厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業

血液凝固異常症等に関する研究

2019 年度 総括·分担研究報告書

研究代表者 村田 満慶應義塾大学医学部 2020 年 3 月

目次

血液凝固異常症等に関する研究

I. 総括研究報告書 村田 満 慶應義塾大学 -----1

Ⅱ. 分担研究報告書

ITP (特発性血小板減少性紫斑病) 研究グループ

グループリーダー: 冨山佳昭 大阪大学医学部附属病院

班員:桑名正隆 日本医科大学

羽藤高明 愛媛大学

研究協力者:藤村欣吾 安田女子大学

倉田義之 四天王寺悲田院

高蓋寿朗 広島市立舟入市民病院

柏木浩和 大阪大学大学院医学系研究科

宮川義隆 埼玉医科大学

特別協力者(疫学班):杉田 稔 東邦大学医学部衛生学

島田直樹 国際医療福祉大学

ITP グループ研究総括: 富山佳昭 -----8

分担研究報告

冨山佳昭:成人ITP治療参照ガイド改訂版の作成と発表

桑名正隆: ITP診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み

羽藤高明: 臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

TTP (血栓性微小血管障害症)研究グループ

グループリーダー:松本雅則 奈良県立医科大学

班員:宮川義隆 埼玉医科大学

小亀浩市 国立循環器病研究センター

研究協力者:藤村吉博 日本赤十字社近畿ブロック血液センター

和田英夫 三重大学

日笠 聡 兵庫医科大学 上田恭典 倉敷中央病院

宮田敏行 国立循環器病研究センター

八木秀男 近畿大学奈良病院

TTP グループ研究総括: 松本雅則 -----31

分担研究報告

松本雅則:凝固マーカーを含むルーチン検査による TMA と DIC の比較

宮川義隆:血栓性血小板減少性紫斑病に関する研究 小亀浩市:先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析

aHUS(非典型溶血性尿毒症症候群)研究グループ

グループリーダー: 丸山彰一 名古屋大学

班員:香美祥二 徳島大学

研究協力者:南学正臣 東京大学

伊藤秀一 横浜市立大学 芦田 明 大阪医科大学

加藤秀樹 東京大学

aHUS グループ研究総括: 丸山彰一 ------88

分担研究報告

丸山彰一: aHUS の診断、治療効果判定を目的とした新規補体機能検査の開発 香美祥二: 本邦における非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療の現状と aHUS

診療ガイドライン策定に向けた調査研究

特発性血栓症 研究グループ

グループリーダー: 森下英理子 金沢大学

班員:津田博子 中村学園大学

小林隆夫 浜松医療センター

大賀正一 九州大学

松下 正 名古屋大学

研究協力者:宮田敏行 国立循環器病研究センター

小嶋哲人 名古屋大学

坂田洋一 自治医科大学

横山健次 東海大学

中村真潮 村瀬病院

榛沢和彦 新潟大学

尾島俊之 浜松医科大学

杉浦和子 名古屋市立大学

根木玲子 国立循環器病研究センター

辻 明宏 国立循環器病研究センター

野上恵嗣 奈良県立医科大学

特発性血栓症グループ研究総括: 森下英理子 ------104

分担研究報告

森下英理子:アンチトロンビン活性測定試薬の標準化と健常成人における

アンチトロンビン活性基準値の設定

津田博子:総プロテインS測定系の有用性および

遺伝性血栓性素因の人種差に関する研究

小林隆夫:遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究と

診療ガイドラインの策定

大賀正一: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 松下 正:先天性血栓性素因の分子病態解析:*SEPINC1* 遺伝子異常の分子病態解析

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 ------158

総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患政策研究事業) 令和元年度総括研究報告書 「血液凝固異常症等に関する研究」

研究代表者 村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学 教授

研究要旨

本研究班は指定難病の中でも血液疾患と腎疾患を対象に、政策研究事業としてエビデ ンスに基づいた全国共通の診断基準・重症度分類の作成や改正、診療ガイドライン等の 確立や改正及び普及などを目的に活動している。具体的には特発性血小板減少性紫斑病 (ITP)、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)、非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)、特発性 血栓症(遺伝性血栓性素因によるものに限る。)、を対象としている。4疾患について、そ れぞれのサブグループに分かれて課題に取り組むとともに、グループ間の相互議論を活 発に行うことによって、(1)分子病態に基づいた診断基準、治療指針の確立/普及および その効果の検証、改正、(2)大規模な疫学的解析による我が国での発症頻度、予後の把握 と治療の標準化、などを目標とした。小児と成人を対象とし、さらに小児から成人への移 行期医療も含めて検討している。令和元年度は3年計画の3年目として、前年度に引き 続き疫学調査、レジストリー、遺伝子解析、診断法の標準化、診療ガイドの改訂、指定難 病検討資料の作成、臨床情報やゲノム情報に基づく病態解明や保険適用拡大に注力した。 臨床的有用性の高いデータベース化システムの構築、そして新しい体外診断薬の開発や 検証、新規治療の検証を継続した。特発性血小板減少性紫斑病については、平成17年度か ら26年度(10年間)のITP臨床調査個人票のデータを用いて皮膚・粘膜・臓器の出血症状 と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について調査した。また「成人ITP治療 の参照ガイド2019年版」を作成し、日本血液学会の公式雑誌にオープンアクセスにて公 開した。血栓性血小板減少性紫斑病については、レジストリの継続、ADAMTS13遺伝子解析 の継続、リツキシマブの後天性TTPへの保険適用拡大、TTP診療ガイド2017改定版の作成、 MINDS方式によるTTPガイドラインの作成、造血幹細胞移植後TMAの病態解析を行った。非 典型溶血性尿毒症症候群については集積した遺伝学的検査の結果、日本で多く見られる遺 伝子変異に欧米やその他地域との差異を認めるとともに、腎予後、生命予後に関しても、 ある種の変異に関しては日本独特の傾向が浮き彫りとなった。また妊娠関連のaHUS/ HELLP症候群の症例は6例集積し、6例全例で補体関連因子の遺伝子異常が認められ、二次 性TMAと考えられる中にも補体関連遺伝子の異常があることが示唆された。また補体機能 検査としての溶血試験においてCFHのC末領域の変異、抗CFH抗体陽性例、CFH/CFHRの遺伝 子融合およびC3の変異の一部において高度の溶血が認められることがわかった。特発性血 栓症(遺伝性血栓性素因によるものに限る。)では、新生児血栓症の全国調査、新生児血 栓症遺伝子解析パネル検査の作成、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究と診療ガイドラインの素案作成、PS活性測定の変動要因および診断特性の検討、 国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討、*SEPINCI* 遺伝子異常の分子病態解析、AT活性測定試薬の標準化と健常成人におけるAT活性基準値の設定を行った。

当研究班の活動はホームページに公開されている。

http://ketsuekigyoko.org/index.html

ITP(特発性血小板減少性紫斑病) 研究グループ

ITP に関しては、1) 疫学調査、2) 治療の標準化(特に ITP 治療の参照ガイドの作成および改訂)、3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討、を中核としてグループ研究および個別研究を継続的に行っている。

令和元年度においては、平成 17 年度から 26 年度(10 年間)の ITP 臨床調査個人票のデータを用いて皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について調査した。臨床調査個人票の新規登録患者で成人(18歳以上)の患者を対象とした。2005 年度から 2014年度の 10 年間における新規登録患者数は21,811人であり、このうち、血小板数値を含む報告データに欠損のない新規登録成人患者19,415人を調査対象とした。この研究結果は2020年3月にBlood Advanceに受理された。

治療に関しては「成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド 2019 改訂版」は日本血液学会学会誌である臨床血液 8月号で公開した。本改訂版は ITP に関する総論と治療各論のパートからなり、治療の各論においては、2012 年の参照ガイドをベースに、最初に各治療について概論(有

効性、安全性)を記載、一般的な投与法を 具体的に記載し、最後に個別の Question に関して Answer を記載し、解説を加えた。

また病態解析に基づいた ITP 診断法の標準化について TPO 測定キットの開発を進めた。いまだ除外診断である現状を打開し、より良い診療を確立するために、本研究班では、ITP 診断基準案を 2004 年に提唱しているが、その検査法の保険収載にむけて、一歩一歩前進しているところである。今後、これらの検査法に関して他施設共同で評価していく予定である。

本年度は、研究成果を国際誌を含めて論 文発表することができ、ITPの診療の標準 化や病態解析に大きく貢献することがで きた。

TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) 研究グループ

TTP グループは、日本国内の TMA(血栓性 微小血管症)症例の集積と病態解析を行い、TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) の実態を明らかにし、予後の改善を図ることを目的としている。我々は既に TTP 診療ガイド2017 を作成し和文と英文で発表した。

令和元年度は、1) TMA レジストリーの継続、2) ADAMTS13 遺伝子解析の継続、3) リッキシマブの後天性 TTP への保険適用拡

大、4) TTP 診療ガイド 2017 改定版の作成、 5) MINDS 方式による TTP ガイドラインの 作成、6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解 析、が行われた。

日本国内で発見した USS は 2019 年に 2 例増えて 67 例となった。このうち 65 例について ADAMTS13 遺伝子解析を実施した(本年は 1 例実施)。 65 例のうち 61 例 (93.8%)で責任遺伝子変異を同定した。11 例がホモ接合体遺伝子異常、50 例が複合ヘテロ接合体異常であった。日本人で発見した ADAMTS13 遺伝子異常は、欧米から報告されているものと同じものはほとんど無かった。

2020年2月にリツキシマブの後天性TTPに対する適応拡大が正式に認められた。ただ、後天性の中でも再発性、難治性にのみ使用を考慮するように添付文書に記載されている。

我々は、2017年にTTP診療ガイド2017 を作成し、日本血液学会の承認を得て、和 文、英文両方で論文発表した。その後、 ADAMTS13 検査の保険収載、後天性 TTP に 対する血漿交換の回数制限の撤廃、リツキ シマブの後天性 TTP に対する保険適用拡 大という本研究班の活動の成果が保険診 療に成果として現れた。その成果をガイド ラインに反映させ、一部書き換えて「TTP 診療ガイド 2020」として完成させた。ガイ ドラインの作成については国際血栓止血 学会(ISTH)が作成した TTP ガイドライン の素案が公表されている状況であり、我々 のガイドラインの記載と大きく異なるこ とは混乱をきたす可能性があるため、ISTH のガイドラインが正式に発表される 2020 年度以降に本格的に作成を開始すること を計画している。

造血幹細胞移植後 TMA の病態解析については倉敷中央病院血液内科の症例で実施しており、造血幹細胞移植を受けた症例の血漿が移植前より保存されており、2013年から 2016 年の移植症例 45 例の解析を終了した。

aHUS(非典型溶血性尿毒症症候群) 研究グループ

非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) は補体第二経路の異常活性化によって引き起こされる血栓性微小血管症 (TMA; thrombotic microangiopathy) であり、病因として補体関連因子の遺伝的・後天的異常により発症するとされる。令和元年度は、疫学調査、蛋白質学的解析(羊赤血球溶血試験)、抗H因子抗体解析、新規補体機能検査の開発、遺伝子解析、Eculizumab 市販後調査解析等が行われた。

疫学調査では凝固系プロファイルについては急性期の症例でデータが収集できた症例のみの解析とした。aHUS 診療の現状分析に関して、エクリズマブの中断の判断について、診療における遺伝子検査の有用性に焦点をあて調査を行った。

蛋白質学的解析では、コンサルテーションのあった 264 例のうち、aHUS 発症急性期の採血検体が得られた症例は 49 例であった。49 例の溶血試験の結果を解析すると、溶血度は正常人や2次性 TMA 症例に比べ、有意に高い値を示した。抗 H 因子抗体は 21 例に同定され、急性期に検体が得られた症例における抗体価の中央値は2882 AU/mL(正常人:約8~15 AU/mL)であった。抗体陽性例の 20%は成人期に

aHUS を発症していたが、小児例に比べ溶血や血小板減少の程度が軽度であるという特徴を示した。aHUS を早期に診断するバイオマーカーの開発を開始した。新規の補体機能検査開発に関しては、液相における補体活性ではなく、aHUS に重要とされる細胞膜上の補体活性を測定することに主眼をおいた。

遺伝学的解析では 184 例の患者について解析を実施した結果、遺伝子異常について詳細なデータが得られた。東京大学からの報告では 100 例を上回る症例の遺伝的背景を明らかにしたことで、信憑性が高いデータを得ることができたと言えるが、それをさらにアップデートしてこれまで検出されなかった変異などが検出されたことなどより精度の高いコホートデータになったと考えられる。妊娠関連の aHUS/HELLP 症候群の症例は 6 例が集積しており、そのうち 5 例は分娩直後の発症であり、残りの 1 例は妊娠 9 週での発症であった。 6 例全例で補体関連因子の遺伝子異常が認められた。

さらに本邦における aHUS 診療の現状と エクリズマブの効果、中断について検討し た。エクリズマブ市販後調査の結果を用い、 その対象群の背景、治療効果、予後を後方 視的に解析した。得られた結果を学会誌に 報告した。

このほか、aHUS 診療ガイド改訂について 検討した。我々は今後の aHUS 診療の向上 に資すると必思われるところに焦点を当 てた新しい aHUS 診療ガイドライン策定に 向けて活動している。現在ガイドライン改 訂委員会が組織され、改定作業が立ち上 がっている。 本研究班での aHUS 解析活動を通して、 日本独自の患者背景、治療効果が徐々に明らかとなってきている。また市販後調査の 結果から、Eculizumabが治療の中心となっ た近年の臨床的な実情がつまびらかとな り、一方で今後の課題も明らかとなった。 この様な状況を踏まえ、aHUS の治療選択 の幅が広がった現代に即した診療ガイド の必要性が高まったと考えられ、2015 年 作成のガイドの改訂を目指す。

特発性血栓症(遺伝性血栓性素因によるものに限る。)グループ

特発性血栓症は、先天性プロテイン C(PC)、プロテインS(PS)、アンチトロンビン(AT)欠乏症により新生児・乳児期から成人期に亘って重篤な血栓症を発症する疾病である。若年性発症で、再発を繰り返し、重篤な機能障害を合併する。平成29(2017)年4月に、「特発性血栓性素因(遺伝性血栓性素因に限る。)」は指定難病に認定された(告示番号327)。

診断に際して、診断基準を本研究班が作成したが、今後はその有用性を検証し、より適切な基準へ改善していく必要がある。 そのためには、遺伝子異常が明らかとなり確定診断がついた症例の臨床症状、検査所見などを詳細に検討し、活性測定法に影響する要因について検討することは意義がある。

令和元年度は個別研究として、新生児血 栓症の全国調査、新生児血栓症遺伝子解析 パネル検査、遺伝性血栓性素因患者の妊娠 分娩管理に関する全国調査研究と診療ガ イドラインの策定、PS活性測定の変動要因 および診断特性の検討、国際共同研究によ る遺伝性血栓性素因の人種差の検討、 SEPINCI遺伝子異常の分子病態解析、AT活 性測定試薬の標準化と健常成人における AT活性基準値の設定、を行った。

一次調査票の回収数は、総計744施設のうち、470施設(63.1%)であり、対象として117症例が報告された。該当年の出生数で換算すると、年間推定患者数は10万出生対3.45例(0.0035%)であった。PROS1とプラスミノーゲン(PLG)はゲノム上の重複配列が多く、次世代シーケンサーを用いた単独解析では配列解析精度が低くなる可能性が予測されていたが、遺伝性PC欠乏症、無フィブリノゲン血症とプラスミノーゲン異常症の家系で、Sanger法と同様の結果が得られた。妊娠分娩管理に関する

全国調査では5年間の総分娩数が722,933 件、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩数が599 例であり PS 欠乏症が圧倒的に多く、 次いでAT 欠乏症、PC 欠乏症であった。

また、日本人 VTE 患者で PS Tokushima 変異アレル保有者数を調査したまた。サーベイにより AT 活性測定試薬の標準化と健常成人における AT 活性基準値の設定が可能であることが示された。

本研究成果を元に、欧米の論文報告や指針などを参考に診療ガイドライン策定に向けて体制を構築してゆく。また、新生児・小児血栓症を早期に診断し、適切な急性期治療と長期治療管理の方針を確立するために、全国の解析ネットワークを拡充することが肝要と思われる。

グループ研究報告書

ITP グループ総括

分担研究者・サブグループリーダー: 冨山佳昭

研究要旨

ITP に関して、1) 疫学調査、2) 治療の標準化(特に ITP 治療の参照ガイドの作成および改訂)、3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討、を中核としてグループ研究および個別研究を行った。平成 17 年度から 26 年度(10 年間)のITP 臨床調査個人票のデータを用いて出血症状出現のリスク因子を明らかにし「Blood Advance」に発表した。治療の標準化に関しては、本研究班にて作成した「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」を改訂し「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年版」を日本血液学会の公式雑誌である「臨床血液」および英文誌「Int. J. Hematol.」に公開した。個別研究では、診断に関してトロンボポエチン(TPO)測定法を企業と共にキット化し、さらに全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。体外診断薬として製造承認を得る準備を整えた。

A. 研究目的

ITP は平成 26 年度までは特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、平成 27 年 1 月よりは指定難病医療費助成制度の対象疾患として、難病に位置づけられる疾患である。本研究班では本疾患を克服すべくその疫学を初めとして、治療ならびに診断を向上させることを課題として継続して検討を重ねている。この目的のために、本研究班では ITP に関して、1)疫学調査、2)治療の標準化とその啓発(治療の参照ガイドの作成および改訂)、3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討(特に病態に則した新たな診断基準の作成)を大きな柱として検討してきた。

平成31年度においては、特定疾患治療研究事業の対象疾患であることから、平成17年度から26年度(10年間)のITP臨床調査個人票のデータを用いて皮膚・粘膜・

臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連 やその他のリスク因子について調査した。

治療に関しては治療プロトコールを履行するに当たり保険医療上の制約を克服すると共に、本疾患の治療の標準化をめざし「成人 ITP 治療の参照ガイド」、「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」の作成および公開を行ってきた。本年度は、「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年版」を作成し、日本血液学会の公式雑誌にオープンアクセスにて公開した。ITP に関する新たな診断法として、血中 TPO 測定キットを全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。

B. 研究方法

1. 疫学研究に関しては特定疾患治療研究 事業の対象疾患にともなって毎年行われ る ITP 臨床個人調査票 (平成 17 年度から 26 年度)をもとに入力されたデータの提供を受けた。このデータを用いて皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について調査した。

2. 治療の標準化に関しては、「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」、の公開と啓発に努めたが、今年度は 2012 年版の改訂作業を行った。方法としては、班員間でのメール審議を通して、参照ガイド改訂に向けて各項目の執筆担当者を決定し、改訂委員会にて討議し、その後もメール審議などを通して、改訂の最終作業を行い日本血液学会の公式雑誌である「臨床血液」英文誌の「Int. J. Hematol.」誌に発表した。

3. ITP診断法の標準化と病態解析を基盤と した新規診断法の検討、(個別研究)

ITPの補助診断法として血中トロンボポエチン(TPO)濃度測定キットの開発を企業と共に行い、本年度はさらに汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬(CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay)へのアップグレードを試みた。

(倫理面への配慮)

臨床研究に関しては、当該施設の臨床研究倫理審査委員会での承認を得たのち、インフォームドコンセントを得て施行した。また、一部研究では、オプトアウトにて残余検体を用いた。

C. 研究結果

1. ITP の疫学研究(羽藤、倉田、島田)

1). 解析対象患者

臨床調査個人票の新規登録患者で成人 (18歳以上)の患者を対象とした。2005年 度から 2014年度の 10年間における新規 登録患者数は 21,811人であり、このうち、 血小板数値を含む報告データに欠損のない新規登録成人患者 19,415人を調査対象 とした。

2). 紫斑

紫斑は、19,415 人中 12,581 人 (64.5%) にみられた。男性より女性に出現しやすく、平均年齢は 61.0 歳であった。血小板数と紫斑出現頻度には直線的な負の相関があり、紫斑が出現しやすくなる血小板数閾値は存在しなかった。多変量解析では、血小板数 1 万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は 5.07 (95%CI: 4.691-5.480)であった。また、紫斑は年齢の増加につれて多くなったが、60 歳以上のオッズ比は 1.272(95%CI:1.187-1.362)であり、血小板数よりも弱い相関をもつリスク因子であった。

3). 歯肉出血

歯肉出血は、19,415 人中 3,936 人(20.2%)にみられた。男性にやや出現しやすく、平均年齢は61.3歳であった。歯肉出血の頻度は血小板数 1.5万以上ではあまり変わらないが、1.5万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数1万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は4.169(95%CI:3.807-4.565)であった。また、歯肉出血は年齢の増加につれて多くなったが、60歳以上のオッズ比は0.982(95%CI:0.902-1.070,P=0.685)であり、独立リスク因子ではなかった。

4). 鼻出血

鼻出血は、19,415人中2,424人(12.4%) にみられた。男性に出現しやすく、平均年 齢は61.3歳であった。鼻出血の頻度は血 小板数 1.5 万以上ではあまり変わらない が、1.5 万未満になると急激に増加した。 多変量解析では、血小板数1万未満は独立 したリスク因子として同定され、オッズ比 は2.285 (95%CI:2.052-2.546) であった。ま た、鼻出血は 39 歳以下の若年層に多く、 60 歳以上のオッズ比は 0.814 (95%CI: 0.739-0.896)であり、他の出血症状と異な って、高齢者のほうが有意に少なかった。 5). 血尿

血尿は、19,415 人中 1,240 人(6.2%)に みられた。男性に出現しやすく、平均年齢 は64.0歳であった。血尿の頻度は血小板 数2万以上ではあまり変わらないが、2万 未満になると急激に増加した。多変量解析 では、血小板数1万未満は独立したリスク 因子として同定され、オッズ比は 2.933(95%CI:2.488-3.457)であった。また、 血尿は年齢の増加につれて多くなったが、 60 歳以上のオッズ比は 1.098(95%CI: 0.958-1.260, P=0.179) であり、独立リスク 因子ではなかった。

6). 下血

下血は、19,415 人中 1,206 人(6.1%)に みられた。男性に出現しやすく、平均年齢 は70.5歳であった。下血の頻度は血小板 数 1.5 万以上ではあまり変わらなかった が、1.5 万未満になると急激に増加した。 多変量解析では、血小板数1万未満は独立 したリスク因子として同定され、オッズ比 は4.153(95%CI: 3 3.513-4.910)であった。 で脳出血が明らかに増加していた。これら また、下血は年齢の増加につれて多くなり、の結果から、患者の年齢を考慮した脳出血

60 歳以上のオッズ比は 2.629(95%CI: 2.246-3.078)であり、血小板数よりも弱い が、独立したリスク因子であった。また、 下血は歯肉出血および鼻出血の出現と有 意に相関していた。

7). 脳出血

脳出血は、19,415 人中 222 人(1.1%)に みられた。男性にやや出現しやすく、平均 年齢は71.5歳であった。脳出血の頻度は 血小板数 1 万未満になると急激に増加し た。多変量解析では、血小板数1万未満は 独立したリスク因子として同定され、オッ ズ比は 2.962 (95%CI: 2.112-4.154) であっ た。また、下血は年齢の増加につれて多く なり、60 歳以上のオッズ比は 3.086 (95%CI:2.131-4.468)であり、血小板数と ともに独立したリスク因子であった。さら に、血尿の存在が独立リスク因子として同 定され、オッズ比は 1.562(95%CI:1.037-2.351)であった。

8). 年齢別の脳出血リスク因子

患者を 18-49 歳、50-69 歳、70 歳以上 の 3 つの年齢層に分けて脳出血を起こし た血小板数を解析した。18-49 歳の若年 層では血小板数と脳出血頻度の間に明ら かな相関は見られず、全年齢層での解析と 違って、血小板数1万未満は脳出血のリス ク因子ではなくなった(オッズ比 0.96, 95%CI: 0.35-2.65, p=0.936)。しかし、50-69歳と70歳以上の年齢層では血小板数1 万未満で脳出血は急増しており、多変量解 析でも全年齢層での解析結果と同様に有 意な脳出血リスク因子として同定された。 また、70歳以上では血小板数 2.5 万未満 のリスクを判断する必要があると考えられた。

上記の研究成果は 2020 年 3 月に Blood Advance に受理された。

2. ITP 治療の参照ガイドの改訂と公開(柏木、高蓋、羽藤、桑名、村田、藤村、倉田)

研究班では、司法においても用いられる可能性のある拘束性の強いメッセージではなく、拘束性を若干弱めた形での治療の参照ガイドを作成し「臨床血液」誌(53巻4号:433-442,2012;2012年4月)に掲載し公開した。これらの成果はすべてオープンアクセス化している。

https://www.jstage.jst.go.jp/article/rinketsu/53/4/53_433/_article/-char/ja/

本研究班では、「参照ガイド」との名称 を意識して使用しているが、その理由とし ては、エビデンスレベルが高くなく専門家 のコンセンサスにて作成していること、 ITP に用いられている薬剤に関して保険適 用が無い薬剤が多いこと、があげられ、あ くまで標準的な目安を提示している。個別 の症例に対しては、個々に存在する状況を 鑑み、総合的に診療を行うべきである。本 年度においても研究班が作成した上記参 照ガイドの普及、啓発に学会シンポジウム や総説原稿にて活発に行った。実際「臨床 血液」誌のダウンロード数において、一位 が成人特発性血小板減少性紫斑病治療の 参照ガイド 2012 年版であり、二位は妊娠 合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参 照ガイドであり、この2編が圧倒的なダウ ンロード数(約1,500/月)であり、その使 命を果たしていることが裏付けられた。

「成人特発性血小板減少性紫斑病治療の

参照ガイド2019改訂版」は日本血液学会学会誌である臨床血液8月号で公開した。本改訂版はITPに関する総論と治療各論のパートからなり、治療の各論においては、2012年の参照ガイドをベースに、最初に各治療について概論(有効性、安全性)を記載し、一般的な投与法を具体的に記載し、最後に個別のQuestionに関して、Answerを記載し、解説を加えた。

2019年改訂版における最も大きな変更 点は、副腎皮質ステロイド不応例に対し て脾摘、TPO受容体作動薬およびリツキシ マブをセカンドラインとして同等に推奨 したことである。それぞれの治療法の選 択は、患者の状態やライフスタイルを考 慮して個々に判断する、とし、それぞれの 治療の長所・短所について、表を用いて提 示した。

また副腎皮質ステロイド治療において 最近用いられることが増えているデキサメサゾン大量療法に関しては、プレドニ ゾロン通常量を上回るエビデンスに乏し く、旧参照ガイドと同様にプレドニゾロ ン通常量を推奨することとした。しかし、 早期の血小板増加が必要な若年者ではデ キサメサゾン大量療法を選択することも よいとした。

サードライン治療に関しては、複数の 薬剤を掲載したが、いずれもエビデンス レベルが低く副作用を十分考慮しながら 投与の是非を判断することとした。

日本のITP治療の現状を海外に発信するために本参照ガイドの英訳を行い、日本血液学会の英文誌である"International Journal of Hematology" 2020年3月号で世界に公開した。

病態解析に基づいたITP診断法の標準化:TPO測定キットの開発(桑名、冨山、柏木)

ITP の診断の基本は除外診断であるが、本研究班では、ITP の診断における網状血小板比率(RP%あるいは IPF%)と血中トロンボポエチン(TPO)濃度の有用性を明らかにしてきた。昨年度は 2 種類の抗 TPO 抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)として TPO 測定系を構築したが、臨床検査試薬として展開するためには汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬(CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay)へのアップグレードが必要である。そこで、本年度は CLEIA による TPO 測定系の確立を目標とした。

CLEIA 測定系の構築のため、昨年度に作 成したマウス抗ヒト TPO モノクローナル 抗体クローン TN1 結合磁性粒子、 horshradish peroxidase (HRP) 標識抗ヒ トTPOモノクローナル抗体一本鎖 IgG-Fab' を用いた。すべての過程を全自動診療検査 システム STACIA® (LSI メディエンス) で 行い、19 分で結果が得られ種々の検討を 行い、CLEIA 法を用いた汎用性の高い体量 の検体を迅速に処理できる TPO 測定系を 確立した。基礎性能評価試験で大きな問題 はなく、測定範囲は 1.6-700 pg/mL と広範 囲で健常人から AA 患者検体まで幅広くカ バーできた。血清、血漿ともに試料として 使用可能だが、これまでの研究報告との対 比から血漿を用いた測定が望ましい。すで にキット最終仕様が確立できたことから、 今後は ITP、AA など血小板減少症患者を対 象とした臨床性能試験の実施に向けた準

備を進める予定である。

D. 考案

ITPの診療は、近年大きく変化している。 本年度は、3年間の研究の集大成といって も過言ではない大きな業績をあげること ができた。

まず、疫学調査では ITP 関して、世界最大規模のデータより、ITP において皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について明らかにし、その成果を Blood Advance にて世界に発信できた。

治療法の標準化と啓発に関しては、リツ キシマブは 2017 年 3 月に ITP に対して保 険収載されたこと、さらに 2012 年に参照 ガイドを公開してから多くの年月が経過 しているため、その7年後に2019改訂版 を公開することができた。ステロイド不応 性の ITP 患者における 2nd Line 治療とし ての TPO 受容体作動薬の安全性に関して は、メタアナリシスの結果から(Wang, et al. Sci Rep. 2016 Dec 19;6:39003), 7 の有効性と安全性が確立されてきている。 またリツキシマブに関しては、欧米の報告 では短期的には60%程度、長期的には20-30%程度の有効率であり、本邦における臨 床治験においても30%程度の有効率が報告 されている(Miyakawa Y, et al. Int J Hematol 2015, 102: 654-661)。 脾摘に関 しては、現時点においても最も有効率が高 い治療法ではあるが、敗血症や血栓症の頻 度の増加が報告されてきている (Boyle S et al. Blood 2013;121:4782-4790)。以上 のような点から、2nd Line 治療として、 TPO 受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘の

選択は個々の症例毎に、年齢や合併症を考慮し選択すべきであると提言した。また、2019 改訂版では、1st Line 治療および 3rd Line 治療に関しても、最新の情報を整理して提示し、臨床家が使用しやすいように改訂した。これらの成果は「臨床血液」にて公開したのに加えて、英文誌「Int. J. Hematol.」にて世界にも発信した。

さらに ITP の診断はいまだ除外診断である現状を打開し、より良い診療を確立するために、本研究班では、ITP 診断基準案を 2004 年に提唱しているが、その検査法の保険収載にむけて、一歩一歩前進しているところである。今後、これらの検査法に関して他施設共同で評価していく予定である。

以上のように今後も、研究班として確実 に成果をあげ正しい情報を発信していく 予定である。

E. 結論

ITP の病態およびその治療に関し、問題点を早期把握すると共に、新たな薬剤に関してその適正使用を含め「ITP 治療の参照ガイド」を改訂、公開し、継続して情報発信に努めていく。本年度は、研究成果を国際誌を含め論文で発表することができ、ITP の診療の標準化や病態解析に大きく貢献することができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana

- M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y: Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. Blood Adv (in press)
- 2) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y; Committee for the Revision of "Reference Guide for Management of adult ITP" Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour and Welfare Science Research Grants. Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. Int J Hematol. 2020 111:329-351, 2020
- 3) Nishiura N, <u>Kashiwagi H</u>, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Reevaluation function in platelet immune thrombocytopenia: impacts size, of platelet plateletassociated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists. Br J Haematol. Feb 27. 2020 10.1111/bjh.16439. [Epub ahead of print
- 4) Akuta K, Kiyomizu K, <u>Kashiwagi H</u>,
 Kunishima S, Nishiura N, Banno F,
 Kokame K, Kato H, Kanakura Y,
 Miyata T, Tomiyama Y. Knock-in

- mice bearing constitutively active α IIb(R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J Thromb Haemost. 18:497-509, 2020
- 5) Akuta K, <u>Kashiwagi H</u>, Yujiri T, Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, <u>Tomiyama Y</u>. A unique phenotype of acquired Glanzmann thrombasthenia due to non-function-blocking anti- α IIb β 3 autoantibodies. J Thromb Haemost. 17:206-219, 2019.
- 6) Hosokawa M, <u>Kashiwagi H</u>, Nakayama K, Sakuragi M, Nakao M, Morikawa T, Kiyokawa T, Aochi H, Nagamine K, Shibayama H, <u>Tomiyama Y</u>. Additional validation of Osaka method (0.01 mol/L dithiothreitol) for negating the daratumumab interference. Transfusion. 59:2479-2480, 2019.
- 7) Ikeda Y, Yamanouchi J, Hato T, Yasukawa M. Takenaka Κ: Safe childbirth for 1 а type antithrombin-deficient woman with novel mutation in the SERPINC1 undergoing antithrombin concentrate therapy. Blood Coagul Fibrinolysis 30:47-51, 2019
- 8) Joko K, <u>Hato T</u>: Acute liver failure and intractable gastric ulcer in plasma prekallikrein deficiency 松山赤十字病院医学雑誌 44:21-27, 2019
- 9) 柏木浩和,桑名正隆,羽藤高明,高

- 蓋寿朗,藤村欣吾,倉田義之,村田満,<u>冨山佳昭</u>.成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド 2019 改訂版.臨床血液 60:877-896,2019
- 10) 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病(ITP). 未来型血液治療学(小松則夫編),中外医学社,東京, 2019,pp231-238
- 11) <u>冨山佳昭</u>. 高齢者の免疫性血小板減 少症. 血液フロンティア 29:63-70, 2019
- 12) <u>冨山佳昭</u>. 血小板減少症診断のため の検査法と最近の進歩. 血液フロン ティア 29:365-373, 2019
- 13) <u>冨山佳昭</u>. 妊娠合併特発性血小板減 少性紫斑病 (ITP)診療について【妊娠 合併 ITP における出産時の目標血小板 数】. 日本医事新報 4962:45, 2019
- 14) <u>冨山佳昭</u>. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム (改訂第4版) (日本輸血・細胞治療学会認定医制度審議会カリキュラム委員会編), 杏林舎,東京,2019,p189-192
- 15) <u>冨山佳昭</u>. 播種性血管内凝固症候群 (DIC). 日本輸血・細胞治療学会 認 定医制度指定カリキュラム (改訂第 4 版)(日本輸血・細胞治療学会認定医制 度審議会カリキュラム委員会編), 杏 林舎, 東京, 2019, p200-202
- 16) <u>冨山佳昭</u>. 血管性紫斑病. 内科学書 改訂第9版(南学正臣総集編),中山書 店, 東京, 2019, pp232-233
- 17) <u>冨山佳昭</u>. 血小板の異常. 内科学書 改訂第9版(南学正臣総集編),中山書 店,東京,2019,pp233-240

- 18) <u>冨山佳昭</u>. 血小板β3インテグリンと 血小板血栓形成. 日本血栓止血学会 誌 30:579-585, 2019
- 19) <u>冨山佳昭</u>. 再生不良性貧血の治療にTPO 受容体作動薬登場. 日経メディカル 622:48-49, 2019
- 20) <u>冨山佳昭</u>. 脾摘. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編)南 江堂, 東京, 2019, pp121-123
- 21) <u>冨山佳昭</u>. 血管障害による出血性疾患:血管性紫斑病. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編)南江堂,東京,2019,pp409-411
- 22) <u>冨山佳昭</u>. 特発性血小板減少性紫斑病. 血液専門医テキスト(改訂第3版) (日本血液学会編), 南江堂, 東京, 2019, pp412-415
- 23) <u>冨山佳昭</u>. 抗血小板抗体の検出とその臨床的意義. 日本輸血細胞治療学会誌 64:681-687, 2019
- 24) 細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純 友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠 世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, <u>冨山佳昭</u>. Daratumumab の 間接抗グロブリン試験および直接抗 グロブリン試験に対する異なる作用: K 抗原の反応性を維持し Daratumumab の偽陽性反応を解消する 0.01 mol/1 DTT を用いた新たな対処法(大阪法). 日本輸血細胞治療学会誌 65:117-127, 2019

2. 学会発表

1) The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre,

- Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld) Cooper N, Bird R, Hato T, Kuter D, Lozano M, Michel M, Platzbecker U, Provan D, Scheinberg P, Tomiyama Y, Wong R, Bussel JB (発表日 6.14) (Poster) Tapering and discontinuation of thrombopoietin agonists in ITP: expert consensus opinions.
- The 24th European 2) Hematology Association (2019. 6. 13–16 RAI Amsterdam Convention Centre, Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld) Cooper N, Kruse A, Morgan M, Provan D, <u>Tomiyam</u>a Y, Michel M, Ghanima W, Hou M, Santoro C. Lovrencic В, Waller J, Stankovic M, Bussel JB(発表日 6.14) (Poster) Patient perceptions on splenectomy outcomes: results from the ITP world impact survey (I-Wish).
- The American Society of Hematology 3) 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA) Hisashi Kato, Shigenori Honda, Hirokazu Kashiwagi, Nobuko Nishiura, Keigo Akuta, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yoshiaki Tomiyama (発表日 12.7) (Poster) The critical role of Kindlin-3 in initiation of physiological thrombus formationanalysis of Kindlin-3 deficient patient.
 - The American Society of Hematology

- 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA) Bussel JB, Ghanima W, Tomiyama Y, Arnold DM, Provan D, Hou M, Santoro C, Serge Laborde S, Kruse A, Kruse C, Morgan M, Lovrencic11 B, Waller J, Haenig J and Cooper N (発表日 12.7) (Poster) Physicians' and Patients 'Perspectives on Treatments in ITP a Multi-Country Perspective: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISh)
- The XXVII the 5) Congress of International Society of and Thrombosis Haemostasis (2019.7.6-10 Melbourne Convension Exhibition Centre, Melbourne, Australia) Nshiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y (発表日 7.7) (Poster) Platelet function of chronic immune thrombocytopenia: Impact of platelet size, platelet-associated anti-αIIbβ3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists.
- 6) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士) 柏木浩和,冨山 佳昭 (発表日 5.24) (シンポジウム) 抗血小板同種抗体および自己抗体の 特徴とその臨床的意義
- 7) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019. 5. 23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士) <u>冨山佳昭</u>(発表 日 5. 25) (シンポジウム「難病血液疾

- 患の病態、診断、治療(輸血を含む)」) 特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の病 態と治療
- 8) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士) 細川美香,<u>柏木</u> 浩和,中山小太郎純友,櫻木美基子, 中尾まゆみ,森川珠世,清川知子,青 地 寛,永峰啓丞,柴山浩彦,<u>冨山佳</u> 昭(発表日 5.25)(口演) Daratumumab 投与後のDAT は陽性になるとは限らない
- 9) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士) 櫻木美基子,味 村和哉,中山小太郎純友,細川美香, 中尾まゆみ,森川珠世,清川知子,青 地 寛,永峰啓丞,遠藤誠之,木村 正,<u>冨山佳昭</u>(発表日 5.25)(口演) 高力価抗 Rh17(抗 Hro)を有する D--型 の母親からの出生に成功した、胎児・ 新生児溶血性疾患(HDFN)の一例~当 院での対応と工夫~
- 10) 第 81 回日本血液学会学術集会 (2019.10.11-13, 東京国際フォーラム, 東京, 小松則夫) 芥田敬吾, 柏木浩和, 西浦伸子, 加藤恒, 金倉譲, 富山佳昭 (発表日 10.11) (口頭) 新規のインテグリン α IIb β 3 非活性化変異 β 3 (R734C) を認めた一家系
- 11) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化 委員会シンポジウム (2019. 2. 16 野村 カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 柏木浩和 (発表日 2. 16) (シンポジウム) Flow cytometry を用 いた慢性 ITP 患者の血小板機能解析

- 12) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化 16) 第 41 回日本血栓止血学会学術総会 委員会シンポジウム (2019.2.16 野村 カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 羽藤高明 今後の血友病診 療を考える 地域中核病院としての 取り組み
- 13) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化 委員会シンポジウム (2019.2.16 野村 カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久) 羽藤高明、島田直樹、冨山 佳昭、村田満 全国 ITP 患者統計から みた出血症状と血小板数の関連性
- 14) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 総会 2019.5.23 熊本 土居靖和、秋 田誠、岡本康二、田尾美冴、山之内純、 谷口裕美、西宫達也、宫本仁志、羽藤 高明 当院の危機的出血への対応:10 年間の実績報告
- 15) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 総会 2019.5.23 熊本 山之内純、新 家敏之、秋田誠、越智千晶、岡本康二、 谷口裕美、土居靖和、竹中克斗、羽藤 高明 APTT 延長に対して術前に FFP が輸注された先天性プレカリクレイ ン欠乏症

- 2019.6.22 津 山之内純、池田祐一、 羽藤高明 妊娠分娩管理における血 友病保因者遺伝子診断の有用性
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を 含む)
 - 1. 特許取得 なし
- 2. 実用新案登録 なし
- 3. その他 なし

成人ITP治療参照ガイド改訂版の作成と発表

研究分担者: 冨山佳昭 大阪大学医学部附属病院 輸血部

研究協力者:柏木浩和 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

研究要旨

当研究班から2012年に発表された「成人ITP治療の参照ガイド2012年版」は、実臨床において広く利用されてきた。しかし、発表後7年が経過し、当時はサードラインに位置していたトロンボポエチン受容体作動薬の副腎皮質ステロイド不応例への使用の増加や、リツキシマブのITPに対する保険適用の拡大などITP治療が変化してきており、参照ガイド改訂が必要な時期となった。当研究班では文献的検索を中心に各班員による改訂作業に取り組み、その成果として2019改訂版を日本血液学会の公式雑誌「臨床血液」に発表した。また海外に日本のITP治療の現状を発信する目的で英訳版を作成し、日本血液学会英文雑誌"International Journal of Hematology"において発表した。

A. 研究目的

当研究班から「成人 ITP 治療の参照ガイ ド 2012 年版」が発表されてから、既に 7 年が経過した。成人 ITP 治療の治療適応や 治療目標に大きな変化はなく、大筋におい て本参照ガイドは現時点でも有用なもの である。ただ、2012年時点では承認発売さ れた直後であったトロンボポエチン(TPO) 受容体作動薬も、その長期的な有効性と安 全性が明らかにされ、使用例が増えてきて いる。また、欧米のガイドラインではステ ロイド不応例に対するセカンドラインに 位置づけられていたリツキシマブが、2017 年本邦において ITP に対して適応拡大さ れた。一方で、従来、2nd Line 治療に位置 付けられていた脾臓摘出術(脾摘)は、こ のような新薬の登場をうけ、感染症や静脈 血栓症の増加などの問題点が指摘されて きたこともあり、実施例が減少してきてお り、参照ガイドと実臨床との乖離が大きく なってきている。以上のような状況から、

本研究班において参照ガイドの改訂に取り組んできた。

本改訂の第1の目的は、副腎皮質ステロイド不応・不耐例のセカンドライン治療として脾摘、TPO受容体作動薬およびリツキシマブをどのように位置づけるか、各々の治療の有効性と安全性に関し、文献的検索を行い、その指針を提示することにある。また、新規発症ITPにおける副腎皮質ステロイド療法においても、主に海外からデキサメタゾン大量療法の有効性が報告されてきている。またサードライン治療に関しても新たな知見が蓄積されつつある。これらの情報を整理し、参照ガイドを実臨床に生かしやすいかたちに改訂することを目的とした。

B. 研究方法

昨年度までに各班員により作成され、 改訂委員会およびメール審議にて意見交 換の終了した原稿を基に、最終的なとり まとめを行い、改訂版を完成させた。また全文の英訳作業を行った。完成した改 訂版および英訳版を専門誌に投稿した。

C. 研究結果

「成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド2019改訂版」が日本血液学会学会誌である臨床血液8月号に掲載された。本改訂版はITPに関する総論と治療各論のパートからなり、治療の各論においては、2012年の参照ガイドをベースに、最初に各治療について概論(有効性、安全性)を記載し、一般的な投与法を具体的に記載し、最後に個別のQuestionに関して、Answerを記載し、解説を加えた。

2019年版における最も大きな改訂点は、副腎皮質ステロイド不応例に対して脾摘、TPO受容体作動薬およびリツキシマブをセカンドラインとして同等に推奨したことである。それぞれの治療法の選択は、患者の状態やライフスタイルを考慮して個々に判断する、とし、それぞれの治療の長所・短所について、表を用いて提示した。

また副腎皮質ステロイド治療において 最近用いられることが増えているデキサメサゾン大量療法に関しては、プレドニ ゾロン通常量を上回るエビデンスに乏し く、旧参照ガイドと同様にプレドニゾロ ン通常量を推奨することとした。しかし、 早期の血小板増加が必要な若年者ではデ キサメサゾン大量療法を選択することも よいとした。

サードライン治療に関しては、複数の 薬剤を掲載したが、いずれもエビデンス レベルが低く副作用を十分考慮しながら 投与の是非を判断することとした。

日本のITP治療の現状を海外に発信するために本参照ガイドの英訳を行い、日本血液学会の英文誌である"International Journal of Hematology" 2020年3月号に掲載された。

D. 考察

副腎皮質ステロイド不応性のITP患者におけるセカンドライン治療は従来脾摘とされていたが、今回の改訂により、TPO受容体作動薬とリツキシマブが脾摘と同等にセカンドライン治療として推奨された。それぞれの治療の選択は、各治療の長所・短所と患者の状態、ライフスタイルを考慮し、個々に判断することとしたが、今後、治療選択の基準を明確化していくことが課題である。

またファーストライン治療である副腎 皮質ステロイドによるITPの寛解率は低 い状況は変わっておらず、ファーストラ イン治療の改善を行うことも重要な課題 である。更に、サードライン治療に関して も、有効性と安全性の高い薬剤の開発が 必要である。最近、欧米において従来治療 に対する反応が不十分であるITP症例に 対してSyk阻害薬(Fostamatinib)の使用 が認可されている。このような新たな治 療薬に関する研究の進展も必要であろう。

E. 結論

成人ITP治療参照ガイドの改訂版を発表した。今後、改訂版の普及を目指すとともに次の改訂に向けての研究の継続が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y; Committee for the Revision of "Reference Guide for Management of adult ITP" Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour and Welfare Science Research Grants. Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. Int J Hematol. 111:329-351, 2020.
- 2) Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Reevaluation of function platelet in chronic immune thrombocytopenia: impacts platelet size, plateletassociated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists. Br J Haematol. 2020 Feb 27. 10.1111/bjh.16439. [Epub ahead of print]
- 3) Akuta K, Kiyomizu K, <u>Kashiwagi H</u>,
 Kunishima S, Nishiura N, Banno F,
 Kokame K, Kato H, Kanakura Y,
 Miyata T, <u>Tomiyama Y</u>. Knock—in
 mice bearing constitutively active
 α IIb(R990W) mutation develop
 macrothrombocytopenia with severe
 platelet dysfunction. J Thromb

- Haemost. 18:497-509, 2020.
- Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. A unique phenotype of acquired Glanzmann thrombasthenia due to non-function-blocking anti-α IIb β 3 autoantibodies. J Thromb Haemost. 17:206-219, 2019.
-) Hosokawa M, <u>Kashiwagi H</u>, Nakayama K, Sakuragi M, Nakao M, Morikawa T, Kiyokawa T, Aochi H, Nagamine K, Shibayama H, <u>Tomiyama Y</u>. Additional validation of Osaka method (0.01 mol/L dithiothreitol) for negating the daratumumab interference. Transfusion. 59:2479-2480, 2019.
- 6) 柏木浩和,桑名正隆,羽藤高明,高 蓋寿朗,藤村欣吾,倉田義之,村田 満,<u>冨山佳昭</u>.成人特発性血小板減 少性紫斑病治療の参照ガイド 2019 改 訂版.臨床血液 60:877-896,2019
- 7) 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病(ITP). 未来型血液治療学(小松則夫編),中外医学社,東京,2019,pp231-238
- 8) <u>冨山佳昭</u>. 高齢者の免疫性血小板減 少症. 血液フロンティア 29:63-70, 2019
- 9) <u>冨山佳昭</u>. 血小板減少症診断のため の検査法と最近の進歩. 血液フロン ティア 29:365-373, 2019
- 10) <u>冨山佳昭</u>. 妊娠合併特発性血小板減 少性紫斑病 (ITP)診療について【妊娠 合併 ITP における出産時の目標血小板

