

総括研究報告書

課題番号：29-8

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

主任研究者名：石黒 精 (所属施設) 国立研究開発法人 国立成育医療研究センター
(所属・職名) 教育研修センター・センター長

(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のものである West 症候群が改善した。タクロリムスの効果と推測された。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, 乳児期後半までに健常児と同等までに上昇した症例を見だし, 論文化した。

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。④研究で生み出されるエビデンスを集積して, 質の高い診療ガイドラインを確立する。

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た。現在院内倫理審査の承認手続きと, 候補検体の選出を行っている。また, 本パネル検査を用いた

症例集積を想定して、全国調査票を作成している。年度内に調査を予定している。

免疫学異常と血栓形成に関する解析 (内山)

免疫学的異常が疑われる患者に対してフローサイトメトリー (FCM) による免疫学的評価を実施しており、約 400 件の解析を実施した。血球貪食症候群患者では、T リンパ球の活性化が高い症例で、強い凝固異常が認められた。一方で、当初、肝疾患を疑われたものの、血栓形成傾向が強いことから FCM 解析を行ったところ、免疫異常が判明した症例を経験した。遺伝子解析の結果、PI3K δ 鎖 (PIK3CD) の異常による活性化 PI3K δ 症候群 (APDS) と診断された。T 細胞における PI3K-Akt-mTOR 経路の活性化が原因であることから、mTOR を標的としたシロリムスによる免疫抑制療法を行ったところ、凝固の改善とともに腹水が消失した。肝生研では、肝実質の障害が少ない一方で、肝中心静脈の内皮障害と血栓形成が顕著であり、腹水の原因と考えられた。免疫調節異常症での局所的な血栓形成における T 細胞の活性化の関与が示唆され、報告した (Okano T, Uchiyama T: J Allergy Clin Immunol 2018)。H30 年度は、免疫異常症患者の FCM 解析を行うと同時に、T 細胞の各分画中の IFN- γ 染色法を確立した。凝固異常 (特に凝固制御因子の低下傾向) が認められる患者における、IFN- γ の測定を開始し、IFN- γ と血栓傾向の関連を解析中である。

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)

日本の小児血栓症の約 20% が遺伝性であり、そのうちプロテイン C (PC) 欠乏症が 45%、プロテイン S (PS) 欠乏症が 15%、アンチトロンビン (AT) 欠乏症が 10% を占めた。この比率は成人と全く異なっていた。妊娠中・産褥期の母体血栓症より遺伝性 PC 欠乏症の診断に至った母児例 2 家系、児の胎児期・新生児期の頭蓋内病変より診断に至った母児例 1 家系を経験した。患児の両親は変異を有する未発症者が多く、妊娠は血栓発症の誘因となるため、母体の血栓性疾患のスクリーニングが重要であることが判明した。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、乳児期後半までに健常児と同等までに上昇した症例を見だし、論文化した (Uehara E, Ishiguro A: Am J Perinatol Rep 2018)。同様の症例を複数集積中であり、「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作業中である。

3. 遺伝性血栓性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 から 2018 年 11 月 29 日現在まで 536 例の肝移植 (生体 501 例、脳死 29 例、ドミノ 4 例、肝細胞移植 2 例) 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。肝移植による根治療法の提言をまとめて、2018 年にアジア小児科学会において石黒が講演を行った。

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、遺伝性血栓性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)

移植関連血栓症の誘因となる血管内皮障害を生じうるブスルファンを、血中濃度測定を用いて個々の代謝能にあわせて適正化することを目的とした臨床試験を行った。標準化された前処置にもとに行った造血幹細胞移植の中で、凝固マーカーを前方視的に収集し、さらなる血栓対策の構築に向けた基盤を構築した。臨床試験の結果を学会発表した(造血細胞移植学会)うえて、論文として報告した(Osumi T et al. *Pediatr Blood Cancer*)。臨床試験の成功を踏まえ、多施設共同での第II相臨床試験として計画書を作成し、開始した。

新規抗凝固薬の小児への適応拡大(小野)

小児の抗凝固薬適応症例に対して、新しい抗凝固薬である抗第X因子薬または抗プ

ロトロンビン薬が安全であるかを検討した。抗第X因子薬の一つであるリバロキサバンの小児血栓症に対する国際共同治験に参加し、1名の患者を組み入れた。また、血栓症を起こしやすいFontan手術後の小児に対する治験にも参加し、1例の患者の組み入れを行った。前者の治験の結果が公表され次第、それに準じてリバロキサバンの投与量やモニタリングの方法を、文献と合わせて立案する予定である。新規抗凝固薬が小児に適応拡大するために貢献している。

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。