

# 個別研究

女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究  
—最近 10 年間におけ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：平井久也（浜松医療センター・産婦人科副医長）

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）

研究協力者：杉浦和子（浜松医科大学健康社会医学講座・博士課程大学院生）

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、女性ホルモン剤を処方すると血栓症を発症することがあり、女性ホルモン剤投与後の血栓症は今世紀に入って増加していると実感しているが、わが国の実態は誰も知らない。わが国の現状を知ることは安全な女性ホルモン剤処方にとって極めて重要なことであると考えている。近年の日本での調査報告は、2002 年に全国の産婦人科施設で実施された 1992 年～2001 年の 10 年間の調査しか欧文論文はなく、この 10 年間全国規模の実態調査は全く行われていない。また、2007 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ており、産婦人科医師にとっても血栓症の発症実態を知ることは極めて重要である。本調査の目的は、① 2003 年からの 10 年間における静脈血栓症及び動脈血栓症例数、及び発症頻度の推定、② 静脈血栓症及び動脈血栓症の危険因子の把握、③ 上記①②の結果より安全な女性ホルモン剤処方への提言、である。

本調査は、全国の入院病床を有する一般病院 6586 施設、全医療機関の産婦人科、循環器内科、脳外科、救命救急センター等、計約 7,000 施設に対し、2003 年からの 10 年間における静脈血栓症及び動脈血栓症例数をアンケートにより調査する。アンケート内容は全体票と個人票の 2 つからなる。具体的には、まず上記全施設に一次調査（全体票）を実施し、上記期間中における血栓症（静脈血栓症及び動脈血栓症）症例の発症の有無を回答していただく。その後、症例のある施設に二次調査（個人票）を実施し、個々の症例毎の特徴及び危険因子を把握し、解析する。これらの調査票は調査依頼文と同封して各施設の施設長（大学病院では診療科教授）に郵送配布し、施設長（大学病院では診療科教授）が指名した回答責任者にそれぞれの調査票を記入してもらい、調査用紙を同封した返信用封筒の投函をもって調査協力への承諾を得るものとする。なお、発症率の推定のためには、各病院に処方数の調査依頼をするのではなく、IMS（アイ・エム・エス）ジャパン株式会社と提携し、各女性ホルモン剤毎の各年度の処方実数および処方人数を調査することによって算定する予定である。

## 血栓性素因の調査研究：先天性アンチトロンビン欠損症の遺伝子異常解析

名古屋大学大学院医学系研究科 小嶋哲人

【はじめに】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) 欠損症の遺伝子解析、さらには新たな先天性血栓性素因の原因遺伝子異常解析を報告してきた。今回、静脈血栓塞栓症にて先天性 AT 欠損症を疑われた症例において AT 遺伝子 (*SERPINC1*) 変異解析を実施し、通常のダイレクトシーケンス法で異常を同定できない遺伝子大欠失を同定したので報告する。

【方法】症例のゲノム遺伝子を用い、*SERPINC1* 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を解析、さらに MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法にて解析した。MLPA 法にて遺伝子欠失が示唆された *SERPINC1* 周辺領域において、ダイレクトシーケンスによる SNP 解析ならびに real-time PCR による遺伝子コピー数測定を実施、変異体由来 PCR 増幅産物を鋳型とした mapping-PCR、データベースにある制限酵素認識部位の有無から欠失範囲を推定、gene walking にて大規模欠失の breakpoint を同定した。なお、本研究は名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもとに行った。

【結果および考察】各エクソン PCR 産物のダイレクトシーケンス法では AT 欠損症を発症し得る変異を認めず、MLPA 法にて遺伝子欠失が示唆され、最終的に 111kb におよぶ大規模欠失の breakpoint を同定した。breakpoint には 7-bp の挿入が存在し、これを含む 15-bp と同一の配列を、セントロメア側 breakpoint から 1.2-kb の位置において逆方向に認めた。この遺伝子再構成異常は、DNA 複製に基づく FoSTeS モデルによって説明が可能であった。また、この欠失により隣接する遺伝子 *RC3H1* の半分以上が失われていたことは、本症例の自己免疫疾患症状の原因であると考えられた。