- 数】. 日本医事新報 4962:45, 2019
- 11) <u>冨山佳昭</u>. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム (改訂第4版) (日本輸血・細胞治療学会認定医制度審議会カリキュラム委員会編), 杏林舎, 東京, 2019, p189-192
- 12) <u>冨山佳昭</u>. 播種性血管内凝固症候群 (DIC). 日本輸血・細胞治療学会 認 定医制度指定カリキュラム(改訂第4 版)(日本輸血・細胞治療学会認定医制 度審議会カリキュラム委員会編), 杏 林舎, 東京, 2019, p200-202
- 13) <u>冨山佳昭</u>. 血管性紫斑病. 内科学書 改訂第 9 版(南学正臣総集編),中山 書店,東京,2019,pp232-233
- 14) <u>冨山佳昭</u>. 血小板の異常. 内科学書 改訂第 9 版 (南学正臣総集編),中山書 店,東京,2019,pp233-240
- 15) <u>冨山佳昭</u>. 血小板β3インテグリンと 血小板血栓形成. 日本血栓止血学会 誌 30:579-585, 2019
- 16) <u>富山佳昭</u>. 再生不良性貧血の治療に TPO 受容体作動薬登場. 日経メディカル 622:48-49, 2019
- 17) <u>冨山佳昭</u>. 脾摘. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編)南江堂,東京,2019,pp121-123
- 18) <u>冨山佳昭</u>. 血管障害による出血性疾患: 血管性紫斑病. 血液専門医テキスト(改訂第3版)(日本血液学会編)南江堂,東京,2019,pp409-411
- 19) <u>冨山佳昭</u>. 特発性血小板減少性紫斑病. 血液専門医テキスト(改訂第3版) (日本血液学会編), 南江堂, 東京, 2019, pp412-415

- 20) <u>冨山佳昭</u>. 抗血小板抗体の検出とその臨床的意義. 日本輸血細胞治療学会誌 64:681-687, 2019
- 21) 細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, 富山佳昭. Daratumumabの間接抗グロブリン試験および直接抗グロブリン試験に対する異なる作用: K 抗原の反応性を維持し Daratumumabの偽陽性反応を解消する 0.01 mol/1 DTT を用いた新たな対処法(大阪法). 日本輸血細胞治療学会誌 65:117-127, 2019

2. 学会発表

- 1) The 24th European Hematology Association (2019.6.13-16 RAI Amsterdam Convention Centre, Amsterdam, The Netherlands, Pieter Sonneveld) Cooper N, Bird R, Hato T, Kuter D, Lozano M, Michel M, Platzbecker U, Provan Scheinberg P, Tomiyama Y, Wong R, Bussel JB (発表日 6.14) (Poster) Tapering and discontinuation of thrombopoietin agonists in ITP: expert consensus opinions.
- 2) The 24th European Hematology
 Association (2019.6.13-16 RAI
 Amsterdam Convention Centre,
 Amsterdam, The Netherlands, Pieter
 Sonneveld) Cooper N, Kruse A,
 Morgan M, Provan D, Tomiyama Y,
 Michel M, Ghanima W, Hou M, Santoro
 C, Lovrencic B, Waller J,

- Stankovic M, Bussel JB(発表日6.14)(Poster) Patient perceptions on splenectomy outcomes: results from the ITP world impact survey (I-Wish).
- The American Society of Hematology 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, USA) Florida, Hisashi Kato, Shigenori Honda, Hirokazu Kashiwagi, Nobuko Nishiura, Keigo Akuta, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yosh<u>iaki Tomiyama</u> (発表日 12.7) (Poster) The critical role of Kindlin-3 in initiation of physiological thrombus formationanalysis of Kindlin-3 deficient patient.
- 4) The American Society of Hematology 61th Annual Meeting (2019.12.7-10 Orange County Convention Center, Florida, USA) Bussel JB, Ghanima W, Tomiyama Y, Arnold DM, Provan D, Hou M, Santoro C, Serge Laborde S, Kruse C, Kruse A, Morgan M, Lovrencic11 B, Waller J, Haenig J and Cooper N (発表日 12.7) (Poster) Patients ' Physicians' and Perspectives on Treatments in ITP a Multi-Country Perspective: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISh)
- 5) The XXVII Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (2019.7.6-10 Melbourne Convension

- Exhibition Centre, Melbourne, Australia) Nshiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y (発表日 7.7) (Poster) Platelet function of chronic immune thrombocytopenia: Impact of platelet size, platelet-associated anti-αIIbβ3 antibodies thrombopoietin receptor agonists.
- 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会(2019.5.23-25, ホテル日航熊本, 熊本,米村雄士)柏木浩和,冨山佳昭 (発表日 5.24)(シンポジウム)抗血 小板同種抗体および自己抗体の特徴 とその臨床的意義
- 7) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士)<u>冨山佳昭</u>(発表 日 5.25)(シンポジウム「難病血液疾 患の病態、診断、治療(輸血を含む)」) 特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の病 態と治療
-)第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士)細川美香,<u>柏木</u> 浩和,中山小太郎純友,櫻木美基子, 中尾まゆみ,森川珠世,清川知子,青 地 寛,永峰啓丞,柴山浩彦,<u>冨山佳</u> 昭(発表日 5.25)(口演)Daratumumab 投与後のDAT は陽性になるとは限らない
- 9) 第 67 回日本輸血・細胞治療学会学術 集会 (2019.5.23-25, ホテル日航熊 本,熊本,米村雄士)櫻木美基子,味 村和哉,中山小太郎純友,細川美香, 中尾まゆみ,森川珠世,清川知子,青

- 地 寛, 永峰啓丞, 遠藤誠之, 木村 11) 第 13 回日本血栓止血学会学術標準化 正, 冨山佳昭(発表日 5.25)(口演)高 力価抗 Rh17(抗 Hro)を有する D--型の 母親からの出生に成功した、胎児・新 生児溶血性疾患(HDFN)の一例~当院 での対応と工夫~
- 10) 第 81 回日本血液学会学術集会 (2019.10.11-13, 東京国際フォーラ G. 知的財産権の出願・登録状況 ム, 東京, 小松則夫) 芥田敬吾, 柏木 浩和, 西浦伸子, 加藤恒, 金倉讓, 冨山佳昭(発表日 10.11)(口頭)新規 のインテグリン α IIb β 3 非活性化変 異 β3(R734C)を認めた一家系
- 委員会シンポジウム (2019.2.16 野村 カンファレンスプラザ日本橋, 東京, 藤井輝久)柏木浩和(発表日 2.16) (シンポジウム) Flow cytometry を用 いた慢性 ITP 患者の血小板機能解析
 - なし

ITP診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み

研究分担者:桑名正隆 日本医科大学アレルギー膠原病内科 教授

研究分担者: 冨山佳昭 大阪大学医学部附属病院輸血部 部長

研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の診断には、いまだ血小板減少をきたす他疾患の除外に主眼を置いた基準が用いられている。平成 16 年度に本研究班が ITP に感度または特異度の高い臨床検査を組み合わせた診断基準案を提唱したが、含まれる項目の多くが保険診療下で測定できない。そこで、すでに測定系が確立しているトロンボポエチン(TPO)測定法をキット化して体外診断薬として製造承認を得ることを目指した検討を進め、昨年度はサンドイッチ ELISA キットを構築した。本年度はキットの構成は同様でだが、全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。測定系構築後に基礎性能評価試験で良好な結果が得られ、臨床性能評価試験を実施する準備が整った。

A. 研究目的

我が国では1990年に厚生省研究班によ り作成された特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の診断基準が現状も用いられてい る。この基準では、出血症状と血小板減少 症があり骨髄検査で巨核球の減少や他系 統に異型性がなく、血小板減少をきたし うる他疾患の除外が診断根拠となる。血 小板減少をきたす全ての疾患を診療で除 外することは現実的に不可能で、そのた めに数多くの検査を行うことは医療経済 上好ましくない。そこで、平成16年度に 本研究班で多施設前向き研究を実施し、 ITP に感度、特異度の高い臨床検査を組み 合わせて積極的に ITP を診断する基準案 を作成した。本基準は侵襲性の低い血液 検査のみで迅速に結果が得られ、感度93%、 特異度 75%と良好な結果を示した。しかし ながら、項目に含まれる抗 GPIIb/IIIa 抗

体産生 B 細胞、血小板関連抗 GPIIb/IIIa 抗体、網血小板比率、血漿トロンボポエチ ン(TPO)は保険診療で測定できない。抗 GPIIb/IIIa 抗体產生 B 細胞、網血小板比 率、血漿 TPO は研究目的での受託測定が 可能になったが、検査費用が発生するこ とから一般診療で普及していない。これ ら問題点を解決するためには再現性・汎 用性の高い臨床検査キットの作成および その体外診断用医薬品としての承認が不 可欠である。そこで、すでに測定系が構築 済みのTPO測定試薬(エスアールエル社) を診断用医薬品に求められる基本性能を 満たし、体外診断用医薬品として申請す ることを目的とした検討を行ってきた。 昨年度は 2 種類の抗 TPO 抗体を組み合わ せたサンドイッチ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) として TPO 測定系 を構築したが、臨床検査試薬として展開

するためには汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬 (CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay) へのアップグレードが必要である。そこで、本年度は CLEIA による TPO 測定系の確立を目標とした。

B. 研究方法

1) 対象

再生不良性貧血(AA)患者血清 5 検体、健常人血清および血漿 42 検体を用いた。 AA 検体のうち 4 検体は 大阪大学病院通院中の症例より提供を受け、残りの 1 検体と健常人ボランティア検体は国外ベンダーより購入した。

2) TPO 測定

CLEIA測定系の構築のため、昨年度に作 成したマウス抗ヒト TPO モノクローナル 抗体クローン TN1 結合磁性粒子、 horshradish peroxidase (HRP) 標識抗ヒ ト TPO モノクローナル抗体一本鎖 IgG-Fab'を用いた。また、較正用基準物質と して、新たに作成したリコンビナントヒ ト TPO (rTPO) を用いた。抗 TPO モノク ローナル抗体結合磁性粒子 (110 μ L)、HRP 標識抗 TPO モノクローナル抗体 Fab' (100 μ L) と検体(血清または血漿 40 μ L)) を液相で 37℃、10 分反応後に磁石に より免疫複合体を固定することで未反応 物を除去、洗浄した。発光基質 (100 μ L) を添加して 37℃、2.7 分反応後に蛍光カ ウントを測定した。すべての過程を全自 動診療検査システム STACIA®(LSI メディ エンス)で行い、19分で結果が得られた。 蛍光カウントはrTPOキャリブレータ希釈 系列(0、17.5、70、280、700 pg/mL)を 用いて標準化した。なお、同時に市販キット(R&D社)でもTPO測定を行い、結果を比較した。

(倫理面に対する配慮)

本研究ではヒト検体を使用することから学内倫理委員会で承認済みである(大阪大学)。患者本人に対して研究内容を説明し、文書による同意を得た。

C. 研究結果

1) TPO 測定系の確立

構築した CLEIA の測定系および R&D 社 キットを用いて AA 血清 5 検体、健常人血 清 4 検体の TPO 濃度を測定した。R&D 社 キットに添付されたキャリブレータ(0、 50、250、1000、3000pg/mL) を用いた。CLEIA での測定では AA 検体 879.9~ 4034.2pg/mL、健常人検体 63.1~ 141.5pg/mL と、両群間の差別化が可能で あった。2つの測定法により結果は同一AA 検体で 73~109%の対比率であった。73%と 結果が大きく異なった例は CLEIA 法で最 も高い濃度を示した検体で、2倍希釈した ところ R&D 社キットを同等の数値を示し た。したがって、本検体は R&D 社キット の測定上限値を超える TPO 濃度を有する と考えられ、CELIA 法の方で測定上限が高 いことが明らかとなった。較正用基準物 質として作成したrTPOをキャリブレータ は R&D 社キット添付のキャリブレータに 比べて純度が高く、測定濃度の比較には 4.286 の係数調整が必要であった (R&D 社 キットの 3000 pg/mL に相当する CLEIA で のrTPO濃度は700pg/mL)。すなわち、CLEIA 法で算出された測定値に係数 4.286 を掛 ければ、R&D キット測定値に変換できた。 2) TPO 測定法の基礎性能評価

TPO 濃度が低 (<50 pg/mL)、中 (50-200 pg/mL)、高濃度 (>200 pg/mL) の 3 血清を 用いて同時に 10 測定したところ、CV は 2.4%と高い同時再現性が確認された。ま た、4日間連続測定してもCVは1.9~5.5% で測定間差再現性も高かった。低、中、高 濃度の3血清を段階的に1/10まで希釈し て直線性を検討したところ、700 pg/mL ま で直線性が確保された。rTPO を用いてさ らに高濃度の検体を作成したところ、測 定上限の 700 pg/mL を越えて 2000 pg/mL 程度まで直線性を維持しプロゾーン現象 はみられなかった。低、中、高濃度の3血 清にrTPOを添加して回収率を評価したと ころ、100%±15%の範囲内であった。凍結 融解、共存物質(ビリルビン、リウマトイ ド因子、乳び)の測定結果への影響はな かった。AA 血清を段階的に希釈し、CV が 15%を超える濃度を測定下限とすると 1.6 pg/mL であった。R&D 社キットの測定下限 が 18.5 pg/mL であることから、CLEIA 法 は約3倍高感度であった(係数4.286)。 健常人 42 人の血清、EDTA 血漿を用いて TPO 濃度を測定すると、血清での最低値は 11.6、血漿での最低値は 3.2 で測定下限 より高かった。一方、すべての検体で TPO 濃度が血漿より血清で高いことが明らか となった。

D. 考察

今回、CLEIA 法を用いた汎用性の高い体量の検体を迅速に処理できる TPO 測定系を確立した。基礎性能評価試験で大きな問題はなく、測定範囲は 1.6-700 pg/mL と

広範囲で健常人からAA患者検体まで幅広くカバーできた。血清、血漿ともに試料として使用可能だが、これまでの研究報告との対比から血漿を用いた測定が望ましい。すでにキット最終仕様が確立できたことから、今後は ITP、AA など血小板減少症患者を対象とした臨床性能試験の実施に向けた準備を進める予定である。

E. 結論

高感度、再現性の高い TPO 測定キット を構築することができた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

該当なし

学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も 含む)

- 特許取得
 該当なし
- 実用新案登録
 該当なし
- その他
 該当なし

臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

研究分担者:羽藤高明 愛媛大学大学院医学系研究科 血液·免疫·感染症内科学講座

研究協力者:島田直樹 国際医療福祉大学基礎医学研究センター

倉田義之 四天王寺悲田院

研究要旨

2005 年度から 2014 年度(10年間)の臨床調査個人票のデータを用いて出血リスク因 子を解析した。紫斑は血小板減少とともに直線的に増加したが、歯肉出血、鼻出血、血 尿、下血、脳出血は血小板数 1-2 万以下で急激に増加した。下血は鼻出血や歯肉出血の ような粘膜出血のある患者に多く見られたが、脳出血はそのような関連はなかった。脳 出血のリスク因子として、血小板数1万以下、60歳以上、血尿が同定されたが、50歳 未満の患者では血小板数との関連はなくなり、逆に70歳以上では血小板数2.5万未満 で脳出血が増加していた。

A. 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病(以下 ITP) は、しばしば治療に難渋し、長期間にわ たって治療を必要とする難治性疾患であ る。厚生労働省は ITP を特定疾患に指定し、 医学部附属病院倫理委員会の承認を得た。 患者への支援を実施してきている。今後の ITP 患者への治療計画、支援計画をたてる にあたりわが国における ITP 患者の実態 を把握することは非常に重要であると考 える。本研究では ITP 患者より厚生労働省 へ提出された臨床調査個人票をもとに ITP 患者の出血症状を解析した。

B. 研究方法

厚生労働省健康局疾病対策課より 2005 年度から 2014 年度の間に提出された ITP 症例の臨床調査個人票をもとに入力され たデータの提供を受け、このデータを用い て皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・ 年齢との関連やその他のリスク因子につ いて調査した。

(倫理面への配慮)

本疫学研究の施行に当たっては愛媛大学

C. 研究結果および考察

1. 解析対象患者

臨床調査個人票には新規登録患者デー タベースと更新登録患者データベースが ある。新規登録患者は出血症状の発現と血 小板数の測定がほぼ同時期(登録時)に記 録されているので、両者の関連をみるのに 適していると考え、新規登録患者を対象と した。また、小児患者の登録は限定的なの で、成人(18歳以上)の患者を対象とした。 2005 年度から 2014 年度の 10 年間におけ る新規登録患者数は 21,811 人であり、こ のうち、血小板数値を含む報告データに欠 損のない新規登録成人患者 19,415 人を調 査対象とした。

2. 紫斑

紫斑は、19,415人中12,581人(64.5%) 平均年齢は 61.0 歳であった。血小板数と 紫斑出現頻度には直線的な負の相関があ り、紫斑が出現しやすくなる血小板数閾値 は存在しなかった。多変量解析では、血小 板数 1 万未満は独立したリスク因子とし て同定され、オッズ比は 5.07 (95%CI: 4.691-5.480) であった。また、紫斑は年齢 の増加につれて多くなったが、60歳以上 のオッズ比は 1.272 (95%CI: 1.187-1.362) であり、血小板数よりも弱い相関を もつリスク因子であった。

3. 歯肉出血

歯肉出血は、19,415 人中 3,936 人 (20.2%)にみられた。男性にやや出現しや すく、平均年齢は61.3歳であった。歯肉 出血の頻度は血小板数 1.5 万以上ではあ まり変わらないが、1.5万未満になると急 激に増加した。多変量解析では、血小板数 1万未満は独立したリスク因子として同定 され、オッズ比は 4.169(95%CI: 3.807-4.565) であった。また、歯肉出血は年齢の 増加につれて多くなったが、60 歳以上の オッズ比は 0.982(95%CI: 0.902-1.070, P=0.685) であり、独立リスク因子で はなかった。

4. 鼻出血

鼻出血は、19,415人中2,424人(12.4%) にみられた。男性に出現しやすく、平均年 齢は61.3歳であった。鼻出血の頻度は血 小板数 1.5 万以上ではあまり変わらない が、1.5 万未満になると急激に増加した。 多変量解析では、血小板数1万未満は独立

したリスク因子として同定され、オッズ比 は 2.285(95%CI: 2.052-2.546)であった。 また、鼻出血は39歳以下の若年層に多く、 にみられた。男性より女性に出現しやすく、60 歳以上のオッズ比は 0.814(95%CI: 0.739-0.896)であり、他の出血症状と異 なって、高齢者のほうが有意に少なかった。 5. 血尿

> 血尿は、19,415 人中 1,240 人(6.2%)に みられた。男性に出現しやすく、平均年齢 は64.0歳であった。血尿の頻度は血小板 数2万以上ではあまり変わらないが、2万 未満になると急激に増加した。多変量解析 では、血小板数1万未満は独立したリスク 因子として同定され、オッズ比は 2.933(95%CI: 2.488-3.457)であった。ま た、血尿は年齢の増加につれて多くなった が、60歳以上のオッズ比は 1.098(95%CI: 0.958-1.260, P=0.179) であり、独立リスク 因子ではなかった。

6. 下血

下血は、19,415人中1,206人(6.1%)に みられた。男性に出現しやすく、平均年齢 は70.5歳であった。下血の頻度は血小板 数 1.5 万以上ではあまり変わらなかった が、1.5 万未満になると急激に増加した。 多変量解析では、血小板数1万未満は独立 したリスク因子として同定され、オッズ比 は 4.153 (95%CI: 3 3.513-4.910) であった。 また、下血は年齢の増加につれて多くなり、 60 歳以上のオッズ比は 2.629(95%CI: 2.246-3.078)であり、血小板数よりも弱い が、独立したリスク因子であった。また、 下血は歯肉出血および鼻出血の出現と有 意に相関していた。

7. 脳出血

脳出血は、19,415人中222人(1.1%)に

みられた。男性にやや出現しやすく、平均年齢は71.5歳であった。脳出血の頻度は血小板数1万未満になると急激に増加した。多変量解析では、血小板数1万未満は独立したリスク因子として同定され、オッズ比は2.962(95%CI:2.112-4.154)であった。また、下血は年齢の増加につれて多くなり、60歳以上のオッズ比は3.086(95%CI:2.131-4.468)であり、血小板数とともに独立したリスク因子であった。さらに、血尿の存在が独立リスク因子として同定され、オッズ比は1.562(95%CI:1.037-2.351)であった。

8. 年齢別の脳出血リスク因子

患者を 18-49 歳、50-69 歳、70 歳以上 の 3 つの年齢層に分けて脳出血を起こし た血小板数を解析した。18-49 歳の若年 層では血小板数と脳出血頻度の間に明ら かな相関は見られず、全年齢層での解析と 違って、血小板数1万未満は脳出血のリス ク因子ではなくなった(オッズ比 0.96, 95%CI: 0.35-2.65, p=0.936)。しかし、50-69歳と70歳以上の年齢層では血小板数1 万未満で脳出血は急増しており、多変量解 析でも全年齢層での解析結果と同様に有 意な脳出血リスク因子として同定された。 また、70歳以上では血小板数 2.5 万未満 で脳出血が明らかに増加していた。これら の結果から、患者の年齢を考慮した脳出血 のリスクを判断する必要があると考えら れた。

D. 結語

1. 紫斑は ITP 患者の約半数に見られ、その出現頻度は血小板減少とともに直線的に増加した。

- 2. 粘膜出血(歯肉出血・鼻出血)と内臓出血(血尿、下血、脳出血)は血小板数 1.5 万未満で急激に増加した。
- 3. 皮膚・粘膜出血と年齢の相関は弱かったが、内臓出血は年齢とともに増加した。
- 4. 脳出血のリスク因子は血小板数1万未 満、60歳以上、血尿の3つであった。
- 5. ただし、脳出血のリスクは年齢を考慮して判断する必要がある。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y: Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. Blood Adv (in press)
- 2) Ikeda Y, Yamanouchi J, Hato T, Yasukawa M, Takenaka K: childbirth for а 1 type antithrombin-deficient woman with novel mutation in the SERPINC1 gene undergoing antithrombin trate therapy. Blood Coagul Fibrinolysis 30:47-51, 2019
- 3) Joko K, Hato T: Acute liver failure and intractable gastric ulcer in plasma prekallikrein deficiency 松山赤十字病院医学雑誌 44:21-27, 2019
- 4) 柏木浩和、桑名正隆、羽藤高明、高蓋寿

- 朗、藤村欣吾、倉田義之、村田満、冨山 佳昭:成人特発性血小板減少性紫斑病 治療の参照ガイド 2019 改訂版 臨床 血液 60:877-896, 2019
- 5) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T,
 Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y,
 Murata M, Tomiyama Y: Reference
 guide for management of adult
 immune thrombocytopenia in Japan:
 2019 Revision. Int J Hematol
 111:329-351, 2020

2. 著書

- 1) 羽藤高明 輸血・血液型検査 今日の 臨床検査 2019-2020 pp110-117, 2019 南江堂 東京
- 2) 羽藤高明 ヒト白血球抗原 (HLA) 検査 今日の臨床検査 2019-2020 pp118-123, 2019 南江堂 東京
- 3) 羽藤高明 血小板の同種抗原 日本輸血・細胞治療学会認定医制度指定カリキュラム 改訂第4版 pp91-93, 2019日本輸血・細胞治療学会 東京
- 4) 羽藤高明 先天性および後天性血管障害による出血 血液疾患 最新の治療2020-2022 pp231-234, 2019 南江堂東京

3. 学会発表

- 1) 羽藤高明 今後の血友病診療を考える 地域中核病院としての取り組み 第13 回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム 2019.2.16 東京
- 2) 羽藤高明、島田直樹、冨山佳昭、村田満 全国 ITP 患者統計からみた出血症状と 血小板数の関連性 第 13 回日本血栓

- 止血学会学術標準化委員会 (SSC) シン ポジウム 2019. 2. 16 東京
- 3) 土居靖和、秋田誠、岡本康二、田尾美冴、山之内純、谷口裕美、西宮達也、宮本仁志、羽藤高明 当院の危機的出血への対応:10年間の実績報告 第67回日本輸血・細胞治療学会学術総会2019.5.23 熊本
- 4) 山之内純、新家敏之、秋田誠、越智千晶、 岡本康二、谷口裕美、土居靖和、竹中克 斗、羽藤高明 APTT 延長に対して術前 に FFP が輸注された先天性プレカリク レイン欠乏症 第 67 回日本輸血・細胞 治療学会学術総会 2019.5.23 熊本
- 5) 山之内純、池田祐一、羽藤高明 妊娠 分娩管理における血友病保因者遺伝子 診断の有用性 第 41 回日本血栓止血 学会学術総会 2019.6.22 津
- 6) Cooper N, Bird R, Hato T, Kuter DJ,
 Lozano M, Michel M, Platzbecker U,
 Provan D, Scheinberg P, Tomiyama Y,
 Wong R, Bussel JB Tapering and
 discontinuation of thrombopoietin
 receptor agonists in ITP: consensus
 summary of expert opinions. The
 24th congress of European
 Hematology Association 2019.6.14
 Amsterdam, Netherland

G. 知的財産権の出願・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

TTP グループ総括

分担研究者・サブグループリーダー:松本 雅則

研究分担者:宮川義隆 埼玉医科大学総合診療内科・血栓止血センター 教授

小亀浩市 国立循環器病研究センター研究所分子病態部 部長

研究要旨

平成 31/令和元年度は以下の 6 項目につき実施した。1) TMA レジストリーの継続、2) ADAMTS13 遺伝子解析の継続、3) リツキシマブの後天性 TTP への保険適用拡大、4) TTP 診療ガイド 2017 改定版の作成、5) MINDS 方式による TTP ガイドラインの作成、6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析。 TMA レジストリーは 2019 年 12 月末で 1550 例の登録となり、そのうち ADAMTS13 活性が 10%未満の TTP が 684 例となった。うち先天性 TTP が 67 例であり、65 例において ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。61 例において責任遺伝子変異を同定したが、4 例は発見できなかった。2020 年 2 月にリツキシマブの後天性 TTP に対する適応拡大が実現した。ADAMTS13 検査の保険収載、血漿交換の回数制限の撤廃など TTP の保険診療における進歩を TTP ガイドラインに反映させるため、「TTP 診療ガイド 2017」を部分的に改定し、「TTP ガイド 2020」を作成した。本年に国際血栓止血学会の TTP ガイドラインが公表される予定であり、それと大きな齟齬がなく、科学的根拠を基にしたガイドラインとするため、MINDS に準拠した TTP ガイドラインを今後作成する予定である。

A. 研究の目的

日本国内のTMA(血栓性微小血管症)症例の集積と病態解析を行い、TTP (血栓性血小板減少性紫斑病)の実態を明らかにし、予後の改善を図る。

B. 研究方法

平成 31/令和元年度は以下のように計画し、実施した。

- 1) TMA レジストリーの継続
- 2) ADAMTS13 遺伝子解析の継続
- 3) リツキシマブの後天性 TTP への保険 適用拡大
- 4) TTP 診療ガイド 2017 改定版の作成

- 5) MINDS 方式による TTP ガイドラインの 作成
- 6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

(倫理面への配慮)

検体採取に際しては、主治医より十分な 説明を行い、同意を得た。また、TMA コホー ト研究は奈良医大と倫理委員会、遺伝子解 析は奈良医大、国立循環器病研究センター のヒトゲノム倫理委員会の承認を得てい る。

C. 研究成果

1) TMA レジストリーの継続

1998 年に奈良医大輸血部で開始した TMA レジストリーは、2019年12月末で1550 例の症例を登録した。これは全国の医療機関から TMA 疑い症例において ADAMTS13 検査を依頼されたものをデータベースにしたものである。 TMA レジストリーの登録患者数の年次推移を図1に示す。ADAMTS13 検査が保険収載され、検査依頼が減少しているが、2019年に34例増加した。表1に示すように34例のうち ADAMTS13 活性が10%未満の TTP 症例が21 例であった。このうち、先天性 TTP(Upshaw-Schulman 症候群、USS)が2例で、後天性特発性の症例が14例であった。

2) ADAMTS13 遺伝子解析の継続

表1に示すように、日本国内で発見した USS は2019年に2例増えて67例となった。このうち65例についてADAMTS13遺伝子解析を実施した(本年は1例実施)。65例のうち61例(93.8%)で責任遺伝子変異を同定した。11例がホモ接合体遺伝子異常、50例が複合ヘテロ接合体異常であった。日本人で発見したADAMTS13遺伝子異常は、欧米から報告されているものと同じものはほとんど無かった。

3) リツキシマブの後天性 TTP への保険適 用拡大

2014年に別の厚労研究班(主任研究者宮川)において、後天性 TTP に対するリツキシマブの医師主導治験を実施した。その後、2017年8月に日本血液学会を通じて「医療上必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」に要望書を提出した。2018年7月に同部会の専門作業部会で承認され、2019年

5月に公知申請が認められた。2020年2月 にリツキシマブの後天性 TTP に対する適 応拡大が正式に認められた。ただ、後天性 の中でも再発性、難治性にのみ使用を考慮 するように添付文書に記載されている。

4) TTP 診療ガイド 2017 改定版の作成

我々は、2017年にTTP診療ガイド2017を作成し、日本血液学会の承認を得て、和文、英文両方で論文発表した。その後、ADAMTS13検査の保険収載、後天性TTPに対する血漿交換の回数制限の撤廃、リツキシマブの後天性TTPに対する保険適用拡大という本研究班の活動の成果が保険診療に成果として現れた。その成果をガイドラインに反映させ、一部書き換えて「TTP診療ガイド2020」として完成させた。添付資料1として添付するが、「TTP診療ガイド2017」からの変更部位をアンダーラインで示した。

5) MINDS 方式による TTP ガイドラインの 作成

ガイドラインの作成は、科学的根拠をもとに作成することが求められているが、特に日本国内では MINDS 方式を準拠することが望ましいとされている。我々も MINDS 方式を準拠するため、clinical question (CQ) を策定し、網羅的に文献検索を行うことを考えた。ただし、国際血栓止血学会 (ISTH) が作成した TTP ガイドラインの素案が公表されている状況であり、我々のガイドラインの記載と大きく異なることは混乱をきたす可能性がある。そのため、ISTH のガイドラインが正式に発表される2020 年度以降に本格的に作成を開始する

ことを計画している。

6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

TMA の中でも TTP は病態解析が進み、新たな治療法が次々と登場しているが、二次性 TMA は病態が明らかでなく、有効な治療法が開発されていない状況である。そのため、我々は二次性 TMA の中から造血幹細胞移植後 TMA を取り上げて解析している。解析する症例として、奈良医大の症例の他に倉敷中央病院血液内科の症例で実施している。倉敷では 2006 年9 月以降に造血幹細胞移植を受けた症例の血漿が移植前より保存されており、2013 年から 2016 年の移植症例 45 例の解析を終了した。

造血幹細胞移植後 TMA に対して補体 C5 に対するモノクローナル抗体エクリズマブが有効であることが報告されている。 C5b-9 は補体活性の最終産物で、活性化の重要な指標と考えられている。血液中の可溶性 C5b-9 の測定と組織中の C5b-9 の染色で検討することが可能である。皮膚と腸管の生検組織を使って C5b-9 の染色を造血幹細胞移植後 GVHD 患者で実施した。腸管では 11/12、皮膚では 6/17 で陽性となり、腸管では陽性率が高過ぎることより、皮膚生検で検査する方が有用であると考えている。

D. 考察

TTP グループとして、本年度も概ね順調に活動できたと考えている。本年度の一番大きな活動としては、TTP ガイドラインの改定があった。当初は、CQ を作成し、文献検索を網羅的に行って改定することも考えたが、希少疾患で科学的根拠の高いデー

タを得ることは困難であることが予想された。実際、現在作成中の ISTH ガイドラインにおいても、科学的根拠が明らかでない項目も多い。そのため、今回は「TTP診療ガイド 2017」を部分的に改定することにした。この 3 年の間に保険診療で新たに認められた項目を中心に改定し「TTP診療ガイド 2020」を作成した。

また、20年以上継続している奈良医大の TMA レジストリーも順調に登録が継続して いる。総登録数は 1550 例となり、世界で も類を見ない症例数となっている。 ADAMTS13 検査が保険適用となったことよ り ADAMTS13 著減例である TTP の診断、経 過観察を目的に登録されている症例が増 えている。TTP 全体の症例数は 684 例とこ れも世界有数の規模である。このうち先天 性 TTP が 67 例となったが、61 例が ADAMTS13 遺伝子に異常のある確定例であ る。遺伝子解析で責任遺伝子異常を発見で きなかった 4 例において、Long read を 使った PacBio で解析中である。興味深い 結果が得られており、今後解析を続け、遺 伝子異常を明らかにする予定である。

E. 結論

我々のグループは TMA 症例の集積を行いながら、病態解析を継続している。また、2014 年から保険収載を目指して取り組んできたリツキシマブの後天性 TTP に対する適応拡大に本年やっと成功した。これらの保険診療における進歩を組み入れた「TTP 診療ガイド 2020」を作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

欧文

- 1. Otani T, Hatakeyama K, Yamashita K, Hayata Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Taniguchi S, Ohbayashi C. A histological description of intestinal 'angiodysplasia' in an autopsy case of Heyde's syndrome. Pathol Int. 69(12)727-729,2019. doi:10.1111/pin.12874.
- 2. Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K, Miyata Τ, Takahashi Υ, Taniguchi S, Matsumoto Μ. Patent ductus arteriosus generates neonata1 hemolytic jaundice with thrombocytopenia Upshawin Schulman syndrome. Blood Adv. 3(21)3191-3195,2019
- Takaya H, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Nakanishi K, Tsuji Y, Shimozato N, Moriya K, Seki K, Sawada Y, Saikawa S, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Noguchi R, Matsumoto M, Yoshiji Н. VWF/ADAMTS13 ratio as a potential biomarker for early detection of hepatocellular carcinoma. BMC gastroenterology. 19(1)167,2019
- 4. Yoshikawa T, Nomi T, Sakai K, Hayakawa M, Hokuto D, Matsuo Y, Sho M, <u>Matsumoto M</u>. Ischaemia-reperfusion injury with Pringle's maneuver induces unusually large von Willebrand factor multimers after hepatectomy. Thrombosis

research. 183, 20-27, 2019

5.

- Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clinical Experimental Nephrology. 23(1)65-75, 2019
- Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, <u>Matsumoto M</u>, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clinical Experimental Nephrology. 23(1)112-121, 2019
- van Dorland HA, Mansouri Taleghani M, Sakai K, Friedman KD, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, Krogh AS, Schneppenheim R, Aebi-Huber I, Bütikofer L, Largiadèr CR, Cermakova Z, Kokame K, Miyata T, Yagi H, Terrell DR, Vesely SK, Matsumoto M, Lämmle B, Fujimura Y, Kremer Hovinga JA. The International Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic

Purpura Registry: Key findings at enrolment until 2017. Haematologica. 104(10)2107-2115, 2019 Feb 21. pii: haematol. 2019. 216796.

doi:10.3324/haematol.2019.216796.

- 8. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Fujimura Y, <u>Matsumoto M</u>. Blood group antigen A on von Willebrand factor is more protective against ADAMTS13 cleavage than antigens B and H. J Thromb Haemost. 17(6)975-983,2019
- 9. Tsujii N, Nogami K, Matsumoto M, Yoshizawa H, Takase T, Tanaka I, Sakai T, Fukuda K, Hayakawa M, Sakai K, Isonishi A, Matsuura K, Fujimura Y, Shima M. Involvement of the ADAMTS13-VWF axis in acute Kawasaki disease and effects of intravenous immunoglobulin. Thromb Res. 179:1-10, 2019 Apr. doi: 10.1016/j. thromres. 2019.04.026.
- 10. Horiuchi H, Doman T, Kokame K, Saiki Y, <u>Matsumoto M</u>. Acquired von Willebrand Syndrome Associated with Cardiovascular Diseases. J Atheroscler Thromb. 26(4)303-314,2019. doi:10.5551/jat.RV17031.
- 11. Takaya H, Namisaki T, Shimozato N, Kaji K, Kitade M, Moriya K, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Matsumoto M, Yoshiji H. ADAMTS13 and von Willebrand factor are useful biomarkers for sorafenib treatment efficiency in patients

- with hepatocellular carcinoma. World J Gastrointest Oncol. 11(5):424-435, May 15, 2019. doi: 10.4251/wjgo.v11.i5.424.
- 12. Nakayama S, Hirashio S, Yorishima H, Doi T, Yoshida Y, Matsumoto M, Masaki T. Atypical reduction of plasma ADAMTS13 activity by a non-IgG-type inhibitor in a patient with hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing Escherichia coli. CEN Case Reports. 2019 Jun 8. doi.org/ 10. 1007/s13730-019-00405-4.
- 13. Sakai K, Someya T, Harada K, Yagi H, Matsui T, <u>Matsumoto M</u>. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to caplacizumab. Haematologica. 2019. 235549; doi:10.3324/haematol.2019.235549.

doi:10.3324/haematol.2019.235549. [Epub ahead of print]

- 14. Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo Hayakawa M, Matsumoto Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. J Intensive Care Med. 2020 Jan 22:885066619899637. doi: 10.1177/0885066619899637. [Epub ahead of print]
- 15. Shigekiyo T, Yagi H, Sekimoto E, Shibata H, Ozaki S, <u>Matsumoto M</u>.

- Identification of a missense mutation (p.Leu1733Pro) in the A3 domain of von Willebrand factor in a family with type 2M von Willebrand disease. International journal of hematology. 111(3) 467 470 2020.
- 16. Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M. Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. 27(4) 353 - 362 2020. doi.org/10.5551/jat.49494
- 17. Sakai K, Kuwana M, Tanaka Η, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Iwato K, Matsui M, Okamoto Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound Blood. 2020 to different HLA-DR.
- 18. Seiko Nakajima-Doi, Osamu Seguchi, Yasuhiro Shintani, Tomoyuki Fujita, Satsuki Fukushima, Yorihiko Matsumoto, Yuka Eura, Koichi Kokame, Shigeki Miyata, Sachi

- Matsuda, Hiroki Mochizuki, Keiichiro Iwasaki, Yuki Kimura, Koichi Toda, Yuto Kumai, Kensuke Kuroda, Takuya Watanabe, Masanobu Yanase, Junjiro Kobayashi, Norihide Fukushima: Experience of the use of octreotide refractory gastrointestinal bleeding in patient а with Jarvik2000 left ventricular assist device. J. Artif. Organs 22 (5), 334-337, 2019
- 19. Yuka Sugawara, Hideki Kato, Yoko Yoshida, Madoka Fujisawa, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yuko Akioka, Kenichiro Miura, Motoshi Hattori. and Masaomi Nangaku: Novel CFHR2-CFHR1 hybrid in C3 glomerulopathy identified by genomic structural variation analysis. Kidney Int. Rep. 4 (12), 1759-1762, 2019
- 20. Miyu Usui, Tadashi Ozawa, Younhee Takafumi Mashiko, Matsuzono, Keiko Maruyama, Koichi Kokame, Rie Usui, Reiji Koide, and Shigeru Fujimoto: Cerebral venous sinus thrombosis associated with S deficiency protein during pregnancy: а case report. J. Obstet. Gynaecol. 40 (1), 135-136, 2020
- 21. Takekazu Miyoshi, Keiko Maruyama, Hisato Oku, Saiko Asahara, Hironori Hanada, Reiko Neki, Jun Yoshimatsu, Koichi Kokame, and

- Toshiyuki Miyata: Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation. Thromb. Res. 185, 1-4,2020
- 22. Keigo Akuta, Kazunobu Kiyomizu, Hirokazu Kashiwagi, Shinji Kunishima, Nobuko Nishiura, Fumiaki Banno, Koichi Kokame, Kato, Yuzuru Kanakura, Hisashi Toshiyuki Miyata, and Yoshiaki Tomiyama: Knock-in mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J. Thromb. Haemost. 18 (2), 497-509, 2020
- 23. Miyakawa Y. [Rituximab for treatment of immune thrombocytopenia and thrombotic thrombocytopenic purpura]. Rinsho Ketsueki. 2019;60(5):480-487.
- 24. Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clin Exp Nephrol. 2019 Jan; 23(1):112-121.
- 25. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, Kagami S, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T,

Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clin Exp Nephrol. 2019 Jan; 23(1):65-75.

和文

- 1. 久保 政之, <u>松本 雅則</u>. 【専門家による私の治療】血栓性血小板減少性紫斑病(TTP). 日本医事新報 4987 号 54, 2019
- 久保 政之, 松本 雅則. 未来型血液 治療学 4章 血小板・凝固線溶系疾 患 血栓性血小板減少性紫斑病. 中外 医学社 239-245, 2019
- 3. 酒井 和哉, <u>松本 雅則</u>. 血液領域に おける免疫療法と抗体医薬―最近の 展 開 後 天 性 TTP に 対 す る caplacizumab の臨床効果. 血液内科 79巻1号76-81, 2019
- 4. 酒井 和哉, <u>松本 雅則</u>. ADAMTS13 が 関与する多様な病態 先天性 TTP の臨 床所見. Thrombosis Medicine 9 巻 3 号 206-211, 2019
- 松本 雅則. TMA(血栓性微小血管症) と HELLP 症候群. 産科と婦人科 89 巻 2 号 231-236, 2019
- 6. 岡崎 仁,池田 敏之,大石 晃嗣,加藤 栄史,浜口 功,藤井 康彦,<u>松本 雅則</u>,松下 正,日本輸血・細胞治療学会ガイドライン委員会輸血有害事象検討タスクフォース.科学的根拠に基づいた輸血有害事象対応ガイド

- ライン. 日本輸血細胞治療学会誌 65 巻1号1-9, 2019
- 7. 松本 雅則. 【血栓止血の臨床-研修医 のために[第2版]】 血小板減少を伴 う血栓性疾患 血栓性血小板減少性紫 斑病(TTP)の診断と治療. 日本血栓止 血学会誌 30 巻 1 号 155-159, 2019
- 8. 國島 伸治, 山崎 昌子, 松本 雅則. 2018 Hot Topics 血小板分野. 日本 血栓止血学会誌 30 巻 1 号 248-251, 2019
- 9. 久保 政之,松本 雅則. 【検査項目と 異常値からみた-緊急・重要疾患レッ ドページ】(7章)血液・造血器疾患血 栓性血小板減少性紫斑病. 臨床検査 63 巻 4 号 508-509, 2019
- 10. 松本 雅則. 輸血管理部門の将来像 血漿分画製剤管理と臨床研究. 日本 輸血細胞治療学会誌 65 巻 3 号 723-724, 2019
- 11. 高見 昭良, 松下 正, 緒方 正男, 藤 井 伸治, 久冨木 庸子, 藤原 慎一郎, 学会発表 松本 雅則, 冨山 佳昭, 日本輸血・細 胞治療学会血小板使用ガイドライン 小委員会,日本輸血・細胞治療学会「指 針改訂検討委員会 | 日本輸血·細胞治 療学会ガイドライン委員会,血小板製 剤使用ガイドライン小委員会. 科学 的根拠に基づいた血小板製剤の使用 ガイドライン[2019 年改訂版]. 日本 輸血細胞治療学会誌 65 巻 3 号 554-561, 2019
- 12. 松下 正, 長谷川 雄一, 玉井 佳子, 宮田 茂樹, 安村 敏, 山本 晃士, 松 本 雅則, 日本輸血・細胞治療学会「ガ 4. 藤村 吉博, レムレ ベルンハルト, 田 イドライン委員会」,新鮮凍結血漿の

- 使用指針に関する小委員会. 科学的 根拠に基づいた新鮮凍結血漿(FFP)の 使用ガイドライン[改訂第 2 版]. 日 本輸血細胞治療学会誌 65 巻 3 号 525-537, 2019
- 13. 松本 雅則.【全身性疾患と腎 update】 (第 5 章)血液疾患 血栓性微小血管 症・血液専門医の視点より、腎と透析 86 巻 274-277, 2019
- 14. 松本 雅則. 【指定難病ペディア 2019】 個別の指定難病 血液系 血栓性血小 板減少性紫斑病(TTP)[指定難病 64]. 日本医師会雑誌 148 巻 S189-S190, 2019
- 15. 秋山正志, 小亀浩市: ADAMTS13 の構 造変化と機能発現. Thromb. Med. 9 (3), 189–198, 2019
- 16. 宮田敏行,小亀浩市: TMA の遺伝子診 断:TTPとaHUS. 日本血栓止血誌,31 (1), 17-27, 2020

- 1. 松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑 病. 第 67 回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019年5月25日
- 2. 長谷川 真弓, 田中 宏明, 谷山 歩, 隅 志穂里,梅木 弥生,田中 忍,酒井 和 哉,早川 正樹,松本 雅則. 輸血検査 におけるフローサイトメトリーの有 用性. 第67回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019年5月25日
- 3. 松本 雅則. aHUS 以外の TMA の診断と 治療. 第41回日本血栓止血学会, 三 重, 2019年6月20日~22日
- 辺 さおり, 高橋 幸博, 酒井 和哉, 谷

- 口繁樹,<u>松本雅則</u>. Severe hemolytic jaundice with thrombocytopenia at birth in Upshaw-Schulman syndrome is caused by physical constriction of ductus arteriosus. 第41回日本血栓止血学会,三重,2019年6月20日~22日
- 5. 石川 哲也, 小川 孔幸, 内藤 千晶, 松本 彬, 宮澤 悠里, 石埼 卓馬, 柳澤 邦雄, 松村 郁子, 外山 耕太郎, 松本 雅則, 半田 寛. Inhibitor boosting により長期入院を要した難治性の血栓性血小板減少性紫斑病症例. 第41回日本血栓止血学会, 三重,2019年6月20日~22日
- 6. 平形 絢子, 小林 靖子, 池内 由果, 小 笠原 聡, 武井 麻里子, 小川 孔幸, 半 田 寛, 松本 雅則, 荒川 浩一. 血栓性 血小板減少性紫斑病を契機に診断さ れた全身性エリテマトーデスの小児 例. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
- 7. 酒井 和哉, 中塚 優希, 吉田 瑶子, 早川 正樹, 和田 英夫, <u>松本 雅則</u>. 凝固マーカーを含むルーチン血液検査による TMA と DIC の比較. 第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
- 8. 矢田 憲孝,川島 浩正,垣脇 文香,佐和 明裕,千崎 聡士,西村 伸城,米今 諒,田井 義彬,對馬 恵美子,大野史郎,吉本 清巳,酒井 和哉,福島 英賢,松本 雅則,西尾 健治. 敗血症性DIC と血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の鑑別診断における FDP/Ddimer 比および LDH/Hb 比の有用性.

第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日

9.

