

行予防に対する意識が高かった。しかし関節症が進行してしまった患者の整形外科受診率は低くという問題が浮き彫りにされた。この理由は、診察内容に満足できない、治療効果の期待が低い、現状を受け入れている等の理由が考えられた。関節症が進行してしまっている場合でも、保存的または手術などの観血的治療により疼痛や機能障害が改善することもある。また、関節症の初期には疼痛や明らかな関節機能の障害などの自覚症状がなくても、専門的診察や画像検査により関節の変化がみられることから、症状を自覚する前から関節評価を目的とした定期的受診が理想である。つまり関節の状態によらず定期的整形外科受診が QOL 向上には必要と考えられる。しかし、関節症の進行予防や適切な治療に関しては、血友病性関節症に精通した整形外科でないと十分に患者は満足する結果が得られないことも多い。今後整形外科受診を促すためには、患者の整形外科診察や治療に対する意識の変革が必須となる。同時に整形外科診察・治療内容の改善も必要であり、そのためには血友病性関節症を包括的に説明できる整形外科医の育成が、特に血友病専門施設では、重要になるであろう。

理学療法は機能訓練のみに捉えられることが多いが、靴や装具などの用具による関節機能補助・改善や、生活上の関節への負担を抑えた身体動作や生活指導を行うことで QOL 向上が得られることも多く、決して人工関節置換術後のみに必要なのではない。関節症の進行を予防するためには定期補充療法や理学療法による関節出血の悪循環を断つ対策が重要であり、理学療法の果たす役割はこれまで考えられていた以上に大き

いと考えられる。しかし今回の調査では、理学療法の受診率は非常に低い。理学療法の受診と整形外科の関係には相関関係が見られ、今後、理学療法への受診を促進するためには、まず整形外科を受診することから始めることが有効であると考えられた。

受診する医療施設を血友病患者が選定するに当たっては、平成 19 年度の調査に示されたように専門医や専門看護師の存在を重要視しており、実際、多くの患者が専門医療施設にかかっていた。しかし、成長しても小児科から内科へスムーズに移行できていない患者がいることも確認された。欧米の血友病治療センターでは血友病専門医が小児科と内科に分かれて診療している訳ではなく、わが国においても止血管理に関しては血友病に習熟した小児科医が成人患者を診療することに問題ないと思われるが、成人は小児にはない（あるいは稀な）健康上の問題が起こりうるので、内科医と連携してそれらの合併症に対処していく必要がある。その際に施設間の医療ネットワークの育成も忘れてはならず、地域の患者会への連帯とも併せて行わねばならない。また血友病の専門医療施設の満足度を上げるためには、専門医、専門看護師だけでなく、理学療法士、臨床心理士、ソーシャルワーカー、薬剤師や栄養士など、幅広い職種を含めた包括体制を整えることが大切である。

また一部に専門医療施設に全くかかっていない患者がいる現実が明らかになった。常態的に通い続けることは困難であっても、たとえば 1 年に 1 回程度は血友病専門医療施設に受診するメリットを広く啓発していく必要がある。これについては患者会を通じた啓発、インターネットのサイトを通

じた広報のほか、現実に製剤を納入している各メーカーの担当者から主治医への働きかけ等、一般の医療施設に届く方法を模索するなど、幅広く検討したい。

血友病患者は出血時、合併症治療、凝固因子製剤などの薬剤の処方を受けるためなどに緊急な通院や定期的な通院を要し、休暇・遅刻・早退が必要となる場合がある。これらのことに関して職場の理解が必要である。身障者枠採用では病気の申告がなされており職場の理解を得やすいと推測されたが、一般採用と有意差はなかった。身障者枠採用者の障害の程度が一般採用者より大きいためとも考えられるが、身障者枠採用が必ずしも職場の理解に繋がるといえる訳ではない可能性が示唆された。また、HIV感染者およびHCV感染による肝硬変・肝癌患者は、通院回数も多く体調の変調をきたしやすいことから職場の理解に対して心配や不安をより多く抱えていることが示唆された。出血時に勤務時間内に早急な製剤投与ができていないという止血処置の遅れがあることが昨年度の報告書で示されており、出血という血友病そのものの症状についても職場の理解が必要であるが、HIV感染症・肝硬変・肝癌に罹患している血友病患者にはより一層の配慮が必要であることが示唆された。

自由記載欄の解析から、医療制度・医療体制については恒久的な公的医療制度が切望されており、これは前回の調査と同様であった。また、血友病治療に携わる専門医の不足や、その育成の必要性に関する回答もあり、医療者同様に、この問題については患者においても関心が高い。偏見や差別の問題が、前回の調査の時と同様に、未だ

問題となっていることが示唆される。遺伝子治療などの完治を目的とする治療法に対する認知度および期待度が前回調査よりも高まったことが示唆された。経口投与薬の登場に寄せる大きな期待、持続時間の長い製剤を期待する意見も前回の調査と同様の傾向に多く見られた。「関節」が「出血」および「不安」と結びついているので、関節障害というのは「治療できないもの」、「医療体制とか治療の対象ではなくて、不安対象でしかない」という現状を反映しているのかもしれない。C型肝炎ウイルスに起因する重篤な肝疾患が、本邦の血液凝固異常症の死亡例の多くを占めてきている現状を考えると、肝炎についての記載があまり多くはなかったことは意外な結果であった。

以上のように、テキストデータの分類手法による自由記載の解析結果は、内容の熟読作業による前年度の要約と矛盾しないものであったが、作図によって改めて認識された部分もあった。テキストデータとしての解析を用いると、単語の使用頻度と関係性をプロットすることができ、項目ごとの記載意見の特徴を把握するのに有用であった。

小児・成人ともに患者・家族の考えるQOLを低下させる要因と医療関係者の考えるそれとはほとんど一致していて、今後、QOLについての問題点を考えていくうえで共通の認識を持てるものと考えられた。しかし、小児（保護者の記載）と成人本人の記載を分けて詳細に観察すると、患者・家族は、小児では就業、結婚・遺伝についての不安についての項目は医療関係者が考えるよりも多く、また、成人では関節障害とほぼ同程度に出血についての不安を感じているこ

とが推察され、さらに定年後退職後の生活、老後の生活に対する医療関係者の意識が低いことが示唆され、これらの乖離がみられる要因に対しては、医療関係者は十分認識し、適切な対応をする必要がある。

E. 結論

わが国の血友病患者の QOL の現状を、1) 血友病医療、2) 整形外科・リハビリの受診状況、3) 医療施設、4) 社会生活に区分して、様々な角度から解析し、QOL の総括および QOL を向上させるための提言をした。

F. 総括および提言

(1) 血友病医療

1) 中等症患者の関節内出血の頻度が想定以上に多く、標的関節を有する割合も高いことが示唆された。重症と同様に中等症に対して一次定期補充を導入すべきか否かのコンセンサスは得られていないが、少なくとも関節内出血頻度が増加した中等症患者に対しては定期補充療法の実施を考慮すること、また、整形外科、リハビリテーション科との連携により関節出血の悪循環を断つ対策を講じる必要があると考えられた。さらに、遺伝子治療の凝固因子の目標レベルは従来 1%以上とされているが、今回得られた成績から数%以上できれば 5%以上となるように設定する必要性が示唆された。

(2) 整形外科・リハビリテーション

1) 整形外科やリハビリ受診が進まない理由として、診察内容に満足できない、治療効果の期待が低い、現状を受け入れてしまっている等が推察された。

2) 整形・リハビリ受診を促進させるためには、医療者・患者両者が血友病治療において整形外科・リハビリ治療が主に下記の点で重要であること認識する必要がある。

1. 整形外科・リハビリ治療は機能改善だけが目的ではなく、画像評価・関節機能評価に基づく現状把握を行い、生活方法指導も重要な診察内容であること

2. 整形外科・リハビリ治療は、手術・術後リハビリだけが治療ではなく、外来での関節内注射や機能訓練、靴・装具療法など、治療効果の期待できる方法があること

3. 機能回復が難しい状態に進行している場合でも、整形外科・リハビリ治療は、加齢や廃用性萎縮による機能低下予防に重要であること。

3) このような問題を解決するためには包括的に診察・治療が行える整形外科・リハビリ科医師・理学療法士の育成が必要であり、育成の場として血友病専門医療施設の整備が必須である。

