

新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立に向けた研究

研究分担者：大賀正一 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 教授
研究協力者：落合正行 九州大学病院小児科 講師
石村匡崇 九州大学病院総合周産期母子医療センター 助教
園田素史 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 大学院
江上直樹 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 大学院
市山正子 福岡市立こども病院新生児科 医師
堀田多恵子 九州大学病院検査部 部門長
内海 健 九州大学大学院医学研究院保健学部門検査技術科
教授
康 東天 九州大学大学院医学研究院臨床検査医学 教授
石黒 精 国立成育医療研究センター血液内科 診療部長
西久保敏也 奈良県立医科大学附属病院総合周産期医療
センター 病院教授
野上恵嗣 奈良県立医科大学小児科 教授
末延聡一 大分大学大分子ども急性救急疾患学部門医療
研究事業 教授

研究要旨

研究分担者らは、新生児・小児期に発症する遺伝性血栓症のための包括的な診療アルゴリズムの確立を目指して、「特発性血栓症（小児領域）診療ガイド」の策定を分担した。私たちは、新生児から成人までに発症する血栓症のうち、遺伝性素因の関与が強いものを早発型遺伝性血栓症（early-onset thrombosis/thrombophilia, EOT）と捉え、前向きに症例を集積し、遺伝子検査ならびに診療支援を行った。EOT レジストリより臨床像の多様性が示された。効率的な迅速診断法の確立、網羅的解析に向けた遺伝子パネルの開発、ならびに診療ガイドを発刊し、個別化医療の実施を目指す。

A. 研究目的

新生児期から成人期に向けて発症する特発性血栓症は稀少であるが、集中治療や周術期医療の進歩、および疾患認知の普及に伴い、報告数が増加した。私たちの施設では、全国から問い合わせを受けた、小児期に発症した特発性血栓症に対

して、遺伝子検査ならびに診療支援を行ってきた。これまでの実績より、日本人小児患者は、成人患者と同様にプロテイン C (PC)、プロテイン S (PS)、ならびにアンチトロンビン (AT) 欠乏症が主因であること、発症時期は新生児期と Adolescents and Young Adults (AYA)

世代に多いこと、新生児・乳児患者はPC欠乏症が多く、AYA世代患者はPSとAT欠乏症が多いこと、さらに胎児水頭症、頭蓋内出血、電撃性紫斑病など成人患者とは異なる臨床像を呈することを示した。そこで私たちは、新生児から成人までに発症する血栓症のうち遺伝性素因の関与が強いものを早発型遺伝性血栓症 (EOT: early-onset thrombosis / thrombophilia) と捉え、EOT特有の包括的な診療アルゴリズムの確立を目指した。

B. 研究方法

九州大学病院小児科及び検査部で、全国から問い合わせを受けた血栓性素因の症例を前向きに集積し、遺伝子検査と診療支援を行った。本研究計画は九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会 (448-02) の承認を受けている。

C. 研究結果

1) 新生児血栓症の全国調査

本邦での新生児血栓症の発症と予後に対する遺伝子検査の影響を解析した。全国の周産期母子医療センター (総合周産期 57 施設、地域周産期 75 施設) と新生児・小児診療施設 (うち大学病院 120 施設、200 床以上の小児科専門医研修施設 325 施設) を対象とした一次調査では、観察期間 5 年間で 120 名の対象患者が報告され、日齢 28 以内の特発性血栓症の年間患者数は 10 万出生対 3.91 名 (0.0039%) と推計された。二次調査では 77 名より個別の診療経過と高次医療

