

201324088A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

小児 新生児期における遺伝性血栓症(プロテインC異常症を含む)の
効果的診断と治療予防法の確立に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大賀 正一

平成26(2014)年3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

小児・新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）の

効果的診断と治療予防法の確立に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大賀 正一

平成 26 (2014) 年 3 月

目次

I.	班員・研究協力者名簿	1
II.	総括研究報告書	
	小児・新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）の 効果的診断と治療予防法の確立に関する研究	5
	大賀 正一	
III.	分担研究報告書	
1.	血栓塞栓症家系の遺伝的素因に関する研究 ～小児・周産期領域における三大抗凝固因子の遺伝子解析～	17
	康 東天, 落合 正行, 福嶋 恒太郎, 堀田 多恵子, 浦田 美秩代, 古賀 結, 大賀 正一	
2.	周産期における遺伝性血栓症の診断と治療に関する研究	22
	金子 政時	
3.	周産期領域の栓友病診断と治療管理ガイドラインの 作成に関する研究	24
	嶋 緑倫	
4.	血栓症患者の遺伝子異常についての検討	28
	瀧 正志, 山下 敦己, 足利 朋子, 長江 千愛	
5.	新生児期の遺伝性血栓症と小児のワルファリン治療法に関する研究 —効果的診断法の確立と抗血栓因子補充のための新生児への 新鮮凍結血漿（FFP）投与基準設定—	30
	高橋 幸博, 中川 隆志, 斎藤 能彦, 山口 直子, 谷口 恵理, 豆田 清美 片岡 美香, 倉本 智津子, 内池 敬男	
6.	新生児血栓症の疫学に関する研究	35
	石黒 精	

I. 班員・研究協力者名簿

小児・新生児期における遺伝性血栓症(プロテインC異常含む)の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究班
班員・研究協力者名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	大賀 正一	九州大学大学院医学研究院 周産期・小児医療学	教 授
研究分担者	康 東天	九州大学大学院医学研究院 臨床検査医学	教 授
	嶋 緑倫	奈良県立医科大学小児科学	教 授
	落合 正行	九州大学病院・総合周産期母子医療センター新生児内科部門	助 教
	福嶋恒太郎	九州大学病院・総合周産期母子医療センター母性胎児部門	講 師
	金子 政時	宮崎大学医学部・生殖発達医学講座産婦人科学分野	准 教 授
	高橋 幸博	奈良県立医科大学病院・総合周産期母子医療センター	教 授
	瀧 正志	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院・小児科	教 授
	石黒 精	独立行政法人国立成育医療研究センター教育研修部血液内科	部 長
研究協力者	吉良龍太郎	福岡市立こども病院・感染症センター 小児神経科	科 長
	本荘 哲	独立行政法人国立病院機構福岡病院・小児科	医 長
	白幡 聡	北九州八幡東病院	院 長
	池ノ上 克	宮崎大学医学部附属病院	院 長

Ⅱ. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

小児・新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）の
効果的診断と治療予防法の確立に関する研究

研究代表者 大賀 正一 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 教授

研究要旨

小児に稀とされてきた血栓症は、新生児医療の進歩などを背景に近年増加中である。その発症に関わる要因のうち、抗凝固因子欠乏症 (Antithrombin [AT]、Protein C [PC]及び Protein S [PS]) の小児期からの早期診断が強調されている。しかし、新生児・小児の血栓症診断は難しく治療管理法も確立していない。母子と家族を守るため周産期から小児期に発症する血栓症の診断と治療を確立し、診療ガイドラインの作成をめざして本研究を開始した。

1) 新規発症例の集積

これまでに PC 変異 12 人、PS 変異 2 人及び AT 変異 6 人を同定し、10 歳以上の PC および PS 複合ヘテロ変異例を確認した。小児 PC 欠乏症の重要性が示された。

2) 日本人小児における血栓性素因の遺伝的背景

5 年間に小児血栓患者 339 人 (後天性:先天性 4:1) を確認した。新生児は同時期に 69 人 (NICU 入院当たり 0.063%) で過去 5 年から倍増し、先天性の 6 人は全て PC 欠損症であった。PC 欠損を伴う小児血栓症は、過去 25 年間に 27 人 (遺伝子診断は 1/3) で、遺伝子変異のない一過性活性低下も存在した。以上より、小児先天性血栓症の約 70% は、三大因子欠乏 (PC 45%、PS 15%、AT 10%) だが、成人血栓症の遺伝性背景 (PC 20%、PS 40%、AT 10%) と異なることを明らかにした。総合周産期センター集積漏れは極めて少ないことを確認した。

3) 小児期における遺伝性血栓症の効果的診断法

新生児から 20 歳までの 307 例に血栓性素因解析を行い、①血栓症は 1 歳未満が最も多いこと、②新生時期に頭蓋内病変による PC 異常症が多く、成人と異なる臨床像であること、③各因子活性基準値の下限を年齢群 (新生児、～2 歳、～6 歳、7 歳以上) の 4 群に分けると遺伝性 3 大抗凝固因子欠乏症の効率的なスクリーニングが可能であることを示した。活性測定 of 標準化、新生児の基準値設定および過凝固の評価方法について検討を継続している。

4) 診療ガイドラインの作成

新生児血栓症の診療指針の骨子を作成して公聴会にて報告し、全国ネットを確立した。臨床像の違いから、新生児期と思春期にわけた指針作成の必要性が明らかとなった。

小児期に発症する血栓症の遺伝的素因に関して分子疫学と臨床像を明らかにした。さらに、診療情報からエビデンスを確立するための全国ネットを新生児領域で立ち上げ、新規発症例を早期診断する体制を整えた。今後後天性を含めたスクリーニングから、基盤データを充実させて、実践的な小児新生児の血栓症の診療ガイドラインの確立をめざす。

研究分担者

康 東天	九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学	教授
嶋 緑倫	奈良県立医科大学小児科学	教授
落合 正行	九州大学病院・総合周産期母子医療センター新生児内科部門	助教
福嶋恒太郎	九州大学病院・総合周産期母子医療センター母性胎児部門	講師
金子 政時	宮崎大学病院・総合周産期母子医療センター	准教授
高橋 幸博	奈良県立医科大学病院・総合周産期母子医療センター	教授
瀧 正志	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院・小児科	教授
石黒 精	独立行政法人国立成育医療研究センター・教育研修部血液内科	部長

A. 研究目的

Protein S(PS)、Protein C(PC)及びAntithrombin(AT)欠損症は日本人の3大血栓性素因で、FVLeidenが主因の欧米とは異なる。ヘテロ変異の成人は深部静脈血栓塞栓症を発症し、ホモ/複合ヘテロ変異の新生児は電撃性紫斑病を起こす。日本人の各変異保有率は成人の活性値からPS 1.8%、PC 0.16%およびAT 0.18%とされる。一方、小児周産期領域については明らかでない。

