

平成27年度～平成28年度厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))
総合分担研究報告書

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究

研究分担者 森下英理子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 教授

研究要旨

抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、出血傾向と血栓傾向を併せ持っており、臨床においてしばしば対応に苦慮する。したがって、その病態を解明することは临床上極めて重要なことである。本研究では、抗リン脂質抗体症候群(APS)患者を血栓症発症群、あるいは血小板減少症群に分類し、抗リン脂質抗体(aPL)プロファイルとその臨床像との関連について後ろ向きに検討することにより、血小板減少 APS 症例の病態像を明らかにすることを目的とした。

APS 患者中血小板減少例は約 8%認め、全体と比べると年齢中央値が 20 歳ほど高く、血小板減少の程度は中等度であり、2 万/μl 未満まで低下するような症例は認めなかった。血栓症は、動脈血栓も静脈血栓もどちらも起こしうることが示された。血小板数は少なくとも、抗血栓治療を実施することは二次予防として有効であり、出血の合併症を認めなかった。また、ルーチン検査としての aCL IgG の陽性率は高いが、血小板減少症例に特異的な aPL は特定できなかった。

今回の研究では、最終的に血栓症を発症した aPL 関連血小板減少症患者の検査所見などの特徴を見出すことによって、血栓症発症のリスク因子を特定することを試みたが、症例数が少なく、特異的な所見を絞りこむことができなかった。今後は症例数をさらに増やして病態像を明らかにし、aPL の特異性などを特定することができれば、診療ガイドライン・治療指針の作成などに役に立つと思われる。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、出血傾向と血栓傾向を併せ持っており、臨床においてしばしば対応に苦慮する。したがって、その病態を解明することは临床上極めて重要なことである。本研究において、抗リン脂質抗体症候群(APS)に伴う血小板減少患者の臨床症状、保有する抗リン脂質抗体(aPL)などを後ろ向きに検討することにより、病態像を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

aCL は、抗カルジオリピン抗体(aCL) IgG (MESCUPI)、₂GPI 依存性 aCL(aCL/₂GPI) IgG (ヤマサ)、ループスアンチコアグulant(LA)は金沢大学附属病院にて測定、aCL IgG、抗₂GPI 抗体(a₂GPI) IgG、抗ホスファチジルセリン/プロトロンビン抗体(aPS/PT) IgG は北海道医療大学にて測定した。

B. 研究方法

1. 対象

金沢大学附属病院血液内科外来を受診した抗リン脂質抗体症候群(APS)患者 80 例(男性 24 例/女性 56 例、年齢中央値 45 歳)を対象とした。内訳は、原発性 APS34 例(42%)、二次性 APS:SLE 21 例(26%)、SLE 以外の膠原病 22 例(28%)、その他 3 例(4%)であった。(H28 年度の検討は APS 患者 83 例で行なった。)

臨床所見(重複あり)は、動脈血栓症 39 例(48.8%)、静脈血栓症 52 例(65.0%)、妊娠合併症 21 例(26.3%)、血小板減少症 7 例(8.8%)であった。

3. 倫理面への配慮

本研究は、患者の臨床情報を利用したため、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針を遵守し行われた。すべての研究は倫理委員会にはかり、承認後に研究を進めた。また、本研究は、APS 患者および健常人の血液サンプルを使用する研究が含まれる。研究の施行にあたっては、患者に十分なインフォームドコンセントをおこなうとともに、個人情報等の扱いは十分注意しておこなった。

C. 研究結果

1. 血栓症全体における各種 aPL 陽性頻度

血栓症例を解析すると、動脈血栓症も静脈血栓

症も aPL の陽性率に大きな差異は認めず、両血栓症共に LA が約 50%、aCL IgG が約 70%、aCL/ α_2 GPI IgG (ヤマサ) が約 40%、 α_2 GPI IgG が約 30%、aPS/PT IgG が約 30% で陽性であった。

また、aPL1 種類のみ陽性で診断された APS 症例は、約 90% が aCL IgG (MESCUPI and/or 北海道医療大学) 単独陽性症例であった。aPL triple positive は全体の 43% を占めた。

