

分担課題：北海道内における凝固第 XIII 因子低下症例の解析

研究分担者 家子 正裕 北海道医療大学歯学部内科学分野教授

研究要旨

北海道内で出血傾向を認める患者血漿の凝固第 XIII (F XIII) を測定し、出血の原因になっているかどうか確認した。原因不明の出血症状を認めた 22 名の患者血漿をベリクローム F XIII および LPIA F XIII で F XIII 活性および抗原量を測定した。7 名で F XIII 活性の低下 (60%以下) を認めたが、抗原量と活性に乖離はなかった。F XIII 低下を認めた RA 症例が RA の治療薬として用いた Tocilizumab による F XIII 低下と思われた。インヒビター検索を行ったが、インヒビターは認めなかった。F XIII 欠乏症を解析する上で示唆に富む症例と思われた。

A. 研究目的

近年、原因不明の出血病態として凝固第 XIII 因子 (F XIII) の活性低下が注目されている。その原因は、F XIII に対する自己抗体の場合 (後天性血友病 13 (XIII)) や先天性欠損症、大量出血などに伴う消費性の低下症などがある。

今回、我々は北海道内における原因不明の出血症状をきたした患者血漿を用いて、F XIII が関与しているかどうかを検討し、さらにその原因を解析することを目的にした。

B. 研究方法

本学関連医療施設に通院または検査依頼のあった出血症状を呈した 22 名の患者から得た血漿をベリクローム F XIII (シスメックス社) を用いて F XIII 活性を、また LPIA F XIII (三菱化学メディエンス) を用いて F XIII 抗減量を測定した。採血にあたっては、インフォームドコンセントを行い同意を得て採血した。うち 3 例は後天性血友病 13 (XIII) も疑い、詳細な解析を山形大学病態解析学講座に依頼した。

膠原病、特に関節リウマチ患者における検討は北海道大学病院整形外科の協力を得て行った。

C. 研究結果

1. 原因不明の出血症状患者での検討：原因不明の出血症状を持つ 22 名の患者血漿の F XIII 抗原量および F XIII 活性は図 1 に示した。これらのサンプルには抗原と活性に乖離する症例はなかった (図 1)。また、22 例中 7 例において F XII 活性が 60%以下であった。

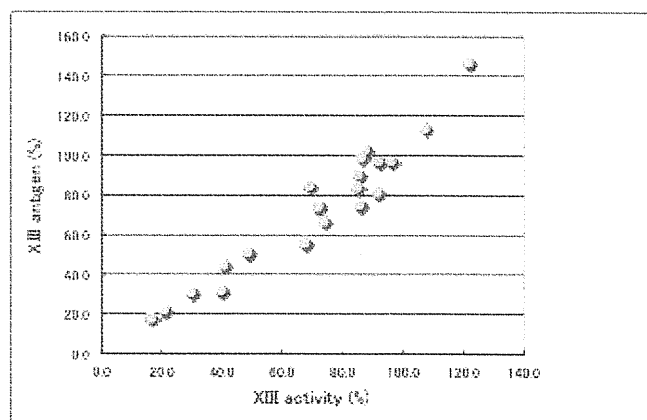


図 1 原因不明の出血症例における F XIII

2. 関節リウマチ患者における F XIII 低下症の解析：(症例) 48 歳、男性。2005 年より関節リウマチでフォローされており、2008 年より生物製剤 (Tocilizumab) の投与を受けていた。2009 年 9 月頃より右大腿部痛、左下肢

前面のしびれ感および股関節伸展障害が出現した。CT 検査で骨盤内血腫を確認。その後、血腫を除去しても再発を繰り返したため、出血傾向の精査が行われた。凝血学的検査では PT, APTT および血小板数などに異常を認めず、唯一 F XIII 活性が 52.4% と低下を認めた。F XIII の交差混合試験では因子欠損パターンを示し、山形大学における検討ではインヒターは確認できなかった (図 2)。その後、Tocilizumab を中止しフィブロガミンの投与で出血傾向は改善した。保存していた Tocilizumab 投与前の患者血漿および 2010 年 3 月採取した血漿の F XIII はそれぞれ 88% および 110% であった。

を直接測定できる方法を開発する必要性を感じる症例でもあった。

なお、平成 22 ~ 23 年度の検討では、F XIII に対する自己抗体症例を経験することはできなかった。引き続き原因不明の出血性素因の解析を F XIII 測定を含めて行って行く予定である。

E. 結論

原因不明の出血性素因の中には F XIII 活性の低下を原因とする症例も少なくない。凝血学的なスクリーニング検査のセカンドラインに F XIII 測定は必要である。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特記事項なし。

Patient

Control

αFXIII-A
-positive

rFXIII-A			rFXIII-B			rFXIII (A ₂ B ₂)			(ug)
25	50	100	25	50	100	25	50	100	
●	●	●	●	●	●	●	●	●	

図 2. RA 患者の Dot Blot 解析

D. 考察

出血傾向を示す患者において原因解析をおこなっても出血原因が分からないことも少なくない。凝固スクリーニング検査である PT, APTT などに異常を認めない場合は特に解析困難となる場合が少なくない。その様な症例の中には、本検討で明らかになった様に F XIII の低下症による場合も多い。実際、我々の検討では 22 例中 7 例に F XIII の低下を認めた。出血性疾患のスクリーニングのセカンドラインとして F XIII 活性の測定が必要である。また、結果の 2 で報告した様に、薬剤が関与する様な症例も少なくない。この症例では、F XIII 活性が 52.4% であったが、フィブロガミンの投与で出血傾向が改善しており、明らかに F XIII 活性の低下が出血性素因の原因になっていたものと推察できる。この F XIII 因子活性はベリクローム F XIII で測定したもののだが、この測定方法は F XIII 因子の有する transglutaminase 活性を測定しているもので、直接凝固反応への影響を確認したものではない。F XIII の凝固反応に及ぼす影響

分担課題：臨床研究

研究分担者 川杉 和夫 帝京大学医学部学内科学講座准教授

研究要旨

後天性血友病 XIII(13)の患者では、PT や APTT 等に異常が見られないために、出血傾向を評価する有用なスクリーニング検査がないのが現状である。そこで、TGA (Thrombin generation assay) が後天性血友病 XIII(13)の出血傾向のスクリーニング検査として役立つか否かを検討した。後天性血友病 XIII(13)が疑われた症例では、TGA の各種パラメーターが正常に比べて低下していることが判明した。さらに、第 XIII 因子欠乏血漿における TGA でも、患者と同様の TGA パターン(Lag time は正常で Peak height や ETP が低下)になることが判明した。一方、第 XIII 因子に対する抗体を使用した系では、TGA の各種パラメーターは有意な低下を示さなかった。以上の結果より、TGA は患者の出血傾向のスクリーニング検査に有用である可能性が示唆されたが、さらなる検討が必要と思われた。

A. 研究目的

後天性血友病 XIII(13)の患者では、PT や APTT 等に異常が見られないために、出血傾向を評価する有用なスクリーニング検査がないのが現状である。そこで、TGA が後天性血友病 XIII(13)の出血傾向のスクリーニング検査として役立つか否かを検討した。

B. 研究方法

後天性血友病 XIII(13)が疑われた 30 歳女性、および第 XIII 因子欠乏血漿を使って TGA を行い、正常人と比較した。また、正常血漿に抗第 XIII 因子抗体を添加し、30 分後、60 分後に TGA を施行した。TGA はサーモエレクトロン社のトロンビン生成蛍光測定システムによって測定し、Peak height や Area under the curve (ETP) などの各種パラメーターを健常人と比較した。

C. 研究結果

後天性血友病 XIII(13)が疑われた患者の TGA の結果では、Lag time は 2.35 とほぼ健常人同等であった。しかし、ETP (1314、健常人平均 1728) や Peak height (208、健常

人平均 307) は正常に比べて低下していた。第 XIII 因子欠乏血漿での TGA の結果では、Lag time は正常人と同等であったが、Peak height は 147 (健常人平均 307)、ETP は 699 (健常人平均 1728) と、これらの値は正常人に比べて低下していた。一方、第 XIII 因子に対する抗体を使用した系では、TGA の各種パラメーターは低下傾向を示したものの有意ではなかった。

