

201128035B

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

後天性血友病 XIII(13)の実態調査、
発症機序の解明と治療方法の開発
に関する研究

平成22～23年度 総合研究報告書

研究代表者 一 瀬 白 帝

平成24(2012)年 3月

目 次

I. 研究班 班員名簿	1
平成22年度 班員名簿	
平成23年度 班員名簿	
II. 総括研究報告	3
研究代表者 一瀬 白帝	
III. 分担研究報告	15
惣宇利正善 山形大学医学部 分子病態学 講師	
山本 正雅 奥羽大学薬学部 生化学 准教授	
坂田 洋一 自治医科大学医学部 分子病態研究部 教授	
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	
丸山 征郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 特任教授	
小林 隆夫 浜松医療センター 院長	
村田 幸平 吹田市民病院外科 主任部長	
家子 正裕 北海道医療大学歯学部 内科学分野 教授	
川杉 和夫 帝京大学医学部 内科学講座 准教授	
前田 美穂 日本医科大学 小児科 教授	
花房 規男 東京大学 血液浄化療法部 講師	
石田 文宏 信州大学医学部 内科学 准教授	
和田 英夫 三重大学 検査医学 准教授	
嶋 緑倫 奈良県立医科大学 小児科学 教授	
川前 金幸 山形大学医学部麻酔科学講座 教授	
重松 宏 東京医科大学血管外科 主任教授	
池田 正孝 大阪大学大学院外科学講座消化器外科学 助教	
湯川 真生 近畿大学医学部奈良病院外科 准教授	
杉田 憲一 獨協医科大学小児科学 教授	
松下 正 名古屋大学医学部附属病院輸血部 教授	
白幡 聡 産業医科大学小児科 名誉教授	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	71
平成22年度	
平成23年度	
V. 参考資料	81
平成22年度	
平成23年度	

I. 研究班 班員名簿

平成22年度 後天性血友病XIII(13)の実態調査、発症機序の解明と治療方法の開発研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研 究 代 表 者	一瀬 白帝	山形大学医学部 分子病態学	教 授
研 究 分 担 者	惣宇利正善	山形大学医学部 分子病態学	講 師
	岩田 宏紀	山形大学医学部 分子病態学	助 教
	坂田 洋一	自治医科大学 分子病態治療研究センター 分子病態研究部	教 授
	丸山 征郎	鹿児島大学医学部 システム血栓制御学	特任教授
	矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	教 授
	池田 正孝	大阪大学大学院 医学系研究科 消化器外科	助 教
	川前 金幸	山形大学医学部 麻酔科学	主任教授
	小林 隆夫	県西部浜松医療センター (産婦人科)	院 長
	重松 宏	東京医科大学 血管外科	主任教授
	村田 幸平	市立吹田市民病院 外科	主任部長
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 乳腺外科・消化器外科	准教授
	石田 文宏	信州大学医学部 内科 (2)	准教授
	川杉 和夫	帝京大学医学部 血液学	准教授
	嶋 緑倫	奈良県立医科大学 小児科 血液凝固学	教 授
	白幡 聡	産業医科大学 小児科学	名誉教授
	杉田 憲一	獨協医科大学 小児科学	教 授
前田 美穂	日本医科大学 小児科	教 授	
松下 正	名古屋大学医学部附属病院 血栓止血学・輸血学	教 授	
研 究 協 力 者	北島 勲	富山大学大学院医学薬学研究部 臨床分子病態検査学	教 授
	高松 純樹	愛知県赤十字血液センター	所 長
	福武 勝幸	東京医科大学 臨床検査医学	主任教授
	藤井 輝久	広島大学病院 輸血部	部長・准教授
	窓岩 清治	自治医科大学医学部 分子病態研究部	講 師
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 臨床検査科	医 長
	江口 豊	滋賀医科大学附属病院 救急・集中治療部	教 授
	小代 正隆	鹿児島県立大島病院 (血液・血管外科)	院 長
	左近 賢人	西宮市立中央病院 (外科)	院 長
	高野 邦夫	山梨大学医学部附属病院 第二外科(小児外科)	講 師
	中野 昭公	名古屋大学医学部附属病院 消化器外科二	教 授
	家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	教 授
	瀧 正志	聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院 小児科	教 授
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講 師
	西川 拓朗	鹿児島大学医学部 小児科学	医 員
	日笠 聡	兵庫医科大学 内科学講座 血液内科	講 師
	松浦 康弘	成田赤十字病院 内科	副部長
	和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 臨床検査医学	准教授

平成23年度 後天性血友病XIII(13)の実態調査、発症機序の解明と治療方法の開発 研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研 究 代 表 者	一瀬 白帝	山形大学医学部 分子病態学	教 授
研 究 分 担 者	惣宇利 正善	山形大学医学部 分子病態学	講 師
	山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学	准 教 授
	坂田 洋一	自治医科大学 分子病態治療研究センター 分子病態研究部	教 授
	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
	丸山 征郎	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 システム血栓制御学	特 任 教 授
	小林 隆夫	浜松医療センター	院 長
	村田 幸平	市立吹田市民病院 外科	主 任 部 長
	家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	教 授
	川杉 和夫	帝京大学医学部 内科学	准 教 授
	前田 美穂	日本医科大学 小児科	教 授
	花房 規男	東京大学医学部附属病院 血液浄化療法部	講 師
	石田 文宏	信州大学医学部 内科学第二	准 教 授
	和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 臨床医学検査	准 教 授
	嶋 緑倫	奈良県立医科大学 小児科	教 授
研 究 協 力 者	窓岩 清治	自治医科大学 分子病態治療研究センター 分子病態研究部	講 師
	北島 勲	富山大学大学院医学薬学研究部 臨床分子病態検査学	教 授
	高松 純樹	愛知県赤十字血液センター	所 長
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 臨床検査部（臨床検査科輸血管理室）	医 長
	橋口 照人	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 血管代謝病態解析学	教 授
	川前 金幸	山形大学医学部 麻酔科学	主 任 教 授
	小櫃 由樹生	国際医療福祉大学三田病院 血管外科	教 授
	高野 邦夫	山梨大学医学部附属病院 第二外科(小児外科)	講 師
	江口 豊	滋賀医科大学附属病院 救急・集中治療部	教 授
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 乳腺外科・消化器外科	准 教 授
	池田 正孝	大阪大学大学院 医学系研究科 消化器外科	助 教
	左近 賢人	西宮市立中央病院	院 長
	小代 正隆	鹿児島県立大島病院	院 長
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講 師
	伊藤 俊広	仙台医療センター 血液内科	医 長
	杉田 憲一	獨協医科大学 小児科学	教 授
	内海 英貴	群馬大学医学部 生体統御内科	助 教
	瀧 正志	聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院 小児科	教 授
	朝倉 英策	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部	准 教 授
	松下 正	名古屋大学医学部附属病院 輸血部	教 授
	柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	助 教
	日笠 聡	兵庫医科大学 内科学講座 血液内科	講 師
	羽藤 高明	愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	病 院 教 授
	西川 拓朗	九州がんセンター 小児科	

Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

後天性血友病 XIII(13)の実態調査、発症機序の解明と治療方法の開発

研究代表者 一瀬 白帝 山形大学医学部 教授

研究要旨

研究の目的は、原因不明の出血性後天性凝固第 XIII (13)因子[FXIII(13)]欠乏症と抗 FXIII(13)抗体による自己免疫性の後天性血友病(後天性血友病 13 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であり、2年間にわたり、広報・調査活動、止血血栓学的臨床研究、病態の解析と診断に関する実験研究を実施した。

広報・調査活動は、疾患の概要を記載した資料の配布、全国アンケート調査、国内外での学会／研究会における研究報告、原著論文、総説の発表、医学新聞への掲載など当初に計画した事項を完全に達成した。

また、全国からの紹介症例についての臨床研究では通算 48 症例と少数ではあるが良好な止血管理を実現している(平成 24 年 2 月現在)。ただし、紹介のあった時点で既に死亡していた症例、直後に死亡した例も複数あるので、本疾患に関する総合的な医療レベルが高いとはまだ言い難い。22, 23 年度の 2 年間で計 412 例 以上の各種疾患の症例が個々の研究分担者に登録され、FXIII(13)の解析がなされた。

病態の解析と診断に関する研究では、FXIII(13)による架橋 α_2 -Plasmin Inhibitor (α_2 -PI)の低下に基づく抗線溶能低下が出血のメカニズムの一部であることを明らかにした。また、FXIII(13)低下に基づく血餅退縮能の減弱も出血を促している可能性がある。症例における FXIII(13)低下の原因の解析を進め、精査した 48 症例中 7 例がインヒビターによる後天性血友病 13 であり、これらの 5 例は FXIII(13)の A サブユニット[FXIII(13)-A]に対する抗体、2 例は B サブユニット[FXIII(13)-B]に対する抗体が原因であることを確認し、それぞれの FXIII(13)活性抑制のメカニズムを明らかにした。特に、FXIII(13)-A 2 量体と FXIII(13)-B 2 量体の結合による異種 4 量体形成を阻害するものが多く、これらは FXIII(13)の活性化も阻害した。抗 FXIII(13)抗体の検出を迅速かつ簡便化して臨床現場でも実施可能にするため、イムノクロマト法の開発に着手し、鋭敏且つ正確に抗体の有無が判定できるようになった。

その他、多くの班員が臨床研究を行ない、その成果を各種の学会、研究会で発表している。(C.研究結果にその一部を簡単に記載する。)

以上、本班研究は順調に進行し、本疾患の実態、原因とメカニズムの解明や検査、診断、治療の改善に貢献した。特に、FXIII(13)濃縮剤の適応外薬要望書を提出したこと、抗体の検出方法を開発したこと、検査のアルゴリズムを作成したこと、診断と治療の指針案を提唱したことは大きな成果であり、今後世界に向けて発信する予定である。

研究分担者

惣宇利 正善
山形大学医学部 講師
山本 正雅
奥羽大学薬学部 准教授
坂田 洋一
自治医科大学 分子病態治療研究
センター 教授
矢富 裕
東京大学医学部附属病院 教授
丸山 征郎
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
特任教授
小林 隆夫
浜松医療センター 院長
村田 幸平
市立吹田市民病院 外科主任部長
家子 正裕
北海道医療大学歯学部 教授
川杉 和夫
帝京大学医学部 准教授
前田 美穂
日本医科大学 教授
花房 則男
東京大学医学部附属病院 講師
石田 文宏
信州大学医学部 准教授
和田 英夫
三重大学大学院 准教授
嶋 緑倫
奈良県立医科大学 教授
川前 金幸 (22年度のみ)
山形大学医学部 教授
岩田 宏紀 (22年度のみ)
山形大学医学部 助教
重松 宏 (22年度のみ)
東京医科大学 教授
池田 正孝 (22年度のみ)
大阪大学大学院 医学系研究科 助教
湯川 真生 (22年度のみ)
近畿大学医学部奈良病院 准教授
杉田 憲一 (22年度のみ)
獨協医科大学 教授
松下 正 (22年度のみ)
名古屋大学医学部附属病院 教授
白幡 聡 (22年度のみ)
産業医科大学 名誉教授

A. 研究目的

原因不明の後天性凝固第 XIII(13)因子 [FXIII(13)]欠乏症(後天性血友病 13 を含む)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

研究体制：22年度は、研究代表者1名、研究分担者18名、研究協力者18名の計37名、23年度は、研究代表者1名、研究分担者14名、研究協力者24名の計39名から成る。

体制強化のため、22年度に3つのサブグループを設置し、23年度にはその組織改編を行った。

研究代表者は、研究分担者と協同して本疾患の実態調査と広報活動を継続し、2年間で開発した生体内での FXIII(13)低下を反映する分子マーカー [架橋 α_2 -Plasmin Inhibitor (α_2 -PI)]、FXIII(13)低下のスクリーニング法 (血餅退縮能)、新しいインヒビター検出法の確立、インヒビターの作用メカニズムの解明、診断と治療のプロトコール作成等を試みた。

