

別添 1

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）

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立

平成 28 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 堀内 久徳

平成 29（2017）年 5 月

目 次

I. 総括研究報告		
循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立	-----	1
堀内 久徳		
II. 分担研究報告		
1. VWF多量体解析の標準化	-----	9
小亀 浩市		
2. VWF多量体解析実施時の標準血漿作成	-----	13
松本 雅則		
3. 補助人工心臓における後天性フォンウィルブランド研究の新たな展開	-----	17
齋木 佳克		
4. 循環器疾患症例の登録	-----	19
下川 宏明		
5. 循環器疾患症例の登録	-----	20
木村 剛		
6. 循環器疾患症例の登録	-----	22
安田 聡		
7. 循環器疾患症例の登録	-----	23
中川 義久		
8. 循環器疾患症例の登録	-----	25
山中 一朗		
9. 循環器疾患症例の登録	-----	26
土井 拓		
10. 循環器疾患症例の登録	-----	27
安藤 献児		
11. 循環器疾患症例の登録	-----	28
羽生 道弥		
12. 循環器疾患症例の登録	-----	29
福本 義弘		
13. 循環器疾患症例の登録	-----	30
海北 幸一		
14. 消化器疾患症例の検討	-----	31
仲瀬 裕志		
15. 消化器疾患症例の検討	-----	34
下瀬川 徹		
16. 消化器疾患症例の検討	-----	35
松浦 稔		
17. 消化器疾患症例の検討	-----	37
大花 正也		

18. 消化器疾患症例の検討	38
鳥村 拓司	
19. 統計解析	40
山口 拓洋	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	41

## 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

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
研究代表者：堀内 久徳 東北大学教授

## (研究要旨)

体内で過度の高張り応力が生じる病態では止血必須因子フォンウィルブランド因子（VWF）の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群（aVWS）を合併する。我が国では少なくとも数万人がaVWSを合併していると推測されるが、疾患毎のaVWS及びaVWSが原因となる出血頻度等は不明である。診療現場では本合併病態はあまり認識されておらず、そのため適切な治療が選択されていないこともしばしばである。本AVeC（The acquired von Willebrand syndrome co existing with cardiovascular siseases Study）研究では肥大型心筋症や肺高血圧症、大動脈弁狭窄症や等種々の循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として対象循環器疾患症例を登録して、前向きに2年間観察し、横断的及び縦断的解析によって循環器疾患毎におけるaVWSの頻度、大出血をきたす状況・頻度、出血予知のための指標等を明らかにする。平成29年5月17日までに452例・1517検体が登録されたが、29年度も症例登録を継続し、出血性合併症を追跡する。症例が集積した疾患から順次解析に取りかかる。また、VWF多量体解析は50万～2,000万ダルトンという超巨大分子を解析するウェスタンブロットであり、それぞれの研究室で独自の方法で行われてきていたが、本研究では平成28年度中にその方法を標準化し、さらに定量法を構築した。

## (研究分担者)

仲瀬 裕志	札幌医科大学	教授
下川 宏明	東北大学	教授
齋木 佳克	東北大学	教授
下瀬川 徹	東北大学	教授
山口 拓洋	東北大学	教授
木村 剛	京都大学	教授
松浦 稔	京都大学	助教
安田 聡	国立循環器病研究センター病院	副院長
小亀 浩市	国立循環器病研究センター研究所	部長
中川 義久	天理よろづ相談所病院	部長
山中 一朗	天理よろづ相談所病院	部長
大花 正也	天理よろづ相談所病院	部長
土井 拓	天理よろづ相談所病院	部長
松本 雅則	奈良県立医科大学	教授
安藤 献児	小倉記念病院	主任部長
羽生 道弥	小倉記念病院	副院長・主任部長
福本 義弘	久留米大学	主任教授

A. 研究目的

止血必須因子 VWF は巨大多量体として産生され、ずり応力依存的に切断される。高分子量領域の多量体が止血機能に重要であり、高分子多量体欠損は出血性疾患フォンウィルブランド病 2 型となる。最近大動脈弁狭窄症に合併する消化管出血（ハイド症候群）の原因が狭窄部での過度に高いずり応力による VWF 高分子多量体欠損による後天性フォンウィルブランド症候群（aVWS）と解明された（図 1）。我々は重症大動脈弁狭窄 31 症例を評価し、ほとんどの症例が aVWS を合併していることを報告した（図 2）（T. Tamura, H. Horiuchi, et al (2015) J Atherosclerosis Thombosis 22, 1115-1123）。この結果より我が国でも数万人は aVWS 合併例が存在すると見込まれるが多くの診療現場では本病態は存在すら知られていない。さらに高ずり応力が生じ得る肺動脈性肺高血圧や慢性血栓塞栓性肺高血圧症、（閉塞性）肥大型心筋

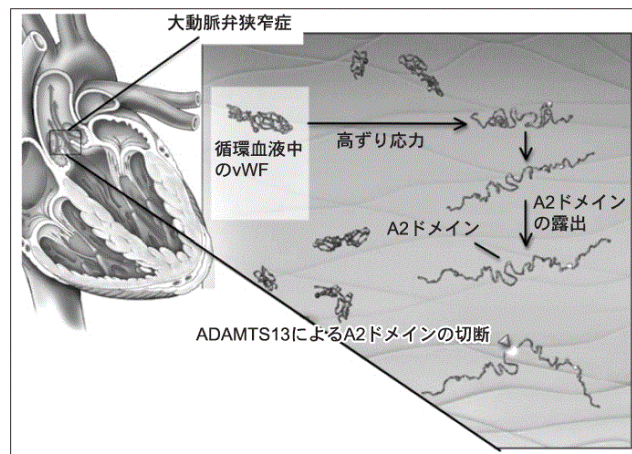
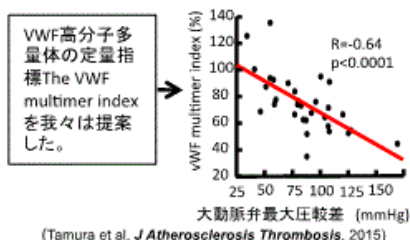


図1 大動脈弁狭窄症に伴う後天性フォンウィルブランド病形成の概念図  
速い流速下にvWFのA2ドメインが露出し、そこをADAMTS13が切断する。  
(Loscalzo J, NEJM 367 : 1954-1956, 2012より改変)

症、ファロー四徴症等の難病や、重症の拡張型心筋症（難病）等による重症心不全治療の最終治療手段である機械的補助循環でも aVWS 合併の報告があり我々も確認している（図 3）。しかし現状ではそれぞれの疾患での aVWS 合併頻度や aVWS が原因の大出血の頻度すら不明である。そこで、循環器内科、心臓外科、消化器内科のいくつかの診療科と、我が国で VWF 多量体解析を手がけている血栓止血学分野の 3 施設が共同して本 AVeC（The acquired von Willebrand syndrome co-existing with cardiovascular diseases Study）研究を行うこととなった。本研究では上記の難病を含む循環器疾患を体系的に評価し、aVWS 合併の実態を解明し、その診断基準・重症度分類を確立することを目的とする。また、循環器難病毎の解析により、特徴を明らかにすることも目的とする。

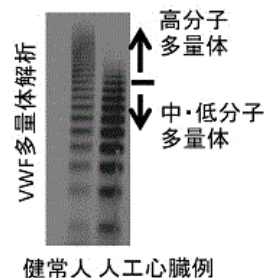
図2. VWF高分子多量体の定量指標VWF multimer indexを考案し、それを用いて重症大動脈弁狭窄症に合併する後天性フォンウィルブランド症候群（AVWS）を評価した。（健康人を100%とて、患者の高分子量VWFの値を表している）。

ほとんどの重症大動脈弁狭窄症は血液学的にはAVWSを来していた(31例の解析)。



(Tamura et al, J Atherosclerosis Thrombosis, 2015)

図3. 制御不能の出血を来した人工心臓植込例では、非常に高度のAVWSを認めた。



(Sakatsume et al, J Artificial Organs, 2016)

B. 研究方法

- (1) 対象症例：以下の症例の登録を2017年8月31日まで行う。登録数が少なければ適宜延長する。
  - ① 大動脈弁狭窄症500例（大動脈弁部最大圧較差30mmHg以上）
  - ② 肺高血圧症（慢性血栓塞栓性肺高血圧症、肺動脈性肺高血圧症、心室中隔欠損症等の先天性心疾患に伴う肺高血圧等；三尖弁部の最大圧較差 40 mmHg 以上）500例
  - ③ 肥大型心筋症(左室内圧較差20mmHg以上)200例
  - ④ 急性肺塞栓100例
  - ⑤ 僧帽弁閉鎖不全（II度以上）500例
  - ⑥ 機械的補助循環症例(PCPS150例, 体外式LVAD15例, 植込型補助人工心臓35例)計200例
  - ⑦ 先天性心疾患例（ファロー四徴症等高ずり応力が想定される症例、成人例を含む）200例

### 別添 3

- ⑧ 小腸出血例:循環器疾患に伴うaVWSでは消化管血管異形成からの出血が多い。血管異形成の30%は小腸に生ずる。本研究では、明らかな腫瘍や炎症性腸疾患を認めない小腸出血例を登録し、同様の解析を行い、小腸出血におけるaVWSの寄与度を明らかにする。200例。

(2) 評価項目・評価時期:一般的な病歴及び検査結果を診療録より得る。病歴では特に消化管出血及び脳出血の既往に留意する。一般検査ではPT値やaPTT値、リストセチン刺激血小板凝集能(VWF活性;可能な施設)、出血時間、またHb値やFe、UIBC、便潜血等貧血関連所見に留意する。さらに心エコー検査を施行し大動脈弁部や三尖弁・僧帽弁部の最大流速や最狭窄部の面積等を評価する。奈良医大輸血部が担当してVWF切断酵素ADAMTS13の活性等の血栓関連特殊解析を行う。VWF抗原量・活性測定は共同研究として東北大学病院臨床検査部が担当する可能性を現在、検討中である。

(3) VWF多量体解析:VWF多量体解析は登録時及び1年後に実施する。出血時や侵襲的治療時にはVWF多量体解析を頻回に行い、経時的変化を明らかにする。本研究でVWF多量体解析を担当する3施設間でも方法結果が異なり、若干結果にも影響する。そのため、3施設で2016年度中に、標準血漿を作成し、ゲル濃度や抗体の種類等を統一することによって解析法を標準化し、さらに考案したVWF高分子量多量体の定量法(JAT, 2015)を基に定量法を確立した。今後、その方法を論文として発表する。VWF多量体解析では一度に解析できるサンプル数は限られ、また結果を得るまでに数日を要するので、3施設にてリサーチ・レジデントあるいは実験補助員を雇用・教育し、解析効率を上げたい。

(4) 観察項目: 2017年8月まで原則として1年毎に臨床経過(出血イベント発症)を追跡し、その頻度を明らかにする。また侵襲的治療や出血性合併症時の経過や治療効果についても評価する。大出血は、ISTH基準に従い、小出血に関してはBARC基準に準拠する。

(5) 解析方法: 連結可能匿名化したデータをデータセンターである東北大学加齢研に集積し、外部と交通のないコンピュータで管理する。登録時の既往症と検査所見(特に多量体解析の結果)について横断的解析を、前向きに出血イベントを追跡する縦断的解析によって、対象循環器疾患毎に、aVWSをきたす頻度、aVWSを来すそれぞれの循環器疾患重症度、aVWSから出血性合併症を来す頻度や、来しやすい状況等を明らかにする。抗血栓療法の影響についても明らかにする。機械的補助循環においては機種毎にaVWSが生じる頻度や回転数等も明らかにする。研究グループで定期的に研究全体会議を持ち横断的解析に関し、学会・論文発表を行う。なお論文化は登録症例数が十分な疾患から行う、登録症例数が少ない症例には登録期間、観察期間を適宜延長する。

#### (倫理面への配慮)

本研究は東北大学の倫理委員会の承認はすでに得られており、また各施設の倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言に則って執り行う。本研究は治療介入を行うものではなく、採血を除いて侵襲を与えないので、倫理上大きな問題はない。参加者には、口頭および書面で丁寧に研究内容を説明し、書面による同意書をいただく。データは連結可能匿名化を行い、データセンターとして東北大学加齢医学研究所基礎加齢研究分野に集積し、外部につながっていないコンピュータで管理する。研究発表は個人が特定できない形で行う。

## C. 本年度の研究結果・進捗状況

### 1. 解析法の標準化・定量化:

<1>標準化:循環器疾患に伴う後天性フォンウィルブランド症候群(AVWS)の理解が我が国の診療現場で進まないひとつの原因は、解析法が標準化されておらず、適切な定量法が無いことに起因する。本解析は、VWF多量体解析法あるいはVWFマルチマー解析と呼ばれる方法であり、約2,000万ダルトンにおよぶVWF多量体の非還元条件下のSDS-agarose電気泳動とその後のウェスタンブロットである。超巨大分子を扱わざるを得ず、多くのノウハウを要し、技術的に高度である。平成28年度には、国立循環器病研究センター分子病態部の小亀浩市博士チーム、奈良医大輸血部の松本雅則チーム、そして私たちの東北大加齢研チームが会合を重ねて、標準化を試みた。この3チームが、診断可能なクオリティで解析を頻度高く行っている3施設と考えている。詳細については分担研究者小亀浩市博士の分担研究報告書に記載されているが、要点を下記する。