D. 考察

後天性血友病 XIII(13)が疑われた症例と第 XIII 因子欠乏血漿で認められた TGA のパターンは、同様のパターン (Lag time は正常で Peak height や ETP が低下) を示した。しかし、第 XIII 因子に対する抗体を使用した系では、TGA は正常人とほぼ同等であった。この理由として、抗体が第 XIII 因子活性を低下させていない可能性も考えられ、今後別の抗体や第 XIII 因子に対する自己抗体を持った患者の血清を使用して実験する必要があると考えられた。

E. 結論

TGA は後天性血友病 (13)患者の出血傾向のスクリーニング検査に有用である可能性が示唆された。しかし、症例数が少数のため今後症例数を増やすことや、患者血清を正常血漿に添加してTGA が低下するか否かを検討することなどが重要と思われた。

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 57 回日本臨床検査医学会学術集会、
シンポジウム 7 (凝固線溶系検査と病
態解析において) で発表

川杉和夫：トロンビン生成試験

(Thrombin generation assay) による

血液凝固異常患者の病態解析と治療の

モニタリングについて. 臨床病理 57

(補冊) : 46、2010

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担課題：後天性第 XIII 因子欠乏疾患における止血血栓学的臨床研究
—Henoch-Schönlein Purpura における第 XIII 因子活性の検討—

研究分担者 前田美穂 日本医科大学教授(小児科学)

研究要旨

後天的に第 XIII 因子が欠乏する疾患として小児期に多く見られる Henoch-Schönlein purpura(HSP)における第 XIII 因子の低下の原因について検討を加えた。臨床症状と第 XIII 因子の関係においては、腹部症状が強い場合に、第 XIII 因子が低下している傾向を認めた。また第 XIII 因子が低下している場合に、FDP、D-Dimer が上昇している傾向を認めた。第 XIII 因子の低下と炎症性サイトカイン(IL-1 β 、TNF α 、IL-6、IL-8)との間には有意な関係は認めなかった。

A. 研究目的

後天的に第 XIII 因子が欠乏する疾患として、小児期に多く見られる Henoch-Schönlein purpura(HSP)がある。本疾患で第 XIII 因子が欠乏する理由は、その消費あるいは破壊といわれているが、未だに明確にされていない。そこで、本症における第 XIII 因子活性といくつかの凝固マーカーと、臨床症状との関係をまず明らかにし、さらに第 XIII 因子の低下の原因について検討することを目的とした。

B. 研究方法

HSP と診断された 1～10 歳の 19 名(男子 10 名女子 9 名)について、臨床的スコアリングシステム (Deniz Yilmaz, et al. Pediatric Hematology and Oncology 22:41-48, 2005 を一部改変)により、皮膚(紫斑)、関節、腹部、腎臓の症状をスコアリング化し、重症度の評価を行った。腹部症状スコア 3 は、重度の腹痛と下血、スコア 2 は腹痛と便潜血 2+以上、スコア 1 は軽度の腹痛と便潜血 1+、スコア 0 は腹部症状なし。皮膚症状スコア 3 は臀部、体幹、上下肢の紫斑、スコア 2 は臀部、体幹と下肢の紫斑、スコア 1 は臀部と下肢の紫斑、スコア 0 は症状なし。関節症状スコア 3 は関節痛と重度の腫脹、スコア 2 は関節痛と腫脹、スコア 1 は関節痛と軽度の腫脹、スコア 0 は症状なし。腎症状スコア 3 は蛋白尿 150mg/ml と肉眼的血尿、スコア 2 は蛋白

尿 30-150mg/ml と尿沈査赤血球無数、スコア 1 は蛋白尿 30mg/ml 以下と尿沈査赤血球 1 視野 10-15、スコア 0 は蛋白尿なし、尿沈査赤血球 3-5 とした。診断時に第 XIII 因子活性、FDP、D-Dimer、TAT、FDP、フィブリノーゲン、APTT、PT、 α 2 プラスミンインヒビター、血算、CRP、IgA を測定し、臨床的スコアリングとの関係性を評価した。また平成 23 年度においてはサイトカイン(IL-1 β 、TNF α 、IL-6、IL-8)の測定を行った。診断時を急性期とし、症状改善後(最短期間として診断後 1 か月)を遠隔期としてこの両者の変化を検討した。

(倫理面への配慮)

今回の調査は、サイトカインの測定以外は後ろ向きのカルテ調査が主であったが、サイトカインの測定にあたっては、患者の家族に研究の目的を説明し、同意を得た。また研究結果については、個人情報の保護を確実にし、外部に漏洩することがないように行った。

C. 研究結果

腹部症状のスコアが 3 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第 XIII 因子活性は 12～56%、スコア 2 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第 XIII 因子活性は 42～69%、スコア 1 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第 XIII 因子活性は 50～88%、スコア 0 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第

XIII 因子活性は 53~80%とスコアが高いほど第 XIII 因子活性が低い傾向を認めた。関節症状と第 XIII 因子活性の関係では、関節症状のスコアが 2 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第 XIII 因子活性は 48~56%、1 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第 XIII 因子活性は 54~91%、スコア 0 点(他のスコアが 0 ないし 1 点)では第 XIII 因子活性は 54~93%であった。総臨床症状のスコア、紫斑、腎症状と第 XIII 因子活性の間には有意な関係は見られなかった。また第 XIII 因子活性が低いときは FDP、D-Dimer が上昇する傾向が見られた。腹部症状スコアが 0 ないし 1 の例では FDP は 0~4.9 μ g/ml、D-Dimer は 0~4.6 μ g/ml と FDP、D-Dimer の上昇は見られなかった。紫斑の程度、関節症状、腎症状と FDP、D-Dimer の値に関係は見られなかった。

第 XIII 因子活性と炎症性サイトカイン(IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF α)との関係では有意なものはなく、症状とサイトカインとの関係では、腹部症状が Score1 以上のもので TNF α がやや高く、皮膚症状が強いもので IL-1 β がやや高かったが、有意な関係が見られたものはなかった。

また、急性期では遠隔期より炎症性サイトカインの上昇が見られたが、腹部症状と炎症性サイトカインの関係においては、IL-6 と IL-8 においては腹部症状が強いもので、高い傾向が見られたが、IL-1 β は症状が強いものでは逆に低下しているという結果であった。

D. 考察

HSP の病態は、小動脈、毛細血管の血管炎であると言われている。第 XIII 因子が低下することは広く知られているが、その原因については明確ではない。今回は腹部症状が強いと第 XIII 因子の低下が激しいという結果を得た。この理由を検討するために、腸管における細小血管の広範な炎症により血管壁に接着している好中球から放出されたエラスターゼが第 XIII 因子を破壊しているか、または第 XIII 因子が血管外へ漏出していることが推察された。もし前者であれば、サイトカインが介在している可能性が考えられ、炎症性サイトカインの動態を検討したが、今回の結果では HSP における血管の炎症がサイトカインを介して第 XIII 因子の低下に関していることは証明できなかった。

今回は比較的少ない症例での検討であり、とくに関節症状においては中等度以上(スコア 2 以上)の症状を示したものは 2 例しかなく、症状との関係においても十分な統計学的解析が出来なかった。また、第 XIII 因子低下とサイトカインと

の関係、凝固・線溶との関係などについても IL-4 など他のサイトカインの検討も行き、HSP における第 XIII 因子の低下の原因の究明を行い、第 XIII 因子製剤の使用法や他の抗炎症剤の使用法などについての検討を行っていきたい。

HSP における最終的な対応は腎障害の減少にあり、第 XIII 因子と腎障害の関係についてもこれから検討したいと考えている。

E. 結論

腹部症状が強い場合は第 XIII 因子活性が低い傾向を認めたが、紫斑、腎症状と第 XIII 因子活性の間には有意な関係は見られなかった。また第 XIII 因子活性が低いときは FDP、D-Dimer が上昇する傾向が見られた。しかし今回の検討では第 XIII 因子と炎症性サイトカインについての関係は認められなかった。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

