

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Ishida F, Okubo K, Ito T, Okumura N, Souri M, Ichinose A. Spontaneous regression of the inhibitor against the coagulation factor XIII A subunit in acquired factor XIII deficiency. *Thromb Haemost.* 2010;104(6): 1284-5.

(2) Ichinose A, Souri M; on behalf of the Japanese collaborative research group on "Acquired haemorrhaphilia due to factor XIII deficiency". As many as 12 cases with haemorrhagic acquired factor XIII deficiency due to its inhibitors were recently found in Japan. *Thromb Haemost.* 2011;105(5): in press.

(3) 一瀬白帝：後天性血友病 XIII(13) (出血性後天性凝固第 13 因子欠乏症) とは？ 日本内科学会雑誌，2010；99(8)：1934-43.

(4) 一瀬白帝：炎症と凝固第 XIII(13) 因子(基礎編)；第 XIII(13)因子と炎症性タンパク質、細胞とのクロストーク. *Coagulation & Inflammation*, 2010；4(2)：1-8.

(5) 一瀬白帝：血液凝固と凝固制御. 臨床検査，2011；印刷中.

(6) 一瀬白帝：後天性血友病 13 と出血性後天性第 13 因子欠乏症. 山形医学，2011；印刷中.

2. 学会発表

(1) Ichinose A: Project of a pilot study to establish the normal value of F13-B concentration using the international standard plasma. 56th Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis),

2010 May, Cairo, Egypt

(2) Ichinose A: International survey of acquired hemophilia 13 (Hemorrhagic acquired factor 13 deficiency). Proposal for a future international collaborative study. 56th Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee of the ISTH (International Society on Thrombosis and Haemostasis), 2010 May, Cairo, Egypt

(3) Ichinose A: Relationship between FXIII (13) activity and cross-linked alpha2-plasmin inhibitor in patients with acquired hemophilia XIII (13). International workshop Factor XIII - recent advances in the FXIII research at the 55th Annual Meeting Society of Thrombosis and Haemostasis Reserch (GTH), 2011 February, Wiesbaden, Germany. (WS01-7)

(4) Kaneko M, Yatomi Y, Ichinose A: Point-of-care assay of FXIII (13) activity by utilizing clot retraction reaction in clinical settings. International workshop Factor XIII - recent advances in the FXIII research at the 55th Annual Meeting Society of Thrombosis and Haemostasis Reserch (GTH), 2011 February, Wiesbaden, Germany. (WS01-8)

(5) Ichinose A: Is acquired hemophilia XIII (autoimmune FXIII deficiency) an overlooked or forgotten disease in europe? Symposium (Factor XIII) at the 55th Annual Meeting Society of Thrombosis and Haemostasis Reserch (GTH), 2011 February, Wiesbaden, Germany. (SY02-1)

(6) 惣宇利正善, 張 偉光, 岩田宏紀, 一瀬白帝：マクロファージのエンドトキシン誘導性組織内浸潤における XIII 因子の関与. 第 33 回日本血

- 栓止血学会学術集会, 鹿児島; 2010年4月
- (7) 笠原浩二, 惣宇利正善, 兼田瑞穂, 三木俊明, 山本正雅, 一瀬白帝: 凝固 XIII 因子 A サブユニット欠損マウスでは血餅退縮反応が欠如する. 第33回日本血栓止血学会学術集会, 鹿児島; 2010年4月
- (8) 小林達之助, 朝倉英策, 林 朋恵, 前川実生, 門平靖子, 山崎雅英, 森下英理子, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 中尾眞二: 皮下血腫と消化管出血を契機に診断された後天性第 XIII 因子欠乏症. 第33回日本血栓止血学会学術集会, 鹿児島; 2010年4月
- (9) 金子 誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 石坂泰三, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 矢富 裕: 血餅退縮能を用いた血液凝固第 XIII 因子活性の迅速簡易測定法の開発と臨床応用. 第72回日本血液学会学術集会, 横浜; 2010年9月
- (10) 惣宇利正善, 張 偉光, 岩田宏紀, 一瀬白帝: 妊娠期の止血における凝固 XIII 因子陽性細胞の存在意義. BMB2010(第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同年会, 神戸; 2010年12月
- (11) Ichinose A: The coagulation system interacts with platelets in clot formation: an overview. BMB2010(第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同年会 Workshop 3W19, 神戸; 2010年12月
- (12) Kasahara K(笠原浩二), Kaneda M(兼田瑞穂), Miki T(三木俊明), Iida K(飯田和子), Suzuki H(鈴木英紀), Yamamoto N(山本正雅), Arai M(新井盛大), Souri M(惣宇利正善), Ichinose A(一瀬白帝): Factor XIII-Dependent-Clot Retraction (CR) and -Fibrin Translocation to Platelet Rafts: Factor XIII-Crosslinked Fibrin-Glycoprotein (GP) IIb/IIIa Axis. BMB2010(第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同年会 Workshop 3W19(血栓形成における凝固系と血小板の相互作用), 神戸; 2010年12月
- (13) Kaneko M(金子 誠), Suzuki A(鈴木明子), Kanno N(菅野信子), Tanaka R(田中亮子), Ishizaka T(石坂泰三), Souri M(惣宇利正善), Yatomi Y(矢富 裕), Ichinose A(一瀬白帝): A novel quick point of care test of coagulation factor XIII activity based on clot retraction in humans. BMB2010(第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同年会 Workshop 3W19(血栓形成における凝固系と血小板の相互作用), 神戸; 2010年12月
- (14) 金子 誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 石坂泰三, 惣宇利正善, 矢富 裕, 一瀬白帝: A novel quick point of care test of coagulation factor XIII activity based on clot retraction in humans. 第8回血液・血管オルビス, 東京; 2010年8月
- (15) 惣宇利正善, 一瀬白帝: Molecular basis of acquired hemophilia due to factor XIII(13) (F13) inhibitors (acquired hemophilia 13): A novel antibody against F13-A hinders the association of a F13-A dimer and F13-B dimer. 第8回血液・血管オルビス, 東京; 2010年8月
- (16) 惣宇利正善, 張 偉光, 岩田宏紀, 一瀬白帝: 異種四量体形成を阻害する凝固 XIII 因子インヒビター. 第48回東北止血・血栓研究会, 山形; 2010年9月
- (17) 笠原浩二, 兼田瑞穂, 三木俊明, 飯田和子, 鈴木英樹, 原 裕太, 下仲基之, 小嶋聡一, 新井盛大, 一瀬白帝, 惣宇利正善, 山本正雅: フィブリンの血小板脂質ラフト移行と血餅退縮における働き. 第48回東北止血・血栓研究会, 山形; 2010年9月

