

- 5) Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N.: The efficacy of the administration of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with DIC. *Int J Hematol.* 2016; 103: 173-179
- 6) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016 [Epub ahead of print]
- 7) Ota S, Wada H, Mastuda A, Ogiwara Y, Yamada N, Nakamura M, Ito M: Anti-Xa activity in VTE patients treated with fondaparinux. *Clin Chim Acta.* 2015; 442: 22-23
- 8) Wada H, Aota T, Matsumoto T, Suzuki K, Imai H, Katayama N: Antithrombin or thrombomodulin administration in severe pneumonia patients with sepsis and disseminated intravascular coagulation: comment on two papers. *J Thromb Haemost.* 2015; 13: 684-5
- 9) Wada H, Aota T, Yamashita Y, Matsumoto T, Katayama N: New Insights of the Tissue Factor Pathway Inhibitor in Patients with Hypercholesterolemia Treated with Statins. *J Atheroscler Thromb.* 2015; 22: 654-5
- 10) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Presence of antiphospholipid antibodies is a risk factor for thrombotic events in patients with connective tissue diseases and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Internal Med.* (in press)
- 11) Yamaguchi T, Wada H, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Sakaguchi A, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Fibrin related markers for diagnosing acute or chronic venous thromboembolism in patients with major orthopedic surgery. *Int J Hematol* 2016 (in press)
- 12) Ikejiri M, Wada H, Yamaguchi T, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Sakaguchi A, Matsumoto T, Ohishi K, Fujimoto N, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with fondaparinux. *Int J Hematol* 2016 (in press)
- 13) Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of

eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation” J Pediatr Hematol Oncol. 2016 Feb 2. [Epub ahead of print]

## 2. 学会発表

- 1) Matsumoto T, Takahashi T, Usui M, Naitoh K, Wada H, Ohishi K, Katayama N, Isaji I: Elevated soluble platelet glycoprotein VI levels in patients after living donor liver transplantation. XXVth ISTH Congress, Tronto, June 20-25, 2015
- 2) 池尻誠、和田英夫：三重大学における先天性血栓性素因の遺伝子診断、静脈血栓塞栓症の危険因子—先天性血栓性素因と後天性要因、第9回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、野村コンファレンスプラザ日本橋、2015年2月28日
- 3) 青田卓実、和田英夫、松本剛史、山下芳樹、片山直之：日本血栓止血学会DIC診断基準案の検討、新DIC診断基準案と実際の臨床、野村コンファレンスプラザ日本橋、2015年2月28日
- 4) 和田英夫：日本血栓止血学会DIC診断基準暫定案検討、日本血栓止血学会・日本救急医学会ジョイントシンポジウム「重症敗血症とDIC—新しいDIC診断基準とアンチトロンビンの役割—」、第37回日本血栓止血学会学術集会、甲府市総合市民会館（甲府市）、2015年5月21日～23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

表 1 血液検査所見の違い

	DIC	TMA
RBC ** ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	303 (243-381)	225 (200-330)
WBC ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	8240 (2100-20300)	7880 (4900-12800)
PLT*** ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	3.8 (1.8-7.0)	1.9 (1.3-3.0)

DIC, 播種性血管内凝固; TMA, 血栓性微小血管障害; RBC, red blood cell;  
WBC, white blood cell; PLT, platelet; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$

表 2 生化学所見の違い

	DIC	TMA
Albumin** (g/dl)	3.2 (2.7-3.5)	3.6 (3.3-3.8)
Creatinine*** (mg/dl)	1.0 (0.8-1.7)	1.7 (1.2-4.3)
LDH*** (IU/L)	512 (313-1036)	2112 (1308-3477)
T-Bil*** (mg/dl)	0.8 (0.5-1.3)	3.8 (2.4-5.5)

DIC, 播種性血管内凝固; TMA, 血栓性微小血管障害; T-Bil, total bilirubin;  
\*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$

表 3 止血系検査の違い

	DIC	TMA
PT 比***	1.39 (1.23-1.63)	1.10 (1.00-1.17)
Fibrinogen*** (mg/dl)	134 (77.5-226)	266 (214-345)
FDP** ( $\mu\text{g/ml}$ )	40.0 (19.8-48.0)	18.2 (7.4-36.9)
AT (%)	77.0 (57.5-93.0)	79.0 (66.0-102)

DIC, 播種性血管内凝固; TMA, 血栓性微小血管障害; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ;  
PT, prothrombin time; FDP, fibrinogen and fibrin degradation products;  
AT; アンチトロンビン

## 先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析に関する研究

研究分担者 小亀浩市 国立循環器病研究センター分子病態部 部長

研究協力者 宮田敏行 国立循環器病研究センター脳血管内科 シニア研究員

### 研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) は、von Willebrand 因子切断酵素 ADAMTS13 の活性著減で発症する指定難病である。ADAMTS13 活性を著減させる原因の一つとして ADAMTS13 遺伝子異常があり、これは先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群) を引き起こす。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、発症メカニズムの解明とともに、TTP 診療ガイドラインの作成に寄与することをめざしている。今年度は、先天性 TTP 疑い患者 3 名 (3 家系) を対象として ADAMTS13 遺伝子解析を行った。ダイレクトシーケンシング法による塩基配列解析の結果、3 家系の患者はそれぞれ、p. C908Y のホモ接合体、p. R973Nfs\*14 と p. G1031D の複合ヘテロ接合体、p. C400R と p. C908Y の複合ヘテロ接合体であった。p. R973Nfs\*14、p. G1031D、p. C400R は海外も含めて未報告の変異であった。これらの結果を臨床データと合わせて考えることで、TTP 関連疾患の診療ガイドライン作成に有効活用することができる。

