

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(Ⅸ)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患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Ⅷ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Ⅷ因子の特異活性が低下する VWF との結合能が低下する
PEG 化リポソーム結合製剤	半減期の延長	<ul style="list-style-type: none"> 他の製剤での実績がある 第Ⅷ因子の構造そのものは変化させない 薬物動態は、第Ⅷ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Ⅷ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Ⅷ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 (Ⅸ) 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 (Ⅸ) 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、リポソームの外部表面に PEG を介して第Ⅷ 因子を非共

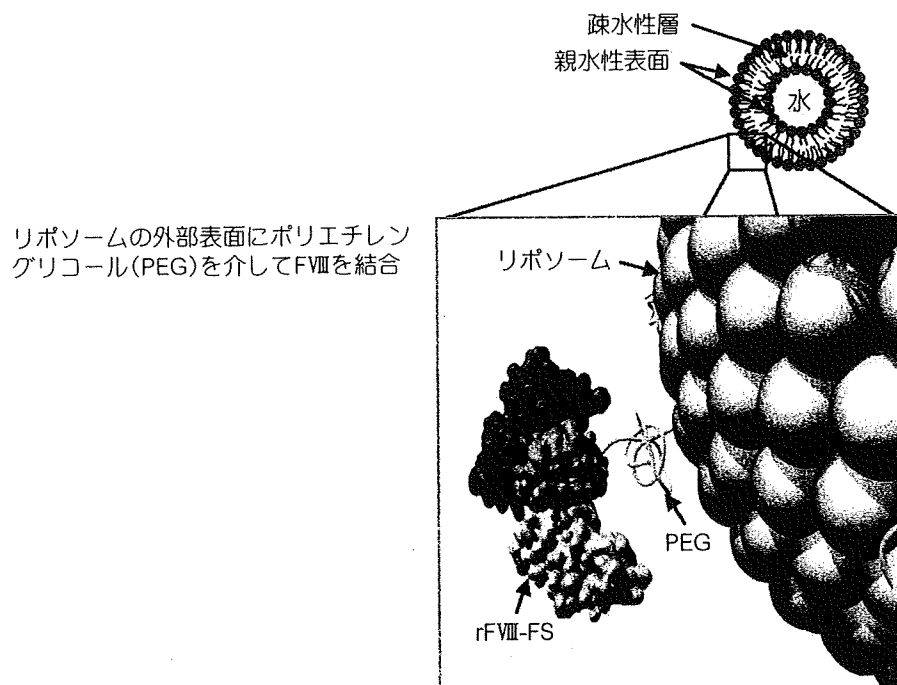


図1 PEG化リポソーム結合第Ⅷ因子製剤 (BAY79-4980) の構造

PEG (ペグ; ポリエチレングリコール) を介してリポ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 化リポソーム結合製剤) である (図 1)³⁾。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)⁴⁾。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

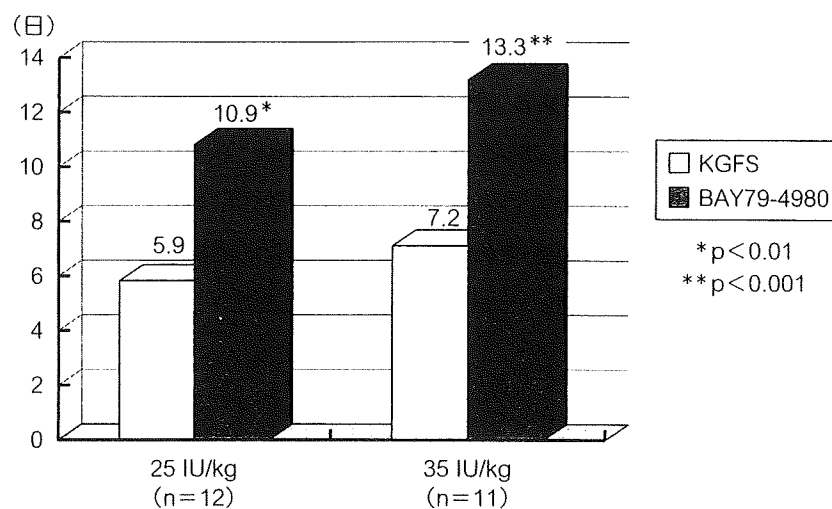


図 2 PEG 化リポソーム結合第Ⅷ因子製剤と従来の製剤を輸注後、出血が起こらなかった期間の比較

PEG 化リポソーム製剤 (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 化リポ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 群には試験薬を 35 単位 /kg 輸注する。
一方、B 群には、外見上試験薬 (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 と区別がつかないが第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 群では試験薬を B 群では不透明に改造したコージネイト® FS を輸注する。

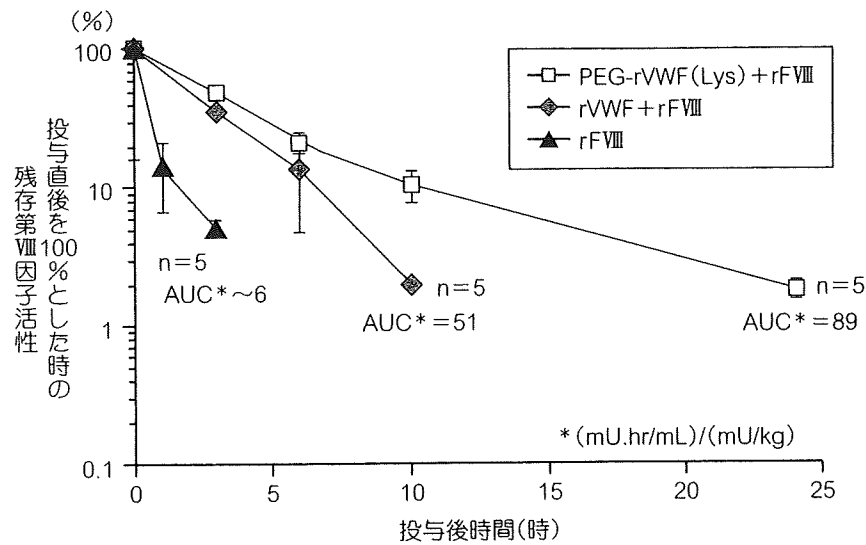


図3 第Ⅷ因子/VWFダブルノックアウトマウスにおけるPEG化遺伝子組換えVWFの第Ⅷ因子半減期への影響

AUC: (血中)濃度-時間曲線下面積

第Ⅷ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Ⅷ因子製剤(rFⅧ), PEG化していないrVWF+rFⅧ, rFⅧのみをそれぞれ輸注して第Ⅷ因子活性の推移を観察したところ、rVWF+rFⅧと比べてPEG-rVWF+rFⅧ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Ⅷ因子製剤がある。前述したように、第Ⅷ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Ⅷ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Ⅷ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Ⅷ因子残存時間は現在の製剤より2倍以上延長していた⁵⁾。