- (18) 一瀬白帝：後天性第 XIII (13) 因子 (FXIII (13)) 欠乏症 (後天性血友病 XIII (13)) 研究の現状. 第 3 回後天性第 XIII(13)因子欠乏症研究会 基調講演, 横浜; 2010 年 9 月
- (19) 石田文宏, 大久保健太郎, 伊藤俊朗, 奥村伸生, 惣宇利正善, 一瀬白帝: インヒビターが自然消退した出血性後天性第 XIII 因子欠乏症. 第 3 回後天性第 XIII(13)因子欠乏症研究会, 横浜; 2010 年 9 月
- (20) 矢富 裕, 金子 誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 血餅退縮反応を用いた新しい迅速第 XIII 因子活性測定法. 第 3 回後天性第 XIII(13)因子欠乏症研究会, 横浜; 2010 年 9 月
- (21) 一瀬白帝: 見逃しやすい出血傾向 - 後天性血友病 13 研究の現状と展望 -. 特別講演会, 鹿児島; 2010 年 10 月
- (22) 惣宇利正善, 張 偉光, 岩田宏紀, 一瀬白帝: 異種四量体形成を阻害する凝固 XIII 因子インヒビター. 第 18 回山形分子生物学セミナー, 山形; 2010 年 12 月
- (23) 張 偉光, 岩田宏紀, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 妊娠期の止血における凝固 XIII 因子陽性細胞の存在意義. 山形大学医学部実験動物セミナー 第 21 回研究成果発表会, 山形; 2010 年 12 月
- (24) 藤井法子, 惣宇利正善, 嶋 緑倫, 一瀬白帝: 補充した凝固第 13 因子 (F13) 製剤の半減期短縮が認められた先天性 F13 欠損症複合ヘテロ接合体の新生児例. 日本血液学会第 165 回例会, 東京; 2011 年 2 月
- (25) 金子 誠, 菅野信子, 鈴木明子, 田中亮子, 惣宇利正善, 矢富 裕, 一瀬白帝: 血餅退縮反応を用いた新しい迅速第 XIII 因子活性測定法. 第 11 回 TTM フォーラム学術集会, 東京; 2011 年 3 月
- (26) Ichinose A, Souri M; on behalf of the Japanese collaborative

research group on “Acquired haemorrhaphilia due to factor XIII/13 deficiency”. Amounts of cross-linked α_2 -plasmin inhibitor decreased in patients with ‘haemorrhagic acquired factor XIII/13 deficiency’ and ‘acquired hemorrhaphilia XIII/13’. 第 11 回 TTM フォーラム学術集会, 東京; 2011 年 3 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

山形大学に以下の発明届を提出して手続き中である。(2010 年 8 月)

 - (1) 血小板-フィブリン血栓の血餅退縮反応を利用した超迅速 XIII(13)因子活性測定法
 - (2) 凝固 XIII(13)因子の血栓安定化能と抗線溶能をグローバルに測定するアッセイ法
 - (3) 架橋結合 α_2 -Plasmin Inhibitor を指標にした凝固 XIII(13)因子活性低下の特異的測定法
2. 実用新案登録

なし
3. その他

なし

Ⅲ. 分担研究報告

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担課題：造血幹細胞移植における第 XIII 因子の変動と病態に関する研究

研究分担者 坂田洋一（自治医科大学医学部分子病態研究部 教授）

研究協力者 窓岩清治（自治医科大学医学部分子病態研究部 講師）

研究要旨

後天性凝固第 XIII 因子欠乏症の分子病態の解析と止血血栓学的臨床研究を目的として、造血幹細胞移植と第 XIII 因子の動態との関連に関する研究に着手した。本年度は、自治医科大学附属病院の造血幹細胞移植患者のうち 5 例（平均年齢 34.0 歳、男性 2 例、女性 3 例）について、第 XIII 因子活性および抗原量を移植前第 7 病日から移植後第 40 病日まで経時的に測定した。その結果、移植第 7 病日目に第 XIII 因子活性が 20-30% と最も低下し以後漸増すること、第 XIII 因子抗原量は 1 例を除き概ね 50-60% を維持していた。造血幹細胞移植に伴う第 XIII 因子の動態を解析し、移植前後の病態と密接に関連する可能性が示唆された。

