

「H23-25 年度の研究報告」 TMA 診断ならびに診断マーカーの検討

三重大学医学系研究科 検査医学 和田英夫

国立循環器病センター研究所 分子病態部 宮田敏行

奈良県立医大輸血部 藤村吉博

血栓性微小血管障害 (TMA) には、志賀トキシン産生出血性病原性大腸菌 (STEC) による溶血性尿毒症症候群 (STEC-HUS)、先天性ならびに後天性の ADAMTS13 著減性の TMA (A-TMA)、非 ADAMTS13 著減性 TMA (NA-TMA)、非定型性 HUS (aHUS) に分けられる。A-TMA を血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) とする考え方もあるが、NA-TMA がすべて aHUS に分類するのは問題がある。そこで、TMA の診断法について以下の検討を行った。

1) TMA に共通して異常を呈するもの

a) von Willebrand factor propeptide (VWFpp)

血管内皮細胞障害を反映し、TMA ならびに DIC でも著増した。

b) 血小板膜糖蛋白 VI (GPVI)

血小板活性化を示すマーカーであり、TMA や DIC などの血栓性疾患で増加した。

2) A-TMA に起因するもの

a) ADAMTS13

A-TMA では著しく低下し、NA-TMA や TMA 関連疾患でも相対的に低下した。

3) NA-TMA に起因するもの

a) C5b-9

EDTA 採血に比べて、血清検体や凍結融解を繰り返した検体では、高値を示した。aHUS 症例で増加を示さなかった。

b) 遺伝子診断

現在 aHUS10 家系を同定し、そのうち 6 家系で遺伝子検査を行った。

幾つかの変異が同定されたが、特筆すべきことは、全家系で C3

p.I1157T mutation が認められた。

USS 患者の ADAMTS13 遺伝子解析における次世代シーケンサーの利用

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 von Willebrand 因子を特異的に切断する血漿プロテアーゼである。ADAMTS13 遺伝子異常や自己抗体の出現などによる ADAMTS13 活性の著減は、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, USS 患者の遺伝子解析において次世代シーケンサーを利用した経過を報告する。

我々は奈良医大・輸血部と共同で, USS が強く疑われた 49 患者に対してダイレクト・シーケンシング法を実施し, 46 患者に複合ヘテロあるいはホモ接合性の原因変異を同定した。残り 3 患者 (3 家系) のうち 2 患者にはそれぞれヘテロ接合性のミスセンス変異を同定した。さらに本年度は定量 PCR による相対的コピー数分析を実施し, その 2 患者に 1,782 bp あるいは 729 bp の欠失変異を見出した [Mol Genet Genomic Med, in press]。残る 1 患者では, ダイレクト・シーケンシング法でも定量 PCR 法でも遺伝子異常は見られなかった。いずれの方法もエクソン領域を対象を絞った解析であるため, インترون等に変異が伏在している可能性がある。そこで今回, 次世代シーケンサー-MiSeq (イルミナ) を利用し, プロモーターやイントロンを含む ADAMTS13 遺伝子全体の塩基配列を解析した。陽性対照試料を含めても解析対象者が少数であることや, 解析範囲が約 45 kbp で比較的小さいこと, 両アレルとも ADAMTS13 遺伝子全体を漏れなく解析したいことなどを考慮し, 複数のロングレンジ PCR 産物を MiSeq に供する方法を選択して実施した。ダイレクト・シーケンシング法でも定量 PCR 法でも異常が見られなかった患者では, 予想通り, 次世代シーケンサーでも全エクソン領域に異常は認められなかった。現在, インترون領域の分析を進めているところである。

当院における後天性TTPの治療経験

倉敷中央病院 血液内科 血液治療センター 外来化学療法センター

上田恭典

当院で2003年1月から、2012年12月まで10年間に経験した血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)について検討した。

