

Case	Operation	Operation time (min)	Blood loss (mL)	Tourniquet
1	Removal of pseudotumour	193	1608	No
2-1	Removal of osteophytes and manipulation of right shoulder	107	57	No
3-1	Right total knee arthroplasty	146	120	Yes
4-1	Arthroscopic synovectomy for right knee	119	Little	Yes
5	Arthroscopic synovectomy for right knee and removal of osteophytes of left ankle	163	Little	Yes
3-2	Left total knee arthroplasty and septoplasty	160	610	Yes
6	Arthroscopic synovectomy for right knee	116	Little	Yes
4-2	Arthroscopic synovectomy for left knee	95	Little	Yes
2-2	Removal of osteophytes of left shoulder	106	53	No
7-1	Left bipolar hip arthroplasty	104	1056	No
7-2	Right bipolar hip arthroplasty	69	519	No

Table 2. Surgical data: seven surgeries from Cases 1 to 6 were performed at the former hospital and the others from Cases 4-2 to 7-2 were performed at the present hospital.

(average 12.3 days) was longer than that of the combined group (6.5 days), and the total dose per body weight of the bolus group (7.66 g kg^{-1}) was also more than that of the combined group (3.65 g kg^{-1}), but statistically speaking there were no real differences between the two groups. An anti-fibolytic agent (tranexamic acid) was used during peri-operative bleeding control periods for all patients except three who complained of nausea induced by the agent. Excellent surgical results were achieved for all surgeries. The pseudotumour was removed *en bloc*. After both shoulder osteophytes were removed and the right shoulder was manipulated, the abduction and flexion of both shoulders improved to around 90° . After joint arthroplasties, pain was relieved and bleeding did not recur. After synovectomy, bleeding gradually stopped and did not recur.

However, haemostatic evaluations differed. Nine surgeries had been controlled without unexpected massive bleeding or bleeding complications (excellent), and one of the two performed pseudotumour removals had expected massive bleeding with bleeding complications (good), and another performed bipolar hip arthroplasty had unexpected massive bleeding with bleeding complications (fair).

Complications

There were no thrombogenic adverse effects, only two bleeding episodes. One episode was re-bleeding on day 9 after the operation. This bleeding was controlled with a shortened bolus infusion interval from 6 to 4.5 h. The second episode was continued bleeding from the operative day, despite good haemostasis in the operation room. We continued

Table 3. Overview of dose and periods of recombinant activated factor VII for bleeding control at peri-operative periods and complications.

Case	One dose per body weight (mcg kg^{-1})	Total dose per body weight (g kg^{-1})	Total infusion periods (days)	Bolus infusion periods (days)	Continuous infusion periods (days)	Tranexamic acid (days)	Complications
1	103.4	9.9	19	19	0	18	Bleeding
2-1	117.6	13.9	22	22	0	21	
3-1	120.0	8.5	12	12	0	13	
4-1	139.5	5.3	7	7	0	2	Nausea
5	125.0	4.5	8	8	0	7	
3-2	120.0	8.4	12	12	0	14	
6	106.7	3.1	6	6	0	6	
4-2	102.1	3.5	5	2	3	2	Nausea
2-2	120.0	2.4	5	2	3	2	Nausea
7-1	95.2	3.8	7	1	6	8	
7-2	100.0	4.9	9	2	7	8	Bleeding

to administer rFVIIa by bolus injection, 15 times at 2-h intervals, until the bleeding started to ooze and then we changed to continuous infusion. The bleeding stopped on day 3 after the operation.

Discussion

There are two major limitations to performing surgery for haemophilia patients in Japan. First, general insurance in Japan does not permit chemical or radioactive synoviorthesis for any arthropathies or synovitis. The clinical results show that these synoviorthesis procedures are safe and effective. Internationally, these procedures are first-line therapies for haemophilic synovitis, especially for inhibitor patients. However, as we are not able to choose these procedures, arthroscopic synovectomy is the first-line therapy for haemophilic synovitis in Japan. This is the reason why we have many arthroscopic synovectomies for haemophilia with inhibitors. Another limitation concerns the use of aPCC. Until the end of March 2008, we were not permitted to use aPCC over 3 days serially and we were required to change from aPCC to other concentrates on the fourth day even if aPCC had been effective. Most of the cases in this report were performed before April 2008 and they were controlled using rFVIIa.

Orthopaedic surgery had been impossible for haemophilia with inhibitors for the past two decades. The development of bypassing agents, such as aPCC and rFVIIa made orthopaedic surgery possible, and the results of the first operation using rFVIIa was published in 1988 [7]. After this case report, orthopaedic surgery started to be performed internationally for haemophilia with inhibitors, but as an elective surgery performed only by an expert medical haemophilia team. Most of the surgical results were of minor surgeries and major surgical results were mainly reported as case reports. In terms of large major orthopaedic surgical results for haemophilia with inhibitors under rFVIIa cover, Obergfell *et al.* [4] reviewed the orthopaedic surgical results published up until 2006. According to this review, the surgical results of two to six major orthopaedic surgeries were reported among five articles from single institutes. After 2006, Harberman *et al.* [8] reported the surgical results of six surgeries, which was the largest study from a single institute. However, some multicentre studies had reported 6–18 major orthopaedic surgical results [5,9,10]. This report has 11 major orthopaedic surgical results and is the largest study from a single institute.

It is important for bleeding control using rFVIIa to increase plasma rFVIIa levels. Hoffman *et al.* [11]

concluded that the doses of rFVIIa required for efficacy produce plasma levels that are several orders of magnitude greater than the K_d for binding of FVIIa to tissue factor, and a platelet surface mechanism is better able to explain the clinical efficacy of high-dose FVIIa therapy. In a report that included the experiences of seven European haemophilia centres, it was concluded that high doses of rFVIIa are safe and effective for the treatment and prevention of bleeding [12]. Also Salaj *et al.* [13] concluded that initial high doses of rFVIIa were associated with a decline in total rFVIIa consumption, because the rate of thrombin generation is important for fibrin clots that form in the presence of high amounts of rFVIIa and are more resistant to proteolysis, which might be of great importance in the context of joint inflammation where elevated enzyme levels exacerbate proteolysis and the destruction of synovium, cartilage and bone. In two recently published papers in which the sole aim was to establish a consensus protocol, bolus infusion was recommended as routine haemostasis therapy for haemophilia with inhibitors and continuous infusion was not recommended because more clinical studies are required for this mode of administration [6,14]. Giangrade [14] recommended that 120–180 mcg kg⁻¹ be injected at the start of surgery, just prior to the first incision. Then, follow-up doses of 90 mcg kg⁻¹ are given at 2–6-h intervals during the peri-operative periods.

In our experiences, the first bolus infusion was given before general anaesthesia and the second bolus infusion was given just before the first incision. The interval between the first and second infusions was shorter than 2 h. This administration mode achieved higher plasma rFVIIa levels without changing the dose and prevented bleeding incidents for unconscious patients.

However, rFVIIa has a short half-life and requires frequent administrations to keep the plasma levels of FVIIa above that required to maintain haemostasis for haemophilia with inhibitors. Therefore, there were some reports that already confirmed the stability and microbiological safety *in vitro* and *in vivo* of rFVIIa after being reconstituted [15–17]; also, the good surgical results noted in the clinical reports [15,18–20] were increased by the continuous infusion of rFVIIa as an economical mode of administration. Continuous infusion was started after initial bolus infusion. The bolus dose range was from 90 to 104 mcg kg⁻¹. The continuous infusion rate range at the start was from 16.5 to 50 mcg kg⁻¹ h⁻¹, and the duration range was from 1 to 26 days. In terms of the continuous infusion rate, Schulman [15] concluded that it was possible to use 10 IU mL⁻¹ as a

maintenance level for most situations provided that precautions are taken to avoid the risk factors for hemorrhagic complications. This 10 IU mL^{-1} was calculated to be $660 \text{ IU kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ or $13.2 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. In all the reports, the continuous infusion rates were more than $13.2 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ and achieved good haemostasis, except one. This continuous infusion rate at the start was $16.5 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. To achieve good haemostasis during surgery and just after operation, the rFVIIa plasma levels must be higher than 10 IU mL^{-1} as a maintenance level.

