

201324090B

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

診断困難な（原因不明の）出血性後天性  
凝固異常症の総合的診療指針の作成  
に関する研究

平成24～25年度 総合研究報告書

研究代表者 一 瀬 白 帝

平成26(2014)年 3月

# 目 次

I. 研究班 班員名簿 -----	1
平成24年度 班員名簿	
平成25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 -----	23
惣宇利正善 山形大学医学部 分子病態学 准教授	
尾崎 司 山形大学医学部 分子病態学 助教	
松下 正 名古屋大学医学部附属病院 輸血部 教授	
浦野 哲盟 浜松医科大学 医生理学 教授	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	37
平成24年度	
平成25年度	
V. 参考資料 -----	41

## I. 研究班 班員名簿

# 平成24年度

## 診断困難な（原因不明の）出血性後天性凝固異常症の総合的診療指針の作成 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	准教授
	尾崎 司	山形大学医学部 分子病態学	助教
	松下 正	名古屋大学医学部附属病院 輸血部	教授
	浦野 哲盟	浜松医科大学 医生理学	教授
研究協力者	山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学	准教授
	矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	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
	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	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 検査医学	准教授
	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講座	教授
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 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
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 外科	准教授
	池田 正孝	国立病院機構 大阪医療センター 外科	医長
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講師
	伊藤 俊広	国立病院機構 仙台医療センター 血液内科	医長
	黒澤 秀光	獨協医科大学 小児科学	准教授
	朝倉 英策	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部	准教授
	柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	講師
	日笠 聡	兵庫医科大学 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
	内場 光浩	熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	助教
	毛利 博	藤枝市立総合病院	事業管理者（院長）
	岡村 孝	久留米大学 内科学講座 血液・腫瘍内科	教授
岡本 好司	北九州市立八幡病院 消化器・肝臓病センター 外科	センター長、外科主任部長	

# 平成25年度

## 診断困難な（原因不明の）出血性後天性凝固異常症の総合的診療指針の作成 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	准教授
	尾崎 司	山形大学医学部 分子病態学	助 教
	松下 正	名古屋大学医学部附属病院 輸血部	教 授
	浦野 哲盟	浜松医科大学 医生理学	教 授
研 究 協 力 者	家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	教 授
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講 師
	伊藤 俊広	国立病院機構 仙台医療センター 血液内科	医 長
	川前 金幸	山形大学医学部 麻酔科学	主任教授
	山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学	准教授
	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
	黒澤 秀光	獨協医科大学 小児科学	准教授
	小川 孔幸	群馬大学大学院医学系研究科 生体統御内科(血液内科)	助 教
	矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	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
	川杉 和夫	帝京大学医学部 内科学	教 授
	石田 文宏	信州大学医学部 内科学第二	准教授
	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講座	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
	細野奈穂子	福井大学医学部附属病院 血液腫瘍内科	助 教
	毛利 博	藤枝市立総合病院	事業管理者 (院長)
	小林 隆夫	浜松医療センター	院 長
	和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 検査医学	准教授
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 輸血管理室	医 長
	柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	講 師
	池田 正孝	国立病院機構 大阪医療センター 外科	医 長
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 外科	准教授
	日笠 聡	兵庫医科大学 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
	岡本 好司	北九州市立八幡病院 消化器・肝臓病センター 外科	センター長、 外科主任部長
	岡村 孝	久留米大学 内科学講座 血液・腫瘍内科	教 授
	内場 光浩	熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	助 教
	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
	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

## Ⅱ. 総括研究報告

総合・総括研究報告書

診断困難な(原因不明の)出血性後天性凝固異常症の総合的診療指針の作成

研究代表者： 一瀬 白帝 山形大学医学部 教授

研究要旨

人口の高齢化と共に増加しつつある出血性後天性凝固異常症は、一般凝固検査でスクリーニングが容易なものと困難なものに分類され、前者は比較的容易に診療可能であるが、後者は臨床現場では原因不明の出血とされ易い。そこで、後者の実態を初めて調査して、特別精密検査により迅速に診断し、的確に治療するアルゴリズムを構築して、本疾患群の総合的診断基準と治療指針を作成することが本研究の目的である。

2年間の本研究は、代表者1名、分担者4名、協力者27名の体制で実施した。調査活動を広報し、全国アンケート調査で症例の発掘/集積を実施して、基礎疾患の同定、抗体の検出、その標的的同定、その性状の解析、新しい凝固因子抗体検出方法、インヒビター検査法の開発等を行った。平成24年度は延べ145例、平成25年度は(平成26年1月31日現在)延べ114例とその家族についてコンサルテーションと種々の検査を行って診断、治療を実施した。症例の追跡調査の結果、「後天性血友(出血)病XIII/13は慢性難治性疾患である」というパラダイムシフトを提唱した。また、平成23年7月に、特に後天性出血病XIII/13の治療に不可欠なXIII/13因子濃縮製剤の保険適応外申請を提出し、平成24年12月の厚生労働省担当部署の問合せに対応して、XIII/13因子濃縮製剤の投与量についての緊急調査(メールアンケート)を実施して回答していたところ、平成25年4月25日付けで保険適用として頂くことができた。

平成25年度は最終年度であったが、後天性von Willebrand症候群を多く診療すると推定される循環器内科331件を新たに対象に加えて広報と調査の範囲を拡大して更に多くの症例を集積し、主治医と連携して症例ごとに検査、診断、治療の最適化を試みた。研究班で把握した後天性von Willebrand症候群症例は2年間で通算7例で、更に増加しつつある。研究終了時に、蓄積した経験と集積したデータを元に、検査、診断、治療に関する指針を「参照ガイド」として作成したので、日常診療の参考に提供する予定である。なお、検査・診断のアルゴリズムに加え、日本語版出血スコアと出血の重症度分類を新たに作成したので、医療を必要とする本疾患群の症例を効率良くスクリーニングすることが可能になるものと期待される。一般向けに「原因不明の」出血性後天性凝固異常症とは?という短文を、日本血栓止血学会ホームページに掲載して頂いて、社会への周知に努めた。

なお、本研究の特別・精密検査は、山形大学医学部倫理委員会の承認と主治医が症例や家族から同意文書を得て実施した。

研究分担者

惣宇利正善 山形大学医学部 准教授

尾崎 司 山形大学医学部 助教

松下 正 名古屋大学医学部 教授

浦野 哲盟 浜松医科大学 教授

A. 研究目的

人口の高齢化と共に増加しつつある出血性後天性凝固異常症(線溶異常症を含む;主に欠乏症、図1)は、一般凝固検査でスクリーニングが容易なもの(診断容易群)と、スクリーニングが困難なもの(診断困難群)に分類され、診断容易群は比較的容易に診療可能であるが、診断困難群は臨床現場では原因不明の出血と

されて見逃され易い。そこで、①診断困難群の実態を初めて調査、②迅速な検査と診断のアルゴリズムを構築、③本疾患群の総合的診断基準と治療指針を作成することが本研究の目的である。

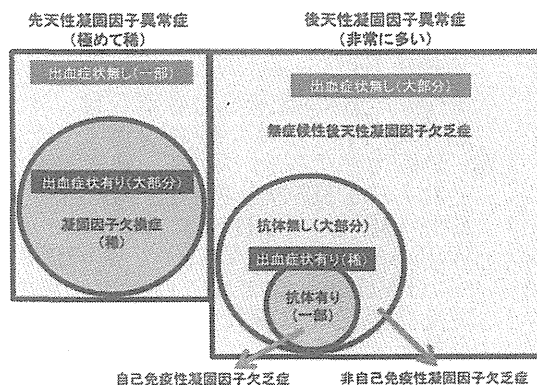


図1 本症の概念図

具体的には、以下の4項目の実現を目標とした。

- 1) 出血性後天性凝固異常症を診断容易な疾患と診断困難な疾患に分類し、確定診断に至るアルゴリズムを作成する。
- 2) 出血性後天性凝固異常症の実態を明らかにする。
- 3) 出血性後天性凝固異常症の総合的診断基準と治療指針を作成する。
- 4) 総合的診断基準と治療指針を全国に発信し、症例の発見を促進する。

## B. 研究方法

平成24, 25年度を通じて、本研究班は、代表者1名、分担者4名、協力者27名から構成された。

### 基本デザイン：

全国調査の実施を広報して、主治医からの相談を受け、特別精密検査を委託し、分子病態学的検査を実施した。結果を迅速に通知し、診断、治療する。調査票（各年度の報告書参考資料を参照）をまとめて指針作成の基礎データとする。100名を年間目標症例数とした。

### 平成24年度研究方法：

#### 1) 調査広報

山形大学の主管で実施した。

- (1) 本疾患群の広報チラシ（平成24年度報告書の参考資料を参照）を作製して、原因不明の出血症例に最初に遭遇する救急部、整形外科、皮膚科、老年科と、その相談を受ける血液内科に送付した。今年度中に開催されるそれらの学術集会以配布して、本疾患群の存在と全国調査活動の周知を図った。
- (2) 全国アンケート調査を実施して実態をまとめた。
- (3) 国内外の学会や各種の研究会や学術雑誌で研究成果を発表して診断・治療に関する知識の伝達に努め、世界中で発生している症例の診療に国際貢献している。

