

整形外科の手術など使用例数が増加している。Scharrer らは小外科手術では、90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 2～3 時間ごとに 1～2 日間、大外科手術では同量の 2～4 時間ごとの投与を 6～7 日間、さらに 6～8 時間ごとに 2 週間継続することを推奨している³⁰⁾。Rodriguez らはインヒビター保有患者における 108 例の整形外科の手術実施例を集積し rFVIIa の有用性を報告した³⁰⁾。Oberfell らも 2000～2006 年にわたって、80 例の整形外科的手術例を集積し、初回投与量は 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で、以後 2 時間ごとに 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ あるいは持続投与では 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ の投与が有効であることを報告した³¹⁾。わが国のガイドラインでは重篤な出血時の止血療法と同様、大手術時には 2 時間ごとの投与を 1～2 日間行い、以後は、例えば 3, 4, 6, 8, 12 時間ごとというように徐々に投与間隔を延ばしていくレジメンを薦めている³²⁾。

rFVIIa の投与は、半減期の短いこと、また、高濃度の FVIIa によりトロンビンバーストが惹起されることが止血作用の基本と考えられていることから、原則としてボース投与が勧められている。しかしながら、特に外科手術時や重篤な出血時などのように頻回投与が必要な場合、持続的投与療法の有用性も最近報告が増加している³³⁾。一般的な投与法は、90～120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の初回ボース投与後、14～16.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ で持続投与を開始し、以後、第 VII 因子活性 (FVII:C) を 10 単位 /mL 以上に維持するように投与する。しかしながら、Ludlam らは最近、大きな手術の際、rFVIIa の投与量は 50 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時}$ で FVII:C のトラフレベルを 30 単位 /mL に維持することを勧めている³⁰⁾。

c) rFVIIa の安全性

rFVIIa は、出血部位の局所に中心に作用するものと考えられており、血栓症発症の危険性は少ないと考えられている。rFVIIa が国際的に市販された 1996 年以後、70 万回以上標準的な投与量 (90 $\mu\text{g}/\text{kg}$) が実施されたが、Abshire らの集積によると、血栓性の有害事象は 16 例である。内訳は 10 例が心筋梗塞、脳血管障害などの動脈性、6 例が静脈性の血栓性症状である³⁰⁾。症例の多くは aPCC 後、細菌感染症の併発など血栓症発症リスクの高いものが多く、rFVIIa 投与に直接起因したかについては不明である。しかしながら、rFVIIa においても aPCC と同様、感染症や血栓症発症リスクを有する患者においては注意が必要である。

4. バイパス止血療法製剤の選択

現在のバイパス治療製剤である aPCC および rFVIIa は、いずれも急性出血、外科的処置に対する止血療法における有効性が明らかにされている。通常、 $> 5 \text{ BU}/\text{mL}$ の HR での急性出血症状にはバイパス止血療法が第一選択になる。しかしながら、両製剤の選択については、既往免疫反応の有無、血栓症のリスク、過去の止血効果などを総合的に判断して選択する。両製剤の止血効果の比較については、最近、Astermark らは北米における 66 症例の足・膝・肘関節

Ⅲ. 治療

内出血に対する aPCC (ファイバ®) の 1 回投与 (75 ~ 100 単位/kg) と rFVIIa (ノボセブン®) の 2 回投与 (90 ~ 120 µg/kg) の止血効果に関する比較検討を行った³⁶⁾。その結果、関節内出血に対して、両者は同等の止血効果であることが明らかにされた。しかしながら、興味あることに、製剤間で止血効果に差がある症例もみられた。

したがって、一般に止血効果は差がなく、いずれのバイパス製剤も第一選択になること、しかしながら、同じ症例でも両製剤の止血効果に差があることは、第一選択の製剤が無効な時は他剤に変更する必要があることも示唆している。実際、Hayashi らは、長期間の aPCC 投与後、出血が再発し、TEG で凝固機能が投与後改善しなかったが、rFVIIa に変更後 TEG パターンが改善したことを報告している¹⁶⁾。

欧州を中心として最近調査された報告によると、aPCC と rFVIIa の製剤において成人と小児で施設間差がみられている。この調査は、欧州 14 カ国の計 21 専門施設におけるインヒビター保有血友病患者計 381 例を対象にした調査で、成人血友病 A 患者では aPCC 使用施設 85%、rFVIIa 使用施設は 100% と大差はなかったが、小児血友病 A 患者において、すべての施設で rFVIIa は使用されているが、aPCC の使用施設は 25% であった。一方、インヒビター保有血友病 B 患者では成人患者でも aPCC 使用施設は 40% であった³⁷⁾。この調査結果で、小児の患者と血友病 B インヒビター保有患者では rFVIIa が中心に使用されていることになる。これは、小児患者では血漿由来のウイルス伝播の危険性が否定できないこと、血友病 B 患者では、aPCC 製剤中の第Ⅸ因子による既往免疫反応が起こり得ることが理由である。

5. 特殊な症例でのバイパス止血療法の考え方

1 免疫寛容導入療法開始前の患者

免疫寛容導入療法 (ITI: immune tolerance induction therapy) の有効性に関して統計学的に証明された唯一の因子は、ITI 開始時のインヒビター力価である³⁸⁾。すなわち、インヒビター力価が低いほど、成功率は高い。したがって、現在実施されている ITI の国際的臨床研究においても <10 BU/mL の患者が対象になっている³⁹⁾。aPCC の投与で既往免疫反応をきたす症例では原則として rFVIIa が第一選択になる。

2 アレルギー症状の既往歴を有する患者

一部のインヒビター保有血友病 B では第Ⅸ因子含有製剤に対してアレルギー症状を有する患者が存在する。アレルギー症状はしばしば重篤でアナフィラキシーを呈することもある。アレルギー症状の本態は、抗第Ⅸ因子 IgG (immunoglobulin G: 免疫グロブリン G) で特に IgG1 抗体といわれている⁴⁰⁾。aPCC 製剤には第Ⅸ因子が含有され、第Ⅸ因子製剤にアレルギー歴を

有する患者は、aPCC に対しても同様の症状をきたす危険性がある。このような症例に対して、少量ずつ、第Ⅸ因子含有製剤を投与して脱感作することも可能である⁴¹⁾。しかしながら、一般には、アレルギー歴を有する症例における第一選択は rFVIIa である。

6. 止血治療に併用される薬剤

血友病の止血療法で最も併用されるのは抗線溶剤であるトナネキサム酸である。rFVIIa との併用は、血尿や DIC 例を除いて一般的に認められている。しかしながら、aPCC との併用は国際的にも血栓症発症リスクが上がるために、薦められていない。ただし、オーストラリアのガイドラインで歯科手術の際に同時使用ではなく、間隔をおいて投与することは可能と記載されている。わが国のガイドラインでも aPCC との同時使用は避けるべきと記載されている³⁾。トナネキサム酸の投与は、15～25 mg/kg/回を 2～3 回/日経口投与もしくは 10 mg/kg/回を 2～3 回/日静注する。

7. バイパス止血療法の展望

1 rFVIIa 単回高用量

rFVIIa の 1 出血エピソードに対する平均投与回数が 2.5 時間ごと 2.5 回で、単回投与で十分な止血効果を得ることは困難である。また、特に小児では半減期も短く、血管の確保が困難な症例もあり精神的身体的負担が大きい。前述したように、rFVIIa の止血効果の本態は活性化血小板上での TF 非依存性のトロンビンバーストで、FVIIa の濃度に依存する。したがって、より高用量の rFVIIa の投与はよりトロンビン産生が亢進することになる。