Furthermore, we have another administration mode that is a combination of bolus and continuous infusion and had already been reported as continuous infusion [21–24], but here we refer to this mode as combination infusion because it consists of several bolus infusions as opposed to one bolus infusion prior to continuous infusion [18,20,25]. As for continuous infusion, Ludlam *et al.* [18] reported nine major orthopaedic surgeries in which rFVIIa was infused at a rate of $50 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for 7–20 days after an initial preoperative bolus of 90 mcg kg^{-1} . Postoperatively, there were bleeds in six patients. Santagostino *et al.* [20] reported 11 major orthopaedic surgeries in which rFVIIa was infused at a rate of $20 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for 3–14 days after an initial preoperative bolus of $90\text{--}135 \text{ mcg kg}^{-1}$. Postoperatively, there were bleeds in two patients. Smith *et al.* [25] also reported eight elective surgeries in which rFVIIa was infused at a rate of $16.5 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for 1–26 days after an initial preoperative bolus of 90 mcg kg^{-1} , and they concluded that the $16.5 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ infusion rate reliably achieves plasma FVII activity levels of 10 IU mL^{-1} , but this level does not provide reliable haemostasis. However, for case studies related to the administration mode we referred to as combination infusion, Tagariello *et al.* [24] reported two cases in which rFVIIa was infused at a rate of $11\text{--}42 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for 12–29 days after bolus infusion of 120 mcg kg^{-1} for 2–3 days. In both cases, bleeding complications occurred on days 8 and 14 after surgery, respectively. He also reported another successful case in which rFVIIa was infused five times at 2-h intervals prior to continuous infusion [23]. Pepez *et al.* [22] reported one case of a total hip arthroplasty in which rFVIIa was infused at a rate of $7\text{--}15 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for 12 days after bolus infusion of $90\text{--}150 \text{ mcg kg}^{-1}$ for 5 days, and no bleeding complications occurred. Lorenzo *et al.* [21] reported one case of an open evacuation of a large knee haemarthrosis in which rFVIIa was infused at a rate of $20 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ for 7 days after bolus infusion of 120 mcg kg^{-1} for 3 days, and they concluded that

FVIIa plasma levels of $6\text{--}10 \text{ IU mL}^{-1}$ were safe and effective at preventing postoperative haemorrhaging in this patient.

Based on published articles, we thought that the continuous infusion rate of $16.5 \text{ mcg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, which reliably achieves plasma FVII activity levels of 10 IU mL^{-1} , is good enough to maintain a haemostatic condition, but not to achieve good haemostasis. A higher rate of continuous infusion might achieve good haemostasis, however, two recent reports [6,14] concluded that bolus infusion is more reliable to achieve good haemostasis than continuous infusion. We believe it is most important for peri-operative haemostasis to achieve a good haemostatic condition just after surgery, and also believe that the administration of bolus infusion during surgery is more effective at stopping bleeding than continuous infusion. However, theoretically the total dose of bolus infusion administered during the peri-operative period is more than that of continuous infusion, so from an economical point of view it is also important to change from bolus infusion to continuous infusion once all bleeding has stopped. We recommend the administration of the referred to combination infusion that consists of two parts: a bolus infusion (i.e. several bolus infusions) to achieve good haemostasis and a continuous infusion to maintain a good haemostatic condition. We also believe that this combination infusion mode is the most effective and economical mode to administer.

We have performed numerous major orthopaedic surgeries for haemophilia patients with inhibitors and have achieved good haemostasis. Based on those results, we have concluded that the combination of bolus and continuous infusions of rFVIIa is safe and effective, and more convenient to administer than simple bolus infusion therapy to achieve haemostasis at peri-operative periods. In addition, our data also concurs with the data of several previous reports which showed that orthopaedic surgery for haemophilia patients with inhibitors by means of rFVIIa is safe and effective.

Disclosures

The authors stated that they had no interests which might be perceived as posing a conflict or bias.

References

- Rodriguez-Merchan EC, Quintana M, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F. Orthopaedic surgery for inhibitor patients: a series of 27 procedures (25 patients). *Haemophilia* 2007; 13: 613–9.

- 2 Jimenez-Yuste V, Rodriguez-Merchan EC, Alvarez MT, Quintana M, Fernandez I, Hernandez-Navarro F. Controversies and challenges in elective orthopedic surgery in patients with hemophilia and inhibitors. *Semin Hematol* 2008; 45: S64–7.
- 3 Morfini M, Haya S, Tagariello G *et al.* European study on orthopaedic status of haemophilia patients with inhibitors. *Haemophilia* 2007; 13: 606–12.
- 4 Obergfell A, Auvinen MK, Mathew P. Recombinant activated factor VII for haemophilia patients with inhibitors undergoing orthopaedic surgery: a review of the literature. *Haemophilia* 2008; 14: 233–41.
- 5 Pruthi RK, Mathew P, Valentino LA, Sumner MJ, Seremetis S, Hoots WK. Haemostatic efficacy and safety of bolus and continuous infusion of recombinant factor VIIa are comparable in haemophilia patients with inhibitors undergoing major surgery. Results from an open-label, randomized, multicenter trial. *Thromb Haemost* 2007; 98: 726–32.
- 6 Teitel JM, Carcao M, Lillicrap D *et al.* Orthopaedic surgery in haemophilia patients with inhibitors: a practical guide to haemostatic, surgical and rehabilitative care. *Haemophilia* 2009; 15: 227–39.
- 7 Hedner U, Glazer S, Pingel K *et al.* Successful use of recombinant factor VIIa in patient with severe haemophilia A during synovectomy. *Lancet* 1988; 2: 1193.
- 8 Habermann B, Hochmuth K, Hovy L, Scharrer I, Kurth AH. Management of haemophilic patients with inhibitors in major orthopaedic surgery by immunadsorption, substitution of factor VIII and recombinant factor VIIa (NovoSeven): a single centre experience. *Haemophilia* 2004; 10: 705–12.
- 9 Rodriguez-Merchan EC, Wiedel JD, Wallny T *et al.* Elective orthopaedic surgery for inhibitor patients. *Haemophilia* 2003; 9: 625–31.
- 10 Solimeno LP, Perfetto OS, Pasta G, Santagostino E. Total joint replacement in patients with inhibitors. *Haemophilia* 2006; 12(Suppl. 3): 113–16.
- 11 Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001; 85: 958–65.
- 12 Pan-Petes B, Laguna P, Mital A *et al.* Single-dose (270 microg kg⁻¹) recombinant activated factor VII for the treatment and prevention of bleeds in haemophilia A patients with inhibitors: experience from seven European haemophilia centres. *Haemophilia* 2009; 15: 760–5.
- 13 Salaj P, Brabec P, Penka M *et al.* Effect of rFVIIa dose and time to treatment on patients with haemophilia and inhibitors: analysis of HemoRec registry data from the Czech Republic. *Haemophilia* 2009; 15: 752–9.
- 14 Giangrande PL, Wilde JT, Madan B *et al.* Consensus protocol for the use of recombinant activated factor VII [eptacog alfa (activated); NovoSeven] in elective orthopaedic surgery in haemophilic patients with inhibitors. *Haemophilia* 2009; 15: 501–8.
- 15 Schulman S. Continuous infusion of recombinant factor VIIa in hemophilic patients with inhibitors: safety, monitoring, and cost effectiveness. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 421–4.
- 16 Schulman S, Bech Jensen M, Varon D *et al.* Feasibility of using recombinant factor VIIa in continuous infusion. *Thromb Haemost* 1996; 75: 432–6.
- 17 Schulman S, Varon D, Keller N, Gitel S, Martinowitz U. Monoclonal purified FVIII for continuous infusion: stability, microbiological safety and clinical experience. *Thromb Haemost* 1994; 72: 403–7.
- 18 Ludlam CA, Smith MP, Morfini M, Gringeri A, Santagostino E, Savidge GF. A prospective study of recombinant activated factor VII administered by continuous infusion to inhibitor patients undergoing elective major orthopaedic surgery: a pharmacokinetic and efficacy evaluation. *Br J Haematol* 2003; 120: 808–13.
- 19 Mauser-Bunschoten EP, de Goede-Bolder A, Wielenga JJ, Levi M, Peerlinck K. Continuous infusion of recombinant factor VIIa in patients with haemophilia and inhibitors. Experience in the Netherlands and Belgium. *Neth J Med* 1998; 53: 249–55.
- 20 Santagostino E, Morfini M, Rocino A, Baudo F, Scarggi FA, Gringeri A. Relationship between factor VII activity and clinical efficacy of recombinant factor VIIa given by continuous infusion to patients with factor VIII inhibitors. *Thromb Haemost* 2001; 86: 954–8.
- 21 Lorenzo JI, Montoro JM, Aznar JA. Postoperative use of rFVIIa by continuous infusion in a haemophilic boy. *Haemophilia* 1999; 5: 135–8.
- 22 Perez R, Martinez RL, Pinero A, Sosa R. Sequential treatment with bolus and continuous infusion of recombinant factor VIIa for hip arthroplasty in a patient with haemophilia A and inhibitor. *Haemophilia* 2002; 8: 822–5.
- 23 Tagariello G, Bisson R, Radossi P *et al.* Concurrent total hip and knee replacements in a patient with haemophilia with inhibitors using recombinant factor VIIa by continuous infusion. *Haemophilia* 2003; 9: 738–40.
- 24 Tagariello G, De Biasi E, Gajo GB *et al.* Recombinant FVIIa (NovoSeven) continuous infusion and total hip replacement in patients with haemophilia and high titre of inhibitors to FVIII: experience of two cases. *Haemophilia* 2000; 6: 581–3.
25. Smith MP, Ludlam CA, Collins PW, *et al.* Elective surgery on factor VIII inhibitor patients using continuous infusion of recombinant activated factor VII: plasma factor VII activity of 10 IU/ml is associated with an increased incidence of bleeding. *Thromb Haemost* 2001; 86: 949–53.

