

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の

確立に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大賀 正一

平成 27 ( 2015 ) 年 3 月

## 目次

・ 班員・研究協力者名簿	1
・ 総括研究報告書	
新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および 治療法の確立に関する研究	
・ 分担研究報告書	
1 . 小児遺伝性栓友病のスクリーニングに関する研究 ～ 小児・周産期領域における3大抗凝固因子の遺伝子解析 ～	
康 東天, 落合 正行, 福嶋 恒太郎, 大賀 正一, 堀田 多恵子, 浦田 美秩代, 古賀 結, 市山 正子	
2 . 早産・低出生体重児の出生時血液検査基準範囲の作成	
落合 正行, 福嶋 恒太郎, 康 東天, 原 寿郎	
3 . 母体の血栓性素因スクリーニングによる新生児血栓症の早期診断	
金子 政時	
4 . 血栓症の診断における包括的凝固機能検査の臨床的応用の基礎検討	
嶋 緑倫	
5 . 抗 Xa 阻害薬使用時の有効な凝血学的モニタリングの検討	
瀧 正志, 山下 敦己, 森 美佳, 長江 千愛, 足利 朋子	
6 . 凝固検査標準化および診断法の開発 (新生児)	
高橋 幸博, 中川 隆志, 野上 恵嗣, 嶋 緑倫, 豆田清美, 谷口恵理, 山口 直子, 山崎 正晴, 福井 博, 斎藤 能彦	
7 . プロテイン C 欠損症に生体ドミノ肝移植が成功した世界最初の例	
石黒 精	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表	

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

新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および  
治療法の確立に関する研究

研究代表者 大賀 正一 山口大学大学院医学系研究科・小児科学 教授

**研究要旨**

新生児と小児の血栓症は近年増加している。血栓発症リスクの最も高い遺伝性素因である Protein C (PC)、Protein S (PS) 及び Antithrombin (AT) 欠損症の早期診断法が注目されている。小児の血栓症診断と素因解析は難しく治療管理法と予防法も確立していない。周産期の特異な発症様式を明らかにして、早期診断の指針作成をめざして本研究を開始した。

1) 新規発症例の集積

2014 年は新規 28 家系から 21 検体を解析し、PC 遺伝子変異 3 名(複合ヘテロ1、ヘテロ2)の児、PS 複合ヘテロ変異 1 名の母を同定した。3 年間に集積した PC 欠乏児 37 名から 13 名(44%)の変異保有者を確定したが、小児では活性値と臨床像からの予測が難しい。

2) 小児期発症者における血栓性素因の効果的診断法

年齢別に設定した各因子活性下限値の有用性を 20 歳までの血栓症例の解析から検討した。2 歳未満と中学生では低 PC 活性児が約 45%と他 2 因子活性低下児の割合より高いこと、小学生では低 PC 活性児と低 PS 活性児の割合(各 19%)も高いこと、が明らかになった。PC 欠損症による特発性血栓症は 2 歳未満が最多(44%)でこの年齢群に PROC 変異を 6 名同定した。PS 欠損症は小学生に多く(33%)この年齢群に PROS1 変異を 4 名同定した。この年齢別下限値の成人の基準値に相当する有用性が示された。一方、2 歳未満とくに新生児における PC 異常症診断のための活性下限値の設定の難しさが明らかとなった。早期産児は凝固検査の評価が難しく、多施設共同で基準値設定の標準化を行った。新規活性測定法、新生児の基準値と過凝固の評価について検討を継続している。

3) 診療ガイドラインの作成

年齢別抗凝固因子活性下限値と発症様式を考慮した成人と異なる「新生児・小児における遺伝性血栓症の診断基準案」および「重症度分類案」を作成した。また治療に関しては新生児 DIC の新しい診療ガイドラインと組み合わせて早期の効率的な遺伝子診断につなげる方法を提案した。新生児領域を中心に全国ネットを確立してこの案の有用性を継続して検討中である。本研究班での確定診断例に根治療法としてのドミノ移植が成功した。予後不良な新生児発症例の保存的治療と予防法の確立することが重要である。

研究班の症例集積から成人とは明らかに異なる小児血栓症の遺伝的背景と臨床像が明らかになり、早期診断案が今回具体化した。重篤な後遺症を残すこの稀少疾患を小児期に早期診断する体制を整え、治療と予防の診療指針確立をめざして本臨床研究を継続する。

**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	宮崎大学医学部大学院看護学研究科周産期分野	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

小児の血栓症は稀とされてきたが、新生児医療や心臓外科手術の進歩などを背景に、近年先進国で増加している。海外では、リスクの高いAntithrombin(AT)、Protein C(PC)及びProtein S(PS)欠損症を小児期に診断する意義が強調され始めた(Blood 2012;120:1510)。わが国でも成人の解析が進み治療法も進歩した。一方、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。

私たちは重症感染に伴うPCヘテロ変異の血栓小児例(Eur J Pediatr 2009;168:673)を見出し、日本人小児血栓症の分子疫学と臨床像を明らかにした(Haemophilia 2013;19:378, 日児誌 2013;117:1538)。患者は新生児とAYA(adolescent and young adult)世代に多い、特発性と診断された新生児・乳児にはPC欠乏症が、AYA世代にはPS/AT欠乏症が多い、水頭症、頭蓋内出血、新生児仮死、腎不全など成人と異なる発症様式を呈する、ことを国内外に発信した(Pediatr Int 2013;55:267, 5th EAHF 2013)。一方、新生児特有の後天性因子も示唆され、多彩な臨床像から早期診断法を確立するにはさらに症例集積が必要であることも明らかとなった。ヘテロ変異を有する両親の多くは未発症であり、妊娠は母の血栓発症の契機となる。新規治療薬(t-PAなど)は小児の使用経験も少ない。世界一低い周産期死亡率を誇り、人口減少時代を迎えた日本で「家族を守る血栓症診療」を確立する意義は大きい。

本研究の目的は新生児・小児例を集積し、「早期診断、治療管理と予防法を確立」することである。平成23年度から私たちは全国の診療ネットの基盤を確立し、産婦人科新生児血液学会と小児血液がん学会を通じて、症例集積を急速に進めた。3因子活性比のスクリーニングによる効率的遺伝子診断法の試案も作成中である。診療情報を共有し抗凝固療法と補充療法の評価を行うネットワークも確立した。小児血栓症の全貌解明と質の高い診療指針の作成をめざして、新規症例の集積を継続し、現在の登録を小児血栓症の継続的な国内登録システムに発展させる。

## B. 研究方法

新生児・小児における特発性血栓症の全貌を明らかにし、診療ガイドラインを作成する。

3年間で集積した国内の症例登録基本データをもとに、3大抗凝固因子欠損症を中心とした診療指針を作成する。診断としては、新生児と学童での発症様式の相違から、効率的遺伝子診断のための活性値を決定し指針に組み込む。治療としては、診療経験の主治医ネットワークを全国周産母子センターからほぼ確立したので、指針案を作成しコンセンサスを得る。家族解析から小児の発症例・未発症例を集積し、発症の誘因・後天的要因を解析し、小児発症の予防策を含む包括的指針をめざす。

本症は希少性が高いとされたが、発症様式が多彩で予想外に見つかりだしたこと、全国レベルで経験のある主治医と血栓止血領域の専門医の密な連携が必須である。新生児領域は九州大学病院総合周産期母子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」の施設群から全国の総合周産期母子医療センターへネットを広げたので、日本産婦人科新生児血液学会(研究協力:池ノ上理事長、白幡名誉会員)を基盤に活動する。小児領域は成育医療センターと九州大学を中心に全国の小児医療センターにネットを拡充し、日本小児血液がん学会(研究協力:石井理事長、瀧血栓止血委員長)を基盤に活動していく。

以下に具体的方法を記す。

1) 症例集積と血栓性素因の臨床的評価(大賀、石黒、高橋、瀧ほか)

罹患者系の遺伝子解析と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。新規例ごとにスクリーニングと遺伝子解析を実施する。月1家系以上の同定が見込まれる。

2) 血栓性素因スクリーニング、遺伝子解析(康、嶋、落合[児]、福嶋、金子[母]他)

PT、APTT、Fibrinogen、PIC、TAT、D-dimer、VIII:C、抗Cardiolipin抗体、lupus-anticoagulant、PC・PS活性/抗原、活

性、PIVKA、F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub> 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* (13 exons) の翻訳とプロモーター領域を解析する。MLPA法やCGHアレイによる欠失の確認、エクソーム解析を行う。臨床遺伝医療部で遺伝カウンセリングを行う。

3) 治療薬の適応と有効な適正使用に関する検討(嶋、高橋、瀧、大賀、白幡、池ノ上他)

新生児・小児に対するトロンボモジュリン製剤、活性化PC製剤、AT製剤および凍結血漿による補充療法への指針作成のための、基礎的及び臨床的エビデンスを集積する。

4) 新生児領域の診断と治療指針の作成(落合、大賀、高橋、及び参加施設) 初年度

周産母子センター(母性、新生児)を中心に活用できる診療の手引きを作成する。

5) 小児領域の診断と治療指針の作成(石黒、瀧、大賀及び参加施設) 次年度

小児医療センターを中心に活用できる診療の手引きを作成する。小児神経および循環器領域には未診断例あるいは後天性として治療されている例のあることが予想される。専門医(研究協力:吉良、本荘、山村ほか)のネットワークを拡大して、継続性のある質の高い全国レベルの診療システム基盤を構築する。

(倫理面への配慮)

血栓症責任遺伝子の解析について、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が学会倫理審査委員会ですで行っている疾患登録事業の疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究として行う。患者登録システムの確立には、遺伝子検査を含む研究であること、発症前の家族を診断する可

能性のあることから、主治医から患者本人もしくは保護者への説明が十分になされ同意が取得された上で、申請者が遺伝子解析を行う。さらに遺伝カウンセリングを行い、可能な治療と予防に関する指導や助言も必要に応じて行う。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は、患者および家族から事前に十分な説明をおこない、文書による同意を得る。山口大学病院と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、すでに血栓性素因の遺伝子診断が確定した家系にカウンセリングを実施している。

## C. 研究結果

・研究班全体としての研究成果

新生児・小児血栓症とその素因を診断し治療管理・予防法を確立するため、以下の研究結果に基づき診療指針案を作成した。

### 1) 新規発症例の集積

2014年は新規28家系以上の小児例の診断と治療に関する相談を受け、自然抗凝固因子活性低下症を疑う家系から21検体を解析した。*PROC*変異3名(複合ヘテロ1、ヘテロ2)の児、*PROS1*複合ヘテロ変異1名の母を新規に同定したが、*SERPINC1*変異はなかった。これにより、2011年以降の班員のグループが同定してきた本邦小児PC欠乏症患者は約3年間で37名(うち16名が変異確定)となった(表1)。

表1. 研究班開始後の小児Protein C欠乏症

患者数	2011以前 27名	2011以降 37名
ホモ変異	2	3
複合ヘテロ変異	11	6
ヘテロ変異	7	7
	⇒35%	⇒44%
変異なし	2	21
その他不明	5	0
	26%	57%

a) 2011年以前は両親の活性からの推定

b) 2011年以降は全例遺伝子解析による確定

これは2011年以前の30年間の27名(うち変異確定20名)報告から急増しており、近年本研究班が稀少例の正確な診断に寄与したことを示唆している。この遺伝性PC欠損症の中にヘテロ変異の割合が44%としだいに増加していることは予想通りである。また非血縁者にホモ変異が予想外に同定されている。積極的な遺伝子解析を継続しているため、臨床像と活性値からは遺伝性PC欠損症との鑑別が困難な変異なし例が増加した。さらにその後の観察から、ほとんどはPC活性が年齢相当に上昇することも確認された。

## 2) 小児期発症者における血栓性素因の効果的診断法

出生から20歳までの血栓症発症者とその疑い患者に行った血栓性素因遺伝子解析の症例集積集団に対して、年齢別に設定した各因子活性下限値の有用性を検討した(表2下)。2歳未満と中学生(13-15歳)の2群では低PC活性児が約45%と他2因子活性低

下児の割合より有意に高く、小学生(7-12歳)では低PC活性児と低PS活性児の割合(各19%)が有意に高かった。特発性血栓症と診断されPC欠乏が関与したと考えられる児は2歳未満が最多(44%)でこの年齢群にPROC変異を6名同定した。PS欠損症は小学生群に多く(33%)この群にPROS1変異を4名同定した。このことから、今回設定した年齢別活性下限は、日本人成人基準値(Kinoshita S et al. Clin Biochem. 2005; 38: 908-15, Miyata T et al. Throm Res. 2009; 124: 14-8)に相当する有用性があったと示唆された。一方、2歳未満とくに新生児と3か月までの児におけるPC異常症診断のための活性下限値の設定は難しいことが明らかとなった。早期産児は凝固検査の評価が難しく、多施設共同で基準値設定の標準化を行った。新規活性測定法、新生児の基準値と過凝固の評価について検討を現在も継続している。

**表2. 新生児・小児における遺伝性栓友病\*の診断基準(案)**  
\*プロテインC, プロテインS, アンチトロンビン欠損症

### <診断基準>

- 1) 各抗凝固因子活性が、常に年齢基準値の下限\*である
- 2) 年齢に応じて下記の特徴的な発症様式をとる
  - 新生児・乳児早期: 胎児脳室拡大(水頭症)、新生児脳出血・梗塞、脳静脈洞血栓、電撃性紫斑病、硝子体出血
  - 幼児・学童期: 脳出血・梗塞、脳静脈洞血栓、上腸管膜動脈血栓
  - 思春期以降: 深部静脈血栓症、肺塞栓・梗塞、脳梗塞
- 3) 各遺伝子変異が確認されるか、家族集積性から遺伝性と判断できる

上記1)-3)を全て満たすものを、遺伝性栓友病発症者、1)と3)を満たすが年齢的にまだ発症していないものを、遺伝性栓友病未発症者とよぶ。

#### \*年齢別各活性値の下限(単位%)

	PC	PS	AT
0日 - 89日	45 (<60%)	42 (<60%)	52 (<65%)
90日 - 2歳	64 (<85%)	51 (<85%)	52 (<65%)
3歳 - 6歳	64 (<85%)	51 (<85%)	68 (<85%)
7歳 - 20歳	75 (100%)	60 (100%)	80 (100%)
成人	75	60	80

但し括弧内は成人基準の%

### 3) 診療ガイドラインの作成

年齢別抗凝固因子活性下限値と発症様式を考慮した成人と異なる「新生児・小児における遺伝性栓友病の診断基準案」(表2)および「重症度分類案」(表3)を作成した。また治療に関しては新生児DICの新しい診療ガイドラインと組み合わせて早期の効率的な遺伝子診断につなげる方法を提案した。新生児領域を中心に小児科診療施設の全国ネットを確立しこの案の有用性を継続して検討中である。本研究班での確定診断例に根治療法としてのドミノ移植が成功した(石黒分担任)。今後予後不良な新生児発症例の保存的治療と予防法を確立するには、新たに班員のコアメンバーで作成した新生児DICの診療ガイドラインを参考に管理予防から根治療法までを含めた包括的診治ガイドラインが必要である。

**表3. 新生児・小児遺伝性栓友病の重症度分類(案)**

＜重症度分類＞		
Stage 1: 未発症	遺伝性栓友病と診断されたが、無症候	
Stage 2: 軽症	発症早期に適切に治療され、補充療法は不要	
Stage 3: 中等症	発症後補充しながら、独立して日常生活が可能	
Stage 4: 重症	発症後補充と支持がなくては日常生活が不可能	

血液プロテインC	濃度 (IU/ml)	活性 (%)
健康成人	0.65~1.35	64~146
プロテインC欠損症		
軽症 mild	>0.2	>20
中等症 moderately severe	0.01~0.2	1~20
重症 severe	<0.01	<1

#### ・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

小児遺伝性栓友病のスクリーニング～小児・周産期領域における3大抗凝固因子の遺伝子解析 に関する研究

日本人小児における遺伝性血栓性素因(栓友病)の効果的スクリーニング法を確立するため、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)欠乏症患者の表現型(活性値と臨床症状)と遺伝子型を解析した。2014年はPC欠乏22家系、PS欠乏4家系およびAT欠乏2家系に遺伝子解析を行った。PROC変異は複合ヘテロ1名、ヘテロ2名と変異なし8名、PROS1変異は複合ヘテロ1名と変異なし2名、

SERPINC1変異はなし1名を確認した。PROC複合ヘテロ変異は新生児電撃性紫斑病と頭蓋内出血梗塞を、ヘテロ変異の2名(日齢16, 4歳)は感染に伴って発症した脳静脈洞血栓であった。PC欠乏として解析した70%以上は新生児(胎児期も含む)発症の頭蓋内病変であった。2011年秋より集積した研究班のPC欠乏症の遺伝子診断例は37名に、うち変異確定者は13名(44%)となった。年齢別3因子活性の下限基準値を定義し、20歳以下の栓友病疑い306例を年齢層別に検討した。0 - 2歳と13 - 15歳における低PC活性児の割合(各45%、44%)は他の2因子活性の低下した児の割合(5 - 17%)より有意に高かった。7 - 12歳の低PC活性児は低PS活性児の数と同じ割合(19%)で低AT活性児のそれ(1%)より有意に高かった。特発性血栓症と診断した62名における年齢層別患者割合は3因子間で異なり、PC欠損症では0 - 2歳が44%と最多をしめこの群にPROC変異を6名同定し、PS欠損症では7 - 12歳が33%と多くこの群にPROS1変異を4名同定した。3因子が低活性であった各年齢層に同定された変異患児の割合には差がなかったため、この各年齢層に定義した下限基準値の有用性が示唆された。今後、さらに新生児における低PC活性の下限値について、同時測定によるPS活性比から検討する必要がある。

落合 正行, 福嶋 恒太郎, 康 東天, 原寿郎

早産・低出生体重児の出生時血液検査基準範囲の作成 に関する研究

新生児・小児の血栓症の診断と治療の基礎となる、早産児・低出生体重児の入院時の血液検査基準値を設定した。既存のネットワークをもとに多施設共同臨床研究を行うインフラを整備し、11の関連施設から年間1000例程度のハイリスク新生児をデータベースに登録した。対象は関連施設に入院した全ての新生児であり、死亡退院と先天異常例は除外した。測定項目は標準化サーベイランス27項目のうち入院時ルーティン項目を選択した。入院時(日齢0 - 1)の血液検査所見を性別、在胎週数、出生体重別に層別化し

て、ノンパラメトリック法にて基準値と基準範囲(95%信頼区間)を設定した。ほとんどの項目で性差はなく、在胎週数や出生体重に比例して増加する項目(総蛋白、アルブミン、クレアチニン等)と変化しない項目(尿素窒素、カルシウム、カリウム等)を認めた。肝臓で合成される凝固線溶因子においては、出生時の基準範囲は在胎週数と出生体重に依存すると推測される。

金子 政時 宮崎大学医学部大学院看護学研究科周産期分野 教授

母体の血栓性素因スクリーニングによる新生児血栓症の早期診断 に関する研究

母体の血栓性疾患のリスク因子から特発性小児血栓症児およびその家系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。平成26年に総合周産期母子医療センターで管理された妊婦を対象とした。妊娠合併症として、重症妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延児、母体合併症・既往として、深部静脈血栓症、脳梗塞、その他血栓性疾患、家族歴として、2親等以内の脳梗塞等の血栓性疾患を有する妊婦をハイリスク妊婦として捉え、必要に応じてプロテインC、プロテインSの活性および抗原量、アンチトロンピン 活性を測定した。さらに、ハイリスク母体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。その結果、リスク因子を有する妊婦35名(13.6%)が抽出されたが、その中から特発性小児血栓症児およびその家系の特定には至らなかった。さらに症例を集積していくと同時に、今後は、胎盤組織所見でFetal vessel thrombosisのみられた児の予後も追跡していく予定である。

嶋 緑倫 奈良県立医科大学小児科学教授

血栓症の診断における包括的凝固機能検査の臨床的応用の基礎検討 に関する研究

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。最近我々はトロンピ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。本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ことが期待される。今回、本生成試験を用いた栓友病診断の臨床的応用について、抗凝固因子添加における本生成試験へ与える影響について検討した。抗凝固因子(活性型プロテインC、アンチトロンピン、トロンボモジュリン)の過剰量の添加はいずれも凝固能ならびに線溶能を抑制することがわかった。今後、血栓症を呈する各欠乏血漿検体を用いて、抗凝固因子過剰存在下での本法で検討する予定である。

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)、アンチトロンピン(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。また、診断まで時間を費やすことも多い。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。トロンピ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。昨年度は、栓友病の凝固機能を包括的に評価するためにトロンピ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の確立を報告した。今年度の分担研究は、トロンピン・プラスミン生成試験を用いた栓友病診断の臨床的応用について、抗凝固因子添加における本生成試験へ与える影響について検討した。

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

凝固検査標準化および診断法の開発(新生児) に関する研究

プロテインC(PC)は肝で合成されるビタミンK依存性抗凝固因子で、血漿中で最も重要な抗凝固因子である。新生児や小児は肝



の未熟性やビタミンK欠乏に陥りやすく、先天性や後天性PC欠乏症では血栓症を発症する。特に先天性PC欠乏症では新生児期に電撃性紫斑病を生じる。本研究は、新たに抗凝固検査法として開発されたThromboPathを用い、新生児・小児における抗凝固機構の特性と治療について検討した。

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

抗Xa阻害薬使用時の有効な凝血学的モニタリングの検討 に関する研究

血栓症の治療および予防薬として抗Xa阻害薬を使用する際の有効な凝血学的モニタリング法は未だ確立されていないが、Rivaroxaban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。今後、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について検討を進める必要がある。

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

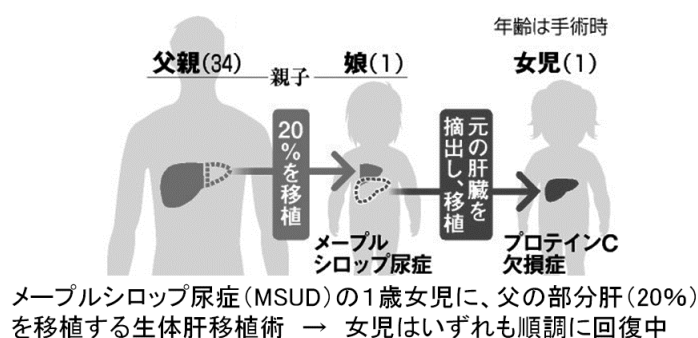
プロテインC欠損症に生体ドミノ肝移植が成功した世界最初の例 に関する研究

本研究班で診断した複合ヘテロ変異によるプロテインC欠損症の23か月患児に、メー

プルシロップ尿症患者から摘出した肝を用いて世界初の生体ドミノ肝移植を実施した。新鮮凍結血漿の定期補充にもかかわらず電撃性紫斑を反復していた患者の血中プロテインC値は正常化して症状も消失し、プロテインC欠損症の根治療法が成功した。新しい治療選択肢を患者に提供可能にした点で意義深い。

#### D. 考察

私たちは小児の血栓性素因は、PC欠乏症が最も多いこと、これが新生児の電撃性紫斑病に先行する頭蓋内出血・梗塞として発症すること、を後方視的研究から明らかにし、遺伝子解析を積極的に行うことにより、予想外に未診断例がいることを本研究班の活動により実証してきた。本年も月1家系以上のペースで新規変異患者を同定し症例を集積した。新生児では胎児発症のperinatal strokeに、また乳児では重症感染や外科手術などによる後天的血栓症と考えられていた症例に、PROCヘテロ変異が確認された。予想通り患児の両親には血栓の既往がない変異保有を確認した。成人とは発症様式が異なる小児PC欠損症に焦点を絞って遺伝子解析を行うことにより、遺伝性血栓性素因家系を早期に効率よく診断できることが、研究班の実績から明らかになってきた。



MSUD児: 移植肝で $\alpha$ -ケト酸脱水素酵素複合体活性を補充  
 PC欠損児: 肝外(腎・筋肉など)で $\alpha$ -ケト酸脱水素酵素活性あり  
 国内ドミノ肝移植39例のうち、小児では初  
 2014年8月25日 笠原群生先生 成育医療センター／自治医大  
<http://apital.asahi.com/article/news/2014082600003.html>

図1. 根治療法としての肝ドミノ移植 (成育医療センター 石黒ら)

今回、集積例のデータから年齢層別に設定した3つの抗凝固因子活性の下限値は、成人と異なる多様な発症様式をとる新生児(PC異常優位)、そして成人型深部静脈血栓症を早期発症するAYA世代(PC異常と日本優位なPS異常優位)という小児血栓症の特徴をよく表した。成人は診断時に3因子活性低下例の半数に変異が確認されない。今回設定した小児の下限値は低活性の半数弱に変異を確認することができ、成人の基準とほぼ同等の有用性を示した。一方、新生児の基準値設定は困難であった。胎児脳室拡大と多発性脳梗塞を来したPC変異例は、PC活性の低下が判別しにくいアジアに多いことが血栓性素因であることが海外から最近報告されている。成人でも活性値から遺伝子解析に進めることに躊躇する例にこのような新生児特有のstroke(動脈性血栓)で発症した例を診断し得たことは、活性値から想定される変異保有者のアレル頻度が想定よりも高いことを示唆する。新生児血栓症が増加し、これが中心静脈栄養あるいは心臓外科手術などの新生児医療の進歩による後天性因子の変化が、水面下にあったヘテロ変異の血栓性素因リスクをあげつつあるのかもしれない。

研究班では、新生児例の早期診断のため、母からのスクリーニング(金子、福嶋ら)、活性測定法の検討(嶋、高橋ら)の検討を行った。落合と康らは、新生児の検査値の標準化を行い、凝固検査の基準値設定を行った。最近PC活性とPS活性が0.5未満の小児例に積極的に遺伝子解析を行うようになり、変異なし例が増加した。これらの多くは継続観察により、PC活性が上昇しPS活性との乖離がみられなくなる。PC活性の上昇が遅れる、もしくは変動しやすい原因は不明であるが、このような例のPC成熟遅延乳児に感染などの後天性要因が加わり血栓発症に至る例があると想定される。新生児における症例を継続しこのようなslow starterと思われるの血栓リスクについてさらに明らかにする必要がある。

今回、このような背景から、診断基準試

案(表2)と重症度分類試案(表3)を作成し、班員内でのコンセンサスを得た。これを小児・新生児診療施設において検証して次年度の診断ガイドラインの基礎資料としたい。

一方、治療については症例が集積されてきたが、前向き研究を開始するほどの情報が十分でない。班員の瀧らは実際に抗凝固療法を小児に行う場合の、治療中モニタリングについて研究を続けている。石黒らは、本研究班で診断したPC複合ヘテロ変異の児に、同ヘテロ変異を有する父からの肝移植が困難なため、ドミノ移植を成功させた。国内ドミノ移植で小児では初めてとなったこの肝移植がPC欠損症に行われた意義は大きい。補充療法を行う製剤を適正に使用し、患児に根治療法を行う方法を今後確立していくことが必要であろう。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

研究班では、注目されてこなかった日本人小児の血栓症を細やかに解析することにより、PC欠乏症の臨床的意義を明らかにしてきた。本年は、これらの成果をもとに初めて、成人とは独立した診断基準案と重症度分類案を提示することができた。さらにドミノ肝移植による根治療法の成功は診療ガイドラインのエビデンスとなった。試案の有用性を全国レベルで検討するとともに、症例をさらに集積して治療管理そして予防に関する試案作りのための情報収集を行う。

## 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. Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Tagichi T, Hara T: Survival and neurodevelopmental outcome of preterm in

fants born at 22-24 weeks of gestational age. *Neonatology* 105(2):79-84, 2014

2. Yamamura K, Takada H, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Morihana E, Ohga S, Hara T: Early progression of atherosclerosis in children with chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome. *Rheumatology* 53(10):1783-7, 2014

3. 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* 20(2):128-30, 2014

4. Matsuoka W, Yamamura K, Uike K, Nagata H, Ohga S, Hara T: Tachyarrhythmia-induced cerebral sinovenous thrombosis in a neonate without cardiac malformation. *Pediatr Neonatol* 55(5):412-3, 2014

5. Maeba S, Hasegawa S, Shimomura M, Ichimura T, Takahashi K, Motoyama M, Fukunaga S, Ito Y, Ichiyama T, Ohga S: Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. *Am J Perinatol* 2014 (in press)

6. Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Matsubara T, Shimomura M, Okuda M, Ichiyama T, Ohga S: Acute pericardial effusion representing the TNF- $\alpha$ -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol* 29:1-6, 2014

7. 大賀正一、落合正行、石黒精、高橋幸博、瀧正志、嶋緑倫、金子政時、福嶋恒太郎、康東天 小児新生児血栓症研究班：「遺伝性血栓症：小児期における診断と治療の問題点」。日本小児血液がん学会雑誌 2015 (印刷中)

8. 大賀正一：新生児の血栓止血異常症：血友病と栓友病。日本未熟児新生児学会雑誌 2015 (印刷中)

8. 大賀正一：第15章「血液・腫瘍性疾患」播種性血管内凝固症候群 disseminated intravascular coagulation (DIC)。今日の小児治療指針第16版 2014 (印刷中)

## 2. 学会発表

1. Ochiai M, Matsushita Y, Kusuda T, Ichiyama M, Kitajima J, Inoue H, Tanaka

K, Ihara K, Ohga S, Hara T: Blood chemistry and hematology reference intervals in preterm or low birth weight infants at birth. PAS and ASPR Joint Meeting 2014 May 3-6, 2014, Vancouver, Canada

2. Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T: Genetic screening of protein C, protein S and antithrombin deficiency in pediatric thromboembolism. Pediatric Academic Societies (PAS) and Asian Society for Pediatric Research (ASPR) 2014 Joint Meeting, May 3 - 6, 2014. Vancouver, British Columbia, USA

3. Shimomura M, Ichimura T, Kittaka S, Mizutani M, Hasegawa S, Ohga S: Siblings with atypical HUS experienced in our hospital. Pediatric aHUS forum in Yamaguchi 2014, December 3, 2014, Ube, Yamaguchi, Japan

4. 大賀正一：プロテインC欠損症～早期診断と治療～第62回 日本輸血・細胞治療学会総会 共催セミナー5 奈良市、2014年5月15日

5. 大賀正一：新生児の血栓症と血栓性素因 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 ランチョンセミナー 横浜市、2014年6月13日

6. 大賀正一、茨聡、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ。新生児DICの診断と治療 新しい指針の提案 補充療法の適応 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

7. 長江千愛、茨聡、大賀正一、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ。新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 新生児DICに対する遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の使用指針。第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

8. 高橋大二郎、茨聡、大賀正一、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋幸博、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血

液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ. 新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 アンチトロンピン製剤の再評価. 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

9. 川口千晴, 高橋幸博, 茨聡, 大賀正一, 樺山知佳, 河井昌彦, 沢田健, 高橋大二郎, 瀧正志, 長江千愛, 西久保敏也, 水上尚典, 白幡聡, 日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ. 新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 新生児DICの診断基準(案) 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

10. 大賀正一: 小児の血栓症と血栓性素因 ~ 感染と止血のかかわり ~. 第194回倉敷小児科専門医会 特別講演. 倉敷市、2014年7月23日

11. 大賀正一: 血友病と栓友病 ~ 診断と治療の問題点 ~. 第76回日本小児科学会宮崎地方会 特別講演. 宮崎市、2014年9月14日

12. 大賀正一: こどもの血栓症 ~ 血栓性素因を考える ~. 宇部市小児科医会セミナー 宇部市 2014年9月16日

13. 大賀正一: 止血異常 小児診療のピットフォール. 第34回山口県小児外科研究会 特別講演 山口市 2014年9月25日

14. 大賀正一: 新生児の血栓止血異常症 第59回日本未熟児新生児学会・学術集会 教育講演 松山市 2014年11月11日

15. 大賀正一: 血栓症とその遺伝性素因 ~ 栓友病の早期診断をめざして ~. 第25回山口血液疾患研究会 特別講演 山口市 2014年11月17日

16. 大賀正一: 小児の血栓性素因 ~ 感染と免疫の関わりから ~. 第66回中国四国小児学会 教育講演 高知市、2014年11月22日

17. 大賀正一: 遺伝性血栓性素因 ~ こどもと家族を守る ~. 第14回和歌山Hemophilia Network 特別講演 和歌山市、2014年12月6日

18. 松岡若利, 鷓池清, 永田弾, 山村健一郎, 平田悠一郎, 李守永, 賀来典之, 馬場晴久, 中山秀樹, 大賀正一, 原寿郎: 発作性上室性頻拍による心原性ショックの後に発見された新生児脳静脈洞血栓症の1例 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 横浜市、2014年6月13日

19. 市山正子, 中村有香里, 落合正行, 石村匡崇, 楠田剛, 浦田美秩代, 堀田多恵子, 康東天, 大賀正一, 原寿郎: 胎児水頭症から診断された先天性プロテインCヘテロ接合体欠損症の新生児例. 第24回日本産婦人科新生児血液学会 横浜市、2014年6月13日

20. Nishimura A, Miyamoto S, Takada K, Satomi R, Matsumura Y, Terauchi M, Kajiwara M, Ohga S, Enomoto K, Ohta M. A congenital protein C deficiency boy who developed cerebral venous thrombosis after steroid therapy. 第76回日本血液学会学術集会 大阪市、2014年10月31日

21. Sekiya Y, Okuno Y, Muramatsu H, Oifati I, Kawashima N, Narita A, Wang X, Xu Y, Hama A, Fujisaki H, Toshihiko I, Hasegawa D, Kosaka Y, Sunami S, Ohtsuka Y, Ohga S, Takahashi Y, Kojima S, Shimada A. JAK2, MPL, and CALR mutations in children with essential thrombocytopenia. 第76回日本血液学会学術集会 大阪市、2014年10月31日

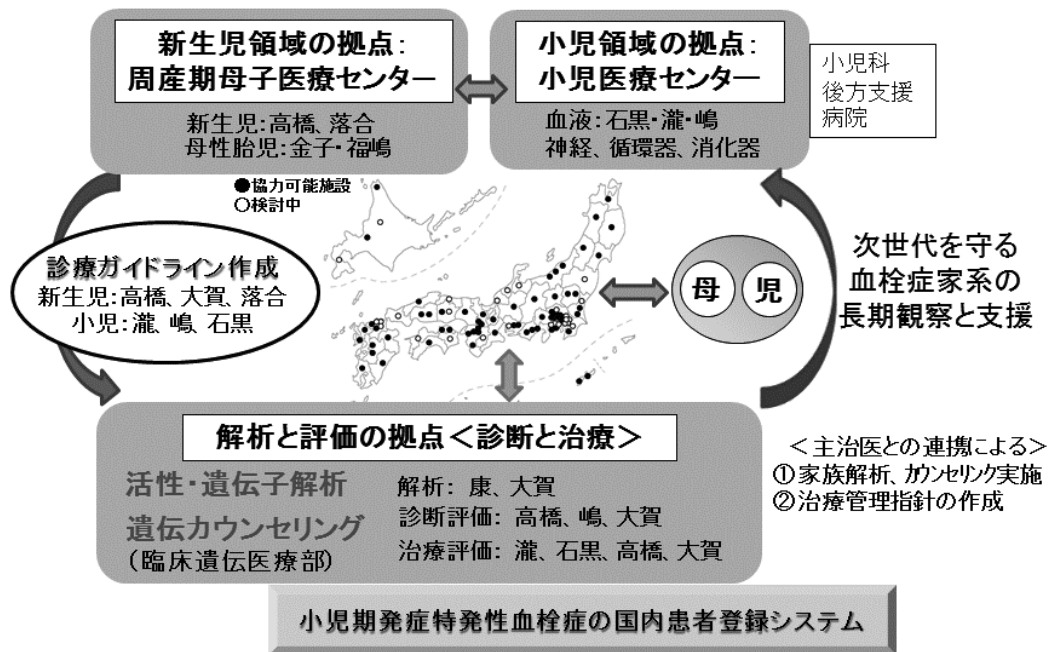
22. 落合正行, 金城唯宗, 高畑 靖, 岩山真理子, 安部 猛, 井原健二, 大賀正一, 福嶋恒太郎, 加藤聖子, 田口智章, 原寿郎: 在胎週数22 - 24週で出生した早産児の死亡率、罹患率と予後 ~ 2000年から2010年までの単施設での比較 ~. 第67回九州小児科学会 大分市、2014年11月22-23日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

付) 研究の流れ図

新生児・小児の特発性血栓症家系情報を集積し、  
診断、予防と治療に関する診療指針による包括医療を行う



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）  
「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究」  
－ 分担研究報告書 －

## 小児遺伝性栓友病のスクリーニングに関する研究 ～ 小児・周産期領域における3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
市山 正子	国立病院機構 九州医療センター 小児科

### 研究要旨

日本人小児における遺伝性血栓性素因(栓友病)の効果的スクリーニング法を確立するため、小児期発症のプロテイン S (PS)、プロテイン C(PC)及びアンチトロンビン(AT)欠乏症患者の表現型(活性値と臨床症状)と遺伝子型を解析した。2014 年は PC 欠乏 22 家系、PS 欠乏 4 家系および AT 欠乏 2 家系に遺伝子解析を行った。PROC 変異は複合ヘテロ 1 名、ヘテロ 2 名と変異なし 8 名、PROS1 変異は複合ヘテロ 1 名と変異なし 2 名、SERPINC1 変異はなし 1 名を確認した。PROC 複合ヘテロ変異は新生児電撃性紫斑病と頭蓋内出血梗塞を、ヘテロ変異の 2 名(日齢 16, 4 歳)は感染に伴って発症した脳静脈洞血栓であった。PC 欠乏として解析した 70%以上は新生児(胎児期も含む)発症の頭蓋内病変であった。2011 年秋より集積した研究班の PC 欠乏症の遺伝子診断例は 37 名に、うち変異確定者は 13 名(44%)となった。年齢別 3 因子活性の下限基準値を定義し、20 歳以下の栓友病疑い 306 例を年齢層別に検討した。0 - 2 歳と 13 - 15 歳における低 PC 活性児の割合(各 45%、44%)は他の 2 因子活性の低下した児の割合(5 - 17%)より有意に高かった。7 - 12 歳の低 PC 活性児は低 PS 活性児の数と同じ割合(19%)で低 AT 活性児のそれ(1%)より有意に高かった。特発性血栓症と診断した 62 名における年齢層別患者割合は 3 因子間で異なり、PC 欠損症では 0 - 2 歳が 44%と最多をしめこの群に PROC 変異を 6 名同定し、PS 欠損症では 7 - 12 歳が 33%と多くこの群に PROS1 変異を 4 名同定した。3 因子が低活性であった各年齢層に同定された変異患児の割合には差がなかったため、この各年齢層に定義した下限基準値の有用性が示唆された。今後、さらに新生児における低 PC 活性の下限値について、同時測定による PS 活性比から検討する必要がある。

### A. 研究目的

自然抗凝固因子であるプロテイン S (PS)、プロテイン C(PC)及びアンチトロンビン(AT)の欠損症は遺伝性血栓性素因のうち、最も血栓塞栓症を発症するリスクが高い。日本人には、海外で高頻度だが当該リスクはより低い血液凝固第 Ⅲ 因子ライデン(FVL)とブ

ロトロンビン多型(PTvariant)がない。そのため日本人成人ではPS欠乏症が最も頻度の高い遺伝性血栓性素因である。これまで日本人小児ではPC欠乏症の頻度が高いことを示し、この発症様式が成人と異なることを示してきたが、稀少疾患であるため分子及び臨床疫学情報に乏しい。家族解析を進め、

新規診断例を集積し、各因子活性から小児期においても、効果的なスクリーニングができる方法を検討した。

## 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 3500xL 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、 $<3SD$ を低下とした(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、必要に応じて遺伝カウンセリングを行った。

### 2. 新規診断例の家系解析

全国より研究班に診療に関する相談を受けた小児期発症栓友病疑い患者とその家系について、抗リン脂質抗体症候群などの続発性血栓症・凝固障害を除外し、PC, PS及びATの活性測定と遺伝子解析を行った。これまでの解析から、生後3か月までのとくに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、遺伝子解析の対象については、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活性への影響も考慮し、とくにPC/PS活性比(0.5)を目安として積極的に解析を行った。

2011年秋に本研究班の前身から行ってきた症例の集積を行った。また、2011年までに行ってきた後方視的症例を再検討し活性値からのスクリーニング案を提示した。

## C. 研究結果

### 1. PC, PS及びAT欠損症例

2014年は、PC欠乏の診療に関して22家系、PS欠乏およびAT欠乏に関してそれぞれ4家系と2家系の相談を受けた。このうち3因子低下から、遺伝子解析に至った数はそれぞれ17、3および1検体であった。PC欠乏患児のうち、*PROC*変異を3名(複合ヘテロ変異1、ヘテロ変異2)に同定し、8名にエクソンとその近傍に変異のないことを確認した。PS欠乏家系に1名の*PROS1*変異を同定し、2名には変異のないことを確認した。*SERPINC1*変異家系には、1名に変異なしを確認した。

この*PROS1*変異は36歳の母で、3回目の妊娠を契機にPS活性低下と臨床診断され、今回の確定診断後に脳静脈洞血栓症が疑われて精査加療を要することになった。彼女の児3名は今後解析を予定している。この母は非妊娠時の血漿PS活性が10%と低く、複合ヘテロ接合変異(ex6.927A>G p.K196Q [PS-Tokushima], int14.2212-1G>A[splicing acceptor site])が同定された。このintron 14のsplicing acceptor site異常は新規変異であった。不妊症もなく今回発症までの妊娠分娩歴はG3P3で、不育症も明らかな血栓塞栓症も経験していなかった。

### 2. PC欠損症例

2014年に診療相談を受けたPC欠損家系において現在まで解析中を含む20歳未満23名の発症様式、PC及びPS活性、*PROC*変異の解析結果を表1に示す。17名(74%)は1生月までに起こった頭蓋内病変により本症を疑われた。この新生児例のうち5名(29%)は胎児期発症が示唆された。この新生児発症例のうちPC/PS活性比が $<0.5$ を呈した3名と $<0.5$ の2名いずれにも変異なしを確認した。変異を認められた3名のうち2名のPC/PS活性比は $<0.5$ であったが、1名は0.85と高かった。電撃性紫斑病で発症した1名は複合ヘテロ接合変異を有し頭蓋内出血・梗塞が先行していた。ヘテロ変異の2名(16生日と4歳)は、それぞれ術後、重症RSV肺炎後に脳静脈洞血栓症を発症していた。

表1. 新生児及び小児PC欠乏症解析例 (2014)

年齢	性	周産期情報	初発の状況	PC・PS 活性(年齢)	PROC 変異	両親の解析
11日 新生児		胎児発症	側脳室拡大、脳梗塞、下垂体出血	42% 64%		
1月 男		胎児発症	左脳室拡大(34週)と新生児脳梗塞	24→85% 53→104%(1歳)		父母(PC77,89%,PS97,PS)
3歳 女		胎児発症	胎児期脳梗塞(左MCA領域)	41% 85%(2月)	なし	
4歳 女		胎児発症	出血性梗塞(孔脳症)と新生児DIC	27% 36%(1日)	なし	
3歳 男		胎児発症	出血性梗塞によるWest症候群	16% 69%(9月)	なし	
1歳 女		29週,1096g	出生時臍帯内血液凝固	34% 82%		
1日 女		29週,874g	日齢0左出血性梗塞	17% 34%		
25日 男			新生児DIC(重症), MD-twin1	13% 48%	なし	
5日 女			新生児DIC, MD-twin2	25% 39%	なし	
7日 女			日齢3のくも膜下・脳室内出血	19%	なし	
2月 女		38週,2640g	新生児 Poland 症候群	30% 70%		
5月 男			日齢7左脳室内出血	24% 83%(27日)		
16日 新生児 男			日齢7左脳室内出血(Ⅲ度)	24% 83%(27日)		父母(PC77,97%,PS89,71%)
26日 男		30週,1086g	日齢10脳炎と静脈洞血栓症	36% 56%(28日)		
1歳 男			脊髄髄膜瘤術後に静脈洞血栓症	14% 51%	ヘテロ変異	
1歳 男			電撃性紫斑病,頭蓋内出血	<5% 86%	複合ヘテロ	父母兄ヘテロ(PC54,65,51%)
4歳 男		異常なし	晩期循環不全	22% 41%	未	
9歳 女			紫斑あり(一過性抗リン脂質抗体)	42%		
13歳 男			敗血症に伴う電撃性紫斑病		なし	
			母PC欠損症疑いで未発症	32%(2月)→84%		
			RSV肺炎後の上矢状静脈洞血栓	62% 73%	ヘテロ変異	父ヘテロPC83% PS112%
			DVT(総腸骨大腿静脈)と肺血栓塞栓	139% 116%		
			TIA右不全麻痺	46% 76%	なし	

3. 年齢別3因子活性値によるスクリーニング

これまでの症例集積をもとに20歳未満の各年齢別に設定した3因子活性下限値(表2)の有用性について検討した。

表1. 年齢別各因子活性の下限値の定義

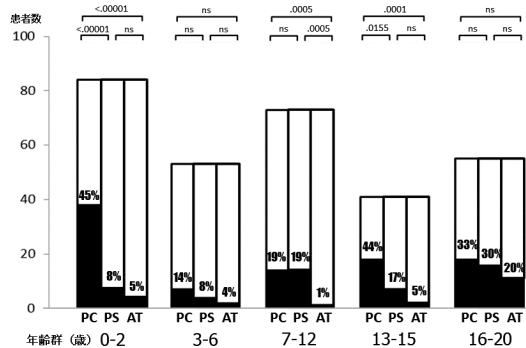
年齢	PC	PS	AT
0-3か月	<45% (a)	<42% (a)	<52% (b)
3か月-2歳	<64% (c)	<51% (c)	<52% (b)
3-6歳	<64% (c)	<51% (c)	<68% (c)
7-20歳	<75% (d)	<60% (d)	<80% (d)

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

血栓性素因解析を受けた20歳までの306名のうちPC, PS及びAT活性低下を122名に確認した。このうち二次性要因を除外して“特発性血栓症”と診断された62名にそれぞれ遺伝子解析を行い18名に変異を同定した。

この血栓性素因解析対象者の各年齢群における血漿3因子活性低下者の割合を図1に示す。0-2歳が84名と最も多く、7-12歳が73名とこれに続いた。0-2歳と13-15歳ではPC活性低下者の割合が、他の2因子低下者の割合に比し高かった(図1)。7-12歳におけるPC活性低下者はPS活性低下者と同じ19%で、AT活性低下者(1%)より多かった。

図1. 血栓性素因のうち低PC, PS及びAT活性児の割合



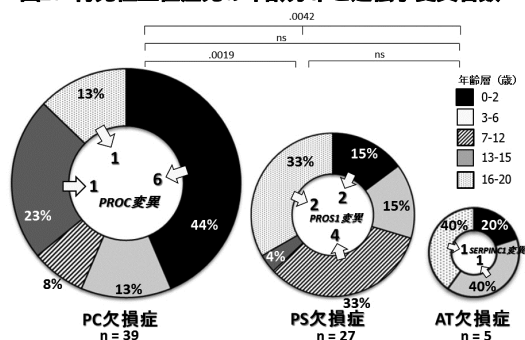
次に3因子解析を行った特発性血栓症(62名)のPC, PS及びAT欠損症患者の年齢層の分布を図2に示す。患者数はPC(39), PS(27), AT欠損症(5)の順に多かった。年齢層の割合は、PC欠損症では0-2歳(44%)が最も高く、7-12歳(23%)がこれに続いた。PS欠損症では7-12歳と16-20歳が各33%とが最も高かった。AT欠損症では13-15歳と16-20歳が各40%と最も高かった。年齢層の割合の分布は、PC欠損症とPS欠損症では異なり、また3欠損症間でも異なっていた。

変異同定者は、PC欠損症では0-2歳が6名と最も多く、PS欠損症では7-12歳が4名と最も多かった。この年齢層別の変異者数の分布は統計学的に有意な差に至らなかった。



また、各年齢層に同定された変異者の割合の分布はPC欠損症とPS欠損症の間で有意差はなかった。AT欠損患者は少なく、他の2因子との適切な比較解析は行えなかった。

図2. 特発性血栓症児の年齢分布と遺伝子変異者数



にAT欠損症では13-15歳と16-20歳が各40%と最も高かった。年齢層の割合の分布は、PC欠損症とPS欠損症では異なり、また3欠損症間でも異なっていた。

#### D. 考察

今回私たちが2014年に検討した小児遺伝性血栓症疑い例を発端とした解析は28家系であった。その約80%はPC欠損症で、さらにその3/4は新生児発症であった。これには、胎児発症例が約30%をしめ、現在も遺伝子解析を継続中である。

この1年間の解析でも、小児遺伝性血栓症は新生児PC欠損症患者が大多数を占める、発症様式は頭蓋内出血・梗塞、脳静脈洞血栓症による頭蓋内病変でこれが電撃性紫斑病に先行する、胎児発症が一定数ある、ヘテロ変異者は手術侵襲、感染などの誘因を契機に新生児期をこえて、ischemic stroke (脳静脈洞血栓症を含む)などの血栓塞栓症を起こす、ことが示された。この成人と明確に異なる臨床像は、“小児・新生児PC欠損症”を血栓性素因ではなく“栓友病”の疾患概念で捉える臨床的重要性を提示するものである。

本研究班では積極的な遺伝子解析を実施し、効率的な遺伝子スクリーニングを行うために設定した活性下限値の有用性を評価した。年齢を層別化して行った検討では、2歳までの乳児期と中学生におけるPC低下患

児の割合が有意に高く、それがいずれの年齢層でも約半数弱にみられること、そして小学生の患児にはPCとPS低下がATより多く、いずれも約20%にみられること、が明らかとなった。さらに、この基準値を用いたとき、変異患者数の活性低下患者数に占める割合(変異同定率)のばらつきが年齢層間で確認されなかった。このことは、この活性値で判断した低下患者数に応じて、変異者が確認されることを示す。つまり、活性下限値のスクリーニング効率の有用性を示唆することになる。

変異者の絶対数は、PROC変異では0-2歳が6名と最多、PROS1変異では7-12歳が4名と最多で、当該年齢層の活性低下者にしめる変異保有者の割合は35%と44%であった。血栓塞栓症の成人に現在の基準値でスクリーニングするとPS活性低下の約半数に変異が確認される。このことは7-12歳のPS低下患者を今回のように成人の活性値でスクリーニングしてもよいことが示唆される。0-2歳児に設定したPC活性下限値は35%と有る程度の有用性が証明されたが、成人(あるいは7歳以上のPS活性下限値)と同程度の約50%のスクリーニング効率を持たせるにはさらに工夫が必要であることを示す結果であろう。

0-2歳群のPC活性の基準値設定には、表1に示すとおり、新生児の生理的活性上昇率を考慮しなくてはならない。新生児特有の発症誘因(仮死など)、また1歳までの活性上昇速度のばらつき(成熟のslow starter)などを明らかにする必要がある。また、表1の結果から、変異検出率を高めるPC/PS活性比の設定にはとくに2週未満の健常検体との十分数の比較検討が必要であることが伺われた。

#### E. 結論

小児遺伝性血栓症は、頭蓋内病変で発症する新生児PC欠乏症と7歳以降の若年発症成人型PS欠損症あるいはAT欠損症に分けた疾患概念として捉える必要がある。新生児発症PC欠乏症のperinatal strokeにおける重要性を明らかにするため、今後も症例集積を重ね、本症の効率的診断法を確立することが必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Tagichi T, Hara T: Survival and neurodevelopmental outcome of preterm infants born at 22-24 weeks of gestational age. *Neonatology* 105(2):79-84, 2014
2. Yamamura K, Takada H, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Morihana E, Ohga S, Hara T: Early progression of atherosclerosis in children with chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome. *Rheumatology* 53(10):1783-7, 2014
3. Hoshina T, Nakashima Y, Sato D, Nishii 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* 20(2):128-30, 2014
4. Matsuoka W, Yamamura K, Uike K, Nagata H, Ohga S, Hara T: Tachyarrhythmia-induced cerebral sinovenous thrombosis in a neonate without cardiac malformation. *Pediatr Neonatol* 55(5):412-3, 2014
5. Maeba S, Hasegawa S, Shimomura M, Ichimura T, Takahashi K, Motoyama M, Fukunaga S, Ito Y, Ichiyama T, Ohga S: Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. *Am J Perinatol* 2014 (in press)
6. Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Matsubara T, Shimomura M, Okuda M, Ichiyama T, Ohga S: Acute pericardial effusion representing the TNF- $\alpha$ -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol* 29:1-6, 2014
7. 大賀正一、落合正行、石黒精、高橋幸博、瀧正志、嶋緑倫、金子政時、福嶋恒太郎、康東天 小児新生児血栓症研究班：「遺伝性血栓症：小児期における診断と治療の問題点」。日本小児血液がん学会雑誌 2015 (印刷中)
8. 大賀正一：新生児の血栓止血異常症：血友病と栓友病。日本未熟児新生児学会雑誌 2015 (印刷中)
8. 大賀正一：第15章「血液・腫瘍性疾患」

播種性血管内凝固症候群 disseminated intravascular coagulation (DIC). 今日の小児治療指針第16版 2014 (印刷中)

### 2. 学会発表

1. Ochiai M, Matsushita Y, Kusuda T, Ichiyama M, Kitajima J, Inoue H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S, Hara T: Blood chemistry and hematology reference intervals in preterm or low birth weight infants at birth. PAS and ASPR Joint Meeting 2014 May 3-6, 2014, Vancouver, Canada
2. Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T: Genetic screening of protein C, protein S and antithrombin deficiency in pediatric thromboembolism. Pediatric Academic Societies (PAS) and Asian Society for Pediatric Research (ASPR) 2014 Joint Meeting, May 3 - 6, 2014. Vancouver, British Columbia, USA
3. Shimomura M, Ichimura T, Kittaka S, Mizutani M, Hasegawa S, Ohga S: Siblings with atypical HUS experienced in our hospital. Pediatric aHUS forum in Yamaguchi 2014, December 3, 2014, Ube, Yamaguchi, Japan
4. 大賀正一：プロテインC欠損症～早期診断と治療～第62回 日本輸血・細胞治療学会総会 共催セミナー 5 奈良市、2014年5月15日
5. 大賀正一：新生児の血栓症と血栓性素因 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 ランチョンセミナー 横浜市、2014年6月13日
6. 大賀正一、茨聡、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ。新生児DICの診断と治療 新しい指針の提案 補充療法の適応 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日
7. 長江千愛、茨聡、大賀正一、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ。新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 新生児DICに対する遺伝子組

換えトロンボモジュリン製剤の使用指針.  
第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

8. 高橋大二郎, 茨聡, 大賀正一, 樺山知佳, 河井昌彦, 川口千晴, 沢田健, 高橋幸博, 瀧正志, 長江千愛, 西久保敏也, 水上尚典, 白幡聡, 日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ. 新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 アンチトロンピン製剤の再評価. 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

9. 川口千晴, 高橋幸博, 茨聡, 大賀正一, 樺山知佳, 河井昌彦, 沢田健, 高橋大二郎, 瀧正志, 長江千愛, 西久保敏也, 水上尚典, 白幡聡, 日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ. 新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 新生児DICの診断基準(案) 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

10. 大賀正一: 小児の血栓症と血栓性素因 ~ 感染と止血のかかわり ~. 第194回倉敷小児科専門医会 特別講演. 倉敷市、2014年7月23日

11. 大賀正一: 血友病と栓友病 ~ 診断と治療の問題点 ~. 第76回日本小児科学会宮崎地方会 特別講演. 宮崎市、2014年9月14日

12. 大賀正一: こどもの血栓症 ~ 血栓性素因を考える ~. 宇部市小児科医会セミナー 宇部市 2014年9月16日

13. 大賀正一: 止血異常 小児診療のピットフォール. 第34回山口県小児外科研究会 特別講演 山口市 2014年9月25日

14. 大賀正一: 新生児の血栓止血異常症 第59回日本未熟児新生児学会・学術集会 教育講演 松山市 2014年11月11日

15. 大賀正一: 血栓症とその遺伝性素因 ~ 栓友病の早期診断をめざして ~. 第25回山口血液疾患研究会 特別講演 山口市 2014年11月17日

16. 大賀正一: 小児の血栓性素因 ~ 感染と免疫の関わりから ~. 第66回中国四国小児学会 教育講演 高知市、2014年11月22日

17. 大賀正一: 遺伝性血栓性素因 ~ こどもと家族を守る ~. 第14回和歌山Hemophilia Network 特別講演 和歌山市、2014年12月6日

18. 松岡若利, 鵜池清, 永田弾, 山村健一郎, 平田悠一郎, 李守永, 賀来典之, 馬場晴久, 中山秀樹, 大賀正一, 原寿郎: 発作性上室性頻拍による心原性ショックの後に

発見された新生児脳静脈洞血栓症の1例 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 横浜市、2014年6月13日

19. 市山正子, 中村有香里, 落合正行, 石村匡崇, 楠田剛, 浦田美秩代, 堀田多恵子, 康東天, 大賀正一, 原寿郎: 胎児水頭症から診断された先天性プロテインCヘテロ接合体欠損症の新生児例. 第24回日本産婦人科新生児血液学会 横浜市、2014年6月13日

20. Nishimura A, Miyamoto S, Takada K, Satomi R, Matsumura Y, Terauchi M, Kajiwara M, Ohga S, Enomoto K, Ohta M. A congenital protein C deficiency boy who developed cerebral venous thrombosis after steroid therapy. 第76回日本血液学会学術集会 大阪市、2014年10月31日

21. Sekiya Y, Okuno Y, Muramatsu H, Oifati I, Kawashima N, Narita A, Wang X, Xu Y, Hama A, Fujisaki H, Toshihiko I, Hasegawa D, Kosaka Y, Sunami S, Ohtsuka Y, Ohga S, Takahashi Y, Kojima S, Shimada A. JAK2, MPL, and CALR mutations in children with essential thrombocythemia. 第76回日本血液学会学術集会 大阪市、2014年10月31日

22. 落合正行, 金城唯宗, 高畑 靖, 岩山真理子, 安部 猛, 井原健二, 大賀正一, 福嶋恒太郎, 加藤聖子, 田口智章, 原寿郎: 在胎週数22 - 24週で出生した早産児の死亡率、罹患率と予後 ~ 2000年から2010年までの単施設での比較 ~. 第67回九州小児科学会 大分市、2014年11月22-23日

## 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）

「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究」

－分担研究報告書－

### 早産・低出生体重児の出生時血液検査基準範囲の作成

研究分担者 落合 正行 九州大学病院総合周産期母子医療センター 助教講師  
石村 匡崇 九州大学大学院医学研究院・成長発達医学 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  
康 東天 九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学 教授  
研究協力者 原 寿郎 九州大学大学院医学研究院・成長発達医学 教授

**研究要旨：** 新生児・小児の血栓症の診断と治療の基礎となる、早産児・低出生体重児の入院時の血液検査基準値を設定した。既存のネットワークをもとに多施設共同臨床研究を行うインフラを整備し、11の関連施設から年間1000例程度のハイリスク新生児をデータベースに登録した。対象は関連施設に入院した全ての新生児であり、死亡退院と先天異常例は除外した。測定項目は標準化サーベイランス27項目のうち入院時ルーティン項目を選択した。入院時（日齢0-1）の血液検査所見を性別、在胎週数、出生体重別に層別化して、ノンパラメトリック法にて基準値と基準範囲（95%信頼区間）を設定した。ほとんどの項目で性差はなく、在胎週数や出生体重に比例して増加する項目（総蛋白、アルブミン、クレアチニン等）と変化しない項目（尿素窒素、カルシウム、カリウム等）を認めた。肝臓で合成される凝固線溶因子においては、出生時の基準範囲は在胎週数と出生体重に依存すると推測される。

#### A. 研究目的

本邦の周産期医療は世界トップレベルの救命率を誇るが、体が小さく未熟な新生児の特殊性ゆえに臨床研究が進みにくい。そこで、新生児・小児の血栓症の診断と治療の基礎となる、早産児・低出生体重児の入院時の血液検査基準値を設定した。

#### B. 研究方法

既存のネットワークをもとに多施設共同臨床研究を行うインフラを整備し、10の関連施設から年間1000例程度のハイリスク新生児をデータベースに登録した。対象は関連施設に入院した全ての新生児であり、死亡退院と先天異常例は除外した。測定項目は標準化サーベイランス27項目のうち入院時ルーティン項目を選択した。入院時（日齢0-1）の血液検査所見を性別、在胎週数、出生体重別に層別化して、ノンパラメトリック法にて基準値と基準範囲（95%信頼区間）を設定した。

（倫理面への配慮）

本研究は当院（22-131）および関連施設の

IRBの承認を受けており、UMIN-CTR（000083）臨床試験に登録している。

#### C. 研究結果

2010年4月から2013年3月までの研究期間で3189例のハイリスク新生児が登録され、2709例で基準範囲を求めた。

ほとんどの項目で性差は認めなかった。在胎週数や出生体重に比例して増加する項目（総蛋白；**図1**、アルブミン、クレアチニン等）と変化しない項目（尿素窒素、カルシウム、クロール；**図2**等）を認めた。

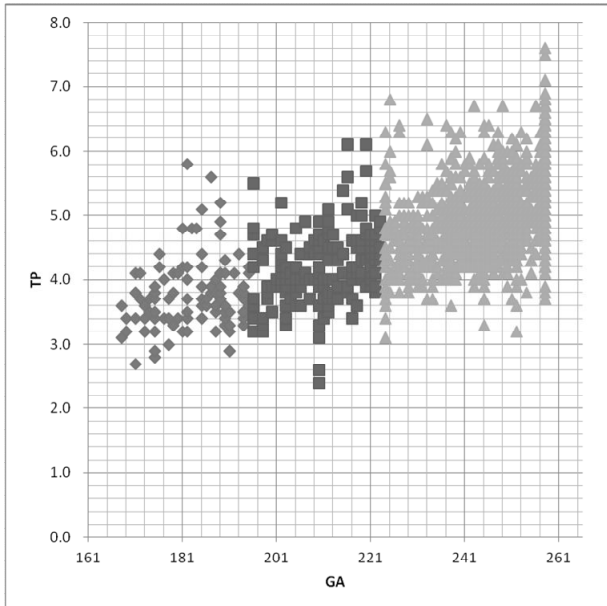


図 1 ; 出生時の総蛋白値 (縦軸) と在胎週数 (横軸) の散布図

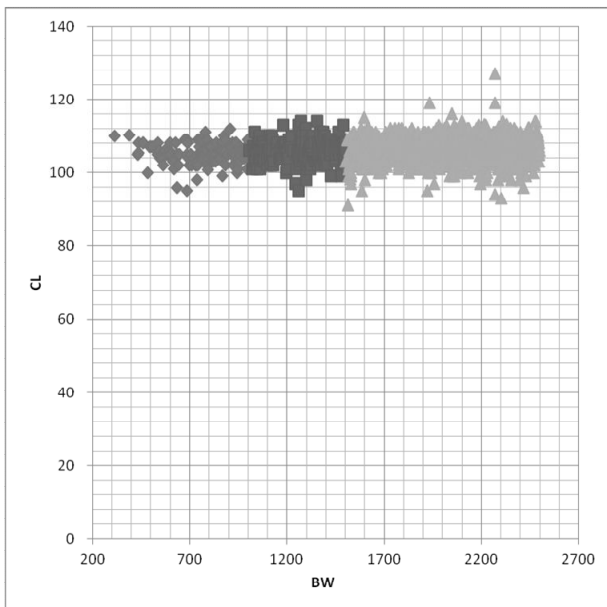


図 2 ; 出生時の血清クロール値 (縦軸) と出生体重 (横軸) の散布図

#### D. 考察

凝固線溶因子の測定法は施設間で標準化されていないため、本研究では基準範囲を求めることができなかった。しかしながら、肝臓で合成される総蛋白やアルブミン値では、性差はなく、在胎週数と出生体重に依存していた。凝固線溶因子においても同様の傾向が推測される。散布図において外れ値が散見されている。これらの症例の臨床背景を解析することで、肝臓に

おける合成や代謝が亢進、あるいは低下する因子が求められる。特発性 (二次性) 血栓症の病態解明の一助となる可能性がある。

#### E. 結論

早産児・低出生体重児の診療や臨床研究の基礎となる出生時の血液検査基準範囲を設定した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

本研究の成果は投稿準備中である。

1) Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Abe T, Ihara K, Ohga S, Fukushima K, Kato K, Taguchi T, Hara T. Survival and neurodevelopmental outcome of preterm infants born at 22-24 weeks of gestational age. *Neonatology* 2014;105:79-84.

2) Yamada T, Kubota T, Nakamura M, Ochiai M, Yonezawa M, Yano T, Kawashiri T, Egashira N, Hara T, Masuda S. Evaluation of teicoplanin concentrations and safety analysis in neonates. *Int J Antimicrob Agents*. 2014 Aug 20.S0924-8579(14)00239-8.

3) Fujiwara A, Fukushima K, Inoue H, Takashima T, Nakahara H, Satoh S, Ochiai M, Hara T, Shimokawa M, Kato K. Perinatal management of preterm premature ruptured membranes affects neonatal prognosis. *J Perinat Med*. 2014 Jul;42(4):499-505.

4) 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): 25-26, 2013

##### 2. 学会発表

1) Ochiai M, Matsushita Y, Kusuda T, Ichiyama M, Kitajima J, Inoue H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S, Hara T. Blood chemistry and hematology reference intervals in preterm or low birth weight infants at birth PAS and ASPR Joint Meeting 2014 May 3-6, 2014 Vancouver

2) Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Kusuda T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T: Genetic Screening of Protein C, Protein S and Antithrombin Deficiency in

Pediatric Thromboembolism. PAS and ASPR Joint Meeting 2014 May 3-6, 2014 Vancouver  
3) Ochiai M; Survival and neurodevelopmental outcome of preterm infants born at 22-24 weeks of gestational age. The 25<sup>th</sup> FISP/M August 30, 2014 Fukuoka

4) 市山正子、中村有香里、落合正行、石村匡崇、楠田剛、浦田美秩代、堀田多恵子、康東天、大賀正一、原寿郎. 胎児水頭症から診断された先天性プロテイン C ヘテロ接合体欠損症の新生児例. 第 24 回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2014 年 6 月 13~14 日 横浜市

5) 市山正子、田中幸一、中村有香里、楠田剛、落合正行、湯元康夫、福嶋恒太郎、原寿郎. 胎児水頭症で発症した先天性プロテイン C 欠損症のヘテロ変異例. 第 50 回日本周産期・新生児医学会 2014 年 7 月 13~15 日 浦安市

6) 市山正子、落合正行、榎崎亮、井上普介、楠田剛、高野由紀子、曳野俊治、佐藤和夫. 新生児期に発症した日本児先天性プロテイン C 欠損症の臨床像. 第 59 回日本未熟児新生児学会 2014 年 11 月 10-12 日 松山市

#### 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

## 母体の血栓性素因スクリーニングによる新生児血栓症の早期診断

研究分担者 金子政時 宮崎大学医学部大学院看護学研究科周産期分野 教授

研究要旨: 母体の血栓性疾患のリスク因子から特発性小児血栓症児およびその家系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。平成 26 年に総合周産期母子医療センターで管理された妊婦を対象とした。妊娠合併症として、重症妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延児、母体合併症・既往として、深部静脈血栓症、脳梗塞、その他血栓性疾患、家族歴として、2 親等以内の脳梗塞等の血栓性疾患を有する妊婦をハイリスク妊婦として捉え、必要に応じてプロテイン C、プロテイン S の活性および抗原量、アンチトロンピン 活性を測定した。さらに、ハイリスク母体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。その結果、リスク因子を有する妊婦 35 名(13.6%)が抽出されたが、その中から特発性小児血栓症児およびその家系の特定には至らなかった。さらに症例を集積していくと同時に、今後は、胎盤組織所見で Fetal vessel thrombosis のみられた児の予後も追跡していく予定である。

### A. 研究目的

ヘテロ変異を有する両親の多くは未発症であるが、妊娠を契機に血栓症を引き起こすことも考えられる。そこで、母体の血栓性疾患のリスク因子から特発性小児血栓症児およびその家系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 26 年に宮崎大学附属病院産婦人科で管理した妊婦を対象とした。妊娠合併症として、重症妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延児の母体、母体合併症および既往として、深部静脈血栓症、脳梗塞、その他血栓性疾患、家族歴として、2 親等以内の脳梗塞等の血栓性疾患を有する妊婦をハイリスク妊婦として捉え、必要に応じてプロテイン C、プロテイン S の活性および抗原量、アンチトロンピン 活性を測定した。さらに、ハイリスク母体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、本人同意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、257 例の妊婦を当大学病院で管理した。この内、双胎 19 組(二絨毛膜二羊膜性双胎 7 組、一絨毛膜二羊膜性双胎 11 組、一絨毛膜一羊膜性双胎 1 組)、品胎 1 組を含んでいる。妊婦および新生児の臨床背景を表 1 に示す。

表 1. 母体・新生児の背景

年齢(歳)	32 (18-46)
分娩週数(週)	38 (22-41)
初産婦数	125
経膣: 帝切	122 : 135
出生体重(g)	2702(480-4172)

注: 数値: 中央値(最小値 - 最大値)

妊娠合併症として、重症妊娠高血圧症候群、子宮内胎児発育遅延児の母体、母体合併症および既往として、深部静脈血栓症、脳梗塞、その他血栓性疾患、家族歴として、2 親等以内の脳梗塞等の血栓性疾患をリスク因子として、母集団から抽出した。

表 2. リスク因子

リスク因子	対象数
妊娠合併症	8
重症妊娠高血圧腎症	5
胎盤早期剥離	3
母体既往・合併症	4
脳梗塞	2
抗 SS-A 抗体陽性	1
AVM	1
2 親等以内の家族歴	5
脳梗塞	4
心筋梗塞	1(兄)
胎児・新生児	24
子宮内胎児発育遅延	24

注: 複数のリスク因子保有例あり。

表 2 に示すようなリスク因子を持つ妊婦 35 名(13.6%)を抽出した。

次に妊娠中のプロテイン C、プロテイン S の活性および抗原量、アンチトロンビン 活性について検討した。

表 3. 妊娠中の検査値

	AT	PS 抗原量	PS 活性	PC 抗原量	PC 活性
1	94	42	28	133	105
2	NA	46	28	107	79
3	NA	47	41	111	82
4	NA	51	14	128	104
5	96	52	38	97	80
6	NA	63	45	136	107
7	NA	64	15	113	91
8	NA	69	45	96	84
9	NA	69	56	143	122
10	NA	80	48	128	102
11	91	83	NA	96	NA
12	102	95	97	87	82
13	81	NA	NA	NA	NA
14	82	NA	NA	NA	NA
15	85	NA	NA	NA	NA
16	102	NA	NA	NA	NA
17	85	NA	NA	NA	NA
18	86	NA	NA	NA	NA
19	102	NA	NA	NA	NA
20	78	NA	NA	NA	NA
21	104	NA	NA	NA	NA
22	93	NA	NA	NA	NA
23	104	NA	NA	NA	NA
24	75	NA	NA	NA	NA

35 名中 24 名に、妊娠中のプロテイン C、プロテイン S の活性および抗原量、アンチトロンビン 活性のいずれかの検査が施行されていた。妊娠中に異常値を示した妊婦においても、妊娠後には正常値を示した。

35 名の妊婦の児の予後を1ヶ月健診まで嚴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

我々の施設は、宮崎県の総合周産期医療センターであり、県内のハイリスク妊婦・ハイリスク新生児の管理を行っている。そのような施設において特発性小児血栓症児およびその家系のスクリーニングを母体に係る複数のリスク因子から試みた。リスク因子を有する妊婦は全体の約14%であった。今回の検討では、その中から特発性小児血栓症児およびその家系の特定には至らなかった。この原因として、本疾患の希少性、児のフォロー期間の短さがあるものと思われる。

宮崎県においては、県内の2次・3次周産期施設の母体および新生児を担当する医師からなる死亡・神経学的予後不良症例に関する症例検討会を年に2回開催している。この中でも、特発性小児血栓症児およびその家系が疑われる症例はなかった。

全ての母体および新生児を対象としたスクリーニングは非効率的であると考えられるが、我々の方法の妥当性も今回の検討では、明らかにはできなかった。

今後の方針として、継続してハイリスク母体をリストアップしていく予定である。また、ハイリスク母体の胎盤の組織学的所見で、fetal vessel thrombosisの所見を得られることがある。この所見のみられる児の中に予後不良症例がある。この点にも注目して、今後検討症例を増やしていく予定である。

#### E. 結論

特発性小児血栓症児およびその家系のスクリーニングを母体に係る複数のリスク因子から試みた。リスク因子を有する妊婦は全体の約14%であった。今回の検討では、その中から特発性小児血栓症児およびその家

系の特定には至らなかった。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### G. 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

## 血栓症の診断における包括的凝固機能検査の臨床的応用の基礎検討

分担研究者 教授 嶋 緑倫 奈良県立医科大学小児科

**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。最近我々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。本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ことが期待される。今回、本生成試験を用いた栓友病診断の臨床的応用について、抗凝固因子添加における本生成試験へ与える影響について検討した。抗凝固因子（活性型プロテイン C、アンチトロンビン、トロンボモジュリン）の過剰量の添加はいずれも凝固能ならびに線溶能を抑制することがわかった。今後、血栓症を呈する各欠乏血漿検体を用いて、抗凝固因子過剰存在下での本法で検討する予定である。

### 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。また、診断まで時間を費やすことも多い。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。昨年度は、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の確立を報告した。今年度の分担研究は、トロンビン・プラスミン生成試験を用いた栓友病診断の臨床的応用について、抗凝固因子添加における本生成試験へ与える影響について検討した。

### B. 研究方法

**トロンビン・プラスミン生成試験:** 本法は、組織因子 (TF)、合成リン脂質 (PL)、組織プラスミノゲンアクチベータ (tPA) をトリガー試薬とし、血漿と CaCl<sub>2</sub> を添加してトロンビンとプラスミンが同時に生成する。トリガー試薬の血漿中の最終濃度は TF 1 pM, PL 4 uM, tPA 3.3nM に調整した。生成された両者を蛍光発色基質法で測定する。得られた波形を一次微分して、波形からは Lag time, Peak height, Time to peak, EP (総生成量) の各パラメータが得られる。この反応の際、抗凝固因子である活性型 PC (APC)、アンチトロンビン (AT)、トロンボモジュリン (TM) をそれぞれ CaCl<sub>2</sub> 添加前に添加して、トロンビン生成およびプラスミン生成への影響について検討した。今回は正常プール血漿における抗凝固因子の影響について、添加濃度の条件設定を行い検討した。

(倫理面への配慮) 被験者の血液採取にあたり、informed consent について厳格に行い同意を得て、得られる個人情報については各種法令等遵守し、個人情報等保護に十分配慮し実験を行った。

### C. 研究結果

正常血漿でのトロンビン・プラスミン生成は従来、Matsumotoらがすでに報告している同様の生成パラメータを示した。さらに、抗凝固因子の APC、AT、および rTM をそれぞれ添加し、その影響を本法にて施行した。いずれの抗凝固因子の過剰な存在も、トロンビン生成および引き続くプラスミン生成を濃度依存性に抑制した。これら濃度依存性反応から検討した本法の至適濃度は APC 20 nM, AT 2.0 U/ml, rTM 400 nM (最終濃度) であった。

### D. 考察・結論

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とされる。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我々はすでに確立している。本法は出血性素因を包括的に評価する上に極めて有用な評価法であり、本研究では、血栓症の診断への本法の臨床的応用としての基礎実験である。今回の検討から、抗凝固因子 (APC、AT、rTM) の過剰な存在はいずれも凝固能ならびに線溶能を抑制することがわかった。今後、血栓症を呈する各欠乏血漿検体を用いて、抗凝固因子過剰存在下での本法で検討する予定である。

## **F.研究発表**

### **1.論文発表**

1) Matsui H, Takeda M, Soejima K, Matsunari Y, Kasuda S, Ono S, Nishio K, Shima M, Banno F, Miyata T, Sugimoto M. Contribution of ADAMTS13 to the better cell engraftment efficacy in mouse model of bone marrow transplantation. *Haematologica*. 2014 99(10): e211-213.

2) Matsui H, Fujimoto N, Sasakawa N, Ohinata Y, Shima M, Yamanaka S, Sugimoto M, Hotta A. Delivery of full-length factor VIII using a piggyBack transposon vector to correct a mouse model of hemophilia A. *PLoS One*. 2014 9(8): e104957.

3) Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, Sampei Z, Kuramochi T, Sakamoto A, Haraya K, Adachi K, Kawabe Y, Nogami K, Shima M, Hattori K. Anti-factor IXa/X bispecific antibody ACE910 prevents joint bleeds in a long-term primate model of acquired hemophilia A. *Blood*. 2014 124(20):3165-3171.

4) Matsumoto T, Nogami K, Shima M. Coagulation function and mechanisms in various clinical phenotypes of patients with acquired factor V inhibitors. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014 12(9): 1503-1512.

5) Ogiwara K, Nogami K, Matsumoto T, Shima M. Tissue factor pathway inhibitor in activated prothrombin complex concentrates (sPCC) moderate the effectiveness of therapy in some severe hemophilia A patients with inhibitor. *International Journal of Hematology*. 2014 99(5):577-587.

6) Nogami K, Shinozawa K, Ogiwara K, Matsumoto T, Amano K, Fukutake K, Shima M. Novel FV mutation (W1920R, FVNara) associated with serious deep vein thrombosis and more potent APC resistance relative to FVLeiden. *Blood*. 2014 123(15): 2420-2428.

## **G. 知的財産権の出願・登録状況、参考文献**

### **研究協力者**

奈良県立医科大学小児科学教室:野上恵嗣、橋本直樹、松本智子

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究」  
-分担研究報告書-

**抗 Xa 阻害薬使用時の有効な凝血学的モニタリングの検討**

分担研究者：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  
森美佳 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  
足利朋子 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科

**研究要旨:** 血栓症の治療および予防薬として抗Xa阻害薬を使用する際の有効な凝血学的モニタリング法は未だ確立されていないが、Rivaroxaban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。今後、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について検討を進める必要がある。

**A. 研究目的**

近年血栓症の治療および予防薬として抗 Xa 阻害薬が広く使用されるようになった。抗 Xa 阻害薬はトロンピンに対する直接的な阻害作用が少ないため出血の危険性が低いとされているが、出血性合併症は決して皆無とは言えない。しかしながら、従来の凝固時間法による薬効モニタリングは困難とされ、現時点で有効な凝血学的モニタリング法は確立されていない。そこで我々は、抗 Xa 阻害薬使用時の適切な凝血学的モニタリング法について検討するため、トロンピン生成能、凝固波形解析を用いて抗 Xa 阻害薬添加時の凝固能の変化について検討した。

**B. 研究方法**

健常成人 9 名から得られた乏血小板血漿（2 回遠心、1800g、15 分間）に各濃度の Rivaroxaban、Apixaban を添加し、APTT、トロンピン生成能、凝固波形解析より得られる最大凝固加速度を測定した。トロンピン生成能は、トロンピンの総生成量を表す ETP(Endogenous thrombin potential)で評価した。各薬剤添加時の凝固時間および ETP の変化率（投与後/投与前）を求め、それぞれの変動係数（CV）を比較した。次に各薬剤添加による ETP の変化と最大凝固加速度との相関関係について検討した。ETP の変化は、添加後の ETP 値を添加前

の ETP 値で除して 100 を掛けた値である Residual ETP で表した。

（倫理面への配慮）

本研究の実施に関しては、聖マリアンナ医科大学の生命倫理委員会で承認された（承認番号 第 1210 号）。

**C. 研究結果**

Rivaroxaban 添加により、APTT は濃度依存性に延長し、ETP は濃度依存性に低下した。両者の CV 値を比較すると、ETP の CV 値は APTT の CV 値に比べ大きい傾向が認められた（表 1）。

表1. Rivaroxaban添加時のAPTTおよびETPの変化率

	Rivaroxaban							
	62.5 μg/L		125 μg/L		250 μg/L		500 μg/L	
	Mean±SD	CV(%)	Mean±SD	CV(%)	Mean±SD	CV(%)	Mean±SD	CV(%)
APTT	1.16±0.01	1.2	1.25±0.03	2.3	1.41±0.05	3.9	1.83±0.14	7.5
ETP	0.67±0.10	14	0.52±0.14	27	0.32±0.12	37	0.15±0.09	62

※変化率=添加後値/添加前値

(n=9)

Apixaban 添加による APTT の延長効果は極めて僅かであったが、ETP は濃度依存性に低下した。両者の CV 値を比較すると、ETP の CV 値は APTT の CV 値に比べ大きい傾向が認められた（表 2）。

表2. Apixaban添加時のAPTTおよびETPの変化率

	Apixaban							
	50ng/ml		100ng/ml		200ng/ml		400ng/ml	
	Mean±SD	CV(%)	Mean±SD	CV(%)	Mean±SD	CV(%)	Mean±SD	CV(%)
APTT	1.16±0.01	1.3	1.10±0.02	1.4	1.15±0.02	1.6	1.21±0.03	2.2
ETP	0.72±0.08	11	0.60±0.10	17	0.47±0.10	20	0.36±0.08	24

※変化率=添加後値/添加前値

(n=9)

各薬剤添加時のETPの変化率と最大凝固加速度の変化率の相関関係について検討したところ、Rivaroxaban添加時には両者の間に有意な正の相関関係が認められた(図1、 $r=0.81$ 、 $p<0.01$ )。

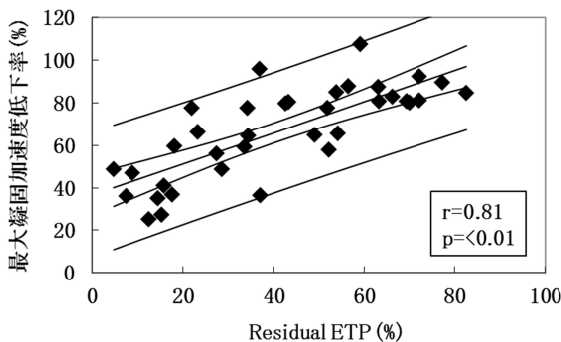


図1. Rivaroxaban添加時の最大凝固加速度低下率とResidual ETPとの相関関係

Apixaban添加時には両者の間に有意な正の相関関係が認められたが、最大凝固加速度の変化が乏しく、その相関係数は低値であった(図2、 $r=0.43$ 、 $p=0.01$ )。

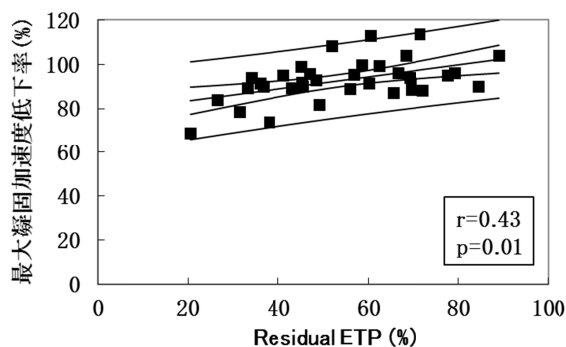


図2. Apixaban添加時の最大凝固加速度低下率とResidual ETPとの相関関係

#### D. 考察

薬剤添加時のETP変化率のCV値はいずれの

薬剤においても大きく、これは両薬剤のトロンビン生成能抑制効果には大きな個人差が存在することを示唆する成績と考えられた。

Rivaroxaban添加による最大凝固加速度の変化率はETP変化率と正の相関関係にあり、最大凝固加速度はRivaroxaban添加時の個々に異なるトロンビン生成能抑制効果を鋭敏に捉えうる検査法である可能性が示唆された。しかし、Apixabanにおいては薬剤添加による最大凝固加速度の変化率が乏しく、凝固波形解析をApixabanの凝固モニタリング法として応用することは困難と考えられた。

今回我々は凝固波形解析としてAPTT系の最大凝固加速度について検討したが、今後PT系の凝固波形解析の有用性についても検討したいと考えている。

#### E. 結論

抗Xa阻害薬が凝固機能検査に与える影響は薬剤毎に異なるため、凝固モニタリング法を確立するためには各薬剤の特徴を明らかにし、その特徴を活かした最適な方法を応用していく必要がある。今回検討した2薬剤については、APTT系の凝固波形解析はRivaroxabanについては凝固モニタリング法として応用できる可能性があるが、Apixabanについて応用することは困難である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 鈴木典子、山崎 哲、辻村浩司、高山成伸、瀧 正志:自動分析によるフォン・ヴィレブランドファクターリストセチンコファクター活性(VWF:RCo)測定およびフォン・ヴィレブランドファクター抗原(VWF:Ag)測定の評価、日本検査血液学会雑誌、15(3):311-318, 2014
- 山下敦己、瀧 正志: von Willebrand 病、内科、114(2):259-261, 2014
- 瀧 正志:新生児・小児の血液学的検査 凝

固・線溶検査、検査と技術、42(12):  
1308-1311、2014

4. 瀧 正志:血友病、小児科、55(11):  
1681-1686、2014

## 2. 学会発表

### 国内学会

1. 足利朋子、長江千愛、森美佳、山下敦己、瀧正志:青年期に定期補充療法を中断した重症血友病患者の臨床経過、第117回日本小児科学会、2014.4
2. 長江千愛、足利朋子、山下敦己、森美佳、吉川喜美枝、山本仁、瀧 正志:血友病患者における新生児期の出血に関する検討、第117回日本小児科学会、2014.4
3. 足利朋子、長江千愛、森美佳、山下敦己、瀧正志:軽症および中等症血友病患者における止血管理の問題点、第36回日本血栓止血学会、2014.5
4. 山下敦己、長江千愛、森美佳、足利朋子、秋田美恵子、熱海千尋、山田浩史、長谷川泰弘、瀧 正志:脳梗塞を発症した von Willebrand 病 type 2A の一例、第36回日本血栓止血学会、2014.5
5. 瀧 正志:QOL 調査結果から考える血友病治療の方向性、第7回血友病理学療法研究会2014.6
6. 竹内 淳、吉岡範人、山下敦己、田村みどり、鈴木 直、瀧 正志: von Willebrand 病を合併した妊婦の1例、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
7. 長江千愛、茨聡、大賀正一、横山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧 正志、西久保敏也、水上尚典、白幡聡:新生児 DIC に対する遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の使用指針、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
8. 川口千晴、高橋幸博、茨聡、大賀正一、横山知佳、河井昌彦、沢田健、高橋大二郎、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡:新生児DICの診断基準(案)、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
9. 高橋大二郎、茨聡、大賀正一、横山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋幸博、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡:アンチトロンピン製剤の再評価、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
10. 大賀正一、茨聡、横山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡:補充療法の適応、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
11. 山下敦己、長江千愛、森美佳、足利朋子、秋田美恵子、山崎哲、高山成伸、瀧 正志:トロンピン生成試験および凝固波形解析を用いた抗Xa阻害薬の抗凝固効果の解析、第15回第日本検査血液学会、2014.7
12. 山崎哲、鈴木典子、山崎法子、高山成伸、山下敦己、瀧 正志:APTT 試薬評価の統一に向けたパネル血漿の利用とレーダーチャートによる評価、第15回第日本検査血液学会、2014.7
13. 森 美佳、長江千愛、足利朋子、山下敦己、慶野 大、大山 亮、森本瑞穂、森 鉄也、木下明俊、瀧 正志:緊急時に凝固因子製剤の添加試験にて診断・治療した重症血友病 B の1例、第70回神奈川血液研究会、2014.9.6
14. 吉田賢弘、濱崎祐子、原田涼子、濱田陸、石倉健司、幡谷浩史、長江千愛、瀧正志、本田雅敬:後天性第 XI 因子インヒビターを認めた SLE の1例、第44回日本腎臓病学会東部学術集会、2014.10.25
15. 瀧 正志:我が国の血友病患者における QOL の現状と今後の治療の方向性、76<sup>th</sup> annual meeting of the Japanese Society of Hematology,

2014.10.31

16. 瀧 正志:わが国の血友病臨床研究の進捗状況、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11.28
17. 長江千愛、村上由則、大平勝美、小野織江、小島賢一、白幡聡、竹谷英之、立浪忍、牧野健一郎、松本剛史、森戸克則、吉川喜美枝、和田育子、瀧 正志:わが国の血液凝固異常症の小児患者における QOL、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11.29
18. 足利朋子、長江千愛、森美佳、慶野大、山下敦己、森鉄也、木下明俊、瀧正志 FVIII/VWF 製剤を用い救済免疫寛容導入療法を行ったインヒビター保有血友病 A の 2 症例の経験、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11.29
19. 立浪 忍、三間屋 純一、白幡 聡、大平勝美、花井十伍、桑原理恵、秋田美恵子、瀧 正志: HIV 感染血友病における抗 HIV 薬の未使用例について、第 28 回日本エイズ学会、2014.12.3

## 国際学会

1. M. Taki, S. Tatsunami, J. Mimaya, M. Akita, Y. Nishina, J. Hanai, K. Ohira, A. Shirahata: Multivariate analysis of the occurrence of intracranial hemorrhage among adult hemophiliacs in Japan, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
2. M. Taki, H. Hanabusa, K. Fukutake, T. Matsushita, K. Nogami, A. Shirahata: Real-life clinical experience of 117 previously untreated patients (PUPs) treated with antihemophilic factor (recombinant), plasma/albumin free method in Japanese post authorization safety surveillance, XXXI International

Congress of the WFH, 2014.5

3. K. Fukutake, Hideji Hanabusa, Masashi Taki, Tadashi Matsushita, Keiji Nogami, Akira Shirahata, Mutsumi Shiraishi and ADVATE J-PASS Study group: What we learn from data of a prospective post-authorization safety surveillance study in 384 hemophilia A patients with antihemophilic factor (recombinant) plasma / albumin free method demonstrates safety and efficacy in Japan, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
4. K. Amano, K. Fukutake, H. Hanabusa, M. Taki, T. Matsushita, M. Shima, M. Sakai, H. Yamaguchi, T. Karumori: Evaluation of the safety and efficacy of recombinant factor IX (nonacog alfa) in Japanese patients with hemophilia B - The second interim analysis of 304 patients in post marketing surveillance study -, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
5. A. Yamashita, C. Nagae, T. Ashikaga, M. Akita, S. Yamazaki, S. Takayama, S. Tatsunami, M. Taki: Challenges to establishment of monitoring method for anticoagulant effect of anti factor Xa inhibitor, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
6. T. Ashikaga, M. Mori, A. Yamashita, C. Nagae, M. Taki: Prevalence of arthropathy in patients with mild and moderate hemophilia, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
7. M. Mori, C. Nagae, T. Ashikaga, A. Yamashita, D. Keino, R. Oyama, A. Kinoshita, M. Taki: Acute coronary syndrome in a patient with haemophilia A,

- XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
8. Tatsunami S, Shirahata A, Mimaya J, Kuwabara R, Nishina Y, Hanai J, Ohira K, Taki M: Long-term observation of hemophiliacs with HIV infection in Japan: Follow-up of survival and status of HCV infection, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
  9. Tatsunami S, Shirahata A, Mimaya J, Kuwabara R, Nishina Y, Hanai J, Ohira K, Taki M: Prevalence and status of HCV infection among Japanese hemophiliacs, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
  10. Hiroaki Mizukami, Jun Mimuro, Tsukasa Ohmori, Midori Shima, Tadashi Matsushita, Masashi Taki, Shinji Muto, Satoshi Higasa, Michio Sakai, Ryosuke Uchibori, Tomonori Tsukahara, Masashi Urabe, Akihiro Kume, Seiji Madoiwa, Yoichi Sakata, Keiya Ozawa : Age-related eligibility of hemophilia gene therapy using AAV vectors. 76<sup>th</sup> annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2014.10.31
  11. Shinobu Tatsunami, Jyunichi Mimaya, Akira Shirahata, Masashi Taki: Prevalence of chronic kidney disease and osteoporosis among Japanese hemophiliacs. 76<sup>th</sup> annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2014.11.1
  12. Hideji Hanabusa, Midori Shima, Keiji Nogami, Tadashi Matsushita, Katsuyuki Fukutake, Masashi Taki, Michio Sakai, Baisong Mei, Yingwen Dong, Srividya Neelakantan, Wildon Farwell, Glenn F Pierce: Recombinant factor VIII Fc fusion protein in Japanese subjects from the A-LONG study with severe hemophilia A, 76<sup>th</sup> annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2014.11.2
  13. Midori Shima, Hideji Hanabusa, Masashi Taki, Tadashi Matsushita, Tetsuji Sato, Katsuyuki Fukutake, Koichiro Yoneyama, Naoki Fukazawa, Takehiko Kawanishi, Keiji Nogami: Safety and prophylactic efficacy profiles of ACE910, a humanized bispecific antibody mimicking the FVIII cofactor function, in Japanese patients with hemophilia A: First-in-patient phase 1 study. ASH, 2014.12.8
- G. **知的財産権の出願・登録状況**  
本研究とは関係がない。



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究」  
－分担研究報告書－

## 凝固検査標準化および診断法の開発（新生児）

研究分担者 高橋幸博（奈良県立医科大学附属病院 総合周産期母子医療センター 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門  
野上恵嗣 奈良県立医科大学附属病院小児科  
嶋 緑倫 奈良県立医科大学附属病院小児科  
豆田清美 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  
山口直子 奈良県立医科大学附属病院中央臨床検査部  
山崎正晴 奈良県立医科大学附属病院中央臨床検査部  
福井 博 奈良県立医科大学附属病院消化器内科  
齋藤能彦 奈良県立医科大学附属病院循環器内科

**研究要旨：** プロテインC（PC）は肝で合成されるビタミンK依存性抗凝固因子で、血漿中で最も重要な抗凝固因子である。新生児や小児は肝の未熟性やビタミンK欠乏に陥りやすく、先天性や後天性PC欠乏症では血栓症を発症する。特に先天性PC欠乏症では新生児期に電撃性紫斑病を生じる。本研究は、新たに抗凝固検査法として開発されたThromboPathを用い、新生児・小児における抗凝固機構の特性と治療について検討した。

### A. 研究目的

新生児期は母体内の胎内生活から胎外生活への適応期でもあり、肝の未熟性やビタミンK欠乏などに加え、呼吸・循環系の急激な変化もあり、血液凝固・線溶能は大きく変化する。その際、血液凝固・線溶能に関しては、血液凝固・線溶能の全体像を把握できる検査法や個々の凝固・線溶因子の動態について既に数多くの報告がなされている。しかし、抗凝固能に関しては、アンチトロンピン(AT)、プロテインC(PC)/プロテインS(PS)、TFPI、2-マクログロブリン(2-MG)、1アンチトリプシン(1-AT)など抗凝固作用を有する種々の因子の生後の動態は既に報告されてはいるが、全体での抗凝固能を示す検査法はほとんどない。そこで、本研究では、新生児・小児の抗凝固能、特に新生児・乳児の全体での抗凝固能を評価する方法を確立することになり、そのために、既にPC/PS制御機構の検査法として開発されたThromboPath検査法を応用して、新生児・乳児の抗凝固能の全体での検査法

として役立つか、また、抗凝固療法として新鮮凍結血漿や血液分画製剤(AT製剤や活性化PC製剤、トロンボモジュリン)の投与基準や投与前の有効性を示す検査法として応用が可能かについて検討した。

### B. 研究方法

対象は新生児7例、乳児20名及び健康に異常な成人20名の3.2%クエン酸ナトリウム(Na9)血漿で、新生児・乳児は通常診療後の残余3.2%クエン酸Na血漿を用いた。また、対象とした被検血漿は、血小板数を含めた末梢血血球数、炎症反応、血液生化学検査に異常はなかった。検査項目は、PTおよびAPTT、フィブリノゲンに加え、AT、PC等を行った。また、ThromboPathはACL TOP<sup>CTS</sup>300-CTS(アイ・エル・ジャパン株式会社、東京)で測定した。その他、AT欠乏血漿(Affinitybiologicals、AT活性<0.01U/ml)。およびAT製剤(AT:ノイアート<sup>®</sup>)、リコンビナント・トロンボモジュリン(rTM:旭化成ファーマ、日本)を購入し

添加実験に使用した。

### ThromboPath の測定原理と測定項目

被検血漿に PC 活性化蛇毒成分のプロタックを添加 (A) あるいは対照として非添加 (B) したものに、組織因子およびリン脂質を加え血液凝固を惹起し産生されるトロンビン量をトロンビン特性の発色性合成基質の光学密度 (光学濃度; OD) の変化で計測する。同検査法での測定項目は、プロタック添加時の OD 値 (ODA)、非添加時の OD 値 (ODB)、 $PiCi\% = (ODB - ODA) / ODB \times 100$  である。

(倫理面への配慮)

本研究は当院倫理委員会の承認のもとに実施した。

平成 25 年度の研究成果:

新生児および乳児を含む小児血漿と肝障害者、循環器弛緩でワルファリン投与者と対照として健康成人血漿で検討した成績を報告した。

### 平成 26 年度の研究成果:

#### C. 研究結果

平成 25 年度の成果を踏まえ、平成 26 年度に新生児期を 7 名、乳児期を 20 名、対照として健康成人を 20 名に被検血漿を増やし、各時期の ThromboPath の各測定項目について検討した。新生児期 7 例のプロタック非添加時での OD 値 (ODB) は  $0.470 \pm 0.071$  で健康成人の OD 値 (ODB) は  $0.791 \pm 0.062$  と比較し、約 1/2 に低下していた。また、新生児期のプロタック添加時の OD 値 (ODA の平均  $\pm$  SD) は  $0.305 \pm 0.035$  で、健康成人の OD 値 (ODA) は  $0.102 \pm 0.029$  で、約 3 倍の残存トロンビン値を示した。乳児期 20 例ではプロタック非添加時での OD 値 (ODB) の平均  $\pm$  SD は  $0.696 \pm 0.099$  で健康成人の OD 値 (ODB) の  $0.791 \pm 0.062$  と比較し約 2/3 に増加し、プロタック添加時の OD 値は  $0.198 \pm 0.049$  と健康成人の OD 値 (ODA) の  $0.102 \pm 0.029$  と比較しやや高値であっ

た。また、乳児期の ODB 値は年齢が増すごとに増加し、ODA 値は低下した。PiCi%は、新生児期は  $36.4 \pm 3.3\%$  で、乳児期は  $71.2 \pm 10.1\%$  であった。健康成人では  $86.9 \pm 3.4\%$  であった。

### ThromboPath と PT-INR の PiCi%との関連性

新生児・乳児および成人全体での PT-INR と PiCi%との間に  $r = -0.7$  の負の相関がみられた。しかし、成人のみではその関連がなく  $r = -0.01$ 、新生児・乳児で  $r = -0.69$  の負の相関がみられた。

### ThromboPath の PiCi%と PC 活性あるいは AT 活性との関連性

PiCi%と PC 活性あるいは AT 活性の間でそれぞれ  $r = 0.86$ 、 $r = 0.61$  と正の関連が見られた。

新生児期および乳児期でのプロタック添加時の残存トロンビン値 (ODA) 値が、健康成人より高値であったことから、PC/PS 凝固抑制系以外の凝固抑制因子の低下が推察された。そこで、AT 欠乏血漿に AT 製剤による AT 添加実験、および正常血症への r-TM 製剤添加実験を行った。

### AT 欠乏血漿への AT (ノイアート<sup>R</sup>) 添加における PC/PS 凝固抑制系の評価

一定量の AT 欠乏血漿 (AT 活性  $< 0.01$  U/ml) に各種濃度の AT を添加した場合のトロンビン産生量を比較した。AT 欠乏血漿に AT 製剤で終濃度の AT 活性を 1 U/ml (AT 活性 100%) に補正することで、PiCi%値は 5.7%低下、プロタック添加時の OD 値は、0.0374 低下したのに対して、プロタック非添加での OD 値は 0.165 低下した。また、AT 活性が 50%-100% で顕著に低下した。

### 正常血漿への rTM 製剤の添加における PC/PS 凝固抑制系の評価

正常血漿への rTM 添加では濃度依存性にプロ

タック非添加および添加時のトロンピン産生量の低下がみられた。

#### D. 考察

ThromboPath でのプロタック非添加のトロンピン産生(ODB 値)は、被検血漿に組織因子とリン脂質により凝固を惹起した場合のトロンピン産生で、産生されたトロンピン量は、トロンピンに特異な発色性合成基質の OD 値で表される。したがって、プロタック非添加では、外因系凝固でのトロンピン産生量を表す。新生児期および乳児期の ODB 値が成人と比較し低値であったことは、凝固過程で産生されるトロンピン産生量が成人よりは少ないことを表し、新生児および乳児は成人よりも凝固能が低いとするこれまでの報告を支持するものであった。

一方、ThromboPath でのプロタック添加では、被検血漿中の PC をプロタックで活性化し、活性化した PC(activated PC; APC)と PS で活性化 V 因子や、トロンピンや IX 因子で活性化された活性化 VIII 因子を分解することで抗凝固能を示すもので、プロタック非添加時のトロンピン産生(ODB 値)からプロタック添加時のトロンピン産生(ODA 値)の差を ODB 値で除したもの(PiCi%)が、PC/PS 制御機構での抗凝固能を表すと考えられる。今回の結果からも PC 活性と PiCi%との相関は新生児期と乳児期を含む全体で関連がみられた。

新生児期および乳児期のプロタック添加時のトロンピン産生(ODA 値)は成人よりも3倍近く高値であったことは、新生児期および乳児期では PC/PS 制御機構が成人と比較し未熟であることが示唆された。新生児期および乳児期の抗凝固能を構成する個々の抗凝固因子が、健康成人より低下していることは既に明らかにされており、全体の抗凝固能も結果として低下していると推定された。ThromboPath は凝固活性化に組織因子とリン脂質を添加している。すなわち、外因系を活性する系

である。そこで、従来の凝固スクリーニング検査の PT-INR と PiCi%との関連性を検討したところ、成人では関連を示すことができなかったが、新生児期と乳児期では関連性がみられた。PC 活性と PiCi%との関連性では、新生児期は乳児期と比較し、その関連性が低いと考えられたことから、他の抗凝固因子の影響も考慮された。

次に抗凝固療法として AT 製剤た rTM 製剤が使用されているが、抗凝固作用として AT や rTM の補充効果を客観的に評価が可能か、AT 欠乏血漿への AT 添加実験および正常血症への rTM 添加実験を preliminary に行った。AT 欠乏血漿への AT 製剤の添加実験から AT 活性が 50-100%の間で抗凝固能に急激変化がみられ、また、新生児期および乳児期の血漿への AT 製剤の補正試験でも、AT 添加の抗凝固能の改善がみられたが、3 例のみの成績で、今後さらに対象を増やして効果を見る必要がある。また、今回、PS の測定はできなかった。PC の機能には PS も関与することから更なる追加研究を予定している。また rTM 添加実験でも、抗凝固能がみられたが、ThromboPath を用いた被検血漿への抗凝固因子の添加試験は、今後、抗凝固療法を推定するうえに有用な検査法になると推定された。

#### E. 結論

新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の選択に、ThromboPath を用いた検査法は有用と考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Kashima A<sup>1</sup>, Higashiyama Y, Kubota M, Kawaguchi C, Takahashi Y, Nishikubo T. Children with Down's syndrome display high rates of hyperuricaemia. Acta Paediatr. 2014

Aug;103(8):e359-64. doi: 10.1111/apa.12664.  
Epub 2014 May 21.

## 2. 実用新案登録

2) Takahashi D<sup>1</sup>, Takahashi Y, Itoh S, Nishiguchi T, Matsuda Y, Shirahata A. Late vitamin K deficiency bleeding in an infant born at a maternity hospital. *Pediatr Int.* 2014 Jun;56(3):436. doi: 10.1111/ped.12346.

3) Miyakawa Y, Kashiwagi H, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Kobayashi T, Kimura T, Adachi T, Watanabe T, Imaizumi M, Takahashi Y, Matsubara K, Terui K, Kuwana M, Kanagawa T, Murata M, Tomiyama Y; Committee for clinical practice guide of primary immune thrombocytopenia in pregnancy. [Consensus report for the management of pregnancy with primary immune thrombocytopenia].

Rinsho Ketsueki. 2014 Aug;55(8):934-47.  
[Article in Japanese]

## 2. 学会発表

第50回日本周産期・新生児医学会学術集会  
2014年7月13日-15日 シェラトン・グランデ・トーキョーベイ・ランドホテル  
Thrombopath による新生児・小児の抗凝固能の評価  
中川隆志、高橋幸博、内田優美子、釜本智之、新居育世、西久保敏也

第56回日本小児血液・がん学会学術集会  
2014年11月28日-30日 岡山コンベンションセンター、岡山シチーミュウジウム  
Thrombopath 分析による小児血漿中の抗凝固能の評価  
中川隆志、高橋幸博、武山雅博、嶋緑倫

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究」

一分担研究報告書

## プロテインC欠損症に生体ドミノ肝移植が成功した世界最初の例

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 部長

**研究要旨：** 本研究班で診断した複合ヘテロ変異によるプロテインC欠損症の23か月患児に、メープルシロップ尿症患者から摘出した肝を用いて世界初の生体ドミノ肝移植を実施した。新鮮凍結血漿の定期補充にもかかわらず電撃性紫斑を反復していた患者の血中プロテインC値は正常化して症状も消失し、プロテインC欠損症の根治療法が成功した。新しい治療選択肢を患者に提供可能にした点で意義深い。

### A. 研究目的

小児の血栓症は稀とされてきたが、新生児医療や心臓外科手術の進歩などを背景に、近年先進国で増加している。ホモ変異や複合ヘテロ変異を持つプロテインC(PC)欠損症の患者は、新生児・乳児期から生命に危険な血栓症を起こすことが知られている。さらに、PC欠損症患者は新鮮凍結血漿の定期補充にもかかわらず、急速進行性の皮膚の出血性壊死である電撃性紫斑病を反復して苦しむ。本研究ではPC欠損症を根治しうる、新しい治療管理法について検討した。

### B. 研究方法

対象は、本研究班で診断した複合ヘテロ変異によるPC欠損症の23か月患児である。血中PC値は<5%であった。新生児・乳児期に頭蓋内および眼球内に出血性梗塞を起こしたために視力は消失し、精神運動発達遅滞、てんかんを来していた。また、新鮮凍結血漿の定期補充およびワルファリンまたはダビガトラン内服にもかかわらず、電撃性紫斑病を反復し、血漿由来活性化PC製剤(アナクトC®)を適時使用していた。

(倫理面への配慮)

プロテインC遺伝子の解析は、ヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針に従って、九州大学

において実施された。今回のドミノ生体肝移植に先だって、日本肝移植学会、国立成育医療研究センターの倫理委員会において承認を受けた。

### C. 研究結果

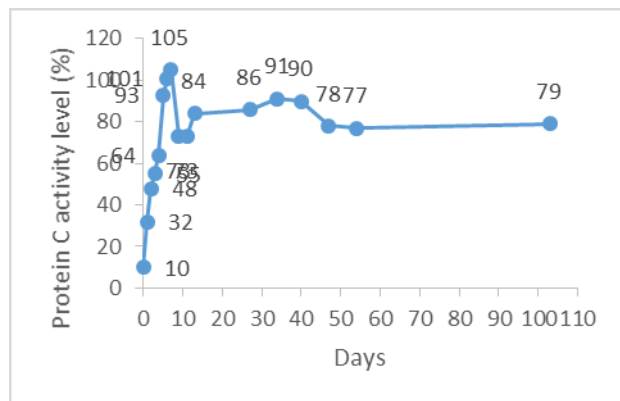
両親はPCのヘテロ変異であったので生体肝移植ドナーからは除外された。また、患児は死体臓器移植の待機リストでは低い順位であった。そのため、部分生体肝移植を受けるために摘出された、生後12か月のメープルシロップ尿症患者の肝を用いて生体肝移植を行うと決定した。移植手術直前から血漿由来活性化PC製剤を持続輸注し、術後4日まで継続した。生体肝移植後に血漿由来活性化PC製剤を中止後も血中PC値は70~91%と正常範囲に維持できた。周術期に血栓は起こらなかった。この結果、新鮮凍結血漿の定期補充は中止できた。さらに、心配されたメープルシロップ尿症患者の肝を用いたことから心配された血中分枝アミノ酸値の上昇は見られなかった。

### D. 考察

メープルシロップ尿症患者から摘出した肝を用いて、PC患者を根治に導いた世界初の生体ドミノ肝移植である。新しい治療選択肢を患者に提供可能にした点で本研究は意義がある。詳細は、研究発

表業績1に記載した。

図1 生体ドミノ肝移植の周術期および術後における血中PC濃度(研究発表業績1から引用)



周術期には血漿由来活性化PC製剤を持続輸注した。

メープルシロップ尿症患者の肝を用いたことから、ロイシンを含む分枝アミノ酸の代謝異常が懸念された。しかし、本例では血中分枝アミノ酸値は上昇しなかった。分枝アミノ酸を代謝する分枝ケト酸デヒドロゲナーゼは活性の60%が骨格筋に存在するため、肝の分枝ケト酸デヒドロゲナーゼが消失しても、分枝アミノ酸代謝に明らかな問題は起きないことが確認された。

## E. 結論

メープルシロップ尿症患者から摘出した肝を用いて、PC患者を根治に導いた世界初の生体ドミノ肝移植である。新しい治療の選択肢を患者に提供可能になった点で意義深い。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Matsunami M, **Ishiguro A**, Fukuda A, Sasaki K, Uchida H, Shigeta T, Kanazawa H, Sakamoto S, Ohta, Nakadate H, Horikawa R, Nakazawa A, Ishige M, Mizuta K, Kasahara

M: Successful living domino liver transplantation in a child with protein C deficiency. *Pediatr Transplant* (in press)

2. Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanezaki R, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Iribe Y, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara, A, Hara J, Goi K, Matsubara K, Koike K, **Ishiguro A**, Okamoto Y, Watanabe K, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Kenmochi N, Ogawa S, Ito E: Loss of function mutations in *RPL27* and *RPS27* identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan anemia. *Br J Haematol* 2014 Nov 25. doi: 10.1111/bjh.13229. [Epub ahead of print]
3. Fujimaru T, Ito S, Masuda H, Oana S, Kamei K, **Ishiguro A**, Kato H, Abe J: Decreased levels of inflammatory cytokines in immunoglobulin-resistant Kawasaki disease after plasma exchange. *Cytokine* 2014; 70(2):156-160.
4. Maekawa T, Oba M, Katsunuma T, **Ishiguro A**, Ohya Y, Nakamura H: Modified pulmonary index score was sufficiently reliable to assess the severity of acute asthma exacerbations in children. *Allergol Int* 2014; 63(4):603-607.
5. Yotani N, **Ishiguro A**, Sakai H, Ohfuji S, Fukushima W, Hirota Y: Factor-associated caregiver burden in medically complex patients with special health care needs. *Pediatr Int* 2014; 56(5): 742-747.
6. Minowa K, Arai K, Kasahara M, Sakamoto

- S, Shimizu H, Nakano N, Ito R, Obayashi N, Nakazawa A, **Ishiguro A**: Romiplostim treatment allows for platelet transfusion-free liver transplantation in pediatric thrombocytopenic patient with primary sclerosing cholangitis. *Pediatr Transplant* 2014; 18(6):E212-215.
7. 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* 2014; 173(3): 381-386.
  8. 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* 2014; 151(1):25-28.
  9. 鉄原健一, 伊藤友理枝, 内田桂子, 辻 聡, 多田欣司, **石黒 精**: 外傷が契機と考えられた小児副腎出血の2例. *日救急医学会関東誌* 2014; 35(2):286-289
  10. 野中航仁, 松本正太郎, 六車 崇, 榎本有希, 細川 透, **石黒 精**: 自己免疫性溶血性貧血による心原性ショックに対し, extracorporeal membrane oxygenation 導入により救命した乳児例. *日集中医誌* 2014;21(5):497-500.
  11. 松井 鋭, 小林由典, 伊藤友理枝, 伊藤友弥, 道端伸明, **石黒 精**, 阪井裕一: 循環不全徴候を示す細菌性髄膜炎急性期における急速輸液の影響. *日小児救急医学会誌* 2014; 13(3): 377-381.
  12. 上田理誉, 前川貴伸, 野村理, **石黒 精**, 阪井裕一, 中川聡: 小児専門病院における乳幼児突発性危急事態 (ALTE) 112 例の臨床像解析. *日児誌* 2014;118(8):1213-1218.
  13. 飯尾美沙, 竹中晃二, 成田雅美, 二村昌樹, 濱口真奈, 福島加奈子, 山野織江, 原口 純, 阪井 裕一, **石黒 精**, 大矢幸弘: 気管支喘息患児の保護者を対象としたテイラー化教育プログラムの開発および効果の検証. *アレルギー* 2014;63(2):187-203.
  14. 千葉剛史, 伊藤友弥, 山本しほ, 佐々木隆司, 植松悟子, 辻 聡, 武田憲子, **石黒 精**, 阪井裕一: 気管支喘息として治療されていた食道異物の1例. *日小児救急医学会誌* 2014;13(1):34-38.
  15. 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* 2014; 37(1): 55-60.
  16. 大賀正一, 落合正行, **石黒 精**, 高橋幸博, 瀧 正志, 嶋 緑倫, 金子政時, 福嶋恒太郎, 康 東天: 遺伝性血栓症: 小児期における診断と治療の問題. *日小血がん誌* 2014; 51(5):470-474.
  17. **石黒 精**: 後天性血友病 A, 後天性 von Willebrand 病. *小児内科* 2014; 46(2): 235-238.
- 書籍
1. **石黒 精**: 好中球減少症. 今日の小児治療指針, 水口 雅, 市橋 光, 崎山 弘 (編), 16 版, 医学書院, 東京 (印刷中)
  2. **石黒 精**: 出血傾向・凝固障害. 小児科研



修ノート，五十嵐 隆など（編），第 2 版，  
p497-499，診断と治療社，東京，2014．

3. **石黒 精**：ITP/血友病での急性出血．当直  
医のための小児救急ポケットマニュアル，  
辻 聡，小穴慎二，**石黒 精**など（編），  
p257-261，中山書店，東京，2014．

4. 田中康子，**石黒 精**：貧血．当直医のため

の小児救急ポケットマニュアル，辻 聡，  
小穴慎二，**石黒 精**など（編），p124-126，  
中山書店，東京，2014．

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 研究発表

### 1. 論文発表

1. Ochiai M, Kinjo T, Takahata Y, Iwayama M, Kenji I, Ohga S, Kotaro F, Wake N, Tagichi T, Hara T: Survival and neurodevelopmental outcome of preterm infants born at 22-24 weeks of gestational age. *Neonatology* 105(2):79-84, 2014
2. Yamamura K, Takada H, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Morihana E, Ohga S, Hara T: Early progression of atherosclerosis in children with chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome. *Rheumatology* 53(10):1783-7, 2014
3. Hoshina T, Nakashima Y, Sato D, Nishii 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* 20(2):128-30, 2014
4. Matsuoka W, Yamamura K, Uike K, Nagata H, Ohga S, Hara T: Tachyarrhythmia-induced cerebral sinovenous thrombosis in a neonate without cardiac malformation. *Pediatr Neonatol* 55(5):412-3, 2014
5. Maeba S, Hasegawa S, Shimomura M, Ichimura T, Takahashi K, Motoyama M, Fukunaga S, Ito Y, Ichiyama T, Ohga S: Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. *Am J Perinatol* 2014 (in press)
6. Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Matsubara T, Shimomura M, Okuda M, Ichiyama T, Ohga S: Acute pericardial effusion representing the TNF- $\alpha$ -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol* 29:1-6, 2014
7. 大賀正一、落合正行、石黒精、高橋幸博、瀧正志、嶋緑倫、金子政時、福嶋恒太郎、康東天 小児新生児血栓症研究班：「遺伝性血栓症：小児期における診断と治療の問題点」。日本小児血液がん学会雑誌 2015（印刷中）
8. 大賀正一：新生児の血栓止血異常症：血友病と栓友病。日本未熟児新生児学会雑誌 2015（印刷中）

8. 大賀正一：第15章「血液・腫瘍性疾患」播種性血管内凝固症候群 disseminated intravascular coagulation (DIC)。今日の小児治療指針第16版 2014（印刷中）

### 2. 学会発表

1. Ochiai M, Matsushita Y, Kusuda T, Ichiyama M, Kitajima J, Inoue H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S, Hara T: Blood chemistry and hematology reference intervals in preterm or low birth weight infants at birth. PAS and ASPR Joint Meeting 2014 May 3-6, 2014, Vancouver, Canada
2. Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T: Genetic screening of protein C, protein S and antithrombin deficiency in pediatric thromboembolism. Pediatric Academic Societies (PAS) and Asian Society for Pediatric Research (ASPR) 2014 Joint Meeting, May 3 - 6, 2014. Vancouver, British Columbia, USA
3. Shimomura M, Ichimura T, Kittaka S, Mizutani M, Hasegawa S, Ohga S: Siblings with atypical HUS experienced in our hospital. Pediatric aHUS forum in Yamaguchi 2014, December 3, 2014, Ube, Yamaguchi, Japan
4. 大賀正一：プロテインC欠損症～早期診断と治療～第62回 日本輸血・細胞治療学会総会 共催セミナー5 奈良市、2014年5月15日
5. 大賀正一：新生児の血栓症と血栓性素因 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 ランチョンセミナー 横浜市、2014年6月13日
6. 大賀正一、茨聡、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ。新生児DICの診断と治療 新しい指針の提案 補充療法の適応 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日
7. 長江千愛、茨聡、大賀正一、樺山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧正志、西久保敏也、水上尚典、白幡聡、日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ。新生児DICの診断と治療-新し

い指針の提案 新生児DICに対する遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の使用指針. 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

8. 高橋大二郎, 茨聡, 大賀正一, 樺山知佳, 河井昌彦, 川口千晴, 沢田健, 高橋幸博, 瀧正志, 長江千愛, 西久保敏也, 水上尚典, 白幡聡, 日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ. 新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 アンチトロンピン製剤の再評価. 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

9. 川口千晴, 高橋幸博, 茨聡, 大賀正一, 樺山知佳, 河井昌彦, 沢田健, 高橋大二郎, 瀧正志, 長江千愛, 西久保敏也, 水上尚典, 白幡聡, 日本産婦人科・新生児血液学会新生児DIC診断・治療指針作成ワーキンググループ. 新生児DICの診断と治療-新しい指針の提案 新生児DICの診断基準(案) 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 シンポジウム 横浜市、2014年6月13日

10. 大賀正一: 小児の血栓症と血栓性素因 ~感染と止血のかかわり~. 第194回倉敷小児科専門医会 特別講演. 倉敷市、2014年7月23日

11. 大賀正一: 血友病と栓友病 ~診断と治療の問題点~. 第76回日本小児科学会宮崎地方会 特別講演. 宮崎市、2014年9月14日

12. 大賀正一: こどもの血栓症 ~血栓性素因を考える~. 宇部市小児科医会セミナー 宇部市 2014年9月16日

13. 大賀正一: 止血異常 小児診療のピットフォール. 第34回山口県小児外科研究会 特別講演 山口市 2014年9月25日

14. 大賀正一: 新生児の血栓止血異常症 第59回日本未熟児新生児学会・学術集会 教育講演 松山市 2014年11月11日

15. 大賀正一: 血栓症とその遺伝性素因 ~栓友病の早期診断をめざして~. 第25回山口血液疾患研究会 特別講演 山口市 2014年11月17日

16. 大賀正一: 小児の血栓性素因 ~感染と免疫の関わりから~. 第66回中国四国小児学会 教育講演 高知市、2014年11月22日

17. 大賀正一: 遺伝性血栓性素因 ~こどもと家族を守る~. 第14回和歌山Hemophilia Network 特別講演 和歌山市、2014年12月6日

18. 松岡若利, 鵜池清, 永田弾, 山村健一郎, 平田悠一郎, 李守永, 賀来典之, 馬場晴久, 中山秀樹, 大賀正一, 原寿郎: 発作

性上室性頻拍による心原性ショックの後に発見された新生児脳静脈洞血栓症の1例 第24回日本産婦人科・新生児血液学会 横浜市、2014年6月13日

19. 市山正子, 中村有香里, 落合正行, 石村匡崇, 楠田剛, 浦田美秩代, 堀田多恵子, 康東天, 大賀正一, 原寿郎: 胎児水頭症から診断された先天性プロテインCヘテロ接合体欠損症の新生児例. 第24回日本産婦人科新生児血液学会 横浜市、2014年6月13日

20. Nishimura A, Miyamoto S, Takada K, Satomi R, Matsumura Y, Terauchi M, Kajiwara M, Ohga S, Enomoto K, Ohta M. A congenital protein C deficiency boy who developed cerebral venous thrombosis after steroid therapy. 第76回日本血液学会学術集会 大阪市、2014年10月31日

21. Sekiya Y, Okuno Y, Muramatsu H, Oifati I, Kawashima N, Narita A, Wang X, Xu Y, Hama A, Fujisaki H, Toshihiko I, Hasegawa D, Kosaka Y, Sunami S, Ohtsuka Y, Ohga S, Takahashi Y, Kojima S, Shimada A. JAK2, MPL, and CALR mutations in children with essential thrombocytopenia. 第76回日本血液学会学術集会 大阪市、2014年10月31日

22. 落合正行, 金城唯宗, 高畑 靖, 岩山真理子, 安部 猛, 井原健二, 大賀正一, 福嶋恒太郎, 加藤聖子, 田口智章, 原寿郎: 在胎週数22 - 24週で出生した早産児の死亡率、罹患率と予後 ~2000年から2010年までの単施設での比較~. 第67回九州小児科学会 大分市、2014年11月22-23日