研究計画・方法

1. 調査広報活動：

- (1) アンケートを全国の医療機関に送付し、実態調査を行った。
- (2) 後天性血友病 13 疑いの症例についてコンサルテーションを継続し、22年度迄に形成したネットワークを更に拡大した。
- (3) 関連の深い国内外の学会や研究会で、研究発表や講演等を行い、後天性血友病 13 に関する知識、診断・治療方法の伝達に努めた。
- (4) 本疾患について啓発するポスターの改良版と研究のまとめを作成して、広範囲に配布した。

2. 止血血栓学的臨床研究：年間症例数の目標を100名(1/3はコンサルテーション分、残り2/3は各班員の臨床研究分)とした。

- (1) 症例の選別：本疾患疑いの症例を主治医からの相談に基づき検討した。また、各領域の後天性 FXIII(13)欠乏症の症例を各サブグループのメンバーが抽出し

て解析した。一部の症例では凝固機能（凝固波形、トロンビン生成試験など）に対する FXIII(13)欠乏の影響を検討した。

- (2) 特別検査：患者と対照正常血漿と混合試験の FXIII(13)活性、血漿および血清中の α_2 -PI 活性などの測定と結果の報告を迅速化して、より早期の診断／治療を可能にした。
- (3) 家族検査：先天性 FXIII(13) 欠損症の可能性を除外するために、家族の FXIII(13)を測定した。
- (4) FXIII(13)製剤投与量と止血レベルの解析：投与前後の薬理的効果、臨床的効果を検討した。
- (5) インヒビター例の代替的止血療法：抗線溶薬による止血管理が可能か検討した。

3. 病態と分子機序の解析に関する実験研究：以下の項目を検討した。

- (1) FXIII(13)インヒビターの性状の検討
- (2) ヒト抗 FXIII(13)モノクローン抗体産生細胞の樹立と解析
- (3) FXIII(13)ノックアウト(KO)マウスにおける抗 FXIII(13)抗体作製
- (4) 血漿・血小板それぞれに由来する FXIII(13)の血餅退縮への関与の解析、臨床症例において FXIII(13)活性を反映する血餅退縮能のデータを更に蓄積
- (5) FXIII(13)産生に関わる血液幹細胞移植症例、血球系細胞株やマウスモデル実験系での FXIII(13)動態
- (6) FXIII(13)活性化に対する HMGB1 (High mobility group box-1)の影響

4. インヒビターの検査と診断方法の確立：以下の項目を検討した。

- (1) ELISA による新しいインヒビター検出法の応用
- (2) グローバルな FXIII(13)機能アッセイの開発
- (3) インヒビター診断のアルゴリズムの作成
- (4) 本疾患の原因別の治療のプロトコルの作成、公表

(倫理面への配慮)

本研究では、重篤な出血症状を呈する症例の検体を使用して、各種の検査やタンパ

ク質化学的実験を行うので、21 年度に山形大学の倫理委員会の承認を得ており、各主治医が症例あるいはその家族から文書による同意を得た。

また、22、23 年度に動物における実験を実施した。各種の KO マウスを使用するため、本学の遺伝子組換え実験安全委員会の許可を得ている。

倫理規定の遵守：新 GCP の倫理規定（1997）を遵守し施行した。作成された統一の研究計画書の内容に関し各施設ごとで倫理委員会の承認を得た。

臨床研究参加における任意性の確保：本臨床試験への自発的意志に基づき同意が得られた症例のみを対象とした。なお、研究過程の如何なる時点における離脱も許容され、そのことにより診療上不利益を受ける事の無い旨明記した。

個人情報漏洩に対する防御：得られた情報は分類番号を付し個人が同定されないようにし一意の者が厳重に管理している。

個人情報秘匿の担保：本研究で得られた成果の取り扱い個人情報保護法に準拠した。

検体使用目的に関する制限：検体の売買あるいは検体の本研究目的以外の使用は一切行っていない。

情報開示義務：本研究で得られた情報は対象者が希望する場合、結果が得られているものについては知見解釈を含めて原則全面開示としている。

実験動物の取り扱い：「動物の愛護及び管理に関する法律」及び「カルタヘナ議定書趣旨」に準拠している。

C. 研究結果

1. 調査広報活動：

- (1) 22 年度の全国アンケート調査では、11 月に 1,577 ヶ所に郵送して 419 ヶ所から回答を得た。23 年度は 22 年度のアンケートを改良して全国の医療機関(1919 件)に送付し、3 回目の実態調査を行った。平成 24 年 2 月 20 日現在 343 通の回答があった。
- (2) 2 年間で後天性血友病 13 疑いの症例 48 例についてコンサルテーションを実施し（図 1）、通算 57 名の主治医を含むネットワークへと更に拡大した。

図1 後天性血友病13症例相談まとめ

疑い症例相談数	F13低下	抗体+	正常	不明	抗体陽性症例の基礎疾患
平成23年度	24	15	2	8	1 梅毒、特発性
平成22年度	24	20	5	3	1 特発性、特発性、糖尿病、ITP
平成21年度	15	11	4	4	0 特発性、特発性、AAA/肺炎、特発性、高脂血症
班研究合計	63	46	11	15	2 特発性6例
			23.9%		特発性54.5%
班研究以前	16	12	7	4	0 特発性、糖尿病、特発性、特発性、特発性、AAA、潰瘍性大腸炎
累計	79	58	18	19	2 特発性10例、AAA2例、糖尿病2例など
			31.0%		特発性55.6%

(3) 業績欄に記した国内外の学会や研究会で、研究発表や講演等を行い、後天性血友病13に関する知識、診断・治療方法の伝達を実施した。

(4) 本疾患について啓発する広報チラシの改良版と研究のまとめを作成して、広範囲に配布した。特に、日本検査血液学会、日本臨床化学会、日本臨床検査医学会、日本老年医学会中国支部会、北陸支部会、四国支部会にて約3,100枚の広報チラシを配布した。

