

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究班

平成27年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渥美達也

平成28(2016)年3月

目次

I. 構成員名簿	1
II. 平成 27 年度総括研究報告書	3
抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究班	
研究代表者 北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学分野 渥美 達也	
III. 分担研究報告	
1. 研究分担者 井上 克枝 山梨大学大学院総合研究部医学域臨床検査医学	
	7
2. 研究分担者 森下 英理子 金沢大学医薬保健研究域・病態検査学	
	9
3. 研究分担者 奥 健志 北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学分野	
	15
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	17
V. 研究成果刊行物・別刷り	19

平成27年度厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)
総括研究報告書

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究

研究代表者	渥美 達也	北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学分野 教授
研究分担者	井上 克枝	山梨大学大学院総合研究部医学域臨床検査医学 教授
研究分担者	森下 英理子	金沢大学医薬保健研究域・病態検査学 教授
研究分担者	奥 健志	北海道大学大学院医学研究科 免疫・代謝内科学分野 助教

研究要旨

抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、すでに特定疾患の対象となっている「抗リン脂質抗体症候群」とは別の疾患で、2005年に申請者らが提唱した疾患概念である(Lupus 14; 499-504, 2005)。血小板減少症は古くから抗リン脂質抗体と関連すると認識されていたが、その病態は不明である。一方、急性あるいは慢性の血小板減少症を合併する抗リン脂質抗体陽性患者は少なからず存在し、血栓傾向と出血傾向が併存する為、マネジメントが困難である。そこで2006年、申請者らの提唱により、このような患者群を「抗リン脂質抗体関連疾患」のひとつ、抗リン脂質抗体関連血小板減少症と定義し研究対象とすることが世界のコンセンサスとなった(J Thromb Haemost 4; 295-306, 2006)。

本研究は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の臨床像や病態を明らかにし、その診療ガイドライン作成の基盤をつくることを目的とする。

初年度は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の症例を定義し臨床像を解析する。当学では約20年にわたる自己免疫疾患患者のデータベースがあり、同データベースには抗リン脂質抗体の詳細なプロフィールがすでに存在している。そこに血小板減少症の有無や経過を後ろ向きに追加・検討することで解析可能である。また、解析した抗リン脂質抗体関連血小板減少症患者の病態像・定義を用いて、コホートを確立し、出血や血栓などのイベントを含む経過を観察して治療経過などとの関連を調べる準備をおこない、2年目には観察を開始する。

抗リン脂質抗体関連血小板減少症についての診療ガイドラインは、2015年現在、世界のどこにも存在しない。申請者は、我が国に1万人ほどの患者が存在すると推定しているが、これまで疫学調査もなく、出血・血栓の相反するリスクをもつ本症のマネジメントは困難である。2年目終了時には、プレリミナリーな診療のてびき案の作成が可能であり、将来的にエビデンスにもとづくガイドラインの樹立に向けて、多施設前向き研究の基盤をつくることができると考えた。

A. 研究目的

血小板減少症が抗リン脂質抗体と関連することは以前から知られていた。実際、1980年代に存在した抗リン脂質抗体症候群の古典的分類基準案には、臨床症状のひとつに血小板減少症があげられてい

た。しかし、抗リン脂質抗体症候群の本態が「血栓傾向」であることが重要視され、1999年の抗リン脂質抗体症候群の新分類基準から血小板減少症は除外された。その結果、抗リン脂質抗体が存在しても血小板減少が存在すれば、その患者は「本態性血小板

減少性紫斑病(ITP)」と分類せざるを得なくなった。

他方、抗リン脂質抗体陽性の ITP 患者は、出血リスクだけではなく血栓リスクを併せ持つことが報告され、申請者は ITP の疾患概念とは一線を画すべきと考え、「抗リン脂質抗体関連血小板減少症」という疾患概念を提唱した。この概念は、のちに「抗リン脂質抗体関連疾患」のひとつとしてコンセンサスが得られ、研究対象となった。

申請者は、この疾患を、急性または慢性で、重篤もしくは軽症の血小板減少を示す患者の血中に抗リン脂質抗体が存在するもの、と定義した。そして、ITP の類縁疾患としての出血傾向、さらに持続的に存在する抗リン脂質抗体による血栓傾向の両者に対応したマネジメントをとることが必要で、診療上は非常に重要である。申請者は、多様性のある抗リン脂質抗体の検出法を多く樹立してきた。さらに、北海道大学病院は北海道東北地区でもっとも大きな自己免疫疾患専門診療を展開している施設のひとつである。そのデータベースを使って、抗リン脂質抗体関連血小板減少症に関して、初年度は後ろ向き、そして2年目以降の前向き疫学研究の準備をおこなう予定である。短期間の本研究ではガイドラインのもとになるエビデンス構築は困難であるが、2年目終了時には、一般診療医のための抗リン脂質抗体関連血小板減少症診療のてびき案を作成したい。また、研究としては将来のガイドライン作成に向けて臨床試験を実施するプロトコル作成をゴールとする、国内外で、同疾患に関するガイドラインは存在せず、疾患の提唱者によるオリジナリティの高い研究と自負する。

B. 研究方法

1. 本研究は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症に関する後ろ向きおよび前向き観察研究から構成される。

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の後ろ向き観察研究：当科では1998年より各種抗リン脂質抗体の精密測定を樹立し、ルーチン化してきた。そして、2000年より当院膠原病外来を受診した患者の一部をデータベース化し、すでに4,000件を超える抗リン脂質抗体パネルを構築している。急性、もしくは慢性の血小板減少の経過を入力し、抗リン脂質抗体パネルとの比較をおこなうことで、これまで不明であった抗リン

脂質抗体関連血小板減少症の疫学のプレリミナリー研究をおこなうことができる。まず、初年度は、研究代表者が中心となり、当施設の膠原病外来受診患者を対象に、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の患者を同定して、抗リン脂質抗体陰性血小板減少症患者および抗リン脂質抗体陽性血小板非減少の患者と比較し、本疾患の臨床的特徴(背景、基礎疾患、抗リン脂質抗体や抗血小板抗体を含む自己抗体プロフィール、ゲノム情報、治療への反応など)を明らかにする。