(移植医療、特異的因子補充療法、新規抗凝固療法等) に関する情報が得られた。頭蓋内血栓塞栓症もしくは出血は 66 名 (85.7%)、電撃性紫斑病は 5 名 (6.5%) であった。多くの患者は日齢 3 以内に血栓症を発症した。4 名 (5.2%) が死亡し、14 名 (18.2%) が後遺症をもち生存した。12 名で遺伝子検査が行われ、9 名 (75.0%) に PC 遺伝子変異が検出された。両アレル変異が 4 名、片アレルは 5 名であった。遺伝性 PC 欠乏症と確定された 9 名とそれ以外の 68 名で臨床像を比較した。前者で電撃性紫斑病 (両アレル例のみ $p < 0.01$)、硝子体出血 ($p < 0.01$)、家族歴 ($p = 0.01$) および死亡もしくは後遺症あり生存 ($p = 0.03$) が後者と比較して多かった。中心静脈カテーテルの留置例は両群に有意差は認めなかった。両アレル変異例 2 名で活性型 PC 製剤が投与された。変異生存例 8 名はいずれも継続的な補充療法は受けなかった。

2) EOT レジストリ

当院で凝固・抗凝固因子活性や遺伝子検査を行った症例を中心に、1993 年 6 月から 2011 年度までは後方視的に、2012 年度以降は前向きに 20 歳以下の血栓症患者を集積した。2020 年度までの 101 人の患者情報の解析を終了し、英文原著にて投稿中である。2020 年度から特発性血栓症における遺伝子検査の保険収載に伴い、かずさ DNA 研究所への検査依頼が増加した。私たちはかずさ DNA 研究所より、遺伝子検査の報告書作成支援の委託を受けている。診療支援につなげることで、悉皆性が高いレジストリ維持を目指

した。

3) 新生児特発性血栓症遺伝子パネル
新生児ではPC、PS およびAT の活性値から各因子欠乏による遺伝性血栓症を診断することが困難なため、効率的な遺伝子診断が必要となる。本邦で報告された新生児期血栓症の遺伝学的背景に基づき、公益財団法人かずさDNA研究所(小原収先生)の協力で、PC(*PROC*)、PS(*PROSI*) およびアンチトロンビン(*SERPINC1*)を含む遺伝子解析パネル(Ver.1)を作成した。既診断検体を用いた検証では、Sanger法と同等の検出精度が得られた。これまで20名の患者で探索を行い、9名(45%)で遺伝子Xのバリエーションが検出された。

4) 診療支援

新生児に不整脈原性の脳静脈同血栓症を来した症例を経験した(Matsuoka W et al. *Pediatr Neonatol* 2014)。発症時は神経学的所見に乏しく、D-dimer上昇が頭部画像検査の契機となった。未分画ヘパリンを開始、遺伝性血栓症を除外し、追加で抗凝固療法を行わず退院となった。現在まで不整脈の再発や神経学的後遺症は確認されていない。今後疾患概念と画像検査の普及により深部静脈血栓症の新生児例は増加すると見込まれる。動脈管瘤に左肺動脈血栓症を合併した遺伝性PS欠乏症(PS-Tokushima)の新生児例を経験した(白水優光ら、第31回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会2021)。正期産児のチアノーゼ発作を契機に画像診断に至り、外科的摘除術が

行われた。術後は未分画ヘパリンとアスピリンで抗凝固療法を行い退院となった。新生児期のPS活性は38%、1歳時も47%と低値が続くことから遺伝子検査が行われ、PS-Tokushimaと診断された。PS-Tokushimaヘテロの新生児血栓症として初めての報告となる。胃腸炎後の菌血症を契機に門脈血栓症の診断に至った思春期例を経験した。上腸間膜静脈から肝内門脈に至る広範な血栓を認め一部塞栓症を来していた。発症時のPS活性低下より遺伝性PS欠乏症を疑うも遺伝子変異は認めず、経過観察で活性値は回復した。急性期は未分画ヘパリンを投与したが、退院を目指して小児適応の直接経口抗凝固薬(リバロキサバン)に変更した。ワルファリンジレンマを危惧してヘパリン併用でD-dimerを確認しながら成人期の静脈血栓塞栓症の治療量で開始し、維持療法へと移行した。乳幼児期での投与経験は少なく、今後レジストリで症例の集積を行う。

