

グループ研究報告書

ITP グループ総括

分担研究者・サブグループリーダー：富山佳昭

研究要旨

ITP に関して、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行った。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出血症状出現のリスク因子を明らかにし「Blood Advance」に発表した。治療の標準化に関しては、本研究班にて作成した「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」を改訂し「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年版」を日本血液学会の公式雑誌である「臨床血液」および英文誌「Int. J. Hematol.」に公開した。個別研究では、診断に関してトロンボポエチン（TPO）測定法を企業と共にキット化し、さらに全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。体外診断薬として製造承認を得る準備を整えた。

A. 研究目的

ITP は平成 26 年度までは特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、平成 27 年 1 月よりは指定難病医療費助成制度の対象疾患として、難病に位置づけられる疾患である。本研究班では本疾患を克服すべくその疫学を初めとして、治療ならびに診断を向上させることを課題として継続して検討を重ねている。この目的のために、本研究班では ITP に関して、1) 疫学調査、2) 治療の標準化とその啓発（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（特に病態に則した新たな診断基準の作成）を大きな柱として検討してきた。

平成 31 年度においては、特定疾患治療研究事業の対象疾患であることから、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。

治療に関しては治療プロトコルを履行するに当たり保険医療上の制約を克服すると共に、本疾患の治療の標準化をめざし「成人 ITP 治療の参照ガイド」、「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」の作成および公開を行ってきた。本年度は、「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。ITP に関する新たな診断法として、血中 TPO 測定キットを全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。

B. 研究方法

1. 疫学研究に関しては特定疾患治療研究事業の対象疾患にともなって毎年行われる ITP 臨床個人調査票（平成 17 年度から

26 年度) をもとに入力されたデータの提供を受けた。こ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。

2. 治療の標準化に関しては、「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」、の公開と啓発に努めたが、今年度は 2012 年版の改訂作業を行った。方法としては、班員間でのメール審議を通して、参照ガイド改訂に向けて各項目の執筆担当者を決定し、改訂委員会にて討議し、その後もメール審議などを通して、改訂の最終作業を行い日本血液学会の公式雑誌である「臨床血液」英文誌の「Int. J. Hematol.」誌に発表した。

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、(個別研究)

ITP の補助診断法として血中トロンボポエチン (TP0) 濃度測定キットの開発を企業と共に行い、本年度はさらに汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬 (CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay) へのアップグレードを試みた。

(倫理面への配慮)

臨床研究に関しては、当該施設の臨床研究倫理審査委員会での承認を得たのち、インフォームドコンセントを得て施行した。また、一部研究では、オプトアウトにて残余検体を用いた。

C. 研究結果

1. ITP の疫学研究(羽藤、倉田、島田)

1). 解析対象患者

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。

2). 紫斑

紫斑は、19,415 人中 12,581 人 (64.5%) にみられた。男性より女性に出現しやすく、平均年齢は 61.0 歳であった。血小板数と紫斑出現頻度には直線的な負の相関があり、紫斑が出現しやすくなる血小板数閾値は存在しなかった。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 5.07 (95%CI: 4.691-5.480) であった。また、紫斑は年齢の増加につれて多くなったが、60 歳以上のオッズ比は 1.272 (95%CI: 1.187-1.362) であり、血小板数よりも弱い相関をもつリスク因子であった。

3). 歯肉出血

歯肉出血は、19,415 人中 3,936 人 (20.2%) にみられた。男性にやや出現しやすく、平均年齢は 61.3 歳であった。歯肉出血の頻度は血小板数 1.5 万以上ではあまり変わらないが、1.5 万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 4.169 (95%CI: 3.807-4.565) であった。また、歯肉出血は年齢の増加につれて多くなったが、60 歳以上のオッズ比は 0.982 (95%CI: 0.902-1.070, P=0.685) であり、独立リスク因子ではなかった。

4). 鼻出血

鼻出血は、19,415 人中 2,424 人(12.4%)にみられた。男性に出現しやすく、平均年齢は 61.3 歳であった。鼻出血の頻度は血小板数 1.5 万以上ではあまり変わらないが、1.5 万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 2.285(95%CI:2.052-2.546)であった。また、鼻出血は 39 歳以下の若年層に多く、60 歳以上のオッズ比は 0.814 (95%CI:0.739-0.896)であり、他の出血症状と異なって、高齢者のほうが有意に少なかった。

5). 血尿

血尿は、19,415 人中 1,240 人(6.2%)にみられた。男性に出現しやすく、平均年齢は 64.0 歳であった。血尿の頻度は血小板数 2 万以上ではあまり変わらないが、2 万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 2.933(95%CI:2.488-3.457)であった。また、血尿は年齢の増加につれて多くなったが、60 歳以上のオッズ比は 1.098(95%CI:0.958-1.260, P=0.179)であり、独立リスク因子ではなかった。

6). 下血

下血は、19,415 人中 1,206 人(6.1%)にみられた。男性に出現しやすく、平均年齢は 70.5 歳であった。下血の頻度は血小板数 1.5 万以上ではあまり変わらなかったが、1.5 万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 4.153(95%CI: 3.3513-4.910)であった。また、下血は年齢の増加につれて多くなり、

60 歳以上のオッズ比は 2.629(95%CI: 2.246-3.078)であり、血小板数よりも弱いが、独立したリスク因子であった。また、下血は歯肉出血および鼻出血の出現と有意に関連していた。

7). 脳出血

脳出血は、19,415 人中 222 人(1.1%)にみられた。男性にやや出現しやすく、平均年齢は 71.5 歳であった。脳出血の頻度は血小板数 1 万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 2.962(95%CI: 2.112-4.154)であった。また、下血は年齢の増加につれて多くなり、60 歳以上のオッズ比は 3.086(95%CI:2.131-4.468)であり、血小板数とともに独立したリスク因子であった。さらに、血尿の存在が独立リスク因子として同定され、オッズ比は 1.562(95%CI:1.037-2.351)であった。

8). 年齢別の脳出血リスク因子

患者を 18-49 歳、50-69 歳、70 歳以上の 3 つの年齢層に分けて脳出血を起こした血小板数を解析した。18-49 歳の若年層では血小板数と脳出血頻度の間に明らかな相関は見られず、全年齢層での解析と違って、血小板数 1 万未満は脳出血のリスク因子ではなくなった(オッズ比 0.96, 95%CI: 0.35-2.65, p=0.936)。しかし、50-69 歳と 70 歳以上の年齢層では血小板数 1 万未満で脳出血は急増しており、多変量解析でも全年齢層での解析結果と同様に有意な脳出血リスク因子として同定された。また、70 歳以上では血小板数 2.5 万未満で脳出血が明らかに増加していた。これらの結果から、患者の年齢を考慮した脳出血

のリスクを判断する必要があると考えられた。

上記の研究成果は2020年3月にBlood Advanceに受理された。

2. ITP治療の参照ガイドの改訂と公開(柏木、高蓋、羽藤、桑名、村田、藤村、倉田)

研究班では、司法においても用いられる可能性のある拘束性の強いメッセージではなく、拘束性を若干弱めた形での治療の参照ガイドを作成し「臨床血液」誌(53巻4号:433-442, 2012; 2012年4月)に掲載し公開した。これらの成果はすべてオープンアクセス化している。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/rinketsu/53/4/53_433/_article/-char/ja/

本研究班では、「参照ガイド」との名称を意識して使用しているが、その理由としては、エビデンスレベルが高くなく専門家のコンセンサスにて作成していること、ITPに用いられている薬剤に関して保険適用が無い薬剤が多いこと、があげられ、あくまで標準的な目安を提示している。個別の症例に対しては、個々に存在する状況を鑑み、総合的に診療を行うべきである。本年度においても研究班が作成した上記参照ガイドの普及、啓発に学会シンポジウムや総説原稿にて活発に行った。実際「臨床血液」誌のダウンロード数において、一位が成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド2012年版であり、二位は妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参照ガイドであり、この2編が圧倒的なダウンロード数(約1,500/月)であり、その使命を果たしていることが裏付けられた。

「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)を記載し、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。

2019年改訂版における最も大きな変更点は、副腎皮質ステロイド不応例に対して脾摘、TPO受容体作動薬およびリツキシマブをセカンドラインとして同等に推奨したことである。それぞれの治療法の選択は、患者の状態やライフスタイルを考慮して個々に判断する、とし、それぞれの治療の長所・短所について、表を用いて提示した。

また副腎皮質ステロイド治療において最近用いられることが増えているデキサメサゾン大量療法に関しては、プレドニゾン通常量を上回るエビデンスに乏しく、旧参照ガイドと同様にプレドニゾン通常量を推奨することとした。しかし、早期の血小板増加が必要な若年者ではデキサメサゾン大量療法を選択することもよいとした。

サードライン治療に関しては、複数の薬剤を掲載したが、いずれもエビデンスレベルが低く副作用を十分考慮しながら投与の是非を判断することとした。

日本のITP治療の現状を海外に発信するために本参照ガイドの英訳を行い、日本血液学会の英文誌である“International Journal of Hematology”2020年3月号で世界に公開した。

3. 病態解析に基づいたITP診断法の標準化：TPO測定キットの開発（桑名、富山、柏木）

ITP の診断の基本は除外診断であるが、本研究班では、ITP の診断における網状血小板比率（RP%あるいはIPF%）と血中トロンボポエチン（TPO）濃度の有用性を明らかにしてきた。昨年度は2種類の抗TPO抗体を組み合わせたサンドイッチELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）としてTPO測定系を構築したが、臨床検査試薬として展開するためには汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬（CLEIA；Chemiluminescent Enzyme Immunoassay）へのアップグレードが必要である。そこで、本年度はCLEIAによるTPO測定系の確立を目標とした。

CLEIA測定系の構築のため、昨年度に作成したマウス抗ヒトTPOモノクローナル抗体クローンTN1結合磁性粒子、horshradish peroxidase（HRP）標識抗ヒトTPOモノクローナル抗体一本鎖IgG-Fab[’]を用いた。すべての過程を全自動診療検査システムSTACIA®（LSIメディエンス）で行い、19分で結果が得られ種々の検討を行い、CLEIA法を用いた汎用性の高い体量の検体を迅速に処理できるTPO測定系を確立した。基礎性能評価試験で大きな問題はなく、測定範囲は1.6-700 pg/mLと広範囲で健常人からAA患者検体まで幅広くカバーできた。血清、血漿ともに試料として使用可能だが、これまでの研究報告との対比から血漿を用いた測定が望ましい。すでにキット最終仕様が確立できたことから、今後はITP、AAなど血小板減少症患者を対象とした臨床性能試験の実施に向けた準備を進める予定である。

D. 考案

ITPの診療は、近年大きく変化している。本年度は、3年間の研究の集大成といっても過言ではない大きな業績をあげることができた。

まず、疫学調査ではITPに関して、世界最大規模のデータより、ITPにおいて皮膚・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明らかにし、その成果をBlood Advanceにて世界に発信できた。

治療法の標準化と啓発に関しては、リツキシマブは2017年3月にITPに対して保険収載されたこと、さらに2012年に参照ガイドを公開してから多くの年月が経過しているため、その7年後に2019改訂版を公開することができた。ステロイド不応性のITP患者における2nd Line治療としてのTPO受容体作動薬の安全性に関しては、メタアナリシスの結果から（Wang, et al. Sci Rep. 2016 Dec 19;6:39003）、その有効性と安全性が確立されてきている。またリツキシマブに関しては、欧米の報告では短期的には60%程度、長期的には20-30%程度の有効率であり、本邦における臨床治験においても30%程度の有効率が報告されている（Miyakawa Y, et al. Int J Hematol 2015, 102: 654-661）。脾摘に関しては、現時点においても最も有効率が高い治療法ではあるが、敗血症や血栓症の頻度の増加が報告されてきている（Boyle S et al. Blood 2013;121:4782-4790）。以上のような点から、2nd Line治療として、TPO受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘の

選択は個々の症例毎に、年齢や合併症を考慮し選択すべきであると提言した。また、2019改訂版では、1st Line 治療および3rd Line 治療に関しても、最新の情報を整理して提示し、臨床家が使用しやすいように改訂した。これらの成果は「臨床血液」にて公開したのに加えて、英文誌「Int. J. Hematol.」にて世界にも発信した。

さらに ITP の診断は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。

以上のように今後も、研究班として確実に成果をあげ正しい情報を発信していく予定である。

E. 結論

ITP の病態およびその治療に関し、問題点を早期把握すると共に、新たな薬剤に関してその適正使用を含め「ITP 治療の参照ガイド」を改訂、公開し、継続して情報発信に努めていく。本年度は、研究成果を国際誌を含め論文で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。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana

M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y: Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. Blood Adv (in press)

2) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y; Committee for the Revision of “Reference Guide for Management of adult ITP” Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour and Welfare Science Research Grants. Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. Int J Hematol. 2020 111:329-351, 2020

3) Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Reevaluation of platelet function in chronic immune thrombocytopenia: impacts of platelet size, platelet-associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists. Br J Haematol. 2020 Feb 27. doi: 10.1111/bjh.16439. [Epub ahead of print]

4) Akuta K, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y. Knock-in

- mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. *J Thromb Haemost.* 18:497-509, 2020
- 5) Akuta K, Kashiwagi H, Yujiri T, Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. A unique phenotype of acquired Glanzmann thrombasthenia due to non-function-blocking anti- α IIb β 3 autoantibodies. *J Thromb Haemost.* 17:206-219, 2019.
- 6) Hosokawa M, Kashiwagi H, Nakayama K, Sakuragi M, Nakao M, Morikawa T, Kiyokawa T, Aochi H, Nagamine K, Shibayama H, Tomiyama Y. Additional validation of Osaka method (0.01 mol/L dithiothreitol) for negating the daratumumab interference. *Transfusion.* 59:2479-2480, 2019.
- 7) Ikeda Y, Yamanouchi J, Hato T, Yasukawa M, Takenaka K: Safe childbirth for a type 1 antithrombin-deficient woman with novel mutation in the SERPINC1 gene undergoing antithrombin concentrate therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 30:47-51, 2019
- 8) Joko K, Hato T: Acute liver failure and intractable gastric ulcer in plasma prekallikrein deficiency 松山赤十字病院医学雑誌 44:21-27, 2019
- 9) 柏木浩和, 桑名正隆, 羽藤高明, 高蓋寿朗, 藤村欣吾, 倉田義之, 村田満, 富山佳昭. 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. *臨床血液* 60:877-896, 2019
- 10) 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 未来型血液治療学 (小松則夫編), 中外医学社, 東京, 2019, pp231-238
- 11) 富山佳昭. 高齢者の免疫性血小板減少症. *血液フロンティア* 29:63-70, 2019
- 12) 富山佳昭. 血小板減少症診断のための検査法と最近の進歩. *血液フロンティア* 29:365-373, 2019
- 13) 富山佳昭. 妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 診療について【妊娠合併 ITP における出産時の目標血小板数】. *日本医事新報* 4962:45, 2019
- 14) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム (改訂第4版) (日本輸血・細胞治療学会認定医制度審議会カリキュラム委員会編), 杏林舎, 東京, 2019, p189-192
- 15) 富山佳昭. 播種性血管内凝固症候群 (DIC). 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム (改訂第4版) (日本輸血・細胞治療学会認定医制度審議会カリキュラム委員会編), 杏林舎, 東京, 2019, p200-202
- 16) 富山佳昭. 血管性紫斑病. 内科学書改訂第9版 (南学正臣総集編), 中山書店, 東京, 2019, pp232-233
- 17) 富山佳昭. 血小板の異常. 内科学書改訂第9版 (南学正臣総集編), 中山書店, 東京, 2019, pp233-240

- 18) 富山佳昭. 血小板β3インテグリンと血小板血栓形成. 日本血栓止血学会誌 30:579-585, 2019
- 19) 富山佳昭. 再生不良性貧血の治療にTPO受容体作動薬登場. 日経メディカル 622:48-49, 2019
- 20) 富山佳昭. 脾摘. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編)南江堂, 東京, 2019, pp121-123
- 21) 富山佳昭. 血管障害による出血性疾患:血管性紫斑病. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編)南江堂, 東京, 2019, pp409-411
- 22) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編), 南江堂, 東京, 2019, pp412-415
- 23) 富山佳昭. 抗血小板抗体の検出とその臨床的意義. 日本輸血細胞治療学会誌 64:681-687, 2019
- 24) 細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, 富山佳昭. Daratumumabの間接抗グロブリン試験および直接抗グロブリン試験に対する異なる作用: K抗原の反応性を維持し Daratumumabの偽陽性反応を解消する 0.01 mol/l DTTを用いた新たな対処法(大阪法). 日本輸血細胞治療学会誌 65:117-127, 2019
- 2) **The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre, Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld)** Cooper N, Bird R, Hato T, Kuter D, Lozano M, Michel M, Platzbecker U, Provan D, Scheinberg P, Tomiyama Y, Wong R, Bussel JB (発表日 6.14) (Poster) Tapering and discontinuation of thrombopoietin agonists in ITP: expert consensus opinions.
- 2) **The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre, Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld)** Cooper N, Kruse A, Morgan M, Provan D, Tomiyama Y, Michel M, Ghanima W, Hou M, Santoro C, Lovrencic B, Waller J, Stankovic M, Bussel JB (発表日 6.14) (Poster) Patient perceptions on splenectomy outcomes: results from the ITP world impact survey (I-Wish).
- 3) **The American Society of Hematology 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA)** Hisashi Kato, Shigenori Honda, Hirokazu Kashiwagi, Nobuko Nishiura, Keigo Akuta, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoshiaki Tomiyama (発表日 12.7) (Poster) The critical role of Kindlin-3 in initiation of physiological thrombus formation-analysis of Kindlin-3 deficient patient.
- 4) **The American Society of Hematology**

2. 学会発表

- 1) **The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre,**
- 4) **The American Society of Hematology**

- 61th Annual Meeting (2019. 12. 7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA) Bussel JB, Ghanima W, Tomiyaama Y, Arnold DM, Provan D, Hou M, Santoro C, Serge Laborde S, Kruse A, Kruse C, Morgan M, Lovrencic11 B, Waller J, Haenig J and Cooper N (発表日 12. 7) (Poster) Physicians' and Patients' Perspectives on Treatments in ITP - a Multi-Country Perspective: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISH)
- 5) The XXVII Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (2019. 7. 6-10 Melbourne Convension Exhibition Centre, Melbourne, Australia) Nshiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Kato H, Kanakura Y, Tomiyaama Y (発表日 7. 7) (Poster) Platelet function of chronic immune thrombocytopenia: Impact of platelet size, platelet-associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists.
- 6) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019. 5. 23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 柏木浩和, 富山佳昭 (発表日 5. 24) (シンポジウム) 抗血小板同種抗体および自己抗体の特徴とその臨床的意義
- 7) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019. 5. 23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 富山佳昭 (発表日 5. 25) (シンポジウム「難病血液疾患の病態、診断、治療(輸血を含む)」) 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の病態と治療
- 8) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019. 5. 23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, 富山佳昭 (発表日 5. 25) (口演) Daratumumab 投与後の DAT は陽性になるとは限らない
- 9) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019. 5. 23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 櫻木美基子, 味村和哉, 中山小太郎純友, 細川美香, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 遠藤誠之, 木村正, 富山佳昭 (発表日 5. 25) (口演) 高力価抗 Rh17(抗 Hro) を有する D-型 の母親からの出生に成功した、胎児・新生児溶血性疾患 (HDFN) の一例～当院での対応と工夫～
- 10) 第 81 回日本血液学会学術集会 (2019. 10. 11-13, 東京国際フォーラム, 東京, 小松則夫) 芥田敬吾, 柏木浩和, 西浦伸子, 加藤恒, 金倉譲, 富山佳昭 (発表日 10. 11) (口頭) 新規のインテグリン α IIb β 3 非活性化変異 β 3(R734C) を認めた一家系
- 11) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム (2019. 2. 16 野村カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 柏木浩和 (発表日 2. 16) (シンポジウム) Flow cytometry を用いた慢性 ITP 患者の血小板機能解析

- 12) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム (2019. 2. 16 野村カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 羽藤高明 今後の血友病診療を考える 地域中核病院としての取り組み
- 13) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム (2019. 2. 16 野村カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 羽藤高明、島田直樹、富山佳昭、村田満 全国 ITP 患者統計からみた出血症状と血小板数の関連性
- 14) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術総会 2019. 5. 23 熊本 土居靖和、秋田誠、岡本康二、田尾美冴、山之内純、谷口裕美、西宮達也、宮本仁志、羽藤高明 当院の危機的出血への対応：10 年間の実績報告
- 15) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術総会 2019. 5. 23 熊本 山之内純、新家敏之、秋田誠、越智千晶、岡本康二、谷口裕美、土居靖和、竹中克斗、羽藤高明 APTT 延長に対して術前に FFP が輸注された先天性プレカリクレイン欠乏症
- 16) 第 41 回日本血栓止血学会学術総会 2019. 6. 22 津 山之内純、池田祐一、羽藤高明 妊娠分娩管理における血友病保因者遺伝子診断の有用性
- 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

成人ITP治療参照ガイド改訂版の作成と発表

研究分担者：富山佳昭 大阪大学医学部附属病院 輸血部

研究協力者：柏木浩和 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

研究要旨

当研究班から2012年に発表された「成人ITP治療の参照ガイド2012年版」は、実臨床において広く利用されてきた。しかし、発表後7年が経過し、当時はサードラインに位置していたトロンボポエチン受容体作動薬の副腎皮質ステロイド不応例への使用の増加や、リツキシマブのITPに対する保険適用の拡大などITP治療が変化してきており、参照ガイド改訂が必要な時期となった。当研究班では文献的検索を中心に各班員による改訂作業に取り組み、その成果として2019改訂版を日本血液学会の公式雑誌「臨床血液」に発表した。また海外に日本のITP治療の現状を発信する目的で英訳版を作成し、日本血液学会英文雑誌” International Journal of Hematology” において発表した。

A. 研究目的

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、既に7年が経過した。成人ITP治療の治療適応や治療目標に大きな変化はなく、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。ただ、2012年時点で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が明らかにされ、使用例が増えてきている。また、欧米のガイドラインではステロイド不応例に対するセカンドラインに位置づけられていたリツキシマブが、2017年本邦においてITPに対して適応拡大された。一方で、従来、2nd Line治療に位置付けられていた脾臓摘出術(脾摘)は、このような新薬の登場をうけ、感染症や静脈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、実施例が減少してきており、参照ガイドと実臨床との乖離が大きくなってきている。以上のような状況から、

本研究班において参照ガイドの改訂に取り組んできた。

本改訂の第1の目的は、副腎皮質ステロイド不応・不耐例のセカンドライン治療として脾摘、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にある。また、新規発症ITPにおける副腎皮質ステロイド療法においても、主に海外からデキサメタゾン大量療法の有効性が報告されてきている。またサードライン治療に関しても新たな知見が蓄積されつつある。これらの情報を整理し、参照ガイドを実臨床に生かしやすいかたちに改訂することを目的とした。

B. 研究方法

昨年度までに各班員により作成され、改訂委員会およびメール審議にて意見交換の終了した原稿を基に、最終的なとり

まとめを行い、改訂版を完成させた。また全文の英訳作業を行った。完成した改訂版および英訳版を専門誌に投稿した。

C. 研究結果

「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」が日本血液学会学会誌である臨床血液8月号に掲載された。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）を記載し、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。

2019年版における最も大きな改訂点は、副腎皮質ステロイド不応例に対して脾摘、TPO受容体作動薬およびリツキシマブをセカンドラインとして同等に推奨したことである。それぞれの治療法の選択は、患者の状態やライフスタイルを考慮して個々に判断する、とし、それぞれの治療の長所・短所について、表を用いて提示した。

また副腎皮質ステロイド治療において最近用いられることが増えているデキサメサゾン大量療法に関しては、プレドニゾン通常量を上回るエビデンスに乏しく、旧参照ガイドと同様にプレドニゾン通常量を推奨することとした。しかし、早期の血小板増加が必要な若年者ではデキサメサゾン大量療法を選択することもよいとした。

サードライン治療に関しては、複数の薬剤を掲載したが、いずれもエビデンスレベルが低く副作用を十分考慮しながら

投与の是非を判断することとした。

日本のITP治療の現状を海外に発信するために本参照ガイドの英訳を行い、日本血液学会の英文誌である“International Journal of Hematology” 2020年3月号に掲載された。

D. 考察

副腎皮質ステロイド不応性のITP患者におけるセカンドライン治療は従来脾摘とされていたが、今回の改訂により、TPO受容体作動薬とリツキシマブが脾摘と同等にセカンドライン治療として推奨された。それぞれの治療の選択は、各治療の長所・短所と患者の状態、ライフスタイルを考慮し、個々に判断することとしたが、今後、治療選択の基準を明確化していくことが課題である。

またファーストライン治療である副腎皮質ステロイドによるITPの寛解率は低い状況は変わっておらず、ファーストライン治療の改善を行うことも重要な課題である。更に、サードライン治療に関しても、有効性と安全性の高い薬剤の開発が必要である。最近、欧米において従来治療に対する反応が不十分であるITP症例に対してSyk阻害薬（Fostamatinib）の使用が認可されている。このような新たな治療薬に関する研究の進展も必要であろう。

E. 結論

成人ITP治療参照ガイドの改訂版を発表した。今後、改訂版の普及を目指すとともに次の改訂に向けての研究の継続が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y; Committee for the Revision of “Reference Guide for Management of adult ITP” Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour and Welfare Science Research Grants. Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. *Int J Hematol.* 111:329-351, 2020.
- 2) Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Reevaluation of platelet function in chronic immune thrombocytopenia: impacts of platelet size, platelet-associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists. *Br J Haematol.* 2020 Feb 27. doi: 10.1111/bjh.16439. [Epub ahead of print]
- 3) Akuta K, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y. Knock-in mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. *J Thromb Haemost.* 18:497-509, 2020.
- 4) Akuta K, Kashiwagi H, Yujiri T, Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. A unique phenotype of acquired Glanzmann thrombasthenia due to non-function-blocking anti- α IIb β 3 autoantibodies. *J Thromb Haemost.* 17:206-219, 2019.
- 5) Hosokawa M, Kashiwagi H, Nakayama K, Sakuragi M, Nakao M, Morikawa T, Kiyokawa T, Aochi H, Nagamine K, Shibayama H, Tomiyama Y. Additional validation of Osaka method (0.01 mol/L dithiothreitol) for negating the daratumumab interference. *Transfusion.* 59:2479-2480, 2019.
- 6) 柏木浩和, 桑名正隆, 羽藤高明, 高蓋寿朗, 藤村欣吾, 倉田義之, 村田満, 富山佳昭. 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. *臨床血液* 60:877-896, 2019
- 7) 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 未来型血液治療学 (小松則夫編), 中外医学社, 東京, 2019, pp231-238
- 8) 富山佳昭. 高齢者の免疫性血小板減少症. *血液フロンティア* 29:63-70, 2019
- 9) 富山佳昭. 血小板減少症診断のための検査法と最近の進歩. *血液フロンティア* 29:365-373, 2019
- 10) 富山佳昭. 妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 診療について【妊娠合併 ITP における出産時の目標血小板

- 数】. 日本医事新報 4962:45, 2019
- 11) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム (改訂第4版) (日本輸血・細胞治療学会認定医制度審議会カリキュラム委員会編), 杏林舎, 東京, 2019, p189-192
 - 12) 富山佳昭. 播種性血管内凝固症候群 (DIC). 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム (改訂第4版) (日本輸血・細胞治療学会認定医制度審議会カリキュラム委員会編), 杏林舎, 東京, 2019, p200-202
 - 13) 富山佳昭. 血管性紫斑病. 内科学書改訂第9版 (南学正臣総集編), 中山書店, 東京, 2019, pp232-233
 - 14) 富山佳昭. 血小板の異常. 内科学書改訂第9版 (南学正臣総集編), 中山書店, 東京, 2019, pp233-240
 - 15) 富山佳昭. 血小板β3インテグリンと血小板血栓形成. 日本血栓止血学会誌 30:579-585, 2019
 - 16) 富山佳昭. 再生不良性貧血の治療にTPO受容体作動薬登場. 日経メディカル 622:48-49, 2019
 - 17) 富山佳昭. 脾摘. 血液専門医テキスト (改訂第3版) (日本血液学会編) 南江堂, 東京, 2019, pp121-123
 - 18) 富山佳昭. 血管障害による出血性疾患: 血管性紫斑病. 血液専門医テキスト (改訂第3版) (日本血液学会編) 南江堂, 東京, 2019, pp409-411
 - 19) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 血液専門医テキスト (改訂第3版) (日本血液学会編), 南江堂, 東京, 2019, pp412-415
 - 20) 富山佳昭. 抗血小板抗体の検出とその臨床的意義. 日本輸血細胞治療学会誌 64:681-687, 2019
 - 21) 細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, 富山佳昭. Daratumumabの間接抗グロブリン試験および直接抗グロブリン試験に対する異なる作用: K抗原の反応性を維持し Daratumumabの偽陽性反応を解消する 0.01 mol/l DTTを用いた新たな対処法 (大阪法). 日本輸血細胞治療学会誌 65:117-127, 2019

2. 学会発表

- 1) The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre, Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld) Cooper N, Bird R, Hato T, Kuter D, Lozano M, Michel M, Platzbecker U, Provan D, Scheinberg P, Tomiyama Y, Wong R, Bussel JB (発表日 6.14) (Poster) Tapering and discontinuation of thrombopoietin agonists in ITP: expert consensus opinions.
- 2) The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre, Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld) Cooper N, Kruse A, Morgan M, Provan D, Tomiyama Y, Michel M, Ghanima W, Hou M, Santoro C, Lovrencic B, Waller J,

- Stankovic M, Bussel JB(発表日 6.14)(Poster) Patient perceptions on splenectomy outcomes: results from the ITP world impact survey (I-Wish).
- 3) The American Society of Hematology 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA) Hisashi Kato, Shigenori Honda, Hirokazu Kashiwagi, Nobuko Nishiura, Keigo Akuta, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoshiaki Tomiyama (発表日 12.7) (Poster) The critical role of Kindlin-3 in initiation of physiological thrombus formation-analysis of Kindlin-3 deficient patient.
- 4) The American Society of Hematology 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA) Bussel JB, Ghanima W, Tomiyama Y, Arnold DM, Provan D, Hou M, Santoro C, Serge Laborde S, Kruse A, Kruse C, Morgan M, Lovrencic11 B, Waller J, Haenig J and Cooper N (発表日 12.7) (Poster) Physicians' and Patients' Perspectives on Treatments in ITP - a Multi-Country Perspective: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISH)
- 5) The XXVII Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (2019.7.6-10 Melbourne Convension Exhibition Centre, Melbourne, Australia) Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y (発表日 7.7) (Poster) Platelet function of chronic immune thrombocytopenia: Impact of platelet size, platelet-associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists.
- 6) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 柏木浩和, 富山佳昭 (発表日 5.24) (シンポジウム) 抗血小板同種抗体および自己抗体の特徴とその臨床的意義
- 7) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 富山佳昭 (発表日 5.25) (シンポジウム「難病血液疾患の病態、診断、治療(輸血を含む)」) 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の病態と治療
- 8) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, 富山佳昭 (発表日 5.25) (口演) Daratumumab 投与後の DAT は陽性になるとは限らない
- 9) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊本, 熊本, 米村雄士) 櫻木美基子, 味村和哉, 中山小太郎純友, 細川美香, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青

地 寛, 永峰啓丞, 遠藤誠之, 木村正, 富山佳昭(発表日 5.25) (口演)高力価抗 Rh17(抗 Hro)を有する D-型の母親からの出生に成功した、胎児・新生児溶血性疾患 (HDFN) の一例～当院での対応と工夫～

- 10) 第 81 回日本血液学会学術集会 (2019.10.11-13, 東京国際フォーラム, 東京, 小松則夫) 芥田敬吾, 柏木浩和, 西浦伸子, 加藤恒, 金倉讓, 富山佳昭 (発表日 10.11) (口頭) 新規のインテグリン α IIb β 3 非活性化変異 β 3(R734C)を認めた一家系

- 11) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム (2019.2.16 野村カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 柏木浩和 (発表日 2.16) (シンポジウム) Flow cytometry を用いた慢性 ITP 患者の血小板機能解析

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ITP診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み

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 教授

研究分担者：富山佳昭 大阪大学医学部附属病院輸血部 部長

研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の診断には、いまだ血小板減少をきたす他疾患の除外に主眼を置いた基準が用いられている。平成 16 年度に本研究班が ITP に感度または特異度の高い臨床検査を組み合わせた診断基準案を提唱したが、含まれる項目の多くが保険診療下で測定できない。そこで、すでに測定系が確立しているトロンボポエチン（TPO）測定法をキット化して体外診断薬として製造承認を得ることを目指した検討を進め、昨年度はサンドイッチ ELISA キットを構築した。本年度はキットの構成は同様でだが、全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。測定系構築後に基礎性能評価試験で良好な結果が得られ、臨床性能評価試験を実施する準備が整った。

A. 研究目的

我が国では 1990 年に厚生省研究班により作成された特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の診断基準が現状も用いられている。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。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、そのため数多くの検査を行うことは医療経済上好ましくない。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を組み合わせ積極的に 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（TPO）は保険診療で測定できない。抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、網血小板比率、血漿 TPO 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体外診断用医薬品としての承認が不可欠である。そこで、すでに測定系が構築済みの TPO 測定試薬（エスアールエル社）を診断用医薬品に求められる基本性能を満たし、体外診断用医薬品として申請することを目的とした検討を行ってきた。昨年度は 2 種類の抗 TPO 抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）として TPO 測定系を構築したが、臨床検査試薬として展開

するためには汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬（CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay）へのアップグレードが必要である。そこで、本年度は CLEIA による TPO 測定系の確立を目標とした。

B. 研究方法

1) 対象

再生不良性貧血 (AA) 患者血清 5 検体、健常人血清および血漿 42 検体を用いた。AA 検体のうち 4 検体は 大阪大学病院通院中の症例より提供を受け、残りの 1 検体と健常人ボランティア検体は国外ベンダーより購入した。

2) TPO 測定

CLEIA 測定系の構築のため、昨年度に作成したマウス抗ヒト TPO モノクローナル抗体クローン TN1 結合磁性粒子、horshradish peroxidase (HRP) 標識抗ヒト TPO モノクローナル抗体一本鎖 IgG-Fab' を用いた。また、校正用基準物質として、新たに作成したりコンビナントヒト TPO (rTPO) を用いた。抗 TPO モノクローナル抗体結合磁性粒子 (110 μ L)、HRP 標識抗 TPO モノクローナル抗体 Fab' (100 μ L) と検体 (血清または血漿 40 μ L) を液相で 37°C、10 分反応後に磁石により免疫複合体を固定することで未反応物を除去、洗浄した。発光基質 (100 μ L) を添加して 37°C、2.7 分反応後に蛍光カウントを測定した。すべての過程を全自動診療検査システム STACIA® (LSI メディエンス) で行い、19 分で結果が得られた。蛍光カウントは rTPO キャリブレーション系列 (0、17.5、70、280、700 pg/mL) を

用いて標準化した。なお、同時に市販キット (R&D 社) でも TPO 測定を行い、結果を比較した。

(倫理面に対する配慮)

本研究ではヒト検体を使用することから学内倫理委員会で承認済みである (大阪大学)。患者本人に対して研究内容を説明し、文書による同意を得た。

C. 研究結果

1) TPO 測定系の確立

構築した CLEIA の測定系および R&D 社キットを用いて AA 血清 5 検体、健常人血清 4 検体の TPO 濃度を測定した。R&D 社キットに添付されたキャリブレーション (0、50、250、1000、3000pg/mL) を用いた。CLEIA での測定では AA 検体 879.9 ~ 4034.2pg/mL、健常人検体 63.1 ~ 141.5pg/mL と、両群間の差別化が可能であった。2つの測定法により結果は同一 AA 検体で 73~109%の対比率であった。73%と結果が大きく異なった例は CLEIA 法で最も高い濃度を示した検体で、2倍希釈したところ R&D 社キットを同等の数値を示した。したがって、本検体は R&D 社キットの測定上限値を超える TPO 濃度を有すると考えられ、CELIA 法の方で測定上限が高いことが明らかとなった。校正用基準物質として作成した rTPO をキャリブレーションは R&D 社キット添付のキャリブレーションに比べて純度が高く、測定濃度の比較には 4.286 の係数調整が必要であった (R&D 社キットの 3000 pg/mL に相当する CLEIA での rTPO 濃度は 700pg/mL)。すなわち、CLEIA 法で算出された測定値に係数 4.286 を掛

ければ、R&D キット測定値に変換できた。

2) TPO 測定法の基礎性能評価

TPO 濃度が低 (<50 pg/mL)、中 (50-200 pg/mL)、高濃度 (>200 pg/mL) の 3 血清を用いて同時に 10 測定したところ、CV は 2.4%と高い同時再現性が確認された。また、4 日間連続測定しても CV は 1.9~5.5% で測定間差再現性も高かった。低、中、高濃度の 3 血清を段階的に 1/10 まで希釈して直線性を検討したところ、700 pg/mL まで直線性が確保された。rTPO を用いてさらに高濃度の検体を作成したところ、測定上限の 700 pg/mL を越えて 2000 pg/mL 程度まで直線性を維持しプロゾーン現象はみられなかった。低、中、高濃度の 3 血清に rTPO を添加して回収率を評価したところ、100%±15%の範囲内であった。凍結融解、共存物質（ビリルビン、リウマトイド因子、乳び）の測定結果への影響はなかった。AA 血清を段階的に希釈し、CV が 15%を超える濃度を測定下限とすると 1.6 pg/mL であった。R&D 社キットの測定下限が 18.5 pg/mL であることから、CLEIA 法は約 3 倍高感度であった（係数 4.286）。健常人 42 人の血清、EDTA 血漿を用いて TPO 濃度を測定すると、血清での最低値は 11.6、血漿での最低値は 3.2 で測定下限より高かった。一方、すべての検体で TPO 濃度が血漿より血清で高いことが明らかとなった。

D. 考察

今回、CLEIA 法を用いた汎用性の高い体量の検体を迅速に処理できる TPO 測定系を確立した。基礎性能評価試験で大きな問題はなく、測定範囲は 1.6-700 pg/mL と

広範囲で健常人から AA 患者検体まで幅広くカバーできた。血清、血漿ともに試料として使用可能だが、これまでの研究報告との対比から血漿を用いた測定が望ましい。すでにキット最終仕様が確立できたことから、今後は ITP、AA など血小板減少症患者を対象とした臨床性能試験の実施に向けた準備を進める予定である。

E. 結論

高感度、再現性の高い TPO 測定キットを構築することができた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

該当なし

学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

研究分担者：羽藤高明 愛媛大学大学院医学系研究科 血液・免疫・感染症内科学講座

研究協力者：島田直樹 国際医療福祉大学基礎医学研究センター

倉田義之 四天王寺悲田院

研究要旨

2005年度から2014年度（10年間）の臨床調査個人票のデータを用いて出血リスク因子を解析した。紫斑は血小板減少とともに直線的に増加したが、歯肉出血、鼻出血、血尿、下血、脳出血は血小板数1-2万以下で急激に増加した。下血は鼻出血や歯肉出血のような粘膜出血のある患者に多く見られたが、脳出血はそのような関連はなかった。脳出血のリスク因子として、血小板数1万以下、60歳以上、血尿が同定されたが、50歳未満の患者では血小板数との関連はなくなり、逆に70歳以上では血小板数2.5万未満で脳出血が増加していた。

A. 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病（以下 ITP）は、しばしば治療に難渋し、長期間にわたって治療を必要とする難治性疾患である。厚生労働省は ITP を特定疾患に指定し、患者への支援を実施してきている。今後の ITP 患者への治療計画、支援計画をたてるにあたりわが国における ITP 患者の実態を把握することは非常に重要であると考えられる。本研究では ITP 患者より厚生労働省へ提出された臨床調査個人票をもとに ITP 患者の出血症状を解析した。

B. 研究方法

厚生労働省健康局疾病対策課より 2005年度から 2014 年度の間に提出された ITP 症例の臨床調査個人票をもとに入力されたデータの提供を受け、こ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。

（倫理面への配慮）

本疫学研究の施行に当たっては愛媛大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果および考察

1. 解析対象患者

臨床調査個人票には新規登録患者データベースと更新登録患者データベースがある。新規登録患者は出血症状の発現と血小板数の測定がほぼ同時期（登録時）に記録されているので、両者の関連をみるのに適していると考え、新規登録患者を対象とした。また、小児患者の登録は限定的なので、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。