- H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J. N. George, I. Hrachovinova, P. N. Knöbl, A. S. von Krogh, Schneppenheim, E. Tarasco, C. R. Largiadèr, Z. Cermakova, K. Kokame, Miyata, D. R. Terrell, Τ. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmlel, Y. Fujimura, J.A. Kremer Hovinga. Age at First Disease Manifestation in Relation to Residual ADAMTS13 Activity in Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Congress of International the Society Thrombosis Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
- 10. K. Sakai, Y. Fujimura, A. Isonishi, M. Hayakawa, H. Yagi, M. Matsumoto. Successful Treatment of Pregnant Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Using Prophylactic Fresh Frozen Plasma Infusion. XXVII the Congress of International Society Thrombosis on (ISTH), Haemostasis Melbourne, 2019年7月6日~10日
- 11. H. Shimizu, K. Matsuura, Y. Miura, N. Takahashi, K. Sugie, K. Hatakeyama, M. Matsumoto. Immunohistologic Analysis of von Willebrand Factor in Thrombi

- 12. Y. Fujimura, B. Laemmle, S. Tanabe, Takahashi, K. Sakai, S. Taniguchi, M. Matsumoto. **Hemolytic** Jaundice with Thrombocytopenia at Birth in Congenital TTP Is Caused by Physiological Constriction Ductus Arteriosus. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
- 13. J.Y. Tiao, R. Baker, J. Sathar, Y.Y. Yap, P. Angchaisuksiri, D. Oh, S.-S. Yoon, J. Kim, R. Wong, Ε. Merriman, P. Choi, E. Gardiner, C.-G. Ruan, Z. Yu, M. Matsumoto, S.L. Tien, M.-C. Shen, S. Nair, R. M. Smith. Successful Yang, International Standardisation of ADAMTS13 Assays Highlights Challenges | in the Result Interpretation for the Diagnosis Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) - results of the Asia-Pacific Microangiopathic (APMAT) Network. XXVII Congress of International Society Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日 14. 松本 雅則. 血液製剤適正使用ガイド

ライン update. 第 43 回日本血液事

- 業学会総会. 仙台, 2019 年 10 月 2 日 ~4 日
- 15. M Hayakawa, H Horiuchi, K Kokame, T Yambe, Y Shiraishi, A Yamada, Y Inoue, Y Saiki, T Yasui, T Minamitani, M Matsumoto. Acquired von Willebrand syndrome. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日~13日
- 16. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H Tanaka, <u>M Matsumoto</u>. A susceptibility locus for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in Japanese patients. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日~13日
- 17. 谷山 歩, 隅 志穂里, 梅木 弥生, 長谷 川 真弓, 久保 政之, 酒井 和哉, 早川 正樹, 松本 雅則. AB 型クリオ製剤使 用時の安全性の検討. 第 63 回日本輸 血・細胞治療学会近畿支部総会. 大阪, 2019 年 11 月 9 日
- 18. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H
 Tanaka, M Kubo, H Yagi, <u>M Matsumoto</u>.
 Next-Generation Sequencing of HLA
 Loci Identifies Predisposing and
 Protective Factors for ImmuneMediated Thrombotic
 Thrombocytopenic Purpura in a
 Japanese Population. 61st ASH
 Annual Meeting and Exposition.
 Orlando, 2019年12月7日~10日
- 19. 丸山 慶子, 小亀 浩市: 公開データベースから抽出したプロテインS変異の機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019年6月20日

~22 日

- 20. 山崎 泰男, 樋口(江浦) 由佳, <u>小亀</u> <u>浩市</u>: プロトンポンプ V-ATPase は von Willebrand 因子の細胞内貯蔵オ ルガネラであるWeibel-Palade小体に 局在する. 第 41 回日本血栓止血学会 学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日~22
- 21. 秋山 正志, 樋口(江浦) 由佳, <u>小亀</u> <u>浩市</u>: ADAMTS13 クリアランス受容体 としての SIGLEC5 の同定と機能解析. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日~22 日
- 22. 武田 壮一, 秋山 正志, 荒木 聡彦, 小亀 浩市: シェディング酵素 ADAM ファミリープロテアーゼの成熟化と プロドメインによる活性制御の構造 基盤. 第 41 回日本血栓止血学会学術 集会, 津, 2019 年 6 月 20 日~22 日
- 23. 根木 玲子, 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 柏木 浩和, 丸山 慶子, 小 <u>亀 浩市</u>: 家系構成員の遺伝子解析が 発端者の診断に有用であった遺伝性 血栓性素因患者における遺伝子解析 の検討. 第 41 回日本血栓止血学会学 術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日~22 日
- 24. S. Miyata, Υ. Nakamura, K. Kuramochi, 0. Sawada, Koichi Kokame, and Takuma Maeda: Safety and efficacy of argatroban therapy using ethnic-specific doses in Japanese patients suspected of heparin-induced having thrombocytopenia: nationwide postmarketing surveillance studies. The 27th Congress of the

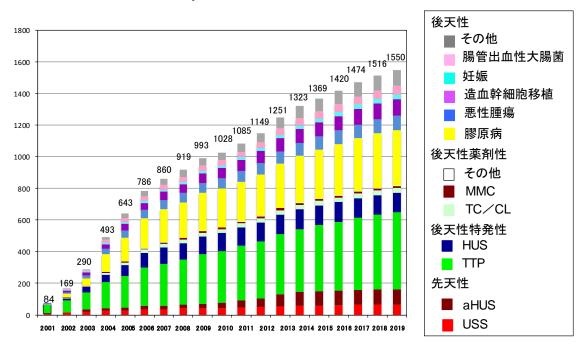
- International Society on Thrombosis and Haemostasis, Melbourne, Australia, 2019年7月6日 \sim 10日
- 25. T. Miyoshi, H. Oku, S. Asahara, A. Okamoto, K. Kokame, M. Nakai, K. Nishimura, F. Otsuka, Higashiyama, Yoshimatsu, and T. Miyata: Effects of low-dose combined oral contraceptives and protein S K196E mutation on anticoagulation factors: prospective observational study. The 27th Congress of the International Society Thrombosis on Haemostasis, Melbourne, Australia, 2019年7月6日~10日
- 26. H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J. N. George, I. Hrachovinova, P. N. Knöbl, A. S. R. von Krogh, L.B. Schneppenheim, Lukas Bütikofer, C.R. Largiadèr, Ζ. Cermakova, K. Kokame, T. Miyata, D. R. Terrell, S. K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmle, Y. Fujimura, J. A. Kremer Hovinga, and Hereditary TTP Registry: Age at first disease manifestation in relation to residual ADAMTS13 activity in patients with thrombotic congenital thrombocytopenic purpura. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis Haemostasis, Melbourne, Australia,

2019年7月6日~10日

- 27. 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 柏 木 浩和, 丸山 慶子, 小亀 浩市, 根 木 玲子: 血縁者の解析から明らかに なった2つの遺伝性血栓性素因を併せ 持つ深部静脈血栓症患者における遺 伝子変異の検討. 第43回日本遺伝カ ウンセリング学会学術集会, 札幌, 2019年8月2日~4日
- 28. 根木 玲子, 宮田 敏行, 伊田 和史, 小西 妙, 中西 篤史, 吉松 淳, 小亀 浩市, 大谷 克城, 日高 義彦, 若宮 伸隆, 井上 徳光: 妊娠高血圧症候群 における補体マーカー検査と補体関 連遺伝子解析の検討. 第 56 回日本補 体学会学術集会, 東京, 2019年8月 23 日~24 日
- 29. 根木 玲子, 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 宮田 敏行, 丸山 慶子, 小 亀 浩市:ホルモン補充周期法による H. 知的財産権の出願・登録状況 不妊治療中に脳静脈洞血栓症を発症

- した先天性アンチトロンビン欠乏症 の検討. 第34回日本女性医学学会学 術集会, 福岡, 2019年11月2日~3日 30. 根木 玲子, 宮田 敏行, 伊田 和史, 小西 妙, 中西 篤史, 吉松 淳, 小亀 浩市, 大谷 克城, 日高 義彦, 若宮
 - 伸隆, 井上 徳光: 妊娠高血圧症候群 における補体マーカー検査および補 体関連遺伝子解析についての検討. 日本人類遺伝学会第64回大会,長崎, 2019年11月6日~9日
- 31. 根木 玲子, 伊田 和史, 光黒 真菜, 岡本 章, 小亀 浩市, 宮田 敏行: 妊 娠初期に静脈血栓塞栓症を発症した 先天性プロテインS欠乏症の遺伝子解 析の検討. 第 5 回日本産科婦人科遺 伝診療学会学術講演会, 東京, 2019年 12月20日~21日
- なし

図1 奈良医大輸血部で集積したTMA症例数の推移 (2019年12月末まで)



TMAのADAMTS13活性(n=1550) 表 1 (奈良医大輸血部1998.7-2019.12)

	Congenital TMAs (n=163)		Acquired TMAs (n=1387)											Total
			Primary (n=611)		Secondary (n=776)									
	USS (n=67)	aHUS (n=96)	TTP (n=486)	HUS (n=125)	TC(n=25)/ CL(n=4)	MMC (n=13)	Others	CTD/ AD (n=350)	Malignancies (n=90)	HSCT (n=104)	Pregnancy (n=33)		Others (LC, etc) (n=102)	(n=1550)
ADAMTS13:AC (%)	(n=66)	(n=92)	(n=486)	(n=125)	(n=25/n=4)	(n=13)	(n=4)	(n=350)	(n=90)	(n=104)	(n=33)	(n=51)	(n=102)	(n=1545)
<10	66	0	413	0	24	0	3	110	12	5	9	2	40	684
1年間の増加数	2	0	14	0	0	0	0	2	0	0	1	0	2	21
10~<25	0	6	35	15	3	2	0	73	24	34	3	8	18	221
25 ~<50	0	21	29	62	1	7	0	113	34	48	14	23	25	377
≧50	0	65	9	48	1	4	1	54	20	17	7	18	19	263
全体の年間増加数	2	0	14	0	0	1	0	5	1	4	2	1	4	34

TC: チクロピジン、CL: クロピドグレル

CTD/AD: Connective tissue diseases and Autoimmune diseases

HSCT: He matopoietic stem cell transplantation STEC: shigaoxin producing *E.coli*LC: liver cirrhosis

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)診療ガイド 2020

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループ

I はじめに

血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP) は、全身の微小血管に血小板血栓が形成されることで発症する重篤な疾患である¹¹。TTP は、溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome: HUS)と共に、血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy: TMA)に分類される代表的な疾患である。TTP には後天性と先天性(Upshaw-Schulman 症候群: USS)が存在する。以前は TTP に対する特異的な診断マーカーが存在しなかったことから、古典的 5 徴候(血小板減少、溶血性貧血、腎機能障害、発熱、精神神経症状)を中心とした臨床所見で診断されていた。しかしその後、血液中の止血因子である von Willebrand 因子(VWF)を特異的に切断する酵素 ADAMTS13の活性著減により TTP が発症することが報告され ².³³、現在では ADAMTS13 活性著減により TTP が診断されるようになった ⁴³。先天性は ADAMTS13 遺伝子異常により 5.6°、後天性は ADAMTS13 に対する自己抗体が産生されることにより発症する ².³³。

この診療ガイドは「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループに属する TTP 診療の専門家によるエキスパートコンセンサスである。 2017 年に「TTP 診療ガイド 2017」 7 として報告したが、その後の 3 年間で保険診療上での進捗が認められたので、「TTP 診療ガイド 2020」として部分的に改定した。これを「血液凝固異常症に関する調査研究班」TTP グループの研究成果として報告したものである。

TTP は希少疾患であるため多数例での検討は困難であるが、可能な限り科学的根拠に基づいた記述となるよう努めた。また、後天性と先天性 TTP を別項目として記載し、治療法には GRADE システムに従い推奨度(表1)を付けた。後天性は成人について記載しており、小児に対する薬剤の用法・用量は経験が少ないため注意を要する。さらに、指定難病の TTP の診断基準がADAMTS13 活性 10%未満となったことより、この診療ガイドでは ADAMTS13 活性非著減例(10%以上)については扱わない。臨床的に TTP と診断されるがADAMTS13 活性が著減していない症例は、現状ではその病態が明らかでないが、TTP と同様に直ちに血漿交換などの治療が必要な症例が存在する。

II TTP の病態

ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondine type 1 motifs 13)は、ADAMTSファミリーで13番目に報告された酵素である®。ADAMTS13の基質であるVWFは主として血管内皮細胞で産生されるが、産生直後は非常に大きな分子量の超高分子量VWF重合体(unusually large VWF multimers: UL-VWFM)で、血液中に分泌されると直ちにADAMTS13によって切断される¹)。VWFの血小板との結合能はその分子量に依存し、大きな分子量のVWFは血小板血栓を作りやすい⁰。また、VWFの血小板血栓形成能はずり応力にも依存し¹⁰)、血流の早い動脈や血管径の細い部分で高いずり応力が発生し、VWFが活性化する。ADAMTS13活性の著減するTTPにおいては、血管内皮細胞から血液中に分泌されたUL-VWFMがADAMTS13による切断を受けないために血液中に残存し、高ずり応力の発生する微小血管内で構造変化を受け、血小板と付着しやすくなり血小板血栓を形成する。この血小板血栓が、腎臓や脳などの流入血管に形成されると臓器障害が発症する。

III ADAMTS13 検査

ADAMTS13 活性測定には、当初は全長 VWF を切断させる方法 $^{11,12)}$ が用いられたが、切断反応に長時間を要するため、現在は短い VWF 合成基質 $^{13)}$ が用いられるようになった $^{14,15)}$ 。これによって、手技が簡便となり数時間で ADAMTS13 活性の結果が得られるようになった。健常人を 100%(1 U/mL)とした単位で示される。

ADAMTS13 に対する自己抗体として、 $in\ vitro$ で活性を阻害するインヒビターと、活性は阻害せず ADAMTS13 に結合するだけの結合抗体が知られている $^{16)}$ 。自己抗体の多くは IgG であるが、IgA や IgM の場合もある $^{17)}$ 。ADAMTS13 自己抗体は、日常臨床ではインヒビターを検査することが一般的であり、研究室レベルでのみ結合抗体の検査が可能である。インヒビターは、正常血漿と被検血漿を等量混合し、活性を 50%低下させる力価を 1 Bethesda $Unit\ (BU)$ と定義する $^{18)}$ 。後天性 TTP 症例の多くでインヒビターが検出される $^{19,20)}$ が、1 BU/mL 以下の低力価インヒビターは判定が困難な場合がある。後述するように ADAMTS13 インヒビターが陰性であっても、自己抗体が存在する後天性 TTP である可能性がある。この場合の自己抗体は結合抗体であり、臨床所見より存在を予測することになる。

<u>ADAMTS13 活性測定および自己抗体(インヒビター)検査は、2018 年 4 月より保険適用となった。</u>

IV 後天性 TTP

1) 歷史的背景

1924 年に米国の Moschcowitz²¹⁾により最初の後天性 TTP と考えられる症例が報告されたが、長く病因不明のままで、同様の症例報告のみが続いた。1966 年に Amorosi と Ultmann²²⁾によりこれらの症例報告に共通して認められる 5 つの症状が報告され、古典的 5 徴候と呼ばれるようになった。その後、 5 徴候の中でも血小板減少と溶血性貧血の 2 徴候が診断に重要であることが認識されるようになり、この 2 徴候をもとに診断して血漿交換の有用性が示された $^{23)}$ 。なお、TTP という病名は、1947 年に Singer ら $^{24)}$ によって提案されている。

1991年に TTP に対する血漿交換の有用性が示されても、その病因については不明なままであった。1980年代から TTP 患者血漿中に UL-VWFM が存在すること $^{25)}$ 、TTP 患者の剖検で認める血栓は VWF が豊富な血小板血栓であること $^{26)}$ など、VWF の病因への関与が示されていた。1996年に VWF 切断酵素 (ADAMTS13) の活性測定法が確立され $^{11,12)}$ 、1998年に TTP 患者において ADAMTS13 活性が著減することが報告された $^{2,3)}$ 。しかし、従来後天性 TTP と診断されていた症例の中でも ADAMTS13 活性が著減しない症例が存在することから $^{27-29)}$ 、ADAMTS13による診断と臨床所見による診断という 2 つの診断基準が存在する状態が続いた。ADAMTS13 活性著減の程度についても議論があったが、最終的に ADAMTS13 活性 10 %未満のみを TTP と診断することに国際的なコンセンサスが得られつつある $^{30)}$ 。

2) 後天性 TTP の定義

ADAMTS13 に対する自己抗体によって ADAMTS13 活性が著減し、全身の微小血管に血小板血栓が形成されることによって発症する。

3) 疫学

TTP の発症頻度は、臨床所見で診断していた時期では海外から年間 100 万人当たり $4\sim11$ 人と報告されていたが $^{31,32)}$ 、ADAMTS13 活性が 10%未満で診断した場合の頻度は不明である。ただし、ADAMTS13 活性 5%未満で診断した場合には 100 万人あたり 1.74 人という報告がある $^{31)}$ 。発症年齢は、ADAMTS13 活性著減で診断した海外の症例では中央値 $36\sim51$ 歳で、女性の比率は 65% $\sim100\%$ であった $^{19,28,33,34)}$ 。ADAMTS13 活性 5%未満の日本の症例では 20 、中央値 54 歳とやや高齢で、女性の比率は 55%とやや低かった。

4) 診断

原因不明の血小板減少と溶血性貧血を認めた場合に ADAMTS13 活性を測定し、10%未満に著減している症例を TTP と診断する。抗 ADAMTS13 自己抗体が陽性であれば後天性 TTP と診断する。活性阻害抗体 (インヒビター) が陰性であっても自己抗体が存在する場合があり、注意を要する。基礎疾患などを認めない場合は後天性原発性 TTP と診断し、全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患やチクロピジンなどの薬剤に関連して ADAMTS13 自己抗体が産生される場合には後天性二次性 TTP と診断する。

TTP を疑う際の古典的5徴候の目安

① 血小板減少

血小板数が 10 万/ μ L 未満が基準とされるが、1-3 万/ μ L の症例が多く、日本人における TTP の集計では中央値は 1 万/ μ L である 20 。

② 溶血性貧血

細血管障害症性溶血性貧血に分類される赤血球の機械的破壊による貧血である。ヘモグロビンは、海外では 8-10 g/dL の症例が多いとされるが 35 、日本人では中央値 7.3 g/dL とやや低い 20 。破砕赤血球の出現、間接ビリルビン、LDH、網状赤血球の上昇、ハプトグロビンの著減などの溶血所見が明らかなこと、かつ直接クームス試験陰性で判断する。他に赤血球の形態異常がなく、末梢血に 1 %以上の破砕赤血球が存在することが 1 TMA の有意な所見とされている 36 が、破砕赤血球は定量化が困難で、1 TTP でも認めないことがあるため、重要視しすぎてはいけない。

③ 腎機能障害

尿潜血や尿蛋白陽性のみの軽度のものから、血清クレアチニンが上昇する症例まで様々である。ただし、血清クレアチニンは 2 mg/dL 未満であることが多く 200、血液透析を必要とする重症の急性腎不全の場合は HUS が疑われる。

4) 発熱

37℃ 以上の微熱から 39℃ 台の高熱まで認める。30%程度 ^{33,34)}から 72%²⁰⁾ の症例で認めるとの報告がある。

⑤ 動揺性精神神経症状

頭痛など軽度のものから、せん妄、錯乱などの精神障害、人格の変化、意識レベルの低下、四肢麻痺や痙攣などの神経障害など、様々な症状が出現する場

合がある。症状の改善と増悪、部位が移動するなどのいわゆる動揺性が特徴であり、血漿交換で劇的に軽快することも多い。日本人の検討では 79%の症例で認めているが $^{20)}$ 、海外では 50%程度 $^{19,28)}$ の症例にしか認めないとの報告もある。

5) 鑑別診断

ADAMTS13活性による明確な診断基準が作成されたことにより、鑑別に困ることは少ないと考えられるが、以下のような代表的な鑑別疾患が存在する。また、TMA はその病因により分類されるようになり、現状では表2に示すように臨床診断と対応すると考えられる。

① 播種性血管內凝固症候群(disseminated intravascular coagulation: DIC)

TTP 症例では PT、APTT は正常で、フィブリノゲン、アンチトロンビンは低下しないことが多く、FDP, D-dimer は軽度の上昇にとどまることが多い。 DIC の血栓は、フィブリン/フィブリノゲン主体の凝固血栓であり、 APTT と PT が延長し、フィブリノゲンが減少する。

② 溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome: HUS)

0157 などの志賀毒素産生大腸菌(Shiga toxin producing *E. coli*: STEC)感染による STEC-HUS は、便培養検査・志賀毒素直接検出法(EIA)などの大腸菌の関与を確認する方法や抗 LPS(エンドトキシン)IgM 抗体などで診断する。STEC-HUS 以外の症例は、非典型 (atypical) HUS (aHUS) と呼ばれていた。最近では、aHUS は H 因子や補体 C3 異常などの補体関連因子異常のみを指すようになっており 37)、病因分類では補体関連 TMA と呼ばれている。

③ HELLP 症候群

HELLP 症候群とは、妊娠高血圧腎症や子癇に伴って、溶血(hemolysis)、肝逸脱酵素の上昇(elevated liver - enzymes)、 血小板減少(low platelets)を認める多臓器障害である。 診断は、Sibai らの診断基準 38 によって行われるが、この 基準では TTP との鑑別が困難である。ADAMTS13 活性が著減していれば TTP と診断する。

④ Evans 症候群

Evans 症候群は自己免疫性溶血性貧血に特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura: ITP)を合併する疾患で、直接クー

ムス陽性である。ただし、直接クームス陰性 Evans 症候群も存在するが、このような症例の中から ADAMTS13 活性著減 TTP が発見されている。

⑤ 二次性 TMA

全身性エリテマトーデス、強皮症などの膠原病、造血幹細胞移植、腎臓移植などの移植、悪性疾患などに伴って TMA が発症することが報告されている。 病因は明らかになっていないが、血管内皮細胞障害が主たる要因であると考えられている。

⑥ その他の TMA

基礎疾患も伴わず、臨床的に TMA であるが ADAMTS13 活性が著減していない TMA が存在する。また、古典的5徴候を持つことから以前は TTP と診断されて いた症例も含まれる。

6)治療

後天性 TTP で科学的根拠が示されている治療法は血漿交換のみである²³⁾。 血漿交換の開始の遅れが予後を悪化させるとの報告があるため³⁹⁾、後天性 TTP を疑った場合には、できるだけ早期に血漿交換を開始することが必要である。 ADAMTS13 活性の結果が判明するまでに現状では数日を要するため、その結果 を待たずに治療を開始する必要がある。以下に代表的な治療法と推奨度(表 1)を記載する。

A 急性期

a) 血漿交換(推奨度1A)

新鮮凍結血漿(fresh frozen plasma: FFP)を置換液とした血漿交換を1日 1 回連日施行する。FFP の量は、患者循環血漿量(以下の計算式で概算可能)の $1\sim1.5$ 倍を用いて交換する。血漿交換が有効である理由として、1) ADAMTS13 の補充、2) ADAMTS13 インヒビターの除去、3) ADAMTS13 で切断できない ULVWFM の除去、などが予想される290。 アルブミンでは11) の効果が期待できないため、置換液として使用してはならない。なお、緊急避難的に FFP 輸注が行われることがあるが、FFP を置換液とした血漿交換と比べると明らかに効果が劣ることが報告されている2300。

循環血漿量(mL) = 体重(kg) x70(<math>mL/kg) $x(1- \sim \forall \land \land)$ リット/100)

血漿交換

FFP 50~75mL/kg を置換液として、1日1回連日、開始後1ヶ月を限度として、血小板数が正常化(15万/μL以上)して2日後まで連日施行する。 以前は血漿交換の回数が週3回までに制限されていたが、2018年4月から上記の国際基準350と同様の血漿交換の回数が実施可能となった。

b) ステロイド療法(推奨度1B)

ステロイドパルス療法、ステロイド大量内服のいずれも使用されているが、 どちらが優れているかは明らかになっていない⁴⁰。ステロイド投与によって、 自己抗体の産生抑制が期待される。なお、高齢者や糖尿病、重症感染症患者 などでは減量を考慮する。また、保険適用外であるが多くの症例で使用され ている薬剤であるので、推奨度1にした。

ステロイドパルス療法 (保険適用外)

メチルプレドニゾロン 1,000mg

1日1回 約2時間かけて点滴静注、血漿交換実施後に投与する。

当初3日間継続、その後ステロイド量を漸減する。減量は、血小板数やADAMTS13検査などを参考に行うが、ステロイドの減量法については明確な科学的根拠は存在しない。精神神経症状の存在やICU管理などの影響で、点滴を継続する場合はメチルプレドニゾロン500mg/日、250mg/日、125mg/日を2日間ずつ投与し、その後ステロイド内服30mg/日に変更し、下記を参考に減量する。3日間点滴後すぐに内服に切り替える場合は、プレドニン0.5-1mg/kg/日にし、下記を参考に減量する。

ステロイド大量内服 (保険適用外)

プレドニゾロン 1 mg/kg/日

減量は、血小板数や ADAMTS13 検査などを参考に行うが、1mg/kg/日を2週間維持し、その後 0.5mg/kg/日まで比較的急速に減量する。それ以降の減量は2.5-5mg/週程度を目安に行うが、血小板数や ADAMTS13 インヒヒビター力価を参考に減量する。

c) 抗血小板薬(推奨度2B)

血小板数が $5 \, \pi / \mu \, L$ 以上に回復した場合にアスピリン投与が行われる場合があるが、TTPの再発予防に対する効果は明らかではない。

抗血小板薬療法 (保険適用外)

アスピリン 81~100 mg 1日1回、朝内服 ステロイド中止まで

d) その他の治療

赤血球輸血は心疾患のない患者ではヘモグロビン値 $7.0\,\mathrm{g/dL}$ 未満を目安に行うが $^{35,41)}$ 、心疾患が存在すれば $8.0\,\mathrm{g/dL}$ 未満を目安とする $^{42)}$ (推奨度 $1\,\mathrm{A}$)。なお、血小板輸血は致死的な出血がある場合には適応となるが、それ以外の予防的使用は血栓症を増悪させる危険性があるため禁忌と考えられる $^{35,43,44)}$ (推奨度 $1\,\mathrm{B}$)。

また、二次性 TTP で薬剤性の場合は原因薬剤を中止し、基礎疾患がある場合は、基礎疾患の治療を継続する。二次性 TTP でも ADAMTS13 活性が著減しているので、原発性と同様に血漿交換を実施する。

B 難治例、早期再発例

血漿交換を 5 回以上行っても血小板数が 5 万/ μ L 以上に回復しない場合、もしくは 15 万/ μ L 以上に回復しても再度血小板数が 5 万/ μ L 未満に低下した場合には、血漿交換に加えてリツキシマブ投与を考慮する(推奨度 18) 45 。この場合に、血漿交換による ADAMTS13 の投与に反応して、ADAMTS13 インヒビターが上昇していること (ADAMTS13 inhibitor boosting)が予想されるので、ADAMTS13 活性とインヒビター検査を反復することが望ましい 46 。ADAMTS13 活性とインヒビターは、TTP と診断した日から 1 ヶ月以内は、健康保険で 1 週間に 1 回測定可能である。ADAMTS13 inhibitor boosting の場合は、血漿交換のみでは十分な効果が得られないことが多いため、リツキシマブ治療の併用が強く推奨される。なお、TTP に対するリツキシマブの効果が明らかになるまでの期間は 10 日~14 日間であるので、その間も血漿交換が必要な場合がある。

a) リツキシマブ(推奨度1B)

リツキシマブは、CD20 に対するモノクローナル抗体であり、体内のBリンパ球を減らすことで ADAMTS13 インヒビターの産生を抑制する。難治例を中心に広く使用されている薬剤である ^{45,47,48)}。2020 年 2 月にに後天性 TTP に適用拡大されたが、現状では難治例、再発例を中心に使用することが推奨される。急性期の第一選択として、また臨床的に寛解期であるが ADAMTS13 活性が著減している症例の再発予防に対しては、科学的根拠が明らかではないので現状では積極的に使用を勧めない。ただし、他に治療法がなく重篤な状態である場合など、個々の患者の状態によって判断すべきである。

急性期での使用とは、血漿交換とステロイド療法と同時にリツキシマブを

開始することである。再発率を抑制する効果が報告されている ⁴⁷⁾。また臨床的に寛解であるが ADAMTS13 活性が著減している症例とは、治療によって血小板数が正常となり LDH などの検査所見が正常となり、臨床症状も消失しているにも関わらず、ADAMTS13 活性が著減している場合のことである。このような症例は再発が多いことが報告されているが ¹⁷⁾、リツキシマブの使用により再発が抑えられることが報告されている ⁴⁹⁾。

リツキシマブ療法

リツキシマブ 375 mg/m^2

リツキシマブ投与によりインフュージョンリアクション(発熱、血圧低下、 蕁麻疹、低酸素血症など)などの重篤な副作用が生じることがあるので、前 投薬(抗ヒスタミン薬、アセトアミノフェン)を処方し、輸液ポンプにて徐々 に投与速度を上げる。特に初回投与時には注意が必要である。血漿交換と併 用する場合には血漿交換実施後に投与する。

1週間に1回投与、合計4回

リツキシマブ以外に下記の治療が難治例、再発例に有効な場合があるが、全例に効果が期待できるわけではない。様々な投与方法があるが代表的なものを記載する。

b) シクロフォスファミド(推奨度2B)(保険適用外)⁵⁰⁾ シクロフォスファミド 500mg/body

> 1日1回、2時間で投与、通常は1回のみ投与 複数回投与は骨髄抑制の可能性あり

- c) ビンクリスチン (推奨度 2 B) (保険適用外) 51) ビンクリスチン 1 mg/body、1 日 1 回ゆっくり静脈投与、通常は 1 回のみ投与 複数回投与は神経毒性、骨髄抑制の可能性あり
- d) シクロスポリン (推奨度 2 B) (保険適用外) $^{52)}$ シクロスポリン 4 mg/kg 1 日 2 回に分けて連日内服投与。 シクロスポリンの血中濃度を確認し、トラフ 100-200 ng/mL 程度を維持する。
- e) その他の治療(保険適用外) 以前は脾臓摘出(推奨度 2 C) ⁵³⁾、免疫グロブリン大量療法(推奨度 2 C) ⁵⁴⁾が 難治例、再発例の TTP に対して実施されていたが、リツキシマブが使用され

ることが多くなり、現状では選択される機会が少なくなっている。

C 寛解期

寛解期となった場合、ステロイド治療は、ADAMTS13 活性およびインヒビターの経過を見ながらできるだけ早期に中止する。寛解期に特別な治療は存在しないが、再発の危険があるので最低数年程度は定期的に通院し、血小板数とADAMTS13 検査などを行うことが望ましい。血小板数などが正常化した寛解期においても、ADAMTS13 活性が著減し、インヒビターを認める場合がある 17,550。 寛解期に ADAMTS13 活性が著減している場合やインヒビターを認める場合は、再発率が高いことが報告されている 17,550。

7) 重症度分類

指定難病で使用されている重症度分類を表3に示す。8項目のうち1項目でもあれば中等症以上となり、指定難病による医療費補助の対象となる。

8) 予後

TTP は、無治療の場合は 90%以上死亡する極めて予後不良の疾患であったが $^{22)}$ 、血漿交換が導入され 80%前後の生存率が得られるようになった $^{19,20,23,28,33)}$ 。ADAMTS13 活性 10%未満の症例における予後因子として、血清クレアチニン高値、インヒビター $2\,\mathrm{BU/mL}$ 以上が報告されている $^{19)}$ 。 なお、急性期には心血管イベントによる死亡が問題となるため、心筋トロポニンを検査することが必要である $^{35)}$ 。 トロポニンが高値で虚血性心疾患が疑われる場合は突然死に注意する。

V 先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群、USS)

1) 歷史的背景

1950 年代から新生児期に重症黄疸と血小板減少を合併する疾患の存在が知られていた 560。1960 年に Schulman ら 570 は、新生児期から出血症状や血小板減少を反復する 8 才女児例を報告したが、本症例の特徴的所見は少量の FFP輸注で血小板減少が劇的に改善することであった。1978 年には Upshaw 580 が同様に慢性血小板減少を示す 2 8 才女性例で FFP輸注によって劇的に症状が改善することを報告した。その後、このような症例の原因が血中フィブロネクチン低下に関連づけられ Upshaw-Schulman 症候群 (USS) と命名されたが 590、フィブロネクチン低下の所見はその後否定された。以後 USS の病名は欧米では殆ど用いられなくなり、慢性再発性(chronic relapsing: CR) TTP²⁵⁰という

病名が長く使用されるようになったが、この名称は TTP が先天性と後天性の 二種類存在する事を曖昧にしてしまった。

一方、1982 年に Moake ら ²⁵⁾は CR-TTP の寛解期には UL-VWFM が出現するという重要な発見を行い、また 1997 年に Furlan らは ⁶⁰⁾、CR-TTP 患者では VWF 切断酵素 (VWF-CP、後の ADAMTS13)活性が著減している事を報告した。しかし、彼等の CR-TTP 患者には先天性と後天性 TTP の双方が含まれていた事、また Furlan らの VWF-CP 活性測定法では患者両親の活性も正常と報告された。2001年7月に Kinoshita らは ⁶¹⁾、本邦 USS 患者解析で、患者は活性著減、患者の両親は活性が半減することを見いだし USS は常染色体劣性遺伝形式であることを示した。同年 10月 Levy らは ⁵⁾、家族性 TTP の患者と家族におけるpositional cloningで ADAMTS13遺伝子を同定した。このことによって、USSが ADAMTS13遺伝子異常によって発症する先天性 TTP として認識され、USS の呼称は先天性 TTP と同一のものとして認識されるようになった。以後、本邦で 2種類の ADAMTS13 活性の簡易測定法が開発されたこともあり ^{14,15)}、多数の USS 患者が発見されている。

2) 先天性 TTP の定義

ADAMTS13遺伝子異常により ADAMTS13 活性が著減し、全身の微小血管に血小板血栓が形成される遺伝性疾患である。遺伝形式は常染色体劣性遺伝である。

3) 疫学

先天性 TTP の正確な頻度は不明である。後天性 TTP に比べてかなり少ないと考えられているが 62 、ヨーロッパでの推計は人口 100 万人あたり $0.5\sim4$ 人との報告もある 63 。日本での推計では 110 万人に 1 人との報告があり 64 、実際 2019 年末までに日本国内で同定された先天性 TTP は 67 例である。常染色体劣性遺伝であるので、男女は同数であるはずであるが、国内の 67 例では男性 28 例、女性 39 例と女性に多い傾向がある。これは妊娠時に先天性 TTP と診断される症例が多いためと考えられる。

また、発症時期により2つの臨床タイプに分類できる 65)。

早期発症型: 先天性 TTP の特徴的な所見として、新生児期に交換輸血を必要とする Coombs 試験陰性の重症黄疸で発症する例が全体の 25-40% に見られる ⁶⁶⁾。その際に血小板減少を認めるが、必ずしも血小板数5万/μL未満に著減するわけでは無い ⁶⁶⁾。その後、乳幼児から小児期の間は発熱を伴う感染症時に血小板減少を繰り返す。このため、しばしば ITP と誤診されやすい。先天性 TTP と正しく診断

された症例には、FFPの定期輸注が行われている。

成人発症型:小児期以降に妊娠や感冒などの感染に伴って血小板減少が出現し、先天性 TTP と診断される。ただし、成人発症型においても小児期に血小板減少が認められ、ITP と誤診されている症例もある。このように先天性 TTP では溶血性貧血の程度が軽く、見過ごされている可能性があるが、女性の場合は妊娠すると必ず TTP 症状が明らかになる ⁶⁷。なお、男性の場合には 63 歳で初めて TTP と診断された日本人の報告もある ⁶⁸。

4) 診断

血小板減少を認め、ADAMTS13 活性が 10%未満に低下している症例で、ADAMTS13 インヒビターが陰性の症例は先天性 TTP が疑われる。しかし、インヒビター陰性の判断は必ずしも容易ではなく、経時的な同酵素活性の確認や両親の ADAMTS13 検査で後天性との鑑別が可能な場合がある。確定診断には ADAMTS13 遺伝子解析が必要である。先天性 TTP 患者の両親はヘテロ接合体異常であることから、 ADAMTS13 活性は 30~50%を示す場合が多い ^{6,69)}。

鑑別すべき疾患として、通常の治療に反応しない ITP や妊娠で発症する補体関連 TMA、HELLP 症候群などがある。先天性 TTP では、常に ADAMTS13 活性が著減しているが、血小板減少などの症状を常に認めるわけではないことを認識する。

5) ADAMTS13 遺伝子解析

先天性 TTP の遺伝形式は常染色体劣性遺伝であるが、ADAMTS13遺伝子異常はホモ接合体異常と複合ヘテロ接合体異常が報告されている ^{5,70)}。日本国内で先天性 TTP と ADAMTS13 遺伝子解析で確定診断された 55 例では、ホモ接合体異常 10 例と複合ヘテロ接合体異常 45 例であった。

6) 治療

先天性 TTP 症例の中には、FFP の定期輸注が継続的に必要な症例から、増悪時のみに FFP 輸注が必要な症例まであり、有効な FFP の投与方法は症例によって異なる。血小板数の増加や尿潜血の程度などで、FFP の投与量と投与期間を決定する必要がある。

FFP 輸注(推奨度1B)

FFP $5\sim10 \text{ mL/kg}$ を $2\sim3$ 週ごとに輸注する。症状出現時には、まず 10mL/kg を輸注して効果を確認する。この際には、アレルギー反応や感染症などの副

作用を最低限にするため、FFP 提供ドナーの人数が最小となるように考慮する。

7) 重症度分類

指定難病で使用されている先天性 TTP の重要度分類を表 4 に示す。治療の必要のない軽症以外は医療補助の対象となる。

8) 予後

先天性 TTP は適切に診断し、FFP による治療を行えば、予後は比較的良好であると考えられる。日本で発見された 59 例中に死亡例が 8 例報告されている。そのうち 5 例は血液透析導入後であり、腎機能障害の悪化を予防することが予後の改善につながると考えられる。また、現在までに日本国内からの報告はないが、先天性 TTP で FFP 投与により ADAMTS13 同種抗体が産生された場合には FFP の効果が悪くなる可能性があるので、ADAMTS13 インヒビターの定期的な検査が必要である。

文献

- 1) Moake JL. Thrombotic thrombocytopenic purpura: the systemic clumping "plague". Annu Rev Med 2002; **53**: 75-88.
- 2) Furlan M, Robles R, Galbusera M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med 1998; **339**: 1578-1584.
- 3) Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 1998; **339**: 1585-1594.
- 4) George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. N Engl J Med 2014; **371**: 1847-1848.
- 5) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. Nature 2001; **413**: 488-494.
- 6) Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, et al. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; **99**: 11902-11907.
- 7) 松本雅則,藤村吉博,和田英夫, et al. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP)診療ガイド 2017. 臨床血液 2017; **58**: 271-281.
- 8) Zheng X, Chung D, Takayama TK, et al. Structure of von Willebrand factorcleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. J Biol Chem 2001; **276**: 41059-41063.
- 9) Furlan M. Von Willebrand factor: molecular size and functional activity. Ann Hematol 1996; **72**: 341-348.
- 10) Savage B, Saldivar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. Cell 1996; 84: 289-297.
- 11) Furlan M, Robles R, Lammle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. Blood 1996; 87: 4223-4234.
- Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. Blood 1996; **87**: 4235-4244.
- 13) Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13. Blood 2004; 103: 607-612.
- Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T. FRETS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. Br J Haematol 2005; **129**: 93-100.

- 15) Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, et al. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. Transfusion 2006; **46**: 1444-1452.
- Scheiflinger F, Knobl P, Trattner B, et al. Nonneutralizing IgM and IgG antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 2003; **102**: 3241-3243.
- 17) Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. Blood 2007; **109**: 2815-2822.
- 18) Kasper CK, Pool JG. Letter: Measurement of mild factor VIII inhibitors in Bethesda units. Thromb Diath Haemorrh 1975; **34**: 875-876.
- 19) Kremer Hovinga JA, Vesely SK, Terrell DR, Lämmle B, George JN. Survival and relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 2010; **115**: 1500-1511; quiz 1662.
- 20) Matsumoto M, Bennett CL, Isonishi A, et al. Acquired Idiopathic ADAMTS13 Activity Deficient Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in a Population from Japan. PLoS One 2012; 7: e33029.
- 21) Moschcowitz E. Hyaline Thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. Proceeding New York Pathological Society 1924; **24**: 21-24.
- Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura:report of 16 cases and review of the literature. Medicine 1966; **45**: 139-159.
- Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. N Engl J Med 1991; **325**: 393-397.
- 24) Singer K, Bornstein FP, Wile SA. Thrombotic thrombocytopenic purpura; hemorrhagic diathesis with generalized platelet thromboses. Blood 1947; **2**: 542-554.
- 25) Moake JL, Rudy CK, Troll JH, et al. Unusually large plasma factor VIII:von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 1982; **307**: 1432-1435.
- Asada Y, Sumiyoshi A, Hayashi T, Suzumiya J, Kaketani K. Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura, with special reference to factor VIII related antigen. Thromb Res 1985; 38: 469-479.

- Veyradier A, Obert B, Houllier A, Meyer D, Girma JP. Specific von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic microangiopathies: a study of 111 cases. Blood 2001; **98**: 1765-1772.
- Vesely SK, George JN, Lämmle B, et al. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. Blood 2003; 102: 60-68.
- 29) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y. The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Semin Hematol 2004; **41**: 68-74.
- 30) Scully M, Cataland S, Coppo P, et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. J Thromb Haemost 2016.
- 31) Terrell DR, Williams LA, Vesely SK, et al. The incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: all patients, idiopathic patients, and patients with severe ADAMTS-13 deficiency. J Thromb Haemost 2005; **3**: 1432-1436.
- 32) Scully M, Yarranton H, Liesner R, et al. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. Br J Haematol 2008; **142**: 819-826.
- 33) Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE. Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 2004; **103**: 4043-4049.
- Coppo P, Bengoufa D, Veyradier A, et al. Severe ADAMTS13 deficiency in adult idiopathic thrombotic microangiopathies defines a subset of patients characterized by various autoimmune manifestations, lower platelet count, and mild renal involvement. Medicine (Baltimore) 2004; 83: 233-244.
- 35) Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. Br J Haematol 2012; **158**: 323-335.
- Zini G, d'Onofrio G, Briggs C, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. Int J Lab Hematol 2012; 34: 107-116.
- 37) Kato H, Nangaku M, Hataya H, et al. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. Clin Exp Nephrol 2016; **20**: 536-543.

- 38) Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, et al. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome). Am J Obstet Gynecol 1993; **169**: 1000-1006.
- 39) Pereira A, Mazzara R, Monteagudo J, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome: a multivariate analysis of factors predicting the response to plasma exchange. Ann Hematol 1995; **70**: 319-323.
- 40) Balduini CL, Gugliotta L, Luppi M, et al. High versus standard dose methylprednisolone in the acute phase of idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a randomized study. Ann Hematol 2010; **89**: 591-596.
- 41) Holst LB, Haase N, Wetterslev J, et al. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in septic shock. N Engl J Med 2014; **371**: 1381-1391.
- 42) Hebert PC, Wells G, Blajchman MA, et al. A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. Transfusion Requirements in Critical Care Investigators, Canadian Critical Care Trials Group. N Engl J Med 1999; 340: 409-417.
- Benhamou Y, Baudel JL, Wynckel A, et al. Are platelet transfusions harmful in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura at the acute phase? Experience of the French thrombotic microangiopathies reference center. Am J Hematol 2015; 90: E127-129.
- Kumar A, Mhaskar R, Grossman BJ, et al. Platelet transfusion: a systematic review of the clinical evidence. Transfusion 2015; **55**: 1116-1127; quiz 1115.
- Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, et al. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. Int J Hematol 2016; **104**: 228-235.
- Isonishi A, Bennett CL, Plaimauer B, et al. Poor responder to plasma exchange therapy in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura is associated with ADAMTS13 inhibitor boosting: visualization of an ADAMTS13 inhibitor complex and its proteolytic clearance from plasma. Transfusion 2015; **55**: 2321-2330.
- 47) Scully M, McDonald V, Cavenagh J, et al. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 2011; **118**: 1746-1753.
- Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. Crit Care Med 2012; **40**: 104-111.
- 49) Hie M, Gay J, Galicier L, et al. Preemptive rituximab infusions after remission

- efficiently prevent relapses in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 2014; **124**: 204-210.
- Beloncle F, Buffet M, Coindre JP, et al. Splenectomy and/or cyclophosphamide as salvage therapies in thrombotic thrombocytopenic purpura: the French TMA Reference Center experience. Transfusion 2012; **52**: 2436-2444.
- Ziman A, Mitri M, Klapper E, Pepkowitz SH, Goldfinger D. Combination vincristine and plasma exchange as initial therapy in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura: one institution's experience and review of the literature. Transfusion 2005; 45: 41-49.
- Nosari A, Redaelli R, Caimi TM, Mostarda G, Morra E. Cyclosporine therapy in refractory/relapsed patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. Am J Hematol 2009; 84: 313-314.
- 53) Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, et al. Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Br J Haematol 2005; **130**: 768-776.
- Kawano N, Yokota-Ikeda N, Yoshida S, et al. Therapeutic modality of 11 patients with TTP in a single institution in Miyazaki from 2000 to 2011. Intern Med 2013;
 1883-1891.
- Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. Haematologica 2008; **93**: 232-239.
- Dacie JV, Mollison PL, Richardson N, Selwyn JG, Shapiro L. Atypical congenital haemolytic anaemia. Q J Med 1953; **22**: 79-98.
- 57) Schulman I, Pierce M, Lukens A, Currimbhoy Z. Studies on thrombopoiesis. I. A factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. Blood 1960; **16**: 943-957.
- 58) Upshaw JD, Jr. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. N Engl J Med 1978; **298**: 1350-1352.
- 59) Rennard S, Abe S. Decreased cold-insoluble globulin in congenital thrombocytopenia (Upshaw-Schulman syndrome). N Engl J Med 1979; **300**: 368.
- 60) Furlan M, Robles R, Solenthaler M, et al. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 1997; 89: 3097-3103.
- Kinoshita S, Yoshioka A, Park YD, et al. Upshaw-Schulman syndrome revisited: a concept of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. Int J Hematol

- 2001; 74: 101-108.
- 62) Sadler JE. What's new in the diagnosis and pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2015; **2015**: 631-636.
- 63) Mansouri Taleghani M, von Krogh AS, Fujimura Y, et al. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura and the hereditary TTP registry. Hamostaseologie 2013; **33**: 138-143.
- Kokame K, Kokubo Y, Miyata T. Polymorphisms and mutations of ADAMTS13 in the Japanese population and estimation of the number of patients with Upshaw-Schulman syndrome. J Thromb Haemost 2011; **9**: 1654-1656.
- Fujimura Y, Kokame K, Yagi H, et al. Hereditary Deficiency of ADAMTS13 activity: Upshaw-Schulman syndrome. ADAMTS13 2015; 73-90.
- 66) Fujimura Y, Lammle B, Tanabe S, et al. Patent ductus arteriosus generates

 neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman
 syndrome. Blood Adv 2019; **3**: 3191-3195.
- Fujimura Y, Matsumoto M, Kokame K, et al. Pregnancy-induced thrombocytopenia and TTP, and the risk of fetal death, in Upshaw-Schulman syndrome: a series of 15 pregnancies in 9 genotyped patients. Br J Haematol 2009; 144: 742-754.
- Taguchi F, Yagi H, Matsumoto M, et al. The homozygous p.C1024R- ADAMTS13 gene mutation links to a late-onset phenotype of Upshaw-Schulman syndrome in Japan. Thromb Haemost 2012; **107**: 1003-1005.
- 69) Matsumoto M, Kokame K, Soejima K, et al. Molecular characterization of ADAMTS13 gene mutations in Japanese patients with Upshaw-Schulman syndrome. Blood 2004; **103**: 1305-1310.
- Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, et al. Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. J Thromb Haemost 2011;
 9 Suppl 1: 283-301.

