

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

平成27年度～平成28年度 総合総括研究報告書

研究代表者 渥美達也

平成29(2017)年3月

## 目次

- I. 構成員名簿 . . . . .
  
- II. 平成 27 年度～平成 28 年度 総合総括研究報告書 . . . . .  
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 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  
. . . . .
  
  - 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  
. . . . .
  
  - 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  
. . . . .
  
- IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . . .
  
- V. 研究成果刊行物 . . . . .

| 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 |        |                                  |      |
|-------------------------------------|--------|----------------------------------|------|
| 区分                                  | 氏名     | 所属名                              | 職名   |
| 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   |
| 分担研究者                               | 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   |
|                                     | 森下 英理子 | 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科病態検査学           | 教授   |
|                                     | 奥 健志   | 北海道大学病院内科 II                     | 診療講師 |
| 事務局                                 | 千田 式子  | 〒060-8638                        |      |
|                                     |        | 札幌市北区北 15 条西 7 丁目                |      |
|                                     |        | TEL 011-706-5913                 |      |
|                                     |        | FAX 011-706-7710                 |      |
|                                     |        | e-mail: chidas@med.hokudai.ac.jp |      |
| 経理担当者                               | 亀山 典夫  | 〒060-8638                        |      |
|                                     |        | 札幌市北区北 15 条西 7 丁目                |      |
|                                     |        | TEL 011-706-5516                 |      |
|                                     |        | FAX 011-706-7873                 |      |
|                                     |        | e-mail gaibu@med.hokudai.ac.jp   |      |

**平成27年度～平成28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))  
**総合総括研究報告書**

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医学系 教授  
研究分担者 森下英理子 金沢大学医薬保健研究域保健学系検査科学専攻 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 診療講師

### 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、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。

本研究によって、プレリミナリーな診療のてびき案作成が可能となり(現在最終的な準備段階)、また患者レジストリシステムを作成し運用段階となったことから、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相関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った。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びき案を作成するべく、論文検索(システムティックレビュー)を行い解析をした。さらに患者レジストリシステムの作成をして運用段階にある、

## 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診療ガイドライン作成前向き検討から構成される。

1. 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. 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: 抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診療ガイドラインを作成すべく、想定される代表的治療法についてのシステムティックレビューを行なった。

パネル会議で提出されたclinical questionを元に、のkokran日本支部(国立成育医療センター内)の協力のもと、PubMed, EMBASE, CENTRALの代表的な3データベースより文献を抽出し、CQに対してそれぞれ2名の研究者によってシステムティックレビューを行なった。

3. 抗リン脂質抗体関連血小板減少症の前向きコホート研究: レジストリシステムについて、当初予定していたResearch Electronic Data Capture(RedCap™)を用いず、北海道大学病院臨床研究開発センター協力のもと、EDC(electronic data capture)であるNorth-Net™を用いることとして、すでに版を作成し、現在、運用開始準備をしている。これは日本血栓止血学会抗リン脂質抗体症候群部会や抗リン脂質抗体ワークショップの協力をえて本邦の抗リン脂質抗体関連血小板減少症を含む抗リン脂質抗体関連病態の患者レジストリを作成するものである。これによって、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の疫学的データを得ることと、将来の臨床研究に資するものである。

(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、たいへんマネージメントが難しい。

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。

今回の研究成果を元に診療ガイドラインの作成につなげる

### 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、たいへんマネージメントが難しい。

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。診療ガイドラインを作成す

る、が重要な2つの目的であった。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、マネー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当科の自己免疫疾患データベースを用いて臨床像を解析した。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年目には、過去の文献からシステムティックレビューを行い、その結果を解析した。それを元に現在、診療の手引き、あるいは診療ガイドラインを作成しており、今年度中に公表予定である。

### F. 健康危険情報

本研究期間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. Atsumi T, Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Yasuda S, Yamanishi Y, Kita Y, Matsubara T, Iwamoto M, Shoji T, Togo O, Okada T, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T. Clinical benefit of 1-year certolizumab pegol (CZP) add-on therapy to methotrexate treatment in patients with early rheumatoid arthritis was observed following CZP discontinuation: 2-year results of the C-OPERA study, a phase III randomised trial. *Ann Rheum Dis.* in press.
2. Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M, Otomo K, Oku K, Favas C, Delgado Alves J, Zigon P, Ambrozic A, Tomsic M, Ruiz-Arruza I, Ruiz-Irastorza G, Bertolaccini ML, Norman GL, Shums Z, Arai J, Murashima A, Tebo AE, Gerosa M, Meroni PL, Rodriguez-Pintó I, Cervera R, Swadzba J, Musial J, Atsumi T. Evaluation of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome: results of an international multicentre study. *Lupus.* in press.
3. Atsumi T, Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Yasuda S, Yamanishi Y, Kita Y, Matsubara T, Iwamoto M, Shoji T, Okada T, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T. The first double-blind, randomised, parallel-group certolizumab pegol study in methotrexate-naive early rheumatoid arthritis patients with poor prognostic factors, C-OPERA, shows inhibition of radiographic progression. *Ann Rheum Dis.* 75(1):75-83, 2016.
4. Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S Atsumi T. Autoantibodies against a complement component 1 q subcomponent contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 55(8):1403-11, 2016.
5. Oku K, Amengual O, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Sakamoto N, Ieko M, Norman GL, Atsumi T. Significance of fully automated tests for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 146:1-6, 2016.
6. Oku K, Nakamura H, Kono M, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Amengual O, Atsumi T. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev.* 15(10):1001-4, 2016.
7. 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.
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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 and Oku K. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. 10th International Congress on Autoimmunity, Leipzig, Germany, 9 April 2016, 国外
2. Atsumi T. Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the

