

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

小児・新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）の

効果的診断と治療予防法の確立に関する研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大賀 正一

平成 26 (2014) 年 3 月

目次

- . 班員・研究協力者名簿・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

- . 総括研究報告書
小児・新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）の
効果的診断法と治療管理法の確立に関する研究・・・・・・・・・・
大賀 正一

- . 分担研究報告書
1. 血栓塞栓症家系の遺伝的素因に関する研究
～小児・周産期領域における三大抗凝固因子の遺伝子解析～
・・
康 東天, 落合 正行, 福嶋 恒太郎, 堀田 多恵子, 浦田 美秩代,
古賀 結, 大賀 正一
2. 周産期における遺伝性血栓症の診断と治療に関する研究・・・・・・・・
金子 政時
3. 周産期領域の栓友病診断と治療管理ガイドラインの
作成に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
嶋 緑倫
4. 血栓症患者の遺伝子異常についての検討・・・・・・・・・・・・・・・・
瀧 正志
5. 新生児期の遺伝性出血症と小児のワルファリン治療法に関する研究
効果的診断法の確立と抗血栓因子補充のための新生児への
新鮮凍結血漿（FFP）投与基準設定・・・・・・・・
高橋 幸博, 中川 隆志, 山口 直子, 谷口 恵理, 豆田 清美, 片岡 美香
倉本 智津子, 内池 敬男
6. 新生児血栓症の疫学に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・
石黒 精

- . 班会議
- . 研究成果の刊行に関する一覧表
- . 研究成果の刊行物・別刷

小児・新生児期における遺伝性血栓症(プロテイン C 異常含む)の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究班
 班員・研究協力者名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	大賀 正一	九州大学大学院医学研究院 周産期・小児医療学	教 授
研究分担者	康 東天	九州大学大学院医学研究院 臨床検査医学	教 授
	嶋 緑倫	奈良県立医科大学小児科学	教 授
	落合 正行	九州大学病院・総合周産期母子医療センター-新生児内科部門	助 教
	福嶋恒太郎	九州大学病院・総合周産期母子医療センター-母性胎児部門	講 師
	金子 政時	宮崎大学医学部・生殖発達医学講座産婦人科学分野	准 教 授
	高橋 幸博	奈良県立医科大学病院・総合周産期母子医療センター	教 授
	瀧 正志	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院・小児科	教 授
	石黒 精	独立行政法人国立成育医療研究センター-教育研修部血液内科	部 長
研究協力者	吉良龍太郎	福岡市立こども病院・感染症センター 小児神経科	科 長
	本荘 哲	独立行政法人国立病院機構福岡病院・小児科	医 長
	白幡 聡	北九州八幡東病院	院 長
	池ノ上 克	宮崎大学医学部附属病院	院 長

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

小児・新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）の
効果的診断と治療予防法の確立に関する研究

研究代表者 大賀 正一 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 教授

研究要旨

小児に稀とされてきた血栓症は、新生児医療の進歩などを背景に近年増加中である。その発症に関わる要因のうち、抗凝固因子欠乏症 (Antithrombin [AT]、Protein C [PC]及び Protein S [PS]) の小児期からの早期診断が強調されている。しかし、新生児・小児の血栓症診断は難しく治療管理法も確立していない。母子と家族を守るため周産期から小児期に発症する血栓症の診断と治療を確立し、診療ガイドラインの作成をめざして本研究を開始した。

1) 新規発症例の集積

これまでに PC 変異 12 人、PS 変異 2 人及び AT 変異 6 人を同定し、10 歳以上の PC および PS 複合ヘテロ変異例を確認した。小児 PC 欠乏症の重要性が示された。

2) 日本人小児における血栓性素因の遺伝的背景

5年間に小児血栓患者 339 人(後天性:先天性 4:1)を確認した。新生児は同時期に 69 人 (NICU入院当たり0.063%)で過去5年から倍増し、先天性の6人は全てPC欠損症であった。PC欠損を伴う小児血栓症は、過去25年間に27人(遺伝子診断は1/3)で、遺伝子変異のない一過性活性低下も存在した。以上より、小児先天性血栓症の約70%は、三大因子欠乏(PC45%、PS15%、AT10%)だが、成人血栓症の遺伝性背景(PC20%、PS40%、AT10%)と異なることを明らかにした。総合周産期センター集積漏れは極めて少ないことを確認した。

3) 小児期における遺伝性血栓症の効果的診断法

新生児から20歳までの307例に血栓性素因解析を行い、血栓症は1歳未満が最も多いこと、新生児時に頭蓋内病変によるPC異常症が多く、成人と異なる臨床像であること、各因子活性基準値の下限を年齢群(新生児、~2歳、~6歳、7歳以上)の4群に分けると遺伝性3大抗凝固因子欠乏症の効率的なスクリーニングが可能であることを示した。活性測定の標準化、新生児の基準値設定および過凝固の評価方法について検討を継続している。

4) 診療ガイドラインの作成

新生児血栓症の診療指針の骨子を作成して公聴会にて報告し、全国ネットを確立した。臨床像の違いから、新生児期と思春期にわけた指針作成の必要性が明らかとなった。

小児期に発症する血栓症の遺伝的素因に関して分子疫学と臨床像を明らかにした。さらに、診療情報からエビデンスを確立するための全国ネットを新生児領域で立ち上げ、新規発症例を早期診断する体制を整えた。今後後天性を含めたスクリーニングから、基盤データを充実させて、実践的な小児新生児の血栓症の診療ガイドラインの確立をめざす。

研究分担者

康 東天	九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学	教授
嶋 緑倫	奈良県立医科大学小児科学	教授
落合 正行	九州大学病院・総合周産期母子医療センター新生児内科部門	助教
福嶋恒太郎	九州大学病院・総合周産期母子医療センター母性胎児部門	講師
金子 政時	宮崎大学病院・総合周産期母子医療センター	准教授
高橋 幸博	奈良県立医科大学病院・総合周産期母子医療センター	教授
瀧 正志	聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院・小児科	教授
石黒 精	独立行政法人国立成育医療研究センター・教育研修部血液内科	部長

A. 研究目的

Protein S(PS)、Protein C(PC)及びAntithrombin(AT)欠損症は日本人の3大血栓性素因で、FVLeidenが主因の欧米とは異なる。ヘテロ変異の成人は深部静脈血栓症を発症し、ホモ/複合ヘテロ変異の新生児は電撃性紫斑病を起こす。日本人の各変異保有率は成人の活性値からPS 1.8%、PC 0.16%およびAT 0.18%とされる。一方、小児周産期領域については明らかでない。

乳児は生理的に抗凝固因子活性が低い。活性化PCは抗凝固以外に細胞保護・抗炎症作用を有し、PC欠乏が敗血症の重症化因子となる。感染性電撃性紫斑病や脳性麻痺の小児にFVLeidenやPC欠損症が見つかり、同様な小児例(Eur J Pediatr 2009;168:673, Clin Neurophysiol 2010;121:800)を我々も報告してきた。感染後に後遺症を残した児に栓友病が隠れている可能性がある。

産科的塞栓症(羊水塞栓を含む)は日本でも増加し、2008年度は妊産婦死亡の1位となった。3大素因の女性は、分娩が初発血栓の誘因となる。妊婦スクリーニングは児の早期診断と自らの予防に繋がる。3大素因に対する現在の抗凝固療法は不十分で、より安全な周産期管理が妊婦に必要である。遺伝性血栓症母子の包括的診療指針はない。

本研究の目的は、母子の血栓性素因を正確に診断し、遺伝性血栓症母子の診断と治療のガイドラインを確立することである。遺伝子診断と遺伝カウンセリングから家族を支援し、トータルケアの基盤形成をめざす。さらに血栓性素因に関する新規遺伝子の発見に備える。

B. 研究方法

小児・周産期領域における遺伝性血栓症の臨床的意義を明らかにし、診療ガイドラインを作成する。周産母子と小児医療センターを拠点に詳細な調査と凝固線溶スクリーニングを母子に行い、遺伝子解析を行う。周産期医療の支援病院を中心に血栓症による神経眼病変患児のスクリーニングと遺伝子解析を行う。罹患家系の遺伝カウンセリングを行う。血栓性素因のある母を適切に管理し、

児には出生後速やかに診断と治療を行う。九州大学病院総合周産期母子・小児医療センターが構成する「ハイリスク新生児臨床研究ネットワーク」施設群から開始し、日本産婦人科新生児血液学会を活動基盤に全国へ対象施設を広げる。

2年間にこれまでの国内調査結果を統合し、基盤データを確立する。小児期に発症する3大遺伝性血栓症の遺伝子解析を行い、各施設と連携して臨床情報の解析と遺伝カウンセリングをすすめる。新生児および小児期発症の特発性血栓症のうちPC/PS/AT異常症の罹患家系を集積し解析を遂行した。治療経過から、分子疫学に基づく効率的な診断と治療ガイドラインを作成するための基盤データベースを作成する。長期入院中の周産期頭蓋内出血・梗塞例の診療画像記録も解析し疑い例をスクリーニングして、母子と家族に適切に対応する。

以下に具体的方法を記す。

1) 小児周産期領域の遺伝子解析情報(大賀、康、高橋、石黒ほか)

全国の総合・地域周産期母子医療センターの情報と3調査の結果から、遺伝子解析を積極的に継続しデータを充実させる。同時に罹患家系の遺伝カウンセリングを遂行する。主治医と連携をとり家系内の血栓発症予防を行う。新規症例発生ごとにこれを順次実施する。

2) 新生児と母体の診療管理(落合、福嶋、金子、高橋および参加施設)

周産母子センター(母性、新生児)に入院した血栓性素因を疑う妊婦と児に、順次スクリーニングと遺伝子診断を行い適切に診療する。同素因を疑う児には家族解析を行う。

3) 小児科における解析(石黒、嶋、吉良、本荘ほか)

新生児医療後方支援病院小児科の記録から、後方視的に血栓性素因疑い例を選定する。血栓性素因スクリーニングと遺伝子診断を行い必要な家族解析を行う。北部九州の基幹10施設にはTV会議による診療連携を

築く。新生児医療の支援施設である国立病院機構の協力を得る。

4) 血栓性素因スクリーニング、遺伝子解析およびカウンセリング(大賀、康他)

PT, APTT, Fibrinogen, PIC, TAT, D-dimer, VIII:C, 抗Cardiolipin抗体, lupus-anticoagulant, PC・PS 活性 / 抗原, AT 活性, PIVKA, F₁₊₂ 活性, vWF 活性, 血清脂質などをスクリーニングする。PROS1 (15 exons), PROC (9 exons), SERPINC1 (7 exons)の翻訳とプロモーター領域を解析する。欠失を検討する。臨床遺伝医療部で遺伝カウンセリングを行う。

5) 周産期領域の栓友病診療ガイドラインの作成(高橋、嶋、瀧、大賀、白幡、池ノ上他)

母子に効果的なスクリーニング項目を検討する。活性化PC・AT製剤補充の有用性を検討し、治療ガイドラインを作成する。

平成25年度までに拡充した全国からの小児血栓症に関する解析を継続し、臨床及び分子疫学情報の基盤データを充実させる。この結果を反映させた診療ガイドラインを作成して、基盤データを継続診療のための遺伝性血栓症登録へ発展させる。原因不明の若年発症血栓や活性低下例について新規遺伝子解析を始める。分子疫学研究には本荘哲(国立病院機構福岡病院小児科医長・元栃木県立がんセンター疫学研究室長)の協力をえる。

(倫理面への配慮)

全国調査(新生児、小児)は、対象数把握と研究参加に関するもので遺伝子検査を含まない診療情報のみの観察研究であった。しかし、患者登録システムの確立に当たっては遺伝子検査を含む研究であるため、主治医から患者本人もしくは保護者への説明・同意

の取得がなされた上で、申請者が遺伝子解析を行う。ヒト遺伝子研究に該当する場合は、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針に従う。申請者の血栓性素因に関する遺伝子解析研究は所属施設の倫理委員会で承認済み(2011年3月30日継続)であるが、当該研究の参加については主治医が所属するそれぞれの施設の倫理委員会の承認を得る。疾患登録については小児血液がん学会疾患登録事業の疫学研究倫理指針に準拠して臨床研究として行う。調査にあたっては、個人情報の守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。本研究においては、九州大学において患者検体の匿名化を図り、検体の採取にあたって、患者および家族から事前に十分に説明し、文書による同意を得る。九州大学病院では臨床遺伝医療部にて遺伝カウンセリングを行っており、関連施設のカウンセリングも協力して行う。

C. 研究結果

・研究班全体としての研究成果

新生児・小児血栓症の診断と治療を確立するため、その遺伝的背景と診療指針の作成に関して、以下の4つを明らかにした。

1) 新規発症例の集積

本研究班設立後の2年間に全国から解析依頼を受け、PC変異12人、PS変異2人およびAT変異6人を同定し、10歳までは未発症、16歳で発症したPCおよびPS複合ヘテロ変異例を各々確認した。従来の健常成人各因子活性から推定された日本人の3遺伝子変異保有率とは異なる割合で、小児期(とくに新生児期)のPC変異の重要性が示された(Haemophilia 19:378-84,2013)。新規診断例既報告例、疫学データを多面的に可能な限り照合し基盤データを整備した。

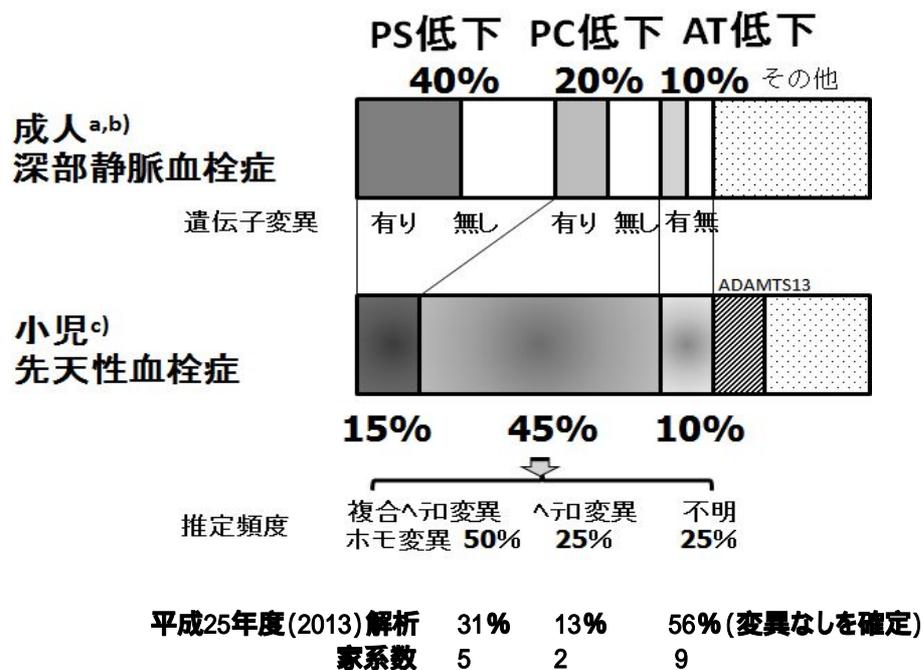


図1. 日本人の成人と小児における血栓性素因の比較

成人は、a) Kinoshita S, et al. Clin Biochem 2005; 38: 908-15.