【方法】ADAMTS13活性が10%以下で抗体価が0.5BU/ml以上、もしくはクームス試験陰性の自己免疫性溶血性貧血と血小板減少を呈しTTPの5徴のうち4徴以上を呈する症例をTTPと診断、移植後TMA、溶血性尿毒症症候群は除外した。血漿交換(PE)は診断後速やかに開始し、免疫抑制療法(IS)としてPrednisolone(PSL)1mg/kgを併用した。1-1.5循環血漿量のPEを連日行い、原則としてPlt10-15万/ μ l前後へ回復した後に最低2日程度は継続しその後中止もしくは間隔をあけて終了した。早期に再燃を認めた場合はPEにbolus Cyclophosphamide(CPM)(10-15mg/kg, 1 day)もしくはbolus mPSL(0.5 g or 1g/day 3days)を追加、無効例にはRituximab(375mg/m² 4回)投与を行った。ADAMTS13の測定は奈良県立医科大学輸血部で行われた。

【結果】ADAMTS13関連は21例中17例で、うち活性5%以上10%以下の症例は1例のみで、その抗体価は1.3BU/mlであった。PEは20例(1例は早期死亡)に施行、15例でPSLが併用された。入院後からPE開始までの期間中央値2日(1-11日)で、PE回数中央値は6.5回(1-22回)であった。TTPによる死亡は2例で、生存期間は1-2日、ともに来院時すでに全身状態不良で十分な治療が行えなかった。治療中の再燃(boosting)は9例で、PEと追加ISにて全例PEから離脱可能であった。追加ISは8例にCPMが含まれ、2例ではRituximab追加を要した。IS終了後の再発は3例で、IS終了後から再発までの期間中央値646日(281-672日)であった。

【結論】原因不明の血小板減少に遭遇した場合の早期の診断とIS併用下でのPEが必要であるが、しばしばboostingを生じる。その場合はISの強化が重要である。

また最近、boostingを生じたためRituximabを開始、一旦血小板数は上昇したものの、PEとRituximab継続中に再燃、CPMの追加にてようやく軽快した例を経験したので、あわせて報告する。

後天性 TTP における抗 ADAMTS13 自己抗体の定量的測定

慶應義塾大学医学部臨床検査医学 猪狩敦子

慶應義塾大学保健管理センター 森木隆典

後天性 TTP の病態生理に強く関連する抗 ADAMTS13 自己抗体を定量することは、TTP の診断のみならず、予後や治療効果の判定に有用であると考えられる。そこで我々は無細胞蛋白質発現系を用いてアイソトープ標識した ADAMTS13 抗原を合成し、免疫沈降法により後天性 TTP 患者に存在する抗 ADAMTS13 自己抗体の定量を試みることにした。

初年度の 23 年度は無細胞蛋白質発現系で一般的に使用されるウサギ網赤血球由来の発現系を使用し、³⁵S メチオニン標識 ADAMTS13 抗原を作製した。作製した抗原を抗 ADAMTS13 モノクローナル抗体により免疫沈降したところ、抗体濃度依存的に免疫複合体を回収することができた。そこで、後天性 TTP 患者由来精製 IgG および患者血漿を用いて本測定系による抗 ADAMTS13 自己抗体の定量を試みたところ、IgG サンプルでは健康人コントロールより高い抗体価を示す測定値が得られたが、血漿サンプルでは測定感度が低下し有用なデータが得られなかった。

24 年度は測定感度を上昇させる目的で、ウサギ網赤血球系よりも合成効率が高く、収量の増加が期待できるヒト由来細胞株抽出液を用いた無細胞蛋白質発現系を使用し ADAMTS13 全長、MDTCS、T2-8/CUB の 3 種類の ³⁵S メチオニン標識抗原を作製した。TTP 患者初診時血漿 5 名について本アッセイ系により抗 ADAMTS13 自己抗体を定量したところ ADAMTS13 全長および MDTCS 抗体では全て、T2-8/CUB 抗体では 5 名中 4 名の測定値が健康人コントロールの平均値 2SD より高い測定値を示した。次いで治療経過中に血漿を採取した 1 例の TTP 患者において、初診時・血漿交換治療後・リツキサンの投与後の各血漿中の抗 ADAMTS13 自己抗体を定量したところ、リツキサン投与後に減少を示す結果が得られた。以上より、ヒト由来細胞株抽出液を用いた無細胞蛋白質発現系は有用であると判断した。

25 年度は RI 標識抗原を ADAMTS13 全長・MDT・CS・T2-8・CUB と、さらに細分化して作製し、経時的にサンプル採取した 1 例の TTP 患者血漿中の抗 ADAMTS13 自己抗体の定量を試みた。血漿交換後の測定値を初診時と比較すると抗 MDT 抗体は著減したが、抗 CS 抗体は半分程度残存、抗 T2-8 抗体と抗 CUB 抗体はほとんど減少しなかった。リツキサン投与後には、抗 MDT 抗体はさらに減少し、抗 T2-8 抗体と抗 CUB 抗体は初診時の 1/2 から 1/3 程度まで減少したが、抗 CS 抗体の減少は軽度にとどまった。以上より本患者の CS 領域の自己抗体は、血漿交換およびリツキサン投与に抵抗性を示す可能性が示唆された。

今回の結果より、ヒト由来細胞株抽出液を用いた無細胞蛋白質発現系により合成した RI 標識抗原 (ADAMTS13 全長・MDT・CS・T2-8・CUB) を用いて、後天性 TTP 自己抗体を定量することは臨床的な意義を有する可能性があり、今後サンプル数を増やして解析したいと考えている。

日本人血栓症患者における血栓性素因の調査研究

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) 欠損症の遺伝子異常解析、さらに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 11 家系、PS 欠損症 10 家系の遺伝子解析を行ったので報告する。

【方法】各症例のゲノム遺伝子を用い、それぞれ *SERPINC1*、*PROC*、あるいは *PROS1* 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した。さらに、遺伝子変異を同定されなかった症例では MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法にて遺伝子欠失の解析を行った。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 11 家系中 8 家系 (73%) に、PC 欠損症 11 家系中 5 家系 (45%) に、PS 欠損症 10 家系中 2 家系 (20%) にそれぞれ原因と思われる遺伝子変異を同定した。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く、現在も解析を継続中である。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。

【結論】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 31 家系中 15 家系 (48%) 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、*PROC* 遺伝子変異が同定され、PS、PC の合併欠損症家系であることが示唆された。

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の 有効性と安全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

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とし、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)。

平成23—25年度のまとめ

川崎 富夫：厚生会第一病院

1. 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）
予防戦略の意義と実施結果

2. ガイドラインと裁判

医療と司法の架橋研究会

大阪地判平21・9・29判決，川崎富夫評釈，年報医事法学26,2011

3. 止血関連研究

血漿の凍結・融解が凝固因子の安定性に与える影響

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、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

経口抗凝固薬であるダビガトラン

岸可那子、末久悦次、徳 雅幸、竹尾映美、日高 洋：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

日本人の血栓性遺伝素因を持つモデルマウスの樹立と解析

宮田敏行、坂野史明

国立循環器病研究センター分子病態部

血液凝固、線溶やその制御に関わる因子の先天的異常は血栓症のリスクとなるが、原因となる遺伝子変異は人種間で異なる。白人では凝固第 V 因子 (FV) R506Q 変異 (マウスでは R504Q 変異) が血栓症の遺伝的背景となっており、変異を保有するモデルマウスも確立されているが、この変異は日本人には存在しない。日本人には凝固制御因子プロテイン S (PS) の K196E 変異が約 55 人に 1 人に認められ、静脈血栓症発症に対してオッズ比 3.7~8.6 を示す。私達は、日本人の血栓性遺伝素因を持つモデルマウスとして、PS-K196E 変異のノックインマウスを樹立し、次の手法を用いて血栓能を評価した。本研究により、Factor V Leiden マウスと比較することにより、日本人と白人の血栓性素因を比較することが可能となった。この結果を紹介する。

