

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

平成 28 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

平成 29 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： 富山佳昭	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	愛媛大学医学部附属病院
研究協力者： 藤村欣吾	安田女子大学
倉田義之	千里金蘭大学
高蓋寿朗	国立病院機構呉医療センター
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
加藤 恒	大阪大学
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

富山佳昭： ITP診断法（網状血小板比率、血中TP0濃度）の標準化と病態解析

桑名正隆： 抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞検出法の実用化に向けた試み

羽藤高明： 臨床調査個人票（平成 24～26 年度）集計による

特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

TMA（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
	和田英夫	三重大学
	小亀浩市	国立循環器病研究センター
	南学正臣	東京大学
	香美祥二	徳島大学
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
	森木隆典	慶應義塾大学
	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
	丸山彰一	名古屋大学
	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

TMA グループ研究総括：松本雅則 -----37

分担研究報告

松本雅則：HELLP 症候群の病態解析

宮川義隆：血液凝固異常症等に関する研究

和田英夫：C3 p. I1157T変異を有するaHUSに関する研究

小亀浩市：先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析に関する研究

南学正臣：本邦における非典型溶血性尿毒症症候群の現状

特発性血栓症 研究グループ

グループリーダー：	津田博子	中村学園大学
班員：	森下英理子	金沢大学
	小嶋哲人	名古屋大学
	宮田敏行	国立循環器病研究センター
	小林隆夫	浜松医療センター
研究協力者：	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
	關谷暁子	金沢大学
	根木玲子	国立循環器病研究センター
	大賀正一	九州大学
	辻 明宏	国立循環器病研究センター
	和田英夫	三重大学

特発性血栓症グループ研究総括：津田博子 -----106 分担研究報告

- 津田博子：新生児期発症プロテインC 欠乏症の臨床像と遺伝子解析の推奨基準
- 森下英理子：先天性アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS 欠乏症の
遺伝子変異同定率・臨床症状・検査所見、ならびに直接型経口抗凝固薬
が活性測定値におよぼす影響に関する研究
- 小嶋哲人：血栓性素因の調査研究：プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異解析
による新たな血栓性素因検索
- 宮田敏行：妊娠中の治療域ヘパリンによる抗凝固療法のモニタリングに関する研究
- 小林隆夫：先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および
女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----157
-------------------	----------

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）

平成28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

本研究班は難治性疾患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としている。血液凝固異常症である3つの疾患、すなわち特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、血栓性微小血管障害症（TMA）、特発性血栓症、を対象としている。ITPとTMAは平成27年1月より、特発性血栓症は特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による。）として平成29年より指定難病医療費助成制度の対象疾患として位置づけられた。3疾患について、それぞれ3つ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、(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図る。平成28年度は3年計画の3年目として、臨床調査個人票の改定、診断基準の改定、診療ガイドの作成および改訂、指定難病検討資料の作成などに取り組んだ。ま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、新規治療の検証と保険適応へ向けての検討を班全員の参加のもとに行った。平成28年度より非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）についても本研究班で取り扱うことになり、TMAサブグループの中で検討された。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臨床個人調査表を基に、平成26年度におけるITPの実態を調査把握した。血栓性血小板減少性紫斑病については、これまで行ってきた患者集積を続行し、USSにおけるADAMTS13遺伝子解析やTTP診療ガイドラインの作成、難治性、再発性TTPに対するリツキシマブの保険適応拡大について検討された。特発性血栓症グループにおいては平成28年度より新生児・小児特発性血栓症研究班と合流し、共同で「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の診断基準および重症度分類を作成し、指定難病認定に向けて資料作成、病態解析を通じた診断法の検討などを行った。なお、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 は特定疾患治療研究事業の対象で公費助成対象疾患である。その診断

ならびに治療法の向上、標準化は極めて重要である。このために本研究班では ITP に関して、1)疫学調査、2)診断および治療の参照ガイドの作成および

改訂、3)病態解析および新規治療法の評価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。

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 臨床個人調査票を基に、新規発症症例数、更新症例数、発症年齢、性、分布、さらには罹病期間、治療内容、合併症、現在の QOL, 等を解析した。さらに ITP 臨床個人調査票の改訂作業を計画した。今年度は平成 26 年度臨床個人調査票に加え平成 24～26 年度の本邦における ITP の実態を調査把握した。平成 26 年度の ITP 医療受給者証所持患者は 27,455 人であり、過去 10 年間ほぼ同数であった。また個人調査票改訂作業について今年度は、これまで新規例と更新例の様式が別様式であったが、それを一つの様式に統一する作業を行った。

ITP 治療の参照ガイドと妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成に関して、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。また班会議の枠を超え、産科、小児科、麻酔科の専門家も参画し専門家のコンセンサスの形で診療の参照ガイドを作成し、「臨床血液」誌に掲載した(妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参照ガイド. 臨床血液 55:934-947, 2014)。これらの成果はすべてオープンアクセス化している。これらの成果はすべてオープンアクセス化している。

その他個別研究に関しては、1) ITP

診断法(網状血小板比率、血中 TP0 濃度)の標準化と病態解析、2)血小板減少状態での血小板機能解析法の検討、3)抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞検出法の実用化に向けた試みなどが実施された。

TTP(血栓性血小板減少性紫斑病)研究グループ

TTP グループの本年度の主要な目標は、日本国内の TMA 症例の集積と病態解析を行い、独自の TTP と aHUS の診療ガイドラインを作成することにあった。本年度から TTP に加えて aHUS も当サブグループの担当となり、グループ名も TMA グループと変更した。TTP と aHUS の症例の集積は順調に継続しており、現在までの解析症例数は TTP 607 例、aHUS146 例となった。aHUS のガイドラインは既に作成されており、本年度 TTP の診療ガイドラインが完成した。

本邦 TMA の症例集積の継続、症例の特徴の解析:ADAMTS13 活性著減例以外にも含めた奈良医大 TMA registry では、2016 年に 51 例が追加され、1998 年以降の症例数は総数 1420 例となった。このうち、TTP の診断基準である ADAMTS13 活性 10%未満の症例が 607 例あり、2016 年の増加数は 26 例であった。

USS における ADAMTS13 遺伝子解析の継続:本年度に USS で ADAMTS13 遺伝子解析を実施した症例は 2 例であり、1 例(USS-S)は以前から我々の registry に登録されており今回解析可能となった症例で、もう 1 例(USS-AAA)は今年新規に登録された症例である。

TTP 治療ガイドの作成:昨年度まで

に本グループでは TTP の診断基準と治療ガイドを作成しており、それを併せさせた形で TTP 診療ガイド 2016 を 9 月 30 日に完成させた。その後、日本血液学会から公表していただくため、同学会の診療委員会で討議していただくとともに、同学会雑誌「臨床血液」に投稿し、査読を受け、受理された。TTP 診療ガイド 2017 として、臨床血液 4 月号に掲載される予定である。

難治性、再発性 TTP に対するリツキシマブの保険適応拡大：リツキシマブの TTP への保険適用拡大のため 2014 年に医師主導治験を実施し、その結果を 2015 年に論文報告した。この結果をもとに PMDA に保険適用の拡大を申請している。

aHUS について：補体制御因子の遺伝子解析：東京大学腎臓・内分泌内科で aHUS と診断した症例は 77 例であり、それ以前に奈良医大輸血部で集積した 69 例を合わせて、146 例となった。このうち、83 例 (56.8%) で異常因子が同定され、H 因子異常が 10 例 (6.6%)、MCP 異常が 9 例 (6.2%)、C3 異常が 37 例 (25.3%)、抗 H 因子抗体陽性例が 20 例 (13.7%) であった。

特発性血栓症研究グループ

「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。今年度は昨年度に続いて特発性血栓症の指定難病認定に取り組んだ。具体的には診断基準、重症度分

類を策定した。また、先天性血栓性素因の病態解析および診断法・治療法の検討を行うとともに「先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドライン」に取り組んだ。平成 29 年度実施分として疾病対策部会にて指定難病に認定され、平成 29 年 4 月から医療費助成が開始される予定である（特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による。）。）今後は患者救済だけでなく、臨床調査個人票による実態調査が可能となることが期待される。

個別研究として：「先天性 AT、PC、PS 欠乏症の遺伝子変異同定率・臨床症状・ならびに直接経口抗凝固薬が活性測定値に及ぼす影響に関する研究」、「新生児発症 PC 欠乏症の臨床像と遺伝子解析の推奨基準」、「プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異解析による新たな血栓性素因検索」、「妊娠中の治療域へパリンによる抗凝固療法のモニタリングに関する研究」、「先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定」、「熊本地震における静脈血栓塞栓症」、「特発性血栓症としての腹部静脈血栓症」、「超変革 APTT による抗凝固療法のモニターと不育症と血栓性素因」、「ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞における合成プロゲステロン製剤による PS mRNA 発現増加の分子機構解析」が行われた。

特発性血栓症は難治性疾患であるにも拘らず医療費助成の対象となっていなかったが、平成 26-28 年度の研究活動により先天性 PC、PS、AT 欠乏症を要因とする「特発性血栓症（遺伝性血栓性

素因による。)」が平成 29 年度実施分の指定難病に認定されたことは大きな成果といえる。今後、診断法・治療法の標準化、先天性 PC、PS、AT 欠乏症以外の先天性血栓性素因への対応、先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドライン策定などが課題である。

グループ研究報告書

ITP（特発性血小板減少性紫斑病）サブグループ研究報告

グループリーダー： 富山佳昭 大阪大学医学部附属病院 病院教授

班員： 桑名正隆 日本医科大学 教授

羽藤高明 愛媛大学医学部附属病院 病院教授

村田 満 慶應義塾大学医学部 教授

研究協力者： 藤村欣吾 安田女子大学 教授

倉田義之 千里金襴大学

高蓋寿朗 国立病院機構呉医療センター 科長

柏木浩和 大阪大学大学院医学系研究科 講師

宮川義隆 埼玉医科大学 教授

加藤 恒 大阪大学大学院医学系研究科 助教

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

グループ総括

分担研究者：富山 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。疫学研究は平成 26 年度臨床個人調査表に加え平成 24～26 年度の本邦における ITP の実態を調査把握した。平成 24～26 年度の解析においても、発症年齢、更新年齢とも中高年の男女に最も多い事が確認された。治療の標準化に関しては、本研究班にて作成した「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」は、「臨床血液」誌に掲載後、血液内科医以外の診療科の医師も参照できるようにフリーアクセスとした。さらに執筆活動や講演により、その啓蒙に努めた。医師主導型治験として行った ITP に対するリツキシマブ療法に関して、論文発表を行った。また、平成 27 年 1 月より新たに施行された指定難病医療費助成制度における、ITP の臨床個人調査表の改訂、重症度分類の設定を行った。個人研究では、診断に関して、引き続き検査の標準化を検討し、IPF%の測定法に関してその保険収載に向けての基礎的検討、血小板抗体測定法である ELISPOT 法のキット化とその実用化の検討を行った。

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 28 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、ITP の臨床疫学的研究を経年的に行い最近の

ITP の臨床実態を明らかにした。治療に関しては治療プロトコ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、これらの参照ガイドのさらなる啓発および ITP に関する新たな診断法としての血中 TP0 濃度、IPF%の測定、ELISPOT 法の検討を行った。

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 臨床個人調査表を基に、新規発症症例数、更新症例数、発症年齢、性、分布、さらには罹病期間、治療内容、合併症、現在の QOL, 等を解析した。さらに ITP 臨床個人調査表の改訂作業を計画した。

2. 治療の標準化に関しては、「成人 ITP 治療の参照ガイド」、「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」の公開と啓発に努めた

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、網状血小板比率 (RP%) を提唱しているが、再生不良性貧血に加え骨髓異形性症候群 (MDS) と ITP の鑑別に関し検討した。抗血小板抗体検出法である ELISPOT 法のキット化の推進とその検証を行った。

(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、残余検体を用いた。

C. 研究結果

1. ITP の疫学研究 (羽藤班員、倉田研究協力者、島田研究協力者)

1) 臨床調査個人票登録率

平成 26 年度の ITP 医療受給者証所持患者は 27,455 人であり、過去 10 年間ほぼ同数であった。このうち解析可能であった臨床調査個人票の比率は、平成 24、25 年度でそれぞれ 75、53%であったが、平成 26 年度は 12%と極端に低下していた。そのため、平成 26 年度の調査は網状血小板比率と出血症状の解析にとどめ、平成 24 年と 25 年のデータを集計して本邦における ITP 罹患率等の解析を行った。平成 26 年度の臨床調査個人票回収率減少の原因は、ITP 医療受給者証所持患者数が一定であることから、都道府県から厚労省への臨床調査個人票データの入力率が低下したため、厚労省データベースのデー

タ量が減少したことによるものと推察された。

2) 新規患者年齢分布

新規登録され ITP 患者の年齢分布に関しては女性は 31-35 歳と 81-85 歳をピークとする 2 峰性を示し、男性は 81-85 歳をピークとする 1 峰性を示した。

平成 24、25 年度の新規登録患者数と各年度の日本人口統計を基にして成人 (21 歳以上) ITP の罹患率を算出したところ、2.6 人/10 万人/年であった。罹患率のピークは 81-85 歳の男性にあり、7.1 人/10 万人/年であった。成人 ITP は明らかに高齢者の疾患となっており、従来からピークがあるとされていた 30 歳代女性と比べて 70 歳以上の高齢者はその 2 倍以上の罹患率に達していることがわかった。

3) 出血症状

平成 24~26 年度新規 ITP 患者 5,729 人の解析では、紫斑を 66%の症例において認めた。その他、歯肉出血 (21%)、鼻出血 (13%) など、粘膜出血の頻度も高かった。重篤な出血と考えられる臓器出血は血尿 (6.1%)、下血 (6.1%)、脳出血 (1.3%) であり、頻度は低いものの患者の QOL や生命予後へのインパクトは大きいと考えられた。

4) 消化管出血 (下血)

重篤な出血合併症である消化管出血についてリスク因子を解析した。平成 24~26 年の 3 年間における新規登録 ITP 患者 5,729 人中 347 人 (6.1%) に消化管出血がみられた。カイ 2 乗検定による単変量解析では、男性、高齢、血小板数低値であることが有意なリスク因子であったが、多変量ロジスティック回帰解析を行うと、独立したリスク因子として同定されたのは Hb 低下と網状血小板比率上昇の 2 項目だけであった。

5) 脳出血

脳出血についても消化管出血と同様のリスク因子解析を行った。平成 24～26 年の 3 年間における新規登録 ITP 患者 5,729 人中 75 人 (1.3%) に脳出血がみられた。カイ 2 乗検定による単変量解析では高齢、血小板数低値、Hb および Ht 低下が有意なリスク因子であったが、多変量ロジスティック回帰解析を行うと、独立したリスク因子として同定されたのは年齢、血小板数、Hb の 3 項目だけであった。

6) 網状血小板比率

平成 24～26 年度の新規 ITP 登録患者中 1,077 人に網状血小板比率が測定されていた。異常高値の例もあり、MYH9 異常症などが含まれていると考えられた。

7) 治療

慢性型 ITP においては平成 24、25 年を通じてプレドニゾロンが 55.6% と最も多く選択されていた治療法であった。脾摘の実施率は平均 2.4%/年であった。トロンボポエチン受容体作動薬は 10% 前後の患者に投与されていた。また、更新慢性型 ITP 患者で治癒または軽快と判定された患者の割合 (軽快率) は平成 23 年度までは 20.8～21.1% で推移していたが、平成 24 年度は 22.4%、平成 25 年度は 23.3% と微増していた。この上昇は平成 22 年から導入されたピロリ菌除菌療法および平成 23 年から販売されたトロンボポエチン受容体作動薬が関与しているものと推察された。

8) 個人調査表の改訂作業

今年度は、臨床調査個人表に関して、今までは新規例と更新例の様式が別様式であったが、それを一つの様式に統一する作業を行った。

2. ITP 治療の参照ガイドと妊娠合併 ITP 管理の参照ガイド (富山班員、桑名班員、村田班長、藤村研究協力者、倉田研究協力者、宮川研究協力者、高蓋研究協力者、柏木研究協力者)

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。妊娠合併 ITP に関しても、班会議の枠を超え、産科、小児科、麻酔科の専門家も参画し専門家のコンセンサスの形で治療の参照ガイドを作成し、「臨床血液」誌に掲載した (妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参照ガイド. 臨床血液 55:934-947, 2014)。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/inketsu/53/4/53_433/_article/-char/ja/
https://www.jstage.jst.go.jp/article/inketsu/55/8/55_934/_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。

3. 個人研究

1) ITP 診断法(網状血小板比率、血中TP0 濃度)の標準化と病態解析(富山班員、柏木研究協力者、加藤研究協力者)

ITPの診断の基本は除外診断であるが、特に再生不良性貧血(AA)や骨髓異形性症候群(MDS)との鑑別が問題になることが多い。網状血小板(RP)は細胞内にRNAを豊富に含む幼若な血小板であり、網状血小板比率(RP%)は血小板寿命を反映していると考えられている。また血中トロンボポエチン(TPO)濃度は主に血小板および巨核球の総数により規定されている。本個別研究ではITP症例と、AAあるいは化学療法後の血小板減少患者のIPF%をXE-2100およびXN-1000を用いて測定し、FCM法と比較することにより、新機種XN-1000におけるIPF%の有用性を検討した。更に低形成血小板減少症だけでなくMDSとITPの鑑別におけるRP%と血中TPO濃度測定の有用性についても検討を行った。本年度の検討により、新機種であるXN-1000を用いたIPF%測定により、簡便にFCM法に匹敵する感度と特異度を持って網状血小板比率を測定することが可能であることが示された。XN-1000においては破碎赤血球によるIPF%の偽陽性を排除することも可能であり、その有用性が高いことが示された。また、MDS症例においては、芽球の少ない低リスクMDSにおいては正常もしくはAAパターン(RP%正常かつTPO濃度著明高値)を示し、

芽球の多い高リスクMDSにおいても、血小板数高値を認める症例を除いて、正常パターンであった。従って、RP%高値かつTPO濃度は軽度上昇に留まるITPパターンを示す症例は少なく、これらの検査は血小板減少患者におけるITPとMDSの鑑別においても有用であることが示唆された。

2) 血小板減少状態での血小板機能解析法の検討

本研究ではフローサイトメトリーを用いた血小板機能の多角的な評価方法を確立し、ITP患者における血小板機能の評価を行った。

FCA法を用いることにより、血小板数2-3万程度の血小板減少患者においても、経時的にPMA, ADP, PAR1pおよびコラーゲン刺激後の血小板凝集能を検討することが可能となった。ITPの一例においてはFCA法およびPAC1, CD62P発現を検討し、血小板機能が軽度に障害されていることが示唆され、現在再現性も含め症例数を増やし検討中である。

3) 抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞検出法の実用化に向けた試み(桑名班員)

本年度は、キット化に成功している抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞(ITP-ELISPOT、MBL社)を体外診断薬としての質を高めることを目的とした。具体的には、体外診断用医薬品として申請するためのロードマップを医薬品医療機器総合機構による体外診断用医薬品の承認申請に係わる関連通知(<http://www.pmda.go.jp/operations/shonin/info/taigai.html>)に照らし合わせて立案した。その中で必要な改善点を検討し、①キット仕様の確定、②校正用基準物質の設定、③品質管理の確立、④測定範

囲の決定の4項目に絞り込んだ。さらに、主にキットに添付する陽性・陰性コントロールを設定することでキット仕様を確定した。そこで、本年度は、キットとしての構成内容を確定するための製品仕様の改良、製造安定性の確保、ユーザビリティの向上に向けた取り組みを実施し、品質管理法を確立した。

キットの品質管理には校正用基準物質としてヒト抗 GPIIb/IIIa 抗体を産生する細胞が必要である。昨年度作成に成功した#33 キメラ株は抗 GPIIIa 抗体であり、固相化 GPIIb/IIIa に結合するものの、ITP 患者で産生される GPIIb/IIIa の高次構造を認識する自己抗体と抗原反応性が異なる。そのため、ITP 患者で産生される抗 GPIIb/IIIa 抗体により近い抗原特異性を有する 2 つの新たなキメラ型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生株を作成した。OPG2 キメラ、PAC1-IgG キメラともに固相化 GPIIb/IIIa に結合し、2 価イオンキレート剤存在下での高次構造の修飾により結合親和性が低下した。2 価イオンキレート剤非存在の条件で、PAC1-IgG キメラは#33 キメラとほぼ同等の結合を示したにもかかわらず、OPG2 キメラの結合活性は低かった。そこで、校正用基準物質として用いるヒト型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生細胞として、PAC1-IgG キメラ株と#33 キメラ株の両者を用い、対照として GPIIb/IIIa 以外と反応するキメラ型抗体を産生する CHO 細胞を使用することとした。

ユーザビリティ向上のため、従来は使用直前に試薬の希釈や混合を求めている 2 次抗体液(酵素標識抗ヒト IgG 抗体)、酵素発色液について、様々な条件設定を用いて長期保存性を向上することで ready-to-use 化に成功した。昨年度作成

した陽性、陰性コントロールビーズに加えて最終的なキット構成仕様を確定した。

さらに抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞 (ITP-ELISPOT) を診断用医薬品として承認申請するためのロードマップに従って、ITP 患者や健常人末梢血などヒト検体を用いて至適な測定条件(検体量、保存安定性、抗凝固薬の影響など)やカットオフを設定する必要がある。また、平成 28 年度末までにカットオフの設定と同時に試薬の最終仕様を確定する。さらに、キットの構成が確定した平成 29 年度以降に多施設での臨床性能試験を施設する予定である。

D. 考案

ITP の診療は、近年大きく変化している。新たに ITP に対するリツキシマブの医師主導型治験の成績も本班員が中心となり遂行しその成果を発表している。リツキシマブの保険収載はいまだ未定であるが、保険収載にむけて努力するとともに、保険収載になれば ITP 診療の参照ガイド改訂も計画している。

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 の現状把握し、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た情報発信が急務であり、今後の課題として継続して取り組む予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato H, Nakazawa Y, Kurokawa Y, Kashiwagi H, Morikawa Y, Morita D, Banno F, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. Human CalDAG-GEFI deficiency increases bleeding and delays α IIb β 3 activation. **Blood** 128:2729-2733, 2016
- 2) Fujita S, Kashiwagi H, Tomimatsu T, Ito S, Mimura K, Kanagawa T, Endo M, Miyoshi T, Okamura Y, Tani Y, Tomiyama Y, Kimura T. Expression levels of ABCG2 on cord red blood cells and study of fetal anemia associated with anti-Jr(a). **Transfusion** 56:1171-81, 2016
- 3) Mori S, Yamanouchi J, Okamoto K, Hato T, Yasukawa M: A novel frameshift mutation leading to inherited type I antithrombin deficiency. **Blood Coagul Fibrin** 28:189-192, 2017
- 4) Yamanouchi J, Hato T, Shiraishi S, Takeuchi K, Yakushijin Y, Yasukawa M: Vancomycin-induced Immune Thrombocytopenia Proven by the Detection of Vancomycin-dependent Anti-platelet Antibody with Flow Cytometry. **Intern Med** 55:3035-3038, 2016
- 5) Matsubara E, Yamanouchi J, Kitazawa R, Azuma T, Fujiwara H, Hato T, Yasukawa M: Usefulness of Low-Dose Splenic Irradiation prior to Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Elderly Patients with Myelofibrosis. **Case reports in Hematol Article ID** 2389038, 2016
- 6) Fujimori Y, Wakui M, Katagiri H, Ohira K, Shimizu N, Murata M : Evaluation of anticoagulant effects of direct thrombin inhibitors, dabigatran and argatroban, based on the Lineweaver-Burk plot applied to the Clauss assay **J Clin Pathol** April 69(4): 370-2, 2016
- 7) Koyama Y, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, Ogata T, Murata M, and Hasegawa T : Classic and non-classic 21-hydroxylase deficiency can be discriminated from P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants by urinary steroid metabolites. **Clin Pediatr Endocrinol** 25(2)37-44, 2016
- 8) Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S: Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. **International Journal of Hematology** 104(2):228-35, 2016
- 9) Uchiyama S, Ishizuka N, Shimada K, Teramoto T, Yamazaki T, Oikawa S, Sugawara M, Ando K, Murata M, Yokoyama K, Minematsu K, Matsumoto M, Ikeda Y, and on behalf of the JPPP Study Group: Aspirin for Stroke Prevention in Elderly Patients With Vascular

- Risk Factors. **Stroke** 47(6):1605-1611, 2016
- 10) Ono-Uruga Y, Tozawa K, Horiuchi T, Murata M, Okamoto S, Ikeda Y, Suda T, Matsubara Y.: Human adipose tissue-derived stromal cells can differentiate into megakaryocytes and platelets by secreting endogenous thrombopoietin. **J Thromb Haemost** 14(6):1285-97, 2016
 - 11) 柏木浩和. 自己免疫性血小板減少症. **血液科研修ノート** (永井良三, 神田善伸編), 診断と治療社, 東京, 2016, pp360-364
 - 12) 柏木浩和. ITP の治療. **EBM 血液疾患の治療 2017-2018** (金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2016, pp392-396
 - 13) 柏木浩和. 本態性血小板血症の分子病態と治療の進歩. **Ph 陰性骨髓増殖性疾患～分子病態と治療の最前線～** (金倉 譲編), 医薬ジャーナル, 大阪, 2016, pp392-396
 - 14) 富山佳昭, 佐藤金夫, 尾崎由基男, 清水美衣, 田村典子, 西川政勝, 野村昌作, 堀内久徳, 松原由美子, 矢富 裕, 山崎昌子, 羽藤高明. 透過光血小板凝集検査法の標準化:「国際血栓止血学会血小板機能部会からの提言」の紹介と解説. **血栓止血誌** 27:365-369, 2016
 - 15) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). **メディカル・テクノロジー** 44:362-367, 2016
 - 16) 富山佳昭. 輸血療法とその副作用対策. **Medical Practice** 33:1461-1465, 2016
 - 17) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. **日常診療に活かす 診療ガイドライン UP-TO-DATE 2016-2017** (門脇孝, 小室一成, 宮地良樹編), pp448-452, 2016
 - 18) 富山佳昭. 妊娠 ITP の治療方針は? **EBM 血液疾患の治療 2017-2018** (金倉譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2016, pp389-391
 - 19) 細川美香, 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, 和田浩志, 丸橋繁, 江口英利, 永野浩昭, 富山佳昭. ABO 血液型メジャー不適合成人生体肝移植におけるリツキシマブ投与例, 非投与例の抗 A, 抗 B 抗体価の推移と FFP の使用状況. **日本輸血細胞治療学会誌** 62:24-31, 2016
 - 20) 羽藤高明 血小板輸血に関する最近の理解 **Annual Review 2016 血液** 198-204, 2016 中外医学社、東京
 - 21) 羽藤高明 HUS/TTP と DIC の鑑別腎と透析 診療指針 2016 454-457, 2016 東京医学社、東京
 - 22) 松原悦子、山之内純、羽藤高明、竹内一人、新家敏之、安川正貴
再発時に rituximab が著効した高齢者の血栓性血小板減少性紫斑病 **臨床血液** 57:869-872, 2016
 - 23) 藤森祐多, 涌井昌俊, 片桐尚子, 大平賢太郎, 清水長子, 三ツ橋雄之, 村田満: Clauss 法を用いたフィブリノゲン測定によるダビガトランモニタリングの可能性についての基礎的検討 **臨床病理** 64(7)765-770 2016
2. 学会発表
 - 1) The 9th Congress of the Asian-

- Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis (2016.10.6-9, Taipei International Convention Center, Taiwan, Ming-Ching Shen) (Oral) Tomiyama Y. Pathology and diagnosis of ITP.
- 2) The World Congress of the World Federation of Hemophilia 2016, 2016.7.27 Orlando, USA. Nakao A, Yamanouchi J, Hato T: Participation of clinical psychologist in a non-hemophilia treatment center.
- 3) ASH 58th Annual Meeting & Exposition December San Diego. Karigane D, Kasahara H, Sakurai M, Matsuki E, Tozawa K, Koda Y, Toyama T, Kikuchi T, Kato J, Shimizu T, Mori T, Yatabe Y, Arai T, Mitsuhashi T, Murata M, Kobayashi H, Takubo K, Okamoto S: correlation of Expression of CD25 in Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Fraction of Bone Marrow Cells with Response to Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myelogenous Leukemia Patients.
- 4) ASH 58th Annual Meeting & Exposition December San Diego. Tozawa K, Ono-Uruga Y, Yazawa M, Mori T, Takizawa N, Murata M, Okamoto S, Ikeda Y, Matsubara Y: Manufacture of Platelets from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stromal/Stem Cells: Functional Comparison to Concentrate Platelets.
- 5) 第 41 回日本脳卒中学会総会 (2016.4.14-16 ロイトン札幌他, 北海道, 寶金 清博) (シンポジウム) 柏木浩和. 血小板血栓形成の分子メカニズム: 最新の話
- 6) 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 (2016.4.28-30, 国立京都国際会館, 京都, 前川 正) (シンポジウム) 柏木浩和, 藤田聡子, 富松拓治, 木村正, 富山佳昭. Jra 不適合妊娠の臨床像と胎児貧血の機序
- 7) 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 (2016.4.28-30, 国立京都国際会館, 京都, 前川 正) (シンポジウム) 富山佳昭. 血小板減少症の診断と治療
- 8) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016.6.16-18. 奈良春日野国際フォーラム豊, 奈良, 嶋 緑倫) (シンポジウム) 加藤 恒, 柏木浩和, 富山佳昭. Integrin inside-out activation: the role of CalDAG-GEFI in platelet integrin α IIb β 3 activation.
- 9) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016.6.16-18. 奈良春日野国際フォーラム豊, 奈良, 嶋 緑倫) (口演) 富山佳昭. 血小板減少症の病態と治療
- 10) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016.6.16-18. 奈良春日野国際フォーラム豊, 奈良, 嶋 緑倫) (口演) 森川陽一郎, 加藤 恒, 芥田敬吾, 柏木浩和, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭. The association of PAR4 polymorphism with human platelet reactivity in Japanese
- 11) 第 17 回日本検査血液学会学術集会 (2016.8.6-7, 福岡国際会議場, 福岡,

- 赤司浩一) (シンポジウム) 柏木浩和. ITP の病態, 診断および治療
- 12) 第 78 回日本血液学会学術集会 (2016. 10. 13-15, パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷絹子) (シンポジウム) 富山佳昭. Practical guide for the management of adult primary immune thrombocytopenia
- 13) 第 78 回日本血液学会学術集会 (2016. 10. 13-15, パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷絹子) (口演) 森川陽一郎, 加藤 恒, 芥田敬吾, 柏木浩和, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭. トロンビン受容体 PAR4 多型性の血小板機能における意義
- 14) 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 2016. 4. 28, 国立京都国際会館, 京都, 前川 正) (シンポジウム) 羽藤高明 血小板減少症に対する血小板輸血療法
- 15) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016. 6. 16-18. 奈良春日野国際フォーラム 麓, 奈良, 嶋 緑倫) 羽藤高明 後天性血友病の病態と検査: 最近の進歩と課題 ランチョンセミナー 2016. 6. 17 奈良
- 16) 第 40 回日本血液事業学会総会ランチョンセミナー (2016. 10. 4 名古屋) 羽藤高明 血小板減少症と輸血療法
- 17) 第 60 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会 (2016. 11. 26, 大阪国際会議場) (招請講演) 羽藤高明 血小板輸血の適応に関する最近の理解
- 18) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016. 6. 16-18. 奈良春日野国際フォーラム 麓, 奈良, 嶋 緑倫) 山之内 純, 森 紗綾, 羽藤高明 ゲノム定量 PCR 法が有用であった先天性アンチトロンビン欠乏症の遺伝子解析
- 19) 第 78 回日本血液学会学術集会 (2016. 10. 13, パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷絹子) Yamanouchi J, Hato T, Ikeda Y, Asai H, Matsubara E, Tanimoto K, Takeuchi T, Azuma T, Fujiwara H, Yakushijin Y, Yasukawa M: High serum thrombopoietin levels in a favorable subpopulation of MDS with thrombocytopenia.
- 20) 第 17 回日本検査血液学会学術集会 平成 28 年 8 月 6 日～7 日 福岡. 藤森祐多, 片桐尚子, 涌井昌俊, 清水長子, 阪田敏幸, 三ツ橋雄之, 村田満: トロンビン力価の異なるフィブリノゲン測定試薬を用いた直接トロンビン阻害薬モニタリングの基礎的検討.
- 21) 第 63 回日本臨床検査医学会学術集会 平成 28 年 9 月 1 日～9 月 4 日 神戸. 藤森祐多, 片桐尚子, 清水長子, 柴田綾子, 三ツ橋雄之, 涌井昌俊, 村田満: 直接型経口抗凝固薬添加血漿を用いた活性化部分トロンボプラスチン時間凝固波形解析の検討.
- 22) 第 48 回日本臨床検査自動化学会 平成 28 年 9 月 22 日～24 日 横浜. 藤森祐多, 篠原那美, 枝千春, 片桐尚子, 清水長子, 篠原翔, 新井信夫, 柴田綾子, 三ツ橋雄之, 涌井昌俊, 窓岩清治, 村田満: 血液凝固因子活性測定法の標準化に向けた CS-2400 による第 IX 因子活性測定の基礎的検討.
- 23) 第 48 回日本臨床検査自動化学会 平成 28 年 9 月 22 日～24 日 横浜. 野口由樹子, 藤森祐多, 矢作かおり, 香坂亜沙美, 片桐尚子, 清水長子, 柴田

綾子、三ツ橋雄之、涌井昌俊、村田満：
血液凝固自動分析装置 ACL TOP500 を
用いたダビガトラン測定の基礎的検
討.

- 24) **第 48 回日本臨床検査自動化学会** 平
成 28 年 9 月 22 日～24 日 横浜. 篠
原那美、枝千春、藤森祐多、武田裕子、
篠原翔、新井信夫、涌井昌俊、窓岩清
治、村田満 : CS-2400 を用いた合成基
質法による血液凝固第 VIII 因子活性
測定の基礎的検討.

- 25) **第 78 回日本血液学会学術集会**
(2016. 10. 13-15, パシフィコ横浜,
神奈川, 三谷絹子) Ohmine K, Madoiwa
S, Kaoru H, Tsukasa O, Osaki T,
Souri M, Ishinose A, Ohmori T,
Sakata Y, Murata M, Kanda Y :

Factor XIII deficiency
deteriorates bleeding symptom in
a patient with anti-factor XI
inhibitor.

【メディア】

- 1) 富山佳昭、聖教新聞. 特発性血小板
減少性紫斑病. 2016 年 9 月 18 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

ITP診断法（網状血小板比率、血中TPO濃度）の標準化と病態解析

研究分担者： 富山 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
加藤 恒 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 診断において幼若な血小板である網状血小板比率の測定は、再生不良性貧血などの低形成性血小板減少症との鑑別に有用である。今回、より簡便な網状血小板測定法である幼若血小板分画 (IPF%) の有用性を、新機種および旧機種において検討したところ、新機種においては Flow cytometry 法に匹敵する感度、特異性を得られた。また骨髓異形性症候群 (MDS) 症例において RP% および血中トロンボポエチン (TPO) 濃度を検討した結果、MDS 症例においては、いずれも正常もしくは再生不良性貧血症例に認められる RP% 正常かつ血中 TPO 著明高値である症例が多かった。MDS においては ITP で認められる RP% 増加かつ TPO 濃度はほぼ正常である症例は認めず、これらの検査は MDS と ITP の鑑別においても有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

ITP の診断の基本は除外診断であるが、特に再生不良性貧血 (AA) や骨髓異形性症候群 (MDS) との鑑別が問題になることが多い。網状血小板 (RP) は細胞内に RNA を豊富に含む幼若な血小板であり、網状血小板比率 (RP%) は血小板寿命を反映していると考えられている。また血中トロンボポエチン (TPO) 濃度は主に血小板および巨核球の総数により規定されている。我々は Flow cytometry を用いた RP% 測定 (FCM 法) と血中トロンボポエチン (TPO) 濃度測定が、AA などの低形成性血小板減少との鑑別に有用であることを報告してきた (Kurata et al. *Am J Clin Pathol* 2001)。しかし FCM 法は精度は高いものの高価な機器と煩雑な操作のため本法による網状血小板測定が実施可能な施設は限られている。近年、シスメックス社製多項目自動血球分析装置において、RNA が含まれ

る血小板分画を幼若血小板分画 (immature platelet fraction, IPF) として簡便かつ迅速に測定することが可能となっている。旧機種である XE-2100 を用いた IPF% 測定は ITP 診断の感度と特異性に難点があったが (林ら、*臨床病理* 2009)、最新機器である XN シリーズにおいては IPF 専用チャネルを設けたことによりその精度の改善が期待されている。我々は ITP 症例と、再生不良性貧血あるいは化学療法後の血小板減少患者の IPF% を XE-2100 および XN-1000 を用いて測定し、FCM 法と比較することにより、新機種における IPF% の ITP 診断における有用性を検討した。更に低形成血小板減少症だけでなく MDS と ITP の鑑別における RP% と血中 TPO 濃度測定の有用性についても検討を行った。

B. 研究方法

1) IPF%測定に関する検討: ITP症例47例(血小板数 5.68 ± 3.38 万/ μ L)、再生不良性貧血(AA)または化学療法による血小板減少例(CIT)28例(血小板数 4.25 ± 2.75 万/ μ L)、正常コントロール80例において、FCM法を用いたRP%測定、XE-2100およびXN-1000を用いたIPF%測定を同一検体を用いて行い、各検査のITP診断における感度および特異度を検討した。また破碎赤血球の影響をみるため、発作性夜間血色素尿症(PNH)患者16例においても検討した。

2) MDS症例における検討: MDS症例39例(うち骨髓芽球5%未満の症例29例、芽球5%以上の症例10例)におけるFCM法によるRP%測定、およびELISAを用いた血中TPO濃度測定を行った。

尚、本研究は大阪大学医学部倫理委員会の承認を得ており、患者からは研究協力に関し、十分な説明の上で書面による同意書を得ている。

C. 研究結果

1) IPF%測定に関する検討: FCM法、XE-2100あるいはXN-1000を用いたIPF%測定のいずれにおいてもITP症例では、正常コントロールに比べ有意に増加していた。一方、AAあるいはCIT症例においては、XN-1000ではXE-2100で認められた偽陽性率が低下し、XE-2100の特異度が75.0%であるのに対し、XN-1000では特異度が89.3%とFCM法と同等の感度・特異度が得られた。またPNH症例16例を検討した結果、XE-2100ではIPF%の基準範囲を大きく上回る症例が6例認められたのに対し、XN-1000およびFCM法ではすべての症例は正常範囲内にあり、XN-1000では

破碎赤血球などの赤血球粒子の影響を受け難く、溶血性疾患におけるIPF%の偽陽性率が低下することが示された。

2) MDS症例における検討:

ITP患者47例ではほぼ全例がRP%高値、血中TPO濃度は軽度上昇に留まっていたのに対し、AA患者18例においては、RP%正常かつ血中TPO濃度は著明高値を認めた。芽球5%以下の低リスクMDS症例29例においては、全例RP%は正常範囲内に留まったが、血中TPO濃度は約半数の症例で増加を認めた。一方、芽球5%以上の高リスクMDS症例10例においては、2例でRP%高値を認めたが、2例ともに血小板数20万/ μ L以上であり、血小板数10万/ μ L以下の症例においては、RP%の増加した症例は認めなかった。また血中TPO濃度は全例が正常～軽度高値の範囲内であった。

D. 考察

我々は、RP%と血中TPO濃度測定は、ITPとAAなどの低形成血小板減少症との鑑別において有用であることを報告してきたが、FCMを用いたRP%測定は測定方法の煩雑性から標準化することが困難であった。今回の検討により、新機種であるXN-1000を用いたIPF%測定により、簡便にFCM法に匹敵する感度と特異度を持って網状血小板比率を測定することが可能であることが示された。XN-1000においては破碎赤血球によるIPF%の偽陽性を排除することも可能であり、その有用性が高いことが示された。

また、今回、MDS症例におけるRP%と血中TPO濃度を検討したところ、芽球の少ない低リスクMDSにおいては正常もしくはAAパターン(RP%正常かつTPO濃度著明高値)を示し、芽球の多い高リスクMDSに

においても、血小板数高値を認める症例を除いて、正常パターンであった。従って、RP%高値かつTPO濃度は軽度上昇に留まるITPパターンを示す症例は少なく、これらの検査は血小板減少患者におけるITPとMDSの鑑別においても有用であることが示された。

E. 結論

鑑別診断が中心であるITP診断において、RP%および血中TPO濃度測定はAAだけでなくMDSとの鑑別においても有用である。またXN-1000を用いたIPF%測定はRP%に比べより簡便であり、かつ同程度の感度と特異度を有することから、臨床的な有用性が高いと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato H, Nakazawa Y, Kurokawa Y, Kashiwagi H, Morikawa Y, Morita D, Banno F, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. Human CalDAG-GEFI deficiency increases bleeding and delays α IIb β 3 activation. **Blood** 128:2729-2733, 2016
- 2) Fujita S, Kashiwagi H, Tomimatsu T, Ito S, Mimura K, Kanagawa T, Endo M, Miyoshi T, Okamura Y, Tani Y, Tomiyama Y, Kimura T. Expression levels of ABCG2 on cord red blood cells and study of fetal anemia associated with anti-Jr(a). **Transfusion** 56:1171-81, 2016
- 3) 柏木浩和. 自己免疫性血小板減少症. **血液科研修ノート** (永井良三, 神田善伸編), 診断と治療社, 東京, 2016, pp360-364

- 4) 柏木浩和. ITP の治療. **EBM 血液疾患の治療 2017-2018** (金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2016, pp392-396
- 5) 柏木浩和. 本態性血小板血症の分子病態と治療の進歩. **Ph 陰性骨髄増殖性疾患～分子病態と治療の最前線～** (金倉 譲編), 医薬ジャーナル, 大阪, 2016, pp392-396
- 6) 富山佳昭, 佐藤金夫, 尾崎由基男, 清水美衣, 田村典子, 西川政勝, 野村昌作, 堀内久徳, 松原由美子, 矢富 裕, 山崎昌子, 羽藤高明. 透過光血小板凝集検査法の標準化:「国際血栓止血学会血小板機能部会からの提言」の紹介と解説. **血栓止血誌** 27:365-369, 2016
- 7) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). **メディカル・テクノロジー** 44:362-367, 2016
- 8) 富山佳昭. 輸血療法とその副作用対策. **Medical Practice** 33:1461-1465, 2016
- 9) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. **日常診療に活かす 診療ガイドライン UP-TO-DATE 2016-2017** (門脇孝, 小室一成, 宮地良樹編), pp448-452, 2016
- 10) 富山佳昭. 妊娠 ITP の治療方針は? **EBM 血液疾患の治療 2017-2018** (金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2016, pp389-391
- 11) 細川美香, 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, 和田浩志, 丸橋繁, 江口英利, 永野浩昭, 富山佳昭. ABO 血液型メジャー不適合成人生体肝移植におけるリツキシマブ投与例,

非投与例の抗 A, 抗 B 抗体価の推移と FFP の使用状況. 日本輸血細胞治療学会誌 62:24-31, 2016

2. 学会発表

- 1) The 9th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis (2016.10.6-9, Taipei International Convention Center, Taiwan, Ming-Ching Shen) (Oral) Tomiyama Y. Pathology and diagnosis of ITP.
- 2) 第 41 回日本脳卒中学会総会 (2016.4.14-16 ロイトン札幌他, 北海道, 寶金清博) (シンポジウム) 柏木浩和. 血小板血栓形成の分子メカニズム: 最新の話
- 3) 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 (2016.4.28-30, 国立京都国際会館, 京都, 前川 正) (シンポジウム) 柏木浩和, 藤田聡子, 富松拓治, 木村正, 富山佳昭. Jra 不適合妊娠の臨床像と胎児貧血の機序
- 4) 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 (2016.4.28-30, 国立京都国際会館, 京都, 前川 正) (シンポジウム) 富山佳昭. 血小板減少症の診断と治療
- 5) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016.6.16-18. 奈良春日野国際フォーラム豊, 奈良, 嶋 緑倫) (シンポジウム) 加藤 恒, 柏木浩和, 富山佳昭. Integrin inside-out activation: the role of CalDAG-GEFI in platelet integrin α IIb β 3 activation.
- 6) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016.6.16-18. 奈良春日野国際フ