Parameswaran らは >200 μg/kg 以上の投与量における止血率は 97% と、通常量での止血率 (84%) を上回ることが報告された⁴²⁾。さらに Kenet らは通常投与量の 3 倍量の 270 μg/kg 単回投与が、90 μg/kg 3 回投与と同等の止血効果が得られることを報告し⁴³⁾、高用量単回投与の有効性と安全性が国際的にも認知されるようになった。その後、高用量単回投与と標準用量複数回投与群での比較対照試験が実施され、有効性の差もなくまた特記すべき有害事象もみられないことが明らかにされた。欧州では、2007 年に正式に承認された。わが国でも最近、高用量単回投与に関する医師主導型のクロスオーバー試験が実施され、標準投与量と同等の有効性が認められた⁴⁴⁾。

2 予防的投与

インヒビター保有血友病患者で ITI が不成功あるいは実施困難な症例では、バイパス止血療

Ⅲ. 治療

法が進歩したものの、非保有例に比し止血コントロールは依然困難であり、重度の血友病性関節症を呈して、日常生活に重大な支障をきたしている症例は多い。インヒビター非保有血友病患者のQOL (quality of life: 生活の質) が近年向上した大きな原因は、定期補充療法による予防的治療の普及にある。バイパス止血療法製剤は一般に作用時間が短く、また、高額なこともあり長期に定期的に投与して出血を予防する治療は困難と考えられてきた。しかしながら、予防に必要な投与量は止血に必要な投与量よりもはるかに少ないことが、インヒビター非保有血友病患者の予防投与療法において明らかにされていることから、最近、インヒビター保有患者においてもバイパス止血療法による予防的投与方法が注目されている。

DiMichele らの集計では、血友病Aインヒビター保有症例14例で15回のaPCCによる予防投与歴がみられた⁴¹⁾。そのうち投与期間が確認された症例は12例で、平均19.5カ月(0.25～26カ月)であった。投与回数は1回/日～1回/週、投与量は平均69単位/kg(15～100単位/kg)の範囲であった。予防効果については、出血頻度の低下がみられたのは14例中11例であった。本調査報告で、aPCCの定期的投与により、予防効果が得られる症例が存在することが判明した。最近、Lessinger らは5症例のインヒビター保有症例に6カ月以上にもわたって定期的に投与してその予防効果について検討を行った⁴²⁾。投与内容は50～75単位/kg 3回/週4症例、100単位/kg 連日投与1症例であった。いずれの症例においても出血頻度は減少し、かつ、特に副作用もみられなかった。症例数が少ないものの、4症例は同様の投与レジメンで実施されており、aPCCの予防投与の有用性をさらに支持するものである。

一方、rFVIIaは半減期が短いことから、予防投与への応用は困難と思われてきたが、最近、欧州を中心に実施されたrFVIIaの予防投与に関する成績が報告された⁴³⁾。報告によると、13症例中12例で予防投与により実施前に比し出血頻度は減少していた。投与レジメンは200～250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 週から220 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 連日であった。

バイパス製剤の定期投与による予防投与の有効性に関する知見は増えてきているが、有効な予防投与のための投与レジメンについては確立していない。今後、バイパス製剤による予防投与に関する国際的な臨床研究が望まれる。

3 aPCC/rFVIIa シーケンシャル療法

aPCCあるいはrFVIIaはいずれも同等の有効性を有する。しかしながら単一製剤での無効な症例の、止血コントロールはきわめて困難である。両製剤の混合療法については、血栓症発症の危惧があり、一般的ではない。しかしrFVIIaは、aPCCの主要因子である第X因子やプロトロンビンの存在により、APTTは短縮し、トロンビン生成能がさらに充進する。さらに、rFVIIaとaPCCには相互に作用を増強することも*in vitro*実験系で明らかにされており、両者を併用して使用するバイパス止血療法の有効性が示唆される。

Schneiderman らは、難治性の出血症状に対して実施した連続併用療法に関する成績を報告した⁴⁷⁾。調査対象は5症例で、単剤での治療は無効であった症例で、計20回の入院治療において計91日の連続併用療法が実施されていた。投与の実際は、6時間ごとにrFVIIaとaPCCを投与するもので、rFVIIaは1~3回、2時間ごとにaPCCの間に投与された。aPCCの投与量は35~80単位/kg、rFVIIaの投与量は80~225 μ g/kgであった。いずれの症例においても血栓症やDICなどの副作用はみられなかった。最近、同じ研究グループは、5症例についてさらに3年間にわたって調査を継続したが、その後も連続併用療法中、血栓症の発症はみられず、有効性も認められた⁴⁸⁾。

8. 止血モニタリング

インヒビター保有血友病症例の止血管理において止血モニタリングもきわめて重要である。インヒビター力価が低値で補充療法が続行できる場合は第Ⅲ因子や第Ⅸ因子活性が止血効果の指標となる。しかしながら、バイパス止血療法では未だに*in vivo*における凝固機能を評価し得る検査法が確立されていない。しかし、近年、凝固機能をグローバルに評価する方法が相次いで開発され、バイパス止血療法への応用性が期待されている⁴⁹⁾。

1 凝固波形解析法 (図3 a, b)

本方法は通常のAPTTやPT測定において、リアルタイムに透過度をモニタリングすることにより、凝固時間の測定のみならず、凝固開始後のフィブリン形成過程における凝固速度あるいは凝固加速度などを定量的に評価する方法である。本方法では第Ⅲ因子活性0.2~1 IU/dL相当の微量な凝固機能の評価が可能である^{50, 51)}。実際、HRインヒビター例でITIを開始し、インヒビターは消失しなかったが、第Ⅲ因子製剤の定期投与により出血回数が激減した症例で、製剤投与後>10 BU/mLのインヒビター存在下でも凝固波形解析により凝固機能が改善することが明らかにされた⁵¹⁾。

2 トロンビン生成測定 (図4)

トロンビン生成測定法はすでに1950年代より報告されており、原理自体は新しい方法でない。しかしながら近年、解析法が進歩し、全自動化の測定システムが開発された⁵²⁾。本測定法では、トロンビン生成過程をリアルタイムにモニタリングすることによりトロンボグラムとして描出し、さらに、lag time(トロンビン生成開始時間)、peak thrombin(トロンビン生成ピーク値)、time to peak(トロンビン生成ピーク時間)、endogenous thrombin potential(総トロンビン生成量)などのパラメーターを算出することにより、定量的な凝固機能の解析が可能で