2. 止血血栓学的臨床研究：平成24年2月20日現在コンサルテーション分は48名、各班員の臨床研究分は412名以上で更に増加中である。

(1) 症例の選別と解析：本疾患疑いの症例を主治医からの相談に基づき検討した。また、各領域の後天性FXIII(13)欠乏症の症例を各サブグループのメンバーが抽出して解析し、以下の主な対象疾患における実態をまとめつつある。外科・救急サブグループ：絨毛膜下血腫、分娩周辺期の異常出血；外科手術症例において術後原因不明の出血、術後創傷治療の遅延する症例など。内科・小児科サブグループ：出血傾向を有する症例；Henoch-Schonlein 紫斑病；整形外科人工股関節置換術後、心臓手術後、肝切除術後、特発性出血；人工透析と血漿交換；膠原病を中心とする自己抗体を有する疾患など。

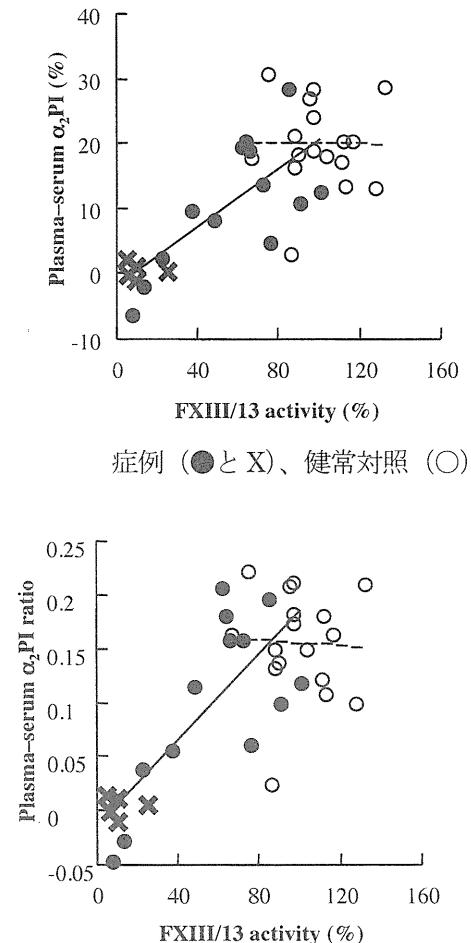
一部の血友病A症例で凝固機能（凝固波形、トロンビン生成試験）に対するFXIII(13)欠乏の影響を検討し、測定値の異常がFXIII(13)補充で改善すること

が分かった。後天性血友病13症例でも同様の所見が得られており、その機序は不明であるが、スクリーニング検査に有用である可能性が示された。

血液浄化療法における免疫吸着療法は、二重濾過血漿交換と比べてFXIII(13)の低下は軽微であることが明らかになった。

(2) 特別検査：特別委託検査の試験管セットを予め研究班員の所属施設に配布して備蓄し、症例の相談があり次第使用するというシステムを用いて患者と対照正常血漿と混合試験のFXIII(13)活性、血漿および血清中の α_2 -PI活性などの測定と結果の報告を迅速化した。これらにより、より早期の診断/治療を可能にした。血漿と血清における α_2 -PI濃度の差、即ち活性型FXIII(13)による架橋 α_2 -PIレベルがFXIII(13)レベルに依存することを *ex vivo* で初めて実証し、生理的高分子基質によるFXIII(13)活性の測定を可能にした(図2)。

図2 血漿-血清(架橋結合) α_2 -PI量(前)および割合(後)とFXIII(13)活性の相関



- (3) **家族検査**：多くの症例で家族の FXIII(13) 活性を測定して、先天性 FXIII(13) 欠損症の可能性が低いことを確認した。一方、アンケート調査の回答から先天性欠損症の 1 症例を発見し、本人及び家族の精査をして、確定診断した。
- (4) **FXIII(13) 製剤投与量と止血レベルの解析**：投与前後の薬理的効果、臨床的効果を検討するために、主治医のアンケート調査を行った。回答の約半数は 10% 前後の FXIII(13) 活性、残りの半数は 50% 前後が出血レベルとの結果であった。止血に必要な FXIII(13) 活性は、約半数が 20% 前後、残りの半数は 60% という回答であった。
- (5) **インヒビター例の代替的止血法**：FXIII(13) 製剤投与により抗体価が上昇する可能性があるため、抗線溶薬による止血が可能か検討するために、主治医のアンケート調査を行った。集計の結果、6 割以上の主治医がトランサミンの止血効果を肯定している。

3. 病態と分子機序の解析に関する実験研究：

- (1) FXIII(13) インヒビターの性状を検討した結果、ほとんどは、FXIII(13)-A に結合する抗体で FXIII(13)-B との複合体形成を阻害すると共に、トロンビンによる活性化を阻害するものであった。稀に、活性型 FXIII(13)-A に結合して酵素活性を阻害するものも発見された。抗 FXIII(13)-B 抗体は FXIII(13)-B のターンオーバーを促進して、FXIII(13)-A 保護能を減少させるため、その結果として FXIII(13) が低下していると考えられた。
- (2) ヒト抗 FXIII(13) モノクローン抗体産生細胞の樹立は 7 名分で試みられたが、現在のところ成功していない。
- (3) FXIII(13) KO マウスにおける抗 FXIII(13) 抗体作製は動物実験施設での感染事故のため、延期された。なお、妊娠・分娩は自己免疫疾患の誘因の一つであるが、FXIII(13)-A KO マウスに、FXIII(13)-B KO マウスの白血球を輸注して妊娠時の失血死を予防することができたので、血球細胞の FXIII(13) が止血に貢献していることが明らかになった(論文投稿中)。