#### 2) 血栓止血学的臨床研究

研究代表者と研究協力者が実施した。

- (1) 症例のスクリーニング：一般凝固検査によるスクリーニングで原因不明な本疾患群疑い症例の主治医からの相談を主に全国の研究協力者が受け、本疾患群の可能性の高い症例を選択した。
- (2) 診断方法の検討：症例、健常対照、それらの1:1混合血漿のPT, aPTTや第XIII/13因子 (FXIII/13), von Willebrand因子 (VWF), 第VIII/8因子 (FVIII/8) などの活性と抗原量の測定を検査受託会社に特別委託し、迅速に検査結果を得て、迅速な診断・治療を可能にした。
- (3) 止血療法の検討：何れかの凝固因子の著しい低下が認められた場合は、当該因子を含む血漿製剤を可及的速やかに

に投与して、止血効果を確認した。

- (4) 免疫抑制療法の検討：何れかの凝固因子のインヒビターの存在が疑われた場合は、可及的速やかに副腎皮質ステロイド、シクロフォスファミドの投与を開始した。以後、インヒビターの消長を観察しつつ治癒まで加療した。
- (5) 代替的止血療法の検討：確定診断が付くまでの期間や欠乏した凝固因子を含む血漿製剤が入手できるまでの間は、トランサミンや活性型凝固因子製剤を投与し、止血効果を観察した。

#### 3) 分子病態学的研究

主に山形大学と名古屋大学、浜松医科大学の研究分担者が実施した。

- (1) インヒビターの同定：混合血漿の検査で凝固因子のインヒビターの存在が疑われた場合は、免疫学的な測定法で検出し、抗体があるか否かを判定した。
- (2) 抗凝固因子モノクローン抗体産生細胞の樹立：インヒビターが抗体である場合は、末梢リンパ球から細胞株を樹立することを試みる予定であったが、方法が未確立であり研究費の削減に伴い計画から削除した。
- (3) 迅速インヒビター検査の開発：免疫抑制療法の必要性を速やかに決定するために、イムノクロマト法を応用した検査法を考案した。
- (4) 抗線溶反応のグローバルな検査法を開発：これまで見逃されていた可能性の高い抗線溶因子欠乏症を検索する方法を考案した。

### 平成25年度研究方法：

平成24年度とほぼ同様である。（ただし、以下の下線部は、中間評価の指摘に対応して強調した方針である。）全国調査の実施を広報して、本疾患群疑い症例の相談を受け、特別精密検査を委託し、分子病態学的検査を実施した。検査結果を迅速に通知し、確定診断、最適な治療を実施した。調査票をまとめて本疾患群の診断基準と診療ガイドライン（参照ガイド）のそれぞれ改訂案や素案を作成した。

100名を年間目標症例数として、各研究者が調査したが、削減された研究予算総額と1症例当たりの所要金額のバランスを鑑みて、登録症例のうち特に診断困難群である可能性の高い症例のみを選択して精密検査を行なった。診断容易群については、北海道、東北、北陸地方の研究者が連携して活動している北日本後天性血友病診療ネットワーク連絡会（仮称）に通知してケアを確保した。

平成25年度は、広報の範囲を拡大して更に多くの症例を集積し、症例ごとに検査、診断、治療の最適化を試みた。その際、出血スコアを試用して、症状の重篤性、治療による改善の程度を評価した。また、新規開発したイムノクロマト抗体検出法の感度



・特異性、グローバル抗線溶能検査の有用性を検証した。本研究報告書作成時に、蓄積した経験と集積したデータを元に、検査、診断、治療に関する指針案を作成した。

(倫理面への配慮)

山形大学医学部倫理委員会の承認を得て、主治医が症例や家族から同意文書を得て実施した。

### C. 研究結果

平成24年度研究結果：

#### 1) 本疾患群の実態調査

全国調査活動については、アンケート様式を新たに作成した(平成24年度報告書の参考資料を参照)。1,899件にアンケート調査を依頼して平成25年2月13日現在350件の回答が届いており(平成24年度報告書総括を参照)、その集計を進めたところ、21例の原因不明の後天凝固異常症例の報告があった(表1)。その内4例について代表者から問合せをして、一部では精査を実施した。また、学会、研究会などでの講演で、本疾患群の広報活動を行っている(研究発表の欄を参照)。新しい広報チラシを製作して、アンケート様式と共に1,899件に配布した。

表1. 班研究の症例数(人)

症例の家族は除外した。合計は述べ人数。平成25年度の数は、1月31日現在。

年度	事務局			班員 対象者	登録 合計
	症例 相談	精密 検査	全国 調査		
平成24年度	43	(28)	21	81	145
平成25年度	42	(29)	22	50	114

#### 2) 臨床的研究

症例相談については、平成25年2月13日現在22名を精査し、8名を自己免疫性血友(出血)病XIII/13(AHXIII/13)と確定診断し、1名を後天性von Willebrand症候群(AVWS)と判定した。なお、1名は「3歳半の時に先天性F13欠損症と診断されたことがあるという32歳の男性症例で、FXIII/13<40%(軽度低下)」との主治医からの報告であったので精査したところ、重症欠損症であることが判明した。また、本人の遺伝子解析と家族の遺伝子診断により、2種類の新規のF13A遺伝子の変異が発見され、この遺伝形式とFXIII/13活性、抗原量の多寡が一致したため先天性FXIII-A欠損症と診断された(業績の項を参照)。それ以外は、一過性の出血性後天性FXIII/13欠乏症(HAFXIII/13-D)であった。平成24年度は、早期診断に基づく的確な治療に成功しているため、同年度内に班研究で症例相談した28名の中に死亡例はない。その他、各研究分担

者および研究協力者が個別に研究対象症例についての臨床研究を推進し、延べ登録人数は145名となった(表1)。

#### 3) 迅速診断のためのイムノクロマト法の実地応用と新規開発

本疾患群を早期診断する為の、イムノクロマト法による抗FXIII/13-Aサブユニット抗体検出法の開発に成功したので、これを実地に試用した。これまでに診断されているAHXIII/13症例と非後天性AHXIII/13症例、即ち既知の症例でのdot blotとの一致率も高く、平成25年2月中旬に新しいAHXIII/13疑い症例に初めて応用した。また、抗FXIII/13-Bサブユニット抗体検出のためのイムノクロマト法を新規に開発する為の準備を進めた。

#### 4) グローバル抗線溶能検査の開発と実地試用

本疾患群に共通する病態は抗線溶能の低下であると推定されるので、グローバル抗線溶能検査を世界で初めて考案し、受託検査会社に検査キット化を依頼して作製し、実地試用を開始した。暦年が2013年になってからの実施開始であるので、データの蓄積を開始した。

#### 5) AVWSの検査・診断プロトコールの新規作成

初めてAVWS疑い症例の相談があったので、新たに各種の検査の組み合わせについて検討して本疾患用の採血セットを構成した。その後、他の症例も適用するよう準備した。

#### 6) 各分担研究項目の成果

(各研究分担者の報告書を参照)

#### 7) 研究協力者等の成果(簡条書き)

##### 家子正裕

##### (1) 後天性FXIII/13活性低下例の解析

インヒビターによる後天性FXIII/13活性の低下例はなかったが、大量出血に合併したFXIII/13活性低下症例や薬物によると思われるFXIII/13活性低下症例はそれぞれ1例経験した。

##### (2) 後天性血友病A症例の解析

自己抗体による第VIII/8因子活性が低下する後天性血友病Aを3例経験した。

##### (3) フィブリン重合能を用いたFXIII/13活性の測定方法の開発

ベリクロームを用いたFXIII/13活性が正常下限で異常出血を認めた症例があり、フィブロガミンの投与により著しい止血の改善を認めた。ベリクローム法によるFXIII/13活性が臨床症状を正確に反映していない可能性があり、新たにフィブリン重合能を用いたFXIII/13活性の測定方法を開発した。

##### 窓岩清治

「造血幹細胞移植におけるFXIII/13の変動と病態に関する研究」を継続し、移植後1年以内の死亡例では移植後低下する

FXIII/13活性の回復遷延することを示し、第XIII因子活性が造血幹細胞移植患者の生命予後に関わることを明らかにした。

### 矢冨 裕

FXIII/13活性測定に関して、既存の臨床検査試薬を各種検査機器で測定できるよう検討した。

出血モニタリングが困難な抗凝固療法に対して、新しいモニタリング法の開発を行った。

凝固検査にて、診断が困難な異常フィブリノゲン血症に関して詳細に解析した。

### 花房規男

#### (1)血漿交換のモダリティによる

#### FXIII/13の除去量の違い

血漿吸着と、二重濾過血漿分離交換法とのFXIII/13除去量に対する影響の違いについて、臨床データをもとにして検討を行い、血漿吸着療法はIgGの除去能は劣るものの、IgGの除去に比較してFXIII/13の除去は少ないという結果を得た。

生体腎移植前の抗体除去に対する血漿交換療法において、FFP置換の単純血漿交換と、二重濾過血漿分離交換法とのFXIII/13に対する影響の違いを検討した。術前の血漿交換療法では、FFP置換の単純血漿交換がFXIII/13を正常まで回復させることを示した。