Ⅲ. 治療

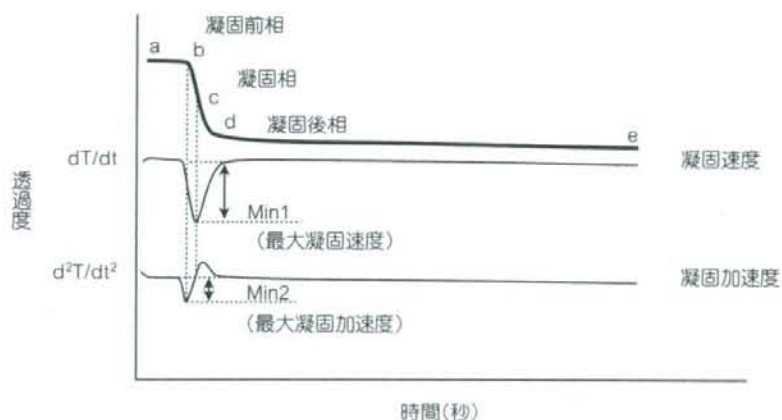


図3 a 正常血漿における凝固波形とパラメーター

a : CaCl₂ (塩化カルシウム) 添加時点, b : 凝固開始時点, c : 凝固中時点, d : 凝固終了点, e : 測定終了時点

正常血漿のAPTT(活性化部分トロンボプラスチン時間)における透過度の変化をリアルタイムにモニタリングすると最上段の凝固波形が得られる。透過度の1次微分で凝固速度, 2次微分で凝固加速度が算定できる。Min1は最大凝固速度, Min2は最大凝固加速度を示す。

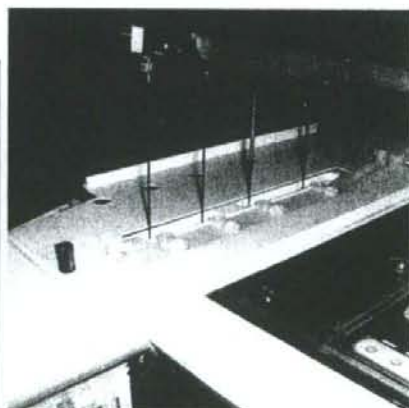


図3 b 凝固波形解析が可能な全自動型凝固測定装置

全自動凝固測定装置にコンピュータが連動しており(左), 凝固過程の波形解析やパラメーター解析(右)が実施できる。

ある。バイパス止血療法のモニタリング法としてどのようなパラメーターを基準にするか, 評価に関する標準化が今後の課題である。

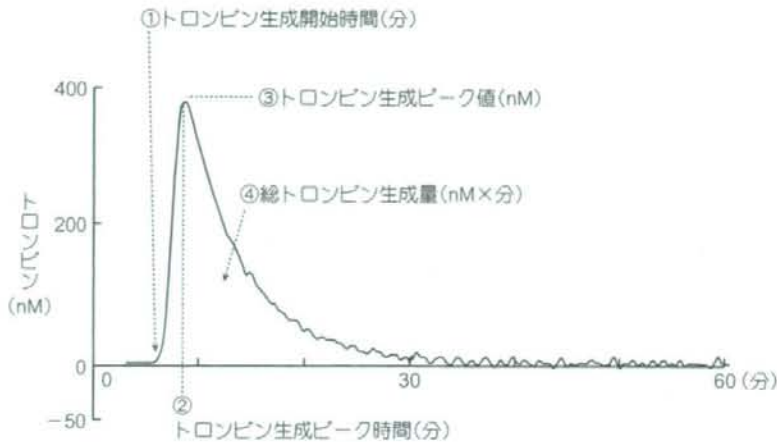


図4 正常血漿のトロンボグラムとパラメーター

正常血漿のトロンビン生成率をモニタリングすることによりトロンボグラムが得られる。さらに、パラメーターにより定量的なトロンビン生成能の評価ができる。

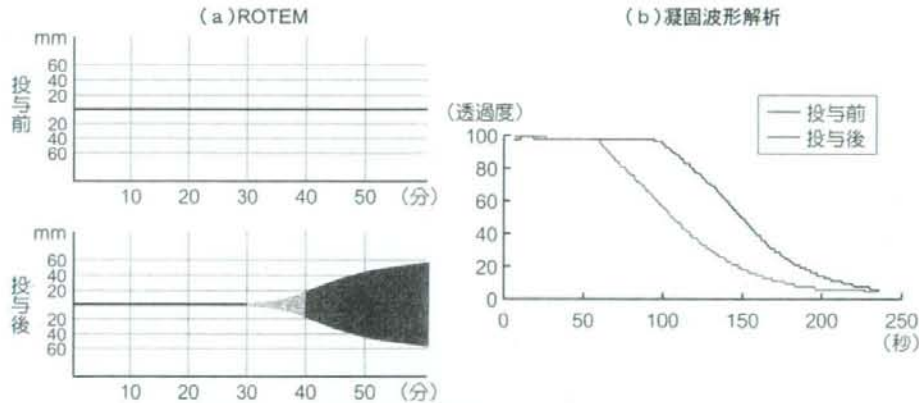


図5 rFVIIa投与前後のROTEMと凝固波形解析による凝固機能評価

HR (ハイレスポンド) タイプインヒビター保有血友病A症例に rFVIIa を 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与した際の凝固機能を ROTEM (a) および凝固波形解析 (b) で評価した。ROTEM では rFVIIa 投与後凝固時間 (CT) は短縮し、最大凝固弾性 (MCF) が増加した。凝固波形解析では投与後凝固時間は短縮し、最大凝固加速度も増加した。

3 トロンボエラストグラフィ (TEG, ROTEM) (図5)

TEG は以前より、凝固機能を全血で波形として評価できる方法で、インヒビター保有例の止血管理にも利用されていた。しかしながら、測定再現性に欠けること、また、定性的評価し

Ⅲ. 治療

かできないことなどの欠点があった。最近、TEGあるいはROTEMが全自動化され、また、凝固波形解析やトロンビン生成測定と同様に定量的パラメーターの算出も可能となった²⁰⁾。TEG/ROTEMはバイパス止血療法の有効性の判定に有用である。

おわりに

インヒビターとは補充療法の反復の結果、血友病患者に発生する抗第Ⅷ因子あるいは抗第Ⅸ因子同種抗体のことである。インヒビターが発生すると補充療法の止血効果は激減～消失する。インヒビター保有例の止血療法はインヒビターの力価や反応性により凝固因子製剤あるいはバイパス製剤が選択される。インヒビター力価が<5 BU/mLのローレスポonderタイプでは凝固因子製剤の続行が第一選択であるが、≥5 BU/mLのハイレスポonderでは重篤な出血症状や外科手術時の止血管理を除いてバイパス製剤が第一選択になる。現在、わが国で使用されているバイパス製剤は活性型プロトロンビン複合体製剤(aPCC)と遺伝子組換え活性型第Ⅶ因子因子製剤(rFⅦa)である。最近、バイパス止血治療の進歩により、人工関節置換術など外科手術の実施例が増加している。また、活性型第Ⅶ因子因子製剤の高用量投与やバイパス製剤による予防投与の有効性も報告されており、インヒビター陽性例の止血療法のさらなる進歩が期待される。

(嶋 緑倫)

◀ 文 献 ▶

- 1) Shima M : Characterization of factor Ⅷ inhibitors. *Int J Hematol* 83 (2) : 109-118, 2006
- 2) Kasper CK, Aledort L, Aronson D, et al : Proceedings : A more uniform measurement of factor Ⅷ inhibitors. *Thromb Diath Haemorrh* 34 (2) : 612, 1975
- 3) Verbruggen B, Novakova I, Wessels H, et al : The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor Ⅷ : C inhibitors : improved specificity and reliability. *Thromb Haemost* 73 : 247-251, 1995
- 4) White GC 2nd, Rosendaal F, Aledort LM, et al : Definitions in hemophilia. Recommendation of the scientific subcommittee on factor Ⅷ and factor Ⅸ of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Hemost* 85 (30) : 560, 2001
- 5) 田中一郎, 天野景裕, 瀧 正志ほか : インヒビター保有先天性血友病患者に対する止血治療ガイドライン. *日本血栓止血誌* 19 (4) : 520-539, 2008
- 6) 鈴木隆史, 松下 正, 堀越泰雄ほか : 日本血栓止血学会学術標準化委員会血友病部会報告 血友病製剤 2007 年度版(改訂版). *日本血栓止血誌* (投稿予定)
- 7) Inoue T, Shima M, Takeyama M, et al : Higher recovery of factor Ⅷ (FⅧ) with intermediate FⅧ /von Willebrand factor concentrate than with recombinant FⅧ in a haemophilia A patient with an inhibitor. *Haemophilia* 12 : 110-113, 2006
- 8) 松下 正, 天野景裕, 瀧 正志ほか : インヒビターのない血友病患者の急性出血, 処置・手術における凝固因子補充療法のガイドライン. *血栓止血誌* 19 (4) : 510-519, 2008

- 9) Turecek PL, Váradi K, Gritsch H, et al : FEIBA : mode of action. *Haemophilia* 10 (suppl) 2 : 3-9, 2004
- 10) Negrier C, Goudemand J, Sultan Y, et al : Multicenter retrospective study on the utilization of FEIBA in France in patients with factor VIII and factor IX inhibitors. French FEIBA Study Group. Factor Eight Bypassing Activity. *Thromb Haemost* 77 (6) : 1113-1119, 1997
- 11) DiMichele D, Négrier C : A retrospective postlicensure survey of FEIBA efficacy and safety. *Haemophilia* 12 (4) : 352-362, 2006
- 12) Kraut EH, Aledort LM, Arkin S, et al : Surgical interventions in a cohort of patients with haemophilia A and inhibitors : an experiential retrospective chart review. *Haemophilia* 13 (5) : 508-517, 2007
- 13) Ehrlich HJ, Henzl MJ, Gomperts ED : Safety of factor VIII inhibitor bypass activity (FEIBA) : 10-year compilation of thrombotic adverse events. *Haemophilia* 8 (2) : 83-90, 2002
- 14) Hayashi T, Tanaka I, Shima M, et al : Unresponsiveness to factor VIII inhibitor bypassing agents during haemostatic treatment for life-threatening massive bleeding in a patient with haemophilia A and a high responding inhibitor. *Haemophilia* 10 (4) : 397-400, 2004
- 15) Yoshioka A, Kamisue S, Tanaka I, et al : Anamnestic response following infusion of prothrombin complex concentrates (PCC) and activated prothrombin complex concentrates (APCC) in haemophilia A Patients with inhibitors. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2 : 51-58, 1991
- 16) Hoffman M, Monroe DM 3rd : A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 86(6) : 958-965, 2001
- 17) Monroe DM, Hoffman M, Oliver JA, et al : Platelet activity of high-dose factor VIIa is independent of tissue factor. *Br J Haematol* 99 (3) : 542-547, 1997
- 18) Roberts HR, Monroe DM, White GC : The use of recombinant factor VIIa in the treatment of bleeding disorders. *Blood* 104 (13) : 3858-3864, 2004
- 19) Bajzar L, Manuel R, Nesheim ME : Purification and characterization of TAFI, a thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. *J Biol Chem* 270 (24) : 14477-14484, 1995
- 20) Hedner U, Glazer S, Pingel K, et al : Successful use of recombinant factor VIIa in patient with severe haemophilia A during synovectomy. *Lancet* 2 (8621) : 1193, 1988
- 21) Lusher JM, Roberts HR, Davignon G, et al : A randomized, double-blind comparison of two dosage levels of recombinant factor VIIa in the treatment of joint, muscle and mucocutaneous haemorrhages in persons with haemophilia A and B, with and without inhibitors. rFVIIa Study Group. *Haemophilia* 4 (6) : 790-798, 1998
- 22) Shapiro AD, Gilchrist GS, Hoots WK, et al : Prospective, randomised trial of two doses of rFVIIa (NovoSeven) in haemophilia patients with inhibitors undergoing surgery. *Thromb Haemost* 80 (5) : 773-778, 1998
- 23) Lusher JM : Recombinant factor VIIa (NovoSeven) in the treatment of internal bleeding in patients with factor VIII and IX inhibitors. *Haemostasis* 26 (suppl 1) : 124-130, 1996
- 24) Villar A, Aronis S, Morfini M, et al : Pharmacokinetics of activated recombinant coagulation factor VIII (NovoSeven) in children vs. adults with haemophilia A. *Haemophilia* 10 (4) : 352-359, 2004
- 25) Santagostino E, Gringeri A, Mannucci PM : Home treatment with recombinant activated factor VIII in patients with factor VIII inhibitors : the advantages of early intervention. *Br J Haematol* 104 (1) : 22-26, 1999
- 26) Lusher JM : Acute hemarthroses : the benefits of early versus late treatment with recombinant activated factor VIII. *Blood Coagul Fibrinolysis* 11 (suppl 1) : S45-49, 2000
- 27) Lusher JM : Recombinant activated factor VIII for treatment of intramuscular haemorrhages : a comparison of early versus late treatment. *Blood coagul Fibrinolysis* 9 (suppl 1) : S111-114, 1998

Ⅲ. 治療

- 28) Lusher J, Ingerslev J, Roberts H, et al: Clinical experience with recombinant factor VIIa. *Blood coagul fibrinolysis* 9 (2) : 119-128, 1998
- 29) Scharrer I: Recombinant factor VIIa for patients with inhibitors to factor VIII or IX or factor VII deficiency. *Haemophilia* 5 (4) : 253-259, 1999
- 30) Rodriguez-Merchan EC, Wiedel Jd J, Wallny T, et al: Elective orthopedic surgery for hemophilia patients with inhibitors: New opportunities. *Semin Hematol* 41 (1 suppl 1) : 109-116, 2004
- 31) Obergfell A, Auvinen MK, Mathew P: Recombinant activated factor VII for haemophilia patients with inhibitors undergoing orthopaedic surgery: a review of the literature. *Haemophilia* 14 (2) : 233-241, 2008
- 32) Schulman S, Bech Jensen M, Varon D, et al: Feasibility of using recombinant factor VIIa in continuous infusion. *Thromb Haemost* 75 (3) : 432-436, 1996
- 33) Mauser-Bunschoten EP, Koopman MM, Goede-Bolder AD, et al: Recombinant Factor VIIa Data Collection Group: Efficacy of recombinant factor VIIa administered by continuous infusion to haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 8 (5) : 649-656, 2002
- 34) Ludlam CA, Smith MP, Morfini M, et al: A prospective study of recombinant activated factor VII administered by continuous infusion to inhibitor patients undergoing elective major orthopaedic surgery: a pharmacokinetic and efficacy evaluation. *Br J Haematol* 120 (5) : 808-813, 2003
- 35) Abshire T, Kenet G: Recombinant factor VIIa: review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. *J Thromb Haemost* 2 (6) : 899-909, 2004
- 36) Astermark J, Donfield SM, DiMichele DM, et al: A randomized comparison of bypassing agents in hemophilia complicated by an inhibitor: the FEIBA NovoSeven Comparative (FENOC) Study. *Blood* 109 (2) : 546-551, 2007
- 37) Astermark J, Rocino A, Von Depka M, et al: EHTSB: Current use of by-passing agents in Europe in the management of acute bleeds in patients with haemophilia and inhibitors. *Haemophilia* 13 (1) : 38-45, 2007
- 38) DiMichele DM, Kroner BL: North American Immune Tolerance Study Group: The North American Immune Tolerance Registry: practices, outcomes, outcome predictors. *Thromb Haemost* 87 (1) : 52-57, 2002
- 39) DiMichele DM, Hay CR: The international immune tolerance study: a multicenter prospective randomized trial in progress. *J Thromb Haemost* 4 (3) : 501-502, 2006
- 40) Sawamoto Y, Shima M, Yamamoto M, et al: Measurement of anti-factor IX IgG subclasses in haemophilia B patients who developed inhibitors with episodes of allergic reactions to factor IX concentrates. *Thromb Res* 83 (4) : 279-286, 1996
- 41) Shibata M, Shima M, Misu H, et al: Management of haemophilia B inhibitor patients with anaphylactic reactions to FIX concentrates. *Haemophilia* 9 (3) : 269-271, 2003
- 42) Parameswaran R, Shapiro AD, Gill JC, et al: HTRS Registry Investigators: Dose effect and efficacy of rFVIIa in the treatment of haemophilia patients with inhibitors: analysis from the Hemophilia and Thrombosis Research Society Registry. *Haemophilia* 11 (2) : 100-106, 2005
- 43) Kenet G, Lubetsky A, Luboshitz J, et al: A new approach to treatment of bleeding episodes in young hemophilia patients: a single bolus megadose of recombinant activated factor VII (NovoSeven). *J Thromb Haemost* 1 (3) : 450-455, 2003
- 44) 白幡 聡, 嶋 緑倫, 岡 敏明ほか: 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. *日本血栓止血誌* 19 : 244-256, 2008
- 45) Leissinger CA, Becton DL, Ewing NP, et al: Prophylactic treatment with activated prothrombin