b) Miyata T, et al. Thromb Res 2009; 124: 14-8.に、

小児は、c) 本研究班のこれまでの資料に基づく。

2) 日本人小児における血栓性素因の遺伝的背景

全国調査から、5年間に小児血栓339人(後天性:先天性 4:1)を確認した。新生児は同時期に69人(NICU入院当たり0.063%)で過去5年から倍増し、先天性の6例は全てPC欠損症であった。PC欠損を伴う小児血栓症は、過去25年間に27人(遺伝子診断は1/3)で、遺伝子変異のない遅れて正常化する例を確認した。以上より、小児先天性血栓症の約70%は、3因子欠乏(PC 45%, PS 15%, AT 10%)であるが、成人血栓症の遺伝性素因(PC 20%, PS 40%, AT 10%)とは異なることを明らかにした (Pediatr Int 55:267-71, 2013)(図1)。全国の総合周産期センターに調査漏れが極めて少ないことを確認した。

3) 小児発症遺伝性血栓症の効果的診断

新生児から20歳までの307例に血栓性素因解析を行い、血栓症は1歳未満が最も多いこと、新生時期には頭蓋内病変によ

るPC異常症が多く、成人と異なる臨床像であること、各因子活性基準値の下限を年齢群(新生児、~2歳、~6歳、7歳以上)の4群に分けると遺伝性3大抗凝固因子欠乏症の効率的スクリーニングが可能なことを示した。

4) 診療ガイドラインの作成

新生児血栓症の診療ガイドライン作成の基本骨子を作成し、診療指針作成に関する公聴会にて報告した。これを評価する全国ネットも確立した。新生児PC欠損症の病型である電撃性紫斑病を想定した補充療法の治療指針案を作成した。一方、臨床像と治療管理法の違いなどから、血栓症の多い新生児期と思春期にわたるガイドライン作成の必要性が明らかとなった。

以上より、新生児・小児期に発症する血栓症の遺伝的素因に関して、日本の分子疫学と臨床像を初めて明らかにした。さらに、診療情報から診断と治療のエビデンスを確立

するための全国ネットを新生児領域でほぼ立ち上げ、新規発症例を早期に診断できる体制になった。

・各分担研究項目の成果

康 東天 九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学 教授

落合 正行 九州大学病院・総合周産期母子医療センター新生児内科部門 助教

血栓塞栓症家系の遺伝的素因～周産期領域における効率的スクリーニング に関する研究

全国から解析依頼をうけ、PC変異12人、PS変異2人及びAT変異6人を同定し、10歳と16歳のPCおよびPS複合ヘテロ変異例を各々見出した。PC活性が従来の基準値では下限域内とされた新生児例(脳梗塞と胎児水頭症)から各2家系を同定した。遺伝性PC欠損症家系の診断には活性基準値を再設定し、新生児ではPC異常が重要で、遺伝子解析を進める効果的スクリーニング法(各因子活性比など)を提唱した。新規診断例と報告例のデータを照合し基盤データを整備した。

新生児は非典型例も含め広く3因子活性と遺伝子解析を継続し、発症時の過凝固状態を評価した。同時期の健常児の基準値を作成して活性比、ビタミンKの影響などから、効率的診断法を検討中である。生理的PC活性上昇が遅延するPC欠乏症の診断意義が明らかになるであろう。

20歳までの307例に血栓性素因解析を行った。各因子活性下限を新たに定義すれば、遺伝性血栓症を効率的に診断できる可能性を示した。新生児期は頭蓋内病変で発症するPC欠損症が、7歳以降は成人型深部静脈血栓塞栓症を発症するPS欠損症が主体であった。生後3か月までのPS活性と乖離した低PC活性から遺伝子診断を進めていく。

嶋 緑倫 奈良県立医科大学小児科学 教授

凝固検査標準化、治療管理ガイドライン作成(小児) に関する研究

本邦遺伝性血栓症3大素因のうち2つはPC経路に關与する。PC経路機能検査

(Thrombopath)はトロンピン生成量からPiCi% (PC-induced coagulation inhibition %)を算出し、PS、PC、FV、FVIIIなどの異常を高感度でスクリーニングできる。我々は反復流産既往妊婦(先天性PS欠損症疑い)のPiCi%と関連因子の経時変化を報告し、さらに不育症妊婦の解析を進めた。妊産婦・新生児の生理的変動もふまえ、本法のような包括的凝固/抗凝固検査が遺伝的血栓症のスクリーニングに有用かを検討している。

国内で汎用されている凝固測定機器を用いて凝固波形解析法における測定試薬や定量的パラメーターの評価を行い凝固波形解析の標準化を試みた(J Thromb Haemost 11:1417-20, 2013)。さらに、凝固系と線溶系のバランスを評価するために従来のトロンピン生成測定法系にプラスミン生成を同時に評価できる測定系を確立した(Thromb Haemost 110:761-8, 2013)。

福嶋 恒太郎 九州大学病院・総合周産期母子医療センター母性胎児部門 講師

血栓性素因を有する母体管理と児の早期診断 に関する研究

PSの生理的な低下と胎児発育遅延との関連について検討し、血栓性素因を認めない胎児発育遅延におけるPS活性は正常妊娠例と比して有意に低下していることを示した。不育症、習慣流産等の疾患でも微小血栓形成による胎盤機能障害が病態に關与していることが明らかとなっており、深部静脈血栓症などの明らかな凝固障害を来した症例のみならず、FGRや不育症についても血栓性素因解析の蓄積と検討を進めた。

抗リン脂質抗体症候群患者の妊娠ではヘパリン及びバイアスピリンを用いた抗凝固療法が提案されているが、PS低下症では妊娠成立後は妊娠の影響と病的低下の鑑別が従来の血液検査法では不可能であり、現状適切な治療の提案が困難となっている。不育症習慣流産等で妊娠後に血栓性素因が明らかとなる症例がある症例に注目し、妊娠中にPS遺伝子解析をおこなうことによって、抗凝固療法適否決定に資することが可能かどうか検討中である。

金子 政時 宮崎大学医学部・生殖発達
医学講座産婦人科学分野 准教授

血栓性素因を有する母体管理と児の早
期診断 に関する研究

小児新生児期における遺伝性血栓症の
新生児を発症前に抽出することは、新生児
予後の改善に繋がる。そこで、血栓性疾患
の素因を持つ妊婦から出生した新生児を、
ハイリスク新生児として疾患の検索を行った。
初年度は当院で管理した母体261名中、脳
梗塞の既往を持つ妊婦と深部静脈血栓症の
既往を持つ妊婦合計2名をcandidateとした。
脳梗塞既往のある妊婦は、血栓症に関する
検索では異常を示さず、帝王切開にて
3114gの男児を出産した。次年度は当院で
管理した母体278名中、脳梗塞の既往を持
つ妊婦と血小板増多症合併妊婦の2名の児
について遺伝性血栓症素因について検索を
行ったが異常はなかった。

高橋 幸博 奈良県立医科大学病院・総
合周産期母子医療センター 教授

新生児の血栓症の病因・病態 に関す
る研究

PC欠乏例の遺伝子診断を実施した。新生
児血栓症(5年毎に実施)サーベイランスと本
研究班のデータベースを照合し基盤データ
の向上を図った。PC診断体制(SEKIUI コア
プレスタ2000、テストチーム RS PC)を整備
し、新生児・乳児のビタミンK欠乏症の診断
検査試薬ピブカルテストの後発診断薬、
PIVKA-II検査法(デタミナーCLピブカルテス
ト)の検査薬を確立した(平成24年11月から
検査可能)。同検査法の確立のため、ワル
ファリン血のPC活性を測定したところ、その
投与量、PT-INRに比較し、極度にPC活性低下
例を認めた。ワルファリン・コントロールが良
好にも関わらず血栓症を反復する例があるこ
とから、原因不明の血栓症例ではPC異常症
も考慮する必要性が示唆された。原因不明
の血栓症や脳梗塞例にPC検査を行いその
意義を検討している。

新生児の各種病態での止血検査に
SEKISUIコアプレスタ2000を用いたテストチ

ームS RPCでのPC活性とACL TOP
300CTSによる総PC・PS制御能のスクリー
ニング検査法であるThrombopathとを同時に測
定することで、新生児各種疾患でのPCの動
態とPC・PS制御能を測定し、PC・PS制御系の
補充療法としての新鮮凍結製剤(FFP)の適
応を検討している。

瀧 正志 聖マリアンナ医科大学横浜市西
部病院・小児科 教授

小児凝固異常症の疫学と診療ガイドラ
イン作成 に関する研究

2013年3月より診療中の遺伝性血栓症患
者の遺伝子解析を開始した。現在まで6家系
10名の遺伝子解析を九州大学に依頼し、そ
の内5家系8名分について解析が終了した。

血栓症の治療および予防薬の抗凝固効
果には大きな個人差が存在する。血栓症治
療薬として使用する場合、投与量の増加に
伴い出血性合併症の頻度が増加する危険
性がトロンビン生成試験の成績より示唆され
る。抗Xa阻害薬を使用する際の有効な凝血
学的モニタリングは未だ確立されていないが、
一部の抗Xa阻害薬においては凝固波形解
析による凝血学的モニタリングが有用である
可能性が示唆された。現在、モニタリングの
精度を高めるため凝固波形解析に用いる最
適な試薬の検討を進めて、診療ガイドライン
へ適切に反映させる予定である。

石黒 精 独立行政法人国立成育医療研
究センター・教育研究部総合診療部血液内
科 部長

小児血栓症の疫学 に関する研究

わが国で初めて小児血栓性疾患の疫学
調査を実施した。5年間の症例を対象とした
一次アンケートによって625例の小児血栓症
患者が報告された。以後二次調査の返送率
を向上させた。二次アンケート調査によっ
て得られた383例について詳細なデータを解
析した。その結果、基準に適合しなかった例
を除いて、63例の先天性血栓素因および
276例の後天性疾患が明らかになった。

国立成育医療研究センターの電子カルテ
を用いて後方視的に開院以来10年間の小

児血栓性疾患を調べた。その結果、全国疫学調査で判明していた以上の124例の症例が明らかになり、日本小児科学会や日本血栓止血学会で成果を発表した。

D. 考察

本研究班を組織した時点で、想定できたことと予想外であった点を考察する。三大抗凝固因子欠損症が血栓症の遺伝的素因として、臨床的に最も重要である。この3疾患は稀少疾患ながらも日本ではFVLとPT多型がない。成人では後天性因子による影響が大きい。以上から、日本人小児を対象とすれば血栓症の遺伝的背景がより明確になると想定した。積極的な遺伝子解析から、2年間で予想以上に症例が集積された。小児患者から未発症の親が診断され、複数の新規家系が発見された。症例数が少なくても小児発症例を細やかに解析すれば素因家系を成人よりも高い確率で診断できることを実証した。

一方、変異がなく活性上昇の成熟機転が遅れる児が確認されたことは、新たな多元的要因(平時は基準値内だがある状況下では急激な活性低下がおこるなど)が推定され、とくに新生児基準値の見直しが必要となった。

全国調査以降診療ネットを確立してから、治療に関する情報には、コンセンサスさえ得られていないものが多いことが明らかになった。海外でも小児と新生児の血栓症診療ガイドラインが最近出始めたが、成人のエビデンスレベルには到底及ばない。本研究班の設立後に日本では使用不可能な組換PC製剤の敗血症に関する効果が否定され、またAT抵抗性による新規栓友病家系が日本から報告された。このことは、日本人小児を対象とした本研究の意義を実感させるものであった。

E. 結論

新生児・小児期に発症する血栓症の遺伝的素因に関して、日本の分子疫学と臨床像を初めて明らかにした。診療情報から診断と治療のエビデンスを確立するための全国ネットを新生児小児領域で新規

発症例を早期に診断できる体制をほぼ確立した。これにより、後天性因子の解析と対策の必要性、治療における確かな情報が極めて少ないことが明らかとなった。

新生児と小児の効率的スクリーニング法を開発し、遺伝子診断を家系単位で進め新規診断例基盤データを集積し、さらに実践的で質の高い小児・新生児血栓症の診療指針策定をめざす。

F. 健康危険情報

治療介入を行う研究でないため、特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, on behalf of the Japan Childhood Thrombophilia Study Group. Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. *Pediatr Int* 55(3): 267-71, 2013
- 2) Ohga S, Kang D, Kinjo T, Ochiai M, Doi T, Ishimura M, Kayamori Y, Urata M, Yamamoto J, Suenobu S, Kanegane H, Ikenoue T, Shirahata A, Hara T: Pediatric presentation and treatment of congenital protein C deficiency in Japan. *Haemophilia* 19(3):378-84, 2013
- 3) Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Taguchi T, Hara T: Clinical outcome of extremely low birth weight infants born at GW22-26: a report from a single institution in Japan. *Neonatology* 105(2):79-84, 2014
- 4) Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T: Limited renal prophylaxis in regular plasmatherapy for heritable ADAMTS13 deficiency. *Pediatr Blood Cancer* 60(9):1557-8, 2013
- 5) Yamamura K, Joo K, Ohga S, Nagata H, Ikeda K, Muneuchi J, Watanabe M, Hara T: Thrombocytosis in asplenia syndrome with congenital heart disease: a previously unrecognized risk factor for thromboembolism. *Int J Cardiol* 167

