

HCV . International Journal of  
Hematology 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

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

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  
検出・診断の標準化に関する研究

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（聖マリアンナ医科大学 小児科学教授

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 小児科部長）

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」の第二研究として「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。

A. 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、インヒビター発生のリスク要因を解析する。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。

2027年12月31日までの20年間とする。  
追跡期間：血友病診断後、10年間

4. 施設登録の手順、症例登録の手順、追跡調査の手順

(施設登録)

研究参加施設は、施設登録票（必要時には、倫理委員会での承認終了後）を J-HIS 事務局宛に FAX し、施設登録を行う。

事務局は、登録施設に対し Site ID を発行し、研究ファイル・症例報告書（調査表）を送付する。

(症例登録)

研究担当医師は、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し、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。同意取得後、新規血友病患者登録書を J-HIS データセンター宛に郵送する。J-HIS データセンターからの受領書の発行により登録終了とする。

B. 研究方法

1. 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である。

2. 対象患者

- ① 2007年1月1日以降に出生した先天性血友病患者
- ② 保護者から文書による同意を得ていること（ただし、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。）

3. 研究実施期間

本研究の調査は 2008 年 1 月 1 日より

(追跡調査)

研究担当医師は、25 累積投与日数 (ED: Exposure Days)・50ED・75ED 到達時又は 1 年に 1 回のいずれか早い方、75ED 以降は 1 年に 1 回、追跡報告書を郵送にて J-HIS データセンターに提出する。なお、インヒビター発生症例については、別途報告書をあわせて提出する。

## 5. 調査項目

(血友病患者診断時)

患者背景、合併症、分娩状況、家族歴、治療状況について調査する。

(追跡報告)

治療状況、免疫系への影響、カテーテルについて、インヒビター発生について調査する。

■1 年間の凝固因子製剤投与回数が 25 回を超える場合: 25 累積投与日数 (ED: Exposure Days)・50ED・75ED 到達時

■1 年間の投与回数が 25ED を越えない場合: 1 年に 1 回、

(インヒビター症例の報告)

インヒビター保有血友病症例においては、新規発症報告後 1 年に 1 回報告する。発生日・発生時のインヒビター値・発生直前の治療薬、治療法、インヒビター値・最高値・出血時の治療薬・治療方法などについて調査する。

## 6. 研究体制

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。

(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、患者の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)

## C. 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 2 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。

同時進行にて、J-HIS 2 新規血友病患者データ登録の為にデータベースを構築し、参加施設登録並びに、症例報告書の登録システムを構築した。

本年度は、参加施設の種類、予算を考慮し、各データの扱いについては、紙媒体による管理を CRO に委託することとし、入力データ内容の精査、入力環境が整うまで新規血友病の発生登録の為に Web 入力システム化を保留する事とした。

Web 入力システム化への移行は、周辺環境が整い次第実施予定とし、当面間は症例報告書の回収に傾注する事とした。

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 2 での進捗状況は以下の通りである。

・研究案内送付施設数	: 345
・研究参加施設数	: 43
・検討中(発生時検討)	: 42
・不参加表明数	: 26

・今年度目標症例数	: 200
・症例ファイル設置数	: 104
・本年度登録症例数	: 15

(内訳)

血友病 A 14 例(内インヒビター発生 1 例)

血友病 B 1 例(内インヒビター発生 0 例)

(2009/2/24 現在)

本年度総括として、以下の推進が必要である。

1. 研究参加の更なる告知啓蒙
2. 症例登録の更なる推進
3. 追加施設の探索

対処手段として、

1. 班研究委員による、学会他委員会活動時における告知啓蒙活動の実施
2. CRO を主要施設に派遣し研究概要の説明並びに報告書記載の支援活動の実施
3. 日本小児血液学会疾患登録委員会並びに、小児慢性疾患登録事業へ登録データの提供を依頼し、追加施設リストの作成

上記を 21 年度の課題として班会議にて提案し承認を経て本年度を終了した。

#### D. 考察

新規血友病患者を長期的に前向きに調査することで、インヒビター発生のリスク要因を解析する。その為には、血友病患者の発生時からの登録可能なデータベースを構築することで、今後の血友病研究における基盤整備に大きな役割を果たすことが期待される。

また今後の血友病の研究において遺伝子変異解析は重要な要因である。付随研究として本班研究における研究 3,4 の進捗とともに J-HIS 2 協力患者に対する全国的な遺伝子解析の実施を将来課題として提案する。

#### E. 結論

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の承認(平成 20 年 4 月 22 日)に基づき J-HIS2 研究として実施した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

[著書]

- 1) 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: 164-173, 2009
- 2) 瀧正志: 定期補充療法. 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: 190-197, 2009

[原著、総説等]

- 1) 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
- 2) Taki M, Shirahata A: Current situation of regular replacement therapy (prophylaxis) for haemophilia in Japan. Haemophilia 15: 78-82, 2009.
- 3) 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.

