

特発性血栓症／先天性血栓性素因サブグループ研究報告

研究分担者

小嶋哲人 名古屋大学
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 慶應義塾大学
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

目的

加齢とともに増加する静脈血栓塞栓症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、超高齢化社会を迎えた我が国において急務である。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）の先天性な誘因となる「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」の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。

計画・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、以下の先天性血栓性素因の診断基準および診療ガイドの策定を目指す。

- (a) 「先天性血栓性素因の診断基準」
- (b) 「先天性血栓性素因患者の診療ガイド」
- (c) 「先天性血栓性素因患者の周術期診療ガイド」
- (d) 「妊娠合併先天性プロテインS欠損症患者の診療ガイド」

初年度にはそれぞれ素案を策定し、2年目には全国医療施設対象のアンケート調査を実施し、3年目にそれぞれ診断基準および診療ガイドの策定を目指す。これらの研究を通して先天性血栓性素因患者における静脈血栓塞栓症の発症予防指針を策定し、特発性血栓症の発症予防を期す。

平成26年度：病態調査、診断基準の作成

平成27年度：診断基準の公表、普及、治療ガイドの作成開始

平成28年度：治療ガイド（周術期、妊娠合併）の完成、新規抗凝固薬を含めたガイド作成

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、以下の先天性血栓性素因の診断基準および診療ガイドの策定を目指す。

先天性（家族性／遺伝性）血栓性素因（修正試案）

<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子の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、その高い発症リスクとなる先天性血栓性素因をもつものでは、発症前からの身体的予防処置が重要である。また、静脈血栓（塞栓）症の既往は再発リスクの一つとなるため、先天性血栓性素因の保因者が静脈血栓（塞栓）症を発症した後は、身体的予防処置に加えて抗凝固薬投与などによる積極的な長期予防が望まれる。

1. 主要項目

(1) 臨床所見

静脈血栓（塞栓）症の家系内発生、若年性（40歳以下）発症、繰り返す再発、まれな静脈（上矢状洞静脈洞、上腸間膜静脈など）での静脈血栓症の発症、などの特徴がみられる。

(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）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、静脈血栓症発症の急性期、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（複数回測定して二次的異常を除外）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も含む)

1. 家系内に静脈血栓（塞栓）症発生が多発
2. 若年性（40歳以下）発症
3. 繰り返す静脈血栓（塞栓）症再発
4. まれな静脈（上矢状洞静脈洞、上腸間膜静脈など）での静脈血栓症発症

個別研究

臨床調査個人票集計による ITP の全国疫学調査

研究分担者 羽藤高明 (愛媛大学)
研究協力者 島田直樹 (国際医療福祉大学)
倉田義之 (四天王寺大学)

1. 方法

厚生労働省に提出された平成 24 年度臨床調査個人票をもとに解析した。

2. 結果および考察

1) 患者数

平成 24 年度の ITP 医療受給者証所持患者は 24,100 人であり、このうち解析可能であった臨床調査個人票は 18,115 人分 (75%) であった。これら解析症例のうち新規患者数は 3,192 人、更新患者数は 14,923 人であり、平成 23 年度とほぼ同数であった。

2) 年齢分布

新規急性型・新規慢性型では男女とも 56-85 歳に幅広いピークがあり、加えて女性では 31-35 歳にもピークを持つ 2 峰性を示した。更新慢性型では男女とも 56-85 歳に幅広いピークがあり、最大ピークは 61-65 歳であった。女性は男性の 2.36 倍であった。

3) 出血症状

新規急性型では紫斑を 77%、下血を 9.1%、脳出血を 2.3%の症例において認め、慢性型よりも出血症状のある症例が多かった。

4) 血小板数

急性型は血小板数 5 万未満の患者が 95%と大多数を占めていた。慢性型では新規症例の 80%が血小板数 5 万未満であったが、更新症例では 47%に減少していることから慢性型では治療により血小板数が増加している症例が増加していると思われた。

5) 特殊検査

骨髄穿刺と PAIgG は 70-90%と高い実施率であったが、抗血小板膜蛋白自己抗体は 6%と低く、網状血小板は近年増加傾向にあるが 14%にとどまっていた。

6) 治療

新規急性型ではプレドニゾン治療が 82%の症例において選択されていた。次いで大量 IgG 療法 31%、ピロリ除菌 28%の順であった。また新規慢性型においてはプレドニゾン治療が 57%の症例で選択され、次いでピロリ除菌、大量 IgG 療法の順であった。慢性更新型ではこの 1 年間にプレドニゾン治療が 56%の症例で選択されていて最も多かった。トロンボポエチン受容体作動薬は近年、急激に使用症例が増加しており、慢性更新型の 9%で使われていた。脾摘は慢性更新型の 14%で行われていた。

7) 合併症

副腎皮質ステロイドによる副作用と考えられる重症感染症は慢性更新型でこの 1 年間に 193 例 (1.5%) が発症しており、脳出血を発症した 53 例 (0.4%) よりも多かった。

抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞検出法の実用化に向けた試み

桑名正隆 日本医科大学アレルギー膠原病内科

我が国では 1990 年に厚生省研究班により作成された ITP の診断基準が現状でも広く用いられている。この基準では、出血症状と血小板減少症があり骨髓検査で巨核球の減少や他系統に異型性がなく、血小板減少をきたしうる他疾患の除外が診断根拠となる。しかし、世界的に ITP は自己免疫疾患であることが共通認識で、免疫性血小板減少症 (immune thrombocytopenia) の呼称が一般的になっている。また、血小板減少をきたす全ての疾患を診療で除外することは現実的に不可能で、そのために数多くの検査を行うことは医療経済的にも好ましくない。そこで、平成 16 年度に本研究班で多施設前向き研究を実施し、ITP に感度、特異度の高い臨床検査に基づいて積極的に ITP を診断する基準案を作成した。本基準は侵襲性の低い血液検査のみで迅速に結果が得られ、感度 93%/特異度 75%と良好な結果を示した。しかしながら、項目に含まれる抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、血小板関連抗 GPIIb/IIIa 抗体、網血小板比率、血漿トロンボポエチンは保険診療上測定できない。抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、網血小板比率、血漿トロンボポエチンは研究目的での受託測定が可能になったが、検査費用が発生することから一般診療で普及していない。これら問題点を解決するためには、再現性・汎用性の高い臨床検査キットの作成、およびその性能評価が不可欠である。そこで、本年度は、すでにキット化に成功している抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞 (ITP-ELISPOT) を体外診断薬としての質を高めることを目的とし、陽性コントロールの設定、保存安定性について基礎検討を行った。その結果、B 細胞の variability を評価する陽性コントロールとして抗ヒト IgG 抗体の固相化、GPIIb/IIIa に対する特異的反応の陽性コントロールとしてキメラ型抗 GPIIb/IIIa モノクローナル抗体を固相化したビーズの使用により課題を解決できることが確認できた。また、固相化 GPIIb/IIIa 抗原の安定性についても長期の安定性を検討中である。今後は改良版 ITP-ELISPOT の性能評価のために、血小板減少症患者を対象とした多施設臨床試験による検証が必要である。

ITP診断における新機種を用いた%IPFの有用性およびITP治療における血小板機能測定の意義に関する検討

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

1) ITP の診断の基本は除外診断であるが、特に再生不良性貧血との鑑別が問題になることが多い。網状血小板(RP)は細胞内に RNA を豊富に含む幼若な血小板であり、網状血小板比率(%RP)は血小板寿命を反映していると考えられている。我々は Flow cytometry を用いた%RP 測定(FCM 法)が ITP と再生不良性貧血の鑑別に有用であることを報告してきた。しかし、FCM 法は精度は高いものの高価な機器と煩雑な操作のため本法による網血小板測定が実施可能な施設は限られている。近年、RP の自動測定が試みられ、シスメックス社製多項目自動血球分析装置を用いて、RNA が含まれる血小板分画を幼若血小板分画 (immature platelet fraction, IPF) として簡便かつ迅速に測定する方法が開発されている。従来の XE-2100 を用いた%IPF 測定は ITP 診断の感度と特異性に難点があったが、最新機器である XN シリーズにおいては IPF 専用チャンネルを設けたことによりその精度の改善が期待されていた。我々は ITP47 例、再生不良性貧血あるいは化学療法後の血小板減少患者 28 例の%IPF を XE-2100 および XN-1000 を用いて測定し、XN1000 を用いた%IPF の有用性に関する検討を行った。