(3) 医療施設関連

1) 専門医療施設に全く通院していない患者が一割以上おり、血友病専門医療施設受診の重要性をさらに啓発すべきであるが、情報が届きにくいこれらの患者へは多彩な手段で広報する必要がある。

2) 血友病の専門ではあっても小児科に通う患者の 4 割は本来、内科等で診るべき患者であり、患者の平均余命延長が果たされた今、生活習慣病、がんなどのケアも不可欠となり、成人が転科できる条件を整える必要がある。

3) 患者の満足度と定期通院の観点から、具体的には患者の居住地から片道 1 時間以

内に医療施設を設置することが大切で、特に血友病拠点病院まで2時間以上かかる遠い地域は、サテライトとしての協力病院の設置が大切である。ただし、その医療施設は血友病拠点病院と(密接に)連携をとり、患者が最善の医療を受けられるようにする必要はある。

4) 血友病の血友病専門医療施設の満足度を上げるためには、専門医、専門看護師だけでなく、PT、OT、臨床心理士、ソーシャルワーカー、薬剤師や栄養士など、幅広い相談相手を加えた包括体制を整えることが重要である。

(4) 社会生活

- 1) 血友病患者は低就業率、低所得である。
- 2) 被雇用血友病患者の雇用形態としては一般男性に比較して契約社員(派遣社員)の割合が高い。
- 3) HIV感染者であっても身障者枠を利用した就職が多いわけではない。
- 4) 正規雇用されている血友病患者では身障者枠採用でも、一般採用でも収入に有意な差はない。身障者枠採用されている血友病患者のほうが職場の理解に心配や不安を抱えている傾向があり、身障者枠採用が直接職場の理解に繋がるわけではない。
- 5) HIV感染者や肝硬変・肝癌患者では就業率が低い。
- 6) HIV感染者および肝硬変・肝癌患者は職場の理解に心配や不安をより多く抱えている。

(5) 自由記載欄

1) 患者においては、経口薬による治療が可能になることや、長期間有効な製剤が使

えるようになることへの期待が大きい。医療者は飲み薬の「夢」もあきらめるべきでない。

2) 遺伝子治療の期待が大きくなってきている。遺伝子治療について医療者が説明し、患者の理解を得る必要がある。

3) HCV感染のある患者においては、肝疾患についての問題意識をさらに高めてもらう必要がある。

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. 瀧 正志: 血友病、小児科診療ガイドライン第2版、総合医学社(五十嵐隆編集)、p276-279, 2011
2. 山下敦己、長江千愛、庄司朋子、武藤真二、吉川喜美枝、脇坂宗親、北川博昭、瀧 正志: 乳幼児の重症型血友病患者に対する中心静脈カテーテル(CVADs)の使用経験、日小血会誌、25(3):123--129, 2011
3. 田中一郎、天野景裕、瀧 正志、岡敏明、酒井道生、嶋緑倫、白幡 聡、竹谷英之、花房秀次、日笠聡、福武勝幸、藤井輝久、堀越泰雄、松下正、松本剛史、三室淳、吉岡章: 東日本大震災で被災された血友病患者への支援、血栓止血誌、22(5):259-265, 2011
4. Shirahata A, Fukutake K, Higasa S, Mimaya J, Oka T, Shima M, Takamatsu J, Taki M, Tanaichi M, Yoshioka A, Study group on factors involved in formation of inhibitors to factor VIII and IX preparations: An analysis of factors affecting the incidence of inhibitor formation in patients with congenital

- haemophilia in Japan. *Haemophilia*, 17:771-776, 2011.11
5. 瀧 正志:各種難治性疾患を持つ患児と保護者へのインフォームドコンセント
④血液疾患 血友病、小児医療とインフォームドコンセント、白幡聡、藤野昭宏(編)、医薬ジャーナル社、2010、p 188-194
 6. 立浪忍、三間屋純一、白幡聡、仁科豊、花井十伍、大平勝美、桑原理恵、浅原美恵子、瀧 正志: HIV 感染血液凝固異常症における AIDS 指標疾患の報告数について:血液凝固異常症全国調査に基づく集計、日本エイズ学会誌、12(1):34-41,2010
 7. 瀧 正志:序文—インヒビター保有先天性血友病患者の quality of life (QOL)、血栓止血誌、21(5):475-476, 2010
 8. 山崎 哲、瀧 正志:インヒビター測定の問題点、血栓止血誌、21(5):484-488, 2010.10
 9. 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
 10. Shirahata A, Fujisawa K, Ishii E, Ohta S, Sako M, Takahashi Y, Taki M, Mimaya J, Kubota M, Miura T, Kitazawa J, Kajiwara M, Bessho F: A nationwide survey of newly diagnosed childhood idiopathic thrombocytopenic purpura in Japan, *J Pediatr Hematol Oncol* 31(1):27-32, 2009
 11. 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 法の特性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
 12. 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
 13. 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 法の特性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
- (2) 学会発表
1. 瀧 正志:(教育講演) 血友病治療の現状と展望、第 12 回日本検査血液学会、2011.7
 2. 山崎 哲、鈴木典子、山崎法子、高山成伸、瀧 正志、血栓止血検査標準化小委員会:APTT 標準化に向けたパネル血漿作成の検討—ヘパリン感受性—、第 12 回日本検査血液学会、2011.7
 3. Masashi Taki, Hideji Hanabusa, Katsuyuki Fukutake, Tadashi Matsushita, Midori Shima, Akira Shirahata and the Advate PASS study group :Clinical experience of previously untreated patients (PUPs) with antihemophilic factor (recombinant), plasma/albumin-free method (rAHF-PFM) from post-authorization safety surveillance (PASS) program in Japan, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
 4. Chiai Nagae, Tomoko Shoji, Atsuki Yamashita, Shinji Muto, Masashi Taki: The interim results of the usefulness of primary prophylaxis in hemophilia patients at our hemophilia center, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
 5. Kaoru Kitsukawa, Hideyuki Takedani, Midori Shima, Masashi Taki, Hemophilia