A. 研究目的

血液凝固第 XIII 因子は、A₂B₂ からなるヘテロテトラマーである。第 XIII 因子 A サブユニットは、主に骨髄巨核球や単球で産生されることから、その動態は生体内における造血能と密接に関連する可能性がある。本研究では後天性凝固第 XIII 因子欠乏症の分子病態の解析と止血血栓学的臨床研究を視野に入れ、本年度は特に造血幹細胞移植と第 XIII 因子の動態との関連を明らかにする。

B. 研究方法

自治医科大附属病院血液科（小澤敬也教授）および輸血細胞移植部（室井一男教授）との共同研究により、2006 年 6 月から 2008 年 9 月まで実施した造血幹細胞移植症例を対象とした consecutive study に登録された患者 57 例のうち、登録順で最初 5 症例（平均年齢 34.0 歳、男性 2 例、女性 3 例）について、第 XIII 因子活性値および同抗原量を移植前第 7 病日から移植後第 40 病日まで経時的に測定した。

第 XIII 因子活性は合成器質法により、第 XIII 因子抗原量は抗ヒト第 XIII 因子ウサギポリクローナル抗体を用いたラテックス凝集法により定量した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「自治医科大学疫学研究倫理審査委員会」承認済み研究である。

C. 研究結果

基礎疾患は急性骨髄性白血病 3 例、被ホジキンリンパ腫 2 例で、同種骨髄移植が 3 例、末梢血幹細胞移植および臍帯血三細胞移植が 1 例ずつであり、5 例のうち 2 例が非寛解での造血幹細胞移植であった。

第 XIII 因子活性は、全症例において前処置開始から漸減し移植第 7 病日目には 20-30% まで低下、以後漸増するものの移植後 40 日目においても 50-60% までの回復に留まっていた。一方第 XIII 因子抗原量は、1 例を除き概ね 50-60% を維持していた。また第 XIII 活性の低下が遷延する症例がみられた。

D. 考察

第 XIII 因子活性値は、造血幹細胞移植における移植前処置に伴うレシピエントの残存造血能とともに、ドナー細胞の生着と新規造血動態と強い関連性を有する可能性が示された。造血動態を第 XIII 活性の低下が遷延する症例がみられ、急性 GVHD を併発していたがさらなる基礎病態との関連性について解析中である。

E. 結論

造血幹細胞移植に伴う第 XIII 因子の動態を解析し、移植前後の病態と密接に関連する可能性が示唆され、次年度にはさらに症例数を増やし解析する予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 原著論文

Madoiwa, S., Tanaka, H., Nagahama, Y., Dokai, M., Kashiwakura, Y., Ishiwata, A., Sakata, A., Yasumoto, A., Ohmori, T., Mimuro, J., Sakata, Y.: Degradation of cross-linked fibrin by leukocyte elastase as alternative pathway for plasmin-mediated fibrinolysis in sepsis-induced disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res.* 2011 Jan 12. [Epub ahead of print] in press.

Ohmori T, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Madoiwa S, Mimuro J, Honda S, Miyata T, Sakata Y.: Vinculin activates inside-out signaling of integrin α IIb β 3 in Chinese hamster ovary cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 400(3) 323-328. 2010.

Ohmori T, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Madoiwa S, Mimuro J, Furukawa Y, Sakata Y.: Vinculin is indispensable for repopulation by hematopoietic stem cells, independent of integrin function. *J Biol Chem.* 285(41)

31763-31773.2010.

Ohmori, T., Madoiwa, S., Mimuro, J., Sakata, Y.: Development of platelet-directed gene modification by lentiviral vector. *Rinsho Ketsueki.* 51(8) 625-31. 2010.

Ishiwata A, Mimuro J, Mizukami H, Kashiwakura Y, Yasumoto A, Sakata A, Ohmori T, Madoiwa S, Ono F, Shima M, Yoshioka A, Ozawa K, Sakata Y.: Mutant macaque factor IX T262A: a tool for hemophilia B gene therapy studies in macaques. *Thromb Res.* 125(6) 533-537. 2010.

Mimuro J, Mizuta K, Kawano Y, Hishikawa S, Hamano A, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ohmori T, Madoiwa S, Kawarasaki H, Sakata Y.: Impact of acute cellular rejection on coagulation and fibrinolysis biomarkers within the immediate post-operative period in pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant.* 14(3) 369-376. 2010.