2. 同：前向きコホート研究：次いで、初年度から2年目にかけて、本疾患の単施設コホートを形成し(現時点での推定120人ほど)、前向きの非介入観察研究をおこなう。終了時にはいったんデータを集積して、本疾患の血栓リスク、出血リスク、それらと血小板減少の経過、抗リン脂質抗体の経過および投薬の関連、合併症について解析する。コホート観察は継続されるが、自己免疫疾患班や難治性血管炎班とともに、ガイドライン作成のための臨床研究のプロトコルの準備をおこなう。

上記の結果のみでは、高いレベルでのエビデンスは得られないので、その構築は今後の課題である。しかし、本疾患はまれではない疾患であり(申請者の推定では本邦に1万人)、日常臨床で「出血傾向」と「血栓傾向」の併存により患者管理が非常に困難である現状があることから、まずはプレリミナリーな診断・治療のてびきを作成することが急務である。これまで国内外に存在しない抗リン脂質抗体関連血小板減少症の「診療のてびき」案の作成をおこなうことが最終年度までのゴールであり、さらにガイドライン作成のための臨床試験のプロコルを提案していきたい。

(倫理面への配慮)

患者検体を使用した実験は当院倫理委員会の承認を得た上でを行い、動物実験は北海道大学動物実験委員会の承認のもと北海道大学大学院医学研究科附属動物実験施設内にて行った。

C. 研究結果

1.

原因不明の全身性自己免疫疾患は、代表的な難治性疾患である。抗リン脂質抗体症候群はすでに難病として研究対象となっているが、抗リン脂質抗体は血栓症や妊娠合併症のみに関連する自己抗体ではないことがわかってきて、注目を集めている。一連の疾患群を「抗リン脂質抗体関連疾患」群とすることが世界のコンセンサスとなったが、とりわけ、申請者自らが提唱した疾患である抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、診療をおこなううえで、難治性血栓傾向と出血傾向の混在する病態として、たいへんマネジメントが難しい。

本研究では、後ろ向きおよび前向きの疫学調査によって、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の臨床的特徴を明らかにする 得られた結果から、本疾患の診断および治療のてびきを作成して、臨床の場に還元することが目標である。本疾患のガイドラインは国内外に依然として存在しないことから、社会的インパクトは大きい。血栓、出血いずれも生命や身体機能に直結する重篤な病態である。すでに難病として認定されている抗リン脂質抗体症候群の関連疾患として、抗リン脂質抗体関連血小板減少症は厚生労働行政がただちに取り組むべき疾患のひとつと認識する。

D. 考察

原因不明の全身性自己免疫疾患は、代表的な難治性疾患である。抗リン脂質抗体症候群はすでに難病として研究対象となっているが、抗リン脂質抗体は血栓症や妊娠合併症のみに関連する自己抗体ではないことがわかってきて、注目を集めている。一連の疾患群を「抗リン脂質抗体関連疾患」群とすることが世界のコンセンサスとなったが、とりわけ、申請者自らが提唱した疾患である抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、診療をおこなううえで、難治性血栓傾向と出血傾向の混在する病態として、たいへんマネジメントが難しい。

本研究では、後ろ向きおよび前向きの疫学調査によって、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の臨床的特徴を明らかにする 基礎研究によって抗リン脂質抗体の血小板に対する効果を検討し現存する薬剤もしくは創薬による適切な治療薬の選択の可能性を模索する、の2本立てで構成される。得られた結果から、本疾患の診断および治療のてびきを作成し

て、臨床の場に還元することが目標である。本疾患のガイドラインは国内外に依然として存在しないことから、社会的インパクトは大きい。血栓、出血いずれも生命や身体機能に直結する重篤な病態である。すでに難病として認定されている抗リン脂質抗体症候群の関連疾患として、抗リン脂質抗体関連血小板減少症は厚生労働行政がただちに取り組むべき疾患のひとつと認識する。

E. 結論

本研究において、抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、すでに特定疾患の対象となっている「抗リン脂質抗体症候群」とは別の疾患で、2005年に申請者らが提唱した疾患概念である(Lupus 14; 499-504, 2005)。血小板減少症は古くから抗リン脂質抗体と関連すると認識されていたが、その病態は不明である。一方、急性あるいは慢性の血小板減少症を合併する抗リン脂質抗体陽性患者は少なからず存在し、血栓傾向と出血傾向が併存する為、マネジメントが困難である。そこで2006年、申請者らの提唱により、このような患者群を「抗リン脂質抗体関連疾患」のひとつ、抗リン脂質抗体関連血小板減少症と定義し研究対象とすることが世界のコンセンサスとなった(J Thromb Haemost 4; 295-306, 2006)。

本研究は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の臨床像や病態を明らかにし、その診療ガイドライン作成の基盤をつくることを目的とする。

初年度は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の症例を定義し臨床像を解析する。当学では約20年にわたる自己免疫疾患患者のデータベースがあり、同データベースには抗リン脂質抗体の詳細なプロフィールがすでに存在している。そこに血小板減少症の有無や経過を後ろ向きに追加・検討することで解析可能である。また、解析した抗リン脂質抗体関連血小板減少症患者の病態像・定義を用いて、コホートを確立し、出血や血栓などのイベントを含む経過を観察して治療経過などの関連を調べる準備をおこない、2年目には観察を開始する。

抗リン脂質抗体関連血小板減少症についての診療ガイドラインは、2015年現在、世界のどこにも存在しない。申請者は、我が国に1万人ほどの患者が存在すると推定しているが、これまで疫学調査もなく、

出血・血栓の相反するリスクをもつ本症のマネージメントは困難である。2年目終了時には、プレリミナリーな診療のてびき案の作成が可能であり、将来的にエビデンスにもとづくガイドラインの樹立に向けて、多施設前向き研究の基盤をつくることができると考えた。

