

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
分担研究報告書

自己免疫性出血症治療の「均てん化」のための実態調査と「総合的」診療指針の作成
に関する研究

分担研究課題 調査と実験の実施（主に V/5 因子抗体症例）：
凝固波形（CWA）の標準化と修正 CWA 法の開発

研究分担者 和田英夫 三重大学医学系研究科 リサーチアソシエイト

研究要旨

活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）では、F_{II}濃度が低下する検体では、APTT試薬により凝固時間が異なり、標準化が必要と考えられた。また、従来のAPTTやプロトロンビン時間（PT）に換る、生理的凝固反応測定系としてCWA/sTFを開発した。少量の組織因子（TF）によるCWA/sTFは、血小板の異常による止血異常も反映し、バイパス療法のモニターにも有用であった。

A．研究目的

従来の活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）やプロトロンビン時間（PT）は、過剰のリン脂質、組織因子（TF）、接触因子の活性化物質を含み、生理的な凝固反応を反映していない。インヒビターはAPTT法に基づいて測定されるので、凝固波形を用いて、インヒビター測定法の改良を目的とする。

B．研究方法

1) HemosIL APTT-SP, HemosIL SynthASil, STA Cephascreen, STA PTT Automate, C.K. Prest, Coagpia APTT-N, Thrombocheck APTT-SLA, Thrombocheck APTT, Dade[®] Actin[®] FS Activated PTT Reagent, Dade[®] Actin[®] FSL Activated PTT Reagent, Dade[®] Actin[®] FSL Activated Cephaloplastin Reagent, Pathromtin[®] SL の 12 種類の APTT 試薬を用いて、CWA-APTT を測定した。検体は F_{II}濃度が 100%、10%、1%の血漿を用いた。
2) PT 試薬（HemosIL RecombiPlasTin 2G）を希釈して、正常血漿を活性化するが F_{II}欠乏血漿を活性化しない、希釈濃度を決定する。
3) 2)で決定した系（CWA/sTF と呼ぶ）で、多血小板血漿（PRP）を持ちることにより、血小板減少症の止血異常を同定する。

（倫理面への配慮）

当院の院内倫理委員会より研究実施の承認を得た。

C．研究結果

1) F_{II}濃度が 100%では、12 の APTT 試薬で波形変化は認められなかったが、F_{II}濃度が低下するに従い、APTT 試薬の波形に著明な差が認められた。

2) 3000 倍希釈 PT 試薬は、正常血漿を活性化するが F_{II}欠乏血漿を活性化しなかった。この系を用いて、F_{II}活性の測定が可能であり、APTT 法による F_{II}活性との相関は良好であった。

3) PRP を用いた CWA/sTF は、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）のピーク高が低下し、ループスアンチコアグulant（LA）のピーク時間が延長し、ITP と LA の合併例の、ピーク時間と高さの両者の異常をきたした。後天性血友病 A のバイパス療法のモニターでは、CWA/APTT は活性化プロトロンビン複合体製剤（APCC）に、CWA/sTF は rhF_{IIa} に有用であった。

D．考察

インヒビター測定の基となる APTT で、F_{II}濃度の低下により、APTT 試薬で値が異なった。今後、APTT 試薬の標準化が必要になるであろう。また、低濃度の TF による CWA/sTF では、血小板の凝固系に対する作用が確認された。CWA/sTF により、ITP や LA、インヒビター症例の鑑別がより容易になると考えられた。また、CWA/sTF は後天性血友病などにおけるバイパス療法のモニターにも有用であった。

E．結論

後天性自己免疫性凝固因子欠乏症の診断には、APTT試薬の標準化が必要である。また、少量のTFと特殊なリン脂質を用いた、CWA/sTFは血小板異常による止血異常の診断や、バイパス療法のモニターにも有用であった。