2) ITP の治療は、重篤な出血を回避するため安全と思われる血小板数を維持することを目標になされるが、出血リスクには血小板数だけでなく血小板機能も関与する。ITP 患者において検出される抗血小板抗体の多くは血小板機能に必須の分子である GPIIb-IIIa (α IIb β 3) や GPIb-IX-V 複合体を標的していることから、ITP 患者の血小板機能は正常者と異なる可能性がある。一方、ITP 患者では血栓症の合併が意外に多いこと、また最近、難治性 ITP で広く使用されてきている TPO 受容体作動薬は血小板機能を亢進する可能性があることから、ITP 患者の血小板機能を把握することは重要である。しかし血小板機能検査のゴールドスタンダードとされる比濁法を用いた血小板凝集能検査は血小板減少患者においては信頼できるデータが得られない。我々は FCM を用いることにより血小板減少患者における血小板機能測定法を確立し、ITP 患者における血小板機能の評価を行った。

ADAMTS13活性測定試薬の保険適用取得への活動状況

奈良県立医科大学輸血部 松本雅則、藤村吉博

本研究班TTPサブグループは、本年度にADAMTS13活性が10%未満への著減症例をTTPと診断するという診断基準を作成した。同活性を測定した後、著減の場合にはADAMTS13に対する自己抗体（インヒビター）を確認して、先天性（Upshaw-Schulman症候群）と後天性に区分する。しかし、現状ではADAMTS13活性およびインヒビター測定とも保険適用となっていない上に、測定用キットが体外診断用医薬品として承認されていない。ADAMTS13活性とインヒビターの測定は、TTPの診断ばかりではなく、リツキシマブのTTPに対する保険適用拡大治験やaHUSの診断基準にも関係しており、早期に保険適用となることが望まれる。

そこで本年度は、まずADAMTS13活性およびインヒビター測定の保険収載に向けて、「早期導入を要望する医療機器に関する要望書」を作成した。それを、平成26年6月に日本血液学会を通じて厚生労働省に提出し、7月にヒアリングを受けた。8月のworking groupの会議で検討され、本年度末を目処に結論が得られる予定とのことであった。上記と平行して、国内企業のカイノス社が研究用試薬として販売しているADAMTS13活性測定試薬を、体外診断用医薬品製造販売承認申請するための臨床性能試験を行う予定である。次年度にカイノス社に協力して、国内の複数医療施設での臨床性能試験を実施する予定である。しかし、ADAMTS13活性著減TTP患者は非常に症例数が少ないため、臨床性能試験をどのように進めるのかPMDAとも相談し、検討する必要がある。

このように本年度は、ADAMTS13活性とインヒビターの検査が保険で検査できるように2方向からのアプローチを行った。次年度は、測定用キットが体外診断用医薬品として承認されるように、TTPサブグループの施設を中心に臨床性能試験を行う予定である。

三重大学における TMA の検討

三重大学検査医学 和田英夫

三重大学において以下の検討をしている。

- 1) 肝移植患者の TMA の検討
- 2) aHUS 患者の検討
- 3) TMA と DIC の鑑別

1) 肝移植患者の TMA の検討

肝移植患者では TMA は graft loss 患者で多く、TMA を起こして生存した症例は極めて少ない。このため、肝不全が TMA の原因であることが示唆される。ただし、ADAMTS13 は 10%以下には著減しない。このため、肝移植後の生命予後を予測しうるマーカーを検討した。

79 例の肝移植患者について検討した。12 名が 90 日以内に死亡した (non-survivor)。Survivor に比べて non-survivor で、出血、感染、血栓症などの合併症の頻度が優位に高かった。また、血小板数は移植手術後 14 日、28 日で、non-survivor で優位に低値であった。また、手術後 3 日目で血小板活性化マーカーが優位に高値であった。以上のことから、肝移植患者では著しい血小板の活性化が生じた症例では、合併症を併発し、肝不全になり、TMA の経過を経て死亡することが示唆された。

2) aHUS 患者の検討

我々は aHUS の中で C3 p.I1157T mutation が三重県に多数例存在することを報告した。そこで、C3 p.I1157T mutation 症例の、臨床臓、補体値などをまとめて報告する予定である。

3) TMA と DIC の鑑別

TMA と DIC の鑑別のため、TMA を合併する DIC 症例を集積し、その病態を調べることを試みた。基礎疾患の多くは、骨髄転移を伴う固型癌であったが、一部の感染症でも TMA を合併した。

- 4) 時間が許せば、不育症の原因に fibrinogen 異常が関与することを提示する。

TTP に対するリツキシマブの第Ⅱ相医師主導治験

発表者：宮川義隆（埼玉医科大学医学部）

要旨：難治性疾患実用化研究として、TTP に対するリツキシマブの第Ⅱ相医師主導治験を国内で行った。国内患者数は約 400 名と希少、急性かつ致死的な疾患であるため、1 年と極めて短い治験期間中に効率よく被験者を集めるため、本研究班から多大な支援を受けて目標症例数に達した。試験は平成 26 年 1 月に治験届を提出し、12 月まで国内 13 施設で行った。試験の対象が再発・難治例のため実際の対象は約 100 名と少なく、被験者の集約化が必要とされた。奈良県立医科大学を中心に研究分担者の協力を得て全国の TTP 患者の情報をリアルタイムに集め、さらに TTP お問い合わせセンターを開設することにより、被験者の募集と治験施設への紹介を行った。最終的に 13 名が仮登録され、このうち 7 名が治験薬の投与を受けた。欧米からの既報と同様の効果を認め、新たな重篤な有害事象を認めていない。今後は承認申請に向けた手続きを進める予定であり、国内における TTP 診療の参照ガイド作成に反映されることを期待している。

先天性TTP患者のADAMTS13遺伝子解析
～新たに見つかったスプライシング異常～

国立循環器病研究センター・分子病態部
小亀浩市・宮田敏行

von Willebrand 因子切断酵素 ADAMTS13 の活性著減は、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の要因となる。ADAMTS13 活性を著減させる主な原因として、ADAMTS13 遺伝子異常と抗 ADAMTS13 自己抗体産生がある。前者は先天性 TTP の、後者は後天性 TTP の原因となる。本研究では、日本における先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析を行い、TTP 診断ガイドラインや TTP 治療ガイドラインの作成に寄与することをめざす。今回、先天性 TTP 患者 3 名の解析結果を報告する。

USS-UU 家系の患者は、父由来 c. 2017A>T (p. I673F) と母由来 c. 415-10G>A (p. G139Vfs*17) の複合ヘテロ接合体であった。c. 2017A>T は先天性 TTP の原因として過去に報告した変異と同一である。一方、c. 415-10G>A は今回新たに同定された変異で、その配列の特徴からスプライシング異常が予想された。そこで、患者の末梢血球 RNA を解析したところ、予想通りのスプライシング異常が確認された。

USS-VV 家系の患者は、父由来 c. 2723G>A (p. C908Y) と母由来 c. 577C>T (p. R193W) の複合ヘテロ接合体であった。いずれも日本の先天性 TTP 患者に比較的好くみられる変異である。

USS-WW 家系の患者は、父由来 c. 415-10G>A (p. G139Vfs*17) と母由来 c. 2057G>A (p. W686*) の複合ヘテロ接合体であった。c. 415-10G>A は上記の USS-UU 家系に同定されたスプライシング異常と同一であり、c. 2057G>A は国内外とも報告例のない変異である。

これらの結果を臨床データと合わせて考えることで、TTP に関するガイドライン、特に先天性 TTP の診断ガイドラインに有効活用することができる。

特発性血栓症リスク・AT resistance 検出検査

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、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）を同定した。変異由来の異常トロンビンは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）を示すため血栓性素因となることが判明し、今回我々が開発した ATR 検出検査法にて日本人の原因不明な VTE 症例に新たな ATR 症例を同定したので報告する。

【方法】ATR 検出検査法は、血漿検体におけるトロンビン不活化動態解析法で、トロンビン生成相、トロンビン不活化相、残存トロンビン測定相の3相から成る。希釈血漿検体にプロトロンビンアクチベータ混液（Ox 蛇毒もしくは Va/Xa、リン脂質、CaCl₂）を加えプロトロンビンをトロンビンに活性化し、AT にて一定時間・不活化反応後、発色性合成基質 S-2238 にて残存トロンビン活性を初速度法により測定した。

【症例・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検出した。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。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。

【考察・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。

広島豪雨土砂災害の深部静脈血栓症

新潟大学大学院呼吸循環外科、同災害・復興科学研究所 榛沢和彦、国立病院機構新潟病院内科 伊倉真衣子、福井大学神経内科、地域医療推進講座 山村修、福島県立医科大学心臓血管外科 高瀬信也、佐戸川弘之、横山 斉、同循環器内科 高野真澄、盛岡市立病院検査科 千葉 寛、広島大学第三内科 松本昌泰、水野義人、石原佳代子、同放射線科 久米伸治
広島市福祉保健部 臺丸尚子

