

特発性血栓症／先天性血栓性素因サブグループ研究報告

グループリーダー：小嶋 哲人 名古屋大学

研究分担者：宮田 敏行 国立循環器病研究センター

小林 隆夫 浜松医療センター

森下英理子 金沢大学

研究協力者：坂田 洋一 自治医科大学／横山 健次 東海大学

榛沢 和彦 新潟大学 / 尾島 俊之 浜松医科大学

杉浦 和子 浜松医科大学／根木 玲子 国立循環器病研究センター

中村 真潮 村瀬病院

## グループ総括

分担研究者：小嶋 哲人

### 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、その発症要因である先天性血栓性素因の診断基準ならびに診療ガイドの作成を通して、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。今年度は、特発性血栓症（静脈血栓塞栓症）の先天的要因である「先天性血栓性素因」の診断基準作成を行い、次年度以降に「先天性血栓性素因患者の診療ガイド」や「先天性血栓性素因患者の周術期診療ガイド」の作成に向けて、先天性血栓性素因についての実態調査アンケートを計画している。また、個別研究として「特発性血栓症リスク・AT resistance 検出検査法による新たな症例」、「広島豪雨土砂災害の深部静脈血栓症」、「日本人静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクであるプロテイン S K196E 変異の ELISA 法を用いた検出法の確立」、「先天性プロテイン S 欠損症患者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定」、「先天性アンチトロンビン、プロテイン C、プロテイン S 欠損症の臨床症状・検査所見、ならびに新規経口抗凝固薬が活性測定値におよぼす影響」の各個研究が行われた。

#### A. 研究目的

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（VTE）の日本人での発症原因と発症メカニズムを明らかにし、その予知・予防対策を確立することは急務である。本研究班では、エコノミークラス症候群としても国民から注目される特発性血栓症（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。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の作成を目指す。なかでも、日本人に多い「先天性プロテイン S 欠損症」にお

ける妊娠合併症例診療ガイドや周術期治療ガイドの作成は重要な課題である。

#### B. 研究方法

特発性血栓症（静脈血栓塞栓症）の誘因となる先天性血栓性素因についての政策研究を行う。具体的には、先天性血栓性素因の診断基準作成とともに、診療ガイドの策定の策定に向けての調査研究を行った。さらに各個研究については、それぞれ特発性血栓症の発症実態の把握、発症予防のための適切な診療に向けての診断法の開発やその有効性についての調査研究を行った。

#### （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

先天性血栓性素因の診断基準を作成した。

「特発性血栓症リスク・AT resistance (ATR) 検出検査」の調査研究では、今まで原因不明とされていた 2 家系の日本人静脈血栓塞栓症患者において、血漿検体検査にて ATR と診断でき、患者 F2 遺伝子解析においていずれもプロトロンビン Belgrade 変異(c. 1787G>A, p. R596Q)を検出した。

「広島豪雨土砂災害の深部静脈血栓症」の発生状況の調査では、災害の種類によらず DVT 陽性率が一般住民に比べて増加し、かつ避難所環境と関連することが示唆された。

「日本人静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクであるプロテイン S K196E 変異の ELISA法を用いた検出法の確立に関する研究」では、PS K196E変異特異的モノクローナル抗体を用いて、血中に存在する異常PS K196E分子を検出することにより、変異保有者を同定する系を確立した。本法を用いて遺伝型を同定済みの検体での変異の有無を調べたところ、野生型である正常者と変異保有者と明らかに区別でき、全ての検体で変異を同定でき

た。また、ワルファリン加療中の変異保有者や妊娠中の変異保有者でも、野生型保有者と明確に識別が可能であった。

「先天性プロテイン S 欠損症患者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定」のための調査研究では、血栓性素因を有する妊婦は妊娠中に VTE を発症することが多いため、血栓性素因を有する妊婦を含め血栓症の家族歴・既往歴を有する妊婦は妊娠初期からの注意が必要であり、また、APC-sr および PS 比活性の測定が、妊婦や女性ホルモン剤使用中患者の血栓症予知に有用の可能性が判明した。

「先天性アンチトロンビン、プロテイン C、プロテイン S 欠損症の臨床症状・検査所見、ならびに新規経口抗凝固薬が活性測定におよぼす影響」の研究では、先天性 AT・PC・PS 欠損症は発症年齢、血栓症の起こしやすさ、血栓症の種類などが異なっており、その病態を各々正確に把握することが重要と考えられた。また、Xa 阻害剤の内服にて AT・PC・PS 活性は 1.2~1.5 倍偽高値となった。このように、活性値は、測定法・抗凝固薬内服などにより大きく値が変わることを十分認識して、検査結果を解釈する必要があると考えられた。

### D. 考察

数年来の本研究班活動を通じた「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。今年度より政策研究班となった当特発性血栓症サブグループでは、先天性血栓性素因の診断基準を作成し、その血栓症発症予防を含めた診療ガイドの作成を目指す。

今まで原因不明とされた血栓性素因の中には新しい血栓性素因である ATR が潜在するものと考えられ、開発された ATR 検出法が血漿検体を用いて解析するもので、遺伝子変異が異なる ATR も検出可能であることから、日常診療での静脈血栓症リスクの臨床検査法として有用と思われる。

日本人静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクである PS K196E 変異の有無について、血漿中の PS K196E 変異体を検出する簡便な ELISA 法の確立は、遺伝子解析を行わずに変異の同定ができる臨床的意義も大きく、本邦における血栓症の予防診療にきわめて有用と考えられる。