分担課題：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

研究分担者 花房 規男 東京大学 血液浄化療法部 講師

研究要旨

凝固因子第 13 因子(F13)のアフェレシス治療中の動態について，治療のモダリティ，補充液の選択，治療強度・頻度との関連を検討した．治療のモダリティとの関連では，免疫吸着療法は二重濾過血漿分離交換法(DFPP)と比較して，IgG に比較した F13 の低下は軽微であった．また，FFP 置換の単純血漿交換を行うことで，DFPP によって低下した F13 が回復することが明らかになった．さらに通常の治療強度では，DFPP 中に F13 が低下する可能性が示唆された．アフェレシスの対象疾患の病勢と，F13 の動態との双方を勘案し，治療法を選択する必要がある．

A. 研究目的

二重濾過血漿分離交換法(DFPP)では，凝固因子第 13 因子(F13)が高度に低下することが明らかになった．F13 因子のアフェレシス治療中の動態を明らかにすることは，後天性血友病 13 患者における血漿交換療法の適正な施行だけではなく，一般的なアフェレシス治療への医療資源の適正な分配，さらには，アフェレシスに伴う特に出血性合併症の予防から合併症治療に関わる医療費の抑制など様々な効果を持つことが想定される．

このため，DFPP を含むアフェレシス療法において，治療面から F13 の低下を抑制できないか，治療のモダリティ，補充液の選択，治療強度・頻度の調整について，基礎的検討を行った．その結果，治療効果を維持しながら，合併症である F13 をはじめとする凝固因子の減少を認めない条件を設定することを目標とした．

B. 研究方法

治療施行前は F13 抗原量は正常で，アフェレシスにともない経過中に低下した症例を解析した．DFPP が 12 名，IAPP が 3 名，血漿交換を併用した DFPP が 2 名であった．

東大病院で血漿交換療法を行った患者で，治療前後に，1) 治療の指標である IgG，2) 合併症の指標であるフィブリノゲン，F13 を測定した．さらに，残血漿を利用し，各種凝固因子の血中濃度を測定し，それぞれの治療頻度あるいは治療のモダリティとの関連について検討を行った．

治療は原疾患の病勢に従い，そのモダリティ，頻度は設定を行い，本検討への参加の有無で治療内容は変更しなかった．

(倫理面への配慮)

検査時・解析時には連結可能匿名化とし，個人を判別できない形で検討を行った．さらに，本研究は東京大学医学部倫理委員会で承認されている．

C. 研究結果

●モダリティと F13 の動態との関連

血漿交換のモダリティの一つである免疫吸着療法では，IgG の低下度は大きくはなかったが，IgG に比較した F13 の低下は軽微であった．

血液型不適合生体腎移植前の DFPP では，4 回目の治療後には高度(<10%)の F13 の低下がみられた．一方，FFP を置換液とする単純血

漿交換を行うことで、F13 はほぼ正常にまで回復した。

●各種凝固因子の DFPP 治療における動態

治療前後で各種凝固因子を検討した。一連の治療前の凝固因子の量が高かったため、各治療前には、F13、フィブリノゲン以外ではほぼ正常値にとどまった。一方、各治療後では、比較的高度の低下を認めるものもあった。

10 日程度の治療間隔でも、F13 は低下することが明らかになった。一方、フィブリノゲンも含め、各凝固因子は 3～5 日ごとの治療では低下はみられなかった。ただし、連日あるいは隔日の治療では、こうした凝固因子の低下も懸念された。

D. 考察

今回の検討から、他の条件が許せば、免疫吸着療法を優先することが望ましいこと、また、術前日の血漿交換療法としては、FFP 置換の単純血漿交換が望ましいことが明らかになった。

一方、DFPP で治療を行う場合には、仮に 10 日程度の間隔でも、F13 は低下する可能性があった。また、週 1～2 回程度の頻度での施行では、多くの凝固因子は低下することが明らかになった。DFPP を行う原因疾患の病勢を考慮し、治療施行頻度を調整することが望ましいが、通常の自己抗体除去を目的として、週 1～2 回の治療では、F13 の低下が避けられず、必ず F13 の測定が必要と考えられた。

一方、他の凝固因子については、通常の頻度であれば、考慮する必要はないものと思われた。ただし、連日の治療が必要な場合には、FFP 置換の単純血漿交換を行うことが必要である。

以上のことから、後天性血友病 13 の自己抗体除去には、通常の DFPP は適さず、FFP 置換の血漿交換か、少なくとも F13 の補充が必要である可能性が考えられる。

E. 結論

アフェレシス治療では、F13 の動態を念頭においた、治療法の選択、補充液の選択、さらには治療強度・頻度の設定が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanafusa N. Theoretical basis of pathogenic substance removal during plasmapheresis. Ther Apher Dial. 2011;15(5):421-30.

Hanafusa N, Aozasa N, Fujita T. A patient whose factor XIII level was decreased by double filtrate plasmapheresis and successfully recovered by infusion of factor XIII concentrate. Ther Apher Dial. 2010 ;14(4):432-3.

Hanafusa N, Satonaka H, Doi K, Noiri E, Fujita T. Virus removal and eradication by modified double filtration plasmapheresis decreases factor XIII levels. Ther Apher Dial. 2010;14(3):287-91.

2. 学会発表

第 55 回日本透析医学会学術集会 (2010 年 6 月:神戸) 花房規男, 河原崎宏雄, 木戸亮, 山本裕子, 渡邊恭通, 柴垣有吾, 野入英世, 石川晃, 藤田敏郎. ABO 血液型不適合生体腎移植の術前アフェレシス治療 FXIII 値からみた治療法の選択. 日本透析医学会雑誌 2010; 43(Suppl.1): 823.

第 8 回国際アフェレシス学会 (2011 年 9 月: ウイーン) Hanafusa N, Noiri E, Kaneko M, Yatomi Y, Ichinose A, Fujita T. Removal of Coagulation Factor XIII during Immunoabsorption Plasmapheresis. Ther Apher Dial. 2011;15(4):A9.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

分担課題：後天性血友病 XIII(13)の実態調査研究

研究分担者 石田文宏 信州大学内科学准教授

研究要旨

後天性血友病 XIII(13)の実態を調査するため、出血傾向で受診した症例で各種凝血学的調査および臨床情報に関して検討した。3 例で XIII 因子に対するインヒビター検出され、うち、2 例は臨床的に出血性の後天性 XIII 因子欠乏症であった。インヒビターが自然消退した症例や、基礎疾患として報告がない夜間発作性血色素尿症に伴う症例を認めた。いずれも止血管理に XIII 因子製剤の投与が有効であった。後天性血友病 XIII(13)の病態は多彩であり、また、XIII 因子製剤の投与は後天性血友病 XIII(13)の治療法の選択肢となりうる。

A. 研究目的

後天性血友病 XIII(13)の臨床的な背景、至適治療法、予後について情報を収集するため、出血傾向を呈した症例に関して、XIII 因子に関連する凝血学的検査を含め解析する。

B. 研究方法

後天性血友病 XIII(13)の実態を調べるため、原因が特定できない出血傾向が疑われて当科に受診する症例を前向きに連続的に登録し凝固 XIII 因子活性を含む各種凝血学的検査により XIII 因子低下や欠乏の関与、病態との関連性を検討する。

（倫理面への配慮）

「国内外の先天性および後天性の血友病を含む出血性疾患および血栓性疾患の調査研究」（研究代表施設：山形大学）の分担研究施設として信州大学医学部医倫理委員会より平成 22 年 6 月 7 日承認された。説明文書により対象症例より同意を得て検体を採取し、連結可能匿名化して研究に供している。

C. 研究結果

前向き研究での登録症例では 1 例で XIII 因子活性の低下とインヒビターが弱陽性となっていた。後ろ向き検討で 2 例のインヒビター陽性の出血性の後天性 XIII 因子欠乏症が認められた。いずれの症例も表在出血傾向が主体