乳児は生理的に抗凝固因子活性が低い。活性化PCは抗凝固以外に細胞保護・抗炎症作用を有し、PC欠乏が敗血症の重症化因子となる。感染性電撃性紫斑病や脳性麻痺の小児にFVLeidenやPC欠損症が見つかり、同様な小児例(Eur J Pediatr 2009;168:673, Clin Neurophysiol 2010;121:800)を我々も報告してきた。感染後に後遺症を残した児に栓友病が隠れている可能性がある。

産科的塞栓症(羊水塞栓を含む)は日本でも増加し、2008年度は妊産婦死亡の1位となった。3大素因の女性は、分娩が初発血栓の誘因となる。妊婦スクリーニングは児の早期診断と自らの予防に繋がる。3大素因に対する現在の抗凝固療法は不十分で、より安全な周産期管理が妊婦に必要である。遺伝性血栓症母子の包括的診療指針はない。

本研究の目的は、母子の血栓性素因を正確に診断し、遺伝性血栓症母子の診断と治療のガイドラインを確立することである。遺伝子診断と遺伝カウンセリングから家族を支援し、トータルケアの基盤形成をめざす。さらに血栓性素因に関する新規遺伝子の発見に備える。

B. 研究方法

小児・周産期領域における遺伝性血栓症の臨床的意義を明らかにし、診療ガイドラインを作成する。①周産母子と小児医療センターを拠点に詳細な調査と凝固線溶スクリーニングを母子に行い、遺伝子解析を行う。②周産期医療の支援病院を中心に血栓症による神経眼病変患児のスクリーニングと遺伝子解析を行う。罹患家系の遺伝カウンセリングを行う。血栓性素因のある母を適切に管理し、

児には出生後速やかに診断と治療を行う。九州大学病院総合周産期母子・小児医療センターが構成する「ハイリスク新生児臨床研究ネットワーク」施設群から開始し、日本産婦人科新生児血液学会を活動基盤に全国へ対象施設を広げる。

2年間にこれまでの国内調査結果を統合し、基盤データを確立する。小児期に発症する3大遺伝性血栓症の遺伝子解析を行い、各施設と連携して臨床情報の解析と遺伝カウンセリングをすすめる。新生児および小児期発症の特発性血栓症のうちPC/PS/AT異常症の罹患家系を集積し解析を遂行した。治療経過から、分子疫学に基づく効率的な診断と治療ガイドラインを作成するための基盤データベースを作成する。長期入院中の周産期頭蓋内出血・梗塞例の診療画像記録も解析し疑い例をスクリーニングして、母子と家族に適切に対応する。

以下に具体的方法を記す。

1) 小児周産期領域の遺伝子解析情報(大賀、康、高橋、石黒ほか)

全国の総合・地域周産期母子医療センターの情報と3調査の結果から、遺伝子解析を積極的に継続しデータを充実させる。同時に罹患家系の遺伝カウンセリングを遂行する。主治医と連携をとり家系内の血栓発症予防を行う。新規症例発生ごとにこれを順次実施する。

2) 新生児と母体の診療管理(落合、福岡、金子、高橋および参加施設)

周産母子センター(母性、新生児)に入院した血栓性素因を疑う妊婦と児に、順次スクリーニングと遺伝子診断を行い適切に診療する。同素因を疑う児には家族解析を行う。

3) 小児科における解析(石黒、嶋、吉良、本荘ほか)

新生児医療後方支援病院小児科の記録から、後方視的に血栓性素因疑い例を選定する。血栓性素因スクリーニングと遺伝子診断を行い必要な家族解析を行う。北部九州の基幹10施設にはTV会議による診療連携を

築く。新生児医療の支援施設である国立病院機構の協力を得る。

4) 血栓性素因スクリーニング、遺伝子解析およびカウンセリング(大賀、康他)

PT, APTT, Fibrinogen, PIC, TAT, D-dimer, VIII:C,抗Cardiolipin抗体, lupus-anticoagulant, PC・PS活性/抗原, ATⅢ活性, PIVKA, FⅦ・FⅧ活性, vWF活性, 血清脂質などをスクリーニングする。*PROS1* (15 exons), *PROC* (9 exons), *SERPINC1* (7 exons)の翻訳とプロモーター領域を解析する。欠失を検討する。臨床遺伝医療部で遺伝カウンセリングを行う。

5) 周産期領域の栓友病診療ガイドラインの作成(高橋、嶋、瀧、大賀、白幡、池ノ上他)

母子に効果的なスクリーニング項目を検討する。活性化PC・AT製剤補充の有用性を検討し、治療ガイドラインを作成する。

平成25年度までに拡充した全国からの小児血栓症に関する解析を継続し、臨床及び分子疫学情報の基盤データを充実させる。この結果を反映させた診療ガイドラインを作成して、基盤データを継続診療のための遺伝性血栓症登録へ発展させる。原因不明の若年発症血栓や活性低下例について新規遺伝子解析を始める。分子疫学研究には本荘哲(国立病院機構福岡病院小児科医長・元栃木県立がんセンター疫学研究室長)の協力をえる。

(倫理面への配慮)

全国調査(新生児、小児)は、対象数把握と研究参加に関するもので遺伝子検査を含まない診療情報のみの観察研究であった。しかし、患者登録システムの確立に当たっては遺伝子検査を含む研究であるため、主治医から患者本人もしくは保護者への説明・同意

の取得がなされた上で、申請者が遺伝子解析を行う。ヒト遺伝子研究に該当する場合は、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針に従う。申請者の血栓性素因に関する遺伝子解析研究は所属施設の倫理委員会で承認済み(2011年3月30日継続)であるが、当該研究の参加については主治医が所属するそれぞれの施設の倫理委員会の承認を得る。疾患登録については小児血液がん学会疾患登録事業の疫学研究倫理指針に準拠して臨床研究として行う。調査にあたっては、個人情報を守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。本研究においては、九州大学において患者検体の匿名化を図り、検体の採取にあたって、患者および家族から事前に十分に説明し、文書による同意を得る。九州大学病院では臨床遺伝医療部にて遺伝カウンセリングを行っており、関連施設のカウンセリングも協力して行う。

C. 研究結果

・研究班全体としての研究成果

新生児・小児血栓症の診断と治療を確立するため、その遺伝的背景と診療指針の作成に関して、以下の4つを明らかにした。

1) 新規発症例の集積

本研究班設立後の2年間に全国から解析依頼をうけ、PC変異12人、PS変異2人およびAT変異6人を同定し、10歳までは未発症、16歳で発症したPCおよびPS複合ヘテロ変異例を各々確認した。従来の健常成人各因子活性から推定された日本人の3遺伝子変異保有率とは異なる割合で、小児期(とくに新生児期)のPC変異の重要性が示された(Haemophilia 19:378-84,2013)。新規診断例既報告例、疫学データを多面的に可能な限り照合し基盤データを整備した。