#### (2)よりFXIII/13の低下の少ない二重濾過血漿分離交換法の開発

従来の血漿分離膜より小孔径が小さく、IgGは濾過されるが、フィブリノゲン、FXIII/13については、濾過されにくい血漿分離膜を使用した二重濾過血漿分離交換法を行い、FXIII/13の推移を検討した。IgGの除去能が劣るなど改善の余地は残るが、FXIII/13の除去がIgGの除去より軽微であることが示された。

### 和田秀穂

- (1) 先天性FXIII/13-B欠損症（常染色体劣性遺伝）にFXIII/13濃縮製剤投与によって抗FXIII/13-B同種抗体が生じた初の症例を報告した。
- (2) 免疫抑制療法（PSL）を施行し、出血症状に対しては抗線溶薬とFXIII/13濃縮製剤（960～1,200単位/日）を用いて止血治療をした。
- (3) 本例は、FXIII/13活性低下に加え、経過中に骨髄異形成症候群（RAEB-1）が顕在化した。今後治療に難渋することが予想された。
- (4) 止血異常を有する場合、血小板減少症が存在しても、FXIII/13欠乏症を除外してはならないことを本例は示した。

#### 平成25年度研究結果：

##### 1) 調査・広報：

平成24年度に作成した本疾患群に関する広報チラシを改良し、原因不明の出血症例に先に遭遇する救急部、整形外科、皮膚科、

老年科と、その相談を受ける血液内科に送付したり、それらの診療科や臨床検査系の学術集会など広い範囲に配布して更に周知を図った。特に今年度は、心血管障害に合併することの多いAVWSの症例を診療する可能性の高い循環器内科331件を新たに対象に追加し、合計2,000件に広報チラシを送付した（平成25年度報告書の参考資料を参照）。

本疾患群に関するアンケートを改良し、広報チラシと同時に合計2,000件に送付したところ、448件（22.8%）の回答が回収され（平成25年度報告書研究総括の別表を参照）、22例の出血性後天性凝固異常症疑い症例が主治医から報告された（表1）。前年度に回答率が低いことが指摘され、その理由として同一施設の複数診療科にアンケートを送付した場合、他科から血液内科に転送されることが多いことが推定された。そこで、本年度は同一施設複数診療科からの回答状況を別途まとめた（平成25年度報告書研究総括の別表を参照）。その結果、送付する診療科の数に応じて回答する診療科数は増加したが、回答率にはあまり変化がないことが判明した。回答率は、大学病院、国立病院機構、県立病院の順に高かった。前者が研究機関であることが主因であろう。

出血性後天性凝固異常症の実態や症例報告をまとめて、国内外の学会や各種の研究会や学術雑誌で研究成果を発表して情報発信し、本疾患群の診療に貢献した（G.研究発表の項を参照）。

また、一般向けに「原因不明の」出血性後天性凝固異常症とは？」という短文を作成し、日本血栓止血学会ホームページに掲載して頂いて、社会への周知を図った（参考資料を参照）。

#### 2) 血栓止血学的臨床調査研究：

##### (1) 症例のスクリーニング体制の強化：

専門領域、地理的地域を拡大して連携プログラムを改良し、より多くの症例を発掘する為に、全国の97名の医師からなる出血性後天性凝固異常症主治医ネットワークを構築した（平成25年度報告書研究総括の別表を参照）。これらの先生方のご協力により、後述する日本版出血評価票（Japanese Bleeding Assessment Tool; JBAT）の試行や症例の系統的な追跡調査が可能となった。

また、平成25年4月に北日本後天性血友病診療ネットワーク連絡会（仮称）の設立準備会を立ち上げ、既に活動している北海道地区に加え、東北地区では東北止血血栓研究会の血友病インヒビターワーキンググループを改組したり、北陸地区でも3大学医学部の代表者の方々と連携体制について協議した。その結果、診断に苦慮する症例や後天性血友病A（AHA）症例の電子メール会議や特殊検査依頼の体制が整い、既に一部の症例で連携が実施された。延べ登録人

数は114名である（表1）。

(2) 診断法の改良：

症例、健常対照、それらの1:1混合血漿のPT、aPTTやFXIII/13、VWF、FVIII/8などの活性と抗原量などの測定に、alpha2-plasmin inhibitor ( $\alpha_2$ -PI) や、plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) などの特別検査項目を追加し、より包括的、的確な検査・診断を可能にした。その結果、本班研究として通算7例のAVWS症例が診断され（松下班員の分担研究報告を参照）、本疾患の頻度は低くはない可能性が示唆された。また、本年度は12例のAHXIII/13症例が診断され、合計38例となった（2014年1月31日現在）。前世紀に診断され、報告されていた8症例を加えると合計46例となり、全世界の非日本人症例の報告32例と比較して世界一のAHXIII/13症例数となった。更に、後天性抗線溶因子異常症を検索中であるが、その過程で先天性PAI-1症例が診断され、的確な治療・管理が可能になった（浦野班員の分担研究報告を参照）。

なお、JBATについては、国際血栓止血学会／科学及び標準化委員会のBleeding Assessment Tools (BAT) version 2010を、策定したイタリアのVicenzaグループの協力を得て微修正して翻訳／作成した。これを上述した出血性後天性凝固異常症主治医ネットワークの先生方に依頼して試行したところ、54症例分のJBATシートが回収され、病勢の推移と共に合計点（出血スコア）が変化することが確認された。なお、退院時のスコアが6-17と最も高いままの7症例は何れも死亡例であった。その内訳はAHXIII/13が5例、非自己免疫性のHAFXIII/13-Dが2例である。その後、新規のコンサルテーション症例の主治医に予めJBAT記入を依頼して、詳細な検査や治療が必要であるか否かのスクリーニングに試用しており、現在までに22症例に適用された。なお、重症度分類案（参照ガイド総論の表3を参照）も併用して、臨床的に診療を必要としている症例を見逃すことが無いように配慮している（図2）。

後述するように、免疫学的抗体検出法として昨年度開発に成功した抗FXIII/13-A抗体検出イムノクロマト法は、現在改良を加えつつ試行している（尾崎班員の分担研究報告を参照）。また、FXIII/13インヒビターの機能的検査法として、新たに鋭敏なインヒビター力価定量法を發明し、現在改良を加えつつ試行している（惣宇利班員の分担研究報告を参照）。本法と免疫学的自己抗体検出法を組み合わせることにより、より確実にAHXIII/13症例を診断し、病勢をよりの確に判定できるようになった（参照ガイド各論1の図1：検査・診断アルゴリズムを参照）。

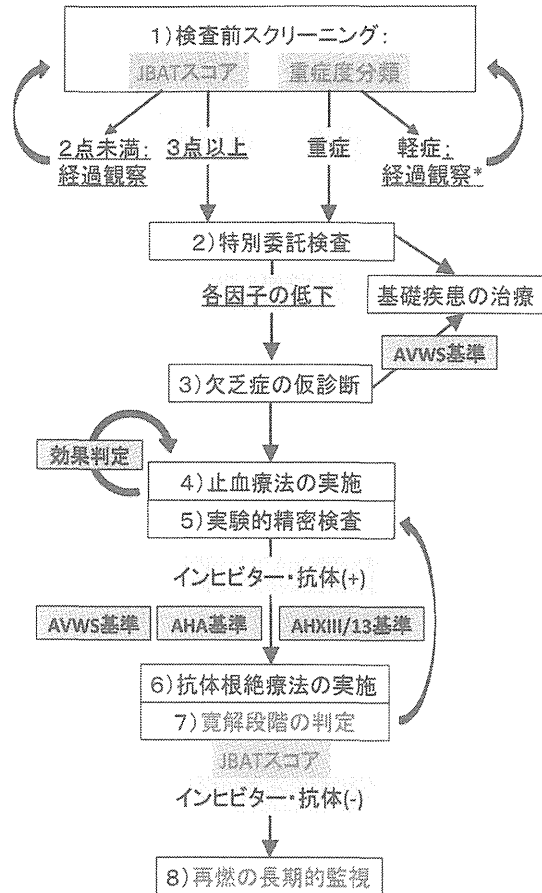


図2 研究班の検査・診断の流れ

(3) 止血療法の改良：

著しい低下が認められた当該因子を含む血漿製剤、即ち、第XIII/13因子濃縮製剤、VWF含有第VIII/8因子製剤（新鮮凍結血漿）等を可及的速やかに投与して、多くの症例で臨床的、薬理学／検査的（活性／抗原量の経時的測定）に止血効果を確認した（参照ガイド総論の表4：判定基準案を参照）。止血効果判定基準案、重症度分類案、JBATを症例に適宜適用することにより、より安全且つより確実に各症例の止血療法を最適化することが可能になり、主治医と連携して個別化医療を実施した。

なお、上述したインヒビター力価や抗体量測定、経時的活性／抗原量測定を実施することにより、インヒビター／抗体を凌駕する凝固因子投与量、投与間隔を、論理的に決定することが可能となる。