原 著

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立浪 忍^{1)*}, 三間屋純一^{2)*}, 白幡 聡^{3)*}, 仁科 豊^{4)*}, 花井 十伍^{5)*},
大平 勝美^{6)*}, 桑原 理恵⁷⁾, 浅原美恵子⁸⁾, 瀧 正志^{9)*}¹⁾ 聖マリアンナ医科大学医学教育文化部門医学統計学分野²⁾ 静岡県熱海健康福祉センター³⁾ 北九州総合病院⁴⁾ 仁科・深道法律事務所⁵⁾ ネットワーク医療と人権⁶⁾ 社会福祉法人はばたき福祉事業団⁷⁾ 聖マリアンナ医科大学大学院アイソトープ研究施設⁸⁾ 聖マリアンナ医科大学小児科⁹⁾ 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科

* 血液凝固異常症全国調査運営委員会

目的：本邦の HIV 感染血液凝固異常症において、1997 年から 2008 年までの AIDS 指標疾患の状況を把握すること。

対象および方法：1997 年から 2008 年までの期間について AIDS 指標疾患の報告数を調査年毎に集計した。複数の指標疾患が同時に報告されていた場合も疾患毎に独立した合計数を求めた。

結果：最も頻繁に報告されたのはカンジダ症で、死亡時に報告されたものが合計 17 例、各調査期間の生存例で報告されたものが合計 94 例であった。次いでニューモシスティス肺炎（死亡 14 例、調査時生存 53 例）、HIV 消耗性症候群（死亡 22 例、調査時生存 23 例）の順であった。この他に報告数が多い疾患は、サイトメガロウイルス感染症、反復性肺炎、非結核性抗酸菌症、進行性多巣性白質脳症であった。AIDS 指標疾患の年次報告総数は、1997 年から 2002 年まで減少し、2003 年以後は年間合計 20 例未満に止まっていた。死亡時に重篤な肝疾患があった報告は累積 167 例となり、この中で肝疾患の原因が HCV 感染と考えられるものが 140 例（84%）であった。

結論：HIV 感染血液凝固異常症においては AIDS 指標疾患の新たな発症は少数で、死亡時に AIDS 指標疾患を有する例も少なくなっている。一方、HCV 感染が原因と考えられる重篤な肝疾患による死亡数は減少傾向を示しておらず、HCV 感染に対する治療を積極的に進める必要がある。

キーワード：エイズ指標疾患、血液凝固異常症、血友病、全国調査、HCV

日本エイズ学会誌 12 : 34-41, 2010

1. はじめに

血液凝固異常症全国調査による報告では、2008 年 5 月 31 日現在で生存中の HIV 感染血液凝固異常症の総数は 796 例で、そのうち AIDS 発症例は 166 例となっている¹⁾。しかし、この AIDS 発症者数には治療によって症状が消失した例や、検査所見が改善した例も含まれており、報告の時点で 23 の AIDS 指標疾患のいずれかを有している例は少数である。本稿では血友病を中心とする血液凝固異常症と HIV 感染に関する全国的な調査が、現在のような形式に整えられた 1997 年から、最新の調査である 2008 年の調査までに報告された AIDS 指標疾患の報告数の経時的な変化を

著者連絡先：立浪 忍（〒216-8511 川崎市宮前区菅生 2-16-1
聖マリアンナ医科大学医学統計学分野

2009 年 7 月 2 日受付；2009 年 10 月 16 日受理

まとめ、死亡報告中の該当数も含めて報告する。

2. 方 法

1997 年度から 2008 年度までの血液凝固異常症の全国的な調査に報告された、HIV 感染血液凝固異常症（血友病、von Willebrand 病、類縁疾患）における AIDS 指標疾患について集計した。

当該期間の血液凝固異常症と HIV 感染に関する全国的な調査は、1997 年度から 1999 年度までは厚生労働省の「HIV 感染者発症予防・治療に関する研究班」²⁾、2000 年度については同省の「HIV 研究の評価に関する研究班」内の分担研究³⁾による調査であったので、それらの報告による集計数を用いた。

2001 年度以後の調査については現在の血液凝固異常症全国調査によって行われているので、その集積データを用

いて集計した。

データの集計および解析は、聖マリアンナ医科大学医学部医学教育文化部門医学統計学分野と大学院アイソトープ研究施設において行った。

3. 結 果

(1) 2008年5月31日時点のAIDS発症者数

血液凝固異常症全国調査で掌握しているHIV感染血液凝固異常症の総数は、生存例数と累積死亡例数を合わせ1,432例（男性1,418例、女性14例）で、この内、2008年5月31日現在で生存中のHIV感染血液凝固異常症は合計796例（男性788例、女性8例）となっている（表1）。

2008年度の調査期間（2007年6月1日から2008年5月31日まで）に新たにAIDSを発症した報告は1例であったが、当該期間以前の過去の時点で、既にAIDSを発症していたとする例数と総合すると、生存中のAIDS発症例数は166名（男164例、女2例）となっている。

ただし、この数は治療によって症状が消失したり、検査所見が改善した例を含めた合計数で、多くの症例において現在のAIDS指標疾患の罹患は報告されていない。2008年度の調査期間に関しては、生存例において指標疾患の罹患が報告されているのは9疾患で、カンジダ症6例、サイトメガロウイルス感染症2例、単純ヘルペスウイルス感染症1例、非結核抗酸菌症2例、ニューモシスティス肺炎3例、進行性多巣性白質脳症1例、非ホジキンリンパ腫1例、活動性結核1例、HIV消耗性症候群1例が報告されていた。

(2) AIDS指標疾患に関する報告数の年次推移

1997年から2008年までの調査期間に血液凝固異常症全国調査に報告されたAIDS指標疾患の、年次別報告数を表2

および図1~4に示した。表2では該当年度の調査における生存例についての報告数と、死亡例における報告数を分別して集計し、図1~4では、比較的報告数の多い疾患について双方の和をプロットした。なお、数値はすべて疾患別の報告数で、複数の疾患を有する症例がある場合も疾患ごとに独立して集計した値を示した。さらに、各年度の調査期間は前年の6月1日から該当年度の5月31日までの1年間であるので、表2および図1~4ともにこの調査期間の1年間毎に集計したものである。

真菌症の中では図1に示すようにカンジダ症の報告数が最も多く、次いでニューモシスティス肺炎、クリプトコッカス症の順となっていた。ヒストプラズマ症に関しては、今回の集計期間中の報告は1例のみであった。

原虫症に関しては、1997年にクリプトスポリジウム症が3例（生存例1、死亡例2）とイソスポラ症が1例（生存例）報告された。トキソプラズマ脳症については、1997年に3例（生存例1、死亡例2）、1999年に1例（生存例）、2000年に3例（生存例）が報告されたが、その後の報告はなかった（表2）。

細菌感染症については、非結核性抗酸菌症の報告数が明らかな減少傾向を示しつつも、少数例の報告が最近まで継続していた（図2）。活動性結核は1998年に4例（生存例2、死亡例2）の報告があったが、その後の年次報告数は2例以下であった。サルモネラ菌血症については、2000年と2001年に1例ずつ生存中の患者から報告されていた。

ウイルス感染症では図3に示す通りサイトメガロウイルス感染症が最も多く報告されていたが、その年次報告数は2000年までに顕著な減少を示していた。単純ヘルペス感染症と進行性多巣性白質脳症については、1997年にはそれぞれ

表 1 日本における HIV 感染血液凝固異常症の総数と内訳（2008年5月31日現在）

		血友病 A	血友病 B	VWD	類縁疾患	小計
2008年5月31日付生存症例数	(男女合計)	602	183	7	4	796
	(男性)	602	183	2	1	788
	(女性)	0	0	5	3	8
生存中のAIDS発症数	(男女合計)	123	41	2	0	166
	(男性)	123	41	0	0	164
	(女性)	0	0	2	0	2
HIV感染死亡数(累積)	(男女合計)	485	142	1	8	636
	(男性)	483	140	1	6	630
	(女性)	2	2	0	2	6
HIV感染総数(生存および累積死亡)(男女合計)	(男女合計)	1087	325	8	12	1432
	(男性)	1085	323	3	7	1418
	(女性)	2	2	5	5	14