(1) 手技に関してはそれぞれの施設の蓄積を尊重し、あえて統一しない。

(2) 標準血清を作成し、解析時には解析対象血漿の横のレーンに流す。なお、標準血清に関しては、奈良

### 別添 3

医大輸血部において作成された。詳細は、分担研究者、松本雅則博士の分担研究報告書に記載されている。

(3) 解析する血漿は、用量を併せるのではなく、事前にVWF抗原量を測定し、同一抗原量のVWFを解析する。

(4) アガロース濃度は1.0%を用いる。

(5) 1次抗体はDAKO社製ポリクローナル抗体に統一。

< 2 > 定量化：本研究では、the VWF large multimer index (T. Tamura, H. Horiuchi, et al (2015) J Atherosclerosis Thrombosis 22, 1115-1123) を用いて評価することとした。VWF マルチマー解析では VWF ダイマーのバンドを 1 番として低分子量側から数え、1~5 番を低分子領域、6~10 番を中分子領域、11 番以上のすべてを高分子領域と呼ぶ。デンシトメータで各領域のシグナル強度を取得し、標準血漿において高分子領域の強度が全体（3 領域の合計）の

20-30%（目標は 25%）となるように像を調整した上で、隣接レーンの患者血漿の高分子領域の割合を求める。その値を、標準血漿の高分子領域の値（20-30%）で除し、%表示したものを the VWF large multimer index と定義する（図 4）。この Index を用いることによって、施設間や検査者間等の影響をできるだけ排除し、標準血漿を 100%としたときの患者 VWF 高分子多量体量を%表示で定量評価することができる。この方法で施設間のばらつきが減少し、患者高分子多量体を評価できるようになることをすでに確認している。近々に論文発表したいと考えている。

なお、本定量指標 the VWF large multimer index は世界的にも認められつつあり、ペンシルベニア大心臓外科と米国の同施設の補助人工心臓（LVAD）症例を定量評価する国際共同研究を開始した。この研究は、国際機械的補助循環学会の国際共同研究費を獲得した。さらに、2017年7月ベルリンで行われる国際血栓止血学会の学術標準化委員会シンポジウムで発表予定である。標準的な定量法として提案する計画である。

### 2. 循環器分野の症例登録：

参加診療施設より平成29年5月17日までに、循環器疾患452例が登録され、1517検体が東北大学加齢研に送付され、超低温冷凍庫に保管されている。VWFマルチマー解析の準備も整い、順次解析を行う計画である。疾患別では大動脈弁狭窄症が多く、今後、肺高血圧や肥大型心筋症を増やしていく計画である。

### 3. 消化器分野の症例登録：

症例登録がスムーズに行えるか確認するため、平成28年度は循環器疾患で症例登録を開始した。消化器系では当初、原因不明の小腸出血を対象とする計画であったが、症例が集まりにくいとの指摘があり、明らかな腫瘍や憩室、炎症を認めない、下部消化管（小腸・大腸）と変更した。そのような症例におけるAVWSの寄与度を明らかにしていく計画である。

### 4. 補助人工心臓LVADに随伴するAVWSに関する研究：

植込型補助人工心臓装着症例は約20例の登録があった。我々の東北大におけるこれまでの小規模な成果発表や、国内外での研究成果によって、我が国における人工心臓装着症例の出血性合併症発症におけるAVWSの寄与度の大きな関心が寄せられ、平成28年度に全国のLVAD医療を積極的に行っている10施設と、本AVeC研究における3つのVWF多量体解析施設が共同して、LVAD症例を登録し、AVWSを評価しつつ出血性合併症を前向きに評価する多施設共同前向き臨床研究LVAD-AVWS Studyを開始した。このLVAD-AVWS Studyは、平成29年度の日本医療研究開発機構（AMED）の研究費に採択され、本AVeC Studyと互いに協調しつつも、独立して研究を進めることとなった。

### 5. ホームページの作成・公開：

循環器疾患に伴うAVWSは、診療現場ではあまり認識されておらず、そのため適切な治療が選択されていないこともしばしばである。そのため周知が重要である。そのため、本疾患および本厚労省政策研究についてホーム

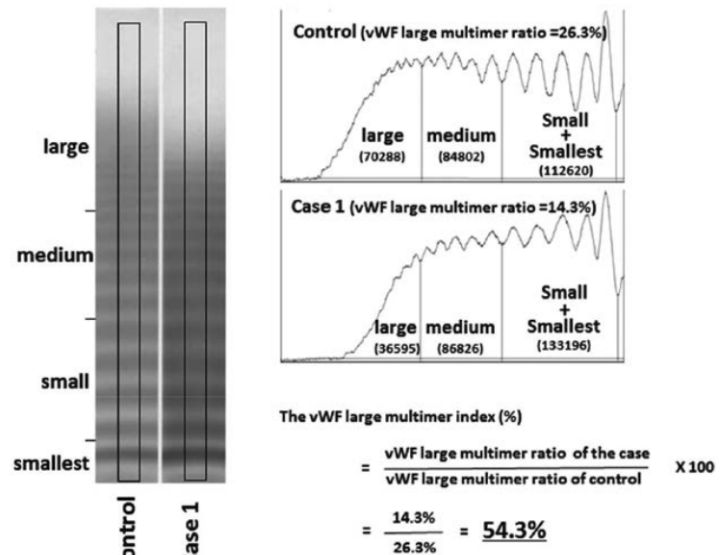


図4 vWF多量体解析とvWF高分子多量体の定量化  
(Tamura et al, J Atheroscler Thromb, 2015)



ページ (<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/avec/>) を作成し、厚労省難病研究のホームページにリンクして頂いた。

## D. 考察

初年度である平成 28 年度は上記のようにおおむね順調に進行した。それぞれの項目毎に、現状および今後の課題などについて考察する。

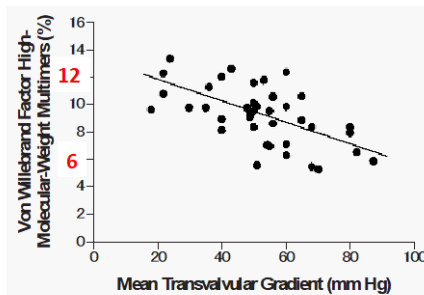
### 1. 解析法の標準化・定量化:

歴史的には、VWF 多量体解析は希少なフォンウィルブランド病診断や、VWF 特異的切断酵素 ADAMTS13 の欠損によって引き起こされる血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の診断のために用いられてきた。いずれの疾患も希少であり、多くの場合、VWF 多量体解析は定量化されることなく評価されてきた。しかしながら、循環器疾患に伴う AVWS の症例数は多く、我々の報告から推察しても数万人は存在する。さらに血液学的な重症度も様々であり、定量的な評価が必要である。定量的な評価のためには、きれいな VWF 多量体解析のウェスタンブロットのデータが必要であるが、そのハードルをクリアして定量評価を示した論文もある。それらの論文中で、用いられているのは「VWF multimer ratio」である。この値は、患者の VWF 多量体解析のセータをスキャンし、患者 VWF 高分子多量体面積を患者 VWF 総面積で除した割合である。しかし、この方法では、患者間、施設間の変動が大きくなりすぎる。なぜなら、VWF 多量体解析は、ウェスタンブロットであり、最終発色時間 (露光時間) によって、薄くもなり、濃くもなるからである。実際、大動脈弁狭窄症を評価した Vincentelli 等の論文 (N Engl J Med, 349, 343-349) (図5) では患者の VWF multimer ratio は 4-14%と報告されているが、我々の大動脈弁狭窄症では 5-35%の範囲と報告した (T. Tamura, H. Horiuchi, et al (2015) J Atherosclerosis Thrombosis 22, 1115-1123)。また、Meyer 等の LVAD 装着症例での解析では VWF multimer ratio は 15-60%と報告された (Meyer et al, JACC Heart Fail. 2014 Apr;2(2):141-5. doi: 10.1016/j.jchf.2013.10.008) (図5)。このように、VWF large multimer ratio で評価すると研究毎に大きなばらつきが生じる。そこで想起したのが、the VWF large multimer index である。この方法では、健常コントロールを 100%として、患者 the VWF large multimer の減少度を表現しており、一般臨床医にとっても理解しやすい。今後、本指標を、AVWS 評価の際の世界的な標準指標として提案していく計画である。

しかしながら、現状では、VWF 多量体解析は数日という時間を要する。各施設で時間短縮に務めているが、最短でも 2 日間を要する。そのため、簡便な方法の開発が待たれる。なお、臨床検査に組み込まれている VWF 活性/VWF 抗原量という値は、予備実験として測定したが、VWF large multimer index とは良好な相関は得られなかった。フォンウィルブランド病の診断基準では、この値が採用されており、検討を進めて、そう考えられなかった原因を追及し、この指標が出血性合併症の予知因子となるか、結論づけたいと考えている。

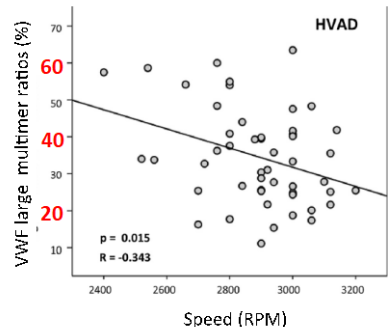
図5. The VWF multimer ratio. The VWF multimer ratioで評価した場合、研究毎のばらつきが非常に大きくなる。

大動脈弁狭窄症例 \$  
The VWF multimer ratio: 4-14%



n engl j med 349:4 www.nejm.org july 24, 2003

LVAD装着症例 \$  
The VWF multimer ratio: 15-60%



(Meyer et al, JACC HF, 2014)

### 2. 循環器分野の症例登録:

これまでに多くの症例が登録されたが、若干、大動脈弁狭窄症に偏っている。平成 29 年度には、大動脈弁狭窄症の解析によって VWF large multimer index で AVWS の重症度と出血性合併症の関係を横断的に評価して、出血リスクとなる VWF large multimer index 値を明らかにする計画である。また、肺高血圧症や、僧帽弁閉鎖不全、肥大型心筋症などの症例をさらに募り、それらの疾患毎の評価にも尽力する計画である。

### 3. 消化器分野の症例登録:

小腸出血症例を登録し、解析しようとする当初の計画では症例数の集積が少ないことが解り、検討の結果、大腸出血も含めることとなった。また、症例登録を循環器疾患より開始したため、平成 28 年度は消化器分野か



### 別添 3

らの登録はない。現在、症例登録のシステムが機能するようになり、また、消化器系の登録症例の基準も広くなったので、平成 29 年度は多くの消化管出血症例を登録して、(腫瘍、炎症、憩室が明らかでない) 原因不明の出血の原因としての消化管血管異形成および AVWS の寄与度を明らかにしたい。

#### 4. 補助人工心臓 LVAD に随伴する AVWS に関する研究:

2011 年に我が国でも植込型補助人工心臓 (LVAD) が認可されて以来、症例数が急増している。現在では、心臓移植までのつなぎ医療としてのみ認められているが、心臓移植が年間 40 例を超えない中、植込型 LVAD 症例数は年間 150 例を超えるに至っており、重症心不全の治療手段として欠くべからざるものとなっている。さらに、2016 年よりは、終生補助人工心臓での治療といういわゆる destination therapy の治験が我が国でも始まった。すでに destination therapy が軌道に乗っている米国では年間 1,000 例がこの治療を受けている。また、カテーテル型補助人工心臓である Impella® が、我が国 PMDA にてすでに承認されている。Impella® が実臨床でも使用されるようになれば大変多くの症例に用いられるようになるであろう。LVAD 治療には、AVWS の合併が不可避であり、その実態を報告するのは診療現場に大きな意義を持つと考えられる。本年度から、我が国での LVAD 前向き研究 (LVAD-AVWS Study) が開始されるが、本 AVeC Study にすでに約 20 症例が登録されており、小規模でも、そのデータを解析、評価して公開することは重要と考えている。

### E. 結論

平成 28 年度には、解析系である VWF 多量体解析の標準化・定量化を完了し、おおくの症例が集積されおおむね順調に研究は進行した。平成 29 年度には、現在の課題を克服しつつ、研究の完成に向け邁進したい。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1 K. Kokame (2016) Subsequent Response of VWF and ADAMTS13 to Aortic Valve Replacement. *J. Atheroscler. Thromb.* 23, 1141-1143
- 2 K. Sakatsume, M. Akiyama, K. Saito, S. Kawamoto, H. Horiuchi, Y. Saiki (2016) Intractable bleeding tendency due to acquired von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant. *J Artificial Organs* 9, 289-292.
- 3 Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, Abe T, Hayata Y, Yamaguchi N, Sugimoto M, Fujimura Y, Matsumoto M, Taniguchi S. (2016) Rapid restoration of thrombus formation and high-molecular-weight von Willebrand factor multimers in patients with severe aortic stenosis after valve replacement. *J Atheroscler Thromb.* 23, 1150-1158
- 4 Akutagawa T, Shindo T, Yamanouchi K, Hayakawa M, Ureshino H, Tsuruoka N, Sakata Y, Shimoda R, Noguchi R, Furukawa K, Morita S, Iwakiri R, Kimura S, Matsumoto M, Fujimoto K. (2017) Persistent gastrointestinal angiodysplasia in Heyde' s syndrome after aortic valve replacement. *Intren Med.* in press.
- 5 N. Tsujii, I. Shiraishi, K. Kokame, M. Shima, Y. Fujimura, Y. Takahashi, M. Matsumoto (2016) Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. *Pediatrics* 138, e20161565
- 6 Fujino Y, Inoue Y, Onodera M, Kikuchi S, Sato M, Kojika M, Sato H, Suzuki K, Matsumoto M. (2016) Acute pancreatitis-induced thrombotic thrombocytopenic purpura with recurrent acute pancreatitis. *Clin J Gastroenterol.* 9, 104-108
- 7 Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M. (2016) No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. *Int J Hematol.* 104, 223-227

