

令和元年5月24日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K08645

研究課題名(和文) 血栓症発症を予測するために、前血栓症状態/過凝固症の検討

研究課題名(英文) Examination of prethrombotic state to prevent thrombosis

研究代表者

和田 英夫 (Wada, Hideo)

三重大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：40158704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：血栓症発症時に、種々の止血系マーカーが有意な変化を認め、診断ならびに予測のために、D-dimerやSFのカットオフ値を決定した。VTE患者において、AT、PCならびにPSの血液凝固阻害因子の遺伝子異常が、不育症ではフィブリノゲン鎖遺伝子多型が高頻度に見られた。aHUSでは、近畿圏ではC311157T変異が14家系に認められた。ただし、これらの遺伝子異常を有しても、血栓性疾患を発症しない保因者が存在した。基本的止血系マーカーにAT、TAT、SF、血小板の減少率を加えた、日本血栓止血学会DIC診断基準は、DICの早期診断ならびに確定診断において、他の診断基準に比べて有用であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前血栓症状態を定義すれば、血栓症発症前診断が可能になる。血栓症発症前に抗血栓薬の予防投与を行えば、生命予後ならびに患者のQOLの改善につながる。また、血栓症発症を防ぐことにより、医療費を大幅に削減することができる。

本研究により、遺伝子診断が普及し、止血分子マーカーのカットオフ値が確立されると、早期の血栓症ならびに前血栓症状態の診断が普及し、容易になる。

研究成果の概要(英文)： Various hemostatic markers were significantly increased or decreased. The cutoff value of D-dimer and SF were determined to diagnose or predict thrombosis. AT, PC or PS abnormalities were frequently diagnosed by genetic analysis in VTE patients and the polymorphism of Fibrinogen chain were significantly higher in female infertility than in healthy pregnant women. In Kinki area, C311157T variant was detected in 14 cases of aHUS patients. Several carrier who had genetic variant, had no symptom. The diagnostic criteria established by Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis using AT, TAT, SF and decreased platelet count was significantly more useful than other diagnostic criteria for diagnosing DIC or Pre-DIC.

研究分野：血栓止血

キーワード：前血栓症 止血系マーカー 遺伝子異常 TMA VTE DIC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

日本における血栓性疾患の死亡率は第二位であり、血栓症は一旦発症すると重篤な場合、死亡する確率が高く、生存しても著しい障害を残し、社会復帰が困難となる。特に静脈系血栓塞栓症の発症頻度は手術後や妊娠前後に高く、重篤な場合突然死に至るなど、大きな社会問題となっている。また、動脈系血栓症の基礎疾患の絶対数は多く、抗血小板薬による抗血栓治療には約 5,000 億円程度かかり、医療費高騰の一因になっている。また、抗凝固薬であるワーファリンによる血栓予防は安価であるが、コントロールが難しく、出血の合併頻度も高い。最近上市された経口抗 Xa 剤や抗トロンピン剤は服用しやすいが高価であり、すぐに数千億円程度の売り上げを計上し、医療費高騰の原因になりかねない勢いである。重篤な動脈血栓症や静脈血栓塞栓症 (VTE) の発症を抑制し、かつ医療費の高騰を防ぐためには、血栓症を起こしやすい人や血栓症発症前 (過凝固状態 = 過凝固症) を診断することである。抗血小板療法の指標になる、血小板活性化を診断するバイオマーカーは確立されていない。心房細動患者に関する抗凝固療法の適応に対しては、CHADS<sub>2</sub>スコアが用いられているが、このスコアは止血系を反映しないので、有用性には疑問が残る。VTE の診断には D-dimer や可溶性フィブリン(SF)がある程度有用であるが、術後、妊娠前後、担癌患者などでカットオフ値は異なる。さらに、血栓性微小血管障害 (TMA) をきたす播種性血管内凝固 (DIC) や血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) に関する診断・治療にも、種々の問題点が残っている。

### 2. 研究の目的

現在非常に多数例で血栓症予防治療が行われているが、本当に必要でない患者にも血栓症予防が行なわれている。逆に、血栓性素因があり、必要なのに適当な抗血栓療法が行なわれていない症例も多数存在する。血栓止血系分子マーカーを経日的に測定することにより、プロスペクティブに血栓症発症直前 (過凝固状態) を診断するための、血栓止血系分子マーカーのカットオフを決定する。不育症も含む多数の血栓症関連疾患患者について、凝固阻害因子、フィブリノゲンならびに補体などについて、蛋白レベルや遺伝子異常を検索し、日本人に多い血栓性疾患関連素因を同定する。播種性血管内凝固 (DIC) については、新しい疾患概念で多数例を分類し、正しい診断基準による診断ならびに治療を提案し、予後の改善効果を検討する。

### 3. 研究の方法

1) 妊婦、外科手術患者、担癌患者などの血栓症発症リスクのある患者を、プロスペクティブかつ経日的に、止血系マーカーを測定し、血栓症診断ならびに予測するためのカットオフ値を決定する。妊婦、整形外科関節置換術患者、腹部外科、担癌患者、膠原病患者、血栓性素因疑い患者などをプロスペクティブかつ経日的にフォローする。エンドポイントは血栓症等のイベント発症時とする。測定項目は血漿のフィブリノゲン、PI、SF、D-dimer、SF、TAT、AT、PC、PS、可溶性 GPVI、ADAMTS13、VWFpp、抗 Xa 活性などである。