### A. 研究目的

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) の発症は、フォンビルブランド因子 (von Willebrand factor; VWF) を特異的に切断する血漿プロテアーゼ ADAMTS13 の活性著減で起こる。ADAMTS13 活性の損失は、先天的な ADAMTS13 遺伝子異常あるいは後天的に生じる抗 ADAMTS13 自己抗体によって起こる。特に ADAMTS13 遺伝子異常によって劣性遺伝形式で発症する TTP を先天性 TTP あるいは Upshaw-Schulman 症候群 (Upshaw-Schulman syndrome; USS) と呼ぶ。我々は、先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析、日本人一般住民の ADAMTS13 活性と遺伝子多型の分析、

ADAMTS13 結合タンパク質の探索、ADAMTS13 分子の立体構造解析などに重点をおいて研究を進めてきた。本研究事業では、先天性 TTP 患者の遺伝子解析を継続的に行い、遺伝子異常の特徴や発症メカニズムに関する知見を蓄積することを目的としている。

ADAMTS13 の酵素活性が 10%未満でインヒビターが陰性であれば、先天性 TTP の可能性を考え、遺伝子解析を行う。我々はこれまで、先天性 TTP 疑い患者および家族を対象に ADAMTS13 遺伝子の塩基配列を調べ、先天性 TTP 発症の原因となる遺伝子異常を特定してきた。一般に、遺伝性疾患が疑われる患者の遺伝子の塩基配列は、標的遺伝子の各エクソンを PCR で

増幅して塩基配列を解読する方法、すなわちダイレクト・シーケンシング法によって決定される。我々もまず、ADAMTS13 遺伝子の各エクソンの外側に結合するよう設計した PCR プライマーを用いて、検体 DNA から各エクソンを選択的に増幅させ、その塩基配列を決定する。これまでに我々が行った先天性 TTP 患者解析の場合、約 9 割の症例はこの方法で複合ヘテロ接合性あるいはホモ接合性の原因変異が同定される。ダイレクト・シーケンシング法で原因変異が一つしか、あるいは一つも見つからない場合、ダイレクト・シーケンシング法を効率よく補完する方法として開発したゲノム定量 PCR 法を行っている。この方法で、これまでに 3 患者の ADAMTS13 遺伝子にそれぞれ異なる欠失異常を見出した。

本研究では、新たに見出された先天性 TTP 疑い患者 3 名 (3 家系) の原因変異を明らかにするために、患者および家族の ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。

## B. 研究方法

患者および家族から得られた血球画分を凍結した状態で受け取り、解析を始めるまで冷凍保管した。DNA 調製には illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit (GE ヘルスケア) を使用した。血液からの調製を前提としたキットなので、凍結血球 (約 200  $\mu$ L) を解凍しながら約 100  $\mu$ L の生理食塩水で懸濁して約 300  $\mu$ L の血液と見なし、マニュアルに従って調製した。

全 29 個のエクソンを PCR で増幅するために、24 ペアのプライマーを用いた。セ

ンス方向プライマーの 5' 側に M13F 配列 (TGTAACGACGCGCCAGT) を、アンチセンス方向プライマーの 5' 側に M13R 配列 (CAGGAAACAGCTATGACC) を、それぞれ付加しておいた。これは、あとのシーケンシング反応を効率的に行うためである。エクソン 7 以外は一般的な PCR 条件で容易に増幅させることができた。エクソン 8 および 26-27 の増幅では反応液に DMSO 1  $\mu$ L を添加した。エクソン 7 は GC 塩基の割合が非常に高いため、GC-RICH PCR System (ロッシュ) を使用した。PCR 終了後、1  $\mu$ L を用いてアガロース電気泳動でバンドを確認した。次に、PCR 反応液に残った過剰プライマーの除去と未反応 dNTP の不活化を目的として、ExoSAP-IT (アフィメトリクス) 1  $\mu$ L を加え、37°C/30 分間、80°C/15 分間反応させた。このうち 1  $\mu$ L を鋳型にして、M13F および M13R プライマーでシーケンス反応を行った。BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (アプライド・バイオシステムズ) 試薬の 4 倍希釈液を用いて 5  $\mu$ L/反応で行った。反応終了後、CleanSEQ ダイターミネータ精製試薬キット (ベックマン・コールター) で精製し、Genetic Analyzer 3730xl (アプライド・バイオシステムズ) に供して波形データを得た。

解析ソフトウェア Sequencher (ジーンコード) を用いて波形データを観察し、対象領域 (各エクソンとその前後約 20 塩基) のレファレンス配列と比較した。エクソンに変異が見つかった場合、cDNA 配列 (GenBank: AB069698.2) と照合してアミノ酸配列への影響などを調べた。イントロンに変異が見つかった場合、スプラ

イシングに対する影響等を検討した。なお、エクソンの異常でもスプライシングに影響をおよぼす可能性もあるので、注意深く検討した。変異が先天性 TTP の原因として既知であれば、それを原因変異として確定した。未報告の変異であれば、アミノ酸レベルでの変異の特徴から機能への影響を類推した。日本人の ADAMTS13 遺伝子に存在する 6 個のミスセンス多型、p. T339R、p. Q448E、p. P475S、p. P618A、p. S903L、p. G1181R は原因変異から除外した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は国立循環器病研究センターおよび奈良県立医科大学の倫理委員会で研究計画の承認を受けた上で実施した。研究参加者からは書面でのインフォームドコンセントを得た。

### C. 研究結果

USS-XX 家系の患者は、c. 2723G>A (p. C908Y) のホモ接合体であり、両親とも同変異のヘテロ接合体であった。c. 2723G>A (p. C908Y) 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った。この変異のホモ接合体が見つかったのは本症例が初めてである。