GRADE systemによる推奨度 表1

推奨度の強さ

1. 強い推奨

ほとんどの患者において、良好な結果が不良な結果より 明らかに勝っており、その信頼度が高い

2. 弱い推奨

良好な結果が不良な結果より勝っているが、 その信頼度は低い

推奨の基になったエビデンスの質

- A:複数のRCTsにおいて確立したエビデンス、 あるいは観察研究による極めて強いエビデンス
- B:RCTsによる限定的なエビデンス、 あるいは観察研究による強いエビデンス
- C: 重大な弱点のあるRCTsによるエビデンス、 観察研究による弱いエビデンス、 あるいは間接的エビデンス

RCT:ランダム化比較試験

表2 病因によるTMAの分類と臨床診断

なと 別位による1101人の力量に関係的例									
病因による分類	病因	原因	臨床診断	臨床診断に重要な所見					
1011170104747111	40.44年618年被蒙蒙	ADAMTS13遺伝子異常	先天性TTP (Upshaw-Schulman症候群)	ADAMTS13遺伝子異常					
ADAMTS13欠損TMA	ADAMTS13活性著減	ADAMTS13に対する自己抗体	後天性TTP	ADAMTS13活性著減、 ADAMTS13自己抗体あり					
感染症合併TMA	感染症	志賀毒素産生大腸菌(STEC) (0157大腸菌など)	STEC-HUS	血液や便検査でSTEC感染を証明					
沙米廷 TOTIMA	黎 米延	肺炎球菌 (ノイラミダーゼ分泌)	肺炎球菌HUS	肺炎球菌感染の証明					
補体関連TMA	補体系の障害	遺伝的な補体因子異常 (H因子、I因子、MCP, C3、B因子)	Atypical HUS	補体因子遺伝子異常 C3低値、C4正常 (これらは全例で認める訳ではない)					
		抗H因子抗体		抗H因子抗体の証明					
凝固関連TMA	凝固系の異常	Diacylglycerol kinase ε (DGKE)、THBD遺伝 子異常	Atypical HUS?	遺伝子異常の証明					
二次性TMA		自己免疫疾患	膠原病関連TMAなど	SLE、強皮症などの膠原病が多い					
		造血幹細胞移植	造血幹細胞移植後TMA	血小板輪血不応、 溶血の存在(ハブトグロビン低値など)					
	病因不明	臓器移植(腎臓移植、肝臓移植など)	識器移植後TMA	原因不明の血小板減少と溶血の存在(ハプト グロビン低値など)					
		悪性腫瘍	悪性腫瘍関連TMA	悪性リンパ腫、胃がん、膵がんなどに多い					
		妊娠	妊娠関連TMA, HELLP症候群	HELLP症候群は妊娠30週以降に発症し、高血 圧を合併することが多い。					
		薬剤(マイトマイシンなど)	薬剤性TMA	薬剤使用歴					
その他のTMA	病因不明	その他	TTP類線疾患、他	TTPの古典的5微候の存在、など					

TMA: thrombotic microangiopathy

TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura HUS: hemolytic uremic syndrome

SLE: systemic lupus erythematosus THBD: thrombomodulin

HELLP症候群: hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets 症候群

表3 後天性TTPの重症度分類

- 1. ADAMTS13インヒビター 2 BU/mL以上
- 2. 腎機能障害
- 3. 精神神経障害
- 4. 心臓障害(トロポニン上昇、ECG異常等)
- 5. 腸管障害(腹痛等)
- 6. 深部出血または血栓
- 7. 治療不応例
- 8. 再発例

<判定> 有1点、無0点 重症 3点以上 中等症 1点~2点 軽症 0点

表4 先天性TTP重症度分類

- 1) 重症 維持透析患者、脳梗塞などの後遺症残存患者
- 2) 中等症 定期的、または不定期に新鮮凍結血漿(FFP)輸注が必要な患者
- 3) 軽症 無治療で経過観察が可能な患者

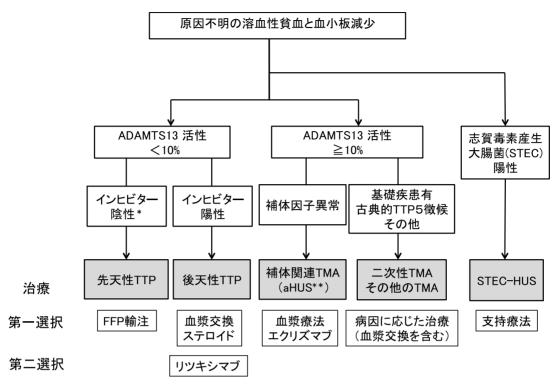


図1 TMAの診断と治療

- * インヒビタ一陰性であっても、ADAMTS13結合抗体陽性の後天性TTPが存在する。 **非典型HUS: 保険病名や慣用名としてしばしば使用されている。

凝固マーカーを含むルーチン検査による TMA と DIC の比較

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:酒井和哉 奈良県立医科大学 輸血部 診療助教

和田英夫 三重大学医学部分子病熊学講座 リサーチアソシエイト

研究要旨

TTP ガイドラインを改定するため、血栓性微小血管症(TMA)と鑑別が難しいとされる 播種性血管内凝固症(DIC)について凝固マーカーについて検討し、比較した。TMA は血 小板血栓、播種性血管内凝固症(DIC)はフィブリン血栓によって発症するが、臨床的 に鑑別が難しい場合がある。今回、TMA の中の後天性 TTP (aTTP)と非定型尿毒症症候 群 (aHUS)について DIC と比較した。

2006 年から 2016 年までに TMA レジストリに登録された aTTP 138 例および aHUS 43 例を解析対象とした。DIC は奈良医大および三重大学で診断された 86 例を用いた。検査結果は中央値(25-75%i1e)の順に記載した。血小板数(万/μL)は aTTP 0.9(0.7-1.4)、aHUS 3.1(1.8-4.6)、DIC 4.1(2.4-6.3)と aTTPでは著減しており、aHUS と DICでは有意な差を認めなかった。アンチトロンビン(%)は、aTTP 102(91-113)、aHUS 96(91-110)、DIC 65(48.5-75.5)と DICで有意に低値であった。FDP(μg/mL)は、後天性 TTP 10.0(5.8-17.9)、aHUS 12.1(7.8-37.8)、DIC 46.0、(23.8-84.9)と DICで有意に高かったが、aTTPと非定型 HUSにおいても aHUSの軽度の上昇を認めた。ADAMTS13活性(%)は、aTTP <0.5(<0.5-<0.5)、aHUS 69.0(53.9-89.2)、DIC 31.4(22.3-43.9)と aTTP<DIC<aHUS の順にそれぞれ有意差を認めた。血清クレアチニン(mg/dL)は、aTTP 0.82(0.66-1.14)、aHUS1.62(1.22-2.09)、DIC 1.58(1.03-3.0)と、aTTPに比べて急性腎障害を特徴とする aHUS と DICで有意に高かったが、この 2 疾患では差を認めなかった。

aTTP と aHUS では FDP や D ダイマーが軽度上昇するが、DIC とは明らかに上昇の程度が異なることが確認された。また、ADAMTS13 活性は aTTP の確定診断だけでなく、aHUS と DIC の鑑別にも有用である可能性が示唆された。

A. 研究の目的

TMAと臨床現場で鑑別が難しい疾患として DIC がある。TTP 診療ガイド 2017 を改定する際のデータとするため、凝固、線溶マーカーについて、TMA の中で診断基準が策定されている後天性 TTP(aTTP)と aHUS

をDICと比較した。

TMA は血小板血栓が主体となる血栓症であり、一方で播種性血管内凝固症 (DIC) はフィブリン血栓が主体の血栓症であり、病理学的所見から区別することができる可能性がある。しかし、実臨床で使用できる

病理所見は剖検によるものであり、実際の診断には利用できない。DICを診断する上では、凝固検査を含めた採血結果と臨床所見から DIC スコアを計算することが重要である。しかし、TMA症例がどの程度の凝固異常を呈するのかについては、多数例での報告は皆無である。今回、我々は aTTPと aHUS、そして、DIC の 3 群について急性期の凝固マーカーを含むルーチン血液検査を比較した。さらに、近年報告されている後天性 TTP のスコアリングシステム (PLASMIC score) についてその外的妥当性につき検討したので、その結果を報告する。

B. 研究方法

2006 年から 2016 年までに奈良医大 TMA レジストリに登録され、急性期の凝固マーカーが参照可能であった aTTP 138 例および aHUS 43 例を抽出した。なお、各疾患の診断は TTP 診療ガイド 2017 および aHUS 診療ガイド 2015 に基づいて行った。また、同時期に奈良医大および三重大学で DIC と診断された 86 例を対象とした。旧厚生省 DIC 診断基準 7 点以上もしくは旧厚生省 DIC 診断基準 6 点かつ急性期 DIC 診断基準 4 点以上のものを DIC と診断した。そして、DIC の基礎疾患の内訳は感染症 46 例、腫瘍 27 例、その他 13 例であり、明らかな線溶亢進型 DIC は除外した。

検査項目は血小板数、PT-INR、APTT、フィブリノゲン、アンチトロンビン、FDP、Dダイマー、ADAMTS13、血清クレアチニンを含むルーチン検査を調査した。検査結果は中央値(25-75%ile)で表記した。3 群間の中央値の差の解析は Kruskal-Wallis test

を用いて行った(統計ソフト EZR を使用)。 PLASMIC score は各症例につき(1)血小板数3万未満(2)溶血所見あり(3)活動性の悪性腫瘍なし(4)臓器移植歴なし(5)MCVが90fL未満(6)PT-INRが1.5未満(7)血清クレアチニンが2.0mg/dL未満、の7項目についてそれぞれ1点を加算し合計点を算出する。6-7点が高リスク(62-82%でTTP)、5点が中リスク(5-24%でTTP)、4点未満が低リスク(TTPの確率は4%未満)と報告されている。

(倫理面への配慮)

本研究は、奈良県立医科大学および三重 大学の倫理審査委員会の許可を受けて実 施した。

C. 研究成果

患者背景を表 1 に示す。aHUS は若年者 に多く、aTTP は女性が多かった。また、 aTTPではヘモグロビン、血小板が低値で、 LDH、総ビリルビンが高く、溶血の程度が 強いことが予想された。図1に示すように 血小板数 (10⁴/µL) は aTTP 0.9 (0.7-1.4)、 aHUS 3.1 (1.8-4.6), DIC 4.1 (2.4-6.3) と aTTP では著減しており、aHUS と DIC で は統計学的有意差を認めなかった。PT-INR はaTTP やaHUS に比べてDICが高かった。 また、APTT も同様に DIC が高かった。図 2 に示すように、フィブリノゲンは aHUS で やや低い傾向が認められた。アンチトロン ビンは、aTTP やaHUS に比べて DIC で有 意に低値であった。FDP は、aTTP や aHUS に比べて DIC で有意に高かったが、aTTP と aHUS においても軽度の上昇を認めた。D ダ イマーも FDP と同様の傾向であった。図1

のように、ADAMTS13 活性(%)は、後天性TTP <0.5 (<0.5-<0.5)、非定型 HUS 69.0 (53.9-89.2)、DIC 31.4 (22.3-43.9)と aTTP<DIC<aHUS の順にそれぞれ統計学的有意差を認めた。血清クレアチニンは、aTTP 0.82 (0.66-1.14)、aHUS1.62 (1.22-2.09)、DIC 1.58 (1.03-3.0)と、急性腎障害を特徴とする aHUS と DIC で aTTP に比べて有意に低かった。

PLASMIC score が評価可能な症例はaTTPが 112 例、aHUS が 28 例、DIC が 61 例であった。図 3 に示すように aTTP の 86%が高リスクに該当したものの、10%は中リスク、4%は低リスクに該当した。驚くべきことに、aHUS 症例の 46%、DIC 症例の 5%がそれぞれ高リスクに該当し、ADAMTS13 活性が低下していることが予想された。

D. 考察

TMA と DIC の鑑別は凝固異常が存在する か否かで広く行われてきたが、TMA 症例に おいて実際にどの程度の凝固障害が生じ 得るのかについては明らかにされていな かった。今回の報告より、aTTP、aHUS にお いても FDP や D ダイマーが上昇すること が判明し、血小板減少と組み合わせること で、汎用されている旧厚生省 DIC 診断基準 および急性期 DIC 診断基準において約半 数が DIC と判定されうることが判明した。 TMA と DIC の鑑別はアンチトロンビンを用 いることで容易と考えられたが、いずれの 凝固マーカーも aTTP、aHUS、DIC の 3 者を 明確に鑑別することができなかった。 ADAMTS13 は本来 TTP の診断において不可 欠な検査であるが、aHUS では中央値約 70% に維持されるのに対して、DIC群では血漿

中のプロテアーゼ活性の亢進などの影響 を受けて中央値約30%まで有意に低下して いた。

また、海外で注目されている PLASMIC score について検討した。PLASMIC score では DIC を除外する項目として PT-INR の 1 項目のみであるが、実際には PI-INR が 1.5 に満たない DIC 症例も多く存在していた。さらに、治療介入が遅れた DIC 症例では血小板数が 3 万を下回ることも珍しくなく、今回の解析結果においても DIC の 5%の症例が aTTP の高リスクと誤まって判定されていた。また、aHUS は PLASMIC scoreを使うと半数以上が aTTP の高リスクとされており、PLASMIC score の限界を理解した上で使用すべきと考えられた。

E. 結論

凝固マーカーの比較ではTMA群ではDIC 群よりも凝固異常の程度が軽度であった。 ルーチンの凝固マーカーのみでは aTTP と aHUS の鑑別は困難であったが、ADAMTS13 活性が両者の鑑別に有用である可能性が 示された。PLASMIC スコアは TTP 診断ツー ルとして有効と考えられているが、TTP 以 外の症例でも高リスクと判定されうる可 能性があり、注意が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

英文

 Otani T, Hatakeyama K, Yamashita K, Hayata Y, Hayakawa M, Matsumoto M,

- Taniguchi S, Ohbayashi C. A histological description of intestinal 'angiodysplasia' in an autopsy case of Heyde's syndrome. Pathol Int. 69(12)727-729, 2019. doi:10.1111/pin.12874.
- Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K, Miyata T, Takahashi Y, Taniguchi S, Patent Matsumoto M. ductus arteriosus generates neonata1 hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Blood Schulman syndrome. Adv. 3(21)3191-3195,2019
- Takaya H, Namisaki T, Kitade M, Kaji K, Nakanishi K, Tsuji Y, Shimozato N, Moriya K, Seki K, Sawada Y, Saikawa S, Sato S, Kawaratani H, Akahane T, Noguchi R, Matsumoto M, Yoshiji Н. VWF/ADAMTS13 ratio as a potential biomarker for early detection of hepatocellular carcinoma. **BMC** gastroenterology. 19(1)167,2019
- 4. Yoshikawa T, Nomi T, Sakai K, Hayakawa M, Hokuto D, Matsuo Y, Sho M, <u>Matsumoto M</u>. Ischaemia-reperfusion injury with Pringle's maneuver induces unusually large von Willebrand factor multimers after hepatectomy. Thrombosis research. 183, 20-27, 2019
- Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue
 N, Ito S, Kagami S, Kaname S,
 Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T,

- Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clinical and Experimental Nephrology. 23(1)65-75,2019
- Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clinical and Experimental Nephrology. 23(1)112-121, 2019
- van Dorland HA, Mansouri Taleghani M, Sakai K, Friedman KD, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, Krogh AS, Schneppenheim R, Aebi-Huber I, Bütikofer L, Largiadèr CR, Cermakova Z, Kokame K, Miyata T, Yagi H, Terrell DR, Vesely SK, Matsumoto M, Lämmle B, Fujimura Y, Kremer Hovinga JA. International Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Registry: Key findings at enrolment until 2017. Haematologica. 104(10)2107-2115, 2019 Feb 21. pii:

- haematol. 2019. 216796. doi:10.3324/haematol.2019.216796.
- 8. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Fujimura Y, <u>Matsumoto M</u>. Blood group antigen A on von Willebrand factor is more protective against ADAMTS13 cleavage than antigens B and H. J Thromb Haemost. 17(6)975-983,2019
- 9. Tsujii N, Nogami K, Matsumoto M, Yoshizawa H, Takase T, Tanaka I, Sakai T, Fukuda K, Hayakawa M, Sakai K, Isonishi A, Matsuura K, Fujimura Y, Shima M. Involvement of the ADAMTS13-VWF axis in acute Kawasaki disease and effects of intravenous immunoglobulin. Thromb Res. 179:1-10, 2019 Apr. doi: 10.1016/j.thromres.2019.04.026.
- 10. Horiuchi H, Doman T, Kokame K, Saiki Y, <u>Matsumoto M</u>. Acquired von Willebrand Syndrome Associated with Cardiovascular Diseases. J Atheroscler Thromb. 26(4)303-314,2019. doi:10.5551/jat.RV17031.
- 11. Takaya H, Namisaki T, Shimozato N, Kaji K, Kitade M, Moriya K, Sato Kawaratani Η, Akahane Matsumoto M, Yoshiji H. ADAMTS13 and von Willebrand factor useful biomarkers for sorafenib treatment efficiency in patients hepatocellular with carcinoma. Gastrointest World Τ Oncol. 11(5):424-435, May 15, 2019. doi: 10. 4251/wjgo. v11. i5. 424.

- 12. Nakayama S, Hirashio S, Yorishima H, Doi T, Yoshida Y, <u>Matsumoto M</u>, Masaki T. Atypical reduction of plasma ADAMTS13 activity by a non-IgG-type inhibitor in a patient with hemolytic uremic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. CEN Case Reports. 2019 Jun 8. doi.org/10.1007/s13730-019-00405-4.
- 13. Sakai K, Someya T, Harada K, Yagi H, Matsui T, Matsumoto M. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to caplacizumab. Haematologica. 2019. 235549;
 - doi:10.3324/haematol.2019.235549.
 [Epub ahead of print]
- 14. Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa Matsumoto M. Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. J Intensive Care Med. 2020 Jan 22:885066619899637. doi: 10.1177/0885066619899637. [Epub ahead of print]
- 15. Shigekiyo T, Yagi H, Sekimoto E, Shibata H, Ozaki S, <u>Matsumoto M</u>. Identification of a missense mutation (p. Leu1733Pro) in the A3 domain of von Willebrand factor in

- a family with type 2M von Willebrand disease. International journal of hematology. 111(3) 467 470 2020.
- 16. Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M. Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation—Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis. 27(4) 353 362 2020. doi.org/10.5551/jat.49494
- 17. Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. Blood. In press

和文

- 1. 久保 政之,<u>松本 雅則</u>.【専門家による私の治療】血栓性血小板減少性紫斑病(TTP). 日本医事新報 4987 号 54, 2019
- 2. 久保 政之, 松本 雅則. 未来型血液

- 治療学 4章 血小板·凝固線溶系疾患 血栓性血小板減少性紫斑病. 中外医学社 239-245, 2019
- 3. 酒井 和哉, <u>松本 雅則</u>. 血液領域に おける免疫療法と抗体医薬—最近の 展開 後天性 TTP に対する caplacizumab の臨床効果. 血液内科 79巻1号76-81, 2019
- 4. 酒井 和哉, <u>松本 雅則</u>. ADAMTS13 が 関与する多様な病態 先天性 TTP の臨 床所見. Thrombosis Medicine 9 巻 3 号 206-211, 2019
- 5. <u>松本 雅則</u>. TMA(血栓性微小血管症) と HELLP 症候群. 産科と婦人科 89 巻 2 号 231-236, 2019
- 6. 岡崎 仁,池田 敏之,大石 晃嗣,加藤 栄史,浜口 功,藤井 康彦,松本 雅則,松下 正,日本輸血・細胞治療 学会ガイドライン委員会輸血有害事 象検討タスクフォース.科学的根拠 に基づいた輸血有害事象対応ガイド ライン.日本輸血細胞治療学会誌 65 巻1号1-9,2019
- 7. 松本 雅則. 【血栓止血の臨床-研修医のために[第2版]】 血小板減少を伴う血栓性疾患 血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の診断と治療. 日本血栓止血学会誌30巻1号155-159,2019
- 國島 伸治, 山崎 昌子, 松本 雅則.
 2018 Hot Topics 血小板分野. 日本 血栓止血学会誌 30 巻 1 号 248-251,
 2019
- 9. 久保 政之, 松本 雅則. 【検査項目と 異常値からみたー緊急・重要疾患レッ ドページ】(7章)血液・造血器疾患 血 栓性血小板減少性紫斑病. 臨床検査

63 巻 4 号 508-509, 2019

- 10. 松本 雅則. 輸血管理部門の将来像血漿分画製剤管理と臨床研究. 日本輸血細胞治療学会誌 65 巻 3 号 723-724, 2019
- 11. 高見 昭良,松下 正,緒方 正男,藤井 伸治,久冨木 庸子,藤原 慎一郎,松本 雅則,冨山 佳昭,日本輸血・細胞治療学会血小板使用ガイドライン小委員会,日本輸血・細胞治療学会「指針改訂検討委員会」日本輸血・細胞治療学会ガイドライン委員会,血小板製剤使用ガイドライン「2019年改訂版」。日本輸血細胞治療学会誌65巻3号554-561,2019
- 12. 松下 正, 長谷川 雄一, 玉井 佳子, 宮田 茂樹, 安村 敏, 山本 晃士, 松本 雅則, 日本輸血・細胞治療学会「ガイドライン委員会」,新鮮凍結血漿の使用指針に関する小委員会. 科学的根拠に基づいた新鮮凍結血漿(FFP)の使用ガイドライン[改訂第 2 版]. 日本輸血細胞治療学会誌65巻3号525-537,2019
- 13. 松本 雅則. 【全身性疾患と腎 update】 (第 5 章) 血液疾患 血栓性微小血管 症・血液専門医の視点より. 腎と透析 86 巻 274-277, 2019
- 14. 松本 雅則. 【指定難病ペディア 2019】 個別の指定難病 血液系 血栓性血小 板減少性紫斑病(TTP)[指定難病 64]. 日本医師会雑誌 148 巻 S189-S190, 2019
- 15. 松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑

病、今日の治療指針 Vol 62、712-714 学会発表

- 1. <u>松本 雅則</u>. 血栓性血小板減少性紫斑病. 第 67 回日本輸血細胞治療学会, 熊本, 2019 年 5 月 25 日
- 2. 長谷川 真弓,田中 宏明,谷山 歩,隅 志穂里,梅木 弥生,田中 忍,酒井 和 哉,早川 正樹,松本 雅則. 輸血検査 におけるフローサイトメトリーの有 用性.第67回日本輸血細胞治療学会, 熊本,2019年5月25日
- 3. <u>松本 雅則</u>. aHUS 以外の TMA の診断と 治療. 第 41 回日本血栓止血学会, 三 重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
- 4. 藤村 吉博, レムレ ベルンハルト, 田辺 さおり, 高橋 幸博, 酒井 和哉, 谷口 繁樹, 松本 雅則. Severe hemolytic jaundice with thrombocytopenia at birth in Upshaw-Schulman syndrome is caused by physical constriction of ductus arteriosus. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
- 5. 石川 哲也, 小川 孔幸, 内藤 千晶, 松本 彬, 宮澤 悠里, 石埼 卓馬, 柳澤 邦雄, 松村 郁子, 外山 耕太郎, 松本 雅則, 半田 寛. Inhibitor boosting により長期入院を要した難治性の血栓性血小板減少性紫斑病症例. 第41回日本血栓止血学会, 三重,2019年6月20日~22日
- 6. 平形 絢子, 小林 靖子, 池内 由果, 小 笠原 聡, 武井 麻里子, 小川 孔幸, 半 田 寛, 松本 雅則, 荒川 浩一. 血栓性 血小板減少性紫斑病を契機に診断さ れた全身性エリテマトーデスの小児

- 例. 第41回日本血栓止血学会, 三重, 2019年6月20日~22日
- 7. 酒井 和哉, 中塚 優希, 吉田 瑶子, 早川 正樹, 和田 英夫, <u>松本 雅則</u>. 凝固マーカーを含むルーチン血液検査による TMA と DIC の比較. 第 41 回日本血栓止血学会, 三重, 2019 年 6 月 20 日~22 日
- 8. 矢田 憲孝,川島 浩正,垣脇 文香,佐和 明裕,千崎 聡士,西村 伸城,米今 諒,田井 義彬,對馬 恵美子,大野史郎,吉本 清巳,酒井 和哉,福島 英賢,松本 雅則,西尾 健治. 敗血症性DIC と血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の鑑別診断における FDP/Ddimer 比および LDH/Hb 比の有用性.第41回日本血栓止血学会,三重,2019年6月20日~22日
- 9. H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J.N. George, I. Hrachovinova, P.N. A. S. Knöbl, von Krogh, R. Schneppenheim, E. Tarasco, C.R. Largiadèr, Z. Cermakova, K. Kokame, Miyata, D. R. Terrell, S. K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmlel, Y. Fujimura, J.A. Kremer Hovinga. Age at First Disease Manifestation in Relation to Residual ADAMTS13 Activity in Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Congress of the International Society Thrombosis Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日

- 10. K. Sakai, Y. Fujimura, A. Isonishi, M. Hayakawa, H. Yagi, M. Matsumoto. Successful Treatment of Pregnant Patients with Congenital Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Using Prophylactic Fresh Frozen Plasma Infusion. XXVII of Congress the International Society on Thrombosis and (ISTH), Haemostasis Melbourne, 2019年7月6日~10日
- 11. H. Shimizu, K. Matsuura, Y. Miura, N. Takahashi, K. Sugie, M. Hatakeyama, Matsumoto. Immunohistologic Analysis of von Factor Willebrand in Thrombi Retrieved from Patients with Acute Ischemic Stroke. XXVII Congress of International Society the Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
- 12. Y. Fujimura, B. Laemmle, S. Tanabe, Υ. Takahashi, K. Sakai, S. Taniguchi, M. Matsumoto. Hemolytic Jaundice with Thrombocytopenia Birth Congenital TTP Is Caused by Physiological Constriction Ductus Arteriosus. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
- J. Y. Tiao, R. Baker, J. Sathar, Y. Y.
 Yap, P. Angchaisuksiri, D. Oh, S. –
 S. Yoon, J. Kim, R. Wong, E.
 Merriman, P. Choi, E. Gardiner,

- C.-G. Ruan, Z. Yu, M. Matsumoto, S.L. Tien, M.-C. Shen, S. Nair, R. Yang, M. Smith. Successful International Standardisation of ADAMTS13 Assays Highlights **Challenges** in the Result Interpretation for the Diagnosis Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) - results of the Asia-Pacific Microangiopathic (APMAT) Network. XXVII Congress of International Society Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, 2019年7月6日~10日
- 14. 松本 雅則. 血液製剤適正使用ガイドライン update. 第 43 回日本血液事業学会総会. 仙台,2019 年 10 月 2 日~4 日
- 15. M Hayakawa, H Horiuchi, K Kokame, T Yambe, Y Shiraishi, A Yamada, Y Inoue, Y Saiki, T Yasui, T Minamitani, M Matsumoto. Acquired von Willebrand syndrome. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日~13日

- 16. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H Tanaka, <u>M Matsumoto</u>. A susceptibility locus for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in Japanese patients. 第81回日本血液学会学術集会. 東京, 2019年10月11日~13日
- 17. 谷山 歩, 隅 志穂里, 梅木 弥生, 長谷 川 真弓, 久保 政之, 酒井 和哉, 早川 正樹, 松本 雅則. AB型クリオ製剤使 用時の安全性の検討. 第 63 回日本輸 血・細胞治療学会近畿支部総会. 大阪, 2019 年 11 月 9 日
- 18. K Sakai, M Kuwana, H Kojima, H
 Tanaka, M Kubo, H Yagi, <u>M Matsumoto</u>.

 Next-Generation Sequencing of HLA
 Loci Identifies Predisposing and
 Protective Factors for ImmuneMediated Thrombotic
 Thrombocytopenic Purpura in a
 Japanese Population. 61st ASH
 Annual Meeting and Exposition.
 Orlando, 2019年12月7日~10日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

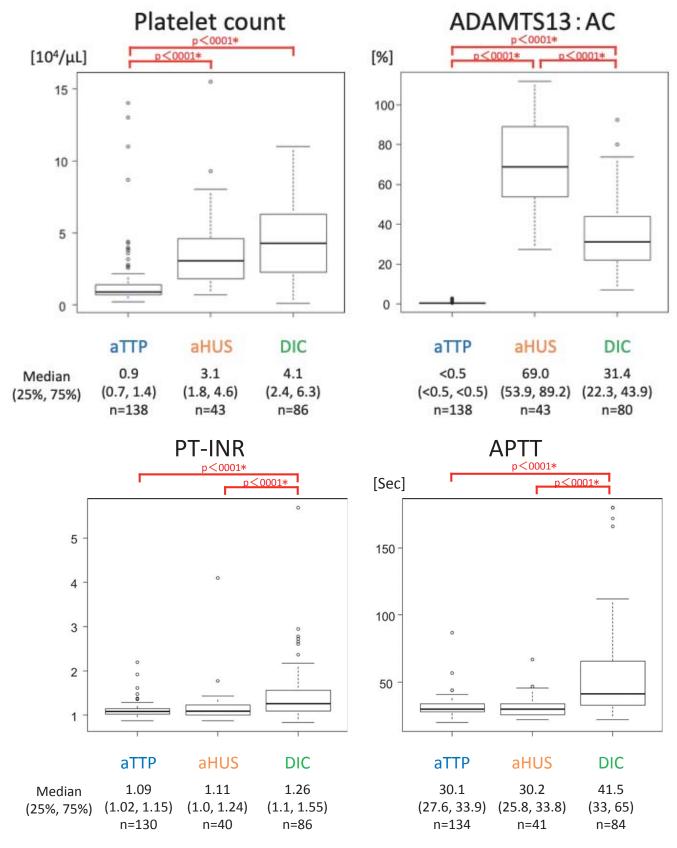
表1 患者背景

	aTTP群 total n=138	aHUS群 total n=43	DIC群 total n=86	p値
Age (years)	55.5 (40.25, 69)	6 (4, 17)	70.5 (62.25, 77)	<0.001*
Sex (F/M)	85/53	15/28	41/45	0.005 †
Hb (g/dL)	7.55 (6.3, 9.0)	7.9 (6.0, 10.1)	9.7 (8.5, 11.8)	<0.001*
WBC ($\times 10^3/\mu$ L)	7.30 (5.2, 9.5)	8.85 (5.96, 12.09)	8.04 (4.53, 12.42)	0.29*
PLT (×10 ⁴ /μL)	0.9 (0.2, 1.4)	3.1 (1.8, 4.6)	4.1 (2.35, 6.3)	<0.001*
LDH (IU/L)	1036 (746, 1528)	2130 (1760, 3087)	506 (338, 1012)	<0.001*
T-bil (mg/dL)	2.8 (2.2, 4.7)	2.5 (1.9, 2.9)	1.6 (0.8, 3.5)	<0.001*
sCr (mg/dL)	0.82 (0.66, 1.14)	1.73 (1.39, 2.42)	1.58 (1.03, 3.0)	<0.001*

★Median (QFT 25%, 75%)

*: Kruskal-Wallis test

†: Fisher's exact test



*:Kruskal-Wallis test

図1 TMAとDICの比較(1)

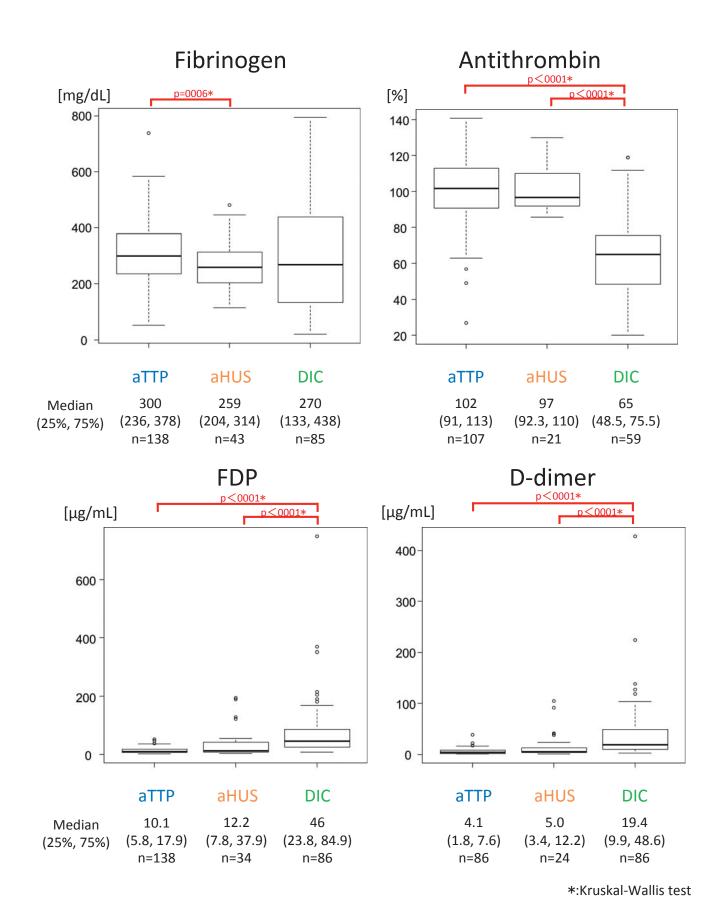


図2 TMAとDICの比較(2)

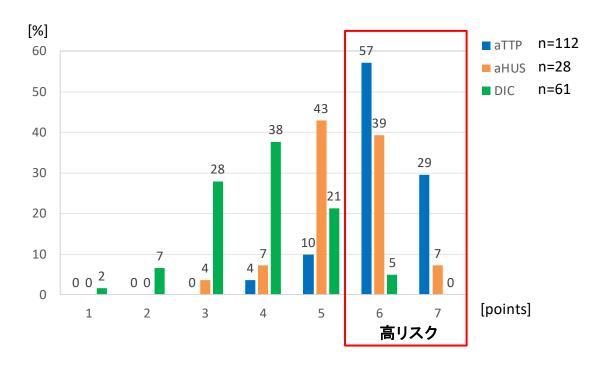


図3 PLASMIC Scoreの検討

血栓性血小板減少性紫斑病に関する研究

研究分担者: 宮川義隆 埼玉医科大学 教授

研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)ガイドラインを3年ぶりに改訂した。医師主導治験の成果とガイドラインをもとに、後天性TTPに対する抗体医薬リツキシマブの適応拡大に成功した。

A. 研究目的

血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)のガイドライン改訂、抗体医薬リツキシマブの後天性TTPに対する適応拡大を行う。

B. 研究方法

海外のガイドライン、国内外の医学専門家の意見を聴取、診療実態を調査し、ガイドラインの改訂を行う。後天性TTPに対するリツキシマブは、国内で実施した医師主導治験の成績、TTPガイドラインをもとに、医療上の必要性が高い未承認薬・適応外薬検討会議にて、医療上の必要性と公知性を審議する。

(倫理面への配慮)

該当せず

C. 研究結果

TTP診療ガイド2020改訂版を作成し、本報告書に掲載した。後天性TTP対するリツキシマブは、2019年8月に保険収載、2020年3月に適応拡大した。

D. 考察

欧米では約10年前より、後天性TTPに対

してリツキシマブが処方されている。特に 再発例と難治例に、血漿交換療法、副腎皮 質ステロイドを併用すると、有効率は90% と高い。なお、海外では初発例の急性期に リツキシマブを投与して、再発率の低下を 認めたこと報告された。ガイドライン2020 改訂版では、ADAMTS13検査の保険収載、後 天性TTPに対するリツキシマブ、血漿交換 の回数が従来の週3回から血小板数が2日 連続して正常化するまで連日行えるよう 保険収載されたことを掲載した。

E. 結論

3年ぶりにTTPガイドラインを改訂した。 後天性TTPの再発・難治例に対して、リツ キシマブが保険収載、適応拡大した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

宮川義隆、免疫性血小板減少症と血栓性血 小板減少性紫斑病に対するリツキシマブ、 臨床血液60,480-487(2019)

2. 学会発表

第61回 アメリカ血液学会総会, Clinical Practice Pattern of Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in Japan: A Nationwide Inpatient Database Analysis. Yamada Y, et al.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
- 1. 特許取得 なし
- 2. 実用新案登録

先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析

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

血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP)は、von Willebrand 因子切断酵素 ADAMTS13 の活性著減で発症する指定難病である。ADAMTS13 活性を著減させる原因の一つとして ADAMTS13 遺伝子異常があり、これは先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群)を引き起こす。本研究では、日本における先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析を行い、発症メカニズムの解明とともに、TTP を含む疾患群である血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy; TMA)の診療ガイド作成・改訂に寄与することをめざしている。今年度は、先天性 TTP 疑い患者 2名(2家系)を対象として ADAMTS13 遺伝子解析を行った。ダイレクト・シーケンシング法による塩基配列解析の結果、1 名は p. W365G 変異と p. A596V 変異の複合へテロ接合体、1 名は p. F324L 変異と p. C438F 変異の複合へテロ接合体であった。このうち p. A596V 変異はヨーロッパの家系で同定されていた原因変異であり、他は未報告の変異である。これらの結果は診療ガイドラインの改訂等に役立つ知見となる。

A. 研究目的

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) の発症は、フォンビルブランド因子 (von Willebrand factor; VWF) を特異的 に切断する血漿プロテアーゼ ADAMTS13 の 活性著減で起こる。ADAMTS13 活性の損失 は、先天的な ADAMTS13 遺伝子異常あるい は後天的に生じる抗 ADAMTS13 自己抗体 (インヒビター)によって起こる。特に ADAMTS13 遺伝子異常によって劣性遺伝形 式で発症する TTP を先天性 TTP あるいは Upshaw-Schulman 症候群 (Upshaw-Schulman syndrome; USS) と呼ぶ。我々 は、先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解 析、日本人一般住民の ADAMTS13 活性と遺 伝子多型の分析、ADAMTS13 結合タンパク 質の探索、ADAMTS13 分子の立体構造解析などに重点をおいて研究を進めてきた。本研究事業では、先天性 TTP 患者の遺伝子解析を継続的に行い、遺伝子異常の特徴や発症メカニズムに関する知見を蓄積することともに、TTPを含む疾患群である血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy; TMA)の診療ガイド作成・改訂に寄与することをめざしている。

ADAMTS13 の酵素活性が 10%未満でインヒビターが陰性であれば、先天性 TTP の可能性を考え、遺伝子解析を行う。我々はこれまで、先天性 TTP 疑い患者および家族を対象に ADAMTS13 遺伝子の塩基配列を調べ、先天性 TTP 発症の原因となる遺伝子異常を特定してきた。一般に、遺伝性疾患が疑われる患者の遺伝子の塩基配

列は、標的遺伝子の各エクソンを PCR で 増幅して塩基配列を解読する方法、すな わちダイレクト・シーケンシング法に よって決定される。我々もまず、 ADAMTS13 遺伝子の各エクソンの外側に結 合するよう設計した PCR プライマーを用 いて、検体 DNA から各エクソンを選択的 に増幅させ、その塩基配列を決定する。 これまでに我々が行った先天性 TTP 患者 解析の場合、約9割の症例はこの方法で 複合ヘテロ接合性あるいはホモ接合性の 原因変異が同定された。ダイレクト・ シーケンシング法で原因変異が一つしか、System(ロッシュ)を使用した。PCR終了 あるいは一つも見つからない場合、ダイ レクト・シーケンシング法を効率よく補 完する方法として開発したゲノム定量PCR 法を行っている。この方法で、これまで に3患者のADAMTS13遺伝子にそれぞれ異 なる欠失異常を見出した。

本研究では、新たに見出された先天性 TTP 疑い患者 2 名 (2 家系) の原因変異を 明らかにするために、患者および家族の ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。

B. 研究方法

患者および家族から得られた血球画分 を凍結した状態で受け取り、解析を始め るまで冷凍保管した。DNA 調製には illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit (GEヘルスケア)を使用した。血液か らの調製を前提とした試薬キットなので、 凍結血球(約 200 μ L)を解凍しながら約 100 μ L の生理食塩水で懸濁して約 300 μ L の血液と見なし、マニュアルに従って調 製した。

全 29 個のエクソンを PCR で増幅するた

めに、24 ペアのプライマーを用いた。セ ンス方向プライマーの 5'側に M13F 配列 (TGTAAAACGACGCCAGT) を、アンチセン ス方向プライマーの 5'側に M13R 配列 (CAGGAAACAGCTATGACC) を、それぞれ付 加しておいた。これは、あとのシーケン シング反応を効率的に行うためである。 エクソン 7 以外は一般的な PCR 条件で容 易に増幅させることができた。エクソン8 および 26-27 の増幅では反応液に DMSO 1 μ L を添加した。エクソン 7 は GC 塩基の 割合が非常に高いため、GC-RICH PCR 後、1 µ L を用いてアガロース電気泳動で バンドを確認した。次に、PCR 反応液に 残った過剰プライマーの除去と未反応 dNTP の不活化を目的として、ExoSAP-IT (アフィメトリクス)1μL を加え、37℃ /30 分間、80℃/15 分間反応させた。この うち1μLを鋳型にして、M13FおよびM13R プライマーでシーケンス反応を行った。 BigDye Terminator v3. 1 Sequencing Kit (アプライド・バイオシ ステムズ) 試薬の4倍希釈液を用いて5μ L/反応で行った。反応終了後、CleanSEQ ダイターミネータ精製試薬キット(ベッ クマン・コールター)で精製し、Genetic Analyzer 3730x1 (アプライド・バイオシ ステムズ) に供して波形データを得た。

解析ソフトウェア Sequencher (ジーン コード)を用いて波形データを観察し、 対象領域(各エクソンとその前後約20塩 基)のレファレンス配列と比較した。エ クソンに変異が見つかった場合、cDNA 配 列 (GenBank: AB069698.2) と照合してア ミノ酸配列への影響などを調べた。イン

トロンに変異が見つかった場合、スプラ イシングに対する影響等を検討した。な お、エクソンの異常でもスプライシング に影響をおよぼす可能性もあるので、注 意深く検討した。変異が先天性 TTP の原 因として既知であれば、それを原因変異 として確定した。未報告の変異であれば、c. 1787C>T はヨーロッパの家系で同定され アミノ酸レベルでの変異の特徴から機能 への影響を類推した。日本人の ADAMTS13 遺伝子に存在する6個のミスセンス多型、 p. T339R, p. Q448E, p. P475S, p. P618A, p. S903L、p. G1181R は原因変異から除外し た。

(倫理面への配慮)

本研究は国立循環器病研究センターお よび奈良県立医科大学の倫理委員会で研 究計画の承認を受けた上で実施した。研 究参加者からは書面でのインフォームド コンセントを得た。

C. 研究結果

家系Aの患者は、新生児期に黄疸のた め交換輸血が施行され、G6PD 欠損症が疑 われていたが、5歳時に溶血性貧血と血小 板減少が認められた。外来で経過観察中 であったが、インフルエンザ感染で血小 板数 0.3 万/ μ L に著減し、ADAMTS13 活性 10%未満であった。奈良医大輸血部に相談 され、検査の結果、ADAMTS13 活性 <0.5%、 D. 考察 インヒビター陰性であった。母は ADAMTS13 活性 29.4%、インヒビター陰性 であった。先天性 TTP の可能性が強く推 定されたため、ADAMTS13 遺伝子をダイレ クト・シーケンシング法で解析した結果、 患者に c.1093T>G (p.W365G) 変異と

c. 1787C>T (p. A596V) 変異がそれぞれへ テロ接合性で同定された。母に c. 1093T>G がヘテロ接合性で同定されたため、 c. 1787C>T はおそらく父由来で、患者は両 変異による複合ヘテロ接合体と推定され た。c. 1093T>G は未報告の変異であり、 ていた原因変異であった。

家系Bの患者は26歳女性で、妊娠30週 の近医健診で血小板減少を指摘され、大 学病院受診で血小板数 1.1 万/μ L と減少 しており、溶血所見もあった。軽度肝障 害と高血圧により HELLP 症候群が疑われ たが、数日で血小板数 0.5 万/uL、LDH 900IU/L と増悪したため、ステロイドパル スと輸血療法が行われ、帝王切開で生児 を得た。ADAMTS13 活性 13%、インヒビ ター陰性で後天性 TTP は否定された。奈 良医大における検査結果からも先天性 TTP の可能性が強く推定されたため、 ADAMTS13 遺伝子をダイレクト・シーケンシ ング法で解析した結果、患者に c.972C>A (p. F324L) 変異と c. 1313G>T (p. C438F) 変異がそれぞれヘテロ接合性で同定され た。父に c. 972C>A、母に c. 1313G>T がへ テロ接合性で同定されたため、患者は両 変異による複合ヘテロ接合体と推定され た。いずれも未報告の変異であった。

遺伝性希少疾患の診断を確定する際、 原因変異を特定することはきわめて重要 である。次世代シーケンサーの普及に伴 い、遺伝子解析の方法は変化していくと 予想されるが、希少疾患で、かつ、先天 性 TTP のように責任遺伝子が限定されて

いる場合、依然としてダイレクト・シー 異常が同定された。 ケンシング法がコスト面等で優れている。 本研究では、種々の工夫により効率化し F. 健康危険情報 たダイレクト・シーケンシング法を行い、 先天性 TTP 疑い患者 2 名 (2 家系) に、発 症原因と考えられる ADAMTS13 遺伝子異常 を同定した。今回同定されたのは、4種の ミスセンス変異であった。いずれも、 ADAMTS13 の本来の機能、すなわち VWF 切 断活性を発揮できなくなる変異であると 考えられる。これまでの知見から考える と、いずれもタンパク質が細胞外に分泌 されなくなる変異である可能性が高い。

これまでに解析した結果をまとめると、 先天性 TTP 疑い患者 64 名(57 家系)のう ち60名(53家系)に、複合ヘテロ接合性 (42 家系) あるいはホモ接合性(11 家系) の原因変異を同定したことになる。変異 は66種類で、その内訳は、ミスセンス41 種類 (62.1%)、フレームシフト 11 種類 (16.7%)、ナンセンス 8 種類 (12.1%)、 スプライシング異常 4 種類 (6.5%)、構 造異常 2 種類 (3.0%) であった。論文発 表されている海外の原因変異を含めると 全部で 170 種類となった。

解析した57家系のうち4家系には、未 発見の遺伝子異常が存在する可能性があ り、解決すべき課題として残っている。 ロング・リード・シーケンシングによる解 析を開始したので、今後明らかになるこ とが期待される。

E. 結論

先天性 TTP 疑い患者 2 名 (3 家系) の ADAMTS13 遺伝子をダイレクト・シーケン シング法で解析した結果、両アレル性の

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Seiko Nakajima-Doi, Osamu Seguchi, Yasuhiro Shintani, Tomoyuki Fujita, Satsuki Fukushima, Yorihiko Matsumoto, Yuka Eura, Koichi Kokame, Shigeki Miyata, Matsuda, Hiroki Mochizuki, Keiichiro Iwasaki, Yuki Kimura, Koichi Toda, Yuto Kumai, Kensuke Kuroda, Takuya Watanabe, Masanobu Yanase, Junjiro Kobayashi, and Norihide Fukushima: Experience of the use of octreotide refractory gastrointestinal bleeding in a patient with Jarvik2000 left ventricular assist device. J. Artif. Organs 22 (5), 334-337 (2019)
- 2) Yuka Sugawara, Hideki Kato, Yoko Yoshida, Madoka Fujisawa, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Yuko Akioka, Kenichiro Miura, Motoshi Hattori, and Masaomi Nangaku: Novel CFHR2-CFHR1 hybrid in C3 glomerulopathy identified by structural genomic variation analysis. Kidney Int. Rep. 4 (12), 1759-1762 (2019)
- 3) Yoshihiro Fujimura, Bernhard Lämmle, Saori Tanabe, Kazuya Sakai,

- Toshiyuki Kimura, Koichi Kokame, Miyata, Yukihiro Toshiyuki Takahashi, Shigeki Taniguchi, and Masanori Matsumoto: Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic with jaundice thrombocytopenia Upshawin Schulman syndrome. Blood Adv. 3 (21), 3191-3195 (2019)
- 4) Miyu Usui, Tadashi Ozawa, Younhee Kim, Takafumi Mashiko. Kosuke Matsuzono, Keiko Maruyama, Koichi Kokame, Rie Usui, Reiji Koide, and Shigeru Fujimoto: Cerebral venous sinus thrombosis associated with deficiency protein S during pregnancy: a case report. J. Obstet. Gynaecol. 40 (1), 135-136 (2020)
- 5) Takekazu Miyoshi, Keiko Maruyama, Hisato Oku, Saiko Asahara, Hironori Hanada, Reiko Neki, Jun Yoshimatsu, <u>Koichi Kokame</u>, and Toshiyuki Miyata: Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation. Thromb. Res. 185, 1-4 (2020)
- 6) Keigo Akuta, Kazunobu Kiyomizu, Hirokazu Kashiwagi, Shinji Kunishima, Nobuko Nishiura, Fumiaki Banno, <u>Koichi Kokame</u>, Hisashi Kato, Yuzuru Kanakura, Toshiyuki Miyata, and Yoshiaki Tomiyama: Knock-in mice bearing constitutively active α IIb(R990W)

- mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J. Thromb. Haemost. 18 (2), 497-509 (2020)
- 7) 秋山正志, <u>小亀浩市</u>: ADAMTS13 の構造変化と機能発現. Thromb. Med. 9 (3), 189-198 (2019)
- 8) 宮田敏行,<u>小亀浩市</u>: TMA の遺伝子診断: TTP と aHUS. 日本血栓止血誌,31 (1),17-27 (2020)

2. 学会発表

- 1) 丸山慶子, 小亀浩市: 公開データベースから抽出したプロテインS変異の機能解析. 第41回日本血栓止血学会学術集会,津,2019年6月20-22日.
- 2) 山崎泰男, 樋口(江浦)由佳, 小亀浩 市: プロトンポンプ V-ATPase は von Willebrand 因子の細胞内貯蔵オルガ ネラであるWeibel-Palade小体に局在 する. 第 41 回日本血栓止血学会学術 集会,津,2019 年 6 月 20-22 日.
- 3) 秋山正志, 樋口(江浦)由佳, <u>小亀浩</u> <u>市</u>: ADAMTS13 クリアランス受容体と しての SIGLEC5 の同定と機能解析. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20-22 日.
- 4) 武田壮一,秋山正志,荒木聡彦,小亀 浩市:シェディング酵素 ADAM ファミ リープロテアーゼの成熟化とプロド メインによる活性制御の構造基盤. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津,2019年6月20-22日.
- 5) 根木玲子,伊田和史,光黒真菜,岡本章,柏木浩和,丸山慶子,<u>小亀浩市</u>:家系構成員の遺伝子解析が発端者の

- 診断に有用であった遺伝性血栓性素 因患者における遺伝子解析の検討. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津,2019年6月20-22日.
- S. 6) Υ. Miyata, Nakamura, K. Kuramochi, 0. Sawada, Koichi Kokame, and Takuma Maeda: Safety and efficacy of argatroban therapy using ethnic-specific doses in Japanese patients suspected of having heparin-induced thrombocytopenia: nationwide postmarketing surveillance studies. The 27th Congress of the International Society on and Haemostasis, Thrombosis Melbourne, Australia, July 6-10, 2019.
- 7) T. Miyoshi, H. Oku, S. Asahara, A. Okamoto, K. Kokame, M. Nakai, K. Nishimura, F. Otsuka, Higashiyama, J. Yoshimatsu, and T. Miyata: Effects of low-dose combined oral contraceptives and protein S K196E mutation anticoagulation on factors: prospective observational study. The 27th Congress of the International Society Thrombosis on Haemostasis, Melbourne, Australia, July 6-10, 2019.
- 8) H.A. van Dorland, M. Mansouri Taleghani, K. Sakai, K.D. Friedman, J.N. George, I. Hrachovinova, P.N. Knöbl, A.S. von Krogh, R. Schneppenheim, L.B. Lukas

- Bütikofer. C.R. Largiadèr, 7.. Cermakova, K. Kokame, T. Miyata, D. R. Terrell, S. K. Veseley, M. Matsumoto, B. Lämmle, Y. Fujimura, J. A. Kremer Hovinga, and Hereditary TTP Registry: Age at first disease manifestation in relation to residual ADAMTS13 activity in patients with thrombotic congenital thrombocytopenic purpura. The 27th Congress of the International Society on Thrombosis Haemostasis, Melbourne, Australia, July 6-10, 2019.
-)伊田和史,光黒真菜,岡本章,柏木浩和,丸山慶子,小亀浩市,根木玲子:血縁者の解析から明らかになった2つの遺伝性血栓性素因を併せ持つ深部静脈血栓症患者における遺伝子変異の検討.第43回日本遺伝カウンセリング学会学術集会,札幌,2019年8月2-4日.
- 10) 根木玲子,宮田敏行,伊田和史,小西 妙,中西篤史,吉松淳,小<u>亀浩市</u>,大 谷克城,日高義彦,若宮伸隆,井上徳 光:妊娠高血圧症候群における補体 マーカー検査と補体関連遺伝子解析 の検討.第56回日本補体学会学術集 会,東京,2019年8月23-24日.
- 11) 根木玲子,伊田和史,光黒真菜,岡本章,宮田敏行,丸山慶子,<u>小亀浩市</u>: ホルモン補充周期法による不妊治療中に脳静脈洞血栓症を発症した先天性アンチトロンビン欠乏症の検討. 第 34 回日本女性医学学会学術集会,

福岡, 2019年11月2-3日.

