

総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成 23-25 年度総合研究報告書

「血液凝固異常症に関する調査研究班」

研究代表者 村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学 教授

研究要旨

血液凝固異常症に関する本調査研究班は特定疾患治療研究対象事業である 3 つの疾患、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、血栓性微小血管障害症（TMA）、特発性血栓症、について、それぞれ 3 つのサブグループに分かれ課題に取り組むとともに、グループ間の相互議論を活発に行うことによって、(1)分子病態解析に基づいた診断基準、治療指針の確立/普及およびその効果の検証、(2)大規模な疫学的解析による我が国での発症頻度、予後などの正確な把握、を目指している。本研究(平成 23-25 年度)は過去に確立された研究調査体制を踏襲しつつ、より多くの成果発信、具体的には診療ガイドラインの作成や臨床的有用性の高いデータベース化システムの構築などに注力した。診断基準の確立(改訂)、治療ガイドラインの作成(改訂)、疫学調査、は共通事項である。一方、病態解明、新規治療の確立については各疾患により状況が異なる。また本研究班では、それぞれ 3 つのサブグループに分かれ課題に取り組んでいるが、3 疾患の病態学や疾患の専門性などの特徴から、専門領域が比較的近い専門家間での情報交換が活発であり、班会議以外での場でもグループ間の相互議論が行い易い状況だった。さらに疫学専門家を交えた疫学調査を実行した。

(1) ITP:本研究班では、いまだ不明である ITP の病態解析とそれに基づく診断法および治療法の開発、ITP の疫学調査と治療実態に関する情報の解析、適正な治療を提唱する治療ガイドラインの策定を大きな目的としており、これらの事項は ITP の臨床において必須の要件である。特に、血漿 TPO 濃度測定に関しては、世界に先駆けて情報を発信してきた。また、ITP を自然発症する制御性 T 細胞欠損マウスの開発は世界でも極めてユニークな実験系である。このように、本研究では現在までに蓄積した申請者らの研究実績をもとに、ITP の診療実態の把握を含め、新たな病態解明と治療法の開発を目指した。

(2) TMA (TTP): 本研究では TTP の病因を明らかにし、早期の診断方法と適切な治療法の確立を目指した。2013 年 12 月までに日本国内の医療機関から

ADAMTS13 解析を依頼された微小血管障害症 (TMA) 症例は 1251 例となった。この症例数は全世界での報告数の約半数であり、遺伝子異常と臨床症状との比較を行っている。また、後天性 TTP において、初期治療は血漿交換であるが、これによって逆にインヒビターが上昇する症例があり、その場合にはリツキシマブが非常に有効であることが報告されている。そのため、リツキシマブの TTP に対する保険適用の拡大が期待されているが、TTP の症例数は非常に少ないことから、本研究班が主体となって医師主導治験を行うことは非常に重要である。

(3) 特発性血栓症：超高齢化社会を迎えた我が国において、加齢とともに増加する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、その予知・予防対策の確立が急務である。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、プロテイン S K192E 変異が日本人特有な血栓性素因であることを明らかにしてきた。本研究班では、日本人にも決して少なくない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・予防のための対策の確立を目的とした。

ITP (特発性血小板減少性紫斑病) 研究グループ

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はじめとして、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、その病態に則した新たな診断基準の作成および、治療薬の副作用を含めた総合的な治療目標の設定などを検討してきた。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。診断基準に関しては、その病態に即した診断法を検討し、除外診断のみの診断法ではなく、より正確に ITP を診

断できるような診断基準を目指した。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、難治症例に対する新たな治療法の確立、さらには妊娠合併 ITP に対する妊娠、分娩管理ガイドライン作成へ向けての意見集約などを行った。

(A) ITP 治療の参照ガイドの作成：作成委員会を立ち上げ数回の会合を開き、意見調整した。まず本研究班でのこれまでの臨床研究成果、並びに国内外の ITP 治療ガイドを参考に原案を作成した。これを本研究班員で構成する ITP 治療の参照ガイド作成委員会のメンバーで意見交換し、加筆、修正を加えた。これをさらに本研究班班員全員に公開し意見聴取を行い、訂正されたものを本研究班の見解と