F．健康危険情報

特になし

G . 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

1. Suzuki K, Matsumoto T, Iwashita Y, Ishikura K, Fujioka M, Wada H, Katayama N, Imai H. Clinicopathological features of TAFRO syndrome complicated by acquired hemophilia A and development of cardiopulmonary arrest that were successfully treated with VA-ECMO and tocilizumab. *Int J Hematol.* 2019; 109(6): 737-743
2. Habe K, Wada H, Higashiyama A, Akeda T, Tsuda K, Mori R, Kakeda M, Yamanaka K, Mizutani H. Elevated plasma D-dimer levels in dermatomyositis patients with cutaneous manifestations. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1410.
3. Iba T, Arakawa M, Mochizuki K, Nishida O, Wada H, Levy JH. Usefulness of Measuring Changes in SOFA Score for the Prediction of 28-Day Mortality in Patients with Sepsis-Associated Disseminated Intravascular Coagulation. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019 Jan-Dec 25:1076029618824044
4. Yamashita Y, Suzuki K, Matsumoto T, Ikejiri M, Ohishi K, Katayama N, Suzuki-Inoue K, Wada H. Elevated plasma levels of soluble C-type lectin-like receptor 2 (CLEC2) in patients with thrombotic microangiopathy. *Thromb Res.* 2019; 178: 54-58
5. Suzuki K, Wada H, Matsumoto T, Ikejiri M, Ohishi K, Yamashita Y, Imai H, Iba T, Katayama N. Usefulness of the APTT waveform for the diagnosis of DIC and prediction of the outcome or bleeding risk. *Thromb J* 2019; 17:12
6. Kageyama Y, Matsumoto T, Tawara I, Wada H, Katayama N. Life-Threatening Tongue and Retropharyngeal Hemorrhage in a Patient with Hemophilia A with Inhibitors. *Am J Case Rep.* 2019;20: 1022-1026
7. Suzuki Y, Shiba M, Wada H, Yasuda R, Toma N, Suzuki H. Case of Hemorrhagic Moyamoya Disease Associated with Von Willebrand Disease. *World Neurosurg.* 2019; 130: 335-338
8. 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.
9. Kawano N, Wada H, Uchiyama T, Kawasugi K, Madoiwa S, Takezako N, Suzuki K, Seki Y, Ikezoe T, Hattori T, Okamoto K. Analysis of the association between resolution of disseminated intravascular coagulation (DIC) and treatment outcomes in post-marketing surveillance of thrombomodulin alpha for DIC with infectious disease and with hematological malignancy by organ failure. *Thromb J.* 2020; 18: 2.

1) 総説・著書

1. OMatsumoto T, Wada H, Ohishi K, Yamashita Y, Ikejiri M, Katayama N. Comments to: An Evaluation of Hemostatic Abnormalities in Patients With Hemophilia by APTT Waveform, Peak Heights of APTT Waveform Are Useful for Diagnosing Hemophilia or Inhibitor. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019 Jan-Dec; 25: 1076029618824419
2. Iba T, Watanabe E, Umemura Y, Wada T, Hayashida K, Kushimoto S. Japanese Surviving Sepsis Campaign Guideline Working Group for disseminated intravascular coagulation, Wada H. Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and its differential diagnoses. *J Intensive Care.* 2019 May 20; 7: 32
3. Iba T, Levy JH, Thachil J, Wada H, Levi M. Scientific and Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis and Haemostasis; The progression from coagulopathy to disseminated intravascular coagulation in representative underlying diseases. *Thromb Res.* 2019 Apr 29; 179:11-14.
4. 和田英夫. 播種性血管内凝固. 未来型血液治療学. 編集小松則夫. 中外医学社. 2019;263-269.
5. 和田英夫. 血栓性微小血管症. 診療ガイドライン UP-TO-DADE 2020-2021. 門脇 孝、小室 一成、宮地良樹監修. メディカルレビュー社. 大阪市. 2020;513-517

. 学会発表

1) 特別講演・シンポジウム等

1. 和田英夫. 凝固波形解析 (CWA) の有用性. プロジェクト報告. 血栓・止血専門委員会. 第59回日本臨床化学会年次学術集会. 仙台国際センター会議棟. 2019年9月27日 29日

2) 一般演題

1. Wada H. Clot wave form analysis for disseminated intravascular coagulation. SSC sessions “Disseminated intravascular coagulation” the XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Hemostasis. 2019. July 6-10, Melbourne

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

令和 2 年 3 月 10 日

国立保健医療科学院長 殿

機関名 国立大学法人三重大学
 所属研究機関長 職名 学長
 氏名 駒田 美弘



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 難治性疾患政策研究事業
2. 研究課題名 自己免疫性出血症治療の「均てん化」のための実態調査と「総合的」診療指針の作成
3. 研究者名 (所属部局・職名) 医学系研究科 リサーチアソシエイト
(氏名・フリガナ) 和田 英夫・ワダ ヒデオ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	三重県立総合医療センター	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分組研究者の所属する機関の長も作成すること。