## 別添3

- 8 Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S. (2016) Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. *Int J Hematol.* 104, 228-235
- 9 Ichikawa S, Sasaki K, Takahashi T, Hayakawa M, Matsumoto M, Harigae H. (2016) Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with *Klebsiella pneumoniae* in the background of alcoholic liver cirrhosis. *Case Reports in Internal Medicine* 3, 30-35
- 10 Tsujii N, Nogami K, Yoshizawa H, Hayakawa M, Isonishi A, Matsumoto M, Shima M. (2016) Influenza-associated thrombotic microangiopathy with unbalanced von Willebrand factor and a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 levels in a heterozygous protein S-deficient boy. *Pediatr Int* 58, 926-929
- 11 Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). (2017) Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *J Thromb Haemost* 15, 312-322
- 12 Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Ozeki Y, Sakurai Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. (2017) Mutant botrocetin-2 inhibits von Willebrand factor-induced platelet agglutination. *J Thromb Haemost.* in press.
- 13 堀内久徳, 松本雅則, 小亀浩市 (2016) 循環器疾患随伴後天性フォンウィルブランド症候群の臨床的インパクト. *日本血栓止血学会誌*27, 316-321
- 14 堀内久徳 (2016) Significance of bleeding complications, *Coronary Intervention* 12 (6), 58-63
- 15 秋山正志, 小亀浩市 (2016) 腸内細菌代謝産物TMAOは血小板の反応性亢進と血栓症リスクを増強する. *日本血栓止血学会誌* 27, 384
- 16 堀内久徳 (2016) 循環異常そのものが招く出血傾向 *BIO Clinica* 31, 562-563
- 17 松本雅則 (2016) フォンウィルブランド因子とその切断酵素ADAMTS13, *BIO Clinica* 31, 564-568
- 18 田村俊寛 (2016) 大動脈弁狭窄症の伴い消化管出血: ハイD症候群, *BIO Clinica* 31, 569-572
- 19 大場豊治, 福本義弘 (2016) 肺高血圧に伴う後天性フォンウィルブランド症候群, *BIO Clinica* 31, 573-576
- 20 坂爪公, 齋木佳克 (2016) 機械的補助循環治療の現況とその合併症としての後天性フォンウィルブランド症候群, *BIO Clinica* 31, 577-580
- 21 本澤有介, 松浦稔, 仲瀬裕志 (2016) 消化管血管異形成 (angiodysplasia) の病態とその対処法, *BIO Clinica* 31, 581-584
- 22 坂爪公, 齋木佳克 (2016) 「人工循環中の出血凝固因子」人工臓器 45, 221-224
- 23 坂爪公, 堀内久徳 (2016) 「高ざり応力が引き起こす後天性フォンウィルブランド症候群」人工臓器 45, 225-228
- 24 近藤博和, 下村大樹, 中川義久, 堀内久徳 (2016) 血小板凝集検査と循環器疾、循環器内科79, 65-68

## 2. 学会発表

- 1 24th congress of the International Society for Rotary blood Pumps (ISRBP 2016) (2016. 9. 20-22, Mito Japan) Special Lecture: H. Horiuchi, Ko Sakatsume, Masatoshi Akiyama, Yoshikatsu Saiki 「Acquired von Willebrand Syndrome associated with left ventricular assist devices」
- 2 24th congress of the International Society for Rotary blood Pumps (ISRBP 2016) (2016. 9. 20-22, Mito Japan) Ko Sakatsume, Masatoshi Akiyama, Kenki Saito, Shunsuke Kawamoto, Hisanori Horiuchi, Yoshikatsu Saiki Acquired von Willebrand syndrome associated with implantable left ventricular assist device
- 3 第25回日本心血管インターベンション治療学会学術集会 (2016. 7. 7-9, 東京国際フォーラム) 日米欧産官学共催セッション「最新テクノロジー (デバイス) の福音とリスク」にて、第4部 「Prevention from bleeding」Key Lecture H. Horiuchi 「Significance of bleeding complication」
- 4 K. Yamato, Y. Nakajo, H. Yamamoto-Imoto, K. Kokame, T. Miyata, H. Kataoka, Jun C. Takahashi, H. Yanamoto: Activated protein C (APC) in the acute phase suppresses the development of cerebral infarction after focal cerebral ischemia. *Neuroscience* 2016, San Diego, USA, November 12-16, 2016.
- 5 M. Matsumoto, K. Kokame, T. Miyata, Y. Fujimura Analysis of thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency in a Japanese registry. The 9th Congress of the Asian-Pacific

- Society on Thrombosis and Hemostasis, Taipei, Taiwan, October 6-9, 2016.
- 6 Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Yoshii Y, Yagi H, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative ELISA Using N10 Antibody, Targeting on VWF-Y1605 Residue, Indicates That N-Linked Blood Group Type A Carbohydrate on VWF Molecule Functions Against ADAMTS13 Cleavage. The 58th Annual meeting of American Society of Hematology. San Diego Convention Center. 2016年12月5日
  - 7 第81回日本循環器学会学術集会 (2017. 3. 17-19、金沢)、AHA-JCS Joint Symposium「Current status of antiplatelet therapy」にて、Hisanori Horiuchi「Is the optimal intensity of antiplatelet efficacy of ADP receptor blockers for Japanese weaker than that for Westerners?」
  - 8 第81回日本循環器学会学術集会 (2017. 3. 17-19、金沢)、ラウンドテーブルディスカッション「高リスク症例への抗血栓療法：合併症ゼロを目指す」にて堀内久徳「A pit fall in antithrombotic therapy: acquired von Willebrand syndrome associated with cardiovascular diseases」
  - 9 第81回日本循環器学会学術集会 (2017. 3. 17-19、金沢) T. Tamura Acquired von Willebrand Syndrome in Patients with Percutaneous Cardiopulmonary Support System
  - 10 第11回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム (2017. 1. 21、東京野村コンファレンスプラザ日本橋) VWD/TMA 部会「VWD/TMA の診断と治療の進歩」にて、堀内久徳、松本雅則、小亀浩市、The Avec Study Group. 「標準化した VWF マルチマー解析によって評価した循環器疾患 AVWS の重症度と出血性合併症の関係」
  - 11 松本雅則. TMA における血漿療法と病因に基づいた新規治療法の選択. 第64回日本輸血・細胞治療学会総会国立京都国際会館、2016年4月28日 (シンポジウム)
  - 12 松本雅則. 病因に基づいた TMA の診断と治療法の選択. 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. 2016年6月17日 (教育講演)
  - 13 小亀浩市, 内田裕美子, 宮田敏行, 松本雅則, 藤村吉博, 吉田瑤子, 加藤秀樹, 南学正臣: デジタルPCRを用いたaHUS関連遺伝子異常の検出. 第38回日本血栓止血学会学術集会, 奈良, 2016年6月16日-18日
  - 14 早川正樹, 松本雅則, 山下慶吾, 阿部毅寿, 谷口繁樹. 大動脈弁置換術で小腸血管異常まで改善した Heyde 症候群のマルチマー解析. 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. 2016年6月18日
  - 15 松本雅則, 錦織直人, 小山文一, 早川正樹, 畠山金太, 高津峯, 藤村吉博, 中島祥介. 大腸がん化学療法後の肝臓障害は von Willebrand 因子による血小板血栓形成により発症する. 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. 2016年6月18日
  - 16 Hayakawa M, Kato S, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative evaluation of degradation products in von Willebrand factor A2 domain by ADAMTS13. 第78回日本血液学会学術集会. パシフィコ横浜. 2016年10月15日
  - 17 Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Matsumoto M, Hayakawa M, Fujimura Y. The point-mutated botrocetin-2 inhibits VWF-induced platelet agglutination. 第78回日本血液学会学術集会. パシフィコ横浜. 2016年10月13日
  - 18 早川正樹, 酒井和哉, 長谷川真弓, 前田美和, 辻内智美, 馬場由美, 下村志帆, 隅志穂里, 上野華恵, 松下彰利, 杉邑俊樹, 梅木弥生, 松本雅則. 大動脈弁狭窄症の根治術により難治性消化管出血が改善した症例. 第60回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会. 大阪国際交流センター. 2016年11月26日
  - 19 大和恵子, 中城有香子, 井本(山本)ひとみ, 小亀浩市, 宮田敏行, 片岡大治, 高橋淳, 柳本広二: Activated protein C (APC) in the acute phase suppresses the development of cerebral injuries after focal cerebral ischemia. 第39回日本神経科学大会, 横浜, 2016年7月20日-22日
  - 20 堀内久徳, 坂爪公, 松本雅則, 小亀浩市, 齋木佳克: 人工心臓内の高ずり応力が引き起こす出血性疾患: 後天性フォンウィルブランド症候群. 第89回日本生化学会大会, フォーラム「生体材料・人工臓器の現状と未来」(座長、小亀浩市、堀内久徳), 仙台, 2016年9月25日-27日

## H. 知財登録

なし

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

**フォンウィルブランド因子マルチマー解析法の標準化**

研究分担者 小亀浩市 (国立循環器病研究センター・分子病態部・部長)

**研究要旨：**ある種の循環器難病や大動脈弁狭窄症、補助人工心臓装着等では、血液に過度の高張り応力がかかり、血漿タンパク質であるフォンウィルブランド因子 (VWF) の分解が亢進する。そのため、後天性フォンウィルブランド症候群 (aVWS) と呼ばれる出血性疾患を合併することがある。これを正確に診断するには、VWFのマルチマー解析が必須である。VWFマルチマー解析では、超巨大分子を解析するための高度な技術が要求されるため、実施可能な施設は限られ、さらに各施設独自の方法で行われる。本研究では、VWFマルチマー解析法の標準化を試みた。その成果は、次年度に実施する臨床検体解析の結果を正確に解釈することに大いに貢献できると期待される。

#### A. 研究目的

ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、補助人工心臓装着等では、血液に過度の高張り応力がかかる。そのため、止血に必要な血漿タンパク質であるフォンウィルブランド因子 (von Willebrand factor; VWF) の分解が亢進し、出血性疾患を合併することがある。この病態を診断するには、VWFの解析が必須である。

VWFの生合成においては、約250kDaのVWFモノマー (1本のポリペプチド鎖) が小胞体でダイマー (二量体、約500kDa) となり、さらにゴルジ体で数十個が連結したマルチマー (多量体、<20000kDa) となる。血中に分泌されたのち、血漿プロテアーゼADAMTS13で切断され、様々なサイズのVWFマルチマー (500~15000kDa) として血中を循環する。

VWFマルチマーのサイズが大きいほど、血小板凝集能は高い。ADAMTS13活性の著減によって超高分子量マルチマーが蓄積すると、血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) と呼ばれる血栓性疾患につながる。これと対照的に、高分子量マルチマーが不足すると、フォンウィルブランド病 (von Willebrand disease; VWD) あるいはフォンウィルブランド症候群 (von Willebrand syndrome; VWS) と呼ばれる出血性疾患につながる。

VWFマルチマーは、その構造的特性上、物理的力 (引張力) を受けることで伸展し、

ADAMTS13による切断効率が上昇する。ある種の循環器難病や大動脈弁狭窄症、補助人工心臓装着等では、VWFマルチマーは引張力を受ける。そのため、ADAMTS13による切断が異常に亢進し、高分子量マルチマーが不足する。このような病態を後天性VWS (acquired VWS; aVWS) と呼ぶ。

aVWSを正確に診断するには、VWFマルチマーの状態を調べる必要がある。しかし、500~15000kDaにおよぶ巨大分子を解析することは、一般のタンパク質化学的手法になく、特殊な技術を要する。そのため、施行可能な研究室は限られている。また、それぞれの研究室で独自の方法で行われてきており、共通の指標でデータを解釈することが難しい。そこで本研究では、三施設でVWFマルチマーの解析方法および定量法を標準化することを目的とした。

#### B. 研究方法

VWFマルチマーの解析は、SDSアガロースゲル電気泳動と、それに続くウエスタンブロッティングによって行った。すなわち、まず、血漿検体に含まれるVWFマルチマーを、SDS含有アガロースゲルで電気泳動することによってサイズごとに分離した。これを膜に転写し、抗VWF抗体を用いて検出した。

具体的には、下記のように行った。

[ゲル作製] (1日目)  
用意するもの  
アガロース (LONZA, HGT (P) Agarose)

#### 別添4

##### 分離バッファー

##### 手順

1. アガロース 0.36 g を100mL瓶に入れる。
2. 0.22 $\mu$ mフィルターで濾過した分離バッファー 30mLを加える。
3. オートクレーブ装置を110°C/3分、88°C保温に設定し、アガロースを溶解させる。
4. その間に、超純水 2Lで熱湯を作っておく。また、組み立てたゲル板、泳動槽、100mLビーカーをオーブンで65°Cに保温しておく。
5. オートクレーブ装置が保温モードの88°Cになった時点で、オーブンからゲル板と泳動槽を取り出し、熱湯を注ぐ。
6. オートクレーブ装置からアガロース溶液を取り出し、65°Cに保温しておいた100mLビーカーに注ぐ。
7. アガロース溶液を25mLピペットでゲル板に注ぐ。
8. コーム上に盛り上がるよう、ゲル溶液を十分に注ぐ。コーム付近に泡が無いことを確認する。
9. ゲル板を泳動槽からそっと取り出し、実験台に30分間以上静置する。
10. 乾燥を防ぐため、ゲル板のコーム周辺をラップで密閉して翌日まで冷蔵庫で保管する。

##### [サンプル調製] (2日目)

##### 用意するもの

5xサンプルバッファー (-20°C保存)

血漿検体 (-80°C保存)