- 1) 急性肺塞栓モデル：組織因子または内因系凝固活性化因子である長鎖無機ポリリン酸投与後の肺塞栓症状
- 2) 深部静脈血栓症モデル：ステンレス電極の電気分解で生じるフリーラジカルにより下大静脈内皮細胞を活性化する深部静脈血栓の大きさを評価
- 3) 脳虚血再灌流モデル実験：両側総頸動脈と一側中大脳動脈を閉塞して一過性局所脳虚血を惹起し再灌流 24 時間後の脳梗塞を評価

多発性骨髄腫治療薬 Bortezomib (BOR) が巨核球分化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] Proteasome 阻害薬 (PSI) である BOR は多発性骨髄腫治療に重要な役割を果たしている。本薬剤投与患者では投与後早期に血小板数が低下することが知られているが、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 は血小板の細胞寿命の調節に関与しており、PSI 投与により apoptosis 関連因子 Bax の発現が亢進して、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)。また 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。BOR が巨核球に与える影響を解析することを目的として本研究を行なった。[方法] 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。

[結果] 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。

[考案] 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ると考えられる。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。また今回は脂肪前駆細胞を使用した検討であり、骨髄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、も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。

『肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究

－肺血栓塞栓症治療の現状と変遷－』

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

【背景および目的】 これまでに本研究班々会議において、全国の医療機関に対して行ったアンケート調査をもとに肺血栓塞栓症 (PTE) および深部静脈血栓症 (DVT) の発症頻度、背景となるリスク等報告してきた。引き続き今回は PTE に対する治療に焦点をあてて評価することを目的とし検討を行った。

【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】 9383 施設にアンケートを送付し 2722 施設 (29.0%) から回答をいただいた。VTE は 1964 例 (PTE: 778 例, DVT: 1186 例) 発症しており、全国での年間発症数に換算すると 40634 例 (PTE: 16096 例, DVT: 24538 例) であった。PTE では、92.5% で抗凝固療法が施行されており、血栓溶解療法は 14.0% で施行されていた。血栓溶解療法施行頻度は、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% であり、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% で使用されており (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 ($p < 0.0001$)。2006 年に行われた調査と比較したところ抗凝固療法施行頻度には差を認めない (2011 年: 92.4% vs 2006 年: 92.5%, $p = n.s$) が血栓溶解療法施行頻度は有意に減少しており (14.0% vs 27.4%, $p < 0.0001$)、下大静脈フィルター使用頻度も減少していた (30.3% vs 37.7%, $p < 0.05$)。【結語】 PTE の治療において抗凝固療法は高率に施行されていた。血栓溶解療法は重症例において施行され、下大静脈フィルターは近位下肢静脈に血栓が残存している症例で使用される頻度が高いことが示された。また、5 年前と比較し抗凝固療法の施行頻度は変わらないが、血栓溶解療法および下大静脈フィルターの使用は減少していることが示された。

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

【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 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。

【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、①2003 年から調査時点までの発症、②女性ホルモン剤使用中の発症、③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。2013 年 12 月 31 日現在、3,983 診療科から回答が得られ、現時点での回答率は 42.7% (3,983/9,318) となっている。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 1 月 1 日現在、依頼した 487 診療科のうち 251 診療科から回答を得ており、現時点での回答率は 51.5% (251/487) 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 12.2% (487/3,983) 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。

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

浜松医療センター 院長 小林 隆夫

研究協力者

浜松医療センター産婦人科 平井 久也

【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Ⅱ型欠乏症が疑われた。2）APC-srとfreePS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。

「震災後の静脈血栓塞栓症に関する長期的観察研究」

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9日、10日に新潟県十日町市産業振興センター（クロステン）で、12月7日、8日に新潟県小千谷市市民楽集センターで中越地震9年目のDVT検診を行った。市の広報、新聞広告、新聞記事、ラジオ広告、テレビなどで期日・場所・時間などを住民に通知し、さらに地震直後から2年以内及び昨年検診を受けた方など約1500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者で $895 \pm 1407 \text{ pg/ml}$ 、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。

考察：平成25年に新規DVT発症したDVTからみると小千谷市・十日町市を合わせた地域全体では未だにDVT陽性率が高かった。しかし小千谷市での新規受診者のDVT陽性率は平成24年に行われた一般住民の下腿DVT頻度調査結果平均値の4%の低いことから地震の影響が少なくなった可能性がある(1)。一方、十日町では平成22年から継続して新規受診者DVT陽性率が小千谷市よりも2倍以上高く、一般住民のDVT陽性率より高い。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。しかし小千谷市では再受診者のDVT陽性率が上昇しており再発や再々発など慢性反復性のDVTは減少していないことが示唆された。さらに十日町でも再診者のDVT陽性率は平成25年でも12.2%と高く同じ現象と考えられ注意が必要であると考えられた。一方、DVT保有者の脳・心・血管イベントについては平成23年、24年の検査結果では脳梗塞発症が有意に多かったが心筋梗塞・狭心症などでは多い傾向が見られるものの有意差は無かった。しかし平成25年ではDVT保有者で有意に心筋梗塞・狭心症・他の心疾患を有意に多く発症していた。これは平成25年では受診者の中に脳梗塞既往者が少なく、心筋梗塞・狭心症・他の心疾患が多かったことに起因するものと考えられた。

結論：未だ新潟県中越地震被災地でDVT頻度は高い地域があること、さらに再発者が多いことから今後も継続的な検査が必要である。阪神大震災後の検討では肺塞栓症による震災前に対する超過死亡が10年経過しても多かったことが判明している(2)。肺塞栓症の主な原因はDVTであることから新潟県中越地震被災地でも10年以上経過してもDVTが多いことが予想されることから今後の検査・調査が必要である。またDVT保有者で慢性期に脳梗塞、心筋梗塞、肺塞栓症などの脳・心・血管イベントが多くなることが示されたが、デンマークではDVT保有者では20年経過しても脳・心イベントが多いことが示されていることから新潟県中越地震被災地の調査は重要であり、二次的健康被害の予防のために被災地での啓発が必要である。また日本人におけるDVTの長期予後についての研究は無いことから今後の検査・調査継続は重要であると考えられた。

参考

- (1) 日本における一般住民のDVT頻度調査結果（文部科学省科学研究費補助金事業） 研究代表者 榛沢和彦

対象と方法：大学祭、市民公開講座などに合わせ、広報、ホームページなどで通知し、参加した一般市民に直接呼びかけて検査を行った。

結果：2011年11月横浜市栄区で受診数230人中（男80人、平均62.6才）下腿DVTを7人(3%)に認め、2012年3月壬生町で140人

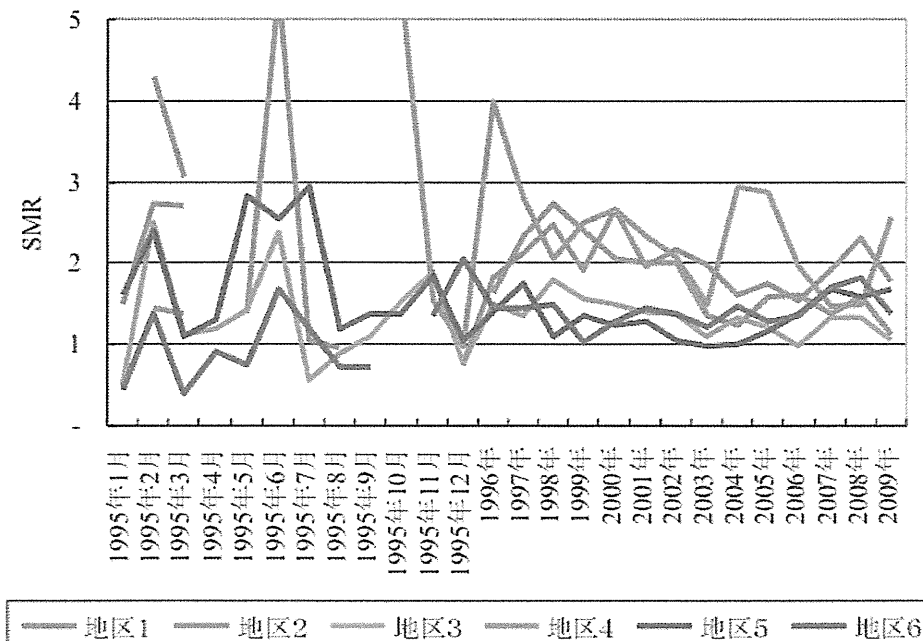
中(男 51 人、平均 65.8 才)下腿 DVT を 7 人(5%)に認め、2012 年 9 月新発田市で 63 人中(男 11 人、平均 59.9 才)下腿 DVT を 3 人(4.8%)に認め、2012 年 10 月新潟市で 81 人中(男 42 人、平均 47.7 才)下腿 DVT 認めず(0%)、2012 年 10 月横浜市泉区で予約検査 220 人中(男 29 人、平均 65.6 才)下腿 DVT を 12 人(5.5%)に認め、2012 年 12 月広島市で 32 人中(男 9 人、平均 60.5 才)下腿 DVT を認めず(0%)、2013 年 3 月壬生町で予約検査 133 人中(男 52 人、平均 65.2 才)下腿 DVT は 7 人(5.3%)に認めた。これらの合計 900 人中(男 275 人、平均 62.7 才)下腿 DVT は 123 人(4.0%)であった。このうち DVT リスク因子、何らかの疾病、最近の入院既往者・出産などを除いた低リスク群は 781 人で 21 人に下腿 DVT を認めた(2.7%)。

結論：集団検診の下腿 DVT 陽性率は地域、集め方、予約の有無などによって変化するが、現時点では 2.7%-4.0%が一般住民陽性率の目安になると考えられた。

- (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)

SMR: 震災前に対する超過死亡率

SMR(男女計 1269 急性肺性心の記載のない肺塞栓症)



- (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

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班

第 1 回班会議

日時：平成 24 年 7 月 27 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

血液凝固異常症に関する調査研究班 第1回班会議プログラム

日時：平成24年7月27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

（サブグループ研究計画：25分 各個人研究計画：10分 討論含む）

10：00～ 研究代表者 挨拶 村田 満

10：10～ 国立保健医療科学院 研究事業推進官 武村 真治 様

10：15～ 特発性血栓症研究班 研究計画 小嶋 哲人

サブグループリーダー：小嶋 哲人 名古屋大学医学部

班員： 坂田 洋一 自治医科大学

川崎 富夫 大阪大学医学部

宮田 敏行 国立循環器病研究センター

横山 健次 慶應義塾大学医学部

小林 隆夫 県西部浜松医療センター

榛沢 和彦 新潟大学教育研究院

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

平井 久也 浜松医療センター／太田 寛史 三重大学医学部附属病院

10：40～ TMA研究班 研究計画 藤村 吉博

サブグループリーダー：藤村 吉博 奈良県立医科大学

班員： 和田 英夫 三重大学医学部

小亀 浩市 国立循環器病研究センター

研究協力者：

森木 隆典 慶應義塾大学医学部／日笠 聡 兵庫医科大学血液内科

松本 雅則 奈良県立医科大学／上田 恭典 倉敷中央病院

11：05～ ITP研究班 研究計画 富山 佳昭

サブグループリーダー：富山 佳昭 大阪大学医学部

班員： 藤村 欣吾 安田女子大学

桑名 正隆 慶應義塾大学医学部

倉田 義之 四天王寺大学

研究協力者：

降旗 謙一 株式会社エスアールエル／野村 昌作 関西医科大学 第一内科

宮川 義隆 慶應義塾大学医学部／柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科

高蓋 寿朗 西神戸医療センター

11：30～12：30 昼休み

12:30~13:50

特発性血栓症班研究報告：司会 小嶋 哲人

小嶋哲人 「血栓性素因の分子病態解析」

坂田洋一・窓岩清治 「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プロトロンビン時間(PT-INR)自己測定的安全性と有効性に関する臨床研究」

川崎富夫 「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」

宮田敏行 「非典型溶血性尿毒症症候群患者の遺伝子解析」

横山健次 「多発性骨髄腫治療薬Bortezomibが血小板機能に与える影響の解析」

小林隆夫 「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」

榛沢和彦 「東日本大震災後1年間の深部静脈血栓症(DVT)検診結果」

太田覚史 「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究」

13:50~14:30

TMA班研究報告：司会 藤村 吉博

藤村吉博・松本雅則 「WVF 結合型および非結合型の血漿 ADAMTS13 の IEF による解析
-TTP 治療における血漿製剤選択」

宮川義隆 「TTP に対するリツキシマブの臨床開発」

和田英夫 「TMA における血漿可溶性血小板膜糖蛋白 VI (GPVI) の検討」

小亀浩市 「ADAMTS13 遺伝子シーケンシング法の改良」

14:30~14:50 休憩

14:50~15:50

ITP班研究報告：司会 富山 佳昭

藤村欣吾・高蓋寿朗 「肺炎球菌による劇症型摘脾後感染症をきたした ITP の 1 症例」

倉田義之 「特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査 (2012 年度研究計画)」

宮川義隆 「妊娠合併 ITP の診療ガイドラインの改訂」

「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 (R-ITP 試験) への支援」

富山佳昭・柏木浩和 「ITP 患者の PA anti- α IIb β 3 抗体の多くは

α IIb の β -プロペラ領域内の極めて限定された部位に結合する」

桑名正隆・西本哲也 「モデルマウスを用いた ITP の根治的治療法の開発」

終了

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班 研究代表者：村田 満

事務局：慶應義塾大学医学部臨床検査医学 富田ゆかり 村田教授室 Tel: 03-5363-3838

サブグループ研究

特発性血栓症／静脈血栓症サブグループ研究報告

研究分担者

小嶋哲人 名古屋大学医学系研究科
宮田敏行 国立循環器病研究センター研究所
坂田洋一 自治医科大学
川崎富夫 大阪大学大学院医学系研究科
横山健次 慶應義塾大学医学部
小林隆夫 浜松医療センター
榛沢和彦 新潟大学大学院医歯学総合研究科

研究協力者

窓岩清治 自治医科大学
中村真潮 三重大学大学院医学系研究科
山田典一 三重大学大学院医学系研究科
太田覚史 三重大学大学院医学系研究科
平井久也 浜松医療センター

目的

難治性疾患である先天性血栓性素因に伴う特発性血栓症／静脈血栓塞栓症の日本人での発症原因・メカニズムの解明やその予知・予防対策の確立は、我が国の医療行政上においても重要な課題である。本研究班の全国横断的調査研究は日本人での静脈血栓塞栓症発症のエビデンスを明らかにする貴重なデータであり、これまでに人種間の血栓性素因の違い、とくにプロテイン S K196E 変異が日本人に特有な血栓性素因であることを明らかにして来た。日本人での特発性血栓症／静脈血栓塞栓症のエビデンスの収集とともに、その原因・メカニズムを解明し、エコノミークラス症候群として国民からも注目される静脈血栓塞栓症の予知・予防対策の確立を本研究の目的とする。

方法・結果

特発性血栓症／静脈血栓塞栓症サブグループでの研究は、全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究と血栓症患者を対象とした研究などから構成され、今年度はそれぞれ以下の研究を行っており、その経過を報告する。

- ・血栓性素因の分子病態解析（プレスリリース：新たな遺伝性血栓症を発見）。
- ・非典型溶血性尿毒症症候群患者の遺伝子解析。
- ・ワルファリン療法時の PT-INR 自己測定の有効性と安全性に関する臨床研究。
- ・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。
- ・多発性骨髄腫治療薬 Bortezomib が血小板機能に与える影響の解析。
- ・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。
- ・東日本大震災後 1 年間の深部静脈血栓症 (DVT) 検診結果。
- ・肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究

これらの調査・研究を通して、日本人における特発性血栓症／静脈血栓塞栓症の発症エビデンスの収集とその原因・メカニズムを明らかにし、予知・予防法の確立を目指す。