【結論】先天性 AT 欠損症が疑われた症例において、*SERPINC1* を含む大規模欠失を伴う複雑な遺伝子再構成異常を同定した。また、この欠失に伴う *RC3H1* 欠失と本症例の自己免疫疾患症状との関連性が示唆された。

## 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施行患者における安全性と有効性に関する臨床研究

窓岩清治\*、坂田洋一 (\*発表者)

自治医科大学分子病態研究部

本研究は、本邦における特発性血栓症/静脈血栓塞栓症患者に適した経口抗凝固療法の安全性と有効性の確立を主目的とする。我々はこれまでに、全国の臨床研修医療機関を対象とした「静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法に関する全国実態個別調査」を行ない、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。特に、静脈血栓塞栓症予防ガイドラインに準じた用量調節ワルファリン療法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。このことは血栓症再発予防を目的としたワルファリンの用量設定が適切でない、あるいは患者の医療機関受診時とイベント発症時での PT-INR 値が乖離している可能性を示唆するものである。そのため、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 Point of care test (POCT)を導入し、患者自身による PT-INR の自己測定を実施した。その結果、自己測定 PT-INR 値と医療機関測定 PT-INR 値との間に良好な相関が認められたこと、手技に伴う合併症や出血および血栓症イベントの再発はみられず、PT-INR の自己測定が安全で有効な手法であることを明らかにした。本年度は、POCT としての PT-INR 自己測定のエビデンスをさらに蓄積するとともに、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おり、ヘパリン等を用いた血液透析患者を研究対象に広げることにより、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展開する予定である。

## ダビガトラン服用患者における PT-INR、および APTT の測定値について

大阪大学 臨床検査部、心臓血管外科  
岸 可那子, 末久悦次, 川崎 富夫

経口抗凝固薬であるダビガトランはモニタリングの必要がないとされているが、販売後重篤な副作用が報告されており、ダビガトラン服用時におけるモニタリングの必要があると考えられる。そこで今回、当院でのダビガトラン服用患者を対象に、ダビガトラン服用における APTT および PT-INR についてデータ収集し解析を行った。

【方法】当院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の解析も行った。

### 【結果と考察】

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±SD は  $1.12 \pm 0.12$ 、APTT 値は  $43.2 \pm 9.22$  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。以上より、ダビガトラン服用時のモニタリングには APTT を使用することが有用であり、服用前後の APTT 比を利用できる可能性が示唆された。

## 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

国立循環器病研究センター・分子病態部宮田敏行

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。プラスミノージェン 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、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。

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出したが、中国人 97 人には変異保有者は見られなかった(1)。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。

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。

1) Liu et al, Thromb Res, 2013, in press.

## 多発性骨髄腫治療薬 Bortezomib(BOR)が巨核球に与える影響の解析

特発性血栓症サブグループ 慶應義塾大学医学部内科 横山 健次

[背景]過去 2 年間に proteasome 阻害薬(PSI)である多発性骨髄腫治療薬 BOR が血小板機能に与える影響の解析を行ってきた。その結果 BOR は血小板機能に一定の影響を与える可能性は明らかにできたが、その機序は解明できていない。血小板における proteasome の役割を検討した報告は限られているが、最近血小板 proteasome は血小板の apoptosis の調節に関与しており、PSI 投与により Bax の発現が亢進して apoptosis が促進されて、血小板寿命が短縮することが報告された(Nayak MK, et al. J Biol Chem 2013)。一方で Bax ノックアウトマウスでは血小板寿命が延長して血小板数が増加すること、抗癌剤投与後の血小板回復が早くなること、などが報告されている(Joseffson EC, et al. J Exp Med 2011)。PSI 投与により巨核球でも Bax 発現が亢進して血小板数、機能に影響することが予想されるが、PSI が巨核芽球性白血病細胞株の apoptosis をおこすことは報告されているが(Galimberti S, et al. Leuk Res 2008)、PSI が正常巨核球に与える影響を解析した報告はない。PSI の影響をうける可能性のある Bax、bcl-2 などは正常巨核球にも発現しており、PSI が巨核球に与える影響を解析するために、今後以下の研究を行う予定である。