- (5):2259-63, 2013
- 6) Hoshina T, Nakashima Y, Sato D, Nishi E, Nishio H, Nakgata H, Yamamura K, Doi T, Shiokawa Y, Kang D, Ohga S, Hara T: Staphylococcal endocarditis as the first manifestation of heritable protein C deficiency in childhood. *J Infect Chemother* 2013 (in press)
- 7) Narazaki R, Makimura M, Sanefuji M, Fukamachi S, Akiyoshi H, So H, Yamamura K, Doizaki S, Kojima S, Ihara K, Hara T, Ohga S: Bilateral stenosis of carotid siphon in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Brain Dev* 35(7): 690-3, 2013
- 8) Matsunaga Y, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Fukumoto Y, Ito N, Doi T, Kang D, Hara T: Neonatal asphyxia and renal failure as the presentation of severe protein C deficiency. *J Perinatol* 33(3): 239-41, 2013
- 9) Unal S, Gumruk F, Yigi S, Tuncer M, Tavi B, Cil O, Takci S, Urata M, Hotta T, Kang D, Cetin M: A novel mutation in protein C gene (PROC) causing severe phenotype in neonatal period. *Pediatr Blood Cancer* 61(4):763-4, 2014
- 10) Uchiumi T, Tanamachi H, Kuchiwaki K, Kajita M, Matsumoto S, Yagi M, Kanaki T, Kang D: Mutation and functional analysis of ABCC2/multidrug resistance protein 2 in a Japanese patient with Dubin-Johnson syndrome. *Hepatol Res* 43(5):569-75, 2013
- 11) Oba T, Yasukawa H, Hoshijima M, Sasaki K, Futamata N, Fukui D, Mawatari K, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Nakamura K, Kang D, Yajima T, Knowlton KU, Imaizumi T: Cardiac-specific deletion of SOCS-3 prevents development of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 28: 59(9):838-52, 2012
- 12) Matsumoto T, Nogami K, Shima M: Simultaneous measurement of thrombin and plasmin generation to assess the interplay between coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 110(4):761-8, 2013
- 13) Shima M, Thachil J, Nair SC, Srivastava A: Towards standardization of clot waveform analysis and recommendations for its clinical applications. *J Thromb Haemost* 11(7):1417-20, 2013
- 14) Fujita Y, Satoh S, Sugitani M, Yumoto Y, Fukushima K, Wake N: Clinical utility of augmentation index as a new parameter of peripheral circulation in human fetuses. *Early Hum Dev* 89(8):601-5, 2013
- 15) Anami A, Fukushima K, Takasaki Y, Sumida T, Waguri M, Wake N, Murashima A: The predictive value of anti-SS-A antibodies titration in pregnant women with fetal congenital heart block. *Mod Rheumatol* 23(4):653-8, 2013
- 16) Kaneko M, Sameshima H, Minematsu T, Kusumoto K, Yamauchi A, Ikeoue T. Maternal IgG avidity, IgM and ultrasound abnormalities: combined method to detect congenital cytomegalovirus infection with sequelae. *J Perinatol* 33(11):831-5, 2013
- 17) Mamemoto K, Kubota M, Nagai A, Takahashi Y, Kamamoto T, Minowa H, Yasuhara H: Factors associated with exclusive breastfeeding in low birth weight infants in NICU discharge and the start of complementary feeding. *Asia Pac J Clin Nutr* (22): 270-5, 2013
- 18) Takahashi D, Takahashi Y, Matsui M, Araki S, Kubo K, Sato H, Shirahata A: Evaluation of hypercoagulability using soluble fibrin monomer complex in such newborns. *Pediatr Int* (155):151-6, 2013
- 19) Imamura H, Akioka Y, Taki M, Terawawa F, Okumura N, Hattori M: Successful living-related kidney transplantation in a boy with inherited dysfibrinogenemia. *Pediatr Nephrol* 17(7): E161-E164, 2013
- 20) 大賀正一：エキスパートのための産婦人科・新生児領域の血液疾患診療の手引き「新生児血栓症」pp. 印刷中, 日本産婦人科新生児血液学会編集 2013
- 21) 大賀正一：小児期に発症する遺伝性血栓症～プロテインCの重要性～日本小児血液・がん学会推薦総説 日本小児科学会雑誌117巻10号 1538-44, 2013
- 22) 市山正子、大賀正一、松永友佳、金城唯宗、落合正行、堀田多恵子、浦田美秩代、古賀結、西村美香、康東天、原寿郎：小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値日本産婦人科・新生児血液学会誌2013;

- 23(1):25-2
- 23) 一宮優子, 石黒 精, 中館尚也, 前川貴伸, 藤田秀樹, 國島伸治, 阪井裕一: ロミプロスチムが慢性自己免疫性血小板減少症に奏功して開心術を施行し得た小児例. 日小血がん誌 2013 (印刷中)
- 24) 清水 武, 石黒 精, 高柳隆章, 松井猛彦, 利根川尚也, 前川貴伸, 板橋家頭夫: アデノウイルス胃腸炎とマイコプラズマ肺炎に続発したループスアンチコアグulant陽性・低プロトロンビン血症. 日臨免誌2013 (印刷中)
- 25) 小川千登世, 真部 淳, 小原 明, 石黒精: 急性リンパ性白血病L-アスパラギナーゼ療法関連凝固異常に対する国内外の支持療法の現状. 臨床血液 2013; 54(3): 316-8
- 26) 山本真梨子, 中館尚也, 井口梅文, 益田博司, 阪井裕一, 石黒 精: 遺伝子組み換え第IX因子製剤の持続輸注による小児期血友病Bの開頭術周術期管理. 臨床血液 2013; 54(3): 300-4
- 27) 石村匡崇, 大賀正一: 血友病性偽腫瘍「血液症候群」pp. 555-56, 日本臨牀社 2013
- 28) 土居岳彦, 大賀正一: Glanzmann型血小板無力症(タイプ) 「血液症候群」 pp. 420-423, 日本臨牀社 2013
- 29) 瀧本智仁, 大賀正一: タイプ 血小板無力症 日本臨床別冊「血液症候群」 pp. 424-428, 日本臨牀社 2013
- 30) 大賀正一: 小児科特集 3. 感染症と血液疾患 感染症Today Journal vol.3. pp. 5-6, 2013
- 31) 石黒 精: 出血傾向. 小児検査実践マニュアル, 松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之など(編), 診断と治療社, 2013 (印刷中)
2. 学会発表
- 1) Ohga S. Salvage treatment of refractory LCH and HLH. The 54th Meeting of Korean Society of Hematology, Korea Histiocytosis Working Party Symposium, Changwon, Korea, November 8-9, 2013. (invited speaker)
- 2) Ohga S. Heritable thrombophilias in Japanese children. The 5th Congress of East Asia, Hemophilia Forum (EAHF), Seoul, Korea, September 7-8, 2013. (invited speaker)
- 3) Yamamura K, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Takada H, Ohga S, Hara T. Early progression of atherosclerosis in children with cryopyrin-associated periodic syndrome. The 9th Asian Society for Pediatric Research & 20th Perinatal Society of Malaysia Annual Congress. Sarawak, Malaysia, 2013.
- 4) 大賀正一 小児の血栓症～感染症と止血機構のかかわり～ セミナー3 基礎から臨床へ 日常診療を深める最新知見 第23回日本外来小児科学会 福岡市, 2013年8月31日
- 5) 大賀正一 診断指針作成のためのパブリックオピニオンを聴く会 新生児血栓症 第23回日本産婦人科・新生児血液学会 奈良市, 2013年6月8日
- 6) 大賀正一 分野別シンポジウム5 小児凝固障害症の新たな治療戦略小児血栓性疾患の診断と治療戦略. 第115回日本小児科学会, 福岡市, 2012.
- 7) 康東天 「臨床検査医/検査部長の立場から望むこと: 臨床検査学サイエンティストの養成」第60回日本臨床検査医学会学術集会, (招待講演) 2013年11月1日, 神戸市
- 8) 康東天 「項目コード (JLAC10) を用いた多施設間検査情報のための取り組みと問題点」第60回日本臨床検査医学会学術集会, (招待講演) 2013年11月1日, 神戸市.
- 9) 井藤奈央子, 大賀正一, 土居岳彦, 石村匡崇, 野村明彦, 高田英俊, 菅尚浩, 郭義胤, 波多江健, 松本雅則, 藤村吉博, 原寿郎: 新鮮凍結血漿定期投与を行ったUpshaw-Schulman症候群の長期予後についての検討. 第48回日本小児腎臓病学会, 徳島市, 2013年6月28-29日
- 10) 市山正子, 大賀正一: 胎児水頭症から診断された症例. 平成25年度 第1回厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「小児新生児期における遺伝性血栓症の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」班会議 奈良市, 2013年6月8日
- 11) 大賀正一 新生児血栓症研究～現在までの解析結果とスクリーニング法について～小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値 平成25年度 第1回厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「小児新生児期における遺伝性血栓症の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」班会議 奈良市, 2013年6月8日
- 12) 市山正子, 大賀正一, 松永友佳, 金城唯宗, 落合正行, 堀田多恵子, 浦田美秩代, 古賀結, 西村美香, 康東天, 原寿郎

小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値. 第23回日本産婦人科・新生児血液学会 奈良市, 2013年6月8日

13) 土居岳彦、大賀正一、井藤奈央子、石村匡崇、菅尚浩、野村明彦、松本雅則、藤村吉博、高田英俊、原寿郎: 定期凍結血漿投与を行ったUpshaw-Schulman症候群3例の長期予後. 第116回日本小児科学会学術集会, 広島市, 2013.

14) 石渡久子、西口康介、玉木久光、大森多恵、伊藤昌弘、三澤正弘、大塚正弘、長

澤正之、大賀正一: 胎生期に脳梗塞を発症した先天性プロテインC欠乏症ヘテロ接合体の一例. 第116回日本小児科学会学術集会, 広島市, 2013.

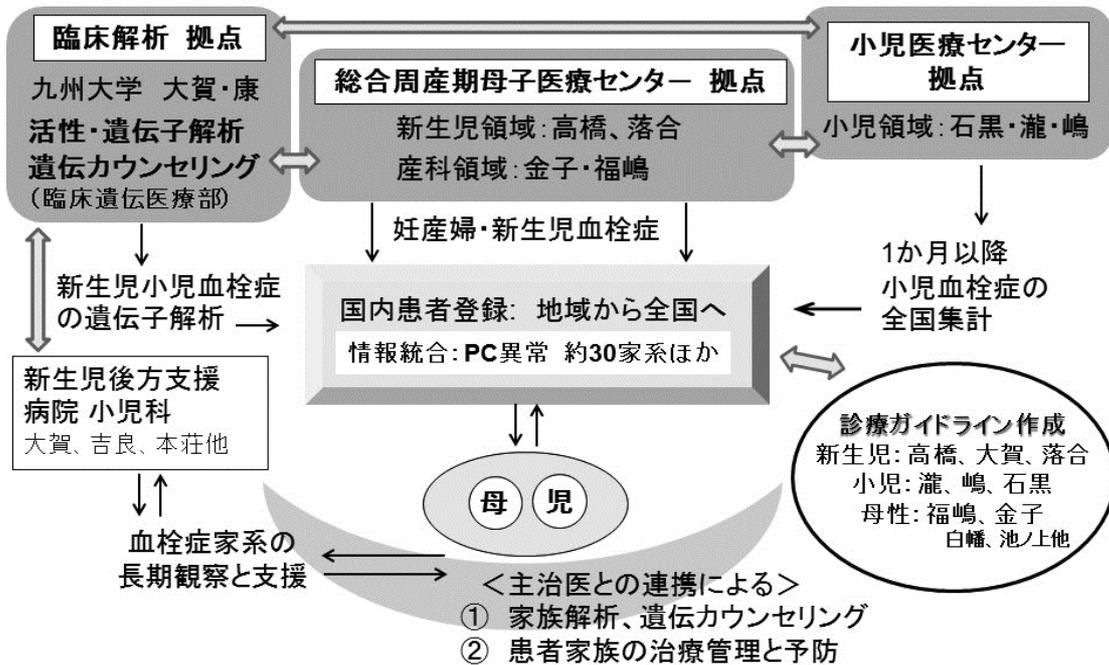
H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得 (嶋 緑倫分担研究者)

特許 4671823 血液凝固因子の不活性化及び血液凝固因子

付) 研究の流れ図

日本における小児、新生児と妊産婦の血栓症家系を同定し、
予防と治療管理に関する包括的指導を行う



研究協力: 白幡 聡 北九州八幡東病院長 池ノ上 克 宮崎大学医学部附属病院長

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

血栓塞栓症家系の遺伝的素因に関する研究
～ 小児・周産期領域における三大抗凝固因子の遺伝子解析 ～

研究分担者

康 東天 九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学 教授
落合 正行 九州大学病院総合周産期母子医療センター新生児内科部門 助教
福嶋 恒太郎 九州大学病院総合周産期母子医療センター母性胎児部門 講師
大賀 正一 九州大学大学院医学研究院・周産期小児医療学 教授

研究協力者

堀田 多恵子 九州大学病院検査部 技師長
浦田 美秩代 九州大学病院検査部 副技師長
古賀 結 九州大学病院検査部 技師

研究要旨

日本人小児血栓症の遺伝的素因を明らかにするため、小児期発症のプロテイン S (PS)、プロテイン C(PC)及びアンチトロンピン(AT)欠乏症患者の遺伝子解析を行った。研究班発足2年目は、全国より34家系の血栓症およびその疑い(両親か同胞に血栓症あり)の相談を受けPC欠乏症20家系(4家系解析中)、PS欠乏症10家系およびAT欠乏症4家系の解析を終了した。小児例は*PROC*変異7名(全て発症 ホモ2、複合ヘテロ3、ヘテロ2)、*PROS1*変異1名(発症 ホモ)および*SERPINC1*変異(全て未発症ヘテロ)を4名同定した。PC欠損症20家系のうち10名は日齢7までの早期新生児、2名は新生児発症であった。PC活性が低いが*PROC*変異のない患児を9名同定した。10歳まで未発症の*PROC*複合ヘテロ変異の男児と17歳で深部静脈血栓症を発症した*PROS1*ホモ変異の男児を診断した。*PROS1*ホモ変異の男児に家族歴はなく、血縁のない両親は未発症で*PROS1*ヘテロ変異を有していた。我々が過去30年に確認した小児遺伝性PC欠損症患者18名(遺伝子解析による変異同定は9名: Haemophilia 2013)の10年分に相当する症例を単年度に遺伝子診断することができた。小児血栓症において新生児発症PC欠損症が最も主要な遺伝性血栓症である。