##### 手順

1. 5xサンプルバッファーを37°Cブロックインキュベーターで解凍しておく。
2. 血漿検体を37°Cウォーターバスですばやく解凍する。
3. キャップ付き8連チューブに、水 数 $\mu$ L(血漿検体と合わせて 12 $\mu$ Lになる量)、5xサンプルバッファー 5 $\mu$ L、血漿検体 数 $\mu$ L(含有VWF量により調整)を加え、95°Cで7分間処理する。

##### [電気泳動] (2日目)

##### 用意するもの

前日に作製したゲル板 (冷蔵保存)

泳動槽

泳動バッファー

##### 手順

1. 冷蔵庫からゲル板を取り出し、コームを引き抜く。この際、ウェルの底に空気が少しづつ入ることを確認しながら、ゆっくり慎重に引っ張る。
2. ウェルに残っているゲルの薄膜や破片を23G針等で取り除く。
3. 底の一辺のみスペーサーを取り外す。
4. ゲル板を泳動槽にセットする。
5. 泳動バッファーを泳動槽に注ぐ。
6. サンプルをウェルにアプライする。
7. 泳動槽をコールドチャンバー内にセットし、電源供給装置に接続する。
8. 電源供給装置のスイッチを入れる。1000V、10mA、0.7Wの設定で10分間泳動する。

9. 500V、25mA、1.6Wの設定で2時間泳動する。青色素がゲル先端に残った状態で終了する。

##### [転写] (2日目)

##### 用意するもの

キャピラリー転写装置一式

PVDF膜 1枚、Millipore Immobilon-FL

極厚沓紙 10枚、BIO-RAD 1703965

厚い沓紙 2枚、BIO-RAD 1703956

薄い沓紙 2枚、Whatman 3MM CHR

転写バッファー

##### 手順

1. PVDF膜をエタノールに1分間浸した後、転写バッファーに浸しておく。
2. 泳動終了したゲル板をキムタオル上に置き、ピンセット等でゲル板をあける。
3. ピンセット等でゲルを少しずつ剥がしながら、転写バッファーの入ったバットに浸ける。15分間ほど浸けておく。
4. その間、キャピラリー転写装置に転写バッファーを加え、極厚沓紙 10枚と、厚い沓紙 1枚を載せる。
5. 転写バッファーに浸していたゲルの下に薄い沓紙 1枚をすべりこませ、ゲルと共に持ち上げ、上述の厚い沓紙の上に積む。
6. その上にPVDF膜を重ね、転写バッファーに浸した薄い沓紙 1枚を載せる。さらに、転写バッファーに浸した厚い沓紙 1枚を載せる。
7. 乾いたままのキムタオル 5枚 (PVDF膜の大きさ) を載せ、さらに乾いたままのキムタオル (元の大きさ) 6枚を載せる。
8. プラスチック蓋を載せ、真ん中に500mL水入りガラス瓶 (オモリ) を載せる。↓
9. 40分間以上、そのまま静置する。
10. 最上部のキムタオル 6枚を取り除き、新しい乾いたキムタオル 7枚を載せる。プラスチック蓋とガラス瓶を載せる。
11. 40分間以上、そのまま静置する。
12. PVDF膜を慎重に取り出し、純水の入ったバットに入れて5分間揺らす。
13. 新しい純水に置換する。

##### [ブロッキング～一次抗体反応] (2日目)

##### 用意するもの

抗VWF抗体、DAKO P0226

ブロッキングバッファー、Odyssey Blocking buffer (PBS)

10% Tween溶液

##### 手順

1. PVDF膜をブロッキングバッファーに浸して60分間揺らす。
2. 一次抗体反応液 (ブロッキングバッファー、Tween-20、抗VWF抗体) に浸し、冷蔵庫内で一晩揺らす。

##### [二次抗体反応～検出] (3日目)

##### 用意するもの

蛍光標識抗ウサギIgG抗体、LICOR Goat anti-rabbit 800CW 抗体

ブロッキングバッファー、Odyssey Blocking buffer (PBS)

## 別添4

10% Tween溶液

1% SDS溶液

T-PBS

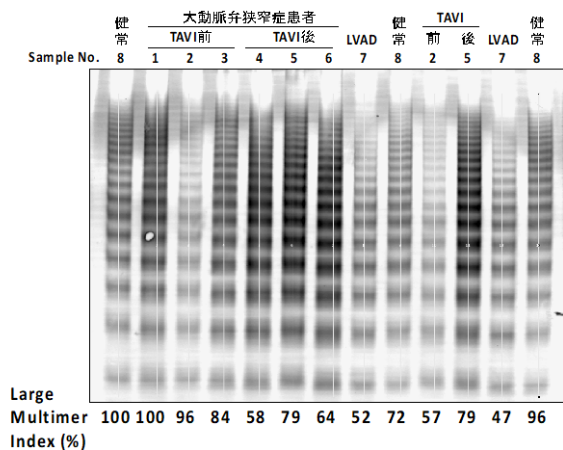
PBS

手順

3. T-PBSで洗浄する（4分間×3回）。
4. 二次抗体反応液（ブロッキングバッファー、Tween-20、SDS、蛍光標識抗ウサギIgG抗体）に浸し、60分間揺らす（遮光）。
5. T-PBSで洗浄する（4分間×3回、遮光）。
6. この間に蛍光検出装置Odysseyを起動しておく。
7. PBSで洗浄する（4分間、遮光）。
8. OdysseyにPVDF膜をセットし、VWFマルチマーを検出する。データをTIFF形式で保存する。
9. Tamuraらの論文（J Atheroscler Thromb 22, 1115-1123, 2015）に従い、Large Multimer Indexを算出する。

## C. 研究結果

得られたデータの一例を示す。



同様の検討を、東北大学および奈良県立医科大学でも各施設の解析法で実施し、それぞれのデータを照合した。その結果、下記の実験条件を統一し、それ以外は各施設の方法に委ねることに決定した。

- ・ゲルのアガロース濃度を1%にする。
- ・一次抗体はDAKO社のHRP標識抗VWFポリクローナル抗体（P0226）を用いる。
- ・正常血漿のLarge Multimer Ratioが20-30%になるよう、検出感度を調整する。

## D. 考察

今回、VWFマルチマーの解析方法および得られるデータを三施設で比較し、統一すべき実験条件と、各施設に委ねる条件を決定した。今後、標準検体を利用して今回の決定事項を再確認し、必要であれば改良を施したいと考えている。最終的な方法を早急に確定し、本研究で集積した血漿検体の本格的な解析を開始したい。

## E. 結論

VWFマルチマーの解析法の三施設による共同検討を行い、方法の標準化を行うことができた。今後、早急に最終確認を行い、臨床検体を用いた病態解析を進める。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, and Masaomi Nangaku: No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. *Int. J. Hematol.* 104 (2), 223-227 (2016)

Koichi Kokame: Subsequent Response of VWF and ADAMTS13 to Aortic Valve Replacement. *J. Atheroscler. Thromb.* 23 (10), 1141-1143 (2016)

Nobuyuki Tsujii, Isao Shiraishi, Koichi Kokame, Midori Shima, Yoshihiro Fujimura, Yukihiro Takahashi, Masanori Matsumoto: Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. *Pediatrics* 138 (6), e20161565 (2016)

Takuma Maeda, Katsura Nakagawa, Kuniko Murata, Yoshiaki Kanaumi, Shu Seguchi, Shiori Kawamura, Mayumi Kodama, Takeshi Kawai, Isami Kakutani, Yoshihiko Ohnishi, Koichi Kokame, Hitoshi Okazaki, and Shigeki Miyata: Identifying patients at high risk of heparin-induced thrombocytopenia-associated thrombosis with a platelet activation assay using flow cytometry. *Thromb. Haemost.* 117 (1), 127-138 (2017)

堀内久徳, 松本雅則, 小亀浩市: 循環器疾患随伴後天性フォンウィルブランド症候群の臨床的インパクト. *日本血栓止血学会誌* 27 (3), 316-321 (2016)

#### 別添 4

秋山正志, 小亀浩市: 腸内細菌代謝産物 TMAOは血小板の反応性亢進と血栓症リスクを増強する. 日本血栓止血学会誌 27 (3), 384 (2016)

#### 2. 学会発表

小亀浩市: 先天性TTP/USSの遺伝子解析の現状. 第10回日本血栓止血学会SSCシンポジウム, 東京, 2016年2月20日

小亀浩市, 内田裕美子, 宮田敏行, 松本雅則, 藤村吉博, 吉田瑤子, 加藤秀樹, 南学正臣: デジタルPCRを用いたaHUS関連遺伝子異常の検出. 第38回日本血栓止血学会学術集会, 奈良, 2016年6月16日-18日

大和恵子, 中城有香子, 井本(山本)ひとみ, 小亀浩市, 宮田敏行, 片岡大治, 高橋淳, 柳本広二: Activated protein C (APC) in the acute phase suppresses the development of cerebral injuries after focal cerebral ischemia. 第39回日本神経科学大会, 横浜, 2016年7月20日-22日

Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, and Masaomi Nangaku: No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. The 26th International Complement Workshop, Kanazawa,

September 4-8, 2016.

堀内久徳, 坂爪公, 松本雅則, 小亀浩市, 齋木佳克: 人工心臓内の高ずり応力が引き起こす出血性疾患: 後天性フォンウィルブラント症候群. 第89回日本生化学会大会, フォーラム企画「生体材料・人工臓器の現状と未来」, 仙台, 2016年9月25日-27日

Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, and Yoshihiro Fujimura: Analysis of thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency in a Japanese registry. The 9th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis, Taipei, Taiwan, October 6-9, 2016.

Keiko Yamato, Yukako Nakajo, Hitomi Yamamoto-Imoto, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Hiroharu Kataoka, Jun C. Takahashi, and Hiroji Yanamoto: Activated protein C (APC) in the acute phase suppresses the development of cerebral infarction after focal cerebral ischemia. Neuroscience 2016, San Diego, USA, November 12-16, 2016.

#### H. 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

## 標準血漿作成のための健常人ABO血液型別VWF解析

研究分担者	松本雅則	奈良県立医科大学	輸血部	教授
研究協力者	早川正樹	奈良県立医科大学	輸血部	助教
	酒井和哉	奈良県立医科大学	輸血部	診療助教

## 研究要旨

von Willebrand 因子 (VWF) は、ABO 血液型のある糖鎖を持つ数少ない血漿糖タンパク質である。その影響により、ABO 血液型の O 型は、他の血液型に対して 25-30% VWF 抗原量が低値であることが報告されている。AVeC 研究において、多施設で VWF 解析を行うためには、基準となる標準血漿を作成する必要がある。そのために、本研究では健常人の ABO 血液型別に VWF を解析し、標準血漿作成のための基礎解析を行った。

ABO 血液型 4 型それぞれ 10 名の健常人から採血し、それらの検体において、VWF 抗原量、ADAMTS13 活性、VWF マルチマー解析を行った。10 名ずつ計 40 名の年齢は 18～24 歳と若く、男性が約 2/3 であった。VWF 抗原量は全体で 142.7% と高い傾向を認めた。血液型別の比較では既報のごとく O 型が他の血液型より低く、AB 型とは有意な差を認めた。ADAMTS13 活性は全体では 94.6% であり、血液型別の差は認めなかった。全 40 例の VWF マルチマー解析の結果、肉眼的にもマルチマーの分布に明らかな差は認めず、デンシトメトリー解析の結果でも明らかな差は認めなかった。

以上の結果より、40 名の血漿をプールすることが妥当と判断し、100uL ずつ凍結保存し、標準血漿として解析施設に送付した。

## A. 研究の目的

von Willebrand 因子 (VWF) 抗原量は、ABO 血液型の O 型において他の血液型に対して 25-30% 低値であることが報告されている。AVeC 研究において、多施設で VWF 解析を行うためには、基準となる標準血漿を作成する必要がある。そのために、本研究では健常人の ABO 血液型別に VWF を解析し、標準血漿作成のための基礎解析を行った。

## B. 研究方法

ABO 血液型 4 型それぞれ 10 名の健常人から採血し、それらの検体において、VWF 抗原量、ADAMTS13 活性、VWF マルチマー解析を行った。VWF の抗原量及び ADAMTS13 活性は、奈良医大輸血部で使用しているプ

ール血漿を 100% と定義した。このプール血漿は、WHO 標準血漿と比較すると VWF 抗原 120.9%、ADAMTS13 活性 123.3% とやや高い傾向を示した。

4 群の比較は Kruskal-Wallis 検定を行い、 $p < 0.05$  の場合には有意と判定し、2 群比較を Tukey 法で行った。

## (倫理面への配慮)

本研究は、奈良医大の倫理委員会の許可を受けて実施した。また、検体採取に際しては、主治医より被験者に十分な説明を行い、文書による同意を得た。

## C. 研究成果

表 1 に 10 名ずつ計 40 名の ABO 血液型別健常人の特徴を示した。年齢は 18～24

歳と若く、男性が 27 名と約 2 / 3 であった。VWF 抗原は全体で 142.7%と高い傾向を認めた。血液型別の比較では図 1 の上図に示すように既報のごとく O 型が他の血液型より低く、AB 型とは有意な差を認めた ( $p=0.037$ )。ADAMTS13 活性は全体では 94.6%であり、血液型別の差は認めなかった (図 1 下図)。

全 40 例の VWF マルチマー解析の結果と VWF 抗原、ADAMTS13 活性の結果を図 2 に示す。肉眼的にもマルチマーの分布に明らかな差は認めず、NIH image によるデンシトメトリー解析の結果でも明らかな差は認めなかった。

#### D. 考察

ABO 血液型は赤血球のみだけではなく、血漿タンパク質にも存在が認められることが報告されており、VWF の他に  $\beta 2$  ミクログロブリン、第 VIII 因子が知られている。ABO 血液型糖鎖は、N グルコシド結合糖鎖に含まれていると考えられている。VWF は、O 型の場合には抗原量が他の血液型に比べて 70%程度に低下していることが知られており、産生低下ではなく、血液中からのクリアランスが亢進していると考えられている。