ォーラム豊, 奈良, 嶋 緑倫) (口演) 富山佳昭. 血小板減少症の病態と治療

- 7) 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 (2016.6.16-18. 奈良春日野国際フォーラム豊, 奈良, 嶋 緑倫) (口演) 森川陽一郎, 加藤 恒, 芥田敬吾, 柏木浩和, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭. The association of PAR4 polymorphism with human platelet reactivity in Japanese
- 8) 第 17 回日本検査血液学会学術集会 (2016.8.6-7, 福岡国際会議場, 福岡, 赤司浩一) (シンポジウム) 柏木浩和. ITP の病態, 診断および治療
- 9) 第 78 回日本血液学会学術集会 (2016.10.13-15, パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷絹子) (シンポジウム) 富山佳昭. Practical guide for the management of adult primary immune thrombocytopenia
- 10) 第 78 回日本血液学会学術集会 (2016.10.13-15, パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷絹子) (口演) 森川陽一郎, 加藤 恒, 芥田敬吾, 柏木浩和, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭. トロンビン受容体 PAR4 多型性の血小板機能における意義

【メディア】

- 1) 富山佳昭、聖教新聞. 特発性血小板減少性紫斑病. 2016 年 9 月 18 日

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞検出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上測定できない。そこで、すでにキット化に成功している抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞測定法の体外診断薬としての承認申請を目指した検討を進めている。昨年度までに、陽性コントロールや標準化のために必須な校正用基準物質としてヒトGPIIb/IIIaに対するキメラ抗体産生細胞および陽性・陰性コントロールビーズの作成に成功した。そこで、本年度はキットとしての構成内容を確定するための製品仕様の改良、製造安定性の確保、ユーザビリティの向上に向けた取り組みを実施した。さらに、新たな校正用基準物質として患者で産生される自己抗体と同様にGPIIb/IIIaの高次構造を認識するキメラ抗体産生細胞株の樹立、キットに含める試薬のReady-to-use化を行い、保存性や安定性など詳細な最終条件設定を行うプレ臨床試験の実施に向けた準備が完了した。来年度は血小板減少症患者を対象とした本キットの有用性を検証する多施設臨床試験の実施を予定している。

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髓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は現状では保険診療で測定できない。抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞、網血小板比率、血漿トロンボポエチン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、すでにキット化に成功している抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞（ITP-ELISPOT; MBL社）を診断用医薬品に求められる基本性能を満たし、世界標準規格であるISO13485に準拠するレベルまで質を高めることを目的とした検討

を進めてきた。体外診断用医薬品として申請するために必要な事項を医薬品医療機器総合機構による承認申請に係わる関連通知

(<http://www.pmda.go.jp/operations/shonin/info/taigai.html>) に照らし合わせ、①キット仕様の確定、②校正用基準物質の設定、③品質管理の確立、④測定範囲の決定の4項目に絞り込んだ。昨年度までに陽性コントロールや標準化のために必須な校正用基準物質としてヒト GPIIb/IIIa に対するキメラ抗体産生細胞および陽性・陰性コントロールビーズの作成に成功している。本年度は、キットとしての構成内容を確定するための製品仕様の改良、製造安定性の確保、ユーザビリティの向上に向けた取り組みを実施し、品質管理法を確立した。

B. 研究方法

校正用基準物質として陽性および陰性の管理検体が必要であるため、ヒト GPIIb/IIIa に対するヒト型 IgG 抗体産生細胞および対照として GPIIb/IIIa 以外と反応するヒト型 IgG 抗体産生細胞を作成した。ITP 患者における自己抗体と同様に GPIIb/IIIa の高次構造を認識するマウスモノクローナル抗体のうち、CDR 領域の塩基配列が公開されている2つの株 (OPG2、PAC1) の Fc 部分をヒト IgG に置換したキメラ型モノクローナル抗体を作成し、CHO 細胞への導入、浮遊細胞化した。以前作成したキメラ型抗 GPIIIa 抗体産生細胞 (#33 キメラ株) を陽性コントロールとして用いて、OPG2、PAC1-IgG キメラ株の ELISPOT での固相化 GPIIb/IIIa に対する結合親和性を、2 価イオンキレート剤の存在および非存在下で調べた。ま

た、2 次抗体として用いる酵素標識抗ヒト IgG 抗体、酵素発色試薬の ready-to-use 化についても検討した。

(倫理面に対する配慮)

本研究ではヒト検体を使用しないことから、倫理審査を必要とするいかなる指針にも合致しない。

C. 研究結果

キットの品質管理には校正用基準物質としてヒト抗 GPIIb/IIIa 抗体を産生する細胞が必要である。昨年度作成に成功した #33 キメラ株は抗 GPIIIa 抗体であり、固相化 GPIIb/IIIa に結合するものの、ITP 患者で産生される GPIIb/IIIa の高次構造を認識する自己抗体と抗原反応性が異なる。そのため、ITP 患者で産生される抗 GPIIb/IIIa 抗体により近い抗原特異性を有する2つの新たなキメラ型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生株を作成した。OPG2 キメラ、PAC1-IgG キメラともに固相化 GPIIb/IIIa に結合し、2 価イオンキレート剤存在下での高値構造の修飾により結合親和性が低下した。2 価イオンキレート剤非存在の条件で、PAC1-IgG キメラは #33 キメラとほぼ同等の結合を示したにもかかわらず、OPG2 キメラの結合活性は低かった。そこで、校正用基準物質として用いるヒト型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生細胞として、PAC1-IgG キメラ株と #33 キメラ株の両者を用い、対照として GPIIb/IIIa 以外と反応するキメラ型抗体を産生する CHO 細胞を使用することとした。

ユーザビリティ向上のため、従来は使用直前に試薬の希釈や混合を求めていた2次抗体液(酵素標識抗ヒト IgG 抗体)、酵素発色液について、様々な条件設定を

用いて長期保存性を向上することで ready-to-use 化に成功した。昨年度作成した陽性、陰性コントロールビーズに加えて最終的なキット構成仕様を確定した (図 1)。

D. 考察

抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定キットを診断用医薬品として構成する際の品質管理に用いる較正用基準物質として 2 つの異なる結合特異性を有するキメラ型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生細胞株 (PAC1-IgG、#33) の作成に成功した。PAC1-IgG キメラ株は ITP 患者末梢血中の自己抗体産生 B 細胞が持つ抗原結合特異性に近い特性を有する。これら細胞株を用いることで、製造したキットの感度、正確性、同時再現性が確認でき、またキットの検出感度や測定範囲を設定するためにも応用することができる。

キット毎に必要な B 細胞の生存性確認方法、陽性・陰性コントロールビーズの設定、キット構成品の ready-to-use 化を完了したことから、最終的なキット構成仕様も確定することができた。今後は ITP 患者や健常人末梢血などヒト検体を用いて至適な測定条件 (検体量、保存安定性、抗凝固薬の影響など) やカットオフを設

定する必要がある。その結果に基づき最終仕様を確定し、多施設での臨床性能試験を実施する予定である。

E. 結論

抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定キットを診断用医薬品として承認申請するために必要なキット構成仕様を確立した。

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)

1. 特許取得

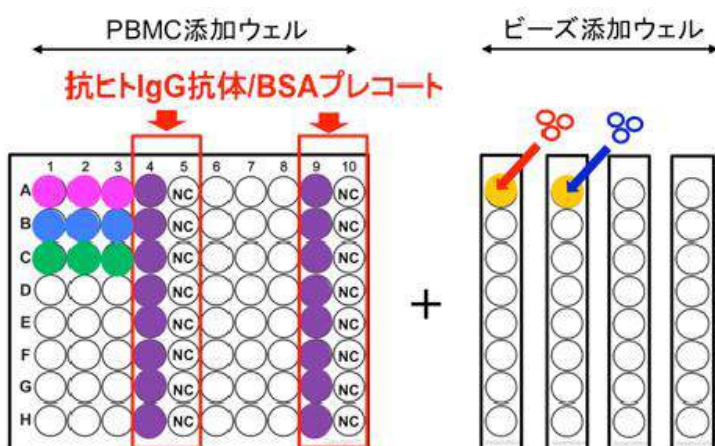
該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし



検体Aに使用するGP II b-Ⅲa抗原固相ウェル:	陽性コントロールビーズ:
検体Bに使用するGP II b-Ⅲa抗原固相ウェル:	陰性コントロールビーズ:
検体Cに使用するGP II b-Ⅲa抗原固相ウェル:	抗ヒトIgG抗体固相
コントロールビーズ用GP II b-Ⅲa抗原固相ウェル:	BSA固相
	: NC

臨床調査個人票（平成 24～26 年度）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 愛媛大学医学部附属病院輸血・細胞治療部准教授
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教授
研究協力者 倉田 義之 千里金蘭大学看護学部内科学客員教授

研究要旨

我が国における特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の発症頻度、年齢分布、患者の病状や治療状況を平成 24～26 年度の臨床調査個人票をもとに解析した。成人 ITP 患者の罹患率は 2.6 人/10 万人/年と推計された。高齢者に多い疾患であり、1.3%に脳出血が見られた。治療では脾摘実施率は 2.4%/年と低く、ピロリ菌除菌やトロンボポエチン受容体作動薬により軽快症例が微増していた。

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、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。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平成 24～26 年度における ITP 患者の実態を解析したので報告する。

B. 研究方法

厚生労働省健康局疾病対策課より平成 26 年度の 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た。このデータを用いて入力項目別に診療状況の詳細を解析した。

（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医学部附属病院倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果および考察

1. 臨床調査個人票登録率

平成 26 年度の ITP 医療受給者証所持患者は 27,455 人であり、過去 10 年間ほぼ同数であった。このうち解析可能であった臨床調査個人票の比率は、平成 24、25 年度でそれぞれ 75、53%であったが、平成 26 年度は 12%と極端に低下していた。そのため、平成 26 年度の調査は網状血小板比率と出血症状の解析にととどめ、平成 24 年と 25 年のデータを集計して本邦における ITP 罹患率等の解析を行った。平成 26 年度の臨床調査個人票回収率減少の原因は、ITP 医療受給者証所持患者数が一定であることから、都道府県から厚労省への臨床調査個人票データの入力率が低下したため、厚労省データベースのデータ量が減少したことによるものと推察された。

2. 新規患者年齢分布

平成 24 年度および 25 年度に新規登録された ITP 患者の年齢分布を図 1 に示す。女性 は 31-35 歳と 81-85 歳をピークとする 2 峰性を示し、男性は 81-85 歳をピークとする 1 峰性を示した。

平成 24、25 年度の新規登録患者数と各年度の日本人口統計を基にして成人(21 歳以上) ITP の罹患率を算出したところ、2.6 人/10 万人/年であった。罹患率のピークは 81-85 歳の男性にあり、7.1 人/10 万人/年であった(図 2)。なお、20 歳以下の患者は小児慢性特定疾患に申請していて、本研究で用いたデータベースとは別に登録されている割合が極めて高く、罹患率の解析対象から除外した。成人 ITP は明らかに高齢者の疾患となっており、従来からピークがあるとされていた 30 歳代女性と比べて 70 歳以上の高齢者はその 2 倍以上の罹患率に達していることがわかった。

3. 出血症状

平成 24~26 年度新規 ITP 患者 5,729 人の出血症状を図 3 に示す。紫斑を 66%の症例において認めた。その他、歯肉出血(21%)、鼻出血(13%)など、粘膜出血の頻度も高かった。重篤な出血と考えられる臓器出血は血尿(6.1%)、下血(6.1%)、脳出血(1.3%)であり、頻度は低いものの患者の QOL や生命予後へのインパクトは大きいと考えられた。

4. 消化管出血(下血)

重篤な出血合併症である消化管出血についてリスク因子を解析した。平成 24~26 年の 3 年間ににおける新規登録 ITP 患者 5,729 人中 347 人(6.1%)に消化管出血がみられた。カイ 2 乗検定による単変量解析を行うと、消化管出血をきたした患者は男性、高齢、血小板数低値であることが有意なリスク因子であった(図 4)。また、検査値では網状血小板比率上昇、Hb および Ht 低下が有意に相関していたが、これらは消化管出血の結果として引き起こされた検査の変化であることが推察された。さらに、皮下出血や粘膜出血などの出血症状と

の相関を解析すると、単変量解析では紫斑、歯肉出血、鼻出血、血尿の存在が消化管出血の発生と相関していた(図 5)。しかしながら、多変量ロジスティック回帰解析を行うと、独立したリスク因子として同定されたのは Hb 低下と網状血小板比率上昇の 2 項目だけであった(表 1)。

5. 脳出血

脳出血についても消化管出血と同様のリスク因子解析を行った。平成 24~26 年の 3 年間ににおける新規登録 ITP 患者 5,729 人中 75 人(1.3%)に脳出血がみられた。カイ 2 乗検定による単変量解析で脳出血をきたした患者は高齢、血小板数低値、Hb および Ht 低下が有意なリスク因子であった(図 6)。さらに、皮下出血や粘膜出血などの出血症状との相関を解析すると、単変量解析では歯肉出血の存在が脳出血の発生と相関していた(図 7)。しかしながら、多変量ロジスティック回帰解析を行うと、独立したリスク因子として同定されたのは年齢、血小板数、Hb の 3 項目だけであった(表 2)。

6. 網状血小板比率

平成 24~26 年度に網状血小板比率が測定されていた新規 ITP 登録患者 1,077 人の解析では、平均 $16.0 \pm 11.1\%$ であり、正常値 $4.8 \pm 1.1\%$ より明らかに高かった(図 8)。また、ITP と混同されがちな MYH9 異常症では $50.1 \pm 7.5\%$ という極めて高い数値をとることが報告されているが、この範囲内に入る ITP 登録患者は 2%存在しており、ITP として登録された患者の 2%程度は MYH9 異常症である可能性があると考えられた。

7. 治療

慢性型 ITP においては平成 24、25 年を通じてプレドニゾロンが 55.6%と最も多く選択されていた治療法であった(図 9)。

脾摘の実施率は平均 2.4%/年であった。
トロンボポエチン受容体作動薬は 10%前後の患者に投与されていた。また、更新慢性型 ITP 患者で治癒または軽快と判定された患者の割合（軽快率）は平成 23 年度までは 20.8~21.1%で推移していたが、平成 24 年度は 22.4%、平成 25 年度は 23.3%と微増していた。この上昇は平成 22 年から導入されたピロリ菌除菌療法および平成 23 年から販売されたトロンボポエチン受容体作動薬が関与しているものと推察された（図 10）。

D. 結語

1. 本邦における成人（21 歳以上）ITP の罹患率は 2.6 人/10 万人/年と算出された。
2. 成人 ITP は明らかに高齢者の疾患となっており、従来からピークがあるとされていた 30 歳代女性と比べて 70 歳以上の高齢者はその 2 倍以上の罹患率に達していた。
3. 新規 ITP 患者の 6.1%に消化管出血がみられ、1.3%に脳出血がみられた。脳出血は、高齢、血小板数低値、Hb 低値がリスク因子であった。
4. ITP として登録された患者の 2%程度は MYH9 異常症である可能性がある。
5. 近年の治療の進歩により、ITP の寛解率は微増している。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori S, Yamanouchi J, Okamoto K, Hato T, Yasukawa M: A novel

frameshift mutation leading to inherited type I antithrombin deficiency. Blood Coagul Fibrin 28:189-192, 2017

- 2) Yamanouchi J, Hato T, Shiraishi S, Takeuchi K, Yakushijin Y, Yasukawa M: Vancomycin-induced Immune Thrombocytopenia Proven by the Detection of Vancomycin-dependent Anti-platelet Antibody with Flow Cytometry. Intern Med 55:3035-3038, 2016
- 3) Matsubara E, Yamanouchi J, Kitazawa R, Azuma T, Fujiwara H, Hato T, Yasukawa M: Usefulness of Low-Dose Splenic Irradiation prior to Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Elderly Patients with Myelofibrosis. Case reports in Hematol Article ID 2389038, 2016
- 4) 富山佳昭、佐藤金夫、尾崎由基男、清水美衣、田村典子、西川政勝、野村昌作、堀内久徳、松原由美子、矢富裕、山崎昌子、羽藤高明 透過光血小板凝集検査法の標準化：「国際血栓止血学会血小板機能標準化部会からの提言」の紹介と解説 日本血栓止血学会誌 27:365-369, 2016
- 5) 羽藤高明 血小板輸血に関する最近の理解 Annual Review 2016 血液 198-204, 2016 中外医学社、東京
- 6) 羽藤高明 HUS/TTP と DIC の鑑別 腎と透析 診療指針 2016 454-457, 2016 東京医学社、東京
- 7) 松原悦子、山之内純、羽藤高明、竹内一人、新家敏之、安川正貴

再発時に rituximab が著効した高齢者の血栓性血小板減少性紫斑病 臨床血液 57:869-872, 2016

2. 学会発表

- 1) 羽藤高明 血小板減少症に対する血小板輸血療法 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 2016. 4. 28 京都
- 2) 羽藤高明 後天性血友病の病態と検査：最近の進歩と課題 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 ランチョンセミナー 2016. 6. 17 奈良
- 3) 羽藤高明 血小板減少症と輸血療法 第 40 回日本血液事業学会総会ランチョンセミナー 2016. 10. 4 名古屋
- 4) 羽藤高明 血小板輸血の適応に関する最近の理解 第 60 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会招請講演 2016. 11. 26 大阪
- 5) 山之内純、森 紗綾、羽藤高明 ゲノム定量 PCR 法が有用であった先天性アンチトロンビン欠乏症の遺伝子解析 第 38 回日本血栓止血学会学術集会 2016. 6. 18 奈良

- 6) Yamanouchi J, Hato T, Ikeda Y, Asai H, Matsubara E, Tanimoto K, Takeuchi T, Azuma T, Fujiwara H, Yakushijin Y, Yasukawa M: High serum thrombopoietin levels in a favorable subpopulation of MDS with thrombocytopenia 第 78 回日本血液学会学術集会 2016. 10. 13 横浜
- 7) Nakao A, Yamanouchi J, Hato T: Participation of clinical psychologist in a non-hemophilia treatment center. The World Congress of the World Federation of Hemophilia 2016, 2016. 7. 27 Orlando, USA.

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

図1. H24,H25年新規登録症例 n=5,012

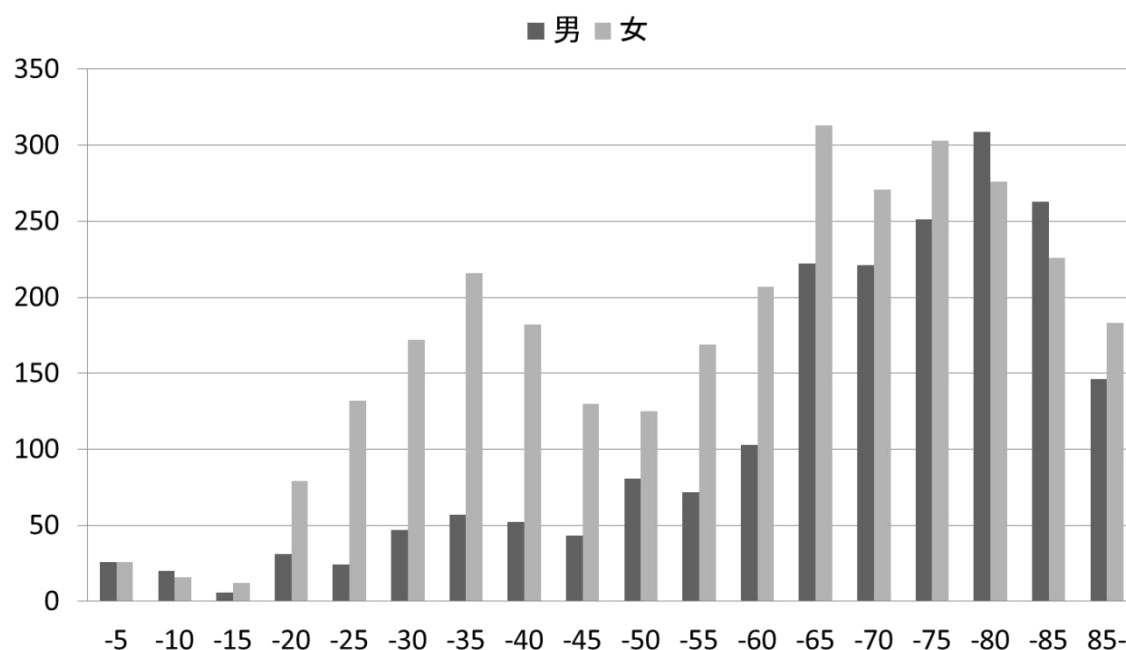


図2. ITP罹患率(人/10万人/年)

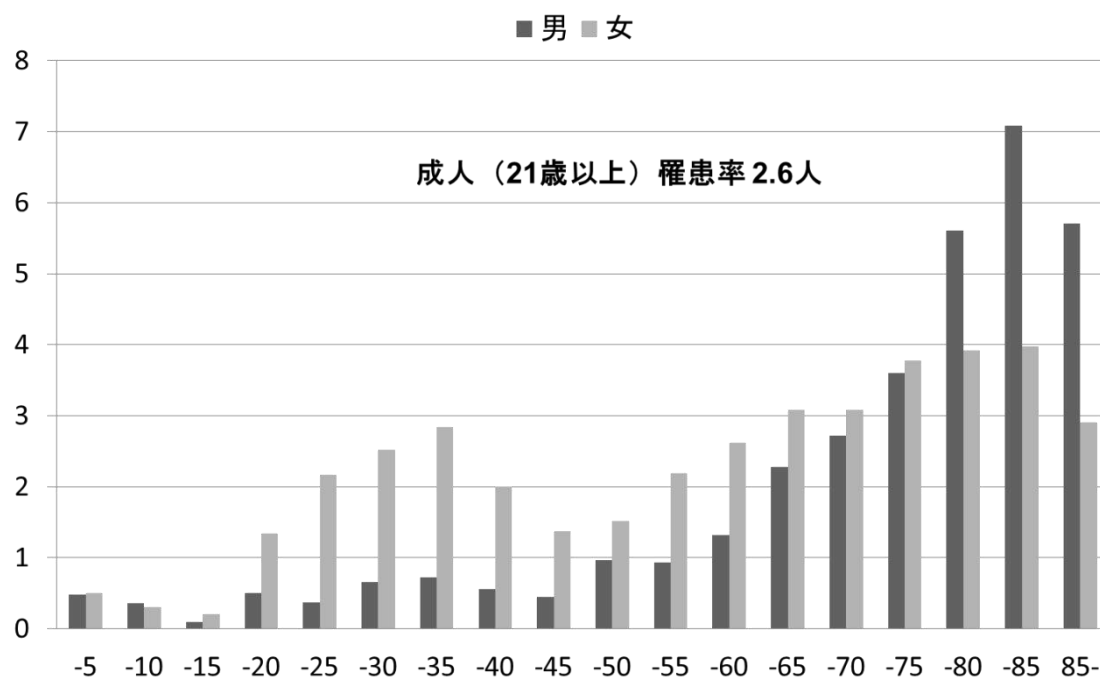


図3. 出血症状 新規ITP患者（H24-26）5,729人

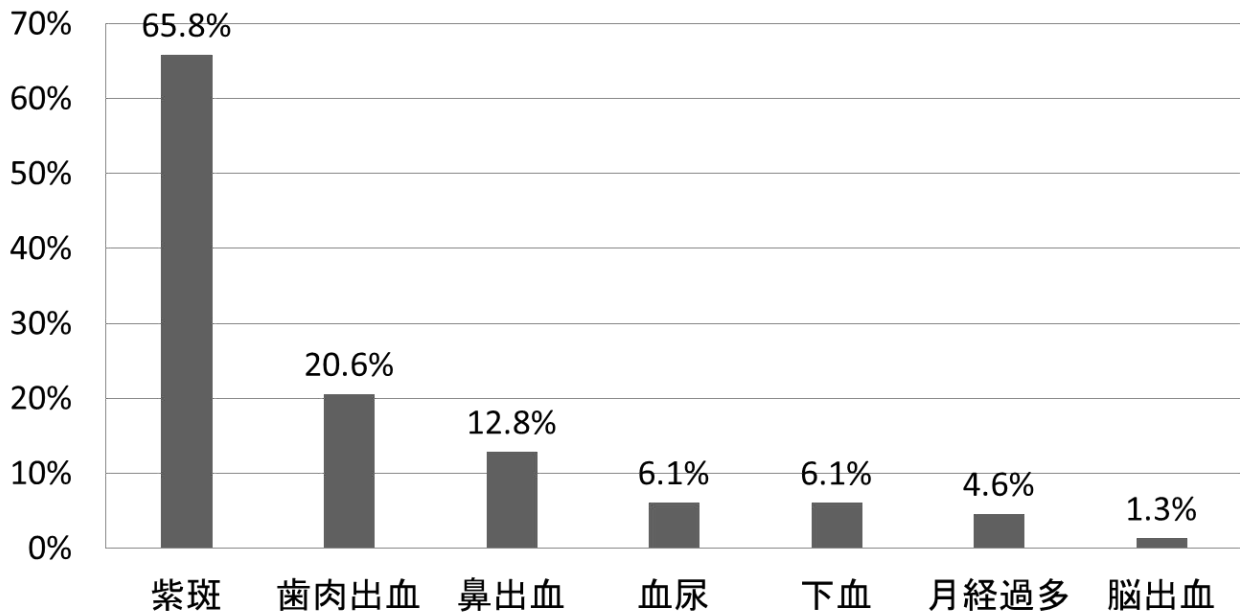


図4. 消化管出血の有無別 ITP患者の比較

H24-26新規登録ITP患者5,729人中347人 (6.1%)に消化管出血あり カイ 2 乗検定

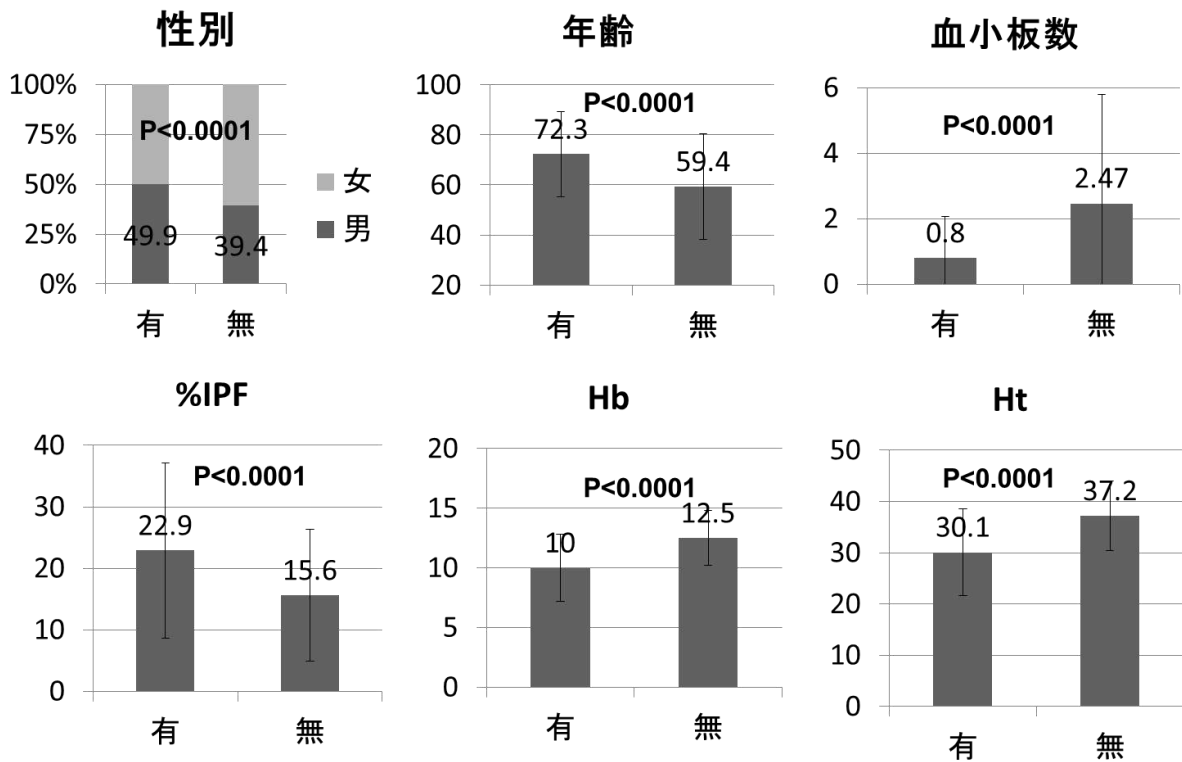


図5. 消化管出血の有無別 ITP患者の比較

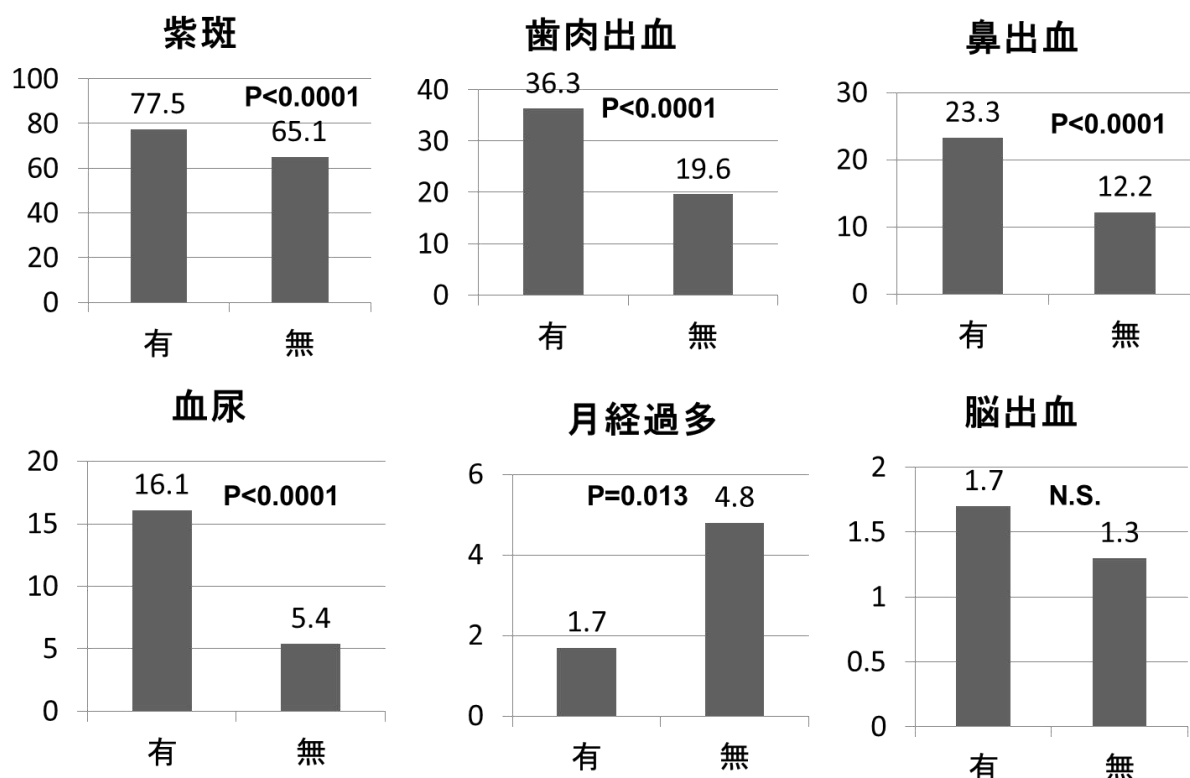


図6. 脳出血の有無別 ITP患者の比較

H24-26新規登録ITP患者5,729人中75人 (1.3%)に脳出血あり カイ 2 乗検定

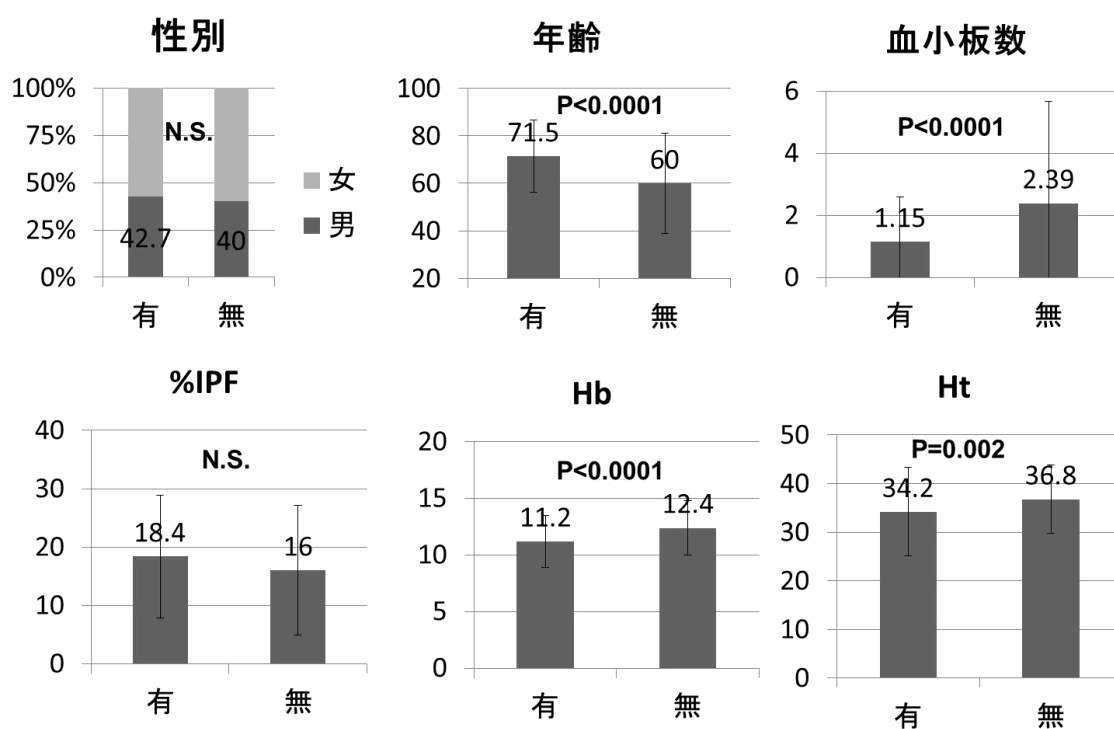


図7. 脳出血の有無別 ITP患者の比較

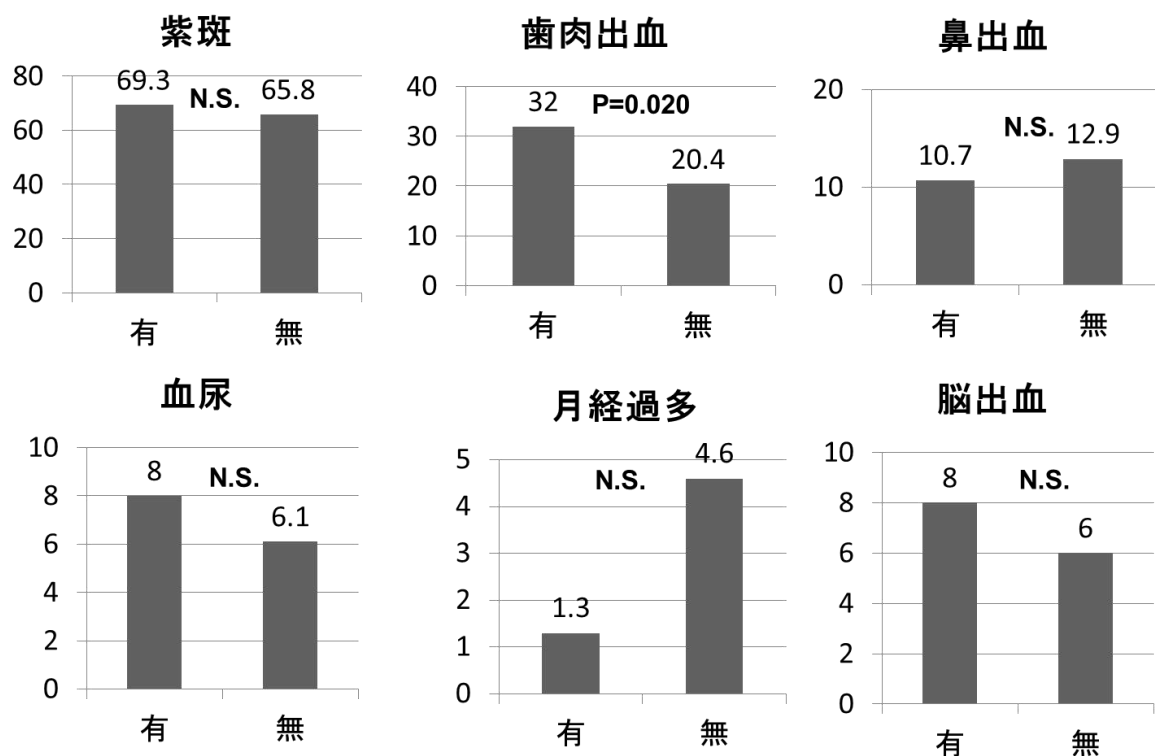


図8. 網状血小板比率 (%IPF) の分布 n=1,077

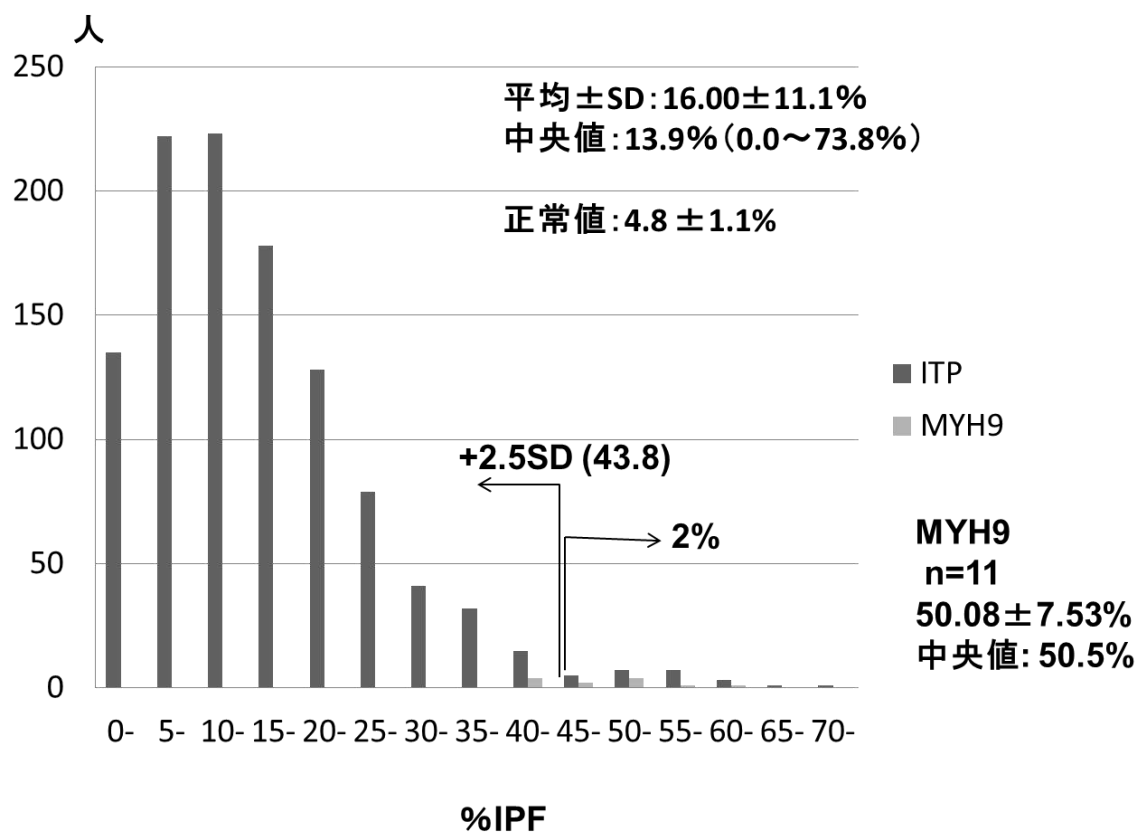


図9. 更新慢性型 I T P（各年度1年間の治療内容）

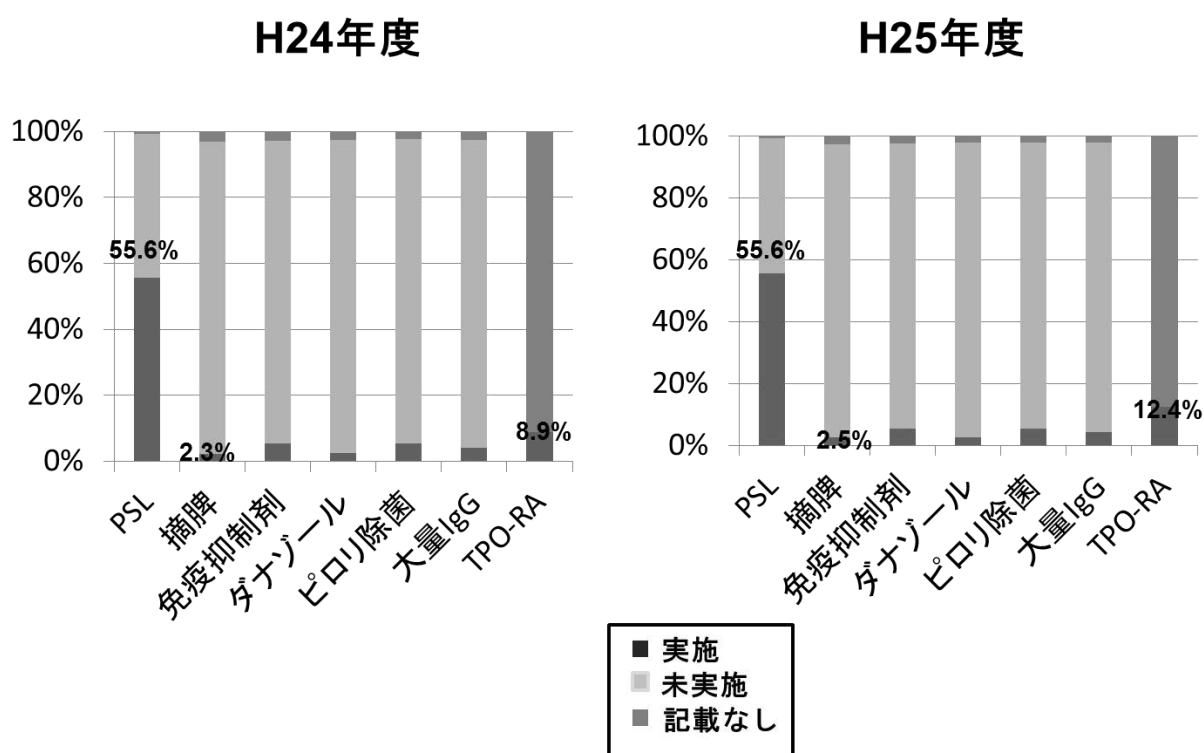
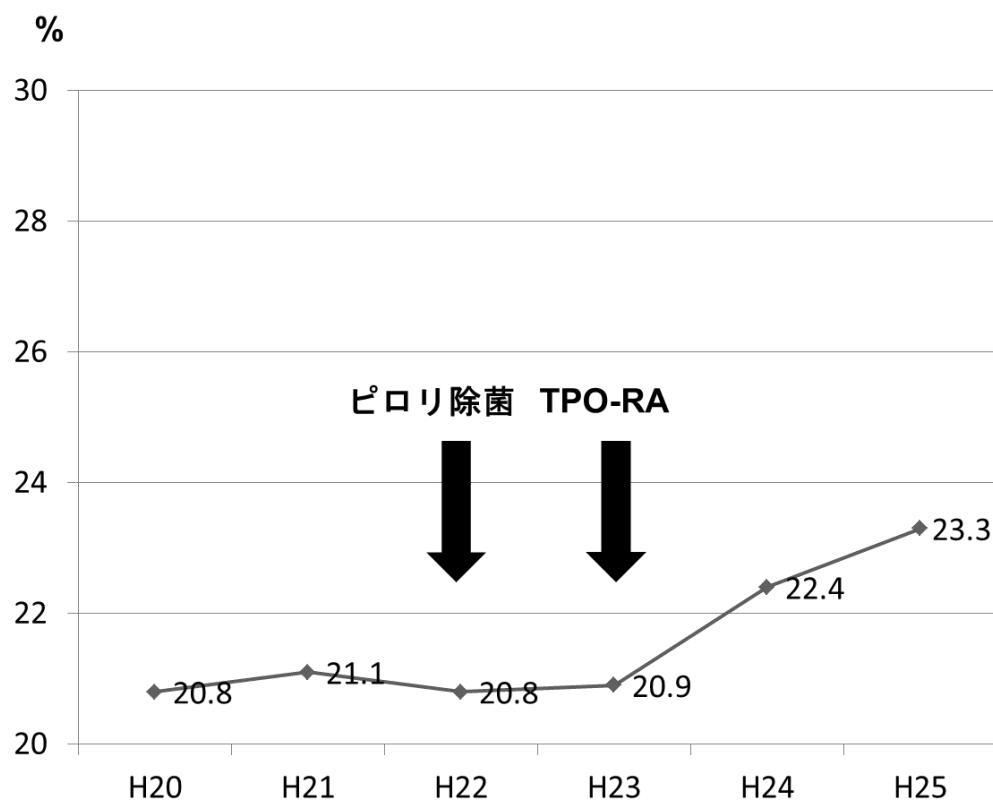


図10. 更新慢性型ITP患者における軽快率（治癒＋軽快）の推移



説明変数	単位	オッズ比	95%信頼区間	P値
性別	男／女	1.116	0.597–2.085	0.732
年齢	1歳当たり	1.016	0.996–1.035	0.114
紫斑	あり／なし	0.853	0.403–1.802	0.676
歯肉出血	あり／なし	1.658	0.851–3.229	0.137
鼻出血	あり／なし	1.385	0.672–2.857	0.378
血尿	あり／なし	1.519	0.620–3.724	0.361
月経過多	あり／なし	1.188	0.302–4.666	0.805
ヘモグロビン	1g/dl当たり	0.700	0.534–0.918	0.010
ヘマトクリット	1%当たり	0.988	0.899–1.086	0.800
血小板数	$10^4/\text{mm}^3$ 当たり	0.719	0.508–1.019	0.064
網状血小板比率	1%当たり	1.028	1.004–1.053	0.024

表1 多変量ロジスティック回帰解析 消化管出血との相関

説明変数	単位	オッズ比	95%信頼区間	P値
年齢	1歳当たり	1.027	1.012–1.042	0.0001
歯肉出血	あり／なし	1.296	0.770–2.182	0.329
ヘモグロビン	1g/dl当たり	0.810	0.699–0.939	0.005
ヘマトクリット	1%当たり	1.036	0.992–1.081	0.108
血小板数	$10^4/\text{mm}^3$ 当たり	0.814	0.687–0.964	0.017

表2 多変量ロジスティック回帰解析 脳出血との相関

TMA サブグループ報告書

グループリーダー：	松本雅則	奈良県立医科大学輸血部	教授
班員：	宮川義隆	埼玉医科大学総合診療内科	教授
	和田英夫	三重大学医学部臨床検査医学	准教授
	小亀浩市	国立循環器病研究センター研究所	部長
	南学正臣	東京大学腎臓内分泌内科	教授
	香美祥二	徳島大学小児科	教授

研究協力者：	森木隆典	慶應義塾大学医学部臨床検査医学	非常勤講師
	日笠 聡	兵庫医科大学血液内科	講師
	上田恭典	倉敷中央病院 血液内科	部長
	宮田敏行	国立循環器病研究センター研究所	前部長
	八木秀男	近畿大学奈良病院 血液内科	准教授
	藤村吉博	日本赤十字社 近畿ブロック血液センター	所長
	丸山彰一	名古屋大学 腎臓内科	准教授
	伊藤秀一	横浜市立大学 小児科	教授
	芦田明	大阪医科大学 小児科	講師
	加藤秀樹	東京大学 腎臓内分泌内科	助教

グループ総括

分担研究者：松本 雅則

研究要旨

血栓性微小血管症（TMA）は、血小板減少と溶血性貧血に腎臓や中枢神経などの臓器障害を合併する症候群である。TMA に含まれる代表的な疾患として、血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）と溶血性尿毒症症候群（HUS）がある。TTP と HUS の診断は難しいとされていたが、現在では ADAMTS13 活性が 10%未満の症例のみを TTP と診断する。また、HUS は志賀毒素産生大腸菌（STEC）感染に伴うものとそれ以外の非典型 HUS（aHUS）と分類されてきた。aHUS の病因として補体第二経路の異常活性化が報告され、補体異常の症例のみを aHUS と診断するようになりつつある。

本年度から TTP に加えて aHUS も当サブグループの担当となり、グループ名も TMA グループと変更した。我々の目標は、日本国内の TMA 症例の集積と病態解析を行い、独自の TTP と aHUS の診療ガイドラインを作成することである。TTP と aHUS の症例の集積は順調に継続しており、現在までの解析症例数は TTP 607 例、aHUS 146 例となった。TTP のうち先天性 TTP 症例では ADAMTS13 遺伝子解析、aHUS では補体因子の遺伝子解析を継続している。それらの結果をもとに aHUS のガイドラインは既に作成されており、本年度 TTP の診療ガイドラインが完成した。

研究計画として達成できなかったものとして、リツキシマブの TTP への保険適用拡大と ADAMTS13 検査の保険適用取得である。それぞれの項目について、PMDA への申請は終了しており、次年度には保険適用となるものと考えている。

A. 研究の目的

日本国内の TMA 症例の集積と病態解析を行い、独自の TTP と aHUS の診療ガイドラインを作成する。

5) ADAMTS13 検査の保険収載と体外診断薬承認（松本、宮川、上田）

aHUS

6) 本邦 aHUS の患者集積（南学、香美、加藤）

B. 研究方法

平成 28 年度は以下の TTP 5 つ、aHUS 3 つの計画を立て、研究を行った。

7) aHUS 疑い患者で溶血アッセイや H 因子抗体の存在などの検査（南学、加藤）

TTP

8) aHUS 疑い患者で補体制御因子の遺伝子解析（宮田）

1) 本邦 TMA の症例集積（松本、和田）

2) USS における ADAMTS13 遺伝子解析（小亀）

9) aHUS 疑い患者でデジタル PCR を用いた遺伝子解析（南学、加藤）

3) TTP 診療ガイドラインの作成（TTP グループ）

4) 難治性、再発性 TTP に対するリツキシマブの保険適応拡大（宮川）

（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東京大学の倫理委員会、遺伝子解析は奈良医大、東京大学、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) 本邦 TMA の症例集積

表 1 に示すように ADAMTS13 活性著減例以外も含めた奈良医大 TMA registry では、2016 年に 51 例が追加され、1998 年以降の症例数は総数 1420 例となった。この中には東大で集積された aHUS 症例は含んでいない。このうち、TTP の診断基準である ADAMTS13 活性 10%未満の症例が 607 例あり、2016 年の増加数は 26 例であった。ADAMTS13 活性 10%未満の症例のうち、0.5%未満であった症例は 474 例 (78%) であった (表 2)。インヒビターを測定できた 597 例のうち、5 Bethesda unit (BU)/mL と非常に高い症例が 106 例 (17.8%)、2BU/mL 以上の症例も計 293 例 (49%) あった。TTP の中で先天性 (Upshaw-Schulman 症候群:USS) と考えられる症例は、61 例 (10%) であった。残りの後天性のうち、特発性が 364 例 (60%) で、二次性が 183 例 (30%) であった。二次性のうち、最も多いのが膠原病 99 例 (全体の 16.3%) であった。

2) USS における ADAMTS13 遺伝子解析

本年度に USS で ADAMTS13 遺伝子解析を実施した症例は 2 例であり、1 例 (USS-S) は以前から我々の registry に登録されており今回解析可能となった症例で、もう 1 例 (USS-AAA) は今年新規に登録された症例である。USS-S のダイレクトシーケ

ンスの結果、p. C1039Y のみが発見され、もう 1 つの変異は未発見である。USS-AAA では、p. R193W と p. C1213R の複合ヘテロ接合体異常が推定された。p. R193W は日本人 USS で最も多く発見される変異であるが、p. C1213R は日本人では未報告の変異である。

3) TTP 診療ガイドラインの作成

昨年度までに本グループでは TTP の診断基準と治療ガイドを作成しており、それを合併させた形で TTP 診療ガイド 2016 を 9 月 30 日に完成させた。その後、日本血液学会から公表していただくため、同学会の診療委員会で討議していただくとともに、同学会雑誌「臨床血液」に投稿し、査読を受け、受理された。TTP 診療ガイド 2017 として、臨床血液 4 月号に掲載される予定である。最終版を添付する。

4) 難治性、再発性 TTP に対するリツキシマブの保険適応拡大

リツキシマブの TTP への保険適用拡大のため 2014 年に医師主導治験を実施し、その結果を 2015 年に論文報告した。この結果をもとに PMDA に保険適用の拡大を申請している。

5) ADAMTS13 検査の保険収載と体外診断薬承認

カイノス社製の ADAMTS13 活性測定キットの臨床性能試験を 2015 年度に実施し、このキットの対外診断薬としての承認申請を PMDA に行なっている。対外診断薬としての承認が得られれば、ADAMTS13 検査としては初めてであり、保険収載が可能となる。

6) 本邦 aHUS の患者集積

7) 溶血アッセイやH因子抗体の存在などの検査

8) 補体制御因子の遺伝子解析

東京大学腎臓・内分泌内科でaHUSと診断した症例は77例であり、それ以前に奈良医大輸血部で集積した69例を合わせて、146例となった。このうち、83例(56.8%)で異常因子が同定され、H因子異常が10例(6.6%)、MCP異常が9例(6.2%)、C3異常が37例(25.3%)、抗H因子抗体陽性例が20例(13.7%)であった。

D. 考察

TTPグループは3年計画の最終年度として、ほぼ計画が達成できた。未実施となったものとして、リツキシマブのTTPへの保険適用拡大とADAMTS13検査の保険適用である。どちらもPMDAの判断待ちであり、早期に適用となることを期待している。

TTPの診断と治療のガイドラインを含んだ「TTP診療ガイド2017」が完成し、日本血液学会の承認を得て公表できることになった。現在英文化を進めており、我々のガイドラインを海外にも公表して、国際的な批判を仰ぎたいと考えている。

USSは今年2例増加し、計61例となった。このうち58例(52家系)でADAMTS13遺伝子解析を実施し、54例(48家系)で遺伝子異常を同定した。複合ヘテロ接合体異常が44症例(38家系)、ホモ接合体異常10症例(10家系)であった。我々のUSS registryは、世界最大の症例数であると思われる。

本年度から我々のグループの疾患に加わったaHUSに関しては、症例の集積や遺

伝子解析は順調に進んでいる。解析症例数が140例を超えるようになり、日本の症例の傾向を推察できる段階となった。日本の症例は、海外と比べるとH因子異常は少なく、C3異常が多い傾向である。また、抗H因子抗体陽性例が多いことも我々のコホートの特徴である。

E. 結論

TTPとaHUSの症例集積は順調に継続しており、ADAMTS13遺伝子や補体遺伝子の解析も継続している。重要な目標であったTTP診療ガイドラインも完成し、概ね目標は到達できたと考えている。リツキシマブのTTPへの保険適用拡大、ADAMTS13検査の保険適用取得が達成できなかったが、すでにPMDAに申請しており、早期に保険適用となることを希望している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, Abe T, Hayata Y, Yamaguchi N, Sugimoto M, Fujimura Y, Matsumoto M, Taniguchi S. Rapid restoration of thrombus formation and high-molecular-weight von Willebrand factor multimers in patients with severe aortic stenosis after valve replacement. J Atheroscler Thromb. 23:1150-1158, 2016
2. Fujino Y, Inoue Y, Onodera M, Kikuchi S, Sato M, Kojika M, Sato H, Suzuki K, Matsumoto M. Acute

- pancreatitis-induced thrombotic thrombocytopenic purpura with recurrent acute pancreatitis. Clin J Gastroenterol. 9:104-108, 2016
3. Fujiwara S, Mochinaga H, Nakata H, Ohshima K, Matsumoto M, Uchiba M, Mikami Y, Hata H, Okuno Y, Mitsuya H, Nosaka K. Successful treatment of TAFRO syndrome, a variant type of multicentric Castleman disease with thrombotic microangiopathy, with anti-IL-6 receptor antibody and steroids. Int J Hematol. 103:718-723, 2016
 4. Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M. No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. Int J Hematol. 104:223-227, 2016
 5. Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. Int J Hematol. 104:228-235, 2016
 6. Ichikawa S, Sasaki K, Takahashi T, Hayakawa M, Matsumoto M, Harigae H. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with *Klebsiella* pneumonia in the background of alcoholic liver cirrhosis. Case Reports in Internal Medicine 3:30-35, 2016
 7. Tsujii N, Nogami K, Yoshizawa H, Hayakawa M, Isonishi A, Matsumoto M, Shima M. Influenza-associated thrombotic microangiopathy with unbalanced von Willebrand factor and a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 levels in a heterozygous protein S-deficient boy. Pediatr Int 58:926-929, 2016
 8. Tsujii N, Shiraishi I, MD, Kokame K, Shima M, MD, Fujimura Y, MD, Takahashi Y, Matsumoto M. Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. Pediatrics, 138: e20161565, 2016
 9. 宮川義隆、松本雅則、南学正臣 (監修)、血栓性微小血管症 診断・治療実践マニュアル (大阪): 医薬ジャーナル, 2016
 10. Mitaka H, et al. Malignant hypertension with thrombotic microangiopathy. Int Med 55, 2277-2280, 2016
 11. Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N.: The efficacy of the administration of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with DIC. Int J Hematol. 103: 173-179, 2016
 12. Aota T, Wada H, Fujimoto N,

- Sugimoto K, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Kawasugi K, Madoiwa S, Asakura H, Katayama N.: The valuable diagnosis of DIC and pre-DIC and prediction of a poor outcome by the evaluation of diagnostic criteria for DIC in patients with hematopoietic injury established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. *Thromb Res.* 147:80-84, 2016
13. Aota T, Wada H, Fujimoto N, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Uchiyama T, Seki Y, Katayama N: Evaluation of the Diagnostic Criteria for the Basic Type of DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016
 14. Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Asakura H, Okamoto K, Katayama N. An Evaluation of the Modified Diagnostic Criteria for DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016
 15. Iba T, Di Nisio M, Thachil J, Wada H, Asakura H, Sato K, Kitamura N, Saitoh D.: Revision of the Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) disseminated intravascular coagulation (DIC) diagnostic criteria using antithrombin activity. *Crit Care.* 20: 287, 2016
 16. Iba T, Gando S, Saitoh D, Wada H, Di Nisio M, Thachil J.: Antithrombin supplementation and risk of bleeding in patients with sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res.* 145:46-50, 2016
 17. Squizzato A, Hunt BJ, Gary T. Kinasewitz GT, Wada H, ten Cate H, Thachil J, Levi M, Vicente V, Angelo AD, Di Nisio M: Supportive management strategies for disseminated intravascular coagulation- An international consensus, *Thromb Haemost* 115: 896-904, 2016
 18. Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, Okamoto K, Kawasugi K, Madoiwa S, Wada H; DIC subcommittee of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis.: Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J.* 14:42. 2016
 19. Nagatsuka K, Miyata S, Kada A, Kawamura A, Nakagawara J, Furui E, Takiuchi S, Taomoto K, Kario K, Uchiyama S, Saito K, Nagao T, Kitagawa K, Hosomi N, Tanaka K, Kaikita K, Katayama Y, Abumiya T, Nakane H, Wada H, Hattori A, Kimura K, Isshiki T, Nishikawa M,

- Yamawaki T, Yonemoto N, Okada H, Ogawa H, Minematsu K, Miyata T: Cardiovascular events occur independently of high on-aspirin platelet reactivity and residual COX-1 activity in stable cardiovascular patients. *Thromb Haemost.* 116: 356-68, 2016;
20. Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation" *J Pediatr Hematol Oncol.* 38: e137-9, 2016
 21. Nakajima H, Dohi K, Tanabe M, Nakamura A, Kanemitsu S, Wada H, Yamada N, Nobori T, Shinpo H, Ito M: Infective Endocarditis Caused by Panton-Valentine Leukocidin-producing Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* Identified by the Broad-range PCR Method. *Intern Med.* 55: 1871-5, 2016
 22. Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H. Presence of Antiphospholipid Antibodies as a Risk Factor for Thrombotic Events in Patients with Connective Tissue Diseases and Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Intern Med.* 55: 589-95. 2016
 23. Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016
 24. Ikejiri M, Wada H, Yamaguchi T, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Sakaguchi A, Matsumoto T, Ohishi K, Fujimoto N, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with fondaparinux. *Int J Hematol* 103:554-559, 2016
 25. Ikejiri M, Wada H, Kamimoto Y, Nakatani K, Ikeda T: Protection From Pregnancy Loss in Women With Hereditary Thrombophilia When Associated With Fibrinogen Polymorphism Thr331Ala. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016
 26. Ikejiri M, Wada H, Yamada N, Nakamura M, Fujimoto N, Nakatani K, Matsuda A, Ogiwara Y, Matsumoto T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Ito M.: High prevalence of congenital thrombophilia in patients with pregnancy-related or idiopathic venous thromboembolism/pulmonary embolism. *Int J Hematol.* 2016
 27. Yamaguchi T, Wada H, Miyazaki S,

- Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Sakaguchi A, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Fibrin related markers for diagnosing acute or chronic venous thromboembolism in patients with major orthopedic surgery. *Int J Hematol*, 103: 560-566, 2016
28. Wada H, Matsumoto T, Aota T, Yamashita Y, Suzuki K, Katayama N.: Management of cancer-associated disseminated intravascular coagulation: guidance from the SSC of the ISTH: comment. *J Thromb Haemost.* 14: 1314-5, 2016
29. Wada H, Matsumoto T, Aota T, Imai H, Suzuki K, Katayama N.: Efficacy and safety of anticoagulant therapy in three specific populations with sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials: comment. *J Thromb Haemost.* 14:2308-9, 2016
30. Wada H, Matsumoto T, Fujimoto N, Imai H, Suzuki K, Katayama N.: Shock, acute disseminated intravascular coagulation, and micro-vascular thrombosis: is 'shock liver' the unrecognized provocateur of ischemic limb necrosis: comment. *J Thromb Haemost.* 14: 2315-6, 2016
31. Noritsugu Naito, Toshihide Mizuno, Takashi Nishimura, Satoru Kishimoto, Yoshiaki Takewa, Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Kazuma Date, Akihide Umeki, Masahiko Ando, Minoru Ono, Eisuke Tatsumi: Influence of a rotational speed modulation system used with an implantable continuous-flow left ventricular assist device (EVAHEART) on von Willebrand factor dynamics. *Artif Organs* 40, 877-883, 2016
32. Xinping Fan, Johanna A. Kremer Hovinga, Hiroko Shirotani-Ikejima, Yuka Eura, Hidenori Hirai, Shigenori Honda, Koichi Kokame, Magnus Mansouri Taleghani, Anne-Sophie von Krogh, Yoko Yoshida, Yoshihiro Fujimura, Bernhard Lämmle, Toshiyuki Miyata: Genetic variations in complement factors in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with renal insufficiency. *Int. J. Hematol.* 103, 283-291, 2016
33. Thuong Manh Le, Koji Hashida, Hieu Minh Ta, Mika Takarada-Iemata, Koichi Kokame, Yasuko Kitao, Osamu Hori: Deletion of Herpud1 enhances heme oxygenase-1 expression in a mouse model of Parkinson's disease. *Parkinsons. Dis.* 2016, 6163934, 2016
34. 樋口(江浦)由佳, 小亀浩市: 先天性 TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) の遺伝子解析. *血栓と循環* 24, 20-24, 2016
35. Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K,

- Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N.: The efficacy of the administration of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with DIC. *Int J Hematol.* 103: 173-179, 2016;
36. Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016
 37. Yamaguchi T, Wada H, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Sakaguchi A, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Fibrin related markers for diagnosing acute or chronic venous thromboembolism in patients with major orthopedic surgery. *Int J Hematol* 2016
 38. Ikejiri M, Wada H, Yamaguchi T, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Sakaguchi A, Matsumoto T, Ohishi K, Fujimoto N, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with fondaparinux. *Int J Hematol* 2016
 39. Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation" *J Pediatr Hematol Oncol.* 38(3):e137-9, 2016
 40. Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H. Presence of Antiphospholipid Antibodies as a Risk Factor for Thrombotic Events in Patients with Connective Tissue Diseases and Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Intern Med.* 55: 589-95, 2016
 41. Wada H, Matsumoto T, Aota T, Yamashita Y, Suzuki K, Katayama N: Management of cancer-associated disseminated intravascular coagulation: Guidance from ISTH's SSC and a comment on differences between the ISTH and Japanese management. *J Thromb Haemost* 2016
 42. Noritsugu Naito, Toshihide Mizuno, Takashi Nishimura, Satoru Kishimoto, Yoshiaki Takewa, Yuka Eura, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Kazuma Date, Akihide Umeki, Masahiko Ando, Minoru Ono, Eisuke Tatsumi: Influence of a rotational speed modulation system used with an implantable continuous-flow left ventricular assist device (EVAHEART) on von

- Willebrand factor dynamics. *Artif. Organs* 40, 877-883, 2016
43. Xinping Fan, Johanna A. Kremer Hovinga, Hiroko Shirotani-Ikejima, Yuka Eura, Hidenori Hirai, Shigenori Honda, Koichi Kokame, Magnus Mansouri Taleghani, Anne-Sophie von Krogh, Yoko Yoshida, Yoshihiro Fujimura, Bernhard Lämmle, Toshiyuki Miyata: Genetic variations in complement factors in patients with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura with renal insufficiency. *Int. J. Hematol.* 103, 283-291, 2016
 44. Thuong Manh Le, Koji Hashida, Hieu Minh Ta, Mika Takarada-Iemata, Koichi Kokame, Yasuko Kitao, Osamu Hori: Deletion of Herpud1 enhances heme oxygenase-1 expression in a mouse model of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis.* 2016, 6163934, 2016
 45. 樋口(江浦)由佳, 小亀浩市: 先天性 TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) の遺伝子解析. *血栓と循環* 24 (1), 20-24, 2016
 46. Yoshida Y, Kato H and Nangaku M. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in press. *Renal Replacement Therapy*. 2016.
 47. Saito T, Iwano M, Matsumoto K, Mitarai T, Yokoyama H, Yorioka N, Nishi S, Yoshimura A, Sato H, Ogahara S, Sasatomi Y, Kataoka Y, Ueda S, Koyama A, Maruyama S, Nangaku M, Imai E, Matsuo S, Tomino Y; Refractory Nephrotic Syndrome Study Group.. Mizoribine therapy combined with steroids and mizoribine blood concentration monitoring for idiopathic membranous nephropathy with steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin Exp Nephrol.* 2016
 48. Bazzi C, Usui T, Rizza V, Casellato D, Gallieni M, Nangaku M. Urinary N-acetyl- β -glucosaminidase and eGFR may identify patients to be treated with immuno-suppression at diagnosis in idiopathic membranous nephropathy. *Nephrology (Carlton)*. 2016
 49. Kushida N, Nomura S, Mimura I, Fujita T, Yamamoto S, Nangaku M, Aburatani H. Hypoxia-Inducible Factor-1 α Activates the Transforming Growth Factor- β /SMAD3 Pathway in Kidney Tubular Epithelial Cells. *Am J Nephrol.* 44:276-285, 2016;
 50. Mimura I, Tanaka T, Nangaku M. New insights into molecular mechanisms of epigenetic regulation in kidney disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 43:1159-1167, 2016
 51. Kato H, Nangaku M, Hataya H, Sawai T, Ashida A, Fujimaru R, Hidaka Y, Kaname S, Maruyama S, Yasuda T, Yoshida Y, Ito S, Hattori M, Miyakawa Y, Fujimura Y, Okada H, Kagami S; Joint Committee for the Revision of Clinical Guides of

- Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Japan.. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Pediatr Int.* 58:549-55, 2016
52. Kato H, Nangaku M, Hataya H, Sawai T, Ashida A, Fujimaru R, Hidaka Y, Kaname S, Maruyama S, Yasuda T, Yoshida Y, Ito S, Hattori M, Miyakawa Y, Fujimura Y, Okada H, Kagami S; Joint Committee for the Revision of Clinical Guides of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Japan.. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol.* 20:536-43, 2016
 53. Omura T, Watanabe E, Otsuka Y, Yoshida Y, Kato H, Nangaku M, Miyata T, Oda S. Complete remission of thrombotic microangiopathy after treatment with eculizumab in a patient with non-Shiga toxin-associated bacterial enteritis: A case report. *Medicine (Baltimore).* 95:e4104. 2016
 54. Hirakawa Y, Hanafusa N, Nangaku M. Correction of Metabolic Alkalosis and Elevated Calcium Levels by Sodium Chloride in a Hemodialysis Patient With Inadequate Chloride Intake. *Ther Apher Dial.* 20:86-7. 2016
 55. Rabb H, Griffin MD, McKay DB, Swaminathan S, Pickkers P, Rosner MH, Kellum JA, Ronco C; Acute Dialysis Quality Initiative Consensus XIII Work Group.. Inflammation in AKI: Current Understanding, Key Questions, and Knowledge Gaps. *J Am Soc Nephrol.* 27:371-9, 2016
 56. Tojo A, Asaba K, Kinugasa S, Ikeda Y, Shintani Y, Fukayama M, Nangaku M. The reduced expression of proximal tubular transporters in acquired Fanconi syndrome with κ light chain deposition. *Med Mol Morphol.* 49:48-52, 2016
 57. Imai E, Maruyama S, Nangaku M, Hirakata H, Hayashi T, Narita I, Kono H, Nakatani E, Morita S, Tsubakihara Y, Akizawa T. Rationale and study design of a randomized controlled trial to assess the effects of maintaining hemoglobin levels using darbepoetin alfa on prevention of development of end-stage kidney disease in non-diabetic CKD patients (PREDICT Trial). *Clin Exp Nephrol.* 20:71-6. 2016
 58. Johnson RJ, Nangaku M. Endothelial Dysfunction: The Secret Agent Driving Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol.* 27:3-5, 2016
 59. 香美祥二, 岡田浩一, 南学正臣, 要伸也, 丸山彰一, 安田隆, 加藤秀樹, 吉田遥子, 服部元史, 芦田明, 幡谷浩史, 日高義彦, 澤井俊宏, 伊藤秀一, 藤丸季可, 藤村吉博, 宮川義隆: 非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療ガイド 2015. 日本腎臓学会誌 85 (2) 62-

- 75, 2016
60. 香美祥二. 小児 aHUS update. 日本小児腎不全学会雑誌 36 : 15-21. 2016
 61. 香美祥二. 溶血性尿毒症症候群 今日の治療指針2016 私はこう治療している. 1441-1442, 2016
 62. 香美祥二. 抗 C5 抗体療法 免疫・アレルギー科 65 : 519-524, 2016
 63. 香美祥二. 国内における大規模な食中毒事件. 血栓性微小血管症(TMA)診断・治療実践マニュアル 75-76, 2016
 64. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. J Thromb Haemost 15:312-322, 2017
 65. Ikejiri M, Wada H, Kamimoto Y, Nakatani K, Ikeda I: Protection from pregnancy loss in women with hereditary thrombophilia when associated to fibrinogen polymorphism Thr331Ala. Clin Appl Thromb Hemost. In press
 66. Akutagawa T, Shindo T, Yamanouchi K, Hayakawa M, Ureshino H, Tsuruoka N, Sakata Y, Shimoda R, Noguchi R, Furukawa K, Morita S, Iwakiri R, Kimura S, Matsumoto M, Fujimoto K. Persistent Gastrointestinal Angiodysplasia in Heyde' s Syndrome After Aortic Valve Replacement. Intren Med. In press.
 67. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Ozeki Y, Sakurai Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. Mutant botrocetin-2 inhibits von Willebrand factor-induced platelet agglutination. J Thromb Haemost. In press.
- 学会発表
1. 松本雅則. TMA における血漿療法と病因に基づいた新規治療法の選択. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 国立京都国際会館、2016 年 4 月 28 日 (シンポジウム)
 2. 杉邑俊樹、長谷川真弓、隅志穂里、下村志帆、馬場由美、辻内智美、前田美和、早川正樹、松本雅則. 当院で過去 5 年半に血液型判定困難で精査となった 65 症例の検討. 第 64 回 日本輸血・細胞治療学会総会. 国立京都国際会館. 2016 年 4 月 28 日
 3. 高橋幸博、長谷川真弓、松本雅則. 自施設作成混合血の組成およびその機能解析と緊急時の新生児の交換輸血. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会. 国立京都国際会館. 2016 年 4 月 28 日
 4. 松本雅則. 病因に基づいた TMA の診断と治療法の選択. 第 38 回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016 年 6 月 17 日 (教育講演)
 5. 吉井由美、早川正樹、石西綾美、堀勇二、藤村吉博、松本雅則. 後天性原発

- 性血栓性血小板減少性紫斑病の再発危険因子の検討第38回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
6. 小亀浩市、内田裕美子、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣. デジタルPCRを用いたaHUS関連遺伝子異常の検出第38回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
 7. 早川正樹、松本雅則、山下慶吾、阿部毅寿、谷口繁樹. 大動脈弁置換術で小腸血管異常まで改善したHeyde症候群のマルチマー解析. 第38回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
 8. 松本雅則、錦織直人、小山文一、早川正樹、畠山金太、高済峯、藤村吉博、中島祥介. 大腸がん化学療法後の肝類洞障害はvon Willebrand因子による血小板血栓形成により発症する. 第38回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
 9. 飯野宏允、柳澤邦雄、小川孔幸、清水啓明、三井健揮、石埼卓馬、半田寛、石西綾美、早川正樹、松本雅則、野島美久. Inhibitor boostingにリツキシマブが著効した血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)症例. 第38回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
 10. 内藤千晶、小川孔幸、柳澤邦雄、石埼卓馬、三原正大、半田寛、石西綾美、早川正樹、松本雅則、野島美久. 低力価ADAMTS13インヒビター残存状態で均衡を保っている血栓性血小板減少性紫斑病の1例. 第38回日本血栓止血学会学術集会. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日.
 11. Matsumoto M. Analysis of Thrombotic Microangiopathy with Severe ADAMTS13 Deficiency in Japanese Registry. The 9th Congress of the Asia-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis. Taipei International Convention Center. 2016年10月8日
 12. Tsujii N, Matsumoto M, Kokame K, Takahashi Y, Fujimura Y. Pulmonary hypertension complicated by severe hemolysis in neonate with congenital TTP. 第78回日本血液学会学術集会. パシフィコ横浜. 2016年10月15日
 13. Hayakawa M, Kato S, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative evaluation of degradation products in von Willebrand factor A2 domain by ADAMTS13. 第78回日本血液学会学術集会. パシフィコ横浜. 2016年10月15日
 14. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Matsumoto M, Hayakawa M, Fujimura Y. The point-mutated botorocetin-2 inhibits VWF-induced platelet agglutination. 第78回日本血液学会学術集会. パシフィコ横浜. 2016年10月13日
 15. 早川正樹、酒井和哉、長谷川真弓、前田美和、辻内智美、馬場由美、下村志帆、隅志穂里、上野華恵、松下彰利、杉邑俊樹、梅木弥生、松本雅則. 大動

- 脈弁狭窄症の根治術により難治性消化管出血が改善した症例. 第 60 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会. 大阪国際交流センター. 2016 年 11 月 26 日
16. Yoshida Y, Isonishi A, Sado T, Hayakawa M, Yagi H, Kobayashi H, Fujimura Y, Matsumoto M. Severe Reduction of Free ADAMTS13, Unbound to Von Willebrand Factor, in Plasma Milieu Is a Unique Feature of HELLP Syndrome. The 58th Annual meeting of American Society of Hematology. San Diego Convention Center. 2016 年 12 月 3 日
 17. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Yoshii Y, Yagi H, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative ELISA Using N10 Antibody, Targeting on VWF-Y1605 Residue, Indicates That N-Linked Blood Group Type A Carbohydrate on VWF Molecule Functions Against ADAMTS13 Cleavage. The 58th Annual meeting of American Society of Hematology. San Diego Convention Center. 2016 年 12 月 5 日
 18. 堀内久徳、松本雅則、小亀浩市、The Avec Study Group. 標準化した VWF マルチマー解析によって評価した循環器疾患随伴 AVWS の重症度と出血性合併症の関係. 第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム. 野村コンファレンスプラザ日本橋. 2017 年 1 月 21 日
 19. 松本雅則、厚生労働科研「血液凝固異常症等に関する研究班」TTP サブグループ. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 診療ガイドの作成状況. 第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム. 野村コンファレンスプラザ日本橋. 2017 年 1 月 21 日
 20. 松本雅則. さらなる適正使用に向けた、血液製剤の使用と輸血療法の実施に関する研究. 平成 28 年度輸血関連研究班 第 2 回合同班会議. 国立衛生研究所. 2017 年 2 月 11 日.
 21. 宮川義隆、教育講演「白熱！医師主導治験の現場」、第 78 回 日本血液学会学術集会 (2016 年 10 月、東京都)
 22. 宮川義隆、教育講演「腎障害を伴う HELLP 症候群は補体の異常活性化で発症する非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) か」第 37 回 日本妊娠高血圧学会 (2016 年 10 月、埼玉県)
 23. Wada H: Diagnosis and treatment of DIC. The 33rd World Congress of Internal Medicine, WCIM Bali 2016, Bali, Indonesia, August 22-25, 2016
 24. 和田英夫：止血系マーカーによる過凝固 (前血栓) 状態の検討、第 5 回プロテイン S 研究会シンポジウム、第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良春日野国際フォーラム、2016 年 6 月 16-18 日
 25. 和田英夫：悪性腫瘍と静脈血栓塞栓症、悪性腫瘍に合併する血栓止血異常、第 17 回日本検査血液学会、福岡国際会議場、2016 年 8 月 6 日～7 日
 26. Wada H: Guide for managing TTP and aHUS. シンポジウム 7 血栓止血領域の診療ガイド、第 78 回日本血液学

- 会学術集会、10/13-15/2016、パシフィック横浜
27. Wada H: Monitoring the hemostatic state in orthopedic surgery patients using fibrin related markers. Fibrin related markers in clinical practice. The 9th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis, Taipei International Convention Center (TICC), 10/6-9, 2016
 28. 小亀浩市: 先天性TTP/USSの遺伝子解析の現状. 第10回日本血栓止血学会SSCシンポジウム, 東京, 2016年2月20日
 29. 小亀浩市, 内田裕美子, 宮田敏行, 松本雅則, 藤村吉博, 吉田瑤子, 加藤秀樹, 南学正臣: デジタルPCRを用いたaHUS関連遺伝子異常の検出. 第38回日本血栓止血学会学術集会, 奈良, 2016年6月16日-18日
 30. 大和恵子, 中城有香子, 井本(山本)ひとみ, 小亀浩市, 宮田敏行, 片岡大治, 高橋淳, 柳本広二: Activated protein C (APC) in the acute phase suppresses the development of cerebral injuries after focal cerebral ischemia. 第39回日本神経科学大会, 横浜, 2016年7月20日-22日
 31. Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, and Masaomi Nangaku: No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. The 26th International Complement Workshop, Kanazawa, September 4-8, 2016.
 32. 堀内久徳, 坂爪公, 松本雅則, 小亀浩市, 齋木佳克: 人工心臓内の高張り応力が引き起こす出血性疾患: 後天性フォンウィルブランド症候群. 第89回日本生化学会大会, フォーラム企画「生体材料・人工臓器の現状と未来」, 仙台, 2016年9月25日-27日
 33. Keiko Yamato, Yukako Nakajo, Hitomi Yamamoto-Imoto, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Hiroharu Kataoka, Jun C. Takahashi, and Hiroji Yanamoto: Activated protein C (APC) in the acute phase suppresses the development of cerebral infarction after focal cerebral ischemia. Neuroscience 2016, San Diego, USA, November 12-16, 2016.
 34. Yoko Yoshida, Hideki Kato, Madoka Fujisawa, Yuuka Sugahara, Yumiko Uchida, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata, Nangaku Masaomi. Characterization of the patients with atypical hemolytic uremic syndrome by combination of hemolytic assay and gene analysis in Japan. 26th INTERNATIONAL COMPLEMENT WORKSHOP 2016年9月6日 金沢
 35. Masaomi Nangaku, Hideki Kato, Yoko Yoshida, Madoka Fujisawa, Yuka Sugawara, Toshiyuki Miyata,

- Yumiko Uchida, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura. Analysis of genetic background and evaluation with hemolysis assay in patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. Asian Pacific Congress of Nephrology (APCN) 2016年9月20日 Perth、オーストラリア
36. 藤澤まどか、加藤秀樹、吉田瑤子、碓井知子、内田裕美子、宮田敏行、南学正臣. 当施設における非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の解析. 第59回日本腎臓学会学術総会 2016年06月17日 パシフィコ横浜、神奈川県
 37. 南学正臣、加藤 秀樹、吉田 瑤子、宮田敏行、丸山彰一、香美祥二. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の診断・全国調査研究. 第59回日本腎臓学会学術総会 2016年06月17日 パシフィコ横浜、神奈川県
 38. 吉田瑤子、加藤秀樹、藤澤まどか、内田裕美子、松本雅則、宮田敏行、藤村吉博、南学正臣. 非典型溶血性尿毒症症候群における原因遺伝子別の定量的羊赤血球溶血試験の検討. 第59回日本腎臓学会学術総会 2016年06月17日 パシフィコ横浜、神奈川県
 39. 吉田瑤子、加藤秀樹、藤澤まどか、菅原有佳、内田裕美子、芦田明、松本雅則、伊藤秀一、服部元史、香美祥二、宮田敏行、藤村吉博、南学正臣. 本邦における非典型溶血性尿毒症症候群の解析状況. 第51回 日本小児腎臓病学会学術集会 2016年7月7日 あいち小児保健医療総合センター、愛知
 40. 加藤秀樹、吉田瑤子、藤澤まどか、菅原有佳、南学正臣. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の現状と今後. 第46回日本腎臓学会東部学術大会 2016年10月8日 京王プラザホテル、東京
 41. 宮田敏行、内田裕美子、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣. 非典型溶血性尿毒症症候群患者におけるプラスミノーゲンA620T変異. 第38回日本血栓止血学学術集会 2016年10月8日 奈良春日野国際フォーラム、奈良
 42. 今村秀明、此元隆雄、阪口嘉美、織田真悠子、大塚泰史、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣、宮田敏行、布井博幸. エクリズマブが著効した抗H因子抗体陽性非典型溶血性尿毒症症候群 (DEAP-HUS) の1例. 第46回日本腎臓学会西部学術大会 2016年10月15日 シーガイアコンベンションセンター、宮崎
 43. 檜原秀雄、福長直也、丸尾美咲、野々下侑子、石田楓、工藤明子、橋永絵理、青木宏平、東寛子、中田健、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣、縄田智子、柴田洋孝. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の一例. 第46回日本腎臓学会西部学術大会 2016年10月15日 シーガイアコンベンションセンター、宮崎
 44. 平松晶子、藤本大介、井上秀樹、實吉拓、安達政隆、中山裕史、加藤秀樹、宮田敏行、南学正臣、向山政志. 出産後非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) を発症し、血漿交換にて改善を認めた一例. 第61回 日本透析医学会学術集会・総会 2016年6月12日 大阪国際会議場、大阪
 45. 三浦裕子、橋本悠作、立衞良崇、葛

谷明彦, 佐藤元美, 青山功, 吉田瑤子, 加藤秀樹, 南学正臣. C3遺伝子変異に伴うaHUS(非典型溶血性尿毒症症候群)を呈した父子症例. 第61回 日本透析医学会学術集会・総会 2016年6月10日 大阪国際会議場、大阪

46. 加藤秀樹、吉田瑤子、藤澤まどか、菅原有佳、南学正臣. atypical HUSの診断と治療のupdate. 第37回日本アフェレシス学会学術大会 2016年11月26日 パシフィコ横浜、神奈川
47. 加藤秀樹、吉田瑤子、藤澤まどか、菅原有佳、宮田敏行、南学正臣. 「非典型溶血性尿毒症症候群診療ガイド2015」の解説と今後の課題. 第11回日本血栓止血学会学術標準化委員会シ

ンポジウム 2017年1月21日 野村コンファレンスプラザ日本橋、東京

48. 香美祥二：非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)とエクリズマブ治療平成27年度石川県合同輸血療法委員会講演会(平成28年2月11日、金沢)
49. 香美祥二：aHUS 診療の最近の進歩. 第9回福島県小児腎疾患セミナー(平成28年3月5日、郡山市)
50. 香美祥二：aHUS 診療 - 新しい診療ガイドと最近の話題 -. 第33回中国四国小児腎臓病学会(平成28年11月27日、高松市)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1 従来の分類によるTMAのADAMTS13活性 (n=1420)
(奈良医大輸血部1998. 7-2016. 12)

	Congenital TMAs (n=149)		Acquired TMAs (n=1220)											Total
	USS (n=61)	aHUS (n=91)	Primary (n=545)		Secondary (n=675)									(n=1420)
			TTP (n=437)	HUS (n=125)	Drug-induced (n=42)			CTD/ AD (n=324)	Malignancies (n=86)	HSCT (n=91)	Pregnancy (n=27)	STEC- HUS (n=47)	Others (LC, etc) (n=87)	
					TC(n=25)/ CL(n=3)	MMC (n=12)	Others (n=4)							
ADAMTS13:AC (%)	(n=60)	(n=91)	(n=437)	(n=125)	(n=25/n=3)	(n=12)	(n=4)	(n=324)	(n=86)	(n=91)	(n=27)	(n=47)	(n=87)	(n=1415)
<10	60	0	364	0	24	0	3	99	11	4	8	1	33	607
1年間の増加数	2	0	17	0	1	0	0	3	0	0	1	0	2	26
10～<25	0	5	35	15	2	2	0	64	22	27	2	7	13	194
25 ～<50	0	20	29	62	1	6	0	108	33	44	10	23	24	360
≥50	0	62	9	48	1	4	1	53	20	16	7	16	17	254
1年間の増加数	2	1	17	0	1	0	1	15	2	2	3	2	5	51

TG: チクロピジン、CL: クロピドグレル
CTD/AD: Connective tissue diseases and Autoimmune diseases
HSCT: Hematopoietic stem cell transplantation
STEC: shiga toxin-producing *E.coli*
LC: liver cirrhosis

表 2 TTP (<ADAMTS13活性10%) 症例のまとめ (n=607)
(奈良医大輸血部1998. 7-2016. 12)

	Congenital TMAs (n=61)	Acquired TMAs (n=547)								Total
	USS (n=61)	Primary (n=364)	Secondary (n=183)							(n=608)
		TTP (n=364)	Drug- induced (n=27)	CTD/AD (n=99)	Malignancies (n=11)	HSCT (n=4)	Pregnancy (n=8)	STEC-HUS (n=1)	Others (LC, etc) (n=33)	
ADAMTS13:AC (%)	(n=60)	(n=364)	(n=27)	(n=99)	(n=11)	(n=4)	(n=8)	(n=1)	(n=33)	(n=607)
< 0.5	36	306	22	73	5	0	7	0	25	474
0.5~< 5	22	24	5	15	4	1	1	0	5	77
5~< 10	2	21	0	11	0	3	0	1	3	41
マルチマーのみ <3(3~10)	0	12(1)	0	0	1(1)	0	0	0	0	15
ADAMTS13:INH (BU/ml)	(n=60)	(n=363)	(n=27)	(n=97)	(n=10)	(n=1)	(n=8)	(n=1)	(n=30)	(n=597)
> 5	0	74	6	15	4	0	1	0	6	106
2~< 5	0	128	13	31	2	0	3	0	10	187
0.5 ~< 2	7	150	7	40	3	0	4	1	13	225
< 0.5	53	11	1	11	1	1	0	0	1	79

TG: チクロピジン、CL: クロピドグレル
CTD/AD: Connective tissue diseases and Autoimmune diseases
HSCT: Hematopoietic stem cell transplantation
STEC: shiga toxin-producing *E.coli*
LC: Liver cirrhosis

血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）診療ガイド 2017

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

松本雅則	奈良県立医科大学輸血部
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	三重大学医学部臨床検査医学
小亀浩市	国立循環器病研究センター
宮川義隆	埼玉医科大学総合診療内科・血液内科
上田恭典	倉敷中央病院血液内科
日笠 聡	兵庫医科大学血液内科
森木隆典	慶応義塾大学医学部臨床検査医学
八木秀男	近畿大学奈良病院血液内科
宮田敏行	国立循環器病研究センター
村田 満	慶応義塾大学医学部臨床検査医学

血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)は、予後不良の急性疾患であるため適切な診断と治療が重要である。TTPは血小板減少と溶血性貧血を中心とした臨床所見で診断されてきたが、最近では臨床所見に加え ADAMTS13 活性 10%未満が国際的な TTP 診断基準となり、本診療ガイドでもこの診断基準を踏襲した。さらに、ADAMTS13 に対する自己抗体が陽性であれば後天性、*ADAMTS13* 遺伝子異常があれば先天性と診断する。治療法は、先天性 TTP では ADAMTS13 を補充するため新鮮凍結血漿 (FFP) を輸注する。後天性 TTP では、ADAMTS13 を補充し自己抗体を除去するなどを目的として FFP を置換液とした血漿交換を行う。自己抗体産生抑制のためステロイド療法が血漿交換に併用されることが多いが、最近では難治性・再発性症例には、CD20 に対するモノクローナル抗体 リツキシマブが有効であることが報告されている。

目次

I はじめに

II TTP の病態

III ADAMTS13 検査

IV 後天性 TTP

- 1) 歴史的背景
- 2) 後天性 TTP の定義
- 3) 疫学
- 4) 診断
- 5) 鑑別診断
- 6) 治療
 - A 急性期
 - B 難治例、早期再発例
 - C 寛解期
- 7) 重症度分類
- 8) 予後

V 先天性 TTP

- 1) 歴史的背景
- 2) 先天性 TTP の定義
- 3) 疫学
- 4) 診断
- 5) ADAMTS13 遺伝子解析
- 6) 治療
- 7) 重症度分類
- 8) 予後

利益相反

文献

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¹⁾。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^{2,3)}、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⁴⁾。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^{2,3)}。

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。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⁷⁾。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⁸⁾。また、VWF の血小板血栓形成能は必ずり応力にも依存し⁹⁾、血流の早い動脈や血管径の細い部分で高い必ずり応力が発生し、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、高必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^{10,11)}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¹²⁾が用いられるようになった^{13,14)}。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¹⁵⁾。自己抗体の多くは IgG であるが、IgA や IgM の場合もある¹⁶⁾。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¹⁷⁾。後天性 TTP 症例の多くでインヒビターが検出される^{18,19)}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。

ADAMTS13 活性測定および自己抗体 (インヒビター) 検査は、平成 28 年 12 月末時点で保険適用外である。

IV 後天性 TTP

1) 歴史的背景

1924 年に米国の Moschcowitz²⁰⁾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 Ultmann²¹⁾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²²⁾。なお、TTP という病名は、1947 年に Singer ら²³⁾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²⁴⁾、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²⁵⁾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^{10,11)}、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²⁶⁻²⁸⁾、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²⁹⁾。

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 ～11 人と報告されていたが^{30,31)}、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³⁰⁾。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 36～51 歳で、女性の比率は 65%～100%であった^{18,27,32,33)}。ADAMTS13 活性 5%未満の日本の症例では¹⁹⁾、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ます、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¹⁹⁾。

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빈は、海外では 8-10 g/dL の症例が多いとされるが³⁴⁾、日本人では中央値 7.3 g/dL とやや低い¹⁹⁾。破碎赤血球の出現、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%以上の破碎赤血球が存在することが TMA の有意な所見とされている³⁵⁾が、破碎赤血球は定量化が困難で、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¹⁹⁾、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^{32, 33)}から 72%¹⁹⁾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¹⁹⁾、海外では 50%程度^{18, 27)}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 播種性血管内凝固症候群(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)

O157 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³⁶⁾、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³⁷⁾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²²⁾。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³⁸⁾、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 1 A)

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 1~1.5 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 UL-VWFM の除去、などが予想される²⁸⁾。アルブミンでは 1) 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²²⁾。

循環血漿量 (mL) = 体重 (kg) x 70 (mL/kg) x (1 - ヘマトクリット / 100)

血漿交換

FFP 50~75mL/kg を置換液として、1 日 1 回連日施行する。

理想としては、英国ガイドラインで記載されているように³⁴⁾、血小板数が正常化 (15 万 / μ L 以上) して、2 日後まで連日施行することであるが、日本国内では保険適用 (1 週間に 3 回、3 ヶ月まで) の問題から実際には困難である。そのため、当初 5 日程度は連

日施行し、それ以降隔日に施行し、血小板数と ADAMTS13 検査などの推移を見ながら、血漿交換の継続・実施を判断する。なお、救命のために保険適用を超えた月 13 回以上の血漿交換が必要な場合がある。

b) ステロイド療法（推奨度 1 B）

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³⁹⁾。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 0.5–1 mg/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 インヒビター力価を参考に減量する。

c) 抗血小板薬（推奨度 2 B）

血小板数が 5 万/ μ 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 g/dL 未満を目安に行うが^{34, 40)}、心疾患が存在すれば 8.0g/dL 未満を目安とする⁴¹⁾（推奨度 1 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^{34, 42, 43)}（推奨度 1 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 1B)⁴⁴⁾。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が望ましい⁴⁵⁾。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 1 B) (保険適用外)

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。保険適用外であるが難治例を中心に広く使用されている薬剤であるので、推奨度 1 にした^{44, 46, 47)}。

リツキシマブ療法

リツキシマブ 375 mg/ m^2

輸液ポンプにて徐々に投与速度を上げる。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 2 B) (保険適用外)⁴⁸⁾

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)⁴⁹⁾

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）⁵⁰⁾

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）⁵¹⁾、免疫グロブリン大量療法（推奨度 2 C）⁵²⁾ 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^{16, 53)}。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^{16, 53)}。

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²¹⁾、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^{18, 19, 22, 27, 32)}。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 BU/mL 以上が報告されている¹⁸⁾。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 T を検査することが必要である³⁴⁾。

V 先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群、USS)

1) 歴史的背景

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⁵⁴⁾。1960 年に Schulman ら⁵⁵⁾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 Upshaw⁵⁶⁾が同様に慢性血小板減少を示す 28 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ン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⁵⁷⁾、フィブロン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)TTP²⁴⁾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 らは^{24,58)} 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⁵⁸⁾、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⁵⁹⁾、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 12 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^{13,14)}、多数の USS 患者が同定され、現在も世界の USS 患者の約 1/3 は本邦で発見されたものである。

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⁶⁰⁾、ヨーロッパでの推計は人口 100 万人あたり 0.5~4 人との報告もある⁶¹⁾。日本での推計では 110 万人に 1 人との報告があり⁶²⁾、実際 2015 年末までに日本国内で同定された先天性 TTP は 59 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 59 例では男性 24 例、女性 35 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⁶³⁾。

早期発症型：先天性 TTP の特徴的な所見として新生児期の重症黄疸にて交換輸血を受けている場合がある。その後、感冒などの感染症に伴い血小板減少を繰り返して、小児期に先天性 TTP と診断され 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、女性の場合には妊娠すると必ず TTP 症状が明らかになる⁶⁴⁾。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⁶⁵⁾。

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, 66)}。

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, 67)}。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 1 B）

FFP 5～10 mL/kg を 2～3 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ため、*ADAMTS13* インヒビターの定期的な検査が必要である。

利益相反

松本雅則

顧問（アドバイザーなど）（バクスアルタ、アレクシオンファーマ、カイノス）、特許（アルフレッサファーマ）、講演料（旭化成ファーマ、中外製薬、アレクシオンファーマ、バイエル製薬）、奨学寄付金（中外製薬、バイエル製薬、バクスアルタ）

藤村吉博

被雇用者（日本赤十字社近畿ブロック血液センター）、特許（アルフレッサファーマ）

和田英夫

講演料（アレクシオンファーマ）、奨学寄付金（アレクシオンファーマ、第一三共）

小亀浩市

特許（ペプチド研究所、Peptides International、カイノス、エスアールエル、アルフレッサファーマ、ANASPEC）

宮川義隆

顧問（アドバイザーなど）（ノバルティスファーマ、協和発酵キリン、カイノス、富士フィルム）、講演料（ノバルティスファーマ、協和発酵キリン、アレクシオンファーマ、中外製薬、バイエル薬品、第一三共、旭化成ファーマ、キッセイ薬品工業、バイオジェン、バクスアルタ）、原稿料（テルモ、全薬工業、日本血液製剤機構）、奨学寄付金（アレクシオンファーマ、帝人ファーマ）

森木隆典

被雇用者（三菱東京 UFJ 銀行健康センター）

宮田敏行

顧問（アドバイザーなど）（アレクシオンファーマ）、特許（ペプチド研究所、Peptides International、カイノス、エスアールエル、アルフレッサファーマ、ANASPEC）、講演料（CSL ベーリング、LSI メディエンス、アレクシオンファーマ、第一三共、バイエル薬品）

村田満

顧問（アドバイザーなど）（ファイザー株式会社、大塚製薬株式会社）、講演料等（積水メディカル、LSI メディエンス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス、大日本住友製薬、大正富山医薬品、東ソーバイオサイエンス、ベックマン・コールター、アレクシオンファーマ）、奨学寄付金（日立ハイテクノロジーズ、サノフィ、アボットジャパン、東ソー、シノテスト）

第1版（2016） 平成28年9月30日

第2版（2017） 平成29年1月14日

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) Zheng X, Chung D, Takayama TK, et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* 2001; **276**: 41059-41063.
- 8) Furlan M. Von Willebrand factor: molecular size and functional activity. *Ann Hematol* 1996; **72**: 341-348.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.

- 14) 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.
- 15) Scheifflinger 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.
- 16) Ferrari S, Scheifflinger 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.
- 17) Kasper CK, Pool JG. Letter: Measurement of mild factor VIII inhibitors in Bethesda units. *Thromb Diath Haemorrh* 1975; **34**: 875-876.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) Moschcowitz E. Hyaline Thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proceeding New York Pathological Society* 1924; **24**: 21-24.
- 21) Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* 1966; **45**: 139-159.
- 22) 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.
- 23) Singer K, Bornstein FP, Wile SA. Thrombotic thrombocytopenic purpura; hemorrhagic diathesis with generalized platelet thromboses. *Blood* 1947; **2**: 542-554.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
 - 27) 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.
 - 28) 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.
 - 29) 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.
 - 30) 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.
 - 31) 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.
 - 32) 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.
 - 33) 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.
 - 34) 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.
 - 35) 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.
 - 36) Kato H, Nangaku M, Hataya H, et al. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol* 2016; **20**: 536-543.

- 37) 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.
- 38) 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.
- 39) 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.
- 40) 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.
- 41) 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.
- 42) 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.
- 43) Kumar A, Mhaskar R, Grossman BJ, et al. Platelet transfusion: a systematic review of the clinical evidence. *Transfusion* 2015; **55**: 1116-1127; quiz 1115.
- 44) 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.
- 45) 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.
- 46) 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.
- 47) 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.
- 48) 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.
 - 49) 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.
 - 50) 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.
 - 51) Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, et al. Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2005; **130**: 768-776.
 - 52) 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; **52**: 1883-1891.
 - 53) 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.
 - 54) Dacie JV, Mollison PL, Richardson N, Selwyn JG, Shapiro L. Atypical congenital haemolytic anaemia. *Q J Med* 1953; **22**: 79-98.
 - 55) 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.
 - 56) 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.
 - 57) Rennard S, Abe S. Decreased cold-insoluble globulin in congenital thrombocytopenia (Upshaw-Schulman syndrome). *N Engl J Med* 1979; **300**: 368.
 - 58) 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.

- 59) 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.
- 60) Sadler JE. What's new in the diagnosis and pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015; **2015**: 631-636.
- 61) Mansouri Taleghani M, von Krogh AS, Fujimura Y, et al. Hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura and the hereditary TTP registry. *Hamostaseologie* 2013; **33**: 138-143.
- 62) 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.
- 63) Fujimura Y, Kokame K, Yagi H, et al. Hereditary Deficiency of ADAMTS13 activity: Upshaw-Schulman syndrome. *ADAMTS13* 2015; 73-90.
- 64) 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.
- 65) 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.
- 66) 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.
- 67) 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.

表1 GRADE systemによる推奨度

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

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
ADAMTS13欠損TMA	ADAMTS13活性著減	ADAMTS13遺伝子異常	先天性TTP (Upshaw-Schulman症候群)	ADAMTS13遺伝子異常
		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) (O157大腸菌など)	STEC-HUS	血液や便検査でSTEC感染を証明
		肺炎球菌 (ニューラミダーゼ分泌)	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	病因不明	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	造血幹移植後TMA	血小板輸血不応、 溶血の存在(ハプトグロビン低値など)
		臓器移植(腎臓移植、肝臓移植など)	臓器移植後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類縁疾患、他	TTPの古典的5徴候の存在、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

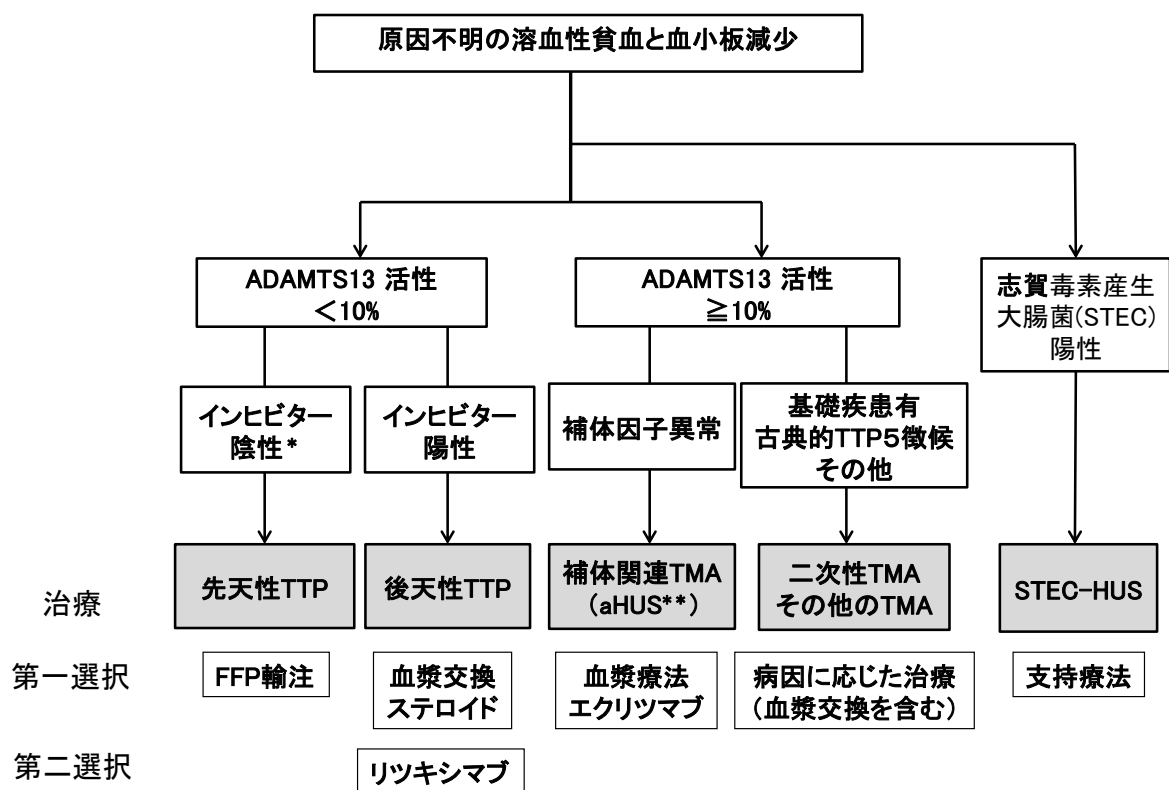


図1 TMAの診断と治療

* インヒビター陰性であっても、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。

HELLP症候群の病態解析

研究分担者	松本 雅則	奈良県立医科大学 輸血部	教授
研究協力者	藤村 吉博	日本赤十字社 近畿ブロック血液センター	所長
	八木 秀男	近畿大学奈良病院 血液内科	准教授
	吉田 遥子	奈良県立医科大学	輸血部

研究要旨

血栓性微血管症 (TMA) には、ADAMTS13活性著減する血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) や補体因子に異常のある非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の他に、多くの病因不明の疾患が存在する。その中に妊娠に関連し発症するHELLP (hemolysis, elevated liver function tests, low platelets) 症候群があるが、その病態はほとんど解明されていない。今回我々は、HELLP症候群においてADAMTS13抗原を等電点電気泳動 (IEF) 解析で定性的に検討し、その病態を解析した。

我々は、ポリアクリルアミドとアガロースの混合からなる粗孔IEFを完成し、これを用いて血漿中のADAMTS13抗原が、Band I, II, IIIの3種類に分離できることを報告している。Band I はVWFに結合していない (非結合型) ADAMTS13、Band IIIは高分子VWFに結合している (VWF結合型) ADAMTS13であった。しかし、Band IIはVWF を欠く type 3 von Willebrand病血漿にも見られることから、その存在様式を同定できなかった。一方、正常血漿のクリオ沈殿分画にてBand I+IIは上清に、またBand IIIは高分子VWFと結合しているため、沈殿として容易に分離回収できた。これらを用いて、VWF依存性高ずり応力惹起血小板凝集に対する阻害能を検討したところ、精製ADAMTS13とBand I+II (クリオ上清) は同凝集を用量依存性に阻害した。一方、Band III (クリオ沈殿) は同凝集の初期は阻害せず、後期を阻害する事が示された。

本研究では、正常妊婦でも妊娠経過と共にBand Iが軽度減少する傾向は見られたが、Band I, II, IIIの存在は全妊娠期間を通じて明瞭であった。対照的にHELLP症候群では全8例でBand Iの著明な欠落が観察された。今後の検討が必要であるが、HELLP症候群ではADAMTS13蛋白の質的異常が易血小板血栓形成の病態形成に大きく関与している事が示唆された。今後の本研究班におけるTMA分野の新たな病態解明の標的と考えている。

A. 研究の目的

TMAの代表的2疾患として血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) と溶血性尿毒症症候群 (HUS) が有名であるが、これら以外にもTMAには多くの疾患が存在する。その中でも自己免疫疾患、悪性腫瘍、造血幹細胞移植、妊娠などに伴い発症する二次性

TMAは、ほとんど病態が明らかになっていない。妊娠関連TMAの中で、妊娠高血圧症候群の最重症型と考えられているHELLP症候群は頻度も高く、HUSやTTPとの迅速な鑑別を要する重篤疾患である。HELLP症候群の病態解析において、止血因子のvon Willebrand因子 (VWF) は1980年代から注

目されており、産褥期のVWF の血中濃度は正常妊娠女性に比べてHELLP患者では極めて高いこと（300-400%）が知られている。このため、VWF特異的切断酵素であるADAMTS13が注目されたが、現在までの報告では産褥期の血漿ADAMTS13活性は正常とHELLP症候群ともに低下（共に50%程度）し、その値には差がないことが報告されている。そこで、本研究ではHELLP症候群患者においてADAMTS13抗原について、等電点電気泳動解析（IEF）を用いて定性的に解析した。

B. 研究方法

我々は2013年にポリアクリルアミドとアガロースの混合からなる粗孔ゲルIEFを完成し、これを用いて血漿中のADAMTS13抗原が、Band I, II, IIIの3種類に分離できる事を示した(Hori et al. Transfusion 53:3192-3201, 2013)。Band I はVWFに結合していない（非結合型）ADAMTS13、Band IIIは高分子VWFMに結合している（VWF結合型）ADAMTS13であった。しかし、Band IIはVWF を欠くtype 3 von Willebrand病血漿にも見られる事から、その存在様式を明らかにすることができなかった。

本研究では、128人の正常妊婦と8人のHELLP症候群患者について、IEFに加えて、VWF抗原量、ADAMTS13活性を解析した。8例のHELLP症例の年齢は24から40歳であり、発症時期は妊娠28週から39週であった。妊娠9週から16週が妊娠初期、17-28週が妊娠中期、29-40週が妊娠後期とし、産後期は出産後7日目までと定義した。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究成果

正常妊婦における VWF 抗原量は、妊娠初期 119.5%、妊娠後期 227%と約2倍に上昇したが、産後期には 179.5%と急激に低下した。一方、ADAMTS13 活性は妊娠初期の 84.3%から妊娠後期 66.8%まで徐々に低下し、産後期には 52.1%とさらに低下した。血小板数は有意な変化を認めなかった。

産後期における HELLP 症候群患者の VWF 抗原量は 352%と健常妊婦の約2倍であった。一方、ADAMTS13 活性は 61%と正常妊婦と有意な差は認めなかった。

IEF による ADAMTS13 抗原の検討では、健常人の Band I, II, III の濃度分布は、52.9%、37.9%、9.1%であった。図1に代表例を示すが正常妊婦でも妊娠経過と共に Band I が軽度減少する傾向は見られたが、Band I, II, III の存在は全妊娠期間を通じて明瞭であった。対照的に HELLP 症候群では全8例で Band I の著明な欠落が観察された。Band II と III はやや上昇していたが、有意な変化は認めなかった。産後期における Band I の濃度は正常妊娠と比較して有意に低下していた（14.4 vs 38.9%）。妊娠後期に8例のHELLP症候群のうち5例が著明に減少していたが、分娩後8日目には2例がほぼ正常に回復していた。

D. 考察

正常血漿のクリオ沈殿分画にてBand I+IIは上清に、またBand IIIは高分子VWFMと結合しているため、沈殿として容

易に分離回収できる。これらを用いて、VWF依存性高ずり応力惹起血小板凝集に対する阻害能を検討したところ、精製ADAMTS13とBand I+II（クリオ上清）は同凝集を用量依存性に阻害した。一方、Band III（クリオ沈殿）は同凝集の初期は阻害せず、凝集が開始された直後ではなく、時間が経過した段階の凝集を阻害する事を我々は報告した。

今回の検討でもHELLP症候群患者では、正常妊婦と比べて明らかなVWF抗原の上昇を認めた。しかし、ADAMTS13活性は2群で明らかな差を認めなかったが、IEFによる定性的な解析により、ADAMTS13の質的な異常が明らかとなった。HELLP症候群では、VWFの異常な上昇を認めるにも関わらず、ADAMTS13のBand Iが欠損している。このことにより、高ずり応力下でVWF切断にすぐに働くADAMTS13が存在していないためVWFが切断されずに、血栓形成が開始している可能性が示唆された。

HELLP症候群は、帝王切開などの分娩により急速に軽快することが多い。今回の検討でも、Band Iの欠損は多くの症例で分娩後8日目までに回復しており、Band Iの欠損が病態と深く関与していることが示唆された。

今後、HELLP症候群多数例での解析に加え、胎盤におけるVWF産生などを検討し、なぜHELLP症候群でVWF抗原量が上昇するのか検討する予定である。

E. 結論

HELLP症候群ではADAMTS13蛋白の質的な異常が易血小板血栓形成の病態形成に大きく関与している事が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

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

- p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. **Int J Hematol.** 104:223-227, 2016
5. Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. **Int J Hematol.** 104:228-235, 2016
 6. Ichikawa S, Sasaki K, Takahashi T, Hayakawa M, Matsumoto M, Harigae H. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with *Klebsiella* pneumonia in the background of alcoholic liver cirrhosis. **Case Reports in Internal Medicine** 3:30-35, 2016
 7. Tsujii N, Nogami K, Yoshizawa H, Hayakawa M, Isonishi A, Matsumoto M, Shima M. Influenza-associated thrombotic microangiopathy with unbalanced von Willebrand factor and a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 levels in a heterozygous protein S-deficient boy. **Pediatr Int** 58:926-929, 2016
 8. Tsujii N, Shiraishi I, MD, Kokame K, Shima M, MD, Fujimura Y, MD, Takahashi Y, Matsumoto M. Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. **Pediatrics**, 138: e20161565, 2016
 9. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. **J Thromb Haemost** 15:312-322, 2017
 10. Akutagawa T, Shindo T, Yamanouchi K, Hayakawa M, Ureshino H, Tsuruoka N, Sakata Y, Shimoda R, Noguchi R, Furukawa K, Morita S, Iwakiri R, Kimura S, Matsumoto M, Fujimoto K. Persistent Gastrointestinal Angiodysplasia in Heyde's Syndrome After Aortic Valve Replacement. **Intren Med.** In press.
 11. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Ozeki Y, Sakurai Y, Hayakawa M, Matsumoto M, Fujimura Y. Mutant botrocetin-2 inhibits von Willebrand factor-induced platelet agglutination. **J Thromb Haemost.** In press.

学会発表

1. 松本雅則. TMA における血漿療法と病因に基づいた新規治療法の選択. 第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会 国立京都国際会館、2016 年 4 月 28 日

(シンポジウム)

2. 杉邑俊樹、長谷川真弓、隅志穂里、下村志帆、馬場由美、辻内智美、前田美和、早川正樹、松本雅則. 当院で過去5年半に血液型判定困難で精査となった65症例の検討. **第64回日本輸血・細胞治療学会総会**. 国立京都国際会館. 2016年4月28日
3. 高橋幸博、長谷川真弓、松本雅則. 自施設作成混合血の組成およびその機能解析と緊急時の新生児の交換輸血. **第64回日本輸血・細胞治療学会総会**. 国立京都国際会館. 2016年4月28日
4. 松本雅則. 病因に基づいたTMAの診断と治療法の選択. **第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月17日(教育講演)
5. 吉井由美、早川正樹、石西綾美、堀勇二、藤村吉博、松本雅則. 後天性原発性血栓性血小板減少性紫斑病の再発危険因子の検討**第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
6. 小亀浩市、内田裕美子、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣. デジタルPCRを用いたaHUS関連遺伝子異常の検出**第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
7. 早川正樹、松本雅則、山下慶吾、阿部毅寿、谷口繁樹. 大動脈弁置換術で小腸血管異常まで改善したHeyde症候群のマルチマー解析. **第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
8. 松本雅則、錦織直人、小山文一、早川正樹、畠山金太、高済峯、藤村吉博、中島祥介. 大腸がん化学療法後の肝類洞障害は von Willebrand 因子による血小板血栓形成により発症する. **第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
9. 飯野宏允、柳澤邦雄、小川孔幸、清水啓明、三井健揮、石崎卓馬、半田寛、石西綾美、早川正樹、松本雅則、野島美久. Inhibitor boosting にリツキシマブが著効した血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)症例. **第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日
10. 内藤千晶、小川孔幸、柳澤邦雄、石崎卓馬、三原正大、半田寛、石西綾美、早川正樹、松本雅則、野島美久. 低力価 ADAMTS13 インヒビター残存状態で均衡を保っている血栓性血小板減少性紫斑病の1例. **第38回日本血栓止血学会学術集会**. 奈良春日野国際フォーラム. 2016年6月18日.
11. Matsumoto M. Analysis of Thrombotic Microangiopathy with Severe ADAMTS13 Deficiency in Japanese Registry. **The 9th Congress of the Asia-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis**. Taipei International Convention Center. 2016年10月8日
12. Tsujii N, Matsumoto M, Kokame K, Takahashi Y, Fujimura Y. Pulmonary hypertension complicated by severe hemolysis in neonate with congenital TTP. **第78回日本血液学会学術集会**. パシ

- フィコ横浜. 2016 年 10 月 15 日
13. Hayakawa M, Kato S, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative evaluation of degradation products in von Willebrand factor A2 domain by ADAMTS13. **第 78 回日本血液学会学術集会**. パシフィコ横浜. 2016 年 10 月 15 日
 14. Matsui T, Hori A, Hamako J, Matsushita F, Matsumoto M, Hayakawa M, Fujimura Y. The point-mutated botorocetin-2 inhibits VWF-induced platelet agglutination. **第 78 回日本血液学会学術集会**. パシフィコ横浜. 2016 年 10 月 13 日
 15. 早川正樹、酒井和哉、長谷川真弓、前田美和、辻内智美、馬場由美、下村志帆、隅志穂里、上野華恵、松下彰利、杉邑俊樹、梅木弥生、松本雅則. 大動脈弁狭窄症の根治術により難治性消化管出血が改善した症例. **第 60 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会**. 大阪国際交流センター. 2016 年 11 月 26 日
 16. Yoshida Y, Isonishi A, Sado T, Hayakawa M, Yagi H, Kobayashi H, Fujimura Y, Matsumoto M. Severe Reduction of Free ADAMTS13, Unbound to Von Willebrand Factor, in Plasma Milieu Is a Unique Feature of HELLP Syndrome. **The 58th Annual meeting of American Society of Hematology**. San Diego Convention Center. 2016 年 12 月 3 日
 17. Hayakawa M, Kato S, Matsui T, Sakai K, Yoshii Y, Yagi H, Fujimura Y, Matsumoto M. Quantitative ELISA Using N10 Antibody, Targeting on VWF-Y1605 Residue, Indicates That N-Linked Blood Group Type A Carbohydrate on VWF Molecule Functions Against ADAMTS13 Cleavage. **The 58th Annual meeting of American Society of Hematology**. San Diego Convention Center. 2016 年 12 月 5 日
 18. 堀内久徳、松本雅則、小亀浩市、The Avec Study Group. 標準化した VWF マルチマー解析によって評価した循環器疾患随伴 A V W S の重症度と出血性合併症の関係. **第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム**. 野村コンファレンスプラザ日本橋. 2017 年 1 月 21 日
 19. 松本雅則、厚生労働科研「血液凝固異常症等に関する研究班」 T T P サブグループ. 血栓性血小板減少性紫斑病 (T T P) 診療ガイドの作成状況. **第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム**. 野村コンファレンスプラザ日本橋. 2017 年 1 月 21 日
 20. 松本雅則. さらなる適正使用に向けた、血液製剤の使用と輸血療法の実施に関する研究. **平成 28 年度輸血関連研究班 第 2 回合同班会議**. 国立衛生研究所. 2017 年 2 月 11 日.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
- なし

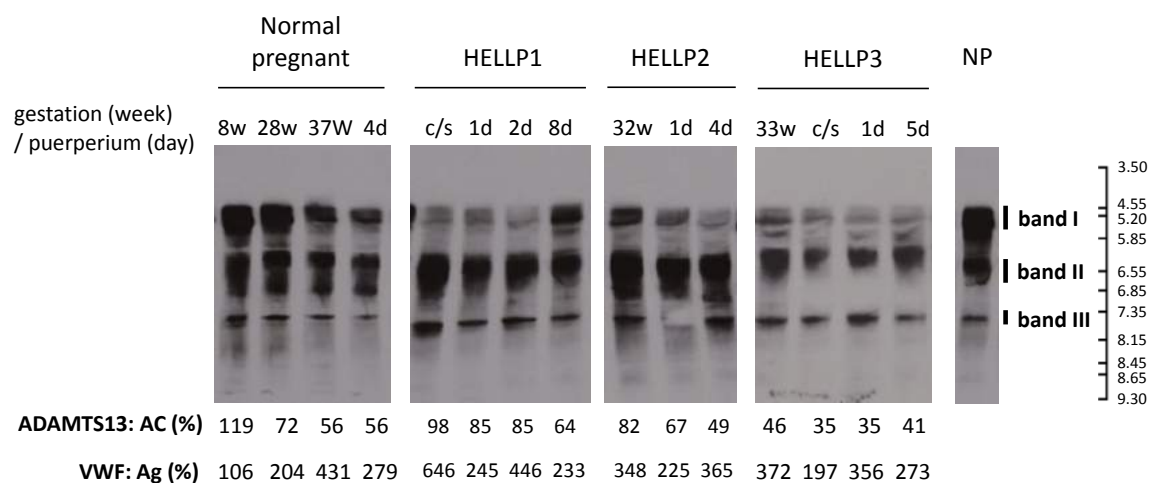


図1 代表例におけるIEFによるADAMTS13抗原解析

c/s: cesarean section

血液凝固異常症等に関する研究

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）診療ガイドと、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）診療ガイド（英語版）の作成を担当した。また、医師主導治験の成果をもとに、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）に対する抗体医薬リツキサンの公知申請と保険適用を取得した。

A. 研究目的

本邦初となる血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）診療ガイドを作成する。また、2015年に公開した非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）診療ガイドの英語版を作成し、海外に我が国の研究成果を発信する。厚生労働科学研究として実施した医師主導治験の研究成果をもとに、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）に対する抗体医薬リツキサンの公知申請と保険適用を取得する。

B. 研究方法

TTP サブグループで TTP 診療ガイド（案）を作成し、研究班、日本血液学会診療委員会の意見を反映後、同学会誌「臨床血液」に投稿する。aHUS 診療ガイドについては、英語版を作成し国際誌に投稿する。慢性 ITP に対するリツキサンの公知申請は、未承認薬・適応外薬検討会議に諮り、審査結果を待つ。

C. 研究成果

TTP 診療ガイドが完成し、日本血液学会誌「臨床血液」4月号に掲載予定である。掲載後、同学会ホームページにガイドラインを公開し、医学専門家が活用できる

よう配慮する。aHUS 診療ガイド（英語版）は完成し、既に国際誌に掲載された。今後、海外の研究機関との共同研究が進むことが期待される。慢性 ITP に対するリツキサンの公知申請の妥当性が、平成 29 年 2 月の未承認薬・適応外薬検討会議で承認された。同年 3 月厚生労働省により、公知申請が承認され、保険適用となった。

D. 考察

TTP は難治性の血液疾患であり、国内の患者数は年間 500 名と非常に少ない。このため治療経験が豊富な医師は限られている。今回作成した TTP 診療ガイドは、国内外の科学的根拠をもとに医学専門家が作成しており、同疾に苦しむ難病患者の救命に貢献することが大いに期待される。aHUS 診療ガイド（英語版）の公開により、海外の研究機関が我が国の研究成果を理解し、今後は国際的な共同研究に発展することが予想される。慢性 ITP に対するリツキサンは、海外では約 10 年から保険適用され、脾臓摘出術を回避する治療法として確立していた。国内でも 2004 年のガイドラインでリツキサンが推奨されながら、これまで難治例に保険的

適用外で処方されていた経緯がある。このたび、医師自ら行った治験により保険適用となったのは当研究班としても極めて大きな業績である。

E. 結論

本研究により、本邦初となる TTP 診療ガイド、aHUS 診療ガイド（英語版）が完成した。さらに、慢性 ITP に対する抗体医薬リツキサンの保険適用も取得し、国の指定難病である 3 疾患の医療状況が大きく改善した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- A) Miyakawa Y, et al. Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy. Int J Hematol 104, 228-235 (2016)
- B) Mitaka H, et al. Malignant hypertension with thrombotic microangiopathy. Int Med 55, 2277-

2280 (2016)

- C) Kato H, et al. Joint committee for the revision of clinical guides of atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. Clin Exp Nephrol 20, 536-543 (2016)

2. 学会発表

- A) 第 78 回 日本血液学会学術集会
(2016 年 10 月、東京都) 教育講演
「白熱！医師主導治験の現場」宮川義隆
- B) 第 37 回 日本妊娠高血圧学会 (2016 年 10 月、埼玉県) 教育講演「腎障害を伴う HELLP 症候群は補体の異常活性化で発症する非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) か」宮川義隆

3. ガイドライン

- A) aHUS 診療ガイド（英語版）、「Clin Exp Nephrol」誌に掲載
- B) 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 診療ガイド 2017、「臨床血液」に掲載予定

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

C3 p. I1157T 変異を有する aHUS 家系に関する研究

研究分担者 和田 英夫 三重大学 医学部臨床検査医学 准教授

研究要旨

三重大学を受診した C3 p. I1157T 変異を有する非定型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 10 家系について検討した。生命予後は良く、腎透析移行例は 20%であったが、高頻度に再発した。ADAMTS 値は 20%以上あり、滋賀トキシン産生病原性大腸菌の感染は見られず、一般的検査値は他の血栓性微小血管障害 (TMA) と大きな差は見られなかった。血漿交換などの従来の TMA 治療法にも反応し、エクリツマブは著効を示した。約半数でエクリツマブからの離脱が可能であったが、一部の症例で継続投与が必要であった。

A. 研究目的

非定型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome; aHUS) は、補体制御系の遺伝子異常などにより起こる血栓性微小血管障害 (thrombotic microangiopathy; TMA) である。原因となる遺伝子異常については、補体 Factor H (complement factor H; CFH)、FH Related 1, R3 (CFHR1/3)、Membrane cofactor protein (MCP)、Factor I (CFI)、Factor B (CFB)、complement C3 (C3)、トロンボモジュリンならびに Diacylglycerol kinase epsilon (DGKE) などが報告されている。欧米では、CFH の異常は全 aHUS の 20~30% と最も頻度が多く、予後が悪いことが報告されている。CFHR1/3 異常では抗 CFH 抗体が生じ、aHUS を発症するとされている。MCP の異常は軽症であり、C3 の異常は比較的予後が悪いとされている。欧米では CFH 異常の患者が多いためか、aHUS 患者の 79% は症状の発現から 3 年以内に慢性腎不全/透析施行、または死亡に進行し、予後の悪い病態といわれている。C3 変異があると C3b の不活化が起こらず、C3 変異が原因の aHUS 頻度は、欧米では 5~10% であるが、本邦では約 43% と著しく高い。こ

の原因としては、三重県で C3 p. I1157T 変異を有する aHUS が 10 家系報告されているのが影響していると考えられる。本研究では、自験例 C3 p. I1157T 変異による aHUS の病態について述べる。

B. 研究方法

三重大学を受診した C3 p. I1157T 変異を有する aHUS が 10 家系について、病態、予後、検査成績、遺伝子解析結果などを検討した。なお、補体制御系の遺伝子解析は、国立循環器病センター宮田敏行先生にお願いした。

C. 研究結果

表1に、三重大学における C3 p. I1157T 変異を含む aHUS 患者の臨床病態を示す。発症年齢は 1 歳から 70 歳までで、多様であるが、小児での発症が多く、性差はない。生命予後はよく、15 例全員が生存している。腎機能に関しては、3 例に透析を行い、2 例が慢性透析に移行しているが、80% の症例で腎機能はほぼ維持されている。中枢神経症状を示す症例は少ないが、殆どの症例が腎障害を呈した。誘因としては、感染症ならびにワクチンの接種が高頻度に認

められた。

遺伝子検査では、12例がC3 p. I1157T変異ヘテロ接合体で、1例がホモ接合体であったが、ホモ接合体例が重篤なわけではなかった。ADAMTS活性値は20%以上あり、滋賀トキシン産生病原性大腸菌の感染は見られず、血小板数は全例4.0万/ μ l以下で、ヘモグロビン値は早期治療例以外では8.0g/dL以下であった。クレアチニン値は、1例を除いて増加し、LDHならびに総ビリルビン値は全例で増加した(表2)。すべての症例で、ADAMTS13値は20%以上であり、血小板膜糖蛋白GPVIは高値を示し、C5b-9も高値を示した。

aHUSの治療は、最初は輸液、ステロイド、血漿輸注、血漿交換などが行われた。血漿交換などで比較的簡単に寛解に入るが、多くの症例で複数回再発をした。エクリツマブを使用した5例では著効を示し、1~2週間以内に検査値はほぼ改善を示した。なお、C3 p. I1157T変異によるaHUSは比較的予後が良かったが、C3変異によるaHUS全体の予後が良いわけではない。

D. 考察

C3 p. I1157T変異によるaHUS症例の検討では、比較的予後が良かったが、再発例が多くみられた。本遺伝子異常によるaHUSの診断には、遺伝子診断が必須であった。ソリリスは著効を示し、半数の症例で離脱が可能だったが、一部の症例で継続投与が必要な症例がみられた。

E. 結論

C3 p. I1157T変異によるaHUS症例の診断には遺伝子診断が必須であった。生命予後は良かったが、難治例も見られた

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N.: The efficacy of the administration of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with DIC. Int J Hematol. 2016; 103: 173-179
- 2) Aota T, Wada H, Fujimoto N, Sugimoto K, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Kawasugi K, Madoiwa S, Asakura H, Katayama N.: The valuable diagnosis of DIC and pre-DIC and prediction of a poor outcome by the evaluation of diagnostic criteria for DIC in patients with hematopoietic injury established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. Thromb Res. 2016; 147:80-84
- 3) Aota T, Wada H, Fujimoto N, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Uchiyama T, Seki Y, Katayama N: Evaluation of the Diagnostic Criteria for the Basic Type of DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. Clin Appl Thromb Hemost. 2016 Oct 11
- 4) Aota T, Wada H, Yamashita Y,

- Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Asakura H, Okamoto K, Katayama N. An Evaluation of the Modified Diagnostic Criteria for DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. Clin Appl Thromb Hemost. 2016 Jun 14
- 5) Iba T, Di Nisio M, Thachil J, Wada H, Asakura H, Sato K, Kitamura N, Saitoh D.: Revision of the Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) disseminated intravascular coagulation (DIC) diagnostic criteria using antithrombin activity. Crit Care. 2016; 20: 287.
 - 6) Iba T, Gando S, Saitoh D, Wada H, Di Nisio M, Thachil J.: Antithrombin supplementation and risk of bleeding in patients with sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. Thromb Res. 2016; 145:46-50
 - 7) Squizzato A, Hunt BJ, Gary T. Kinasevit GT, Wada H, ten Cate H, Thachil J, Levi M, Vicente V, Angelo AD, Di Nisio M: Supportive management strategies for disseminated intravascular coagulation-An international consensus, Thromb Haemost, 2016;115: 896-904
 - 8) Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, Okamoto K, Kawasugi K, Madoiwa S, Wada H; DIC subcommittee of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis.: Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. Thromb J. 2016 Sep 28;14:42. Review.
 - 9) Nagatsuka K, Miyata S, Kada A, Kawamura A, Nakagawara J, Furui E, Takiuchi S, Taomoto K, Kario K, Uchiyama S, Saito K, Nagao T, Kitagawa K, Hosomi N, Tanaka K, Kaikita K, Katayama Y, Abumiya T, Nakane H, Wada H, Hattori A, Kimura K, Isshiki T, Nishikawa M, Yamawaki T, Yonemoto N, Okada H, Ogawa H, Minematsu K, Miyata T: Cardiovascular events occur independently of high on-aspirin platelet reactivity and residual COX-1 activity in stable cardiovascular patients. Thromb Haemost. 2016; 116: 356-68
 - 10) Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation" J Pediatr Hematol Oncol. 2016; 38: e137-9
 - 11) Nakajima H, Dohi K, Tanabe M, Nakamura A, Kanemitsu S, Wada H, Yamada N, Nobori T, Shinpo H, Ito M: Infective Endocarditis Caused by Pantone-Valentine Leukocidin-producing Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus

- Identified by the Broad-range PCR Method. Intern Med. 2016; 55: 1871-5
- 12) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Presence of Antiphospholipid Antibodies as a Risk Factor for Thrombotic Events in Patients with Connective Tissue Diseases and Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. Intern Med. 2016; 55: 589-95.
 - 13) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome. Clin Appl Thromb Hemost. 2016 Jan 11.
 - 14) Ikejiri M, Wada H, Yamaguchi T, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Sakaguchi A, Matsumoto T, Ohishi K, Fujimoto N, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with fondaparinux. Int J Hematol 2016;103:554-559
 - 15) Ikejiri M, Wada H, Kamimoto Y, Nakatani K, Ikeda T: Protection From Pregnancy Loss in Women With Hereditary Thrombophilia When Associated With Fibrinogen Polymorphism Thr331Ala. Clin Appl Thromb Hemost. 2016 Apr 20.
 - 16) Ikejiri M, Wada H, Yamada N, Nakamura M, Fujimoto N, Nakatani K, Matsuda A, Ogihara Y, Matsumoto T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Ito M.: High prevalence of congenital thrombophilia in patients with pregnancy-related or idiopathic venous thromboembolism/pulmonary embolism. Int J Hematol. 2016 Oct 20.
 - 17) Yamaguchi T, Wada H, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Sakaguchi A, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Fibrin related markers for diagnosing acute or chronic venous thromboembolism in patients with major orthopedic surgery. Int J Hematol, 2016;103: 560-566
 - 18) Wada H, Matsumoto T, Aota T, Yamashita Y, Suzuki K, Katayama N.: Management of cancer-associated disseminated intravascular coagulation: guidance from the SSC of the ISTH: comment. J Thromb Haemost. 2016; 14: 1314-5
 - 19) Wada H, Matsumoto T, Aota T, Imai H, Suzuki K, Katayama N.: Efficacy and safety of anticoagulant therapy in three specific populations with sepsis: a meta-

analysis of randomized controlled trials: comment. J Thromb Haemost. 2016; 14:2308-9

- 20) Wada H, Matsumoto T, Fujimoto N, Imai H, Suzuki K, Katayama N.: Shock, acute disseminated intravascular coagulation, and microvascular thrombosis: is 'shock liver' the unrecognized provocateur of ischemic limb necrosis: comment. J Thromb Haemost. 2016 14: 2315-6

2. 学会発表

Symposium

- 1) Wada H: Diagnosis and treatment of DIC. The 33rd World Congress of Internal Medicine, WCIM Bali 2016, Bali, Indonesia, August 22-25, 2016
- 2) 和田英夫: 止血系マーカーによる過凝固(前血栓)状態の検討、第5回プロテインS研究会シンポジウム、第38回日本血栓止血学会学術集会、奈良春日野国際フォーラム、2016年6月16-18日
- 3) 和田英夫: 悪性腫瘍と静脈血栓塞栓症、悪性腫瘍に合併する血栓止血異

常、第17回日本検査血液学会、福岡国際会議場、2016年8月6日～7日

- 4) Wada H: Guide for managing TTP and aHUS. シンポジウム7 血栓止血領域の診療ガイド、第78回日本血液学会学術集会、10/13-15/2016、パシフィコ横浜+

Luncheon Seminar

- 5) Wada H: Monitoring the hemostatic state in orthopedic surgery patients using fibrin related markers. Fibrin related markers in clinical practice. The 9th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis, Taipei International Convention Center (TICC), 10/6-9, 2016

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

表 1 三重大で経験した C3:p. I1157T 変異を含む aHUS 例

	年齢	性	初発 年齢	再発 回数	予後	腎 障害	透析	中枢神 経症状	誘発因子
I-1	41	F	6	6	生存	有	ND	有	感冒
I-2	71	F	20	2	生存	有	ND	無	—
II	39	F	5	8	生存	有	ND	無	インフルエンザ・ 感冒
III	15	M	1	2	生存	有	離脱	無	感冒・細菌感染
IV-1	39	M	2	7	生存	有	透析		感冒・細菌感染
IV-2	72	M	70	0	生存	有	透析		—
V	41	F	21	4	生存	有	ND	有	感冒・ワクチン
VI-1	12	M	9	2	生存	有	ND	無	細菌感染
VI-2	48	M	38	0	生存	有	ND	無	—
VII	5	M	1	1	生存	有	ND	無	—
VIII	25	F	3	7	生存	有	ND	無	—
IX	31	M	24	7	生存	有	ND	無	感冒
X	25	F	3	3	生存	有	ND	無	感冒
XI	31	M	1	4	生存	有	ND	無	インフルエンザ
XII	24	M	10	1	生存	有	ND	無	インフルエンザ A

表 2 C3:p. I1157T 変異を含む aHUS 例の検査値異常

	C3p. I1157T 変異	PLT ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	クレアチニン (mg/dL)	LDH (U/L)	T-Bil (mg/dL)
I -1	ヘテロ接合体	1.9	7.4	1.7	972	1.9
-2	ホモ接合体					
II	ヘテロ接合体	3.5	5.9	4.7	4485	3.5
III	ヘテロ接合体	2.6	5.9	4.7	4465	2.4
IV -1	ヘテロ接合体	2.8	6.7	10.6	1280	1.1
IV -2	ヘテロ接合体					
V	ヘテロ接合体	3.5	9.8	1.4	928	3.5
VI -1	ヘテロ接合体	1.4	6.6	1.8	3160	1.4
VI -2	ヘテロ接合体	1.0	7.4	1.9	2850	1.8
VII	不明	2.6	7.2	10.9	696	2.6
VIII	ヘテロ接合体	2.2	6	0.85	1098	2.2
IX	不明	1.5	7.9	2.1	1780	1.9
X	ヘテロ接合体	1.0	5.9	1.4	2112	7.6
XI	ヘテロ接合体	1.9	13.5	3.9	3882	2.2
XII	ヘテロ接合体	0.3	7.5	2.77	4989	3.0

先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析に関する研究

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

研究協力者 宮田 敏行 国立循環器病研究センター脳血管内科 シニア研究員

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.R193W と p.C1213R の複合ヘテロ接合体であった。もう 1 名にはヘテロ接合性の p.C1039Y が同定されたが、別アレルの異常はゲノム定量 PCR を行っても見出せなかった。p.C1213R と p.C1039Y は海外も含めて未報告の変異であった。今回のように片アレルしか異常が見つからない症例が過去にも数家系あった。これらの症例に潜む遺伝子異常を効率よく検出する方法の開発が望まれる。

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、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 (TGTAACACGACGGCCAGT) を、アンチセン

ス方向プライマーの 5' 側に M13R 配列 (CAGGAAACAGCTATGACC) を、それぞれ附加しておいた。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 System (ロッシュ) を使用した。PCR 終了後、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) 1 μ L を加え、37°C/30 分間、80°C/15 分間反応させた。このうち 1 μ L 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 Cycle 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 5 μ 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 3730xl (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 0 プライミ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、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

USS-AAA 家系の患者は女性で、出産時に TTP と診断され血漿交換治療が施された。その後、周期性の血小板減少が観察されていた。異なる採血日の測定で血漿 ADAMTS13 活性はいずれも 10%未満であり (1.0、1.1、<0.5%)、インヒビターは検出されなかったため、先天性 TTP である可能性が高いと考えられた。ダイレクト・シーケンシング法による解析の結果、c. 577C>T (p. R193W) および c. 3637T>C (p. C1213R) のヘテロ接合体であった。両親の遺伝子解析を行っていないために断定できないが、臨床症状や検査結果等を考慮すれば、患者は両変異の複合ヘテロ接合体であると考えてよいと判断した。c. 577C>T (p. R193W) はこれまで日本の 10 家系に見出された変異で、c. 3637T>C (p. C1213R) は国外含めて未報告の変異である。

USS-S 家系の患者は男性で、異なる採血日の測定で血漿 ADAMTS13 活性はいずれ

も 10%未満であり (2.9、3.4%)、インヒビターは検出されなかったため、この患者も先天性 TTP である可能性が高いと考えられた。患者家族の血漿 ADAMTS13 活性は、父 (48.2、87.0%)、母 (23.3、37.1%)、兄 (33.1%) であり、いずれもインヒビターは陰性であった。ダイレクト・シーケンシング法による解析の結果、患者に c. 3116G>A (p. C1039Y) がヘテロ接合体で同定された。これは国外含めて未報告の変異である。患者にはもう一つの異常が存在すると予想されたため、ダイレクト・シーケンシング法を補完するゲノム定量 PCR 法による解析を行った。しかし、この方法でも異常は見つからなかったため、本患者には希少なタイプの遺伝子異常が存在する可能性が考えられた。これを解決するには、次世代シーケンシング技術等を利用する必要があるかもしれない。

D. 考察

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、3 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。

E. 結論

先天性 TTP 疑い患者 2 名（2 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、1 名には両アレル性の異常が、もう 1 名には片アレル性の異常が同定された。後者にはゲノム定量 PCR 法も適用したが、別アレルの異常は見つからなかった。このような症例に潜む遺伝子異常を効率よく検出する方法の開発が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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

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

Nobuyuki Tsujii, Isao Shiraishi, Koichi Kokame, Midori Shima, Yoshihiro Fujimura, Yukihiro

Takahashi, Masanori Matsumoto: Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome. *Pediatrics* 138 (6), e20161565 (2016)

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

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

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

2. 学会発表

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

小亀浩市, 内田裕美子, 宮田敏行, 松本雅則, 藤村吉博, 吉田瑤子, 加藤秀樹, 南学正臣: デジタル PCR を用いた aHUS 関連遺伝子異常の検出. 第 38 回日本血栓止

血学会学術集会, 奈良, 2016 年 6 月 16 日
-18 日

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

Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko
Yoshida, Hideki Kato, Masanori
Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro
Fujimura, and Masaomi Nangaku: No
association between
dysplasminogenemia with p.Ala620Thr
mutation and atypical hemolytic
uremic syndrome. The 26th
International Complement Workshop,
Kanazawa, September 4-8, 2016.

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

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

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

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

本邦における非典型溶血性尿毒症症候群の現状

分担研究者 南学正臣 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 教授
香美祥二 徳島大学大学院医歯薬学研究部 小児科学 教授
研究協力者 加藤秀樹 東京大学医学部附属病院 腎臓・内分泌内科 助教

研究要旨

非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）は補体関連因子の異常を主な原因とする症候群である。平成 26 年度より aHUS に関しては、奈良県立医科大学輸血部から東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科に aHUS 患者診断システムを移行し、東大病院において羊赤血球を用いた溶血試験と補体 H 因子に対する自己抗体の解析系を立ち上げ、国立循環器病研究センターとの遺伝子解析の連携体制を樹立し、aHUS の全国的な疫学調査ならびに病態解析を開始した。奈良県立医科大学から引き継いだ aHUS 患者コホート 66 名に加えて、2014 年以降、2016 年 12 月までの東大へのコンサルト症例 167 例のうち、77 例で臨床的に aHUS と診断した。非典型溶血性尿毒症症候群診断基準改訂委員会を開催し、平成 27 年度に「非典型溶血性尿毒症症候群診療ガイド」が日本腎臓学会と日本小児科学会から公表されたが、今後も本疾患の診断的拠点として活動し、疫学的解析を進めていくと共に、本邦でのエビデンスを集積し、非典型溶血性尿毒症症候群診療ガイドライン作成を目標とする。

A. 研究目的

非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）は、血栓性微小血管症（TMA）のなかで、志賀毒素による溶血性尿毒症症候群（HUS）や ADAMTS13 の異常による血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）、基礎疾患のある二次性 TMA を除いた、補体関連の異常を主な原因とする症候群である。

本疾患の診断のためには、臨床所見や一般検査に加えて、研究レベルで実施されている羊赤血球を用いた溶血試験、抗 CFH 抗体検査、さらに候補遺伝子の遺伝子検査が必要である。本邦で体系的に診断できる検査機関は無く、本研究班で実施体制を継続する。また本邦の疫学的データの集積、遺伝的背景の解析、後天的要因である抗 CFH 抗体陽性例の解析を実施する。これらの知見をもとに、非典型溶血性尿毒症症候群診療ガイドライン作成を目標とする。

B. 研究方法

TMA 疾患のうち、TTP に関しては奈良県立医科大学輸血部、aHUS に関しては東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科、両疾患の遺伝子解析に関しては国立循環器病研究センターで実施する体制を既に樹立している。

aHUS の診断基準は本研究班の分担研究者（香美（委員長）、南学、丸山、藤村、宮川、伊藤、芦田、加藤）が参加し、日本腎臓学会と日本小児科学会合同のワーキンググループによって、平成 27 年度に aHUS 診療ガイドが作成された。本診療ガイドでは、aHUS は TMA から STEC-HUS、TTP、二次性 TMA を除外し、鑑別診断について詳述し、また二次性 TMA 疾患の中からも遺伝子変異が認められる例があることなど鑑別について詳細に記載している。臨床的に補体関連 HUS が疑われる症例を対

象とした。診断方法としては、羊赤血球を用いた定量的溶血試験、抗 H 因子抗体検査 (ELISA 法、ウエスタンブロット)、また抗 H 因子抗体陽性例では CFHR 遺伝子欠損が多くみられることが知られており、血漿中の CFHR1~5 のウエスタンブロット法を用いた欠損の解析、MLPA-PCR 法を用いた CFHR1~5 遺伝子欠損の有無の解析を行った。

aHUS の臨床試験を開始するにあたり、東大医学部ヒトゲノム倫理委員会の承認を受け、大学病院医療情報ネットワーク研究センターにおける UMIN-CTR にて臨床試験登録を行った。疫学調査方法としては、臨床所見、検査所見、薬剤使用状況などを記入する調査票を作成、各医療機関へ送付し、各主治医に経過を記載していただいた上で、得られたデータの集積を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京大学及び名古屋大学における臨床研究、疫学研究倫理委員会とヒトゲノム・遺伝子解析研究の承認を得ている。

各医療機関で aHUS 疑いの患者を診断し、本人、家族の同意が得られた場合は東大病院の専門外来を受診していただき、詳細な問診、家族歴の聴取などを行い、解析の同意を得た上で採血を行った。実際には多くの症例が重症であり、遠方であること等から、東大病院を受診できなかったため、各医療機関で東大病院において解析を施行することについて当該施設の倫理委員会に申請していただき、承認後に患者の同意を得たうえで解析を実施した。

C. 研究結果

奈良県立医科大学輸血部から引き継いだ aHUS 患者コホートは 69 例である。平成 26 年から東京大学医学部附属病院腎

臓・内分泌内科で診断、解析を開始し、解析依頼例が症例 167 例あり、77 例で臨床的に aHUS と診断した。解析が終了している臨床的 aHUS 例は 146 例である。これまでの本邦での遺伝的、後天的要因の背景としては、CFH 変異例 10 例 (6.6%)、MCP 変異例 9 例 (6.2%)、C3 変異例 37 例 (25.3%)、THBD 変異例 1 例 (0.7%)、DGKE 変異例 2 例 (1.4%)、抗 CFH 抗体例 20 例 (13.7%) であり、欧米では CFH 変異例が多いが本邦では頻度が少なく、逆に C3 変異例が多いことが判明した。

aHUS の先天性の原因として、補体関連の遺伝子異常が知られているが、その他に後天的な要因として、抗 CFH 抗体が aHUS を引き起こすことが知られている。aHUS が疑われる例は、全例 ELISA による抗 CFH 抗体スクリーニングを実施している。これまでに奈良県立医科大学、東京大学に相談のあった aHUS 疑診患者で実施し、20 例で抗 CFH 抗体陽性例と判明しており、これらの患者について解析した。

一般に抗 CFH 抗体陽性 aHUS は若年発症が多いとされるが、我々のコホートでは 4 から 11 歳と、50 から 75 歳の二相性で抗体陽性が認められることが判明した。抗 CFH 抗体が出現するメカニズムは明らかにはなっていないが、欧米では抗体陽性例の約 7 割が CFHR1 遺伝子欠損であることが判明している。血清、遺伝子解析が可能であった 10 名の解析において、患者血漿中の CFHR1 の有無を検討したところ、3 名で CFHR1 欠損が認められた。MLPA-PCR 法にて CFH、CFHR 領域の遺伝子コピー数を解析したところ、2 名で CFHR1 遺伝子 homo 欠損、また whole exome 解析では 1 名で CFHR1 遺伝子に stop codon 変異が認められた。CFH に対する epitope 解析では、これまでの報告と同様に CFH の C 末端、CFHR1 を認識していた。

本邦では抗 CFH 抗体陽性患者において、

欧米と比較して CFHR1 欠損の割合が低いことが考えられた。

D. 考察

aHUS は 2008 年に本邦で初めて見つかり、奈良県立医科大学輸血部、東京大学医学部附属病院腎臓・内分泌内科で診断解析を実施し、146 例で aHUS と診断した。本疾患は希少疾患であり、また一般病院、大学病院においても確定診断は不可能である。各医師が個人で複数症例を経験するのは困難であり、診断・解析・疫学解析の拠点の樹立が本疾患の解明のためには望ましいと考えられる。

今後も本邦 aHUS 患者の臨床的特徴、鑑別診断、治療法の検討を行い、本邦独自のエビデンスを樹立し、エビデンスに基づいた本疾患ガイドライン作成を目標とする。

E. 結論

本研究班での活動により、本邦における本疾患の診断が可能となり、本疾患が啓蒙され、病態解明・疫学調査が可能な体制が樹立されつつある。今後も引き続き解析・活動を継続し、本邦で質の高い診療が実施できるように情報発信と共にガイドライン作成予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(論文発表)

(英文)

- 1: Yoshida Y, Kato H and Nangaku M. Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in press. Renal Replacement Therapy. 2016.
- 2: Saito T, Iwano M, Matsumoto K, Mitarai T, Yokoyama H, Yorioka N,

Nishi S, Yoshimura A, Sato H, Ogahara S, Sasatomi Y, Kataoka Y, Ueda S, Koyama A, Maruyama S, Nangaku M, Imai E, Matsuo S, Tomino Y; Refractory Nephrotic Syndrome Study Group.. Mizoribine therapy combined with steroids and mizoribine blood concentration monitoring for idiopathic membranous nephropathy with steroid-resistant nephrotic syndrome. Clin Exp Nephrol. 2016 Oct 25.

- 3: Bazzi C, Usui T, Rizza V, Casellato D, Gallieni M, Nangaku M. Urinary N-acetyl- β -glucosaminidase and eGFR may identify patients to be treated with immuno-suppression at diagnosis in idiopathic membranous nephropathy. Nephrology (Carlton). 2016 Oct 20.
- 4: Kushida N, Nomura S, Mimura I, Fujita T, Yamamoto S, Nangaku M, Aburatani H. Hypoxia-Inducible Factor-1 α Activates the Transforming Growth Factor- β /SMAD3 Pathway in Kidney Tubular Epithelial Cells. Am J Nephrol. 2016;44(4):276-285.
- 5: Mimura I, Tanaka T, Nangaku M. New insights into molecular mechanisms of epigenetic regulation in kidney disease. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2016 Dec;43(12):1159-1167. Review.
- 6: Kato H, Nangaku M, Hataya H, Sawai T, Ashida A, Fujimaru R, Hidaka Y, Kaname S, Maruyama S, Yasuda T, Yoshida Y, Ito S, Hattori M, Miyakawa Y, Fujimura Y, Okada H,

- Kagami S; Joint Committee for the Revision of Clinical Guides of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Japan.. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Pediatr Int.* 2016 Jul;58(7):549-55.
- 7: Kato H, Nangaku M, Hataya H, Sawai T, Ashida A, Fujimaru R, Hidaka Y, Kaname S, Maruyama S, Yasuda T, Yoshida Y, Ito S, Hattori M, Miyakawa Y, Fujimura Y, Okada H, Kagami S; Joint Committee for the Revision of Clinical Guides of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in Japan.. Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan. *Clin Exp Nephrol.* 2016 Aug;20(4):536-43.
 - 8: Omura T, Watanabe E, Otsuka Y, Yoshida Y, Kato H, Nangaku M, Miyata T, Oda S. Complete remission of thrombotic microangiopathy after treatment with eculizumab in a patient with non-Shiga toxin-associated bacterial enteritis: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2016 Jul;95(27):e4104.
 - 9: Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M. No association between dysplasminogenemia with p. Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. *Int J Hematol.* 2016 Aug;104(2):223-7.
 - 10: Hirakawa Y, Hanafusa N, Nangaku M. Correction of Metabolic Alkalosis and Elevated Calcium Levels by Sodium Chloride in a Hemodialysis Patient With Inadequate Chloride Intake. *Ther Apher Dial.* 2016 Feb;20(1):86-7.
 - 11: Hirakawa Y, Yoshihara T, Kamiya M, Mimura I, Fujikura D, Masuda T, Kikuchi R, Takahashi I, Urano Y, Tobita S, Nangaku M. Quantitating intracellular oxygen tension in vivo by phosphorescence lifetime measurement. *Sci Rep.* 2015 Dec 8;5:17838.
 - 12: Wada T, Nangaku M. A circulating permeability factor in focal segmental glomerulosclerosis: the hunt continues. *Clin Kidney J.* 2015 Dec;8(6):708-15. Review.
 - 13: Rabb H, Griffin MD, McKay DB, Swaminathan S, Pickkers P, Rosner MH, Kellum JA, Ronco C; Acute Dialysis Quality Initiative Consensus XIII Work Group.. Inflammation in AKI: Current Understanding, Key Questions, and Knowledge Gaps. *J Am Soc Nephrol.* 2016 Feb;27(2):371-9.
 - 14: Katagiri D, Hamasaki Y, Doi K, Negishi K, Sugaya T, Nangaku M, Noiri E. Interstitial renal fibrosis due to multiple cisplatin treatments is ameliorated by semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibition. *Kidney Int.* 2016 Feb; 89(2):374-85.
 - 15: Basile DP, Bonventre JV, Mehta R, Nangaku M, Unwin R, Rosner MH, Kellum JA, Ronco C; ADQI XIII Work Group.. Progression after AKI: Understanding Maladaptive Repair Processes to Predict and Identify Therapeutic Treatments. *J Am Soc*

- Nephrol. 2016 Mar;27(3):687-97.
- 16: Mimura I, Tanaka T, Nangaku M. How the Target Hemoglobin of Renal Anemia Should Be. Nephron. 2015;131(3):202-9. doi: 10.1159/000440849. Review.
 - 17: Bazzi C, Tagliabue E, Raimondi S, Rizza V, Casellato D, Nangaku M. High (≥ 6.5) Spontaneous and Persistent Urinary pH Is Protective of Renal Function at Baseline and during Disease Course in Idiopathic Membranous Nephropathy. Int J Nephrol. 2015;2015:730234.
 - 18: Tojo A, Asaba K, Kinugasa S, Ikeda Y, Shintani Y, Fukayama M, Nangaku M. The reduced expression of proximal tubular transporters in acquired Fanconi syndrome with κ light chain deposition. Med Mol Morphol. 2016 Mar;49(1):48-52.
 - 19: Kato H, Ishida J, Matsusaka T, Ishimaru T, Tanimoto K, Sugiyama F, Yagami K, Nangaku M, Fukamizu A. Erythropoiesis and Blood Pressure Are Regulated via AT1 Receptor by Distinctive Pathways. PLoS One. 2015 Jun 24;10(6):e0129484.
 - 20: Imai E, Maruyama S, Nangaku M, Hirakata H, Hayashi T, Narita I, Kono H, Nakatani E, Morita S, Tsubakihara Y, Akizawa T. Rationale and study design of a randomized controlled trial to assess the effects of maintaining hemoglobin levels using darbepoetin alfa on prevention of development of end-stage kidney disease in non-diabetic CKD patients (PREDICT Trial). Clin Exp Nephrol. 2016 Feb;20(1):71-6.
 - 21: Johnson RJ, Nangaku M. Endothelial Dysfunction: The Secret Agent Driving Kidney Disease. J Am Soc Nephrol. 2016 Jan;27(1):3-5.
- (和文)
1. 香美祥二, 岡田浩一, 南学正臣, 要伸也, 丸山彰一, 安田 隆, 加藤秀樹, 吉田遥子, 服部元史, 芦田 明, 幡谷浩史, 日高義彦, 澤井俊宏, 伊藤秀一, 藤丸季可, 藤村吉博, 宮川義隆: 非典型型溶血性尿毒症症候群(aHUS)診療ガイド 2015. 日本腎臓学会誌 85 (2) 62-75, 2016
 2. 香美祥二. 小児 aHUS update. 日本小児腎不全学会雑誌 36 : 15-21. 2016
 3. 香美祥二. 溶血性尿毒症症候群 今日の診療指針 2016 私はこう治療している. 1441-1442, 2016
 4. 香美祥二. 抗 C5 抗体療法 免疫・アレルギー科 65 (6) : 519-524, 2016
 5. 宮川義隆, 松本雅則, 南学正臣 編集 血栓性微小血管症(TMA)診断・治療実践マニュアル, 医薬ジャーナル, 2016
 6. 香美祥二. 国内における大規模な食中毒事件 血栓性微小血管症(TMA)診断・治療実践マニュアル 75-76, 2016
2. 学会発表
1. Characterization of the patients with atypical hemolytic uremic syndrome by combination of hemolytic assay and gene analysis in Japan
Yoko Yoshida, Hideki Kato, Madoka Fujisawa, Yuuka Sugahara, Yumiko

- Uchida, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata, Nangaku Masaomi
26th INTERNATIONAL COMPLEMENT WORKSHOP 2016 年 9 月 6 日 金沢
2. Analysis of genetic background and evaluation with hemolysis assay in patients with atypical hemolytic uremic syndrome in Japan
Masaomi Nangaku, Hideki Kato, Yoko Yoshida, Madoka Fujisawa, Yuka Sugawara, Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura
Asian Pacific Congress of Nephrology (APCN) 2016 年 9 月 20 日 Perth, オーストラリア
 3. 当施設における非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の解析
藤澤まどか、加藤秀樹、吉田瑤子、碓井知子、内田裕美子、宮田敏行、南学正臣
第 59 回日本腎臓学会学術総会 2016 年 06 月 17 日 パシフィコ横浜、神奈川
 4. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の診断・全国調査研究
南学正臣、加藤秀樹、吉田瑤子、宮田敏行、丸山彰一、香美祥二
第 59 回日本腎臓学会学術総会 2016 年 06 月 17 日 パシフィコ横浜、神奈川
 5. 非典型溶血性尿毒症症候群における原因遺伝子別の定量的羊赤血球溶血試験の検討吉田瑤子、加藤秀樹、藤澤まどか、内田裕美子、松本雅則、宮田敏行、藤村吉博、南学正臣
第 59 回日本腎臓学会学術総会 2016 年 06 月 17 日 パシフィコ横浜、神奈川
 6. 本邦における非典型溶血性尿毒症症候群の解析状況
吉田瑤子，加藤秀樹，藤澤まどか，菅原有佳，内田裕美子，芦田明，松本雅則，伊藤秀一，服部元史，香美祥二，宮田敏行，藤村吉博，南学正臣
第 51 回 日本小児腎臓病学会学術集会 2016 年 7 月 7 日 あいち小児保健医療総合センター、愛知
 7. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の現状と今後
加藤秀樹，吉田瑤子，藤澤まどか，菅原有佳，南学正臣
46 回日本腎臓学会東部学術大会 2016 年 10 月 8 日 京王プラザホテル、東京
 8. 非典型溶血性尿毒症症候群患者におけるプラスミノージェン A620T 変異
宮田敏行，内田裕美子，藤村吉博，吉田瑤子，加藤秀樹，南学正臣
38 回日本血栓止血学学術集会 2016 年 10 月 8 日 奈良春日野国際フォーラム、奈良
 9. デジタル PCR を用いた aHUS 関連遺伝子異常の検出
小亀浩市，内田裕美子，宮田敏行，松本雅則，藤村吉博，吉田瑤子，加藤秀樹，南学正臣
第 38 回日本血栓止血学学術集会 2016 年 10 月 8 日 奈良春日野国際フォーラム、奈良
 10. エクリズマブが著効した抗 H 因子抗体陽性非典型溶血性尿毒症症候群 (DEAP-HUS) の 1 例
今村秀明，此元隆雄，阪口嘉美，織田真悠子，大塚泰史，吉田瑤子，加藤秀樹，南学正臣，宮田敏行，布井博幸
第 46 回日本腎臓学会西部学術大会 2016 年 10 月 15 日 シーガイアコンベンションセンター、宮崎
 11. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の

一例

檜原秀雄，福長直也，丸尾美咲，野々下侑子，石田楓，工藤明子，橋永絵理，青木宏平，東寛子，中田健，吉田瑤子，加藤秀樹，南学正臣，縄田智子，柴田洋孝

第 46 回日本腎臓学会西部学術大会
2016 年 10 月 15 日 シーガイアコンベンションセンター、宮崎

12. 出産後非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) を発症し、血漿交換にて改善を認めた一例

平松晶子，藤本大介，井上秀樹，實吉拓，安達政隆，中山裕史，加藤秀樹，宮田敏行，南学正臣，向山政志
第 61 回 日本透析医学会学術集会・総会 2016 年 6 月 12 日 大阪国際会議場、大阪

13. C3 遺伝子変異に伴う aHUS (非典型溶血性尿毒症症候群) を呈した父子症例

三浦裕子 (地域医療機能推進機構中京病院 腎臓内科)，橋本悠作，立杵良崇，葛谷明彦，佐藤元美，青山功，吉田瑤子，加藤秀樹，南学正臣
第 61 回 日本透析医学会学術集会・総会 2016 年 6 月 10 日 大阪国際会議場、大阪

14. atypical HUS の診断と治療の update

加藤秀樹、吉田瑤子、藤澤まどか、菅原有佳、南学正臣
第 37 回日本アフェレンス学会学術大

会 2016 年 11 月 26 日 パシフィコ横浜、神奈川

15. 「非典型溶血性尿毒症症候群診療ガイド 2015」の解説と今後の課題

加藤秀樹、吉田瑤子、藤澤まどか、菅原有佳、宮田敏行、南学正臣

第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2017 年 1 月 21 日 野村コンファレンスプラザ日本橋、東京

16. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) とエクリズマブ治療

香美祥二

平成 27 年度石川県合同輸血療法委員会講演会 (平成 28 年 2 月 11 日，金沢)

17. aHUS 診療の最近の進歩

香美祥二

第 9 回福島県小児腎疾患セミナー (平成 28 年 3 月 5 日，郡山市)

18. aHUS 診療 - 新しい診療ガイドと最近の話題

香美祥二

第 33 回中国四国小児腎臓病学会 (平成 28 年 11 月 27 日，高松市)

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。

特発性血栓症／先天性血栓性素因サブグループ研究

グループリーダー： 津田博子 中村学園大学

研究分担者： 森下英理子 金沢大学

小嶋哲人 名古屋大学

宮田敏行 国立循環器病研究センター

小林隆夫 浜松医療センター

研究協力者： 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

關谷暁子 金沢大学 ／ 根木 玲子 国立循環器病研究センター

大賀正一 九州大学 ／ 辻 明宏 国立循環器病研究センター

和田英夫 三重大学

平成 28 年度特発性血栓症／先天性血栓性素因グループ総括

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

特発性血栓症サブグループは、エコノミークラス症候群としても注目される静脈血栓塞栓症を対象とし、エビデンス収集とともに、その発症要因である先天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・予防の対策確立を目的としている。今年度は、昨年度に続いて特発性血栓症の指定難病認定に取り組んだ。「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」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。疾病対策部会にて指定難病（平成 29 年度実施分）に認定され、4 月から医療費助成が開始される予定である。今後は患者救済だけでなく、臨床調査個人票による実態調査が可能となることが期待される。また、個別研究として、「先天性 AT、PC、PS 欠乏症の遺伝子変異同定率・臨床症状・ならびに直接経口抗凝固薬が活性測定値に及ぼす影響に関する研究」、「新生児発症 PC 欠乏症の臨床像と遺伝子解析の推奨基準」、「プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異解析による新たな血栓性素因検索」、「妊娠中の治療域ヘパリンによる抗凝固療法のモニタリングに関する研究」、「先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定」、「熊本地震における静脈血栓塞栓症」、「特発性血栓症としての腹部静脈血栓症」、「超変革 APTT による抗凝固療法のモニターと不育症と血栓性素因」「ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞における合成プロゲステロン製剤による PS mRNA 発現増加の分子機構解析」が行われた。

A. 研究目的

我が国では静脈血栓塞栓症 (VTE) の発症頻度は欧米に比べて低いと言われてきたが、食生活の欧米化および高齢化に伴い、VTE の頻度は増加してきている。一方、VTE 発症リスクは人種差があることもわかっており、日本人における VTE の発症原因と発症メカニズムを明らかにし、その予知・予防対策を確立することは急務である。本研究班では、エコノミークラス症候群としても国民から注目される特発性血栓症（静脈血栓塞栓症）の予知・予防のための対策確立を目的とする。

先天性血栓性素因を要因として発症する特発性血栓症は、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ことから、平成 27 年度に続いて指定難病認定に取り組む。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) の先天的な欠乏により、若年性に重篤な血栓症を発症する「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の診断基準、重症度分類を策定する。また、先天性血栓性素因の病態解析および診断法・治療法の検討、「先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関

する診療ガイドライン」を策定する。

B. 研究方法

以下の研究を行った。

1. 「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の指定難病認定
2. 「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の病態解析および診断法の検討
3. AT 抵抗性の分子病態解析
4. 抗凝固療法の検討
5. 先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドライン策定

（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. 「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の指定難病認定

先天性血栓性素因を要因として発症する特発性血栓症は、若年性発症で、再発を繰り返し、時に重篤な機能障害を合併する。先天性血栓性素因のうち先天性 PC、PS、AT 欠乏症は小児慢性特定疾病として医療費助成の対象となっているが、指定難病には認定されていないため、20 歳になると助成が打ち切られる。そこで、難治性疾患政策研究事業（平成 26～27 年度）「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究班」（研究代表者：大賀正一先生）との共同で、平成 27

年度より「特発性血栓症（先天性血栓性素因による）」の指定難病認定に向けて準備を進めてきた。平成 26 年度作成の「先天性血栓性素因の診断基準」をもとに診断基準および重症度分類を作成し、日本血栓止血学会の承認を得て、新たに対象とすべき疾病として厚労省に情報提供した。

平成 28 年 3 月から、本疾病を含む 222 疾病を対象とした平成 29 年度実施分の検討が開始した。6 月に日本血液学会による承認を得て、8 月末に厚生省からの要望に応じて重症度分類を Bartel Index を用いた日常生活や社会生活の支障の程度によるものに改め、大賀正一先生の研究班が指定難病（第二次実施分）として申請していた「新生児・小児遺伝性血栓症」と「特発性血栓症（先天性血栓性素因による）」の統合版「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の検討資料を提出した。その結果、9 月末の指定難病検討委員会にて指定難病（平成 29 年度実施分）24 疾病の一つ（No. 327）（個票：添付資料）に選定された。平成 29 年 1 月の疾病対策部会にて承認され、4 月から臨床調査個人票（添付資料）をもとに医療費助成が開始する予定である。

2. 「特発性血栓症（遺伝性血栓性素因による）」の病態解析および診断法の検討
・「新生児期発症プロテイン C 欠乏症の臨床像と遺伝子解析の推奨基準」の研究では、小児期の中で血栓症の発症頻度が最も高い新生児期を対象として、電撃性紫斑病、頭蓋内出血・梗塞などの重篤な血栓症を発症する先天性 PC 欠乏症について検討した。新生児期の PC 活性は PS 活性に比べて低く、とりわけ生後 2 週までは活性値 30% 未満の児も認められた。新生児期発症の先天

性PC 欠乏症 38 名の臨床症状、PC 活性、PS 活性、PC 遺伝子解析を検討した結果、PC 活性値<10%と PC/PS 活性比<0.35 での変異検出 Odd 比は 12.3 であり、新生児 PC 欠乏症診断の遺伝子解析基準となる可能性が示唆された。

・「先天性アンチトロンビン、プロテイン C、プロテイン S 欠乏症の遺伝子変異同定率・臨床症状・検査所見、ならびに直接型経口抗凝固薬が活性測定値におよぼす影響に関する研究」では、先天性 AT、PC、PS 欠乏症が疑われ遺伝子解析を施行した発端者およびその家系員、158 家系 229 症例 (AT: 28 家系 51 症例、PC: 54 家系 79 症例、PS: 76 家系 99 症例) の変異同定率は AT 89%に対して PC 56%、PS 43%であり、ワルファリンや妊娠などによる二次性活性低下の症例が混入している可能性が考えられた。血栓症初発年齢の中央値は AT 欠乏症は 20 歳代、PC・PS 欠乏症は 40 歳代前後で、臨床症状は深部静脈血栓症・肺塞栓が約 50-60%、次いで脳静脈洞血栓症が 10-20%を占めた。また、直接型経口抗凝固薬 (DOAC) のリバーロキサバン内服により、測定方法によっては AT、PC、PS の活性測定値が偽高値になることから、血中濃度の低いタイミングで採血するなどの対処が必要であることが分かった。

・「特発性血栓症としての腹部静脈血栓症の検討」の研究では、門脈血栓症、腸間膜静脈血栓症などの腹部静脈血栓症 50 名のうち 5 名 (18%) に PC、PS、AT のいずれかの遺伝子変異が同定され、先天性血栓性素因の検索の重要性が示唆された。

・「熊本地震における VTE (エコノミークラス症候群)」の研究では、平成 28 年 4 月に発生した熊本地震では車中泊による VTE が多発したが、マスコミが車中泊の危険性、

水分摂取・運動の奨励を繰り返し放送した後は VTE の発症は減少した。エコノミークラス症候群の周知と予防にはマスコミによる啓発が効果的である可能性が示唆された。

・「ヒト肝癌由来細胞株 HepG2 細胞における合成プロゲステロン製剤によるプロテイン S mRNA 発現増加の分子機構解析」では、経口避妊薬に含まれる合成プロゲステロン剤によって、転写伸長反応が促進されて HepG2 細胞の PS mRNA 発現が増加するが、合成プロゲステロン剤の世代間で増加の程度が異なることを明らかにした。

3. AT 抵抗性の分子病態解析

・「プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異解析による新たな血栓性素因検索」の研究では、遺伝性血栓症を発症するプロトロンビン遺伝子のミスセンス変異・Yukhashi 変異 (c.1787G>T, p.Arg596Leu) では、変異型トロンビンが AT 抵抗性、トロンボモジュリン (TM) 抵抗性となる。そこで、Arg596 コドンの一塩基置換により 596Gln、596Trp、596Gly、596Pro 変異型トロンビンを作成したところ、分泌不全を示した 596Pro 変異型以外はすべて AT 抵抗性、TM 抵抗性を示した。これらの変異が生じた生体では、AT・TM による生理的制御に抵抗する変異型トロンビの活性が異常に持続するため、血栓性素因となることが推測された。

4. 抗凝固療法の検討

・「妊娠中の治療域ヘパリンによる抗凝固療法のモニタリングに関する研究」では、血栓傾向のため未分画ヘパリンによる抗凝固療法を受けた妊婦 12 名の血液検体 (69 検体) を用いて、モニタリングに

用いる活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) について解析した。6 種類の APTT 試薬の検討から、ヘパリンに対する反応性が試薬によって異なることが明らかになり、その要因として、妊娠中に増加する VIII 因子量によって APTT 試薬のヘパリンに対する感受性が異なることが判明した。妊婦のヘパリンモニタリングでは、APTT 試薬に対する VIII 因子量の影響をあらかじめ把握することが重要性であると考えられた。

・「超変革 APTT による抗凝固療法のモニターと不育症と血栓性素因」では、APTT の波形解析による抗凝固療法のモニタリングの可能性が提案されるとともに、先天性血栓性素因は不育症の要因にならないことが示唆された。

5. 先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドライン策定

経口避妊薬 (女性ホルモン剤) の副作用としての血栓塞栓症の調査研究では、年齢の増加とともに VTE の割合が減少し、動脈血栓塞栓症 (ATE) が有意に増加し、ATE は VTE に比し有意に予後不良例が多いことが明らかになった。死亡率は約 20 万人年に 1 人と極めて低かった。

血栓性素因のうち PS 欠乏症に特化した結果は得られていないものの、従来報告してきたように活性化 PC 感受性比および PS 比活性の測定が、妊婦や女性ホルモン剤使用中患者の血栓症予知に有用の可能性はある。現時点での血栓性素因保有妊婦の診療指針 (私案) は、基本的には妊娠中は通常の臨床的観察に加え、分娩後まで低用量未分画ヘパリンの予防的皮下注射を行うことが推奨される。AT 欠乏症妊婦での AT

濃縮製剤の投与等付加的治療に関しては今後検討を重ねなければならないが、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診療ガイドラインの策定を行う予定である。

D. 考察

特発性血栓症は難治性疾患であるにも拘らず医療費助成の対象となっていなかったが、平成 26-28 年度の研究活動により先天性 PC、PS、AT 欠乏症を要因とする「特発性血栓症 (遺伝性血栓性素因による)」が平成 29 年度実施分の指定難病に認定されたことは大きな成果といえる。しかし、今後解決すべき以下の問題点が明らかになった。

1) 診断法・治療法の標準化

本サブグループおよび日本血栓止血学会 SSC の研究者所属施設 22 施設を対象に、PC、PS、AT 活性測定の実態調査を実施した。その結果 (回答 13 施設)、施設によって測定方法だけでなく基準値も異なっていることが明らかになった。また、抗凝固薬として投与されるワルファリンや DOAC によって、偽低値または偽高値となることが報告され、血液検査の感度・特異度により、遺伝子解析の診断特性が低下することが示唆された。妊娠中の未分画ヘパリンによる抗凝固療法のモニタリングに用いる APTT についても、妊娠に伴う VIII 因子量の増加による影響が報告された。

2) 先天性 PC、PS、AT 欠乏症以外の先天性血栓性素因への対応

先天性血栓性素因としては、血液凝固制御因子 (AT、PC、PS など) 欠乏症だけでなく、APC 抵抗性、AT 抵抗性、血液凝固因子 (プロトロンビン、第 VIII 因子、第 IX 因子など) 増加症をきたす遺伝子異常などが含まれ

る。今年度は、AT 抵抗性をきたすプロトロンビン遺伝子のミスセンス変異 (Yukuhashi 変異など) の血栓症発症のメカニズムについて報告されたが、今後これらの遺伝子異常による特発性血栓症への対応を検討する必要がある。

3) 先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドライン策定

経口避妊薬 (女性ホルモン剤) の副作用としての血栓塞栓症の調査研究など、平成 26-28 年度の研究成果に基づいて、血栓性素因保有妊婦の診療指針 (私案) が提案された。

E. 結論

「特発性血栓症 (遺伝性血栓性素因による)」の指定難病認定により、先天性 PC、PS、AT 欠乏症を要因とする血栓症については、医療費助成だけでなく臨床調査個人票に基づく実態調査が可能となる。今後、診断法、治療法の標準化を推進し、予知・予防対策を確立するための診療ガイドライン策定が望まれる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 津田博子：先天性血栓性素因を有する静脈血栓塞栓症 (特発性血栓症) . 血液フロンティア, 26 (3):51-57, 2016
- 2) 津田博子：静脈血栓塞栓症の先天性要因の人種差. 医学のあゆみ, 257 (7): 759-35, 2016
- 3) 池田正孝、津田博子：難治性疾患としての特発性血栓症 (先天性血栓性素因

による) . 第10回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム報告. 日本血栓止血学会誌, 27 (4): 479-480, 2016

- 4) Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Fukushima K, Ishimura M, Torio M, Urata M, Hotta T, Kang D, Hara T. Fetal hydrocephalus and neonatal stroke as the first presentation of protein C deficiency. Brain Dev. 2016 Feb;38(2):253-6
- 5) Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T. Age-specific onset and distribution of the natural anticoagulant deficiency in pediatric thromboembolism. Pediatr Res. 2016 Jan;79(1-1):81-6
- 6) Ochiai M, Matsushita Y, Inoue H, Kusuda T, Kang D, Ichihara K, Nakashima N, Ihara K, Ohga S, Hara T; Kyushu University High-Risk Neonatal Clinical Research Network, Japan. Blood Reference Intervals for Preterm Low-Birth-Weight Infants: A Multicenter Cohort Study in Japan. PLoS One. 2016 Aug 23;11(8):e0161439.
- 7) Inoue H, Terachi SI, Uchiumi T, Sato T, Urata M, Ishimura M, Koga Y, Hotta T, Hara T, Kang D, Ohga S. The clinical presentation and genotype of protein C deficiency with double mutations of the protein C gene. Pediatr Blood Cancer. 2017 Jan 23. (in press)

- 8) Inoue H, Terachi SI, Uchiumi T, Sato T, Urata M, Ishimura M, Koga Y, Hotta T, Hara T, Kang D, Ohga S. The clinical presentation and genotype of protein C deficiency with double mutations of the protein C gene. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Jan 23. (in press)
- 9) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Nomoto H, Katsu S, Kaneko S, Asakura H, Ohtake S. Gene analysis of six cases of congenital protein S deficiency and functional analysis of protein S mutations (A139V, C449F, R451Q, C475F, A525V and D599TfsTer13. *Thromb Res*. 151: 8-16, 2016
- 10) Sekiya A, Taniguchi F, Yamaguchi D, Kamijima S, Kaneko S, Katsu S, Hanamura M, Takata M, Nakano H, Asakura H, Ohtake S, Morishita E. Causative genetic mutations for antithrombin deficiency and their clinical background among Japanese patients. *Int J Hematol*. 105(3): 287-294, 2017.
- 11) Sekiya A, Hayashi T, Kadohira Y, Shibayama M, Tsuda T, Jin X, Nomoto H, Asakura H, Wada T, Ohtake S, Morishita E. Thrombosis prediction based on reference ranges of coagulation-related markers in different stages of pregnancy. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 10: DOI 1177, 2016
- 12) Kagami K, Yamazaki R, Minami T, Okumura N, Morishita E, Fujiwara H: Familial discrepancy of clinical outcomes associated with fibrinogen Dofen: A case of huge genital hematoma after episiotomy. *J Obstet Gynaecol Res*. 42(6):722-725, 2016
- 13) Miyasaka N, Miura O, Kawaguchi T, Arima N, Morishita E, Usuki K, Morita Y, Nishiwaki K, Ninomiya H, Gotoh A, Imashuku S, Urabe A, Shichishima T, Nishimura J, Kanakura Y: Pregnancy outcomes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with eculizumab: a Japanese experience and updated review. *Int J Hematol*. 103(6): 703-12, 2016
- 14) Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, Morishita E, Nakao S, Asakura H: A case of aortic aneurysm-associated DIC that responded well to a switch from warfarin to rivaroxaban. *Int Med*. In press, 2017
- 15) 本木 由香里, 野島 順三, 吉田 美香, 關谷 暁子, 原 和冴, 森下 英理子, 家子 正裕. ELISAによる抗リン脂質抗体価測定の標準化に向けて. *日本血栓止血学会誌*, 27(6):644-652, 2016
- 16) 森下英理子: フォンウィルブランド因子の臨床検査, *BIO Clinica*, 31(6):39-43, 2016
- 17) 森下英理子: 「質疑応答 プロからプロへ」 不育症例に対する抗凝固療法と対応, *日本医事新報*, 8月12日号、4816, 2016
- 18) 森下英理子: 最新情報と今後の展望 2016 (血小板・凝固・線溶系疾患) オーバービュー, *臨床血液* 57(3): 307,

- 2016
- 19) 森下英理子：その他の先天性凝固異常症・線溶異常症,『血液疾患最新の治療 2017-2019』(編集：小澤敬也, 中尾眞二, 松村到), 南江堂, 東京, 242-247, 2017
 - 20) 森下英理子：深部静脈血栓症・肺塞栓症の発症機序と危険因子. 日本医師会雑誌 平成29年4月号特集 (印刷中)
 - 21) 森下英理子：繰り返す静脈血栓症,『むかしの頭で診ていませんか？血液診療をスッキリまとめました』, 南江堂, 東京, 2017 (印刷中)
 - 22) 森下英理子：静脈疾患の検査,『動脈・静脈の疾患(上)－最近の診断・治療動向－』, 日本臨床 2017年5月増刊 (印刷中)
 - 23) 村田萌、小嶋哲人：あらたな血栓性素因：アンチトロンビンレジスタンス医学のあゆみ 257(7), 753-757, 2016. May. 14
 - 24) Nakamura Y, Ando Y, Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Takagi A, Matsushita T, Shima M, Kojima T: Distinct X chromosomal rearrangements in four haemophilia B patients with entire *F9* deletion. Haemophilia. 2016 May;22(3): 433-9
 - 25) Kozuka T, Tamura S, Kawamura N, Nakata Y, Hasebe R, Makiyama A, Takagi Y, Murata M, Mizutani N, Takagi A, Kojima T: Progesterin isoforms provide different levels of protein S expression in HepG2 cells. Thromb Res. 2016 Jul 16;145:40-45
 - 26) Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Tamura S, Takagi A, Matsushita T, Saito H, Kojima T: Missense mutations in the gene encoding prothrombin corresponding to Arg596 cause antithrombin resistance and thrombomodulin resistance. Thromb Haemost. 2016 Nov 30;116(6):1022-1031
 - 27) Moriyasu F, Furuichi Y, Tanaka A, Takikawa H, Yoshida H, Sakaida I, Obara K, Hashizume M, Kage M, Ohfuji S, Kitano S, Kawasaki S, Kokubu S, Matsutani S, Eguchi S, Shiomi S, Kojima T, Maehara Y, Kuniyoshi Y: Diagnosis and treatment guidelines for aberrant portal hemodynamics. Hepatol Res. 2017 Jan 6.
 - 28) Miljic P, Gvozdenov M, Takagi Y, Takagi A, Pruner I, Dragojevic M, Tomic B, Bodrozic J, Kojima T, Radojkovic D, Djordjevic V: Clinical and biochemical characterization of the Prothrombin Belgrade mutation in a large Serbian pedigree: new insights into antithrombin resistance mechanism. J Thromb Haemost. 2017 Jan 11.
 - 29) Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation. J Pediatr Hematol Oncol, 38(3),

- e137-139, 2016
- 30) Nagatsuka K, Miyata S, Kada A, Kawamura A, Nakagawara J, Furui E, Takiuchi S, Taomoto K, Kario K, Uchiyama S, Saito K, Nagao T, Kitagawa K, Hosomi N, Tanaka K, Kaikita K, Katayama Y, Abumiya T, Nakane H, Wada H, Hattori A, Kimura K, Isshiki T, Nishikawa M, Yamawaki T, Yonemoto N, Okada H, Ogawa H, Minematsu K, Miyata T: Cardiovascular events occur independently of high on-aspirin platelet reactivity and residual COX-1 activity in stable cardiovascular patients. *Thromb Haemost*, 116(2), 356-68, 2016
 - 31) Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M: No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. *Int J Hematol*, 104(2), 223-7, 2016
 - 32) Omura T, Watanabe E, Otsuka Y, Yoshida Y, Kato H, Nangaku M, Miyata T, Oda S: Complete remission of thrombotic microangiopathy after treatment with eculizumab in a patient with non-Shiga toxin-associated bacterial enteritis: A case report. *Medicine (Baltimore)*, 95(27), e4104, 2016
 - 33) Omura T, Watanabe E, Otsuka Y, Yoshida Y, Kato H, Nangaku M, Miyata T, Oda S: Complete remission of thrombotic microangiopathy after treatment with eculizumab in a patient with non-Shiga toxin-associated bacterial enteritis: A case report. *Medicine (Baltimore)*, 95(27), e4104, 2016
 - 34) Omura T, Watanabe E, Otsuka Y, Yoshida Y, Kato H, Nangaku M, Miyata T, Oda S: Complete remission of thrombotic microangiopathy after treatment with eculizumab in a patient with non-Shiga toxin-associated bacterial enteritis: A case report. *Medicine (Baltimore)*, 95(27), e4104, 2016
 - 35) Miyata T, Maruyama K, Banno F, Neki R: Thrombophilia in East Asian countries: are there any genetic differences in these countries? Review, *Thromb J*, 14 (Suppl 1):25, 2016
 - 36) Kobayashi T, Sugiura K, Ojima T. Risks of thromboembolism associated with hormone contraceptives in Japanese compared with Western women. *J Obstet Gynaecol Res* 2017. doi:10.1111/jog.13304
 - 37) Oda T, Itoh H, Kawai K, Oda-Kishimoto A, Kobayashi T, Doi T, Uchida T, Kanayama N: Three successful deliveries involving a woman with congenital afibrinogenemia - conventional fibrinogen concentrate infusion vs. 'as required' fibrinogen concentrate infusion based on changes in fibrinogen clearance. *Haemophilia* 2016 Sep;22(5):e478-81. doi: 10.1111/hae.13054. Epub 2016 Aug 1
 - 38) 小林隆夫: 深部静脈血栓症. 小澤敬也, 中尾眞二, 松村到編集, 血液疾患最新の治療2017-2019. 南江堂, 東京, pp252-255, 2017
 - 39) 小林隆夫, 杉浦和子: 血栓症・脳卒中. 性ステロイドホルモンの副作用の疫

- 学. 臨床婦人科産科 71(1): 140-147, 2017
- 40) 小林隆夫: HELLP症候群, 子癇, 非典型HUSの関係. 宮川義隆, 松本雅則, 南学正臣編, 血栓性微小血管症 (TMA) 診断・治療マニュアル. 医薬ジャーナル社, 大阪, pp92-93, 2016
- 41) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症 (VTE). 日本周産期・新生児医学会 教育・研修委員会編集, 症例から学ぶ周産期診療ワークブック. I 母体編2. 妊娠中期後期の異常. メディカルビュー社, 東京, pp52-56, 2016
- 42) 小林隆夫: 血栓性素因と血栓塞栓症. ハイリスク妊娠の外来診療パーフェクトブック. 産婦人科の実際 臨時増刊号 65(10): 1423-1434, 2016
- 43) 小林隆夫: 下肢浮腫. 特集 妊産婦の訴えにひそむ重大疾患. ペリネイタルケア35(8): 770-775, 2016
- 44) 杉浦和子, 小林隆夫, 尾島俊之: わが国における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症の実態. 心臓 48(7): 826-831, 2016
- 45) 小林隆夫: 女性ホルモン剤と血栓塞栓症ー安全な処方のために. 心臓 48(7): 821-825, 2016
- 46) 小林隆夫: 肺血栓塞栓症を防ぐ. 周産期医学 46(3): 317-322, 2016
- 47) 杉浦和子, 小林隆夫: 女性ホルモン剤を安全に使用するために. Thromb Med 6(2): 150-154, 2016
- 48) 杉浦和子, 小林隆夫: 日本における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症と肥満および加齢との関係. Thromb Med 6(1): 62-66, 2016
2. 学会発表
- 1) Tsuda H: Update on Ongoing Project: Racial differences in Plasma Coagulation Inhibitors. “Plasma coagulation inhibitors”, 62nd Annual SSC Meeting of Int. Soc. Thromb. Haemost., Montpellier (Le Corum Conference Centre), France, May 26, 2016.
- 2) Tsuda H., Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin, X.: Protein S specific activity analysis can accurately identify the carrier of Protein S Tokushima. 9th Congress of Asian-Pacific Soc. Thromb. Haemost., Taipei (Taipei International Convention Center), Taiwan, October 7, 2016
- 3) 大賀正一. 新生児・小児期に発症する抗凝固因子欠損症の表現型と遺伝子型. 平成28年度厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業 “血液凝固異常症等に関する研究班 (村田班)” 第1回班会議 特発性血栓症班研究報告 2016年8月26日 東京都
- 4) 市山正子、井上普介、石村匡崇、楠田剛、金城唯宗、落合正行、高畑靖、堀田多恵子、山下博徳、佐藤和夫、康東天、大賀正一 新生児発症遺伝性プロテインC欠乏症スクリーニングのためのプロテインC活性基準 第119回日本小児科学会学術集会 2016年5月13-15日 札幌市
- 5) 市山正子、井上普介、石村匡崇、楠田剛、金城唯宗、落合正行、高畑靖、堀田多恵子、山下博徳、佐藤和夫、康東天、原寿郎、大賀正一 新生児発症遺

- 伝性プロテインC欠乏症スクリーニングのためのプロテインC活性基準 第26回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2016年7月1-2日 長崎市
- 6) 石黒 精、大賀正一、野上恵嗣、松本智子、末延総一、西村菜穂、中川聡、中舘尚也、福田晃也、笠原群生. 肝移植：プロテインC欠乏症の患児への新しい治療戦略. 第58回日本小児血液・がん学会学術集会 2016年12月15日-17日 東京都
- 7) 能口健太、古賀結、中園栄里、堀田多恵子、内海健、康東天、津田博子：日本人健常者におけるプロテインC遺伝子多型の検討. 第38回日本血栓止血学会学術集会、奈良（奈良春日野国際フォーラム）、6月18日2016年
- 8) 佐田志穂子、津田博子：Glucose 濃度低下によるHepG2細胞の脂質代謝関連因子とprotein S 遺伝子発現の検討. 第38回日本血栓止血学会学術集会、奈良（奈良春日野国際フォーラム）、6月18日2016年
- 9) Morishita E, Takata M, Akiyama M, Miyata T, Takagi A, Kojima T, Sekiya A, Taniguchi F: Asymptomatic dysprothrombinemia (Prothrombin Himi) with p.M380T and p.R431H shows severely reduced clotting activity, moderate antithrombin resistance and severe thrombomodulin binding defect. 58th American Society of Hematology Annual Meeting. 2016.12.3-6, San Diego
- 10) 沼波仁、飯嶋真秀、鈴木基弘、金澤俊郎、田中宏明、横田隆徳、森下英理子：右内頸動脈閉塞による脳梗塞と多発性深部静脈血栓症をきたしたプロテインS異常症の41歳女性例. 第218回日本神経学会関東・甲信越地方会、2016年9月3日、東京
- 11) 勝詩織、關谷暁子、金子将ノ助、朝倉英策、大竹茂樹、森下英理子：先天性AT欠乏症24家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討. 第38回日本血栓止血学会学術集会、奈良春日野国際フォーラム、2016年6月16-18日、奈良
- 12) 關谷暁子、鈴木健史、三澤絵梨、末武司、古莊浩司、林研至、朝倉英策、大竹茂樹、森下英理子：直接経口抗凝固薬が血中アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS活性値に与える影響. 第17回日本検査血液学会学術集会、福岡国際会議場、2016年8月6日-7日、福岡
- 13) 森下英理子：静脈血栓症の成因と治療—悪性腫瘍から先天性血栓性素因—、印旛沼エリア循環器セミナー、ウィッシュトンホテル・ユウカリ、2016年6月23日、佐倉
- 14) 森下英理子：先天性血栓性素因. 第37回日本血栓止血学会学術セミナー（教育講演）、奈良春日野国際フォーラム、2016年6月16-18日、奈良
- 15) 本木由香里、吉田美香、關谷暁子、原 和牙、家子正裕、森下英理子、野島順三：抗リン脂質抗体価測定ELISAの標準化に向けた取組み. 第17回日本検査血液学会学術集会、福岡国際会議場、2016年8月6日-7日、福岡
- 16) 森下英理子：静脈血栓症の成因と治療. 第17回日本検査血液学会学術集

- 会ランチョンセミナー，福岡国際会議場，2016 年 8 月 7 日，福岡
- 17) 上島沙耶香，關谷暁子，仲里朝周，金子将ノ助，勝詩織，花村美帆，高田麻央，中野明華，大竹茂樹，森下英理子：先天性アンチトロンビン欠乏症の遺伝子解析および異常アンチトロンビン蛋白(N87D)の機能解析，第 41 回北陸臨床病理集談会，福井赤十字病院、2016 年 9 月 10 日、福井
- 18) 金子将ノ助，關谷暁子，勝詩織，上島沙耶香，花村美帆，中野明華，大竹茂樹，森下英理子：先天性アンチトロンビン欠乏症 25 家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討，第 41 回北陸臨床病理集談会，福井赤十字病院、2016 年 9 月 10 日、福井
- 19) 花村美帆，關谷暁子，上島沙耶香，勝詩織，金子将ノ助，中野明華，大竹茂樹，森下英理子：当研究室で実施したプロテイン C およびプロテイン S 遺伝子解析の総括，第 41 回北陸臨床病理集談会，福井赤十字病院、2016 年 9 月 10 日、福井
- 20) 金秀日，津田友秀，森下英理子，關谷暁子，康東天，濱崎直孝：プロテイン S 比活性によるプロテイン S 異常症のスクリーニング．第 48 回日本臨床検査自動化学会，パシフィコ横浜、2016 年 9 月 21 日～23 日、横浜
- 21) 金森尚美，古莊浩司，關谷暁子，高島伸一郎，加藤武史，村井久純，薄井莊一郎，林研至，森下英理子，高村雅之：抗凝固療法が先天性凝固異常のスクリーニング検査に与える影響．第 64 回日本心臓病学会学術集会，東京国際フォーラム、2016 年 9 月 23 日～25 日、東京
- 22) 森下英理子：血栓止血領域の診療ガイド．先天性血栓性素因，第 78 回日本血液学会学術集会（シンポジウム），横浜パシフィコ，2016 年 10 月 14 日，横浜
- 23) Takagi Y, Kawamura N, Makiyama A, Hashimoto E, Tamura S, Takagi A, Kojima T: Prothrombin missense mutations at 596Arg reduced the affinity of mutant thrombin to thrombomodulin controlled by Na⁺ concentration. XXIX International Symposium on Technical Innovations in Laboratory Hematology (ISLH), Milano, Italy、平成 28 年 5 月 12-14 日
- 24) 河村奈美、槇山愛弓、橋本恵梨華、長谷部瞭、高木夕希、村田萌、田村彰吾、高木明、小川実加、兼松毅、岸本磨由子、鈴木伸明、松下正、小嶋哲人：血友病 A 症例における血液凝固第 VIII 因子の遺伝子解析 第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良、平成 28 年 6 月 16-18 日
- 25) 高木夕希、河村奈美、槇山愛弓、橋本恵梨華、安藤裕実、加藤衣央、田村彰吾、高木明、小嶋哲人：低フィブリノゲン血症 3 症例の遺伝子解析 第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良、平成 28 年 6 月 16-18 日
- 26) 槇山愛弓、高木夕希、河村奈美、橋本恵梨華、田村彰吾、高木明、岸本磨由子、鈴木伸明、松下正、小嶋哲人：第 17 回日本検査血液検査血液学会学術集会、博多、平成 28 年 8 月 6-7 日
- 27) HASHIMOTO E, TAKAGI Y, KAWAMURA N, MAKIYAMA A, SAKANE H, FUJIOKA A, TAMURA S, TAKAGI A, FUKUSHIMA Y,

- KANEKO M, KOJIMA T: A NOVEL LARGE DELETION FOUND IN A JAPANESE FAMILY WITH ANTITHROMBIN DEFICIENCY. The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (APSTH), Taipei、平成 28 年 10 月 6-9 日
- 28) AWAMURA N, MAKIYAMA A, TAKAGI Y, HASHIMOTO E, SAKANE H, FUJIOKA A, TAMURA S, TAKAGI A, SUZUKI N, MATSUSHITA T, KOJIMA T: Molecular basis of F8 gene abnormality in hemophilia A patients in Nagoya. The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (APSTH), Taipei、平成 28 年 10 月 6-9 日
- 29) MAKIYAMA A, TAKAGI Y, KAWAMURA N, HASHIMOTO E, SAKANE H, FUJIOKA A, TAMURA S, TAKAGI A, KISHIMOTO M, SUZUKI N, MATSUSHITA T, KOJIMA T: GENETIC ANALYSIS OF PATIENTS WITH PROTEIN C DEFICIENCY. The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (APSTH), Taipei、平成 28 年 10 月 6-9 日
- 30) Sakane H, Nakamura Y, Fujioka A, Hashimoto E, Makiyama A, Kawamura N, Suzuki S, Takagi Y, Tamura S, Takagi A, Ogawa M, Kanemetsu T, Kishimoto M, Suzuki N, Matsushita T, Kojima T: Diverse *F9* abnormalities including a large SVA retrotransposon insertion that cause hemophilia B. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜、平成 28 年 10 月 13-15 日
- 31) Tamura S, Suzuki-Inoue K, Ozaki Y, Tsukiji N, Shirai T, Sasaki T, Osada M, Satoh K, Takagi A, Kojima T: Novel periarteriolar stromal cells promote megakaryo/thrombopoiesis via CLEC-2/podoplanin binding. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜、平成 28 年 10 月 13-15 日
- 32) 高木夕希, 河村奈美, 槇山愛弓, 橋本恵梨華, 田村彰吾, 高木明, 小嶋哲人: プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異がトロンビンのトロンボモジュリン結合能に及ぼす影響. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 28 年 11 月 30 日-12 月 2 日
- 33) 宮田敏行、シンポジウム 血栓形成メカニズムの最新のトピックス、「静脈血栓症の発症メカニズム」、第 41 回日本脳卒中学会総会、2016 年 4 月 15 日、札幌市、北海道
- 34) 宮田敏行、内田裕美子、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣「非典型溶血性尿毒症症候群患者におけるプラスミノゲン A620T 変異」、第 38 回日本血栓止血学会学術集会、2016 年 6 月 16-18 日、奈良
- 35) 小亀浩市、内田裕美子、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣「デジタル PCR を用いた aHUS 関連遺伝子異常の検出」、第 38 回日本血栓止血学会学術集会、2016 年 6 月 16-18 日、奈良
- 36) Toshiyuki Miyata, Yuko Tashima, Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Yasuyuki Matsuda, Hiroji Yanamoto, Plasminogen Tochigi mice with severely reduced plasminogen

- activity exhibit phenotypes similar to wild-type mice under experimental thrombotic conditions, Gordon Research Conference on Hemostasis, July 24-29, 2016, Stowe, Vermont, USA
- 37) Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, Masaomi Nangaku, No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome, XXVIth International Complement Workshop, September 4-8, 2016, Kanazawa, Japan
- 38) Yoshihiko Hidaka, Norimitsu Inoue, Yasufumi Ohtsuka, Toshihiro Sawai, Toshiyuki Miyata, Isao Osawa, Hidechika Okada, Taroh Kinoshita, Hideharu Sekine, Minoru Takahashi, Hiroshi Tsukamoto, Miki Nakao, Masaru Nonaka, Misao Matsushita, Tetsuro Yamamoto, Takahiko Horiuchi, Nobutaka Wakamiya, Establishment of a comprehensive complement examination system for complement-related diseases by the Japanese Association for Complement Research, XXVIth International Complement Workshop, September 4-8, 2016, Kanazawa, Japan
- 39) Yoko Yoshida, Hideki Kato, Madoka Fujisawa, Yuuka Sugahara, Yumiko Uchida, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata, Masaomi Nangaku, Characterization of the patients with atypical hemolytic uremic syndrome by combination of hemolytic assay and gene analysis in Japan, XXVIth International Complement Workshop, September 4-8, 2016, Kanazawa, Japan
- 40) Toshiyuki Miyata, “Thrombophilia in East Asian Countries. Are there any genetic differences in these countries?” The 9th Congress of the Asian-Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis, Taipei, Taiwan, October 6 - 9, 2016
- 41) Toshiyuki Miyata, “Differences in Prothrombotic States among Races/Regions”, Session 129: Antithrombotic Therapy Specific to Races/Regions (in the NOAC Era), an American Heart/American Stroke Association and Japan Stroke Society Joint Session, International Stroke Conference 2017, February 23, 2017, Houston, USA.
- 42) 宮田敏行、シンポジウム7「心房細動と脳卒中を考える」、「新たな抗凝固薬の開発」、第42回日本脳卒中学会学術集会、2017年3月16-19日、大阪市、大阪府
- 43) 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 in 岡山. 岡山, 2017. 2. 11
- 44) 小林隆夫：わが国における女性ホルモン剤使用に関連する血栓塞栓症の現況. 第21回日本生殖内分泌学会学術集会ランチョンセミナー, 大阪,

2017. 1. 14
- 45) 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 IN 山梨県立中央病院, 甲府, 2016. 12. 16
- 46) 小林隆夫：産婦人科領域における静脈血栓塞栓症の現況と予防対策 - 女性ホルモン剤を中心に -. 第 62 回愛媛県産婦人科医学会学術集談会および第 28 回愛媛県産婦人科医学会臨床集談会, 松山, 2016. 12. 10
- 47) 小林隆夫：院内における静脈血栓塞栓症予防の実践. 呉共済病院 VTE オープンカンファレンス, 呉, 2016. 12. 2
- 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～. 第 21 回 VTE 医療安全セミナー in 札幌. 札幌, 2016. 11. 26
- 49) 保田知生, 山田典一, 椎名昌美, 武田亮二, 春田祥治, 小林隆夫, 中野赳：肺塞栓症と深部静脈血栓症および静脈血栓塞栓症における患者実態のアンケート調査報告. 第 23 回肺塞栓症研究会 2016. 11. 26 東京
- 50) 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓塞栓症 update. いわき市産婦人科部会講演会, いわき, 2016. 11. 11
- 51) 小林隆夫：産科領域における危機的出血と静脈血栓塞栓症. 第 67 回日本輸血・細胞治療学会東海支部例会特別講演, 名古屋, 2016. 11. 5
- 52) 小林隆夫：先天性 ATIII 欠乏症妊婦の管理. 第 34 回周産期医療研究会ランチョンセミナー, 奈良, 2016. 10. 29
- 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～. 第 20 回 VTE 医療安全セミナー in 高松. 高松, 2016. 10. 23
- 54) Kobayashi T, Tsuda T. Activated protein C sensitivity ratio (APC-sr) and protein S-specific activity are useful predictive markers for venous thromboembolism (VTE). The 1st Joint Meeting of ISFP and PA Workshop, Shizuoka, 2016. 10. 19
- 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～. 第 19 回 VTE 医療安全セミナー in さいたま. 大宮, 2016. 10. 9
- 56) 小林隆夫：身近に潜むエコノミークラス症候群の予防ー来たるべき巨大地震に備えてー. 愛知県医師会主催 県民向け医療安全に関する講演会 2016. 10. 5
- 57) 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 18 回 VTE 医療安全セミナー in 富山. 富山, 2016. 9. 24
- 58) 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 17 回 VTE 医療安全セミナー in 鹿児島. 鹿児島, 2016. 9. 3
- 59) 小林隆夫：チームで取り組む肺血栓塞栓症予防対策. 鹿児島医療センター医療安全管理研修会. 鹿児島, 2016. 9. 2
- 60) 小林隆夫：入院中の患者に対する静脈血栓塞栓症予防対策の意義と実際. 川崎協同病院静脈血栓塞栓症予防対策研修会, 川崎, 2016. 8. 31
- 61) 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 セミナー in 公立西知多総合病院. 知多, 2016. 8. 24
- 62) 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 16 回 VTE 医療安全セミナー in 米子. 米子, 2016. 7. 23

- 63) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症予防～抗凝固療法 Up to Date～. 第 26 回日本産婦人科・新生児血液学会ランチョンセミナー, 長崎, 2016. 7. 1

- 64) 小林隆夫: 産婦人科領域における静脈血栓塞栓症予防の最近の話題～抗凝固療法を中心に～. 第 68 回日本産科婦人科学会ランチョンセミナー5, 東京, 2016. 4. 22

- 65) 小林隆夫: [予防しよう] 静脈血栓症にならないためにできること. 日本血

栓協会主催市民公開講座, 名古屋, 2016. 4. 17

- 66) 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. Covidien 第 13 回 VTE 医療安全セミナー in 沖縄. 浦添, 2016. 4. 9

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

特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による)

○ 概要

1. 概要

特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による)は、血液凝固制御因子のプロテイン C(PC)、プロテイン S(PS) およ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。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し、小児期・成人では時に致死性となる静脈血栓塞栓症の若年発症や繰り返す再発の原因となる。

2. 原因

PC、PS および AT の遺伝子変異による血液凝固制御活性低下は、重篤な血栓症を引き起こすと考えられている。いずれも常染色体優性遺伝形式をとる。PC はプロテアーゼ型血液凝固制御因子で PS はその補酵素、AT はセリンプロテアーゼインヒビター型血液凝固制御因子である。いずれの因子の活性低下によっても血液凝固反応が過度に亢進する。単一因子のヘテロ接合体に比して、ホモ接合体ないし複合ヘテロ接合体では血液凝固亢進の程度が増すと考えられているが、症例により症状に差があること、新生児・乳児期と小児期・成人で何故症状が違うか、など明らかになっていない点も多い。

3. 症状

ホモ接合体ないし複合ヘテロ接合体では、新生児・乳児期より脳出血・梗塞、脳静脈洞血栓症などの重篤な頭蓋内病変が先行して発症することが多く、さらには電撃性紫斑病や硝子体出血をきたす(ただし、先天性 AT 欠乏症のホモ接合体ないし複合ヘテロ接合体は一般的には胎生致死である)。ヘテロ接合体では、長時間不動、外傷、手術侵襲、感染症、脱水、妊娠・出産、女性ホルモン剤服用などの誘因を契機に小児期以降から若年成人期にかけて、再発性の静脈血栓塞栓症(深部静脈血栓症や肺塞栓症など)を発症するが、急性肺塞栓症は時に致命的となる。新生児・小児あるいは成人の脳梗塞など動脈血栓症との関係も示唆されている。成人女性では習慣流産をきたす場合もある。また、深部静脈血栓症により慢性的な静脈弁不全が生じると、下肢静脈瘤、静脈うっ滞性下腿潰瘍などを生じる(慢性静脈不全症状)。

4. 治療法

新生児・乳児期の発症例では、補充療法として新鮮凍結血漿かつ/または AT 製剤や活性化 PC 製剤などの投与が必要となるが、長期にわたって補充療法を必要とする場合がある。肝移植が国内でも成功し、根治療法として期待がかけられている。小児期・成人における血栓症急性期には、重症度に応じて抗凝固療法、血栓溶解療法、血栓吸引療法などを行い、慢性期には再発予防として長期に抗凝固薬を内服する。小児期の抗凝固療法の適応と方法は年齢を考慮して慎重に決定する。血栓症の既往のある妊婦は、経口抗凝固薬は催奇形性があるため内服できず、妊娠期間中毎日ヘパリンの自己注射を行う必要がある。また、AT 欠乏症妊婦では AT 製剤を補充する場合がある。

5. 予後

新生児・乳児期の頭蓋内病変発症例は致死的な場合もあり、救命できても生涯にわたり重篤な後遺症を残

すことが多い。電撃性紫斑病では、壊死した四肢の切断に至ることも少なくない。硝子体出血など眼病変で失明することもある。小児期・成人発症例においても、急性肺塞栓症は時に致死적であり、救命できても再発を繰り返し、肺高血圧症を併発すると予後不良である。頭蓋内病変による中枢神経合併症などを伴うことがある。したがって、再発予防のために長期の抗凝固薬内服や下大静脈フィルター留置などを要する。

○ 要件の判定に必要な事項

1. 患者数

研究班の全国調査から、本邦での患者総数は、約 2,000 人、年間発症患者数は、新生児・乳児期発症患者は 100 人未満、成人発症患者は約 500 人と推定される。

2. 発症の機構

不明(PC、PS および AT の遺伝子異常によるが、新生児・乳児期と小児期・成人の発症様式が異なるなど発症機構が明らかでない部分も多い)

3. 効果的な治療方法

未確立(新生児・乳児期発症例には補充療法により寛解状態を得られることがあるが、小児期・成人発症例の多くは、対症療法や症状の進行を遅らせる治療法のみである。)

4. 長期の療養

必要(血栓症の再発や臓器障害の防止のため)

5. 診断基準

あり(研究班作成の診断基準)

6. 重症度分類

研究班作成の重症度分類を用いる。

○ 情報提供元

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業(平成 26～28 年度)

「血液凝固異常症等に関する研究班」

代表者 慶應義塾大学医学部 教授 村田満

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業(平成 26～27 年度)

「新生児・小児における特発性血栓症の診断、予防および治療法の確立に関する研究班」

代表者 山口大学大学院医学系研究科(現九州大学大学院医学研究院) 教授 大賀正一

日本血液学会

代表者 九州大学医学研究院 教授 赤司浩一

日本血栓止血学会

代表者 医療法人康麗会 笛吹中央病院 院長 尾崎由基男

日本小児血液・がん学会

代表者 広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授 檜山 英三

日本産婦人科新生児血液学会

代表者 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 教授 瀧 正志

<診断基準>

Definite、Probable を対象とする。

A 症状

年齢に応じて好発する症状に差がみられる。

1. 新生児・乳児期(0～1 歳)

胎児脳室拡大(水頭症)、新生児脳出血・梗塞、脳静脈洞血栓症、電撃性紫斑病、硝子体出血。
皮膚の出血斑、血尿などがしばしばみられる。

2. 小児期(2～17 歳)・成人(18 歳～)

静脈血栓塞栓症(深部静脈血栓症、肺塞栓症、脳静脈洞血栓症、上腸間膜静脈血栓症など)、
動脈血栓症(脳梗塞など)。

小児期では、脳出血・梗塞で発症する割合が多い。

成人女性では、習慣流産をきたす場合もある。

※長時間不動、外傷、手術侵襲、感染症、脱水、妊娠・出産、女性ホルモン剤服用などが発症の誘因となることがある。

※症状には、CT、MRI、超音波等の画像検査にて確認された無症候性のものも含む。

B 検査所見

1. 血漿中の PC 活性が成人の基準値の下限值未満

2. 血漿中の PS 活性が成人の基準値の下限值未満

3. 血漿中の AT 活性が成人の基準値の下限值未満

※いずれの活性についても、それぞれの測定法での基準値に準拠する。

※17 歳以下の症例については、年齢別下限値(表 1)を参照する。

※複数回測定にて、ビタミン K 拮抗薬服用、肝機能障害、妊娠、女性ホルモン剤使用、ネフローゼ症候群、血栓症の発症急性期、感染症などによる二次的活性低下を除外する。

※ビタミン K 欠乏(とくに新生児・乳児)と消費性凝固障害による影響を考慮して判断するために各活性測定時に、FVII 活性および PIVKAII を同時に測定することが望ましい。

表 1 新生児期～小児期の年齢別下限値 (成人の下限値に対する割合)

年齢	PC	PS	AT
0 日 ～89 日	60%	60%	65%
90 日～2 歳	85%	85%	65%
3 歳～6 歳	85%	85%	85%
7 歳～17 歳	100%	100%	100%

Ref) Ichiyama, K. et al. Pediatr Res. 2016, 79:81-6.

C 鑑別診断

PC、PS、AT 欠乏症以外の遺伝性血栓性素因に伴う血栓傾向、および血小板の異常(骨髄増殖性腫瘍など)、血管障害、血流障害、抗リン脂質抗体症候群、悪性腫瘍など。

新生児期～小児期では、さらに以下の疾患を鑑別する。

新生児期: 仮死、呼吸窮迫症候群、母体糖尿病、壊死性腸炎、新生児抗リン脂質抗体症候群など。

乳児期・小児期: 川崎病、心不全、糖尿病、鎌状貧血、サラセミアなど。

D 遺伝学的検査

AT 遺伝子 (*SERPINC1*)、PC 遺伝子 (*PROC*)、PS 遺伝子 (*PROS1*) のいずれかに病因となる変異が同定されること。

E 遺伝性を示唆する所見

1. 若年性 (40 歳以下) 発症
2. 繰り返す再発 (特に適切な抗凝固療法や補充療法中の再発)
3. まれな部位 (脳静脈洞、上腸間膜静脈など) での血栓症発症
4. 発端者と同様の症状を示す患者が家系内に 1 名以上存在

<診断のカテゴリー>

Definite: A の 1 項目以上 + B の 1 項目以上を満たし、C を除外し、D を満たすもの。

Probable: A の 1 項目以上 + B の 1 項目以上を満たし、C を除外し、E の 2 項目以上を満たすもの。

Possible: A の 1 項目以上 + B の 1 項目以上を満たし、C を除外したもの。

<重症度分類>

機能的評価:Barthel Index 85 点以下を対象とする。

ただし、直近 6 ヶ月以内に、治療中であるにも拘わらず再発した場合は、Barthel Index で 90 点以上であっても、対象とする。

※治療とは、抗凝固療法や補充療法(新鮮凍結血漿かつ/または AT 製剤、活性化 PC 製剤、乾燥人血液凝固第Ⅸ因子複合体製剤など)をさす。

	質問内容	点数
1 食事	自立、自助具などの装着可、標準的時間内に食べ終える	10
	部分介助(たとえば、おかずを切って細かくしてもらう)	5
	全介助	0
2 車椅子からベッドへの移動	自立、ブレーキ、フットレストの操作も含む(歩行自立も含む)	15
	軽度の部分介助または監視を要する	10
	座ることは可能であるがほぼ全介助	5
	全介助または不可能	0
3 整容	自立(洗面、整髪、歯磨き、ひげ剃り)	5
	部分介助または不可能	0
4 トイレ動作	自立(衣服の操作、後始末を含む、ポータブル便器などを使用している場合はその洗浄も含む)	10
	部分介助、体を支える、衣服、後始末に介助を要する	5
	全介助または不可能	0
5 入浴	自立	5
	部分介助または不可能	0
6 歩行	45m以上の歩行、補装具(車椅子、歩行器は除く)の使用の有無は問わず	15
	45m以上の介助歩行、歩行器の使用を含む	10
	歩行不能の場合、車椅子にて 45m以上の操作可能	5
	上記以外	0
7 階段昇降	自立、手すりなどの使用の有無は問わない	10
	介助または監視を要する	5
	不能	0
8 着替え	自立、靴、ファスナー、装具の着脱を含む	10
	部分介助、標準的な時間内、半分以上は自分で行える	5
	上記以外	0
9 排便コントロール	失禁なし、浣腸、坐薬の取り扱いも可能	10
	ときに失禁あり、浣腸、坐薬の取り扱いに介助を要する者も含む	5
	上記以外	0
10 排尿コントロール	失禁なし、収尿器の取り扱いも可能	10
	ときに失禁あり、収尿器の取り扱いに介助を要する者も含む	5
	上記以外	0

※診断基準及び重症度分類の適応における留意事項

1. 病名診断に用いる臨床症状、検査所見等に関して、診断基準上に特段の規定がない場合には、いずれの時期のものを用いても差し支えない（ただし、当該疾病の経過を示す臨床症状等であって、確認可能なものに限る）。
2. 治療開始後における重症度分類については、適切な医学的管理の下で治療が行われている状態で、直近6ヵ月間で最も悪い状態を医師が判断することとする。
3. なお、症状の程度が上記の重症度分類等で一定以上に該当しない者であるが、高額な医療を継続することが必要な者については、医療費助成の対象とする。

パリン ☐ 抗血小板薬 ☐ その他()	
血栓溶解療法	1. 実施 2. 未実施 治療効果 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 不明
薬剤名: ☐ ウロキナーゼ ☐ rtPA ☐ その他 ()	
血栓吸引療法	1. 実施 2. 未実施 治療効果 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 不明
下大静脈フィルター挿入	1. 実施 2. 未実施 治療効果 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 不明
☐ 一時留置型フィルター ☐ 永久留置型フィルター ☐ 回収可能型フィルター	
ヘパリン自己注射	1. 実施 2. 未実施 治療効果 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 不明
肝移植	1. 実施 2. 未実施 治療効果 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 不明
その他	1. 実施 2. 未実施 治療名 () 治療効果 1. 改善 2. 不変 3. 悪化 4. 不明

■ 重症度分類に関する事項

Barthel Index (合計 点) (該当する項目に☑を記入する)

食事	1. 自立、自助具などの装着可、標準的時間内に食べ終える (10 点) 2. 部分介助 (例えば、おかずを切って細かくしてもらう) (5 点) 3. 全介助 (0 点)	
車椅子からベッドへの移動	1. 自立、ブレーキ、フットレストの操作も含む (歩行自立も含む) (15 点) 2. 軽度の部分介助または監視を要する (10 点) 3. 座ることは可能であるがほぼ全介助 (5 点) 4. 全介助または不可能 (0 点)	
整容	1. 自立 (洗面、整髪、歯磨き、ひげ剃り) (5 点) 2. 部分介助または不可能 (0 点)	
トイレ動作	1. 自立 (衣服の操作、後始末を含む。ポータブル便器などを使用している場合はその洗浄も含む) (10 点) 2. 部分介助、体を支える、衣服、後始末に介助を要する (5 点) 3. 全介助または不可能 (0 点)	
入浴	1. 自立 (5 点) 2. 部分介助または不可能 (0 点)	
歩行	1. 45m以上の歩行、補装具 (車椅子、歩行器は除く) の使用の有無は問わず (15 点) 2. 45m以上の介助歩行、歩行器の使用を含む (10 点) 3. 歩行不能の場合、車椅子にて 45m以上の操作可能 (5 点) 4. 上記以外 (0 点)	
階段昇降	1. 自立、手すりなどの使用の有無は問わない (10 点) 2. 介助または監視を要する (5 点) 3. 不能 (0 点)	
着替え	1. 自立、靴、ファスナー、装具の着脱を含む (10 点) 2. 部分介助、標準的な時間内、半分以上は自分でできる (5 点) 3. 上記以外 (0 点)	
排便コントロール	1. 失禁なし、浣腸、坐薬の取り扱いも可能 (10 点) 2. ときに失禁あり、浣腸、坐薬の取り扱いに介助を要する者も含む (5 点) 3. 上記以外 (0 点)	
排尿コントロール	1. 失禁なし、収尿器の取扱いも可能 (10 点) 2. ときに失禁あり、収尿器の取扱いに介助を要する者も含む (5 点) 3. 上記以外 (0 点)	
Barthel Index で 90 点以上である		1. 該当 2. 非該当
Barthel Index が 90 点以上でも、直近 6 か月以内に、治療中 (※) であるにも拘らず再発した場合		1. 該当 2. 非該当
※ ☐ 抗凝固療法 ☐ 補充療法 ☐ その他の治療 ()		

■ 人工呼吸器に関する事項 (使用者のみ記入)

使用の有無	1. あり		
開始時期	西暦 年 月	離脱の見込み	1. あり 2. なし
種類	1. 気管切開孔を介した人工呼吸器 2. 鼻マスク又は顔マスクを介した人工呼吸器		
施行状況	1. 間欠的施行 2. 夜間に継続的に施行 3. 一日中施行 4. 現在は未施行		
生活状況	食事 ☐ 自立 ☐ 部分介助 ☐ 全介助 整容 ☐ 自立 ☐ 部分介助/不可能 入浴 ☐ 自立 ☐ 部分介助/不可能 階段昇降 ☐ 自立 ☐ 部分介助 ☐ 不能 排便コントロール ☐ 自立 ☐ 部分介助 ☐ 全介助	車椅子とベッド間の移動 ☐ 自立 ☐ 軽度介助 ☐ 部分介助 ☐ 全介助 トイレ動作 ☐ 自立 ☐ 部分介助 ☐ 全介助 歩行 ☐ 自立 ☐ 軽度介助 ☐ 部分介助 ☐ 全介助 着替え ☐ 自立 ☐ 部分介助 ☐ 全介助 排尿コントロール ☐ 自立 ☐ 部分介助 ☐ 全介助	

医療機関名	指定医番号
医療機関所在地	電話番号 ()
医師の氏名	印 記載年月日：西暦 年 月 日 ※自筆または押印のこと

- ・病名診断に用いる臨床症状、検査所見等に関して、診断基準上に特段の規定がない場合には、いずれの時期のものを用いても差し支えありません。
(ただし、当該疾病の経過を示す臨床症状等であって、確認可能なものに限ります。)
- ・治療開始後における重症度分類については、適切な医学的管理の下で治療が行われている状態で、直近6か月間で最も悪い状態を記載してください。
- ・診断基準、重症度分類については、「指定難病に係る診断基準及び重症度分類等について」(平成〇〇年〇〇月〇〇日健発〇〇〇〇第〇号健康局長通知)を参照の上、ご記入ください。
- ・審査のため、検査結果等について別途提出をお願いすることがあります。

新生児期発症プロテインC欠乏症の臨床像と遺伝子解析の推奨基準

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
研究協力者	大賀 正一	九州大学大学院医学研究院・成長発達医学 教授
	落合 正行	九州大学病院・総合周産期母子医療センター NICU 助教
	石村 匡崇	九州大学大学院医学研究院・成長発達医学 助教
	市山 正子	福岡市立こども病院 NICU
	堀田多恵子	九州大学病院・検査部 技師長
	康 東天	九州大学大学院医学研究院・臨床検査医学 教授

研究要旨

本邦における小児遺伝性血栓症の約 80%が、プロテイン C (PC)、プロテイン S (PS) とアンチトロンビン (AT) の 3 大血液凝固制御因子欠乏である。新生児期は最も血栓症の頻度が高く、電撃性紫斑病、頭蓋内出血・梗塞を発症する PC 欠乏症が多い。新生児期の凝固、抗凝固能は生理的にばらつきが多く、母体および付属物の影響を受けるため、その基準範囲や遺伝子検査の適応基準は定まっていない。本研究では、正期産児を対象に、新生児期の PC および PS 活性値を測定した。PC 活性は PS 活性に比べて低く、とりわけ生後 2 週までは活性値 30%未満の児も認められた。新生児発症の遺伝性プロテイン C 欠乏症を検索したところ、両アレル変異に加えて片アレル変異発症例も多く、遺伝子変異群 28 名（両アレル変異＋片アレル変異）は非変異群 10 名に比べて臨床症状数が多く、PC 活性値や PC/PS 活性比は低値であった。ROC 解析により求めた PC 活性値 10%未満での変異検出 Odd 比は 22.5 (95%CI 3.43-451.2、 $p<0.01$)、PC/PS 活性比 0.35 未満での変異検出 Odd 比は 12.3 (95%CI 1.56-165.2、 $p<0.05$) であった。PC 活性値<10%と PC/PS 活性比<0.35 は、新生児 PC 欠乏症診断の遺伝子解析基準となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

新生児期は小児期の中で最も血栓症の発症頻度が高く、人口 10 万に対して小児全体では 0.07-0.14 名、入院中の小児は 5.3 名である。また、新生児集中治療室 (NICU) 入院中の患児は 24 名となる。新生児期における血栓発症の危険因子として、臍動静脈カテーテルを含めた中心静脈カテーテルや動脈カテーテル、感染、心疾患、新生児仮死、遺伝性血栓性疾患、外科手術などが挙げられる。

本邦においても周産期医療の進歩に伴い、新生児期の血栓症は増加傾向にあり、NICU での発症率は、1999 年から 2003 年までの 0.031%から、2005 年から 2009 年は 0.063%まで 2 倍に増加した。さらに私たちは、新生児期の遺伝性血栓症が頭蓋内病変と電撃性紫斑病で発症するプロテイン C (PC) 欠乏症が最も多いことを報告してきた。そこで今回は、遺伝子検査の適応基準を確立のために、新生児期の PC 活性の基準範囲を検討した。

B. 研究方法

PC 活性基準範囲設定の対象は 2013 年 6 月から 2015 年 3 月に九州大学病院およびその関連病院にて、在胎 37 週から 40 週、2500g 以上で出生し、新生児仮死や先天異常などの合併症を認めない 52 名とした。PC 活性と PS 活性は Roche 社の STA Protein C/Protein S kit を用いて、九州大学病院・検査部にて測定した。各因子のプロモータを含むエクソンとその近傍の遺伝子解析もサンガー法にて同部で実施した。

遺伝子検査の適応基準設定の対象は、日本人新生児期発症 PC 欠乏症のうち、遺伝子解析を受けた 38 名とした。

(倫理面への配慮)

当研究は九州大学病院倫理委員会で承認され、保護者に紙面にて説明し同意書を得た。

C. 研究結果

新生児期の PC 活性は、中央値が 31% で範囲は 5% から 68% までとばらつきが大きく、生後 2 週間までは PC 活性 30% 未満の症例も認めた。一方、新生児期の PS 活性は中央値が 49.5%、範囲は 24% から 76% であり、日齢に伴う変動は認めず、多くが PS 活性は 30% 以上であった(図 1)。

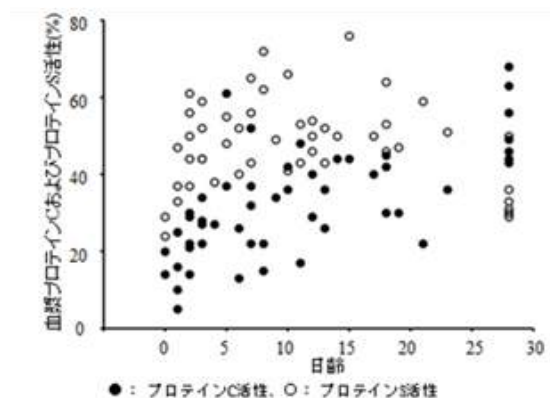


図 1. 正常新生児の日齢 28 までの PC、PS 活性値

遺伝子検査を受けた 38 名の結果は、両アレル変異は 19 名、片アレル変異は 9 名、非変異は 10 名であった。両アレル群は、片アレル群または非変異群に比べて、臨床症状が多く、電撃性紫斑病の発症率が高く、PC 活性値と PC/プロテイン S (PS) 活性比が低かった。

いずれかの変異群 28 名と非変異群 10 名を比較した時、臨床症状の数 (中央値: 2 対 1)、電撃性紫斑病の発症率 (0.57 対 0.10)、PC 活性値 (中央値: 10.0% 対 19.5%)、および PC/PS 活性比 (中央値: 0.25 対 0.39) に、有意差を認めた (表 1)。

表 1. 新生児期発症 PC 欠乏症の変異群と非変異群

	変異群	非変異群	単変量	多変量
性別 (男:女:不明)	28 (13:12:3)	10 (3:6:1)	0.57	
在胎 37 週以上 (%)	18/20 (90.0)	3/7 (42.9)	<0.05	>.99
出生体重 (範囲)	2815 (1854-3640)	2404 (818-3305)	0.18	
Apgar 5 分 (範囲)	9 (6-10)	7 (4-9)	<0.05	>.99
発症日齢 (%)				
胎内	4/26 (15.4)	0/10 (0.0)	0.10	
0-6	18/26 (69.2)	10/10 (100)	0.08	
7-28	4/26 (15.3)	0/10 (0.0)	0.29	
臨床症状 (%)				
頭蓋内出血	24/28 (85.7)	8/10 (80)	>.99	
電撃性紫斑病	16/28 (57.1)	1/10 (10)	<0.05	>.99
硝子体出血	7/28 (25.0)	0/9 (0.0)	0.16	
症状 2 つ以上 (%)	15/28 (53.6)	0/10 (0.0)	<0.05	<0.05
PC 活性 (範囲)	10 (1.5-31)	19 (6-45)	<0.01	<0.05
PS 活性 (範囲)	57 (24-140)	45 (36-53)	>.99	
PC/PS 比 (範囲)	0.25 (0.06-0.5)	0.39 (0.11-0.75)	<0.05	<0.05

ROC 解析により PC 活性値 10% 未満を Cut-off とした Logistic 解析を行うと、変異検出の Odds 比は 22.5 (95%CI: 3.43-451.2, $p < 0.01$)、PC/PS 活性比 0.35 未満を Cut-off とした場合は、変異検出の

Odds 比は 12.3 (95%CI : 1.56-165.2、 <0.05) であった。

D. 考察

新生児期の PC 活性は PS 活性に比べて低く、生後 2 週未満では PC 活性 30%未満の例も認めた。生後早期に PC 活性が低い新生児は、2 週以降に再検して、遺伝子解析の適応を検討することが望ましい。

新生児発症 PC 欠乏症は、両アレル変異に加え、片アレル変異保有者の発症も多い。遺伝子変異陽性例に遺伝子解析を行う基準としては、臨床像に加え、PC 活性値 $<10\%$ 、PC/PS 活性比 <0.35 が有用であった。血栓性素因を把握し、新生児・乳児に適切な治療と予防を行うためには、遺伝子解析を効率的に行う基準を確立する必要がある。

E. 結論

新生児期は PC 活性が低く、生後早期に PC 活性値が低い場合は、生後 2 週間以降の再検が望ましい。臨床症状数、PC 活性値、PC/PS 活性比を組み合わせれば、新生児期に効率的に遺伝子解析を行うことができる指標となる可能性が示された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Inoue H, Terachi SI, Uchiumi T, Sato T, Urata M, Ishimura M, Koga Y, Hotta T, Hara T, Kang D, Ohga S. The clinical presentation and genotype of protein C deficiency with double mutations of the

protein C gene. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Jan 23. (in press)

- 2) Ochiai M, Matsushita Y, Inoue H, Kusuda T, Kang D, Ichihara K, Nakashima N, Ihara K, Ohga S, Hara T; Kyushu University High-Risk Neonatal Clinical Research Network, Japan. Blood Reference Intervals for Preterm Low-Birth-Weight Infants: A Multicenter Cohort Study in Japan. *PLoS One*. 2016 Aug 23;11(8):e0161439.
- 3) Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T. Age-specific onset and distribution of the natural anticoagulant deficiency in pediatric thromboembolism. *Pediatr Res*. 2016 Jan;79(1-1):81-6.
- 4) Ichiyama M, Ohga S, Ochiai M, Fukushima K, Ishimura M, Torio M, Urata M, Hotta T, Kang D, Hara T. Fetal hydrocephalus and neonatal stroke as the first presentation of protein C deficiency. *Brain Dev*. 2016 Feb;38(2):253-6.
- 5) 津田博子：先天性血栓性素因を有する静脈血栓塞栓症（特発性血栓症）. 血液フロンティア, 26 (3):51-57, 2016.
- 6) 津田博子：静脈血栓塞栓症の先天性要因の人種差. 医学のあゆみ, 25 (7): 759-35, 2016.
- 7) 池田正孝、津田博子：難治性疾患としての特発性血栓症（先天性血栓性素因による）. 第10回日本血栓止血学会学術

標準化委員会シンポジウム報告. 日本血栓止血学会誌, 27 (4): 479-480, 2016.

2. 学会発表

- 1) Tsuda H: Update on Ongoing Project: Racial differences in Plasma Coagulation Inhibitors. “Plasma coagulation inhibitors”, 62nd Annual SSC Meeting of Int. Soc. Thromb. Haemost., Montpellier (Le Corum Conference Centre), France, May 26, 2016.
- 2) Tsuda H., Noguchi K., Nakazono E., Tsuda T., Jin, X.: Protein S specific activity analysis can accurately identify the carrier of Protein S Tokushima. 9th Congress of Asian-Pacific Soc. Thromb. Haemost., Taipei (Taipei International Convention Center), Taiwan, October 7, 2016.
- 3) 大賀正一. 新生児・小児期に発症する抗凝固因子欠損症の表現型と遺伝子型. 平成 28 年度厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業“血液凝固異常症等に関する研究班(村田班)”第 1 回班会議 特発性血栓症班研究報告 2016 年 8 月 26 日 東京都
- 4) 市山正子、井上普介、石村匡崇、楠田剛、金城唯宗、落合正行、高畑靖、堀田多恵子、山下博徳、佐藤和夫、康東天、大賀正一 新生児発症遺伝性プロテイン C 欠乏症スクリーニングのためのプロテイン C 活性基準 第 119 回日本小児科学会学術集会 2016 年 5 月 13-15 日 札幌市

- 5) 市山正子、井上普介、石村匡崇、楠田剛、金城唯宗、落合正行、高畑靖、堀田多恵子、山下博徳、佐藤和夫、康東天、原寿郎、大賀正一 新生児発症遺伝性プロテイン C 欠乏症スクリーニングのためのプロテイン C 活性基準 第 26 回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2016 年 7 月 1-2 日 長崎市
- 6) 石黒 精、大賀正一、野上恵嗣、松本智子、末延総一、西村菜穂、中川聡、中舘尚也、福田晃也、笠原群生. 肝移植: プロテイン C 欠乏症の患児への新しい治療戦略. 第 58 回日本小児血液・がん学会学術集会 2016 年 12 月 15 日-17 日 東京都
- 7) 能口健太、古賀結、中園栄里、堀田多恵子、内海健、康東天、津田博子: 日本人健常者におけるプロテイン C 遺伝子多型の検討. 第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良(奈良春日野国際フォーラム)、6 月 18 日 2016 年
- 8) 佐田志穂子、津田博子: Glucose 濃度低下による HepG2 細胞の脂質代謝関連因子と protein S 遺伝子発現の検討. 第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良(奈良春日野国際フォーラム)、6 月 18 日 2016 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。

**先天性アンチトロンビン、プロテインC、プロテインS欠乏症の
遺伝子変異同定率・臨床症状・
検査所見、ならびに直接型経口抗凝固薬が活性測定値におよぼす影響に関する研究**

研究分担者 森下英理子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 教授

研究協力者 關谷 暁子 金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 助教

研究要旨

本研究により、先天性 AT、PC、PS 欠乏症は、発症年齢、血栓症の起こしやすさ、症状、などがそれぞれ異なっていることが明らかとなった。遺伝子変異同定率は AT 欠乏症が約 9 割と高く、遺伝子解析は確定診断の手法として有用である。一方、PC および PS 欠乏症の変異同定率は 4~5 割前後ときわめて低く、その原因としてワルファリン内服、妊娠、急性期の採血による二次的な活性低下の症例が混入してしまっている可能性が考えられた。今後、診断の精度を高めるためには、二次性活性低下症例を適切に除外する方法を検討する必要がある。

また、AT 欠乏症 I 型と II 型 HBS では血栓リスクが異なるため、診断時にサブタイプまで分類する必要がある。II 型 HBS は若年性血栓症のリスクにはなりにくいが、60 才以上では血栓症発症に注意が必要と思われる。I 型では妊娠が主要な血栓リスクとなるため、妊娠・分娩・産褥期の管理に関する診療ガイドラインの作成が早急に必要であろう。

近年、静脈血栓塞栓症の治療に直接型経口抗凝固薬(DOAC)を使用する症例が増加している。先天性血栓性素因のスクリーニングにおいて、患者がすでに DOAC を服用している場合、AT、PC、PS 活性値が偽高値になり先天性欠乏症を見逃す可能性があるため、なるべく血中濃度の低いタイミングで採血する、などの対処が必要である。

A. 研究目的

昨年度は先天性血栓性素因の診断基準を作成し、「指定難病」の申請を行った。今後はこの作成した診断基準の有用性を検証し、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。今年度は、先天性血栓性素因が疑われ当研究室に遺伝子解析を依頼されたアンチトロンビン(AT)・プロテインC(PC)およびプロテ

インS(PS)欠乏症患者について、血栓症状、発症年齢、活性値、血栓症誘発因子、遺伝子変異同定率、家族内血栓発症率、などについて総括した。

また、直接型経口抗凝固薬(DOAC)内服患者では、PC・PS・AT活性値が偽高値になることを以前報告している。これは、血栓性素因の原因検索の際に診断を見落とす可能性があり、きわめて重要な問題である。そこで、今年度はさらに検査試薬の違いにより偽高値の程度は異なるのか、AT、PC、PS低値血漿がリバーロキサバンの共存により活性値が正常範囲には

いってしまうのか、リバーロキサバン高値血漿を希釈すると真値が得られるのか、の3点について検討した。

B. 研究方法

(1) 先天性凝固阻止因子欠乏症患者の総括

先天性AT、PC、PS欠乏症が疑われ遺伝子解析を施行した発端者およびその家系員、158家系229症例(AT:28家系51症例、PC:54家系79症例、PS:76家系99症例)を対象とした。

遺伝子解析は、発端者ならびに家系員よりインフォームドコンセントを得た後、目的とする遺伝子のエクソン全域ならびにエクソン/イントロン境界領域を、ダイレクトシーケンス法にて解析した。ダイレクトシーケンスで変異が同定できなかった場合は、MLPA法にて遺伝子の欠失、重複などについて検索した。家系員が発端者と同変異を有するかどうかを調べる場合は、PCR-RFLP法を用いた。

(2) リバーロキサバンがAT・PC・PS活性に及ぼす影響

a) リバーロキサバン内服心房細動(af)患者7例(男性4例、女性3例、年齢中央値72歳(年齢幅:53~83歳))を対象とし、内服開始前、内服開始から2週間後、3~8週間後の3ポイントで採血した検体合計21検体を測定に用いた。活性測定試薬は、①AT活性:合成基質法2試薬;Berichrom ATIII(トロンビン法)(シーメンス)、テストチームS AT3(Xa法)(積水メディカル)、②PC活性:凝固時間法3試薬;STA Protein C clot II(ロシュ)、Protein C Reagent(シーメンス)、Hemoclot Protein C(ハイフェン)、③PS活性:凝固時間法3試薬;STA Protein

S Clot(ロシュ)、Protein S Ac(シーメンス)、Hemoclot Protein S(ハイフェン)、合成基質法1試薬;総プロテインS活性“シノテスト”(シノテスト)、を用いた。

また、リバーロキサバンの血中濃度測定試薬は、Biophen DiXaI(ハイフェン)を用いた。測定機器は全自動血液凝固測定装置CS-5100(シスメックス)を使用した。

b)次に、市販の正常血漿、および正常血漿を生理食塩水で3倍に希釈し模擬的にAT、PC、PS活性値が30%程度に低下した血漿を作成し、そこにリバーロキサバンを終濃度0~1000 ng/mlになるよう添加して、AT、PC、PS活性値を測定した。

c)さらに、リバーロキサバンの影響で偽高値となった検体を、希釈することにより真値に近い値が得られるかどうかについて検討した。対象は、リバーロキサバン内服患者6名で、内服開始前、内服開始後、内服開始後の検体を生理食塩水で2、4、8倍に希釈したもののAT活性およびPS活性を測定した。

(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。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) 先天性凝固阻止因子欠乏症患者の総括

88家系129症例に遺伝子変異を認め、変異同定率はAT 89%、PC 56%、PS 43%であった。血栓症初発年齢の中央値は、AT欠乏症では20歳代と若年であるのに対し、PC・PS欠乏症は40歳代前後と中年

であった。臨床症状は主に静脈血栓症であり、全ての欠乏症において深部静脈血栓症 (DVT)・肺塞栓 (PE) が約 50-60% を占め、次いで脳静脈洞血栓症が 10-20% を占めた。PC 欠乏症では、脳梗塞などの動脈血栓症が約 20%認められ、AT および PS 欠乏症と比較して明らかに多かった。

また、AT 欠乏症は I 型の約 9 割が DVT/PE、あるいは脳静脈洞血栓症を発症しているのに対して、II 型ヘパリン結合部位異常 (HBS) のタイプでは 5 例中 3 例が無症状であった。また、AT 欠乏症は妊娠を契機に血栓症を起こした症例が半数を占め、最も多かった。

(2) リバーロキサバンが AT・PC・PS 活性に及ぼす影響

a) リバーロキサバン内服下では、トロンビン阻害活性による AT 活性値は全く影響を受けなかったが、FXa 阻害活性による AT 活性値は濃度依存的に偽高値となった。PS 活性は凝固時間法による試薬では 1~2.5 倍程度偽高値となったが、合成基質法は影響を受けなかった。PC 活性は、凝固時間法の 2 試薬とも 1.4 倍程度偽高値となった。以上、リバーロキサバンによる偽高値の程度は、項目および試薬により異なった。

b) 正常血漿、および 3 倍希釈血漿の両方において、AT、PC、PS のすべてが添加したリバーロキサバン濃度と一致して偽高値になった。AT 活性値は、リバーロキサバン 600 ng/ml の存在下で、本来 30% であるはずの AT 活性値が正常範囲となった。また、PS 活性値はリバーロキサバン 200 ng/ml で正常範囲となった。PC 活性値は、リバーロキサバン 1000 ng/ml まですべて正常範囲に入ることはなかった。

c) 内服開始後の検体を 2 倍、4 倍、8

倍に希釈しても、AT 活性および PS 活性は偽高値のままであり、補正されなかった。

D. 考察

本研究により、先天性 AT、PC、PS 欠乏症は、発症年齢、血栓症の起こしやすさ、症状、などがそれぞれ異なっていることが明らかとなった。遺伝子変異同定率は AT 欠乏症が約 9 割と高く、遺伝子解析は確定診断の手法として有用である。一方、PC および PS 欠乏症の変異同定率は 4~5 割前後ときわめて低く、その原因としてワルファリン内服、妊娠、急性期の採血による二次的な活性低下の症例が混入してしまっている可能性が考えられた。今後、診断の精度を高めるためには、二次性活性低下症例を適切に除外する方法を検討する必要がある。

また、AT 欠乏症 I 型と II 型 HBS では血栓リスクが異なるため、診断時にサブタイプまで分類する必要がある。II 型 HBS は若年性血栓症のリスクにはなりにくいが、60 才以上では血栓症発症に注意が必要である。I 型では妊娠が主要な血栓リスクとなるため、妊娠・分娩・産褥期の管理に関する診療ガイドラインの作成が今後必要である。

先天性血栓性素因のスクリーニングにおいて、患者がすでにリバーロキサバンを服用している場合は、AT、PC、PS 活性値が偽高値になり、欠乏症を見逃す可能性があるため、なるべく血中濃度の低いタイミングで採血する、などの対処が必要である。

E. 結論

先天性 AT・PC・PS 欠乏症は、遺伝子変

異同定率、血栓症初発年齢、症状、家族歴、などがそれぞれ異なっており、個々の疾患の特徴をよく理解し診療にあたるのが、再発予防あるいは家系内保因者の血栓予防において重要である。

また、AT、PC、PS 活性値は DOAC の内服により偽高値になり、欠乏症の存在を見逃す可能性があることを周知させ、対応としては血中濃度が低くなる時間帯に採血をすることを推奨する。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Taniguchi F, Morishita E, Sekiya A, Nomoto H, Katsu S, Kaneko S, Asakura H, Ohtake S. Gene analysis of six cases of congenital protein S deficiency and functional analysis of protein S mutations (A139V, C449F, R451Q, C475F, A525V and D599TfsTer13. Thromb Res. 151: 8-16, 2016
- 2) Sekiya A, Taniguchi F, Yamaguchi D, Kamijima S, Kaneko S, Katsu S, Hanamura M, Takata M, Nakano H, Asakura H, Ohtake S, Morishita E. Causative genetic mutations for antithrombin deficiency and their clinical background among Japanese patients. Int J Hematol. Nov: 17, 2016
- 3) Sekiya A, Hayashi T, Kadohira Y, Shibayama M, Tsuda T, Jin X, Nomoto H, Asakura H, Wada T, Ohtake S, Morishita E. Thrombosis prediction

based on reference ranges of coagulation-related markers in different stages of pregnancy. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. 10: DOI 1177, 2016

- 4) Kagami K, Yamazaki R, Minami T, Okumura N, Morishita E, Fujiwara H: Familial discrepancy of clinical outcomes associated with fibrinogen Dorfen: A case of huge genital hematoma after episiotomy. J Obstet Gynaecol Res. 42(6):722-725, 2016
- 5) Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, Morishita E, Nakao S, Asakura H: A case of aortic aneurysm-associated DIC that responded well to a switch from warfarin to rivaroxaban. Int Med. In press, 2016
- 6) 本木 由香里, 野島 順三, 吉田 美香, 關谷 暁子, 原 和弥, 森下 英理子, 家子 正裕. ELISAによる抗リン脂質抗体価測定の標準化に向けて. 日本血栓止血学会誌, 27(6):644-652, 2016
- 7) 森下英理子, 林朋恵: 血栓性血小板減少性紫斑病, 検査と技術, 44(11): 1080-1087, 2016.
- 8) 森下英理子: フォンウィルブランド因子の臨床検査, BIO Clinica, 31(6):39-43, 2016
- 9) 森下英理子: 「質疑応答 プロからプロへ」不育症例に対する抗凝固療法と対応, 日本医事新報, 8月12日号, 4816, 2016
- 10) 森下英理子: 最新情報と今後の展望 2016 (血小板・凝固・線溶系疾患)

オーバービュー, 臨床血液 57(3): 307, 2016

- 11) 森下英理子: その他の先天性凝固異常症・線溶異常症, 『血液疾患最新の治療2017-2019』(編集: 小澤敬也, 中尾眞二, 松村到), 南江堂, 東京, 242-247, 2017
- 12) 森下英理子: 深部静脈血栓症・肺塞栓症の発症機序と危険因子. 日本医師会雑誌 平成29年4月号特集(印刷中)
- 13) 森下英理子: 繰り返す静脈血栓症, 『むかしの頭で診ていませんか? 血液診療をスッキリまとめました』, 南江堂, 東京, 2017 (印刷中)
- 14) 森下英理子: 静脈疾患の検査, 『動脈・静脈の疾患(上)ー最近の診断・治療動向ー』, 日本臨床 2017年5月増刊 (印刷中)

2. 学会発表

- 1) Morishita E, Takata M, Akiyama M, Miyata T, Takagi A, Kojima T, Sekiya A, Taniguchi F: Asymptomatic dysprothrombinemia (Prothrombin Himi) with p.M380T and p.R431H shows severely reduced clotting activity, moderate antithrombin resistance and severe thrombomodulin binding defect. 58th American Society of Hematology Annual Meeting. 2016.12.3-6, San Diego
- 2) 森下英理子: 先天性血栓性素因. 第38回日本血栓止血学会学術集会(教育講演), 奈良春日野国際フォーラム 豊, 2016年6月16~18日, 奈良.
- 3) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療ー悪性腫瘍から先天性血栓性素因ー, 印旛沼エリア循環器セミナー, ウィンストンホテル・ユウカリ, 2016年6月23日, 佐倉.
- 4) 勝詩織, 關谷暁子, 金子将ノ助, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性AT欠乏症24家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討, 第38回日本血栓止血学会学術集会, 奈良春日野国際フォーラム 豊, 2016年6月16~18日, 奈良
- 5) 森下英理子: 静脈血栓症の成因と治療, 第17回日本検査血液学会学術集会ランチョンセミナー, 福岡国際会議場, 2016年8月7日, 福岡.
- 6) 關谷暁子, 鈴木健史, 三澤絵梨, 末武 司, 古莊浩司, 林研至, 朝倉英策, 大竹茂樹, 森下英理子: 直接経口抗凝固薬が血中アンチトロンビン, プロテインC, プロテインS活性値に与える影響, 第17回日本検査血液学会学術集会, 福岡国際会議場, 2016年8月6日~7日, 福岡.
- 7) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原 和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三: 抗リン脂質抗体価測定ELISAの標準化に向けた取組み, 第17回日本検査血液学会学術集会, 福岡国際会議場, 2016年8月6日~7日, 福岡.
- 8) 沼波仁, 飯嶋真秀, 鈴木基弘, 金澤俊郎, 田中宏明, 横田隆徳, 森下英理子: 右内頸動脈閉塞による脳梗塞と多発性深部静脈血栓症をきたしたプロテインS異常症の41歳女性例. 第218回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2016年9月3日, 東京
- 9) 上島沙耶香, 關谷暁子, 仲里朝周,

- 金子将ノ助, 勝詩織, 花村美帆, 高田麻央, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症の遺伝子解析および異常アンチトロンビン蛋白(N87D)の機能解析, 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院、2016年9月10日, 福井
- 10) 金子将ノ助, 關谷暁子, 勝詩織, 上島沙耶香, 花村美帆, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 先天性アンチトロンビン欠乏症 25 家系の臨床所見ならびに遺伝子変異部位の検討, 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
- 11) 花村美帆, 關谷暁子, 上島沙耶香, 勝詩織, 金子将ノ助, 中野明華, 大竹茂樹, 森下英理子: 当研究室で実施したプロテインCおよびプロテインS遺伝子解析の総括, 第41回北陸臨床病理集談会, 福井赤十字病院, 2016年9月10日, 福井
- 12) 金秀日, 津田友秀, 森下英理子, 關谷暁子, 康東天, 濱崎直孝: プロテインS比活性によるプロテインS異常症のスクリーニング. 第48回日本臨床検査自動化学会, パシフィコ横浜, 2016年9月21日~23日, 横浜
- 13) 金森尚美, 古莊浩司, 關谷暁子, 高島伸一郎, 加藤武史, 村井久純, 薄井莊一郎, 林研至, 森下英理子, 高村雅之: 抗凝固療法が先天性凝固異常のスクリーニング検査に与える影響. 第64回日本心臓病学会学術集会, 東京国際フォーラム, 2016年9月23日~25日, 東京
- 14) 森下英理子: 血栓止血領域の診療ガイド. 先天性血栓性素因, 第78回日本血液学会学術集会(シンポジウム), 横浜パシフィコ, 2016年10月14日, 横浜.
- 15) 本木由香里, 吉田美香, 關谷暁子, 原 和冴, 家子正裕, 森下英理子, 野島順三: 日本における抗リン脂質抗体ELISAの標準化に向けて-第3報-, 第11回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム, 野村コンファレンスプラザ日本橋, 2017年1月21日, 東京
- 16) 森下英理子: 基礎から学ぶ血液凝固異常症, 血液・凝固セミナー, 日本医科大学附属病院セミナー室, 2017年2月20日, 東京.

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

血栓性素因の調査研究：

プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異解析による新たな血栓性素因検索

研究分担者 小嶋 哲人 名古屋大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

プロトロンビン遺伝子 (*F2*) のミスセンス変異・Yukuhashi 変異 (c.1787G>T, p.Arg596Leu) は、その変異型プロトロンビン由来のトロンビンがアンチトロンビン (AT) による不活化に抵抗性を示し、長時間トロンビン活性が残存する血栓性素因・AT レジスタンス (ATR) を呈する。また、この変異型トロンビンはトロンボモジュリン (TM) レジスタンス (TMR) も示す。本研究では、*F2* の Arg596 コドン (CGG) の一塩基置換により生ずる 596Leu (CTG) 以外のミスセンス変異 (596Gln (CAG)、596Trp (TGG)、596Gly (GGG)、596Pro (CCG)) の AT ならびに TM による抗凝固作用に及ぼす影響を評価した。その結果、596Pro 変異型 (分泌不全) を除いて全て AT 抵抗性と同時に TM 抵抗性も示したことから、これらの変異が生じた生体では AT・TM による生理的制御に抵抗する変異型トロンビンの活性が異常に持続するため、血栓症性素因となることが推測された。

A. 研究目的

静脈血栓塞栓症は様々な先天的／後天的リスクにより発症する多因性疾患で、従来欧米人に多く日本人には少ないとされてきたが、診断技術の向上や食生活の欧米化などにより日本人にも決して少なくないことが明らかにされている。遺伝性血栓症の原因として様々な凝固関連因子の遺伝子異常が同定されているが、いまだに原因不明な遺伝性血栓症がある。

我々は長らく原因不明であった遺伝性静脈血栓症家系において、通常は出血症状を示すプロトロンビン異常症で逆に血栓症の原因となる遺伝子変異を発見した。これはプロトロンビン遺伝子 (*F2*) のミスセンス変異 (c.1787G>T, p.Arg596Leu)・プロトロンビンYukuhashi変異で、変異型トロンビンがアンチトロンビン (AT) 抵抗性で、その活性が異常に持続するため血栓症の原因となる。ま

た、トロンビンと結合してその凝固活性を阻害する生理的凝固制御因子・トロンボモジュリン (TM) 対しても、変異型トロンビンは抵抗性を示すことを明らかにになっている。

本研究では、*F2* での Arg596 コドン (CGG) の一塩基置換により生ずる 596Leu (CTG) 以外のミスセンス変異体 (596Gln (CAG)、596Trp (TGG)、596Gly (GGG)、596Pro (CCG)) が AT ならびに TM による抗凝固作用に及ぼす影響を評価した。

B. 研究方法

本研究では 596Gln、596Trp、596Gly、596Pro 変異型プロトロンビン発現ベクター (pCDNA) を作製、各変異型発現ベクターをヒト胎児腎由来 HEK293 細胞に遺伝子導入し、G418 による薬剤選択により安定発現細胞株を得た。各細胞株の培養上清・細胞溶解液のウェスタンブロッティ

ング解析、ならびにビタミン K 含有無血清培地培養の上清から得られた組換え型プロトロンビンをプロトロンビン欠乏血漿に添加した擬似患者血漿を検体として、凝固一段法ならびに合成基質二段法にて各変異型プロトロンビンの凝固機能を解析した。また、各変異型プロトロンビン由来トロンビンの AT による不活性化解析と、各変異型トロンビンのトロンビン・アンチトロンビン複合体 (TAT) 形成能を評価した。また、各変異型プロトロンビンのトロンビンへの活性化相とトロンビン不活化相を評価するため、トロンビン生成試験 (thrombin generation assay: TGA) を実施した。さらに、各変異型トロンビンのフィブリノゲン凝固活性の sTM による阻害解析、ならびに表面プラズモン共鳴 (surface plasmon resonance: SPR) 解析を用いた各変異型トロンビンの sTM 結合量を評価するとともに、sTM 存在下での各変異型トロンビンの液相ならびにヒト血管内皮細胞由来培養細胞 (EAhy926 細胞: 血管内皮細胞 PC 受容体 (EPCR)+) 上での APC 産生能を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は、細胞株を用いて発現させた組換え型プロトロンビンの *in vitro* 解析で、名古屋大学 大学院医学系研究科組換え DNA 実験安全委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

Arg596 での野生型ならびに変異型組換え型プロトロンビン安定発現細胞株を樹立し、細胞溶解液ならびに培養上清のウェスタンブロッティング解析を行った結

果、596Gln、596Trp、596Gly 発現株では野生型と同等のプロトロンビン産生が確認された。596Pro では、細胞溶解液・培養上清ともにほとんど検出されなかったプロトロンビンが、プロテアソーム阻害剤存在下で培養すると細胞溶解液中に検出された。596Pro は培養上清にほとんど分泌されないため、以降の実験対象から除外した。Arg596 での各変異型プロトロンビンは様々な値の凝固活性を示したが、合成基質二段法での活性値は凝固一段法より一様に高値であった。

AT によるトロンビン不活化解析では、野生型トロンビンが継時的に不活化され AT 混和後 30 分で 15%程度まで不活化されたのに対して、各変異型トロンビンは 30 分後でも 80%以上のトロンビン活性残存率が保持された。また、野生型トロンビンはヘパリン非存在下で TAT 形成量が継時的に上昇したが、各変異型トロンビンは AT 混和後 60 分でもほとんど TAT が形成されなかった。TGA では、トロンビン活性持続時間を示す Start tail が、Arg596 での各変異型プロトロンビンにおいて野生型の 2 倍以上に延長していた。

TM によるトロンビン活性阻害解析では、TM 濃度 25 μ g/mL のとき野生型トロンビン活性が 16%まで低下したのに対して各変異型トロンビン活性残存率は 37~54%に保持された。一方、SPR 解析における各変異型トロンビンの TM 結合量は、野生型のそれと比較して低値であった。SPR 解析により算出された各変異型トロンビンと TM との解離定数は、トロンビン活性阻害解析の結果を支持するものであった。EAhy926 細胞 (EPCR+) の存在下・非存在下ともに、野生型/各変異型トロンビンの APC 産生能の差は各変異型プロトロン

ビンの凝固比活性の差に比例していた。

D. 考察

本研究では、プロトロンビンの Arg596 コドンにおける一塩基置換により生ずるミスセンス変異体 (596Gln、596Trp、596Gly、596Pro 変異型プロトロンビン) の AT および TM による抗凝固作用に及ぼす影響を評価した。596Pro 変異型プロトロンビンは、安定発現細胞株の細胞内・培養上清中にほとんど検出されなかったが、プロテアソーム阻害剤処理により細胞溶解液にはプロトロンビンが出現したことから、596Pro 変異が生体内で生じた場合、変異型プロトロンビンは細胞内でプロテアソーム系にて分解され、血中に分泌されないことが示唆された。また、凝固機能測定ではすべての野生型/変異型プロトロンビンで合成基質二段法で凝固一段法より高い測定値を示し、これは凝固一段法の基質であるフィブリンゲン分子と比較して合成基質二段法で用いた発色性合成基質 S-2238 が非常に小さな分子であるため、野生型/変異型に関わらずトロンビンの活性中心に近づきやすいことが理由と考えられる。さらに、本研究の実験において 596Gln、596Trp、596Gly 変異型トロンビンは AT により不活化されにくく、同時に TM による活性阻害も受けにくいことが示されたことから、これらの遺伝子変異が人体に生じた場合、各変異型トロンビンが生理的制御機構に抵抗し、その活性を持続することにより血栓症を引き起こしやすくなることが推測された。

プロトロンビン Arg596 コドン(CGG)は一塩基置換のホットスポットである CpG 配列を含むが、CpG 配列ではシトシンが

チミンに置換し得ることが知られている。本研究で解析した 596Gln、596Trp は、この CpG 配列での一塩基置換により生ずるので、セルビア人家系で 596Gln 変異が、イタリア人家系で 596Trp 変異が発見され、いずれも家族性の静脈血栓塞栓症を発症したことが報告された。また、596Gln 変異は日本人静脈血栓塞栓症 2 家系でも同定されていることから、Arg596 ミスセンス変異は人種を問わず発生し、血栓症の原因となりうることが強く示唆された。

E. 結論

本研究では、プロトロンビン Arg596 コドンにおける一塩基置換にて生ずるミスセンス変異が AT および TM による抗凝固作用に及ぼす影響を評価した。本研究で解析したすべての Arg596 ミスセンス変異型プロトロンビン (596Gln、596Trp、596Gly) は、AT 抵抗性ならびに TM 抵抗性を示し、生体内では各変異型プロトロンビンの凝固能に依存して血栓症の引き起こしやすさにつながることが推察された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 村田萌、小嶋哲人：あらたな血栓性素因：アンチトロンビンレジスタンス 医学のあゆみ 257(7), 753-757, 2016. May. 14.
- 2) Nakamura Y, Ando Y, Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Takagi A, Matsushita T, Shima M, Kojima T: Distinct X

- chromosomal rearrangements in four haemophilia B patients with entire *F9* deletion. Haemophilia. 2016 May;22(3): 433-9.
- 3) Kozuka T, Tamura S, Kawamura N, Nakata Y, Hasebe R, Makiyama A, Takagi Y, Murata M, Mizutani N, Takagi A, Kojima T: Progestin isoforms provide different levels of protein S expression in HepG2 cells. Thromb Res. 2016 Jul 16;145:40-45.
 - 4) Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Tamura S, Takagi A, Matsushita T, Saito H, Kojima T: Missense mutations in the gene encoding prothrombin corresponding to Arg596 cause antithrombin resistance and thrombomodulin resistance. Thromb Haemost. 2016 Nov 30;116(6):1022-1031.
 - 5) Moriyasu F, Furuichi Y, Tanaka A, Takikawa H, Yoshida H, Sakaida I, Obara K, Hashizume M, Kage M, Ohfuji S, Kitano S, Kawasaki S, Kokubu S, Matsutani S, Eguchi S, Shiomi S, Kojima T, Maehara Y, Kuniyoshi Y: Diagnosis and treatment guidelines for aberrant portal hemodynamics. Hepatol Res. 2017 Jan 6. in press.
 - 6) Miljic P, Gvozdenov M, Takagi Y, Takagi A, Pruner I, Dragojevic M, Tomic B, Bodrozic J, Kojima T, Radojkovic D, Djordjevic V: Clinical and biochemical characterization of the Prothrombin Belgrade mutation in a large Serbian pedigree: new insights into antithrombin resistance mechanism. J Thromb Haemost. 2017 Jan 11. in press.
- ## 2. 学会発表
- 1) Takagi Y, Kawamura N, Makiyama A, Hashimoto E, Tamura S, Takagi A, Kojima T: Prothrombin missense mutations at 596Arg reduced the affinity of mutant thrombin to thrombomodulin controlled by Na⁺ concentration. XXIX International Symposium on Technical Innovations in Laboratory Hematology (ISLH), Milano, Italy、平成 28 年 5 月 12-14 日
 - 2) 河村奈美、榎山愛弓、橋本恵梨華、長谷部瞭、高木夕希、村田萌、田村彰吾、高木明、小川実加、兼松毅、岸本磨由子、鈴木伸明、松下正、小嶋哲人: 血友病 A 症例における血液凝固第 VIII 因子の遺伝子解析 第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良、平成 28 年 6 月 16-18 日
 - 3) 高木夕希、河村奈美、榎山愛弓、橋本恵梨華、安藤裕実、加藤衣央、田村彰吾、高木明、小嶋哲人: 低フィブリノゲン血症 3 症例の遺伝子解析 第 38 回日本血栓止血学会学術集会、奈良、平成 28 年 6 月 16-18 日
 - 4) 榎山愛弓、高木夕希、河村奈美、橋本恵梨華、田村彰吾、高木明、岸本磨由子、鈴木伸明、松下正、小嶋哲人: 第 17 回日本検査血液検査血液学会学術集会、博多、平成 28 年 8 月 6-7 日
 - 5) HASHIMOTO E, TAKAGI Y, KAWAMURA N,

- MAKIYAMA A, SAKANE H, FUJIOKA A, TAMURA S, TAKAGI A, FUKUSHIMA Y, KANEKO M, KOJIMA T: A NOVEL LARGE DELETION FOUND IN A JAPANESE FAMILY WITH ANTITHROMBIN DEFICIENCY. The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (APSTH), Taipei、平成 28 年 10 月 6-9 日
- 6) KAWAMURA N, MAKIYAMA A, TAKAGI Y, HASHIMOTO E, SAKANE H, FUJIOKA A, TAMURA S, TAKAGI A, SUZUKI N, MATSUSHITA T, KOJIMA T: Molecular basis of F8 gene abnormality in hemophilia A patients in Nagoya. The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (APSTH), Taipei、平成 28 年 10 月 6-9 日
- 7) MAKIYAMA A, TAKAGI Y, KAWAMURA N, HASHIMOTO E, SAKANE H, FUJIOKA A, TAMURA S, TAKAGI A, KISHIMOTO M, SUZUKI N, MATSUSHITA T, KOJIMA T: GENETIC ANALYSIS OF PATIENTS WITH PROTEIN C DEFICIENCY. The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (APSTH), Taipei、平成 28 年 10 月 6-9 日
- 8) Sakane H, Nakamura Y, Fujioka A, Hashimoto E, Makiyama A, Kawamura N, Suzuki S, Takagi Y, Tamura S, Takagi A, Ogawa M, Kanemetsu T, Kishimoto M, Suzuki N, Matsushita T, Kojima T: Diverse *F9* abnormalities including a large SVA retrotransposon insertion that cause hemophilia B. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜、平成 28 年 10 月 13-15 日
- 9) Tamura S, Suzuki-Inoue K, Ozaki Y, Tsukiji N, Shirai T, Sasaki T, Osada M, Satoh K, Takagi A, Kojima T: Novel periarteriolar stromal cells promote megakaryo/thrombopoiesis via CLEC-2/podoplanin binding. 第 78 回日本血液学会学術集会、横浜、平成 28 年 10 月 13-15 日
- 10) 高木夕希, 河村奈美, 槇山愛弓, 橋本恵梨華, 田村彰吾, 高木明, 小嶋哲人: プロトロンビン Arg596 ミスセンス変異がトロンビンのトロンボモジュリン結合能に及ぼす影響. 第 39 回日本分子生物学会年会、横浜、平成 28 年 11 月 30 日-12 月 2 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。

妊娠中の治療域ヘパリンによる抗凝固療法のモニタリングに関する研究

研究分担者 宮田 敏行 国立循環器病研究センター 脳血管内科 シニア研究員
研究協力者 光黒 真菜 国立循環器病研究センター 臨床検査部 技師
研究協力者 根木 玲子 国立循環器病研究センター 臨床遺伝相談室 室長

研究要旨

妊娠中の抗凝固療法は未分画ヘパリンを使用し、そのモニタリングには活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)が用いられる。市販されている APTT 試薬は、それぞれでヘパリン感受性や VIII 因子感受性に違いが見られる可能性がある。本研究では、妊娠中に治療量のヘパリン療法を受けた妊婦患者 12 名の検体 (69 検体) で、6 種の市販 APTT 試薬、抗 Xa 活性 (ヘパリン濃度の算出)、VIII 因子抗原量、フォンビルブランド因子抗原量を測定し、各 APTT 試薬のヘパリン感受性および VIII 因子感受性を調べた。その結果、APTT の試薬によりヘパリンに対する反応性が異なることが判明した。VIII 因子量が増加する妊婦のヘパリンモニタリングでは、APTT 試薬の VIII 因子量の影響をあらかじめ把握することが重要性であると考えられた。

A. 研究目的

妊娠中や産褥期の母体は血栓傾向にあり血栓症を発症しやすい。私達は妊娠中に治療量 (高用量) のヘパリンを用いる抗凝固療法を必要とする症例を多く経験するため、ヘパリン量をより適切に投与する必要がある。

妊娠中の抗凝固療法は未分画ヘパリンを用い、そのモニタリングには活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)が用いられる。ヘパリン療法では、患者血漿の APTT の秒数が正常血漿秒数の 1.5-2.5 倍になるように管理するのが一般的である。しかし、妊娠中は凝固因子、特に VIII 因子量が増加するため、そもそも APTT が短縮している。短縮している妊婦 APTT を指標に、正常血漿秒数の 1.5-2.5 倍になるようにヘパリンを投与することは、極めて高用量のヘパリン投与に繋がる可能性があり、ヘパリンのコントロールに苦慮するケースがある。

抗 Xa 活性は、ヘパリン類がアンチトロンビンの Xa 活性阻害能を促進する性質を用いて、被検血漿のヘパリン量を求める方法である。抗 Xa 活性は被検者の凝固能に影響されないため、治療量のヘパリンで管理する妊婦のモニタリングには APTT より適していると考えられる。

APTT 試薬は各社から市販されており、試薬間で VIII 因子などへの感受性が異なると考えられる。そこで、本研究は VIII 因子などが増加している妊婦のヘパリンモニタリングにおいて、各社の APTT 試薬のヘパリン感受性および VIII 因子感受性を調査することを目的とした。

B. 研究方法

2012-2016 年に登録された治療量ヘパリン投与の妊婦 12 名を対象とした。

患者内訳：ヘパリン治療の対象疾患

- ・ 深部静脈血栓症の発症もしくは既往 6 名

- ・機械弁置換術後 4 名
- ・僧帽弁形成術後の一過性脳虚血発作 1 名
- ・脳梗塞既往の抗リン脂質抗体症候群 1 名

各被検者の妊娠初期-後期の 3-11 検体、計 69 検体について、APTT(6 種)、抗 Xa 活性(ヘパリン濃度、STA Liquid Anti-Xa, Stago)、フォンビルブランド因子抗原量(VWF、ライアテスト VWF, Stago)、VIII 因子抗原量(Asserachrom VIII:Ag, Stago)を測定した。

6 種の APTT は次の通りである。

ヒーモスアイエルシンサシル APTT(IL), プラテリン L II(協和メディックス), データファイ APTT(シーメンス), コアグピア APTT-N(積水メディカル), トロンボチェック APTT(シスメックス), セファスクリーン(Stago)

測定は全自動血液凝固線溶測定装置 STA-R Evolution (Stago)を用いて行った。国立循環器病研究センターの APTT 試薬はデータファイ APTT である。

被験血漿検体の APTT 比を求め、抗 Xa 活性から求めたヘパリン濃度(U/mL)との関連を検討した。

APTT 比=患者血漿での秒数/正常血漿での秒数

APTT 比が大きくなるにつれ、ヘパリンの抗凝固能が強く働いていると考えられる。

(倫理面への配慮)

本研究は国立循環器病研究センター倫理委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

妊娠の中期-後期では、フォンビルブランド因子の増加に伴い VIII 因子量が

増加し、700%程度までの増加を認める検体もあった。APTT 比とヘパリン濃度との回帰直線の傾きをヘパリン感受性とする、いずれの APTT 試薬も APTT 比とヘパリン濃度に正相関を示した。

VIII 因子 200% 以下の群と 200%以上の群の回帰直線の傾きをみると、VIII 因子 200% 以下の群での傾きは 200%以上での傾きより大きいことが判明した。このことは、VIII 因子 200% 以下の血漿は 200%以上の血漿より、ヘパリンによって凝固時間が延長しやすいことを示しており、予想通りの結果であった。

VIII 因子 200% 以下の群と 200%以上の群の回帰直線の傾きを比べると試薬間差がみられ、試薬により VIII 因子感受性がことなることが判明した。

トロンボチェックは VIII 因子 200% 以下の群と 200%以上の群の回帰直線の傾きの違いが最も少なく、VIII 因子感受性が低かった。

データファイ、コアグピア、トロンボチェックは試薬に含まれるリン脂質や活性化剤が同じ成分であるが、ヘパリン感受性や VIII 因子感受性が異なっていた。

D. 考察

妊娠中は VIII 因子量が増加するので、APTT は短縮する。したがって、短縮した APTT を指標に、APTT の 1.5-2.5 倍になるようにヘパリン量を調節することは高用量のヘパリン投与に繋がる可能性がある。200%以下の VIII 因子量が多い妊娠初期と 200%以上の VIII 因子が多い妊娠後期では、APTT の反応性が異なることに留意してヘパリン投与量を調節することにより、適切なヘパリンの管理に繋がると考えられた。

E. 結論

国立循環器病研究センターで使用している APTT 試薬のヘパリン感受性が明らかとなり、より正確なヘパリンモニタリングを行うための基礎的なデータを得ることができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation. **J Pediatr Hematol Oncol**, 38(3), e137-139, 2016
2. Nagatsuka K, Miyata S, Kada A, Kawamura A, Nakagawara J, Furui E, Takiuchi S, Taomoto K, Kario K, Uchiyama S, Saito K, Nagao T, Kitagawa K, Hosomi N, Tanaka K, Kaikita K, Katayama Y, Abumiya T, Nakane H, Wada H, Hattori A, Kimura K, Isshiki T, Nishikawa M, Yamawaki T, Yonemoto N, Okada H, Ogawa H, Minematsu K, Miyata T: Cardiovascular events occur independently of high on-aspirin platelet reactivity and residual COX-1 activity in stable

cardiovascular patients. **Thromb Haemost**, 116(2), 356-68, 2016

3. Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M: No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome. **Int J Hematol**, 104(2), 223-7, 2016
4. Omura T, Watanabe E, Otsuka Y, Yoshida Y, Kato H, Nangaku M, Miyata T, Oda S: Complete remission of thrombotic microangiopathy after treatment with eculizumab in a patient with non-Shiga toxin-associated bacterial enteritis: A case report. **Medicine (Baltimore)**, 95(27), e4104, 2016
5. Naito N, Mizuno T, Nishimura T, Kishimoto S, Takewa Y, Eura Y, Kokame K, Miyata T, Date K, Umeki A, Ando M, Ono M, Tatsumi E: Influence of a rotational speed modulation system used with an implantable continuous-flow left ventricular assist device (EVAHEART) on von Willebrand factor dynamics. **Artif Organs**, 40(9), 877-83. 2016
6. Miyata T, Maruyama K, Banno F, Neki R: Thrombophilia in East Asian countries: are there any genetic differences in these

countries? Review, **Thromb J**, 14 (Suppl 1):25, 2016

2. 学会発表

- 1) 宮田敏行、シンポジウム 血栓形成メカニズムの最新のトピックス、「静脈血栓症の発症メカニズム」、第 41 回日本脳卒中学会総会、2016 年 4 月 15 日、札幌市、北海道
- 2) 宮田敏行、内田裕美子、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣「非典型溶血性尿毒症症候群患者におけるプラスミノゲン A620T 変異」、第 38 回日本血栓止血学会学術集会、2016 年 6 月 16-18 日、奈良市
- 3) 小亀浩市、内田裕美子、宮田敏行、松本雅則、藤村吉博、吉田瑤子、加藤秀樹、南学正臣「デジタル PCR を用いた aHUS 関連遺伝子異常の検出」、第 38 回日本血栓止血学会学術集会、2016 年 6 月 16-18 日、奈良市
- 4) Toshiyuki Miyata, Yuko Tashima, Fumiaki Banno, Toshiyuki Kita, Yasuyuki Matsuda, Hiroji Yanamoto, Plasminogen Tochigi mice with severely reduced plasminogen activity exhibit phenotypes similar to wild-type mice under experimental thrombotic conditions, Gordon Research Conference on Hemostasis, July 24-29, 2016, Stowe, Vermont, USA.
- 5) Toshiyuki Miyata, Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, Masanori Matsumoto, Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura, Masaomi Nangaku, No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome, XXVIth International Complement Workshop, September 4-8, 2016, Kanazawa, Japan.
- 6) Yoshihiko Hidaka, Norimitsu Inoue, Yasufumi Ohtsuka, Toshihiro Sawai, Toshiyuki Miyata, Isao Osawa, Hidechika Okada, Taroh Kinoshita, Hideharu Sekine, Minoru Takahashi, Hiroshi Tsukamoto, Miki Nakao, Masaru Nonaka, Misao Matsushita, Tetsuro Yamamoto, Takahiko Horiuchi, Nobutaka Wakamiya, Establishment of a comprehensive complement examination system for complement-related diseases by the Japanese Association for Complement Research, XXVIth International Complement Workshop, September 4-8, 2016, Kanazawa, Japan.
- 7) Yoko Yoshida, Hideki Kato, Madoka Fujisawa, Yuuka Sugahara, Yumiko Uchida, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Toshiyuki Miyata, Masaomi Nangaku, Characterization of the patients with atypical hemolytic uremic syndrome by combination of hemolytic assay and gene analysis in Japan, XXVIth International Complement Workshop, September 4-8, 2016, Kanazawa, Japan.
- 8) Toshiyuki Miyata, “Thrombophilia in East Asian Countries. Are there any genetic differences in these countries?” The 9th

Congress of the Asian-Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis, Taipei, Taiwan, October 6 - 9, 2016

- 9) Toshiyuki Miyata, “Differences in Prothrombotic States among Races/Regions”, Session 129: Antithrombotic Therapy Specific to Races/Regions (in the NOAC Era), an American Heart/American Stroke Association and Japan Stroke Society Joint Session, International Stroke Conference 2017, February 23, 2017, Houston, USA.