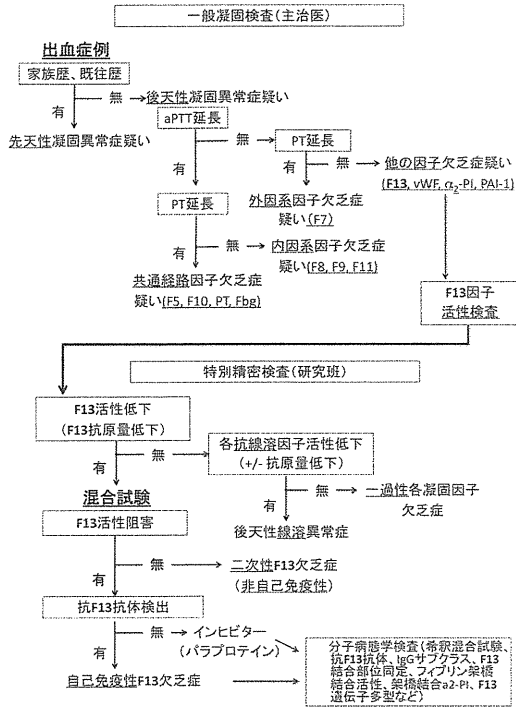
- (4) 臨床症例において FXIII(13) 活性を反映する血餅退縮能のデータを更に蓄積し、後天性血友病 13 症例では明らかな退縮反応の遅延が認められたが、現在のところ臨床現場で FXIII(13) 活性測定の代替法となるまでには至っていない。
- (5) FXIII(13) 産生に関わる血液幹細胞移植症例の FXIII(13) 動態が調べられ、移植後 1 年以内の死亡例では、生存例と比較して移植後低下する FXIII(13) 活性の回復が遅延しており、FXIII(13) 活性と移植前後の病態とが密接に関連することが示唆された。
- (6) トロンビンによる FXIII(13) の活性化を HMGB1 (High mobility group box-1) が阻害する可能性が示され、更に詳しい分子機序の解明が望まれている。

4. インヒビターの検査と診断方法の確立：

- (1) **ELISA による新しいインヒビター検出法の応用**：ドットブロットと ELISA を同一検体で同時に実施して比較した。ドットブロットで健常対照との差が顕著でない場合は、ELISA の値や傾きの差を確認することが有用であった。
- (2) **グローバルな FXIII(13) 機能アッセイの開発**：新規に作成した T-TAS (Total Thrombus Formation Analysis Method) で解析した結果、FXIII(13) の抗体添加で、全血での血栓形成が抑制されることが示され、抗 FXIII(13) 陽性者の血中 FXIII(13) 減少と出血傾向の原因であることが推定された。また、FXIII(13) のフィブリン安定化能と抗線溶能を同時に測定する方法を考案し、国内の共同研究者に開発への協力を依頼した。
- (3) **インヒビター診断のアルゴリズムの作成**：新しい症例が発生した場合の検討項目を最も合理的かつ効率良く配置して診断確定に至るプロトコールを作成した(図 3)。

本案では、FXIII(13) 活性阻害の結果が抗体の有無の判定を左右するため、抗 FXIII(13)-B 抗体を持つ症例を効果的に選別できない点が問題であり、今後、改善を要とする課題として残された。

図3 検査のアルゴリズム



(4) 本疾患の診断と原因別の治療のプロトコールの作成:平成24年1月22日に開催した班会議で素案を提案し、討議した結果、若干の修正を加えた試案がまとまった(図4、5)。今後、これらの試案を新しい症例に適用してその可否を検証する予定である。

図4 診断の指針(試案)

- 1) 後天性血友病13疑い
原因不明の出血症状が有る
後出血(止血12-36時間後の再出血)やウー징が有る
出血傾向の家族歴、既往歴が無い
抗血小板薬や抗凝固薬など出血を惹起するような薬剤歴が無い
一般凝固時間検査で出血を説明できる異常が無い
血小板数検査で出血を説明できる異常が無い
通常の止血法の効果が無い
F13活性の低下(~50%以下)が有る
F13抗原量の低下(~50%以下)が有る
家族のF13活性(抗原量)の低下が無い
- 2) 「出血性後天性F13欠乏症」と診断
F13の合成低下、消費亢進(希釈、排除)をきたす基礎疾患や原因が有る
F13濃縮製剤の投与で止血が得られる
- 3) 「自己免疫性/後天性血友病13」と診断
交叉混合試験で活性阻害陽性(阻害値10%以上;阻害率15%以上)である
ドットプロット、ELISAで抗F13-A, F13-B抗体が陽性である

図5 治療の指針(試案)

- 1) 診断前止血治療: DICが無ければトランサミン等の抗線溶薬の投与を推奨
1-2 g/kg/日内服、1-2 g/kg/日点滴静注など、止血を得るまで
- 2) 自己免疫性F13欠乏症(インヒビター一型)
長期にわたるF13濃縮製剤投与(適宜F13活性の上昇を確認)
重症出血: 50単位/kg(正常の活性約100%を目標)
軽症出血: 25単位/kg(正常の活性約50%を目標)
止血が得られた場合は、数日後に投与終了(後出血がないことを確認)

必ず免疫抑制療法を診断直後かF13濃縮製剤投与前に開始
第一選択薬: 副腎皮質ステロイド: 1 mg/kg/日
第二選択薬: サイクロホスファミド: 100 mg/kg/日
保険適応外薬: リツキシマブ(上記薬に不応例、感染例、免疫不全例など):
300 mg/m²/日
免疫抑制療法の終了は、インヒビターの陰性化を確認してから
(F13活性の正常化を指標にする場合は、必ず複数回確認してから)
1年間は再発に注意して必ず経過観察
やむを得ず免疫抑制療法をしない場合は、特に注意深く経過観察
- 3) 非自己免疫性F13欠乏症(二次性欠乏型)
短期間のF13濃縮製剤投与(適宜F13活性の上昇を確認)
濃縮製剤投与の終了にF13活性正常化を指標にする場合は、複数回確認

D. 考察

大きな研究成果と残された課題について総論的に述べる。

I. 疾患概念と対応の修正:

従来、出血性後天性13欠乏症の概念を「家族歴や既往歴がなく、凝固時間の延長や血小板数や機能の異常を伴わない原因不明の出血を呈し、FXIII(13)が著減している疾患」としてきたが、血小板減少症を呈した本疾患の症例が2例発見されたため、以後は、「凝固時間の延長や血小板数と機能の異常は除外項目ではない」と修正を加えた。この処置により、今後は凝固時間の延長や血小板数や機能の異常がある症例でも、それらの異常の程度にマッチしない過剰な出血がある場合に、FXIII(13)活性の測定を推奨することとした。

II. 疾患の病態の解明:

本疾患では、FXIII(13)の低分子基質に対する酵素活性を基に、減少の程度が判定されてきた。これは、生体内における高分子基質に対する生理的活性を示す訳ではないので、必ずしも症例の病態を反映しているとは言えない。

本班研究の結果、症例の検体における架橋結合α₂-PI量を測定することによって、ex vivoで生理的な基質に対するFXIII(13)活性を知ることが初めて可能となった。架橋α₂-PIが生体における主たる抗線溶作用を担っているため、その低下が抗線溶能の減弱を介して症例の過剰出血

という病態を反映していることを実証した。

また、本研究の中で後天性血友病 13 症例の血餅退縮が遅延していること、全血血栓形成が抗 FXIII(13)抗体の添加で低下することから、本疾患の出血傾向には血栓安定化の阻害が関与していることが明らかになった。

FXIII(13) KO マウスでの実験で細胞性 FXIII(13)の止血作用が発見され、ヒトでも止血に貢献している可能性が示唆された。

III. 新しい抗 FXIII(13)抗体の迅速検出法の開発

本疾患の症例は、何の前触れもなく大量出血して生命の危険に曝されるので、早期診断、早期治療が不可欠であるが、これまで抗 FXIII(13)抗体の検出に時間と手間が必要であった。

本研究の中で、イムノクロマト法を用いて抗 FXIII(13)抗体を数分で検出する方法を考案し、開発研究で成果が得られつつある。これまでのドットブロット法で確定診断された 2 症例で陽性反応があり、40 名の健常人では陰性であったので、将来これをキット化できれば全国どこでも自己免疫性血友病 13 が診断可能となることが期待される。

IV. FXIII(13)濃縮製剤の適応外薬要望

本研究により、本疾患の実態が明らかになり、自己免疫性血友病 13 と出血性後天性 FXIII(13)欠乏症に分類できるようになった。両疾患とも、低下した FXIII(13)を補充することが止血に不可欠なので、これまで先天性 FXIII(13)欠損症と創傷治癒異常と Henoch-Schoenlein 紫斑病にしか投与が保険適応されていなかった FXIII(13)濃縮製剤の適応を拡大する必要が明らかになった。そこで、2011 年 9 月に未承認薬・適応外薬の要望書を提出し、現在その認可を待っているところである。

要望が承認されれば、査定を恐れて本製剤の投与を躊躇する主治医の苦悩はなくなり、今後発症する症例にとって大きな福音となるであろう。

V. 主たる課題

(1) 抗 FXIII(13)-B 抗体陽性の 2 例が発見

されたが、これらの症例では、FXIII(13)-B 抗原量や抗 FXIII(13)-B 抗体の力価も大きく変動するので、見逃される可能性が高い。現在ドットブロット法で確定診断しているが、市販の測定キットがないため本研究終了後の対応は困難である。

研究代表者は国際 FXIII(13)標準化ワーキングパーティーの代表であり、FXIII(13)-B 抗原の標準化を提唱してきたが、24 年 2 月 1 日のスイス St. Gallen での会議でその国際共同研究を開始することを決定した。

(2) 症例からのヒト抗 FXIII(13)モノクローン抗体や、FXIII(13) KO マウスを用いた抗 FXIII(13)抗体の作製に成功していないため、これらを利用した実験や抗 FXIII(13)抗体測定システムへの応用ができていない。今後、他のプロジェクトで別途実現させて、検査診断、病態解析に貢献すべきである。

(3) 出血する FXIII(13)レベルと止血に必要な FXIII(13)レベルは臨床的に最も必要な情報であるが、50%前後とする研究者と 10%内外とする研究者の両者が、主治医の間でも研究班内にも存在する。これは、本人が経験した症例の臨床経過の違いによって見解が分かれるものと思われ、より多くの症例経験を蓄積することが必要であろう。(なお、研究代表者は 50%の FXIII(13)活性があれば通常は自発的には出血しないが、外傷、手術、分娩等の“止血チャレンジ”が加わると過剰出血すると考えている。)

(4) 人生の大半を体内で止血に働いてきた自分の FXIII(13)に対して何故自己抗体が産生されるのかという根源的な疑問に解答が得られていない。FXIII(13)側の問題として、FXIII(13)-A や FXIII(13)-B の遺伝子多型を検討したが、一部のタイプが多い傾向があるものの、統計学的に有意ではないので、更なる症例の蓄積が結論を出す為に必要である。

(5) 現在、交叉混合試験による FXIII(13)活性測定は保険収載されていないので、本疾患の診断に不可欠なので、収載を要望する。また、副腎皮質ステロイド、シクロフォスファミドが免疫抑制に奏効しない場合や感染症がある場合に、リツキシマブを投与することも承認される

よう要望する。

E. 結論

全国アンケート調査と紹介症例解析の結果、我が国で通算 28 名の自己免疫性/後天性血友病 13 症例が確認された。これは我が国を除く各国からの症例数の合計を上回る数である。このように、世界で初めて我が国で本疾患の実態が示されたので、その臨床的重要性を国内外に発信し続ける予定であり、全世界で見逃されている症例の発見に貢献することが大いに期待される。

また、3 年間にわたる検査、診断、治療の経験がまとめられ、検査のアルゴリズムや診療のエキスパートコンセンサスが作成されたので、臨床医の試用に供される。

本研究の成果として、適応外薬の要望を提出したことも本疾患の歴史上、画期的な出来事であり、承認されれば症例と主治医にとっての大きな福音となろう。

今後は、本研究班の班員たちが、その信頼性、有用性を検証し、各種の機会に情報発信を継続すると共に、他の原因不明の出血性後天性凝固異常症を含めた総合的な診療ガイドラインの作成を目指した研究へと発展することが望まれる。

F. 研究発表 (研究代表者、研究分担者の惣宇利正善を含む)

1. 論文発表

- (1) Ichinose A, Souri M, on behalf of the Japanese collaborative research group on "Acquired haemorrhaphilia due to factor XIII/13 deficiency". Reduced difference of $\alpha 2$ -plasmin inhibitor levels between plasma and serum in patients with severe factor XIII deficiency, including autoimmune hemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. *Int J Hematol*. 2012; 95 (1): 47-50.
- (2) Fujii N, Souri M, Ichinose A. A short half-life of the administered factor XIII (FXIII) concentrates after the first replacement therapy in a newborn with severe congenital FXIII deficiency. *Thromb Haemost*. 2012;107(3) in press.

(電子出版済み)

- (3) Kohler HP, Ichinose A, Seitz R, Ariens RAS, Muszbek L, on behalf of the factor XIII and fibrinogen SSC subcommittee of the ISTH. Diagnosis and classification of factor XIII deficiencies. *J Thromb Haemost*. 2011;9(7):1404-6.
- (4) Ichinose A. Hemorrhagic acquired factor XIII (13) deficiency and acquired hemorrhaphilia 13 revisited. *Semin Thromb Hemost*. 2011;37(4):382-8.
- (5) Ichinose A, Souri M; Japanese collaborative research group on "Acquired haemorrhaphilia due to factor XIII deficiency". As many as 12 cases with hemorrhagic acquired factor XIII deficiency due to its inhibitors were recently found in Japan. *Thromb Haemost*. 2011;105(5):925-7.
- (6) 菅原宏文, 鈴木宗三, 惣宇利正善, 小嶋哲人, 一瀬白帝: 東北地方における血友病インヒビター調査のまとめ. *山形医学*, 2011 ; 29(2) : 37-44.
- (7) 一瀬白帝: 血栓の退縮-血栓の運命を決める血餅退縮反応のメカニズムとその意義-. *血管医学*, 2011 ; 12(2) : 161-75.
- (8) 一瀬白帝: 血液凝固と凝固制御機構. *臨床検査*, 2011 ; 55(4) : 328-39.
- (9) 一瀬白帝: TAFI (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor). *International Review of Thrombosis*, 2010 ; 5(4) : 270-3.
- (10) 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.
- (11) Kasahara K, Souri M, Kaneda M, Miki T, Yamamoto N, Ichinose A. Impaired clot retraction in factor XIII A subunit-deficient mice. *Blood*. 2010;115(6):1277-9.
- (12) 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.
- (13) 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.
- (14) 一瀬白帝: 凝固 13 因子関連疾患の基礎と臨床 –とくに後天性血友病 13(出血性後天性凝固 13 因子欠乏症)について-. 日本小児血液学会雑誌, 2010 ; 24(1) : 3-13.

2. 学会発表

(1) 国際学会

- 1) Hanafusa N, Noiri E, Kaneko M, Yatomi Y, Ichinose A, Fujita T: Removal of Coagulation Factor XIII during Immunoabsorption Plasmapheresis. 8th International Society for Apheresis Congress (ISFA), September 14-17, 2011, Vienna, Austria.
- 2) Ichinose A: Acquired/Autoimmune Hemorrhaphilia XIII/13 in Japan. 6th Japanese-German Conference on Thrombosis and Hemostasis, July 29-30, 2011, Sapporo, Japan.
- 3) Murata K, Ikeda M, Souri M, Ichinose A: Unexplained post-operational bleeding in a patient with anti-factor XIII B subunit antibody (P-TH-551). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 4) Ichinose A: Diverse molecular mechanisms of congenital and acquired factor XIII/13 deficiency and its newly proposed biological functions SY-TH-015 XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 5) Kaneko M, Kanno N, Suzuki A, Tanaka R, Souri M, Yatomi Y, Ichinose A. A novel quick point of care test of coagulation factor XIII activity based on clot retraction in humans (P-WE-567). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 6) Fujii N, Souri M, Shima M, Tomoyasu C, Isoda K, Ichinose A. Markedly shortened half life of the administered factor XIII (FXIII) concentrates during first replacement therapy in a newborn with severe congenital FXIII deficiency (P-TU-206). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 7) Kasahara K, Kaneda M, Miki T, Iida K, Suzuki H, Hara Y, Shimonaka M, Arai M, Kobayashi T, Ichinose A, Yamamoto N: Translocation of Fibrin and myosin into platelet membrane rafts is an important process for clot retraction via a functional property of GPIIb/IIIa (P-TU-001). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 8) Nagate Y, Kosugi S, Nakata S, Kotake T, Kida T, Take H, Souri M, Katagiri S, Ichinose A: Successful rituximab-treatment of two patients with acquired hemorrhaphilia 13 (hemorrhagic acquired factor 13 deficiency due to its autoantibodies) (P-MO-531). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 9) Ishida F, Okubo K, Ito T, Okumura N, Souri M, Ichinose A: Discrepancy between activity and antigen levels of factor (F) XIII concentrates in hemorrhagic acquired FXIII deficiency due to its autoantibody (P-MO-204). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and

- 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 10) Souri M, Iwata H, Zhang WG, Ichinose A: Biochemical characterization of anti-factor XIII autoantibodies in patients with hemorrhagic acquired factor XIII deficiency (O-MO-122). XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 11) Ichinose A: Update of the nation-wide campaign/study on acquired hemophilia XIII (13) and proposal for international collaboration. SSC Session (Factor XIII and Fibrinogen), XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH2011) and 57th Annual SSC Meeting, July 23-28, 2011, Kyoto, Japan.
- 12) 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 Research (GTH), 2011 February, Wiesbaden, Germany. (SY02-1).
- 13) 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 Research (GTH), 2011 February, Wiesbaden, Germany. (WS01-8).
- 14) 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 Research (GTH), 2011 February, Wiesbaden, Germany. (WS01-7).
- 15) 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.
- 16) 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) 国内学会
- 1) Ogawa Y, Uchiumi H, Yanagisawa K, Nojima Y, Souri M, Ichinose A: An acquired factor XIII/13 deficiency due to an inhibitor against FXIII/13 B subunit. 第73回日本血液学会学術集会, 名古屋; 2011年10月14-16日 (PS-2-71)
- 2) 一瀬白帝: 血液凝固第XIII/13因子の新機能と疾患における意義. 第73回日本血液学会学術集会 (シンポジウム6: 血栓止血学・血管生物学の最近の進歩), 名古屋; 2011年10月14-16日 (SY-6-4)
- 3) 惣宇利正善, 一瀬白帝: 生体内における細胞内凝固XIII因子Aサブユニットの新たな機能. 第84回日本生化学会大会シンポジウム [1S14p トランスグルタミナーゼ (タンパク質架橋化酵素)の進化と機能分化], 京都; 2011年9月21-24日
- 4) 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 5 日
- 5) 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 9 日
- 6) 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 9 日
- 7) 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 7-10 日
- 8) 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 7-10 日
- 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 24-26 日
- 10) 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 22-24 日
- 11) 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 22-24 日
- 12) 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 22-24 日
- 13) 一瀬白帝: 後天性血友病 13 (出血性後天性 13 因子欠乏症). 第 33 回日本血栓止血学会学術集会 教育講演, 鹿児島; 2010 年 4 月 22-24 日
- (3) 研究会
- 1) 惣宇利正善, 一瀬白帝: 凝固 XIII 因子 A サブユニット欠損マウスにおける血球の分化について. 山形大学医学部実験動物セミナー第 22 回研究成果発表会, 山形; 2011 年 12 月 8 日
- 2) 惣宇利正善, 一瀬白帝: 血球の分化における凝固 XIII 因子 A サブユニットの関与について. 第 19 回山形分子生物学セミナー, 山形; 2011 年 11 月 16 日
- 3) 惣宇利正善, 一瀬白帝: 生体内における細胞内凝固 XIII 因子 A サブユニットの新たな機能. 第 4 回トランスグルタミナーゼ研究会&日本ポリアミン学会合同学術集会, 京都; 2011 年 9 月 20 日
- 4) 張 偉光, 惣宇利正善, 岩田宏紀, 一瀬白帝: 妊娠期の止血における凝固第 XIII 因子陽性細胞の存在意義. 第 9 回血液・血管オルビス, 東京; 2011 年 8 月 20-21 日
- 5) 一瀬白帝: 最近のトピックス. 第 4 回後天性 XIII(13)因子欠乏症研究会 基調講演, 京都; 2011 年 7 月 23 日
- 6) 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 hemorrhaphilla XIII/13’. 第11回TTMフォーラム学術集会, 東京:2011年3月5日
- 7) 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5日
- 8) 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16日
- 9) 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1日
- 10) 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8日
- 11) 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23日
- 12) 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23日
- 13) 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23日
- 14) 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4日
- 15) 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4日
- 16) 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21-22日
- 17) 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21-22日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特許 4671823 血液凝固因子の不活性化及び血液凝固因子(嶋緑倫; 奈良医大教授)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

山形大学に以下の発明届を提出した。(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

Ⅲ. 分担研究報告

分担課題：後天性血友病 XIII(13)症例にみられる FXIII インヒビターの生化学的特徴

研究分担者 惣宇利 正善 山形大学医学部 講師

研究要旨

凝固第 XIII 因子 (FXIII) インヒビターにより出血性素因を呈する後天性血友病 XIII(13) (AH-13) について、生化学的な解析を行なった。AH-13 症例 (n=17) の血漿において、FXIII A サブユニット (FXIII-A) 抗原量は正常から低下の広範囲にわたっていたものの、B サブユニット (FXIII-B) との異種四量体量およびアミン取込み活性は健常人との比較において著減していた。FXIII インヒビターについて、対象抗原と阻害様式から A(I)型、A(II)型、B 型の三型式に分類した。A(I)型は、FXIII-A に対する抗体であり、トロンビンによる FXIII-A 活性化ペプチドの切断を阻害する結果フィブリン架橋反応を著しく遅延させるとともに、FXIII-B と FXIII-A との異種四量体形成を強く阻害した。一方、A(II)型も抗 FXIII-A 抗体であり、異種四量体形成を阻害しないこと、トロンビンによる活性化を阻害しないこと、フィブリン γ 鎖の架橋反応は阻害しないものの、活性化 FXIII-A のアミン取込み活性を強く阻害し、フィブリン α 鎖の架橋結合を抑制することが示された。B 型は FXIII-B に対する抗体であり、異種四量体形成、FXIII 活性化、フィブリン架橋反応いずれも阻害せず、血中の FXIII 量の低下をもたらすものと考えられた。A(I)型は 13 例と最も多く、A(II)型、B 型はそれぞれ 2 例ずつであった。

A. 研究目的

後天性血友病 XIII(13) [Autoimmune/acquired hemorrhaphilia-13 (AH-13)] は、凝固第 XIII 因子 (FXIII) の酵素部位である A サブユニット (FXIII-A) もしくは血漿中での FXIII-A の安定化に働く B サブユニット (FXIII-B) いずれかに対する自己抗体 (インヒビター) を生じた結果、出血性素因を呈する後天性 FXIII 欠乏症である。本分担研究では、FXIII インヒビターの作用機序を明らかにし、AH-13 の生化学的な特徴を明確にすることを目的とした。

B. 研究方法

FXIII 抗原量の測定 マウス抗ヒト FXIII-A モノクロナール抗体もしくはウサギ抗ヒト FXIII-B ポリクロナール抗体を固相化した 96 穴プレートを用いた ELISA 法により測定した。FXIII 異種四量体 (A₂B₂) は、抗 FXIII-A 抗体プレートに結合した A₂B₂ を抗 FXIII-B 抗体により検出した。

FXIII インヒビターの同定 組換え体 FXIII-A (rFXIII-A) と組換え体 FXIII-B (rFXIII-B) およびペルオキシダーゼ標識抗ヒトイムノグロブリン抗体を用いたドットブロッキングにより、抗 FXIII-A もしくは抗 FXIII-B 抗体を検出した。また、rFXIII-A を固相化した 96 穴プレートにトロンビンもしくは rFXIII-B を反