2. 紫斑

紫斑は、19,415人中12,581人(64.5%)にみられた。男性より女性に出現しやすく、平均年齢は61.0歳であった。血小板数と紫斑出現頻度には直線的な負の相関があり、紫斑が出現しやすくなる血小板数閾値は存在しなかった。多変量解析では、血小板数1万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は5.07(95%CI: 4.691-5.480)であった。また、紫斑は年齢の増加につれて多くなったが、60歳以上のオッズ比は1.272(95%CI: 1.187-1.362)であり、血小板数よりも弱い相関をもつリスク因子であった。

3. 歯肉出血

歯肉出血は、19,415人中3,936人(20.2%)にみられた。男性にやや出現しやすく、平均年齢は61.3歳であった。歯肉出血の頻度は血小板数1.5万以上ではあまり変わらないが、1.5万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数1万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は4.169(95%CI: 3.807-4.565)であった。また、歯肉出血は年齢の増加につれて多くなったが、60歳以上のオッズ比は0.982(95%CI: 0.902-1.070, P=0.685)であり、独立リスク因子ではなかった。

4. 鼻出血

鼻出血は、19,415人中2,424人(12.4%)にみられた。男性に出現しやすく、平均年齢は61.3歳であった。鼻出血の頻度は血小板数1.5万以上ではあまり変わらないが、1.5万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数1万未満は独立

したリスク因子として同定され、オッズ比は2.285(95%CI: 2.052-2.546)であった。また、鼻出血は39歳以下の若年層に多く、60歳以上のオッズ比は0.814(95%CI: 0.739-0.896)であり、他の出血症状と異なっており、高齢者のほうが有意に少なかった。

5. 血尿

血尿は、19,415人中1,240人(6.2%)にみられた。男性に出現しやすく、平均年齢は64.0歳であった。血尿の頻度は血小板数2万以上ではあまり変わらないが、2万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数1万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は2.933(95%CI: 2.488-3.457)であった。また、血尿は年齢の増加につれて多くなったが、60歳以上のオッズ比は1.098(95%CI: 0.958-1.260, P=0.179)であり、独立リスク因子ではなかった。

6. 下血

下血は、19,415人中1,206人(6.1%)にみられた。男性に出現しやすく、平均年齢は70.5歳であった。下血の頻度は血小板数1.5万以上ではあまり変わらなかったが、1.5万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数1万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は4.153(95%CI: 3.513-4.910)であった。また、下血は年齢の増加につれて多くなり、60歳以上のオッズ比は2.629(95%CI: 2.246-3.078)であり、血小板数よりも弱いが、独立したリスク因子であった。また、下血は歯肉出血および鼻出血の出現と有意に相関していた。

7. 脳出血

脳出血は、19,415人中222人(1.1%)に

みられた。男性にやや出現しやすく、平均年齢は 71.5 歳であった。脳出血の頻度は血小板数 1 万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 2.962 (95%CI: 2.112-4.154) であった。また、下血は年齢の増加につれて多くなり、60 歳以上のオッズ比は 3.086 (95%CI: 2.131-4.468) であり、血小板数とともに独立したリスク因子であった。さらに、血尿の存在が独立リスク因子として同定され、オッズ比は 1.562 (95%CI: 1.037-2.351) であった。

8. 年齢別の脳出血リスク因子

患者を 18-49 歳、50-69 歳、70 歳以上の 3 つの年齢層に分けて脳出血を起こした血小板数を解析した。18-49 歳の若年層では血小板数と脳出血頻度の間に明らかな相関は見られず、全年齢層での解析と違って、血小板数 1 万未満は脳出血のリスク因子ではなくなった (オッズ比 0.96, 95%CI: 0.35-2.65, $p=0.936$)。しかし、50-69 歳と 70 歳以上の年齢層では血小板数 1 万未満で脳出血は急増しており、多変量解析でも全年齢層での解析結果と同様に有意な脳出血リスク因子として同定された。また、70 歳以上では血小板数 2.5 万未満で脳出血が明らかに増加していた。これらの結果から、患者の年齢を考慮した脳出血のリスクを判断する必要があると考えられた。

D. 結語

1. 紫斑は ITP 患者の約半数に見られ、その出現頻度は血小板減少とともに直線的に増加した。

2. 粘膜出血 (歯肉出血・鼻出血) と内臓出血 (血尿、下血、脳出血) は血小板数 1.5 万未満で急激に増加した。
3. 皮膚・粘膜出血と年齢の相関は弱かったが、内臓出血は年齢とともに増加した。
4. 脳出血のリスク因子は血小板数 1 万未満、60 歳以上、血尿の 3 つであった。
5. ただし、脳出血のリスクは年齢を考慮して判断する必要がある。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y: Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. *Blood Adv* (in press)
- 2) Ikeda Y, Yamanouchi J, Hato T, Yasukawa M, Takenaka K: Safe childbirth for a type 1 antithrombin-deficient woman with novel mutation in the SERPINC1 gene undergoing antithrombin concentrate therapy. *Blood Coagulation Fibrinolysis* 30:47-51, 2019
- 3) Joko K, Hato T: Acute liver failure and intractable gastric ulcer in plasma prekallikrein deficiency 松山赤十字病院医学雑誌 44:21-27, 2019
- 4) 柏木浩和、桑名正隆、羽藤高明、高蓋寿

朗、藤村欣吾、倉田義之、村田満、富山佳昭：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 臨床血液 60:877-896, 2019

- 5) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y: Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. Int J Hematol 111:329-351, 2020

2. 著書

- 1) 羽藤高明 輸血・血液型検査 今日の臨床検査 2019-2020 pp110-117, 2019 南江堂 東京
- 2) 羽藤高明 ヒト白血球抗原 (HLA) 検査 今日の臨床検査 2019-2020 pp118-123, 2019 南江堂 東京
- 3) 羽藤高明 血小板の同種抗原 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム 改訂第4版 pp91-93, 2019 日本輸血・細胞治療学会 東京
- 4) 羽藤高明 先天性および後天性血管障害による出血 血液疾患 最新の治療 2020-2022 pp231-234, 2019 南江堂 東京

3. 学会発表

- 1) 羽藤高明 今後の血友病診療を考える 地域中核病院としての取り組み 第13回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム 2019. 2. 16 東京
- 2) 羽藤高明、島田直樹、富山佳昭、村田満 全国 ITP 患者統計からみた出血症状と血小板数の関連性 第13回日本血栓

止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム 2019. 2. 16 東京

- 3) 土居靖和、秋田誠、岡本康二、田尾美冴、山之内純、谷口裕美、西宮達也、宮本仁志、羽藤高明 当院の危機的出血への対応：10年間の実績報告 第67回日本輸血・細胞治療学会学術総会 2019. 5. 23 熊本
- 4) 山之内純、新家敏之、秋田誠、越智千晶、岡本康二、谷口裕美、土居靖和、竹中克斗、羽藤高明 APTT 延長に対して術前に FFP が輸注された先天性プレカリクレイン欠乏症 第67回日本輸血・細胞治療学会学術総会 2019. 5. 23 熊本
- 5) 山之内純、池田祐一、羽藤高明 妊娠分娩管理における血友病保因者遺伝子診断の有用性 第41回日本血栓止血学会学術総会 2019. 6. 22 津
- 6) Cooper N, Bird R, Hato T, Kuter DJ, Lozano M, Michel M, Platzbecker U, Provan D, Scheinberg P, Tomiyama Y, Wong R, Bussel JB Tapering and discontinuation of thrombopoietin receptor agonists in ITP: consensus summary of expert opinions. The 24th congress of European Hematology Association 2019. 6. 14 Amsterdam, Netherland

G. 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

TTP グループ総括

分担研究者・サブグループリーダー：松本 雅則

研究分担者：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
小亀浩市 国立循環器病研究センター研究所分子病態部 部長

研究要旨

平成 31/令和元年度は以下の 6 項目につき実施した。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。TMA レジストリーは 2019 年 12 月末で 1550 例の登録となり、そのうち ADAMTS13 活性が 10%未満の TTP が 684 例となった。うち先天性 TTP が 67 例であり、65 例において ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。61 例において責任遺伝子変異を同定したが、4 例は発見できなかった。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実現した。ADAMTS13 検査の保険収載、血漿交換の回数制限の撤廃など TTP の保険診療における進歩を TTP ガイドラインに反映させるため、「TTP 診療ガイド 2017」を部分的に改定し、「TTP ガイド 2020」を作成した。本年に国際血栓止血学会の TTP ガイドラインが公表される予定であり、それと大きな齟齬がなく、科学的根拠を基にしたガイドラインとするため、MINDS に準拠した TTP ガイドラインを今後作成する予定である。

A. 研究の目的

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。

B. 研究方法

平成 31/令和元年度は以下のように計画し、実施した。

- 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

(倫理面への配慮)

検体採取に際しては、主治医より十分な説明を行い、同意を得た。また、TMA コホート研究は奈良医大と倫理委員会、遺伝子解析は奈良医大、国立循環器病研究センターのヒトゲノム倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究成果

- 1) TMA レジストリーの継続

1998年に奈良医大輸血部で開始したTMAレジストリーは、2019年12月末で1550例の症例を登録した。これは全国の医療機関からTMA疑い症例においてADAMTS13検査を依頼されたものをデータベースにしたものである。TMAレジストリーの登録患者数の年次推移を図1に示す。ADAMTS13検査が保険収載され、検査依頼が減少しているが、2019年に34例増加した。表1に示すように34例のうちADAMTS13活性が10%未満のTTP症例が21例であった。このうち、先天性TTP(Upshaw-Schulman症候群、USS)が2例で、後天性特発性の症例が14例であった。

2) ADAMTS13 遺伝子解析の継続

表1に示すように、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。

3) リツキシマブの後天性 TTP への保険適用拡大

2014年に別の厚労研究班(主任研究者宮川)において、後天性TTPに対するリツキシマブの医師主導治験を実施した。その後、2017年8月に日本血液学会を通じて「医療上必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」に要望書を提出した。2018年7月に同部会の専門作業部会で承認され、2019年

5月に公知申請が認められた。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。

4) TTP 診療ガイド 2017 改定版の作成

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。添付資料1として添付するが、「TTP診療ガイド2017」からの変更部位をアンダーラインで示した。

5) MINDS 方式による TTP ガイドラインの作成

ガイドラインの作成は、科学的根拠をもとに作成することが求められているが、特に日本国内ではMINDS方式を準拠することが望ましいとされている。我々もMINDS方式を準拠するため、clinical question(CQ)を策定し、網羅的に文献検索を行うことを考えた。ただし、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。そのため、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。

6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

TMA の中でも TTP は病態解析が進み、新たな治療法が次々と登場しているが、二次性 TMA は病態が明らかでなく、有効な治療法が開発されていない状況である。そのため、我々は二次性 TMA の中から造血幹細胞移植後 TMA を取り上げて解析している。解析する症例として、奈良医大の症例の他に倉敷中央病院血液内科の症例で実施している。倉敷では 2006 年 9 月以降に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。

造血幹細胞移植後 TMA に対して補体 C5 に対するモノクローナル抗体エクリズマブが有効であることが報告されている。C5b-9 は補体活性の最終産物で、活性化の重要な指標と考えられている。血液中の可溶性 C5b-9 の測定と組織中の C5b-9 の染色で検討することが可能である。皮膚と腸管の生検組織を使って C5b-9 の染色を造血幹細胞移植後 GVHD 患者で実施した。腸管では 11/12、皮膚では 6/17 で陽性となり、腸管では陽性率が高過ぎることより、皮膚生検で検査の方が有用であると考えている。

D. 考察

TTP グループとして、本年度も概ね順調に活動できたと考えている。本年度の一番大きな活動としては、TTP ガイドラインの改定があった。当初は、CQ を作成し、文献検索を網羅的に行って改定することも考えたが、希少疾患で科学的根拠の高いデー

タを得ることは困難であることが予想された。実際、現在作成中の ISTH ガイドラインにおいても、科学的根拠が明らかでない項目も多い。そのため、今回は「TTP 診療ガイド 2017」を部分的に改定することにした。この 3 年の間に保険診療で新たに認められた項目を中心に改定し「TTP 診療ガイド 2020」を作成した。

また、20 年以上継続している奈良医大の TMA レジストリーも順調に登録が継続している。総登録数は 1550 例となり、世界でも類を見ない症例数となっている。ADAMTS13 検査が保険適用となったことより ADAMTS13 著減例である TTP の診断、経過観察を目的に登録されている症例が増えている。TTP 全体の症例数は 684 例とこれも世界有数の規模である。このうち先天性 TTP が 67 例となったが、61 例が ADAMTS13 遺伝子に異常のある確定例である。遺伝子解析で責任遺伝子異常を発見できなかった 4 例において、Long read を使った PacBio で解析中である。興味深い結果が得られており、今後解析を続け、遺伝子異常を明らかにする予定である。

E. 結論

我々のグループは TMA 症例の集積を行いながら、病態解析を継続している。また、2014 年から保険収載を目指して取り組んできたリツキシマブの後天性 TTP に対する適応拡大に本年やっと成功した。これらの保険診療における進歩を組み入れた「TTP 診療ガイド 2020」を作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

欧文

1. Otani T, Hatakeyama K, Yamashita K, Hayata Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Taniguchi S, Ohbayashi C. A histological description of intestinal 'angiodysplasia' in an autopsy case of Heyde's syndrome. *Pathol Int.* 69(12)727-729, 2019. doi:10.1111/pin.12874.
2. Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K, Miyata T, Takahashi Y, Taniguchi S, Matsumoto M. Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Adv.* 3(21)3191-3195, 2019
3. Takaya H, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Nakanishi K, Tsuji Y, Shimozato N, Moriya K, Seki K, Sawada Y, Saikawa S, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Noguchi R, Matsumoto M, Yoshiji H. VWF/ADAMTS13 ratio as a potential biomarker for early detection of hepatocellular carcinoma. *BMC gastroenterology.* 19(1)167, 2019
4. Yoshikawa T, Nomi T, Sakai K, Hayakawa M, Hokuto D, Matsuo Y, Sho M, Matsumoto M. Ischaemia-reperfusion injury with Pringle's maneuver induces unusually large von Willebrand factor multimers after hepatectomy. *Thrombosis research.* 183, 20-27, 2019
5. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clinical and Experimental Nephrology.* 23(1)65-75, 2019
6. Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clinical and Experimental Nephrology.* 23(1)112-121, 2019
7. van Dorland HA, Mansouri Taleghani M, Sakai K, Friedman KD, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, von Krogh AS, Schneppenheim R, Aebi-Huber I, Bütikofer L, Largiadèr CR, Cermakova Z, Kokame K, Miyata T, Yagi H, Terrell DR, Vesely SK, Matsumoto M, Lämmle B, Fujimura Y, Kremer Hovinga JA. The International Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic

- Purpura Registry: Key findings at enrolment until 2017. *Haematologica*. 104(10)2107–2115, 2019 Feb 21. pii: haematol. 2019. 216796. doi:10.3324/haematol.2019.216796.
8. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Fujimura Y, Matsumoto M. Blood group antigen A on von Willebrand factor is more protective against ADAMTS13 cleavage than antigens B and H. *J Thromb Haemost*. 17(6)975–983, 2019
 9. Tsujii N, Nogami K, Matsumoto M, Yoshizawa H, Takase T, Tanaka I, Sakai T, Fukuda K, Hayakawa M, Sakai K, Isonishi A, Matsuura K, Fujimura Y, Shima M. Involvement of the ADAMTS13–VWF axis in acute Kawasaki disease and effects of intravenous immunoglobulin. *Thromb Res*. 179:1–10, 2019 Apr. doi: 10.1016/j.thromres.2019.04.026.
 10. Horiuchi H, Doman T, Kokame K, Saiki Y, Matsumoto M. Acquired von Willebrand Syndrome Associated with Cardiovascular Diseases. *J Atheroscler Thromb*. 26(4)303–314, 2019. doi:10.5551/jat.RV17031.
 11. Takaya H, Namisaki T, Shimozato N, Kaji K, Kitade M, Moriya K, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Matsumoto M, Yoshiji H. ADAMTS13 and von Willebrand factor are useful biomarkers for sorafenib treatment efficiency in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastrointest Oncol*. 11(5):424–435, May 15, 2019. doi: 10.4251/wjgo.v11.i5.424.
 12. Nakayama S, Hirashio S, Yorishima H, Doi T, Yoshida Y, Matsumoto M, Masaki T. Atypical reduction of plasma ADAMTS13 activity by a non-IgG-type inhibitor in a patient with hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *CEN Case Reports*. 2019 Jun 8. doi.org/10.1007/s13730-019-00405-4.
 13. Sakai K, Someya T, Harada K, Yagi H, Matsui T, Matsumoto M. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to caplacizumab. *Haematologica*. 2019. 235549; doi:10.3324/haematol.2019.235549. [Epub ahead of print]
 14. Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, Matsumoto M. Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Intensive Care Med*. 2020 Jan 22:885066619899637. doi: 10.1177/0885066619899637. [Epub ahead of print]
 15. Shigekiyo T, Yagi H, Sekimoto E, Shibata H, Ozaki S, Matsumoto M.

- Identification of a missense mutation (p.Leu1733Pro) in the A3 domain of von Willebrand factor in a family with type 2M von Willebrand disease. *International journal of hematology*. 111(3) 467 - 470 2020.
16. Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M. Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 27(4) 353 - 362 2020.
doi.org/10.5551/jat.49494
 17. Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood*. 2020
 18. Seiko Nakajima-Doi, Osamu Seguchi, Yasuhiro Shintani, Tomoyuki Fujita, Satsuki Fukushima, Yoriyoko Matsumoto, Yuka Eura, Koichi Kokame, Shigeki Miyata, Sachi Matsuda, Hiroki Mochizuki, Keiichiro Iwasaki, Yuki Kimura, Koichi Toda, Yuto Kumai, Kensuke Kuroda, Takuya Watanabe, Masanobu Yanase, Junjiro Kobayashi, and Norihide Fukushima: Experience of the use of octreotide for refractory gastrointestinal bleeding in a patient with Jarvik2000 left ventricular assist device. *J. Artif. Organs* 22 (5), 334-337, 2019
 19. Yuka Sugawara, Hideki Kato, Yoko Yoshida, Madoka Fujisawa, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yuko Akioka, Kenichiro Miura, Motoshi Hattori, and Masaomi Nangaku: Novel CFHR2-CFHR1 hybrid in C3 glomerulopathy identified by genomic structural variation analysis. *Kidney Int. Rep.* 4 (12), 1759-1762, 2019
 20. Miyu Usui, Tadashi Ozawa, Younhee Kim, Takafumi Mashiko, Kosuke Matsuzono, Keiko Maruyama, Koichi Kokame, Rie Usui, Reiji Koide, and Shigeru Fujimoto: Cerebral venous sinus thrombosis associated with protein S deficiency during pregnancy: a case report. *J. Obstet. Gynaecol.* 40 (1), 135-136, 2020
 21. Takekazu Miyoshi, Keiko Maruyama, Hisato Oku, Saiko Asahara, Hironori Hanada, Reiko Neki, Jun Yoshimatsu, Koichi Kokame, and

- Toshiyuki Miyata: Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation. *Thromb. Res.* 185, 1-4, 2020
22. Keigo Akuta, Kazunobu Kiyomizu, Hirokazu Kashiwagi, Shinji Kunishima, Nobuko Nishiura, Fumiaki Banno, Koichi Kokame, Hisashi Kato, Yuzuru Kanakura, Toshiyuki Miyata, and Yoshiaki Tomiyama: Knock-in mice bearing constitutively active α IIb(R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. *J. Thromb. Haemost.* 18 (2), 497-509, 2020
23. Miyakawa Y. [Rituximab for treatment of immune thrombocytopenia and thrombotic thrombocytopenic purpura]. *Rinsho Ketsueki.* 2019;60(5):480-487.
24. Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clin Exp Nephrol.* 2019 Jan;23(1):112-121.
25. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clin Exp Nephrol.* 2019 Jan;23(1):65-75.
- 和文
1. 久保 政之, 松本 雅則. 【専門家による私の治療】血栓性血小板減少性紫斑病(TTP). *日本医事新報* 4987号 54, 2019
 2. 久保 政之, 松本 雅則. 未来型血液治療学 4章 血小板・凝固線溶系疾患 血栓性血小板減少性紫斑病. 中外医学社 239-245, 2019
 3. 酒井 和哉, 松本 雅則. 血液領域における免疫療法と抗体医薬—最近の展開 後天性 TTP に対する caplacizumab の臨床効果. *血液内科* 79 巻1号 76-81, 2019
 4. 酒井 和哉, 松本 雅則. ADAMTS13 が関与する多様な病態 先天性 TTP の臨床所見. *Thrombosis Medicine* 9 巻3号 206-211, 2019
 5. 松本 雅則. TMA(血栓性微小血管症) と HELLP 症候群. *産科と婦人科* 89 巻2号 231-236, 2019
 6. 岡崎 仁, 池田 敏之, 大石 晃嗣, 加藤 栄史, 浜口 功, 藤井 康彦, 松本 雅則, 松下 正, 日本輸血・細胞治療学会ガイドライン委員会輸血有害事象検討タスクフォース. 科学的根拠に基づいた輸血有害事象対応ガイド

- ライン. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 1 号 1-9, 2019
7. 松本 雅則. 【血栓止血の臨床-研修医のために[第 2 版]】 血小板減少を伴う血栓性疾患 血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の診断と治療. 日本血栓止血学会誌 30 卷 1 号 155-159, 2019
 8. 國島 伸治, 山崎 昌子, 松本 雅則. 2018 Hot Topics 血小板分野. 日本血栓止血学会誌 30 卷 1 号 248-251, 2019
 9. 久保 政之, 松本 雅則. 【検査項目と異常値からみた-緊急・重要疾患レッドページ】(7 章)血液・造血器疾患 血栓性血小板減少性紫斑病. 臨床検査 63 卷 4 号 508-509, 2019
 10. 松本 雅則. 輸血管理部門の将来像 血漿分画製剤管理と臨床研究. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 3 号 723-724, 2019
 11. 高見 昭良, 松下 正, 緒方 正男, 藤井 伸治, 久富木 庸子, 藤原 慎一郎, 松本 雅則, 富山 佳昭, 日本輸血・細胞治療学会血小板使用ガイドライン小委員会, 日本輸血・細胞治療学会「指針改訂検討委員会」日本輸血・細胞治療学会ガイドライン委員会, 血小板製剤使用ガイドライン小委員会. 科学的根拠に基づいた血小板製剤の使用ガイドライン[2019 年改訂版]. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 3 号 554-561, 2019
 12. 松下 正, 長谷川 雄一, 玉井 佳子, 宮田 茂樹, 安村 敏, 山本 晃士, 松本 雅則, 日本輸血・細胞治療学会「ガイドライン委員会」, 新鮮凍結血漿の使用指針に関する小委員会. 科学的根拠に基づいた新鮮凍結血漿(FFP)の使用ガイドライン[改訂第 2 版]. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 3 号 525-537, 2019
 13. 松本 雅則. 【全身性疾患と腎 update】(第 5 章)血液疾患 血栓性微小血管症・血液専門医の視点より. 腎と透析 86 卷 274-277, 2019
 14. 松本 雅則. 【指定難病ペディア 2019】個別の指定難病 血液系 血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)[指定難病 64]. 日本医師会雑誌 148 卷 S189-S190, 2019
 15. 秋山正志, 小亀浩市: ADAMTS13 の構造変化と機能発現. Thromb. Med. 9 (3), 189-198, 2019
 16. 宮田敏行, 小亀浩市: TMA の遺伝子診断: TTP と aHUS. 日本血栓止血誌, 31 (1), 17-27, 2020

学会発表

1. 松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病. 第 67 回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019 年 5 月 25 日
2. 長谷川 真弓, 田中 宏明, 谷山 歩, 隅志穂里, 梅木 弥生, 田中 忍, 酒井 和哉, 早川 正樹, 松本 雅則. 輸血検査におけるフローサイトメトリーの有用性. 第 67 回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019 年 5 月 25 日
3. 松本 雅則. aHUS 以外の TMA の診断と治療. 第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
4. 藤村 吉博, レムレ ベルンハルト, 田辺 さおり, 高橋 幸博, 酒井 和哉, 谷

- 口 繁樹, 松本 雅則. Severe hemolytic jaundice with thrombocytopenia at birth in Upshaw-Schulman syndrome is caused by physical constriction of ductus arteriosus. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
5. 石川 哲也, 小川 孔幸, 内藤 千晶, 松本 彬, 宮澤 悠里, 石崎 卓馬, 柳澤 邦雄, 松村 郁子, 外山 耕太郎, 松本 雅則, 半田 寛. Inhibitor boostingにより長期入院を要した難治性の血栓性血小板減少性紫斑病症例. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
 6. 平形 絢子, 小林 靖子, 池内 由果, 小笠原 聡, 武井 麻里子, 小川 孔幸, 半田 寛, 松本 雅則, 荒川 浩一. 血栓性血小板減少性紫斑病を契機に診断された全身性エリテマトーデスの小児例. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
 7. 酒井 和哉, 中塚 優希, 吉田 瑤子, 早川 正樹, 和田 英夫, 松本 雅則. 凝固マーカーを含むルーチン血液検査によるTMAとDICの比較. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
 8. 矢田 憲孝, 川島 浩正, 垣脇 文香, 佐和 明裕, 千崎 聡士, 西村 伸城, 米今 諒, 田井 義彬, 對馬 恵美子, 大野 史郎, 吉本 清巳, 酒井 和哉, 福島 英賢, 松本 雅則, 西尾 健治. 敗血症性DICと血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の鑑別診断におけるFDP/D-dimer比およびLDH/Hb比の有用性. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
 9. H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J.N. George, I. Hrachovinova, P.N. Knöbl, A.S. von Krogh, R. Schneppenheim, E. Tarasco, C.R. Largiadèr, Z. Cermakova, K. Kokame, T. Miyata, D.R. Terrell, S.K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmlel, Y. Fujimura, J.A. Kremer Hovinga. Age at First Disease Manifestation in Relation to Residual ADAMTS13 Activity in Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
 10. K. Sakai, Y. Fujimura, A. Isonishi, M. Hayakawa, H. Yagi, M. Matsumoto. Successful Treatment of Pregnant Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Using Prophylactic Fresh Frozen Plasma Infusion. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
 11. H. Shimizu, K. Matsuura, Y. Miura, N. Takahashi, K. Sugie, K. Hatakeyama, M. Matsumoto. Immunohistologic Analysis of von Willebrand Factor in Thrombi

- Retrieved from Patients with Acute Ischemic Stroke. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日～10日
12. Y. Fujimura, B. Laemmle, S. Tanabe, Y. Takahashi, K. Sakai, S. Taniguchi, M. Matsumoto. Severe Hemolytic Jaundice with Thrombocytopenia at Birth in Congenital TTP Is Caused by Physiological Constriction of Ductus Arteriosus. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日～10日
 13. J.Y. Tiao, R. Baker, J. Sathar, Y.Y. Yap, P. Angchaisuksiri, D. Oh, S.-S. Yoon, J. Kim, R. Wong, E. Merriman, P. Choi, E. Gardiner, C.-G. Ruan, Z. Yu, M. Matsumoto, S.L. Tien, M.-C. Shen, S. Nair, R. Yang, M. Smith. Successful International Standardisation of ADAMTS13 Assays Highlights Challenges in the Result Interpretation for the Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) - results of the Asia-Pacific Microangiopathic (APMAT) Network. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日～10日
 14. 松本 雅則. 血液製剤適正使用ガイドライン update. 第43回日本血液事業学会総会. 仙台, 2019年10月2日～4日
 15. M Hayakawa, H Horiuchi, K Kokame, T Yambe, Y Shiraishi, A Yamada, Y Inoue, Y Saiki, T Yasui, T Minamitani, M Matsumoto. Acquired von Willebrand syndrome. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日～13日
 16. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H Tanaka, M Matsumoto. A susceptibility locus for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in Japanese patients. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日～13日
 17. 谷山 歩, 隅 志穂里, 梅木 弥生, 長谷川 真弓, 久保 政之, 酒井 和哉, 早川 正樹, 松本 雅則. AB型クリオ製剤使用時の安全性の検討. 第63回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会. 大阪, 2019年11月9日
 18. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H Tanaka, M Kubo, H Yagi, M Matsumoto. Next-Generation Sequencing of HLA Loci Identifies Predisposing and Protective Factors for Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in a Japanese Population. 61st ASH Annual Meeting and Exposition. Orlando, 2019年12月7日～10日
 19. 丸山 慶子, 小亀 浩市: 公開データベースから抽出したプロテインS変異の機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日

- ～22 日
20. 山崎 泰男, 樋口(江浦) 由佳, 小亀 浩市: プロトンポンプ V-ATPase は von Willebrand 因子の細胞内貯蔵オルガネラであるWeibel-Palade小体に局在する. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日～22 日
 21. 秋山 正志, 樋口(江浦) 由佳, 小亀 浩市: ADAMTS13 クリアランス受容体としての SIGLEC5 の同定と機能解析. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日～22 日
 22. 武田 壮一, 秋山 正志, 荒木 聡彦, 小亀 浩市: シェディング酵素 ADAM ファミリープロテアーゼの成熟化とプロドメインによる活性制御の構造基盤. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日～22 日
 23. 根木 玲子, 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 柏木 浩和, 丸山 慶子, 小亀 浩市: 家系構成員の遺伝子解析が発端者の診断に有用であった遺伝性血栓性素因患者における遺伝子解析の検討. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日～22 日
 24. S. Miyata, Y. Nakamura, K. Kuramochi, O. Sawada, Koichi Kokame, and Takuma Maeda: Safety and efficacy of argatroban therapy using ethnic-specific doses in Japanese patients suspected of having heparin-induced thrombocytopenia: nationwide post-marketing surveillance studies. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia, 2019 年 7 月 6 日～10 日
 25. T. Miyoshi, H. Oku, S. Asahara, A. Okamoto, K. Kokame, M. Nakai, K. Nishimura, F. Otsuka, Higashiyama, J. Yoshimatsu, and T. Miyata: Effects of low-dose combined oral contraceptives and protein S K196E mutation on anticoagulation factors: a prospective observational study. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia, 2019 年 7 月 6 日～10 日
 26. H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J.N. George, I. Hrachovinova, P.N. Knöbl, A.S. von Krogh, R. Schneppenheim, L.B. Lukas Bütikofer, C.R. Largiadèr, Z. Cermakova, K. Kokame, T. Miyata, D.R. Terrell, S.K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmle, Y. Fujimura, J.A. Kremer Hovinga, and Hereditary TTP Registry: Age at first disease manifestation in relation to residual ADAMTS13 activity in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia,

2019年7月6日～10日

27. 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 柏木 浩和, 丸山 慶子, 小亀 浩市, 根木 玲子: 血縁者の解析から明らかになった2つの遺伝性血栓性素因を併せ持つ深部静脈血栓症患者における遺伝子変異の検討. 第43回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 札幌, 2019年8月2日～4日
28. 根木 玲子, 宮田 敏行, 伊田 和史, 小西 妙, 中西 篤史, 吉松 淳, 小亀 浩市, 大谷 克城, 日高 義彦, 若宮 伸隆, 井上 徳光: 妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査と補体関連遺伝子解析の検討. 第56回日本補体学会学術集会, 東京, 2019年8月23日～24日
29. 根木 玲子, 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 宮田 敏行, 丸山 慶子, 小亀 浩市: ホルモン補充周期法による不妊治療中に脳静脈洞血栓症を発症した先天性アンチトロンビン欠乏症の検討. 第34回日本女性医学学会学術集会, 福岡, 2019年11月2日～3日
30. 根木 玲子, 宮田 敏行, 伊田 和史, 小西 妙, 中西 篤史, 吉松 淳, 小亀 浩市, 大谷 克城, 日高 義彦, 若宮 伸隆, 井上 徳光: 妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査および補体関連遺伝子解析についての検討. 日本人類遺伝学会第64回大会, 長崎, 2019年11月6日～9日
31. 根木 玲子, 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 小亀 浩市, 宮田 敏行: 妊娠初期に静脈血栓塞栓症を発症した先天性プロテインS欠乏症の遺伝子解析の検討. 第5回日本産科婦人科遺伝診療学会学術講演会, 東京, 2019年12月20日～21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 奈良医大輸血部で集積したTMA症例数の推移
(2019年12月末まで)

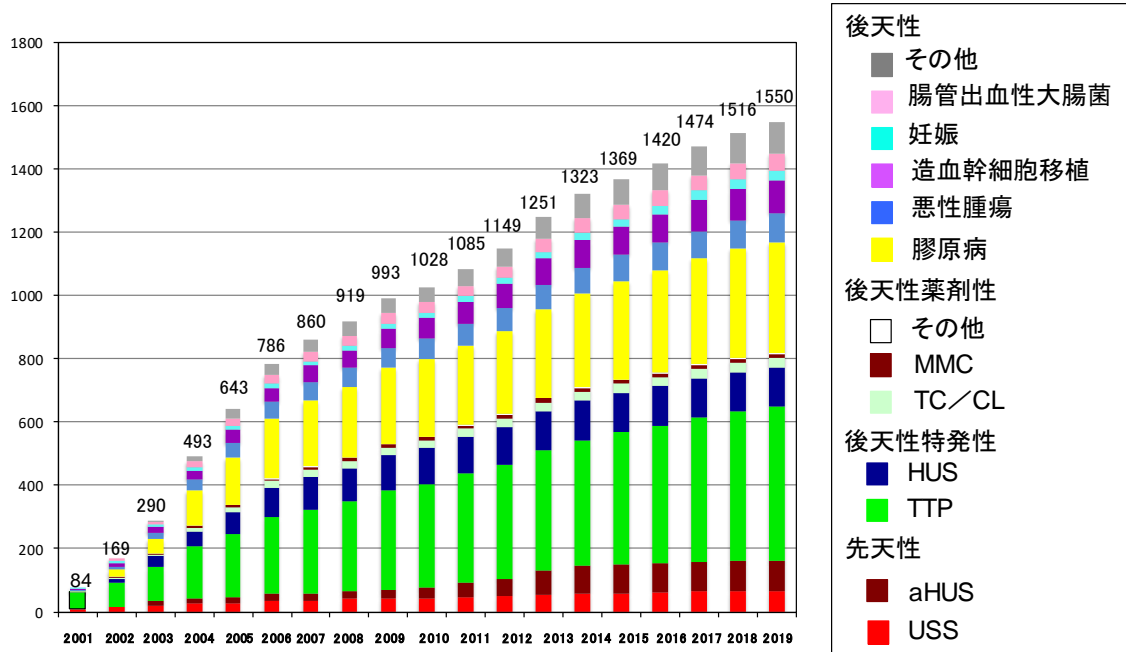


表1 TMAのADAMTS13活性 (n=1550)
(奈良医大輸血部1998. 7-2019. 12)

	Congenital TMAs (n=163)		Acquired TMAs (n=1387)											Total (n=1550)
	USS (n=67)	aHUS (n=96)	Primary (n=611)		Secondary (n=776)									
			TTP (n=486)	HUS (n=125)	Drug-induced (n=46)			CTD/AD (n=350)	Malignancies (n=90)	HSCT (n=104)	Pregnancy (n=33)	STEC-HUS (n=51)	Others (LC, etc) (n=102)	
					TC(n=25)/CL(n=4)	MMC (n=13)	Others (n=4)							
ADAMTS13:AC (%)	(n=66)	(n=92)	(n=486)	(n=125)	(n=25/n=4)	(n=13)	(n=4)	(n=350)	(n=90)	(n=104)	(n=33)	(n=51)	(n=102)	(n=1545)
<10	66	0	413	0	24	0	3	110	12	5	9	2	40	684
1年間の増加数	2	0	14	0	0	0	0	2	0	0	1	0	2	21
10~<25	0	6	35	15	3	2	0	73	24	34	3	8	18	221
25~<50	0	21	29	62	1	7	0	113	34	48	14	23	25	377
≥50	0	65	9	48	1	4	1	54	20	17	7	18	19	263
全体の年間増加数	2	0	14	0	0	1	0	5	1	4	2	1	4	34

TC: テクロピジン、GL: クロピドグレル
 CTD/AD: Connective tissue diseases and Autoimmune diseases
 HSCT: Hematopoietic stem cell transplantation
 STEC: shiga toxin producing *E. coli*
 LC: liver cirrhosis

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 診療ガイド 2020

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業

「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループ

I はじめに

血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP)は、全身の微小血管に血小板血栓が形成されることで発症する重篤な疾患である¹⁾。TTPは、溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome: HUS)と共に、血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy: TMA)に分類される代表的な疾患である。TTPには後天性と先天性(Upshaw-Schulman 症候群: USS)が存在する。以前はTTPに対する特異的な診断マーカーが存在しなかったことから、古典的5徴候(血小板減少、溶血性貧血、腎機能障害、発熱、精神神経症状)を中心とした臨床所見で診断されていた。しかしその後、血液中の止血因子である von Willebrand 因子(VWF)を特異的に切断する酵素 ADAMTS13 の活性著減により TTP が発症することが報告され^{2,3)}、現在では ADAMTS13 活性著減により TTP が診断されるようになった⁴⁾。先天性は ADAMTS13 遺伝子異常により^{5,6)}、後天性は ADAMTS13 に対する自己抗体が産生されることにより発症する^{2,3)}。

この診療ガイドは「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループに属する TTP 診療の専門家によるエキスパートコンセンサスである。2017 年に「TTP 診療ガイド 2017」⁷⁾として報告したが、その後の3年間で保険診療上の進捗が認められたので、「TTP 診療ガイド 2020」として部分的に改定した。これを「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループの研究成果として報告したものである。

TTP は希少疾患であるため多数例での検討は困難であるが、可能な限り科学的根拠に基づいた記述となるよう努めた。また、後天性と先天性 TTP を別項目として記載し、治療法には GRADE システムに従い推奨度(表1)を付けた。後天性は成人について記載しており、小児に対する薬剤の用法・用量は経験が少ないため注意を要する。さらに、指定難病の TTP の診断基準が ADAMTS13 活性 10%未満となったことより、この診療ガイドでは ADAMTS13 活性非著減例(10%以上)については扱わない。臨床的に TTP と診断されるが ADAMTS13 活性が著減していない症例は、現状ではその病態が明らかでないが、TTP と同様に直ちに血漿交換などの治療が必要な症例が存在する。

II TTP の病態

ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondine type 1 motifs 13)は、ADAMTS ファミリーで 13 番目に報告された酵素である⁸⁾。ADAMTS13 の基質である VWF は主として血管内皮細胞で産生されるが、産生直後は非常に大きな分子量の超高分子量 VWF 重合体 (unusually large VWF multimers: UL-VWFM) で、血液中に分泌されると直ちに ADAMTS13 によって切断される¹⁾。VWF の血小板との結合能はその分子量に依存し、大きな分子量の VWF は血小板血栓を作りやすい⁹⁾。また、VWF の血小板血栓形成能はずり応力にも依存し¹⁰⁾、血流の早い動脈や血管径の細い部分で高いずり応力が発生し、VWF が活性化する。ADAMTS13 活性の著減する TTP においては、血管内皮細胞から血液中に分泌された UL-VWFM が ADAMTS13 による切断を受けないために血液中に残存し、高ずり応力の発生する微小血管内で構造変化を受け、血小板と付着しやすくなり血小板血栓を形成する。この血小板血栓が、腎臓や脳などの流入血管に形成されると臓器障害が発症する。

III ADAMTS13 検査

ADAMTS13 活性測定には、当初は全長 VWF を切断させる方法^{11,12)}が用いられたが、切断反応に長時間を要するため、現在は短い VWF 合成基質¹³⁾が用いられるようになった^{14,15)}。これによって、手技が簡便となり数時間で ADAMTS13 活性の結果が得られるようになった。健常人を 100% (1 U/mL) とした単位で示される。

ADAMTS13 に対する自己抗体として、*in vitro* で活性を阻害するインヒビターと、活性は阻害せず ADAMTS13 に結合するだけの結合抗体が知られている¹⁶⁾。自己抗体の多くは IgG であるが、IgA や IgM の場合もある¹⁷⁾。ADAMTS13 自己抗体は、日常臨床ではインヒビターを検査することが一般的であり、研究室レベルでのみ結合抗体の検査が可能である。インヒビターは、正常血漿と被検血漿を等量混合し、活性を 50% 低下させる力価を 1 Bethesda Unit (BU) と定義する¹⁸⁾。後天性 TTP 症例の多くでインヒビターが検出される^{19,20)}が、1 BU/mL 以下の低力価インヒビターは判定が困難な場合がある。後述するように ADAMTS13 インヒビターが陰性であっても、自己抗体が存在する後天性 TTP である可能性がある。この場合の自己抗体は結合抗体であり、臨床所見より存在を予測することになる。

