

循環器疾患に伴う後天性フォンウィルブランド症候群の実態解明

堀内久徳

東北大学加齢医学研究所

【研究の背景】

止血因子フォンウィルブランド因子(VWF)は巨大多量体として産生され、ずり応力依存的に分解されて血液中では 2-80 サブユニットからなる多量体として存在するが、止血には高分子量領域の多量体が重要である。ファロー四徴症や肥大型心筋症、肺動脈性肺高血圧症、慢性肺血栓栓性肺高血圧症等の循環器難病や大動脈弁狭窄症等過度の高ずり応力が生じる循環器疾患では VWF 多量体の分解亢進により VWF 高分子多量体が欠損することで後天性フォンウィルブランド症候群(AVWS)という止血異常症が随伴することがある。循環器疾患随伴 AVWS には、現状以下のような問題がある：① 診療現場では本合併病態はほとんど認識されておらず、適切な治療方針がとられないことがある、② 診断法の VWF 多量体解析は定量的に評価されておらず、そのため軽症・重症の概念がない、③ 循環器疾患毎の血液学的 AVWS の発症頻度・重症度や、出血性合併症の頻度、出血のリスクとなる AVWS 重症度等は全く不明である。④ AVWS 存在下の出血時の最適な対処法も不明である。

【目 的】

本研究では、上記の問題点①～④を解決し、高ずり応力を来す循環器疾患が原因となって発症する止血異常症 AVWS の病態解明、診断法、予防・治療法を確立することを目的とする。そして、診断基準および重症度分類を確立することを目的とする。循環器難病を含む種々の疾患の AVWS の重症度を定量解析して、出血イベントを評価するというこのような体系的臨床研究は世界的に例がない。

【方 法】

そこで我々は上記疾患を含む循環器疾患に随伴する AVWS の診断基準および重症度分類を確立することを目的として、2015 年より多施設共同前向き観察研究を開始した。重症度分類構築のためには、診断に用いる指標の定量的評価を行わなければならない。まず、本研究では、我々が開発した VWF 多量体解析の定量法を基盤に、その定量法を確立する。そして、参加施設より対象症例(大動脈弁狭窄症、僧帽弁閉鎖不全症、肺高血圧症、肥大型心筋症、先天性心疾患、機械的補助循環)(各疾患で 200-500 例、総計約 2500 例の登録を計画)を登録し、その定量化指標を用いて AVWS の重症度を評価し、AVWS 重症度と出血性合併症発症との関係を横断的・縦断的に評価する。また出血時の適切な対処法を明らかにする。本研究では十分な症例が集積した疾患から順次解析する。なお本研究は東北大および各参加施設の倫理委員会の承認を受け、全参加患者に口頭および文書で説明し、文書による同意をいただき、ヘルシンキ宣言に則り施行している。

【結 果】

1. **VWF 因子多量体の定量的評価法の構築:** 診断のゴールデンスタンダードである多量体解析の標準化・定量化を、VWF large multimer index (図 1, Tamura et al, J Atherosclerosis Thrombosis, 22, 1115-1123.2015)を用いて行うこととなった。しかし、この方法は、2000 万ダルトンという超巨大分子のウェスタンブロットであり、血液解析を担当する 3 施設

(東北大、国循、奈良医大)で同様の結果を出すように工夫した。また、健常人の標準血漿とくらべて解析結果を表記することとなったが、比較対象とする標準血漿が決まっていなかった。解析の結果、研究班で作成したプール血漿および WHO 作成の標準血漿は、高分子量領域が低く出る傾向にあり、標準血漿としてシーメンス社作成の標準血漿を用いることとした。さらに、フォンウィルブランド因子多量体解析は、技術的に高度で、また時間もかかる。

一方、遺伝性フォンウィルブランド病の診断には、簡便なフォンウィルブランド活性が有用である。少数例の検討では、活性は多量体解析の結果との相関はよくなかったが、フォンウィルブランド活性を全例測定し、多量体解析の結果と比較検討することとした(東北大病院検査部およびシスメック社の協力を得られることとなった)。より簡易な診断法を構築できればと考えている。

なお、平成 29 年 7 月にドイツ・ベルリンにおいて開催された国際血栓止血学会の学術標準化委員会(フォンウィルブランド病部会)シンポジウムにて、我々の構築した多量体解析の定量法を提案した。

図1 vWF 高分子量多量体 index: 我々が提案している定量指標。症例の血漿と健常人血漿を隣同士でVWF多量体解析を行い、デントメーターでスキャンし、症例のVWF高分子割合を健常人の高分子割合で割った値をindexとする。健常人を100%として、患者VWF高分子量多量体量を%表示することとなる。

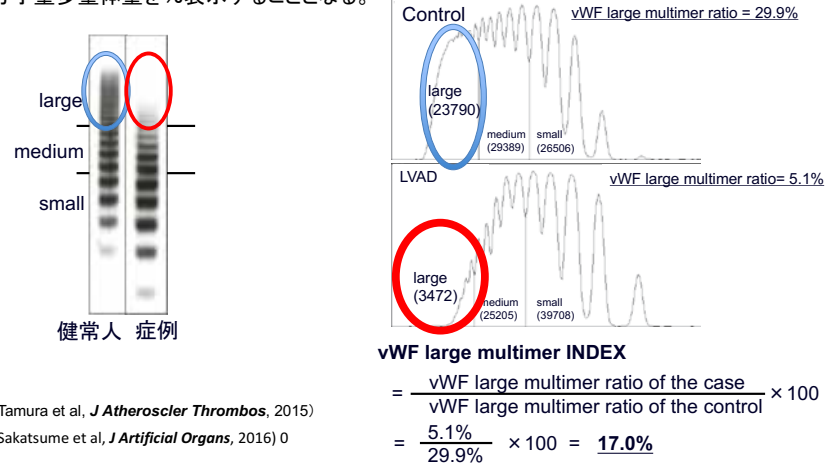
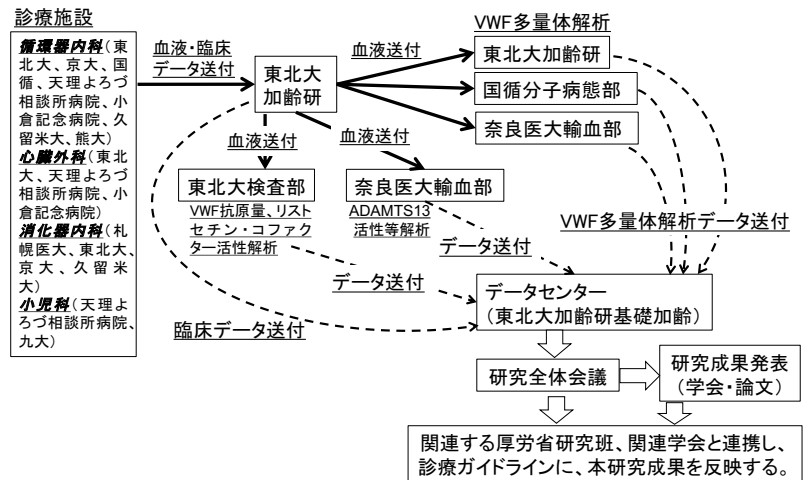


図2. 研究の流れ: 登録症例のデータと血液検体の流れ



2. **症例登録:** 参加各診療施設での倫理委員会の承認を得て、各施設からの登録が進み 2017 年 12 月末までに約 550 例、2500 検体の登録を得た。そのうち、約 300 例が大動脈弁狭窄症であり、まず、大動脈弁狭窄症に関して、解析をスタートさせた。横断解析を行い、血液学的 AVWS の発症頻度、出血性イベントの既往の頻度、AVWS 重症度と出血性イベントの関連について、2018 年 3 月に開催される日本循環器学会学術集会シンポジウムで結果を発表予定である。その他の疾患についてはさらに症例を集積する。また、現在、登録症例を追跡中であり、今後縦断的解析を行う予定である。

3. **植え込み型補助人工心臓(LVAD)における研究の発展:** 近年、超重症の心不全急性期の治療には経皮的心肺補助(PCPS)が大きく貢献している。少数例の解析ながら、PCPS を装着したすべての症例で大動脈弁狭窄症より相当高度の AVWS が発症していることを見いだした(Tamura et al, submitted)。さらに、植込型補助人工心臓(LVAD)は現在急速に普及している末期心不全の治療手段である。合併症として、ポンプ内血栓、リード感染が広く知られているが、出血も多く、約 30%に出血性合併症が頻発する。特に消化管出血が多く、最近、AVWS の関与が大きいと報告されている。我々は、LVAD 装着後に AVWS が原因と考えられる出血性合併症制御不能例の症例報告(K. Sakatsume, M. Akiyama, K. Saito, S. Kawamoto, H. Horiuchi, Y. Saiki (2016) Intractable bleeding tendency due to acquired von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant. *J Artificial Organs* 9, 289-292.)を論文発表し、さらに LVAD 装着 41

例を解析して、AVWS 重症例に出血性合併症が頻発していることを、国際回転式血液ポンプ学会(現、国際機械的補助循環学会, 2016 年 9 月)にて報告した(Sakatsume et al, submitted)。また、全国の LVAD 診療主要 10 施設と共に、植込型 LVAD 治療後の AVWS・出血性合併症について多施設共同前向き臨床研究 LVAD-AVWS 研究(代表、齋木佳克東北大学心臓血管外科教授)が 2017 年に開始された。

【考 察】

各施設の倫理委員会の承認の若干計画より症例登録が遅れたが、平成 29 年 12 月までに計 570 例の登録があり、研究計画は順調と言えよう。症例登録期間を延長して、計画したすべての疾患で評価する計画である。大動脈弁狭窄症:すでに約 300 例の大動脈弁狭窄症症例の登録があり、まず大動脈弁狭窄症から解析を開始した。VWF 高分子多量体と出血性合併症の関係を横断的解析によって明らかにする。研究成果については、平成 30 年 2 月に開催される日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウムおよび同年 3 月に開催される日本循環器学会学術集会シンポジウムにおいて発表予定である。

植込型補助人工心臓の分野では、本研究グループの活動の影響もあり、AVWS の重要性が強く認識され、平成 29 年度より、オールジャパン体制で LVAD-AVWS 研究が開始されることとなった。本 AVeC 研究では LVAD 症例の登録があったが、LVAD-AVWS 研究の開始後は、新規症例は LVAD-AVWS 研究に登録することとなった。LVAD-AVWS 研究開始前の症例は、AVeC 研究前の東北大学臓外科の症例と共に解析して、30%に生じた消化管出血性が AVWS 重症例に頻発していることを見だし、現在、論文登録中である(Sakatsume et al)。この結果は、我々が提案している指標(インデックス)が出血のリスクを表している可能性を示している。

診断のゴールドスタンダードである多量体解析の標準化・定量化を初年度にはほぼ終了していたが、比較対象とする標準血清が決まっていなかった。解析の結果、研究班で作成したプール血漿および WHO 作成の標準血漿は、高分子量領域が低く出る傾向にあり、標準血漿としてシーメンス社作成の標準血漿を用いることとした。なお、平成 29 年 7 月にドイツ・ベルリンにおいて開催された国際血栓止血学会の学術標準化委員会(フォンウィルブランド病部会)シンポジウムにて、我々の構築した多量体解析の定量法を提案した。世界基準になるべく、データを揃えたい。

さらに、フォンウィルブランド因子多量体解析は、技術的に高度で、また時間もかかる。一方、遺伝性フォンウィルブランド病の診断には、簡便なフォンウィルブランド活性が有用である。少数例の検討では、活性は多量体解析の結果との相関はよくなかったが、フォンウィルブランド活性を全例測定し、多量体解析の結果と比較検討することとした(東北大病院検査部およびシスメック社の協力を得られることとなった)。より簡易な診断法を構築する計画である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で対象とした循環器疾患に伴う AVWS は、経皮的カテーテルに大動脈弁留置術(TAVI)が治療法として普及し、大動脈弁狭窄症治療への関心も高まり、また、本研究グループでも総説の発表や学会シンポジウムなどを通じて啓発に努め、徐々に我が国の診療現場でも関心の高まり、浸透しつつある。本疾患は、その概念を理解していれば適切な治療法を選択することが可能であり、本研究は診療現場への普及を通じて臨床に貢献できたと自負している。

しかしながら、未だ、その診断基準や重症度分類がなく、出血性合併症に対するリスク層別化ができていない。そのため、この体系的な AVeC 研究の研究結果は非常に重要な意義をもつと思われる。そのため、一刻も早く、完成し、研究結果を公表したいと考えている。現在、日本血栓止血学会にて、フォンウィルブランド病診療ガイドラインを作成中であり、循環器疾患に伴う AVWS について、本研究代表者・堀内が執筆を担当している。しかし、現在、国内外のエビデンスはほとんどなく、現状では、エビデンスが希薄な、いわゆるエキスパートコンセンサス以上のものは望めない。本研究成果を盛り込んでいかなければならないと考えている。

本研究では、これまでほとんど定量的に扱われてこなかった、VWF 多量体解析の定量法を提案し、世界的に用いられるレベルに高めたいと考えている。平成 28 年度にはペンシルベニア大心臓血管外科から、解析依頼を受け、共同研究を開始し、データを送付した。平成 29 年 7 月、植込型補助人工心臓手術が年間 150 例(我が国の 1 年間の症例数に匹敵)行われるベルリン心臓病センターにて、研究発表を行い、国際共同研究のための打ち合わせを行った。今後、大きく展開していけ

ればと考えている。

【参考・引用文献】

以下に、本研究グループからの最近の成果を記載する。

1. Sakatsume K, Akiyama M, Saito K, Kawamoto S, Horiuchi H, Saiki Y (2016) Intractable bleeding tendency due to acquired von Willebrand syndrome after Jarvik 2000 implant. *J Artif Organs*. 19, 289–92.
2. N. Naito, T. Mizuno, T. Nishimura, S. Kishimoto, Y. Takewa, Y. Eura, K. Kokame, T. Miyata, K. Date, A. Umeki, M. Ando, M. Ono, E. Tatsumi (2016) Influence of a Rotational Speed Modulation System Used With an Implantable Continuous-Flow Left Ventricular. *Artificial Organs* 40, 877–883.
3. Yamashita K, Yagi H, Hayakawa M, Abe T, Hayata Y, Yamaguchi N, Sugimoto M, Fujimura Y, Matsumoto M, Taniguchi S. (2016) Rapid Restoration of Thrombus Formation and High-Molecular-Weight von Willebrand Factor Multimers in Patients with Severe Aortic Stenosis After Valve Replacement. *J Atherosclerosis Thrombosis* 23, 1150–1158
4. Kokame K. (2016) Subsequent Response of VWF and ADAMTS13 to Aortic Valve Replacement. *J Atherosclerosis Thrombosis*, 23, 1141–1143.
5. Fukumoto Y. (2015) Impact of Acquired von Willebrand Syndrome in Severe Aortic Stenosis. *J Atheroscler Thromb* 22, 1113–1114
6. T. Tamura, H. Horiuchi, M. Imai, T. Tada, H. Shiomi, M. Kuroda, S. Nishimura, Y. Takahashi, Y. Yoshikawa, A. Tsujimura, M. Amano, Y. Hayama, S. Imamura, N. Onishi, Y. Tamaki, S. Enomoto, M. Miyake, H. Kondo, K. Kaitani, C. Izumi, T. Kimura, Y. Nakagawa (2015) Unexpectedly high prevalence of acquired von Willebrand syndrome in patients with severe aortic stenosis as evaluated with a novel large multimer index *J Atherosclerosis Thrombosis* 22, 1115–1123
7. 坂爪公、堀内久徳 (2016) 「高ざり応力が引き起こす後天性フォンウィルブランド症候群」*人工臓器* 45, 225–228
8. 堀内久徳、松本雅典、小亀浩市 (2016) 「循環器疾患随伴後天性フォンウィルブランド症候群の臨床的インパクト」*血栓止血学会誌* 27, 316–321
9. 堀内久徳 (2016) 「Significance of bleeding complication」*Coronary Intervention* 12 (6), 58–63
10. 堀内久徳 (2016) 「循環器異常そのものが招く出血傾向」*BIO Clinica* 31, 562–563
11. 松本雅則 (2016) 「フォンウィルブランド因子とその切断酵素 ADAMTS13」*BIO Clinica* 31, 564–568
12. 田村俊寛 (2016) 「大動脈弁狭窄症に伴う消化管出血：ハイド症候群」*BIO Clinica* 31, 569–572
13. 大場豊治、福本義弘 (2016) 「肺高血圧に伴う後天性フォンウィルブランド症候群」*BIO Clinica* 31, 573–576
14. 坂爪公、齋木佳克 (2016) 「機械的補助循環治療の現況とその合併症としての後天性フォンウィルブランド症候群」*BIO Clinica* 31, 577–580
15. 本澤有介、松浦稔、仲瀬裕志 (2016) 「消化管血管異形成 (angiodysplasia) の病態とその対処法」*BIO Clinica* 31, 581–584
16. 国際血栓止血学会 (ISTH) (2017. 7. 8–13) SSC symposium ‘von Willebrand factor’ にて、H. Horiuchi, M. Matsumoto, K. Koichi ‘A Proposal of VWF Large Multimer Index for Standardization of the Quantitative Description of VWF Multimers Among Laboratories’
17. 第81回日本循環器学会学術集会 (2017. 3. 17–19、金沢) ラウンドテーブルディスカッション「高リスク症例への抗血栓療法：合併症ゼロを目指す」にて堀内久徳「Acquired von Willebrand Syndrome in Patients with Percutaneous Cardiopulmonary Support System」
18. 第17回動脈硬化学会教育フォーラム (2017. 1. 29、宮崎) 教育講演、堀内久徳「血流異常が引き起こす出血傾向：後天性フォンウィルブランド症候群」
19. 第11回血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム (2017. 1. 21、東京) 「VWD/TMA の診断と治療の進歩」にて、堀内久徳、松本雅則、小亀浩市、The AVeC Study Group「標準化した VWF マルチマー解析によって評価した循環器疾患随伴AVWSの重症度と出血性合併症の関係」

20. 第25回日本新血管インターベンション治療学会学術集会(2016. 7. 7- 9、東京)日米欧、産官学共催セッション「最新テクノロジー(デバイス)の福音とリスク」(Prevention from bleeding)にてkey lecture、Hisanori Horiuchi ‘Significance of bleeding complication’
21. 第24回Congress of the International Society for Rotary Blood Pumps(ISRBP 2016)(2016. 9. 20-22, Mito, Japan)にて、special lecture、Hisanori Horiuchi ‘Acquired von Willebrand syndrome associated with left ventricular assist devices’
22. 日本生化学会大会(2016. 9. 25-27, 仙台)フォーラム「生体材料・人工臓器の現状と将来」(座長:堀内久徳、小亀浩市)、堀内久徳「人工心臓内の高ずり応力が引き起こす出血性疾患:後天性フォンウィルブランド症候群」
23. 日本生化学会東北地方会(2016. 5. 21-22、弘前)口演、堀内久徳、坂爪公、斎藤健貴、樋口(江浦)由佳、小亀浩市、早川正樹、松本雅則「フォンウィルブランド因子高分子多量体解析の標準化・定量化の試み」
24. 第56回日本脈管学会総会(2015. 10. 29-31、虎ノ門ヒルズフォーラム)シンポジウム「脈管疾患制圧に向けた抗血栓治療の役割」堀内久徳「循環器疾患に合併する後天性フォンウィルブランド症候群」