- Committee, Japan Society of Pediatric Hematology: Imaging evaluation of arthropathy at the beginning of prophylactic therapy for severe hemophilia children, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
6. Satoshi Yamazaki, Shigenobu Takayama, Tomoko Shoji, Atsuki Yamashita, Shinji Muto, Chiai Nagae, Masashi Taki: Interpretation and significance of anti-FVIII antibodies detected by ELISA and Western blotting, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
 7. Atsuki Yamashita, Chiai Nagae, Tomoko Shoji, Shinji Muto, Masashi Taki: Comparison of in vivo recovery of recombinant factor IX and plasma derived factor IX in previously treated Japanese hemophilia B patients, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
 8. Katsuyuki Fukutake, Hideji Hanabusa, Masashi Taki, Tadashi Matsushita, Midori Shima, Akira Shirahata and the Advate PASS study group: The post-authorization safety surveillance (PASS) program confirmed actual clinical safety and efficacy of antihemophilia factor (recombinant) plasma/albumin-free method factor VIII among Japanese subjects, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
 9. Tadashi Matsushita, Hideji Hanabusa, Katsuyuki Fukutake, Masashi Taki, Midori Shima, Akira Shirahata and the Advate PASS study group: Prospective Advate immune tolerance registry (PAIR) in Japanese hemophilia A patients with inhibitors: an interim report, The 23th Congress of ISTH, 2011.7
 10. 長江千愛、庄司朋子、山下敦己、武藤真二、瀧 正志：二度目の免疫寛容導入療法で免疫寛容が得られた血友病Aインヒビターの2症例、第114回日本小児科学会、2011.8
 11. 山下敦己、足利朋子、武藤真二、長江千愛、浅原美恵子、鈴木典子、山崎法子、山崎 哲、高山成伸、瀧 正志：免疫寛容導入療法中のインヒビター測定に関する検討—Bethesda 変法と ELISA 法の比較—、第114回日本小児科学会、2011.8
 12. 武藤真二、長江千愛、足利朋子、山下敦己、平本準、橘川薫、瀧正志：脊髄硬膜外血腫を来した血友病の2症例、第114回日本小児科学会、2011.8
 13. 瀧 正志：日本における血友病患者のQOLの現状と課題、第73回日本血液学会、2011.10
 14. Chiai Nagae, Tomoko Ashikaga, Shinji Muto, Kaoru Kitsukawa, Kimie Yoshikawa, Satoshi Yamazaki, Masashi Taki: Usefulness of primary prophylaxis in hemophilia patients. The 73rd annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2011.10
 15. Shinobu Tatsunami, Jyunichi Mimaya, Akira Shirahata, Masashi Taki: 2010 update on the number of patients with coagulation disorders in Japan. The 73rd annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2011.10
 16. 長江千愛、小倉妙美、堀越泰雄、工藤寿子、瀧 正志：血友病包括医療における今後の課題 ～静岡県立こども病院でのアンケート調査の結果をもとに～

- 第 53 回日本小児血液・がん学会、2011.11
17. 藤野和恵 下村由美、吉川喜美枝、熊田知佳、足利朋子、山下敦己、武藤真二、長江千愛、瀧正志：血友病患者の心理的援助を考える～思春期を向かえた患者を通して学んだこと～、第 53 回日本小児血液・がん学会、2011.11
 18. 立浪 忍、桑原理恵、秋田美恵子、三間屋 純一、白幡 聡、瀧 正志：2010 年度の HIV 感染血液凝固異常症の死亡例について一血液凝固異常症全国調査より、第 25 回日本エイズ学会、2010.12
 19. 長江千愛、足利朋子、武藤真二、吉川喜美枝、山下敦己、瀧 正志：わが国における定期補充療法のあり方 -CVAD も含めて-、第 6 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、2012.1
 20. 瀧 正志：インヒビター保有先天性血友病患者の QOL、第 33 回日本血栓止血学会、2010,4
 21. 山崎 哲、鈴木典子、高山成伸、山下敦己、瀧 正志：凝固第 VIII 因子に対するインヒビター測定法の問題点、第 33 回日本血栓止血学会、2010,4
 22. S. Tatsunami, M. Mimaya, A. Shirahata, J. Hanai, Y. Nishina, K. Ohira and M. Taki: Long-term observation of Japanese HIV-infected hemophiliacs: Changes in survival curve and coinfection with HCV, East Asia Hemophilia Forum 2010, 2010,6
 23. 鈴木典子、山崎 哲、山崎法子、高山成伸、浅原美恵子、庄司朋子、山下敦己、武藤真二、長江千愛、瀧 正志：ELISA 法による第VIII因子抗体と Bethesda 法の比較、第 11 回日本検査血液学会、2010.7
 24. M.Taki, S.Tatsunami, A.Shirahata, J.Mimaya, H.Takedani, K.Makino, K.Ohira, K. Kojima I.Wada, K. Yoshikawa: Quality of life in patients with congenital hemophilia and inhibitors in Japan, XXIX International Congress of the WFH, 2010,7
 25. M.Taki, H.Hanabusa, K.Fukutake, M. Shima, A.Shirahata and the Advate PASS study group :Clinical experience with ADVATE during the first 50 exposure days: Data from two post-authorization safety surveillance (PASS) programs in Japan, XXIX International Congress of the WFH, 2010,7
 26. K.Fukutake, M.Taki, H.Hanabusa, M. Shima, A.Shirahata and the Advate PASS study group : Prophylaxis usage among different age groups with hemophilia in Japan: Results from the ADVATE post-authorization safety surveillance (PASS) studies, XXIX International Congress of the WFH, 2010,7
 27. K.Fukutake, H.Hanabusa, M.Taki, M. Shima, A.Shirahata and the Advate PASS study group: Long-term clinical safety of ADVATE [antihemophilic factor (recombinant), plasma/albumin-free method] among Japanese subjects: A two-year update of the post-authorization safety surveillance program, XXIX International Congress of the WFH, 2010,7
 28. Tatsunami S., Ueno T., Taki M., and The Research Committee on QOL regarding Coagulation Disorders in Japan: Analysis of free answered descriptions from patients

- with coagulation disorders in Japan. The 34th Annual Conference of the German Classification Society & German-Japanese Workshop, 2010.7
29. 稲葉 浩、篠澤圭子、天野景裕、花房秀次、山崎 雅英、表 美香、酒井道生、榎本誠、高木義弘、山崎哲、瀧 正志、矢富裕、金子誠、竹谷英之、松本智子、嶋緑倫、藤井輝久、家子正裕、内藤澄悦、松本剛史、池尻誠、福武勝幸：血友病診療施設を対象としたサーベイランスによる第Ⅷ因子活性測定の実態調査、第72回日本血液学会、2010.9
 30. 立浪 忍、三間屋純一、白幡 聡、瀧 正志：本邦の血液凝固異常症における生活習慣病の合併症・既往症の調査結果、第72回日本血液学会、2010.9
 31. Tatsunami S, Kuwabara R, Mimaya J, Shirahata A, Taki M: Status of hepatitis C virus infection in long-term survivors among human immunodeficiency virus-infected Japanese patients with coagulation disorders, 22th Annual Conference of the Australasian Society for HIV Medicine, 2010.10
 32. 立浪 忍、桑原理恵、浅原美恵子、三間屋 純一、白幡 聡、瀧 正志：HIV感染血液凝固異常症における糖尿病、高血圧症、高脂血症の合併について、第24回日本エイズ学会、2010.11
 33. 足利朋子、長江千愛、山下敦己、武藤真二、瀧 正志：当院における過去5年間の血友病入院症例の動向、第52回日本小児血液学会、2010.12
 34. 橘川 薫、竹谷 英之、瀧 正志、日本小児血液学会血友病委員会：乳幼児重症型血友病に対する定期補充療法研究 - 補充療法開始時における関節症の画像評価、第52回日本小児血液学会、2010.12
 35. 武藤真二、橘川 薫、長江千愛、山下敦己、庄司朋子、瀧 正志：MRIにて膝関節のヘモジデリン沈着の消失を認めた血友病B乳児例、第52回日本小児血液学会、2010.12
 36. 山下敦己、長江千愛、武藤真二、瀧正志：CVC 血を用いた凝固能検査によりインヒビター出現が疑われた血友病A重症型の乳児例、第112回日本小児科学会、2009.4
 37. 瀧 正志：QOLの阻害要因とその対策、第32回日本血栓止血学会、2009.6
 38. 橘川 薫、竹谷 英之、瀧 正志、日本小児血液学会血友病委員会：乳幼児重症型血友病に対する定期補充療法研究における関節症の画像評価（第一報）、第32回日本血栓止血学会、2009.6
 39. M, Taki, K. Fukutake, H. Hanabusa, J. Takamatsu, M. Shima, A. Shirahata, G. Advate Pass Study: Post authorization safety surveillance (PASS) program of antihemophilic factor (recombinant), plasma/albumin-free method (RAHF-PFM) for Japanese hemophilia A patients. XXIIth Congress of ISTH, 2009.7
 40. T. Matsushita, K. Amano, M. Taki, T. Oka, M. Sakai, A. Shirahata, N. Takata, J. Takamatsu, H. Takedani, H. Hanabusa, S. Higasa, K. Fukutake, T. Fujii, I. Tanaka, J. Mimaya, A. Yoshioka, M. Shima: The Japanese guideline for the practical replacement therapy for acute bleeding and surgical prophylaxis in hemophilia without