また、間接的修飾方法として、遺伝子組換えVWF(rVWF)による第Ⅷ因子の半減期延長が試みられている。第Ⅷ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Ⅷ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)⁶⁾。

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Ⅷ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⁷⁾。

代表的なバイパス製剤である遺伝子組換え活性型第Ⅷ因子製剤(rFⅧa)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

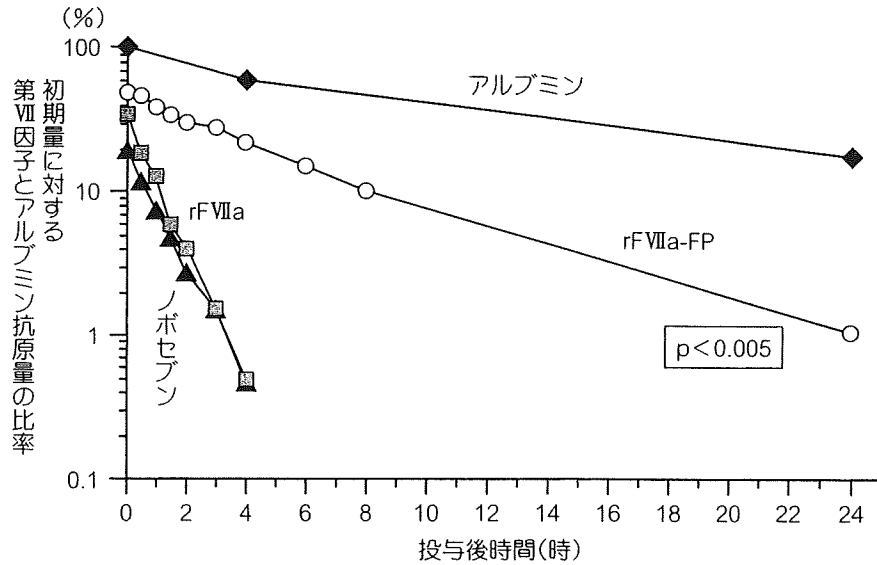


図4 アルブミン付加活性型第Ⅶ因子製剤とノボセブン®の血中半減期の比較
アルブミンを融合させた遺伝子組換え活性型第Ⅶ因子製剤(rFVIIa-FP)と、アルブミンを付加していないrFVIIa、ノボセブン®をそれぞれラットに輸注して、第Ⅶ因子抗原量の推移を検討したところ、アルブミンを融合することで第Ⅶ因子抗原量の半減期が有意に延長した。

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、① PEG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、③ N-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製剤が臨床試験に入っている。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。

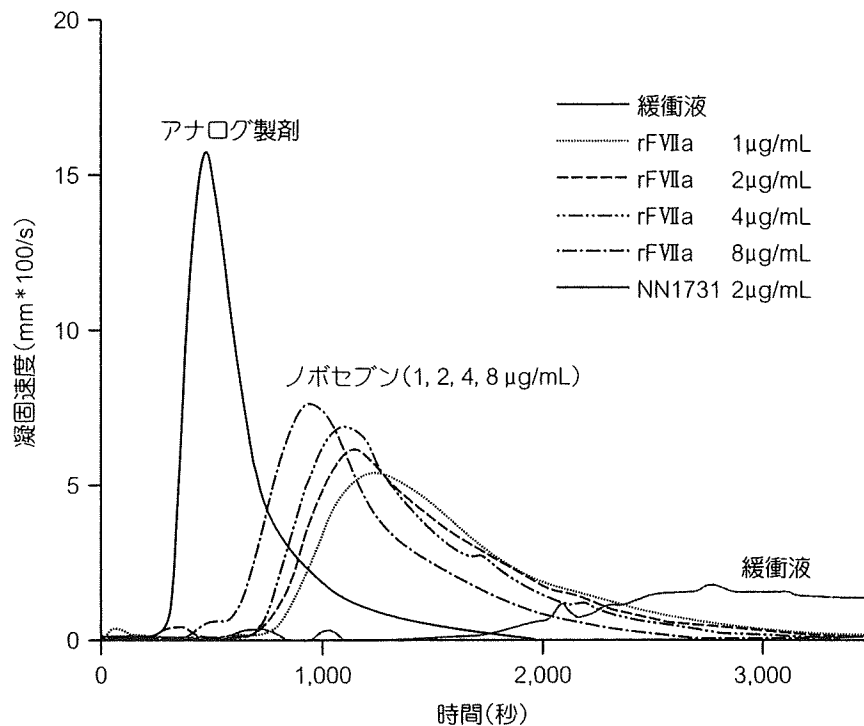


図5 第Ⅷ因子インヒビター保有患者血漿におけるノボセブン® 対同アナログ製剤の全血凝固時間短縮効果

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1~8µg/mLの範囲で凝固速度を加速したが、2µg/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癒である。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）