- 12) 根木玲子,宮田敏行,伊田和史,小西妙,中西篤史,吉松淳,小亀浩市,大谷克城,日高義彦,若宮伸隆,井上徳光: 妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査および補体関連遺伝子解析についての検討. 日本人類遺伝学会第64回大会,長崎,2019年11月6-9日.
- 13) 根木玲子, 伊田和史, 光黒真菜, 岡本章, 小亀浩市, 宮田敏行: 妊娠初期に静脈血栓塞栓症を発症した先天性プロテインS欠乏症の遺伝子解析の検討. 第5回日本産科婦人科遺伝診療学会学術講演会, 東京, 2019 年 12 月 20-21日.

- H. 知的財産権の出願・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

aHUS グループ総括

分担研究者 丸山彰一

研究要旨

非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) は、平成29年度よりaHUS は本研究班のサブグループに加わり、日本国内のaHUS 症例の疫学的・蛋白質学的・遺伝学的解析を通して、本研究班独自のaHUS 診療ガイドラインを作成することを目的として研究活動を開始した。

以前より奈良県立医科大学輸血部設立の aHUS 患者コホートならびに診断システムが役割を担っており、その機能が平成 26 年 9 月に東京大学医学部附属病院へ引き継がれ、aHUS 事務局を設立して全国から aHUS の診療におけるコンサルテーション、溶血試験、抗 CFH 抗体検査、遺伝子検査が精力的に行われるようになった。集積した遺伝学的検査の結果、日本で多く見られる遺伝子変異に欧米やその他地域との差異を認めるとともに、腎予後、生命予後に関しても、ある種の変異に関しては日本独特の傾向が浮き彫りとなった。また妊娠関連の aHUS / HELLP 症候群の症例は 6 例集積し、6 例全例で補体関連因子の遺伝子異常が認められ、二次性 TMA と考えられる中にも補体関連遺伝子の異常があることが示唆された。同定された遺伝子異常が aHUS の発症にどの程度影響を及ぼすか今後検討課題である。Sanger 法あるいは WES 法にて補体関連因子に変異が見つからなかった aHUS 症例において MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) を実施したところ、一部に CFH-CFHR の融合遺伝子が検出された。これらは病的変異と考えられ、今後の aHUS の診断における MLPA の重要性を示した。

補体機能検査としての溶血試験において CFH の C 末領域の変異、抗 CFH 抗体陽性 例、CFH/CFHR の遺伝子融合および C3 の変異の一部において高度の溶血が認められることがわかった。迅速な aHUS 診断が求められる中で、この様な補体機能検査は有益であり、事務局からも各施設へ結果のフィードバックを行った。今後、同様な補体機能検査の改良、開発を行うにあたり、基礎データの収集をおこなった。

2013年より治療薬として承認された Eculizumab の長期治療の有効性と安全性を確認するために小児と成人、それぞれにわけて市販後調査結果を解析した。引き続き病態解明・疫学調査に努め、本邦の疾患背景を考慮した独自のガイドライン策定に向け研究を継続する。

A. 研究目的

非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS; atypical hemolytic uremic syndrome) は 補体第二経路の異常活性化によって引き起こされる血栓性微小血管症 (TMA; thrombotic microangiopathy) であり、病因として補体関連因子の遺伝的・後天的異常により発症するとされる。約 60%の症例で補体や補体制御因子(H因子、I因子、C3、MCP)の遺伝子異常、H因子に対する自己抗体の存在が報告されているが、それらの異常が認められない症例も約 40%に存在しており、これらの症例が aHUS なのかどうか鑑別することが大きな問題となっていた。

また臨床面に関しての問題として、臓器 予後、生命予後ともに不良の疾患で、治療 介入の緊急性が高いにもかかわらず、早期 診断につながる適切なバイオマーカーが 無いため、診断に苦慮する事が多い事が挙 げられる。2013年以降、抗C5モノクロー ナル抗体(Eculizumab)の登場により、治 療成績は飛躍的に改善しているが、その開 始、中止基準が明確でなく、臨床現場には 混乱が生じている。

当研究班は aHUS 診断のための体系的な 検査体制を構築しており、本邦最大の aHUS 患者コホートを有する唯一の組織である。 これまでのコホート情報に新規の aHUS 症 例を累積していき、日本人独自のより質の 高いデータを構築する必要があった。

本研究の目的として、日本で構築されたコホートをもとに、西洋とは異なる日本独自の aHUS の遺伝的背景を探ること。またその予後や治療方針への関連を探ることが挙げられる。

また迅速に結果が得られる補体機能検査としてのヒツジ赤血球溶血試験のデータ解析し、aHUS診断における有用性を明らかにするとともに、新しいスタンダードになりうる補体機能検査の開発を進めること。

Eculizumab の市販後調査結果を解析することで、実臨床で Eculizumab がどの様に使用され、どの様な効果をもたらしているかを明らかにする。

2016年に日本腎臓学会・日本小児科学会合同非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会のもとで、「非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療ガイド2015」が公表されたが、その後の症例データの蓄積、また諸外国における Consensus opinion の発表が相次ぎ、更には今後 aHUS を対象とした新規薬剤の上市も予定されている。この様な背景から、最終的に得られた知見をもとに本邦における aHUS 診療ガイド改訂を目標とする。

B. 研究方法

疫学調査

東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌 内科において臨床所見、検査所見、薬剤使 用状況などを記載する質問票と家系図を 作成、これらの書式を各解析依頼施設の主 治医に送付し、データの集積を行った。凝 固系プロファイルについては急性期の症 例でデータが収集できた症例のみの解析 とした。

aHUS 診療の現状分析に関して、エクリズマブの中断の判断について、診療における遺伝子検査の有用性に焦点をあて調査を行った。

蛋白質学的解析

1. 羊赤血球溶血試験

奈良県立医科大学輸血部で樹立した手法を用い (Yoshida Y, et al. *PLos One* 10, e0124655, 2015)、ヒツジ赤血球と患者の血漿を混合、37℃で 30分間反応させた後に羊赤血球の溶血度を算出した。なお、本試験では H 因子に対する機能阻害モノクローナル抗体 (clone: 072) を陽性コントロールとして用い、この 072 抗体を正常人血漿に添加した際に見られる羊赤血球の溶血度を 100%と定義し、患者の溶血度を定量的に算出した。

2. 抗 H 因子抗体解析

Abnova 社の CFH Ab ELISA kit (cat no. KA1477) を用いて測定した。抗体陽性の判定は kit のプロトコルを参考に、正常人検体における平均値+3SD より高い値を陽性と判断とした。

3. 新規補体機能検査の開発

細胞膜表面における補体の活性化を測定するに当たり、ヒツジ赤血球に変わり安定細胞株を選択し、その膜表面の補体活性を測定した。

遺伝子解析

共同研究先である国立循環器病研究センター研究所(研究責任者:宮田敏行)に おいて、aHUS 発症に関連する6因子(CFH, CFI, MCP, C3, CFB, THBD, DGKE)のエク ソン領域を Sanger 法で解析するか、東京 大学ゲノム医学センターあるいは Gene Nex にて Whole Exome Sequencing (WES) 法にて全エクソンを解析した。 MLPA は MRC-Holland 社製造の Salsa MLPA® kit を用いて PCR をかけた後にフラグメント解析を行った。

Eculizumab 市販後調査解析

Eculizumab 市販後調査の結果を用い、その対象群の背景、治療効果、予後を後方視的に解析した。得られた結果を学会誌に報告した。(文献2、3)

C. 研究結果

蛋白質学的解析結果

当事務局に問い合わせ・コンサルテーションのあった 264 例のうち、aHUS 発症 急性期の採血検体が得られた症例は 49 例であった。49 例の溶血試験の結果を解析すると、溶血度の中央値は 33.9%であり、正常人 (5.2% (3.8-5.9%)、n=20) や 2 次性 TMA 症例 (11.9% (1.6-19.2%)、n=19) に比べ、有意に高い値を示した。

異常因子別に見ると、CFH:7例、抗CFH 抗体陽性:7例、CFH/CFHR融合遺伝子:2 例、C3:14例、MCP:3例、DGKE:1例、変 異なし:15例であった。

抗 H 因子抗体は 21 例に同定され、急性期に検体が得られた症例における抗体価の中央値は 2882 AU/mL (正常人:約8~15 AU/mL) であった。抗体陽性例の 20%は成人期に aHUS を発症していたが、小児例に比べ溶血や血小板減少の程度が軽度であるという特徴を示した。

aHUS を早期に診断するバイオマーカーが欠如しており、溶血試験のような補体機能検査は診断に有益である。そこで、補体最終産物である C5b-9 をもって細胞膜上の補体活性を測定する検査系の開発を開

始した。

新規の補体機能検査開発に関しては、液相における補体活性ではなく、aHUSに重要とされる細胞膜上の補体活性を測定することに主眼をおいた。溶血試験はヒツジ赤血球上の補体活性を溶血で測定するが、非ヒト細胞株を用いた補体蛋白の結合を測定したところ、FDMにおいて補体蛋白の結合が観察された。

また in vitro の系において Eculizumab を作用させたところ、補体蛋白の結合が強 力に抑制されており、今後治療効果予測へ の応用が期待された。

遺伝学的解析結果

184 例の患者について解析を実施した結 果、遺伝子異常の内訳は次に示す通りで あった:C3 42 例(23%)、CFH 16 例(8.7%)、 MCP 12 例 (6.5%)、CFI 4 例 (2.2%)、CFB 2 例 (1.1%)、DGKE 2 例 (1.11%) THBD 9 例 (4.9%)、抗 CFH 抗体陽性 21 例 (11%) であり異常因子特定率は 61%であった。 以前より、本邦では欧米諸国や米国に比べ CFH 変異の割合が低く、C3 変異の割合が高 い (諸外国における CFH 変異の割合: 20-30%、C3変異の割合:~10%)ことが報告 されていたが (Fan X, et al. Mol Immunol 54, 238-246, 2013, Yoshida Y, et al. *PLos One* 10, e0124655, 2015)、いずれも 少数例での報告であった。東京大学からの 報告 (Fujisawa M, et al. Clin Exp Nephrol. 2018 Oct; 22(5):1088-1099) で は 100 例を上回る症例の遺伝的背景を明 らかにしたことで、信憑性が高いデータを 得ることができたと言えるが、それをさら にアップデートしてこれまで検出されな

かった変異などが検出されたことなどより精度の高いコホートデータになったと 考えられる。

妊娠関連の aHUS/HELLP 症候群の症例は 6 例が集積しており、そのうち 5 例は分娩 直後の発症であり、残りの1例は妊娠9週 での発症であった。6 例全例で補体関連因 子の遺伝子異常が認められた。その変異に 同一のものはなく (CFH R1215G, CFB K533R, C3 V555I, C3 S562L, CFI R201S, MCP S13F), またこれらの変異は妊娠関連 aHUS に特異 的な変異ではなかった。この 6 例はフォ ローアップの結果、妊娠・分娩時以外では aHUS を再発しておらず、1 例のみその後の 妊娠・分娩が確認されたがその時の再燃は 認められなかった。また非分娩関連 aHUS (通常の aHUS) 症例では周産期に aHUS を 再発していない可能性も示唆されており、 妊娠関連あるいは分娩直後に発症する aHUS (pregnancy associated / postpartum aHUS) の発症機序や臨床経過の特徴を同定 された遺伝子変異およびWESの補体関連因 子以外の遺伝子異常の情報を組み合わせ ることで解明することが今後の課題と なった。

補体関連因子に一塩基遺伝子変異あるいは短い変異を認めなかった症例のうち ①抗 CFH 抗体陽性例、②溶血試験陽性例、 ③WES にてリード数に不自然な偏りがある症例に対して multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)によって CFH および CFHR 領域の copy number variant を調査すると 12 例中 3 例で copy number の異常が認められた。当該領域に対して long PCR および direct Sanger sequencing を施行することで break point を含めた遺伝子の構造変化を明確にした。3例のうち2例はCFH/CFHR1の融合遺伝子であり、CFHのC末部分にCFHR1のC末の遺伝子が融合することでCFHの機能の異常(低下)が想定され、これがaHUSの発症につながるものと考えられた。もうひとつの構造異常はCFHの広範な欠失およびCFHR4-2-5の広範な欠損であり、これは新規の構造多型異常であった。

本邦における aHUS 診療の現状とエクリズ マブの効果、中断について

小児例(18 歳未満)に関する報告では aHUS 27 例、二次性 TMA 17 例の計 44 例で 検討されている。二次性 TMA は現時点で Eculizumab の適用がないが、2015 年の診療ガイド改訂前においては、aHUS が STECHUS と TTP を除外したものと定義されていたため、補体関連 TMA でない他の二次性 TMA も aHUS に含まれたことが背景にある。 aHUS では、発症年齢の中央値は 4 歳で原 因遺伝子は 66.7%で判明し、その内の 42.8%で2つ以上の変異が確認された。

治療として TMA のエピソードから平均 14 日で Eculizumab が開始されている。治療効果では TMA event-free status が 85.2%に至ったが、完全な TMA からの完全 寛解(血小板数、LDH、クレアチニンの正常化)の達成は 36.4%で、既報(64%)と比較して低かった。血液学的正常化率は 40.9%であった。血清 Cr 値の 25%以上の改善を指標とする腎機能の改善率は 66.7%であった。13 例で血液透析を要したが、8 例で離脱、2 例は維持透析、3 例は死亡した。

観察期間中に死亡例を除くと 6 例で Eculizumab が中止されており、内 3 症例 においては、遺伝子変異が確認されている 症例であった (MCP と CFB、CFH と MCP、 CFHR1/3 欠損と抗 CFH 抗体陽性例)。

副反応に関しては重篤なものが 10 件報告され、高血圧、敗血症、痙攣などが挙げられた。3 例の死亡例は肺胞出血、急性心不全、急性肝不全によるものであった。これら全ては Eculizumab との関連は無いと判断された。また、Eculizumab の副作用として注意喚起されている髄膜炎菌感染は報告されなかった。

成人例では 18 歳以上の症例でエクリズマブが使用された aHUS 29 例、二次性 TMA 27 例の計 56 例で解析が行われた。年齢の中央値は 58 歳。遺伝学的検査および抗 CFH 抗体検査はそれぞれ 29 例中 18 例 (62.1%)、27 例中 8 例 (29.6%)で施行され、aHUSでは 11 例 (61.1%)で遺伝子変異が同定されたが、抗 CFH 抗体症例は存在しなかった。一方、二次性 TMA では遺伝学的検査を行った 8 例中 3 例で変異が同定された。以下は aHUS と診断された症例について記載するが、治療として TMA 発症から平均 22.5 日後に Eculizumab が開始されており、この期間は前述の小児例より約1週間開始が遅れていることになる。

患者背景ではエクリズマブ使用前 1 年間以内に血漿治療を 18 例(62.1%)の症例が受け、47 例(58.6%)が透析を受けていた。また、既往歴として肝障害や悪性腫瘍などを 17 例(58.6%)に認めた。治療効果は TMA event-free status が 67.9%で、TMA からの完全寛解率は 27.8%、血液学的正常化率も 38.9%であった。治療の反応性として、血小板数はベースが $5.2\times10^4/\mu1$ から 14 日間で $10.7\times10^4/\mu1$ へ上昇してい

る。腎機能に関してはベースが sCr 3.67mg/dlで、28日後2.26mg/dl、60日後2.10mg/dlであった。17例がベースで血液透析を要したが、9例で離脱が可能であった。副反応に関して7例の患者に対し、10件の重篤な副反応が報告された。4例の死亡例に関してEculizumabの直接的な関連は指摘されなかった。エクリズマブ治療の継続/中止に関しては、観察期間中で継続例が10例(34.5%)、中止例が19例(65.5%)であり、中止理由としては医師の判断と効果不十分が多数をしめた。

aHUS 診療ガイド改訂について

2016年には、日本腎臓学会・日本小児科学会合同非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会のもとで、「溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療ガイド 2015」が公表された。その後も aHUS に対する診療体制(遺伝子診断、疾患レジストリー)の充実に沿って、aHUS 症例データの蓄積が進んでいる。また海外での Expert opinion の発表、今後ラブリズマブと言った新規薬剤開発が見込まれる事を踏まえ、現在我々は今後の aHUS 診療の向上に資すると必思われるところに焦点を当てた新しい aHUS 診療ガイドライン策定に向けて活動している。現在ガイドライン改訂委員会が組織され、改定作業が立ち上がっている。

D. 考察

aHUS コホート、本邦における aHUS 患者の実情をより正確に把握できるようになった。また CFR2-CFR1 ハイブリッド遺伝子など新たな変異の発見にもつながっている。これらのデータは、新たな診療ガイ

ド作成に向けて非常に重要な知見となる と考えられる。検査の面に関しては、溶血 試験の有用性が明らかになりつつあるこ とから、より正確な診断につながることが 期待される。

市販後調査をベースとした Eculizumab の有効性と安全性に関する検討では今回 の本邦における臨床実績調査から小児・成人とも血液データの改善は比較的速やかにもたらされ、また有効性は大きいと考えられたが、その半面で特に成人において腎機能改善効果は海外の先行するデータには及ばないと考えられた。また Eculizumab 不応性の C5 変異がどのくらい認められたか明確にされていないが、この変異による影響も可能性として考えられる。

E. 結論

本研究班での aHUS 解析活動を通して、 日本独自の患者背景、治療効果が徐々に明 らかとなってきている。また市販後調査の 結果から、Eculizumab が治療の中心となっ た近年の臨床的な実情がつまびらかとな り、一方で今後の課題も明らかとなった。 この様な状況を踏まえ、aHUS の治療選択の 幅が広がった現代に即した診療ガイドの 必要性が高まったと考えられ、2015 年作成 のガイドの改訂を目指す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

1. Yoshida Y, Kato H, Ikeda Y, Nangaku

- M. Pathogenesis of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. J Atheroscler Thromb. 26: 99-110, 2019
- 2. Ito S, Hidaka Y, Inoue N, Kaname S, Kato H, Matsumoto M, Miyakawa Y, Mizuno M, Okada H, Shimono A, Matsuda T, Maruyama S, Fujimura Y, Nangaku M, Kagami S. Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clin Exp Nephrol, 23: 112-121, 2019
- 3. Kato H, Miyakawa Y, Hidaka Y, Inoue N, Ito S, <u>Kagami S</u>, Kaname S, Matsumoto M, Mizuno M, Matsuda T, Shimono A, Maruyama S, Fujimura Y, <u>Nangaku M</u>, Okada H. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic-uremic syndrome in Japan: interim analysis of postmarketing surveillance. Clin Exp Nephrol. 23:65-75, 2019
- 4. Sugawara Y, <u>Kato H</u>, <u>Yoshida Y</u>, Fujisawa M, Kokame K, Miyata T, Akioka Y, Miura K, Hattori M, <u>Nangaku M</u> Novel *CFHR2-CFHR1* Hybrid in C3 Glomerulopathy Identified by Genomic Structural Variation Analysis. Kidney Int Rep. 2019 Sep 19;4(12):1759-1762.
- 5. Sakurai S, <u>Kato H</u>, <u>Yoshida Y</u>, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A,

- Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. J 2020 Atheroscler Thromb. Apr 1;27(4):353-362.
- Fujisawa M, Yasumoto A, Kato H, 6. Sugawara Y, Yoshida Y, yatomi Y, Nanngaku M. The role of anticomplement factor H antibodies in the development of atypical hemolytic uremic syndrome: possible contribution to abnormality of platelet function. Cr J Haematol. 2020 Apr; 189(1): 182-186

(和文)

- 川端千晶,<u>池田洋一郎</u>.非典型溶血性 尿毒症症候群の遺伝子診断非血液内 科 78 (2): 234-238, 2019
- 池田洋一郎. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS). 日本血栓止血学会誌 30
 (1):164-167, 2019
- 3. <u>吉田瑶子</u>, 南学正臣. 非典型溶血性尿 毒症症候群 (aHUS) の病態と臨床検査. 炎症と免疫 27, 41-17, 2019
- 4. <u>香美祥二</u>: 抗補体薬、腎疾患、透析: 最新の治療 2020-2022 p351-353, 南江 堂 2020
- 5. <u>香美祥二</u>:指定難病 aHUS、指定難病ペ デイア 2019 日本医師会誌 148: p249.2019
- 6. 芦田明:非典型溶血性尿毒症症候群

- 2019:436-439
- 7. 芦田明:志賀毒素産生性腸管出血性大 腸菌関連溶血性尿毒症症候群 (STEC-HUS) 日本血栓止血会誌 2020;31:37-44
- 8. 加藤規利、立枩良崇、丸山彰一: aHUS の病態と臨床 日本血栓止血学会誌 2020; 31(1): 45-54

2. 学会発表

- 1. 香美祥二:補体系と腎疾患 in シン ポジウム 補体系と臨床医学第 122 回 日本小児科学会学術集会、2019年4月、 金沢市
- 2. 香美祥二:小児医学、医療の最前線 (aHUS 診療の進歩) 徳島臨床内科医会 2019年5月16日(徳島県医師会館、 徳島市)
- 3. Ashida A: Atypical hemolytic uremic syndrome. in Symposium 14. The 12th World Congress Society International for Apheresis (2019年10月、京都)
- 4. Ashida A: Hemolytic uremic syndrome in pediatric patients. in The 12th World Symposium 18. Congress of International Society for Apheresis (2019年10月、京都)

- 小児科診療ガイドライン第 4 版 5. 山崎哲司 松村英樹 藤井裕子 白 数明彦 田中智子 中倉兵庫 渡邉 栄三 菅原有佳 吉田瑤子 池田洋 一郎 芦田明:インフルエンザ感染を 契機に発症した C3 p. I1157T 変異を 有する非典型溶血性尿毒症症候群の2 例 第 41 回日本小児腎不全学会 (2019年11月、高知)
 - 6. Shoichi Maruyama; Evolving Japan aHUS guideline compared to KDIGO guideline with renal practice in Japan. aHUS Symposium in Korea 2019 年 7 月 4 日 Incheon, South Korea
 - 3. その他 特になし
 - H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む) 特になし。

aHUS の診断、治療効果判定を目的とした新規補体機能検査の開発

研究代表者:丸山彰一 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 教授

研究協力者:水野正司 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎不全システム学講座

教授

加藤規利 名古屋大学医学部附属病院腎臓内科 病院講師

立态良崇 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 大学院

堀之内明日花 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 技術員

研究要旨

aHUS は微小血管障害性溶血性貧血、血小板減少、腎不全を呈する非常にまれな疾患であり、近年補体第二経路に関わる補体関連因子の異常による血管内皮障害に起因する血栓性微小血管障害症(TMA)である事がわかった。他の TMA を起こす STEC-HUS、TTP と比較して、明確なバイオマーカーがなく、診断に苦慮すること、また抗 C5 抗体療法が優れた治療成果を示す事がわかってきたが、その薬剤の中止基準が明確でないことから、補体機能をモニターするマーカーの必要性が待たれている。

本邦においては、奈良県立医科大、東京大学においてヒツジ赤血球を用いた溶血試験によって aHUS 患者の補体活性化のスクリーニング試験を行ってきており、本年より名古屋大学にて引き継ぎがなされた。今回は溶血試験とは別に、補体最終産物である C5b-9 の定量を行う新規補体機能検査の開発に向けて、基礎となるデータの収集を行った。

A. 研究目的

非典型溶結性尿毒症症候群(atypical hemolytic uremic syndrome: aHUS)は、補体関連遺伝子の先天的な異常、もしくは後天的な補体関連蛋白に対する自己抗体の産生による、補体第二経路の異常な活性化が引き起こす血栓性微小血管障害症(TMA)である。他の TMA を引き起こすSTEC-HUS が志賀毒素の証明によって、またTTP は ADAMTS13 活性の低下によって診断されるのに比して、aHUS は二次性 TMA との鑑別に有用なバイオマーカーが無く、遺伝学的検査の結果を待つ、もしくは保険適用

のない抗体価の測定を行うことが必要であるなど、臨床の現場で確定診断を迅速に行うことは困難で、臨床診断にて治療が開始されるのが通常になっている。遺伝学的検査を行っても、40%の症例においては、既知の遺伝子変異を認めないとされ、また遺伝的浸透率も不定であることから、補体系の機能的な活性の測定を行うことが重要と考えられる。

既存の補体機能検査として血中の C3、 C5b-9 測定が挙げられるが、aHUS の補体制 御異常は主に細胞膜上の異常であり、液相 では必ずしも異常が見られないことも多 sC5b-9 の測定値は正常範囲内であるとさ れている。

奈良県立医科大において、ヒツジ赤血球 溶血試験が開発され、抗 CFH 抗体を用いて 補体系を活性化させた状況との比較で、赤 血球膜上における補体系の活性化を定量 的に評価出来るようになり、東京大学 aHUS 事務局において多くの診断、及びデータの 蓄積がなされた。

また海外報告おいて、ヒト血管内皮細胞 に患者検体による刺激を行うことで、C5b-9 の細胞膜への沈着を蛍光顕微鏡を用いて 半定量的に測定する手法の報告がなされ ている。同様のシステムの開発に向け今回、 E. 結論 基礎的なデータ収集を行った。

B. 研究方法

A 細胞あるいは B 細胞を用いて。また対 照として、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC) およびヒト胎児腎細胞 HEK293 細胞を選択 した。

Healthy donor 由来血漿をそれぞれの細 胞と Reaction buffer 及び Blank buffer (EDTAにて補体の活性化を抑制)中で反応 させ、一定時間後に C5b-9 の測定を行った。

C. 研究結果

非ヒト細胞において、A細胞では、C5b-9 high 群は、対照群で 4.71%似て対し 7.84%と、B 細胞で、対照群 4.58%に対し、 12.0%と Reaction buffer を用いた群で高 値を示した。

一方ヒト細胞において、HUVECではC5b-9 high 群は、対照群で 18.0%に対し 6.96% と、HEK293 では、対照群で 1.21%に対し

く、実際に aHUS 患者の約半数では C3, 1.55% と Reaction buffer 群で同等もし くは予想に反して低い値を示した。

D. 考察

本研究による補体機能検査が確立するこ とによって、(1) aHUS および二次性 TMA に おいて、細胞膜上での補体の活性を評価す る。(2)機能検査であるため、寛解期と再 発期を評価する。(3) Eculizumab による治 療効果判定を行う。(4) Eculizumab の減量、 および中止した際に補体活性をフォロー することで再発予測をする。以上、4つの 臨床的な有用性が期待される。

補体最終産物である C5b-9 を定量的に 測定しうる可能性が示唆された。

今後患者血漿を用いて更なる検証を行う。

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

なし

(和文)

なし

(書籍)

立枩良崇、加藤規利、丸山彰一 aHUS プ ロフェッショナル腎臓内科学 中外医学社 In Press

加藤規利、立枩良崇、丸山彰一 aHUS の病 態と臨床 日本血栓止血学会誌 2020;

31(1): 45-54

2. 学会発表

なし

3. その他

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

本補体機能検査系を特許出願予定である。

本邦における非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療の現状 と aHUS 診療ガイドライン策定に向けた調査研究

研究分担者:香美 祥二 徳島大学 小児科 教授

研究協力者: 南学 正臣 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 教授

芦田 明 大阪医科大学 小児科 教授

池田洋一郎 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 助教

伊藤 秀一 横浜市立大学 小児科 教授

吉田 瑶子 東京大学医学部附属病院 腎臟・内分泌内科 研究員

研究要旨

aHUS は 100 万人に 2-3 人発症する予後不良の希少疾病である。近年、aHUS が補体第二経路に関わる補体関連因子の異常により発症する TMA であることが判明し、抗 C5 抗体療法が保健収載され優れた治療成果も報告されている。2016 年、本邦における aHUS 診療の向上のために、aHUS 診療ガイド 2015 (日本腎臓学会/日本小児科学会合同委員会編) を発表した。

本研究では最新知見を基にした新規 aHUS 診療ガイドライン策定に向けて文献的調査を行なった。方法として、本邦における aHUS 診療に関わる実態調査や最新の) aHUS 診療における遺伝子検査の報告結果等の内容を参考にして aHUS 臨床の現状とガイドライン策定に向けて CQ となりうる課題を探索した。

A. 研究目的

溶結性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome: HUS)は、溶血性貧血、血小板減少、急性腎障害を呈する疾患である。本症候群は従来より、志賀毒素産生性腸管出血性大腸菌感染症に合併する HUS(STEC-HUS)が原因疾患として重要であり、2014年には「溶血性尿毒症症候群の診断と治療のガイドライン」1)が策定されている。一方、同様の症候群を呈するものの一部に、病因として補体制御異常症による溶血性尿毒症症候群があり、これは現在、非典型溶血性尿毒症症候群診断基準(atypical hemolytic uremic syndrome: aHUS)とし

て疾患単位として認められている。aHUSは100万人に2-3人発症する予後不良の希少疾病である。2013年には、補体制御異常症による aHUS にたいするエクリズマブ治療が保険収載され多くの著効例が散見するようになった。2016年には、日本腎臓学会・日本小児科学会合同非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会のもとで、

「溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 診療ガイド 2015」も公表された。その後も aHUS にたいする診療体制 (遺伝子診断、疾患レジストリー) の充実に沿って、aHUS 症例データの蓄積が進んでいる。現在我々は蓄積したデータから、特に今後の aHUS 診療の向上

に資すると必思われるところに焦点を当てた新しい aHUS 診療ガイドライン策定に向けて活動している。今回はわが国における aHUS 診療の現状分析を行い注目すべき論文、研究を調査し、新しいガイド/ガイドラインに取り上げるべき CQ について検討した。

B. 研究方法

下記の3文献をもとに、(1) 本邦における aHUS 診療の現状分析とエクリズマブの中断の判断について(2) aHUS 診療における遺伝子検査の有用性の3点に焦点をあて調査を行った。

- 1. Ito S, et al Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 112-121
- 2. Kato H, et al. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 65-75
- 3. Fujisawa M, et al. Clinical characteristics and genetic backgrounds of Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. Clin Exp Nephrol 2018; 22 (5): 1088-1099

C. 研究結果

1. 本邦における aHUS 診療の現状とエクリ ズマブの中断について

小児例に関する報告(1)では 18 歳未満 で診療ガイドに基づき診断され、エクリズ マブが使用された児 48 例が対象で、最終 aHUS 27 例、二次性 TMA 17 例の計 44 例で 検討された。遺伝子変異はそれぞれ 27 例 中 27 例 (100%)、17 例中 5 例 (29.4%) で 施行されていた。aHUS での原因遺伝子は 20 例で判明し 74%の判明率であった。一方、 二次性 TMA の原疾患としては造血幹細胞 移植、感染、薬剤などの症例が報告されて いた。治療効果では TMA event free status が 85.2%に至ったが、完全緩解率は 36.4%で、血液学的正常化率も40.9%であっ た。血清 Cr 値の 25%以上の改善を指標と する腎機能の改善率は66.7%であった。 副反応については 31 人の aHUS 患者を解 析し、そのうち8人の患者に24の副反応 が発生した。27 例中3 例が肺出血、急性心 不全、急性肝不全・腎機能増悪で死亡した。 二次性 TMA 症例では感染症が主な副反応 であり 17 例中 8 例が死亡したが、7 例で はエクリズマブとの関連はなしと判断さ れ、残る1例も因果関係は不明であった。 エクリズマブ治療の継続/中止に関し ては、aHUS で継続例が 18 例、中止例が 9 例で中止理由としては医師の判断がその 多数を占めた。一方、二次性 TMA 症例では 治療継続がなされている症例は 1 例のみ であり、中止理由は医師の判断と反応不十 分であった。成人例(2)では18歳以上の症 例で小児例と同様に診療ガイドに基づき 診断されエクリズマブが使用された 60 例 が対象で最終 aHUS 29 例、二次性 TMA 27

例の計 56 例で検討された。遺伝子検査および抗 CFH 抗体検査はそれぞれ 29 例中 18 例(62.1%)、27 例中 8 例(29.6%)で施行され、aHUS では 11 例(61.1%)で遺伝子変異が同定されたが、抗 CFH 抗体症例は存在しなかった。一方、二次性 TMA では 8 例中3 例で変異が同定された。

患者背景では aHUS 群でエクリズマブ使 用前 1 年間以内に血漿治療を 18 例 (62.1%)の症例が受け、47例(58.6%)が透 析を受けていた。また、既往歴として肝障 害や悪性腫瘍などを 17例(58.6%)に認め た。一方、二次性 TMA の原疾患では腎移植 や造血幹細胞移植、成人発症型 Still 病な どの自己免疫疾患が挙げられた。

治療効果は TMA event free status が 67.9%で、完全寛解率は 27.8%、血液学的 正常化率も 38.9%であった。二次性 TMA で は腎移植症例 5 例中 4 例でエクリズマブ 投与中止後も TMA 状態の改善を認め、1 例 はエクリズマブ投与中であった。他の原疾 患で 13 例中 4 例に有効であった。

副反応に関して aHUS 症例では 13 名の 患者に 33 の副反応が発生したが、髄膜炎 菌感染症は発生しなかった。最終的な aHUS の生存率は 88.2%であった。二次性 TMA で は 11 の副反応が発生した。 8 例の重篤な 副反応の中で髄膜炎菌感染症はなく、感染 症関連として肺炎拝真菌症、サイトメガロ ウイルス感染症があった。二次性 TMA 症例 ではエクリズマブ中止後、15 例が死亡し ていたが、14 例はエクリズマブとの関連 性は否定的であった。

エクリズマブ治療の継続/中止に関しては、aHUSで継続例が10例(34.5%)、中止例が19例(65.5%)で、中止理由として

は医師の判断と効果不十分が多数をしめた。一方、二次性 TMA 症例では治療継続がなされている症例は 1 例のみであり、中止理由は医師の判断と反応不十分、死亡であった。

2. aHUS 診療における遺伝子検査の有用性 について

aHUS における発症病因別の予後につい ては、従来から変異がある原因遺伝子の種 類によりその予後が大きく変わると報告 されてきた(Noris M, et al. N Eng J Med 2009; 361: 1676-1687). 我が国における 118名のaHUSコホート (Fujisawa M, et al Clin Exp Nephrol 2018; 22: 1088-1099) においても、発症急性期においては 病因遺伝子別に死亡率に有意な差は認め ないものの、腎死率については CFH 異常症 で高く、遺伝子異常が不明な例が次いで高 率と報告されている。また、長期予後に関 しては、ひとたび退院後の死亡率が5.4%、 腎死率が15%、その再発率もDGKEで100%、 C3 70%、MCP 50%, CFH 33%と原因遺伝子別 に異なっていることが示されている。

さらに C3 変異の中でも日本人に有意に 多いと報告される C3 I1157T 変異は再発 率が高いものの、その 92%が寛解を維持 し予後良好で、支持療法もしくは血漿療法 のみにて軽快していることが報告されて いる。これら、世界的にも我が国における 現況をみても原因遺伝子の種類により、そ の疾患世顔は大きく異なっており、治療期 間の設定や治療中止などの方針決定に大 きく影響する。我が国の aHUS コホートの 解析では原因遺伝子の頻度も諸外国と異 なっていることが示唆されており、この意 味からも、疾患の原因となる遺伝子変異の 同定は我が国において情報を蓄積する必 要がある。

イドをはじめとする報告がなされるよう になっており産科、救急領域における CQ も追記したい。

D. 考察

本調査により、aHUS 診療ガイドの改訂に おける CQ の設定については、次の3つの ポイントに留意することとした。

- ① aHUS 診療においてエクリズマブが第1 選択の治療となってきており、我が国 における市販後調査の報告が小児・成 人ともに報告されている。
- ② 市販後調査の中で、小児でエクリズマ ブは 1/3 の症例で、成人では 2/3 の症 例で中止されており、エクリズマブ治 療の中止は重要な命題となってきてい る
- ③ 遺伝子解析の重要性は aHUS 診療ガイド 2015 の中でも述べられているが、予後との関連性についても再検討し、遺伝子解析の重要性をアピールする必要がある。

E. 結論

以上より、

- ① aHUS に対するエクリズマブの効果に 関する CQ
- ② aHUS 治療にエクリズマブを導入した 場合の中止に関する CQ
- ③ aHUS 診療における遺伝子検査の有用性に関するCQ

の 3 点について CQ を設定することが臨床 上、有益であると思われた。方針を決定し 4. Saito D, Watanabe E, Ashida A, Kato た。 H, Yoshida Y, Nangaku M, Ohtsuka Y,

また、近年、腎臓・血液領域以外の救急 医療領域や産婦人科領域における診療ガ

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

- 1. Ito S, et al Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 112-121
- 2. Kato H, et al. Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: Interim analysis of post-marketing surveillance. Clin Exp Nephrol 2019; 23(1): 65-75
- 3. Ashida A.: Stratified therapy in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* associated with hemolytic uremic syndrome. Pediatrics Int 2020;62: 257-258
- Saito D, Watanabe E, Ashida A, Kato H, Yoshida Y, Nangaku M, Ohtsuka Y, Miyata T, Hattori N, Oda S. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome

With the p.Ile1157Thr C3 Mutation Successfully Treated With Plasma Exchange and Eculizumab: A Case Report. Crit Care Explor. 2019 Apr 17;1(4): e0008. doi: 10.1097/CCE.00000000000000008. eCollection 2019 Apr.

(和文)

- 香美 祥二:抗補体薬、腎疾患、透析: 最新の治療 2020-2022 p351-353,南江 堂 2020
- 2. 香美 祥二:指定難病 aHUS、指定難病 ペデイア 2019 日本医師会誌 148: p249.2019
- 3. 芦田 明:志賀毒素産生性腸管出血性大腸菌関連溶血性尿毒症症候群 (STEC-HUS)日本血栓止血会誌 2020;31:37-44
- 4. 芦田 明:非典型溶血性尿毒症症候群 小児科診療ガイドライン第 4 版 2019:436-439

2. 学会発表

特別公演

1. シンポジウム 香美 祥二:補体系と腎疾患 in シン

ポジウム 補体系と臨床医学 第 122 回日本小児科学会学術集会、 2019年4月、金沢市 平成31年4月20日(金沢市) 2. 香美 祥二:小児医学、医療の最前線 (aHUS 診療の進歩)徳島臨床内科医会 2019 年 5 月 16 日

(徳島県医師会館、徳島市)

- 3. Ashida A: Atypical hemolytic uremic syndrome. in Symposium 14. The 12th World Congress of International Society for Apheresis (2019年10月、京都)
- 4. Ashida A: Hemolytic uremic syndrome in pediatric patients. in Symposium 18. The 12th World Congress of International Society for Apheresis (2019年10月、京都)
- 5. 山崎哲司 松村英樹 藤井裕子 白数 明彦 田中智子 中倉兵庫 渡邉栄三 菅原有佳 吉田瑤子 池田洋一郎 芦田明:インフルエンザ感染を契機に発症した C3 p. I1157T 変異を有する非典型溶血性尿毒症症候群の2例 第41 回日本小児腎不全学会 (2019年11月、高知)
- その他
 特になし
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む) 特になし。

特発性血栓症 サブグループ研究報告

研究分担者・サブグループリーダー:

森下英理子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 教授

研究分担者: 大賀正一 九州大学 教授

小林隆夫 浜松医療センター 名誉院長

津田博子 中村学園大学 教授 松下 正 名古屋大学 教授

研究要旨

特発性血栓症サブグループは、静脈血栓塞栓症(VTE)を対象とし、エビデンス収集とともに、その発症要因である遺伝性血栓性素因の診療ガイドラインの作成を通して、特発性血栓症の予知・予防対策の確立を目的としている。平成29年4月から指定難病「特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による。)」として医療助成が開始されたが、以後新生児・小児から成人、ならびに妊婦を含む遺伝性血栓性素因患者の診療ガイドライン策定に向けて検討を行っている。

個別研究として、新生児血栓症の全国調査(大賀ら)、新生児血栓症遺伝子解析パネル検査の作成(大賀ら)、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究と診療ガイドラインの素案作成(小林、森下ら)、PS 活性測定の変動要因および診断特性の検討(津田ら)、国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討(津田ら)、SEPINC1 遺伝子異常の分子病態解析(松下ら)、AT 活性測定試薬の標準化と健常成人における AT 活性基準値の設定(森下ら)を行った。

今年度の研究成果を元に、今後展開する成人対象の遺伝性血栓性素因患者の全国調査結果なども加え、欧米の論文報告や指針などを参考にして、診療ガイドライン策定に向けての準備を開始したい。また、新生児・小児血栓症を早期に診断し、適切な急性期治療と長期治療管理の方針を確立するために、全国の解析ネットワークを拡充、血栓傾向を正確に評価するための凝固機能測定法の確立、パネル診断の解析効率の向上、また有効な抗凝固療法、補充療法の検討、更には肝細胞移植療法などを含めた新規根治療法の開発に向けた取り組みを行いたい。

A. 研究目的

特発性血栓症サブグループ研究は、近年 我が国でも増加している静脈血栓塞栓症 (VTE)のエビデンス収集とともに、その発 症要因である先天性血栓性素因の診療ガ イドの作成を通して、VTE の予知・予防の対策確立を目的としている。

特発性血栓症は、血液凝固制御因子の プロテインC (PC)、プロテインS (PS) お よびアンチトロンビン (AT) の先天的な欠 乏などにより、若年性に重篤な血栓症を 発症する疾患群である。新生児・乳児期に は脳出血・梗塞や電撃性紫斑病などを引 き起こすが、小児期・思春期・成人では時 に致死性となるVTEの若年発症や繰り返 す再発の原因となる。

平成29 (2017) 年4月に、「特発性血栓性素因(遺伝性血栓性素因に限る。)」は指定難病に認定された(告示番号327)。診断に際して、診断基準を本研究班が作成したが、今後はその有用性を検証し、より適切な基準へ改善していく必要がある。そのためには、遺伝子異常が明らかとなり確定診断がついた症例の臨床症状、検査所見などを詳細に検討したり、活性測定法に影響する要因について検討することは意義がある。

また、本サブグループの目的の一つである新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立、ならびに遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定のためには、実臨床の病態把握は必須であることより、今年度は新生児血栓症の全国調査と遺伝性血栓性素因合併妊婦の分娩管理についての全国調査を実施した。

B. 研究方法

個別研究として、以下の研究を行った。

1. 新生児血栓症の全国調査(大賀ら)

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)に一次調査票を送付した。調査対象は、 2014年1月1日から2018年12月31日ま での期間に、日齢 28 までに新生児血栓症と診断もしくは疑われた新生児とした。症例提示の同意を得た施設を対象に、二次調査票を送付した。二次調査では、個別の症例調査と高次医療(移植医療、特異的因子補充療法、新規抗凝固療法等)の診療実績を問うものとした。

2. 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査 (大賀ら)

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。公益財団法人かずさDNA研究所の協力で、PC(PROC)、PS(PROS1)およびAT(SERPINC1)を含む遺伝子解析パネル作成した。

3. 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理 に関する全国調査研究と診療ガイドライ ンの策定(小林、森下ら)

対象施設は日本産科婦人科学会周産期登録施設415施設とし、2019年6月にアンケートを送付した。調査は2段階で、一次調査では施設の遺伝性血栓性素因患者の実態概要の把握と症例の有無について把握し、二次調査では遺伝性血栓性素因合併症例ありの施設に対し個票調査を行った。一次調査の主な項目は、調査対象施設の2014年1月1日から2018年12月31日までの5年間の分娩件数、5年間における妊娠・分娩症例中の遺伝性血栓性素因合併症例の有無、5年間の年度別の血栓性素因別症例数、遺伝性血栓性素因の診断方法、症例の妊娠・分娩・産褥期の管理方法とした。二次調査は、症例毎の妊娠期・分娩期・産褥

期(新生児期含む)の管理方法について詳細把握を行った。

4. PS活性測定の変動要因および診断特性 の検討(津田ら)

経口避妊薬内服、無月経などPS活性に影響を与える要因を有する者を除いたPS Tokushimaの野生型ホモ接合体(Lys/Lys)130名、ヘテロ接合体(Lys/Glu)9名について、総PS 活性、総PS 抗原量、PT-based PS 活性、free PS 抗原量を測定し、PS Tokushima判定の診断特性を比較検討した。

5. 国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討(津田ら)

2013年より実施した東アジア(日本、韓国)、東南アジア(シンガポール)、東ヨーロッパ(ハンガリー)、南アメリカ(ブラジル)の4地域、5カ国の研究者との国際共同研究の解析結果について統計解析を実施した。VTE患者1,074名と健常者1,789名の合計2,863名を対象として、PSTokushima、PCp.Arg189Trp、PCp.Lys193delの遺伝子型および臨床所見(性、年齢、人種、VTEの種類)との関連について解析した。

6. SEPINCI 遺伝子異常の分子病態解析 (松下ら)

21 症例の先天性 AT 欠乏症・異常症についてダイレクトシーケンスによる全エクソン解析をおこなった。全エクソン解析で変異を認めなかった場合、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) や定量 PCR にてゲノム上の遺伝子量解析を行った。遺伝子量解析で異常を認

めた場合、Long-range PCR などで遺伝子 の構造解析を行った。

7. AT 活性測定試薬の標準化と健常成人 における AT 活性基準値の設定(森下ら)

参加11施設にて(1)基準試薬でサーベイランス試料を測定し、AT国際標準品(NIBSC)を用いて基準検量線を決定、(2)参加施設における試料の測定結果と基準検量線よりAT測定試薬毎の換算式を求めた。

次に、各施設において健常人成人血漿、述べ214例のAT活性を測定し、この測定値を基に基準検量線との換算式による試薬間ハーモナイズを施行し、205例における健常成人のAT活性基準値算出を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して、各施設の倫理委員会の承認を得た後に実施した。研究対象者には人権を配慮し、研究への参加は自由意思で書面にてインフォームドコンセントを得て施行した。

C. 研究結果

1. 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 (大賀ら)

一次調査票の回収数は、総計744施設の うち、470施設(63.1%)であり、対象と して117症例が報告された。該当年の出生 数で換算すると、年間推定患者数は10万 出生対3.45例(0.0035%)であった。

117名に二次調査票を送付、回答なし40名、日齢28以降発症1名、出血病変のみ

1 名を除く 74 名で解析を行った。遺伝性 PC 欠乏症は 6 例報告され、うち 5 例が九 州大学で遺伝子解析が行われていた。新生 児では、直接経口抗凝固薬 (DOAC) の使用 例が 1 例報告され、プロトロンビン複合体 濃縮製剤 (PCC) 使用例は報告されなかっ た。

2. 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査 (大賀ら)

PROS1とプラスミノーゲン (PLG) はゲノム上の重複配列が多く、次世代シーケンサーを用いた単独解析では配列解析精度が低くなる可能性が予測されていたが、遺伝性 PC 欠乏症、無フィブリノゲン血症とプラスミノーゲン異常症の家系で、Sanger法と同様の結果が得られた。

3. 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理 に関する全国調査研究と診療ガイドライ ンの策定(小林、森下ら)

調査票の回収終了時点での一次調査回 収数は 242 (58.6%)、5 年間の総分娩数が 722,933 件、遺伝性血栓性素因患者の妊娠 分娩数が 599 例、二次調査票での回答症例 は 541 例 (90.3%) であった。血栓性素因 別では PS 欠乏症が圧倒的に多く 443 例(総 分娩数に対し 0.061%)、次いで AT 欠乏症 84 例 (同 0.012%)、PC 欠乏症 67 例 (同 0.009%)、その他 5 例であった。抗原量と 活性値を共に測定する施設は 50%、遺伝子 診断可能な施設は 21.3%、遺伝子診断を行 わない施設が 46.7%であった。

さらに、今回の全国調査研究の結果を基 に蓄積されたデータの解析や文献を参考 にしながら、適切な予知方法を盛り込んだ 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に 関する診療ガイドラインの素案をQ&A方 式で作成した。

4. PS 活性測定の変動要因および診断特性 の検討(津田ら)

凝固時間法による PS 活性の感度は22.2%であり、スクリーニングには不適当であることを確認した。一方、総 PS 測定系(比色法)による総 PS 活性の感度は77.8%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比では感度100%、特異度96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。

5. 国際共同研究による遺伝性血栓性素因の人種差の検討(津田ら)

PS Tokushima、PC p. Arg189Trp、PC p. Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布する遺伝性血栓性素因であり、コーカソイド、ブラジル人(コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血)には存在しないことが分かった。

また、PS Tokushima 変異アレル保有者は日本人 VTE 患者 458 名中 20 名 {アレル頻度 (AF) 2.29%}、健常者 1031 名中 22 名 (AF 1.12%) のみに同定され、オッズ比 (OR) は 2.09 {95 % confidence intervals (CI) 1.13 to 3.88}であった。

6. SEPINC1 遺伝子異常の分子病態解析 (松下ら)

AT 遺伝子 *SERPINCI* 遺伝子変異の内訳は、 ミスセンス変異 9 例 (42.9%)、ナンセン ス変異 3 例 (14.3%)、スプライスサイト変 異 1 例 (4.8%)、小規模塩基挿入 2 例 (9.5%)、小規模塩基欠失 2 例 (9.5%)、大規模欠失 4 例 (19.0%)であった。多くは小規模の変異であるものの、大規模欠失 (>50 塩基)を 19%認める結果となった。大規模欠失 4 例中 2 例が Alu 関連相同組み換えによるものであり、残り 2 例は Alu 非関連大規模欠失で、数塩基のマイクロホモロジーを介した多段階遺伝子接続が特徴的な変異であった。

7. AT 活性測定試薬の標準化と健常成人に おける AT 活性基準値の設定(森下ら)

今回のサーベイ結果により、基準検量線を基に換算することで試薬間差および施設間差を軽減することが可能であると考えられた。今回の検討において健常成人のAT活性基準値は75.1~135.7%と算出され、AT欠損症患者におけるAT活性値を測定してその分布と比較したところ、その妥当性が示された。

D. 考察

大賀らの新生児血栓症の全国調査で算出された年間推定患者数は、入院当たり0.039%となり、2012年度(0.063%)と2004年度(0.031%)の全国調査と同等であった(川口ら、日本産婦人科・新生児血液学会誌2012)。推定患者数と遺伝子解析例の整合性が高いことより、大賀らが構築している疾患レジストリの悉皆性の高さを確認することができた。

遺伝性血栓性素因の日本人の頻度は、PS 欠乏症が約2%、AT 欠乏症が約0.15%、PC 欠乏症が約0.13%と推定されているが、そ れらに比し小林らの調査で明らかになっ た遺伝性血栓性素因妊婦の総分娩数に対する頻度は非常に少ない。この事実は、周産期に診断されない症例も多く、血栓性素因自体は妊婦の VTE の強いリスク因子ではない可能性がある。ただし、AT 欠乏症、とくに抗原と活性がともに低下する I 型欠乏症では、周産期 VTE の発症リスクは高いため注意を要する。なお、PS 欠乏症の診断は妊婦では困難であり、妊娠中の PS 活性の低下をもって PS 欠乏症と診断されている症例も若干みられるため、二次調査票の解析を待たないと正確な症例数は把握できないと思われる。

津田らの人種差の検討では、PS Tokushima、PC p. Arg189Trp、PC p. Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布するが地域により頻度に違いがあり、コーカソイド、ブラジル人には存在しないことが分かった。この人種分布は、コーカソイドに主に分布する遺伝性血栓性素因の血液凝固第V因子遺伝子多型(FV Leiden)と第Ⅱ因子遺伝子多型(FI G20210A)とは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

松下らは AT 欠乏症・異常症 21 症例の遺伝子解析を行い、そのうち大規模欠失を 4 例 (19.0%)検出した。その 4 例中 2 例が AIu 関連相同組み換えによるエクソン欠失であった。 AT 遺伝子 SERPINCI はこの A1u を遺伝子内に 10 個、5 フランキング領域を含めると 14 個も保持する特殊な構造をもっており、AIu 間で相同組み換えが起こりやすい。

森下らは AT の標準化ならびに活性基準 値の設定を試み、標準化が可能であること、 さらには標準化された値をもとに妥当な 基準値の設定も行うことができた。

E. 結論

今年度の研究成果を元に、今後展開する 成人対象の遺伝性血栓性素因患者の全国 調査結果なども加え、欧米の論文報告や指 針などを参考にして、診療ガイドライン策 定に向けての準備を開始したい。また、新 生児・小児血栓症を早期に診断し、適切な 急性期治療と長期治療管理の方針を確立 するために、全国の解析ネットワークを拡 充、血栓傾向を正確に評価するための凝固 機能測定法の確立、パネル診断の解析効率 の向上、また有効な抗凝固療法、補充療法 の検討、更には肝細胞移植療法などを含め た新規根治療法の開発に向けた取り組み を行いたい。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, Morishita E: Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC. Thromb Res. 2020 Apr;188:115-118. doi: 10.1016/j.thromres.2020.03.009. Epub 2020 Mar 10.