して日本血液学会雑誌「臨床血液」に公表した。さらに臨床個人調査表の改訂(案)も作成した。

妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成に関しては、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した。また、理解を深めるためクリニカルクエスチョン (CQ) 形式も取り入れた。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。

(B) 全国の ITP 臨床調査個人票の解析、各都道府県からのデータを入手し解析：厚生労働省から提供された調査対象年度における特発性血小板減少性紫斑病患者の臨床個人調査票をもとに解析を行った。また、2001 年度～2010 年度のデータについては特定の患者の 10 年間の臨床経過を詳細に解析し、臨床に還元しうる知見を探索することを試みた。臨床個人調査表を基にした疫学調査は平成 15 年から開始し、本研究事業では平成 21-23 年度をまとめることが出来た。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。

(C) 特異的診断法の開発：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、ITP における抗 GPIIb-IIIa 抗体のエピトープの局在部位を同定、新たに開発した ITP マウスモデルの解析を行った。TPO 測定、網状血小板比率の測定法の検討を行った。

(D) ITP の病態解析：抗血小板自己抗体のエピトープ解析、モデル動物の作成と解析を行った。

(E) 新規治療法の基礎研究：根治的治療法を開発するために世界発の ITP 自然発症モデルマウスを用いて、血小板抗原に対する免疫寛容を誘導する新規治療法の開発をめざした。

(F) 血小板産生機構に関する研究とそれに基づく治療戦略の可能性：ITP の病態解明とより有用なマネジメント法の開発には血小板産生機序の解明は重要な課題であるため、*in vitro* 分化誘導システムを用いて血小板産生機構の解析を行った。

TMA (血栓性微小血管障害症) 研究グループ

TMA グループは、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を開発を目指している。TMA 解析センターとしての活動を継続して日本国内の症例を集積する。その中から、先天性 TTP:USS 症例について同意の得られたものから ADAMTS13 遺伝子解析を実施し、同時に詳細な病歴を聴取し、genotype-phenotype 解析を行った。また、

後天性 TTP については、その自己抗体の認識部位などの基礎的な解析を行うとともに、臨床的に inhibitor boosting に注目して解析する。どのような症例で、血漿交換療法でインヒビターの上昇を認めるのか明らかにした。また、どの時期にインヒビターが上昇するのかを明らかにすることで、ADAMTS13 活性とインヒビターの検査が至適な検査間隔が明らかになることが期待される。本研究班が中心となり、TTP の診断と治療に関する 2 つの医師主導治験を計画した。1 つは、リツキシマブの TTP に対する保険適用取得を目指すものであり、もう 1 つは ADAMTS13 活性とインヒビターの測定の保険収載のための治験である。前者は日本医師会からの支援を受け、後者は試薬開発業者の協力を得て行うが、両者とも TTP 患者数が少数であることから本研究班が主体となって医師主導治験を行う。そのほか、電気泳動やフローサイトメトリーによる解析、aHUS に関しては、補体系遺伝子のフルシーケンス解析、ADAMTS13 P475S 変異を導入した DTCS ドメイン発現ベクターを作製し、これを結晶化させ X 線回折像を取得した。そのデータから、正常型の構造をもとに立体構造を決定した。USS を疑われた患者およびその家族構成員の DNA 試料を調製し、PCR ダイレクト・シーケンス法によって ADAMTS13 遺伝子の塩基配列を解析した。変異が同定された場合、酵素活性に対する効果を分析した。溶血性尿毒症症候群で、先天性と思われる 10 家系の解析は、補体制御因子などの 6 遺伝子の全てのエクソン領域の塩基配列を解析することにより行った。

本邦 TMA 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 解析を依頼された微小血管障害症 (TMA) 症例は 1251 例となった。

TTP の診断基準の作成については、国際的な基準との整合性を保つため、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。

また現在までに発見された USS 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。これらの日本国内の症例で発見した ADAMTS13 遺伝子変異は、欧米のものとは全く異なることを明らかにした。

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については 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。

特発性血栓症 研究グループ

特発性血栓症サブグループ研究は、近年増加している我が国における静脈血栓塞栓症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・予防のための対策の確立

を目的とした。全国実態個別調査に基づき、日本人の静脈血栓塞栓症に適したワルファリンの適正使用の指針づくりを目指す、日本人特有な先天性血栓性素因・プロテイン S K196E 変異につき静脈血栓塞栓症の発症・再発予防に資するエビデンスを収集する、日本人での静脈血栓塞栓症の遺伝的背景調査研究を行い、発症リスク変異の同定や再発予防に資するエビデンスを収集する、新潟中越 / 中越沖 / 岩手・宮城内陸の各地震、東日本大震災後の被災者に発症した静脈血栓塞栓症の調査を行い、発症予防に資するエビデンスを収集する、日本人での周術期や産婦人科、精神科、内科領域とくに悪性腫瘍患者などでの静脈血栓塞栓症の発生頻度調査を行い、その発症予防対策確立に資するエビデンスを収集する、等を実行した。

(1) 血栓性素因の分子病態解析：血栓症発症症例において、候補遺伝子（生理的凝固制御因子であるアンチトロンビン（AT）、プロテイン C（PC）、プロテイン S（PS）など）の変異解析とその発症分子病態解析、ならびに新たな血栓性素因・ATレジスタンスの症例解析とその検出法開発

(2) 特発性血栓症のリスクファクター：AT・PC・PS 遺伝子の各変異解析結果は、他者からの日本人症例での報告も合わせて、Japanese Thrombophilia Mutation Database (JTMD) として当研究室のホームページに掲載・公表。

(3) 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)で血栓塞栓症の予防目的でワルファリン療法を

施行している患者を対象として、コアグチェックによる PT-INR 値の自己測定の安全性と有効性の検証を行った。

(4) 凝固因子活性およびそのインヒビターの安定性と再現性の高い測定法の開発：難治性疾患としての血栓症の病因説明においては凝固因子を測定する。

(5) 日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略：大阪大学病院独自の肺塞栓症・深部静脈血栓症の予防と治療ガイドラインを 2003 年から使用してきた。その結果、このガイドラインが安価で信頼性の高いことが明らかとなった。

(6) 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：健常人血液に *in vitro* で Bortezomib を添加、各種の方法を用いて血小板機能に与える Bortezomib の影響の解析を行った。

(7) 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動静脈血栓塞栓症発症の後方視的解析：慶應義塾大学病院で自家末梢血幹細胞移植を施行した多発性骨髄腫患者の診療録を参照してデータを収集、静脈血栓塞栓症発症頻度、時期の解析を行った。

(8) 浜松医療センターにおいて入院患者、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う。

(9) 新潟県中越地震被災地の小千谷市、十日町市で広報、新聞・ラジオなどのマ

スコミを通じて中越地震および東日本大震災被災者に深部静脈血栓症(DVT)の検診受診を通知する。検診日は小千谷市、十日町市で10月から12月までの土日の2日間とし、検診当日はアンケート調査、血圧測定、酸素飽和度測定、希望者に採血、下腿の下肢静脈エコー検査を行う。また検診受診者の希望者にDVT予防の弾性ストッキング配布・着用指導を行う。

結論と今後の展望について

研究期間の3年間に診療参照ガイドや疫学調査において成果を充分にあげることができた。ITPについては上記実績に加え、ITP診断に向けた検査の開発ならびに標準化、それらの保険収載などに取り組む必要がある。TMAについては多くのTTP症例を集積して、データベース化をし、TTP診断基準案が作成されたことより、今後はTTPの治療指針の作成が必要である。TTPの診断指針、治療指針の作成のためには、日本国内で保険適用になっていないADAMTS13検査の保険適用取得やTTPにおけるリツキシマブ使用を目指して今後も活動する予定である。また特発性血栓症については人種差を認めるものの日本人にも決して少なくない特発性血栓症(静脈血栓塞栓症)の先天的な誘因となる「先天性血栓性素因」について、その診断基準ならびに診療ガイドラインの作成を目指す。なかでも、日本人に頻度の高い「先天性プロテインS欠損症」の妊娠合併症例診療ガイドラインの作成は重要な課題である。