- diagnosis of antiphospholipid syndrome. □頭発表 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Girne, Turkish Republic of Northern Cyprus, 21-24 September 2016, 国外
3. Atsumi T and Oku K. Antiphospholipid Scoring. □頭発表 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies, Girne, Turkish Republic of Northern Cyprus, 1-24 September 2016
  4. Atsumi T and Oku K. How to interpret the antiphospholipid profile. □頭発表, The 9th Congress of the Asia-Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis, Taipei, Taiwan, 7 October 2016, 国外
  5. Oku K, Kanetsuka Y, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. A patient-derived autoimmune IgG monoclonal anticardiolipin antibody that binds to beta 2 glycoprotein I domain I but not to total beta 2 glycoprotein I molecule. The 13th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity, 11-13 Oct. 2016, Kyoto, Japan. 国内
  6. Oku K, Amengual O, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Morishita E, Ieko M, Atsumi T. Practical application of antiphospholipid antibody profiles in the diagnosis and managements of antiphospholipid syndrome: The modified antiphospholipid score. □頭発表 The 80th American College of Rheumatology Annual Meeting, 13-16 Nov. 2016, Washington, DC, USA 国外
  7. Oku K, Shibata Y, Batuca J, Amengual O, Kono M, Nakamura H, Hisada R, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. □頭発表 Autoantibodies against high density lipoprotein-associated proteins are related to elevated oxidized low density lipoprotein levels in antiphospholipid syndrome. The 80th American College of Rheumatology Annual Meeting, 13-16 Nov. 2016, Washington, DC, USA 国外
  8. Atsumi T. Antiphospholipid Scoring. □頭発表 61st Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee (SSC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). Toronto, Canada, 20 June 2015
  9. Atsumi T. Interpretation of antiphospholipid antibody profile. □頭発表 17th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress. Chennai, India, 7 September 2015 国外
- 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～平成28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))  
**総合分担研究報告書**

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

免疫性血小板減少症と抗リン脂質抗体関連血小板減少症は共に血小板減少が生じるが、後者では出血傾向と血栓症の両方の対策が必要であり、両者の鑑別は重要である。抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診断基準の策定が急務であるが、そのためには病態の理解が必須である。同症で生じていると思われる血小板活性化を検出する方法に関する助言を行い、ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビンモノクローナル抗体 D231 の血小板活性化に及ぼす影響を検討した。しかし、血小板凝集能検査、生理的な流血条件下での血栓形成を検出する T-TAS では、体が血小板活性化に与える影響を検出できなかった。

### A.研究目的

免疫性血小板減少症と抗リン脂質抗体関連血小板減少症は共に血小板減少が生じるが、後者では出血に加えて血栓症の予防・治療が必要であり、両者の鑑別は重要である。抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診断基準の策定が急務であるが、そのためには病態の理解が必須である。抗リン脂質抗体関連血小板減少症は血小板数 5 万/ $\mu$ l 程度で、出血や血栓傾向を来すほどではない状態で、血栓症を発症することが多いが、まれに出血傾向が出現する場合がある。研究代表者らが作製した、ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビンモノクローナル抗体 231D は、ADP 惹起血小板凝集を抑制するという予備データが得られ、本抗体が抗リン脂質抗体関連血小板減少症における出血傾向の原因の一つではないかと考えた。

### B.研究方法

1. 健常人多血小板血漿(PRP)を用いて、Born の比濁法と流血条件下で生理的な血栓形成能を検討できる Total Thrombus-formation Analysis System (T-TAS)を用いて、血小板凝集あるいは血栓形成における 231D の影響を検討した。

### 2. 倫理面への配慮

本研究は、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 Consent 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. PRP を用いた実験では、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ず、T-TAS でも、231D の影響は認められなかった。他のモノクローナル抗体も得られていない。

### D.考察

ハイブリドーマの継代によりモノクローナル抗体の性質が変化したことが考えられる。サブクローニングしてもう一度検討するのが良いのではないかと考えた。

### 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

本研究期間においては、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) 井上 克枝 「血栓止血を超えた血小板の役割」 第 34 回 日本臨床化学会甲信越支部総会 招待講演(教育講演) 2016 年 6 月 11 日(土)

石和温泉 ホテル甲斐路

2) 井上克枝 「血小板活性化受容体 CLEC-2 の血栓止血以外の役割」 第6回血栓止血研究会 - Tokyo 招待講演(特別講演) ベルサール飯田橋ファースト 2016年7月2日(土)