表 2 1997年から2008年までの HIV 感染血液凝固異常症における AIDS 指標疾患の報告数

AIDS指標疾患	1997年		1998年		1999年		2000年		2001年		2002年		2003年	
	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例
カンジダ症	20	13	13	3	12	0	9	0	7	1	4	0	6	0
クリプトコッカス症	1	3	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
コクシジオイデス症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒストプラズマ症	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
ニューモシスティス肺炎	10	9	7	2	7	1	6	0	3	1	2	0	4	0
トキソプラズマ脳症	1	2	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0
クリプトスポリジウム症	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
インソボラ症	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
化膿性細菌感染症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
サルモネラ菌血症	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
活動性結核	2	0	2	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
非結核性抗酸菌症	4	4	4	1	1	1	1	2	3	0	2	1	2	0
サイトメガロウイルス感染症	4	13	6	2	3	1	3	0	3	1	1	0	0	0
単純ヘルペスウイルス感染症	1	4	1	0	2	0	1	1	2	0	1	0	1	0
進行性多巣性白質脳症	2	4	2	0	1	0	2	1	0	1	0	0	0	0
カポジ肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
原発性脳リンパ腫	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
非ホジキンリンパ腫	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0	2	1	0
浸潤性子宮頸癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
反復性肺炎	11	3	5	1	4	1	2	0	0	1	0	0	0	0
リンパ性間質性肺炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HIV脳症	1	10	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	1
HIV消耗性症候群	3	14	2	2	2	2	4	1	4	0	2	1	3	0
合計	62	82	43	15	34	9	34	6	28	5	12	4	17	1

AIDS指標疾患	2004年		2005年		2006年		2007年		2008年		合計	
	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例	生存例	死亡例
カンジダ症	4	0	4	0	4	0	5	0	6	0	94	17
クリプトコッカス症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
コクシジオイデス症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ヒストプラズマ症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
ニューモシスティス肺炎	2	1	3	0	3	0	3	0	3	0	53	14
トキソプラズマ脳症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2
クリプトスポリジウム症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
インソボラ症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
化膿性細菌感染症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
サルモネラ菌血症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
活動性結核	0	0	1	0	2	0	1	0	1	0	12	3
非結核性抗酸菌症	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	21	9
サイトメガロウイルス感染症	1	0	0	0	1	0	1	1	2	0	25	18
単純ヘルペスウイルス感染症	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	11	5
進行性多巣性白質脳症	2	0	1	0	1	1	1	2	1	0	13	9
カポジ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
原発性脳リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
非ホジキンリンパ腫	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	9	5
浸潤性子宮頸癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
反復性肺炎	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	22	7
リンパ性間質性肺炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HIV脳症	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	13
HIV消耗性症候群	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	23	22
合計	13	2	10	1	13	4	13	4	18	0	297	133

れ5例（生存例1，死亡例4）および6例（生存例2，死亡例4）の報告があったが，その後は年間3例以下の報告数で推移していた。

悪性腫瘍の報告は，この期間ではいずれも少数例であり，2000年以後も報告があるのは非ホジキンリンパ腫のみであった（図2）。血液凝固異常症全国調査の HIV 感染総数には合計14例の女性（2008年5月31日現在で生存8例，死亡例6）が含まれているが，子宮頸癌はこれまで報告されていない。

その他の指標疾患に関しては，図4に示すように HIV 消耗性症候群と反復性肺炎が減少傾向を示しつつも2004年まで継続して報告されていた。HIV 脳症は1997年に11例（生存例1，死亡例10）の報告があったが，その後は少

数の報告数に止まっていた。

既に述べた通り，図1～4の集計数は疾患ごとに独立して集計した値であり，また，生存例で複数年に亘って該当する疾患が報告された例に関しては，その間については重複して数えた数値となる。表2では，1997年から2008年の期間について，この方法による合計数を生存報告と死亡報告のそれぞれについて集計した。死亡時に報告された疾患として多かったものは，HIV 消耗性症候群22例，サイトメガロウイルス感染症18例，カンジダ症17例，ニューモシスティス肺炎14例，HIV 脳症13例であった。また，集計年時の生存症例中で報告数の多かったものは，カンジダ症94例，ニューモシスティス肺炎53例，サイトメガロウイルス感染症25例，HIV 消耗性症候群23例，反復性肺

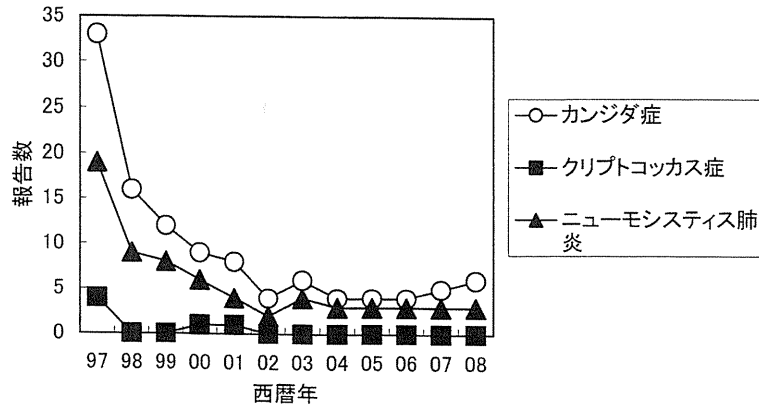


図 1 1997年から2008年までに報告されたAIDS指標疾患中の真菌症（カンジダ症，クリプトコッカス症およびニューモシスティス肺炎）の報告数。調査年時毎に，生存例と死亡例の報告数の合計数を表示した。各年の集計期間は前年6月1日から該当年の5月31日までの1年間。以後図2～図4まで縦軸と横軸の意味は同様。

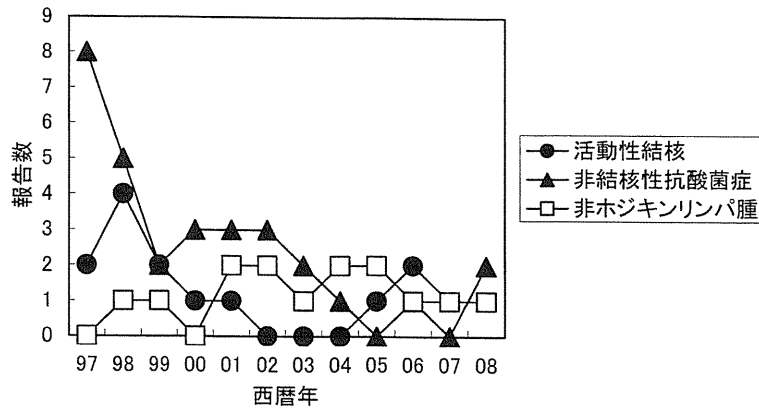


図 2 細菌感染症（非結核性抗酸菌症および活動性結核）と非ホジキンリンパ腫の報告数。

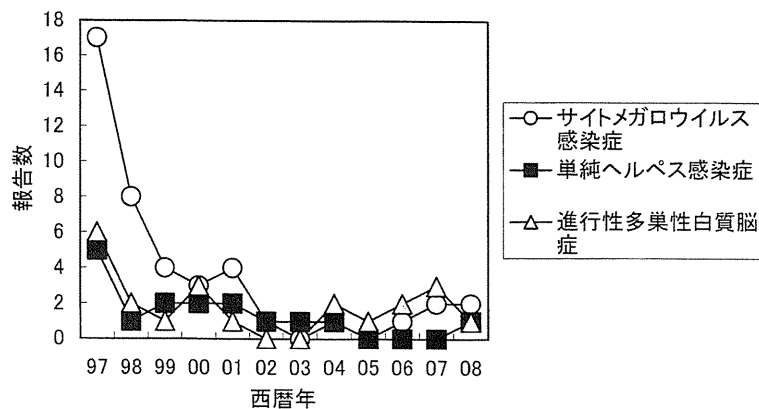


図 3 ウイルス感染症（サイトメガロウイルス感染症，単純ヘルペス感染症および進行性多巣性白質脳症）の報告数。

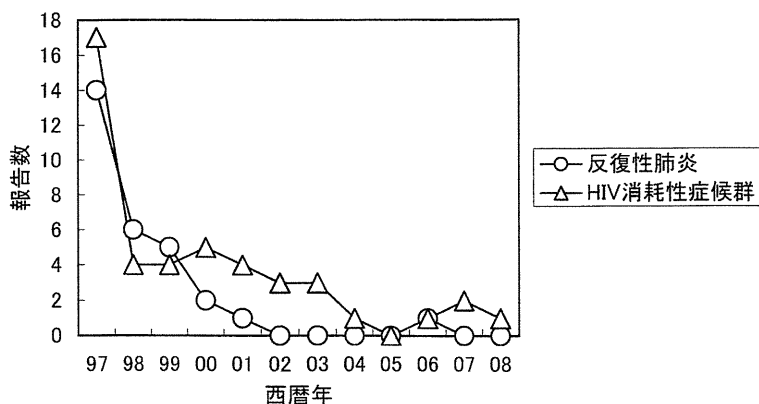


図 4 その他の AIDS 指標疾患（反復性肺炎および HIV 消耗性症候群）の報告数。

炎 22 例，非結核性抗酸菌症 21 例であった。

2003 年以後は，死亡時に報告された AIDS 指標疾患の報告数と，生存例における報告数の合計は，表 2 に示したように各年 20 例未満で推移していた。

(3) 死亡報告について

2008 年 5 月 31 日までの HIV 感染血液凝固異常症における累積死亡報告数 636 例となった。その内訳は，血友病 A 485 例，血友病 B 142 例，von Willebrand 病 1 例，類縁疾患 8 例である（表 1）。