- inhibitors. XXIIth Congress of ISTH, 2009.7
41. S. Muto, C. Nagae, T. Shoji, A. Yamashita, J. Hiramoto, S. Yamazaki, M. Taki: Case of an infant with a severe hemophilia A diagnosed due to the development of spinal epidural hematoma. XXIIth Congress of ISTH, 2009.7
42. I. Tanaka, K. Amano, M. Taki, T. Oka, M. Sakai, A. Shirahata, N. Takata, J. Takamatsu, H. Takedani, H. Hanabusa, S. Higasa, K. Fukutake, T. Fujii, T. Matsushita, J. Mimaya, A. Yoshioka, M. Shima: The Japanese guideline for the hemostatic therapy of patients with congenital hemophilia and inhibitors. XXIIth Congress of ISTH, 2009.7
43. 立浪 忍、三間屋純一、白幡 聡、竹谷英之、牧野健一郎、瀧 正志：血液凝固異常症のQOLに関する調査における自由記載欄の解析、71 回日本血液学会、2009.10
44. S.Tatsunami, T.Ueno, R.Kuwabara, J.Mimaya, A. Shirahata and M. Taki: Estimation of benefits from interferon therapy among HIV-positive hemophiliacs coinfectetd with HCV. 欧州エイズ学会議 (EACS)、2009.11
45. 瀧 正志：小児血友病患者のQOLを考える、第51回日本小児血液学会、2009.11
46. 山下敦己、長江千愛、庄司朋子、武藤真二、青葉剛史、長江秀樹、濱野志穂、古田繁行、島秀樹、脇坂宗親、北川博昭、瀧正志：乳幼児の重症型血友病患者に対する中心静脈カテーテル(CVADs)の使用経験、第 51 回日本小児血液学会、2009.11
47. 立浪 忍、桑原理恵、浅原美恵子、三間屋純一、白幡聡、瀧 正志：HIV 感染血液凝固異常症におけるインターフェロンによる治療状況：2006 年 6 月 1 日から 2008 年 5 月 31 日までの期間における集計。第 23 回日本エイズ学会、2009.11
- H. 知的所有権の出願・取得状況
本研究とは関係がない。

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
総合（分担）研究報告書

薬害 HIV 感染被害者・家族の現状からみた、
血友病に係わる今後の課題及び課題克服への支援研究

研究分担者 柿沼章子（社会福祉法人はばたき福祉事業団）

研究要旨

薬害 HIV 感染被害者・家族等の、被害実態・背景要因の解明と、生活再構築のための支援理論と方法の開発を行い、支援を実施した。主要な支援課題として、医療・地域生活・将来計画などの他に、血友病と遺伝、HIV/AIDS に対する差別偏見の影響による生活上の困難への支援の重要性が新たに明らかとなり、必要な情報支援など、支援プログラムを実施した。今後、家族関係・社会関係構築の支援と合わせて、当事者・専門家協働による支援展開など、さらなる実践的な支援について提言を行った。

A 研究目的

薬害 HIV 感染被害者は、原疾患の血友病の問題に加え、30年以上の間、薬害 HIV 由来の困難の克服、その後の生活構築に努力してきたが、薬害被害の経年的な影響も重なり、生活領域においての被害は広範囲・長期・深刻である。近年において、被害を受けた生活の再構築が継続的な課題となっているが、有効な支援策については不明であった。そこで、現状について HIV/AIDS に対する差別偏見の影響による生活上の困難の継続、具体的な支援方法、今後への示唆について再検討する。また、今後も被害の生活面への影響が長期にわたることが予見されることから、血友病とともに生きる生活の質の向上、心理社会的な問題の解決、薬害被害の歴史を伝える等の観点から、今後の包括的な支援構築のあり方についても検討を行う。

B 研究方法

当事者参加型アクションリサーチ法を用いた。具体的には、まず、初年度に面接調査等により当事者とその家族の現状を明らかにした。2年目は、当事者へのアセスメントを継続しながら、ケース事例を系統的に把握・分析し、また血友病、遺伝に係わる医療従事者、教育関係者（養護教諭等）からの聞き取り・紙面調査も追加して行い、現状の課題を複数の観点から詳細に検討した。また、検討に基づき、支援課題の明確化と支援要件の整理を行った。3年目は、信頼性、妥当性向上の観点から、引き続き当事者、利害関係者へのアセスメントを継続しつつ、支援法開発と並行して支援を実施した。

b-1 調査対象者：

全国の薬害 HIV 感染被害者家族（母親(n=19)、父親(n=16)、きょうだい(n=6)への面接調査、比較対象群としての全国の血

友病患者家族への面接調査(n=9)、遺伝相談・血友病関連の医療従事者への面接調査(n=6)、教育関係者への質問紙調査(n=37)

b-2 支援法の開発と支援実施

実態把握手法の開発（インタビューガイドの作成、面接票の開発、フォーカスグループインタビューを用いた血友病家族の支援役割上の問題点の抽出）、諸外国の薬害HIV感染被害者家族向け支援事例の情報収集、海外の支援動向に関する情報収集と分析、一元化された情報提供の実施（血友病に関するファクトシートの作成、情報提供のための血友病情報提供ホームページの開発・運営、海外文献の翻訳および解説、提供）を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」等を遵守する形で、社会福祉法人はばたき福祉事業団倫理審査委員会に諮り、平成21年4月12日承認を得た上で、研究を実施した（承認番号1）

C 研究結果

C-1 薬害HIV感染被害者および家族の現状

C-1-1 薬害HIV被害者および家族の被害困難経験の特徴

初年度実施の全国の薬害HIV感染被害者母親への面接調査では、対照群である血友病の母親の困難経験と共通した要因としては、共通して母親の心理的負担、特に血友病の遺伝の問題が抽出され、自責の念や医療従属の心情を形成し、家族内支援・社会的支援を受ける上での阻害要因となっていた。一方、薬害HIV感染被害者母親に特徴的な困難経験の要因としては、HIV感染告知の遅れや、医療側の誠実性に欠く対

応に対する不信感、HIVに対する社会的な差別偏見による精神健康面への負担と生活面での風評被害、子供に対する防衛的な心情形成、HIV感染告知遅れにより適切な治療機会の喪失に対する自責の念、血友病や遺伝に加えHIV感染など秘密を抱えることによる心理的負担、特に薬害HIV感染被害者および母親への被害心情・精神的負担軽減への配慮から家庭内でも対話が困難になったこと、社会関係においては、社会的支援を受ける上での適切かつ十分な思い・語りの表出ができないための困難が加えて抽出された。

C-1-2 支援困難事例の把握

子供の自立の阻害事例や、母子密着の事例、離婚などの支援困難な典型事例が把握された。

C-2 薬害HIV被害者および家族に対する血友病に係わる支援課題

次年度では、「遺伝」「子育て」「学校」「きょうだい」「将来」といった社会生活上の課題領域を設定し、具体的な支援方法の検討に入った。具体的な支援としては「情報提供」「場の提供」「家族関係構築の支援」「相談体制の構築」を検討した。父親に対するフォーカスグループインタビュー実施や、面接調査の結果、医療パターナリズムの影響による父親の家庭内支援役割の不明確さや役割喪失感、無力感が抽出された。また父親としての血友病患児との家庭内での距離感や、接し方への困惑や苦悩が語られ、具体的に支援を受けた経験についての語りは少なかった。薬害HIV感染被害者のきょうだいへの面接調査では、情報提供、発達段階におけるきょうだいが感じる寂寥感、