産科症例の解析によれば、妊産褥婦に発症する VTE では、血栓性素因を有する患者は妊娠中発症が多い傾向にあり、とくに PS 欠乏症や AT 欠乏症を有する妊婦は妊娠中発症が多いものと思われる。また、VTE 症例のうち血栓症の家族歴・既往歴は妊娠中発症例で高く、血栓性素因を有する妊婦を含め血栓症の家族歴・既往歴を有する妊婦は妊娠初期からの注意が必要と思われる。一方、血栓症の有用な予知マーカーである APC-sr、PS 活性および PS 比活性 の測定が、女性ホルモン剤使用中患者の血栓症予知、さらには PS 欠乏症等の血栓性素因を有する場

合にもきわめて有用である可能性がある。

先天性 AT、PC、PS 欠損症は、発症年齢、血栓症の起こしやすさ、症状、などがそれぞれ異なっている。また、PS の現行の遺伝子解析方法には限界があると思われる。血栓症発症には AT 欠損症では遺伝的要因が大きく寄与しており、血栓症発症を未然に防ぐためには、家系調査を行い保因者に予防的指導を行うことが有用であると考えられる。さらに、ワルファリンと同様 NOAC などが使用される場合も、PC・PS 欠損症の診断を困難にする可能性があることに留意すべきだと思われる。

## E. 結論

先天性血栓性素因の診断基準を作成し、その実態調査を踏まえた日本人の特発性血栓症（静脈血栓塞栓症）の予知・予防対策を確立するための診療ガイドの作成は、超高齢化社会を迎えた我が国において重要な課題である。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nishida Y, Mizutani N, Inoue M, Omori Y, Tamiya-Koizumi K, Takagi A, Kojima T, Suzuki M, Nozawa Y, Minami Y, Ohnishi K, Naoe T, Murate T: Phosphorylated Spl is the regulator of DNA-PKcs and DNA ligase IV transcription of daunorubicin-resistant leukemia

- cell lines. *Biochim Biophys Acta*. 1839(4): 265-274, 2014.
- 2) Kato I, Takagi Y, Ando Y, Nakamura Y, Murata M, Takagi A, Murate T, Matsushita T, Nakashima T, Kojima T: A complex genomic abnormality found in a patient with antithrombin deficiency and autoimmune disease-like symptoms. *Int J Hematol*. 100: 200-205. 2014
  - 3) 高木夕希、小嶋哲人: 新規血栓性素因アンチトロンビン抵抗性の発見と今後の展望 *日本臨牀* 72(7), 1320-1324, 2014.
  - 4) 小嶋哲人: 徹底ガイド DICのすべて2014-15 (丸藤哲編) ヘパリン類似物質 救急・集中治療 26(5-6), 887-892, 2014.
  - 5) Kishimoto M, Matsuda T, Yanase S, Katsumi A, Sezuki N, Ikejiri M, Takagi A, Ikawa M, Kojima T, Kunishima S, Kiyoi H, Naoe T, Matsushita T, and Maruyama M: RhoF Promotes Murine Marginal Zone B Cell Development. *Nagoya J Med Sci*. 2014 Aug; 76(3-4): 293-305.
  - 6) Takagi Y, Kato I, Ando Y, Nakamura Y, Murata M, Takagi A, Murate T, Kojima T: Antithrombin-resistant prothrombin Yukuhashi mutation also causes thrombomodulin resistance in fibrinogen clotting but not in protein C activation. *Thromb Res*. 134(4): 914-917, 2014.
  - 7) 村田萌、小嶋哲人: 深部静脈血栓症に対する対策と治療 V. 出血・血栓性疾患「EBM血液疾患の治療2015-2016」金倉讓/木崎昌弘/鈴木律朗/神田善伸: 編 中外医学社 東京pp 439-442, 2014.
  - 8) 小嶋哲人: 新たな血栓性素因: アンチトロンビンレジスタンス *日本検査血液学会雑誌* 15(3), 289-296, 2014.
  - 9) Kovac M, Elezovic I, Mikovic Z, Mandic V, Djordjevic V, Radojkovic D, Lalic-Cosic S, Murata M, Takagi A, Kojima T: High prophylactic LMWH dose successfully suppressed hemostatic activation in pregnant woman with a new prothrombin c.1787G>A mutation. *Thromb Res*. in press.
  - 10) 榛沢和彦: 深部静脈血栓症. 糖尿病医療者のための災害時糖尿病診療マニュアル p68-71 日本糖尿病学会編・著 文光堂 2014
  - 11) 榛沢和彦: 災害時の循環器疾患対応: 災害と肺塞栓症(静脈血栓症). *心臓* 2014, vol. 46, No5, 569-573
  - 12) 榛沢和彦: 災害と静脈血栓塞栓症. 石丸 新 編集、新しい診断と治療のABC 86, 循環器14, 静脈血栓塞栓症、下肢静脈; p102-111 最新医学社 2014
  - 13) 榛沢和彦: 震災(災害)と静脈血栓塞栓症. *International Review of Thrombosis*, 2014, vol. 9 No. 4, 26-31
  - 14) Neki R, Miyata T, Fujita T, Kokame K, Fujita D, Isaka S, Ikeda T, Yoshimatsu J: Nonsynonymous mutations in three anticoagulant genes in Japanese patients with adverse pregnancy outcomes. *Thromb Res*, 133(5), 914-918, 2014
  - 15) 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*, 2(3), 240-244, 2014
- 16) Matsumoto T, Fan X, Ishikawa E, Ito M, Amano K, Toyoda H, Komada Y, Ohishi K, Katayama N, Yoshida Y, Matsumoto M, Fujimura Y, Ikejiri M, Wada H, Miyata T: Analysis of patients with atypical hemolytic uremic syndrome treated at the Mie University Hospital: concentration of C3 p.I1157T mutation. *Int J Hematol*, 100(5), 437-442, 2014
- 17) Mitsuguro M, Okamoto A, Shironouchi Y, Sano M, Miyata S, Neki R, Araki T, Hamamoto T, Yoshimatsu J, Miyata T: Effects of factor VIII levels on the APTT and anti-Xa activity under a therapeutic dose of heparin. *Int J Hematol*, 2014 Nov 23. [Epub ahead of print]
- 18) 宮田敏行, 丸山慶子「日本人における先天性血栓性素因 -欧米との比較-」臨床血液、第55巻、第8号、908-916頁(2014)
- 19) 小林隆夫, 杉浦和子: 女性ホルモン剤と血栓症. 鈴木重統, 後藤信哉編集, 止血・血栓ハンドブック. 西村書店, 東京 (in press)
- 20) 小林隆夫, 杉浦和子: 経口避妊薬とVTE. 福田幾夫責任編集, 臨床医のための静脈血栓塞栓症診断・治療マニュアル. 第1章 静脈血栓塞栓症の病理と病態. 医薬ジャーナル社, 大阪 (in press)
- 21) 小林隆夫: 妊娠中および産褥期のVTE. 福田幾夫責任編集, 臨床医のための静脈血栓塞栓症診断・治療マニュアル. 第6章 特殊な病態下の静脈血栓塞栓症 (VTE) の診断と治療. 医薬ジャーナル社, 大阪 (in press)
- 22) 小林隆夫, 杉浦和子: 日本人に多い先天性凝固阻止因子欠乏症について教えてください. 特集/OC・LEPの静脈血栓塞栓症リスクQ&A. 産科と婦人科 (in press)
- 23) 小林隆夫, 杉浦和子: 経口避妊薬と活性化プロテインC凝固制御系. *Thrombosis Medicine* (in press)
- 24) 小林隆夫, 杉浦和子: 女性ホルモン剤と血栓症の歴史. *Thrombosis Medicine* 4(4): 69-73, 2014
- 25) 小林隆夫: 妊娠中の血栓塞栓症. 産婦人科分野監修: 小西郁生. 今日の臨床サポート (改訂第2版). 永井良三, 木村健二郎, 上村直実, 桑島巖, 今井靖, 名郷直樹, 編. エルゼビア・ジャパン, 2014  
(<http://clinicalsup.jp/jpoc/>)
- 26) 小林隆夫: 肺血栓塞栓症の治療と予防指針. 岡元和文編著, 救急・集中治療最新ガイドライン2014-'15, 総合医学社, 東京, pp303-307, 2014
- 27) 小林隆夫: 検査値のみかた Dダイマー. 最新女性医療 1(1): 52-53, 2014
- 28) 小林隆夫: わが国における静脈血栓塞栓症の最近の動向. 産科と婦人科 81(8): 933-938, 2014
- 29) 小林隆夫: 癌関連血栓症患者の血栓