F.健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G.研究発表

1.論文発表

1. Oku K, Amengual O, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. An independent validation of the Global Anti-Phospholipid Syndrome Score in a Japanese cohort of patients with autoimmune diseases. *Lupus* 24:774-5, 2015.
2. Tanimura K, Jin H, Morikami S, Suenaga T, Arase N, Kishida K, Hirayasu K, Kohyama M, Ebina Y, Yasuda S, Horita T, Takasugi K, Ohmura K, Yamamoto K, Katayama I, Sasazuki T, Lanier LL, Atsumi T, Yamada H, Arase H. Beta2-glycoprotein I/HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome. *Blood* 125:2835-44, 2015
3. Sugiura-Ogasawara M, Atsumi T, Yamada H, Kitaori T, Ozaki Y, Katano K, Murashima A. Real-world practice of obstetricians in respect of assays for antiphospholipid antibodies. *Mod Rheumatol* 25: 883-7, 2015
4. Amengual O, Fujita D, Ota E, Carmona K ,

Oku K, Sugiura-Ogasawara M, Murashima A, Atsumi T. Primary prophylaxis to prevent obstetric complications in asymptomatic women with antiphospholipid antibodies: a systematic review. *Lupus* 23:1135-42, 2015

5. Kitaori K, Sugiura-Ogasawara M, Oku K, Papisch W, Ebara T, Ozaki Y, Katano K, Atsumi T. Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and cutoff levels for obstetric antiphospholipid syndrome. *Lupus* 24: 1505-19, 2015

2.学会発表

1. Atsumi T. Antiphospholipid Scoring. 61st Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee (SSC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Toronto, Canada, 20 June 2015
2. Atsumi T. Interpretation of antiphospholipid antibody profile. 17th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress. Chennai, India, 7 September 2015

H.知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

平成27年度厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究

研究分担者 井上 克枝 山梨大学大学院総合研究部医学域臨床検査医学 教授

研究要旨

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診療ガイドライン作成には、その病態についての理解が必要である。当該分担者は患者血中の抗リン脂質抗体が血小板を活性化あるいは活性化を抑制することが、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の発症機序であるという仮説を検証すべく、血小板活性化検出法に関する助言を行った。しかし、血小板凝集能検査、T-TASでは、231Dというリン脂質抗体が血小板活性化に与える影響を検出できなかった。今後、別の抗体を検討する。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診療ガイドライン作成には、その病態についての理解が必須である。血小板減少の原因として、抗リン脂質抗体による血小板の活性化と消費、あるいは、他の抗血小板抗体の存在などが考えられている。抗リン脂質抗体関連血小板減少症患者では血栓傾向と出血傾向が共存している。血栓傾向の原因として、患者血清中に抗リン脂質抗体、あるいは共存する抗血小板抗体による血小板活性化が考えられる。また、血小板減少が著しくない症例でも出血傾向が認められる症例もあり、患者血清中の抗血小板抗体が血小板活性化を抑制するという機序が考えられる。

当該分担者の目的は、血小板活性化検出法に関する効果的な助言を行うことであった。

B. 研究方法

1. 抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態を理解するため、研究代表者の北海道大学免疫・代謝内科講座にて、抗リン脂質抗体症候群の一員となっていることが考えられる、ホスファチジルセリンとプロトンピンの複合体を認識するモノクローナル抗体(231D)を作製した。231DはADP惹起血小板凝集を抑制するという予備的な結果が得られ、同症の出血傾向の原因の一つと考えられた。その後、血小板凝集能を

はじめとする血小板活性化検出法に長けた、山梨大学臨床検査医学講座に抑制効果をきちんと証明する方法について相談があった。

当講座の尾崎らによって開発された散乱光による血小板凝集能検査法、生理的な血栓形成能を検討できる Total Thrombus-formation Analysis System (T-TAS) などで解析し、統計処理を加える方法を紹介した。

2. 倫理面への配慮

本研究は、患者の臨床情報のほかに、データベースに存在するゲノム情報を利用する可能性がある。したがって、本研究はヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針遵守し行われた。すなわち、試料の遺伝子解析にヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(平成25年2月8日文科科学省・厚生労働省・経済産業局省告示第一号)を順守した。

すべての研究はいずれかの倫理委員会にはかり、承認後に研究を進めた。また、本研究は、APS患者および健常人の血液サンプルを使用する研究が含まれる。研究の施行にあたっては、患者に十分なインフォームドコンセントをおこなうとともに、個人情報等の扱いは十分注意しておこなった。

C. 研究結果

1. 健常人多血小板血症を用いた実験で、231DがADP惹起血小板凝集を抑制するというデータの再現は取れなかった。また、T-TASでも、231D

の影響は認められなかった。

D. 考察

本研究により、231D の抗リン脂質抗体関連血小板減少症への関与は明らかとならなかったが、今後、別の抗リン脂質抗体の効果を本実験系を用いて検討することで、機序を明らかにできることが期待できる。

E. 結論

本研究において、抗リン脂質抗体の抗リン脂質抗体関連血小板減少症の発症への関与が明らかとなる可能性がある。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1. 学会発表

1. Katsue Suzuki-Inoue, Roles of a platelet Clec-2 within and beyond clotting. Proteases in Hemostasis and Vascular Biology, FACEB Science Research Conference (invited speaker) 2015.6.8, Keystone, USA

2. 井上克枝 血小板活性化受容体 CLEC-2 の血栓止血とそれ以外における役割．特別講演（招待講演）第 35 回大阪血液学セミナー 2015.7.24 大阪 大阪大学

3. 井上克枝 血小板活性化受容体 CLEC-2 の血栓止血、癌転移、リンパ管新生における役割 第 17 回さくら造血細胞セミナー 特別講演（招待講演）15.7.1 東京 日本大学医学部リサーチセンター

2. 論文発表

1. Podoplanin-positive periarteriolar stromal cells promote megakaryocyte growth and proplatelet formation in mice by CLEC-2.
Tamura S, Suzuki-Inoue K, Tsukiji N, Shirai T, Sasaki T, Osada M, Satoh K, Ozaki Y.
Blood. 2016 Jan 21. pii: blood-2015-08-663708.

2. Platelets Regulate the Migration of Keratinocytes via Podoplanin/CLEC-2 Signaling

during Cutaneous Wound Healing in Mice.

Asai J, Hirakawa S, Sakabe J, Kishida T, Wada M, Nakamura N, Takenaka H, Mazda O, Urano T, Suzuki-Inoue K, Tokura Y, Katoh N.
Am J Pathol. 2016 Jan;186(1):101-8.