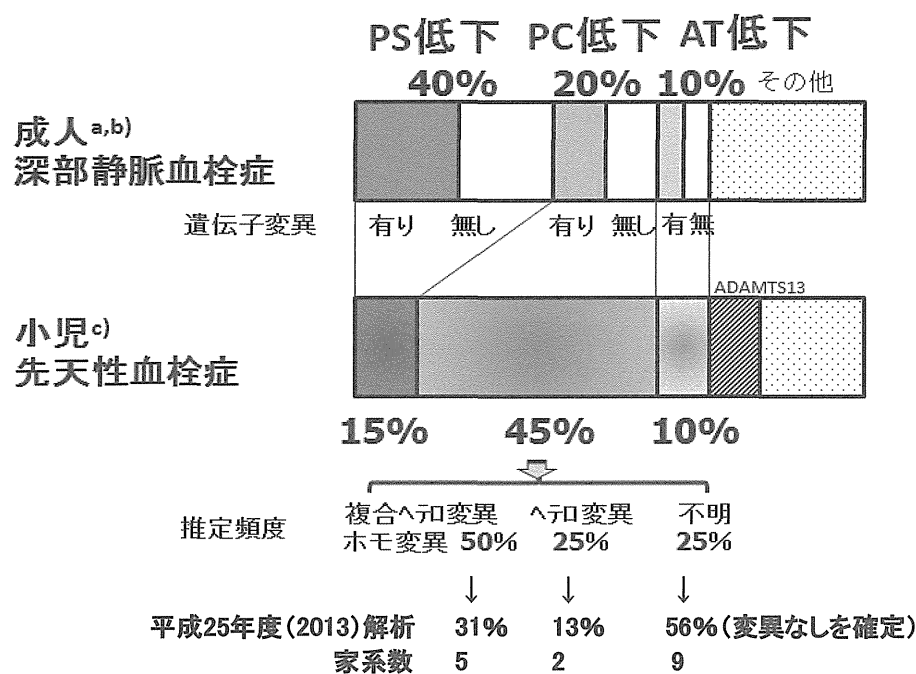


図1. 日本人の成人と小児における血栓性素因の比較

成人は、a) Kinoshita S, et al. Clin Biochem 2005; 38: 908-15.

b) Miyata T, et al. Thromb Res 2009; 124: 14-8.に、

小児は、c) 本研究班のこれまでの資料に基づく。

2) 日本人小児における血栓性素因の遺伝的背景

全国調査から、5年間に小児血栓339人(後天性:先天性 4:1)を確認した。新生児は同時期に69人(NICU入院当たり0.063%)で過去5年から倍増し、先天性の6例は全てPC欠損症であった。PC欠損を伴う小児血栓症は、過去25年間に27人(遺伝子診断は1/3)で、遺伝子変異のない遅れて正常化する例を確認した。以上より、小児先天性血栓症の約70%は、3因子欠乏(PC 45%, PS 15%, AT 10%)であるが、成人血栓症の遺伝性素因(PC 20%, PS 40%, AT 10%)とは異なることを明らかにした (Pediatr Int 55:267-71, 2013)(図1)。全国の総合周産期センターに調査漏れが極めて少ないことを確認した。

3) 小児発症遺伝性血栓症の効果的診断

新生児から20歳までの307例に血栓性素因解析を行い、①血栓症は1歳未満が最も多いこと、②新生時期には頭蓋内病変によ

るPC異常症が多く、成人と異なる臨床像であること、③各因子活性基準値の下限を年齢群(新生児、~2歳、~6歳、7歳以上)の4群に分けると遺伝性3大抗凝固因子欠乏症の効率的スクリーニングが可能なことを示した。

4) 診療ガイドラインの作成

新生児血栓症の診療ガイドライン作成の基本骨子を作成し、診療指針作成に関する公聴会にて報告した。これを評価する全国ネットも確立した。新生児PC欠損症の病型である電撃性紫斑病を想定した補充療法の治療指針案を作成した。一方、臨床像と治療管理法の違いなどから、血栓症の多い新生児期と思春期にわたるガイドライン作成の必要性が明らかとなった。

以上より、新生児・小児期に発症する血栓症の遺伝的素因に関して、日本の分子疫学と臨床像を初めて明らかにした。さらに、診療情報から診断と治療のエビデンスを確立

するための全国ネットを新生児領域でほぼ立ち上げ、新規発症例を早期に診断できる体制になった。

・各分担研究項目の成果

康 東天 九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学 教授

落合 正行 九州大学病院・総合周産期母子医療センター新生児内科部門 助教

《血栓塞栓症家系の遺伝的素因～周産期領域における効率的スクリーニング》に関する研究

全国から解析依頼をうけ、PC変異12人、PS変異2人及びAT変異6人を同定し、10歳と16歳のPCおよびPS複合ヘテロ変異例を各々見出した。PC活性が従来の基準値では下限域内とされた新生児例(脳梗塞と胎児水頭症)から各2家系を同定した。①遺伝性PC欠損症家系の診断には活性基準値を再設定し、②新生児ではPC異常が重要で、遺伝子解析を進める効果的スクリーニング法(各因子活性比など)を提唱した。新規診断例と報告例のデータを照合し基盤データを整備した。

新生児は非典型例も含め広く3因子活性と遺伝子解析を継続し、発症時の過凝固状態を評価した。同時期の健常児の基準値を作成して活性比、ビタミンKの影響などから、効率的診断法を検討中である。生理的PC活性上昇が遅延するPC欠乏症の診断意義が明らかになるであろう。

20歳までの307例に血栓性素因解析を行った。各因子活性下限を新たに定義すれば、遺伝性血栓症を効率的に診断できる可能性を示した。新生児期は頭蓋内病変で発症するPC欠損症が、7歳以降は成人型深部静脈血栓塞栓症を発症するPS欠損症が主体であった。生後3か月までのPS活性と乖離した低PC活性から遺伝子診断を進めていく。

嶋 緑倫 奈良県立医科大学小児科学 教授

《凝固検査標準化、治療管理ガイドライン作成(小児)》に関する研究

本邦遺伝性血栓症3大素因のうち2つはPC経路に関与する。PC経路機能検査

(Thrombopath)はトロンビン生成量からPiCi%(PC-induced coagulation inhibition %)を算出し、PS、PC、FV、FVIIIなどの異常を高感度でスクリーニングできる。我々は反復流産既往妊婦(先天性PS欠損症疑い)のPiCi%と関連因子の経時変化を報告し、さらに不育症妊婦の解析を進めた。妊産婦・新生児の生理的変動もふまえ、本法のような包括的凝固/抗凝固検査が遺伝性血栓症のスクリーニングに有用かを検討している。

