

## 先天性血栓性素因の分子病態解析

研究分担者：松下 正 名古屋大学医学部附属病院

研究協力者：鈴木伸明 名古屋大学医学部附属病院

田村彰吾 北海道大学大学院保健科学研究院

### 研究要旨

特発性血栓症は環境因子を含む様々な危険因子が複合的に合わさり発症する multifactor disease であるが、その多くが先天性血栓性素因の保因を発症要因とする。特発性血栓症の先天性血栓性素因はアンチトロンビン、プロテインC、プロテインSの遺伝子バリエーションが多くを占めるが、これら遺伝子に変異を認めない原因不明の症例も数多く存在する。本研究は国内の特発性血栓症症例を対象に原因遺伝子変異の同定を進め、それぞれの遺伝子変異の分子病態を解明することを目的と定める。

当研究グループでは今まで精力的にこれら因子の遺伝子解析を実施してきたが、これまでの研究実施体制では主幹施設である名古屋大学医学部附属病院を受診することが必須であり、検査を希望する医療機関や患者のニーズに十分応えられない状況が続いてきた。そこで、我々は多施設による解析体制によって今まで以上に多くの解析を引き受けられる仕組みを構築するべく、2023年に研究連盟組織 血栓止血コンソーシアム (J-THReC, <https://j-threc.jp/>) を組織した。J-THReC 発足後の2023年1月から2023年12月までの1年間の先天性血栓性素因の遺伝子解析数は7件であった。今後はJ-THReCへの参加施設の拡大を図り、特発性血栓症の遺伝子解析例数を増やすことで、分子病態の解明を進めていく。

#### A. 研究目的

特発性血栓症は環境因子を含む様々な危険因子が複合的に合わさり発症する多因子関連疾患である。特発性血栓症の遺伝的特徴には、複合遺伝性疾患であること、同一表現型でも遺伝的に不均一であること、低い浸透率、高い表現型模写、ここの遺伝的因子の関与が小さいことなどが挙げられる。特発性血栓症に関わる遺伝的素因には先天性血栓性素因がある。先天性血栓性素因はアンチトロンビン、プロテインC、プロテインSの

遺伝子バリエーションが多くを占めるが、これら遺伝子に病的バリエーションを認めない原因不明の症例も数多く存在する。本研究は国内の特発性血栓症症例を対象に原因遺伝子バリエーションの同定を進め、それぞれの遺伝子バリエーションの分子病態を解明することを目的と定める。

#### B. 研究方法

全国から特発性血栓症の遺伝子解析を引き受けるために、名古屋大学医学部附属病院を主幹施設とした多施設共同研究連盟組織 血栓止血コンソーシアム

(J-THReC) を組織した。J-THReC への参加形式は共同研究機関としての参加と協力研究機関としての参加の 2 通りの方法を設定した。本研究計画は名古屋大学大学院医学系研究科・医学部附属病院生命倫理審査委員の承認を受けている(承認番号: 2015-0391-7)。

### J-THReC への参加方法の詳細

共同研究機関としての参加方法

1. 名古屋大学および自施設の生命倫理審査の承認をもって共同研究機関として登録
2. 名古屋大学へ診療情報と検体送付
3. 担当医へ結果の報告

協力研究機関としての参加方法

1. J-THReC HP の問い合わせフォームを通じて担当医から症例について連絡
2. 患者自身に HP にアクセスいただき、同意書にサイン
3. 受診時に担当医へ同意書を渡し、診療情報と検体送付を依頼
4. 結果の送付は担当医へも行うが、結果は本人へ説明(オンラインツールを活用)

### C. 研究結果

2023 年の J-THReC 参加施設は、共同研究機関が 14 施設、協力研究機関が 1 施設の、計 15 施設であった。

J-THReC 発足後 1 年間(2023 年 1 月から 2023 年 12 月)の先天性血栓性素因の遺伝子解析数は 7 件であり、その解析症例の内訳はプロテイン S 欠乏症が 2 例、プロテイン C 欠乏症が 3 例、アンチロンビン欠乏症が 1 例、原因不明の静脈血栓症が 1 例であった。そのうち、原因遺

