測定 PT-INR と外来受診時 PT-INR 値との関係(Bland-Altman プロットにより解析)

外来受診測定群において治療域到達期間を示す Time in therapeutic range(TTR)が $66.5 \pm 32.2\%$ に対して、自己測定群における TTR が $84.4 \pm 14.2\%$ と有意に高値 ($p=0.0392$) であった。また PT-INR 自己群において、血栓塞栓症再発や出血性イベントはみられなかった。

D . 考察

自治医科大学附属病院血液内科外来における特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対してワルファリンによる抗凝固療法を施行している患者を対象に、その有効性と安全性を確立するための臨床研究を実施した。

自己測定群での PT-INR 値と中央検査部測定を行った対照群とは極めて高い相関関係がみられており、特発性血栓症/静脈血栓塞栓症を対象とした本臨床研究において自己測定のデータの正確性を検証できたものと考えられる。

本研究の研究期間中において血栓症再発や出血合併症症例を認めなかった。PT-INR 自己測定がこれらの合併症の予防に繋がるか否かの検討は、本研究が単施設での臨床研究であり、実施された症例数では必ずし

も充分とはいえず、全国規模での臨床研究によりエビデンスを蓄積する必要があると考えられた。同時に日本血栓止血学会などの関連学会と協力しながら、ワルファリン療法施行患者における PT-INR 自己測定のガイドラインの作成する予定である。

一方、血栓症を合併した血液透析患者に対する抗血栓療法の安全性と有効性は未だ十分に確立していない。特に新規経口抗凝固薬である抗 Xa 阻害薬や抗トロンビン薬などは、腎排泄が主体であるために腎機能が廃絶した患者に使用することが困難である。一方で肝代謝が主であるワルファリンにおいても、本邦における透析患者を対象とした十分な検討がなされておらず、日本透析学会ガイドライン（2011 年）において原則禁忌とされている。そこで我々は、血栓症を合併した血液透析患者におけるワルファリン療法に関する臨床研究として PT-INR 自己測定の有用性を検証するための臨床研究を立案した（自治医科大学臨床研究倫理審査委員会申請中）。

E．結論

ワルファリン療法における PT-INR 自己測定の導入は、安全で有効な手法であることを明らかにした。本臨床研究をさらに展開すべく、静脈血栓塞栓症等を合併しワルファリン療法を施行されている血液透析患者を対象に、ワルファリン療法における最も重要な副作用である出血予防案の作成に向けた臨床研究を進める。

F．健康危険情報

特記事項なし。

G．研究発表

1．原著論文

1 Sakata, A., Ohmori, T., Nishimura, S., Suzuki, H., Madoiwa, S., Mimuro, J., Kario, K. & Sakata, Y. Paxillin is an intrinsic negative regulator of platelet activation in mice. Thrombosis journal 12, 1, 2014.

「血栓症を合併した血液透析患者におけるワルファリン療法に関する臨床研究」の概略

対象症例：

血栓症再発予防目的のためにワルファリン療法を施行している血液透析症例
自治医科大学附属病院および関連施設の外来通院中の20-80歳未満の患者

方法：

自己測定群：PT-INR簡易測定装置により1回/週で自己測定、および
1回/月の外来受診を行い医療機関においてPT-INRを測定
検査室測定群：1回/月の外来受診を行い医療機関のみでPT-INRを測定

目標症例数：

30例、自己測定群30症例、対照群30症例とし、6ヶ月後に自己測定群と対照群を入れ替えて実施するクロスオーバー研究

評価項目：

透析施行時のPT-INR動態
外来受診患者における自己測定の確立（安全な手技の確立、測定データの正確性）
外来受診時のPT-INR値と自宅での自己測定PT-INR値の差異
血栓症症状や出血症状時の自己測定PT-INR値との関連の有無
血栓症および出血性イベントの発症の差異

- 2 Koyama, K., Madoiwa, S., Nunomiya, S., Koinuma, T., Wada, M., Sakata, A., Ohmori, T., Mimuro, J. & Sakata, Y. Combination of thrombin-antithrombin complex, plasminogen activator inhibitor-1, and protein C activity for early identification of severe coagulopathy in initial phase of sepsis: a prospective observational study. *Critical care* 18, R13, 2014.
- 3 Kashiwakura, Y., Ohmori, T., Mimuro, J., Madoiwa, S., Inoue, M., Hasegawa, M., Ozawa, K. & Sakata, Y. Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia* 20, e40-44, 2014.
- 4 Yasumoto, A., Madoiwa, S., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Ohmori, T., Mizukami, H., Ozawa, K., Sakata, Y. & Mimuro, J. Overexpression of factor VII ameliorates bleeding diathesis of factor VIII-deficient mice with inhibitors. *Thrombosis research* 131, 444-449, 2013.
- 5 Watanabe, H., Kikkawa, I., Madoiwa, S., Sekiya, H., Hayasaka, S. & Sakata, Y. Changes in Blood Coagulation-Fibrinolysis Markers By Pneumatic Tourniquet During Total Knee Joint Arthroplasty With Venous Thromboembolism. *The Journal of arthroplasty*, 2013.
- 6 Mimuro, J., Mizukami, H., Shima, M., Matsushita, T., Taki, M., Muto, S., Higasa, S., Sakai, M., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ozawa, K. & Sakata, Y. The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. *Journal of medical virology*, 2013.
- 7 Mimuro, J., Mizukami, H., Hishikawa, S., Ikemoto, T., Ishiwata, A., Sakata, A., Ohmori, T., Madoiwa, S., Ono, F., Ozawa, K. & Sakata, Y. Minimizing the inhibitory effect of neutralizing antibody for efficient gene expression in the liver with adeno-associated virus 8 vectors. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy* 21, 318-323, 2013.
- 8 Madoiwa, S., Kitajima, I., Ohmori, T., Sakata, Y. & Mimuro, J. Distinct reactivity of the commercially available monoclonal antibodies of D-dimer and plasma FDP testing to the molecular variants of fibrin degradation products. *Thrombosis research* 132, 457-464, 2013.
- 9 Koyama, K., Madoiwa, S., Tanaka, S., Koinuma, T., Wada, M., Sakata, A., Ohmori, T., Mimuro, J., Nunomiya, S. & Sakata, Y. Evaluation of hemostatic biomarker abnormalities that precede platelet count decline in critically ill patients with sepsis. *Journal of critical care* 28, 556-563, 2013.
- 10 Ashizawa, M., Kimura, S., Wada, H., Sakamoto, K., Sato, M., Terasako, K., Kikuchi, M., Nakasone, H., Okuda, S., Kako, S., Yamazaki, R., Oshima, K., Matsuura, K., Ohmori, T., Madoiwa, S., Nishida, J., Mimuro, J., Tabei, K., Sakata, Y. & Kanda, Y. Acquired factor V inhibitor associated with life-threatening bleeding and a mixing test result that indicated coagulation

factor deficiency. Hematology 18, 300-304, 2013.

2. 学会発表

1 坂田 飛鳥, 大森 司, 西村 智, 鈴木 英紀, 窓岩 清治, 三室 淳, 苅尾 七臣, 坂田 洋一. Paxillin は Rap1b の修飾を介して血小板活性化を負に制御する. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013 年 5 月 30 日 (山形).

2 窓岩 清治., 小山 寛介, 坂田 飛鳥, 大森 司, 三室 淳, 坂田 洋一. 重症患者の凝固線溶系異常とその対策 エキスパートの管理 血液凝固線溶系と敗血症. 第 40 回日本集中治療医学会学術集会. 2013 年 2 月 28 日 (松本)

3 窓岩 清治., 大森 司, 三室 淳, 小澤 敬也, 坂田 洋一. 静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法施行患者における PT-INR 自己測定的安全性に関する臨床研究. 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会. 2013 年 10 月 31 日 (神戸).

4 窓岩 清治., 牧野 伸子, 大森 司, 三室 淳, 坂田 洋一. 【細胞間応答と線溶】組織再生・免疫応答におけるプラスミノゲンアクチベータ-プラスミン系. 第 35 回日本血栓止血学会学術集会. 2013 年 5 月 30 日 (山形)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特記事項なし。

日本人の血栓性遺伝素因プロテイン S K196E 変異の地理的分布

研究分担者 宮田 敏行 国立循環器病研究センター 分子病態部 部長

研究要旨

プロテイン S K196E 変異は、静脈血栓塞栓症のリスク（オッズ比、3.74-8.56）であることを本研究班の活動を通して明らかにしてきた。本年度は、中国人および韓国人がプロテイン S K196E 変異を保有するかどうかを検討した。本変異をタイピングした結果、中国人および韓国人にはプロテイン S K196E 変異を同定しなかった。したがって、プロテイン S K196E 変異は日本人にだけ見られる血栓性遺伝子変異であり、この変異は比較的新しく生じたものと考えられた。

A . 研究目的

プロテイン S K196E 変異は、静脈血栓塞栓症のリスク（オッズ比、3.74-8.56）であることを本研究班の活動を通して明らかにしてきた。本変異のヘテロ接合体者の血中プロテイン S の抗凝固活性は平均で 16%低い。本変異の頻度に関して、国立循環器病研究センター、名古屋大学、九州大学、三重大学の研究を総合すると、4371 人中にヘテロ接合体 77 人となり、日本人の約 55 人に 1 人がヘテロ接合体であった（E アレル頻度、0.089）。この頻度から、約 12,000 人に 1 人がホモ接合体と計算され、日本人総人口を約 1 億 2,000 万人とすると、約 1 万人がホモ接合体であると推定された。プラスミノーゲン A620T 変異（栃木変異）や ADAMTS13 P475S 変異は、日本人に見いだされ、次いで中国人や韓国人に同定されたことから、日本人が保有する遺伝子変異は中国人や韓国人にも見られると考えられる。

本研究では、中国人および韓国人がプロテイン S K196E 変異を保有するかどうかを検討した。

B . 研究方法

本研究では、中国人および韓国人がプロテイン S K196E 変異を保有するかどうかを、下記の 4 つのパネルで検討した。

パネル 1 : 509 人の中国人一般集団

パネル 2 : 492 人の韓国人一般集団

パネル 3 : 中国人 122 人の静脈血栓症患者と中国人 122 人のコントロール

パネル 4 : 1000 人ゲノムプロジェクトでの中国人 97 人、日本人 89 人の結果

パネル 1 はタックマン法、パネル 2 , 3 は Homogeneous Mass Extend and iPLEX assays (Sequenom)でタイピングした。

本研究は京都大学大学院医学研究科小泉昭夫教授、中国 General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Tong Yin 博士との共同研究である。

（倫理面への配慮）

本研究は国立循環器病研究センターおよび京都大学医学部の倫理審査委員会で研究計画の承認を受けたうえで行った。

C . 研究結果

タイピングの結果、パネル 1 , 2 , 3 の

いずれにもプロテイン S K196E 変異を同定しなかった。パネル 4 では、日本人 89 人の 1 人のヘテロ接合体を見いだしたが、中国人 97 人には変異保有者は見られなかった。

D . 考察

本結果より、プロテイン S K196E 変異は日本人にだけ見られる血栓性遺伝子変異であり、この変異は比較的新しく生じたものと考えられた。

E . 結論

静脈血栓塞栓症のリスクであるプロテイン S K196E 変異は、中国人および韓国人には見られず、日本人にだけ見られる血栓性遺伝子変異であることが判明した。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1) Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y: ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japan (review). **Hamostaseologie**, 33(2), 131-137, 2013
2) Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Tomomori M, Miyagawa S, Fujimaru R, Yamada H, Sawai T, Ikeda Y, Iwata N, Uemura O, Matsukuma E, Aizawa Y, Harada H, Wada H, Ishikawa E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y: Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with

atypical hemolytic uremic syndrome.

Mol Immunol, 54(2), 238-246, 2013

3) Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A, Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K, Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y: The Satb1 Protein Directs Hematopoietic Stem Cell Differentiation toward Lymphoid Lineages. **Immunity**, 38(6), 1105-1115, 2013

4) Akiyama M, Nakayama D, Takeda S, Kokame K, Takagi J, Miyata T: Crystal structure and enzymatic activity of an ADAMTS-13 mutant with the East Asian-specific P475S polymorphism. **J Thromb Haemost**, 11(7), 1399-1406, 2013

5) Mise K, Ubara Y, Matsumoto M, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Ohashi K, Kokame K, Miyata T, Fujimura Y, Takaichi K: Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years: a case report. **BMC Nephrol**, 14:156, 2013

6) Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X, Koizumi A, Miyata T: Protein S K196E mutation, a genetic risk factor venous thromboembolism, is limited to Japanese. **Thromb Res**, 132, 314-315, 2013

7) Muratsu J, Morishima A, Mizoguchi K, Ataka K, Yamamoto H, Fan X, Miyata T,

- Sakaguchi K: Budd-Chiari Syndrome with multiple thrombi due to a familial Arg42Ser mutation in the protein C gene. **Case Reports in Medicine**, Volume 2013, Article ID 270419, 6 pages, 2013
- 8) Shinozaki S, Chiba T, Kokame K, Miyata T, Kaneko E, Shimokado K: A deficiency of Herp, an endoplasmic reticulum stress protein, suppresses atherosclerosis in apoE knockout mice by attenuating inflammatory responses. **PLoS ONE**, 8(10), e75249, 2013.
- 9) Kamide K, Asayama K, Katsuya T, Ohkubo T, Hirose T, Inoue R, Metoki H, Kikuya M, Obara T, Hanada H, Thijs L, Kuznetsova T, Noguchi Y, Sugimoto K, Ohishi M, Morimoto S, Nakahashi T, Takiuchi S, Ishimitsu T, Tsuchihashi T, Soma M, Higaki J, Matsuura H, Shinagawa T, Sasaguri T, Miki T, Takeda K, Shimamoto K, Ueno M, Hosomi N, Kato J, Komai N, Kojima S, Sase K, Miyata T, Tomoike H, Kawano Y, Ogihara T, Rakugi H, Staessen JA, Imai Y: Genome-wide response to antihypertensive medication using home blood pressure measurements: a pilot study nested within the HOMED-BP study. **Pharmacogenomics**, 14(14), 1709-1721, 2013
- 10) Honda S, Shirotani-Ikejima H, Tadokoro S, Tomiyama Y, Miyata T: The integrin-linked kinase-PINCH-parvin complex supports integrin α IIb β 3 activation. **PLoS ONE**, 8(12), e85498, 2013
- 11) Yin T, Miyata T: Dysfunction of protein C anticoagulant system, main genetic risk factor for venous thromboembolism in Northeast Asians (review). **J Thromb Thrombolysis**, 2013 Nov 15. [Epub ahead of print]
- 12) Eura Y, Kokame K, Takafuta T, Tanaka R, Kobayashi H, Ishida F, Hisanaga S, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T: Candidate gene analysis using genomic quantitative PCR: Identification of ADAMTS13 large deletions in two patients with Upshaw-Schulman syndrome, **Mol Genet Genomic Med**, 2014, in press.
- 13) 宮田敏行、森下英理子「先天性血栓性素因」血栓と循環、第 21 巻、第 1 号、6-11 頁、2013
- 14) 宮田敏行、小亀浩市、小久保喜弘「先天性 ADAMTS 欠損症」臨床検査、第 57 巻、第 5 号、556-561 頁、2013
- 15) 坂野史明、宮田敏行、藤岡政行、杉本充彦「遺伝子改変血栓モデル: ADAMTS13 遺伝子欠損マウスを中心に」Thrombosis Medicine、第 3 巻、第 2 号、36-43 頁、2013
- 16) 芦田 明、吉田瑤子、範 新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博「Atypical HUS における補体制御異常症診断システムの構築と腎移植」日本臨床腎移植学会雑誌、第 1 巻、第 1 号、39-44 頁、2013
- 17) 藤村吉博、吉田瑤子、範 新萍、宮田敏行「非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)」臨床血液、第 54 巻、第 10 号、351(1897)-360(1906)頁、2013
- 18) 岡 政史、大塚泰史、稲田由紀子、佐藤忠司、吉田瑤子、藤村吉博、Fan

