

Table 2b Efficacy rate according to investigated variables (rFVIIa + concomitant medications group†)

	No. of effective‡ /total episodes	Efficacy rate (%)	<i>p</i> -value $\chi^2$ test
Type of bleeding			
Haemarthrosis	310 / 392	79.1	
Intramuscular bleeding	54 / 82	65.9	
Subcutaneous bleeding	18 / 27	66.7	
Intraoral bleeding	14 / 24	58.3	
Open bleeding	7 / 11	63.6	
Haematuria	0 / 9	0.0	
Epistaxis	9 / 10	90.0	<i>p</i> < 0.001**
Gastrointestinal bleeding	3 / 9	33.3	
Intracranial bleeding	4 / 5	80.0	
Haemophilic pseudotumor	0 / 1	0.0	
Intraperitoneal bleeding	1 / 2	50.0	
Respiratory system bleeding	1 / 1	100.0	
Others	1 / 3	33.3	
Unknown	0 / 1	0.0	
Severity of bleeding symptom			
Mild	124 / 158	78.5	
Moderate	224 / 303	73.9	<i>p</i> = 0.020*
Severe	71 / 112	63.4	
Unknown	3 / 4	75.0	
Treatment status at initial dosing			
At home	301 / 357	84.3	
At hospital	121 / 220	55.0	<i>p</i> < 0.001**
Initial dose, $\mu$ g/kg			
<90	27 / 64	42.2	
90 ≤	392 / 507	77.3	<i>p</i> < 0.001**
Unknown	3 / 6	50.0	
Time from the onset of haemorrhage to initial dosing, hours			
≥3	233 / 312	74.7	
3 <	153 / 201	76.1	<i>p</i> = 0.792
Unknown	36 / 64	56.3	
Mean dosing interval, hours#			
≥3	137 / 211	64.9	
3 <	33 / 96	34.4	<i>p</i> < 0.001**
Unknown	6 / 10	60.0	
No. of doses			
1	246 / 260	94.6	
2	73 / 96	76.0	
3	44 / 62	71.0	<i>p</i> < 0.001**
4-6	31 / 77	40.3	
7-	25 / 79	31.6	
Unknown	3 / 3	100.0	
Total	422 / 577	73.1	

† concomitant medications: coagulation factor products, non-steroidal anti-inflammatory drugs, steroids, and/or tranexamic acid

‡ effective: 'Excellent' and 'Good'

# Mean dosing interval, hours: The episodes of the single dose are excluded.

**Table 3a** Comparison of efficacy between 'recommended practice group\*' and 'non-optimal practice group' (rFVIIa group)

	Recommended practice group	Non-optimal practice group	Odds ratio (95%CI) †
Effective	90 (80.4%)	106 (62.4%)	2.42 (1.38 - 4.24)
Ineffective	22 (19.6%)	64 (37.6%)	<i>p</i> = 0.0020
Total	112 (100.0%)	170 (100.0%)	

\* recommended practice group: a group meeting all 3 requirements for correct use (specified as "initial dose  $\geq 90 \mu\text{g}/\text{kg}$ ", "time from the onset of haemorrhage to initial dose  $\leq 3$  hours" and "mean dosing interval  $\leq 3$  hours")

† logistic regression analysis

**Table 3b** Comparison of efficacy between 'recommended practice group\*' and 'non-optimal practice group' (rFVIIa + concomitant medications group †)

	Recommended practice group	Non-optimal practice group	Odds ratio (95%CI) ‡
Effective	42 (82.4%)	36 (44.4%)	5.83 (2.51 - 13.6)
Ineffective	9 (17.6%)	45 (55.6%)	<i>p</i> < 0.0001
Total	51 (100.0%)	81 (100.0%)	

\* recommended practice group: a group meeting all 3 requirements for correct use (specified as "initial dose  $\geq 90 \mu\text{g}/\text{kg}$ ", "time from the onset of haemorrhage to initial dose  $\leq 3$  hours" and "mean dosing interval  $\leq 3$  hours")

† concomitant medications: non-steroidal anti-inflammatory drugs, steroids, and/or tranexamic acid (excluding coagulation factor products)

‡ logistic regression analysis

**Table 4** Consideration of factors affecting efficacy

		Odds ratio (95%CI) *
Initial dose, $\mu\text{g}/\text{kg}$	$90 \leq$	1.89 (1.17 - 3.04)
	$< 90$	<i>p</i> = 0.0090
Time from the onset of haemorrhage to initial dosing, hours	$\leq 3$	1.44 (0.91 - 2.28)
	$3 <$	<i>p</i> = 0.1232
Mean dosing interval, hours	$\leq 3$	3.05 (1.89 - 4.93)
	$3 <$	<i>p</i> < 0.0001

\*logistic regression analysis: explaining variable are initial dose, time from haemorrhage to initial dosing and mean dosing intervals

Table 5 Number of adverse drug reactions

Adverse drug reaction	No. of events	
	from Post Marketing Study	from Spontaneous report
Laboratory findings		
AST increased	1	
ALT increased	3	
Serum alkaline phosphatase increased	2	
LDH increased	3	
Serum bilirubin increased	2	
White blood cell count increased	1	
White blood cell count decreased	1	
D-dimer increased	4	
Thrombin-antithrombin complex increased	2	
Serum FDP increased	3	
Plasma fibrinogen increased	2	
Elevated PT (prothrombin activity index)	3	
Microscopic haematuria	1	
Blood pressure increased	2	
Blood pressure decreased		1 *
Symptoms		
Palpitations	2	
Nausea	1	
Pain	1	
Fever	1	2
Dull headache	1	
Headache	1	
Flushed face	1	
Abdominal pain		1
Complications		
Urticaria		1
Central venous catheter occlusion	1 *	
Suspected cerebral infarction	1 *	1 *
Abnormality in visual field (Haemianopia)	1 *	
Interstitial pneumonia	1 *	
Acute renal failure		1 *
Total	42	7

\*Serious adverse reaction

1.3% (1件/78出血エピソード), また投与回数に占める重篤な副作用の発現率も, それぞれ0.06% (3件/4,643回), 0.3% (1件/394回)と, いずれの場合も先天性および後天性血友病間で統計学的な有意差は認められなかった.

さらに, 本調査とは別に7件の副作用が医療関係者から自発的に報告された. このうち脳梗塞の疑い, 急性腎不全および血圧低下の3件が重篤な副作用と判定された (Table 6). 自発報告における重篤な副作用のいずれも rFVIIa 投

与との明らかな関連性は認められなかった.

## 考 察

本調査は, 既に著者らによって報告したインヒビターを保有する先天性重症血友病 A および血友病 B 患者の rFVIIa 治療に関する臨床試験成績 (58%)<sup>6)</sup> とほぼ同様の有効率 (「rFVIIa 単独治療群」65.7%) を示した. さらに, 「著効」と評価された割合は, 臨床試験成績 (31.2%)<sup>6)</sup>

のほぼ 2 倍 (60.2%) であった。これらより、rFVIIa の市販後の日常診療における有効性が確認された。

最近 Parameswaran らが報告した米国の Hemophilia and Thrombosis Research Society Registry (HTRS) の結果<sup>7)</sup>では、先天性血友病患者の出血に対する rFVIIa の有効率 (87%) は、本調査の結果と比較して高かった。この違いは、試験構成や治療環境の相違によるものと思われる。まず、本調査では有効性は初回治療後 12 時間以内に評価されたが、Parameswaran らの報告では 72 時間の時点で評価されている。一般的には、再出血を認めなければ、治療開始後の時間経過に従って臨床症状の改善は明確になるので、評価ポイントが遅いほど有効性の評価は高まることが推測される。また、米国と日本では、出血発現から治療開始までの時間の差があると思われる。その理由として初回投与の場所 (病院か自宅か) の違いが考えられる。Parameswaran らの報告では初回治療の 88% が自宅で行われていたのに対し、本調査では 50% に過ぎなかった。本調査では初回投与が自宅で行われた群では病院で行われた群に比べ止血効果が高かったが、これは出血から治療開始までの時間が在宅治療ではより短かったためと思われる。先天性血友病患者については、出血発現から治療開始までの時間は在宅治療では平均 2.9 時間であり、これに対して病院での治療では平均 12.3 時間であった。

インヒビターを保有する先天性血友病患者を対象として行われた軽度～中等度出血エピソードの在宅治療に関する米国での 1 年間の試験<sup>8)</sup>でも、早期治療の重要性が明らかにされている。この試験では 88% の症例が有効と判定され、それらの症例は出血発現から平均 1.6 時間 (SD ; 3.2 時間) で rFVIIa の投与が開始されていた。わが国で在宅自己注射療法を行っている患者は血友病 A で 58%、血友病 B で 44%<sup>9)</sup>と海外に比較して低い。血友病の止血管理では、インヒビターの有無にかかわらず、出血早期の

治療開始が重要である。患者の QOL の向上や社会適応を広げるという面からも在宅自己注射療法の条件<sup>10)</sup>が整っている患者には積極的に家庭療法を導入することが望ましい。

また、「rFVIIa 単独治療群」の「推奨治療条件群」では「非推奨治療条件群」に比べ有効率が有意に高かったことから、推奨治療条件を満たす使用法により、本剤の治療効果をさらに改善することが期待できる。本調査ではカテゴリー別解析「出血から初回投与までの時間」については統計学的な有意差が認められず、その要因は不明であるが、出血発生後の早期治療開始は一般的に重要と考えられる。本調査では推奨条件を満たした治療エピソードは全体の 40% に過ぎなかったことから、これらの条件 (「初回投与量が 90  $\mu$ g/kg 以上」、「出血から初回投与までの時間が 3 時間以内」および「平均投与間隔が 3 時間以内」) の重要性について、患者、介護者および医療者に対して再確認する必要がある。

後天性血友病 A 患者の出血エピソードでは、先天性血友病患者に比べ本剤の有効率が低かった (53.3% vs. 70.3%)。これは、インヒビターを有する血友病という点では類似するものの、診断と治療をめぐる環境がこの患者集団間で異なるためと考えられる。通常、先天性血友病がインヒビターを発生した際の診断および治療は血友病専門医によって行われる。一方、後天性血友病の初診診療科は多岐にわたり、血液内科などの専門医への紹介から確定診断までに時間を要することが多い。そのため適切な止血治療開始まで時間がかかる傾向にあり、しばしば止血管理に難渋する。出血から治療開始までの時間は、後天性血友病患者の初回出血エピソードでは、先天性血友病症例に比較し明らかに長時間を要していた。後天性血友病の止血治療効果を改善するためには、本疾患の早期診断・早期治療に関する一般医師への理解を広める必要がある。

Abshire と Kenet は、rFVIIa が世界の市場に

Table 6 Serious adverse reactions in haemophilia patients with inhibitors under rFVIIa treatment

Sex	Age, Year	Type of disease	Concomitant disease	Adverse drug reaction	Time of onset (Time from the final dose)	Outcome	Causal relationship with rFVIIa *	Clinical course
from Post-Marketing Study								
Male	3	Congenital haemophilia A	Porencephaly Iron-deficiency anemia	Central venous catheter occlusion	3 weeks later	Remitted	Impossible to assess	After administration of rFVIIa, the patient received prothrombin complex concentrate 4 times. Catheter was removed as completely occluded. The indwelling period of catheter was unknown.
Male	38	Congenital haemophilia A	Epilepsy Chronic hepatitis C HIV	Abnormality in visual field (Haemianopia) Suspected cerebral infarction	1 day later 1 month later	Recovered Recovered	Possible Possible	The patient had a convulsive seizure and admitted to the hospital on Jul 29. Although a brain CT showed negative image, the doctor administered rFVIIa to the patient in consideration of the possibility of cerebral haemorrhage that could not be detected by the image in the acute phase. An electroencephalogram of Aug 2 revealed epilepsy waves. He was initiated Aleviatin (phenytoin sodium) from Aug 5. During the period of Jul 30 to Sep 3, he was given a total of 26 bolus injections of rFVIIa because of recurrent intra-articular bleedings in the right knee, the gastrointestinal bleeding and intra-articular bleeding in the right elbow joint. During his hospitalization, he had also complained the lowering of attentiveness and slowness of thinking. On Sep 4 he was discharged as no evidence of epilepsy was present. On Sep 5 of his discharge, he complained right haemianopia. However, a perimetry of Sep 12 showed no signs of haemianopia. A brain MRI of Oct 2 showed high signal regions in the right frontal lobe, right putamen and right anterior horn, indicating cerebral infarction. During the month his subjective symptoms of haemianopia and lowering of attentiveness subsided. A brain CT of Oct 30 showed low density area in the right frontal lobe. However, in the follow up brain MRI of Nov 27 all the high signal findings previously noted were disappeared.
Male	70	Acquired haemophilia A	Atrial fibrillation	Interstitial pneumonia	3 months later	Remitted	Impossible to assess	Chest X-ray films disclosed bilateral interstitial changes and a diagnosis of interstitial pneumonia was made. The patient was hospitalized and received steroid pulse therapy. After remission was achieved, the patient was discharged.

Sex	Age, Year	Type of disease	Concomitant disease	Adverse drug reaction	Time of onset (Time from the final dose)	Outcome	Causal relationship with rFVIIa *	Clinical course
from Spontaneous report								
Male	73	Acquired haemophilia A	Hemolytic anemia Chronic renal failure Diabetes mellitus	Suspected cerebral infarction	1 day later	Fatal	Possible	The patient had a history of hypertension, cerebral infarction, hyperlipidemia, and gastric cancer. rFVIIa was administered to treat haemorrhage at the site of a catheter for IVH. Mandibular respiration, loss of consciousness during conversation, and quadriplegia occurred at 17.5 hours after administration. The patient died on the same day. A confirmed diagnosis using image analysis was not made.
Male	28	Congenital haemophilia A	Chronic Hepatitis C Hyperuricemia Hepatitis B virus carrier	Acute renal failure	Under treatment	Recovered	Possible	rFVIIa was administered to treat haematuria and gingival bleeding. Since anuria was persistent, a urethral catheter was inserted, but the urine volume was only about 20 mL. Blood tests revealed renal failure (BUN: 60, Cr: 4.99). On the next day, anuria continued with worsening renal failure (BUN: 75, Cr: 7.89), so dialysis was instituted. Diuresis occurred and the two parameters returned to normal after 9 days.
Male	76	Acquired haemophilia A	Prostate cancer	Hypotension	4 days later	Fatal	Possible	rFVIIa was administered to treat gingival bleeding. The blood pressure decreased to 60-70 mmHg at 4 days after administration of rFVIIa. It did not respond to blood transfusion, intravenous infusion, or vasopressors. The patient died at 6 days after administration of rFVIIa.

\* Causal relationship with rFVIIa: Reporter's causality

上市された1996年から2003年までに、インヒビターを保有する先天性血友病および後天性血友病患者でrFVIIaが使用された症例の中から、血栓性事象の自発報告をレビューしている<sup>11)</sup>。この期間に、動脈性の血栓性事象が10件(急性心筋梗塞7件および脳血管障害3件)、静脈血栓塞栓症(肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症)が6件、DICが2件の計18件が報告されている。この間のrFVIIaの全投与回数は、標準用量(体重40kgの症例に90 $\mu$ g/kgの投与)に換算して70万回以上と推定される。これら18件の事象のうち15件では、心血管系危険因子、肥満および高齢など、何らかの血栓性リスクファクターあるいは乾燥人血液凝固因子抗体迂回活性複合体(APCC)製剤の併用が背景にあり、その他の3件も含めて、rFVIIaの投与が明らかに血栓性事象の発現に直接関与したといえる症例は認められなかった。一方、本調査におけるrFVIIa投与の総回数は約5,000回であるが、血栓塞栓性事象として脳梗塞の疑いと中心静脈カテーテル閉塞が各1件報告された。中心静脈カテーテルの閉塞は、長期留置例ではしばしばみられる。本症例では留置期間は不明であるが、本事象の発現がrFVIIaの最終投与3週間後であり、本剤の血中半減期が3.5時間<sup>6)</sup>であることを考慮すると、両者の因果関係はきわめて低いと考えられる。38歳のインヒビターを保有する先天性血友病A症例は、rFVIIa投与1ヵ月後に施行した頭部MRI画像で脳梗塞様所見を認めたが、その8週後のMRI画像では同所見が完全に消失しており、主治医は脳梗塞としては非定型的であると考察している。また、7件の有害事象自発報告の中に血栓塞栓性事象として脳梗塞の疑いが1件あった。本症例は73歳の後天性血友病Aで、既往歴として高血圧、脳梗塞、高脂血症、胃癌、合併症として糖尿病、溶血性貧血および慢性腎不全を有していた。また、本症例はrFVIIa投与17.5時間後に、脳血管障害を疑わせる臨床症状を発症したが、画像による確定診断はなされていない。すなわち、

上記脳梗塞の疑いの2件はともに、確定診断はされておらず、rFVIIa投与との明らかな因果関係は認められていない。

安全性に関して、血栓塞栓性事象は、rFVIIaの薬効に並存して発症する可能性のあるものとして、本剤の臨床試験中から市販後の現在に至るまで常に注意が払われている。AbshireとKenetの報告や本調査から得られた多くの臨床使用実績の結果からみて血栓塞栓性事象の発生率はきわめて低く、rFVIIaの総合的な忍容性は良好であると考えられる。本調査では、本剤投与後の重篤な副作用は先天性血友病患者に比し、後天性血友病患者に比較的多い傾向があったが、AbshireとKenetの報告結果も総合すると、高齢あるいは血栓症の既往歴を有するなど血栓性リスクファクターを有する患者に本剤を投与する際には、先天性、後天性を問わず血栓塞栓性事象の発現に十分留意する必要がある。

謝辞：使用成績調査にご協力いただきました各施設(Table 7)の先生方に紙面をおかりいたしましたして深謝いたします。

## 文 献

- 1) 嶋緑倫：血友病におけるインヒビターの発生機序とその治療戦略。日小血会誌 13：399-409, 1999.
- 2) 嶋緑倫, 田中一郎, 川合陽子, 辻肇, 中村伸, 森田隆司：本邦における血液凝固後天性インヒビターの実態。血栓止血誌 14：107-121, 2003.
- 3) Green D, Lechner K: A survey of 215 non-hemophilic patients with inhibitors to factor VIII. *Thromb Haemost* 45：200-203, 1981.
- 4) 日本血栓止血学会 学術専門部会 血友病標準化検討部会, コンセンサスシンポジウム血友病家庭療法の再評価と保険適応外治療の方向性, 血栓止血誌 14：134-159, 2003.
- 5) Hoffman M, Monroe DM, Roberts HR: Activated factor VII activates factors IX and X on the surface of activated platelets: thoughts on the mechanism of action of high-dose activated factor VII. *Blood Coagul Fibrin* 9 (Suppl): S61-S65, 1998.
- 6) Shirahata A, Kamiya T, Takamatsu J, Kojima T, Fukutake K, Arai M, Hanabusa H, Tagami H, Yoshioka A, Shima M, Naka H, Fujita S, Minamoto Y, Kamizono J, Saito H: Clinical trial to investigate the pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and efficacy of recombinant factor VIIa in Japanese patients with hemophilia with inhibitors. *Int J Hematol* 73：517-525, 2001.
- 7) Parameswaran R, Shapiro AD, Gill JC, Kessler CM and

- HTRS Registry Investigators: Dose effect and efficacy of rFVIIa in the treatment of haemophilia patients with inhibitors: analysis from the Hemophilia and Thrombosis Research Society Registry. *Haemophilia* 11 : 100-106, 2005.
- 8) Key NS, Aledort LM, Beardsley D, Cooper HA, Davignon G, Ewenstein BM, Gilchrist GS, Gill JC, Glader B, Hoots WK, Kisker CT, Lusher JM, Rosenfield CG, Shapiro AD, Smith H, Taft E: Home treatment of mild to moderate bleeding episodes using recombinant factor VIIa (Novoseven) in haemophiliacs with inhibitors. *Thromb Haemost* 80 : 912-918, 1998.
- 9) 血液凝固異常症全国調査 平成 15 年度報告書, エイズ予防財団, 東京, 2004.
- 10) 日笠聡, 新井盛夫, 嶋緑倫, 白幡聡, 高田昇, 高松純樹, 瀧正志, 花房秀次, 福武勝幸, 三間屋純一, 吉岡章: 血友病在宅自己注射療法の基本ガイドライン (2003 年版) 日本血栓止血学会 血友病標準化検討部会 血栓止血誌 14 : 350-358, 2003.
- 11) Abshire T, Kenet G: Recombinant factor VIIa: review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. *J Thromb Haemost* 2 : 899-909, 2004.

Table 7 市販後調査協力施設一覧

市立千歳市民病院	大阪市立総合医療センター
札幌徳洲会病院	兵庫県立こども病院
岩手県立大船渡病院	神戸市立西市民病院
独立行政法人国立病院機構西多賀病院	神戸大学医学部附属病院
三友堂病院	明石市立市民病院
群馬大学医学部附属病院	赤穂市民病院
埼玉県立小児医療センター	兵庫県立尼崎病院
三愛会総合病院	兵庫県立淡路病院
松戸市立病院	兵庫医科大学病院
日本大学医学部附属板橋病院	姫路医療生活協同組合共立病院
荻窪病院	奈良県立医科大学附属病院
駿河台日本大学病院	岡山市立市民病院
独立行政法人国立病院機構東京病院	独立行政法人国立病院機構岡山医療センター
東京医科大学病院	岡山赤十字病院
神奈川県立こども医療センター	川崎医科大学附属病院
昭和大学藤が丘病院	広島大学病院
独立行政法人国立病院機構福井病院	山口大学医学部附属病院
長野赤十字病院	徳山中央病院
諏訪赤十字病院	都志見病院
波田総合病院	徳島大学病院
岐阜市民病院	麻植協同病院
松波総合病院	香川大学医学部附属病院
西美濃厚生病院	松山赤十字病院
静岡県立こども病院	愛媛大学医学部附属病院
独立行政法人国立病院機構天竜病院	高知大学医学部附属病院
県西部浜松医療センター	産業医科大学病院
名古屋大学医学部附属病院	佐賀大学医学部附属病院
愛知三の丸病院	佐賀県立病院好生館
豊橋市民病院	熊本市立熊本市民病院
三重大学医学部附属病院	大分県立病院
公立甲賀病院	宮崎県立日南病院
京都府立医科大学附属病院	鹿児島大学医学部・歯学部附属病院
北野病院	鹿児島市立病院
関西医科大学附属病院	豊見城中央病院



Long-term safety and efficacy of recombinant activated factor VII  
(NovoSeven®) in haemophilia patients with inhibitors :  
interim post marketing study analysis of 5 patient exposure years

Akira SHIRAHATA \*<sup>1</sup>, Toshiaki OKA \*<sup>2</sup>, Katsuyuki FUKUTAKE \*<sup>3</sup>, Morio ARAI \*<sup>3</sup>,  
Hideji HANABUSA \*<sup>4</sup>, Masashi TAKI \*<sup>5</sup>, Takeshi NAGAO \*<sup>6</sup>, Junichi MIMAYA \*<sup>7</sup>,  
Nobuhiko HAGA \*<sup>8</sup>, Junki TAKAMATSU \*<sup>9</sup>, Tadashi KAMIYA \*<sup>10</sup>, Midori SHIMA \*<sup>11</sup>,  
Eizo KAKISHITA \*<sup>12</sup>, Hideyuki TAKEDANI \*<sup>13</sup>, Noboru TAKATA \*<sup>14</sup>, Masao KOBAYASHI \*<sup>15</sup>,  
Tatsumi UCHIDA \*<sup>16</sup>, Orié ONO \*<sup>17</sup>, Akira YOSHIOKA \*<sup>11</sup>

---

**Key words:** rFVIIa, haemophilia, inhibitor, bleeding episode

---

This article reviews an interim analysis of the long-term safety and efficacy of recombinant activated factor VII (rFVIIa) over a 5-year period. Episodes of 1,580 bleedings were recorded in 102 patients with either congenital or acquired hemophilia. An overall efficacy rate in achieving excellent or good hemostasis within a 12-hour period was 69.6%. An excellent efficacy achieved within  $\leq 8$  hours was almost doubled as compared to the results in a previously reported Japanese clinical trial (60.9 vs. 31.2%).

Furthermore, the efficacy rate for rFVIIa was significantly higher in the patient group, which met all three recommended practice requirements, i.e., initial dose  $\geq 90$  ug/kg; time from the onset of hemorrhage to initial dose  $\leq 3$  hours; and mean dosing interval  $\leq 3$  hours. This group of patients demonstrated an 82.4% efficacy rate compared with the non-optimal practice group, which had an efficacy rate of 44.4%. However, only 40% of bleeding episodes in the patients were treated according to the recommended practices. Compliance with treatment remains a challenge that needs to be addressed in order to achieve improved efficacy. Forty two adverse drug reactions were reported in 20 patients including 4 severe ones in 3 patients, but none of them were thought to be related to the treatment with rFVIIa.

## 循環抗凝血素を有する症例における凝固因子活性測定

山崎 哲<sup>1)</sup> 細屋由紀子<sup>1)</sup> 鈴木 典子<sup>1)</sup> 山崎 法子<sup>1)</sup>  
 安室 洋子<sup>1)</sup> 高山 成伸<sup>2)</sup> 大井 千愛<sup>3)</sup> 瀧 正志<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 聖マリアンナ医科大学病院 臨床検査部

<sup>2)</sup> 大東文化大学 スポーツ・健康科学部

<sup>3)</sup> 聖マリアンナ医科大学 小児科

### 要 旨

循環抗凝血素を有する患者血漿を対象として、4種類のAPTT試薬における凝固因子活性(FVIII:CおよびFIX:C)を比較検討した。

健常人例では試薬較差は認められなかったが、インヒビター保有血友病A症例、および後天性第VIII因子インヒビター症例では希釈率の上昇に伴って活性値が高値化し(平均5.5倍~17.1倍)、特に後者のFVIII:Cでは160倍希釈において著しい試薬較差(CV33.6%)が認められた。これに対し、3例のLA陽性症例での試薬較差は、いずれも希釈率の上昇に伴って縮小し、最も変化が大きかった症例では、FVIII:CでCV95.0%が10.6%、FIX:CではCV103.1%が1.9%まで縮小した(320倍希釈)。さらに、LAに対して感度が高いとされるPLAでは低値( $p < 0.01$ )を示し、リン脂質濃度の高いACTでは高値( $p < 0.0001$ )を示す傾向が認められた。

以上の成績は、使用するAPTT試薬の特異性や検体希釈率の違いによって、得られる凝固因子活性に差異が生じることを示唆している。特に、CAを有する症例では試薬の特異性を十分に認識した上で測定値を評価することが必要であると思われた。

### 結 言

循環抗凝血素(CA)は凝固因子に対する抗体とループスアンチコアグラント(LA)に大別される。CAによって引き起こされる凝固異常は出

血傾向と血栓傾向という全く正反対の臨床像を呈するにもかかわらず、日常の凝固系スクリーニング検査においては、「凝固時間の延長」という同様の結果として検出され、このことが本症の臨床診断をより複雑にしている要因となっている。

現在、内因系凝固因子活性測定法として、一般には活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)試薬と凝固因子欠乏血漿を用いた一段法が利用されている。APTT試薬はリン脂質と活性化剤との組み合わせで構成されるが、血小板第3因子(リン脂質)の代用として牛脳由来セファリン、ウサギ脳由来セファリン、卵黄由来セファリン、ヒト胎盤由来リン脂質、さらに近年開発された合成リン脂質<sup>1) 2)</sup>など、由来や性状が異なる数種類

Yamazaki Satoshi

(〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1)

アドレス: syamazak@marianna-u.ac.jp

キーワード: 循環抗凝血素, ループスアンチコアグラント, 凝固因子インヒビター, 凝固因子活性, 試薬較差

受付日: 2006年1月25日

受理日: 2006年3月16日

のリン脂質成分が用いられている。また、活性化剤もカオリン、コロイドシリカ、エラジン酸などが用いられており、実際には多様なAPTT試薬が日常検査において利用されている。

これまで、APTT試薬成分の組み合わせや濃度の違いによりヘパリン感受性や凝固因子活性に対する特異性が異なることが報告されている<sup>3) 4)</sup>が、CA保有例での検討はなされていない。今回、われわれはCAを有する症例を対象とし、組成の異なる4種のAPTT試薬を用いて凝固第VIII、第IX因子活性(FVIII:C, FIX:C)を測定し、各種APTT試薬の凝固因子活性測定における差異について検討した。

#### 対象および方法

##### 1. 対象

検討材料として、凝固検査依頼のあった3.2%クエン酸ナトリウム加血漿を用い、測定時まで-80℃に凍結保存した。対象は健常人1例、インヒビター保有血友病A症例(16BU/ml)1例、後天性第VIII因子インヒビター症例(50BU/ml)1例、およびLA陽性症例3例(LA-1, LA-2, LA-3)とした。なお、LA陽性症例3例は全例とも国際血栓止血学会の診断基準<sup>5)</sup>に従って、希釈APTTおよび希釈蛇毒試験の二法<sup>6) 7)</sup>を用い、両系共に陽性と判定された症例で、さらに、抗 $\beta_2$ グリコプロテインI抗体についても全例が陽性であった。

##### 2. 凝固因子活性測定

凝固因子活性は、症例ごとの各測定に同一バイアルの第VIII、IX因子欠乏血漿(シスメックス社)を用いて測定した。検量線作成には-80℃に凍結保存した当院の健常職員(n=50)のプール血漿を正常ヒト血漿(NHP)として使用し、測定機器にはKC-10A micro(Amerung社)を用いた。

APTT試薬は、トロンボチェックAPTT SLA(シスメックス社):SLA, データファイAPTT(シスメックス社):ACT, プラテリンLS(ピオメリュエ社):LS, PTT-LA(スタゴ社):PLAの4種類を用いた(表1)。

一段法によるFVIII:C, FIX:C定量で用い

た検量線は、オーレン緩衝液(pH7.35)で希釈したNHP 5倍希釈検体を100%とし、段階希釈して作成した。凝固因子活性測定は5倍希釈を基準希釈とし、必要に応じて最大320倍まで希釈して凝固時間を測定し、作成した検量線より活性値を求め、希釈倍数を乗じてその凝固因子活性値とした。

なお、被検血漿量の都合により、後天性第VIII因子インヒビター症例とLA-3ではPLA試薬による測定を実施することはできなかった。

##### 3. Western blot法による凝固因子に対する抗体の検出

インヒビター保有血友病A症例および後天性第VIII因子インヒビター症例での凝固因子に対する抗体確認法として、遺伝子組み換え第VIII、第IX因子製剤を抗原としたWestern blot法を行った。各抗原をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動してPVDF膜に転写後、プロテインAカラムにより抽出した患者IgG(約20  $\mu$ g/ml)と室温で1時間反応させて、ペルオキシダーゼ標識一抗ヒトヤギ抗体による免疫染色法で抗原抗体複合体を検出した。

##### 4. 統計学的検定

4試薬の活性値比較は、各希釈倍数での測定値をその平均値で除した値をBonferroni/Dunn testにて比較検定し、得られたp値により判定した。

#### 結 果

##### 1. 基準希釈での凝固因子活性値

基準希釈(5倍希釈)での4試薬における凝固因子活性を比較した。健常人ではFVIII:C, FIX:Cとも試薬による較差は小さく、FVIII:CでCV 9.4%(60.7%~74.1%, 平均68.2%), FIX:CではCV 10.6%(71.8%~90.4%, 平均79.6%)と、健常人血漿としてはやや低い活性値であったが、4試薬とも同様の結果を示した(表2)。インヒビター保有血友病A症例では、FVIII:CはCV 72.7%(0.3~1.3%, 平均0.7%), FIX:CはCV 38.3%(4.5~13.1%, 平均9.3%)で、FVIII:Cの方がより大きな試薬較差を示した。また、後天性第VIII因子インヒビター症例では、FVIII:CがCV 19.8%(3.0~4.5%, 平

表1. APTT 試薬一覧

試薬名	略称	リン脂質	活性化剤
トロンボチェック APTT SLA	SLA	合成リン脂質	エラジン酸
データファイ APTT	ACT	ウサギ脳セファリン	エラジン酸
プラテリン LS	LS	卵黄・牛脳リン脂質	軽質無水ケイ酸
PTT LA	PLA	ウサギ脳セファリン	シリカ

表2. 健常人

第Ⅷ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	72.9	74.1	64.9	60.7	68.2	9.4
10倍	68.1	84.0	68.0	65.3	71.4	12.0
20倍	67.4	89.0	76.5	67.1	75.0	13.7

第Ⅸ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	71.8	90.4	81.8	74.2	79.6	10.6
10倍	74.8	104.3	90.7	80.7	87.6	14.7
20倍	68.7	125.1	83.8	81.6	89.8	27.2

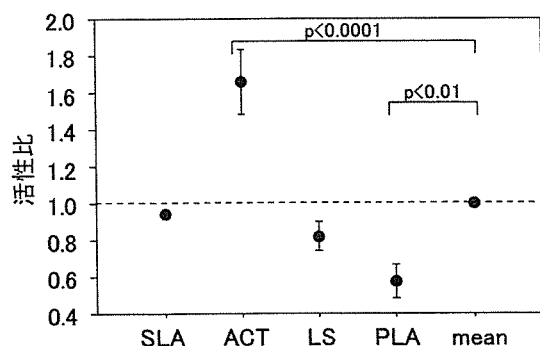


図1. 4試薬の凝固因子活性値比較

各希釈倍率の凝固因子活性値を、4試薬で得た平均活性値で除した値を活性比として比較した。PLAでは平均値に対して低値を示し、ACTでは高値を示した。

均3.7%), FIX : CがCV 32.7% (20.2~37.8%, 平均25.5%)と両因子とも4試薬の較差は小さかった(表4)。LA陽性症例では、LA-1でFVIII : CがCV 9.8% (80.9%~101.4%, 平均94.4%), FIX : CがCV 16.9% (63.1%~93.9%, 平均83.0%)と、FIX : Cの試薬較差の方がより大きく、PLAでやや低い活性値を示したが、その他

は両因子とも正常基準値範囲内の活性値を示した。LA-2では、FVIII : CがCV 93.2% (4.7%~51.4%, 平均22.1%), FIX : CがCV 107.6% (4.6%~59.4%, 平均23.0%)と両因子ともに顕著な試薬較差が認められ、特に、ACTでの活性値は他に比べ高値を示した。LA-3ではFVIII : CがCV 95.0% (12.7%~75.3%, 平均36.0%), FIX : CがCV 103.1% (9.1%~63.6%, 平均29.1%)と、LA-2同様の大きな試薬較差が認められ、比較的低い活性値のSLAおよびLSと、高い活性値のACTとに二分されるような結果であった(表5)。

以上の結果より、LAに感度が高いとされるPLAは、4試薬の平均値に比べて低値を示す傾向にあり( $p < 0.01$ )、また、リン脂質濃度の高いACTは、高値( $p < 0.0001$ )を示す傾向にあることが明らかとなった(図1)。

## 2. 検体希釈率の上昇に伴う活性値の変動

検体希釈率の上昇に伴う活性値の変動は、各希釈倍率で得られた活性値を基準希釈の活性値で除した活性値比(10倍/5倍および20倍/5倍)とし

表3. インヒビター保有血友病A症例

第Ⅷ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	0.3	1.3	0.7	0.3	0.7	72.7
10倍	0.7	2.4	1.5	0.8	1.4	58.2
20倍	2.0	5.0	3.5	2.0	3.1	46.0
第Ⅸ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	9.6	13.1	9.9	4.5	9.3	38.3
10倍	31.4	40.2	35.7	20.2	31.9	26.9
20倍	48.8	81.1	58.5	46.1	58.6	27.1

表4. 後天性第Ⅷ因子インヒビター症例

第Ⅷ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	4.2	3.2	4.5	3.0	3.7	19.8
10倍	4.6	5.3	6.8	3.7	5.1	25.7
20倍	3.5	5.2	6.8	2.9	4.6	38.3
40倍	10.3	29.5	26.1	—	22.0	46.5
80倍	21.6	47.6	52.5	—	40.6	40.8
160倍	40.2	77.4	79.2	—	65.6	33.6
第Ⅸ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	20.5	37.8	20.2	23.4	25.5	32.7
10倍	26.4	45.6	29.7	25.0	31.7	30.0
20倍	34.8	58.1	36.4	37.7	41.8	26.3
40倍	64.6	140.3	91.7	—	98.9	38.8
80倍	124.1	227.3	135.1	—	162.2	35.0
160倍	170.9	296.0	211.3	—	226.1	28.2

て比較検討した。

健常人では、FVIII:C, FIX:Cとも平均1.1倍と小さかった(表1)が、インヒビター保有血友病A症例では、FVIII:Cで平均5.5倍(20倍/5倍), FIX:Cでは平均6.9倍と、いずれの試薬も希釈率の上昇に伴って活性値は高値化した(表3)。また、後天性第Ⅷ因子インヒビター症例では、FVIII:C, FIX:Cともに160倍までの検体希釈を必要とした例であったが、FVIII:Cで平均17.1倍(160倍/5倍), FIX:Cで平均8.9

倍と、希釈に伴った著しい活性値の上昇が認められ、特に、FVIII:Cの試薬較差は、CV 19.8%(5倍希釈)から33.6%(160倍希釈)と増大した(表4)。LA陽性症例では、LA-1でFVIII:C, FIX:Cとも平均1.2倍(20倍/5倍)と軽度の上昇であったが、試薬較差が観察され、このうちPLAが最も大きな変化を示した。同様の結果はLA-2でも認められ、FVIII:C, FIX:Cとも平均2.9倍(20倍/5倍)と軽度であったが、PLAの変化は4.6倍, 4.2倍と最も大きな変化を示した。

表5. LA陽性症例

LA-1 第Ⅷ因子活性 (%)							LA-3 第Ⅷ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%	希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	98.6	96.7	101.4	80.9	94.4	9.8	5倍	20.1	75.3	12.7	—	36.0	95.0
10倍	107.0	112.9	115.1	95.8	107.7	8.0	10倍	41.2	110.1	23.4	—	58.2	78.6
20倍	101.1	117.2	116.6	102.1	109.3	8.1	20倍	92.5	151.8	47.3	—	97.2	53.9
第Ⅸ因子活性 (%)							第Ⅸ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%	希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	83.3	93.9	91.8	63.1	83.0	16.9	40倍	149.9	208.1	103.2	—	153.7	34.2
10倍	86.7	111.6	102.6	82.8	95.9	14.1	80倍	168.4	224.8	174.8	—	189.3	16.3
20倍	89.3	120.4	101.5	92.3	100.9	13.9	320倍	240.6	253.0	293.5	—	262.4	10.6
第Ⅷ因子活性 (%)							第Ⅸ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%	希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	20.6	51.4	11.7	4.7	22.1	93.2	5倍	14.6	63.6	9.1	—	29.1	103.1
10倍	34.2	72.3	18.8	8.1	33.4	84.2	10倍	23.8	92.0	16.3	—	44.0	94.8
20倍	50.7	88.6	32.6	21.8	48.4	60.5	20倍	40.1	117.2	27.0	—	61.4	79.4
第Ⅸ因子活性 (%)							第Ⅸ因子活性 (%)						
希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%	希釈倍率	SLA	ACT	LS	PLA	mean	CV%
5倍	17.0	59.4	11.1	4.6	23.0	107.6	40倍	75.8	175.9	51.7	—	101.1	65.1
10倍	30.0	77.4	19.9	7.7	33.8	90.4	80倍	110.0	194.1	88.7	—	130.9	42.6
20倍	46.6	111.1	32.4	19.2	52.3	77.9	320倍	190.4	191.7	197.4	—	193.2	1.9

また、ACTでは10倍希釈以降において両因子とも正常範囲内の活性値となった。LA-3は320倍まで検体希釈を必要とした例であったが、FVIII:Cで平均12.8倍(320倍/5倍)、FIX:Cで平均12.6倍と希釈に伴う高値化はいずれの試薬の場合も著しく、特に、SLAおよびLSでより大きな高値化を認めた。しかしながら、これら4試薬間の試薬較差は希釈率が上昇するに従って減少し、基準希釈時で認めたFVIII:Cの試薬較差CV 95.0%は、320倍希釈時で10.6%に、FIX:CでもCV 103.1%から1.9%と減少し一定値に収束した(表5)。

### 3. Western blot法による凝固因子に対する抗体の検出(図2)

インヒビター保有血友病A症例と後天性第VIII因子インヒビター症例について、凝固第VIII因子および第IX因子を抗原として行ったWest-

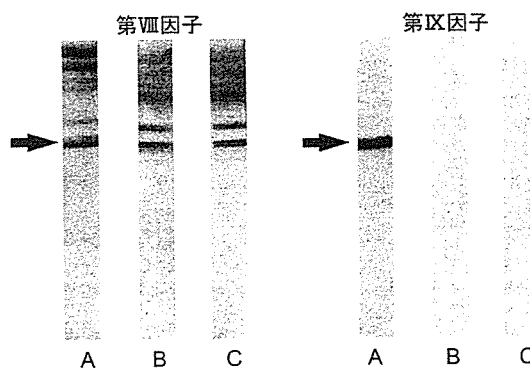


図2. Western blotによる抗体検索  
第VIII因子、第IX因子を抗原とし、患者IgGを一次抗体としたWestern blot法を行った。  
A: 蛋白染色, B: インヒビター保有血友病A症例, C: 後天性第VIII因子インヒビター症例。  
両症例とも第VIII因子に対するIgG抗体を認めた。

ern blot法の結果、第VIII因子に対するIgG型の抗体が両症例において認められた。

## 考 察

これまでAPTT試薬については、ヘパリンやLAに対する感受性の差異<sup>8)~10)</sup>について検討がなされており、また、凝固因子活性測定についても、使用する標準血漿や<sup>11) 12)</sup>欠乏血漿の性状についての検討がなされている。しかしながら、APTT試薬の試薬組成を考慮に入れた検討は少なく、不明な点も多い。このことは、未だにAPTT法がプロトロンビン時間 (PT) 法のように標準化できない理由の一つになっている。今回、われわれは日常の凝固スクリーニング検査において使用される4種 (SLA, ACT, LSおよびPLA) の組成の異なるAPTT試薬について、各種CA陽性症例を対象として、欠乏血漿および健常人プール血漿による検量線用希釈系列を同一にした測定条件下でFVIII:CおよびFIX:Cを測定し比較検討した。

健常人例では、4種のAPTT試薬は同様の活性値を示し差異は認められず、また、希釈率を変えた場合でも得られる活性値は、ほぼ一致した。

インヒビター保有血友病A症例では、保有する第VIII因子インヒビターを反映した結果を示した。4種の試薬較差は、基準希釈 (5倍希釈) ではFVIII:C, FIX:Cともに小さかったものの、希釈に伴って両活性値は変動し、全試薬でその活性値は高値化した。FVIII:CだけでなくFIX:Cも同様に変化したことについては、患者血漿中の抗第VIII因子抗体が第IX因子欠乏血漿中に含まれる第VIII因子に作用した結果と考えられた。

インヒビター値が50BU/mlと高力価であった後天性第VIII因子インヒビター症例でも、同様に、基準希釈での試薬較差は小さかったが、FVIII:Cでは希釈に伴って試薬較差が増大した。今回検討したインヒビター保有血友病A症例および後天性第VIII因子インヒビター症例は、各測定における活性値からそれぞれtypeIおよびtypeIIインヒビターと考えられ<sup>13)</sup>、Western blotの結果より両者ともIgGタイプの第VIII因子イン

ヒビターの存在が確認された。後天性第VIII因子インヒビター症例でFVIII:Cのみ検体希釈倍率の上昇に伴う試薬較差の増大を認めたことは、インヒビター保有血友病A症例と異なった現象であり、興味ある所見と考えられたがその機序については不明であった。インヒビター活性測定法であるBethesda法については、測定上の変動要因として正常血漿や緩衝液の問題点が指摘されているが<sup>14)</sup>、今回の成績より、さらに、測定に用いるAPTT試薬による差異も今後の検討課題となると考えられた。

基準希釈で試薬較差が大きかったLA-2およびLA-3症例では、希釈倍率の上昇に伴う著しい高値化を認めたが4試薬の較差は徐々に縮小し、最終的にはほぼ同一の値を示す結果となった。この結果は、希釈操作がインヒビター作用を受けない条件にまで徐々に導くことを示した結果であり、本来の目的であるインヒビター作用を除いた活性値 (抗原量) を表現し得る条件に達したことを示唆している。今回のLA症例での検討では、LAに感度が高い試薬とされるPLA<sup>9)</sup>も検討した。PLAが示した活性値は4試薬中最も低く、次いでSLA, LSの順で、リン脂質濃度が高いACTは最も高い活性値を示した。この結果は、検量線などの正常血漿での凝固時間測定では影響を受けず、リン脂質依存性抗体が存在する場合においてのみ影響を受けるというPLAの特性 (すなわち、PLA試薬のLAに対する高い感受性) を反映した結果であり、さらに、APTT試薬に含まれるリン脂質の濃度は、LAに対する感受性を左右する重要な試薬要素であることを示唆している。

今回実施したCAを有する症例での検討で、検量線用血漿と凝固因子欠乏血漿を同一にしても、用いるAPTT試薬の特異性の違いや測定時の希釈率によって、得られる活性値は著明に異なることが明らかとなった。健常人例での結果を踏まえると、このようなAPTT試薬の違いによる差異は、今回検討対象としたインヒビター保有症例やLA陽性症例などのCA症例での検討で初めて明らかとなる結果と思われる。LA陽性症例での凝固因子活性測定値や、凝固因子インヒビター症例での高希釈倍率で得られる高い活性値の臨床的意

義については未だ疑問が残るものの、検査上両者の明確な判別が困難な症例が存在するのも事実である。凝固スクリーニング検査をはじめとして、広く凝固因子活性測定に使用されているAPTT試薬であるが、今回の検討で示されたように、試薬によって活性値に差異を生じ得ることも念頭に置く必要があり、故に、用いたAPTT試薬の特異性を認識した上で活性値を評価することが重要と考えられた。

#### 結 語

CAを有する症例を対象として、検量線用正常血漿と凝固因子欠乏血漿を同一にして、特異性の異なるAPTT試薬を用い凝固第VIII因子および第IX因子活性測定を行った結果、APTT試薬の特異性の違いや検体希釈率により得られる活性値に差異があることが明らかとなった。また、LA陽性症例においては、APTT試薬のLAに対する感度が測定上大きく影響すると考えられた。

#### 文 献

- 1) 奥田昌宏, 他: 合成リン脂質を用いた新しいAPTT試薬の開発. 日本検査血液学会誌 3: 124—130, 2002.
- 2) 鈴木典子, 他: 合成リン脂質を用いたAPTT試薬の評価. 日本検査血液学会誌 4: 136—141, 2003.
- 3) Stevenson KJ, et al: The reliability of activated partial thromboplastin time method and the relationship to lipid composition and ultrastructure. *Thromb Haemostas* 55: 250—258, 1986.
- 4) 香川和彦, 福武勝彦: プロトロンビン時間 (PT) と活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 測定の現状と標準化に向けての課題. *臨床病理* 47: 431—437, 1999.
- 5) Brandt TJ, et al: Criteria for the diagnosis of lupus anti coagulants: An update, on behalf of the subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibody of the scientific and standardization committee of the ISTH. *Thromb Haemostas* 74: 1185—1190, 1995.
- 6) 安室洋子, 瀧 正志: ループスアンチコアグラント検査. *Mebio* 11: 38—44, 1994.
- 7) 安室洋子, 瀧 正志: III止血検査 3. 抗リン脂質抗体とその検査. *臨床検査Yearbook*, 2001.
- 8) Brandt JT, et al: The sensitivity of different coagulation reagents to the presence of lupus anticoagulants. *Arch Pathol Lab Med* 111: 120—124, 1987.
- 9) Arnout J, et al: Lupus anticoagulant testing in Europe: An analysis of results from the first European Concerted Action on Thrombophilia (ECAT) survey using plasmas spiked with monoclonal antibodies against human  $\beta$  2-Glycoprotein I. *Thromb Haemostas* 81: 929—934, 1999.
- 10) 天谷初夫, 他: 活性化部分トロンボプラスチン時間測定に関する基礎的検討 (第三報) —プラテリン・プラス・アクチベーターとプラテリンエクセルLSを用いた結果の解離症例について—. *機器・試薬* 15: 79—83, 1992.
- 11) 高宮 脩, 他: 凝固因子活性測定における標準参照血漿の問題点—第1報健康人プール血漿の再評価. *医学検査* 44: 1264—1267, 1995.
- 12) 高宮 脩, 他: 凝固因子活性測定における標準参照血漿の問題点—第2報WHO標準品から算出された市販標準血漿のassigned valueに互換性はあるか?. *医学検査* 44: 1516—1521, 1995.
- 13) 新井盛夫: 第VIII因子インヒビター: 基礎的展望. *血栓止血誌* 5: 213—227, 1994.
- 14) 高橋陽子, 他: 第VIII因子インヒビター測定 (Bethesda法) に及ぼす変動要因の研究. *臨床病理* 44: 449—455, 1996.



## Abstract

**Evaluation of coagulation factor activity of different APTT reagents using samples from patients with circulating anticoagulants**

Satoshi Yamazaki<sup>1)</sup>, Yukiko Hosoya<sup>1)</sup>, Noriko Suzuki<sup>1)</sup>, Noriko Yamazaki<sup>1)</sup>,  
Yoko Yasumuro<sup>1)</sup>, Shigenobu Takayama<sup>2)</sup>, Chiai Ohi<sup>3)</sup>, Masashi Taki<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Clinical Laboratory, St. Marianna University School of Medicine Hospital,  
Kawasaki, Kanagawa, Japan

<sup>2)</sup> Faculty of Health Science, Daito Bunka University, Higashimatsuyama, Saitama, Japan

<sup>3)</sup> Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki, Kanagawa, Japan

To evaluate the coagulant specificity of different APTT reagents, we studied the level of coagulation factor activity obtained from four commercial APTT reagents using samples from patients with circulating anticoagulants (CA).

The mean values of FVIII: C and FIX: C using the four APTT reagents were 0.75% (CV 72.7%) and 9.3% (CV 38.3%), respectively, in a haemophilia A patient with inhibitor to factor VIII, and 3.7% (CV 19.8%) and 38.3% (CV 32.7%), respectively, in an acquired haemophilia A patient. Some discrepancies in activity between the four APTT reagents were observed. Specifically, in a sample from the acquired haemophilia A patient, a marked discrepancy of CV 33.6% (FVIII: C) was observed at 160-fold dilution of the sample. Moreover, 5.5 to 17.1-fold of the increased was found to accompany sample dilution.

On the other hand, in samples (LA-1, LA-2 and LA-3) from three patients with lupus anticoagulant (LA), the two coagulation factor activities varied, but the discrepancies between the four reagents decreased in line with sample dilution. The largest discrepancy of CV 95.0% (FVIII: C) and CV 103.1% (FIX: C) observed in LA-3 decreased to CV 10.6% and CV 1.9%, respectively, at ×320 dilution. The results from PLA reagent with high sensitivity to LA showed lower activities ( $p < 0.01$ ), while, ACT reagent containing a high phospholipid concentration showed higher activities ( $p < 0.0001$ ).

These results show that striking differences in coagulation factor activity resulted from the use of these APTT reagents depending on their coagulant specificity to CA. An understanding of the characteristics of the APTT reagent used would ensure precise evaluation of coagulation factor activity.

**Key words:** Circulating anticoagulants (CA), Lupus anticoagulant (LA), Inhibitors to factor VIII, Coagulation factor activity, Coagulant specificity