

200940021A

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 21 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 22 (2010) 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

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 9
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 25
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 31
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 37
嶋 緑倫

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 43

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あり、解決すべき重大な合併症はインヒビター（同種抗体）の発生である。しかし、わが国ではインヒビターに関する nation-wide なデータはもちろん、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並行して、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する。加えてインヒビター検出・診断の検査法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 研究の詳細は II. 分担研究報告書を参照されたい。

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：インヒビター発生患者の実態調査（J-HIS 1）と 20 歳未満血友病患者のインヒビター発生に関する後方視的研究（J-HIS1/U20）」を実施した。

その結果、J-HIS1 では、解析可能症例が 106 例集積され、このうち 53 例（50%）でインヒビターが消失していた。消失率に対する各種要因の影響についてロジスティック回帰分析を行ったところ、インヒビター発生までの治療方法（止血時投与か定期補充療法か）と、インヒビター最高値の影響が特に強いと考えられた。

J-HIS1/U20 では、インヒビター発生に関する補充療法関連の要因、特に、血漿由来製剤と遺伝子組換え製剤でのインヒビター発生の影響について、解析を行った。解析可能であった血友病 A 153 例中のインヒビター発生例は 41 例（26.8%）であったが、血漿由来製剤と遺伝子組換え製剤の間で、インヒビター発生率に差はなかった。

2. 第 2 研究として「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」を実施した。本前方視的調査研究により、計 40 例（血友病 A 38 例、血友病 B 2 例）の登録とデータ収集が可能であった。症例数が少ないことから、今回のデータ解析では有意な要因分析は不可能であったが、今後も継続して新規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ことが可能と考えられた。

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」を実施した。その結果、正常プール血漿に 1/20 量の 2N 緩衝化イミダゾールを添加する Tokyo 変法を設定した。今後、サーベイランス作業によって本変法の普遍性を検証し、施設間較差を解消する必要がある。

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（第 4 研究）」では、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、13 人（13 家系）の遺伝子解析を行った。さらに、14 人（10 家系）の保因者診断を行った。

また、インヒビターの抑制機序に関する検討を行った。血友病 A の凝固能を *in vivo* の細胞基盤モデルに基づいて評価する方法として、トロンビン生成測定の有用性を検討した。組織因子にエラジン酸を添加する測定系が、極めて有用性が高いと判明した。

【分担研究者】

白幡 聡（北九州総合病院 副院長）
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）
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（静岡県熱海健康福祉センター医監兼熱海保健所 所長）
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（愛知県赤十字血液センター 所長）
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】

濱口 功（国立感染症研究所血液・安全性研究部 部長）
堀越泰雄（静岡県立こども病院血液腫瘍科 医長）
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）

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) の第 VIII 因子 (FVIII)、または第 IX 因子 (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）するインヒビター（同種抗体）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）があり、医師はもちろん、患者や企業にも動揺が拡がっており、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、その基礎となる血友病に特化した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。ここに、本研究班編成の目的と意義がある。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-HIS1) 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-HIS1/U20) を実施する。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、血漿由来製剤と遺伝子組換え製剤でのインヒビター発生の影響を解明する。また、インヒビター消失に関する要因についても検討する。

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-HIS2)。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。

わが国ではこれまで、全国レベルでの FVIII, FIX 測定法の共通化・標準化はもとより、FVIII, FIX インヒビター測定法の開発・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 測定法および、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血友病の正確な重症度診断とインヒビター力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う。

現在最もホットな議論となっている

インヒビター発生要因の分析は、日常の血友病診療では早急に対応・解決すべき重要な課題の一つである。患者側要因としては FVIII, FIX 遺伝子解析や蛋白構造と機能相関の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、より正確な検査、解析情報の提供が可能となる。治療側要因としては、製剤の種類や投与法の比較検討により、インヒビター発生の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で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・独創的な点】

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 インヒビターの活性抑制機序の分析には、細胞基盤型モデルとしての組織因子とエラジン酸添加によるトロンビン生成試験の有用性が期待され、インヒビター発生要因の解析や発生機序の解明に寄与しうる。

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)

(分担研究者：白幡 聡)

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)を実施する。インヒビターの実態把握に特化した後方視的全国調査である。本研究では協力者として国内 FVIII, FIX 製剤および、インヒビター用止血製剤の製造・販売企業の協力を求め、平成 19 年度に選定した CRO ((株)名古屋臨床薬理研究所)を介して全国調査を実施する。

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)

(分担研究者: 瀧 正志)

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。平成 19 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実施する。上記 1. と同様、委託 CRO と企業の協力の下に行う。

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)

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図るための方法論を討議し、計画して実施する。

具体的には、全自動血液凝固検査測定機器として ACL9000 を、APTT 試薬としてヒーモスアイエル APTT-SP を基準測定法および試薬として用いて、凝固一段法の標準化を図る。Bethesda 法と Nijmegen 変法を比較して、正常プール血漿に 1/20 量の 2N 緩衝化イミダゾールを添加する新しい Tokyo 変法を創出し、本

変法の普遍性を検証する。

5. 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)

