

表 21 血友病患儿群と健常男児群における QOL の比較検討

	P 値 (Mann-Whitney 検定)
問 1 楽しかったこと	0.199
問 2 悲しかったこと	0.000
問 3 心配なこと	0.001
問 4 仲の良い友達	0.001
問 5 他の皆とは違う	0.000
問 6 家族から病気のためにしてはいけないといわれたこと	0.000
問 7 病気のことで家族に迷惑をかけた	0.786
問 9 先生に他の皆と違うようにされた	0.001
問 10 学校行事への参加	0.120
問 11 スポーツへの参加	0.012
問 12 からだの具合	0.050
問 13 こころの具合	0.000

2. 血友病の重症度の影響

【目的】

血友病の重症度の影響を検討するため、血友病患儿を重症・中等症群と軽症群に分け、健常男児群と比較した。

【方法】

(1) 対象

重症・中等症の血友病患儿 148 名、軽症の血友病患儿 18 名、健常男児 48 名を対象とした。

(2) 分析

Steel-Dwass 多重比較検定 (ノンパラメトリック) を用い、3 群間の差異を比較検討し、血友病の重症度が QOL に及ぼす影響に関して分析した。なお、問 8 の「注射をしてよかったと思ったこと」は、質問内容が血友病患儿と健常男児では異なる意味となることが推定されたために比較は困難と考え、検討項目から除外した。

【結果】

血友病患儿重症・中等症患者群と軽症患者群とで分析結果に有意差が認められた項目を表 22 に示す。

3 群間の比較検討を行ったところ、「問 4 仲の良い友達」「問 5 他の皆とは違う」「問 9 先生に他の皆と違うようにされた」「問 11 スポーツ」は、重症・中等症患者群のみ健常男児群との間に有意差が認められた。また、「問 10 学校行事への参加」は、軽症患者群と重症・中等症患者群、および軽症患者群と健常男児群の間に有意差が認められ、軽症患者群の学校行事への参加が強く抑制されていることが明らかとなった。

表 22 血友病における重症・中等症患者群、軽症患者群、健常男児群の多重比較

	有意差を認めた項目	P
問 4 仲の良い友達が少ない	重・中等症>健常男児	<0.01
問 5 他の皆と違うと感じた	重・中等症>健常男児	<0.01
問 9 先生に他の皆と違うようにされた	重・中等症>健常男児	<0.01
問 10 参加できなかった学校行事が多かった	軽症>重・中等症	<0.05
	軽症>健常男児	<0.01
問 11 他の皆よりスポーツをしなかった	重・中等症>健常男児	<0.05

3. 定期補充療法の影響

【目的】

定期補充療法が血友病の QOL に及ぼす影響を検討するため、現在定期補充療法実施中の群、非実施群、健常男児群の 3 群間で QOL の調査結果の比較検討を行った。

【方法】

(1) 対象

定期補充療法を現在実施中の血友病患者 134 名、定期補充療法非実施の血友病患者 32 名、健常男児 48 名を対象とした。

(2) 分析

Steel-Dwass 多重比較検定（ノンパラメトリック）を用い、3 群間の差異を比較検討し、定期補充療法実施の有無が QOL に及ぼす影響に関して分析した。なお、問 8 の「注射をしてよかったと思ったこと」の項目は、質問内容が血友病患者と健常男児では異なる意味となることが推定されたために健常男児群との比較は困難と考え、定期補充療法実施中の群と非実施群の 2 群間での比較検討を行った。

【結果】

定期補充療法実施中の群と非実施群で有意差を認めた項目を表 23 に示す。「問 6 病気のためにしてはいけない」の結果より、定期補充療法の非実施群が実施中の群に比較して有意に家族からの制限を受けていることが明らかになった。また、「問 8 注射をして良かった」は、定期補充療法実施中の群が非実施群と比較して「注射をしてよかった」と回答した割合が有意に多い結果が得られた。「問 11 スポーツ」においては、非実施群と健常男児群との間にのみ有意差が認められ、定期補充療法実施中の群は健常男児群との間に有意差を認めなかった。「問 10 学校行事への参加」「問 12 からだの具合」においては、定期補充療法実施中の群と非実施群の間に、さらに非実施群と健常男児群との間に有意差が認められた。

表 23 定期補充療法実施中の群、非実施群、健常男児群の多重比較で有意差を認めた項目

	有意差を認めた項目	P
問 6 家族から病気のために何かをしてはいけないといわれたことがあった	定期補充療法非実施>実施中	<0.05
問 8 注射をしてよかった	定期補充療法実施中>非実施	<0.05
問 10 参加できなかった学校行事が多かった	定期補充療法非実施>実施中	<0.01
	定期補充療法非実施>健常男児	<0.01
問 11 他の皆よりスポーツをしなかった	定期補充療法非実施>健常男児	<0.01
問 12 からだの具合がわるい	定期補充療法非実施>実施中	<0.05
	定期補充療法非実施>健常男児	<0.01

4. 出血しやすい関節の有無の影響

【目的】

出血しやすい関節の有無が血友病患者の QOL に及ぼす影響を検討するため、出血しやすい関節がある患児群とない患児群、健常男児群の 3 群間で QOL 調査結果の比較検討を行った。

【方法】

(1) 対象

出血しやすい関節がある血友病患者 32 名、出血しやすい関節がない血友病患者 134 名、健常男児 48 名を対象とした。

(2) 分析

Steel-Dwass 多重比較検定（ノンパラメトリック）を用い、出血しやすい関節がある患児群とない患児群、健常男児群の 3 群間の差異を比較検討し、出血しやすい関節の有無が QOL に及ぼす影響に関して分析した。なお、問 8 の「注射をしてよかったと思ったこと」は、質問内容が血友病患者と健常男児では異なる意味となることが推定されたために比較は困難と考え、検討項目から除外した。

【結果】

出血しやすい関節の有無で有意差を認めた項目を表 24 に示す。「問 12 からだの具合」においては、出血しやすい関節がある群と、ない群および健常男児群との間に有意差が認められた。一方、出血しやすい関節がない群では健常男児群と比較して「問 12 からだの具合」に有意な差が認められなかった。

「問 10 学校行事への参加」では、出血しやすい関節がある群のみが健常男児群との間に有意差が認められた。

表 24 血友病患者群における出血しやすい関節の有無、健常男児群の多重比較で有意差を認めた項目

	有意差を認めた項目	P
問 10 参加できなかった学校行事が多かった	出血しやすい関節あり>健常男児	<0.05
問 12 からだの具合がわるい	出血しやすい関節あり>なし	<0.01
	出血しやすい関節あり>健常男児	<0.01

5. 不自由に感じる関節の有無の影響

【目的】

不自由に感じる関節の有無が血友病患者の QOL に及ぼす影響を検討するため、不自由に感じる関節がある群とない群、健常男児群の 3 群間における QOL 調査結果の比較を行った。

【方法】

(1) 対象

不自由に感じる関節がある血友病患者 21 名、不自由に感じる関節がない血友病患者 142 名、健常男児 48 名を対象とした。なお、不自由に感じる関節の有無が分からない血友病患者は 3 名と少数であるため、以下の分析対象から除外し、不自由に感じる関節がある患児群、ない患児群、健常男児群の 3 群について検討した。

(2) 分析

Steel-Dwass 多重比較検定（ノンパラメトリック）を用い、不自由に感じる関節がある患児群とない患児群、健常男児群の 3 群間の差異を比較検討し、不自由に感じる関節の有無が QOL に及ぼす影響に関して分析した。なお、問 8 の「注射をしてよかったと思ったこと」は、質問内容が血友病患者と健常男児では異なる意味となることから推定されたために比較は困難と考え、検討項目から除外した。

【結果】

不自由に感じる関節の有無で有意差を認めた項目を表 25 に示す。「問 3 心配なこと」、「問 6 病気のためにしてはいけない」、「問 10 学校行事への参加」、「問 12 からだの具合」は不自由に感じる関節がある群とない群との間に有意差が認められた。一方、「問 10 学校行事への参加」「問 11 スポーツ」「問 12 からだの具合」においては、不自由に感じる関節がある患児群のみが健常男児群との間に有意差が認められた。

表 25 不自由に感じる関節の有無、健常男児群の多重比較で有意差を認めた項目

	有意差を認めた項目	P
問 3 心配なことが多かった	不自由な関節あり>なし	<0.01
問 6 家族から病気のために何かをしてはいけないといわれたことがあった	不自由な関節あり>なし	<0.05
問 10 参加できなかった学校行事が多かった	不自由な関節あり>なし 不自由な関節あり>健常男児	<0.01 <0.01
問 11 他の皆よりスポーツをしなかった	不自由な関節あり>健常男児	<0.05
問 12 からだの具合がわるい	不自由な関節あり>なし 不自由な関節あり>健常男児	<0.01 <0.01

6. インヒビターの影響

【目的】

インヒビターの有無、インヒビターの既往の有無が、血友病患者の QOL に及ぼす影響を検討するため、現在インヒビターがある患児群、過去にあったが現在は無い患児群、インヒビターがない患児群、健常男児群との間で比較検討を行った。

【方法】

(1) 対象

現在インヒビターがある7名、インヒビターが過去にあったが現在は無い24名、インヒビターなし130名、健常男児48名を対象とした。なお、インヒビターの有無が分からない血友病患者群は5名と少数であり、以下の分析対象から除外した。

(2) 分析

Steel-Dwass 多重比較検定（ノンパラメトリック）を用いて4群間の差異を比較検討し、インヒビターの有無がQOLに及ぼす影響に関して分析した。なお、問8の「注射をしてよかったと思ったこと」は、質問内容が血友病患者と健常男児では異なる意味となることから推定されたために比較は困難と考え、検討項目から除外した。

【結果】

「問2 悲しかったこと」「問3 心配なこと」「問4 仲の良い友達」「問5 他のみんなとは違う」「問13 心の具合」の項目は、インヒビターなしおよび過去にあった患者群のみが健常男児群の間に有意差が認められた。また、「問10 学校行事への参加」はインヒビターのある患者群がインヒビターのない患者群あるいは健常男児群に比べて有意に学校行事に参加できていないことが示された。「問11 スポーツ」に関しては、インヒビターがあるおよび過去にあった患者群に健常男児群との間に有意差が認められた。

表 26 インヒビターの有無や既往の有無、健常男児群の多重比較で有意差を認めた項目

	有意差を認めた項目	P
問2 悲しかったことが多かった	インヒビターなし>健常男児	<0.01
	過去にあった>健常男児	<0.01
問3 心配なことが多かった	インヒビターなし>健常男児	<0.05
	過去にあった>健常男児	<0.05
問4 仲の良い友達が少ない	インヒビターなし>健常男児	<0.01
	過去にあった>健常男児	<0.05
問5 他の皆と違うと感じた	インヒビターなし>健常男児	<0.01
	過去にあった>健常男児	<0.05
問10 参加できなかった学校行事が多かった	インヒビターあり>インヒビターなし	<0.05
	インヒビターあり>健常男児	<0.01
問11 他の皆よりスポーツをしなかった	インヒビターあり>健常男児	<0.05
	過去にあった>健常男児	<0.05
問13 心の具合がわるい	インヒビターなし>健常男児	<0.01
	過去にあった>健常男児	<0.01

7. 頭蓋内出血の有無、頭蓋内出血の後遺症の有無の影響

【目的】

頭蓋内出血や後遺症の有無が、血友病患者のQOLに及ぼす影響を検討するため、頭蓋内出血の後遺

症がある患児群、頭蓋内出血の既往があるが後遺症のない患児群、頭蓋内出血の既往がない患児群、健常男児群の4群間でQOL調査結果の比較を行った。

【方法】

(1) 対象

頭蓋内出血の後遺症あり3名、頭蓋内出血の既往があるが後遺症なし22名、頭蓋内出血の既往なし141名、健常男児48名を対象とした。

(2) 分析

Steel-Dwass 多重比較検定（ノンパラメトリック）を用いて4群間の差異を比較検討し、頭蓋内出血や後遺症の有無がQOLに及ぼす影響に関して分析した。他の項目と同様に問8の「注射をしてよかったと思ったこと」は、質問内容が血友病患児と健常男児では異なる意味となることが推定されたために比較は困難と考え、検討項目から除外した。

【結果】

「問2 悲しかったこと」「問5 他のみんなとは違う」は後遺症なしの患児群および頭蓋内出血なしの患児群と健常男児群の間に有意差が認められた。「問3 心配なことが多かった」は頭蓋内出血なしの患児群と健常男児群の間に有意差が認められた。「問10 学校行事への参加」「問12 からだの具合」は後遺症ありの患児群と健常男児群の間に有意差が認められた。「問11 スポーツ」に関しては、後遺症ありの患児群と頭蓋内出血なしおよび健常男児群との間に有意差が認められた。「問9 先生にほかのみんなと違うようにされた」は後遺症ありの患児群と後遺症なしおよび頭蓋内出血なしの患児群との間に有意差が認められた。

表 27 頭蓋内出血や、後遺症の有無、健常男児群の多重比較で有意差を認めた項目

	有意差を認めた項目	P
問2 悲しかったことが多かった	後遺症なし>健常男児	<0.01
	頭蓋内出血なし>健常男児	<0.01
問3 心配なことが多かった	頭蓋内出血なし>健常男児	<0.01
問5 他の皆と違うと感じた	後遺症なし>健常男児	<0.01
	頭蓋内出血なし>健常男児	<0.01
問9 先生に他の皆と違うようにされた	後遺症あり>後遺症なし	<0.05
	後遺症あり>頭蓋内出血なし	<0.01
問10 参加できなかった学校行事が多かった	後遺症あり>健常男児	<0.05
問11 他の皆よりスポーツをしなかった	後遺症あり>頭蓋内出血なし	<0.05
	後遺症あり>健常男児	<0.01
問12 からだの具合がわるい	後遺症あり>健常男児	<0.01

1. から7. までの結果についての考察

昨年度の検討では、血友病患児は家族からの制限を受けつつも、学校行事やスポーツに積極的に参加し、友人も多く作り、楽しく前向きに生活しているように思われた。しかし、今回健常男児群と比較したところ、本研究において調査した12の質問項目のうち8項目において血友病患児群と健常男児群との

間に有意差が認められた。これは血友病患儿の QOL が健常男児に比較して全体的に低いことを示しており、その背景には血友病およびその治療管理による生活・活動上の制約があると想定される。「問 1 楽しかったこと」「問 7 家族に迷惑をかけた」「問 10 学校行事への参加」の 3 項目以外は、何れも出血傾向と関連する内容と想定される。出血傾向があり、場合によってはさらに運動障害があり日常の治療管理による負担感があるために、生活満足度が低下し、その反映として「からだの具合」のみならず、「こころの具合」にも影響を及ぼし、全般的健康感の低下をもたらしているものと考えられた。

一方、「問 1 楽しかったこと」「問 7 病気のことによって家族に迷惑をかけた」「問 10 学校行事」「問 12 からだの具合」に関しては、2 群間に有意差が認められなかった。「問 1 楽しかったこと」が健常男児群と有意差がなかったことより、悲しいことや心配なことは多いなかでも、楽しいこともたくさん経験していることが確認できた。「問 7 家族への迷惑」については、血友病患儿群と健常男児群がそれぞれ想定する内容が異なる可能性があったと考えられ、病気との関連の有無を今回の 2 群の分析からは把握することは困難であった。また、「問 11 スポーツへの参加」は健常男児群よりも少ない結果であったが、「問 10 学校行事への参加」では有意差を認めなかったことより、出血を心配するための運動制限は受けているものの、学校行事に関しては健常男児群と同じように参加できている状況であると示唆される。これは定期補充療法の普及により出血予防ができるようになった安心感や、教育機関での配慮およびそれに向けた家族の対応が充実した結果であろう。また、「問 12 からだの具合」も 2 群間に有意差が認められず、これもやはり定期補充療法による出血予防効果の影響が強いと考えられる。

重症度の影響について検討したところ、血友病患儿群全体と健常男児群における QOL の比較において有意差を確認できた 8 項目すべてにおいて、重症・中等症患儿群と健常男児群の間に有意な差を見出しており、血友病患儿群全体の QOL は重症・中等症患儿群の QOL を大きく反映していることが示唆された。特に、「問 4 仲の良い友達」「問 5 他のみんなとは違う」「問 9 先生にほかのみんなと違うようにされた」「問 11 スポーツ」は、軽症患儿群では健常男児群と差がないのに対し、重症・中等症患儿群は健常男児群に比較して QOL が低下しており、これらは血友病の重症度によって影響を受けやすいことが分かった。一方、軽症患儿群は「問 2 悲しかったこと」「問 3 心配なこと」「問 6 病気のためにしてはいけない」「問 10 学校行事への参加」「問 13 こころの具合」の 5 項目において健常男児群との間に有意な差を見出しており、これらの項目は軽症の患儿であっても QOL が低下する要因であることが明らかになった。特に、「問 10 参加できなかった学校行事」は重症・中等症よりも軽症に有意に多い結果が得られた。患者、家族、さらに学校関係者の疾患に対する理解が不十分であり、その結果、家族や学校側が過剰な対応をしている結果と推察され、軽症患者に対する患者・家族への教育、学校側への周知の重要性が示唆された。

次に定期補充療法の効果について検討したところ、定期補充療法の実施との関連が推定されるのは「問 6 病気のためにしてはいけない」「問 8 注射をして良かった」「問 10 学校行事への参加」「問 11 スポーツ」「問 12 からだの具合」である。特に、「問 6 病気のためにしてはいけない」「問 10 学校行事への参加」「問 12 からだの具合」に関しては、定期補充療法非実施群に比較して、定期補充療法実施中の患儿群では有意な QOL 向上の効果が認められた。これは、定期補充療法が家族からの行動制限を緩和し、学校生活における活動性を高め、身体的健康感の向上に寄与することを示すものであり、血友病患儿が活動制限や身体的健康感の向上に、定期補充療法の有用性を強く認識していることを示している。また、「問 8 注射をして良かった」は定期補充療法非実施群に比べて、定期補充療法実施中の患儿群が有意に良かった

と思っており、定期補充療法を行っている群では注射の有用性を有意に認識していることが示唆された。血友病患者のQOLの向上に、定期補充療法の実施が非常に大きな意味をもつことが明らかとなった。

出血しやすい関節の有無の影響について検討したところ、出血しやすい関節があることとの関連が推定されるのは「問 10 学校行事への参加」「問 12 からだの具合」のみであった。これは、血友病患者においては、出血しやすい関節があると、学校における活動制限や身体的健康感に影響を及ぼすことを示唆する。すなわち出血しやすい関節の有無は、定期補充療法とは逆の影響を示すものである。

不自由に感じる関節の有無が血友病患者のQOLに及ぼす影響について検討したところ、「問 3 心配なこと」「問 6 病気のためにしてはいけない」「問 10 学校行事への参加」「問 12 からだの具合」において不自由に感じる関節がある群はない群と比較してQOLが低いことが明らかになった。また、「問 11 スポーツ」に関しても不自由な関節がない群では健常男児とQOLの差を認めなかったが、不自由な関節がある群は健常男児群と比較してQOLの有意な低下を認めていることより、不自由な関節の有無はスポーツへの参加に関しても関連すると考えられた。これは、血友病患者においては、不自由に感じる関節があることが心配につながり、学校やスポーツ参加などで十分な活動ができないことや、身体的健康感に影響を及ぼすことを示唆する。不自由に感じる関節の有無は出血しやすい関節の有無とQOLに与える影響が似た結果であったが、「問 3 心配なこと」や「問 6 病気のためにしてはいけない」、「問 11 スポーツ」は関節の不自由感がより強く影響することが示唆された。

インヒビターの有無について検討したところ、インヒビターがあることとの関連が推定されるのは「問 10 学校行事への参加」「問 11 スポーツ」である。これは、インヒビターがあると学校やスポーツ参加などで十分な活動ができないことを示唆する。一方で、「問 2 悲しかったこと」「問 3 心配なこと」「問 4 仲の良い友達」「問 5 他のみんなとは違う」「問 13 こころの具合」はインヒビターなしあるいは過去にあった患児群が、インヒビターがある患児群よりもQOLが低い結果であったが、これらの項目はすべて精神的な要素が強い項目であると考えられた。インヒビターがある患児群では学校やスポーツ参加などの行動制限は受けるものの、精神的な要素では明るく前向きに生活しているとも考えられる結果であった。

頭蓋内出血の有無について検討したところ、頭蓋内出血の既往があっても後遺症がなければQOLの低下には直接関連しないことが示唆された。頭蓋内出血の後遺症がQOLを低下させていると考えられる項目は「問 9 先生にほかのみんなと違うようにされた」「問 10 学校行事への参加」「問 11 スポーツ」「問 12 からだの具合」であった。その中でも、「問 9 先生にほかのみんなと違うようにされた」は後遺症があることによって、後遺症がない群や健常男児群と比較して明らかにQOLが低下していることが分かった。同様に「問 11 スポーツ」も後遺症があることによって、後遺症がない群や健常男児群と比較して明らかにQOLが低下していることが分かった。ただし、今回の調査で後遺症ありと回答した血友病患者は3名に過ぎないことを斟酌する必要がある。

アンケートにおける質問項目は3つのカテゴリーに分類できると考えられた。第1は血液凝固異常症が影響を及ぼす項目群、第2は血液凝固異常症が特に影響を及ぼさない項目群、第3は血友病患者の病

状や生活行動が影響を及ぼすと考えられる項目群である。第1の 카테고리には、「問2 悲しかったこと」「問3 心配なこと」「問4 仲の良い友達」「問5 他のみんなとは違う」「問6 病気のためにしてはいけない」「問9 先生にほかのみんなと違うようにされた」「問13 ころの具合」の項目が含まれる。第2の 카테고리は、「問1 楽しかったこと」「問7 家族に迷惑をかけた」の項目からなる。第3の 카테고리は、「問8 注射をして良かった」「問10 学校行事への参加」「問11 スポーツ」「問12 からだの具合」の項目である。病状や生活行動に対応しては「問8 注射をすること」、すなわち、定期補充療法のいかんにかかわらず「凝固因子製剤の投与による出血抑制の可否」が、「問10 学校行事」や「問11 スポーツへの参加」に影響を及ぼし、結果的に「問12 身体的健康感」に作用すると考えられた。

結語

健常男児と比較すると小児血友病患者のQOLはいまだ全体的に低いことが明らかになった。特に、重症・中等症の血友病であること、出血しやすい関節や不自由に感じる関節、インヒビター、後遺症を有する頭蓋内出血は小児血友病患者のQOLを大きく低下させる要因であることが示唆された。定期補充療法は小児血友病患者におけるQOLを改善するための有用な治療法であり、定期補充療法を確実に行うことにより、ターゲットジョイントや頭蓋内出血が生じないよう心がけることがQOLの維持と向上につながると思われる。軽症患者では「学校行事への参加」などで過剰に制限されている可能性があり、軽症患者に対する患者・家族への教育、学校側への周知の重要性が示唆された。

参考文献

- 1) 村上由則, 小畑文也, 八島猛: 健常小学生における心理的および身体的QOL調査. 宮城教育大学特別支援教育総合研究センター 9: 37-45, 2014

厚生労働科学エイズ対策研究事業

「血友病の治療とその合併症の克服に関する研究（研究代表者：坂田洋一）」

分担研究「血液凝固異常症の QOL に関する研究」平成 26 年度 QOL 調査報告書

発行日 平成 27 年 3 月

発行 血液凝固異常症 QOL 調査委員会 事務局

(聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科内)

〒241-0811 横浜市旭区矢指町 1197-1

電話 045-366-1111 内線 3209

FAX 045-366-1190

編集 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院小児科 瀧 正志

編集協力 血液凝固異常症 QOL 調査委員（五十音順）

大平勝美、小野織江、小島賢一、白幡 聡、竹谷英之、立浪 忍、長江千愛、

牧野健一郎、松本剛史、村上由則、森戸克則、吉川喜美枝、和田育子

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

研究課題：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

研究分担者：柿沼 章子（社会福祉法人はばたき福祉事業団）

研究要旨

本研究では、当事者参加型実証研究として、薬害 HIV 被害者・家族に対し、血友病とともに生きる生活の質の向上、心理社会的な問題の解決、薬害被害の歴史を伝える等の観点から、機縁法・自記式質問紙による支援ニーズ調査（30名）等を実施、支援ニーズの抽出を行った。分析の結果、薬害 HIV 感染被害者・家族等の人生上の発達と社会生活の質の向上に関連した潜在的な支援要因「支援準備性」を発見し、克服課題の鍵となることが示唆された。克服すべき主要な課題は、1) ライフステージにおいて、当事者性の獲得や意思決定の出発点となる「準備期」を含む長期 QOL 対策 2) 支援の欠如、特に長期に渡り「薬害 HIV 被害克服」ならびに「血友病根治」への困難が継続していること、3) 薬害 HIV 被害と関連した負の経験は、血友病の「遺伝」や「保因」といった社会的課題の形で次世代に継承する可能性、であった。これらを教訓に、集約的な支援機能を持つ「血友病センターの設置」が必要である。あわせて、中立的な第三者支援機関による、疫学・データベース・相談録などの分析実施、最新の医学的な知見を患者・家族に情報提供するなどの支援が望まれる。

A. 研究目的

薬害 HIV 感染被害者・家族等の現状と困難経験については、血友病・HIV と関連した病気の受け止めやその後の意思決定・将来計画について顕著な困難を継続していることが明確化しつつあり、準備性支援の欠如が課題となっている。血友病家系の女性に対する支援は、慢性疾患・遺伝子疾患特有の家族問題等に対応できる遺伝相談体制、自己決定に関する情報共有に課題があり、世界的にもアウトリーチの重要課題である（MARK W. SKINNER, Haemophilia, 2012）。

そこで、本研究は、血友病家系女性、特に

血友病保因者の心理社会的影響や、保因者自身の健康状態についての十分な調査が我が国では十分に行われていない現状を踏まえ、まず、保因者女性に対してパイロットスタディとしてインタビュー調査を実施する。一連の健康史を把握したうえで、課題を抽出し、遺伝相談に関わる支援プロセスについて分析と検討を行う。

つぎに、本研究では、保因者における準備性の課題を焦点化し、分析と検討を行う。準備性とは、保因者が血友病・遺伝に関する個別の課題に対し、意思決定する前段階（無関心期・関心期・準備期）のことである。

さらに本研究では、保因者の支援特性を多

角的に明らかにし、今後の課題克服・支援に必要な情報共有・相談体制の構築のために必要となる科学的・論理的・実践的な枠組みを提供したい。

B. 研究方法

1) 分析計画の策定

遺伝・血友病はケースセンシティブなテーマであり、調査目的、意義、調査内容の説明に慎重な配慮を要する。また分析にあたり、対象者の準備性段階に応じて情報提供や支援のあり方、社会関係性の違い、自らの保因情報の獲得・共有・開示状況、ならびに生活構造が異なるという仮説を立て、分析を実施した。

2) 聞き取り調査・自記式質問紙調査

機縁法により質問紙調査(n=30)を行い、個人情報に配慮し、非連結により分析を行った。

質問項目は、遺伝および血友病の保因に関わる生活史、および検査・告知に関わる出来事、情報の共有・開示範囲、開示意图等について尋ねた。

3) 分析

質問紙調査については、単純集計を行い、基本属性に基づく一元配置分散分析を行った。その後の統計的推論では、準備性要因の探索のため、多変量解析を用いたベイズ推定ならびにモデル化を行った。

準備性支援においては、ケース対応を基本にし、準備性評価を行い、支援目標の設定を行った。準備性評価については、予防行動採用理論 (Precaution Adoption Process Model : PAPM(Glanz, et al., 2008))を用いた。ステージ1～ステージ7

(問題の無認識～意思決定の維持が)が定義されており、準備性段階にはステージ1～4が対応している。その後、複数の研究者、遺伝カウンセラー、医療従事者、当事者によって、対象者の支援特性について支援計画の検討を行った。

聞き取り調査については、得られたインタビューデータ合計34件を対象に、特に遺伝に関する語りを中心に、質的研究の手法を用いて内容を分析する。逐語トランスクリプトをコーディング⇒カテゴリーを作成、妥当性を高めるために、共同研究者間で検討し、課題ならびに支援プロセスの類型化を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針」等を遵守する形で、社会福祉法人はばたき福祉事業団倫理審査委員会に諮り、平成21年4月12日承認を得た上で、研究を実施した(承認番号1)。

また質問紙調査については、「生物医学的研究に関する倫理指針」等を遵守する形で、お茶の水女子大学生物医学的研究の倫理特別委員会に諮り、平成24年12月13日承認を得た上で、研究を実施した。(通知番号第24-20号)

C. 研究結果

血友病家系女性へのアンケート調査より、対象者への支援がほとんど行き届いていない現状がある。支援の未経験率は、心理カウンセリング(90.0%)、電話相談(86.7%)、ホームページ等(80.0%)、遺伝カウンセリング(76.7%)、ピアカウンセリング(63.3%)等であった。また、これらの支援経験の状況を元に、事後的な支

援経験の程度からベイズ推定を行ったところ、潜在的な支援要因として、「支援準備性」が新たに発見された。また、 $GFI = 0.930$ 、 $CFI = 1.000$ 、 $RMSEA < 0.001$ と、適合度の高い説明モデルが得られた。

聞き取り調査からは、血友病家系女性の遺伝をめぐる状況と問題として、「母親たちの保因者に関する認識を形成する経験」が「保因者に関する認識と受け止め」に影響を与え、その結果、以下3点の問題へと繋がっていた。1) 保因者に関する認識が与える影響(血友病児を出産する不安、保因者可能性のある娘への対応、夫婦関係の変化)、2) 遺伝子医療の意味と役割(出生前診断、遺伝子診断、遺伝カウンセリング)、3) 血友病家系女性にとって必要な支援(相談窓口、適切な情報提供)

D. 考察

薬害 HIV 感染被害者・家族等の現状と困難経験として、支援準備性の欠如ならびに、薬害 HIV 被害による社会的課題が明確化した。特に、「血友病の根治」が可能ではないこと、「薬害 HIV 被害克服」が十分でないことを背景に以下が示唆された。1) 事後的なライフイベントへの対処スタイルは、医師＝患者パターンリズム関係を強化し、さらに家族関係の疎外を招いた。2) 薬害 HIV 被害とその後の支援の欠如が特に被害者の母親たちの血友病の保因に関する認識形成の機会喪失を招いた。3) 薬害被害経験への負の対処スタイルは、娘や孫へ次世代へと「負の遺産 (negative legacy)」として

継承されていた。一方で、準備性支援、人生設計といったライフイベントに対する事前的な対処について、専門的な支援状況、ピアへの支援状況、支援環境ともに十分ではなかった。本研究においては、この困難類型を予防行動採用理論を拡張する形で、準備性のステージ0にかかわる課題と位置づけ、提案した。また、具体的な取り組みとして、血友病家系女性・保因者のための情報サイト」開設を行い、準備性に関する支援を行った。URL :

<http://hemophilia-line.info/>

E. 結論

本研究により、薬害 HIV 感染被害者・家族等の現状からみた、血友病に係わる課題克服と支援について、新たな知見として、潜在的な支援要因「支援準備性」を発見した。人生上の発達と社会生活の質の向上に関連した克服課題であり、当事者性の獲得や意思決定の出発点となる重要な支援である。

また、薬害 HIV 被害者・家族は、長期に渡り「薬害 HIV 被害克服」ならびに「血友病根治」の課題が重なる困難が継続しており、さらにその負の経験が「遺伝」や「保因」の社会的課題の形で、次世代に継承する困難の歴史にいる。これらの解決のために、治療開発・支援開発含む集約的な支援機能を持つ血友病センターの設置、中立的な第三者支援機関による最新の情報提供や相談機会の提供、具体的な社会的課題克服のための支援開発と実施は可能であり、これらは将来に対する継続的な支援方法として有用性が期待できる。

これらは、本研究により新たに得られた知

見であり、薬害エイズ事件の教訓から得られた貴重な薬害 HIV 被害者・家族等の課題克服と支援方策の今後の方向性を示すものであると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.

5) 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.

6) 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

7) 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

8) 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

9) 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

10) 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

11) 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

12) 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

13) 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

14) 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

15) 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

16) 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

17) 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

18) 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

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

謝辞

本研究は以下の協力研究者の尽力により
なされたことに深く御礼申し上げます。

井上 佳世（お茶の水女子大学大学院人間
文化創成科学研究科）、久地井 寿哉（社会
福祉法人はばたき福祉事業団）、関 由起子
（埼玉大学教育学部学校保健講座）、望月
美栄子（株式会社アクセライト）、板垣貴
志（株式会社アクセライト）

AAV ベクターを使用した臨床研究の課題

研究分担者 村松慎一

自治医科大学 内科学講座 神経内科学部門

研究要旨

血友病に対する遺伝子治療の臨床研究を目標として、アデノ随伴ウイルス (AAV)ベクターを使用した臨床研究の課題を抽出し、その対策を考察した。cGMP レベルベクターの量産にはバキュロウイルス法の標準化を進める必要がある。ヒトにおける POC を得るための医師主導の臨床研究に続き、速やかに企業治験に移行することが望まれる。また、ゲノム編集を AAV ベクターに応用する基礎技術の開発を行った。

A. 研究目的

1. 血友病に対する遺伝子治療を推進するためにアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを使用した臨床研究において解決すべき課題を抽出し、その対策を考察する。
2. 血友病 A の遺伝子変異を *in vivo* で修正する新たな遺伝子治療を目標として、ゲノム編集を AAV ベクターに応用した基盤技術を開発する。

B. 研究方法

1. 自治医科大学でこれまでに実施した Parkinson 病に対する遺伝子治療と、台湾で実施した芳香族アミノ酸脱炭酸酵素(AADC)欠損症に対する遺伝子治療の資料に基づき、ベクターの作製と臨床研究の実施に際しての課題を抽出した。また、米国の遺伝子治療のベンチャー企業 Voyager Therapeutics の研究者と共通の課題を協議した。
2. CMV promoter により CAS9 を発現するカセットと、U6 promoter により GFP に対する sgRNA を発現するカセット各々構築し、それぞれ AAV3 の ITR 配列間に挿入した。HEK293 細胞に transfection して GFP の発現抑制効果を定量解析した。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え実験は施設内委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. 臨床研究における課題
 - 1) cGMPベクターの作製

Current Good Manufacturing Practice (cGMP)レベル

の高力価AAVベクターを大量に作製するため、バキュロウイルス法を標準化する必要がある。現在、2型AAV(AAV2)ベクターでは、 2×10^{13} vector genome (vg)/litterの生産が可能となっている。

2) 治験への移行

ヒトにおける POC を確立するため、少人数の患者を対象とした臨床研究を計画しているが、より多くの患者へ供給するには、薬事申請を目標とした治験に速やかな移行することが望ましい。

2. ゲノム編集技術の応用

CAS9 あるいは GFP に対する sgRNA を搭載した AAV のトランスフェクションにより、GFP の発現が抑制された。

D. 考察

Parkinson病とAADC欠損症の遺伝子治療では、脳内に直接ベクターを注入するため、患者一人あたり 10^{12} vg以下しか必要とせず、少人数の臨床研究であれば従来のプラスミドのトランスフェクション法でも十分量のcGMPベクターを産生できる。しかし、血友病では患者一人あたり 10^{14} vg以上のベクターを投与するため、より大量のベクターを産生する方法としてバキュロウイルスを応用した方法が開発されている。実際に欧州で初の遺伝子治療製剤として認可されたリポプロテインリパーゼ欠損症に対する AAVベクターはバキュロウイルス法が使用されている。バキュロウイルスの培養では動物血清を使用しない、既にGMPレベルのワクチンの製法として使

用されているという利点がある。今後、AAVベクターの品質基準を確定し、製造法を標準化する必要がある。

AAVベクターによる非分裂細胞への遺伝子導入では半永久的に発現が持続する。企業治験に移行するためには、従来の製薬とは異なるビジネスモデルを構築する必要がある。

血友病Aの第VIII因子遺伝子変異で日本人に多いinversionに対して、ゲノム編集技術を応用した遺伝子治療が期待されている。最近、3.5kb以下のCAS9も開発され、AAVベクターに搭載してin vivoの遺伝子編集も可能になりつつある。今後、さらに改良を進めたい。

E. 結論

血友病の遺伝子治療においては、バキュロウイルス法の製造工程と品質基準を確立し、薬事承認を目標とした治験の早期実現が望まれる。ゲノム編集技術とAAVベクターを組み合わせた遺伝子治療の基礎研究を行った。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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. 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)
2. 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.
3. 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)
4. 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 p21)
5. 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)
6. 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)
7. Muramatsu S: Gene therapy for Parkinson Disease. The First Asian Symposium on AADC Deficiency, Dec 21, 2014, Taipei.

H. 知的所有権の取得状況

該当なし

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

血友病治療用 AAV ベクター大量製造法の開発

研究分担者 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

研究要旨 血友病 B 遺伝子治療臨床研究用に FactorIX 搭載 AAV8 型ベクターをバキュロウイルスシステムを用いて大量製造を実施するための検討を実施した。昨年度の検討において、一定のベクター製造効率が確認できていたが、FIX 遺伝子を搭載することでヘルパーフリー法と同様にベクター産生性が大きく低下することが認められた。細胞濃度、回収日、培地、MOI、バキュロウイルスベクター比率等について至適化することにより、実現可能なスケールで $1 \times 10^{15} \text{vg}$ 製造できる条件を設定することができた。さらに、GMP 製造の第一段階となる Sf9 昆虫細胞の MCB 製造のための細胞培養条件を確認するとともに、実製造で使用予定の Wave 培養システムによる製造検討も実施し、改良の余地はあるものの現段階においても、小スケールで得られていた産生効率と同等の効率が確認でき大きな前進が認められた。今後、実製造を進める段階であったが、バキュロウイルスシステムではベクターを供給できるまでに、まだもう少しばかり時間が必要であるため、AAV8-FIX ベクターについては少数例での臨床試験を早期に実施することを優先して、ヘルパーフリー法でベクターを確保することになり、現在、プラスミド GMP 製造、ベクター製造条件の検討を進めている。

A. 研究目的

重症型血友病 B 患者に対する AAV ベクターを用いた Factor IX 遺伝子治療においては、大量のベクター製造 ($1 \times 10^{15} \text{vg}$ (vector genomes)以上) が必要となる。近年、海外のグループによって、AAV ベクターを用いた血友病 B に対する遺伝子治療に関して有望な成果が報告されたが、約 $2 \times 10^{15} \text{vg}$ 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 個使用されたことが報告されている (Hum Gene Ther., 22: 595-604, 2011)。このようなスケールでの治験薬 GMP に準拠した AAV ベクターの製造実績ならびに製造され

た AAV ベクターの品質試験について、国内ではこれまで実施例がなく、本遺伝子治療の臨床研究を実施する上で、AAV ベクターの GMP グレードでの大量製造方法を確立し、その品質を担保するための多くの試験方法を開発することは必須となる。本研究においては、その大量製造方法を開発する上で、現実問題として例え 400 個を超える 10 段フラスコを使用し製造したとしても得られるベクター量が数名分程度という問題を根本的に解決すべく、遺伝子治療用 AAV ベクター製造で実績があるバキュロウイルスを用いた製造システムについて、GMP 準拠での製造技術開発を行う。

B. 研究方法

・ AAV8-FIX ベクター産生用バキュロウイルスベクターの構築：昨年度構築した AAV2 型ベクター産生用トランスファープラスミドの Cap 部分を AAV8 Cap 配列に置換した。また AsRed2 遺伝子部分を FactorIX (FIX) 遺伝子に置換した。

・ AAV8-FIX ベクター産生性の検討：ITR 内に FIX 遺伝子配列を保持するバキュロウイルスベクターおよび AAV8CapAAV2Rep 配列を保持するバキュロウイルスベクターを、それぞれ力価を指標に高産生ウイルスをセレクションし preMVB (master virus bank) とした。AAV2-AsRed2 ベクターとの産生性を比較するために昆虫細胞用培地を含む三角フラスコに Sf9 細胞を培養後、それぞれのバキュロウイルスベクターを感染させて AAV ベクターを製造し、そのゲノムタイターをリアルタイム PCR 法により測定することで確認した。

・ AAV8-FIX ベクター産生性向上の検討：バキュロウイルスベクターによる AAV8-FIX ベクター製造の産生性を向上させるための条件検討として、バキュロウイルスベクター感染時の MOI (multiplicity of infection)、感染後の AAV ベクター回収日、Sf9 細胞をセットアップする際の細胞数、昆虫細胞培養用培地、感染させるバキュロウイルスベクターについて AAV ゲノムをもつものと AAV8Cap をもつものの比率について確認した。AAV ベクター産生性はリアルタイム PCR 法によりゲノムタイターを測定することで評価した。

・ Sf9 MCB 製造条件の検討：Sf9 昆虫細胞の master cell bank (MCB) 製造条件検討

のため、培養器材としてスピナーフラスコ及び Wave bioreactor を用いて、経時的に培養液量を増加し細胞増殖性を測定した。

・ AAV8-FIX 実製造大スケール検討：Sf9 MCB 製造条件の検討と合わせて、スピナーフラスコ及び Wave bioreactor により培養中の Sf9 細胞にバキュロウイルスベクターを感染させ、AAV8-FIX ベクター製造性を検証した。

(倫理面への配慮)

本研究は、非病原性の AAV に由来するベクターの開発とその応用を目指したものであり、周辺環境および実験従事者の安全性に関して、倫理的な問題が生ずることは基本的にないと考えられる。また、本研究においては、動物及びヒトサンプルは取り扱わない。

C. 研究成果

・ バキュロウイルスベクターによる AAV8-FIX ベクター産生：AAV2-AsRed2 ベクターと AAV8-FIX ベクター産生効率をそれぞれのベクター製造用バキュロウイルスベクターを使用することにより比較した。なお血清型による影響を確認するため、AAV2-FIX ベクター及び AAV8-AsRed2 ベクターについても同時に産生効率を確認した。(図 1)。