(4) 免疫抑制療法の改良：

何れかの凝固因子に対する自己抗体／インヒビターの存在が疑われた場合は、可及的速やかに免疫抑制薬の投与を開始して、副腎皮質ステロイド、シクロフォスファミドとリツキシマブの自己抗体根絶効果を比較した。

研究班が診断したAHXIII/13症例を主治医の協力の下、詳細に検討したところ、保険適応外ではあるがリツキシマブの早期投与や、ステロイドパルス療法が奏効している症例が数例あることが判明した（論文作

成中)。これらは、高齢者で糖尿病や感染症が合併していたり、頭蓋内出血の脳外科的手術後であったりした為に実施された治療であるが、通常のステップアップ療法（第一選択皮质ステロイド、第二選択サイクロフォスファミド追加/変更等）に比べて容易に寛解に至ったと推定された。従って、同様の条件のある新規の症例や、ステップアップ療法に長期に抵抗性の症例にはこのトップダウン療法を試行することを治療法の選択肢として提案している（図3）。

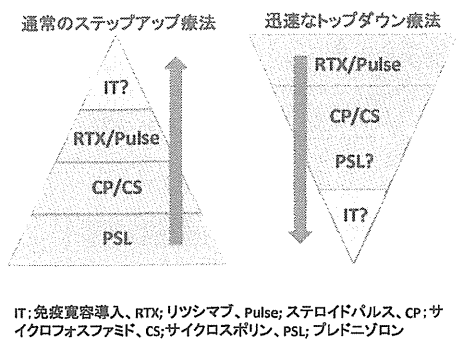


図3 トップダウン/ステップアップ療法

また、出血性後天性凝固異常症主治医ネットワークの先生方との各種の連絡により、AHXIII/13の1例は臨床的、機能的（検査上）寛解した後3.5年で再発し、出血死したことが判明した。また、平成25年12月20日からの追跡調査活動の結果、2名のAHXIII/13症例が、一旦臨床的且つ検査上寛解した後それぞれ4年、5ヶ月で再発し、死亡したことが報告された。従って、平成23年度の指針案では経過観察期間を「寛解後1年以上」としたが、診療指針改訂案では、「数年間以上」と大幅に変更した。

以上、2つの新事実に基づき、今年度は「AHXIII/13は慢性難治性疾患である」とパラダイムシフトを提唱した（参照ガイド各論1の別表3：モニター頻度の基準案を参照）。

(5) 代替的止血療法の検討：

確定診断がつくまでの期間や欠乏した凝固因子を含む血液製剤が入手できるまでの間は、原則的にトランサミンや新鮮凍結血漿を投与し、止血効果を観察した。AHXIII/13の38症例と報告例8例を合わせた46例中16名に抗線溶薬が投与されているので、その止血効果を主治医が判定する質問形式の調査活動を実施した。現在までに回収された結果をまとめると、11名の主治医が止血効果有り、3名は無しと回答している（文末の表を参照）。ただし、他の止血療法が同時に実施されていたり、確定診断前にFXIII/13製剤が投与されている症例もあるので、純粋な抗線溶薬の止血効果を判定することは困難である。古くから抗線溶薬の止血効果について各種の疾患で論文報告されているが、研究班としては、現時点

では、「奏効した」という意見を持つ主治医が大半であると記載するに留める。

3) 分子病態学的研究：

(1) 自己抗体・インヒビターの凝固因子阻害形式の決定：

凝固因子の自己抗体・インヒビターを免疫学的な測定法で検出し、抗体の凝固因子の標的タンパク質を同定し、そのタイプ等を決定した（参照ガイド各論1のAHXIII/13診断基準案等を参照）。

本年度は、新たにFXIII/13インヒビターの力価を機能的に定量化する為に、鋭敏な発光融合タンパク質FXIII/13基質を発明し、従来の低分子アミノ基質取込み活性検査より方法はるかに優れた検査法を開発し、試用を開始した（惣宇利班員の分担研究報告を参照）。

また、昨年度抗VWF抗体検出の為にIgGサブクラス別のELISA法を開発し、本年度からAVWS疑い症例に試用中であり、5名が自己免疫性AVWSと確定診断された（松下班員の分担研究報告を参照）。

(2) 迅速自己抗体検査の開発：

各因子に対する抗体のイムプロット法およびイムノクロマト法による検出方法を完成し、新しい症例で実地に試用を開始している（図4）。特に、昨年度開発に成功し、現在改良を加えつつ試行している抗FXIII/13-A抗体検出イムノクロマト法は、エピトープ解析で結合部位を明確にしたマウスモノクローナル抗体を用いて、既にAHXIII/13疑い25症例の迅速診断に適用され、その有用性が実証されている（尾崎班員の分担研究報告を参照）。その感度・特異性を明示する為の実験を実施したところ、混合法イムノクロマト法の感度、特異度はそれぞれ、89%、88%と良好であった。前者が100%でないのは活性型FXIII/13-Aを標的にする抗体を持つ症例（Ab型と命名）がある為であり、予めFXIII/13-Aを活性化してアッセイすると、Ab型も陽性となった。後者が100%でないのは、陽性を示す健常対照例があった為であり、ドットプロット法やELISA法では陰性であったので、偽陽性と判定された。

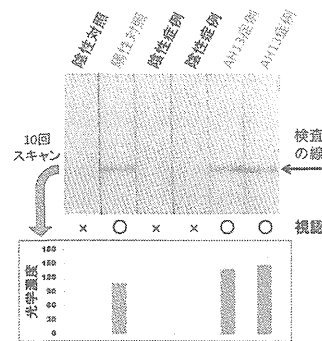


図4 試用中の迅速抗体検出法

また、AHXIII/13の分類と治療薬決定に不可欠な抗FXIII/13-B抗体検出イムノクロマト法についても、現在企業と共同開発中であり、測定に用いるモノクローナル抗体のエピトープ解析で結合部位を明確にしたので、近日中に既に確定診断されている3名のB型症例の検体を用いて特異性を検証する予定である。

#### (3) 抗線溶反応のグローバル検査法の適用：

新規に開発した方法で、これまで見逃されていた可能性の高い抗線溶因子欠乏症を検索した。その過程で先天性PAI-1症例が診断され、的確な治療・管理が可能になった（浦野班員の分担研究報告を参照）。

それ以外にも、抗線溶因子（ $\alpha_2$ -PIやPAI-1）の高度な欠陥に基づく出血性後天性抗線溶因子欠乏症（Hemorrhagic acquired anti-fibrinolytic factor deficiency, HAAFF-D；参照ガイド各論3を参照）が存在する可能性があり、産生下や消費亢進などに基づくと推定される二次的な抗線溶因子欠乏症、特に軽度～中等度の $\alpha_2$ -PI欠乏症にしばしば遭遇している。また、現在、PAI-1値の正常下限は未定であるが、低値を示す症例で他の凝固・線溶系のパラメーターと共に総合的に病態を解析中である。

#### 4) 診断基準、治療指針の作成：

新しいインヒビター検査を含めた検査と診断のアルゴリズム、それに応じた診断・治療の指針を作成した。研究期間が短期であったため、本症に含まれる全ての疾患の診療指針案を個別に作成することは不可能であり、以下のように現実的且つ最も有効な方策を採用した。

(1) 先ず、国際的に研究の最先端にあるAHXIII/13の診断基準と検査アルゴリズム改訂案を完成させ、国際血栓止血学会／科学及び標準委員会（ISTH/SSC）に提案した。また、国内では日本血栓止血学会の理事会とSSC委員会に申し入れた（様式2成果物一覧を参照）。

(2) 次に、平成25年度に入って症例相談が増加し始めているAVWSについては、主治医の要望により英国と米国のvon Willebrand病（VWD）診療ガイドラインの一部を抜粋して日本語版診断基準案（研究班素案）2種類を作成した。これを研究班で更に推敲した後、本年度中に日本血栓止血学会／SSC委員会に承認を申し入れる予定で、SSC委員長と協議中である。

(3) また、診断容易群ではあるが、現時点で最も発生頻度が高いと推定されているAHAを除外することなくスクリーニングシステムに組み入れ、その診療ガイドライン（2011年；日本血栓止血学会SSC委員会血友病部会作成）を使用することを推奨した。ただし、これは日本血栓止

血学会に著作権があり、そのパンフレットが販売されている為、本年度は掲載論文を紹介するに留め、学会理事会に無料公開（public domainとすること）を申し入れた。2014年1月25日の理事会で、この診療ガイドラインを学会HPから閲覧できるようにすることが決定されたので、非学会員の主治医が日常診療に活用することが可能になる予定である。

(4) 出血性後天性抗線溶因子欠乏症は現時点では二次性のものしか診断されていないが、精密検査実施後も原因不明の出血症例も少数あるので、グローバル抗線溶能検査を開発して試用しつつある。ここでは、班研究の途上で発見されたPAI-1の先天性欠損症や先天性 $\alpha_2$ -PI欠損症の特徴についてまとめて、今後、後天性抗線溶因子欠乏症の診断基準を作成する際の「叩き台」としたい（参照ガイド各論3を参照）。

(5) 上述した疾患群を総合的に診断するために研究班が実施している実際の調査活動の流れをまとめ（図2；参照ガイド総論の図1を参照）、本症の診療の参考にして頂くこととした。

