

第28回 シスメックス血液学セミナー／質疑応答

4. 凝固異常症研究の進展

宮田 敏行

【司会・齋藤】最近の基礎的な研究の進展から、その臨床応用、あるいは将来の展望までお話しいただきました。先生も言われましたように、もともと血栓症というのは白人の病気だと我々は思っていたわけですが、環境因子の時代による変化か、最近やはり日本人でも血栓症が注目されてきていますよね。

【宮田】私の所属は、国立循環器病センターですので、出血の患者さんはほとんどいっしょらなくて、やはり血栓症がメインです。ですから、血栓症の研究を循環器病センターで行っています。

【司会】それでは、神戸会場から質問があります。新しい経口抗凝固薬が開発されたと聞きましたが、その作用機序と将来性はどうでしょうか。ワーファリンに代わりうるのでしょうか、という質問です。

【宮田】経口抗凝固薬はトロンビン阻害剤とXaの阻害剤の研究が進められていると聞いております。いずれも経口ですが、両方ともだと思いますが、モニターする必要がないというので、ドクターにとってはワーファリンより使いやすいと伺っております。しかし、トロンビン阻害薬は、肝臓のパラメータが異常値を示す方が、やや頻繁に見られると聞いておまして、アメリカのFDAでは、認可しなかったのではないのでしょうか。

Xa阻害薬の方はどのように進んでいるのか、あまりよく分かりませんが、いずれにしてもワーファリンは、コントロールが難しいので、どちらかというとワーファリンに代わるような経口のプロテアーゼ阻害薬を開発して、モニターをしなくてもきっちり抗凝固をコントロールできるという薬剤が待たれています。

【司会】次の質問は、「アンチトロンビンあるいはプロテインCなどが低い患者さんには抗凝固療法を行う必要がありますか」という質問ですが、どういう意味でしょうか。もともと低ければワーファリンを使わなくてもいいのではない

か。そういう意味でしょうか。

【宮田】イベントが起こるのを、あらかじめ予防的に投与することに関しては、欧米でもかなり議論があります。まだイベントが起こっていない方に、あらかじめコントロールをする、しなさいということはあまり欧米の学会でも聞いたことがないと記憶しております。一度イベントが起こってしまったら話は別だとは思いますが。

【司会】東京会場から二問、質問があります。檀先生、お願いします。

【東京会場・檀】一つは血液内科の先生からのご質問ですが、この先生は若年発症の深部静脈血栓症、それから肺塞栓症から診断ができたATⅢのヘテロの欠損症を持っているということです。この患者さんのシーケンスは終了して、変異を確認できているということですが、現時点ではこういう症例の一例報告は、レポートに値するものかどうかということで、それに関連してATⅢの欠乏症の遺伝子変異のデータベースはあるのでしょうか、というご質問です。

【宮田】まず、一例で臨床症例として報告する価値があるかどうかということですが、私としては、それはぜひ報告していただきたいと思っています。なぜならば、そういうデータも、一つではあまり意味がなくても、やはり積み重ねで、日本人ではこのような変異があるというデータが、最終的にはできていくと思っております。日本人を対象にしたそうしたデータができましたら、いろいろなところで有用なインパクトが出てくると考えております。少なくとも学会報告程度では、ぜひ報告していただきたいと思っております。

それから、申し訳ございません、二つめの質問は何でしたでしょうか。

【東京会場・檀】これに関するデータベースはできているのでしょうか。

【宮田】実はアンチトロンビンだけではなく、プロテ

インC, プロテインSに関して, 国際血栓止血学会(ISTH)を中心にして, 変異のデータベース作りが10年ぐらい前までは, かなり盛んでした。日本でも, 例えば齋藤先生に全部データを集めて, 齋藤先生からISTHの本部に送って, データをまとめていただくというような作業がかつてはありましたが, 最近はあまりそのような国際的な動きがあるとは聞いておりません。

ただ, 最後に紹介しましたが, 池田先生の厚生労働省の班がありまして, 今年から始まるのですが, 班として, 少なくとも日本国内のこれまでのプロテインC, プロテインS, アンチトロンビンの変異をまとめようとしています。

【東京会場・檀】 ありがとうございます。もう一つ質問したいと思います。

これは検査部の方からのご質問ですが, プロテインSの欠乏症について, プロテインSの欠乏が原因と考えられる血栓症の場合, 検査にはプロテインSの抗原量, 活性値, フリー・プロテインS量と3種類がありますが, どの項目を選択すべきでしょうか。

【宮田】 フリー・プロテインSのみが抗血栓能を示すということになっておりますので, 原理から申し上げますと, フリー・プロテインSを測るのが一番妥当であると思います。しかし, 測定法から考えますと, フリー・プロテインSを非常に正確に再現性よく測れるかどうかというところが, 実は別の問題としてあります。

私自身, キットがどれぐらい正確なのか, 経験がないので分かりません。原理的にはフリー・プロテインSを測って, 低いというのが一番重要です。測定法がどれだけ信頼性があるかを, 私は判断できないところもあり, どれが良いかというのも, 少し難しいと思います。齋藤先生, いかがでしょうか。

【司会】 恐らくこれはフリー・プロテインSの活性が一番大事だと思いますが, その三者を測って, いろいろな亜型に分けたり, 参考にしたいと思います。普通は三者を一つのセットで測ると思います。ありがとうございます。それでは, 次はシンガポール会場から質問があります。

【シンガポール】 ポピュレーション・ベースでのプロテインCとプロテインSとアンチトロンビンの活性測定ですが, カットオフ値はどう決めるのでしょうか。無症候の患者に対して, カットオフ値として, どのような診断基準を持たれるのでしょうか。

【宮田】 私たちは1,000人とか2,000人レベルで, プロテインC, プロテインS, アンチトロンビン, プラスミノゲンの活性を測定して, それで活性から欠乏症の頻度をご紹介申し上げましたが, そのときのカットオフ値をどのように使ったかということです。私たちはこれまで, 例えばプロテインCならプロテインCの複数の家系で, 遺伝子解析をしております。遺伝子レベルで変異がある家系の血漿を持っていました。その複数の血漿でアッセイをして, ヘテロの人はこれぐらいの活性を示して, その家系内の正常の人はこのような正常値を示すのだというデータを持っております。それでカットオフ値を引いて, 以下の人は欠乏症, 以上の人は正常としました。

【シンガポール】 分かりました。ありがとうございます。

【司会】 次は札幌会場で質問があるようです。お願いします。

【札幌】 検査法との関連で質問させていただきます。

ADAMTS13の量的低下は, vWFの切断障害により, TTPの原因になるとのことですが, ADAMTS13の質的異常によるTTPの報告もあるのでしょうか。

【宮田】 ADAMTS13が, TTPの原因になるというのは明らかで, それで先天性と後天性があることを紹介しました。先天性の場合は遺伝子に変異がありまして, それはホモのような形に変異を持っている, もしくは複合ヘテロ(コンパウンド・ヘテロ)のように違う変異が, 2種類別々のアレルにあるという場合もあります。

今までのところ, 私たちのところで見つけた変異に関しては, すべて発現実験を行いました。池田先生のところでも発現実験をしておられました。その発現実験の結果, ほとんどのミスセンス変異のものが分泌障害でした。ですから, 合成する細胞からは, 血中にADAMTS13が分泌されており

ませんでしたので、細胞の外にはADAMTS13活性を検出できないような変異でした。また、スプライス部位にある変異とか、ストップコドンができたようなナンセンス変異の場合は、機能を持つADAMTS13が分泌されません。したがって、これまでの日本人で解析した変異を総合しますと、ADAMTS13の血中の活性がほとんどゼロに近いような方は、先天性のTTP症状を示すということです。

私はこの講演の中で、P475Sというミスセンス変異が、ADAMTS13のシステインリッチドメインの中にあって、それは日本人の10人に1人がお持ちだということを紹介しました。このP475Sミスセンス変異体は、発現実験では培養細胞中に分泌されますし、パーセントでは5%とか10%ぐらいかもしれないですが、活性は持っていました。このP475S変異を持っているホモの人もしゃいますが、そういう方の活性はやはり10%とか20%ありますので、ADAMTS13の活性が10～20%ありますと、TTPにはなりません。したがって、TTPの発症には極めてゼロに近いぐらいの、低いADAMTS13の活性が必要であって、少しでも、例えば10%でも活性があると、TTPにはならないのではないかと考えております。

【司会】札幌会場で、もう一問ありますか。

【札幌】プロテインS、プロテインC、アンチトロンビン、プラスミノゲンの4抗原について、性差、年齢差をご検討されたグラフがありましたがいずれも50歳程度を境に、男性よりも女性が高値を示す傾向が見られたと思います。これは単純に性ホルモンによる影響なのかどうかをお聞きしたいと思います。

【宮田】この性差が何に起因するかは、はっきり分かりません。予想しているのは、先生が今おっしゃいましたように、ホルモンの違いではないかということですが、閉経を考慮してデータを解釈し直すことは、まだしていませんので、今のところそうだと思いますが、あくまでも予想しているところですよ。

【札幌】ありがとうございました。

【司会】次は名古屋会場から質問があります。

【名古屋】生体内も含めてですが、新鮮凍結血漿(FFP)など中のV因子、Ⅷ因子が、他の因子に比べると不安定であるというのは、お話の中で遺伝子構造上、非常に似ているという部分が原因なのでしょうか。

さらに、低下の予防に関しては、何かあるのでしょうか。

【宮田】講演の中では、第Ⅷ因子はそれ単独では、血中ではかなり不安定で、vWFと結合することにより、血中を安定に循環しているのだということをお話させていただきました。新鮮凍結血漿の場合にV因子もしくはⅧ因子の活性が下がりやすいかどうかについて、私自身、これまであまり経験がありませんので、申し訳ございませんが、コメントはできません。

【司会】確かに昔から、血漿中でV因子、Ⅷ因子が、他の凝固因子に比べると不安定だといわれています。私もよく原因は知らないのですが、多分少し凝固が活性化して少量のトロンビンができて、限定分解を受けて壊れやすいのではないのでしょうか。

【宮田】その二つの因子が特にトロンビンで限定分解を受けて壊れやすいということは、生化学的にも既に証明されている事実です。

【司会】それでは、次は東京の檀先生に質問をお願いします。

【東京会場・檀】それでは、私から一つお聞きしたいと思います。

今日、先生がお話しになった疾患の中で、先天性のビタミンK依存性凝固因子欠乏症のお話がありましたが、その中でワーファリンの血中濃度に関係をするものとして、CYP2C9以外に、VKORC1の多型が関与しているのではないかというお話があって、大変興味深かったです。この二つの多型の中では、現在のところは、ワーファリンの血中濃度に関連すると思われる感度のいいのはどちらなのか、その辺はお分かりなのでしょうか。

【宮田】それは今月号(6月号)の“New England Journal of Medicine”に載っております。その報告によりますと、あくまでも白人種を使った

アメリカでの研究成果ですが、VKORC1のハプロタイプは感度が21%ぐらいを説明する、一方、CYP2C9の方は6%ぐらいのワーファリン投与量の個人差を説明するという記載があります。したがって、個人のワーファリンの投与量により影響を与えるのがVKORC1のハプロタイプで、CYP2C9のほうも影響を与えますけれども、VKORC1よりも少ないという報告でした。

【司会】ありがとうございました。次に、シンガポール会場から質問があります。

【シンガポール】血友病の凝固異常の場合に、第Ⅷ因子活性が1%以下だと、重篤な血友病になるものと思います。しかし、1%以下の活性値であっても、重篤な症状の見られない患者もいます。凝固因子の活性値以外で、この臨床上の重篤度の差を説明できるものがあるのでしょうか。

【宮田】申し訳ございませんが、今のところ、私はその説明を持ち合わせておりません。

【シンガポール】分かりました。

【司会】ありがとうございました。先生、今日は非常に多くの健常人の集団で、日本人における先天性血栓傾向の頻度をお出しになって、その中で予想外にプロテインSの欠乏症が日本人では多いということですが、他のアジアの人たちでは、そのような事はされているのでしょうか。あるいは、先生もそういうデータをお持ちでしょうか。

【宮田】まず、日本人で頻度の高い凝固に関する遺伝

子多型はプラスミノーゲン、それから齋藤先生のプロテインS、それからADAMTS13、この三つなのですが、これは白人種にはありません。他のアジアの諸国の人にはあるかどうかということですが、まずプラスミノーゲンでは漢民族、それから韓国で報告がございまして、それぞれ中国と韓国の方にはプラスミノーゲンに同じ変異があるといわれています。頻度は、確か少し日本人より低かったと思います。

次に、齋藤先生のプロテインSの多型ですが、日本人しか今のところ報告がないのではないかと考えています。三つめのvWF切断酵素のADAMTS13ですが、これは日本人は非常に高く10人に1人ですが、中国の漢民族では、かなり低いけれども、あります。数パーセントというような報告がございまして、では、黒人にあるかどうかという研究は、今のところこの三つの多型に関しては報告を見たことがありませんので、まだ研究はないと思います。

【司会】ありがとうございました。本日は大変長時間にわたりまして、「血液疾患の分子生物学的基礎—どこまで明らかになったか—」というテーマで、白血病、悪性リンパ腫、血小板異常症、そして凝固異常症のお話を第一線でご活躍の先生方に詳しくお話しいただきまして、また活発な質疑をどうもありがとうございました。

【後日ご回答をいただいた質問】

【質問】 私どもの施設でも欧米人が受診される場合がありますが、実際の臨床検査において、特に先生が注意すべきと思われることはありますでしょうか。

もし具体例もありましたら、併せてご教示ください。

【回答】 欧米人が受診されても、臨床検査において特に注意する点があるというものではありません。

【質問】 プロテインSは、どの程度低下していたら血栓症の原因と考えて良いのでしょうか。

私の経験した例は、妊娠中の女性で動脈血栓症を発症しました。プロテインS活性値は50%程度でした。この例ではプロテインS欠乏によると考えて良いのでしょうか。

【回答】 妊娠中の女性はプロテインS活性が低下します。プロテインS活性が50%程度まで低下することは珍しくありません。従いまして、この方が動脈血栓症を発症したからといって、プロテインS活性の低下が原因だというものではないと考えられます。妊娠時は、プロテインS活性の低下が示すように、血栓傾向を示します。しかし、全ての方が血栓を起こすというわけではありませんので、血栓症の発症は他の要因もかかわっていると考えられます。

【質問】 LMAN1, MCFD2の阻害が血液凝固阻害剤開発につながるとのコメントでした。この阻害剤は、LMAN1, MCFD2に対するモノクローナル抗体(薬)で開発可能とお考えでしょうか。

【回答】 LMAN1とMCFD2は、細胞内に存在する蛋白質です。モノクローナル抗体のような大きな分子量のものは、細胞内に入らないのでLMAN1やMCFD2にまで到達しません。LMAN1やMCFD2を阻害する物質は、より低分子量の化合物であると考えられます。

【質問】 ビタミンK依存因子のII, VII, IX, X因子が硫酸バリウムで吸着される理由(吸着機序)についてご教示ください。

【回答】 バリウムイオンがGlaドメインに結合し、そのバリウムイオンが硫酸バリウムとなって沈殿するために、ビタミンK依存性凝固因子と一緒に沈殿します。バリウムイオンとカルシウムイオンは原子半径がほぼ同一なので、これらの原子類はGlaドメイン(そしてGlaドメインを含む凝固因子)に結合します。その後、硫酸バリウムなどの水に不溶性の塩は当然、時間と共に沈殿します。これがビタミンK依存因子が硫酸バリウムに吸着し沈殿する機序だと考えられます。

【質問】 学生実習でAPTTが延長していることが分かり、就職した時に検査したところ、XII因子が3%以下という結果でした。

遺伝子検索まで行った方が良いのでしょうか。

またそれにかかるコストはどれくらいなのでしょうか。

治療法は確立されているのでしょうか。

【回答】 XII因子欠損症は古くから見いだされていますが、これにより臨床症状が出るのかは明確ではありません。XII因子欠損症から考えられるのは出血症ですが、XII因子欠損症として有名なハーゲマン氏は出血症ではありませんでした。従いまして、XII因子欠損症でも日常生活に支障を来すことは余りないようです。遺伝子解析は可能ですが、それはXII因子の遺伝子や蛋白質の研究の観点から進められているようです。治療法ですが、XII因子欠損症は症状が明確ではありませんので治療法は検討されていません。ハーゲマン氏の臨床症状に関しては、「血栓の話、出血から心筋梗塞まで(青木延雄著・中公新書/2000年)」をご覧ください。