[方法]健常人 CD34 陽性細胞を TPO 存在下で巨核球に分化、血小板産生をおこす条件で培養、BOR+/・で遺伝子発現レベルを網羅的に解析、また apoptosis に関連する蛋白の発現レベルの解析を行い、巨核球分化、血小板産生に BOR が与える影響を解析する。

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う。

## 『肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 全国調査研究

- 肺血栓塞栓症と深部静脈血栓症の相違点 - 』

研究責任者	三重大学大学院循環器・腎臓内科学	助教	太田覚史
共同研究者	三重大学臨床心血管病解析学	教授	中村真潮
	三重大学大学院循環器・腎臓内科学	講師	山田典一
	浜松医療センター	院長	小林隆夫

### 肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症の全国調査研究

- 肺塞栓症と近位部深部静脈血栓症のリスクの相違点 -

【背景】肺血栓塞栓症(PTE)は主に深部静脈の血栓が肺動脈に遊離することで発症する。しかし、深部静脈血栓症(DVT)において PTE を発症した症例と発症しなかった症例との背景における相違点はよくわかっていない。

【目的】PTE を合併していない近位部 DVT 症例(DVT 群)と、PTE を発症した症例(PTE 群)との相違点を明らかとすること。

【方法】日本国内の入院病床を有するすべての医療機関 9383 施設に対し、平成 23 年 11 月から 12 月の 2 か月間で発症した静脈血栓塞栓症(VTE)について調査したアンケートを後ろ向きに解析した。

【結果】2722 施設(29.0%)より回答いただき、この間に DVT 群 543 件と PTE 群 778 件の新規発症が認められた。両群間で平均年齢、性別に有意な差は認められなかったが、DVT 群では院内発症例が多く認められた(37.8% vs 27.2%:  $p<0.001$ )。また、両群ともに VTE リスク上位は悪性疾患(DVT:24.5%, PTE:25.8%)、長期臥床(DVT:29.3%, PTE:21.6%)、術後(DVT:18.2%, PTE:13.2%)であったが、特に長期臥床と術後の頻度には両群間で有意差が認められた(長期臥床: $p<0.01$ , 術後: $p<0.05$ )。PTE 群での下肢残存血栓と DVT 群の下肢血栓の比較では、左右差には差を認めないが PTE 群では有意に下腿に血栓を多く認めた(50.1% vs 34.6%,  $p<0.001$ )。

【結語】DVT 群では PTE 群と比べて、院内発症例、長期臥床例および術後症例が多く認められ、これら高リスク入院症例では PTE を発症する前に有効に診断されている可能性が高いことなどが考えられた。PTE 群では下腿に血栓を認める頻度が高く、下腿から上方進展した血栓が遊離し PTE を発症しやすい可能性が示唆された。

## 「震災後の静脈血栓塞栓症に関する研究」

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 榛沢和彦

### 1. 新潟県中越地震被災地の深部静脈血栓症(DVT)検査・調査

対象と方法：平成25年11月28日、29日に新潟県小千谷市楽習館で、12月8日、9日に新潟県十日町市産業振興センターで中越地震8年目のDVT検診を行った。市の広報、新聞広告、新聞記事、FMラジオ広告、NHKニュースなどで期日・場所・時間などを住民に通知し、さらに地震直後から2年以内の検診受診者など1000人に葉書で通知した。検診ではアンケート調査、血圧測定、酸素飽和度測定、希望者にDダイマー、NT-proBNPの血液検査（NT-proBNPは一部受診者のみ）、下腿部の下肢静脈エコー検査を行い、希望者に弾性ストッキングの配布と着用指導を行った。