(分担研究者: 嶋 緑倫)

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。

インヒビターの因子活性阻害機序について新たにトロンビン生成試験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。

【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) の

1) インヒビター発生患者の実態調査 (J-JIS1)

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-HIS1/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 19 年 11 月 1 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 日に承認済)。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に対応表を作成し、保管する（連結可能匿名化）。

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（分担研究者：福武勝幸）については基礎的な研究であり、個人情報が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。

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（分担研究者：嶋 緑倫）の実施にあたっては、対象となる患者・代諾者に十分な説明を行い、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（第1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]

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、調査を実施した。

「インヒビター発生患者の実態調査

（J-HIS1）」では、2年間にわたる調査の結果、目標症例数 150 例に対して、解析可能症例が 106 例（70.7%）集積された。このうち、インヒビター消失例 53 例（50%）における、各種要因のロジスティック回帰分析から、インヒビター発生までの治療方法（出血時投与か定期補充療法か）とインヒビター最高値が、消失率に強い影響を与えることが判明した。「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/U20）」では、遺伝子組換え製剤が発売された 1988 年以降の治療歴を調査しうる患者の中で、製剤投与開始後 2 年間のインヒビター発生状況とインヒビター発生要因、特に、使用凝固因子製剤の種類によるインヒビター発生率の比較検討を行った。解析可能例は、血友病 A で 153 例で、発生は 41 例（26.8%）であった。解析の結果、インヒビター発生に及ぼす有意差のある背景因子としては、重症度と家系内のインヒビター保有血友病患者の存在の 2 つであった。今回の調査の最大の成果は、血漿由来第 VIII 因子製剤と遺伝子組換え第 VIII 因子製剤の両者でインヒビター発生率に差異を認めなかったことである。

本年度の J-HIS1 と J-HIS1/U20 の成果の詳細は、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（第2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]

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、調査を実施した。前方視的調査研究により、計 40 例（血友病 A が 38 例、血友病 B が 2 例）の登録とデータ収集が可能であった。症例数が少ないことから、今回のデータ解析では有意な要因分析は不可能で

あったが、今後も継続して新規患者の登録をデータベース化することで、今後の血友病治療における臨床研究の基盤整備を図る。本年度の J-HIS 2 の成果の詳細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（第 3 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 を基準測定系とし、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 変法を設定した。それは、正常プール血漿に 1/20 量の 2N 緩衝化イミダゾールを添加するものである。その成果の詳細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（第 4 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 A の分子生物学的解析では、一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 13 人（13 家系）の遺伝子解析をおこなった。さらに、14 人（10 家系）の保因者診断を行った。

血友病 A および血友病 B インヒビターの因子活性抑制機序に関する検討では、本年度は血友病 A の凝固能を *in vivo* の細胞基盤モデルに基づいて評価する方法としてトロンビン生成試験を考案した。その成果の詳細は、嶋報告書を参照のこと。

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）」のうち、「インヒビター発生患者の実態調査（J-HIS1）」では、2 年間にわたる調査の結果、目標症例数 150 例に対して、解析可能症例が 106 例（70.7%）集積された。このうち、インヒビター消失例 53 例（50%）における、各種要因のロジスティック回帰分析から、インヒビター発生までの治療方法（出血時投与か定期補充療法か）とインヒビター最高値が、消失率に強い影響を与えることが判明した。過去に、インヒビター発生要因に関して、患者側要因と治療側要因に関するリスクファクターの解析は数多くあるものの、本研究のごとき、インヒビター消失に関する要因の調査成績は極めて少なく、貴重なデータと考えられる。

また、第 1 研究のもう 1 つのパートである、「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/U20）」では、遺伝子組換え製剤が発売された 1988 年以降の治療歴を調査しうる患者の中で、製剤投与開始後 2 年間のインヒビター発生状況とインヒビター発生要因、特に、使用凝固因子製剤の種類によるインヒビター発生率の比較検討を行った。解析可能例は、血友病 A で 153 例で、発生は 41 例（26.8%）であった。解析の結果、インヒビター発生に及ぼす有意差のある背景因子としては、重症度と家系内のインヒビター保有血友病患者の存在の 2 つであった。一方、出血時投与に比べて定期補充療法を受けている患者では、インヒビター発生率が低いという既報告があるが、本研究では両者に差はなかった。

今回の調査の最大の成果は、血漿由来第 VIII 因子製剤と遺伝子組換え第 VIII 因子製剤の両方でインヒビター発生率に差異を認めなかったことである。

「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)」は、前方視的研究である。2008~2009年の2年間で計40例(血友病A 38例、B 2例)の登録とデータ収集が行われた。この数は、目標症例数100例/年を大きく下回っており、今回のデータ解析では有意な要因分析は不可能であった。今後、継続して新規患者の登録とデータベース化を図る必要がある。