Xinping、宮田敏行、濱崎雄平「抗 CFH 抗体陽性および *CFHR1* 遺伝子欠失を伴う DEAP-HUS の 1 例」日本小児腎臓病学会雑誌、第 26 巻、第 2 号、109(285)-115(291) 頁、2013

19) 秋山正志、武田壮一、宮田敏行「東アジア人特有の P475S 変異を持つ ADAMTS13 の立体構造と機能解析」血栓止血学会誌、第 25 巻、第 1 号、2014、印刷中

20) 宮田敏行、水口純、鈴木敦夫、小嶋哲人「特集 血液凝固の制御機構と臨床応用への展望：プロテイン C/プロテイン S の基礎」血栓止血学会誌、第 25 巻、第 1 号、2014、印刷中

2. 学会発表

1) 宮田敏行、宮田茂樹、長束一行、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、日本血栓止血学会・日本循環器学会ジョイントシンポジウム、抗血小板療法の多様性について、「Pharmacogenomics は抗血小板剤の個別化医療の救世主となり得るか？」2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

2) 小亀浩市、秋山正志、宮田敏行、「ADAMTS13 の正常な分泌にはシクロフィリン B によるプロリン残基異性化が必要である」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

3) Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Generation of protein S-Tokushima mutant mice to provide an *in vivo* evaluation system for thrombosis in Japanese, SPC シンポ

ジウム 4 , 第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

4) 土井政明、松井英人、竹田征治、斎藤能彦、武田麻衣子、松成泰典、西尾健治、嶋緑倫、坂野史明、秋山正志、小亀浩市、宮田敏行、杉本充彦、「マウス急性心筋梗塞モデルにおける ADAMTS13 の心筋保護作用」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

5) 松井英人、土井政明、武田麻衣子、松成泰典、西尾健治、嶋緑倫、副島見事、粕田承吾、坂野史明、宮田敏行、杉本充彦、「マウス骨髄移植モデルにおける ADAMTS13 の移植ドナー細胞生着促進効果」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

6) 小堺貴司、森山雅人、布施一郎、柴崎康彦、増子正義、瀧澤淳、鳥羽健、吉田邦彦、小亀浩市、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、曾根博仁、「妊娠を契機に診断された新規の遺伝子変異を伴う Upshaw-Schulman 症候群 (USS) の一例」、第 35 回日本血栓止血学会学術集会、2013 年 5 月 30 日-6 月 1 日、山形市

7) 平井秀憲、秋山正志、宮田敏行、「哺乳類細胞を用いた ADAMTS13 ドメインの一過性大量発現」、第 13 回日本蛋白質科学会年会、2013 年 6 月 12 日-14 日、鳥取市

8) 宮田敏行、医薬基盤研究所セミナー、「疾患モデルマウスを用いた血栓性疾患の研究」、2013 年 6 月 28 日、箕面市

9) 吉田瑶子、範新萍、本田繁則、芦田明、服部元史、松本雅則、大山良文、古久保哲郎、南学正臣、宮田敏行、藤村吉博、「本邦の非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS)

の患者登録とその表現型 - 遺伝子型解析」、第 48 回日本小児腎臓病学会学術集会、2013 年 6 月 28 日-29 日、徳島市

10) Yoshihiro Fujimura, Yoko Yoshida, Xinpeng Fan, Toshiyuki Miyata, “Registry of congenital atypical HUS in Japan”, ISTH-APSTH joint symposium, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29 - July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

11) Jun Muratsu, Atsuyuki Morishima, Masayoshi Kukida, Anzu Tanaka, Xinpeng Fan, Toshiyuki Miyata, Katsuhiko Sakaguchi, “Familial screening in the case of Budd-Chiari syndrome with multiple thrombi due to Arg42Ser mutation in the protein C gene”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

12) Yuko Tashima, Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Yasuyuki Matsuda, Hiroji Yanamoto, Toshiyuki Miyata, “Generation and characterization of homozygous plasminogen-Tochigi mutant mice bearing reduced fibrinolytic activity”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

13) Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, “Exacerbated venous thromboembolism in mice with the protein S Tokushima

mutation”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

14) Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiro Takafuta, Ryojiro Tanaka, Hikaru Kobayashi, Fumihiro Ishida, Shuichi Hisanaga, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata, “Quantitative PCR assay demonstrated exon deletions of ADAMTS13 in two unrelated patients with Upshaw-Schulman syndrome”, XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam, Netherlands

15) 宮田敏行、ミニシンポジウム：補体系と凝固系、「凝固系・補体系の接点としての血管内皮細胞障害」、第 50 回補体シンポジウム、2013 年 7 月 5-6 日、旭川市
16) 光黒真菜、根木玲子、岡本章、城ノ内芳枝、宮田茂樹、佐野道隆、宮田敏行、吉松淳、「妊産婦における長期ヘパリン療法のモニタリング-APTT および抗 Xa 活性の比較検討」、第 14 回日本検査血液学会学術集会、2013 年 7 月 27 日-28 日、東京都

17) 樋口（江浦）由佳、小亀浩市、松本雅則、藤村吉博、宮田敏行、「血栓性血小板減少性紫斑病患者の ADAMTS13 遺伝子に伏在していた変異の発見：ゲノム DNA を用いた定量 PCR 法の開発」、第 18 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会、2013 年 8 月 16 日-17 日、吹田市

18) 田嶋優子、坂野史明、喜多俊行、松田泰幸、柳本広二、宮田敏行、「マウスブ

ラスミノーゲン栃木変異は血漿プラスミン活性を低下させるが血栓塞栓症の原因にはならない」第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日-13 日、横浜市

19) 樋口（江浦）由佳，小亀浩市，松本雅則，藤村吉博，宮田敏行、「日本における先天性 ADAMTS13 欠損症の遺伝子解析」第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日-13 日、横浜市

20) 宮田敏行、「血栓性細小血管障害症の発症機構と診断・治療」第 33 回ヒューマンサイエンス基礎研究講習会、「国立循環器病研究センターにおける研究活動、循環器病対策に向けた予防・診断・治療戦略」2013 年 9 月 24 日、吹田市

21) 和田英夫、松本剛史、大石剛史、片山直之、宮田敏行、藤村吉博、「三重大で経験した非典型溶血性尿毒症症候群」第 75 回日本血液学会学術集会、2013 年 10 月 11 日-13 日、札幌市

22) Yoshihiro Fujimura, Yumi Yoshii, Masanori Matsumoto, Ayami Isonishi, Hideo Yagi, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, A long-term phenotype analysis of 51 patients with Upshaw-Schulman syndrome in Japan, with special references to pregnancy and renal failure that requires hemodialysis, 55th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, New Orleans, December 7-10, 2013

23) Yoko Yoshida, Xinping Fan, Yoshifumi Ohyama, Tetsuro Kokubo, Masanori Matsumoto, Hideo Yagi, Hiroko Shirotani-Ikejima, Toshiyuki Miyata,

Yoshihiro Fujimura, “Atypical Hemolytic Uremic Syndrome In Japan Characterized By The Inhibitory Antibody-Based Hemolytic Assay and The Gene Analysis”, 55th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, New Orleans, USA, December 7-10, 2013

24) Takuya Okata, Kazunori Toyoda, Akira Okamoto, Toshiyuki Miyata, Kazuyuki Nagatsuka, Kazuo Minematsu, “Anticoagulation intensity of low-dose rivaroxaban for Japanese patients with nonvalvular atrial fibrillation”, International Stroke Conference 2014, San Diego, USA, February 12-14, 2014.

25) Takuya Okata, Kazunori Toyoda, Akira Okamoto, Toshiyuki Miyata, Junji Takasugi, Masatoshi Koga, Kazuyuki Nagatsuka, Kazuo Minematsu, “Successful resolution of the cardiac thrombus using novel oral anticoagulants”, International Stroke Conference 2014, San Diego, USA, February 12-14, 2014.

H . 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

なし

日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略に関する研究

研究分担者 川崎 富夫 健康医学研究所 所長（前大阪大学心臓血管外科 助教）

研究要旨

肺血栓塞栓症の予防・診断・治療ガイドラインは国民を対象としたものである。これを完成させるためには、患者のみならず社会のメリットが最大限になることが求められる。患者に対しては検査精度、ガイドラインの有効性と安全性の向上が、またそれを取り巻く社会環境においては費用対効果の改善とコンセンサス形成を伴う必要がある。本研究は、大阪大学ガイドラインの運用結果の評価だけでなく、関連検査の精度向上と治療薬の安全性向上に寄与した。様々なガイドラインの増加がもたらす医療訴訟問題は、法学側が予防ガイドラインを医療水準と看做したために生じたものであり、医療側の萎縮や防衛医療につながっている。医と法の専門家が集まり「医療と司法の架橋研究会」を立ち上げてこの問題に取り組み成果を上げた。

A．研究目的

難治性血栓症の予防・診断・治療の一つとしての肺塞栓症の予防戦略は、国民に安全と安心を与えることが目的である。ところで国民とは、患者のみを指すわけではない。費用対効果を判断しあるいはその戦略を実施する医療システムを動かすのもまた国民である。肺血栓塞栓症の予防戦略とは、患者にとどまらず医療現場の従事者を含めて、全ての国民が安全と安心を得るために存在する。

（ ） 大阪大学病院肺塞栓症予防ガイドライン（阪大ガイドライン）の運用：阪大ガイドラインは、患者参加型であるという特徴だけでなく、院内の医療従事者全てのコンセンサスを得た上で作成したという、他のガイドラインが持たない大きな特徴をもつ。このガイドラインに基づく予防戦略の適否を、その社会的意味を含めて運用結果から評価する。

（ ） 阪大ガイドラインの意味：阪

大ガイドラインの運用を真に成功させるためにはその社会的意味を明確にすることが必要である。現在の医療界では、ガイドラインに沿わなかったために有責と決めつける判決が増加しており、医療側を萎縮させている。例えば大阪地判平21・9・29 判決（年報医事法学 26,2011）は、肺塞栓症研究会のガイドライン通りに弾力ストッキングを使用して予防を行わなかったために患者が死亡しとして有責となった。しかし、ガイドラインに示されている弾力ストッキングの効果は誤訳されたものであり、その効果には根拠が無い。ここには、ガイドラインの実質的な信頼性・正確性をその作成者がどのように検証したのかという問題と、ガイドライン使用者に対してガイドラインの位置づけを作成者がどのように具体的に周知したのか、すなわちガイドラインを出す立場の医師の責任のあり方と、医療界の内部において中小病院に至るまでコ

ンセンサスをどのような手続きを経て行われたのかということが問われている。この問題はいまだ解決されていない。医療側が善意で作成したガイドラインが、かえって臨床現場を混乱させ、善良なる医師を訴訟への不安に陥れている。医学的原則よりも防衛的医療に傾き、医療資源の枯渇に結びついている。医療と司法との無意味な摩擦を避けることが必要であるが、医学的立場からも法学的立場からいまだこの問題解決への具体的アプローチはとられていない。本研究費を使用して維持してきた医療と司法の共同研究“医療と司法の架橋研究会”における検討を通して、ガイドラインの意味や位置づけを法学側が理解しやすいように対話を進めてきた。その成果を明らかにする。

(- 1) 血栓症の診断能力向上：阪大ガイドラインの運用を成功させるためには、血栓症の診断能力の向上が必要となる。血液凝固検査または研究においては、凍結した血漿を用いることが少なくない。血漿の凍結融解が血液凝固能検査に与える影響については半世紀前に検討されているが、その後研究試薬や方法に変更があったにもかかわらず再検討がなされていない。そこで改めて、血漿の凍結・融解における凝固因子の安定性について検討する。

(2) 血栓症予防治療薬の副作用：深部静脈血栓症および肺塞栓症の予防と治療目的で検討中の経口抗凝固薬であるダビガトランは血液モニタリングの必要がないとされている。だが、販売後重篤な副作用が報告されていることから、

服用時モニタリングの必要性を検討する。

B . 研究方法

() 阪大病院における深部静脈血栓症 (D V T) 診断は超音波検査法を第一選択とする。D V T の超音波検査に 10 年以上精通した技師が行い、指導の存在部位と静脈径および静脈内腔の充満度、血栓のエコー輝度から判断できる血栓の大凡の古さ (飛散する可能性が高いかどうか) をその技師が記載用紙に記入する。急性型とは、深部静脈内に低輝度 (約 2 週間以内に形成した) 血栓がみられる場合をさす。また慢性型とは、明らかに高輝度 (形成後 1 ヶ月以上経過しており、飛散する可能性が無い) 血栓が主体であり、時にその高輝度血栓間を埋める形で少量の新鮮血栓を伴う場合を含めたものをさす。対象は、期：2006 年 4 月から 1 年間に超音波検査を行った 141 例と、期：2010 年 4 月から 1 年間に超音波検査を行った 138 例である。

() “医療と司法の架橋研究会 (世話人甲斐克則、編集川崎富夫) ”において、ガイドラインとは何か、信頼性の高いガイドラインとは何かについて検討したのでその意義を明らかにする。

(- 1) 通常凝固因子インヒビターの測定は保存凍結血漿を溶融させ、Bethesda 法を用いて行われている。Bethesda 法における 37 , 2 時間加温後の pH 上昇の原因をまず明らかにする。正常プール血漿 9.5ml に対して 1M HEPES pH7.35 緩衝液 0.5ml を混合した検体を緩衝化正常プール血漿とした。緩衝化正常プール血漿を総容積 0.4 ~ 13.5ml のそ

れぞれ異なる容器に添加し、37℃, 2 時間加温後 pH を測定した。その上で各凝固因子の安定性を確認した。

(Ⅱ - 2) 大阪大学病院の外来患者のうちダビガトランを服用している心房細動患者 50 名 (75mg 4C/day 服用患者 17 名、110mg 2C/day 服用患者 33 名)を対象とし、APTT と PT-INR および腎機能の指標としての eGFR の検査結果を収集し、服用量による検査値の比較、服用前後の検査値の比較を行った。また、服用患者個人の採血時間のデータを収集し、採血時間帯による検査値を解析した。

C . 研究結果

(Ⅰ) Ⅰ 期 2006 年における急性中枢型は 12 例 (8.5%)、急性末梢型は 17 例 (12%)、慢性型は 33 例 (23%)であった。また Ⅱ 期 2010 年における急性中枢型は 9 例 (6.5%)、急性末梢型は 13 例 (9.4%)、慢性型は 19 例 (14%)であった。男女比はいずれも 1 : 1.5 ~ 2 であった。Ⅰ 期 2006 年に比して Ⅱ 期 2010 年では、急性中枢型の減少と、慢性型の減少が明らかであった。

データがもつ意味を補足する。入院患者において、新鮮 DVT の診断がつくまでには、入院後数日から 1 週間程度の期間がかかる。新鮮 DVT の患者といっても、厳密な意味において、院内発生 DVT と (入院前からあった DVT の) 持ち込み DVT を区別することは困難である。そのため、急性中枢型の減少は、急性 DVT の院内発生症例と持ち込み症例の総和が減少したことを指す。院内における急性中枢型 DVT 患者数の減少は、肺血栓