#### H. 知的所有権の出願・取得状況

なし

## 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（東京医科大学臨床検査医学講座 主任教授）

研究協力者 篠澤 圭子（東京医科大学血液凝固異常症遺伝子研究寄附講座 講師）

### 【研究要旨】

血液凝固第 VIII 因子活性測定法の標準化とインヒビターを測定するベセスダ法の標準化がまず重要である。国際的に信頼性の高い測定機器のひとつである ACL 9000 と APTT 試薬ヒモスアイエル 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 法を改良した 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。一般の自動化機器では第 VIII 因子活性測定法において、希釈液として製造会社指定の希釈液が使われているため標準化の妨げとなることから、検体調整操作の一部を的手法にして機器を超えた応用性を高めた。Nijmegen 変法では正常プール血漿の pH を安定させるために、固形のイミダゾールを加えて 0.1N とし 1N の HCl で pH を整える。しかし、一般の検査室で少量の正常プール血漿 (NPP) を取り扱う場合にはこの操作が難しいことから、2N の緩衝化イミダゾール液を用いて、簡便化を図った。第 VIII 因子活性測定法は今回使用の汎用機に問題なく応用でき、再現性 CV% は 1% から 100% の範囲で秒で 1.5% 程度、活性値で 5-15% と精度は十分に実用可能であり、活性測定における感度でもブランクと 1% に十分な差を得ることができた。また、小分け保存した NPP に 1/20 量の 2N 緩衝化イミダゾールを添加することで、2 時間のインキュベーション中の pH は安定し、Tokyo 変法として普及させることができると考えられた。

### A. 研究目的

血友病の治療において生じる重要な問題であるインヒビターの発生を研究するには、まず血液凝固第 VIII 因子活性測定法の標準化とインヒビターを測定するベセスダ法の標準化が重要である。国際的に信頼性の高い測定機器のひとつである ACL 9000 と APTT 試薬ヒモスアイエル 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 法を改良した 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。一般の自動化機器では第 VIII 因子活性測定法において、希釈液として製造会社指定の希釈液（多くは緩衝液）が使われて標準化の妨げとなることから、検体調整操作の一部を的手法にして機器を超えた応用性の高い測定法を設定し、検査室間で共通に使用でき、同一条件で校正が可能な測定法の開発を目指した。また、Nijmegen 変法では正常プール血漿 (NPP) の pH を安定させるために、固形のイミダゾールを加えて 0.1N とし 1N の HCl で pH を整える。しかし、

一般の検査室で少量の正常ブール血漿を取り扱う場合には操作が難しいことから、Nijmegen 変法を普及させるために 2N の緩衝化イミダゾール液を用いて、NPP 作成の簡便化を図った方法の実用性を検証した。

## B. 研究方法

国際的に信頼性の高い測定機器のひとつである ACL 9000 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、凝固 1 段階法による第 VIII 因子活性測定法の精度を検討する。

第 VIII 因子活製が十分に低値の先天性第 VIII 因子欠乏症患者血漿を用いて、NPP を希釈し、第 VIII 因子活性として、①NPP 無添加、②0.5%、③1.0%、④2.0%、⑤4.0%、⑥10.0%、⑦40.0%、⑧100.0%相当の 8 濃度の基準血漿を作成した。この基準血漿を 0.05M イミダゾール緩衝液により 10 倍希釈したあと因子測定用の第 VIII 因子欠乏血漿と等量混和して APTT を測定し検量線とした。インヒビター測定の方法の Bethesda 法を改良した Nijmegen 変法が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。Nijmegen 変法では正常ブール血漿の pH を安定させるために、固形のイミダゾールを 0.1N になるよう加えて、1N の HCl で pH を 7.4 に整えるが、一般の検査室で少量の正常ブール血漿を取り扱う場合には操作が難しい。そこで、2N の緩衝化イミダゾール液を作成し、NPP の 1/20 容を添加し、0.1N イミダゾール加 NPP を作成して操作を簡便化した。この方法で作成した緩衝化 NPP の pH とその安定性について検討した。この緩衝化 NPP と通常の NPP を用いてインヒビターの測定を行い、Bethesda 法との比較を行った。血友病 A のインヒビター患者血漿を 0.05M イミダゾール緩衝液にて、約 4 ベセスダ単位まで希釈したあと、第 VIII 因子欠乏血漿で希釈し、インヒビター管理血漿を作成した。

(倫理面への配慮)

この研究は基礎的研究であり個人情報が必要としない。また、先天性第 VIII 因子欠乏症患者血漿とインヒビター血漿は市販品を用いたので患者の個人情報は取り扱わなかった。

## C. 研究結果

今回検討した第 VIII 因子活性測定法は今回使用の汎用機 (ACL 9000 と APTT 試薬ヒューモスアイエル APTT-SP) において問題なく応用でき、5 回測定による同時再現性試験では、①から⑧の平均秒、SD、CV% は、それぞれ表 1 に示すとおりである。

表 1

活性%	平均・秒	SD	CV%
0	127.8	1.47	1.15
0.5	123.8	1.33	1.07
1.0	122.0	1.41	1.16
2.0	114.2	1.47	1.29
4.0	110.4	1.50	1.36
10	99.7	1.33	1.33
40	84.5	1.04	1.23
100	73.5	0.77	1.05

1/20 量の 2N 緩衝化イミダゾールまたは精製水を NPP に添加した結果、混合直後と 37°C 2 時間後の NPP の pH は表 2 に示すとおりとなった。

表 2

	直後	2 時間後
2N, pH7.4	7.50	7.56
精製水	7.67	7.86

緩衝化 NPP と通常の NPP を用いて、37°C 2 時間加熱後の第 VIII 因子活性を測定したところ、通常の NPP は緩衝化 NPP に比べて 55.4% にまで低下していた。約 1 ベセスダ単位に希釈されたインヒビター血漿を用いて緩衝化 NPP と通常の NPP により測定した。今回の検討結果では、それぞれのコントロールに対する残存第 VIII 因子活性は、