- 予防に関するガイドンス（再発血栓症と出血を含む）. ISTH（国際血栓止血学会のSSC版）. *International Review of Thrombosis* 9(2): 48-51, 2014
- 30) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防対策. *日本臨床* 72(7): 1303-1308, 2014
- 31) 小林隆夫: 特集 管理法はどう変わったか?: 温故知新 産科編. 妊婦血栓塞栓症. *周産期医学* 44(3): 391-395, 2014
- 32) 小林隆夫: 低用量ピルによる血栓症リスク. *日本医事新報* No4690: 60-61, 2014
- 33) Hayashi T, Nakagawa N, Kadohira Y, Morishita E, Asakura H: Rivaroxaban in a patient with disseminated intravascular coagulation associated with an aortic aneurysm: a case report, *Ann Intern Med* 161(2):158-159, 2014.
- 34) Sekiya A, Morishita E, Maruyama K, Torishima H, Ohtake S: Fluvastatin upregulates the expression of tissue factor pathway inhibitor in human umbilical vein endothelial cells. *J Atheroscler Thromb* (in press).
- 35) Yoshikawa Y, Kitayama J, Ishikawa H, Nakamura A, Taniguchi F, Morishita E, Ago T, Nakane H, Kitazono T: Fulminant bilateral cerebral infarction caused by paradoxical embolism in a patient with protein S Ala525Val substitution. *Neurology and Clinical Neuroscience*. (in press).
- 36) 森下英理子: まれな凝固因子異常症. *プリンシプル血液疾患の臨床: よくわかる血栓・止血異常の臨床*. 金倉譲, 富山佳有昭 編集, p. 67-80, 中山書店. 2014. 11. 20.
- 37) 森下英理子: 徹底ガイド DICのすべて2014-15, VIII. 基礎病態と治療-血管性病変. *救急・集中治療* 26(5-6): 851-855, 2014.
- 38) 森下英理子: 徹底ガイド DICのすべて2014-15, IX. 治療薬-抗線溶薬(内科系). *救急・集中治療* 26(5-6):929-934, 2014.
- 39) 森下英理子: 新しい経口抗凝固薬のモニタリング検査. *臨床検査* 58(8): 979-986, 2014.
- 40) 森下英理子: 遺伝子検査. *日本臨床* 72(7):1237-1242, 2014.
- 41) 林朋恵, 森下英理子: 造血幹細胞移植後関連TMA. *日本血栓止血学会誌*, 2014.

## 2. 学会発表

- 1) 中村友紀、村田萌、安藤裕実、加藤衣央、高木夕希、高木明、兼松毅、岸本磨由子、鈴木伸明、松下正、齋藤英彦、小嶋哲人: 血友病B・40家系における血液凝固第IX因子遺伝子解析 第36回日本血栓止血学会学術集会、大阪、平成26年5月29-31日（ポスター優秀賞：P-058）
- 2) 村田萌、高木夕希、中村友紀、長谷部瞭、小塚敏弘、中田悠紀子、高木明、村手隆、松下正、小嶋哲人: アンチロンビン抵抗性検出検査法の自動凝固検査機器への最適化 第15回日本検査血液検査血液学会学術集会、仙台、平成26年7月20-21日
- 3) 村田萌、高木明、岸本磨由子、清井

- 仁、松下正、小嶋哲人：原因不明であった静脈血栓塞栓症にみられたアンチトロンビン抵抗性を示す本邦2家系目のプロトロンビン異常症 第33回日本臨床検査医学会東海・北陸支部例会、名古屋、平成26年8月2日
- 4) M Murata, Y Takagi, Y Nakamura, R Hasebe, T Kozuka, Y Nakata, A Takagi, T Kojima: Optimization of the antithrombin resistance assay for the automated analyzer. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成26年10月9-11日
- 5) Y Nakamura, M Murata, Y Takagi, T Kozuka, Y Nakata, R Hasebe, A Takagi, T Matsushita, T Kojima: Precise genetic abnormalities in four hemophilia B patients with large deletions of X-chromosome including entire F9. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成26年10月9-11日
- 6) R Hasebe, T Kozuka, Y Nakata, Y Nakamura, Y Takagi, M Murata, A Takagi, T Kojima: A wide variety of *F8* gene abnormality of hemophilia A in Nagoya. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成26年10月9-11日
- 7) T Kozuka, R Hasebe, Y Nakata, Y Nakamura, Y Takagi, M Murata, A Takagi, T Kojima: Skewed X chromosome inactivation caused moderately severe hemophilia B in a Japanese female. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成26年10月9-11日
- 8) T Kojima : Symposium 9 / The front line of thrombosis and hemostasis research: Antithrombin resistance. 第76回日本血液学会学術集会、大阪、平成26年10月30-11月1日
- 9) 中村友紀、村田萌、高木夕希、小塚敏弘、中田悠紀子、長谷部暲、高木明、村手隆、山崎鶴夫、鈴木伸明、松下正、小嶋哲人: Gene analysis in an unprecedented rare case of mild hemophilia A combined with factor V deficiency. [PS-2-264: 優秀ポスター賞] 第76回日本血液学会学術集会、大阪、平成26年10月30-11月1日
- 10) Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura, Symposium 2, Thrombosis, leukocytes and vascular cells, Registry of hereditary thrombotic microangiopathies in Japan, The 18th *International Vascular Biology Meeting*, April 14-17, 2014, Kyoto, Japan.
- 11) 宮田敏行: シンポジウム「TTPとHUS(総会長シンポジウム)」、「TTP/HUSの遺伝子解析」、第62回日本輸血・細胞治療学会総会、2014年5月16日、奈良市
- 12) 宮田敏行: プロテインS研究会シンポジウム、APC凝固制御異常と血栓性素因、「プロテインS徳島は日本人に特有の変異なのか?」、第36回日本血栓止血学会学術集会、2014年5月30日、大阪市
- 13) 宮田敏行、Wanyang Liu、Tong Yin、奥田裕子、原田浩二、Xinping Fan、小泉昭夫: 「静脈血栓症のリスクとなるプロテインS K196E変異の地理的分布」、第36回日本血栓止血学会学術集会、2014年5月29日-31日、大阪市



- 14) 宮田敏行、内田裕美子、吉田瑤子、池島裕子、Fan Xinping、芦田明、和田英夫、大塚泰史、中村健治、石川智朗、八田和大、服部元史、久野正貴、才田謙、西尾健治、瀧本智仁、幡谷浩史、大原敦子、川村尚久、波多江健、松本雅則、加藤秀樹、南学正臣、藤村吉博：「日本人の非典型溶血性尿毒症症候群患者 41 人の遺伝子解析」、第 51 回補体シンポジウム、2014 年 8 月 22-23 日、神戸市
- 15) 小林隆夫：静脈血栓塞栓症に関する最近の話題。第 6 回関西凝固線溶研究会学術講演会特別講演。大阪，2015. 1. 31
- 16) 小林隆夫：OC・LEP 製剤と血栓症－安全処方のために－。第 36 回日本エンドメトリオーシス学会学術講演会ランチョンセミナー。東京，2015. 1. 25
- 17) Kazuko Sugiura, Toshiyuki Ojima, Takao Kobayashi. Risk of thromboembolism and other adverse events by body mass index in Japanese oral contraceptive users. The 25th Annual Scientific Meeting of the Japan Epidemiological Association, Nagoya, 2015. 1. 23
- 18) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症－安全処方に向けて－。平成 26 年度岩手産科婦人科学会集談会。盛岡，2015. 1. 17
- 19) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症－安全処方に向けて－。第 224 回大分市医師会産婦人科臨床検討会。大分，2015. 1. 16
- 20) 小林隆夫：血栓症と検査。第 2 回薬の安全処方を考える会。大阪，2014. 12. 5
- 21) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症。第 1 回薬の安全処方を考える会。大阪，2014. 11. 21
- 22) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症。第 29 回日本女性医学会学術集会教育講演。東京，2014. 11. 1
- 23) 小林隆夫：知られていない？日常生活とエコノミークラス症候群－女性ホルモン剤と静脈血栓塞栓症－。世界血栓症デー。東京，2014. 10. 13
- 24) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症に関する最新の話題。新潟県産婦人科医会研修会。新潟，2014. 10. 4
- 25) 小林隆夫：血栓症と検査。第 2 回薬の安全処方を考える会。福岡，2014. 10. 3
- 26) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症に関する最新の話題。第 3 回女性内分泌診療研究会。大阪，2014. 9. 27
- 27) 小林隆夫：血栓症と検査。第 2 回薬の安全処方を考える会。横浜，2014. 9. 26
- 28) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓症－その安全処方に向けて－。尼崎産婦人科医会。尼崎，2014. 9. 20
- 29) 小林隆夫：女性ホルモン剤と肺塞栓症に関する最新の話題。札幌市産婦人科医会学術講演会。札幌，2014. 8. 23
- 30) 小林隆夫：血栓症と検査。第 2 回薬の安全処方を考える会。東京 B，