塞栓症 (PE) の院内発生をもたらす中枢型の新鮮 DVT を有する患者数が低下したことを指す。従ってこの結果は、阪大ガイドラインが院内の PE 発生確率を低下させることに成功したことを示す。また慢性型 DVT は、超音波検査の時点で DVT が形成されてから約 1 ヶ月以上経過していることを意味する。これらの患者は入院時すでに慢性 DVT があり、それを持ち込んできたことは明らかである。阪大病院における年間入院患者数は変化がないことから、慢性型 DVT の減少は、阪大病院の診療圏において肺塞栓症発症をもたらす可能性が高い DVT 患者数が減少したことを示す。

(Ⅱ) 信頼性の高いガイドラインとは、会員のコンセンサスが得られているものを指す。具体的には少なくとも、個々の内容に対する反論とその反論に対する作成者の説明、そして最終決定者の判断とその理由が明記され、定期的に見直しがなされることが前提となる。学会の姿勢やガイドラインの使用者の範囲を明記することが必要である。

次に、医療ガイドラインは、manual に相当するものから、policy に相当するものまで幅広く存在する。例えば循環器学会の「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」は、各章を研究班の委員が分担して執筆し、その後研究班で検討されて出版される。研究班には多くの学会の委員が「合同研究班参加学会」として含まれる。しかし、その委員が各学会の総意を代表しているわけではない。内容について各学コンセンサスを得たものでもない。こ

の場合は、” manual 手順 ” “ guideline 指針 ” = “ guide ”、 “ help 助け ”、 “ assistance 補助 ”、 “ reference 参照 ”、 “ policy 方針 ” などと分ければ、reference に最も近い。これは肺塞栓症研究会の場合も同様である。それにもかかわらず、法学はガイドラインを規範とみなし、医師が守るべきものであり、もし守らないならばその理由を明確に説明できなければならないとする。しかも、その説明責任はガイドライン作成者にあるべきであるにも関わらず司法は一般の医療者に求める。すなわち、いままでガイドライン作成者の説明責任が果たされてこなかったことが血栓症を取り巻く医療裁判が多発する原因の一つである。さらに、ガイドラインが不十分であれば医療側が常に更新すべきであるのにそのような対応を怠ってきたことが、法学側が完成したガイドラインと勘違いする原因となっている。その意味で、ガイドラインを取り巻く訴訟問題は医療側の説明責任とガイドラインの更新とを怠ってきたことが原因と言える。

(- 1)

1 .Bethesda 法における反応溶液中の pH 上昇の軽減法: pH と使用試験管との間には、 $pH = 2.2766 \{ (\text{試験管容積 ml} / \text{添加血漿容量 ml}) / \text{空気と血漿との接触面積 mm}^2 \} + 7.448$ の関係があることを見出した。2 .緩衝化血漿 1.0ml , 0.5ml 添加における 37 , 2 時間 加温後の pH はそれぞれ 7.60 および 7.76 であった。非緩衝化血漿では、FII, FVII, および FX を除く凝固因子活性は 1.0ml 添加血漿に比較し 0.5ml 添加血漿で有意な低下が認められ

た。緩衝化血漿を使用した場合には、F-VIII 以外の因子に有意な変動を示さなかったが、F-VIII については、0.5ml と 1.0ml との間に有意な低下 (1.0ml 添加に比較し約 5 % の低下) を認めたが、各添加量と対照血漿との間には有意差はなかった。

上記の結果を分かりやすく記載すると以下の通りとなる。反応溶液中の温度上昇と pH 上昇により、特に第 、第 凝固因子の活性が低下する。この影響は、凝固因子インヒビターを擬陽性とするだけでなく、ADAMTS13 の測定結果にも及ぶ。この問題は、HEPES 緩衝液 (pH7.35) を用いることと、容積比を考慮することによりにより、解決できることを明らかにした。この結果、凝固因子検査における施設間格差を解消できる。

(2)

ダビガトラン 75mg 4C/day 服用患者群 (平均年齢, SD: 62, 8.5) と 110mg 2C/day 服用患者群 (70.7, 8.3) との間に APTT、PT-INR および eGFR の値に有意な差は認められなかった。服用前に APTT の測定依頼のあった (ワルファリン服用中を除外) 24 名 (75mg 4C/day : 8 名 , 110mg 2C/day : 16 名) の服用後の APTT 検査値、PT-INR 検査値ともに対象症例全てで服用後有意に延長していた。服用後の検査値における PT-INR 平均 \pm SD は 1.12 ± 0.12 、APTT 値は 43.2 ± 9.22 となり、APTT 値の方が PT-INR 値よりも大きく変動した。服用前後の APTT 値の関係は、服用前の測定値が大きくなるに従い服用後の測定値が延長する結果となった (回帰式 $y = 1.36x + 4.74$ (y : 服用後 , x : 服用前), $r = 0.638$, $p < 0.01$)。

また、服用開始前後の APTT 比（服用後値 / 服用前値）は、平均：1.54，SD：0.23，範囲：1.2～1.94 であり、服用前値との関係性は見られなかった。採血時間帯による検査値の変動は、同一患者で採血日時の異なるデータを収集し、採血時間帯（8:30～9:30，9:30～10:30，10:30～11:30，11:30～15:30）ごとに比較したところ、各時間帯における大きな変動は観察されなかった。

D . 考察

（ ） 阪大ガイドラインは 2003 年から運用を開始した。2006 年と 2010 年を抽出してガイドラインの運用効果を確認したところ、院内において P E 発生をもたらす中枢型の新鮮 D V T が減少したことが明らかになった。さらに阪大病院への持ち込み症例（無治療だと D V T の増大と P E の発生に結びつく）が減少したことから、阪大診療圏において、未治療ないし不完全な治療の結果生じる慢性型 D V T が減少したことが明らかになった。これらの結果は、阪大ガイドラインが大阪大学病院内における P E および D V T 発症の予防に効果があることを示しただけでなく、その普及が大阪大学診療圏における未治療ないし不完全治療の D V T 患者の減少をもたらし、それらの患者による（持ち込み）D V T による P E 発症を抑制したことを示した。

阪大ガイドラインは診断と治療を基本として D V T と P E の予防効果を高めたものである。これまで阪大ガイドラインの運用に基づく副作用を発生させることなく現在に至っている。阪大ガイドライン

の目的が、D V T および P E を無くすることではなく、減少させることにあり、また、予防手段が医療費を増加させないことを主眼としてきた。特に機関中に販売されるようになった新薬にして一貫して批判的態度を貫いてきたことにより、新薬による副作用（出血死亡や重篤な合併症）を生じることがなかったことは、この阪大ガイドラインの意義の一つである。この成果は、阪大ガイドライン作成に当たり、限られた担当者だけでなく、実施前に数度に渡り阪大全医療従事者を対象とした説明会とその場での批判に全て対応してから開始したことが大きい。ガイドラインの戦略とは、限られた医療者のみでなく、広く医療関係者の叡智を結集させることが必要であることを示している。

（ ） 他方このようなガイドラインは、医療訴訟が発生した際には法律側によって都合良く利用されて、医療側はこの対応において大きな負担をかかえてきた。これまで医療側から法学側に語りかけるアクセスが無かったため、法学側の一方的な解釈がまかり通ってきたためである。そしてもう一つは、医療側が一部の弁護士の話に鵜呑みにしたため、意識の上で医療側に萎縮を招いたからである。これに対する反省から、私は厚生労働省科研費の一部を使用して、日本医事法学会、日本生命倫理学会、そして医療と司法の架橋研究会の場において、医と法の対話を続けてきた。そのような中で、最近、司法側に変化があらわれた。平成 24 年 12 月 10 日大阪大学医学部で開催された医療者に対する「医療訴訟ガイダンス」の質

疑応答において、大阪地方裁判所医療集中部の中村也寸志裁判長から「ガイドラインの前書き等を必ず確認して、裁判においてガイドラインが過度に医療側の負担とならないように配慮している」との前向きな説明があったからである。司法側がその考え方を明らかにすることはほとんどない。裁判官がこの発言を行ったことの意味は大きい。今後ガイドラインの作成者と使用者は、そのガイドラインの説明責任者の名前と、そのガイドラインが影響を及ぼす範囲について、「前書き」に明記することが必要である。その前書きがないガイドラインは、社会的に意味をなさないことになる。

さらに本来は訴訟においてはガイドラインを出した学会が積極的に説明責任を果たそうとする態度を示すべきであることはいうまでもない。（川崎富夫：法学的意思と意志の異同と患者の自己決定権 生命倫理 Vol.22 No.1 通巻 23 号 42-50, 2012、混合診療 年報医事法学 27 208-213, 2012、川崎富夫：肝硬変の治療にあたり、生体肝移植について説明すべき義務の違反があるとされた事例 年報医事法学 27 143-148, 2012、川崎富夫：未熟児網膜症姫路日赤事件最高裁判決と医療現場感覚との落差 司法と医療の認識 統合を求めて 医事法講座 第 3 巻 医療事故と医事法編 甲斐克則編 信山社 東京 3-27, 2012、川崎富夫：法律用語としての意思の成立と社会への影響 法律時報 9・10 号 101-107, 2011）

（ - 1 ） 従来から特発性血栓症のリスクを解析する時に用いられてきた測定

法が不安定で測定誤差を生じていることである。これまで使用されてきた Bethesda 法は約 40 年前に開発された方法であり、血漿融解時に血漿 pH が変化して凝固因子活性を低下させる。私たちは HEPPES pH7.35 緩衝液を用いて血漿 pH を安定化させることにより、この問題を解決した。その結果、従来の Bethesda 法では凝固第 2、7、10 因子を除く他の全ての凝固因子の活性および ADAMTS13 の活性を低下させて正確な値が測定できないこと、そしてこの新しい測定法を用いることにより活性値を正確に測定できることを明らかにした。今後この測定法を社会に普及させることにより、これまで生じていた保存凍結血漿の融解による活性低下の防止と施設間格差の解消が可能となり、静脈血栓症の原因究明に必要な止血検査データの信頼性の向上に資する。

（竹尾映美ら：凝固因子インヒビター測定における血漿 pH の安定化法 第 54 回日本臨床検査医学会近畿総支部総会 平成 23 年 10 月 29 日 滋賀、川崎富夫 わかりやすい血栓と止血の臨床 深部静脈血栓症の病態と臨床 日本血栓止血学会編 南江堂 東京 132-135, 2011）

（ 2 ） ダビガトラン服用によって止血検査上明らかな出血傾向に陥る。服用による出血を防ぐためには、最低限でもダビガトラン服用前において APTT におけるモニタリングが必須である。（岸可那子ら：ダビガトラン服用患者における PT, APTT の測定値について 第 13 回日本検査血液学会学術集会、平成 24 年 7 月 28 日 高槻）

E . 結論

本研究を通して、止血検査精度の向上と血栓予防・治療薬の安全性の向上に貢献した。また、大阪大学病院の肺血栓塞栓症の予防・診断・治療GLは、院内コンセンサスを構築した上で実施することにより、GL使用者である医療者に対してGL作成者の責任を果たすことの価値に先鞭をつけたものである。なお費用対効果については以前の研究にて明らかにした通りである。

また、GLにかかわる医療訴訟問題を「医療と司法の架橋研究会」において検討した結果、司法が判断する医療水準が現場の医療と乖離することによって生じたことがわかった。医療水準の再設定が今後の医療萎縮や防衛的医療の改善につながると信じる。

F . 健康危険情報

なし

G . 業績リスト

論文発表

研究発表

国内

口頭発表 2件

竹尾映美、末久悦次、徳 雅幸、林 貞夫、日高 洋：凝固因子インヒビター測定法における血漿 pH の安定化法 第 14 回日本検査血液学会学術集会 学術賞受賞講演、平成 25 年 7 月 27 日-28 日 東京

竹尾映美、末久悦次、徳 雅幸、日高 洋：二種類の APTT 試薬を用いた APTT 延長例におけるスクリーニング法の検討 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会 平成 25 年 10 月 31 日-11 月 3 日、兵庫

原著論文 2 件

竹尾映美、末久悦次、川崎富夫、徳 雅幸、林 貞夫、日高 洋：凝固因子インヒビター測定法における血漿 pH の安定化法. 日本検査血液学会雑誌 第 14 巻 第 1 号 2013 年

生体移植と医師倫理規範

生命倫理 Vol23(通巻 24 号) 31-37, 2013

川崎富夫

それ以外 0 件

海外

口頭発表 0 件

原著論文 0 件

それ以外 0 件

H . 知的所有権の出願・取得状況

なし

Bortezomib が巨核球、血小板に与える影響の解析、 多発性骨髄腫患者における静脈血栓塞栓症発症の解析

研究分担者 横山 健次 慶應義塾大学医学部内科

固形がん患者では静脈血栓塞栓症(VTE)発症率が高いことが知られているが、近年造血器腫瘍患者でも固形がん患者と同様に VTE 発症率が高いことが報告されている。造血器腫瘍の一つである多発性骨髄腫(MM)では、治療法により VTE 発症率が異なること、欧米人とアジア人では VTE 発症率が異なる可能性があること、などが示されている。MM 治療薬の中で抗血栓作用を有する可能性が示唆されている bortezomib (BOR) が巨核球、血小板に与える影響を解析するとともに、自施設での MM 患者における VTE 発症率および発症時期を明らかにして、文献的報告も踏まえて MM と VTE 発症、および治療薬との関連を検討した。

A . 研究目的

固形がん患者では VTE 発症率が高く、VTE はがんの進行に次ぐ主要な死因となっている。固形がんに関しては VTE 発症の危険因子も報告されており、周術期の VTE 予防ガイドラインも作成されている。また術後、あるいは手術適応のない患者に対して化学療法を施行する際に抗凝固療法を併用することの有用性を検討する臨床試験も施行されている。一方近年いくつかの報告により、造血器腫瘍患者でも固形がん患者と同様に VTE 発症率が高いことが明らかにされている (Falanga A, et al. J Clin Oncol 2009)。中でも近年多発性骨髄腫(MM)に広く使用されるようになった 免疫調節薬 (IMiDs) の thalidomide (Thal)、lenalidomide (LEN) を投与された MM 患者では高率に VTE を発症することが報告されており、VTE 予防目的で抗凝固薬ないし抗血小板薬を併用することが推

奨されている (NCCN guideline 2012)。これらの報告の多くは欧米人患者を対象とした解析結果である。一方でアジア人 MM 患者では、IMiDs を使用しても必ずしも VTE 発症率は高くはない可能性を示唆する報告がある (Koh Y, et al. Ann Hematol 2010, Wu SY, et al Ann Hematol 2012, Kato A, et al. Thromb Res 2013)。プロテアソーム阻害薬の BOR は未治療 MM、再発難治 MM の両者に広く使用されており、IMiDs とともに現在の MM 治療の中心となっている薬剤である。BOR 投与患者では VTE 発症率が上昇することではなく、さらに IMiDs 投与患者に BOR を併用すると、併用しなかった場合と比較して VTE 発症率が低下することが示唆されている (Zangali M, et al. Clin Lymphoma Myeloma Leukemia 2011)。BOR の副作用としては血小板減少がみられ、また in vitro (Avcu F, et al Thromb Res 2008) および ex vivo (Shen