USS-YY 家系の患者は、c. 2918\_2919del (p. R973Nfs\*14) と c. 3092G>A (p. G1031D) のヘテロ接合体であった。母は c. 3092G>A (p. G1031D) のヘテロ接合体であったため、患者の同変異は母由来と考えられた。しかし、父に変異が見出されなかったため、c. 2918\_2919del (p. R973Nfs\*14) の由来アレルは明らかにならなかった。しかし、臨床症状や検査結果等を考慮すれ

ば、患者は c. 2918\_2919del (p. R973Nfs\*14) と c. 3092G>A (p. G1031D) の複合ヘテロ接合体であると考えてよいと判断した。

USS-ZZ 家系の患者は、c. 1198T>C (p. C400R) と c. 2723G>A (p. C908Y) のヘテロ接合体であった。母は c. 2723G>A (p. C908Y) のヘテロ接合体であったため、患者の同変異は母由来と考えられた。父はすでに亡くなっており解析できなかったが、患者の兄は c. 1198T>C (p. C400R) のヘテロ接合体であったため、患者の同変異は父のアレル由来と推定された。つまり、患者は c. 1198T>C (p. C400R) と c. 2723G>A (p. C908Y) の複合ヘテロ接合体であると考えられた。

### D. 考察

遺伝性希少疾患の診断を確定する際、原因変異を特定することはきわめて重要である。次世代シーケンサーの普及に伴い、遺伝子解析の方法は変化していくと予想されるが、希少疾患で、かつ、先天性 TTP のように責任遺伝子が限定されている場合、依然としてダイレクト・シーケンシング法がコスト面等で優れている。本研究では、種々の工夫により効率化したダイレクト・シーケンシング法を行い、先天性 TTP 疑い患者 3 名 (3 家系) に発症原因と考えられる ADAMTS13 遺伝子異常を同定した。今回同定されたのは、ミスセンス変異およびフレームシフトを伴う欠失異常であった。いずれも、ADAMTS13 の本来の機能、すなわち VWF 切断活性を発揮できなくなる変異であると考えられる。これまでの知見から考えると、いずれもタンパク質が細胞外に分泌されなく

なる変異である可能性が高い。

## E. 結論

新たに見つかった先天性 TTP 疑い患者 3 名 (3 家系) の ADAMTS13 遺伝子をダイレクト・シーケンシング法で解析した結果、いずれの患者も両アレル性の ADAMTS13 遺伝子異常であることが明らかになった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Keiko Maruyama, Masashi Akiyama, Koichi Kokame, Akiko Sekiya, Eriko Morishita, Toshiyuki Miyata: ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. PLoS One 10 (7), e0133196 (2015)

Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, José A. Fernández, Hiroji Yanamoto, Yuko Tashima, Koichi Kokame, John H. Griffin, Toshiyuki Miyata: Exacerbated venous thromboembolism in mice carrying protein S K196E mutation. Blood 126 (19), 2247-2253 (2015)

Yu Mi Oh, Hyung Bae Park, Jae Hun Shin, Ji Eun Lee, Ha Young Park, Dhong Hyo Kho, Jun Sung Lee, Heonsik Choi, Tomohiko Okuda, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, In-Hoo Kim, Seung Hoon Lee, Ronald

Schwartz, Kyungho Choi: Ndrgl is a T cell clonal energy factor negatively regulated by CD28-costimulation and interleukin-2. Nat. Commun. 6, 8698 (2015)

Noritsugu Naito, Toshihide Mizuno, Takashi Nishimura, Satoru Kishimoto, Yoshiaki Takewa, Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Kazuma Date, Akihide Umeki, Masahiko Ando, Minoru Ono, Eisuke Tatsumi: Influence of a rotational speed modulation system used with an implantable continuous-flow left ventricular assist device (EVAHEART) on von Willebrand factor dynamics. Artif. Organs, in press.

Xinping Fan, Johanna A. Kremer Hovinga, Hiroko Shirokani-Ikejima, Yuka Eura, Hidenori Hirai, Shigenori Honda, Koichi Kokame, Magnus Mansouri Taleghani, Anne-Sophie von Krogh, Yoko Yoshida, Yoshihiro Fujimura, Bernhard Lämmle, Toshiyuki Miyata: Genetic variations in complement factors in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with renal insufficiency. Int. J. Hematol., in press.

Thuong Manh Le, Koji Hashida, Hieu Minh Ta, Mika Takarada-Iemata, Koichi Kokame, Yasuko Kitao, Osamu Hori: Deletion of Herpud1 enhances heme

oxygenase-1 expression in a mouse model of Parkinson's disease. Parkinsons. Dis., in press.

小亀浩市: ADAMTS13. 新・血栓止血血管学「血管と血小板」, 197-203 (2015)

樋口(江浦)由佳, 小亀浩市: フィブリン線維を架橋することで強固なフィブリン塊を形成して止血を誘導する合成ポリマー. 日本血栓止血学会誌 26 (4), 483 (2015)

丸山慶子, 小亀浩市: ヘモグロビンは GP1b $\alpha$  を介して血小板の活性化とアポトーシスを誘導する. 日本血栓止血学会誌 26 (2), 692 (2015)

樋口(江浦)由佳, 小亀浩市: 先天性 TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) の遺伝子解析. 血栓と循環, 印刷中.

## 2. 学会発表

樋口(江浦)由佳, 小亀浩市, 水野敏秀, 巽英介, 宮田敏行: 補助人工心臓装着による高分子量 VWF マルチマーの減少は循環開始直後に始まる. 第37回日本血栓止血学会学術集会, 甲府, 2015年5月21日-23日

Keiko Maruyama, Masashi Akiyama, Koichi Kokame, Akiko Sekiya, Eriko Morishita, Toshiyuki Miyata: Development of ELISA system for detection of protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous

thromboembolism. XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Toronto, Canada, June 20-25, 2015.