2. 学会発表

Kenji Yokoyama, Tetsuhito Kojima, Yoichi Sakata, Tomio Kawasaki, Hajime Tsuji, Toshiyuki Miyata, Shinichiro Okamoto, Mitsuru Murata: A survey of venous thromboembolism in Japanese patients with inherited anticoagulant deficiency 第 72 回日本血液学会学術集会 2010.9/24-26 横浜

窓岩清治、小林英司、石渡 彰、柏倉裕志、大森 司、三室 淳、坂田洋一: マイクロポート植え込み成体血友病 A マウスを用いた持続的 VIII 因子刺激に対する免疫応答能の解析 第 72 回日本血液学会学術集会 2010.9/24-26 横浜

Tsukasa Ohmori, Yuji Kashiwakura, Akira Ishiwata, Seiji Madoiwa, Jun Mimuro, Yusuke Furukawa, Yoichi Sakata: Vinculin is indispensable for repopulation by hematopoietic stem cells. 第 72 回日本血液学会学術集会 2010.9/24-26 横浜

Jun Mimuro, Yoichi Sakata: Hemophilia

gene therapy study with mice and non-human primates. 第 72 回日本血液学会学術集会 2010.9/24-26 横浜
大森 司、窓岩清治、三室 淳、坂田洋一：レンチウイルスベクターを用いた血小板標的遺伝子導入法の開発 (シンポジウム) 第 72 回日本血液学会学術集会 2010.9/24-26 横浜

Jun Mimuro, Akira Ishiwata, Hiroaki Mizukami, Yuji Kashiwakura, Katsuhiko Takano, Tsukasa Ohmori, Seiji Madoiwa, Keiya Ozawa, Yoichi Sakata: Liver-restricted expression of the canine factor VIII gene facilitates prevention of inhibitor formation in factor VIII-deficient mice. 第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会 2010.7/1-3 宇都宮

Tsukasa Ohmori, Yuji Kashiwakura, Akira Ishiwata, Seiji Madoiwa, Eiji Akiba, Mamoru Hasegawa, Jun Mimuro, Keiya Ozawa, Yoichi Sakata: The chicken hypersensitive site-4 chromatin insulator sequence protects clonal dominance of hematopoietic stem cells transduced with a self-inactivating SIV vector in platelet-directed gene therapy. 第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会 2010.7/1-3 宇都宮

Hiroaki Mizukami, Jun Mimuro, Akira Ishiwata, Hiroya Yagi, Tsukasa Ohmori, Masashi Urabe, Akihiro Kume, Yoichi Sakata, Keiya Ozawa: Successful factor IX expression by IV administration of AAV8 vectors in macaques. 第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会 2010.7/1-3 宇都宮

Tsukasa Ohmori, Yuji Kashiwakura, Akira Ishiwata, Seiji Madoiwa, Jun Mimuro, Yoichi Sakata: Silencing of a targeted protein in platelets using a lentiviral vector delivering short hairpin RNA sequence. 第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会 2010.7/1-3 宇都宮
Akihiro Kume, Hiroya Yagi, Hiroaki

Mizukami, Masashi Urabe, Tomonori Tsukahara, Akira Ishiwata, Jun Mimuro, Seiji Madoiwa, Tsukasa Ohmori, Yoichi Sakata, Keiya Ozawa: Choice of small-sized promoter for AAV-mediated factor IX expression in skeletal muscle. 第 16 回日本遺伝子治療学会学術集会 2010.7/1-3 宇都宮

和田英夫、畑田 剛、岡本好司、内山俊正、川杉和夫、真弓俊彦、丸藤 哲、久志本茂樹、関 義信、窓岩清治: DIC 診断における non-overt-DIC 診断基準の有用性の検討 第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010.4/22-24 鹿児島

柏倉裕志、三室 淳、石渡 彰、安本篤史、坂田飛鳥、大森 司、窓岩清治、水上浩明、小野文子、小澤敬也、坂田洋一: 非ヒト霊長類を用いた血友病 A 遺伝子治療研究に向けたヒト BDDFVIII 特異的検出法の確立 第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010.4/22-24 鹿児島

石渡 彰、三室 淳、水上浩明、小野文子、安本篤史、坂田飛鳥、柏倉裕志、大森 司、窓岩清治、久米晃啓、保富康宏、小澤敬也、坂田洋一: 非ヒト霊長類を用いた血友病 B 遺伝子治療研究: 末梢静脈投与 AAV8 ベクターによる第 IX 因子遺伝子導入 第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010.4/22-24 鹿児島

三室 淳、水田耕一、川野陽一、菱川修司、浜野明栄、柏倉裕志、石渡 彰、坂田飛鳥、安本篤史、大森 司、窓岩清治、河原崎秀雄、坂田洋一: Impact of acute cellular rejection on biomarkers in liver transplantation 第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010.4/22-24 鹿児島

大森 司、柏倉裕志、石渡 彰、坂田飛鳥、安本篤史、窓岩清治、三室 淳、本田繁則、宮田敏行、坂田洋一: Vinculin は巨核球分化と integrin α IIb β 3 の活性化に関与する 第 33 回日本血栓止血学会学術集会 2010.4/22-24 鹿児島

土海桃子、窓岩清治、柏倉裕志、石渡 彰、

大森 司、三室 淳、坂田洋一：肺血症における白血球エラスターゼの造血調節機構の解析 第33回日本血栓止血学会学術集会
2010.4/22-24 鹿児島

窓岩清治、大森 司、三室 淳、坂田洋一：
第5回日本血栓止血学会学術標準化委員会
DIC部会シンポジウム 敗血症DICにおける白血球エラスターゼによる血栓溶解の臨床的意義 2010.10.30 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特記事項なし。

