

values obtained by ROC curve analysis and by average + 2 SD made comparable performance in ICTs. We therefore kept cut-off values obtained by average + 2 SD.

Discussion

This is the first report of a rapid test for the detection of anti-FXIII-A auto-Abs, which cause a life-threatening bleeding disease

termed AH13. In this study, we first characterised three in-house mAbs in detail to confirm the rational basis for their use in an important life-saving diagnostic method. We then developed an ICT to detect anti-FXIII-A auto-Abs and to differentiate AH13 cases from other HAF13D patients. The latter is essential for the proper treatment of AH13 because administration of immunosuppressive agents is indispensable for its Ab eradication therapy.

Among our three in-house mAbs against human FXIII-A, 1TH2-8C4C, had the highest affinity toward FXIII-A, and

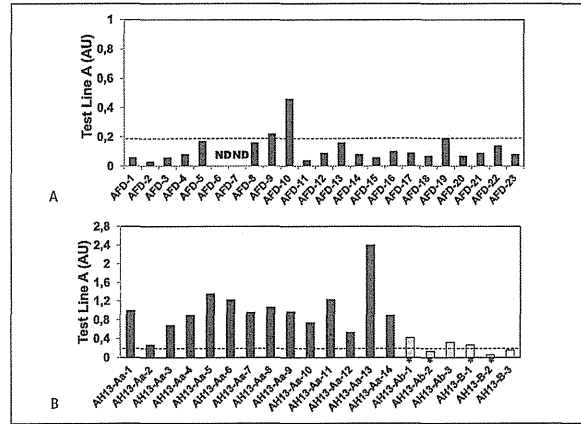


Figure 3: Modification of ICT after spiking with normal plasma samples. The absorbance is shown for 23 plasma samples from patients with AFD (AFD-1 through AFD-23) (A) and 20 samples from patients with AH13 (AH13-Aa-1 through -Aa-11, and -Ab-3) (B). The results of 13 AH13 cases of type Aa (AH13-Aa-1 through Aa-13), 3 of type Ab (AH13-Ab-1 through Ab-3), and 3 of type B (AH13-B-1 through B-3) are represented as a gray, closed, and open bars, respectively. * indicates samples (AH13-Ab-1, Ab-2, B-1, and B-2) that have already been diagnosed as AH13. The cut-off value is indicated by a dashed line. ND, not detectable.

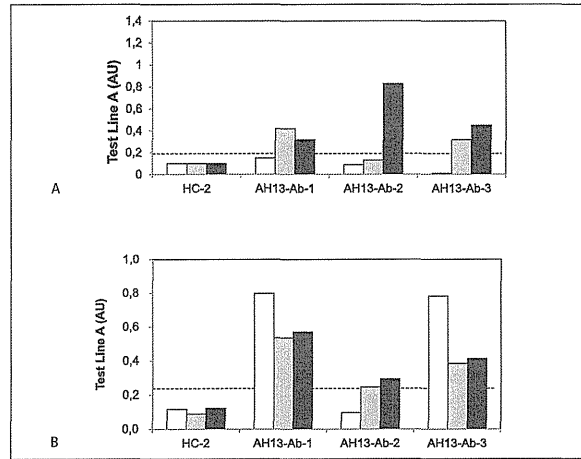


Figure 4: Application of ICTs to various types of AH13. A) The absorbance is shown for one healthy control plasma sample (HC-2) and three samples from patients with AH13 type Ab (AH13-Ab-1 to Ab-3). "Mere ICT", "ICT spiked with healthy control plasma", and "ICT spiked with FXIIIa" are represented as open, gray, and closed bars, respectively. A cut-off value is indicated by a dashed line. B) The absorbance is shown for one healthy control plasma sample (HC-2) and three samples from patients with AH13 type Ab (AH13-Ab-1 through -Ab-3). The results of ICTs spiked with healthy control plasma in the absence (open bars) or the presence of thrombin and CaCl₂ without (gray bars) or with GPRP -NH2 (closed bars) are shown. The cut-off value is indicated by a dashed line.