伝子バリエーションの同定に至った症例は 3 例であり、プロテイン S 欠乏症に *PROS1* c.1870+1 G>A heterozygote、*PROS1* c.462 T>G p.Cys154Trp heterozygote を、プロテイン C 欠乏症に *PROC* c.1106C>T p.Pro369Leu heterozygote、*PROC* c.793 C>T p.Leu265Phe heterozygote、*PROC* c.1015 G>A p.Val339Met heterozygote を、アンチロンビン欠乏症に *SERPINC1* c.295dup p.Ala99Glyfs\*6 を同定した。原因不明の静脈血栓症は現在解析中である。

なお、これまで当研究グループで運用してきた Japan Thrombosis Mutation Database (JTMD) は J-THReC に統合して今後もデータ蓄積を継続する。

### D. 考察

当研究グループでは先天性血栓性素因解析の主要研究施設として今まで精力的に先天性血栓性素因の遺伝子解析を実施してきたが、これまでの研究実施体制では主幹施設である名古屋大学医学部附属病院を受診することが必須であった。指定難病 327 (特発性血栓症) の申請では遺伝子関連検査の果たす役割が大きく、検査を希望する医療機関や患者のニーズ(特に遠方施設からの要望)に十分応えられない状況が続いてきた。今回、J-THReC を組織したことにより、患者に名古屋大学医学部附属病院を受診していただくことなく解析を実施することが可能となった。今後、ホームページを主軸に学会などを通じた情報発信で参加施設の拡大を目指したい。

### E. 結論

J-THReC の立ち上げにより、これまで

解析を実施できなかった症例の解析が可能になる。今後、参加施設の拡大を図り、特発性血栓症の遺伝子解析例数を増やすことで、分子病態の解明を進めていく。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kenet G, Nolan B, Zulfikar OB, Antmen B, Kampmann P, Matsushita T, You CW, Vilchevska K, Bagot CN, Sharif A, Peyvandi F, Young G, Negrier CG, Chi J, Kittner B, Sussebach C, Shammass F, Mei B, Andersson SR, Kavakli K. Fitusiran prophylaxis in people with hemophilia A or B who switched from prior BPA/CFC prophylaxis (ATLAS-PPX). *Blood*. 2024 Mar 7; blood.2023021864. Epub ahead of print.
2. Suzuki A, Suzuki N, Kanematsu T, Okamoto S, Suzuki N, Tamura S, Kikuchi R, Katsumi A, Kojima T, Matsushita T. Variability in combinations of APTT reagent and substrate plasma for a one-stage clotting assay to measure factor VIII products. *Int J Lab Hematol*. 2024 Mar 1.
3. Notoh H, Yamasaki S, Suzuki N, Suzuki A, Okamoto S, Kanematsu T, Suzuki N, Katsumi A, Kojima T, Matsushita T, Tamura S. Basement membrane extract potentiates the endochondral ossification phenotype of bone marrow-derived mesenchymal stem cell-based cartilage organoids. *Biochem Biophys Res Commun*. 2024 Mar 15; 701:149583.
4. Reding MT, Álvarez-Román MT, Castaman G, Janbain M, Matsushita T, Meijer K, Schmidt K, Oldenburg J. Interim analyses of the multinational real-world prospective cohort HEM-POWR study evaluating the effectiveness and safety of damoctocog alfa pegol in patients with hemophilia A. *Eur J Haematol*. 2024 Feb; 112(2):286-295.
5. Kenet G, Young G, Chuansumrit A, Matsushita T, Yadav V, Zak M, Male C. The immunogenicity, safety, and efficacy of N8-GP in previously untreated patients with severe hemophilia A: pathfinder6 end-of-trial results. *J Thromb Haemost*. 2023 Nov; 21(11):3109-3116.
6. Nagao A, Chikasawa Y, Sawada A, Kanematsu T, Yamasaki N, Takedani H, Nojima M, Fujii T, Suzuki N, Matsushita T, Higasa S, Amano K; ADVANCE Japan Working Group. Hemophilia and cardiovascular disease in Japan: Low incidence rates from ADVANCE Japan baseline data. *Haemophilia*. 2023 Nov; 29(6):1519-1528.
7. Oldenburg J, Benson G, Chowdary P, Halimeh S, Matsushita T, Nørland