分担課題：血餅退縮能を用いた血液凝固第 XIII 因子活性測定（迅速簡易測定法の開発と臨床応用）

研究分担者 矢富 裕 東京大学大学院医学系研究科 臨床病態検査医学 教授

研究要旨

血液凝固第 XIII 因子（FXIII）活性の迅速簡易測定法を確立し、後天性血友病 XIII(13)症例の発掘、その分子機序の解明、診断や治療モニタリング法としての臨床貢献、病態解明への新しいアプローチ法の開発に寄与することを目的とした。血漿 FXIII 活性を低下させる薬剤、抗体などの試験管内での検討、実際の臨床症例を用いた検討を行い、特に高度 FXIII 活性低下状態では血餅退縮反応は有意な低下を示した。この検討により血餅退縮能検査は、重大な出血症状を呈する症例に対し FXIII 活性低下の診断を簡易的に迅速に行えるスクリーニング検査として、その有用性が期待された。

A. 研究目的

後天性血友病 XIII(13)の鑑別を必要とする出血は緊急に対応すべき病態で、迅速な検査報告が必要である。しかし、通常の病院では第 XIII 因子は外注センターへの依頼による測定が一般的であり、現状においては診断を下すまでに多くの時間がかかっている。この問題に対して、特別の機器を設置していない病院でも簡易的に行うことのできる FXIII 活性測定法を確立し、後天性血友病 XIII(13)症例の発掘、その分子機序の解明、診断や治療法へのモニタリング法として臨床へ大きく貢献し、病態解明への新しいアプローチ法を開発することを目的とした。

B. 研究方法

FXIII 欠損マウスでは血餅退縮能が欠如する (Blood 115: 1277-9, 2010) という知見から、ヒトにおける簡易 FXIII 活性測定法として血餅退縮反応を応用した検出法の開発・検討を行った。多血小板血漿 (PRP) にトロンビン、カルシウムを添加し、その後の血餅の大きさの経時的变化を画像処理・定量評価することにより、血餅退縮反応を評価した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京大学大学院医学系研究科・医学部 倫理委員会において承認を受け実施している。

C. 研究結果

血餅退縮反応は血小板数に依存したため、その数を一定にした (20 万/ μ l)。健常者 PRP を用いた検討では、トランスグルタミナーゼ阻害剤 (1,3-dimethyl-2-[(2-oxopropyl)thio]imidazolium iodide) と抗 FXIII (活性阻害) 抗体は、濃度依存性に血餅退縮を阻害した。後天性 FXIII 欠乏症 1 例、先天性 FXIII 欠損症 2 例においても血餅退縮反応が減弱した。

D. 考察

血餅退縮反応により血漿 FXIII 活性を推定することが可能と思われた。軽度～中等度の FXIII 活性低下状態では健常対照検体との明確な差を認めなかったが、特に高度 FXIII 活性低下状態では退縮能の有意な低下を示した。

E. 結論

血餅退縮能検査により、重度の FXIII 活性低下を検知できる可能性が推察された。また、臨床的に重大な出血症状を呈する症例に

対し、FXIII 活性低下の診断を簡易的に迅速に行えるスクリーニング検査として有用性が期待された。

F. 健康危険情報

この研究において、健康に害を及ぼす事象は発生しなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1. 金子誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 石坂泰三, 惣宇利正善, 矢富裕, 一瀬白帝. A novel quick point of care test of coagulation factor XIII activity based on clot retraction in humans. 第8回血液・血管オルビス. 東京. 2010.08.21.

2. 矢富裕, 金子誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 惣宇利正善, 一瀬白帝. 血餅退縮反応を用いた新しい迅速第 XIII 因子活性測定法. 後天性 13 研究会抄録 2010.09.23.

3. 金子誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 石坂泰三, 惣宇利正善, 矢富裕, 一瀬白帝. Novel functional factor XIII assay based on clot retraction (血餅退縮能を用いた血液凝固第 XIII 因子活性の迅速簡易測定法の開発と臨床応用. 第 72 回日本血液学会学術集会. 横浜. 2010.09.26.

4. 金子誠, 鈴木明子, 菅野信子, 田中亮子, 石坂泰三, 惣宇利正善, 矢富裕, 一瀬白帝. A novel quick point of care test of coagulation factor XIII activity based on clot retraction in humans. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会. 神戸. 2010.12.09.

5. Kaneko M, Yatomi Y, Ichinose A. Point-of-care assay of FXIII (13) activity by utilizing clot retraction reaction in clinical settings. Wiesbaden, Germany. 2011.02.16.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担課題：トロンビン-F.XIII-HMGB1 の相互関係に関する研究

研究分担者 丸山 征郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任教授
伊藤 隆史 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・特任講師

研究要旨

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は内因性アジュバントとして働き、全身性エリテマトーデスなどの自己免疫疾患において、自己抗体の産生に寄与していると考えられている。そこで、本研究では、HMGB1 が XIII 因子に対する自己抗体産生に関係しているかどうかを検討する。今年度は、HMGB1 と XIII 因子の相互作用について検討し、*in vitro* の系において両者が相互作用していることが確認できた。今後は、この相互作用が細胞レベル、動物実験レベル、臨床レベルで有意なものか検討する必要がある。

