

200838042A

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 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 吉岡 章
(公立大学法人奈良県立医科大学 理事長・学長)

平成 21 (2009) 年 3 月

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	
(資料) 研究構成	
(資料) J-HIS 研究とは	
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	15
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	21
瀧 正志	
3. インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究	25
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	29
嶋 緑倫	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	35

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 理事長・学長）

【研究要旨】

血友病治療上最も深刻で解決すべき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、全国レベルでの新規血友病の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。これらは、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。その結果、わが国の血友病診療施設が網羅された基盤整備が可能となる。以下、第 1～4 研究の概要は資料を参照されたい。

1. 「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」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。昨年度作成した、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）を用いて、全国規模の調査を開始した。
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、わが国の血友病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、新規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。昨年度作成した、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）を用いて、全国規模の調査を開始した。
3. 本研究の実施において重要なことの一つは、血液凝固第 VIII、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（Bethesda 法、Nijmegen 変法）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、その基本として測定に使用する機器と APTT 試薬の検討を中心に行い、具体的な標準化作業を行い、Tokyo 変法の設定を試みた。
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（第 4 研究）」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、実施した。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、迅速かつ正確で多数の症例の遺伝子解析が可能であった。本年度は、27 人（24 家系）の遺伝子解析を行った。

インヒビターの発生機序に関しては、BAFF および APRIL の動態に焦点を当てて免疫学的

検討を行った結果、インヒビター保有群でBAFFの高値を認めた。

血友病AおよびBインヒビターの第VIII、IX因子抑制機序に関する検討を行い、第VIII、IX因子の結合様式および結合領域の固定を行った。その結果、活性型第IX因子はG1aドメインを介して第VIII因子C2ドメインに結合していることを明らかにした。

【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 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 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. 研究目的と必要性

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(Goudemand J, *et al.* Blood, 107, 2006)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。本研究を通じてわが国の血友病診療施設を網羅した血友病診療・研究の基盤整備を構築する。

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調査研究(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し、調査研究を開始する(J-HIS 2)。本システムを確立し、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・診断の共通化・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)測定法の共通化・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共通化・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正確な重症度診断とインヒビター価測定が可能となり、血友病の実態把握と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った。

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方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、分子生物学等の方法論と知恵を結集して、機序解明に挑戦する。

【特色・創動的な点】

血友病インヒビターの実態調査と全国レベルでの全新規血友病患者の前方視的登録システムの確立は、新規で画期的である。このシステムはわが国の血友病と医療と臨床研究の基盤整備をもたらすと共に、欧米やアジア諸

国との比較と調和を可能とする。

FVIII、FIXインヒビター測定法の開発と共通化・標準化は、正確な診断と治療に必須である。加えて、FVIIIインヒビターマウスモデルの免疫担当細胞の検討は、インヒビター発生要因の解析や発生機序に解明に寄与する。

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(第1研究)

本年度は、平成19年度に作成した実施計画書(平成20年4月22日に奈良県立医科大学附属病院臨床研究審査委員会にて承認)に従い、「Japan Hemophilia Inhibitor Study(J・HIS1)」を開始する。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、平成19年度に選定したCRO((株)名古屋臨薬理研究所)を介して全例調査を目指す計画を策定し、実施する。

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(第2研究)

血友病研究の全ての基礎データとなる前方視的な新規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、前年度に構築した前方視的登録システムを用いて調査研究を開始する。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。

上記第1、2研究には、全国の小児慢性特定疾患治療研究申請書が協力施設の選定上有用と考えられるので、国立成育医療センターの成育政策科学研究部の協力を要請する。

3. インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究（第3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、計画して実施する。

具体的には、測定機器としてMDAIIまたはACL9000を、APTT試薬としてプラテリンLSまたはヒモスアイエルAPTT-SP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。Bethesda法とNijmegen変法を比較し、改良法を創出する。