3) 井上克枝 「ヘビが教えてくれた血小板の意外な役割」 山梨大学・山梨医科大学同窓会総会 招待講演 2016年7月9日(土) 古名屋ホテル

4) 井上克枝 「血小板活性化受容体 CLEC-2 の発見から将来展望まで: 血栓止血を超えた血小板の役割」 第3回長崎血液凝固セミナー 招待講演(特別講演) 2016年9月29日(木) 長崎大学医学部 良順会館

5) 井上克枝 血栓止血関連検査の基礎と血小板研究の新展開 第11回安曇野シンポジウム 2016.10.16 安曇野(特別講演)

6) 井上克枝 血小板活性化受容体 CLEC-2 の発見から将来展望まで: 血栓止血を超えた血小板の役割 第3回長崎血液凝固検査セミナー 2016.9.29 長崎大学良順会館 (特別講演)

7) 井上克枝 血小板活性化受容体 CLEC-2 の血栓止血以外の役割 第6回血栓止血研究会 - Tokyo 2016.7.2 ベルサール飯田橋ファースト (特別講演)

8) 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

9) 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

10) 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) Suzuki-Inoue K. CLEC-2/podoplanin and thromboinflammation. **Blood**. 2017;129: 1896-1898.

2) Kono H, Fujii H, Suzuki-Inoue K, Inoue O, Furuya S, Hirayama K, Akazawa Y, Nakata Y, Sun C, Tsukiji N, Shirai T, Ozaki Y. The platelet-activating receptor C-type lectin receptor-2 plays an essential role in liver regeneration after partial hepatectomy in mice. **J Thromb Haemost**. 2017;15:1-11

3) Furuya F, Ishii T, Tamura S, Takahashi K, Kobayashi H, Ichijo M, Takizawa S, Kaneshige M, Suzuki-Inoue K, Kitamura K. The ligand-bound thyroid hormone receptor in macrophages ameliorates kidney injury via inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activities. **Sci Rep**. 2017;7:43960.

4) Iwaki T, Nagahashi K, Takano K, Suzuki-Inoue K, Kanayama N, Umemura K, Urano T. **Thromb Haemost**. Mutation in a highly conserved glycine residue in strand 5B of plasminogen activator inhibitor 1 causes polymerisation. 2017 in press

5) Shirai T, Inoue O, Tamura S, Tsukiji N, Sasaki T, Endo H, Satoh K, Osada M, Sato-Uchida H, Fujii H, Ozaki Y, Suzuki-Inoue K. C-type lectin-like receptor 2 promotes hematogenous tumor metastasis and prothrombotic state in tumor-bearing mice. **J Thromb Haemost**. 2017;15:513-525.

6) Suzuki-Inoue K, Osada M, Ozaki Y. Physiologic and pathophysiologic roles of interaction between C-type lectin-like receptor 2 and podoplanin: partners from in utero to adulthood. **J Thromb Haemost**. 2017;15(2):219-229.

7) Ozaki Y, Tamura S, Suzuki-Inoue K. New horizon in platelet function: with special reference to a recently-found molecule, CLEC-2. **Thromb J**. 2016 Oct 4;14(Suppl 1):27.

8) 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.

9) 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.

10) 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, Koyanagki S, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Nakao A.

J Allergy Clin Immunol. 2015 Nov 7. pii: S0091-6749(15)01370-6.

11) 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.

12) 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.

13) 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

平成27年度～平成28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))  
総合分担研究報告書

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 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

抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、出血傾向と血栓傾向を併せ持っており、臨床においてしばしば対応に苦慮する。したがって、その病態を解明することは临床上極めて重要なことである。本研究では、抗リン脂質抗体症候群(APS)患者を血栓症発症群、あるいは血小板減少症群に分類し、抗リン脂質抗体(aPL)プロファイルとその臨床像との関連について後ろ向きに検討することにより、血小板減少 APS 症例の病態像を明らかにすることを目的とした。

APS 患者中血小板減少例は約 8%認め、全体と比べると年齢中央値が 20 歳ほど高く、血小板減少の程度は中等度であり、2 万/μl 未満まで低下するような症例は認めなかった。血栓症は、動脈血栓も静脈血栓もどちらも起こしうることが示された。血小板数は少なくとも、抗血栓治療を実施することは二次予防として有効であり、出血の合併症を認めなかった。また、ルーチン検査としての aCL IgG の陽性率は高いが、血小板減少症例に特異的な aPL は特定できなかった。

今回の研究では、最終的に血栓症を発症した aPL 関連血小板減少症患者の検査所見などの特徴を見出すことによって、血栓症発症のリスク因子を特定することを試みたが、症例数が少なく、特異的な所見を絞りこむことができなかった。今後は症例数をさらに増やして病態像を明らかにし、aPL の特異性などを特定することができれば、診療ガイドライン・治療指針の作成などに役に立つと思われる。

