

表1 海外での臨床研究の成果

著者	発表年	高用量 rFVIIa 投与量	患者数 (名)	無作為 抽出	盲検化	試験デザイン
Cooper ら	2001	出血時: 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 予防投与: 240 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1			症例研究
Kenet ら	2003	出血時: 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$	3			非盲検臨床試験
Parameswaran ら	2005	出血時: 最大 346 $\mu\text{g}/\text{kg}$	38			登録患者症例に対する後方視 的解析
Santagostino ら	2006	出血時: 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$	18	○		無作為割り付け比較対照臨床 試験, クロスオーバー法
Kavakli ら	2006	出血時: 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$	21	○	○	無作為割り付け比較対照臨床 試験, クロスオーバー法
Konkle ら	2006	予防的投与: 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$	22	○	○	無作為割り付け比較対照臨床 試験(予防投与), パラレル法

1. 症例研究

Cooper らは生後 18 ヶ月にインヒビターが発生し、4 回の免疫寛容療法がいずれも奏効しなかった血友病 B の症例について興味深い観察結果を報告している³⁾。患児は 8 歳時に初めて rFVIIa の投与をうけたが、標準的な用量である 90~120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では止血効果が不十分であったため、160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に増量した。しかし、それでも十分な止血効果が得られなかったため、患児の薬物動態を調べたところ rFVIIa の血中半減期が 1.5 時間と、成人の一般的な半減期である 2.7 時間と比べ著しく短かった。そこで、患児への rFVIIa の投与量を思い切って 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$ まで増量した結果、前腕部の軟部組織出血に対して 1 回のみの投与で劇的な止血効果が得られた。その後は、ほとんどの出血に対して 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を単回投与し、止血効果は良好であった。一方、この患者は膝関節の伸展障害が強く、車椅子での生活を余儀なくされていたため、240 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の rFVIIa を 6~12 時間おきに定期投与しながら、リハビリ療法をしたところ 4 ヶ月後には松葉杖などの補助具を使用せずに歩行ができるようになった。

2. 非盲検臨床試験

1999 年から 2001 年にかけて Kenet らは、National Israeli Hemophilia Center において非盲検臨床試験を実施した⁴⁾。この臨床研究では、年齢が 16 歳、19 歳および 22 歳の 3 名のインヒビター保有血友病患者の関節あるいは軟部組織の出血 (244 エピソード) を、以下に示す 3 つの方法のいずれかで治療して有効性と安全性を比較した。

第 1 群: rFVIIa 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をボラス投与後 15~16 $\mu\text{g}/\text{kg}/$ 時間の速度で、原則 12 時間持続点滴する。

第 2 群: rFVIIa 180 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をボラス投与後 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/$ 時間の速度で、原則 6 時間持続点滴する。

第 3 群: rFVIIa 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をボラスで原則 1 回のみの投与する。ただし、追加投与が必要と判断された場合には 3~4 時間後に 200~300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を追加投与してもよい。

上記 3 群で有効率を比較した結果、第 1 群 70%、第 2 群 72%、第 3 群 83.3% で、第 3 群の有効率が高かった。また、疼痛の改善までに要した時間は、第 1 群が 4 時間、第 2 群が 1.6 時間、第 3 群が 40 分 (いずれも中央値) で、用量が多い程、疼痛の改善までの時間が短かつ

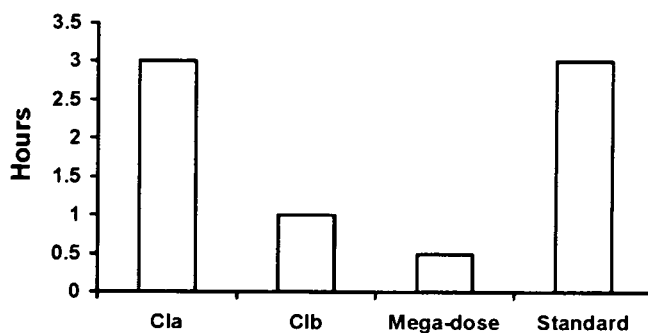


図1 症例研究：各投与法における痛みが消失するまでの時間
 Cla = rFVIIa 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ボーラス投与後 15 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ で持続点滴, Clb = rFVIIa 180 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ボーラス投与後 30 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ で持続点滴, megadose = rFVIIa 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ボーラス投与, standard boluses = rFVIIa 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 3 時間おきに投与.
 (文献4) より引用)

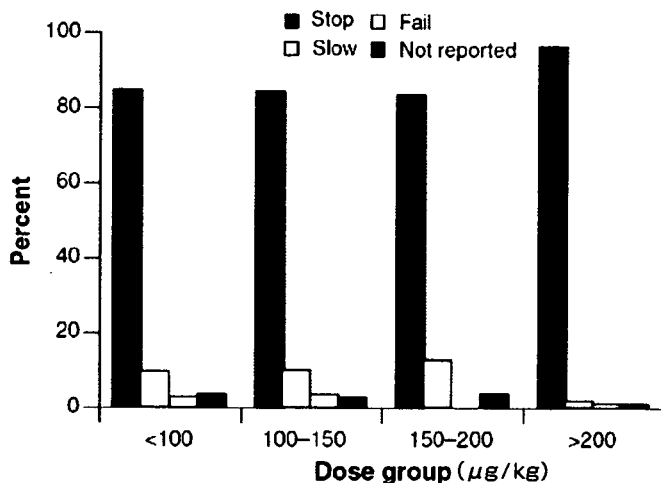


図2 後方視的臨床研究：各投与群における止血効果の比較
 (文献5) より引用)

た(図1), 副作用については, 第3群で, 3~4時間後に追加投与した1例の患者に発熱がみられたが薬剤との因果関係は不明であった。本臨床研究の結論として, 高用量単回投与法は他の治療法と比較して製剤使用量を増やすことなく, 短時間で高率に止血効果が得られたことから, 少なくともこれらの年齢の患者には推奨される治療法と考えられる。

3. 後方視的臨床研究

Parameswaranらは米国のHemophilia and Thrombosis Research Society Registry (HTRS)に2000年1月から2002年6月までに登録された38名のインヒビター保有血友病患者(年齢1~55歳;平均14歳)に認められた555出血エピソード(関節, 筋肉, 皮下, 粘膜, 頭蓋内)についてのデータを, rFVIIaの投与量に応じて以下の4群に分類し, 止血効果と安全性を解析した⁵⁾。

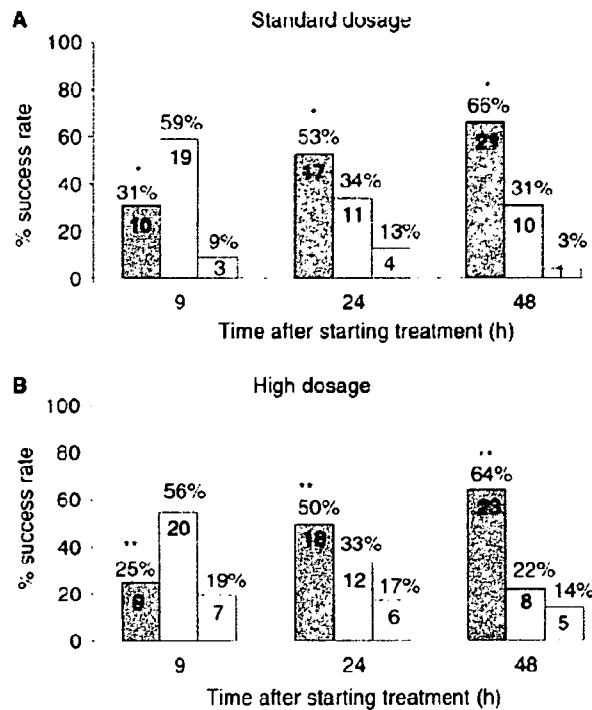


図3 無作為割り付け非盲検比較対照試験：標準用量複数回投与と高用量単回投与の平行試験
(A) 標準用量複数回投与 (90 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、(B) 高用量単回投与 (270 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、濃灰色=成功例、淡灰色=部分的反応例、白色=失敗例、* $P=0.02$ 、** $P=0.004$ 。

