

総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

令和元年度総括研究報告書

「血液凝固異常症等に関する研究」

研究代表者 村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学 教授

研究要旨

本研究班は指定難病の中でも血液疾患と腎疾患を対象に、政策研究事業としてエビデンスに基づいた全国共通の診断基準・重症度分類の作成や改正、診療ガイドライン等の確立や改正及び普及などを目的に活動している。具体的には特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）、を対象としている。4疾患について、それぞれのサブグループに分かれて課題に取り組むとともに、グループ間の相互議論を活発に行うことによって、(1)分子病態に基づいた診断基準、治療指針の確立/普及およびその効果の検証、改正、(2)大規模な疫学的解析による我が国での発症頻度、予後の把握と治療の標準化、などを目標とした。小児と成人を対象とし、さらに小児から成人への移行期医療も含めて検討している。令和元年度は3年計画の3年目として、前年度に引き続き疫学調査、レジストリー、遺伝子解析、診断法の標準化、診療ガイドの改訂、指定難病検討資料の作成、臨床情報やゲノム情報に基づく病態解明や保険適用拡大に注力した。臨床的有用性の高いデータベース化システムの構築、そして新しい体外診断薬の開発や検証、新規治療の検証を継続した。特発性血小板減少性紫斑病については、平成17年度から26年度（10年間）のITP臨床調査個人票のデータを用いて皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について調査した。また「成人ITP治療の参照ガイド2019年版」を作成し、日本血液学会の公式雑誌にオープンアクセスにて公開した。血栓性血小板減少性紫斑病については、レジストリーの継続、ADAMTS13遺伝子解析の継続、リツキシマブの後天性TTPへの保険適用拡大、TTP診療ガイド2017改定版の作成、MINDS方式によるTTPガイドラインの作成、造血幹細胞移植後TMAの病態解析を行った。非典型溶血性尿毒症症候群については集積した遺伝学的検査の結果、日本で多く見られる遺伝子変異に欧米やその他地域との差異を認めるとともに、腎予後、生命予後に関しても、ある種の変異に関しては日本独特の傾向が浮き彫りとなった。また妊娠関連のaHUS/HELLP症候群の症例は6例集積し、6例全例で補体関連因子の遺伝子異常が認められ、二次性TMAと考えられる中にも補体関連遺伝子の異常があることが示唆された。また補体機能検査としての溶血試験においてCFHのC末領域の変異、抗CFH抗体陽性例、CFH/CFHRの遺伝子融合およびC3の変異の一部において高度の溶血が認められることがわかった。特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）では、新生児血栓症の全国調査、新生児血

栓症遺伝子解析パネル検査の作成、遺伝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と診療ガイドラインの素案作成、PS活性測定の変動要因および診断特性の検討、国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討、*SEPLINC1* 遺伝子異常の分子病態解析、AT活性測定試薬の標準化と健常成人におけるAT活性基準値の設定を行った。

当研究班の活動はホームページに公開されている。

<http://ketsuekigyoko.org/index.html>

ITP（特発性血小板減少性紫斑病） 研究グループ

ITP に関しては、1) 疫学調査、2) 治療の標準化（特に ITP 治療の参照ガイドの作成および改訂）、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、を中核としてグループ研究および個別研究を継続的に行っている。

令和元年度においては、平成 17 年度から 26 年度（10 年間）の ITP 臨床調査個人票のデータを用いて皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について調査した。臨床調査個人票の新規登録患者で成人（18 歳以上）の患者を対象とした。2005 年度から 2014 年度の 10 年間における新規登録患者数は 21,811 人であり、このうち、血小板数値を含む報告データに欠損のない新規登録成人患者 19,415 人を調査対象とした。この研究結果は 2020 年 3 月に Blood Advance に受理された。

治療に関しては「成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド 2019 改訂版」は日本血液学会学会誌である臨床血液 8 月号で公開した。本改訂版は ITP に関する総論と治療各論のパートからなり、治療の各論においては、2012 年の参照ガイドをベースに、最初に各治療について概論（有

効性、安全性）を記載、一般的な投与法を具体的に記載し、最後に個別の Question に関して Answer を記載し、解説を加えた。

また病態解析に基づいた ITP 診断法の標準化について TPO 測定キットの開発を進めた。いまだ除外診断である現状を打開し、より良い診療を確立するために、本研究班では、ITP 診断基準案を 2004 年に提唱しているが、その検査法の保険収載にむけて、一步一步前進しているところである。今後、これらの検査法に関して他施設共同で評価していく予定である。

本年度は、研究成果を国際誌を含めて論文発表することができ、ITP の診療の標準化や病態解析に大きく貢献することができた。

TTP（血栓性血小板減少性紫斑病） 研究グループ

TTP グループは、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、予後の改善を図ることを目的としている。我々は既に TTP 診療ガイド 2017 を作成し和文と英文で発表した。

令和元年度は、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) TTP 診療ガイド 2017 改定版の作成、5) MINDS 方式による TTP ガイドラインの作成、6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析、が行われた。

日本国内で発見した USS は 2019 年に 2 例増えて 67 例となった。このうち 65 例について ADAMTS13 遺伝子解析を実施した (本年は 1 例実施)。65 例のうち 61 例 (93.8%) で責任遺伝子変異を同定した。11 例がホモ接合体遺伝子異常、50 例が複合ヘテロ接合体異常であった。日本人で発見した ADAMTS13 遺伝子異常は、欧米から報告されているものと同じものはほとんど無かった。

2020 年 2 月にリツキシマブの後天性 TTP に対する適応拡大が正式に認められた。ただ、後天性の中でも再発性、難治性にのみ使用を考慮するように添付文書に記載されている。

我々は、2017 年に TTP 診療ガイド 2017 を作成し、日本血液学会の承認を得て、和文、英文両方で論文発表した。その後、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撤廃、リツキシマブの後天性 TTP に対する保険適用拡大という本研究班の活動の成果が保険診療に成果として現れた。その成果をガイドラインに反映させ、一部書き換えて「TTP 診療ガイド 2020」として完成させた。ガイドラインの作成については国際血栓止血学会 (ISTH) が作成した TTP ガイドラインの素案が公表されている状況であり、我々のガイドラインの記載と大きく異なることは混乱をきたす可能性があるため、ISTH のガイドラインが正式に発表される 2020 年度以降に本格的に作成を開始すること

を計画している。

造血幹細胞移植後 TMA の病態解析については倉敷中央病院血液内科の症例で実施しており、造血幹細胞移植を受けた症例の血漿が移植前より保存されており、2013 年から 2016 年の移植症例 45 例の解析を終了した。

aHUS (非典型溶血性尿毒症症候群) 研究グループ

非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) は補体第二経路の異常活性化によって引き起こされる血栓性微小血管症 (TMA; thrombotic microangiopathy) であり、病因として補体関連因子の遺伝的・後天的異常により発症するとされる。令和元年度は、疫学調査、蛋白質学的解析 (羊赤血球溶血試験)、抗 H 因子抗体解析、新規補体機能検査の開発、遺伝子解析、Eculizumab 市販後調査解析等が行われた。

疫学調査では凝固系プロファイルについては急性期の症例でデータが収集できた症例のみの解析とした。aHUS 診療の現状分析に関して、エクリズマブの中断の判断について、診療における遺伝子検査の有用性に焦点をあて調査を行った。

蛋白質学的解析では、コンサルテーションのあった 264 例のうち、aHUS 発症急性期の採血検体が得られた症例は 49 例であった。49 例の溶血試験の結果を解析すると、溶血度は正常人や 2 次性 TMA 症例に比べ、有意に高い値を示した。抗 H 因子抗体は 21 例に同定され、急性期に検体が得られた症例における抗体価の中央値は 2882 AU/mL (正常人: 約 8~15 AU/mL) であった。抗体陽性例の 20% は成人期に

aHUS を発症していたが、小児例に比べ溶血や血小板減少の程度が軽度であるという特徴を示した。aHUS を早期に診断するバイオマーカーの開発を開始した。新規の補体機能検査開発に関しては、液相における補体活性ではなく、aHUS に重要とされる細胞膜上の補体活性を測定することに主眼をおいた。

遺伝学的解析では 184 例の患者について解析を実施した結果、遺伝子異常について詳細なデータが得られた。東京大学からの報告では 100 例を上回る症例の遺伝的背景を明らかにしたことで、信憑性が高いデータを得ることができたと言えるが、それをさらにアップデートしてこれまで検出されなかった変異などが検出されたことなどより精度の高いコホートデータになったと考えられる。妊娠関連の aHUS/HELLP 症候群の症例は 6 例が集積しており、そのうち 5 例は分娩直後の発症であり、残りの 1 例は妊娠 9 週での発症であった。6 例全例で補体関連因子の遺伝子異常が認められた。

さらに本邦における aHUS 診療の現状とエクリズマブの効果、中断について検討した。エクリズマブ市販後調査の結果を用い、その対象群の背景、治療効果、予後を後方視的に解析した。得られた結果を学会誌に報告した。

このほか、aHUS 診療ガイド改訂について検討した。我々は今後の aHUS 診療の向上に資すると必思われるところに焦点を当てた新しい aHUS 診療ガイドライン策定に向けて活動している。現在ガイドライン改訂委員会が組織され、改定作業が立ち上がっている。

本研究班での aHUS 解析活動を通して、日本独自の患者背景、治療効果が徐々に明らかとなってきている。また市販後調査の結果から、Eculizumab が治療の中心となった近年の臨床的な実情がつまびらかとなり、一方で今後の課題も明らかとなった。この様な状況を踏まえ、aHUS の治療選択の幅が広がった現代に即した診療ガイドの必要性が高まったと考えられ、2015 年作成のガイドの改訂を目指す。

特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）グループ

特発性血栓症は、先天性プロテイン C(PC)、プロテイン S(PS)、アンチトロンビン(AT)欠乏症により新生児・乳児期から成人期に亘って重篤な血栓症を発症する疾病である。若年性発症で、再発を繰り返し、重篤な機能障害を合併する。平成29(2017)年4月に、「特発性血栓性素因(遺伝性血栓性素因に限る。)」は指定難病に認定された(告示番号327)。

診断に際して、診断基準を本研究班が作成したが、今後はその有用性を検証し、より適切な基準へ改善していく必要がある。そのためには、遺伝子異常が明らかとなり確定診断がついた症例の臨床症状、検査所見などを詳細に検討し、活性測定法に影響する要因について検討することは意義がある。

令和元年度は個別研究として、新生児血栓症の全国調査、新生児血栓症遺伝子解析パネル検査、遺伝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と診療ガイドラインの策定、PS活性測定の変動要因および診断特性の検討、国際共同研究によ

る遺伝性血栓性素因の人種差の検討、*SEPIN1*遺伝子異常の分子病態解析、AT活性測定試薬の標準化と健常成人におけるAT活性基準値の設定、を行った。

一次調査票の回収数は、総計 744 施設のうち、470 施設 (63.1%) であり、対象として 117 症例が報告された。該当年の出生数で換算すると、年間推定患者数は 10 万出生対 3.45 例 (0.0035%) であった。*PROS1* とプラスミノゲン (*PLG*) はゲノム上の重複配列が多く、次世代シーケンサーを用いた単独解析では配列解析精度が低くなる可能性が予測されていたが、遺伝性 PC 欠乏症、無フィブリノゲン血症とプラスミノゲン異常症の家系で、Sanger 法と同様の結果が得られた。妊娠分娩管理に関する

全国調査では 5 年間の総分娩数が 722,933 件、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩数が 599 例であり PS 欠乏症が圧倒的に多く、次いで AT 欠乏症、PC 欠乏症であった。

また、日本人 VTE 患者で PS Tokushima 変異アレル保有者数を調査した。サーベイにより AT 活性測定試薬の標準化と健常成人における AT 活性基準値の設定が可能であることが示された。

本研究成果を元に、欧米の論文報告や指針などを参考に診療ガイドライン策定に向けて体制を構築してゆく。また、新生児・小児血栓症を早期に診断し、適切な急性期治療と長期治療管理の方針を確立するために、全国の解析ネットワークを拡充することが肝要と思われる。