国内で汎用されている凝固測定機器を用いて凝固波形解析法における測定試薬や定量的パラメーターの評価を行い凝固波形解析の標準化を試みた(J Thromb Haemost 11:1417-20, 2013)。さらに、凝固系と線溶系のバランスを評価するために従来のトロンビン生成測定法系にプラスミン生成を同時に評価できる測定系を確立した(Thromb Haemost 110:761-8, 2013)。

福嶋 恒太郎 九州大学病院・総合周産期母子医療センター母性胎児部門 講師

《血栓性素因を有する母体管理と児の早期診断》に関する研究

PSの生理的な低下と胎児発育遅延との関連について検討し、血栓性素因を認めない胎児発育遅延におけるPS活性は正常妊娠例と比して有意に低下していることを示した。不育症、習慣流産等の疾患でも微小血栓形成による胎盤機能障害が病態に関与していることが明らかとなっており、深部静脈血栓症などの明らかな凝固障害を来した症例のみならず、FGRや不育症についても血栓性素因解析の蓄積と検討を進めた。

抗リン脂質抗体症候群患者の妊娠ではヘパリン及びバイアスピリンを用いた抗凝固療法が提案されているが、PS低下症では妊娠成立後は妊娠の影響と病的低下の鑑別が従来の血液検査法では不可能であり、現状適切な治療の提案が困難となっている。不育症習慣流産等で妊娠後に血栓性素因が明らかとなる症例がある症例に注目し、妊娠中にPS遺伝子解析をおこなうことによって、抗凝固療法適否決定に資することが可能かどうか検討中である。

金子 政時 宮崎大学医学部・生殖発達
医学講座産婦人科学分野 准教授

《血栓性素因を有する母体管理と児の
早期診断》に関する研究

小児新生児期における遺伝性血栓症の
新生児を発症前に抽出することは、新生児
予後の改善に繋がる。そこで、血栓性疾患
の素因を持つ妊婦から出生した新生児を、
ハイリスク新生児として疾患の検索を行った。
初年度は当院で管理した母体261名中、脳
梗塞の既往を持つ妊婦と深部静脈血栓症の
既往を持つ妊婦合計2名をcandidateとした。
脳梗塞既往のある妊婦は、血栓症に関する
検索では異常を示さず、帝王切開にて
3114gの男児を出産した。次年度は当院で
管理した母体278名中、脳梗塞の既往を持
つ妊婦と血小板増多症合併妊婦の2名の児
について遺伝性血栓症素因について検索を
行ったが異常はなかった。

高橋 幸博 奈良県立医科大学病院・総
合周産期母子医療センター 教授

《新生児の血栓症の病因・病態》に関す
る研究

PC欠乏例の遺伝子診断を実施した。新生
児血栓症(5年毎に実施)サーベイランスと本
研究班のデータベースを照合し基盤データ
の向上を図った。PC診断体制(SEKIUI コア
プレスタ2000、テストチームORS PC)を整備
し、新生児・乳児のビタミンK欠乏症の診断
検査試薬ピブカルテストの後発診断薬、
PIVKA-II検査法(デタミナーCLピブカルテ
スト)の検査薬を確立した(平成24年11月
から検査可能)。同検査法の確立のため、ワ
ルファリン血のPC活性を測定したところ、
その投与量、PT-INRに比較し、極度にPC
活性低下例を認めた。ワルファリン・コ
ントロールが良好にも関わらず血栓症を
反復する例があることから、原因不明の
血栓症例ではPC異常症も考慮する必要
性が示唆された。原因不明の血栓症や
脳梗塞例にPC検査を行いその意義を検
討している。

新生児の各種病態での止血検査に
SEKISUIコアプレスタ2000を用いたテ
ストチ

ームSORPCでのPC活性とACL TOP
300CTSによる総PC・PS制御能のスク
リーニング検査法であるThrombopathと
を同時に測定することで、新生児各種疾
患でのPCの動態とPC・PS制御能を測
定し、PC・PS制御系の補充療法として
の新鮮凍結製剤(FFP)の適応を検討し
ている。

瀧 正志 聖マリアンナ医科大学横浜
市西部病院・小児科 教授

《小児凝固異常症の疫学と診療ガイ
ドライン作成》に関する研究

2013年3月より診療中の遺伝性血栓
症患者の遺伝子解析を開始した。現在
まで6家系10名の遺伝子解析を九州大
学に依頼し、その内5家系8名分につ
いて解析が終了した。

血栓症の治療および予防薬の抗凝固
効果には大きな個人差が存在する。血
栓症治療薬として使用する場合、投
与量の増加に伴い出血性合併症の頻
度が増加する危険性がトロンビン生
成試験の成績より示唆される。抗Xa
阻害薬を使用する際の有効な凝血的
モニタリングは未だ確立されていない
が、一部の抗Xa阻害薬においては凝
固波形解析による凝血的モニタリン
グが有用である可能性が示唆された。
現在、モニタリングの精度を高める
ため凝固波形解析に用いる最適な試
薬の検討を進めて、診療ガイドライ
ンへ適切に反映させる予定である。

石黒 精 独立行政法人国立成育医療
研究センター・教育研究部総合診療部
血液内科 部長

《小児血栓症の疫学》に関する研究

わが国で初めて小児血栓性疾患の疫
学調査を実施した。5年間の症例を対
象とした一次アンケートによって625
例の小児血栓症患者が報告された。以
後二次調査の返送率を向上させた。二
次アンケート調査によって得られた
383例について詳細なデータを解析
した。その結果、基準に適合しなかつ
た例を除いて、63例の先天性血栓素
因および276例の後天性疾患が明ら
かになった。

国立成育医療研究センターの電子カル
テを用いて後方視的に開院以来10年
間の小

児血栓性疾患を調べた。その結果、全国疫学調査で判明していた以上の124例の症例が明らかになり、日本小児科学会や日本血栓止血学会で成果を発表した。

D. 考察

本研究班を組織した時点で、想定できたことと予想外であった点を考察する。三大抗凝固因子欠損症が血栓症の遺伝的素因として、臨床的に最も重要である。この3疾患は稀少疾患ながらも日本ではFVLとPT多型がない。成人では後天性因子による影響が大きい。以上から、日本人小児を対象とすれば血栓症の遺伝的背景がより明確になると想定した。積極的な遺伝子解析から、2年間で予想以上に症例が集積された。小児患者から未発症の親が診断され、複数の新規家系が発見された。症例数が少なくても小児発症例を細やかに解析すれば素因家系を成人よりも高い確率で診断できることを実証した。

一方、変異がなく活性上昇の成熟機転が遅れる児が確認されたことは、新たな多元的要因(平時は基準値内だがある状況下では急激な活性低下がおこるなど)が推定され、とくに新生児基準値の見直しが必要となった。