2014. 8. 22
- 31) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓症. 第 1 回薬の安全処方を考える会. 東京 B, 2014. 7. 19
- 32) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓症に関する最新の話題. 第 302 回奇松会学術講演会. 浜松, 2014. 7. 18
- 33) 小林隆夫: 静脈血栓症予防の現状～院内での取り組みと安全対策の重要性について～. COVIDEIN 第 10 回 VTE 医療安全セミナー in 栃木, 下野, 2014. 7. 5
- 34) 小林隆夫: LEP 製剤の血栓症リスクに関する話題. 柏市地区産婦人科医会学術講演会. 柏, 2014. 7. 1
- 35) 杉浦和子、尾島俊之、小林隆夫: 日本における過去 10 年間の血栓塞栓症患者数の推移. 第 60 回東海公衆衛生学会学術大会, 名古屋, 2014. 7. 19
- 36) 杉浦和子、尾島俊之: 日本における血栓塞栓症患者死亡数の推移. 第 73 回日本公衆衛生学会総会, 宇都宮, 2014. 11. 5
- 37) 小林隆夫: わが国における肺塞栓症予防の変遷. 第 36 回日本血栓止血学会学術集会教育講演 2. 大阪, 2014. 5. 30
- 38) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓症の最近の話題. 第 41 回品川地区産婦人科臨床研究会. 東京, 2014. 5. 22
- 39) 小林隆夫: 血栓症と検査. 第 2 回薬の安全処方を考える会. 仙台, 2014. 5. 10
- 40) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓症～その安全処方のためにも～. 弘前市医師会産婦人科部会講演会. 弘前, 2014. 5. 2
- 41) 小林隆夫: 血栓症と検査. 第 2 回薬の安全処方を考える会. 広島, 2014. 4. 26
- 42) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓症. 第 1 回薬の安全処方を考える会. 福岡, 2014. 4. 4
- 43) Kosugi I, Matano A, Morishita E, Taniguchi F. An uncommon case of deep venous thrombosis and pulmonary thromboembolism in a juvenile with compound heterozygous congenital protein S deficiency. XXVI World Congress of the International Union of Angiology, August 10-14, 2014, Sydney, Australia.
- 44) Nomoto H, Morishita E, Takami A, Katsu S, Yamaguchi D, Yasuo Morishima M, Onizuka M, Kashiwase K, Fukuda T, Kodera Y, Suzuki Y, Nitta N, Nakao S, Ohtake S. Thrombomodulin has a significant impact on transplant outcomes after HLA-fully-matched unrelated bone marrow transplantation for standard risk hematologic malignancies. American Society of Hematology, December 6-9, 2014, San Francisco, USA. 56<sup>th</sup> American Society of Hematology Annual Meeting, December 5-9, 2014, San Francisco, USA.

- 45) 森下英理子:抗凝固薬と血液凝固線溶系検査. B I・生活習慣病セミナー, 2014. 4. 15, 金沢.
- 46) 森下英理子, 林朋恵: 大動脈瘤・大動脈解離に伴う止血・凝固異常(慢性 DIC). (シンポジウム). 第46回日本動脈硬化学会総会・学術集会, 2014. 7. 10, 東京.
- 47) 森下英理子:血液凝固異常症に遭遇した場合の臨床診断の進め方. 第9回四国ナノピア凝固・線溶研究会, 2014. 9. 27, 松山.
- 48) 森下英理子:活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)測定値の解釈—臨床の現場から—. 平成26年度日臨技中部圏支部 医学検査学ランチョンセミナー, 2014. 9. 28, 富山.
- 49) 森下英理子:ヘムオキシゲナーゼ1(HO-1)/一酸化炭素(CO)による抗血栓作用の調節. 第19回近畿血栓症研究会 北浜フォーラム, 2014. 10. 11, 大阪.
- 50) 森下英理子:静脈血栓塞栓症の危険因子. 第2回日本肺高血圧学会・第3回日本肺循環学会合同学術集会教育セミナー, 2014. 10. 4, 東京.
- 51) 森下英理子:なぜ血は固まるの?—血が固まらないはずの血管の中で血が固まる話—. 世界血栓症デー日本 市民公開講座2014, 2014. 10. 13, 東京.
- 52) 林朋恵, 門平靖子, 森下英理子, 朝倉英策, 中尾眞二:抗リン脂質抗体症候群における抗リン脂質抗体のプロファイル. 第111回日本内科学会学術集会(東京), 2014. 4. 11-13.
- 53) 關谷暁子, 林朋恵, 川野充弘, 津田友秀, 金秀日, 野本明華, 谷口文苗, 山口大介, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子:血中可溶性Merチロシンキナーゼは妊娠中に増加する, 第36回日本血栓止血学会学術集会, 大阪国際交流センター, 2013年5月29日~31日
- 54) 谷口文苗, 山口大介, 關谷暁子, 野本明華, 小杉郁子, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子:広範な下肢深部静脈血栓症を呈した, 複合ヘテロ接合体先天性プロテインS欠損症の一例, 第15回日本検査血液学会学術集会, 仙台国際センター, 2014年7月20日~21日
- 55) 山口大介, 谷口文苗, 關谷暁子, 野本明華, 佐藤那美, 森永浩次, 岩澤仁, 大竹茂樹, 森下英理子:当研究室におけるアンチトロンビン遺伝子解析の総括, 第15回日本検査血液学会学術集会, 仙台国際センター, 2014年7月20日~21日
- 56) 谷口文苗, 山口大介, 野本明華, 高田麻央, 小林英里奈, 關谷暁子, 門平靖子, 林朋恵, 朝倉英策, 中尾眞二, 大竹茂樹, 森下英理子:当研究室における先天性プロテインS, プロテインC, アンチトロンビン欠損症の遺伝子解析の総括, 第76回日本血液学会学術集会, 大阪国際会場, 2014年10月31日~11月2日
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