Y, et al Leuk Res 2011)の系で BOR により血小板凝集能が低下することが報告されている。従って BOR は巨核球、血小板系に何らかの作用を有して、その結果 IMiDs 併用時の VTE 発症を抑制している可能性がある。MM と VTE 発症、および治療薬との関連を検討することを目的として、BOR が巨核球、血小板に与える影響を解析するとともに、自施設での MM 患者における VTE 発症率および発症時期を明らかにするために本研究を行った。

B . 研究方法

1) BOR が巨核球、血小板に与える影響の解析

BOR 存在下 (20nM) および非存在下で既報の方法に従って脂肪前駆細胞を巨核球に分化、血小板産生を誘導して、BOR が巨核球分化に与える影響を CD41 陽性細胞レベル評価により解析した。

2) 自家末梢血幹細胞移植療法を施行した日本人 MM 患者における静脈血栓塞栓症発症の解析

対象は 2000 年 1 月から 2010 年 12 月の間に寛解導入療法を開始した後、慶應義塾大学病院でメルファラン大量療法を前処置とする自家末梢血幹細胞移植を 1 回以上施行した MM 患者。後方視的に、MM の病態、治療内容、合併症、症状を有して画像で確認された VTE の発症の有無、発症時期等を解析した。

(倫理面への配慮)

診療記録を臨床研究に使用することに関して施設の倫理委員会の承認を得て、

その旨を掲示した。

C . 研究結果

1) BOR が巨核球、血小板に与える影響の解析

BOR (20nM) 存在下では 10% および 15% の細胞が巨核球系細胞に分化した。非存在下では 10% の細胞が巨核球系細胞に分化した。血小板産生効率にも差はみられなかった (表 1)。

2) 自家末梢血幹細胞移植療法を施行した日本人 MM 患者における VTE 発症の解析

今回解析した対象の詳細は表 2、表 3 に示す (表 2、3)。48 人が 1 回、45 人が 2 回の自家末梢血幹細胞移植を施行されていた。VTE は 7 人に発症、5 人は治療開始から自家末梢血幹細胞移植施行時までの治療早期、2 人は終末期に発症していた (表 4)。自家末梢血幹細胞移植施行前に IMiDs を投与された 4 人に VTE 発症はなく、自家末梢血幹細胞移植後 IMiDs を投与された 50 人 (11 人は予防的にアスピリン内服) 中 1 人で VTE を発症していた。VTE を再発した患者はいなかった。

D . 考察

1) BOR が巨核球、血小板に与える影響の解析

今回の実験系では、BOR は巨核球分化、血小板産生には影響を与えなかった。従来の報告および我々の今までの検討から BOR は血小板機能に何らかの影響を与えと考えられる。今回の検討では産

生された血小板数が少なく、血小板機能の解析は行えていない。今後 BOR 存在下で産生された血小板が非存在下で産生された血小板と質的にどのような差がみられるのか、その差が血小板減少、機能低下にどのように関連するのか検討することを考慮している。また今回の結果は、BOR 投与時には細胞毒性を有する抗癌剤投与時にみられる血小板減少と異なる機序により、血小板が減少する可能性を示唆している。しかし今回の実験は脂肪前駆細胞を使用しており、骨髓造血幹細胞からの巨核球分化に与える BOR の影響も同様であるかについても今後検討する必要がある。なお本研究は慶應義塾大学医学部発生分化学松原由美子博士と共同で行った。

2) 自家末梢血幹細胞移植療法を施行した日本人 MM 患者における VTE 発症の解析

自家末梢血幹細胞移植適応のある若年 MM 患者の移植時までの VTE 発症率は 5.1%と欧米の報告と同等であった。一方自家末梢血幹細胞移植後 IMiDs 投与例での VTE 発症率は、予防的にアスピリンを内服していた症例は 22%と多くの症例では予防策は行なっていなかったにもかかわらず 2%と欧米の報告と比較して低い可能性が示唆された。この結果は従来の報告 (Koh Y, et al. Ann Hematol 2010, Wu SY, et al Ann Hematol 2012, Kato A, et al. Thromb Res 2013) と同様にアジア人 MM 患者では、IMiDs を使用しても必ずしも VTE 発症率は高くはない可能性を示唆するものと思われた。

E . 結論

今回の実験系では BOR は巨核球分化、血小板産生には影響を与えなかった。

日本人 MM 患者における VTE 発症率は、従来の治療を施行した場合は欧米人と同等であるが、IMiDs 投与例での発症率は欧米人より低い可能性が示唆された。

表の説明

表 1 BOR (20nM) が脂肪前駆細胞から巨核球への分化、血小板産生に与える影響

BOR 非存在下で 10%、存在下で 10-15% の脂肪前駆細胞が巨核球、血小板に分化した。

表 2 患者背景 I

表 3 患者背景 II

表 4 VTE 発症例と発症時期

VTE は 93 人中 7 人に発症、5 人は治療開始から自家末梢血幹細胞移植施行時までの治療早期、2 人は終末期に発症していた。

F . 健康危険情報

該当なし。

G . 研究発表

1. 論文発表

1) Yokoyama K. Involvement of glycoprotein Ib, IIb/3 and von Willebrand factor in platelet

production. J Bone Marrow Res.
2013;1: 102.

2) Hosokawa R, Ohyama M, Murakami K, Abe D, Yokoyama K, Okamoto S, Amagai M. Improvement of mucocutaneous involvement of immunoglobulin light chain amyloidosis after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma. J Dermatol. 2013;40:768-9.

3) **横山健次**. 多発性骨髄腫治療の最近の動向について。東京内科医会会誌 2013;29:37-41.

4) **横山健次**. 【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を含めて-】凝固・線溶異常による出血傾向 先天性凝固線溶異常症 血友病および類縁疾患 高分子キニノゲン欠損症. 日本臨床 (0047-1852)別冊血液症候群第2版II Page507-509(2013.03)

5) **横山健次**. 【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を含めて-】凝固・線溶異常による出血傾向 先天性凝固線溶異常症 血友病および類縁疾患 先天性第V、VIII因子合併欠乏症. 日本臨床 (0047-1852)別冊血液症候群第2版II Page510-512(2013.03)

6) **横山健次**. 【血液症候群(第2版)-その他の血液疾患を含めて-】凝固・線溶異常による出血傾向 先天性凝固線溶異常症 血友病および類縁疾患 先天性第V因子欠乏症・異常症. 日本臨床 (0047-1852)別冊血液症候群第2版II Page513-515(2013.03)

7) **横山健次**. 【抗血栓療法 基礎知識から最新のエビデンスまでを徹底解説!】抗血小板薬不応症患者に対する治療戦略. 薬局(0044-0035)64巻2号 Page307-311 (2013.02)

2. 学会発表

1) **横山健次**, 岡本真一郎. 自家末梢血幹細胞移植療法を施行した日本人多発性骨髄腫患者における静脈血栓塞栓症発症の解析. 第35回日本血栓止血学会総会. 201305(口演)

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

表1 BOR (20nM) が脂肪前駆細胞から巨核球への分化、血小板産生に与える影響

	解析細胞数	陽性細胞割合(%)
	whole	
BOR(-)	119000	10
	106000	3
BOR(+)	671000	10
	628000	15

	MK size	
BOR(-)	86700	10
	72400	3
BOR(+)	606000	10
	560000	15

	plt size	
BOR(-)	31900	10
	33400	3
BOR(+)	65300	10
	68100	15

表2 患者背景 I

性別		MMの病型	
男	46 (49%)	IgG	55 (59%)
女	47 (51%)	IgA	15 (16%)
		IgD	3 (3%)
年齢		BJP	20 (22%)
中央値	55 (32-66)	kappa	60 (65%)
<60	69 (74%)	lambda	33 (35%)
≥60	24 (26%)		
		病期(Durie-Salmon)	
観察期間中央値		I	5 (5%)
53.0 ヶ月 (10-145)		II	23 (25%)
		III	65 (70%)
		血清 creatinine (mg/dl)	
		<2	79 (85%)
		≥2	14 (15%)

表3 患者背景 II

寛解導入療法		IMiDs使用(自家移植前)	
VAD	90 (97%)	有	5 (5%)
HD-DEXA	2 (2%)	無	88 (95%)
VCMP	1 (1%)		
VAD施行回数		IMiDs使用(自家移植後)*	
1	4 (4%)	有	52 (56%)
2	5 (5%)	無	41 (44%)
3	31 (33%)	自家移植施行回数	
4	45 (53%)	1回	48 (49%)
5	2 (2%)	2回	45 (51%)
6	3 (3%)		

IMiDs使用(自家移植後)*		Thal (n=30)	LEN (n=26)
自家移植後投与開始までの期間		10ヶ月 (2-57)	28.5ヶ月 (2-92)
投与期間		12.5ヶ月 (1-108)	8.5ヶ月 (1-37)
抗血栓薬予防投与あり		1 (3%)	13 (50%)

表4 VTE 発症例と発症時期

症例	発症時期 (ヶ月)*	発症時MM 治療	IMiDs使用(VTE 前)	他の危険因子	VTE治療
1	1	寛解導入療法	無	下肢静脈瘤	warfarin
2	2.5	寛解導入療法	無	PS 3	IVC filter, ticlopidin
3	3	寛解導入療法	無	無	IVC filter, heparin, warfarin
4	7	初回ASCT	無	無	heparin, warfarin
5	7	初回ASCT	無	無	無
6	54	救援療法終了後 1ヶ月	LEN	PS3	heparin, warfarin
7	105	救援療法終了後	無	PS4	heparin

*寛解導入療法開始後

寛解導入療法開始7ヶ月時点での累積VTE発症率は5.4%

女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究

最近 10 年間に於ける女性ホルモン剤使用による静脈血栓症及び動脈血栓症の後方視的研究

研究分担者 小林 隆夫 浜松医療センター 院長
研究協力者 尾島 俊之 浜松医科大学健康社会医学講座 教授
杉浦 和子 浜松医科大学健康社会医学講座

研究要旨

【目的】日本人には血栓性素因としてのプロテイン S 異常症（徳島変異は日本人 55 人に 1 人と推定）が多く、女性ホルモン剤使用中に血栓症を発症することがある。また、この 10 年間で女性ホルモンの処方の種類が増えさらに処方数が増えていること、そして 2008 年には女性ホルモン剤の一部は月経困難症の保険適用を取得し、ここ数年で処方量が増加し女性ホルモン剤投与中の血栓症は今世紀に入って増加していると予測できる。本研究目的は、日本における 2003 年以降現在までの約 10 年間に於ける女性ホルモン剤使用中に発症した静脈血栓症及び動脈血栓症の発症頻度とその記述疫学像を明らかにし、もって安全な女性ホルモン剤使用に資することである。【方法】研究対象は以下の 3 つの条件の全てに当てはまる症例である。すなわち、2003 年から調査時点までの発症、女性ホルモン剤使用中の発症、静脈血栓症例（肺血栓塞栓症、深部静脈血栓症、その他の静脈血栓症）または動脈血栓症例（脳梗塞、心筋梗塞、その他の動脈血栓症）（疑い症例を含む）。浜松医療センターおよび浜松医科大学の倫理委員会の承認を得た後に、郵送法により、一次調査（全体票）及び二次調査（個人票）を行う。具体的には、まず全国の入院病床を有する一般病院施設に一次調査を実施し、上記の選択基準に合致する症例数を把握する。次に、症例報告のある施設に対し、二次調査を実施し、症例毎の基本属性、発症日、処方されている女性ホルモン剤の種類及び危険因子等を把握し、解析する。【結果】調査対象施設を 2,136 施設に絞り込み、最終的に 9,318 診療科を抽出し（産婦人科、内科、外科、循環器内科、循環器外科、心臓血管外科または血管外科、呼吸器内科、呼吸器外科、脳神経外科、神経内科、救急科または救命救急センター等）一次調査票を送付した。2014 年 1 月 31 日現在、4,121 診療科から回答が得られ、回収率は 44.2%（4,121/9,318）である。次に、血栓症の「症例あり」との回答が得られた施設・診療科に対して順次二次調査票を発送しているが、2014 年 2 月 3 日現在、依頼した 500 診療科のうち 341 診療科から回答を得ており、現時点での回答率は 68.2%（341/500）である。なお、血栓症の「症例あり」の診療科は、一次調査回答診療科の 12.1%（500/4,121）に当たる。今後二次調査票の再依頼を行い、最終的に得られた調査結果を解析する予定である。

A . 研究目的

日本人には血栓性素因としてのプロテイン S 異常症（徳島変異は日本人 55 人に 1 人と推定）が多く、女性ホルモン剤使用中に血栓症を発症することがある。また、この 10 年間で女性ホルモンの処方の種類が増えさらに処方数が増えていること、そして 2008 年には女性ホルモン剤の一部は月経困難症の保険適用を取得し、ここ数年で処方量が増加し女性ホルモン剤投与中の血栓症は今世紀に入って増加していると予測できる。しかしながら血栓症の治療は、産婦人科に限られておらず、これまでに産婦人科以外の診療科を含めた全国規模での女性ホルモン剤と血栓症に関する実態調査は行われていない。女性ホルモンの処方量の現状はもちろん、それによる血栓症の発症実態を把握することは極めて重要なことと考える。

本研究目的は、日本における 2003 年以降現在までの約 10 年間ににおける女性ホルモン剤使用中に発症した静脈血栓症及び動脈血栓症の発症頻度とその記述疫学像を明らかにし、もって安全な女性ホルモン剤使用に資することである。

B . 研究方法

研究対象は以下の 3 つの条件の全てに当てはまる症例である。

2003 年から調査時点までの発症
女性ホルモン剤使用中の発症
静脈血栓症例（肺血栓塞栓症、深部静脈血栓症、その他の静脈血栓症）
または動脈血栓症例（脳梗塞、心筋梗塞、その他の動脈血栓症）（疑い

症例を含む）

研究デザインは、後方視的な観察研究であり、浜松医療センターおよび浜松医科大学の倫理委員会の承認を得た後に、郵送法により、一次調査（全体票）及び二次調査（個人票）を行う。具体的には、まず全国の入院病床を有する一般病院施設に一次調査を実施し、上記の選択基準に合致する症例数を把握する。次に、症例報告のある施設に対し、二次調査を実施し、症例毎の基本属性、発症日、処方されている女性ホルモン剤の種類及び危険因子等を把握し、解析する。なお、IMS（アイ・エム・エス）ジャパン株式会社と提携し、各女性ホルモン剤の各年の処方数量等を情報提供してもらい、発症率の推定を行う予定である。

（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り、浜松医療センターおよび浜松医科大学の倫理委員会の承認を得た後に実施するが、本研究は介入を行わず、侵襲を伴わない後方視的観察研究であるため、有害事象が起こる可能性はない。また、疫学研究に関する倫理指針の「既存資料等のみを用いる観察研究の場合」に該当するため、個々の患者からインフォームドコンセントを得ることはしない。さらに患者情報については、連結不可能匿名化された情報のみを収集し、個人情報収集しないため倫理的に問題ないと考える。なお、この研究の実施について、ホームページで公開している。