今回の対象健常人においても O 型の VWF 抗原量はもっとも低かったが、ADAMTS13 活性に関しては血液型別の差は認めなかった。ADAMTS13 は VWF を切断する酵素であるが、切断部位周囲に N 型グルコシド結合糖鎖が存在することが報告されている。この ABO 血液型の違いにより、ADAMTS13 の切断されやすさが存在するのではないかと考えられている。

今回、ABO 血液型により VWF マルチマーの分布の相違は認めなかった。一般的に、ABO 血液型は同数混合して標準血漿とすることが多いが、今回もこの結果を受けて 10 名ずつ 40 名の標準血漿を作成する予定である。

#### E. 結論

ABO 血液型 10 名ずつの健常人から採取した血漿を用いて、VWF 抗原量、ADAMTS13

活性、VWF マルチマーを解析した。その結果、VWF 抗原量以外の血液型別の大きな際は認めず、この 40 人の血漿を混合して、標準血漿を作成する予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

1. Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, Abe T, Hayata Y, Yamaguchi N, Sugimoto M, Fujimura Y, Matsumoto M, Taniguchi S. Rapid restoration of thrombus formation and high-molecular-weight von Willebrand factor multimers in patients with severe aortic stenosis after valve replacement. *J Atheroscler Thromb.* 23:1150-1158, 2016
2. Fujino Y, Inoue Y, Onodera M, Kikuchi S, Sato M, Kojika M, Sato H, Suzuki K, Matsumoto M. Acute pancreatitis-induced thrombotic thrombocytopenic purpura with recurrent acute pancreatitis. *Clin J Gastroenterol.* 9:104-108, 2016
3. Fujiwara S, Mochinaga H, Nakata H, Ohshima K, Matsumoto M, Uchiba M, Mikami Y, Hata H, Okuno Y, Mitsuya H, Nosaka K. Successful treatment of TAFRO syndrome, a variant type of multicentric Castleman disease with thrombotic microangiopathy, with anti-IL-6 receptor antibody and steroids. *Int J Hematol.* 103:718-723, 2016
4. Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M. No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. *Int J Hematol.* 104:223-227, 2016

5. Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. **Int J Hematol.** 104:228-235, 2016
6. Ichikawa S, Sasaki K, Takahashi T, Hayakawa M, Matsumoto M, Harigae H. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with *Klebsiella* pneumonia in the background of alcoholic liver cirrhosis. **Case Reports in Internal Medicine** 3:30-35, 2016
7. Tsujii N, Nogami K, Yoshizawa H, Hayakawa M, Isonishi A, Matsumoto M, Shima M. Influenza-associated thrombotic microangiopathy with unbalanced von Willebrand factor and a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 levels in a heterozygous protein S-deficient boy. **Pediatr Int** 58:926-929, 2016
8. Tsujii N, Shiraishi I, Kokame K, Shima M, Fujimura Y, MD, Takahashi Y, Matsumoto M. Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. **Pediatrics**, 138: e20161565, 2016
9. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. **J Thromb Haemost** 15:312-322, 2017
10. Akutagawa T, Shindo T, Yamanouchi K, Hayakawa M, Ureshino H, Tsuruoka N, Sakata Y, Shimoda R, Noguchi R, Furukawa K, Morita S, Iwakiri R, Kimura S, Matsumoto M, Fujimoto K. Persistent Gastrointestinal Angiodysplasia in Heyde's Syndrome After Aortic Valve Replacement. **Intren Med.** In press.
11. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Ozeki Y, Sakurai Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. Mutant botrocetin-2 inhibits von Willebrand factor-induced platelet agglutination. **J Thromb Haemost.** In press.
12. 松本雅則. フォンウィルブランド因子とその切断酵素ADAMTS13. 特集 循環器疾患が引き起こすフォンウィルブランド症候群. **BIO Clinica** 31, 565-568, 2016
13. 堀内久徳, 松本雅則, 小亀浩市. 循環器疾患随伴後天性フォンウィルブランド症候群の臨床的インパクト. **血栓止血学会誌** 27, 316-321, 2016

## 学会発表

1. 松本雅則. TMA における血漿療法と病因に基づいた新規治療法の選択. **第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会** 国立京都国際会館、2016 年 4 月 28 日 (シンポジウム)
2. 松本雅則. 病因に基づいた TMA の診断と治療法の選択. **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、2016 年 6 月 17 日 (教育講演)

3. 早川正樹、松本雅則、山下慶吾、阿部毅寿、谷口繁樹. 大動脈弁置換術で小腸血管異常まで改善した Heyde 症候群のマルチマー解析. **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. 2016 年 6 月 18 日
  4. 松本雅則、錦織直人、小山文一、早川正樹、畠山金太、高濟峯、藤村吉博、中島祥介. 大腸がん化学療法後の肝類洞障害は von Willebrand 因子による血小板血栓形成により発症する. **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. 2016 年 6 月 18 日
  5. Hayakawa M, Kato S, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative evaluation of degradation products in von Willebrand factor A2 domain by ADAMTS13. **第 78 回日本血液学会学術集会**. パシフィコ横浜. 2016 年 10 月 15 日
  6. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Matsumoto M, Hayakawa M, Fujimura Y. The point-mutated botrocetin-2 inhibits VWF-induced platelet agglutination. **第 78 回日本血液学会学術集会**. パシフィコ横浜. 2016 年 10 月 13 日
  7. 早川正樹、酒井和哉、長谷川真弓、前田美和、辻内智美、馬場由美、下村志帆、隅志穂里、上野華恵、松下彰利、杉邑俊樹、梅木弥生、松本雅則. 大動脈弁狭窄症の根治術により難治性消化管出血が改善した症例. **第 60 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会**. 大阪国際交流センター. 2016 年 11 月 26 日
  8. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Yoshii Y, Yagi H, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative ELISA Using N10 Antibody, Targeting on VWF-Y1605 Residue, Indicates That N-Linked Blood Group Type A Carbohydrate on VWF Molecule Functions Against ADAMTS13 Cleavage. **The 58th Annual meeting of American Society of Hematology**. San Diego Convention Center. 2016 年 12 月 5 日
  9. 堀内久徳、松本雅則、小亀浩市、The Avec Study Group. 標準化した VWF マルチマー解析によって評価した循環器疾患随伴 A V W S の重症度と出血性合併症の関係. **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
- H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 齋木佳克・東北大学・心臓血管外科学分野・教授

**研究要旨**：種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度と、それによって生じる出血性合併症の頻度を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立することを目的とした多施設共同研究に参画した。当該年度では、診断法を標準化し診断基準とする測定値の定量化を行うために循環器疾患症例のうち、当施設の特性を生かし、機械的補助循環を必要とした症例を中心とした登録を担当した。全体では、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録されたが、当施設としては、機械的補助循環症例を65例、大動脈弁狭窄症症例1例の登録を行った。平成29年度中に検体を用いた血液生化学的解析がなされる計画である。平成28年度には我が国における人工心臓装着症例の出血性合併症発症におけるAVWSの寄与度の大きな関心が寄せられ、全国のLVAD医療を積極的に行っている10施設と、本AVeC研究における3つのVWF多量体解析施設が共同して、LVAD症例を登録し、AVWSを評価しつつ出血性合併症を前向きに評価する多施設共同前向き臨床研究LVAD-AVWS Studyを本AVeC Studyと互いに協調しつつ、実施することとなった。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド因子多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は症例登録を行った。

**C. 研究結果**

我々の施設からは、機械的補助循環症例65例、大動脈弁狭窄症1例の登録を行い、血漿を東北大学加齢医学研究所に送付した。我々の東北大におけるこれまでの小規模な成果発表や、国内外での研究成果によって、我が国における人工心臓装着症例の出血性合併症発症におけるAVWSの寄与度の大きな関心が寄せられ、平成28年度に全国のLVAD医療を積極的に行っている10施設と、本AVeC研究における3つ

のVWF多量体解析施設が共同して、LVAD症例を登録し、AVWSを評価しつつ出血性合併症を前向きに評価する多施設共同前向き臨床研究LVAD-AVWS Studyを開始した。このLVAD-AVWS Studyは、平成29年度の日本医療研究開発機構 (AMED) の研究費に採択され、本AVeC Studyと互いに協調しつつも、独立して研究を進めることとなった。

**D. 考察**：

症例は順調に集積しているが、未だ十分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。

**E. 結論**

平成28年度は、機械的補助循環症例を65例、大動脈弁狭窄症1例の登録を行った。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

1. Sakatsume, K. Akiyama, M. Saito, K. Kawamoto, S. Horiuchi, H. Saiki, Y. Intractable bleeding tendency due to acquired von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant. J Artif Organs, Sep 2016, 19(3):289-92

#### 別添 4

2. 坂爪公、堀内久徳 (2016) 「高ずり応力が引き起こす後天性フォンウィルブランド症候群」人工臓器 45, 225-228
  3. 坂爪公、齋木佳克 (2016) 「人工循環中の出血凝固因子」人工臓器 45, 221-224
  4. 坂爪公、齋木佳克 (2016) 機械的補助循環治療の現況とその合併症としての後天性フォンウィルブランド症候群、*BIO Clinica* 31, 577-580
2. 学会発表
1. 第 44 回人工心臓と補助循環懇話会 (2016. 3. 4-5、松島 大観荘) 坂爪公、秋山正年、斎藤健貴、川本俊輔、堀内久徳、齋木佳克 東北大学心臓血管外科「植込型補助人工心臓における出血合併症－後天性フォンウィルブランド症候群の定量的評価－」
  2. 第 80 回日本循環器学会学術集会 (2016. 3. 18-20、仙台) Ko Sakatsume, Masatoshi Akiyama, Kenki Saito, Ichiro Yoshioka, Shinya Masuda, Hidenori Fujiwara, Osamu Adachi, Kiichiro Kumagai, Shunsuke Kawamoto, Hisanori Horiuchi, Yoshikatsu Saiki Acquired von

- Willebrand Syndrome in Patients with Implantable Left Ventricular Assist Device
3. 第 48 回日本動脈硬化学会学術総会(2016. 7. 14-15、東京) スポンサーシンポジウム「人工心臓医療の現状と将来：血栓と出血との闘い」坂爪公、堀内久徳、齋木佳克 「補助人工心臓治療における出血合併症と後天性フォンウィルブランド症候群」
  4. 24th congress of the International Society for Rotary blood Pumps (ISRBP 2016) (2016. 9. 20-22, Mito Japan) Ko Sakatsume, Masatoshi Akiyama, Kenki Saito, Shunsuke Kawamoto, Hisanori Horiuchi, Yoshikatsu Saiki Acquired von Willebrand syndrome associated with implantable left ventricular assist device

H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 下川宏明 ・ 東北大学医学系研究科循環器内科学・教授

**研究要旨：**ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症を有する患者では出血傾向を認めることがあるが、原因は不明であった。これらの病態では共通して体内で過度の高張り応力が生じており、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群 (aVWS) を合併している可能性が考えられる。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々は肺高血圧症患者7例、大動脈弁狭窄症5例、大動脈弁閉鎖不全症1例、僧帽弁閉鎖不全症1例、先天性心疾患患者1例の登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、患者ごとのカルテを参照しイベントの有無を追う。さらに疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は症例登録を行った。

(倫理面の配慮)

インフォームドコンセントを得て、研究を行った。さらにオプトアウトの機会を設けている。

**C. 研究結果**

我々の施設からは、肺高血圧症患者7例、大動脈弁狭窄症5例、大動脈弁閉鎖不全症1例、僧帽弁閉鎖不全症1例、先天性心疾患患者1例の登録を行った。さらに血漿を東北大学加齢医学研究

所に送付した。

**D. 考察：**

症例は順調の集積しており、順次解析を施行する。症例登録は順調に進んでいるが、未だ十分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。

**E. 結論**

平成28年度は症例を行った。

**G. 研究発表**

1. 論文発表  
特記すべきことなし

2. 学会発表  
特記すべきことなし

**H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書**

**循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の  
診断基準の確立に関する研究**

研究分担者 木村剛・京都大学大学院医学研究科・循環器内科学講座・教授

**研究要旨：**重症大動脈弁狭窄症ファロー四徴症、肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や、末期心不全の治療に用いられる埋め込み型人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々はaVWS症、2例の登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。

**A. 研究目的**

大動脈弁狭窄症をはじめとした種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

平成28年度は重度大動脈弁狭窄症 2症例を行った。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。また、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

- ① Toyofuku M, Taniguchi T, Morimoto T, Yamaji K, Furukawa Y, Takahashi K, Tamura T, Shiomi H, Ando K, Kanamori N, Murata K, Kitai T, Kawase Y, Izumi C, Miyake M, Mitsuoka H, Kato M, Hirano Y, Matsuda S, Inada T, Murakami T, Takeuchi Y, Yamane K, Ishii M, Minamino-Muta E, Kato T, Inoko M, Ikeda T, Komasa A, Ishii K, Hotta K, Higashitani N, Kato Y, Inuzuka Y, Maeda C, Jinnai T, Morikami Y, Saito N, Minatoya K, Kimura T; CURRENT AS Registry Investigators. Sex Differences in Severe Aortic Stenosis - Clinical Presentation and Mortality. *Circ J*. 2017 Apr 8. doi: 10.1253/circj.CJ-16-1244. [Epub ahead of print]
- ② Shirai S, Taniguchi T, Morimoto T, Ando K, Korai K, Minakata K, Hanyu M, Yamazaki F, Koyama T, Komiya T,