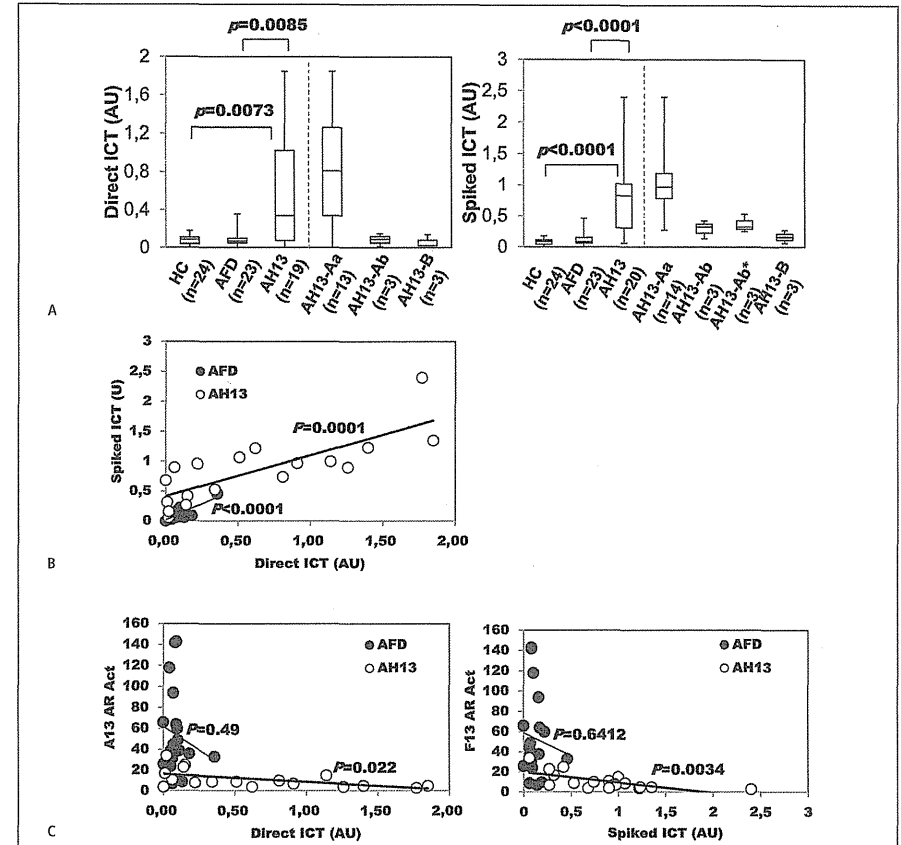


Figure 5: The correlation between ICT values and FXIII levels. A) Values of direct (left) and spiked (right) ICTs are shown. The results are presented as box-and-whisker plots denoting the median, interquartile range, and the minimum and maximum data points. The values of both direct and spiked ICTs were significantly higher in AH13 cases than in the healthy control (HC) group (0.60 ± 0.61 vs 0.08 ± 0.05 , $P = 0.0073$ and 0.78 ± 0.54 vs 0.08 ± 0.05 , $P < 0.0001$, respectively) and AFD patients (vs 0.09 ± 0.07 , $P = 0.0085$ and vs 0.11 ± 0.09 , $P < 0.0001$, respectively). *; activated by thrombin in the presence of calcium. B) The correlation between direct and spiked ICTs were shown. There was a strong correlation between direct and spiked ICTs for both the AH13 (open circles) and AFD (closed circles) groups ($R^2 = 0.62$ and $P = 0.0001$; $R^2 = 0.67$ and $P < 0.0001$, respectively). C) Direct (left) and spiked (right) ICT values vs FXIII ammonia release (AR) activity (Act) levels are shown. For AH13 cases (open circles), a significant inverse correlation between both direct and spiked ICT values and FXIII-AR Act was observed (slope = -7.7 , $R^2 = 0.30$, $P = 0.022$ and slope = -10.4 , $R^2 = 0.43$, $P = 0.0034$, respectively).

therefore it was selected as a capture antibody to be coated onto the surface of the assay membrane. This mAb was also confirmed to bind to the β -barrel-1 domain, a region where no function of FXIII-A had been assigned, to the best of our knowledge. This is consistent with the findings that none of our mAbs inhibited either the proteolytic activation of FXIII by thrombin or the catalytic activity of activated FXIIIa. Furthermore, the three mAbs did not interfere with the heterotetramer assembly between FXIII-A₂ and FXIII-B₂ dimers.

Taken together, 1TH2-8C4C is the most suitable Ab for the present ICT because it would not compete with patients' inhibitory anti-FXIII-A auto-Abs that target the plasma transglutaminase regions of FXIII-A. Thus, 1TH2-8C4C can detect not only non-neutralising auto-Abs but also neutralising auto-Abs against FXIII-A.

There are at least two major difficulties to overcome in developing an ICT to detect anti-FXIII-A auto-Abs in AH13 cases. The first is the low amounts of FXIII-A antigen that is frequently observed in patients' plasma. Our "direct ICT" can detect only an immune complex between FXIII-A antigen and its auto-Abs, but not free anti-FXIII-A Abs. Therefore, our direct ICT is made for the detection of only complexed anti-FXIII-A auto-Abs. This problem was overcome by employing the "spiked ICT", in which a normal amount of FXIII-A in control plasma was added to a patient's sample. Subsequently, the exogenous FXIII-A antigen supplied by the control plasma would be bound by free anti-FXIII-A auto-Abs in a patient's plasma, resulting in the formation of an additional amount of FXIII-A antigen-anti-FXIII-A auto-Ab complex. Accordingly, our spiked ICT can measure the total anti-FXIII-A auto-Ab level, if the quantity of a patient's anti-FXIII-A auto-Abs does not exceed the amount of FXIII-A antigen in the control plasma. In fact, this spiked ICT diagnosed all type Aa cases, without exception.

The second problem is harder to overcome, because it is based on the fundamental mechanisms of action of anti-FXIII auto-Abs. As described previously, there are at least three types of anti-FXIII auto-Abs, type Aa, Ab, and B, directed exclusively toward native FXIII-A, activated FXIII-A, and FXIII-B, respectively. Actually, some AH13 samples of either type Ab or B auto-Abs were classified as "false-negative". We therefore modified our ICT by adding pre-activated rFXIIIa into the original ICT reaction mixture, and successfully detected auto-Abs in all type Ab cases. A serum sample made from a mixture of type Ab and normal control plasma was used for ICT of AH13-suspected patients "in the field," because endogenously generated thrombin can activate FXIII-A in normal control plasma to form an immune complex between activated FXIIIa antigen and anti-FXIIIa auto-Abs.

Conversely, it is impossible to detect the type B auto-Abs by our current ICTs, because this type of auto-Abs is directed to the FXIII-B. We are developing another ICT to detect the type B auto-Abs using in-house mouse mAbs generated against FXIII-B, in the near future.

Our ultimate goal is to make our ICT suitable as a POCT (16-19), because a prompt detection of anti-FXIII auto-Abs can lead to an immediate decision to start immunosuppressive treatment for patients with otherwise unexplained bleeding. To adapt

What is known about this topic?

- The number of AH13 patients has recently been increasing in Japan.
- The definitive diagnosis of AH13 can currently be established only through time-consuming and expensive laboratory tests, such as the immune/dot-blot assay and ELISA, to detect anti-FXIII auto-antibodies.

What does this paper add?

- We successfully developed a rapid immunochromatographic test (ICT) to detect anti-FXIII-A autoantibodies and to differentiate AH13 cases from other haemorrhagic patients due to non-immune FXIII deficiencies.
- ICT values were significantly inversely correlated with FXIII activity levels, indicating an association between the quantity of anti-FXIII autoantibodies and the pathogenesis of AH13.

our ICT system to a fully assembled POCT device (17, 19), the current methods may need to be optimised further. In addition, incorporating a positive control of anti-FXIII Abs into a test strip as a control line will improve the usefulness of the test because it will reduce the number of strips as well as reagents needed to perform the assay. Although the present ICT study was carried out using a bench top absorbance reader, it was possible to read results visually (by three independent examiners in our laboratory, data not shown).

In conclusion, we have developed a new, rapid, and easy-to-use ICT for anti-FXIII-A auto-Abs that diagnoses 90% of AH13 patients. This novel ICT method may be applicable to a POCT, and contribute to saving more AH13 patients' lives.

Acknowledgements

We would like to thank all members of Japanese Collaborative Research Group on AH13 for their cooperation in conducting a nationwide survey on AH13 from the Japanese business year 2009 through 2013, Ms. Keiko Ninomiya for her assistance in experiments, Dr. Arijit Biswas for his valuable advice, and Ms. Yuriko Shibue for her help in preparation of this manuscript. This study was supported in part by research grants from the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, and the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare, and was presented in part at the 35th Annual Meeting of The Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis in Yamagata, in June 2013.

Author contributions

TO performed experiments and wrote the paper; SD, NK, and MY prepared in-house mAbs and developed ICT; SM assisted the experiments; AI created the research project and wrote the paper.

Conflicts of interest

None declared.