A. 研究目的

HMGB1 は細胞の核内に豊富に含まれているタンパク質で、細胞外に放出されると、樹上細胞を活性化し、補助刺激分子の発現を誘導する（内因性アジュバント）。これまでの報告で、HMGB1 は抗原特異的抗体産生を促し、自己免疫疾患の発症機序に重要な役割を果たしていることがわかっている。本研究では、HMGB1 が XIII 因子に対する自己抗体産生に関係している、という仮説の検証を最終目標に、今年度は HMGB1 と XIII 因子の相互作用について検討する。

B. 研究方法

HMGB1 と XIII 因子 A サブユニットを混ぜ、抗 HMGB1 抗体もしくはコントロール抗体を用いて免疫沈降し、抗 XIII A 抗体を用いてウエスタンブロットを行った。また、HMGB1 が XIII 因子 A サブユニット活性に影響を及ぼすかどうか、合成基質法によって検討した。

（倫理面への配慮）

今年度の研究では、ヒトや動物のサンプルは使用してなく、倫理的な問題は内在していない。

C. 研究結果

免疫沈降では、HMGB1 とともに XIII 因子 A サブユニットが共沈降し、両者の結合が示唆された。また、合成基質法による XIII 因子 A サブユニット活性の検討では、HMGB1 を添加すると、XIII 因子 A サブユニットの活性増強が認められた。

D & E. 考察ならびに結論

今回の検討で、HMGB1 と XIII 因子 A サブユニットの間の相互作用を、*in vitro* の系において確認できた。今後は、この相互作用が細胞レベル、動物実験レベル、臨床レベルで有意なものか検討する必要がある。具体的には、XIII 因子を発現している細胞（単球など）の中で HMGB1 と XIII 因子が結合しているか、マウスに HMGB1 と XIII 因子を投与すると抗 XIII 因子自己抗体の産生が誘導されるか、後天性血友病 XIII 患者血中に HMGB1 が検出されるか、などを検討する必要があると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担課題：心臓血管外科手術における出血と第 13 因子の関連性

研究分担者 川前金幸 山形大学医学部麻酔科学講座 教授

研究要旨

胸部大動脈瘤、腹部大動脈瘤、心臓弁膜症などの手術では、大量出血でコントロールに難渋する症例がある。本研究では、大量出血が予測される症例において、13 因子のかかわりについて検討する。現在、研究は進行中であり、最終結論を提出するには至っていない。

A. 研究目的

心臓血管外科手術において、胸部大動脈瘤、腹部大動脈瘤、心臓弁膜症などの手術では、人工心肺装置を使用することもあって、大量出血で止血コントロールに難渋する症例がある。凝固因子が体外循環等でかなり消費されることはすでに理解されているが、第 13 因子に関する報告はない。本研究では、特に大量出血が予測される人工心肺を使用する大血管手術において出血量と 13 因子の関連性について検討した。

B. 研究方法

大血管手術を受ける患者を対象とする。第 13 因子の活性を、麻酔導入後、人工心肺中、人工心肺離脱後、手術終了後の 4 点で測定し、術中の出血量との相関を検討する。また、同時に TEG(thromboelastogram)を測定し、消費される因子について検討する。

(倫理面への配慮)

家族に同意書で、説明し同意をとる。

C. 研究結果

現在、進行中である。

D. 考察

E. 結論

F. 健康危険情報

特に問題はない。

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担課題：後天性血友病 XIII(13)の臨床研究

研究分担者 重松 宏 東京医科大学血管外科 主任教授

研究要旨

目的：腹部大動脈瘤（AAA）に伴う消費性凝固障害は数%にみられ，周術期の出血性合併症の原因となり，AAA の術前検査として凝固線溶機能の測定は必須である．また，消費性凝固障害を呈していない AAA 例においても分子マーカーレベルでは凝固線溶亢進状態を認める．そこで，AAA の凝固線溶系における XIII 因子の状態を検索し，手術時の出血性合併症に及ぼす影響について検討する．

方法：AAA の術前，術後検査として，血小板数，TAT，D-dimer，fibrinogen，FDP，XIII 因子を測定し，周術期の出血量，輸血量に及ぼす影響について検討する．また，血管内治療施行例についても同様に検索し，血栓化に及ぼす影響についても検討する．

A. 研究目的

腹部大動脈瘤（AAA）に伴う消費性凝固障害は数%にみられ，周術期の出血性合併症の原因となり，AAA の術前検査として凝固線溶機能の測定は必須である．また，消費性凝固障害を呈していない AAA 例においても分子マーカーレベルでは凝固線溶亢進状態を認める．そこで，AAA の凝固線溶系における XIII 因子の状態を検索し，手術時の出血性合併症に及ぼす影響について検討する．

B. 研究方法

AAA の術前，術後検査として，血小板数，TAT，D-dimer，fibrinogen，FDP，XIII 因子を測定し，周術期の出血量，輸血量に及ぼす影響について検討する．また，血管内治療施行例についても同様に検索し，血栓化に及ぼす影響についても検討する．

（倫理面への配慮）

C. 研究結果

D. 考察

E. 結論

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担課題：産科領域における後天性血友病 XIII 実態調査

分担研究者 小林 隆夫 県西部浜松医療センター 院長

研究要旨

後天性血友病 XIII 実態調査として、産科領域の調査を実施した。対象患者は、反復する絨毛膜下血腫による流・早産および切迫流・早産症例、不正性器出血症例など 9 症例に対して XIII 因子活性を調べた。その結果、XIII 因子活性値は 48%から 121%の範囲で非常にばらつきがあった。活性値 80%未満は 5 症例にみられた。まだ症例数が少なく一定の見解を導くことができないが、出血症例の XIII 因子活性値は低い傾向にある。しかし、XIII 因子インヒビターによる後天性血友病 XIII 患者は見つかっていない。次年度は症例数を増やして検索する予定である。

A. 研究目的

絨毛膜下血腫は、絨毛膜と脱落膜との間に出血が起こる疾患で流・早産の原因となるが、その原因は解明されていない。XIII 因子はフィブリンゲンと同様接着因子として妊娠維持に必須の血液凝固因子であり、その先天性欠損症患者は妊娠初期に必ず流産することが知られている。XIII 因子インヒビターによる後天性血友病 XIII が妊娠中に発症する場合は、絨毛膜と脱落膜との間に接着不良により出血を生じ、流・早産を来すことが推定される。また、分娩周辺期の異常出血、とくに一旦止血後の遅発性出血（いわゆる線溶亢進性出血）を来す場合も後天性血友病 XIII が疑われるため、検索の対象とし、産科領域における後天性血友病 XIII 実態調査を実施する。

B. 研究方法

後天性血友病 XIII 実態調査として、産科領域の調査を実施した。対象患者は、反復する絨毛膜下血腫による流・早産および切迫流・早産症例、不正性器出血症例など 9 症例に対して XIII 因子活性を調べた。
分娩時異常出血症例（とくに一旦止血後の遅発性出血、いわゆる線溶亢進性出血）は症例がなく、今年度は未測定。

（倫理面への配慮）

本研究は、厚生労働省の臨床研究の倫理指針および疫学研究の倫理指針に則り、県西部浜松医療センターの倫理委員会の承認を得た後に実施された。

C. 研究結果

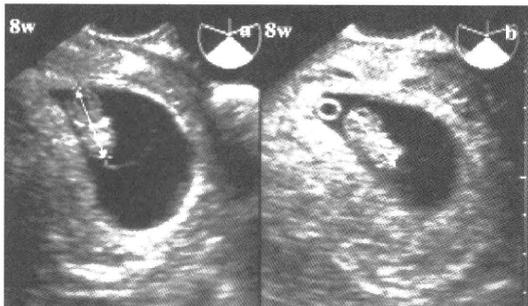
XIII 因子活性値は 48%から 121%の範囲で非常にばらつきがあった。活性値 80%未満は 5 症例にみられた。

D. 考察

まだ症例数が少なく一定の見解を導くことができないが、出血症例の XIII 因子活性値は低い傾向にある。しかし、XIII 因子インヒビターによる後天性血友病 XIII 患者は見つかっていない。次年度は症例数を増やして検索する予定である。

*絨毛膜下血腫

絨毛膜下血腫は胎嚢に接したエコーフリースペースとして観察される。このような所見が認められ、性器出血、下腹痛などの症状が出現すれば、適切な治療を必要とする。



正常妊娠の胎児画像



絨毛膜下血腫 (*) の超音波断層像

E. 結論

産科領域における異常出血の原因として後天性血友病 XIII の実態が解明されれば、新たな治療法が提言でき、予後向上が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

分担課題：後天性血友病 XIII(13)の臨床研究

研究分担者 村田 幸平 吹田市民病院外科 主任部長

研究要旨

外科領域における後天性血友病 XIII(13)の実態調査を目的とし、臨床現場にて術後出血症例と創傷治癒症例から XIII 因子活性低下症例をスクリーニングしている。本年度は全国調査に 2 例の登録を行い、うち 1 例は B サブユニットに対する抗体が陽性であった。本患者を継続フォローしており、出血イベントの有無についても追跡している。

A. 研究目的

外科領域における後天性血友病 XIII(13)の実態調査を目的としている。

B. 研究方法

外科領域における原因不明出血症例および難治性瘻孔等の創傷治癒遅延症例を検討し、後天性血友病 XIII(13)の可能性のある症例を拾い上げ、精密検査を行っている。

具体的には、XIII 因子活性を、患者血漿、正常人血漿、両者の 1 対 1 混合血漿にて測定し、インヒビターの有無をみている。さらに、主任研究者と相談の上、抗体測定等の精密検査を行っている。

(倫理面への配慮)

研究計画は当院 IRB の審査を受け、承認されている。症例の登録に際しては、説明の上、同意文書を得ている。個人情報省き、最小限の採血量、回数で検査を行っている。

C. 研究結果

今年度経験した術後出血の 2 例につき詳述する。

症例 1：44 歳女性。2010.2.15 胆石症に対して腹腔鏡下胆嚢摘出術施行。手術は問題なく出血量も少量で行われた。術後 1 日目、血

圧低下ショック状態となり、CT にて腹腔内に血液貯留を認め術後出血と考え緊急手術。出血部位は右側腹部のポート孔の腹腔側で、woozing を認めた。出血は 1200 cc であった。その後は輸血にて順調に回復。術前止血検査では PT82%、APTT41.9 秒とやや延長があるのみで、出血の既往なし。