3. Inhibition of IgE-mediated allergic reactions by pharmacologically targeting the circadian clock.
Nakamura Y, Nakano N, Ishimaru K, Ando N, Katoh R, Suzuki-Inoue K, Koyanagi S, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Nakao A.
J Allergy Clin Immunol. 2015 Nov 7. pii: S0091-6749(15)01370-6.

4. CLEC-2 in megakaryocytes is critical for maintenance of hematopoietic stem cells in the bone marrow.

Nakamura-Ishizu A, Takubo K, Kobayashi H, Suzuki-Inoue K, Suda T.
J Exp Med. 2015 Nov 16;212(12):2133-46.

5. Vascular Smooth Muscle Cells Stimulate Platelets and Facilitate Thrombus Formation through Platelet CLEC-2: Implications in Atherothrombosis.

Inoue O, Hokamura K, Shirai T, Osada M, Tsukiji N, Hatakeyama K, Umemura K, Asada Y, Suzuki-Inoue K, Ozaki Y.
PLoS One. 2015 Sep 29;10(9):e0139357.

6. Measurement of soluble C-type lectin-like receptor 2 in human plasma.

Kazama F, Nakamura J, Osada M, Inoue O, Oosawa M, Tamura S, Tsukiji N, Aida K, Kawaguchi A, Takizawa S, Kaneshige M, Tanaka S, Suzuki-Inoue K, Ozaki Y.
Platelets. 2015;26(8):711-9. doi:

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成 27 年度厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

当院における抗リン脂質抗体症候群患者の血栓症、不育症、血小板減少症合併例別の抗リン脂質
抗体プロファイルの検討

研究分担者 森下英理子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 教授

研究要旨

当院通院中の抗リン脂質抗体症候群 (APS) 患者における抗リン脂質抗体 (aPL) の種類およびその陽性率を明らかにするとともに、血栓症、不育症、血小板減少症等の症状別に分類し、aPL プロファイルとその臨床像との関連について検討した。血栓症の重症例では、LA 陽性および aPL 複数陽性症例 (triple positive) が多くみられ、これまでの報告と同様の所見であることを確認した。不育症発症例は、初期流産例では aCL IgG が、後期妊娠合併症例では LA の検出率が高く、合併症発症の予測因子となる可能性が示唆されたが今後症例数を増やし、統計学的に検討する必要がある。血小板減少合併 APS 症例では、LA あるいは aCL IgG 陽性例が高頻度に認められ発症予測抗体の候補となる可能性が示唆されたが、同様に今後症例数を増やした検討が必要である。

A. 研究目的

金沢大学附属病院血液内科に通院歴のある抗リン脂質抗体症候群 (APS) 患者における抗リン脂質抗体 (aPL) の種類およびその陽性率を明らかにするとともに、血栓症、不育症、血小板減少症等の症状別に分類し、aPL プロファイルとその臨床像との関連について検討した。

B. 研究方法

1. 対象

金沢大学附属病院血液内科外来を受診した抗リン脂質抗体症候群 (APS) 患者 80 例 (男性 24 例 / 女性 56 例、年齢中央値 45 歳) を対象とした。内訳は、原発性 APS 34 例 (42%)、二次性 APS: SLE 21 例 (26%)、SLE 以外の膠原病 22 例 (28%)、その他 3 例 (4%)

であった。

臨床所見 (重複あり) は、動脈血栓症 39 例 (48.8%)、静脈血栓症 52 例 (65.0%)、妊娠合併症 21 例 (26.3%)、血小板減少症 7 例 (8.8%) であった。

2. 方法

aCL は、抗カルジオリピン抗体 (aCL) IgG (MESCUPI)、 β_2 GPI 依存性 aCL (aCL / β_2 GPI) IgG (ヤマサ)、ループスアンチコアグラント (LA) は金沢大学附属病院にて測定、aCL IgG、抗 β_2 GPI 抗体 (a β_2 GPI) IgG、抗ホスファチジルセリン / プロトロンビン抗体 (aPS / PT) IgG は北海道医療大学にて測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者の臨床情報を利用したため、人を対象とする医学系研究に関する倫

理指針を遵守し行われた。すべての研究は倫理委員会にはかり、承認後に研究を進めた。また、本研究は、APS 患者および健常人の血液サンプルを使用する研究が含まれる。研究の施行にあたっては、患者に十分なインフォームドコンセントをおこなうとともに、個人情報等の扱いは十分注意しておこなった。

C. 研究結果

1. 血栓症全体における aPL 陽性頻度

血栓症例を解析すると、動脈血栓症も静脈血栓症も aPL の陽性率に大きな差異は認めず、両血栓症共に LA が約 50%、aCL IgG が約 70%、aCL/ λ 2GPI IgG (ヤマサ) が約 40%、a λ 2GPI IgG が約 30%、aPS/PT IgG が約 30% で陽性であった。

また、aPL1 種類のみ陽性で診断された APS 症例は、約 90% が aCL IgG (MESCUP and/or 北海道医療大学) 単独陽性症例であった。aPL triple positive は全体の 43% を占め、そのうち aCL/ λ 2GPI IgG の陽性率と a λ 2GPI の陽性率に差 (92% vs 58%) がみられた。

2. 動脈血栓症ならびに静脈血栓症発症例の解析

動脈血栓症発症例では、aPL1 種類陽性症例はすべて aCL IgG 単独陽性例であった。aPL triple positive 例のうち、IgG aCL/ λ 2GPI (ヤマサ) の陽性率と a λ 2GPI IgG の陽性率に差 (94% vs 50%) がみられた。また、LA 陽性症例のうち 47% (9/19) が aPS/PT IgG 陽性であった。症状は、aPL 複数陽性に

て重篤な症例が多く、triple positive では静脈血栓症や産科合併症を有する症例も見られた。

静脈血栓症発症例では、aPL1 種類陽性症例はそのほとんど (86%) の症例が aCL IgG 単独陽性であった triple positive 例では重複があるものの、19 例中 15 例 (79%) が aCL/ λ 2GPI IgG (ヤマサ) 陽性であるのに対し、a λ 2GPI IgG は 19 例中 9 例 (47%) で陽性であった。症状は深部静脈血栓症 (DVT) が多く見られたが、悪性腫瘍の合併や膝関節症の手術が先行する例など他の危険因子の合併も見られた。aPL triple positive 例は、いずれもより中枢側の DVT や肺動脈血栓症合併症例が多く、IVC 閉塞例もみられた。また脳静脈洞血栓症症例もみられた。

