

200735065A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

第Ⅷ、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

平成20（2008）年3月

主任研究者 吉岡 章

（公立大学法人奈良県立医科大学小児科 教授）

目 次

I. 総括研究報告書

- 第 VIII、第 IX 因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究 1
吉岡 章

II. 分担研究報告書

1. インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究
白幡 聡 8

(資料) J-HIS 1 「インヒビター発生患者の実態調査」: 実施計画書

(資料) 同 : 説明文書および同意書

(資料) 同 : 症例報告書

(資料) J-HIS 1/U 20

「20 歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視的研究」

: 実施計画書

(資料) 同 : 説明文書および同意書

(資料) 同 : 症例報告書

2. 新規血友病患者のデータベース構築によるコホート研究 57
瀧 正志

(資料) 実施計画書

(資料) 説明文書および同意書

(資料) 新規血友病患者登録書: 血友病の診断時 (様式 1)

(資料) 追跡調査報告書: 25ED 到達時又は診断から 1 年後 (様式 2-1)

(資料) 追跡調査報告書: 50/75ED 到達時又は 1 年経過時 (様式 2-2)

3. インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究 101
福武 勝幸

4. インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究 103
嶋 緑倫

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 112

第 VIII、第 IX 因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究

主任研究者 吉岡 章（公立大学法人奈良県立医科大学小児科 教授）

【研究要旨】

血友病治療上の重大な合併症であるインヒビター（同種抗体）に関しては、わが国では nation-wide なデータはもちろん研究体制も十分ではない。本研究ではインヒビター患者の疫学調査と併行して、全国レベルでの血友病登録システムを新たに構築し、加えてインヒビター検出・診断の標準化を図るとともに、発生要因の解析と機序の解明を行う。その成果は、国際的動向との調和と標準化、さらにインヒビター患者の適正な診療ガイドラインの策定と診療体制の確立に資するものである。

1. 「日本における第 VIII 因子、第 IX 因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究」の第 1 研究として「インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究：インヒビター患者の実態調査（J-HIS 1）と 20 歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視的研究（J-HIS/U20）」を行うことで、日本でのインヒビター発生に関する補充療法関連の要因、特に、リコンビナント製剤と血漿由来製剤でのインヒビター発生の影響についての解明を行う。本年度は、研究デザイン、対象患者の選択基準、研究期間、症例数、調査方法、調査項目等を検討し、実施計画書、保護者・患者への説明書および同意書、及び調査票（症例報告書）を作成した。
2. 第 2 研究として「新規血友病患者のデータベースの構築によるコホート研究」を行うことで、日本でのインヒビター発生に関する補充療法関連の要因、特に、リコンビナント製剤と血漿由来製剤でのインヒビター発生の影響についての解明を行う。また、血友病患者の登録をデータベース化することで、今後の血友病治療における臨床研究の基盤整備を図る。本年度は、研究デザイン、対象患者の選択基準、研究期間、症例数、調査方法、調査項目等を検討し、実施計画書、保護者・患者への説明書および同意書、新規患者登録書及び調査票（追跡調査報告書）を作成した。
3. 本研究の実施において最も重要なことのひとつは、血液凝固第 VIII 因子と第 IX 因子活性測定法の標準化とそれらのインヒビター測定法（ベセスダ法）の標準化である。第 3 研究として「インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究」を開始する上で、さらにその基本として測定に使用する APTT 試薬の検討を行い、次年度以降の具体的な標準化作業の基準とすることを目標とした。測定機器として MDA II と APTT 試薬プラテリン LS とを基準測定法に用いて、同等以上の性能を示す機器と診断薬の評価を行った。
4. インヒビターの発生要因に関する分子生物学的分析を目的に、血友病 A の遺伝子解析システムを確立した（第 4 研究）。本システムはキャピラリー型オートシーケンサーを用いて第 VIII 因子遺伝子全領域を効率的に直接シーケンスする方法で、従来の PCR/CSGE 法では検出しなかった遺伝子異常の同定が可能であった。本システムは迅速かつ正確で多数の症例の遺伝子

解析が可能であり、全国調査ための重要な方法となりうることを期待される。

インヒビターの阻害機序について新たにトロンビン生成能を用いた評価法を開発した。本法は血友病インヒビターの凝血的評価・診断法のみならず補充療法の止血モニタリングにも応用できることが示唆された。インヒビターの抑制機序については第 VIII 因子重鎖 A2 認識インヒビターがトロンビン活性化作用を阻害すること、また、A2 インヒビター結合領域近傍にトロンビンが結合することを初めて明らかにした。さらに、軽鎖 C2 ドメイン認識インヒビターは第 VIII 因子とフォンヴィレブランド因子 (VWF) およびリン脂質 (PL) の結合を阻害するが、インヒビター結合部位が VWF および PL 近傍に結合すること、また、これら 3 者の結合領域それぞれ異なることが判明した。

インヒビターの免疫学的評価法として新たにガラスビーズを用いた酵素抗体法を開発した。本方法はインヒビターの免疫学的評価法として有用であった。

【分担研究者】

瀧 正志 (聖マリアンナ医科大学横浜市西部
病院小児科・周産期センター 准教授)

白幡 聡 (産業医科大学小児科 教授)

日笠 聡 (兵庫医科大学血液内科 講師)

岡 敏明 (医療法人徳洲会札幌徳洲会病院小
児科・血液科 部長)

三間屋純一 (静岡県立こども病院血液腫瘍科
副院長兼医療安全室長)