広島土砂災害後の8月23日に現地視察に行った山村医師より安佐南区避難所のアメリカ疾病予防センター(CDC)避難所健康環境スコアは30点未満との報告を受け、東日本大震災避難所の同スコア結果よりDVT陽性率は10-20%と推定された。そこで8月25日から27日、9月6日、7日に広島市と避難所のDVT検診を行った。8月25日から27日は23人にエコー検査し6人に下腿DVTを認め、後片付けのため足場の悪い急な坂道を何度も上り下りしたことでリンパ浮腫の増悪による下肢腫脹や関節炎による腫脹を起こした方が多かった。そのため弾性ストッキングを希望する被災者が多かった(LLサイズが他の災害より多く必要であった)。8月25日には佐東公民館に段ボール製簡易ベッドの導入を行った。9月6日、7日は福井大学、福島県立医科大学、広島大学と共同で4チームによる9カ所の避難所で下腿DVT検診を86人(平均年齢62.4才、男37人、女49人)に行い8人(男2人、女6人、平均年齢71.3才)(9.3%)に下腿DVTを認め、男性のDVT陽性率5.4%、女性12.2%であった。また避難所別では梅林小学校で下腿DVTは33人中6人(18.2%)、佐東公民館で30人中2人(6.7%)に認め、その他の避難所は人数も少ないこともありDVTは見つからなかった(計23人に検査)。また9月6日時点で梅林小学校は洋式トイレ2カ所有り簡易ベッド設置無し、佐東公民館は洋式トイレ8カ所有り簡易ベッド設置有り希望者は使用が可能であった。CDC避難所健康環境スコアは9月6日時点で梅林小学校32点、佐東公民館40点であり東日本大震災避難所の同スコアによるDVT陽性率はそれぞれ20%、6%とほぼ同程度であった。また一般住民1501人に行ったDVT検診結果では陽性率は約4%であったことから災害の種類によらずDVTが増加し避難所環境と関連することが示唆された。以上から避難所の環境改善のためにも災害時のDVT予防に関するガイドラインが必要である。

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

国立循環器病センター 分子病態部 宮田敏行、丸山慶子、秋山正志、小亀浩市
金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 病態検査学 關谷暁子、森下英理子

プロテイン S (PS) の機能低下を伴う K196E 変異は、日本人の静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクである(オッズ比: 3.7-8.6)。PS-K196E 変異は、日本人の約 55 人に 1 人の頻度で存在する。本変異保有者の PS 活性値は、平均で約 16% 低下しているが、非保有者の値と大きくオーバーラップするため、活性測定では変異の有無を識別できない。そこで、変異の有無は遺伝子解析で行われてきた。PS-K196E 変異保有者は正常量の PS 抗原量を示すので、血中に異常分子が存在する。本研究では、血中に存在する異常 PS-K196E 分子を検出することにより、本変異保有者を同定する系を確立した。

PS-K196E 変異特異的モノクローナル抗体を作製した。作製には高い親和性と特異性をもつ抗体ができやすい GANP マウスを用いた。次いで、血漿を用いて PS-K196E 変異を検出する ELISA 法を確立した。検体は、遺伝型同定済みの 33 検体で、変異保有者 8 名、野生型 25 名である。野生型の正常者は ELISA での吸光度はすべて 0.1 未満であった。一方、変異保有者の吸光度は 0.3~1.0 と明らかに高い値を示し、全ての検体で変異を同定できた。本測定法は、遺伝子解析を行わずに変異の同定ができるため、本邦における血栓症診療に有用であると考えられる。

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

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

日本人には血栓性素因としてのプロテイン S (PS) 欠損症 (PS 徳島変異は日本人 55 人に 1 人と推定) が多く、妊娠中や女性ホルモン剤使用中に血栓症を発症することがある。しかし、妊娠前や女性ホルモン剤使用前に本症と診断されていることはほとんどなく、対応に苦慮することが多い。本研究では、先天性 PS 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を目的とする。研究方法としては、まずは下記の厚生労働科学研究費補助金難治疾患克服研究事業のデータベースから血栓性素因患者を抽出し、その背景を探り、診療ガイドラインの策定の一助とする。

1. 産婦人科領域の静脈血栓塞栓症の調査 (平成 17-19 年度厚生労働科学研究費補助金難治疾患克服研究事業)
2. 肺塞栓症と深部静脈血栓症の頻度、臨床的特徴に関する研究 (同上)
3. 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 (平成 20-24 年度同事業)
4. 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子 (平成 20-22 年度同事業)
5. 肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症発症数の全国調査研究 (平成 23-25 年度同事業)
6. 不育症を対象とした先天性血栓性素因に関する研究 (平成 23-25 年度同事業)
7. 女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究 (平成 25 年度同事業)