2008 年度の調査期間である 1 年間の死亡報告数は 14 例で，血友病 A が 8 例，血友病 B が 6 例であった。死因として AIDS の指標疾患が含まれていた症例はなかった。

報告された死因は「肝疾患」5 例で，「出血」7 例，「その他」が 2 例であった。死因として「肝疾患」が選択されていた 5 例における肝疾患の内訳は，肝癌/肝不全 1 例，肝硬変/肝不全 2 例，肝硬変 1 例，肝不全 1 例であった。また，死因は「出血」であったが，肝臓の状態が肝不全であったものが 1 例あった。

死亡時に肝硬変，肝癌，肝不全などの重篤な肝疾患の記載があった報告（AIDS 指標疾患あるいは出血との併記報告を含む）は，2008 年度調査による上記の追加によって累積 167 例となった。それらについて，肝疾患の原因が HCV 感染によるものと考えられるものが 140 例（84%），それ以外であるものが 9 例（5%），不明なものが 18 例（11%）であった。

4. 考 察

本邦ではプロテアーゼインヒビターが 1997 年に認可され，これとほぼ同時に HIV に対する強力な抗ウイルス治療である HAART (Highly active antiretroviral therapy) が HIV 感染血液凝固異常症において広く施行されるようになった。実際，1997 年と 1998 年時点の集計では，プロテ

アーゼインヒビター 1 剤と 2 剤の逆転写酵素阻害薬による治療が，それぞれ 38% および 51% の HIV 感染血液凝固異常症において実施されていた⁴⁾。血液凝固異常症と HIV 感染に関する全国的な調査が，現在のような調査方法になったのが 1997 年であるので²⁾，今般の AIDS 指標疾患の集計は，HAART 以後の AIDS 発症を見たものであると言える。

諸外国では，1996 年に始まる HAART の普及の直後より，HIV 感染者における AIDS の発症率が著しく減少したことは種々に報告されているが^{5,6)}，本邦の HIV 感染血液凝固異常症においても，多くの AIDS 指標疾患の報告数は，図 1~4 に示したように経時的な減少を示している。

HAART を開始した後に，最初に観察された日和見疾患を 40 歳未満と 50 歳以上の年齢群で比較した Greenbaum らの集計⁷⁾では，双方の群ともに最も高頻度であった日和見疾患はカンジダ症，ヘルペス脳炎，ニューモシスティス肺炎であったと報告されている。今回集計した AIDS 指標疾患の中で最も報告数が多かったのはカンジダ症で，次いで多いのはニューモシスティス肺炎であるので，これら 2 つの疾患の発症例が多いことは同様であった。単純ヘルペスウイルス感染症については，死亡時の罹患報告が 4 例あった 1997 年以外には報告数が多かった年はなく，また，ヘルペス脳炎の動向については不明である。

図 3 ではサイトメガロウイルス感染症が 2000 年までは比較的高い頻度で報告されていたが，その後は少数にとどまっている。1994 年から 2001 年に欧州の 63 施設を受診した HIV 感染者 8,556 人を対象とした EuroSIDA の報告⁸⁾では，HAART の導入によるサイトメガロウイルス網膜炎および網膜炎以外のサイトメガロウイルス感染症の発症や死亡率の減少が報告されているが，網膜炎以外のサイトメガロウイルス感染症はサイトメガロウイルス網膜炎に比較して診断が困難であり，予後も比較的不良であることが指摘

されている。2008年度の調査においても、生存中の2例についてサイトメガロウイルス感染症の罹患報告があり、今後警戒が必要であろう。

悪性腫瘍の報告数はいずれも少数であるが、その中では非ホジキンリンパ腫の報告が最も多く、また、経時的には一定の傾向がなく散見されている。HAARTの実施によるカポジ肉腫の発生率の顕著な減少は種々に報告されているが^{9,10)}、非ホジキンリンパ腫については、HAART以後に発生率が増加したという報告も見られる^{11,12)}。他の悪性腫瘍については、原発性脳リンパ腫が1997年から2008年までに合計3例が報告されており、これらはすべて死亡時に報告されていたものであった。また、本邦のHIV感染凝固異常症の総数に含まれる女性症例において、子宮頸癌の報告はこれまでにない。

AIDS関連悪性腫瘍は、HAARTによるHIV感染後の長期生存が一般化されたことにより、今後は重要な問題となってくることが懸念されている^{10,13)}。さらに、これらが発症した場合、現在のところ高い完全寛解率は期待できないので^{14,15)}、今後の報告数の動向を注視したい。

以上のように、エイズ指標疾患の罹患については、少数例の報告が継続しており今後も警戒が必要ではあるが、表2に集計されたように2003年以後の報告数はほぼ一定で、HIVに関しては比較的良好な状態が保たれているといえよう。もちろん、今後の新しい治療薬や、治療法の開発により、エイズ指標疾患の発症がなくなっていくことが望ましい。

一方、死亡数に占める肝疾患を死因とする報告の割合は、多くを占めるようになってきている¹⁶⁾。このような傾向は、諸外国のHIV感染血友病¹⁷⁻¹⁹⁾、あるいは血友病以外のHIV感染者においても同様に観察されている^{20,21)}。本邦の血液凝固異常症においては、死亡時に重篤な肝疾患があった例の84%については、肝疾患の原因がHCV感染と考えられ、HCVに対する対策が極めて重要なものとなってきている。

本稿は、第21回日本エイズ学会(2008年11月、大阪市)の「薬害HIV感染」セッションにおいて発表した内容をまとめたものであるが、集計数値は2009年3月に出版された血液凝固異常症全国調査報告書に対応するものに改めた。

謝辞

血液凝固異常症全国調査の調査用紙への御記入と御返送を頂いている全国の皆様に深謝致します。

文 献

- 1) エイズ予防財団：血液凝固異常症全国調査 平成20年度報告書。東京，(財)エイズ予防財団，2008。
- 2) 福武勝幸，上田良弘，立浪忍，味澤篤，岡慎一，高松純樹，瀧正志，白幡聡：血液凝固因子製剤によるヒト免疫不全ウイルス感染者の死亡数の年次推移と死因の解析(1983-1997)一厚生省HIV感染者発症予防・治療に関する研究班調査報告書。臨床血液40：550-555，1999。
- 3) 瀧正志，立浪忍：血液凝固異常症全国調査2000年度報告書。2000年度血液凝固異常症全国調査事務局，2001。
- 4) 福武勝幸，白幡聡，瀧正志：血液凝固異常症全国調査報告書1998(THE CSG COMMUNICATIONS 1998)。厚生労働省HIV感染者発症予防・治療に関する研究班，2000。
- 5) Fleming PL, Ward JW, Karon JM, Hanson DL, De Cock KM : Declines in AIDS incidence and deaths in the USA : a signal change in the epidemic. AIDS 12 (suppl A) : S55-S61, 1998.
- 6) Schneider MF, Gange SJ, Williams CM, Anastos K, Greenblatt RM, Kingsley L, Detels R, Munz A : Patterns of the hazard of death after AIDS through the evolution of antiretroviral therapy : 1984-2004. AIDS 19 : 2009-2018, 2005.
- 7) Greenbaum AH, Wilson LE, Keruly JC, Moore RD, Gebo KA : Effect of age and HAART regimen on clinical response in an urban cohort of HIV-infected individuals. AIDS 22 : 2331-2339, 2008.
- 8) Yust I, Fox Z, Burke M, Johnson A, Turner D, Mocroft A, Katlama C, Ledergerber B, Reiss P, Kirk O, EuroSIDA : Retinal and extraocular cytomegalovirus end-organ disease in HIV-infected patients in Europe : a EuroSIDA study, 1994-2001. Eur J Clin Microbiol infect Dis 23 : 550-559, 2004.
- 9) Stebbing J, Sanitt A, Nelson M, Powles T, Gazzard B, Bower M : A prognostic index for AIDS-associated Kaposi's sarcoma in the era of highly active antiretroviral therapy. Lancet 367 : 1495-1502, 2006.
- 10) Bernstein WB, Little RF, Wilson WH, Yarchoan R : Acquired immunodeficiency syndrome-related malignancies in the era of highly active antiretroviral therapy. Int J Hematol 84 : 3-11, 2006.
- 11) Jacobson LP, Yamashita TE, Detels R, Margolick JB, Chmiel JS, Kingsley LA, Melnick S, Munoz A : Impact of potent antiretroviral therapy on the incidence of Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphomas among HIV-1-infected individuals. Multicenter AIDS Cohort

- Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 21(Suppl 1) : S34-S41, 1999.
- 12) Ives NJ, Gazzard BG, Easterbrook PJ : The changing pattern of AIDS-defining illnesses with the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) in a London clinic. *J Infect* 42 : 134-139, 2001.
- 13) Shiels MS, Cole SR, Wegner S, Armenian H, Chmiel JS, Ganesan A, Marconi VC, Martinez-Maza O, Martinson J, Weintrob A, Jacobson LP, Crum-Cianflone NF : Effect of HAART on incident cancer and noncancer AIDS events among male HIV seroconverters. *J Acquir Immune Defic Syndr* 48 : 485-490, 2008.
- 14) 白阪琢磨 : HIV-1 感染症に伴う日和見悪性腫瘍. *医学のあゆみ* 213 : 877-880, 2005.
- 15) Mounier N, Spina M, Gisselbrecht C : Modern management of non-Hodgkin lymphoma in HIV-infected patients. *British Journal of Haematology* 136 : 685-698, 2006.
- 16) Tatsunami S, Mimaya J, Shirahata A, Zelinka J, Horova I, Hanai J, Nishina Y, Ohira K, Taki M : Current status of Japanese HIV-infected patients with coagulation disorders : coinfection with both HIV and HCV. *Int J Hematol* 88 : 304-310, 2008.
- 17) Wilde JT : HIV and HCV coinfection in haemophilia. *Haemophilia* 10 : 1-8, 2004.
- 18) Sabin CA, Phillips AN, Yee TT, Griffioen A, Lee CA : Twenty five years of HIV infection in haemophilic men in Britain : an observational study. *BMJ* 331 : 997-998, 2005.
- 19) Arnold DM, Julian JA, Walker IR : Mortality rates and causes of death among all HIV-positive individuals with hemophilia in Canada over 21 years of follow-up. *Blood* 108 : 460-464, 2006.
- 20) Kramer JR, Giordano TP, Soucek J, El-Serag HB : Hepatitis C coinfection increases the risk of fulminant hepatic failure in patients with HIV in the HAART era. *J Hepatol* 42 : 309-314, 2005.
- 21) Palella FJ Jr, Baker RK, Moorman AC, Chmiel JS, Wood KC, Brooks JT, Holmberg SD, HIV Outpatient Study Investigators : Mortality in the highly active antiretroviral therapy era changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 43 : 27-34, 2006.

Reported Numbers of AIDS Indicator Diseases among Japanese Coagulation Disorders : Summary from the National Surveillance of Coagulation Disorders

Shinobu TATSUNAMI¹⁾, Junichi MIMAYA²⁾, Akira SHIRAHATA³⁾, Yutaka NISHINA⁴⁾, Jugo HANAI⁵⁾,
Katsumi OHIRA⁶⁾, Rie KUWABARA⁷⁾, Mieko ASAHARA⁸⁾ and Masashi TAKI⁹⁾

¹⁾ Unit of Medical Statistics, Faculty of Medical Education and Culture,
St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki, Japan 216-8511

²⁾ Atami Public Health and Welfare Center, Atami, Japan 413-0016

³⁾ Kitakyushu General Hospital, Kitakyushu, Japan 800-0295

⁴⁾ Nishina and Fukado Law Office, Tokyo, Japan 102-0094

⁵⁾ Medical Care and Human Rights Network, Osaka, Japan 530-0047

⁶⁾ Social Welfare Corporation HABATAKI Welfare Project, Tokyo, Japan 162-0814

⁷⁾ Institute of Radioisotope Research, St. Marianna University Graduate School of
Medicine, Kawasaki, Japan 216-8511

⁸⁾ Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine,
Kawasaki, Japan 216-8511

⁹⁾ Department of Pediatrics, St. Marianna University School of Medicine
Yokohama City Seibu Hospital, Yokohama, Japan 241-0811

Objective : We examined the time-series changes in the reported number of AIDS indicator diseases among cases of Japanese coagulation disorders infected with HIV.

Subjects and Methods : We summarized annual reports from the national surveillance of coagulation disorders. The annual reported numbers were tabulated regarding each disease including cases where multiple diseases were observed in a single patient.

Results : The most frequent disease was *Candidiasis*, of which 17 cases of death were reported and 94 cases from living patients were cumulated. The second and third were *Pneumocystis jiroveci* pneumonia (14 deaths and 53 living-cases) and HIV-associated wasting syndrome (22 deaths and 23 living-cases), respectively. Other eminent diseases were cytomegalovirus infection, recurrent pneumonia, non-tuberculous *Mycobacterial* infection, and progressive multifocal leucoencephalopathy. Reports of AIDS indicator diseases declined from 1997 to 2002, and the annual total numbers remained less than 20 after 2003. On the other hand, the cumulative number of deaths with critical liver disease reached 167 at the end of May 2008. Coinfection with HCV was suspected as the origin of the liver disease in 140 (84%) patients among the 167 deaths.

Conclusion : The onset of AIDS indicator diseases showed a decline after 1997 among Japanese coagulation disorders. On the other hand, the number of cases of death with liver disease has not decreased. These results suggest that therapy for HCV should continue to be promoted.

Key words : AIDS indicator disease, coagulation disorders, hemophilia, national surveillance, HCV

り、学校生活に支障を来していることが推察された。このように現時点においても、インヒビター保有先天性血友病患者のQOLは依然として低いことが明らかとなった⁴⁾。

今後、インヒビター保有患者のQOLを改善するためには、①出血時の早期輸注の徹底とそれを実現するための教育と環境の整備、②適切なITIプロトコルの確立、さらに確実なインヒビター駆逐法の開発、③出血抑制を図る治療法の確立、④インヒビターの発生を低減させる治療法の工夫などが必要であると考えられる。

このように、血友病のインヒビターは、極めて重要な解決すべき課題である。そこで、インヒビターに関する諸問題を「血友病のインヒビターを考察する」と題したこの特集で取り上げた。インヒビターに関するupdateな特集として診療、研究の参考となれば幸いである。

文 献

- 1) Nilsson IM, Berntorp E, Löfqvist T, Pettersson H : Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J Int Med* **232** : 25-32, 1992.
- 2) Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, Ingram JD, Manco-Johnson ML, Funk S, Jacobson L, Valentino LA, Hoots WK, Buchanan GR, DiMichele D, Recht M, Brown D, Leissing C, Bleak S, Cohen A, Mathew P, Matsunaga A, Medeiros D, Nugent D, Thomas GA, Thompson AA, McRedmond K, Soucie JM, Austin H, Evatt BL : Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med* **357** (6) : 535-544, 2007.
- 3) 本多康次郎, 長尾大, 神谷忠, 吉岡章, 宮崎保, 武田武夫, 森和夫, 福武勝幸, 花房秀次, 瀧正志, 毛利博, 三間屋純一, 高松純樹, 木下清二, 白幡聡 : 血友病インヒビター発症例における止血療法およびQOLに関するプロスペクティブ研究. *臨床血液* **39** : 416-421, 1998.
- 4) Taki M, Tatsunami S, Shirahata A, Mimaya J, Takedani H, Makino K, Ohira K, Kojima K, Wada I, Yoshikawa K : Quality of life in patients with congenital hemophilia and inhibitors in Japan. *Haemophilia* **16** (supple 4) : 138, 2010.

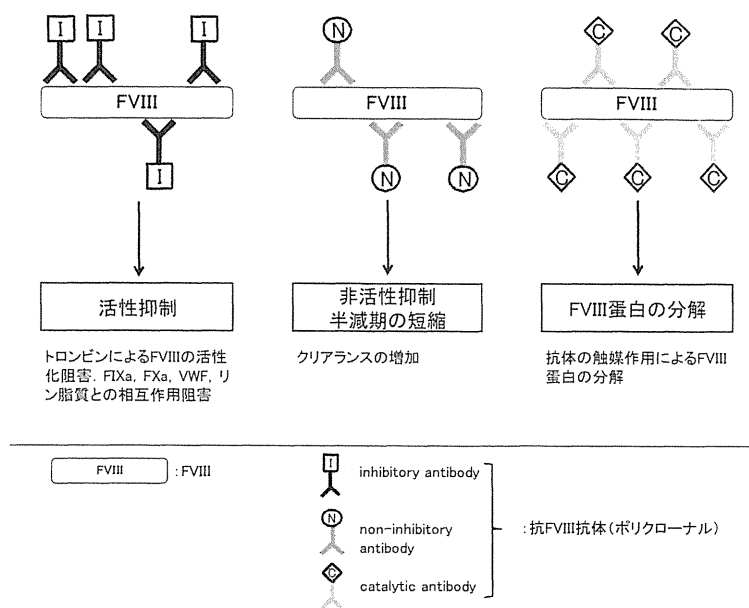


図1 抗FVIII抗体の想定される作用機序

2. インヒビター測定法

インヒビター測定法は, Bethesda法⁴⁾が最も一般的に行われているが, 低力価領域における精度を問題とした報告がなされ, 今日, 国際血栓止血学会/学術標準化委員会 (ISTH/SSC) では Bethesda法の変法である Nijmegen法 (Nijmegen modification assay)⁵⁾を推奨している⁶⁾. しかしながら, 2006年の ISTH/SSCにおける報告⁷⁾では, 依然施設間差が存在することが示されており, その変動要因として反応液の pH 安定性, コントロール検体や欠乏血漿の種類, 測定手技, 加温反応時間, 使用する正常血漿のFVIII活性, およびFVIII活性測定法や試薬の種類など数多くの問題点が指摘されている. 特に, 基盤的測定法となる活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 測定に用いる APTT 試薬は, その組成 (リン脂質, 活性化剤) によりFVIIIやインヒビターに対する反応性が異なる⁸⁾など, 標準化が難しい状況⁹⁾¹⁰⁾にあり, インヒビター測定法は未だ多くの問題を抱えている. その他, Oxford法¹¹⁾や, その改良法である New Oxford法¹²⁾も古くから存在するが一般的ではない.