5) 新生児期に血栓症を発症した、非遺伝性PC欠乏症の追跡調査

私たちは新生児期に頭蓋内出血や電撃性紫斑病を発症し、PC活性が遅れて上昇する例を報告し(Uehara E et al. *AJP Rep* 2018)新生児期に血栓症を発症したPC欠乏症のうち、当院で遺伝子解析を施行され、変異を認めなかった症例14名を対象に、臨床像とその後のPC活性値の推移を追跡調査した。生後半年内には基準範囲内に上昇したが、多くが活性値の上昇は緩徐であり、年齢の基準下限で推移した。

6) 新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療ガイド

こどもから家族まで血栓症から守る治療管理のアルゴリズムを発信するために、「新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療ガイド」発刊を計画した。希少疾患であるためエビデンスレベルの策定が困難であること、新規医薬品の開発段階でありことより、エキスパートオピニオンとしての診療ガイドの完成を目指している。

D. 考察

症例集積から新生児・小児期血栓症発症例のうち、PC 欠乏症では片アレル変異の患者が PC 欠乏症患者の半数をこえるようになった。全国調査でも、PC 遺伝子変異例 9 名のうち 5 名が片アレル変異であった。PC 遺伝子片アレル変異例は両アレル例と同等に新生児特発性血栓症の発症に関与することが明らかになった。アジア人種の PC 欠乏症に対する個別化医療を目指すために、新生児遺伝子パネルが必要と考えられた。新生児期に血栓症を発症した後天性 PC 欠乏症の多くが、PC 活性値の上昇は緩徐なため、活性値上昇の確認が必要である。

新生児期から成人期に向けて発症する特発性血栓症の患者は、成人患者と同様な血栓性素因を有することが明らかになった。EOT レジストリ登録数は増加しているが、遺伝子検査を受けていない患者、遺伝子検査で確定診断が得られなかった患者が確認された。レジストリの認知と網羅的診断が課題となる。

E. 結論

EOT レジストリより患者特有の臨床像が示され、遺伝性 PC 欠乏症に対する根治治療（肝移植ほか）や新規医療（直接経口抗凝固薬、プロトロンビン複合体濃縮製剤ほか）の有用性も確認された。個別化医療に向けたエビデンス構築が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S. Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):131-136.
2. Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S. Transcutaneous blood gas monitoring among neonatal intensive care units in Japan. *Pediatr Int.* 2020 Feb;62(2):169-174.
3. Ohga S, Ishimura M, Eguchi K, Hasegawa I, Ogura H, Utsugisawa T, Kanno H. Diagnosis and management of early-onset thrombophilia/thrombosis: a review. *Rinsho Ketsueki.* 2020;61(5):484-490.

4. Kudo K, Maeda M, Suzuki N, Kanegane H, Ohga S, Ishii E, Shioda Y, Imamura T, Imashuku S, Tsunematsu Y, Endo M, Shimada A, Koga Y, Hashii Y, Noguchi M, Inoue M, Tabuchi K, Morimoto A; Histiocytosis study group of the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology. Nationwide retrospective review of hematopoietic stem cell transplantation in children with refractory Langerhans cell histiocytosis. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):137-148.
5. Nagata H, Sakamoto I, Fukuoka S, Ishikita A, Uike K, Nagatomo Y, Hirata Y, Yamamura K, Ohga S. Portosystemic venous shunt in the patients with Fontan circulation. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):137-148.
6. Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K, Ishimura M, Ohga S. Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jun;8(6):2071-2074.
7. Motomura C, Matsuzaki H, Odajima H, Oki T, Yasunari Y, Kawano T, Iwata M, Okabe K, Wakatsuki M, Murakami Y, Taba N, Honjo S, Ohga S. Effect of age on exercise-induced bronchoconstriction in children and adolescents with asthma. *J Asthma.* 2020 Dec;7:1-14.
8. Nakashima T, Inoue H, Sakemi Y, Ochiai M, Yamashita H, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. Trends in Bronchopulmonary Dysplasia Among Extremely Preterm Infants in Japan, 2003-2016. *J Pediatr.* 2021 Mar;230: 119-125.
9. Imai T, Nishiyama K, Ueki K, Tanaka T, Kaku Y, Hara T, Ohga S. Involvement of activated cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Clin Transl Immunology.* 2020 Nov 24;9(11):e1212.
10. Egami N, Muta R, Anami A, Koga H. Impact of clinical practice guidelines for vacuum-assisted delivery on maternal and neonatal outcomes in Japan: A single-center observational study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Jan;47(1): 167-173.
11. Egami N, Muta R, Korematsu T, Koga H. Mild neonatal complications following guideline-compliant vacuum-assisted delivery in Japan: improvements still needed. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Sep 13;1-7.
12. Egami N, Ochiai M, Ichiyama M, Inoue H, Sonoda M, Ishimura M,