上記研究事業のデータベース以外の文献やデータベース等も利用し、総合的に考察して診療ガイドラインを策定する。とくに、妊娠管理に関しては、血栓症の発症時期や発症リスクを明らかにし、妊娠中の PS 測定において血栓性素因を有しているのか、単に妊娠中に PS 活性が低下しただけなのかの判別可能なシステムを確立したい。また、女性ホルモン剤使用に関しては、日本人の血栓症 (静脈血栓症および動脈血栓症) の発症実態を明らかにし、使用される女性ホルモン剤の処方実績から発症頻度を割出し、日本初のエビデンスを確立するとともに、PS 欠損症等の血栓性素因保有者における安全な処方方法を提言し、服用前および服用中の最適な検査法 (活性化プロテイン C 感受性比や PS 比活性等) を盛り込んだ診療ガイドラインを策定したい。

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

森下英理子¹⁾²⁾、關谷暁子¹⁾、谷口文苗¹⁾、三澤絵梨³⁾、鈴木健史³⁾、新井信夫³⁾

1) 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科保健学専攻病態検査学 2) 金沢大学

医薬保健研究域医学系細胞移植学 3) シスメックス株式会社

【目的】先天性血栓性素因の診断基準を作成するに際して、その臨床症状、検査所見などを詳細に検討することは意義がある。今回、先天性血栓性素因が疑われ当研究室に遺伝子解析を依頼されたAT・PCおよびPS欠損症患者について、血栓症症状、発症年齢、活性値、血栓症誘発因子、遺伝子変異同定率、家族内血栓発症率、などについてまとめた。また、新規経口抗凝固薬(NOAC)がPC・PS・AT活性値におよぼす影響について、心房細動(af)患者を対象として検討した。

【対象・方法および結果】血栓症を発症しAT、PC、PSいずれかの活性低下を認めた発端者とその家族、104家系160症例(AT:17家系32症例、PC:38家系60症例、PS:49家系68症例)を対象とした。50家系82症例に遺伝子変異を認め、変異同定率はAT82%、PC42%、PS41%であった。臨床症状は全ての因子で静脈血栓症が多数を占めたが、PC欠損症では動脈血栓症が全体の約20%と、ATおよびPS欠損症と比較して多かった。発端者の血栓症初発年齢はATでは20代、PSでは40代に発症のピークがみられたのに対し、PCでは10代と40代に二峰性のピークが認められた。血栓症を発症した患者には様々な背景因子が認められたが、特に妊娠、長距離移動が主要なリスクファクターであった。また変異が同定された発端者の家系内血栓症の有無を検索したところ、AT欠損症では7割で家族歴が認められた。

次に、リバロキサバン内服af患者8名を対象とし、free PS抗原量(fPS:Ag)2試薬(免疫比濁法)、PS活性(PS:C)3試薬(凝固時間法)、PC活性(PC:C)2試薬(凝固時間法)、AT活性(AT:C)2試薬(トロンビン法およびXa法、合成基質法)を測定した。服用後の検体において、PS:Cは3種類の試薬のうち2試薬で1~2.5倍程度偽高値となり、PC:Cは2試薬とも1.4倍程度偽高値となった。AT:Cは、トロンビン法ではリバロキサバン服用前後で変化をみとめなかったが、Xa法では服用後に1.3倍程度高値を示した。リバロキサバン服用後に高値を示した項目の測定値は、いずれも検体中のリバロキサバン濃度と正の相関を示し、リバロキサバンによる抗Xa活性とそれに伴うAPTT延長が、PC、PSの偽高値をもたらしたと考えられた。

【結論・考察】 以上の結果より、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た。今回、PS 活性 40%以上の症例では変異を同定することができなかった (PS Tokushima 除く)。一方で 40%未満の活性を示し、かつ血栓症の家族歴があるにも関わらず、変異が同定されない症例もあり、PS の現行の遺伝子解析方法には限界があることが示された。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た。

血栓症の原因検索を、ワルファリンなどの抗凝固剤投与後に行わざる負えないことは多々あり、PC・PS 欠損症の診断をより困難にしてきた。今後、ワルファリンの代わりに NOAC などが使用される場合もあり、活性が偽高値となり診断を見落とす可能性があることに留意すべきであろう。

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患政策研究事業

血液凝固異常症等に関する研究班

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・佐野有果

村田教授室TEL：03-5363-3838