3. インヒビター測定の実状

国内では, 委託検査によってインヒビター測定を行っている施設も少なくないと推察される. 大手検査企業3社の検査案内では, 何れも測定方法は Bethesda法と記載されており, BU/mlでの報告となっている. 自施設で実施している場合でも Bethesda法が多く使用されていると思われるが, 緩衝液の種類や検体処理方法など必ずしもオリジナルの Bethesda法ではなく, 何らかの改変を伴った方法が混在していると推測される. さらに, APTT 試薬, 正常血漿, 欠乏血漿, 分析装置など測定条件も多様であると考えられるが, 全国的に調査した報告などは見あたらない. 一方, 海外においては幾つかのサーベイの調査結果が報告されている^{13)・15)}(表1). 実施年によって異なるものの, Nijmegen法を使用している施設は20~30%程度にとどまっており, 未だ Bethesda法が多くを占める状況となっている. このうち, NASCOLA (The North American Specialized Coagulation Laboratory Association) による調査結果¹³⁾では, 使用している正常血漿や緩衝液の種類についても記載されているが, その内容から必ずしもオリジナルの方法ではない何らかの変法

表1 インヒビター測定法の使用率
(北米, 欧州, 豪州を中心としたサーベイ結果より)

	Assay type		
	Bethesda	Nijmegen	Other
NASCOLA			
2006-2	36 (90%)	3 (7.5%)	1 (2.5%)
2006-4	32 (84%)	5 (13%)	1 (3%)
2007-2	31 (78%)	8 (20%)	1 (2%)
2007-4	32 (76%)	8 (19%)	2 (5%)
ECAT			
2006-2008 (6 Surveys)	65%	25-30%	5-10%
RCPA			
2007	24 (65%)	13 (35%)	
2009	37 (71%)	13 (25%)	2 (4%)

NASCOLA : North American Specialized Laboratory Association

ECAT : The European Concerted Action on Thrombosis

RCPA : Royal College of Pathologists of Australasia

文献 13)-15) より抜粋

表2 インヒビター測定法, 4法の反応液成分の比較

	測定反応液		対照反応液
	患者検体	正常血漿	対照
Nijmegen 法	血漿	緩衝化 正常血漿 (pH7.4)	FVIII 欠乏血漿 (免疫吸着)
Bethesda 法	血漿	正常血漿	イミダゾール 緩衝液 (pH7.4)
S 法	56°C 処理 血漿	正常血漿	56°C 処理 FVIII 欠乏血漿
M 法	56°C 処理 血漿	正常血漿	56°C 処理 正常血漿

が混在していることがうかがえる。また, ECAT (The European Concerted Action on Thrombosis) の複数のサーベイに基づく報告¹⁴⁾では, 施設間変動係数は Nijmegen 法が最も低かったものの方法間に有意な差はなく, 感度, 特異性についても Nijmegen 法がわずかに優位な結果を示したにすぎず, さらなる改良を必要としている。

4. インヒビター測定法の比較

われわれは, 測定法以外の変動要因を除外し, インヒビター測定法の比較を行った^{16) 17)}。インヒビター測定法は, Bethesda 法, Nijmegen 法に加え, Bethesda 法の変法である S 法, M 法の4種の測定法を用いた。S 法, M 法は患者血漿を 56°C で不活化処理して用いる方法で, 対照として前者では 56°C 処理した FVIII 欠乏血漿を, 後者では 56°C 処理した正常血漿を使用する。各法は, 測定操作やインヒビター力価の求め方はオリジナルの Bethesda 法と同様であるが, 患者検体の前処理法 (56°C 不活化処理), 正常血漿 (緩衝化) および測定対照 (緩衝液, FVIII 欠乏血漿) が異なっており (表 2), さらに, 高力価検体測定時の希釈方法も異なる (表 3)。

はじめに, 継続してインヒビターが陰性で臨床的にもインヒビター陰性と考えられる症例を対象に各法測定結果を比較したところ (表 4), 0.6BU/ml 以上を陽性とした場合, Nijmegen 法, S 法および M 法の3法では何れも陰性となり一致したが, Bethesda 法では 13 例中 8 例 (61.5%) が判

表3 インヒビター測定法, 4法の検体希釈方法の比較

	測定反応液			対照反応液		両反応液の 血漿比率
	希釈液	検体	血漿比率	対照	血漿比率	
Nijmegen 法	FVIII 欠乏血漿	血漿	100%	FVIII 欠乏血漿	100%	同一条件
Bethesda 法	イミダゾール 緩衝液	血漿	100% ~ 50%	イミダゾール 緩衝液	50%	希釈率により 異なる
S 法	生理食塩水	56°C 処理 血漿	100% ~ 50%	56°C 処理 FVIII 欠乏血漿	100%	
M 法 [※]	オーレン 緩衝液	56°C 処理 血漿	100% ~ 50%	56°C 処理 正常血漿の希釈系列	100% ~ 50%	同一条件

※ M 法では検体の希釈率にあわせて対照の正常血漿も希釈して用いる。

表4 インヒビター陰性検体での4法測定結果の比較

Case	FVIII:C (%)	Nijmegen 法	Bethesda 法	S 法	M 法	CV%
1	1.3	0.43 (74.1)	0.94 (52.0)	0.42 (74.8)	0.56 (68.0)	41.4
2	1.5	0.19 (87.8)	0.55 (68.4)	0.11 (92.2)	0.54 (69.0)	66.3
3	56.7	0.00 (136.9)	0.00 (117.0)	0.58 (66.8)	0.45 (73.0)	117.3
4	25.4	0.00 (105.4)	0.38 (77.0)	0.49 (71.3)	0.31 (80.5)	71.2
5	9.0	0.15 (90.1)	0.62 (65.0)	0.15 (90.1)	0.30 (81.1)	72.7
6	0.8	0.09 (93.7)	0.62 (65.0)	0.11 (92.2)	0.29 (81.6)	88.4
7	19.3	0.15 (90.1)	0.57 (67.6)	0.56 (67.5)	0.23 (85.4)	58.0
8	5.1	0.17 (89.0)	0.68 (62.5)	0.10 (93.6)	0.22 (85.9)	89.9
9	12.2	0.00 (102.7)	0.42 (75.0)	0.49 (71.3)	0.17 (89.2)	83.9
10	0.4	0.21 (86.7)	0.83 (56.3)	0.34 (79.1)	0.15 (90.3)	80.7
11	0.4	0.32 (80.1)	0.64 (64.1)	0.10 (93.6)	0.06 (95.7)	94.9
12	0.9	0.39 (76.1)	0.83 (56.3)	0.17 (88.7)	0.04 (97.1)	96.9
13	2.9	0.32 (80.1)	0.75 (56.3)	0.11 (92.2)	0.00 (106.8)	112.2

0.6BU/ml ≦陽性 (太字斜体)

単位: BU/ml, 括弧内は FVIII 残存活性%

表5 インヒビター陽性検体での4法測定結果の比較

Case	Nijmegen 法	Bethesda 法	S 法	M 法	CV%
1	6.50	10.35	11.84	11.61	24.5
2	6.02	9.45	8.92	10.59	22.2
3	5.61	10.70	12.93	12.08	31.7
4	3.54	11.32	12.31	10.47	42.3
5	3.38	7.89	9.97	7.59	38.3
6	3.32	7.56	6.98	5.59	32.2
7	2.07	4.47	5.38	4.07	34.9
8	1.85	3.89	6.80	2.97	54.7
9	1.47	3.32	4.15	2.39	40.9

太字斜体: 5BU/ml ≦

単位: BU/ml

な検体前処理法である可能性が示唆された。この様な熱処理は、わが国以外にも行われ、RCPA (Royal College of Pathologists of Australasia) の調査では約 32.7% の施設で実施されており、また、検体中の FVIII 活性値を計算上考慮した方法なども行われている¹⁵⁾。

つぎに、インヒビター陽性症例 (表5) において、製剤選択の指標となる 5BU/ml に注目すると、方法間で 5BU/ml 以上 (太字斜体) を示す症例に相違が生じており、治療製剤選択に大きな影響を与えることが示唆された。

5. 今後の課題

インヒビター測定には、インヒビターの発生を的確に検出する低力価インヒビターに対する精度と、治療製剤選択における 5BU/ml を境界とする中～高力価インヒビターに対する精度の2つの側面が臨床的に要求される。前述したように、インヒビター測定は未だ多くの問題を抱えた測定法となっており、使用する APTT 試薬や欠乏血漿の種類などが更なる変動要因となる。ISTH/SSC で推奨している Nijmegen 法を用いても、試薬、機器など測定条件が異なることが未だ施設間差を是正できない要因であると考えられる。また、