で広汎であった。1 例では XIII 因子に対するインヒビターは、4 年後にインヒビターは自然消失していた。他の一例は基礎疾患に発作性夜間血色素尿症(PNH)があり血小板減少を伴っていた。いずれの症例も XIII 因子製剤の補充療法で止血管理がなされ、有効であった。

D. 考察

前向きの研究では後天性血友病 XII の確診例は認めず、正確な発症頻度は未だ不明である。

後天性 XIII 因子欠乏症症例では XIII 因子インヒビターが検出されているにもかかわらず、XIII 因子製剤の補充療法は出血傾向のコントロールに有効であり、本疾患の治療法として考慮に値する。この点は他の凝固因子インヒビターによる出血性疾患と異なる可能性がある。また、凝固因子に対するインヒビターの自然消退は報告されているが後天性 XIII 因子欠乏では明確に示された症例は乏しく、後天性血友病 XIII の病態を考える上で興味深いと思われた。また、後天性 XIII 因子欠乏症の基礎疾患として PNH の報告はこれまでなく、後天性 XIII 因子欠乏症の多様性を示す結果であった。PNH 合併例では血小板減少を伴っており、血小板数や他の凝血学的検査で異常を認める症例においても出血傾向に関して XIII 因子欠乏の関与を考慮する必要性を示唆

している。

E. 結論

後天性血友病 XIII の頻度は未だ不明で、また、臨床症候のみでの推定は困難であるが、積極的な検索により診断可能である。迅速な診断体制と、XIII 因子補充療法を含めた適切な治療法確立に向けて更なる研究が必要である。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1)Fujihara N, Haneishi A, Yamauchi K, Terasawa F, Ito T, Ishida F, Okumura N. A C-terminal amino acid substitution in the γ -chain caused by a novel heterozygous frameshift mutation (Fibrinogen Matsumoto VII) results in hypofibrinogenaemia. *Thromb and Haemost* 2010 104: 213-223.

2)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 and Haemost* 2010 104: 1284-5

2. 学会発表

Ishida F, Okubo K, Ito T, Okumura N, Souri M, Ichinose A. Discrepancy between activity and antigen levels of Factor(F) XIII after administration of FXIII concentrates in hemorrhagic acquired FXIII deficiency due to its autoantibody. XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当事項なし

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

なし

分担課題：播種性血管内凝固（DIC）患者における FXIII 値

研究分担者 和田 英夫 三重大学検査医学 准教授

研究要旨

三重大学に 2010 年に入院した DIC 疑い症例について、以下の検討をした。ISTH 基準による DIC の合併は、212 例中 57 例であった。血漿 FXIII 抗原値は、非 DIC 症例に比べて DIC 症例で有意に低下した。また、DIC スコアと FXIII 抗原値は負の相関を示した。DIC 基礎疾患別の検討では、FXIII 抗原値は悪性腫瘍、感染症群、その他の 3 郡で有意な差は見られなかった。また、FXIII 抗原値は 28 日後の生存群と死亡群間に有意な差は見られなかった。一方、ヘモグロビン低下例では、FXIII 抗原値の有意な低下がみられた。以上の成績から、FXIII 抗原値は DIC で低下し、出血症状に関係している可能性が示唆された。

A. 研究目的

播種性血管内凝固（DIC）は凝固・線溶系が全身性に亢進して、重篤化すると出血や血栓性の臓器症状を呈する病態である。2001 年に国際血栓止血学会（ISTH）により、国際的な定義・概念や診断基準が提案された。DIC の出血傾向は線溶亢進によることも多いが、消耗性凝固障害に起因することも多いと考えられる。血液凝固 XIII 因子(FXIII)は、凝固の最終相であるフィブリンの安定化に関与する凝固因子であり、DIC でも消費により減少している可能性がある。本研究では、DIC における FXIII の動態を検討し、出血と FXIII との関係を解明することを目的とする。

B. 研究方法

2010 年 1 月 4 日から 2010 年 12 月 27 日まで三重大学附属病院に入院した 212 例で、悪性腫瘍 82 例、感染症 52 例、その他 78 例であった。そのうち、57 例（悪性腫瘍 24 例、感染症 19 例、その他 14 例）が ISTH の overt-DIC 診断基準により DIC と診断された。FXIII の測定はラテックス免疫凝集法により、エルピア FXIII（三菱化学メディエンス社製）を用いて行われた。

（倫理面への配慮）

倫理委員会の承認を得て、倫理委員会の指針に従い、個人情報の保護に留意して、患者名は匿名化して行った。

C. 研究結果

FXIII 抗原値は、DIC 群 {44.7 (33.4 - 56.3)%}、非 DIC 群 {59.8 (43.3 - 76.6) %} と、DIC 群で有意 ($p < 0.001$) に低値であった。基礎疾患別の FXIII 抗原値は、悪性腫瘍 DIC 群 {47.7(26.0 - 64.8) %}、感染症 DIC 群 {46.5(37.5 - 53.5)%}、その他 {34.8(25.8 - 52.1)%} と、それぞれ非 DIC 群に比べて有意に低値であった ($p < 0.001$)。一方、3 群間の FXIII 抗原値に有意な差は見られなかった。DIC スコア (X) と FXIII 抗原値 (Y) の相関は、 $Y = 92.9213 - 9.9291X$ ($r = -0.5946$, $p < 0.001$) であった。また、FXIII 抗原値は 28 日後の生存群 {46.7 (34.7 - 56.7) %}、死亡群 {38.4 (24.2 - 51.8) %} であり、両群間に有意な差は見られなかった。ヘモグロビン (Hb) が 9.0g/dl 以上の群と、9.0g/dl 未満の比較では、Hb > 9.0g/dl 群 {52.0 (36.3 - 61.6) %} に比べて、Hb < 9.0g/dl 群 {38.0 (24.7 - 48.5) %} であり、FXIII 抗原値は Hb < 9.0g/dl 群で有意に ($p < 0.05$) 低値であった。

D. 考察

DIC 症例では著しいフィブリンゲンならびにフィブリン分解産物 (FDP) の増加がみられ、微小血栓形成が全身性に多発していることが考えられる。FXIII はフィブリンの安定化因子であることから、大量のフィブリン形成に伴

い、血中の FXIII が著しく消費される可能性がある。また、DIC ではトロンビン、プラスミン、カテプシン G、エラスターゼなどの蛋白分解酵素が血中に放出される。このため、FXIII が分解される可能性もある。さらに、DIC では FXIII の産生の低下を合併する可能性もある。

DIC では臓器障害のほかに、出血症状をしばしば認める。DIC の出血原因としては、血小板数の低下、フィブリノゲンの低下などが線溶の著しい亢進が言われてきた。我々の検討では、Hb 低下例では、有意に FXIII 抗原値が低下していた。このことから、DIC の出血の原因として FXIII 値の低下が考えられた。DIC の出血に対する治療法の一つとして、FXIII の補充の可能性も考えられた。

E. 結論

DIC 症例では血漿中の FXIII 抗原値は低下し、DIC スコアと相関した。また、Hb の低下群では FXIII 値が有意に低下し、FXIII の低下が DIC の出血に関係している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takemitsu T, Wada H, Hatada T, Ohmori Y, Ishikura K, Takeda T, Sugiyama T, Yamada N, Maruyama K, Katayama N, Isaji S, Shimpo H, Kusunoki M, Nobori T: Prospective evaluation of three different diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost.* 2011; 105(1): 40-44
- 2) Jinda S, Nakatani K, Nishioka J, Yasuda K, Soya Y, Hayashi A, Wada H, Nobori T.: Personalized treatment in the eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Int J Mol Med.* 2011; 27(2): 255-261
- 3) Ito-Habe N, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Toyoda H, Ishikawa E, Nomura S, Komada Y, Ito M, Nobori T, Katayama N: Elevated Von Willebrand factor propeptide for the diagnosis of thrombotic microangiopathy and for predicting a poor outcome. *Int J Hematol.* 2011; 93(1): 47-52

- 4) Kanemitsu S, Shimono T, Nakamura A, Yamamoto K, Wada H, Shimpo H: Molecular diagnosis of nonaneurysmal infectious aortitis. *J Vasc Surg.* 2011; 53(2): 472-4
- 5) Mizuno S, Wada H, Hamada T, Nobuoka Y, Tabata M, Nobori T, Isaji S.: Lethal hepatic infarction following plasma exchange in living donor liver transplant patients. *Transpl Int.* 2011; 24(7):e57-8
- 6) Kawasaki K, Wada H, Hatada T, Okamoto K, Uchiyama T, Kushimoto S, Seki Y, Okamura T, Nobori T: Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee. Prospective evaluation of hemostatic abnormalities in overt DIC due to various underlying diseases. *Thromb Res.* 2011; 128(2):186-90
- 7) Ota S, Yamada N, Ogiwara Y, Tsuji A, Ishikura K, Nakamura M, Wada H, Ito M: High Plasma Level of Factor VIII. *Circ J.* 2011; 75(6): 1472-1475
- 8) Nakamura A, Abe K, Masuya M, Imai S, Ohishi K, Mori Y, Kojima T, Wada H, Katayama N, Nobori T: Efficiency of diversion of the first aliquot of blood and prestorage leukoreduction for preventing bacterial contamination in red blood cell concentrates assessed using a rapid polymerase chain reaction-based bacterial detection system. *Transfus Med.* 2011; 21(6): 365-70.
- 9) Yamaguchi Y, Moriki T, Igari A, Nakagawa T, Wada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Murata M.: Epitope analysis of autoantibodies to ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res.* 2011 128(2):169-73
- 10) Yoshida K, Wada H, Hasegawa M, Wakabayashi H, Ando H, Oshima S, Matsumoto T, Shimokariya Y, Noma K, Yamada N, Uchida A, Nobori T, Sudo A: Monitoring for anti-Xa activity for prophylactic administration of fondaparinux in patients with artificial joint replacement. *Int J Hematol.* 2011; 94(4): 355-360
- 11) Shindo A, Ikejiri M, Ii Y, Nakatani K, Wada H, Nobori T, Tomimoto H.: A novel protein S gene mutation combined with protein S Tokushima mutation in a patient

- with superior sagittal sinus thrombosis. *J Neurol.* 2012; 259(1): 178-9
- 12) Sakata K, Matsumoto T, Wada H; Kumamoto T, Iwamoto S, Ohishi K, Takahashi J, Katayama N, Komada Y: A case of 3-year-old male with severe haemophilia A on prophylaxis identified with a chronic subdural haematoma two years after the first episode of acute subdural bleeding. *Hemophilia*, 2012;18(1):e1-2
 - 13) Kanemitsu S, Shimono T, Yamamoto K, Shimpo H, Nakamura A, Wada H: Reply, *J Vasc Surg.* 2012; (in press)
 - 14) Habe K, Wada H, Ito-Habe N, Hatada T, Matsumoto T, Ohishi K, Maruyama K, Imai H, Mizutani H, Nobori T : Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF) and VWF Propeptide Profiles in Patients with DIC and Related Diseases. *Thromb Res.* 2012 (in press)
 - 15) Hatada T, Wada H, Kawasugi K, Okamoto K, Uchiyama T, Kushimoto S, Seki Y, Okamura T, Imai H, Kaneko T, Nobori T.: Analysis of the Cutoff Values in Fibrin-Related Markers for the Diagnosis of Overt DIC. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2012 (in press)
 - 16) Yoshida K, Wada H, Hasegawa M, Wakabayashi H, Matsumoto T, Shimokariya Y, Noma K, Yamada N, Uchida A, Nobori T, Sudo A.: Increased fibrinolysis increases bleeding in orthopedic patients receiving prophylactic fondaparinux. *Int J Hematol.* 2012 (in press)
 - 17) Ikejiri M, Shindo A, Ii Y, Tomimoto H, Yamada N, Matsumoto T, Abe Y, Nakatani K, Nobori T, Wada H.: Frequent association of thrombophilia in cerebral venous sinus thrombosis. *Int J Hematol.* 2012 (in press)
2. 学会発表
 - 1) 和田英夫：血栓・止血異常症診療センターの役割について、第21回日本臨床検査専門医会春季大会、2011年6月10-11日、岩手アイーナ
 - 2) 和田英夫：凝血学的所見、Reversed Clinicopathological Conference (RCPC), 第58回日本臨床検査医学会学術集会、2011年11月17-20日、岡山コンベンションセンター
 - 3) 和田英夫：血液学的所見、Clinicopathological Conference (CPC), 第58回日本臨床検査医学会学術集会、2011年11月17-20日、岡山コンベンションセンター
 - 4) Wada H, Nishioka J, Sakamoto Y, Shimokariya Y, Noma K, Abe Y, Nakatani K, Wada H, Hayashi T, Suzuki K, Nobori T: Change of behavior in C4B binding protein and protein S in the patient with inflammatory disease, XXIIIth ISTH Congress, July 25, 2011 in Kyoto, Japan
 - 5) Igari A, Moriki T, Yamaguchi Y, Nakagawa T, Wada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Soejima K, Murata M: Quantitative analysis of the domain-specific autoantibodies to ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura, The 53th Annual Meeting of The American Society of Hematology, San Diego, December 10-13, 2011
 - 6) Fujieda A, Nakamura A, Ohishi K, Minma F, Masuya M, Nakase K, Matsushima Y, Wada H, Nobori T, Katayama N: PCR analysis of bacteria and fungi in early phase of hematopoietic stem cell transplantation. The 53th Annual Meeting of The American Society of Hematology, San Diego, December 10-13, 2011
 - H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
 1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
特になし

分担課題：後天性第 XIII 因子欠乏症の凝血学的評価に関する研究

研究分担者 嶋 緑倫 奈良県立医科大学 小児科学 教授

研究要旨

後天性第 XIII 因子インヒビターの凝固機能を評価するために評価解析法について基礎的検討を行った。方法は全血を用いるトロンボエラストグラフィ法、aPTT 条件下に全凝固過程を網羅する凝固波形解析および内因性トロンビン生成法などの 3 つのグローバル凝固測定を実施した。いずれの測定法も凝固機能の評価法として有用であったが、FXIII 機能解析に最も適切な方法として ROTEM を採用した。しかし、研究期間内に後天性第 XIII 因子 (FXIII) 欠乏症診断例はなく、血友病患者における FXIII 活性について評価した。血友病患者 16 例において、非出血時の FXIII 活性は $72.9 \pm 17.3\%$ であった。出血時の FXIII 活性 (7 例) は $46.6 \pm 22.8\%$ と有意に低下した。臨床的にも治癒遷延や再出血をきたした 5 例において FXIII 製剤を実際に投与したところ、FXIII 活性は有意に上昇し、臨床的にも概ね有効であった。ROTEM による clot stability 解析では、再構成 FXIII 欠乏全血において、in vitro で添加した FXIII 製剤は濃度依存性にパラメータが改善し、FXIII 製剤投与患者においても投与後の改善を認めた。血友病患者の FXIII 活性は出血時に低下しており、ROTEM を用いた clot stability 解析がその評価に有用であった。本法は健常人に発症した後天性 FXIII 欠乏症においても有用と思われた。

A. 研究目的

凝固機能の評価は後天性第 XIII 因子 (FXIII) 欠乏症の重症度、診断、止血計画に重要であるが、FXIII レベルの評価以外に臨床的に有用な凝血学的評価法が確立されていない。そこで本疾患の凝固機能評価を目的に、凝固機能をよりグローバルに評価する測定方法について基礎的検討を実施した。当施設において研究期間内に後天性 FXIII 欠乏症の症例を認めなかったが、血友病診療を専門とする当科では血友病患者の出血後治癒遷延例や再出血例を経験することが少なくない。近年、血友病患者における FXIII 活性の低下例 (Brummel-Ziedins KE, et al. JTH 7:825-832, 2009) や、重症血友病 A インヒビター症例における遺伝子組み換え型活性型第 VII 因

子製剤 (rFVIIa) 治療の際に、FXIII 製剤の併用の有効性が報告されている (Rea CJ, et al. JTH 9:510-516, 2011)。我々は FXIII 活性が低下し、FXIII 製剤投与が有効であった血友病症例を経験した。そこで、血友病患者における FXIII 活性とその凝血学的評価に着目して研究を実施した。

B. 研究方法

まず以下の 3 つのグローバルな凝固機能測定法において基礎検討を実施した。

①凝固波形解析: FXIII はフィブリンの安定化に必要な凝固因子であるが、凝固過程のフィブリン形成過程に FXIII が関与する可能性は否定できない。この仮説にもとづき、クエン酸加血漿検体をエラグ酸、塩化カルシウ

ム、合成リン脂質をトリガーとして凝固を開始させ、フィブリン形成速度をリアルタイムに透過度をモニタリングすることにより、凝固波形を描出させた。さらに透過度を1次微分、2次微分することによりフィブリン形成速度、加速度さらにそれぞれの最大値を定量的パラメーターとして算出するシステムを構築した。また、凝固前後の透過度の差によりフィブリン形成量を評価した。

② Rotational thromboelastometry (ROTEM) : FXIII 欠乏状況における凝固機能の影響を各種血液細胞存在下の全血検体で検討するために、凝固過程の粘性/弾性の変化をモニタリングして、デジタル化するROTEMを使用した。本システムではクエン酸加全血に塩化カルシウムを添加して凝固を惹起させて実施する。得られた波形にて定性的解析を実施するのみならず、データをコンピュータ解析することにより、凝固開始までの時間 (Clotting time:CT)、凝固速度を反映する血餅形成時間(Clots formation time:CFT)、産生された血餅の強度や硬度を反映する最大血餅硬度(Maximum clot firmness:MCF)などの定量的パラメーターを算出した。Reaらは、Rotational thromboelastometry (ROTEM) を使用し、チトラート採血した全血に凝固トリガーとして Ca と TF を加え、さらに tPA を同時に添加することで線溶抵抗性を評価 (clot stability 解析) し、MCF 等を用いて FXIII の機能的評価を実施しており、我々はこの方法を採用した。

③ トロンビン生成試験 : 凝固反応はトロンビンが生成されてフィブリンが形成して終結する。したがって、トロンビン生成を評価することは凝固機能を評価する上にきわめて重要である。教室ではトロンビン生成能の感度を上げ、さらに、細胞基盤モデルに基づく生理的な凝固機構を反映する測定システムを開発した。凝固開始トリガーはきわめて微量な遺伝子組み替え型組織因子(0.5pM)、合成リン脂質 (PC/PS/PE)、塩化カルシウム、エラグ酸を用いた。生成されたトロンビンを Thrombinoscope 社のソフトウェアで解析し、トロンビン生成開始までの lag time, トロンビンピーク値である peak thrombin, ピークまでの時間 time to peak, 総トロンビン生成量 endogenous thrombin potential などの定量的パラメーターを算出した。本システムは内因系を活性化する微量のエラグ酸を添加しているが、lag time には影響を及ぼさな

った。トロンビン生成がきわめて低下する血友病 A などの低い凝固機能も評価することが可能であった。

こうした基礎検討の期間中に FXIII の機能評価においては血小板との相互作用が重要であることが報告された (Kasahara K, et al. Blood 115:1277-1279, 2010)。これをふまえて、以降の FXIII 機能解析は ROTEM を中心に実施した。

まず健常ボランティアから採取した洗浄血球成分に市販の FXIII 欠乏血漿を添加することで再構成 FXIII 欠乏全血を作成し、FXIII 製剤を in vitro で添加し、MCF を評価した。次に患者検体での検討を計画したが、後天性 FXIII 欠乏症の患者が現れなかったため、血友病患者で非出血時、出血時、症例によっては FXIII 製剤補充時の FXIII 活性を評価した。FXIII 補充治療を実施した患者では clot stability 解析も実施した。

(倫理面への配慮)

採血は、健常ボランティア及び患者の同意のもと実施した。また、患者採血は診療上の必要性のある時に合わせて実施し、本研究のみを目的とした採血は実施していない。

C. 研究結果

凝固波形解析により凝固過程を波形として描出することにより、凝固機能の定性的評価が可能であるのみならず、最大凝固速度や加速度などの定量的パラメーターが有用であった。ROTEM 解析は全血を用いた生理的条件下に最も近い環境での測定であり、止血機構上重要な凝固および血小板凝集過程の両方を反映する点、凝固機能の評価に重要と考えられた。トロンビン生成試験はフィブリン形成過程の前のトロンビン生成レベルを評価する方法で、血友病を代表とする凝固因子欠乏症や後天性血友病 A の凝固機能評価には極めて有用であった。

前述のようにこれらの方法から FXIII 機能解析に最も有用な方法として ROTEM を採用し以降の検討を実施した。

血友病患者 16 例 (血友病 A 15 例、うちインヒビター保有 8 例、血友病 B 1 例。平均年齢 18.3 ± 16.4 歳、 $0.2-48$ 歳) において、非出血時の FXIII 活性は平均 $72.9 \pm 17.3\%$ であった。このうち 7 例では出血時の FXIII 活性も評価でき、平均 $46.6 \pm 22.8\%$ と有意な低下を認めた。さらに血友病の標準的治療に対して、治癒遷延や再出血をきたしている 5 例におい

て FXIII 製剤 (フィブログミン P) を実際に投与したところ、FXIII 活性は平均 104.4 ± 33.5% と有意に上昇し、臨床的にも概ね有効であった。次に ROTEM による clot stability 解析では、再構成 FXIII 欠乏全血において、in vitro で添加した FXIII 製剤は濃度依存性に MCF を増加させたが、その効果は 1.0U/ml 前後でプラトーに達した。FXIII 製剤投与患者においても投与後に MCF の増加を認めた。

D. 考察

Ca/TF/tPA をトリガーとした ROTEM の clot stability 解析は、他の補充療法やトランサミンの影響を受ける点を考慮しつつも、FXIII 機能評価に有用であった。さらに健常者の洗浄血球と保存血漿検体を混和する再構成全血を用いることで利用機会が増えることが期待できる。今回の血友病患者の結果は FXIII の重要性を示しており、本研究は血友病研究の進展にも寄与した。一方、汎用性と再現性の観点からは Clot stability 解析の原理を凝固波形解析に応用し、血漿検体のみで実施する方法についても検討の余地がある。

E. 結論

凝固波形解析、ROTEM およびトロンビン生成測定は先天性および後天性凝固因子欠乏症における凝固機能解析に有用であり、FXIII 機能解析においては ROTEM を用いた clot stability 解析が特に有用であった。本研究結果は、血友病患者における FXIII 活性の重要性を示し、ROTEM を用いた本法は健常人に発症した後天性 FXIII 欠乏症においても有用と思われた。