Masanori Matsumoto, Ayami Isonishi, Koichi Kokame, Masaki Hayakawa, Hideo Yagi, Toshiyuki Miyata, Yoshihiro Fujimura: Characteristics and outcomes of patients with Upshaw-Schulman syndrome receiving maintenance hemodialysis due to chronic renal failure. XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Toronto, Canada, June 20-25, 2015.

Magnus Mansouri, Masanori Matsumoto, Zuzana Cermakova, Kenneth D. Friedman, James N. George, Ingrid Hrachovinova, Paul N. Knöbl, Koichi Kokame, Anne Sophie von Krogh, Reinhard Schneppenheim, Sara K. Vesley, Yoshihiro Fujimura, Bernhard Lämmle, Johanna A. Kremer Hovinga: Hereditary TTP - a young patient population with high prevalence of arterial thromboembolic events: first results from the hereditary TTP registry. XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Toronto, Canada, June 20-25, 2015.

宮田敏行, 加藤秀樹, 内田裕美子, 吉田瑤子, 小亀浩市, 福岡利仁, 要伸也, 大田敏之, 浦山耕太郎, 藤永周一郎, 櫻谷



浩志, 喜瀬智郎, 渡邊栄三, 織田成人, 永田裕子, 玉井宏史, 小松真太郎, 前沢浩司, 川村尚久, 永野幸治, 河野智康, 松本雅則, 藤村吉博, 南学正臣: 日本人の非典型溶血性尿毒症症候群患者の遺伝子解析 補体系因子と DGKE の遺伝子変異. 第 52 回日本補体学会学術集会, 名古屋, 2015 年 8 月 21 日-22 日

丸山慶子, 小亀浩市, 秋山正志, 宮田敏行: 野生型プロテイン S および K196E 変異体の発現精製と機能解析. 第 77 回日本血液学会学術集会, 金沢, 2015 年 10 月 16 日-18 日

水野敏秀, 内藤敬嗣, 樋口 (江浦) 由佳, 小亀浩市, 宮田敏行, 築谷朋典, 武輪能明, 巽英介: 植え込み型補助人工心臓が血中 von Willebrand factor に与える影響に関する研究. 第 53 回人工臓器学会大会, 東京, 2015 年 11 月 19 日-21 日

内藤敬嗣, 西村隆, 岸本諭, 水野敏秀, 武輪能明, 樋口 (江浦) 由佳, 小亀浩市, 宮田敏行, 小野稔, 巽英介: 定常流型左室補助人工心臓に用いる自己心拍同期回転数制御システムが von Willebrand factor に及ぼす影響. 第 53 回人工臓器学会大会, 東京, 2015 年 11 月 19 日-21 日

Noritsugu Naito, Toshihide Mizuno, Takashi Nishimura, Satoru Kishimoto, Yoshiaki Takewa, Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Minoru Ono, Eisuke Tatsumi: Influence of a

Rotational Speed Modulation of an Implantable Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device (EVAHEART) on von Willebrand Factor Dynamics. 23rd Annual Meeting of the International Society for Rotary Blood Pumps (ISRBP), Dubrovnik, Croatia, September 27-29, 2015.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

特発性血栓症／先天性血栓性素因サブグループ研究

グループリーダー：森下英理子 金沢大学

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

研究協力者：坂田洋一 自治医科大学 / 津田博子 中村学園大学

横山健次 慶應義塾大学 / 中村真潮 村瀬病院

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 / 關谷暁子 金沢大学

根木玲子 国立循環器病研究センター

## グループ総括

分担研究者：森下 英理子

### 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、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、重症度分類、ならびに診療ガイドの作成を通して、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」の診断基準ならびに重症度分類を作成した。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やアンケートを計画している。また、個別研究として「アンチトロンビン抵抗性およびフィブリノゲン活性化低下により無症状を示した先天性プロトロンビン異常症（Prothrombin Himi）の機能解析に関する研究」、「血栓性素因の調査研究：先天性 AT 欠損症の遺伝子解析」、「日本人の静脈血栓塞栓症のリスクであるプロテイン S-K196E 変異の酵素学的解析に関する研究」、「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－女性ホルモン剤の副作用としての血栓塞栓症の調査結果を中心に」の各個研究が行われた。

### A. 研究目的

我が国では静脈血栓塞栓症（VTE）の発症頻度は欧米に比べて低いと言われてきたが、食生活の欧米化および高齢化に伴い、日本人における VTE の頻度は増加してきている。一方、VTE 発症リスクは人種差があることもわかっており、日本人における VTE 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、日本人のための特発性血栓症の予知・予防のための対策確立を目的とする。

特発性血栓症（先天性血栓性素因による）は、血液凝固制御因子のプロテイン C（PC）、プロテイン S（PS）およびアンチ

トロンビン（AT）の先天的な欠乏などにより、若年性に重篤な血栓症を発症する疾患群である。新生児・乳児期には脳出血・梗塞や電撃性紫斑病などを引き起こすが、小児期・思春期・成人では時に致死性となる VTE の若年発症や繰り返す再発の原因となる。本研究班では、先天性血栓性素因について、その診断基準、重症度分類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 欠乏症」における妊娠合併症例の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ならびに重症度分類の作成とともに、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

「特発性血栓症（先天性血栓性素因による）」の「診断基準」ならびに「重症度分類」を作成した。作成に当たり、「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究班」の研究代表である山口大学の賀正一先生の協力を得て、小児期の年齢別活性値の下限値など貴重なデータを頂戴し、新生児から成人まで用いることができる診断基準を作成した。作成した診断基準および重症度分類は、日本血栓止血学会 SSC 血栓性素因部会、静脈血栓症/肺塞栓症部会にて検討いただいたのち、理事会の承