#### 5) 各分担研究項目の成果

（各研究分担者の報告書を参照）

#### 6) 研究協力者等の成果（箇条書き）

##### 窓岩 清治

・免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）および第XI因子低下を合併するFXIII/13欠乏症例の病態を解析した（現在進行中）。

##### 矢富 裕

・出血性疾患の症例報告を行った。  
・出血性疾患の診断に関連する臨床検査の改善を目指す検討を行った。

##### 花房 規男

アフェレシスによるFXIII/13の除去量の違い：従来の血漿分離膜より小孔径が小さく、IgGは濾過されるが、フィブリノゲン、FXIII/13については、濾過されにくい血漿分離膜を使用した二重濾過血漿分離交換法を行い、FXIII/13の推移を検討した。IgGの除去能が劣るなど改善の余地は残るが、FXIII/13の除去がIgGの除去より軽微であることが示された。他のモダリティとの組み合わせにより、AHXIII/13において、FXIII/13を保持しながら抗体を除去する新規血漿交換の手法を検討している。

#### D. 考察

##### 1) 本疾患群診断困難群の実態調査

平成24年度は、本疾患群の広報、アンケート調査、研究成果の発表等、計画通りに順調に進行した。ただし、AHXIII/13の認知度が上がったと思われるのにも拘らず、

全国調査のアンケート回答率が平成23年度18.1%から18.8%への微増に留まっていた。これは、1) 班研究のタイトルがインパクトのない平凡なものに変わったこと、2) 予算上の理由からインセンティブをなくしたこと、3) 4つの診療科に依頼している施設では、結局、血液内科に回されることが多いので母数が最大3-4倍になっている可能性があることなどが原因であると思われる。ただし、最後の推論は、翌年の詳細な調査によって否定された。また、平成25年度の全国アンケート調査の回収率は22.8%と明らかに増加した。これは、新たに送付先に追加した循環器内科の回収率が29.0%と高かったことと、前年23.2%であった皮膚科の回収率が39.4%に上昇したことが原因である。後者の理由は不明であるが、皮下出血を示す症例の診療にとっては良い傾向であろう。

平成25年度は、研究班員の研究対象例を含め114名の症例相談を受付け（2014年1月31日現在）、内29名を研究班の調査活動として精査し、12名をAHXIII/13、通算7名をAVWSと診断した。従って、AHXIII/13症例は、文献に報告されている8名を含めると通算46名となり、世界の非日本人症例32名の報告数を大きく上回った。その原因は、我が国が世界で最初に超高齢者社会に到達したことと、厚労科研の全国調査により認知度が上がったことの二つに帰せられよう。

また、平成25年度からAVWS症例の検査・診断を実質的に開始し、研究班員や出血性後天性凝固異常症主治医ネットワークの医師、全国アンケート調査の回答から、症例が紹介／相談／報告され始めた。本疾患は、VWDに似て皮膚粘膜の出血を主症状とする為、多くが見逃されていると推定される。これも、更なる周知の為の広報、教育活動により適切に診断されるようになれば、症例数が増加することは必定である。

## 2) AHXIII/13の予後について：

我が国のAHXIII/13症例ではこれまでに通算11例の死亡が確認されており、死因は、4例は出血死後の検査・診断（dead on arrival of test sample、即ち死後検査診断と命名）、残る7例は、それぞれ寛解して3.5年後の再発／出血死、肝不全＋腎不全、ステロイド漸減中の消化管穿孔、自己転院後感染死疑い、自死、難治化して4年後の免疫抑制療法中の肺炎、寛解して4年後の心筋梗塞である。最後の例を除くと通算45例中の10例(=22%)がAHXIII/13関連死であるので、非日本人症例の死亡率26%(=8/31)とほぼ同様である。転院後経過観察終了／打ち切りとなった症例もあるので、AHXIII/13関連死はより多い可能性もある。

このように、AHXIII/13が致死性の疾患であることは明白であり、それに加えて「慢性難治性疾患」であることを強調して更なる周知の為の広報、教育活動が不可欠

である。

## 3) 本疾患群の総合的診断基準と治療指針

AHXIII/13は我が国に多いが、FXIII/13研究者は必ずしも多くない。そこで、本研究代表者が長年にわたって構築してきた国際FXIII/13研究者のネットワークを活用して、Japan Criterion 2012 for AHXIII/13を元にして国際版の作成を同時に進行させて、彼等の知識と経験から診断基準案のbrush upに協力して頂いた。現在、この国際版AHXIII/13診断基準案とアルゴリズム案（改訂5版）は、ISTH/SSCのFXIII/Fibrinogen小委員会の委員長に提出され、本部への提出書類が作成されつつある。

AVWSの診断基準については、研究班が確定診断した症例数はまだ通算7名と少なく、知見の蓄積が不十分であるので、まずは、先行している英国血友病センター医師機構のVWD用ガイドラインに記載されているものを責任者の許可を得て翻訳し、研究班素案とした。また、AVWS症例の主治医から、英国版は簡潔過ぎて説明不足であるという指摘を受けたことから、米国にも同様のVWD診療ガイドラインがあり、AVWSの概説が掲載されているので、その策定責任者とNHLBI Health Information Centerの許可を得て日本語版に翻訳して、参照ガイドとして並列して紹介することとした。今後、より多くの症例のデータを集積して、我が国の実際の症例にマッチしたもの（日本語版ではなく「日本版」）に改訂する活動を継続する必要がある。

「出血性後天性抗線溶因子欠乏症」という疾患カテゴリーは現在迄に確立されていないが、 $\alpha_2$ -PIやPAI-1の高度な欠陥に基づく二次的な線溶亢進状態によって遺伝性／先天性抗線溶因子欠損症に似た臨床症状を生じるものと推定される。肝障害や急性全骨髄急性白血病（APL）、播種性血管内凝固症（DIC）など産生低下や消費亢進などに基づく軽度～中等度の $\alpha_2$ -PI欠乏症は多いが、重度のもの（例えば25%以下）は少ない。一方、先天性 $\alpha_2$ -PI欠損症のヘテロ接合体の一部は誘発性の出血症状を呈するので、後天性欠乏症が出血の原因となることを否定できない。同様に、種々の程度のPAI-1低下を示す症例もあるが、正常下限が未定であり、出血症状の原因となっているか否かの判定が困難である。従って、今後も引き続き調査活動を継続して症例と知見を蓄積する必要がある。また、国内の研究者がより鋭敏なELISA法を開発中であり、その完成が期待されている。

その他、我が国でも自己免疫性第V/5因子欠乏症の症例報告が散見されているが、

本年度までに当研究班へのコンサルテーションは皆無である。1981年に200例を超えるAHA症例を報告したD. Green博士は、「自己免疫性第V/5因子欠乏症も出血死の報告が複数あるので、後天性血友病として取り扱うべきである」とメールや研究会の質疑応答でコメントしており、その診断基準作成は今後の課題である。

#### 4) 迅速な検査と診断のアルゴリズムの構築

本研究は、平成21年度に発足した「後天性血友(出血)病XIII/13」調査研究の後継プロジェクトであり、前研究班が提唱した診断基準案やアルゴリズム案を継承し、改訂を重ねながら、「出血性後天性凝固異常症」に適用してきた。本年度は、その最終年度に当たるので、年度の途中で出血性後天性凝固異常症全体の総合的な検査・診断のフローチャートを作成し、残余期間に実際に試中中である。JBAT、出血症状の重症度基準など客観的な評価と、主治医とのディスカッションを基に、精密検査や治療が必要な症例をスクリーニングしており、症状の変化があれば再評価して見逃しを防止するように工夫しているので(図2)、現時点では、最も効率良いシステムと考えられるが、今後もより多くの症例に適用して更に検証する必要がある。

#### 5) 日本語版出血症状の客観的評価方法の作成の経緯と試用結果

後天性凝固異常症の症例は常に無数に存在し、その内、顕性出血を呈したものがその程度の如何に拘らず出血性後天性凝固異常症として症例相談されているものと思われる(図1)。そこで、更なる検査、加療が必要な症例を効率良く選別することを目的として、出血症状を客観的に記録し、評価する為の出血スコア(Bleeding ScoreあるいはBAT)を採用することを、平成24年度の第1回班会議で決定した。

その後、先行して出血スコア(ISTH/SSC BAT ver. 2010)を作成して試用しているISTH/SSC BAT小委員会の主要メンバーと約1.5年間にわたって協議し、微修正したISTH/SSC BAT ver. 2010(JBAT試案)を作成して研究班で検討して、平成25年10月末から試用を開始している(参考資料を参照)。

まず、JBAT作成前に診断されていた54名(旧症例)の主治医から記入済みのJBATシートが回収され(平成26年1月31日現在)、初診時、最重症期、治療前、治療後、退院時/現在などの各病期で明らかな合計点の違いが確認されており、重症度、病勢の推移を客観的に評価することが可能と判断された。そこで、「参照ガイド総論の図1:診療の流れ図と総論の図3:スクリーニング」を作成して、平成25年11月からJBAT作成後に相談された22名(新症例)の