- Suenobu S, Nishikubo T, Ishiguro A, Hotta T, Uchiyama T, Kang D, Ohga S. Clinical Impact of Heritable Thrombophilia on Neonatal-Onset Thromboembolism: A Nationwide Study in Japan. *J Pediatr*. 2021 Nov;238:259-267. e2.
13. Kobayashi T, Morishita E, Tsuda H, Neki R, Kojima T, Ohga S, Ochiai M, Adachi T, Miyata T. Clinical guidance for peripartum management of patients with hereditary thrombophilia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2021 Sep;47(9):3008-3033.
 14. Sakamoto A, Ishiguro A, Fukuda A, Sakamoto S, Suenobu SI, Matsumoto T, Nogami K, Ohga S, Kasahara M. Liver transplantation for congenital protein C deficiency with initial poor graft function: a case report with literature review. *Int J Hematol*. 2021 Jul;114(1):141-145.
 15. Yuniartha R, Yamaza T, Sonoda S, Yoshimaru K, Matsuura T, Yamaza H, Oda Y, Ohga S, Taguchi T. Cholangiogenic potential of human deciduous pulp stem cell-converted hepatocyte-like cells. *Stem Cell Res Ther*. 2021 Jan 13;12(1):57.
 16. Aoki H, Ogiwara K, Hasegawa M, Nogami K. Hemostatic rebalance in neonatal intrahepatic cholestasis with citrin deficiency. *Pediatr Int*. 2021 Apr 13;64(1):e14741.
 17. Sakamoto A, Ogura M, Hattori A, Tada K, Horikawa R, Nakadate H, Matsumoto K, Nogami K, Ieko M, Ishiguro A. Lupus anticoagulant hypoprothrombinemia syndrome associated with bilateral adrenal haemorrhage in a child: early diagnosis and intervention. *Thromb J*. 2021 Mar 17;19(1):19.
 18. Onishi T, Ishihara T, Nogami K. Coagulation and fibrinolysis balance in disseminated intravascular coagulation. *Pediatr Int*. 2021 Nov;63(11):1311-1318.
 19. Shimonishi N, Ogiwara K, Oda Y, Kawabe T, Okazaki S, Shima M, Nogami K. A Novel Assessment of Factor VIII Activity by Template Matching Utilizing Weighted Average Parameters from Comprehensive Clot Waveform Analysis. *Thromb Haemost*. 2021 Feb;121(2):164-173.
 20. Nakajima Y, Yada K, Ogiwara K, Furukawa S, Shimonishi N, Shima M, Nogami K. A microchip flow-chamber assay screens congenital primary hemostasis disorders. *Pediatr Int*. 2021 Feb;63(2):160-167.
 21. Yamashita Y, Hara N, Obana M, Ikeda S, Furuichi M, Ishiguro S,