プロテインS K196E 変異検出法、  
2014年9月24日国内出願、特許出願  
2014-194080

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

## 先天性（家族性／遺伝性）血栓性素因

### <疾患概念>

先天性（家族性／遺伝性）血栓性素因は、血液凝固とその制御に関わる因子の遺伝的障害により血栓傾向を示す病態で、時に致死性となる静脈血栓塞栓症の若年発症や繰り返す再発の原因となる。静脈血栓（塞栓）症の発症原因は多因性で、発症リスクとなる先天性血栓性素因をもつ場合は、発症前でも身体的な予防的対処が望まれる。また、先天性血栓性素因の保因者では、静脈血栓（塞栓）症を一度発症すると再発リスクが高いため、身体的な予防的対処に加えて抗凝固薬投与などによる積極的な長期予防が必要な場合がある。

### 1. 主要項目

#### (1) 臨床所見

静脈血栓（塞栓）症の家系内多発、若年性（40歳以下）発症、繰り返す再発、まれな部位発症（上矢状洞静脈洞、上腸間膜静脈など）などの特徴や、まれに動脈血栓症もみられる。

#### (2) 血液・生化学的検査所見

生理的血液凝固阻止因子（アンチトロンビン、プロテインC、プロテインSなど）の活性が健常人の50%程度の家族性／遺伝性低下を示し、診断の参考となる。この場合、ビタミンK拮抗薬服用、肝機能障害、妊娠、女性ホルモン剤使用、ネフローゼ症候群、静脈血栓症の発症急性期、感染症などによる二次的活性低下の除外診断が必要となる。また、参考事項にあげる血液凝固とその制御に関わる因子の遺伝子解析により、確定診断を下すことができる。

#### (3) 除外事項

血小板障害、血管障害、血流障害、抗リン脂質抗体症候群、および悪性腫瘍に伴う血栓傾向を除く。

### 2. 参考事項

静脈血栓（塞栓）症の発症リスクとなる遺伝子異常が同定されている血液凝固とその制御に関わる因子の主なものを以下にあげる。

- a. 凝固阻止因子（アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS欠乏症など）
- b. 血液凝固第V因子（活性化プロテインC抵抗性）
- c. プロトロンビン（アンチトロンビン抵抗性）
- d. その他（F2 G20210A、FIX Padua など）

### 3. 診断基準

確実例：

血液凝固とその制御に関わる因子の遺伝子解析もしくは活性測定（複数回測定で二次的異常を除外）により、先天性（家族性／遺伝性）に静脈血栓（塞栓）症の発症リスクをもつと診断されるもの。

ほぼ確実例：

静脈血栓（塞栓）症を発症\*、かつ以下項目の2つ以上を示すもの。

（\*CT、MRI、超音波等の画像検査にて確認された無症候性のものも含む）

1. 家系内多発
2. 若年性（40歳以下）発症
3. 繰り返す再発
4. まれな静脈（上矢状洞静脈洞、上腸間膜静脈など）での発症

## 発性血栓症リスク・AT resistance 検出検査

研究分担者 小嶋 哲人 名古屋大学医学部 教授

### 研究要旨

本研究班で我々は、プロトロンビン・Yukuhashi 変異 (c. 1787G>T, p. R596L) による新しい静脈血栓素因・アンチトロンビン抵抗性 (AT resistance : ATR) を報告した。今回、我々は ATR 検出検査法を開発し、原因不明であった日本人 VTE 2 家系に新たな ATR 症例を同定した。症例 1 は 22 歳女性、13 歳時に VTE 発症。症例 2 は 45 歳男性、発症後内服していたワルファリンを自己中断して VTE 再発。いずれも VTE の家族歴があったが、原因は不明であった。今回の ATR 検出検査では、ともに患者由来トロンビン活性は明らかな AT による不活化不良を示し、ATR と診断された。また、*F2* 遺伝子解析では、ともにプロトロンビン Belgrade 変異 (c. 1787G>A, p. R596Q) を検出した。これまで原因不明とされた血栓性素因の中には ATR が潜在するものと考えられ、血漿検体を用いて解析する我々の開発した ATR 検出法は簡便かつ遺伝子変異が異なる ATR も検出可能であることから、日常診療での静脈血栓症リスクの臨床検査法として有用である。

