

平成 30 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

血液凝固異常症等に関する研究班

第 1 回班会議

日時：平成 30 年 7 月 13 日（金）午前 10 時～午後 4 時 30 分

場所：慶應義塾大学病院 2 号館 11 階中会議室

プログラム・抄録集

研究代表者 村田 満

## 血液凝固異常症等に関する研究班 第1回班会議プログラム

日時：平成30年7月13日（金）午前10時～午後4時30分

場所：慶應義塾大学病院 2号館11階中会議室

10:00～ 研究代表者 挨拶 村田 満

10:10～ 国立保健医療科学院 武村 真治 様

10:20～ **I T P研究班** 研究計画 富山 佳昭

サブグループリーダー：富山 佳昭 大阪大学医学部

研究分担者：桑名 正隆 日本医科大学アレルギー膠原病内科

羽藤 高明 愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部

研究協力者：

藤村 欣吾 安田女子大学／倉田 義之 四天王寺悲田院

柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科／高蓋 寿朗 広島西医療センター

10:35～ **T T P研究班** 研究計画 松本 雅則

サブグループリーダー：松本 雅則 奈良県立医科大学

研究分担者：宮川 義隆 埼玉医科大学医学部

小亀 浩市 国立循環器病研究センター

研究協力者：

藤村 吉博 日本赤十字社近畿ブロック血液センター／和田 英夫 三重大学医学部

上田 恭典 倉敷中央病院／日笠 聡 兵庫医科大学

八木 秀男 奈良県総合医療センター

10:50～ **aHUS研究班** 研究計画 南学 正臣（代）池田 洋一郎

サブグループリーダー：南学 正臣 東京大学医学部

研究分担者：香美 祥二 徳島大学医学部

研究協力者：池田 洋一郎 東京大学医学部／伊藤 秀一 横浜市立大学医学部

丸山 彰一 名古屋大学医学部／芦田 明 大阪医科大学

11:05～ **特発性血栓症研究班** 研究計画 森下 英理子 (代) 津田 博子

サブグループリーダー：森下 英理子 金沢大学

研究分担者：小嶋 哲人 名古屋大学医学部

津田 博子 中村学園大学大学院栄養科学研究科

小林 隆夫 浜松医療センター

大賀 正一 九州大学医学部

研究協力者：

宮田 敏行 国立循環器病研究センター／坂田 洋一 自治医科大学

横山 健次 東海大学医学部附属八王子病院／中村 真潮 村瀬病院

榛沢 和彦 新潟大学教育研究院／尾島 俊之 浜松医科大学

杉浦 和子 名古屋市立大学／根木 玲子 国立循環器病研究センター

辻 明宏 国立循環器病研究センター／和田 英夫 三重大学医学部

落合 正行 九州大学

疫学協力 島田直樹 国際医療福祉大学

杉田 稔 東邦大学

11:20～12:20 **各グループミーティング**

12:20～13:00 **昼食**

13:00～13:40

**I T P班研究報告：司会 富山 佳昭**

羽藤高明 「臨床調査個人票集計による ITP の全国疫学調査」

桑名正隆 「ITP 診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み」

柏木浩和・富山佳昭「成人 ITP 治療参照ガイドの改訂：進行状況および今後の予定」

13:40～14:20

**T T P班研究報告：司会 松本 雅則**

松本雅則 「VWF A1 ドメインに対する新規 DNA アプタマーの血小板凝集阻害効果の検討」

小亀浩市 「先天性 TTP 疑い患者 1 家系の ADAMTS13 遺伝子解析」

宮川義隆 「後天性 TTP に対するリツキシマブの適応拡大」

14 : 20～14 : 50

**aHUS 班研究報告：司会 南学正臣（代）松本 雅則**

香美祥二・伊藤秀一「小児 aHUS 患者に対するエクリズマブ市販後調査の中間解析」

池田洋一郎・南学正臣「成人 aHUS 患者に対するエクリズマブ市販後調査の中間解析」

14 : 50～15 : 00 休憩

15 : 00～16 : 00

**特発性血栓症班研究報告：司会 森下 英理子（代）津田博子**

津田博子 「プロテイン S 活性測定の pre-analytical variables」

小嶋哲人 「プロトロンビン Arg596 変異の ATR 症例」

落合正行・大賀正一

「新生児・小児血栓症の多様性と効率的診断のための遺伝子解析パネル」

和田英夫 「Warfarin hyoersensitive 症例の検討と APTT 波形の解析」

（抄録のみ掲載）

森下英理子「金沢大学におけるアンチトロンビン遺伝子変異解析ならびに

genotype-phenotype 解析」

小林隆夫 「先天性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究」

・先天性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究回答用紙

・別紙：二次調査票（個票調査）先天性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に

関する全国調査研究

**終了**

---

平成 30 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 村田教授室TEL：03-5363-3838

# サブグループ研究

## ITP サブグループ

グループリーダー：富山佳昭	大阪大学医学部附属病院 病院教授
班員：桑名正隆	日本医科大学 教授
羽藤高明	愛媛大学医学部附属病院 病院教授
村田 満	慶應義塾大学医学部 教授
研究協力者：藤村欣吾	安田女子大学 教授
倉田義之	四天王寺大学 元教授
高蓋寿朗	国立病院機構 広島西医療センター 部長
柏木浩和	大阪大学大学院医学系研究科 講師
島田直樹	国際医療福祉大学 教授