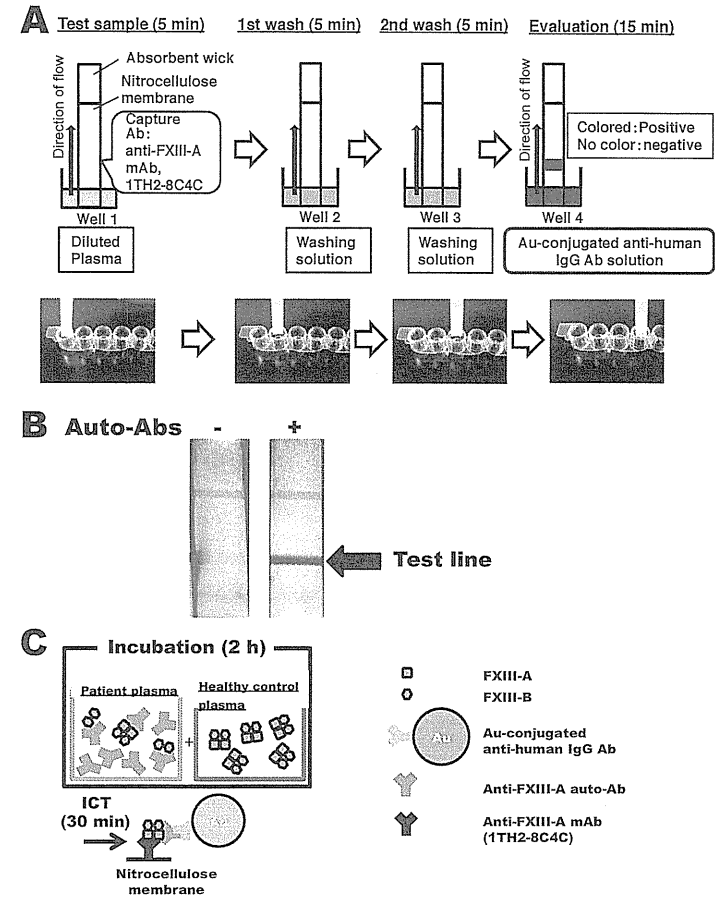
References

- Komáromi I, Bagoly Z, Muszbek L. Factor XIII: novel structural and functional aspects. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 9-20.
- 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; 95: 362-370.
- Schroeder V, Kohler IIP. Factor XIII deficiency: an update. *Semin Thromb Hemost* 2013; 39: 632-641.
- Egbring R, Kröniger A, Seitz R. Factor XIII deficiency: pathogenic mechanisms and clinical significance. *Semin Thromb Hemost* 1996; 22: 419-425.
- Ichinose A. Haemorrhagic acquired factor XIII (13) deficiency and acquired haemorrhaphilia 13 revisited. *Semin Thromb Hemost* 2011; 37: 382-388.
- Sugiyama H, Uesugi H, Suzuki S, et al. Aggressive fatal case of autoimmune haemorrhaphilia resulting from anti-factor XIII antibodies. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2013; 24: 85-89.
- Lorand L. Haemorrhagic disorders of fibrin stabilisation. In: Ogston D, Bennett B (eds). *Hemostasis: Biochemistry, Physiology and Pathology*. John Wiley & Sons Ltd, 1977; pp. 405-423.
- Lorand L, Losowsky MS, Miloszewski KJ. Human factor XIII: fibrin-stabilizing factor. *Prog Hemost Thromb* 1980; 5: 245-290.
- Lukacova D, Matsuda GR, Haber E, et al. Inhibition of factor XIII activation by an anti-peptide monoclonal antibody. *Biochemistry* 1991; 30: 10164-10170.
- Lorand L, Velasco PI, Murthy SN, et al. Autoimmune antibody in a haemorrhagic patient interacts with thrombin-activated factor XIII in a unique manner. *Blood* 1999; 93: 909-917.
- Ajzner E, Schlammdinger A, Kerényi A, et al. Severe bleeding complications caused by an autoantibody against the B subunit of plasma factor XIII: a novel form of acquired factor XIII deficiency. *Blood* 2009; 113: 723-725.
- Kohler HP, Ichinose A, Seitz R, et al. Diagnosis and classification of factor XIII deficiencies. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 1404-1406.
- Lorand L. Acquired inhibitors of fibrin stabilisation: a class of haemorrhagic disorders of diverse origins. In: Green D (ed) *Anticoagulants, Physiologic, Pathologic and Pharmacologic*. CRC Press, 1994; pp. 169-191.
- Ichinose A, Souri M; Japanese collaborative research group on „Acquired haemorrhaphilia due to factor XIII deficiency“. As many as 12 cases with haemorrhagic acquired factor XIII deficiency due to its inhibitors were recently found in Japan. *Thromb Haemost* 2011; 105: 925-927.
- Ichinose A, Souri M. Reduced difference of α_2 -plasmin inhibitor levels between plasma and serum in patients with severe factor XIII deficiency, including auto-immune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. *Int J Hematol* 2012; 95: 47-50.
- Cini M, Legnani C, Cavalirani K, et al. A new rapid bedside assay for D-dimer measurement (Simplify D-dimer) in the diagnostic work-up for deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2681-2683.
- Neale D, Tovey C, Vail A, et al. Evaluation of the Simplify D-dimer assay as a screening test for the diagnosis of deep vein thrombosis in an emergency department. *Emerg Med J* 2004; 21: 663-666.
- Warner L, Sibinskas R, Brown D, et al. Development and evaluation of a rapid immunochromatographic test for mumps-specific IgM in oral fluid specimens and use as a matrix for preserving viral nucleic acid for RT-PCR. *J Med Virol* 2010; 82: 485-493.
- Handal S, Klarman M, Gaspard AN, et al. Development and evaluation of a magnetic immunochromatographic test to detect *Taenia solium*, which causes taeniasis and neurocysticercosis in humans. *Clin Vaccine Immunol* 2010; 17: 631-637.
- Souri M, Kaetsu H, Ichinose A. Sushi domains in the B subunit of factor XIII responsible for oligomer assembly. *Biochemistry* 2008; 47: 8656-8664.
- Souri M, Biswas A, Misawa M, et al. 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. *J Hemophilia* 2014; 20: 255-262.
- Hoyleteris ME, Bollen A, De Broe ME. The application of enzyme kinetics to the determination of dissociation constants for antigen-antibody interactions in solution. *J Immunol Methods* 1990; 126: 253-261.
- Wada H, Souri M, Matsumoto R, et al. Alloantibodies against the B subunit of plasma factor XIII developed in its congenital deficiency. *Thromb Haemost* 2013; 109: 661-668.
- Nagaraj N, Kulak NA, Cox J, et al. System-wide perturbation analysis with nearly complete coverage of the yeast proteome by single-shot ultra HPLC runs on a bench top orbitrap. *Mol Cell Proteomics* 2012; 11: 1-11.
- Olsen JV, Macek B, Lange O, et al. Higher-energy C-trap dissociation for peptide modification analysis. *Nat Methods* 2007; 4: 709-712.
- Cohen JA. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960; 20: 37-46.
- Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988; 240: 1285-1293.

Supplemental Material to to Osaki et al. “Rapid immunochromatographic test for detection of anti-factor XIII A subunit antibodies can diagnose 90 % of cases with autoimmune haemorrhaphilia XIII/13” (Thromb Haemost 2015; 113.6)

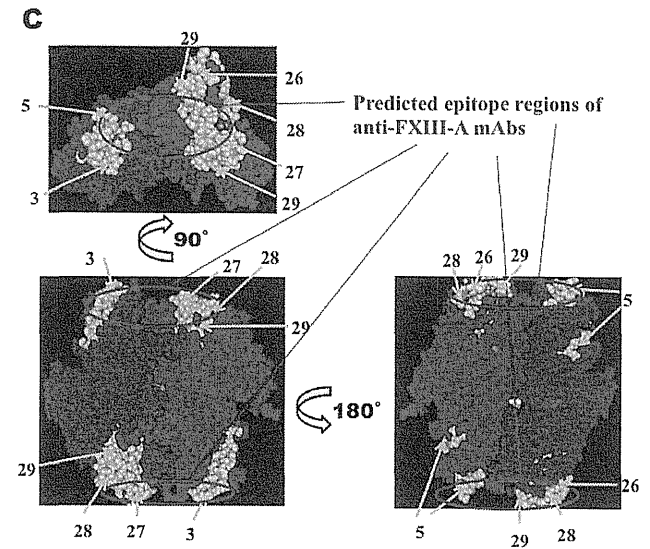
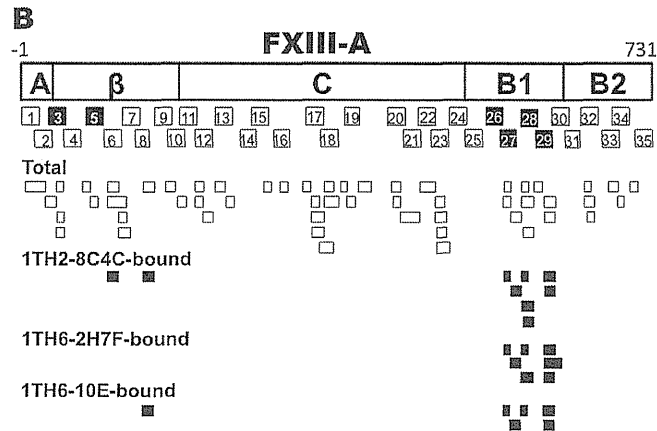
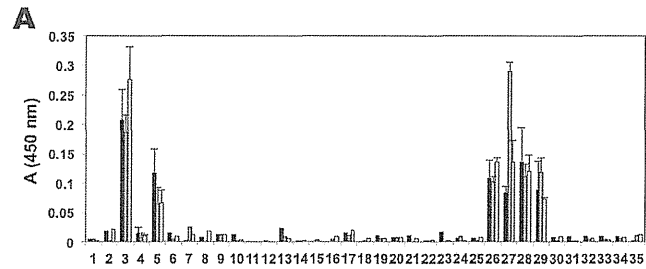
Suppl. Figure 1: Development of an ICT for the detection of anti-FXIII-A auto-Abs.

(A) The standard operating procedure for our ICT is shown. It takes about 30 min from applying samples to interpreting a test strip. (B) Examples of ICT results are shown. A definite band (+, positive) was detected in the presence of anti-FXIII-A auto-Abs (right), while no band (-, negative) was observed in the absence of auto-Abs (left). The mean \pm SD and coefficient of variation of the positive control sample were 215 ± 22 mAbsorbance and 10% (n=8), respectively, by a FactScan reader. (C) A schematic representation of the spiked ICT for insufficient FXIII-A. It takes about 2 h and 30 min from the preincubation of samples supplemented with a normal plasma sample to reading a test strip.



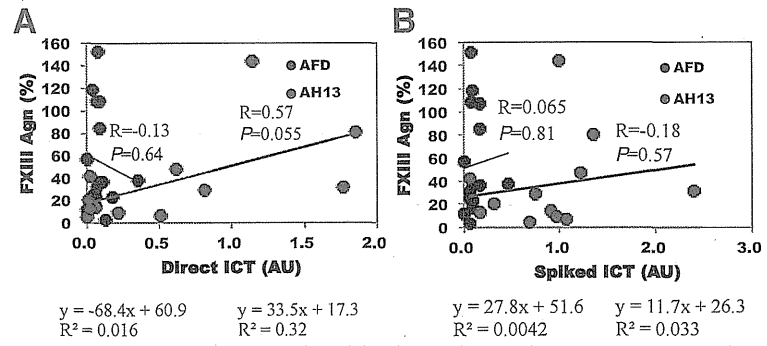
Suppl. Figure 2: Epitope analyses of in-house mAbs using synthetic FXIII-A peptides and fragments of chymotrypsin-digestion.

(A) Binding specificities of mAbs against FXIII-A-peptides. Thirty-five FXIII-A peptides, covering 83% of the total FXIII-sequence, were synthesized and immobilized on the plates. The details regarding all synthetic peptides are summarized in Table 1. The binding abilities of three mAbs, 1TH2-8C4C (closed bar), 1TH6-2H7F (gray bar), and 1TH6-10E (open bar), to each peptide were determined by ELISA. The data are presented as means of three replicates and SDs. The peptides derived from rFXIII-A. A, β , C, B1, and B2 denote activation peptide, β -sandwich, core, barrel-1, and barrel-2 domains, respectively. Just below the entire precursor (rFXIII-A; the left side is the N-terminus and the right side is the C-terminus), synthetic peptides listed in Table 1 are highlighted (peptide nos. 3, 5, 26, 27, 28, and 29) and open boxes indicate other synthetic peptides. (B) Chymotrypsin-digested fragments identified whose peak areas exceeded 10^9 are denoted by closed boxes (bound to mAbs) or open boxes (total). (C) Chrystal structures of the factor XIII A-subunit showing the regions (yellow) for peptides 3, 5 and 26-29 which are reactive with the autoantibodies.



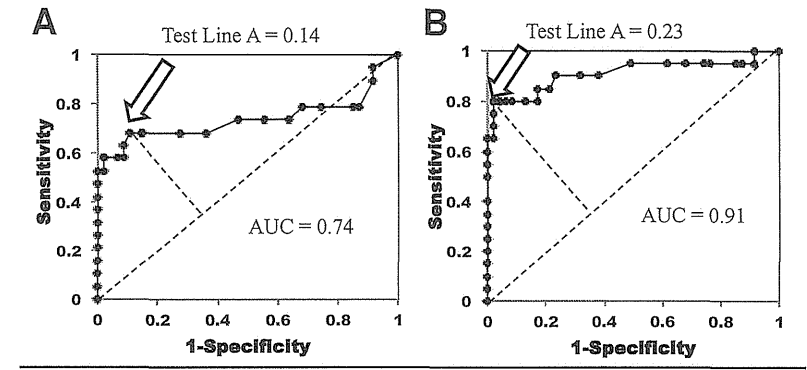
Suppl. Figure 3: Levels of FXIII antigen in AH13 and HAFD cases.