定上陽性となった。これは、反応液の pH 条件に起因する“偽陽性”と考えられる。また近年、定期補充療法などで外来受診の採血時に FVIII が残存する検体がしばしば存在する。FVIII が 10% 以上の症例 (Case3, 4, 7, 9) に注目すると、特に Nijmegen 法で FVIII 残存活性が高く、インヒビター力価が低く測定される傾向が認められた。インヒビター測定は、凝固因子補充後には一定のウォッシュアウト期間後に測定することが望ましいが、臨床現場では必ずしもこの様な検体だけではない。ウォッシュアウトが行われていない検体では S 法, M 法での患者血漿の凝固因子活性不活化処理が残存する FVIII 活性を除外する有効

国際的なサーベイ結果からも、様々な改変が施された方法が多く混在していることも明らかとなっている。したがって、これら全ての問題を網羅した測定法の標準化は現実的には困難であると考えられる。しかしながら、臨床的に許容される範囲内での精度を有する測定方法や試薬条件の設定など、さらに検討を進め標準法を模索する必要がある。また、治療製剤選択の指標として5BU/mlという数値が示されていることから、インヒビター標準品等により、少なくとも治療指針に大きく関わるインヒビター値の標準化についても更なる検討が期待される。また、ELISA法による抗体測定など非中和抗体を含めた評価、検討も必要であると考えられる。

6. おわりに

インヒビター測定について、測定方法の種類、使用頻度および比較検討の成績から現状の問題点を提示した。複数の測定法や何らかの変法が多く混在する現状においては、少なくとも自施設で使用する測定方法を十分に理解した上で結果を解釈する必要がある。

Disclosure of Conflict of Interests

The authors indicated no potential conflict of interest.

文 献

- 瀧 正志：血友病患者インヒビターの産生と制御。臨床検査 **52**：1593-1597, 2008.
- 血液凝固異常症全国調査平成17年度報告書。東京、財団法人エイズ予防財団, 9-10, 2006.
- 田中一郎, 天野彰裕, 瀧 正志, 岡 敏明, 酒井道生, 白幡 聡, 高田 昇, 高松純樹, 竹谷英之, 花房秀次, 日垣 聡, 福武勝幸, 藤井輝久, 松下 正, 三間屋純一, 吉岡 章, 嶋 緑倫：インヒビター保有先天性血友病患者に対する止血治療ガイドライン。日本血栓止血学会誌 **19**：520-539, 2008.
- Kasper CK, Aledort L, Aronson D, Counts R, Edson JR, van Eys J, Fratantoni J, Green D, Hampton J, Hilgartner M, Levine P, Lazerson J, McMillan C, Penner J, Shapiro S, Shulman NR：A more uniform measurement of factor VIII inhibitor. *Thromb Diathes Haemorrh* **34**：869-972, 1975.
- Verbruggen B, Novakova I, Wessels H, Boezeman J, van den Berg M, Mauser-Bunschoten E：The Nijmegen modification of the Bethesda assay for factor VIII：C inhibitors：improved specificity and reliability. *Thromb and Haemost* **73**：247-251, 1995.
- Giles AR, Verbruggen B, Rivard GE, Teitel J, Walker I：A detailed comparison of the performance of the standard versus the Nijmegen modification of the Bethesda assay in detecting factor VIII：C inhibitors in the haemophilia A population of Canada. Association of Hemophilia Centre Directors of Canada. Factor VIII/IX Subcommittee of Scientific and Standardization Committee of International Society on Thrombosis and Haemostasis, *Thromb Haemost* **79**：872-875, 1998.
- 2006 Minutes and Annual Reports; ISTH/SSC, Factor VIII inhibitor assays (<http://www.med.inc.edu/isth/ssc/06sscminutes/06factorviiiinhibitorix.html>)
- 山崎 哲, 細屋由紀子, 鈴木典子, 山崎法子, 安室洋子, 高山成伸, 大井千愛, 瀧 正志：循環抗凝血素を有する症例における凝固因子活性測定。日本検査血液学会雑誌 **7**：270-277, 2006.
- 山崎 哲, 鈴木典子, 後藤宏実, 高山成伸：APTTの現状と標準化に向けた課題。生物試料分析 **32**：365-370, 2009.
- 山崎 哲, 鈴木典子, 後藤宏実, 高山成伸, 信岡祐彦：APTTの標準化～凝固因子欠乏と抗リン脂質抗体の評価；現状の整理～。日本臨床検査自動化学会誌 **35**：197-200, 2010.
- Biggs R, Bidwell E：A method for the study of antihemophilic globulin inhibitors with reference to six cases. *Br J Haematol* **5**：379-395, 1959.
- Rizza CR, Biggs R：The treatment of patients who have factor-VIII antibodies. *Br J Haematol* **24**：65-82, 1973.
- Peersckhe EI, Castellone DD, Ledford-Kraemer M, Van Cott EM, Meijer P; NASCOLA Proficiency Testing Committee：Laboratory assessment of factor VIII inhibitor titer; the North American Specialized Coagulation Laboratory Association experience. *Am J Clin Pathol* **131**：552-558, 2009.
- Meijer P, Verbruggen B：The between-laboratory variation of factor VIII inhibitor testing：the experience of the external quality assessment program of the ECAT foundation. *Semin Thromb Hemost* **35**：786-793, 2009.
- Favaloro EJ, Bonar R, Kershaw G, Mohammed S, Duncan E, Marsden K; ON BEHALF OF RCPA HAEMATOLOGY QAP HAEMOSTASIS COMMITTEE：Laboratory identification of factor VIII inhibitors in the real world：the experience from Australasia. *Haemophilia* published online：12 Jan 2010.
- 山崎 哲, 鈴木典子, 山崎法子, 高山成伸, 山下敦己, 武藤真二, 長江千愛, 瀧 正志：第VIII因子インヒビター測定の特長および不活化処理の有用性。日本血栓止血学会誌 **19**：235-243, 2008.
- 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法の特長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**：167-174, 2009.

Functional life-long maintenance of engineered liver tissue in mice following transplantation under the kidney capsule

Kazuo Ohashi^{1*}, Fumikazu Koyama², Kohei Tatsumi^{1,3}, Midori Shima³, Frank Park⁴, Yoshiyuki Nakajima² and Teruo Okano¹

¹Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan

²Department of Surgery, Nara Medical University, 840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8522, Japan

³Department of Pediatrics, Nara Medical University, 840 Shijo-cho, Kashihara, Nara 634-8522, Japan

⁴Department of Medicine, Kidney Disease Center, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, HRC 4100, Milwaukee, WI 53226, USA

Abstract

The ability to engineer biologically active cells and tissue matrices with long-term functional maintenance has been a principal focus for investigators in the field of hepatocyte transplantation and liver tissue engineering. The present study was designed to determine the efficacy and temporal persistence of functional engineered liver tissue following transplantation under the kidney capsule of a normal mouse. Hepatocytes were isolated from human α -1 antitrypsin (hA1AT) transgenic mouse livers. Hepatocytes were subsequently transplanted under the kidney capsule space in combination with extracellular matrix components (Matrigel) for engineering liver tissues. The primary outcome of interest was to assess the level of engineering liver tissue function over the experimental period, which was 450 days. Long-term survival by the engineered liver tissue was confirmed by measuring the serum level of hA1AT in the recipient mice throughout the experimental period. In addition, administration of chemical compounds at day 450 resulted in the ability of the engineered liver tissue to metabolize exogenously circulating compounds and induce drug-metabolizing enzyme production. Moreover, we were able to document that the engineered tissues could retain their native regenerative potential similar to that of naïve livers. Overall, these results demonstrated that liver tissues could be engineered at a heterologous site while stably maintaining its functionality for nearly the life span of a normal mouse. Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

Received 8 May 2009; Revised 26 August 2009; Accepted 11 September 2009

Keywords liver tissue engineering; hepatocyte transplantation; liver regeneration; regenerative medicine; drug metabolism; liver function

1. Introduction

Cell-based therapies based on hepatocyte transplantation or tissue engineering has been a recent area of intense investigation, due to its potential as a new therapeutic

modality to treat liver diseases (Fisher and Strom, 2006; Ofosu, 2008; Ohashi *et al.*, 2001, 2008; Stephenne *et al.*, 2006; Tatsumi *et al.*, 2008a, 2008b). Because of its integrated and complex functionality, the hepatocyte has been pivotal in the development of cell-based therapies toward liver diseases. The important therapeutic role of the hepatocyte has been highlighted by the recent successes observed in several types of liver disease using hepatocyte transplantation (Fisher and Strom, 2006; Fox *et al.*, 1998; Ohashi *et al.*, 2001; Stephenne *et al.*,

*Correspondence to: Kazuo Ohashi, Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan. E-mail: ohashi@abmes.twmu.ac.jp