母親の患児ときょうだい間での関心の偏り、きょうだいの視点に立った課題の気づきなど、一連の成育上の影響と課題が抽出された。血友病・遺伝と関連した医療従事者への面接調査を実施した結果、遺伝に関する情報不足、遺伝相談と包括的な情報・支援へのアクセスの問題が抽出された。さらに、養護教諭向け紙面調査では、学校への血友病患児受け入れの困難要因として、事故発生の懸念、責任の所在の不明確さ、情報不足、保護者へのトラブル対処など家庭と教育環境構築、連携に関する課題が抽出された。二年目の追加調査により、薬害H I V感染被害者・家族は、血友病患者としての将来に対する、中立的な意思決定に関する情報の不足と、漠然とした無力感・不安を抱えていることが新たに抽出された。三年目には、質的調査の精査と追加調査を再検討した結果、より高次の支援課題として、血友病患者としての家族内関係・社会関係構築が抽出された。

C-3 薬害H I V被害者および家族に対する支援法開発と支援実施

抽出された支援課題に基づき、支援法開発と支援実施に取り組んだ。同時に、諸外国の患者・家族向け支援事例を情報収集した。先進的な事例では、血友病の遺伝の問題として、患者・家族向けの基本的な医学的・社会的事実を包括する情報をファクトシートとして提供していた。また、保因者の健康に関する研究・発表が諸外国で近年始まっており、患者会主体で保因者向けの情報提供も実施されていた。

そこで二年目には、国内血友病患者に対し、「血友病と加齢」に関する海外文献の翻訳

と提供、諸外国の血友病患者・家族支援研究動向の情報提供を行った。三年目には、包括的な情報提供のための血友病情報提供ホームページの開設・運営を行い最新の国際的な血友病に関する医療情報・動向に接する機会を提供した。教育・啓発資料として、血友病に関するファクトシートの作成や、「血友病の保因者」などの海外文献の翻訳および解説、提供を行った。

D. 考察

D-1 薬害H I V感染被害者および家族の現状
薬害H I V感染被害者・家族等の現状を、質的面接法に基づく面接調査により明らかにした。H I V薬害の被害発生、拡大そして東京・大阪H I V訴訟と和解による救済に至る一連の過程において、1) H I V薬害被害発生時から一貫して、本来なら、血友病患者・家族として将来計画や生活の質向上に向かうべき生活資源は、もっぱら生存とH I V差別偏見への対処のために奪われた。2) 多くは家庭内関係・社会関係の困難が重なり、特に母親に突出した形で大きな社会心理的負担が家族内に集積していた。3) 包括的な成育医療・教育などの環境整備・自立支援・将来計画策定支援などの社会的支援の不足、相談環境・情報共有の場の不足・未整備があった。これらは、現状の生活上の困難の重要な背景要因となっていることが示唆された。また、血友病に係わる遺伝の問題解決の困難から派生した、将来に対する無力感、否定感が生活の質や生きる意欲の低下の根底にあり、これらは医療従属、自責の念につながっていることが示唆された。

D-2 薬害H I V被害者および家族に対する

血友病に係わる支援課題

課題克服のためには、血友病患者・家族として将来計画や生活の質向上に向かうべき生活資源の確保が重要である。そこで、現状の課題に基づき、支援上の課題領域として「遺伝」「子育て」「学校」「きょうだい」「将来」を設定した。

課題克服の支援にあたっては、薬害HIVの被害経緯として医療現場から説明・告知・情報開示、事実の共有からの疎外が、長期的な影響としても前述のような困難につながっていることを踏まえ、当事者の自立性と能力を尊重した支援のあり方・方法を支援要件として追加した。さらに調査によって得られた支援概念として、家族内関係構築と、社会関係構築という高次の概念を得た。

D-3 支援実施

支援概念に基づく支援策として、1) 家族内関係構築の支援としては、医療からの自立性の確保、事前的・予見的な意思決定の支援としての情報支援が有効と考えられた。インターネットを通じての諸外国の治療・研究・支援動向の紹介や解説、海外文献の翻訳と解説を行った。患者・家族に対して医療的な自立を担保し、医療に参加しているという気づきと実感を促すのに有用な支援方法であると考えられた。

また、2) 社会関係構築の支援としては、患者・家族を含めた包括的な医療関係・社会関係構築、特に血友病の遺伝と相談体制の構築が重要課題と考えられた。

血友病のファクトシート作成による医療的・社会的事実を一元化した情報の提供を行うことにより、家族内で情報を共有し、医療者とのコミュニケーションを円滑に行

えることを期待できる。患者自身が将来に対する状況把握や判断に役立つことを期待し、提供した情報には、血友病の基本的な事実 (Solid fact と称される)、歴史的事実として、医療費助成制度構築の経緯、薬害エイズ事件の経緯などが含まれ、今後継続的に自発的な学びの機会の創出や、教育啓発が重要である。

D-4 血友病を取り巻く社会変容 (Social Change) についての提言

アクションリサーチ研究により、患者・家族からの視座として 1) 血友病に特有の患者・家族関係により特徴づけられる現状の医療圏・関係性を改善する必要性が示唆された。これらは、社会参加・活動の質の向上や、家族関係構築、教育との関係性向上、地域生活の充実などを含む。すなわち、包括的な視野で生活圏構築と支援の観点より、HIV薬害被害者・家族の生活基盤と社会的機能の回復プロセスを再考する必要がある。2) 患者・家族の自己支援、相互支援を充実し、専門家支援についても医療コーディネーション機能の充実や、他職種連携により、地域・学校生活支援など生活圏における支援の新たな取り組みを推進する。3) 海外の支援の有用事例を参考に、患者・家族を対象とする遺伝相談などの恒久的対応の充実、迅速・包括的な医療・生活対策の充実を目指す。諸外国の事例では、血友病患者・家族は多くの専門家との連携、調整を必要としている現状に対し、迅速な職種専門家連携、二人主治医の医療体制などの政策的対応など、支援概念の充実とモデル実践が行われていた。日本においても実現へ向けて日本の状況に合わせた形で再考する必要性が示唆される。

E. 結論

本研究により、1) 具体的な支援内容と方法を明確に設定し、2) 今後の生活再構築に向けた支援の理論展開を行った。また 3) 支援理論に基づき萌芽的な支援を実施した。

今後、薬害H I V薬害被害者・家族の生活の再構築の支援と、血友病患者・家族としての自律的な将来計画支援を進める必要がある。以下、ポイントを7点にまとめた。

1. 薬害H I V感染被害者・家族等は現状でも生存とH I V差別偏見への対処が重荷となっていた。また今後の生活の再構築についても、差別忌避・医療優先がネックとなり、消極的な事例が多く見受けられた。根底にある血友病の問題としては遺伝に係わる社会心理的な支援が乏しく、社会資源としては、薬害被害経験から不信感を持ちつつも優先的に医療に依存せざるを得ない現状が明らかになった。遺伝相談や血友病治療の患者・家族による主体的な選択を支援し生活の再構築を支援する新たな取り組みも望まれる。
2. 支援のありかたとしては、血友病患者・家族を含めた包括的な医療のつながりの中で、血友病に対する前向きな受け止め、医療からの自立が担保された上での治療への動機づけ、将来に対する中立的・予見的な意思決定が課題克服のために重要と考えられる。
3. 薬害H I V感染被害者・家族等の視点から得られた「遺伝」「子育て」「学校」「きょうだい」「将来」などの課題領域ごとの社会的支援として専門的支援・相互支援・自己支援を推進し、血友病のライフステージに応じた将来計画に基づく重層的な支援体制を構築することが重要である。

4. 社会関係構築支援が有効であると示唆された。本研究は、患者・家族の生活圏の制約条件を緩和するために、複数の支援を提案した。支援要件として、血友病の遺伝の課題克服をベースに、子育て、教育、将来計画、薬害に関する要因が抽出された。

