

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：29-8B

課題名：小児血栓症の早期診断法と長期治療管理法の開発に関する研究

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター
(所属・職名 氏名) 教育研修センター センター長 石黒精

(研究成果の要約) 小児血栓症の治療法，長期管理法は，いまだ確立していない。PC 活性値に加えて PC/PS 活性比が遺伝子変異の予測に有用であることを示し，PC 活性値と PC/PS 活性比を用いた判別式を作成した。ドミノ肝移植および死体肝移植は，親からの生体肝移植の代替として，長期的に有効かつ安全であることを示した。ドミノ肝移植例では新生児期の頭蓋内出血による難治性てんかんである West 症候群が改善した。新生児期に 1 型インターフェロンが異常に活性化することによって凝固異常，血小板減少，脾腫，心肥大が起きた症例の原因遺伝子として IFIH1 の新規バリエーションを見だし，論文化した。さらに，成果をまとめて専門誌（血栓止血誌）に発表した。

1. 研究目的

小児血栓症は高度医療機関を中心に増加している。小児血栓症の治療法，長期管理法は，いまだ確立していない。本研究の目的は，小児血栓症の早期診断法と長期治療管理法を開発することである。当センターに知見を集積して，患児の予後と QOL の改善に貢献する。

本研究班では，①小児血栓症について PC，PS および AT の遺伝子解析を実施し，遺伝子型と臨床像および治療予後との関連を明らかにする（大賀）。さらに，早期診断法を開発する（大賀，石黒）。②病態解明のために免疫学的に解析する（内山）。③新規治療法の発展のために，肝移植による根治療法の確立（笠原，石黒），移植関連血栓症の予防法と治療法の開発（加藤），新規抗凝固薬の小児への適応拡大（小野）を図る。

2. 研究組織

研究者	所属施設
石黒 精	成育医療研究センター
笠原 群生	成育医療研究センター
大賀 正一	九州大学大学院
小野 博	成育医療研究センター
加藤 元博	成育医療研究センター
内山 徹	成育医療研究センター

3. 研究成果

1. 小児血栓症の病態解明

小児血栓症の遺伝子解析（大賀）

血栓症を発症したプロテイン C (PC) 欠乏症のうち，遺伝子検査を施行した 21 歳未満の 74 名を集積した。29 名 (39%) に遺伝子変異を認めた。そのうちヘテロ変異は 17 名 (59%) で，従来考えられていたよりもヘテロ変異において血栓症を発症するリスクが高いことを明らかにした。特に生理的に活性値が低く診断困難な新生児発症 PC 欠乏症について，学会や論文での既報告例も含めた計 50 名を検討したところ，遺伝子変異者は非変異者に比べて電撃性紫斑病あるいは複数の症状を呈する患者が多く，PC 活性値と PC/プロテイン S (PS) 活性比が有意に低いことが判明した。また，PC 活性値に加えて PC/PS 活性比が遺伝子変異の予測に有用であることを示し，PC 活性値と PC/PS 活性比を用いた判別式を作成した。新生児期発症 PC 欠乏症例に対して判別式を用いると，感度 93%、特異度 50%であった (Ichiyama M. J Perinatol 2019)。効果的な早期診断法の確立に一步近づいたと言える。また，新生児血栓症例に対して，効率的かつ網羅的な遺伝子検査を行うために，パネル検査を計画した。報告例を参照に候補遺伝子 (PROC を含む 23 遺伝子) を選択し，かずさ DNA 研究所と合同で解析パネルを作成し，順調に作動することを確認

した。

免疫学異常と血栓形成に関する解析（内山）
血栓形成においては、自然免疫や獲得免疫系の関与が報告されている。単球による tissue factor (TF) の産生や、活性化した好中球による NETs (neutrophil extracellular traps) の放出 (NETosis) は凝固因子や血小板の活性化を通して血栓形成を引き起こすが、これらはいずれも Akt/mTOR pathway が関与している。今回我々は、フローサイトメトリーを用いた免疫細胞における Akt のリン酸化の解析系を確立した。PI3K/Akt/mTOR 経路の恒常的活性化により発症する活性化 PI3K δ 症候群 (APDS) 患者の血液検体を用いた解析では、Akt のリン酸化を検出することができた。

2. 遺伝性血栓症の研究基盤になる疫学的検討

遺伝性血栓素因患者の治療法と予後（石黒、大賀）

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、国内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全国調査を行い、血栓症の疫学を調査した。2014年1月1日から2018年12月31日までの期間に、日齢28までに新生児血栓症と診断もしくは疑われた新生児は117例報告され、年間推定患者数は10万出生対3.45例(0.0035%)であった。遺伝性プロテインC(PC)欠乏症は6例であった。直接経口抗凝固薬(DOAC)の使用例が1例報告された。発症頻度は過去の全国調査とほぼ同等であり、遺伝性PC欠乏症の5例が当院で遺伝子解析が行われていた。この全国調査によって、私たちが構築してきた疾患レジストリの悉皆性の高さと、新規治療法の可能性を示すことができた。さらに、新生児期に脳出血または出血性梗塞を来した症例の中にPC活性が極めて低かったものの、遺伝子変異を伴わず、乳児期後半までに上昇した症例を見いだした。「Late riser of PC」という概念を打ち立てることを構想中である。さらに現在、アンチトロンビン測定法の全国共通化に向けて進行中である。

3. 遺伝性血栓素因患者への新しい治療法の開発

肝移植による新規根治療法的确立（笠原、石黒）

小児のプロテインC(PC)欠乏症については、急性期、慢性期の治療法が確立されていない。当センターでは本邦小児肝移植症例の60%が移植医療を実施している。2005年11月18日から現在まで600症例に達した肝移植と世界最多の小児生体肝移植を実施してきた。難治性疾患である小児血栓症に対する肝移植は、欧米で報告はあるものの、わが国では脳死臓器提供不足も相俟って依然少ないのが現状である。特に生体臓器移植が主体のわが国で、患児の血栓症保因者である両親が生体ドナーとなることは困難である。このため代表的な小児血栓症であるプロテインC欠損症に対してメープルシロップ尿症の肝移植で摘出された全肝臓を2次移植(ドミノ肝移植)、また、小児ドナーからの脳死肝移植を実施した。移植後から現時点まで、それぞれ4年、3年間経過観察し、経過良好で新たな電撃性紫斑病発作を認めていない。

さらに、生体肝移植ドナーが術後に深部静脈血栓症を発症し、後にヘテロのアンチトロンビン(AT)欠乏症と診断された事象を経験し、学会で発表した。移植を受けた患児の血漿AT値も長期間低値であり、極めて重要な知見と考えられる。今後さらに症例を重ね、遺伝性血栓素因患者に対する肝移植医療の適応・周術期管理を標準化してゆく予定である。

移植関連血栓症の予防法と治療法の開発（加藤）

造血幹細胞移植の後に起こる微小血栓症は重篤な臓器障害の原因となり、しばしば重篤となる合併症であり、造血幹細胞移植を安全に遂行するためには、その適切な予測・診断・治療が必須である。本研究では、前処置と支持療法を統一した形での前方視的臨床試験を遂行したうえで、凝固マーカーを体系的に評価することで、肝中心静脈症の管理を行った。また、臓器障害による合併症死亡がより顕著となるAYA世代のALL患者の移植後の臨床成績を検討した結果を報告した。

新規抗凝固薬の小児への適応拡大（小野）

DOAC(direct oral anticoagulant)は成人の静脈血栓塞栓症や非弁膜症性心房細動に用いられてきた。現状では、凝固因子第 Xa 阻害薬である、リバロキサバン、エドキサバン、アピキサバン、直接トロンビン阻害薬であるダビガトランが使用できる。しかし小児では使用経験、エビデンスがほぼ存在しない。本研究では DOAC の小児への適応拡大を目指す。深部静脈血栓症を対象としたものでは、リバロキサバン、ダビガトラン、アピキサバンの 3 剤の RCT が進行している。当センターでは rivaroxaban の EINSTEIN Junior study に参加している。

深部静脈血栓症に対する治験は終了し、フォンタン手術後に対するものは進行中である。両治験ともに当センターでは組み入れを行った。同 study によると、低体重の小児では、成人と同様の PK/PD は示さず、分割投与が推奨される結果となった。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究は、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除や説明と同意について、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針および人を対象とする医学研究に関する倫理指針を遵守して実施している。