福武勝幸 (東京医科大学臨床検査医学講座
主任教授)

嶋 緑倫 (公立大学法人奈良県立医科大学小
児科 准教授)

高松純樹 (名古屋大学医学部附属病院輸血部
教授)

種市麻衣子 (国立感染症研究所血液・安全性
研究部 主任研究官)

【研究協力者】

山口一成 (国立感染症研究所血液・安全性研
究部 部長)

A. 研究目的

血友病における止血療法の原則は、血漿由来 (pd) または遺伝子組み換え型 (r) の FVIII, FIX 製剤の補充療法であり、極めて効果的である。しかし、反復する補充療法の結果、血

友病 A, B 患者のそれぞれ 20~30%, 1~5% で FVIII, FIX を不活化 (中和) する同種抗体 (インヒビター) が発生し、以後の止血治療は著しく困難となり、患者の QOL は低下する。インヒビター患者に適切な止血療法を行うには高い技能と豊富な経験に加え、高額な医療費を必要とする。インヒビター発生には患者関連の要因 (遺伝子異常、蛋白異常、応答免疫機構、人種など) と補充療法関連の要因 (製剤の種類、投与方法、治療開始年齢など) とが関与する。このうち後者に関して、最近、血友病 A の rFVIII 投与群では pdFVIII 投与群に比べてインヒビターの発生頻度が高いとの報告もあり、医師はもちろん、患者や企業にも動揺が広がっており、早急に解決すべき重要な課題の一つである。しかし、我が国ではインヒビターに関する nation-wide なデータが十分でなく、また、その基礎となる全国レベルでの前方視的な患者登録システムが構築されておらず、欧米はもちろん、アジア諸国との比較検討も行えない状況にある。さらに、インヒビター発生要因の分析や発生機序の解明はほとんど行われていない。また、その前提となるインヒビター測定法やその標準化も未開発、未確立である。

1. 第 1 研究として、インヒビター発生患者の実態調査 (J-HIS 1) と 20 歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視

的研究 (J-HIS/U20) を開始する。これによってインヒビター発生に関する補充療法の要因、特に、リコンビナント製剤と血漿由来製剤でのインヒビター発生の影響を解明する。

2. 第2研究では、全新規血友病患者の包括的な情報を前方視的に把握し、解析するための全国登録システムを構築する (J-HIS 2)。本システムを早急に確立し、適正に運用することによって、わが国の全血友病の実態が判明し、インヒビター発生に関する前方視的観察と発生要因の解析が可能となる臨床研究基盤が整備される。
3. 第3研究として、インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究を行う。

我が国ではこれまで、全国レベルでの第VIII因子 (FVIII)、第IX因子 (FIX) 測定法の標準化はもとより、FVIII、FIX インヒビター検出法の開発・標準化は全くなかった。本研究では、血友病診療と臨床研究の基本とも言うべき FVIII、FIX 測定法及び、FVIII、FIX インヒビター測定法の開発とそれらの標準化を行う。これにより、インヒビター患者を含む真の血友病の実態把握と将来の診療ガイドライン策定のための基盤が整備されることになる。

4. 第4研究として、インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究を行う。

現在最もホットな議論となっているインヒビター発生要因の分析は日常の血友病診療では早急に対応・解決すべき重要な課題の一つである。患者側要因としては FVIII、FIX 遺伝子解析や蛋白・機能解析が必須であるが、解析施設のセンター化により全国レベルでのより迅速で、より均一で正確な検査、解析情報の提供が可能となる。治療側要因は製剤の種類や投与法の比較検討により、リスクファクターの抽出が可能となる。発生機序の解明は極めて困難な大きな課題であるが、疫学、統計学、血

液凝固学、免疫学等の方法論と知恵を結集して、機序解明に挑戦する。

B. 研究方法

1. インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究

本年度は、分担研究者である白幡 聡が中心となり、インヒビターの実態把握に特化した後方視的全国調査を計画する。本研究では協力者として国内 FVIII、FIX 製剤の製造・販売企業の参加を求め、CRO を選定した上で全例調査を目指す計画を策定する。

具体的には、研究デザイン、対象患者の選択基準、研究期間、症例数、調査方法、調査項目等を検討し、実施計画書、保護者・患者への説明書および同意書、及び調査票 (症例報告書) を作成する (分担研究者白幡聡報告書を参照)。

2. 新規血友病患者のデータベース構築によるコホート研究

血友病研究の全ての基礎データとなる前方視的な患者の全国登録を行う。分担研究者 瀧 正志が中心となって、前方視的登録システムの構築を計画する。上記と同様、企業の協力や CRO への委託も考慮に入れて策定する。

具体的には、研究デザイン、対象患者の選択基準、研究期間、症例数、調査方法、調査項目等を検討し、実施計画書、保護者・患者への説明書および同意書、及び調査票 (症例報告書) を作成する (分担研究者瀧正志報告書を参照)。

3. インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究

分担研究者福武勝幸が中心となって FVIII、FIX 活性の定量法、特に、微量測定法を開発し、一般化する。活性測定法は凝

固一段法とする。これらの測定法の標準化を計るための方法論を討議し、計画する。

具体的には、測定機器として MDAII を APTT 試薬としてプラテリン LS を基準測定法と試薬として用いて、他機器、試薬と比較検討する。

4. インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究

インヒビターの発生要因に関する分子生物学的分析を目的に、血友病 A の遺伝子解析システムを確立する。本システムはキャピラリー型オートシーケンサーを用いて第 VIII 因子遺伝子全領域を効率的に直接シーケンスする方法で、従来の PCR/CSGE 法では検出しえなかった遺伝子異常の同定が可能と期待される。

