

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

令和2年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 森下 英理子

令和3年（2021）年 5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	森下英理子 金沢大学 -----	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	： 村田 満	慶応義塾大学
	桑名正隆	日本医科大学
	島田直樹	国際医療福祉大学
研究協力者	： 柏木浩和	大阪大学大学院医学系研究科
	高蓋寿朗	広島市立舟入市民病院
	羽藤高明	愛媛大学大学院医学系研究科 ・愛媛県赤十字血液センター
特別協力者(疫学班)	： 杉田 稔	東邦大学医学部衛生学

ITP 研究グループ 研究総括：富山佳昭 -----	7
----------------------------	---

分担研究報告

富山佳昭	： 成人ITP診療ガイド2019年版の普及活動と今後の 改訂に向けて -----	17
桑名正隆	： ITP診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み ---	22
村田 満・島田直樹	： 難病法施行後初の臨床調査個人票集計による 特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査 -----	25

TTP（血栓性微小血管障害症）/ aHUS（非典型溶血性尿毒症症候群） 研究グループ

グループリーダー : 松本雅則 奈良県立医科大学
 班員 : 丸山彰一 名古屋大学
 宮川義隆 埼玉医科大学
 小亀浩市 国立循環器病研究センター
 研究協力者 : 芦田 明 大阪医科大学
 池田洋一郎 東京大学
 伊藤秀一 横浜市立大学
 上田恭典 倉敷中央病院
 加藤規利 名古屋大学
 香美祥二 徳島大学
 南学正臣 東京大学
 日笠 聡 兵庫医科大学
 藤村吉博 日本赤十字社近畿ブロック血液センター
 宮田敏行 国立循環器病研究センター
 八木秀男 奈良県総合医療センター
 和田英夫 三重県立総合医療センター

TTP/aHUS研究グループ 研究総括：松本雅則 ----- 34

分担研究報告

松本雅則：日本人における免疫原性 TTP の疾患感受性 HLA の
 網羅的解析 ----- 43
 丸山彰一：aHUS の診断、治療効果判定を目的とした新規補体
 機能検査の開発 ----- 54
 宮川義隆：血液凝固異常症等に関する調査研究 ----- 57
 小亀浩市：先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析 ----- 59

特発性血栓症 研究グループ

グループリーダー : 横山健次 東海大学
 班員 : 大賀正一 九州大学
 松下 正 名古屋大学
 根木玲子 国立循環器病研究センター
 研究協力者 : 石村匡崇 九州大学

市山正子	福岡市立こども病院
尾島俊之	浜松医科大学
落合正行	九州大学
小林隆夫	浜松医療センター
杉浦和子	名古屋市立大学
鈴木伸明	名古屋大学
田村彰吾	名古屋大学
辻 明宏	国立循環器病研究センター
津田博子	中村学園大学
橋本典論	東海大学
宮田敏行	国立循環器病研究センター

特発性血栓症研究グループ 研究総括：横山健次	-----	65
------------------------	-------	----

分担研究報告

横山健次：遺伝性血栓性素因による特発性血栓症の疫学研究	-----	77
大賀正一：新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の 確立に向けた研究	-----	79
松下 正：先天性血栓性素因の分子病態解析	-----	85
根木玲子：先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析	-----	89

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	100
-------------------	-------	-----

I．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：森下英理子 金沢大学医薬保健研究域保健学系 教授

研究要旨

本研究班は指定難病の中でも血液疾患と腎疾患を対象に、政策研究事業としてエビデンスに基づいた全国共通の診断基準・重症度分類の作成や改正、診療ガイドライン等の確立や改正および普及などを目的に活動している。具体的には特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）/非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）、を対象としている。4疾患について、それぞれのサブグループ（TTPとHUSは病態が類似しているので合わせて一つのサブグループとした）に分かれて課題に取り組むとともに、グループ間の相互議論を活発に行うことによって、(1)分子病態に基づいた診断基準、治療指針の確立/普及およびその効果の検証、改正、(2)大規模な疫学的解析による我が国での発症頻度、予後の把握と治療の標準化、などを目標とした。小児と成人を対象とし、さらに小児から成人への移行期医療も含めて検討している。令和2年度は3年計画の1年目として、前年度（研究代表者：村田 満）に引き続き疫学調査、レジストリー、遺伝子解析、診断法の標準化、診療ガイドの改訂、指定難病検討資料の作成、臨床情報やゲノム情報に基づく病態解明や保険適用拡大に注力した。臨床的有用性の高いデータベース化システムの構築、そして新しい体外診断薬の開発や検証、新規治療の検証を継続した。

ITP については、難病法施行後初の臨床調査個人票集計による全国疫学調査（2015 年～2017 年のデータ）を行い、最新の疫学像として患者数（受給者数）、新規受給者の男女比、年齢、発症年齢、発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況などの基本的実態を明らかにした。また「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年改訂版」の普及・啓発、今度の改訂に向けての課題検討を行った。診断に関しては、ITP 診断の新しいマーカーとしてのトロンボポエチン（TPO）の測定系の性能評価を行った。

TTP と aHUS の2疾患については、TMA・TTP レジストリーの継続、先天性 TTP における ADAMTS13 遺伝子解析、aHUS の蛋白質学的・遺伝学的解析と症例集積を継続して行った。さらに、ガイドラインについては Clinical question (CQ) に基づいた TTP 診療ガイドラインの作成、aHUS 診療ガイドの改定のための CQ の作成を行った。造血幹細胞移植後 TMA の病態解析にも着手した。TTP と aHUS それぞれの病態と治療に関して患者向けの動画を作成し、当研究班のホームページ（HP）に公開した。また、COVID-19 ワクチン接種に際して先天性 TTP 患者向けの注意事項を作成し、血栓止血学会学術評価委員会 VWD/TMA 部会から発表し

た。

特発性血栓症（遺伝性血栓性素因によるものに限る。）では、遺伝性血栓性素因による特発性血栓症の全国アンケート一次調査が終了し、データを収集、解析した。周産期領域の遺伝性血栓性素因の診療ガイドとして、「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」を作成し、日本産婦人科・新生児血液学会誌に掲載され、当研究班のHPにも公開した。新生児・小児期における血栓症の臨床像の多様性と後天性因子が明らかになり、遺伝性血栓症の効率的早期診断法の確立や小児血栓症遺伝子パネル解析を進め、個別治療管理を実施し評価している。先天性血栓性素因の遺伝学的解析と症例集積を継続的に行った。また、今年度はCOVID-19 関連血栓症の全国アンケート調査を日本血栓止血学会、日本動脈硬化学会との合同で行い、6000 例の回答を解析した。その調査結果については J Atheroscler Thromb に掲載され、かつ全国の医療者・国民に向けて web セミナーを開催した。また、当研究班のHPにも公表した。

ITP（特発性血小板減少性紫斑病） 研究グループ

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普及・啓発および改訂）、3) ITP診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討、を中核としてグループ研究および個別研究を継続的に行っている。ITPの最新の疫学像に関して、難病法施行後初の臨床調査個人票集計データベース（2015年～2017年のデータ）を用いて、患者数（受給者数）、新規受給者の男女比、年齢、発症年齢、発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況などの基本的実態を明らかにした。

治療の標準化に関しては、本研究班にて2019年に作成した「成人ITP治療の参照ガイド2019年版」を国内外に発表した。最近発表された国際的なガイドラインとの比較検討および新薬の治験情報の収集を行い、今後の改訂に向けての課題を検討した。

また病態解析に基づいたITP 診断法の標準化については、トロンボポエチン（TPO）

測定法を企業と共にキット化し、さらに全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。また、臨床検体を用いてTPO測定系の性能評価を行った。いまだ除外診断である現状を打開し、より良い診療を確立するために、本研究班では、ITP 診断基準案を2004 年に提唱しているが、その検査法の保険収載にむけて、一步一步前進しているところである。

さらに、「特発性血小板減少性紫斑病（ITP）をめぐる最近の話題～研究班の成果を分かりやすく解説」といった市民公開講座をwebにて開催し、広く患者ならびに医療関係者にITPの病態・診断・治療について周知を行った。

TTP（血栓性血小板減少性紫斑病）/ aHUS（非典型溶血性尿毒症症候群） 研究グループ

TTP/aHUS研究グループは、日本国内のTMA（血栓性微小血管症）症例の集積と病態解析を行い、TTPとaHUSの実態を明らかにし、

予後の改善を図ることを目的としている。

A. TTP研究グループ

令和2年度は、1) TMA・TTP症例の集積の継続、2) 先天性TTPにおけるADAMTS13遺伝子解析、3) Clinical question (CQ) に基づいたTTP診療ガイドラインの作成、4) 造血幹細胞移植後TMAの病態解析、5) TTPの患者向け動画の作成、を行っている。

1998年から奈良県立医科大学輸血部でTMA症例を集積しており、本年度も27例の新規登録を行い、総数で1577例となった。そのうちTTPが702例で先天性TTPは66例(9.4%)、後天性TTPが636例であり、後天性TTPの中で特発性TTPが425例(60.5%)、それ以外は2次性211例(30.1%)であった。今年度先天性TTP疑い患者1例でADAMTS13遺伝子解析を行い、責任遺伝子変異を同定した。責任遺伝子を同定できていない4例については、今後long read sequenceを用いた解析を試みる予定である。

TTPに対する診療ガイドラインとして、本研究班で「TTP診療ガイド2020」を完成させたが、今後はclinical question(CQ)に基づいたガイドラインの作成を目指している。今年度はリツキシマブの使用時期について、1) 急性期、2) 慢性/再発性の場合、3) 寛解期にADAMTS13活性著減時、の3つの場合を想定して、リツキシマブを使用する可否についてCQを作成した。今後文献検索を行い、科学的根拠に従った推奨を作成する。

造血幹細胞移植後TMAの病態解析については、倉敷中央病院で2011年から2018年までに同種造血幹細胞移植を行なった全例の血漿サンプルを入手し、臨床データを集積した。

さらに、TTPとaHUSそれぞれの病態と治療に関して、患者を対象とした5分程度の動

画を作成し班会議のホームページに公開した。また、COVID-19ワクチン接種に際して先天性TTP患者向けの注意事項を作成し、血栓止血学会学術評価委員会VWD/TMA部会から発表し、患者の不安を取り除くことに努めた。

B. aHUS 研究グループ

aHUSは補体第二経路の異常活性化によって引き起こされるTMAであり、病因として補体関連因子の遺伝的・後天的異常により発症するとされる。令和2年度は、1) 蛋白質学的・遺伝学的解析と症例集積、2) aHUS診療ガイドの改定、3) aHUS患者向け動画の作成、を行っている。

名古屋大学腎臓内科においてaHUSのヒツジ溶血試験などの蛋白質学的試験を行いながら症例の集積を行い、本年度12月までに44例の相談を受けた。

診療ガイドの改訂に関しては、本班会議と日本腎臓学会、日本小児科学会、日本血液学会、日本補体学会が共同で改定作業を開始し、CQの策定を完了した。

C. 特発性血栓症(遺伝性血栓性素因による。) 研究グループ

特発性血栓症は、先天性アンチトロンビン(AT)、プロテインC(PC)、プロテインS(PS)欠乏症により、新生児・乳児期から成人期にかけて重篤な血栓症を発症する疾患である。若年性、再発性発症で、時に重篤な機能障害を合併する場合がある。令和2年度は、1) 遺伝性血栓性素因による特発性血栓症の疫学研究、2) 周産期領域の遺伝性血栓性素因のガイドラインの策定及び公表、3) 新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立に向けた研究、4) 先天性血栓性素因の

遺伝学的解析と症例集積、5) COVID-19 関連血栓症の全国アンケート調査、を行っている。

遺伝性血栓性素因の全国一次アンケート調査を全国の医療施設に送付して PC、PS、AT の検査法、基準値、遺伝子解析施行の有無、および症例の臨床情報を収集、解析した。

遺伝性血栓性素因患者の安全な妊娠分娩と新生児の管理に必要な情報を医療従事者に提供することを目的に、C Q に回答する形で「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」を作成し、日本産婦人科・新生児血液学会誌 30(2)号、p5-54、2021 年に掲載され、当研究班の HP にも公表されている。

一方、新生児・小児血栓症の包括的な診療アルゴリズムの確立を目指し、「特発性血栓症（小児領域）診療ガイドの策定」を進めている。これまでの症例登録により、新生児・小児期における血栓症の臨床像の多様性と後天性因子が明らかになり、遺伝性血栓症の効率的早期診断法の確立や小児血栓症遺伝子パネル解析を進め、個別治療管理を実施し評価している。また、全国の周産期母子医療センターと新生児・小児診療施設を対象に、新生児期血栓症の全国調査を実施し、診療情報、遺伝子型、治療選択および長期予後を検討し、PC 欠乏症の遺伝子解析の有用性を明らかにした。遺伝子変異が検出されなかった後天性 PC 欠乏症については、後天性因子と活性値の推移を追跡調査した。今後治療管理案とモニター法を確立、新規治療法の保険的に向けた診療アルゴリズムの作成を目指す。

先天性血栓性素因症例の集積と分子病態解析を継続して行った。特発性血栓症 9 症例（AT 欠乏症 2 症例、PC 欠乏症 1 症例、PS 欠

乏症 2 症例）の遺伝子解析を行い、原因遺伝子を同定した。AT 欠乏症に同定した遺伝子変異 SERPINC1 c.652A>T p.Ile218Phe (AT I218F) は極めて強い血栓性素因であり、その分子病態について細胞強制発現系を用いた解析を進めた。

さらに、今年度は COVID-19 パンデミックに直面し、本邦における COVID-19 関連血栓症について、日本血栓止血学会、日本動脈硬化学会との合同で全国アンケート調査を行った。109 の病院（回収率 27.3%）から、6,082 症例の回答が得られた。血栓症は全体の 1.85%に発症し、軽・中等症以下の症例では 0.59%の発症率であったが、人工呼吸・ECMO 中には 13.2%と高率に発症していた。D-dimer は全体の 72%の症例で測定され、入院中に基準値の 3-8 倍の上昇を認めた症例は 9.5%、8 倍以上の上昇を認めた症例は 7.7%と、多くの症例で血栓傾向が窺われた。血栓症としては深部静脈血栓症・肺血栓塞栓症が最も多かったが、症候性脳梗塞の発症が比較的多く、血栓症の 21%を占めた。血栓症は症状悪化時に多かったが、回復期にもかなりの数が発症していた。抗凝固療法は、COVID-19 入院患者の 14.5%に、多くは D-dimer 高値や症状の悪化のために施行されていた。調査結果は速やかに全国の医療者・国民に向けて web セミナーを開催して公表した。さらに、J Atheroscler Thromb(28: 406-416, 2021)に掲載され、当研究班の HP にも公表した。

健康危険情報

該当なし

Ⅱ. 分担研究報告書

ITP 研究グループ 研究総括

分担研究者・サブグループリーダー：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。ITP の最新の疫学像に関して、初めて指定難病患者データベースを用いて、患者数（受給者数）、新規受給者の男女比、年齢、発症年齢、発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況などの基本的実態を明らかにした。治療の標準化に関しては、本研究班にて 2019 年に「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年版」を国内外に発表した。最近発表された国際的なガイドラインとの比較検討および新薬の治験情報の収集を行い、今後の改訂に向けての課題を検討した。個別研究では、診断に関してトロンボポエチン（TP0）測定法を企業と共にキット化し、さらに全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。さらに臨床検体を用いて TP0 測定系の性能評価を行った。

研究分担者

村田 満・慶應義塾大学医学部臨床検査医学 教授

桑名正隆・日本医科大学アレルギー膠原病内科 教授

島田直樹・国際医療福祉大学基礎医学研究センター 教授

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 27 年 1 月の難病法施行の制度変更に伴い、国は新たな指定難病患者データベースを構築し、令和元年度後半から新たなデータベースの利用が可能となった。

本年度は、初めて指定難病患者データベースにおける ITP 臨床調査個人票のデータを用いて ITP の患者数や年齢分布、臨床所見、治療の実施状況などの ITP の基本的実態を明らかにする。

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

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（2015 年）1 月よりは指定難病医療費助成制度の対象疾患として、難病に位置づけられる疾患である。本研究班では本疾患を克服すべくその疫学を初めとして、治療ならびに診断を向上させることを課題として継続して検討を重ねている。この目的のために、本研究班では ITP に関し

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。2019 年に「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年版」を作成し、国内外に公表した。ITP に関する新たな診断法として、血中 TP0 測定キットを全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬にアップグレードした。

B. 研究方法

1. 疫学研究に関しては、解析資料として、平成 27 年～29 年の ITP の臨床調査個人票（令和 2 年 10 月 1 日現在入力済みデータ）を用いた。臨床調査個人票データの利用は、指定難病患者データ及び小児慢性特定疾病児童等データの提供に関するガイドラインにより厚生労働省にデータ提供の依頼申し出を行い、承認を得た。

2. 治療の標準化に関しては、2019年に発表されたアメリカ血液学会(ASH) ITP ガイドライン(Blood Adv. 2019;3:3829-3866) および国際コンセンサス委員会(ICR) ITP ガイドライン(Blood Adv. 2019;3:3780-3817) と本研究班で作成した成人ITP治療参照ガイド2019年版の比較検討を行った。またITPに対する新規治療薬として臨床治験が進んでいる Fostamatinib、Rilzabrutinib、SutimlimabおよびFcRn阻害薬の最新の臨床治験結果の検討を行った。

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 (TP0) 濃度測定キットの開発を企業と共に行い、汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬 (CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay) へのアップグレードを試みた。さらに ITP、再生不良性貧血、骨髓異形成症候群の多数の臨床検体を用いて TP0 測定系の性能評価を行った。

(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、オプトアウトにて残余検体を用いた。

C. 研究結果

1. ITP の疫学研究 (村田、島田、羽藤)

対象患者に関して、本研究において提供されたデータは、旧様式の平成 27 年～平成 29 年の個人票 (2017 年以降の OCR 入力以前) のみのデータである。

1). データの入力状況

2015 年～2017 年の ITP の臨床調査個人票の入力件数、入力率を検討。平成 27 年、平成 28 年の入力件数 (入力率) はそれぞれ 13,531 件 (53.6%)、15,251 件 (60.8%) であり、平成 25 年以前の入力率と大きな違いはなかった。一方、平成 29 年は 5,842 件 (33.2%) と入力率が低下していたが、これは難病法施行に伴い平成 29 年 4 月に個人票の書式変更および OCR 入力の導入など大きな変更がなされたが、本研究では新書式のデータが含まれていないため

であると考えられる。

2). 入力件数

新規・更新別の入力件数は、平成 27 年：新規 1,958 件 (14.5%)、更新 11,573 件 (85.5%)、平成 28 年：新規 2,192 件 (14.4%)、更新 13,059 件 (85.6%)、2017 年：新規 978 件 (16.7%)、更新 4,864 件 (83.3%) であり、新規・更新の構成割合は平成 26 年以前と大きな違いはなかった。

3). 男女別入力件数、年齢、発症年齢

新規受給者の男女別入力件数は平成 27 年：男 829 件 (42.6%)、女 1,117 件 (57.4%)、平成 28 年：男 927 件 (42.4%)、女 1,257 件 (57.6%)、平成 29 年：男 422 件 (43.4%)、女 551 件 (56.6%) であり、男女比は平成 26 年以前と大きな違いはなかった。

年齢分布は、年齢および発症年齢ともに、男性が 80 歳前後をピークとする一峰性、女性が 30 歳前後および 80 歳前後をピークとする二峰性を示し、平成 26 年以前と大きな違いはなかった。

4). 発病からの期間

約半数が発病から 3 か月未満であった一方で、約 3 割は 12 か月以上であった。

5). 出血症状

出血症状ありの割合は平成 27 年：68.4%、平成 28 年：73.6%、平成 29 年：74.8%であった。平成 27 年の難病法施行に伴い、受給認定において重症度基準 (Staeg2 以上) が導入されたことから、出血症状ありの割合が増加している。なお、臨床調査個人票では「紫斑、点状出血、斑状出血、重症消化管出血、歯肉出血、鼻出血、血尿、下血、関節出血、月経過多、脳出血、その他」の 12 種類の出血症状か

ら複数選択になっているが、提供されたデータでは、複数選択のデータが一つの項目にまとめて入力されているため、各出血症状についての集計ができなかった。今後の改善が必要である。

6). 臨床所見

血中トロンボポイエチン値高値の割合は平成 27 年：19.4%、平成 28 年：15.5%、平成 29 年：5.7%と減少傾向であった。ヘリコバクター・ピロリ菌陽性の割合は平成 27 年：31.3%、平成 28 年：28.2%、平成 29 年：24.7%と減少傾向であった。PAIgG 増加ありの割合は平成 27 年：87.3%、平成 28 年：88.1%、平成 29 年：90.0%と増加傾向であった。

7). 重症度分布

平成 27 年の難病法施行に伴い、受給認定において重症度基準 (Staeg2 以上) が導入されたことから、Stage1 の割合が少なくなっていた。

8). 治療の実施状況

副腎皮質ステロイドおよび血小板輸血が増加傾向の一方で、ピロリ除菌療法が減少傾向であった。リツキシマブはまだ、ほとんど使用されていない。

2. ITP 治療の参照ガイドの普及活動と今後の改訂 (柏木、高蓋、羽藤、桑名、村田、富山)

1). ITP 参照ガイド 2019 年版の普及・啓発活動

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、「成人特発性

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

本参照ガイドは、各種サイトからフリーでダウンロード可能となっているが、更に一般医に啓発をはかるため、日本内科学会生涯教育講演会における講演や、日本内科学会誌を含む各種雑誌において参照ガイドを紹介した。また一般市民を対象に「特発性血小板減少性紫斑病（ITP）をめぐる最近の話題～研究班の成果を解りやすく解説」と題した市民公開講座を2021. 3. 7に開催した(Web開催)。

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

2). 今後の改訂に向けて

ITP診療ガイドに関して、今後検討すべき課題として以下のような点が挙げ

られる。

a) 診断

ITPの診断が現時点においても除外診断に留まっていることが大きな問題点である。当研究班では、2007年に新しいITP診断基準案を作成したが、その案に盛り込んだ検査が現実的に検査可能な期間に限られる、あるいは保険未収載であることから普及していない。それらの検査の中で血漿中TP0測定に関し、保険収載に向けての動きが進行中であり、この検査を取り入れたITP診断基準の確立が重要な課題となる。

b) ファーストライン治療

ファーストライン治療として行われる副腎皮質ステロイド療法に関しては、一時的な有効性が高いが減量とともに血小板数が低下する 경우가多く、長期大量投与となりやすいことが問題点である。TP0受容体作動薬やリツキシマブのような新しい治療が可能となっており、副腎皮質ステロイドの長期大量投与は避け、早期のセカンドライン治療への移行を考えるべきである。ASHガイドライン、ICRガイドラインともにステロイドは6～8週間以上の投与を避けるべきであるとしている。一方、本邦の2019年版ガイドでは、プレドニゾロン10mgまでの長期投与を許容している。

c) セカンドライン治療

セカンドライン治療としては、TP0受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘を同等に推奨している。このことはASHガイドライン、ICRガイドラインにおいても基本的には違いはない。TP0受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘はいずれも長所、短

所があるため、患者の状況（年齢、合併症、活動量、好みなど）により個々に治療法を選択することになる。

d) サードライン治療

サードライン治療として多くの薬剤を推奨しているが、いずれも小規模の報告に基づいており、エビデンスレベルは低い。新たな治療薬として（主に治験中あるいは国内未承認）、Fostamatinib、Rilzabrutinib、Sutimlimab、FcRn阻害薬の有効性、安全性を調査した。

3. 病態解析に基づいたITP診断法の標準化：TP0測定キットの開発（桑名、富山、柏木）

ITPの診断の基本は除外診断であるが、本研究班では、ITPの診断における網状血小板比率（RP%あるいはIPF%）と血中トロンボポエチン（TP0）濃度の有用性を明らかにしてきた。昨年度は2種類の抗TP0抗体を組み合わせたサンドイッチELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）としてTP0測定系を構築したが、臨床検査試薬として展開するためには汎用性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬（CLEIA；Chemiluminescent Enzyme Immunoassay）へのアップグレードを行った。

ITP患者312例でのTP0濃度は 11.7 ± 27.0 pg/mL、再生不良性貧血患者9検体では 207.7 ± 87.7 pg/mL、健常人血漿100検体では 12.8 ± 9.0 pg/mLであった。ITPおよび健常人検体の平均値+2SDから算出したカットオフ値は、それぞれ

から算出したカットオフ値は、それぞれ92.6 pg/mL、40.0 pg/mLであった。そこで、暫定的なカットオフをITP検体の平均値+2SDから算出した65.7 pg/mL（ ≈ 70 pg/mL）に設定したところ、カットオフを越えた検体はITPで12例（3.8%）、再生不良性貧血では9例全例（100%）、健常人では0例であった。骨髓異形成症候群患者ではTP0濃度は患者毎に大きく異なり、70 pg/mLを境に高値群20例と低値群18例に分けられた。そこで、カットオフを超えたITP検体12例、再生不良性貧血では9例全例検体を用いてR&D社キットでTP0濃度を測定した。CLEIA測定系とR&D社キットでの測定値はよく相関し、これら血漿はTP0は高値であることが確認された。R&D社キットの測定値が300 pg/mLを越えたITP検体5例を非典型的な症例をみなして解析から除外すると、ITP 307例の平均+3SDは70.4pg/mLとなり、暫定カットオフとほぼ一致した。そこで、70 pg/mLをカットオフに設定してカットオフを越えた割合を検討したところ、ITPで5/307

(1.6%)、再生不良性貧血で9/9
(100%)、骨髓異形成症候群で20/38
(52.6%)、健常人で0/100 (0%)であった。

D. 考案

ITPの診療は、近年大きく変化している。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いる。

まず、疫学調査では ITP に関して、昨年度は世界最大規模のデータより、ITP において皮膚・粘膜・臓器の出血症状と血小板数・年齢との関連やその他のリスク因子について明らかにし、その成果を Blood Advance にて世界に発信できた。本年度では、指定難病疾患では、他の研究班に先駆けて初めて難病法施行後の新たな指定難病患者データベースでの ITP 臨床調査個人票のデータを用いて ITP の患者数や年齢分布、臨床所見、治療の実施状況などの ITP の基本的実態を明らかにした。

治療法の標準化と啓発に関しては、ITP 治療は TP0 受容体作動薬およびリツキシマブがステロイド不応/不耐例に広く使われるようになり、大きく変わってきた。2019 年の参照ガイド改訂版はこの流れを受け、現在の ITP 治療の流れを明確に示し、各種活動を通じて血液内科医だけでなく、一般医および一般市民に対する普及・啓発活動を推進した。しかし、一方で ITP 診療における問題点も明確となってきた。特に ITP の診断に関しては、2007 年に発表した ITP 診断基準案が依然として“案”のままで留まった状況にあり、除外診断が中心となっている。難治性 ITP では誤診の比率が⁵50%におよぶことも報告されている (Miltiadous O, et al. Blood 2020;135:472-490)。今後、有用性の高い診断基準を確立することが大きな課題である。

ステロイド治療に関しては、国際的には、ASH ガイドラインや ICR ガイドラインに記されるように短期に終了すること

が推奨されるようになってきている。本邦の 2019 年改訂版においても長期大量投与は望ましくなく早期にセカンドライン治療に移行すること推奨しているが、より長期かつ多めの投与を許容している。ステロイド投与方法の検討は今後の大きな課題のひとつである。

近年、難治性 ITP に対して多くの新規薬剤の有効性が報告されてきている。特に Syk 阻害薬である Fostamatinib は海外において既に難治性 ITP に対する使用が認可されている。本邦でも進行中である臨床治験の結果に注目していく予定である。

ITP 診断法の標準化においては、TP0 測定キットの開発の確立を目指した。本年度は、多数例の検討により ITP と再生不良性貧血を区別する暫定的なカットオフを設定することができた。すでにキット最終仕様が確立できたことから、今後は ITP、再生不良性貧血など血小板減少症患者を対象とした臨床性能試験の実施に向けた準備が完了した。

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

E. 結論

ITP の病態およびその治療に関し、問題点を早期把握すると共に、新たな薬剤に関してその適正使用を含め「ITP 治療の参照ガイド」を改訂、公開し、継続して情報発信に努めていく。さらには、ITP 診断において、その病態にマッチした診断法を検討し、TP0 測定キットをほぼ確立させることができた。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y: Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. Blood Adv. 4(8):1648-1655, 2020.
- 2) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y; Committee for the Revision of “Reference Guide for Management of adult ITP” Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour and Welfare Science Research Grants. Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. Int J Hematol. 2020 111:329-351, 2020
- 3) Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Reevaluation of platelet function in chronic immune thrombocytopenia: impacts of platelet size, platelet-associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists. Br J Haematol. 189(4):760-771, 2020.
- 4) Akuta K, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y. Knock-in mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J Thromb Haemost. 18:497-509, 2020
- 5) Jang JH, Tomiyama Y, Miyazaki K, Nagafuji K, Usuki K, Uoshima N, Fujisaki T, Kosugi H, Matsumura I, Sasaki K, Kizaki M, Sawa M, Hidaka M, Kobayashi N, Ichikawa S, Yonemura Y, Enokitani K, Matsuda A, Ozawa K, Mitani K, Lee JW, Nakao S. Efficacy and safety of romiplostim in refractory aplastic anaemia: a Phase II/III, multicentre, open-label study. Br J Haematol. 192(1):190-199, 2020.
- 6) Cooper N, Kruse A, Kruse C, Watson S, Morgan M, Provan D, Ghanima W, Arnold DM, Tomiyama Y, Santoro C, Michel M, Laborde S, Lovrencic B, Hou M, Bailey T, Taylor-Stokes G, Haenig J, Bussel JB. Immune thrombocytopenia (ITP) World Impact Survey(I-WISh): impact of ITP on health-related quality of life. Am J Hematol. Am J Hematol. 96(2):199-207, 2021
- 7) Cooper N, Kruse A, Kruse C, Watson

- S, Morgan M, Provan D, Ghanima W, Arnold DM, Tomiyama Y, Santoro C, Michel M, Laborde S, Lovrencic B, Hou M, Bailey T, Taylor-Stokes G, Haenig J, Busse JB. Immune thrombocytopenia (ITP) World Impact Survey (I-WISH): patient and physician perceptions of diagnosis, signs and symptoms, and treatment. *Am J Hematol.* 96(2):188-198, 2021
- 8) Jang JH, Tomiyama Y, Miyazaki K, Nagafuji K, Usuki K, Uoshima N, Fujisaki T, Kosugi H, Matsumura I, Sasaki K, Kizaki M, Sawa M, Hidaka M, Kobayashi N, Ichikawa S, Yonemura Y, Enokitani K, Matsuda A, Ozawa K, Mitani K, Lee JW, Nakao S. Efficacy and safety of romiplostim in refractory aplastic anaemia: a Phase II/III, multicentre, open-label study. *Br J Haematol.* 192(1):190-199, 2020. <https://doi.org/10.1111/bjh.17190> (impact factor : 5.518)
- 9) Vishnu P, Duncan J, Connell N, Cooper N, Lim W, Rodeghiero F, Tomiyama Y, Grace RF, Bakchoul T, Arnold DM; Platelet Immunology Scientific and Standardization Committee. International Survey on Helicobacter Pylori Testing in Patients with Immune Thrombocytopenia: Communication of the Platelet Immunology Scientific and Standardization Committee. *J Thromb Haemost.* 19(1):287-296, 2020.
- 10) Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa J, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Kurimoto M, Kawano N, Matsukawa T, Sanol H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yajima Y, Murata M, and Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood* 135:2413-2419, 2020.
- 11) 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 2020-2021 (門脇 孝, 小室一成, 宮地良樹), メディカルレビュー社, 大阪, 2020, pp496-500
- 12) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. *生命の科学* 71:460-461, 2020
- 13) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. *血液内科* 81:400-403, 2020
- 14) 富山佳昭. 特発性(免疫性)血小板減少性紫斑病 (ITP) 治療の最前線. *日本内科学会誌* 109 : 2393-2399, 2020
- 15) 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の病態と治療. *日本内科学会誌* 109:1347-1354, 2020
- 16) 柏木浩和. 成人 ITP 治療のガイド.

2. 学会発表

- 1) 25th Congress of European Hematology Association (2020.6.11-21, virtual congress)
Bussel JB, Ghanima W, Cooper N, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Provan D. Higher Symptom Burden in Patients with Immune Thrombocytopenia Experiencing Fatigue: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISh). (発表日 6.12) (ポスター発表)
- 2) 25th Congress of European Hematology Association (2020.6.11-21, virtual congress)
Cooper N, Ghanima W, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Provan D, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Bussel JB. A Patient's Perspective on Impact of Immune Thrombocytopenia on Emotional Wellbeing: ITP World Impact Survey (I-WISh). (発表日 6.12) (ポスター発表)
- 3) The American Society of Hematology 62nd Annual Meeting (2020.12.5-8, SanDiego)
Bussel JB, Ghanima W, Cooper N, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Provan D. Higher Symptom Burden in Patients with Immune Thrombocytopenia Experiencing Fatigue: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISh). (発表日 12.7) (ポスター発表)
- 4) The American Society of Hematology 62nd Annual Meeting (2020.12.5-8, SanDiego) Ghanima W, Bussel JB, Provan D, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Cooper N. Patients' Reported Perceptions on Satisfaction with Immune Thrombocytopenia Treatments: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISh). (発表日 12.5) (ポスター発表)
- 5) The American Society of Hematology 62nd Annual Meeting (2020.12.5-8, SanDiego) Cooper N, Ghanima W, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Provan D, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Bussel JB. A Patient's Perspective on Impact of Immune Thrombocytopenia on Emotional Wellbeing: ITP World Impact Survey (I-WISh). (発表日 12.6) (ポスター発表)
- 6) 第85回日本健康学会総会, 2020年12月5日(東京) 島田直樹, 太田晶子. 臨床調査個人票を用いた難病疫学研究の現状と課題.

- 7) 第 68 回日本輸血・細胞治療学会総会
(2020. 5. 29, 紙上開催, 紀野修一)
富山佳昭. ガイドラインの「科学的根拠」に関する考察. (紙上発表, シンポジウム・ワークショップ パネル (指名))
- 8) 第 68 回日本輸血・細胞治療学会総会
(2020. 5. 29, 紙上開催, 紀野修一)
柏木浩和, 富山佳昭. ITP と血小板輸血. (紙上発表, シンポジウム・ワークショップ パネル (指名))
- 9) 第 68 回日本輸血・細胞治療学会総会
(2020. 5. 29, 紙上開催, 紀野修一)
細川美香, 柏木浩和, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 柴山浩彦, 富山佳昭. Daratumumab の輸血干渉に対する新たな解消法、大阪法(0.01M DTT 処理)、の精度管理及び臨床検体を用いての検討. (紙上発表, 一般)
- 10) 第 42 回日本血栓止血学会学術集会
(2020. 7. 1-31, 紙上開催・オンデマンド, 富山佳昭) 芥田敬吾, 柏木浩和, 西浦伸子, 加藤恒, 保仙直毅, 金倉譲, 富山佳昭. 新規のインテグリン α IIb β 3 非活性化変異 β 3(R734C)を認めた一家系. (口頭発表 (一般))
- 11) 第 12 回日本血液疾患免疫療法学会学術集会 (2020. 9. 12, 千里ライフサイエンスセンター, 大阪, 岡 芳弘) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病(ITP): 病態から治療まで. (発表日 9. 12) (シンポジウム・ワークショップ パネル (指名))
- 12) 2020 年度日本内科学会生涯教育講演会(2020. 11. 8. 札幌市民ホール, 札幌, 豊嶋崇徳) C セクション 富山佳昭. 血小板減少症の診断と治療, (公開講演・セミナー・チュートリアル・講習・講義等, 教育講演 (招請))

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

成人 ITP 診療ガイド 2019 年版の普及活動と今後の改訂に向けて

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

研究要旨

当研究班では、2019 年に「成人 ITP 治療の参照ガイド 2019 年版」を国内外に発表した。この改訂版においては、副腎皮質ステロイド不応例/不耐例におけるセカンドライン治療として従来の脾臓摘出術に加えて、トロンボポエチン受容体作動薬およびリツキシマブを推奨し、現状に即した参照ガイドとなった。WEB、雑誌、講演会を通して、本参照ガイドの普及・啓発活動を行った。一方で ITP 診療には診断、治療ともに解決すべき多くの課題が残る。最近発表された国際的なガイドラインとの比較検討および新薬の治験情報の収集を行い、今後の改訂に向けての課題を検討した。

A. 研究目的

2019 年に本研究班から 7 年ぶりの改訂となる「ITP 治療の参照ガイド 2019 改訂版」およびその英語版が発表された（臨床血液 2019;60:877-896, Int J Hematol 2020;111:329-351）。本改訂版においては、副腎皮質ステロイド不応/不耐例のセカンドライン治療として、従来の脾臓摘出術（脾摘）に加え、トロンボポエチン受容体作動薬（TPO-RA）およびリツキシマブを同等に推奨し、これらの治療の選択は個々の患者の年齢、合併症、ライフスタイルなどを考慮し個々に判断するとした。今後は本参照ガイドの普及・啓発が重要となる。また 2019 年にはアメリカ血液学会（ASH）および国際コンセンサス委員会（ICR）から新しい ITP ガイドラインが相次いで発表された。今後のガイドラインの改訂に向けて、これらの比較検討を行う必要がある。また、主に海外で行われてい

る新たな治療薬に対する情報収集も改訂に向けて重要となる。

B. 研究方法

2019 年に発表された ASH ITP ガイドライン（Blood Adv. 2019;3:3829-3866）および iCR ITP ガイドライン Blood Adv. 2019;3:3780-3817）と本邦の ITP 治療参照ガイド 2019 年版の比較検討を行った。また ITP に対する新規治療薬として臨床治験が進んでいる Fostamatinib、Rilzabrutinib、Sutimlimab および FcRn 阻害薬の最新の臨床治験結果の検討を行った。

C. 研究成果

ITP 参照ガイド 2019 年版の普及・啓発活動

本参照ガイドは、各種サイトからフリーでダウンロード可能となっているが、更に一般医に啓発をはかるため、日本内科学会生涯教育講演会における講演や、

日本内科学会誌を含む各種雑誌において参照ガイドを紹介した。また一般市民を対象に「特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) をめぐる最近の話題～研究班の成果を解りやすく解説」と題した市民公開講座をWEBにて開催した。

今後の改訂に向けて

ITP 診療ガイドに関して、今後検討すべき課題として以下のような点が挙げられる。

1) 診断

ITP の診断が現時点においても除外診断に留まっていることが大きな問題点である。当研究班では、2007 年に新しい ITP 診断基準案を作成したが、その案に盛り込んだ検査が現実的に検査可能な期間に限られる、あるいは保険未収載であることから普及していない。それらの検査の中で血漿中 TP0 測定に関し、保険収載に向けての動きが進行中であり、この検査を取り入れた ITP 診断基準の確立が重要な課題となる。

2) ファーストライン治療

ファーストライン治療として行われる副腎皮質ステロイド療法に関しては、一時的な有効性が高いが減量とともに血小板数が低下する 경우가多く、長期大量投与となりやすいことが問題点である。TP0 受容体作動薬やリツキシマブのような新しい治療が可能となっており、副腎皮質ステロイドの長期大量投与は避け、早期のセカンドライン治療への移行を考えるべきである。ASH ガイドライン、ICR ガイドラインともにステロイドは6～8週間以上の投与を避けるべきであるとしている。一方、本邦の2019年版ガイドでは、

プレドニゾロン 10 mg までの長期投与を許容している。

3) セカンドライン治療

セカンドライン治療としては、TP0 受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘を同等に推奨している。このことは ASH ガイドライン、ICR ガイドラインにおいても基本的には違いはない。TP0 受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘はいずれも長所、短所があるため、患者の状況 (年齢、合併症、活動量、好みなど) により個々に治療法を選択することになる。

4) サードライン治療

サードライン治療として多くの薬剤を推奨しているが、いずれも小規模の報告に基づいており、エビデンスレベルは低い。最近新たな治療薬として、以下のようなものが検討されており、エビデンスが蓄積されつつある。

4-1 Fostamatinib

Fostamatinib は Syk 阻害薬である。Syk はマクロファージにおける Fc γ 受容体および B 細胞における BCR の下流に位置するチロシンキナーゼであり、自己抗体を介した貪食および B 細胞の分化・増殖にも関与する。Fostamatinib は、Syk を阻害することにより血小板貪食および抗体産生を抑制する。2 種類の RCT にてその有効性が明らかにされており (Bussel J, et al. Am J Hematol 2018;93:921-930)、欧米では、通常の ITP 治療に反応しない患者においての使用が認可されている。

4-2 Rilzabrutinib

Rilzabrutinib は BTK 阻害薬である。BTK は、Syk の下流に位置しており、やはり B 細胞の分化・増殖に関与している。

2020 年 12 月のアメリカ血液学会 (ASH) では、Rilzabrutinib が前治療歴のある ITP 患者において 44% (14/32) の有効性を示したことが報告された。

4-3 Sutimlimab

Sutimlimab は古典補体系 C1s 阻害薬である。既に寒冷凝集素症における有効性が示されている。2020 年の ASH にて難治性 ITP 患者の 42% (5/12) で反応がみられたことが報告されている。投与後、速やかな血小板増加がみられることが特徴といえる。

4-4 FcRn 阻害薬

FcRn は細胞内に取り込まれた IgG を保護し、血中に recycling する作用がある。従って FcRn 阻害薬投与により血中 IgG 抗体の減少が得られる。FcRn 阻害薬である efgartigimod および rozanolixizumab のフェーズ 2 スタディが行われており、有望な結果が報告されている (Robak T, et al. Blood Adv 2020;4:4136-4146, Newland AC et al. Am J Hematol 2020;95: 178-187)。

D. 考察

ITP 治療は TP0 受容体作動薬およびリツキシマブがステロイド不応/不耐例に広く使われるようになり、大きく変わってきた。2019 年の参照ガイド改訂版はこの流れを受け、現在の ITP 治療の流れを明確に示し、各種活動を通じて血液内科医だけでなく、一般医および一般市民に対する普及・啓発活動を推進した。しかし、一方で ITP 診療における問題点も明確となってきた。特に ITP の診断に関しては、2007 年に発表した ITP 診断基準案が依然

として“案”のままで留まった状況にあり、除外診断が中心となっている。難治性 ITP では誤診の比率が~50%におよぶことも報告されている (Miltiadows O, et al. Blood 2020;135:472-490)。今後、有用性の高い診断基準を確立することが大きな課題である。

ステロイド治療に関しては、国際的には、ASH ガイドラインや ICR ガイドラインに記されるように短期に終了することが推奨されるようになってきている。本邦の 2019 年改訂版においても長期大量投与は望ましくなく早期にセカンドライン治療に移行すること推奨しているが、より長期かつ多めの投与を許容している。ステロイド投与方法の検討は今後の大きな課題のひとつである。

セカンドライン治療として推奨した TP0 受容体作動薬、リツキシマブおよび脾摘であるが、最も大きな問題点はその効果が予測できないことにある。特にリツキシマブの有効例を予測することがその臨床的意義が大きく、さらなる検討が必要であろう。

近年、難治性 ITP に対して多くの新規薬剤の有効性が報告されてきている。特に Syk 阻害薬である Fostamatinib は海外において既に難治性 ITP に対する使用が認可されている。本邦でも進行中である臨床試験の結果に注目したい。

E. 結論

ITP 治療参照ガイドが改訂され、今後も普及活動を行う必要がある。しかし一方で、ITP 診療における課題は依然として多く存在している。今後も新たな研究および

情報の収集に努めることが重要である。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hato T, Shimada N, Kurata Y, Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y. Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. Blood Adv. 4(8):1648-1655, 2020
- 2) Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Reevaluation of platelet function in chronic immune thrombocytopenia: impacts of platelet size, platelet-associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists. Br J Haematol. 189(4):760-771, 2020
- 3) Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiyama Y. Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision. Int J Hematol. 111(3):329-351, 2020
- 4) Akuta k, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y. Knock-in mice bearing

constitutively active α IIb(R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J Thromb Haemost. 18(2):497-509, 2020

- 5) 富山佳昭. 特発性(免疫性)血小板減少性紫斑病 (ITP) 治療の最前線. 日本内科学会誌 109:2393-2399, 2020
- 6) 柏木浩和. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の病態と治療. 日本内科学会誌 109:1347-1354, 2020
- 7) 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 2020-2021 (門脇 孝, 小室一成, 宮地良樹), メディカルレビュー社, 大阪, 2020, pp496-500
- 8) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 生命の科学 71:460-461, 2020
- 9) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 血液内科 81:400-403, 2020
- 10) 柏木浩和. 成人 ITP 治療のガイド. 日本臨牀 61 巻 第 9 号 (2020 年 9 月発行) 別刷 319-324

2. 学会発表

- 1) The 25th Congress of European Hematology Association (2020.6.12 virtual congress). Bussel JB, Ghanima W, Cooper N, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Provan D. Higher Symptom Burden in Patients with Immune Thrombocytopenia Experiencing Fatigue: Results from the ITP

- World Impact Survey (I-WISH)
- 2) The 25th Congress of European Hematology Association (2020.6.12 virtual congress). Cooper N, Ghanima W, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Provan D, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Bussel JB. A Patient's Perspective on Impact of Immune Thrombocytopenia on Emotional Wellbeing: ITP World Impact Survey (I-WISH)
 - 3) The American Society of Hematology 62nd Annual Meeting. (2020.12.7, Virtual, San Diego, CA, USA) Bussel JB, Ghanima W, Cooper N, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Provan D. Higher Symptom Burden in Patients with Immune Thrombocytopenia Experiencing Fatigue: Results from the ITP World Impact Survey (I-WISH)
 - 4) The American Society of Hematology 62nd Annual Meeting. (2020.12.7, Virtual, San Diego, CA, USA). Cooper N, Ghanima W, Kruse A, Kruse C, Tomiyama Y, Provan D, Hou M, Santoro S, Laborde S, Morgan M, Lovrencic B, Bailey T, Haenig J and Bussel JB. A Patient's Perspective on Impact of Immune Thrombocytopenia on Emotional Wellbeing: ITP World Impact Survey (I-WISH)
 - 5) 第68回日本輸血・細胞治療学会総会 (2020.5.29. 紀野修一. 紙上発表). 柏木浩和、富山佳昭. ITPと血小板輸血 (シンポ).
 - 6) 第12回日本血液疾患免疫療法学会学術集会 (2020.9.12. 千里ライフサイエンスセンター. 大阪. 岡 芳弘). 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP): 病態から治療まで (シンポ)
 - 7) 2020年度日本内科学会生涯教育講演会 Cセクション (2020.11.8. 札幌市民ホール. 札幌. 豊嶋崇徳.) 富山佳昭. 血小板減少症の診断と治療
 - 8) 第42回日本血栓止血学会学術集会 (2020.7.1-31, WEB開催) 芥田敬吾、柏木浩和、西浦伸子、加藤恒、保仙直毅、金倉譲、富山佳昭. 新規のインテグリン α IIb β 3 非活性化変異 β 3(R734C)を認めた一家系
3. 市民公開講座
- 1) 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」班市民公開講座「特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) をめぐる最近の話題～研究班の成果を解りやすく解説」(2021.3.7 WEB開催)
富山佳昭: ITPとはどんな病気?
柏木浩和: ITPの治療は? ガイドラインを中心に解説
- H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

ITP 診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み

研究分担者：桑名正隆 日本医科大学アレルギー膠原病内科 教授

研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の診断には、いまだ血小板減少をきたす他疾患の除外に主眼を置いた基準が用いられている。平成 16 年度に本研究班が ITP に感度または特異度の高い臨床検査を組み合わせた診断基準案を提唱したが、含まれる項目の多くが保険診療下で測定できない。そこで、トロンボポエチン（TP0）測定法を体外診断薬として製造承認を得ることを目指し、全自動検査システムで短時間に大量の検体測定が可能な化学発光試薬として測定系を構築してきた。本年度は ITP、再生不良性貧血、骨髓異形成症候群患者の臨床検体を用いて本測定系の性能評価を行い、70 pg/mL をカットオフとすることで、ITP と再生不良性貧血を明確に区別することができた。これをもって本キットの構築は完了した。

A. 研究目的

我が国では 1990 年に厚生省研究班により作成された特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の診断基準が現状も用いられている。この基準では、出血症状と血小板減少症があり骨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（TP0）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 TP0 は研究目的での受託測定が可能になったが、検査費用が発生することから一般診療で普及していない。これら問題点を解決するためには再現性・汎用性の高い臨床検査キットの作成およびその体外診断用医薬品としての承認が不可欠である。そこで、すでに測定系が構築済みの TP0 測定試薬（エスアールエル社）を診断用医薬品に求められる基本性能を満たし、体外診断用医薬品として申請することを目的とした検討を行ってきた。当初は 2 種類の抗 TP0 抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA（enzyme-linked immunosorbent assay）を構築したが、臨床検査試薬として展開するためには汎用

性が高く、迅速かつ大量の検体を同時測定できる化学発光試薬（CLEIA; Chemiluminescent Enzyme Immunoassay）に変更した。昨年度は少数例を用いた基礎性能評価試験で、同時再現性試験、日差再現性試験、希釈直線性試験、測定上限の確認（プロゾン確認）、添加回収試験、共存物質の影響確認、保存試験を完了し、良好な結果が得られた。本年度はITP、再生不良性貧血、骨髄異形成症候群の多数の臨床検体を用いてTP0測定系の性能評価を行った。

B. 研究方法

1) 対象

ITP患者血漿312例、再生不良性貧血患者血漿9検体、骨髄異形成症候群血漿38例、健常人血漿100検体を用いた。患者検体は本研究班で平成18-24年に実施した診断基準策定研究で収集したものを使用した。健常人ボランティア検体は国外ベンダーより購入した。

2) TP0測定

CLEIA測定系の構築のため、昨年度に作成したマウス抗ヒトTP0モノクローナル抗体クローンTN1結合磁性粒子、horshradish peroxidase (HRP) 標識抗ヒトTP0モノクローナル抗体一本鎖IgG-Fab'を用いた。また、校正用基準物質として、新たに作成したリコンビナントヒトTP0 (rTP0) を用いた。抗TP0モノクローナル抗体結合磁性粒子(110 μ L)、HRP標識抗TP0モノクローナル抗体Fab' (100 μ L)と検体(血清または血漿40 μ L))を液相で37°C、10分反応後に磁石により免疫複合体を固定することで未反応物を

除去、洗浄した。発光基質(100 μ L)を添加して37°C、2.7分反応後に蛍光カウントを測定した。すべての過程を全自動診療検査システムSTACIA® (LSIメディエンス)で行い、19分で結果が得られた。蛍光カウントはrTP0キャリブレーション希釈系列(0、17.5、70、280、700 pg/mL)を用いて標準化した。健常人およびITP検体の平均値+2SDまたは3SD値を算出し、暫定的なカットオフ値とした。なお、同時に市販キット(R&D社)でもTP0測定を行い、結果を比較した。なお、これまでの検討からR&D社キットから本測定系への変換係数は4.286と設定した。

(倫理面に対する配慮)

本研究ではヒト検体を使用することから学内倫理委員会で承認済みである(慶應義塾大学)。今回の検体使用に当たってはオプトアウトを行った。

C. 研究結果

ITP患者312例でのTP0濃度は 11.7 ± 27.0 pg/mL、再生不良性貧血患者9検体では 207.7 ± 87.7 pg/mL、健常人血漿100検体では 12.8 ± 9.0 pg/mLであった。ITPおよび健常人検体の平均値+2SDから算出したカットオフ値は、それぞれ65.7 pg/mL、30.9 pg/mL、平均値+3SDから算出したカットオフ値は、それぞれ92.6 pg/mL、40.0 pg/mLであった。そこで、暫定的なカットオフをITP検体の平均値+2SDから算出した65.7 pg/mL (≈ 70 pg/mL)に設定したところ、カットオフを越えた検体はITPで12例(3.8%)、再生不良性貧血では9例全例(100%)、健常人では0例であった。骨髄異形成症候群患者ではTP0

濃度は患者毎に大きく異なり、70 pg/mL を境に高値群 20 例と低値群 18 例に分けられた。そこで、カットオフを超えた ITP 検体 12 例、再生不良性貧血では 9 例全例検体を用いて R&D 社キットで TP0 濃度を測定した。CLEIA 測定系と R&D 社キットでの測定値はよく相関し、これら血漿は TP0 は高値であることが確認された。R&D 社キットの測定値が 300 pg/mL を越えた ITP 検体 5 例を非典型的な症例をみなして解析から除外すると、ITP 307 例の平均+3SD は 70.4pg/mL となり、暫定カットオフとほぼ一致した。そこで、70 pg/mL をカットオフに設定してカットオフを越えた割合を検討したところ、ITP で 5/307 (1.6%)、再生不良性貧血で 9/9 (100%)、骨髓異形成症候群で 20/38 (52.6%)、健常人で 0/100 (0%) であった。

D. 考察

今回、CLEIA 法を用いた汎用性の高い体量の検体を迅速に処理できる TP0 測定系を確立した。昨年度の検討で、基礎性能評価試験で大きな問題はなく、測定範囲は 1.6-700 pg/mL と広範囲で健常人から再生不良性貧血患者検体まで幅広くカバーできた。また、既存の R&D 社キットの結果とおおむね相関することから、従来の研究成果との比較も可能である。今回、多

数例の検討により ITP と再生不良性貧血を区別する暫定的なカットオフを設定することができた。すでにキット最終仕様が確立できたことから、今後は ITP、再生不良性貧血など血小板減少症患者を対象とした臨床性能試験の実施に向けた準備が完了した。

E. 結論

TP0 測定 CLEIA キットを構築した。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 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

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

難病法施行後初の臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

研究分担者：村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学 教授

研究分担者：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：羽藤高明 愛媛大学大学院医学系研究科

・愛媛県赤十字血液センター

研究協力者：倉田義之 四天王寺悲田院

研究要旨

新たな指定難病患者データベースを用いて、我が国の特発性血小板減少性紫斑病の最新の疫学像として、患者数（受給者数）、新規受給者の男女比、年齢、発症年齢、発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況などの基本的実態を明らかにした。新たな指定難病患者データベースの入力率は約 60%で従前の旧データベースと大きな違いはなく、全国規模の疫学像を把握できる有用なデータベースと考えられた。また、このデータベースを利用する上での注意点について検討した。

A. 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病（以下、ITP）は、厚生労働省の特定疾患治療研究事業の医療受給対象疾患に指定されてきた。2015 年 1 月からは、難病法施行による指定難病として医療費助成対象となっている。特定疾患治療研究事業は患者の医療費の自己負担分を公費で補助し、受療を促進することで、多くの患者情報を得て病因解明や治療法開発などの調査研究を推進しようとするものである。特定疾患治療研究事業において臨床調査個人票は全ての医療受給申請で提出され、これにより患者（医療受給者）の基本的臨床情報を得ることができる。臨床調査個人票の内容は、厚生労働省の難病患者認定適正化事業において、都道府県によって WISH

（厚生労働省行政情報総合システム）に導入されている特定疾患調査解析システムに電子入力され、オンラインで厚生労働省へデータが届く仕組みになっている。2003 年度以来、本格的に電子入力されるようになり、その利用が可能となり、臨床調査個人票データの有効活用が進められてきた。我々は、ITP の疫学像（性年齢分布、臨床症状、検査所見、治療状況など）を分析してきた 1)～9)。

2015 年 1 月の難病法施行の制度変更に伴い、国は新たな指定難病患者データベースを構築し、2019 年度後半から新たなデータベースの利用が可能となった。

本研究は、指定難病患者データベースを用いて、ITP の患者数（受給者数）、新規受給者の年齢・発症年齢、発病からの期間、

出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況の分析を行い、最新の疫学像を明らかにするとともに、データベースの有用性を検討することを目的とする。

B. 研究方法

資料として、2015 年～2017 年の ITP の臨床調査個人票（2020 年 10 月 1 日現在入力済みデータ）を用いた。臨床調査個人票データの利用は、指定難病患者データ及び小児慢性特定疾病児童等データの提供に関するガイドラインにより厚生労働省にデータ提供の依頼申し出を行い、承認を得た。

従来、臨床調査個人票は必ずしもすべてが電子入力されているのではなく、そのデータ入力率を確認することが必要である。そのための分母として、受給者の全数を厚生労働統計である衛生行政報告例 10)～11)から得た。入力率は、「電子入力された臨床調査個人票件数／衛生行政報告例による受給者数」として求めた。各年のデータ入力率を確認した上で、各年のデータを集計した。各年の受給者数（患者数）を確認した上で、年次ごとに新規受給者の年齢・発症年齢、発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況について分析した。

（倫理面への配慮）

指定難病患者データ及び小児慢性特定疾病児童等データの提供に関するガイドラインに基づきデータが提供された。提供データには、氏名・住所など個人が特定されるものは含まれていない。本研究は、愛媛大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得て実施した（2019 年 8 月 26 日、

No. 1409005）。

C. 研究結果

本研究において提供されたデータは、旧様式の 2015 年～2017 年の個人票（2017 年以降の OCR 入力以前）のみのデータである。

1. データの入力状況

2015 年～2017 年の ITP の臨床調査個人票の入力件数、入力率（2020 年 10 月 1 日現在）を表 1 に示した。2014 年以前の入力件数とともに入力状況を観察した。2015 年、2016 年の入力件数（入力率）はそれぞれ 13,531 件（53.6%）、15,251 件（60.8%）であり、2013 年以前の入力率と大きな違いはなかった。一方、2017 年は 5,842 件（33.2%）と入力率が低下していたが、これは難病法施行に伴い 2017 年 4 月に個人票の書式変更および OCR 入力の導入など大きな変更がなされたが、本研究では新書式のデータが含まれていないためであると考えられる。

2. 入力件数

臨床調査個人票データは、新規受給者および更新受給者からなる。新規・更新別の入力件数は、2015 年：新規 1,958 件（14.5%）、更新 11,573 件（85.5%）、2016 年：新規 2,192 件（14.4%）、更新 13,059 件（85.6%）、2017 年：新規 978 件（16.7%）、更新 4,864 件（83.3%）であり、新規・更新の構成割合は 2014 年以前と大きな違いはなかった。

以後は、新規受給者の分析結果を示す。

3. 男女別入力件数、年齢、発症年齢

新規受給者の男女別入力件数は 2015 年：

男 829 件 (42.6%)、女 1,117 件 (57.4%)、2016 年：男 927 件 (42.4%)、女 1,257 件 (57.6%)、2017 年：男 422 件 (43.4%)、女 551 件 (56.6%) であり、男女比は 2014 年以前と大きな違いはなかった。

2015 年～2017 年の男女別の年齢および発症年齢を表 2 に示した。年齢の平均は男性が 60 歳代後半、女性が約 60 歳で、2014 年以前と大きな違いはなかった。発症年齢の平均は男性が 65～66 歳、女性が約 57 歳で、2014 年以前と大きな違いはなかった。

年齢分布は、年齢および発症年齢ともに、男性が 80 歳前後をピークとする一峰性、女性が 30 歳前後および 80 歳前後をピークとする二峰性を示し、2014 年以前と大きな違いはなかった。

3. 発病からの期間

2015 年～2017 年の発病からの期間を表 3 に示した。約半数が発病から 3 か月未満であった一方で、約 3 割は 12 か月以上であった。

4. 出血症状

出血症状ありの割合は 2015 年：68.4%、2016 年：73.6%、2017 年：74.8%であった。2015 年の難病法施行に伴い、受給認定において重症度基準 (Staeg2 以上) が導入されたことから、出血症状ありの割合が増加している。なお、臨床調査個人票では「紫斑、点状出血、斑状出血、重症消化管出血、歯肉出血、鼻出血、血尿、下血、関節出血、月経過多、脳出血、その他」の 12 種類の出血症状から複数選択になっているが、提供されたデータでは、複数選択のデータが一つの項目にまとめて入力されているため、各出血症状についての集

計ができなかった。今後の改善が必要である。

5. 臨床所見

2015 年～2017 年の血小板数および網状血小板比率を表 4 に示した。ITP では本来、血小板減少 (10 万/ μ L 以下) を示すはずだが、それより大きい症例が若干数認められた。おそらく都道府県の入力ミスと思われるが、より詳細な集計においては欠損値として処理するなどの対策が必要である。2015 年～2017 年の巨核球数を表 5 に示した。血中トロンボポイエチン値高値の割合は 2015 年：19.4%、2016 年：15.5%、2017 年：5.7%と減少傾向であった。ヘリコバクター・ピロリ菌陽性の割合は 2015 年：31.3%、2016 年：28.2%、2017 年：24.7%と減少傾向であった。PAIgG 増加ありの割合は 2015 年：87.3%、2016 年：88.1%、2017 年：90.0%と増加傾向であった。

6. 重症度分布

2015 年～2017 年の重症度分布を表 6 に示した。

2015 年の難病法施行に伴い、受給認定において重症度基準 (Staeg2 以上) が導入されたことから、Stage1 の割合が少なくなっている。

7. 治療の実施状況

2015 年～2017 年の治療の実施状況を表 7 に示した。副腎皮質ステロイドおよび血小板輸血が増加傾向の一方で、ピロリ除菌療法が減少傾向であった。リツキシマブはまだ、ほとんど使用されていない。トロンボポイエチン受容体作動薬の投与状況を表 8 に示した。ロミプロスチム、エルトロンボバグともに増加傾向であった。

D. 考察

新たな指定難病患者データベースを用いて、ITP の臨床調査個人票の分析を行った。本研究において提供されたデータは、旧様式の 2015 年～2017 年の個人票 (2017 年以降の OCR 入力以前) のみのデータである。指定難病患者データベースにおける 2015 年、2016 年の ITP の臨床調査個人票の入力率は約 54～61% で、従前の旧データベースの入力状況と大きな違いはなかった。新規・更新の構成割合も過去のデータと比べ大きな違いは認められなかった。入力率が 100% ではないのは、都道府県により入力率が異なるためである。ITP の臨床調査個人票の全体の入力率は 60% 前後であり、新規・更新の構成割合もこれまでと変わりがなく、都道府県によって疾患の疫学像が大きく異なるのでなければ、指定難病患者データベースは、全国規模の疫学像を把握できる有用なデータベースと考えられた。

新たな指定難病患者データベースでは、新規受給者の男女比、年齢、発症年齢ともに 2014 年以前と大きな違いはなかった。重症度分布で、Stage1 の占める割合は、2014 年以前に比較して減少していた。これは、2015 年の難病法施行に伴い、受給認定において重症度基準 (Stage2 以上) が導入されたことの影響が考えられた。新規受給者の発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況について、基本的実態を明らかにした。今後は、年齢、発病からの期間、重症度と出血症状、臨床症状、治療の実施状況との関連などを詳しく検討するとともに、更新受

給者についても検討する必要があると考えられる。

新たな指定難病患者データベースの入力率は従前の旧データベースと大きな違いはなく、ITP の疫学像を全国規模で把握できる有用なデータベースと考えられた。その一方で、データベースに入力される項目の選択、複数選択の項目の入力様式など、改善を要する点も認められたので、今後は厚生労働省との交渉が必要である。2017 年以降の指定難病患者データベースでは、個人票の書式変更および OCR 入力の導入など大きな変更がなされている。今後も 2017 年以降のデータベースによる検討を継続することが重要と考える。

E. 結論

新たな指定難病患者データベースを用いて、我が国の ITP の最新の疫学像として、患者数 (受給者数)、新規受給者の男女比、年齢、発症年齢、発病からの期間、出血症状、臨床所見、重症度分布、治療の実施状況などの基本的実態を明らかにした。新たな指定難病患者データベースの入力率は約 60% で従前の旧データベースと大きな違いはなく、全国規模の疫学像を把握できる有用なデータベースと考えられた。また、このデータベースを利用する上での注意点について検討した。

文献

1) 杉田 稔, 島田直樹, 中尾眞二, 小澤敬也, 永井正規. 再生不良性貧血の新規申請患者における臨床的特徴 ～認定基準の観点から～. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 特定疾

患の疫学に関する研究（研究代表者：永井正規） 平成 20 年度 総括・分担研究報告書．2009(3)：62-69.

2) 杉田 稔，島田直樹，中尾眞二，小澤敬也，永井正規．再生不良性貧血の臨床調査個人票の改訂．厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究（研究代表者：永井正規） 平成 21 年度 総括・分担研究報告書．2010(3)：61-62.

3) 杉田 稔，島田直樹，中尾眞二，小澤敬也，永井正規．臨床調査個人票からみた再生不良性貧血の治療状況．厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究（研究代表者：永井正規） 平成 22 年度 総括・分担研究報告書．2011(3)：149-153.

4) 杉田 稔，島田直樹．臨床調査個人票からみた再生不良性貧血の治療状況．厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 特発性造血障害に関する調査研究（研究代表者：小澤敬也） 平成 22 年度 総括・分担研究報告書．2011(3)：51-56.

5) 羽藤高明，島田直樹，倉田義之．臨床調査個人票（平成 24 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．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（研究代表者：村田 満） 平成 26 年度 総括・分担研究報告書．2015(3)：45-61.

6) 羽藤高明，島田直樹，倉田義之．臨床調査個人票（平成 25 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．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（研究代表者：村田 満） 平成 27 年度 総括・分担研究報告書．2016(3)：30-46.

7) 羽藤高明，島田直樹，倉田義之．臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査．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（研究代表者：村田 満） 平成 29 年度 総括・分担研究報告書．2018

8) 羽藤高明，島田直樹，倉田義之．臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査．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（研究代表者：村田 満） 平成 30 年度 総括・分担研究報告書．2019

9) 羽藤高明，島田直樹，倉田義之．臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査．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（研究代表者：村田 満） 令和元年度 総括・分担研究報告書．2020

10) 厚生労働省大臣官房統計情報部編：保健・衛生行政業務報告（衛生行政報告例）（平成 17～平成 20 年度）

11) 厚生労働省大臣官房統計情報部編：衛生行政報告例（平成 21～平成 30 年度）

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hato T, Shimada N, Kurata Y,

Kuwana M, Fujimura K, Kashiwagi H, Takafuta T, Murata M, Tomiyama Y: Risk factors for skin, mucosal, and organ bleeding in adults with primary ITP: a nationwide study in Japan. Blood Adv 4(8):1648-1655, 2020.

2. 学会発表

- 1) 島田直樹, 太田晶子. 臨床調査個人票を用いた難病疫学研究の現状と課題. 第85回日本健康学会総会, 2020年12月5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

表1 臨床調査個人票入力率、ITP (2020年10月1日現在)

年次	入力件数* ①	特定医療費(指定難病) 受給者証所持者数** ②	入力率 ①/②
2005	15,999	23,971	0.667
2006	12,925	23,196	0.557
2007	11,699	23,157	0.505
2008	15,988	22,945	0.697
2009	19,186	22,853	0.840
2010	17,065	22,220	0.768
2011	19,466	23,791	0.818
2012	17,925	24,100	0.744
2013	12,998	24,956	0.521
2014	3,202	27,445	0.117
2015	13,531	25,236	0.536
2016	15,251	25,074	0.608
2017	5,842	17,618	0.332

*2005年～2014年の入力件数は過去の研究報告書より抜粋

**各年度の衛生行政報告例による。なお、2010年度は東日本大震災の影響により、宮城県及び福島県が含まれていない。

表 2 各年次・男女別の年齢、発症年齢

年次	性別	平均	±	SD	最小値	～	最大値	中央値
年齢								
2015	男	67.6	±	17.7	3	～	96	71.5
	女	60.2	±	21.0	1	～	100	65
2016	男	67.8	±	18.3	1	～	99	73
	女	59.8	±	20.4	7	～	101	65
2017	男	68.0	±	17.6	3	～	100	72
	女	60.3	±	20.5	1	～	100	64
発症年齢								
2015	男	65.5	±	19.2	0	～	96	70
	女	56.9	±	22.2	0	～	99	62
2016	男	66.1	±	19.6	0	～	99	72
	女	57.1	±	21.7	2	～	99	61
2017	男	65.3	±	19.4	1	～	100	70
	女	56.9	±	22.2	1	～	97	60

(歳)

表 3 年次別の発病からの期間

	3 か月未満	3～12 か月	12 か月～
2015 年	53.3%	16.3%	30.4%
2016 年	56.4%	15.1%	28.4%
2017 年	55.2%	15.1%	28.9%

表4 各年次・男女別の血小板、網状血小板比率

年次	性別	平均	±	SD	最小値	～	最大値	中央値
血小板 (×10000/ μ L)								
2015	男	2.3	±	4.0	0	～	41.0	0.9
	女	2.7	±	4.0	0	～	42.0	1.5
2016	男	1.9	±	3.2	0	～	45.0	0.9
	女	2.2	±	3.3	0	～	75.0	1.2
2017	男	1.8	±	3.2	0	～	30.7	0.7
	女	3.1	±	5.6	0	～	49.0	1.2
網状血小板比率 (%)								
2015	男	16.6	±	10.0	0	～	44.7	15.4
	女	14.4	±	10.4	0	～	50.1	12.1
2016	男	17.4	±	11.5	0	～	50.7	15.0
	女	15.6	±	11.2	0	～	74.3	13.6
2017	男	16.7	±	11.2	0	～	50.0	14.9
	女	14.7	±	10.7	0	～	59.9	12.6

表5 年次別の巨核球数

	減少	正常	増加
2015 年	8.0%	36.3%	55.7%
2016 年	9.6%	38.3%	52.1%
2017 年	11.5%	31.6%	56.9%

表6 年次別の重症度

	Stage1	Stage2	Stage3	Stage4	Stage5
2015 年	8.3%	18.0%	16.1%	51.9%	5.6%
2016 年	6.0%	14.9%	18.4%	53.0%	7.7%
2017 年	8.0%	13.0%	17.1%	53.4%	8.5%

表 7 年次別の治療の実施状況（複数選択）

	2015 年	2016 年	2017 年
治療あり	81.3%	82.0%	85.5%
副腎皮質ステロイド	67.1%	70.0%	73.3%
摘脾	3.1%	2.0%	2.3%
免疫抑制剤	3.1%	2.2%	2.5%
ダナゾール	0.6%	0.5%	0.1%
ピロリ除菌療法	26.2%	24.7%	21.1%
免疫グロブリン大量療法	18.1%	16.5%	19.3%
その他	4.7%	4.3%	4.9%
血小板輸血	19.3%	20.6%	24.0%
リツキシマブ	0.8%	0.5%	1.1%

表 8 年次別のトロンボポイエチン受容体作動薬の投与状況（複数選択）

	2015 年	2016 年	2017 年
ロミプロスチム	2.1%	2.3%	3.2%
エルトロンボバグ	11.3%	12.4%	15.7%

TTP/aHUS 研究グループ 研究総括

分担研究者・サブグループリーダー：松本雅則

研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）と非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）の2疾患を対象とし、令和2年度は以下の7項目を実施した。1) TMA・TTP 症例の集積の継続：1998 年から奈良県立医科大学輸血部で TMA 症例を集積しており、本年度も 27 例の新規登録を行い、総数で 1577 例となった。そのうち TTP が 702 例となった。2) 先天性 TTP における ADAMTS13 遺伝子解析：TMA 症例のうち、先天性 TTP66 例で ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。62 例で責任遺伝子異常を同定した。3) Clinical question (CQ) に基づいた TTP 診療ガイドラインの作成：リツキサンに関する CQ を決定し、今後網羅的な文献検索を行う。4) aHUS の蛋白質学的、遺伝学的解析と症例集積：名古屋大学腎臓内科において aHUS のヒツジ溶血試験などの蛋白質学的試験を行いながら症例の集積を行い、本年度 12 月までに 44 例の相談を受けた。5) aHUS 診療ガイドの改定：改定を目指した Web 会議を本年度 3 回開催し、CQ の作成作業を終了した。6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析：倉敷中央病院で 2011 年から 2018 年までに同種移植を行なった全例の血漿サンプルを入手し、臨床データも集積した。7) TTP/aHUS の患者向け動画の作成：TTP と aHUS それぞれの病態と治療に関して、患者さん向けの 5 分程度の動画を作成し班会議のホームページに公開した。

研究分担者

宮川義隆・埼玉医科大学総合診療内科・
血栓止血センター 教授
小亀浩市・国立循環器病研究センター
研究所分子病態部 部長
丸山彰一・名古屋大学腎臓内科 教授

A. 研究の目的

日本国内の TMA(血栓性微小血管症)症例の集積と病態解析を行い、TTP(血栓性血小板減少性紫斑病)と aHUS(非典型溶血性尿毒症症候群)の実態を明らかにし、今後の改善を図る。

B. 研究方法

TTP と aHUS の 2 疾患を対象としている。令和2年度は以下のようにを計画し、実施した。

- 1) TMA・TTP 症例の集積の継続
- 2) 先天性 TTP における ADAMTS13 遺伝子解析
- 3) Clinical question に基づいた TTP 診療ガイドラインの作成
- 4) aHUS の蛋白質学的、遺伝学的解析と症例集積
- 5) aHUS 診療ガイドの改定
- 6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

7) TTP/aHUS の患者向け動画の作成

(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倫理委員会、遺伝子解析は奈良医大、国立循環器病研究センターのヒトゲノム倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究成果

1) TMA・TTP 症例の集積の継続

奈良県立医科大学輸血部で集積している TMA レジストリーに、令和 2 年度は 27 例の TMA が追加された。これで 1998 年から開始した TMA レジストリーの総症例数は 1577 例となった(表 1)。このうち ADAMTS13 活性が 10%未満で TTP と診断される症例は 702 例である(表 2)。先天性 TTP は 66 例(9.4%)で、後天性 TTP が 636 例である。後天性 TTP の中で特発性 TTP が 425 例(60.5%)であり、それ以外は 2 次性 211 例(30.1%)であった。二次性で最も多いのが膠原病 112 例(16.0%)であるが、以前多く報告されていたチクロピジンによる TTP などの薬剤性 TTP は本年度発見されなかった。

また、年間の新規登録症例数が 27 例であり、2018 年以降低下傾向が続いている。我々の registry は ADAMTS13 を検査することで症例の集積を行なっているが、2018 年に ADAMTS13 活性とインヒビター測定が保険適応となり、紹介件数が低下していることが原因と思われる。

2) 先天性 TTP における ADAMTS13 遺伝子解析

令和 2 年度に先天性 TTP 疑い患者 1 例で ADAMTS13 遺伝子解析を行い、責任遺伝子変異を同定した。現在までに 66 例の先天性 TTP 疑い患者で ADAMTS13 遺伝子解析を行い、62 例(94.0%)において両アレルの遺伝子変異を同定した。残りの 4 例について様々な方法で遺伝子解析を行なっているが、責任遺伝子を同定できていない。今後 long read sequence を用いた解析を試みる予定である。

3) Clinical question に基づいた TTP 診療ガイドラインの作成

TTP に対する診療ガイドラインとして本研究班で TTP 診療ガイド 2020 を昨年度完成させた。このガイドラインは専門家の意見である側面が強いため科学的根拠に基づいたガイドラインの作成を目指している。TTP でリツキシマブを使用する時期として、1) 急性期、2) 慢性/再発性の場合、3) 寛解期に ADAMTS13 活性著減時、の 3 つの場合を想定して、リツキシマブを使用する可否についての CQ を作成した。今後文献検索を行い、科学的根拠に従った推奨を作成する。

4) aHUS の蛋白質学的、遺伝学的解析と症例集積

aHUS registry は 2010 年頃に奈良医大輸血部で開始し、2014 年 9 月に東京大学腎臓内分泌内科に移転した。その後 2020 年度 4 月から名古屋大学腎臓内科に移っている。移動に伴い、ヒツジ溶血試験などの蛋白質学的解析も移動している。aHUS の遺伝子解析は、かずさ DNA 研究所で保険適用として実施されているが aHUS registry とも結果を共有している。2020 年 4 月から 12 月における名古屋大学への

相談件数は 44 例であった。

5) aHUS 診療ガイドの改定

日本国内では 2013 年に日本腎臓学会、日本小児科学会が共同で aHUS 診断基準を作成した。2015 年には上記 2 学会に日本血液学会、日本血栓止血学会が協力し、aHUS 診療ガイド 2015 を作成した。これを改定するため、本班会議と日本腎臓学会、日本小児科学会、日本血液学会、日本補体学会が共同で改定作業を開始した。2020 年 5 月、9 月、2021 年 1 月の計 3 回 Web 会議を開催し、clinical question の策定を完了した。

6) 造血幹細胞移植後 TMA の病態解析

倉敷中央病院血液内科で 2011 年から 2017 年に同種移植を行った 196 例について解析を行っていたが、2018 年分を追加している。臨床データなどの集積が終了した。

7) TTP/aHUS の患者向け動画の作成

TTP, aHUS 患者さんが自分たちの疾患について理解できるように短い動画を作成した。当初の計画では TMA として総論を解説し、鑑別診断すべき疾患として志賀毒素産生性 HUS を含めるつもりであったが、COVID-19 流行のため演者が集合して収録が困難であり、経費の問題から TTP と aHUS の 2 疾患に絞った。1 疾患約 5 分程度の動画を作成し、本班会議の HP で公開した。

8) その他

「血栓性血小板減少性紫斑病の患者さんが新型コロナウイルスワクチンの接種を受ける時の注意点」を血栓止血学会と共同で作成し、ホームページ上に公開した。

D. 考察

我々のサブグループは、TTP と aHUS という 2 つの指定難病を対象としている。両疾患とも、registry を継続し症例集積を進めるとともに、診療ガイドラインを改定することが重要な任務である。TTP については、2017 年にガイドラインを作成し、昨年度に保険診療の拡大に伴う改定を行った。今後、科学的根拠に基づいた TTP ガイドラインの作成を行う。aHUS も学会と共同して作成委員会を開催し、CQ の策定を終了している。

Registry に関して、TTP, aHUS とも診断時に症例を登録してもらい、後ろ向きに治療や予後を集積している。ただし、TTP に関しては ADAMTS13 活性とインヒビターは測定が我々の活動によって保険適用となったことより新規登録者数が激減している。今後は全症例を登録するのではなく、先天性 TTP では症例を絞って、後天性 TTP では施設を絞って、前向きに TTP 患者を経過観察する前向きコホートを確立したい。これによって、中枢神経、心臓、腎臓などの臓器障害を長期的に評価できることを目指している。

本年度は COVID-19 の流行により、班会議はもとより多くの学会も対面では開くことができなかった。そのため、班会議の活動も十分ではなかったが、我々のグループでは患者さん向けに TTP と aHUS の病態と治療を解説する動画を作成した。それによって自分の疾患について理解を深めてもらうとともに、新規患者の発掘につながることを期待している。

また、新型コロナウイルスワクチンの対象が医療関係者から高齢者、そして基礎

疾患を有する者へ拡大される予定である。先天性 TTP の患者会からワクチン接種に関する質問を多数受け取ったため、注意点をまとめて血栓止血学会の学術評価委員会 VWD/TMA 部会から発表した。TTP に対するワクチンの影響に関して海外からも全く報告がなく、我々の経験的な記載となったが、TTP 患者さんの不安を取り除くことができることを期待している。

E. 結論

TTP と aHUS の 2 疾患を対象とするグループとなったが、概ね計画通りの進捗ができた。COVID-19 の流行により対面での会議などができなかったことから、患者さん向けの動画を作成した。また、このグループの重要な活動である registry 研究は後ろ向の症例登録を行ってきたが、登録症例の減少があることから今後は前向きの研究を計画している。さらに TTP の臨床個人調査票の提供を申請しているので、そのまとめで症例を捕捉していくことも考えている。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- 1) Sakai K, Someya T, Harada K, Yagi H, Matsui T, Matsumoto M. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to

caplacizumab. *Haematologica* 19;105(11):235549.

doi:10.3324/haematol.2019.235549 .

- 2) Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M. Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. *J Atheroscler Thromb.* 27(4)353-362, 2020.

doi.org/10.5551/jat.49494

- 3) Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood* 135(26):2413-2419, 2020.

doi.10.1182/blood.2020005395

- 4) Sakai K, Fujimura Y, Nagata Y, Higasa S, Moriyama M, Isonishi A, Konno M, Kajiwarra M, Ogawa Y, Kaburagi S, Hara T, Kokame K, Miyata T, Hatakeyama K,

- Matsumoto M. Success and limitations of plasma treatment in pregnant women with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. J Thromb Haemost. Aug, 18(11)2929-2941, 2020.
doi.org/10.1111/jth.15064
- 5) Kubo M, Sakai K, Yoshii Y, Hayakawa M, Matsumoto M. Rituximab prolongs the time to relapse in patients with immune thrombotic thrombocytopenic purpura: analysis of off-label use in Japan. Int J Hematology. 112(2)764-772, 2020.
doi10.1007/s12185-020-02974-y
- 6) Tanabe S, Fujimura Y, Lämmle B, Kimura T, Isonishi A, Sakai K, Matsumoto M. Stealth thrombosis of brain and kidney in a girl with Upshaw-Schulman syndrome not receiving prophylactic plasma infusions. Int J Hematol. 112, 603-604, 2020.
doi.10.1007/s12185-020-02997-5
- 7) Zheng XL, Vesely SK, Cataland S, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. ISTH Guidelines for the Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. J Thromb Haemost, 18: 2486-2495, 2020
doi.org/10.1111/jth.15006
- 8) Zheng XL, Vesely SK, Cataland S, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. Good Practice Statements (GPS) for the Clinical Care of Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. J Thromb Haemost. 18: 503-2512, 2020
doi.org/10.1111/jth.15009
- 9) Zheng XL, Vesely SK, Cataland S, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. ISTH Guidelines for Treatment of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. J Thromb Haemost 18: 2496-2502, 2020
doi.org/10.1111/jth.15010
- 10) Akuta K, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, Tomiyama Y. Knock-in mice bearing constitutively active α IIb(R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J. Thromb. Haemost. 18, 497-509, 2020.
- 11) Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, Matsumoto M. Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis

- markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. J Intensive Care Med. 36, 436-442, 2021
doi:10.1177/0885066619899637.
- 12) Tarasco E, Lukas Bütikofer L, Friedman KD, George JN, Hrachovinova IV, Knöbl P, Matsumoto M, von Krogh AS, Aebi-Huber I, Cermakova Z, Górská-Kosicka M, Jalowiec KA, Largiadèr CR, Prohaszka Z, Sinkovits G, Windyga J, Lämmle B, Kremer Hovinga JA. Annual Incidence and Severity of Acute Episodes in Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Blood, in press. DOI:https://doi.org/10.1182/blood.2020009801
- 13) Cuker A, Cataland SR, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, George JN, Knoebl PN, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Peyvandi F, Sakai K, Sarode R, Thomas M, Tomiyama Y, Veyradier A, Westwood JP, Scully M. Redefining outcomes in immune TTP: An International Working Group Consensus Report. Blood. 137:1855-1861, 2021.
doi:10.1182/blood.2020009150.
- 和文
- 1) 酒井 和哉、松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の病態、診断と治療 日本内科学会雑誌 109(7)1355-1362, 2020
- 2) 久保 政之、松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病の診断と治療 臨床血液 61(5)529-535, 2020
- 3) 宮田敏行, 小亀浩市. TMA の遺伝子診断: TTP と aHUS. 日本血栓止血学会誌 31, 17-27, 2020
- 4) 宮川義隆. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) に対する分子標的治療薬. 日本血栓止血学会誌 31, 28-36. 2020
- 5) 宮川義隆. COVID-19 関連凝固異常症、血栓性血小板減少性紫斑病、Xa 因子阻害薬に対する特異的中和薬. 日本内科学会誌 110, 2477-2483. 2021
- 6) 宮川義隆. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の診断と治療. 日本内科学会誌 109, 1363-1369. 2020
- 7) 加藤規利、立俵良崇、丸山彰一. 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の診断と治療. Thrombosis Medicine 10, 225-231, 2020
- 8) 立俵良崇、加藤規利、丸山彰一: 非典型溶血性尿毒症症候群 (指定難病 109). Thrombosis Medicine 11, 289-297, 2021
2. 学会発表
- 1) 久保 政之、松本 雅則. 種々の血小板減少症の病態と血小板輸血: TTP と血小板輸血. 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会, 札幌コンベンションセンター (WEB 開催), 2020 年 5 月 28 日~30 日
- 2) 松本 雅則、藤村 吉博. von Willebrand 因子異常症からみた血

- 栓止血制御機構—出血と血栓の両方向への ADAMTS13 の重要性. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 大阪国際会議場 (WEB 開催) 2020 年 6 月 18 日～20 日
- 3) 松本 雅則. ADAMTS13 検査と TTP の治療. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 大阪国際会議場 (WEB 開催). 2020 年 6 月 18 日～20 日
- 4) 酒井 和哉、松本 雅則. 先天性血栓性血小板減少性紫斑病患者における新鮮凍結血漿定期輸注療法の現状と問題点. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 大阪国際会議場 (WEB 開催) 2020 年 6 月 18 日～20 日
- 5) 山崎 泰男・樋口 (江浦) 由佳・小亀 浩市. Weibel-Palade 小体にはサブユニット構成の異なる 2 種類の Vacuolar H⁺-ATPase が局在している. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, 大阪, 2020 年 6 月 18-20 日
- 6) 秋山正志・樋口 (江浦) 由佳・小亀浩市. 新規 ADAMTS13 クリアランス受容体 SIGLEC5 および SIGLEC14 の機能解析. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, 大阪, 2020 年 6 月 18-20 日
- 7) 三島 優一・秋山 正志・小亀 浩市. 肝星細胞における ADAMTS13 の遺伝子発現調節. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, 大阪, 2020 年 6 月 18-20 日
- 8) 松田 安史、近澤 亮、位田 奈緒子、森田 美穂子、細野 奈穂子、白藤 文、吉田 好雄、朝倉 英策、松本 雅則、山内 高弘. 診断に苦慮した成人発症型先天性 TTP の一例. 第 21 回日本検査血液学会学術集会 (WEB 開催) 2020 年 7 月 11 日～12 日
- 9) E. Tarasco, L. Bütikofer, G. Sinkovits, Z. Prohászka, A.S. von Krogh, P.N. Knöbl, K.D. Friedman, J.N. George, I. Aebi-Huber, K.A. Jalowiec, Z. Cermakova, M. Górská-Kosicka, J. Windyga, I. Hrachovinova, C.R. Largiadèr, M. Matsumoto, B. Lämmle, J.A. Kremer Hovinga. Severity of Acute Events in Patients with Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (hTTP) with or without Regular Plasma Prophylaxis: Results from the International Hereditary TTP Registry. XXVIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). VIRTUAL. 2020 年 7 月 12 日～14 日
- 10) M. Kubo, K. Sakai, Y. Yoshii, M. Hayakawa, M. Matsumoto. Rituximab Prolongs the Time to Relapse in Patients with Immune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: Analysis of Off-Label Use in Japan. XXVIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). VIRTUAL, 2020 年 7 月 12 日～14 日
- 11) 松本 雅則. TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) に対する新規治療法. 第 12 回日本血液疾患免疫療法学会学術集会, 千里ライフサイエンスセンター, 2020 年 9 月 12 日
- 12) 松本 雅則. 集中治療領域における

TMA の鑑別診断と治療第 48 回日本集中治療医学会学術集会. Web 会議.
2021 年 2 月 12 日

Thrombosis and Hemostasis. Web.
2021 年 3 月 19 日

- 13) 松本 雅則. 医療環境に応じた輸血療法の実施体制のあり方に関する研究. 令和 2 年度輸血関連研究班合同班会議. Web 会議. 2021 年 2 月 20 日
- 14) Masanori Matsumoto. Presentations Pathophysiology and Management of Congenital TTP (Upshaw-Schulman Syndrome). The 11th Congress of the Asian- Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis. Web. 2021 年 3 月 19 日
- 15) Masanori Matsumoto. Presentation A 20-Year Study of Thrombotic Microangiopathy Using a Japanese Registry. The 11th Congress of the Asian- Pacific Society on

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 出願番号：特願 2 0 2 1 — 3 5 3 9
2、発明の名称：抗 ADAMTS13 抗体およびその用途, 出願日：2021 年 3 月 5 日
- 2) 本補体機能検査系を特許出願予定である。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1 TMA registry (n=1577)
(奈良医大輸血部1998. 7-2020. 12)

	Congenital TMAs (n=164)		Acquired TMAs (n=1413)												Total
	USS (n=67)	aHUS (n=97)	Primary (n=623)		Secondary (n=790)									(n=1577)	
			TTP (n=498)	HUS (n=125)	Drug-induced (n=47)			CTD/ AD (n=354)	Malignancies (n=92)	HSCT (n=106)	Pregnancy (n=34)	STEC- HUS (n=52)	Others (LC, etc) (n=105)		
					TC(n=25)/ CL(n=4)	MMC (n=13)	Others (n=5)								
ADAMTS13:AC (%)	(n=66)	(n=95)	(n=498)	(n=125)	(n=25/n=4)	(n=13)	(n=5)	(n=333)	(n=89)	(n=97)	(n=30)	(n=49)	(n=94)	(n=1523)	
<10	66	0	425	0	24	0	3	112	13	5	10	2	42	702	
1 年間の増加数	0	0	12	0	0	0	0	2	1	0	1	0	2	18	
10～<25	0	7	35	15	3	2	0	74	25	35	3	8	19	226	
25 ～<50	0	21	29	62	1	7	1	114	34	48	14	23	25	379	
≥ 50	0	65	9	48	1	4	1	54	20	18	7	19	19	265	
全体の年間増加数	0	1	12	0	0	0	1	4	2	2	1	1	3	27	

TC: 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=702)
(奈良医大輸血部1998. 7-2020. 12)

	Congenital TMAs (n=66)	Acquired TMAs (n=636)								Total
	USS (n=66)	Primary (n=425)	Secondary (n=211)							(n=702)
		TTP (n=425)	Drug- induced (n=27)	CTD/AD (n=112)	Malignancies (n=13)	HSCT (n=5)	Pregnancy (n=10)	STEC-HUS (n=2)	Others (LC, etc) (n=42)	
ADAMTS13:AC (%)	(n=66)	(n=425)	(n=27)	(n=112)	(n=13)	(n=5)	(n=10)	(n=2)	(n=42)	(n=702)
< 0.5	37	360	22	84	7	0	9	0	27	546
0.5~<5	27	29	5	16	4	1	1	0	7	90
5~<10	2	23	0	12	0	4	0	2	8	51
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=66)	(n=424)	(n=27)	(n=110)	(n=12)	(n=2)	(n=10)	(n=2)	(n=39)	(n=692)
> 5	0	93	6	17	5	0	1	0	6	128
2~<5	0	149	13	33	2	0	3	1	12	213
0.5~<2	7	168	7	47	4	0	6	1	15	255
< 0.5	59	14	1	13	1	2	0	0	6	96

TC: 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

日本人における免疫原性 TTP の疾患感受性 HLA の網羅的解析

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：酒井和哉 奈良県立医科大学 輸血部 診療助教

研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の9割以上を占める後天性の免疫原性 TTP (immune TTP: iTTP) は、ADAMTS13 に対する自己抗体が産生されることで発症する自己免疫性疾患である。自己免疫性疾患の発症リスク因子の一つとして疾患感受性 HLA が存在する。いくつかの自己免疫性疾患では疾患感受性 HLA の同定がされており、iTTP においても 2010 年以降に欧州の複数のグループから白人では DRB1*11 が iTTP の疾患感受性 HLA の一つと報告されている。また、*in vitro* 実験より、iTTP 患者の樹状細胞上の DRB1*11 由来 DR 分子は ADAMTS13 の CUB2 ドメイン由来のペプチド FINVAPHAR と複合体を形成し、ヘルパーT細胞の活性化に関与するという結果が得られている。

今回我々は、白人とは遺伝的背景が大きく異なる日本人において、52 例の iTTP 患者の HLA 解析研究を実施し、DRB1*08:03 が疾患感受性 HLA と同定した。さらに興味深いことに DRB1*08:03 由来 DR 分子については *in silico* 解析より、FINVAPHAR と比べて N 末端側に 1 アミノ酸残基ずれた LFINVAPHA が高親和性ペプチドと予測された。今後、*in vitro* での T 細胞アッセイや Mass spectrometry を行い、DRB1*08:03 において LFINVAPHA がアリル拘束性を有する T 細胞エピトープであることを証明する必要がある。

A. 研究の目的

TTP は全身の微小血管に血小板と von Willebrand 因子 (VWF) を中心とした血栓が形成される致死的血栓症である。TTP の 9 割以上を占める iTTP は VWF 切断酵素である ADAMTS13 に対する自己抗体が産生されることで発症する自己免疫性疾患である。ADAMTS13 活性が著減した TTP 患者では、血管内皮細胞から血中に放出された血小板凝集能の強い超高分子量 VWF 重合体が切断されずに存在する。微小血管内で血小板血栓を形成することで、腎臓や脳などの虚血性臓器障害を引き起こす。自己免疫性疾患の発症リスク因子の一つ

として疾患感受性 HLA が存在する。関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、慢性甲状腺炎などの自己免疫性疾患では疾患感受性 HLA の同定がされており、iTTP においても 2010 年以降に欧州の複数のグループから白人では DRB1*11 (DRB1*11:01) が疾患感受性 HLA の一つと報告されている。また、*in vitro* 実験より、iTTP 患者の樹状細胞上の DRB1*11 由来 DR 分子は ADAMTS13 の CUB2 ドメイン由来のペプチド FINVAPHAR と複合体を形成し、ヘルパーT細胞の活性化に関与するという結果が得られている。

白人とは遺伝的背景が大きく異なる日本

人において、多数の iTTP 患者を対象とした HLA 解析研究は存在しない。今回、日本人 iTTP 患者の HLA 解析研究を実施し、疾患感受性 HLA を同定したので報告する。

B. 研究方法

対象患者

2017 年 9 月より 2019 年 3 月までに日本国内の 19 施設の医療機関を受診した iTTP 患者 52 名を解析対象とした。TTP 診療ガイド 2017 に基づき、原因不明の血小板減少と溶血性貧血を呈し、ADAMTS13 活性が健常人プールの 10% 未満かつ ADAMTS13 インヒビター陽性 (0.5 Bethesda Unit/mL 以上) の場合に iTTP と診断した。

HLA 解析

同意の得られた患者より EDTA 採血管に 2mL の採血を行い、白血球成分よりゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサー Illumina Miseq による HLA 解析を行った。解析対象アレルは HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQA1, -DQB1, -DPA1, -DPB1 の 11 遺伝子座とした。疾患感受性 HLA を同定するためにコントロールとして中島らの日本人の健常人を対象とした解析結果を参照とした。この報告では HLA-DPA1 に関するデータがなく、10 遺伝子座についてアレル頻度の同定を行った。

臨床データの収集

急性期の採血結果より血小板数、ADAMTS13 活性、ADAMTS13 インヒビター、ヘモグロビン、乳酸脱水素酵素 (LDH)、総ビリルビン、血清クレアチニンを抽出した。ADAMTS13 活性および ADAMTS13 インヒビター力価は ADAMTS13-act-ELISA 法を用

いて測定した。

疾患感受性 HLA の *in silico* モデルを利用した結合エピトープの推測

同定された疾患感受性 HLA 由来の HLA 分子において、どのような ADAMTS13 由来ペプチドを認識するかを *in silico* 予測ソフト NetMHCIIpan version 3.2 (<http://services.healthtech.dtu.dk/>) を用いて予測した。既報の ADAMTS13 分子のアミノ酸配列 (GenBank: AAL11095.1) を用い、%Rank が 2 未満のものを Strong binder と定義した。

統計解析

2 群間の HLA アレル頻度の差は Fisher の正確検定を用いて解析の上で、多重検定による α エラーの増大を防ぐため、Bonferroni 補正を行った。各遺伝子座において日本人健常人におけるアレル頻度が 1% 以上のアレル数を p 値に掛け合わせ、補正 p 値 (corrected P-value: Pc) を算出した。また、臨床パラメータの 2 群間の中央値の差の検定は Mann-Whitney U 検定を用いて比較した。有意水準を 5% として、p 値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意差があると判定した。解析ソフトは EZR を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、全ての参加施設にて医の倫理審査委員会の承認を受け、患者より文書での同意を得て実施した。

C. 研究成果

iTTP 患者背景

男女比は 22 : 30 と女性に多く、発症時の年齢中央値は 56.5 歳 (1-81) であった。38 例が原発性 iTTP、12 例が膠原病関連 iTTP、1 例が悪性腫瘍関連 iTTP (胃癌)、

1 例が膵炎関連 iTTP であった。膠原病関連 iTTP の内訳は 6 例が SLE、3 例が混合性組織結合病、2 例がシューグレン症候群、1 例が原発性胆汁性胆管炎であった。急性期の ADAMTS13 活性は全症例で 3%未満であり、ADAMTS13 インヒビターの中央値は 2.5 BU/mL (0.5-113 BU/mL) であった。全症例で著しい血小板減少 (血小板数中央値 $11.5 \times 10^9/L$) と溶血性貧血 (LDH 中央値 968 U/L およびヘモグロビン中央値 8.0 g/dL) を認めた。一方ほとんどの症例で腎障害はそれほど強くなかった (血清クレアチニン中央値 0.88 mg/dL)。iTTP の急性期に 52 人中 49 人が新鮮凍結血漿を置換液とする血漿交換療法とステロイドによる標準治療を受けていた。血漿交換実施回数の中央値は 11 回 (3-42 回) で、血漿交換を受けた 49 人中 19 人が治療抵抗性と判定された。

日本人における iTTP 患者と健常人におけるアレル頻度の比較

表 1 に iTTP 患者と健常人のアレル頻度を比較した結果を示す。HLA クラス II アレルについて以下のアレルが日本人における iTTP の疾患感受性 HLA として同定された。DRB1*08:03 (オッズ比 3.06、 $P_c=0.005$)、DRB3/4/5*blank (オッズ比 2.3、 $P_c=0.007$)、DQA1*01:03 (オッズ比 2.25、 $P_c=0.006$)、DQB1*06:01 (オッズ比 2.41、 $P_c=0.003$)。これら 4 つのアレルは連鎖不均衡の関係にあると推測された。一方、疾患抵抗性 HLA として強い連鎖不均衡の関係にある DRB1*15:01 (オッズ比 0.23、 $P_c=0.76$) および DRB5*01:01 (オッズ比 0.23、 $P_c=0.34$) が抽出された。HLA クラス I アレルでは iTTP 患者と健常人間

にアレル頻度の有意な差はみられなかった。

なお、白人で危険因子および保護因子とされる DRB1*11 および DRB1*04 は、日本人では抗原レベルにおいても iTTP 患者と日本人でアレル頻度に有意差はみられなかった。

急性期臨床データと疾患感受性 HLA

iTTP 発症の危険因子として同定されたハプロタイプのうち、DRB1*08:03 が最もオッズ比が大きく、過去の HLA 研究などから主となる疾患感受性アレルと判定した。引き続き、患者データシートの記載内容に基づき DRB1*08:03 が iTTP の臨床データおよび治療反応に影響しうるかを検討した。DRB1*08:03 が陽性であったのは 52 人中 16 人であり、14 人がヘテロ接合体、2 人がホモ接合体であった。急性期の採血結果の比較を表 2 に示す。LDH と総ビリルビン値は DRB1*08:03 陽性例では陰性例よりも有意に低値であった。一方、ADAMTS13 活性、ADAMTS13 インヒビター、血小板数、ヘモグロビン値、血清クレアチニンは両群で有意差がみられなかった。また、血漿交換の実施回数および治療抵抗例の割合も 2 群間で同等であり差はなかった。

DRB1*08:03 および DRB1*11:01 の in silico モデルを用いた高親和性ペプチドの検索

NetMHCIIpan を用いて、ヒト ADAMTS13 の全アミノ酸配列と DRB1*08:03 および DRB1*11:01 アレル由来 DR 分子との HLA-ペプチド結合予測を行った。DRB1*11:01 では先行研究と同様に CUB2 ドメイン由来のペプチド FINVAPHAR が Strong binder と予測された。DRB1*08:03 の Strong

binder として 5 つのペプチド (VLTNLIGA、FLTVTPLNT、LCMDSALRV、LFINVAPHA、IHALATNMG) が同定されたが、このうち CUB2 ドメイン由来ペプチドの LFINVAPHA は白人で報告されている FINVAPHAR と 1 アミノ酸がずれたペプチドであった (図 1)。

D. 考察

本研究は遺伝的に孤立した日本人 iTTP52 名を対象とした HLA 解析研究であり、疾患感受性アレルの候補として連鎖不均衡の関係にある DRB1*08:03、DRB1*3/4/5*blank、DQA1*01:03、DQB1*06:01 の 4 つのアレルを同定した。また疾患抵抗性アレルの候補として同じく連鎖不均衡の関係にある DRB1*15:01、DRB5*01:01 の 2 つのアレルを同定した。その他先行研究に倣い、オッズ比が最も高い DRB1*08:03 と疾患感受性 HLA と判定した。DRB1*08:03 は東アジアに限局し、欧米ではまれな DRB1 アレルとして知られている。また今回の解析では白人において同定されている疾患感受性 HLA (DRB1*11) および疾患抵抗性 HLA (DRB1*04) は遺伝的背景の異なる日本人においては患者と健常人で有意な差がみられなかった。DRB1*08:03 の有無と臨床的特徴の関連を検討したが、治療反応性や治療抵抗性、血小板数などの項目は DRB1*08:03 の有無では明確な差異がみられなかった。DRB1*08:03 は日本人における iTTP 発症リスクであるが iTTP の予後に関与しない可能性がある。

次に、*in silico* の HLA-ペプチド結合予測アッセイを DRB1*08:03 および

DRB1*11:01 を対象に実施し、ADAMTS13 アミノ酸配列中の高親和性ペプチドを予測した。DR 分子は DRA および DRB にコーディングされる DR α 鎖と DR β 鎖によって形成されるヘテロダイマーである。そして、DRA のペプチド結合領域の多型性が極めて乏しいことから、DR 分子のペプチド親和性は DRB アレルに依存している。今回の解析では DRB1*08:03 および DRB1*11:01 由来の DR 分子は結合モチーフ (アンカーアミノ酸が異なる) がお互いに異なることが判明した。しかし、それぞれの DR 分子は ADAMTS13 の CUB2 ドメイン由来ペプチド“FINVAPHA”を共通の高親和性ペプチドとして認識しうることが判明した。すなわち、DRB1*11:01 由来 DR 分子は既知のアレル拘束性 T 細胞エピトープとして FINVAPHAR が知られており、一方 DRB1*08:03 由来 DR 分子については *in silico* 解析より N 末端側に 1 アミノ酸残基ずれた LFINVAPHA が高親和性ペプチドと予測された。異なるペプチド結合モチーフで共通のペプチドを認識しうるという結果は非常に興味深いものであり、なぜ遺伝的背景の異なる 2 つの人種が同一の自己免疫性疾患を発症するのかという疑問の一部に答えるものである。

ただし、今回の解析は *in silico* 予測に留まるため、今後 DRB1*11:01 での先行研究と同様 *in vitro* での T 細胞アッセイや Mass spectrometry を行い、DRB1*08:03 において LFINVAPHA がアレル拘束性を有する T 細胞エピトープであることを証明する必要がある。

E. 結論

日本人 iTTP 患者の HLA 解析研究を実施し、疾患感受性 HLA として DRB1*08:03 を同定した。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- 1) Sakai K, Someya T, Harada K, Yagi H, Matsui T, Matsumoto M. Novel aptamer to von Willebrand factor A1 domain (TAGX-0004) shows total inhibition of thrombus formation superior to ARC1779 and comparable to caplacizumab. *Haematologica* 19;105(11):235549. doi:10.3324/haematol.2019.235549.
- 2) Shigekiyo T, Yagi H, Sekimoto E, Shibata H, Ozaki S, Matsumoto M. Identification of a missense mutation (p.Leu1733Pro) in the A3 domain of von Willebrand factor in a family with type 2M von Willebrand disease. *Int J Hematol.* 111(3)467-470, 2020.
- 3) Sakurai S, Kato H, Yoshida Y, Sugawara Y, Fujisawa M, Yasumoto A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y, Nangaku M. Profiles of Coagulation and Fibrinolysis Activation-Associated Molecular Markers of Atypical Hemolytic Uremic Syndrome in the Acute Phase. *J Atheroscler Thromb.* 27(4)353-362, 2020.
- doi.org/10.5551/jat.49494
- 4) Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa A, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kume-kawa H, Takezako N, Kawano N, Matsukawa T, Sano H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yamada Y, Murata M, Matsumoto M. HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood* 135(26):2413-2419, 2020. doi.10.1182/blood.2020005395
- 5) Yada N, Yoshimoto K, Kawashima H, Yoneima R, Nishimura N, Tai Y, Tsushima E, Miyamoto M, Ono S, Matsumoto M, Fujimoto T, Nishio K. Plasma Level of von Willebrand Factor Propeptide at Diagnosis: A Marker of Subsequent Renal Dysfunction in Autoimmune Rheumatic Diseases. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis.* 26:1-9, 2020. DOI:10.1177/1076029620938874
- 6) Sakai K, Fujimura Y, Nagata Y, Higasa S, Moriyama M, Isonishi A, Konno M, Kajiwarra M, Ogawa Y, Kaburagi S, Hara T, Kokame K, Miyata T, Hatakeyama K, Matsumoto M. Success and limitations of plasma treatment in pregnant

- women with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* Aug, 18(11)2929–2941, 2020.
doi.org/10.1111/jth.15064
- 7) Kubo M, Sakai K, Yoshii Y, Hayakawa M, Matsumoto M. Rituximab prolongs the time to relapse in patients with immune thrombotic thrombocytopenic purpura: analysis of off-label use in Japan. *Int J Hematology.* 112(2)764–772, 2020.
doi:10.1007/s12185-020-02974-y
 - 8) Tanabe S, Fujimura Y, Lämmle B, Kimura T, Isonishi A, Sakai K, Matsumoto M. Stealth thrombosis of brain and kidney in a girl with Upshaw-Schulman syndrome not receiving prophylactic plasma infusions. *Int J Hematol.* 112, 603–604, 2020.
doi:10.1007/s12185-020-02997-5
 - 9) Zheng XL, Vesely SK, Cataland S, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. ISTH Guidelines for the Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *J Thromb Haemost.* 18: 2486–2495, 2020
doi.org/10.1111/jth.15006
 - 10) Zheng XL, Vesely SK, Cataland S, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. Good Practice Statements (GPS) for the Clinical Care of Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *J Thromb Haemost.* 18: 503–2512, 2020
doi.org/10.1111/jth.15009
 - 11) Zheng XL, Vesely SK, Cataland S, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, Matsumoto M, Mustafa RA, Pai M, Rock G, Russell L, Tarawneh R, Valdes J, Peyvandi F. ISTH Guidelines for Treatment of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *J Thromb Haemost* 18: 2496–2502, 2020
doi.org/10.1111/jth.15010
 - 12) Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, Matsumoto M. Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Intensive Care Med.* 36, 436–442, 2021 doi:10.1177/0885066619899637.
 - 13) Takaya H, Namisaki T, Moriya K, Shimozaoto N, Kaji K, Ogawa H, Ishida K, Tsuji Y, Kaya D, Takagi H, Fujinaga Y, Nishimura N, Sawada Y, Kawaratani H, Akahane T, Matsumoto M, Yoshiji H. Association between ADAMTS13 activity-VWF antigen imbalance and the therapeutic effect of HAIC in patients with hepatocellular

- carcinoma. *World J Gastroenterol* 26(45):7232-7241. doi: 10.3748/wjg.v26.i45.7232
- 14) Hayakawa M, Takano K, Kayashima M, Kasahara K, Fukushima H, Matsumoto M. Management of a COVID-19 patient during ECMO: paying attention to acquired von Willebrand syndrome. *J Atheroscler Thromb.* 28 396-401 2021. doi.org/10.5551/jat.58362
 - 15) Shiraishi Y, Tachizaki Y, Inoue Y, Hayakawa M, Yamada A, Kayashima M, Matsumoto M, Horiuchi H, Yambe T. Hemolysis and von Willebrand Factor Degradation in Mechanical Shuttle Shear Flow Tester. *J Artif Organs.* in press
 - 16) Tarasco E, Lukas Bütikofer L, Friedman KD, George JN, Hrachovinova IV, Knöbl P, Matsumoto M, von Krogh AS, Aebi-Huber I, Cermakova Z, Górská-Kosicka M, Jalowiec KA, Largiadèr CR, Prohaszka Z, Sinkovits G, Windyga J, Lämmle B, Kremer Hovinga JA. Annual Incidence and Severity of Acute Episodes in Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Blood,* in press. DOI:https://doi.org/10.1182/blood.2020009801
 - 17) Hayakawa M, Matsumoto M. Response to “Etiology and Management of Bleeding during ECMO in a COVID-19 Patient. *J Atheroscler Thromb.* 28: 404-405, 2021
 - 18) Cuker A, Cataland SR, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, George JN, Knoebl PN, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, Matsumoto M, Pavenski K, Peyvandi F, Sakai K, Sarode R, Thomas M, Tomiyama Y, Veyradier A, Westwood JP, Scully M. Redefining outcomes in immune TTP: An International Working Group Consensus Report. *Blood.* 137:1855-1861, 2021. doi:10.1182/blood.2020009150.
- 和文
- 1) 酒井 和哉、松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の病態、診断と治療. *日本内科学会雑誌* 109(7)1355-1362, 2020
 - 2) 久保 政之、松本 雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病の診断と治療 *臨床血液* 61(5)529-535, 2020
 - 3) 早川 正樹、松本 雅則. 後天性フォン・ヴィレブランド症候群 *臨床血液* 61(7)809-817, 2020
- ## 2. 学会発表
- 1) 松本 雅則, フォン・ヴィレブランド病の病態・診断・治療～リコンビナントという新たな選択肢を加えて～, 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会, 札幌コンベンションセンター (WEB 開催) 2020 年 5 月 28 日～30 日
 - 2) 松本雅則, フィブリノゲン濃縮製剤とクリオプレチピテートの違い, 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会, 札幌コンベンションセンター

- (WEB 開催) , 2020 年 5 月 28 日～30 日
- 3) 久保 政之、松本 雅則. 種々の血小板減少症の病態と血小板輸血:TTP と血小板輸血. 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会, 札幌コンベンションセンター (WEB 開催) , 2020 年 5 月 28 日～30 日
 - 4) 久保 政之、中村 文彦、松本 雅則. 奈良県内における静注用免疫グロブリン製剤の使用実態調査—なぜ急激に使用料が増加したのか? 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会, 札幌コンベンションセンター (WEB 開催) 2020 年 5 月 28 日～30 日
 - 5) 長谷川 真弓、上野 華恵、隅 志穂里、谷山 歩、梅木 弥生、酒井 和哉、松本 雅則. 持続的に保有する不規則抗体 IgG 型抗 E の証明にプロテイン G カラムが有用であった 1 症例. 第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会. 札幌コンベンションセンター (WEB 開催) . 2020 年 5 月 28 日～30 日
 - 6) 松本 雅則、藤村 吉博. von Willebrand 因子異常症からみた血栓止血制御機構—出血と血栓の両方向への ADAMTS13 の重要性. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 大阪国際会議場 (WEB 開催) 2020 年 6 月 18 日～20 日
 - 7) 松本 雅則. ADAMTS13 検査と TTP の治療. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 大阪国際会議場 (WEB 開催). 2020 年 6 月 18 日～20 日
 - 8) 酒井 和哉、藤村 吉博、松本 雅則. 先天性血栓性血小板減少性紫斑病患者における新鮮凍結血漿定期輸注療法の現状と問題点. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 大阪国際会議場 (WEB 開催) 2020 年 6 月 18 日～20 日
 - 9) 松田 安史、近澤 亮、位田 奈緒子、森田 美穂子、細野 奈穂子、白藤 文、吉田 好雄、朝倉 英策、松本 雅則、山内 高弘. 診断に苦慮した成人発症型先天性 TTP の一例. 第 21 回日本検査血液学会学術集会 (WEB 開催) 2020 年 7 月 11 日～12 日
 - 10) E. Tarasco, L. Bütikofer, G. Sinkovits, Z. Prohászka, A.S. von Krogh, P.N. Knöbl, K.D. Friedman, J.N. George, I. Aebi-Huber, K.A. Jalowiec, Z. Cermakova, M. Górská-Kosicka, J. Windyga, I. Hrachovinova, C.R. Largiadèr, M. Matsumoto, B. Lämmle, J.A. Kremer Hovinga. Severity of Acute Events in Patients with Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (hTTP) with or without Regular Plasma Prophylaxis: Results from the International Hereditary TTP Registry. XXVIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). VIRTUAL. 2020 年 7 月 12 日～14 日
 - 11) M. Kubo, K. Sakai, Y. Yoshii, M. Hayakawa, M. Matsumoto. Rituximab Prolongs the Time to Relapse in Patients with Immune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura:

- Analysis of Off-Label Use in Japan. XXVIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH). VIRTUAL, 2020 年 7 月 12 日～14 日
- 12) Masanori Matsumoto. Development of a Therapeutic Anti-ADAMTS13 Inhibitory Antibody for Acquired Von Willebrand Syndrome Caused by Excessive ADAMTS13 Cleavage. 第 84 回日本循環器学会学術集会 (JCS2020). Kyoto International Conference Center (WEB 開催). 2020 年 7 月 27 日～8 月 2 日
 - 13) 松本 雅則. 循環器疾患に合併する後天性 von Willebrand 症候群の治療薬の開発: von Willebrand 因子切断酵素 ADAMTS13 活性を阻害する抗体. 第 52 回日本動脈硬化学会総会・学術集会. WEB 開催 2020 年 7 月 17 日～31 日
 - 14) 松本 雅則. TTP (血栓性血小板減少性紫斑病) に対する新規治療法. 第 12 回日本血液疾患免疫療法学会学術集会, 千里ライフサイエンスセンター, 2020 年 9 月 12 日
 - 15) 井上 雄介、早川 正樹、山田 昭博、佐原 玄太、白石 泰之、佐藤 康史、武輪 能明、堀内 久徳、松本 雅則、山家 智之. 機械循環の高せん断によるフォンウィルブランド因子マルチマー切断に関する研究. 第 58 回日本人工臓器学会大会. 高知県立県民文化ホール. 2020 年 11 月 13 日
 - 16) 早川 正樹、高野 啓佑、福島 英賢、笠原 敬、松本 雅則. 新型コロナウイルス感染症に対する体外式膜型人工肺治療中に後天性フォンヴィレブランド症候群 を呈した一例. 第 58 回日本人工臓器学会大会. 高知県立県民文化ホール. 2020 年 11 月 13 日
 - 17) 白石 泰之、中地 真太郎、舘崎 祐馬、早川 正樹、萱島 道徳、山田 昭博、井上 雄介、堀内 久徳、松本 雅則、山家 智之. 往復動微量流体負荷剪断装置を用いた von Willebrand 因子損傷の実験的評価. 第 58 回日本人工臓器学会大会. 高知県立県民文化ホール 2020 年 11 月 13 日
 - 18) 松本 雅則. 集中治療領域における TMA の鑑別診断と治療第 48 回日本集中治療医学会学術集会. Web 会議. 2021 年 2 月 12 日
 - 19) 松本 雅則. 医療環境に応じた輸血療法の実施体制のあり方に関する研究. 令和 2 年度輸血関連研究班合同班会議. Web 会議. 2021 年 2 月 20 日
 - 20) Masanori Matsumoto. Presentations Pathophysiology and Management of Congenital TTP (Upshaw-Schulman Syndrome). The 11th Congress of the Asian- Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis. Web. 2021 年 3 月 19 日
 - 21) Masanori Matsumoto. Presentation A 20-Year Study of Thrombotic Microangiopathy Using a Japanese Registry. The 11th Congress of the Asian- Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis. Web. 2021 年 3 月 19 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- 1) 出願番号：特願 2 0 2 1—3 5 3 9
2、発明の名称：抗 ADAMTS13 抗体およびその用途, 出願日：2021 年 3 月 5 日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

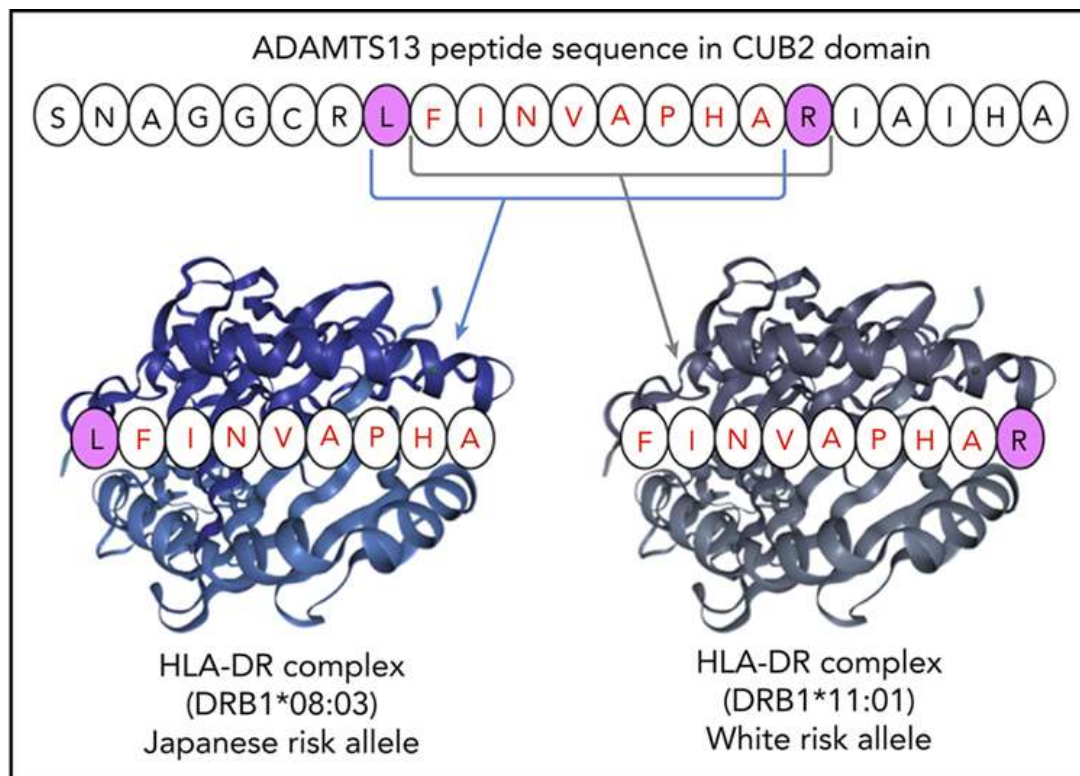


図1. 共通ペプチドFINVAPHAは日本人と白人で異なるポケットモチーフで認識される。
*in silico*解析ではDRB1*08:03（日本人）とDRB1*11:01（白人）は近接した高親和性ペプチドLFINAVPHAおよびFINVAPHARで結合することが予測された。

表1. 日本人におけるiTTP患者と健常人のアリル頻度の比較結果

HLA type	iTTP患者における アリル頻度(%) n=52	健常人における アリル頻度(%) n=516	P値	補正P値 (Pc)	オッズ比(95% 信頼区間)
DRB1					
DRB1*08:03	17.3%	6.4%	2.86×10^{-4}	0.005	3.06 (1.63–5.51)
DRB1*15:01	2.9%	11.6%	4.22×10^{-3}	0.076	0.23 (0.05–0.70)
DRB3/4/5					
Blank	27.9%	14.3%	9.13×10^{-4}	0.007	2.30 (1.40–3.72)
DRB5*01:01	2.9%	11.6%	4.22×10^{-3}	0.034	0.23 (0.05–0.70)
DQA1					
DQA1*01:03	29.8%	15.9%	8.94×10^{-4}	0.006	2.25 (1.38–3.60)
DQB1					
DQB1*06:01	29.8%	14.9%	2.49×10^{-4}	0.003	2.41 (1.48–3.88)

注: AおよびB、C、DPB1座では2群間で統計学的有意差のあるアリルは同定されなかった。

表2. iTTP患者の急性期血液検査結果とHLA-DRB1*08:03

	HLA-DRB1*08:03		p値*
	陽性 (n=16)	陰性 (n=36)	
ADAMTS13活性(%)	<0.5 (<0.5, <0.5)	<0.5 (<0.5, <0.5)	0.766
ADAMTS13インヒビター (BU/mL)	3.15 (1.78, 4.65)	2.0 (1.0, 3.5)	0.254
血小板数($10^9/L$)	15.5 (7.0, 32.3)	11.0 (9.0, 14.0)	0.211
ヘモグロビン (g/dL)	7.95 (6.93, 9.63)	8.0 (7.2, 9.3)	0.873
LDH (U/L)	742 (509, 965)	1138 (725, 1598)	0.017
総ビリルビン(mg/dL)	2.25 (1.2, 2.43)	3.3 (2.2, 4.9)	0.015
血清クレアチニン(mg/dL)	0.8 (0.68, 0.9)	1.0 (0.7, 1.1)	0.103

*Mann-Whitney U 検定, 数値は中央値 (25%, 75% 四分位)で表記。

aHUS の診断、治療効果判定を目的とした補体機能検査の開発研究

研究分担者：丸山彰一 名古屋大学医学部大学院医学系研究科腎臓内科 教授

研究要旨

aHUS は急速に TMA を発症し、しばしば ICU において集学的治療を要する重篤な疾患である。補体関連 TMA とも呼ばれるように、補体の異常活性化が病態の本質であり、補体活性化を抑制する抗 C5 阻害薬が開発されてからは、生存率が劇的に改善している。一方で TTP における ADAMTS13 活性測定といった、確定診断に至るバイオマーカーがなく、治療に比して診断方法の開発が遅れていることが問題である。

現在唯一とも言える補体機能測定系として、ヒツジ赤血球溶血試験が挙げられる。本研究では、aHUS 全国調査研究と紐付ける形で、aHUS の臨床像、遺伝学的背景と、ヒツジ赤血球溶血試験の有用性を評価するとともに、溶血試験の欠点補った新たな補体機能検査の開発を目指す。

A. 研究目的

非典型溶結性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome: aHUS) は、補体関連遺伝子の先天的な異常、もしくは後天的な補体関連蛋白に対する自己抗体の産生による、補体第二経路の異常な活性化が引き起こす血栓性微小血管障害症 (TMA) である。昨今抗 C5 阻害薬が開発され、aHUS の治療成績は劇的に改善している。早期の治療介入によりその後の腎臓を中心とした臓器障害を軽減できるといった報告がある一方で、早期診断につながるバイオマーカーがなく、臨床上的大きな問題と考えられる。

aHUS の診断は、補体調節因子の遺伝学的検査と、抗 CFH 抗体測定、また他の TMA を引き起こす疾患を除外できることによってなされるが、これらは aHUS 発症早期に結果が得られるものではなく、それ以上に aHUS の病態の本質である、発症時の

補体系の活性化を評価する方法ではない。

aHUS における遺伝子変異の浸透率は極めて低く、変異があることが必ずしも疾患発症にはつながらないとされる。むしろ aHUS は補体関連 TMA とも称されるように、発症時の補体機能 (活性化) を評価する方法こそが診断に必要であると考えられる。ちょうどこれは、TTP において ADAMTS13 活性が 10%未満に著減していることが診断に必須であり、先天性 TTP に見られる ADAMTS13 変異の検索は急性期には不要である事に似ている。

現在最も信頼される補体機能検査はヒツジ赤血球溶血試験である。奈良県立医科大において開発され、その後東京大学 aHUS 事務局において引き継がれた。2020 年に aHUS 事務局が名古屋大学に移管されるに伴い、本法も名古屋大学に引き継がれ、症例相談を受けた際に検査結果をフィードバックしてきている。aHUS の症例

が蓄積しており、溶血試験の診断への寄与、臨床的、遺伝学的バックグラウンドとの関連、より診断の感度をあげるための工夫に関して詳察を行う。

また、ヒツジ赤血球溶血試験にも、CFH 変異、抗 CFH 抗体陽性例以外の検出率が低いこと、赤血球のロットごとに溶血度が不安定なことといった欠点が挙げられる。このような点を補うため、マウス血管内皮細胞株を用いた、あらたな補体機能検査を提唱する。

B. 研究方法

ヒツジ赤血球溶血試験において o-72 抗体にて CFH を阻害し、陽性コントロールとしたオリジナル法に加え、エクリズマブを *in vitro* で作用させ、陰性コントロールとした変法をそれぞれの臨床検体に対して行い、診断への感度を評価する。

またヒツジ赤血球の代わりに、安定マウス血管内皮細胞株 X を用いて C3b や C5b-9 といった補体タンパクの沈着を FCM において評価した。

C. 研究結果

2020 年度の 1 年間に、aHUS 事務局に相談のあった 66 例 96 検体の溶血試験を行った。溶血度の平均は 10.7%。既報にて 75%以上を陽性とするが、75% 以上を呈したのは 2 例で、いずれも CFH 変異のある症例であった。赤血球の具合によっては十分な溶血度が見られない物があつた。その際は実験系にエクリズマブを添加し溶血度の変化が大きい際は補体機能以上が示唆された。

細胞 X に付着する C3b 及び C5b-9 の評

価に関し、正常コントロールで C3b/C5b-9 が 22.6%/1.31%, o-72 陽性コントロールで 94.3%/4.23%, CFH 変異で 64.1%/4.8%, C3 変異で 27.3%/3.16%となり、CFH 変異症例でよく鑑別が出来る可能性が示唆された。

D. 考察

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

E. 結論

ヒツジ赤血球溶血試験においては、CFH 変異をよく検出できた。エクリズマブを陰性コントロールとして用いることで、溶血度の低い検体の評価に役立つ可能性が示唆された。

細胞株を用いた新規補体機能検査では、FCM を用いて補体関連タンパクの細胞膜への沈着が FCM を用いて定量的に評価できた。今後症例を蓄積し更なる検証を行う。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文) なし

(和文) なし

(書籍)

- 1) 立俵良崇、加藤規利、丸山彰一.
aHUS プロフェッショナル腎臓内科学. 中外医学社 2020
- 2) 加藤規利、立俵良崇、丸山彰一. 非
典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)の診
断と治療. Thrombosis
Medicine. 10(3):225-231, 2020 先
端医学社
- 3) 立俵良崇、加藤規利、丸山彰一. 非
典型溶血性尿毒症症候群(指定難病
109). Thrombosis
Medicine, 11(1):289-297, 2021 先
端医学社

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

本補体機能検査系を特許出願予定である。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

血液凝固異常症等に関する調査研究

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）は、急性に発症し致死的になりうる血液難病である。国内の疫学、診療について不明な点が多く、臨床個人調査票データを用いた解析を計画する。同時に TTP 診療ガイド改訂準備を進める。

A. 研究目的

TTP の疫学調査を行う。同時に TTP ガイドライン改訂作業を進める。

B. 研究方法

厚生労働省 難病対策課に、TTP 臨床個人調査票のデータ提供を依頼する。TTP ガイドライン改訂作業として、クリニカルクエスチョンを選定する。

（倫理面への配慮）

埼玉医科大学 倫理審査委員会にて承認を得た。

C. 研究結果

臨床個人調査票のデータを入手後、令和 4 年度に解析を行う。TTP ガイドラインのクリニカルクエスチョンとして、抗 CD20 抗体医薬リツキシマブを急性期、難治例、寛解期の再発予防の投与を選んだ。

D. 考察

令和 2 年 9 月に臨床個人調査データの提供を申請し、令和 3 年 2 月に同データ提供が承認された。

E. 結論

難病対策課に TTP 臨床個人調査票のデータを申請して承認された。令和 4 年度に TTP 疫学データの解析と、Minds 形式に基づくガイドライン改訂を行う。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Rondeau E, et al. Efficacy and safety of the long acting C5 inhibitor, ravulizumab, in adult patients with aHUS naïve to complement inhibitor treatment. *Kidney Int* 97, 1287-1296, 2020
- 2) 宮川義隆、非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) の診断と治療、*日内会誌* 109, 1363-1369, 2020
- 3) 宮川義隆、血栓性血小板減少性紫斑に対する分子標的治療、*血栓止血誌* 31, 28-36, 2020

2. 学会発表

- | | |
|--|---|
| <p>1) <u>宮川義隆</u>. 妊娠関連血栓性微小血管症. 第 72 回 日本産婦人科学会学術講演会、生涯教育プログラム</p> <p>2) <u>宮川義隆</u>. 血栓性血小板減少性紫斑病の最新治療. 第 82 回 日本血液学会総会、教育講演</p> | <p>H. 知的財産権の出願・登録状況</p> <p>1. 特許取得
なし</p> <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|--|---|

先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析

研究分担者：小亀浩市 国立循環器病研究センター分子病態部 部長

研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) は、von Willebrand 因子切断酵素 ADAMTS13 の活性著減で発症する難治性疾患である。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) をもたらす。本研究では、日本における先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析を実施し、発症メカニズムの解明とともに、TTP を含む疾患群である血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy; TMA) の診療ガイド作成・改訂に寄与することを目的とする。今年度は、先天性 TTP 疑い患者 1 名を対象として 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、p. R193W 変異と p. R1123H 変異の複合ヘテロ接合体であった。p. R1123H 変異は国内初であるが、デンマークの家系で同定されていた原因変異である。これらの結果は診療ガイドラインの改訂等に役立つ知見となる。さらに今年度は、従来の方法 (ダイレクトシーケンシング法およびゲノム定量 PCR 法) で 2 アレルの原因変異を同定できなかった未解決の 4 家系に対し、新たな方法 (ロングリードシーケンシング法) による解析を開始した。

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潜性遺伝 (劣性遺伝) 様式で発症する TTP を先天性 TTP あるいは Upshaw-Schulman 症候群 (Upshaw-Schulman syndrome; USS) と呼ぶ。我々は、先天性 TTP 患者の ADAMTS13 遺伝子解析、日本人一般住民の ADAMTS13 活性と遺伝子多型の分析、ADAMTS13 結合

タンパク質の探索、ADAMTS13 分子の立体構造解析などに重点をおいて研究を進めてきた。本研究事業では、先天性 TTP 患者の遺伝子解析を継続的に行い、遺伝子異常の特徴や発症メカニズムに関する知見を蓄積することともに、TTP を含む疾患群である血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy; TMA) の診療ガイド作成・改訂に寄与することを目的としている。

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。

今年度は、新たに見出された先天性 TTP 疑い患者 1 名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。さらに、これまでにダイレクトシーケンシング法およびゲノム定量 PCR 法で 2 アレルの原因変異を同定できなかった未解決の 4 家系に対し、新たな方法（ロングリードシーケンシング法）による解析を開始した。

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 (TGTAACGACGCGCCAGT) を、アンチセンス方向プライマーの 5' 側に M13R 配列 (CAGGAAACAGCTATGACC) を、それぞれ付加しておいた。これは、あとのシーケンシング反応を効率的に行うためである。エクソン 7 以外は一般的な PCR 条件で容易に増幅させることができた。エクソン 8 および 26-27 の増幅では反応液に DMSO 1 μ L を添加した。エクソン 7 は GC 塩基の割合が非常に高いため、GC-RICH PCR 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、スプライシングに対する影響等を検討した。なお、エクソンの異常でもスプライシングに影響をおよぼす可能性もあるので、注意深く検討した。変異が先天性TTPの原因として既知であれば、それを原因変異として確定した。未報告の変異であれば、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。

また、これまでにダイレクトシーケンシング法およびゲノム定量PCR法で2アレルの原因変異を同定できなかった4家系の原因変異を探索するため、GridION(ナノポア・テクノロジーズ)によるロングリードシーケンシング解析の条件検討を開始した。

(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

患者(3歳、男児)は、発熱の翌日に眼球結膜黄染が出現したためその翌日に受

診し、血小板減少と総ビリルビン上昇からTMAが疑われた。さらに外注検査によるADAMTS13活性2%、インヒビター陰性から、先天性TTPが疑われた。奈良医大輸血部で詳細な検査を行った結果、ADAMTS13活性0.5%未満、インヒビター陰性であった。父はADAMTS13活性25.0%、インヒビター陰性、母はADAMTS13活性32.0%、インヒビター陰性であったため、患者は先天性TTPの可能性が強く推定されたため、ADAMTS13遺伝子をダイレクト・シーケンシング法で解析した。その結果、患者にc.577C>T(p.Arg193Trp)変異とc.3368G>A(p.Arg1123His)変異がそれぞれヘテロ接合性で同定された。父にc.3368G>A(p.Arg1123His)変異が、母にc.577C>T(p.Arg193Trp)がヘテロ接合性で同定されたため、患者は両変異による複合ヘテロ接合体と推定された。c.577C>T(p.Arg193Trp)これまで11家系に同定された変異であり、c.3368G>A(p.Arg1123His)は国内初であるが、デンマークからの報告例があった。

ロングリードシーケンシング法による解析を進めるにあたり、今回は、従来法で1782 bp欠失を同定していた家系に対し、GridIONを用いたロングリードシーケンシング法を実施した。ADAMTS13遺伝子全体を含む約50 kbの領域を、互いに一部重複する6本のPCR産物で解析した結果、期待通り1782 bp欠失を同定することができた。今後、未解決の4家系に解析対象を広げ、未知の遺伝子異常の同定を試みる。

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。今年度は、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 1 名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、2 種のミスセンス変異であった。いずれも、ADAMTS13 の本来の機能、すなわち VWF 切断活性を発揮できなくなる変異であると考えられる。これまでの知見から考えると、いずれもタンパク質が細胞外に分泌されなくなる変異である可能性が高い。

これまでに解析した結果をまとめると、先天性 TTP 疑い患者 65 名 (58 家系) のうち 61 名 (54 家系) に、複合ヘテロ接合性 (43 家系)あるいはホモ接合性 (11 家系) の原因変異を同定したことになる。変異は 67 種類で、その内訳は、ミスセンス 42 種類 (62.7%)、フレームシフト 11 種類 (16.4%)、ナンセンス 8 種類 (11.9%)、スプライシング異常 4 種類 (6.0%)、構造異常 2 種類 (3.0%) であった。論文発表されている海外の原因変異を含めると全部で約 180 種類となった。

解析した 58 家系のうち 4 家系には、未発見の遺伝子異常が存在する可能性があり、解決すべき課題として残っている。ロング・リード・シーケンシングによる解析を開始したので、今後明らかになること

が期待される。

E. 結論

先天性 TTP 疑い患者 1 名の ADAMTS13 遺伝子をダイレクト・シーケンシング法で解析した結果、両アレル性の異常が同定された。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Keigo Akuta, Kazunobu Kiyomizu, Hirokazu Kashiwagi, Shinji Kunishima, Nobuko Nishiura, Fumiaki Banno, Koichi Kokame, Hisashi Kato, Yuzuru Kanakura, Toshiyuki Miyata, Yoshiaki Tomiyama: Knock-in mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction. J. Thromb. Haemost. 18 (2), 497-509 (2020)
- 2) Keiko Yamato, Yukako Nakajo, Hitomi Yamamoto-Imoto, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Jun C Takahashi, Hiroharu Kataoka, Hiroji Yanamoto: Low-dose activated protein C suppresses the development of cerebral infarction and neurological deficits in mice. Neurosurg. Open 1 (4), okaa014 (2020)
- 3) Kazuya Sakai, Yoshihiro Fujimura, Yasuyuki Nagata, Satoshi Higasa,

- Masato Moriyama, Ayami Isonishi, Mutsuko Konno, Michiko Kajiwar, Yoshiyuki Ogawa, Shigehiko Kaburaki, Tomoko Hara, Koichi Kokame, Toshiyuki Miyata, Kinta Hatakeyama, Masanori Matsumoto: Success and limitations of plasma treatment in pregnant women with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. J. Thromb. Haemost. 18(11):2929-2941 (2020)
- 4) Yuka Eura, Toshiyuki Miyata, Koichi Kokame. Derlin-3 is required for changes in ERAD complex formation under ER stress. Int. J. Mol. Sci. 21(17):6146 (2020)
- 5) Keiko Maruyama, Koichi Kokame. Carrier frequencies of antithrombin, protein C, and protein S deficiency variants estimated using a public database and expression experiments. Res. Pract. Thromb. Haemost. 5(1):179-186 (2021)
- 6) 宮田敏行, 小亀浩市. TMA の遺伝子診断:TTP と aHUS. 日本血栓止血誌, 31 (1):17-27 (2020)
- 2) 山崎泰男, 樋口(江浦)由佳, 小亀浩市. Weibel-Palade 小体にはサブユニット構成の異なる 2 種類の Vacuolar H⁺-ATPase が局在している. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, オンライン, 2020 年 6 月 18-20 日.
- 3) 秋山正志, 樋口(江浦)由佳, 小亀浩市. 新規 ADAMTS13 クリアランス受容体 SIGLEC5 および SIGLEC14 の機能解析. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, オンライン, 2020 年 6 月 18-20 日.
- 4) 三島優一, 秋山正志, 小亀浩市. 肝星細胞における ADAMTS13 の遺伝子発現調節. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, オンライン, 2020 年 6 月 18-20 日.
- 5) 三好剛一, 根木玲子, 吉松淳, 宮田敏行, 丸山慶子, 小亀浩市, 浅原彩子, 奥久人. プロテイン S (PS) 比活性検査および PS-K196E 変異検出 ELISA の PS-K196E 変異予測精度に関する検討. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, オンライン, 2020 年 6 月 18-20 日.
- 6) Shigeki Miyata, Koichi Kokame. Underlying causes greatly influence the development of HIT antibodies and clinical outcomes in patients with heparin-induced thrombocytopenia. The 28th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Online, July 11-15, 2020.
- 7) Keiko Maruyama, Koichi Kokame.

2. 学会発表

- 1) 丸山慶子, 小亀浩市. 公開データベースから抽出したアンチトロンビンおよびプロテインC変異の機能解析. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会, オンライン, 2020 年 6 月 18-20 日.

Carrier frequencies of antithrombin-, protein C-, or protein S-deficient variants estimated using a public database and expression experiments. The 28th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Online, July 11-15, 2020.

- 8) R Neki, T Miyata, K Ohtani, Y Hidaka, K Ida, T Yokouchi-Konishi, A Nakanishi, J Yoshimatsu, K Kokame, N Wakamiya, N Inoue. Alternative complement pathway activation in the severe hypertensive disorders of pregnancy. The 28th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Online, July 11-15, 2020.
- 9) M Osada, K Maruyama, K Kokame, R Denda, K Yamazaki, H Kunieda, M

Hirao, S Madoiwa, M Murata, Y Ikeda, Y Tsukada, T Kikuchi. A hereditary bleeding disorder caused by a novel homozygous mutation of thrombomodulin gene. The 28th Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Online, July 11-15, 2020.

- 10) 斯波真理子, 小林直之, 小亀浩市, 和田郁人. 脂質異常症に対する核酸医薬の開発. 第41回日本臨床薬理学会学術総会, オンライン, 2020年12月3-5日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

特発性血栓症研究グループ 研究総括

分担研究者・サブグループリーダー：横山健次

研究要旨

- 1) 遺伝性血栓性素因による特発性血栓症の疫学研究：アンケートを各施設に送付してPC、PS、ATの検査法、基準値、遺伝子解析施行の有無、および症例の臨床情報を収集、解析した。
- 2) 周産期領域の遺伝性血栓性素因のガイドラインの策定：「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」の作成および発行した。
- 3) 新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立に向けた研究：新生児・小児期における血栓症の臨床像の多様性と後天性因子が明らかになり、遺伝性血栓症の効率的早期診断法の確立や小児血栓症遺伝子パネル解析を進め、個別治療管理を実施し評価している。また、PC 欠乏症の遺伝子解析の有用性を明らかにした。
- 4) 先天性血栓性素因の分子病態解析：特発性血栓症 9 症例の遺伝子解析を行った。AT 欠乏症は 2 症例解析し、全てに SERPINC1 の遺伝子変異を同定した。PC 欠乏症は 1 症例を解析し、PROC に遺伝子変異を同定した。PS 欠乏症は 2 症例解析し、1 症例に PROS1 の遺伝子変異を同定した。
- 5) COVID-19 関連血栓症の全国アンケート調査：COVID-19 関連血栓症について、日本血栓止血学会、日本動脈硬化学会との合同で全国アンケート調査を行い、6000 例の回答を解析した。さらに、その調査結果については当研究班の HP に掲載し、かつ全国の医療者・国民に向けて web セミナーを開催した。

研究分担者

大賀正一・九州大学大学院医学研究院
成長発達医学 教授

松下 正・名古屋大学医学部附属病院
教授

根木玲子・国立研究開発法人国立循環
器病研究センター・ゲノム医療支援部
室長

- 1) PC 欠乏症・異常症、PS 欠乏症・異常症、AT 欠乏症・異常症と診断された症例の診療実態を明らかにする。
- 2) 近年、我が国でも増加している静脈血栓塞栓症 (VTE) のエビデンス収集とともに、その発症要因である遺伝性血栓性素因の診療ガイドの作成を通して、VTE の予知・予防の対策確立を目的としている。
- 3) 新生児・小児期血栓症の包括的な診療アルゴリズム作成のため、遺伝性素因の

A. 研究目的

影響を明らかにし、効率的な早期診断法、治療管理法および予防法を確立する。

4) SERPINC1 変異の中でも血栓発症率が極めて高いミスセンス変異 SERPINC1 c.652A>T p.Ile218Phe (AT I218F)について、AT 強制発現系を用いた分子病態解析を行う。

5) エコノミークラス症候群をはじめとして様々な状況における血栓症について医療者や市民に向けて血栓症予防の啓発を行うことを目的として、COVID-19 関連血栓症について本邦における疫学的調査を行う。

B. 研究方法

1) 一次調査で二次調査に協力していただけると回答のあった医療機関宛にアンケートを送付する。

2) 「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」を作成する。

3) 血栓症発症例の前向きな症例集積より、遺伝性プロテイン C (PC) 欠乏症の効率的早期診断法の確立と、小児血栓症遺伝子パネル解析を進め診断技術を向上させる。また新生児血栓症発症例の全国調査を実施し、治療管理案とモニター法を確立し、新規治療の適応についても情報集積を行う。後天性 PC 欠乏症例の追跡調査を行い PC 活性値の推移とその素因を解析する。

4) 分子病態を明らかにするために、本研究では Recombinant AT I218F (rAT-I218F) 発現ベクターを HEK293 細胞に遺伝子導入し、ウェスタンブロットと免疫細胞化学染色で解析した。

5) COVID-19 で 2020 年 8 月 31 日まで入院した症例についてアンケート調査を実施、アンケートは全国の医療会館 399 施設に

送付した。

C. 研究結果

1) 2014 年 4 月～2019 年 3 月に PC 欠乏症・異常症、PS 欠乏症・異常症、AT 欠乏症・異常症と診断された症例を診療した施設は 59 施設、症例数は各々 96 例 (77 例)、212 例 (149 例)、175 例 (85 例) であった。() 内は血栓症発症症例数を示す。二次調査に協力していただける施設は 54 施設となった。

2) 本診療の手引きは、特発性血栓症研究グループが中心となって国内外の文献や診療ガイドラインなどを参考にし、安全な妊娠分娩と新生児の管理に必要な情報を医療従事者に提供することを目的に、クリニカルクエスチョン (clinical question, CQ) に回答する形で「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」を作成した。

3) 新生児血栓症の全国調査を行い、遺伝子型、診療情報、治療選択および長期予後を解析し、新生児血栓症における PC 欠乏症の遺伝子解析の有用性を明らかにした。当研究班のレジストリ症例に血栓症遺伝子パネル解析を行い、網羅的解析を継続し、同定された変異/バリエーションの病的意義を検討している。PC 欠乏症の追跡調査を行い、診療情報、PC 活性値の推移を解析している。

4) 細胞溶解液と培養上清それぞれに rAT-I218F を検出した。しかし、培養上清中に検出される rAT-I218F のバンドは野生型 rAT (rAT-WT) と比較して中程度の減少を認めるとともに、細胞培養液では rAT-I218F のバンド増強が認められた。こ

の結果より rAT-I218F の分泌障害が示唆されたため、免疫細胞化学染色法で rAT-I218F の細胞内局在を検討した。しかし、rAT-I218F について小胞体およびゴルジ体における異常な細胞内局在を認めなかった。

5) 109 の病院（回収率 27.3%）から、6,082 症例の回答が得られた。血栓症は全体の 1.85%に発症し、軽・中等症以下の症例では 0.59%の発症率であったが、人工呼吸・ECMO 中には 13.2%と高率に発症していた。D-dimer は全体の 72%の症例で測定され、入院中に基準値の 3-8 倍の上昇を認めた症例は 9.5%、8 倍以上の上昇を認めた症例は 7.7%と、多くの症例で血栓傾向が窺われた。血栓症としては深部静脈血栓症・肺血栓塞栓症が最も多かったが、症候性脳梗塞の発症が比較的多く、血栓症の 21%を占めた。血栓症は症状悪化時に多かったが、回復期にもかなりの数が発症していた。抗凝固療法は、COVID-19 入院患者の 14.5%に、多くは D-dimer 高値や症状の悪化のために施行されていた。

D. 考察

1) 一次調査の結果からは実際に遺伝性血栓性素因の患者の診療を行っているのは限られた医療機関であり、研究対象期間に診断された症例数も限られていた。日本人での PC 遺伝子、PS 遺伝子 AT 遺伝子異常のヘテロ接合体の頻度は 0.13%、1.9%、0.15%程度とされている。しかし実際に診断される症例は血栓症を発症した症例、およびその血縁者のみであり、今回の研究対象期間の症例数は遺伝子異常の頻度

から推定される症例数とは大きく異なつたと考えられる。

2) 作成した診療の手引きを、学会、Web 講演会などを通じて広く発信し、安全な妊娠分娩と新生児の管理に必要な情報を医療従事者に提供する。今後、研究がさらに発展し新しい知見が得られれば改訂版を発刊し、診療ガイドラインにする予定である。

3) 症例集積から新生児・小児期血栓症発症例のうち、PC 欠乏症では片アレル変異の患者が PC 欠乏症患者の半数をこえるようになった。全国調査でも、PC 遺伝子変異例 9 名のうち 5 名が片アレル変異であり、PC 遺伝子片アレル変異例は両アレル例と同等に新生児特発性血栓症の発症に関与することが明らかになった。アジア人種の PC 欠乏症に対する個別化医療を目指すために、新生児遺伝子パネルが必要と考えられた。

4) Trans ゴルジ体から分泌小胞が形成されるエキソサイトーシスでの障害や、プロテアソーム系などによる産生された変異 AT の分解亢進などが考えられ、今後より詳細な細胞内挙動解析を行う予定である。

5) 本邦においても、COVID-19 重症患者では血栓症を発症することがあり、ヘパリン類による予防的抗凝固療法が必要であることが推測された。

E. 結論

1) 二次調査の回答を回収中であり、今後結果を解析する。
2) 日本産婦人科・新生児血液学会誌 30(2):5-54, 2021 年に掲載した。

- 3) 本邦からの報告を集積し、小児期発症遺伝性血栓症の臨床像、遺伝子型、治療法および治療予後の検討を行って、個別化医療に向けたエビデンスの集積を進めている。
- 4) 血栓症発症家系に新規 SERPINC1 変異 AT I218F を同定し、その病態分類は type II PE であることを明らかにした。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, Morishita E. Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC. Thromb Res. 2020 Apr;188:115-118. doi: 10.1016/j.thromres.2020.03.009. Epub 2020 Mar 10
- 2) Yamada S, Okumura H, Morishita E, Asakura H. Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation. Blood Coagul Fibrinolysis. 31(4):274-278. 2020 Mar 9. doi: 10.1097/MBC.0000000000000902.
- 3) Arahata M, Takamatsu H, Morishita E, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose A, Asakura H. Coagulation and fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid. Int J Hematol. 2020 Apr;111(4):550-558. doi: 10.1007/s12185-019-02811-x.
- 4) Takako Terakami, Akiko Sekiya, Kenshi Hayashi, Takeshi Suzuki, Hiroshi Furusho, Hidesaku Asakura, Eriko Morishita, Takashi Wada. The effect of direct oral anticoagulants on blood protein C activity. Journal of Wellness and Health Care. 44(1):33-41
- 5) Hiroko Tsuda, Kenta Noguchi, Doyeun Oh, Zsuzsanna Bereczky, Lai H Lee, Dongchon Kang, Luci M S Dusse, Maria das G Carvalho, Eriko Morishita. Racial differences in protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism. Research and practice in thrombosis and haemostasis. 4(8):1295-1300. 2020
- 6) Kazuyuki Saito, Kazuyuki Ishii, Konosuke Furuta, Masaki Kobayashi, Yoshiaki Wada, Eriko Morishita. Recurrent Cerebral Venous Thrombosis Treated with Direct Oral Anticoagulants in a Japanese

- Man with Hereditary Protein C Deficiency. J Stroke Cerebrovasc Dis. 30(1):105320.
- 7) Hirokazu Miyashita, Kazuki Tobita, Eriko Morishita, Shigeru Saito. Ilio-femoral venous thrombosis with hereditary antithrombin deficiency: a case report of rare thrombotic disease and successful treatment with catheter directed thrombolysis. European heart journal. Case reports 5(2): ytaa531.
- 8) Kaori Uchino, Lam Vu Quang, Shohei Mizuno, Tomohiro Horio, Hidesuke Yamamoto, Ichiro Hanamura, Yoshihisa Kodera, J Luis Espinoza, Makoto Onizuka, Koichi Kashiwase, Yasuo Morishima, Takahiro Fukuda, Noriko Doki, Koichi Miyamura, Takehiko Mori, Eriko Morishita, Shinji Nakao, Akiyoshi Takami. Donor UNC-93 Homolog B1 genetic polymorphism predicts survival outcomes after unrelated bone marrow transplantation. Genes and immunity <https://doi.org/10.1038/s41435-021-00122-y>.
- 9) Hisanori Horiuchi, Eriko Morishita, Tetsumei Urano, Kenji Yokoyama. COVID-19-Related Thrombosis in Japan: Final Report of a Questionnaire-Based Survey in 2020. Journal of atherosclerosis and thrombosis 2021 .28(4): 406-416.
- 10) Nagaya S, Araiso Y, Yamaguchi K, Omote Y, Matsui A, Asakura H, Morishita E. Evaluation of Optimal Sample Processing Conditions for Accurate Measurement of Protein S Activity. Ann Clin Lab Sci. 2021; 51(2):3-9.
- 11) 森下英理子. 遺伝性血栓性素因（先天性血液凝固阻止因子欠乏症. 臨床化学. 49: 172-181. 2020
- 12) 森下英理子. 出血傾向の鑑別診断. 日本内科学会雑誌. 109(7):1340-1346. 2020.
- 13) 森下英理子. 直接型抗凝固薬（DOAC）と凝固関連検査 薬剤の検査への影響およびモニタリングへの応用. 臨床検査. 64(12):1394-1401. 2020.
- 14) 森下英理子. 指定難病に見る出血・凝固の異常一病態研究と診療「特発性血栓症（指定難病 327）」. Thrombosis Medicine. 11(1):39-45. 2021
- 15) Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S. Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic Lymphohistiocytosis. Int J Hematol. 2020 Jan;111(1):131-136.
- 16) Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S. Transcutaneous blood gas

- monitoring among neonatal intensive care units in Japan. *Pediatr Int.* 2020 Feb; 62(2):169-174.
- 17) Ohga S, Ishimura M, Eguchi K, Hasegawa I, Ogura H, Utsugisawa T, Kanno H. Diagnosis and management of early-onset thrombophilia/thrombosis: a review. *Rinsho Ketsueki.* 2020;61(5):484-490.
 - 18) Kudo K, Maeda M, Suzuki N, Kanegane H, Ohga S, Ishii E, Shioda Y, Imamura T, Imashuku S, Tsunematsu Y, Endo M, Shimada A, Koga Y, Hashii Y, Noguchi M, Inoue M, Tabuchi K, Morimoto A; Histiocytosis study group of the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology. Nationwide retrospective review of hematopoietic stem cell transplantation in children with refractory Langerhans cell histiocytosis. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):137-148.
 - 19) Nagata H, Sakamoto I, Fukuoka S, Ishikita A, Uike K, Nagatomo Y, Hirata Y, Yamamura K, Ohga S. Portosystemic venous shunt in the patients with Fontan circulation. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):137-148.
 - 20) Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K, Ishimura M, Ohga S. Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jun;8(6):2071-2074.
 - 21) Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S. Transcutaneous blood gas monitoring among neonatal intensive care units in Japan. *Pediatr Int.* 2020 Feb; 62(2):169-174.
 - 22) Motomura C, Matsuzaki H, Odajima H, Oki T, Yasunari Y, Kawano T, Iwata M, Okabe K, Wakatsuki M, Murakami Y, Taba N, Honjo S, Ohga S. Effect of age on exercise-induced bronchoconstriction in children and adolescents with asthma. *J Asthma.* 2020 Dec;7:1-14.
 - 23) Nakashima T, Inoue H, Sakemi Y, Ochiai M, Yamashita H, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan. Trends in Bronchopulmonary Dysplasia Among Extremely Preterm Infants in Japan, 2003-2016. *J Pediatr.* 2021 Mar;230:119-125.
 - 24) Imai T, Nishiyama K, Ueki K, Tanaka T, Kaku Y, Hara T, Ohga S. Involvement of activated cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Clin Transl Immunology.* 2020 Nov 24;9(11):e1212.
 - 25) Egami N, Muta R, Anami A, Koga H.

- Impact of clinical practice guidelines for vacuum-assisted delivery on maternal and neonatal outcomes in Japan: A single-center observational study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Jan;47(1): 167-173.
- 26) Egami N, Muta R, Korematsu T, Koga H. Mild neonatal complications following guideline-compliant vacuum-assisted delivery in Japan: improvements still needed. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Sep 13;1-7.
- 27) Matsuoka R, Furuno K, Nanishi E, Onoyama S, Nagata H, Yamamura K, Sugitani Y, Kuraoka A, Mizuno Y, Sagawa K, Honjo S, Hara T, Ohga S. Delayed Development of Coronary Artery Aneurysm in Patients with Kawasaki Disease Who Were Clinically Responsive to Immunoglobulin. *J Pediatr.* 2020 Dec;227:224-230.
- 28) Yuri Hayakawa, Shogo Tamura, Nobuaki Suzuki, Koya Odaira, Mahiru Tokoro, Fumika Kawashima, Fumihiko Hayakawa, Akira Takagi, Akira Katsumi, Atsuo Suzuki, Shuichi Okamoto, Takeshi Kanematsu, Tadashi Matsushita, and Tetsuhito Kojima. 2021. "Essential role of a carboxyl-terminal α -helix motif in the secretion of coagulation factor XI". *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 19(4): 920-930. DOI: 10.1111/jth.15242
- 29) Takeshi Kanematsu, Nobuaki Suzuki, Shogo Tamura, Atsuo Suzuki, Yuichi Ishikawa, Akira Katsumi, Hitoshi Kiyoi, Hidehiko Saito, Shinji Kunishima, Tetsuhito Kojima, Tadashi Matsushita. 2021. "Myh9 R702C is associated with erythroid abnormality with splenomegaly in mice". *Nagoya Journal of Medical Science.* 83. 75-86. doi:10.18999/nagjms.83.1.752.
- 30) Atsuo Suzuki, Nobuaki Suzuki, Takeshi Kanematsu, Shuichi Okamoto, Shogo Tamura, Ryosuke Kikuchi, Akira Katsumi, Hitoshi Kiyoi, Tetsuhito Kojima, Tadashi Matsushita. 2020. "Impact of variation in reagent combinations for one-stage clotting assay on assay discrepancy in nonsevere haemophilia A". *International journal of laboratory hematology* August:1-8. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13335>
- 31) 鈴木敦夫, 鈴木伸明, 兼松 毅, 岡本修一, 田村彰吾, 篠原 翔, 新井信夫, 菊地良介, 安藤善孝, 小嶋哲人, 松下 正. 2020. 血小板膜糖蛋白質 GPIb 変異体を用いた von Willebrand 因子 活性測定試薬 「INNOVANCE® VWF Ac」の基本性能評価. *日本血栓止血学会誌* 31(4):

- 409-419.
<https://doi.org/10.2491/jjsth.31.409>
- 32) Tokoro M, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Odaira K, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T. 2020. "Aberrant X chromosomal rearrangement through multi-step template switching during sister chromatid formation in a patient with severe hemophilia A". Molecular Genetics and Genomic Medicine. 8(9), e1390.
<https://doi.org/10.1002/mgg3.1390>
- 33) Miyoshi T, Maruyama K, Oku H, Asahara S, Hanada H, Neki R, Yoshimatsu J, Kokame K, Miyata T, Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation, Thromb Res, 185:1-4, 2020. 査読有
- 34) 小林隆夫、森下英理子、津田博子、根木玲子、小嶋哲人、大賀正一、落合正行、安達知子、宮田敏行「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」日本産婦人科・新生児血液学会誌 30(2):5-54, 2021 年
- 35) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T. National survey of confirmed thromboembolism related to female hormones in Japan. J Obstet Gynaecol Res 2020 May 25; 46(7):1173-1182. doi:10.1111/jog.14303.
- 36) Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T. The epidemiological characteristics of thromboembolism related to oral contraceptives in Japan-Results of a national survey. J Obstet Gynecol Res 2021; 47(1):198-207.
<https://doi.org/10.1111/jog.14452>

2. 学会発表

- 1) 森下英理子. 遺伝性血栓性素因の検査をする際に知っておきたいこと. 第 21 回日本検査血液学会学術集会 教育講演. 2020. 7. 11. 金沢 WEB.
- 2) 森下英理子. 知っておきたい妊娠時の凝固・線溶系因子、分子マーカーの変動. 第 21 回日本検査血液学会学術集会共催セミナー. 2020. 7. 11-12. 金沢.
- 3) 森下英理子. COVID-19 と血栓症へパリン等の抗凝固薬使用上の注意点. 「COVID-19 と血栓症」日本血栓止血学会 Web Seminar. 2020. 8. 3. 金沢 WEB
- 4) 森下英理子. 造血器悪性腫瘍の凝固障害. 第 82 回日本血液学会学術集会ランチョンセミナー3-16. 2020. 10. 11. 金沢.
- 5) 森下英理子. 不育症と血栓性素因. 第 6 回日本産婦人科遺伝診療学会学術集会 生殖シンポジウム 2. 2020. 12. 15. 金沢 (WEB).
- 6) 小林隆夫、森下英理子、津田博子、小嶋哲人、根木玲子、宮田敏行、大賀正一、落合正行、安達知子. 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診

- 療の手引き．第 15 回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム 教育講演．2021.2.27. 東京 (WEB)
- 7) Eriko Morishita. COVID-19-associated coagulopathy. 第 28 回日本血管生物医学学術大会シンポジウム. 2021.3.13. WEB
- 8) 辻 明宏, 和田 英夫, 森下英理子, 野上 恵嗣, 荻原 義人, 松下 正, 小嶋 哲人, 大郷 剛, 根木 玲子, 小亀 浩市, 安田 聡, 山田 典一, 関根 章博, 宮田 敏行. 特発性血栓症患者のゲノム情報を用いた層別化による病態解明研究. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 2020.6.18-20. 大阪.
- 9) 森下英理子, 森 広太郎, 丸山 慶子, 小亀 浩一, 長屋 聡美, 今井 湧太, 富樫 朋貴, 大森 健聖, 牧田 友香, 山口 浩一, 目黒 牧子, 廣島 美紀, 堀家 慎一, 朝倉 英策, 渡邊 淳. 性腺モザイクが原因と考えられる遺伝性プロテイン S 欠乏症の一家系. 第 42 回日本血栓止血学会学術集会. 2020.6.18-20. 大阪.
- 10) 小林隆夫, 森下英理子, 津田博子, 杉浦和子, 平井久也, 尾島俊之. 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する全国調査研究および標準周産期管理. 第 42 回日本血栓止血学会「第 9 回プロテイン S 研究会シンポジウム」. 大阪, 2020.6.19
- 11) 落合正行, 市山正子, 園田素史, 石村匡崇, 後藤和人, 堀田多恵子, 康東天, 大賀正一. 新生児血栓症の全国調査
- 第 14 回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム 2020 年 2 月 22 日 東京都
- 12) 落合正行. 総合シンポジウム 小児の診療ガイドライン-Up To Date-新生児に対する鉄剤投与のガイドライン 2017 -新生児領域のガイドラインの展望- 第 123 回日本小児科学会 2020 年 8 月 21~23 日 Web 開催/神戸市
- 13) 石村匡崇, 落合正行, 大賀正一. 新生児の遺伝性血栓症～疫学と病因、治療選択～. 第 30 回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2020 年 12 月 21-26 日 Web 開催/福岡市
- 14) 大賀正一, 落合正行, 石村匡崇, 園田素史, 江上直樹, 市山正子, 堀田多恵子, 内海健, 康東天, 小原収, 石黒精, 西久保敏也, 嶋緑倫, 末延聡一. 特発性血栓症・先天性血栓性素因領域 新生児・乳児特発性血栓症における進捗報告 令和 2 年度第 1 回「血液凝固異常症等に関する研究」森下班会議 2020 年 8 月 28 日 Web 会議
- 15) 落合正行, 石村匡崇, 園田素史, 江上直樹, 市山正子, 大賀正一, 堀田多恵子, 内海 健, 康 東天, 小原 収: 令和 2 年度進捗報告 令和 2 年度第 1 回 難治性疾患等政策研究事業「新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療アルゴリズムの確立」大賀班会議 2020 年 10 月 2 日 Web 開催/福岡市
- 16) 大賀正一, 落合正行, 石村匡崇, 園田素史, 江上直樹, 市山正子, 堀田多恵子, 内海健, 康東天, 小原収, 石黒精,

- 西久保敏也、嶋緑倫、末延聡一:特発性血栓症・先天性血栓性素因領域 新生児・乳児特発性血栓症における進捗報告 令和2年度第2回「血液凝固異常症等に関する研究」森下班会議 2021年1月29日 Web会議
- 17) 落合正行、石村匡崇、園田素史、江上直樹、市山正子、大賀正一、堀田多恵子、内海 健、康 東天、小原 収: 令和2年度進捗報告 令和2年度第2回 難治性疾患等政策研究事業「新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療アルゴリズムの確立」大賀班会議 2021年3月5日 Web開催/福岡市
- 18) 落合正行、倉田浩昭、井上普介、市山正子、藤吉順子、渡部晋一、廣間武彦、中村友彦、大賀正一、ならびに新生児医療連絡会. 本邦NICUにおける経皮ガスモニタリングの使用状況 第22回新生児呼吸療法モニタリングフォーラム 2020年2月13-15日 大町市
- 19) 河島史華、田村彰吾、鈴木伸明、大平晃也、所真昼、早川友梨、早川文彦、岡本修一、兼松毅、高木明、松下正、小嶋哲人. スプライシング異常を引き起こす血液凝固第IX因子遺伝子イントロン1内の深部大挿入変異. 日本血栓止血学会誌. 31(2)p219. 2020
- 20) 早川友梨、田村彰吾、鈴木伸明、大平晃也、所真昼、河島史華、早川文彦、高木明、鈴木敦夫、岡本修一、兼松毅、松下正、小嶋哲人. C末端伸長変異型Factor XIにおける分泌異常の解析. 日本血栓止血学会誌. 31(2)p220. 2020
- 21) 鈴木敦夫、鈴木伸明、兼松毅、岡本修一、田村彰吾、安藤善孝、清井仁、松下正. 凝固一段法による第VIII因子活性測定における試薬の組み合わせに関する検討. 日本血栓止血学会誌. 31(2)p231. 2020
- 22) 鈴木伸明、高橋伸典、鈴木敦夫、田村彰吾、鈴木幸子、服部郁那、垣原美沙樹、小嶋俊久、小川実加、兼松毅、清井仁、小嶋哲人、石黒直樹、松下正. 関節内出血を未発症であるにもかかわらず血友病性関節症を発症した症例の検討. 日本血栓止血学会誌. 31(2):233. 2020
- 23) 兼松毅、鈴木伸明、岡本修一、鈴木敦夫、田村彰吾、早川文彦、小嶋哲人、清井仁、松下正. 当施設における新生児・乳幼児に対するエミシズマブの使用経験. 日本血栓止血学会誌. 31(2):248. 2020
- 24) 所真昼、田村彰吾、鈴木伸明、大平晃也、河島史華、早川友梨、早川文彦、岡本修一、兼松毅、勝見章、松下正、小嶋哲人. Template switchingによるF8エクソン15欠失が認められた重症血友病A症例. 日本血栓止血学会誌. 31(2):265. 2020
- 25) 岡本修一、鈴木伸明、兼松毅、鈴木敦夫、大平晃也、所真昼、早川友梨、田村彰吾、早川文彦、清井仁、小嶋哲人、松下正. Endothelial colony forming cells (ECFCs)樹立法の標準化への試み. 日本血栓止血学会誌. 31(2):284. 2020
- 26) 根木玲子、小西妙、中西篤史、吉松淳

- 「妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査および補体関連遺伝子解析についての検討」第72回日本産科婦人科学会学術講演会、4月、2020年、Web開催
- 27) 根木玲子「妊娠と先天性プロテインS欠乏症」第42回日本血栓止血学会学術集会 第9回プロテインS研究会シンポジウム 7月、2020年、Web開催
- 28) 伊田和史、丸山慶子、辻明宏、宮田敏行、小亀浩市、根木玲子「当院の遺伝カウンセリング外来来談者における遺伝性血栓性素因の遺伝子解析の検討」第44回日本遺伝カウンセリング学会、7月、2020年、Web開催
- 29) Neki R, Miyata T, Ohtani K, Hidaka Y, Ida K, Yokouchi-Konishi T, Nakanishi A, Yoshimatsu J, Kokame K, Wakamiya N, Inoue N: Alternative complement pathway activation in the severe hypertensive disorders of pregnancy, The XXXVIII Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH 2020), July, 2020, Web開催
- 30) Tsuji A, Sekine A, Wada H, Morishita E, Ogihara Y, Nogami K, Kojima T, Matsushita T, Yamada N, Ogo T, Neki R, Kokame K, Yasuda S, Miyata T: Genetic study for idiopathic venous thromboembolism in Japanese using short-read and long-read sequencers: A pilot study of Japanese Group of Idiopathic Thromboembolism, The XXXVIII Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH 2020), July, 2020, Web開催
- 31) 小林隆夫: OC/LEPに関連する静脈血栓症アップデート. 第72回日本産科婦人科学会ランチョンセミナー. 東京 Web講演, 2020.4.25
- 32) 小林隆夫: わが国における女性ホルモン剤に起因した血栓塞栓症アップデート. 第42回日本エンドメトリオージス学会 セミナー2. 大阪 Web講演, 2021.2.13
- 33) 小林隆夫: 遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き. 第15回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム教育講演. 東京 Web講演, 2021.2.27
- 34) 小林隆夫: 遺伝性血栓性素因妊婦の周産期管理ー全国調査結果を踏まえてー. 先天性アンチトロンビン欠乏症セミナー. 東京 Web講演, 2021.3.12
- ### 3. 市民公開講座
- 1) 森下英理子. 新型コロナウイルス感染と血栓症. 世界血栓症デー2020市民公開講座. 2020.6.15. WEB.
- 2) 森下 英理子. COVID-19 と血栓症総合討論と Q&A. 世界血栓症デー2021 医療者向け公開講座. 2020.6.16. WEB.
- 3) 森下英理子. 新型コロナウイルスに立ち向かう～動脈硬化学会からのメッセージ. 日本動脈硬化学会市民公

開講座 2. 2020. 7. 17. WEB.

- 4) 森下英理子. COVID-19 関連血栓症アンケート調査. 厚労科研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班」. 2020. 12. 8. WEB.
- 5) 森下英理子. 全国アンケート調査. 医療従事者向け COVID-19 関連血栓症 WEB セミナー. 2020. 12. 23. 金沢 WEB
- 6) 森下英理子、堀内久徳、浦野哲盟、横山健次. COVID-19 関連凝固異常症—全国アンケート調査 6, 000 例のデータから—. 2021. 2. 27. 東京 (WEB)
- 7) 森下英理子. ITP をめぐる最近の話

題～研究班の成果を分かりやすく解説 市民公開講座開催にあたって. 厚労科研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班」市民公開講座. 2021. 3. 7. 金沢 WEB

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

遺伝性血栓性素因による特発性血栓症の疫学研究

研究代表者：横山健次 東海大学医学部血液腫瘍内科 教授

研究要旨

アンケートを各施設に送付して PC、PS、AT の検査法、基準値、遺伝子解析施行の有無、および各施設で診断された症例の診断時年齢、2019 年 3 月までの血栓症発症の有無、血栓症の部位、治療法、血栓症の再発の有無などの情報を収集、解析する。

A. 研究目的

遺伝性血栓性素因である PC 欠乏症・異常症、PS 欠乏症・異常症、AT 欠乏症・異常症と診断された症例を全国的に収集して、症例数、診療の実態を明らかにする。

B. 研究方法

一次調査で二時調査に協力していただけると回答のあった医療機関宛にアンケートを送付、PC、PS、AT の検査法、基準値、遺伝子解析の有無、および 2014 年 4 月～2019 年 3 月に各施設で診断された症例の臨床情報を収集する。

(倫理面への配慮)

東海大学医学部臨床研究審査委員会の承認を得て施行した。

C. 研究結果

一次調査は日本血液学会教育研修施設 473 施設、および日本静脈学会評議員が在籍している医療機関 183 施設にアンケートを送付した。18 施設 (28%) から回答をいただき、2014 年 4 月～2019 年 3 月に PC 欠乏症・異常症、PS 欠乏

症・異常症、AT 欠乏症・異常症と診断された症例を診療した施設は 59 施設、症例数は各々 96 例 (77 例)、212 例 (149 例)、175 例 (85 例) であった。() 内は血栓症発症症例数を示す。二次調査に協力していただける施設は 54 施設となった。これらの 54 施設にアンケートを送付した。アンケートでは特発性血栓症の調査票に基づいて、診断時の症状、検査所見 (遺伝子解析の有無)、血栓症の誘因、治療、さらに血栓症再発の有無、再発時の抗凝固両方の有無、指定難病申請の有無について尋ねた。現在回答を回収中である。

D. 考察

一次調査の結果からは実際に遺伝性血栓性素因の患者の診療を行っているのは限られた医療機関であり、研究対象期間に診断された症例数も限られていた。日本人での PC 遺伝子、PS 遺伝子 AT 遺伝子異常のヘテロ接合体の頻度は 0.13%、1.9%、0.15%程度とされている。しかし実際に診断される症例は血栓症を発症した症例、およびその血縁

者のみであり、今回の研究対象期間の症例数は遺伝子異常の頻度から推定される症例数とは大きく異なつたと考えられる。また過去の研究結果から1年間に発症する成人患者数は500人と推定されており、今回の調査対象となる症例数は過去の研究結果から推定される症例数と比較しても少ない。アンケート回収率が低かつたこと、またアンケートを送付する施設をさらに広げる必要があつたことが原因と考えられる。

E. 結論

二次調査の回答を回収中であり、今後結果を解析する。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

該当なし

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

新生児・小児期における遺伝性血栓症の診断と治療法の確立に向けた研究

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

研究要旨

本研究班において私たちは、新生児・小児血栓症の包括的な診療アルゴリズムの確立を目指し「特発性血栓症（小児領域）診療ガイドの策定」を分担している。分担者らの研究施設では、新生児・小児期における血栓症の症例を前向きに集積し、遺伝子検査と診療を行っている。これまでの症例登録より、臨床像の多様性と後天性因子が明らかになり、遺伝性血栓症の効率的早期診断法の確立や小児血栓症遺伝子パネル解析を進め、個別治療管理を実施し評価している。また、全国の周産期母子医療センターと新生児・小児診療施設を対象に、新生児期血栓症の全国調査を実施し、診療情報、遺伝子型、治療選択および長期予後を検討し、PC 欠乏症の遺伝子解析の有用性を明らかにした。当研究施設で遺伝子変異が検出されなかった後天性プロテインC欠乏症については、後天性因子と活性値の推移を追跡調査した。今後治療管理案とモニター法を確立、新規治療法の保険的に向けた診療アルゴリズムの作成を目指す。

A. 研究目的

新生児期および小児期発症の特発性血栓症は稀少であるが、集中治療や周術期医療の進歩、および疾患認知の普及に伴い増加傾向にある。私たちはこれまで、小児

遺伝性血栓症の登録システムを構築し、成人までに発症した国内のプロテイン C (PC)、プロテイン S (PS) ならびにアンチトロンビン (AT) 欠乏症患者の調査を行い、血栓症は新生児期と Adolescents and

Young Adults (AYA) 世代の発症が多いこと、新生児～乳児期発症例はPC 欠乏症が多く、AYA 世代発症例にはPS と AT 欠乏症が多いこと、さらに胎児水頭症、頭蓋内出血、電撃性紫斑病など成人とは異なる発症様式を呈することを報告し、年齢別にPC、PS および AT 活性値の基準範囲を設定した。さらに新生児期のPC と PS 活性値の基準範囲を設定し、PC 活性値と PC /PS 活性比が遺伝子変異の診断に有用であることを示した。本研究班で私たちは、新生児・小児血栓症の包括的な診療アルゴリズムの確立を目指して、「特発性血栓症（小児領域）診療ガイドの策定」を分担する。

B. 研究方法

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

C. 研究結果

1) 新生児血栓症の全国調査

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

計された。二次調査では77名より個別の診療経過と高次医療(移植医療、特異的因子補充療法、新規抗凝固療法等)に関する情報が得られた。頭蓋内血栓塞栓症もしくは出血は66名(85.7%)、電撃性紫斑病は5名(6.5%)であった。多くの患者は日齢3以内に血栓症を発症した。4名(5.2%)が死亡し、14名(18.2%)が後遺症をもち生存した。12名で遺伝子検査が行われ、9名(75.0%)にPC 遺伝子変異が検出された。両アレル変異が4名、片アレルは5名であった。遺伝性PC 欠乏症と確定された9名とそれ以外の68名で臨床像を比較した。前者で電撃性紫斑病(両アレル例のみ $p<0.01$)、硝子体出血($p<0.01$)、家族歴($p=0.01$) および死亡もしくは後遺症あり生存($p=0.03$)が後者と比較して多かった。中心静脈カテーテルの留置例は両群に有意差は認めなかった。両アレル変異例2名で活性型PC 製剤が投与された。変異生存例8名はいずれも継続的な補充療法は受けなかった。

2) 新生児血栓症遺伝子解析パネル検査

新生児ではPC、PS および AT の活性値から各因子欠乏による遺伝性血栓症を診断することが困難なため、効率的な遺伝子診断が必要となる。公益財団法人かずさDNA 研究所(小原 収 先生)の協力で、PC (PROC)、PS (PROS1) およびアンチトロンビン (SERPINC1) を含む遺伝子解析パネル作成し、PC (PROC)、PS (PROS1) および AT 遺伝子 (SERPINC1) で Sanger 法同等の検出精度が得られている。

現在レジストリでパネル検査の同意が得られた検体より解析を進めている。

3) PC 欠乏症の追跡調査

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

D. 考察

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

新生児期に血栓症を発症した後天性 PC 欠乏症の多くが、PC 活性値の上昇は緩徐なため、活性値上昇の確認が必要である。

E. 結論

本邦からの報告を集積し、小児期発症遺伝性血栓症の臨床像、遺伝子型、治療および治療予後の検討を行って、個別化医療に向けたエビデンスの集積を進めている。また、遺伝性 PC 欠乏症に対する肝移植

例、DOAC やプロトロンビン複合体濃縮製剤など新規薬剤の使用例には、長期経過観察が必要である。これらの情報をもとに、EBM 普及推進事業 (Minds) に基づいた診療ガイドラインの策定を進めている。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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

- Tsunematsu Y, Endo M, Shimada A, Koga Y, Hashii Y, Noguchi M, Inoue M, Tabuchi K, Morimoto A; Histiocytosis study group of the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology. Nationwide retrospective review of hematopoietic stem cell transplantation in children with refractory Langerhans cell histiocytosis. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):137-148.
- 5) Nagata H, Sakamoto I, Fukuoka S, Ishikita A, Uike K, Nagatomo Y, Hirata Y, Yamamura K, Ohga S. Portosystemic venous shunt in the patients with Fontan circulation. *Int J Hematol.* 2020 Jan;111(1):137-148.
- 6) Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K, Ishimura M, Ohga S. Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2020 Jun;8(6):2071-2074.
- 7) Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S. Transcutaneous blood gas monitoring among neonatal intensive care units in Japan. *Pediatr Int.* 2020 Feb; 62(2):169-174.
- 8) Motomura C, Matsuzaki H, Odajima H, Oki T, Yasunari Y, Kawano T, Iwata M, Okabe K, Wakatsuki M, Murakami Y, Taba N, Honjo S, Ohga S. Effect of age on exercise-induced bronchoconstriction in children and adolescents with asthma. *J Asthma.* 2020 Dec;7:1-14.
- 9) Nakashima T, Inoue H, Sakemi Y, Ochiai M, Yamashita H, Ohga S. Neonatal Research Network of Japan. Trends in Bronchopulmonary Dysplasia Among Extremely Preterm Infants in Japan, 2003-2016. *J Pediatr.* 2021 Mar;230:119-125.
- 10) Imai T, Nishiyama K, Ueki K, Tanaka T, Kaku Y, Hara T, Ohga S. Involvement of activated cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells in Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Clin Transl Immunology.* 2020 Nov 24;9(11):e1212.
- 11) Egami N, Muta R, Anami A, Koga H. Impact of clinical practice guidelines for vacuum-assisted delivery on maternal and neonatal outcomes in Japan: A single-center observational study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Jan;47(1): 167-173.
- 12) Egami N, Muta R, Korematsu T, Koga H. Mild neonatal complications following guideline-compliant vacuum-assisted delivery in Japan: improvements still needed. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020

Sep 13;1-7.

- 13) Matsuoka R, Furuno K, Nanishi E, Onoyama S, Nagata H, Yamamura K, Sugitani Y, Kuraoka A, Mizuno Y, Sagawa K, Honjo S, Hara T, Ohga S. Delayed Development of Coronary Artery Aneurysm in Patients with Kawasaki Disease Who Were Clinically Responsive to Immunoglobulin. J Pediatr. 2020 Dec;227:224-230.

2. 学会発表

- 1) 落合正行、市山正子、園田素史、石村匡崇、後藤和人、堀田多恵子、康東天、大賀正一. 新生児血栓症の全国調査 第14回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム 2020年2月22日 東京都
- 2) 落合正行. 総合シンポジウム 小児の診療ガイドライン—Up To Date—新生児に対する鉄剤投与のガイドライン 2017—新生児領域のガイドラインの展望— 第123回日本小児科学会 2020年8月21~23日 Web開催/神戸市
- 3) 石村匡崇、落合正行、大賀正一. 新生児の遺伝性血栓症～疫学と病因、治療選択～. 第30回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会 2020年12月21-26日 Web開催/福岡市
- 4) 大賀正一、落合正行、石村匡崇、園田素史、江上直樹、市山正子、堀田多恵子、内海健、康東天、小原収、石黒精、西久保敏也、嶋緑倫、末延聡一:特発性血栓症・先天性血栓性素因領域 新生児・乳児特発性血栓症における進捗報告 令和2年度第1回「血液凝固異常症等に関する研究」森下班会議 2020年8月28日 Web会議
- 5) 落合正行、石村匡崇、園田素史、江上直樹、市山正子、大賀正一、堀田多恵子、内海健、康東天、小原収: 令和2年度進捗報告 令和2年度第1回 難治性疾患等政策研究事業「新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療アルゴリズムの確立」大賀班会議 2020年10月2日 Web開催/福岡市
- 6) 大賀正一、落合正行、石村匡崇、園田素史、江上直樹、市山正子、堀田多恵子、内海健、康東天、小原収、石黒精、西久保敏也、嶋緑倫、末延聡一:特発性血栓症・先天性血栓性素因領域 新生児・乳児特発性血栓症における進捗報告 令和2年度第2回「血液凝固異常症等に関する研究」森下班会議 2021年1月29日 Web会議
- 7) 落合正行、石村匡崇、園田素史、江上直樹、市山正子、大賀正一、堀田多恵子、内海健、康東天、小原収: 令和2年度進捗報告 令和2年度第2回 難治性疾患等政策研究事業「新生児から成人までに発症する特発性血栓症の診療アルゴリズムの確立」大賀班会議 2021年3月5日 Web開催/福岡市
- 8) 落合正行、倉田浩昭、井上普介、市山正子、藤吉順子、渡部晋一、廣間武彦、中村友彦、大賀正一、ならびに新生児医療連絡会. 本邦NICUにおける経皮ガスモニタリングの使用状況 第22

回新生児呼吸療法モニタリングフォーラム 2020 年 2 月 13-15 日 大町市

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出現・登録状況

1. 特許取得

なし

先天性血栓性素因の分子病態解析

研究分担者：松下 正 名古屋大学医学部附属病院 教授

研究要旨

2020 年度は特発性血栓症 9 症例の遺伝子解析を行った。AT 欠乏症は 2 症例解析し、全てに SERPINC1 の遺伝子変異を同定した。PC 欠乏症は 1 症例を解析し、PROC に遺伝子変異を同定した。PS 欠乏症は 2 症例解析し、1 症例に PROS1 の遺伝子変異を同定した。AT 欠乏症に同定した遺伝子変異 SERPINC1 c.652A>T p. Ile218Phe (AT I218F) は極めて強い血栓性素因であり、その分子病態について細胞強制発現系を用いた解析を進めた。臨床検査データおよび強制発現実験の結果から、AT I218F の病態分類は type II PE であることを明らかにした。今後、生化学的特性を含めてその分子病態を明らかにする。

A. 研究目的

先天性アンチトロンビン (AT) 欠乏症・異常症は常染色体優性遺伝疾患で、大部分はヘテロ接合体として認められる。患者の 80~90%は、50~60 歳までに血栓症を発症し、外傷、手術、妊娠、経口避妊薬の服用などをきっかけとすることが多い。抗原量低下による AT 欠乏症は Type I として分類され、AT 分子異常症は Type II に分類される。我々はこれまでに 21 例の AT 欠乏症・異常症における AT 遺伝子 (SERPINC1) の遺伝子変異解析を行い、8 つの新規変異を含む 19 の SERPINC1 変異を同定した (Tamura S et al. Thromb Res. 2019)。今回、これらの SERPINC1 変異の中でも血栓発症率が極めて高いミセンス変異 SERPINC1 c.652A>T p. Ile218Phe (AT I218F) について、AT 強制発現系を用いた分子病態解析に着手したので、その途中経過を報告する。

B. 研究方法

AT I218F が同定された家系の 15 名に対して血栓症既往歴の調査と遺伝子解析を行ったところ、AT I218F 保有者 6 名 (男性 3 名、女性 3 名) の全員に血栓症発症の既往を認めた。

本変異保有者の AT 活性値は 32.4 ~ 51.6 %、AT 抗原量は 51.1 ~ 71.0 %であり、本変異の病型は暫定的に Type II-PE (pleiotropic effect) と判断した。その分子病態を明らかにするために、本研究では Recombinant AT I218F (rAT-I218F) 発現ベクターを HEK293 細胞に遺伝子導入し、ウェスタンブロットと免疫細胞化学染色で解析した。

C. 研究結果

rAT-I218F 発現ベクターを HEK293 細胞に遺伝子導入し、ウェスタンブロットで解析したところ、細胞溶解液と培養上清それぞれに rAT-I218F を検出した。しか

し、培養上清中に検出される rAT-I218F のバンドは野生型 rAT (rAT-WT) と比較して中程度の減少を認めるとともに、細胞培養液では rAT-I218F のバンド増強が認められた。この結果より rAT-I218F の分泌障害が示唆されたため、免疫細胞化学染色法で rAT-I218F の細胞内局在を検討した。しかし、rAT-I218F について小胞体およびゴルジ体における異常な細胞内局在を認めなかった。

D. 考察

AT I218F は家系内での多発する血栓症が特徴的であり、極めて強い血栓性素因であると考えられる。強制発現系による細胞学的アプローチでは AT I218F の分泌障害が示唆されるものの、小胞体-ゴルジ体輸送における分子挙動の異常は認められなかった。Trans ゴルジ体から分泌小胞が形成されるエキソサイトーシスでの障害や、プロテアソーム系などによる産生された変異 AT の分解亢進などが考えられ、今後より詳細な細胞内挙動解析を行う予定である。一方、AT I218F の強い血栓発症性は分泌異常のみでは説明することが難しく、分泌異常とともにセリンプロテアーゼ阻害活性の異常を併せ持つような二面的分子病態が予想される。今後は上記の細胞内挙動解析とともに、AT I218F 分子の生化学特性解析を実施する。

E. 結論

血栓症発症家系に新規 SERPINC1 変異 AT I218F を同定し、その病態分類は type II PE であることを明らかにした。今後、生化学的特性を含めてその分子病態を明

らかにする。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yuri Hayakawa, Shogo Tamura, Nobuaki Suzuki, Koya Odaira, Mahiru Tokoro, Fumika Kawashima, Fumihiko Hayakawa, Akira Takagi, Akira Katsumi, Atsuo Suzuki, Shuichi Okamoto, Takeshi Kanematsu, Tadashi Matsushita, and Tetsuhito Kojima. 2021. "Essential role of a carboxyl-terminal α -helix motif in the secretion of coagulation factor XI". *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 19(4): 920-930. DOI: 10.1111/jth.15242
- 2) Takeshi Kanematsu, Nobuaki Suzuki, Shogo Tamura, Atsuo Suzuki, Yuichi Ishikawa, Akira Katsumi, Hitoshi Kiyoi, Hidehiko Saito, Shinji Kunishima, Tetsuhito Kojima, Tadashi Matsushita. 2021. "Myh9 R702C is associated with erythroid abnormality with splenomegaly in mice". *Nagoya Journal of Medical Science*. 83. 75-86. doi:10.18999/nagjms.83.1.752.
- 3) Atsuo Suzuki, Nobuaki Suzuki, Takeshi Kanematsu, Shuichi Okamoto, Shogo Tamura, Ryosuke Kikuchi, Akira Katsumi, Hitoshi

- Kiyoi, Tetsuhito Kojima, Tadashi Matsushita. 2020. "Impact of variation in reagent combinations for one-stage clotting assay on assay discrepancy in nonsevere haemophilia A". International journal of laboratory hematology August:1-8.
<https://doi.org/10.1111/ijlh.13335>
- 4) 鈴木敦夫, 鈴木伸明, 兼松 毅, 岡本修一, 田村彰吾, 篠原 翔, 新井信夫, 菊地良介, 安藤善孝, 小嶋哲人, 松下正. 2020. "血小板膜糖蛋白質 GPIb 変異体を用いた von Willebrand 因子活性測定試薬「INNOVANCE® VWF Ac」の基本性能評価". 日本血栓止血学会誌 31(4): 409-419.
<https://doi.org/10.2491/jjsth.31.409>
 - 5) Tokoro M, Tamura S, Suzuki N, Kakiyama M, Hattori Y, Odaira K, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, Matsushita T, Kojima T. 2020. "Aberrant X chromosomal rearrangement through multi-step template switching during sister chromatid formation in a patient with severe hemophilia A". Molecular Genetics and Genomic Medicine. 8(9): e1390.
<https://doi.org/10.1002/mgg3.1390>
- ## 2. 学会発表
- 1) 河島史華, 田村彰吾, 鈴木伸明, 大平晃也, 所真昼, 早川友梨, 早川文彦, 岡本修一, 兼松毅, 高木明, 松下正, 小嶋哲人. スプライシング異常を引き起こす血液凝固第 IX 因子遺伝子イントロン 1 内の深部大挿入変異. 日本血栓止血学会誌. 31(2):219. 2020
 - 2) 早川友梨, 田村彰吾, 鈴木伸明, 大平晃也, 所真昼, 河島史華, 早川文彦, 高木明, 鈴木敦夫, 岡本修一, 兼松毅, 松下正, 小嶋哲人. C 末端伸長変異型 Factor XI における分泌異常の解析. 日本血栓止血学会誌. 31(2):220. 2020
 - 3) 鈴木敦夫, 鈴木伸明, 兼松毅, 岡本修一, 田村彰吾, 安藤善孝, 清井仁, 松下正. 凝固一段法による第 VIII 因子活性測定における試薬の組み合わせに関する検討. 日本血栓止血学会誌. 31(2):231. 2020
 - 4) 鈴木伸明, 高橋伸典, 鈴木敦夫, 田村彰吾, 鈴木幸子, 服部郁那, 垣原美沙樹, 小嶋俊久, 小川実加, 兼松毅, 清井仁, 小嶋哲人, 石黒直樹, 松下正. 関節内出血を未発症であるにもかかわらず血友病性関節症を発症した症例の検討. 日本血栓止血学会誌. 31(2):233. 2020
 - 5) 兼松毅, 鈴木伸明, 岡本修一, 鈴木敦夫, 田村彰吾, 早川文彦, 小嶋哲人, 清井仁, 松下正. 当施設における新生児・乳幼児に対するエミシズマブの使用経験. 日本血栓止血学会誌. 31(2):248. 2020
 - 6) 所真昼, 田村彰吾, 鈴木伸明, 大平晃也, 河島史華, 早川友梨, 早川文彦,

- | | |
|--|---|
| <p>岡本修一、兼松毅、勝見章、<u>松下正</u>、
小嶋哲人. Template switching による F8 エクソン 15 欠失が認められた重症血友病 A 症例. 日本血栓止血学会誌. 31(2):265. 2020</p> <p>7) 岡本修一、鈴木伸明、兼松毅、鈴木敦夫、大平晃也、所真昼、早川友梨、田村彰吾、早川文彦、清井仁、小嶋哲人、<u>松下正</u>. Endothelial colony forming cells (ECFCs)樹立法の標準化への試み. 日本血栓止血学会誌. 31(2):284. 2020</p> | <p>H. 知的財産権の出願・登録状況</p> <p>1. 特許取得
なし</p> <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|--|---|

**「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」の策定
特に CQ6～CQ8 の妊娠中および分娩時の管理を中心に**

研究分担者：根木玲子 国立循環器病研究センターゲノム医療支援部 室長・
産婦人科部

研究要旨

「遺伝性血栓性素因」とは、生まれつき血栓が生じやすい体質的要因をいう。わが国において頻度が高い遺伝性血栓性素因としては、血液凝固制御因子であるアンチトロンビン (AT)、プロテイン C (PC)、プロテイン S (PS) の遺伝的な欠乏症が知られており、若年性に重篤な血栓症を発症することもある。

近年、我が国でも増加している静脈血栓塞栓症 (VTE) のエビデンス収集とともに、その発症要因である遺伝性血栓性素因の診療の手引きの作成を通して、VTE の予知・予防の対策確立を目的としている。本診療の手引きは、特発性血栓症研究グループが中心となって国内外の文献や診療ガイドラインなどを参考にし、安全な妊娠分娩と新生児の管理に必要な情報を医療従事者に提供することを目的に、クリニカルクエスチョン (clinical question, CQ) に回答する形で「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」を作成。日本産婦人科・新生児血液学会誌 30(2)号、p5-54, 2021 年に掲載した。その中で、分担研究者は以下の CQ である「CQ6 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症したら？」の一部、「CQ7 遺伝性血栓性素因保有妊婦の妊娠中の管理は？」および「CQ8 遺伝性血栓性素因保有妊婦の分娩時の管理は？」について担当した。

A. 研究目的

近年、我が国でも増加している静脈血栓塞栓症 (VTE) のエビデンス収集とともに、その発症要因である遺伝性血栓性素因の診療ガイドの作成を通して、VTE の予知・予防の対策確立を目的としている。

B. 研究方法

本診療の手引きは、特発性血栓症研究グループが中心となって国内外の文献や診療ガイドラインなどを参考にし、安全な妊娠分娩と新生児の管理に必要な情報を医療従事者に提供することを目的に、ク

リニカルクエスチョン (clinical question, CQ) に回答する形で「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」を作成した。血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関しては、現在でも十分なエビデンスに乏しいため、今回は「診療の手引き」として初版を発刊することにした。なお CQ は以下の内容で構成されている。

CQ1 遺伝性血栓性素因とは？

CQ2 アンチトロンビン (AT) 欠乏症とは？

CQ3 プロテイン C (PC) 欠乏症とは？

- CQ4 プロテイン S (PS) 欠乏症とは？
CQ5 妊娠前の遺伝性血栓性素因スクリーニングの必要性は？
CQ6 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症したら？
CQ7 遺伝性血栓性素因保有妊婦の妊娠中の管理は？
CQ8 遺伝性血栓性素因保有妊婦の分娩時の管理は？
CQ9 遺伝性血栓性素因保有妊婦の分娩後の管理は？
CQ10 遺伝性血栓性素因保有妊婦から出生した新生児の管理は？
CQ11 遺伝性血栓性素因保有女性に対する不育治療の注意点は？

各 CQ を分担して作成。それらをまとめて全体の用語の統一、遺伝学的用語のチェック、また表現に齟齬が無いように確認作業を密に連携しながら実施し作成した。

Answer の推奨レベル

- A : (実施すること等が) 強く勧められる
B : (実施すること等が) 勧められる
C : (実施すること等が) 考慮される
(考慮の対象となるが、必ずしも実施が勧められているわけではない)

(倫理面への配慮)
該当せず。

C. 研究結果

研究分担者の担当部分は、「CQ6 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症したら？」の一部、
「CQ7 遺伝性血栓性素因保有妊婦の妊娠中の管理は？」および「CQ8 遺伝性血

栓性素因保有妊婦の分娩時の管理は？」であった。

以下にその概要を述べる。特に「CQ6 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症したら？」については、国立循環器病研究センター産婦人科部で実施している未分画ヘパリン (UFH) を用いた治療量抗凝固療法を紹介した (Neki et al, Int J Hematol, 2019)。

CQ6「妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症したら？」に対する Answer は以下の様に構成されている。

Answer

1. 治療量の未分画ヘパリンによる抗凝固療法を推奨する。(A)
2. 保存療法として、下肢の圧迫治療 (弾性ストッキング着用など) を提案するが、初期治療において抗凝固療法が行えた場合は、安静より早期歩行を推奨する。(B)
3. ワルファリンによる抗凝固療法は、原則として推奨しない。(A)
4. 合成 Xa 阻害剤であるフォンダパリヌクス皮下注射を提案する。(B)
5. 直接経口抗凝固薬 (DOAC) は、原則として推奨しない。(A)
6. 肺血栓塞栓症の場合、重篤な症例では組織プラスミノゲンアクチベータによる血栓溶解療法を提案する。(B)
7. 静脈血栓塞栓症 (VTE) に対するカテーテル治療 (カテーテル血栓溶解療法・血栓吸引療法など) を検討する。(C)
8. 一時留置型もしくは回収可能型下大静脈フィルターを留置し、後にこれを可能な限り抜去することを検討する。(C)
9. 重篤な症例では、外科的血栓摘出術を

検討する。(C)

10. VTE 治療後でも VTE リスクが持続する場合は、在宅ヘパリン自己注射による予防を分娩前まで続行することを推奨する。(A)

11. 深部静脈血栓症が軽快した後でも、妊娠中は弾性ストッキング着用、十分な水分補給、下肢運動を行うことを勧める。

(B)

12. 下肢超音波検査、血液凝固線溶系検査 (D ダイマーなど)、血小板数、肝機能検査などは定期的に施行し、評価することを推奨する。(A)

〈解説〉

静脈血栓塞栓症 (VTE) の治療に関しては内外のガイドライン等を参考にして解説するが、妊婦の場合は種々の制約があるのでその都度記載する。なお、本項では遺伝性血栓性素因 (以下、血栓性素因) の有無にかかわらず、妊婦に対する一般的な治療について解説する。

VTE 発症時の対策として、深部静脈血栓症 (DVT) のみで肺血栓塞栓症 (PTE) を合併していない場合は、保存療法と薬物療法を行う。保存療法では、長時間の立位・座位を避け、下肢の安静と圧迫療法を行う。急性期で下肢の腫脹が著しい場合は弾性包帯を使い、症状がやや軽快したところで弾性ストッキングを着用する。最近抗凝固療法が行えた場合は、安静より早期歩行が推奨されるようになってきた。

薬物療法には抗凝固療法と血栓溶解療法がある。治療のゴールドスタンダードは抗凝固療法であり、治療量の未分画ヘ

パリン (以下、ヘパリン) 投与が基本である。わが国のガイドラインでは以下の様に推奨されている。すなわち、ヘパリンは初回 5,000 単位 (ヘパリンナトリウム 5mL) 静注後、時間あたり 18 単位/kg の持続点滴静注を開始する。抗 Xa 因子ヘパリン濃度が 0.3 ~ 0.7 単位/mL に相当する治療域、すなわち 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) が対照値の 1.5 ~ 2.5 倍となるように調節する。初回投与 6 時間後に APTT の測定を行い、変更があればさらに 6 時間後に APTT を測定する。連続 2 回の APTT が治療域となれば、1 日 1 回の APTT 測定に変更する。しかし、妊娠中の抗凝固療法はその管理に難渋することが多い。そこで研究分担者らは Williams Obstetrics 23rd Edition 7) を改変し、日本人向けに控えめの投与量で調整している (「診療の手引き Q&A」Table 1) (Neki et al, Int J Hematol, 2019)。すなわち、ヘパリンを 80 単位/kg でローディングの後に、ヘパリン持続点滴静注を 15 単位/kg/時間で開始する。ヘパリン持続点滴静注開始 4 時間後に APTT を測定し、APTT 値を見ながら流量を調整し、必要あれば点滴の中止やヘパリンの静脈注射で介入し、再検を繰り返しながら目標の APTT 値になるよう調整する。通常量を静注したヘパリンの半減期は約 1 時間である。通常、APTT が正常の 1.5~2.5 倍となるように適宜調節するとされているが、この根拠は強固ではない。また APTT 試薬は標準化されておらず多様性があり、個々の凝固因子に対する反応性が異なるため、それぞれの施設での試薬の感受性を確認する必要がある。妊婦の場合、ヘパ

リン投与量が 30,000 単位/日を超えること
もしばしば経験する。この理由は、妊娠
中に増加する凝固因子が、ヘパリンによ
る APTT のコントロールを難しくしてい
るからである。特に第Ⅷ因子の著明な増加
により APTT の延長が妨げられるため、ヘ
パリンを増量してもなかなか APTT が延長
しないことが主因である。血栓がコント
ロールされている場合は、ヘパリン投与
量は概ね 30,000 単位/日までとし、APTT
の延長を深追いしないことも考慮する。
以上の部分を担当した。

CQ7「遺伝性血栓性素因保有妊婦の妊娠中
の管理は？」については、実臨床に即して
さらに細かく 4 つの場面を想定し CQ と
Answer とした。

CQ7-1 現妊娠で静脈血栓塞栓症 (VTE) が
発症した場合は？

Answer

治療量の未分画ヘパリン (以下、ヘパ
リン) を用いた抗凝固療法を開始すること
を推奨する。(A)

〈解説〉「CQ6. 妊娠中に静脈血栓塞栓症
が発症したら？」および「CQ7-4」を参照
のこと。

CQ7-2 VTE の既往があり妊娠前から抗凝
固療法施行中の場合は？

Answer

妊娠極初期 (妊娠 6 週より前) にワル
ファリンまたは直接経口抗凝固薬から治療
量のヘパリンに変更することを推奨する。
(B)

〈解説〉

「CQ6. 妊娠中に静脈血栓塞栓症が発症
したら？」および「CQ7-4」を参照のこと。

CQ7-3 VTE の既往があるが妊娠前に抗凝
固療法を実施していない場合は？

Answer

妊娠中は予防量のヘパリン投与を提案
する。AT 欠乏症はヘパリンに加えて AT 製
剤の補充を提案する。(B)

〈解説〉

VTE 既往は妊娠関連の VTE リスクが上
がるため、PC 欠乏症および PS 欠乏症はヘ
パリンを用いた予防量の抗凝固療法を行
う必要があると考えられる。通常は、ヘパ
リンカルシウム 5,000 単位 0.2mL)、1 日
2 回の皮下注射 (1 日量 10,000 単位) を
行う。

AT 欠乏症は、ヘパリンに加えて AT 活性
値が 70%以上を維持するように AT 製剤を
補充する。AT 欠乏症に関しては「CQ7-4」
を参照のこと。

CQ7-4 VTE の既往がない場合の妊娠中の
管理は？

Answer

妊娠中の抗凝固療法は、遺伝性血栓性
素因ごとに考慮する。PS 欠乏症と PC 欠乏
症では、妊娠中は慎重に経過観察とする
が、AT 欠乏症では抗凝固療法を行うこと
を考慮する。(C)

〈解説〉

まず妊娠中の遺伝性血栓性素因 (以下、
血栓性素因) の診断には注意を要する。妊
娠中はエストロゲンの影響で PS 活性値が
妊娠初期から低下する。したがって、妊娠
中に PS 活性値の低値をもって、ただちに

PS 欠乏症とは診断できない。AT 欠乏症や PC 欠乏症の頻度は欧米人と日本人でほとんど差はないが、PS 欠乏症は日本人で高頻度であり、血栓性素因には人種差が存在することが示唆される（「診療の手引き Q&A」Table 1）（「診療の手引き Q&A」Table 2）。また、遺伝子多型からみた場合、日本人固有の PS 欠乏症である PS Tokushima（PS p.K196E）のヘテロ接合性保有者が一般集団 3,651 名中 66 名（1.8%）存在すると報告されている。PS p.K196E 保有者では、PS 活性のみが低下し、遊離型 PS 抗原量と総 PS 抗原量は正常（II 型欠乏症）となり、日本人に PS 欠乏症の頻度が高い要因の一つと考えられる。「診療の手引き Q&A」Table 2 にこれらの非妊娠時での深部静脈血栓症（DVT）リスクを示すが、PS p.K196E 保有者でのオッズ比は 4.72 であり、AT 欠乏症や PC 欠乏症と比べそれほど高くないことが示されている。PS 抗凝固（APC cofactor）活性については、一般住民 1,862 人の PS 抗凝固活性を測定し、PS p.K196E の有無を調べた報告によると、34 人の PS p.K196E ヘテロ接合性保有者の PS 抗凝固活性は 40%から 110%の広い範囲に分布した。一方、非保有者の抗凝固活性は 40%から 170%までを示しており、ヘテロ保有者の活性と大きくオーバーラップしていた。この結果から、ヘテロ保有者は PS 抗凝固活性では確定できないと考えられた。PS p.K196E ヘテロ保有者の PS 抗凝固活性は非保有者に比し、平均でわずか 16%しか低下していなかった。

PS の抗原量と抗凝固活性は経口避妊薬（OC）内服によりともに低下することが知られている。PS p.K196E ヘテロ保有者

（4 人）と非保有者（268 人）の女性を対象にした研究では、非保有者の PS 抗凝固活性は OC 内服により約 6%低下した。また、ヘテロ保有者は非保有者より PS 抗凝固活性が約 17%低く、OC 内服によりさらに約 8%の活性低下を認めた。このように OC 内服ヘテロ保有者の PS 抗凝固活性は非保有者より約 25%の活性低下を認めたものの、この検討の 4 人では血栓症を起こしたものはなかった。PS 抗凝固活性は妊娠、OC 内服、腎障害等で低下することが知られており、本バリエント保有者がこういった環境下に暴露されると、さらに PS 抗凝固活性が低下し、血栓リスクが上昇するのではないかと考えられる。

国内での妊娠関連 DVT に関する血栓性素因の遺伝子解析の報告がある。妊娠中および産褥期に DVT を発症した 18 例のうち、5 例（28%）に PS 欠乏症（4 例）もしくは PC 欠乏症（1 例）の原因遺伝子に病的バリエントを認めたが、AT 欠乏症の原因遺伝子の病的バリエントは認めなかった。病的バリエントを有する 5 例は、いずれも妊娠の初期および中期に DVT を発症し、後期および産褥期の発症例はなかった。病的バリエントが認められた因子の血漿中の活性は低下していたので、これらはいずれも機能を喪失するバリエントと考えられた。5 例のうちの 1 例は PS 欠乏症の原因遺伝子の病的バリエントの複合ヘテロ接合体であり、血漿中の PS 活性は 4%で、妊娠 6 週で DVT を発症、家系内にも DVT 発症者が認められた。その他の PS 欠乏症 2 例に PS p.K196E を認めた。血栓性素因保有者の DVT は妊娠初期から中期にかけて発症していたので、妊娠初期

からの嚴重な管理が必要であると考えられた(Neki et al, Int J Hematol, 2011)。

以上の点から、DVT が妊娠初期から発症することを考慮すると PS p.K196E 保有者は、妊娠初期からの嚴重な管理が必要であるが、妊娠中の VTE の発症頻度は必ずしも高くないため、VTE 既往のない症例はヘパリンを用いた抗凝固療法による予防は必要ないと思われる。

一方、妊娠と関連した VTE リスクに関する欧米人の報告を「診療の手引き Q&A」Table 1 に示す。とくに AT 欠乏症では VTE の既往歴ありで高い頻度を示している。これまでに AT 欠乏症では、妊娠中に血栓傾向が増大するという報告や、妊娠中の血栓塞栓症の発症率は 40-70% に上昇するという報告もある。

また、妊娠中の発症時期においては、妊娠初期、中期に多いことが示されている。しかし、妊娠前の既往歴がない場合あるいは家族歴がない場合は、妊娠中の VTE の発症率はかなり低くなるとする報告もある。

AT 欠乏症は、量的異常か質的異常かの分類が重要だとする報告がある。AT 欠乏症は、AT 活性(以下 AT 活性は AT の heparin cofactor 活性とする)と抗原量が共に低下する量的異常 (I 型) と AT 活性のみが低下する質的異常 (II 型) に分類される 17)。McColl らは、イギリスの 11 年間 72,000 分娩の後方視的なデータの解析において、妊娠中の VTE の頻度は 1,000 妊娠に対して 1 未満だが、AT 欠乏症 II 型で 42 妊娠に 1 人、 I 型で 2.8 妊娠に 1 人であり、AT 欠乏症の中でも活性と抗原量がともに低下する I 型をハイリスクと

している。日本人のデータは、非妊娠時のデータではあるが、 I 型と II 型の間で VTE リスクを比較すると大きな差が見られ、 I 型が高い VTE リスク (OR; 132.8、95%CI; 26.5-666.1) を示すと報告されている (「診療の手引き Q&A」Table 2)。

AT 欠乏症では抗凝固療法は必要と考えられるが、その方法についてはヘパリン単独か、AT 製剤単独か、それとも両方の併用かは定まった見解はない。海外のガイドラインにも AT 製剤の補充については記されていない。しかし、理論上ヘパリンは AT の cofactor であるため、AT が欠乏した状態でのヘパリン単独投与では抗凝固能を発揮しにくい。

近年、海外から AT 製剤の補充を妊娠中に推奨する報告が出ている。また、家族歴にかかわらず妊娠中の VTE リスクはあるとした報告もあり、VTE の既往がない場合、妊娠中に抗凝固療法は必要だが、AT 製剤の補充のみで十分ではないかという考え方もある。妊娠中は、できれば AT 活性値 70%以上を維持し、分娩時は 80%以上を維持することが望ましい。なお、AT 製剤とヘパリンを同時に投与すると AT の半減期が短縮し AT 活性が低下するため、大量の AT 製剤が必要になることも知られている。こうした場合には、低分子量ヘパリン、フォンダパリヌクスなど Xa 選択性の高い抗凝固薬を使用すれば AT の半減期短縮は軽減されるが、投与が長期化すると AT 製剤の補充量が増加する。これら両剤は妊婦禁忌ではないものの低分子量ヘパリンは術後の VTE 発症の予防的投与にしか保険適用がないため、またフォンダパリヌクスは妊娠中の使用経験が少ないため通常

の妊娠中 VTE 予防には適さない。

現在、AT の補充には乾燥濃縮人アンチトロンビン III 製剤およびアンチトロンビンガンマ（遺伝子組換え）静注用の両剤が保険適用されている。AT の補充は、補充前の活性値および補充後の活性値から至適な補充量を判断するが、通常、濃縮製剤の場合は 1 回 1,000 単位～ 1,500 単位の投与量を基本とし、活性値の減少程度に応じて毎週の投与回数を決定する。なお、遺伝子組換え製剤の場合は、濃縮製剤の 1.2 倍の用量を投与することで、濃縮製剤と同様の有効性と安全性を示すことが確認されている。

現時点では、AT 欠乏症のタイプ分類と妊娠関連 VTE との関係はまだ明らかではないので、II 型 AT 欠乏症も I 型と同様に対応する。VTE 既往のない PC 欠乏症と PS 欠乏症は、必ずしも妊娠中の VTE リスクが高いとは言えないため、PC 欠乏症と PS 欠乏症に関しては、妊娠中はヘパリンなどの抗凝固療法は行わずに血栓発症要因をできるだけ抑えて、妊娠初期から下肢の疼痛や腫脹の有無などをチェックし、慎重に経過観察とする。予防として妊娠中の脱水予防、弾性ストッキングの着用などを指導する。必要に応じて D ダイマーの測定、下肢静脈超音波検査を行い、血栓症の有無を確認する。なお、過去に VTE の既往はないが、不育症のスクリーニングで PC 欠乏症や PS 欠乏症が診断された症例については、CQ11-2 を参照のこと。

CQ8「遺伝性血栓性素因保有妊婦の分娩時の管理は？」については、実臨床に即してさらに細かく 4 つの場面を想定し CQ と

Answer とした。

CQ8-1 妊娠中に治療量の未分画ヘパリン（以下、ヘパリン）を用いた抗凝固療法を実施している場合は？

Answer

妊娠 36 週以降には皮下注射から持続点滴静注に切り替え計画分娩とし、計画分娩あるいは帝王切開術開始の 6 時間前に点滴を中止する。(B)

〈解説〉

妊娠中、治療量のヘパリン持続点滴静注が行われている場合は分娩前までそのまま継続とするが、治療量のヘパリン皮下注射が行われている場合は、妊娠 36 週以降には皮下注射から持続点滴静注に切り替える。分娩はヘパリンの調整が必要となるため、計画分娩が望ましい。計画分娩あるいは帝王切開術開始の 6 時間前にヘパリンの点滴を中止し、APTT が正常化したことを確認後、分娩とする。

AT 欠乏症の場合、分娩前後に AT 製剤を補充することを提案するが、詳細は「CQ8-3」を参照のこと。

なお、分娩時に帝王切開になる場合や、昨今の無痛分娩の増加に伴い、分娩時に麻酔を必要とする妊産婦が少なくない。血液凝固障害のある患者に脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔を行うと、硬膜外血種リスクが増加するため、慎重な対応が必要となる。硬膜外血種は非可逆的な神経障害をもたらしうるためである。一方で抗凝固療法を受けた患者であっても、抗凝固療法の一時的な中止によって脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔を行える場合が多く、区域麻酔よりリスクの高いこと

が知られる全身麻酔を避けることも可能である。そのため、抗凝固療法を行うことの多い血栓性素因患者の妊娠分娩理について、以下のごとく麻酔について予め検討しておくことを推奨する。

1. 抗凝固療法中の産婦における帝王切開や無痛分娩などの麻酔は慎重な検討を要するため、麻酔科医と事前の相談を行う。

2. 適切な抗凝固療法中止期間をもうけることができる症例では、脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔を行うことを検討する。

3. 帝王切開術後などに硬膜外鎮痛を行いながら、抗凝固療法を開始する場合は、硬膜外カテーテル抜去と抗凝固療薬投与のタイミングについて関係科で協議する。

なお、妊娠中に深部静脈血栓症（DVT）を発症した場合は、分娩前に浮遊血栓の有無など、抗凝固療法が中断可能か否かを確認する。分娩様式は産科的適応に準じる。一時的にせよ抗凝固療法を中断することが危険と判断される場合は、一時留置型もしくは回収可能型下大静脈フィルターを留置し、分娩後にこれを可能な限り抜去することを考慮する。ただし、合併症のリスクも少なからず存在するので、専門医と慎重に検討する。

CQ8-2 妊娠中に予防量のヘパリンを用いた抗凝固療法を実施している場合は？

Answer

1. 予防量のヘパリンは個々に患者へのリスク・ベネフィットを考慮しながら、原則として妊娠36週以降に皮下注射から持

続点滴静注に切り替える。母児共にリスクの少ない症例での経膈分娩の場合は陣痛発来時に、計画分娩や帝王切開の場合は開始の6時間前に点滴を中止する。(C)
2. 予防量のヘパリンの場合は、妊娠36週以降に皮下注射から持続点滴静注に切り替えずに、陣痛発来時に、皮下注射投与を中断することも許容される。(C)

〈解説〉

妊娠中、予防量のヘパリン持続点滴静注が行われている場合はそのまま分娩前まで継続とするが、予防量のヘパリン皮下注射が行われている症例についても、個々に患者へのリスク・ベネフィットを考慮しながら、原則として妊娠36週以降に皮下注射から持続点滴静注に切り替える。その理由は、皮下注射投与3時間後にヘパリンの最大血中濃度に達した時に胎児機能不全などのイベントが発症した際、緊急帝王切開施行時の脊髄くも膜下麻酔や硬膜外麻酔の対応に苦慮するからである。また、分娩時に硬膜外麻酔を強く必要とする症例や、帝王切開による全身麻酔がハイリスクである場合、これを避けるために計画分娩とすることが望ましいとする報告もある。さらに、予防量のヘパリン皮下注射でも、緊急時の neuraxial anesthesia (脊髄幹麻酔) はヘパリン投与後4～6時間以上の待機、もしくは凝固機能の評価後に行うことを提案している報告がある。したがって、母児共にリスクの少ない症例での経膈分娩の場合は陣痛発来時に、計画分娩や帝王切開の場合は開始の6時間前にはヘパリンの点滴を中止する。なお、予防量のヘパリンの場合は、妊娠36週以降に皮下注射から持続点滴静

注に切り替えずに、陣痛発来時に、皮下注射投与を中断することも許容される。

以上より、個々に患者へのリスク・ベネフィットを考慮しながら、原則として妊娠 36 週以降に皮下注射から持続点滴静注に切り替える。その方法の一例としては、ヘパリン 1 万単位 (10mL) と生理食塩水 (14mL) の合計 24mL とし、1 mL/時で投与すれば 1 日投与量が 1 万単位となり、計算しやすくなる。その他の方法として、ヘパリン 1 万単位 (10mL) と生理食塩水 (470mL) の合計 480mL とし、20mL/時で投与すれば 1 日投与量が 1 万単位となるが、他に輸液が必要な場合は 1 日の総輸液量を考慮しながら適宜判断する。

AT 欠乏症の場合、分娩前後に AT 製剤を補充することを提案するが、詳細は「CQ8-3」を参照のこと。

CQ8-3 妊娠中に抗凝固療法を実施していない場合の分娩時の対応は？

Answer

遺伝性血栓性素因ごとに考慮する。なお、AT 欠乏症はタイプ別によらず、分娩前後に AT 製剤を補充することを提案する。

(B)

〈解説〉

遺伝性血栓性素因 (以下、血栓性素因) ごとの VTE 発症リスクについては、「CQ7. 遺伝性血栓性素因保有妊婦の妊娠中の管理は？」の「CQ7-4 の解説」を参照されたい。なお、AT 欠乏症では、タイプ別によらず、分娩前後に AT 製剤を補充し、AT 活性値を少なくとも 70%以上、できれば 80%以上に維持した上で分娩管理を行う。AT 製剤の投与量は、濃縮製剤の場合は 1, 500

単位～ 3, 000 単位、遺伝子組換え製剤の場合は濃縮製剤の 1.2 倍の用量を点滴静注する。妊娠中の投与経験があれば投与の活性値の上昇から投与量を決定できるが、妊娠中の投与経験がない場合は、通常、分娩前に濃縮製剤 3, 000 単位 (遺伝子組換え製剤は 3, 600 単位) を投与する。濃縮製剤 1 単位投与で活性値は 1 %/kg 増加するので、体重 60kg の場合は活性値 50%の増加が期待できる。

(補足)

いずれの血栓性素因保有妊婦も、分娩前には必要に応じて D ダイマーなどの血液凝固線溶系検査や下肢静脈超音波検査を行い、VTE の有無を確認することが望ましい。

CQ8-4 遺伝性血栓性素因妊婦の分娩様式は？

Answer

産科的適応に準じて母児にとって安全な分娩様式を決定するが、器械分娩、特に吸引分娩はなるべく避けることを検討する。(C)

〈解説〉

AT 欠乏症の母体から出生した新生児の後方視的研究において、AT 欠乏症の新生児で脳静脈洞血栓症を発症した症例があり、それらはいずれも吸引分娩であったことから、新生児の血栓症は器械分娩で高まるのではないかという報告がある。ただし、鉗子分娩の適応と要約を満たし、これに熟達した医師による分娩の場合はこの限りではないかもしれない。一方、新生児期に発症した脳静脈洞血栓症の神経学的所見は乏しく、診断が遅れたり見逃

されたりすることから、血栓症を疑った児には積極的に画像診断を行い、適切な抗凝固療法を考慮すべきであるという報告がある。母親の血栓性素因とその病型の情報を新生児科医に予め伝えておくことが、その後の初動にとって重要である。詳細は「CQ10-1」を参照のこと。

D. 考察

今回の診療の手引きの作成にあたり、全体を通して新たな問題点も浮上した。各欠乏症の診断のための活性値の下限値の基準が明確でない点が挙げられる。特にPS欠乏症の活性値からの診断は、意見の統一に難渋した。さらに今回の手引きでは、タイプ別分類ごとの治療法に関しては、言及できなかった。また治療量抗凝固療法において、AT活性値の維持する基準値を、過去の報告を参考に70%を維持としたが、確固たる根拠には乏しいのが現状である。以上のような課題が今後、解決していく課題であると考えられた。

E. 結論

以上の如く、今後の課題も残ったが、遺伝性血栓性素因としての診療の手引きの作成は、今回が本邦初であり、一定の評価はできると考える。今後、作成した診療の手引きを学会、Web講演会などを通じて広く発信し、安全な妊娠分娩と新生児の管理に必要な情報を医療従事者に提供していくこととする。今後、研究がさらに発展し新しい知見が得られれば改訂版を発刊し、診療ガイドラインにする予定である。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyoshi T, Maruyama K, Oku H, Asahara S, Hanada H, Neki R, Yoshimatsu J, Kokame K, Miyata T, Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation, Thromb Res, 185: 1-4, 2020. 査読有
- 2) 小林隆夫、森下英理子、津田博子、根本玲子、小嶋哲人、大賀正一、落合正行、安達知子、宮田敏行「遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き Q&A」日本産婦人科・新生児血液学会誌. 30(2):5-54, 2021.

2. 学会発表

- 1) 根本玲子、小西妙、中西篤史、吉松淳. 妊娠高血圧症候群における補体マーカー検査および補体関連遺伝子解析についての検討. 第72回日本産科婦人科学会学術講演会、4月、2020年、Web開催
- 2) 根本玲子. 妊娠と先天性プロテインS欠乏症. 第42回日本血栓止血学会学術集会. 第9回プロテインS研究会シンポジウム 7月、2020年、Web開催
- 3) 伊田和史、丸山慶子、辻明宏、宮田敏行、小亀浩市、根本玲子. 当院の遺伝カウンセリング外来来談者における遺伝性血栓性素因の遺伝子解析の検討. 第44回日本遺伝カウンセリング学会学術講演会、4月、2020年、Web開催

- ング学会、7月、2020年、Web開催
- 4) Neki R, Miyata T, Ohtani K, Hidaka Y, Ida K, Yokouchi-Konishi T, Nakanishi A, Yoshimatsu J, Kokame K, Wakamiya N, Inoue N: Alternative complement pathway activation in the severe hypertensive disorders of pregnancy, The XXXVIII Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH 2020) , July, 2020, Web開催
- 5) Tsuji A, Sekine A, Wada H, Morishita E, Ogihara Y, Nogami K, Kojima T, Matsushita T, Yamada N, Ogo T, Neki R, Kokame K, Yasuda S, Miyata T: Genetic study for

idiopathic venous thromboembolism in Japanese using short-read and long-read sequencers: A pilot study of Japanese Group of Idiopathic Thromboembolism, The XXXVIII Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH 2020) , July, 2020, Web開催

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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

別添 5

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
森下英理子	遺伝性血栓性素因の診断と管理	金倉 譲	EBM 血液疾患の治療 2021-2022	中外医学社	日本	2021. 1 . 10	489-496,
森下英理子	血友病	矢崎義雄	新臨床内科学 第 10 版	医学書院	日本	2020. 4 .	1034- 1037
森下英理子	後天性血友病 A	矢崎義雄	新臨床内科学 第 10 版	医学書院	日本	2020. 4 .	1037- 1039
森下英理子	total PAI-1 (tPA/PAI-1 複合体を含む)	大西宏明	臨床検査ガイド 2020 年改訂版	文光堂	日本	2020. 6	557-560,
立俣良崇、加藤規利、丸山彰一	aHUS	南学正臣	プロフェッショナル腎臓内科	中外医学社	日本	2020. 8	289-297

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
Arahata M, Takamatsu H, Morishita E, Kadohira Y, Yamada S, Ichinose A, Asakura H	Coagulation and fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid	Int J Hematol	111	550-558	2020

Togashi T, Meguro-Horike M, Nagaya S, Sugihara S, Ichinohe T, Araiso Y, Yamaguchi K, Mori K, Imai Y, Kuzasa K, Horike SI, Asakura H, Watanabe A, <u>Morishita E</u>	Molecular genetic analysis of inherited protein C deficiency caused by the novel large deletion across two exons of PROC.	Thromb Res	188	115-118	2020
Yamada S, Okumura H, <u>Morishita E</u> , Asakura H	Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation.	Blood Coagul Fibrinolysis	31(4)	274-278	2020
Terakami T, Sekiya A, Hayashi K, Suzuki T, Furusho H, Asakura H, <u>Morishita E</u> , Wada T	The effect of direct oral anticoagulants on blood protein C activity	Journal of Wellness and Health Care	44(1)	33-41	2020
Tsuda H, Noguchi K, Oh D, Bereczky Z, Lai H Lee, Kang D, Luci M S Dusse, M G Carvalho, <u>Morishita E</u>	Racial differences in protein S Tokushima and two protein C variants as genetic risk factors for venous thromboembolism.	Res Pract Thromb Haemost	4(8)	1295-1300	2020

Saito K, Ishii K, Furuta K, Kobayashi M, Wada Y, o Morishita E	Recurrent Cerebral Venous Thrombosis Treated with Direct Oral Anticoagulants in a Japanese Man with Hereditary Protein C Deficiency.	J Stroke Cerebrovasc Dis	30(1)	105320	2020
Miyashita H, Tobita K, Morishita E, Saito S	Ilio-femoral venous thrombosis with hereditary antithrombin deficiency: a case report of rare thrombotic disease and successful treatment with catheter directed thrombolysis.	Eur Heart J Case Rep	5(2)	ytaa531	2020
Uchino K, Lam Vu Quang, Mizuno S, Horio T, Yamamoto H, Hanamura I, Koderay, J Luis Espinoza, Onizuka M, Kashiwase K, Morishima Y, Fukuda T, Doki N, Miyamura K, Mori T, Morishita E, Nakao S, Takami A	Donor UNC-93 Homolog B1 genetic polymorphism predicts survival outcomes after unrelated bone marrow transplantation.	Genes and immunity		https://doi.org/10.1038/s41435-021-00122-y	2020
Horiuchi H, Morishita E, Urano T, Yokoyama K	COVID-19-Related Thrombosis in Japan: Final Report of a Questionnaire-Based Survey in 2020.	J Atheroscler Thromb	28(4)	406-416	2021

Nagaya S, Araiso Y, Yamaguchi K, Omote Y, Matsui A, Asakura H, Morishita E.	Evaluation of Optimal Sample Processing Conditions for Accurate Measurement of Protein S Activity	Ann Clin Lab Sci.	51(2)	3-9	2021
森下英理子	遺伝性血栓性素因 (先天性血液凝固阻 止因子欠乏症	臨床化学	49	172-181	2020
森下英理子	出血傾向の鑑別診断	日本内科学会 雑誌	109(7)	1340-1346	2020
森下英理子	直接型抗凝固薬 (DOAC)と凝固関連検 査薬剤の検査への 影響およびモニタリ ングへの応用	臨床検査	64(12)	1394-1401	2020
森下英理子	指定難病に見る出血・ 凝固の異常一病態研 究と診療「特発性血栓 症(指定難病 327)」	Thrombosis Medicine	11(1)	39-45	2021
Nishiura N, Kashiwagi H, Akuta K, Hayashi S, Kato H, Kanakura Y, Tomiya Y.	Reevaluation of platelet function in chronic immune thrombocytopenia: impacts of platelet size, platelet- associated anti- α IIb β 3 antibodies and thrombopoietin receptor agonists.	Br J Haematol	189	760-771	2020
Kashiwagi H, Kuwana M, Hato T, Takafuta T, Fujimura K, Kurata Y, Murata M, Tomiya Y.	Reference guide for management of adult immune thrombocytopenia in Japan: 2019 Revision.	Int J Hematol	111(3)	329-351	2020

Akuta k, Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Nishiura N, Banno F, Kokame K, Kato H, Kanakura Y, Miyata T, <u>Tomiyama Y</u>	Knock-in mice bearing constitutively active α IIb (R990W) mutation develop macrothrombocytopenia with severe platelet dysfunction.	J Thromb Haemost	18 (2)	497–509	2020
Oka S, Wakui M, Fujimori Y, Kuroda Y, Nakamura S, Kondo Y, Nakagawa T, Katagiri H, <u>Murata M</u>	Application of clot-fibrinolysis waveform analysis to assessment of in vitro effects of direct oral anticoagulants on fibrinolysis.	Int J Lab Hematol.	42 (3)	292–298	2020
Wakui M, Fujimori Y, Nakamura S, Oka S, Ozaki Y, Kondo Y, Nakagawa T, Katagiri H, <u>Murata M</u>	Characterisation of antithrombin- dependent anticoagulants through clot waveform analysis to potentially distinguish them from antithrombin- independent inhibitors targeting activated coagulation factors.	J Clin Pathol.	74 (4)	251–256	2020
Fujiyama S, Hori N, Sato T, Enosawa S, <u>Murata M</u> , Kobayashi E	Development of an ex vivo xenogeneic bone environment producing human platelet-like cells	PLoS One	15 (4)	DOI: 10.1371/journal.pone.0230507	2020
Kitakata H, Itabashi Y, Kanazawa H, Miura K, Kimura M, Shinada K, de Jongh, Marjolein C, Endo J, Tsuruta H, Murata M, Kawamura A, <u>Murata M</u> , Fukuda K	Appropriate device selection for transcatheter atrial septal defect closure using three- dimensional transesophageal echocardiography.	Int J Cardiovasc Imaging	37 (4)	1159–1168	2020

Yamada Y, Yamada M, Yokoyama Y, Tanabe A, Matsuoka S, Niijima Y, Narita K, Nakahara T, Murata M, Fukunaga K, Chubachi S, Jinzaki M	Differences in Lung and Lobe Volumes between Supine and Standing Positions Scanned with Conventional and Newly Developed 320-Detector-Row Upright CT: Intra-Individual Comparison.	Respiration.	99 (7)	598-605	2020
Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, Hosomichi K, Hasegawa J, Uyama H, Nishio K, Omae T, Hishizawa M, Matsui M, Iwato K, Okamoto A, Okuhiro K, Yamashita Y, Itoh M, Kumekawa H, Kurimoto M, Kawano N, Matsukawa T, Sanol H, Oshiro K, Hayashi K, Ueda Y, Mushino T, Ogawa Y, Yajima Y, Murata M, Matsumoto M	HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR.	Blood	135 (26)	2413-2419	2020
Sakai K, Fujimura Y, Nagata Y, Higasa S, Moriyama M, Isonishi A, Konno M, Kajiwarra M, Ogawa Y, Kaburagi S, Hara T, Kokame K, Miyata T, Hatakeyama K, Matsumoto M.	Success and limitations of plasma treatment in pregnant women with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura.	J Thromb Haemos	18	2929-2941	2020

Kubo M, Sakai K, Yoshii Y, Hayakawa M, <u>Matsumoto M.</u>	Rituximab prolongs the time to relapse in patients with immune thrombotic thrombocytopenic purpura: analysis of off-label use in Japan.	Int J Hematology.	112	764-772	2020
Tanabe S, Fujimura Y, Lämmle B, Kimura T, Isonishi A, Sakai K, <u>Matsumoto M.</u>	Stealth thrombosis of brain and kidney in a girl with Upshaw-Schulman syndrome not receiving prophylactic plasma infusions.	Int J Hematol.	112	603-604	2020
Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, <u>Matsumoto M.</u>	Characteristics behaviors of coagulation and fibrinolysis markers in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura.	Intensive Care Med	36	436-442	2020
Tarasco E, Lukas Bütikofer L, Friedman KD, George JN, Hrachovinova IV, Knöbl P, <u>Matsumoto M,</u> von Krogh AS, Aebi-Huber I, Cermakova Z, Górská-Kosicka M, Jalowiec KA, Largiadèr CR, Prohaszka Z, Sinkovits G, Windyga J, Lämmle B, Kremer Hovinga JA.	Annual Incidence and Severity of Acute Episodes in Hereditary Thrombotic Thrombocytopenic Purpura.	Blood	In press		2021
加藤規利、立俣良崇、 <u>丸山彰一</u>	非典型溶血性尿毒症症候群(aHUS)の診断と治療	Thrombosis Medicine	10(3)	225-231	2020

立 峯良崇、加藤規利、 <u>丸山彰一</u>	非典型溶血性尿毒症症候群（指定難病109）	Thrombosis Medicine	11(1)	289-297	2021
Rondeau E, <u>Miyakawa Y</u> , et al	Efficacy and safety of the long acting C5 inhibitor ravulizumab, in adult patients with atypical hemolytic uremic syndrome naïve to complement inhibitor treatment.	Kidney Int	97	1287-1296	2020
<u>宮川義隆</u>	非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）の診断と治療	日内会誌	109	1363-1369	2020
<u>宮川義隆</u>	血栓性血小板減少性紫斑に対する分子標的治療	血栓止血誌	31	28-36	2020
Yamato K, Nakajo Y, Yamamoto-Imoto K, <u>Kokame K</u> , Miyata T, Takahashi JC, Kataoka H, Yanamoto H	Low-dose activated protein C suppresses the development of cerebral infarction and neurological deficits in mice	Neurosurg Open	1(4)	okaa014	2020
Eura Y, Miyata T, <u>Kokame K</u>	Derlin-3 is required for changes in ERAD complex formation under ER stress	Int J Mol Sci	21 (17)	6146	2020
Maruyama K, <u>Kokame K</u>	Carrier frequencies of antithrombin, protein C, and protein S deficiency variants estimated using a public database and expression experiments	Res Pract Thromb Haemost	5 (1)	179-186	2021
宮田敏行, <u>小亀浩市</u>	TMAの遺伝子診断：TTPとaHUS	日本血栓止血学会誌	31 (1)	17-27	2020

Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S.	Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic Lymphohistiocytosis .	Int J Hematol	111(1)	131-136	2020
Ochiai M, Kurata H, Inoue H, Ichiyama M, Fujiyoshi J, Watabe S, Hiroma T, Nakamura T, Ohga S.	Transcutaneous blood gas monitoring among neonatal intensive care units in Japan.	Pediatr Int	62(2)	169-174	2020
Ohga S, Ishimura M, Eguchi K, Hasegawa I, Ogura H, Utsugisawa T, Kanno H.	Diagnosis and management of early-onset thrombophilia/thrombosis: a review.	Rinsho Ketsueki	61(5)	484-490	2020
Kudo K, Maeda M, Suzuki N, Kanegane H, Ohga S, Ishii E, Shioda Y, Imamura T, Imashuku S, Tsunematsu Y, Endo M, Shimada A, Koga Y, Hashii Y, Noguchi M, Inoue M, Tabuchi K, Morimoto A	Nationwide retrospective review of hematopoietic stem cell transplantation in children with refractory Langerhans cell histiocytosis.	Int J Hematol	111(1)	137-148	2020

Nagata H, Sakamoto I, Fukuoka S, Ishikita A, Uike K, Nagatomo Y, Hirata Y, Yamamura K, Ohga S.	Portosystemic venous shunt in the patients with Fontan circulation.	Heart Vessels	36(2)	285-290	2020
Imai T, Shiraishi A, Nishiyama K, Ishimura M, Ohga S.	Lipopolysaccharide-induced monocyte death in a novel ZnF7 domain mutation of TNFAIP3.	Immunol Pract	8(6)	2071-2074	2020
Motomura C, Matsuzaki H, Odajima H, Oki T, Yasunari Y, Kawano T, Iwata M, Okabe K, Wakatsuki M, Murakami Y, Taba N, Honjo S, Ohga S.	Effect of age on exercise-induced bronchoconstriction in children and adolescents with asthma.	J Asthma	1	1-14	2020
Nakashima T, Inoue H, Sakemi Y, Ochiai M, Yamashita H, Ohga S; Neonatal Research Network of Japan.	Trends in Bronchopulmonary Dysplasia Among Extremely Preterm Infants in Japan, 2003-2016.	J Pediatr	230	119-125	2020
Imai T, Nishiyama K, Ueki K, Tanaka T, Kaku Y, Hara T, Ohga S.	Involvement of activated cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells in Henoch-Schönlein purpura nephritis.	Clin Transl Immunology	9(11)	e1212	2020

Egami N, Muta R, Anami A, Koga H.	Impact of clinical practice guidelines for vacuum-assisted delivery on maternal and neonatal outcomes in Japan: A single-center observational study.	J Obstet Gynaecol Res	47(1)	167-173	2020
Egami N, Nuta R, Korematsu T, Koga H.	Mild neonatal complications following guideline-compliant vacuum-assisted delivery in Japan: improvements still needed.	J Matern Fetal Neonatal Med	13	1-7	2020
Matsuoka R, Furuno K, Nanishi E, Onoyama S, Nagata H, Yamamura K, Sugitani Y, Kuraoka A, Mizuno Y, Sagawa K, Honjo S, Hara T, <u>Ohga S.</u>	Delayed Development of Coronary Artery Aneurysm in Patients with Kawasaki Disease Who Were Clinically Responsive to Immunoglobulin.	J Pediatr	227	224-230	2020
Hayakawa Y, Tamura S, Suzuki N, Odaira K, Tokoro M, Kawashima F, Hayakawa F, Takagi A, Katsumi A, Suzuki A, Okamoto S, Kanematsu T, <u>Matsushita T,</u> Kojima T.	Essential role of a carboxyl-terminal α -helix motif in the secretion of coagulation factor XI	Journal of Thrombosis and Haemostasis	19(4)	920-930	2021

Kanematsu T, Suzuki N, Tamura S, Suzuki A, Ishikawa Y, Katsumi A, Kiyoi H, Saito H, Kunishima S, Kojima T, <u>Matsushita T</u>	Myh9 R702C is associated with erythroid abnormality with splenomegaly in mice	Nagoya Journal of Medical Science	83	75-86	2021
Suzuki A, Suzuki N, Kanematsu T, Okamoto S, Tamura S, Kikuchi R, Katsumi A, Kiyoi H, Kojima T, <u>Matsushita T</u>	Impact of variation in reagent combinations for one - stage clotting assay on assay discrepancy in nonsevere haemophilia A	International journal of laboratory hematology	41(1)	131-138	2020
鈴木敦夫, 鈴木伸明, 兼松毅, 岡本修一, 田村彰吾, 篠原翔, 新井信夫, 菊地良介, 安藤善孝, 小嶋哲人, <u>松下 正</u>	血小板膜糖蛋白質 GPIb変異体を用いた von Willebrand因子活性測定試薬「INNOVANCE® VWF Ac」の基本性能評価	日本血栓止血学会誌	31(4)	409-419	2020
Tokoro M, Tamura S, Suzuki N, Kakihara M, Hattori Y, Odaira K, Suzuki S, Takagi A, Katsumi A, Hayakawa F, Okamoto S, Suzuki A, Kanematsu T, <u>Matsushita T</u> , Kojima T	Aberrant X chromosomal rearrangement through multi-step template switching during sister chromatid formation in a patient with severe hemophilia A	Molecular Genetics and Genomic Medicine	8(9)	e1390	2020

Miyoshi T, Maruyama K, Oku H, Asahara S, Hana da H, Neki R, Yoshimatsu J, Kame K, Miyata T	Predictive value of protein S-specific activity and ELISA testing in patients with the protein S K196E mutation	Thromb Res	185	1-4	2020
Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T.	National survey of confirmed thromboembolism related to female hormones in Japan.	J Obstet Gynaecol Res	46(7)	1173-1182	2020
Sugiura K, Kobayashi T, Ojima T.	The epidemiological characteristics of thromboembolism related to oral contraceptives in Japan—Results of a national survey.	J Obstet Gynaecol Res	47(1)	198-207.	2021
小林隆夫、森下英理子、津田博子、根木玲子、小嶋哲人、大賀正一、落合正行、安達知子、宮田敏行	遺伝性血栓性素因患者の妊娠分娩管理に関する診療の手引き&A	日本産婦人科・新生児血液学会誌	30(2)	5-54	2021