- complex concentrate (FEIBA) reduces the frequency of bleeding episodes in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors. *Haemophilia* 13 : 249-255, 2007
- 46) Konkle BA, Ebbesen LS, Erhardtson E, et al : Randomized, prospective clinical trial of recombinant factor VIIIa for secondary prophylaxis in hemophilia patients with inhibitors. *J Thromb Haemost* 5 (9) : 1904-1913, 2007
 - 47) Schneiderman J, Nugent DJ, Young G : Sequential therapy with activated prothrombin complex concentrate and recombinant factor VIIIa in patients with severe haemophilia and inhibitors. *Haemophilia* 10 (4) : 347-351, 2004
 - 48) Schneiderman J, Rubin E, Nugent DJ, et al : Sequential therapy with activated prothrombin complex concentrates and recombinant FVIIIa in patients with severe haemophilia and inhibitors : update of our previous experience. *Haemophilia* 13 (3) : 244-248, 2007
 - 49) Shima M, Matsumoto T, Ogiwara K : New assays for monitoring haemophilia treatment. *Haemophilia* 14 (suppl 3) : 83-92, 2008
 - 50) Shima M, Matsumoto T, Fukuda K, et al : The utility of activated partial thromboplastin time (aPTT) clot waveform analysis in the investigation of hemophilia A patients with very low levels of factor VIII activity (FVIII : C). *Thromb Haemost* 87 (3) : 436-441, 2002
 - 51) Matsumoto T, Shima M, Takeyama M, et al : The measurement of low levels of factor VIII or factor IX in hemophilia A and hemophilia B plasma by clot waveform analysis and thrombin generation assay. *J Thromb Haemost* 4 (2) : 377-384, 2006
 - 52) Hemker HC, Giesen PL, Ramjee M, et al : The thrombogram : monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma. *Thromb Haemost* 83 (4) : 589-591, 2000
 - 53) Sørensen B, Johansen P, Christiansen K, et al : Whole blood coagulation thrombelastographic profiles employing minimal tissue factor activation. *J Thromb Haemost* 1 (3) : 551-558, 2003

5. 今後の展望

1) 凝固因子製剤改良の方向性

はじめに

血友病Aの止血治療は、血液凝固第Ⅷ因子製剤の輸注が基本となる。わが国における第Ⅷ因子製剤の歴史は、1967年のCohn分画製剤導入に始まり、1972年のクリオプレシビテート製剤、1979年の高単位濃縮製剤、1988年のモノクローナル抗体による純化精製製剤の上梓へとつながった。一方、血友病Bの止血治療に必要な血液凝固第Ⅸ因子製剤については、1972年、第Ⅸ因子複合濃縮製剤の導入に始まり、1992年にはモノクローナル抗体精製高純度濃縮製剤が発売された。また、インヒビター保有の血友病患者の治療製剤として、1984年から血液凝固因子抗体迂回活性製剤(いわゆるバイパス製剤)が使用できるようになった。これら凝固因子製剤の普及により血友病患者の止血管理は容易になり、1983年の家庭治療(自己注射)の認可と相まって血友病患者のQOL(quality of life:生活の質)は大幅に向上した。しかし、濃縮製剤は数千人のドナー血漿を混和して原材料としているため、多くの血友病患者が凝固因子製剤を介してB型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルスなどに感染した。

表1 血漿分画製剤の安全対策

・問診によるハイリスク者の排除	
・コールバック制度の導入	
・スクリーニングテストの実施	
・核酸増幅テストの実施	
・原料血漿の貯留保管	
・ウイルス不活化/除去操作の導入	
液状加熱処理	低pH処理
乾燥加熱処理	スルホ化処理
蒸気加熱処理	光照射
溶媒/洗浄処理(SD処理)	ウイルス除去膜の使用
低温エタノール処理	

この深刻な状況を受けて、凝固因子製剤による感染の回避に向けて様々な取り組みが行われた(表1)。それらは大きく三つに分けることができる。すなわち、①安全な原料血漿の確保、②製造段階でのウイルスの不活化、③ヒトの血液を原料としない製剤の開発である。そして多様な安全対策が講じられた結果、血漿由来製剤においても血液媒介感染のリスクは限りなくゼロに近づいた。

1. 凝固因子製剤改良の方向性

現在では、安全な凝固因子製剤を有効に活用して血友病患者のQOLをいかに健康人に近づけるかが、われわれ医療者に課せられた大きなテーマになっている。

21世紀に入る前は、一部の諸国を除くと、凝固因子製剤は出血時および遠足や運動会などのイベント時の前に輸注するのが標準的投与方法であった。しかしこの方法では、度重なる関節内出血のために、重症型血友病患者の多くは20歳代を過ぎると血友病性関節症が進展し、身体活動が様々な制約を受けるようになる。そこで、血友病性関節症の予防を目的に凝固因子製剤を2歳頃から定期的に補充する方法が拡がりつつある。いわゆる一次定期補充療法であるが、ここで問題となるのは、特に幼児に輸注する際の血管確保の難しさである。年長～青年期の患者でも、頻回の輸注の煩わしさからくるアドヒアランスの著しい低下が問題となっている。したがって、本人はもとより、幼児～年少児に輸注を行う保護者の負担を軽減し得る製剤の開発が求められている。