- 10) 宮田敏行、シンポジウム 7 「心房細動と脳卒中を考える」、「新たな抗凝固薬の開発」、第 42 回日本脳卒中学会学術集会、2017 年 3 月 16-19 日、大阪市、大阪府

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

先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する 診療ガイドラインの策定

研究分担者 浜松医療センター 院長 小林 隆夫
研究協力者 浜松医科大学健康社会医学講座教授 尾島 俊之
名古屋市立大学大学院看護学研究科講師 杉浦 和子

研究要旨

【目的】本研究では、先天性血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定を目的とする。【方法】研究方法としては、まずは下記の厚生労働科学研究費補助金難治疾患克服研究事業のデータベースから血栓性素因保有者を抽出し、その背景を探り、診療ガイドラインの策定の一助とする。1. 産婦人科領域の静脈血栓塞栓症（VTE）の調査、2. 肺塞栓症（PE）と深部静脈血栓症（DVT）の頻度、臨床的特徴に関する研究、3. 入院患者における静脈血栓塞栓症発症予知に関する研究、4. 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子、5. 肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症発症数の全国調査研究、6. 不育症を対象とした先天性血栓性素因に関する研究、7. 女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究。さらに、8. The Japan VTE Treatment Registry Study（急性VTEの他施設共同観察研究 2009-2010）、9. 日本麻酔科学会周術期肺塞栓症調査（2002年-2013年）結果も参考にした。【結果】昨年度は「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」に関して、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のデータベースを用いた日本における女性ホルモン剤の副作用としての血栓塞栓症の調査結果を中心に報告したが、その後の解析により新たな知見が若干得られたので、追加報告する。年齢別血栓塞栓症では、年齢の増加とともにVTEの占める割合が減少し、動脈血栓塞栓症（ATE）の占める割合が有意に増加する傾向があること、また予後に関しては、ATEはVTEに比し有意に予後不良例が多いこと等が明らかになった。死亡率は約20万人年に1人と極めて低かったが、日本人でも欧米人と同様な傾向であることが判明した。また、全VTE患者に占める血栓性素因保有者の割合は4%前後で、周術期PEでは2%弱であった。【考察及び結論】血栓性素因のうちPS欠乏症に特化した結果は得られていないものの、従来報告してきたように活性化プロテインC感受性比およびPS比活性の測定が、妊婦や女性ホルモン剤使用中患者の血栓症予知に有用の可能性がある。現時点でわれわれが考えている血栓性素因保有妊婦の診療指針（私案）は、基本的には妊娠中は通常の臨床的観察に加え、分娩後まで低用量末分画ヘパリンの予防的皮下注射を行うことが推奨される。アンチトロンビン（AT）欠乏症妊婦でのAT濃縮製剤の投与等付加的治療に関しては今後検討を重ねなければならないが、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診療ガイドラインの策定を行いたい。

A. 研究目的

日本人には血栓性素因としてのプロテイン S (PS) 欠乏症 (PS 徳島変異は日本人 55 人に 1 人と推定) が多く、妊娠中や女性ホルモン剤使用中に血栓症を発症することがある。しかし、妊娠前や女性ホルモン剤使用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、先天性 PS 欠乏症をはじめ血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用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、まずは下記の厚生労働科学研究費補助金難治疾患克服研究事業のデータベースから血栓性素因保有者を抽出し、その背景を探り、診療ガイドラインの策定の一助とする。

1. 産婦人科領域の静脈血栓塞栓症 (VTE) の調査 (平成 17-19 年度同事業)
2. 肺塞栓症 (PE) と深部静脈血栓症 (DVT) の頻度、臨床的特徴に関する研究 (同上)
3. 入院患者における静脈血栓塞栓症発症予知に関する研究 (平成 20-24 年度同事業)
4. 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子 (平成 20-22 年度同事業)
5. 肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症発症数の全国調査研究 (平成 23-25 年度同事業)
6. 不育症を対象とした先天性血栓性素因に関する研究 (平成 23-25 年度同事業)
7. 女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究 (平成 25 年度同事業)

さらに、下記 2 つの調査研究結果も参考とし、総合的に考察して診療ガイドラインを策定する。

8. The Japan VTE Treatment Registry

Study (急性 VTE の他施設共同観察研究 2009-2010)

9. 日本麻酔科学会周術期肺塞栓症調査 (2002 年-2014 年)

妊娠管理に関しては、血栓症の発症時期や発症リスクを明らかにし、妊娠中の PS 測定において血栓性素因を有しているのか、単に妊娠中に PS 活性が低下しただけなのかの判別可能なシステムを確立したい。経口避妊薬 (OC) に関連した血栓塞栓症の報告は海外では多いものの日本人における実態は不明である。この実態調査としてわれわれは 2 つの研究を行ってきた。一つは「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」、もう一つは「独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) のデータベースを用いた日本における OC の副作用としての血栓塞栓症」である。これらの調査によって日本初のエビデンスを確立するとともに、PS 欠乏症等の血栓性素因保有者における安全な処方方法を提言し、服用前および服用中の最適な検査法として活性化プロテイン C 感受性比 (APC-sr) や PS 比活性 (PS 活性/PS 抗原量) 等を盛り込んだ診療ガイドラインを策定したい。

(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を得た後にすでに実施しているため、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している。

C. 研究結果

昨年度は「女性ホルモン剤と血栓症に関する全国調査研究」に関して、PMDA のデータベースを用いた日本における女性ホルモン剤の副作用としての血栓塞栓症の調査結果を中心に報告したが、その後の解析により新たな知見が若干得られたので、追加報告する。

10 歳ごとの年齢別血栓塞栓症では、年齢の増加とともに VTE の占める割合が減少し、動脈血栓塞栓症 (ATE) の占める割合が有意に増加する傾向があることが初めて明らかになった。予後に関しては、ATE は VTE に比し有意に予後不良例が多かった。血栓塞栓症発症報告数は 40 歳代で最も多かったものの、年齢別予後では有意差はみられなかった。このことは OC を服用すれば 10 歳代から 50 歳代まですべての年齢で発症し得るうえ、若年層だからといって必ずしも予後良好とは言えないことを示している。死亡率は約 20 万人年に 1 人と極めて低かったが、日本人でも欧米人と同様な傾向であることが判明した。また、The Japan VTE Treatment Registry Study および日本麻酔科学会周術期肺塞栓症調査の結果からみると、全 VTE 患者に占める血栓性素因保有者の割合は 4%前後、周術期 PE では 2%弱であった。

なお、現時点でわれわれが考えている PS を含めた血栓性素因保有妊婦の診療指針 (私案) は以下のとおりである。すなわち、妊娠中は通常の臨床的観察に加え、分娩後まで低用量未分画ヘパリンの予防的皮下注射を行うことが推奨される。アン

チトロンビン (AT) 欠乏症妊婦では、基本的なヘパリン投与に加え、VTE を合併している場合は AT 活性が 70%以上になるように、AT 濃縮製剤 1500 単位/日を適宜投与する。しかし、VTE を合併していない場合の併用投与に関する見解は一致していないので、臨床症状で判断することになる。PS 欠乏症およびプロテイン C 欠乏症妊婦も AT 欠乏症妊婦と同様、ヘパリン投与が基本である。VTE を合併した場合は活性化プロテイン C 濃縮製剤も使用可能であるが、半減期が短く高価なため、臨床的にはヘパリン投与が推奨される。なお、抗リン脂質抗体症候群の場合、習慣流産に対しては、低用量アスピリンとヘパリンによる抗凝固療法が標準的治療法である。挙児希望の時点からアスピリン (81mg もしくは 100mg/日) を開始し、子宮内妊娠が確認できた時点からヘパリン (5000 単位を 2 回/日皮下注射) 投与するのが一般的である。

D. 考察

今回の解析によって日本人の年齢別血栓塞栓症頻度および予後に関する結果がはじめて明らかになった。PMDA に報告された症例に限られるものの、死亡率は極めて低いが、月経困難症患者に女性ホルモン剤を処方する際には、そのリスクとベネフィットを十分に説明し、リスクである血栓塞栓症も常に念頭に置いて、安全な処方と血栓塞栓症の早期発見・早期診断を心がけることが肝要である。

また、全 VTE 患者に占める血栓性素因保有者の割合は 4%前後で、周術期 PE では 2%弱であった。今回の検討では血栓性素因のうち PS 欠乏症に特化した結果は得られていないものの、従来報告してきたよ

うに、「入院患者における静脈血栓塞栓症発症予知に関する研究」で得られた血栓症の有用な予知マーカーである APC-sr、PS 活性および PS 比活性 の測定が、妊婦や女性ホルモン剤使用中患者の血栓症予知に資する可能性があり、さらには PS 欠乏症等の血栓性素因を有する場合は、極めて有用である可能性を秘めている。

現時点でわれわれが考えている血栓性素因保有妊婦の診療指針としては、基本的には妊娠中は通常の臨床的観察に加え、分娩後まで低用量未分画ヘパリンの予防的皮下注射を行うことが推奨される。

E. 結論

今回の検討で日本人の女性ホルモン剤使用者における血栓塞栓症の実態が初めて明らかになった。血栓性素因のうち PS 欠乏症に特化した結果は得られていないものの、従来から報告してきたように血栓性素因を有する妊婦を含め血栓症の家族歴・既往歴を有する妊婦は妊娠初期からの注意が必要であり、APC-sr および PS 比活性 の測定が、妊婦や女性ホルモン剤使用者の血栓症予知に有用である可能性がある。血栓性素因保有者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する診療ガイドラインの策定に関しては、引き続き十分に検討を重ねなければならないが、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

- Kobayashi T, Sugiura K, Ojima T. Risks of thromboembolism associated with hormone contraceptives in Japanese compared with Western women. J Obstet Gynaecol Res 2017. doi:10.1111/jog.13304
- Oda T, Itoh H, Kawai K, Oda-Kishimoto A, Kobayashi T, Doi T, Uchida T, Kanayama N: Three successful deliveries involving a woman with congenital afibrinogenaemia - conventional fibrinogen concentrate infusion vs. 'as required' fibrinogen concentrate infusion based on changes in fibrinogen clearance. Haemophilia 2016 Sep;22(5):e478-81. doi: 10.1111/hae.13054. Epub 2016 Aug 1.
- 小林隆夫: 深部静脈血栓症. 小澤敬也, 中尾眞二, 松村到編集, 血液疾患最新の治療 2017-2019. 南江堂, 東京, pp252-255, 2017
- 小林隆夫, 杉浦和子: 血栓症・脳卒中. 性ステロイドホルモンの副作用の疫学. 臨床婦人科産科 71(1): 140-147, 2017
- 小林隆夫: HELLP 症候群, 子癇, 非典型 HUS の関係. 宮川義隆, 松本雅則, 南学正臣編, 血栓性微小血管症 (TMA) 診断・治療マニュアル. 医薬ジャーナル社, 大阪, pp92-93, 2016
- 小林隆夫: 静脈血栓塞栓症 (VTE). 日本周産期・新生児医学会 教育・研修委員会編集, 症例から学ぶ周産期診療ワークブック. I 母体編 2. 妊娠中期後期の異常. メディカルビュー社, 東京, pp52-56, 2016

- ・ 小林隆夫：血栓性素因と血栓塞栓症．ハイリスク妊娠の外來診療パーフェクトブック．産婦人科の実際 臨時増刊号 65(10)：1423-1434, 2016
 - ・ 小林隆夫：下肢浮腫．特集 妊産婦の訴えにひそむ重大疾患．ペリネイタルケア 35(8)：770-775, 2016
 - ・ 杉浦和子, 小林隆夫, 尾島俊之：わが国における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症の実態．心臓 48(7)：826-831, 2016
 - ・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓塞栓症－安全な処方のために．心臓 48(7)：821-825, 2016
 - ・ 小林隆夫：肺血栓塞栓症を防ぐ．周産期医学 46(3)：317-322, 2016
 - ・ 杉浦和子, 小林隆夫：女性ホルモン剤を安全に使用するために．Thromb Med 6(2)：150-154, 2016
 - ・ 杉浦和子, 小林隆夫：日本における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症と肥満および加齢との関係．Thromb Med 6(1)：62-66, 2016
2. 学会発表
- ・ 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 in 岡山．岡山, 2017. 2. 11
 - ・ 小林隆夫：わが国における女性ホルモン剤使用に関連する血栓塞栓症の現況．第 21 回日本生殖内分泌学会学術集会 ランチョンセミナー, 大阪, 2017. 1. 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～．VTE 医療安全セミナー IN 山梨県立中央病院, 甲府, 2016. 12. 16
 - ・ 小林隆夫：産婦人科領域における静脈血栓塞栓症の現況と予防対策 - 女性ホルモン剤を中心に - ．第 62 回愛媛県産婦人科医会学術集談会および第 28 回愛媛県産婦人科医会臨床集談会, 松山, 2016. 12. 10
 - ・ 小林隆夫：院内における静脈血栓塞栓症予防の実践．呉共済病院 VTE オープンカンファレンス, 呉, 2016. 12. 2
 - ・ 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 21 回 VTE 医療安全セミナー in 札幌．札幌, 2016. 11. 26
 - ・ 保田知生, 山田典一, 椎名昌美, 武田亮二, 春田祥治, 小林隆夫, 中野赳：肺塞栓症と深部静脈血栓症および静脈血栓塞栓症における患者実態のアンケート調査報告．第 23 回肺塞栓症研究会 2016. 11. 26 東京
 - ・ 小林隆夫：女性ホルモン剤と血栓塞栓症 update．いわき市産婦人科部会講演会, いわき, 2016. 11. 11
 - ・ 小林隆夫：産科領域における危機的出血と静脈血栓塞栓症．第 67 回日本輸血・細胞治療学会東海支部例会特別講演, 名古屋, 2016. 11. 5
 - ・ 小林隆夫：先天性 ATIII 欠乏症妊婦の管理．第 34 回周産期医療研究会ランチョンセミナー, 奈良, 2016. 10. 29
 - ・ 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 20 回 VTE 医療安全セミナー in 高松．高松, 2016. 10. 23
 - ・ Kobayashi T, Tsuda T. Activated protein C sensitivity ratio (APC-sr) and protein S-specific activity are useful predictive markers for venous thromboembolism (VTE). The 1st Joint Meeting of ISFP and PA

Workshop, Shizuoka, 2016.10.19

- ・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 第19回VTE医療安全セミナー in さいたま. 大宮, 2016.10.9
- ・ 小林隆夫：身近に潜むエコノミークラス症候群の予防ー来たるべき巨大地震に備えてー. 愛知県医師会主催 県民向け医療安全に関する講演会 2016.10.5
- ・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. 第18回VTE医療安全セミナー in 富山. 富山, 2016.9.24
- ・ 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17回VTE医療安全セミナー in 鹿児島. 鹿児島, 2016.9.3
- ・ 小林隆夫：チームで取り組む肺血栓塞栓症予防対策. 鹿児島医療センター医療安全管理研修会. 鹿児島, 2016.9.2
- ・ 小林隆夫：入院中の患者に対する静脈血栓塞栓症予防対策の意義と実際. 川崎協同病院静脈血栓塞栓症予防対策研修会, 川崎, 2016.8.31
- ・ 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 セミナー in 公立西知多総合病院. 知多, 2016.8.24
- ・ 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16回VTE医療安全セミナー in 米子. 米子, 2016.7.23

- ・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症予防～抗凝固療法 Up to Date～. 第26回日本産婦人科・新生児血液学会ランチョンセミナー, 長崎, 2016.7.1
- ・ 小林隆夫：産婦人科領域における静脈血栓塞栓症予防の最近の話題～抗凝固療法を中心に～. 第68回日本産科婦人科学会ランチョンセミナー5, 東京, 2016.4.22
- ・ 小林隆夫：[予防しよう]静脈血栓症にならないためにできること. 日本血栓協会主催市民公開講座, 名古屋, 2016.4.17
- ・ 小林隆夫：静脈血栓塞栓症の予防～リスク評価と予防対策～. Covidien 第13回VTE医療安全セミナー in 沖縄. 浦添, 2016.4.9

H. 知的所有権の出願・取得状況

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>

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
富山佳昭	特発性血小板減少性紫斑病.	門脇 孝, 小室一成, 宮地良樹 編	日常診療に 活かす 診 療ガイドラ イン UP-TO- DATE 2016- 2017	メディカ ルレビュー 社	東京	2016	pp448- 452
富山佳昭	妊娠ITPの治療 方針は？	金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸 編	EBM血液疾患 の治療2017- 2018	中外医学 社	東京	2016	pp389- 391
柏木浩和	ITPの治療	金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸 編	EBM血液疾患 の治療2017- 2018	中外医学 社	東京	2016	pp392- 396
Satoh T and <u>Kuwana M</u>	T cell abnormalities	Ishida Yand Tomoyama Y	Autoimmune Thrombocyto penia”	Springer	London , UK	In press .	
Satoh T and <u>Kuwana M</u>	Differential diagnosis: secondary ITP	Ishida Y and Tomoyama Y	Autoimmune Thrombocyto penia	Springer	London , UK	In press .	
羽藤高明	血小板輸血に関 する最近の理解	高久史麿、 小澤敬也、 金倉譲、小 島勢二、矢 富裕	Annual Review 2016 血液	中外医学 社	東京	2016	198-204
羽藤高明	HUS/TTP と DIC の鑑別	秋澤忠男 他「腎と透 析」編集委 員会	腎 と 透 析 診 療 指 針 2016	東京医学 社	東京	2016	454-457
宮川義隆	後天性TTPの治 療	宮川義隆、 松本雅則、 南学正臣	血栓性微小 血管症 診 断・治療実 践マニュアル	医薬ジャ ーナル社	大阪府	2016	33-47

宮川義隆	aHUSの治療	宮川義隆、 松本雅則、 南学正臣	血栓性微小 血管症 診 断・治療実践 マニュアル	医薬ジャ ーナル社	大阪府	2016	103-113
藤沢まどか、 加藤秀樹、 南学正臣	非典型HUS (aHUS)	宮田敏行、 松本雅則、 南学正臣	血栓性微小 血管症 診 断・治療実践 マニュアル	医薬ジャ ーナル社	東京	2016 年	p87-100
田村彰吾、 小嶋哲人	血友病Bの分子 生物学	白幡聡、 福武勝幸	みんなに役 立つ 血友病 の基礎と臨 床 改訂3版	医歯ジャ ーナル社	東京	2016	pp55-64
森下英理子	その他の先天性 凝固異常症・線 溶異常症	小澤敬也、 中尾眞二、 松村到	『血液疾患 最新の治療 2017-2019』	南江堂	東京	2017	p. 242- 247
森下英理子	繰り返す静脈血 栓症		『むかしの 頭で診てい ませんか？ 血液診療を スッキリま とめました』	南江堂	東京	2017	印刷中
森下英理子	静脈疾患の検査		『動脈・静脈 の疾患（上） －最近の診 断・治療動向 －』	日本臨床	大阪	2017	印刷中
小林隆夫	深部静脈血栓症	小澤敬也、 中尾眞二、 松村到	血液疾患最 新の治療 2017-2019	南江堂	東京	2017	252-255
小林隆夫	HELLP症候群、 子癇、非典型 HUSの関係	宮川義隆、 松本雅則、 南学正臣	血栓性微小血 管症（TMA）診 断・治療マニ ュアル	医薬ジャ ーナル社	大阪	2016	92-93
小林隆夫	静脈血栓塞栓症 (VTE)	日本周産 期・新生児 医学会 教 育・研修委 員会	症例から学ぶ 周産期診療ワ ークブック. I 母体編2. 妊娠中期後期 の異常	メディカ ルビュー 社	東京	2016	52-56

<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
Fujimori Y, Wakui M, Katagiri H, Ohira K, Shimizu N, <u>Murata M</u>	Evaluation of anticoagulant effects of direct thrombin inhibitors, dabigatran and argatroban, based on the Lineweaver-Burk plot applied to the Clauss assay.	J Clin Pathol	69(4)	370-2	2016
Koyama Y, Homma K, Fukami M, Miwa M, Ikeda K, Ogata T, <u>Murata M</u> , and Hasegawa T	Classic and non-classic 21-hydroxylase deficiency can be discriminated from P450 oxidoreductase deficiency in Japanese infants by urinary steroid metabolites.	Clin Pediatr Endocrinol	25(2)	37-44	2016
Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, <u>Murata M</u> , Ueda Y, Fujimura Y, Matsumoto M, Okamoto S	Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy.	International Journal of Hematology	104(2)	228-35	2016
Uchiyama S, Ishizuka N, Shimada K, Teramoto T, Yamazaki T, Oikawa S, Sugawara M, Ando K, <u>Murata M</u> , Yokoyama K, Minematsu K, Matsumoto M, Ikeda Y, and on behalf of the JPPP Study Group	Aspirin for Stroke Prevention in Elderly Patients With Vascular Risk Factors.	Stroke	47(6)	1605-11	2016
Ono-Uruga Y, Tozawa K, Horiuchi T, <u>Murata M</u> , Okamoto S, Ikeda Y, Suda T, Matsubara Y.	Human adipose tissue-derived stromal cells can differentiate into megakaryocytes and platelets by secreting endogenous thrombopoietin	J Thromb Haemost	14(6)	1285-97	2016
Fujimori Y, Wakui M, Katagiri H, Ohira K, Shimizu N, Mitsuhashi T, and <u>Murata M</u>	Potential Application of Fibrinogen Measurement Based on the Clauss Assay to Monitoring of Dabigatran.	Rinsho Byori	64	765-770	2016
<u>富山佳昭</u>	特発性血小板減少性紫斑	メデイカ	44(4)	362-367	2016

	病 (ITP)	ル・テクノロジー			
<u>Kuwana M</u>	What do we learn from immunomodulation in patients with immune thrombocytopenia?	Semin. Hematol	53	S27-S30	2016
Nishimoto T, Okazaki Y, Numajiri M, and <u>Kuwana M</u>	Mouse immune thrombocytopenia is associated with Th1 bias and expression of activating Fc γ receptors	Int. J. Hematol			In press
Mori S, Yamanouchi J, Okamoto K, <u>Hato T</u> , Yasukawa M	A novel frameshift mutation leading to inherited type I antithrombin deficiency	Blood Coagul Fibrin	28(2)	189-192	2017
Yamanouchi J, <u>Hato T</u> , Shiraishi S, Takeuchi K, Yakushijin Y, Yasukawa M	Vancomycin-induced Immune Thrombocytopenia Proven by the Detection of Vancomycin-dependent Anti-platelet Antibody with Flow Cytometry	Intern Med	55(20)	3035-3038	2016
Matsubara E, Yamanouchi J, Kitazawa R, Azuma T, Fujiwara H, <u>Hato T</u> , Yasukawa M	Usefulness of Low-Dose Splenic Irradiation prior to Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Elderly Patients with Myelofibrosis	Case reports in Hematol Article		ID 2389038	2016
<u>富山佳昭</u> 、佐藤金夫、尾崎由基男、清水美衣、田村典子、西川政勝、野村昌作、堀内久徳、松原由美子、矢富裕、山崎昌子、 <u>羽藤高明</u>	透過光血小板凝集検査法の標準化：「国際血栓止血学会血小板機能標準化部会からの提言」の紹介と解説	日本血栓止血学会誌	27(3)	365-369	2016
松原悦子、山之内純、 <u>羽藤高明</u> 、竹内一人、新家敏之、安川正貴	再発時にrituximabが著効した高齢者の血栓性血小板減少性紫斑病	臨床血液	57(7)	869-872	2016
Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, Abe T, Hayata Y, Yamaguchi N, Sugimoto M, Fujimura Y, <u>Matsumoto M</u> , Taniguchi S.	Rapid restoration of thrombus formation and high-molecular-weight von Willebrand factor multimers in patients with severe aortic stenosis after valve replacement.	J Atheroscler Thromb.	23	1150-1158	2016

Miyata T, Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, <u>Matsumoto M</u> , Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M.	No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome.	Int Hematol.	104	223-227	2016
Miyakawa Y, Imada K, Ichinohe T, Nishio K, Abe T, Murata M, Ueda Y, Fujimura Y, <u>Matsumoto M</u> , Okamoto S.	Efficacy and safety of rituximab in Japanese patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura refractory to conventional therapy.	Int Hematol.	104	228-235	2016
Tsujii N, Shiraishi I, MD, Kokame K, Shima M, MD, Fujimura Y, MD, Takahashi Y, <u>Matsumoto M</u> .	Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with Upshaw-Schulman syndrome.	Pediatrics	138	e20161565	2016
Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, Lämmle B, <u>Matsumoto M</u> , Pavenski K, Sadler E, Sarode R, Wu H, on behalf of the international working group for Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP).	Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies.	J Thromb Haemost	15	312-322	2016
<u>Wada H</u> , Matsumoto T, Aota T, Imai H, Suzuki K, Katayama N.	Efficacy and safety of anticoagulant therapy in three specific populations with sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials: comment.	J Thromb Haemost.	14	2308-9	2016
<u>Wada H</u> , Matsumoto T, Fujimoto N, Imai H, Suzuki K, Katayama N	Shock, acute disseminated intravascular coagulation, and microvascular thrombosis: is 'shock liver' the unrecognized provocateur of ischemic limb necrosis: comment.	J Thromb Haemost	14	2315-6	2016
<u>Wada H</u> , Matsumoto T, Aota T, Yamashita Y, Suzuki K, Katayama N	Management of cancer-associated disseminated intravascular	J Thromb Haemost.	14	1314-5	2016

	coagulation guidance from the SSC of the ISTH: comment.				
Yamaguchi T, <u>Wada H</u> , Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Sakaguchi A, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A:	Fibrin related markers for diagnosing acute or chronic venous thromboembolism in patients with major orthopedic surgery.	Int J Hematol,	103	560-6	2016
Ikejiri M, <u>Wada H</u> , Yamada N, Nakamura M, Fujimoto N, Nakatani K, Matsuda A, Ogihara Y, Matsumoto T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Ito M.: ..	High prevalence of congenital thrombophilia in patients with pregnancy-related or idiopathic venous thromboembolism/pulmonary embolism.	Int J Hematol		(in press)	2016
Ikejiri M, <u>Wada H</u> , Kamimoto Y, Nakatani K, Ikeda T:.	Protection From Pregnancy Loss in Women With Hereditary Thrombophilia When Associated With Fibrinogen Polymorphism Thr331Ala.	Clin Appl Thromb Hemost.		(in press)	2016
Ikejiri M, <u>Wada H</u> , Yamaguchi T, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Sakaguchi A, Matsumoto T, Ohishi K, Fujimoto N, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A:	Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with fondaparinux.	Int J Hematol	103	554-559	2016
Habe K, <u>Wada H</u> , Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H:	Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome.	Clin Appl Thromb Hemost.		(in press)	2016
Habe K, <u>Wada H</u> , Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H.	Presence of Antiphospholipid Antibodies as a Risk Factor for Thrombotic Events in Patients with Connective Tissue Diseases and Idiopathic	Intern Med.	55	589-95	2016

	Thrombocytopenic Purpura.				
Aota T, <u>Wada H</u> , Fujimoto N, Sugimoto K, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Kawasugi K, Madoiwa S, Asakura H, Katayama N	The valuable diagnosis of DIC and pre-DIC and pre- dicttion of a poor outcome by the evaluation of diagnostic criteria for DIC in patients with hematopoietic injury established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis.	Thromb Res	147	80-4	2016
Aota T, <u>Wada H</u> , Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Asakura H, Okamoto K, Katayama N.	An Evaluation of the Modified Diagnostic Criteria for DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis.	Clin Appl Thromb Hemost.		(in press)	2016
Aota T, <u>Wada H</u> , Fujimoto N, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Uchiyama T, Seki Y, Katayama N:	Evaluation of the Diagnostic Criteria for the Basic Type of DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis	Clin Appl Thromb Hemost.		(in press)	2016
Aota T, <u>Wada H</u> , Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N	The efficacy of the admini- stration of recombinant human soluble thrombo- modulin in patients with DIC	Int J Hematol.	103	173-9	2016
<u>Toshiyuki Miyata</u> , Yumiko Uchida, Yoko Yoshida, Hideki Kato, <u>Masanori Matsumoto</u> , <u>Koichi Kokame</u> , Yoshihiro Fujimura, and <u>Masaomi Nangaku</u>	No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome	Int. J. Hematol.	104 (2)	223-227	2016
<u>Koichi Kokame</u>	Subsequent Response of VWF and ADAMTS13 to Aortic Valve Replacement	J. Atheroscle r. Thromb.	23 (10)	1141-1143	2016
Nobuyuki Tsujii, Isao Shiraishi, <u>Koichi Kokame</u> , Midori Shima,	Severe hemolysis and pulmonary hypertension in a neonate with	Pediatrics	138 (6)	e201615 65	2016

Yoshihiro Fujimura, Yukihiro Takahashi, <u>Masanori Matsumoto</u>	Upshaw-Schulman syndrome				
Takuma Maeda, Katsura Nakagawa, Kuniko Murata, Yoshiaki Kanaumi, Shu Seguchi, Shiori Kawamura, Mayumi Kodama, Takeshi Kawai, Isami Kakutani, Yoshihiko Ohnishi, <u>Koichi Kokame</u> , Hitoshi Okazaki, and Shigeki Miyata	Identifying patients at high risk of heparin- induced thrombocytopenia- associated thrombosis with a platelet activation assay using flow cytometry	Thromb. Haemost.	117 (1)	127-138	2017
堀内久徳, <u>松本雅則</u> , <u>小亀 浩市</u>	循環器疾患随伴後天性フ ォンウィルブランド症候 群の臨床的インパクト	日本血栓止 血学会誌	27 (3)	316-321	2016
秋山正志, <u>小亀浩市</u>	腸内細菌代謝産物TMAOは 血小板の反応性亢進と血 栓症リスクを増強する	日本血栓止 血学会誌	27 (3)	384	2016
Yoshida Y, Kato H and <u>Nangaku M.</u>	Atypical Hemolytic Uremic Syndrome	Renal Replacemen t Therapy.			In press
Kato H, <u>Nangaku M.</u> , et al.	Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan.	Clin Exp Nephrol.	20	536- 43.	2016
Kato H, <u>Nangaku M.</u> , et al.	Clinical guides for atypical hemolytic uremic syndrome in Japan.	Pediatr Int.	58	549- 55.	2016
Miyata T, <u>Nangaku M.</u> et al.	No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome.	Int J Hematol.	104	223-7.	2016
加藤秀樹, 菅原有佳, <u>南学正 臣</u>	次世代シーケンサーを 用いた非典型溶血性尿毒 症症候群の遺伝子診断	血栓止血学 会誌	28	33-40	2017
<u>津田博子</u>	先天性血栓性素因を有す る静脈血栓塞栓症(特発性 血栓症) .	血液フロン ティア	26 (3)	51-57	2016
<u>津田博子</u>	静脈血栓塞栓症の先天性 要因の人種差.	医学のあゆ み	25 (7)	759-35	2016
池田正孝, <u>津田博子</u>	難治性疾患としての特発 性血栓症(先天性血栓性素	日本血栓止 血学会誌	27 (4)	479-480	2016

	因による) .				
Inoue H, Terachi SI, Uchiumi T, Sato T, Urata M, Ishimura M, Koga Y, Hotta T, Hara T, Kang D, <u>Ohga S.</u>	The clinical presentation and genotype of protein C deficiency with double mutations of the protein C gene.	Pediatr Blood Cancer	in press		2017
Ochiai M, Matsushita Y, Inoue H, Kusuda T, Kang D, Ichihara K, Nakashima N, Ihara K, <u>Ohga S</u> , Hara T; Kyushu University High-Risk Neonatal Clinical Research Network, Japan.	Blood Reference Intervals for Preterm Low-Birth-Weight Infants: A Multicenter Cohort Study in Japan.	PLoS One	23;11(8)	e0161439	2016
Ichiyama M, <u>Ohga S</u> , Ochiai M, Tanaka K, Matsunaga Y, Kusuda T, Inoue H, Ishimura M, Takimoto T, Koga Y, Hotta T, Kang D, Hara T.	Age-specific onset and distribution of the natural anticoagulant deficiency in pediatric thromboembolism.	Pediatr Res	79(1-1)	81-86	2016
Ichiyama M, <u>Ohga S</u> , Ochiai M, Fukushima K, Ishimura M, Torio M, Urata M, Hotta T, Kang D, Hara T.	Fetal hydrocephalus and neonatal stroke as the first presentation of protein C deficiency.	Brain Dev	38(2)	253-256	2016
村田萌、 <u>小嶋哲人</u>	あらたな血栓性素因：アンチトロンビンレジスタンス	医学のあゆみ	257(7)	753-757	2016
Nakamura Y, Ando Y, Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Takagi A, Matsushita T, Shima M, <u>Kojima T.</u>	Distinct X chromosomal rearrangements in four haemophilia B patients with entire F9 deletion.	Haemophilia	22(3)		2016
Kozuka T, Tamura S, Kawamura N, Nakata Y, Hasebe R, Makiyama A, Takagi Y, Murata M, Mizutani N, Takagi A, <u>Kojima T</u>	Progestin isoforms provide different levels of protein S expression in HepG2 cells.	Thromb Res.	145	40-45	2016
Takagi Y, Murata M, Kozuka T, Nakata Y, Hasebe R, Tamura S, Takagi A, Matsushita T,	Missense mutations in the gene encoding prothrombin corresponding to Arg596	Thromb Haemost.	116(6)	1022-1031	2016

Saito H, <u>Kojima T</u>	cause antithrombin resistance and thrombomodulin resistance.				
Moriyasu F, Furuichi Y, Tanaka A, Takikawa H, Yoshida H, Sakaida I, Obara K, Hashizume M, Kage M, Ohfuji S, Kitano S, Kawasaki S, Kokubu S, Matsutani S, Eguchi S, Shiomi S, <u>Kojima T</u> , Maehara Y, Kuniyoshi Y.	Diagnosis and treatment guidelines for aberrant portal hemodynamics.	Hepatol Res.	in press		2017
Miljic P, Gvozdenov M, Takagi Y, Takagi A, Pruner I, Dragojevic M, Tomic B, Bodrozic J, <u>Kojima T</u> , Radojkovic D, Djordjevic V	Clinical and biochemical characterization of the Prothrombin Belgrade mutation in a large Serbian pedigree: new insights into antithrombin resistance mechanism.	J Thromb Haemost.	in press		2017
<u>Miyata T</u> , Uchida Y, Yoshida Y, Kato H, Matsumoto M, Kokame K, Fujimura Y, Nangaku M	<u>No association between dysplasminogenemia with p.Ala620Thr mutation and atypical hemolytic uremic syndrome.</u>	Int J Hematol	104(2)	223-227	2016
<u>Miyata T</u> , Maruyama K, Banno F, Neki R	Thrombophilia in East Asian countries: are there any genetic differences in these countries? Review	Thromb J	14 (Suppl 1)	25	2016
根木玲子、 <u>宮田敏行</u>	不育症と先天性血栓性素因	日本血栓止血学会誌	27(3)	339-348	2016
<u>森下英理子</u>	深部静脈血栓症・肺塞栓症の発症機序と危険因子	日本医師会雑誌	平成29年 4月号特集	印刷中	2017
Taniguchi F, <u>Morishita E</u> , Sekiya A, Nomoto H, Katsu S, Kaneko S, Asakura H, Ohtake S	Gene analysis of six cases of congenital protein S deficiency and functional analysis of protein S mutations (A139V, C449F, R451Q, C475F, A525V and D599TfsTer13)	Thromb Res	151	8-16	2016
Sekiya A, Taniguchi F, Yamaguchi D, Kamijima S,	Causative genetic mutations for	Int J Hematol	105(3)	287-294	2017

Kaneko S, Katsu S, Hanamura M, Takata M, Nakano H, Asakura H, Ohtake S, <u>Morishita E</u>	antithrombin deficiency and their clinical background among Japanese patients.				
Sekiya A, Hayashi T, Kadohira Y, Shibayama M, Tsuda T, Jin X, Nomoto H, Asakura H, Wada T, Ohtake S, <u>Morishita E</u>	Thrombosis prediction based on reference ranges of coagulation-related markers in different stages of pregnancy. Clinical and Applied	Clinical and Applied Thrombosis /Hemostasis.	DOI: 10	1177	2016
Kadohira Y, Matsuura E, Hayashi T, <u>Morishita E</u> , Nakao S, Asakura H	A case of aortic aneurysm-associated DIC that responded well to a switch from warfarin to rivaroxaban	Int Med		In press	2017
<u>Kobayashi T</u> , Sugiura K, Ojima T	Risks of thromboembolism associated with hormone contraceptives in Japanese compared with Western women	J Obstet Gynaecol Res		doi:10.1111/jog.13304	2017
Oda T, Itoh H, Kawai K, Oda-Kishimoto A, <u>Kobayashi T</u> , Doi T, Uchida T, Kanayama N	Three successful deliveries involving a woman with congenital afibrinogenaemia - conventional fibrinogen concentrate infusion vs. 'as required' fibrinogen concentrate infusion based on changes in fibrinogen clearance	Haemophilia	22(5)	e478-481	2016
<u>小林隆夫</u> , 杉浦和子	血栓症・脳卒中．性ステロイドホルモンの副作用の疫学	臨床婦人科産科	71(1)	140-147	2017
<u>小林隆夫</u>	血栓性素因と血栓塞栓症．ハイリスク妊娠の外来診療パーフェクトブック	産婦人科の実際	臨時増刊号 65(10)	1423-1434	2016
杉浦和子, <u>小林隆夫</u> , 尾島俊之	わが国における女性ホルモン剤使用に起因する血栓塞栓症の実態	心臓	48(7)	826-831	2016
<u>小林隆夫</u>	女性ホルモン剤と血栓塞栓症－安全な処方のために	心臓	48(7)	821-825	2016
<u>小林隆夫</u>	下肢浮腫 特集：妊産婦の訴えにひそむ重大疾患	ペリネイタルケア	35(8)	770-775	2016

<u>小林隆夫</u>	肺血栓塞栓症を防ぐ	周産期医学	46(3)	317-322	2016
杉浦和子, <u>小林隆夫</u>	女性ホルモン剤を安全に 使用するために	Thromb Med	6(2)	150-154	2016
杉浦和子, <u>小林隆夫</u>	日本における女性ホルモ ン剤使用に起因する血栓 塞栓症と肥満および加齢 との関係	Thromb Med	6(1)	62-66	2016