同意を得て、下記の各凝固因子活性を測定したところ、出血後の状態であったため、第 II、VIII、IX、X、VWF 因子いずれも正常の 55 から 75%であったが、術後 1 ヶ月の時点では XIII 因子は 57%であった。

出血による消耗の影響がなくなったと考えられる術後 3 ヶ月の時点では、XIII 因子活性：患者 71%、健常人 87%、混合血漿 79%。前述の他の因子は第 因子が 40%であった以外はほぼ正常化していた。

症例 2：66 歳女性。右下葉肺癌に対して、2010.5. 26 胸腔鏡下肺葉切除施行。出血量 150g で手術は問題なし。術後 1 日目から胸腔ドレンからの排液が血性となり、術後出血と考え、緊急手術。複数の部位（剥離面等）から woozing があるのみであった。その後数

日間微量の出血が持続したが、血小板輸血等で徐々に止血した。術後 5 日目（消耗時）の XⅢ因子活性は 58%。術前の PT85%、APTT30.3 秒と正常であり、出血の既往もなかった。回復期である術後 3 ヶ月にて測定した XⅢ因子活性は患者 114%、健常人 81%、混合血漿 96%。XIII 因子抗原量 121%。

ただしこの時の血液にて XIII 因子 B サブユニットに対する抗体が陽性であった。本患者は肺癌術後のフォローアップを外来にて行っている。患者には結果説明を行い、詳細は不明ながらも出血のリスクがあることを伝えた。その後、本患者は声帯ポリープにて耳鼻科受診したが、担当医がカルテに記載された本結果に気づき、安易な生検を未然に避けている。

D. 考察

症例 2 は示唆に富む症例である。すなわち、出血傾向を示す所見がなく、既往もない患者で、回復期には 114%という XIII 因子活性を示している、抗体が存在していることがある。

抗体がある患者では、手術という侵襲が加わり、ある程度の消費が起こると、効率的に XIII 因子が機能しなくなることが類推される。

このような症例のスクリーニングとしては、XIII 因子活性の測定だけでは不十分であることになる。

B サブユニットの機能については十分解明されていない部分もあり、今後基礎研究者と議論しながら、本研究を進めていきたい。

本年度は、創傷治癒遅延症例で XIII 因子活性が極端に（50%以下）低い症例は発見できなかった。

E. 結論

本年度は外科手術後の出血症例から 2 例の登録を行い、解析をした。1 例で XIII 因子 B サブユニットに対する抗体が陽性であった。本抗体の臨床的意義を今後研究すると

もに、引き続き症例の拾い上げを行っていく予定である。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担課題：腹部外科術後原因不明出血患者における後天性血友病 XIII(13)の実態調査

研究分担者 池田 正孝 大阪大学大学院 外科学講座消化器外科学 助教

研究要旨

後天性 FXIII 欠損症は原因不明の異常出血の原因となる。本研究は腹部外科術後の原因不明の異常出血の原因として後天性 FXIII 欠損症がどの程度関与しているかを調査し診断方法・治療方法の確立を目的としている。腹部外科術後の原因不明の異常出血を認めた患者を対象とし、FXIII 活性、インヒビター活性等を測定し原因検索を行う。平成 22 年度は当院での腹部手術後原因不明異常出血患者は認めず、次年度も引きつづき本研究を継続する予定である。

A. 研究目的

凝固 XIII 因子(FXIII)は、フィブリンを安定化する酵素であり、その先天性欠損症の主症状は異常出血である。家族歴、既往歴のない重篤な出血症状と FXIII の著減が認められる症例が増加しつつあり、本研究代表者らは既に 10 数例をまとめている。しかし、FXIII 欠乏状態は、PT や aPTT などの凝固スクリーニング検査では検出できないし、従来クロット溶解試験では検出できないことが多いので、多数の症例が見逃されている可能性が高い。そこで、腹部外科術後の原因不明の後天性 FXIII 欠損症(後天性血友病 XIII と命名)の実態を明らかにし、検査、診断と治療の方法を確立することが本研究の目的である。

B. 研究方法

大阪大学消化器外科で手術を受けた患者で以下の条件を満たす患者を対象にスクリーニング検査を行う。

1. 出血性素因の家族歴・既往歴がない
2. 血小板減少・機能低下、PT や aPTT の延長を認めない
3. 原因不明の皮下出血・筋肉内出血、術後出血
4. 通常の止血法により止血されない

スクリーニング検査内容

患者血漿の FXIII 因子活性。対照正常血漿と 1 : 1 混合して、37℃ 2 時間インキュベート後の残存 FXIII 因子活性。血漿および血清中の α_2 -Plasmin Inhibitor (α_2 PI)活性あるいは抗原量。

(倫理面への配慮)

本臨床試験に関与する全ての者は「世界医師会ヘルシンキ宣言」、「疫学研究に関する倫理指針」および「臨床研究に関する倫理指針」に従う。試験登録は連結可能匿名化を行い、個人情報を守る。

C. 研究結果

平成 22 年度阪大消化器外科においてスクリーニング対象となるような術後出血症例は認められなかった。

D. 考察

今回の検討では本試験のスクリーニング対象となる原因不明の術後異常出血を認める患者がいなかった。

E. 結論

今後も術後原因不明異常出血発生患者に

において後天性 FXIII 欠損症が関与していないか調査を続ける予定である。

F. 健康危険情報

特記すべきものなし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。