認を得た。また、作成した診断基準ならびに重症度分類を用いて、「指定難病」の申請を行った。

「アンチトロンビン抵抗性およびフィブリノゲン活性化低下により無症状を示した先天性プロトロンビン (PT) 異常症 (Prothrombin Himi) の機能解析に関する研究」では、無症候性 PT 異常症患者から同定した 2 種類の変異に対するリコンビナント PT を作成し、活性低下にも関わらず無症候である原因を検索した。その結果、M380T 変異 PT は高度な AT 抵抗性と、TM との結合不全があるため、正常よりも凝固活性を持ったトロンビンが多く存在すると考えられる。しかし、M380T 変異トロンビンはフィブリノゲンをフィブリンに変換することが出来ないため、生体内での凝固能はほとんど存在しない。よって、生体内での止血は発端者の PT 蛋白の内約半数を占める R431H 変異 PT が担っていると推測される。R431H 変異 PT は、凝固活性が低下し、さらに TM との結合不全と軽度の AT 抵抗性を示す。よって、R431H 変異 PT は活性が低下しているものの AT による不活化に抵抗するため、通常の PT よりも長く活性が保たれ、その結果止血に必要な凝固能が保たれているのではないかと推測された。

「血栓性素因の調査研究：先天性 AT 欠損症の遺伝子解析」の調査研究では、本研究の 2 年間に AT 欠損症疑い 10 症例の *SERPINC1* 遺伝子解析を行った結果、2 症例に AT 欠損症の原因と思われるミスセンス変異、1 症例に一塩基挿入変異を同定し、1 症例にエクソン 3-5 の欠失と 2 症例にエクソン 7 の欠失とそれぞれの break

point を同定した。また、*SERPINC1* 遺伝子異常を 4 症例で同定できず、AT 活性低下の原因として他の原因の存在が示唆された。

「日本人の静脈血栓塞栓症のリスクであるプロテイン S-K196E 変異の酵素学的解析に関する研究」では、組換えヒト PS K196E 変異体の酵素学的解析を行い、変異による血栓症発症の分子メカニズムを検討した。K196E 変異体の APC 依存性抗凝固能は低下していたが、TFPI 依存性抗凝固能は正常であった。また、PS の抗凝固能発揮に必要なリン脂質との結合や PS の抗凝固能を阻害する C4BP との結合、トロンビンによる切断はいずれも正常であった。以上の結果より、K196E 変異が静脈血栓塞栓症のリスクになるのは、APC 依存性抗凝固能の低下によると考えた。

「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—女性ホルモン剤の副作用としての血栓塞栓症の調査結果を中心に」の調査研究では、「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」に関して、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) のデータベースを用いて日本における女性ホルモン剤の副作用としての血栓塞栓症の発症について調査した。2004 年から 2013 年までの 10 年間に 581 件 (VTE394 件、動脈血栓塞栓症 154 件、部位不明の血栓症 33 件) が報告され、発症頻度は欧米人よりわずかに低い程度であった。服用期間別の発症数では、服用開始 90 日までが最も発症頻度が高かった。40 歳代以降が急激に増加する傾向がみられ、肥満群 (BMI $\geq$ 25) リスクは 2 倍

以上であった。死亡率は極めて低かったが、日本人でも欧米人と同様な傾向であることが判明した。また、全 VTE 患者に占める血栓性素因保有者の割合は 4%前後で、周術期 PE では 2%弱であった。

#### D. 考察

特発性血栓症 (先天性血栓性素因による) は、若年性に重篤な血栓症を発症するが、客観的な診断基準がなかったために、指定難病に認定されていない。今回、新生児・小児における先天性血栓性素因を調査・研究している班と合同で、新生児から成人まで通して用いることができる診断基準を作成したことは、意義深い。今回指定難病申請を行ったので、近い将来医療行政上の補助を患者が受けられるようになることを期待する。また、今後は本診断基準の精度を高めるための調査研究をさらに進めていく必要がある。そして、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研究を継続して行っていく。

新しい血栓性素因である AT 抵抗性は今まで 2 種類の変異が同定され、いずれも VTE を発症した。今回、新たに 2 種類の AT 抵抗性を示す変異トロンピンを同定し、かつ AT 抵抗性に加えてフィブリノゲン活性化能が低下している場合は無症候となる可能性を明らかにした。

VTE を発症し特発性血栓症の原因となる AT 欠乏症の疑われた 10 症例の遺伝子解析の結果、6 症例に原因と思われる遺伝子変異 (ミスセンス変異 2 例、一塩基挿入

変異 1 例、欠失変異 3 例)を同定したが、残り 4 症例では遺伝子変異の同定に至らず、それらの AT 活性低下は、妊娠合併 DVT や原因不明 DVT による消耗性、あるいは新生児期の産生低下によるものと考えられた。エクソン 3-5 欠失例では、break point 解析結果から *SERPINC1* 領域内 (イントロン 2 とイントロン 5) に存在する Alu 配列間の相同組み換えの結果生じたエクソン 3-5 の欠失症例と判明したが、イントロン領域に Alu 配列の多い *SERPINC1* 遺伝子では、これら Alu 配列間での相同組み換えによる欠失変異は比較的多く報告されている。また、エクソン 7 欠失の 2 症例は親子例で、break point 部に 7 塩基挿入が同定されたが、欠失部に挿入 7 塩基を含む 9 塩基の相同配列が存在することから、相同組み換えを繰り返す FoStES (Fork Stalling and Template Switching) モデルによる *SERPINC1* のイントロン 6 から下流 35kb に及ぶ大規模欠失例であることが強く示唆された。

また、日本人の血栓性素因である PS K196E 変異体の性状を正確に理解することは、血栓症の予防や治療に重要である。PS K196E 変異体の酵素学的解析の研究により、APC 依存性抗凝固能は野生型に比べて低下しているが、TFPI 依存性抗凝固能は正常であることが明らかになった。PS K196E 変異が VTE のリスクになるのは、APC 依存性抗凝固能の低下によるものであり、TFPI 依存性抗凝固能は関与しないことが考えられた。K196E 変異は APC との結合部位である EGF2 ドメインに位置することから、変異により APC との結合が低下し、APC 依存性抗凝固能が低下した可能