5. 家族内関係構築の支援が有効であると示唆された。特に、家族内での情報共有の課題も並行して克服すべき課題として抽出した。本研究では、インターネット・小冊子等を通じた、海外情報の提供、解説、一次情報の翻訳、一元化された基本的知識に関する情報提供を行った。今後、より一層充実した自発的な学びの機会の創出や、教育啓発につなげたい。

6. 他職種専門家と当事者の協働により、自己支援・相互支援・専門家支援の充実と具体的な支援法・連携方法・支援ツールの充実を図る必要がある。具体的目標として、患者・家族の家族内関係構築と社会関係構築のために、医療・保健・介護・教育等の専門家連携による、地域における生活機能の向上を目指す。これらの社会的支援は、困難に対する支援と、人生を支援する意味を持つだろう。

7. 今後、地域生活への調整といった患者・家族の社会的機能の原状回復を多角的に支援することが新たな課題として示唆される。海外の支援の有用事例を参考に、情報の共有・活用についての支援充実を図り、血友病の恒久的な対策として遺伝相談の充実などを具体的な支援案として得た。また、差別偏見の解消、被害後の患者・家族の生活再構築過程を教訓に、理想の医療や生活構築のための具体的支援体制と社会資源の有効活用などを、政策的な課題を含め検討が

必要である。

F 健康危険情報

なし

G.研究発表

研究発表

口頭発表

- 1) 大槻知子、柿沼章子、高久陽介、大平勝美、長谷川博史、生島嗣：HIV 陽性者のための学術集会参加支援プログラムの取り組みと、そのニーズと効果についての考察、日本エイズ学会、2009
- 2) 久地井寿哉、後藤智己、大宮朋子、島田恵、池田和子、石谷誓子、岩野友里、柿沼章子、山崎喜比古、岡慎一、大平勝美：HIV に係る障害者の社会参加に係る偏見と差別不安解消と自立支援の在り方に関する調査研究（第一報）－社会参加および自立の阻害要因の明確化－、日本エイズ学会、2009、
- 3) 後藤智己、久地井寿哉、大宮朋子、島田恵、池田和子、石谷誓子、岩野友里、柿沼章子、山崎喜比古、岡慎一、大平勝美：HIV に係る障害者の社会参加に係る偏見と差別不安解消と自立支援の在り方に関する調査研究（第二報）－当事者の HIV/AIDS 感染に関する病い経験・認知の変化－、日本エイズ学会、2009、
- 4) 大宮朋子、久地井寿哉、後藤智己、島田恵、池田和子、石谷誓子、岩野友里、柿沼章子、山崎喜比古、岡慎一、大平勝美：HIV に係る障害者の社会参加に係る偏見と差別不安解消と自立支援の在り方に関する調査研究（第三報）－職場における疾患名開示に関する検討－、日本エイズ学会、2009、
- 5) 柿沼章子他、薬害 HIV 感染被害者・家

族の現状からみた、血友病に係わる子育ての課題と支援、社会医学会、2010

6) 柿沼章子他、薬害 HIV 感染被害者・家族の現状からみた、血友病に係わる今後の課題及び課題克服への支援（第 1 報）、日本エイズ学会、2010

7) 北村弥生、柿沼章子他、血友病患者の母親が感じる患者のきょうだいの課題、日本公衆衛生学会、2010

8) 関由起子、柿沼章子、久地井寿哉、大平勝美、普通学級における病気をもつ子どもの受け入れ上の課題・養護教諭と血友病の子どもを持つ母親の視点から、第 37 回日本保健医療社会学会大会、2011

9) 柿沼章子、久地井寿哉、大平勝美、薬害 HIV 感染被害者・家族の現状からみた、血友病に係わる今後の課題及び課題克服への支援研究(第二報) ～支援課題の明確化、第 37 回日本保健医療社会学会大会、2011

10) 三浦萌海、柿沼章子、他、慢性疾患（慢性疾患（血友病））の子どもの学校生活上・教育上の課題、第 70 回日本公衆衛生学会総会、2011

11) 久地井寿哉、柿沼章子 他、近年における薬害 HIV 感染被害者の生存人口動態および粗死亡率の分析、第 70 回日本公衆衛生学会総会、2011

12) 久地井寿哉、柿沼章子、岩野友里、石射いずみ、後藤智己、大平勝美、近年における薬害 HIV 感染被害者の出生コホート別生存率および粗死亡率の分析、日本エイズ学会、2011

H.知的財産権の出願・登録情報

なし

脂肪組織由来幹細胞シートによる細胞遺伝子治療の開発

研究分担者 大橋 一夫 東京女子医科大学先端生命医科学研究所 准教授

研究協力者 辰巳 公平 東京女子医科大学先端生命医科学研究所 助教

渡辺 夏巳 東京女子医科大学先端生命医科学研究所 助教

In Kyong Shim 東京女子医科大学先端生命医科学研究所 博士研究員

研究要旨：遺伝子修飾細胞を用いた治療は、遺伝子治療分野ならびに再生医療分野において、新しい開発領域としてその発展が注目されている。本分担研究においては、患者の自己細胞を用いた細胞・遺伝子治療の開発を軸とした血友病に対する新規治療の開発を目指した研究を行った。細胞としては、低侵襲下での採取が可能な脂肪組織から分離・増殖させることが可能な脂肪由来幹細胞(ADSC)に着目した。また、ADSC に遺伝子修飾を加えた後に細胞シート組織体を作製し、生体内への貼布移植することにより治療用組織を生体内に構築することを最終目標としている。平成22年度においては、正常マウスからの ADSC 樹立法の確立とサル免疫不全ウイルス由来レンチウイルスベクター(SIV)を用いた遺伝子導入条件の設定を行った。平成23年度においては、血友病個体(マウス) から ADSC 樹立、SIV を用いた第 IX 因子遺伝子導入、ADSC による細胞シート作製条件の設定を行った。その結果、血友病個体から貼布移植が可能な ADSC 細胞シートの作製に至った。

A. 研究目的

生体内に機能的組織を作製する再生医療は、次世代の医療としてその確立が大きく期待されている分野である。血友病の新規治療としても、再生医療の実現化の期待は高い。再生医療開発の意義は、血液凝固因子補充療法という唯一の治療選択肢しか患者に提供できていない現状において、新たな治療選択として提供することにより、より高いレベルの治療効果をもたらすことを目標とする。また、血液凝固因子補充療法との組み合わせの治療展開により、高額な血液凝固因子の使用量を減弱させることによる医療経済的な貢献も目標とするものである。本研究では、自己細胞を基盤とした細胞・遺伝子治療による血友病新規治療の開発を軸とした研究展開を行う。具体的には、細胞としては、脂肪組織から分離・増殖が期待できる脂肪組織由来幹細胞(ADSC)を用いる。ADSC への遺伝子修飾には、

サル免疫不全ウイルス (SIV) 由来非増殖型レンチウイルスベクターを用いる。平成22および23年度の本研究事業においてマウス個体からの ADSC の樹立とそれら細胞を用いた血友病治療の開発にむけた要素開発を行ったので、以下に記述する。

B. 研究方法

1) マウスからの脂肪組織由来細胞 (mouse adipose tissue-derived stem/stromal cells : mADSCs) の樹立 - 野生型マウスおよび血友病 B マウス (FIX-KO) の鼠蹊部から脂肪組織を取り出し、collagenase による分散の後、継代培養を行い mADSCs を取得した。得られた mADSCs の表面抗原の解析をフローサイトメトリーにより解析することにより ADSC としての特性評価を行った。