全国調査以降診療ネットを確立してから、治療に関する情報には、コンセンサスさえ得られていないものが多いことが明らかになった。海外でも小児と新生児の血栓症診療ガイドラインが最近出始めたが、成人のエビデンスレベルには到底及ばない。本研究班の設立後に日本では使用不可能な組換えPC製剤の敗血症に関する効果が否定され、またAT抵抗性による新規栓友病家系が日本から報告された。このことは、日本人小児を対象とした本研究の意義を実感させるものであった。

E. 結論

新生児・小児期に発症する血栓症の遺伝的素因に関して、日本の分子疫学と臨床像を初めて明らかにした。診療情報から診断と治療のエビデンスを確立するための全国ネットを新生児小児領域で新規

発症例を早期に診断できる体制をほぼ確立した。これにより、後天性因子の解析と対策の必要性、治療における確かな情報が極めて少ないことが明らかとなった。

新生児と小児の効率的スクリーニング法を開発し、遺伝子診断を家系単位で進め新規診断例基盤データを集積し、さらに実践的で質の高い小児・新生児血栓症の診療指針策定をめざす。

F. 健康危険情報

治療介入を行う研究でないため、特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, on behalf of the Japan Childhood Thrombophilia Study Group. Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. *Pediatr Int* 55(3): 267-71, 2013
- 2) Ohga S, Kang D, Kinjo T, Ochiai M, Doi T, Ishimura M, Kayamori Y, Urata M, Yamamoto J, Suenobu S, Kanegane H, Ikenoue T, Shirahata A, Hara T: Pediatric presentation and treatment of congenital protein C deficiency in Japan. *Haemophilia* 19(3):378-84, 2013
- 3) Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Taguchi T, Hara T: Clinical outcome of extremely low birth weight infants born at GW22-26: a report from a single institution in Japan. *Neonatology* 105(2):79-84, 2014
- 4) 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. *Pediatr Blood Cancer* 60(9):1557-8, 2013
- 5) Yamamura K, Joo K, Ohga S, Nagata H, Ikeda K, Muneuchi J, Watanabe M, Hara T: Thrombocytosis in asplenia syndrome with congenital heart disease: a previously unrecognized risk factor for thromboembolism. *Int J Cardiol* 167

- (5):2259-63, 2013
- 6) Hoshina T, Nakashima Y, Sato D, Nanishi E, Nishio H, Nakagata H, Yamamura K, Doi T, Shiokawa Y, Kang D, Ohga S, Hara T: Staphylococcal endocarditis as the first manifestation of heritable protein C deficiency in childhood. *J Infect Chemother* 2013 (in press)
- 7) Narazaki R, Makimura M, Sanefuji M, Fukamachi S, Akiyoshi H, So H, Yamamura K, Doizaki S, Kojima S, Ihara K, Hara T, Ohga S: Bilateral stenosis of carotid siphon in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Brain Dev* 35(7): 690-3, 2013
- 8) Matsunaga Y, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Fukumoto Y, Ito N, Doi T, Kang D, Hara T: Neonatal asphyxia and renal failure as the presentation of severe protein C deficiency. *J Perinatol* 33(3): 239-41, 2013
- 9) Unal S, Gumruk F, Yigi S, Tuncer M, Tavi B, Cil O, Takci S, Urata M, Hotta T, Kang D, Cetin M: A novel mutation in protein C gene (PROC) causing severe phenotype in neonatal period. *Pediatr Blood Cancer* 61(4):763-4, 2014
- 10) Uchiumi T, Tanamachi H, Kuchiwaki K, Kajita M, Matsumoto S, Yagi M, Kanaki T, Kang D: Mutation and functional analysis of ABCC2/multidrug resistance protein 2 in a Japanese patient with Dubin-Johnson syndrome. *Hepatol Res* 43(5):569-75, 2013
- 11) Oba T, Yasukawa H, Hoshijima M, Sasaki K, Futamata N, Fukui D, Mawatari K, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Nakamura K, Kang D, Yajima T, Knowlton KU, Imaizumi T: Cardiac-specific deletion of SOCS-3 prevents development of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 28: 59(9):838-52, 2012
- 12) Matsumoto T, Nogami K, Shima M: Simultaneous measurement of thrombin and plasmin generation to assess the interplay between coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 110(4):761-8, 2013
- 13) Shima M, Thachil J, Nair SC, Srivastava A: Towards standardization of clot waveform analysis and recommendations for its clinical applications. *J Thromb Haemost* 11(7):1417-20, 2013
- 14) Fujita Y, Satoh S, Sugitani M, Yumoto Y, Fukushima K, Wake N: Clinical utility of augmentation index as a new parameter of peripheral circulation in human fetuses. *Early Hum Dev* 89(8):601-5, 2013
- 15) Anami A, Fukushima K, Takasaki Y, Sumida T, Waguri M, Wake N, Murashima A: The predictive value of anti-SS-A antibodies titration in pregnant women with fetal congenital heart block. *Mod Rheumatol* 23(4):653-8, 2013
- 16) Kaneko M, Sameshima H, Minematsu T, Kusumoto K, Yamauchi A, Ikeoue T. Maternal IgG avidity, IgM and ultrasound abnormalities: combined method to detect congenital cytomegalovirus infection with sequelae. *J Perinatol* 33(11):831-5, 2013
- 17) Mamemoto K, Kubota M, Nagai A, Takahashi Y, Kamamoto T, Minowa H, Yasuhara H: Factors associated with exclusive breastfeeding in low birth weight infants in NICU discharge and the start of complementary feeding. *Asia Pac J Clin Nutr* (22): 270-5, 2013
- 18) Takahashi D, Takahashi Y, Matsui M, Araki S, Kubo K, Sato H, Shirahata A: Evaluation of hypercoagulability using soluble fibrin monomer complex in sick newborns. *Pediatr Int* (155):151-6, 2013
- 19) Imamura H, Akioka Y, Taki M, Terasawa F, Okumura N, Hattori M: Successful living-related kidney transplantation in a boy with inherited dysfibrinogenemia. *Pediatr Nephrol* 17(7): E161-E164, 2013
- 20) 大賀正一: エキスパートのための産婦人科・新生児領域の血液疾患診療の手引き「新生児血栓症」pp. 印刷中, 日本産婦人科新生児血液学会編集 2013
- 21) 大賀正一: 小児期に発症する遺伝性血栓症 ~プロテインCの重要性~日本小児血液・がん学会推薦総説 日本小児科学会雑誌117巻10号 1538-44, 2013
- 22) 市山正子、大賀正一、松永友佳、金城唯宗、落合正行、堀田多恵子、浦田美秩代、古賀結、西村美香、康東天、原寿郎: 小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値日本産婦人科・新生児血液学会誌2013;