「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、わが国では初の第VIII、第IX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。本研究では、まずインヒビター力値測定的前提となる、第VIII、第IX因子測定法の標準化が必要であった。昨年度と本年度で、測定機器(ACL9000)とAPTT試薬ヒモスアイエルAPTT-SPを基準測定系と定め、インヒビター力値測定法としてTokyo変法を設定した。キーポイントは、正常プール血漿に1/20量の2N緩衝化イミダゾールを添加することであった。今後、サーベイランス作業によって本変法の普遍性を検証し、施設間較差を解消する必要がある。

「インヒビターの発生要因の分析と発生機序の解明に関する研究(第4研究)」では、まず、昨年度においてインヒビター発生の患者側要因として重要と考えられる第VIII因子遺伝子の解析法を検討し、直接シーケンス法が迅速かつ正確で、多数症例の遺伝子解析が可能であることを確認した。本年度は13人(13家系)の解析を行い、加えて、14人(10家系)の保因者診断を行った。直接シーケンス法は実際に極めて有用であった。また、インヒビター抑制機序に関する検討を、トロンビン生成測定法を用いて行い、組織因子にエラジン酸を添加する測定系が極めて有用性が高いと判明した。

E. 結論

本研究の最終年度である本年度は、4つ

のプロジェクトを並行して実施した。本研究の最大の成果の一つは、インヒビター消失率にはインヒビター発生までの治療方法(出血時投与か定期補充療法か)とインヒビター最高値が強い影響を与えること、もう一つは、インヒビターの発生率には、血漿由来製剤と遺伝子組換え製剤とで差異がないことを明らかにしたことである。

「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)」として、「インヒビター患者の実態調査(J-HIS1)」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-HIS1/U20)」を実施した。

「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)」を実施した。

「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変法を設定した。

「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、患者側要因として重要な第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、本法は保因者診断にも有用であった。インヒビターの因子活性抑制機序の評価には、トロンビン生成試験が有用であった。

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

[原著、総説等]

1)吉岡 章：血友病 B の Translational research—私の血友病診療と研究の軌跡—。日本小児科学会雑誌 113(9):1365-1372, 2009

2) Tanaka Y, Shinohara Y, Narikawa K, Kumai T, Takakura Y, Sakurai Y, Tanaka I, Shima M, Yoshioka A: Arthroscopic synovectomies combined with reduced weight-bearing using patella tendon-bearing braces were very effective for progressed haemophilic ankle arthropathy in three paediatric patients. Haemophilia 15(3): 833-6, 2009

3)吉岡 章：ISTH Council Meeting (理事会) 報告書。2008 年国際血栓止血学会 SSC 報告書 7-15, 2009

4)吉岡 章：第 54 回 SSC 小委員会報告 3:Factor VIII and IX。2008 年度国際血栓止血学会 SSC 報告書 135-149, 2009

5)白幡 聡：血友病 A の疫学と病因。小児看護 32(12):1564~1571, 2009

6)瀧 正志：血友病に対する補充療法の革新—定期補充療法—。聖マリアンナ医科大学雑誌 37(5):319-325,2009

7)山崎哲、山崎法子、鈴木典子、後藤宏実、高山成伸、瀧 正志：第 VIII 因子インヒビター測定法 4 法の特徴比較と補正值による評価法の検討。日本検査血液学会雑誌 10(2):167-173,2009

8) Takeyama M, Nogami K, Okuda M, Shima M. Von Willebrand factor protects the Ca²⁺-dependent structure of the factor VIII light chain. British Journal of Haematology 146(5) : 531-537, 2009

9) Takeyama M, Nogami K, Okuda M, Shima M. Identification of a protein S-interactive site within the A2 domain of the factor VIII heavy chain. Thrombosis and Haemostasis 102(4) :

645-655, 2009

10) Nogami K, Nishiya K, Saenko EL, Takeyama M, Ogiwara K, Yoshioka A, Shima M. Identification of plasmin-interactive sites in the light chain of factor VIII responsible for proteolytic cleavage at Lys36. Journal of Biological Chemistry 284(11) : 6934-6945, 2009

11) Matsumoto T, Nogami K, Ogiwara K, Shima M. A modified thrombin generation test for investigating very low levels of factor VIII activity in hemophilia A. International Journal of Hematology 90 (5) : 576-582, 2009

H. 知的財産権の出願・登録情報

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

インヒビター発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（北九州総合病院 副院長）

【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、日本の血友病患者におけるインヒビター発生に關与する要因、特に、リコンビナント製剤と血漿由来製剤のインヒビター発生への影響について解明する。

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

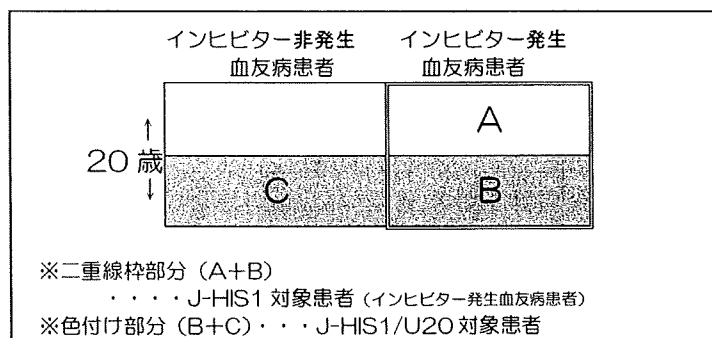
血友病患者のインヒビター発生要因の検討

J-HIS1 と後に示す 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」の対象患者のイメージ図を参考までに以下に示す。