主治医に協力を依頼して、先ずJBATシートの記入と返送をして頂いてから、その情報を基に厚労科研の調査活動としての特別委託検査と実験的精密検査を実施するか否かを判定している。この新方式は、今後、本症の医療水準の向上と医療経済の安定化に貢献する一助となるものと大いに期待される。

なお、元々1型VWD用に作成されたプロトタイプISTH/SSC BAT ver. 2005やver. 2010も、他のタイプのVWDや血小板異常症の出血評価、更に長期にわたる予防的治療の効果の評価等に応用されて有用性が確認されており、本研究班の結論を支持するものである。

#### 6) AHXIII/13のパラダイムシフト

結果の項で述べた通り、本年度の調査で、AHXIII/13の数症例は一旦寛解した後再燃したり、治療的抵抗性で数年後に致命的出血あるいは感染症等で死亡していることが判明した。従って、海外の研究者からメールで届いた「AHXIII/13は、死亡するか治療するかのどちらかで、再発例はない」というコメントは、少なくとも日本人症例には該当せず、AHXIII/13やAHAを含む「自己免疫性出血症は慢性難治性疾患である」と修正し、「数年にわたり経過観察が必要である」と治療指針案を改訂した。このことは、今後広く周知させるべきである。

また、非自己免疫性のHAFXIII/13-Dの症例であっても、例えば高齢で大動脈瘤があるが根治手術が困難な場合は、慢性難治性疾患として長期にわたり繰り返しFXIII/13濃縮製剤投与により止血管理をする必要があることも認識するべきであり、今後強調する予定である。

#### 7) 後天性FXIII/13欠乏症へのFXIII/13濃縮製剤投与の保険適用

平成23年9月にAHXIII/13を含むHAFXIII/13-D全体に対するFXIII/13濃縮製剤の適応外薬申請をし、要請に応じて平成25年1月に追加データを提出していたところ、幸い厚労省のご配慮により平成25年4月25日より保険適用として頂き、平成25年9月13日付けで更にその取り扱いについて通知書を頂いた(文末資料を参照)。恐らく、これは全国のAHXIII/13症例とご家族、主治医にとって、最大の朗報であろう。また、本研究班にとっても最大の成果の一つである。

### E. 結論

#### 1) 達成度について

本研究の主な研究目標である「出血性後天性凝固異常症の診断困難群」の診断基準作成については、短期間であったにも拘らず、コンサルテーションのあった症例の中から自己免疫性疾患と非自己免疫性疾患を鑑別できるシステムを構築することができ

た。一方、理論的に存在すると推定される抗線溶因子欠乏症については、具体的に実在する症例に遭遇しなかった為、今後の課題となった。実際にその診断基準が必要であるか否かも、今後の調査研究で決定すべき課題である。

特に、AHXIII/13については、世界で最先端の研究能力を活用して、グローバルスタンダードというべき国際診断基準を策定しつつあり、AVWSについては日本版診断基準の素案を作成した。

残る2つの目標であるアルゴリズム作成と実態調査については、予定通り実施されたので、目標の大半は達成されたと自己評価している。

## 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

学術的・国際的には、AHXIII/13において世界最先端の研究を推進し、新しい分野を開拓すると共に日本発の疾患診断基準を提唱することができた。

社会的には、超高齢化社会で増加しつつあり、誰でもなりうる自己免疫性出血性後天性凝固異常症の疾患群の実態を明らかにしつつあり、新しい検査法を開発、検査・診断のアルゴリズムを構築、客観的な出血症状の評価法であるJBATを作成、AHXIII/13に対する特異的治療薬の保険適用等を実現することによって、国民の医療水準を向上させる一助としての基礎を築いた。

## 3) 今後の展望について

特に、AVWSの実態調査と診断基準（現在は参照ガイド）案の検証、改訂は必須である。この素案を、日本血栓止血学会のSSC委員会VWD部会に提案して、日本版AVWS診断基準の策定に繋げたい。

また、AHXIII/13についても、国際版のみならず日本語版AHXIII/13診断基準の策定を日本血栓止血学会と協力して実現させたい。

本疾患群症例が「出血死後検査診断」となることを避ける為には、更なる周知の為の広報、教育活動が不可欠であるが、約31万人の医師に直接広報チラシを配布したり、講演会に出席して頂くことは不可能である。そこで、今後は、本疾患群の検査を担当する凝固系の臨床検査技師を対象とした広報、教育活動を実施して、臨床現場でのチームワークや、フィードバック作用を刺激して、より効率的にするべきであろう。

なお、JBATは中・長期的な出血症状の推移を評価するのに適していると考えられ、出血症状の短期的な変化に基づく「止血療法の効果判定」については、皮膚粘膜出血のスコア1点に相当する長期蓄積的な3項目を除外して使用するよう、運用方法を改訂して試用したい（参考資料を参照）。AHAで推奨されている基準も、直接的な因

子補充療法の有効性評価、使用薬の変更などの際に併用して、参考にすべきである。

最後に、我が国では組換えFXIII/13-Aタンパク質製剤がまだ市販されておらず、血漿由来FXIII/13製剤（A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>四量体）のみしか入手できないので、特異的止血薬の変更は不可能である。抗FXIII/13-B自己抗体の症例等の止血療法により有用である可能性が高いので、是非、早急な導入を要望する。

## 4) 研究の効率性について

本研究は、僅か4名の分担研究者と多くの研究協力者である班員、出血性後天性凝固異常症主治医ネットワークのメンバーの献身的努力によって、低予算で実現されている。年間の調査活動を報告し、まとめ、討議する為の第2回班会議には、予算の関係で全員を招集することができなかった。また、特に平成25年度は、研究予算の削減により、研究班に症例相談があっても実際に精密検査する症例を制限することが必要になり、事実上1月末で症例の臨床調査活動を終了せざるを得なかった。今年度は、医療行為を必要とする症例を適切にスクリーニングするアルゴリズムを作成して活用したが、それを過信することは禁物である。本班研究のコストパフォーマンスは高かったが、国民の健康と生命を守る為の調査活動を支援するに相応しい、より柔軟な予算配分の決定を強く要望する。

## 5) 結語

2年間の調査研究を実施して、新規の検査方法を開発し、検査・診断のアルゴリズムと診療ネットワーク/システムを構築することにより、世界一多いAHXIII/13症例を確定診断し、新たにAVWS症例の発掘を開始することができた。また、実態調査のデータを提供して特異的止血治療薬の保険適用を実現し、国民の医療水準の向上に貢献する基盤を作ることができた。

今後、より大規模な研究プロジェクトの企画と実現により、本研究の成果を更に拡充、発展させたい。

## F. 健康危険情報

特に無し

## G. 研究発表（代表者）平成25年度

### 1. 論文発表

1. Souri M, Biswas A, Misawa M, Omura H, Ichinose A. Severe congenital factor XIII deficiency caused by novel W187X and G273V mutations in the F13A gene; diagnosis and classification according to the ISTH/SSC guidelines. Haemophilia. 2013; in press.
2. Kasahara K, Kaneda M, Miki T, Iida K, Sekino-Suzuki N, Kawashima I,