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。

インヒビター発生機序の免疫学的検索として新たに各種サイトカインの関連について検討する。

【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、奈良県立医科大学附属病院臨床研究審査委員会（IRB）の審査承認を得る（平成20年4月22日に承認を得た）。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]

昨年度作成した、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）を用いて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、調査を開始した。本年度 J-HIS 1 と J-HIS/U20 の成果は、白幡報告書を参照のこと。

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]

昨年度作成した、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）を用いて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、調査を開始した。本年度の J-HIS 2 の成果は瀧報告書を参照のこと。

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]

測定機器 ACL9000 と APTT 試薬ヒューモスアイエル APTT-SP を基準測定法と想定し、第 VIII 因子活性測定法の精度を検討し、インヒビター測定の方法である Bethesda を改良した Nijmegen 変法をさらに改良し、多くの検査室において簡便に導入できるように Tokyo 変法の設定を試みた。その成果は福武報告書を参照のこと。

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]

血友病インヒビター陽性例の分子生物学的解析では昨年度に開発した第 VIII 因子のプロモーター、全エキソンおよびエキソン/イントロン境界領域を網羅して直接シーケンシングを行う解析システムを用いた。本年度は 27 人（24 家系）の遺伝子解析をおこなった。インヒビターの発生機序については免疫発現に関与していると注目されている BAFF および APRIL の動態に焦点をあてて免疫学的検討をおこなった。

血友病 A および血友病 B インヒビターの抑制機序に関する検討において、本年度は第 VIII 因子および第 IX 因子の結合様式および結合領域の同定をおこなった。

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（第 1 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（第 2 研究）」については、調査を開始したが、両者とも目標とする症例数に至っていない。また、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ことが予想される。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（第 3 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。本年度は標準化に向けて想定した測定機器と APTT 試薬を用いて測定法の精度を検討し、Tokyo 変法

の設定を試みた。用いる緩衝液として、2N 緩衝化イミダゾール液の添加が有用であることを示したことは、測定法の安定性の面から、意義は大きい。

「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(第4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、スクリーニング法を用いず、直接シーケンス法を用いることとした。実施によって27例全例解析可能であったことは、本法を標準法と示している。

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。免疫発現に関与するBAFFが高値を示すという新知見を得たことから、今後の患者の免疫機構に関する解析の重要性を示した。

さらに、インヒビターの重要な結合領域である第VIII因子C2ドメインが活性型第IX因子とG1ドメインを介して結合していることを明らかにしたことは、tenase複合体形成の構造機能相関の解明に寄与するものである。

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(第1研究)」を開始した。

「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(第2研究)」を開始した。

「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(第3研究)」では、第VIII、第IX因子凝固一段法およびインヒビター測定法の主要な要素と考えられる測定機器(ACL9000)とAPTT試薬(ヒーモスアイエルAPTT-SP)を用いてインヒビター測定法を検討し、Tokyo変法の設定を試みた。

「インヒビター発生要因の分析と発生機序の解明(第4研究)」では、患者側要因の第VIII因子遺伝子解析を行い、直接シーケンス法が有効であることを示した。また、インヒビター発現にBAFFが関与しえらることを初めて示した。

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) 田中一郎、吉岡章：血友病の歴史. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：20-29, 2009
- 2) 福武勝幸：血友病の病態1) 止血機構. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：38-45, 2009
- 3) 三間屋純一：臨床症状. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：106-116, 2009
- 4) 長江千愛、瀧正志：血友病の止血療法1) 補充療法(iv) 類縁疾患. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：164-173, 2009
- 5) 岡敏明：血友病の止血療法3) 補助的治療. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：182-189, 2009
- 6) 瀧正志：定期補充療法. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：190-197, 2009
- 7) 嶋緑倫：インヒビター保有患者の治療(i) 止血治療. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：216-235, 2009
- 8) 白幡聡：凝固因子製剤改良の方向性. 血友病の基礎と臨床(白幡 聡編) 医薬ジャーナル社、東京：280-289, 2009
- 9) 高松純樹：安全な製剤を供給するためには. 白幡聡：凝固因子製剤改良の方向性. 血友

[原著、総説等]

- 1) 白幡聡、嶋緑倫、岡敏明他: 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血液凝固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研究 血栓止血誌 19(2): 244-256, 2008
- 2) 立浪忍、三間屋純一、白幡聡他: 本邦のHIV感染血友病におけるHIV/AIDS関連の集計数 日本エイズ学会誌 10(3): 131-136, 2008
- 3) Tatsunami S, Mimaya J, Shirahata A. *et al.*: Current status of Japanese HIV infected patients with coagulation disorders: coinfection with both HIV and HCV. *Int J Hematol* 88: 304-310, 2008
- 4) 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— 日小血会誌 22: 167-172, 2008
- 5) 酒井道生、白幡聡: 血友病Aの凝固因子補充療法とEBM 血液フロンティア 18(9): 1423-1433, 2008.
- 6) Taki M, Shirahata A.: Current situation of regular replacement therapy (prophylaxis) for haemophilia in Japan. *Haemophilia* 15(1): 78-82, 2009
- 7) 瀧 正志: 血友病に対する一次定期補充療法の動向、日小血会誌、22(3):173-178, 2008
- 8) 瀧 正志: 血友病インヒビターの産生と制御、臨床検査、52(13):1593-1597, 2008.12
- 9) Nogami K, Nishiya K, Evgueni LS, Takeyama M, Tanaka I, Yoshioka A, Shima M: Identification of a plasmin-interactive site within the A2 domain of the factor VIII heavy chain. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1784(5): 753-763, 2008
- 10) Takeyama M, Nogami K, Okuda M, Sakurai Y, Matsumoto T, Tanaka I, Yoshioka A, Shima M. Selective factor VIII and V inactivation by iminodiacetate ion exchange resin through metal ion adsorption *British Journal of Haematology.* 142(6): 962-970, 2008
- 11) 柴田真理、櫻井嘉彦、山田佳代、嶋緑倫、飯田順三、吉岡章: 多彩な解離性障害を呈した重症型血友病Aの1男子例. *日本小児科学会雑誌.* 112(8): 1266-1270, 2008
- 12) Takeda T, Sakurai Y, Tatsumi K, Kato J, Kasuda S, Yoshioka A, Shima M. Elevation of B cell-activating factor belonging to the tumour necrosis factor family (BAFF) in haemophilia A patients with inhibitor. *Thrombosis and Haemostasis.* 101(2): 408-10, 2009
- 13) Soeda T, Nogami K, Nishiya K, Takeyama M, Ogiwara K, Sakata Y, Yoshioka A, Shima M. The factor VIIIa C2 domain (residues 2228-2240) interacts with the factor IXa Gla domain in the factor xase complex. *The Journal of biological chemistry.* 284(6): 3379-88, 2009
- 14) Tatsumi K, Ohashi K, Shima M, Nakajima Y, Okano T, Yoshioka A. Therapeutic Effects of Hepatocyte Transplantation on Hemophilia B. *Transplantation.* 86(1): 167-170, 2008
- 15) Tatsumi K, Ohashi K, Kataoka M, Tateno C, Shibata M, Naka H, Shima M, Hisanaga M, Kanehiro H, Okano T, Yoshizato K, Nakajima Y, Yoshioka A. Successful in vivo propagation of factor IX-producing hepatocytes in mice: potential for cell-based therapy in haemophilia B. *Thrombosis and Haemostasis.* 99(5): 883-891, 2008
- 16) 嶋緑倫. 血友病の治療—最近の進歩. *日本医事新報.* 4413: 59-66, 2008
- 17) 野上 恵嗣, 吉岡 章. 血友病Aインヒビターに対するバイパス止血療法の新展開. *日本検査血液学会雑誌.* 9(1): 1-7, 2008
- 18) 田中一郎, 嶋緑倫. 海外のガイドラインに

みるインヒビター保有血友病患者に対する止血治療の原状 —わが国のガイドライン作成に向けて—。日本小児血液学会雑誌。22(3): 179-187, 2008

19) 田中一郎, 天野景裕, 瀧正志, 岡敏明, 酒井道生, 白幡聡, 高田昇, 高松純樹, 竹谷英之, 花房秀次, 日笠聡, 福武勝幸, 藤井輝久, 松下正, 三間屋純一, 吉岡章, 嶋緑倫: わが国における後天性凝固因子インヒビターの実態に関する3年間の継続調査—予後因子に関する検討—。日本血栓止血学会誌 19(1): 140-153, 2008

20) 松下正, 天野景裕, 瀧正志, 岡敏明, 酒井道生, 白幡聡, 高田昇, 高松純樹, 竹谷英之, 花房秀次, 日笠聡, 福武勝幸, 藤井輝久, 田中一郎, 三間屋純一, 吉岡章, 嶋緑倫。インヒビターのない血友病患者の急性止血・処置・手術における凝固因子補充療法のガイドライン。日本血栓止血学会誌。19(4): 510-519, 2008

21) 田中一郎, 天野景裕, 瀧正志, 岡敏明, 酒井道生, 白幡聡, 高田昇, 高松純樹, 竹谷英之, 花房秀次, 日笠聡, 福武勝幸, 藤井輝久, 松下正, 三間屋純一, 吉岡章, 嶋緑倫。インヒビター保有先天性血友病患者に対する止血ガイドライン。日本血栓止血学会誌。19(4): 520-539, 2008

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

研究構成

第1研究： 略称 J-HIS1 ・ J-HIS1/U20

- ・ インヒビター患者の実態調査
- ・ 20歳未満血友病患者のインヒビター発生要因に関する後方視的研究

第2研究： 略称 J-HIS2

- ・ 新規血友病のデータベース構築によるコホート研究

第3研究：

- ・ インヒビターの検出・診断の標準化に関する研究

第4研究：

- ・ 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

J-HIS

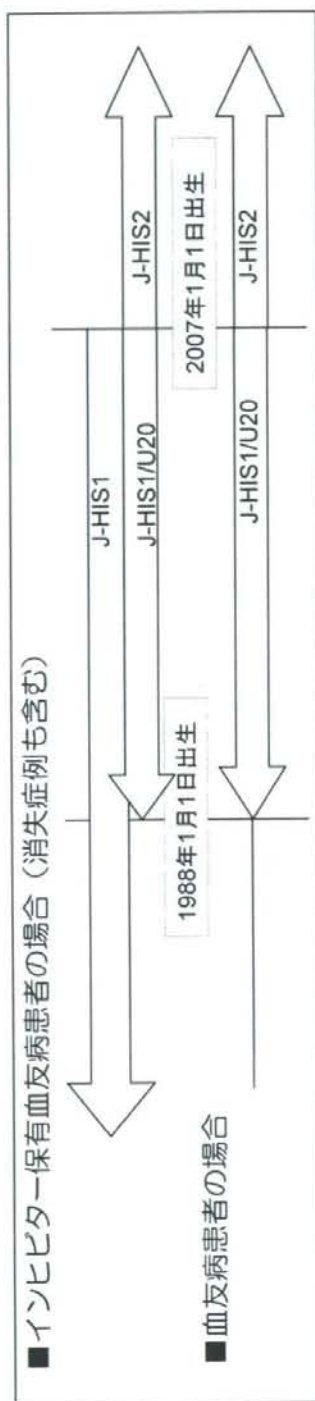
(Japan Hemophilia Inhibitor Study)

「第Ⅳ因子、第Ⅷ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究」

J-HIS研究とは、

第Ⅳ因子、第Ⅷ因子製剤のインヒビター発生に関する疫学研究で、以下3つの研究を同時に実施します。

J-HIS 1	「インヒビター発生患者の実態調査」 【対象】インヒビター発生患者（消失症例も含む）
J-HIS 1/U20	「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-HIS1付随研究【対象】20歳未満の血友病患者
J-HIS 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」 【対象】2007年1月1日以降に出生した先天性血友病患者



※J-HIS1とJ-HIS1/U20は、調査項目が同一のため、患者説明文書・症例報告書は同一のものを使用します。

J-HIS研究にご協力をよろしくお願ひします。

J-HIS研究の流れ

J-HIS 1 ……「インビタ－発生患者の家庭調査」
 J-HIS 1/U20 ……「20歳未満血友病患者のインビタ－発生に関する後方性的研究」
 J-HIS 2 ……「新発血友病患者のデータベース構築によるコホート研究」

施設登録

① 実施計画書

並びに参加確認アンケートの送付



奈良県立医科大学臨床研究審査委員会



承認済み

J-HIS研究事務局



※各施設での倫理委員会について
 この研究は奈良県立医科大学の臨床研究審査委員会で既に承認を得ているため、必ずしも各施設で委員会に諮る必要はありません。但し、施設規定が異なりますので、各施設の判断にお任せします。

② FAX

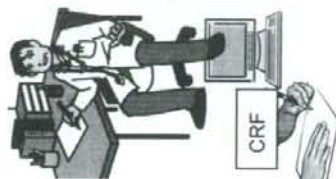


患者登録

③ 施設窓口担当者宛に

・研究ファイル

・必要部数の症例ファイルの送付



⑦ 症例報告書 (CRF) の郵送



CRF

④ 同意取得



⑤ 同意書の記入

⑥ 症例報告書 (CRF) の記入

※症例ファイル中の施設控は各施設で症例管理にご活用下さい。

J-HIS1

「インヒビター発生患者の実態調査」

【目的】血友病患者のインヒビター発生要因の検討

【研究デザイン】インヒビター保有血友病患者の実態調査

【選択基準】

- ・ 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
- ・ 患者から文書による同意を得ていること
- ・ 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

【実施期間】2008年1月1日から2009年10月31日までとする

【目標登録症例数】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。

J-HIS1/U20

「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」

【目的】 J-HIS1の付随研究として、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。

【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

【選択基準】

- 1988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
- 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
- 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
- 保護者から文書による同意を得ていること
- 16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

【実施期間】 2008年1月1日から2009年10月31日までとする。

【目標登録症例数】 300例

なお、研究期間中は、300例に達した場合でも、登録を行う事とする。

J-HIS2

「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」

【目的】

新規血友病患者を長期的に前向きに調査することで、インビタ発生リスクの要因を解析する。また、血友病患者の登録をデータベース化することで、今後の血友病研究における基盤整備を図る。

【研究デザイン】 新規発生血友病患者を対象としたコホート研究

【選択基準】

- 2007年1月1日以降に出生した先天性血友病患者
- 保護者から文書による同意を得ていること
- 先天性血友病は遺伝性疾患であり、保護者の同意を取得することとする。
- 未同意の症例については、未同意症例として人数の把握のみ行う。

【実施期間】 2008年1月1日より2027年12月31日までの20年間

追跡期間：血友病診断後、10年間

【登録症例数】 約2000例

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（産業医科大学 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生要因に関する研究」の第一研究として「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」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。

1. インヒビター発生患者の実態調査

(J-HIS 1)

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 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

研究代表者は、奈良県立医科大学 吉岡章で、運営委員会のメンバーは◎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、産業医科大学 小児科学教室 白幡聡、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、兵庫県立医科

大学血液内科 日笠聡、名古屋大学医学部 付属病院輸血部 高松純樹が担当する。

Japan Hemophilia データセンターが、研究代表者の指示のもとに、症例の登録業務、データ固定を行う。臨床データの情報処理（データ入力、症例一覧表等）、臨床データの集計を行う。

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、平成19年度に作成した実施計画書を奈良県立医科大学附属病院 臨床研究審査委員会へ申請し平成20年4月22日に承認を経た後、研究1・研究2をあわせて“Japan Hemophilia Inhibitor Study ”略称 J-HIS 1 を開始した。

（財）血液製剤調査機構発表資料。該当製薬企業に凝固因子製剤納入リストの提出協力を依頼し、公表資料を基に研究対象施設リスト・医師リストを作成し、本研究の案内並びに研究参加、協力の告知・啓蒙活動を行った。

本年度内（2009/2/24 現在）J-HIS 全体での進捗状況は以下の通りである。

・研究対象施設数	: 372
・研究案内送付施設数	: 345
・参加確認施設数	: 119
・施設登録数	: 60

J-HIS 1 での進捗状況は以下の通りである。

・研究案内送付施設数	: 284
・研究参加施設数	: 35
・不参加表明数	: 50
・今年度目標症例数	: 150
・症例ファイル設置数	: 73
・本年度登録症例数	: 26

7. 考察

参加に承諾のあった施設からの症例登録が進んでいない。本年10月31日までに目標とする150例を集めるために以下の方策を講じる。

- (1) 小児慢性特定疾患システム中央出力データをもとに対象施設の漏れをチェックして、新たに見つかった施設に調査用紙を送付する。
- (2) 分担研究者の所属する施設以外でも症例ファイル設置数が多い施設の担当医には、研究協力者として研究班への参加を要請し、これらの施設に対して重点的に登録を働きかける。
- (3) そのために拡大研究班会議の開催と施設毎の研究説明会の開催を企画する。
- (4) その他の施設に対して、調査用紙の中でとくに記入に難渋する項目については、記入し易い方式に一部改変する。
- (5) 日本血栓止血学会学術集会会場に展示ブースを設置するなど、広報活動を展開する。

8. 結論

以上の方策により、我が国のインヒビター一保有血友病患者の特性が明らかになり、J-HIS/U20の調査結果と合わせて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が得られるものと期待できる。

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. 研究の目的

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】

- ① 1988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
- ⑤ 16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、登録を行う事とする。

2.5 調査方法

2.5.1 施設登録の手順

J-HIS 1 に準ずる。

2.5.2 症例登録の手順

J-HIS 1 に準ずる。

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

本年度内(2009/2/24 現在) J-HIS 全体での進捗状況は以下の通りである。

・研究対象施設数	: 372
・研究案内送付施設数	: 345
・参加確認施設数	: 119
・施設登録数	: 60

J-HIS 1/U20 での進捗状況は以下の通りである。

・研究案内送付施設数	: 88
・研究参加施設数	: 22
・不参加表明数	: 19
・今年度目標症例数	: 300
・症例ファイル設置数	: 287
・本年度登録症例数	: 20

7. 考察

参加に承諾のあった施設からの症例登録が進んでいない。本年10月31日までに目標とする300例を集めるためにJ-HIS1に準じた方策を講じる。

8. 結論

以上の方策により、我が国のインヒビター一保有血友病患者の特性が明らかになり、J-HIS 1の調査結果と合わせて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が得られるものと期待できる。

9. 研究発表

[著書]

1) 白幡聡: 凝固因子製剤改良の方向性・血友病の基礎と臨床(白幡聡編) 医薬ジャーナル社 東京 280-289, 2009

[原著、総説等]

1) 白幡聡、嶋緑倫、岡 敏明他: 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血液凝固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研究 血栓止血誌 19(2): 244-256, 2008

2) 立浪忍、三間屋純一、白幡 聡他: 本邦のHIV感染血友病におけるHIV/AIDS関連の集計数 日本エイズ学会誌 10(3): 131-136, 2008

3) Tatsunami S, Mimaya J, Shirahata A, et al.: Current status of Japanese HIV infected patients with coagulation disorders: coinfection with both HIV and