### A. 研究目的

抗リン脂質抗体関連血小板減少症は、出血傾向と血栓傾向を併せ持っており、臨床においてしばしば対応に苦慮する。したがって、その病態を解明することは临床上極めて重要なことである。本研究において、抗リン脂質抗体症候群(APS)に伴う血小板減少患者の臨床症状、保有する抗リン脂質抗体(aPL)などを後ろ向きに検討することにより、病態像を明らかにすることを目的とした。

### 2. 方法

aCL は、抗カルジオリピン抗体(aCL) IgG (MESCUPI)、<sub>2</sub>GPI 依存性 aCL(aCL/<sub>2</sub>GPI) IgG (ヤマサ)、ループスアンチコアグulant(LA)は金沢大学附属病院にて測定、aCL IgG、抗<sub>2</sub>GPI 抗体(a<sub>2</sub>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。

### 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 APS34 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。(H28 年度の検討は APS 患者 83 例で行なった。)

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。

### 3. 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各種 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/  $\alpha_2$ GPI IgG (ヤマサ) が約 40%、 $\alpha_2$ GPI 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 (MESCUPI 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% を占めた。

## 2. 血小板減少 APS 症例の臨床所見

血小板減少症例は APS 患者 83 例中 7 例 (8.4%) (男性 2 例 / 女性 5 例) 認めており、二次性 APS (SLE) が半数を占めた。年齢中央値は 64.0 歳 (19 歳 ~ 79 歳)、血小板数は中央値 5.6 万 /  $\mu$ l (2.0 万 ~ 9.2 万 /  $\mu$ l)、臨床症状は深部静脈血栓症 (DVT) が 5 例、脳梗塞が 3 例、心筋梗塞が 1 例 (重複あり) であった。

治療は、血小板数に関わらずワルファリンと抗血小板剤の併用が 3 例、抗血小板剤 2 剤併用が 1 例、ワルファリン単独投与が 1 例であり、血栓症の再発および出血の合併症は認めていない。

## 3. 血小板減少 APS 症例の各種 aPL 陽性の頻度

血小板減少例の aCL IgG 陽性例は 6/7 例 (86%) と高率であり、aCL/  $\alpha_2$ GPI IgG (ヤマサ) および LA も 5 例で陽性であった。また、 $\alpha_2$ GPI IgG、PS/PT IgG 陽性例がそれぞれ 2 例ずつ認められた。

## D. 考察

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。

APS 患者中血小板減少例は約 8% 認め、全体と比べると年齢中央値が 20 歳ほど高く、血小板減少の程度は中等度であり、2 万 /  $\mu$ l 未満まで低下するような症例は認めなかった。血栓症は、動脈血栓も静脈血栓もどちらも起こしうることが示された。治療薬としてワルファリンおよび抗血小板剤が投与されていたが、血小板数は少なくとも、抗血栓治療を実施することは二次予防として有効であり、出血の合併症を認めなかった。

また、ルーチン検査としての aCL IgG の陽性率は高いが、血小板減少症例に特異的な aPL は特定できなかった。また、症例数が少なすぎたため、動脈血栓症を起こしやすい aPL あるいは静脈血栓症を起こしやすい aPL などを特定することはできなかった。

今回の研究では、最終的に血栓症を発症した aPL 関連血小板減少症患者の検査所見などの特徴を見

出すことによって、血栓症発症のリスク因子を特定することを試みたが、症例数が少なく、特異的な所見を絞りこむことができなかった。症例数を増やして、さらなる検討が必要であると思われる。

## 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の患者は、動脈血栓も静脈血栓もどちらも起こし得ることが明らかとなった。今後は症例数をさらに増やして病態像を明らかにし、aPL の特異性などを特定することができれば、診療ガイドライン・治療指針の作成に役立つと思われる。