性が考えられた。

産科の解析では PMDA に報告された症例に限られるものの、日本の OC 服用者の血栓塞栓症の発症率がはじめて明らかになり、その発症頻度は欧米人よりわずかに低い程度であった。また、プロゲスチン世代別にかかわらず服用開始 90 日までが最も発症頻度が高く、以後低下し、1 年半を過ぎるころからほぼプラトーになることが明らかになった。日本人でも欧米人同様、肥満および加齢と関係していることがはじめて明らかになった。また、全 VTE 患者に占める血栓性素因保有者の割合は 4%前後で、周術期 PE では 2%弱であった。今回の検討では血栓性素因のうち PS 欠乏症に特化した結果は得られていないものの、昨年報告したように、「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」で得られた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に資する可能性があり、さらには PS 欠乏症等の血栓性素因を有する場合は、極めて有用である可能性を秘めている。今後は蓄積されたデータの解析をはじめ適切な予知方法を盛り込んだ診療ガイドラインの策定を行いたい。

## E. 結論

今回、先天性血栓性素因の診断基準を作成した。今後は、その実態調査を踏まえ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) Yoshikawa Y, Kitayama J, Ishikawa H, Nakamura A, Taniguchi F, Morishita E, Ago T, Nakane H, Kitazono: Fulminant bilateral cerebral infarction caused by paradoxical embolism in a patient with protein S Ala525Val substitution. *Neurology and Clinical Neuroscience*. 3(3): 105-107, 2015
- 2) 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*. 22(7): 660-668, 2015
- 3) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Yamaguchi D, Nomoto H, Kobayashi E, Takata M, Kosugi I, Takeuchi N, Asakura H, Ohtake S: Late onset thrombosis in two Japanese patients with compound heterozygote protein S deficiency. *Thromb Res*. 135(6): 1221-1223, 2015
- 4) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Matsuo K, Mizuno S, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Ohtake S, Morishita E: A donor thrombomodulin gene variation predicts graft-versus-host disease development and mortality after bone marrow transplantation. *Int J Hematol*. 102(4): 460-70, 2015
- 5) Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T: ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. *PLoS One*. 10(7): e0133196, 2015
- 6) Miyasaka N, Miura O, Kawaguchi T, Arima N, Morishita E, Usuki K, Morita Y, Nishiwaki K, Ninomiya H, Gotoh A, Imashuku S, Urabe A, Shichishima T, Nishimura JI, Kanakura Y: Pregnancy outcomes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab: a Japanese experience and updated review. *Int J Hematol*. 2016 Feb 8. [Epub ahead of print]
- 7) 森下英理子: 第X因子とプロトロンビン、新・血栓止血血管学 凝固と炎症、一瀬白帝、丸山征郎、家子正裕編著、金芳堂、pp20-27、2015
- 8) 森下英理子: PNHの血栓症、発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)、金倉譲、西村純一編、医薬ジャーナル社、pp100-111、2015
- 9) 大谷綾子、福田英ツグ、新山史朗、中橋澄江、長島義宣、青山幸生、森下英理子、向井秀樹. プロテインS欠乏症による難治性下腿潰瘍の1例. 西

- 日本皮膚科、77(5):461-164、2015
- 10) 森下英理子：細血管障害性溶血性貧血の診断と治療。臨床血液、56(7):795-806、2015
- 11) 森下英理子：血栓止血性疾患の遺伝子診断－血栓性疾患。日本血栓止血学会誌。26(5):518-523、2015
- 12) 森下英理子：先天性血栓性素因の診断。日本検査血液学会雑誌16(1):1-10、2015
- 13) 森下英理子：凝固・線溶系のメカニズムと血栓形成。Medicina 52(13):2300-2304、2015
- 14) 森下英理子：先天性素因の検査 アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS。臨床検査 60(2):158-165、2015
- 15) 森下英理子、永井信夫、家子正裕：2015 Hot Topics 線溶分野、日本血栓止血学会誌 27 (1), 2016 (印刷中)
- 16) 森下英理子：フォンウィルブランド因子の臨床検査。BIO Clinica, 2016 (印刷中)
- 17) 森下英理子：「質疑応答 プロからプロへ」不育症例に対する抗凝固療法と対応、日本医事新報 (印刷中)
- 18) 森下英理子：最新情報と今後の展望 2016 (血小板・凝固・線溶系疾患) オーバービュー、臨床血液 57(3):2016 (印刷中)
- 19) Nakamura Y, Murata M, Takagi Y, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Takagi A, Kitazawa JI, Shima M, Kojima T: SVA retrotransposition in exon 6 of the coagulation factor IX gene causing severe hemophilia B. Int J Hematol. 102(1): 134-139, 2015
- 20) Mizutani N, Omori Y, Tanaka K, Ito H, Takagi A, Kojima T, Nakatochi M, Ogiso H, Kawamoto Y, Nakamura M, Suzuki M, Kyogashima M, Tamiya-Koizumi K, Nozawa Y, Murate T: Increased SPHK2 transcription of human colon cancer cells in serum-depleted culture: the involvement of CREB transcription factor. J Cell Biochem. 116(10):2227-38, 2015
- 21) Mizutani N, Inoue M, Omori Y, Ito H, Tamiya-Koizumi K, Takagi A, Kojima T, Nakamura M, Iwaki S, Nakatochi M, Suzuki M, Nozawa Y, Murate T: Increased Acid Ceramidase Expression depends on Upregulation of Androgen-dependent Deubiquitinases, USP2, in a Human Prostate Cancer Cell Line, LNCaP. J Biochem. 158(4):309-19, 2015
- 22) Nikaido T, Tanino Y, Wang X, Sato S, Misa K, Fukuhara N, Sato Y, Fukuhara A, Uematsu M, Suzuki Y, Kojima T, Tanino M, Endo Y, Tsuchiya K, Kawamura I, Frevert C, Munakata M: Serum syndecan-4 as a possible biomarker in patients with acute pneumonia. J Infect Dis. 212(9): 1500-1508, 2015
- 23) Santoso A, Kikuchi T, Tode N, Hirano T, Komatsu R, Damayanti T,