C . 研究結果

まず、疫学調査の研究指針に基づき WAMNET 上およびホームページ上から調査対象施設を 2,136 施設に絞り込み、これらの施設において女性ホルモン剤使用中の血栓症治療に携わっている可能性のある診療科を抽出した。抽出診療科は、産婦人科(産科・婦人科・周産期科を含む)、内科、外科、循環器内科、循環器外科、心臓血管外科または血管外科、呼吸器内科、呼吸器外科、脳神経外科、神経内科、救急科または救命救急センター等を標榜している 9,319 診療科である。これらの診療科に対して 2013 年 9 月 27 日に一次調査票を送付した。その後期限までに回答がなかった施設・診療科に対して再度の依頼を行った。最終的に追加発送診療科および閉鎖・閉院・不達診療科を調整し、一次調査の最終対象診療科数は 9,318 となった。そして 2014 年 1 月 31 日現在、4,121 診療科から回答が得られ、回収率は 44.2% (4,121/9,318) である。今後、回答が遅れるという連絡ありの施設を加味した場合の回収数は 4,200 診療科となり、回収率は 45.1% となる予定である。次に、血栓症の「症例あり」との回答が得られた施設・診療科に対して順次二次調査票を発送しているが、2014 年 2 月 3 日現在、依頼した 500 診療科のうち 341 診療科から回答を得ており、現時点での回答率は 68.2% (341/500) である。なお、血栓症の「症例あり」の診療科は、一次調査回答診療科の 12.1% (500/4,121) に当たる。今後期限までに回答が得られない診療科に対して二次調査票の再依頼を行い、最終的に得られた調査結果を解析する予定

である。

D . 考察

女性ホルモン剤と血栓症に関する近年の日本での調査報告は、2002 年に全国 1,083 の産婦人科施設で実施された 1992 年～2001 年の 10 年間の調査しかなく、最近 10 年間全国規模の実態調査は全く行われていない。しかも上記調査では 10 年間で 53 症例の報告があったのみである (Adachi T, et al. Semin Thromb Hemost 2005; 31(3): 272-280)。

しかし、2008 年には女性ホルモン剤の一部は月経困難症の保険適用を取得し、ここ数年で処方量が増加し女性ホルモン剤投与中の血栓症は増加の一途を辿っていると予測されている。こうした中、女性ホルモン剤投与中患者の死亡例を受けて 2013 年 8 月と 10 月には製薬会社から「適正使用のお願い」が、さらには 2014 年 1 月にブルーレターである「安全性速報」が出され、日本産科婦人科学会をはじめ関連学会からホームページ上に「女性ホルモン剤使用中患者の血栓症に対する注意喚起」が出されるに至った。この問題はマスメディアでも取り上げられ、もはや日本人でも欧米人と同様に女性ホルモン剤使用時には血栓症に対する注意が必須のものとなった。

本調査研究の目的は、女性ホルモン剤使用中に発症した静脈血栓症及び動脈血栓症の発症頻度とその記述疫学像を明らかにし、もって安全な女性ホルモン剤使用に資することである。調査研究の対象施設・診療科数が大きいとはいえ、今回の調査では中間結果であるにもかかわらず

ず、血栓症の「症例あり」の診療科は 487 に達しており、すでに Adachi T らの 10 年間で 53 症例という報告数をはるかに凌駕する症例が集積されつつある。今後これらの調査結果を解析することにより、女性ホルモン剤使用中に発症した血栓症の発症頻度やリスク因子等を明らかにし、安全な女性ホルモン剤使用に関する提言を行いたい。これらは国民の健康保持ひいては厚労行政にとって大きな朗報になると確信する。

E . 結論

現時点では結論は出ていない。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

現時点ではなし

H . 知的所有権の出願・取得状況

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし

入院患者における静脈血栓塞栓症（VTE）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）および PS 抗原と PS 活性の比活性測定により VTE 予知は可能か -

研究分担者 小林 隆夫 浜松医療センター 院長

研究協力者 平井 久也 浜松医療センター産婦人科

研究要旨

【目的】術前入院患者における内因性トロンビン産生能（ETP）に基づく活性化プロテイン C 感受性比（APC-sr）、プロテイン S（PS）抗原・PS 活性を測定し、これらが VTE 予知に可能であるかどうか検討する。【方法】ETP とは血漿中のトロンビン産生を経時的に測定する方法で、本測定系に APC を添加・反応させた際の ETP の抑制率を control との比で表したものを APC-sr として算出する。浜松医療センター倫理委員会で承認された本研究に同意が得られた入院患者について ETP、APC-sr、PS 抗原（total と free）および PS 活性（シノテスト法）を測定して個々の相関を検討した。さらに研究に同意が得られた VTE 患者も同様に測定し、陽性対象として解析した。【結果】手術患者 56 例、VTE 患者 22 例（肺塞栓症：PE16 例、深部静脈血栓症：DVT 単独 6 例）で検討した。1）PS 抗原と PS 活性の比活性が 0.7（-3SD）未満を呈した症例は VTE19 例中 7 例、PE16 例中 6 例であり、そのうち PS 活性 60%未満は VTE19 例中 5 例、PE16 例中 4 例であった。PS の型欠乏症が疑われた。2）APC-sr と free PS 抗原（ $P<0.01$ ）・PS 活性（ $P<0.05$ ）の間には負の相関がみられ、APC-sr の増加と PS の減少との関連性が示唆された。3）予防的抗凝固薬投与中は ETP と APC-sr とともに抑制されるが、抗凝固療法施行前に採血できた VTE 患者 14 例の APC-sr は 2.92 ± 1.47 で、悪性腫瘍患者術前の 1.27 ± 0.68 と整形外科患者術前の 1.27 ± 0.69 より有意に高かった（ $P<0.01$ ）。また、術後 DVT 症例の術前の値は 2.76 と高値で、かつ PS 比活性は 0.61 と低値であった。【考察および結論】VTE 高リスク患者の APC-sr および PS 抗原と PS 活性の比活性測定が VTE 予知に寄与する可能性が判明した。この方法は未だどこの施設でも臨床応用されていないが、将来的に日常臨床で応用されれば入院患者における VTE の予知が可能であり、PS 異常症患者のスクリーニングをはじめ内科入院患者や術後患者の VTE 予防として最適な抗凝固薬使用が推奨可能で、予防可能な院内死亡減少に大いに寄与できるであろう。このことは国民の健康維持ひいては厚労行政にとって大きな朗報となると思われる。

A . 研究目的

わが国の深部静脈血栓症 (DVT) 肺塞栓症 (PE) は増加傾向にある。入院患者、とくに術前患者においてはそのリスクを評価し、リスクに応じた適切な予防法を講じることが重要である。しかし、現時点では発症を予知できるような血液凝固学的指標はない。そこで浜松医療センターでは入院患者、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静脈血栓塞栓症 (VTE) 予知スクリーニング法を確立する研究を行っている。この研究の中でプロテイン S (PS) も測定しているので、APC-sr と PS との関連性、および PS 抗原と PS 活性の比活性から VTE の予知が可能であるかどうか検討する。もし、これらの方法で VTE 予知が可能となれば、PS 異常症患者のスクリーニングをはじめ予防可能な院内死亡減少に大いに寄与でき、厚労行政にとって大きな朗報となると思われる。

B . 研究方法

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 加温の後、蛍光基質及び CaCl_2 を添加し外因系凝固反応を惹起する。生成されたトロンピンは蛍光基質の発色基を切断し、その後アンチトロンピンにより中和され、反応が終結する。一部トロンピンは 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、算出する。リスク評価されたそれぞれの浜松医療センター入院患者 (産婦人科、整形外科、外科等) で、本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 VTE マーカーである D-dimer (DD)、フィブリンモノマー複合体 (SF)、PS 抗原 (total と free) および PS 活性 (シノテスト法) 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 3 日または 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 DVT の有無を検索し、臨床経過の参考にする。さらに研究に同意が得られた VTE 患者も同様に測定し、陽性対象として解析した。

（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り、浜松医療センターの倫理委員会の承認を得た後に実施された。研究対象者にはインフォームドコンセントを取得しており、倫理的に問題ないと思われる。

C. 研究結果

現在解析が終了しているは帝王切開（6例）、外科・婦人科悪性腫瘍（30例）、整形外科下肢手術（20例）の計56例、およびVTE22例（PE16例、DVT単独6例）である。また悪性腫瘍術後症例で1例にDVTが発症した。現在判明している結果は下記の通りである。

1) 妊産婦では帝王切開術前術後ともETPとAPC-srは高い。すなわち、ETPは術前が $1,937 \pm 258$ と高く、術後やや減少した。APC-srは術前が 1.82 ± 0.45 と高く、術後も高値を持続した。悪性腫瘍患者では術前のETPは $1,397 \pm 40$ 、APC-srは 1.27 ± 0.68 とやや高く、術後3-4日目にかけて増加した。整形外科患者も術前のETPは $1,403 \pm 40$ 、APC-srは 1.27 ± 0.69 とやや高く、術後に増加し、4日目に最大となった。

2) 帝王切開例では、DDは術前が $2.2 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$ と高値であり、術後も増加したが、4日目がピークであった。SFも術前が $21.9 \pm 15.7 \mu\text{g/ml}$ と高値で、術後も増加したが、1日目がピークであった。悪性腫瘍患者では、DDは術前が $1.6 \pm 1.9 \mu\text{g/ml}$ と高値で、術後も増加したが、6日目と14日目がピークであった。SFは術前が $11.7 \pm 20.4 \mu\text{g/ml}$ と高値で、

術後4日目がピークであった。整形外科患者では、DDは術前が $2.7 \pm 5.1 \mu\text{g/ml}$ と高値で、術後も増加したが、1日目と14日目がピークとなった。SFは術前が $9.6 \pm 15.6 \mu\text{g/ml}$ と高値で、術後4日目がピークであった。3) PS抗原(totalとfree)およびPS活性は、悪性腫瘍患者と整形外科患者では術後1日目に減少するものの術前および術後4日目以降は正常であった。妊産婦では帝王切開術前はいずれも50%前後と低値を示し、術後4日目にかけて回復する傾向にあった。

4) PS抗原とPS活性の比活性が $0.7(-3SD)$ 未満を呈した症例はVTE19例中7例、PE16例中6例であり、そのうちPS活性60%未満はVTE19例中5例、PE16例中4例であった。PSの型欠乏症が疑われた。

5) APC-srとfree PS抗原・PS活性の間には負の相関がみられ($P < 0.01$)、APC-srの増加とPSの減少との関連性が示唆された。

6) 予防的抗凝固薬投与中はETPとAPC-srともに抑制されるが、抗凝固療法施行前に採血できたVTE患者14例のAPC-srは 2.92 ± 1.47 で、悪性腫瘍患者術前の 1.27 ± 0.68 と整形外科患者術前の 1.27 ± 0.69 より有意に高かった($P < 0.01$)。また、術後DVT症例では2.76と高値で、かつPS比活性は0.61と低値であった。

7) ROC解析により求めたVTE陽性のcut-off値は、APC-srが2.0(感度71%、特異度88%、AUC 0.872)、DDが $3.5 \mu\text{g/ml}$ (感度90%、特異度86%、AUC 0.953)、SFが $10.0 \mu\text{g/ml}$ (感度86%、特異度70%、AUC 0.830)、PS比活性が0.72(感度37%、特異度94%、AUC 0.615)であった。

D . 考察

現在判明していることとして、1) 妊産婦では帝王切開術前術後とも ETP と APC-sr は高い。悪性腫瘍患者と整形外科患者では術前の ETP と APC-sr はやや高く、術後 4 日目前後にかけて増加した。2) PS 抗原 (total と free) および PS 活性は、悪性腫瘍患者と整形外科患者では術後 1 日目に減少するものの術前および術後 4 日目以降は正常であった。妊産婦では帝王切開術前はいずれも 50%前後と低値を示し、術後 4 日目にかけて回復する傾向にあった。3) 19 例中 5 例の VTE 症例 (そのうち PE 症例は 4 例) において PS 抗原と PS 活性の比活性が 0.7 未満と低下し、かつ、PS 活性が 60%未満であったことより、これらの症例は PS の 型欠乏症が疑われた。日本人に多いとされる PS 異常症が PS 比活性の測定により推測できることを示唆する結果である。4) APC-sr と PS 抗原 (活性) の間に負の相関がみられたことは、APC-sr の増加と PS の減少との関連性が示唆された。5) 抗凝固療法施行前に採血できた VTE 患者 14 例 (そのうち PE 症例は 10 例) の APC-sr が 2.92 ± 1.47 と悪性腫瘍と整形外科患者術前の値より有意に高かったことに加え、術後 DVT 症例では 2.76 と高値で、かつ PS 比活性は 0.61 と低値であったことより、APC-sr および PS 比活性測定が VTE 予知に寄与する可能性が示唆された。

以上の結果より、APC-sr および PS 比活性測定が VTE 予知に寄与する可能性が判明したため、十分な研究成果と考えられる。しかし、帝王切開症例が少ないこと、および PE 症例と術後発症の VTE 症例がまだ

不十分であるため、さらなる症例の追加が必要である。現在症例を集積中であるが、最終的には十分評価に値する症例を集積し、解析する予定である。

E . 結論

APC-sr および PS 比活性測定は、国内外のどこの施設でも臨床応用されていない。この方法が日常臨床で応用されれば入院患者における VTE の予知が可能であり、PS 異常症患者のスクリーニングをはじめ内科入院患者や術後患者の VTE 予防として最適な抗凝固薬使用が推奨でき、予防可能な院内死亡減少に大いに寄与できるであろう。このことは国民の健康維持ひいては厚労行政にとって大きな朗報となると思われる。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- ・ 小林隆夫：ヘパリン在宅自己注射療法の適応と指針．Thrombosis Medicine 3(4)：71-75，2013
- ・ 小林隆夫：II. 各論 1. 産婦人科 A 産科．瀬尾憲正，古家仁編集，周術期深部静脈血栓/肺血栓塞栓症．克誠堂出版，東京，101-119，2013
- ・ 小林隆夫：ヘパリン在宅自己注射療法の適応と導入方法．脈管学 53(No. November)：167-170，2013
- ・ 小林隆夫：研修コーナー．妊産婦救急疾患の管理 1) 重症妊娠悪阻に対する肺塞栓症とウェルニッケ脳症の予防．日

本産科婦人科学会誌 65(10) 別冊：
N244-N249, 2013

・ 小林隆夫：妊婦の静脈血栓塞栓症。
Medical Practice 30(9): 1621-1622,
2013

・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症発症の予知
と早期診断。心臓 45(7): 924-927, 2013

・ 小林隆夫：深部静脈血栓症/肺塞栓症。
産婦人科当直医マニュアル. 臨床婦人科
産科 67(4): 73-77, 2013

・ 小林隆夫：ヘパリン在宅自己注射療法
の適応と指針。International Review of
Thrombosis 8(1): 78-81, 2013

・ 小林隆夫：肺塞栓症。周産期医学
43(1): 57-60, 2013

・ 小林隆夫：妊娠悪阻からの肺塞栓症。
周産期医学 43(1): 61-63, 2013

・ 小林隆夫：妊娠時の血栓症の予防・治
療。産科と婦人科 80(1): 77-83, 2013

2. 学会発表

・ Kobayashi T, Hirai K, Kasamatsu K,
Kobayashi M, Iwase T, Kanai T,
Matsuoka T, Sugiyama K, Tsuda T.
Normalized activated protein C
sensitivity ratio and protein
S-specific activity are useful
predictive markers for venous
thromboembolism. XXIVth Congress of
the International Society on
Thrombosis and Haemostasis, Amsterdam,
2013.6.29-7.4

(以降、講演)

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
鳥取産婦人科研修会。米子, 2013.12.19

・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防～リ
スク評価と予防対策～。名古屋医療セン

ター静脈血栓塞栓症予防セミナー。名古屋
屋, 2013.12.5

・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防～リ
スク評価と予防対策～。和歌山ろうさい
病院静脈血栓塞栓症予防教育セミナー。
和歌山, 2013.11.15