2. 血小板減少 APS 症例の臨床所見

血小板減少症例は APS 患者 83 例中 7 例 (8.4%) (男性 2 例 / 女性 5 例) 認めており、二次性 APS (SLE) が半数を占めた。年齢中央値は 64.0 歳 (19 歳 ~ 79 歳)、血小板数は中央値 5.6 万 / μ l (2.0 万 ~ 9.2 万 / μ l)、臨床症状は深部静脈血栓症 (DVT) が 5 例、脳梗塞が 3 例、心筋梗塞が 1 例 (重複あり) であった。

治療は、血小板数に関わらずワルファリンと抗血小板剤の併用が 3 例、抗血小板剤 2 剤併用が 1 例、ワルファリン単独投与が 1 例であり、血栓症の再発および出血の合併症は認めていない。

3. 血小板減少 APS 症例の各種 aPL 陽性の頻度

血小板減少例の aCL IgG 陽性例は 6/7 例 (86%) と高率であり、aCL/ α_2 GPI IgG (ヤマサ) および LA も 5 例で陽性であった。また、 α_2 GPI IgG、PS/PT IgG 陽性例がそれぞれ 2 例ずつ認められた。

D. 考察

血栓症の重症例では、LA 陽性および aPL 複数陽性症例 (triple positive) が多くみられ、これまでの報告と同様の所見であることを確認した。

APS 患者中血小板減少例は約 8% 認め、全体と比べると年齢中央値が 20 歳ほど高く、血小板減少の程度は中等度であり、2 万 / μ l 未満まで低下するような症例は認めなかった。血栓症は、動脈血栓も静脈血栓もどちらも起こしうることが示された。治療薬としてワルファリンおよび抗血小板剤が投与されていたが、血小板数は少なくとも、抗血栓治療を実施することは二次予防として有効であり、出血の合併症を認めなかった。

また、ルーチン検査としての aCL IgG の陽性率は高いが、血小板減少症例に特異的な aPL は特定できなかった。また、症例数が少なすぎたため、動脈血栓症を起こしやすい aPL あるいは静脈血栓症を起こしやすい aPL などを特定することはできなかった。

今回の研究では、最終的に血栓症を発症した aPL 関連血小板減少症患者の検査所見などの特徴を見

出すことによって、血栓症発症のリスク因子を特定することを試みたが、症例数が少なく、特異的な所見を絞りこむことができなかった。症例数を増やして、さらなる検討が必要であると思われる。

E. 結論

本研究において、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の患者は、動脈血栓も静脈血栓もどちらも起こし得ることが明らかとなった。今後は症例数をさらに増やして病態像を明らかにし、aPL の特異性などを特定することができれば、診療ガイドライン・治療指針の作成に役立つと思われる。

F. 健康危険情報

本研究期間においては、健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 森下英理子: 症例から学ぶ血液異常症. 第 5 回瀬戸内血液疾患セミナー, 倉敷国際ホテル, 2017 年 3 月 24 日, 倉敷森下英理子: 先天性プロテイン S・プロテイン C 欠損症の遺伝子診断ならびに臨床所見. プロテイン S 研究会シンポジウム. 第 37 回日本血栓止血学会学術セミナー, 2015 年 5 月 21 日 ~ 23 日, 甲府
- 2) 森下英理子: なぜできる!? 静脈血栓症. 世界血栓症デー日本 市民公開講座, 2015 年 10 月 10 日, 大阪
- 3) 森下英理子: トロンボモジュリンと血管内皮傷害. 第 77 回日本血液学会学術集会コーポレートセミナー, 2015 年 10 月 17 日, 金沢
- 4) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療. あきた凝固線溶系セミナー, 2015 年 11 月 27 日, 秋田
- 5) 森下英理子: 静脈血栓塞栓症の成因と治療. 悪性腫瘍ならびに先天性血栓性素因を中心に. 第 14 回千葉循環器クリニックフォーラム, 2015 年 12 月 4 日, 千葉
- 6) 森下英理子: 血液凝固異常の検査の進め方. 第 3 回北陸血栓止血検査研究会, 2015 年 12 月 12 日, 金沢
- 7) Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T. Development of