ADAMTS13 活性測定および自己抗体 (インヒビター) 検査は、2018 年 4 月より保険適用となった。

IV 後天性 TTP

1) 歴史的背景

1924年に米国の Moschcowitz²¹⁾により最初の後天性 TTP と考えられる症例が報告されたが、長く病因不明のまま、同様の症例報告のみが続いた。1966年に Amorosi と Ultmann²²⁾によりこれらの症例報告に共通して認められる5つの症状が報告され、古典的5徴候と呼ばれるようになった。その後、5徴候の中でも血小板減少と溶血性貧血の2徴候が診断に重要であることが認識されるようになり、この2徴候をもとに診断して血漿交換の有用性が示された²³⁾。なお、TTP という病名は、1947年に Singer ら²⁴⁾によって提案されている。

1991年に TTP に対する血漿交換の有用性が示されても、その病因については不明なままであった。1980年代から TTP 患者血漿中に UL-VWFM が存在すること²⁵⁾、TTP 患者の剖検で認める血栓は VWF が豊富な血小板血栓であること²⁶⁾など、VWF の病因への関与が示されていた。1996年に VWF 切断酵素 (ADAMTS13) の活性測定法が確立され^{11,12)}、1998年に TTP 患者において ADAMTS13 活性が著減することが報告された^{2,3)}。しかし、従来後天性 TTP と診断されていた症例の中でも ADAMTS13 活性が著減しない症例が存在することから²⁷⁻²⁹⁾、ADAMTS13 による診断と臨床所見による診断という2つの診断基準が存在する状態が続いた。ADAMTS13 活性著減の程度についても議論があったが、最終的に ADAMTS13 活性 10%未満のみを TTP と診断することに国際的なコンセンサスが得られつつある³⁰⁾。

2) 後天性 TTP の定義

ADAMTS13 に対する自己抗体によって ADAMTS13 活性が著減し、全身の微小血管に血小板血栓が形成されることによって発症する。

3) 疫学

TTP の発症頻度は、臨床所見で診断していた時期では海外から年間 100 万人当たり 4~11 人と報告されていたが^{31,32)}、ADAMTS13 活性が 10%未満で診断した場合の頻度は不明である。ただし、ADAMTS13 活性 5%未満で診断した場合には 100 万人あたり 1.74 人という報告がある³¹⁾。発症年齢は、ADAMTS13 活性著減で診断した海外の症例では中央値 36~51 歳で、女性の比率は 65%~100%であった^{19,28,33,34)}。ADAMTS13 活性 5%未満の日本の症例では²⁰⁾、中央値 54 歳とやや高齢で、女性の比率は 55%とやや低かった。

4) 診断

原因不明の血小板減少と溶血性貧血を認めた場合に ADAMTS13 活性を測定し、10%未満に著減している症例を TTP と診断する。抗 ADAMTS13 自己抗体が陽性であれば後天性 TTP と診断する。活性阻害抗体（インヒビター）が陰性であっても自己抗体が存在する場合があります、注意を要する。基礎疾患などを認めない場合は後天性原発性 TTP と診断し、全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患やチクロピジンなどの薬剤に関連して ADAMTS13 自己抗体が産生される場合には後天性二次性 TTP と診断する。

TTP を疑う際の古典的 5 徴候の目安

① 血小板減少

血小板数が 10 万/ μ L 未満が基準とされるが、1-3 万/ μ L の症例が多く、日本人における TTP の集計では中央値は 1 万/ μ L である²⁰⁾。

② 溶血性貧血

細血管障害症性溶血性貧血に分類される赤血球の機械的破壊による貧血である。ヘモグロビンは、海外では 8-10 g/dL の症例が多いとされるが³⁵⁾、日本人では中央値 7.3 g/dL とやや低い²⁰⁾。破碎赤血球の出現、間接ビリルビン、LDH、網状赤血球の上昇、ハプトグロビンの著減などの溶血所見が明らかなこと、かつ直接クームス試験陰性で判断する。他に赤血球の形態異常がなく、末梢血に 1%以上の破碎赤血球が存在することが TMA の有意な所見とされている³⁶⁾が、破碎赤血球は定量化が困難で、TTP でも認めないことがあるため、重要視しすぎてはいけない。

③ 腎機能障害

尿潜血や尿蛋白陽性のみの軽度のものから、血清クレアチニンが上昇する症例まで様々である。ただし、血清クレアチニンは 2 mg/dL 未満であることが多く²⁰⁾、血液透析を必要とする重症の急性腎不全の場合は HUS が疑われる。

④ 発熱

37°C 以上の微熱から 39°C 台の高熱まで認める。30%程度^{33,34)}から 72%²⁰⁾の症例で認めるとの報告がある。

⑤ 動揺性精神神経症状

頭痛など軽度のものから、せん妄、錯乱などの精神障害、人格の変化、意識レベルの低下、四肢麻痺や痙攣などの神経障害など、様々な症状が出現する場

合がある。症状の改善と増悪、部位が移動するなどのいわゆる動揺性が特徴であり、血漿交換で劇的に軽快することも多い。日本人の検討では79%の症例で認めているが²⁰⁾、海外では50%程度^{19,28)}の症例にしか認めないとの報告もある。

5) 鑑別診断

ADAMTS13 活性による明確な診断基準が作成されたことにより、鑑別に困ることは少ないと考えられるが、以下のような代表的な鑑別疾患が存在する。また、TMA はその病因により分類されるようになり、現状では表 2 に示すように臨床診断と対応すると考えられる。

① 播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation: DIC)

TTP 症例では PT、APTT は正常で、フィブリノゲン、アンチトロンビンは低下しないことが多く、FDP、D-dimer は軽度の上昇にとどまることが多い。DIC の血栓は、フィブリン/フィブリノゲン主体の凝固血栓であり、APTT と PT が延長し、フィブリノゲンが減少する。

② 溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS)

O157 などの志賀毒素産生大腸菌 (Shiga toxin producing *E. coli*: STEC) 感染による STEC-HUS は、便培養検査・志賀毒素直接検出法 (EIA) などの大腸菌の関与を確認する方法や抗 LPS (エンドトキシン) IgM 抗体などで診断する。STEC-HUS 以外の症例は、非典型 (atypical) HUS (aHUS) と呼ばれていた。最近では、aHUS は H 因子や補体 C3 異常などの補体関連因子異常のみを指すようになっており³⁷⁾、病因分類では補体関連 TMA と呼ばれている。

③ HELLP 症候群

HELLP 症候群とは、妊娠高血圧腎症や子癩に伴って、溶血 (hemolysis)、肝逸脱酵素の上昇 (elevated liver - enzymes)、血小板減少 (low platelets) を認める多臓器障害である。診断は、Sibai らの診断基準³⁸⁾によって行われるが、この基準では TTP との鑑別が困難である。ADAMTS13 活性が著減していれば TTP と診断する。

④ Evans 症候群

Evans 症候群は自己免疫性溶血性貧血に特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura: ITP) を合併する疾患で、直接クー

ムス陽性である。ただし、直接クームス陰性 Evans 症候群も存在するが、このような症例の中から ADAMTS13 活性著減 TTP が発見されている。

⑤ 二次性 TMA

全身性エリテマトーデス、強皮症などの膠原病、造血幹細胞移植、腎臓移植などの移植、悪性疾患などに伴って TMA が発症することが報告されている。病因は明らかになっていないが、血管内皮細胞障害が主たる要因であると考えられている。

⑥ その他の TMA

基礎疾患も伴わず、臨床的に TMA であるが ADAMTS13 活性が著減していない TMA が存在する。また、古典的 5 徴候を持つことから以前は TTP と診断されていた症例も含まれる。

6) 治療

後天性 TTP で科学的根拠が示されている治療法は血漿交換のみである²³⁾。血漿交換の開始の遅れが予後を悪化させるとの報告があるため³⁹⁾、後天性 TTP を疑った場合には、できるだけ早期に血漿交換を開始することが必要である。ADAMTS13 活性の結果が判明するまでに現状では数日を要するため、その結果を待たずに治療を開始する必要がある。以下に代表的な治療法と推奨度 (表 1) を記載する。

A 急性期

a) 血漿交換 (推奨度 1 A)

新鮮凍結血漿 (fresh frozen plasma: FFP) を置換液とした血漿交換を 1 日 1 回連日施行する。FFP の量は、患者循環血漿量 (以下の計算式で概算可能) の 1~1.5 倍を用いて交換する。血漿交換が有効である理由として、1) ADAMTS13 の補充、2) ADAMTS13 インヒビターの除去、3) ADAMTS13 で切断できない UL-VWFM の除去、などが予想される²⁹⁾。アルブミンでは 1) の効果が期待できないため、置換液として使用してはならない。なお、緊急避難的に FFP 輸注が行われることがあるが、FFP を置換液とした血漿交換と比べると明らかに効果が劣ることが報告されている²³⁾。

循環血漿量 (mL) = 体重 (kg) x 70 (mL/kg) x (1 - ヘマトクリット / 100)

血漿交換

FFP 50～75mL/kg を置換液として、1日1回連日、開始後1ヶ月を限度として、血小板数が正常化（15万/ μ L以上）して2日後まで連日施行する。
以前は血漿交換の回数が週3回までに制限されていたが、2018年4月から上記の国際基準³⁵⁾と同様の血漿交換の回数が実施可能となった。

b) ステロイド療法（推奨度 1 B）

ステロイドパルス療法、ステロイド大量内服のいずれも使用されているが、どちらが優れているかは明らかになっていない⁴⁰⁾。ステロイド投与によって、自己抗体の産生抑制が期待される。なお、高齢者や糖尿病、重症感染症患者などでは減量を考慮する。また、保険適用外であるが多くの症例で使用されている薬剤であるので、推奨度 1 にした。

ステロイドパルス療法（保険適用外）

メチルプレドニゾロン 1,000mg

1日1回 約2時間かけて点滴静注、血漿交換実施後に投与する。

当初3日間継続、その後ステロイド量を漸減する。減量は、血小板数やADAMTS13検査などを参考に行うが、ステロイドの減量法については明確な科学的根拠は存在しない。精神神経症状の存在やICU管理などの影響で、点滴を継続する場合はメチルプレドニゾロン500mg/日、250mg/日、125mg/日を2日間ずつ投与し、その後ステロイド内服30mg/日に変更し、下記を参考に減量する。3日間点滴後すぐに内服に切り替える場合は、プレドニン0.5-1mg/kg/日にし、下記を参考に減量する。

ステロイド大量内服（保険適用外）

プレドニゾロン 1mg/kg/日

減量は、血小板数やADAMTS13検査などを参考に行うが、1mg/kg/日を2週間維持し、その後0.5mg/kg/日まで比較的急速に減量する。それ以降の減量は2.5-5mg/週程度を目安に行うが、血小板数やADAMTS13インヒビター力価を参考に減量する。

c) 抗血小板薬（推奨度 2 B）

血小板数が5万/ μ L以上に回復した場合にアスピリン投与が行われる場合があるが、TTPの再発予防に対する効果は明らかではない。

抗血小板薬療法（保険適用外）

アスピリン 81~100 mg 1日1回、朝内服 ステロイド中止まで

d) その他の治療

赤血球輸血は心疾患のない患者ではヘモグロビン値 7.0 g/dL 未満を目安に行うが^{35,41)}、心疾患が存在すれば8.0g/dL未満を目安とする⁴²⁾(推奨度 1 A)。なお、血小板輸血は致死的な出血がある場合には適応となるが、それ以外の予防的使用は血栓症を増悪させる危険性があるため禁忌と考えられる^{35,43,44)}(推奨度 1 B)。

また、二次性 TTP で薬剤性の場合は原因薬剤を中止し、基礎疾患がある場合は、基礎疾患の治療を継続する。二次性 TTP でも ADAMTS13 活性が著減しているため、原発性と同様に血漿交換を実施する。

B 難治例、早期再発例

血漿交換を 5 回以上行っても血小板数が 5 万/ μ L 以上に回復しない場合、もしくは 15 万/ μ L 以上に回復しても再度血小板数が 5 万/ μ L 未満に低下した場合には、血漿交換に加えてリツキシマブ投与を考慮する(推奨度 1B)⁴⁵⁾。この場合に、血漿交換による ADAMTS13 の投与に反応して、ADAMTS13 インヒビターが上昇していること(ADAMTS13 inhibitor boosting)が予想されるので、ADAMTS13 活性とインヒビター検査を反復することが望ましい⁴⁶⁾。ADAMTS13 活性とインヒビターは、TTP と診断した日から 1 ヶ月以内は、健康保険で 1 週間に 1 回測定可能である。ADAMTS13 inhibitor boosting の場合は、血漿交換のみでは十分な効果が得られないことが多いため、リツキシマブ治療の併用が強く推奨される。なお、TTP に対するリツキシマブの効果が明らかになるまでの期間は 10 日~14 日間であるので、その間も血漿交換が必要な場合がある。

a) リツキシマブ (推奨度 1 B)

リツキシマブは、CD20 に対するモノクローナル抗体であり、体内の B リンパ球を減らすことで ADAMTS13 インヒビターの産生を抑制する。難治例を中心に広く使用されている薬剤である^{45,47,48)}。2020 年 2 月に後天性 TTP に適用拡大されたが、現状では難治例、再発例を中心に使用することが推奨される。急性期の第一選択として、また臨床的に寛解期であるが ADAMTS13 活性が著減している症例の再発予防に対しては、科学的根拠が明らかではないので現状では積極的に使用を勧めない。ただし、他に治療法がなく重篤な状態である場合など、個々の患者の状態によって判断すべきである。

急性期での使用とは、血漿交換とステロイド療法と同時にリツキシマブを

開始することである。再発率を抑制する効果が報告されている⁴⁷⁾。また臨床的に寛解であるが ADAMTS13 活性が著減している症例とは、治療によって血小板数が正常となり LDH などの検査所見が正常となり、臨床症状も消失しているにも関わらず、ADAMTS13 活性が著減している場合のことである。このような症例は再発が多いことが報告されているが¹⁷⁾、リツキシマブの使用により再発が抑えられることが報告されている⁴⁹⁾。

リツキシマブ療法

リツキシマブ 375 mg/m²

リツキシマブ投与によりインフュージョンリアクション（発熱、血圧低下、蕁麻疹、低酸素血症など）などの重篤な副作用が生じることがあるので、前投薬（抗ヒスタミン薬、アセトアミノフェン）を処方し、輸液ポンプにて徐々に投与速度を上げる。特に初回投与時には注意が必要である。血漿交換と併用する場合には血漿交換実施後に投与する。

1 週間に 1 回投与、合計 4 回

リツキシマブ以外に下記の治療が難治例、再発例に有効な場合があるが、全例に効果が期待できるわけではない。様々な投与方法があるが代表的なものを記載する。

b) シクロフォスファミド（推奨度 2 B）（保険適用外）⁵⁰⁾

シクロフォスファミド 500mg/body

1 日 1 回、2 時間で投与、通常は 1 回のみ投与
複数回投与は骨髄抑制の可能性あり

c) ビンクリスチン（推奨度 2 B）（保険適用外）⁵¹⁾

ビンクリスチン 1 mg/body、1 日 1 回ゆっくり静脈投与、通常は 1 回のみ投与
複数回投与は神経毒性、骨髄抑制の可能性あり

d) シクロスポリン（推奨度 2 B）（保険適用外）⁵²⁾

シクロスポリン 4 mg/kg 1 日 2 回に分けて連日内服投与。
シクロスポリンの血中濃度を確認し、トラフ 100-200 ng/mL 程度を維持する。

e) その他の治療（保険適用外）

以前は脾臓摘出（推奨度 2 C）⁵³⁾、免疫グロブリン大量療法（推奨度 2 C）⁵⁴⁾が難治例、再発例の TTP に対して実施されていたが、リツキシマブが使用され

ることが多くなり、現状では選択される機会が少なくなっている。

C 寛解期

寛解期となった場合、ステロイド治療は、ADAMTS13 活性およびインヒビターの経過を見ながらできるだけ早期に中止する。寛解期に特別な治療は存在しないが、再発の危険があるので最低数年程度は定期的に通院し、血小板数と ADAMTS13 検査などを行うことが望ましい。血小板数などが正常化した寛解期においても、ADAMTS13 活性が著減し、インヒビターを認める場合がある^{17,55)}。寛解期に ADAMTS13 活性が著減している場合やインヒビターを認める場合は、再発率が高いことが報告されている^{17,55)}。

7) 重症度分類

指定難病で使用されている重症度分類を表 3 に示す。8 項目のうち 1 項目でもあれば中等症以上となり、指定難病による医療費補助の対象となる。

8) 予後

TTP は、無治療の場合は 90%以上死亡する極めて予後不良の疾患であったが²²⁾、血漿交換が導入され 80%前後の生存率が得られるようになった^{19, 20, 23, 28, 33)}。ADAMTS13 活性 10%未満の症例における予後因子として、血清クレアチニン高値、インヒビター 2 BU/mL 以上が報告されている¹⁹⁾。なお、急性期には心血管イベントによる死亡が問題となるため、心筋トロポニンを検査することが必要である³⁵⁾。トロポニンが高値で虚血性心疾患が疑われる場合は突然死に注意する。

V 先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群、USS)

1) 歴史的背景

1950 年代から新生児期に重症黄疸と血小板減少を合併する疾患の存在が知られていた⁵⁶⁾。1960 年に Schulman ら⁵⁷⁾は、新生児期から出血症状や血小板減少を反復する 8 才女児例を報告したが、本症例の特徴的所見は少量の FFP 輸注で血小板減少が劇的に改善することであった。1978 年には Upshaw⁵⁸⁾が同様に慢性血小板減少を示す 28 才女性例で FFP 輸注によって劇的に症状が改善することを報告した。その後、このような症例の原因が血中フィブロンectin 低下に関連づけられ Upshaw-Schulman 症候群(USS)と命名されたが⁵⁹⁾、フィブロンectin 低下の所見はその後否定された。以後 USS の病名は欧米では殆ど用いられなくなり、慢性再発性(chronic relapsing: CR)TTP²⁵⁾という

病名が長く使用されるようになったが、この名称は TTP が先天性と後天性の二種類存在する事を曖昧にしてしまった。

一方、1982 年に Moake ら²⁵⁾は CR-TTP の寛解期には UL-VWFM が出現するという重要な発見を行い、また 1997 年に Furlan らは⁶⁰⁾、CR-TTP 患者では VWF 切断酵素 (VWF-CP、後の ADAMTS13) 活性が著減している事を報告した。しかし、彼等の CR-TTP 患者には先天性と後天性 TTP の双方が含まれていた事、また Furlan らの VWF-CP 活性測定法では患者両親の活性も正常と報告された。2001 年 7 月に Kinoshita らは⁶¹⁾、本邦 USS 患者解析で、患者は活性著減、患者の両親は活性が半減することを見だし USS は常染色体劣性遺伝形式であることを示した。同年 10 月 Levy らは⁵⁾、家族性 TTP の患者と家族における positional cloning で ADAMTS13 遺伝子を同定した。このことによって、USS が *ADAMTS13* 遺伝子異常によって発症する先天性 TTP として認識され、USS の呼称は先天性 TTP と同一のものとして認識されるようになった。以後、本邦で 2 種類の ADAMTS13 活性の簡易測定法が開発されたこともあり^{14,15)}、多数の USS 患者が発見されている。

2) 先天性 TTP の定義

ADAMTS13 遺伝子異常により ADAMTS13 活性が著減し、全身の微小血管に血小板血栓が形成される遺伝性疾患である。遺伝形式は常染色体劣性遺伝である。

3) 疫学

先天性 TTP の正確な頻度は不明である。後天性 TTP に比べてかなり少ないと考えられているが⁶²⁾、ヨーロッパでの推計は人口 100 万人あたり 0.5~4 人との報告もある⁶³⁾。日本での推計では 110 万人に 1 人との報告があり⁶⁴⁾、実際 2019 年末までに日本国内で同定された先天性 TTP は 67 例である。常染色体劣性遺伝であるので、男女は同数であるはずであるが、国内の 67 例では男性 28 例、女性 39 例と女性に多い傾向がある。これは妊娠時に先天性 TTP と診断される症例が多いためと考えられる。

また、発症時期により 2 つの臨床タイプに分類できる⁶⁵⁾。

早期発症型：先天性 TTP の特徴的な所見として、新生児期に交換輸血を必要とする Coombs 試験陰性の重症黄疸で発症する例が全体の 25-40% に見られる⁶⁶⁾。その際に血小板減少を認めるが、必ずしも血小板数 5 万/ μ L 未満に著減するわけでは無い⁶⁶⁾。その後、乳幼児から小児期の間は発熱を伴う感染症時に血小板減少を繰り返す。このため、しばしば ITP と誤診されやすい。先天性 TTP と正しく診断

された症例には、FFP の定期輸注が行われている。

成人発症型：小児期以降に妊娠や感冒などの感染に伴って血小板減少が出現し、先天性 TTP と診断される。ただし、成人発症型においても小児期に血小板減少が認められ、ITP と誤診されている症例もある。このように先天性 TTP では溶血性貧血の程度が軽く、見過ごされている可能性があるが、女性の場合は妊娠すると必ず TTP 症状が明らかになる⁶⁷⁾。なお、男性の場合には 63 歳で初めて TTP と診断された日本人の報告もある⁶⁸⁾。

4) 診断

血小板減少を認め、ADAMTS13 活性が 10%未満に低下している症例で、ADAMTS13 インヒビターが陰性の症例は先天性 TTP が疑われる。しかし、インヒビター陰性の判断は必ずしも容易ではなく、経時的な同酵素活性の確認や両親の ADAMTS13 検査で後天性との鑑別が可能な場合がある。確定診断には ADAMTS13 遺伝子解析が必要である。先天性 TTP 患者の両親はヘテロ接合体異常であることから、ADAMTS13 活性は 30～50%を示す場合が多い^{6,69)}。

鑑別すべき疾患として、通常の治療に反応しない ITP や妊娠で発症する補体関連 TMA、HELLP 症候群などがある。先天性 TTP では、常に ADAMTS13 活性が著減しているが、血小板減少などの症状を常に認めるわけではないことを認識する。

5) ADAMTS13 遺伝子解析

先天性 TTP の遺伝形式は常染色体劣性遺伝であるが、ADAMTS13 遺伝子異常はホモ接合体異常と複合ヘテロ接合体異常が報告されている^{5,70)}。日本国内で先天性 TTP と ADAMTS13 遺伝子解析で確定診断された 55 例では、ホモ接合体異常 10 例と複合ヘテロ接合体異常 45 例であった。

6) 治療

先天性 TTP 症例の中には、FFP の定期輸注が継続的に必要な症例から、増悪時のみに FFP 輸注が必要な症例まであり、有効な FFP の投与方法は症例によって異なる。血小板数の増加や尿潜血の程度などで、FFP の投与量と投与期間を決定する必要がある。

FFP 輸注（推奨度 1B）

FFP 5～10 mL/kg を 2～3 週ごとに輸注する。症状出現時には、まず 10mL/kg を輸注して効果を確認する。この際には、アレルギー反応や感染症などの副

作用を最低限にするため、FFP 提供ドナーの人数が最小となるように考慮する。

7) 重症度分類

指定難病で使用されている先天性 TTP の重要度分類を表 4 に示す。治療の必要のない軽症以外は医療補助の対象となる。

8) 予後

先天性 TTP は適切に診断し、FFP による治療を行えば、予後は比較的良好であると考えられる。日本で発見された 59 例中に死亡例が 8 例報告されている。そのうち 5 例は血液透析導入後であり、腎機能障害の悪化を予防することが予後の改善につながると考えられる。また、現在までに日本国内からの報告はないが、先天性 TTP で FFP 投与により ADAMTS13 同種抗体が産生された場合には FFP の効果が悪くなる可能性があるため、ADAMTS13 インヒビターの定期的な検査が必要である。

文献

- 1) Moake JL. Thrombotic thrombocytopenic purpura: the systemic clumping "plague". *Annu Rev Med* 2002; **53**: 75-88.
- 2) Furlan M, Robles R, Galbusera M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998; **339**: 1578-1584.
- 3) Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1998; **339**: 1585-1594.
- 4) George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* 2014; **371**: 1847-1848.
- 5) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; **413**: 488-494.
- 6) Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, et al. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; **99**: 11902-11907.
- 7) 松本雅則, 藤村吉博, 和田英夫, et al. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)診療ガイド 2017. *臨床血液* 2017; **58**: 271-281.
- 8) Zheng X, Chung D, Takayama TK, et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* 2001; **276**: 41059-41063.
- 9) Furlan M. Von Willebrand factor: molecular size and functional activity. *Ann Hematol* 1996; **72**: 341-348.
- 10) Savage B, Saldivar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell* 1996; **84**: 289-297.
- 11) Furlan M, Robles R, Lammle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996; **87**: 4223-4234.
- 12) Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996; **87**: 4235-4244.
- 13) Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13. *Blood* 2004; **103**: 607-612.
- 14) Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T. FRETTS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* 2005; **129**: 93-100.

- 15) Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, et al. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* 2006; **46**: 1444-1452.
- 16) Scheiflinger F, Knobl P, Trattner B, et al. Nonneutralizing IgM and IgG antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2003; **102**: 3241-3243.
- 17) Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. *Blood* 2007; **109**: 2815-2822.
- 18) Kasper CK, Pool JG. Letter: Measurement of mild factor VIII inhibitors in Bethesda units. *Thromb Diath Haemorrh* 1975; **34**: 875-876.
- 19) Kremer Hovinga JA, Vesely SK, Terrell DR, Lämmle B, George JN. Survival and relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2010; **115**: 1500-1511; quiz 1662.
- 20) Matsumoto M, Bennett CL, Isonishi A, et al. Acquired Idiopathic ADAMTS13 Activity Deficient Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in a Population from Japan. *PLoS One* 2012; **7**: e33029.
- 21) Moschcowitz E. Hyaline Thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proceeding New York Pathological Society* 1924; **24**: 21-24.
- 22) Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* 1966; **45**: 139-159.
- 23) Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991; **325**: 393-397.
- 24) Singer K, Bornstein FP, Wile SA. Thrombotic thrombocytopenic purpura; hemorrhagic diathesis with generalized platelet thromboses. *Blood* 1947; **2**: 542-554.
- 25) Moake JL, Rudy CK, Troll JH, et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1982; **307**: 1432-1435.
- 26) Asada Y, Sumiyoshi A, Hayashi T, Suzumiya J, Kaketani K. Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura, with special reference to factor VIII related antigen. *Thromb Res* 1985; **38**: 469-479.

- 27) Veyradier A, Obert B, Houllier A, Meyer D, Girma JP. Specific von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic microangiopathies: a study of 111 cases. *Blood* 2001; **98**: 1765-1772.
- 28) Vesely SK, George JN, Lämmle B, et al. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. *Blood* 2003; **102**: 60-68.
- 29) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y. The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Semin Hematol* 2004; **41**: 68-74.
- 30) Scully M, Cataland S, Coppo P, et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 2016.
- 31) Terrell DR, Williams LA, Vesely SK, et al. The incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: all patients, idiopathic patients, and patients with severe ADAMTS-13 deficiency. *J Thromb Haemost* 2005; **3**: 1432-1436.
- 32) Scully M, Yarranton H, Liesner R, et al. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. *Br J Haematol* 2008; **142**: 819-826.
- 33) Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE. Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004; **103**: 4043-4049.
- 34) Coppo P, Bengoufa D, Veyradier A, et al. Severe ADAMTS13 deficiency in adult idiopathic thrombotic microangiopathies defines a subset of patients characterized by various autoimmune manifestations, lower platelet count, and mild renal involvement. *Medicine (Baltimore)* 2004; **83**: 233-244.
- 35) Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol* 2012; **158**: 323-335.
- 36) Zini G, d'Onofrio G, Briggs C, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematol* 2012; **34**: 107-116.
- 37) Kato H, Nangaku M, Hataya H, et al. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol* 2016; **20**: 536-543.

- 38) Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, et al. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). *Am J Obstet Gynecol* 1993; **169**: 1000-1006.
- 39) Pereira A, Mazzara R, Monteagudo J, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome: a multivariate analysis of factors predicting the response to plasma exchange. *Ann Hematol* 1995; **70**: 319-323.
- 40) Balduini CL, Gugliotta L, Luppi M, et al. High versus standard dose methylprednisolone in the acute phase of idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a randomized study. *Ann Hematol* 2010; **89**: 591-596.
- 41) Holst LB, Haase N, Wetterslev J, et al. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in septic shock. *N Engl J Med* 2014; **371**: 1381-1391.
- 42) Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. *N Engl J Med* 1999; **340**: 409-417.
- 43) Benhamou Y, Baudel JL, Wynckel A, et al. Are platelet transfusions harmful in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura at the acute phase? Experience of the French thrombotic microangiopathies reference center. *Am J Hematol* 2015; **90**: E127-129.
- 44) Kumar A, Mhaskar R, Grossman BJ, et al. Platelet transfusion: a systematic review of the clinical evidence. *Transfusion* 2015; **55**: 1116-1127; quiz 1115.
- 45) Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, et al. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. *Int J Hematol* 2016; **104**: 228-235.
- 46) Isonishi A, Bennett CL, Plaimauer B, et al. Poor responder to plasma exchange therapy in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura is associated with ADAMTS13 inhibitor boosting: visualization of an ADAMTS13 inhibitor complex and its proteolytic clearance from plasma. *Transfusion* 2015; **55**: 2321-2330.
- 47) Scully M, McDonald V, Cavenagh J, et al. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2011; **118**: 1746-1753.
- 48) Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med* 2012; **40**: 104-111.
- 49) Hie M, Gay J, Galicier L, et al. Preemptive rituximab infusions after remission

- efficiently prevent relapses in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura.
Blood 2014; 124: 204-210.
- 50) Beloncle F, Buffet M, Coindre JP, et al. Splenectomy and/or cyclophosphamide as salvage therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura: the French TMA Reference Center experience. *Transfusion* 2012; **52**: 2436-2444.
- 51) Ziman A, Mitri M, Klapper E, Pepkowitz SH, Goldfinger D. Combination vincristine and plasma exchange as initial therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura: one institution's experience and review of the literature. *Transfusion* 2005; **45**: 41-49.
- 52) Nosari A, Redaelli R, Caimi TM, Mostarda G, Morra E. Cyclosporine therapy in refractory/relapsed patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 2009; **84**: 313-314.
- 53) Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, et al. Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2005; **130**: 768-776.
- 54) Kawano N, Yokota-Ikeda N, Yoshida S, et al. Therapeutic modality of 11 patients with TTP in a single institution in Miyazaki from 2000 to 2011. *Intern Med* 2013; **52**: 1883-1891.
- 55) Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica* 2008; **93**: 232-239.
- 56) Dacie JV, Mollison PL, Richardson N, Selwyn JG, Shapiro L. Atypical congenital haemolytic anaemia. *Q J Med* 1953; **22**: 79-98.
- 57) Schulman I, Pierce M, Lukens A, Currimbhoy Z. Studies on thrombopoiesis. I. A factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood* 1960; **16**: 943-957.
- 58) Upshaw JD, Jr. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1978; **298**: 1350-1352.
- 59) Rennard S, Abe S. Decreased cold-insoluble globulin in congenital thrombocytopenia (Upshaw-Schulman syndrome). *N Engl J Med* 1979; **300**: 368.
- 60) Furlan M, Robles R, Solenthaler M, et al. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1997; **89**: 3097-3103.
- 61) Kinoshita S, Yoshioka A, Park YD, et al. Upshaw-Schulman syndrome revisited: a concept of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol*

- 2001; **74**: 101-108.
- 62) Sadler JE. What's new in the diagnosis and pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2015; **2015**: 631-636.
- 63) Mansouri Taleghani M, von Krogh AS, Fujimura Y, et al. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura and the hereditary TTP registry. Hamostaseologie 2013; **33**: 138-143.
- 64) Kokame K, Kokubo Y, Miyata T. Polymorphisms and mutations of ADAMTS13 in the Japanese population and estimation of the number of patients with Upshaw-Schulman syndrome. J Thromb Haemost 2011; **9**: 1654-1656.
- 65) Fujimura Y, Kokame K, Yagi H, et al. Hereditary Deficiency of ADAMTS13 activity: Upshaw-Schulman syndrome. ADAMTS13 2015; 73-90.
- 66) Fujimura Y, Lammle B, Tanabe S, et al. Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome. Blood Adv 2019; **3**: 3191-3195.
- 67) Fujimura Y, Matsumoto M, Kokame K, et al. Pregnancy-induced thrombocytopenia and TTP, and the risk of fetal death, in Upshaw-Schulman syndrome: a series of 15 pregnancies in 9 genotyped patients. Br J Haematol 2009; **144**: 742-754.
- 68) Taguchi F, Yagi H, Matsumoto M, et al. The homozygous p.C1024R- ADAMTS13 gene mutation links to a late-onset phenotype of Upshaw-Schulman syndrome in Japan. Thromb Haemost 2012; **107**: 1003-1005.
- 69) Matsumoto M, Kokame K, Soejima K, et al. Molecular characterization of ADAMTS13 gene mutations in Japanese patients with Upshaw-Schulman syndrome. Blood 2004; **103**: 1305-1310.
- 70) Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, et al. Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. J Thromb Haemost 2011; **9 Suppl 1**: 283-301.

表1 GRADE systemによる推奨度

推奨度の強さ

1. 強い推奨

ほとんどの患者において、良好な結果が不良な結果より明らかに勝っており、その信頼度が高い

2. 弱い推奨

良好な結果が不良な結果より勝っているが、その信頼度は低い

推奨の基になったエビデンスの質

A: 複数のRCTsにおいて確立したエビデンス、あるいは観察研究による極めて強いエビデンス

B: RCTsによる限定的なエビデンス、あるいは観察研究による強いエビデンス

C: 重大な弱点のあるRCTsによるエビデンス、観察研究による弱いエビデンス、あるいは間接的エビデンス

RCT;ランダム化比較試験

表2 病因によるTMAの分類と臨床診断

病因による分類	病因	原因	臨床診断	臨床診断に重要な所見
ADAMTS13欠損TMA	ADAMTS13活性著減	ADAMTS13遺伝子異常	先天性TTP (Upshaw-Schulman症候群)	ADAMTS13遺伝子異常
		ADAMTS13に対する自己抗体	後天性TTP	ADAMTS13活性著減、ADAMTS13自己抗体あり
感染症合併TMA	感染症	志賀毒素産生大腸菌(STEC) (O157大腸菌など)	STEC-HUS	血液や便検査でSTEC感染を証明
		肺炎球菌 (ノイラミダーゼ分泌)	肺炎球菌HUS	肺炎球菌感染の証明
補体関連TMA	補体系の障害	遺伝的な補体因子異常 (H因子、I因子、MCP、C3、B因子)	Atypical HUS	補体因子遺伝子異常 C3低値、C4正常 (これらは全例で認める訳ではない)
		抗H因子抗体		抗H因子抗体の証明
凝固関連TMA	凝固系の異常	Diacylglycerol kinase ε (DGKE)、THBD遺伝子異常	Atypical HUS?	遺伝子異常の証明
二次性TMA	病因不明	自己免疫疾患	膠原病関連TMAなど	SLE、強皮症などの膠原病が多い
		造血幹細胞移植	造血幹細胞移植後TMA	血小板輸血不応、溶血の存在 (ハプトグロビン低値など)
		臓器移植 (腎臓移植、肝臓移植など)	臓器移植後TMA	原因不明の血小板減少と溶血の存在 (ハプトグロビン低値など)
		悪性腫瘍	悪性腫瘍関連TMA	悪性リンパ腫、胃がん、膵がんなどに多い
		妊娠	妊娠関連TMA、HELLP症候群	HELLP症候群は妊娠30週以降に発症し、高血圧を合併することが多い。
	薬剤 (マイトマイシンなど)	薬剤性TMA	薬剤使用歴	
その他のTMA	病因不明	その他	TTP類似疾患、他	TTPの古典的5徴候の存在、など

TMA: thrombotic microangiopathy
TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura
HUS: hemolytic uremic syndrome
SLE: systemic lupus erythematosus
THBD: thrombomodulin
HELLP症候群: hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets 症候群

表3 後天性TTPの重症度分類

1. ADAMTS13インヒビター 2 BU/mL以上
2. 腎機能障害
3. 精神神経障害
4. 心臓障害(トロポニン上昇、ECG異常等)
5. 腸管障害(腹痛等)
6. 深部出血または血栓
7. 治療不応例
8. 再発例

<判定> 有1点、無0点

重症 3点以上

中等症 1点～2点

軽症 0点

表4 先天性TTP重症度分類

1) 重症

維持透析患者、脳梗塞などの後遺症残存患者

2) 中等症

定期的、または不定期に新鮮凍結血漿(FFP)輸注が必要な患者

3) 軽症

無治療で経過観察が可能な患者

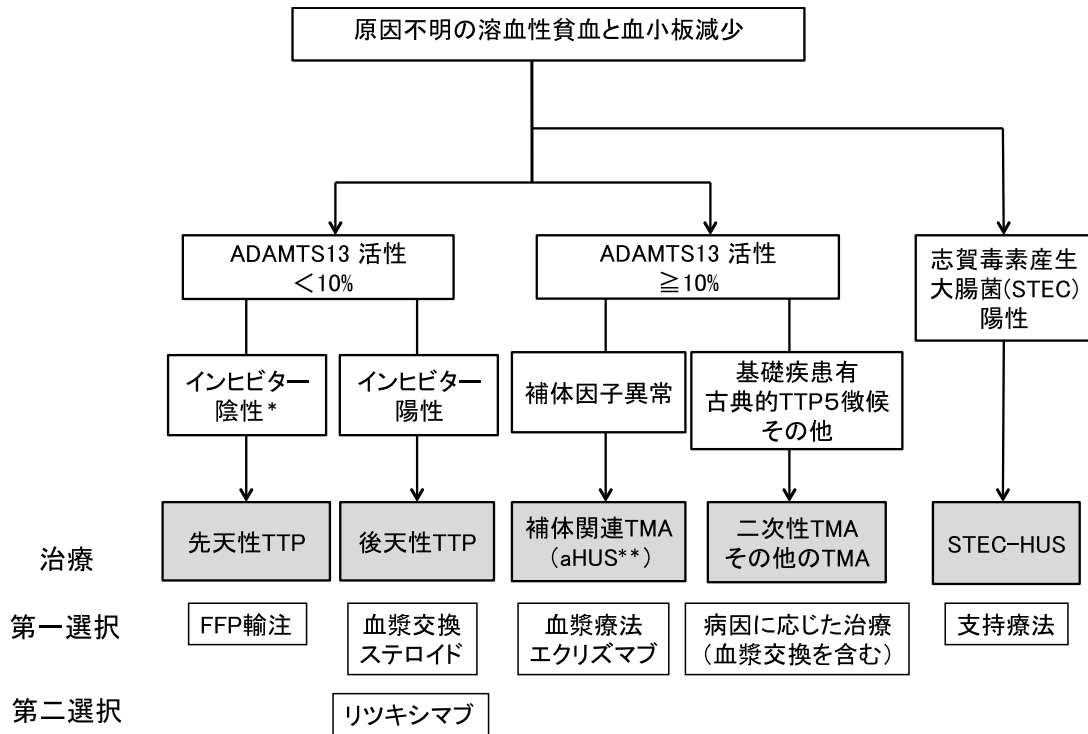


図1 TMAの診断と治療

* インヒビター陰性であっても、ADAMTS13結合抗体陽性の後天性TTPが存在する。
 **非典型HUS: 保険病名や慣用名としてしばしば使用されている。

凝固マーカーを含むルーチン検査による TMA と DIC の比較

研究分担者：松本雅則 奈良県立医科大学 輸血部 教授

研究協力者：酒井和哉 奈良県立医科大学 輸血部 診療助教

和田英夫 三重大学医学部分子病態学講座 リサーチアソシエイト

研究要旨

TTP ガイドラインを改定するため、血栓性微小血管症 (TMA) と鑑別が難しいとされる播種性血管内凝固症 (DIC) について凝固マーカーについて検討し、比較した。TMA は血小板血栓、播種性血管内凝固症 (DIC) はフィブリン血栓によって発症するが、臨床的に鑑別が難しい場合がある。今回、TMA の中の後天性 TTP (aTTP) と非定型尿毒症症候群 (aHUS) について DIC と比較した。

2006 年から 2016 年までに TMA レジストリに登録された aTTP 138 例および aHUS 43 例を解析対象とした。DIC は奈良医大および三重大学で診断された 86 例を用いた。検査結果は中央値 (25-75%ile) の順に記載した。血小板数 (万/ μ L) は aTTP 0.9 (0.7-1.4)、aHUS 3.1 (1.8-4.6)、DIC 4.1 (2.4-6.3) と aTTP では著減しており、aHUS と DIC では有意な差を認めなかった。アンチトロンビン (%) は、aTTP 102 (91-113)、aHUS 96 (91-110)、DIC 65 (48.5-75.5) と DIC で有意に低値であった。FDP (μ g/mL) は、後天性 TTP 10.0 (5.8-17.9)、aHUS 12.1 (7.8-37.8)、DIC 46.0 (23.8-84.9) と DIC で有意に高かったが、aTTP と非定型 HUS においても aHUS の軽度の上昇を認めた。ADAMTS13 活性 (%) は、aTTP <0.5 (<0.5-<0.5)、aHUS 69.0 (53.9-89.2)、DIC 31.4 (22.3-43.9) と aTTP<DIC<aHUS の順にそれぞれ有意差を認めた。血清クレアチニン (mg/dL) は、aTTP 0.82 (0.66-1.14)、aHUS 1.62 (1.22-2.09)、DIC 1.58 (1.03-3.0) と、aTTP に比べて急性腎障害を特徴とする aHUS と DIC で有意に高かったが、この 2 疾患では差を認めなかった。

aTTP と aHUS では FDP や D ダイマーが軽度上昇するが、DIC とは明らかに上昇の程度が異なることが確認された。また、ADAMTS13 活性は aTTP の確定診断だけでなく、aHUS と DIC の鑑別にも有用である可能性が示唆された。

A. 研究の目的

TMA と臨床現場で鑑別が難しい疾患として DIC がある。TTP 診療ガイド 2017 を改定する際のデータとするため、凝固、線溶マーカーについて、TMA の中で診断基準が策定されている後天性 TTP (aTTP) と aHUS

を DIC と比較した。

TMA は血小板血栓が主体となる血栓症であり、一方で播種性血管内凝固症 (DIC) はフィブリン血栓が主体の血栓症であり、病理学的所見から区別することができる可能性がある。しかし、実臨床で使用できる

病理所見は剖検によるものであり、実際の診断には利用できない。DICを診断する上では、凝固検査を含めた採血結果と臨床所見からDICスコアを計算することが重要である。しかし、TMA症例がどの程度の凝固異常を呈するのかについては、多数例での報告は皆無である。今回、我々はaTTPとaHUS、そして、DICの3群について急性期の凝固マーカーを含むルーチン血液検査を比較した。さらに、近年報告されている後天性TTPのスコアリングシステム(PLASMIC score)についてその外的妥当性につき検討したので、その結果を報告する。

B. 研究方法

2006年から2016年までに奈良医大TMAレジストリに登録され、急性期の凝固マーカーが参照可能であったaTTP 138例およびaHUS 43例を抽出した。なお、各疾患の診断はTTP診療ガイド2017およびaHUS診療ガイド2015に基づいて行った。また、同時期に奈良医大および三重大学でDICと診断された86例を対象とした。旧厚生省DIC診断基準7点以上もしくは旧厚生省DIC診断基準6点かつ急性期DIC診断基準4点以上のものをDICと診断した。そして、DICの基礎疾患の内訳は感染症46例、腫瘍27例、その他13例であり、明らかな線溶亢進型DICは除外した。

検査項目は血小板数、PT-INR、APTT、フィブリノゲン、アンチトロンビン、FDP、Dダイマー、ADAMTS13、血清クレアチニンを含むルーチン検査を調査した。検査結果は中央値(25-75%ile)で表記した。3群間の中央値の差の解析はKruskal-Wallis test

を用いて行った(統計ソフトEZRを使用)。PLASMIC scoreは各症例につき(1)血小板数3万未満(2)溶血所見あり(3)活動性の悪性腫瘍なし(4)臓器移植歴なし(5)MCVが90 fL未満(6)PT-INRが1.5未満(7)血清クレアチニンが2.0mg/dL未満、の7項目についてそれぞれ1点を加算し合計点を算出する。6-7点が高リスク(62-82%でTTP)、5点が中リスク(5-24%でTTP)、4点未満が低リスク(TTPの確率は4%未満)と報告されている。

(倫理面への配慮)

本研究は、奈良県立医科大学および三重大学の倫理審査委員会の許可を受けて実施した。

C. 研究成果

患者背景を表1に示す。aHUSは若年者に多く、aTTPは女性が多かった。また、aTTPではヘモグロビン、血小板が低値で、LDH、総ビリルビンが高く、溶血の程度が強いことが予想された。図1に示すように血小板数($10^4/\mu\text{L}$)はaTTP 0.9(0.7-1.4)、aHUS 3.1(1.8-4.6)、DIC 4.1(2.4-6.3)とaTTPでは著減しており、aHUSとDICでは統計学的有意差を認めなかった。PT-INRはaTTPやaHUSに比べてDICが高かった。また、APTTも同様にDICが高かった。図2に示すように、フィブリノゲンはaHUSでやや低い傾向が認められた。アンチトロンビンは、aTTPやaHUSに比べてDICで有意に低値であった。FDPは、aTTPやaHUSに比べてDICで有意に高かったが、aTTPとaHUSにおいても軽度の上昇を認めた。DダイマーもFDPと同様の傾向であった。図1

のように、ADAMTS13 活性 (%) は、後天性 TTP <0.5 (<0.5-<0.5)、非定型 HUS 69.0 (53.9-89.2)、DIC 31.4 (22.3-43.9) と aTTP<DIC<aHUS の順にそれぞれ統計学的有意差を認めた。血清クレアチニンは、aTTP 0.82 (0.66-1.14)、aHUS 1.62 (1.22-2.09)、DIC 1.58 (1.03-3.0) と、急性腎障害を特徴とする aHUS と DIC で aTTP に比べて有意に低かった。

PLASMIC score が評価可能な症例は aTTP が 112 例、aHUS が 28 例、DIC が 61 例であった。図 3 に示すように aTTP の 86% が高リスクに該当したものの、10% は中リスク、4% は低リスクに該当した。驚くべきことに、aHUS 症例の 46%、DIC 症例の 5% がそれぞれ高リスクに該当し、ADAMTS13 活性が低下していることが予想された。

D. 考察

TMA と DIC の鑑別は凝固異常が存在するか否かで広く行われてきたが、TMA 症例において実際にどの程度の凝固障害が生じ得るのかについては明らかにされていなかった。今回の報告より、aTTP、aHUS においても FDP や D ダイマーが上昇することが判明し、血小板減少と組み合わせることで、汎用されている旧厚生省 DIC 診断基準および急性期 DIC 診断基準において約半数が DIC と判定されることが判明した。TMA と DIC の鑑別はアンチトロンビンを用いることで容易と考えられたが、いずれの凝固マーカーも aTTP、aHUS、DIC の 3 者を明確に鑑別することができなかった。ADAMTS13 は本来 TTP の診断において不可欠な検査であるが、aHUS では中央値約 70% に維持されるのに対して、DIC 群では血漿

中のプロテアーゼ活性の亢進などの影響を受けて中央値約 30% まで有意に低下していた。

また、海外で注目されている PLASMIC score について検討した。PLASMIC score では DIC を除外する項目として PT-INR の 1 項目のみであるが、実際には PI-INR が 1.5 に満たない DIC 症例も多く存在していた。さらに、治療介入が遅れた DIC 症例では血小板数が 3 万を下回ることも珍しくなく、今回の解析結果においても DIC の 5% の症例が aTTP の高リスクと誤まって判定されていた。また、aHUS は PLASMIC score を使うと半数以上が aTTP の高リスクとされており、PLASMIC score の限界を理解した上で使用すべきと考えられた。

E. 結論

凝固マーカーの比較では TMA 群では DIC 群よりも凝固異常の程度が軽度であった。ルーチンの凝固マーカーのみでは aTTP と aHUS の鑑別は困難であったが、ADAMTS13 活性が両者の鑑別に有用である可能性が示された。PLASMIC スコアは TTP 診断ツールとして有効と考えられているが、TTP 以外の症例でも高リスクと判定されうる可能性があり、注意が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

英文

1. Otani T, Hatakeyama K, Yamashita K, Hayata Y, Hayakawa M, Matsumoto M,

- Taniguchi S, Ohbayashi C. A histological description of intestinal 'angiodysplasia' in an autopsy case of Heyde's syndrome. *Pathol Int.* 69(12)727-729, 2019. doi:10.1111/pin.12874.
2. Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K, Miyata T, Takahashi Y, Taniguchi S, Matsumoto M. Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Adv.* 3(21)3191-3195, 2019
 3. Takaya H, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Nakanishi K, Tsuji Y, Shimozato N, Moriya K, Seki K, Sawada Y, Saikawa S, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Noguchi R, Matsumoto M, Yoshiji H. VWF/ADAMTS13 ratio as a potential biomarker for early detection of hepatocellular carcinoma. *BMC gastroenterology.* 19(1)167, 2019
 4. Yoshikawa T, Nomi T, Sakai K, Hayakawa M, Hokuto D, Matsuo Y, Sho M, Matsumoto M. Ischaemia-reperfusion injury with Pringle's maneuver induces unusually large von Willebrand factor multimers after hepatectomy. *Thrombosis research.* 183, 20-27, 2019
 5. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clinical and Experimental Nephrology.* 23(1)65-75, 2019
 6. Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clinical and Experimental Nephrology.* 23(1)112-121, 2019
 7. van Dorland HA, Mansouri Taleghani M, Sakai K, Friedman KD, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, von Krogh AS, Schneppenheim R, Aebi-Huber I, Bütikofer L, Largiadèr CR, Cermakova Z, Kokame K, Miyata T, Yagi H, Terrell DR, Vesely SK, Matsumoto M, Lämmle B, Fujimura Y, Kremer Hovinga JA. The International Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Registry: Key findings at enrolment until 2017. *Haematologica.* 104(10)2107-2115, 2019 Feb 21. pii:

- haematol. 2019. 216796.
doi:10.3324/haematol.2019.216796.
8. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Fujimura Y, Matsumoto M. Blood group antigen A on von Willebrand factor is more protective against ADAMTS13 cleavage than antigens B and H. *J Thromb Haemost.* 17(6)975–983, 2019
 9. Tsujii N, Nogami K, Matsumoto M, Yoshizawa H, Takase T, Tanaka I, Sakai T, Fukuda K, Hayakawa M, Sakai K, Isonishi A, Matsuura K, Fujimura Y, Shima M. Involvement of the ADAMTS13–VWF axis in acute Kawasaki disease and effects of intravenous immunoglobulin. *Thromb Res.* 179:1–10, 2019 Apr. doi: 10.1016/j.thromres.2019.04.026.
 10. Horiuchi H, Doman T, Kokame K, Saiki Y, Matsumoto M. Acquired von Willebrand Syndrome Associated with Cardiovascular Diseases. *J Atheroscler Thromb.* 26(4)303–314, 2019. doi:10.5551/jat.RV17031.
 11. Takaya H, Namisaki T, Shimozato N, Kaji K, Kitade M, Moriya K, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Matsumoto M, Yoshiji H. ADAMTS13 and von Willebrand factor are useful biomarkers for sorafenib treatment efficiency in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastrointest Oncol.* 11(5):424–435, May 15, 2019. doi: 10.4251/wjgo.v11.i5.424.
 12. Nakayama S, Hirashio S, Yorishima H, Doi T, Yoshida Y, Matsumoto M, Masaki T. Atypical reduction of plasma ADAMTS13 activity by a non-IgG-type inhibitor in a patient with hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *CEN Case Reports.* 2019 Jun 8. doi.org/10.1007/s13730-019-00405-4.
 13. Sakai K, Someya T, Harada K, Yagi H, Matsui T, Matsumoto M. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to caplacizumab. *Haematologica.* 2019. 235549; doi:10.3324/haematol.2019.235549. [Epub ahead of print]
 14. Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, Matsumoto M. Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Intensive Care Med.* 2020 Jan 22:885066619899637. doi: 10.1177/0885066619899637. [Epub ahead of print]
 15. Shigekiyo T, Yagi H, Sekimoto E, Shibata H, Ozaki S, Matsumoto M. Identification of a missense mutation (p.Leu1733Pro) in the A3 domain of von Willebrand factor in

- a family with type 2M von Willebrand disease. International journal of hematology. 111(3) 467 - 470 2020.
16. Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M. Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. 27(4) 353 - 362 2020. doi.org/10.5551/jat.49494
 17. Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. Blood. In press
- 和文
1. 久保 政之, 松本 雅則. 【専門家による私の治療】血栓性血小板減少性紫斑病(TTP). 日本医事新報 4987 号 54, 2019
 2. 久保 政之, 松本 雅則. 未来型血液治療学 4 章 血小板・凝固線溶系疾患 血栓性血小板減少性紫斑病. 中外医学社 239-245, 2019
 3. 酒井 和哉, 松本 雅則. 血液領域における免疫療法と抗体医薬—最近の展開 後天性 TTP に対する caplacizumab の臨床効果. 血液内科 79 巻 1 号 76-81, 2019
 4. 酒井 和哉, 松本 雅則. ADAMTS13 が関与する多様な病態 先天性 TTP の臨床所見. Thrombosis Medicine 9 巻 3 号 206-211, 2019
 5. 松本 雅則. TMA(血栓性微小血管症)と HELLP 症候群. 産科と婦人科 89 巻 2 号 231-236, 2019
 6. 岡崎 仁, 池田 敏之, 大石 晃嗣, 加藤 栄史, 浜口 功, 藤井 康彦, 松本 雅則, 松下 正, 日本輸血・細胞治療学会ガイドライン委員会輸血有害事象検討タスクフォース. 科学的根拠に基づいた輸血有害事象対応ガイドライン. 日本輸血細胞治療学会誌 65 巻 1 号 1-9, 2019
 7. 松本 雅則. 【血栓止血の臨床-研修医のために[第 2 版]】血小板減少を伴う血栓性疾患 血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の診断と治療. 日本血栓止血学会誌 30 巻 1 号 155-159, 2019
 8. 國島 伸治, 山崎 昌子, 松本 雅則. 2018 Hot Topics 血小板分野. 日本血栓止血学会誌 30 巻 1 号 248-251, 2019
 9. 久保 政之, 松本 雅則. 【検査項目と異常値からみた—緊急・重要疾患レッドページ】(7 章)血液・造血器疾患 血栓性血小板減少性紫斑病. 臨床検査

- 63 卷 4 号 508-509, 2019
10. 松本 雅則. 輸血管理部門の将来像 血漿分画製剤管理と臨床研究. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 3 号 723-724, 2019
 11. 高見 昭良, 松下 正, 緒方 正男, 藤井 伸治, 久富木 庸子, 藤原 慎一郎, 松本 雅則, 富山 佳昭, 日本輸血・細胞治療学会血小板使用ガイドライン小委員会, 日本輸血・細胞治療学会「指針改訂検討委員会」日本輸血・細胞治療学会ガイドライン委員会, 血小板製剤使用ガイドライン小委員会. 科学的根拠に基づいた血小板製剤の使用ガイドライン[2019 年改訂版]. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 3 号 554-561, 2019
 12. 松下 正, 長谷川 雄一, 玉井 佳子, 宮田 茂樹, 安村 敏, 山本 晃士, 松本 雅則, 日本輸血・細胞治療学会「ガイドライン委員会」, 新鮮凍結血漿の使用指針に関する小委員会. 科学的根拠に基づいた新鮮凍結血漿 (FFP) の使用ガイドライン[改訂第 2 版]. 日本輸血細胞治療学会誌 65 卷 3 号 525-537, 2019
 13. 松本 雅則. 【全身性疾患と腎 update】(第 5 章)血液疾患 血栓性微小血管症・血液専門医の視点より. 腎と透析 86 卷 274-277, 2019
 14. 松本 雅則. 【指定難病ペディア 2019】個別の指定難病 血液系 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) [指定難病 64]. 日本医師会雑誌 148 卷 S189-S190, 2019
 15. 松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病、今日の治療指針 Vol 62、712-714
- 学会発表
1. 松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病. 第 67 回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019 年 5 月 25 日
 2. 長谷川 真弓, 田中 宏明, 谷山 歩, 隅志穂里, 梅木 弥生, 田中 忍, 酒井 和哉, 早川 正樹, 松本 雅則. 輸血検査におけるフローサイトメトリーの有用性. 第 67 回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019 年 5 月 25 日
 3. 松本 雅則. aHUS 以外の TMA の診断と治療. 第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
 4. 藤村 吉博, レムレ ベルンハルト, 田辺 さおり, 高橋 幸博, 酒井 和哉, 谷口 繁樹, 松本 雅則. Severe hemolytic jaundice with thrombocytopenia at birth in Upshaw-Schulman syndrome is caused by physical constriction of ductus arteriosus. 第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
 5. 石川 哲也, 小川 孔幸, 内藤 千晶, 松本 彬, 宮澤 悠里, 石崎 卓馬, 柳澤 邦雄, 松村 郁子, 外山 耕太郎, 松本 雅則, 半田 寛. Inhibitor boosting により長期入院を要した難治性の血栓性血小板減少性紫斑病症例. 第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
 6. 平形 絢子, 小林 靖子, 池内 由果, 小笠原 聡, 武井 麻里子, 小川 孔幸, 半田 寛, 松本 雅則, 荒川 浩一. 血栓性血小板減少性紫斑病を契機に診断された全身性エリテマトーデスの小児

- 例. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
7. 酒井 和哉, 中塚 優希, 吉田 瑤子, 早川 正樹, 和田 英夫, 松本 雅則. 凝固マーカーを含むルーチン血液検査によるTMAとDICの比較. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
 8. 矢田 憲孝, 川島 浩正, 垣脇 文香, 佐和 明裕, 千崎 聡士, 西村 伸城, 米今 諒, 田井 義彬, 對馬 恵美子, 大野 史郎, 吉本 清巳, 酒井 和哉, 福島 英賢, 松本 雅則, 西尾 健治. 敗血症性DICと血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の鑑別診断におけるFDP/D-dimer比およびLDH/Hb比の有用性. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
 9. H. A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K. D. Friedman, J. N. George, I. Hrachovinova, P. N. Knöbl, A. S. von Krogh, R. Schneppenheim, E. Tarasco, C. R. Largiadèr, Z. Cermakova, K. Kokame, T. Miyata, D. R. Terrell, S. K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmle, Y. Fujimura, J. A. Kremer Hovinga. Age at First Disease Manifestation in Relation to Residual ADAMTS13 Activity in Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
 10. K. Sakai, Y. Fujimura, A. Isonishi, M. Hayakawa, H. Yagi, M. Matsumoto. Successful Treatment of Pregnant Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Using Prophylactic Fresh Frozen Plasma Infusion. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
 11. H. Shimizu, K. Matsuura, Y. Miura, N. Takahashi, K. Sugie, K. Hatakeyama, M. Matsumoto. Immunohistologic Analysis of von Willebrand Factor in Thrombi Retrieved from Patients with Acute Ischemic Stroke. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
 12. Y. Fujimura, B. Laemmle, S. Tanabe, Y. Takahashi, K. Sakai, S. Taniguchi, M. Matsumoto. Severe Hemolytic Jaundice with Thrombocytopenia at Birth in Congenital TTP Is Caused by Physiological Constriction of Ductus Arteriosus. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
 13. J. Y. Tiao, R. Baker, J. Sathar, Y. Y. Yap, P. Angchaisuksiri, D. Oh, S. S. Yoon, J. Kim, R. Wong, E. Merriman, P. Choi, E. Gardiner,

- C.-G. Ruan, Z. Yu, M. Matsumoto, S.L. Tien, M.-C. Shen, S. Nair, R. Yang, M. Smith. Successful International Standardisation of ADAMTS13 Assays Highlights Challenges in the Result Interpretation for the Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) - results of the Asia-Pacific Microangiopathic (APMAT) Network. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日～10日
14. 松本 雅則. 血液製剤適正使用ガイドライン update. 第43回日本血液事業学会総会. 仙台, 2019年10月2日～4日
15. M Hayakawa, H Horiuchi, K Kokame, T Yambe, Y Shiraishi, A Yamada, Y Inoue, Y Saiki, T Yasui, T Minamitani, M Matsumoto. Acquired von Willebrand syndrome. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日～13日
16. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H Tanaka, M Matsumoto. A susceptibility locus for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in Japanese patients. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日～13日
17. 谷山 歩, 隅 志穂里, 梅木 弥生, 長谷川 真弓, 久保 政之, 酒井 和哉, 早川 正樹, 松本 雅則. AB型クリオ製剤使用時の安全性の検討. 第63回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会. 大阪, 2019年11月9日
18. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H Tanaka, M Kubo, H Yagi, M Matsumoto. Next-Generation Sequencing of HLA Loci Identifies Predisposing and Protective Factors for Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in a Japanese Population. 61st ASH Annual Meeting and Exposition. Orlando, 2019年12月7日～10日

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

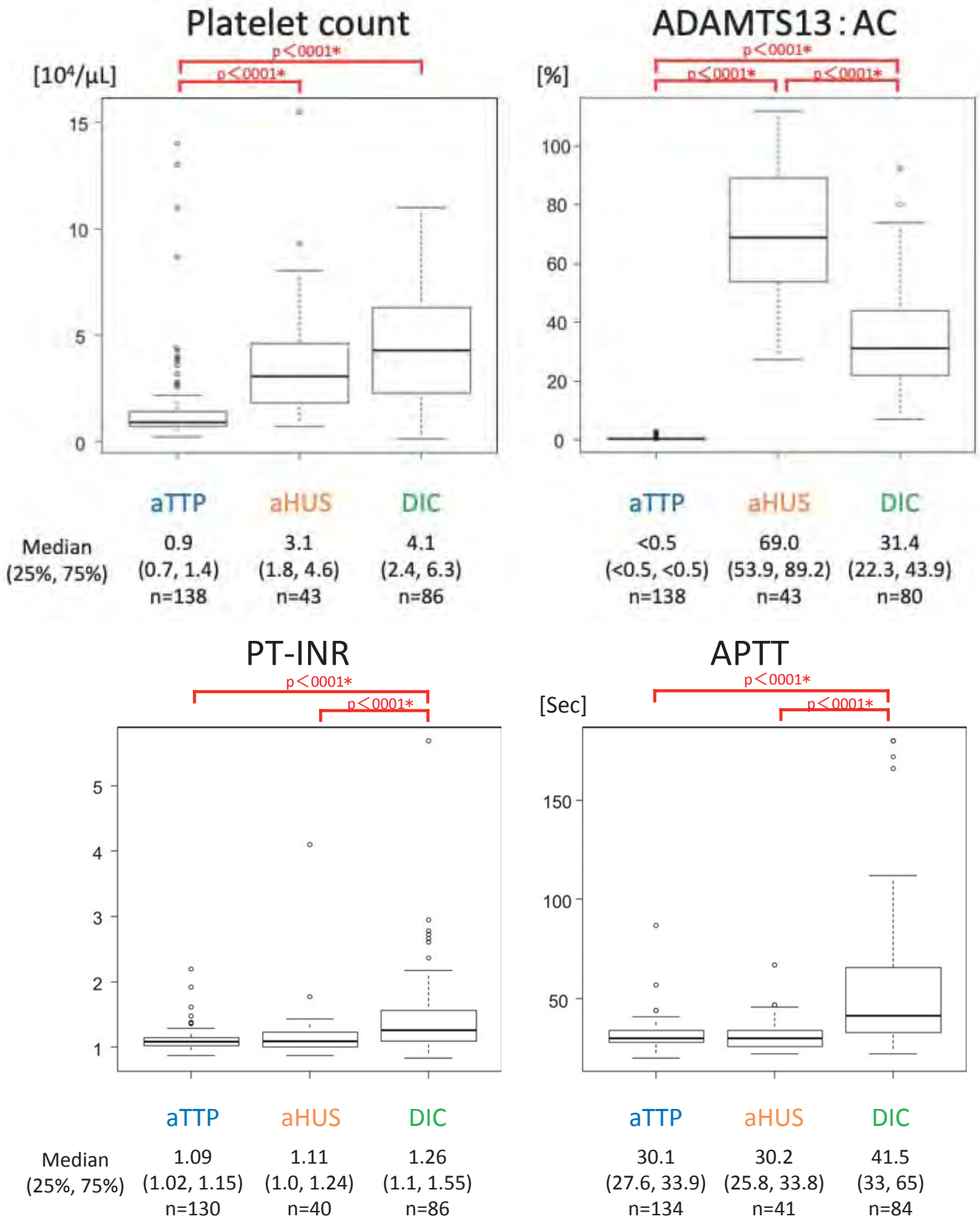
表1 患者背景

	aTTP群 total n=138	aHUS群 total n=43	DIC群 total n=86	p值
Age (years)	55.5 (40.25, 69)	6 (4, 17)	70.5 (62.25, 77)	<0.001*
Sex (F/M)	85/53	15/28	41/45	0.005 †
Hb (g/dL)	7.55 (6.3, 9.0)	7.9 (6.0, 10.1)	9.7 (8.5, 11.8)	<0.001*
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7.30 (5.2, 9.5)	8.85 (5.96, 12.09)	8.04 (4.53, 12.42)	0.29*
PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	0.9 (0.2, 1.4)	3.1 (1.8, 4.6)	4.1 (2.35, 6.3)	<0.001*
LDH (IU/L)	1036 (746, 1528)	2130 (1760, 3087)	506 (338, 1012)	<0.001*
T-bil (mg/dL)	2.8 (2.2, 4.7)	2.5 (1.9, 2.9)	1.6 (0.8, 3.5)	<0.001*
sCr (mg/dL)	0.82 (0.66, 1.14)	1.73 (1.39, 2.42)	1.58 (1.03, 3.0)	<0.001*

※Median (QFT 25%, 75%)

*: Kruskal-Wallis test

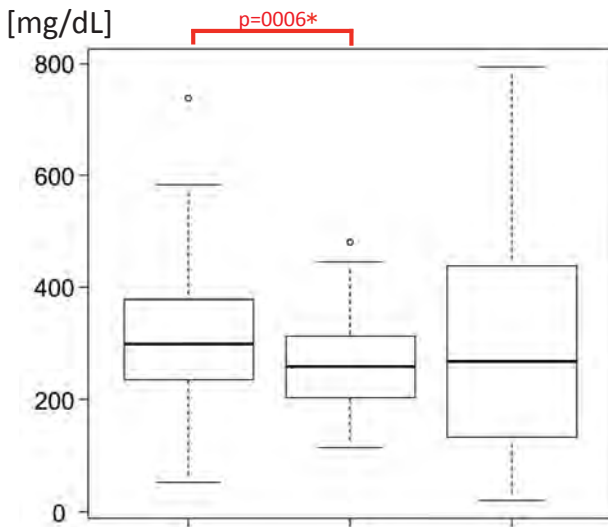
†: Fisher's exact test



*:Kruskal-Wallis test

図1 TMAとDICの比較(1)

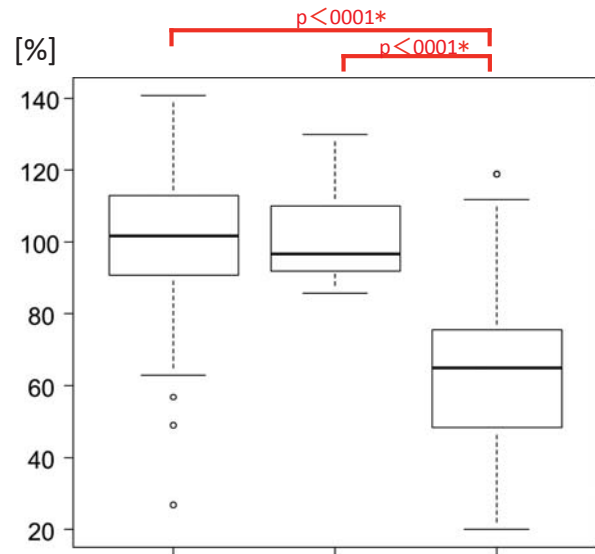
Fibrinogen



aTTP aHUS DIC

Median	300	259	270
(25%, 75%)	(236, 378)	(204, 314)	(133, 438)
	n=138	n=43	n=85

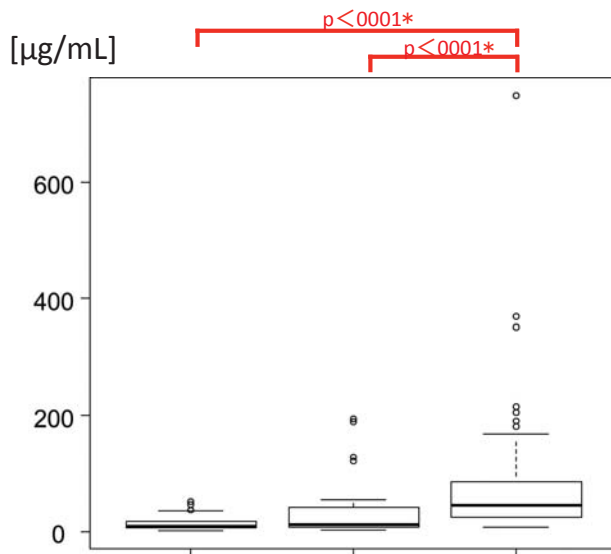
Antithrombin



aTTP aHUS DIC

Median	102	97	65
(25%, 75%)	(91, 113)	(92.3, 110)	(48.5, 75.5)
	n=107	n=21	n=59

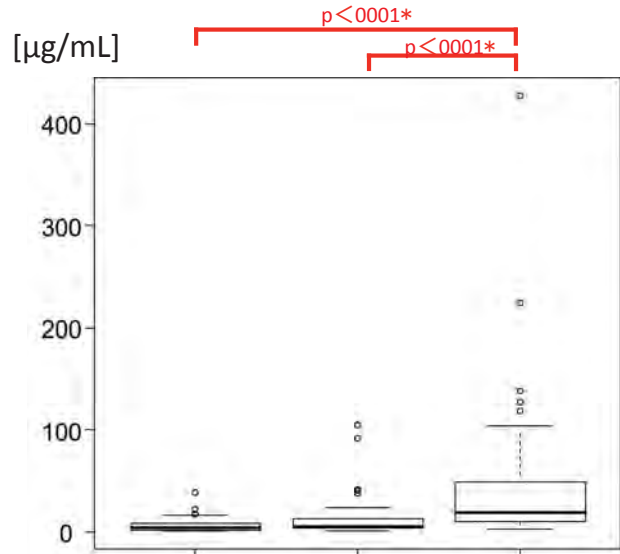
FDP



aTTP aHUS DIC

Median	10.1	12.2	46
(25%, 75%)	(5.8, 17.9)	(7.8, 37.9)	(23.8, 84.9)
	n=138	n=34	n=86

D-dimer



aTTP aHUS DIC

Median	4.1	5.0	19.4
(25%, 75%)	(1.8, 7.6)	(3.4, 12.2)	(9.9, 48.6)
	n=86	n=24	n=86

*:Kruskal-Wallis test

図2 TMAとDICの比較(2)

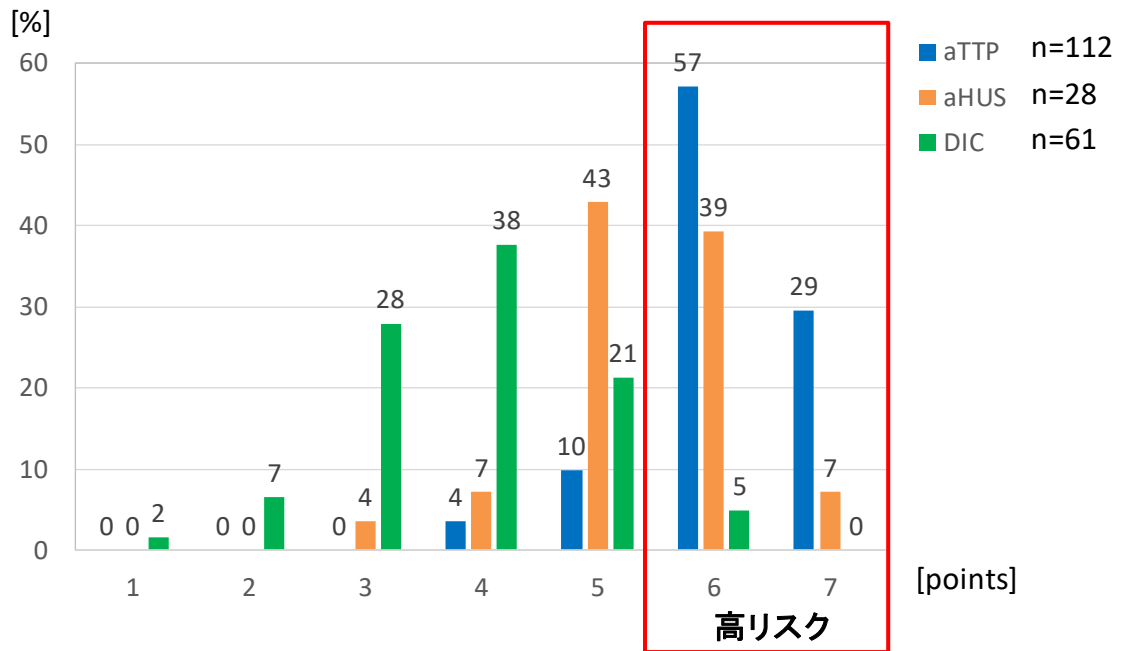


図3 PLASMIC Scoreの検討

血栓性血小板減少性紫斑病に関する研究

研究分担者：宮川義隆 埼玉医科大学 教授

研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）ガイドラインを3年ぶりに改訂した。医師主導治験の成果とガイドラインをもとに、後天性TTPに対する抗体医薬リツキシマブの適応拡大に成功した。

A. 研究目的

血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）のガイドライン改訂、抗体医薬リツキシマブの後天性TTPに対する適応拡大を行う。

B. 研究方法

海外のガイドライン、国内外の医学専門家の意見を聴取、診療実態を調査し、ガイドラインの改訂を行う。後天性TTPに対するリツキシマブは、国内で実施した医師主導治験の成績、TTPガイドラインをもとに、医療上の必要性が高い未承認薬・適応外薬検討会議にて、医療上の必要性と公知性を審議する。

（倫理面への配慮）

該当せず

C. 研究結果

TTP診療ガイド2020改訂版を作成し、本報告書に掲載した。後天性TTPに対するリツキシマブは、2019年8月に保険収載、2020年3月に適応拡大した。

D. 考察

欧米では約10年前より、後天性TTPに対

してリツキシマブが処方されている。特に再発例と難治例に、血漿交換療法、副腎皮質ステロイドを併用すると、有効率は90%と高い。なお、海外では初発例の急性期にリツキシマブを投与して、再発率の低下を認めたこと報告された。ガイドライン2020改訂版では、ADAMTS13検査の保険収載、後天性TTPに対するリツキシマブ、血漿交換の回数が従来の週3回から血小板数が2日連続して正常化するまで連日行えるよう保険収載されたことを掲載した。

E. 結論

3年ぶりにTTPガイドラインを改訂した。後天性TTPの再発・難治例に対して、リツキシマブが保険収載、適応拡大した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

宮川義隆、免疫性血小板減少症と血栓性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブ、臨床血液60, 480-487 (2019)

2. 学会発表

第61回 アメリカ血液学会総会,
Clinical Practice Pattern of Acquired
Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in
Japan: A Nationwide Inpatient Database
Analysis. Yamada Y, et al.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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

先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析

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 を含む疾患群である血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy; TMA) の診療ガイド作成・改訂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 2 名 (2 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、1 名は p. W365G 変異と p. A596V 変異の複合ヘテロ接合体、1 名は p. F324L 変異と p. C438F 変異の複合ヘテロ接合体であった。このうち p. A596V 変異はヨーロッパの家系で同定されていた原因変異であり、他は未報告の変異である。これらの結果は診療ガイドラインの改訂等に役立つ知見となる。

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 (インヒビター) 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ともに、TTP を含む疾患群である血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy; TMA) の診療ガイド作成・改訂に寄与することをめざしている。

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た。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 2 名 (2 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試薬キットなので、凍結血球 (約 200 μ L) を解凍しながら約 100 μ L の生理食塩水で懸濁して約 300 μ 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 (TGTAACGACGGCCAGT) 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 μ 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 μ 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 μ L を加え、37°C/30 分間、80°C/15 分間反応させた。このうち 1 μ 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 μ 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

家系 A の患者は、新生児期に黄疸のため交換輸血が施行され、G6PD 欠損症が疑われていたが、5 歳時に溶血性貧血と血小板減少が認められた。外来で経過観察中であったが、インフルエンザ感染で血小板数 0.3 万/ μ L に著減し、ADAMTS13 活性 10%未満であった。奈良医大輸血部に相談され、検査の結果、ADAMTS13 活性 <0.5%、インヒビター陰性であった。母は ADAMTS13 活性 29.4%、インヒビター陰性であった。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. 1093T>G (p. W365G) 変異と

c. 1787C>T (p. A596V) 変異がそれぞれヘテロ接合性で同定された。母に c. 1093T>G がヘテロ接合性で同定されたため、c. 1787C>T はおそらく父由来で、患者は両変異による複合ヘテロ接合体と推定された。c. 1093T>G は未報告の変異であり、c. 1787C>T はヨーロッパの家系で同定されていた原因変異であった。

家系 B の患者は 26 歳女性で、妊娠 30 週の近医健診で血小板減少を指摘され、大学病院受診で血小板数 1.1 万/ μ L と減少しており、溶血所見もあった。軽度肝障害と高血圧により HELLP 症候群が疑われたが、数日で血小板数 0.5 万/uL、LDH 900IU/L と増悪したため、ステロイドパルスと輸血療法が行われ、帝王切開で生児を得た。ADAMTS13 活性 13%、インヒビター陰性で後天性 TTP は否定された。奈良医大における検査結果からも先天性 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. 972C>A (p. F324L) 変異と c. 1313G>T (p. C438F) 変異がそれぞれヘテロ接合性で同定された。父に c. 972C>A、母に c. 1313G>T がヘテロ接合性で同定されたため、患者は両変異による複合ヘテロ接合体と推定された。いずれも未報告の変異であった。

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 2 名 (2 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、4 種のミスセンス変異であった。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。

これまでに解析した結果をまとめると、先天性 TTP 疑い患者 64 名 (57 家系) のうち 60 名 (53 家系) に、複合ヘテロ接合性 (42 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。変異は 66 種類で、その内訳は、ミスセンス 41 種類 (62.1%)、フレームシフト 11 種類 (16.7%)、ナンセンス 8 種類 (12.1%)、スプライシング異常 4 種類 (6.5%)、構造異常 2 種類 (3.0%) であった。論文発表されている海外の原因変異を含めると全部で 170 種類となった。

解析した 57 家系のうち 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、解決すべき課題として残っている。ロング・リード・シーケンシングによる解析を開始したので、今後明らかになることが期待される。

E. 結論

先天性 TTP 疑い患者 2 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、両アレル性の

異常が同定された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Seiko Nakajima-Doi, Osamu Seguchi, Yasuhiro Shintani, Tomoyuki Fujita, Satsuki Fukushima, Yorihiro Matsumoto, Yuka Eura, Koichi Kokame, Shigeki Miyata, Sachi Matsuda, Hiroki Mochizuki, Keiichiro Iwasaki, Yuki Kimura, Koichi Toda, Yuto Kumai, Kensuke Kuroda, Takuya Watanabe, Masanobu Yanase, Junjiro Kobayashi, and Norihide Fukushima: Experience of the use of octreotide for refractory gastrointestinal bleeding in a patient with Jarvik2000 left ventricular assist device. *J. Artif. Organs* 22 (5), 334-337 (2019)
- 2) Yuka Sugawara, Hideki Kato, Yoko Yoshida, Madoka Fujisawa, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yuko Akioka, Kenichiro Miura, Motoshi Hattori, and Masaomi Nangaku: Novel CFHR2-CFHR1 hybrid in C3 glomerulopathy identified by genomic structural variation analysis. *Kidney Int. Rep.* 4 (12), 1759-1762 (2019)
- 3) Yoshihiro Fujimura, Bernhard Lämmle, Saori Tanabe, Kazuya Sakai,

- Toshiyuki Kimura, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yukihiro Takahashi, Shigeki Taniguchi, and Masanori Matsumoto: Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome. *Blood Adv.* 3 (21), 3191-3195 (2019)
- 4) Miyu Usui, Tadashi Ozawa, Younhee Kim, Takafumi Mashiko, Kosuke Matsuzono, Keiko Maruyama, Koichi Kokame, Rie Usui, Reiji Koide, and Shigeru Fujimoto: Cerebral venous sinus thrombosis associated with protein S deficiency during pregnancy: a case report. *J. Obstet. Gynaecol.* 40 (1), 135-136 (2020)
- 5) Takekazu Miyoshi, Keiko Maruyama, Hisato Oku, Saiko Asahara, Hironori Hanada, Reiko Neki, Jun Yoshimatsu, Koichi Kokame, and Toshiyuki Miyata: Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation. *Thromb. Res.* 185, 1-4 (2020)
- 6) Keigo Akuta, Kazunobu Kiyomizu, Hirokazu Kashiwagi, Shinji Kunishima, Nobuko Nishiura, Fumiaki Banno, Koichi Kokame, Hisashi Kato, Yuzuru Kanakura, Toshiyuki Miyata, and Yoshiaki Tomiyama: Knock-in mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. *J. Thromb. Haemost.* 18 (2), 497-509 (2020)
- 7) 秋山正志, 小亀浩市: ADAMTS13 の構造変化と機能発現. *Thromb. Med.* 9 (3), 189-198 (2019)
- 8) 宮田敏行, 小亀浩市: TMA の遺伝子診断: TTP と aHUS. *日本血栓止血誌*, 31 (1), 17-27 (2020)

2. 学会発表

- 1) 丸山慶子, 小亀浩市: 公開データベースから抽出したプロテインS変異の機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
- 2) 山崎泰男, 樋口(江浦)由佳, 小亀浩市: プロトンポンプ V-ATPase は von Willebrand 因子の細胞内貯蔵オルガネラである Weibel-Palade 小体に局在する. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
- 3) 秋山正志, 樋口(江浦)由佳, 小亀浩市: ADAMTS13 クリアランス受容体としての SIGLEC5 の同定と機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
- 4) 武田壮一, 秋山正志, 荒木聡彦, 小亀浩市: シェディング酵素 ADAM ファミリープロテアーゼの成熟化とプロドメインによる活性制御の構造基盤. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
- 5) 根木玲子, 伊田和史, 光黒真菜, 岡本章, 柏木浩和, 丸山慶子, 小亀浩市: 家系構成員の遺伝子解析が発端者の

- 診断に有用であった遺伝性血栓性素因患者における遺伝子解析の検討. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
- 6) S. Miyata, Y. Nakamura, K. Kuramochi, O. Sawada, Koichi Kokame, and Takuma Maeda: Safety and efficacy of argatroban therapy using ethnic-specific doses in Japanese patients suspected of having heparin-induced thrombocytopenia: nationwide post-marketing surveillance studies. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia, July 6-10, 2019.
- 7) T. Miyoshi, H. Oku, S. Asahara, A. Okamoto, K. Kokame, M. Nakai, K. Nishimura, F. Otsuka, Higashiyama, J. Yoshimatsu, and T. Miyata: Effects of low-dose combined oral contraceptives and protein S K196E mutation on anticoagulation factors: a prospective observational study. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia, July 6-10, 2019.
- 8) H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J.N. George, I. Hrachovinova, P.N. Knöbl, A.S. von Krogh, R. Schneppenheim, L.B. Lukas Bütikofer, C.R. Largiadèr, Z. Cermakova, K. Kokame, T. Miyata, D.R. Terrell, S.K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmle, Y. Fujimura, J.A. Kremer Hovinga, and Hereditary TTP Registry: Age at first disease manifestation in relation to residual ADAMTS13 activity in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia, July 6-10, 2019.
- 9) 伊田和史, 光黒真菜, 岡本章, 柏木浩和, 丸山慶子, 小亀浩市, 根木玲子: 血縁者の解析から明らかになった2つの遺伝性血栓性素因を併せ持つ深部静脈血栓症患者における遺伝子変異の検討. 第43回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 札幌, 2019年8月2-4日.
- 10) 根木玲子, 宮田敏行, 伊田和史, 小西妙, 中西篤史, 吉松淳, 小亀浩市, 大谷克城, 日高義彦, 若宮伸隆, 井上徳光: 妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査と補体関連遺伝子解析の検討. 第56回日本補体学会学術集会, 東京, 2019年8月23-24日.
- 11) 根木玲子, 伊田和史, 光黒真菜, 岡本章, 宮田敏行, 丸山慶子, 小亀浩市: ホルモン補充周期法による不妊治療中に脳静脈洞血栓症を発症した先天性アンチトロンビン欠乏症の検討. 第34回日本女性医学学会学術集会,

福岡，2019年11月2-3日．

- 12) 根木玲子，宮田敏行，伊田和史，小西妙，中西篤史，吉松淳，小亀浩市，大谷克城，日高義彦，若宮伸隆，井上徳光：妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査および補体関連遺伝子解析についての検討．日本人類遺伝学会第64回大会，長崎，2019年11月6-9日．

- 13) 根木玲子，伊田和史，光黒真菜，岡本章，小亀浩市，宮田敏行：妊娠初期に静脈血栓塞栓症を発症した先天性プロテインS欠乏症の遺伝子解析の検討．第5回日本産科婦人科遺伝診療学会学術講演会，東京，2019年12月20-21日．

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

aHUS グループ総括

分担研究者 丸山彰一

研究要旨

非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) は、平成 29 年度より aHUS は本研究班のサブグループに加わり、日本国内の aHUS 症例の疫学的・蛋白質学的・遺伝学的解析を通して、本研究班独自の aHUS 診療ガイドラインを作成することを目的として研究活動を開始した。

以前より奈良県立医科大学輸血部設立の aHUS 患者コホートならびに診断システムが役割を担っており、その機能が平成 26 年 9 月に東京大学医学部附属病院へ引き継がれ、aHUS 事務局を設立して全国から aHUS の診療におけるコンサルテーション、溶血試験、抗 CFH 抗体検査、遺伝子検査が精力的に行われるようになった。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。同定された遺伝子異常が aHUS の発症にどの程度影響を及ぼすか今後検討課題である。Sanger 法あるいは WES 法にて補体関連因子に変異が見つからなかった aHUS 症例において MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) を実施したところ、一部に CFH-CFHR の融合遺伝子が検出された。これらは病的変異と考えられ、今後の aHUS の診断における MLPA の重要性を示した。

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。迅速な aHUS 診断が求められる中で、このような補体機能検査は有益であり、事務局からも各施設へ結果のフィードバックを行った。今後、同様な補体機能検査の改良、開発を行うにあたり、基礎データの収集をおこなった。

2013 年より治療薬として承認された Eculizumab の長期治療の有効性と安全性を確認するために小児と成人、それぞれにおいて市販後調査結果を解析した。引き続き病態解明・疫学調査に努め、本邦の疾患背景を考慮した独自のガイドライン策定に向け研究を継続する。

A. 研究目的

非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS; atypical hemolytic uremic syndrome）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。約 60%の症例で補体や補体制御因子（H 因子、I 因子、C3、MCP）の遺伝子異常、H 因子に対する自己抗体の存在が報告されているが、それらの異常が認められない症例も約 40%に存在しており、これらの症例が aHUS なのかどうか鑑別することが大きな問題となっていた。

また臨床面に関しての問題として、臓器予後、生命予後ともに不良の疾患で、治療介入の緊急性が高いにもかかわらず、早期診断につながる適切なバイオマーカーが無い場合、診断に苦慮する事が多い事が挙げられる。2013 年以降、抗 C5 モノクローナル抗体（Eculizumab）の登場により、治療成績は飛躍的に改善しているが、その開始、中止基準が明確でなく、臨床現場には混乱が生じている。

当研究班は aHUS 診断のための体系的な検査体制を構築しており、本邦最大の aHUS 患者コホートを有する唯一の組織である。これまでのコホート情報に新規の aHUS 症例を累積していき、日本人独自のより質の高いデータを構築する必要があった。

本研究の目的として、日本で構築されたコホートをもとに、西洋とは異なる日本独自の aHUS の遺伝的背景を探ること。またその予後や治療方針への関連を探ることが挙げられる。

また迅速に結果が得られる補体機能検査としてのヒツジ赤血球溶血試験のデータ解析し、aHUS 診断における有用性を明らかにするとともに、新しいスタンダードになりうる補体機能検査の開発を進めること。

Eculizumab の市販後調査結果を解析することで、実臨床で Eculizumab がどの様に使用され、どの様な効果をもたらしているかを明らかにする。

2016 年に日本腎臓学会・日本小児科学会合同非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会のもとで、「非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療ガイド 2015」が公表されたが、その後の症例データの蓄積、また諸外国における Consensus opinion の発表が相次ぎ、更には今後 aHUS を対象とした新規薬剤の上市も予定されている。このような背景から、最終的に得られた知見をもとに本邦における aHUS 診療ガイド改訂を目標とする。

B. 研究方法

疫学調査

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科において臨床所見、検査所見、薬剤使用状況などを記載する質問票と家系図を作成、これらの書式を各解析依頼施設の主治医に送付し、データの集積を行った。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

1. 羊赤血球溶血試験

奈良県立医科大学輸血部で樹立した手法を用い (Yoshida Y, et al. *PLoS One* 10, e0124655, 2015)、ヒツジ赤血球と患者の血漿を混合、37°Cで30分間反応させた後に羊赤血球の溶血度を算出した。なお、本試験ではH因子に対する機能阻害モノクローナル抗体 (clone: 072) を陽性コントロールとして用い、この072抗体を正常人血漿に添加した際に見られる羊赤血球の溶血度を100%と定義し、患者の溶血度を定量的に算出した。

2. 抗H因子抗体解析

Abnova社のCFH Ab ELISA kit (cat no. KA1477) を用いて測定した。抗体陽性の判定はkitのプロトコルを参考に、正常人検体における平均値+3SDより高い値を陽性と判断とした。

3. 新規補体機能検査の開発

細胞膜表面における補体の活性化を測定するに当たり、ヒツジ赤血球に変わり安定細胞株を選択し、その膜表面の補体活性を測定した。

遺伝子解析

共同研究先である国立循環器病研究センター研究所 (研究責任者: 宮田敏行) において、aHUS発症に関連する6因子 (*CFH*, *CFI*, *MCP*, *C3*, *CFB*, *THBD*, *DGKE*) のエクソン領域をSanger法で解析するか、東京大学ゲノム医学センターあるいはGeneNexにてWhole Exome Sequencing (WES) 法にて全エクソンを解析した。

MLPAはMRC-Holland社製造のSalsa MLPA® kitを用いてPCRをかけた後にフラグメント解析を行った。

Eculizumab市販後調査解析

Eculizumab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。(文献2、3)

C. 研究結果

蛋白質学的解析結果

当事務局に問い合わせ・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、溶血度の中央値は33.9%であり、正常人 (5.2% (3.8-5.9%), n=20) や2次性TMA症例 (11.9% (1.6-19.2%), n=19) に比べ、有意に高い値を示した。

異常因子別に見ると、CFH: 7例、抗CFH抗体陽性: 7例、CFH/CFHR融合遺伝子: 2例、C3: 14例、MCP: 3例、DGKE: 1例、変異なし: 15例であった。

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が欠如しており、溶血試験のような補体機能検査は診断に有益である。そこで、補体最終産物であるC5b-9をもって細胞膜上の補体活性を測定する検査系の開発を開

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。溶血試験はヒツジ赤血球上の補体活性を溶血で測定するが、非ヒト細胞株を用いた補体蛋白の結合を測定したところ、FDMにおいて補体蛋白の結合が観察された。

また in vitro の系において Eculizumab を作用させたところ、補体蛋白の結合が強力に抑制されており、今後治療効果予測への応用が期待された。

遺伝学的解析結果

184例の患者について解析を実施した結果、遺伝子異常の内訳は次に示す通りであった：C3 42例(23%)、CFH 16例(8.7%)、MCP 12例(6.5%)、CFI 4例(2.2%)、CFB 2例(1.1%)、DGKE 2例(1.1%)、THBD 9例(4.9%)、抗CFH抗体陽性 21例(11%)であり異常因子特定率は61%であった。以前より、本邦では欧米諸国や米国に比べCFH変異の割合が低く、C3変異の割合が高い(諸外国におけるCFH変異の割合：20-30%、C3変異の割合：~10%)ことが報告されていたが(Fan X, et al. *Mol Immunol* 54, 238-246, 2013, Yoshida Y, et al. *PLoS One* 10, e0124655, 2015)、いずれも少数例での報告であった。東京大学からの報告(Fujisawa M, et al. *Clin Exp Nephrol.* 2018 Oct;22(5):1088-1099)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。その変異に同一のものではなく(CFH R1215G, CFB K533R, C3 V555I, C3 S562L, CFI R201S, MCP S13F)、またこれらの変異は妊娠関連aHUSに特異的な変異ではなかった。この6例はフォローアップの結果、妊娠・分娩時以外ではaHUSを再発しておらず、1例のみその後の妊娠・分娩が確認されたがその時の再燃は認められなかった。また非分娩関連aHUS(通常のaHUS)症例では周産期にaHUSを再発していない可能性も示唆されており、妊娠関連あるいは分娩直後に発症するaHUS(pregnancy associated / postpartum aHUS)の発症機序や臨床経過の特徴を同定された遺伝子変異およびWESの補体関連因子以外の遺伝子異常の情報を組み合わせることで解明することが今後の課題となった。

補体関連因子に一塩基遺伝子変異あるいは短い変異を認めなかった症例のうち①抗CFH抗体陽性例、②溶血試験陽性例、③WESにてリード数に不自然な偏りがある症例に対して multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)によってCFHおよびCFHR領域の copy number variant を調査すると12例中3例で copy number の異常が認められた。当該領域に対して long PCR および direct Sanger sequencing を施行することで break point

を含めた遺伝子の構造変化を明確にした。3例のうち2例はCFH/CFHR1の融合遺伝子であり、CFHのC末部分にCFHR1のC末の遺伝子が融合することでCFHの機能の異常（低下）が想定され、これがaHUSの発症につながるものと考えられた。もうひとつの構造異常はCFHの広範な欠失およびCFHR4-2-5の広範な欠損であり、これは新規の構造多型異常であった。

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

小児例（18歳未満）に関する報告ではaHUS 27例、二次性TMA 17例の計44例で検討されている。二次性TMAは現時点でEculizumabの適用がないが、2015年の診療ガイド改訂前においては、aHUSがSTEC-HUSとTTPを除外したものと定義されていたため、補体関連TMAでない他の二次性TMAもaHUSに含まれたことが背景にある。aHUSでは、発症年齢の中央値は4歳で原因遺伝子は66.7%で判明し、その内の42.8%で2つ以上の変異が確認された。

治療としてTMAのエピソードから平均14日でEculizumabが開始されている。治療効果ではTMA event-free statusが85.2%に至ったが、完全なTMAからの完全寛解（血小板数、LDH、クレアチニンの正常化）の達成は36.4%で、既報（64%）と比較して低かった。血液学的正常化率は40.9%であった。血清Cr値の25%以上の改善を指標とする腎機能の改善率は66.7%であった。13例で血液透析を要したが、8例で離脱、2例は維持透析、3例は死亡した。

観察期間中に死亡例を除くと6例でEculizumabが中止されており、内3症例

においては、遺伝子変異が確認されている症例であった（MCPとCFB、CFHとMCP、CFHR1/3欠損と抗CFH抗体陽性例）。

副反応に関しては重篤なものが10件報告され、高血圧、敗血症、痙攣などが挙げられた。3例の死亡例は肺胞出血、急性心不全、急性肝不全によるものであった。これら全てはEculizumabとの関連は無いと判断された。また、Eculizumabの副作用として注意喚起されている髄膜炎菌感染は報告されなかった。

成人例では18歳以上の症例でエクリズマブが使用されたaHUS 29例、二次性TMA 27例の計56例で解析が行われた。年齢の中央値は58歳。遺伝学的検査および抗CFH抗体検査はそれぞれ29例中18例（62.1%）、27例中8例（29.6%）で施行され、aHUSでは11例（61.1%）で遺伝子変異が同定されたが、抗CFH抗体症例は存在しなかった。一方、二次性TMAでは遺伝学的検査を行った8例中3例で変異が同定された。以下はaHUSと診断された症例について記載するが、治療としてTMA発症から平均22.5日後にEculizumabが開始されており、この期間は前述の小児例より約1週間開始が遅れていることになる。

患者背景ではエクリズマブ使用前1年間以内に血漿治療を18例（62.1%）の症例が受け、47例（58.6%）が透析を受けていた。また、既往歴として肝障害や悪性腫瘍などを17例（58.6%）に認めた。治療効果はTMA event-free statusが67.9%で、TMAからの完全寛解率は27.8%、血液学的正常化率も38.9%であった。治療の反応性として、血小板数はベースが $5.2 \times 10^4/\mu\text{l}$ から14日間で $10.7 \times 10^4/\mu\text{l}$ へ上昇してい

る。腎機能に関してはベースが sCr 3.67mg/dl で、28 日後 2.26mg/dl、60 日後 2.10mg/dl であった。17 例がベースで血液透析を要したが、9 例で離脱が可能であった。副反応に関して 7 例の患者に対し、10 件の重篤な副反応が報告された。4 例の死亡例に関して Eculizumab の直接的な関連は指摘されなかった。エクリズマブ治療の継続／中止に関しては、観察期間中で継続例が 10 例 (34.5%)、中止例が 19 例 (65.5%) であり、中止理由としては医師の判断と効果不十分が多数をしめた。

aHUS 診療ガイド改訂について

2016 年には、日本腎臓学会・日本小児科学会合同非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会のもとで、「溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 診療ガイド 2015」が公表された。その後も aHUS に対する診療体制 (遺伝子診断、疾患レジストリー) の充実に沿って、aHUS 症例データの蓄積が進んでいる。また海外での Expert opinion の発表、今後ラブリズマブと言った新規薬剤開発が見込まれる事を踏まえ、現在我々は今後の 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。

D. 考察

aHUS コホート、本邦における aHUS 患者の実情をより正確に把握できるようになった。また CFR2-CFR1 ハイブリッド遺伝子など新たな変異の発見にもつながっている。これらのデータは、新たな診療ガイ

ド作成に向けて非常に重要な知見となると考えられる。検査の面に関しては、溶血試験の有用性が明らかになりつつあることから、より正確な診断につながることを期待される。

市販後調査をベースとした Eculizumab の有効性と安全性に関する検討では今回の本邦における臨床実績調査から小児・成人とも血液データの改善は比較的速やかにもたらされ、また有効性は大きいと考えられたが、その半面で特に成人において腎機能改善効果は海外の先行するデータには及ばないと考えられた。また Eculizumab 不応性の C5 変異がどのくらい認められたか明確にされていないが、この変異による影響も可能性として考えられる。

E. 結論

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。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

1. Yoshida Y, Kato H, Ikeda Y, Nangaku

- M. Pathogenesis of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Atheroscler Thromb.* 26: 99-110, 2019
2. Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clin Exp Nephrol*, 23: 112-121, 2019
 3. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance. *Clin Exp Nephrol*. 23:65-75, 2019
 4. Sugawara Y, Kato H, Yoshida Y, Fujisawa M, Kokame K, Miyata T, Akioka Y, Miura K, Hattori M, Nangaku M Novel *CFHR2-CFHR1* Hybrid in C3 Glomerulopathy Identified by Genomic Structural Variation Analysis. *Kidney Int Rep.* 2019 Sep 19;4(12):1759-1762.
 5. Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. *J Atheroscler Thromb.* 2020 Apr 1;27(4):353-362.
 6. Fujisawa M, Yasumoto A, Kato H, Sugawara Y, Yoshida Y, yatomi Y, Nannngaku M. The role of anti-complement factor H antibodies in the development of atypical hemolytic uremic syndrome: a possible contribution to abnormality of platelet function. *Cr J Haematol.* 2020 Apr; 189(1): 182-186
- (和文)
1. 川端千晶, 池田洋一郎. 非典型溶血性尿毒症症候群の遺伝子診断非血液内科 78 (2) : 234-238, 2019
 2. 池田洋一郎. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS). 日本血栓止血学会誌 30 (1) : 164-167, 2019
 3. 吉田瑤子, 南学正臣. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の病態と臨床検査. 炎症と免疫 27, 41-17, 2019
 4. 香美祥二: 抗補体薬、腎疾患、透析: 最新の治療 2020-2022 p351-353, 南江堂 2020
 5. 香美祥二: 指定難病 aHUS、指定難病ペディア 2019 日本医師会誌 148 : p249. 2019
 6. 芦田明: 非典型溶血性尿毒症症候群

- 小児科診療ガイドライン第4版 2019:436-439
7. 芦田明: 志賀毒素産生性腸管出血性大腸菌関連溶血性尿毒症症候群 (STEC-HUS) 日本血栓止血学会誌 2020;31:37-44
 8. 加藤規利、立衿良崇、丸山彰一: aHUSの病態と臨床 日本血栓止血学会誌 2020; 31(1): 45-54
 5. 山崎哲司 松村英樹 藤井裕子 白数明彦 田中智子 中倉兵庫 渡邊栄三 菅原有佳 吉田瑤子 池田洋一郎 芦田明: インフルエンザ感染を契機に発症した C3 p. I1157T 変異を有する非典型溶血性尿毒症症候群の2例 第41回日本小児腎不全学会(2019年11月、高知)
 6. Shoichi Maruyama; Evolving Japan aHUS guideline compared to KDIGO guideline with renal practice in Japan. aHUS Symposium in Korea 2019年7月4日 Incheon, South Korea
- 2. 学会発表**
1. 香美祥二: 補体系と腎疾患 in シンポジウム 補体系と臨床医学第122回 日本小児科学会学術集会、2019年4月、金沢市
 2. 香美祥二: 小児医学、医療の最前線 (aHUS診療の進歩) 徳島臨床内科医会 2019年5月16日 (徳島県医師会館、徳島市)
 3. Ashida A: Atypical hemolytic uremic syndrome. in Symposium 14. The 12th World Congress of International Society for Apheresis (2019年10月、京都)
 4. Ashida A: Hemolytic uremic syndrome in pediatric patients. in Symposium 18. The 12th World Congress of International Society for Apheresis (2019年10月、京都)
- 3. その他**
特になし
- H. 知的財産権の出願・登録状況**
(予定を含む)
特になし。

aHUS の診断、治療効果判定を目的とした新規補体機能検査の開発

研究代表者：丸山彰一 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 教授
研究協力者：水野正司 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎不全システム学講座
教授
加藤規利 名古屋大学医学部附属病院腎臓内科 病院講師
立奈良崇 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 大学院
堀之内明日花 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 技術員

研究要旨

aHUS は微小血管障害性溶血性貧血、血小板減少、腎不全を呈する非常にまれな疾患であり、近年補体第二経路に関わる補体関連因子の異常による血管内皮障害に起因する血栓性微小血管障害症 (TMA) である事がわかった。他の TMA を起こす STEC-HUS、TTP と比較して、明確なバイオマーカーがなく、診断に苦慮すること、また抗 C5 抗体療法が優れた治療成果を示す事がわかってきたが、その薬剤の中止基準が明確でないことから、補体機能をモニターするマーカーの必要性が待たれている。

本邦においては、奈良県立医科大、東京大学においてヒツジ赤血球を用いた溶血試験によって aHUS 患者の補体活性化のスクリーニング試験を行ってきており、本年より名古屋大学にて引き継ぎがなされた。今回は溶血試験とは別に、補体最終産物である C5b-9 の定量を行う新規補体機能検査の開発に向けて、基礎となるデータの収集を行った。

A. 研究目的

非典型溶結性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome: aHUS) は、補体関連遺伝子の先天的な異常、もしくは後天的な補体関連蛋白に対する自己抗体の産生による、補体第二経路の異常な活性化が引き起こす血栓性微小血管障害症 (TMA) である。他の TMA を引き起こす STEC-HUS が志賀毒素の証明によって、また TTP は ADAMTS13 活性の低下によって診断されるのに比して、aHUS は二次性 TMA との鑑別に有用なバイオマーカーが無く、遺伝学的検査の結果を待つ、もしくは保険適用

のない抗体価の測定を行うことが必要であるなど、臨床の現場で確定診断を迅速に行うことは困難で、臨床診断にて治療が開始されるのが通常になっている。遺伝学的検査を行っても、40%の症例においては、既知の遺伝子変異を認めないとされ、また遺伝的浸透率も不定であることから、補体系の機能的な活性の測定を行うことが重要と考えられる。

既存の補体機能検査として血中の C3、C5b-9 測定が挙げられるが、aHUS の補体制御異常は主に細胞膜上の異常であり、液相では必ずしも異常が見られないことも多

く、実際に aHUS 患者の約半数では C3, sC5b-9 の測定値は正常範囲内であるとされている。

奈良県立医科大において、ヒツジ赤血球溶血試験が開発され、抗 CFH 抗体を用いて補体系を活性化させた状況との比較で、赤血球膜上における補体系の活性化を定量的に評価出来るようになり、東京大学 aHUS 事務局において多くの診断、及びデータの蓄積がなされた。

また海外報告において、ヒト血管内皮細胞に患者検体による刺激を行うことで、C5b-9 の細胞膜への沈着を蛍光顕微鏡を用いて半定量的に測定する手法の報告がなされている。同様のシステムの開発に向け今回、基礎的なデータ収集を行った。

B. 研究方法

A 細胞あるいは B 細胞を用いて。また対照として、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) およびヒト胎児腎細胞 HEK293 細胞を選択した。

Healthy donor 由来血漿をそれぞれの細胞と Reaction buffer 及び Blank buffer (EDTA にて補体の活性化を抑制) 中で反応させ、一定時間後に C5b-9 の測定を行った。

C. 研究結果

非ヒト細胞において、A 細胞では、C5b-9 high 群は、対照群で 4.71% 似て対し 7.84% と、B 細胞で、対照群 4.58% に対し、12.0% と Reaction buffer を用いた群で高値を示した。

一方ヒト細胞において、HUVEC では C5b-9 high 群は、対照群で 18.0% に対し 6.96% と、HEK293 では、対照群で 1.21% に対し

1.55% と Reaction buffer 群で同等もしくは予想に反して低い値を示した。

D. 考察

本研究による補体機能検査が確立することによって、(1) aHUS および二次性 TMA において、細胞膜上での補体の活性を評価する。(2) 機能検査であるため、寛解期と再発期を評価する。(3) Eculizumab による治療効果判定を行う。(4) Eculizumab の減量、および中止した際に補体活性をフォローすることで再発予測をする。以上、4 つの臨床的な有用性が期待される。

E. 結論

補体最終産物である C5b-9 を定量的に測定しうる可能性が示唆された。

今後患者血漿を用いて更なる検証を行う。

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

なし

(和文)

なし

(書籍)

立俵良崇、加藤規利、丸山彰一 aHUS プロフェッショナル腎臓内科学 中外医学社 In Press

加藤規利、立俵良崇、丸山彰一 aHUS の病態と臨床 日本血栓止血学会誌 2020; 31(1): 45-54

2. 学会発表

なし

3. その他

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

本補体機能検査系を特許出願予定である。

本邦における非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 診療の現状 と aHUS 診療ガイドライン策定に向けた調査研究

研究分担者：香美 祥二 徳島大学 小児科 教授
研究協力者：南学 正臣 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 教授
芦田 明 大阪医科大学 小児科 教授
池田洋一郎 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 助教
伊藤 秀一 横浜市立大学 小児科 教授
吉田 瑤子 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 研究員

研究要旨

aHUS は 100 万人に 2-3 人発症する予後不良の希少疾病である。近年、aHUS が補体第二経路に関わる補体関連因子の異常により発症する TMA であることが判明し、抗 C5 抗体療法が保健収載され優れた治療成果も報告されている。2016 年、本邦における aHUS 診療の向上のために、aHUS 診療ガイド 2015（日本腎臓学会/日本小児科学会合同委員会編）を発表した。

本研究では最新知見を基にした新規 aHUS 診療ガイドライン策定に向けて文献的調査を行なった。方法として、本邦における aHUS 診療に関わる実態調査や最新の aHUS 診療における遺伝子検査の報告結果等の内容を参考にして aHUS 臨床の現状とガイドライン策定に向けて CQ となりうる課題を探索した。

A. 研究目的

溶結性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) は、溶血性貧血、血小板減少、急性腎障害を呈する疾患である。本症候群は従来より、志賀毒素産生性腸管出血性大腸菌感染症に合併する HUS (STEC-HUS) が原因疾患として重要であり、2014 年には「溶血性尿毒症症候群の診断と治療のガイドライン」¹⁾ が策定されている。一方、同様の症候群を呈するものの一部に、病因として補体制御異常症による溶血性尿毒症症候群があり、これは現在、非典型溶血性尿毒症症候群診断基準 (atypical hemolytic uremic syndrome: aHUS) とし

て疾患単位として認められている。aHUS は 100 万人に 2-3 人発症する予後不良の希少疾病である。2013 年には、補体制御異常症による aHUS にたいするエクリズマブ治療が保険収載され多くの著効例が散見するようになった。2016 年には、日本腎臓学会・日本小児科学会合同非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会のもとで、「溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 診療ガイド 2015」も公表された。その後も aHUS にたいする診療体制 (遺伝子診断、疾患レジストリー) の充実に沿って、aHUS 症例データの蓄積が進んでいる。現在我々は蓄積したデータから、特に今後の 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。今回はわが国における aHUS 診療の現状分析を行い注目すべき論文、研究を調査し、新しいガイド／ガイドラインに取り上げるべき CQ について検討した。

B. 研究方法

下記の3文献をもとに、(1) 本邦における aHUS 診療の現状分析とエクリズマブの中断の判断について (2) aHUS 診療における遺伝子検査の有用性の3点に焦点をあて調査を行った。

1. Ito S, et al. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 112-121
2. Kato H, et al. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 65-75
3. Fujisawa M, et al. Clinical characteristics and genetic backgrounds of Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. Clin Exp Nephrol 2018; 22(5): 1088-1099

C. 研究結果

1. 本邦における aHUS 診療の現状とエクリズマブの中断について

小児例に関する報告(1)では18歳未満で診療ガイドに基づき診断され、エクリズマブが使用された児48例が対象で、最終 aHUS 27例、二次性 TMA 17例の計44例で検討された。遺伝子変異はそれぞれ27例中27例(100%)、17例中5例(29.4%)で施行されていた。aHUS での原因遺伝子は20例で判明し74%の判明率であった。一方、二次性 TMA の原疾患としては造血幹細胞移植、感染、薬剤などの症例が報告されていた。治療効果では TMA event free status が85.2%に至ったが、完全緩解率は36.4%で、血液学的正常化率も40.9%であった。血清 Cr 値の25%以上の改善を指標とする腎機能の改善率は66.7%であった。副反応については31人の aHUS 患者を解析し、そのうち8人の患者に24の副反応が発生した。27例中3例が肺出血、急性心不全、急性肝不全・腎機能増悪で死亡した。二次性 TMA 症例では感染症が主な副反応であり17例中8例が死亡したが、7例ではエクリズマブとの関連はなしと判断され、残る1例も因果関係は不明であった。

エクリズマブ治療の継続／中止に関しては、aHUS で継続例が18例、中止例が9例で中止理由としては医師の判断がその多数を占めた。一方、二次性 TMA 症例では治療継続がなされている症例は1例のみであり、中止理由は医師の判断と反応不十分であった。成人例(2)では18歳以上の症例で小児例と同様に診療ガイドに基づき診断されエクリズマブが使用された60例が対象で最終 aHUS 29例、二次性 TMA 27

例の計 56 例で検討された。遺伝子検査および抗 CFH 抗体検査はそれぞれ 29 例中 18 例(62.1%)、27 例中 8 例(29.6%)で施行され、aHUS では 11 例(61.1%)で遺伝子変異が同定されたが、抗 CFH 抗体症例は存在しなかった。一方、二次性 TMA では 8 例中 3 例で変異が同定された。

患者背景では aHUS 群でエクリズマブ使用前 1 年間以内に血漿治療を 18 例(62.1%)の症例が受け、47 例(58.6%)が透析を受けていた。また、既往歴として肝障害や悪性腫瘍などを 17 例(58.6%)に認めた。一方、二次性 TMA の原疾患では腎移植や造血幹細胞移植、成人発症型 Still 病などの自己免疫疾患が挙げられた。

治療効果は TMA event free status が 67.9%で、完全寛解率は 27.8%、血液学的正常化率も 38.9%であった。二次性 TMA では腎移植症例 5 例中 4 例でエクリズマブ投与中止後も TMA 状態の改善を認め、1 例はエクリズマブ投与中であった。他の原疾患で 13 例中 4 例に有効であった。

副反応に関して aHUS 症例では 13 名の患者に 33 の副反応が発生したが、髄膜炎菌感染症は発生しなかった。最終的な aHUS の生存率は 88.2%であった。二次性 TMA では 11 の副反応が発生した。8 例の重篤な副反応の中で髄膜炎菌感染症はなく、感染症関連として肺炎球菌症、サイトメガロウイルス感染症があった。二次性 TMA 症例ではエクリズマブ中止後、15 例が死亡していたが、14 例はエクリズマブとの関連性は否定的であった。

エクリズマブ治療の継続／中止に関しては、aHUS で継続例が 10 例(34.5%)、中止例が 19 例(65.5%)で、中止理由として

は医師の判断と効果不十分が多数をしめた。一方、二次性 TMA 症例では治療継続がなされている症例は 1 例のみであり、中止理由は医師の判断と反応不十分、死亡であった。

2. aHUS 診療における遺伝子検査の有用性について

aHUS における発症病因別の予後については、従来から変異がある原因遺伝子の種類によりその予後が大きく変わると報告されてきた(Noris M, et al. N Eng J Med 2009; 361: 1676-1687). 我が国における 118 名の aHUS コホート (Fujisawa M, et al Clin Exp Nephrol 2018; 22: 1088-1099) においても、発症急性期においては病因遺伝子別に死亡率に有意な差は認めないものの、腎死率については CFH 異常症で高く、遺伝子異常が不明な例が次いで高率と報告されている。また、長期予後に関しては、ひとたび退院後の死亡率が 5.4%、腎死率が 15%、その再発率も DGKE で 100%、C3 70%、MCP 50%、CFH 33%と原因遺伝子別に異なっていることが示されている。

さらに C3 変異の中でも日本人に有意に多いと報告される C3 I1157T 変異は再発率が高いものの、その 92%が寛解を維持し予後良好で、支持療法もしくは血漿療法のみにて軽快していることが報告されている。これら、世界的にも我が国における現況をみても原因遺伝子の種類により、その疾患世顔は大きく異なっており、治療期間の設定や治療中止などの方針決定に大きく影響する。我が国の aHUS コホートの解析では原因遺伝子の頻度も諸外国と異なっていることが示唆されており、この意

味からも、疾患の原因となる遺伝子変異の同定は我が国において情報を蓄積する必要がある。

D. 考察

本調査により、aHUS 診療ガイドの改訂における CQ の設定については、次の 3 つのポイントに留意することとした。

- ① aHUS 診療においてエクリズマブが第 1 選択の治療となっており、我が国における市販後調査の報告が小児・成人ともに報告されている。
- ② 市販後調査の中で、小児でエクリズマブは 1/3 の症例で、成人では 2/3 の症例で中止されており、エクリズマブ治療の中止は重要な命題となっており
- ③ 遺伝子解析の重要性は aHUS 診療ガイド 2015 の中でも述べられているが、予後との関連性についても再検討し、遺伝子解析の重要性をアピールする必要がある。

E. 結論

以上より、

- ① aHUS に対するエクリズマブの効果に関する CQ
- ② aHUS 治療にエクリズマブを導入した場合の中止に関する CQ
- ③ aHUS 診療における遺伝子検査の有用性に関する CQ

の 3 点について CQ を設定することが臨床、有益であると思われた。方針を決定した。

また、近年、腎臓・血液領域以外の救急医療領域や産婦人科領域における診療ガ

イドをはじめとする報告がなされるようになっており産科、救急領域における CQ も追記したい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

1. Ito S, et al Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 112-121
2. Kato H, et al. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 65-75
3. Ashida A.: Stratified therapy in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* associated with hemolytic uremic syndrome. Pediatrics Int 2020;62: 257-258
4. Saito D, Watanabe E, Ashida A, Kato H, Yoshida Y, Nangaku M, Ohtsuka Y, Miyata T, Hattori N, Oda S. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome

With the p.Ile1157Thr C3 Mutation Successfully Treated With Plasma Exchange and Eculizumab: A Case Report. Crit Care Explor. 2019 Apr 17;1(4): e0008. doi: 10.1097/CCE.0000000000000008. eCollection 2019 Apr.

(和文)

1. 香美 祥二: 抗補体薬、腎疾患、透析: 最新の治療 2020-2022 p351-353, 南江堂 2020
2. 香美 祥二: 指定難病 aHUS、指定難病ペディア 2019 日本医師会誌 148 : p249. 2019
3. 芦田 明: 志賀毒素産生性腸管出血性大腸菌関連溶血性尿毒症症候群 (STEC-HUS) 日本血栓止血学会誌 2020;31:37-44
4. 芦田 明: 非典型溶血性尿毒症症候群 小児科診療ガイドライン第 4 版 2019:436-439

2. 学会発表

1. シンポジウム
香美 祥二: 補体系と腎疾患 in シンポジウム 補体系と臨床医学
第 122 回日本小児科学会学術集会、
2019 年 4 月、金沢市
平成 31 年 4 月 20 日 (金沢市)
特別公演

2. 香美 祥二: 小児医学、医療の最前線 (aHUS 診療の進歩)
徳島臨床内科医会 2019 年 5 月 16 日
(徳島県医師会館、徳島市)
3. Ashida A: Atypical hemolytic uremic syndrome. in Symposium 14. The 12th World Congress of International Society for Apheresis (2019 年 10 月、京都)
4. Ashida A: Hemolytic uremic syndrome in pediatric patients. in Symposium 18. The 12th World Congress of International Society for Apheresis (2019 年 10 月、京都)
5. 山崎哲司 松村英樹 藤井裕子 白数明彦 田中智子 中倉兵庫 渡邊栄三 菅原有佳 吉田瑤子 池田洋一郎 芦田明: インフルエンザ感染を契機に発症した C3 p. I1157T 変異を有する非典型溶血性尿毒症症候群の 2 例 第 41 回日本小児腎不全学会 (2019 年 11 月、高知)

3. その他

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特になし。

特発性血栓症 サブグループ研究報告

研究分担者・サブグループリーダー：

森下英理子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 教授

研究分担者：大賀正一 九州大学 教授

小林隆夫 浜松医療センター 名誉院長

津田博子 中村学園大学 教授

松下 正 名古屋大学 教授

研究要旨

特発性血栓症サブグループは、静脈血栓塞栓症（VTE）を対象とし、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ラインの作成を通して、特発性血栓症の予知・予防対策の確立を目的としている。平成 29 年 4 月から指定難病「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による。）」として医療助成が開始されたが、以後新生児・小児から成人、ならびに妊婦を含む遺伝性血栓性素因患者の診療ガイドライン策定に向けて検討を行っている。

個別研究として、新生児血栓症の全国調査（大賀ら）、新生児血栓症遺伝子解析パネル検査の作成（大賀ら）、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（小林、森下ら）、PS 活性測定の変動要因および診断特性の検討（津田ら）、国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討（津田ら）、SEPIN1 遺伝子異常の分子病態解析（松下ら）、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（森下ら）を行った。

今年度の研究成果を元に、今後展開する成人対象の遺伝性血栓性素因患者の全国調査結果なども加え、欧米の論文報告や指針などを参考にして、診療ガイドライン策定に向けての準備を開始したい。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、血栓傾向を正確に評価するための凝固機能測定法の確立、パネル診断の解析効率の向上、また有効な抗凝固療法、補充療法の検討、更には肝細胞移植療法などを含めた新規根治療法の開発に向けた取り組みを行いたい。

A. 研究目的

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先天性血栓性素因の診療ガ

イドの作成を通して、VTE の予知・予防の対策確立を目的としている。

特発性血栓症は、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）の先天性な欠

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。

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たり、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。

また、本サブグループの目的の一つである新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立、ならびに遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定のためには、実臨床の病態把握は必須であることより、今年度は新生児血栓症の全国調査と遺伝性血栓性素因合併妊婦の分娩管理についての全国調査を実施した。

B. 研究方法

個別研究として、以下の研究を行った。

1. 新生児血栓症の全国調査(大賀ら)

全国の周産期母子医療センター(総合周産期57施設、地域周産期75施設)と新生児・小児診療施設(うち大学病院120施設、200床以上の小児科専門医研修施設325施設)に一次調査票を送付した。調査対象は、2014年1月1日から2018年12月31日ま

での期間に、日齢28までに新生児血栓症と診断もしくは疑われた新生児とした。症例提示の同意を得た施設を対象に、二次調査票を送付した。二次調査では、個別の症例調査と高次医療(移植医療、特異的因子補充療法、新規抗凝固療法等)の診療実績を問うものとした。

2. 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査(大賀ら)

新生児ではPC、PSおよびAT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。公益財団法人かずさDNA研究所の協力で、PC(*PROC*)、PS(*PROSI*)およびAT(*SERPINC1*)を含む遺伝子解析パネルを作成した。

3. 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(小林、森下ら)

対象施設は日本産科婦人科学会周産期登録施設415施設とし、2019年6月にアンケートを送付した。調査は2段階で、一次調査では施設の遺伝性血栓性素因患者の実態概要の把握と症例の有無について把握し、二次調査では遺伝性血栓性素因合併症例ありの施設に対し個票調査を行った。一次調査の主な項目は、調査対象施設の2014年1月1日から2018年12月31日までの5年間の分娩件数、5年間における妊娠・分娩症例中の遺伝性血栓性素因合併症例の有無、5年間の年度別の血栓性素因別症例数、遺伝性血栓性素因の診断方法、症例の妊娠・分娩・産褥期の管理方法とした。二次調査は、症例毎の妊娠期・分娩期・産褥

期（新生児期含む）の管理方法について詳細把握を行った。

4. PS活性測定の変動要因および診断特性の検討（津田ら）

経口避妊薬内服、無月経などPS活性に影響を与える要因を有する者を除いたPS Tokushimaの野生型ホモ接合体（Lys/Lys）130名、ヘテロ接合体（Lys/Glu）9名について、総PS活性、総PS抗原量、PT-based PS活性、free PS抗原量を測定し、PS Tokushima判定の診断特性を比較検討した。

5. 国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討（津田ら）

2013年より実施した東アジア（日本、韓国）、東南アジア（シンガポール）、東ヨーロッパ（ハンガリー）、南アメリカ（ブラジル）の4地域、5カ国の研究者との国際共同研究の解析結果について統計解析を実施した。VTE患者1,074名と健常者1,789名の合計2,863名を対象として、PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193delの遺伝子型および臨床所見（性、年齢、人種、VTEの種類）との関連について解析した。

6. *SEPIN1* 遺伝子異常の分子病態解析（松下ら）

21症例の先天性AT欠乏症・異常症についてダイレクトシーケンスによる全エクソン解析をおこなった。全エクソン解析で変異を認めなかった場合、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) や定量PCRにてゲノム上の遺伝子量解析を行った。遺伝子量解析で異常を認

めた場合、Long-range PCRなどで遺伝子の構造解析を行った。

7. 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（森下ら）

参加11施設にて(1)基準試薬でサーベイランス試料を測定し、AT国際標準品(NIBSC)を用いて基準検量線を決定、(2)参加施設における試料の測定結果と基準検量線よりAT測定試薬毎の換算式を求めた。

次に、各施設において健常人成人血漿、述べ214例のAT活性を測定し、この測定値を基に基準検量線との換算式による試薬間ハーモナイズを施行し、205例における健常成人のAT活性基準値算出を試みた。

（倫理面への配慮）

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および「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

1. 新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立に向けた研究（大賀ら）

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。

117名に二次調査票を送付、回答なし40名、日齢28以降発症1名、出血病変のみ

1名を除く74名で解析を行った。遺伝性PC欠乏症は6例報告され、うち5例が九州大学で遺伝子解析が行われていた。新生児では、直接経口抗凝固薬(DOAC)の使用例が1例報告され、プロトロンビン複合体濃縮製剤(PCC)使用例は報告されなかった。

2. 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査(大賀ら)

*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。

3. 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(小林、森下ら)

調査票の回収終了時点での一次調査回収数は242(58.6%)、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、二次調査票での回答症例は541例(90.3%)であった。血栓性素因別ではPS欠乏症が圧倒的に多く443例(総分娩数に対し0.061%)、次いでAT欠乏症84例(同0.012%)、PC欠乏症67例(同0.009%)、その他5例であった。抗原量と活性値を共に測定する施設は50%、遺伝子診断可能な施設は21.3%、遺伝子診断を行わない施設が46.7%であった。

さらに、今回の全国調査研究の結果を基に蓄積されたデータの解析や文献を参考にしながら、適切な予知方法を盛り込んだ

遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの素案をQ&A方式で作成した。

4. PS活性測定の変動要因および診断特性の検討(津田ら)

凝固時間法によるPS活性の感度は22.2%であり、スクリーニングには不適當であることを確認した。一方、総PS測定系(比色法)による総PS活性の感度は77.8%、総PS活性/総PS抗原量比では感度100%、特異度96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。

5. 国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討(津田ら)

PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193delは東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布する遺伝性血栓性素因であり、コーカソイド、ブラジル人(コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血)には存在しないことが分かった。

また、PS Tokushima 変異アレル保有者は日本人VTE患者458名中20名{アレル頻度(AF)2.29%}、健常者1031名中22名(AF1.12%)のみに同定され、オッズ比(OR)は2.09{95% confidence intervals(CI)1.13 to 3.88}であった。

6. *SEPIN1* 遺伝子異常の分子病態解析(松下ら)

AT遺伝子*SERPINC1*遺伝子変異の内訳は、ミスセンス変異9例(42.9%)、ナンセンス変異3例(14.3%)、スプライスサイト変

異 1 例 (4.8%)、小規模塩基挿入 2 例 (9.5%)、小規模塩基欠失 2 例 (9.5%)、大規模欠失 4 例 (19.0%)であった。多くは小規模の変異であるものの、大規模欠失 (>50 塩基) を 19%認める結果となった。大規模欠失 4 例中 2 例が *Alu* 関連相同組み換えによるものであり、残り 2 例は *Alu* 非関連大規模欠失で、数塩基のマイクロホモロジーを介した多段階遺伝子接続が特徴的な変異であった。

7. 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 (森下ら)

今回のサーベイ結果により、基準検量線を基に換算することで試薬間差および施設間差を軽減することが可能であると考えられた。今回の検討において健常成人の AT 活性基準値は 75.1~135.7%と算出され、AT 欠損症患者における AT 活性値を測定してその分布と比較したところ、その妥当性が示された。

D. 考察

大賀らの新生児血栓症の全国調査で算出された年間推定患者数は、入院当たり 0.039%となり、2012 年度 (0.063%) と 2004 年度 (0.031%) の全国調査と同等であった (川口ら、日本産婦人科・新生児血液学会誌 2012)。推定患者数と遺伝子解析例の整合性が高いことより、大賀らが構築している疾患レジストリの悉皆性の高さを確認することができた。

遺伝性血栓性素因の日本人の頻度は、PS 欠乏症が約 2%、AT 欠乏症が約 0.15%、PC 欠乏症が約 0.13%と推定されているが、それらに比し小林らの調査で明らかになっ

た遺伝性血栓性素因妊婦の総分娩数に対する頻度は非常に少ない。この事実は、周産期に診断されない症例も多く、血栓性素因自体は妊婦の VTE の強いリスク因子ではない可能性がある。ただし、AT 欠乏症、とくに抗原と活性がともに低下する I 型欠乏症では、周産期 VTE の発症リスクは高いため注意を要する。なお、PS 欠乏症の診断は妊婦では困難であり、妊娠中の PS 活性の低下をもって PS 欠乏症と診断されている症例も若干みられるため、二次調査票の解析を待たないと正確な症例数は把握できないと思われる。

津田らの人種差の検討では、PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布するが地域により頻度に違いがあり、コーカソイド、ブラジル人には存在しないことが分かった。この人種分布は、コーカソイドに主に分布する遺伝性血栓性素因の血液凝固第 V 因子遺伝子多型 (FV Leiden) と第 II 因子遺伝子多型 (FII G20210A) とは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

松下らは AT 欠乏症・異常症 21 症例の遺伝子解析を行い、そのうち大規模欠失を 4 例 (19.0%) 検出した。その 4 例中 2 例が *Alu* 関連相同組み換えによるエクソン欠失であった。AT 遺伝子 *SERPINC1* はこの *Alu* を遺伝子内に 10 個、5' フランキング領域を含めると 14 個も保持する特殊な構造をもっており、*Alu* 間で相同組み換えが起こりやすい。

森下らは AT の標準化ならびに活性基準値の設定を試み、標準化が可能であること、

さらには標準化された値をもとに妥当な基準値の設定も行うことができた。

E. 結論

今年度の研究成果を元に、今後展開する成人対象の遺伝性血栓性素因患者の全国調査結果なども加え、欧米の論文報告や指針などを参考にして、診療ガイドライン策定に向けての準備を開始したい。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、血栓傾向を正確に評価するための凝固機能測定法の確立、パネル診断の解析効率の向上、また有効な抗凝固療法、補充療法の検討、更には肝細胞移植療法などを含めた新規根治療法の開発に向けた取り組みを行いたい。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, Morishita E: Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC. *Thromb Res.* 2020 Apr;188:115-118. doi: 10.1016/j.thromres.2020.03.009. Epub 2020 Mar 10.
- 2) Yamada S, Okumura H, Morishita E, Asakura H: Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2020 Mar 9. doi: 10.1097/ MBC.0000000000000902.
- 3) Watanabe S, Matsumoto S, Nakahara I, Ishii A, Hatano T, Mori M, Morishita E, Nagata I: A case of ischemic stroke with congenital protein C deficiency and carotid web successfully treated by anticoagulant and carotid stenting. *Front Neurol.* 2020 Feb 18;11:99. doi: 10.3389/fneur.2020.00099.
- 4) Horio T, Morishita E, Mizuno S, Uchino K, Hanamura I, Espinoza JL, Morishima Y, Kodera Y, Onizuka M, Kashiwase K, Fukuda T, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Takami A: Donor heme oxygenase-1 promoter gene polymorphism predicts survival after unrelated bone marrow transplantation for high-risk patients. *Cancers (Basel).* 2020 Feb 12;12(2):424. doi: 10.3390/cancers 12020424.
- 5) Arahata M, Takamatsu H, Morishita E, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose A, Asakura H: Coagulation and

- fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid. *Int J Hematol.* 2020 Apr;111(4):550-558. doi: 10.1007/s12185-019-02811-x.
- 6) Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, Horike SI, Asakura H, Morishita E: Genetic analysis of a compound heterozygous patient with congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):51-56. doi: 10.1007/s12185-019-02767-y.
- 7) Yamashita M, Komaki T, Tashiro K, Inada Y, Iwata A, Morishita E, Miura SI: Hereditary antithrombin deficiency presenting with deep venous thrombosis during the second pregnancy: A case report. *Intern Med.* 2020 Jan 15; 59(2): 235-239. doi: 10.2169/internalmedicine.3268-1.
- 8) Yamada S, Arahita M, Morishita E, Ichinose A, Asakura H: The first reported case of acquired haemophilia A in which bleeding episodes were successfully treated via administration of a single-dose mixture of activated factor VIIa/X. *Haemophilia.* 2019 Sep;25(5):e350-e352.
- 9) Ueda k, Morishita E, Shiraki H, Matsuoka S, Imashuku S: Aortic mural thrombus associated with congenital protein C deficiency in an elderly patient. *J Atheroscler Thromb.* 2020 Jan 1; 27(1): 100-103. doi: 10.5551/jat.48819.
- 10) Setaka T, Hirano K, Moriya K, Morita S, Shinakai T, Morishita E, Ichida T: Portal vein thrombosis in a patient with hereditary antithrombin deficiency. *Intern Med.* 2019 Jun 15;58(12):1733-1737. doi: 10.2169/internalmedicine.2295-18.
- 11) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura k, Mori T, akao S, Morishita E: Recipient ADAMTS13 single-nucleotide polymorphism predicts relapse after unrelated bone marrow transplantation of hematologic malignancy. *Int J Mol Sci,* 2019 Jan 8;20(1):214. doi: 10.3390/ijms20010214.
- 12) Esumi S, Morishita E, Yasuda M, Nakajima K, Imashuku S: Portal cavernoma cholangiopathy due to extrahepatic portal vein and supra-mesenteric vein thromboses associated with congenital protein C deficiency in a young adult. *Arch Clin Med Case Rep* 2019; 3 (6): 436-441.
- 13) Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K,

- Ishimura M, Ohga S. Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2020 Jan 28.
- 14) Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S. Transcutaneous blood gas monitoring among neonatal intensive care units in Japan. *Pediatr Int*. 2020 Feb;62(2):169-174.
- 15) Taira R, Inoue H, Sawano T, Fujiyoshi J, Ichimiya Y, Torio M, Sanefuji M, Ochiai M, Sakai Y, Ohga S. Management of apnea in infants with trisomy 18. *Dev Med Child Neurol*. 2019 Nov 25.
- 16) Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S. Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Hematol*. 2020 Jan;111(1):131-136.
- 17) Matsushita Y, Sakai Y, Torio M, Inoue H, Ochiai M, Yasuoka K, Kurata H, Fujiyoshi J, Ichiyama M, Taguchi T, Kato K, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan (NRNJ). Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan. *J Perinatol*. 2019 Nov;39(11):1472-1479.
- 18) Ochiai M, Nagata H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S. Critical association of Pallister-Hall syndrome and congenital heart disease. *Pediatr Int*. 2019 Aug;61(8):827-828.
- 19) Ishimura M, Ohga S. [Cancer predisposition in inherited bone marrow failure syndromes and primary immunodeficiency diseases]. *Rinsho Ketsueki*. 2019;60(6):702-707.
- 20) Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome KI, Ohga S. Systemic Epstein-Barr Virus-Positive T/NK Lymphoproliferative Diseases With SH2D1A/XIAP Hypomorphic. *Front Pediatr*. 2019 May 21;7:183.
- 21) Yasuoka K, Inoue H, Egami N, Ochiai M, Tanaka K, Sawano T, Kurata H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. Late-Onset Circulatory Collapse and Risk of Cerebral Palsy in Extremely Preterm Infants. *J Pediatr*. 2019 Sep;212:117-123. e4.
- 22) Ichimiya Y, Sonoda M, Ishimura M, Kanno S, Ohga S. Hemorrhagic Pneumonia as the First Manifestation of Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with

- Immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2019 Apr;39(3):264-266.
- 23) Ogiwara K, Nogami K, Mizumachi K, Nakagawa T, Noda N, Ohga S, Shima M. Hemostatic assessment of combined anticoagulant therapy using warfarin and prothrombin complex concentrates in a case of severe protein C deficiency. *Int J Hematol.* 2019 Jun;109(6):650-656.
- 24) Taguchi T, Yanagi Y, Yoshimaru K, Zhang XY, Matsuura T, Nakayama K, Kobayashi E, Yamaza H, Nonaka K, Ohga S, Yamaza T. Regenerative medicine using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): a promising new treatment in pediatric surgery. *Surg Today.* 2019 Apr;49(4):316-322.
- 25) Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, Taguchi T, Ohga S, Yamaza T. Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells converted from stem cells from human exfoliated deciduous teeth in fulminant Wilson's disease. *Sci Rep.* 2019 Feb 7;9(1):1535.
- 26) Kurata H, Ochiai M, Inoue H, Ichiyama M, Yasuoka K, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Honjo S, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. A nationwide survey on tracheostomy for very-low-birth-weight infants in Japan. *Pediatr Pulmonol.* 2019 Jan;54(1):53-60.
- 27) Hagio Y, Shiraishi A, Ishimura M, Sonoda M, Eguchi K, Yamamoto H, Oda Y, Ohga S. Posttransplant recipient-derived CD4(+) T-cell lymphoproliferative disease in X-linked hyper-IgM syndrome. *Pediatr Blood Cancer.* 2019 Mar;66(3):e27529.
- 28) Ichiyama M, Inoue H, Ochiai M, Ishimura M, Shiraishi A, Fujiyoshi J, Yamashita H, Sato K, Matsumoto S, Hotta T, Uchiumi T, Kang D, Ohga S. Diagnostic challenge of the newborn patients with heritable protein C deficiency. *J Perinatol.* 2019 Feb;39(2):212-219.
- 29) Sonoda Y, Yamamura K, Ishii K, Ohkubo K, Ihara K, Sakai Y, Ohga S. A Child with Prostaglandin I(2)- associated Thyrotoxicosis: Case Report. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2019 May 28;11(2):207-210.
- 30) Kinjo T, Inoue H, Kusuda T, Fujiyoshi J, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Koga Y, Hara T, Ohga S. Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. *Pediatr Neonatol.* 2019 Aug;60(4):382-388.
- 31) Noguchi K, Nakazono E, Tsuda T, Jin X, Sata S, Miya M, Nakano S, Tsuda H: Plasma phenotypes of protein S Lys196Glu and protein C Lys193del variants prevalent among young

- Japanese women. Blood Coagul Fibrinolysis. 2019;30:393-400.
- 32) Moffat KA, Kiencke V, Blanco AN, McLintock C, Peyvandi F, de Maat MPM, Adams MJ, Angchaisuksiri P, Nair S, Tsuda H, Haddad M, Renne T, Clark RC, Ross MT: International Society on Thrombosis and Haemostasis core curriculum project: core competencies in laboratory thrombosis and hemostasis. J Thromb Haemost. 2019; 17:1848-1859.
- 33) Okamoto S, Suzuki N, Suzuki A, Suzuki S, Tamura S, Suzuki M, Takahashi N, Kojima T, Kanematsu T, Kojima T, Kiyoi H, Ishiguro N, Matsushita T. Successful Perioperative Combination of High-Dose FVIII Therapy Followed by Emicizumab in a Patient with Hemophilia A with Inhibitors. TH Open. 2019;3:e364-e366.
- 34) Odaira K, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Tokoro M, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T. Apparent synonymous mutation F9 c.87A>G causes secretion failure by in-frame mutation with aberrant splicing. Thromb Res. 2019; 179:95-103.
- 35) Tamura S, Hashimoto E, Suzuki N, Kakihara M, Odaira K, Hattori Y, Tokoro M, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Suzuki A, Okamoto S, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T. Molecular basis of SERPINC1 mutations in Japanese patients with antithrombin deficiency. Thromb Res. 2019;178:159-170.
- 36) 森下英理子:血液疾患における遺伝子検査の現状と展望(1)非腫瘍性疾患—凝固異常症の遺伝子検査を中心に—.『血液検査を使いこなす』,臨床病理レビュー特集第161号2019; 122-126.
- 37) 森下英理子:妊娠中・授乳中の抗凝固療法.『妊娠と薬の使い方』,日本医師会雑誌 2019; 148(2):225-228.
- 38) 森下英理子:特発性血栓症,『指定難病ペディア 2019』. 日本医師会雑誌 2019;148・特別号(1):192.
- 39) 森下英理子:血栓性素因の検査の際にプロテインCやプロテインSはいつ測定したらよいのか? Medical Practice 2020;37(4):625.
- 40) 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2020-'21,総合医学社,東京,2020; pp335-340.
- 41) 小林隆夫:産科・婦人科領域のDIC.丸山征郎編集,ファーマナビゲーターDIC編改訂版.メディカルレビュー社,東京,2019;pp156-165.
- 42) 小林隆夫:産褥期の静脈血栓塞栓症.猿田享男,北村惣一郎監修,1361 専門家による私の治療 2019-20年度版.日本医事新報社,東京,2019; pp1369-1371.

- 43) 小林隆夫：肺血栓塞栓症. 特集 妊産婦死亡をどう防ぐか I. 産婦人科の実際 2019;68(12)：1455-1463.
- 44) 小林隆夫：連載「DIC 診療の新たな展開」第 6 回 産科 DIC における遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の有用性. Thromb Med 2019;Vol.9, No.2:63-68.
- 45) 小林隆夫：血液疾患合併妊娠. 永井良三総監修, 綾部琢哉, 大須賀穰編集, 産婦人科研修ノート. 診断と治療社, 東京, 2019;pp456- 459.
- 46) 津田博子:2019 年度日本血栓止血学会岡本賞 Utako Award: ビタミン K 依存性タンパク質プロテイン S -機能と病態との関連- 日本血栓止血学会誌, 30(4)：642-651, 2019.
- 47) 田村彰吾, 井上克枝, 尾崎由基男, 早川文彦, 小嶋哲人：CLEC-2/PDPN axis を介した細動脈近傍における骨髓巨核球造血微小環境. 臨床血液 2019;60:834-842.
2. 学会発表
- 1) Morishita E: Impact of direct oral anticoagulants on APC-cofactor activity of protein S assay - New method to test protein S -. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.9-12.
- 2) Ochiai M, Ichiyama M, Ishimura M, Hotta T, Uchiumi T, Ishiguro A, Nishikubo T, Shima M, Suenobu T, Osamu O, Kang D, Ohga: Next-generation diagnostic strategy for pediatric-onset heritable thrombophilia in Japan. The 8th East Asia Hemophilia Forum, Tianjin, China, 2019. 8.8-10.
- 3) Fukuda I, Hirayama A, Kazuo Kawasugi K, Kobayashi T, Maeda H, Nakamura M, Nakanishi N, Yamada N, Hayashi Y, Kidani Y, Okayama Y, Sunaya T, Sato S, Yamanaka S: The interim analysis of the rivaroxaban post marketing surveillance in Japanese patients with venous thromboembolism. The 11th Meeting of the German Japanese Society for Vascular Surgery, Oita, 2019. 9.6-7.
- 4) Kobayashi T: Diagnosis of DIC in Obstetrics: The Japanese scoring. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.8.
- 5) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T: Epidemiological characteristics of thromboembolism related to oral contraceptives in Japan: Results of a national survey. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.7.
- 6) Kobayashi T, Kajiki M, Nihashi K, Honda G: Safety and efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with

- obstetrical disseminated intravascular coagulation (DIC). 8th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haemostasis, Madrid, 2019.3.29.
- 7) Tokoro M, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Odaira K, Suzuki S, Takagi A, Hayakawa F, Okamoto S, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T: A Complex F8 Rearrangement Associated with Template Switching and intlh-related Homologous Recombination in a Patient with Severe Hemophilia A. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.9-12.
- 8) Odaira K, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Tokoro M, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T: F9 c.87A>G is a Double-faced Deleterious Mutation which Causes a Synonymous and Inframed-mutant FIX due to an Aberrant mRNA Splicing. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.9-12.
- 9) Kakihara M, Tamura S, Tokoro M, Odaira K, Hattori Y, Suzuki S, Hayakawa F, Ogawa M, Kanematsu T, Suzuki N, Matsushita T, Kojima T: An Inv22-like F8 Inverted Disruption in Severe Hemophilia a Brothers Possibly Occurring from Template Switching between Sister Chromatids. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.9-12.
- 10) Hattori Y, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Suzuki S, Odaira K, Tokoro M, Hayakawa F, Okamoto S, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T: Genetic Abnormalities of Japanese Patient with Symptomatic- and Asymptomatic-dysfibrinogenemia. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.9-12.
- 11) Tsuda H, Noguchi K, Oh D, Berezcky Z, Lee L.H, Dusse L, Carvalho M, Kang D: Racial differences of protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.7.
- 12) Noguchi K, Nakazono E, Tsuda T, Jin X, Sata S, Miya M, Nakano S, Tsuda H: Genetic and phenotypic analyses of protein S Tokushima and two protein C variants on healthy Japanese young women. XXVIIth

- Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7. 7.
- 13) 今井湧太, 目黒牧子, 富樫朋貴, 九笹加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症5症例における異常アンチトロンビン蛋白の機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
 - 14) 山田真也, 門平靖子, 荒幡昌久, 林朋恵, 森下英理子, 朝倉英策, 中尾眞二: 血漿由来第X因子活性化第VII因子製剤の単剤・単回投与で止血が得られた後天性血友病Aの1例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
 - 15) 富樫朋貴, 長屋聡美, 長澤正之, 目黒牧子, 今井湧太, 九笹加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 複合ヘテロ接合体性先天性第X因子欠乏症患者の遺伝子解析ならびにPPSB-HTによる定期補充療法. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
 - 16) 九笹加菜, 目黒牧子, 長屋聡美, 杉原清香, 一戸辰夫, 今井湧太, 富樫朋貴, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 渡邊淳, 森下英理子: PROCの2エクソン欠失を認めた先天性プロテインC欠乏症の一症例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
 - 17) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝倉英策: 第XIII因子製剤が凝固・線溶に与える影響とその臨床的意義、第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6日-7日.
 - 18) 寺上貴子, 森下英理子, 宮嶋良康, 中出祐介, 大江宏康, 森三佳, 林研至, 朝倉英策, 酒井佳夫, 和田隆志: 当院における下肢静脈エコー検査の現状. 第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6日-7日.
 - 19) 荒幡昌久, 林朋恵, 門平靖子, 森下英理子, 朝倉英策: 一過性に抗リン脂質抗体陽性を示した造血幹細胞移植後の成人水痘の1例. 第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6日-7日.
 - 20) 山口孝一, 荒幡昌久, 山下剛史, 上田幹夫, 山田真也, 奥村廣和, 高松博幸, 朝倉英策, 中尾眞二, 森下英理子: 多発性骨髓腫患者と血栓塞栓症の関連. 第2回日本腫瘍循環器学会学術集会, 旭川, 2019年9月21日-22日.
 - 21) 荒幡昌久, 森下英理子, 山崎宏人, 貫井友貴, 門平靖子, 朝倉英策, 中尾眞二: 抗リン脂質抗体症候群による血栓症との鑑別に苦慮した腸管気腫症合併感染性心内膜炎の1例. 第81回日本血液学会学術集会, 東京, 2019年10月11日-13日.
 - 22) 谷口容, 野本明華, 高見昭良, Luis Espinoza, 鬼塚真仁, 柏瀬貢一, 森島泰雄, 福隆浩, 小寺良尚, 土岐典子, 宮村耕一, 森毅彦, 中尾眞二, 森下英理子: 悪性リンパ腫への非血縁者間骨髓移植にADAMTS一塩基多型は有意な影響を及ぼさない. 第81回日

- 本血液学会学術集会, 東京, 2019年10月11日-13日.
- 23) 内藤澄悦, 家子正裕, 森下英理子, 日本AT標準化WG: 指定難病に即したアンチトロンビン活性基準値の標準化への試み. 第66回日本臨床検査医学会学術集会, 岡山, 2019.11.21-24.
- 24) 金重里沙, 清水直人, 吉田美香, 關谷暁子, 奥健志, 森下英理子, 家子正裕, 野島順三: 市販ELISAキットと自動分析装置による抗リン脂質抗体価の比較. 第7回学術集会日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 東京, 2019年12月7日.
- 25) 吉田美香, 關谷暁子, 金重里沙, 奥健志, 森下英理子, 家子正裕, 野島順三: 自動分析装置を用いた抗リン脂質抗体測定の標準化-3社の自動分析装置による抗体価および陽性率の比較. 第7回学術集会日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 東京, 2019年12月7日.
- 26) 齋藤和幸, 小林正樹, 和田義明, 森下英理子: 脳静脈血栓症を発症した先天性プロテインC血栓症の32歳男性例. 第231回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2019年12月7日.
- 27) 江角隼, 安田光徳, 中島貫太, 今宿晋作, 森下英理子: 先天性プロテインC欠損症による門脈血栓を契機にPortal cavernoma cholangiopathyを生じた一例. 第226回日本内科学会近畿地方会, 大阪, 2019年12月21日.
- 28) 山口孝一, 長屋聡美, 花村美帆, 谷口容, 森広太郎, 森下英理子: 可溶性血漿CLEC2の測定における検体安定性の検討. 第59回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 岐阜, 2020年2月23日.
- 29) 森広太郎, 長屋聡美, 今井湧太, 富樫朋貴, 丸山慶子, 小亀浩一, 大森健聖, 牧田友香, 山口孝一, 目黒牧子, 森下英理子: 当研究室で解析した先天性アンチトロンビン(AT)・プロテインC(PC)・プロテインS(PS)欠乏症の遺伝子解析ならびに臨床所見. 第59回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 岐阜, 2020年2月23日.
- 30) 山口孝一, 長屋聡美, 花村美帆, 谷口容, 森広太郎, 森下英理子: 可溶性血漿CLEC2の測定における検体安定性の検討. 第20回TTMフォーラム. 東京, 2020年2月29日.
- 31) 内藤澄悦, 家子正裕, 大村一将, 森下英理子, 日本AT標準化WG: アンチトロンビン活性測定試薬の標準化と健常成人におけるアンチトロンビン活性基準値の設定. 第20回TTMフォーラム. 東京, 2020年2月29日.
- 32) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝倉英策: 慢性骨髄性白血病に対するチロシンキナーゼ阻害薬使用による心血管イベント発症のリアルワールドデータ. 第20回TTMフォーラム. 東京, 2020年2月29日.
- 33) 中村昌史, 三木浩和, 大浦雅博, 川田知代, 堀太貴, 村井純平, 住谷龍平, 曾我部公子, 高橋真美子, 原田武志, 藤井志朗, 中村信元, 賀川久美子, 菅崎幹樹, 徳永尚樹, 池亀彰茂, 森下英理子, 安倍正博: クロスミキシングテストの特徴的な所見が診断の契機と

- なったプレカリクレイン欠乏症の1例. 第59回日本血液学会中国四国地方会, 岡山, 2020年3月14日.
- 34) 落合正行, 市山正子, 石村匡崇, 大賀正一: 平成30年度進捗報告 平成30年度 難治性疾患等政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」. 第1回班会議, 福岡, 2019年1月11日.
- 35) 市山正子, 石村匡崇, 落合正行, 石黒精, 末延聡一, 山座孝義, 西久保敏也, 嶋緑倫, 堀田多恵子, 内海健, 康東天, 大賀正一: 平成30年度 難治性疾患等政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」. 平成30年度AMED6事業報告会, 東京, 2019年2月7-8日.
- 36) 落合正行, 市山正子, 石村匡崇, 大賀正一: 令和元年度進捗報告 1. 新生児血栓症の全国調査報告 2. 遺伝子パネル検査の検証 令和元年度 難治性疾患等政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」第1回班会議, 福岡, 2019年11月8日.
- 37) Nina Lehartová, 落合正行, 安岡和昭, 藤吉順子, 井上普介: Standard erythroferrone levels in very low birth weight infants during the neonatal period. 第64回日本新生児成育医学会学術集会, 鹿児島, 2019年11月27日-29日.
- 38) 井上普介, 澤野徹, 藤吉順子, 金城唯宗, 落合正行: 18トリソミー児の無呼吸に対する管理と予後 第64回日本新生児成育医学会学術集会, 鹿児島, 2019年11月27-29日.
- 39) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 岩手県立中央病院医療安全研修会, 盛岡, 2020年2月14日.
- 40) 小林隆夫: 遺伝性血栓性素因妊婦の産産期管理ー全国調査結果を踏まえてー. 先天性アンチトロンビン欠乏症セミナー, 東京, 2020年2月8日.
- 41) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 沖縄. 那覇, 2019年12月21日.
- 42) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 静岡. 静岡, 2019年11月23日.
- 43) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 熊本. 熊本, 2019年11月10日.
- 44) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 青森. 青森, 2019年10月26日.
- 45) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 水戸. 水戸, 2019年10月14日.
- 46) 小林隆夫: 「血栓症ってどんな病気? 予防が大切!」産婦人科疾患と血栓症って関係あるの? 世界血栓症デー

- 日本・市民公開講座 2019 北九州, 小倉, 2019年10月12日.
- 47) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 久留米, 久留米, 2019年9月23日.
- 48) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 獨協医科大学埼玉医療センター医療安全講習会. 越谷, 2019年9月18日.
- 49) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 奈良, 奈良, 2019年8月3日.
- 50) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 豊橋市民病院 VTE 予防セミナー. 豊橋, 2019年7月24日.
- 51) 小林隆夫: 産科 DIC スコア改訂の是非を問う. 第29回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会基調講演, 名古屋, 2019年6月7日.
- 52) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 第11回広島県臨床工学技士会学術大会 共催学術セミナー. 広島, 2019年6月2日.
- 53) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 旭川. 旭川, 2019年5月25日.
- 54) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 横浜. 横浜, 2019年5月11日.
- 55) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 米子. 米子, 2019年4月20日.
- 56) 能口健太, 中園栄里, 津田友秀, 金秀日, 佐田志穂子, 宮真南, 中野修治, 津田博子. 日本人若年女性における血液凝固制御因子プロテインS, プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量の検討. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月22日.
- 57) 津田博子: 総プロテインS測定系の診断特性の検討 - PS Tokushima判定およびSSC/ISTH標準血漿の値付け-. 第8回プロテインS研究会シンポジウム「特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による)～診断の現状と課題」, 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月22日.
- 58) Tsuda H.: Vitamin K-dependent protein S: Function and Etiological Significance. “Utako Award” Lecture, 41st Congress of Japanese Soc. Thromb. Haemost., Tsu, Japan, 2019. 6. 20.
- 59) Tsuda H. Noguchi. K. Genotype and plasma phenotype of protein S Tokushima and two PROC variants of Japanese young women. 第81回日本血液学会学術集会, 東京, 2019年10月12日.
- 60) 能口健太, 中園栄理, 津田友秀, 金秀日, 佐田志穂子, 宮真南, 中野修治, 津田博子: 日本人若年女性における血液凝固制御因子プロテインS, プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量についての検討. 第22回日本病態栄養学会年次学術集会, 京都, 2019年

- 1月26日.
- 61) 宮真南, 能口健太, 中野修治, 津田博子: 日本人若年成人女性における β_3 アドレナリン受容体遺伝子多型 Trp64Arg と身体・血液指標との関連. 第22回日本病態栄養学会年次学術集会, 京都, 2019年1月25日.
- 62) 田村彰吾, 高木明, 早川文彦, 小嶋哲人: シンポジウム「最近の血栓止血異常のとらえかた～検査室や研究室から～」SY-2 先天性凝固異常症の遺伝子解析 「解析のStrategyとPitfall」. 第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6日.
- 63) 鈴木伸明, 鈴木敦夫, 鈴木幸子, 田村彰吾, 高木明, 小嶋哲人, 松下正: プロトロンビン R593L マウスの作製と解析, 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
- 64) 所真昼, 田村彰吾, 鈴木伸明, 垣原美紗樹, 服部有那, 大平晃也, 鈴木幸子, 高木明, 早川文彦, 岡本修一, 兼松毅, 松下正, 小嶋哲人: int1h-1 を介した組換えではあるが Inv1 ではなく F8イントロン 1 での複雑な大規模欠失挿入変異による重症血友病 A. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
- 65) 大平晃也, 田村彰吾, 所真昼, 垣原美紗樹, 服部有那, 鈴木幸子, 高木明, 早川文彦, 岡本修一, 兼松毅, 鈴木伸明, 松下正, 小嶋哲人: F9 サイレント変異 c.87A > G(p. Thr29 =)に起因するスプライシング異常の分子病態解析 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
- 66) 早川友梨, 田村彰吾, 鈴木伸明, 大平晃也, 垣原美紗樹, 服部有那, 所真昼, 河島史華, 鈴木幸子, 早川文彦, 高木明, 岡本修一, 兼松毅, 松下正, 小嶋哲人: 新規伸長型変異を認めた先天性血液凝固第XI因子欠乏症の1例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
- 67) 鈴木幸子, 垣原美紗樹, 服部有那, 大平晃也, 所真昼, 河島史華, 早川友梨, 岡本修一, 兼松毅, 中野知子, 今井健史, 牛田貴文, 森山佳則, 小谷友美, 鈴木伸明, 田村彰吾, 早川文彦, 小嶋哲人, 松下正: 産科関連静脈血栓症における血栓性素因検索 -名古屋大学医学部附属病院における症例 第2報-. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22日.
- 68) 兼松毅, 鈴木伸明, 岡本修一, 鈴木敦夫, 川上萌, 三田直美, 田村彰吾, 小嶋哲人, 清井仁, 松下正: 特発性血小板減少性紫斑病の病勢に対しサイトメガロウイルス再活性化の関与が疑われた2例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日-22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。

アンチトロンビン活性測定試薬の標準化と 健常成人におけるアンチトロンビン活性基準値の設定

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
研究協力者：家子正裕 北海道医療大学歯学部内科学分野 教授
日本アンチトロンビン標準化ワーキンググループ

研究要旨

生理的凝固インヒビターであるアンチトロンビン(AT)の活性低下は易血栓性の体内環境を招く。ATを含む凝固制御因子の先天性欠乏症による血栓症は、現在指定難病(327)に認定されており、その診断にはAT活性を測定し、健常成人の基準値の下限未満であることが条件となっている。しかし、本邦においてこれらの活性を測定する試薬は多く存在し、測定原理も異なる。さらに、各医療機関におけるAT活性の基準値も様々であるため、同一検体でも測定されたAT値判定が異なる場合もある。そこで、日本血栓止血学会標準化委員会血栓性素因部会では、AT標準化ワーキンググループ(AT-WG)を組織し、AT活性の普遍的基準値の決定を最終目的として、AT-WG参加施設のうち自施設でAT活性測定可能な11施設によるサーベイランス実施し、AT試薬の標準化に向けて健常成人のAT活性基準値の設定に関する検討を行った。

今回のサーベイ結果により、基準検量線を基に換算することで試薬間差および施設間差を軽減することが可能であると考えられた。今回の検討において健常成人のAT活性基準値は75.1~135.7%と算出され、AT欠損症患者におけるAT活性値を測定してその分布と比較したところ、その妥当性が示された。

A. 研究目的

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、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たり、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。

遺伝性血栓性素因を診断するには、活性を測定し、健常成人の基準値の下限未満であることが条件となるが、それぞれの測定方法に準じた基準値に基づいて判断される。しかし、現在これらの活性を測定する試薬は多く、測定原理も異なる。さらに、各医療機関におけるそれぞれのAT、PC、PS活性の基準値も様々であるため、同一検体でも測定された活性値の判定が異なる場合もある。

そこで、今年度は日本血栓止血学会標準化委員会血栓性素因部会の協力のもと、AT

標準化ワーキンググループ(AT-WG)を組織し、AT 活性測定試薬の標準化と健常成人における AT 活性の普遍的基準値の設定に取り組んだ。

(AT試薬の標準化および健常成人のAT測定)を行ない、前回AT試薬のハーモナイゼーションを行った。今回は1. 健常成人のAT活性基準値の設定の試みと、2. 遺伝性AT欠乏症患者のAT活性値の分布と健常人との比較、を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. AT-WG 参加施設の組織

日本血栓止血学会標準化委員会血栓性素因部会員の中で、自施設でAT活性が測定可能な施設を選択し、金沢大学医薬保健研究域病態検査学、北海道医療大学歯学部内科学分野、名古屋大学保健学科病態解析学、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科血管代謝病態解析学、国立成育医療研究センター、東京大学医学部附属病院検査部、東京医科大学血液凝固異常症遺伝子研究寄附講座、群馬大学医学部附属病院検査部、三重大学医学部附属病院循環器内科、山形大学医学部附属病院検査部、の11施設でAT-WGを組織した。

2. AT活性測定のハーモナイゼーション

市販標準血漿(コアグトロールN; Sysmex)とAT欠乏血漿を混和調整し、5濃度のサーベイランス試料(B1~B5)を作製し、参加11施設にて測定を実施した。

検討方法は、(1)基準試薬(テストチームS AT III; 積水メディカル)でサーベイランス試料を測定し、AT国際標準品(NIBSC)を用いて基準検量線を決定した。(2)参加

施設における試料の測定結果と基準検量線より試薬毎の換算式を求めた。

3. 健常成人のAT活性基準値の設定の試み

各施設において健常人成人血漿、述べ214例のAT活性を測定した。この測定値を基に基準検量線との換算式による試薬間ハーモナイズを施行し、205例における健常成人のAT活性基準値算出を試みた。

4. AT欠損症患者におけるAT活性値の分布との比較

算出した健常成人のAT活性基準値とAT欠損症患者78例におけるAT活性値の分布を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は、金沢大学大学院医薬保健総合研究科で倫理面の審査を受け承認されている。さらに、AT-WGに属する他の10施設においても、共同研究施設として、倫理審査の承認を得ている。研究参加者からは書面での同意を取得し研究を行った。

C. 研究結果

1. AT 活性測定のサーベイランス

参加施設における AT 測定試薬は、7 試薬で内訳はテストチーム S AT III (積水メディカル) 5 施設、エルシステム AT (Sysmex) 4 施設、レボヘム AT3 施設、ヒモスアイエルアンチトロンビン LQ (IL ジャパン) 2 施設、ベリクローム AT III オート B (SIEMENS) 2 施設、STA 試薬シリーズ AT-III (富士レビオ) 2 施設、クロモレイト AT III (C) II (LSI メディエンス) 1 施設であった。測定装置は、7 種類で内訳

は、CS-5100 (Sysmex) 3 施設、CS-2400 (Sysmex) 2 施設、CP 3000 (積水M) 3 施設、STA-R Evo (富士レビオ) 2 施設、ACL-TOP 750 (IL-J) 1 施設、ACL-TOP 700 (IL-J) 1 施設、STACIA (LSI-M) 1 施設であった。各施設での測定値は、試料 B1 で 97.2 ~108.5%、CV 値は 1.3~5.4%と比較的良好であったが、低値領域の B4 では 22.5~36.6%、CV 値は 1.0~19.3%と測定値にばらつきを認めた。

2. AT 試薬のハーモナイゼーション

基準検量線と各試薬によるサーベイ試料測定値の相関性を求めたところ相関係数 (r) は 0.9988~0.9999 で、概ね互換性が認められた。

3. 健常成人の AT 活性基準値の設定の試み

健常成人血漿の測定値における平均値 $\pm 2SD$ は 106.0 ± 23.6 で、換算後では 105.9 ± 23.2 であった。換算値の平均値 $\pm 2SD$ から外れ値を除外し、平均値 $\pm 2SD$ を求めた時の下限値は 85.2、平均値 $\pm 3SD$ を求めた時の下限値は 75.1 であった。

4. AT 欠損症患者における AT 活性値の分布との比較

AT 欠損症患者における AT 活性値の分布は、平均値 $\pm 3SD$ で求めた時の下限値 75.1%では 3 例を除き、算出した健常成人の AT 活性基準値下限未満であり、健常成人の下限値は 75%が妥当と思われた。

D. 考察

今回のサーベイ結果により、基準検量線を基に換算することで試薬間差および施設

間差を軽減することが可能であると考えられた。今回の検討において健常成人の AT 活性基準値は 75.1~135.7%と算出され、AT 欠損症患者における AT 活性値を測定してその分布と比較したところ、その妥当性が示された。

E. 結論

今回は AT の標準化ならびに活性基準値の設定を試み、標準化が可能であること、さらには標準化された値をもとに妥当な基準値の設定も行うことができた。

遺伝性血栓性素因には AT・PC・PS 欠乏症が含まれており、これらの疾患の精度の高い診断のためには、今後は PC、PS 活性測定法の標準化、ならびに基準値の設定を目指す必要がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, Morishita E: Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC. Thromb Res. 2020 Apr;188:115-118. doi: 10.1016/j.thromres.2020.03.009. Epub 2020 Mar 10.
- 2) Yamada S, Okumura H, Morishita E,

- Asakura H: Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2020 Mar 9. doi: 10.1097/MBC.0000000000000902.
- 3) Watanabe S, Matsumoto S, Nakahara I, Ishii A, Hatano T, Mori M, Morishita E, Nagata I: A case of ischemic stroke with congenital protein C deficiency and carotid web successfully treated by anticoagulant and carotid stenting. *Front Neurol*. 2020 Feb 18;11:99. doi: 10.3389/fneur.2020.00099.
- 4) Horio T, Morishita E, Mizuno S, Uchino K, Hanamura I, Espinoza JL, Morishima Y, Kodera Y, Onizuka M, Kashiwase K, Fukuda T, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Takami A: Donor heme oxygenase-1 promoter gene polymorphism predicts survival after unrelated bone marrow transplantation for high-risk patients. *Cancers (Basel)*. 2020 Feb 12;12(2):424. doi: 10.3390/cancers12020424.
- 5) Arahata M, Takamatsu H, Morishita E, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose A, Asakura H: Coagulation and fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid. *Int J Hematol*. 2020 Apr;111(4):550-558. doi: 10.1007/s12185-019-02811-x.
- 6) Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, Horike SI, Asakura H, Morishita E: Genetic analysis of a compound heterozygous patient with congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate. *Int J Hematol*. 2020 Jan;111(1):51-56. doi: 10.1007/s12185-019-02767-y.
- 7) Yamashita M, Komaki T, Tashiro K, Inada Y, Iwata A, Morishita E, Miura SI: Hereditary antithrombin deficiency presenting with deep venous thrombosis during the second pregnancy: A case report. *Intern Med*. 2020 Jan 15; 59(2): 235-239. doi: 10.2169/internalmedicine.3268-1.
- 8) Yamada S, Arahata M, Morishita E, Ichinose A, Asakura H: The first reported case of acquired haemophilia A in which bleeding episodes were successfully treated via administration of a single-dose mixture of activated factor VIIa/X. *Haemophilia*. 2019 Sep;25(5):e350-e352.