59.6%と35.2%であり、0.75BUと1.51BUと後者のBethesda法の原法に比べて、緩衝化NPPを用いた方法が低いインヒビター値を示す傾向を認めた。

#### D. 考察

今回検討した第VIII因子活性測定法は異なる施設間で機器試薬が異なる場合でも、基準血漿を提供することで、その測定法に共通部分が多くなるよう配慮した方法である。第VIII因子欠乏血漿が多量に必要であるなどの経済的に不利な問題は残るが、標準化のための基準法として、旧来の用手法に代わることが期待できる。感度・精度とも良好であり、汎用機でありながら1.0%をカットオフとすることが可能であり100%までの範囲で秒で5回測定の時再現性のCV%を秒数で2%未満に保つことが出来た。また、活性値へ変換してもCV%は15%未満であった。

インヒビター測定のためのBethesda法では、検体の希釈に0.05Mイミダゾール緩衝液を用いたが、Nijmegen変法では正常プール血漿(NPP)のpHを安定させるために、固形のイミダゾールを加えて0.1Nとし1NのHClでpHを7.4に整える手法が使われた。しかし、一般の検査室で少量の正常プール血漿を取り扱う場合には操作が難しいことから、Nijmegen変法の普及はなかなか進まない状況である。そこで、固形イミダゾールの代わりに、2Nの緩衝化イミダゾール液を用いて、Tokyo変法として緩衝化NPPの作成の簡便化を図った方法であり、今回の検討結果からみて、pHを概ね予定した範囲に保つことができるので、簡便で実用的な方法と考えられた。

本法により緩衝化したNPPを用いて、既知の血友病Aインヒビター血漿のインヒビター力価の測定を行った。今回の検討では、Bethesda法の原法に比べて、緩衝化NPPを用いた方法が低いインヒビター値を示す傾向を認めたが、液相での抗体による中和反応は、微妙な条件の違いによる変動も大き

いことから、本格的なサーベイのためには、継続的な検討が必要である。

#### E. 結論

各種の自動化機器を用いて基準血漿を測定した結果が、一定の感度と再現性を満たすことが確認できれば、その機器を用いて、検査法の標準化を進めることが出来る。したがって、あらかじめ希釈列として作成した標準血漿を管理血漿として利用することは、今後の標準化のための道具として重要な役割を果たすと考えられた。

Nijmegen変法では正常プール血漿のpHを安定させるため、NPPに結晶のイミダゾールを0.1Nになるよう加えて、1NのHClでpHを7.4に整えるが、一般の検査室にとってこの操作が大きな障害となっており、市販の小分けされたNPPを用いる施設では対応することが出来なかった。これに対して、今回はpHを調整した2Nのイミダゾール液を終濃度が0.1NとなるようにNPPに1/20量加える方法で作業の簡便化を行うことができた。

この方法をTokyo変法として広く普及させ、抗第VIII因子抗体のBethesda法による標準化を推進したい。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

[著書]

- 1) 福武勝幸：血友病の病態1) 止血機構、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、東京：38-45, 2009

[原著、総説等]

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### G. 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

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  
検出・診断の標準化に関する研究

分担研究者 嶋 緑倫（公立大学法人奈良県立医科大学医学部医学科小児科 教授）

【研究要旨】

血友病インヒビターの発生機序および第 VIII 因子・第 IX 因子抑制機序について本年度は以下の研究を実施した。まず、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、全エクソンおよびエクソン/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。解析したすべての患者から遺伝子変異を検出し、内訳はイントロン 22 逆位 6 名、ナンセンス変異 3 名、ミスセンス変異 9 名（8 家系）、欠失 3 名、挿入 2 名、スプライシング変異 5 名（3 家系）であった。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。その結果、インヒビター保有血友病 A 群（ $896 \pm 191.4$  pg/ml, range 594-1,399）は健常者群、インヒビター非保有血友病 A 群のいずれに比しても有意に BAFF は高値を示した（ $p < 0.05$ ）。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行った。第 VIII 因子領域では血友病 A インヒビターの主要結合領域である軽鎖 C 2 ドメインに注目して結合実験を行ったところ、活性型第 IX 因子は Gla ドメインを介して C 2 ドメインに結合していることを始めて明らかにした。さらに、結合領域を C 2 ドメイン内 2228-2240 に同定し、本領域への活性型第 IX 因子 Gla ドメインの結合が tenase 複合体活性に大きく関与していることが判明した。

1. インヒビターの分子生物学的解析：血友病遺伝子解析センター構築

A. 研究目的

血友病に発生するインヒビターは第 VIII 因子製剤あるいは第 IX 因子製剤中の第 VIII 因子あるいは第 IX 因子を標的として発生する抗第 VIII 因子あるいは抗第 IX 因子同種抗体である。インヒビターの分子生物学的な発生要因についてはいまだに不明な点が多い。さらに、わが国におけるインヒビター発生と血友病遺伝子異常との関連性に

関する全国的な調査報告はない。第 VIII 因子遺伝子は X 染色体長腕（Xq28）に存在し、26 個のエクソンと介在する 25 個のイントロンからなり、全長 186kb に及ぶ。その巨大小ゆえに血友病 A 患者の遺伝子変異の同定は困難かつ時間を要する作業であった。われわれはキャピラリータイプのオートシーケンサー（ABI310）を用いてプロモーター領域およびエクソン・イントロン境界領域を含む全エクソンのシーケンシング解析が、従来の CSGE, SSCP などのスクリ



ーニング法に較べて、検出率および作業効率の点で優れていることを明らかにしてきた。平成 20 年度においては本測定システムを用いて血友病 A 患者の遺伝子解析を開始した。

## B. 研究方法および結果

あらかじめ文書にてインフォームドコンセントを得た患者から 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患者について、ゲノム DNA を鋳型に 33 組のプライマー、Taq ポリメラーゼ (Takara Taq®) を用いてプロモーター領域、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 (TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice® mini TP100) により増幅した。目的の PCR 産物が得られたかどうかをアガロースゲル電気泳動で確認した後、QIAquick Gel Extraction Kit® (Qiagen) を用いて精製した。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。具体的には BigDye® Terminators v1.1 Cycle Sequencing Kit を用いて DNA 断片を蛍光標識し、Centri-Spin Column® (Princeton Separations) で未反応のダイターミネータを除去した後、DNA オートシーケンサー ABI310® (Applied Biosystems) にかけて、塩基配列を解析した。

今年度は本方法により、27 人 (24 家系) の遺伝子解析をおこなった。解析したすべての患者から遺伝子変異を検出し、内訳はイントロン 22 逆位 6 名、ナンセンス変異 3 名、ミスセンス変異 9 名 (8 家系)、欠失 3

名、挿入 2 名、スプライシング変異 5 名 (3 家系) であった。患者の家族 11 人 (9 家系) に対して保因者診断を行った。保因者診断は、患者から検出された変異に関してヘテロ接合体であるか否かを直接的に解析し、9 名が保因者、2 名が健常者と判明した。本法により、正確な遺伝子診断および保因者診断が可能となり、患者家族には正確な遺伝情報を提供することができた。

## C. 考察

全第 VIII 因子シーケンシング法により、異常の同定を試みた 27 人の患者すべてから遺伝子異常を検出したことから、我々が用いた全エクソダイレクトシーケンシングは血友病 A の遺伝子解析においてきわめて有用であることが明らかになった。第 VIII 因子遺伝子は X 染色体長腕 (Xq28) に存在し、26 個のエクソンと介在する 25 個のイントロンからなり、全長 186kb に及ぶ。われわれはキャピラリータイプのオートシーケンサー (ABI310) を用いてプロモーター領域およびエクソン・イントロン境界領域を含む全エクソンのシーケンシング解析を行い変異の同定をおこなってきた。昨年度は 27 人 (24 家系) の遺伝子解析をおこない、解析したすべての患者から遺伝子変異を検出した。内訳はイントロン 22 逆位 6 名、ナンセンス変異 3 名、ミスセンス変異 9 名 (8 家系)、欠失 3 名、挿入 2 名、スプライシング変異 5 名 (3 家系) であった。今年度も本法による遺伝子解析を継続し、データベースを充実させる予定である。一般にミスセンス変異、スプライシング異常に関しては、検出された変異が真に疾患の責任遺伝子変異であるかどうかの検討を必要とする。データベースと照合した

り、家族の検査を行って変異と罹患の有無の一致を検索したとしても、なお不確実性が残ることが多い。本年度は発現ベクターを用いて変異第VIII因子遺伝子を培養細胞に導入し、細胞内での第VIII因子合成、細胞内からの消失および分泌を検討する。また異常スプライシング産物の定量解析などを計画している。

## 2. インヒビターの発生機序に関する研究

### A. 研究目的

近年、自己抗体の異常産生にTNF受容体リガンドスーパーファミリーに属するB細胞活性化因子、B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF) および a proliferation inducing ligand (APRIL) が深く関わっていることがわかってきた。インヒビター保有血友病A患者においてもこれらのサイトカインが関与している可能性が考えられることから、インヒビター非保有あるいは保有血友病A患者のBAFFおよびAPRILを測定した。

### B. 研究方法

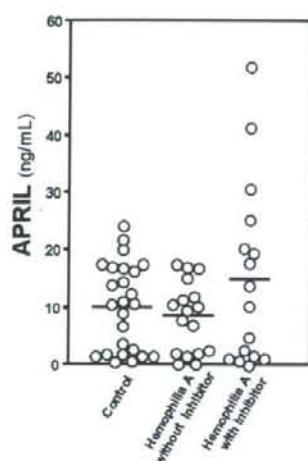
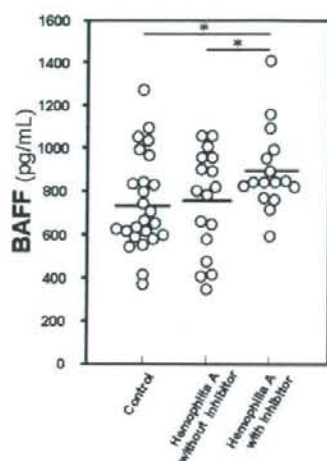
健常者25名(16.7 ± 14.0歳)、インヒビター非保有血友病A患者21名(15.0 ± 6.1歳)、およびインヒビター保有血友病A患者8名16検体(9.4 ± 10.6歳)の血漿を用いて、BAFFを市販のELISAキット(R&D Systems, Minneapolis, MN)を用いて、同様にAPRILをELISAキット(Bender MedSystems, Burlingame, CA)を用いて測定した。インヒビター保有血友病A患者のインヒビター力価は104.0 ± 191.9 BU/mLであ

った。

### C. 結果

(図参照) インヒビター保有血友病A患者の健常者群、インヒビター非保有血友病A群、インヒビター保有血友病A群間で年齢に有意な差はなかった。インヒビター保有血友病A群群のインヒビター力価は88.0 ± 174.2 BU/mL (range 1.2-742)であった。

BAFFは、健常者群(746 ± 220 pg/ml, range 375-1,269)とインヒビター非保有血友病A群(751 ± 236 pg/ml, range 352-1,056)間に差はなかったが、インヒビター保有血友病A群(896 ± 191.4 pg/ml, range 594-1,399)は健常者群、インヒビター非保有血友病A群のいずれに比しても有意に高値を示した(p<0.05)。APRILは健常者群(10.0 ± 7.5 ng/ml, range 0.4-24.0)、インヒビター非保有血友病A群群(8.2 ± 6.1 ng/ml, range 0.0-17.4)、およびインヒビター保有血友病A群(15.1 ± 15.6 ng/ml, range 0.1-51.3)の3群間で有意な差は見られなかった。



#### D. 考察

BAFF/APRIL 系は末梢性 B 細胞の分化・生存の維持に重要な役割を担っており、その異常は末梢性トレランスの破綻につながると考えられている。BAFF トランスジェニック・マウスでは、自己抗体の産生と全身性自己免疫疾患像を呈し、ヒトにおいても膠原病患者の血清中 BAFF 濃度が高値を示し疾患活動性ならびに自己抗体価と有意に相関することがわかっている。このように BAFF の過剰産生が B 細胞の自己寛容の破綻に深く関与することが明らかとなり、BAFF を分子標的とした治療法が考えられ、すでに実行に移されており、抗 BAFF 抗体製剤 Belimumab や、可溶性 TACI (BAFF 受容体) 製剤 Atacicept を SLE や RA 患者に投与した臨床試験にてその有効性が報告されている。今回、インヒビター群で BAFF が高値を示したことから、今後インヒビターの治療を目指して BAFF アンタゴニストの使用が考えられる。

なお、本研究の結果は *Thrombosis and Haemostasis* 誌に発表した<sup>1)</sup>。

#### 3. インヒビターの凝血学的生化学特性に関する研究

##### A. 研究目的

インヒビターは製剤中の第 VIII 因子や第 IX 因子に結合することにより構造・機能に重大な影響をあたえることが知られている。第 VIII 因子は凝固内因系において活性型第 IX 因子が第 X 因子を活性化するいわゆる *tenase* 複合体の必須の補因子として機能している。血友病 A インヒビターは第 VIII 因子重鎖 A 2 ドメインと軽鎖 C 2 ドメインに主に結合して第 VIII 因子補因子活性を阻害することから、これら両ドメインは第 VIII 因子活性発現上必須の領域である。特に C 2 ドメインは従来、第 VIII 因子の安定化に必須であるフォンヴィレブランド因子 (VWF)、リン脂質、トロンピン、活性型第 X 因子の結合部位として知られていた。活性型第 IX 因子が第 X 因子を活性化するためには第 VIII 因子が第 IX 因子と結合して、第 X 因子に結合しやすくする機序が予測される。第 VIII 因子の第 IX 因子結合部位については従来、A 2 および A 3 ドメインに存在すると報告されてきた。本年度の研究では第 VIII 因子/第 IX 因子結合におけるインヒビター結合部位である C 2 ドメインの関与について検討した。

## B. 研究方法

第VIII因子C2ドメインはヒトC2ドメインをコードするcDNAを*Pichia pastoris*細胞に導入して発現させ、硫酸沈殿およびHPLC(TSK-GEL CM-3SW)にて純化した。純化C2フラグメントを*Staphylococcus aureus* V8 proteaseにて分解し、HPLC(TSK gel ODS-100Z)にて純化してC2サブフラグメントを作製した。C2と活性型第IX因子との結合についてはC2を固相化したマルチタイタープレートを用いたELISAで検討した。さらに、C2と活性型第IX因子との結合定数はBiacore Xを用いたSPR-based assayにて行った。

次に、C2ドメインと活性型第IX因子の結合様式を明らかにするために、イオン強度の影響について検討したところ、C2/活性型第IX因子結合は生理的NaCl濃度(～150mM)で最も結合性が高いことが判明した。また、Na<sup>+</sup>結合した活性型第IX因子は第X因子の分解能および活性型第VIII因子との結合能を亢進することが明らかになった。

Ca<sup>2+</sup>も活性型第IX因子の構造機能発現に必須である。本研究でもCa<sup>2+</sup>の存在下でC2/活性型第IX因子結合能が著増した。したがって、Na<sup>+</sup>およびCa<sup>2+</sup>は本結合において必須であることが判明した。

### 3) 活性型第IX因子Glaドメインの第VIII因子C2結合の関与について

第VIII因子C2ドメインはリン脂質結合ドメインである。また、活性型第IX因子/第VIII因子C2ドメインはCa<sup>2+</sup>依存性であることから、活性型第IX因子のリン脂質、Ca<sup>2+</sup>結合に必須なGlaドメインがC2結合に関与している仮説をたて実験を行った。本実験のためにGlaドメイン欠如第IX因子を作製した。Gla欠如第IX因子は第VIII因子C2ドメインに対する結合能は著明に低下した。したがって、活性型第IX因子/第VIII因子C2ドメイン結合にはGlaドメインが関与していることが明らかになった。

### 4) 活性型第IX因子の第VIII因子C2ドメ

## C. 結果

### 1) 活性型第IX因子とC2ドメインの結合能

活性型第IX因子はC2ドメインに濃度依存性に結合した。さらに、本結合は第VIII因子や活性型第IX因子により阻害され特異的な結合であることが明らかになった。本結合に関するカイネティクスについてSPR assayについて検討を行ったところ、結合定数は $K_d 108 \pm 27 \text{ nM}$ ,  $K_d/K_a = 2.45 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1} / 2.36 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ であった。

### 2) 活性型第IX因子とC2ドメインの結合特性

#### イン結合領域の同定

V8プロテアーゼ分解により2つのC2ドメインサブフラグメントの純化に成功した。アミノ酸解析により第一フラグメントはC2-(2182-2259)、他はC2-(2260-2332)であった。ELISAによる結合実験において、活性型第IX因子はC2より結合性は弱いもののC2-(2182-2259)に濃度依存性に結合するが、C2-(2260-2332)はきわめて弱い結合性であることが判明した。本サブフラグメントが第VIII因子存在下の第IX因子による第X因子活性化反応に影響があるか検討したところ、C2-(2182-2259)添加により第X因子活性化反応が抑制された。したがって、活性型第IX因子Glaドメインが第VIII因子C2ドメイン2182-2259領域に結合して内因性tenase複合体の酵素活性に関与していることが示唆された。第IX因子結合領域をさらに詳細に同定するために合成ペプチドを作製して結合実験を実施したところ、ペプチド2228-2240が最も強く活性型第IX因子/C2結合を抑制した。また、本ペプチドは第X因子活性化反応も抑制した。したがって、本領域は活性型第IX因子/活性型第VIII因子結合に関与し、また、本結合がtenase複合体活性に必須であることが判明した。

## C 考案

第 VIII 因子/活性型第 IX 因子結合は凝固内因系の tenase 複合体活性において必須である。従来、第 VIII 因子における活性型第 IX 因子の結合領域は重鎖 A 2 ドメインおよびインヒビターの結合実験により軽鎖 A 3 ドメインの 2 領域と考えられていた。本年度の研究において、われわれは新たに血友病 A インヒビターの重要な結合ドメインである C 2 ドメイン内に活性型第 IX 因子結合領域を同定した。また、本領域には Gla ドメインを介して結合していることも判明した。Tenase 複合体活性発現上、リン脂質や  $Ca^{2+}$  は必須であり、第 VIII 因子 C 2 ドメインおよび第 IX 因子 Gla ドメインはいずれもリン脂質および  $Ca^{2+}$  結合に関与しており、きわめて合目的な結果であると考えられる。また、本研究では結合実験のみならず、本結合が実際の第 VIII 因子存在下の tenase 複合体活性発現に関与しているか機能的評価も行い、本結合が tenase 複合体活性に必須であることまで明らかにすることができた。今後、各種血友病 A および血友病 B インヒビターの第 VIII 因子あるいは第 IX 因子抑制機序に関与しているかについて実際の患者血漿を用いて検討する予定である。

本研究は 2009 年度に発行された Journal of Biological Chemistry 284 巻に掲載された<sup>2)</sup>。

## D. 文献

### 1. 論文発表

[著書]

- 1) 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

[原著、総説等]

- 1) Tomohiro Takeda, Yoshihiko Sakurai, Kohei Tatsumi, Junko Kato, Shogo Kasuda, Akira Yoshioka, Midori Shima. Elevation of B cell-activating factor belonging to the tumor necrosis factor

family (BAFF) in haemophilia A patients with inhibitor. Thrombosis and Haemostasis 101(2); 408-410, 2009

- 2) Tetsuhiro Soeda, Keiji Nogami, Katsumi Nishiya, Mashahiro Takeyama, Kennichi Ogiwara, Yoichi Sakata, Akira Yoshioka, Midori Shima. 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) ;3379-3388, 2009

### 2. 学会発表

なし

## E. 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

研究成果の刊行に関する一覧表

著書

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
田中一郎、吉岡章	血友病の歴史	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	20-29
福武勝幸	血友病の病態1)止血機構	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	38-45
三間屋純一	臨床症状	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	106-116
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	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	164-173
岡敏明	血友病の止血療法3)補助的治療	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	182-189
瀧正志	定期補充療法	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	190-197
嶋緑倫	インヒビター保有患者の治療(i)止血治療	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	216-235
白幡聡	凝固因子製剤改良の方向性	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	280-289
高松純樹	安全な製剤を供給するためには	白幡 聡	血友病の基礎と臨床	医薬ジャーナル社	東京	2009	318-324

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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(注射用ノボセプン®)の高用量単回投与に関する研究	血栓止血誌	19(2)	244-256	2008
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
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
白幡 聡、酒井道生	インヒビター保有血友病患者の治療:パイパス製剤をめぐる最近の話題	日小血会誌	22	167-172	2008
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)	423-143	2008

Taki M., Shirahata A	Current situation of regular replacement therapy (prophylaxis) for haemophilia in Japan.	Haemophilia	15(1)	48-82	2009
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
瀧 正志	血友病インヒビターの産生と制御	臨床検査	52(13)	593-159	2008
Nogami K, Nishiya K, Evgueni L.S. 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
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
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)	266-127	2008
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
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
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
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
嶋緑倫	血友病の治療—最近の進歩	日本医事新報	4413	59-66	2008
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

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
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
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
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



## I. 基礎

### 1. 血友病の歴史

#### はじめに

血友病 (hemophilia) は、幼少時から種々の出血症状を繰り返す先天性凝固障害症である。X染色体連鎖劣性遺伝形式をとり、主として男子のみに発症する。本症は先天性凝固障害症のなかでは最も頻度が高く、人類誕生後の早期から存在していたことは想像に難くない。ここでは古代から中世、近世にかけての血友病の観察の歴史を振り返るとともに、その診断および治療の変遷について述べる。

#### 1. 血友病の観察史

血友病はその出血症状および家族歴によって疑われ、第Ⅷ (IX) 因子活性の欠乏を証明することによって診断される。しかし、凝血学的診断が可能になったのは、わずか 50 年ほど前からにすぎず、それまではもっぱら出血症状の観察および家系調査が主体であった。

#### 1 ユダヤ教の聖典タルムード (Talmud)

現存する最古の出血性素因に関する記述は、ユダヤ教の聖典バビロニア・タルムードに記載されたものといわれている。タルムードはもともと、2 世紀末頃にパレスチナのユダヤ人共同体の長であった Rabbi Judah haNasi (135-220) (Rabbi はユダヤ教の宗教的指導者かつ学者の敬称) の指示のもと、ユダヤ教の口伝律法を体系的に編纂したもので、5 世紀頃には Rabbi Ashi (352-427) によって完成され現在の形になったといわれている<sup>1)</sup>。そのなかでも 7 編構成で書かれた Nashim (結婚と離婚、誓約に対する作法に関する記述) のうち Yebamoth の一節に、「もし、最初の男の子が割礼により出血し、第 2 子も同様であれば第 3 子の割礼は行ってはならない」との記述がみられる<sup>1, 2)</sup>。また、Rabban Simeon ben Gamliel がガリラヤ地方セフォリス

の4姉妹について、姉3人の息子がいずれも割礼で出血死した際に、4人目の末妹の男の子には割礼を禁じたとされる<sup>1)</sup>。これらの記述は家族性に現れる男子の出血性素因についての認識を示すものと考えられる。

スペインのコルドバ生まれのRabbiであり、医師、哲学者のMoses Maimonides(1135-1204)はユダヤ法に関する膨大な資料を体系的に分類し、The Mishneh Torahとして法典化した。この割礼に関する法律のなかで、「初めての息子が割礼で死亡し、2人目の子も同様であれば、3人目の子の父親がはじめの夫であれ、二番目の夫であれ、割礼をしてはならない」と述べている<sup>1,2)</sup>。これは明らかに女性を通じて、出血性素因が伝わることを示したものと考えられる。Mendelが遺伝の法則を発表したのが1866年であるが、それより遥か以前のユダヤ教社会のなかで、割礼という儀式を通じて、男性に現れる出血性素因についての認識が脈々と受け継がれていたことがうかがわれる。

## 2 中世から近世にかけての症例記述

アラビア人のスペイン宮廷医師であるAlbucasis(Abul Qasim Al-Zahravi)(936-1013)は彼の著書『Al-Tasrif』で、些細なけがで出血死したアンダルシア地方の男性について述べている<sup>2,3)</sup>。17世紀初めにはアウグスブルグの医師Höchstetterは、出生時に臍出血を起こし、その後鼻出血や血便、皮下出血を繰り返す少年について述べている<sup>2)</sup>。また1743年にBanyerは、鼻出血や消化管出血、血尿を繰り返し、33歳で些細な足のけががもとで出血死した英国の庭師を報告している<sup>2)</sup>。これらの報告はいずれも孤発例であるが、家族歴を有する症例としては、1791年のマサチューセッツ、セーラムの死亡記事に記載されたIsaac Zollの家系がある<sup>2,3)</sup>。彼自身は斧で足を切った後、19歳で死亡したと記載されているが、彼の5人の兄弟も些細なけがで出血死したという。1793年ドイツ人のConsbruchは、ある男性とその姉妹の息子たちの出血傾向に関する記述<sup>2,4)</sup>を、1796年にはRaveが彼本人とその3人の兄弟の出血傾向についての記述<sup>3)</sup>を残している。

1803年、フィラデルフィアの医師John Conrad Ottoはその著書『An account of a hemorrhagic disposition existing in certain families』で、1720年頃にニューハンプシャー州のブリマウス近くに住み着いたSmith家系を報告した<sup>2-4)</sup>。彼はこのなかで、男性のみが出血傾向をもち、女性を通じてその息子の一部に出血性素因が伝わることを示し、後の研究に大きな影響を与えた。同様の家系調査研究としては、1813年にHayが報告したマサチューセッツ、イブスウィッチのAppleton-Swain家系がある<sup>2,4)</sup>。彼はこの家系を遡って、1639年からの6世代、172年間での20人の男性患者を調査した。ここで、出血者の息子はその素因を受け継がず、娘の息子に発症することを示した。その後、この家系はOsler(1885)やPratt(1908), McKusick & Rapaport(1962)によって現在まで追跡されている。

## 1. 基礎

また、ヨーロッパでは1837年に、ThormannがスイスのTenna家系について1650年まで遡って調査を行った<sup>3, 4)</sup>。その後、この家系はVieli(1846)やGrandidier(1855), Hoessli(1885), Bullock & Fildes(1911), Hoessly(1930), Koller(1954)によって追跡調査された。この頃から過去の症例の集積作業が行われるようになり、1820年Nasseは過去の症例のレビューを行い、本症は男子のみに発症し、非罹患者女性によって伝わることを明確に表し、Nasse's lawと呼ばれた<sup>2-4)</sup>。また、1855年にGrandidierは過去の異常出血をきたした452人の男性と32人の女性を収集し報告した<sup>2, 3)</sup>。1872年、英国のLeggは『Treatise on Hemophilia』を著し、その遺伝や出血にまつわる種々の問題、死因、最新の治療などについての詳細な記載を行った<sup>2, 3)</sup>。1886年、Trevesはいとこ婚による真の女性血友病を報告<sup>2, 3)</sup>し、その後、この家系はHandley & Nussbrecher(1935), Merskey(1951), Valberg(1959), Gilchrist(1961), Kernoff & Rizza(1973)により再研究された。1890年Königは、それまで結核やリウマチと混同されていた血友病の関節障害についての詳細な記載を行った<sup>3)</sup>。1911年にはBullock & Fildesが多数の患者家系の遺伝について系統的に分析し、その症状や遺伝形式から血友病の概念をあらためて整理し定着させた<sup>2-4)</sup>。