- ELISA system for detection of Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. International Society of Thrombosis and Hemostasis, 2015.6.20-24, Toronto (Canada)
- 8) 吉田美香, 本木由香里, 關谷暁子, 原和冴, 森下英理子, 野島順三, 家子正裕: ELISA-aPL の測定意義と標準化への提言. 第3回日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 2016年1月23日, 東京
 - 9) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三, 日本における抗リン脂質抗体 ELISA の標準化に向けて - 第2報 -, 第3回日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 2016年1月23日, 東京
 - 10) Morishita E, Takata M, Akiyama M, Miyata T, Takagi A, Kojima T, Sekiya A, Taniguchi F: Asymptomatic Dysprothrombinemia (Prothrombin Himi) with p.M380T and p.R431H shows severely reduced clotting activity, moderate antithrombin resistance and severe thrombomodulin binding defect. 58th American Society of Hematology Annual Meeting. 2016.12.3-6, San Diego (USA)
 - 11) 沼波仁, 飯嶋真秀, 鈴木基弘, 金澤俊郎, 田中宏明, 横田隆徳, 森下英理子: 右内頸動脈閉塞による脳梗塞と多発性深部静脈血栓症をきたしたプロテインS異常症の41歳女性例. 第218回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2016年9月3日, 東京
 - 12) 森下英理子: 先天性血栓性素因. 第37回日本血栓止血学会学術セミナー(教育講演), 奈良春日野国際フォーラム薨, 2016年6月16~18日, 奈良
 - 13) 勝詩織, 關谷暁子, 金子将ノ助, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性AT欠乏症24家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討, 第38回日本血栓止血学会学術集会, 奈良春日野国際フォーラム薨, 2016年6月16~18日, 奈良
 - 14) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療 悪性腫瘍から先天性血栓性素因 - . 印旛沼エリア循環器セミナー, ウィシュトンホテル・ユーカリ, 2016年6月23日, 佐倉
 - 15) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療, 第17回日本検査血液学会学術集会ランチオンセミナー, 福岡国際会議場, 2016年8月7日, 福岡
 - 16) 關谷暁子, 鈴木健史, 三澤絵梨, 末武司, 古莊浩司, 林研至, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子: 直接経口抗凝固薬が血中アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS活性値に与える影響. 第17回日本検査血液学会学術集会, 福岡国際会議場, 2016年8月6日~7日, 福岡
 - 17) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三: 抗リン脂質抗体価測定 ELISA の標準化に向けた取組み. 第17回日本検査血液学会学術集会, 福岡国際会議場, 2016年8月6日~7日, 福岡
 - 18) 上島沙耶香, 關谷暁子, 仲里朝周, 金子将ノ助, 勝詩織, 花村美帆, 高田麻央, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症の遺伝子解析および異常アンチトロンビン蛋白(N87D)の機能解析. 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
 - 19) 金子将ノ助, 關谷暁子, 勝詩織, 上島沙耶香, 花村美帆, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症 25家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討. 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
 - 20) 花村美帆, 關谷暁子, 上島沙耶香, 勝詩織, 金子将ノ助, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 当研究室で実施したプロテインCおよびプロテインS遺伝子解析の総括. 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
 - 21) 金秀日, 津田友秀, 森下英理子, 關谷暁子, 康東天, 濱崎直孝: プロテインS比活性によるプロテインS異常症のスクリーニング. 第48回日本臨床検査自動化学会, パシフィコ横浜, 2016年9月21日~23日, 横浜
 - 22) 金森尚美, 古莊浩司, 關谷暁子, 高島伸一郎, 加藤武史, 村井久純, 薄井莊一郎, 林研至, 森下英理子, 高村雅之: 抗凝固療法が先天性