- A, Wahid MN, Nemes L. Cases of less-than-expected FVIII activity in previously treated patients during post-marketing surveillance of N8-GP. *Haemophilia*. 2023 Nov;29(6):1475-1482.
8. Matsuda N, Imai N, Yokoyama S, Yamamoto K, Ito T, Ishizu Y, Honda T, Okamoto S, Kanematsu T, Suzuki N, Matsushita T, Ishigami M, Kawashima H. Clinical course and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma and haemophilia. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2023 Oct 1;35(10):1211-1215.
  9. Phua CW, Matino D, Kühnöl CD, Hegemann I, Matsushita T. Use of nonacog beta pegol during surgery in persons with hemophilia B: a case series. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023 Sep 21;7(7):102208.
  10. Matsushita T, Shapiro A, Abraham A, Angchaisuksiri P, Castaman G, Cepo K, d'Oiron R, Frei-Jones M, Goh AS, Haaning J, Hald Jacobsen S, Mahlangu J, Mathias M, Nogami K, Skovgaard Rasmussen J, Stasyshyn O, Tran H, Vilchevska K, Villarreal Martinez L, Windyga J, You CW, Zozulya N, Zulfikar B, Jiménez-Yuste V; explorer7 Investigators. Phase 3 Trial of Concizumab in Hemophilia with Inhibitors. *N Engl J Med*. 2023 Aug 31;389(9):783-794.
- ## 2. 学会発表
1. Tadashi Matsushita, Nobuaki Suzuki, Chiai Nagae, Azusa Nagao, Masahiko Ando, Yachiyo Kuwatsuka, Daisuke Nosaka, Yui Kyogoku, Tomomi Shimura, Keiji Nogami AKATSUKI 48-Week Interim Analysis: Emicizumab and Immune Tolerance Induction in People with Hemophilia A and Factor VIII Inhibitors ASH2023 (USA) 2023/12/10
  2. 松下 正 血栓止血分野における基礎研究の臨床応用 第 85 回血液学会 学術集会 シンポジウム 6 2023/10/14
  3. 松下 正 血液製剤の製造と輸血療法における品質改善 第 47 回日本血液事業学会総会 2023/10/3
  4. 鈴木 敦夫, 鈴木 伸明, 兼松 毅, 鈴木 奈瑠子, 岡本 修一, 田村 彰吾, 小嶋 哲人, 松下 正 Clauss-CWA 法による異常フィブリンゲン血症スクリーニング 1 年間の単施設前向き観察研究 第 24 回日本検査血液学会学術集会 2023/7/29
  5. 岡本 修一, 鈴木 伸明, 田村 彰吾, 兼松 毅, 鈴木 敦夫, 鈴木 奈瑠子, 川口 裕佳, 清井 仁, 小嶋 哲人, 松下 正, 早川 文彦 患者由来 endothelial colony forming cell (ECFC) を用いた VWF 欠損状態における血管新生能の評価 第 45 回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15-17
  6. 兼松 毅, 鈴木 伸明, 川口 裕