- Iwai T, Kobayashi T, Mo M, Yamada N. Clinical Features of Venous Thromboembolism in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Japan - A Case Series Study. *Circ J.* 2021 Feb 25;85(3):309-313.
22. 石村 匡崇, 大賀 正一【小児科医に必要な止血・血栓・凝固・線溶の基礎知識】総論 止血・血栓・凝固・線溶の生理 *小児科* 62;13:1605-1612.
23. Matsuoka R, Furuno K, Nanishi E, Onoyama S, Nagata H, Yamamura K, Sugitani Y, Kuraoka A, Mizuno Y, Sagawa K, Honjo S, Hara T, Ohga S. Delayed Development of Coronary Artery Aneurysm in Patients with Kawasaki Disease Who Were Clinically Responsive to Immunoglobulin. *J Pediatr.* 2020 Dec;227:224-230.
24. Nakahara E, Yamamoto KS, Ogura H, Aoki T, Utsugisawa T, Azuma K, Akagawa H, Watanabe K, Muraoka M, Nakamura F, Kamei M, Tatebayashi K, Shinozuka J, Yamane T, Hibino M, Katsura Y, Nakano-Akamatsu S, Kadowaki N, Maru Y, Ito E, Ohga S, Yagasaki H, Morioka I, Yamamoto T, Kanno H. Variant spectrum of PIEZO1 and KCNN4 in Japanese patients with dehydrated hereditary stomatocytosis. *Hum Genome Var.* 2023 Mar 2;10(1):8.
25. Narazaki K, Nagatomo Y, Uike K, Sonoda M, Nagata H, Yamamura K, Ohga S. Vasospastic angina in a boy with hereditary hemorrhagic telangiectasia due to heterogenous large deletion around ENG. *Pediatr Int.* 2023 Feb 10:e15500.
26. Tetsuhara K, Kaku N, Arimura K, Sakai Y, Ohga S. Quantitative indices for an intracranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage in early childhood: a case report. *BMC Neurol.* 2022 Dec 19;22(1):488.
27. Sakemi Y, Nakashima T, Watanabe K, Ochiai M, Sawano T, Inoue H, Kawakami K, Isomura S, Yamashita H, Ohga S. Changing risk factors for postpartum depression in mothers admitted to a perinatal center. *Pediatr Neonatol.* 2022 Nov 14:S1875-9572(22)00256-X.
28. Kobushi H, Ishimura M, Fukuoka S, Ohga S. Hypoplastic crisis in hereditary spherocytosis associated with Kawasaki disease. *Pediatr Neonatol.* 2022 Nov 15:S1875-9572(22)00249-2.
29. Yada Y, Shiraishi A, Ishimura M, Eguchi K, Motomura Y, Kibe Y, Kamei K, Ohga S. Post-transplant *Schizophyllum commune* abscess in a pediatric patient with chronic granulomatous disease. *J Infect Chemother.* 2023 Feb;29(2):219-

- 222.
30. Tanaka A, Sakaguchi Y, Inoue H, Egami N, Sonoda Y, Sonoda M, Ishimura M, Ochiai M, Hotta T, Uchiumi T, Sakai Y, Ohga S. Stroke in a protein C-deficient infant after stem cell transplant for CHARGE syndrome. *Pediatr Blood Cancer*. 2023 Apr;70(4):e30047.
 31. Tocan V, Mushimoto Y, Kojima-Ishii K, Matsuda A, Toda N, Toyomura D, Hirata Y, Sanefuji M, Sawada T, Sakai Y, Nakamura K, Ohga S. The earliest enzyme replacement for infantile-onset Pompe disease in Japan. *Pediatr Int*. 2022 Jan;64(1):e15286.
 32. Fukuoka S, Yamamura K, Nagata H, Toyomura D, Nagatomo Y, Eguchi Y, Uike K, Hirata Y, Inoue H, Ochiai M, Ohga S. Clinical outcomes of pulmonary agenesis: A systematic review of the literature. *Pediatr Pulmonol*. 2022 Dec;57(12):3060-3068.
 33. Yamamoto S, Nakao S, Inoue H, Koga Y, Kojima-Ishii K, Semba Y, Maeda T, Akashi K, Ohga S. A preterm newborn-onset juvenile myelomonocytic leukemia-like myeloproliferation with PTPN11 mutation. *Pediatr Blood Cancer*. 2023 Feb;70(2):e29915.
 34. Nogami K, Taki M, Matsushita T, Kojima T, Oka T, Ohga S, Kawakami K, Sakai M, Suzuki T, Higasa S, Horikoshi Y, Shinozawa K, Tamura S, Yada K, Imaizumi M, Ohtsuka Y, Iwasaki F, Kobayashi M, Takamatsu J, Takedani H, Nakadate H, Matsuo Y, Matsumoto T, Fujii T, Fukutake K, Shirahata A, Yoshioka A, Shima M; J-HIS2 study group. Clinical conditions and risk factors for inhibitor-development in patients with haemophilia: A decade-long prospective cohort study in Japan, J-HIS2 (Japan Hemophilia Inhibitor Study 2). *Haemophilia*. 2022 Sep;28(5):745-759.
 35. Sawano T, Kondo T, Ebihara G, Nagata K, Inoue H, Fujiyoshi J, Ochiai M, Kido S, Fujita Y, Sakai Y, Kato K, Tajiri T, Ohga S. Lung to thorax transverse area ratio as a predictor of neurodevelopmental outcomes in fetuses with congenital diaphragmatic hernia. *Early Hum Dev*. 2022 Jul;170:105598.
 36. Yamamoto KS, Utshigisawa T, Ogura H, Aoki T, Kawakami T, Ohga S, Ohara A, Ito E, Yamamoto T, Kanno H. Clinical and genetic diagnosis of thirteen Japanese patients with hereditary spherocytosis. *Hum Genome Var*. 2022 Jan 12;9(1):1.
 37. Lenhartová N, Ochiai M, Sawano T,

Yasuoka K, Fujiyoshi J, Inoue H, Ohga S. Serum erythroferrone levels during the first month of life in premature infants. J Perinatol. 2022 Jan;42(1):97-102.

2. 学会発表

1. 落合正行、市山正子、園田素史、石村匡崇、後藤和人、堀田多恵子、康東天、大賀正一：新生児血栓症の全国調査。第14回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム 2020年2月22日 東京都
2. 落合正行：総合シンポジウム 小児の診療ガイドライン—Up To Date—新生児に対する鉄剤投与のガイドライン 2017—新生児領域のガイドラインの展望—。第123回日本小児科学会 2020年8月21-23日 神戸市
3. 石村匡崇、落合正行、大賀正一：新生児の遺伝性血栓症～疫学と病因、治療選択～。第30回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2020年12月21-26日 福岡市
4. 白水優光、市山正子、石村匡崇、金城唯宗、康東天、堀田多恵子、後藤和人、漢伸彦、倉岡彩子：動脈管瘤に左肺動脈血栓症を合併した遺伝性 protein S 欠乏症（PS-Tokushima）の新生児例。第31回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2021年6月4-5日 松本市
5. 落合正行、石村匡崇、江上直樹、園田素史、高橋大二郎、菅秀太郎、西久保敏也、野上恵嗣、大賀正一：効果的な新生児・乳児ビタミンK欠乏性出血症（VKDB）予防のエビデンス構築に向けて。第125回日本小児科学会学術集会 2022年4月15-17日 福島市
6. 落合正行、高橋大二郎、川口千晴：シンポジウム 新生児出血性疾患の予防と治療 VKDB 国際サーベイランス。第32回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2022年6月3-4日 東京都
7. 落合正行、石村匡崇、山村健一郎、内海健、西久保敏也、野上恵嗣、石黒 精、末延聡一、大賀正一：シンポジウム「小児血栓止血の診療 update」（非腫瘍性血液疾患領域）新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療ガイドライン（仮）の策定に向けて。第64回日本小児血液・がん学会学術集会 2022年11月25-27日 東京都

3. 一般向け講演会

開催なし

H. 知的財産権の出現・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし