

201421004A

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業

血友病とその治療に伴う合併症の克服に関する研究
(H24-エイズ-一般-004)

平成26年度 総括・分担研究報告書

平成27（2015）年3月

研究代表者 坂田 洋一
(自治医科大学)

目 次

I.	総括研究報告	
	血友病とその治療に伴う合併症の克服に関する研究	1
	(自治医科大学 坂田 洋一)	
II.	分担研究報告	
1.	血友病遺伝子治療基礎研究	18
	(自治医科大学 大森 司、坂田 洋一)	
2.	血友病 A インヒビターの産生制御法の開発に関する研究	24
	(自治医科大学 窓岩 清治)	
3.	アデノ随伴ウイルスベクターを用いた血友病遺伝子治療の基礎的検討	27
	(自治医科大学 小澤 敬也、水上 浩明)	
4.	第 VIII、第 IX 因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究	30
	(奈良県立医科大学 嶋 緑倫)	
5.	AAV ベクターの局所投与における選択性・安全性の評価： 肝臓に対する経門脈的投与法の確立	45
	(自治医科大学 菱川 修司)	
6.	臨床研究用候補製剤 (SIV ベクター) の GMP 製造技術：臨床応用技術開発	49
	(ディナベック株式会社 井上 誠)	
7.	血友病およびその治療に関連した遺伝子解析研究	51
	(東京医科大学 稲葉 浩)	
8.	血友病患者の手術適応に関する研究	56
	(東京大学医科学研究所附属病院 竹谷 英之)	
9.	血液凝固異常症の QOL に関する研究	60
	(聖マリアンナ医科大学 瀧 正志)	
10.	薬害 HIV 感染被害者・家族等の現状からみた、 血友病に係わる今後の課題及び課題克服への支援研究	129
	(社会福祉法人はばたき福祉事業団 柿沼 章子)	
11.	AAV ベクターを使用した臨床研究の課題	135
	(自治医科大学 村松 慎一)	
12.	血友病治療用 AAV ベクター大量製造法の開発	137
	(タカラバイオ株式会社バイオ産業事業部門 峰野 純一)	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	144
IV.	研究成果の刊行物・別刷	147

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
総括研究報告書

血友病とその治療に伴う合併症の克服に関する研究
研究代表者 坂田洋一 自治医科大学 名誉・客員教授

研究要旨

血友病は血液凝固第 VIII 因子 (FVIII), 第 IX 因子 (FIX) 活性が欠損する先天性出血性疾患である。治療には補充療法が行われるが、非加熱血漿製剤によるウイルス感染を引き起こし、社会的に多くの問題を生んだ。製剤によるウイルス感染症は、薬害被害から 30 年が経過した今も患者 QOL を阻害している。本研究では、HIV 感染者を含む血友病患者の合併症を克服するために、遺伝子治療、インヒビター対策、ならびに患者ニーズ抽出による QOL 改善を目的とした調査研究を 3 本の柱として研究を推進する。1) 遺伝子治療：血友病 B に対する遺伝子治療はアデノ随伴ウイルスベクター (AAV ベクター) を用いた検討を継続している。肝臓からの生理的な凝固因子発現が可能な AAV8 を用いて、一回のベクター投与により、副作用もなく、7 年以上の治療域の凝固因子発現を確認した。GMP グレードベクターをより効率よく生産するシステムとして、バキュロウイルスによる AAV 製造システムを開発した。本年度は血友病 B に使用する FIX 発現ベクター産生の条件を検討し、概算で 150L の培養系によって臨床研究に必要なベクター量が得られる試算となった。AAV による遺伝子治療を阻害する抗 AAV カプシド中和抗体は、血友病の 3~4 割が陽性であった。AAV 中和抗体陽性患者への治療法である経門脈ベクター投与法の安全性について、マイクロミニプタを用いて検討した。本法による循環動態や肝障害への影響が最小限であることを確認した。より患者数の多い血友病 A の前臨床試験を目的として、サルに FVIII 発現 AAV8 ベクターを投与した。サルにおいては十分な血中抗原量は得られなかったが、FVIII のコドン最適化によって、マウスで従来法と比較し、治療効果が 40 倍改善した。細胞治療法では、凝固因子発現間葉系幹細胞 (MSC) の関節内投与法の臨床応用を目指し、SIV ベクターによるサル、ヒト MSC での凝固因子発現を確認した。さらに、コドン最適化 FVIII を用いることで必要ウイルス量を減じ得た。2) インヒビター対策：FVIII を発現させたマウス iPS 細胞を樹立し、これを胸腺上皮細胞に分化させ、再投与を行うことで免疫寛容が誘導された。実臨床では、過去データベース J-HIS1 の解析から血漿由来と遺伝子組み換え製剤間のインヒビター発生率に差はなかった。新規血友病患者に関する我が国初の前向きコホート (J-HIS2) では 245 例の登録を完了した。インヒビター発生要因の検索のために J-HIS1, J-HIS 2 の 273 症例の検体から凝固因子サイトカインの遺伝子解析を開始した。遺伝子背景からは、null 変異がインヒビター群で高率であり (77%), サイトカイン遺伝子多型 TNF α -308 の A アレルとインヒビター発症に相関を認めた。F8 解析には、より簡便な次世代シーケンズ法を導入し、同義的変異 (c.120C>A; p.(L40=)) を同定した。新規インヒビター検査法である Tokyo 変法は既法と比べ擬陽性反応が少なく、その再現性も優れていた。免疫寛容誘導療法 (ITI) 治療時の IgG サブクラスは初期に IgG1 の一過性の上昇、再燃時には IgG4 の上昇を認めた。3) QOL 向上のための調査研究：SF36 を用いた QOL 調査は世界で最も大規模な血友病患者 QOL 調査となった。血友病患者では身体に関する下位尺度が我国の国民標準値よりも低いことが示された。中等症でも重症と同様に身体下位尺度が低下した。国際比較では他国と同様の QOL

パターンを示した。機縁法，自記式質問票を用い，保因者に支援ニーズ調査を実施した。関節障害に対する整形外科的手術の際に，ウイルス感染に伴う肝障害，インヒビターの存在が予後と関連した。新たな潜在的な支援要因として「支援準備性」が明らかとなった。具体的な取り組みとして，「血友病女性・保因者のための情報サイト」を開設し，準備性に関する支援を行った。

分担研究者：

自治医科大学分子病態研究部

講師 窓岩 清治

講師 大森 司

自治医科大学遺伝子治療研究部

客員教授 小澤 敬也

教授 水上 浩明

奈良県立医科大学小児科学教室

教授 嶋 緑倫

自治医科大学先端医療技術開発

センター 准教授 菱川 修司

ディナベック株式会社

取締役 井上 誠

東京医科大学臨床検査医学講座

講師 稲葉 浩

東京大学医科学研究所附属病院

講師 竹谷 英之

聖マリアンナ医科大学

教授 瀧 正志

社会福祉法人はばたき福祉事業

団

事務局長 柿沼 章子

自治医科大学医学部神経内科

特命教授 村松慎一

タカラバイオ株式会社バイオ産業事業部門

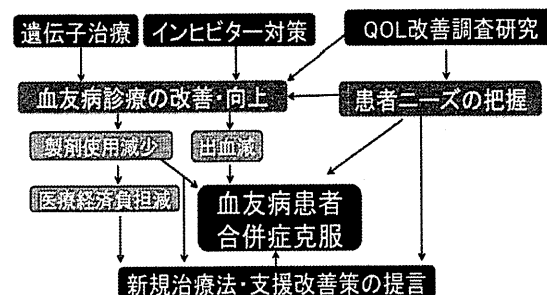
常務取締役・本部長 峰野 純一

A. 研究目的

血友病は血液凝固第 VIII 因子 (FVIII)，または第 IX 因子 (FIX) 異常による遺伝性出血性疾患である。過去の非加熱製剤に起因する HIV や HCV 感

染により血友病患者の健康は著しく阻害された。本研究は血友病患者の合併症を克服することを目的に，1) 遺伝子治療の開発，2) インヒビターの発症要因の解明と治療法の開発，3) 患者支援ニーズを抽出するための QOL 調査研究・聞き取り調査を行う (図)。

図 本研究の目的と意義



1) 遺伝子治療：我々は血友病 B に対するアデノ随伴ウイルス 8 型ベクター (AAV8) を用いた遺伝子治療技術を確立した。本技術を患者数の多い血友病 A に応用するため，昨年度にサル体内でヒト FVIII を検出する手法を開発した (98% 相同性)。本年度はサルでの長期治療効果を観察すると共に，血友病 A に対する本技術の応用を試みる。臨床試験に必要な大量の AAV 製造を可能とするバキュロウイルスを用いたシステムの GMP 準拠での製造技術開発を行う。世界に先駆けて開発した門脈左枝への選択的投与による AAV 中和抗体回避法の臨床応用を目指し，その安全性を大動物で確立する。血友病患者 QOL を阻害する関節出血，関節障害に対する遺伝

子導入間葉系幹細胞（MSC）関節内投与のサルでの安全性・効果試験を行う。

2) インヒビター対策：血友病患者への補充療法後に一定の割合で凝固因子インヒビター（同種抗体）が発生し、止血治療は困難となり、大量の医療財源が投入される。我が国初の血友病患者登録システムを構築することで、コホートによるインヒビター発症の統計学的解析、ならびに患者血漿の取得が全国から可能である。本データベースを基軸とした統計解析、ならびに生化学的解析により、インヒビターの発生機序を解明し、新規診断法・治療法を開発する。

3) 調査研究：これまでの調査により国内の血友病患者の QOL 阻害因子として、関節障害の存在、ウイルス感染、インヒビターの存在等を明らかにした。今回は、国際的な SF-36 質問票を用い、血友病 QOL の国際比較を行う。さらに、個別に血友病保因者女性の一連の健康史を把握した上で、遺伝相談に関わる支援プロセス課題の抽出・分析を行い、支援に必要な相談体制の構築を目指す。ウイルス感染に起因する肝機能障害を持つ血友病患者の整形外科手術時に、HIV 感染症・肝硬変も含めた全身状態を元に、適切な周術期管理を確立する。

B. 研究方法

1) 遺伝子治療：AAV8 を用いた血友病 B 遺伝子治療の長期治療効果を観察した。本手法の血友病 A への応用として FVIII を発現する AAV8 をカニクイザル

に投与した。AAV 遺伝子導入効率を阻害する中和抗体の保有率を日本国内の健康者 90 人、血友病患者 68 人を対象として解析を行った。AAV8-FIX ベクター産生用バキュロウイルスベクターを構築し、臨床試験に必要な用量を得るために生産性向上の検討を行った。経門脈的ベクター投与手法の臨床治療が実施可能な条件を構築するために、マイクロミニブタを用い安全性試験を行った。ヒト、サル MSC を分離しサル免疫不全ウイルス（SIV）により FVIII 産生が可能かどうかを検討し、適切な感染・培養条件を探った。GMP 準拠 SIV ベクターの大量生産・浮遊培養による生産性を検討した。

2) インヒビター対策：インヒビター症例を対象としたケースコントロール研究、ならびに我が国初の患者登録システムを用いたコホート研究によりインヒビター発症要因を分析した。インヒビター標準血漿を作製し、新規インヒビター検出法の再現性を検討した。軽症血友病 A 患者に生じたインヒビターの凝固抑制機序を検討した。免疫寛容療法（ITI）での IgG サブクラス変動の検討を行った。新規バイパス製剤の治療効果に対する種々の患者インヒビター存在下での凝固制御機序を検討した。マウスモデルを用いて iPS 由来胸腺組上皮的胸腺への細胞移植によるインヒビターの発生制御を試みた。

3) QOL 調査研究：血液凝固異常症全国調査で構築されたネットワークをもとに配布した QOL 調査用紙を集計し、SF-36 の QOL 下位尺度と各患者データの関連性を統計解析し、諸外国、他の慢性疾患と比較した。アクションリサー

チでは質問紙調査 (n=30) により遺伝保因に関わる生活史, 検査・告知に伴う出来事, 開示を集計し, モデル化を行った. 準備性支援では対象者の支援特性について支援計画の検討を行った. 血友病整形外科手術 100 例に術後発生した合併症 (感染, 創部治癒遷延, 死亡) と術前の血液検査結果を比較・解析した.

(倫理面への配慮)

遺伝子治療開発, 動物実験は国の法律・指針と各大学・施設の規定を遵守する. 臨床研究は最新の各省庁の倫理指針を遵守し, 学内, 必要な場合は国の審査を経た上で実施する.

C. 研究結果

1) 遺伝子治療: カニクイザルへの AAV8-FIX 投与により中和抗体陰性全例に治療域に至る効果を認め, 1 回の静脈投与により 7 年に以上にわたる治療域の凝固因子発現を認めた. 血友病 A 治療を目的として AAV8-FVIII をカニクイザルに投与したが, FIX 搭載ベクターと同量では治療域の FVIII は得られなかった. 一方, FVIII のコドン最適化を行うことで, 血友病 A マウスにおいてサル実験に用いた通常の AAV8 よりも FVIII 発現は 40 倍上昇し, 血友病 A への応用が期待された. AAV 中和抗体が存在すると AAV 遺伝子治療の効果を認めない. この中和抗体は約 30% の血友病患者で認め, 特に 40 歳以降での陽性率が高かった. 一方, サルの実験では中和抗体陽性個体においても全例で門脈内カテーテル投与法により 5 年以上治療域に達す

る効果を得た. マイクロミニブタを用いた本投与法の安全性試験では門脈急速注入による循環動態の変動は認めず, 一過性の ALT, γ GTP の上昇を認めたが 2 週間には正常化した. 組織学的な異常は認めなかった. 臨床応用を視野に恐れ, バキュロウイルスによる AAV 製造を FIX 遺伝子に応用したが, これまで手法の単純な外挿では産生効率は 1/5 以下となった. 種々の培養・精製条件を検討し, AAV ベクター実製造時に使用する Wave Bioreactor で小スケール検と同程度の AAV 産生条件が設定出来た. サルやヒト MSC はマウス MSC と異なり継代や SIV による遺伝子導入後に細胞増殖が低下した. しかし, コドン最適化 FVIII を使用することにより低濃度のベクターでも凝固因子発現レベルが担保できることが明らかとなった. また, GMP グレード SIV ベクター作製の条件検討も終えた.

2) インヒビター対策: コホート研究には本年 10 月までに 245 名が登録され, 血友病 A の 21.6% にインヒビターが発生した (発症年齢 1 歳 2 ヶ月, 総投与日数 13 日). 製剤やデンジャーイベントの有無によるインヒビター発症に差異はなかった. 定期補充療法群が出血時治療群に比べ, インヒビター発症が少なかった. 遺伝子背景からは, null 変異がインヒビター群で高率であり (77%), サイトカイン遺伝子多型 $TNF\alpha$ -308 の A アレルとインヒビター発症に相関を認めた. F8 解析には, より簡便な次世代シーケンス法を導入し, 同義的変異 (c.120C>A; p.(L40=)) を同定した. 新規インヒビター検査法である Tokyo 変法は既法と比べ擬陽性反応が少なく,

その再現性も優れていた。施設間差サーベイランスのためにインヒビター測定手順マニュアルを作製した。軽症患者インヒビターのエピトープを同定し、一部は正常 FVIII 活性のみを濃度依存的に抑制した。ITI 治療時の IgG サブクラスは初期に IgG1 の一過性の上昇、再燃時には IgG4 の上昇を認めた。新規バイパス製剤 MC710 はインヒビター存在下でのトロンビン生成を FVIII 存在下で相加的に増加した。FVIII を遺伝子導入した iPS 細胞の胸腺移植により血友病 A マウスの FVIII に対するインヒビター発症が抑制され、本免疫寛容で発現変化を示す複数の免疫応答遺伝子群を特定した。

3) QOL 調査研究：883 症例の情報から解析を行った。諸外国と共通して、身体的面 QOL 低下が精神的面よりも大きく、健康関連 QOL は年齢と共に低下するが、20 歳前後は標準値とほぼ同じであった。他疾患との比較では、身体に関する下位尺度の低下が大きく、特にインヒビター症例では顕著であった。血友病家系女性への調査より、対象者への支援が行き届いておらず、潜在的要因として“支援準備性”が明らかとなった。また、保因者の認識（血友病児出産、保因者の対応、夫婦関係の変化）、遺伝子診断・カウンセリングの役割、適切な支援（相談窓口、適切な情報提供）、が解決すべき問題として抽出された。血友病家系・保因者のための情報サイトの開設を行い、準備性に関する支援を開始した。整形外科手術に伴う術後感染はインヒビター保有例で有意に発生した。HIV 感染例に細菌性感染発症との関連は認めなかったが、術後 1 年以内

に死亡した 4 例ではウイルス感染に起因する肝機能不全を示していた。

D. 考察

欧米でのヒト血友病 B 遺伝子治療の成功は記憶に新しいが、血友病 B の頻度、AAV 中和抗体の有無を勘案すると同手法の恩恵をうける患者は全体の 10-15%にすぎない。よって、血友病患者全体を見据えた遺伝子治療法の開発は開発途上であり、本研究班の研究成果が国際的にも貢献できる部分は大きい。特に AAV 中和抗体陽性患者への対応、血友病 A 患者への治療応用、並びに関節症に対する局所治療は特に重要な鍵となる。我々の開発した中和抗体回避法による肝障害の程度は軽微で可逆的なものと判断された。今後も低侵襲性、安全性を追求し臨床応用に近づけたい。本年度、血友病 A に対して従来法よりも 40 倍高率な投与手法が得られたことは臨床応用も期待される。AAV 遺伝子治療法を多くの患者に安定して供給するには抜本的な製造過程の見なおしが必要である。海外の血友病 B に対する遺伝子治療では、約 2×10^{15} vg の AAV ベクターを製造するために、セルスタック 10 段フラスコが 432 個使用された。バキュロウイルスベクターを用いる製造手法は拡張性が高く有望な技術であるが、その製造条件については相当の至適化が必要であった。臨床試験に供するためのベクター量を想定した場合に、コストの問題は残るものの、本年度に実際に製造可能なスケール（100-200L）での製造条件を設定することができた。本研究班の調査研究により、血友病患者の QOL を阻害する因子として血友病

性関節症の重要性が浮き彫りとなった。凝固因子発現間葉系幹細胞の関節内投与による血友病関節症治療もサル、ヒト MSC での検討を終えた。SIV の GMP 製造も目処がつき、各シーズを組み合わせヒト臨床試験に向かいたい。本研究班の遺伝子治療の取り組みは、国際的に高く評価され、2015 年国際血栓止血学会 State of Art lecture に選択されている。

インヒビター対策は、新規血友病患者データベースを構築し、本年度までに 245 名と多症例が集積されつつある。中間段階であるものの、定期補充群がオンデマンド群に対してインヒビター発症が低いことが示された。過去のデータベースからインヒビター発症に対する null 変異、TNF α -308 の A アレルとの関連が見出され、今後の症例集積からも新たな知見が導き出せると期待される。次世代シーケンスの導入によりイントロン部位も含め、血友病責任遺伝子部位の同定がより迅速・安価に可能となった。本邦の血友病患者の 1/20 にあたる症例の遺伝子異常が本研究班にて同定されている。本研究班から提唱されたインヒビター測定法である Tokyo 変法は pH 変動が少なく再現性に優れた結果であり、今後標準化をさらに進めたい。ITI 治療中には IgG サブクラスの変動が認められ、これが ITI の効果判定、治療継続の判断になる可能性がある。より効果的な止血療法として新規バイパス製剤 MC710 と FVIII の同時投与が新たな治療戦略と期待される。マウスモデルを用いた胸腺への iPS 細胞による免疫寛容誘導は、移植細胞自身の拒絶を回避しながら抗原特異

的免疫寛容を誘導し得るという優位性を有した新規治療法と成りうる。

QOL 調査は 800 症例を超える本邦血友病患者を対象とした世界でも最も大規模な QOL 調査となった。本邦の血友病患者 QOL は諸外国と同様に身体的側面の低下が大きく、過去の我々の調査からも関節症に対する予防・治療が重要である。また、血液製剤によるウイルス感染は、薬害被害から長期経過がたった今も QOL や術後の早期死亡にも影響を及ぼしている。現段階で血友病の根治が可能ではなく、薬害 HIV 被害克服も充分でないことが、家族関係の疎外、保因認識形成の機会喪失、薬害被害経験の次世代への継承、に結びついている。具体的な支援技術の向上とともに、地域、保険、発達等の専門家の参画を検討し、支援とその内容の改善が今後の課題である。

以上の本研究班の取り組みは、根治的な血友病治療・包括支援に結びつき、国民への還元を考慮した政策への提言、診療ガイドライン策定や治療の標準化、効果的な医療財源の節約にも寄与する。

E. 結論

血友病 B を対象とした AAV ベクター臨床研究の基礎的技術の長期安全性・効果が確認された。今後、本技術を用いた血友病 B 臨床研究を行う。さらに、より多くの患者が恩恵を受けられるように、血友病 A へ応用、門脈注入法の安全性追求、大量精製技術を用いた治験準備、および関節局所を標的とした細胞治療の開発を継続する。患者登録で

データベースから新たな遺伝子異常，インヒビター発生要因が明らかとなり，インヒビター測定 of 標準化に近づいた。また調査研究では世界随一の QOL 調査が集計され，個別支援窓口の設置を行った。本研究班は，遺伝子治療，インヒビター対策，QOL 調査というこれら3つの研究結果を有機的に統合し，日本における血友病患者・HIV 薬害患者を取り巻く環境の改善に寄与している。

E. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

論文発表

1. Sakata A, Ohmori T, Nishimura N, Suzuki H, Madoiwa S, Mimuro J, Kario K, Sakata Y. Paxillin is an intrinsic negative regulator of platelet activation in mice. *Thromb J*. 12: 1, 2014.
2. Mimuro J, Mizukami H, Shima M, Matsushita T, Taki M, Muto S, Higasa S, Sakai M, Ohmori T, Madoiwa S, Ozawa K, Sakata Y. The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. *J Med Virol*. 86:1990-1997, 2014.
3. Koyama K, Madoiwa S, Nunomiya S, Koinuma T, Wada M, Sakata A, Ohmori T, Mimuro J, Sakata Y. Combination of thrombin-antithrombin complex, plasminogen activator inhibitor-1, and protein C activity for early identification of severe coagulopathy in initial phase of sepsis: a prospective observational study. *Crit Care*. 18: R13, 2014.
4. Kashiwakura Y, Ohmori T, Mimuro J, Madoiwa S, Inoue M, Hasegawa M, Ozawa K, Sakata Y. Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. *Haemophilia* 20:e40-44, 2014.
5. Watanabe H, Kikkawa I, Madoiwa S, Sekiya H, Hayasaka S, Sakata Y. Changes in Blood Coagulation-Fibrinolysis Markers by Pneumatic Tourniquet During Total Knee Joint Arthroplasty with Venous Thromboembolism. *J Arthroplasty*. 29: 569-73, 2014.
6. 大森 司, 水上浩明, 窓岩 清治, 小澤敬也, 坂田洋一. 【血栓止血性疾患診療の最前線】 血友病に対する治療の進歩 遺伝子細胞治療の面から. *臨床血液*. 55(8):899-907, 2014.
7. 大森 司. 【血液凝固研究/臨床最前線】 血液凝固第 IX 因子(解説/特集) 日本血栓止血学会誌. 25(4):458-464, 2014.
8. 大森 司【内科疾患 最新の治療 明日への指針】(第9章)血液 血友病(解説/特集) 内科 113(6):1482-1484, 2014.
9. Madoiwa S. Endothelial cells and fibrinolysis in sepsis-induced DIC. *J Intensive Care* 2015; in press.
10. Watanabe, H., I. Kikkawa, S. Madoiwa, H. Sekiya, S. Hayasaka,

- and Y. Sakata. Changes in blood coagulation-fibrinolysis markers by pneumatic tourniquet during total knee joint arthroplasty with venous thromboembolism. *J Arthroplasty* 2014; 29: 569-573.
11. Wada, H., D. I. C. s. Japanese Society of Thrombosis Hemostasis, K. Okamoto, T. Iba, S. Kushimoto, K. Kawasugi, S. Gando, S. Madoiwa, T. Uchiyama, T. Mayumi, and Y. Seki. Addition of recommendations for the use of recombinant human thrombomodulin to the "Expert consensus for the treatment of disseminated intravascular coagulation in Japan". *Thromb Res* 2014; 134: 924-925.
 12. Sanada, Y., H. Sasanuma, Y. Sakuma, K. Morishima, N. Kasahara, Y. Kaneda, A. Miki, T. Fujiwara, A. Shimizu, M. Hyodo, Y. Hirata, N. Yamada, N. Okada, Y. Ihara, T. Urahashi, S. Madoiwa, J. Mimuro, K. Mizuta, and Y. Yasuda. Living donor liver transplantation from an asymptomatic donor with mild coagulation factor IX deficiency: report of a case. *Pediatr Transplant* 2014; 18: E270-273.
 13. Tsukahara, T., Iwase, T., Kawakami, K., Iwasaki, M., Yamamoto, C., Ohmine, K., Uchibori, R., Teruya, T., Ido, H., Yasushi, S., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Nakamura, M., Brentjens, R., Ozawa, K.: The Tol2 transposon system mediates the genetic engineering of T-cells with CD19-specific chimeric antigen receptors for B-cell malignancies. *Gene Ther*, *in press*.
 14. Matsumoto T, Nogami K, Okuda M, Shima M. Optimization of the automated, CS-2000i™ method for measuring low levels of von Willebrand factor ristocetin cofactor activity (VWF:RCo). *Int J Hematol*. 2014 [Epub ahead of print]
 15. Chitlur M, Rivard GE, Lillicrap D, Mann K, Shima M, Young G; Factor VIII, Factor IX, and Rare Coagulation Disorders Subcommittee of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Recommendations for performing thromboelastography/thromboelastometry in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 12(1); 103-6
 16. Matsui H, Takeda M, Soejima K, Matsunari Y, Kasuda S, Ono S, Nishio K, Shima M, Banno F, Miyata T, Sugimoto M. Contribution of ADAMTS13 to the better cell engraftment efficacy in mouse model of bone marrow transplantation. *Haematologica*; 2014;99(10):e211-3
 17. Matsui H, Fujimoto N, Sasakawa N, Ohinata Y, Shima M, Yamanaka S, Sugimoto M, Hotta A. Delivery of full-length factor VIII using a piggyBac transposon vector to correct a mouse model of

- hemophilia A. *PLoS One*; 9(8): e104957
18. Shima M, Hermans C, de Moerloose P. Novel products for haemostasis. *Haemophilia*; 20(4): 29-35
 19. Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, Sampei Z, Kuramochi T, Sakamoto A, Haraya K, Adachi K, Kawabe Y, Nogami K, Shima M, Hattori K. The anti-factor IXa/X bispecific antibody ACE910 prevents spontaneous joint bleeds in a long-term primate model of acquired hemophilia A. *Blood*. 2014; 124(20):3165-3171
 20. Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, Sakamoto Y, Haraya K, Kawabe Y, Shima M, Yoshioka A, Hattori K. Anti-factor IXa/X bispecific antibody (ACE910): hemostatic potency against ongoing bleeds in a hemophilia A model and the possibility of routine supplementation. *J Thromb Haemost*. 2014; 12(2): 206-213.
 21. Yada K, Nogami K, Kawamura T, Minami H, Shima M. The first case of int1h-related inversion in Japanese haemophilia A patients. *Haemophilia*. 2014; Aug 25. doi: 10.1111/hae.12509.
 22. Matsumoto T, Nogami K, Shima M. Coagulation function and mechanisms in various clinical phenotypes of patients with acquired factor V inhibitors. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014;12(9): 1503-1512.
 23. Ogiwara K, Nogami K, Matsumoto T, Shima M. Tissue factor pathway inhibitor in activated prothrombin complex concentrates (aPCC) moderates the effectiveness of therapy in some severe hemophilia A patients with inhibitor. *International Journal of Hematology*. 2014; 99(5): 577-587.
 24. Nogami K, Shinozawa K, Ogiwara K, Matsumoto T, Amano K, Fukutake K, Shima M. Novel FV mutation (W1920R, FVNara) associated with serious deep vein thrombosis and more potent APC resistance relative to FVLeiden. *Blood*. 2014; 123(15): 2420-2428.
 25. Haku J, Nogami K, Matsumoto T, Ogiwara K, Shima M. Optimal monitoring of bypass therapy in hemophilia A patients with inhibitors by the use of clot waveform analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014; 12(3): 355-362.
 26. Isshiki M, Zhang X, Sato H, Ohashi T, Inoue M, Shida H. Effects of different promoters on the virulence and immunogenicity of a HIV-1 Env-expressing recombinant vaccinia vaccine. *Vaccine*. 2014; 32(7):839-45.
 27. Nagao, A. Hanabusa, H, Takedani, H. "Continuous infusion of rFVIIa during surgery in a FVII-deficient patient: a case report from Japan."

- Haemophilia 2014 20(1): e110-112.
28. Goto, M. Takedani, H. Haga, N. Kubota, M. Ishiyama, M. Ito, S. Nitta, O... "Self-monitoring has potential for home exercise programmes in patients with haemophilia." Haemophilia 2014, 20(2): e121-127.
 29. Shimokawa, A. and Takedani, H "Rehabilitation improved walking ability for three haemophilia patients with inhibitors." Haemophilia 2014 20(3): e222-224.
 30. 鈴木典子、山崎 哲、辻村浩司、高山成伸、瀧 正志 : 自動分析によるフォン・ヴィレブランドファクターリストセチンコファクター活性 (VWF:RCo) 測定およびフォン・ヴィレブランドファクター抗原 (VWF:Ag) 測定の評価、日本検査血液学会雑誌、15(3):311-318, 2014
 31. 山下敦己、瀧 正志 : von Willebrand 病、内科、114 (2) : 259-261, 2014
 32. 瀧 正志 : 新生児・小児の血液学的検査—凝固・線溶検査、検査と技術、42 (12) : 1308-1311、2014
 33. 瀧 正志 : 血友病、小児科、55 (11) : 1681-1686、2014
 34. Miyamoto Y, Ishikawa Y, Iegaki N, Sumi K, Fu K, Sato K, Furukawa-Hibi Y, Muramatsu S, Nabeshima T, Uno K and Nitta A: Overexpression of Shati/Nat8l, an *N*-acetyltransferase, in the nucleus accumbens attenuates the response to methamphetamine via activation of group II mGluRs in mice. Int J Neuropsychopharmacol, 17:1283-1294, 2014.
 35. Ito H, Fujita K, Tagawa K, Chen X, Homma H, Sasabe T, Shimizu J, Shimizu S, Tamura T, Muramatsu S and Okazawa H: HMGB1 facilitates repair of mitochondrial DNA damage and extends the lifespan of mutant ataxin-1 knock-in mice. EMBO Mol Med, 7(1):78-101, 2014.
 36. Miyamoto Y, Iida A, Sato K, Muramatsu S, and Nitta A: Knockdown of dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens core suppresses methamphetamine-induced behaviors and signal transduction in mice. Int JNP, in press.
 37. Ito H, Shiwaku H, Yoshida C, Homma H, Luo H, Chen X, Fujita K, Musante L, Fischer U, Frints SGM, Romano C, Ikeuchi Y, Shimamura T, Imoto S, Miyano S, Muramatsu S, Kawauchi T, Hoshino M, Sudol M, Arumughan A, Wanker EE, Richi T, Schwartz C, Matsuzaki F, Bonni A, Kalscheuer VM and Okazawa H: In utero gene therapy rescues microcephaly caused by Pqbp1-hypofunction in neural stem progenitor cells. Mol Psychiatry, in press.
2. 学会発表
1. 柏倉 裕志, 大森 司, 三室 淳, 窓岩 清治, 井上誠, 長谷川 護, 小澤敬也, 坂田洋一 : レンチウイルスベクターによるマウス iPS 細胞からの機能的 FVIII の産生 第 36 回日本血栓止血学会学術集 2014.5/29-5/31 大阪

2. 大森 司: ITP の病態と ITP 治療におけるトロンボポエチン受容体作動薬の役割 第36回日本血栓止血学会学術集会 2014.5/29-5/31 大阪
3. 小山 寛介, 窓岩 清治, 布宮 伸, 鯉沼 俊貴, 和田 政彦, 大森 司, 三室 淳, 西村 智, 坂田 洋一: 敗血症初期における重症凝固障害の早期診断に有用なバイオマーカーの検討 第36回日本血栓止血学会学術集会 2014.5/29-5/31 大阪
4. 窓岩清治, 血友病インヒビターの発症とその制御. 第36回日本血栓止血学会学術集会, 2014年5月, 大阪
5. Mizukami, H., Mimuro, J., Ohmori, T., Shima, M., Tadashi Matsushita, T., Masashi Taki, M., Shinji Muto, S., Satoshi Higasa, S., Michio Sakai, M., Uchibori, R., Tsukahara, T., Urabe, M., Kume, A., Madoiwa, S., Sakata, Y., Ozawa, K.: Age-related eligibility of hemophilia gene therapy using AAV vectors. The 76th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Osaka, Oct. 31-Nov. 2, 2014.
6. 稲葉 浩, 篠澤圭子, 鈴木隆史, 大瀧 学, 清田育男, 四本美保子, 近澤悠志, 村松 崇, 備後真登, 丹羽一貴, 萩原 剛, 山元泰之, 天野景裕, 福武勝幸 非重症型血友病 A を引き起こす遺伝子変異の特徴 第36回日本血栓止血学会 2014年5月 大阪
7. 鈴木隆史, 稲葉 浩, 村松 崇, 清田育男, 近澤悠志, 備後真登, 丹羽一貴, 四本美保子, 大瀧 学, 萩原 剛, 篠澤圭子, 天野景裕, 福武勝幸 DDAVP が無効であった中等症型血友病 A の解析 第36回日本血栓止血学会 2014年5月 大阪
8. 村松 崇, 稲葉 浩, 篠澤圭子, 萩原 剛, 鈴木隆史, 天野景裕, 福武勝幸 ポリリン酸の血液凝固に与える影響 第36回日本血栓止血学会 2014年5月 大阪
9. 篠澤圭子, 近澤悠志, 天野景裕, 備後真登, 萩原 剛, 鈴木隆史, 稲葉 浩, 福武勝幸 第 X 因子 CRM-reduced 分子異常症をおこした FX Met362Thr 変異の特徴 第36回日本血栓止血学会 2014年5月 大阪
10. Keiko Shinozawa, Kagehiro Amano, Takeshi Hagiwara, Takashi Suzuki, Hiroshi Inaba, Katsuyuki Fukutake A total management system of carrier diagnosis for hemophilia using gene analysis: results of 24 individuals in 15 Japanese families with hemophilia. The World Federation of Hemophilia (WFH) 2014 World Congress May 11-15, Melbourne, Australia
11. Hiroshi Inaba, Keiko Shinozawa, Kagehiro Amano, Katsuyuki Fukutake Application of next-generation sequencing to the etiological mutation analysis of hemophilia A 第76回日本血液学会 2014年11月 大阪
12. 稲葉 浩, 篠澤圭子, 萩原 剛, 鈴木隆史, 天野景裕, 福武勝幸 血友病 A の病因遺伝子解析に対する次世代シーケンス応用の試み 第61回日本臨床検査医学会 2014年11月 福岡

13. 篠澤圭子、天野景裕、備後真登、村松 崇、清田育男、萩原 剛、鈴木隆史、稲葉 浩、福武勝幸 遺伝子解析による血友病の保因者診断で同定した病因遺伝子変異 第61回日本臨床検査医学会 2014年11月福岡
14. 足利朋子、長江千愛、森美佳、山下敦己、瀧 正志：青年期に定期補充療法を中断した重症血友病患者の臨床経過、第117回日本小児科学会、2014.4
15. 長江千愛、足利朋子、山下敦己、森美佳、吉川喜美枝、山本仁、瀧 正志：血友病患者における新生児期の出血に関する検討、第117回日本小児科学会、2014.4
16. 足利朋子、長江千愛、森美佳、山下敦己、瀧 正志：軽症および中等症血友病患者における止血管理の問題点、第36回日本血栓止血学会、2014.5
17. 山下敦己、長江千愛、森美佳、足利朋子、秋田美恵子、熱海千尋、山田浩史、長谷川泰弘、瀧 正志：脳梗塞を発症した von Willebrand 病 type 2A の一例、第36回日本血栓止血学会、2014.5
18. 瀧 正志：QOL 調査結果から考える血友病治療の方向性、第7回血友病理学療法研究会 2014.6
19. 竹内 淳、吉岡範人、山下敦己、田村みどり、鈴木 直、瀧 正志：von Willebrand 病を合併した妊婦の1例、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
20. 長江千愛、茨聡、大賀正一、横山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧 正志、西久保敏也、水上尚典、白幡聡：新生児 DIC に対する遺伝子組換えトロンボモジュリン製剤の使用指針、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
21. 川口千晴、高橋幸博、茨聡、大賀正一、横山知佳、河井昌彦、沢田健、高橋大二郎、瀧 正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡：新生児 DIC の診断基準 (案)、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
22. 高橋大二郎、茨聡、大賀正一、横山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋幸博、瀧 正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡：アンチトロンビン製剤の再評価、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
23. 大賀正一、茨聡、横山知佳、河井昌彦、川口千晴、沢田健、高橋大二郎、高橋幸博、瀧 正志、長江千愛、西久保敏也、水上尚典、白幡聡：補充療法の適応、第24回日本産婦人科・新生児血液学会、2014.6
24. 山下敦己、長江千愛、森美佳、足利朋子、秋田美恵子、山崎哲、高山成伸、瀧 正志：トロンビン生成試験および凝固波形解析を用いた抗Xa阻害薬の抗凝固効果の解析、第15回第日本検査血液学会、2014.7
25. 山崎哲、鈴木典子、山崎法子、高山成伸、山下敦己、瀧 正志：APTT 試験薬評価の統一に向けたパネル血漿の利用とレーダーチャートによる評価、第15回第日本検査血液学会、2014.7
26. 森 美佳、長江千愛、足利朋子、山下敦己、慶野 大、大山 亮、森本

- 瑞穂、森 鉄也、木下明俊、瀧 正志 : 緊急時に凝固因子製剤の添加試験にて診断・治療した重症血友病 B の 1 例、第 70 回神奈川血液研究会、2014.9.6
27. 吉田賢弘、濱崎祐子、原田涼子、濱田陸、石倉健司、幡谷浩史、長江千愛、瀧正志、本田雅敬：後天性第 XI 因子インヒビターを認めた SLE の 1 例、第 44 回日本腎臓病学会東部学術集会、2014.10.25
28. 瀧 正志 : 我が国の血友病患者における QOL の現状と今後の治療の方向性、76th annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2014.10.31
29. 瀧 正志 : わが国の血友病臨床研究の進捗状況、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11.28
30. 長江千愛、村上由則、大平勝美、小野織江、小島賢一、白幡聡、竹谷英之、立浪忍、牧野健一郎、松本剛史、森戸克則、吉川喜美枝、和田育子、瀧 正志 : わが国の血液凝固異常症の小児患者における QOL、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11.29
31. 足利朋子、長江千愛、森美佳、慶野大、山下敦己、森鉄也、木下明俊、瀧正志 : FVIII/VWF 製剤を用い救済免疫寛容導入療法を行ったインヒビター保有血友病 A の 2 症例の経験、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11.29
32. 立浪 忍、三間屋 純一、白幡 聡、大平勝美、花井十伍、桑原理恵、秋田美恵子、瀧 正志 : HIV 感染血友病における抗 HIV 薬の未使用例について、第 28 回日本エイズ学会、2014.12.3
33. M. Taki, S. Tatsunami, J. Mimaya, M. Akita, Y. Nishina, J. Hanai, K. Ohira, A. Shirahata: Multivariate analysis of the occurrence of intracranial hemorrhage among adult hemophiliacs in Japan, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
34. M.Taki, H. Hanabusa, K. Fukutake, T. Matsushita, K. Nogami, A. Shirahata: Real-life clinical experience of 117 previously untreated patients (PUPs) treated with antihemophilic factor (recombinant), plasma/albumin free method in Japanese post authorization safety surveillance, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
35. K. Fukutake, Hideji Hanabusa, Masashi Taki, Tadashi Matsushita, Keiji Nogami, Akira Shirahata, Mutsumi Shiraishi and ADVATE J-PASS Study group: What we learn from data of a prospective post-authorization safety surveillance study in 384 hemophilia A patients with antihemophilic factor (recombinant) plasma / albumin free method demonstrates safety and efficacy in Japan, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
36. K. Amano, K. Fukutake, H. Hanabusa, M. Taki, T. Matsushita, M. Shima, M. Sakai, H. Yamaguchi, T. Karumori: Evaluation of the safety and efficacy of recombinant factor IX (nonacog alfa) in Japanese patients with hemophilia B - The second interim analysis of 304 patients in post marketing surveillance study -, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5

37. A. Yamashita, C. Nagae, T. Ashikaga, M. Akita, S. Yamazaki, S. Takayama, S. Tatsunami, M. Taki: Challenges to establishment of monitoring method for anticoagulant effect of anti factor Xa inhibitor, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
38. T. Ashikaga, M. Mori, A. Yamashita, C. Nagae, M. Taki: Prevalence of arthropathy in patients with mild and moderate hemophilia, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
39. M. Mori, C. Nagae, T. Ashikaga, A. Yamashita, D. Keino, R. Oyama, A. Kinoshita, M. Taki: Acute coronary syndrome in a patient with haemophilia A, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
40. Tatsunami S, Shirahata A, Mimaya J, Kuwabara R, Nishina Y, Hanai J, Ohira K, Taki M: Long-term observation of hemophiliacs with HIV infection in Japan: Follow-up of survival and status of HCV infection, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
41. Tatsunami S, Shirahata A, Mimaya J, Kuwabara R, Nishina Y, Hanai J, Ohira K, Taki M: Prevalence and status of HCV infection among Japanese hemophiliacs, XXXI International Congress of the WFH, 2014.5
42. Shinobu Tatsunami, Jyunichi Mimaya, Akira Shirahata, Masashi Taki: Prevalence of chronic kidney disease and osteoporosis among Japanese hemophiliacs. 76th annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2014.11.1
43. Hideji Hanabusa, Midori Shima, Keiji Nogami, Tadashi Matsushita, Katsuyuki Fukutake, Masashi Taki, Michio Sakai, Baisong Mei, Yingwen Dong, Srividya Neelakantan, Wildon Farwell, Glenn F Pierce: Recombinant factor VIII Fc fusion protein in Japanese subjects from the A-LONG study with severe hemophilia A, 76th annual meeting of the Japanese Society of Hematology, 2014.11.2
44. Midori Shima, Hideji Hanabusa, Masashi Taki, Tadashi Matsushita, Tetsuji Sato, Katsuyuki Fukutake, Koichiro Yoneyama, Naoki Fukazawa, Takehiko Kawanishi, Keiji Nogami: Safety and prophylactic efficacy profiles of ACE910, a humanized bispecific antibody mimicking the FVIII cofactor function, in Japanese patients with hemophilia A: First-in-patient phase 1 study. ASH, 2014.12.8
45. Akiko Kakinuma, Toshiyuki Kuchii, Kayo Inoue, Yukiko Seki, Katsumi Ohira :How we address support needs and hereditary issues in Japanese hemophilic carriers? Narrative case study based on semi-structured interviews (A pilot).WFH, 2014.5.
46. Toshiya Kuchii, Akiko Kakinuma, Kayo Inoue, Yukiko Seki, Katsumi Ohira:Life events, support taking experiences and health readiness; psychosocial difficulties among hemophilic carriers in Japan (A pilot).WFH, 2014.5.
47. Kayo Inoue , Hironao Numabe, Akiko Kakinuma, Toshiya Kuchii,

- Yukiko Seki, Katsumi Ohira: The bleeding symptom of women in the Japanese hemophilia families, WFH, 2014.5.
48. Seki Yukiko, Akiko Kakinuma, Toshiya Kuchii, Kayo Inoue, Katsumi Ohira: Strategies by Japanese Mothers of Children with Hemophilia Regarding Hemophilia Disclosure at School, WFH, 2014.5.
 49. Miwa Ogane, Toshiya Kuchii, Fumihide Kanaya, shiomi Shibayama, Akiko Kakinuma, Katsumi Ohira, Junko Tanaka, Megumi Shimada, Kazuko Ikeda, Shinichi Oka: Barrier Assessment in Establishing Comprehensive Client-Level Coordination for Treatment and Medical Welfare of People Living with Hemophilia and HIV/AIDS in Japan. WFH, 2014.5.
 50. 柿沼章子, 久地井寿哉, 岩野友里, 大平勝美. 血液凝固因子製剤による HIV 感染被害者の生活困難度の推定 (第一報) ICF コアセット (7 項目版) を用いた年齢階級別の分析, 第 40 回日本保健医療社会学会大会, 2014.5
 51. 久地井寿哉, 柿沼章子, 岩野友里, 大平勝美. 血液凝固因子製剤による HIV 感染被害者の生活困難度の推定 (第二報) J-SEC (新社会経済的階層分類) を用いた社会経済的地位および規定要因の検討, 第 40 回日本保健医療社会学会大会, 2014.5
 52. 岩野友里, 久地井寿哉, 柿沼章子, 大平勝美. 血液凝固因子製剤による HIV 感染被害者の生活困難度の推定 (第三報) ICF サブセット (HIV/HCV : 個別疾患群項目) を用いた生活困難度の検討, 第 40 回日本保健医療社会学会大会, 2014.5
 53. 板垣貴志, 久地井寿哉, 柿沼章子, 岩野友里, 大平勝美. 血友病保因者の遺伝に関する支援課題の検討 (第三報) —テキストマイニングによるインタビューデータ分析の試み—. 第 40 回日本保健医療社会学会大会, 2014.5
 54. 柿沼章子, 榎本哲, 久地井寿哉, 大平勝美. 乳がんサバイバーの生活機能実態に関する ICF を活用した患者参加型研究 (第一報) : 基本設計と意義～生活機能の原状回復に関連するライフ要因探索～, 第 55 回日本社会医学会総会, 2014.7
 55. 白坂るみ, 久地井寿哉, 柿沼章子, 岩野友里, 大平勝美. HIV 感染者の北海道福祉施設への受け入れ促進を目的とした地域実践の試み, 第 23 回日本健康教育学会大会, 2014. 7
 56. 板垣貴志, 久地井寿哉, 柿沼章子, 大平勝美, 岩野友里, 根岸麻歩由. 肝炎患者の就労と病気の治療・療養の両立に関する相談事例の類型化, 第 23 回日本健康教育学会大会, 2014. 7
 57. 久地井寿哉, 柿沼章子, 岩野友里, 大平勝美. 血友病保因者の遺伝に関する予防行動採用に関わる準備性評価の試み～薬害 HIV 感染被害者・家族を事例としたパイロット調査より 第 23 回日本健康教育学会大会, 2014. 7
 58. 久地井寿哉, 柿沼章子, 岩野友里, 大平勝美. 乳がんサバイバーにおける生活機能の原状回復に関するパイロットケーススタディ, 第 73 回日本

- 公衆衛生学会総会、2014.11
59. 大金美和、塩田ひとみ、小山美紀、柴山志穂美、久地井寿哉、岩野友里、柿沼章子、大平勝美、池田和子、瀧永博之、岡慎一、HIV 感染血友病患者の健康関連 QOL の実態調査、第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会、2014.12
 60. 岩野友里、久地井寿哉、柿沼章子、大平勝美、HIV/HCV 重複感染患者の支援特性(第 4 報)～生活困難状況ならびに生活機能との関連。第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会、2014.12
 61. 久地井寿哉、柿沼章子、岩野友里、大平勝美、HIV/HCV 重複感染患者の支援特性(第 5 報)～薬害 HIV 感染被害者の長期間生存データに基づく生存予測分析。第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会、2014.12
 62. 柿沼章子、久地井寿哉、岩野友里、大平勝美、HIV/HCV 重複感染患者の支援特性(第 6 報)～薬害 HIV 感染被害者の長期療養と今後の支援の方向性と提言。第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会、2014.12
 63. 村松慎一: Gene therapy for Parkinson's disease in Japan: Current status and problems. 第 55 回日本神経学会学術大会シンポジウム、2014 年 5 月 22 日、福岡。(プログラム p60)
 64. 飯田麻子、滝野直美、嶋崎久仁子、伊藤美加、村松慎一: 大型動物の広範な中枢神経領域に遺伝子導入可能なアデノ随伴ウイルスベクターの開発。第 57 回日本神経化学学会大会、2014 年 9 月 29 日、奈良。
 65. 村松慎一、新田淳美: パーキンソン病の遺伝子治療. AAV ベクターを応用した神経・精神疾患の病態解明～基礎から臨床まで～、第 57 回日本神経化学学会大会、2014 年 10 月 1 日、奈良。(神経化学 Vol.53(No.2), 2014, p82)
 66. 村松慎一: 遺伝子治療と細胞治療. 神経変性の制御をめざして、第 8 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres、2014 年 10 月 3 日、京都。(プログラム p 21)
 67. 小野さやか、藤本健一、池口邦彦、佐藤俊彦、村松慎一: FMT-PET によるパーキンソン病のすくみ足の病態解析。第 8 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres、2014 年 10 月 4 日、京都。(プログラム p101)
 68. 村松慎一: Parkinson 病の遺伝子治療. 第 32 回日本神経治療学会総会、2014 年 11 月 22 日、東京。(特別講演)(神経治療学 Vol.31(5), p547)
 69. Muramatsu S: Gene therapy for Parkinson Disease. The First Asian Symposium on AADC Deficiency, Dec 21, 2014, Taipei.
 70. Toshikazu Nishie, Tatsuji Enoki, Masanari Kitagawa, Junichi Mineno, Takashi Okada, Tsukasa Ohmori, Hiroaki Mizukami, Keiyo Ozawa, Yoichi Sakata EXAMINATION ON LARGE SCALE PRODUCTION OF AAV VECTORS FOR CLINICAL USE, 日本遺伝子治療学会、2014 年、東京
- H. 知的財産権の出願・登録状況
「血友病 A モデルブタの作出」
出願番号：特願 2010-102569 出願済み。
「多能性幹細胞再樹立法」

出願番号：特願 2014-203679 出願済み

「ヘマグルチニン活性を有するシュード
タイプレトロウイルス vector」

出願番号：特願 2000-169090

海外出願各国移行済み

「VSV-G シュードタイプ化サル免疫不全
ウイルスベクターを用いた霊長類胚性幹
細胞への遺伝子導入」(D3-A0103)

出願番号：特願 2003-503807 (2001/6/8)

状態：審査請求済み

「シアル酸結合活性を有する膜蛋白質を
エンベロープに含むウイルスベクターを
グラム陰性菌由来ノイラミニダーゼを用
いて製造する方法」(D3-A0204)

出願番号：特願 2002-258576 (2002/9/4)

状態：出願公開中.

「血液凝固因子の不活性化及び血液凝固
因子」：特許 4671823

厚生労働科学研究費補助金 (エイズ対策研究事業)
分担研究報告書

血友病遺伝子治療基礎研究

研究分担者 大森 司 自治医科大学 分子病態研究部 講師
坂田洋一 自治医科大学 分子病態研究部 客員教授

研究要旨

本研究では血友病患者の合併症を克服するために、治癒を目指した血友病遺伝子治療開発研究を推進する。血友病 B に用いる AAV8 ベクター-GMP レベルベクターの作製技術は確立した。本手法を用いたサル肝臓に対する遺伝子導入の効果は最長で7年以上持続し、安全性も問題なかった。本法は血友病 B、かつ抗 AAV カプシド中和抗体陰性の患者に限られるため、多くの血友病患者に遺伝子治療を適応とするためには、中和抗体陽性患者への対応、より患者数の多い血友病 A への応用が必須である。本年は、血友病 A への応用を中心に行った。昨年度、サル体内でヒト FVIII (サルと 98%以上相同性) を検出する手法を開発した。本法を用いて FVIII 因子発現 AAV8 ベクターをサルに投与したが、1%前後の FVIII 抗原量しか得られなかった。発現量を改良するためにヒト FVIII のコドン最適化を行い、マウスレベルで従来法に比較して、40 倍程度発現量が改善し、血友病 A に対する遺伝子治療法の目処がついた。細胞治療法では、我々が開発した FVIII 発現間葉系幹細胞の膝関節投与による新規血友病関節症治療法をヒト患者に応用することを目的とした。本年度は、サル、ヒト MSC でのコドン最適化 FVIII を用いて、低ベクター量でも効果的な凝固因子発現が得られた。

A. 研究目的

血友病は血液凝固第 VIII, (FVIII) 或いは第 IX 因子(FIX)遺伝子の異常に起因する遺伝性出血性疾患である。FVIII 欠損が血友病 A, FIX 欠損が血友病 B として知られる。欠損する濃縮凝固因子製剤の投与が一般的な治療である。しかし、その半減期は短く頻回の治療を必要とするところが、患者 QOL を著しく阻害している。本研究は血友病患者の QOL 改善を目的として、疾患の治癒を目指した遺伝子治療法・細胞治療法を開発する。

B. 研究方法

遺伝子治療には、その導入効率からはウイルスベクターが優れている。全身へのベクター投与による手法にはアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた AAV ベクターは、染色体への組み込みが殆ど起こらず、非分裂細胞にも導入可能で安全なベクターである。血清型により臓器特異性が異なり、AAV8 は、経静脈的に単回投与するだけで肝臓特異的な遺伝子の発現が可能となる。本年度は、血友病 B に対する本手