- 佳, 鈴木 奈瑠子, 岡本 修一, 鈴木 敦夫, 田村 彰吾, 早川 文彦, 小嶋 哲人, 清井 仁, 松下 正 血友病患者における抗血小板療法の現状 当施設での経験 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15-17
7. 松下 正, Reding Mark T., Alvarez Roman Maria Teresa, Sanabria Martin, Castaman Giancarlo, Janbain Maissaa, Meijer Karina, Schmidt Kathrin, Oldenburg Johannes ダモクトコグアルファペゴルの実臨床下での有効性と安全性を評価する HEM-POWR 研究中間解析結果 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15-17
8. 鈴木 伸明, 兼松 毅, 岡本 修一, 鈴木 奈瑠子, 小林 亮太, 水野 成美, 尾崎 凌斗, 清井 仁, 松下 正, 嶋 緑倫 エミシズマブ出血予防投与を開始した難治性後天性血友病 A の一例 AGEHA 試験コホート 2 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15-17
9. 徳丸 星奈, 鈴木 伸明, 田村 彰吾, 鈴木 敦夫, 兼松 毅, 岡本 修一, 鈴木 奈瑠子, 川口 裕佳, 小嶋 哲人, 早川 文彦, 松下 正 マウス下大静脈結紮モデルを用いたアンチトロンビンレジスタンスに対する抗血栓療法の検討 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/17
10. 鈴木 奈瑠子, 鈴木 伸明, 鈴木 敦夫, 田村 彰吾, 川口 裕佳, 岡本 修一, 兼松 毅, 小嶋 哲人, 清井 仁, 松下 正 フィブリノゲン製剤の定期補充療法が有効であった先天性無フィブリノゲン血症の 1 例 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/17
11. 田村 彰吾, 桂木 裕実, 鈴木 伸明, 岡本 修一, 藤井 渉, 鈴木 敦夫, 兼松 毅, 鈴木 奈瑠子, 能藤 日向子, 山崎 智司, 小嶋 哲人, 松下 正, 早川 文彦 先天性無フィブリノゲン血症 2 症例に同定した FGA exon 4 のホモ接合体欠失 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/17
12. 山崎 尚也, 近澤 悠志, 兼松 毅, 野島 正寛, 竹谷 英之, 鈴木 伸明, 澤田 暁宏, 藤井 輝久, 天野 景裕, 日笠 聡, 松下 正, 長尾 梓 成人血友病患者の合併症に関する多施設共同前向きコホート研究 (ADVANCE Japan) ベースライン報告 第45回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/16
13. 松下 正, Kenet Gili, Nolan Beatrice, Zulfikar Bulent, Antmen Bulent, Kampmann Peter, You Chur-Woo, Vilchevska Kateryna, Bagor Catherine N., Sharif Azizan, Peyvandi Flora, Young Guy, Negrier Claude, Quan Ting, Poloskey Stacey, Sussebach Christian, Shammash Fadi, Andersson Shauna, Mei Baisong, Kavakli

Kaan 予防治療から切り替えた血友病 A/B を対象とした fitusiran の有効性/安全性を評価する第 3 相試験結果 第 45 回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15

14. 松下 正, ヒメネスジュステ・ビクター, アングチャイスクシリ・パンテプ, カスタマン・ジャンカルロ, セポ・カタリナ, ハニング・ジェスパー, ハルドヤコブセン・ソニヤ, マーラング・ジョニー, 野上 恵嗣, シャピロ・エイミー インヒビターを保有する血友病 A/B 患者におけるコンシズマブ第 3 相 explorer7 試験の主要解析結果 第 45 回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15
15. 松下 正, Kenet Gili, Chuansumrit Ampaiwan, Young Guy, Yadav Vandana, Zak Marek, Male Christoph 治療歴のない重症血友病 A

患者に対する N8-GP の免疫原性・安全性・有効性 (pathfinder6 最終結果) 第 45 回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15

16. 川口 裕佳, 鈴木 伸明, 鈴木 奈瑠子, 岡本 修一, 兼松 毅, 鈴木 敦夫, 田村 彰吾, 小嶋 哲人, 牛田 貴文, 今井 健史, 小谷 友美, 清井 仁, 松下 正 Dダイマーモニタリングによる血栓ハイリスク妊婦に対する抗血栓療法 当院における 35 症例 第 45 回日本血栓止血学会学術集会 2023/6/15

### 3. 一般向け講演会

該当なし

### H. 知的財産権の出現・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他  
該当なし