- 結果：小千谷市では862人(男260人、女600人、不明 2人、平均年齢68±9.9才)が受診し、十日町市では557人(男117人、女445人、平均年齢69±10.0才)が受診した。小千谷市では59人(6.9%)に下腿DVTを認め、十日町市では62人(11.3%)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211中11人(5.2%)、十日町市250人中18人(7.2%)であった。血液検査結果ではDダイマー値は小千谷市で $0.42 \pm 0.53 \mu\text{g/ml}$  (n=850)、十日町市で $0.38 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$  (n=550)であり、NT-proBNP値は小千谷市で $157.8 \pm 358.8 \text{ pg/ml}$  (n=200)、十日町市 $139.7 \pm 175.9 \text{ pg/ml}$  (n=200)であった。また収縮期血圧は小千谷市で $134.2 \pm 17.3 \text{ mmHg}$  (n=850)、十日町市で $134.0 \pm 18.2 \text{ mmHg}$  (n=50)であり、拡張期血圧はそれぞれ $81.4 \pm 32.0 \text{ mmHg}$ 、 $76.0 \pm 12 \text{ mmHg}$ 、酸素飽和度はそれぞれ、 $97.0 \pm 2.6\%$  (n=850)、 $97.1 \pm 1.5\%$  (n=550)であった。また新規受診者でDVT陽性であった32人の血栓性素因を検査したところ、1人にプロテインS活性46%とプロテインC活性30%の低下を認めた。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6人、心筋梗塞を7人、脳梗塞・TIAを31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1人、脳梗塞・TIA 8人であり、カイ2乗検定による単変量解析では検診時のDVT存在またはDVT既往者で肺塞栓症発症のオッズ比7.81(p<0.00001)、心筋梗塞発症のオッズ比1.67(n.s)、脳梗塞・TIA発症のオッズ比3.07(p<0.00001)であった。特に脳梗塞・TIAの発症とDVT存在または既往者で性別と年齢を層別に解析するMantel-Haenzel分析においてもオッズ比3.4 (95%CI; 1.5-7.2) (p=0.009)と有意に大であった。

結論：新潟県中越地震被災地では未だにDVT陽性率が高く、特に十日町市で陽性率が高かった(5.2% vs 7.2%) (参考：文部科学省科学研究費補助金事業で行った一般住民におけるDVT検診結果では2-3%の陽性率)。したがって新潟県中越地震被災地のDVT陽性率は未だに高い可能性がある。特

に十日町市で陽性率が高く、これは震災直後の車中泊率や車中泊期間、避難環境と震災後の医療体制の復帰具合などが影響している可能性が考えられる。今後は小千谷市と十日町市の震災直後から1年後までの比較調査が必要である。また下腿DVTは一般に危険性が低いと考えられ治療対象になることは少ないと考えられるが、今回の検査・調査結果からは慢性期または長期予後に影響していることが示唆された。特に肺塞栓症と脳梗塞のリスクファクターである可能性が示唆され、何らかの治療介入が必要である可能性が示唆された。

## 2. イタリア北部地震(エミリア地震)被災者のDVT調査結果

2012年5月20日から6月3日にかけてイタリア北部のボローニャ近郊のモデナ県でマグニチュード5.5-5.8の直下型群発地震が7回発生し、家屋が崩壊して約4万人が家を失い避難民となり約半数が車中泊避難をした。この状況は新潟県中越地震後と似ていることから被災者ではDVTが多く発生している可能性があるため調査を行うことにした。モデナ県公衆衛生局、モデナ大学の協力で現地において稼働していた中核病院の救急部に搬入された肺塞栓症と深部静脈血栓症(DVT)の患者数を前年と比較した。その結果、2011年5月20日から8月31日までに救急搬入された肺塞栓症は5人、DVTは10人であったが、震災直後の2012年5月20日から8月31日までは肺塞栓症10人、DVT15人と増加を認めた。そこで2012年3月28日にモデナ県ミランドラ市民の協力でDVT検診を行った。その結果8人が検診を受け、そのうち7人が平均8.8日の車中泊をしており、52才男性1人に下腿DVTを認めた。これは新潟県中越地震と同様に車中泊の影響が考えられる。今後は震災後に車中泊が少なかったとされるイタリアのラクイラ地震被災地でもDVT検診を行って比較検討する予定である。

## 3. 最終年度の研究計画

新潟県中越地震9年後の被災地DVT検診を2012年10月26日、27日に小千谷市、11月9日、10日に十日町市でそれぞれ予定している。目標検診受診者数は1500人で、これまでと同様に血液検査でDダイマー、NT-proBNPの測定、下腿の下肢静脈エコー検査を行う予定である。また今年には頸動脈エコーによる動脈硬化の指標となる総頸動脈Max-IMTの測定も行う予定とし、震災被災者の動脈硬化とDVTとの関連についても検討する予定である。また、イタリアのラクイラ地震被災地においてDVT検診をラクイラ大学循環器内科と共同で行う予定にしている。

## Upshaw-Schulman 症候群患者の周産期の管理

奈良県立医科大学 輸血部 松本雅則、藤村吉博

我々は、奈良医大輸血部の TMA データベースの中から、ADAMTS13 が先天的に欠損する Upshaw-Schulman 症候群 (USS) を 2012 年の 12 月末までに 49 例同定した。この中で妊娠を経験しているのは 15 症例で、26 回の妊娠を認めたが、22 回は USS と診断される以前に妊娠を経験していた。USS と診断確定前の妊娠で、出産時期が判明している 20 回のうち、妊娠 22 週未満の流産が 3 例、22 週から 36 週までの出産が 14 回でそのうち 10 例が死産であった。37 週以降の正期産は 3 例であったが、うち 1 例は低出生体重児であった。また、1 例で妊娠 20 週での母体死亡を確認した。以上のように、USS 診断前の妊娠は胎児のみでなく、母体にとっても非常に危険であることが示された。今回、FFP を積極的に投与し、出産に成功した USS 診断後の 3 例における 4 回の妊娠について報告する。

3 例のうち、妊娠前より FFP の定期輸注を受けていた症例 (K-4) は、第 1 子出産時に USS と診断され、その後 3-4 週に一度約 2ml/kg の FFP 定期輸注を受けていた。今回、第 2 子を妊娠し、12 週より 2 ml/kg を 2 週毎、16 週以降 5ml/kg を 2 週毎投与され、妊娠 30 週にて帝王切開となった (1522g、女児)。USS G-3 は、第 1 子の妊娠は 5 週で自然流産となったが、第 2 子、第 3 子は妊娠 5 週、7 週より 2 週毎の FFP 5ml/kg の投与を開始され、その後妊娠 30 週前後から毎週投与となった。最終的には、FFP 投与量を 7ml/kg に増量して、第 2 子は妊娠 35 週に 1446g の女児、第 3 子は妊娠 37 週に 2632g の男児を出産した。第 3 子の妊娠では、11-28 週に低容量アスピリン内服を併用した。USS-LL4 は、FFP の定期輸注は受けていなかったが、妊娠 9 週から FFP 5 ml/kg で投与が開始され、11 週より 7ml/Kg 隔週投与、17 週より 7 ml/kg 毎週投与、32 週より 9ml/kg の毎週投与を受け、妊娠 39 週に帝王切開にて 3474g の女児を出産した。低容量アスピリンの内服を 9 週から 34 週まで併用した。妊娠経過中、FFP 投与前の ADAMTS13 活性は 3%以上であり、血小板数も 20 万/u1 以上を維持した。

以上のように、USS 患者においても FFP 投与を妊娠初期より積極的に行い、妊娠週数が進むに従って FFP の投与量を増やし、投与間隔を短くすることで、分娩が維持され、生児が得られる可能性が示唆された。また、FFP に加えて低容量アスピリン内服も効果があることが示唆された。

## 血栓性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの第 II 相医師主導治験計画

宮川義隆、松本雅則、上田恭典、藤村吉博、村田満

再発・難治性の血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) に対するリツキシマブは、英国ガイドラインにおいて高いエビデンスレベルで推奨されている。リツキシマブ治療を受けた約 100 名の TTP 患者を対象にした系統的レビューにおいても有効率は約 100% と高い。欧米では約 10 年前からリツキシマブが保険適用されており、ドラッグラグ解消のため医師主導治験の実施可能性を検討する。

1. 対象疾患名：再発・難治性の TTP
2. 治験薬：リツキシマブ (遺伝子組換え)
3. 主要評価項目：治験薬投与開始 12 週間後に測定した血小板数のベースラインからの変化率 (%)
4. 副次的評価項目
  - (ア) 有害事象
  - (イ) 血液中の B 細胞、T 細胞の推移
5. 探索的評価項目
  - (ア) 治療に要した血漿交換療法の回数
  - (イ) 初回の血漿交換から血小板数が 15 万/ $\mu\text{L}$  以上に至るまでの治療日数
  - (ウ) 治療に要した新鮮凍結血漿の用量
6. 選択基準

日本人の後天性 TTP 患者 (20~79 歳) で、再発例もしくは下記のいずれかを満たす難治例

  - (ア) 血漿交換療法を 5 回施行しても血小板数が 5 万/ $\mu\text{L}$  を超えない
  - (イ) ADAMTS13 インヒビターが 2 BU/mL 以上
7. 治験薬の投与
  - (ア) リツキシマブ 375 mg/ $\text{m}^2$  を本登録当日、7 日後、14 日後、21 日後に点滴静注する
8. 併用薬および併用療法
  - (ア) 血漿交換
  - (イ) ステロイドパルス療法、または忍容性に問題がある場合はプレドニゾン 1mg/kg
9. 薬事戦略相談
  - (ア) 平成 24 年度に事前面談を 3 回行い、被験者数 5 名、シングルアーム試験が妥当であると評価された。今後、対面助言を受ける予定。
  - (イ) ADAMTS13 体外診断薬の臨床開発についても推奨され、カイノス社が開発予定

## 「H25 年度の研究計画」

和田英夫（三重大学）

- 1) TTP            三重県内の症例を検討
  - a) ADAMTS13、VWF、VWFpp 測定
  - b) 可溶性血小板膜糖蛋白 GPVI の測定
  - c) TMA における sGPVI の論文化
- 2) aHUS           三重県内の症例を検討
  - a) 三重県の 8 家系（遺伝子解析を含めて）を論文化
  - b) 遺伝子解析の症例を増やす
  - c) 補体系の検討            C5b-9 の測定系を構築？
- 3) 測定系について
  - a) 膠原病など種々の疾患で、ADAMTS13、VWF、VWFpp 測定
  - b) 術後等の血小板活性化状態での sGPVI の測定
  - c) C5b-9 の測定系を構築

### 「抄録」

三重県内を中心とした、TMA ならびにその関連疾患の検討

和田英夫（三重大学）

三重県内の TMA 関連症例について提示する。測定項目は ADAMTS13、VWF、VWFpp、sGPVI などであり、ADAMTS13 著減群と ADAMTS13 非著減群に分けることにより、種々の病態がより明確になることが示唆された。VWF、VWFpp、sGPVI などの有用性についても検討する。

aHUS については、三重県の 8 家系（遺伝子解析を含めて）を論文化する予定であるが、さらに新しい症例を増やす予定である。また、補体系の C5b-9 の測定系構築の検討をしている。

また、膠原病など種々の疾患で、ADAMTS13、VWF、VWFpp を測定し、膠原病では ADAMTS13 が低下し、VWF や VWFpp が増加していることを確認した。術後等の血小板活性化状態での sGPVI の測定結果も報告する予定である。

## 定量 PCR を用いた ADAMTS13 遺伝子解析によるエクソン欠失の同定

国立循環器病研究センター・分子病態部

小亀浩市・樋口(江浦)由佳・宮田敏行

ADAMTS13 は、血小板の凝集過程で重要な役割を果たす von Willebrand 因子を特異的に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 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。本研究事業の 3 年間では、以下の 4 項目を主な研究内容としている。(1) Upshaw-Schulman 症候群 (USS) 患者の遺伝子解析、(2) ADAMTS13 の立体構造未決定部分および変異体の構造決定、(3) ADAMTS13 遺伝子変異のタンパク質化学的・生物学的影響の解析、(4) ADAMTS13 活性阻害剤および促進剤の探索。今回、定量 PCR を用いた ADAMTS13 遺伝子解析に関して、前回以降の進展を報告する。

我々は奈良医大・輸血部と共同で、日本人 USS 患者の ADAMTS13 遺伝子解析をダイレクト・シーケンス法により実施してきた。41 家系のうち 38 家系の患者にホモあるいは複合ヘテロの変異を同定したが、残り 3 家系には 0～1 個の変異しか発見できず、USS 診断に疑問の余地が残されていた。ダイレクト・シーケンス法ではプライマー結合部位を含む変異を見逃す可能性がある。そこで定量 PCR を用いる相対的コピー数分析を導入した。前回、その基本的方法を確立し、2 家系でエクソン 1 個の欠失を示唆する結果を示した。今回、プライマーのデザインに工夫を加え、より感度よく変異を検出する系を確立した。さらに、欠失が示唆された部位の詳細を解析した。その結果、ミスセンス変異 p. G550R をもつ 1 家系の患者にはエクソン 7 の一部とエクソン 8 の全部を含む 1,782 塩基対の欠失 (c. 746\_987+373del) が、ミスセンス変異 p. C281S をもつ 1 家系の患者はエクソン 27 のほぼ全部を含む 729 塩基対の欠失 (c. 3751\_3892+587del) が見出された。ダイレクト・シーケンス法で変異が全く発見されなかった 1 家系の患者では、定量 PCR 法でも異常が見られなかった。これらの方法で検出できない型の変異 (逆位や転座等) あるいは ADAMTS13 の合成や分泌に関わる他の遺伝子に原因変異が存在するのかもしれない。

# 特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

(2013 年度研究計画)

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

## 1. 2011 年度の疫学調査

昨年度と同じく厚生労働省から提供された臨床調査個人表のデータをもとに ITP 患者数、年齢分布、治療法、合併症などを解析する

昨年度からの検討で、

- 1) 15 歳までの小児の医療費が多くの自治体では助成されており、無料である
- 2) 小児慢性特定疾患治療研究事業においても 18 歳未満（引き続き治療が必要な場合は 20 歳未満まで）は、治療費の自己負担分が免除される

上記のような助成システムがあるため、患児を特定疾患として登録されるケースはごく一部にすぎないと推察される。

そのため今年度からは、従来の解析に加えて、20 歳以上における発症頻度、罹患率なども解析する予定である。

## 2. 個々の症例の年度を越えての経過調査

個々の ITP 症例の年度を越えての経過を解析する予定である。

解析対象としては

- 1) 経過中に脳出血をきたしたケースの経過
- 2) 難治症例の経過

などを予定している。

## 妊娠合併 ITP の診療参照ガイド（案）の作成

宮川義隆（慶大）、柏木浩和（阪大）、高蓋寿朗（西神戸医療セ）、藤村欣吾（安田女子大）、

倉田義之（四天王寺大）、桑名正隆（慶大）、村田満（慶大）、富山佳昭（阪大）

前年度の第二回会議において、妊娠合併 ITP の診療参照ガイド（仮称）の委員とクリニカルクエスションについて承認を受けた。今年度は診療参照ガイドの完成と外部公表を目標に、以下の手順で編集作業を進めている。

### 1. 進捗状況

(ア)妊娠合併 ITP の診療ガイドラインを作成するにあたり、血液凝固異常症の調査研究班 ITP サブグループメンバーを中心に、小児科、産科、産科麻酔科領域の ITP に詳しい専門医を集め、クリニカルクエスションを作成した（平成 24 年度）。

(イ)初稿提出（平成 25 年 5 月 13 日）

(ウ)各領域内で相互査読をした第二稿提出（平成 25 年 6 月 26 日）

(エ)班会議にて審議（平成 25 年 7 月 12 日）

### 2. 診療の参照ガイド（仮称）

(ア)別紙

### 3. 今後の予定

(ア)第 1 回編集会議（平成 25 年 7 月 13 日）

(イ)第 2 回編集会議（未定）

(ウ)平成 25 年度 第二回班会議で承認を受けて外部公表予定

## エルトロンボパグの中止後も血小板数が維持された ITP の 1 症例

高蓋 寿朗 1), 藤村 欣吾 2)

1) 西神戸医療センター 免疫血液内科,

2) 安田女子大学薬学部

【症例】 80 歳台, 女性

【経過】 2009 年他院にて特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) と診断された。ピロリ除菌軽快していた。2012 年 8 月血小板数 1 万台に減少し、当科紹介受診となった。9 月よりプレドニゾロン (PSL) 20mg にて治療開始。11 月血小板数 6 万台で安定していたため、PSL 漸減を開始した。2013 年 1 月 PSL6mg 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 内服開始した。2 週間後には血小板数 15 万まで増加し PSL 漸減を開始した。3 月に入り、PSL2mg まで減量し血小板数は 10 万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、中止 1 週間後に受診時にはめまいは消失し、血小板数 25 万に維持されていた。以後、血小板数は一旦 5.7 万まで減少したが、PSL 少量維持のみで血小板数は 8~9 万で安定し、PSL は現在 2mg まで減量している。

【考察】 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。一方、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。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。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。

【参考文献】 Ghadaki B, Nazi I, Kelton JG, Arnold DM. Sustained remissions of immune thrombocytopenia associated with the use of thrombopoietin receptor agonists. *Transfusion* 2013 March, Epub ahead of print.

## モデルマウスを用いた ITP の根治的治療法の開発

桑名正隆、西本哲也 慶應義塾大学リウマチ内科

私たちはこれまで BALB/c ノードマウスに同系マウス由来 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>細胞を移入することで作製した制御性 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。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 の免疫環境が ITP 病態を促進することを明らかにしてきた。昨年度は、GPIb リコンビナント蛋白を抗原として用いることで、GPIb 特異的な T 細胞増殖反応を検出する評価系を確立し、ITP モデルマウス脾細胞では GPIb 反応性 CD4<sup>+</sup>T 細胞の活性化がみられることを報告した。

Treg 欠損 ITP マウスに対してトロンボポエチン (TPO) を 5 日間連続投与したところ、投与終了 1 週後に血小板数が上昇した。予想に反して、血小板はその後も増え続けて正常域まで回復し、その効果は 4 週間以上持続した。したがって、TPO 投与は血小板産生を促すだけでなく、ITP 病態も是正している可能性が想定された。そこで、本年度は TPO 投与が ITP 病態に及ぼす効果および、そのメカニズムを検討する。具体的には、ITP マウスに TPO 300 ng または溶解液のみを 5 日間連日静脈内投与する。その後 4 週間以上観察し、血小板数、網状血小板比率、血小板関連抗血小板抗体、GPIb 反応性 CD4<sup>+</sup>T 細胞の抗原特異的な増殖反応を調べる。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、血漿中サイトカイン濃度 (IL-2, TGF-β)、脾細胞における Treg 比率を検討する。以上の解析を通じて ITP 病態を是正する治療法の開発をめざす。

## 血小板減少患者における血小板機能解析

大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科 柏木 浩和

大阪大学医学部附属病院輸血部 富山 佳昭

血小板減少患者における出血傾向の予測は、血小板数と血小板機能に基づいてなされるべきであるが、比濁法を用いた血小板凝集能検査では血小板減少患者の血小板機能を評価できない。我々はフローサイトメトリーを用いた血小板機能検査の有用性を  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 異常による先天性血小板減少症例を用いて検討した。

【症例と方法】  $\beta$ 3(L718P)変異をヘテロで有する母親、息子および娘、および  $\alpha$ IIb(R995W)変異ヘテロ患者を検討した。 $\beta$ 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/ $\mu$ l程度であった。一方、 $\alpha$ 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。 $\alpha$ IIb $\beta$ 3 活性化は PAC1 結合、 $\alpha$  顆粒放出は CD62P 発現、 $\delta$  顆粒放出はメパクリン染色を用いてフローサイトメトリーにて評価した。【結果】 $\beta$ 3(L718P)ヘテロ患者の細胞表面  $\alpha$ IIb $\beta$ 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  $\alpha$  顆粒放出、および PAR1p 刺激後の  $\delta$  顆粒放出も著明に障害されていた。 $\alpha$ IIb(R995W)ヘテロ患者においては顆粒放出障害は軽度であった。【考察】血小板減少患者においても、フローサイトメトリーを用いることにより血小板機能を評価することが可能であり、臨床症状との相関が示唆された。今後、ITP 患者を含めた血小板減少例についての検討を進めていく予定である。

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班

第 2 回班会議

日時：平成 26 年 1 月 24 日（金）午前 10 時～午後 5 時終了予定

場所：慶應義塾大学病院 新棟 11 階中会議室

プログラム・抄録集

研究代表者 村田 満