- 2) Yamada S, Okumura H, Morishita E, Asakura H: Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation. Blood Coagu1 Fibrinolysis. 2020 Mar 9. doi: 10. 1097/ MBC. 0000000000000902.
- 3) Watanabe S, Matsumoto S, Nakahara I, Ishii A, Hatano T, Mori M, Morishita E, Nagata I: A case of ischemic stroke with congenital protein C dficiency and carotid web successfully treated by anticoagulant and carotid stenting. Front Neurol. 2020 Feb 18;11:99. doi: 10.3389/fneur.2020.00099.
 - Horio T, Morishita E, Mizuno S, Uchino K, Hanamura I, Espinoza JL, Morishima Y, Kodera Y, Onizuka M, Kashiwase K, Fukuda T, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Takami A: Donor heme oxygenase-1 promoter gene polymorphism predicts survival after unrelated bone marrow transplantation for highrisk patients. Cancers (Basel). 2020 Feb 12;12(2):424. doi: 10.3390/cancers 12020424.
 -) Arahata M, Takamatsu H, <u>Morishita</u>
 <u>E</u>, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose
 A, Asakura H: Coagulation and

- fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid. Int J Hematol. 2020 Apr;111(4):550-558. doi: 10.1007/s12185-019-02811-x.
- Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, Horike SI, Asakura H, <u>Morishita</u> E: Genetic analysis of а compound heterozygous patient with congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate. Int J Hematol. 2020 Jan; 111(1):51-10.1007/s12185-019 56. doi: 02767-y.
- 7) Yamashita M, Komaki T, Tashiro K, Inada Y, Iwata A, Morishita E, Miura SI: Hereditary antithrombin deficiency presenting with deep venous thrombosis during the second pregnancy: A case report. Intern Med. 2020 Jan 15; 59(2): 235-239. doi: 10.2169/internalmedicine.3268-1.
- 8) Yamada S, Arahita M, Morishita E, Ichinose A, Asakura H: The first feported case of acquired haemophilia A in which bleeding episodes were successfully treated via administration of a single-dose mizture of activated factor VIIa/X. Haemophillia. 2019 Sep;25(5):e350-e352.

-) Ueda k, Morishita E, Shiraki H, Matsuoka S, Imashuku S: Aortic mural thrombus associated with congenital protein C deficiency in an elderly patient. J Atheroscler Thromb. 2020 Jan 1; 27(1): 100-103. doi: 10.5551/jat.48819.
- 10) Setaka T, Hirano K, Moriya K, Morita S, Shinakai T, Morishita E, Ichida T: Portal vein thrombosis in a patient with hereditary antithrombin deficiency. Intern Med. 2019 Jun 15;58(12):1733-1737. doi: 10.2169/internalmedicine.229 5-18.
- 11) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura k, Mori T, akao S, Morishita E: Recipient ADAMTS13 single-nucleiotide polymorphism predicts relapse after unrelated bone marrow transplantation of hematologic malignancy. Int J Mol Sci, 2019 Jan 8;20(1):214. doi: 10.3390/ijms20010214.
- 12) Esumi S, Morishita E, Yasuda M, Nakajima K, Imashuku S: Portal cavernoma cholangiopathy due to extrahepatic portal vein and supra-mesenteric vein thromboses associated with congenital protein C deficiency in a young adult. Arch Clin Med Case Rep 2019; 3 (6): 436-441.
- 13) Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K,

- Ishimura M, <u>Ohga S</u>. Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3. J Allergy Clin Immunol Pract. 2020 Jan 28.
- 14) 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.
- 15) Taira R, Inoue H, Sawano T, Fujiyoshi J, Ichimiya Y, Torio M, Sanefuji M, Ochiai M, Sakai Y, Ohga S. Management of apnea in infants with trisomy 18. Dev Med Child Neurol. 2019 Nov 25.
- 16) 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.
- 17) Matsushita Y, Sakai Y, Torio M,
 Inoue H, <u>Ochiai M</u>, Yasuoka K,
 Kurata H, Fujiyoshi J, Ichiyama M,
 Taguchi T, Kato K, <u>Ohga S</u>; Neonatal
 Research Network of Japan (NRNJ).
 Association of perinatal factors
 of epilepsy in very low birth

- weight infants, using a nationwide database in Japan. J Perinatol. 2019 Nov;39(11):1472-1479.
- 18) Ochiai M, Nagata H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S. Critical association of Pallister-Hall syndrome and congenital heart disease. Pediatr Int. 2019 Aug;61(8):827-828.
- 19) Ishimura M, Ohga S. [Cancer predisposition in inherited bone marrow failure syndromes and primary immunodeficiency diseases]. Rinsho Ketsueki. 2019;60(6):702-707.
- 20) Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome KI, <u>Ohga S</u>. Systemic Epstein-Barr Virus-Positive T/NK Lymphoproliferative Diseases With SH2D1A/XIAP Hypomorphic. Front Pediatr. 2019 May 21;7:183.
- 21) Yasuoka K, Inoue H, Egami N, Ochiai M, Tanaka K, Sawano T, Kurata H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network Japan. Late-Onset Circulatory Collapse and Risk of Cerebral in Extremely Palsy Preterm Infants. J Pediatr. 2019 Sep;212: 117-123. e4.
- 22) Ichimiya Y, Sonoda M, Ishimura M,
 Kanno S, <u>Ohga S</u>. Hemorrhagic
 Pneumonia as the First
 Manifestation of Anhidrotic
 Ectodermal Dysplasia with

- Immunodeficiency. J Clin Immunol. 2019 Apr;39(3):264-266.
- 23) Ogiwara K, Nogami K, Mizumachi K, Nakagawa T, Noda N, Ohga S, Shima M. Hemostatic assessment of combined anticoagulant therapy using warfarin and prothrombin complex concentrates in a case of severe protein C deficiency. Int J Hematol. 2019 Jun;109(6):650-656.
- 24) Taguchi T, Yanagi Y, Yoshimaru K, Zhang XY, Matsuura T, Nakayama K, Kobayashi E, Yamaza H, Nonaka K, Ohga S, Yamaza T. Regenerative medicine using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): a promising new treatment in pediatric surgery. Surg Today. 2019 Apr;49(4):316-322.
- 25) Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, Taguchi T, Ohga S, Yamaza Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells cells from from stem human exfoliated deciduous teeth fulminant Wilson's disease. Sci Rep. 2019 Feb 7;9(1):1535.
- 26) Kurata H, Ochiai M, Inoue H, Ichiyama M, Yasuoka K, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Honjo S, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. A nationwide survey on tracheostomy for very-low-birth-weight infants in Japan. Pediatr Pulmonol. 2019 Jan;54(1):53-60.

- 27) Hagio Y, Shiraishi A, Ishimura M, Sonoda M, Eguchi K, Yamamoto H, Oda Y, Ohga S. Posttransplant recipient-derived CD4(+) T-cell lymphoproliferative disease in X-linked hyper-IgM syndrome. Pediatr Blood Cancer. 2019 Mar; 66(3):e27529.
- 28) Ichiyama M, Inoue H, Ochiai M, Ishimura M, Shiraishi A, Fujiyoshi J, Yamashita H, Sato K, Matsumoto S, Hotta T, Uchiumi T, Kang D, Ohga S. Diagnostic challenge of the newborn patients with heritable protein C deficiency. J Perinatol. 2019 Feb;39(2):212-219.
- 29) Sonoda Y, Yamamura K, Ishii K,
 Ohkubo K, Ihara K, Sakai Y, Ohga
 S. A Child with Prostaglandin
 I(2)- associated Thyrotoxicosis:
 Case Report. J Clin Res Pediatr
 Endocrinol. 2019 May 28;11(2):207210.
- 30) Kinjo T, Inoue H, Kusuda T, Fujiyoshi J, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Koga Y, Hara T, Ohga S. Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. Pediatr Neonatol. 2019 Aug;60(4):382-388.
- 31) Noguchi K, Nakazono E, Tsuda T, Jin X, Sata S, Miya M, Nakano S, <u>Tsuda H</u>: Plasma phenotypes of protein S Lys196Glu and protein C Lys193del variants prevalent among young

- Japanese women. Blood Coagul Fibrinolysis. 2019;30:393-400.
- 32) Moffat KA, Kiencke V, Blanco AN, McLintock C, Peyvandi F, de Maat MPM, Adams MJ, Angchaisuksiri P, Nair S, Tsuda H, Haddad M, Renne Clark RC, Τ, Ross MT: International Society on Thrombosis and Haemostasis core curriculum project: core competencies laboratory in thrombosis and hemostasis. J Thromb Haemost. 2019; 17:1848-1859.
- 33) Okamoto S, Suzuki N, Suzuki A, Suzuki S, Tamura S, Suzuki M, Takahashi N, Kojima T, Kanematsu T, Kojima T, Kiyoi H, Ishiguro N, Matsushita T. Successful Perioperative Combination of High-Dose FVIII Therapy Followed by Emicizumab in a Patient with Hemophilia A with Inhibitors. TH Open. 2019;3:e364-e366.
- 34) Odaira K, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Tokoro M, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T. Apparent synonymous mutation F9 c.87A>G causes secretion failure by in-frame mutation with aberrant splicing. Thromb Res. 2019; 179:95-103.
- 35) Tamura S, Hashimoto E, Suzuki N, Kakihara M, Odaira K, Hattori Y,

- Tokoro M, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Suzuki A, Okamoto S, Kanematsu T, <u>Matsushita T, Kojima T</u>. Molecular basis of SERPINC1 mutations in Japanese patients with antithrombin deficiency. Thromb Res. 2019;178:159-170.
- 36) 森下英理子: 血液疾患における遺伝子検査の現状と展望(1) 非腫瘍性疾患― 凝固異常症の遺伝子検査を中心に―. 『血液検査を使いこなす』, 臨床病理 レビュー特集第161号2019; 122-126.
- 37) <u>森下英理子</u>: 妊娠中・授乳中の抗凝固療法. 『妊娠と薬の使い方』、日本医師会雑誌 2019; 148(2):225-228.
- 38) <u>森下英理子</u>: 特発性血栓症, 『指定難病 ペディア 2019』. 日本医師会雑誌 2019;148・特別号(1):192.
- 39) <u>森下英理子</u>: 血栓性素因の検査の際に プロテイン C やプロテイン S はいつ測 定 し た ら よ い の か ? Medical Practice 2020;37(4):625.
- 40) 小林隆夫: 肺血栓塞栓症の予防と治療 指針. 岡元和文編著, 救急・集中治療 最新ガイドライン 2020-'21, 総合医 学社, 東京, 2020; pp335-340.
- 41) 小林隆夫: 産科・婦人科領域の DIC. 丸山征郎編集, ファーマナビゲータ 一DIC 編改訂版. メディカルレビュー 社, 東京, 2019;pp156- 165.
- 42) 小林隆夫:産褥期の静脈血栓塞栓症. 猿田享男,北村惣一郎監修,1361専門家による私の治療2019-20年度版. 日本医事新報社,東京,2019; pp1369-1371.

- 43) <u>小林隆夫</u>: 肺血栓塞栓症. 特集 妊産 婦死亡をどう防ぐか I. 産婦人科の実 際 2019;68(12): 1455-1463.
- 44) 小林隆夫:連載「DIC 診療の新たな展開」 第6回 産科 DIC における遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の有用性. Thromb Med 2019; Vol. 9, No. 2:63-68.
- 45) 小林隆夫:血液疾患合併妊娠. 永井良 三総監修,綾部琢哉,大須賀穣編集, 産婦人科研修ノート. 診断と治療社, 東京,2019;pp456-459.
- 46) <u>津田博子</u>: 2019 年度日本血栓止血学会 岡本賞 Utako Award: ビタミン K 依存 性タンパク質プロテイン S -機能と病 態との関連- 日本血栓止血学会誌, 30 (4): 642-651, 2019.
- 47) 田村彰吾, 井上克枝, 尾崎由基男, 早川文彦, <u>小嶋哲人</u>: CLEC-2/PDPN axis を介した細動脈近傍における骨 髄巨核球造血微小環境. 臨床血液 2019;60:834-842.

2. 学会発表

- 1) Morishita E: Impact of direct oral anticoagulants on APC-cofactor activity of protein S assay New method to test protein S —. XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.9-12.
- 2) Ochiai M, Ichiyama M, Ishimura M,
 Hotta T, Uchiumi T, Ishiguro A,
 Nishikubo T, Shima M, Suenobu T,
 Osamu O, Kang D, Ohga: Next-

- generation diagnostic strategy for pediatric-onset heritable thrombophilia in Japan. The 8th East Asia Hemophilia Forum, Tianjin, China, 2019.8.8-10.
- Fukuda I, Hirayama A, Kazuo Kawasugi K, Kobayashi T, Maeda H, Nakamura M, Nakanishi N, Yamada N, Hayashi Y, Kidani Y, Okayama Y, Sunaya T, Sato S, Yamanaka S: The interim analysis of the rivaroxaban post marketing surveillance in Japanese patients with venous thromboembolism. The 11th Meeting of the German Japanese Society for Vascular Surgery, Oita, 2019.9.6-7.
- 4) Kobayashi T: Diagnosis of DIC in Obstetrics: The Japanese scoring.

 XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH),

 Melbourne, Australia, 2019.7.8.
- Epidemiological characteristics of thromboembolism related to oral contraceptives in Japan: Results of a national survey. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.7.
- 6) <u>Kobayashi T</u>, Kajiki M, Nihashi K, Honda G: Safety and efficacy of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with

- obstetrical disseminated intravascular coagulation (DIC).
 8th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haemostasis, Madrid, 2019. 3. 29.
- 7) Tokoro M, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Odaira K, Suzuki S, Takagi A, Hayakawa F, Okamoto S, Kanematsu T, Matsushita Kojima T: Α Complex F8 Τ, Rearrangement Associated with Template Switching and int1hrelated Homologous Recombination in Patient with Severe Hemophilia A. XXVIIth Congress of the International Society Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.9-12.
- Odaira K, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Tokoro M, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, <u>Matsushita T</u>, <u>Kojima</u> T: F9 c.87A>G is a Double-faced Deleterious Mutation which Causes a Synonymous and Inframed-mutant FIX due to an Aberrant mRNA Splicing. XXVIIth Congress of the International Society Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7.9-12.
- 9) Kakihara M, Tamura S, Tokoro M,
 Odaira K, Hattori Y, Suzuki S,
 Hayakawa F, Ogawa M, Kanematsu T,
 Suzuki N, Matsushita T, Kojima T:

- An Inv22-like F8 Inverted Disruption in Severe Hemophilia a Brothers Possibly Occurring from Template Switching between Sister Chromatids. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019. 7. 9-12.
- 10) Hattori Y, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Suzuki S, Odaira K, Tokoro M, Hayakawa F, Okamoto S, Kanematsu T, <u>Matsushita T</u>, <u>Kojima</u> Genetic Abnormalities Japanese Patient with Symptomaticand Asymptomaticdysfibrinogenemia. XXVIIth International Congress of the Society Thrombosis Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.9-12.
- 11) Tsuda H, Noguchi K, Oh D, Bereczky Z, Lee L.H, Dusse L, Carvalho M, Kang D: Racial differences of protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism. XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.7.
- 12) Noguchi K, Nakazono E, Tsuda T, Jin X, Sata S, Miya M, Nakano S, <u>Tsuda H</u>: Genetic and phenotypic analyses of protein S Tokushima and two protein C variants on healthy Japanese young women. XXVIIth

- Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), Melbourne, Australia, 2019.7.7.
- 13) 今井湧太, 目黒牧子, 冨樫朋貴, 九笹 加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン 欠乏症 5 症例における異常アンチトロンビン蛋白の機能解析. 第 41 回日本 血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日-22 日.
- 14) 山田真也, 門平靖子, 荒幡昌久, 林朋恵, 森下英理子, 朝倉英策, 中尾眞二: 血漿由来第 X 因子活性化第 VII 因子製剤の単剤・単回投与で止血が得られた後天性血友病 A の 1 例. 第 41 回日本血栓止血学会学術集会, 津, 2019 年 6月 20 日-22 日.
- 15) 冨樫朋貴,長屋聡美,長澤正之,目黒牧子,今井湧太,九笹加菜,關谷暁子,堀家慎一,朝倉英策,<u>森下英理子</u>:複合ヘテロ接合体性先天性第 X 因子欠乏症患者の遺伝子解析ならびに PPSB-HTによる定期補充療法.第 41 回日本血栓止血学会学術集会,津,2019 年 6 月20 日-22 日.
- 16) 九笹加菜, 目黒牧子, 長屋聡美, 杉原 清香, 一戸辰夫, 今井湧太, 冨樫朋貴, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 渡邊 淳, 森下英理子: PROCの2エクソン欠 失を認めた先天性プロテインC欠乏症 の一症例. 第 41 回日本血栓止血学会 学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日-22 日.
- 17) 山田真也, 奥村廣和, <u>森下英理子</u>, 朝 倉英策:第 XIII 因子製剤が凝固・線

- 溶に与える影響とその臨床的意義、第 20回日本検査血液学会学術集会,天理, 2019年7月6日-7日.
- 18) 寺上貴子,<u>森下英理子</u>,宮嶋良康,中 出祐介,大江宏康,森三佳,林研至, 朝倉英策,酒井佳夫,和田隆志:当院 における下肢静脈エコー検査の現状. 第20回日本検査血液学会学術集会,天 理,2019年7月6日-7日.
- 19) 荒幡昌久, 林朋恵, 門平靖子, <u>森下英</u> 理子, 朝倉英策:一過性に抗リン脂質 抗体陽性を示した造血幹細胞移植後 の成人水痘の1例. 第20回日本検査 血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6 日-7日.
- 20) 山口孝一, 荒幡昌久, 山下剛史, 上田 幹夫, 山田真也, 奥村廣和, 高松博幸, 朝倉英策, 中尾眞二, <u>森下英理子</u>: 多 発性骨髄腫患者と血栓塞栓症の関連. 第2回日本腫瘍循環器学会学術集会, 旭川, 2019年9月21日-22日.
- 21) 荒幡昌久,<u>森下英理子</u>,山崎宏人,貫 井友貴,門平靖子,朝倉英策,中尾眞 二:抗リン脂質抗体症候群による血栓 症との鑑別に苦慮した腸管気腫症合 併感染性心内膜炎の1例.第81回日 本血液学会学術集会,東京,2019年10 月11日-13日.
- 22) 谷口容, 野本明華, 高見昭良, Luis Espinoza, 鬼塚真仁, 柏瀬貢一, 森島 泰雄, 福隆浩, 小寺良尚, 土岐典子, 宮村耕一, 森毅彦, 中尾眞二, 森下英理子: 悪性リンパ腫への非血縁者間骨髄移植に ADAMTS 一塩基多型は有意な影響を及ばさない. 第81回日

- 本血液学会学術集会, 東京, 2019 年 10 月 11 日-13 日.
- 23) 内藤澄悦,家子正裕,森下英理子,日本 AT 標準化 WG:指定難病に即したアンチトロンビン活性基準値の標準化への試み.第66回日本臨床検査医学会学術集会,岡山,2019.11.21-24.
- 24) 金重里沙,清水直人,吉田美香,關谷暁子,奥健志,<u>森下英理子</u>,家子正裕,野島順三:市販 ELISA キットと自動分析装置による抗リン脂質抗体価の比較.第7回学術集会日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ,東京,2019年12月7日.
- 25) 吉田美香, 關谷暁子, 金重里沙, 奥健志, 森下英理子, 家子正裕, 野島順三:自動分析装置を用いた抗リン脂質抗体測定の標準化-3社の自動分析装置による抗体価および陽性率の比較. 第7回学術集会日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ, 東京, 2019年12月7日.
- 26) 齋藤和幸,小林正樹,和田義明,<u>森下</u> <u>英理子</u>:脳静脈血栓症を発症した先天 性プロテイン C 血栓症の 32 歳男性例. 第 231 回日本神経学会関東・甲信越地 方会,東京,2019 年 12 月 7 日.
- 27) 江角隼, 安田光徳, 中島貫太, 今宿 晋作, 森下英理子: 先天性プロテイン C 欠損症による門脈血栓を契機に Portal cavernoma cholangiopathy を 生じた一例. 第226回日本内科学会近 畿地方会, 大阪, 2019年12月21日.
- 28) 山口孝一,長屋聡美,花村美帆,谷口容,森広太郎,<u>森下英理子</u>:可溶型血漿CLEC2の測定における検体安定性の

- 検討. 第 59 回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 岐阜, 2020 年 2 月 23 日.
- 29) 森広太朗,長屋聡美,今井湧太,冨樫 朋貴,丸山慶子,小亀浩一,大森健聖, 牧田友香,山口孝一,目黒牧子,<u>森下</u> <u>英理子</u>:当研究室で解析した先天性ア ンチトロンビン(AT)・プロテイン C(PC)・プロテインS(PS)欠乏症の遺伝 子解析ならびに臨床所見.第59回日 本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 岐阜,2020年2月23日.
- 30) 山口孝一,長屋聡美,花村美帆,谷口容,森広太朗,<u>森下英理子</u>:可溶型血漿 CLEC2の測定における検体安定性の検討.第20回TTMフォーラム.東京,2020年2月29日.
- 31) 内藤澄悦,家子正裕,大村一将,<u>森下</u> <u>英理子</u>,日本 AT 標準化 WG:アンチトロンビン活性測定試薬の標準化と健 常成人におけるアンチトロンビン活 性基準値の設定.第 20 回 TTM フォー ラム.東京,2020年2月29日.
- 32) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝 倉英策:慢性骨髄性白血病に対するチ ロシンキナーゼ阻害薬使用による心 血管イベント発症のリアルワールド データ. 第 20 回 TTM フォーラム. 東 京, 2020 年 2 月 29 日.
- 33) 中村昌史, 三木浩和, 大浦雅博, 川田 知代, 堀太貴, 村井純平, 住谷龍平, 曽我部公子, 髙橋真美子, 原田武志, 藤井志朗, 中村信元, 賀川久美子, 菅崎幹樹, 徳永尚樹, 池亀彰茂, 森下英理子, 安倍正博: クロスミキシングテストの特徴的な所見が診断の契機と

- 第59回日本血液学会中国四国地方会, 岡山, 2020年3月14日.
- 34) 落合正行, 市山正子, 石村匡崇, 大賀 正一: 平成 30 年度進捗報告 平成 30 年度 難治性疾患等政策研究事業「新 生児・乳児に発症する特発性血栓症の 病態解明および治療管理法と根治療 法の確立に関する研究」. 第1回班会 議,福岡, 2019年1月11日.
- 35) 市山正子,石村匡崇,落合正行,石黒 精, 末延聡一, 山座孝義, 西久保敏也, 嶋緑倫, 堀田多恵子, 内海健, 康東天, 大賀正一: 平成30年度 難治性疾患等 政策研究事業「新生児・乳児に発症す る特発性血栓症の病態解明および治 療管理法と根治療法の確立に関する 研究」. 平成30年度AMED6事業報告会, 東京, 2019年2月7-8日.
- 36) 落合正行, 市山正子, 石村匡崇, 大賀 正一: 令和元年度進捗報告 1. 新生児 血栓症の全国調査報告 2. 遺伝子パ ネル検査の検証 令和元年度 難治性 疾患等政策研究事業「新生児・乳児に 発症する特発性血栓症の病態解明お よび治療管理法と根治療法の確立に 関する研究」第1回班会議,福岡,2019 年11月8日.
- 37) Nina Lehartová, 落合正行, 安岡和昭, 藤吉順子, 井上普介: Standard erythroferrone levels in very low birth weight infants during the neonatal period. 第64回日本新生児 成育医学会学術集会, 鹿児島, 2019年 11月27日-29日.

- なったプレカリクレイン欠乏症の1例. 38) 井上普介, 澤野徹, 藤吉順子, 金城唯 宗, 落合正行:18トリソミー児の無呼 吸に対する管理と予後 第64回日本 新生児成育医学会学術集会, 鹿児島, 2019年11月27-29日.
 - 39) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. 岩手県立中 央病院医療安全研修会,盛岡,2020年 2月14日.
 - 40) 小林隆夫:遺伝性血栓性素因妊婦の周 産期管理-全国調査結果を踏まえて -. 先天性アンチトロンビン欠乏症 セミナー, 東京, 2020年2月8日.
 - 41) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全 セミナー2019 in 沖縄. 那覇, 2019 年12月21日.
 - 42) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全 セミナー2019 in 静岡. 静岡, 2019年 11月23日.
 - 43) 小林隆夫:小林隆夫:静脈血栓塞栓症 の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 熊本. 熊本, 2019年11月10日.
 - 44) 小林隆夫:小林隆夫:静脈血栓塞栓症 の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 青森. 青森, 2019年10月26日.
 - 45) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症 の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 水戸. 水戸, 2019年10月14日.
 - 46) 小林隆夫:「血栓症ってどんな病気? 予防が大切!」産婦人科疾患と血栓 症って関係あるの? 世界血栓症デー

- 日本·市民公開講座 2019 北九州,小 倉,2019 年 10 月 12 日.
- 47) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 久留米,久留米,2019年9月23日.
- 48) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. 獨協医科大学埼玉医療センター医療安全講習会. 越谷,2019年9月18日.
- 49) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 奈良, 奈良, 2019 年8月3日.
- 50) <u>小林隆夫</u>:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. 豊橋市民病院 VTE 予防セミナー. 豊橋, 2019 年 7月 24 日.
- 51) 小林隆夫: 産科 DIC スコア改訂の是非 を問う. 第 29 回日本産婦人科・新生 児血液学会学術集会基調講演,名古屋, 2019 年 6 月 7 日.
- 52) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. 第11回広島県臨床工学技士会学術大会 共催学術セミナー. 広島, 2019年6月2日.
- 53) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 旭川. 旭川, 2019年5月25日.
- 54) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防〜リスク評価と予防対策〜. VTE 医療安全セミナー2019 in 横浜. 横浜, 2019 年5月11日.
- 55) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全

- セミナー2019 in 米子. 米子, 2019 年4月20日.
- 56) 能口健太,中園栄里,津田友秀,金秀日,佐田志穂子,宮真南,中野修治, 津田博子. 日本人若年女性における 血液凝固制御因子プロテインS,プロ テインC遺伝子多型と血中活性・抗原 量の検討. 第41回日本血栓止血学会 学術集会,津,2019年6月22日.
- 57) <u>津田博子</u>:総プロテインS測定系の診断特性の検討 PS Tokushima判定およびSSC/ISTH標準血漿の値付け-. 第8回プロテインS研究会シンポジウム「特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による)~診断の現状と課題」,第41回日本血栓止血学会学術集会,津,2019年6月22日.
- 58) <u>Tsuda H</u>.: Vitamin K-dependent protein S: Function and Etiological Significance. "Utako Award" Lecture, 41st Congress of Japanese Soc. Thromb. Haemost., Tsu, Japan, 2019.6.20.
- 59) <u>Tsuda H.</u> Noguchi. K. Genotype and plasma phenotype of protein S Tokushima and two PROC variants of Japanese young women. 第81回日本血液学会学術集会,東京,2019年10月12日.
- 60) 能口健太,中園栄理,津田友秀,金秀日,佐田志穂子,宮真南,中野修治, 津田博子: 日本人若年女性における 血液凝固制御因子プロテインS,プロ テインC遺伝子多型と血中活性・抗原 量についての検討. 第22回日本病態 栄養学会年次学術集会,京都,2019年

1月26日.

- 61) 宮真南,能口健太,中野修治,<u>津田博子</u>:日本人若年成人女性におけるβ。アドレナリン受容体遺伝子多型Trp64Argと身体・血液指標との関連.第 22 回日本病態栄養学会年次学術集会,京都,2019年1月25日.
- 62) 田村彰吾、高木明、早川文彦、<u>小嶋哲</u> <u>人</u>:シンポジウム「最近の血栓止血異常のとらえかた〜検査室や研究室から〜」SY-2 先天性凝固異常症の遺伝子解析「解析の Strategy と Pitfall」. 第 20 回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6日.
- 63) 鈴木伸明,鈴木敦夫,鈴木幸子,田村 彰吾,高木明,小嶋哲人,松下正:プロトロンビン R593L マウスの作製と 解析,第 41 回日本血栓止血学会学術 集会,津,2019年6月20日-22日.
- 64) 所真昼,田村彰吾,鈴木伸明,垣原美 紗樹,服部有那,大平晃也,鈴木幸子, 高木明,早川文彦,岡本修一,兼松毅, 松下正,小嶋哲人:int1h-1 を介した 組換えではあるが Inv1 ではなく F8 イントロン 1 での複雑な大規模欠 失挿入変異による重症血友病 A.第 41 回日本血栓止血学会学術集会,津, 2019年6月20日-22日.
- (65) 大平晃也,田村彰吾,所真昼,垣原美 紗樹,服部有那,鈴木幸子,高木明, 早川文彦,岡本修一,兼松毅,鈴木伸 明,<u>松下正</u>,小嶋哲人:F9 サイレント 変異 c.87A > G(p.Thr29 =)に起因 するスプライシング異常の分子病態 解析 第 41 回日本血栓止血学会学術 集会,津,2019年6月20日-22日.

- 66) 早川友梨,田村彰吾,鈴木伸明,大平 晃也,垣原美紗樹,服部有那,所真昼, 河島史華,鈴木幸子,早川文彦,高木 明,岡本修一,兼松毅,<u>松下正</u>,小嶋 <u>哲人</u>:新規伸長型変異を認めた先天性 血液凝固第 XI 因子欠乏症の 1 例.第 41 回日本血栓止血学会学術集会,津, 2019 年 6 月 20 日-22 日.
- 67) 鈴木幸子,垣原美紗樹,服部有那,大平晃也,所真昼,河島史華,早川友梨,岡本修一,兼松毅,中野知子,今井健史,牛田貴文,森山佳則,小谷友美,鈴木伸明,田村彰吾,早川文彦,小嶋哲人,松下正:産科関連静脈血栓症における血栓性素因検索 -名古屋大学医学部附属病院における症例 第 2 報-.第41回日本血栓止血学会学術集会,津,2019年6月20日-22日.
- 68) 兼松毅, 鈴木伸明, 岡本修一, 鈴木敦 夫, 川上萌, 三田直美, 田村彰吾, 小 <u>嶋哲人</u>, 清井仁, <u>松下正</u>: 特発性血小 板減少性紫斑病の病勢に対しサイト メガロウイルス再活性化の関与が疑 われた 2 例. 第 41 回日本血栓止血学 会学術集会, 津, 2019 年 6 月 20 日-22 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

アンチトロンビン活性測定試薬の標準化と 健常成人におけるアンチトロンビン活性基準値の設定

研究分担者:森下英理子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 教授

研究協力者:家子正裕 北海道医療大学歯学部内科学分野 教授

日本アンチトロンビン標準化ワーキンググループ

研究要旨

生理的凝固インヒビターであるアンチトロンビン(AT)の活性低下は易血栓性の体内環境を招く。ATを含む疑固制御因子の先天的欠乏症による血栓症は、現在指定難病(327)に認定されており、その診断には AT 活性を測定し、健常成人の基準値の下限未満であることが条件となっている。しかし、本邦においてこれらの活性を測定する試薬は多く存在し、測定原理も異なる。 さらに、各医療機関における AT 活性の基準値も様々であるため、同一検体でも測定された AT 値判定が異なる場合もある。そこで、日本血栓止血学会標準化委員会血栓性素因部会では、AT 標準化ワーキンググループ(AT-WG)を組織し、AT 活性の普遍的基準値の決定を最終目的として、AT-WG 参加施設のうち自施設で AT 活性測定可能な 11 施設によるサーベイランス実施し、AT 試薬の標準化に向けて健常成人の AT 活性基準値の設定に関する検討を行った。

今回のサーベイ結果により、基準検量線を基に換算することで試薬間差および施設間差を軽減することが可能であると考えられた。今回の検討において健常成人の AT 活性基準値は 75.1~135.7%と算出され、AT 欠損症患者における AT 活性値を測定してその分布と比較したところ、その妥当性が示された。

A. 研究目的

平成29 (2017) 年4月に、「特発性血栓性素因(遺伝性血栓性素因に限る。)」は指定難病に認定された(告示番号327)。診断に際して、診断基準を本研究班が作成したが、今後はその有用性を検証し、より適切な基準へ改善していく必要がある。そのためには、遺伝子異常が明らかとなり確定診断がついた症例の臨床症状、検査所見などを詳細に検討したり、活性測定法に影響する要因について検討することは意義がある。

遺伝性血栓性素因を診断するには、活性を測定し、健常成人の基準値の下限未満であることが条件となるが、それぞれの測定方法に準じた基準値に基づいて判断される。しかし、現在これらの活性を測定する試薬は多く、測定原理も異なる。さらに、各医療機関におけるそれぞれのAT、PC、PS活性の基準値も様々であるため、同一検体でも測定された活性値の判定が異なる場合もある。

そこで、今年度は日本血栓止血学会標準 化委員会血栓性素因部会の協力のもと、AT 標準化ワーキンググループ(AT-WG)を組織し、AT 活性測定試薬の標準化と健常成人における AT 活性の普遍的基準値の設定に取り組んだ。

(AT試薬の標準化および健常成人のAT測定)を行ない、前回AT試薬のハーモナイゼーションを行った。今回は1. 健常成人のAT活性基準値の設定の試みと、2. 遺伝性AT欠乏症患者のAT活性値の分布と健常人との比較、を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. AT-WG 参加施設の組織

日本血栓止血学会標準化委員会血栓性 素因部会員の中で、自施設でAT活性が測定 可能な施設を選択し、金沢大学医薬保健研 究域病態検査学、北海道医療大学歯学部内 科学分野、名古屋大学保健学科病態解析 学、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科血 管代謝病態解析学、国立成育医療研究セン ター、東京大学医学部附属病院検査部、東 京医科大学血液凝固異常症遺伝子研究寄 附講座、群馬大学医学部附属病院検査部、 三重大学医学部附属病院検査部、 三重大学医学部附属病院検査部、 大学医学部附属病院検査部、 の11施設で AT-WGを組織した。

2. AT活性測定のハーモナイゼーション

市販標準血漿(コアグトロールN; Sysmex)とAT欠乏血漿を混和調整し、5濃度のサーベイランス試料(B1~B5)を作製し、参加11施設にて測定を実施した。

検討方法は、(1)基準試薬(テストチーム S AT III;積水メディカル)でサーベイラ ンス試料を測定し、AT国際標準品 (NIBSC) を用いて基準検量線を決定した。(2)参加 施設における試料の測定結果と基準検量 線より試薬毎の換算式を求めた。

3. 健常成人のAT活性基準値の設定の試み

各施設において健常人成人血漿、述べ 214例のAT活性を測定した。この測定値を 基に基準検量線との換算式による試薬間 ハーモナイズを施行し、205例における健 常成人のAT活性基準値算出を試みた。

4. AT欠損症患者におけるAT活性値の分布 との比較

算出した健常成人のAT活性基準値とAT 欠損症患者78例におけるAT活性値の分布 を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究は、金沢大学大学院医薬保健総合研究科で倫理面の審査を受け承認されている。さらに、AT-WGに属する他の10施設においても、共同研究施設として、倫理審査の承認を得ている。研究参加者からは書面での同意を取得し研究を行った。

C. 研究結果

1. AT 活性測定のサーベイランス

参加施設における AT 測定試薬は、7 試薬で内訳はテストチーム S AT III (積水メディカル) 5 施設、エルシステム AT (Sysmex) 4 施設、レボヘム AT3 施設、ヒーモスアイエルアンチトロンビン LQ (IL ジャパン) 2 施設、ベリクローム AT III オート B (SIEMENS) 2 施設、STA 試薬シリーズ AT-III (富士レビオ) 2 施設、クロモレイト AT III (C) II (LSI メディエンス) 1 施設であった。測定装置は、7種類で内訳

は、CS-5100 (Sysmex) 3 施設、 CS-2400 (Sysmex) 2 施設、CP 3000 (積水 M) 3 施設、STA-R Evo (富士レビオ) 2 施設、ACL-TOP 750 (IL-J) 1 施設、ACL-TOP 700 (IL-J) 1 施設、STACIA (LSI-M) 1 施設であった。各施設での測定値は、試料 B1 で 97.2~108.5%、CV 値は 1.3~5.4%と比較的良好であったが、低値領域の B4 では 22.5~36.6%、CV 値は 1.0~19.3%と測定値にばらつきを認めた。

2. AT 試薬のハーモナイゼーション

基準検量線と各試薬によるサーベイ試料測定値の相関性を求めたところ相関係数(r)は0.9988~0.9999で、概ね互換性が認められた。

3. 健常成人の AT 活性基準値の設定の試み

健常成人血漿の測定値における平均値 ±2SDは106.0±23.6で、換算後では105.9 ±23.2であった。換算値の平均値±2SDから外れ値を除外し、平均値±2SDを求めた 時の下限値は85.2、平均値±3SDを求めた 時の下限値は75.1であった。

4. AT 欠損症患者における AT 活性値の分 布との比較

AT 欠損症患者における AT 活性値の分布は、平均値±3SD で求めた時の下限値75.1%では3 例を除き、算出した健常成人の AT 活性基準値下限未満であり、健常成人の下限値は75%が妥当と思われた。

D. 考察

今回のサーベイ結果により、基準検量線 を基に換算することで試薬間差および施

設間差を軽減することが可能であると考えられた。今回の検討において健常成人のAT活性基準値は75.1~135.7%と算出され、AT欠損症患者におけるAT活性値を測定してその分布と比較したところ、その妥当性が示された。

E. 結論

今回はATの標準化ならびに活性基準値の設定を試み、標準化が可能であること、さらには標準化された値をもとに妥当な基準値の設定も行うことができた。

遺伝性血栓性素因には AT・PC・PS 欠乏 症が含まれており、これらの疾患の精度の 高い診断のためには、今後は PC、PS 活性 測定法の標準化、ならびに基準値の設定を 目指す必要がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, Morishita E: Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC. Thromb Res. 2020 Apr;188:115-118. doi: 10.1016/j.thromres.2020.03.009. Epub 2020 Mar 10.

2) Yamada S, Okumura H, <u>Morishita E</u>,

- Asakura H: Complete hemostasis achieved factor bv XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation. Blood. Coagu1 Fibrinolysis. 2020 Mar 9. doi: 10. 1097/MBC. 0000000000000902.
- 3) Watanabe S, Matsumoto S, Nakahara I, Ishii A, Hatano T, Mori M, Morishita E, Nagata I: A case of ischemic stroke with congenital protein C dficiency and carotid web successfully treated by anticoagulant and carotid stenting. Front Neurol. 2020 Feb 18;11:99. doi: 10.3389/fneur.2020.00099.
- 4) Horio T, Morishita E, Mizuno S, Uchino K, Hanamura I, Espinoza JL, Morishima Y, Kodera Y, Onizuka M, Kashiwase K, Fukuda T, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Takami A: Donor heme oxygenase-1 promoter gene polymorphism predicts survival after unrelated bone marrow transplantation for highrisk patients. Cancers (Basel). 12;12(2):424. 2020 Feb doi: 10.3390/cancers12020424.
- 5) Arahata M, Takamatsu H, <u>Morishita</u>
 <u>E, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose</u>
 A, Asakura H: Coagulation and
 fibrinolytic features in AL

- amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid. Int J Hematol. 2020 Apr;111(4):550-558. doi: 10.1007/s12185-019-02811-x.
- Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, Horike SI, Asakura H, Morishita E: Genetic analysis of compound patient with heterozygous congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate. Int J Hematol. 2020 Jan; 111(1):51-56. doi: 10.1007/s12185-019-02767-
- 7) Yamashita M, Komaki T, Tashiro K, Inada Y, Iwata A, Morishita E, Miura SI: Hereditary antithrombin deficiency presenting with deep venous thrombosis during the second pregnancy: A case report. Intern Med. 2020 Jan 15; 59(2): 235-239.
 - doi: 10.2169/internalmedicine.3268-1.
- Yamada S, Arahita M, Morishita E, Ichinose A, Asakura H: The first feported case of acquired haemophilia A in which bleeding episodes were successfully treated via administration of a singledose mizture of activated factor VIIa/X. Haemophillia. 2019 Sep;25(5):e350-e352.

- 9) Ueda k, Morishita E, Shiraki H, Matsuoka S, Imashuku S: Aortic mural thrombus associated with congenital protein C deficiency in an elderly patient. J Atheroscler Thromb. 2020 Jan 1; 27(1): 100-103. doi: 10.5551/jat.48819.
- 10) Setaka T, Hirano K, Moriya K, Morita S, Shinakai T, Morishita E, Ichida T: Portal vein thrombosis in a patient with hereditary antithrombin deficiency. Intern Med. 2019 Jun 15;58(12):1733-1737. doi: 10.2169/internalmedicine.229 5-18.
- 11) Nomoto H, Takami A, Espinoza JL,
 Onizuka M, Kashiwase K, Morishima
 Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N,
 Miyamura k, Mori T, akao S,
 Morishita E: Recipient ADAMTS13
 single-nucleiotide polymorphism
 predicts relapse after unrelated
 bone marrow transplantation of
 hematologic malignancy. Int J Mol
 Sci, 2019 Jan 8;20(1):214. doi:
 10.3390/ijms20010214.
- 12) Esumi S, Morishita E, Yasuda M, Nakajima K, Imashuku S: Portal cavernoma cholangiopathy due to extrahepatic portal vein and supra-mesenteric vein thromboses associated with congenital protein C deficiency in a young adult. Arch Clin Med Case Rep 2019; 3 (6): 436-441.
- 13) 森下英理子: 血液疾患における遺伝子

- 検査の現状と展望(1) 非腫瘍性疾患— 凝固異常症の遺伝子検査を中心に—. 『血液検査を使いこなす』, 臨床病理 レビュー特集第 161 号:122-126, 2019.
- 14) 森下英理子:妊娠中・授乳中の抗凝固療法.『妊娠と薬の使い方』、日本医師会雑誌 148(2):225-228, 2019.
- 15) <u>森下英理子</u>: 特発性血栓症,『指定難病ペディア 2019』. 日本医師会雑誌 148・特別号(1):192, 2019.
- 16) <u>森下英理子</u>: 血栓性素因の検査の際に プロテイン C やプロテイン S はいつ測 定 し た ら よ い の か ? Medical Practice 37(4):625, 2020.

2. 学会発表

- 1) Morishita E: Impact of direct oral anticoagulants on APC-cofactor activity of protein S assay New method to test protein S-, ISTH, Melbourne, 2019.7.9-12.
- 2) <u>森下英理子</u>: 多発性骨髄腫とその関連 疾患に見られる出血・血栓合併症. 第 10 回腫瘍内科医会セミナー,名古屋, 2019 年 4 月 27 日.
- 3) <u>森下英理子</u>: 先天性血栓性素因の病態 と治療. 第 11 回北海道凝固異常症研 究会, 札幌, 2019 年 6 月 1 日.
- 4) 森下英理子:静脈血栓塞栓症の成因と 治療~悪性腫瘍ならびに先天性血栓 性素因を中心に~. がん関連血栓症の トータルマネージメントー血液・腫瘍 内科編ー, 姫路, 2019年6月4日.
- 5) <u>森下英理子</u>: 抗リン脂質抗体症候群に おける血栓症の診断と治療. HuL

- 6) 森下英理子:悪性腫瘍関連の静脈血栓 塞栓症, 脳卒中治療 Expert Meeting, 金沢, 2019年6月7日.
- 7) 森下英理子:遺伝性血栓性素因保有者 の妊娠分娩管理. 第 41 回日本血栓止 血学術集会ジョイントシンポジウム 2, 13) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝 津, 2019年6月21日.
- 8) 森下英理子:特発性血栓症(遺伝性血 栓性素因による)~診断の現状と課題. 第8回プロテインS研究会シンポジウ ム,津,2019年6月21日.
- 9) 今井湧太, 目黒牧子, 冨樫朋貴, 九笹 加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン 欠乏症5症例における異常アンチトロ ンビン蛋白の機能解析. 第 41 回日本 血栓止血学会学術集会,津,2019年6 月 20-22 日.
- 10) 山田真也, 門平靖子, 荒幡昌久, 林朋 恵,森下英理子,朝倉英策,中尾眞二: 血漿由来第X因子活性化第VII因子製 剤の単剤・単回投与で止血が得られた 後天性血友病 A の 1 例. 第 41 回日本 血栓止血学会学術集会,津,2019年6 月 20-22 日.
- 11) 富樫朋貴,長屋聡美,長澤正之,目黒 牧子, 今井湧太, 九笹加菜, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 森下英理子: 複 合ヘテロ接合体性先天性第X因子欠乏 症患者の遺伝子解析ならびに PPSB-HT による定期補充療法. 第41回日本血 栓止血学会学術集会,津,2019年6月 20-22 日.

- Aimmune 研究会, 金沢, 2019年6月6 12) 九笹加菜, 目黒牧子, 長屋聡美, 杉原 清香,一戸辰夫,今井湧太,冨樫朋貴, 關谷暁子, 堀家慎一, 朝倉英策, 渡邊 淳, 森下英理子: PROC の 2 エクソン欠 失を認めた先天性プロテインC欠乏症 の一症例. 第 41 回日本血栓止血学会 学術集会, 津, 2019年6月20-22日.
 - 倉英策:第 XIII 因子製剤が凝固・線 溶に与える影響とその臨床的意義. 第 20 回日本検査血液学会学術集会, 天理, 2019年7月6-7日.
 - 14) 寺上貴子, 森下英理子, 宮嶋良康, 中 出祐介, 大江宏康, 森三佳, 林研至, 朝倉英策, 酒井佳夫, 和田隆志: 当院 における下肢静脈エコー検査の現状. 第 20 回日本検査血液学会学術集会. 天理, 2019年7月6-7日.
 - 15) 荒幡昌久, 林朋恵, 門平靖子, 森下英 理子,朝倉英策:一過性に抗リン脂質 抗体陽性を示した造血幹細胞移植後 の成人水痘の1例、第20回日本検査 血液学会学術集会, 天理, 2019年7月 6-7 目.
 - 16) 森下英理子: がん関連血栓症とは. (合 同シンポジウム),第51回日本動脈 硬化学会, 京都, 2019年7月12日.
 - 17) 森下英理子: 血液内科領域での静脈血 栓塞栓症の管理について.血液疾患 トータルマネジメント~VTE と SRE へ の対応, 旭川, 2019年9月12日
 - 18) 山口孝一, 荒幡昌久, 山下剛史, 上田 幹夫, 山田真也, 奥村廣和, 高松博幸, 朝倉英策,中尾眞二,森下英理子:多 発性骨髄腫患者と血栓塞栓症の関連.

- 第 2 回日本腫瘍循環器学会学術集会, 旭川, 2019年9月21-22日.
- 19) 森下英理子: 抗リン脂質抗体症候群の 診断と治療. (教育講演), 第70回日 本皮膚科学会中部支部学術大会, 金沢, 2019. 10. 5.
- 20) 森下英理子: 先天性·後天性血栓性素 因. (シンポジウム), 第60回日本脈 管学会, 東京, 2019.10.11.
- 21) 荒幡昌久, 森下英理子, 山﨑宏人, 貫 井友貴, 門平靖子, 朝倉英策, 中尾眞 二: 抗リン脂質抗体症候群による血栓 症との鑑別に苦慮した腸管気腫症合 併感染性心内膜炎の1例. 第81回日 本血液学会学術集会, 東京, 2019年10 月 11-13 日.
- 22) 谷口容, 野本明華, 高見昭良, Luis Espinoza, 鬼塚真仁, 柏瀬貢一, 森 島 泰雄, 福 隆浩, 小寺良尚, 土岐 典子, 宫村耕一, 森毅彦, 中尾眞二, 森下英理子:悪性リンパ腫への非血縁 者間骨髄移植に ADAMTS 一塩基多型は 有意な影響を及ばさない. 第81回日 本血液学会学術集会, 東京, 2019年10 月 11-13 日.
- 23) 森下英理子: 抗リン脂質抗体症候群-最近の話題一. 婦人科腫瘍と静脈血栓 塞栓症を考える会, 金沢, 2019年 10 月24日.
- 24) 森下英理子:後天性血液異常症-抗リ ン脂質抗体症候群、後天性血友病など 一. 第16回山形血液グループ研修会, 山形, 2019年11月1日.
- 血栓止血学の立場から~, Cardiovascular Surgery Seminar in

- Kanazawa, 金沢, 2019年11月8日.
- 26) 内藤澄悦, 家子正裕, 森下英理子, 日 本 AT 標準化 WG: 指定難病に即したア ンチトロンビン活性基準値の標準化 への試み. 第 66 回日本臨床検査医学 会学術集会, 岡山, 2019年11月21-24 日.
- 27) 金重里沙,清水直人,吉田美香,關谷暁 子, 奥健志, <u>森下英理子</u>, 家子正裕, 野島順三:市販 ELISA キットと自動分 析装置による抗リン脂質抗体価の比 較. 第7回学術集会日本抗リン脂質抗 体標準化ワークショップ, 東京, 2019 年 12 月 7 日.
- 28) 吉田美香, 關谷暁子, 金重里沙, 奥 健志, 森下英理子, 家子正裕, 野島順 三:自動分析装置を用いた抗リン脂質 抗体測定の標準化 -3社の自動分析 装置による抗体価および陽性率の比 較. 第7回学術集会日本抗リン脂質抗 体標準化ワークショップ, 東京, 2019 年12月7日.
- 29) 齋藤和幸, 小林正樹, 和田義明, 森下 英理子:脳静脈血栓症を発症した先天 性プロテイン C血栓症の 32 歳男性例. 第 231 回日本神経学会関東·甲信越地 方会, 東京, 2019年12月7日.
- 30) 江角隼, 安田光徳, 中島貫太, 今宿 晋作,森下英理子: 先天性プロテイン C 欠損症による門脈血栓を契機に Portal cavernoma cholangiopathyを 生じた一例. 第226回日本内科学会近 畿地方会, 大阪, 2019年12月21日.
- 25) 森下英理子:静脈血栓塞栓症の臨床~ 31) 小林隆夫, 森下英理子, 津田博子, 杉 浦和子,平井久也,尾島俊之:遺伝性 血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関

する全国調査研究および診療ガイド ラインの策定. 第 14 回日本血栓止血 学会学術標準化委員会シンポジウム, 東京, 2020年2月22日.

- 32) 家子正裕,内藤澄悦,森下英理子,日 本アンチトロンビン標準化ワーキン ググループ:アンチトロンビン活性測 定試薬の標準化ならびに基準値設定 の試み. 第 14 回日本血栓止血学会学 術標準化委員会シンポジウム, 東京, 2020年2月22日.
- 33) 關谷暁子, 吉田美香, 金重里沙, 奥健 志, 森下英理子, 家子正裕, 野島順三: 自動分析装置を用いた抗リン脂質抗 体測定の標準化-3 社の自動分析装置 による抗体価および陽性率の比較一. 第 14 回日本血栓止血学会学術標準化 委員会シンポジウム,東京,2020年2 月 22 日.
- 34) 山口孝一, 長屋聡美, 花村美帆, 谷口 容, 森広太郎, 森下英理子: 可溶型血 漿 CLEC2 の測定における検体安定性の 検討. 第 59 回日本臨床検査医学会東 海·北陸支部総会, 岐阜, 2020 年 2 月 23 目.
- 35) 森広太朗, 長屋聡美, 今井湧太, 冨樫 朋貴, 丸山慶子, 小亀浩一, 大森健聖, 牧田友香, 山口孝一, 目黒牧子, 森下 英理子: 当研究室で解析した先天性ア ンチトロンビン(AT)・プロテイン C(PC)・プロテイン S(PS) 欠乏症の遺伝 子解析ならびに臨床所見. 第59回日 本臨床検査医学会東海・北陸支部総会, 3. その他 岐阜, 2020年2月23日.
- 36) 山口孝一, 長屋聡美, 花村美帆, 谷口 容, 森広太朗, 森下英理子: 可溶型血

- 漿 CLEC2 の測定における検体安定性の 検討. 第20回 TTM フォーラム. 東京, 2020年2月29日.
- 37) 内藤澄悦, 家子正裕, 大村一将, 森下 英理子, 日本 AT 標準化 WG: アンチト ロンビン活性測定試薬の標準化と健 常成人におけるアンチトロンビン活 性基準値の設定. 第20回 TTM フォー ラム. 東京、2020年2月29日.
- 38) 山田真也, 奥村廣和, 森下英理子, 朝 倉英策:慢性骨髄性白血病に対するチ ロシンキナーゼ阻害薬使用による心 血管イベント発症のリアルワールド データ. 第 20 回 TTM フォーラム. 東 京, 2020年2月29日.
- 39) 中村昌史, 三木浩和, 大浦雅博, 川田 知代, 堀太貴, 村井純平, 住谷龍平, 曽我部公子, 髙橋真美子, 原田武志, 藤井志朗, 中村信元, 賀川久美子, 菅 崎幹樹, 徳永尚樹, 池亀彰茂, 森下英 理子,安倍正博:クロスミキシングテ ストの特徴的な所見が診断の契機と なったプレカリクレイン欠乏症の1例. 第59回日本血液学会中国四国地方会, 岡山, 2020年3月14日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

- 1. 特許取得 なし。
- 2. 実用新案登録 なし。
- なし。

総プロテインS測定系の有用性および 遺伝性血栓性素因の人種差に関する研究

研究分担者:津田博子 中村学園大学大学院栄養科学研究科 教授

研究要旨

「特発性血栓症」は遺伝性血栓性素因により病的血栓傾向となり、若年性に重篤な血栓症を発症する疾患群である。遺伝性血栓性素因となる遺伝子変異には稀な変異とありふれた変異があるが、日本人に存在するありふれた変異(遺伝子多型)について、診断の必須項目である検査所見および人種差について検討した。

プロテインS (PS) 遺伝子多型 (PS Tokushima) について、日本人若年女性(野生型ホモ接合体 130 名、ヘテロ接合体 9 名)を対象として PS 活性測定系の診断特性を検討した。凝固時間法による PS 活性の感度は 22.2%であり、スクリーニングには不適当であることを確認した。一方、総 PS 測定系 (比色法) による総 PS 活性の感度は 77.8%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比では感度 100%、特異度 96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。また、ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma の較正試験から、総 PS 活性、総 PS 抗原量の測定結果の標準化が可能なことを確認した。遺伝性血栓性素因の人種差の検討では、PS Tokushima、PC p. Arg189Trp、PC p. Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布する遺伝性血栓性素因であり、コーカソイド、ブラジル人(コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血)には存在しないことが分かった。この人種分布は、コーカソイドに主に分布する遺伝子多型の FV Leiden、FII G20210A とは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

A. 研究目的

「特発性血栓症(遺伝性血栓性素因によるものに限る。)」は、血液凝固制御因子のプロテイン C(PC)、プロテイン S(PS)及びアンチトロンビン(AT)の先天的欠乏により病的血栓傾向となり、若年性に重篤な血栓症を発症する疾患群である。平成29(2017)年4月に指定難病に認定され(告示番号327)、医療費助成が開始した。「特発性血栓症」の診断基準は、A. 症状、B. 検査所見、C. 鑑別診断、D. 遺伝学的

検査、E. 遺伝性を示唆する所見からなり、 診断カテゴリーで Definite、Probable に 該当する場合に診断される。検査所見で は、血漿中の PC、PS、AT 活性のいずれか が、成人の基準値の下限値未満であるこ と(18 歳未満の場合は年齢別下限値)と なっている。症状とともに検査所見は診 断の必須項目であり、正確で標準化され た測定方法の確立が求められる。

遺伝性血栓性素因となる遺伝子変異と しては、稀な変異(rare genetic variants)

とありふれた変異(common genetic variants) がある。日本人では一般集団の 約 2%に存在する PS 遺伝子多型 (PS Tokushima, PS p. Lys196Glu: rs121918474) が知られており、中国人で は2種のPC遺伝子多型(PC p. Arg189Trp: rs146922325, PC p. Lys193del: rs199469469) が一般集団にそれぞれ 0.9%、2.4%に存在する。しかし、他の民 族については殆ど検討されていない。こ れらの PS、PC 遺伝子多型の変異アレル保 有者では、血漿中の PS、PC 活性は中等度 に低下するが抗原量は正常のⅡ型欠乏症 を呈し、診断には正確で標準化された測 定が必須である。

血液中 PS の約 40%は遊離型として存 在し、活性化 PC (APC) による FVa と FVIII a の失活化を促進するが、残りの約 60% は C4b-binding protein (C4BP)と複合 体を形成し、APC cofactor 活性は 1/6~ 1/8 に低下する。血液中(Ca²⁺存在下)で は PS-C4BP 結合は高親和性 (Kd=1x10-10M) だが、採血後のクエン酸加血漿中(Ca2+非 存在下)では親和性が著しく低下する (Kd=~6x10-9M)。このことが PS 測定系の 変動要因の一つである可能性が高い。そ こで、研究分担者らはクエン酸加血漿中 での PS-C4BP 複合体乖離の影響を除外し た総PS測定系(総PS 活性、総PS 抗原 量) を開発した (Tsuda, T. et al. Blood Coagul Fibrinolysis, 23:56-63, 2012). 総PS 活性はAPCによるprothrominase複 合体の FVa 失活化をトロンビンの合成基 質を用いた比色法により測定し、総 PS 抗 原量はラテックス凝集法で測定するため、自 動分析装置による正確な定量が可能である。

今年度は1)総プロテインS測定系の有用性の検討、および2)遺伝性血栓性素因の人種差の解明について研究した。

B. 研究方法

1)総プロテイン S 測定系の有用性の検討 中村学園大学健康増進センターの疫学 研究対象者の日本人若年女性231名(20.0 ±0.6 歳)よりクエン酸加血液を採取し、 氷冷保存後 3 時間以内に冷却遠心により クエン酸加血漿を得て、-80℃で保存した。 白血球分画から gDNA を抽出し、Real time PCR 法にて遺伝子型を検討した。PS Tokushima & PC p. Arg189Trp 1t Cycling probe 法、PC p. Lys193del は TaqMan 法を 用いた。凍結クエン酸加血漿は測定前に 急速融解し、総PS測定系にて総PS 活性 (総プロテインS 活性"シノテスト")、 総 PS 抗原量(シグナスオート総プロテイ ンS 蛋白量)を日立7180形自動分析装置 にて測定した。凝固時間法による PTbased PS 活性(HemosIL protein S clot) とラテックス凝集法による free PS 抗原 量(STA-Liatest Free Protein S)の測定 は株式会社 SRL に依頼した。

国際血栓止血学会(ISTH)の SSC Coagulation Standards Standing Committee (Chairman: Dr. Craig Thelwell) による SSC Secondary Coagulation Standard Plasma Lot #5の較正試験に参加した。Committeeより送付された凍結乾燥血漿 A (SSC Secondary Plasma Standard Lot #4)、血漿 B (SSC Secondary Plasma Standard Lot #5)、標準血漿 {WHO 2nd International Standard Protein S Plasma (03/228)}を1.0 ml純

水で融解した。血漿 A と B を生理食塩水にて3 段階希釈し(1/4、1/2、1/1)、総PS 測定系にて総PS 活性、総PS 抗原量を5 重測定した。値付けには、送付された標準血漿(総PS 抗原量:0.83 IU/mL、PS活性:0.77 IU/mL)を用いた。血漿 A と B の測定は、4 日間(1 日に1回測定)実施し、測定結果および平均値と標準偏差の算定結果を Committee に報告した。

2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明

ISTH/SSC Plasma Coagulation Inhibitors Subcommittee のプロジェク トとして 2013 年より実施した東アジア (日本、韓国)、東南アジア (シンガポー ル)、東ヨーロッパ (ハンガリー)、南アメ リカ(ブラジル)の4地域、5カ国の研究 者との国際共同研究の解析結果について 統計解析を実施した。静脈血栓塞栓症 (Venous thromboembolism :VTE) 患者 1,074名と健常者1,789名の合計2,863名 を対象として、PS Tokushima、PC p. Arg189Trp、PC p. Lys193del の遺伝子型 および臨床所見(性、年齢、人種、VTEの 種類)との関連について解析した。

(倫理面への配慮)

中村学園大学倫理審査委員会および国際共同研究の各施設の倫理審査委員会で 承認を受け、研究を開始した。すべての対象者に紙面にて説明し同意を得た。

C. 研究結果

1) 総プロテイン S 測定系の有用性の検討 対象者 231 名のうち 5 名 (2.2%) が PS Tokushima のヘテロ接合体、4 名 (1.7%) が PC p. Lys193del のヘテロ接合体であっ たが、PC p. Arg189Trp の変異アレル保有者は同定しなかった。ホモ接合体や二重へテロ接合体は同定せず、日本人若年女性の25名に1名が遺伝性血栓性素因を有していることが分かった。

経口避妊薬内服、無月経など PS 活性に影響を与える要因を有する者を除いた PS Tokushima の野生型ホモ接合体 (Lys/Lys) 130名、その後の疫学研究で同定した者も含めた PS Tokushima ヘテロ接合体 (Lys/Glu)9名について、総 PS 活性、総 PS 抗原量、PT-based PS 活性、free PS 抗原量を測定し、PS Tokushima 判定の診断特性を比較検討した。基準値の下限をcut-off値としたところ、感度と特異度は PT-based PS 活性は 22.2%、97.7%、総 PS 活性は 77.8%、94.6%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比 は 100%、96.9%であった(図 1)。

⇒図 1. PS Tokushima 判定の診断特性の 比較

ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma Lot #5の較正試験では、欧米を中心に PS 活性には 18 施設、総 PS 抗原量には 10 施設が参加した(共に 1 施設は 2 種類の測定法を実施)。 総 PS 測定系による Lot #5 の総 PS 活性は 0.80 IU/mL、総 PS 抗原量は 0.98 IU/mLであり、参加施設全体の PS 活性の平均値(較正値) 0.78 IU/mL、総 PS 抗原量の平均値 0.96 IU/mL とほぼ一致していることを確認した。

2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明 PS Tokushima 変異アレル保有者は日本 人 VTE 患者 458 名中 20 名 {アレル頻度 (AF) 2.29%}、健常者 1031 名中 22 名 (AF 1.12%) のみに同定され、オッズ比(OR) は 2.09 {95% confidence intervals (CI) 1.13 to 3.88) であった。PC p. Arg189Trp の変異アレル保有者はシン ガポールの中国人 VTE 患者 57 名中 11 名 (AF 10.5%)、マレー人 VTE 患者 11 名中 5名(AF 22.7%)、バタク人 VTE 患者 1名、 ミャンマー人健常者 1 名であった。PC p. Lys193del の変異アレル保有者は日本 人 VTE 患者 458 名中 6 名 (AF 0.87%)、 健常者 1031 名中 7 名(AF 0.36%)、およ び韓国人 VTE 患者 85 名中 3 名 (AF 2.35%)、 健常者 140 名中 2 名 (AF 1.07%) だった。 OR は日本人 1.82 (95%CI 0.61 to 5.45)、 韓国人 2.52 (95%CI 0.41 to 15.45) で あり、有意ではなかった。シンガポールの 中国人 VTE 患者 57 名中 6 名 (AF 5. 26%) に PC p. Lys193del の変異アレル保有者を 同定したが、健常者には同定しなかった。 一方、ハンガリー、ブラジル、シンガポー ルのインド人では、VTE 患者、健常者のい ずれにもこれらの遺伝子変異を同定しな かった。

D. 考察

1)総プロテイン S 測定系の有用性の検討 日本人若年女性 231 名の遺伝子型判定 では PS Tokushima のヘテロ接合体は 5 名 (2.2%)であり、過去の日本人一般集団 に関する報告とほぼ同程度の頻度であっ た。さらに、PC p. Lys193del のヘテロ接 合体 4 名 (1.7%)を同定し、日本人にも 高頻度に存在する遺伝性血栓性素因であ ることが分かった。しかし、PC p. Arg189Trp の変異アレル保有者は同定 しなかった。

先天的 PS 欠乏による特発性血栓症の診 断では一般に凝固時間法による PS 活性が 測定されているが、活性低下を認めても 遺伝子変異を同定できない場合が多いこ とが知られている。また、PS Tokushima 変 異アレル保有者の PS 活性低下は中等度で ありスクリーニングが困難である。今回 の PS Tokushima の野生型ホモ接合体 130 名およびヘテロ接合体 9 名を用いた PS Tokushima の診断特性の検討では、PTbased PS 活性の感度は22.2%であり、凝 固時間法による PS 活性測定では PS Tokushima を見落とす可能性が高いこと を確認した。一方、総 PS 活性の感度は 77.8%、総 PS 活性/総 PS 抗原量比では感 度 100%、特異度 96.9%であり、スクリー ニングだけでなく診断確定にも有用であ ることが明らかになった。ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma Lot #5 の較正試験では、総 PS 活性、総 PS 抗原量ともに較正値にほぼ一致する結果 であり、測定結果の標準化が可能である ことが分かった。

2) 遺伝性血栓性素因の人種差の解明

PS Tokushima、PC p. Arg189Trp、PC p. Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布するが地域により頻度に違いがあり、コーカソイド、ブラジル人(コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血)には存在しないことが分かった。この人種分布は、コーカソイドに主に分布する遺伝性血栓性素因の血液凝固第V因子遺伝子多型(FV

Leiden)と第Ⅱ因子遺伝子多型(FⅡ G20210A)とは対照的であり、特発性血栓 症の予防、治療において人種差を考慮す る必要があることが明らかになった。

E. 結論

日本人一般集団の約 2%に存在する遺伝性血栓性素因のPS Tokushima の診断では、凝固時間法による PS 活性の感度は22.2%でありスクリーニングには不適当であることを確認した。一方、総PS測定系による総PS 活性の感度は77.8%、総PS 活性/総PS 抗原量比では感度100%、特異度96.9%であり、スクリーニングだけでなく診断確定にも有用であることが明らかになった。ISTH/SSC Secondary Coagulation Standard Plasma の較正試験から総PS 活性、総PS 抗原量の測定結果の標準化が可能なことを確認した。

遺伝性血栓性素因の人種差の検討では、PS Tokushima、PC p. Arg189Trp、PC p. Lys193del は東アジア、東南アジアのモンゴロイドに分布する血栓性素因であり、コーカソイド、ブラジル人(コーカソイド、アフリカ黒人、アメリカインディアンの混血)には存在しないことが分かった。この人種分布は、FV LeidenやFII G20210Aとは対照的であり、特発性血栓症の予防、治療において人種差を考慮する必要があることが明らかになった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin X., Sata S., Miya M., Nakano S., and Tsuda H. Plasma phenotypes of

- protein S Lys196Glu and protein C Lys193del variants prevalent among young Japanese women. Blood Coagul Fibrinolysis. 30:393-400, 2019.
- 2) Moffat K.A., Kiencke V., Blanco A.N., McLintock C., Peyvandi F., de Maat M.P.M., Adams M.J., Angchaisuksiri P., Nair S., Tsuda H., Haddad M., Renne T., Clark R. C., Ross M.T. International Society Thrombosis on Haemostasis core curriculum project: core competencies in laboratory thrombosis and hemostasis. J Thromb Haemost. 17:1848-1859, 2019.
- 3) Tsuda H., K. Noguchi K., Oh D.,
 Bereczky Z., Lee L. H., Kang D.,
 Dusse L.M.S., Carvalho M.G.,
 Morishita E. Racial differences in
 protein S Tokushima, protein C
 p. Arg189Trp, and protein C
 p. Lys193del variants as genetic
 risk factors for venous
 thromboembolism. (submitted to J
 Thromb Haemost)
- 4) <u>津田博子</u>:2019 年度日本血栓止血学会 岡本賞 Utako Award: ビタミン K 依存 性タンパク質プロテイン S -機能と病 態との関連- 日本血栓止血学会誌,30 (4): 642-651, 2019.

2. 学会発表

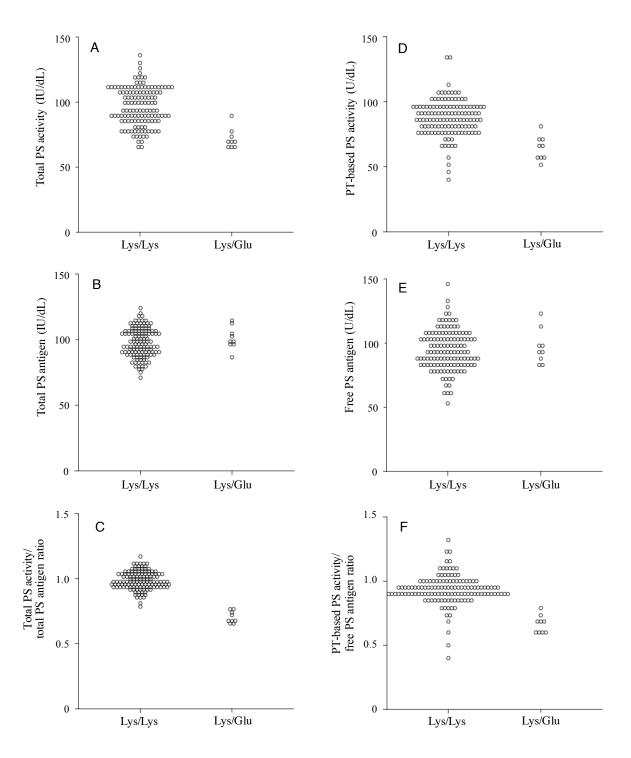
1) 能口健太、中園栄里、津田友秀、金秀 日、佐田志穂子、宮真南、中野修治、 津田博子. 日本人若年女性における

- 血液凝固制御因子プロテインS、プロテインC遺伝子多型と血中活性・抗原量の検討. 第41回日本血栓止血学会学術集会、津(三重県総合文化センター)、6月22日2019年
- 2) <u>津田博子</u>:総プロテインS測定系の診断特性の検討 PS Tokushima判定およびSSC/ISTH標準血漿の値付け-、第8回プロテインS研究会シンポジウム「特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による)~診断の現状と課題」、第41回日本血栓止血学会学術集会、津(三重総合文化センター)、6月21日2019年
- 3) <u>Tsuda H.</u>: Vitamin K-dependent protein S: Function and Etiological Significance. "Utako Award" Lecture, 41st Congress of Japanese Soc. Thromb. Haemost., Tsu (Mie Center For the Arts), Japan, June 20, 2019.
- 4) <u>Tsuda H.</u> Noguchi. K. Genotype and plasma phenotype of protein S Tokushima and two PROC variants of Japanese young women. 第81回日本血液学会学術集会、東京(東京国際フォーラム)、10月12日2019年
- 5) Tsuda H., Noguchi K., Oh D., Bereczky Z., Lee L.H., Dusse L., Carvalho M., Kang D.: Racial differences of protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism. XXVII Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost., Melbourne (Convention Center), Australia, July 7, 2019.

- 6) Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin X., Sata S., Miya M., Nakano S., <u>Tsuda H.</u>: Genetic and phenotypic analyses of protein S Tokushima and two protein C variants on healthy Japanese young women. XXVII Congr. Int. Soc. Thromb. Haemost., Melbourne (Convention Center), Australia, July 7, 2019.
- 7) 能口健太、中園栄理、津田友秀、金秀 日、佐田志穂子、宮真南、中野修治、 津田博子. 日本人若年女性における 血液凝固制御因子プロテイン S、プロ テイン C 遺伝子多型と血中活性・抗原 量についての検討. 第22回日本病態 栄養学会年次学術集会、京都(国立京 都国際会館)、1月26日、2019年
- 8) 宮真南、能口健太、中野修治、<u>津田博子</u>. 日本人若年成人女性におけるβ₃アドレナリン受容体遺伝子多型Trp64Argと身体・血液指標との関連. 第 22 回日本病態栄養学会年次学術集会、京都(国立京都国際会館)、1 月 25日、2019年

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

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



遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究と 診療ガイドラインの策定

研究分担者: 小林隆夫 浜松医療センター 名誉院長

森下英理子 金沢大学医薬保健研究域保健学系 教授

研究協力者: 尾島俊之 浜松医科大学健康社会医学講座 教授

杉浦和子 名古屋市立大学大学院看護学研究科 講師

研究要旨

【目的】わが国における遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理の実態を明らかにし、遺 伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療ガイドラインの策定を目的とする。 【方法】全国の実態調査としては、郵送法により以下の項目でアンケート調査を行った。 対象施設は日本産科婦人科学会周産期登録施設 415 施設(1 施設は産科閉鎖、1 施設は 病院閉鎖のため実質 413 施設) とし、2019 年 6 月に発送した。調査は 2 段階で、一次 調査では施設の遺伝性血栓性素因患者の実態概要の把握と症例の有無について把握し、 二次調査では遺伝性血栓性素因合併症例ありの施設に対し個票調査を行った。一次調査 の主な項目は、調査対象施設の 2014年1月1日から 2018年 12月 31日までの5年間の 分娩件数、5年間における妊娠・分娩症例中の遺伝性血栓性素因合併症例の有無、5年 間の年度別の血栓性素因別症例数、遺伝性血栓性素因の診断方法、症例の妊娠・分娩・ 産褥期の管理方法とした。二次調査は、症例毎の妊娠期・分娩期・産褥期(新生児期含 む)の管理方法について詳細把握を行った。【結果】調査票の回収終了時点での一次調 査回収数は 242 (58.6%)、5 年間の総分娩数が 722,933 件、遺伝性血栓性素因患者の妊 娠分娩数が 599 例(1 症例複数妊娠は別々にカウント、重複欠乏症例は 1 件としてカウ ントした総妊娠分娩件数)、二次調査票での回答症例は541例(90.3%)であった。血栓 性素因別ではプロテイン S(PS) 欠乏症が圧倒的に多く 443 例(総分娩数に対し 0.061%)、 次いでアンチトロンビン(AT)欠乏症 84 例(同 0.012%)、プロテイン C(PC)欠乏症 67 例(同 0.009%)、その他 5 例であった。抗原量と活性値を共に測定する施設は 50%、遺 伝子診断可能な施設は21.3%、遺伝子診断を行わない施設が46.7%であった。【考察およ び結論】遺伝性血栓性素因の日本人の頻度は、PS 欠乏症が約 2%、AT 欠乏症が約 0.15%、 PC 欠乏症が約 0.13%と推定されているが、それらに比し今回の調査で明らかになった遺 伝性血栓性素因妊婦の総分娩数に対する頻度は非常に少ない。この事実は、周産期に診 断されない症例も多く、血栓性素因自体は妊婦の静脈血栓塞栓症(VTE)の強いリスク 因子ではない可能性がある。ただし、AT 欠乏症、とくに抗原と活性がともに低下する I 型欠乏症では、周産期 VTE の発症リスクは高いため注意を要する。なお、PS 欠乏症の診 断は妊婦では困難であり、妊娠中の PS 活性の低下をもって PS 欠乏症と診断されている 症例も若干みられるため、二次調査票の解析を待たないと正確な症例数は把握できない と思われる。今後、今回の全国調査研究の結果を基に蓄積されたデータの解析や文献を 参考にしながら、適切な予知方法を盛り込んだ遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に 関する診療ガイドラインの策定を行う予定である。

A. 研究目的

平成 29 年に「特発性血栓症(遺伝性血 栓性素因によるものに限る。)」が指定難病 327 として認定された。「特発性血栓症(遺 伝性血栓性素因によるものに限る。)」とは、 明らかにする。対象施設は日本産科婦人科 血液凝固制御因子であるプロテイン C(PC)、 学会周産期登録施設 415 施設(1 施設は産 プロテインS(PS)およびアンチトロンビ ン(AT)が生まれつき欠乏することにより、 血栓ができやすい体質になり、若年性(40 歳以下) に重篤な血栓症を発症する症候群 である。したがって、遺伝性血栓性素因患 者が妊娠すると妊娠中や分娩後に血栓症 を発症することがあり、その診断・治療に 苦慮する。

なかでも先天性 AT 欠乏症は、頻度は少 ないものの血栓症リスクが高く、どのよう に妊娠・分娩を管理すべきか一定の見解は 定まっていない。しかし、現時点で遺伝性 血栓性素因患者の妊娠分娩に関する診療 ガイドラインは作成されていない。また、 日本人には血栓性素因としての PS 欠乏症 が多く、妊娠中に血栓症を発症することが ある。しかし、妊娠前に本症と診断されて いることはほとんどなく、対応に苦慮する ことが多い。本研究では、わが国における 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理の 実態を明らかにし、血栓性素因患者の妊娠 分娩管理に関する診療ガイドラインの策 定を目的とする。

B. 研究方法

研究方法としては、まず遺伝性血栓性素 因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査 研究を郵送法により行い、わが国の実態を 科閉鎖、1 施設は病院閉鎖のため実質 413 施設)とし、2019年6月に発送した。調査 は2段階で、一次調査では施設の遺伝性血 栓性素因患者の実態概要の把握と症例の 有無について把握し、二次調査では遺伝性 血栓性素因合併症例ありの施設に対し個 票調査を行った。

<一次調查票(別紙回答用紙 No.1、別紙 回答用紙 No. 2) >

- ・問 1. 調査対象施設の過去 5 年間 (2014 年~2018年) の分娩件数
- ・問 2. 2014年1月1日から2018年12月 31 日までの5年間における妊娠・ 分娩のうち、遺伝性血栓性素因の 合併症例の有無
- ・問3. 年度別の血栓性素因別症例数
- ・問 4. 各施設における診断方法
- ・問 5. 各施設における基本的な管理方法 なお、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩 を経験した施設においては、同時に二次調 査も行った。

<二次調査票(別紙回答用紙 No.3)>

·No.1: 先天性血栓性素因の種類、診断方 法、血栓症家族歷、既往妊娠分娩 歴

・No. 2: 今回の妊娠分娩歴、妊娠中の管理 方法、分娩時の管理方法

• No. 3:分娩後の管理方法、母体転帰、新 生児転帰

調査対象期間は、2014年1月1日から 2018年12月31日までの5年間である。

(倫理面への配慮)

本研究は、厚生労働省の臨床研究の倫理 指針および疫学研究の倫理指針に則り、研 究実施施設の倫理委員会の承認(金沢大学 倫理委員会承認番号:890-1, 浜松医療セン ター倫理委員会承認番号:平成 30 年度迅 速第 78 号;UNIN 試験 ID: UMIN000037155, 受付番号:R000042332) を得た後に実施す るため、有害事象が起こる可能性はない。 また、既存資料等のみを用いるため、個々 の患者からインフォームドコンセントを 得ることはしない。さらに患者情報につい ては、連結不可能匿名化された情報のみを 収集し、個人情報は収集しないため倫理的 に問題ないと考える。なお、上記の研究の 実施については、研究実施時にホームペー ジで公開する。

C. 研究結果

調査票の回収終了時点での一次調査票 返送数が 242 (58.6%)、5 年間の総分娩数 が 722,933 件、遺伝性血栓性素因患者の妊 娠分娩数が 599 例 (1 症例複数妊娠は別々 にカウント、重複欠乏症例は1件としてカ ウントした総妊娠分娩件数)、二次調査票 での回答症例は541 例 (90.3%) であった。 血栓性素因別では PS 欠乏症が圧倒的に多 く443 例 (総分娩数に対し0.061%)、次い でAT 欠乏症84例(同0.012%)、PC 欠乏症67例(同0.009%)、その他5例であった。診断方法として、抗原量と活性値を共に測定する施設は50%、抗原量のみを測定する施設は2.9%、活性値のみを測定する施設は31.4%、遺伝子診断を必ず行う施設が2.5%、可能なら行う施設が42.1%、行わない施設が46.7%で、自施設で遺伝子診断可能な施設は21.3%であった。

D. 考察

遺伝性血栓性素因の日本人の頻度は、PS 欠乏症が約 2%、AT 欠乏症が約 0.15%、PC 欠乏症が約0.13%と推定されているが、そ れらに比し今回の調査で明らかになった 遺伝性血栓性素因妊婦の総分娩数に対す る頻度は非常に少ない。この事実は、周産 期に診断されない症例も多く、血栓性素因 自体は妊婦の静脈血栓塞栓症 (VTE) の強 いリスク因子ではない可能性がある。ただ し、AT 欠乏症、とくに抗原と活性がともに 低下する I 型欠乏症では、周産期 VTE の発 症リスクは高いため注意を要する。なお、 PS 欠乏症の診断は妊婦では困難であり、 妊娠中の PS 活性の低下をもって PS 欠乏 症と診断されている症例も若干みられる ため、二次調査票の解析を待たないと正確 な症例数は把握できないと思われる。

今後、今回の全国調査研究の結果を基に 蓄積されたデータの解析や文献を参考に しながら、適切な予知方法を盛り込んだ遺 伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関 する診療ガイドラインの策定を行う予定 で現在素案は完成しているが、Q&A方式 の診療ガイドラインの項目としては、下記 の通りである。

- 1. 遺伝性血栓性素因とは?
- 2. アンチトロンビン欠乏症とは?
- 3. プロテイン S 欠乏症とは?
- 4. プロテイン C 欠乏症とは?
- 5. 妊娠前の血栓性素因スクリーニング の必要性は?
- 6. 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症した ら?
- 7. 血栓性素因保有妊婦の妊娠中の管理は?
- 8. 血栓性素因保有妊婦の分娩時の管理は?
- 9. 血栓性素因保有妊婦の分娩後の管理 は?
- 10. 血栓性素因保有妊婦から出生した新生児の管理は?
- 11. 血栓性素因保有女性に対する不妊/不育症治療の注意点は?

E. 結論

今回の全国実態調査でわが国における 遺伝性血栓性素因保有者の妊娠分娩管理 の概要が明らかになったが、詳細について は今後の解析を待たなければならない。こ の解析結果を踏まえながら文献等を参考 にして、遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩 管理に関する診療ガイドラインの策定を 行いたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

小林隆夫: 肺血栓塞栓症の予防と治療指針. 岡元和文編著, 救急・集中治

- 療最新ガイドライン 2020-'21, 総合 医学社, 東京, pp335-340, 2020
- 2) 小林隆夫: 産科・婦人科領域の DIC. 丸山征郎編集, ファーマナビゲー ターDIC 編改訂版. メディカルレ ビュー社, 東京, pp156-165, 2019
- 3) 小林隆夫: 産褥期の静脈血栓塞栓症. 猿田享男, 北村惣一郎監修, 1361 専 門家による 私の治療 2019-20 年度版. 日本医事新報社, 東京, pp1369-1371, 2019
- 4) <u>小林隆夫</u>: 肺血栓塞栓症. 特集 妊産 婦死亡をどう防ぐか I. 産婦人科の実 際 68(12): 1455-1463, 2019
- 5) 小林隆夫:連載「DIC 診療の新たな展開」 第6回 産科 DIC における遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の有用性. Thromb Med Vol.9, No.2:63-68, 2019
- 6) 小林隆夫: 血液疾患合併妊娠. 永井 良三総監修, 綾部琢哉, 大須賀穣編 集, 産婦人科研修ノート. 診断と治 療社, 東京, pp456-459, 2019

2. 学会発表

1) Fukuda I, Hirayama A, Kazuo Kawasugi K, Kobayashi T, Maeda H, Nakamura M, Nakanishi N, Yamada N, Hayashi Y, Kidani Y, Okayama Y, Sunaya T, Sato S, Yamanaka S. The interim analysis of the rivaroxaban post marketing surveillance in Japanese patients with venous thromboembolism. The 11th Meeting of the German Japanese Society for Vascular

- Surgery, 0ita, 2019.9.6-7
- 2) <u>Kobayashi T</u>. Diagnosis of DIC in Obstetrics: The Japanese scoring.

 XXVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH),

 Melbourne, 2019.7.8
- 3) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T.
 Epidemiological characteristics of
 thromboembolism related to oral
 contraceptives in Japan: Results
 of a national survey. XXVIIth
 Congress of the International
 Society on Thrombosis and
 Haemostasis (ISTH), Melbourne,
 2019.7.7
- 4) Kobayashi T, Kajiki M, Nihashi K,
 Honda G. Safety and efficacy of
 recombinant human soluble
 thrombomodulin in patients with
 obstetrical disseminated
 intravascular coagulation (DIC).
 8th International Symposium on
 Women's Health Issues in
 Thrombosis and Haemostasis, Madrid,
 2019. 3. 29
- 5) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. 岩手県立中央病院医療安全研修会. 盛岡, 2020.2.14
- 6) 小林隆夫: 遺伝性血栓性素因妊婦の周 産期管理-全国調査結果を踏まえて -. 先天性アンチトロンビン欠乏症 セミナー,東京,2020.2.8
- 7) <u>小林隆夫</u>:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全

- セミナー2019 in 沖縄. 那覇, 2019.12.21
- 8) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防〜リスク評価と予防対策〜. VTE 医療安全セミナー2019 in 静岡. 静岡, 2019.11.23
- 9) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~.VTE 医療安全セミナー2019 in 熊本. 熊本, 2019.11.10
- 10) 小林隆夫: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症 の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 青森. 青森, 2019.10.26
- 11) <u>小林隆夫</u>: 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症 の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 水戸. 水戸, 2019.10.14
- 12) 小林隆夫:「血栓症ってどんな病気? 予防が大切!」産婦人科疾患と血栓 症って関係あるの? 世界血栓症デー 日本・市民公開講座 2019 北九州,小 倉,2019.10.12
- 13) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防〜リスク評価と予防対策〜. VTE 医療安全セミナー2019 in 久留米. 久留米, 2019.9.23
- 14) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. 獨協医科大学埼玉医療センター医療安全講習会. 越谷,2019.9.18
- 15) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リスク評価と予防対策~. VTE 医療安全セミナー2019 in 奈良. 奈良, 2019.8.3
- 16) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ

- 院 VTE 予防セミナー. 豊橋, 2019. 7. 24
- 17) 小林隆夫: 産科 DIC スコア改訂の是非 を問う. 第29回日本産婦人科・新生 児血液学会学術集会基調講演. 名古 H. 知的所有権の出願・取得状況 屋, 2019.6.7
- 18) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. 第 11 回広島 2. 実用新案登録 県臨床工学技士会学術大会 共催学術 セミナー. 広島, 2019.6.2
- 19) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全 セミナー2019 in 旭川. 旭川, 2019. 5. 25
- 20) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全 セミナー2019 in 横浜. 横浜, 2019. 5. 11

- スク評価と予防対策~. 豊橋市民病 21) 小林隆夫:静脈血栓塞栓症の予防~リ スク評価と予防対策~. VTE 医療安全 セミナー2019 in 米子. 米子, 2019. 4. 20

 - 1. 特許取得 なし
 - なし
 - 3. その他 なし

ご回答年月日	年	<u>月</u>	<u> </u>
ご回答先生氏名			
メールアドレス			

問 1. 貴施設の過去5年間(2014年~2018年)の分娩件数をご回答下さい。

(多胎も1分娩としてください)

5年間の分娩数:()件
- 1 123 - 0 75 770 250 - 1	, , , ,

問 2. 2014 年 1 月 1 日から 2018 年 12 月 31 日までの 5 年間における妊娠・分娩のうち、貴 施設で妊娠・分娩管理した先天性血栓性素因の合併症例の有無について、該当する□に☑し てください。なお、妊娠管理中に他院へ紹介した場合は、「症例なし」としてください。

- □ 1. 症例あり
- □ 2. 症例なし
- □ 3. 不明
- ◆「症例あり」の場合、問3・問4・問5・別紙のご記入をお願い致します
 - 問3. 年度別の血栓性素因別症例数
 - 問4. 貴施設における診断方法(回答用紙 No. 2)
 - 問 5. 貴施設における基本的な管理方法(回答用紙 No. 2)
 - 別紙. 二次調査票(個票調査)
- ◆ 「症例なし」および「不明」の場合、次の問 4・問 5 のご記入をお願い致します
 - 問4 貴施設における診断方法(回答用紙 No. 2)
 - 問 5. 貴施設における基本的な管理方法(回答用紙 No. 2)

問3. 問2の「症例あり」の症例について、年度別血栓素因別症例数をご記入下さい。

	2014	2015	2016	2017	2018	合計
アンチトロンビン欠乏症						
プロテインS欠乏症						
プロテイン C 欠乏症						
その他						
合計						

貴施設における診断、妊娠中・分娩時・分娩後の管理方法ついてお尋ねいたします。

□ 1) 必ず行う (□ 自施設 ・□ 他施設に依頼)

1. 活性值測定

□ 1) 抗原量と活性値ともに測定

□ 2) 抗原量のみ測定 □ 3) 活性値のみ測定

2. 遺伝子診断の有無

*調査期間中に症例がなくても過去に症例を経験している場合、妊娠管理中に他院へ紹介した場合、もしくは今後症例に遭遇した場合の対応も含めて記載してください。

問 4	血栓性素因の診断について、	次の 1	および	ぱり に該当る	する口に口	してくださ	5 L. \ _
µj⊤.		. '	0000	<i>J. L.</i> I C IIX -	, 0 - 1 - 2	\cup \cup \setminus \setminus \cup \cup	

	〒う (□	自施設 ・□ 他施設(こ依頼)						
□ 3) 行わない ■ 5 ★ ☆ ま田即のなが	問 5. 血栓素因別の妊娠中・分娩時・分娩後の管理方法の該当する口に図してください。								
同 5. 皿住茶囚別の妊娠 1. アンチトロンビン欠				る口に図してください	' o				
妊娠中		分娩時	/貝川/						
□ 1)必ず行う				口1)必ず行う					
	IU/日)	□ ①未分画~パリン(IU/⊟)	□①未分画~パリン(IU/日)				
□②他の薬剤()	□ ②他の薬剤()	□②他の薬剤()				
□2)症例ごとに決める		口2)症例ごとに決める		□2)症例ごとに決める					
□ ①未分画~パリン(IU/日)	□①未分画~パリン(IU/⊟)	□ ①未分画~パリン(IU/日)				
□②他の薬剤()	□②他の薬剤()	□②他の薬剤()				
□3)行わない(慎重な観察の	のみ)	□ 3) 行わない(止血を確	望認するまで)	□3) 行わない(慎重な観	察のみ)				
_2. プロテイン S および 🛚	プロテイ	ンC欠乏症(抗凝固	療法に関して	の質問)					
妊娠中		分娩時		分娩後					
□ 1)必ず行う		□ 1)必ず行う		ロ 1)必ず行う					
□ ①未分画~パリン(IU/日)	□ ①未分画~パリン(IU/日)	□ ①未分画~パリン(IU/日)				
□②他の薬剤()	□②他の薬剤()	□②他の薬剤()				
□2)症例ごとに決める		口 2)症例ごとに決める		□2)症例ごとに決める					
□ ①未分画~パリン(IU/日)	□ ①未分画~パリン(IU/日)	□ ①未分画~パリン(IU/日)				
□②他の薬剤()	□②他の薬剤()	□②他の薬剤()				
□3)行わない(慎重な観察				□3)行わない(慎重な観					
*プロテインS欠乏症とこ	プロテイ:	ンC欠乏症で管理方法ス	が上記と異なる	る場合は下記に記載して~	下さい				
3. 補充療法施行の有無	(アンチ	トロンビン欠乏症の	場合)						
妊娠中		分娩時		分娩後					
□ 1)必ず行う		□1)必ず行う		ロ1)必ず行う					
□2)活性低下の場合は行う		□2)活性低下の場合は行	うう	□2)活性低下の場合は行う	5				
(%)以下の場合(IU/日)	(%)以下の場合(IU/日)	(%)以下の場合(IU/日)				
□3) 行わない		口3) 行わない		□3) 行わない					
│ *活性化プロテイン C 製剤を │	使用する	場合は、使用時期と用量	きで下記に記載し	て下さい。					
4									
4. その他自由記載									

-143-

*2 例以上の症例がある場合は、お手数ですが 本用紙(No.1~No.3)をコピーしてご回答下さい。

以下、1~11 の項目についてご回答ください。 1. 遺伝性血栓性素因の種類 □ アンチトロンビン ロ プロテイン S ロ プロテイン C □ その他(2. 診断方法 1)活性値測定 □ 抗原量() □ 活性値(2) 遺伝子診断の有無 □ 有(変異のタイプ:) □ 無 3)診断時期 □ 今回の妊娠以前(その時期:) 口 今回の妊娠中()週 3. 血栓症家族歷 □ 有 (保因者ありの場合、保因者の血縁関係親族をすべてご記載下さい) () □ 無 4. 血栓症既往歷 □ 有(血栓症の種類と部位:) 口無 5. 既往妊娠分娩歴 ② 分娩回数: 回 ③ 妊娠合併症の有無 口有 □ 習慣流産・不育症 □ 常位胎盤早期剥離

(裏ページ No.2 へ)

)

□ 妊娠高血圧症候群

□ その他(

口無

6.	今回	の妊娠	录分娩歴
	1	年齢:	