## F. 健康危険情報

本研究期間においては、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) 森下英理子: 症例から学ぶ血液異常症. 第 5 回瀬戸内血液疾患セミナー, 倉敷国際ホテル, 2017 年 3 月 24 日, 倉敷 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
- 2) 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
- 3) 森下英理子: トロンボモジュリンと血管内皮傷害. 第 77 回日本血液学会学術集会コーポレートセミナー, 2015 年 10 月 17 日, 金沢
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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. International Society of Thrombosis and Hemostasis, 2015.6.20-24, Toronto (Canada)
- 8) 吉田美香, 本木由香里, 關谷暁子, 原和冴, 森下英理子, 野島順三, 家子正裕: ELISA-aPL の測定意義と標準化への提言. 第3回日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 2016年1月23日, 東京
  - 9) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三, 日本における抗リン脂質抗体 ELISA の標準化に向けて - 第2報 -, 第3回日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 2016年1月23日, 東京
  - 10) Morishita E, Takata M, Akiyama M, Miyata T, Takagi A, Kojima T, Sekiya A, Taniguchi F: Asymptomatic Dysprothrombinemia (Prothrombin Himi) with p.M380T and p.R431H shows severely reduced clotting activity, moderate antithrombin resistance and severe thrombomodulin binding defect. 58<sup>th</sup> American Society of Hematology Annual Meeting. 2016.12.3-6, San Diego (USA)
  - 11) 沼波仁, 飯嶋真秀, 鈴木基弘, 金澤俊郎, 田中宏明, 横田隆徳, 森下英理子: 右内頸動脈閉塞による脳梗塞と多発性深部静脈血栓症をきたしたプロテインS異常症の41歳女性例. 第218回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2016年9月3日, 東京
  - 12) 森下英理子: 先天性血栓性素因. 第37回日本血栓止血学会学術セミナー(教育講演), 奈良春日野国際フォーラム薨, 2016年6月16~18日, 奈良
  - 13) 勝詩織, 關谷暁子, 金子将ノ助, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性AT欠乏症24家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討, 第38回日本血栓止血学会学術集会, 奈良春日野国際フォーラム薨, 2016年6月16~18日, 奈良
  - 14) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療 悪性腫瘍から先天性血栓性素因 - . 印旛沼エリア循環器セミナー, ウィシュトンホテル・ユーカリ, 2016年6月23日, 佐倉
  - 15) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療, 第17回日本検査血液学会学術集会ランチョンセミナー, 福岡国際会議場, 2016年8月7日, 福岡
  - 16) 關谷暁子, 鈴木健史, 三澤絵梨, 末武司, 古莊浩司, 林研至, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子: 直接経口抗凝固薬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. 第17回日本検査血液学会学術集会, 福岡国際会議場, 2016年8月6日~7日, 福岡
  - 17) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三: 抗リン脂質抗体価測定 ELISA の標準化に向けた取組み. 第17回日本検査血液学会学術集会, 福岡国際会議場, 2016年8月6日~7日, 福岡
  - 18) 上島沙耶香, 關谷暁子, 仲里朝周, 金子将ノ助, 勝詩織, 花村美帆, 高田麻央, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症の遺伝子解析および異常アンチトロンビン蛋白(N87D)の機能解析. 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
  - 19) 金子将ノ助, 關谷暁子, 勝詩織, 上島沙耶香, 花村美帆, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症 25家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討. 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
  - 20) 花村美帆, 關谷暁子, 上島沙耶香, 勝詩織, 金子将ノ助, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 当研究室で実施したプロテインCおよびプロテインS遺伝子解析の総括. 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
  - 21) 金秀日, 津田友秀, 森下英理子, 關谷暁子, 康東天, 濱崎直孝: プロテインS比活性によるプロテインS異常症のスクリーニング. 第48回日本臨床検査自動化学会, パシフィコ横浜, 2016年9月21日~23日, 横浜
  - 22) 金森尚美, 古莊浩司, 關谷暁子, 高島伸一郎, 加藤武史, 村井久純, 薄井莊一郎, 林研至, 森下英理子, 高村雅之: 抗凝固療法が先天性

- 凝固異常のスクリーニング検査に与える影響. 第 64 回日本心臓病学会学術集会, 東京国際フォーラム, 2016 年 9 月 23 日 ~ 25 日, 東京
- 23) 森下英理子: 先天性血栓性素因(シンポジスト). 第 78 回日本血液学会, 横浜パシフィコ, 2016 年 10 月 14 日, 横浜
- 24) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原 和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三: 日本における抗リン脂質抗体 ELISA の標準化に向けて- 第 3 報 -, 第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム, 野村コンファレンスプラザ日本橋, 2017 年 1 月 21 日, 東京
- 25) 森下英理子: 基礎から学ぶ血液凝固異常症. 血液凝固セミナー, 日本医科大学, 2017 年 2 月 20 日, 東京
2. 論文発表
- 1) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Matsuo K, Mizuno S, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Koderu 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
- 2) 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
- 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): 1221-3, 2015
- 4) 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): 660-8, 2015
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 森下英理子: PNHの血栓症, 発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH), 金倉謙, 西村純一編, 医薬ジャーナル社, pp100-111, 2015
- 8) 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
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Nomoto H, Katsu S, Kaneko S, Asakura H, Ohtake S. Gene analysis of six cases of congenital protein S deficiency and functional analysis of protein S mutations (A139V, C449F, R451Q, C475F, A525V and D599TfsTer13). *Thromb Res.* 151:8-16, 2017
- 14) Sekiya A, Taniguchi F, Yamaguchi D, Kamijima S, Kaneko S, Katsu S, Hanamura M, Takata M, Nakano H, Asakura H, Ohtake S, Morishita E. Causative genetic mutations for antithrombin deficiency and their clinical background among Japanese patients. *Int J Hematol.* 105(3):287-294, 2017
- 15) Sekiya A, Hayashi T, Kadohira Y, Shibayama M, Tsuda T, Jin X, Nomoto H, Asakura H, Wada T, Ohtake S, Morishita E. Thrombosis prediction based on reference ranges of coagulation-related markers in different stages of pregnancy. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016. doi: 10.1177/1076029616673732
- 16) Kagami K, Yamazaki R, Minami T, Okumura N, Morishita E, Fujiwara H. Familial discrepancy of clinical outcomes associated with fibrinogen Dorfen: A case of huge genital hematoma after episiotomy. *J Obstet Gynaecol Res.* 42(6): 722-725, 2016