A. 研究目的

PS、PC及びAT欠乏症のうち日本人成人ではPS欠乏症が最も頻度の高い遺伝性血栓性素因である。日本人小児ではPC欠乏症の頻度が高いことが示唆されたが、極めて稀なためこの3大遺伝性血栓症に関する疫学情報は十分明らかでない。新規診断例の家族解析を進め、各因子活性と遺伝子解析の結果から、小児期における遺伝性血栓症の頻度と臨床的特徴を検討した。

B. 研究方法

1. PS, PC, AT活性測定と各遺伝子解析
血漿PCおよびPS活性はSTA試薬シリーズ

プロテインC(クロット)、プロテインS(クロット)(Stago/ロシュ・ダイアグノスティックス)を用いて各々測定した。AT活性はエルシステム・AT (シスメックス)を用いた。

*PROC*のexon1-9をPCRで増幅し、ABI PRISM3100 Genetic Analyzer(ライフテクノロジーズジャパン)にて直接法により塩基配列を決定した。PSおよびAT活性の低かった患者には、*PROS1* (exon 1-15)と*SERPINC1*(exon 1-7)解析も行った。健常成人保存血漿の $\pm 2SD$ を成人の基準範囲とし、 $<3SD$ を下とした(Clin Biochem 2005;38:908-15)。(倫理面への配慮)

遺伝子解析は倫理委員会承認(#232-02,

#448-00)の同意書を取得し、末梢血白血球由来DNAを用いて行った。遺伝性血栓症と診断した患者家族も同意を得て家系内の解析を行い、遺伝カウンセリングを行った。

2. 新規診断例の家系解析

本研究班設立2年目(2013年)は、小児PC欠乏症による血栓症を疑われた非血縁20家系の20歳未満の20患者(2未発症者を含む)の相談を受け血栓性素因スクリーニング(APSなど後天性も含む)と遺伝子解析を行った。またPS欠乏10家系とAT欠乏4家系の小児とその両親を対象に、この血栓性素因解析を行った。

C. 研究結果

1. 3因子活性値によるスクリーニング

小児の3因子活性スクリーニングの方法については、初年度報告書の成果(現在投稿中)に従い各活性下限値を定義した。その後症例の集積とともに、3か月までの新生児から乳児早期におけるPCおよびPS活性値は再定義の必要性があると考えられたため、表1のようにスクリーニング下限値を設定した。発症時の消費性凝固障害とビタミンK欠乏によるPCおよびPS活性への影響から、とくにPC/PS活性比を考慮して解析を広く行った。

表1. 年齢別各因子活性の下限値の定義

年齢	PC	PS	AT
0-3か月	<45% (a)	<42% (a)	<52% (b)
3か月-2歳	<64% (c)	<51% (c)	<52% (b)
3-6歳	<64% (c)	<51% (c)	<68% (c)
7-20歳	<75% (d)	<60% (d)	<80% (d)

成人下限活性値(PC 75%, PS 60%, AT80%)の
a:60%, b:65%, c:85%およびd:100%未満に相当する活性値

2. PC欠損症例

20名の臨床的背景とPC活性、PS活性、PROC変異の有無および両親の解析結果を表2に示す。4名は遺伝子解析予定または解析中であるが、16名の解析が終了した。PROC変異を同定した7名は全て発症し、ホモ1、複合ヘテロ3およびヘテロ2で新規未報告変異はなかった。PC欠損症20家系のうち10名は日齢7までの早期新生児、2名は発症

日の詳細が不明であるが新生児発症であった。PC活性が低いがPROC変異のない患児を9名同定した。変異を同定した患者の家族解析を行ったところ、患児のde novo発症はなく、両親のどちらかに変異が確認された。電撃性紫斑病での発症は3名であった。

10歳まで未発症のPROC複合ヘテロ変異の男児は、1)母がPC欠損による16歳発症の深部静脈血栓症であったこと、2)症候性てんかんを有していたこと、から明らかな血栓症患者ではなかったが、解析した。母はこのヘテロ変異であることが確認され、血栓症既往のない父は推定ヘテロ変異として現在解析中である。このPROC複合ヘテロ変異の男児はPC活性が27%で、母の活性に近く、今後思春期にかけて血栓発症のリスクがあると予想され、カウンセリングを行った。

3. PS欠損症例

PS欠損例は10例の相談を受け、うち20歳未満は3例であった。PS欠損の家族歴(変異確定)を有する健常1歳児にPROS1変異はなかった。もう1名の健常1歳児は、母がPS欠乏であったがこの家系にPROS1変異はなかった。17歳で深部静脈血栓症を発症したPROS1ホモ変異の男児を診断した。このPROS1ホモ変異の男児に家族歴はなく、血縁のない両親は血栓症は未発症でPROS1ヘテロ変異を有していた。23歳で肺梗塞を発症したPROS1ヘテロ変異の男性を診断した。この母はこのヘテロ変異を有する未発症者で、健常弟にもこの変異はなかった。5名のPS活性低下を示した不育症母のPROS1遺伝子解析を行ったが変異はなかった。確認された変異は全て既報告で、変異のなかった1名にPlasminogen Tochigiを同定した。

4. AT欠損症例

AT欠損例は4家系9名の遺伝子解析を行った。小児は5名のうち4名は未発症健常児、もう1名は肝移植後の児であったが末梢血由来DNAにSERPINC1変異は認められなかった。成人は4名で1名の未発症以外は、DVTを発症していた。9名中8名に既報告のSERPINC1ヘテロ変異を認めた。

表2. 2013年に解析した新生児小児PC欠乏症

年齢	性	周産期情報	初発症状	PC 活性 PS	PROC 変異	両親の解析
日齢0	男	39週 2978g Ap 5/7	臍帯血栓、肺高血圧、多嚢胞脳軟化	46%(8か月) 94%	なし	
日齢0	女	34週 1296g Ap8/9	脳実質内出血	17% 43%	なし	
日齢0	男	36週 2810g Ap3/5	新生児仮死 哺乳不良	11% 43%	なし	
日齢0	女	36週胎児仮死	脳室内出血	<10%	解析予定	母 PC 活性 56%
日齢2	男*	詳細不明	電撃性紫斑、頭蓋内、硝子体出血	4% freePS 74%	ホモ	両親ヘテロ
日齢2	男	38週 2938g 仮死なし	頭蓋内出血、両網膜下出血	<10% 未検	複合ヘテロ	両親ヘテロ
日齢2	女	38週 3225g Ap6/9	無呼吸、左 MCA 梗塞	23% 46%	なし	
日齢4	男*	なし	電撃性紫斑病 両鎖骨下静脈血栓	15%	解析中	両親活性正常
日齢6	男	38週	在胎 34週頃に水頭症		なし(PS変異もなし)	
日齢7	男	37週 2502g Ap7/9	無呼吸遷延、脳梗塞	27% 52%(抗原)	なし	両親活性正常
新生児	男	新生児	電撃性紫斑、頭蓋内	11歳 Warfarin 中	ホモ	両親推定ヘテロ
新生児	詳細不明		新生児脳室内出血	<10%	複合ヘテロ	
7か月	男	なし	右上肢麻痺 陳旧性脳梗塞	50% 未検	なし	
1歳	男	なし	脳梗塞	43% 58%	ヘテロ(PS変異なし)	父ヘテロ
1歳6月	男	39週 2683g Ap7/8	仮死 DIC 一過性 PC 欠乏	16%→72% 44%→79%	解析予定	
2歳	女	なし	乳児 ALL 治療中肺小動脈多発血栓	37% 51%	なし(AT変異もなし)	
4歳	男	なし	頭痛 上矢状静脈洞血栓	62% 73%	解析予定	両親活性低下
10歳	女	なし	胆道閉鎖,PDA ,VitK 投与後低 PCPS	36% 57%	なし(PLG 栃木)	
10歳	男	39週 3752g 異常なし	症候性てんかん	27% 73%	複合ヘテロ	母 DVT ヘテロ
14歳	男	なし	未発症	39% 90%	ヘテロ	家族歴有り

* 日本人以外

D. 考察

本研究班設立後2年目の単年度に、私たちが過去30年に網羅的に検索した国内報告小児遺伝性PC欠損症患者18名(遺伝子解析による変異同定は9名: Haemophilia 2013)に相当する20名を見出し、うち7名に既報告PROC変異を同定した。さらに9名はdirect sequencingで変異がないことが確認された。両親の解析からこれら変異例にはde novo発症がないことも明らかとなった。

これまでの結果から全体の25%に変異のないPC活性単独低下例があることが想定されていたが、今回はこれがほぼ半数に達した。とくに3か月未満の活性値によるスクリーニングを厳しく再設定しながらも、遺伝子解析を広く行った。このことから、PROC変異のない単独PC欠乏症の存在がより明確となり、想定された頻度よりも高いことが示唆された。

小児・新生児PC欠乏症の臨床像としては電撃性紫斑病よりも頭蓋内出血・梗塞が多いことも症例集積から明らかになった。さらに患児診断から、未発症両親の早期診断に繋がった例も少なくなかった。

一方、PS欠乏症とAT欠乏症の小児期発症血栓患者は極めて少なく、発症例の臨床

像は、成人DVTの早期発症型であった。変異例はほぼ全例に家族歴を有していた。PS活性の低い不育症の母にPROC変異が認められる頻度は、日本人一般集団の推定変異保有率から高くないことが伺われた。

E. 結論

小児遺伝性血栓症は、新生児発症型であるPC欠乏症と小児発症型のPSおよびAT欠乏症に分けてスクリーニングを行い、その診断指針を作成することが必要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, on behalf of the Japan Childhood Thrombophilia Study Group. Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. *Pediatr Int* 55(3): 267-71, 2013
- Ohga S, Kang D, Kinjo T, Ochiai M, Doi T, Ishimura M, Kayamori Y, Urata M, Yamamoto J, Suenobu S, Kanegane H, Ikenoue T, Shirahata A, Hara T: Pediatric presentation and treatment of c

- ongenital protein C deficiency in Japan. *Haemophilia* 19(3):378-84, 2013
- 3) Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Taguchi T, Hara T: Clinical outcome of extremely low birth weight infants born at GW22-26: a report from a single institution in Japan. *Neonatology* 105(2):79-84, 2014
 - 4) Hoshina T, Nakashima Y, Sato D, Nishii E, Nishio H, Nakgata H, Yamamura K, Doi T, Shiokawa Y, Kang D, Ohga S, Hara T: Staphylococcal endocarditis as the first manifestation of heritable protein C deficiency in childhood. *J Infect Chemother* 2013 (in press)
 - 5) Matsunaga Y, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Fukumoto Y, Ito N, Doi T, Kang D, Hara T: Neonatal asphyxia and renal failure as the presentation of severe protein C deficiency. *J Perinatol* 33(3): 239-41, 2013
 - 6) Kitajima J, Inoue H, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Yoshida T, Kusahara K, Hara T: Differential transmission and postnatal outcome in triplets with congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Development Pathol* 15(2):151-155, 2012
 - 7) Unal S, Gumruk F, Yigi S, Tuncer M, Tavi B, Cil O, Takci S, Urata M, Hotta T, Kang D, Cetin M: A novel mutation in protein C gene (PROC) causing severe phenotype in neonatal period. *Pediatr Blood Cancer* 61(4):763-4, 2014
 - 8) Uchiumi T, Tanamachi H, Kuchiwaki K, Kajita M, Matsumoto S, Yagi M, Kanki T, Kang D: Mutation and functional analysis of ABCC2/multidrug resistance protein 2 in a Japanese patient with Dubin-Johnson syndrome. *Hepato Res* 43(5):569-75, 2013
 - 9) Oba T, Yasukawa H, Hoshijima M, Sasaki K, Futamata N, Fukui D, Mawatari K, Nagata T, Kyogoku S, Ohshima H, Minami T, Nakamura K, Kang D, Yajima T, Knowlton KU, Imaizumi T: Cardiac-specific deletion of SOCS-3 prevents development of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 28: 59(9):838-52, 2012
 - 10) Anami A, Fukushima K, Takasaki Y, Sumida T, Waguri M, Wake N, Murashima A: The predictive value of anti-SS-A antibodies titration in pregnant women with fetal congenital heart block. *Mod Rheumatol* 23(4):653-8, 2013
 - 11) 市山正子、大賀正一、松永友佳、金城唯宗、落合正行、堀田多恵子、浦田美秩代、古賀結、西村美香、康東天、原寿郎：小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値日本産婦人科・新生児血液学会誌2013; 23(1):25-2
- ## 2. 学会発表
- 1) Ohga S. Salvage treatment of refractory LCH and HLH. The 54th Meeting of Korean Society of Hematology, Korea Histiocytosis Working Party Symposium, Changwon, Korea, November 8-9, 2013. (invited speaker)
 - 2) Ohga S. Heritable thrombophilias in Japanese children. The 5th Congress of East Asia, Hemophilia Forum (EAHF), Seoul, Korea, September 7-8, 2013. (Invited speaker)
 - 3) 大賀正一 診断指針作成のためのパブリックオピニオンを聴く会 新生児血栓症 第23回日本産婦人科・新生児血液学会 奈良市, 2013年6月8日
 - 4) 康東天「臨床検査医/検査部長の立場から望むこと:臨床検査学サイエンティストの養成」第60回日本臨床検査医学会学術集会, (招待講演) 2013年11月1日, 神戸市.
 8. 康東天「項目コード(JLAC10)を用いた多施設間検査情報のための取り組みと問題点」第60回日本臨床検査医学会学術集会, (招待講演) 2013年11月1日, 神戸市.
 - 5) 市山正子、大賀正一：胎児水頭症から診断された症例. 平成25年度 第1回 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「小児新生児期における遺伝性血栓症の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」班会議 奈良市, 2013年6月8日
 - 6) 大賀正一 新生児血栓症研究～現在までの解析結果とスクリーニング法について～小児遺伝性血栓症スクリーニングのためのprotein C, protein S及びantithrombin活性値 平成25年度 第1回 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「小児新生児期における遺伝性血栓症の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」班会議 奈良市, 2013年6月8日
 - 7) 市山正子、大賀正一、松永友佳、金城唯

宗、落合正行、堀田多恵子、浦田美秩代、
古賀結、西村美香、康東天、原寿郎

小児遺伝性血栓症スクリーニングのため
のprotein C, protein S及びantithrombin
活性値. 第23回日本産婦人科・新生児血液
学会 奈良市, 2013年6月8日