繰り返しになるが、優れた凝固因子製剤の開発により、血友病の補充療法は満足すべき水準に達している。一方、インヒビターが発現した患者の止血治療は未だに難渋することが少なくないので、さらに止血効果が強く、使いやすいバイパス製剤の開発が必要である。バイパス製剤以外では、ブタ第Ⅷ因子製剤の改良やインヒビターで中和されない変異型第Ⅷ(X)因子を動物細胞に発現させる研究が模索されている。と同時に、インヒビターがでにくい製剤の開発も求められている。後述する二相性モノクローナル抗体を用いた第Ⅷ因子代替製剤の研究は、その足掛かりとなる大変ユニークな取り組みである。

第3の方向性は、生産量の増大とそれに伴うコストの削減である。高純度濃縮製剤の8割近くは、全血友病患者の2割に相当する先進国居住者によって使用されている事実が示すように、発展途上国を含めてすべての血友病患者が遍く優れた凝固因子製剤の恩恵に与るためには、生産量の増大とそれに伴う低価格化が必要である。血漿由来の製剤については限界があるが、遺伝子組換え製剤については、十分可能性がある。

2. 利便性の改善に向けての取り組み

1 経口凝固因子製剤

遺伝子治療など血友病の根治療法は別として、夢の製剤は経口薬であろう。かつては、経口的に投与した凝固因子を消化管から吸収させる研究が試みられたが、高分子蛋白である第Ⅶ因子や第Ⅸ因子をそのままの状態でも効率的に血中に移行させることはきわめて難しく、経口薬の開発は進んでいない。凝固因子製剤ではないが、海藻から抽出された硫酸ポリサッカライドファミリーのひとつである AV513 は、低濃度で tissue factor pathway inhibitor(外因系凝固阻害因子)を阻害して組織因子によるトロンビン生成を誘導する。この外因系凝固機序の活性化作用は、内因系が遮断されている血友病患者にとって、止血補助剤として役立つ可能性がある。事実、AV513 を重症血友病 A のイヌに 1 日 2 回経口投与したところ、投与量に応じて出血時間の短縮と全血 TEG (thromboelastograph : 血栓弾性記録計) での R 時間 (反応時間) の短縮が観察されたという¹⁾。

表 2 長時間作用型製剤開発の方法

開発戦略	期待される効果	コメント
PEG ポリマー結合製剤	半減期の延長	<ul style="list-style-type: none"> 他の製剤での実績がある 免疫原性が低下する 第Ⅶ因子の特異活性が低下する VWF との結合能が低下する
PEG 化リボソーム結合製剤	半減期の延長	<ul style="list-style-type: none"> 他の製剤での実績がある 第Ⅶ因子の構造そのものは変化させない 薬物動態は、第Ⅶ因子を修飾した時と比べて改善が少ない
シアル酸含量を増やした製剤	半減期の延長	<ul style="list-style-type: none"> 他の製剤での実績がある 免疫原性が低下する VWF との結合能が低下する
不活化されにくくした製剤	こわれにくくなり、活性が長く続く	<ul style="list-style-type: none"> 第Ⅶ因子の特異活性が高い 活性化プロテイン C で不活化されにくい VWF との結合能が低下する 免疫原性が亢進する(?) 向血栓性がある(?)
血中から除去される時の受容体を変化させて、代謝されにくくした製剤	代謝速度が遅くなり、半減期が延長する	<ul style="list-style-type: none"> VWF との結合能が保持される 第Ⅶ因子の特異活性が低下する(?) 免疫原性が亢進する(?)

2 長時間作用型製剤²⁾

経口薬に代わって、現在、製薬企業がしのぎを削っているのは半減期の長い製剤の開発である。

凝固因子製剤の半減期を延長させるためのアプローチとして、① ポリエチレングリコール (PEG: polyethylene glycol) を付加する方法、② シアル酸含量を増やす方法、③ 分解あるいは不活化されにくくする方法、④ 血中から除去される時の受容体を変化させて代謝されにくくする方法、⑤ 第Ⅷ (K) 因子代替製剤の開発などが考えられる。それぞれの手法の利点と欠点を表2にまとめた。このなかで最も進んでいるのはインターフェロンなど他剤で十分実績のあるPEGを付加する方法であるが、第Ⅷ (K) 因子に単純にPEGだけを付加すると、蛋白としての半減期が延長する一方、PEGと結合した第Ⅷ因子は von Willebrand (フォン ヴィレブランド) 因子 (VWF) との相互作用が阻害されるため、凝固活性が著しく低下してしまう。そこで、活性を保持しつつ半減期を延長させるための様々な研究が実施されている。

現在、臨床治験に入っているのは、リボソームの外部表面にPEGを介して第Ⅷ因子を非共

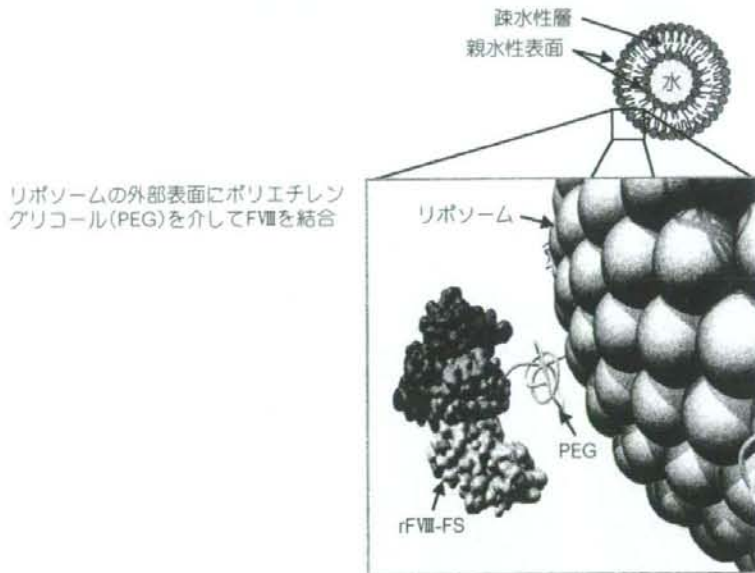


図1 PEG化リボソーム結合第Ⅷ因子製剤 (BAY79-4980) の構造

PEG (ペグ; ポリエチレングリコール) を介してリボソームに遺伝子組換え第Ⅷ因子を非共有結合させた製剤。マウスでは半減期の延長がみられたが、ヒトでの検討ではPEGを付加していない製剤 (コージネイト® FS) との間で薬物動態の差はみられなかった。

Ⅲ. 治療

有結合させた製剤 (PEG 化リボソーム結合製剤) である (図 1)¹⁾。本剤は、ヒトでの薬物動態試験で、輸注後の第Ⅷ因子活性の推移が従来の製剤と差がなかったものの、パイロット試験で、輸注後に出血が起こらなかった期間が従来の製剤と比べて有意に延長していた (図 2)¹⁾。そこで、米国、カナダ、EU 諸国で、今夏、表 3 に示したデザインで臨床試験が開始された。この結果、それぞれの製剤投与群の間で出血の頻度に差がなければ、現在、標準的な方法となっている週 3 回の定期輸注を週 1 回に減らすことができる。