インヒビターの阻害機序について新たにトロンビン生成能を用いた評価法を開発する。本法は血友病インヒビターの凝血学的評価・診断法のみならず補充療法の止血モニタリングにも応用できることが期待される。

インヒビターの免疫学的評価法として新たにガラスビーズを用いた酵素抗体法を開発する。本方法はインヒビターの免疫学的評価法として有用と期待される。

【倫理面への配慮】

第 1～4 研究のうち、

第 1 研究：インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究（分担研究者：白幡 聡）

- 1) インヒビター発生患者の実態調査 (J-JIS 1) および
- 2) 20 歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視的調査研究 (J-HIS/U20)

第 2 研究：新規血友病患者のデータベース構築によるコホート研究（分担研究者：瀧 正志）

については、ヘルシンキ宣言、疫学研究に関する倫理指針（平成 16 年 12 月 28 日 文部科学省・厚生労働省）に従って実施する。そのため、同指針に従い、奈良県立医科大学倫理委員会の審査承認を得る。また、各施設での倫理委員会の承認が必要な場合は、各施設にて取得する。また、患者または（および）保護者の自由意思による研究参加の同意を文書により取得する。他人に被験者を特定できるような個人情報は一切収集しない。データは被験者を特定できないように、Subject ID により管理される。各施設は個人情報保護管理責任者が指名され、管理責任者の管理の下、Subject ID と患者氏名・カルテ番号の判別が可能な対応表を作成し、保管する（連結可能匿名化）。

3. インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究（分担研究者：福武勝幸）については基礎的な研究であり、個人情報を必要としないことから、検査の残余検体を用いて匿名化の上、試験に用いる。

4. インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究（分担研究者：嶋 緑倫）の実施にあたっては十分な説明を行い、また、文書にて同意書を取って実施する。試料提供者のプライバシーを完全に保護するため、試料や診察記録等は連結可能な方法で匿名化する。さらに、個人情報の管理は厳密に行い、遺伝子情報や診療情報が絶対に外部に漏れないように十分注意する。なお、血友病遺伝子解析に関する研究に関しては、既に奈良県立医科大学の倫理委員会の承認を取得済みである。

C. 研究結果

1. インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究 [分担研究者：白幡 聡、研究協力者：

瀧 正志、日笠 聡、岡 敏明、三間屋純一]

本年度は、実施計画書、保護者への説明書および同意書及び調査票（症例報告書）を株式会社名古屋臨床薬理研究所（伊藤順治代表、後藤倫代氏）に委託しつつ、共同で開発・作成した（白幡報告書添付資料参照）。

2. 新規血友病患者のデータベース構築によるコホート研究 [分担研究者：瀧 正志、研究協力者：白幡 聡、日笠 聡、岡 敏明、三間屋純一]

本年度は、実施計画書、保護者への説明書および同意書及び調査票（症例報告書）を株式会社名古屋臨床薬理研究所（伊藤順治代表、後藤倫代氏）に委託しつつ、共同で開発・作成した（瀧報告書添付資料参照）。

3. インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究 [分担研究者：福武勝幸、研究協力者：嶋 緑倫、高松純樹、種市麻衣子]

測定機としてACL TOPとMDA II を用い、APTT 試薬として①ヒーモスアイエルシンサシル APTT、②ヒーモスアイエル APTT-SP、③プラテリン LS を用いた。不特定多数の臨床検体を用いた比較検討を行い基準機の測定値に対する反応の違いを検証し、ヘパリン添加への感受性や凝固因子の希釈列を用いて第 VIII 因子欠乏血漿、第 IX 因子欠乏血漿による希釈諸調を用いて試薬の特性を検証し、凝固因子濃度の変化に対する感受性を検討した。

臨床検体は③に対して①は短縮、②はほぼ同時間の測定値を示した。ただし、ACL TOP では MDA II で高度に延長した血友病検体について、通常の凝固速度法ではエラーとなることがあり、その場合は閾値法による再計算で凝固点を判定する必要があった。治療域でのヘパリン感受性は①より②が鋭敏であり、かつ②は③と同等であった。凝固因子欠乏については①②③はともに似た傾向を示した。

4. インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究 [分担研究者：嶋 緑倫、研究協力者：福武勝幸、高松純樹、種市麻衣子]

患者末梢血から DNA を抽出し、イントロン 22 およびイントロン1の逆位をスクリーニングした。逆位が陰性であった 8 人の患者について、ゲノム DNA をプロモーター領域、エクソン・イントロン境界領域を含む第 VIII 因子全アミノ酸コード領域を PCR 法により増幅した。精製後、次にダイターミネーター法により、試料中の DNA 塩基配列の複製を塩基特異的に中断した断片を標識し、DNA シークエンサーで塩基配列を決定した。CSGE 法では 6 人の患者にのみ変異を検出し、内訳は 3 つのミスセンス変異 (G236D, E1038K, R1781H)、1 つのナンセンス変異 (S210Stop)、2 つの小欠失 (c.1895delT, c.5813delA) を検出した。一方、全第 VIII 因子シーケンシング解析では、CSGE 解析で変異を同定できなかった 2 人の患者からもミスセンス変異 (D1241E, G2325R) を検出した。また全第 VIII 因子シーケンシングではミスセンス変異 E1038K を持つ患者にさらにナンセンス変異 R336Stop を検出し、こちらが血友病 A の表現型に影響したものと考えられた。

D. 考察

「インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究」と「新規血友病患者のデータベース構築によるコホート研究」については、研究計画書、説明書と同意書、調査票を作成したが、第 1 研究のごとき後方視的調査研究では、追跡データにバラツキが出るのが予想される。本研究のみでは、前方視的研究に比べて EBM としてのレベルは低くなるが、第 2 研究が前方視的調査研究であることから、双方を行うことで、互いに相補的観点から、10 年後以降にはエビデンスレベルの高い研究として国際

的評価に耐えうるものとなろう。

「インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究」は、我が国では初の第 VIII, 第 XI 因子インヒビター測定法の標準化を目指す検査医学的研究である。初年度は標準化に向けた測定機器と APTT 試薬の選定にかかわるものであった。次年度には機器と試薬の選定が行われる。

「インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究」において、インヒビターの発生要因を分析することは、極めて重要なテーマである。本研究では、まず患者側の要因として主要なものである患者血友病関連遺伝子の解析法について、解析のための標準的なアルゴリズムと実施方法を検討し、全国レベルでの標準的解析法の確立を目指した。次年度は、2~3 か所の解析センターの選定と方法論の標準化を図る。

インヒビター発生機序の解明は、本研究プロジェクトのもう一つの柱である。本年度は、トロンビン生成能を用いた評価法を開発した。さらに、インヒビターの免疫学的評価法として新たにガラスビーズを用いた酵素抗体法を開発した。本法は、今後、全国レベルでの多数検体の測定に有用と考えられる。

E. 結論

本年度は 4 つのプロジェクトを併行して実施した。

「インヒビター発生患者の実態ならびにインヒビター発生要因に関する後方視的調査研究」のための研究計画書、説明書と同意書及び調査票を作成した。

「新規血友病患者のデータベース構築のためのコホート研究」では、全国調査研究計画書、説明書と同意書及び調査票を作成した。

「第 VIII, 第 IX 因子インヒビター検出・診断の標準化に関する研究」では、第 VIII, 第 IX 因子凝固一段法の主要な要素と考えられる測定機器と APTT 試薬の検討を行った。

「インヒビター発生要因の分析と発生機序の解明」では、患者側要因の第 VIII 因子遺伝子解析法の検討を行い、システムの標準化の道筋をつけた。また、インヒビターの持つ第 VIII 因子阻害機序の解析をトロンビン生成能をマーカーとして実施する評価法を開発した。加えて、インヒビター検出・定量的測定法としてガラスビーズを用いた酵素抗体法を開発した。

F. 健康危険情報

本研究では、4 つのプロジェクトの全てにおいて、患者及び医療従事者における健康危険に関して特別な問題は生じていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

[著書]

- 1) 吉岡 章, 杉本充彦: アンチトロンビン (AT), プロテイン C (PC), プロテイン S (PS). 最新 臨床検査の ABC. 医学書院, 東京, 89-90, 2007
- 2) 吉岡 章, 田中一郎: その他の凝固因子. 最新 臨床検査の ABC. 医学書院, 東京, 91-93, 2007
- 3) 吉岡 章: 血液・造血器疾患. 小児科学・新生児学テキスト (全面改訂第 5 版). 診断と治療社, 東京, 445-470, 2007
- 4) 田中一郎, 吉岡 章: 血友病. 今日の診断基準. 南江堂, 東京, 476-477, 2007
- 5) 田中一郎, 吉岡 章: von Willebrand 病. 今日の診断基準. 南江堂, 東京, 478-479, 2007
- 6) 白幡 聡: von Willebrand 病に対する治療法は?. EBM 血液疾患の治 2008 - 2009. 中外医学社, 東京, 506-510, 2007
- 7) 瀧 正志: 血友病. 小児科診療ガイドライン-最新の治療方針-. 総合医学社, 東京, 226-229, 2007

[論文]

- 1) Tatsunami S, Taki M, Kuwabara R, Mimaya J, Shirahata A: Tracing patients with lipodystrophy on the bubble chart of antiretroviral drug usage resulted from categorical principal component analysis. 56th Session of the ISI 2007, 4 pages in CD Rom, 2007
 - 2) Nogami K, Shima M, Giddings JC, Takeyama M, Tanaka I, Yoshioka A. Relationship between the binding sites for von Willebrand factor, phospholipid, and human factor VIII C2 inhibitor alloantibodies within the factor VIII C2 domain. International Journal of Hematology 85(4);317-322, 2007
 - 3) Nogami K, Saenko EL, Takeyama M, Giddings JC, Yoshioka A, Shima M. Identification of a thrombin-inert site within the FVIII A2 domain that is responsible for the cleavage at Arg372. British Journal of Haematology 140(4); 433-443, 2008
 - 4) 白幡 聡: 海外における遺伝子組換え活性型凝固第 VII 因子製剤(注射用ノボセブン®) の高用量単回投与に関する臨床研究. 日本血栓止血学会誌 18(3); 255-264, 2007
 - 5) 白幡 聡, 嶋 緑倫, 岡 敏明, 天野景裕, 花房秀次, 瀧 正志, 三間屋純一, 松下 正, 高松純樹, 日笠 聡, 小阪 嘉之, 須賀健一, 酒井道生, 梶原真清恵, 高田 昇, 吉岡 章: 国内における遺伝子組換え活性型凝固第 VII 因子製剤(注射用ノボセブン®) の高用量単回投与に関する臨床研究. 日本血栓止血学会誌 18(6); 614-618, 2007
 - 6) 白幡 聡: ルリオクトゴクアルファ(遺伝子組換え). クリニカルプラクティス 26(7); 572-574, 2007
 - 7) 白幡 聡, 嶋 緑倫, 岡 敏明, 天野景裕, 花房秀次, 瀧 正志, 三間屋純一, 松下 正, 高松純樹, 日笠 聡, 小阪 嘉之, 須賀健一, 酒井道生, 梶原真清恵, 高田 昇, 吉岡 章: 国内のインヒビター保有血友病患者における遺伝子組換え活性型第 VII 因子製剤(注射用ノボセブン®) の高用量単回投与試験に関する臨床研究. 日本血栓止血学会誌 [投稿中]
 - 8) 白幡 聡, 酒井道生: インヒビター保有血友病患者の治療ーバイパス製剤をめぐる最近の話題ー. 日本小児血液学会誌 [投稿中]
2. 学会発表
なし
- H. 知的財産権の出願・登録情報
1. 特許取得 なし
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

インヒビター発効患者の実態ならびにインヒビター発効要因に関する 後方視的調査研究

分担研究者 白幡 聡（産業医科大学小児科 教授）

【研究要旨】

「日本における第 VIII 因子、第 IX 因子製剤のインヒビター発効要因に関する研究」の第一研究として「インヒビター発効患者の実態ならびにインヒビター発効要因に関する後方視的調査研究」を行うことで、日本でのインヒビター発効に関する補充療法関連の要因、特に、リコンビナント製剤と血漿由来製剤でのインヒビター発効の影響についての解明を行う。

I. インヒビター発効患者の実態調査 (J-HIS 1)

1. 研究目的

血友病患者のインヒビター発効要因の検討

2. 研究方法

2.1 研究デザイン

・インヒビター保有血友病患者の実態調査

2.2 対象患者

【選択基準】

- ①過去に一度でもインヒビターの発効を確認した先天性血友病患者
 - ②患者から文書による同意を得ていること
 - ③患者が未成年の場合は保護者より同意を得ていること。
- 但し、患者が16歳以上の場合は、本人からも同意を得ていること。

2.3 研究実施期間

本研究の調査は 2008 年 1 月 1 日から

2009 年 10 月 31 日までとする。

2.4 登録症例数

本研究の登録症例数は約 150 例とする。

2.5 調査方法

2.5.1 施設登録の手順

①各施設は、施設登録票（ホームページ掲載）を事務局宛に FAX し、施設登録を行う。施設倫理委員会の承認を必要とする施設では、承認書も施設登録票とともに送付する。

②施設登録が実施された施設には、事務局から SiteID が発行され、症例ファイル（調査表）が配布される。

2.5.2 症例登録の手順

①研究担当医師は、患者又は保護者に同意説明文書と口頭で、この研究についての目的と参加の重要性を説明する。この研究への参加を検討するに十分な時間を与えるとともに患者又は保護者

からの全ての質問に対し十分に理解できるように回答する。

- ②患者又は保護者が内容を十分に理解したことを確認した後、患者の自由意思による研究参加の同意を文書により取得する。
※患者が未成年の場合は保護者より文書にて同意を得ることとする
但し、患者が16歳以上の場合は、本人からも文書にて同意を取得する。
- ③調査票を正確に記入し、事務局宛に郵送する。
- ④事務局からの受領書の発行により、調査終了とする。

2.5.3 調査項目

本研究では、下記の内容について、調査を実施する。

【患者背景】イニシャル・性別・生年月・診断年月・凝固因子活性・測定場所・血液型・人種

【合併症】血友病関節症・B型肝炎・C型肝炎・HIVの合併・既往出血性疾患の合併・重篤な疾患の合併

【分娩状況】分娩様式・栄養法

【家族歴】血友病、インヒビターの家族歴・インヒビターのタイプ

【治療方法】初回投与年齢・止血治療の方法

【凝固因子製剤】インヒビター発生までの使用凝固因子製剤名

【インヒビター発生までの重篤出血・観血的手術の既往】発生時期・出血部位

【インヒビターについて】発生時のインヒビター値・測定日・インヒビターの最高値・直近のインヒビター値・現在のインヒビター保有状況・消失理由・治療方法

【免疫寛容療法】実施の有無・実施の結果

3. 統計解析

研究期間終了後、統計解析を行う。

4. 研究実施体制

4.1 研究代表者

研究の運営に責任を持ち、研究を円滑に進めるため、以下の業務を行う

- ・実施計画書の内容の細目について、多施設間で一貫性を維持するための承認
- ・研究中に生じた実施計画書の解釈上の疑義の調整
- ・実施計画書・症例報告書の見本の作成及び改定に関する助言
- ・集積されたデータの確認

奈良県立医科大学小児科学教室 吉岡 章

4.2 運営委員会

運営委員会は、研究代表者の要請に基づき、以下の業務を行う。

- ・実施計画書、症例報告書、同意・説明文書等の最終決定及び改定の決定
- ・研究継続・中止の最終決定
- ・症例取り扱いの決定
- ・進捗管理
- ・統計解析計画書の承認
- ・各種 SOP、マニュアルの承認
- ・その他研究代表者が必要と認めた場合

◎産業医科大学小児科学教室 白幡 聡

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科 瀧 正志

札幌徳州会病院小児科・血液科 岡 敏明
奈良県立医科大学小児科学教室 嶋 緑倫

国立感染症研究所血液・安全性研究部 種市 麻衣子

東京医科大学臨床検査医学講座 福武 勝幸

静岡県立こども病院血液腫瘍科 三間屋 純一

4.3 厚生労働省研究班事務局

奈良県立医科大学小児科学教室

奈良県橿原市四条町 840 番地

TEL:0744-29-8881 FAX:0744-24-9222

4.4 Inhibitor 研究事務局

(株)名古屋臨床薬理研究所

名古屋市千種区千種二丁目 22 番 8 号
名古屋医工連携インキュベータ

TEL:052-733-7601 FAX:052-846-2888

5. 倫理面への配慮

研究はヘルシンキ宣言、疫学研究に関する倫理指針（平成 16 年 12 月 28 日 文部科学省・厚生労働省）に従って実施する。そのため、同指針に従い、奈良県立医科大学倫理委員会の審査承認を得る。また、各施設での倫理委員会の承認が必要な場合は、各施設にて取得する。また、患者または（および）保護者の自由意思による研究参加の同意を文書により取得する。他人に被験者を特定できるような個人情報は一切収集しない。データは被験者を特定できないように、Subject ID により管理される。各施設は個人情報保護管理責任者が指名され、管理責任者の管理の下、Subject ID と患者氏名・カルテ番号の判別が可能な対応表を作成し、保管する（連結可能匿名化）。

6. 研究結果

本年度は、「インヒビター発生患者の実態調査」実施計画書を作成した。

7. 考察

我が国のインヒビター保有血友病患者の実態を調査することで、インヒビター保有血友病患者の特性を解析し、当面の対策を講じる提言が可能となろう。また、比較研究の裏付けとなる成績や、比較研究を進める上で参考となる成績を得られるものと期待できる。

8. 結論

「インヒビター発生患者の実態調査」実施計画書の作成、研究体制を確立した。

【成果物】（別掲）

・実施計画書

・同意説明文書

II. 20 歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視的研究（J-HIS/U20）

1. 研究目的

本研究では、リコンビナント製剤が発売された 1988 年以降の治療歴を調査できる主要血友病施設を選定し、20 歳以下の血友病患者を対象として、凝固因子製剤の投与開始後 2 年間のインヒビターの発生状況、凝固因子製剤の使用状況を更に詳細に調査する事により、インヒビター発生要因、特に使用凝固因子製剤の種類におけるインヒビター発生の比較検討を行う。

2. 研究方法

2.1 研究デザイン

- ・主要血友病診療施設における 20 歳未満血友病患者を対象とした、横断研究
- ・背景因子とくに投与された凝固因子製剤の種類を比較する研究

（J-HIS1 と J-HIS/U20 の対象患者のイメージ図）

	血友病患者	インヒビター発生血友病患者
20 歳		A
1 歳	C	B

※二重線枠部分（A+B）・・・J-HIS1 対象患者（インヒビター発生血友病患者）

※色付け部分（B+C）・・・J-HIS1/U20 対象患者

調査項目は、J-HIS1・U/20 とも共通のため、共有の症例報告書を用いるものとする。

2.2 対象患者

【選択基準】

- ①1988年1月1日から2006年12月31日までに出生した先天性血友病患者
- ②凝固因子製剤の初回投与から2年間の製剤投与歴が把握できる
- ③凝固因子製剤の初回投与から2年間のインヒビターの有無が確認できる
- ④保護者から文書による同意を得ていること
- ⑤16歳以上の患者については、本人からも文書による同意を得ていること

2.3 研究実施期間

本研究の調査は2008年1月1日から2009年10月31日までとする。

2.4 目標登録症例数

本研究の目標登録症例数は約300例とする。なお、研究期間中は、300例に達した場合でも、登録を行うこととする。

2.5 調査方法

2.5.1 施設登録の手順

- ①各施設は、施設登録票（ホームページ掲載）を事務局宛にFAXし、施設登録を行う。施設倫理委員会の承認を必要とする施設では、承認書も施設登録票とともに送付する。
- ②施設登録が実施された施設には、事務局からSiteIDが発行され、症例ファイル（調査表）が配布される。

2.5.2 症例登録の手順

- ①研究担当医師は、患者又は保護者に同意説明文書と口頭で、この研究についての目的と参加の重要性を説明する。この研究への参加を検討するに十分な時間を与えるとともに患者又は保護者からの全ての質問に対し十分に理解できるように回答する。
- ②保護者が内容を十分に理解したことを確認した後、保護者の自由意思による研究参加の同意を文書により取得する。
※16歳以上の患者については、本人からも文書にて同意を得ていること

③調査票を正確に記入し、事務局宛に郵送する。

④事務局からの受領書の発行により、調査終了とする。

2.5.3 調査項目

本研究では、下記の内容について、調査を実施する。

【患者背景】イニシャル・性別・生年月・診断年月・凝固因子活性・測定場所・血液型・人種

【合併症】血友病関節症・B型肝炎・C型肝炎・HIVの合併・既往出血性疾患の合併・重篤な疾患の合併

【分娩状況】分娩様式・栄養法

【家族歴】血友病、インヒビターの家族歴・インヒビターのタイプ

【治療方法】初回投与年齢・止血治療の方法

【凝固因子製剤】凝固因子製剤の初回投与後2年間の使用凝固因子製剤名・投与・実投与日数

【初回投与後2年間の重篤出血・観血的手術の既往】発生時期・出血部位

【インヒビターの有無】発生例については、発生時のインヒビター値・測定日・インヒビターの最高値・直近のインヒビター値・免疫寛容療法実施の有無・現在のインヒビター保有状況・消失理由

3. 統計解析

研究期間終了後、統計解析を行う。

4. 研究実施体制

J-HIS 1 に準ずる。

5. 倫理面への配慮

J-HIS 1 に準ずる。

6. 研究結果

本年度は実施計画書を作成した。

7. 考察

後方視的調査では、経過の追跡データにバラツキが出ることにより、前方視的調査と比べてエビデンスのレベルは低くなるが、第二研究として実施される前方視的調査は終了までに10年以上を要することから、後方視的調査でインヒビター発生のリスク要因を解析し、当面の対策を講じるための提言が可能となろう。

8. 結論

「20歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視的研究」実施計画書を作成し、研究体制を確立した。

9. 研究発表

①論文発表

[著書]

- 1) 白幡 聡：von Willebrand 病に対する治療法は？. EBM 血液疾患の治 2008 - 2009. 中外医学社, 東京, 506-510, 2007

[論文]

- 1) 白幡 聡：海外における遺伝子組換え活性化型凝固第VII因子製剤(注射用ノボセブン®)の高用量単回投与に関する臨床研究. 日本血栓止血学会誌 18(3); 255-264, 2007
- 2) 白幡 聡, 嶋 緑倫, 岡 敏明, 天野景裕, 花房秀次, 瀧 正志, 三間屋純一, 松下正, 高松純樹, 日笠 聡, 小阪 嘉之, 須賀健一, 酒井道生, 梶原真清恵, 高田昇, 吉岡 章：国内における遺伝子組換え活性化型凝固第VII因子製剤(注射用ノボセブン®)の高用量単回投与に関する臨床研究 第I相試験結果-安全性についての報告. 日本血栓止血学会誌 18(6); 614-618, 2007
- 3) 白幡 聡：ルリオクトゴクアルファ(遺伝子組換え). クリニカルプラクティス 26(7); 572-574, 2007

- 4) 白幡 聡, 嶋 緑倫, 岡 敏明, 天野景裕, 花房秀次, 瀧 正志, 三間屋純一, 松下 正, 高松純樹, 日笠 聡, 小阪 嘉之, 須賀健一, 酒井道生, 梶原真清恵, 高田 昇, 吉岡 章：国内のインヒビター保有血友病患者における遺伝子組換え活性化型第VII因子製剤(注射用ノボセブン®)の高用量単回投与試験に関する臨床研究. 日本血栓止血学会誌 [投稿中]
- 5) 白幡 聡, 酒井道生：インヒビター保有血友病患者の治療-バイパス製剤をめぐる最近の話題-. 日本小児血液学会誌 [投稿中]

②学会発表

なし

10. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得 なし
- 2) 実用新案登録 なし
- 3) その他 なし

J-HIS (Japan Hemophilia Inhibitor Study)

「第Ⅷ因子、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生に関する研究」

J-HIS 1

「インヒビター発生患者の実態調査」

実施計画書

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

代表研究者：奈良県立医科大学 小児科学教室 教授 吉岡章

はじめに

多くの血友病患者は、凝固因子補充を行った場合、投与製剤に対して免疫学的な反応は見られず、投与された凝固因子の活性を妨げることはない。しかし、10~30%の症例では、投与された凝固因子の活性を抑制する中和抗体が発生することが知られている。

潜在的な危険因子は、患者関連の要因(遺伝子異常・蛋白異常・応答免疫機構・人種など)と補充療法関連の要因(製剤の種類・投与方法・治療開始年齢)などが関与する。このうち後者に関しては、血友病 A のリコンビナント製剤投与群では、血漿由来製剤投与群に比べてインヒビターの発生頻度が高いとの報告もあり、医師はもちろん、患者や企業においても解決すべき重要な課題の一つである。しかし、わが国ではインヒビターに関する nation-wide なデータが十分ではなく、また、その基盤となる全国レベルでの前方視的な患者登録システムが構築されておらず、欧米はもちろんアジア諸国との比較検討も行えない状況にある。さらに、インヒビターの発生要因の分析や発生機序の解明はほとんど行われていない。

そこで、本研究班では、平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)をうけ、「日本における第 VIII 因子、第 IX 因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究」の第一研究として、インヒビター保有血友病患者の背景調査を行う。また第一研究の付随研究として、専門施設における先天性血友病症例の使用製剤について調査を行い、使用状況を把握した上で、得られたデータを基にインヒビター発生群と非発生群に分けて背景因子とくに投与された凝固因子製剤の種類を比較する。

また、第二研究として別途新規血友病患者を対象としたデータベース構築による前向きコホート研究を実施し、血友病治療における臨床研究の基盤を整備する。

目次

1. 研究の目的.....	16
2. 研究方法.....	16
2.1. 研究デザイン.....	16
2.2. 対象患者.....	16
2.3. 究実施期間.....	16
2.4. 目標登録症例数.....	16
2.5. 調査方法.....	16
2.5.1 施設登録の手順.....	16
2.5.2 症例登録の手順.....	16
2.5.3 調査項目.....	17
3. 統計解析.....	17
4. 研究の倫理的実施.....	17
4.1. 倫理.....	17
4.2. 同意の取得.....	17
4.3. 個人情報の保護.....	18
5. 記録の保管.....	18
6. 原資料.....	18
7. 使用する主な研究費.....	18
8. 研究実施体制.....	18
8.1. 研究代表者.....	18
8.2. 運営委員会.....	18
8.3. 厚生労働省研究班事務局.....	19
8.4. Japan Hemophilia Inhibitor Study 研究事務局(J-HIS 研究事務局).....	19
8.5. Japan Hemophilia データセンター (JH データセンター).....	19

1. 研究の目的

血友病患者のインヒビター発生要因の検討

2. 研究方法

2.1. 研究デザイン

- ・ インヒビター保有血友病患者の実態調査

2.2. 対象患者

【選択基準】

- ① 過去に一度でもインヒビターの発生を確認した先天性血友病患者
 - ② 患者から文書による同意を得ていること
 - ③ 患者が未成年の場合は保護者より同意を得ていること。
- 但し、患者が16歳以上の場合は、本人からも同意を得ていること。

2.3. 究実施期間

本研究の調査は2008年1月1日から2009年10月31日までとする。

2.4. 目標登録症例数

本研究の目標登録症例数は約150例とする。

なお、研究期間中は、150例に達した場合でも、登録を行う事とする。

2.5. 調査方法

2.5.1 施設登録の手順

- ① 各施設は、施設登録票（ホームページ掲載）をJ-HIS研究事務局宛にFAXし、施設登録を行う。施設倫理委員会の承認を必要とする施設では、承認書も施設登録票とともに送付する。
- ② 施設登録が実施された施設には、J-HIS研究事務局からSiteIDが発行され、症例ファイル（調査表）が配布される。

2.5.2 症例登録の手順

- ① 研究担当医師は、患者又は保護者に同意説明文書と口頭で、この研究についての目的と参加の重要性を説明する。この研究への参加を検討するに十分な時間を与えるとともに患者又は保護者からの全ての質問に対し十分に理解できるように回答する。
- ② 患者又は保護者が内容を十分に理解したことを確認した後、患者の自由意思による研究参加の同意を文書により取得する。
※患者が未成年の場合は保護者より文書にて同意を得ることとする

但し、患者が16歳以上の場合は、本人からも文書にて同意を取得する。

- ③ 調査票を正確に記入し、J-HIS 研究事務局宛に郵送する。
- ④ J-HIS 研究事務局からの受領書の発行により、調査終了とする。

2.5.3 調査項目

本研究では、下記の内容について、調査を実施する。

- 【患者背景】 イニシャル・性別・生年月・診断年月・凝固因子活性・測定場所・血液型・人種
- 【合併症】 血友病関節症・B型肝炎・C型肝炎・HIVの合併・既往出血性疾患の合併・重篤な疾患の合併
- 【分娩状況】 分娩様式・栄養法
- 【家族歴】 血友病、インヒビターの家族歴・インヒビターのタイプ
- 【治療方法】 初回投与年齢・止血治療の方法
- 【凝固因子製剤】 インヒビター発生までの使用凝固因子製剤名
- 【インヒビター発生までの重篤出血・観血的手術の既往】 発生時期・出血部位
- 【インヒビターについて】 発生時のインヒビター値・測定日・インヒビターの最高値・直近のインヒビター値・現在のインヒビター保有状況・消失理由・治療方法
- 【免疫寛容療法】 実施の有無・実施の結果

3. 統計解析

研究期間終了後、統計解析を行う。

4. 研究の倫理的実施

4.1. 倫理

研究はヘルシンキ宣言、疫学研究に関する倫理指針(平成16年12月28日 文部科学省・厚生労働省)に従って実施する。そのため、同指針に従い、奈良県立医科大学臨床研究審査委員会の審査承認を得る。また、各施設での倫理委員会の承認が必要な場合は、各施設にて取得する。

4.2. 同意の取得

研究担当医師は、患者又は保護者に同意説明文書と口頭で、この研究についての目的と参加の重要性を説明する。この研究への参加を検討するに十分な時間を与えるとともに患者又は保護者からの全ての質問に対し、十分に理解できるように回答する。患者又は保護者が内容を十分に理解したことを確認した後、自由意思による研究参加の同意を

文書により取得する。但し16歳以上の未成年患者については本人並びに保護者の同意を文書により取得する

4.3. 個人情報の保護

他人に被験者を特定できるような個人情報は一切収集しない。データは被験者を特定できないように、Subject ID により管理される。各施設は個人情報保護管理責任者が指名され、管理責任者の管理の下、Subject ID と患者氏名・カルテ番号の判別が可能な対応表を作成し、保管する。(連結可能匿名化)

5. 記録の保管

研究分担医師は、研究の終了又は中止の後に、通知があるまで、研究に関する文書を各施設にて保管する。

6. 原資料

調査票を原データとし、調査票を永久保存するものとする。

7. 使用する主な研究費

「平成19年度厚生労働科学研究費補助金

(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)」

8. 研究実施体制

8.1. 研究代表者

研究の運営に責任を持ち、研究を円滑に進めるため、以下の業務を行う

- ・ 実施計画書の内容の細目について、多施設間で一貫性を維持するための承認
- ・ 研究中に生じた実施計画書の解釈上の疑義の調整
- ・ 実施計画書・症例報告書の見本の作成及び改定に関する助言
- ・ 集積されたデータの確認

奈良県立医科大学 小児科学教室 吉岡章

8.2. 運営委員会

運営委員会は、研究代表者の要請に基づき、以下の業務を行う。

- ・ 実施計画書、症例報告書、同意・説明文書等の最終決定及び改定の決定
- ・ 研究継続・中止の最終決定