- Motohashi H, Yamamoto M, Kojima T, Uede T, Nukiwa T, Ichinose M: Syndecan 4 mediates Nrf2-dependent expansion of bronchiolar progenitors that protect against lung inflammation. Mol Ther. 2015 Aug 26. in press
- 24) Kishimoto M, Suzuki N, Murata M, Ogawa M, Kanematsu T, Takagi A, Kiyoi H, Kojima T, Matsushita T.: The first case of antithrombin-resistant prothrombin Belgrade mutation in Japanese Ann Hematol. 2015 Oct 19. in press
- 25) Nakamura Y, Ando Y, Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Takagi A, Matsushita T, Shima M, Kojima T: Distinct X chromosomal rearrangements in four haemophilia B patients with entire F9 deletion. Haemophilia. 2015 Dec 21. in press
- 26) 高木夕希、小嶋哲人：アンチトロンビン これだけは知っておきたい検査のポイント 矢富裕：編 Meditina 52(4) 増刊号 100-101, 2015
- 27) 村田萌、小嶋哲人：プロテインC、プロテインS これだけは知っておきたい検査のポイント 矢富裕：編 Meditina 52(4)：108-109, 2015
- 28) 高木夕希、小嶋哲人：Xa阻害薬の薬理作用 ファーマナビゲーター抗凝固療法編 山下武志/是常之宏/矢坂正弘：編 株式会社メディカルレビュー社：pp 72-80, 2015
- 29) 小嶋哲人、高木明、村田萌、高木夕希：アンチトロンビンレジスタンス—新しい遺伝性血栓性素因—、臨床血液 56(6)：632-637, 2015
- 30) 小嶋哲人、高木明：III. 血液凝固系の検査 (pp387-425)、IV. 線溶系の検査 (pp425-428)、V. 血栓・止血の分子マーカー (pp429-441)、VI. 血栓性素因の検査 (pp441-445) 臨床検査法提要 (改訂第34版) 金原出版株式会社 金井正光監修、奥村伸生ほか編：2015
- 31) 中村友紀、小嶋哲人：血友病Bの分子遺伝 Frontiers in Haemophilia 2(2)：15-18, 2015
- 32) 小嶋哲人：アンチトロンビン抵抗性新・血栓止血血管学 凝固と炎症、金芳堂、一瀬白帝、丸山征郎、家子正裕：編 pp29-33, 2015
- 33) 小嶋哲人：アンチトロンビンの基礎と臨床：ヘパリンファクターを含む新・血栓止血血管学 抗凝固と線溶 金芳堂 一瀬白帝、丸山征郎、和田英夫：編 pp441-445, 2015
- 34) 鈴木伸明、小嶋哲人：391. 血友病 血液疾患診療ハンドブック 吉田彌太郎編 医歯ジャーナル社 東京：pp515-530, 2015
- 35) 小嶋哲人：抗凝固薬・ヘパリン類、フォンダパリヌクス、Medicina 52(13)：2318-2321, 2015
- 36) 小嶋哲人：NOACの作用メカニズムと抗凝固としての特性、Life Style Medicine 9(3)：88-92, 2015
- 37) 高木夕希、小嶋哲人：凝固第XI因子

- のアンチセンス療法 循環器内科  
79(1):60-64, 2016
- 38) 高木夕希、小嶋哲人 : 2. 血液凝固接触相 -最近の進歩 - VI. 凝固線溶系 Annual Review 2016血液 高久史磨ほか編 東京: pp212-217, 2016
- 39) Yoshida Y, Miyata T, Matsumoto M, Shirotani-Ikejima H, Uchida Y, Ohyama Y, Kokubo T, Fujimura Y: A novel quantitative hemolytic assay coupled with restriction fragment length polymorphisms analysis enabled early diagnosis of atypical hemolytic uremic syndrome and identified unique predisposing mutations in Japan. PLoS ONE, 10(5), e0124655, 2015
- 40) Tashima Y, Banno F, Akiyama M, Miyata T: Influence of ADAMTS13 deficiency on venous thrombosis in mice. Thromb Haemost, 114(1), 206-207, 2015
- 41) Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T: ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. PLoS ONE, 10(7): e0133196, 2015
- 42) Miyata T, Uchida Y, Ohta T, Urayama K, Yoshida Y, Fujimura Y: Atypical haemolytic uremic syndrome in a Japanese patient with DGKE genetic mutations. Thromb Haemost, 114(4): 862-863, 2015
- 43) Banno F, Kita T, Fernández JA, Yanamoto H, Tashima Y, Kokame K, Griffin JH, Miyata T: Exacerbated venous thromboembolism in mice carrying protein S K196E mutation. Blood. 126(19): 2247-2253, 2015
- 44) Fan X, Kremer Hovinga JA, Shirotani-Ikejima H, Eura Y, Hirai H, Honda S, Kokame K, Taleghani MM, von Krogh A-S, Yoshida Y, Fujimura Y, Lämmle B, Miyata T: Genetic variations in complement factors in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with renal insufficiency. Int J Hematol, 2016, in press.
- 45) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T: Risks of thromboembolism associated with hormonal contraceptives related to body mass index and aging in Japanese women. Thromb Res 137: 11-16, 2016
- 46) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T: Thromboembolism as the adverse event of combined oral contraceptives in Japan. Thromb Res 136: 1110-1115, 2015
- 47) Murakami M, Kobayashi T, Kubo T, Hata T, Takeda S, Masuzaki H: Experience with recombinant activated factor VII for severe post-partum hemorrhage in Japan, investigated by Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology. J Obstet Gynaecol Res 41(8): 1161-1168, 2015