F. 健康危険情報

本研究における健康上有害となる問題は起こらなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shirahata A, Fukutake K, Mimaya J, Takamatsu J, Shima M, Hanabusa H, Takedani H, Takashima Y, Matsushita T, Tawa A, Higasa S, Takata N, Sakai M, Kawakami K, Ohashi Y, Saito H. Clinical pharmacological study of a plasma-derived factor VIIa and factor X mixture (MC710) in haemophilia patients with inhibitors - Phase I trial. *Haemophilia*. 2012 18(1):94-101
- 2) Ljung R, Oldenburg J, Auerswald G, van den Berg M, Shima M, Dimichele D. Report of the Fifth Meeting of the International Network for Pediatric Hemophilia: a focus on prophylaxis and immune tolerance induction. *Int J Hematol* 2011 94(4):415-21
- 3) Soeda T, Nogami K, Ogiwara K, Shima M. Interactions between residues 2228-2240 within factor VIIIa C2 domain and factor IXa Gla domain contribute to propagation of clot formation. *Thromb Haemost* 2011 106(5):893-900
- 4) Ogiwara K, Nogami K, Shima M. Factor VIII activation by factor VIIa analog (V158D/E296V/M298Q) in tissue factor-independent mechanisms. *Thromb Haemost* 2011 106(4):665-674
- 5) Shibata M, Nakagawa T, Akioka S, Giddings JC, Kanehiro H, Matsumoto T, Ogiwara K, Yada K, Shima M Hemostatic Treatment Using Factor VIII Concentrates for Neutralizing High-Responding Inhibitors Prior to CVAD Insertion for Immune-Tolerance Induction Therapy. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011 18(1):66-71
- 6) Shirahata A, Fukutake K, Higasa S, Mimaya JI, Oka T, Shima M, Takamatsu J, Taki M, Taneichi 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* 2011 17(5):771-6
- 7) Nogami K, Ogiwara K, Matsumoto T, Nishiya K, Takeyama M, Shima M Mechanisms of human neutrophil elastase-catalysed inactivation of factor VIII(a). *Thrombosis and Haemostasis*. 2011 105(6):968-80.
- 8) Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shibata M, Shima M. Effects of anti-factor VIII inhibitor antibodies on factor VIIa/tissue factor-catalysed activation and inactivation of factor VIII. *Thrombosis and Haemostasis*. 2011 105(6):989-98.
- 9) 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 Coagulation and Fibrinolysis*. 2011 22(4):271-9.
- 10) Teitel J, Berntorp E, Dolan G, Fischer K, Gringeri A, Kessler C, Lambert T, Leissinger C, Nemes L, Shima M A consensus statement on clinical trials of bypassing agent prophylaxis in inhibitor patients. *Haemophilia* 2011 17(3):516-21.
- 11) 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. *Thrombosis Research*. 2011 128(1):54-61.
- 12) Tsukamoto S, Tanaka Y, Matsuda T, Shinohara Y, Taniguchi A, Kumai T, Tomiwa K, Tanaka I, Shima M, Yoshioka A. Arthroscopic ankle arthrodesis for hemophilic arthropathy: Two cases report. *The Foot* 2011 21(2):103-5.
- 13) Hayashi T, Sakurai Y, Fukuda K, Yada K, Ogiwara K, Matsumoto T, Yoshizawa H, Takahashi Y, Yoshikawa Y, Hayata Y, Taniguchi S, Shima M. Correlations between global clotting function tests, duration of operation, and postoperative chest tube drainage in pediatric cardiac surgery. *Paediatric Anaesthesia* 2011 21(8) 865-71
- 14) Hamada M, Sugimoto M, Matsui H, Mizuno T, Shida Y, Doi M, Fukushima H, Nishio K, Yoshioka A, Shima M Antithrombotic properties of pravastatin reducing intra-thrombus fibrin deposition under high shear blood flow conditions. *Thrombosis and Haemostasis* 2011 105(2):313-20.
- 15) Soeda T, Nogami K, Matsumoto T, Ogiwara K, Shima M. Mechanisms of factor VIIa-catalyzed activation of factor VIII. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2010 8(11):2494-503.
- 16) Ogiwara K, Nogami K, Nishiya K, Shima M Plasmin-induced procoagulant effects in the blood coagulation: a crucial role of coagulation factors V and VIII. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 2010 21(6):568-76.
- 17) Ohashi K, Koyama F, Tatsumi K, Shima M, Park F, Nakajima Y, Okano T. Functional life-long maintenance of engineered liver tissue in mice following transplantation under the kidney capsule. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*. 2010 4(2):141-8.
- 18) Ohashi K, Tatsumi K, Utoh R, Takagi S, Shima M, Okano T Engineering liver tissues under the kidney capsule site provides therapeutic effects to hemophilia B mice. *Cell Transplantation* 2010 19:807-13.
- 19) Collins P, Baudo F, Huth-Kuhne A, Ingerslev J, Kessler CM, Mingot Castellano ME, Shima M, St-Louis J, Levesque H. Consensus recommendations for the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *BMC Research Notes*. 2010 3:161.
- 20) Nishiya K, Nogami K, Okada K, Matsuo O, Takeyama M, Ogiwara K, Shima M. Determination of a factor VIII-interactive region within plasmin responsible for plasmin-catalysed activation and in activation of factor VIII(a). *Thrombosis and Haemostasis*. 2010 104:105-17.
2. 学会発表
(2011年)
- 1)Basis and clinical practice for hemophilia with inhibitor Shima M 52nd spring meeting of the Korean society of hematology 5月23日 Seoul,Korea
- 2)Diagnosis of type 2n von willebrand disease in a Japanese patient by pharmacokinetics, factor VII binding assay and gene analysis Chikasawa Y, Amano K, Shinozawa K, Matsumoto T, Inaba H, Shima M, Fukutake K XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月25日 Kyoto
- 3)Isoelectric focusing analysis with a large-pore agarose-acrylamide composite gel identified two forms of adamts13, unbound and bound to von willebrand factor,in plasma milieu Horii Y, Isonishi A,

- Soejima K, Matsumoto M, Shima M, Fujimura Y XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月25日 Kyoto
- 4) Imaging evaluation of arthropathy at the beginning of prophylactic therapy for severe hemophilia children Kitsukawa K, Takedani H, Shima M, Taki M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月25日 Kyoto
- 5) Fine (feiba inhibitor entry) post-authorization safety surveillance (pass) : capturing long-term experience in Japanese inhibitor subjects under routine clinical management Higasa S, Amano K, Hanabusa H, Muto S, Matsushita T, Shima M, Fujii T, Sakai M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月25日 Kyoto
- 6) Antithrombotic properties of pravastatin reducing intra-thrombus fibrin deposition under high shear blood flow conditions Sugimoto M, Hamada M, Matsui H, Doi M, Matsunami Y, Fukushima H, Nishino K, Yoshioka A, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月26日 Kyoto
- 7) Markedly shortened half-life of the administered factor XII concentrates during first replacement therapy in a newborn with severe congenital FXII deficiency Fujii N, Souri M, Shima M, Tomoyasu C, Isoda K, Ichinose A XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月26日 Kyoto
- 8) The post-authorization safety Surveillance program confirmed actual clinical safety and efficacy of recombinant plasma/albumin-free method factor VII in Japan Fukutake K, Hanabusa H, Taki M, Matsushita T, Shima M, Shirahata A XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月26日 Kyoto
- 9) Clinical experience previously untreated patients with antihemophilic factor (recombinant), plasma/albumin-free method from post-authorization safety surveillance in Japan Taki M, Hanabusa H, Fukutake K, Matsushita T, Shima M, Shirahata A XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月26日 Kyoto
- 10) Prospective advance immune tolerance registry in Japanese hemophilia A patients with inhibitors: an interim report Matsushita T, Hanabusa H, Fukutake K, Taki M, Shima M, Shirahata A XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月26日 Kyoto
- 11) Clinical and laboratory results from adepttm 1, a phase 2 trial investigating the use of recombinant activated FVII analogue in congenital haemophilia patients with inhibitors Erich de Paula, Kaan Kavakli, Johnny Mahlangu, Yasmin Ayob, Steven R Lentz, Massimo Morfini, Laszlo Nemes, Silva Zupancic Salek, Shima M, Jerzy Windyga, Silke Ehrenforth, Henning Friis Andersen, Ampaiwan Chuansumrit XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 12) Clinical pharmacological study of a plasma-derived factor VIIa and factor X mixture (MC710) in haemophilia patients with inhibitors-phase 1 trial Matsushita T, Shirahata A, Fukutake K, Mimaya J, Takamatsu J, Shima M, Hanabusa H, Takedani H, Takashima Y, Tawa A, Higasa S, Takata N, Sakai M, Kawakami K, Ohashi Y XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 13) Functional characterization of immobilized factor VIII in intrathrombus fibrin network formation under whole blood flow conditions with high shear rates Doi M, Sugimoto M, Matsui H, Matsumoto M, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 14) Coagulation velocity and acceleration correlate with clinical phenotype of patients with acquired factor V inhibitors Matsumoto T, Nogami K, Ogiwara K, Tsujii N, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and

- Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 15) Elevated plasma levels of factor VII enhance thrombus formation though excess thrombin generation in rabbit jugular vein Sugita C, Yamashita A, Matsuda S, Goto S, Matsumoto T, Inoue O, Iwakiri T, Matsuura Y, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 16) The first national survey of pediatric thromboembolism in Japan Ishiguro A, Taki M, Manabe A, Ogawa C, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 17) An analysis of factors affecting the incidence of inhibitor formation in patients with congenital haemophilia in Japan Shirahata A, Fukutake K, Higasa S, Mimaya J, Oka T, Shima M, Takamatsu J, Taki M, Taneichi M, Yoshioka A XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 18) Perioperative hemostatic management for coarctation of aorta in a nearly infant with severe haemophilia A Furukawa S, Yoshizawa H, Ogiwara K, Nogami K, Nishiya K, Tanaka I, Yoshikawa Y, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 19) Procoagulant effect of tranexamic acid with minimal urokinase on ex vivo human hemophilia model under blood flow Ogiwara K, Nogami K, Hosokawa K Matsumoto T, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月27日 Kyoto
- 20) Mild clinical phenotype in a severe hemophilia A with age 178 his substitution associated with increased factor Xa generation Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shibata M, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月28日 Kyoto
- 21) A novel missense mutation of factor V (factor V nara:W1920R) manifested thrombosis and demonstrated a positive result of activated protein C resistance assay Shinozawa K, Nogami K, Ogiwara K, Matsumoto T, Amano K, Shima M, Fukutake K XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月28日 Kyoto
- 22) Dynamics of plasma factor VII during the continuous infusion factor VII concentrates in twenty patient with hemophilia A Nishiya K, Nogami K, Tanaka I, Shibata M, Ogiwara K, Matsumoto T, Shima M XXII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 7月28日 Kyoto
- 23) 活性化プロテインC抵抗性の新規凝固第V因子分子異常症(W1920R)の凝血学的特性と抗凝固療法の確立 荻原 建一, 野上 恵嗣, 篠澤 圭子, 松本 智子, 古川 晶子, 西屋 克己, 福武 勝幸, 嶋 緑倫 第73回 日本血液学会 10月16日 名古屋市
- 24) 自己血管内皮前駆細胞移植による血友病Aインヒビターに対する新規免疫寛容導入療法 松井 英人, リリクラップ デービット, 杉本 充彦, 嶋 緑倫 第73回 日本血液学会 10月16日 名古屋市
- 25) The first national survey of thrombotic disorders in Japanese children Ishiguro A, Taki M, Manabe A, Ogawa C, Nakadate H, Shima M Division of Hematology, National Center for Child Health and Development 第73回 日本血液学会 10月16日 名古屋市
- 26) Evaluation of coagulation function on the clinical phenotype with acquired FV inhibitor patients Matsumoto T, Nogami K, Ogiwara K, Yada K, Shima M 第73回 日本血液学会 10月14日 名古屋市
- 27) Effects of anti-FVIII inhibitors on the FVIII neutralization for hemophilia A with inhibitor Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shima M 第73回 日本血液学会 10月14日 名古屋市
- 28) 血友病Aインヒビター保有患児における第VIII因子製剤によるインヒビター中和/持続輸注療法の凝血学的検討 西屋 克己, 柴田 優, 野上 恵嗣, 荻原 建一, 田中 一郎, 松本 智子, 嶋 緑倫 第53回 日本小児血液・がん学会 第9回 日本小児がん看護学会 11月25日 前橋市

- 29)第Ⅷ因子欠乏型出血症状であると凝血学的に診断できた type 3 von Willebrand 病の 1 例
古川 晶子, 荻原 建一, 野上 恵嗣, 細川 和也, 松本 智子, 西屋 克己, 嶋 緑倫
第 53 回 日本小児血液・がん学会 第 9 回
日本小児がん看護学会 11 月 25 日 前橋市
- 30)A novel mechanism of Enhancing the Haemostatic Effect in the Combination with Recombinant Factor VIII and Activated Prothrombin Complex Concentrate(APCC) in Hemophilia A Patients with Inhibitor Yada K, Nogami K, Ogiwara K, Shima M American Society of Hematology 12 月 10 日 San Diego
- 31)"Evaluation of Comprehensive Hemostatic Function of Patients with Von Willebrand Disease (VWD) Under Flow Using a New Microchip Flow Chamber System Ogiwara K, Hosokawa K, Nogami K, Matsumoto T, Shima M, Nishiya K, Tanaka I, Nogami K, Ogiwara K, Yada K, Matsumoto T American Society of Hematology 12 月 11 日 San Diego
- 32)Mechanism of the Potent Activated Protein C Resistance of Novel Factor V Mutation with W1920R (FV Nara) Relative to R506Q (FV Leiden) Ogiwara K, Shinozawa K, Nogami K, Matsumoto T, Nishiya K, Tsujii N, Yada K, Fukutake K, Shima M American Society of Hematology 12 月 12 日 San Diego
- 33)Pharmacokinetics of Continuous Infusion Therapy of Factor VIII Concentrates in Hemophilia A Patients with Inhibitors Nishiya K, Tanaka I, Nogami K, Ogiwara K, Yada K, Matsumoto T, Shima M American Society of Hematology 12 月 12 日 San Diego
- 34)Evaluation of Comprehensive Hemostatic Function of Patients with Von Willebrand Disease (VWD) Under Flow Using a New Microchip Flow Chamber System Ogiwara K, Hosokawa K, Nogami K, Matsumoto T, Shima M American Society of Hematology 12 月 13 日 San Diego
- (2010 年)
- 1)救命しえた新型インフルエンザ出血性ショック脳症の一例 芳賀 大樹, 櫻井 嘉彦, 星野 永, 西屋 克己, 嶋 緑倫 第 23 回 近畿小児科学会 3 月 14 日
- 2)血液凝固第 IX 因子産生責任細胞の同定 辰巳 公平, 大橋 一夫, 立野 知世, 吉里 勝利, 嶋 緑倫, 岡野 光夫 第 9 回 日本再生医療学会 3 月 18 日
- 3)凝固因子遺伝子発現変化からみた肝構成細胞の発育パターンの多様性 辰巳 公平, 大橋 一夫, 嶋 緑倫, 岡野 光夫 第 9 回 日本再生医療学会 3 月 18 日
- 4)マウス iPS 細胞の肝細胞への分化過程における凝固関連遺伝子発現プロファイルの変化 櫻井 嘉彦, 粕田 承吾, 加藤 順子, 竹田 知広, 嶋 緑倫 第 9 回 日本再生医療学会 3 月 18 日
- 5)小児の出血性疾患の診療 嶋 緑倫 奈良県小児科医会学術集会 3 月 20 日
- 6)発育過程にあるマウスの肝臓における各種凝固因子の遺伝子発現プロファイル 辰巳 公平, 大橋 一夫, 民西 早苗, 嶋 緑倫, 岡野 光夫 第 33 回 日本血栓止血学会 4 月 23 日
- 7)活性型第Ⅷ因子/組織因子複合体は凝固初期相から内因系 tenase 活性を発動する 荻原 建一, 野上 恵嗣, 奥田 昌宏, 嶋 緑倫 第 33 回 日本血栓止血学会 4 月 23 日 鹿児島市
- 8)第Ⅷ因子発現レンチウイルスベクターによる血友病 A インヒビターに対する新規免疫寛容法 松井 英人, 杉本 充彦, デービット リククラブ, 柴田 優, 嶋 緑倫 第 33 回 日本血栓止血学会 4 月 23 日 鹿児島市
- 9)全血血流下におけるトラネキサム酸の凝固亢進作用 荻原 建一, 野上 恵嗣, 細川 和也, 松本 智子, 嶋 緑倫 第 33 回 日本血栓止血学会 4 月 23 日 鹿児島市
- 10)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 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 4 月 23 日 鹿児島市
- 11)後天性血友病 A type1 のトロンビン生成能低下とその抑制機序の解明 松本 智子, 野上 恵嗣, 荻原 建一, 嶋 緑倫 日本血栓止血学会 4 月 24 日 鹿児島市
- 12 各種第 VIII 因子インヒビターの活性型第 VII 因子による第 VIII 因子活性化/不活性化に対する影響)矢田 弘史, 野上 恵嗣, 荻原 建