**C. 研究結果**

我々の施設からは、大動脈弁狭窄症に起因するaVWS症 2例の登録を行い、血漿を東北大学加齢医学研究所に送付した。

**D. 考察：**

症例は順調の集積しており、順次解析を施行する。症例登録は順調に進んでいるが、未だ十分ではなく、さらに症例登録をすすめる必要がる。

**E. 結論**

- Kanamori N, Murata K, Kitai T, Kawase Y, Izumi C, Inada T, Minamino-Muta E, Kato T, Inoko M, Ishii K, Saito N, Yamanaka K, Nishiwaki N, Nakajima H, Saga T, Nakayama S, Sakaguchi G, Iwakura A, Shiraga K, Ueyama K, Fujiwara K, Miwa S, Nishizawa J, Kitano M, Kitayama H, Sakata R, Kimura T; CURRENT AS Registry Investigators. Five-Year Clinical Outcome of Asymptomatic vs. Symptomatic Severe Aortic Stenosis After Aortic Valve Replacement. *Circ J*. 2017 Mar 24;81(4):485-494. doi: 10.1253/circj.CJ-16-0998. Epub 2017 Feb 9.
- ③ Kitai T, Taniguchi T, Morimoto T, Toyota T, Izumi C, Kaji S, Kim K, Saito N, Nagao K, Inada T, Minamino-Muta E, Kato T, Inoko M, Ishii K, Koyama T, Sakata R, Furukawa Y, Kimura T; CURRENT AS registry Investigators. Different clinical outcomes in patients with asymptomatic severe aortic stenosis according to the stage classification: Does the aortic valve area matter? *Int J Cardiol*. 2017 Feb 1;228:244-252. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.11.092. Epub 2016 Nov 11.
- ④ Taniguchi T, Morimoto T, Sakata R, Kimura T. Reply: Is it Time for a New Paradigm in Asymptomatic Severe Aortic Stenosis?: Asymptomatic Severe Aortic Stenosis: Oxymoron? A Randomized Trial in Patients With Asymptomatic Severe Aortic Stenosis: A Future Has Begun! Might Outcome of Patients With Asymptomatic Severe AS Be Improved by an Initial Surgical Strategy? *J Am Coll Cardiol*. 2016 Apr 26;67(16):1972-3. doi: 10.1016/j.jacc.2016.02.021. No abstract available.
- ⑤ Taniguchi T, Morimoto T, Shiomi H, Ando K, Kanamori N, Murata K, Kitai T, Kawase Y, Izumi C, Miyake M, Mitsuoka H, Kato M, Hirano Y, Matsuda S, Nagao K, Inada T, Murakami T, Takeuchi Y, Yamane K, Toyofuku M,

Ishii M, Minamino-Muta E, Kato T, Inoko M, Ikeda T, Komasa A, Ishii K, Hotta K, Higashitani N, Kato Y, Inuzuka Y, Maeda C, Jinnai T, Morikami Y, Sakata R, Kimura T; CURRENT AS Registry Investigators. Initial Surgical Versus Conservative Strategies in Patients With Asymptomatic Severe Aortic Stenosis. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Dec 29;66(25):2827-38. doi: 10.1016/j.jacc.2015.10.001. Epub 2015 Oct 15.

2. 学会発表  
なし

H. 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

循環器疾患に合併する後天性フォンウィルブランド病の実態解明に関する研究

研究分担者 安田聡 国立循環器病研究センター副院長

研究要旨：フォンウィルブランド病（IIA型）を来す可能性のある循環器疾患において、その頻度や重症度、および出血性合併症の出現様態、抗血栓薬の影響、侵襲的治療の効果を明らかにする。

A. 研究目的

大動脈弁狭窄症や人工弁周囲の弁逆流を有する患者では狭窄部や逆流部位での高度のずり応力が生じる可能性がありフォンウィルブランド因子の立体構造の変化が高分子マルチマーの欠損に関連し出血傾向を惹起する可能性が指摘されている。フォンウィルブランド病（IIA型）を来す可能性のある循環器疾患において、その頻度や重症度、および出血性合併症の出現様態、抗血栓薬の影響、侵襲的治療の効果を明らかにする。

B. 研究方法

重症大動脈弁狭窄症や人工弁周囲の弁逆流を有する患者に血液検査を実施。血液検体は東北大学加齢医学研究所に送付されウエスタンブロット方法を用いて高分子マルチマーの定量を行い評価する。（倫理面への配慮）ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」及び試験実施計画書を遵守して実施している。文書による説明同意を行っている。

C. 研究結果

現在までに22例の大動脈弁狭窄症、人工弁術後患者の血液検査を実施した。うち16例を東北大学へ試料送付済みである

D. 考察

高度のずり応力を生じる疾患として大動脈弁狭窄症に加え人工弁置換術後の弁周囲逆流が挙げられ当院では対象疾患に追加し検討を行っている。  
マルチマー解析については現在主幹施設で検討を行っている。

E. 結論

本年度は主に症例の登録を行った。マルチマー解析については現在主幹施設で検討を行っている。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）  
分担施設では予定していない。

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

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 中川義久 天理よろづ相談所病院 循環器内科 部長

**研究要旨：**ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高ずり応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々は大動脈弁狭窄症1例の登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的に解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は症例登録を行った。

**C. 研究結果**

我々の施設からは、大動脈弁狭窄症1例の登録を行い、血漿を東北大学加齢医学研究所に送付した。

**D. 考察：**

症例は今後積極的に集積をすすめ、順次解析を施行する。現時点では症例登録は、未だ十

分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。我々の病院では院内の体制を整えるのに時間がかかり、平成28年度の症例登録は少なかった。平成29年度は増加できると考えている。

**E. 結論**

平成28年度は1症例を行った。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

1. T. Tamura, H. Horiuchi, M. Imai, T. Tada, H. Shiomi, M. Kuroda, S. Nishimura, Y. Takahashi, Y. Yoshikawa, A. Tsujimura, M. Amano, Y. Hayama, S. Imamura, N. Onishi, Y. Tamaki, S. Enomoto, M. Miyake, H. Kondo, K. Kaitani, C. Izumi, T. Kimura, Y. Nakagawa (2015) Unexpectedly high prevalence of acquired von Willebrand syndrome in patients with severe aortic stenosis as evaluated with a novel large multimer index J Atherosclerosis Thrombosis 22, 1115-112
2. 田村俊寛 (2016) 大動脈弁狭窄症の伴い消化管出血：ハイド症候群、BIO Clinica 31, 569-572

2. 学会発表

#### 別添 4

1. 田村俊寛 PCPS (percutaneous cardiopulmonary support) 装着患者に合併する後天性フォンウィルブランド病 2016動脈硬化学会総会シンポジウム
2. Toshihiro Tamura Acquired von Willebrand Syndrome in Patients with Percutaneous

Cardiopulmonary Support System 2017 日本循環器学会総会

H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 山中一朗 天理よろづ相談所病院 心臓血管外科 部長

**研究要旨：**ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高ずり応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々も平成29年度より積極的に症例登録を行う予定である。平成29年度に解析がなされる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的に解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は症例登録を行った。

**C. 研究結果**

我々の施設からは、大動脈弁狭窄症1例の登録を行い、血漿を東北大学加齢医学研究所に送付した。

**D. 考察：**

症例は今後積極的に集積をすすめ、順次解析を施行する。現時点では症例登録は、未だ十分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。

**E. 結論**

平成28年度は院内の体制を整えるのに時間がかかり、症例登録が少なかった。今後積極的に登録していく予定である。

**G. 研究発表**

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

**H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 土井 拓 天理よろづ相談所病院 小児科 部長

**研究要旨：**ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高ずり応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。成29年度に解析がなされる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的に解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は症例登録を行った。

**C. 研究結果**

我々の施設からは、大動脈弁狭窄症1例の登録を行い、血漿を東北大学加齢医学研究所に送付した。

**D. 考察：**

症例は今後積極的に集積をすすめ、順次解析を施行する。現時点では症例登録は、未だ十分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。先天性心疾患でのAVWS発症が想定され、実態を解明したいと考えている。小児科の参加施設は我々のみであり、今後症例登録に努めたい。

**E. 結論**

平成28年度は登録を行っておらず、平成29年度より積極的に登録していく予定である。

**G. 研究発表**

1. 論文発表
2. 学会発表

**H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 安藤献児・小倉記念病院循環器内科・主任部長

**研究要旨:** 種々の循環器疾患症例を体系的に登録・解析し、その予後を追跡することで我が国における循環器疾患に合併する後天性フォンウィルブランド病の頻度や診療上の留意点を明らかにする。2017年4月21日現在、当院では271例の患者登録を行った。

**A. 研究目的**

後天性フォンウィルブランド病をきたしうる循環器疾患を体系的に評価し、後天性フォンウィルブランド病の病態を解明し、その対処法を確立することを目的とする。

**B. 研究方法**

多施設前向き観察研究であり、それぞれの対象循環器疾患ごとに、後天性フォンウィルブランド病および出欠合併症の発症頻度・発症を来す臨床状況(検査値等)を横断的、縦断的解析により明らかにする。

(倫理面の配慮)

インフォームドコンセントを得て、研究を行った。さらにオプトアウトの機会を設けている。

**C. 研究結果**

2017年4月21日現在、当院では271例の患者登録を行った。

**D. 考察:**

症例は順調の集積しており、順次解析を施行する。症例登録は順調に進んでいるが、未だ十分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。なお、平成28年度は当施設心臓外科の協力も得て271例の患者を登録した。平成29年度は、種々の対象疾患を多く登録したいと考えている。

**E. 結論**

平成28年度は症例を行った。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

特記すべきことなし

2. 学会発表

特記すべきことなし

**H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 羽生 道弥 小倉記念病院 心臓血管外科 主任部長

### 研究要旨

ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々はxx症、yy例、xx症yy例の登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。平成29年度は消化器疾患(主に小腸出血症例)を登録し、解析にあたる計画である。

#### A. 研究目的

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

#### B. 研究方法

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。

本研究において、本分担研究者は多数例の心臓外科手術前後の血液試料を採取して循環器疾患症例の登録を担い平成28年度は循環器系を中心に症例登録を行った。

#### C. 研究結果

解析法の標準化・定量化の確立、循環器系症例を中心に症例登録プロセスを確立できた。我々の施設よりは、循環器内科と共に、2017年4月21日現在、当院では271例の患者登録を行った。

#### D. 考察

本研究での症例登録・解析の準備は完成し、循環器系症例の登録が大動脈弁狭窄症を中心に進んでいる。

#### E. 結論

平成28年度は体制が整い、循環器系症例の登録が順調に進んだ。

#### G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

TREND InterConference 2016 (iTREND心臓先端医療研究会主催) (2016.2.6, 倉敷) シンポジウム「Experienced teamに聞く! TAVIにまつわる諸問題」にて、羽生道弥、「Valve in valveをみすえた生体弁の年齢適応、TAVIを行う年齢の上限下限」

#### H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 福本義弘 久留米大学医学部内科学講座心臓・血管内科部門・教授

**研究要旨：** 出血性疾患を合併しやすい循環器疾患として、ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態が挙げられるが、これらには、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々は大動脈弁狭窄症、17例の登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的に解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は症例登録を行った。

**C. 研究結果**

我々の施設からは、大動脈弁狭窄症、17例の登録を行い、血漿を東北大学加齢医学研究所に送付した。

**D. 考察：**

症例は順調の集積しており、順次解析を施行する。症例登録は順調に進んでいるが、未だ十分ではなく、さらに蓄積していかなければならない。

**E. 結論**

平成28年度は大動脈弁狭窄症症例のサンプル集積を行った。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

大場豊治、福本義弘 (2016) 肺高血圧に伴う後天性フォンウィルブランド症候群、*BIO Clinica* 31, 573-576

2. 学会発表

なし

**H. 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

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断 基準・重症度分類の確立

研究分担者 海北幸一 熊本大学循環器内科学講師

研究要旨：後天性フォンウィルブランド症候群を体系的に評価し、その実態を解明し、その診断基準・重症度分類を確立することを目的とする本研究において、分担研究施設として上記症候群に該当する疾患の血液サンプルを採取し、症例の収集に寄与した。

A. 研究目的

後天性フォンウィルブランド症候群を体系的に評価し、その実態を解明し、その診断基準・重症度分類を確立することを目的とする。

B. 研究方法

当施設では、高度大動脈弁狭窄症の患者を中心に術前、術後1日、2日に血液サンプルを採取し、中心施設である東北大学に郵送した。  
(倫理面への配慮)  
全参加患者に口頭及び文書で説明し、文書による同意書をいただき、ヘルシンキ宣言に則り施行する。

C. 研究結果

3例登録し、15検体を送付した。郵送した血液サンプルについては東北大学にて集中解析を依頼した。aVWSを診断するための解析法、フォンウィルブランド因子（VWF）多量体解析を標準化し、定量法を構築した。

D. 考察

今後上記症例を集積することにより、後天性フォンウィルブランド症候群の病態解明が進み、至適抗血栓療法が展開できるものとする。

E. 結論

本研究で後天性フォンウィルブランド合併時の適切な対処法を明らかにし、難病治療を向上させることが可能になる。

F. 健康危険情報

総括研究報告書に記載。

G. 研究発表

1. 論文発表  
分担者としては無し。
2. 学会発表  
分担者としては無し。

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
無し。
2. 実用新案登録  
無し。
3. その他  
特記すべきこと無し。

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

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 仲瀬 裕志・札幌医科大学医学部・消化器内科学講座・教授

**研究要旨**

ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。平成29年度は消化管出血疾患(主に小腸出血症例・原因不明の消化管出血も含める)を登録し、解析にあたる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は循環器系を中心に症例登録を行った。