- 8) 石渡久子、西口康介、玉木久光、大森多
恵、伊藤昌弘、三澤正弘、大塚正弘、長澤
正之、大賀正一: 胎生期に脳梗塞を発症し
た先天性プロテインC欠乏症ヘテロ接合体
の一例. 第116回日本小児科学会学術集会,
広島市, 2013.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

周産期における遺伝性血栓症の診断と治療に関する研究

研究分担者

金子 政時 宮崎大学医学部 生殖発達医学講座産婦人科分野 准教授

研究要旨

小児新生児期における遺伝性血栓症の新生児を発症前に抽出することは、新生児予後の改善に繋がる。そこで、母体の血栓性疾患の既往というリスク因子からそのような児のスクリーニングが可能かを明らかにすることを目的とした。宮崎大学で取扱った妊婦の中から血栓性素因のある 2 名の妊婦（脳梗塞既往のある妊婦と血小板増多症合併妊婦）を抽出し、妊娠・分娩経過と新生児経過をフォローした。両児は血栓疾患の発症を認めなかった。大規模なコホート調査の必要性があるものと考えられた。

A. 研究目的

小児新生児期における遺伝性血栓症の新生児を発症前に抽出することは、新生児予後の改善に繋がる。そこで、母体の血栓性疾患の既往というリスク因子からそのような児のスクリーニングが可能かを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

平成 25 年に宮崎大学で管理した重症妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延児の母体、先天性アンチトロンピン 低下症、深部静脈血栓症および脳梗塞の既往のある血栓性疾患の素因のあるハイリスク妊婦から出産した児の出生時の所見収集と血栓性疾患の発症に関して経過を追跡した。

（倫理面への配慮）

本研究は、後方視的研究であり、医学的な見地から測定の意義を考え、必要性がある場合は妊婦への説明後に採血した。結果の公表については、匿名とし、本人同定ができないように配慮することで、妊婦の同意を得た。

C. 研究結果

同期間に、278 例の妊婦を当大学で管理した。その内、本研究の対象となる妊婦は、

脳梗塞の既往を持つ妊婦と血小板増多症合併妊婦の 2 名であった。

脳梗塞の既往のある妊婦の詳細；38 歳時に脳梗塞を発症し、左上下肢筋力低下を認める。バイアスピリン内服下で妊娠が判明した。妊娠判明後にヘパリンへ変更した。抗リン脂質抗体陰性。妊娠中、凝固線溶系に大きな異常なく経過した。妊娠 35 週 3 日に前期破水を認め、オキシトシンにて誘導後に 2564g の女兒を経膣分娩した。

血小板増多症（本態性血小板症疑い）合併妊娠の詳細；小学 3 年生時に本症を発症した。前回妊娠は 18 歳時に帝王切開を受けている。今回、自然妊娠成立後に当科紹介となる。妊娠初期の血小板数は $132.8 \times 10^4 / \mu\text{L}$ であった。バイアスピリン 100mg/day 内服開始した。妊娠中に APTT は正常、PT 延長を認めた。妊娠 36 週 2 日に陣痛発来したために帝王切開を施行した。

これらの妊婦の児の予後を厳重にフォローした結果、頭蓋内出血等のエピソードはみられなかった。

D. 考察

我々の施設で管理した 278 名中 2 名の妊婦（0.7%）が、遺伝性血栓症の新生児を出産するハイリスクとして抽出された。この頻度

は、前年度の調査と一致していた。

遺伝性血栓症を新生児期に効果的に診断し、治療を効果的に行うために、血栓性素因をもつ母体の効率的なスクリーニング法を確立することは臨床上有意義である。本年度は、プロテイン S 抗原、プロテイン S 活性、プロテイン C 抗原、プロテイン C 活性値を妊娠中に測定していないので、それらの変動をみることはできていない。

母体血栓性疾患の病院は多岐にわたり、その中から遺伝性血栓症との関係を導くためには、大規模なコホート調査が必要であると考えられる。

E. 結論

妊娠直前に脳梗塞を発症した妊婦および血小板増多症の妊婦においては、妊娠中に凝固線溶系に大きな異常を認めず、それらの児の経過にも特に異常を認めなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

周産期領域の栓友病診断と治療管理ガイドラインの作成に関する研究

研究分担者 嶋 緑倫 奈良県立医科大学 小児科 教授

研究要旨

出血性素因や血栓性素因の凝血的評価は診断のみならず治療管理にもきわめて重要である。従来は、凝固因子、抗凝固因子、線溶因子や抗線溶因子などを個々に評価されてきたが、*in vivo* を反映していない。本研究では、トロンビン生成とプラスミン生成を同時に評価できる測定法を確立した。さらに、両反応系におけるそれぞれの因子の関与について検討した結果、プロトロンビナーゼ複合体必須因子である第V因子および第X因子が最も大きく関与していた。さらにフィブリノゲンおよびプラスミノゲンはプラスミン生成に大きく関与した。トロンビン生成・プラスミン生成同時測定法は出血性素因のみならず血栓性素因の包括的評価にきわめて有用であると考えられた。

A. 研究目的

栓友病は先天性の遺伝性血栓症で、プロテインC (PC)、プロテインS (PS)、アンチトロンビン (AT) の欠乏が主な病因である。これらの疾患の診断はそれぞれの抗凝固因子の測定や遺伝子解析による。しかしながら、それぞれの測定値は臨床的重症度を必ずしも反映しない。したがって、栓友病の治療管理上、血栓傾向を評価する凝固機能測定法の確立が望まれる。トロンビン生成測定法は代表的な包括的凝固機能測定法であるが、*in vivo* では凝固系と線溶系が連動していることから、これら両反応系を評価できることが望ましい。そこで、本年度の分担研究では、栓友病の凝固機能を包括的に評価するためにトロンビンおよびプラスミンを同時に定量的に評価できる測定系を確立することを目的とした。

B. 研究方法

試薬：組織因子 (TF; Inovin®, Dade), 合成リン脂質 (PL; ホスファチジルセリン: ホスファチジルコリン: ホスファチジルエタノールアミン = 1:6:3), 組織プラスミノゲンアクチベータ (tPA; American Diagnostica Inc.) をトリガー試薬とし、血漿に塩化カルシウムを添加することで生成されるトロンビンおよびプラス

ミンが同時に測定する。トリガー試薬 (TF, PL, tPA) を 20mM HEPES, pH 7.2, 150mM NaCl, 0.01% Tween 20 と混合した。血漿中の最終濃度は TF: 1pM, PL: 4uM, tPA 3.3nM に調整した。生成されたトロンビンおよびプラスミンの測定のために2種類の蛍光発色基質 (トロンビン基質: Z-Gly-Gly-Arg-AMC, Bachem, Switzerland; プラスミン基質: Boc-Glu-Lys-Lys-MCA, Peptide Institute Inc.) を用いた。血漿検体 (80ul) を 96 穴ポリスチレンプレートに添加し、20ul のトリガー試薬 (TF/PL/tPA) を添加した。プレートを蛍光発色測定器におき、37 10 分加温後蛍光発色基質を添加した。次に、CaCl₂ を添加して蛍光シグナルを2時間、45 秒間隔で 390nm および 460nm で測定した。生成トロンビンおよびプラスミン測定のために段階希釈した純化 トロンビンおよびプラスミンを用いて標準曲線を作成した。データ解析には excel のソフトウェアを用いた。

C. 研究結果

まず、正常血漿についてトロンビン生成およびプラスミン生成反応における蛍光シグナルを測定した (図 1-A)。さらに、これらの raw data の1次微分からトロンビンおよびプラスミ

ン生成曲線が得られた(図 1-B)。

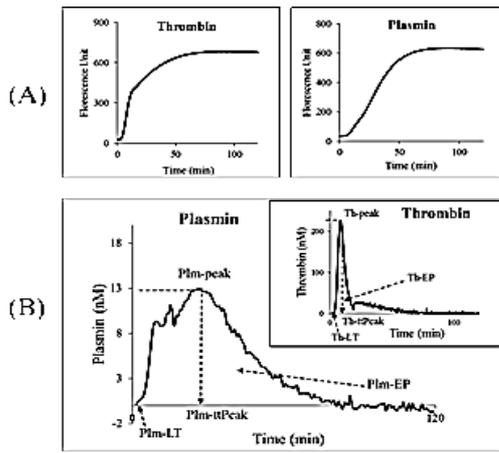


図1. T/P-G測定におけるトロンビン・プラスミン生成

トロンビン生成ではトロンビン生成が開始するまでの時間(lag time:LT)、トロンビンピーク値(peak thrombin:Peak), peakに至るまでの時間(time to peak;ttPeak),トロンビン総生成量(endogenous potential: EP)の定量的パラメーターを算定した。プラスミン生成でも、同様にプラスミン生成開始までの時間(LT)、プラスミンピーク値(Peak)、peakに至るまでの時間(ttPeak)、総プラスミン生成量(EP)のパラメーターを算定した。

このトロンビン/プラスミン生成試験(T/P-G測定)が凝固反応系と線溶反応系間の協働的バランスを反映するものかについてトロンビン特異性のインヒビター(アルガトロバン)や抗凝固因子であるAPCやトロンボモジュリン(TM)を添加して検討した(図2)。

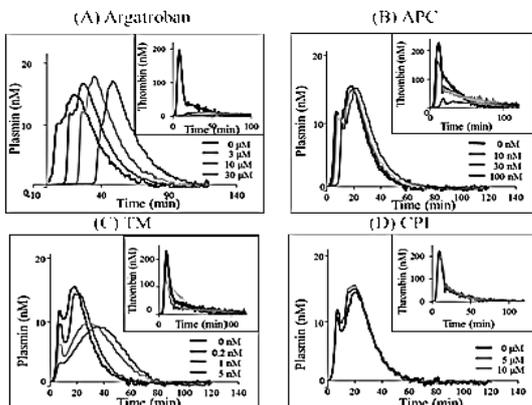


図2. 各種凝固抑制因子添加のT/P-G

アルガトロバンは濃度依存性にTGに抑制した。本抑制効果は著明で、アルガトロバン治療濃度10 μ Mで>90%抑制した。一方、プラスミン生成においてLTを濃度依存性に延長したが、Peakはむしろ増加した。APCやTMの抑制パターンは異なっていた。すなわち、両因子はアルガトロバンと同様にトロンビン生成を濃度依存性に抑制したが、TMはプラスミン生成を抑制したが、APCは抑制しなかった。APCはプラスミン生成抑制効果をみられなかった。以上より、T/P-G測定はトロンビン依存性の抗線溶因子であるthrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI)に感受性が高いことも示唆された。

次に、本研究では、様々な凝固因子や抗凝固因子の凝固・線溶系における役割を検討するためにそれぞれの因子欠乏血漿を用いてT/P-G測定を行った(図3)。

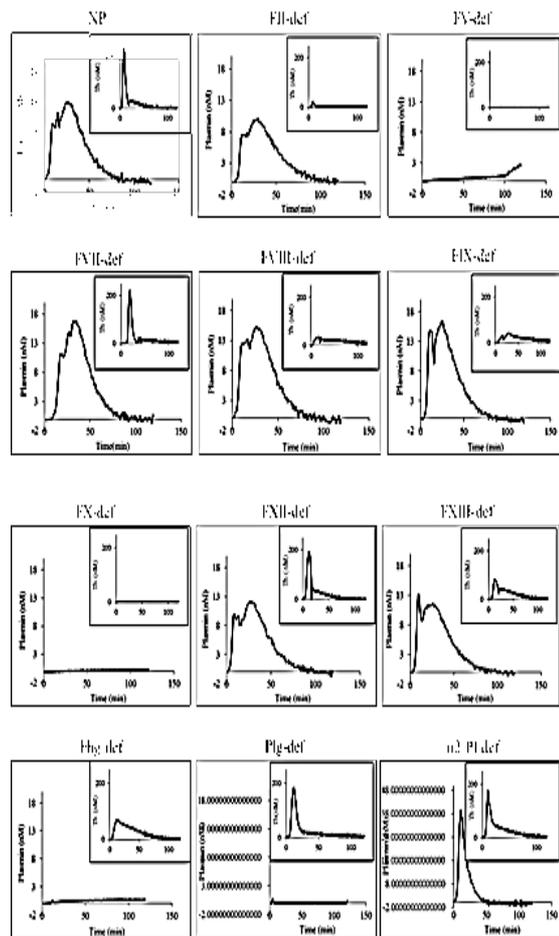


図3. 各種凝固因子欠乏T/P-G

トロンビン生成では第 II, V, VIII, IX, X, XIII, フィブリノゲン欠乏血漿で低下した。プラスミン生成では第 V, X 因子、フィブリノゲン、プラスミノゲン欠乏で著明に低下した。 $_2$ PI 欠乏症で peak は亢進した。以上よりフィブリン形成はプラスミン生成を惹起する上できわめて重要であることが確認された。さらに、共通経路の凝固因子である第 V, 第 X 因子もプラスミン生成に影響することが判明した。これらの因子の重要性を確認するために、様々な濃度の純化 FV, FX, プラスミノゲン、フィブリノゲンをそれぞれの欠乏血漿に添加したところ、いずれの欠乏血漿においても濃度依存性にトロンビン生成さらに、およびプラスミン生成を改善した(図4)。さらにプラスミン生成には微量のフィブリノゲンでも惹起されやすいことも判明した。

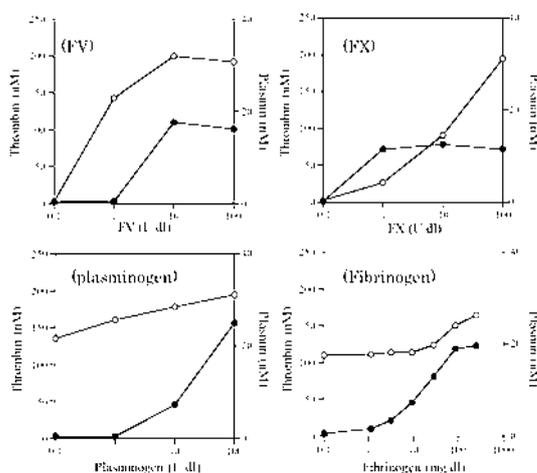


図4. 各種欠乏血漿に純化凝固因子を添加したTP-P-Gの効果

D. 考察

本研究では、凝固系と線溶系の協働作用を評価する目的でトロンビン/プラスミン生成測定系を確立した。従来の凝血的評価は凝固反応系、線溶反応系を別々に評価していたが、実際の *in vivo* ではこれら両反応系は協働して進行している。したがって、本測定系は、出血性素因のみならず血栓性素因を包括的に評価する上にきわめて有用な評価法を考えられた。さらに本研究において、1)トロンビン生成はプラスミン生成の開始にきわめて重要であり、たとえ微量なトロンビン