ITP 診療に関して本研究班では、従来の成果を継続、発展すべく、H29-H31 において、以下の項目を 3 つの柱として ITP の解析を行う。

- 1) 疫学研究、
  - 2) 治療の標準化、特に ITP 治療の参照ガイドの作成、
  - 3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討
- 以下にその概要を記載

### 1) 疫学研究の継続、発展 (羽藤、倉田、島田)

ITP に関して、H27 年度より特定疾患より指定難病に変更され、臨床個人調査表の様式も改訂されている。本年度より新臨床調査個人票のデータ解析を行う。

### 2) ITP 治療の参照ガイドの作成の継続 (2012 年版の改訂) (柏木および班員)

成人慢性 ITP の診療に関して海外のガイドを参照しつつ、*H. Pylori* 除菌療法、TPO 受容体作動薬を含めわが国のデータを加味し ITP 治療の参照ガイド 2012 年度を作成、公開した (現在オープンアクセス化)。2017 年 3 月にリツキシマブの ITP に対する保険償還が認められたことに対応し、2012 年版の改訂作業を開始した (柏木)。また、班員の協力により Autoimmune thrombocytopenia の単行本を springer 社より 2017 年に発刊でき、本疾患の啓発に努めた

### 3) 病態解析と ITP 診断検査の開発とその普及 (桑名、富山、柏木)

ITP の診断は、いまだ除外診断が主体となっている。そのため、さらなる病態解析とそれに基づく診断法の開発が必要である。当 ITP サブグループが提唱した ITP 診断基準案に関して、その基盤となる検査法の一般化、標準化、保険収載にむけて検討する。

同時に ITP における抗血小板抗体の解析とその検出法の開発、ELISPOT assay の実用化、網状血小板比率測定その他施設共同研究の検討、血小板減少症の鑑別診断など、ITP 診断法の検討およびその病態の解析法の検討を行う。

## TTP サブグループ

グループリーダー：松本 雅則	奈良県立医科大学輸血部	教授
分担研究者：小亀 浩市	国立循環器病研究センター	部長
宮川 義隆	埼玉医科大学総合診療内科 ・血栓止血センター	教授
研究協力者：上田 恭典	倉敷中央病院 血液内科	部長
日笠 聡	兵庫医科大学 血液内科	講師
八木 秀男	奈良県総合医療センター血液・腫瘍内科	部長
森木 隆典	慶応義塾大学 臨床検査医学	准教授
和田 英夫	三重大学医学部 臨床検査医学	准教授
宮田 敏行	国立循環器病研究センター	前部長
藤村 吉博	日本赤十字社近畿ブロック血液センター	所長

### 目的

日本国内のTMA(血栓性微小血管症)症例の集積と病態解析を行い、TTP(血栓性血小板減少性紫斑病)の実態を明らかにし、予後の改善を図る。

### 本年度の計画

以下の項目を実施する。

- 1) TMA レジストリーの継続
- 2) ADAMTS13 遺伝子解析の継続
- 3) リツキシマブの後天性 TTP への保険適用拡大
- 4) 後天性 TTP における HLA 解析
- 5) TTP 診療ガイド改定に向けた準備
- 6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

平成30年度の診療報酬改定において、ADAMTS13検査の保険収載、後天性TTPに対する血漿交換の回数制限の変更など大きな成果を得ることができた。本年度は昨年度までの継続課題に加えて、TTP以外にも検討項目を拡大する計画で、造血幹細胞移植後TMAにおいて、実態を調査するとともに病態解析を行う。

## 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) サブグループ研究計画

サブグループリーダー：南学正臣 東京大学 腎臓・内分泌内科 教授

分担研究者： 南学正臣 東京大学 腎臓・内分泌内科 教授

香美祥二 徳島大学 小児科 教授

研究協力者： 宮田敏行 国立循環器病研究センター 前部長

藤村吉博 日本赤十字社近畿ブロック血液センター 所長

丸山彰一 名古屋大学 腎臓内科 教授

伊藤秀一 横浜市立大学 小児科 教授

芦田 明 大阪医科大学 小児科 講師

池田洋一郎 東京大学 腎臓・内分泌内科 助教

### 目的

本サブグループは、本邦での aHUS 症例の遺伝学解析および生化学的手法による診断とコホート解析を実施している。今後も引き続き aHUS 疑診患者の診断を行うと共に、本邦の新たなガイドライン作成に向けた活動を実施する。

### 進捗状況

2014 年から継続している aHUS のコホート調査は今年で 4 年目を迎える。2013 年までの奈良県立医大の症例をあわせて現在、約 190 例の症例がコホートとして集まっている（奈良県立医大の症例は 77 例）。遺伝子解析したのは Sanger のみ aHUS 130 例 C3 腎症 5 例であり、このうち whole exome sequencing も含めて行った症例は aHUS 50 例、C3 腎症 5 例であった。

溶血試験陽性例は 20～30%程度、抗 CFH 抗体陽性例は 15～20%である。抗体陽性例は欧米と比べて頻度がやや高い。欧米では CFH の遺伝子異常が 20～30%と最も多く、C3 の異常は 2～10%と報告されているが、本邦では C3 の変異が約 30%で最も多く、CFH の変異は 8%と少ないことから、本邦の aHUS の遺伝的背景は欧米のものとは異なる可能性が示唆された。特記すべきは、C3 の変異の中でも I1157T 変異が 77%で最多であり（欧米では極めて少ない）、さらにこの変異は再発を繰り返しやすいが予後がいいことがわかった。また抗 CFH 抗体陽性例ではこれまで予後は良好とは考えられていなかったが、我々のコホートでは透析導入となった症例はゼロでありこれまで報告されていた欧米の予後とは異なることが明らかになった。aHUS においてソリリス中断が可能であるかどうかの判断につながる根拠はこれまでほとんど報告されていなかったが、我々のコホートでは 13 例のソリリス中断例があり、12 例は中断後も中央値 1 年（0.5-3 年）間は再発を認めなかったことから、今後のソリリスの中断（一時中断）についての方針を策定する根拠となることが期待された。