- 23(1):25-2
- 23) 一宮優子, 石黒 精, 中舘尚也, 前川貴伸, 藤田秀樹, 國島伸治, 阪井裕一: ロミプロスチムが慢性自己免疫性血小板減少症に奏功して開心術を施行し得た小児例. 日小血がん誌 2013 (印刷中)
- 24) 清水 武, 石黒 精, 高柳隆章, 松井猛彦, 利根川尚也, 前川貴伸, 板橋家頭夫: アデノウイルス胃腸炎とマイコプラズマ肺炎に続発したループスアンチコアグラント陽性・低プロトロンビン血症. 日臨免誌2013 (印刷中)
- 25) 小川千登世, 真部 淳, 小原 明, 石黒精: 急性リンパ性白血病L-アスパラギナーゼ療法関連凝固異常に対する国内外の支持療法の現状. 臨床血液 2013; 54(3): 316-8
- 26) 山本真梨子, 中舘尚也, 井口梅文, 益田博司, 阪井裕一, 石黒 精: 遺伝子組み換え第IX因子製剤の持続輸注による小児期血友病Bの開頭術周術期管理. 臨床血液 2013; 54(3): 300-4
- 27) 石村匡崇, 大賀正一: 血友病性偽腫瘍「血液症候群Ⅱ」pp. 555-56, 日本臨牀社 2013
- 28) 土居岳彦, 大賀正一: Glanzmann型血小板無力症(タイプⅠ)「血液症候群Ⅱ」pp. 420-423, 日本臨牀社 2013
- 29) 瀧本智仁, 大賀正一: タイプⅡ血小板無力症 日本臨床別冊「血液症候群Ⅱ」pp. 424-428, 日本臨牀社 2013
- 30) 大賀正一: 小児科特集 3. 感染症と血液疾患 感染症Today Journal vol.3. pp. 5-6, 2013
- 31) 石黒 精: 出血傾向. 小児検査実践マニュアル, 松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之など(編), 診断と治療社, 2013 (印刷中)
2. 学会発表
- 1) Ohga S. Salvage treatment of refractory LCH and HLH. The 54th Meeting of Korean Society of Hematology, Korea Histiocytosis Working Party Symposium, Changwon, Korea, November 8-9, 2013. (invited speaker)
- 2) Ohga S. Heritable thrombophilias in Japanese children. The 5th Congress of East Asia, Hemophilia Forum (EAHF), Seoul, Korea, September 7-8, 2013. (invited speaker)
- 3) Yamamura K, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Takada H, Ohga S, Hara T. Early progression of atherosclerosis in children with cryopyrin-associated periodic syndrome. The 9th Asian Society for Pediatric Research & 20th Perinatal Society of Malaysia Annual Congress. Sarawak, Malaysia, 2013.
- 4) 大賀正一 小児の血栓症～感染症と止血機構のかかわり～セミナー3 基礎から臨床へ 日常診療を深める最新知見 第23回日本外来小児科学会 福岡市, 2013年8月31日
- 5) 大賀正一 診断指針作成のためのパブリックオピニオンを聴く会 新生児血栓症 第23回日本産婦人科・新生児血液学会 奈良市, 2013年6月8日
- 6) 大賀正一 分野別シンポジウム5 小児凝固障害症の新たな治療戦略小児血栓性疾患の診断と治療戦略. 第115回日本小児科学会, 福岡市, 2012.
- 7) 康東天 「臨床検査医/検査部長の立場から望むこと: 臨床検査学サイエンティストの養成」第60回日本臨床検査医学会学術集会, (招待講演) 2013年11月1日, 神戸市
- 8) 康東天 「項目コード (JLAC10) を用いた多施設間検査情報のための取り組みと問題点」第60回日本臨床検査医学会学術集会, (招待講演) 2013年11月1日, 神戸市.
- 9) 井藤奈央子, 大賀正一, 土居岳彦, 石村匡崇, 野村明彦, 高田英俊, 菅尚浩, 郭義胤, 波多江健, 松本雅則, 藤村吉博, 原寿郎: 新鮮凍結血漿定期投与を行ったUpshaw-Schulman症候群の長期予後についての検討. 第48回日本小児腎臓病学会, 徳島市, 2013年6月28-29日
- 10) 市山正子, 大賀正一: 胎児水頭症から診断された症例. 平成25年度 第1回厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「小児新生児期における遺伝性血栓症の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」班会議 奈良市, 2013年6月8日
- 11) 大賀正一 新生児血栓症研究～現在までの解析結果とスクリーニング法について～小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値 平成25年度 第1回厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「小児新生児期における遺伝性血栓症の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」班会議 奈良市, 2013年6月8日
- 12) 市山正子, 大賀正一, 松永友佳, 金城唯宗, 落合正行, 堀田多恵子, 浦田美秩代, 古賀結, 西村美香, 康東天, 原寿郎

小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値. 第23回日本産婦人科・新生児血液学会 奈良市, 2013年6月8日

13) 土居岳彦、大賀正一、井藤奈央子、石村匡崇、菅 尚浩、野村明彦、松本雅則、藤村吉博、高田英俊、原 寿郎: 定期凍結血漿投与を行ったUpshaw-Schulman症候群3例の長期予後. 第116回日本小児科学会学術集会, 広島市, 2013.

14) 石渡久子、西口康介、玉木久光、大森多恵、伊藤昌弘、三澤正弘、大塚正弘、長

澤正之、大賀正一: 胎生期に脳梗塞を発症した先天性プロテインC欠乏症ヘテロ接合体の一例. 第116回日本小児科学会学術集会, 広島市, 2013.

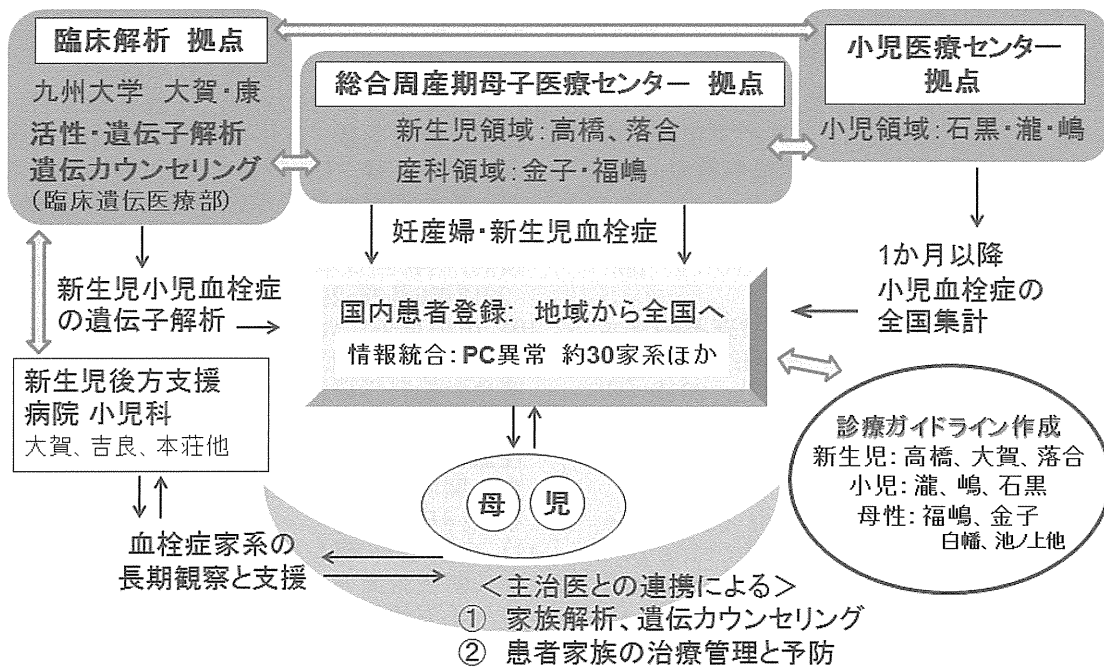
H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得 (嶋 緑倫分担研究者)