(文献6)より引用)

- 第1群：100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満 (全体の27%)
- 第2群：100~150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (同28%)
- 第3群：150~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (同25%)
- 第4群：200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 超 (同21%)

その結果、rFVIIa投与72時間後の判定で、第4群(高用量群)の97%で止血コントロールに成功していたのに対して、残りの1~3群を合わせた成功率は84%であり、その差は有意($p<0.001$)であった(図2)。また1~4群で止血に要したrFVIIaの投与回数はそれぞれ4.3回、5.2回、3.4回、2.3回で、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 超の群では投与回数が少なくてすんでいた。

一方、有害事象は5名の患者で9件の報告があった。そのうち8件は「治療効果の低下」、つまり止血コントロールがうまくいかなかったという内容であり、薬剤の副作用とは考え難い

ものであった。その他、1例に発疹の報告があったものの、血栓症、DIC、などとくに危惧された有害事象の報告はなく、死亡例も報告されていない。以上の成績をもとに ParameswaranらはrFVIIa製剤の高用量(200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 超)投与は、それ以下の投与量と比べて有効性が高く、安全性の面でも346 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の投与量まで問題なく使用されていたことから、高用量のrFVIIa投与が推奨されるとした。

4. 無作為割り付け非盲検比較対照試験

関節出血に対するrFVIIaの投与方法を、90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ /回投与後、必要に応じて3時間毎に投与を繰り返す標準用量複数回投与群(A群)、と270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与群(B群)に無作為に振

表 2 無作為割り付け多施設二重盲検比較対照試験：標準用量 3 回投与と高用量単回投与におけるクロスオーバー試験

	90 × 3/270 μg/kg rFVII regimen n = 11	270/90 × 3 μg/kg rFVIIa regimen n = 10	Total n = 21
90 μg/kg × 3			
n	11	9	20
Effective	7 (64%)	7 (78%)	14 (70%)
Ineffective	4 (36%)	2 (22%)	6 (30%)
270 μg/kg			
n	10	10	20
Effective	6 (60%)	7 (70%)	13 (65%)
Ineffective	4 (40%)	3 (30%)	7 (35%)
Preference			
n	10	9	19 ^a
90 μg/kg × 3	2 (20%)	2 (22%)	4 (21%)
No preference	6 (60%)	5 (56%)	11 (58%)
270 μg/kg	2 (20%)	2 (22%)	4 (21%)
			p = 0.637 ^b

^aTwo patients experienced only one haemarthrosis during trial ; ^bp-value for the exact versions of McNemar's test of preference.

(文献 7) より引用)

り分ける多施設参加非盲検臨床試験がイタリアで実施された⁶⁾。この臨床試験では止血効果を 2 つの方法を用いて評価した。ひとつは VAS (Visual Analogue Scale) と呼ばれる評価方法で、0~100 の間で視覚的に症状の改善度を表現する方法である。またもう 1 つは出血の兆候が完全に消失したか否かである。VAS が 70 以上で、なおかつ出血の兆候が完全に消失した場合を治療成功と定義した。

その結果、治療開始 9 時間後の成功率は A 群では 31%、B 群では 25% であった。一方、48 時間後の成功率は A 群では 66%、B 群では 64% であり、いずれの時点の判定でも止血成功率に関しては、標準用量複数回投与群と高用量単回投与群の間で差はみられなかった (図 3)。なお、A 群で実際に rFVIIa を投与された回数の中央値は 3 回であり、A 群と B 群の間でコスト面でも差がなかった。安全性については、

B 群の 25 歳の患者 1 名に頭痛の訴えがあった。頭痛は一過性で、神経学的な精査で特記すべき異常はなく、血栓症も否定的であった。

以上、非盲検試験ではあるが前方視的無作為割り付け試験において rFVIIa の高用量単回投与法は、従来の標準用量複数回投与法と比べて、有効性、安全性、経済性のいずれにおいても基本的差異はみられず、頻回の静脈投与による患者・家族の負担を軽減する良い方法であることが示唆された。

5. 無作為割り付け多施設二重盲検比較対照国際試験

これまでの臨床試験の結果を受けて高用量単回投与と標準用量複数回投与の有効性と安全性を比較するための二重盲検試験が実施された⁷⁾。本臨床試験では、高用量単回投与群にお

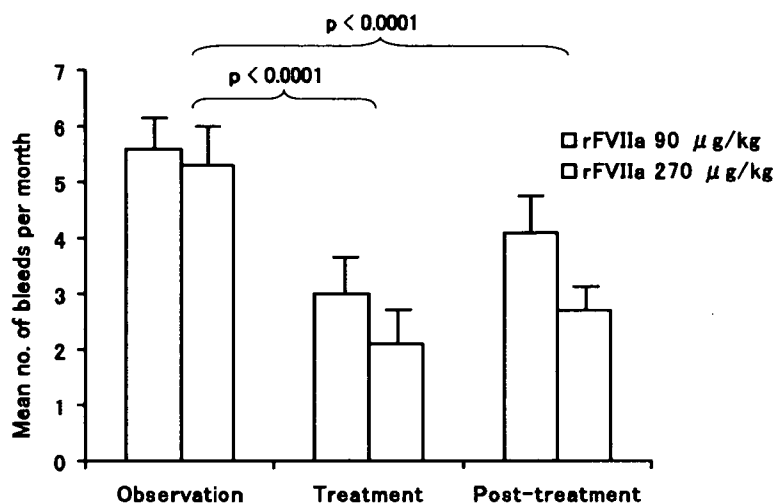


図4 高用量定期投与試験

(文献8)より引用)

いても、1回目の実薬投与のあとに2回のプラセボを投与することにより二重盲検化した。すなわち、在宅治療を実施中の21名の患者を対象として、標準用量(90 µg/kgを3回投与)と高用量(270 µg/kgの単回投与後、プラセボを2回投与)を無作為に割り付けられた順番に従ってクロスオーバーで投与した。治療効果についてはGlobal Treatment Responseと呼ばれる評価方法が用いられた。これは、1, 3, 6, 9時間後に疼痛と関節可動性を、あらかじめ設定されたスコアに従って評点し、そのトータルの変動により有効性を判定する方法でこれまでの評価法と比べて客観的な評価が可能である。

上記の判定法に基づく有効率は、標準用量投与群が70%、高用量投与群が65%であり、両者の間に統計学的有意差は認められなかった(表2)。一方安全性については、トータルで9名の患者に16件の有害事象が報告された。これを投与方法別にみると、標準用量投与群では6名9件、高用量投与群では6名7件で有害事象の発生率は両群間で差がなかった。重症度分類で分けると11件は軽度、4件は中等度、1件は重度と判断された。なお、重度と判定された有害事象は、標準用量投与例に発生したウィ

ルス性気管支炎であった。その他の有害事象は関節痛(4件)、原出血部位以外の関節出血(3件)、捻髪音、疼痛、嘔気、炎症、頭痛、舌嚙、掻痒、皮下結節であった。検査所見については安全性の面で問題となる異常変動はなかった。有害事象の分布は、投与方法による差異は認めなかった。結論として、rFVIIaの高用量単回投与法は、従来の標準用量3回投与と比べて有効性、安全性の面で遜色ないことが二重盲検試験でも裏付けられた。