- 17) 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 J, Kanakura Y. Pregnancy outcomes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab: a Japanese experience and updated review. *Int J Hematol.* 103(6): 703-12, 2016
- 18) Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, Morishita E, Nakao S, Asakura H. A case of aortic aneurysm-associated DIC that responded well to a switch from warfarin to rivaroxaban. *Int Med.* In press, 2017
- 19) 本木 由香里, 野島 順三, 吉田 美香, 關谷 暁子, 原 和冴, 森下英理子, 家子 正裕. ELISAによる抗リン脂質抗体価測定の標準化に向けて. *日本血栓止血学会誌*, 27(6):644-652, 2016
- 20) 森下英理子: フォンウィルブランド因子の臨床検査, *BIO Clinica*, 31(6):39-43, 2016
- 21) 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, 2016
- 22) 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*, 8月12日号:4816, 2016
- 23) 森下英理子: 最新情報と今後の展望2016(血小板・凝固・線溶系疾患)オーバービュー, *臨床血液* 57(3):307, 2016
- 24) 森下英理子: その他の先天性凝固異常症・線溶異常症, *血液疾患最新の治療2017-2019*, 小澤敬也, 中尾眞二, 松村到編, 南江堂, 東京, 242-247, 2017
- 25) 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):99-102, 2016
- 26) 森下英理子: 深部静脈血栓症・肺塞栓症の発症機序と危険因子. *日本医師会雑誌* 146(1):22-26, 2017
- 27) 森下英理子: 繰り返す静脈血栓症, むかしの頭で診ていませんか? 血液診療をスッキリまとめました, 南江堂, 東京, 2017(印刷中)
- 28) 森下英理子: 静脈疾患の検査, 動脈・静脈の疾患(上) - 最近の診断・治療動向 -, *日本臨床* 2017年5月増刊(印刷中)
- 29) 森下英理子: 最新情報と今後の展望2016(血小板・凝固・線溶系疾患)オーバービュー, *臨床血液* 57(3): 307, 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

平成 27 年度～平成 28 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))  
総合分担研究報告書

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 診療講師

### 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。

2 年目は、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の治療に関する過去文献を検索し(システマティックレビュー)それを元に診療ガイドラインを作成中である。また、日本血栓止血学会抗リン脂質抗体部会とも協力し、本邦に全国規模の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すべく、electric data capture(EDC)の作成を行い、来月より運用開始される。

### 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、1 年目に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。

2 年目は診療ガイドライン作成目的にシステマティックレビューを行い、また、将来の臨床研究に資するため、そして疫学的データを得るために前向きコホートを確立すべく electric data capture(EDC)を作成する

### 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  $\beta_2$ 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. システマティックレビュー

#### A)対象・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を作成すべく、想定される代表的治療法についてのシステマティックレビューを行なった。

#### B)方法

パネル会議で提出された clinical question を元に、のkokran日本支部(国立成育医療センター内)の協力のもと、PubMed, EMBASE, CENTRAL の代表的な3 データベースより文献を抽出し、CQ に対してそれぞれ2名の研究者によってシステマティックレビューを行なった。

#### C)研究結果・結論

合計7個の CQ が決定された。そのうちシステマティックレビューを行なったのは4個であった。論文スクリーニングを終え、解析を元に現在推奨文を作成しており、2017年9月を目処に推奨文を作成し、年度内に日本血栓止血学会のご協力を得てパブリックコメントを得る予定である。

### 3. 前向き研究

レジストリシステムについて、当初予定していた Research Electronic Data Capture (RedCap™) を用いず、北海道大学病院臨床研究開発センター協力のもと、EDC (electronic data capture) である North-Net™ を用いることとして、すでに版を作成し、現在、運用開始準備をしている。これは日本血栓止血学会抗リン脂質抗体症候群部会や抗リン脂質抗体ワークショップの協力をえて本邦の抗リン脂質抗体関連血小板減少症を含む抗リン脂質抗体関連病態の患者レジストリを作成するものである。これによって、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の疫学的データを得ることと、将来の臨床研究に資するものである。

(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

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

- Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M, Otomo K, Oku K, Favas C, Delgado Alves J, Zigon P, Ambrozic A, Tomsic M, Ruiz-Arruza I, Ruiz-Iratorza G, Bertolaccini ML, Norman GL, Shums Z, Arai J, Murashima A, Tebo AE, Gerosa M, Meroni PL, Rodriguez-Pintó I, Cervera R, Swadzba J, Musial J, Atsumi T. Evaluation of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome: results of an international multicentre study. *Lupus*. in press.
- Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Atsumi T. Autoantibodies against a complement component 1 q subcomponent contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in anti-phospholipid syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 55(8):1403-11, 2016.
- Oku K, Amengual O, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Sakamoto N, Ieko M, Norman GL, Atsumi T. Significance of fully automated tests for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Thromb Res*. 146:1-6, 2016.
- Oku K, Nakamura H, Kono M, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Amengual O, Atsumi T. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 15(10):1001-4, 2016.
- 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