2) 血友病個体 ADSCs の多分化能の検索 - 野生

型個体および血友病 B マウスから樹立した mADSC の多分化能を、骨分化誘導培地または脂肪分化誘導培地での継続培養により分化誘導を行った。骨分化能を Alkaline phosphatase (ALP) 活性と Alizarin Red S 染色により、脂肪分化能を Oil Red O 染色により検証した。

3) 血友病個体 ADSCs への SIV ベクターによる遺伝子導入効率の検討 - 野生型個体および血友病 B マウスから樹立した mADSC に、培養下において (SIV) 由来非増殖型レンチウイルス SIV-CMVp-EGFP(ディナベック社/自治医大から提供) を用いた遺伝子導入実験を行った。Passage 2 の細胞に対し、様々な濃度でベクターを反応させ(24 時間)、培養 4 日目にフローサイトメーターにより GFP 陽性細胞数を測定し、遺伝子導入効率を評価した。

4) 遺伝子導入による血友病個体 ADSCs への hFIX 強制発現と産生 hFIX 機能評価 - 血友病 mADSC に SIV-CMVp-hFIX(ディナベック社/自治医大から提供) を MOI=5 および 10 にて感染させて評価を行った。遺伝子導入後 1 日後から 24 時間における培養液を回収し、hFIX 量を ELISA にて定量、また、hFIX 生理機能を凝固一段法にて評価した。

5) 血友病個体 ADSCs による細胞シート作製の検討 - ADSCs を用いた組織工学的治療開発へと進める目的で、野生型個体および血友病 B マウスから樹立した mADSC による細胞シートの作製技術を開発した。第 4 passage の mADSCs を温度応答性インテリジェント培養皿 (Type-E UpCell, 35 mm) に播種し 2 日～5 日間の培養後、低温処理 (20°C, 20 分間) により mADSC シート剥離を行った。単一の組織体として剥離可能な培養条件の設定を行った。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた動物実験は、東京女子医科大学の定める動物実験指針規定に基づき、動物倫理的

側面を十分に配慮した上で行った。また、ウイルスベクターを用いる実験は、遺伝子組み換え実験安全委員会の規定に従って行った。本研究にて使用している SIV ベクター(SIVagm TYO-1 株)は、アフリカミドリザルから単離した免疫不全ウイルスを基本骨格として開発されたベクターである。SIVagm TYO-1 株は、サル免疫不全ウイルスの一種であるが、サルやヒトに対する病原性の報告はないことから、HIV ベクターに比べて安全性が高く、環境に与える影響は小さい。さらに安全性を高めるために SIV で複製に関与する可能性のある遺伝子領域を欠失させている。

C. 研究結果

1) マウス mADSCs の細胞特性 - 野生型個体および血友病 B マウスから継代増殖が可能な ADSC が樹立可能であった。それら mADSC の細胞表面抗原をフローサイトメトリーにて解析した結果、野生型 mADSC ならびに血友病 mADSC 共に CD29 陽性、CD44 陽性、CD90 陽性、CD31 陰性、CD45 陰性で両者間に差異はなく、また既報告の Mesenchymal stem cells (MSCs) と同等の表現系であることを確認した。

2) 血友病個体 ADSCs の多分化能 - 分化誘導開始後 7 日目に評価した ALP 活性では、骨分化誘導培地群において有意に高い活性を得た。また、28 日目に行った Alizarin Red S 染色も強陽性で骨分化の誘導を確認した。さらに、脂肪分化誘導培地での分化誘導 14 日目での Oil Red O 染色で、染色陽性脂肪滴を多数確認した。これらの多分化能は、野生型 mADSC ならびに血友病 mADSCs に差異のないことを確認した。

3) 血友病個体 ADSCs への遺伝子導入効 - 種々の条件検討を行った結果、SIV を用いることにより血友病 mADSCs に効率良く遺伝子導入が行い得ることが明らかとなった。具体的には、passage 2

の mADSCs を用いた検討では、それぞれ野生型 mADSCs/血友病 mADSCs に対し、MOI=1 では 66%/67%、MOI=5 では 90%/93%、MOI=10 では 97%/98%の遺伝子導入効率であった。MOI=10 で SIV 感染後の細胞増殖を観察したところ、顕著な影響が見られなかったことから、血友病 mADSCs に対し MOI=10 の SIV 感染が、細胞毒性を発生させず、98%とほぼ全ての細胞に遺伝子導入をなし得る条件と選定した。

4) 血友病個体 ADSCs の hFIX 産生量と機能

SIV-CMVp-hFIX にて遺伝子導入した血友病 ADSCs からの hFIX 産生量は、MOI=5 で 490ng/mL/24hrs、MOI=10 で 1300ng/mL/24hrs であった。これら ADSC 分泌の hFIX 機能活性の評価では、培地への添加ビタミン K₂ 量に依存し、添加ビタミン K₂ 濃度が 10 µg/mL の条件の 24 時間蓄積培地にて、正常血漿の 7.2%の FIX 活性を示した。

5) 血友病個体 ADSCs による細胞シート作製 - 温度応答性高分子ポリマーを固定した温度応答性培養皿での血友病 ADSCs 培養において、Passage 6 では細胞増殖力の低下からコンフルエント状態を獲得することが困難であったが、Passage 3 では、様々な細胞播種濃度においてコンフルエント状態を得た。コンフルエントとなった培養皿の全てにおいて、培養温度を 20°C (20 分)へと変化させることにより、1 枚の細胞シートとして回収することに成功した。

また、電子顕微鏡検索において、回収した細胞シートは、豊富なコラーゲン繊維の中に ADSC が数層で存在することが明らかとなった。また、回収して培養液に浮遊している ADSC シートは、ピンセットで把持できるレベルの強度を有していることも確認した。

D. 考察

本研究事業において、血友病個体から ADSCs を

分離・増殖させることが明らかとなり、ADSCs に対する遺伝子導入および細胞シート組織体を培養下で組み上げる技術が確立できたことは、自己細胞による再生医療の開発に極めて意義の高い成果と考えられる。研究自己細胞を利用した細胞・遺伝子治療による血友病治療体系が確立することができれば、新しい血友病治療選択肢を臨床現場に提供できることから、その開発意義は極めて高いものである。

本研究事業が最終目標とするところは、自己細胞により生体内に新たな組織を作製し、凝固第 IX 因子を産生することによって安定した血液凝固能を提供することを目指すものである。今回の研究において開発した、培養 ADSCs による細胞シート組織体作製技術は、貼布移植によって高いレベルで細胞生着が期待できる。今後、動物モデルでの検証と移植法の開発が望まれる。

我々はこれまでに、細胞をシート状組織体へと組み上げることにより、生体内に様々な機能的な組織を作製し得ることを科学的に立証してきた。東京女子医大で開発した温度応答性培養機材システムを基盤として作製される細胞シートは、角膜上皮幹細胞の重度障害の患者に対する口腔粘膜細胞シートの移植治療や、拡張型心筋症の患者に対する骨格筋細胞シートの貼布移植治療で臨床応用が開始されている技術である。このように、臨床応用が可能な技術を取り入れていることは、本研究成果を将来的に臨床応用する際には加速的要素となり、利点は大きいものと考えている。

我々が目指している細胞シートを基盤とした新しい DDS 開発としての最近の展開において、インスリンを産生する膵ラ島細胞による細胞シートを皮下に単純に貼布することにより、インスリン産生組織を生体内に作製し得ることを明らかとしている。この作製組織は、皮下という特異な場所に生着しているものの、血糖を感知しながら

インスリンを産生することにより糖尿病を完治させる能力を有している。この実験的成功は、治療に必要な様々な因子デリバリーを、組織工学的アプローチにより治療的組織を作製することにより十分なし得ることを示すものである。遺伝子修飾済みの自己細胞によって血友病個体の体内に組織を作製するアプローチも、実現し得るものと十分推測できるものである。また、治療効果は、繰り返しの組織作製により適宜調整も可能になるはずであることから、病態の程度に対応するべくテイラーメイド的に最適な治療効果を提供し得る可能性も強調したい。