外科手術後においては、出血の副作用との関係も調べ、血栓症予防療法と止血系マーカーとの関係を検討する。

2) 不育症、aHUS ならびに VTE などの血栓症関連疾患患者に対して、血液凝固阻害因子、フィブリノゲン、補体などの遺伝子診断を行い、高頻度にみられる血栓症関連遺伝子変異を同定する。解析は D-dimer 3.0 μg/ml、SF 6.0 μg のカットオフ値での、血栓症診断率ならびに血栓症発症予想率を調べる。血栓症発症時ならびに発症直前なら

びに血栓症非発症時の止血系分子マーカー値などと比較し、統計的に最良のカットオフ値を決定する。充分症例数がそろわない場合は、蓄積した成績を加えて、レトロスペクティブな検討を行う。深部静脈血栓症、肺塞栓症、腹腔静脈血栓症、脳静脈洞血栓、不育症、TTP、aHUS、健常人について、凝固阻害因子の蛋白レベルの測定を行う。健常人での遺伝子異常の頻度を検討する。文献を検索し、他の遺伝子異常の頻度についても検討する。新しい変異に関しては、可能なら発現実験を行う。遺伝子異常を有しても血栓症を発症しないキャリアについても、血栓症発症者と比較検討し、血栓症発症メカニズムを解析する。遺伝子異常を有しても TMA を発症しないキャリアについても、TMA 発症者と比較検討し、TMA 発症メカニズムを解析する。

3) DIC を AT ならびに PI などの減少を基本にした新しい基準で分類し、その分類別に新しい DIC スコアスコアリングシステムを作成する。プロスペクティブに観察し、DIC スコア何点で治療するのが生命予後に最も良いか検討する。感染症以外の DIC との比較を行う。各種薬剤の治療効果の比較を行う。DIC 離脱率が良くても、生命予後が悪い病態について解析する。特に AT 濃度と DIC ならびに臓器障害の関係を検討する。レトロスペクティブ解析も付け加える。血栓予防療法と止血系マーカーとの関係を検討する。

以上、種々の止血系マーカーを測定し、前血栓症状態や、血栓症発症予測を行う。また、蛋白レベルの解析に遺伝子解析を加えて、血栓症を発症しやすい病態を解明する。

#### 4. 研究成果

1) 妊婦、外科手術患者、担癌患者などの血栓症診断ならびに予測するためのカットオフ値を決定した (D-dimer 3.6 µg/ml ならびに 1.2 µg/ml)。妊婦、整形外科関節置換術患者、腹部外科患者では、血栓症発症時に、SF、D-dimer、可溶性 GPVI、ADAMTS13、VWFpp、抗 Xa 活性などが有意な変化を認めた。

2) VTE などの血栓症関連疾患患者において、AT、PC ならびに PS の血液凝固阻害因子の異常が高頻度に見られた。血栓症発症時には、これらの因子はさらに低下した。不育症妊婦ではフィブリノゲン 鎖遺伝子多型が高頻度に見られた。aHUS では、三重県では C311157T 変異が著しく高頻度に認められた (14 例)。ただし、これらの遺伝子異常を有しても、血栓性疾患を発症しない保因者が存在し、second hit を起こす因子の存在が疑われた。

3) AT ならびに PI などの減少を基に、DIC を発症する機序が認められた。基本的な止血系マーカーに AT、TAT、SF、血小板の減少率を加えた、日本血栓止血学会 DIC スコアスコアリングシステムは、DIC の早期診断ならびに確定診断において、他の診断基準に比べて有用であった。ただし、生命予後の予測は、他の診断基準と同等であった。

以上、種々の止血系マーカーを測定することにより、前血栓症状態をある程度診断することが、可能なことが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- 1) Suzuki K, Wada H, Matsumoto T, Ikejiri M, Ohishi K, Yamashita Y, Imai H, Iba T, Katayama N: Usefulness of the APTT waveform for the diagnosis of DIC and prediction of the outcome or bleeding risk, J Thromb, 2019 (in press) 査読有
- 2) Hasegawa M, Wada H, Tone S, Yamaguchi T, Wakabayashi H, Ikejiri M, Watanabe M, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Yamashita Y, Katayama N, Sudo A.: Monitoring of

hemostatic abnormalities in major orthopedic surgery patients treated with edoxaban by APTT waveform. Int J Lab Hematol. 2018; 40: 49-55 査読有

- 3) Katayama H, Matsumoto T, Wada H, Fujimoto N, Toyoda J, Abe Y, Ohishi K, Yamashita Y, Ikejiri M, Habe K, Katayama N: An Evaluation of Hemostatic Abnormalities in Patients With Hemophilia According to the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform. Clin Appl Thromb Hemost. 2018; 24 : 1170-1176 査読有
- 4) Matsumoto T, Wada H, Fujimoto N, Toyoda J, Abe Y, Ohishi K, Yamashita Y, Ikejiri M, Hasegawa K, Suzuki K, Imai H, Nakatani K, Katayama N.: An Evaluation of the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform. Clin Appl Thromb Hemost. 2018; 24: 764-770 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

- 1) 和田英夫：新DIC診断基準の評価とDIC診断の問題点、第19回日本検査血液学会学術集会、教育講演、大宮ソニックシティ、2018年7月21日(土)(21-22)
- 2) 和田英夫：血栓・出血のバイオマーカー、第58回日本臨床化学会年次学術集会、教育講演5、名古屋国際会議場、2018年8月26日(日)(24-26)
- 3) Wada H: Diagnosis of DIC in accordance with APTT waveform, Clinical laboratory testing provides protection for patients, Symposium 1, The 10<sup>th</sup> Congress of Asia Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis, symposium, Sapporo, June 28-30, 2018

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
特になし

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。