- 凝固異常のスクリーニング検査に与える影響. 第 64 回日本心臓病学会学術集会, 東京国際フォーラム, 2016 年 9 月 23 日 ~ 25 日, 東京
- 23) 森下英理子: 先天性血栓性素因 (シンポジスト). 第 78 回日本血液学会, 横浜パシフィコ, 2016 年 10 月 14 日, 横浜
- 24) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原 和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三: 日本における抗リン脂質抗体 ELISA の標準化に向けて- 第 3 報 -, 第 11 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, 2017 年 1 月 21 日, 東京
- 25) 森下英理子: 基礎から学ぶ血液凝固異常症. 血液凝固セミナー, 日本医科大学, 2017 年 2 月 20 日, 東京
2. 論文発表
- 1) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Matsuo K, Mizuno S, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Koderu 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
- 2) 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
- 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): 1221-3, 2015
- 4) 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): 660-8, 2015
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 森下英理子: PNH の血栓症, 発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH), 金倉謙, 西村純一編, 医薬ジャーナル社, pp100-111, 2015
- 8) 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
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Nomoto H, Katsu S, Kaneko S, Asakura H, Ohtake S. Gene analysis of six cases of congenital protein S deficiency and functional analysis of protein S mutations (A139V, C449F, R451Q, C475F, A525V and D599TfsTer13). *Thromb Res.* 151:8-16, 2017
- 14) Sekiya A, Taniguchi F, Yamaguchi D, Kamijima S, Kaneko S, Katsu S, Hanamura M, Takata M, Nakano H, Asakura H, Ohtake S, Morishita E. Causative genetic mutations for antithrombin deficiency and their clinical background among Japanese patients. *Int J Hematol.* 105(3):287-294, 2017
- 15) Sekiya A, Hayashi T, Kadohira Y, Shibayama M, Tsuda T, Jin X, Nomoto H, Asakura H, Wada T, Ohtake S, Morishita E. Thrombosis prediction based on reference ranges of coagulation-related markers in different stages of pregnancy. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016. doi: 10.1177/1076029616673732
- 16) Kagami K, Yamazaki R, Minami T, Okumura N, Morishita E, Fujiwara H. Familial discrepancy of clinical outcomes associated with fibrinogen Dofen: A case of huge genital hematoma after episiotomy. *J Obstet Gynaecol Res.* 42(6): 722-725, 2016

- 17) 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 J, Kanakura Y. Pregnancy outcomes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab: a Japanese experience and updated review. *Int J Hematol.* 103(6): 703-12, 2016
- 18) Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, Morishita E, Nakao S, Asakura H. A case of aortic aneurysm-associated DIC that responded well to a switch from warfarin to rivaroxaban. *Int Med.* In press, 2017
- 19) 本木 由香里, 野島 順三, 吉田 美香, 關谷 暁子, 原 和冴, 森下英理子, 家子 正裕. ELISAによる抗リン脂質抗体価測定の標準化に向けて. *日本血栓止血学会誌*, 27(6):644-652, 2016
- 20) 森下英理子: フォンウィルブランド因子の臨床検査, *BIO Clinica*, 31(6):39-43, 2016
- 21) 森下英理子: 先天性素因の検査 アンチトロンピン、プロテインC、プロテインS. *臨床検査* 60(2):158-165, 2016
- 22) 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*, 8月12日号:4816, 2016
- 23) 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):307, 2016
- 24) 森下英理子: その他の先天性凝固異常症・線溶異常症, *血液疾患最新の治療2017-2019*, 小澤敬也, 中尾眞二, 松村到編, 南江堂, 東京, 242-247, 2017
- 25) 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):99-102, 2016
- 26) 森下英理子: 深部静脈血栓症・肺塞栓症の発症機序と危険因子. *日本医師会雑誌* 146(1):22-26, 2017
- 27) 森下英理子: 繰り返す静脈血栓症, むかしの頭で診ていませんか? 血液診療をスッキリまとめました, 南江堂, 東京, 2017(印刷中)
- 28) 森下英理子: 静脈疾患の検査, 動脈・静脈の疾患(上) - 最近の診断・治療動向 -, *日本臨床* 2017年5月増刊(印刷中)
- 29) 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): 307, 2016

H.知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし