

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15783

研究課題名(和文) 遺伝性血管性浮腫における線溶凝固系の異常の病態解明と早期診断・治療を目指す研究

研究課題名(英文) Abnormality of coagulation and fibrinolytic system in hereditary angioedema

研究代表者

本田 大介 (Honda, Daisuke)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：50790094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝性血管性浮腫は、常染色体優性遺伝形式の難病疾患である。C1インアクチベーターの遺伝的機能不全により、突発性に血管性浮腫を生じ、時には喉頭浮腫によって窒息することや、腸管浮腫による強い腹痛を呈するため、適切に治療のためには疾患の診断が極めて重要である。しかしながら、診断の際に様々な障壁があり、その中でも原因は不明だが、血液検査で線溶凝固系の異常をきたすことが知られている。今回、遺伝性血管性浮腫患者が呈する線溶凝固系の異常の病態解明に関する研究を行い、有益な結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝性血管性浮腫は5万人に1人の有病率とされているが、実際に診断されている患者は極めて少ない。このため、診断されずに適切な治療を受けることなく、窒息死に至ることや腹痛に対して不要な開腹術を施行されることがある。診断自体は比較的容易になされるにも関わらず、疾患認知度が低いことが影響していると考えられている。しかし、今回の研究成果によって他疾患との鑑別がより容易かつ正確になされるため、今後は遺伝性血管性浮腫がよりの確かつ迅速に診断されることが予想できる。また、これに伴い患者QOLの低下を予防することが可能と考えられ、学術的・社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Hereditary angioedema is a autosomal dominant disease, which is caused by genetic dysfunction of C1-inhibitor. Since the disease can lead to suffocation due to airway edema or abdominal pain because of intestinal edema, it is so significant to make a diagnosis for appropriate treatment. However, there are various barriers for an accurate diagnosis such as representing abnormalities of coagulation and fibrinolytic system in hereditary angioedema, whose mechanism is unknown. In the present study, we revealed that patients with hereditary angioedema showed the abnormalities, and we could obtain the valuable results.

研究分野：補体学

キーワード：遺伝性血管性浮腫 C1インヒビター ブラジキニン 線溶凝固系

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HAEは、身体各所に突発的な血管性浮腫の出現と消退を繰り返す疾患である。数時間で自然消失する軽症発作から、気道粘膜浮腫による窒息で死亡する重症発作まで発作時の症状は多岐にわたる。そのうち、腸管浮腫による急性腹症例に対しては、明らかな器質的疾患を見いだせないまま、試験的開腹術を施行されることも多く、迅速な診断と治療が必要な疾患である。HAEの原因は、遺伝的なC1-INHの欠損あるいは機能不全により、局所で産生されたブラジキニンにより皮膚や粘膜に浮腫を生じる(I型・II型)と定義されていたが、最近ではC1-INHが関与しないものの、ブラジキニンの産生過多を生じるHAE with normal C1-INHの疾患概念が提唱され、全世界で疾患に対する病態解明が急がれている。現在、発作時におけるわが国で行われている救命的治療法は、症状の速やかな改善と患者QOLの向上、救命率の上昇に寄与している。しかし、劇的な効果をもつ治療が可能なのは、HAEの確定診断を有している症例に限られる。この疾患における大きな問題は、確定診断を得ることが容易ではないことである。鑑別すべき疾患が多く、症状が出現してからHAEの診断が確定するまでに、平均で十数年を要す。また、World Allergy Organization(WAO)/European Academy of Allergy and Clinical Immunology(EAACI)よりHAEの診療ガイドラインが提唱されたのは、2010年であり、まだまだ疾患について不明な点が多い。有病率は約5万人に1人とされ、日本には、2,000-3,000人の患者数が推定されるが、これまでに400人程度の診断数に留まり、実際の患者数は不明である。このような現状の背景には、日本においてはこの疾患に対する医師の認知度は約40%と低く、症状の出現が全身の多部位にわたるため、発作時の受診診療科が多岐にわたっており、欧米のようなHAEを専門とする診療体制が整っていない点が挙げられる。その中でも、日本も国際的なHAE治療に遅れをとらぬよう、2015年にWAO/EAACIのHAE診療ガイドラインを翻訳し、発表している。しかし、HAEの確定診断を得る際の障壁の主因の一つは、多くのHAE患者で線溶凝固系の異常を呈することであると推察されている。

2. 研究の目的

C1-INHの低下に伴い、カリクレインキニン系では、ブラジキニンの産生過多により突発性浮腫を生じるとともに、補体系では慢性的に補体因子が欠乏する。そして、HAE患者の血液検査にてFDPやD-dimer高値を認めるとの報告を散見し、線溶凝固系の異常が認められる。しかし、HAE患者において、系統的な線溶凝固系の基礎的研究はほとんどなされていない。D-dimer上昇は、本来は血栓形成を反映するものの、HAEの病態ではその真偽は不明で、いまだに共通な見解は見出されていない。HAEにおける線溶凝固系の異常の病態解明が、HAEの診断をより迅速かつ正確に行う上での鍵であると考えられる。以上より、研究の主目的は、HAEの線溶凝固系の異常に関する病態解明とした。

(1) HAE患者の線溶凝固系の異常の病態解明

HAE患者の臨床基礎データの収集と血液採取(病院倫理委員会承認のもと、書面によるインフォームド・コンセント取得)

HAE患者における非発作時・発作時の線溶凝固系における各種血液マーカーの測定
研究データと臨床データとの比較

(2) 結果の発表とHAEガイドライン・診断基準の策定、改定への提言

国内外の関連学会での発表と論文化

本邦のHAEガイドラインを策定している日本補体学会やWAOに研究成果を報告し、ガイドライン改定への提言を行う

3. 研究の方法

(1) 患者の臨床基礎データを収集する

臨床データとして、年齢、性別、初発年齢、現病歴、既往歴(気管切開術施行歴、開腹術施行歴)、家族歴、内服歴、発作頻度、発作重症度、発作部位、浮腫消褪までの時間など、HAEの病態を解明するうえで重要な病歴聴取を詳細に行う。さらに、血液検査において、線溶凝固系以外の一般的なデータを収集する(赤血球数、白血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板数、総蛋白、アルブミン、尿素窒素、血清クレアチニン、尿酸、電解質(Na, K, Cl)、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、中性脂肪、C3、C4、CH50、C1-INH活性)。

(2) 非発作時・発作時の患者検体を採取し、冷凍保存する

HAE患者から静脈血採血を行う。全血で20mLを採取後、研究室にて遠心分離し、0.5mLずつ分注し冷凍保存する。

(3) 線溶凝固系における各種血液マーカーの測定法確立する

過去の論文(M. Cugno, et al. Allergy 2009など)を参考に、線溶凝固系における各種血液マーカーの測定法(クロスミキシング試験・ラテックス凝集法・酵素免疫測定法(ELISA法・EIA法)・合成基質法など)を確立する。測定に際し、測定系の確立が困難な場合は、市販の測定kit等を用いた測定法も準備しておく。(D-dimer、プロトロンピンフラグメントF1+2、プロトロンピン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、トロンボテスト、ヘパプラスチンテスト、活性化全血凝固時間、フィブリノゲン、第VIII因子、第IX因子、第XIII因子、アンチトロンピンIII、トロンピン・アンチトロンピンIII複合体、フィブリノペプチドA、可溶性フィブリンモノマー複合体、可溶性フィブリン、プロテインC、プロテインS、ユーグロブリン溶解時間、フ

ィブリノゲン/フィブリン分解産物、プラスミノゲン、2-プラスミンインヒビター、プラスミン・2-プラスミンインヒビター複合体、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1、t-PA-PAI-1複合体、トロンボモジュリン)。

(4) HAE 患者検体の線溶凝固系における各種血液マーカーを測定する

(3) で確認・確立した測定法にて、HAE 患者検体を用いて、線溶凝固系の各種血液マーカーを測定する。

(5) 測定結果(血液検査と超音波検査)と患者の基礎データを比較する

得られた HAE 患者の線溶凝固系の各種血液マーカーと超音波検査の結果を解析し、患者基礎データと照合することで、HAE における線溶凝固系の異常の病態を解明する。

(6) 成果の発表

HAE における線溶凝固系の異常の病態に関して、国内外を問わず関連学会(日本アレルギー学会、日本補体学会、EAACI Congress、C1 Inhibitor Deficiency Workshop など)で発表、また論文文化し医学雑誌で発表する。

(7) ガイドライン改定への提言

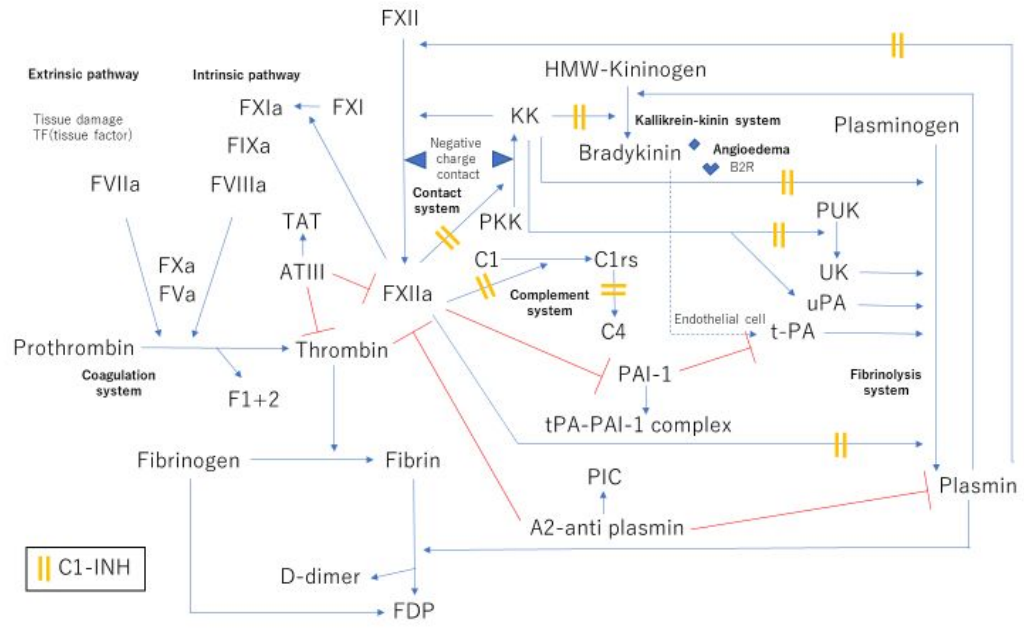
日本補体学会あるいは WAO/EAACI へ研究結果を提言し、HAE と線溶凝固系異常の異同性を考慮した診断基準の改定を提言する。

(8) HAE 患者会や一般社会への情報公開

HAE 患者会へ積極的に参加し、研究データ成果の公表を行う。また、Web を通じて「HAE 情報センター」にて研究成果を公表することで、広く一般社会に情報を伝える。

4. 研究成果

HAE 患者の発作時あるいは非発作時に採取した計 31 の血液検体を用いて、各補体系マーカー・線溶系マーカー・凝固系マーカー・接触系マーカー・カリクレインキニン系マーカーを測定した。このうち、HAE I 型・II 型の疾患病態に特徴的な C1-INH 活性、C4、CH50 はいずれも低値を示した。また、これ以外のマーカーについては、PT 秒: 低値~基準値内、PT%: 基準値内~高値、PT-INR: 基準値内、ヘパラスチンテスト: 基準値内~高値、プラスミノゲン: 基準値内~高値、アンチプラスミン: 基準値内~高値、AT3 活性: 基準値内、FDP 定量: 高値、フィブリンモノマー複合体定量: 高値、D ダイマー: 高値、PIC: 高値、TAT3 複合体: 高値、PT フラグメント F1+2: 高値、プロテイン C 活性: 低値~基準値内、プロテイン S 活性: 低値~基準値内、トロンボモジュリン: 基準値内、Ca: 基準値内、凝固因子 F7: 基準値内~高値、凝固因子 F11: 基準値内、凝固因子 F12: 基準値内、tPA PAI-1 複合体: 基準値内~高値、フィブリノゲン: 基準値内、APTT: 基準値内、WBC: 基準値内、RBC: 基準値内、Hb: 基準値内、Ht: 基準値内、PLT: 基準値内であった。これまでに、本研究結果のように系統だって解析、報告されたことは少なく、これまでの既報告のデータを合わせ、本研究で得られたデータを比較検討する。本研究で得られた上記の結果は、凝固系・線溶系・接触系・補体系・カリクレインキニン系を制御する重要蛋白である C1-INH が遺伝的に欠損あるいは機能不全の状態である HAE (I 型・II 型) の病態に基づいている。C1-INH の機能低下により、これら複数の生体内での重要なカスケードでの抑制が減弱され、様々な反応が起こると考えられる。HAE の急性発作は、最終的にカリクレインキニン系でブラジキニンが発作的に産生され、血管透過性亢進をきたすことにより浮腫をもたらすが、この最終反応に至り浮腫がもたらされるまでの途中経過の正確な機序は解明されていない。しかし、これまでに報告された研究成果と本研究から得られたデータから総合的に考察すると、HAE の浮腫発作には活性型凝固因子 F12 とプラスミンが深く関与していると推察できる。元来、接触系では、陰性荷電物質をトリガーとして、凝固因子 F12 が活性化され活性型凝固因子 F12 に、プレカリクレインが活性化されカリクレインに変換される。さらに、これらの活性化は互いの活性化を促進する。そして、この活性化反応により、カリクレインキニン系において HMW-キニノーゲンからブラジキニンが産生されるものの、HAE の浮腫発作時におけるカスケードのトリガーとなる陰性荷電物質は未だに同定されていない。一方で、プラスミンも HMW-キニノーゲンを活性化し、ブラジキニンを産生させる機序を有していることがわかっており、平時の生体ではプラスミンの生成を抑制するために複数のカスケードにおいて C1-INH が活性化を抑制している。このように、C1-INH は線溶系の活性化の進行を抑制していると考えられるが、HAE では、これらの抑制が減弱していることから、プラスミンの活性化が進行し、接触系における陰性荷電物質が明らかではない状態であっても、カリクレインキニン系においてブラジキニンが産生される可能性も考慮される(Plasmininflammation)。さらに、HAE では血栓形成はないものの、通常は血栓形成を示唆する凝固系マーカーである PT フラグメント F1+2、D ダイマーや FDP 定量、線溶系マーカーである tPA PAI-1 複合体や PIC の上昇が本研究でも確認された。しかし、血栓形成がないにも関わらずこのような凝固系・線溶系マーカーの活性化を示す明らかな原因は不明であり、今後もデータの蓄積と解析が必要である。C1-INH の機能低下による HAE の病態解明は、HAE のみならず、これに関与する凝固系・線溶系・接触系・補体系・カリクレインキニン系全体の相関を解明することにつながる。さらに、各検体が採取された際の発作の有無、症状の部位、症状の程度、持続時間や軽快するまでの時間、年齢や性別、発作初発年齢との関連、発作頻度との関連、発作時あるいは非発作時との関連、同一遺伝子を有する家族性との関連、発作部位との関連、同一患者での発作時と非発作時のデータ比較、健常者とのデータの比較などの臨床データを解析中であり、早急にこれらの解析がなされた後は、直ちに論文化を進め、広く社会に公表する予定である。



|| C1-INH

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Daisuke Honda, Isao Ohsawa, Yuki Shimizu, Masayuki Maiguma, Teruo Hidaka, Hitoshi Suzuki, Hiroaki Ito, Satoshi Mano, Hisatsugu Takahara, Hisaki Rinno, Yasuhiko Tomino, Yusuke Suzuki	4. 巻 57(21)
2. 論文標題 Suffocation Due to Acute Airway Edema in a Patient With Hereditary Angioedema Highlighted the Need for Urgent Improvements in Treatment Availability in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 3193-3197
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.9262-17. Epub 2018 Apr 27.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Isao Ohsawa, Daisuke Honda, Atsuko Hisada, Hiroyuki Inoshita, Kisara Onda-Tsueshita, Satoshi Mano, Nobuyuki Sato, Yuya Nakamura, Tatsuo Shimizu, Hiromichi Gotoh, Yoshikazu Goto, Yusuke Suzuki, Yasuhiko Tomino.	4. 巻 57(3)
2. 論文標題 Clinical Features of Hereditary and Mast Cell-mediated Angioedema Focusing on the Differential Diagnosis in Japanese Patients	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 319-324
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.8624-16. Epub 2017 Nov 1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Daisuke Honda, Isao Ohsawa, Hisatsugu Takahara, Hisaki Rinno, Yasuhiko Tomino, and Yusuke Suzuki.
2. 発表標題 Evaluation for the measurement results of C1-inhibitor activity and suggestion in the diagnostic cut-off value of C1-inhibitor activity in patients with hereditary angioedema type I/II
3. 学会等名 European Academy of Allergy and Clinical Immunology, the annual congress 2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----