3. 不育症発症例の解析

不育症症例では、aCL IgG は初期流産症例、後期不育症症例で約 70%~80% 陽性であった。また、妊娠後期合併症例の 40% に LA が陽性であった。妊娠中期以降の不育症発症例のうち LA が陽性であった 6 例は、全例子宮内胎児発育遅延、子宮内胎児死亡、妊娠高血圧症候群など妊娠中期以降の合併症を有していた。

4. 血小板減少症の合併例の解析

血小板減少症合併例では、少数例の解析ではあるが、7 例中 5 例 (71%) で LA あるいは aCL IgG が陽性であった。その他、aCL/ λ 2GPI IgG (ヤマサ) 陽性例が 3 例、a λ 2GPI IgG、PS/PT IgG 陽性例がそれぞれ 1 例ずつ

認められた。

D. 考察

APS 患者 80 例の aPL のプロファイルを検討した。血栓症の重症例では、LA 陽性および aPL 複数陽性症例(triple positive)が多くみられ、これまでの報告と同様の所見であることを確認した。血栓症発症例の aPL triple positive 例において aCL/ 2GPI IgG (ヤマサ) の陽性率と a 2GPI IgG の陽性率に差がみられ、両者は必ずしも同一の抗体ではないことが推測された。不育症例では、初期流産例では aCL IgG が、後期妊娠合併症例では LA の検出率が高く、合併症発症の予測因子となる可能性が示唆されたが今後症例数を増やし、統計学的に検討する必要がある。

血小板減少症合併例では、LA と aCL IgG の検出率が高く、発症を予測抗体の候補となりうる可能性があるが、今回は症例数が少なかったため今後さらに症例数を増やして検討する必要がある。

E. 結論

血小板減少合併 APS 症例では、LA あるいは aCL IgG 陽性例が発症予測抗体の候補となる可能性が示唆されたが、今後症例数を増やした検討が必要である。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshikawa Y, Kitayama J, Ishikawa H, Nakamura A, Taniguchi F, Morishita E, Ago T, Nakane H, Kitazono: Fulminant bilateral cerebral infarction caused by paradoxical embolism in a patient with protein S Ala525Val substitution. *Neurology and Clinical Neuroscience*. 3(3): 105-107, 2015
- 2) Sekiya A, Morishita E, Maruyama K, Torishima H, Ohtake S: Fluvastatin upregulates the expression of tissue factor pathway inhibitor in human umbilical vein endothelial cells. *J Atheroscler Thromb*. 22(7): 660- 668, 2015
- 3) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Yamaguchi D, Nomoto H, Kobayashi E, Takata M, Kosugi I, Takeuchi N, Asakura H, Ohtake S: Late onset thrombosis in two Japanese patients with compound heterozygote protein S deficiency. *Thromb Res*. 135(6) : 1221-1223, 2015
- 4) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Matsuo K, Mizuno S, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Ohtake S, Morishita E: A donor thrombomodulin gene variation predicts graft-versus-host disease development and mortality after bone marrow transplantation. *Int J*

Hematol. 102(4) : 460-70, 2015

- 5) Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T: ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. PLoS One. 10(7): e0133196, 2015
- 6) Miyasaka N, Miura O, Kawaguchi T, Arima N, Morishita E, Usuki K, Morita Y, Nishiwaki K, Ninomiya H, Gotoh A, Imashuku S, Urabe A, Shichishima T, Nishimura JI, Kanakura Y: Pregnancy outcomes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab: a Japanese experience and updated review. Int J Hematol. 2016 Feb 8. [Epub ahead of print]
- 7) 森下英理子: 第X因子とプロトロンビン、新・血栓止血血管学 凝固と炎症(一瀬白帝、丸山征郎、家子正裕編著)、金芳堂、pp20-27、2015
- 8) 森下英理子: PNHの血栓症・発作性夜間へモグロビン尿症(PNH)、金倉謙、西村純一編、医薬ジャーナル社、pp100-111、2015
- 9) 大谷綾子、福田英ツグ、新山史朗、中橋澄江、長島義宣、青山幸生、森下英理子、向井秀樹。プロテインS欠乏症による難治性下腿潰瘍の1例。西日本皮膚科77(5):461-164,2015
- 10) 森下英理子: 細血管障害性溶血性貧血の診断と治療。臨床血液

56(7):795-806、2015

- 11) 森下英理子: 血栓止血性疾患の遺伝子診断 - 血栓性疾患。日本血栓止血学会誌 26(5):518-523, 2015
- 12) 森下英理子: 先天性血栓性素因の診断。日本検査血液学会雑誌 16(1):1-10, 2015.
- 13) 森下英理子: 凝固・線溶系のメカニズムと血栓形成。Medicina 52(13): 2300-2304, 2015
- 14) 森下英理子: 先天性素因の検査 アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS。臨床検査 60(2) : 158-165 , 2015
- 15) 森下英理子、永井信夫、家子正裕: 2015 Hot Topics 線溶分野。日本血栓止血学会誌 27(1), 2016(印刷中)
- 16) 森下英理子: フォンウィルブランド因子の臨床検査。BIO Clinica, 2016。(印刷中)
- 17) 森下英理子: 「質疑応答 プロからプロへ」不育症例に対する抗凝固療法と対応。日本医事新報(印刷中)

2. 学会発表

- 1) Takata M, Morishita E, Taniguchi F, Sekiya A, Kobayashi E, Asakura H, Takage A, Kojima T, Otake S : A congenital dysprothrombinemia with both decreased prothrombin activity and antithrombin resistance.第77回日本血液学会学術集会、平成27年10月16日~18日、金沢
- 2) Matsuura E, Nakahashi T, Iwaki N, Kadohira Y, Hayashi T, Morishita E,

- Asakura H, Yamagishi M, Nakao S: Acute coronary syndrome due to a paradoxical embolus during elthombopag treatment for ITP. 第 77 回日本血液学会学術集会、平成 27 年 10 月 16 日～18 日、金沢
- 3) Sekiya A, Misawa E, Suzuki T, Arai N, Furusho H, Hayashi K, Asakura H, Ohtake S, Morishita E : Influences of rivaroxaban on laboratory data of antithrombin, protein C and protein S activities. 第 77 回日本血液学会学術集会、平成 27 年 10 月 16 日～18 日、金沢
 - 4) Kobayashi E, Taniguchi F, Maruyama K, Takata M, Katsu S, Kaneko S, Sekiya A, Ohtake S, Miyata T, Morishita E : 第 77 回日本血液学会学術集会、平成 27 年 10 月 16 日～18 日、金沢
 - 5) Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, Morishita E, Asakura H, Nakao S : Multiple coagulation factor inhibitors detected in patients with lupus anticoagulant. 第 77 回日本血液学会学術集会、平成 27 年 10 月 16 日～18 日、金沢
 - 6) Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T. Development of ELISA system for detection of Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism. ISTH, Toronto, 2015.6.20-24
 - 7) 小林英里奈、關谷暁子、三澤絵梨、鈴木健史、新井信夫、高田麻央、野本明華、朝倉英策、大竹茂樹、森下英理子 : ワルファリンのプロテイン S、プロテイン C 測定値への影響. 日本検査血液学会、2015 年 7 月 11 日、名古屋
 - 8) 高田麻央、關谷暁子、小林英里奈、野本明華、朝倉英策、大竹茂樹、森下英理子 : プロテイン CK193del 変異検出のための PC 活性測定法の検討. 日本検査血液学会、2015 年 7 月 11 日、名古屋
 - 9) 松浦絵里香、門平靖子、林朋恵、森下英理子、奥村伸生、小林隆夫、朝倉英策 : フィブリノゲン補充療法にて安全に出産できた hypodysfibrinogenemia 妊婦の一例. 37 回日本血栓止血学会学術集会、2015 年 5 月 21～23 日、山梨
 - 10) 森下英理子 : 先天性プロテイン S・プロテイン C 欠損症の遺伝子診断ならびに臨床所見, プロテイン S 研究会シンポジウム. 第 37 回日本血栓止血学会学術セミナー、2015 年 5 月 21 日～23 日、甲府
 - 11) 森下英理子 : なぜできる!? 静脈血栓症. 世界血栓症デー日本 市民公開講座、2015 年 10 月 10 日、大阪
 - 12) 森下英理子 : トロンボモジュリンと血管内皮傷害. 2015.10.17. 第 77 回日本血液学会学術集会コーポレートセミナー、金沢
 - 13) 森下英理子 : 静脈血栓症の成因と治療, あきた凝固線溶系セミナー、2015 年 11 月 27 日、秋田
 - 14) 森下英理子 : 静脈血栓塞栓症の成因と

治療 悪性腫瘍ならびに先天性血栓性素因を中心に , 第 14 回千葉循環器クリニックフロンティア、2015 年 12 月 4 日、千葉

- 15) 森下英理子：血液凝固異常の検査の進め方 , 第 3 回北陸血栓止血検査研究会、2015 年 12 月 12 日、金沢
- 16) 森下英理子：血栓症の基礎と治療 先天性血栓性素因と悪性腫瘍に伴う血栓症 、血栓症 Total Management、2016 年 2 月 5 日、札幌
- 17) 森下英理子：APTT 延長を認めたらどんな病態を考えますか、第 36 回有明セミナー、2016 年 2 月 13 日、東京
- 18) 森下英理子：「特発性血栓症（先天性血栓性素因による）」の「指定難病」認定に向けての取り組み、第 10 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2016 年 2 月 20 日、東京
- 19) 門平康子、松浦絵里香、林朋恵、森下英理子、朝倉英策：慢性 DIC についての治療について、第 10 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2016 年 2 月 20 日、東京
- 20) 關谷暁子、三澤絵梨、鈴木健史、末武

司、津田友秀、金秀日、古莊浩司、林研至、朝倉英策、大竹茂樹、森下英理子：リバーロキサバンが血中アンチトロンビン、プロテイン C、プロテイン S 活性値に与える影響および試薬間比較、第 10 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2016 年 2 月 20 日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成27年度厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究

研究分担者 奥健志 北海道大学大学院医学研究科免疫代謝内科学分野 助教

研究要旨

本研究は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の臨床像や病態を明らかにし、その診療ガイドライン作成の基盤をつくることを目的とする。

初年度は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の症例を定義し臨床像を解析した。当学では約 20 年にわたる自己免疫疾患患者のデータベースがあり、同データベースには抗リン脂質抗体の詳細なプロフィールがすでに存在している。それをを用いて抗リン脂質抗体症候群における血小板減少症の有無や経過を後ろ向きに検討した。

また、抗リン脂質抗体関連血小板減少症患者の前向きコホートを確立し、出血や血栓などのイベントを含む経過を観察して治療経過などとの関連を調べる準備をおこない、2 年目には観察を開始する。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体関連血小板減少症は血小板減少症による出血傾向、抗リン脂質抗体の存在による血栓傾向の相反する両作用を有する病態である。その分類基準は本研究の渥美主任研究員が提唱したが、本研究においては世界初の診療ガイドライン作成を目的としている。そのうち、報告者の分担研究においては当院に既にあるデータベースを用いて後ろ向きに抗リン脂質抗体症候群に伴う血小板減少症を有する患者の病態像を解析した。また、来年度以降に前向き登録を行う、抗リン脂質抗体関連血小板減少症のデータベース作成の準備を進めている。

B. 研究方法

1. 後ろ向き研究

A) 対象

北海道大学病院内科II膠原病外来を2000年1月から2013年11月まで当科を受診して原発性抗リン脂質抗体症候群(APS)患者60例を連続的に抽出した。対照群として2010年9月から2013年11月までに同科を受診したAPSおよび、全身性エリテマトーデス(SLE)を除いた膠原病疾患患者73例を連続的に抽出した。SLEはAPSの関連疾患であり、かつ、高頻度に血小板減少症を来すがその病態機序は多岐複雑である。

B) 方法

APS患者における血小板減少症の有無、血栓症、抗リン脂質抗体プロフィールを後ろ向きに解析した

C) 研究結果

血小板減少症の頻度は原発性APS群では19/60例(31.7%)に対して対照群では4/73例(5.5%)と有意に

高頻度であった($p < 0.001$)。原発性APS群における血小板減少(図1)。血小板減少症は $6.25 \pm 2.82 (x10^4/\mu l)$ と中等度の場合が殆どであった。血小板減少症は性別、年齢、高血圧、高脂血症、慢性腎不全と関連を認めず、血栓症のプロファイルでは動脈血栓症の発症と有意な相関を認めた(減少症群 vs 正常群 12/19 (63%) vs 17/41 (41%)、 $p = 0.0346$)。抗リン脂質抗体プロファイルについては血小板減少症群で有意に抗 β_2 GPI 抗体陽性率が高く(13/19 (68%) vs 20/41 (49%)、 $p = 0.0377$)、またフォスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体(aPS/PT)陽性率も高値であった(19/19(100%) vs 21/41(54%)、 $p = 0.0004$)。また、多種からなる抗リン脂質抗体プロファイルを血栓リスクに応じスコア化した抗リン脂質抗体スコアは血小板減少症群で高値を示した(36 vs 18.6, $p = 0.0066$)。即ち、血小板減少症群では抗リン脂質抗体プロファイルは特定の抗体群を中心に高力価であり、動脈血栓症のリスクが高かった。これらはこれまでの報告と一致し、抗リン脂質抗体による血小板活性化の為、微小血栓等による血小板消費が起こっており、2次刺激により容易に動脈血栓症を来す、という仮説を補完する。

更に近年APSでは補体系が活性化され、とりわけ血栓リスクが高い例で低補体血症が進行し血栓形成の契機になるとされている。今回の検討で、血小板減少群ではC3, C4, CH50の各血清値が有意に低値であった。

D) 考察及び結論

APSに伴う血小板減少症は、抗リン脂質抗体スコア高値や低補体血症を伴い、血栓リスクが高い例に認

められることが判明した。抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、抗リン脂質抗体による直接的な、および補体系を介した血栓傾向を認める可能性が高く、とりわけ動脈血栓症のリスクが高いと考えられ、本研究により APS における血小板減少症において動脈血栓症リスクが高い点を抗リン脂質抗体自体のプロファイルや補体値から考察しており、実臨床における高リスク例を抽出する一助になる可能性がある。

2. 前向き研究

当院及び分担研究施設である金沢大学病院及び山梨大学病院に通院中の抗リン脂質抗体関連血小板減少症患者を前向きに登録するレジストリを作成し、血栓症・出血症状などの血管イベントの発生や治療効果について検討していく。

レジストリシステムは Research Electronic Data Capture(RedCap)を用いて行う予定である。これは、米国 Vanderbilt 大学で開発され、現在世界 88 カ国、およそ 1200 施設で 20 万人が活用しているとされるいわば世界アカデミアの統計標準ツールであり、アカデミアを中心に NPO 施設にソフトが配布されている。Vanderbilt 大学と User 契約を結んだ上で使用可能だが、データベースの構築、患者登録、割り付けシステム構築などが簡便に行え、高度な情報セキュリティシステムを有する。本システムを用いた登録を平成 28 年 6 月から開始する予定で調整を進めている。

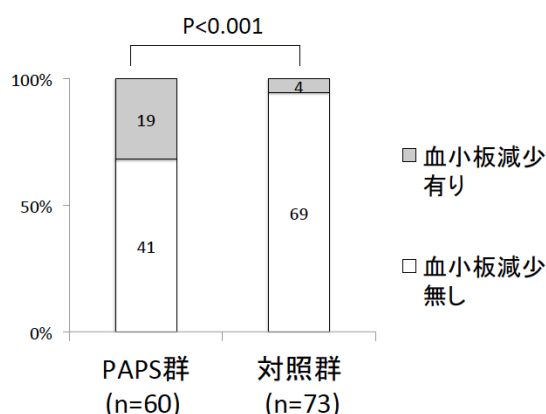


図 1. 抗リン脂質抗体症候群患者における血小板減少症 PAPS: 原発性抗リン脂質抗体症候群 t 検定を用いた検討

(倫理面への配慮)

本研究は、患者の臨床情報を利用する。したがって、本研究は人を対象とする医学系研究に関する倫理指針遵守し行われた。

すべての研究はいずれかの倫理委員会にはかり、承認後に研究を進めた。また、本研究は、APS 患者および膠原病患者の血液サンプルを使用する研究

が含まれる。研究の施行にあたっては、患者に十分なインフォームドコンセントをおこなうとともに、個人情報等の扱いは十分注意しておこなった。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Oku K*, Amengual O, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. An independent validation of the Global Anti-Phospholipid Syndrome Score in Japanese cohort of patients with autoimmune diseases. *Lupus*. Epub ahead, 2015
- Kono M, Yasuda S*, Stevens R, Koide H, Kurita T, Shimizu Y, Kanetsuka Y, Oku K, Bohgaki T, Amengual O, Horita T, Shimizu T, Majima T, Koike, Atsumi T. RasGRP4-dependent arthritis and proliferation of fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheumatol*. 67:396-407, 2015
- Amengual O*, Fujita D, Ota E, Carmona L, Oku K et al, Primary prophylaxis to prevent obstetric complications in asymptomatic women with antiphospholipid antibodies: a systemic review., *Lupus* 25, 2015, Epub ahead
- Yamada T*, Ishiguro N, Oku K, Higuchi I, Nakagawa I, Noguchi A, Yasuda S, Fukumoto T, Iwasaki S, Akizawa K, Furugen A, Yamaguchi H, Iseki K. Successful colistin treatment of multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infection using a rapid method for determination of colistin in plasma usefulness of therapeutic drug monitoring, *Biol Pharm Bull*, 38, 1430-1433, 2015
- Kitaori T*, Sugiura-Ogasawara M, Oku K, Papisch W, Ebata T, Ozaki Y, Katano K, Atsumi T. Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and the cut off levels for obstetric antiphospholipid syndrome. *Lupus* Epub ahead, 2015
- Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Yasuda S, Atsumi T Autoantibodies against a complement component 1q subcomponent(C1q) contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome(APS). *Rheumatology(Oxford)* in press, 2016