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
埼玉県産婦人科医会東部ブロック勉強会。
越谷, 2013.11.13

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
第6回大和市産婦人科医会研究会。大和,
2013.11.12

・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防～リ
スク評価と予防対策～。長野赤十字病院
医療安全講習会。長野, 2013.11.5

・ 小林隆夫：肺塞栓症予防と医療訴訟。徳
島県立中央病院院内セミナー。徳島,
2013.10.11

・ 小林隆夫：妊産婦における静脈血栓塞
栓症の予防対策 - ヘパリン在宅自己注射
の役割 - 。第34回日本妊娠高血圧学会ラ
ンチョンセミナー。富山, 2013.10.5

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症。薬
の安全処方を考える会。仙台, 2013.9.27

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
一宮産婦人科医会講演会。一宮,
2013.9.21

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
拡大一土会特別講演。静岡, 2013.9.4

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
宮崎市郡産婦人科医会学術講演会。宮崎,
2013.8.26

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症。
千葉市地区産婦人科医会講演会。千葉,
2013.8.22

・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症。薬

の安全処方を考える会．広島，2013.8.10

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．町田市産婦人科医会学術講演会．町田，2013.8.8

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．月経困難症学術講演会．大阪，2013.8.3

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．中信産婦人科医会学術講演会．松本，2013.8.2

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．沖縄県産婦人科学術講演会．那覇，2013.7.26

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．練馬区産婦人科医会研修会．東京，2013.7.20

・小林隆夫：産婦人科における肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症（静脈血栓塞栓症）の現状と予防対策．第10回肺血栓塞栓症研究会．宇都宮，2013.7.19

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．第214回大分市医師会産婦人科臨床検討会特別講演．大分，2013.7.12

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．熊谷市産婦人科医会学術講演会特別講演．熊谷，2013.7.11

・小林隆夫：肺塞栓症予防対策と肺塞栓症予知は可能か．平成25年度第2回血液研究班研修会．静岡，2013.7.6

・小林隆夫：月経困難症治療におけるルナベル配合錠の安全処方とは？～血栓症リスクを回避するコツ～．Webカンファレンス．浜松，2013.6.20

・小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症．薬の安全処方を考える会．名古屋，2013.6.14

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．

第135回東北連合産科婦人科学会学術講演会特別講演．山形，2013.6.9

・小林隆夫：手術後の静脈血栓塞栓症（肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症）の現状と予防．いばらきVTEシンポジウム．笠間，2013.5.17

・小林隆夫：重症妊娠悪阻に対する肺塞栓症とウェルニッケ脳症の予防．第65回日本産科婦人科学会学術講演会生涯研修プログラム．札幌，2013.5.12

・小林隆夫：産科領域における肺塞栓症予防と医療訴訟．第65回日本産科婦人科学会モーニングセミナー．札幌，2013.5.11

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．日産婦日産医群馬県支部集談会．前橋，2013.4.13

・小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症．薬の安全処方を考える会．東京，2013.4.12

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．神奈川県 Basic Science Seminar．横浜，2013.3.23

・小林隆夫：肺血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～．関西医科大学附属枚方病院静脈血栓塞栓症予防セミナー．枚方，2013.3.22

・小林隆夫：わが国の肺塞栓症の現状と院内における予防対策．市立函館病院医療安全講演会．函館，2013.3.15

・小林隆夫：院内における肺塞栓症予防対策と肺塞栓症予知の試み．第10回近畿臨床血栓性疾患研究会．堺，2013.2.16

・小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症．東京産婦人科医会多摩ブロック会学術講演会．立川，2013.1.31

・小林隆夫：そこが知りたい 肺血栓塞

栓症予防のスタンダード．COVIDEIN 第
4 回 VTE セミナー「肺血栓塞栓症～院内に
おける安全対策と医療紛争」．福岡，
2013.1.20

H．知的所有権の出願・取得状況

1．特許取得

なし

2．実用新案登録

なし

3．その他

なし

「震災後の静脈血栓塞栓症に関する長期的観察研究」

榛沢 和彦 新潟大学医歯学系呼吸循環外科、新潟大学災害・復興科学研究所

研究要旨

平成 25 年度における東日本大震災被災地各地の深部静脈血栓症(DVT)平均陽性率は石巻市 10.2%(13 力所)、陸前高田市 8.4%(15 力所)、大槌町 11.0%(9 力所)、釜石市 9.5%(8 力所)、大船渡市 13.3%(4 力所)、宮古市 6.8%(7 力所)、田野畑村 9.1%(2 力所)、山田町 17.2%(2 力所)であり未だ高値で昨年よりも高い地域もあった。イタリア北部地震被災地では震源地に近く車中泊の多かったミランドラ市(車中泊率 81.0%)及びサンフェリーチェ市(車中泊率 78.6%)で DVT 陽性率はそれぞれ 19.0%、19.0%、震源地から離れたコンコルディア市(車中泊率 34.8%)とモデナ市(車中泊率 16.7%)では 8.7%、4.0%であり車中泊率との関連を認めた。平成 25 年度の新潟県中越地震被災地における DVT 陽性率は小千谷市で 841 人中 63 人(7.5%)、十日町市で 596 人中 65 人(10.9%)であり未だ高値であった。このうち新たに見つかった DVT 陽性率は小千谷市 3.1%、十日町市 8.6%であり十日町市では未だに震災の影響があることが示唆された。さらに DVT 陽性者では震災後に肺塞栓症をオッズ比で 6.38、心筋梗塞・狭心症をオッズ比 3.12 で有意に多く発症していた($p<0.0001$)。震災後に DVT が多発し車中泊と関連することが国外でも証明され、また震災後発症の DVT は遷延し慢性化しやすいことが示唆され、また慢性化した DVT は心血管イベント発生と関連することが示唆された。したがって震災被災地では長期的な DVT 検査と介入が必要である可能性がある。

A . 研究目的

大規模震災(災害)後に発生する深部静脈血栓症(DVT)の長期的観察研究を行い、震災後 DVT の予後及び二次的健康被害について検討する。また震災後 DVT の原因について各地の検査結果を比較検討することことで究明する。

B . 研究方法

東日本大震災被災地の石巻市、岩手県の陸前高田市、大槌町、釜石市、大船渡市、宮古市、田野畑村、山田町において各市町村の広報、保健師などによる通知で仮

設住宅団地内の集会所、公民館、体育館などに被災者を集め、問診、血圧測定と経皮酸素飽和度測定、下肢静脈エコー検査による下腿静脈の DVT 検査、希望者に POCT(point of care testing)を用いた血液検査(D-ダイマー、NT-proBNP)及び弾性ストッキングの無償配布・着用指導などを行った。イタリア北部地震被災地のモデナ県ミランドラ市、サンフェリーチェ市、コンコルディア市、モデナ市において新聞、テレビなどによる広告、地元医療機関での通知で検査場所と時間を通知し、ポータブルエコー装置を日本から

持ち込んで下肢静脈エコー検査を行い、日本の被災地と同様の問診票をイタリア語に訳した問診、血圧及び経皮酸素飽和度測定などを行い、日本から持ち込んだ弾性ストッキングの無償配布・着用指導も行った。新潟県中越地震被災地の小千谷市、十日町市において、広報、マスコミなどを用いた広告と昨年度の DVT 検診受診者 1500 人に葉書を出して検査場所と時間を通知し、例年と同じ問診、血圧と経皮酸素飽和度測定、下肢静脈エコーによる DVT 検査と弾性ストッキングの無償配布・着用指導を行った。

C . 研究結果

(東日本大震災被災地の DVT 陽性率)

石巻市における被災者の DVT 陽性率は北上地区 6.0%(67 人中 4 人に DVT)、開成地区 11.3%(71 人中 8 人に DVT)、雄勝地区 19.5%(41 人中 8 人に DVT)、牡鹿地区(52 人中 7 人に DVT)13.5%、大街道/青葉地区(206 人中 21 人に DVT)10.2%、湊地区 16.4%(61 人中 10 人に DVT)、渡波地区 10.7%(122 人中 13 人に DVT)、住吉地区 12.3%(73 人中 9 人に DVT)、蛇田・向陽地区 23.7%(38 人中 9 人に DVT)、大森地区 11.6%(144 人中 17 人に DVT)、河北地区 7.3%(123 人中 9 人に DVT)、鹿妻地区 4.7%(43 人中 2 人に DVT)などであり総数 1430 人中 145 人に DVT を認め全体の平均 DVT 陽性率は 10.2%であった。またこれらのうち石巻市内の仮設住宅団地で行ったのは住吉地区(73 人中 62 人)、蛇田・向陽地区、開成地区、大森地区、牡鹿地区で平均 DVT 陽性率は 14.6%であったのに対して在宅被災者及び石巻市一般住民を対

象とした渡波地区、住吉地区(73 人中 11 人)、北上地区、雄勝地区、大街道・青葉地区、河北地区、湊地区、鹿妻地区の平均 DVT 陽性率は 9.8%であり、有意に仮設住宅被災者で高値であった($p<0.05$)。陸前高田市における各仮設住宅団地における DVT 陽性率は高田高等学校仮設団地 5.3%、高田第一中学校仮設団地 5.4%、長部小学校仮設団地 19.1%、米崎中学校仮設団地 12.8%、二日市仮設団地 12.5%、米崎小学校仮設団地 6.3%、要谷仮設団地 0%、広田水産グランド仮設団地 7.9%、財当仮設団地 9.1%、滝の里仮設団地 14.3%、旧下矢作教員住宅跡地仮設団地 7.1%、下矢作小学校仮設団地 11.1%、気仙(矢作)中学校仮設団地 0%、横田小学校及び中学校仮設団地 12.5%、竹駒小学校仮設団地 8%で総計 431 人中 36 人に DVT を認め平均 DVT 陽性率は 8.4%であった。大槌町における DVT 陽性率は吉里吉里第 1 仮設団地 0%、吉里吉里第 2・3 仮設団地 22.2%、小槌第 1 2 仮設団地 0%、安渡第 2 仮設団地 8.3%、小槌第 5 仮設団地 0%、赤浜第 3 仮設団地 36.4%、小槌第 6 仮設団地 3.5%、大槌第五仮設団地 10.2%、小槌第 8 仮設団地 15.6%で、総計 247 人中 27 人に DVT を認め、平均 DVT 陽性率は 10.9%であった。釜石市では唐丹町小白浜仮設団地 8.7%、鵜住居第 2 仮設団地 10.6%、鵜住居(A)仮設(田郷 A)団地 3.3%、桜木町仮設団地 17.2%、平田第 1・2 仮設団地 3.5%、平田第 5・6 仮設団地 9.4%、中妻町仮設団地 7.1%、上中島町仮設団地 17.4%で、総数 241 人中 DVT23 人であり平均 DVT 陽性率は 9.5%であった。大船渡市では長洞仮設団地 13.6%、永沢仮設団地 12.0%、末崎ふる

さとセンター体育館 7.3%、総合福祉センター4.4%、赤崎漁村センター24.2%であり、総計 180 人中 22 人で平均 DVT 陽性率は 12.2%であった。宮古市では荷竹農村公園仮設団地 0%、赤前仮設団地 7.1%、千鶏仮設団地 7.1%、第二中学校仮設団地 4.2%、水産高校第 2 グラウンド仮設 14.3%、グリーンピア三陸みやこテニスコート仮設団地 8.7%、グリーンピア三陸みやこグラウンド仮設団地 8.3%であり、総計 117 人中 8 人に DVT を認め平均 DVT 陽性率は 6.8%であった。田野畑村では田野畑高校仮設団地で 7.7%、田野畑中学校仮設団地で 10.0%であり、総計 33 人中 3 人で平均 DVT 陽性率は 9.1%であった。山田町では南小学校仮設団地 24.1%、田の浜コミュニティセンター11.4%であり総計 64 人中 11 人で DVT を認め、平均 DVT 陽性率は 17.2%であった。なお岩手県三陸沿岸の市町村全体では総計 1313 人中 130 人に DVT を認めたことになり平均 DVT 陽性率は 9.9%であった。また血液検査では心不全が疑われる(多くは高血圧性)NT-pro BNP 250 pg/ml 以上の割合が陸前高田市で 431 人中 59 人(13.7%)、大槌町 247 人中 40 人(16.2%)、釜石市 241 人中 35 人(14.5%)、大船渡市 181 人中 21 人(11.6%)、宮古市 117 人中 11 人(9.4%)、田野畑村 32 人中 4 人(12.5%)、山田町 64 人中 8 人(12.5%)であった。Dダイマー値が 1.0 µg/ml 以上の割合は陸前高田市で 431 人中 26 人(6.0%)、大槌町 247 人中 12 人(4.9%)、釜石市 241 人中 18 人(7.5%)、大船渡市 181 人中 6 人(3.3%)、宮古市 117 人中 10 人(8.6%)、田野畑村 32 人中 2 人(6.3%)、山田町 64 人中 11 人(17.2%)であった。

(なお以上の結果は石巻赤十字病院呼吸器外科植田信策氏と同病院の臨床検査技師、宮城県立循環器・呼吸器病センター循環器内科柴田宗一氏と同病院の臨床検査技師、岩手県臨床検査技師学会、盛岡市立病院神経内科佐々木一裕氏、同病院臨床検査技師千葉寛氏、看護部地域連携室高橋智子氏、福井大学地域連携・第二内科山村修氏、他多数の医師、検査技師と共同で行ったものです。)

(イタリア北部地震被災地の DVT)

イタリア北部地震は群発地震でモデナ県ミランドラ市、サンフリーチェ市などを中心に被災が大きかった。モデナ県の被災地では 4 万人が一時的に避難し、そのうち 2 万人が数日から数週間自家用車内に避難していた。一方、モデナ市やコンコルディア市では被災は少なかったが車中泊も見られた。震源地に近く車中泊の多かったミランドラ市では被験者の車中泊率は 81%で DVT 陽性率は 19%であった。同様にサンフェリーチェでは被験者の車中泊率 78.6%で DVT 陽性率は 19%であった。一方、コンコルディア市では被験者の車中泊率 34.8%で DVT 陽性率は 8.7%、モデナ市では被験者の車中泊率 16.8%で DVT 陽性率は 4.0%であり、車中泊率が高いと DVT 陽性率が高く、関連を認めた。

(新潟県中越地震被災地での DVT 検査)

11月9日、10日に十日町市産業振興センター(クロステン)で12月7日、8日に小千谷市市民学習センター(楽集館)で検診を行った。小千谷市では841人(男236人、女604人、不明 1人、平均年齢68.7才)が受診し、十日町市では596人(男119人、女477人、平均年齢68.7才)が受診した。小千谷