6. 高用量定期投与試験

これまでの「on demand 治療」とは対照的に、出血する前から高用量のrFVIIaを定期投与する試験が行われた⁸⁾。月平均4回以上出血する患者22名を無作為に割り付け、90 µg/kgあるいは270 µg/kgのrFVIIaを、二重盲検化のもと1日1回3ヵ月間連日投与した。それにより、観察期間に比べ、月あたりの出血回数は90 µg/kg投与群で45%、270 µg/kgの投与群で59%減少した。また、定期投与を終了した後もその効果は続き、終了してから3ヵ月間の月あたりの出血回数は観察期間に比べ、90 µg/kg

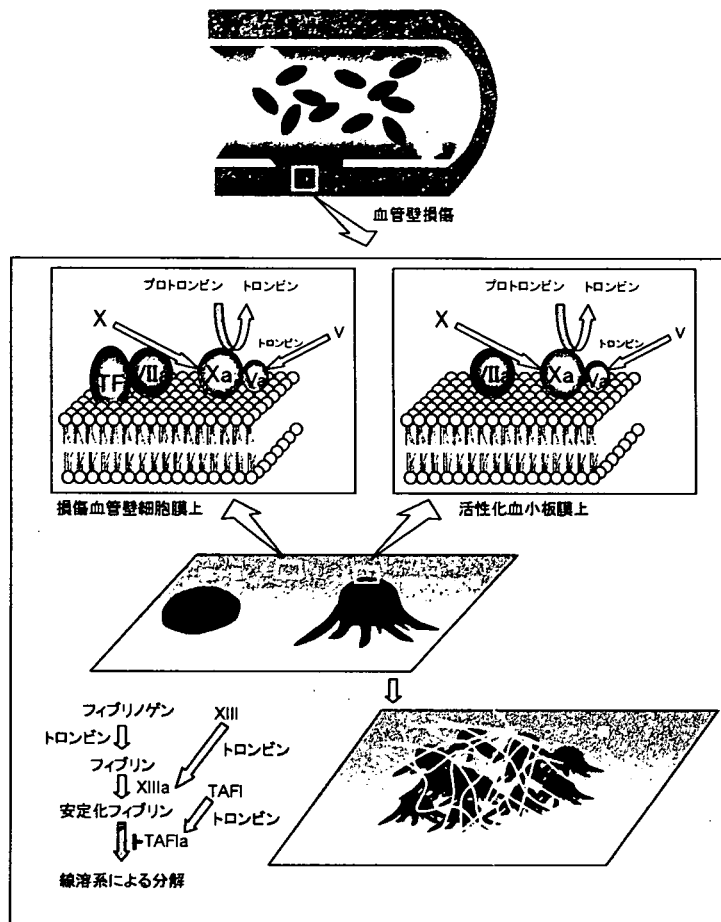


図5 インヒビター保有患者における rFVIIa の止血メカニズム
 血管壁の損傷部位では、リン脂質膜上で組織因子依存性に、rFVIIa が第 X 因子を活性化する。活性化された第 Xa 因子は第 Va 因子を補酵素とし、プロトロンビンからトロンビンを生成する。トロンビン等によって活性化された血小板膜上では、rFVIIa は（組織因子がなくても）第 X 因子を活性化することができる（以下本文参照）。
 TF：組織因子，VIIa：組換え活性化型第 VII 因子製剤，TAFI：thrombin activatable fibrinolysis inhibitor.

投与群で 27%，270 μg/kg の投与群で 50% 減少した（図 4）。定期投与により，学校の欠席率，職場の欠勤率，入院率が有意に減少し，疼痛および日常生活における可動範囲も改善した⁹⁾。試験期間中に，有害事象として，血栓症の発生は認めなかった。また，2つの投与量の間で有害事象の差異は認めなかった。試験の結果は頻回に出血する患者に対して，rFVIIa の

標準用量および高用量定期的連日投与が，患者の QOL 改善に有効であることを示した。また，高用量 rFVIIa の連日投与における安全性が示された。

考 察

血友病患者の止血治療は全血のみの時代から、欠乏している凝固因子濃縮製剤の時代へと進み、凝固因子製剤はさらに中間型濃縮製剤、高純度濃縮製剤、遺伝子組換え製剤へと著しく進歩した。製剤の補充療法も、当初は出血してからの投与のみであったが、その後、遠足や運動会など出血の恐れが高いイベント時に予備的に投与する方法が導入され、さらに最近では出血の有無にかかわらず週2~3回定期的に補充する方法が普及しつつある。このような背景の中、患者・家族の関心は、有効性と安全性の担保は当然のこととして、利便性の改善にむけられるようになってきている。例えば、保存温度、溶解操作の簡便さ、1回に注射する製剤の液量、注射の回数などである。とくに注射回数を減らすために半減期の長い製剤の開発が囑望されている。

血友病補充療法のもうひとつの大きな課題は、高力価あるいは高反応型 (high responder type) のインヒビターを保有する患者の治療である。これらの患者は欠乏している凝固因子製剤を輸注してもすぐに不活性化してしまうため、第IX因子や第VIII因子を介した凝固カスケードを迂回 (ショートカット) して活性化血小板上でトロンビンを産生させる製剤 (バイパス製剤) が止血療法に用いられる。現在、我が国でも利用可能なバイパス製剤は、遺伝子組換え製剤である rFVIIa と、血漿由来の活性化プロトロンビン複合体製剤 (APCC: ファイバ[®], バクスター株式会社) の2種類である。rFVIIa と APCC の比較で、前者は (1) 液量が少ない、(2) ヒト血液由来の感染のリスクがない、(3) anamnestic response を引き起こさない、(4) 向血栓性が低い、(5) 保険診療上、投与日数の制限がないなど多くの利点がある反面、生体内半減期が成人で2.7時間、小児で1.3時間ときわめて短いため、多くの場合2~3時間毎の投与が必要となるのが欠点である¹⁰⁾。そこで、注射

回数を減らすために、従来標準的に投与されている用量よりも高用量を単回投与して止血効果を探る研究が試みられるようになった。

血漿中の rFVIIa の薬理学的濃度が高くなれば、活性化血小板依存性に産生されるトロンビン量 (トロンビンバースト) が増加する¹¹⁾。in vitro の試験によると、血友病患者のように凝固因子が欠乏している血漿では、標準用量の rFVIIa 製剤を投与しても正常レベルのトロンビン産生は起きないが、高用量の rFVIIa 製剤を投与すれば、組織因子および、血小板依存性に、トロンビン産生は正常レベルまで回復することが示された¹²⁾⁻¹⁴⁾。大量のトロンビンが産生されれば、オートクライン的により多くの血小板および凝固因子が活性化され、また同様に多くの第XIII因子が活性化されるので、フィブリン網がさらに安定化すると考えられる。また、多くのトロンビンが産生されれば、より多くの thrombin activatable fibrinolysis inhibitor が活性化されて線溶系が阻害されるので、一度形成されたフィブリン網がさらに安定化する (図5)¹⁵⁾。すなわち、血友病患者に出血が起きた時には、標準用量の rFVIIa 製剤を投与するよりも、高用量の製剤を投与した方が、有利と考えられる。

一般的に、血友病患者に出血が起きた時、早期治療が重要なことは言うまでもない。出血した時に出来るだけ早期に製剤を投与する方が、短時間で止血されやすく、使用する製剤も少なくすむ¹⁶⁾。それにもまして重要な点は、止血処置の遅れが、出血による関節軟骨への傷害および滑膜への炎症性刺激を増悪させ、血友病性関節症の進展につながることである¹⁷⁾。在宅注射により、家庭あるいは外出先ですぐに製剤が注射できる環境を整備しておくことは、止血コントロールの観点からだけでなく、患者の血友病性関節症の進展抑制という、患者自身の将来的QOLを考えた場合からも非常に重要と考えられる。