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 12 月 31 日まで。

2.4 登録症例数

本研究の目的登録症例数は約 150 例とした。
症例を収集するに当たり、(財)血液製剤調査機構

発表資料。厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）「法制化後の小児慢性特定疾患治療研究事業の登録・管理・評価・情報提供に関する研究（H19-子ども一般-002）」（主任研究者：藤本純一郎）資料。該当製剤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、開示された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を依頼した。

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、施設登録を行った。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した。
- 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）が配布された。

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した。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した。
- 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した。

※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した。

- ③調査票を正確に記入し、事務局宛に郵送した。
- ④事務局からの受領書の発行により、調査終了とした。

2.5.3 調査項目

本研究では、下記の内容について、調査を実施した。

【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

インヒビター発生患者の背景因子並びに使用薬剤に関わる因子について調査時点でのインヒビター保有状況（保有・消失）の解析を行った。

4. 研究実施体制

研究代表者は、奈良県立医科大学 吉岡章であり、分担研究者として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、北九州総合病院 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、静岡県熱海健康福祉センター 三間屋 純一、兵庫県立医科大学血液内科 日笠聡、愛知県赤十字血液センター 高松純樹が担当した。

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った。

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）に従って実施した。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、各施設にて取得した。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した。データは被験者を特定できないように、Subject IDにより管理された。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、保管した（連結可能匿名化）。

6. 研究結果

本年度は平成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を経た実施計画書にて実施した、研究1・研究2をあわ

せた“Japan Hemophilia Inhibitor Study”（略称 J-HIS）の J-HIS1 研究を終了し、期間内に集められた 116 例の中で解析可能な 106 例のデータを基に調査時点でインヒビターが消失している患者の比率（以下消失率）に影響を及ぼす要因を解析した。

2009/12/31 現在の J-HIS1 での進捗状況は以下の通りであった。

- ・研究案内送付施設数：285
- ・研究参加施設数：39
- ・不参加表明施設数：56
- ・今年度目標症例数：150
- ・症例ファイル設置数：79
- ・登録症例数：116（達成率：77.3%）
- ・解析対象症例数：106（予定症例数の 70.6%）
 - 〔血友病 A：91 例
 - 〔血友病 B：15 例

解析可能であった 106 例の中で、調査時点でインヒビターが消失していたのは 53 例（50%）であった。

以下、消失率に対する各種要因の影響を解析した。

(1) 血液型については A 抗原を保有しない患者（すなわち B 型と O 型）では、血友病 A と血友病 B を合わせた検討で（以下 A&B）、有意に消失率が高かった（ $p=0.016$ ）（表 1）。これを ITI 未実施群（ $p=0.183$ ）と ITI を過去に実施した群（ $p=0.031$ ）に分けると後者で有意差があり（表 2）、O 型及び B 型患者は A 型及び AB 型患者と比べて ITI の奏効率が高いことが示唆された。なお、血友病 A に限定すると（以下、A のみ）、症例数の減少により有意差が消失した（ $p=0.129$ ）（表 3）。

(2) 血友病性関節症をもたない患者では消失率が有意に高かった（A&B： $p<0.001$ ，A のみ： $p<0.001$ ）（表 4, 5）。

(3) 肝炎を合併していない患者では消失率が有意に高かった（A&B： $p<0.001$ ，A のみ： $p<0.001$ ）（表 6, 7）。

(4) インヒビター発生までに定期補充療法をしていた患者では消失率が有意に高かった（A&B： $p<0.001$ ，A のみ： $p<0.004$ ）（表 8, 9）。さらに血友病 A かつ ITI 未実施の患者（ $n=34$ ）に限定して比較しても定期補充療法群では消失率が有意に高かった（ $p=0.048$ ）（表 10）。

(5) インヒビター発生までに頭蓋内出血の既往がない患者では消失率が有意に高かった（A&B： $p=0.015$ ，A のみ： $p=0.034$ ）（表 11, 12）。なお、頭蓋内出血発症例のみの比較で、消失群の頭蓋内出血発症年齢は保有群より有意に早かった（A&B： $p=0.010$ ，A のみ： $p=0.009$ ）。手術の既往歴については差がなかった（表 13, 14）。

(6) インヒビター発生までに遺伝子組み換え第 VIII 因子製剤を投与されていた患者は消失率が有意に高かった（A のみ： $p=0.001$ ）（表 15）。製剤面の検討ではインヒビター発生までに、コージネイト FS の投与歴がある患者では、それ以外の患者と比べて消失率が有意に高かった（A のみ： $p=0.007$ ）（表 16）。

(7) インヒビター発生前の使用製剤が遺伝子組み換え第 VIII 因子製剤の患者では消失率が有意に高かった（A のみ： $p=0.005$ ）（表 17）。

(8) インヒビター発生時年齢は A&B 群では保有例が 14.3 ± 18.7 歳、消失例が 7.7 ± 13.3 歳で、消失群の方が有意に低かった（ $P=0.047$ ）。一方、血友病 A のみの群では保有例が 16.7 ± 19.7 歳、消失例が 8.1 ± 3.81 歳で、同様に消失群の方が有意に低かった（ $P=0.028$ ）。

(9) 発生時のインヒビター力価は、A&B 群では保有例と消失例の間に有意差はなかったが、血友病 A のみの検討では保有例が 27.6 ± 44.1 BU/ml、消失例が 10.7 ± 17.7 BU/ml で、両群間に有意差があった（ $P=0.033$ ）。

(10) インヒビターの最高値は、逆に血友病 A のみの検討では有意差がなかったが（ $P=0.066$ ）、A&B 群では保有例が 830.1 ± 2719.4 BU/ml、消失例が 60.3 ± 205.2 BU/ml で、両群間に有意差が認められた。

(11) 1 回目の頭蓋内出血発症時年齢は、A&B 群では保有例 5.4 ± 6.6 歳、消失例は 0.7 ± 0.8 歳で両群間に有意差が認められた（ $P=0.001$ ）。

(12) 一方、インヒビターの消失率に有意差を認めなかったのは以下の項目であった。

- ① 血友病の重症度（表 18, 19）
- ② 人種（但し日本人以外は 1 名のみ）
- ③ HIV の合併（但し HIV 感染者は 6 名のみ）
- ④ 分娩様式（但し帝王切開は 5 名のみ）

- ⑤栄養法 (表 20, 21)
- ⑥血友病の家族歴 (表 22, 23)
- ⑦家系内のインヒビター保有患者の有無 (表 24, 25)
- ⑧インヒビター発生までの頭蓋内出血以外の重篤な出血の有無 (出血既往歴は 11 例)
- ⑨インヒビター発生までの観血的手術の有無 (手術既往例は 12 例) (表 13, 14)

(13) 以上の結果の中で有意差と認めた全項目を対象としてロジスティック回帰分析を行ったところ、インヒビター発生までの治療方法 (出血時投与か定期補充か) と、インヒビター最高値の影響が特に強いと考えられた。

表1

群項目 (縦) : 1-6:血液型-A抗原 (0:無 1:有)

分類項目 (横) : 8-4:現在のインヒビター保有状況 (血友病A&B)

縦\横	保有 (%)	消失 (%)	合計
A抗原無	18 (37.5)	30 (62.5)	48
A抗原有	25 (65.8)	13 (34.2)	38
合計	43 (50.0)	43 (50.0)	86

- ・ χ^2 検定 (修正有, 2×2) $\chi^2=5.70504$ 自由度=1 有意確率 $p=0.0169162^*$
- ・ Fisherの直接確率計算法による検定 有意確率 $p=0.0163895^*$

表2

群項目 (縦) : 1-6:血液型-A抗原 (0:無 1:有)

順序項目 (横) : 8-4:現在のインヒビター保有状況 (血友病A&B) (過去にITIを実施した症例のみ)

縦\横	保有 (%)	消失 (%)	合計
A抗原無	4 (19.0)	17 (81.0)	21
A抗原有	10 (58.8)	7 (41.2)	17
合計	14 (36.8)	24 (63.2)	38

- ・ 順位相関比 $\eta=0.410001$ 寄与率 $\eta^2=0.168101$
- ・ Mantel-Haenszelの検定 (修正有) : $\chi^2=4.66664$ 自由度=1 $p=0.030754^*$

表3

群項目 (縦) : 1-6:血液型-A抗原 (0:無 1:有)

分類項目 (横) : 8-4:現在のインヒビター保有状況 (血友病A)

縦\横	保有 (%)	消失 (%)	合計
A抗原無	17 (37.8)	28 (62.2)	45
A抗原有	17 (58.6)	12 (41.4)	29
合計	34 (45.9)	40 (54.1)	74

- ・ χ^2 検定 (修正有, 2×2) $\chi^2=2.3026$ 自由度=1 有意確率 $p=0.129158$
- ・ Fisherの直接確率計算法による検定 有意確率 $p=0.128979$

表 4

群項目(縦) :2-1:血友病性関節症の合併

分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

(血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	14 (28.6)	35 (71.4)	49
有	38 (67.9)	18 (32.1)	56
合計	52 (49.5)	53 (50.5)	105

- χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=14.6015$ 自由度=1
有意確率 $p=0.000132809***$
- Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.000110626***$

表 5

群項目(縦) :2-1:血友病性関節症の合併

分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

(血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	12 (27.3)	32 (72.7)	44
有	30 (65.2)	16 (34.8)	46
合計	42 (46.7)	48 (53.3)	90

- χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=11.5297$ 自由度=1
有意確率 $p=0.00068493***$
- Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.000598969***$

表 6

群項目(縦) :2-2:肝炎の合併

分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

(血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	31 (38.8)	49 (61.2)	80
B型	1 (100.0)	0 (0.0)	1
C型	19 (82.6)	4 (17.4)	23
B+C型	2 (100.0)	0 (0.0)	2
合計	53 (50.0)	53 (50.0)	106

- χ^2 検定(4×2) $\chi^2=16.8326$ 自由度=3
有意確率 $p=0.00076503***$

表 7

群項目(縦) :2-2:肝炎の合併

分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

(血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
なし	24 (35.3)	44 (64.7)	68
B型	1 (100.0)	0 (0.0)	1
C型	16 (80.0)	4 (20.0)	20
B+C型	2 (100.0)	0 (0.0)	2
合計	43 (47.3)	48 (52.7)	91

- χ^2 検定(4×2) $\chi^2=15.8555$ 自由度=3
有意確率 $p=0.00121402**$

表 8

群項目(縦) :5-2:インヒビター発生までの治療方法

(1:出血時 2:定期補充療法)

分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

(血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
出血時	47 (56.6)	36 (43.4)	83
定期補充	4 (20.0)	16 (80.0)	20
合計	51 (49.5)	52 (50.5)	103

- χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=7.24579$ 自由度=1
有意確率 $p=0.00710673**$
- Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.00601987**$

表 9

群項目(縦) :5-2:インヒビター発生までの治療方法

(1:出血時 2:定期補充療法)

分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

(血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
出血時	39 (54.2)	33 (45.8)	72
定期補充	2 (12.5)	14 (87.5)	16
合計	41 (46.6)	47 (53.4)	88

- χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=7.53566$ 自由度=1
有意確率 $p=0.00604895**$
- Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.00431665**$

表 10

群項目(縦) :5-2:インヒビター発生までの治療方法
(1:出血時 2:定期補充療法)

順序項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
(血友病A, ITI、未実施)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
出血時	20 (66.7)	10 (33.3)	30
定期補充	0 (0.0)	4 (100.0)	4
合計	20 (58.8)	14 (41.2)	34

- ・順位相関比 $\eta=0.436436$ 寄与率 $\eta^2=0.190476$
- ・Mantel-Haenszelの検定(修正有): $\chi^2=3.89813$
自由度=1 $p=0.04834*$

表11

群項目(縦) :7-1:
インヒビター発生までの頭蓋内出血の有無

分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
(血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	35 (42.7)	47 (57.3)	82
有	17 (73.9)	6 (26.1)	23
合計	52 (49.5)	53 (50.5)	105

- ・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=5.81444$ 自由度=1
有意確率 $p=0.0158951*$
- ・Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.0148157*$

表 12

群項目(縦) :7-1:
インヒビター発生までの頭蓋内出血の有無

分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
(血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	28 (40.0)	42 (60.0)	70
有	14 (70.0)	6 (30.0)	20
合計	42 (46.7)	48 (53.3)	90

- ・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=4.48422$ 自由度=1
有意確率 $p=0.0342092*$
- ・Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.0335365*$

表 13

群項目(縦) :7-3:
インヒビター発生までの観血的手術の有無

分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
(血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	46 (48.9)	48 (51.1)	94
有	7 (58.3)	5 (41.7)	12
合計	53 (50.0)	53 (50.0)	106

- ・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=0.0939716$
自由度=1 有意確率 $p=0.759187$
- ・Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.760519$

表14

群項目(縦) :7-3:
インヒビター発生までの観血的手術の有無

分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
(血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	39 (47.6)	43 (52.4)	82
有	4 (44.4)	5 (55.6)	9
合計	43 (47.3)	48 (52.7)	91

- ・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=0.0302441$
自由度=1 有意確率 $p=0.861938$
- ・Fisherの直接確率計算法による検定 有意確率 $p=1$

表 15

群項目(縦) :6-1_p-VIII:
インヒビター発生まで経験のある凝固因子製剤

-第VIII因子遺伝子組み換え製剤 (0:無 1:有)
分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
(血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	27 (69.2)	12 (30.8)	39
有	16 (30.8)	36 (69.2)	52
合計	43 (47.3)	48 (52.7)	91

- ・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=11.7286$ 自由度=1
有意確率 $p=0.000615458***$
- ・Fisherの直接確率計算法による検定
有意確率 $p=0.000547096***$

表 16

群項目(縦) :6-1_p-5:
 インヒビター発生まで経験のある凝固因子製剤-5:
 コーシネイトFS (0:無 1:有)

分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	34 (58.6)	24 (41.4)	58
有	9 (27.3)	24 (72.7)	33
合計	43 (47.3)	48 (52.7)	91

・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=7.0826$ 自由度=1
 有意確率p=0.00778359**
 ・Fisherの直接確率計算法による検定
 有意確率p=0.00715895**

表17

群項目(縦) :6-2_p-VIII:
 インヒビター発生直前の使用凝固因子製剤
 -第VIII因子遺伝子組み換え製剤 (0:無 1:有)
 分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	27 (64.3)	15 (35.7)	42
有	16 (32.7)	33 (67.3)	49
合計	43 (47.3)	48 (52.7)	91

・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=7.85443$
 自由度=1 有意確率p=0.00506964**
 ・Fisherの直接確率計算法による検定
 有意確率p=0.00481756**

表18

群項目(縦) :1-5:
 凝固因子活性(1:軽症 2:中等症 3:重症)
 分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
軽症	1 (50.0)	1 (50.0)	2
中等症	8 (53.3)	7 (46.7)	15
重症	43 (48.9)	45 (51.1)	88
合計	52 (49.5)	53 (50.5)	105

・ χ^2 検定(3×2) $\chi^2=0.102607$ 自由度=2
 有意確率p=0.94999

表 19

群項目(縦) :1-5:凝固因子活性
 分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
軽症	1 (50.0)	1 (50.0)	2
中等度	8 (53.3)	7 (46.7)	15
重症	33 (45.2)	40 (54.8)	73
合計	42 (46.7)	48 (53.3)	90

・ χ^2 検定(3×2) $\chi^2=0.339408$ 自由度=2
 有意確率p=0.843915

表20

群項目(縦) :3-2:栄養法
 分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
母乳	14 (38.9)	22 (61.1)	36
人工乳	3 (50.0)	3 (50.0)	6
混合	12 (46.2)	14 (53.8)	26
合計	29 (42.6)	39 (57.4)	68

・ χ^2 検定(3×2) $\chi^2=0.471227$ 自由度=2
 有意確率p=0.790086

表21

群項目(縦) :3-2:栄養法
 分類項目(横):8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
母乳	14 (41.2)	20 (58.8)	34
人工乳	2 (40.0)	3 (60.0)	5
混合	6 (31.6)	13 (68.4)	19
合計	22 (37.9)	36 (62.1)	58

・ χ^2 検定(3×2) $\chi^2=0.486825$ 自由度=2
 有意確率p=0.783948

表22

群項目(縦) :4-1:血友病の家族歴
 分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	30 (51.7)	28 (48.3)	58
有	21 (48.8)	22 (51.2)	43
合計	51 (50.5)	50 (49.5)	101

・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=0.00734111$
 自由度=1 有意確率p=0.931721
 ・ Fisherの直接確率計算法による検定
 有意確率p=0.931707

表23

群項目(縦) :4-1:血友病の家族歴
 分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	22 (47.8)	24 (52.2)	46
有	20 (48.8)	21 (51.2)	41
合計	42 (48.3)	45 (51.7)	87

・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=0.0158707$ 自由度=1
 有意確率p=0.899749
 ・ Fisherの直接確率計算法による検定
 有意確率p=1

表24

項目(縦) :4-2:家族あるいは親戚の
 血友病患者のインヒビターの有無
 分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況
 (血友病A&B)

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	6 (46.2)	7 (53.8)	13
有	2 (18.2)	9 (81.8)	11
合計	8 (33.3)	16 (66.7)	24

・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=1.02797$ 自由度=1
 有意確率p=0.310635
 ・ Fisherの直接確率計算法による検定
 有意確率p=0.311482

表25

群項目(縦) :4-2:家族あるいは親戚の
 血友病患者のインヒビターの有無
 分類項目(横) :8-4:現在のインヒビター保有状況

縦\横	保有(%)	消失(%)	合計
無	6 (46.2)	7 (53.8)	13
有	2 (20.0)	8 (80.0)	10
合計	8 (34.8)	15 (65.2)	23

・ χ^2 検定(修正有, 2×2) $\chi^2=0.746394$ 自由度=1
 有意確率p=0.38762
 ・ Fisherの直接確率計算法による検定
 有意確率p=0.390227

7. 考察

本研究は、(1)後方視的で、調査対象期間を定めないhistorical調査であること。(2)2つの異なる調査から得られたデータを合わせて対象としたこと。(3)インヒビター保有群と消失群の観察期間が同一ではないこと。(4)インヒビター消失群の中には自然消失例とITIによる消失例が含まれていること。(5)インヒビター発生から消失までの期間を特に限定していないことなど、いくつかの制約はあるものの、多数のインヒビター発生例の背景調査で、これまでに報告のないインヒビター消失に影響を及ぼしうる要因が明らかにされた。

例えば、血液型でA抗原を持たない血友病患者(O型及びB型)ではITIの奏効率が高いことが示唆された。一方、後述するようにインヒビター発生率について有意差はないものの、A抗原を持たない患者のインヒビター発生率が若干高いという成績が得られており、その意義については多変量解析などによる更なる検討が必要である。

血友病性関節症を持たない患者群と、肝炎を合併していない患者群で消失率が高かった点については、血友病の重症度の関与が想定された。しかし、患者群を軽症、中等症、重症に分けた検討では、血友病AとBを合わせた解析でも、血友病Aのみの解析でも消失率に差が見られなかった。

興味深い成績のひとつは、インヒビター発生

まで定期補充療法をしていた患者と、インヒビター発生まで遺伝子組み換え第Ⅷ因子製剤を投与されていた患者で、インヒビターの消失率が高かったことである。後述するように、何れの要因もインヒビターの発生率には影響を及ぼさなかったことが明らかにされている。

前述したように、本研究はhistorical dataによるもので、年齢的に早い時期から定期補充療法を実施された患者や、遺伝子組み換え製剤を投与された患者群は若年層に偏っていることが考えられる。

同様に関節症を持たない患者群と、肝炎を合併していない患者群も、若年層に偏っている可能性がある。これらの患者では、それ以前に出生した患者と比べてインヒビターへの対応が改善されて、インヒビターへの対応の進歩が消失率の上昇に寄与しているのかも知れない。

一方、年齢の高い患者においては、それらの患者の乳幼児期に十分なインヒビターの検査が行なわれず、その結果低力価で一過性のインヒビターの発現が見逃されたことが考えられる。

有意差を認めた要因については、ロジスティック回帰分析を行なったところ、インヒビター発生までの治療方法とインヒビター最高値の影響が特に強いという成績が得られたが、対象者の時代背景(年齢)を含めては、多変量解析などによりさらに背景を探ってゆく必要がある。

8. 結論

本研究では J-HIS1 で収集された症例のうち、インヒビター発現例を対象としてインヒビター消失要因を探索する横断研究を行い興味ある成績が得られた。

今後は本研究で得られた、インヒビター消失に影響を及ぼす因子を基軸とした検証研究を進める必要がある。

最後に、J-HIS1 研究に協力頂いたご施設と先生方のお名前を列挙させて頂き、深甚なる謝意を表します。

(研究協力医師)
愛知三の丸病院
秋田大学医学部附属病院
秋田大学医学部附属病院

(敬称略・順不同)
緒方完治
矢野道広
山中康生

愛媛県立中央病院
綾部市立病院
安城更生病院
医療法人財団荻窪病院
茨城県立こども病院
岩手県立大船渡病院
大館市立総合病院
大津赤十字病院
大分記念病院
大分県立病院
鹿児島市立病院
亀田総合病院
北野病院
九州大学病院
黒石市国民健康保険黒石病院
国立国際医療センター
国立病院機構 西多賀病院
国立病院機構福井病院
札幌医科大学
札幌徳洲会病院
産業医科大学病院
相原内科医院
静岡県立こども病院
静岡県立こども病院
聖マリアンナ医科大学
聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院
聖隷浜松病院
東京医科大学
東京医科大学
東京医科大学
東京医科大学
東京大学医科学研究所附属病院
東北大学
獨協医科大学病院
長野赤十字病院
名古屋大学医学部附属病院
奈良県立医科大学附属病院
奈良県立医科大学附属病院
奈良県立医科大学附属病院
奈良県立医科大学附属病院
新潟県立がんセンター新潟病院
日本赤十字社和歌山医療センター
長谷川小児科医院
兵庫医科大学病院
兵庫医科大学病院
広島大学病院
広島大学病院
三重大学医学部附属病院

徳田桐子
上野たまき
宮島雄二
花房秀次
土田昌宏
瀧向透
高橋義博
今井剛
高田三千尋
糸長伸能
川上清
上原貴博
塩田光隆
土居岳彦
北澤淳一
瀧永博之
三浦明
梶原真清恵
鈴木信寛
岡敏明
佐藤哲司
相原守夫
三間屋純一
堀越泰雄
武藤真二
瀧正志
松林正
大滝学
天野景裕
福武勝幸
鈴木隆史
竹谷英之
石川正明
杉田憲一
天野芳郎
松下正
荻原建一
柴田優
西屋克己
矢田弘史
小川淳
濱畑啓悟
長谷川純男
日笠聡
澤田暁宏
斉藤誠司
藤井輝久
松本剛史

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-HIS1/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った。

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て、様々な背景因子とくに投与された凝固因子製剤の種類がインヒビターの発現率に影響を及ぼすか否かを比較する研究

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12月31日まで。

2.4 目標登録症例数

本研究の目標登録症例数は約300例とした。

2.5 調査方法

症例を収集するに当たり、(財)血液製剤調査機構発表資料。厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)「法制化後の小児慢性特定疾患治療研究事業の登録・管理・評価・情報提供に関する研究(H19-子ども一般-002)」(主任研究者:藤本純一郎)資料。該当製剤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、開示された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を依頼した。

2.5.1 施設登録の手順

J-HIS1に準じた。

2.5.2 症例登録の手順

J-HIS1に準じた。

2.5.3 調査項目

下記の内容について、調査を実施した。

【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

様々な患者背景について初回投与後2年間のインヒビター発生率に及ぼす影響を解析した。

4. 研究実施体制

J-HIS1に準じた。

5. 倫理面への配慮

J-HIS1に準じた。

6. 研究結果

本年度は平成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を経た実施計画書にて実施した、“Japan Hemophilia Inhibitor Study”(略称J-HIS)1付随研究J-HIS1/U20研究を終了し、期間内に集められた202例のうち、解析可能な184例(血友病A:153例、血友病B:31例)から得られたデータを基に解析を行った。

なお、インヒビターの発生率には、血友病Aと血友病Bでは大きな差があることから、両者を合わせた解析は意味が無いと考え別個に解析したが、血友病Bについては症例数が31例(うちインヒビター発生例は6例)と少なく、全ての調査項目でインヒビターの発生率に有意差がみられな