- Suzuki H, Shimonaka M, Arai M, Ohno-Iwashita Y, Kojima S, Abe M, Kobayashi T, Okazaki T, Souri M, Ichinose A, Yamamoto N. Clot retraction is mediated by factor XIII-dependent fibrin- $\alpha$ IIb $\beta$ 3-myosin axis in platelet sphingomyelin-rich membrane rafts. *Blood*. 2013 Nov 7;122(19):3340-8.
3. Kawano H, Yamamoto D, Uchihashi Y, Wakahashi K, Kawano Y, Sada A, Minagawa K, Katayama Y, Kohmura E, Souri M, Ichinose A. Severe inhibitor-negative acquired factor XIII/13 deficiency with aggressive subdural haemorrhage. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2013 Sep;24(6):638-41.
  4. Zhang WG, Souri M, Ichinose A. Proteosomal degradation of naturally recurring R260C missense and exon-IV deletion mutants of factor XIII A-subunit expressed in mammalian cells. *Haemophilia*. 2013 May;19(3):415-9.
  5. Wada H, Souri M, Matsumoto R, Sugihara T, Ichinose A. Alloantibodies against the B subunit of plasma factor XIII developed in its congenital deficiency. *Thromb Haemost*. 2013 Apr;109(4):661-8.
  6. 惣宇利正善, 一瀬白帝: 慢性炎症性腸疾患と第XIII(13)因子. 別冊BIO Clinica 慢性炎症と疾患 骨髄-末梢血による炎症の制御と修飾, 2013 ; 2(2) : 28-33. (2013年11月21日発行)
  7. 惣宇利正善, 尾崎 司, 杉浦真弓, 吉田隆之, 倉智博久, Kemkes-Matthes Bettina, 一瀬白帝: 活性化凝固第X因子の新しい制御因子であるプロテインZシステムの生体内動態. 臨床薬理の進歩, 2013 ; 34 : 123-30. (2013.06)
  8. 尾崎 司, 一瀬白帝: 第XIII因子と炎症. *Thrombosis Medicine*, 2013 ; 3(2) : 175-8. (2013年6月1日発行)
  9. 尾崎 司, 一瀬白帝: 高凝固第VII因子血症. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.23 血液症候群 (第2版) III-その他の血液疾患を含めて-, 2013 ; 54-8. (2013年5月20日発刊)
  10. 一瀬白帝: 線溶系異常症; 先天性プラスミノゲン欠乏症の分子病態. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.23 血液症候群 (第2版) III-その他の血液疾患を含めて-, 2013 ; 44-8. (2013年5月20日発刊)
  11. 尾崎 司, 一瀬白帝: プレカリクレイン欠乏症. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.22 血液症候群 (第2版) II-その他の血液疾患を含めて-, 2013 ; 545-9. (2013年3月号)
  12. 惣宇利正善, 一瀬白帝: 第XIII因子AおよびBサブユニット欠損症. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.22 血液症候群 (第2版) II-その他の血液疾患を含めて-, 2013 ; 539-44. (2013年3月号)
  13. 一瀬白帝: 第VII因子欠損症・分子異常症. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.22 血液症候群 (第2版) II-その他の血液疾患を含めて-, 2013 ; 533-8. (2013年3月号)
- ## 2. 学会発表
1. Ichinose A, Souri M, Osaki T, Sugiyama D, Magari Y: Molecular Studies on Acquired Hemorrhaphilia Due to Anti-FXIII Autoantibodies (AH13). The annual International Factor XIII Symposium, February 12, 2014, Hofburg Congress Center (in Vienna, Austria)
  2. Kasahara K, Ichinose A, Yamamoto N: Clot retraction is mediated by factor XII-dependent fibrin- $\alpha$ IIb $\beta$ 3-myosin axis in platelet sphingomyelin-rich membrane rafts. Keystone Symposia Conference, January 26-30, 2014, Keystone Resort (in Keystone, Colorado, USA)
  3. Ichinose A: An update on Japanese criterion 2012 for the diagnosis and treatment of autoimmune/acquired hemorrhaphilia XIII/13; a proposal of algorithm of laboratory tests and differential diagnosis. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, SSC Program, Subcommittee session, June 29-July 4, 2013, Amsterdam RAI (in Amsterdam, The Netherlands)
  4. Souri M, Osaki T, Ichinose A: The B subunit for coagulation factor XIII accelerates the crosslinking of fibrin in human plasma. XXIV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, June 29-July 4, 2013, Amsterdam RAI (in Amsterdam, The Netherlands)
  5. 一瀬白帝, 尾崎 司, 惣宇利正善: 血液凝固第XIII因子 (FXIII) を標的分子とした創薬送取の取り組み. 第36回日本分子生物学会年会ワークショップ (1PW9: タンパク質架橋反応を標的とした創薬科学), 神戸ポートアイランド (神戸) ; 2013年12月3-6日

6. 笠原浩二, 兼田瑞穂, 三木俊明, 鈴木英紀, 新井盛大, 一瀬白帝, 山本正雅: 血液凝固XIII因子に依存した血餅退縮とフィブリンの血小板脂質ラフトへの移行. 第6回セラミド研究会学術集会, 北海道大学学術交流会館(北海道); 2013年11月7-8日
7. 島田恒幸, 中村祐一, 内田優美子, 伊藤善啓, 脇本直樹, 猪野裕英, 森茂久, 別所正美, 惣宇利正善, 一瀬白帝. An acquired hemorrhaphilia XIII/13 with autoantibody presenting severe intramuscular bleeding. 第75回日本血液学会学術集会 [ポスター (PS-2-309)], ロイトン札幌・さっぽろ芸文館・札幌市教育文化会館(札幌); 2013年10月11-13日
8. 井原章裕, 植木和則, 鈴木伸明, 松下正, 一瀬白帝. 血小板減少症に合併した, 抗VWF抗体による76歳女性後天性von Willebrand Syndromeの一例. 第75回日本血液学会学術集会 [ポスター (PS-2-304)], ロイトン札幌・さっぽろ芸文館・札幌市教育文化会館(札幌); 2013年10月11-13日
9. Kobayashi N, Yanagisawa K, Hayashi T, Uchiumi H, Ogawa Y, Nojima Y, Matsushita T, Ichinose A. A case of Acquired von Willebrand syndrome (AvWS) which was also positive for lupus anticoagulant. 第75回日本血液学会学術集会 [ポスター (PS-2-303)], ロイトン札幌・さっぽろ芸文館・札幌市教育文化会館(札幌); 2013年10月11-13日
10. 一瀬白帝, 人見清隆: (テーマ) トランスグルタミナーゼ関連疾患の分子病態解明の新戦略(英語). 第86回日本生化学会大会 インターナショナルセッション/シンポジウム (01-IIS03a), パシフィコ横浜(横浜); 2013年9月11-13日
11. 杉山大輔, 曲泰男, 尾崎司, 一瀬白帝: 1種類のモノクローナル抗体を用いたラテックス免疫比濁法によるFXIII-A抗原定量キットの開発. 第35回日本血栓止血学会学術集会 P-054, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
12. 小川大輔, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 宮崎泰司: 大腿筋肉内出血にて発症した自己免疫性後天性血友病XIII(後天性凝固第13因子欠乏症)の症例 P-049. 第35回日本血栓止血学会学術集会, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
13. 浅尾優, 矢野寛樹, 渡部真志, 上用祐士, 湯上小百合, 浅井光広, 牧隆太郎, 佐々木謙成, 三島信彦, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 後天性血友病13の一例. 第35回日本血栓止血学会学術集会 P-048, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
14. 藤田耕太郎, 鮫島健志, 岩井凌, 三澤真人, 小村裕美, 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 先天性第XIII因子欠損症で同定された, W187X, G273Vをもたらす新しいF13A遺伝子変異. 第35回日本血栓止血学会学術集会 P-034, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
15. 杉山裕之, 上杉裕子, 鈴木聡, 田中健二, 惣宇利正善, 一瀬白帝: Aggressive fatal case of autoimmune hemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. 第35回日本血栓止血学会学術集会 O-092, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
16. 尾崎司, 惣宇利正善, 杉山大輔, 曲泰男, 一瀬白帝: 抗第XIII因子抗体のエピトープ探索法の開発と症例の分子病態解析への応用 O-091. 第35回日本血栓止血学会学術集会, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
17. 杉山大輔, 曲泰男, 二宮恵子, 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: イムノクロマト法を用いた後天性血友病XIII(13)の迅速診断 O-090. 第35回日本血栓止血学会学術集会, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
18. 惣宇利正善, 尾崎司, 一瀬白帝: フィブリン架橋反応における抗XIII因子自己抗体の阻害作用機序. 第35回日本血栓止血学会学術集会 O-089, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
19. 金子雅一, 宮崎紀樹, 立石和也, 浅見貞晴, 根木謙, 弓場隆生, 鈴木紅, 岩間徹, 藤田浩, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 出血を繰り返した腹部大動脈瘤の1例. 第35回日本血栓止血学会学術集会 O-085, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
20. 吉田隆之, 惣宇利正善, 尾崎司, 杉浦真弓, 倉智博久, Kemkes-Matthes Bettina, 一瀬白帝: 活性化凝固第X因子の制御系であるプロテインZシステムの動態. 第35回日本血栓止血学会学術集会 O-025, 山形国際ホテル(山形); 2013年5月30日-6月1日
21. 笠原浩二, 原裕太, 兼田瑞穂, 飯田和子, 林もゆる, 下仲基之, 大森司, 一瀬白帝, 山本正雅, 三木俊明: 血液凝固第XIII因子基質としての血小板ビンキュリン分解産物. 第35回日本血栓止血