6. 今	回の妊娠分娩歴			
1	年齢:	歳		
2	身長•体重:	cm	kg(妊娠初期)	kg(分娩時)
3	妊娠•分娩帰結			
	(1) 分娩年月日	(年	月 日)	
	(2) 口経腟分娩	口予定帝王切開	口緊急帝王切開 ()週
	(3) 口単胎 口多	5胎		
	(4) 口早産()週		
	(5) 口流産()週		
	口人工流	堇 口自然流産		
4	妊娠合併症の有無	無		
	□ 常位胎盤早期	引剥離		
	□ 妊娠高血圧症	候群		
	□ その他(
7. 妊	娠中の管理方法			
1	妊娠中の抗凝固療	法施行の有無		
	□有			
	□ ①未分画へ	パリン()IU/日を妊娠()週より開始
	* 妊娠中に	用量の増減があれ	ば記載してください	
	(
	□ ②他の薬剤] (
	□ 無			
2	妊娠中の補充療法	k施行の有無		
	□ 有			
	ロ ①アンチトロ	コンビン製剤()IU/日を妊娠()週より開始
	* 妊娠中に	用量の増減があれ	ば記載してください	
	(
	□ ②他の薬剤] (
	□ 無			
8. 分	娩時の管理方法			
1	分娩時の抗凝固療	療法施行の有無		
	□有			
	□ ①未分画^	パリン()IU/日を投与	
	□ ②他の薬剤	J (
	□ 無			
2	分娩時の補充療法	も施行の有無		
	□ 有			
	ロ ①アンチトロ	コンビン製剤()IU/日を()に投与
	□ ②他の薬剤	J (
	□無			

9. 分娩後の管理方法

□ ①未分画へパリン ()IU/日を、分娩後()日まで投与	
□ ②ワルファリン ()mg/日を、分娩後()日まで投与	
□③他の薬剤()
□ 無	
② 分娩後の補充療法施行の有無	
□有	
□ ①アンチトロンビン製剤 ()IU/日を、分娩後()日まで投与	
□②他の薬剤()
□無	
O. 母体転帰	
□ 異常なし	
□ 血栓症発症(部位と発症時期:)
□ 出血合併症(部位と重症度:)
□ その他の異常()
1. 新生児転帰	
│ □ 出生時体重()g	
□ 出生時体重()g Apgar スコア(/1 分, /5 分)	
Apgar スコア(/1 分, /5 分)	
Apgar スコア(/1 分, /5 分) □男児 □女児	
Apgar スコア(/1 分, /5 分)	
Apgar スコア(/1分, /5分) □男児 □女児 □ 異常なし)
Apgar スコア(/1分, /5分) □男児 □女児 □ 異常なし	
Apgar スコア(/1分, /5分) □男児 □女児 □ 異常なし	
Apgar スコア(/1分, /5分) □男児 □女児 □ 異常なし	
Apgar スコア(/1 分, /5 分) 口男児 口女児 口異常なし 口異常あり(異常の詳細を下記に記載して下さい)	
Apgar スコア(/1分, /5分) □男児 □女児 □ 異常なし	
Apgar スコア(/1 分, /5 分) 口男児 口女児 口異常なし 口異常あり(異常の詳細を下記に記載して下さい)	
Apgar スコア(/1分, /5分) □ 男児 □女児 □ 異常あり(異常の詳細を下記に記載して下さい) □ 母親の血栓性素因と同様の欠乏因子を測定してあれば記載してください □ 臍帯血 □ 血漿 抗原量() 活性値()	
Apgar スコア(/1 分, /5 分) □男児 □女児 □ 異常なし □ 異常あり(異常の詳細を下記に記載して下さい) □ 母親の血栓性素因と同様の欠乏因子を測定してあれば記載してください □ 臍帯血 □ 血漿	

以上、ご協力ありがとうございました。

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・大学院医学研究院・周産期小児医療学 准教授

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

市山正子 福岡市立こども病院・新生児科 医師

井上普介 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

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・臨床検査医学 准教授

康 東天 九州大学・大学院医学研究院・臨床検査医学 教授

小原 收 公益財団法人かずさ DNA 研究所

石黒 精 国立成育医療研究センター

西久保敏也 奈良県立医科大学 嶋 緑倫 奈良県立医科大学

末延聡一 大分大学

研究要旨

本研究事業において研究分担者らは、新生児・小児血栓症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。分担者らの研究施設では、血栓性素因の症例を前向きに集積し、遺伝子検査と診療を行っている。これまでの症例登録から得られた血栓症例より、臨床像の多様性と後天性因子が明らかになった。新生児は抗凝固因子の活性値から遺伝性血栓症の診断が困難であり、効率的な遺伝子診断を求めて遺伝子解析パネル作成した。全国の周産期母子医療センターと新生児・小児診療施設を対象に一次調査を行い、血栓症の疫学を調査した。今後新規治療法の保険適応に向けた診療アルゴリズムの確立を目指す。

A. 研究目的

新生児期および小児期発症の特発性血 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増 加傾向にある。新生児期はとりわけ血栓症 の危険が高く、本邦の新生児集中治療施設 における発症頻度は、この10年で約2倍 に増加した。私たちはこれまで、血栓症は

新生児期と Adolescents and Young Adults (AYA) 世代の発症が多いこと、新生児〜乳児期発症例はプロテインC (PC) 欠乏症が多く、AYA 世代発症例にはプロテインS (PS) とアンチトロンビン (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とは異なる発症様式を呈することを報告してきた。さ

らに新生児期の PC と PS 活性値の基準範囲を設定し、PC 活性値と PC/PS 活性比が遺伝子変異の診断に有用であることを示した。本研究班で私たちは、新生児・小児血栓症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」を分担する。

B. 研究方法

九州大学病院小児科及び検査部で、血栓性素因の症例を前向きに集積し、遺伝子検査と診療を行った。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

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)に一次調査票を送付した。調査対象は、 2014年1月1日から2018年12月31日ま での期間に、日齢28までに新生児血栓症 と診断もしくは疑われた新生児とした。総計744施設のうち、470施設(63.1%)より回答があり、対象として117症例が報告 された。該当年の出生数で換算すると、年間推定患者数は10万出生対3.45例 (0.0035%)であった。

症例提示の同意を得た施設を対象に、二次調査票を送付した。二次調査では、個別の症例調査と高次医療(移植医療、特異的因子補充療法、新規抗凝固療法等)の診療実績を問うものとした。117名に二次調査

票を送付、回答なし40名、日齢28以降発症1名、出血病変のみ1名を除く74名で解析を行った。遺伝性PC欠乏症は6例報告され、うち5例が当院で遺伝子解析が行われていた。新生児では、直接経口抗凝固薬(DOAC)の使用例が1例報告され、プロトロンビン複合体濃縮製剤(PCC)使用例は報告されなかった。

2) 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査

新生児ではプロテイン C (PC)、プロテイ ンS (PS) およびアンチトロンビンの活性 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。公益財団法人かずさ DNA 研究所の協力で、PC (PROC)、PS (PROS1) およびアンチトロンビン (SERPINCI) を含 む遺伝子解析パネル作成した。PROS1とプ ラスミノーゲン(PLG)はゲノム上の重複 配列が多く、次世代シーケンサーを用いた 単独解析では配列解析精度が低くなる可 能性が予測されていたが、遺伝性 PC 欠乏 症、無フィブリノゲン血症とプラスミノー ゲン異常症の家系で、Sanger 法と同様の結 果が得られた。現在レジストリでパネル検 査の同意が得られた検体より解析を進め ている。

D. 考察

今回の調査で算出された年間推定患者数は、福岡県の新生児診療施設への入院率は全出生児の9.07%を換算すると、入院当たり0.039%となり、2012年度(0.063%)と2004年度(0.031%)の全国調査と同等であった(川口ら、日本産婦人科・新生児血液学会誌2012)。推定患者数と遺伝子解

析例の整合性が高いことより、私たちが構築している疾患レジストリの悉皆性の高さを確認することができた。

E. 結論

遺伝性 PC 欠乏症の重症例に対する根治 治療として、肝移植も日本で成功している。 特異的因子補充療法(吉田ら、日本小児血 液・がん学会雑誌 2018) (Ogiwara K et al. Int J Hematol 2019) と新規凝固療法(Boey JP et al. Br Haematol 2016) についても 報告された。今後、パネル診断の解析効率 を高め、新しい診療ガイドラインの確立を 目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1. 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 Jan 28.
- 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. Taira R, Inoue H, Sawano T, Fujiyoshi J, Ichimiya Y, Torio M, Sanefuji M, Ochiai M, Sakai Y, Ohga S. Management of apnea in infants

- with trisomy 18. Dev Med Child Neurol. 2019 Nov 25.
- E. 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.
- . Matsushita Y, Sakai Y, Torio M, Inoue H, Ochiai M, Yasuoka K, Kurata H, Fujiyoshi J, Ichiyama M, Taguchi T, Kato K, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan (NRNJ). Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan. J Perinatol. 2019 Nov;39(11):1472-1479.
- 6. Ochiai M, Nagata H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S. Critical association of Pallister-Hall syndrome and congenital heart disease. Pediatr Int. 2019 Aug;61(8):827-828.
- 7. Ishimura M, Ohga S. [Cancer predisposition in inherited bone marrow failure syndromes and primary immunodeficiency diseases]. Rinsho Ketsueki. 2019;60(6):702-707.
- 8. Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome KI, Ohga S. Systemic Epstein-Barr Virus-Positive T/NK

- Lymphoproliferative Diseases With SH2D1A/XIAP Hypomorphic. Front Pediatr. 2019 May 21;7:183.
- 9. Yasuoka K, Inoue H, Egami N, Ochiai M, Tanaka K, Sawano T, Kurata H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. Late-Onset Circulatory Collapse and Risk of Cerebral Palsy in Extremely Preterm Infants. J Pediatr. 2019 Sep;212:117-123.e4.
- 10. Ichimiya Y, Sonoda M, Ishimura M, Kanno S, 0hga S. Hemorrhagic Pneumonia as the First Manifestation of Anhidrotic **Ectodermal** Dysplasia with Immunodeficiency. J Clin Immunol. 2019 Apr; 39(3): 264-266.
- 11. Ogiwara K, Nogami K, Mizumachi K, Nakagawa T, Noda N, Ohga S, Shima M. Hemostatic assessment of combined anticoagulant therapy using warfarin and prothrombin complex concentrates in a case of severe protein C deficiency. Int J Hematol. 2019 Jun;109(6):650-656.
- 12. Taguchi T, Yanagi Y, Yoshimaru K, Zhang XY, Matsuura T, Nakayama K, Kobayashi E, Yamaza H, Nonaka K, Ohga S, Yamaza T. Regenerative medicine using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): a promising new treatment in pediatric surgery. Surg Today. 2019 Apr;49(4):316-322.

- 13. Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, Taguchi T, Ohga S, Yamaza Τ. Therapeutic potential of converted hepatocyte-like-cells from stem cells from human exfoliated deciduous teeth in fulminant Wilson's disease. Sci Rep. 2019 Feb 7;9(1):1535.
- 14. Kurata H, Ochiai M, Inoue H, Ichiyama M, Yasuoka K, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Honjo S, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. A nationwide survey on tracheostomy for very-low-birth-weight infants in Japan. Pediatr Pulmonol. 2019 Jan;54(1):53-60.
- 15. Hagio Y, Shiraishi A, Ishimura M, Sonoda M, Eguchi K, Yamamoto H, Oda Y, Ohga S. Posttransplant recipient-derived CD4(+) T-cell lymphoproliferative disease in X-linked hyper-IgM syndrome. Pediatr Blood Cancer. 2019 Mar;66(3): e27529.
- 16. Ichiyama M, Inoue H, Ochiai M, Ishimura M, Shiraishi A, Fujiyoshi J, Yamashita H, Sato K, Matsumoto S, Hotta T, Uchiumi T, Kang D, Ohga S. Diagnostic challenge of the newborn patients with heritable protein C deficiency. J Perinatol. 2019 Feb;39(2):212-219.
- Sonoda Y, Yamamura K, Ishii K,
 Ohkubo K, Ihara K, Sakai Y, Ohga
 S. A Child with Prostaglandin

- I(2)-associated Thyrotoxicosis: Case Report. J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2019 May 28;11(2):207-210.
- 18. Kinjo T, Inoue H, Kusuda T, Fujiyoshi J, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Koga Y, Hara T, Ohga S. Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. Pediatr Neonatol. 2019 Aug;60(4):382-388.

2. 学会発表

- Ochiai M, Ichiyama M, Ishimura M, Hotta T, Uchiumi T, Ishiguro A, Nishikubo T, Shima M, Suenobu T, Osamu O, Kang D, Ohga S. Nextgeneration diagnostic strategy for pediatric-onset heritable thrombophilia in Japan. The 8th East Asia Hemophilia Forum, Aug 8-10, 2019, Tianjin, China
- 2. 落合正行、市山正子、石村匡崇、大賀 正一:平成30年度進捗報告 平成30 年度 難治性疾患等政策研究事業「新 生児・乳児に発症する特発性血栓症の 病態解明および治療管理法と根治療 法の確立に関する研究」第1回班会議 2019年1月11日 福岡市
- 3. 市山正子、石村匡崇、落合正行、石黒精、末延聡一、山座孝義、西久保敏也、嶋緑倫、堀田多恵子、内海健、康東天、大賀正一:平成30年度 難治性疾患等

- 政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」平成30年度AMED6事業報告会2019年2月7-8日 東京都
- 落合正行、市山正子、石村匡崇、大賀正一:令和元年度進捗報告 1. 新生児血栓症の全国調査報告 2. 遺伝子パネル検査の検証 令和元年度 難治性疾患等政策研究事業「新生児・乳児に発症する特発性血栓症の病態解明および治療管理法と根治療法の確立に関する研究」第 1 回班会議 2019 年 11 月 8 日 福岡市
- 5. Nina Lehartová、落合正行、安岡和昭、藤吉順子、井上普介: Standard erythroferrone levels in very low birth weight infants during the neonatal period 第64回日本新生児成育医学会学術集会 2019年11月27-29日 鹿児島市
- 6. 井上普介、澤野徹、藤吉順子、金城唯 宗、落合正行:18トリソミー児の無呼 吸に対する管理と予後 第64回日本 新生児成育医学会学術集会 2019年 11月27-29日 鹿児島市
- G. 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

先天性血栓性素因の分子病態解析: SEPINCI 遺伝子異常の分子病態解析

研究分担者:松下 正 名古屋大学医学部附属病院 教授

研究要旨

先天性アンチトロンビン (AT) 欠乏症・異常症は常染色体優性遺伝疾患で、大部分は ヘテロ接合体として認められる。患者の80~90%は、50~60歳までに血栓症を発症し、 外傷、手術、妊娠、経口避妊薬の服用などをきっかけとすることが多い。抗原量低下に よる AT 欠乏症は Type1 として分類され、AT 分子異常症は Type2 に分類される。我々は これまでに21例のAT欠乏症・異常症におけるAT遺伝子(SERPINCI)の遺伝子変異解 析を行い、8 つの新規変異を含む 19 の SERPINC1 変異を同定した。遺伝子解析を行った 21 例の SERPINCI 変異の内訳は、ミスセンス変異 9 例 (42.9%)、ナンセンス変異 3 例 (14.3%)、スプライスサイト変異 1 例 (4.8%)、小規模塩基挿入 2 例 (9.5%)、小規模塩 基欠失2例(9.5%)、大規模欠失4例(19.0%)であった。SERPINCIはshort interspersed nuclear element (SINE, 短鎖散在反復配列) の1種である Alu を遺伝子内に10個、 5' フランキング領域を含めると 14 個も保持する特徴的な遺伝子であり、大規模欠失 の頻度が高い。我々の検討でも、大規模欠失とした 4 例のうち 2 例が Alu 関連のエクソ ン欠失であった。一方、Alu 非関連 SERPINC1 構造異常の症例は、SERPINC1 イントロン 6から近傍の ZBTB37までを含む 35 kbase の大欠失例と、SERPINC1 全欠失例であった。 これら Alu 非関連構造異常の染色体再構成メカニズムは、DNA 複製時のエラーによって 生じる fork stalling and template switching (FoSTeS)/microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR) モデルが想定された。

A. 研究目的

先天性血栓性疾患は、遺伝性血栓性素因と定義される遺伝子変異に加えて、環境因子などが複雑に絡み合い発症に至る多因子疾患と考えられる。先天性血栓性疾患の遺伝子診断の意義の一つは血栓症発症リスクの予測であり、妊娠などのライフイベントへの備えや勤務環境などの生活習慣の改善などによって、遺伝性素因を保持する患者に血栓症に対する予防意識を指導することができる。また、2017年に指定難

病に登録された成人の「特発性血栓症(遺伝性血栓性素因によるものに限る)」の診断には遺伝学的検査結果が必須であり、先天性血栓性疾患においても病態責任遺伝子の変異同定の重要性は極めて高い。

先天性アンチトロンビン (AT) 欠乏症・ 異常症は常染色体優性遺伝疾患で、大部分 はヘテロ接合体として認められる。患者の 80~90%は、50~60歳までに血栓症を発症 し、外傷、手術、妊娠、経口避妊薬の服用 などをきっかけとすることが多い。抗原量 低下による AT 欠乏症は Type1 として分類 され、AT 分子異常症は Type2 に分類される。AT 異常症である Type 2 はその分子病態により 3 つに小区分化される。 Type 2 reactive site (RS)は AT の活性中心である reactive loop にミスセンス変異を認める。 Type 2 heparin binding site (HBS)はヘパリンとの結合部位である AT の N 末端側にミスセンス変異を認める。 そして、 Type2 pleiotropic effect (PE)は反応部位に近い領域にミスセンス変異を認める多面的影響型とされる。

本研究では、21 症例の先天性 AT 欠乏症・ 異常症について遺伝子解析を行い、同定した SERPINCI 変異の内訳をまとめるととも に、大規模な遺伝子構造異常が認められた 症例についてその詳細を解析したので報 告する。

B. 研究方法

SERPINC1解析は、AT欠乏・分子異常症の約80%にエクソン内の小規模変異を認めるため、まずダイレクトシーケンスによる全エクソン解析から開始した。全エクソン解析で変異を認めなかった場合、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)や定量PCRにてゲノム上の遺伝子量解析を行った。遺伝子量解析で異常を認めた場合、Long-range PCRなどで遺伝子の構造解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、名古屋大学大学院医学系研究 科倫理審査委員会の承認のもう、被験者から書面によるインフォームドコンセント を得て行った。

C. 研究結果

・21 例の AT 欠乏・分子異常症の SERPINC1 変異の内訳

我々がこれまでに解析した AT 欠乏症・ 異常症における、AT 遺伝子 SERPINCI 遺伝 子変異の内訳は、ミスセンス変異 9 例 (42.9%)、ナンセンス変異 3 例 (14.3%)、 スプライスサイト変異 1 例 (4.8%)、小規 模塩基挿入 2 例 (9.5%)、小規模塩基欠失 2 例 (9.5%)、大規模欠失 4 例 (19.0%)で あった。多くは小規模の変異であるものの、 大規模欠失 (>50 塩基) を 19%認める結果 となった。

・Alu間相同組み換えにより遺伝子大欠失を呈したAT欠乏症の一例

本症例は妊娠 9 週で深部静脈血栓症を発症した 24 歳女性である。本症例の AT 活性値は 24%であり、家族歴はない (AT 抗原量は未測定)。 SERP INC1 の全エクソン解析では小規模変異を認めなかった。 そこでMLPA による遺伝子量解析を行ったところ、エクソン 5 が健常者との相対値で半量であることが判明した。Long-PCR とダイレクトシーケンスによる解析結果、本症例はイントロン 4 に存在する Alu4 から、イントロン 5 に存在する Alu7 に接続する異常構造の SERP INC1 であることがわかった。

・Alu 非関連遺伝子大欠失を呈した AT 欠 乏症の一例

本研究で新たに同定した Alu 非関連 SERPINCI 構造異常は 2 症例でありそれぞ れ、SERPINCI イントロン 6 から近傍の ZBTB37までを含む 35 kbase の大欠失例と、 SERPINCI 全欠失例であった。これら Alu非 関連構造異常の染色体再構成メカニズムは、ともに数塩基のマイクロホモロジーを介した遺伝子接続であった。

D. 考察

SERPINC1は「Alu」という反復配列を多く 保持するという特徴を有する遺伝子であ ることが知られている。Alu とは、Short interspersed nuclear element (SINE, 短 鎖散在反復配列) と呼ばれる重複配列の 1種で、ヒトゲノムの約10%を占めると言 われる。SERPINC1 はこの Alu を遺伝子内 に 10 個、5'フランキング領域を含めると 14 個も保持する特殊な構造をもつ遺伝子 である。この Alu はそれぞれが相同性の高 い配列であるため、Alu間で相同組み換え が起こりやすい。今回同定した遺伝子大欠 失症例も、4 例中 2 例がこの Alu 関連相同 組み換えによる SERPINC1 の大規模欠失症 例であった。一方、残り2症例はAIu非関 連大規模欠失であり、数塩基のマイクロホ モロジーを介した多段階遺伝子接続が特 徴的な変異であった。その遺伝子再構成メ カニズムとしては、DNA 複製時のエラーに よって生じる fork stalling and template switching (FoSTeS)/ microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR) が想定された。

E. まとめ

AT 欠乏症・異常症 21 症例において、遺伝子解析を行い、その内訳を提示した。そのうち大規模欠失は 4 例 (19.0%) であり、4 例中例が Alu 関連のエクソン欠失であった。また残り 2 例は Alu 非関連 SERPINCI 構造異常であった。今回新たに同定した

Alu 非関連 SERPINC1 構造異常は SERPINC1 intron 6 から ZBTB37までを含む 35 kb の大欠失例であった。なお、もう一例の Alu 非関連 SERPINC1 構造異常は過去に当グループが報告した SERPINC1 全欠失例である(Kato I et al., 2014. Int. J. Hematol. 100, 200-5.)。これら Alu 非関連 SERPINC1 構造異常の変異メカニズムは、DNA 複製時のエラーによって生じる fork stalling and template switching (FoSTeS)/microhomology-mediated break-induced replication (MMBIR) が想定された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okamoto, S., N. Suzuki, A. Suzuki, S. Suzuki, S. Tamura, M. Suzuki, N. Takahashi, T. Kojima, T. Kanematsu, T. Kojima, H. Kiyoi, N. Ishiguro, and T. Matsushita. 2019. Successful Perioperative Combination of High-Dose FVIII Therapy Followed by Emicizumab in a Patient with Hemophilia A with Inhibitors. TH Open. 3:e364-e366.
- 2) Inoue, O., M. Osada, J. Nakamura, F. Kazama, T. Shirai, N. Tsukiji, T. Sasaki, H. Yokomichi, T. Dohi, M. Kaneko, M. Kurano, M. Oosawa, S. Tamura, K. Satoh, K. Takano, K. Miyauchi, H. Daida, Y. Yatomi, Y. Ozaki, and K. Suzuki-Inoue. 2019. Soluble CLEC-2 is generated

- independently of ADAM10 and is increased in plasma in acute coronary syndrome: comparison with soluble GPVI. *Int. J. Hematol.* 110:285-294.
- 3) Odaira, K., S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, Y. Hattori, M. Tokoro, S. Suzuki, A. Takagi, A. Katsumi, F. Hayakawa, S. Okamoto, A. Suzuki, T. Kanematsu, T. Matsushita, and T. Kojima. 2019. Apparent synonymous mutation F9 c.87A>G causes secretion failure by in-frame mutation with aberrant splicing. Thromb Res. 179:95-103.
- 4) Tamura, S., E. Hashimoto, N. Suzuki, M. Kakihara, K. Odaira, Y. Hattori, M. Tokoro, S. Suzuki, A. Takagi, A. Katsumi, F. Hayakawa, A. Suzuki, S. Okamoto, T. Kanematsu, T. Matsushita, and T. Kojima. 2019. Molecular basis of SERPINC1 mutations in Japanese patients with antithrombin deficiency. *Thromb Res.* 178:159-170.
- 5) 田村彰吾, 井上克枝, 尾崎由基男, 早川文彦, and 小嶋哲人. 2019. CLEC-2/PDPN axis を介した細動脈近 傍における骨髄巨核球造血微小環境. 臨床血液. 60:834-842.

2. 学会発表

 第 20 回日本検査血液学会学術集会 (2019年7月6日)シンポジウム「最 近の血栓止血異常のとらえかた~検

- 査室や研究室から~JSY-2 先天性凝固 異常症の遺伝子解析「解析の Strategy と Pitfall」田村彰吾、高木明、早川 文彦、小嶋哲人
- 2) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019年6月開催) 0-016プロトロン ビン R593L マウスの作製と解析 鈴木 伸明,鈴木 敦夫,鈴木 幸子,田村 彰吾,高木 明, 小嶋 哲人,松下 正
- 3) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-017 血小板・巨 核球上の C 型レクチン様受容体 (CLEC-2)が,赤血球造血に及ぼす役割 大竹 志門,白井 俊光,築地 長治, 佐々木知幸,田村 彰吾,尾崎由基男, 井上 克枝
- 4) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-053 P-001 int1h-1 を介した組換えではあるが Inv1ではなくF8イントロン1での複 雑な大規模欠 失挿入変異による重症 血友病 A 所 真昼, 田村 彰吾, 鈴木 伸明, 垣原美紗樹, 服部 有那, 大平 晃 也, 鈴木 幸子, 高木 明, 早川 文彦, 岡本 修一, 兼松 毅, 松下 正, 小嶋 哲 人
- 5) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) 0-054 P-002 F9 サイレント変異 c.87A>G(p.Thr29 =) に起因するスプライシング異常の 分子病態解析 大平 晃也,田村 彰吾, 所 真昼,垣原美紗樹,服部 有那,鈴 木 幸子,高木 明,早川 文彦,岡本 修 一,兼松 毅,鈴木 伸明,松下 正, 小嶋 哲人
- 6) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会

(2019年6月開催) 0-056 P-004 新規伸長型変異を認めた先天性血液凝固第 XI 因子欠乏症の1例 早川 友梨,田村 彰吾,鈴木 伸明,大平 晃也,垣原美紗樹,服部 有那,所 真昼,河島史華,鈴木 幸子,早川 文彦,高木 明,岡本 修一,兼松 毅,松下 正,小嶋 哲人

- 7) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019 年 6 月開催) P-024 産科関連静脈血栓症における血栓性素因検索 名古屋大学医学部附属病院における症例 第 2 報- 鈴木 幸子,垣原美紗樹,服部 有那,大平 晃也,所 真昼,河島 史華,早川 友梨,岡本 修一,兼松 毅,中野 知子,今井 健史,牛田貴文,森山 佳則,小谷 友美,鈴木 伸明,田村 彰吾,早川 文彦 小嶋 哲人,松下 正
- 8) 第 41 回日本血栓止血学会学術集会 (2019年6月開催)P-063 特発性血小 板減少性紫斑病の病勢に対し,サイト メガロウイルス再活性化の関与が疑 われた 2 例 兼松 毅,鈴木 伸明, 岡本 修一,鈴木 敦夫,川上 萌, 三 田 直美,田村 彰吾,小嶋 哲人,清井 仁,松下 正
- ISTH2019 PB0212 A Complex F8 Rearrangement Associated with Switching Template and related Homologous Recombination Patient with in Severe Hemophilia A. M. Tokoro, S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, Y. Hattori, K. Odaira, S. Suzuki, A. Takagi, F.

- Hayakawa, S. Okamoto, T. Kanematsu, T. Matsushita, T. Kojima
- 10) ISTH2019 PB0217 F9 c.87A>G is a Double-faced Deleterious Mutation which Causes a Synonymous and Inframed-mutant FIX due to an Aberrant mRNA Splicing. K. Odaira, S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, Y. Hattori, M. Tokoro, S. Suzuki, A. Takagi, A. Katsumi, F. Hayakawa, Okamoto. A. Suzuki. Τ. Kanematsu, T. Matsushita, Τ. Kojima
- 11) ISTH2019 PB0218 An Inv22-like F8
 Inverted Disruption in Severe
 Hemophilia a Brothers Possibly
 Occurring from Template Switching
 between Sister Chromatids. M.
 Kakihara, S. Tamura, M. Tokoro, K.
 Odaira, Y. Hattori, S. Suzuki, F.
 Hayakawa, M. Ogawa, T. Kanematsu,
 N. Suzuki, T. Matsushita, T.
 Kojima
- 12) ISTH2019 PB0654 Genetic Abnormalities of Japanese Patient Symptomaticwith and Asymptomatic-dysfibrinogenemia. Y. Hattori, S. Tamura, N. Suzuki, M. Kakihara, S. Suzuki, K. Odaira, M. Tokoro, F. Hayakawa, S. Okamoto, T. Kanematsu, Τ. Matsushita, Т. Kojima

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

<書籍>

	T				I	I	I
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
村田満	1 特発性血小板 減少性紫斑病 [指定難病63]	水澤英洋, 五十嵐隆, 北川泰久, 高橋和久, 弓倉整	指定難病ペディア	医学書出版	東京	2019	
羽藤高明	血小板の同種抗原	面川進	日本輸血・細胞治療学会認 定医制度指定 カリキュラム	日本輸 血・細胞 治療学会	東京	2019	91-93
羽藤高明	輸血・血液型検 査	矢冨裕、他	今日の臨床検 査2019-2020	南江堂	東京	2019	110-117
羽藤高明	ヒト白血球抗原 (HLA)検査	矢冨裕、他	今日の臨床検 査2019-2020	南江堂	東京	2019	118-123
羽藤高明	先天性および後 天性血管障害に よる出血	中尾眞二、 松村到、 神田善伸	血液疾患 最新の治療 2020-2022	南江堂	東京	2019	231-234
立枩良崇、 加藤規利、 丸山彰一	aHUS		プロフェッ ショナル腎臓 内科学	中外医学 社		In press	
森下英理子	遺伝性血栓性素因	中尾眞二、 松村到、 神田善伸	血液疾患最新 の治療2020- 2022	南江堂	東京	2019	258-261
森下英理子	先天性血栓傾向	南学正臣	改訂第9版 内科学書—血 液造血器疾 患、神経疾患	中山書店	東京	2019	245-247
森下英理子	遺伝性血栓性素 因は静脈血栓生 栓症(VTE)リ スクにどの程 注意したら シテン で を が で が り で り に り の り に り に り た り に り た り に り た り に り た り に り た り に り た り に り れ り れ り れ り れ り れ り れ り れ り れ り れ	日本静脈学会	新臨床静脈学	メジカル ビュー社	東京	2019	429-431
小林隆夫	肺血栓塞栓症の 予防と治療指針	岡元和文	救急・集中治 療最新ガイド ライン2020- '21	総合医学社	東京	2020	335-340

小林隆夫	産科・婦人科領 域のDIC	丸山征郎	ファーマナビ ゲーターDIC編 改訂版	メディカル レビュー社	東京	2019	156-165
小林隆夫	産褥期の静脈血 栓塞栓症	猿田享男, 北村惣一郎	専門家による 私の治療 2019-20年度版	日本医事 新報社	東京	2019	1369- 1371
小林隆夫	血液疾患合併妊娠	永井良三, 綾部琢哉, 大須賀穣	産婦人科研修ノート	診断と治 療社	東京	2019	456-459

<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
Oka S, Wakui M, Fujimori Y, Kuroda Y, Nakamura S, Kondo Y, Nakagawa T, Katagiri H, Murata M	Application of clot- fibrinolysis waveform analysis to assessment of in vitro effects of direct oral anticoagulants on fibrinolysis.	Int J Lab Hematol.	In press		2020
Wakui M, Kawai K, Mizushima T, Nishime C, Serizawa A, Suemizu H, Asakura K, Yamauchi Y, Hayashida T, Suematsu M, Murata M	Fatty Acid β- Oxidation-dependent and -independent Responses and Tumor Aggressiveness Acquired Under Mild Hypoxia.	Anticancer Res.	39(1)	191-200	2019
Wakui M, Fujimori Y, Katagiri H, Nakamura S, Kondo Y, Kuroda Y, Nakagawa T, Shimizu N, Murata M	Assessment of in vitro effects of direct thrombin inhibitors and activated factor X inhibitors through clot waveform analysis.	J Clin Pathol	72 (3)	244-250	2019
Uwamino Y, Kubota H, Sasaki T, Kosaka A, Furuhashi M, Uno S, Kudoh J, Murata M, Hasegawa N	Recovery of FRI-5 carbapenemase at a Japanese hospital where FRI-4 carbapenemase was discovered.	J Antimicrob Chemother.	74(11)	3390-3392	2019
Nakagawa T, Wakui M, Hayashida T, Nishime C, Murata M	Intensive optimization and evaluation of global DNA methylation quantification using LC-MS/MS.	Anal Bioanal Chem.	411 (27)	7221-7231	2019
Uwamino Y, Nishimura T, Sato Y, Tamizu E, Uno S, Mori M, Fujiwara H, Kawabe H, Murata M, Hasegawa N	Showering is associated with Mycobacterium avium complex lung disease: An observational study in Japanese women	J Infect Chemother	26(3)	211-214	2019
Uwamino Y, Sakai A, Nishimura T, Noguchi M, Uno S, Fujiwara H, Mori M, Wakui M, Murata M, Hasegawa N.	Effect of refrigeration of blood samples in lithium-heparin tubes on QuantiFERON TB Gold Plus test result.	J Infect Chemother.	25(3)	312-314	2019

Uwamino Y, Nishimura T, Sato Y, Tamizu E, Asakura T, Uno S, Mori M, Fujiwara H, Ishii M, Kawabe H, Murata M, Hasegawa N	Low serum estradiol levels are related to Mycobacterium avium complex lung disease: a cross-sectional study.	BMC Infect Dis.	19(1)	1055	2019
Wakui M, Fujimori Y, Nakamura S, Kondo Y, Kuroda Y, Oka S, Nakagawa T, Katagiri H, Murata M	Distinct features of bivalent direct thrombin inhibitors, hirudin and bivalirudin, revealed by clot waveform analysis and enzyme kinetics in coagulation assays.	J Clin Pathol.	72 (12)	817-824	2019
Mori T, Kikuchi T, Kato J, Koda Y, Sakurai M, Kikumi O, Inose R, Murata M, Hasegawa N, Nakayama H, Yamazaki R, Okamoto S	Seasonal changes in indoor airborne fungal concentration in a hematology ward.	J Infect Chemother.	26 (4)	363-366	2019
藤森祐多,涌井昌俊, 村田満	【血栓塞栓症の防止対策- 抗凝固療法の最近の動向】 Key words 静脈血栓症と 臨床検査	カレントテラピー	37 巻 3 号	298	2019
柏木浩和、桑名正隆、 羽藤高明、高蓋寿朗、 藤村欣吾、倉田義之、 村田満、冨山佳昭	成人特発性血小板減少性 紫斑病治療の参照ガイド 2019 改訂版	臨床血液	60 (8)	877-896	2019
Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y	Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision.	Int J Hematol.	111(3)	329-351	2020
Akuta K, Kashiwagi H, Yujiri T, Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y.	A unique phenotype of acquired Glanzmann thrombasthenia due to non-function-blocking anti- α IIb β 3 autoantibodies.	J Thromb Haemost.	17 (1)	206-219	2019
Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y	Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan	Blood Advances	In press		2020

Ikeda Y, Yamanouchi J, Hato T, Yasukawa M, Takenaka K	Safe childbirth for a type 1 antithrombin-deficient woman with novel mutation in the SERPINC1 gene undergoing antithrombin concentrate therapy.	Blood Coagulation and Fibrinolysis	30(1)	47-51	2019
Joko K, Hato T	Acute liver failure and intractable gastric ulcer in plasma prekallikrein deficiency	松山赤十字病院医学雑誌	44(1)	21-27	2019
Fujimura Y, Lämmle B, Tanabe S, Sakai K, Kimura T, Kokame K, Miyata T, Takahashi Y, Taniguchi S, Matsumoto M	Patent ductus arteriosus generates neonatal hemolytic jaundice with thrombocytopenia in Upshaw-Schulman syndrome.	Blood Adv	3(21)	3191-3195	2019
van Dorland HA, Mansouri Taleghani M, Sakai K, Friedman KD, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, von Krogh AS, Schneppenheim R, Aebi-Huber I, Bütikofer L, Largiadèr CR, Cermakova Z, Kokame K, Miyata T, Yagi H, Terrell DR, Vesely SK, Matsumoto M, Lämmle B, Fujimura Y, Kremer Hovinga JA.	The International Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Registry: Key findings at enrolment until 2017.	Haematologica.	104 (10)	2107-2115	2019
Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, Matsumoto M.	Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura.	J Intensive Care Med	In press		
Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y,	HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR.	Blood	In press		

Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M.					
Kato H, et al	Safety and effectiveness of eculizumab for adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance.	Clin Exp Nephrol	23	65-75	2019
Ito S, et al.	Safety and effectiveness of eculizumab for pediatric patients with atypical hemolytic- uremic syndrome in Japan: interim analysis of post-marketing surveillance.	Clin Exp Nephrol	23	112-121	2019
宮川義隆	免疫性血小板減少症と血 栓性血小板減少性紫斑病 に対するリツキシマブ	臨床血液	60	480-487	2019
Nakajima-Doi S, Seguchi O, Shintani Y, Fujita T, Fukushima S, Matsumoto Y, Eura Y, Kokame K, Miyata S, Matsuda S, Mochizuki H, Iwasaki K, Kimura Y, Toda K, Kumai Y, Kuroda K, Watanabe T, Yanase M, Kobayashi J, Fukushima N	Experience of the use of octreotide for refractory gastrointestinal bleeding in a patient with Jarvik2000 left ventricular assist device	J Artif Organs	22 (4)	334-337	2019
Sugawara Y, Kato H, Yoshida Y, Fujisawa M, Kokame K, Miyata T, Akioka Y, Miura K, Hattori M, Nangaku M	Novel CFHR2-CFHR1 hybrid in C3 glomerulopathy identified by genomic structural variation analysis	Kidney Int Rep	4(12)	1759-1762	2019

Usui M, Ozawa T, Kim Y, Mashiko T, Matsuzono K, Maruyama K, Kokame K, Usui R, Koide R, Fujimoto S	Cerebral venous sinus thrombosis associated with protein S deficiency during pregnancy: a case report	J Obstet Gynaecol	40(1)	135-136	2020
Miyoshi T, Maruyama K, Oku H, Asahara S, Hanada H, Neki R, Yoshimatsu J, Kokame K, Miyata T	Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation	Thromb Res	185	1-4	2020
Akuta K, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y	Knock-in mice bearing constitutively active α IIb(R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction	J Thromb Haemost	18(2)	497-509	2020
秋山正志, 小亀浩市	ADAMTS13の構造変化と機 能発現	Thromb Med	9(3)	189-198	2019
宮田敏行, 小亀浩市	TMAの遺伝子診断:TTPと aHUS	日本血栓止 血誌	31(1)	17-27	2020
加藤規利、立枩良崇、 丸山彰一	aHUSの病態と臨床	日本血栓止 血学会誌	31(1)	45-54	2020
Esumi S, Morishita E, Yasuda M, Nakajima K, Imashuku S.	Portal cavernoma cholangiopathy due to extrahepatic portal vein and supramesenteric vein thromboses associated with congenital protein C deficiency in a young adult	Arch Clin Med Case Rep	3 (6)	436-441	2019
Nomoto H, Takami A, Espinoza JL, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Kodera Y, Doki N, Miyamura k, Mori T, Akao S, Morishita E.	Recipient ADAMTS13 single-nucleiotide polymorphism predicts relapse after unrelated bone marrow transplantation of hematologic malignancy.	Int J Mol Sci	20(1)	214	2019
Setaka T, Hirano K, Moriya K, Morita S, Shinakai T, Morishita E, Ichida T.	Portal vein thrombosis in a patient with hereditary antithrombin deficiency.	Intern Med.	58 (12)	1733-1737	2019

Yamada S, Arahita M, Morishita E, Ichinose A, Asakura H.	The first feported case of acquired haemophilia A in which bleeding episodes were successfully treated via administration of a single-dose mizture of activated factor VIIa/X.	Haemophillia	25 (5)	e350- e352	2019
Ueda k, Morishita E, Shiraki H, Matsuoka S, Imashuku S.	Aortic mural thrombus associated with congenital protein C deficiency in an elderly patient.	J Atheroscler Thromb	27(1)	100-103	2020
Yamashita M, Komaki T, Tashiro K, Inada Y, Iwata A, Morishita E, Miura SI.	Hereditary antithrombin deficiency presenting with deep venous thrombosis during the second pregnancy: A case report.	Intern Med.	59 (2)	235–239	2020
Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, Horike SI, Asakura H, Morishita E.	Genetic analysis of a compound heterozygous patient with congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate.	Int J Hematol	111(1)	51-56	2020
Arahata M, Takamatsu H, Morishita E, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose A, Asakura H.	Coagulation and fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid.	Int J Hematol	111(4)	550-558	2020
Horio T, Morishita E, Mizuno S, Uchino K, Hanamura I, Espinoza JL, Morishima Y, Kodera Y, Onizuka M, Kashiwase K, Fukuda T, Doki N, Miyamura K, Mori T, Nakao S, Takami A.	Donor heme oxygenase-1 promoter gene polymorphism predicts survival after unrelated bone marrow transplantation for high-risk patients.	Cancers (Basel)	12 (2)	424	2020
Watanabe S, Matsumoto S, Nakahara I, Ishii A, Hatano T, Mori M, Morishita E, Nagata I.	A case of ischemic stroke with congenital protein C dficiency and carotid web successfully treated by anticoagulant and carotid stenting.	Front Neurol	18	10.3389/fn eur.2020. 00099.	2020

Yamada S, Okumura H, Morishita E, Asakura H.	Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation.	Blood Coagul Fibrinolysis	9	doi: c.0000000 000000902	2020
Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, Morishita E.	Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC.	Thromb Res	188	115-118	2020
小林隆夫	肺血栓塞栓症. 特集 妊産 婦死亡をどう防ぐかI	産婦人科の 実際	68 (12)	1455-1463	2019
小林隆夫	連載「DIC診療の新たな展開」第6回 産科DICにおける遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の有用性	Thromb Med	9(2)	63-68	2019
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
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	62 (2)	169-174	2020
Taira R, Inoue H, Sawano T, Fujiyoshi J, Ichimiya Y, Torio M, Sanefuji M, Ochiai M, Sakai Y, Ohga S.	Management of apnea in infants with trisomy 18.	Dev Med Child Neurol			2019
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	111(1)	131-136	2020

Matsushita Y, Sakai Y, Torio M, Inoue H, Ochiai M, Yasuoka K, Kurata H, Fujiyoshi J, Ichiyama M, Taguchi T, Kato K, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan (NRNJ).	Association of perinatal factors of epilepsy in very low birth weight infants, using a nationwide database in Japan.	J Perinatol	39 (11)	1472-1479	2019
Ochiai M, Nagata H, Tanaka K, Ihara K, Ohga S.	Critical association of Pallister-Hall syndrome and congenital heart disease.	Pediatr Int.	61 (8)	827-828	2019
Ishimura M, Ohga S.	[Cancer predisposition in inherited bone marrow failure syndromes and primary immunodeficiency diseases].	Rinsho Ketsueki	60 (6)	702-707	2019
Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome KI, Ohga S.	Systemic Epstein-Barr Virus-Positive T/NK Lymphoproliferative Diseases With SH2D1A/XIAP Hypomorphic.	Front Pediatr	7	183	2019
Yasuoka K, Inoue H, Egami N, Ochiai M, Tanaka K, Sawano T, Kurata H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Sakai Y, Ohga S	Neonatal Research Network of Japan. Late- Onset Circulatory Collapse and Risk of Cerebral Palsy in Extremely Preterm Infants.	J Pediatr	212	117-123	2019
Ichimiya Y, Sonoda M, Ishimura M, Kanno S, Ohga S	Hemorrhagic Pneumonia as the First Manifestation of Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with Immunodeficiency.	J Clin Immunol	39(3)	264-266	2019
Ogiwara K, Nogami K, Mizumachi K, Nakagawa T, Noda N, Ohga S, Shima M.	Hemostatic assessment of combined anticoagulant therapy using warfarin and prothrombin complex concentrates in a case of severe protein C deficiency.	Int J Hematol.	109 (6)	650-656	2019

Taguchi T, Yanagi Y, Yoshimaru K, Zhang XY, Matsuura T, Nakayama K, Kobayashi E, Yamaza H, Nonaka K, Ohga S, Yamaza T.	Regenerative medicine using stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED): a promising new treatment in pediatric surgery.	Surg Today	49 (4)	316-322	2019
Fujiyoshi J, Yamaza H, Sonoda S, Yuniartha R, Ihara K, Nonaka K, Taguchi T, Ohga S, Yamaza T.	Therapeutic potential of hepatocyte-like-cells converted from stem cells from human exfoliated deciduous teeth in fulminant Wilson's disease.	Sci Rep	9(1)	1535	2019
Kurata H, Ochiai M, Inoue H, Ichiyama M, Yasuoka K, Fujiyoshi J, Matsushita Y, Honjo S, Sakai Y, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan.	A nationwide survey on tracheostomy for very-low-birth-weight infants in Japan.	Pediatr Pulmonol	54(1)	53-60	2019
Hagio Y, Shiraishi A, Ishimura M, Sonoda M, Eguchi K, Yamamoto H, Oda Y, Ohga S.	Posttransplant recipient-derived CD4(+) T-cell lymphoproliferative disease in X-linked hyper-IgM syndrome.	Pediatr Blood Cancer	66 (3)	e27529	2019
Ichiyama M, Inoue H, Ochiai M, Ishimura M, Shiraishi A, Fujiyoshi J, Yamashita H, Sato K, Matsumoto S, Hotta T, Uchiumi T, Kang D, Ohga S.	Diagnostic challenge of the newborn patients with heritable protein C deficiency.	J Perinatol	39 (2)	212-219	2019
Sonoda Y, Yamamura K, Ishii K, Ohkubo K, Ihara K, Sakai Y, Ohga S.	A Child with Prostaglandin I(2)- associated Thyrotoxicosis: Case Report.	J Clin Res Pediatr Endocrinol	11(2)	207-210	2019
Kinjo T, Inoue H, Kusuda T, Fujiyoshi J, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Koga Y, Hara T, Ohga S.	Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis.	Pediatr Neonatol	60 (4)	382-388	2019

Nagao A, Suzuki N, Takedani H, Yamasaki N, Chikasawa Y, Sawada A, Kanematsu T, Nojima M, Higasa S, Amano K, Fukutake K, Fujii T, Matsushita T, Suzuki T.	Ischaemic events are rare, and the prevalence of hypertension is not high in Japanese adults with haemophilia: First multicentre study in Asia.	Haemophilia.	25 (4)	e223-e230	2019
Fukutake K, Taki M, Matsushita T, Sakai M, Takata A, Yamaguchi H, Karumori T.	Postmarketing safety and effectiveness of recombinant factor IX (nonacog alfa) in Japanese patients with haemophilia B.	Haemophilia.	25 (4)	e247-e256	2019
Suzuki A, Suzuki N, Kanematsu T, Shinohara S, Arai N, Kikuchi R, Matsushita T.	Performance evaluation of Revohem(™) FVIII chromogenic and Revohem(™) FIX chromogenic in the CS- 5100 autoanalyser.	Int J Lab Hematol	41 (5)	664-670	2019
Shapiro AD, Angchaisuksiri P, Astermark J, Benson G, Castaman G, Chowdary P, Eichler H, Jiménez-Yuste V, Kavakli K, Matsushita T, Poulsen LH MS, Wheeler AP, Young G, Zupancic-Salek S, Oldenburg J.	Subcutaneous concizumab prophylaxis inhemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors: Phase 2 trial results	Blood	134 (22)	1973-1982	2019
Yaish H, Matsushita T, Belhani M, Jiménez-Yuste V, Kavakli K, Korsholm L, Matytsina I, Philipp C, Reichwald K, Wu R	Safety and efficacy of turoctocog alfa in the prevention and treatment of bleeds in previously untreated paediatric patients with severe haemophilia A: Results from the guardian 4 multinational clinical trial.	Haemophilia	26(1)	64-72	2020
Ogawa M, Suzuki N, Takahashi N, Tamura S, Suzuki A, Suzuki S, Hattori Y, Kakihara M, Kanematsu T, Kojima T, Katsumi A, Hayakawa F, Kojima T, Ishiguro N, Kiyoi H, Matsushita T	Higher FVIII:C measured by chromogenic substrate assay than by one-stage assay is associated with silent hemophilic arthropathy	Thromb Res	Epub ahead of print		2020

松下正,長谷川雄一, 玉井佳子,宮田茂樹, 安村敏,山本晃士, 松本雅則,日本輸血・細胞 治療学会「ガイドライン委 員会」		日本細胞治 療学会誌	65巻 3号	525–537	2019
--	--	---------------	-----------	---------	------