特許 4671823 血液凝固因子の不活性化及び血液凝固因子

付) 研究の流れ図

日本における小児、新生児と妊産婦の血栓症家系を同定し、 予防と治療管理に関する包括的指導を行う



研究協力: 白幡 聡 北九州八幡東病院長 池ノ上 克 宮崎大学医学部附属病院長

Ⅲ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

血栓塞栓症家系の遺伝的素因に関する研究
～ 小児・周産期領域における三大抗凝固因子の遺伝子解析 ～

研究分担者

康 東天 九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学 教授
落合 正行 九州大学病院総合周産期母子医療センター新生児内科部門 助教
福嶋 恒太郎 九州大学病院総合周産期母子医療センター母性胎児部門 講師
大賀 正一 九州大学大学院医学研究院・周産期小児医療学 教授

研究協力者

堀田 多恵子 九州大学病院検査部 技師長
浦田 美秩代 九州大学病院検査部 副技師長
古賀 結 九州大学病院検査部 技師

研究要旨

日本人小児血栓症の遺伝的素因を明らかにするため、小児期発症のプロテイン S (PS)、プロテイン C(PC) 及びアンチトロンビン(AT) 欠乏症患者の遺伝子解析を行った。研究班発足2年目は、全国より34家系の血栓症およびその疑い(両親か同胞に血栓症あり)の相談を受けPC欠乏症20家系(4家系解析中)、PS欠乏症10家系およびAT欠乏症4家系の解析を終了した。小児例はPROC変異7名(全て発症 ホモ2、複合ヘテロ3、ヘテロ2)、PROSI変異1名(発症 ホモ)およびSERPINC1変異(全て未発症ヘテロ)を4名同定した。PC欠損症20家系のうち10名は日齢7までの早期新生児、2名は新生児発症であった。PC活性が低いがPROC変異のない患児を9名同定した。10歳まで未発症のPROC複合ヘテロ変異の男児と17歳で深部静脈血栓症を発症したPROSIホモ変異の男児を診断した。PROSIホモ変異の男児に家族歴はなく、血縁のない両親は未発症でPROSIヘテロ変異を有していた。我々が過去30年に確認した小児遺伝性PC欠損症患者18名(遺伝子解析による変異同定は9名: Haemophilia 2013)の10年分に相当する症例を単年度に遺伝子診断することができた。小児血栓症において新生児発症PC欠損症が最も主要な遺伝性血栓症である。

A. 研究目的

PS、PC及びAT欠乏症のうち日本人成人ではPS欠乏症が最も頻度の高い遺伝性血栓性素因である。日本人小児ではPC欠乏症の頻度が高いことが示唆されたが、極めて稀なためこの3大遺伝性血栓症に関する疫学情報は十分明らかでない。新規診断例の家族解析を進め、各因子活性と遺伝子解析の結果から、小児期における遺伝性血栓症の頻度と臨床的特徴を検討した。

B. 研究方法

1. PS, PC, AT活性測定と各遺伝子解析

血漿PCおよびPS活性はSTA試薬シリーズ

プロテインC(クロット)、プロテインS(クロット)(Stago/ロシュ・ダイアグノスティックス)を用いて各々測定した。AT活性はエルシステム・ATIII(シスメックス)を用いた。

PROCのexon1-9をPCRで増幅し、ABI PRISM3100 Genetic Analyzer(ライフテクノロジーズジャパン)にて直接法により塩基配列を決定した。PSおよびAT活性の低かった患者には、PROSI(exon 1-15)とSERPINC1(exon 1-7)解析も行った。健常成人保存血漿の±2SDを成人の基準範囲とし、<3SDを下とした(Clin Biochem 2005;38:908-15)。(倫理面への配慮)

遺伝子解析は倫理委員会承認(#232-02,

#448-00)の同意書を取得し、末梢血白血球由来DNAを用いて行った。遺伝性血栓症と診断した患者家族も同意を得て家系内の解析を行い、遺伝カウンセリングを行った。

2. 新規診断例の家系解析

本研究班設立2年目(2013年)は、小児PC欠乏症による血栓症を疑われた非血縁20家系の20歳未満の20患者(2未発症者を含む)の相談を受け血栓性素因スクリーニング(APSなど後天性も含む)と遺伝子解析を行った。またPS欠乏10家系とAT欠乏4家系の小児とその両親を対象に、この血栓性素因解析を行った。

C. 研究結果

1. 3因子活性値によるスクリーニング

小児の3因子活性スクリーニングの方法については、初年度報告書の成果(現在投稿中)に従い各活性下限値を定義した。その後症例の集積とともに、3か月までの新生児から乳児早期におけるPCおよびPS活性値は再定義の必要性があると考えられたため、表1のようにスクリーニング下限値を設定した。発症時の消費性凝固障害とビタミンK欠乏によるPCおよびPS活性への影響から、とくにPC/PS活性比を考慮して解析を広く行った。

表1. 年齢別各因子活性の下限値の定義

年齢	PC	PS	AT
0-3か月	<45% (a)	<42% (a)	<52% (b)
3か月-2歳	<64% (c)	<51% (c)	<52% (b)
3-6歳	<64% (c)	<51% (c)	<68% (c)
7-20歳	<75% (d)	<60% (d)	<80% (d)

成人下限活性値(PC 75%, PS 60%, AT80%)の
a:60%, b:65%, c:85%およびd:100%未満に相当する活性値

2. PC欠損症例

20名の臨床的背景とPC活性、PS活性、PROC変異の有無および両親の解析結果を表2に示す。4名は遺伝子解析予定または解析中であるが、16名の解析が終了した。PROC変異を同定した7名は全て発症し、ホモ1、複合ヘテロ3およびヘテロ2で新規未報告変異はなかった。PC欠損症20家系のうち10名は日齢7までの早期新生児、2名は発症