市では63人(7.5%)に下腿DVTを認め、十日町市では65人(10.9%)に下腿DVTを認めた。これらの受診者のうち今回の検診が初めての方(新規受診者)における下腿DVTの陽性率は小千谷市で159中5人(3.1%)、十日町市227人中20人(8.8%)であった。血液検査結果で小千谷市のDダイマー値はDVT陽性者 $0.55 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$ ($n=42$)、DVT陰性で疾患無し者 $0.27 \pm 0.16 \mu\text{g/ml}$ ($n=250$)、DVT陰性で何らかの疾患あり者 $0.88 \pm 0.92 \mu\text{g/ml}$ ($n=21$)であり、DVT有り者、DVT無しで疾患有り者ではDVT陰性者よりも有意に低かった($p<0.01$) (Dダイマー値は測定限界値 $0.1 \mu\text{g/ml}$ を最低値として計算した)。十日町市のDダイマー値はDVT陽性者で $0.55 \pm 0.59 \mu\text{g/ml}$ ($n=60$)、DVT陰性で何らかの疾患あり者 $0.81 \pm 0.75 \mu\text{g/ml}$ ($n=37$)、DVT陰性で疾患無し者 $0.24 \pm 0.13 \mu\text{g/ml}$ ($n=403$)であり、DVT陽性者及びDVT陰性で疾患有り者では有意にDVT陰性者よりも高値であった($p<0.001$)。また心不全を示すNT-proBNP値は十日町市のDVT有り者で $145.4 \pm 167.8 \text{ pg/ml}$ ($n=60$)、血栓無しで何らかの疾患有り者 $595.1 \pm 650.3 \text{ pg/ml}$ ($n=40$)、DVT陰性で疾患無し者 $95.6 \pm 57.7 \text{ pg/ml}$ ($n=403$)であり、DVT陽性者及び何らかの疾患有り者で有意に高値であった($p<0.001$)。小千谷市のNT-proBNPはDVT陽性で $119 \pm 102 \text{ pg/ml}$ 、DVT陰性で何らかの疾患有りで $895 \pm 1407 \text{ pg/ml}$ 、DVT陰性で疾患無しで $94 \pm 51 \text{ pg/ml}$ でDVT陽性及びDVT陰性で何らかの疾患ありでは有意に高値であった($p<0.001$)。検診時のアンケート結果と聞き取り調査では震災後に肺塞栓症を7人、心筋梗塞・狭心症、他の

心臓病を7人、脳梗塞・TIAを24人で発症していた。これらのうち検診時にDVT陽性または過去の検診でDVTを認めた受診者は肺塞栓症で4人、心筋梗塞、狭心症7人、脳梗塞・TIA 3人であった。これをカイ2乗検定による単変量解析を行うと検診時のDVT存在またはDVT既往者で肺塞栓症発症のオッズ比 6.38 ($p<0.00001$)、心筋梗塞発・狭心症。心臓病発症のオッズ比 3.12 ($p<0.000001$)、脳梗塞・TIA発症のオッズ比 2.13 ($n.s.$)であった。

D. 考察

最近10年以上地震が起きていない地域の一般住民に被災地での検診と同様に広報、行政のホームページ、市民公開講座会場などで呼びかけて検査を行った場合の平均DVT陽性率は4.0%であり(1)、本研究で行った被災地ではこれより高値でありDVTが慢性化し遷延している可能性が考えられる。

特に東日本大震災被災地では未だ復興が進んでいない地域が数多い。そのため家を失った被災者は未だ仮設住宅で避難生活を送っている。仮設住宅団地は震災前に居住していた地域や市街から離れた地域に造られていることが少なくない。そのため生活における活動度が低下していると考えられる。そのため三陸沿岸被災市町村全体として未だDVT陽性率は高値であり、特に山田町、大船渡市などで高く、未だ復興が進んでいない地域が多い。またNT-proBNP高値割合は陸前高田市、釜石市などでも高いことから比較的復興が進んでいる人口の多い被災地においても医療機関不足や仮設住宅から医療機関

が遠いなどで医療機関への受診率低下が影響していることと関連が考えられた。またその結果、心不全を疑わせる NT-pro BNP 高値の頻度が高いものと考えられた。一方、新潟県中越地震被災地では DVT 陽性者で震災後慢性期の肺塞栓症、脳梗塞、心筋梗塞が有意に多いことから、同じ現象が東日本大震災被災地で起きる可能性があり、今後も十分に注意し介入する必要があると考えられた。イタリア北部地震被災地は 2 年近くが経過しているが、やはり未だに DVT 陽性率が高く震災の影響が遷延していると考えられた。さらに車中泊率と DVT 陽性率が関連したことから、日本のみならず欧米においても震災後の自家用車による車中泊避難は危険であることが示唆された。阪神・淡路大震災 10 年後でも肺塞栓症による過剰死亡率が高かったことが報告されている(2)。DVT の二次的健康被害として肺塞栓症が知られており、震災後の DVT 陽性者で肺塞栓症が有意に多いことは予測されることである。一方、Sorensen らはデンマークにおいて DVT 患者の予後を 20 年にわたって調査したところ 20 年経過しても肺塞栓症、心筋梗塞、脳梗塞の発症が多いことを報告している(3)。本研究結果でも同様の事が新潟県中越地震被災地の検査結果で示されているが、本年の結果においては肺塞栓症及び心筋梗塞・狭心症の発症が DVT 陽性者で有意に多かった。昨年の結果では肺塞栓症と脳梗塞が DVT 陽性者で有意に多かったことから考えると(4)、日本人においても DVT 発症者では慢性期に肺塞栓症のみならず心筋梗塞と脳梗塞の危険性が高い可能性が示唆された。

今後は三陸沿岸の被災地でも同様の事が懸念され注意が必要である。

- (1) K Hanzawa, S Matsuoka, H Takahashi, H Takekawa, M Tsuchida, T Nakajima, M Ikura. Frequency of Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis in Japanese Residents: Control Study for Residents in the Area Without Earthquake. International Angiology 2013, vol 32 suppl 1 to No 5, 56
- (2) 厚生労働省科学研究費補助金事業 H20-22「災害・重大危機の発生時の対応体制及び健康被害抑止策に関する研究(H2-健康-一般-002)研究代表者 尾崎米厚(鳥取大学公衆衛生学)
- (3) Sorensen HT, H-Puho E, Pedersen L, et al. Venous thromboembolism and subsequent hospitalisation due to acute arterial cardiovascular events: a 20-year cohort study. Lancet 2007, 30; 1773-1779
- (4) 榛沢和彦「震災後の静脈血栓塞栓症に関する研究」, 血液凝固異常症に関する調査研究 厚生労働省難治疾患克服研究事業報告書 平成 24 年度総括・分担研究報告書 p142-146

E . 結論

震災後の DVT は様々な因子によるものである。しかし自家用車による車中泊避難は本研究により国内外で危険性が特に高いことが示唆された。また新潟県中越地震被災地のみならずイタリア北部地震被災地

災地、東日本大震災被災地においても被災者の DVT 陽性率が高いことから大震災後によって DVT は多く惹起され、遷延しやすいと考えられた。さらに震災後発症の DVT は無症状であるが、慢性期に肺塞栓症、心筋梗塞、脳梗塞などの脳・心・血管イベントと関連が示唆されることから注意が必要であり、今後も経過観察・検査の継続が必要である。

F . 健康危険情報

災害後の自家用車による車中泊避難は国内外において DVT 発症の危険性が高い。

遷延化した災害後の DVT は慢性期の脳・心血管イベントの危険因子である可能性があり注意が必要である。

G . 1. 論文発表

榛沢和彦「災害医療と肺血栓塞栓症」

Annual Review 呼吸器 2013, P146-152, 中外医学社

榛沢和彦「深部静脈血栓症」糖尿病患者のための災害時糖尿病診療マニュアル、文光堂 2013 (in printing)

K Hanzawa, S Matsuoka, H Takahashi, H Takekawa, M Tsuchida, T Nakajima, M Ikura. Frequency of Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis in Japanese Residents: Control Study for Residents in the Area Without Earthquake. International Angiology 2013, vol 32 suppl 1 to No 5, 56

K Hanzawa, M Ikura, T Nakajima, T Okamoto, M Tsuchida. Pulmonary Embolism or Ischemic Stroke Increase 8-Year after Mid Niigata Prefecture

Earthquake 2004 in the Residents with Asymptomatic Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis. International Angiology 2013, vol 32 suppl 1 to No 5, 78

2. 学会発表

K. Hanzawa, M.Tsuchida, M. Ishida C. Gioacchino, L. Casolari, H. Marui*. “Economy Class Syndrome after Emilia Earthquake”, 第 18 回日本集団災害医学学会 2013.1.17-19 神戸国際会議場

榛沢和彦、土田正則、丸井英明、川邊 洋、平石哲也、石川清子、水谷嘉浩「イタリア北部地震(エミリア地震)における避難所の調査結果：日本との比較集団災害医学学会」第 18 回日本集団災害医学学会 2013.1.17-19 神戸国際会議場

2013.1.17-19 神戸国際会議場

榛沢和彦「新潟県中越地震 8 年後の DVT 検診結果」第 16 回 TTM フォーラム、2013.3.9、大手町

榛沢和彦「イタリア北部地震(エミリア地震)における避難所体制とエコノミークラス症候群の調査」2012 年度災害・復興化学研究所発表会第 2 回災害環境科学セミナー、2013.3.4 新潟大学ベンチャー・ビジネス・ラボラトリー

榛沢和彦「東日本大震災 1 年後の仮設住宅被災者の DVT 陽性率と高血圧」第 13 回 TTM フォーラム、2013.3.9、大手町
Kazuhiko Hanzawa, Venous Thrombo-Embolism from Car Shelter after Emilia Earthquake in Italy,第 77 回日本循環器学会総会 2013.4.17、パシフィコ横浜
榛沢和彦「避難所の静脈血栓症(エコノミークラス症候群)と簡易ベッドの必要性、

新潟県中越地震~東日本大震災及びイタリア北部地震における検討」 防災シンポジウム in Suita, 2013.5.18, 関西大学, 吹田市

榛沢和彦「大震災後における血栓症の慢性期医療と次への備え： 静脈血栓/肺塞栓症」第 35 回日本血栓止血学会シンポジウム、2013.5.30-6.1 山形

榛沢和彦「東日本大震災後における D ダイマーと NT-proBNP の POCT(point of care testing)の有用性 について」第 35 回日本血栓止血学会ランチョンセミナー 2013.5.30-6.1 山形

榛沢和彦「大規模災害からの教訓と課題 下肢深部静脈血栓症・肺塞栓症」第 19 回日本心臓リハビリ学会教育講演、2013.7.13. 仙台国際センター

K Hanzawa, S Matsuoka, H Takahashi, H Takekawa, M Tsuchida, T Nakajima, M Ikura. “Frequency of Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis in Japanese Residents: Control Study for Residents in the Area Without Earthquake” UIP/ACP2013, 2013.9.9-14, Boston

K Hanzawa, M Ikura, T Nakajima, T Okamoto, M Tsuchida. “Pulmonary Embolism or Ischemic Stroke Increase 8-Year after Mid Niigata Prefecture Earthquake 2004 in the Residents with Asymptomatic Below-The-Knee Deep Vein Thrombosis”, UIP/ACP2013, 2013.9.9-14, Boston

UIP/ACP2013, 2013.9-14, Boston

Hanzawa K, Ueda S, Shibata M, Kashiwaya G, Sasaki K, Chiba H, Taniguchi T, Takase S, Yamamura O, Okamoto T, Tsuchida M, Severe circumstances of

evacuation facility induced deep vein thrombosis after East Japan Great Earthquake 2011, European Society of Vascular Surgery 2013.9.19-21, Budapest

榛沢和彦「震災と静脈血栓症」シンポジウム 3「東日本大震災と血栓・塞栓症」第 16 回日本栓子検出と治療学会、2013.10.11-3、名古屋

榛沢和彦「新潟県中越地震被災者の下腿 DVT による二次的健康被害について」日本栓子検出と治療学会、2013.10.11-3、名古屋

榛沢和彦「イタリア北部地震被災者における DVT と車中泊との関連」第 16 回日本栓子検出と治療学会、2013.10.11-3、名古屋

榛沢和彦「エコノミークラス症候群を予防しよう！~災害避難所での雑魚寝の危険と簡易ベッド~」第 42 回埼玉県医学検査学会市民公開講座、2013.12.1. ソニック大宮

K. Hanzawa, T. Okamoto, O. Namura, K. Aoki, H. Sato, Stephan Stipa, Marzia Lugli, Keiko Kitagawa, DVT increase and relate with sleeping in car after North Italian Earthquake 2012 (Emilia Earthquake), 2013 Disaster Risk Management Symposium, 2013.12.13. 佐賀大学

榛沢和彦「イタリア北部地震震災地における DVT 検診結果」277 回新潟循環器談話会、2012.12.14

H . 知的財産権の出願・登録状況

無し

肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 全国調査研究

分担研究者 小嶋 哲人

研究協力者 太田 寛史

研究要旨

平成 25 年度研究報告

A . 研究目的

肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症は日本人においても急増傾向にあり、その診断・治療・予防法の確立は喫急の課題である。欧米人と日本人ではこれら静脈血栓塞栓症の特徴が異なる可能性が高いため日本人の発生頻度などわが国独自の情報が必要となるが、日本人を対象とした臨床研究はきわめて少ない。静脈血栓塞栓症の確定診断数の調査は、厚生労働省の科学研究などでこれまで数回行われ、日本人での確定診断数は米国の約 20 分の 1 と報告されている。今回の調査は、これまでの発生頻度調査を引き継いで行うアンケート調査であり、1 年間の全国での静脈血栓塞栓症の発生数を推定するものである。さらに、発症例に関する病型やリスクも調査し、これまで得られている結果との経年的変化を検討する。

B . 研究方法

全国のすべての医育機関 2797 講座および入院病床を有する一般病院 6586 施設にアンケート調査書を送付し、平成 23 年 1 月 1 日から平成 23 年 12 月 31 日までに診断された肺血栓塞栓症および深部静脈

血栓症の患者数、そのリスク因子などの基本情報を収集し年間発症数の推定、診断、治療の現状を評価した。

アンケート記入依頼内容

平成 23 年 11 月 1 日～平成 23 年 12 月 31 日までに診断された肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症の患者数
患者基本情報（年齢、性別、身長、体重、血液型）
静脈血栓塞栓症の発症リスク
標準的血液検査値
肺血栓塞栓症のタイプ、重症度
深部静脈血栓症の症状、発生部位、検索方法
選択された治療法
転帰

C . 研究結果

1. 肺血栓塞栓症、深部静脈血栓症の年間推定発症数とその背景の特徴

アンケートは全国の医育機関 2797 講座に送付し 1005 講座(返却率 35.9%)から返信が、また全国の入院病床を有する一般病院 2722 施設に送付し 1717 施設(返却率 26.1%)から返信があり、全体でのアンケート回収率は 29.0%(2722/9383 施設)であった。結果、肺血栓塞栓症は 778 件、深

部静脈血栓症は 1186 件診断されており、回収率を踏まえて全国での年間診断数に換算するとそれぞれ 16096 件ないし 24538 件となった。症例の特徴として女性が多くみられ(肺血栓症: 61.4%, 深部静脈血栓症: 66.1%)、発症場所は深部静脈血栓症では院内発症、院外発症とも同等(院内発症 42.2%、院外発症 42.9%、不明 14.9%)であったのに対し、肺血栓症では院外発症が多くみられた(院外発症 62.5%、院内発症 27.2%、不明 10.3%)。

2. 肺血栓症、深部静脈血栓症の重症度とその診断方法

肺血栓症を重症度別にみると、発症時に心停止のものが 5.0%、広範囲が 8.2%、亜広範囲が 31.2%に見られ、一方で血行動態が安定している非広範囲が 47.2%と多く認められた。深部静脈血栓症では血栓の先進部が近位下肢静脈であったものが 45.8%であったのに対し、下腿に限局した血栓も 43.8%と同程度の頻度であった(不明 13.4%)。また、診断法は、下肢静脈エコーが 70.7%と大半であり、続いて造影 CT(34.9%)、下肢静脈造影(2.4%)の順であった。深部静脈血栓症の症状として最も多かったものが腫脹(48.1%)であり、続いて疼痛(22.3%)、色調変化(6.5%)の順であったが、一方で症状のない症例が 40.0%含まれていた。転帰では深部静脈血栓症の死亡が 4.2%であったのに対し、肺血栓症では 11.6%と高率に認められた。特に肺血栓症のなかでも広範囲では 23.4%、発症時心停止の症例では 64.1%が死亡転帰となっていた。