◀ 文 献 ▶

- 1) Prasad S, Labelle A, Powell S, et al : Preclinical pharmacology of AV513 including oral efficacy in sever hemophilia A dogs. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Geneva, July, 2007
- 2) Saenko EL, Pipe SW : Strategies towards a long activity factor VIII. Haemophilia 12 (Suppl 3) : 42-51, 2006
- 3) Powell JS : Liposomal approach towards the development of a longer-acting factor VIII. Haemophilia 13 (Suppl 2) : 23-28, 2007
- 4) Spira J, Plyusch OP, Andreeva TA, et al : Prolonged bleeding-free period following prophylactic infusion of recombinant factor VIII (Kogenate (R) FS) reconstituted with pegylated liposomes. Blood 108 : 3668-3673, 2006
- 5) Tureced PL, Bossard M, Culbertson S, et al : New pro-drug concept to prolong the survival of rFVIII in hemophilia. Haemophilia 14 (Suppl 2) : 9, 2008
- 6) Turecek PL : Biochemical and functional characterization of chemically modified recombinant von Willebrand factor (rVWF) as a carrier prolonging survival of rFVIII in hemophilia A knock out mice. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Geneva, July, 2007
- 7) Peters RT, Bitonti AJ : Enhanced pharmacokinetics of factor IX as a monomeric Fc fusion. XXIst Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. Geneva, July, 2007
- 8) Yatuv R, Dayan I, Carmel-Goren L, et al : Enhancement of factor VIIa haemostatic efficacy by formulation with PEGylated liposomes. Haemophilia 14 : 476-483, 2008
- 9) Weimeer T, Wormsbächer W, Schjlte S, et al : Prolonged in-vitro half-life of factor VIIa by fusion to albumin. Thromb Haemost 99 : 659-667, 2008
- 10) Personal communication
- 11) Tomokiyo K, Nakatomi Y, Araki T, et al : A novel therapeutic approach combining human plasma-derived Factors VIIa and X for haemophiliacs with inhibitors : evidence of a higher thrombin generation rate in vitro and more sustaine haemostatic activity in vivo than obtained with Factor VIIa alone. Vox Sang 85 : 290-299, 2003
- 12) Sørensen B, Persson E, Ingerslev J : Factor VIIa analogue (V158D/E296V/M298Q-F VIIa) normalies clot formation in whole blood from patients with severe haemophilia A. Br J Haematol 137 : 158-165, 2007
- 13) Allen GA, Persson E, Campbell RA, et al : A variant of recombinant factor VIIa with enhanced pro-coagular and antifibrinolytic activities in an in vitro model of hemophilia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 27 : 683-689, 2007
- 14) Maxygen 社のホームページ : MAXY-VII. A superiol factor VIIa. <http://www.maxygen.com/products-hemostasis.php>
- 15) Saito H, Kojima T, Miyazaki T, et al : Factor VIII mimetic antibody : (1) Establishment and characterization of anti-factor IX /anti-factor X bispecific antibodies. XXth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Sydney, August, 2005
- 16) Shima M, Matsumoto T, Sakurai Y, et al : Factor VIII mimetic antibody : (2) In vitro assessment of cofactor activity in hemophilla A. XXth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Sydney, August, 2005
- 17) Pipe S : Coagulation proteins with enhanced biological properties. XXVIII International Congress of the World Federation of Hemophilia. Istanbul, June, 2008

Ⅲ. 治療

6. 安全な製剤を安定供給するためには

はじめに

血友病の治療は単なる血液製剤の補充ではなく、包括的な治療が必要である。とはいえ、治療の根幹は出血時に、当該の因子を適切に補充することであり、安全な製剤が安定的に供給されることは絶対的な条件といえよう。ここではこの、安全な製剤の安定供給というテーマについて述べる。

1. 安全な製剤とは時代によって変化する

安全な製剤とは何か。輸血、血友病の治療の歴史からみても、これは永遠のテーマである。

1900年のLandsteinerによるABO血液型の発見、1915年Hustin, Agote, Lewisohnらは独立してクエン酸ナトリウムの抗凝固機能を発見、1936年シカゴConty Hospitakでの血液銀行の設立など第一次世界大戦前には現在の輸血の最低限のシステムは構築されていた。

血友病治療も1929年、Payneらはクエン酸加全血、クエン酸加血漿、カルシウムの静脈内投与、あるいはヒトミルク、チフスワクチン、ウマ血清などを皮下注してその止血効果と凝固時間の関係を検討し、出血時および手術前の予防的投与にはクエン酸加全血、クエン酸加血漿のみが有効であると報告している。つまりこの時点ですでに、輸血療法が有効であることが明らかにされたのである。

一方、1930年代後半には英国において、麻疹の予防用に投与されたヒト血漿由来の製剤にて109人の子どものうち、41人で黄疸症状が発現したとの報告がある。さらにヒト血清を用いた黄熱病のワクチンにて肝炎が発症したとの報告が英国、ブラジル、米国で相次いで報告されていた。1943年7名の輸血後肝炎が報告され、仮説として血液中にウイルスが存在しそのために肝炎を起こしたとのことがあげられている。

6. 安全な製剤を安定供給するためには

このように、第二次世界大戦までに血友病の治療にはヒト血液(血漿)が有効であることとともに、輸血による肝炎発症が考えられていた。なかでも頻回輸血を受けた血友病患者にみられた肝炎は、ブランバーグのオーストラリア抗原発見、わが国の大河内博士のオーストラリア抗原とHBV (hepatitis B virus: B型肝炎ウイルス) の関係解明に大きな力となったことはすでに多くの人々の周知するところである。図1に示すように、わが国における輸血後肝炎は売血時代、献血時代、HBV 検査の導入、HCV (hepatitis C virus: C型肝炎ウイルス) 検査の導入、さらにはこれらウイルスに対する NAT 検査(核酸増幅検査)導入とともに激減した。その結果、輸血を受けた患者の2人に1人が肝炎を発症した売血時代から、現在ではHBV 感染は十数例あるものの、HCV 感染は数年に1回という状態にまでなった。

したがって、それ以後HCVの検査法の導入、さらには凝固製剤のウイルス不活化技術の確立にいたるまでは、肝炎ウイルス、HIV (human immunodeficiency virus: ヒト免疫不全ウイルス) 等のウイルス感染のない製剤が安全な製剤であり、輸血の安全はすなわち血液製剤の安

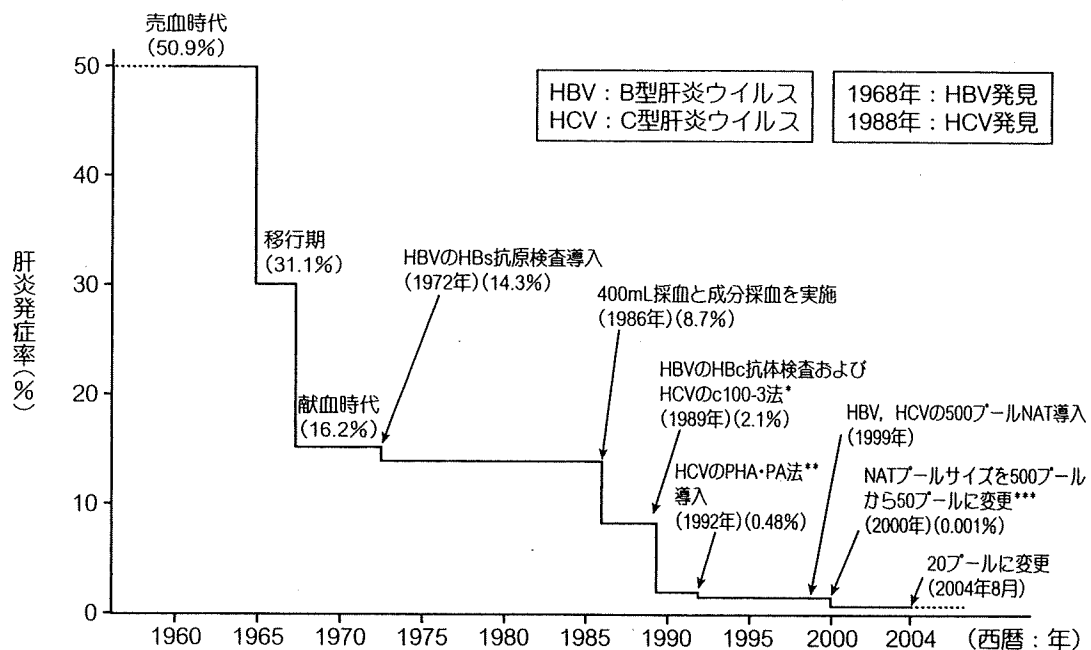


図1 わが国における輸血後肝炎発症率の推移

(「日本赤十字社輸血後肝炎の防止に関する特定研究班」研究報告書〔1993.4-1996.3〕一部改変を基に厚生労働省作成)

*: C型肝炎ウイルス発見後、早期に開発されたC型肝炎ウイルス抗体検査(第1世代検査法), **: 特異性・感度が改善されたC型肝炎ウイルス抗体検査(第2世代検査法), ***: 全国の推定輸血患者のうち、保管検体による個別NATなど、詳細な検査での感染の可能性が高いと判断された件数での試算

わが国での輸血後肝炎の発症は売血時代から献血時代を経て、HBV検査の導入、HCV検査の導入、さらにNAT検査(核酸増幅検査)導入とともに激減していった。

Ⅲ. 治療

全ということであった。凝固因子製剤にのみ限って言えば、ウイルス不活化が不十分であった一時期を除き、不活性化された凝固因子製剤による肝炎ウイルス感染、HIVの感染はみられていない。

では現在は、輸血あるいは、血液凝固因子をはじめとする血漿分画製剤は感染症から完全にフリーということができるであろうか。

すでに述べたように既知の感染症の対策は十分採られるようになったものの、変異型クロイツフェルト-ヤコブ病、SARS (severe acute respiratory syndrome: 重症急性呼吸器症候群)、デング熱、ウエストナイル感染症などいわゆる新興・再興感染症が相次いで報告されている。これらのうち、少なくとも血漿分画製剤である凝固因子では、熱処理あるいは化学的な処理で不活化の可能な病原体について問題はないものと思われる。しかし、変異型クロイツフェルト-ヤコブ病の原因と考えられている異常プリオンや、熱処理あるいは化学的な処理にて不活化できない病原体についての懸念は残っている。

2. 感染以外の懸念される問題

血友病治療における感染症以外の大きな問題にインヒビターがある。詳細は別章を参照されたいが、現在までに人種、疾患の重症度、遺伝子異常の大きさなどが疫学的に明らかになっている。現時点では製剤による感染の危険性が極端に低下したことから、最も重要な課題となっている。その成因がすべて血液製剤であるとはいえないことは明らかであるが、ではどの程度関与しているかについてもまた明らかでない。この問題は特に、従来の血漿由来製剤に加えて、遺伝子組換え技術により産生されるリコンビナント製剤の登場により一層複雑な問題となってきた。

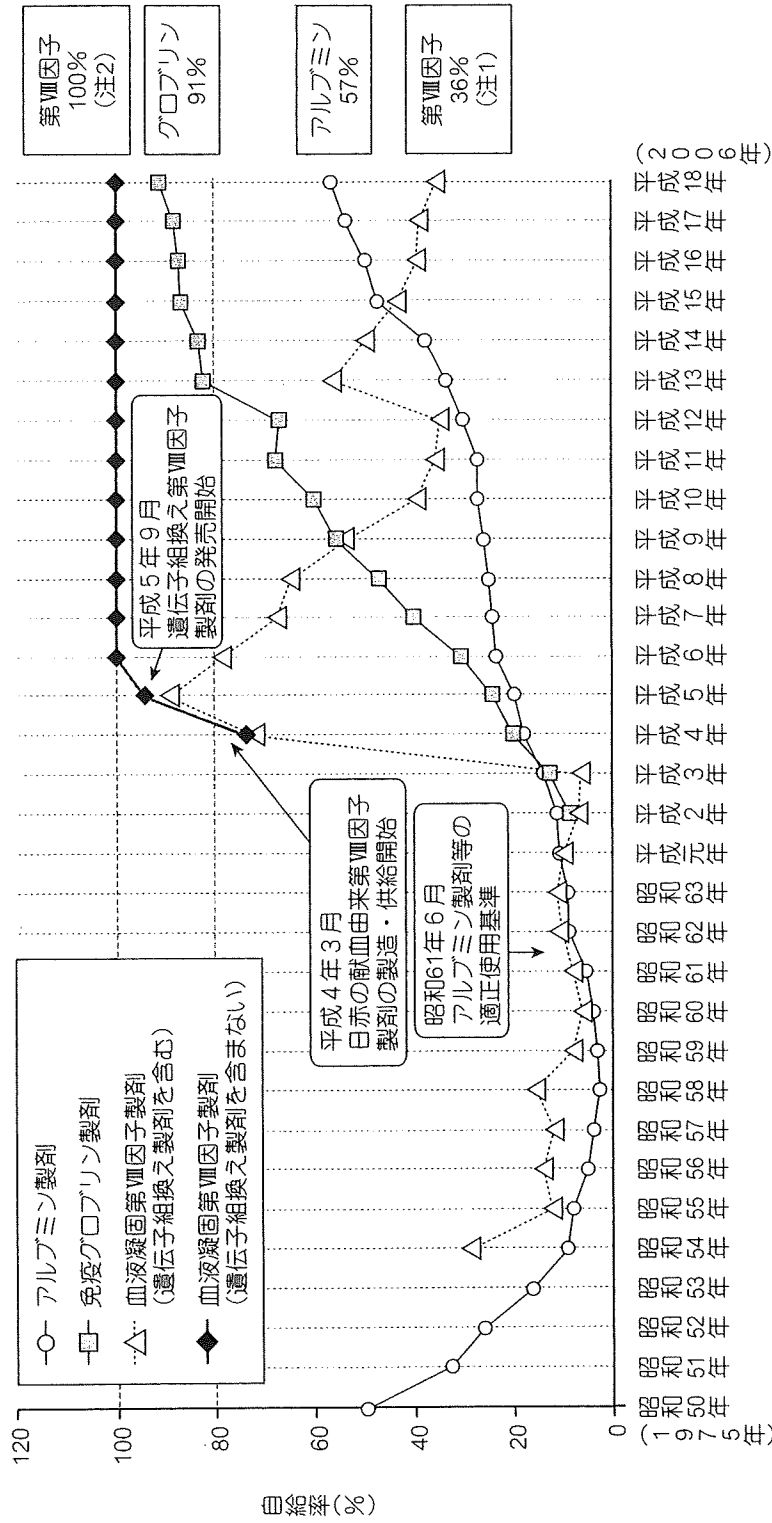
しかし、これを明らかにするためには同一施設(群)、同時期に、同間隔、同一方法など厳密な前向き試験が必要であることから、実施することは決して容易ではないので、今後もこの問題に関する報告を慎重に見ていく必要がある。

3. 安全な製剤の確保とは安定供給を包括する

1 安全製剤供給の現状

血友病患者では補充療法が治療の根幹をなしており、安定的な製剤を確保することは何よりも重要であることはいうまでもない。図2に示すように、濃縮第Ⅷ因子製剤は1979年(昭和54年)に導入されて以来、1992年(平成4年)に日本赤十字社が献血由来製剤を本格的に製造・供給するまではわが国の原料血漿を用いた、いわゆる国産製剤は10%程度であり、これが1980年

6. 安全な製剤を安定供給するためには



平成9年(1997年)以前は暦年、平成10年(1998年)以降は年度 (厚生労働省血液事業部運営委員会資料より)

図2 血漿分画製剤の自給率の推移 (供給量ベース)

注1：遺伝子組換え製剤を含む、注2：遺伝子組換え製剤を含まず
 1993(平成5)年9月に遺伝子組換え第Ⅷ因子製剤の発売により、平成5年度を含む以降の統計では遺伝子組換え製剤を含まない場合(◆で示す)、含む場合(△で示す)を表す。2006(平成18)年度を例にとれば、◆で示す遺伝子組換え製剤を含まない場合、すなわち国内産を原料とした第Ⅷ因子製剤は自給率100%であるが、△で示す含む場合は自給率40%弱であり、残り60%は輸入遺伝子組換え製剤である。

Ⅲ. 治療

代半ばの輸入血液製剤による HIV 感染のもととなったとあってよい。しかしながら国内での製造が、この当ても 100% 可能であったなら確かに HIV 感染は免れることができたとしても、HCV は当時発見されておらず当時の製剤による HCV 感染からは残念ながら免れることができなかった。

1993 年(平成 5 年)にリコンビナント製剤の発売もあいまって、海外で製造あるいは海外からの原料血漿による製剤の生産は 1994 年(平成 6 年)にはほぼなくなったものと考えられる。以後、図 2 で示したように、国内原料血漿を用いた血漿由来製剤の割合は減少の一途をたどった。2000 年(平成 12 年)頃に起こった、リコンビナント製剤の製造ラインのトラブルはわが国にも波及し、急遽日本赤十字社が製造量を増やすということで何とか難を逃れた。このことは、患者のみならず、おそらく製造メーカーにとってもひとつのトラウマとなって現在に至っていることが想像される。

2 問題点

図 3 に 1995 年(平成 7 年)以来の第Ⅷ因子製剤の供給量(遺伝子組換え型を含む)と国内血漿由来製剤の割合を示す。国内血漿由来製剤は前述したように、2000 年に起こった突発的な事故のあと製造量は増加したが、それ以降は 2001 年をピークに徐々に低下をたどり、現在ではその割合は 30% 前後であるものと推定されている。ということは、第Ⅷ因子製剤はますます、遺伝子組換え製剤に依存していることを示しているが、いくつかの問題を指摘したい。それは、①供給が海外のメーカーに依存している以上、突発的な状況に対応できない、②グローバル企業による戦略が日本の治療論理と一致するとは限らない、③治療は本来、多様な選択肢があってしかるべきであるが、画一的な治療となり万が一の際に柔軟に対応できない、などである。

①については、2001 年のテロでその脆弱性が明らかになった。工業製品とは異なり、長期間の備蓄ができないことは大きな弱点である。輸血検査のひとつである不規則抗体検査試薬は現在でもかなりの部分を海外に依存しているが、10 日前後という凝固因子製剤よりも有効期限が短い試薬の確保は当時大変な問題となった。これひとつとっても、国内でのある程度の生産が求められるゆえんである。

②の最も大きな問題は、製剤の価格である。わが国における凝固因子製剤は一部の例外を除き、欧米、多くの先進工業国のみならずいわゆる新興国である国々に比してその価格は著しく低い。例えば、インヒビター治療薬であるノボセブン[®]では米国(2007 年 RED BOOK, p587) 1 μ g あたり \$1.58(1.2 mg, 2.4 mg および 4.8 mg の各製剤共通)、英国(2007 年 RED BOOK, p56) 1.2 mg £634.81, 2.4 mg £1269.62, 4.8 mg £2539.24, わが国では 1.2 mg 82,426 円, 4.8 mg 302,035 円であり、米国に比して約 40% 程度である。

HIV 治療薬の価格が高額のために、アフリカやアジアの多くの国では十分な治療ができず、

6. 安全な製剤を安定供給するためには

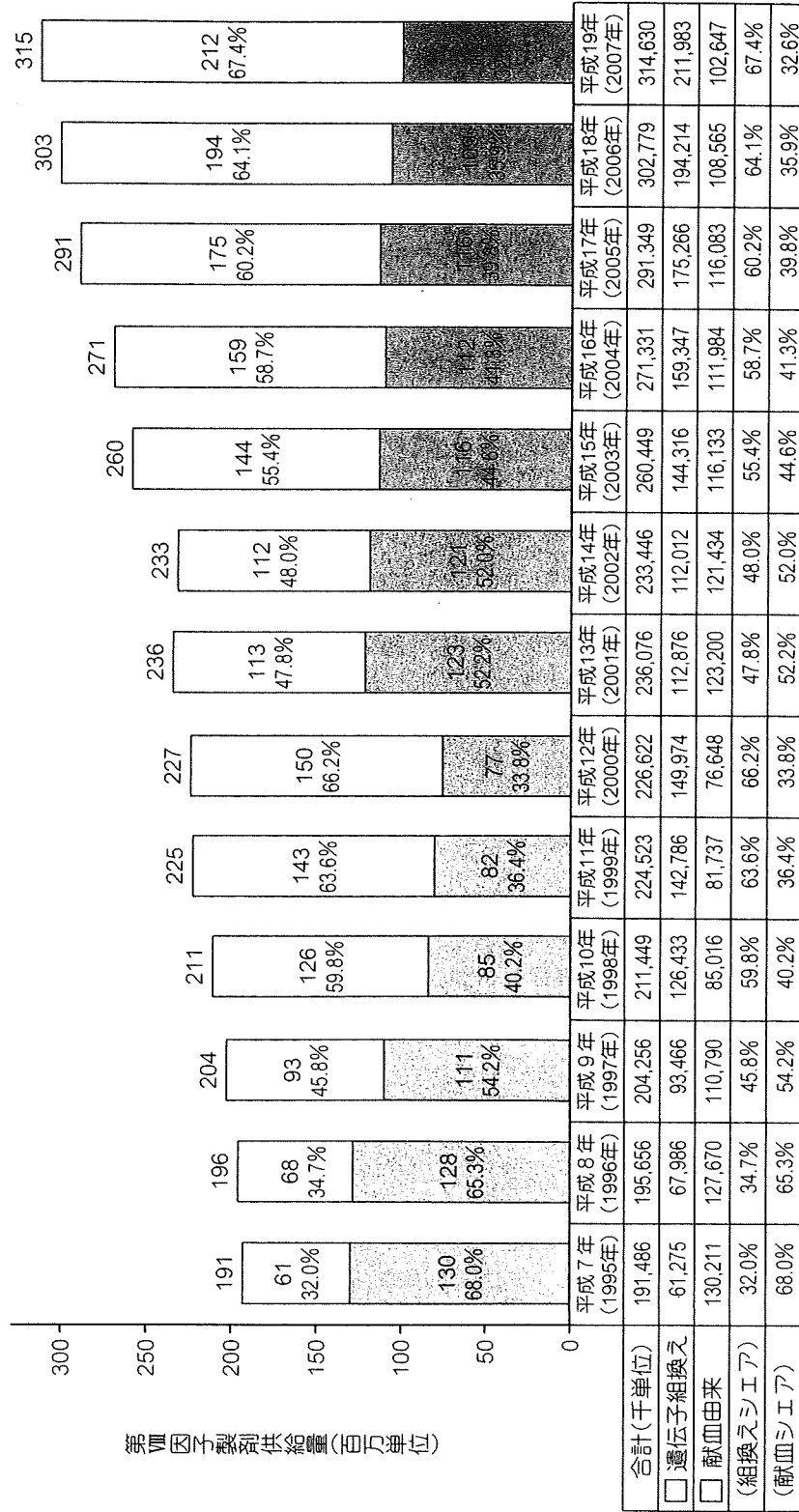


図3 第Ⅳ因子製剤供給量の推移(厚生労働省血液事業部会運営委員会資料より)

第Ⅳ因子製剤の供給量は1995(平成7)年当時が約200万単位で、うち70%弱が国内製造(血漿由来製剤)であったが、2007(平成19)年では315万単位と1.7倍に増加した。しかし、増加分はもっぱら遺伝子組換え製剤であり、国内製造(血漿由来製剤)はむしろ低下した。

Ⅲ. 治療

企業に低価格で治療薬を提供するように求められている。だが、企業にとっては利益の減少のみならず、次の薬剤開発の原資もなくなるとなれば次の患者にとっても不利益になることは免れえず、グローバル企業が供給をしないあるいは減少するといったときにわれわれのなすべきことは何であろうか。企業の社会的使命、社会的倫理はといったところでおそらく解決は困難と思われ、それほど単純なことではない。

③ 治療の画一化は、いったん問題が発生したときに対応が極めて困難となる。もとより、医療は異なる患者を対象にしている以上、画一的なものを考えられないことは自明の理ではあるが、しかし、血友病のような比較的稀な疾患では治療薬としての製剤にしても多様なものを期待することは現実的ではない。というものの、一部の医療機関であるように、特定の製剤のみ使用可能ということは望ましくはない。前述したごとくインヒビター発症についてその根本的な理解がまだ不十分な段階ではあるが、万が一、製剤の比重をある程度考慮すべきといったことが明らかになったら、われわれは何をなすべきであろうか。

おわりに

かつて、輸血による感染症に対して十分な対応ができない時代においては、輸血医療の安全とは血液製剤の安全であった。しかし、少なくともHBV、HCV、HIVのような既知の感染症に対する対策は十分となってきており、なかでも血漿分画製剤としての凝固因子については、これらの感染症はすでに解決済みといってもよい時代となった。しかしながら、血友病治療における安全性とは感染症以外にも、インヒビターの発生、さらには安定的な血液製剤供給が可能かどうか大きな問題として残されている。すべての関係者のさらなる努力を期待したい。

(高松 純樹)

◆原 著◆

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

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

遺伝子組換え活性型凝固第 VII 因子製剤 (rFVIIa : 注射用ノボセブン®) は, インヒビターを保有する血友病 A および B 患者の止血を目的に開発されたバイパス止血製剤である。海外では rFVIIa 高用量単回投与の臨床研究が複数行われ, 2007 年 EU において高用量単回投与法が正式に承認された。今回, 国内で行われた, 高用量 (270 µg/kg) 単回投与に関する医師主導型臨床研究の結果を報告する。第 I 相試験では rFVIIa 270 µg/kg 単回投与に対する安全性と凝血的薬理作用を検証した。さらに, 第 II 相試験では 270 µg/kg の高用量単回投与と 90 µg/kg の標準用量 3 回投与における有効性と安全性の差異を, 無作為割り付けクロスオーバー方式で検討した。その結果, 第 I 相試験では 270 µg/kg 単回投与の安全性と薬理作用が裏付けられた。さらに第 II 相試験において 270 µg/kg 単回投与法は, 標準投与法に比べ, 同等以上の有効性を示した。また, 安全性においても, 高用量単回投与法で新たに問題となる事象は認められなかった。以上の結果から, 患者・家族の負担を軽減し, QOL の改善につながる高用量単回投与法を我が国においても普及させるべきである。

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

- *1 産業医科大学 小児科 [〒 807-8555 北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1]
Department of Pediatrics, University of Occupational and Environmental Health, Japan [1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu city 807-8555, Japan]
Tel: 093-691-7254 Fax: 093-691-9338 e-mail: akira-s@med.uoeh-u.ac.jp
- *2 奈良県立医科大学 小児科
Department of Pediatrics, Nara Medical University
- *3 札幌徳洲会病院 小児科
Department of Pediatrics, Sapporo Tokushuukai Hospital
- *4 東京医科大学 臨床検査医学講座
Department of Laboratory Medicine, Tokyo Medical University
- *5 荻窪病院 血液科
Department of Hematology, Ogikubo Hospital
- *6 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 小児科
Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine Yokohama City Seibu Hospital
- *7 静岡県立こども病院 血液腫瘍科
Division of Hematology and Oncology, Shizuoka Children's Hospital
- *8 名古屋大学大学院 医学系研究科 血液・腫瘍内科学
Department of Hematology and Oncology, Nagoya University Graduate School of Medicine
- *9 名古屋大学医学部附属病院 輸血部
Department of Transfusion Medicine, Nagoya University Hospital
- *10 兵庫医科大学 血液内科
Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine
- *11 兵庫県立こども病院 血液腫瘍科
Department of Hematology and Oncology, Hyogo Children's Hospital
- *12 徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 小児医学分野 発生発達医学講座
Department of Pediatrics, University of Tokushima
- *13 独立行政法人国立病院機構福井病院 小児科
Department of Pediatrics, National Hospital Organization Fukui National Hospital
- *14 広島大学病院 輸血部
Division of the Blood Transfusion Services, Hiroshima University Hospital
受付日: 2008 年 1 月 21 日, 受理日: 2008 年 2 月 13 日

緒 言

欠乏している凝固因子の補充療法を受けた血友病患者に、当該血液凝固因子に対するインヒビター (同種抗体) が発現することがある。ひとたびインヒビターが発現すると凝固因子製剤による補充療法の止血効果が減弱ないし消失するため、その後の止血治療が困難になる。遺伝子組換え活性型凝固第 VII 因子製剤 (rFVIIa: 注射用ノボセブン®, ノボ ノルディスク ファーマ株式会社) は、インヒビターを保有する血友病 A および B 患者の止血を目的に開発されたバイパス止血製剤であり、我が国では 2000 年 3 月に承認され、「血液凝固第 VIII 因子または第 IX 因子に対するインヒビターを保有する先天性血友病および後天性血友病患者の出血抑制」を適応として広く使用されている。その用法および用量は、「初回は 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で、その後は 60~120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を出血の種類および程度に応じて適宜増減し、止血が得られ、臨床的改善が観察されるまで、2~3 時間ごとに投与すること」と定められている。Key らの在宅注射療法に関する報告では、軽度~中等度の出血に対し、rFVIIa の投与が平均 2.2 回必要であった¹⁾。一方、我が国の市販後調査において、全出血 528 エピソード中 438 エピソード (82%) では複数回の rFVIIa の投与がなされていた²⁾。しかしながら、乳幼児など血管確保が難しい患者に対して、繰り返し静脈穿刺を行うことは、実地臨床からしても、在宅療法を導入する上でも障壁となる。また、医療施設で rFVIIa の投与を受ける場合も、長時間当該施設での滞在を強いられるなど、患者とその家族の負担は大きい。そこで、この問題を解決するために、高用量の rFVIIa を投与することにより、できるだけ一回の輸注で止血を図る方法が試みられるようになった。また、rFVIIa のクリアランスには個人差があり、患者によっては、従来の 60~120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では、十分な効果が期待できないことがある。特に小児では rFVIIa のクリアランスは高く、15 歳未満の

小児を対象とした試験では、成人に比べて、クリアランスが 50% 高いことが示されている³⁾。Cooper らは、標準的な用量である 90~120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を繰返し投与しても十分な止血効果が認められなかった血友病 B の患児に、薬物動態試験を行ったところ、患児の rFVIIa のクリアランス速度は成人の 2 倍であった⁴⁾。そこで rFVIIa の投与量を 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$ まで増量した結果、ほとんどの出血に対して 320 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の単回投与で止血可能になったと報告している。海外では rFVIIa 高用量単回投与の臨床研究が複数行われ、その有効性および安全性が検討され、良好な成績が得られたことから⁵⁾、2007 年 EU では、患者・家族の負担を軽減するための rFVIIa 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与法が正式に承認された。我が国でも 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与に関する医師主導型臨床研究 (以下、本研究) が 2004 年 8 月から開始され、安全性に関する第 I 相試験の結果については本誌に速報として既に報告した⁶⁾。今回、270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の単回投与と 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の 3 回投与で、有効性に差異があるか否かを明らかにするための無作為割り付けクロスオーバー方式による第 II 相試験が完了したので、最終的な安全性に関する情報も含めて報告する。

対象および方法

1. 研究デザイン

本研究は多施設参加型臨床研究で、第 I 相試験と第 II 相試験からなり、第 II 相試験は非盲検無作為化クロスオーバー試験である。

第 I 相試験として、来院時 (出血時または非出血時) に rFVIIa 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を単回静脈内投与し安全性と凝血学的薬理作用を検証し、安全性が確認されれば、第 II 相試験に進むこととした。海外における高用量単回投与の治験で用いられた研究実施計画書 (Novo Nordisk A/S, Denmark) を参考に、本研究第 II 相試験の研究実施計画を策定した。関節出血時に rFVIIa を 90 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 3$ 回投与あるいは 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単

回投与のいずれか一方の投与方法で治療し、その次の関節出血時にもう一方の投与方法で治療を行うクロスオーバー法で有効性と安全性の比較検討を行った。投与方法の順番については、無作為化のもとに割り振った。なお、第II相試験からの参加も可とした。

被験者登録期間は2004年8月から2006年3月まで、試験実施期間は2004年8月から2007年9月までである。

2. 選択基準

第VIII因子または第IX因子に対するインヒビター (1 BU/mL以上) を保有する血友病AまたはB患者で、下記条件を満たし、かつ研究分担医師により被験者として適切であると判断されたものを対象とした。

- (1) 年齢3歳以上
- (2) 過去12カ月間に少なくとも3回以上の関節内出血歴があること
- (3) rFVIIaの使用経験があること
- (4) 文書による同意が得られていること
在宅治療で本研究に参加する場合には
- (5) 本人 (介護者でも可) が出血を適確に評価できること
- (6) 静脈アクセスが容易であり、本人 (介護者でも可) がrFVIIaの溶解および注射を正しく行う技術を有していること

3. 除外基準

除外基準は下記の通りとした。

- (1) rFVIIaの成分に対し過敏症の既往がある
- (2) 敗血症 (特に、グラム陰性菌感染に伴う重症敗血症) 患者
- (3) 直近の30日間に何らかの治験薬の投与を受けた
- (4) 先天性血友病AまたはB以外に臨床的評価に影響を与えると思われる凝固障害

が認められる

- (5) 末期肝疾患 (Child-Turcotte (Pughの変法) 分類:C) の既往がある
- (6) 精神障害, 反抗または言語障害により, 本研究参加について適切な理解や協力が得られない
- (7) 本研究への参加が2回目となる
- (8) 血栓症あるいは易血栓性のリスクファクターを有する (たとえば, 心筋梗塞, 狭心症, 重症高血圧症, 糖尿病, 血栓・塞栓症の既往, 急性重症感染症など)

また、登録時の事前検査から1年半が経過した時点で、90 μ g/kg \times 3回と270 μ g/kg単回の両方法での投与が終了しなかった症例は、自動的に脱落症例とした。

4. 同意取得の方法

本研究に先立ち、研究分担医師は、原則として20歳以上の場合は本人、12歳以上20歳未満の場合は本人と代諾者、12歳未満の場合は代諾者に対して本研究の意義、目的、方法、被験者が被りうる不利益および危険性などについて文書および口頭にて十分な情報を提示した。また、被験者の研究への参加について自由な選択を保証し、被験者のプライバシーの確保に関する対策についても十分な説明を行った上で、文書で同意を得た。

5. 無作為化およびモニタリング

無作為化およびモニタリングは臨床開発モニター (プロキユアグループおよび名古屋臨床薬理研究所) が行った。臨床開発モニターは、研究責任医師 (産業医科大学, 白幡 聡) とともに各研究施設で行われた事前検査などに基づき、本臨床研究への参加の適格性の確認をした。次いで、第I相試験参加者については第I相試験終了後に第II相試験への参加に対する安全性に問題がないかを審査した。

第II相試験への参加の安全性が確認された

Table 1 Scoring system for pain

Time (h)	Pain	Score	Pain	Score	Pain	Score
1	Increase than BL	0	No change	1	Decrease than BL	1
3	Increase than BL	0	No change	1	Decrease than BL	1
6	Increase than BL	0	No change	0	Decrease than BL	1
9	Increase than BL	0	No change	0	Decrease than BL	1

BL : Before rFVIIa loading

Table 2 Scoring system for joint mobility

Time (h)	Joint mobility	Score	Joint mobility	Score	Joint mobility	Score
1	Decrease than BL	0	No change	1	Increase than BL	1
3	Decrease than BL	0	No change	1	Increase than BL	1
6	Decrease than BL	0	No change	0	Increase than BL	1
9	Decrease than BL	0	No change	0	Increase than BL	1

BL : Before rFVIIa loading

症例に対して, 臨床開発モニターが, 第 II 相試験における 2 通りの治療方法 (90 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 3$ 回投与 \rightarrow 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与または 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与 \rightarrow 90 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 3$ 回投与) の投与順序を無作為に割り付けた. 無作為化は 1:1 とした.

6. 有効性および安全性の評価

1) 第 I 相試験

出血時または非出血時に rFVIIa 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を静脈内に注射し, 投与 30 分後における, バイタルサインを含む身体所見を観察した. また, 高用量の rFVIIa を投与した時の凝血的薬理作用を明らかにする目的で, 投与前と投与 30 分後に採取した血液を用いて凝固波形解析, トロンビン生成試験 (TGT) を行い, rFVIIa の投与前後で比較した. 同時に血小板数, 可溶性フィブリンモノマー, D ダイマー, フィブリノゲンなどの DIC マーカーを測定し, バイタルサインを含む身体所見の観察と併せて rFVIIa の 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 単回投与後の安全性を検討した (測定方法については既報参照)⁶⁾.

2) 第 II 相試験

出血症状発現から 1 時間以内に病院または在宅にて, 割り付けられた投与順に従い, rFVIIa 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を 3 時間間隔で 3 回反復投与, または rFVIIa 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を単回投与した. 出血症状の発現時刻は, 被験者申告による関節の腫脹または疼痛発現時刻とした. 投与量は, あらかじめ臨床開発モニターより指示があり, 指示された投与量のズレは, $\pm 10\%$ までを Per Protocol (PP) 解析対象症例として採用とした.

rFVIIa 投与前と投与後 1, 3, 6, 9 時間における疼痛の強さおよび関節可動性に対する総合的評価を主要有効性評価項目 (global treatment response) とした. また, 最大伸展状態での関節中央部の周囲径 (足関節の場合を除く) を副次的有効性評価項目とした.

在宅で治療を実施する場合には, 疼痛, 関節可動性, 関節周囲径の評価は被験者が実施し, 被験者日誌に記録した. ただし, 関節可動性, 関節周囲径の評価は介護者の実施でも可とした.

研究対象とする出血は以下の条件を充たすも