### A. 研究目的

我々は、長らく原因が不明であった静脈血栓塞栓症 (VTE) 家系において、発端者のプロトロンビン遺伝子に血栓症の原因となるミスセンス変異 (c. 1787G>T, p. R596L : プロトロンビン Yukuhashi) を同定し、本研究班でも報告してきた。変異由来の異常トロンビンは、重要な生理的凝固抑制因子であるアンチトロンビン (AT) による不活化に抵抗性 (AT resistance : ATR) を示し凝固活性が持続するため、血栓性素因となることも判明している。また、我々は、この ATR が既存の臨床検査では検出が困難であったため、ATR 異常を血漿検体で簡便に検出する検査法を開発し、やはり本研究班で報告して来た。

今回は、我々が開発したこの ATR 検出検査法により、原因不明であった日本人

VTE 症例に新たな ATR 症例を同定したので報告する。

### B. 研究方法

従来の臨床検査法では原因の特定に至らなかった VTE 発症患者血漿を用い、我々の開発した ATR 検出検査法にて ATR 異常の有無を検討した。また、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 を抽出した。さらに、他施設からの検査依頼については、依頼施設での倫理審査の承認のもとでインフォームドコンセントを得た後、患者から採血した匿名化検体から、同じく白血球よりゲノム DNA を抽出した。各解析検体のプロトロンビン遺伝子 (*F2*) 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。

#### (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

症例1:患者は22歳女性、13歳時に原因不明のVTEを発症した。患者家系の母方に深部静脈血栓症(DVT)の家族歴があり先天性血栓性素因が疑われたが、血栓症初発当時の各種凝血学的検査には異常がなく原因が不明であった。今回、ATR検出検査の結果、患者血漿由来のトロンビン活性は明らかにATによる不活化不良を示しATRと診断された。患者*F2*遺伝子の解析では、2013年にセルビアから報告されたプロトロンビンBelgrade変異(c.1787G>A, p.R596Q)をヘテロ接合体として日本で初めて検出した(図1)。

症例2:45歳男性、2年前にVTEを発症してワルファリンを内服していたが、自己中断してVTEが再度した。母、兄、甥にDVT、VTEの既往があり、先天性血栓性素因が疑われたが、各種凝血学的検査に異常を認めず原因不明であった。今回、ATR検出検査の結果、患者血漿由来のトロンビン活性は明らかにATによる不活化不良を示しATRと診断された(図2)。また、患者*F2*遺伝子解析では、日本で2例目のプロトロンビンBelgrade変異を検出した。

### D. 考察

VTEの発症リスクファクターとしてアンチトロンビン(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症が広く知られている。我々も、これまで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解析し、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。一方、静脈血栓塞栓症173名を対象とした全国的共同研究の解析結果では、約32%(55名)に原因と思われるAT、PC、PS遺伝子変異を同定したが、残り2/3以上の症例では原因同定に至っていない。

今回、従来の凝血学的検査では異常を検出できなかったVTE患者において、我々の開発した検査法にてAT-Rを検出し、*F2*遺伝子解析にて日本人で初めてR596Q変異、プロトロンビンBelgrade変異を2家系に同定した。この変異は現在までにセルビア人のほかインド人にも報告されており、国内外を問わず、AT-Rは原因不明のVTE患者の中に潜在しているものと考えられる。

このAT-R検出検査法は、患者由来トロンビン活性のアンチトロンビンによる不活化動態を評価する方法であり、ワルファリン服用中での検体においても解析が可能であることよりその利便性が高く、実臨床においても有用な検査法であると考えられる。

### E. 結論

今まで原因不明とされた血栓性素因



の中には ATR が潜在するものと考えられる。我々の開発した ATR 検出法は血漿検体を用いて解析するもので、遺伝子変異が異なる ATR でも検出可能であることから、日常診療での静脈血栓症リスクの臨床検査法として有用である。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nishida Y, Mizutani N, Inoue M, Omori Y, Tamiya-Koizumi K, Takagi A, Kojima T, Suzuki M, Nozawa Y, Minami Y, Ohnishi K, Naoe T, Murate T: Phosphorylated Sp1 is the regulator of DNA-PKcs and DNA ligase IV transcription of daunorubicin-resistant leukemia cell lines. *Biochim Biophys Acta.* 1839(4): 265-274, 2014.
- 2) Kato I, Takagi Y, Ando Y, Nakamura Y, Murata M, Takagi A, Murate T, Matsushita T, Nakashima T, Kojima T: A complex genomic abnormality found in a patient with antithrombin deficiency and autoimmune disease-like symptoms. *Int J Hematol.* 100: 200-205. 2014
- 3) 高木夕希、小嶋哲人: 新規血栓性素因アンチトロンビン抵抗性の発見と今後の展望 *日本臨牀* 72(7), 1320-1324, 2014.
- 4) 小嶋哲人: 徹底ガイド DICのすべて2014-15 (丸藤哲編) ヘパリン

類似物質 救急・集中治療 26(5-6), 887-892, 2014.

- 5) Kishimoto M, Matsuda T, Yanase S, Katsumi A, Sezuki N, Ikejiri M, Takagi A, Ikawa M, Kojima T, Kunishima S, Kiyoi H, Naoe T, Matsushita T, and Maruyama M: RhoF Promotes Murine Marginal Zone B Cell Development. *Nagoya J Med Sci.* 2014 Aug; 76(3-4): 293-305.
- 6) Takagi Y, Kato I, Ando Y, Nakamura Y, Murata M, Takagi A, Murate T, Kojima T: Antithrombin-resistant prothrombin Yukuhashi mutation also causes thrombomodulin resistance in fibrinogen clotting but not in protein C activation. *Thromb Res.* 134(4): 914-917, 2014.
- 7) 村田萌、小嶋哲人: 深部静脈血栓症に対する対策と治療 V. 出血・血栓性疾患「EBM血液疾患の治療2015-2016」金倉譲/木崎昌弘/鈴木律朗/神田善伸: 編 中外医学社 東京pp 439-442, 2014.
- 8) 小嶋哲人: 新たな血栓性素因: アンチトロンビンレジスタンス *日本検査血液学会雑誌* 15(3), 289-296, 2014.
- 9) Kovac M, Elezovic I, Mikovic Z, Mandic V, Djordjevic V, Radojkovic D, Lalic-Cosic S, Murata M, Takagi A, Kojima T: High prophylactic LMWH dose successfully suppressed hemostatic activation in pregnant

woman with a new prothrombin c.1787G>A mutation. Thromb Res. in press.

## 2. 学会発表

- 1) 中村友紀、村田萌、安藤裕実、加藤衣央、高木夕希、高木明、兼松毅、岸本磨由子、鈴木伸明、松下正、齋藤英彦、小嶋哲人：血友病 B・40 家系における血液凝固第 IX 因子遺伝子解析 第 36 回日本血栓止血学会学術集会、大阪、平成 26 年 5 月 29-31 日 (ポスター優秀賞：P-058)
- 2) 村田萌、高木夕希、中村友紀、長谷部瞭、小塚敏弘、中田悠紀子、高木明、村手隆、松下正、小嶋哲人：アンチトロンビン抵抗性検出検査法の自動凝固検査機器への最適化 第 15 回日本検査血液検査血液学会学術集会、仙台、平成 26 年 7 月 20-21 日
- 3) 村田萌、高木明、岸本磨由子、清井仁、松下正、小嶋哲人：原因不明であった静脈血栓塞栓症にみられたアンチトロンビン抵抗性を示す本邦 2 家系目のプロトロンビン異常症 第 33 回日本臨床検査医学会東海・北陸支部例会、名古屋、平成 26 年 8 月 2 日
- 4) M Murata, Y Takagi, Y Nakamura, R Hasebe, T Kozuka, Y Nakata, A Takagi, T Kojima: Optimization of the antithrombin resistance assay for the automated analyzer. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成 26 年 10 月 9-11 日
- 5) Y Nakamura, M Murata, Y Takagi, T Kozuka, Y Nakata, R Hasebe, A Takagi, T Matsushita, T Kojima: Precise genetic abnormalities in four hemophilia B patients with large deletions of X-chromosome including entire F9. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成 26 年 10 月 9-11 日
- 6) R Hasebe, T Kozuka, Y Nakata, Y Nakamura, Y Takagi, M Murata, A Takagi, T Kojima: A wide variety of *F8* gene abnormality of hemophilia A in Nagoya. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成 26 年 10 月 9-11 日
- 7) T Kozuka, R Hasebe, Y Nakata, Y Nakamura, Y Takagi, M Murata, A Takagi, T Kojima: Skewed X chromosome inactivation caused moderately severe hemophilia B in a Japanese female. The 8th Congress of APSTH, Hanoi、平成 26 年 10 月 9-11 日
- 8) T Kojima: Symposium 9/The front line of thrombosis and hemostasis research: Antithrombin resistance. 第 76 回日本血液学会学術集会、大阪、平成 26 年 10 月 30-11 月 1 日
- 9) 中村友紀、村田萌、高木夕希、小塚敏弘、中田悠紀子、長谷部瞭、高木明、村手隆、山崎鶴夫、鈴木伸明、松下正、小嶋哲人：Gene analysis in an unprecedented rare case of mild hemophilia A combined with factor

V deficiency. [PS-2-264 : 優秀ポ  
スター賞] 第 76 回日本血液学会学  
術集会、大阪、平成 26 年 10 月 30-11  
月 1 日

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。

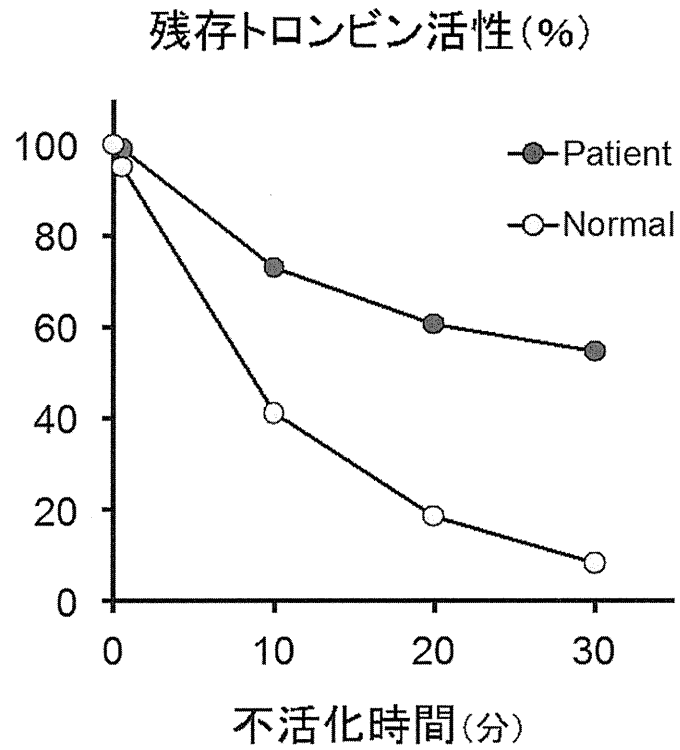
2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

図1. 症例1のATR解析, F2 遺伝子解析



F2 c.1787G>A (p.Arg596Gln)  
 (prothrombin Belgrade)  
 (Djordjevic: *JTH*, 2013)