### 今年度の研究計画と変更点

- 1) aHUS 疑診患者の羊赤血球溶血試験、抗 CFH 抗体、遺伝子解析による診断の継続
  - 遺伝子非同定群の予後が悪いが、Whole Exome Sequencing の結果を解析してそれらの原因究明に努める。
  - ヒツジ赤血球溶血試験のコホート研究の結果のまとめを行う。

- 変更点：遺伝子解析を補体学会と提携して行うことを検討。
- 2) aHUS レジストリーの継続
  - 変更点：窓口を疾患タイプ毎に複数設けて業務分散・効率化を図ることを検討。
  - これに伴い、レジストリーの見直しを行う。
- 3) aHUS 患者のコホート解析の継続
- 4) aHUS 診療ガイドラインの作成
  - 変更点：現状ではガイドラインを策定することは遺伝子解析や生化学的検査を研究ベースで行っており、長期的な財源確保の見通しが立たないことから困難であると考えられる。まずガイドライン策定のために必要と思われる検査の保険収載を検討する。

AMED 難治性疾患実用化研究事業（診療に直結するエビデンス創出研究）「非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）の複合的アプローチによる診断と治療向上」研究班の活動も継続して行う。

## 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：

森下英理子 金沢大学  
大賀正一 九州大学  
小嶋哲人 名古屋大学  
小林隆夫 浜松医療センター  
津田博子 中村学園大学

### 研究協力者：

尾島俊之 浜松医科大学  
坂田洋一 自治医大  
杉浦和子 名古屋市立大学  
辻 明宏 国立循環器病研究センター  
中村真潮 村瀬病院  
根木玲子 国立循環器病研究センター  
宮田敏行 国立循環器病研究センター  
榛沢和彦 新潟大学  
横山健次 東海大学  
和田英夫 三重大学  
落合正行 九州大学

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 (VTE) のエビデンス収集とともに、その発症要因である遺伝性血栓性素因の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VTEの予知・予防の対策確立を目的としている。

昨年4月より、アンチトロンビン (AT) 欠乏、プロテインC (PC) 欠乏、プロテインS (PS) 欠乏による遺伝性血栓性素因が「特発性血栓症 (遺伝性血栓性素因によるものに限る)」として指定難病に認定され、医療費助成が開始された。

個別研究としては、遺伝性血栓性素因の診療ガイドライン作成のため有用な病態解析ならびに診断のための検査法の改良並びに開発に向けて、それぞれ以下の検討が行われた。大賀らによる「新生児・小児血栓症の多様性と効率的診断のための遺伝子解析パネル」、小嶋らによる「プロトロンビン Arg596 変異の AT 抵抗性症例」、津田らによる「プロテイン S 活性測定の pre-analytical variables」、森下らによる「アンチトロンビン欠乏症の genotype-phenotype 解析」「AT 活性測定法の標準化」、和田らによる「Warfarin hypersensitive 症例の検討と APTT 波形の解析」。また、妊婦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策定に向けて、小林らは「先天性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究」のアンケートを作成した。

平成 30 年度は、「先天性血栓性素因患者の診療ガイドライン」の策定に向け、以下について検討を行う。

#### 1) 症例の集積

- 新生児領域の血栓症診断全国ネットワークを確立し、「遺伝子型・表現型の解析とその診療情報集積」を行う (大賀, AMED)
- 全国の遺伝性血栓性素因患者 (新生児領域を除く) の検体収集およびレジストリーの構築 (AMED) (辻、宮田らを中心に)
- 市民公開講座の開催、患者会発足の援助ならびに情報交換 (森下)  
⇒患者連絡会の活動への助言 (顧問: 大賀)

- 2) 遺伝性血栓性素因の国際共同研究
  - 日本、ハンガリー、韓国、シンガポール、ブラジルとの共同研究（津田）
- 3) より効率的な診断基準への改定に向けての検討
  - AT 活性測定方法の標準化（日本血栓止血学会 SSC 血栓性素因部会ならびに日本検査血液学会凝固検査標準化部会との合同による）
  - AT 抵抗性(ATR)症例の集積と ATR 検出検査法の普及に向けての改良（小嶋）
  - 血中 PS K196E ELISA kit の測定試薬としての開発（宮田，森下）
- 4) 包括的診療ガイドライン作成に向けての準備
  - 新生児・小児血栓症の効率的診断のための遺伝子解析パネルの作成（大賀）
  - 「先天性血栓性素因保因者の妊婦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」の策定に向けて、全国アンケート調査（小林、尾島、杉浦、根木、森下ら）

# 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（四天王寺悲田院）

### 1. 目的・方法

厚生労働省に提出された臨床調査個人票のデータを解析し、本邦における ITP 診療状況を明らかにする。

### 2. 臨床調査個人票のデータ集計状況

平成 25 年度までの臨床調査個人票については毎年度ごとにその集計データの解析を行い、これまでに本邦における ITP の性別・年齢別罹患率、出血症状、検査成績、治療状況、合併症、予後について報告してきた。しかしながら、平成 26 年度の臨床調査個人票の集計率は 12%にとどまり、十分な解析ができない状況となった。さらに平成 27 年度については集計結果が全く入手できない状況となった。この原因は、平成 27 年 1 月 1 日に「難病の患者に対する医療等に関する法律」（難病法）が成立し、臨床調査個人票の様式および個人票の登録システムが変更されたため、厚労省から平成 27 年度臨床個人調査票データの集計結果が入手できない事態に陥っているためである。この状況について厚労省難病対策課と相談したところ、ITP のデータについては H30 年夏以降から臨床調査個人票のデータが再び供給される方向で検討が進んでいる。

### 3. 新臨床調査個人票の解析項目

平成 27 年度から臨床調査個人票の様式が改定されたので新たな項目の解析を行う。

#### 1) 病期分類の変更

現在、国際分類となっている病期分類（診断から 3 ヶ月以内：新規発症型、3-12 ヶ月未満：持続型、12 ヶ月以上：慢性型）別の集計が可能となった。

#### 2) 検査項目の追加

血中 TPO 値、ピロリ菌、HBs 抗原、HCV 抗体が新たに加わった。

#### 3) 重症度分類

重症度を Stage I から V までに分類したのでこの重症度別の集計が可能となった。

重症度と相関する因子や治療法の選択状況を解析する。

#### 4) 治療選択肢の追加

治療選択肢として、トロンボポエチン受容体作動薬、リツキシマブ、血小板輸血が追加された。

#### 5) 合併症の追記

合併症として血栓症（動脈・静脈）が追加された。ITP は血小板減少があるにもかかわらず血栓症の合併率が一般人よりも有意に高いことが示されてきている。本邦 ITP 患者における血栓症の合併率についての解析を行う。

## ITP 診断に有用な臨床検査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  
富山佳昭 大阪大学医学部附属病院輸血部

ITP の診断には今なお 1990 年に厚生省研究班により作成された診断基準が用いられている。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、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困難で、そのために多岐に渡る血液、画像検査を実施することは医療経済的にも好ましくない。本研究班では平成 16 年度に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組み合わせて ITP を診断する診断基準案を作成した。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が、項目に含まれる検査を保険診療で測定できない点が課題となっていた。抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、網血小板比率、トロンボポエチン (TPO) は研究目的での受託測定が可能になったが、標準化されてない上に検査費用が発生することから一般診療で普及してない。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薬 (体外診断薬) の開発が不可欠である。

そこで、昨年度までに本研究班のテーマとして抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞 (ITP-ELISPOT) を体外診断薬として認証を受けることを目的とした基礎検討を行ってきた。すでにキットを構成する校正用基準物質としてヒト GPIIb/IIIa に対するキメラ抗体産生細胞および陽性・陰性コントロールビーズの作成し、検出感度を高める多面的な検討を行ってきた。本年度はキットとしての構成内容を確定するための再現性、保存性、安定性など詳細な最終条件設定を実施する予定である。また、TPO 測定キットは 2 種類の抗 TPO 抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA として測定系を構築中である。固相化マウス抗 TPO モノクローナル抗体は昨年度に確立しており、ペルオキシダーゼ標識ウサギ抗 TPO モノクローナル一本鎖抗体の樹立に向けた検討を行っている。キット構成が完了した時点で、性能評価のために必要な血小板減少症患者を対象とした小規模での評価を実施する予定である。

## 成人 ITP 治療参照ガイドの改訂：進行状況および今後の予定

大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学 柏木浩和

大阪大学医学部附属病院輸血部 富山佳昭

当研究班から「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」が発表されてから、5 年以上が経過し、成人 ITP の治療適応、治療目標および治療の流れにおいて大きな変化はなく、大筋において本参照ガイドは現時点でも有用なものであると考える。ただ、2012 年は承認発売された直後であったトロンボポエチン (TPO) 受容体作動薬も、その長期的な有効性と安全性に関するデータが蓄積されてきている。また、欧米のガイドラインではステロイド不応例の 2nd Line に位置づけられていたリツキシマブが、本邦において保険適用となり、その位置づけに対しての指針が必要な状況になってきている。一方で、従来、2nd Line 治療に位置付けられていた脾摘は、TPO 受容体作動薬の普及および感染症や血栓症の増加などの問題点が指摘されてきたこともあり、実施例は減少傾向にある。2012 年版ガイドでは 2nd Line として脾摘を推奨し、TPO 受容体作動薬およびリツキシマブは脾摘不応の場合の 3rd Line として推奨しているが、以上のような状況から特に臨床現場ではステロイド不応例の 2nd Line 治療に関し、その選択に悩む場合が増えてきている。

このような状況を鑑み、成人 ITP 治療ガイドの改訂に関する検討を進行中である。主な論点は、ステロイド不応例に対する 2nd Line 治療として、脾摘、TPO 受容体作動薬およびリツキシマブをどのように位置づけるか、各々の治療の有効性と安全性に関し、文献的検索を行い、その指針を提示することである。また 1st Line 治療としての副腎皮質ステロイドの投与方法、およびステロイド、脾摘、TPO 受容体作動薬、リツキシマブ以外の治療に関する 2012 年以降の文献的検討を追加することを予定している。改訂案のアウトラインおよび各項目の担当が決定しており、本班会議では今後の予定を提示し、議論を行いたい。

## VWF A1 ドメインに対する新規 DNA アプタマーの血小板凝集阻害効果の検討

奈良県立医科大学輸血部 松本雅則、○酒井和哉

TTP の予後は、一年生存率で 80%以上となり、血漿交換によってかなり改善された。ただし、その死亡は治療開始後 30 日以内がほとんどであり、血栓症による早期死亡を防ぐことが、さらなる予後の改善には必要である。海外では von Willebrand 因子 (VWF) A1 ドメインに対するナノボディ (ラマから作った抗体) である Caplacizumab の第 3 相試験が終了し、実用化が進んでいる。TTP は ADAMTS13 活性が著減することによって超高分子量 VWF マルチマーが切断されず、血小板血栓が全身の微小血管に形成されることで発症する。この血小板血栓形成の最初の反応が VWF A1 ドメインと血小板 GP1b であることから、この反応を阻害することで TTP による血小板血栓形成を予防することが可能と考えられる。

Caplacizumab の開発に先行して VWF A1 ドメインに対する DNA・RNA 複合アプタマーである ARC1779 の第 2 相試験が行われていたが、スポンサーの資金難のため途中で中止に追い込まれた。この結果から少数例ながら VWF A1 ドメイン阻害薬の有効性と安全性が報告され、Caplacizumab の開発成功につながった。今回我々は、日本のバイオベンチャー (タグシクス・バイオ社、東京) が開発した新規 DNA アプタマー (TAGX-0004) について、血小板凝集阻害効果について検討し、ARC1779 と比較した。

まず、Biacore®を用いた VWF A1 に対する affinity 解析では、TAGX-0004 および ARC1779 の KD 値はそれぞれ 61.3pM および 2nM と、TAGX-0004 の親和性が 30 倍以上優れていた。静的条件下の血小板凝集阻害試験では、リストセチン惹起血小板凝集の IC<sub>80</sub> は、TAGX-0004 10nM、ARC1779 750nM で、TAGX-0004 が 75 倍優れていた。ボトロセチン惹起血小板凝集の IC<sub>80</sub> は TAGX-0004 50nM、ARC1779 1000nM で、TAGX-0004 が 20 倍優れていた。次に、ずり応力下の血小板凝集阻害効果を検討するため、T-TAS® (PL-Chip) を用いて解析した。TAGX-0004 は 100nM で血栓形成を完全に阻害したのに対して、ARC1779 では 1000nM で部分阻害に留まった。以上より、静的および動的評価のいずれにおいても TAGX-0004 は ARC1779 よりも強い血小板凝集阻害効果を示した。

アプタマー製剤が抗体製剤より優れている点として、血中半減期が一般に短く出血などの副作用に対処しやすいこと、抗原性が少ないためアレルギー性の副作用が少ない可能性があること、そして化学合成できるため安価に製造できることなどが考えられる。

## 先天性 TTP 疑い患者 1 家系の ADAMTS13 遺伝子解析

国立循環器病研究センター分子病態部 小亀浩市

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) は血漿中の von Willebrand 因子切断酵素 ADAMTS13 の活性著減 (正常血漿の 10%未満) によって起こる疾患であり、先天性と後天性に大別される。先天性 TTP は常染色体劣性遺伝形式を示し、患者は ADAMTS13 遺伝子異常の複合ヘテロ接合体あるいはホモ接合体、両親 (保因者) はヘテロ接合体である。本研究では、日本における先天性 TTP 疑い患者家系を対象として ADAMTS13 遺伝子解析を行っている。今回、先天性 TTP 疑い患者の 1 家系 (USS-3E 家系) を解析した。

患者は生後すぐに発症した女児で、交換輸血後の当日の血漿 ADAMTS13 活性は 3.1%、18 日後の血漿 ADAMTS13 活性は 2.1%であった。いずれの血漿もインヒビターは陰性 (<0.5 BU/mL) であった。両親の血漿 ADAMTS13 活性は、父 25.6%、母 16.1%で、いずれもインヒビターは陰性であった。

先天性 TTP の可能性が強く推定されたため、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、患者に c. 2725G>A (p. G909R) ミスセンス変異と c. 3220\_3223delTACC (p. Y1074Afs\*46) フレームシフト変異がそれぞれヘテロ接合で同定された。父に c. 2725G>A がヘテロ接合で、母に c. 3220\_3223delTACC がヘテロ接合で同定されたため、患者は両変異による複合ヘテロ接合体であると確認された。c. 2725G>A 変異は日本の先天性 TTP 患者 1 家系に、c. 3220\_3223delTACC は 2 家系に同定されていた原因変異である。

これまでに解析した症例と合わせると、先天性 TTP 疑い患者 61 名 (55 家系) のうち 57 名 (51 家系) に、複合ヘテロ接合性 (40 家系) あるいはホモ接合性 (11 家系) の原因変異を同定したことになる。4 家系には未発見の遺伝子異常が存在する可能性があり、依然、解決すべき課題として残っている。

## 後天性 TTP に対するリツキシマブの適応拡大

埼玉医科大学病院 血栓止血センター  
宮川義隆

後天性 TTP は、急性かつ致死的な希少疾病である。標準的治療である血漿交換と副腎皮質ステロイドによる治療を行っても、約 3 割は再発・難治例となる。海外では約 10 年前から抗体医薬リツキシマブが広く使われている。系統的レビューによれば約 9 割に有効性が期待される。国内の適応拡大を目標に、2014 年に難治例を対象とする Phase 2 医師主導治験を行った。2018 年 7 月に開催された第 35 回 医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議において、医療上の必要性が認められた。これを受けて、来年には適応拡大が期待される。

### 【開発の経緯（年表）】

年月		内容
2012 年	11 月	日本医師会からの研究費取得に失敗
2013 年	9 月	薬事戦略相談（村田班）
		厚労科研費（難治性疾患実用化研究）取得
2014 年	1 月	PMDA に治験計画届を提出
		審査管理課を訪問、希少疾病用医薬品の指定申請
	5 月	埼玉医大病院に初めての被験者登録
	10 月	TTP 治験コールセンター、ホームページ（ttp-info.jp）開設、読売新聞に治験広告を掲示
	12 月	治験終了（治験 13 施設、被験者 7 名）
2017 年	4 月	TTP 診療ガイド 2017 公開、リツキシマブをセカンドライン治療として推奨
	8 月	日本血液学会を通じて、医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議に要望書を提出
	12 月	企業見解（全薬工業）提出
2018 年	7 月	第 35 回 医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議において、疾患の重篤性と医療上の有用性から医療上の必要性に係わる基準に該当 WG から答申があり委員会で承認された。

## 小児 aHUS 患者に対するエクリズマブ市販後調査の中間解析

伊藤秀一

### 【背景・目的】

2013年に本邦でエクリズマブが aHUS への治療薬として承認され、同時に厚労省からの指導に従い、市販後調査が開始された。

今回、本邦における小児（18歳未満） aHUS 患者へのエクリズマブの長期治療の有効性と安全性のデータを得るために中間解析を実施した。

### 【方法】

2013年9月から2017年3月15日までの間に、aHUS 診療ガイドに基づき臨床的に aHUS または二次性 TMA と診断され、エクリズマブを投与された18歳未満の小児登録患者を対象とした。

TMA イベント・フリー、TMA の完全寛解、血小板数の正常化、eGFR 改善を有効性の評価項目とした。

全登録症例に関し、エクリズマブ投与期間中の副作用を集計した。

### 【結語】

有効性解析対象の aHUS 患者 27 名のエクリズマブ投与開始時の年齢（中央値）は4歳、診断から投与開始までの期間（中央値）は2日間であった。

TMA イベント・フリー、TMA の完全寛解、血小板数の正常化、eGFR の改善はそれぞれ、85.2% (23/27), 36.4% (8/22), 78.3% (18/23), 75.0% (9/12) の患者で達成された。

血小板数、LDH 値、eGFR の改善は、投与開始1か月以内に観察された。

報告された副作用は、24件/aHUS 患者 31名、10件/二次性 TMA 患者 17名であった。

本中間解析によって、実臨床において小児 aHUS 患者に対するエクリズマブの安全性と有効性が確認された。

解析期間中に髄膜炎菌感染症が無かったが、引き続き注意が必要である。

## 成人 aHUS 患者に対するエクリズマブ市販後調査の中間解析

池田洋一郎

### 【背景・目的】

2013 年に本邦でエクリズマブが aHUS への治療薬として承認され、同時に厚労省からの指導に従い、市販後調査が開始された。

今回、本邦における成人（18 歳以上） aHUS 患者へのエクリズマブの 長期治療の有効性と安全性のデータを得るために中間解析を実施した。

### 【方法】

2013 年 9 月から 2017 年 3 月 15 日までの間に、aHUS 診療ガイドに基づき臨床的に aHUS または二次性 TMA と診断され、エクリズマブを投与された 18 歳以上の成人登録患者を対象とした。

TMA イベント・フリー、TMA の完全寛解、血小板数の正常化、腎機能改善を有効性の評価項目とした。

全登録症例に関し、エクリズマブ投与期間中の副作用を集計した。

### 【結語】

有効性解析対象の aHUS 患者 29 名のエクリズマブ投与開始時の年齢（中央値）は 58 歳、診断から投与開始までの期間（中央値）は 22.5 日間であった。

TMA イベント・フリー、TMA の完全寛解、血小板数の正常化、eGFR の改善はそれぞれ、68 % (19/28), 28 % (5/18), 57 % (13/23) , 15 % (4/26) (Cre 25%以上では 16/28 (57%)) 低下の患者で達成された。

血小板数、LDH 値の改善は投与 1 週間で観察されたが、腎機能の改善は投与開始 1 ヶ月後程度で観察された。

報告された副作用は、aHUS 患者で 33 件/33 例、高度な副作用は 10 件/33 例であった。

本中間解析によって、実臨床において成人 aHUS 患者に対するエクリズマブの安全性と有効性が確認された。

解析期間中に髄膜炎菌感染症が無かったが、引き続き注意が必要である。

## プロテイン S 活性測定の前分析変数 (pre-analytical variables)

中村学園大学大学院栄養科学研究科 津田博子

「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）」の診断基準に関する事項は、A. 症状、B. 検査所見、C. 鑑別診断、D. 遺伝学的検査、E. 遺伝性を示唆する所見からなるが、検査所見ではプロテイン C (PC)、プロテイン S (PS)、アンチトロンビン (AT) 活性のいずれかが基準値の下限值未満であることが必須条件となっている。

PS 活性測定では、検体採取から測定までの過程で結果に影響を及ぼす要因 (pre-analytical variables) が多く、十分に配慮しなければ測定結果の解釈を誤る可能性がある。今回、2つの preanalytical variables について報告する。

### 1) PS-C4BP 複合体の解離による遊離型 PS (PS 活性) の上昇

血中 PS 濃度は約 320 nM (25 · g/mL) で、約 60% が補体系制御因子 C4b-binding protein (C4BP) と 1:1 のモル比で複合体を形成し、残りの約 40% の遊離型 PS が活性化 PC (APC) の cofactor として機能する。PS と C4BP の複合体形成は  $\text{Ca}^{2+}$  依存性であり、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下では  $K_d=10^{-10}\text{M}$  と高親和性であるが、 $\text{Ca}^{2+}$  非存在下では  $K_d=10^{-7}\text{M}$  と低親和性に変化する。したがって、クエン酸血漿中では複合体が容易に解離することになる。ELSA 法による血漿中遊離型 PS 濃度測定で、反応温度を 25°C から 37°C に上昇させると遊離型 PS 濃度が増加することが分かった。そこで、PS-C4BP 複合体を用いて検討したところ、4°C では遊離型 PS を殆ど検出しないが、15°C 以上では温度依存的に遊離型 PS 濃度が増加することを確認した。PS 活性測定では希釈したクエン酸血漿を 37°C で加温するため、血漿中の PS-C4BP 複合体の解離を考慮する必要がある。

### 2) トロンビン感受性ドメインの切断による PS 活性の低下

PS の  $\text{NH}_2$  末端側に存在するトロンビン感受性ドメインはトロンビン、FXa などによって切断されやすく、生成した 2 本鎖 PS は APC cofactor 活性を失う。トロンビンによる切断は  $\text{Ca}^{2+}$  存在下では阻害されるが、FXa による切断は  $\text{Ca}^{2+}$  依存性である。したがって、クエン酸血漿中の PS はトロンビンによって切断されて失活する可能性が高い。室温で 4 時間以上保存した検体に PS 活性低下例が多いことから、Western blotting で検討したところ、1 本鎖 PS のほかに 2 本鎖 PS が出現していた。クエン酸血液の保存条件の検討では、4°C でも長時間保存すると PS が切断されることを確認した。

PS 活性測定では、生体内とは異なる  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下の影響だけでなく、Warfarin、DOACs などの抗凝固薬の影響も大きく、pre-analytical variables を認識して測定を実施し、測定結果を解釈することが重要である。

## プロトロンビン Arg596 変異の ATR 症例

名古屋大学大学院医学系研究科 小嶋哲人

我々は、プロトロンビン Yukuhashi 変異 (c.1787G>T, p.Arg596Leu) が活性化されて生ずる変異トロンビンのアンチトロンビン抵抗性 (Antithrombin resistance: ATR) により遺伝性静脈血栓症の要因となることを報告した (N Engl J Med, 2012)。ATR は従来の検査法では検出不能なため、我々は ATR 検出検査法を開発し、さらに日本人の原因不明な VTE 症例での新たな ATR 症例も同定報告してきた。プロトロンビン 596Arg コドン (CGG) における一塩基置換ミスセンス変異体 (596Pro、Gln、Trp、Gly) 由来の変異型トロンビンも AT 抵抗性を示すことが判明している。これまでに報告されている ATR 変異は、Yukuhashi 変異 (日本 1 家系) のほか、Belgrade 変異 (c.1787G>A, p.Arg596Gln : セルビア 2 家系、インド 1 家系、日本 2 家系、中国 2 家系)、Padua 2 変異 (c.1786C>T, p.Arg596Trp : イタリア 1 家系) の 3 種類ある。596Arg コドン (CGG) には、一塩基置換のホットスポットとされる CpG 配列が含まれており、Belgrade 変異 (c.1787G>A) と Padua 2 変異 (c.1786C>T) はこの機序により生じたものと考えられる。このため、その発生頻度は Yukuhashi 変異より高いものと思われる。実際に、Belgrade 変異 (c.1787G>A) は上述の如く最近の中国からの報告を含めて世界で 7 家系ともっとも多く報告されている。しかし、ATR は従来の臨床検査法では検出困難であるため、多くの症例で診断がつかずに見過ごされてきていることが想像される。上述の如く ATR 症例は人種を超えて発生しており、世界中どこにでも存在する遺伝性血栓症リスクと考えられ、我々の開発した ATR 検出法がこれら ATR 症例の検出に役立てられることを期待する。

今年度の研究計画 : 「プロトロンビン Arg596 以外の ATR 変異探索」

## 特発性血栓症・先天性血栓性素因領域

### 新生児・小児血栓症の多様性と効率的診断のための遺伝子解析パネル

落合正行 1)、石村匡崇 2)、大賀正一 2)

九州大学大学院医学研究院 1)周産期・小児医療学、2)成長発達医学  
研究協力者

市山正子、井上普介、永田 弾 (九州大学成長発達医学)

堀田多恵子、内海 健、康 東天 (九州大学臨床検査医学)

本研究班で私たちは、「特発性血栓症（小児領域）診療ガイドの策定」を分担している。新生児および小児領域の血栓症に対する「患者登録・治療管理法の確立」にむけて「遺伝子型・表現型の解析とその診療情報集積」を行っている。これまでの症例登録から得られた後天性血栓症例を紹介しながら、臨床像の多様性と後天性因子について概説する。現在作成中の包括的かつ効率的診断法の確立をめざした遺伝子パネル案について報告する。

後天性血栓症例 (症例 1) 正期産男児。家族歴に血栓性素因なし。日齢 13 に発作性上室性頻拍で入院、日齢 77 で脳静脈洞血栓症をおこし未分画へパリンで軽快した。新生児の脳静脈洞血栓症は症状に乏しく、画像評価が困難である。(症例 2) 先天性心疾患の正期産児。重度の僧房弁逆流のため日齢 34 に僧房弁形成術、術後 4 日目に TMA 様の激しい消費性凝固障害をきたした。僧房弁閉鎖術により軽快した。(症例 3) 出生直後に左下肢の虚血をきたした早産児。D-dimer の上昇なく、画像検査にて血管奇形の遺残座骨動脈と診断した。新生児血栓症診断では画像検査の適応が難しいため、症候からの整理が必要である。

新生児・小児血栓症遺伝子パネル とくに新生児ではプロテイン C (PC)、プロテイン S (PS) およびアンチトロンビンの活性値から各因子欠乏による遺伝性血栓症を診断することが困難なため、効率的な遺伝子診断が必要となる。発症例を迅速に診断するためにも、PC/PS 活性比からの遺伝子異常予測式を作成中である。現在、3 因子の遺伝子 (PROC、PROS1、SERPINC1) を含む遺伝子解析パネル案を検討中であり、包括的診断アルゴリズムを紹介する。

## Warfarin hyoersensitive 症例の検討と APTT 波形の解析

三重大学医学系研究科 和田英夫

FIX の p.Ala37Thr 変異で、warfarin 投与で競合阻害的に働き、血友病 B 様症状を呈する FIX 異常症を経験したので方向する。49 歳男性で抗リン脂質抗体症候群 (APS) を合併し、無症候性脳血栓が認められた。Warfarin が投与されると、PT-INR の増加以上に著明に FIX 活性が低下を示し、両下肢筋肉に血腫を認めた。FIX 変異が認められ、warfarin が中止された。Warfarin の代わりにエドキサバン 30mg が投与されたが、APTT 波形 1st derivative が著明に低下し、再度両下肢に血腫をきたした。抗 Xa 活性と APTT 波形でモニターしながら、アピキサバン 2.5mgX2 に変更された。現在、この投与量で、出血傾向を認めていない。

DOAC でも出血傾向をきたした原因は、FIX の p.Ala37Thr 変異によるのか？ APS によるのか？あるいは両者によるのかはさらに検討を要すると考えられた。さらに、凝固波形により dPT 法にて FVIII 活性を測定しうることを報告する。  
文献

- 1) Tamura A, Wada H, Ikejiri M, Miyata T, Habe K, Tomimoto H.: Major bleeding in a patient with warfarin-hypersensitive and factor IX propeptide variant, p.Ala37Thr, who was treated with a direct oral anti-Xa inhibitor. *Ann Hematol.* 2018 Jun 19.
- 2) Matsumoto T, Wada H, Toyoda H, Hirayama M, Yamashita Y, Katayama N.: Modified clot waveform analysis to measure plasma coagulation potential in the presence of the anti-factor IXa/factor X bispecific antibody emicizumab: comment. *J Thromb Haemost.* 2018 Jun 7

## 金沢大学におけるアンチトロンビン遺伝子変異解析ならびに

### genotype-phenotype 解析

金沢大学医薬保健研究域病態検査学 森下英理子

【目的】アンチトロンビン(AT)は主要な生理的凝固阻止因子であり、その欠乏は血栓傾向をもたらす。今回、これまでに当研究室で遺伝子解析を実施した、先天性AT欠乏症37家系について、臨床所見ならびに遺伝子変異部位について報告する。

【方法】本研究は金沢大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得て行われた。遺伝子解析は、対象者のインフォームドコンセントを得た後、ダイレクトシーケンス法およびMLPA法を用いて行った。

【結果】37家系中34家系で遺伝子変異が同定され、変異同定率は91.9%とかなり良好であった。新規の変異として2つの変異：c.1043G>A(p.Arg348Gln)、c.721G>T(p.Val241Leu)を検出した。

サブタイプの内訳はI型(量的欠乏)が25家系、II型HBS(ヘパリン結合部位の異常)が8家系、II型PE(多面的な異常)が1家系であった。血栓症の発症年齢中央値がI型では28歳(14-63歳)、II-HBS型では64歳(49-73歳)とサブタイプによる違いがみられた。I型AT欠乏症の発症者の88%が血栓症を発症したのに対し、II型HBSで血栓症を発症したのは40%であった。I型AT欠乏症で血栓症を発症した患者の82%が血栓症の家族歴を有していたが、II型HBSではみられなかった。I型AT欠乏症の女性の52%が妊娠を契機に血栓症を発症していた。一方、II型HBSの女性に、妊娠中に血栓症を発症した例はなかった。

【考察】先天性AT欠乏症は、サブタイプにより血栓リスクが異なり、年齢や妊娠など個別のリスクに応じて抗凝固療法の種類や開始時期を選択する必要がある。比較的高確率に変異が同定される遺伝子解析は診断補助に有用である。

## 先天性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究

研究分担者：浜松医療センター名誉院長	小林隆夫
金沢大学医薬保健研究域保健学系病態検査学教授	森下英理子
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
名古屋市立大学大学院看護学研究科講師	杉浦和子

先天性血栓性素因保有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にあたり、今年度は先天性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関するアンケート調査を日本産科婦人科学会の全産婦人科専攻医指導施設に対して行う予定である。アンケート調査は、一次調査として以下の項目を予定している。

- 問 1. 各施設の過去 5 年間（2013 年～2017 年）の分娩件数（回答用紙 No. 1）
- 問 2. 2013 年 1 月 1 日から 2017 年 12 月 31 日までの 5 年間における妊娠・分娩のうち、先天性血栓性素因の合併症例の有無（回答用紙 No. 1）
- 問 3. 年度別の血栓性素因別症例数（回答用紙 No. 1）
- 問 4. 各施設における診断方法（回答用紙 No. 2）
- 問 5. 各施設における基本的な管理方法（回答用紙 No. 2）

同時に二次調査（個票調査）も行う予定であるが、それぞれの調査票に対してご意見をいただきたい。