実際に高用量の rFVIIa を投与した場合の止

血効果は既に示した通りで、Kenet らの研究では用量に応じて疼痛が改善するまでの時間が短縮することが示された。また、Parameswaran らの報告でも初回に 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上投与された群は、それ未満の rFVIIa を投与された群と比べて投与回数が明らかに少なくなっており、早期に止血したことが示唆された。一方、その後実施された 2 つの前方視的比較対照試験では、高用量単回投与群と標準用量複数回投与群の間で前者の方が明らかに早期に止血するという成績は得られなかった。従って、高用量単回投与が止血を有意に促進させるか否かについてはなお検討の余地がある。

高用量の rFVIIa を投与する時の最大の問題は有害事象の増加の有無であり、とくに血栓症の発生が危惧される。この点については、すでに述べたいずれの研究においても注意深い観察がなされていたが、血栓症を含めて有害事象の発生率とその内容に差がないことが確認された。これは、前述したごとく rFVIIa は組織因子あるいは活性化血小板依存性にトロンビンを産生することから、その促進作用は傷害を受けた血管部位に限定され、循環血液中あるいは非傷害部位には及ばないためと考えられる。

以上、高用量単回投与は、標準用量複数回投与と比べて、有効性、安全性、経済性のいずれの点でも同等あるいはそれ以上との成績が得られていることから、投与回数を減らして患者・家族の QOL を改善するという観点から明らかに優れた投与方法であろう。現在、我が国でも、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与と 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、3 回投与の安全性と有効性をクロスオーバー方式で比較する医師主導型臨床研究 (ノボセブン® 高用量単回投与の有用性の検討、研究統括医師：白幡 聡) が 14 施設の参加を得て進行中である。本研究の特色は、出血時だけでなく非出血時にも 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の rFVIIa を投与して、凝血学的動態を詳細に検討していることで、この成績は予備的補充を行う際の安全性と有効性を判断する上で重要な資料となるであろう。我が国でも

高用量単回投与の有効性と安全性が確認され、患者・家族の QOL の改善が得られることが期待される。

文 献

- 1) 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.
- 2) 白幡 聡, 岡 敏明, 福武勝幸, 新井盛大, 花房秀次, 瀧 正志, 長尾 大, 三間屋純一, 芳賀信彦, 高松純樹, 神谷 忠, 嶋 緑倫, 垣下榮三, 竹谷英之, 高田 昇, 小林 正夫, 内田立身, 小野織江, 吉岡 章 : 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血液凝固第 VII 因子製剤 (注射用ノボセブン®) の長期的安全性および有効性 : 5 年間の市販後調査中間解析報告. *血栓止血誌* 17 : 331-344, 2006.
- 3) Cooper HA, Jones CP, Campion E, Roberts HR, Hedner U : Rationale for the use of high dose rFVIIa in a high-titre inhibitor patient with haemophilia B during major orthopaedic procedures. *Haemophilia* 7 : 517-522, 2001.
- 4) Kenet G, Lubetsky A, Luboshitz J, Martinowitz U : A new approach to treatment of bleeding episodes in young hemophilia patients : a single bolus megadose of recombinant activated factor VII (Novo Seven®). *J Thromb Haemost* 1 : 450-455, 2003.
- 5) Parameswaran R, Shapiro AD, Gill JC, Kessler CM : HTRS Registry Investigators. Dose effect and efficacy of rFVIIa in the treatment of hemophiliac patients with inhibitors : analysis from the Hemophilia and Thrombosis Research Society Registry. *Haemophilia* 11 : 100-106, 2005.
- 6) Santagostino E, Mancuso ME, Rocino A, Mancuso G, Scaraggi F, Mannucci PM : A prospective randomized trial of high and standard doses of recombinant factor VIIa for treatment of hemarthroses in hemophiliacs with inhibitors. *J Thromb Haemost* 4 : 367-373, 2006.
- 7) Kavakli K, Makris M, Zulfikar B, Erhardtson E, Abrams ZS, Kenet G : NovoSeven® trial (F7HAEM-1510) investigators. Home treatment of hemarthroses using a single dose regimen of recombinant activated factor VII in patients with haemophilia and inhibitors. *Thromb Haemost* 95 : 600-605, 2006.
- 8) Konkle BA, Ebbesen LS, Friedrich U, Bianco RP, Lissitchkov T, Rusen L, Serban MA. Randomized, prospective clinical trial of rFVIIa for secondary prophylaxis in hemophilia patients with inhibitors. *Blood* 108 (11, part 1, 230a, Abstract 766), 2006.
- 9) Konkle BA, Ebbesen LS, Auerswald GKH, Friedrich U, Ljung RCR, Roberts HR, Hoots WK. Secondary prophylaxis with rFVIIa improves quality of life of hemophilia patients with inhibitors and frequent bleeds. *Blood* 108 (11, part 1, 306a, Abstract 1028), 2006.
- 10) Hedner U, Kristensen H, Berntorp E, Ljung R, Petrini P. Pharmacokinetics of rFVIIa in children. *Haemophilia* 4 : 355. (Abstract) 1998.
- 11) Hoffman M, Monroe III DM, Roberts HR: Activated factor VII activates factor IX and X on the surface of activated platelets : thoughts on the mechanism of action of high-dose

- activated factor VII. *Blood Coagul Fibrinolysis* **9** : S61-65, 1998.
- 12) Butenas S, Brummel KE, Branda RF, Paradis SG, Mann KG : Mechanism of factor VIIa-dependent coagulation in hemophilia blood. *Blood* **99** : 923-930, 2002.
- 13) Butenas S, Brummel KE, Bouchard BA, Mann KG : How factor VIIa works in hemophilia. *J Thromb Haemost* **1** : 1158-1160, 2003.
- 14) Kjalke M, Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR, Hedner U, Ezban M : High-dose factor VIIa restores platelet activation and total thrombin generation in a model system mimicking hemophilia A or B conditions. *Thromb Haemost (Suppl.)* : 303, 1999.
- 15) Lisman T, Mosnier LO, Lambert T, et al : Inhibition of fibrinolysis by recombinant factor VIIa in plasma from patients with severe hemophilia A. *Blood* **99** : 175-179, 2002.
- 16) Lusher JM : Early treatment with recombinant factor VIIa results in greater efficacy with less product. *Eur J Haematol* **63** (Suppl.) : 7-10, 1998.
- 17) Luck JV, Silva M, Rodriguez-Merchan EC, Ghahambar N, Zahiri CA, Finn RS: Hemophilic arthropathy. *J Am Acad Orthop Surg* **12** : 234-245, 2004.

◆速報◆

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
第I相試験結果—安全性についての報告

白幡 聡*¹, 嶋 緑倫*², 岡 敏明*³, 天野景裕*⁴,
花房秀次*⁵, 瀧 正志*⁶, 三間屋純一*⁷, 松下 正*⁸,
高松純樹*⁹, 日笠 聡*¹⁰, 小阪嘉之*¹¹, 須賀健一*¹²,
酒井道生*¹, 梶原真清恵*¹³, 高田 昇*¹⁴, 吉岡 章*²

Key words: rFVIIa, hemophilia, inhibitor, single dose, high dose

- *¹産業医科大学 小児科〔〒 807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1〕
Department of Pediatrics, University of Occupational and Environmental Health, Japan〔1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu city 807-8555, Japan〕
Tel: 093-691-7254 Fax: 093-691-9338 e-mail: akira-s@med.uoeh-u.ac.jp
- *²奈良県立医科大学 小児科
Department of Pediatrics, Nara Medical University
- *³札幌徳洲会病院 小児科
Department of Pediatrics, Sapporo Tokushuukai Hospital
- *⁴東京医科大学 臨床検査医学講座
Department of Laboratory Medicine, Tokyo Medical University
- *⁵荻窪病院 血液科
Department of Hematology, Ogikubo Hospital
- *⁶聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 小児科
Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine Yokohama City Seibu Hospital
- *⁷静岡県立こども病院 血液腫瘍科
Division of Hematology and Oncology, Shizuoka Children's Hospital
- *⁸名古屋大学大学院 医学系研究科 血液・腫瘍内科学
Department of Hematology and Oncology, Nagoya University Graduate School of Medicine
- *⁹名古屋大学医学部附属病院 輸血部
Department of Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital
- *¹⁰兵庫医科大学 血液内科
Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine
- *¹¹兵庫県立こども病院 血液腫瘍科
Department of Hematology and Oncology, Hyogo Children's Hospital
- *¹²徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 小児医学分野 発生発達医学講座
Department of Pediatrics, University of Tokushima
- *¹³独立行政法人国立病院機構福井病院 小児科
Department of Pediatrics, Fukui National Hospital
- *¹⁴広島大学病院 輸血部
Division of the Blood Transfusion Services, Hiroshima University Hospital
受付日：2007年8月8日，受理日：2007年9月18日

1. 緒 言

欠乏する凝固因子の補充療法を受けた血友病患者では、当該血液凝固因子に対するインヒビター（同種抗体）が発現することがある。ひとたびインヒビターが発現すると凝固因子製剤による補充療法の止血効果が減弱ないし消失するため、その後の止血治療が困難になる。遺伝子組換え活性化型凝固第 VII 因子製剤（rFVIIa：注射用ノボセブン®、ノボ ノルディスク ファーマ株式会社）は、インヒビターを保有する血友病 A および B 患者の止血を目的に開発されたバイパス止血製剤であり、我が国では 2000 年 3 月に承認され、「血液凝固 VIII 因子または第 IX に対する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の出血抑制」を適応として広く使用されている。その用法および用量は、「初回は 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で、その後は 60～120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を出血の種類および程度に応じて適宜増減し、止血が得られ、臨床的改善が観察されるまで、2～3 時間ごとに投与すること」と定められている。しかしながら、乳幼児など血管確保が難しい患者に対して、繰り返し静脈穿刺を行うことは、実地臨床上からも、また、在宅療法を導入する上でも障壁となる。また、医療施設で rFVIIa の投与を受ける場合も、長時間当該施設での滞在を強いられるなど、患者とその家族の負担は大きい。そこで、この問題を解決するために、高用量の rFVIIa を投与することにより、できるだけ一回の輸注で止血を図る方法（以後、高用量単回投与と呼ぶ）が試みられるようになった。海外では rFVIIa 高用量単回投与の臨床研究が複数行われ、その有効性および安全性が検討され、良好な成績が得られたことから¹⁾、本年 EU において rFVIIa の高用量単回投与法が正式に承認された。我が国でもクロスオーバー方式による高用量単回投与に関する医師主導型臨床研究が 2004 年 8 月から開始され、今回、安全性に関する第 I 相試験が終了したので、本試験における中間成績として報

告する。

2. 対象および方法

対象は過去 12 か月間に 3 回以上の関節内出血歴がある第 VIII 因子または第 IX 因子インヒビター（1BU/mL 以上）保有血友病 A または B 患者のうち、本人もしくは代諾者から文書による同意が得られた 22 名（5 歳から 56 歳）である。

これら対象患者に対して、出血時（6 名）または非出血時（16 名）に rFVIIa 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 2-5 分かけて静脈内に注射し、投与 30 分後における、バイタルサインを含む身体所見を観察した。また、高用量のノボセブンを投与した時の薬理作用を明らかにする目的で、投与 30 分後に採取した血液を用いて凝固波形解析（最大凝固速度および最大凝固加速度）、トロンビン生成試験（TGT）を測定し、rFVIIa（270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）投与前後で比較した。同時に血小板数、可溶性フィブリンモノマー、D ダイマー、フィブリノゲンなどの DIC マーカーを測定し、バイタルサインを含む身体所見の観察と併せて rFVIIa 高用量単回投与後の安全性を検討した。可溶性フィブリンモノマーの測定は FM テスト（ロシュダイアグノスティック社）、D ダイマーの測定はコバス試薬 D ダイマー（ロシュダイアグノスティック社）を用いた。凝固波形の解析は、MDA® II（Biomerieux 社）を用いて、APTT の測定法に準じた²⁾。また TGT の測定は、血漿に添加剤としてリン脂質/TF 試薬（終濃度として 16.5 μM : PL, 2 μM : エラグ酸, 6.7 pM : rTF）を加え、生成したトロンビンによる蛍光基質（Z-Gly-Gly-Arg-AMC）の分解を蛍光プレートリーダーで計測し、ソフトウエアプログラム（Thrombinoscope BV 社）で解析する方法を用いた³⁾。

なお、本報告は第 I 相試験の中間報告ではあるが、有害事象については本 rFVIIa 高用量単回投与の事前検査実施以降、第 II 相試験中

Table 1 Comparison of laboratory tests

(n=22)

Test item	Unit	Pre-dosing	Post-dosing*
RBC	$\times 10^6/\mu\text{l}$	4.77 ± 0.609	4.70 ± 0.662
WBC	$/\mu\text{l}$	5992.3 ± 1913.3	5523.6 ± 1507.5
Hemoglobin	g/dL	14.2 ± 2.1	14.0 ± 2.3
Hematocrit	%	42.2 ± 6.2	41.3 ± 6.3
Platelet	$\times 10^3/\mu\text{l}$	239 ± 74	222 ± 90
GOT (AST)	U/L	34.7 ± 25.5	30.4 ± 19.1
GPT (ALT)	U/L	43.4 ± 49.5	35.8 ± 33.5
γ -GTP	U/L	39.6 ± 44.7	38.6 ± 49.9
ALP	U/L	400.9 ± 228.7	377.6 ± 208.8
Total bilirubin	mg/dL	0.707 ± 0.463	0.762 ± 0.492
Albumin	g/dL	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.2
Total cholesterol	mg/dL	158.0 ± 30.7	158.4 ± 27.2
Triglyceride	mg/dL	109.3 ± 54.9	100.0 ± 46.6
BUN	mg/dL	12.5 ± 2.9	11.9 ± 2.8
Creatinine	mg/dL	0.526 ± 0.163	0.520 ± 0.178
Blood sugar	mg/dL	95.7 ± 31.7	94.7 ± 13.7
Na	mEq/L	141.4 ± 2.1	140.3 ± 2.8
K	mEq/L	3.94 ± 0.31	3.93 ± 0.26
Ca	mg/dL	8.83 ± 1.43	8.88 ± 1.44
Urine pH		6.43 ± 0.80	6.21 ± 0.86

Mean \pm S.D.

* Thirty min. after rFVIIa infusion

Table 2 Adverse events

(n=22)

Adverse events	Severity*		
	Mild	Moderate	Severe
Cough	1 (4.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Sense of choking	1 (4.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Acute bronchitis	1 (4.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Joint bleeding	2 (9.1%)	0 (0.0%)	1 (4.5%)
Acute colitis	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.5%)
Intracerebral hemorrhage	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (9.1%)
Bleeding from gastric polyps	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.5%)
Constipation	1 (4.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Hepatic dysfunction	2 (9.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

* Severity

Mild : Adverse event (AE) that is temporal and does not harm patient's daily life.

Moderate : AE that can harm patient's daily life, however, not categorized as SEVERE.

Severe : AE that is fatal, life-threatening, or severely disabling, or that results in new or prolonged hospitalization.

Table 3 Comparison of coagulation parameters

Bleeding (+) (n=6)				
Test item	Unit	Pre-dosing	Post-dosing* ¹	
APTT	sec	132.1±21.8	72.9±9.2	p=0.03
PT	sec	12.4±0.8	6.2±0.3	p=0.03
Soluble fibrin monomer* ²	+ / -	0/6	1/5	
D-dimer* ³	µg/mL	0.515±0.564	0.730±0.893	p=0.4
Fibrinogen	mg/dL	242.2±39.5	245.7±74.1	p=0.7
MDA® II ; Coagulation velocity	% T/sec	0.404±0.210	0.763±0.139	p=0.03
MDA® II ; Coagulation acceleration	% T/sec ²	0.0244±0.0203	0.0694±0.0148	p=0.03
TGT ; tt (time to)-Peak* ⁴	min	58.1±3.4	36.4±12.9	p=0.03
TGT ; Peak th (thrombin)* ⁵	nM	5.7±10.2	74.4±24.1	p=0.03
Bleeding (-) (n=16)				
Test item	Unit	Pre-dosing	Post-dosing* ¹	
APTT	sec	120.6±17.5	70.7±10.4	p<0.0001
PT	sec	12.2±0.6	6.5±1.0	p<0.0001
Soluble fibrin monomer* ²	+ / -	0/16	0/16	
D-dimer* ³	µg/mL	0.616±0.701	0.543±0.609	p=0.6
Fibrinogen	mg/dL	251.4±50.5	227.5±40.1	p=0.06
MDA® II ; Coagulation velocity	% T/sec	0.432±0.185	0.748±0.275	p=0.0006
MDA® II ; Coagulation acceleration	% T/sec ²	0.0253±0.0160	0.0638±0.0288	p=0.0002
TGT ; tt (time to)-Peak* ⁴	min	54.2±6.6	34.6±6.9	p=0.0001
TGT ; Peak th (thrombin)* ⁵	nM	1.9±3.9	44.8±19.6	p=0.0001

Mean±S.D.

*¹ Thirty min. after rFVIIa infusion.

*² Significant effect of bleeding status was NOT shown on soluble fibrin monomer with p-value of 0.3.

*³ Cut off values (<0.10) were delegated as 0.05 for the statistic calculation.

*⁴ Cut off values (>60) were delegated as 60.1 for the statistic calculation.

*⁵ Significant effect of bleeding status was shown on Peak th with p-value of 0.04.

の2006年12月までに、総計38回の高用量 rFVIIa を投与された被験者に発現したあらゆる好ましくない医学的事象を、rFVIIa 投与との因果関係の有無に関わらず「有害事象」に掲載した。

3. 結果および考察

第 I 相試験においてバイタルサイン（血圧、脈拍、体温）を含む身体所見（眼・耳・鼻・咽喉及び頸、胸部、呼吸器系、心血管系、消化器系、泌尿生殖器系、筋骨格系、中枢及び末梢神

経系、皮膚）に関しては、高用量 rFVIIa (270 mg/kg) 単回投与による影響は認められなかった。また、血球系および生化学的臨床検査値にも、影響は認められなかった (Table 1)。一方、第 II 相試験実施中を含む2006年12月までの間に合計13件(10名)の有害事象が報告された (Table 2)。重度の有害事象としては、関節内出血1件 (rFVIIa 投与61日後に発現)、急性腸炎1件 (同投与4日前に発現)、脳内出血2件 (同投与それぞれ58日後、74日後に発現)、胃ポリープからの出血1件 (同投与47日後に発現) が報告された。しかし、軽度のもの

も含め、これらの有害事象はいずれも rFVIIa 投与との因果関係は否定された。DIC、急性心筋梗塞、深部静脈血栓症、脳梗塞などの血栓性有害事象は認めなかった。

第 I 相試験において安全性と薬理学的有効性を評価する主要評価検査項目である凝血学的所見については、rFVIIa (270 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 単回投与による薬理学的作用により、PT の短縮、APTT の短縮、Peak th 値の増大および tt-Peak 値の短縮が認められた (Table 3)。これは、血友病患者においては、rFVIIa が第 VIII 因子あるいは第 IX 因子を迂回して、直接第 X 因子を活性化させて、内因系および外因系の凝固カスケード反応を押し進めていくためだと考えられる⁴⁾。一方、DIC マーカーである血小板数、可溶性フィブリンモノマー、D ダイマーおよびフィブリノゲンは、少なくとも 30 分後の時点での評価は、rFVIIa の投与前後で差が認められなかった (Table 3)。凝固波形の解析においては、早期 DIC では 2 相性パターン (biphasic wave: BPW) が観察されることがあるが²⁾、この BPW も観察されず、上記マーカーで観察す

る限り、高用量 rFVIIa による過凝固状態の惹起は認められなかった。

今回の第 I 相試験の結果から、わが国の血友病インヒビター患者においても、rFVIIa 高用量単回投与における薬理作用が裏付けられた。また、第 I 相試験と併せて 2006 年 12 月までの第 II 相試験で得られた成績から、その安全性も裏付けられた。現在、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与と 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 回投与における有効性の差異と、さらなる安全性を明らかにするためのクロスオーバー方式による第 II 相試験が継続中である。

文 献

- 1) 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 (注射用ノボセプン[®]) の高用量単回投与に関する臨床研究。血栓止血誌 18: 255-264, 2007.
- 2) 嶋 緑倫, 松本智子：凝固波形解析。一瀬白帝, 編集, 図説 血栓・止血・血液学 血栓症制圧のために, 東京, 中外医学社, 2005, 781-788.
- 3) 嶋 緑倫, 松本智子：トロンビン生成試験の実際と応用。血栓止血誌 18: 217-225, 2007.
- 4) Rao LV, Rapaport SI: Factor VIIa-catalyzed activation of factor X independent of tissue factor: its possible significance for control of hemophilic bleeding by infused factor VIIa. Blood 75: 1069-1073, 1990.

遺伝子組換え型血液凝固第Ⅷ因子製剤（血液製剤）

ルリオクトコグ アルファ（遺伝子組換え）

rurioctocog alfa (genetical recombination)

2006年10月承認 2007年2月発売

アドベイト注射用250・500・1000 (Advate)

バクスター

【原則禁忌】

次の患者には投与しないことを原則とするが、特に必要とする場合には慎重に投与すること：本剤の成分に対し、過敏症の既往歴のある患者

【効能・効果】

血液凝固第Ⅷ因子欠乏患者に対し、血漿中の血液凝固第Ⅷ因子を補い、その出血傾向を抑制する

【用法・用量】

本剤を添付の溶解液5mLで溶解し、緩徐に静脈内注

射または点滴注入する。なお、10mL分を超えない速度で注入すること。用量は、通常、1回体重1kg当たり10～30単位を投与するが、症状に応じて適宜増減する

【重大な副作用】

アナフィラキシー様症状（頻度不明）：呼吸困難、チアノーゼ、蒼白などのアナフィラキシー様症状を起こすことがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと

解 説

産業医科大学小児科学教室 教授

しらはた あきら
白幡 聡

【連絡先】

〒807-8555 福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1
産業医科大学小児科学教室

血友病Aは、X染色体上に存在する血液凝固第Ⅷ因子遺伝子の異常により、血液中の第Ⅷ因子活性の欠損あるいは低下を来す疾患である。その結果、打撲や切創で血管が傷ついたとき、その部位に止血栓を形成して出血をくい止める能力が低下し、関節内、筋肉内、皮下などに出血を繰り返す。ル

リオクトコグ アルファ（遺伝子組換え）（アドベイト注射用250・500・1000）は、ヒト血液凝固第Ⅷ因子の遺伝子を組み込んだチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞により産生された血液凝固第Ⅷ因子を、抗第Ⅷ因子マウスモノクローナル抗体を用いたイムノアフィニティークロマトグラフィーと、イオン交換樹脂クロマトグラフィーを用いて高度に精製した遺伝子組換え型製剤で、血友病A患者に対して血漿中の第Ⅷ因子を補い、その出血傾向を抑制する^{1,2)}。すでに海外では30か国以上で承認されており、2007年1月までに20億単位以上が使用され、優れた臨床効果と高い安全性が証明されている。わが国での臨床試験においても、関節内と筋肉内を中心とする170回の出血に対して本

剤が投与され、97.1%という高い有効率が観察されている³⁾。

既存類似薬との比較

わが国で現在市販されている血液凝固第Ⅷ因子製剤には、本剤のほか、オクトコグ アルファ (コージネイトFS)、ルリオクトコグ アルファ (リコネイト)、乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子 (クロスエイトM、コンファクトF、コンコエイトHT) がある。このうち、コージネイトFSとリコネイトがアドベイトと同じ遺伝子組換え型製剤で、残りの3製剤は、血漿中の第Ⅷ因子をさまざまな手法で純化精製した製剤である。

血液製剤によるB型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) などへの感染という過去の不幸な出来事に対する反省の上に立ち、さまざまなウイルス不活化対策が講じられた結果、現在では血漿由来製剤においても既知の病原体の感染については安全性が担保されている。しかし、近年新たな感染症として注目されている伝達性海綿状脳症をはじめ、新興感染症に対しては必ずしも安全とは言い切れない。

一方、第Ⅷ因子を血漿から分離するのではなく、遺伝子組換え技術を用いて動物に産生させる製剤の開発研究が進み、1992年から欧米で使用されるようになり、1996年にはわが国にも導入された。しかし、初期の遺伝子組換え型製剤は、製造工程と最終工程でヒトあるいは動物由来の蛋白成分が使用されていて、病原体への感染リスクを完全に排除し得るものではなかった。

そこで、さらに安全性を高めるために、大量に添加されていたアルブミンをショ糖に置き換えた製剤 (コージネイトFS) が開発され、追って製造工程中からもヒトおよびウシ由来成分を除去したプラズマ/アルブミンフリー製法による製剤が開発された。これがアドベイトである。

アドベイトの有効成分である第Ⅷ因子 [ルリオクトコグ アルファ (遺伝子組換え)] のアミノ酸配列や物理化学的性質は、これまで使用されてきたリ

コネイトと同様で、両製剤を同一患者に投与したクロスオーバー試験では、体内薬物動態パラメーターに差が見られていない。止血効果に関しては、わが国で使用されている5製剤との間で比較対照試験が実施されていないので厳密には言及できないが、これまでの臨床試験と市販後調査成績を見ると、製剤間には差は見られない。なお、6製剤のなかでコンファクトFとコンコエイトHTは、有効成分として第Ⅷ因子以外に von Willebrand 因子も含有しており、von Willebrand 病への適応を有している。

注意点

国内の臨床試験では、15例に対して本剤が計815回投与され、3例に4件の副作用 (ほてり、頭痛、異常感、単球数増加、各1件) が認められたが、いずれも重篤なものではなく、本剤の継続に支障を来さなかった。また、海外の臨床試験 (4試験) では、安全性評価対象例193例中17例に37件の副作用が認められた。主なものは、頭痛3例3件、浮動性めまい3例3件、痒疹症2例2件、ほてり1例2件であり、国内外を通じて重篤な副作用の報告はない。

一方、すでに第Ⅷ因子製剤の投与歴がある患者 (previously treated patients : PTPs) を対象とした国内外の臨床試験で、アドベイトを投与された208例中、実投与日で最長598日の投与により第Ⅷ因子インヒビターが発生したのは、海外主要試験における1例のみであった。さらに、海外におけるアドベイトの市販後安全性調査プログラムには、2006年11月時点で436例が登録され、このうち5例 (2例は過去に製剤投与歴のない患者、3例はPTPs) にインヒビター発生が報告されている。以上の成績から、本剤でのインヒビター発生率は、既存の製剤のインヒビター発生率を超えるものではないと考えてよからう。ただし、過去に第Ⅷ因子製剤投与歴がない患者については、今後は症例を積み重ねるなかで注意深く観察する必要がある。

まとめ

純度が高い濃縮製剤の開発により、血友病患者は出血の苦痛から早期に解放されるようになっただけでなく、定期的にこれらの製剤を補充することによって、スポーツを楽しむこともできるようになった。一方、血液製剤を介して多くの血友病患者がさまざまなウイルスへ感染した。この不幸な出来事を二度と繰り返さないために、血液製剤による病原体の感染を回避するための方策が講じられた。その集大成ともいべき製剤がアドベイトであろう。

これから、利便性の改善に向けたさらに新しいタイプの第Ⅷ因子製剤の開発研究が進行していく。

その先頭を切っているのが半減期を長くした製剤の研究で、半減期の長い製剤が登場すれば、患者の輸注回数が減り、さらにQOLが向上すると期待される。

文 献

- 1) Ewenstein BM, *et al.* Hemophilia Therapy Innovation: Development of an advanced category recombinant factor VIII by a plasma/albumin-free method. *Semin Hematol* 2004; 41(1 Suppl 2): 1-16.
- 2) Tarantino MD, *et al.* Clinical evaluation of an advanced category antihaemophilic factor prepared using a plasma/albumin-free method: pharmacokinetics, efficacy, and safety in previously treated patients with haemophilia A. *Haemophilia* 2004; 10(5): 428-437.
- 3) バクスター株式会社. アドベイト製品情報概要.

Tracing patients with lipodystrophy on a bubble chart of anti-retroviral drug usage generated by categorical principal component analysis

Shinobu Tatsunami

*Unit of Medical Statistics, St. Marianna University School of Medicine
2-16-1 Sugao, Miyamae-ku
Kawasaki (216-8511), Japan
E-mail: s2tatsu@marianna-u.ac.jp*

Masashi Taki

*Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine Yokohama City Seibu Hospital
1197-1 Yasashi-chou, Asahi-ku
Yokohama (241-0811), Japan
E-mail: m2taki@marianna-u.ac.jp*

Rie Kuwabara

*Institute of Radioisotope Research, St. Marianna University Graduate School of Medicine
2-16-1 Sugao, Miyamae-ku
Kawasaki (216-8511), Japan
E-mail: r2kuwa@marianna-u.ac.jp*

Jun-ichi Mimaya

*Division of Hematology and Oncology, Children's Hospital of Shizuoka
860 Urushiyama
Shizuoka (420-8660), Japan
E-mail: jmimaya@poppy.ocn.ne.jp*

Akira Shirahata

*Department of Pediatrics, University of Occupational and Environmental Health, Japan, School of Medicine
1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku
Kitakyushu (807-8555), Japan
E-mail: akira-s@med.uoeh-u.ac.jp*

1. Introduction

Since the introduction of protease inhibitors (PIs) into the field of HIV therapy, highly active antiretroviral therapy (HAART) using three or more drugs has spread rapidly around the world. In the early stages of HAART, one PI was combined with two nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), but with the increase of the number of new drugs, a large variety of drug combinations have been used. The efficacy of HAART in patients with HIV is clear as summarized by Simon et al (2006). However, the incidence of lipodystrophy among these patients is increasing. It has been suspected that lipodystrophy may arise from the administration of NRTIs. Moreover, since presently there are various kinds of antiretroviral drugs as listed in the guideline by the Department of Health and Human Service of The United State (2006), the number of possible drug combination patterns is considerable. Therefore, we had analyzed the drug combination patterns in antiretroviral therapy in relation to lipodystrophy occurrence using procedures in multivariate analysis.

2. Subjects and Methods

We used the data of drugs obtained from 556 Japanese patients with coagulation disorders treated between 2000 and 2004. A brief summary of HIV-infected Japanese patients with coagulation disorders has

been given by Tatsunami et al (2002). The lipodystrophy status of these patients was obtained from surveillance data dated May 31, 2005. We used the numbers of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), and protease inhibitors (PIs) taken by each patient as the input variables. Three dichotomous variables, usage/non-usage of combined drugs, usage of only RTIs, and usage of only two drugs, were also included. Therefore, the input data x_i for the i -th patient is as follows:

$$x_i=(n_{i1}, n_{i2}, n_{i3}, d_{i1}, d_{i2}, d_{i3}) \quad (1)$$

where $n_{i1}, n_{i2}, n_{i3}, d_{i1}, d_{i2}, d_{i3}$ represent numbers of NRTI, NNRTI, and PI taken orally by each patient. In addition, d_{i1}, d_{i2}, d_{i3} are dichotomous variables as described above.

The variables were subjected to categorical principal component analysis (CATPCA), and the patterns of drug combinations were expressed by the plotting of the object plot resulted from CATPCA. Then, in order to express the number of patients corresponding to a specific point in the plot, we expressed the result of the plotting with a bubble chart that was separated by the year of the report. The radius r_k of the k -th bubble was set to be proportional to the number of the patients included in the corresponding bubble as follows:

$$r_k=c\sqrt{\frac{n_k}{N}} \quad (2)$$

where n_k is the number of patients in the bubble, N the total number of patients with drug report in a particular year, and c an appropriate constant.

3. Results

A total of 40 combination patterns were identified, from which we extracted four major patterns by CATPCA.

Eigen values and percentages of variance in the present model are summarized in Table 1. Dimensions 1 and 2 explained for more than 60% of the variance.

Table 1. Eigen value and percentage of variance with respect to six dimensions

Dimension	Variance Accounted	
	Total (Eigen value)	Percentage of Variance
1	2.538	42.3
2	1.242	20.7
3	1.137	18.9
4	0.822	13.7
5	0.184	3.1
6	0.078	1.3
Sum	6	100

The bubble chart resulted from the present procedure is illustrated in Figure 1 for 2000 and 2004, where the four major combination patterns are identified by symbols A, B, C and D.

We summarized the number of patients included in the four major bubbles and their percentages in Table 2. A noticeable time-series change was the increased usage of a combined drug with two NRTIs. Use of this combination termed as D in Figure 1 and Table 2 was not observed in 2000; however, its annual fraction of use from 2001 to 2004 was 2%, 8%, 13% and 14%, respectively.

Patients with lipodystrophy in 2005 were found primarily in the largest bubble termed as A, which consisted of patients under therapy with two NRTIs and one PI. However, the number of these patients gradually shifted to the second largest bubble termed as C that included patients treated with two NRTIs and one NNRTI.

The remaining large bubble termed as B included patient treated with two NRTIs. Although the fraction of this combination dwindled from 2000 (19%) to 2004 (9%), its fraction was still not negligible in 2004.

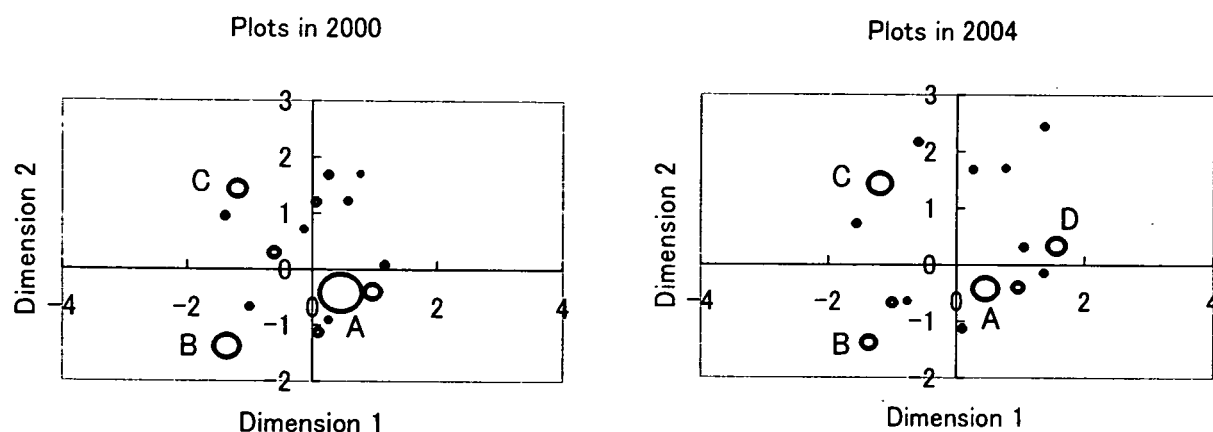


Figure 1. Plots of object points by bubble charts for 2000 (left) and 2004 (right)

Table 2. Number of patients included in the four major bubbles termed as A, B, C and D

Bubble	2000		2001		2002		2003		2004	
	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)	Number	(%)
A	282	(50.8)	226	(44.1)	188	(38.1)	155	(31.7)	97	(28.0)
B	103	(18.6)	69	(13.5)	71	(14.4)	56	(11.5)	32	(9.2)
C	51	(9.2)	83	(16.2)	96	(19.4)	93	(19.0)	84	(24.2)
D	0	(0)	12	(2.3)	38	(7.7)	62	(12.7)	50	(14.4)

(%): Percentage divided by the total number of patients with drug report in each year from 2000 to 2004

4. Discussion

The present input variable is composed of both numbers and dichotomous variables; therefore an analytical method that can handle such mixed data as discussed by Saporta (1990) is necessary. The present application of CATPCA is meaningful as illustrated in Figures 1 and 2.

As shown in Table 1, the dimensions 1 and 2 could explain for more than 60% of the variance. Therefore, consideration of only dimensions 1 and 2 should be able to yield sufficient information. In fact, we could extract four major patterns termed as A, B, C and D from a total of 40 combination patterns.

The pattern termed as bubble A was the largest from 2000 to 2004 and it included patients treated with two NRTIs and one PI. This combination pattern is the most fundamental in HAART, therefore its high frequency of usage among Japanese patients is natural. However, its percentage decreased gradually in the course of the years surveyed. On the contrary, with the appearance of new combined drugs, the combination patterns included in the bubble D became more frequent.

The therapy with two NRTIs corresponding to bubble B is not preferred on the present point of view. However, the history of antiretroviral therapy in Japanese patients with coagulation disorders began with the era of mono-therapy using a single NRTI. Thus the size of bubble B was considerable in 2000, but has since been decreasing as shown in Table 2.

Patients with lipodystrophy in 2005 were mainly included in the largest bubble termed as A. However, over the years they had gradually moved to the second largest bubble that represented patients treated with two NRTIs and one NNRTI. The cause of this movement is not clear, although the emergence of drug resistant mutant viruses may be a factor.

There have been only three types of antiretroviral drugs so far in Japanese clinical field: NRTI, NNRTI and PI. However, a new drug based on the mechanism of HIV coreceptor inhibition had been approved in 2003 and are already in use in the United States as described by Loutfy et al (2007). In addition, the efficacy of another novel drug that inhibits HIV integrase has been verified by Markowitz et al (2006). With the elongation of the therapeutic period and the increase of the number of applicable drugs, the numerical classification of drug combination patterns will be helpful in decision making for HIV therapy.