- 48) Makino S, Takeda S, Kobayashi T, Murakami M, Kubo T, Hata T, Masuzaki H: National survey of fibrinogen concentrate usage for post-partum hemorrhage in Japan: Investigated by the Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology. *J Obstet Gynaecol Res* 41(8): 1155-1160, 2015
- 49) Sakon M, Maehara Y, Kobayashi T, Kobayashi H, Shimazui T, Seo N, Crawford B, Miyoshi I: Economic burden of venous thromboembolism in patients undergoing major abdominal surgery. *Value in Health Regional Issues* 6C: 73-79, 2015
- 50) 杉浦和子, 小林隆夫: 日本における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症と肥満および加齢との関係. *Thrombosis Medicine* 6(1): 2016 (in press)
- 51) 小林隆夫, 杉浦和子: 女性ホルモン剤と血栓症. *日本産婦人科・新生児血液学会誌* 25(2): 43-58, 2016
- 52) 小林隆夫, 杉浦和子: 低用量経口避妊薬(OC)と血栓症. 吉川史隆, 倉智博久, 平松祐司編集, 産科婦人科疾患最新の治療2016-2018, 南江堂, 東京, pp47-49, 2016
- 53) 小林隆夫: 肺血栓塞栓症の予防と治療指針. 岡元和文編著, 救急・集中治療最新ガイドライン2016-'17, 総合医学社, 東京: pp311-315, 2015
- 54) 杉浦和子, 小林隆夫: わが国における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症の実態. *Thrombosis Medicine* 5(4): 342-347, 2015
- 55) 小林隆夫: 周産期の電話相談~テレフォントリアージ. 産科編 妊婦12週から36週まで. 静脈瘤ができたのですが. *周産期医学* 45(11): 1551-1552, 2015
- 56) 小林隆夫, 杉浦和子: 女性ホルモン剤の安全な処方と血栓症への対策. 産婦人科の実際臨時増刊号 64(11): 1402-1410, 2015
- 57) 小林隆夫: 妊娠中および産褥期の静脈血栓塞栓症. 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の診断と治療. 医薬ジャーナル社, 大阪: pp373-382, 2015
- 58) 小林隆夫, 杉浦和子: 経口避妊薬と静脈血栓塞栓症(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. トピックス4. 医薬ジャーナル社, 大阪, pp84-85, 2015
- 59) 小林隆夫, 杉浦和子: 経口避妊薬と血栓症—海外における報告を中心に—. *Thrombosis Medicine* 5(3): 255-260, 2015
- 60) 小林隆夫, 杉浦和子: OC・LEP製剤と血栓症—安全処方のために—. *日本エンドメトリオージス学会会誌* 36: 90-97, 2015
- 61) 小林隆夫, 杉浦和子: 女性ホルモン剤と血栓症. *日本女性医学学会雑誌* 22(2): 153-158, 2015

- 62) 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防と治療．一瀬白帝，丸山征郎，内山真一郎編著，新・血栓止血血管学 血管と血小板．金芳堂，京都，pp102-110，2015
- 63) 小林隆夫，杉浦和子：経口避妊薬と活性化プロテインC抵抗性．Thrombosis Medicine 5(2)：171-175，2015
- 64) 小林隆夫：肺血栓塞栓症．日本の妊産婦を救うために2015．日本産婦人科医会医療安全委員会監修，関沢明彦，長谷川潤一編集，東京医学社，東京，pp165-173，2015
- 65) 小林隆夫：静脈血栓塞栓症．特集 高齢妊娠を知る．産婦人科の実際 64(4)：527-534，2015
- 66) 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 82(4)：361-370，2015
- 67) 小林隆夫：産婦人科医のための血栓症大全．小林隆夫監修．ノーベルファーマ株式会社，富士製薬工業株式会社，日本新薬株式会社発行，カンナル印刷，東京，pp1-72，2015
- 68) 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，pp215-229，2015
- congenital dysprothrombinemia with both decreased prothrombin activity and antithrombin resistance. 第77回日本血液学会学術集会、平成27年10月16日～18日、金沢
- 2) Matsuura E，Nakahashi T，Iwaki N，Kadohira Y，Hayashi T，Morishita E，Asakura H，Yamagishi M，Nakao S：Acute coronary syndrome due to a paradoxical embolus during elthombopag treatment for ITP. 第77回日本血液学会学術集会、平成27年10月16日～18日、金沢
- 3) Sekiya A，Misawa E，Suzuki T，Arai N，Furusho H，Hayashi K，Asakura H，Ohtake S，Morishita E：Inflences of rivaroxaban on laboratory data of antithrombin, protein C and protein S activities. 第77回日本血液学会学術集会、平成27年10月16日～18日、金沢
- 4) Kobayashi E，Taniguchi F，Maruyama K，Takata M，Katsu S，Kaneko S，Sekiya A，Ohtake S，Miyata T，Morishita E：第77回日本血液学会学術集会、平成27年10月16日～18日、金沢
- 5) Kadohira Y，Matsuura E，Hayashi T，Morishita E，Asakura H，Nakao S：Multiple coagulation factor inhibitors detected in patients with lupus anticoagulant. 第77回日本血液学会学術集会、平成27年10月16日～18日、金沢
- 6) Maruyama K，Akiyama M，Kokame K，

## 2. 学会発表

- 1) Takata M，Morishita E，Taniguchi F，Sekiya A，Kobayashi E，Asakura H，Takage A，Kojima T，Otake S：A