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

研究成果の刊行に関する一覧表（平成 27 年度）

書籍

	著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	出版社名	出版年
			書籍名	出版地	ページ
1	森下英理子	第 X 因子とプロトロンピン	一瀬白帝，丸山征郎，家子正裕 編著	金芳堂	2015
			新・血栓止血血管学 凝固と炎症	京都	20-27
2	森下英理子	PNH の血栓症	金倉謙、西村純一 編著	医薬ジャーナル社	2015
			発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH)	大阪	100-109

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
1	<u>Oku K</u> , Amengual O, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, <u>Atsumi T</u> .	An independent validation of the Global Anti-Phospholipid Syndrome Score in a Japanese cohort of patients with autoimmune diseases.	Lupus	24	774-775	2015
2	Tanimura K, Jin H, Morikami S, Suenaga T, Arase N, Kishida K, Hirayasu K, Kohyama M, Ebina Y, Yasuda S, Horita T, Takasugi K, Ohmura K, Yamamoto K, Katayama I, Sasazuki T, Lanier LL, <u>Atsumi T</u> , Yamada H, Arase H.	Beta2-glycoprotein I/HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome	Blood	125	2835-2844	2015
3	Sugiura-Ogasawara M, <u>Atsumi T</u> , Yamada H, Kitaori T, Ozaki Y, Katano K, Murashima A.	Real-world practice of obstetricians in respect of assays for antiphospholipid antibodies.	Mod Rheumatol	25	883-887	2015
4	Amengual O, Fujita D, Ota E, Carmona K, <u>Oku K</u> , Sugiura-Ogasawara M, Murashima A, <u>Atsumi T</u> .	Primary prophylaxis to prevent obstetric complications in asymptomatic women with antiphospholipid antibodies: a systematic review.	Lupus	23	1135-1142	2015

5	Kitaori K, Sugiura-Ogasawara M, <u>Oku K</u> , Papisch W, Ebara T, Ozaki Y, Katano K, Atsumi T.	Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and cutoff levels for obstetric antiphospholipid syndrome.	Lupus	24	1505-1519	2015
6	Yamada T*, Ishiguro N, <u>Oku K</u> , Higuchi I, Nakagawa I, Noguchi A, Yasuda S, Fukumoto T, Iwasaki S, Akizawa K, Furugen A, Yamaguchi H, Iseki K.	Successful colistin treatment of multidrug-resistant pseudomonas aeruginosa infection using a rapid method for determination of colistin in plasma usefulness of therapeutic drug monitoring	Biol. Pharm. Bull.		1430 - 1433	
7	<u>Oku K</u> , Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Yasuda S, <u>Atsumi T</u>	Autoantibodies against a complement component 1q subcomponent(C1q) contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome(APS).	Rheumatology(Oxford)			2016 in press
8	Tamura S, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Tsukiji N, Shirai T, Sasaki T, Osada M, Satoh K, Ozaki Y.	Podoplanin-positive periarteriolar stromal cells promote megakaryocyte growth and proplatelet formation in mice by CLEC-2.	Blood	38	1430-1433	2016 in press
9	Asai J, Hirakawa S, Sakabe J, Kishida T, Wada M, Nakamura N, Takenaka H, Mazda O, Urano T, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Tokura Y, Katoh N.	Platelets Regulate the Migration of Keratinocytes via Podoplanin/CLEC-2 Signaling during Cutaneous Wound Healing in Mice.	Am J Pathol	186 (1)	101-8	2016
10	Nakamura Y, Nakano N, Ishimaru K, Ando N, Katoh R, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Koyanagki S, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Nakao A.	Inhibition of IgE-mediated allergic reactions by pharmacologically targeting the circadian clock.	J Allergy Clin Immunol.			2015 in press
11	Nakamura-Ishizu A, Takubo K, Kobayashi H, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Suda T.	CLEC-2 in megakaryocytes is critical for maintenance of hematopoietic stem cells in the bone marrow.	J Exp Med	212 (12)	2133-46	2015

12	Inoue O, Hokamura K, Shirai T, Osada M, Tsukiji N, Hatakeyama K, Umemura K, Asada Y, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Ozaki Y.	Vascular Smooth Muscle Cells Stimulate Platelets and Facilitate Thrombus Formation through Platelet CLEC-2: Implications in Atherothrombosis.	PLoS One	10 (9)	e0139357	2015
13	Kazama F, Nakamura J, Osada M, Inoue O, Oosawa M, Tamura S, Tsukiji N, Aida K, Kawaguchi A, Takizawa S, Kaneshige M, Tanaka S, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Ozaki Y.	Measurement of soluble C-type lectin-like receptor 2 in human plasma.	Platelets	26 (8)	711-9	2015
14	Yoshikawa Y, Kitayama J, Ishikawa H, Nakamura A, Taniguchi F, <u>Morishita E</u> , Ago T, Nakane H, Kitazono T	Fulminant bilateral cerebral infarction caused by paradoxical embolism in a patient with protein S Ala525Val substitution	Neurology and Clinical Neuroscience	3(3)	105-107	2015
15	Sekiya A, <u>Morishita E</u> , Maruyama K, Torishima H, Ohtake S	Fluvastatin upregulates the expression of tissue factor pathway inhibitor in human umbilical vein endothelial cells	J Atheroscler Thromb	22(7)	660-668	2015
16	Taniguchi F, <u>Morishita E</u> , Sekiya A, Yamaguchi D, Nomoto H, Kobayashi E, Takata M, Kosugi I, Takeuchi N, Asakura H, Ohtake S	Late onset thrombosis in two Japanese patients with compound heterozygote protein S deficiency	Thromb Res	135(6)	1221-1223	2015
17	Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Matsuo K, Mizuno S, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Ohtake S, <u>Morishita E</u>	A donor thrombomodulin gene variation predicts graft-versus-host disease development and mortality after bone marrow transplantation	Int J Hematol	102(4)	460-470	2015
18	Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, Morishita E, Miyata T	ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism	PLoS One	10(7)	e0133196	2015