3. 静脈血栓症のリスク

静脈血栓症の発症リスクとして多いものは肺血栓症、深部静脈血栓症とも悪性疾患、長期臥床、術後の 3 項目であったが、肺血栓症では 悪性疾患(25.8%)、長期臥床(21.6%)、術後(13.2%)の順であったのに対し、深部静脈血栓症では 術後(27.2%)、長期臥床(26.9%)、悪性疾患(22.8%)であった。

4. 肺血栓症を発症しやすい下肢静脈血栓の特徴

続いて、肺血栓症を発症した症例と発症しなかった近位部深部静脈血栓症において、その違いを見るべく評価を行った。両群で性別(女性の割合: 肺血栓症 61.4%、近位部深部静脈血栓症 61.7% $p=n.s.$)、年齢(肺血栓症 67.8 ± 16.7 歳、近位部深部静脈血栓症 68.3 ± 17.1 歳 $p=n.s.$)等の患者背景には差はなかった。発症形態の特徴として近位部深部静脈血栓症では肺血栓症に比べて院内発症例が多く認められた(近位部深部静脈血栓症 37.8%、肺血栓症 27.2% $p<0.001$)。両群ともに静脈血栓症リスクの上位は悪性疾患(近位部深部静脈血栓症 24.8%、肺血栓症 27.2% $p=n.s.$)、長期臥床(近位部深部静脈血栓症 29.3%、肺血栓症 21.6% $p<0.01$)、術後(近位部深部静脈血栓症 18.2%、肺血栓症 13.2% $p<0.05$)であったが、特に長期臥床と術後の頻度には近位部深部静脈血栓症で多く認められた。下肢の静脈血栓に起因した症状に関しては、腫脹(肺血栓症 39.3%、近位部深部静脈血栓症 63.7%:

p<0.001)、疼痛(肺血栓塞栓症 18.5%、近位部深部静脈血栓症 30.0%: p<0.001)、色調の変化(肺血栓塞栓症 2.8%、近位部深部静脈血栓症 10.3%: p<0.001)の主要なものにおいてすべて有意に近位部深部静脈血栓症群で高頻度に認められた。肺血栓塞栓症群の残存下肢静脈血栓と近位部深部静脈血栓症群の血栓の形態を比べると、近位部深部静脈血栓症では左下肢に血栓が多く(近位部深部静脈血栓症 50.3%肺血栓塞栓症 38.7% p<0.001)また、肺血栓塞栓症群では下腿から連続した血栓を有する頻度が高かった(65.8% vs 34.6%: p<0.001)。

5. 肺血栓塞栓症の治療

肺血栓塞栓症では、92.5%で抗凝固療法が施行されており、内訳はワルファリンが 80.6%、未分画ヘパリンが 69.4%、低分子量ヘパリンが 8.0%であった。血栓溶解療法は 14.0%で施行されており、発症時心停止例の 33.3%、広範型の 23.4%、亜広範型の 17.8%、非広範型の 8.2%に使用され、重症ほど高い傾向がみられた。下大静脈フィルターは 29.4%で施行されており(永久型:46.6%、回収可能型:30.1%、一時留置型:23.3%)、近位下肢静脈に血栓を有する症例(62.1%)の 38.9%に使用されていたのに対し、それ以外では 17.3%で両群間には有意差が認められた(p<0.0001)。

6. 肺血栓塞栓症の予後に寄与する因子

肺血栓塞栓症における予後に寄与する因子の評価では、性別(女性の割合 死亡

56.0% vs 生存 63.1%)、年齢(死亡 67.7 ± 16.4 vs 69.1 ± 18.7 歳)、発症時近位深部静脈に血栓の存在(死亡 83.7% vs 生存 71.2%)、血栓溶解療法施行の有無(死亡 14.7% vs 生存 14.7%)では差は認められないが、入院時血行動態不安定例(心停止もしくは右心負荷有:死亡 31.3% vs 生存 44.5% p<0.05)、抗凝固療法施行の有無(施行頻度 死亡:88.0% vs 生存:96.2% p<0.001)、下大静脈フィルターの使用(使用頻度 死亡 20.0% vs 生存 31.3%, p<0.05)に有意差が認められた。多変量解析では入院時血行動態不安定(オッズ比 1.86 4: 95%CI 1.091-3.150)と抗凝固療法未施行(オッズ比 0.352: 95%CI 0.124-0.998)が有意に予後に寄与する因子であった。

D. 考察

1. 肺血栓塞栓症、深部静脈血栓症の年間推定発症数とその特徴

2011 年の年間肺塞栓症発症数は 16096 件、深部静脈血栓症は 24538 件であった。過去に同じ厚生労働症班研究で行われた調査結果として報告されている肺血栓塞栓症の発症件数と比較すると、1996 年が 3492 症例/年(Jpn Circ J 1999; 63: 439-441)、2000 年が 4022 症例/年(Internal Medicine 2003; 42: 1090-1094)、2004 年が 4108 症例/年(Circ J 2006; 70: 542-547)、2006 年が 7864 症例(Circ J 2006; 70: 542-547)であり、今回(2011 年)の 16096 症例/年も併せて、年々増加していることが示された。この原因として、震災の影響で毎年 8-9 月におこなわれていた調査が 11-12 月にずれてしまっ

た影響など調査方法による違いもありうるが、生活習慣の欧米化やカテーテル治療の増加、ピルを含めた血栓リスクの高い薬の使用頻度の増加などにより着実に静脈血栓塞栓症は増えていると考えられる。また、リスクに対する認識が高まったことにより、特にがん患者等のスクリーニングで無症候性に診断される肺血栓塞栓症が増加した可能性や、周術期の検査などでこれまで見逃されていた下腿に限局した無症候性深部静脈血栓症の診断数が増加していることも要因と考えられる。

症例の内訳として女性の頻度が高く、本邦の静脈血栓塞栓症の特徴とされる。発症場所では深部静脈血栓症は院内、院外ほぼ同等の発症数であったが、肺血栓塞栓症は院外発症が多く認められた。このことは、入院中の静脈血栓塞栓症発症高リスク症例では、肺血栓塞栓症発症前にスクリーニング検査にて無症状であっても深部静脈血栓症の段階で診断されることが多くなるが、院外では重篤な肺血栓塞栓症による症状がでて初めて受診する症例が多いことなども原因と考えられる。肺血栓塞栓症はひとたび発症すると重篤な転帰をたどる可能性も高い疾患であることから、深部静脈血栓症の段階で診断し治療介入していくことが予後改善につながるとも考えられる。今回の結果でも、肺血栓塞栓症の予後では11.6%が死亡であったのに対し、深部静脈血栓症では4.2%が死亡転帰であった。入院症例に関してはある程度のエビデンスの蓄積や医療従事者の認識が高まったことから肺

血栓塞栓症の発症頻度が低下したとも考えられ、今後、入院以外の症例においても、長距離移動、安静、ピルなどの凝固系が亢進しやすい内服薬の使用など静脈血栓塞栓症の発症リスクの高い人々に対する注意と啓蒙が必要とも考えられた。

2. 肺血栓塞栓症、深部静脈血栓症の重症度とその診断方法

今回の研究では肺血栓塞栓症では非広範型の症例が多くみられ(47.2%)、また深部静脈血栓症では下腿に限局したものが多く含まれていた(43.8%)。これらの症例は軽症であり無症状のものが多いためと考えられ、リスクの高い症例におけるスクリーニングの結果診断されたものが多く含まれていると考えられる。実際、深部静脈血栓症において40.0%で症状が認められず、このことは前述したとおり今回の検討で肺血栓塞栓症の発症頻度がこれまでの検討に比べても非常に高くなっている理由の一つとも考えられる。また、下肢静脈エコーによる診断が大半(70.7%)であり、深部静脈血栓症診断のゴールドスタンダードと考えられている下肢静脈造影の頻度はわずか2.4%の施行頻度であったが、下肢静脈エコーは侵襲度が低い上に診断能も高いことが示されていることから、特にスクリーニング検査において使用しやすいことが原因と考えられる。

3. 静脈血栓塞栓症のリスク

発症のリスクとしては悪性疾患、長期臥床、術後状態が多かった。これらは血栓症リスクが高い状態であることはもち

るんだが、また、このような症例ではリスクが高いことが広く認識されていることから静脈血栓症のスクリーニング対象となりやすく、それが発症数増加の一因とも考えられる。特に上位 3 つの中でも術後状態が肺血栓塞栓症では 3 番目(13.2%)であるのに対し、深部静脈血栓症では 1 番目(27.2%)であるのは、このような症例では手術による合併症としての肺血栓塞栓症を回避するために積極的なスクリーニングが行われ、肺血栓塞栓症を発症する前に診断がなされているためと考えられる。

4. 肺血栓塞栓症を発症しやすい下肢静脈血栓の特徴

深部静脈血栓症において、肺血栓塞栓症を発症しやすい血栓と発症しにくい血栓を見極め適切に対応することはその患者の予後を改善するために非常に重要である。今回肺血栓塞栓症を発症した症例と、発症しなかった近位部深部静脈血栓症においてその違いを評価したところ、年齢、性別といった患者背景、静脈血栓症リスクには差がなかったが、下肢症状が肺血栓塞栓症を発症した症例では乏しいことが示され、下肢症状を起こしにくい血栓が肺動脈に遊離しやすいことが示された。急性期の深部静脈血栓症には血栓が血流を遮断する充満型と、血栓は存在するものの血流はさえぎらない浮遊型という主に二種類の形態が考えられる。前者が下肢静脈血流を阻害することで腫脹、静脈圧上昇と炎症による疼痛、色調変化といった深部静脈血栓症に見られる

症状を引き起こしやすいのに対し、後者では血流が維持されているため症状が出にくいと考えられる。しかし一方で前者は血流が途絶えているため血栓が遊離しにくい、後者は血流にのって血栓が肺動脈へ遊離塞栓しやすいとも言われ、今回の肺塞栓症を発症した症例で下肢症状が乏しかったこともこれを裏付けるものとなった。さらに今回の検討にて肺血栓塞栓症を発症した群では下腿に血栓を有する率が高いことも示された。深部静脈血栓症における血栓の進展方式として近位部が閉塞し下方へ進展する場合と、遠位部に血栓が産生し上方進展する場合があるとされる。下方へ進展する血栓はまず近位で血流が途絶することから症状が出やすいが遊離しにくいと考えられ、典型例として、腸骨静脈圧迫症候群に起因した血栓がある。腸骨静脈圧迫症候群では腸骨静脈にできた血栓が下方進展することが推測され、今回の検討で近位部深部静脈血栓症群の方が左下肢に血栓が多かった理由の一つと推察される。一方上方進展するタイプでは浮遊型を呈しやすく、症状が出にくいが遊離しやすいと考えられている。今回下腿血栓を有する頻度が肺血栓塞栓症を発症した群で多くみられたのは、下腿から上方進展した血栓が断裂して肺動脈に塞栓したためと考えられる。

5. 肺血栓塞栓症の治療

静脈血栓塞栓症治療の基本は抗凝固療法であり、これまでも高い治療効果のエビデンスが示されている。今回の検討でも肺血栓塞栓症の 92.5%で施行がされ

ている。過去の報告との比較では、2006 年は 92.6%であり、施行率に経年的な差はなく変わらずに高率に施行されていることが示された。一方で血栓溶解療法は 14.0%で施行されていたが、肺血栓塞栓症に対する血栓溶解療法が保険適応を得られていなかった 2006 年が 27.4%であり、このころから比べて有意な施行頻度の低下がみられた($p<0.001$)。この原因として、血栓溶解療法を必要としない軽症肺塞栓症の診断数が増加したことや、スクリーニングにて診断された症例では出血リスクの高い術後や悪性疾患を有する症例が多いこと、海外も含め血栓溶解療法による予後改善を示したデータがみられないことなども挙げられる。また、わが国ではカテーテル治療が積極的に行われている背景もあり下大静脈フィルターの使用頻度が高い傾向にある。今回の検討では 29.4%で使用されており、2006 年の報告の 37.7%から有意な使用頻度の低下がみられた($p<0.005$)が欧米に比べると依然として高頻度で使用されている。特に大きな問題として永久留置が 46.4%と高く認められているが、海外のデータにてフィルターの長期留置による血栓症再発リスクの増加が示されており、また破損や隣接臓器の損傷、移動などの報告もあることから、血栓遊離リスクが高いと考えられる症例に対し適切に使うとともに、不要となった段階での抜去が望ましいと考えられる。

6. 肺塞栓症の予後に寄与する因子

肺血栓塞栓症における死亡は 11.6%と

依然として高いが、2006 年(17.2%)と比べて有意に死亡率の減少がみられた($p<0.05$)。今回の検討では予後に影響を与える因子として抗凝固療法と発作時の重症度が挙げられ、可能な症例では抗凝固療法の徹底と重症肺血栓塞栓症を発症する前段階での診断ならびに予防の重要性が再確認された。

E . 結論

肺血栓塞栓症は年間 16096 件、深部静脈血栓症は 24538 件発症しており、特に肺血栓塞栓症は経年的に増加していることが示された。発症時に重症の肺血栓塞栓症では予後が不良であり、早期の軽症段階での診断が重要と考えられる。今回の検討では比較的軽症とされる非広範型肺血栓塞栓症並びに下腿限局型深部静脈血栓症が多く含まれており、世間での認識の高まりから悪性疾患、長期臥床、術後といった高リスク症例では軽症の段階での検査にて診断されている可能性が示唆され、その結果診断数が増えているものの死亡数が減少していると考えられた。また、肺血栓塞栓症を発症しやすい血栓を見極めることも重要だが、症状の乏しい下腿から上方進展した浮遊型血栓が遊離塞栓しやすいと考えられた。このような症例では診断が遅れやすく、このことを踏まえて特に高リスク症例でのスクリーニング検査が必要と考えられた。

肺血栓塞栓症の治療は抗凝固が高率にされている反面、血栓溶解療法は使用頻度が減っていた。また、予後に関与する因子としては発症時の重症度の他に抗凝

固療法の関与が高いことが示された。下大静脈フィルターは経年的には使用頻度は低下してきているものの依然欧米に加えて使用頻度が高く、さらには永久留置されている症例が多いことなどが問題と考えられた。

今後、さらに経年的な調査を続けることで、適切な予防・診断・治療の基礎となるデータの蓄積が望まれる。

F．健康危険情報・・・

ありません

G．研究発表

1. 論文発表

今後検討中です

2. 学会発表

2013 年 9 月 日本心臓病学会総会(於 熊本)

「全国調査からみた肺血栓塞栓症の治療の現状と変遷」

2013 年 6 月 日本肺循環学会(於 東京)

「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の全国調査研究」

2014 年 3 月(未) 日本循環器学会総会(於 東京)

「The Feature of Deep Vein Thrombosis causing Pulmonary Thromboembolism-National Survey in Japan-」

2014 年 5 月(未) 日本静脈学会 (於 沖縄)

「全国調査からみた深部静脈血栓症の治療の現状」

H．知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1．特許取得

ありません

2．実案新案登録

ありません

3．その他