一方、わが国では1889年、弘田が初めて血友病の疑いのある男児を報告し、1902年には山下がわが国初の血友病家系を報告した<sup>5)</sup>。

## 3 血友病とヨーロッパ王室 (図1)

歴史上、最も有名な血友病家系は英国Victoria女王(1819-1901)の家系であろう。彼女が保因者となり、その子供たちを通してプロイセン王国やロシアのロマノフ王朝、スペイン王朝などに出血性素因が伝わった。このため、血友病はRoyal diseaseとも呼ばれるようになった<sup>2, 3)</sup>。

Victoria女王の四男オールバニ公Leopold(1853-1884)は幼い頃から出血症状を繰り返し、その様子は1868年のBritish Medical Journal誌に報告された。彼は静養先のカンヌのヨットクラブで転倒し、その翌朝、31歳の若さで急死した。彼の出血性素因は娘Aliceに伝わり、その結果、Aliceの長男Rupert(1907-1928)は幼い頃から出血傾向を有した。彼は21歳の時にフランスで交通事故に遭い、頭蓋内出血で死亡した<sup>2, 3)</sup>。

一方、Victoria女王の次女Aliceはヘッセン大公国のLudwig IV世と結婚し、2男5女をもうけたが、Aliceを通じて次男Friedrich(1870-1873)に出血性素因が伝わった。彼は3歳の時に、母親の寝室の窓から転落し、頭蓋内出血で死亡した。Aliceの三女Ireneはいとこにあたるプロイセン王国のHeinrich王子と結婚し、3男をもうけたが、このうち、長男と三男は出血症状を有した。長男のWaldemar(1889-1945)は南ドイツで輸血治療ができずに死亡し、三男Heinrich(1900-1904)は転倒し、頭部を打撲して4歳で死亡した。Aliceの四女Alix(Alexandra)はロシア皇帝Nicholas II世と結婚し、1男4女をもうけたが、長男Alexei(1904-1918)が血友

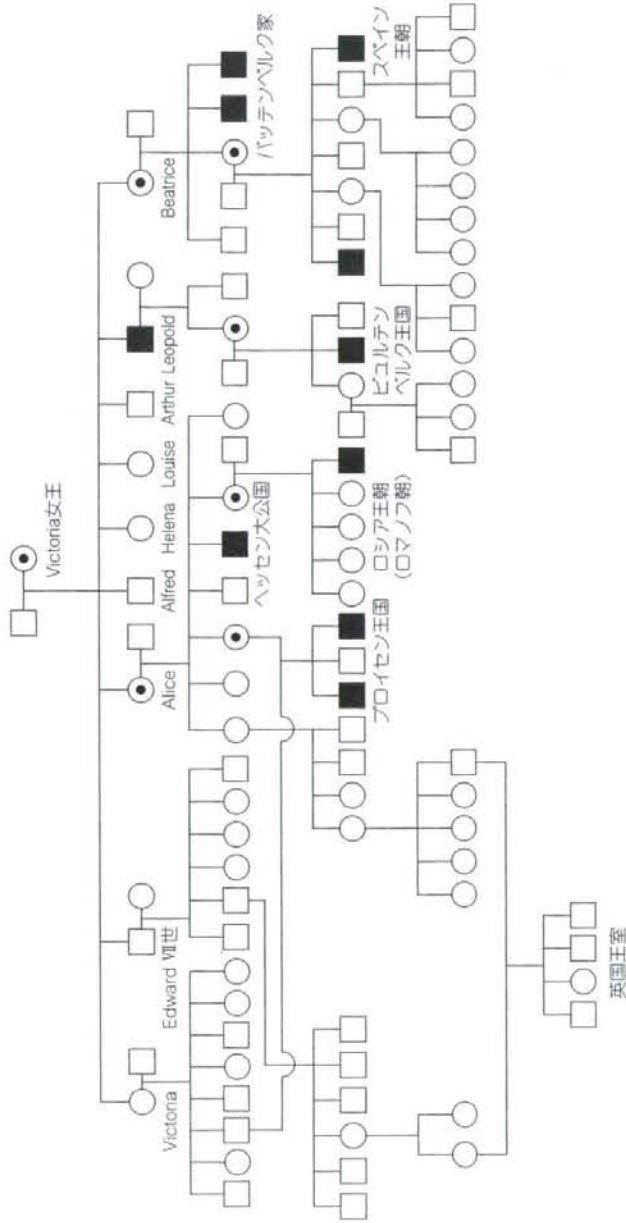


図1 Victoria女王とその子孫たち

■は血友病患者、●は確実保因者を示す。

Victoria女王が保因者となり、その子どもたちを通してプロイセン王国やロシア王朝、スペイン王朝などに出血性遺伝子が伝わった。このため、血友病は Royal disease とも呼ばれるようになった。