生成量でもプラスミン生成反応を惹起する、2)プラスミン生成はフィブリノゲン濃度に大きく依存している、3)プロトロンビナーゼ複合体の必須因子であるFVとFXはトロンビン生成のみならずプラスミン生成にも必須であること、4)抗線溶因子である $_2$ PIはプラスミン生成を増強するがトロンビン生成には影響をあたえないこと、などが判明した。

E. 結論

In vivo での出血や血栓症は凝固反応系と線溶反応系とのきわめて繊細なバランスを基盤に発症する。したがって、出血性疾患や血栓性疾患の診断や治療管理において、両反応系を同時に測定する必要がある。本研究では凝固反応系をトロンビン生成、線溶反応系をプラスミン生成にて両者を同時に評価する測定法を確立した。本測定法は出血性素因のみならず血栓性素因の包括的評価にきわめて有用であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsumoto T, Nogami K, Shima M. Simultaneous measurement of thrombin and plasmin generation to assess the interplay between coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost.* 2013 110(4):761-8.
- 2) Shima M. [Hemophilia world] *Rinsho Ketsueki.* 2013 54(8):736-43.
- 3) Shima M, Thachil J, Nair SC, Srivastava A. Towards standardization of clot waveform analysis and recommendations for its clinical applications. *J Thromb Haemost.* 2013 11(7):1417-20.
- 4) Doi M, Sugimoto M, Matsui H, Matsunari Y, Shima M. Coagulation potential of immobilised factor VIII in flow-dependent fibrin generation on platelet surfaces. *Thromb Haemost.* 2013 110(2):316-22.
- 5) Sugita C, Yamashita A, Matsuura Y, Iwakiri T, Okuyama N, Matsuda S, Matsumoto T, Inoue O, Harada A, Kitazawa T, Hattori K, Shima M, Asada Y. Elevated

plasma factor VIII enhances venous thrombus formation in rabbits: contribution of factor XI, von Willebrand factor and tissue factor. Thromb Haemost. 2013 110(1):62-75.

6) Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T; Japan Childhood Thrombophilia Study Group. Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. Pediatr Int. 2013 55(3):267-71.

7) Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shima M. Activated prothrombin complex concentrate (APCC)-mediated activation of factor (F)VIII in mixtures of FVIII and APCC enhances hemostatic effectiveness. J Thromb Haemost. 2013 11(5):902-10.

8) Shima M. [Hemophilia]. Rinsho Ketsueki. 2013 54(2):189-97.

2. 学会発表

1) Matsumoto T, Nogami K, Shima M:
Usefulness of thrombin generation assay (TGA) for diagnosis of prolonged aPTT with positive LA. 第75回日本血液学会 札幌市 2013.10.12

2) 松本智子、野上恵嗣、嶋緑倫
Thrombin /Plasmin 生成同時測定による
新規包括的凝固線溶検査 第60回日本臨床検査医学会学会 神戸市 2013.11.2

G. 知的財産権の出願・登録状況

参考文献

特許取得

特許 4671823 血液凝固因子の不活性化及び血液凝固因子

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

血栓症患者の遺伝子異常についての検討

研究分担者

瀧 正志 聖マリアンナ医科大学小児科学教授
聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科部長

研究協力者

山下 敦己 聖マリアンナ医科大学小児科
足利 朋子 聖マリアンナ医科大学小児科
長江 千愛 聖マリアンナ医科大学小児科

研究要旨

本邦の血栓症患者における先天性血栓性素因の遺伝子異常の発現頻度、各遺伝子異常の血栓症発症リスクについて検討するため、血栓症を発症した患者のアンチトロンビン、プロテインC、プロテインSの遺伝子解析を行った。解析した6家系の内3家系においてアンチトロンビンの遺伝子異常、1家系にプロテインCの遺伝子異常を認めた。凝固制御因子の活性値測定のみによる診断は正確性に欠け、先天性血栓性素因の診断に遺伝子解析は極めて有用であることが示唆された。

A. 研究目的

日本人における先天性血栓性素因の多くは、アンチトロンビン(AT)異常症、プロテインC(PC)異常症、プロテインS(PS)異常症の3つであることが知られている。そこで先天性血栓性素因の遺伝子異常の発現頻度、各遺伝子異常の血栓症発症リスクについて検討するため、血栓症を発症した患者のアンチトロンビン、プロテインC、プロテインSの遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

対象は、血栓塞栓症を発症し先天性血栓性素因の存在が疑われ、遺伝子検査のための検体採取に対して同意が得られた患者である。患者の静脈血を採取し、九州大学病院臨床検査部でアンチトロンビン、プロテインC、プロテインSの遺伝子検査を行った。この遺伝子検査のために必要な採血量は1回2mlであり、採血は1回のみである。

(倫理面への配慮)

聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会へ本研究の実施申請を行い、2013年3月に「血栓症患者の遺伝子解析」の実施が承認された(承認番号 第2365号)。

C. 研究結果

6家系10名の遺伝子解析を行い、その内4家系7名において先天性血栓性素因の遺伝子異常を認めた。その内訳はAT異常症が3家系、PC異常症が1家系であった。

一方、2家系においては遺伝子異常を認めなかった。

D. 考察

遺伝子異常が認められた4家系の患者家族に対して、正確な先天性血栓性素因の診断、正しい情報提供を行うことができた。

一方、遺伝子異常が認められなかった2家系においては、凝固制御因子の活性値

測定を経時的に行い、凝固制御因子の一過性の活性値低下か否かを追跡する予定である。

凝固制御因子の活性値測定のみによる診断は、正確性に欠け、先天性血栓性素因の診断に遺伝子解析は極めて有用であることが示唆された。

E. 結論

先天性血栓性素因の正確な診断に遺伝子解析は極めて有用であることが示唆された。今後症例を増やして血栓症患者における遺伝子異常の頻度や各遺伝子異常の血栓症発症リスクについて検討したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 長江千愛、瀧 正志：小児科領域のDIC、臨床に直結する血栓止血学、朝倉英策（編著）p 227-234、中外医学社（発行）2013
- 2) Imamura H, Akioka Y, Taki M, Terasawa F, Okumura N, Hattori M: Successful living-related kidney transplantation in a boy with inherited dysfibrinogenemia. *Pediatric Nephrology*, 17: E161-E164, 2013
- 3) Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, Japan Childhood Thrombophilia Study Group: Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. *Pediatr Int*. 55:267-71, 2013
- 4) 瀧 正志：出血性疾患に対する臨床的ならびに検査からのアプローチ、日本小児血液・がん学会雑誌、50(3)：450-456、2013

2. 学会発表

- 1) Satoshi Yamazaki, Shigenobu Takayama, Noriko Suzuki, Noriko Yamazaki, Masashi Taki, Masahiro Ieko, Yoko Kawai, Standardization Subcommittee of Laboratory test for Thrombosis and Hemostasis: Reevaluation of activated partial thromboplastin time (APTT) reagents in Japan, XXVIth

International Symposium on Technological Innovations in Laboratory Hematology, 2013.5

- 2) Atsuki Yamashita, Chiai Nagae, Tomoko Ashikaga, Shinji Muto, Mieko Akita, Satoshi Yamazaki, Shigenobu Takayama, Shinobu Tatsunami, Masashi Taki: Pathogenesis of hemostatic abnormalities by L-asparaginase in children with acute leukemia. XXIVth ISTH, 2013.6
- 3) Tomoko Ashikaga, Atsuki Yamashita, Shinji Muto, Chiai Nagae, Mieko Akita, Noriko Suzuki, Satoshi Yamazaki, Shigenobu Takayama, Shinobu Tatsunami, Masashi Taki: Pulsed methylprednisolone therapy markedly increases thrombin generation potential in a rabbit experiment. XXIVth ISTH, 2013.6

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

新生児期の遺伝性血栓症と小児のワルファリン治療法に関する研究
効果的診断法の確立と抗血栓因子補充のための新生児への
新鮮凍結血漿（FFP）投与基準設定

研究分担者

高橋 幸博 奈良県立医科大学附属病院 新生児集中治療部門 教授

研究協力者

中川 隆志	奈良県立医科大学附属病院	新生児集中治療部
斎藤 能彦	第一内科学教室	
山口 直子	奈良県立医科大学附属病院	中央臨床検査部
谷口 恵理	奈良県立医科大学附属病院	中央臨床検査部
豆田 清美	奈良県立医科大学附属病院	中央臨床検査部
片岡 美香	奈良県立医科大学附属病院	中央臨床検査部
倉本 智津子	奈良県立医科大学附属病院	中央臨床検査部
内池 敬男	奈良県立医科大学附属病院	中央臨床検査部

研究要旨

新生児・小児の血栓症の診断と治療に関し、平成25年度はプロテインC異常症を含めたPC/PS抗凝固制御系の効果的な診断法として、HemosIL ThromboPathを用い、その特性と臨床応用を検討した。

A. 研究目的

新生児は、小児期の中でも血栓症の発症頻度は高く、発症には遺伝性も含め新生児特有な基礎疾患や病態、管理が関与する。血栓症の発症には抗凝固因子のアンチトロンピン(AT)、プロテイン C(PC)、プロテイン S(PS)が重要な因子である。このうち AT は播種性血管内凝固 (disseminated intravascular coagulation; DIC)の診断や成分製剤の入手も可能であることから、AT 測定は日常診療でも実施されている。一方、PCやPSは、一部の測定機器で検査は可能ではあるが、日常検査でないこともあり、新生児電撃性紫斑病の診断時に測定されることはあっても通常の血栓症で測定されること

は少ない。

特に、PSは、PCの補因子として抗凝固作用を示すが、PSの抗凝固作用は補体制御因子のC4-binding protein(C4BP)に結合していないfree PSである。PSとC4BPとは、血漿中では平衡関係にあり、C4BPは炎症反応で増加することから、炎症時にはfree PSは低下する。したがって、PC/PS抗凝固系の欠乏症の診断は容易でない。また、PC/PS抗凝固系異常の治療は、先天性PC欠乏症のみ活性化PC製剤が使用されるが、PS欠乏症は成分製剤はなく新鮮凍結血漿(FFP)での補充療法しかない。

一方、血液製剤のFFPの使用指針には

抗凝固療法としての明確な指針はない。

本研究ではこれらを踏まえ、PC/PS 抗凝固系のグローバルな評価法に HemosIL ThromboPath (ILJapan)を用い、新生児・小児での PC/PS 系抗凝固異常の効果的診断法を確立するために ThromboPath の特性を検討した。

B. 研究方法

ワルファリン血(5例)、肝疾患血(5例)、新生児・小児の止血検査血の残余血(28例)と止血異常のない健常成人血(5例)を用いた。なお、新生児・小児の止血検査血は、臨床での異常ない残余血を用いた。

PC 活性はテストチームプロテイン C で測定した。第 VIII 因子活性は Sysmex トロンボチェック FACTOR VIII を用いた。PC/PS 抗凝固系は ACLTOP CTS (ILJAPAN 社)を用い HemosIL ThromboPath で測定した。

ThromboPath の測定原理

クエン酸血漿	10 μL
希釈液	40 μL
Protac (PC 活性蛇毒)あり(A)	45 μL
あるいは Protac なし(B)	
加温反応	120 秒
Tissue factor +合成リン脂質	50 μL
加温反応	90 秒

Thrombin 特異発色合成基質 50 μL
45 秒後 OD405nm で比色測定
The Protac-Induced Coagulation Inhibition percentage (PICU%) = B-A/BX100
Protac ありと Protac なしの測定値の意義

Protac 作用機序

Protac は蛇(Agkistrodon contortix contortix) 毒由来の分子量 37,000 の糖蛋白で、PC と結合し PC の立体異常を惹起させ、PC を活性化させる。血漿内に Protac を添加し、APC に変化させること、FV を活性化させる作用があるが、APC により FV、FVIII は分解され、凝固抑制を示す。

トロンピン産生

最終評価はトロンピン産生を合成発色基質

(S2708, Z-D-Arg-Ser-Arg-pNA,2HCl) で検出する。単位は mOD/min で表示され、高値はトロンピン産生が多いことを示す。

(倫理面への配慮)

両測定に関して本学倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1. ThromboPath PICI% 基準値

健康成人、ワルファリン血、肝疾患血の ThromboPath の PICI%値

PICI%	値%
健康成人 (n=5)	87.8 ± 0.1
ワルファリン血 (n=5)	64.3 ± 0.1
肝疾患 (n=5)	66.5 ± 0.1

Protac 非存在下 Thrombin 産生量 (B)

	mOD/min
健康成人 (n=5)	742.2 ± 23.0
ワルファリン血 (n=5)	402.2 ± 60.6
肝疾患 (n=5)	649.8 ± 138.3

Protac 存在下 Thrombin 産生量 (A)

	mOD/min
健康成人 (n=5)	90.5 ± 18.2
ワルファリン血 (n=5)	137.4 ± 29.5
肝疾患 (n=5)	213.3 ± 74.6

c.f. (Toulon P et al Thromb Res 124:137-143,2009)

PC/PS 抗凝固系の異常のない PICI%値

A 施設 (n=126)	86.7(66.0 ~ 97.7)
B 施設 (n=40)	90.5(73.4 ~ 98.4)
C 施設 (n=106)	919(58.1 ~ 8.3)

なお、凍結保存検体で、肝機能等の詳細に関する記載がない。

自験例での成人での解析から PICI%は、健康成人に比較し、ワルファリン血、肝疾患で有意に低値を示した。すでに、Protac を使用した PC 活性評価でのワルファリン血での検討から、Protac による PC の活性化では Acarboxy form の PC は同時に評価ができないことが報告 (Martinoli JL et al. Thromb Res 43(3)-253-264,1986)されており、自験例でもワルファリン血と一部の肝障害者で PICI% の低値がみられた。したがって、PICI%での血栓症評価には、VKDF の産生低下とその