**C. 研究結果**

解析法の標準化・定量化の確立、循環器系症例を中心に症例登録プロセスを確立できた。

**D. 考察**

本研究での症例登録・解析の準備は完成し、循環器系症例の登録が進んでいる。消化器系では当初、原因不明の小腸出血を対象とする計画であったが、症例が集まりにくいと考えられ、明らかな腫瘍や憩室、炎症を認めない、下部消化管(小腸・大腸)と変更した。今後そのような症例におけるaVWSの寄与度を明らかにしていく計画である。平成29年度より原因不明の下部消化管(小腸・大腸)症例を登録し、解析していく計画である。

**E. 結論**

平成28年度は体制が整い、循環器系症例の登録が順調に進んだ。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

1. Koshikawa Y, **Nakase H**, Matsuura M, Yoshino T, Honzawa Y, Minami N, Yamada S, Yasuhara Y, Fujii S, Kusaka T, Manaka D, Kokuryu H. Ischemic enteritis with intestinal stenosis. *Intest Res.* 2016;14: 89-95. 2016.
2. Yamada S, Koshikawa Y, Minami N, Honzawa Y, Matsuura M, **Nakase H**. Ileal follicular lymphoma with atypical endoscopic findings. *Endosc Int Open.* 2016; 4:E323-325.
3. Tamaki H, **Nakase H**, Inoue S, Kawanami C, Itani T, Ohana M, Kusaka T, Uose S, Hiroshi H, Tojo M, Noda T, Arasawa S, Izuta M, Kubo A, Ogawa C, Matsunaka T, Shibatouge M. Efficacy of probiotic treatment with *Bifidobacterium longum* 536 for induction of remission in active ulcerative colitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial. *Dig Endosc.* 2016; 28: 67-74.
4. Oda H, Sato T, Kunishima S, Nakagawa K, Izawa K, Hiejima E, Kawai T, Yasumi T, Doi H, Katamura K, Numabe H, Okamoto S, **Nakase H**, Hijikata A, Ohara O, Suzuki H, Morisaki H, Morisaki T, Nunoi H, Hattori S, Nishikomori R, Heike T. Exon skipping causes atypical phenotypes associated with a loss-of-function mutation in FLNA by restoring its protein function. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24:408-414.
5. **Nakase H**, Herfarth H. Cytomegalovirus (CMV) colitis, CMV hepatitis and systemic CMV infection – common features and differences. *Inflamm Intest Dis.* 2016; 1:15-23.
6. Hiejima E, **Nakase H**, Matsuura M, Honzawa Y, Higuchi H, Saida S, Umeda K, Hiramatsu H, Adachi S, Izawa K, Kawai T, Yasumi T, Nishikomori R, Heike T. Diagnostic accuracy of Endoscopic features of pediatric acute gastrointestinal graft-versus-host disease. *Dig Endosc.* 2016; 28; 548-556.
7. Naganuma T, Takemoto Y, Iwai T, Kuwabara N, Uchida J, Nakatani T, Kitamura K, Masuda A, Ohmori K, Matsuura M, **Nakase H**. Effects of Granulocyte and Monocyte Adsorptive Apheresis in Renal Transplantation Recipients With Concomitant Cytomegalovirus Infection. *Transplant Proc.* 2016; 48:929-932.
8. **Nakase H**, Onodera K. targeting cytomegalovirus during ulcerative colitis flare-ups. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016; Jun2:1-7.
9. Iida T, Adachi T, Nakagaki S, Yabana T, Goto A, Kondo Y, **Nakase H**. Pneumomediastinum caused by hypopharyngeal perforation during endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Endoscopy.* 48 Suppl 2016; 1:E206-7.
10. Okada K, Arai S, Itoh H, Adachi S, Hayashida M, **Nakase H**, Ikemoto M. CD68 on rat macrophages binds tightly to S100A8 and S100A9 and helps to regulate the cells' immune functions. *Leukoc Biol.* 2016;100:1093-1104.
11. **Nakase H**, Keum B, Ye BD, Park SJ, Koo HS, Eun CS. Treatment of inflammatory bowel disease in Asia: the results of a multinational web-based survey in the 2nd Asian Organization of Crohn's and Colitis (AOCC) meeting in Seoul. *Intest Res.* 2016;14:231-239.
12. Yamasaki K, Matsui T, Hisabe T, Yano Y, Hirai F, Morokuma T, Iwao Y, Matsumoto T, Ohi H, Andoh A, Esaki M, Aoyagi K, Sugita A, **Nakase H**, Fujiya M, Higashi D, Futami K. Retrospective Analysis of Growth Speed of 54 Lesions of Colitis-associated Colorectal Neoplasia. *Anticancer Res.* 2016; 36:3731-3740.
13. Watanabe T, Ajioka Y, Mitsuyama K, Watanabe K, Hanai H, **Nakase H**, Kunisaki R, Matsuda K, Iwakiri R, Hida N, Tanaka S, Takeuchi Y, Ohtsuka K, Murakami K, Kobayashi K, Iwao Y, Nagahori M, Iizuka B, Hata K, Igarashi M, Hirata I, Kudo SE, Matsumoto T, Ueno F, Watanabe G, Ikegami M, Ito Y, Oba K, Inoue E, Tomotsugu N, Takebayashi T, Sugihara K, Suzuki Y, Watanabe M, Hibi T. Comparison of Targeted vs Random Biopsies for Surveillance of Ulcerative colitis-associated Colorectal Cancer. *Gastroenterology.* 2016; 151:1122-1130.
14. Matsumoto T, Motoya S, Watanabe K, Hisamatsu T, **Nakase H**, Yoshimura N, Ishida T, Kato S, Nakagawa T, Esaki M, Nagahori M, Matsui T, Naito Y, Kanai T, Suzuki Y, Nojima M, Watanabe M, Hibi T, Diamond Study Group. Adalimumab monotherapy and a combination with azathioprine for Crohn's disease: A prospective, randomized trial. *J Crohns Colitis.* 2016;10:1259-1266.
15. Iida T, Adachi T, Ohe Y, Nakagaki S, Yanana T, Kondo Y, **Nakase H**. Re-recurrence after distal gastrectomy for recurrence caused by needle tract seeding during endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of a pancreatic adenocarcinoma. *Endoscopy.* 2016; 48:E304-E305.
16. Toyonaga T, Matsuura M, Mori K, Honzawa Y, Naoki M, Yamada S, Kobayashi T, Hibi T, **Nakase H**. Lipocalin 2 prevents intestinal inflammation by enhancing phagocytic bacterial clearance in macrophages. *Scientific Repors.* 2016;6:35014.
17. Iida T, Goto A, **Nakase H**. An unusual cause of persistent abdominal pain. *Gastroenterology.* 2016; 151:811-812.
18. Kai M, Niinuma T, Kitajima H, Yamamoto E, Harada T, Aoki H, Maruyama R, Toyota M, Sasaki Y, Sugai T, Tokino T, **Nakase H**, Suzuki H. TET1 Depletion Induces Aberrant CpG Methylation in Colorectal Cancer Cells. *PLoS One.* 2016;11:e0168281.
19. Yoshino T, **Nakase H**, Takagi T, Bamba S, Okuyama Y, Kawamura T, Oki T, Obata H, Kawanami C, Katsushima S, Kusaka T, Tsujikawa T, Naito Y, Andoh A, Kogawa T. Risk factors for developing colorectal cancer in Japanese

#### 別添 4

patients with ulcerative colitis: a retrospective observational study-CAPITAL (Cohort and Practice for IBD total management in Kyoto-Shiga Links) study I. *BMJ Open Gastroenterol.* 2016; 3:e000122.

20. Kubo T, Yamashita, Onodera K, Iida T, Arimura Y, Nojima M, **Nakase H.** Heprarin bridge therapy and post-polypectomy bleeding. *World J Gastroenterol.* 2016; 22:10009-10014.
21. 本澤有介、松浦稔、仲瀬裕志 (2016) 消化管血管異形成 (angiodysplasia)の病態とその対処法、*BIO Clinica* 31, 581-584

#### 2. 学会発表

1. 膵癌における microRNA-196b 発現と生命予後および分子生物学的因子との関連. 口演, 菅野伸一, 石上敬介, 仲瀬裕志. 神戸 JDDW. 2016, 11, 3-6. (国内) .
2. 大腸癌に対する抗 EGFR 抗体薬の治療抵抗性予測因子としての EZH2 発現の意義. 口演, 山本 至, 能正勝彦, 仲瀬裕志. 神戸 JDDW. 2016, 11, 3-6. (国内) .

#### H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 下瀬川徹・東北大学・消化器内科講座・教授

**研究要旨**

ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかしながら、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々は小腸出血症、1例登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。平成29年度は消化器疾患(主に小腸出血症例)を登録し、解析にあたる計画である。

**A. 研究目的**

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法**

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は循環器系を中心に症例登録を行った。

**C. 研究結果**

解析法の標準化・定量化の確立、循環器系症例を中心に症例登録プロセスを確立できた。

**D. 考察**

本研究での症例登録・解析の準備は完成し、循環器系症例の登録が進んでいる。平成29年度は消化器疾患(主に小腸出血症例)症例の登

録を積み重ねる。

**E. 結論**

平成28年度は体制が整い、循環器系症例の登録が順調に進んだ。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

A case of a ruptured submucosal aneurysm of the small intestine identified using double-balloon enteroscopy. Clin J Gastroenterol 2016;2:49-54

2. 学会発表

当院におけるバルーン内視鏡による小腸腫瘍の診断成績、第92回消化器内視鏡学会総会

**H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する多施設共同研究

研究分担者 松浦 稔 (京都大学医学部附属病院内視鏡部・助教)

### 研究要旨

大動脈弁狭窄症、肥大型閉塞性心筋症、肺動脈性高血圧症などの循環器疾患や種々の循環補助装置(補助人工心臓、経皮的補助循環など)を用いる症例では、体内(あるいは機器)内で病的に速い血流(過度の高ずり応力)を生じるために止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびそれが原因となる出血頻度は不明であり、実際の診療現場ではその病態に対する認識はきわめて低い。そこで循環器疾患に合併するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的に、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患および対照群として微小血管病変からの消化管出血(小腸出血)症例を前向きに登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成28年度に開始された。現在、当施設からの症例登録は循環器系疾患のみであるが、今後、消化器疾患(小腸出血症例)の登録を推進し、解析にあたる予定である。

### A. 研究目的

循環器疾患、慢性肝疾患や腎疾患では時に消化管血管異形成を認め、しばしば原因不明の消化管出血(Obscure gastrointestinal bleeding : OGIB)の原因となる。中でも大動脈弁狭窄症に合併する消化管出血はHyde症候群として知られ、その病態は大動脈弁狭窄によって引き起こされたフォンウィルブランド病(IIA型)の存在下に生じる消化管血管異形成部位からの出血であることが明らかとなっている。一方、大動脈狭窄症以外にも、生体内で過度な速い血流(高ずり応力)を生じるさまざまな循環器疾患(肥大型閉塞性心筋症、肺高血圧症など)で後天性フォンウィルブランド病(IIA型)が生じることも報告されているが、疾患毎の合併頻度やそれが原因となる出血リスクについては不明である。そこで、種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立することを目的とする。

(倫理面への配慮)

本研究は「GCPの遵守」およびヘルシンキ宣言に基づいた倫理的原則に準拠して臨床試験実施計画書を作成し、当院倫理委員会(IRB)の承認を得た(平成28年5月2日)。また臨床試験実施に際しては、研究対象者に本研究の内容や不利益も含め文書による説明を行い、対象者からの自主的な同意(インフォームド・コンセント)を得た上で実施する。さらに症例毎に決められたコ

ード番号により臨床情報や検査データを管理し、被験者の個人情報保護、人権への配慮、プライバシーの保護に努める。

### B. 研究方法

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。また対照群として、小腸出血例(微小血管病変からの小腸出血確定診断例、腫瘍性病変・炎症性腸疾患・感染性腸炎・薬剤性腸炎を除外された小腸出血例)を登録し、同様の解析を行う。さらに、出血性合併症について、疾患毎について横断的・縦断的な解析を行う。なお、本研究において、分担研究者として私が担当するのは小腸出血症例の登録である。

### C. 研究結果

本年度は循環器症例を中心に症例登録が行われた。また登録された循環器疾患症例の一部で解析が行われ、解析法の標準化・定量化の確立、および本研究における症例登録のプロセスが確立できた。本年度、当施設で経験した小腸出血症例は3例あったが、腫瘍性疾患が1例、炎症性腸疾患が2例であり、いずれも本研究の症例登録のエントリー基準を満たすものではなかった。

### D. 考察

本研究での症例登録手順や解析方法の準備

#### 別添4

は完成し、現在、循環器症例を中心に症例登録とその解析が進行している。平成29年度は消化器疾患（主に小腸出血症例）の症例登録を推進し、本研究の遂行に努める。

#### E. 結論

平成28年度は研究体制が整い、循環器疾患を中心に症例登録とその解析が進んだ。一方、小腸出血例の効率的な症例登録の推進とその解析が今後の課題と考えられた。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 本澤有介、松浦稔、仲瀬裕志. 消化管血管異形成(angiodysplasia)の病態とその対処法. BIO Clinica 31, 581-584, 2016

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 大花正也 天理よろづ相談所病院 消化器内科部長

### 研究要旨

ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。消化器系に関しては平成28年度の登録がなかったが、平成29年度は消化器疾患、主に小腸出血症例を登録し、解析にあたる計画である。

#### A. 研究目的

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

#### B. 研究方法

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的に解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患症例の登録を担う。平成28年度は循環器系を中心に症例登録を行った。