8. 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
9. 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
10. 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

#### 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～平成 28 年度）

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 | Atsumi T, Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Yasuda S, Yamanishi Y, Kita Y, Matsubara T, Iwamoto M, Shoji T, Togo O, Okada T, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T.  | Clinical benefit of 1-year certolizumab pegol (CZP) add-on therapy to methotrexate treatment in patients with early rheumatoid arthritis was observed following CZP discontinuation: 2-year results of the C-OPERA study, a phase III randomised trial. | Ann Rheum Dis. |     |         | in press |
| 2 | Amengual O, Forastiero R, Sugiura-Ogasawara M, Otomo K, <u>Oku K</u> , Favas C, Delgado Alves J, Žigon P, Ambrožič A, Tomšič M, Ruiz-Arruza I, Ruiz-Irastorza G, Bertolaccini ML, Norman GL, Shums Z, Arai J, Murashima A, Tebo AE, Gerosa M, Meroni PL, Rodriguez-Pintó I, Cervera R, Swadzba J, Musial J, <u>Atsumi T</u> | Evaluation of phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody testing for the diagnosis of antiphospholipid syndrome: results of an international multicentre study.  | Lupus          |     |         | in press |
| 3 | <u>Atsumi T</u> , Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Yasuda S, Yamanishi Y, Kita Y, Matsubara T, Iwamoto M, Shoji T, Okada T, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T.  | The first double-blind, randomised, parallel-group certolizumab pegol study in methotrexate-naive early rheumatoid arthritis patients with poor prognostic factors, C-OPERA, shows inhibition of radiographic progression.                              | Ann Rheum Dis. | 75  | 75-83   | 2016     |
| 4 | <u>Oku K</u> , Amengual O, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Sakamoto N, Ieko M, Norman GL, <u>Atsumi T</u> .  | Significance of fully automated tests for the diagnosis of antiphospholipid syndrome.   | Thromb Res.    | 146 | 1-6     | 2016     |
| 5 | Oku K, Nakamura H, Kono M, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, Amengual O, <u>Atsumi T</u> .   | Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome.   | Autoimmun Rev  | 15  | 1001-4  | 2016     |
| 6 | Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, Watanabe T, Bohgaki T, Horita T, Yasuda S, <u>Atsumi T</u> .   | Autoantibodies against a component of complement one contribute to complement activation and recurrent thrombosis/pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome.   | Rheumatology   | 55  | 1403-11 | 2016     |

|    |   |  |                    |     |           |      |
|----|---|--|--------------------|-----|-----------|------|
| 7  | <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 |
| 8  | 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 |
| 9  | 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 |
| 10 | 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 |
| 11 | Kitaori K, Sugiura-Ogasawara M, <u>Oku K</u> , Papisch W, Ebara T, Ozaki Y, Katano K, <u>Atsumi T</u> .   | Determination of clinically significant tests for antiphospholipid antibodies and cutoff levels for obstetric antiphospholipid syndrome.   | Lupus              | 24  | 1505-1519 | 2015 |
| 12 | 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. | 38  | 1430–1433 | 2015 |
| 13 | <u>Suzuki-Inoue K</u> .   | CLEC-2/podoplanin and thromboinflammation.   | Blood.             | 129 | 1896-1898 | 2017 |
| 14 | Kono H, Fujii H, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Inoue O, Furuya S, Hirayama K, Akazawa Y, Nakata Y, Sun C, Tsukiji N, Shirai T, Ozaki Y.   | The platelet-activating receptor C-type lectin receptor-2 plays an essential role in liver regeneration after partial hepatectomy in mice.   | J Thromb Haemost.  | 15  | 1-11      | 2017 |
| 15 | Shirai T, Inoue O, Tamura S, Tsukiji N, Sasaki T, Endo H, Satoh K, Osada M, Sato-Uchida H, Fujii H, Ozaki Y, <u>Suzuki-Inoue K</u> .  | C-type lectin-like receptor 2 promotes hematogenous tumor metastasis and prothrombotic state in tumor-bearing mice.  | J Thromb Haemost.  | 15  | 513-525   | 2017 |