- 学会学術集会 O-012, 山形国際ホテル (山形) ; 2013年5月30日-6月1日
22. 惣宇利正善, 尾崎 司, 和田秀穂, 二瀬白帝 : 症例から学ぶ血栓止血の分子病態 診断困難であった凝固・線溶異常症の症候とメカニズム 血小板減少症の治療中に出現した後出血を契機に診断された先天性第XIII因子Bサブユニット欠損症 症例の確定診断と抗Bサブユニット同種抗体の解析. 第35回日本血栓止血学会学術集会 会長要望シンポジウム, 山形国際ホテル (山形) ; 2013年5月30日-6月1日
23. 和田秀穂, 惣宇利正善, 二瀬白帝 : 症例から学ぶ血栓止血の分子病態 診断困難であった凝固・線溶異常症の症候とメカニズム 血小板減少症の治療中に出現した後出血を契機に診断された先天性第XIII因子Bサブユニット欠損症 臨床例の提示. 第35回日本血栓止血学会学術集会 会長要望シンポジウム, 山形国際ホテル (山形) ; 2013年5月30日-6月1日
24. 二瀬白帝 : At the intersection of coagulation and fibrinolysis systems between clinical and basic fields : Endeavors to travel from symptoms and phenomena to the essentials, and the truth. 第35回日本血栓止血学会学術集会 会長講演, 山形国際ホテル (山形) ; 2013年5月30日-6月1日
25. 尾崎 司, 杉山大輔, 曲 泰男, 惣宇利正善, 二瀬白帝 : 後天性出血病 XIII/13疑い21症例で実証された迅速抗体検出アッセイ (イムノクロマトグラフィ法) の有用性. 第14回TTMフォーラム学術集会, 大手町サンケイプラザ (東京) ; 2014年3月8日
26. 二瀬白帝, 杉浦真弓, Rodeghiero F, Tosetto A, James P : 日本語版 ISTH/SSC出血評価票 (Japanese Bleeding Assessment Tool: JBAT) の出血性後天性凝固異常症における試用成績 : 中間報告. 第14回TTMフォーラム学術集会, 大手町サンケイプラザ (東京) ; 2014年3月8日
27. 惣宇利正善, 尾崎 司, 二瀬白帝 : フィブリン架橋結合反応における凝固第XIII因子Bサブユニットの新しい役割. 第21回山形分子生物学セミナー, 山形大学小白川キャンパス基盤教育棟1号館111号 (山形) ; 2013年11月16日
28. 惣宇利正善 : 活性化凝固第X因子の新しい制御因子であるプロテインZシステムの生体内動態. 第6回臨床薬理研究振興財団 研究大賞受賞講演, クラブ関東 (東京) ; 2013年11月5日
29. 惣宇利正善, 尾崎 司, 二瀬白帝 : 非酵素部位である凝固第XIII因子Bサブユニットのフィブリン架橋反応における役割. 第79回日本生化学会東北支部例会, 東北大学片平さくらホール (仙台) ; 2013年5月11日
30. 草野 武, 今枝博之, 山岡 稔, 大庫秀樹, 小林威仁, 木下俊介, 岡田浩一, 中元秀友, 筋野智久, 二瀬白帝 : 両側長内転筋血腫により診断した第13因子低下症の1例. 第595回日本内科学会関東地方会例会, 日内会館 (東京) ; 2013年3月9日

#### G. 研究発表 (代表者) 平成24年度

##### 1. 論文発表

1. Sugiyama H, Uesugi H, Suzuki S, Tanaka K, Souri M, Ichinose A. Aggressive fatal case of autoimmune hemorrhaphilia resulting from anti-Factor XIII antibodies. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2013;24(1):85-9.
2. Matsuoka M, Majima T, Onodera T, Ieko M, Souri M, Ichinose A, Kurita T, Kasahara Y, Inoue M, Takahashi D. Hemorrhagic-acquired factor XIII deficiency associated with tocilizumab for treatment of rheumatoid arthritis. *Int J Hematol*. 2012;96(6):781-5.
3. Maeda S, Zhang WG, Souri M, Yee VC, Ichinose A. Impaired dimer assembly and decreased stability of naturally recurring R260C mutant A subunit for coagulation factor XIII. *J Biochem*. 2012 Nov; 152(5): 471-8.
4. Souri M, Yee VC, Fujii N, Ichinose A. Molecular modeling predicts structural changes in the A subunit of factor XIII caused by two novel mutations identified in a neonate with severe congenital factor XIII deficiency. *Thromb Res*. 2012 Sep;130(3):506-10.
5. Hayashi T, Kadohira Y, Morishita E, Asakura H, Souri M, Ichinose A. A case of acquired FXIII deficiency with severe bleeding symptoms. *Haemophilia*. 2012 Jul;18(4):618-20.
6. Ichinose A. Factor XIII is a key molecule at the intersection of coagulation and fibrinolysis as well as inflammation and infection control. *Int J Hematol*. 2012 Apr; 95(4):362-70.
7. 尾崎 司, 二瀬白帝 : 血液凝固制御のメカニズム. *医学のあゆみ*. 2012 ; 242(2) : 153-8. (2012.07.14日号)
8. 二瀬白帝 : 流産や死産繰り返す不育症—原因と治療. *山形新聞 (やまがたわいわい子育て, 教えて先生)*. 2012年7月3日
9. 二瀬白帝 : フィブリン重合・安定化と血栓の消長. *Thrombosis Medicine*, 2012 ; 2(2) : 166-70. (2012.06)

10. 尾崎 司, 一瀬白帝: 高Lp(a)血症. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.20 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 一病因・病態研究, 診断・治療の進歩一, 2012; 149-53. (2012.12.20日号)
11. 一瀬白帝: 第VII因子欠損症/分子異常症. 日本臨床, 日本臨床社, 大阪, 2013; 印刷中
12. 尾崎 司, 一瀬白帝: プレカリクレイン欠乏症. 日本臨床, 日本臨床社, 大阪, 2013; 印刷中
13. 惣宇利正善, 一瀬白帝: 第XIII因子AおよびBサブユニット欠損症. 日本臨床, 日本臨床社, 大阪, 2013; 印刷中
14. 尾崎 司, 一瀬白帝: 高凝固第VII因子血症. 日本臨床, 日本臨床社, 大阪, 2013; 印刷中
15. 一瀬白帝: 線溶系異常症; 先天性プラスミノゲン欠乏症の分子病態. 日本臨床, 日本臨床社, 大阪, 2013; 印刷中

## 2. 学会発表

1. Ichinose A: Japanese criterion 2012 for the diagnosis and treatment of acquired hemorrhophilia XIII/13. 58th Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee (SSC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), June 27-30, 2012, Liverpool, England
2. Magari Y, Kawato S, Ninomiya K, Souri M, Ichinose A: A novel point-of-care test for the detection of anti-factor XIII antibodies in patients with autoimmune hemorrhaphilia XIII/13, by using immunochromatography. 58th Annual Meeting of the Scientific and Standardization Committee (SSC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), June 27-30, 2012, Liverpool, England
3. Ichinose A: (Transglutaminases in Human Disease Processes) Molecular and clinical approach to autoimmune hemorrhaphilia FXIII. Gordon Research Conferences 2012, July 15-20, 2012, Davidson, NC, USA (Davidson College)
4. Ichinose A, Osaki T, Souri M: Molecular pathological analyses of acquired hemorrhophilia due to anti-factor XIII autoantibodies. International Factor XIII Workshop (Invited Lectures), September 27-29, 2012, Debrecen, Hungary
5. Ichinose A: 34 Japanese cases with Autoimmune Hemorrhophilia XIII/13 (AH13) in comparison with 28 non-Japanese cases A. The Annual International Factor XIII Symposium/Workshop in 2013, February 20, 2013, Munich, Germany
6. 笠原浩二, 兼田瑞穂, 三木俊明, 飯田和子, 鈴木英紀, 小林俊秀, 岡崎俊朗, 一瀬白帝, 山本正雅: 血小板スフィンゴミエリン特異的膜ラフトへのフィブリン移行と血餅退縮. 第34回日本血栓止血学会学術集会, 東京; 2012年6月7-9日(O-031)
7. 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. 第34回日本血栓止血学会学術集会, 東京; 2012年6月7-9日(O-100)
8. Usui E, Oka H, Shibasaki T, Tamaki S, Tanigawa M, Tsuji K, Souri M, Ichinose A: A refractory case of acquired factor XIII/13 deficiency. 第74回日本血液学会学術集会, 京都; 2012年10月19-21日(PS-2-256)
9. 神谷悦功, 朴 智榮, 間宮均人, 内海眞, 松原えり奈, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 初発から長い経過をとった自己抗体による出血性後天性第XIII因子 (F13) 欠乏症. 第74回日本血液学会学術集会, 京都; 2012年10月19-21日(PS-2-264)
10. Takai M, Hosono N, Yamauchi T, Urasaki Y, Ueda T, Neishi H, Takeuchi H, Kikuta K, Souri M, Ichinose A: Intracerebral hemorrhage developed in a patient with idiopathic autoimmune factor XIII deficiency. 第74回日本血液学会学術集会, 京都; 2012年10月19-21日(PS-2-265)
11. Kawano H, Yamamoto D, Uchihashi Y, Wakahashi K, Kawano Y, Sada A, Minagawa K, Katayama Y, Kohmura E, Souri M, Ichinose A: Inhibitor-negative severe acquired factor XIII/13 deficiency with aggressive subdural hemorrhage. 第74回日本血液学会学術集会, 京都; 2012年10月19-21日(PS-2-266)
12. Matsumoto R, Wada H, Sugihara T, Souri M, Ichinose A: Bleeding phenotype of factor XIII B deficiency aggravated by thrombocytopenia and alloantibodies. 第74回日本血液学会学術集会, 京都; 2012年10月19-21日(PS-2-284)
13. 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝: 後天性血友病XIII/13における抗XIII因子自己抗体の阻害特性. 第85回日本生化学会大会, 福岡; 2012年12月14-16日
14. 一瀬白帝: 出血性後天性凝固異常症; 特に後天性血友病について. 第89回埼玉県小児血液同好会 特別講演, 大宮; 2012年4月12日
15. Ichinose A: (Lecture) Acquired hemophilia-like disease due to anti-Factor XIII autoantibodies, the most under-diagnosed bleeding disorder. Puget Sound Blood Center, Seattle, WA, July 20, 2012
16. 尾崎 司, 惣宇利正善, 曲 泰男, 一瀬白帝: 後天性血友病XIII(13)の診断に有用な、抗凝固第13因子モノクローナル抗体のエピトープ探索. 第50回東北止血