開発段階にある PEG 付加第Ⅷ因子製剤として、プロドラッグのコンセプトに立った PEG 遊

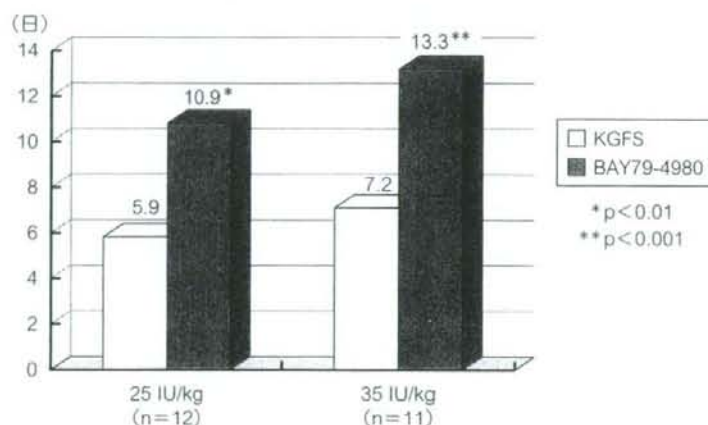


図 2 PEG 化リボソーム結合第Ⅷ因子製剤と従来の製剤を輸注後、出血が起こらなかった期間の比較

PEG 化リボソーム製剤 (BAY79-4980) と従来の製剤 (KGFS) を輸注後、次の出血が起こるまでの期間を比較したところ、25 単位/kg 投与群と 35 単位/kg 投与群のいずれにおいても BAY79-4980 投与群の方が 2 倍近く長かった。

表 3 PEG 化リボソーム結合製剤臨床試験のデザイン

- 1) 米国、カナダ、EU の 14 カ国 66 施設で、2008 年夏、第Ⅱ相試験を開始した。
- 2) 対象患者を無作為に 2 群に分け、A 群には治験薬を 35 単位/kg 輸注する。一方、B 群には、外見上治験薬 (不透明) そっくり改造したコージネイト® FS 25 単位/kg を輸注する。
- 3) 1 回目引き続き A、B 両群ともにそれぞれ中 1 日において 2 回輸注する。この際、B 群ではラベルをはがした通常のコージネイト® FS 25 単位/kg を投与し、A 群では外見上コージネイト® FS と区別がつかない第Ⅷ因子を含有していないプラセボ製剤を投与する。
- 4) すなわち、A 群、B 群ともに週 3 回輸注されることになるが、どちらの製剤を投与されたのかは担当医師にも患者にもわからないようにする。
- 5) この定期補充療法を一定期間続け、その間の出血、特に関節内出血の頻度を両群で比較する。
- 6) なお、この間に出血した時は、A 群では治験薬を B 群では不透明に改造したコージネイト® FS を輸注する。

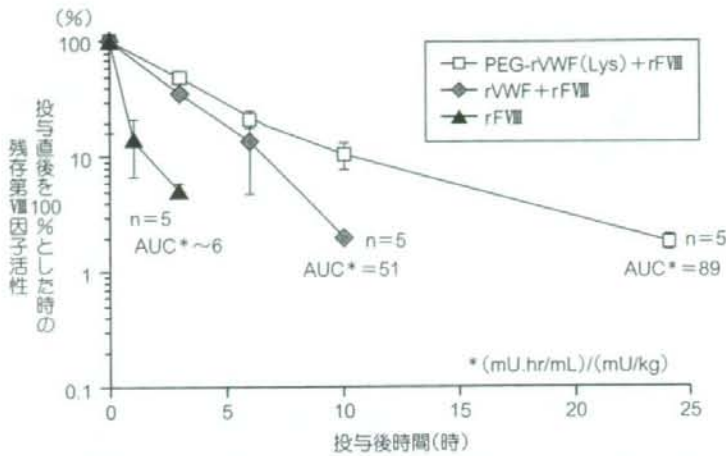


図3 第Ⅶ因子/VWFダブルノックアウトマウスにおけるPEG化遺伝子組換えVWFの第Ⅶ因子半減期への影響

AUC: (血中)濃度-時間曲線下面積

第Ⅶ因子とVWF(フォンヴィレブランド因子)のダブルノックアウトマウスに、PEG化した遺伝子組換えVWF製剤(rVWF)+遺伝子組換え第Ⅶ因子製剤(rFⅦ)、PEG化していないrVWF+rFⅦ、rFⅦのみをそれぞれ輸注して第Ⅶ因子活性の推移を観察したところ、rVWF+rFⅦと比べてPEG-rVWF+rFⅦの半減期が有意に延長していた。投与量はいずれの薬剤も100単位/kg。

離型第Ⅶ因子製剤がある。前述したように、第Ⅶ因子はPEGと結合すると特異活性が失活する。一方、20～60 kDaの分枝鎖をもつPEGと遺伝子操作により修飾した第Ⅶ因子を結合させると、体内に入ってからPEGが徐々に遊離し、第Ⅶ因子は特異活性を回復する。血友病Aマウスの実験では、1%以上の第Ⅶ因子残存時間は現在の製剤より2倍以上延長していた³⁾。

また、間接的修飾方法として、遺伝子組換えVWF(rVWF)による第Ⅶ因子の半減期延長が試みられている。第Ⅶ因子とVWFの両者をノックアウトしたマウスにPEG化rVWFと第Ⅶ因子を静注すると、標準製剤に比べて血中半減期が延長する(図3)⁹⁾。

半減期を延長させる研究は、第Ⅸ因子製剤においても進んでいる。その主なアプローチは第Ⅸ因子と同様にPEGを付加する方法と、IgG(immunoglobulin G:免疫グロブリンG)のFc領域を結合させる方法である。遺伝子組換え第Ⅸ因子にIgGのFc領域を結合させた融合蛋白の血中半減期は、血友病Bマウスで52時間(従来の製剤の半減期13時間)、ラットで39時間(同6時間)、イヌで47時間(同14～18時間)、サルで50時間(12.7時間)と報告されている¹⁾。

代表的なバイパス製剤である遺伝子組換え活性型第Ⅶ因子製剤(rFⅦa)の半減期は成人で2.7時間、小児で1.3時間ときわめて短いため、止血をはかるためには2～3時間ごと、2～3

Ⅲ. 治療

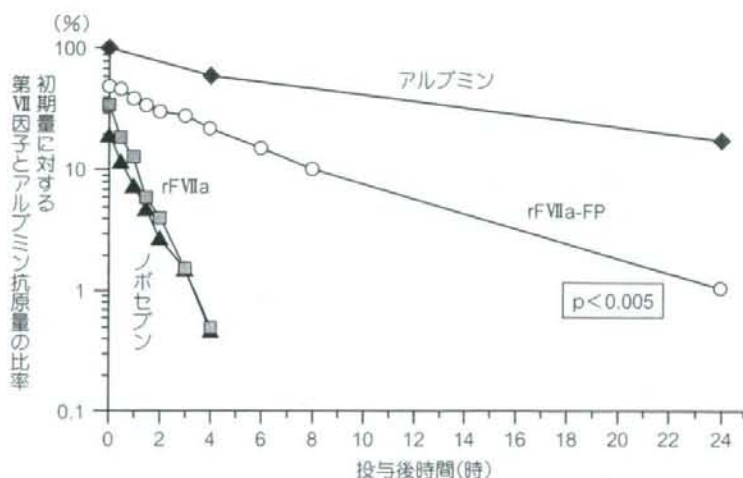


図4 アルブミン付加活性型第Ⅶ因子製剤とノボセブタン®の血中半減期の比較
アルブミンを融合させた遺伝子組換え活性型第Ⅶ因子製剤(rFVIIa-FP)と、アルブミンを付加していないrFVIIa、ノボセブタン®をそれぞれラットに輸注して、第Ⅶ因子抗原量の推移を検討したところ、アルブミンを融合することで第Ⅶ因子抗原量の半減期が有意に延長した。

回の輸注が必要である。このため、本剤についても半減期を延長させる製剤の開発が進められている。その主要なアプローチは、①PEG化リポソームを付加する方法⁹⁾、②アルブミンを付加する方法、③N-グリカングループを付加する方法で、図4にアルブミン付加rFVIIaと従来の製剤についてマウスを使って薬物動態を比較した成績を示した⁹⁾。この融合製剤は活性を保持していることも証明されている。

3 皮下注製剤

現在のrFVIIaをさらに濃縮した皮下注製剤が開発されている。本剤では半減期も延長するので、静注の回避と併せて二重の利便性が期待できる¹⁰⁾。

3. 止血作用の強い製剤の開発

前述したように、現在のバイパス製剤はインヒビター陰性例に対する補充療法と比較すると止血効果はかなり劣っていて、満足すべきレベルに達していない。そこで、バイパス活性を高めた3製剤が臨床治験に入っている。その1つはわが国で開発された製剤(MC710)で、活性型第Ⅶ因子(FVIIa)とその天然基質である第Ⅹ因子(FX)を1:10の重量比で含有している。

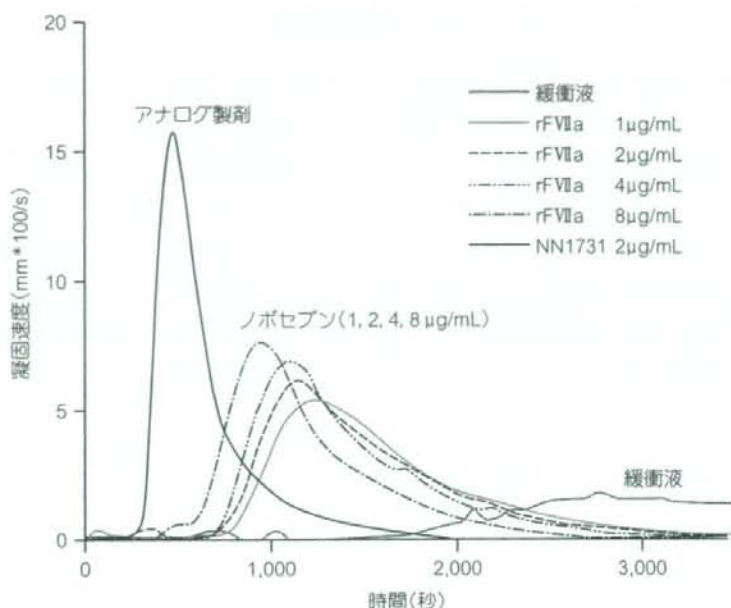


図5 第Ⅷ因子インヒビター保有患者血漿におけるノボセブン® 対同アナログ製剤の全血凝固時間短縮効果

後天性第Ⅷ因子インヒビターを保有する患者血漿に緩衝液、ノボセブン®, 同アナログ製剤 (NN1731) を加えて凝固速度を観察した。ノボセブン® は1~8 μg/mLの範囲で凝固速度を加速したが、2 μg/mLのNN1731は正常血漿とほぼ同じ状態まで凝固速度を加速した。

FXを加えることでFVIIaのトロンビン産生能が高まるだけでなく、FXの生体内半減期がFVIIaよりも長いことから、FVIIa単独製剤よりも止血効果の持続性が長くなることが期待できる¹¹⁾。そこで本剤を用いて臨床薬理試験を実施したところ、*in vitro*の測定系ではFVIIa単独と比べてトロンビン産生能が増加し、かつ、その持続時間が長いことが明らかになった。安全性についても特段の問題はなく、わが国初の新規バイパス製剤として期待される。

もう1つは、野生型rFVIIaに対してV158D/E296V/M298Qの変異をもつアナログ製剤 (NN1731)である^{12,13)}。本変異型rFVIIaの組織細胞上でのFX活性化能は野生型と差がないが、活性化血小板上ではFXを野生型の30倍活性化する。同様に、トロンビンを4~10倍多く産生する(図5)。また、第Ⅷあるいは第Ⅸ因子欠乏下で凝固時間を短縮させるが、それに必要な濃度は野生型rFVIIaの1/50である。これらの特性を活用すべく、NN1731の国際臨床試験が始まっている。さらにFVIIのGla(γ-カルボキシグルタミン酸)ドメインの分布を変えて、FVIIaを血小板に結合しやすくさせることによりバイパス活性を高めた製剤(MAXY-VII)が第I相試験に入っている¹⁴⁾。

4. インヒビターができにくい製剤の開発

遺伝子組換え技術を用いて免疫原性が低い変異型製剤を開発する試みは、今のところ見るべき成果が上がっていないようである。一方、これまでと全く異なるコンセプトに基づく第Ⅷ因子代替製剤が開発途上にある。本剤は、第Ⅷ因子が活性化第Ⅸ因子とその基質である第Ⅹ因子を近接させることによって cofactor (補因子) 機能を発揮することに着目し、活性化第Ⅸ因子に対するモノクローナル抗体と第Ⅹ因子に対するモノクローナル抗体を融合させた二相性抗体である^{15,16)}。向血栓作用の有無などクリアすべき問題は多いが、本剤ではインヒビターができにくいと同時に、第Ⅷ因子に対するインヒビターを保有している患者の止血治療にも使えることから、今後の発展を期待したい。

5. 生産性を高めるための方向性¹⁷⁾

第Ⅷ因子はBドメインを除去してもその活性を失わない。Bドメインを除去すると、野生型(フルレングス)の第Ⅷ因子と比較して mRNA (メッセンジャーリボ核酸) は 17 倍、一次翻訳物は 15 倍に増加する。しかし、Bドメインは蛋白翻訳後の効率的な修飾と円滑な分泌に重要な役割を果たしているため、蛋白分泌量はほとんど増加しない。そこで、Bドメイン除去第Ⅷ因子にBドメイン内の 226 個のアミノ酸だけ戻した製剤 (226/N6-FⅧ) が開発された。本剤は野生型第Ⅷ因子と比較して 30 倍も分泌効率が高い。226/N6-FⅧを用いてトランスジェニックマウスの乳腺に遺伝子を導入したところ、第Ⅷ因子が高濃度で乳汁中に分泌された。今後、ウシなど大型哺乳動物への導入が成功すれば、遺伝子組換え第Ⅷ因子製剤の生産は飛躍的に増加し、大幅なコストダウンが可能になるかも知れない。

おわりに

あらためていうまでもなく、血友病治療のゴールは、肝移植、遺伝子治療、肝ティッシュエンジニアリング、多能性幹細胞移植などによる治療である。その詳細は別章に譲るが、ひと昔前にその実施が現実味を帯びていた遺伝子治療は、重症複合型免疫不全症の患者で高率に白血病あるいは白血病類似疾患が発症したことなどの理由で、ヒトへの実施が頓挫している。その他の根治治療にしても、まだまだ道半ばの感が否めないで、この空白を埋めるべく、更に利便性の高い製剤を安定して大量に供給できる製造体制の発展を期待したい。

(白幡 聡)