カルボキシ化の評価も考慮する必要がある。

	トロンボテスト(%)
健康成人(n=5)	103.7 ± 11.1(93.5 ~ 150)
ワルファリン血(n=5)	19.1 ± 11.3(9.6 ~ 38.1)
肝疾患(n=5)	74.6 ± 36.1(19.8 ~ 150)

2. 検体希釈と感度

TromboPath は測定に、測定量は 10 µL ではあるが、Dead Space も含め 300 µL が必要である。新生児への応用は容易でない。健康成人での付属希釈液での希釈による影響を検索したが、肝障害血での希釈で、検量線の傾きに差異の見られるものがあった(結果、略)したがって、新生児への使用は制限を受ける。

3. 新生児・小児の ThromboPath の PIC1%値

PIC1%	値%
新生児(n=3)	36.1 ± 3.5
乳児(n=6)	75.5 ± 10.9
1歳(n=8)	75.2 ± 4.5
2歳(n=5)	82.0 ± 5.9
3歳(n=6)	84.3 ± 1.3

Protac 非存在下 Thrombin 産生量(B)	mOD/min
新生児(n=3)	523.0 ± 71.2
乳児(n=6)	664.7 ± 89.5
1歳(n=8)	824.0 ± 73.8
2歳(n=5)	772.1 ± 58.6
3歳(n=6)	766.0 ± 34.5

Protac 存在下 Thrombin 産生量(A)	mOD/min
新生児(n=3)	333.6 ± 44.8
乳児(n=6)	185.4 ± 26.9
1歳(n=8)	204.8 ± 44.9
2歳(n=5)	136.7 ± 36.9
3歳(n=6)	120.3 ± 13.6

PC%とPIC1%との関連(r=0.73)、PT-INRとPIC1%との関連(r = -0.65)で相関関係がみられた。

4. Protac 非存在下と存在下での Thromb 産生量の比較

Protac 非存在下での Thrombin 産生量は健

康成人で 742.2 ± 23.0 mOD/min であるが、新生児は 523.0 ± 71.2 mOD/min、乳児期は 664.7 ± 89.5 mOD/min と低値である。その一方で、Protac 存在下では健康成人で 90.5 ± 18.2 mOD/min であるが、新生児は 333.6 ± 44.8 mOD/min、乳児期は 185.4 ± 26.9 mOD/min と成人と比較し高値である。すなわち、新生児・乳児は Protac での被検血漿内の PC は活性化による FV や FVIII を凝固抑制能力が十分でないことが想定される。

5. 新生児・乳児の AT 量、PC 活性の比較

新生児(n=3)	%
AT	51.7 ± 14.0
PC	41.7 ± 9.7
乳児(n=6)	%
AT*(n=5)	85.8 ± 16.9
PC	79.7 ± 26.6
健康成人(n=5)	%
AT	94.1 ± 8.5
PC	112.6 ± 10.0
ヘパリン血(n=5)	%
AT	90.5 ± 16.8
PC	52.8 ± 9.8
肝疾患(n=5)	%
AT	86.9 ± 12.2
PC	77.4 ± 28.4

AT 乳児*: 1名検体不足から未検査

6. PC%あたりのトロンピン産生量の比較

Protac 非存在下トロンピン産生量(mOD/min) Protac 存在下トロンピン産生量(mOD/min)および、Protac 非存在下トロンピン産生量(mOD/min) Protac 存在下トロンピン産生量(mOD/min)/PC (%)

新生児 (n=3)	
Protac (-) -Protac(+)	mOD/min 189.4 ± 34.6
Protac (-) -Protac(+)/PC	mOD/min/% 4.6 ± 0.4
乳児(n=6)	
Protac (-) -Protac(+)	mOD/min 479.3 ± 88.4
Protac (-) -Protac(+)/PC	mOD/min/% 6.3 ± 1.1

健康成人

Protac(-)-Protac(+) mOD/min
651.7 ± 16.3

Protac(-)-Protac(+)/PC mOD/min/%
6.4 ± 1.5

ヘパリン血

Protac(-)-Protac(+) mOD/min
264.8 ± 81.5

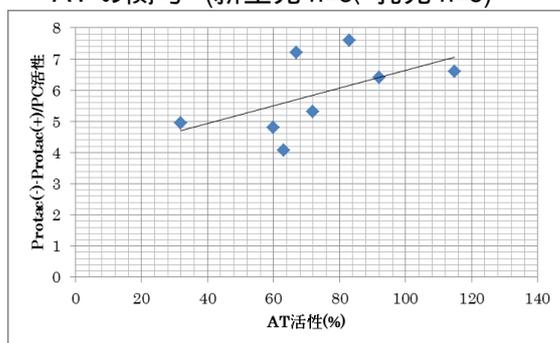
Protac(-)-Protac(+)/PC mOD/min/%
5.7 ± 2.0

肝疾患

Protac(-)-Protac(+) mOD/min
436.4 ± 132.5

Protac(-)-Protac(+)/PC mOD/min/%
5.8 ± T

7. ThromboPath での PC 抑制効果に対する AT の関与 (新生児 n=3、乳児 n=5)



r = 0.57

結果

Protac 非存在下トロンビン産生量 (mOD/min) Protac 存在下トロンビン産生量(mOD/min)は、Protac で活性化し PC/PS 抗凝固系のトロンビン産生抑制の実測値とし、Protac 非存在下トロンビン産生(mOD/min)

Protac 存在下トロンビン産生量 (mOD/min)/PC%は、PC 単独でのトロンビン産生抑制度とした場合、新生児・乳児では PC/PS 抗凝固系でのトロンビン産生抑制は十分なものでなく、とりわけ新生児は、PC に対するトロンビン産生抑制は成人でのヘパリン血に相当するほど低値であった。また、新生児・乳児での PC/PS 系でのトロンビン産生凝固抑制効果の不十分な要因には AT 低下も関与していることが示唆された。

D. 考察

血液凝固制御機構には、大きく二つ存在する。一つはセリンプロテアーゼである活性化凝固因子を特異的にあるいは蛋白分解酵素阻害作用として凝固抑制をする機構と、凝固過程の律速因子として作用する活性化 FV や FVIII を制御する機構である。前者は AT のようなセリンプロテアーゼインヒビターと非特異的に凝固抑制を起こす 2 マクログロブリンがあり、後者は凝固最終産物のトロンビンが血管内皮細胞上に発現するトロンボモジュリンと結合することで、トロンビンの凝固活性作用や血小板活性作用を消失させ、新たに抗凝固因子であるプロテイン C を活性化し、PS の補因子とともに活性化した FV や FVIII を抑制する機構(PC/PS 抗凝固系)である。

本研究では後者による抗凝固作用の効果的診断法の確立と FFP での使用指針について検討した。そのため、PC/PS 抗凝固系のグローバルな検査で新たな検査法である ThromboPath について検討した。

ThromboPath は、生体内での PC 活性機構であるトロンビン・トロンボモジュリン複合体形成による PC 活性化ではなく、被検血漿内に蛇毒成分試薬である Protac を用い直接 PC を活性化した後、一気に組織因子で凝固を惹起させ、産生されるトロンビン産生の抑制量で PC/PS 抗凝固能をグローバルに検査する方法である。

今回、例数は少ないが、新生児は、その後の小児や成人と比較し、明らかに Protac 非添加でのトロンビン産生量も少なく、その一方で Protac 添加でもトロンビン産生抑制は低く、PC/PS 系での凝固抑制能の低下がみられた。しかも、新生児の PC/PS 系での凝固抑制能は、今回のような組織因子での急激な血液凝固を制御するには十分でないことも判明した。

これまで、PC、PS の単独での活性測定は一般検査ではないが測定が可能であったが、PC/PS 凝固制御系は全体でのスクリーニング法がなく、そのため、新生児から乳児での PC、PS 欠乏の効果的診断法は確立されていないこともあり、新生児・小児の血栓症発

症の診断や治療法への対応の遅れが危惧されたが、ThromboPath は、そのスクリーニング検査法として有用であった。

ThromboPath の問題点は肝障害やワルファリン血での検討からも VKDF の産生量やビタミン K 代謝の影響を受けることが示唆される。特に新生児・乳児では本検査ではその評価には注意が必要であるが、凝固系指標の PT 等との組み合わせることで、より有用な検査法であることが示唆された。しかし、今回、被検例数が少なく基準値を示すには、今後さらに検討を行う必要がある。Cut-Off 値を設定することができれば、新生児・乳児の PC/PS 抗凝固系のグローバルなスクリーニング法として効果的な検査法となり得ると考えられる。測定での問題点は Protac の添加、非添加での被検検体は各 10 μ L と微量であるが、その一方、測定時の Dead space が大きく、新生児、小児への応用には Dead Space の改良が望まれる。また、今後の展望は、in vitro での正常血漿での補正試験や実際の FFP 投与での補正効果を調べることで FFP 等の使用指針を示すことが今後可能と思われた。

E. 結論

ThromboPath は、新生児・乳児期の遺伝性血栓症の PC/PS 系でのグローバルな診断に有用と考えられた。さらに FFP の抗凝固作用の評価にも役立つと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

本研究成果を論文として投稿予定

2. 学会発表

1) 第 22 回日本産婦人科・新生児血液学会 (会長佐川典正)

日時：平成 25 年 6 月 29-30 日

場所：アスト津 4 F アストホール

発表：

ビタミン K 欠乏性出血症の新規 PIVKA-
検査法 ピブカルテストからデタミ
ナー C L ピブカルテストに

前回妊娠時に深部静脈血栓症の既往がある先天性アンチトロンビン III 欠乏症合併妊娠の 1 例

ビタミン K フォーラム：小児のワルファリン治療

2) 第 23 回日本産婦人科新生児血液学会 (会長小林 浩)

日時：平成 25 年 6 月 7-8 日

場所：東大寺総合文化センター

新生児の交換輸血時の血液製剤の検討

3) 第 35 回日本血栓止血学会 (一瀬白帝会長)

日時：平成 25 年 5 月 30 日 6 月 1 日

場所：山形国際ホテル

新生児の消化管関連疾患に伴う DIC へのトロンボモジュリン製剤の効果

Determiner CL PIVCAL- 測定のワルファリン止血管理への臨床応用の可能性について

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

なし

実用新案登録

なし

その他

特記すべきことはない

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

新生児血栓症の疫学に関する研究

研究分担者

石黒 精 国立成育医療研究センター教育研修部・血液内科 部長

研究要旨

新生児血栓症(プロテイン C、プロテイン S およびアンチトロンピン異常症)を含む小児血栓症について、成育医療研究センターにおける 10 年間の小児血栓症の推移を含めて報告する。

A. 研究目的

小児において血栓症は少ないといわれ、その実態は長らく不明であった。近年、新生児や小児の集中治療の分野を中心に報告例が散見されるようになってきた。カナダ、オランダ、ドイツからはまとまった調査結果が報告されている。血栓症やその基礎となる栓友病の有病率は、FV Leiden が東アジアでは見られないように、人種によって異なっているとされている。わが国の新生児を含む小児全体の血栓症に関する診療体制の構築は、急務といえるが、実態はほとんど明らかになっていない。小児の血栓症に関する診療状況を把握して基礎資料を作成することを目的とする。

B. 研究方法

当院における 2002 年 3 月～2012 年 7 月の電子診療録から後方視的に検討した。

(倫理面への配慮)

「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して行った。

C. 研究結果

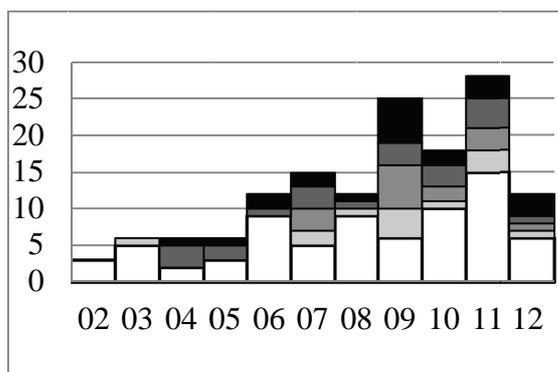
症例は 124 例(男 61 例, 女 63 例)であった。当院入院で診断されたのは観察期間中 40747 例の小児入院に対し 102 例であった。年齢は 0～19 歳(中央値 3 歳)で 1 歳未満が最多で 28 例(新生児 9 例)であった。図に示

すように経年的に増加傾向であった($p < 0.05$)。先天性血栓素因は 8 例で、プロテイン C 欠損症 3 例、プロテイン S 欠損症 3 例、先天性 HUS 1 例、鎌状赤血球症 1 例であった。後天性血栓症は HUS/TTP 45 例、門脈血栓症 14 例、中心静脈カテーテル関連血栓症 14 例、脳梗塞 11 例、肺塞栓 7 例、四肢深部血栓症 7 例であった。先天性血栓性素因を除いた基礎疾患は 77 例にあり、悪性腫瘍 20 例、肝移植後 14 例、先天性心疾患 13 例であった。血栓の部位では動脈 19 例、静脈 35 例、カテーテル 14 例であった。13 例が死亡し 11 例に後遺症を生じた。年齢、血栓の部位と死亡との有意な関連はなかったが、基礎疾患がある場合は死亡が有意に多かった($p < 0.05$)。発生部位と後遺症との関連をみると動脈で有意に多かった($p < 0.05$)。

D. 考察

新生児を含む小児の血栓症は、当初の予想以上に多く存在していることが明確に示された。死亡率や再発率が高いことから、今後、最適な予防法や治療法を開発する必要があると考えられる。小児の血栓症は経年的に増加傾向ではあるが、一施設では症例数が不十分なため、多施設共同の前方視的研究が望まれる。

図 Yearly change in patients diagnosed with thromboembolism (成育医療研究センター)



E. 結論

新生児を含む小児血栓症の全国調査成績を報告した。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Takeda K, Kawai T, Nakazawa Y, Komuro H, Shoji K, Morita K, Katsuta T, Yamamoto M, Miyairi I, Ohya Y, Ishiguro A, Onodera M: Augmentation of antitubercular therapy with interferon- in a patient with dominant partial interferon-receptor 1 deficiency. Clin Immunol, (inprint)
- 2) 清水 武, 石黒 精, 高柳隆章, 松井猛彦, 利根川尚也, 前川貴伸, 板橋家頭夫: アデノウイルス胃腸炎とマイコプラズマ肺炎に続発したループスアンチコアグulant陽性・低プロトロンビン血症. 日臨免誌 (印刷中)
- 3) 一宮優子, 石黒 精, 中舘尚也, 前川貴伸, 藤田秀樹, 國島伸治, 阪井裕一: ロミプロスチムが慢性自己免疫性血小板減少症に奏功して開心術を施行し得た小児例. 日小血がん誌 (印刷中)
- 4) Nomura O, Hashimoto N, Ishiguro A, Miyasaka M, Nosaka S, Oana S, Sakai H, Takayama JI: Comparison of patients with Kawasaki disease with retropharyngeal edema and patients

with retropharyngeal abscess. Eur J Pediatr, Epub ahead of print DOI 10.1007/s00431-013-2179-0.