#### C. 研究結果

解析法の標準化・定量化の確立、循環器系症例を中心に症例登録プロセスを確立できた。

#### D. 考察

症例登録がスムーズに行えるか確認するため、平成28年度は循環器疾患で症例登録を開始されたので、症例登録が送れた。さらに、消化器系では当初、原因不明の小腸出血を対象とす

る計画であったが、症例が集まりにくいと考えられ、明らかな腫瘍や憩室、炎症を認めない、下部消化管(小腸・大腸)と変更した。今後そのような症例においてのAVWSの寄与度を明らかにしていく計画である。平成29年度より原因不明の下部消化管(小腸・大腸)症例を登録し、解析していく計画である。

#### E. 結論

平成28年度は体制が整い、循環器系症例の登録が順調に進んだ。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H. 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  
(難治性疾患等政策研究事業)  
分担研究報告書

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立に関する研究

研究分担者 鳥村拓司・久留米大学医学部・内科学講座消化器内科部門・教授

### 研究要旨

様々な循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高ずり応力が生じる病態では、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することが知られている。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成28年度に開始された。今年度は、症例登録を行い、平成29年1月20日までに循環器系疾患を中心に366例・1134検体が登録された。我々は循環器疾患に合併した原因不明の小腸出血1例の登録を行った。平成29年度に解析がなされる計画である。平成29年度も主に原因不明の小腸出血症例を登録し、解析にあたる計画である。

### A. 研究目的

種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

### B. 研究方法

種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本研究において、本分担研究者は循環器疾患に合併した原因不明の消化管出血について登録をおこなった。

### C. 研究結果

解析法の標準化・定量化の確立、循環器系症例を中心に症例登録プロセスを確立できた。平成28年度は、循環器疾患に合併した原因不明の小腸出血を1例登録できたが、今後さらに、循環器疾患に合併した原因不明の消化管出血症例を登録していく。

### D. 考察

本研究での症例登録・解析の準備は完成し、循環器系症例の登録が進んでいる。消化器の分野においてファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や末期心不全の治療に用いられる人工心臓等を有した原因不明の消化管出血の頻度は低い。この為、平成29年度はあらゆる循環器疾患に合併した消化管出血症例を積極的に登録していく。

### E. 結論

平成28年度は体制が整い、循環器系症例の登録が順調に進んだ。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Nakamura T, Koga H, Iwamoto H, Tsutsumi V, Imamura Y, Naitou M, Masuda A, Ikezono Y, Abe M, Wada F, Sakaue T, Ueno T, Ii M, Alev C, Kawamoto A, Asahara T, Torimura T. Ex vivo expansion of circulating CD34+ cells enhances the regenerative effect on rat liver

- cirrhosis. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 3: 16025 (page 1-13), 2016.
2. Torimura T, Iwamoto H, Nakamura T, Abe M, Ikezono Y, Wada F, Sakaue T, Masuda H, Hashimoto O, Koga H, Ueno T, Yano H. Antiangiogenic and antitumor activities of aflibercept, a soluble VEGF receptor-1 and -2, in a mouse model of hepatocellular carcinoma. *Neoplasia.* 18: 413-424, 2016.
  3. Nakano M, Tanaka M, Kuromatsu R, Nagamatsu H, Satani M, Niizeki T, Okamura S, Iwamoto H, Shimose S, Shirono T, Noda Y, Koga H, Torimura T. Alternative treatments in advanced hepatocellular carcinoma patients with progressive disease after sorafenib treatment: a prospective multicenter cohort study. *Oncotarget.* 7: 64400-64409, 2016.
  4. Ide T, Eguchi Y, Harada M, Ishii K, Morita M, Morita Y, Sugiyama G, Fukushima H, Yano Y, Noguchi K, Nakamura H, Hisatomi J, Kumemura H, Shirachi M, Iwane S, Okada M, Honma Y, Arinaga-Hino T, Miyajima I, Ogata K, Kuwahara R, Amano K, Kawaguchi T, Kuromatsu R, Torimura T; DAAs Multicenter Study Group. Evaluation of resistance-associated substitutions in NS5A using direct sequence and cycleave method and treatment outcome with Daclatasvir and Asunaprevir for chronic hepatitis C genotype 1. *PLoS One.* 11: e0163884 (page 1-11), 2016.
1. 永松洋明, 新関 敬, 鳥村拓司. 進行肝細胞癌に対するNew FP療法を中心とした集学的治療の検討: 延命から治癒への挑戦. 第102回日本消化器病学会総会. 2016/04 東京
  2. 中村 徹, 古賀浩徳, 鳥村拓司. 培養CD34<sup>+</sup>細胞を用いた肝硬変に対する肝再生治療. 第102回日本消化器病学会総会. 2016/04 東京
  3. 中野聖士, 田中正俊, 黒松亮子, 永松洋明, 古賀浩徳, 鳥村拓司. 進行肝細胞癌に対するソラフェニブ治療の予後予測におけるInflammation-based prognostic score (Glasgow prognostic score: GPS)の有用性. 第52回日本肝臓学会総会. 2016/05 千葉市
  4. Iwamoto H, Torimura T, Koga H. PlGF induced VEGFR1-dependent vascular remodeling determines opposing antitumor effects of Notch inhibitors. 第75回日本癌学会学術集会. 2016/10 横浜市
  5. Torimura T, Koga H, Nakamura T, Iwamoto H, Imamura Y, Ikezono Y, Sakaue T, Wada F, Masuda A, Tanaka T, Yano H, Ueno T, Yamamoto K. DNA methylation level of non-cancerous liver tissue has potential for being a biomarker of multicentric recurrence of hepatocellular carcinoma. The 67th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Boston, USA

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### 2. 学会発表

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

循環器難病に随伴する後天性フォンウィルブランド症候群の診断基準・重症度分類の確立  
に関する研究

研究分担者 山口 拓洋・東北大学大学院医学系研究科・医学統計学・教授

**研究要旨：**フォロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症、また末期心不全の治療に用いられる人工心臓等、体内で過度の高張り応力が生じる病態には、止血必須因子であるフォンウィルブランド因子(VWF)の分解が亢進し、出血性疾患である後天性フォンウィルブランド症候群(aVWS)を合併することがある。しかし、疾患毎のaVWSおよびaVWSが原因となる出血頻度は不明であり、診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、そのため適切な治療がしばしば選択されていない。そこで、上記循環器疾患に随伴するaVWSの診断基準及び重症度分類を確立することを目的として、診断法を標準化・定量化し、種々の循環器疾患症例を登録・追跡し、出血性合併症について横断的・縦断的に解析する本研究が平成29年度に開始された。今年度は、症例登録に費やされた。

**A. 研究目的：**種々の循環器疾患における後天性フォンウィルブランド症候群の発症頻度やそれによって生じる出血性合併症の頻度等を明らかにし、その診断基準・重症度分類を確立する。

**B. 研究方法：**種々の循環器疾患症例を登録し、後天性フォンウィルブランド症候群の診断法であるフォンウィルブランド多量体解析を標準化し、定量的に解析を行う。そして、出血性合併症について、疾患毎に横断的・縦断的解析を行う。本分担研究者は、統計解析を担う。

**C. 研究結果：**解析法の標準化、定量化はなされた。平成29年度は、症例登録を行い、解析は未施行である。

**D. 考察：**症例は順調の集積しており、順次解析を施行する。

**E. 結論：**平成29年度、統計的解析は未施行である。

**G. 研究発表**

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

**H. 知的財産権の出願・登録状況**  
なし。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
仲瀬 裕志	下痢.	門脇 孝, 小室一成, 宮地良樹	診療ガイドライン UP-TO-DATE 2016-2017	メディカル レビュー社	大阪.	2016	pp242- 246
仲瀬裕志	潰瘍性大腸炎	五十嵐良典, 榎本信幸, 穂刈量太.	消化器研修ノート 改定第2版	診断と治療 社	東京	2016	pp375- 380

## 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
Matsui T, Hori A, Hamakawa J, Matsushita F, Ozeki Y, Sakurai Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y.	Mutant botrocetin-2 inhibits von Willebrand factor-induced platelet agglutination.	J Thromb Haemost.	in press		2017
Akutagawa T, Shindo T, Yamanouchi K, Hamakawa M, Ureshino H, Tsuruoka N, Sakurai Y, Shimoda R, Nishiguchi R, Furukawa K, Morita S, Iwakiri R, Kimura S, Matsumoto M, Fujimoto K.	Persistent gastrointestinal angiodyplasia in Heyde's syndrome after aortic valve replacement.	Intren Med.	in press	-	2017
Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP).	Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies.	J Thromb Haemost	15	312-322	2017



Takuma Maeda, Katsura Nakagawa, Kuniko Murata, Yoshiaki Kanaumi, Shu Seguchi, Shiori Kawamura, Mayumi Kodama, Takeshi Kawai, Isami Kakutani, Yoshihiko	Identifying patients at high risk of heparin-induced thrombocytopenia-associated thrombosis with a platelet activation assay using flow cytometry	Thromb. Haemost.	117 (1)	127-138	2017
K. Sakatsume, M. Akiyama, K. Saito, S. Kawamoto, H. Horii, Y. Saiki	Intractable bleeding tendency due to acquired von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant.	J Artificial Organ	9	289-292	2016
Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, Abe T, Hayata Y, Yamaguchi N, Sugimoto M, Fujimura Y, Matsumoto M, Taniguchi S.	Rapid restoration of thrombus formation and high-molecular-weight von Willebrand factor multimers in patients with severe aortic stenosis after valve replacement.	J Atheroscler Thromb.	23	1150-1158	2016
Fujino Y, Inoue Y, Onodera M, Kikuchi S, Sato M, Kojima M, Sato H, Suzuki K, Matsumoto M.	Acute pancreatitis-induced thrombotic thrombocytopenic purpura with recurrent acute pancreatitis.	Clin J Gastroenterol.	9	104-108	2016
Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S.	Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy.	Int J Hematol.	104	228-235	2016
Ichikawa S, Sasaki K, Takahashi T, Hayakawa M, Matsumoto M, Harigae H.	Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with Klebsiella pneumoniae in the background of alcoholic liver cirrhosis.	Case Reports in Internal Medicine	3	30-35	2016
Tsujii N, Nogami K, Yoshizawa H, Hayakawa M, Isonishi A, Matsumoto M, Shimada M.	Influenza-associated thrombotic microangiopathy with unbalanced von Willebrand factor and a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 levels in a heterozygous protein S-deficient boy.	Pediatr Int	58	926-929	2016

Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, and Masaomi Nangaku	No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome	Int. J. Hematol.	104 (2)	223-227	2016
Koichi Kokame	Subsequent Response of VWF and ADAMTS13 to Aortic Valve Replacement	J. Atheroscler. Thromb.	23 (10)	1141-1143	2016
Nobuyuki Tsujii, Isao Shiraishi, Koichi Kokame, Midori Shima, Yoshihiro Fujimura, Yukihiro Takahashi, Masanori Matsumoto	Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome	Pediatrics	138 (6)	e20161565	2016
Sakatsume, K. Akiyama, M. Saito, K. Kawamoto, S. Horiuchi, H. Saiki, Y.	Intractable bleeding tendency due to acquired von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant.	J Artif Organs	19(3)	289-92	2016
Chiba H. et.al.	A case of a ruptured submucosal aneurysm of the small intestine identified using double-balloon enteroscopy.	Clin J Gastroenterol	2	49-54	2016
堀内久徳, 松本雅則, 小亀浩市	循環器疾患随伴後天性フォンウィルブランド症候群の臨床的インパクト	日本血栓止血学会誌	27	316-321	2016
堀内久徳	Significance of bleeding complications	Coronary Intervention	12 (6)	58-63	2016
秋山正志, 小亀浩市	腸内細菌代謝産物TMAOは血小板の反応性亢進と血栓症リスクを増強する	日本血栓止血学会誌	27	384	2016

堀内久徳	循環異常そのものが招く出血傾向	BIO Clinica	31	562-563	2016
松本雅則	フォンウィルブランド因子とその切断酵素ADAMTS13	BIO Clinica	31	564-568	2016
田村俊寛	大動脈弁狭窄症の伴い消化管出血：ハイド症候群	BIO Clinica	31	569-572	2016
大場豊治、福本義弘	肺高血圧に伴う後天性フォンウィルブランド症候群	BIO Clinica	31	573-576	2016
坂爪公、齋木佳克	機械的補助循環治療の現状とその合併症としての後天性フォンウィルブランド症候群	BIO Clinica	31	577-580	2016
本澤有介、松浦稔、仲瀬裕志	消化管血管異形成 (angiodyplasia) の病態とその対処法	BIO Clinica	31	581-584	2016
坂爪公、齋木佳克	人工循環中の出血凝固因子	人工臓器	45	221-224	2016
坂爪公、堀内久徳	高張り応力が引き起こす後天性フォンウィルブランド症候群	人工臓器	45	225-228	2016
近藤博和、下村大樹、中川義久、堀内久徳	血小板凝集検査と循環器疾患	循環器内科	79	65-68	2016
堀内久徳、松本雅則、小亀浩市	循環器疾患随伴後天性フォンウィルブランド症候群の臨床的インパクト	日本血栓止血学会誌	27 (3)	316-321	2016
秋山正志、小亀浩市	腸内細菌代謝産物TMAOは血小板の反応性亢進と血栓症リスクを増強する	日本血栓止血学会誌	27 (3)	384	2016
田村 俊寛	大動脈弁狭窄症に伴う消化管出血：ハイド症候群	Bio Clinica	31	95-100	2016
仲瀬裕志.	潰瘍性大腸炎治療略：総論.	医学のあゆみ	256	1055-1057	2016
仲瀬裕志	現在開発中のクローン病治療薬.	INTESTINE	20	203-206	2016