- 9) Ueda k, Morishita E, Shiraki H, Matsuoka S, Imashuku S: Aortic mural thrombus associated with congenital protein C deficiency in an elderly patient. *J Atheroscler Thromb.* 2020 Jan 1; 27(1): 100-103. doi: 10.5551/jat.48819.
- 10) Setaka T, Hirano K, Moriya K, Morita S, Shinakai T, Morishita E, Ichida T: Portal vein thrombosis in a patient with hereditary antithrombin deficiency. *Intern Med.* 2019 Jun 15;58(12):1733-1737. doi: 10.2169/internalmedicine.2295-18.
- 11) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura k, Mori T, akao S, Morishita E: Recipient ADAMTS13 single-nucleotide polymorphism predicts relapse after unrelated bone marrow transplantation of hematologic malignancy. *Int J Mol Sci*, 2019 Jan 8;20(1):214. doi: 10.3390/ijms20010214.
- 12) Esumi S, Morishita E, Yasuda M, Nakajima K, Imashuku S: Portal cavernoma cholangiopathy due to extrahepatic portal vein and supra-mesenteric vein thromboses associated with congenital protein C deficiency in a young adult. *Arch Clin Med Case Rep* 2019; 3 (6): 436-441.
- 13) 森下英理子: 血液疾患における遺伝子検査の現状と展望 (1) 非腫瘍性疾患—凝固異常症の遺伝子検査を中心に—. 『血液検査を使いこなす』, 臨床病理レビュー特集第 161 号:122-126, 2019.
- 14) 森下英理子: 妊娠中・授乳中の抗凝固療法. 『妊娠と薬の使い方』, 日本医師会雑誌 148(2):225-228, 2019.
- 15) 森下英理子: 特発性血栓症, 『指定難病ペディア 2019』. 日本医師会雑誌 148・特別号 (1) :192, 2019.
- 16) 森下英理子: 血栓性素因の検査の際にプロテインCやプロテインSはいつ測定したらよいか? *Medical Practice* 37(4):625, 2020.

2. 学会発表

- 1) Morishita E: Impact of direct oral anticoagulants on APC-cofactor activity of protein S assay - New method to test protein S-, Isth, Melbourne, 2019.7.9-12.
- 2) 森下英理子: 多発性骨髄腫とその関連疾患に見られる出血・血栓合併症. 第10回腫瘍内科医会セミナー, 名古屋, 2019年4月27日.
- 3) 森下英理子: 先天性血栓性素因の病態と治療. 第11回北海道凝固異常症研究会, 札幌, 2019年6月1日.
- 4) 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～. がん関連血栓症のトータルマネージメントー血液・腫瘍内科編ー, 姫路, 2019年6月4日.
- 5) 森下英理子: 抗リン脂質抗体症候群における血栓症の診断と治療. *HuL*

- Aimmune 研究会, 金沢, 2019年6月6日
- 6) 森下英理子: 悪性腫瘍関連の静脈血栓塞栓症, 脳卒中治療 Expert Meeting, 金沢, 2019年6月7日.
 - 7) 森下英理子: 遺伝性血栓性素因保有者の妊娠分娩管理. 第41回日本血栓止血学会学術集会ジョイントシンポジウム2, 津, 2019年6月21日.
 - 8) 森下英理子: 特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による)~診断の現状と課題. 第8回プロテインS研究会シンポジウム, 津, 2019年6月21日.
 - 9) 今井湧太, 目黒牧子, 富樫朋貴, 九笹加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症5症例における異常アンチトロンビン蛋白の機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
 - 10) 山田真也, 門平靖子, 荒幡昌久, 林朋恵, 森下英理子, 朝倉英策, 中尾眞二: 血漿由来第X因子活性化第VII因子製剤の単剤・単回投与で止血が得られた後天性血友病Aの1例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
 - 11) 富樫朋貴, 長屋聡美, 長澤正之, 目黒牧子, 今井湧太, 九笹加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 複合ヘテロ接合体性先天性第X因子欠乏症患者の遺伝子解析ならびにPPSB-HTによる定期補充療法. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
 - 12) 九笹加菜, 目黒牧子, 長屋聡美, 杉原清香, 一戸辰夫, 今井湧太, 富樫朋貴, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 渡邊淳, 森下英理子: PROCの2エクソン欠失を認めた先天性プロテインC欠乏症の一症例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
 - 13) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝倉英策: 第XIII因子製剤が凝固・線溶に与える影響とその臨床的意義. 第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6-7日.
 - 14) 寺上貴子, 森下英理子, 宮嶋良康, 中出祐介, 大江宏康, 森三佳, 林研至, 朝倉英策, 酒井佳夫, 和田隆志: 当院における下肢静脈エコー検査の現状. 第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6-7日.
 - 15) 荒幡昌久, 林朋恵, 門平靖子, 森下英理子, 朝倉英策: 一過性に抗リン脂質抗体陽性を示した造血幹細胞移植後の成人水痘の1例. 第20回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6-7日.
 - 16) 森下英理子: がん関連血栓症とは. (合同シンポジウム), 第51回日本動脈硬化学会, 京都, 2019年7月12日.
 - 17) 森下英理子: 血液内科領域での静脈血栓塞栓症の管理について. 血液疾患トータルマネジメント~VTEとSREへの対応, 旭川, 2019年9月12日
 - 18) 山口孝一, 荒幡昌久, 山下剛史, 上田幹夫, 山田真也, 奥村廣和, 高松博幸, 朝倉英策, 中尾眞二, 森下英理子: 多発性骨髓腫患者と血栓塞栓症の関連.

- 第 2 回日本腫瘍循環器学会学術集会，旭川，2019 年 9 月 21-22 日。
- 19) 森下英理子：抗リン脂質抗体症候群の診断と治療。（教育講演），第 70 回日本皮膚科学会中部支部学術大会，金沢，2019. 10. 5.
- 20) 森下英理子：先天性・後天性血栓性素因。（シンポジウム），第 60 回日本脈管学会，東京，2019. 10. 11.
- 21) 荒幡昌久，森下英理子，山崎宏人，貫井友貴，門平靖子，朝倉英策，中尾眞二：抗リン脂質抗体症候群による血栓症との鑑別に苦慮した腸管気腫症合併感染性心内膜炎の 1 例。第 81 回日本血液学会学術集会，東京，2019 年 10 月 11-13 日。
- 22) 谷口容，野本明華，高見昭良，Luis Espinoza，鬼塚真仁，柏瀬貢一，森島 泰雄，福 隆浩，小寺良尚，土岐典子，宮村耕一，森毅彦，中尾眞二，森下英理子：悪性リンパ腫への非血縁者間骨髄移植に ADAMTS 一塩基多型は有意な影響を及ぼさない。第 81 回日本血液学会学術集会，東京，2019 年 10 月 11-13 日。
- 23) 森下英理子：抗リン脂質抗体症候群—最近の話題—。婦人科腫瘍と静脈血栓塞栓症を考える会，金沢，2019 年 10 月 24 日。
- 24) 森下英理子：後天性血液異常症—抗リン脂質抗体症候群，後天性血友病など—。第 16 回山形血液グループ研修会，山形，2019 年 11 月 1 日。
- 25) 森下英理子：静脈血栓塞栓症の臨床～血栓止血学の立場から～，Cardiovascular Surgery Seminar in Kanazawa，金沢，2019 年 11 月 8 日。
- 26) 内藤澄悦，家子正裕，森下英理子，日本 AT 標準化 WG：指定難病に即したアンチトロンビン活性基準値の標準化への試み。第 66 回日本臨床検査医学会学術集会，岡山，2019 年 11 月 21-24 日。
- 27) 金重里沙，清水直人，吉田美香，關谷暁子，奥健志，森下英理子，家子正裕，野島順三：市販 ELISA キットと自動分析装置による抗リン脂質抗体価の比較。第 7 回学術集会日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ，東京，2019 年 12 月 7 日。
- 28) 吉田美香，關谷暁子，金重里沙，奥健志，森下英理子，家子正裕，野島順三：自動分析装置を用いた抗リン脂質抗体測定 of 標準化 - 3 社の自動分析装置による抗体価および陽性率の比較。第 7 回学術集会日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ，東京，2019 年 12 月 7 日。
- 29) 齋藤和幸，小林正樹，和田義明，森下英理子：脳静脈血栓症を発症した先天性プロテイン C 血栓症の 32 歳男性例。第 231 回日本神経学会関東・甲信越地方会，東京，2019 年 12 月 7 日。
- 30) 江角隼，安田光徳，中島貫太，今宿晋作，森下英理子：先天性プロテイン C 欠損症による門脈血栓を契機に Portal cavernoma cholangiopathy を生じた一例。第 226 回日本内科学会近畿地方会，大阪，2019 年 12 月 21 日。
- 31) 小林隆夫，森下英理子，津田博子，杉浦和子，平井久也，尾島俊之：遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関

- する全国調査研究および診療ガイドラインの策定. 第 14 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム, 東京, 2020 年 2 月 22 日.
- 32) 家子正裕, 内藤澄悦, 森下英理子, 日本アンチトロンビン標準化ワーキンググループ: アンチトロンビン活性測定試薬の標準化ならびに基準値設定の試み. 第 14 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム, 東京, 2020 年 2 月 22 日.
- 33) 關谷暁子, 吉田美香, 金重里沙, 奥健志, 森下英理子, 家子正裕, 野島順三: 自動分析装置を用いた抗リン脂質抗体測定の標準化—3 社の自動分析装置による抗体価および陽性率の比較—. 第 14 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム, 東京, 2020 年 2 月 22 日.
- 34) 山口孝一, 長屋聡美, 花村美帆, 谷口容, 森広太郎, 森下英理子: 可溶性血漿 CLEC2 の測定における検体安定性の検討. 第 59 回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 岐阜, 2020 年 2 月 23 日.
- 35) 森広太郎, 長屋聡美, 今井湧太, 富樫朋貴, 丸山慶子, 小亀浩一, 大森健聖, 牧田友香, 山口孝一, 目黒牧子, 森下英理子: 当研究室で解析した先天性アンチトロンビン (AT) ・プロテイン C(PC) ・プロテイン S(PS) 欠乏症の遺伝子解析ならびに臨床所見. 第 59 回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 岐阜, 2020 年 2 月 23 日.
- 36) 山口孝一, 長屋聡美, 花村美帆, 谷口容, 森広太郎, 森下英理子: 可溶性血漿 CLEC2 の測定における検体安定性の検討. 第 20 回 TTM フォーラム. 東京, 2020 年 2 月 29 日.
- 37) 内藤澄悦, 家子正裕, 大村一将, 森下英理子, 日本 AT 標準化 WG: アンチトロンビン活性測定試薬の標準化と健康成人におけるアンチトロンビン活性基準値の設定. 第 20 回 TTM フォーラム. 東京, 2020 年 2 月 29 日.
- 38) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝倉英策: 慢性骨髄性白血病に対するチロシンキナーゼ阻害薬使用による心血管イベント発症のリアルワールドデータ. 第 20 回 TTM フォーラム. 東京, 2020 年 2 月 29 日.
- 39) 中村昌史, 三木浩和, 大浦雅博, 川田知代, 堀太貴, 村井純平, 住谷龍平, 曾我部公子, 高橋真美子, 原田武志, 藤井志朗, 中村信元, 賀川久美子, 菅崎幹樹, 徳永尚樹, 池亀彰茂, 森下英理子, 安倍正博: クロスミキシングテストの特徴的な所見が診断の契機となったプレカリクレイン欠乏症の 1 例. 第 59 回日本血液学会中国四国地方会, 岡山, 2020 年 3 月 14 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。

総プロテイン S 測定系の有用性および 遺伝性血栓性素因の人種差に関する研究

研究分担者：津田博子 中村学園大学大学院栄養科学研究科 教授

研究要旨

「特発性血栓症」は遺伝性血栓性素因により病的血栓傾向となり、若年性に重篤な血栓症を発症する疾患群である。遺伝性血栓性素因となる遺伝子変異には稀な変異とありふれた変異があるが、日本人に存在するありふれた変異（遺伝子多型）について、診断の必須項目である検査所見および人種差について検討した。

プロテイン S (PS) 遺伝子多型 (PS Tokushima) について、日本人若年女性（野生型ホモ接合体 130 名、ヘテロ接合体 9 名）を対象として PS 活性測定系の診断特性を検討した。凝固時間法による PS 活性の感度は 22.2%であり、スクリーニングには不適當であることを確認した。一方、総 PS 測定系（比色法）による総 PS 活性の感度は 77.8%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比では感度 100%、特異度 96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。また、ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma の較正試験から、総 PS 活性、総 PS 抗原量の測定結果の標準化が可能なことを確認した。遺伝性血栓性素因の人種差の検討では、PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布する遺伝性血栓性素因であり、コーカソイド、ブラジル人（コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血）には存在しないことが分かった。この人種分布は、コーカソイドに主に分布する遺伝子多型の FV Leiden、FII G20210A とは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

A. 研究目的

「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）」は、血液凝固制御因子のプロテイン C (PC)、プロテイン S (PS) 及びアンチトロンビン (AT) の先天性欠乏により病的血栓傾向となり、若年性に重篤な血栓症を発症する疾患群である。平成 29 (2017) 年 4 月に指定難病に認定され（告示番号 327）、医療費助成が開始した。

「特発性血栓症」の診断基準は、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り、診断カテゴリーで Definite、Probable に該当する場合に診断される。検査所見では、血漿中の PC、PS、AT 活性のいずれかが、成人の基準値の下限値未満であること（18 歳未満の場合は年齢別下限値）となっている。症状とともに検査所見は診断の必須項目であり、正確で標準化された測定方法の確立が求められる。

遺伝性血栓性素因となる遺伝子変異としては、稀な変異 (rare genetic variants)

とありふれた変異 (common genetic variants) がある。日本人では一般集団の約 2% に存在する PS 遺伝子多型 (PS Tokushima, PS p. Lys196Glu: rs121918474) が知られており、中国人では 2 種の PC 遺伝子多型 (PC p. Arg189Trp: rs146922325, PC p. Lys193del: rs199469469) が一般集団にそれぞれ 0.9%、2.4% に存在する。しかし、他の民族については殆ど検討されていない。これらの PS、PC 遺伝子多型の変異アレル保有者では、血漿中の PS、PC 活性は中等度に低下するが抗原量は正常の II 型欠乏症を呈し、診断には正確で標準化された測定が必須である。

血液中 PS の約 40% は遊離型として存在し、活性化 PC (APC) による FVa と FVIIIa の失活化を促進するが、残りの約 60% は C4b-binding protein (C4BP) と複合体を形成し、APC cofactor 活性は 1/6~1/8 に低下する。血液中 (Ca^{2+} 存在下) では PS-C4BP 結合は高親和性 ($K_d=1 \times 10^{-10} M$) だが、採血後のクエン酸加血漿中 (Ca^{2+} 非存在下) では親和性が著しく低下する ($K_d \sim 6 \times 10^{-9} M$)。このことが PS 測定系の変動要因の一つである可能性が高い。そこで、研究分担者らはクエン酸加血漿中での PS-C4BP 複合体乖離の影響を除外した総 PS 測定系 (総 PS 活性、総 PS 抗原量) を開発した (Tsuda, T. et al. Blood Coagul Fibrinolysis, 23:56-63, 2012)。総 PS 活性は APC による prothrominase 複合体の FVa 失活化をトロンビンの合成基質を用いた比色法により測定し、総 PS 抗原量はラテックス凝集法で測定するため、自動分析装置による正確な定量が可能である。

今年度は 1) 総プロテイン S 測定系の有用性の検討、および 2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明について研究した。

B. 研究方法

1) 総プロテイン S 測定系の有用性の検討
中村学園大学健康増進センターの疫学研究対象者の日本人若年女性 231 名 (20.0 ± 0.6 歳) よりクエン酸加血液を採取し、氷冷保存後 3 時間以内に冷却遠心によりクエン酸加血漿を得て、 $-80^{\circ}C$ で保存した。白血球分画から gDNA を抽出し、Real time PCR 法にて遺伝子型を検討した。PS Tokushima と PC p. Arg189Trp は Cycling probe 法、PC p. Lys193del は TaqMan 法を用いた。凍結クエン酸加血漿は測定前に急速融解し、総 PS 測定系にて総 PS 活性 (総プロテイン S 活性 “シノテスト”)、総 PS 抗原量 (シグナスオート総プロテイン S 蛋白量) を日立 7180 形自動分析装置にて測定した。凝固時間法による PT-based PS 活性 (HemosIL protein S clot) とラテックス凝集法による free PS 抗原量 (STA-Liatest Free Protein S) の測定は株式会社 SRL に依頼した。

国際血栓止血学会 (ISTH) の SSC Coagulation Standards Standing Committee (Chairman: Dr. Craig Thelwell) による SSC Secondary Coagulation Standard Plasma Lot #5 の較正試験に参加した。Committee より送付された凍結乾燥血漿 A (SSC Secondary Plasma Standard Lot #4)、血漿 B (SSC Secondary Plasma Standard Lot #5)、標準血漿 {WHO 2nd International Standard Protein S Plasma (03/228)} を 1.0 ml 純

水で融解した。血漿 A と B を生理食塩水にて3段階希釈し (1/4、1/2、1/1)、総 PS 測定系にて総 PS 活性、総 PS 抗原量を5重測定した。値付けには、送付された標準血漿 (総 PS 抗原量: 0.83 IU/mL、PS 活性: 0.77 IU/mL) を用いた。血漿 A と B の測定は、4日間 (1日に1回測定) 実施し、測定結果および平均値と標準偏差の算定結果を Committee に報告した。

2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明

ISTH/SSC Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee のプロジェクトとして 2013 年より実施した東アジア (日本、韓国)、東南アジア (シンガポール)、東ヨーロッパ (ハンガリー)、南アメリカ (ブラジル) の4地域、5カ国の研究者との国際共同研究の解析結果について統計解析を実施した。静脈血栓塞栓症 (Venous thromboembolism :VTE) 患者 1,074名と健常者 1,789名の合計 2,863名を対象として、PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193del の遺伝子型および臨床所見 (性、年齢、人種、VTE の種類) との関連について解析した。

(倫理面への配慮)

中村学園大学倫理審査委員会および国際共同研究の各施設の倫理審査委員会で承認を受け、研究を開始した。すべての対象者に紙面にて説明し同意を得た。

C. 研究結果

1) 総プロテイン S 測定系の有用性の検討
対象者 231 名のうち 5 名 (2.2%) が PS Tokushima のヘテロ接合体、4 名 (1.7%) が PC p.Lys193del のヘテロ接合体であっ

たが、PC p.Arg189Trp の変異アレル保有者は同定しなかった。ホモ接合体や二重ヘテロ接合体は同定せず、日本人若年女性の 25 名に 1 名が遺伝性血栓性素因を有していることが分かった。

経口避妊薬内服、無月経など PS 活性に影響を与える要因を有する者を除いた PS Tokushima の野生型ホモ接合体 (Lys/Lys) 130 名、その後の疫学研究で同定した者も含めた PS Tokushima ヘテロ接合体 (Lys/Glu) 9 名について、総 PS 活性、総 PS 抗原量、PT-based PS 活性、free PS 抗原量を測定し、PS Tokushima 判定の診断特性を比較検討した。基準値の下限を cut-off 値としたところ、感度と特異度は PT-based PS 活性は 22.2%、97.7%、総 PS 活性は 77.8%、94.6%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比は 100%、96.9%であった (図 1)。

⇒図 1. PS Tokushima 判定の診断特性の比較

ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma Lot #5 の較正試験では、欧米を中心に PS 活性には 18 施設、総 PS 抗原量には 10 施設が参加した (共に 1 施設は 2 種類の測定法を実施)。総 PS 測定系による Lot #5 の総 PS 活性は 0.80 IU/mL、総 PS 抗原量は 0.98 IU/mL であり、参加施設全体の PS 活性の平均値 (較正值) 0.78 IU/mL、総 PS 抗原量の平均値 0.96 IU/mL とほぼ一致していることを確認した。

2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明

PS Tokushima 変異アレル保有者は日本

人VTE患者458名中20名{アレル頻度(AF) 2.29%}、健常者1031名中22名(AF 1.12%)のみに同定され、オッズ比(OR)は2.09 {95% confidence intervals (CI) 1.13 to 3.88}であった。PC p.Arg189Trpの変異アレル保有者はシンガポールの中国人VTE患者57名中11名(AF 10.5%)、マレー人VTE患者11名中5名(AF 22.7%)、バタク人VTE患者1名、ミャンマー人健常者1名であった。PC p.Lys193delの変異アレル保有者は日本人VTE患者458名中6名(AF 0.87%)、健常者1031名中7名(AF 0.36%)、および韓国人VTE患者85名中3名(AF 2.35%)、健常者140名中2名(AF 1.07%)だった。ORは日本人1.82 (95%CI 0.61 to 5.45)、韓国人2.52 (95%CI 0.41 to 15.45)であり、有意ではなかった。シンガポールの中国人VTE患者57名中6名(AF 5.26%)にPC p.Lys193delの変異アレル保有者を同定したが、健常者には同定しなかった。一方、ハンガリー、ブラジル、シンガポールのインド人では、VTE患者、健常者のいずれにもこれらの遺伝子変異を同定しなかった。

D. 考察

1) 総プロテインS測定系の有用性の検討

日本人若年女性231名の遺伝子型判定ではPS Tokushimaのヘテロ接合体は5名(2.2%)であり、過去の日本人一般集団に関する報告とほぼ同程度の頻度であった。さらに、PC p.Lys193delのヘテロ接合体4名(1.7%)を同定し、日本人にも高頻度に存在する遺伝性血栓性素因であることが分かった。しかし、PC

p.Arg189Trpの変異アレル保有者は同定しなかった。

先天的PS欠乏による特発性血栓症の診断では一般に凝固時間法によるPS活性が測定されているが、活性低下を認めても遺伝子変異を同定できないことが多いことが知られている。また、PS Tokushima変異アレル保有者のPS活性低下は中等度でありスクリーニングが困難である。今回のPS Tokushimaの野生型ホモ接合体130名およびヘテロ接合体9名を用いたPS Tokushimaの診断特性の検討では、PT-based PS活性の感度は22.2%であり、凝固時間法によるPS活性測定ではPS Tokushimaを見落とす可能性が高いことを確認した。一方、総PS活性の感度は77.8%、総PS活性/総PS抗原量比では感度100%、特異度96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma Lot #5の較正試験では、総PS活性、総PS抗原量ともに較正值にほぼ一致する結果であり、測定結果の標準化が可能であることが分かった。

2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明

PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193delは東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布するが地域により頻度に違いがあり、コーカソイド、ブラジル人(コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血)には存在しないことが分かった。この人種分布は、コーカソイドに主に分布する遺伝性血栓性素因の血液凝固第V因子遺伝子多型(FV

Leiden) と第Ⅱ因子遺伝子多型 (FⅡ G20210A) とは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

E. 結論

日本人一般集団の約 2%に存在する遺伝性血栓性素因の PS Tokushima の診断では、凝固時間法による PS 活性の感度は 22.2%でありスクリーニングには不適當であることを確認した。一方、総 PS 測定系による総 PS 活性の感度は 77.8%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比では感度 100%、特異度 96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma の校正試験から総 PS 活性、総 PS 抗原量の測定結果の標準化が可能なことを確認した。

遺伝性血栓性素因の人種差の検討では、PS Tokushima、PC p.Arg189Trp、PC p.Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布する血栓性素因であり、コーカソイド、ブラジル人 (コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血) には存在しないことが分かった。この人種分布は、FV Leiden や FⅡ G20210A とは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin X., Sata S., Miya M., Nakano S., and Tsuda H. Plasma phenotypes of

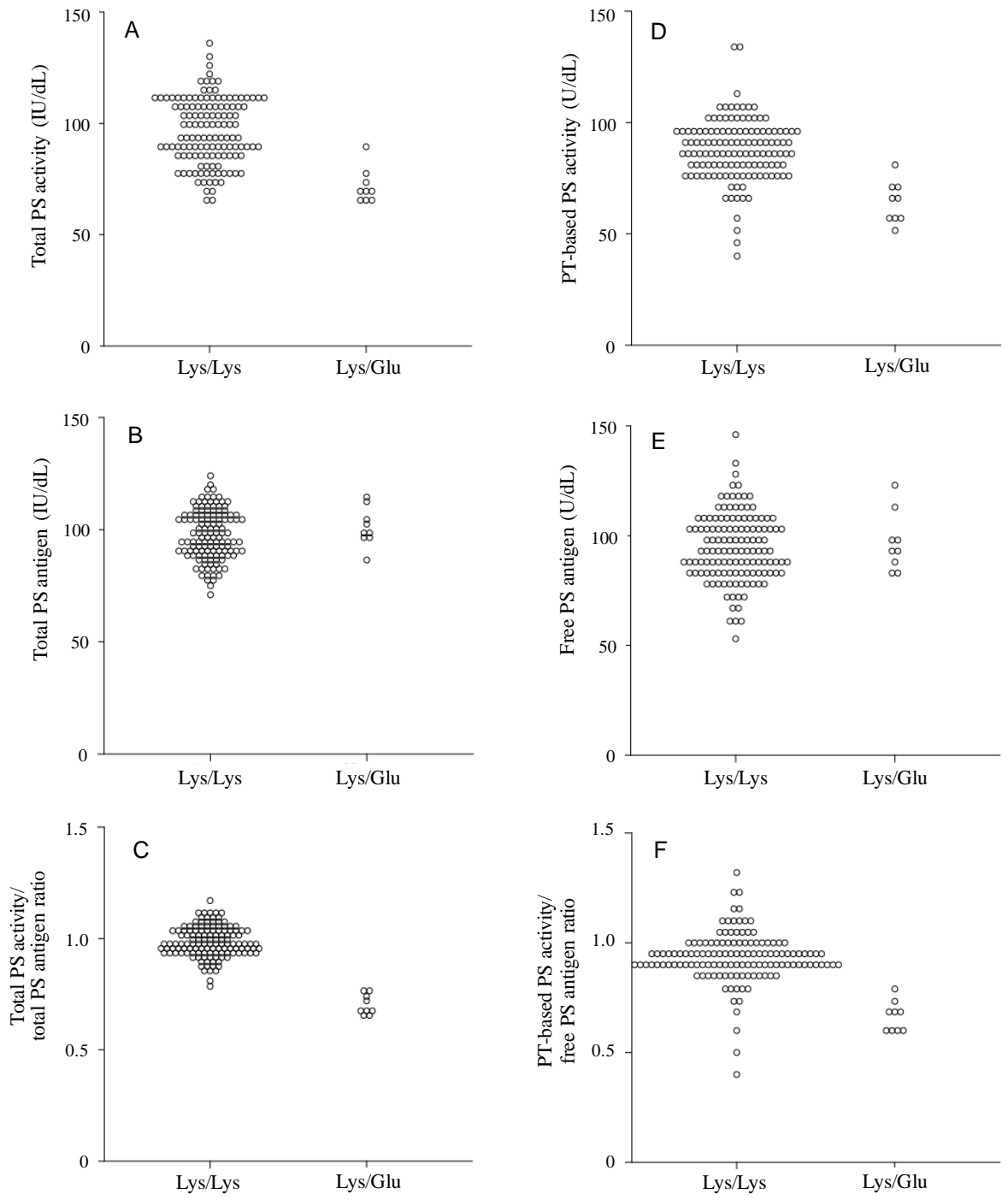
protein S Lys196Glu and protein C Lys193del variants prevalent among young Japanese women. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 30:393-400, 2019.

- 2) Moffat K.A., Kiencke V., Blanco A.N., McLintock C., Peyvandi F., de Maat M.P.M., Adams M.J., Angchaisuksiri P., Nair S., Tsuda H., Haddad M., Renne T., Clark R.C., Ross M.T. International Society on Thrombosis and Haemostasis core curriculum project: core competencies in laboratory thrombosis and hemostasis. *J Thromb Haemost.* 17:1848-1859, 2019.
- 3) Tsuda H., K. Noguchi K., Oh D., Berezky Z., Lee L. H., Kang D., Dusse L.M.S., Carvalho M.G., Morishita E. Racial differences in protein S Tokushima, protein C p.Arg189Trp, and protein C p.Lys193del variants as genetic risk factors for venous thromboembolism. (submitted to *J Thromb Haemost*)
- 4) 津田博子:2019 年度日本血栓止血学会 岡本賞 Utako Award: ビタミン K 依存性タンパク質プロテイン S -機能と病態との関連- *日本血栓止血学会誌*, 30 (4): 642-651, 2019.

2. 学会発表

- 1) 能口健太、中園栄里、津田友秀、金秀日、佐田志穂子、宮真南、中野修治、津田博子. 日本人若年女性における

- 血液凝固制御因子プロテインS、プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量の検討. 第41回日本血栓止血学会学術集会、津（三重県総合文化センター）、6月22日2019年
- 2) 津田博子：総プロテインS測定系の診断特性の検討 - PS Tokushima判定およびSSC/ISTH標準血漿の値付け-、第8回プロテインS研究会シンポジウム「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）～診断の現状と課題」、第41回日本血栓止血学会学術集会、津（三重総合文化センター）、6月21日2019年
- 3) Tsuda H.： Vitamin K-dependent protein S: Function and Etiological Significance. “Utako Award” Lecture, 41st Congress of Japanese Soc. Thromb. Haemost., Tsu (Mie Center For the Arts), Japan, June 20, 2019.
- 4) Tsuda H. Noguchi K. Genotype and plasma phenotype of protein S Tokushima and two PROC variants of Japanese young women. 第81回日本血液学会学術集会、東京（東京国際フォーラム）、10月12日2019年
- 5) Tsuda H., Noguchi K., Oh D., Bereczky Z., Lee L.H., Dusse L., Carvalho M., Kang D.: Racial differences of protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism. XXVII Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost., Melbourne (Convention Center), Australia, July 7, 2019.
- 6) Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin X., Sata S., Miya M., Nakano S., Tsuda H.: Genetic and phenotypic analyses of protein S Tokushima and two protein C variants on healthy Japanese young women. XXVII Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost., Melbourne (Convention Center), Australia, July 7, 2019.
- 7) 能口健太、中園栄理、津田友秀、金秀日、佐田志穂子、宮真南、中野修治、津田博子. 日本人若年女性における血液凝固制御因子プロテインS、プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量についての検討. 第22回日本病態栄養学会年次学術集会、京都（国立京都国際会館）、1月26日、2019年
- 8) 宮真南、能口健太、中野修治、津田博子. 日本人若年成人女性における β_3 アドレナリン受容体遺伝子多型 Trp64Arg と身体・血液指標との関連. 第22回日本病態栄養学会年次学術集会、京都（国立京都国際会館）、1月25日、2019年
- 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



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

研究分担者： 小林隆夫 浜松医療センター 名誉院長
森下英理子 金沢大学医薬保健研究域保健学系 教授
研究協力者： 尾島俊之 浜松医科大学健康社会医学講座 教授
杉浦和子 名古屋市立大学大学院看護学研究科 講師

研究要旨

【目的】わが国における遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理の実態を明らかにし、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定を目的とする。

【方法】全国の実態調査としては、郵送法により以下の項目でアンケート調査を行った。対象施設は日本産科婦人科学会周産期登録施設 415 施設（1 施設は産科閉鎖、1 施設は病院閉鎖のため実質 413 施設）とし、2019 年 6 月に発送した。調査は 2 段階で、一次調査では施設の遺伝性血栓性素因患者の実態概要の把握と症例の有無について把握し、二次調査では遺伝性血栓性素因合併症例ありの施設に対し個票調査を行った。一次調査の主な項目は、調査対象施設の 2014 年 1 月 1 日から 2018 年 12 月 31 日までの 5 年間の分娩件数、5 年間における妊娠・分娩症例中の遺伝性血栓性素因合併症例の有無、5 年間の年度別の血栓性素因別症例数、遺伝性血栓性素因の診断方法、症例の妊娠・分娩・産褥期の管理方法とした。二次調査は、症例毎の妊娠期・分娩期・産褥期（新生児期含む）の管理方法について詳細把握を行った。【結果】調査票の回収終了時点での一次調査回収数は 242（58.6%）、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（1 症例複数妊娠は別々にカウント、重複欠乏症例は 1 件としてカウントした総妊娠分娩件数）、二次調査票での回答症例は 541 例（90.3%）であった。血栓性素因別ではプロテイン S (PS) 欠乏症が圧倒的に多く 443 例（総分娩数に対し 0.061%）、次いでアンチトロンビン (AT) 欠乏症 84 例（同 0.012%）、プロテイン C (PC) 欠乏症 67 例（同 0.009%）、その他 5 例であった。抗原量と活性値を共に測定する施設は 50%、遺伝子診断可能な施設は 21.3%、遺伝子診断を行わない施設が 46.7%であった。【考察および結論】遺伝性血栓性素因の日本人の頻度は、PS 欠乏症が約 2%、AT 欠乏症が約 0.15%、PC 欠乏症が約 0.13%と推定されているが、それらに比し今回の調査で明らかになった遺伝性血栓性素因妊婦の総分娩数に対する頻度は非常に少ない。この事実は、周産期に診断されない症例も多く、血栓性素因自体は妊婦の静脈血栓塞栓症 (VTE) の強いリスク因子ではない可能性がある。ただし、AT 欠乏症、とくに抗原と活性がともに低下する I 型欠乏症では、周産期 VTE の発症リスクは高いため注意を要する。なお、PS 欠乏症の診断は妊婦では困難であり、妊娠中の PS 活性の低下をもって PS 欠乏症と診断されている

症例も若干みられるため、二次調査票の解析を待たないと正確な症例数は把握できないと思われる。今後、今回の全国調査研究の結果を基に蓄積されたデータの解析や文献を参考にしながら、適切な予知方法を盛り込んだ遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定を行う予定である。

A. 研究目的

平成 29 年に「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）」が指定難病 327 として認定された。「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）」とは、血液凝固制御因子であるプロテイン C(PC)、プロテイン S (PS) およびアンチトロンビン(AT) が生まれつき欠乏することにより、血栓ができやすい体質になり、若年性 (40 歳以下) に重篤な血栓症を発症する症候群である。したがって、遺伝性血栓性素因患者が妊娠すると妊娠中や分娩後に血栓症を発症することがあり、その診断・治療に苦慮する。

なかでも先天性 AT 欠乏症は、頻度は少ないものの血栓症リスクが高く、どのように妊娠・分娩を管理すべきか一定の見解は定まっていない。しかし、現時点で遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩に関する診療ガイドラインは作成されていない。また、日本人には血栓性素因としての PS 欠乏症が多く、妊娠中に血栓症を発症することがある。しかし、妊娠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、わが国における遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理の実態を明らかにし、血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定を目的とする。

B. 研究方法

研究方法としては、まず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を郵送法により行い、わが国の実態を明らかにする。対象施設は日本産科婦人科学会周産期登録施設 415 施設 (1 施設は産科閉鎖、1 施設は病院閉鎖のため実質 413 施設) とし、2019 年 6 月に発送した。調査は 2 段階で、一次調査では施設の遺伝性血栓性素因患者の実態概要の把握と症例の有無について把握し、二次調査では遺伝性血栓性素因合併症例ありの施設に対し個別調査を行った。

＜一次調査票（別紙回答用紙 No. 1、別紙回答用紙 No. 2）＞

- ・問 1. 調査対象施設の過去 5 年間 (2014 年～2018 年) の分娩件数
- ・問 2. 2014 年 1 月 1 日から 2018 年 12 月 31 日までの 5 年間における妊娠・分娩のうち、遺伝性血栓性素因の合併症例の有無
- ・問 3. 年度別の血栓性素因別症例数
- ・問 4. 各施設における診断方法
- ・問 5. 各施設における基本的な管理方法
なお、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩を経験した施設においては、同時に二次調査も行った。

＜二次調査票（別紙回答用紙 No. 3）＞

- ・No. 1: 先天性血栓性素因の種類、診断方法、血栓症家族歴、既往妊娠分娩

歴

- ・No. 2 : 今回の妊娠分娩歴、妊娠中の管理方法、分娩時の管理方法
- ・No. 3 : 分娩後の管理方法、母体転帰、新生児転帰

調査対象期間は、2014年1月1日から2018年12月31日までの5年間である。

(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、研究実施施設の倫理委員会の承認(金沢大学倫理委員会承認番号:890-1、浜松医療センター倫理委員会承認番号:平成30年度迅速第78号;UNIN試験ID:UMIN000037155, 受付番号:R000042332)を得た後に実施するため、有害事象が起こる可能性はない。また、既存資料等のみを用いるため、個々の患者からインフォームドコンセントを得ることはしない。さらに患者情報については、連結不可能匿名化された情報のみを収集し、個人情報収集しないため倫理的に問題ないとする。なお、上記の研究の実施については、研究実施時にホームページで公開する。