日の詳細が不明であるが新生児発症であった。PC活性が低いがPROC変異のない患児を9名同定した。変異を同定した患者の家族解析を行ったところ、患児のde novo発症はなく、両親のどちらかに変異が確認された。電撃性紫斑病での発症は3名であった。

10歳まで未発症のPROC複合ヘテロ変異の男児は、1)母がPC欠損による16歳発症の深部静脈血栓症であったこと、2)症候性てんかんを有していたこと、から明らかな血栓症患者ではなかったが、解析した。母はこのヘテロ変異であることが確認され、血栓症既往のない父は推定ヘテロ変異として現在解析中である。このPROC複合ヘテロ変異の男児はPC活性が27%で、母の活性に近く、今後思春期にかけて血栓発症のリスクがあると予想され、カウンセリングを行った。

3. PS欠損症例

PS欠損例は10例の相談を受け、うち20歳未満は3例であった。PS欠損の家族歴(変異確定)を有する健常1歳児にPROSI変異はなかった。もう1名の健常1歳児は、母がPS欠乏であったがこの家系にPROSI変異はなかった。17歳で深部静脈血栓症を発症したPROSIホモ変異の男児を診断した。このPROSIホモ変異の男児に家族歴はなく、血縁のない両親は血栓症は未発症でPROSIヘテロ変異を有していた。23歳で肺梗塞を発症したPROSIヘテロ変異の男性を診断した。この母はこのヘテロ変異を有する未発症者で、健常弟にもこの変異はなかった。5名のPS活性低下を示した不育症母のPROSI遺伝子解析を行ったが変異はなかった。確認された変異は全て既報告で、変異のなかった1名にPlasminogen Tochigiを同定した。

4. AT欠損症例

AT欠損例は4家系9名の遺伝子解析を行った。小児は5名でうち4名は未発症健常児、もう一名は肝移植後の児であったが末梢血由来DNAにSERPINC1変異は認められなかった。成人は4名で1名の未発症以外は、DVTを発症していた。9名中8名に既報告のSERPINC1ヘテロ変異を認めた。

表2. 2013年に解析した新生児小児PC欠乏症

年齢	性	周産期情報	初発症状	PC 活性	PS	PROC 変異	両親の解析
日齢0	男	39週 2978g Ap 5/7	臍帯血栓、肺高血圧、多嚢胞脳軟化	46%	(8か月) 94%	なし	
日齢0	女	34週 1296g Ap8/9	脳実質内出血	17%	43%	なし	
日齢0	男	36週 2810g Ap3/5	新生児仮死 哺乳不良	11%	43%	なし	
日齢0	女	36週胎児仮死	脳室内出血	<10%		解析予定	母 PC 活性 56%
日齢2	男*	詳細不明	電撃性紫斑、頭蓋内、硝子体出血	4%	freePS 74%	ホモ	両親ヘテロ
日齢2	男	38週 2938g 仮死なし	頭蓋内出血、両網膜下出血	<10%	未検	複合ヘテロ	両親ヘテロ
日齢2	女	38週 3225g Ap6/9	無呼吸、左 MCA 梗塞	23%	46%	なし	
日齢4	男*	なし	電撃性紫斑病 両鎖骨下静脈血栓	15%		解析中	両親活性正常
日齢6	男	38週	在胎 34 週頃に水頭症			なし(PS変異もなし)	
日齢7	男	37週 2502g Ap7/9	無呼吸遷延、脳梗塞	27%	52%(抗原)	なし	両親活性正常
新生児	男	新生児	電撃性紫斑、頭蓋内	11歳	Warfarin 中	ホモ	両親推定ヘテロ
新生児	詳細不明		新生児脳室内出血	<10%		複合ヘテロ	
7か月	男	なし	右上肢麻痺 陳旧性脳梗塞	50%	未検	なし	
1歳	男	なし	脳梗塞	43%	58%	ヘテロ(PS変異なし)	父ヘテロ
1歳6月	男	39週 2683g Ap7/8	仮死 DIC 一過性PC欠乏	16%→72%	44%→79%	解析予定	
2歳	女	なし	乳児 ALL 治療中肺小動脈多発血栓	37%	51%	なし(AT変異もなし)	
4歳	男	なし	頭痛 上矢状静脈洞血栓	62%	73%	解析予定	両親活性低下
10歳	女	なし	胆道閉鎖,PDA ,VitK 投与後低 PCPS	36%	57%	なし(PLG 栃木)	
10歳	男	39週 3752g 異常なし	症候性てんかん	27%	73%	複合ヘテロ	母 DVT ヘテロ
14歳	男	なし	未発症	39%	90%	ヘテロ	家族歴有り

* 日本人以外

D. 考察

本研究班設立後2年目の単年度に、私たちが過去30年に網羅的に検索した国内報告小児遺伝性PC欠損症患者18名(遺伝子解析による変異同定は9名: Haemophilia 2013)に相当する20名を見出し、うち7名に既報告PROC変異を同定した。さらに9名はdirect sequencingで変異がないことが確認された。両親の解析からこれら変異例にはde novo発症がないことも明らかとなった。

これまでの結果から全体の25%に変異のないPC活性単独低下例があることが想定されていたが、今回はこれがほぼ半数に達した。とくに3か月未満の活性値によるスクリーニングを厳しく再設定しながらも、遺伝子解析を広く行った。このことから、PROC変異のない単独PC欠乏症の存在がより明確となり、想定された頻度よりも高いことが示唆された。

小児・新生児PC欠乏症の臨床像としては電撃性紫斑病よりも頭蓋内出血・梗塞が多いことも症例集積から明らかになった。さらに患児診断から、未発症両親の早期診断に繋がった例も少なくなかった。

一方、PS欠乏症とAT欠乏症の小児期発症血栓患者は極めて少なく、発症例の臨床

像は、成人DVTの早期発症型であった。変異例はほぼ全例に家族歴を有していた。PS活性の低い不育症の母にPROC変異が認められる頻度は、日本人一般集団の推定変異保有率から高くないことが伺われた。

E. 結論

小児遺伝性血栓症は、新生児発症型であるPC欠乏症と小児発症型のPSおよびAT欠乏症に分けてスクリーニングを行い、その診断指針を作成することが必要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, on behalf of the Japan Childhood Thrombophilia Study Group. Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. *Pediatr Int* 55(3): 267-71, 2013
- Ohga S, Kang D, Kinjo T, Ochiai M, Doi T, Ishimura M, Kayamori Y, Urata M, Yamamoto J, Suenobu S, Kanegane H, Ikenoue T, Shirahata A, Hara T: Pediatric presentation and treatment of c