- 5) 藤井輝久, 天野景裕, 渥美達也, 石黒 精, 大平勝美, 岡本好司, 勝沼俊雄, 嶋緑倫, 高橋芳右, 松下 正, 松本剛史, 森下英理子: 日本血栓止血学会, インヒビターのない血友病患者に対する止血治療ガイドライン: 2013年度版. 日本血栓止血誌, 24 (6): 619-639, 2013.
- 6) Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, Japan Childhood Thrombophilia Study Group: Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood. Pediatr Intern, 55(3): 267-271, 2013.
- 7) 小川千登世, 真部 淳, 小原 明, 石黒 精: 急性リンパ性白血病L-アスパラギナーゼ療法関連凝固異常に対する国内外の支持療法の現状. 臨床血液, 54(3): 316-318, 2013.
- 8) 山本真梨子, 中舘尚也, 井口梅文, 益田博司, 阪井裕一, 石黒 精: 遺伝子組み換え第IX因子製剤の持続輸注による小児期血友病Bの開頭術周術期管理. 臨床血液, 54(3): 300-304, 2013.
- 9) 石黒 精: 出血傾向. 小児検査実践マニュアル, 松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之など(編), p62-64, 診断と治療社, 東京, 2013.
- 10) 生田泰久, 石黒 精: 血小板減少症. 小児検査実践マニュアル, 松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之など(編), p269-272, 診断と治療社, 東京, 2013.
- 11) 千葉 剛, 石黒 精: 血栓症. 小児検査実践マニュアル, 松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之など(編), p277-281, 診断と治療社, 東京, 2013.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
「小児新生児期における遺伝性血栓症（プロテインC異常症を含む）
の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」
（課題番号 H24 - 難治等（難） - 一般 - 050）
研究代表者 大賀 正一

平成 25 年 6 月 4 日

関 係 各 位

平成 25 年度 第 1 回 小児新生児血栓症研究班（略称）

班会議プログラムのご案内

日 時： 平成 25 年 6 月 8 日（土）12：45～13：50

場 所： ホテル日航奈良 5 階「百合」の間

〒630-8122 奈良県奈良市三条本町 8-1 TEL 0742-35-8831

（JR 奈良駅西口直結）

<http://www.nikkenara.jp/>

- 内 容：
- 1．現在までの解析結果とスクリーニング法について
 - 2．症例呈示：胎児水頭症から診断された症例
 - 3．新生児 DIC と血栓症～その考え方～
 - 4．その他 今後の展開など

日本産婦人科・新生児血液学会終了直後（12:30）に、学会場東大寺総合文化センター1F
エントランスホール前にお集まり下さい。皆様で会場までご案内致します。
ご不明な点がございましたら、下記事務局までお問い合わせ願います。

ご出席予定（敬称略、順不同）：高橋幸博、嶋緑倫、白幡聡、西久保敏也、高橋大二郎、
大賀正一、市山正子（落合・福嶋代）

【事務局】

〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1

九州大学大学院周産期・小児医療学

担 当：有川 美穂

TEL: 092-642-5421 FAX: 092-642-5435

E-mail: ari-miho @pediatr.med.kyushu-u.ac.jp

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

「小児新生児期における遺伝性血栓症（プロテイン C 異常症を含む）
の効果的診断と治療予防法の確立に関する研究」
（課題番号 H24・難治等（難）・一般・050）

平成 25 年度 第 1 回 新生児血栓症研究班 班会議 議事録

・日時：平成 25 年 6 月 8 日（土） 12:45 - 13:50

・場所：ホテル日航奈良 5F「百合」の間 T630-8122 奈良市三条本町 8-1

・出席者（50 音順、敬称略、*分担協力・オブザーバー）

嶋緑倫、白幡聡*、高橋大二郎*、高橋幸博、西久保敏也*、市山正子、大賀正一

・報告および議事内容

1．新生児血栓症研究～現在までの解析結果とスクリーニング法について～大賀

本研究班は平成 25 年度の継続研究が認められ、診療ガイドラインの作成が求められている。小児期の年齢別 3 大因子活性の基準値と遺伝子解析結果を検討し、新生児乳児のプロテイン C 欠損症に頭蓋内病変が多いことを示した。プロテイン C 欠損症をスクリーニングするため、活性基準値の設定や PC/PS 活性比の有用性について検討中である。全国登録データベース拡充のため、主治医とのネットワークを構築する計画が承認された。さらなる症例集積とともに、各分担の先生に研究継続のご協力をお願いした。

2．胎児水頭症から診断された症例～市山

胎児水頭症で発症し、出生後脳静脈洞血栓症と診断された男児で、プロテイン C 活性低下、PC/PS 活性比の乖離より PROC 遺伝子のヘテロ接合と判明した症例を提示した。

3．新生児 DIC と血栓症について～高橋大二郎先生

高橋先生より新生児期 DIC の診断基準作成について提示された。基礎疾患の重要性を血栓傾向との関係から解説された。凝固検査値は他因子の影響も受けるため、体重別の診断基準の必要性が提唱された。過剰治療を避けるためにも、新生児の DIC スコアリングの確立と臨床への応用の必要性について再認識された。また DIC スコアリングは治療効果の指標にはなるが予後の指標にはならず、臓器障害のスコアリングなど予後の指標となる新しいスコアリングの必要性についても言及された。

文責 大賀、市山

2013 年 6 月 10 日作成

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石村匡崇、 大賀正一	血友病性偽 腫瘍		血液症候群	日本臨床社	東京	2013	555-6
土居岳彦、 大賀正一	Glanzmann 型血 小板無力症 (タイプ)		血液症候群	日本臨床社	東京	2013	420-3
瀧本智仁、 大賀正一	タイプ 血小板 無力症		日本臨床別冊 「血液症候群 」	日本臨床社	東京	2013	424-428
大賀正一	小児科特集 3. 感染症と血 液疾患		感染症 Today		東京	2013	5-6
石黒 精	ITP/血友病での 急性出血	辻 聡, 小穴慎二, 石黒 精など	当直医のための 小児救急 ポケットマニュアル	中山書店	東京		印刷中
石黒 精	出血傾向・凝固 障害	五十嵐 隆など	小児科研修ノート 第2版	診断と治療社	東京		印刷中
田中康子 石黒 精	貧血	辻 聡, 小穴慎二, 石黒 精など	当直医のための 小児救急 ポケットマニュアル	中山書店	東京		印刷中
石黒 精	出血傾向	松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之 など	小児検査実践 マニュアル	診断と治療社	東京	2013	62-64
生田泰久 石黒 精	血小板減少症	松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之 など	小児検査実践 マニュアル	診断と治療社	東京	2013	269-272
千葉 剛 石黒 精	血栓症	松井 陽, 横谷 進, 石黒 精, 奥山虎之 など	小児検査実践 マニュアル	診断と治療社	東京	2013	277-281
高橋幸博	ビタミン K	高橋尚人	小児科学レクチャー	総合医学社	東京	2013	
高橋幸博	Hageman trait (第 XII 因子欠 乏症)		血液症候群 —そ の他の血液疾患を含 めて— 第2版	日本臨床社	東京	2013	

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohga S, Ishiguro A, Takahashi Y, Shima M, Taki M, Kaneko M, Fukushima K, Kang D, Hara T, on behalf of the Japan Childhood Thrombophilia Study Group	Protein C deficiency as the major cause of thrombophilias in childhood.	Pediatr Int	55(3)	267-71	2013
Ohga S, Kang D, Kinjo T, Ochiai M, Doi T, Ishimura M, Kayamori Y, Urata M, Yamamoto J, Suenobu S, Kanegane H, Ikenoue T, Shirahata A, Hara T	Pediatric presentation and treatment of congenital protein C deficiency in Japan.	Haemophilia	19(3)	378-84	2013
Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T	Limited renal prophylaxis in regular plasmatherapy for heritable ADAMTS13 deficiency.	Pediatr Blood Cancer	60(9)	1557-8	2013
Yamamura K, Joo K, Ohga S, Nagata H, Ikeda K, Muneuchi J, Watanabe M, Hara T	Thrombocytosis in asplenia syndrome with congenital heart disease: a previously unrecognized risk factor for thromboembolism.	Int J Cardiol	167(5)	2259-63	2013
Hoshina T, Nakashima Y, Sato D, Nanishi E, Nishio H, Nakagata H, Yamamura K, Doi T, Shiokawa Y, Kang D, Ohga S, Hara T	Staphylococcal endocarditis as the first manifestation of heritable protein C deficiency in childhood.	J Infect Chemother		in press	2013
Narazaki R, Makimura M, Sanefuji M, Fukamachi S, Akiyoshi H, So H, Yamamura K, Doizaki S, Kojima S, Ihara K, Hara T, Ohga S	Bilateral stenosis of carotid siphon in Hutchinson-Gilford progeria syndrome.	Brain Dev	35(7)	690-3	2013
Matsunaga Y, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Fukumoto Y, Ito N, Doi T, Kang D, Hara T	Neonatal asphyxia and renal failure as the presentation of severe protein C deficiency.	J Perinatol	33(3)	239-41	2013

Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Taguchi T, Hara T	Clinical outcome of extremely low birth weight infants born at GW22-26: a report from a single institution in Japan.	Neonatology	105(2)	79-84	2014
Nomura O, Hashimoto N, Ishiguro A, Miyasaka M, Nosaka S, Oana S, Sakai H, Takayama JI	Comparison of patients with Kawasaki disease with retropharyngeal edema and patients with retropharyngeal abscess.	Eur J Pediatr		in press	
Takeda K, Kawai T, Nakazawa Y, Komuro H, Shoji K, Morita K, Katsuta T, Yamamoto M, Miyairi I, Ohya Y, Ishiguro A, Onodera M	Augmentation of antitubercular therapy with interferon- γ in a patient with dominant partial interferon- γ receptor 1 deficiency.	Clin Immunol		in press	
Mamemoto K, Kubota M, Nahai A, Takahashi Y, Kamamoto T, Minowa H, Yasuhara H	Factors associated with exclusive breastfeeding in low birth weight infants at NICU discharge and the start of complementary feeding.	Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition		in press	2013
Matsumoto T, Nogami K, Shima M	Simultaneous measurement of thrombin and plasmin generation to assess the interplay between coagulation and fibrinolysis.	Thromb Haemost	110(4)	761-8	2013
Shima M	Hemophilia world.	Rinsho Ketsueki.	54(8)	736-43	2013
Shima M, Thachil J, Nair SC, Srivastava A	Towards standardization of clot waveform analysis and recommendations for its clinical applications.	J Thromb Haemost	11(7)	1417-20	2013
Doi M, Sugimoto M, Matsui H, Matsunari Y, Shima M	Coagulation potential of immobilised factor VIII in flow-dependent fibrin generation on platelet surfaces.	Thromb Haemost	110(2)	316-22	2013
Sugita C, Yamashita A, Matsuura Y, Iwakiri T, Okuyama N, Matsuda S, Matsumoto T, Inoue O, Harada A, Kitazawa T, Hattori K, Shima M, Asada Y	Elevated plasma factor VIII enhances venous thrombus formation in rabbits: contribution of factor XI, von Willebrand factor and tissue factor.	Thromb Haemost	110(1)	62-75	2013
Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shima M	Activated prothrombin complex concentrate (APCC)-mediated activation of factor (F)VIII in mixtures of FVIII and APCC enhances hemostatic effectiveness.	J Thromb Haemost	11(5)	902-10	2013

大賀正一	エキスパートのための産婦人科・新生児領域の血液疾患診療の手引き 「新生児血栓症」	日本産婦人科 新生児 血液学会			印刷中
大賀正一	小児期に発症する遺伝性血栓症 ～プロテインCの重要性～	日本小児科 学会雑誌	117(10)	1538-4 4	2013
市山正子、大賀正一、松永友佳、金城唯宗、落合正行、堀田多恵子、浦田美秩代、古賀結、西村美香、康東天、原寿郎	小児遺伝性血栓症スクリーニングのための protein C, protein S 及び antithrombin 活性値	日本産婦人科・ 新生児 血液学会誌	23(1)	25-2	2013
清水 武, 石黒 精, 高柳隆章, 松井猛彦, 利根川尚也, 前川 貴伸, 板橋家頭夫	アデノウイルス胃腸炎とマイコプラズマ肺炎に 続発したループスアンチコアグラント陽性・低 プロトロンビン血症	日臨免誌			印刷中
一宮優子, 石黒 精, 中舘尚也, 前川貴伸, 藤田秀樹, 國島伸治, 阪井裕一	ロミプロスチムが慢性自己免疫性血小板減少 症に奏功して開心術を施行し得た小児例	日小血・がん誌			印刷中
藤井輝久, 天野景裕, 渥美達也, 石黒 精, 大平勝美, 岡本好司, 勝沼俊雄, 嶋 緑倫, 高橋芳右, 松下 正, 松本剛史, 森下英理子	日本血栓止血学会, インヒビターのない血友 病患者に対する止血治療ガイドライン: 2013 年度版	日本血栓止血誌	24	619-63 9	2013
小川千登世, 真部 淳, 小原 明, 石黒 精	急性リンパ性白血病 L-アスパラギナーゼ療法 関連凝固異常に対する国内外の支持療法の 現状	臨床血液	54	316-31 8	2013
山本真梨子, 中舘尚也, 井口梅文, 益田博司, 阪井裕一, 石黒 精	遺伝子組み換え第 IX 因子製剤の持続輸注 による小児期血友病 B の開頭術周術期管理	臨床血液	54	300-30 4	2013
曾山奉教, 吉田秀人, 下村大樹, 高橋幸博	体外循環中のアルカレミア環境下の血球凝 集塊に血小板凝集、血栓形成は 関与するのか？	体外循環学会誌	40(1)	1-6	2013