C. 研究結果

調査票の回収終了時点での一次調査票返送数が242(58.6%)、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(1症例複数妊娠は別々にカウント、重複欠乏症例は1件としてカウントした総妊娠分娩件数)、二次調査票での回答症例は541例(90.3%)であった。血栓性素因別ではPS欠乏症が圧倒的に多く443例(総分娩数に対し0.061%)、次い

でAT欠乏症84例(同0.012%)、PC欠乏症67例(同0.009%)、その他5例であった。診断方法として、抗原量と活性値を共に測定する施設は50%、抗原量のみを測定する施設は2.9%、活性値のみを測定する施設は31.4%、遺伝子診断を必ず行う施設が2.5%、可能なら行う施設が42.1%、行わない施設が46.7%で、自施設で遺伝子診断可能な施設は21.3%であった。

D. 考察

遺伝性血栓性素因の日本人の頻度は、PS欠乏症が約2%、AT欠乏症が約0.15%、PC欠乏症が約0.13%と推定されているが、それらに比し今回の調査で明らかになった遺伝性血栓性素因妊婦の総分娩数に対する頻度は非常に少ない。この事実は、周産期に診断されない症例も多く、血栓性素因自体は妊婦の静脈血栓塞栓症(VTE)の強いリスク因子ではない可能性がある。ただし、AT欠乏症、とくに抗原と活性がともに低下するI型欠乏症では、周産期VTEの発症リスクは高いため注意を要する。なお、PS欠乏症の診断は妊婦では困難であり、妊娠中のPS活性の低下をもってPS欠乏症と診断されている症例も若干みられるため、二次調査票の解析を待たないと正確な症例数は把握できないと思われる。

今後、今回の全国調査研究の結果を基に蓄積されたデータの解析や文献を参考にしながら、適切な予知方法を盛り込んだ遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定を行う予定で現在素案は完成しているが、Q & A方式の診療ガイドラインの項目としては、下記の通りである。

1. 遺伝性血栓性素因とは？
2. アンチトロンビン欠乏症とは？
3. プロテインS欠乏症とは？
4. プロテインC欠乏症とは？
5. 妊娠前の血栓性素因スクリーニングの必要性は？
6. 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症したら？
7. 血栓性素因保有妊婦の妊娠中の管理は？
8. 血栓性素因保有妊婦の分娩時の管理は？
9. 血栓性素因保有妊婦の分娩後の管理は？
10. 血栓性素因保有妊婦から出生した新生児の管理は？
11. 血栓性素因保有女性に対する不妊/不育症治療の注意点は？

E. 結論

今回の全国実態調査でわが国における遺伝性血栓性素因保有者の妊娠分娩管理の概要が明らかになったが、詳細については今後の解析を待たなければならない。この解析結果を踏まえながら文献等を参考に、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定を行いたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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 2020-' 21, 総合医学社, 東京, pp335-340, 2020

- 2) 小林隆夫: 産科・婦人科領域の DIC. 丸山征郎編集, ファーマナビゲーターDIC 編改訂版. メディカルレビュー社, 東京, pp156-165, 2019
- 3) 小林隆夫: 産褥期の静脈血栓塞栓症. 猿田享男, 北村惣一郎監修, 1361 専門家による 私の治療 2019-20 年度版. 日本医事新報社, 東京, pp1369-1371, 2019
- 4) 小林隆夫: 肺血栓塞栓症. 特集 妊産婦死亡をどう防ぐか I. 産婦人科の実際 68(12): 1455-1463, 2019
- 5) 小林隆夫: 連載「DIC 診療の新たな展開」第 6 回 産科 DIC における遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の有用性. Thromb Med Vol. 9, No. 2: 63-68, 2019
- 6) 小林隆夫: 血液疾患合併妊娠. 永井良三総監修, 綾部琢哉, 大須賀穰編集, 産婦人科研修ノート. 診断と治療社, 東京, pp456-459, 2019

2. 学会発表

- 1) Fukuda I, Hirayama A, Kazuo Kawasugi K, Kobayashi T, Maeda H, Nakamura M, Nakanishi N, Yamada N, Hayashi Y, Kidani Y, Okayama Y, Sunaya T, Sato S, Yamanaka S. The interim analysis of the rivaroxaban post marketing surveillance in Japanese patients with venous thromboembolism. The 11th Meeting of the German Japanese Society for Vascular

- Surgery, Oita, 2019.9.6-7
- 2) Kobayashi T. Diagnosis of DIC in Obstetrics: The Japanese scoring. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019.7.8
 - 3) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T. Epidemiological characteristics of thromboembolism related to oral contraceptives in Japan: Results of a national survey. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019.7.7
 - 4) Kobayashi T, Kajiki M, Nihashi K, Honda G. Safety and efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with obstetrical disseminated intravascular coagulation (DIC). 8th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haemostasis, Madrid, 2019.3.29
 - 5) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 岩手県立中央病院医療安全研修会. 盛岡, 2020.2.14
 - 6) 小林隆夫: 遺伝性血栓性素因妊婦の周産期管理ー全国調査結果を踏まえてー. 先天性アンチトロンビン欠乏症セミナー, 東京, 2020.2.8
 - 7) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全
 - セミナー2019 in 沖縄. 那覇, 2019.12.21
 - 8) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 静岡. 静岡, 2019.11.23
 - 9) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 熊本. 熊本, 2019.11.10
 - 10) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 青森. 青森, 2019.10.26
 - 11) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 水戸. 水戸, 2019.10.14
 - 12) 小林隆夫: 「血栓症ってどんな病気? 予防が大切!」産婦人科疾患と血栓症って関係あるの? 世界血栓症デー日本・市民公開講座2019 北九州, 小倉, 2019.10.12
 - 13) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 久留米. 久留米, 2019.9.23
 - 14) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 獨協医科大学埼玉医療センター医療安全講習会. 越谷, 2019.9.18
 - 15) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー2019 in 奈良. 奈良, 2019.8.3
 - 16) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リ

- スク評価と予防対策～. 豊橋市民病院 VTE 予防セミナー. 豊橋, 2019. 7. 24
- 17) 小林隆夫:産科 DIC スコア改訂の是非を問う. 第 29 回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会基調講演. 名古屋, 2019. 6. 7
- 18) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 第 11 回広島県臨床工学技士会学術大会 共催学術セミナー. 広島, 2019. 6. 2
- 19) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー 2019 in 旭川. 旭川, 2019. 5. 25
- 20) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー 2019 in 横浜. 横浜, 2019. 5. 11
- 21) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. VTE 医療安全セミナー 2019 in 米子. 米子, 2019. 4. 20
- H. 知的所有権の出願・取得状況**
- 1. 特許取得**
なし
- 2. 実用新案登録**
なし
- 3. その他**
なし

ご回答年月日 _____ 年 _____ 月 _____ 日

ご回答先生氏名 _____

メールアドレス _____

問 1. 貴施設の過去5年間(2014年～2018年)の分娩件数をご回答下さい。

(多胎も1分娩としてください)

5年間の分娩数:(_____)件

問 2. 2014年1月1日から2018年12月31日までの5年間における妊娠・分娩のうち、貴施設で妊娠・分娩管理した先天性血栓性素因の合併症例の有無について、該当する口に☑してください。なお、妊娠管理中に他院へ紹介した場合は、「症例なし」としてください。

1. 症例あり
 2. 症例なし
 3. 不明

◆「症例あり」の場合、問3・問4・問5・別紙のご記入をお願い致します

- ・ 問3. 年度別の血栓性素因別症例数
- ・ 問4. 貴施設における診断方法 (回答用紙 No. 2)
- ・ 問5. 貴施設における基本的な管理方法 (回答用紙 No. 2)
- ・ 別紙. 二次調査票 (個票調査)

◆「症例なし」および「不明」の場合、次の問4・問5のご記入をお願い致します

- ・ 問4. 貴施設における診断方法 (回答用紙 No. 2)
- ・ 問5. 貴施設における基本的な管理方法 (回答用紙 No. 2)

問 3. 問2の「症例あり」の症例について、年度別血栓性素因別症例数をご記入下さい。

	2014	2015	2016	2017	2018	合計
アンチトロンビン欠乏症						
プロテインS欠乏症						
プロテインC欠乏症						
その他						
合計						

貴施設における診断、妊娠中・分娩時・分娩後の管理方法についてお尋ねいたします。

* 調査期間中に症例がなくても過去に症例を経験している場合、妊娠管理中に他院へ紹介した場合、もしくは今後症例に遭遇した場合の対応も含めて記載してください。

問 4. 血栓性素因の診断について、次の 1. および 2. に該当する□に☑してください。

1. 活性値測定

- 1) 抗原量と活性値ともに測定
- 2) 抗原量のみ測定
- 3) 活性値のみ測定

2. 遺伝子診断の有無

- 1) 必ず行う (自施設 ・ 他施設に依頼)
- 2) 可能なら行う (自施設 ・ 他施設に依頼)
- 3) 行わない

問 5. 血栓素因別の妊娠中・分娩時・分娩後の管理方法の該当する□に☑してください。

1. アンチトロンビン欠乏症 (抗凝固療法に関する質問)

妊娠中	分娩時	分娩後
<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()
<input type="checkbox"/> 2) 症例ごとに決める <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 2) 症例ごとに決める <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 2) 症例ごとに決める <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()
<input type="checkbox"/> 3) 行わない (慎重な観察のみ)	<input type="checkbox"/> 3) 行わない (止血を確認するまで)	<input type="checkbox"/> 3) 行わない (慎重な観察のみ)

2. プロテイン S およびプロテイン C 欠乏症 (抗凝固療法に関する質問)

妊娠中	分娩時	分娩後
<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()
<input type="checkbox"/> 2) 症例ごとに決める <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 2) 症例ごとに決める <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()	<input type="checkbox"/> 2) 症例ごとに決める <input type="checkbox"/> ①未分画ヘパリン(IU/日) <input type="checkbox"/> ②他の薬剤()
<input type="checkbox"/> 3) 行わない (慎重な観察のみ)	<input type="checkbox"/> 3) 行わない (止血を確認するまで)	<input type="checkbox"/> 3) 行わない (慎重な観察のみ)

* プロテイン S 欠乏症とプロテイン C 欠乏症で管理方法が上記と異なる場合は下記に記載して下さい

3. 補充療法施行の有無 (アンチトロンビン欠乏症の場合)

妊娠中	分娩時	分娩後
<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う	<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う	<input type="checkbox"/> 1) 必ず行う
<input type="checkbox"/> 2) 活性低下の場合は行う (%) 以下の場合(IU/日)	<input type="checkbox"/> 2) 活性低下の場合は行う (%) 以下の場合(IU/日)	<input type="checkbox"/> 2) 活性低下の場合は行う (%) 以下の場合(IU/日)
<input type="checkbox"/> 3) 行わない	<input type="checkbox"/> 3) 行わない	<input type="checkbox"/> 3) 行わない

* 活性化プロテイン C 製剤を使用する場合は、使用時期と用量を下記に記載して下さい。

4. その他自由記載

*2例以上の症例がある場合は、お手数ですが
本用紙(No.1~No.3)をコピーしてご回答下さい。

以下、1~11の項目についてご回答ください。

1. 遺伝性血栓性素因の種類

- アンチトロンビン
- プロテイン S
- プロテイン C
- その他()

2. 診断方法

1) 活性値測定

- 抗原量 ()
- 活性値 ()

2) 遺伝子診断の有無

- 有 (変異のタイプ:)
- 無

3) 診断時期

- 今回の妊娠以前 (その時期:)
- 今回の妊娠中 () 週

3. 血栓症家族歴

- 有 (保因者ありの場合、保因者の血縁関係親族をすべてご記載下さい)
()
- 無

4. 血栓症既往歴

- 有 (血栓症の種類と部位:)
- 無

5. 既往妊娠分娩歴

- ① 妊娠回数: _____ 回
- ② 分娩回数: _____ 回
- ③ 妊娠合併症の有無
 - 有
 - 習慣流産・不育症
 - 常位胎盤早期剥離
 - 妊娠高血圧症候群
 - その他()
 - 無

(裏ページ No.2 へ)

6. 今回の妊娠分娩歴

①	年齢:	_____	歳						
②	身長・体重:	_____	cm _____	kg(妊娠初期)	_____	kg(分娩時)			
③	妊娠・分娩帰結								
	(1)	分娩年月日	(_____	年	_____	月	_____	日)
	(2)	<input type="checkbox"/> 経膈分娩	<input type="checkbox"/> 予定帝王切開	<input type="checkbox"/> 緊急帝王切開	(_____)	週	
	(3)	<input type="checkbox"/> 単胎	<input type="checkbox"/> 多胎						
	(4)	<input type="checkbox"/> 早産	(_____)	週			
	(5)	<input type="checkbox"/> 流産	(_____)	週			
		<input type="checkbox"/> 人工流産	<input type="checkbox"/> 自然流産						
④	妊娠合併症の有無								
	<input type="checkbox"/>	常位胎盤早期剥離							
	<input type="checkbox"/>	妊娠高血圧症候群							
	<input type="checkbox"/>	その他(_____)					

7. 妊娠中の管理方法

①	妊娠中の抗凝固療法施行の有無	
	<input type="checkbox"/>	有
	<input type="checkbox"/>	①未分画ヘパリン (_____)IU/日を妊娠(_____)週より開始
		* 妊娠中に用量の増減があれば記載してください
	(_____)
	<input type="checkbox"/>	②他の薬剤 (_____)
	<input type="checkbox"/>	無
②	妊娠中の補充療法施行の有無	
	<input type="checkbox"/>	有
	<input type="checkbox"/>	①アンチトロンビン製剤 (_____)IU/日を妊娠(_____)週より開始
		* 妊娠中に用量の増減があれば記載してください
	(_____)
	<input type="checkbox"/>	②他の薬剤 (_____)
	<input type="checkbox"/>	無

8. 分娩時の管理方法

①	分娩時の抗凝固療法施行の有無	
	<input type="checkbox"/>	有
	<input type="checkbox"/>	①未分画ヘパリン (_____)IU/日を投与
	<input type="checkbox"/>	②他の薬剤 (_____)
	<input type="checkbox"/>	無
②	分娩時の補充療法施行の有無	
	<input type="checkbox"/>	有
	<input type="checkbox"/>	①アンチトロンビン製剤 (_____)IU/日を(_____)に投与
	<input type="checkbox"/>	②他の薬剤 (_____)
	<input type="checkbox"/>	無

9. 分娩後の管理方法

① 分娩後の抗凝固療法施行の有無

有

①未分画ヘパリン ()IU/日を、分娩後()日まで投与

②ワルファリン ()mg/日を、分娩後()日まで投与

③他の薬剤 ()

無

② 分娩後の補充療法施行の有無

有

①アンチトロンピン製剤 ()IU/日を、分娩後()日まで投与

②他の薬剤 ()

無

10. 母体転帰

異常なし

血栓症発症(部位と発症時期:)

出血合併症(部位と重症度:)

その他の異常()

11. 新生児転帰

出生時体重()g

Apgar スコア(/1分, /5分)

男児 女児

異常なし

異常あり(異常の詳細を下記に記載して下さい)

()

母親の血栓性素因と同様の欠乏因子を測定してあれば記載してください

臍帯血 血漿

抗原量() 活性値()

遺伝子診断を行ってあれば記載してください

()

以上、ご協力ありがとうございました。

新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立に向けた研究

研究分担者：大賀正一	九州大学・大学院医学研究院・成長発達医学	教授
研究協力者：落合正行	九州大学・大学院医学研究院・周産期小児医療学	准教授
石村匡崇	九州大学病院・総合周産期母子医療センター	助教
市山正子	福岡市立こども病院・新生児科	医師
井上普介	九州大学病院・総合周産期母子医療センター	助教
園田素史	九州大学・大学院医学研究院・成長発達医学	大学院
堀田多恵子	九州大学病院・検査部・部門長	
内海 健	九州大学・大学院医学研究院・臨床検査医学	准教授
康 東天	九州大学・大学院医学研究院・臨床検査医学	教授
小原 收	公益財団法人かずさ DNA 研究所	
石黒 精	国立成育医療研究センター	
西久保敏也	奈良県立医科大学	
嶋 緑倫	奈良県立医科大学	
末延聡一	大分大学	

研究要旨

本研究事業において研究分担者らは、新生児・小児血栓症の包括的な診療アルゴリズムの確立を目指して、「特発性血栓症（小児領域）診療ガイドの策定」を分担した。分担者らの研究施設では、血栓性素因の症例を前向きに集積し、遺伝子検査と診療を行っている。これまでの症例登録から得られた血栓症例より、臨床像の多様性と後天性因子が明らかになった。新生児は抗凝固因子の活性値から遺伝性血栓症の診断が困難であり、効率的な遺伝子診断を求めて遺伝子解析パネル作成した。全国の周産期母子医療センターと新生児・小児診療施設を対象に一次調査を行い、血栓症の疫学を調査した。今後新規治療法の保険適応に向けた診療アルゴリズムの確立を目指す。

A. 研究目的

新生児期および小児期発症の特発性血栓症は稀少であるが、集中治療や周術期医療の進歩、および疾患認知の普及に伴い増加傾向にある。新生児期はとりわけ血栓症の危険が高く、本邦の新生児集中治療施設における発症頻度は、この10年で約2倍に増加した。私たちはこれまで、血栓症は

新生児期と Adolescents and Young Adults (AYA) 世代の発症が多いこと、新生児～乳児期発症例はプロテインC (PC) 欠乏症が多く、AYA 世代発症例にはプロテインS (PS) とアンチトロンビン (AT) 欠乏症が多いこと、さらに胎児水頭症、頭蓋内出血、電撃性紫斑病など成人とは異なる発症様式を呈することを報告してきた。さ

らに新生児期の PC と PS 活性値の基準範囲を設定し、PC 活性値と PC/PS 活性比が遺伝子変異の診断に有用であることを示した。本研究班で私たちは、新生児・小児血栓症の包括的な診療アルゴリズムの確立を目指して、「特発性血栓症（小児領域）診療ガイドの策定」を分担する。

B. 研究方法

九州大学病院小児科及び検査部で、血栓性素因の症例を前向きに集積し、遺伝子検査と診療を行った。本研究計画は九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会（448-02）の承認を受けている。

C. 研究結果

1) 新生児血栓症の全国調査

全国の周産期母子医療センター（総合周産期 57 施設、地域周産期 75 施設）と新生児・小児診療施設（うち大学病院 120 施設、200 床以上の小児科専門医研修施設 325 施設）に一次調査票を送付した。調査対象は、2014 年 1 月 1 日から 2018 年 12 月 31 日までの期間に、日齢 28 までに新生児血栓症と診断もしくは疑われた新生児とした。総計 744 施設のうち、470 施設（63.1%）より回答があり、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。

症例提示の同意を得た施設を対象に、二次調査票を送付した。二次調査では、個別の症例調査と高次医療（移植医療、特異的因子補充療法、新規抗凝固療法等）の診療実績を問うものとした。117 名に二次調査

票を送付、回答なし 40 名、日齢 28 以降発症 1 名、出血病変のみ 1 名を除く 74 名で解析を行った。遺伝性 PC 欠乏症は 6 例報告され、うち 5 例が当院で遺伝子解析が行われていた。新生児では、直接経口抗凝固薬（DOAC）の使用例が 1 例報告され、プロトロンビン複合体濃縮製剤（PCC）使用例は報告されなかった。

2) 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査

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。公益財団法人かずさ DNA 研究所の協力で、PC（*PROC*）、PS（*PROS1*）およびアンチトロンビン（*SERPINC1*）を含む遺伝子解析パネル作成した。*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。現在レジストリでパネル検査の同意が得られた検体より解析を進めている。

D. 考察

今回の調査で算出された年間推定患者数は、福岡県の新生児診療施設への入院率は全出生児の 9.07%を換算すると、入院当たり 0.039%となり、2012 年度（0.063%）と 2004 年度（0.031%）の全国調査と同等であった（川口ら、日本産婦人科・新生児血液学会誌 2012）。推定患者数と遺伝子解

析例の整合性が高いことより、私たちが構築している疾患レジストリの悉皆性の高さを確認することができた。

E. 結論

遺伝性 PC 欠乏症の重症例に対する根治治療として、肝移植も日本で成功している。特異的因子補充療法 (吉田ら、日本小児血液・がん学会雑誌 2018) (Ogiwara K et al. Int J Hematol 2019) と新規凝固療法 (Boey JP et al. Br Haematol 2016) についても報告された。今後、パネル診断の解析効率を高め、新しい診療ガイドラインの確立を目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K, Ishimura M, Ohga S. Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3. J Allergy Clin Immunol Pract. 2020 Jan 28.
2. Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S. Transcutaneous blood gas monitoring among neonatal intensive care units in Japan. Pediatr Int. 2020 Feb;62(2):169-174.
3. Taira R, Inoue H, Sawano T, Fujiyoshi J, Ichimiya Y, Torio M, Sanefuji M, Ochiai M, Sakai Y, Ohga S. Management of apnea in infants with trisomy 18. Dev Med Child Neurol. 2019 Nov 25.
4. Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S. Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. Int J Hematol. 2020 Jan;111(1):131-136.
5. Matsushita Y, Sakai Y, Torio M, Inoue H, Ochiai M, Yasuoka K, Kurata H, Fujiyoshi J, Ichiyama M, Taguchi T, Kato K, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan (NRNJ). Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan. J Perinatol. 2019 Nov;39(11):1472-1479.
6. Ochiai M, Nagata H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S. Critical association of Pallister-Hall syndrome and congenital heart disease. Pediatr Int. 2019 Aug;61(8):827-828.
7. Ishimura M, Ohga S. [Cancer predisposition in inherited bone marrow failure syndromes and primary immunodeficiency diseases]. Rinsho Ketsueki. 2019;60(6):702-707.
8. Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome KI, Ohga S. Systemic Epstein-Barr Virus-Positive T/NK

- Lymphoproliferative Diseases With SH2D1A/XIAP Hypomorphic. *Front Pediatr.* 2019 May 21;7:183.
9. Yasuoka K, Inoue H, Egami N, Ochiai M, Tanaka K, Sawano T, Kurata H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. Late-Onset Circulatory Collapse and Risk of Cerebral Palsy in Extremely Preterm Infants. *J Pediatr.* 2019 Sep;212:117-123. e4.
 10. Ichimiya Y, Sonoda M, Ishimura M, Kanno S, Ohga S. Hemorrhagic Pneumonia as the First Manifestation of Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with Immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2019 Apr;39(3):264-266.
 11. Ogiwara K, Nogami K, Mizumachi K, Nakagawa T, Noda N, Ohga S, Shima M. Hemostatic assessment of combined anticoagulant therapy using warfarin and prothrombin complex concentrates in a case of severe protein C deficiency. *Int J Hematol.* 2019 Jun;109(6):650-656.
 12. Taguchi T, Yanagi Y, Yoshimaru K, Zhang XY, Matsuura T, Nakayama K, Kobayashi E, Yamaza H, Nonaka K, Ohga S, Yamaza T. Regenerative medicine using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): a promising new treatment in pediatric surgery. *Surg Today.* 2019 Apr;49(4):316-322.
 13. Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, Taguchi T, Ohga S, Yamaza T. Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells converted from stem cells from human exfoliated deciduous teeth in fulminant Wilson's disease. *Sci Rep.* 2019 Feb 7;9(1):1535.
 14. Kurata H, Ochiai M, Inoue H, Ichiyama M, Yasuoka K, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Honjo S, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. A nationwide survey on tracheostomy for very-low-birth-weight infants in Japan. *Pediatr Pulmonol.* 2019 Jan;54(1):53-60.
 15. Hagio Y, Shiraishi A, Ishimura M, Sonoda M, Eguchi K, Yamamoto H, Oda Y, Ohga S. Posttransplant recipient-derived CD4(+) T-cell lymphoproliferative disease in X-linked hyper-IgM syndrome. *Pediatr Blood Cancer.* 2019 Mar;66(3):e27529.
 16. Ichiyama M, Inoue H, Ochiai M, Ishimura M, Shiraishi A, Fujiyoshi J, Yamashita H, Sato K, Matsumoto S, Hotta T, Uchiumi T, Kang D, Ohga S. Diagnostic challenge of the newborn patients with heritable protein C deficiency. *J Perinatol.* 2019 Feb;39(2):212-219.
 17. Sonoda Y, Yamamura K, Ishii K, Ohkubo K, Ihara K, Sakai Y, Ohga S. A Child with Prostaglandin

I(2)-associated Thyrotoxicosis: Case Report. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2019 May 28;11(2):207-210.

18. Kinjo T, Inoue H, Kusuda T, Fujiyoshi J, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Koga Y, Hara T, Ohga S. Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. Pediatr Neonatol. 2019 Aug;60(4):382-388.

2. 学会発表

1. Ochiai M, Ichiyama M, Ishimura M, Hotta T, Uchiumi T, Ishiguro A, Nishikubo T, Shima M, Suenobu T, Osamu O, Kang D, Ohga S. Next-generation diagnostic strategy for pediatric-onset heritable thrombophilia in Japan. The 8th East Asia Hemophilia Forum, Aug 8-10, 2019, Tianjin, China
2. 落合正行、市山正子、石村匡崇、大賀正一：平成30年度進捗報告 平成30年度 難治性疾患等政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」第1回班会議 2019年1月11日 福岡市
3. 市山正子、石村匡崇、落合正行、石黒精、末延聡一、山座孝義、西久保敏也、嶋緑倫、堀田多恵子、内海健、康東天、大賀正一：平成30年度 難治性疾患等

政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」平成30年度AMED6事業報告会 2019年2月7-8日 東京都

4. 落合正行、市山正子、石村匡崇、大賀正一：令和元年度進捗報告 1. 新生児血栓症の全国調査報告 2. 遺伝子パネル検査の検証 令和元年度 難治性疾患等政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」第1回班会議 2019年11月8日 福岡市
5. Nina Lehartová、落合正行、安岡和昭、藤吉順子、井上普介：Standard erythroferrone levels in very low birth weight infants during the neonatal period 第64回日本新生児成育医学会学術集会 2019年11月27-29日 鹿児島市
6. 井上普介、澤野徹、藤吉順子、金城唯宗、落合正行：18トリソミー児の無呼吸に対する管理と予後 第64回日本新生児成育医学会学術集会 2019年11月27-29日 鹿児島市

G. 知的財産権の出現・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

先天性血栓性素因の分子病態解析：
SERPINC1 遺伝子異常の分子病態解析

研究分担者：松下 正 名古屋大学医学部附属病院 教授

研究要旨

先天性アンチトロンビン (AT) 欠乏症・異常症は常染色体優性遺伝疾患で、大部分はヘテロ接合体として認められる。患者の 80~90%は、50~60 歳までに血栓症を発症し、外傷、手術、妊娠、経口避妊薬の服用などをきっかけとすることが多い。抗原量低下による AT 欠乏症は Type1 として分類され、AT 分子異常症は Type2 に分類される。我々はこれまでに 21 例の AT 欠乏症・異常症における AT 遺伝子 (*SERPINC1*) の遺伝子変異解析を行い、8 つの新規変異を含む 19 の *SERPINC1* 変異を同定した。遺伝子解析を行った 21 例の *SERPINC1* 変異の内訳は、ミスセンス変異 9 例 (42.9%)、ナンセンス変異 3 例 (14.3%)、スプライスサイト変異 1 例 (4.8%)、小規模塩基挿入 2 例 (9.5%)、小規模塩基欠失 2 例 (9.5%)、大規模欠失 4 例 (19.0%) であった。*SERPINC1* は short interspersed nuclear element (SINE, 短鎖散在反復配列) の 1 種である *Alu* を遺伝子内に 10 個、5' フランキング領域を含めると 14 個も保持する特徴的な遺伝子であり、大規模欠失の頻度が高い。我々の検討でも、大規模欠失とした 4 例のうち 2 例が *Alu* 関連のエクソン欠失であった。一方、*Alu* 非関連 *SERPINC1* 構造異常の症例は、*SERPINC1* イントロン 6 から近傍の *ZBTB37* までを含む 35 kbase の大欠失例と、*SERPINC1* 全欠失例であった。これら *Alu* 非関連構造異常の染色体再構成メカニズムは、DNA 複製時のエラーによって生じる fork stalling and template switching (FoSTeS)/microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR) モデルが想定された。

A. 研究目的

先天性血栓性疾患は、遺伝性血栓性素因と定義される遺伝子変異に加えて、環境因子などが複雑に絡み合い発症に至る多因子疾患と考えられる。先天性血栓性疾患の遺伝子診断の意義の一つは血栓症発症リスクの予測であり、妊娠などのライフイベントへの備えや勤務環境などの生活習慣の改善などによって、遺伝性素因を保持する患者に血栓症に対する予防意識を指導することができる。また、2017 年に指定難

病に登録された成人の「特発性血栓症 (遺伝性血栓性素因によるものに限る)」の診断には遺伝学的検査結果が必須であり、先天性血栓性疾患においても病態責任遺伝子の変異同定の重要性は極めて高い。

先天性アンチトロンビン (AT) 欠乏症・異常症は常染色体優性遺伝疾患で、大部分はヘテロ接合体として認められる。患者の 80~90%は、50~60 歳までに血栓症を発症し、外傷、手術、妊娠、経口避妊薬の服用などをきっかけとすることが多い。抗原量

低下による AT 欠乏症は Type1 として分類され、AT 分子異常症は Type2 に分類される。AT 異常症である Type 2 はその分子病態により 3 つに小区分化される。Type 2 reactive site (RS) は AT の活性中心である reactive loop にミスセンス変異を認める。Type 2 heparin binding site (HBS) はヘパリンとの結合部位である AT の N 末端側にミスセンス変異を認める。そして、Type2 pleiotropic effect (PE) は反応部位に近い領域にミスセンス変異を認める多面的影響型とされる。

本研究では、21 症例の先天性 AT 欠乏症・異常症について遺伝子解析を行い、同定した *SERPINC1* 変異の内訳をまとめるとともに、大規模な遺伝子構造異常が認められた症例についてその詳細を解析したので報告する。

B. 研究方法

SERPINC1 解析は、AT 欠乏・分子異常症の約 80% にエクソン内の小規模変異を認めるため、まずダイレクトシーケンスによる全エクソン解析から開始した。全エクソン解析で変異を認めなかった場合、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) や定量 PCR にてゲノム上の遺伝子量解析を行った。遺伝子量解析で異常を認めた場合、Long-range PCR など遺伝子の構造解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、名古屋大学大学院医学系研究科倫理審査委員会の承認のうえ、被験者から書面によるインフォームドコンセントを得て行った。

C. 研究結果

・21 例の AT 欠乏・分子異常症の *SERPINC1* 変異の内訳

我々がこれまでに解析した AT 欠乏症・異常症における、AT 遺伝子 *SERPINC1* 遺伝子変異の内訳は、ミスセンス変異 9 例 (42.9%)、ナンセンス変異 3 例 (14.3%)、スプライスサイト変異 1 例 (4.8%)、小規模塩基挿入 2 例 (9.5%)、小規模塩基欠失 2 例 (9.5%)、大規模欠失 4 例 (19.0%) であった。多くは小規模の変異であるものの、大規模欠失 (>50 塩基) を 19% 認める結果となった。

・ *Alu* 間相同組み換えにより遺伝子大欠失を呈した AT 欠乏症の一例

本症例は妊娠 9 週で深部静脈血栓症を発症した 24 歳女性である。本症例の AT 活性値は 24% であり、家族歴はない (AT 抗原量は未測定)。 *SERPINC1* の全エクソン解析では小規模変異を認めなかった。そこで MLPA による遺伝子量解析を行ったところ、エクソン 5 が健常者との相対値で半量であることが判明した。Long-PCR とダイレクトシーケンスによる解析結果、本症例はイントロン 4 に存在する *Alu4* から、イントロン 5 に存在する *Alu7* に接続する異常構造の *SERPINC1* であることがわかった。

・ *Alu* 非関連遺伝子大欠失を呈した AT 欠乏症の一例

本研究で新たに同定した *Alu* 非関連 *SERPINC1* 構造異常は 2 症例でありそれぞれ、*SERPINC1* イントロン 6 から近傍の *ZBTB37* までを含む 35 kbase の大欠失例と、*SERPINC1* 全欠失例であった。これら *Alu* 非

関連構造異常の染色体再構成メカニズムは、ともに数塩基のマイクロホモロジーを介した遺伝子接続であった。

D. 考察

*SERPINC1*は「*Alu*」という反復配列を多く保持するという特徴を有する遺伝子であることが知られている。*Alu*とは、Short interspersed nuclear element (SINE, 短鎖散在反復配列)と呼ばれる重複配列の1種で、ヒトゲノムの約10%を占めると言われる。*SERPINC1*はこの*Alu*を遺伝子内に10個、5'フランキング領域を含めると14個も保持する特殊な構造をもつ遺伝子である。この*Alu*はそれぞれが相同性の高い配列であるため、*Alu*間で相同組み換えが起こりやすい。今回同定した遺伝子大欠失症例も、4例中2例がこの*Alu*関連相同組み換えによる*SERPINC1*の大規模欠失症例であった。一方、残り2症例は*Alu*非関連大規模欠失であり、数塩基のマイクロホモロジーを介した多段階遺伝子接続が特徴的な変異であった。その遺伝子再構成メカニズムとしては、DNA複製時のエラーによって生じる fork stalling and template switching (FoSTeS)/microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR) が想定された。

E. まとめ

AT欠乏症・異常症21症例において、遺伝子解析を行い、その内訳を提示した。そのうち大規模欠失は4例(19.0%)であり、4例中例が*Alu*関連のエクソン欠失であった。また残り2例は*Alu*非関連*SERPINC1*構造異常であった。今回新たに同定した

*Alu*非関連*SERPINC1*構造異常は*SERPINC1* intron 6から*ZBTB37*までを含む35 kbの大欠失例であった。なお、もう一例の*Alu*非関連*SERPINC1*構造異常は過去に当グループが報告した*SERPINC1*全欠失例である(Kato I et al., 2014. Int. J. Hematol. 100, 200-5.)。これら*Alu*非関連*SERPINC1*構造異常の変異メカニズムは、DNA複製時のエラーによって生じる fork stalling and template switching (FoSTeS)/microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR) が想定された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okamoto, S., N. Suzuki, A. Suzuki, S. Suzuki, S. Tamura, M. Suzuki, N. Takahashi, T. Kojima, T. Kanematsu, T. Kojima, H. Kiyoi, N. Ishiguro, and T. Matsushita. 2019. Successful Perioperative Combination of High-Dose FVIII Therapy Followed by Emicizumab in a Patient with Hemophilia A with Inhibitors. TH Open. 3:e364-e366.
- 2) Inoue, O., M. Osada, J. Nakamura, F. Kazama, T. Shirai, N. Tsukiji, T. Sasaki, H. Yokomichi, T. Dohi, M. Kaneko, M. Kurano, M. Oosawa, S. Tamura, K. Satoh, K. Takano, K. Miyauchi, H. Daida, Y. Yatomi, Y. Ozaki, and K. Suzuki-Inoue. 2019. Soluble CLEC-2 is generated

independently of ADAM10 and is increased in plasma in acute coronary syndrome: comparison with soluble GPVI. *Int. J. Hematol.* 110:285-294.

- 3) Odaira, K., S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, Y. Hattori, M. Tokoro, S. Suzuki, A. Takagi, A. Katsumi, F. Hayakawa, S. Okamoto, A. Suzuki, T. Kanematsu, T. Matsushita, and T. Kojima. 2019. Apparent synonymous mutation F9 c.87A>G causes secretion failure by in-frame mutation with aberrant splicing. *Thromb Res.* 179:95-103.
- 4) Tamura, S., E. Hashimoto, N. Suzuki, M. Kakihara, K. Odaira, Y. Hattori, M. Tokoro, S. Suzuki, A. Takagi, A. Katsumi, F. Hayakawa, A. Suzuki, S. Okamoto, T. Kanematsu, T. Matsushita, and T. Kojima. 2019. Molecular basis of SERPINC1 mutations in Japanese patients with antithrombin deficiency. *Thromb Res.* 178:159-170.
- 5) 田村彰吾, 井上克枝, 尾崎由基男, 早川文彦, and 小嶋哲人. 2019. CLEC-2/PDPN axis を介した細動脈近傍における骨髄巨核球造血微小環境. *臨床血液.* 60:834-842.

2. 学会発表

- 1) 第 20 回日本検査血液学会学術集会 (2019 年 7 月 6 日) シンポジウム「最近の血栓止血異常のとらえかた～検

査室や研究室から～」SY-2 先天性凝固異常症の遺伝子解析「解析の Strategy と Pitfall」田村彰吾、高木明、早川文彦、小嶋哲人

- 2) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-016 プロトロンビン R593L マウスの作製と解析 鈴木 伸明, 鈴木 敦夫, 鈴木 幸子, 田村 彰吾, 高木 明, 小嶋 哲人, 松下 正
- 3) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-017 血小板・巨核球上の C 型レクチン様受容体 (CLEC-2) が, 赤血球造血に及ぼす役割 大竹 志門, 白井 俊光, 築地 長治, 佐々木知幸, 田村 彰吾, 尾崎由基男, 井上 克枝
- 4) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-053 P-001 int1h-1 を介した組換えではあるが Inv1 ではなく F8 イントロン 1 での複雑な大規模欠失挿入変異による重症血友病 A 所 真昼, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 垣原美紗樹, 服部 有那, 大平 晃也, 鈴木 幸子, 高木 明, 早川 文彦, 岡本 修一, 兼松 毅, 松下 正, 小嶋 哲人
- 5) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-054 P-002 F9 サイレント変異 c.87A>G(p. Thr29 =>) に起因するスプライシング異常の分子病態解析 大平 晃也, 田村 彰吾, 所 真昼, 垣原美紗樹, 服部 有那, 鈴木 幸子, 高木 明, 早川 文彦, 岡本 修一, 兼松 毅, 鈴木 伸明, 松下 正, 小嶋 哲人
- 6) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会

- (2019年6月開催) 0-056 P-004 新規伸長型変異を認めた先天性血液凝固第 XI 因子欠乏症の 1 例 早川 友梨, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 大平 晃也, 垣原美紗樹, 服部 有那, 所 真昼, 河島史華, 鈴木 幸子, 早川 文彦, 高木 明, 岡本 修一, 兼松 毅, 松下 正, 小嶋 哲人
- 7) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019年6月開催) P-024 産科関連静脈血栓症における血栓性素因検索 - 名古屋大学医学部附属病院における症例 第 2 報- 鈴木 幸子, 垣原美紗樹, 服部 有那, 大平 晃也, 所 真昼, 河島 史華, 早川 友梨, 岡本 修一, 兼松 毅, 中野 知子, 今井 健史, 牛田 貴文, 森山 佳則, 小谷 友美, 鈴木 伸明, 田村 彰吾, 早川 文彦 小嶋 哲人, 松下 正
- 8) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019年6月開催) P-063 特発性血小板減少性紫斑病の病勢に対し, サイトメガロウイルス再活性化の関与が疑われた 2 例 兼松 毅, 鈴木 伸明, 岡本 修一, 鈴木 敦夫, 川上 萌, 三田 直美, 田村 彰吾, 小嶋 哲人, 清井 仁, 松下 正
- 9) ISTH2019 PB0212 A Complex F8 Rearrangement Associated with Template Switching and intlh-related Homologous Recombination in a Patient with Severe Hemophilia A. M. Tokoro, S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, Y. Hattori, K. Odaira, S. Suzuki, A. Takagi, F. Hayakawa, S. Okamoto, T. Kanematsu, T. Matsushita, T. Kojima
- 10) ISTH2019 PB0217 F9 c.87A>G is a Double-faced Deleterious Mutation which Causes a Synonymous and Inframed-mutant FIX due to an Aberrant mRNA Splicing. K. Odaira, S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, Y. Hattori, M. Tokoro, S. Suzuki, A. Takagi, A. Katsumi, F. Hayakawa, S. Okamoto, A. Suzuki, T. Kanematsu, T. Matsushita, T. Kojima
- 11) ISTH2019 PB0218 An Inv22-like F8 Inverted Disruption in Severe Hemophilia a Brothers Possibly Occurring from Template Switching between Sister Chromatids. M. Kakihara, S. Tamura, M. Tokoro, K. Odaira, Y. Hattori, S. Suzuki, F. Hayakawa, M. Ogawa, T. Kanematsu, N. Suzuki, T. Matsushita, T. Kojima
- 12) ISTH2019 PB0654 Genetic Abnormalities of Japanese Patient with Symptomatic- and Asymptomatic-dysfibrinogenemia. Y. Hattori, S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, S. Suzuki, K. Odaira, M. Tokoro, F. Hayakawa, S. Okamoto, T. Kanematsu, T. Matsushita, T. Kojima

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。