|    |   |  |  |        |         |          |
|----|---|--|--|--------|---------|----------|
| 16 | <u>Suzuki-Inoue K</u> , Osada M, Ozaki Y.   | Physiologic and pathophysiologic roles of interaction between C-type lectin-like receptor 2 and podoplanin: partners from in utero to adulthood.                   | J Thromb Haemost.                          | 16     | 219-229 | 2017     |
| 17 | Iwaki T, Nagahashi K, Takano K, <u>Suzuki-Inoue K</u> , Kanayama N, Umemura K, Urano T.   | Mutation in a highly conserved glycine residue in strand 5B of plasminogen activator inhibitor 1 causes polymerisation   | Thromb Haemost                             |        |         | in press |
| 18 | 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     |
| 19 | Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, <u>Morishita E</u> , Nakao S, Asakura H  | A case of aortic aneurysm-associated DIC that responded well to a switch from warfarin to rivaroxaban.   | Int Med                                    |        |         | in press |
| 20 | Sekiya A, Taniguchi F, Yamaguchi D, Kamijima S, Kaneko S, Katsu S, Hanamura M, Takata M, Nakano H, Asakura H, Ohtake S, <u>Morishita E</u>                      | Causative genetic mutations for antithrombin deficiency and their clinical background among Japanese patients.   | Int J Hematol                              | 105    | 287-294 | 2017     |
| 21 | Taniguchi F, <u>Morishita E</u> , Sekiya A, Nomoto H, Katsu S, Kaneko S, Asakura H, Ohtake S.   | Gene analysis of six cases of congenital protein S deficiency and functional analysis of protein S mutations (A139V, C449F, R451Q, C475F, A525V and D599TfsTer13). | Thromb Res                                 | 151    | 8-16    | 2017     |
| 22 | Sekiya A, Hayashi T, Kadohira Y, Shibayama M, Tsuda T, Jin X, Nomoto H, Asakura H, Wada T, Ohtake S, <u>Morishita E</u>   | Thrombosis prediction based on reference ranges of coagulation-related markers in different stages of pregnancy.   | Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis | 10     | 1177    | 2016     |

|    |  |   |                                     |        |           |      |
|----|--|---|-------------------------------------|--------|-----------|------|
| 23 | Kagami K, Yamazaki R, Minami T, Okumura N, <u>Morishita E</u>  | Fujiwara H: Familial discrepancy of clinical outcomes associated with fibrinogen D $\alpha$ 2: A case of huge genital hematoma after episiotomy | J Obstet Gynaecol Res               | 42(6)  | 722-725   | 2016 |
| 24 | Miyasaka N, Miura O, Kawaguchi T, Arima N, <u>Morishita E</u> , Usuki K, Morita Y, Nishiwaki K, Ninomiya H, Gotoh A, Imashuku S, Urabe A, Shichishima T, Nishimura J, Kanakura Y | Pregnancy outcomes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab: a Japanese experience and updated review       | Int J Hematol                       | 103(6) | 703-712   | 2016 |
| 25 | 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 |
| 26 | 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 |
| 27 | 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 |
| 28 | 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 |
| 29 | Maruyama K, Akiyama M, Kokame K, Sekiya A, <u>Morishita E</u> , Miyata T   | ELISA-based detection system for protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism                                     | PLoS One                            | 10(7)  | e0133196  | 2015 |
| 30 | 本木由香里, 野島 順三, 吉田美香, 關谷暁子, 原和冴, <u>森下英理子</u> , 家子正裕   | ELISA による抗リン脂質抗体価測定の標準化に向けて   | 日本血栓止血学会誌                           | 27(6)  | 644-652   | 2016 |

|    |                   |  |             |        |         |      |
|----|-------------------|--|-------------|--------|---------|------|
| 31 | 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)  | 99-102  | 2016 |
| 32 | 森下英理子             | フォンウィルブランド因子の臨床検査                      | BIO Clinica | 31(6)  | 39-43   | 2016 |
| 33 | 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 | 2016 |
| 34 | 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      | 8月12日号 | 4816    | 2016 |
| 35 | 森下英理子             | 最新情報と今後の展望 2016 (血小板・凝固・線溶系疾患) オーバービュー | 臨床血液        | 57(3)  | 307     | 2016 |
| 36 | 森下英理子             | 深部静脈血栓症・肺塞栓症の発症機序と危険因子                 | 日本医師会雑誌     | 146(1) | 22-26   | 2016 |

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 | Oku K, Amengual O, Otomo K and Atsumi T. | Disease and Risk Measurement Criteria in APS, Antiphospholipid score. In Antiphospholipid Syndrome - Current Research Highlights and Clinical Insights. | Doruk Erkan and Dr. Michael Lockshin | Springer Science and Business Media. | Berlin | in press  |
| 1 | 森下英理子                                    | その他の先天性凝固異常症・線溶異常症  | 小澤敬也, 中尾眞二, 松村到                      | 『血液疾患最新の治療 2017-2019』                | 東京     | 242-247   |
| 2 | 森下英理子                                    | 繰り返す静脈血栓症   | 南江堂                                  | 『むかしの頭で診ていませんか? 血液診療をスッキリまとめました』     | 東京     | 印刷中       |
| 3 | 森下英理子                                    | 静脈疾患の検査   | 日本臨床                                 | 『動脈・静脈の疾患 (上) - 最近の診断・治療動向 - 』       | 東京     | 印刷中       |
| 4 | 森下英理子                                    | 第X因子とプロトロンビン  | 一瀬白帝, 丸山征郎, 家子正裕 編著                  | 新・血栓止血血管学 凝固と炎症                      | 京都     | pp20-27   |
| 5 | 森下英理子                                    | PNHの血栓症   | 金倉讓, 西村純一 編著                         | 発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)                   | 大阪     | pp100-109 |