平成 22・23 年度の研究成果によって、血友病個体から ADSCs を樹立し得ること、SIV ベクターを用いることで ADSCs に効率的に遺伝子導入が可能なこと、そして、ADSCs の細胞シートの作製が可能なることを明らかとした。次年度以後においては、血友病個体の ADSCs を生体内に効率的に生着させ、凝固第 IX 因子遺伝子を高いレベルで産生する組織作製を目指した展開を企画している。遺伝子治療のテクノロジーと、細胞組織工学のテクノロジーの融合を加速させることにより、血友病に対する新たな治療法提供の実現化を目指すことが使命と考えている。

E. 結論

平成 22・23 年度の研究において、血友病個体の脂肪組織から多分化能を有する ADSCs の樹立が可能であり、正常個体の ADSCs と差異のないことが明らかとなった。本結果は、自己細胞を基盤とした再生医療を今後展開するにあたり、患者脂肪組織 ADSCs を軸とした治療体系の有用性を強く示唆するものである。また、①SIV による ADSC への高効率遺伝子導入、②FIX 導入 ADSC からの効率的な FIX 産生・分泌、ならびに③移植用組織体としての ADSC 細胞シート作製の成功という一連の成

果は、治療用組織を生体内に組み上げることでの新規血友病治療の開発という最終目標を目指すにあたって極めて重要な成果である。これらの成果を基に、次年度以後において血友病 B モデルマウスにおける ADSC シートを用いた組織作製法の開発と、治療効果の掌握を計画している。また、ラグタイムなく実験成果を臨床へ橋渡しすることを念頭に、ヒト ADSC を用いた研究展開も進捗をみながら企画したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohashi K, Koyama F, Tatsumi K, Shima M, Park F, Nakajima Y, Okano T. Functional long-term maintenance of engineered liver tissue in mice following transplantation under the kidney capsule. *J Tissue Eng Regen Med.*, 4: 141-148, 2010.
- 2) Saito T, Ohashi K, Utoh R, Shimizu H, Ise K, Suzuki H, Yamato M, Okano T, Gotoh M. Reversal of diabetes by the creation of neo-islet tissues into a subcutaneous site using islet cell sheets. *Transplantation.* 92: 1231-6, 2011.
- 3) Ohashi K, Mukobata S, Utoh R, Yamashita S, Masuda T, Sakai H, Okano T. Production of islet cell sheet using cryopreserved islet cells. *Transplantation Proc*, 43: 3188-3191, 2011.
- 4) Goto Y, Ohashi K, Utoh R, Yamamoto M, Okano T. Hepatocyte transplantation through the hepatic vein: a new route of cell transplantation to the liver. *Cell Transplant.* 20: 1259-70, 2011.
- 5) Kim K, Ohashi K, Utoh R, Kano K, Okano T. Preserved liver-specific functions of hepatocytes in 3D co-culture with endothelial cell sheets. *Biomaterials.* 33: 1406-13, 2012.
- 6) Tatsumi K, Ohashi K, Teramura Y, Utoh R, Kanegae K, Watanabe N, Mukobata S, Nakayama M, Iwata H, Okano T. The non-invasive cell surface modification of hepatocytes with PEG-lipid derivatives. *Biomaterials.* 33: 821-8, 2012.
- 7) Puppi J, Strom SC, Hughes RD, Bansal S, Castell JV, Dagher I, Ellis EC, Nowak G, Ericzon BG, Fox JJ,

- Gómez-Lechón MJ, Guha C, Gupta S, Mitry RR, Ohashi K, Ott M, Reid LM, Roy-Chowdhury J, Sokal E, Weber A, Dhawan A. Improving the Techniques for Human Hepatocyte Transplantation: Report from a Consensus Meeting in London. *Cell Transplant*. 2011. [Epub ahead of print]
- 8) Kasuda S, Tatsumi K, Sakurai Y, Kato J, Taminishi S, Takeda T, Ohashi K, Okano T, Hatake K, Shima M. Expression of coagulation factors from murine induced pluripotent stem cell-derived liver cells. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 22: 271-9, 2011.
 - 9) Tatsumi K, Ohashi K, Taminishi S, Sakurai Y, Ogiwara K, Yoshioka A, Okano T, Shima M. Regulation of coagulation factors during liver regeneration in mice: mechanism of factor VIII elevation in plasma. *Thromb Res*. 128: 54-61, 2011.
 - 10) Kim K, Ohashi K, Okano T. Cell sheet engineering technology utilizing temperature responsive culture dish. *Polymer Science and Technology* 22: 9-13, 2011. (in Korean).
 - 11) Ohashi K, Tatsumi K, Tateno C, Kataoka M, Utoh R, Yoshizato K, Okano T. Liver tissue engineering utilizing hepatocyte propagated in mouse livers in vivo. *Cell Transplant*, 2012, in press.
 - 12) Takagi S, Ohno M, Ohashi K, et al. Cell shape regulation based on hepatocyte sheet engineering technologies. *Cell Transplantation*, 2012, in press.
 - 13) Tatsumi K, Ohashi K, Tateno C, Yoshizato K, Yoshioka A, Shima M, Okano T. Human hepatocyte propagation system in the mouse livers: functional maintenance of the production of coagulation and anti-coagulation factors. *Cell Transplantation*, 2012, in press.
 - 14) Tatsumi K, Ohashi K, Mukobata S, Kubo A, Koyama F, Nakajima Y, Shima M, Okano T. Hepatocyte is a sole cell type responsible for the production of coagulation factor IX in vivo. *Cell Medicine*, 2012, in press.
 - 15) Ohashi K, Matsubara Y, Tatsumi K, Kohori A, Utoh R, Kakidachi H, Horii A, Tsutsumi M, Okano T. Cell therapy using adipose-derived stem cells for chronic liver injury in mice. *Cell Medicine*, 2012, in press.
2. 学会発表
- 海外
- 1) Ohashi K, Tatsumi K, Tateno C, Nakai H, Utoh R, Yoshizato K, Okano T. Hepatocyte engineering and genetic modification approaches within a living mouse. *The Liver Meeting 2010 (The 61th Annual Meeting of the American Society for the Study of Liver Diseases)*. Oct 29-Nov 2, 2010, Boston, USA.
 - 2) Tatsumi K, Sakurai Y, Ohashi K, Kasuda S, Kato J, Okano T, Shima M. Expression of coagulation factors from murine iPS-derived liver cells. *American Society of Gene & Cell Therapy, 13th Annual Meeting*. May 19-22, 2010, Washington DC, USA.
 - 3) Ohashi K, Tatsumi K, Tateno C, Nakai H, Ehrhardt A, Utoh R, Yoshizato K, Okano T. Hepatocyte Engineering and Genetic Modification Approaches of Hemophilia Hepatocytes within a Living Mouse. *American Society of Gene & Cell Therapy, 13th Annual Meeting*. May 19-22, 2010, Washington DC, USA.
 - 4) Watanabe N, Ohashi K, Tatsumi K, Utoh R, Kanegae K, Kashiwakura Y, Ohmori T, Sakata Y, Inoue M, Hasegawa M, Okano T. Gene and cell therapy for Hemophilia B using Adipose tissue-derived stem/stromal cells transduced with a self-inactivating SIV lentivirus vector. *American Society of Gene & Cell Therapy 14th Annual Meeting (Seattle, USA) 2011.5.18-21*
- 国内
- 1) 辰巳公平、大橋一夫、民西早苗、嶋 緑倫、岡野光夫. 生後の肝臓発育過程における各種凝固因子の遺伝子発現プロファイル. 第33回日本血栓止血学会. 2010年4月22日-24日. 鹿児島.
 - 2) 辰巳公平、櫻井嘉彦、粕田承吾、大橋一夫、