There was no correlation between either direct (A) or spiked (B) ICT and FXIII Agn for AH13 cases ($P=0.055$ and 0.57 , respectively) and those in HADF patients ($P=0.64$ and 0.81 , respectively).



Suppl. Figure 4: Receiver operator characteristic (ROC) curve.

ROC curve was drawn to determine the optimal cutoff values and area under the ROC curve for direct (A) and spiked (B) ICTs.



Suppl. Table 1: List of synthesized FXIII-A peptides used in this study.

Peptide No	N-term.	C-term.	Sequence
	Position	Position	
1	5	24	RTAFGGRRAVPPNNSNA AED
2	20	39	NAAEDDLPTVELQGVVPRGV
3	36	55	PRGVNLQEFLNVTSVHLFKE
4	53	72	FKERWDTNKVDHHTDKYENN
5	79	98	GQSFYVQIDFSRPYDPRRDL
6	100	119	RVEYVIGRYPQENKGTIYIPV
7	121	140	IVSELQSGKKGAKIVMREDR
8	136	151	MREDRSVRLSIQSSPK
9	158	177	RMVYAVWTPYGVLRTRSNPE
10	173	192	SRNPETDTYILFNPWCEDDA
11	187	206	WCEDDAVYLDNEKERE EYVL
12	205	224	VLNDIGVIFYGEVNDIKTRS
13	228	247	GQFEDGILDTCLYVMDRAQM
14	257	274	KVSRVGSAMVNAK DDEGV
15	270	289	DDEGVLVGSDWNIYA YGVPP
16	296	313	VDILLEYRSEN PVR YGQ
17	333	352	RIVTNYFSAHDNDANLQMDI
18	350	369	MDIFLEEDGNVNSKLT KD SV
19	377	393	EAWMTRPDL PVGFGGWQ
20	427	446	DAPFVFAEVNSDLIYITAKK
21	445	464	KKDGTHTVVENVDATHIGKLI
22	462	481	KLIVTKQIGDGMMDITDY
23	477	496	ITDTYKFQEGQBBERLALET
24	492	511	LALETALMYGAKKPLNTEGV
25	516	535	SNVDMDFEVENA VLGKDFKL
26	540	559	RNNSHNR YTITAYLSANITF
27	556	574	NITFYTGVLKAEFKKETF D
28	580	599	LSFKKEA VLIQAGEYMGQLL
29	596	615	GQLEQASLHFFVTARINET
30	616	635	RDVLAKQKSTVLTIP EIIIK
31	631	647	EIIIKVRGTQVVGSDMT
32	649	668	TVQFTNPLKETLRNVVHLD
33	674	693	RPMKKMFREIRPNSTVQWEE
34	685	704	PNSTVQWEEVCRPWVSGHRK
35	712	731	DSLRHVYGELDVQIQRPSM

Suppl. Table 2: List of identified chymotrypsin-digested peptides.

Peptides with expectation values according to either Mascot (column 9) or Sequest HT (column 10) of less than 0.05 are listed. The expectation values over 0.05 are shown in gray boxes with white letters. The N-(Before, column 1) and C-terminal (After, column 3) flanking amino acids are shown. Start (column 4) and Stop (column 5) indicate the amino acid positions of the N- and C-terminus of the identified peptide (Sequence, column 2). Peak areas for the peptides bound to 1TH2-8C4C, 1TH6-2H7F, and 1TH6-10E are shown in columns 11, 12, and 13, respectively. Peak areas for chymotrypsin-digested peptides from the same quantities of rFXIII-A are shown in column 14 (Total). Peptides with peak areas greater than 10^9 are shown in closed boxes with white letters. The relative peak areas, or the ratios of the major peptides (peak area $> 1 \times 10^9$) bound to each mAb to the total are shown in parenthesis. ^aND, Not detectable; ^bNI, Not identified; ^cNE, Not estimated.

Gene	Sequence	Ahr	Start	Stop	Modification	MSA [R#]	Masses Change	Expectation Value		Area				
								Match	Score	TH1303	TH1304	TH1305		
IGHM	IGBT1A0P	G	-1	8		10284033	0	2.32E-04	8.42E-03	100*	100*	100*	1.492E-04	
F	GGVRRVPPRSGAAEDQVPEL	V	9	31		22321912	0	4.93E-03	1.21E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
L	GGVRRVQVQDF	L	22	44		144217820	1	7.42E-04	1.18E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
L	GGVRRVQVQDF	H	32	43		15518376	0	1.44E-04	1.18E-04	100*	100*	100*	3.33E-04	
F	LNVYDFL	F	45	55		10215047	1	2.16E-05	1.34E-03	3.93E13	6.334E8	8.01E8	1.0E-03	
F	LNVYDFL	K	45	55		10231318	0	8.81E-04	2.85E-03	2.23E16	100*	100*	1.0E-03	
L	INVFYDFL	K	46	53		9144044	1	6.07E-02	5.73E-03	3.03E17	7.81E15	4.70E16	1.0E-03	
W	DINVLVDFL	E	45	48		14224551	0	7.88E-04	5.10E-03	100*	100*	100*	5.54E-04	
Y	ENKMLVRRGDSFY	V	70	83		17343073	0	2.74E-01	1.18E-03	4.87E16	4.44E07	4.44E07	1.144E-04	
L	INRVDFL	Y	75	82		9521597	0	4.22E-02	4.84E-02	1.11E07	2.80E16	1.87E16	1.34E-04	
L	INRVDFL	V	75	83		11234518	0	3.95E-01	2.10E-02	5.95E16	5.61E07	1.41E18	1.0E-03	
F	VYDFDFL	D	83	91		12744357	0	1.61E-05	1.18E-04	9.00E16	100*	100*	1.0E-03	
V	VYDFDFL	D	84	92		12744370	1	7.84E-04	2.14E-04	6.22E16	2.91E17	2.11E07	1.0E-03	
Y	VYDFDFL	F	84	93		18748654	0	10*	3.10E-02	1.82E16	100*	100*	1.0E-03	
F	INRVDFL	R	85	93		14217200	0	2.67E-01	1.10E-02	1.40E16	100*	1.44E17	100*	
V	DINVLVDFL	V	85	100		14217200	2	7.05E-01	2.85E-02	2.02E16	2.81E07	1.85E17	1.0E-03	
Y	VYDFDFL	I	104	114		15247709	0	1.93E-05	6.08E-04	1.0E16	4.44E16	4.22E16	1.0E-03	
Y	VYDFDFL	V	104	120		24723470	1	4.47E-07	1.00E-05	100*	100*	100*	1.0E-03	
V	VYDFDFL	V	104	120		30281331	2	5.81E-01	4.84E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
Y	PCENGVYDFL	G	103	125		10544091	0	10*	3.75E-03	100*	100*	100*	2.142E-04	
V	PCENGVYDFL	G	103	125		9615564	0	4.84E-07	1.17E-03	2.80E16	5.36E15	100*	1.0E-03	
Y	PCENGVYDFL	G	103	125		10524814	1	2.32E-08	2.50E-05	2.50E16	100*	100*	1.0E-03	
L	DIGSPKGVDFL	R	145	157	C1(Caernabornu)	14507720	0	2.87E-04	2.64E-04	1.0E16	6.17E15	1.0E16	1.0E-03	
L	DIGSPKGVDFL	R	145	150		10003930	1	1.09E-01	2.14E-04	100*	2.80E15	100*	100*	
F	RIVQVDFL	D	160	162		12864504	0	7.22E-02	2.02E-01	6.50E16	3.94E16	100*	100*	
W	IPYGLVLRSPEDY	I	163	181		10368067	0	1.00E-01	1.64E-04	8.44E16	3.94E16	1.37E16	100*	
Y	QVLRVDFL	I	164	181		10368067	0	1.40E-03	7.85E-05	5.01E16	7.93E16	7.93E16	1.0E-07	
V	QVLRVDFL	V	164	183		10343829	0	1.30E-01	1.30E-03	4.39E17	100*	100*	1.0E-03	
L	RTSRDFL	I	171	181		10384234	0	2.45E-02	8.95E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
L	RTSRDFL	I	171	183		10327914	0	1.00E-01	1.00E-02	1.00E17	100*	100*	1.0E-03	
L	INNVDFL	L	185	194	C1(Caernabornu)	10384872	0	2.92E-04	1.05E-02	9.24E16	1.50E16	3.20E16	1.0E-03	
Y	CEGVDFL	L	189	194	C1(Caernabornu)	8713126	0	5.40E-04	3.02E-02	100*	100*	100*	7.30E17	
Y	LEKEREYDFL	V	193	204		10244504	0	3.85E-04	3.10E-04	100*	100*	100*	1.0E-03	
W	LDKEREYDFL	H	193	216		10363518	0	4.23E-04	4.11E-04	3.40E17	2.89E15	2.32E16	100*	
L	DKEREYDFL	V	193	214		10315166	0	2.34E-02	5.97E-02	100*	100*	100*	1.334E-04	
Y	VYDFDFL	V	203	213		9993927	1	7.87E-04	7.39E-02	8.94E16	1.94E16	1.0E-03	1.0E-03	
Y	VYDFDFL	V	203	214		11524392	0	1.24E-04	7.79E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
F	VYDFDFL	F	203	216		10837193	0	5.10E-07	1.00E-01	1.00E17	1.00E17	1.23E17	1.0E-03	
Y	GVKRVDFL	S	215	215		10344584	0	3.82E-06	3.91E-05	4.91E17	100*	100*	1.0E-03	
W	VYDFDFL	D	226	230		11068193	0	5.84E-02	7.50E-02	100*	100*	100*	1.0E-03	
V	GVKRVDFL	V	228	248	C1(Caernabornu)	14815414	0	1.84E-04	1.96E-02	100*	100*	100*	1.0E-03	
L	VYDFDFL	D	240	249		10415103	0	1.51E-03	4.87E-03	2.39E16	100*	100*	4.12E17	
L	VYDFDFL	D	241	249		10781023	0	9.87E-03	4.87E-03	9.87E16	100*	100*	1.0E-03	
Y	AVYDFDFL	T	244	252		9474424	1	3.85E-03	1.14E-02	100*	100*	100*	1.0E-03	
L	LEVDFDFL	G	300	311		11523450	0	3.10E-03	2.38E-05	4.91E16	9.20E17	1.03E18	100*	
L	LEVDFDFL	G	301	311		11591895	0	1.00E-01	1.00E-02	1.00E17	1.00E17	1.00E17	1.0E-03	
Y	RSEDFDFL	G	303	311		11697526	0	3.32E-03	2.87E-04	7.44E17	6.11E16	9.87E16	1.0E-03	
Y	RSEDFDFL	H	303	318	C1(Caernabornu)	10384872	0	3.02E-03	3.14E-04	3.80E16	1.10E17	1.00E17	1.0E-03	
Y	RSEDFDFL	A	303	317	C1(Caernabornu)	10448802	0	1.75E-01	1.49E-02	2.80E16	100*	100*	1.0E-03	
W	VYDFDFL	I	316	324		10014004	0	2.14E-02	9.83E-02	1.04E16	3.00E17	3.90E17	100*	
F	INRVDFL	F	322	328	C1(Caernabornu)	9214764	0	2.26E-01	2.84E-02	8.84E17	100*	100*	1.0E-03	
F	INRVDFL	F	323	330	C1(Caernabornu)	10443103	0	7.89E-04	4.27E-03	3.20E16	3.42E16	5.84E17	1.0E-03	
L	GVKRVDFL	L	329	338		11031413	0	2.84E-02	1.00E-02	8.87E17	3.30E17	5.11E17	1.0E-03	
O	Y	FSKNDVDFL	G	335	348		11031413	0	4.01E-03	2.90E-03	7.50E16	3.04016	2.80E16	1.0E-03
F	FSKNDVDFL	L	339	353		7372509	0	2.86E-07	1.44E-04	100*	100*	100*	1.0E-03	
F	SAHNDVDFL	F	340	348		9644021	0	1.24E-02	1.00E-02	100*	100*	100*	1.0E-03	
F	SAHNDVDFL	L	340	353		11591810	0	1.23E-08	1.07E-05	2.65E16	100*	100*	1.0E-03	
L	GVKRVDFL	T	344	364		10914718	0	6.32E-05	1.00E-04	100*	100*	100*	1.0E-03	
F	LEEDGVDFL	T	344	364		11511003	0	3.27E-06	1.65E-04	1.40E16	1.90E17	1.10E17	1.0E-03	
F	LEEDGVDFL	H	354	370		9933540	0	3.81E-04	4.20E-05	5.01E17	3.00E16	100*	1.0E-03	
L	GGVRRVQVQDFL	L	355	359		10381854	0	100*	1.20E-02	1.20E16	100*	100*	1.0E-03	
W	INNVDFL	LI	371	378	C1(Caernabornu)	10784508	0	2.72E-04	2.10E-03	1.41E17	100*	4.37E16	3.81E17	
W	INNVDFL	LI	371	379	C1(Caernabornu)	10023800	0	9.81E-04	1.33E-02	1.97E17	100*	100*	1.0E-03	
W	INNVDFL	LI	378	389		11821762	0	1.00E-01	1.00E-02	1.00E17	1.00E17	1.00E17	1.0E-03	
W	INNVDFL	LI	389	389		11521542	0	1.23E-04	1.19E-03	3.79E17	3.50E17	1.52E17	1.0E-03	
W	INNVDFL	LI	389	382		10227059	0	7.80E-06	7.80E-06	100*	100*	100*	6.49E-04	
W	INNVDFL	LI	389	407		10441640	0	1.44E-03	7.84E-03	2.50E17	1.30E16	6.24E16	1.0E-03	
W	INNVDFL	LI	409	424	C1(Caernabornu); C1(Caernabornu)	9933402	0	7.91E-04	1.34E-05	5.31E17	1.10E17	7.03E16	100*	
F	GVKRVDFL	F	420	422		9704654	0	3.63E-01	8.00E-02	3.94E16	3.84E16	7.41E16	100*	
F	VYDFDFL	I	441	441		10381851	0	1.02E-05	1.45E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
F	VYDFDFL	I	443	443		10334050	0	1.44E-02	6.07E-02	9.20E17	1.34E17	1.39E17	1.0E-03	
V	INNVDFL	K	442	463		24427200	0	5.01E-01	2.80E-01	1.00E17	100*	100*	1.0E-03	
L	INNVDFL	K	464	481		19571577	0	9.83E-07	6.93E-04	100*	100*	100*	1.0E-03	
V	KFGDSEDFL	A	462	493		10324574	0	2.84E-01	1.54E-04	1.93E17	100*	100*	1.0E-03	
V	KFGDSEDFL	E	462	494		15747950	0	3.44E-03	8.81E-05	1.34E17	1.44E16	4.99E16	1.0E-03	
V	KFGDSEDFL	E	494	494		13914254	1	2.81E-05	5.83E-04	6.01E15	100*	100*	1.0E-03	
V	KFGDSEDFL	M	494	499		11781849	0	4.20E-04	1.68E-03	100*	100*	100*	1.0E-03	
F	EVDFDFL	K	523	533		10284150	0	3.03E-03	7.55E-03	2.63E17	100*	5.19E16	1.0E-03	
F	EVDFDFL	F	533	533		10317370	0	5.32E-02	2.00E-03	1.80E17	2.39E17	9.70E16	100*	
V	LVDFDFL	T	553	560		9284736	0	5.41E-02	1.00E-01	100*	100*	100*	8.39E-04	
F	VYDFDFL	K	550	564		10111418	0	8.82E-03	3.72E-03	1.84E16	9.20E17	8.23E17	1.0E-03	
F	VYDFDFL	K	550	573		10441801	0	9.18E-02	2.84E-05	2.40E16				

V. 參考資料

ISTH/SSC 出血評価票 (日本語試用版*1)

症例の匿名化暗号:

調査年月日:

性別:

生年月:

評価時(何れかに○) 最重症期・初診時・診断時・治療前・治療後・治療後・寛解後・退院時/現在

症状	出血スコア				
	0	1	2	3	4
鼻出血	無しか軽微	・年5回以上†か ・10分以上	診察/検査のみ	パッキングか焼灼術か 抗線溶薬	輸血か補充療法(止血因子、rFVIIaの使用)か デスマプレッシン)*2
皮膚の(出血)	無しか軽微	露出部に年5回以上の挫傷 (1cm以上)†	診察/検査のみ	広範囲	自発性血腫で輸血が必要
軽度外傷からの出血	無しか軽微	・年5回以上†か ・10分以上	診察/検査のみ	手術による止血	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)
口腔(内出血)	無しか軽微	有り	診察/検査のみ	手術による止血か抗線溶薬	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)
胃腸出血	無しか軽微	有り(潰瘍、門脈圧亢進症、痔、血管形成異常に伴わない)	診察/検査のみ	手術による止血か抗線溶薬	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)
血尿	無しか軽微	有り(肉眼的)	診察/検査のみ	手術による止血か鉄剤投与	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)
抜歯(時出血)	無しか軽微か未施術	全ての施術の25%以下で報告/申告、無介入	全ての施術の25%以上で報告/申告、無介入	再縫合かパッキング	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)
手術(関連出血)	無しか軽微か未施術	全ての施術の25%以下で報告/申告、無介入	全ての施術の25%以上で報告/申告、無介入	手術による止血か抗線溶薬	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)
過多月経	無しか軽微	診察/検査のみか ・2時間おき以上頻りにパッド交換か ・減血塊を伴う多量出血 ・経血量図評価チャートスコア100以上	・年2回以上の欠勤/欠席か ・抗線溶薬か女性ホルモンか鉄剤投与必要	・抗線溶薬と女性ホルモン両方必要か ・初経以来12ヶ月以上有り	・入院と緊急治療が必要な急性出血か ・輸血か補充療法(かデスマプレッシン)必要か ・子宮内容除去術か子宮内膜焼灼か子宮摘出術必要
産後出血	無しか軽微か未分娩	診察/検査のみか ・オキシトシン使用か ・6週以上の悪露	・鉄剤投与か ・抗線溶薬	・輸血か補充療法(かデスマプレッシン)か ・麻酔下の検査と子宮へのバルーン設置、タンポナーデ必要	緊急治療か手術介入(子宮摘出術、内腸骨動脈結紮、子宮動脈塞栓術か子宮ブレース縫合)必要
筋肉血腫	一度も無い	外傷後で無治療	自発性で無治療	自発性か外傷性で補充療法(かデスマプレッシン)必要	自発性か外傷性で手術介入か輸血必要
関節出血	一度も無い	外傷後で無治療	自発性で無治療	自発性か外傷性で補充療法(かデスマプレッシン)必要	自発性か外傷性で手術介入か輸血必要
中枢神経系出血	一度も無い	—	—	硬膜下出血で全ての介入	脳内出血で全ての介入
その他の出血*3	無しか軽微	有り	診察/検査のみ	手術による止血か抗線溶薬	輸血か補充療法(かデスマプレッシン)

† 2回目の評価からは点数を加算しない。最後の評価から1年以上経過した場合は加算可

*1 Vicenza groupの協力を得て翻訳、一部改訂した(赤字部分)

*2 (かデスマプレッシン)は後天性von Willebrand症候群用

*3 体腔内(胸腔内、腹腔内など)の出血を含めて評価し、自由記入欄に詳述する

用語は、日本医学会医学用語辞典一英和一第3版、内科学用語集第5版、文部科学省学術用語集医学編に準拠した

合計点

自由記入欄:

SYMPTOMS (up to the time of diagnosis)	SCORE				
	0§	1§	2	3	4
Epistaxis	No/trivial	- > 5/year or more than 10 minutes	Consultation only*	Packing or cauterization or antifibrinolytic	Blood transfusion or replacement therapy (use of hemostatic blood components and rFVIIa), or desmopressin
Cutaneous	No/trivial	For bruises 5 or more (> 1cm) in exposed areas	Consultation only*	Extensive	Spontaneous hematoma requiring blood transfusion
Bleeding from minor wounds	No/trivial	- > 5/year or more than 10 minutes	Consultation only*	Surgical hemostasis	Blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin
Oral cavity	No/trivial	Present	Consultation only*	Surgical hemostasis or antifibrinolytic	Blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin
GI bleeding	No/trivial	Present (not associated with ulcer, portal hypertension, hemorrhoids, angiodysplasia)	Consultation only*	Surgical hemostasis or antifibrinolytic	Blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin
Hematuria	No/trivial	Present (macroscopic)	Consultation only*	Surgical hemostasis or iron therapy	Blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin
Tooth extraction	No/trivial or none done	Reported in <25% of all procedures, and no intervention**	Reported in >25% of all procedures, and no intervention**	Resuturing or packing	Blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin
Surgery	No/trivial or none done	Reported in <25% of all procedures, and no intervention**	Reported in >25% of all procedures, and no intervention**	Surgical hemostasis or antifibrinolytic	Blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin
Menorrhagia	No/trivial	Consultation only* or - Changing pads more frequently than every 2 hours or - Clot and flooding or - PBAC score>100#	- Time off work/school > 2/year or - Requiring antifibrinolytics or hormonal or iron therapy	- Requiring combined treatment with antifibrinolytics and hormonal therapy or - Present since menarche and > 12 months	- Acute menorrhagia requiring hospital admission and emergency treatment or - Requiring blood transfusion, Replacement therapy, or Desmopressin, or - Requiring dilatation & curettage or endometrial ablation or hysterectomy)
Post-partum hemorrhage	No/trivial or no deliveries	Consultation only* or - Use of syntocin or - Lochia > 6 weeks	- Iron therapy or - Antifibrinolytics	- Requiring blood transfusion, replacement therapy, or desmopressin or - Requiring examination under anaesthesia and/or the use of uterine balloon/package to tamponade the uterus	- Any procedure requiring critical care or surgical intervention (e.g. hysterectomy, internal iliac artery ligation, uterine artery embolization, or uterine brace sutures)
Muscle hematomas	Never	Post trauma, and no therapy	Spontaneous, and no therapy	Spontaneous or traumatic, requiring desmopressin or replacement therapy	Spontaneous or traumatic, requiring surgical intervention or blood transfusion
Hemarthrosis	Never	Post trauma, and no therapy	Spontaneous, and no therapy	Spontaneous or traumatic, requiring desmopressin or replacement therapy	Spontaneous or traumatic, requiring surgical intervention or blood transfusion
CNS bleeding	Never	-	-	Subdural, and any intervention	Intracerebral, and any intervention
Other bleedings^	No/trivial	Present	Consultation only*	Surgical hemostasis, or antifibrinolytics	Blood transfusion or replacement therapy or desmopressin

IF YOU HAVE ANY QUESTIONS, PLEASE REFER TO (疑問がある場合は以下の原著を参照すること) :

Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold DM, Collier B, James P, Neunert C, Lillicrap D; ISTH/SSC joint VWF and Perinatal/Pediatric Hemostasis Subcommittees Working Group. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost.* 2010;8:2063-5.

表. 出血性凝固異常症の重症度分類案 2014 (Schulman et al., 2005; Baudo et al., 2012 の重症出血の定義を改変)

1. 重症出血 :

(1) 致命的な出血

(2) 重要部位, 重要臓器の出血(例えば, 頭蓋内, 脊髄内, 眼球内, 気管, 胸腔内, 腹腔内, 後腹膜, 関節内, 心嚢内, コンパートメント症候群を伴う筋肉内出血等)

(3) Hb 値 8 g/dL 以下の貧血, あるいは 2 g/dL 以上の急速な Hb 値低下をもたらす出血

(4) 24 時間内に 2 単位以上の全血あるいは赤血球輸血を必要とする出血

2. 軽症出血* :

上記以外の全ての出血**

* : 日本語版簡略版出血評価票(JBAT)も参考にすることを推奨

** ; 多発性および有痛性の出血は, 重症に準じて止血治療を考慮すべき

施設名・診療科名	
本症例の担当医師名	
調査票記入年月日	西暦 年 月 日

発症(出血の)年月日	西暦 年 月 日
初発時の状態:出血の頻度	
出血部位	
最悪時の状態:出血の頻度	
出血部位	
現在の状態:出血の頻度	
出血部位	
貧血の有無	有 無
Hb値	g/dL
創傷治癒異常の有無	有 無
有の場合,具体的に	

匿名化した患者略名	
登録番号(カルテNo.等)	
患者生年月	西暦 年 月 生まれ
年齢	歳
性別	男 女
血液型(ABO式)	A B O AB
血液型(Rh式)	+ -
原(基礎)疾患の有無	有 無 不明
有の場合,疾患名	
第13因子低下に関する手術歴・輸血歴・薬剤歴など	
現在の状況	入院 外来 (西暦 年 月現在)
診断の年月日	西暦 年 月 日
診断(病名)	
転帰	治癒 軽快 不変 悪化
死亡 死因:	
止血の年月日	西暦 年 月 日
止血時の第13因子製剤:名称	
量	単位
患者の体重	kg

出血初発時の第13因子	F13 投与前 F13 投与後 どちらかを選んでください
	第13因子活性(F13:C) % 第13因子抗原量(F13:Ag) %
出血最悪時の第13因子	F13 投与前 F13 投与後 どちらかを選んでください
	第13因子活性(F13:C) % 第13因子抗原量(F13:Ag) %
止血時の第13因子	F13 投与前 F13 投与後 どちらかを選んでください
	第13因子活性(F13:C) % 第13因子抗原量(F13:Ag) %
家族の第13因子	続柄
(家族は,なるべく多数の症例本人の両親,子供等の血縁関係者としてください。)	第13因子活性(F13:C) % 第13因子抗原量(F13:Ag) %
	続柄
	第13因子活性(F13:C) % 第13因子抗原量(F13:Ag) %
直近のフィブリノゲン(Fbg)濃度	mg/dL

出血治療・予防の方法	第13因子以外の血液製剤:	抗線溶薬:	その他:
インヒビターの有無	現在 有 無 不明 過去に有	インヒビター確認年月日	西暦 年 月 日
インヒビターの治療方法	免疫抑制薬: ステロイド:	リツキシマブ:	その他:
	血漿交換:	その他:	
インヒビターの治療効果	薬剤名:	により,インヒビターが	消失 減少 不変 上昇 した
その他			

病名	患者略名*	年齢	性別
----	-------	----	----

*調査票と一致させてください。

治療	F13製剤 輸血など 免疫抑制薬 その他							備考
症状	①出血 ②創傷治癒 ③その他							
検査値	F13活性(%) 100 80 60 40 20 0 抗F13抗体							Hb値 (g/dL) 16 12 8 4 0
その他	血小板数 PT APTT FDPなど							
年月日		年 第 月 一 日 病 期						

施設名・診療科名	
本症例の担当医師名	
調査票記入年月日	西暦 年 月 日

発症(出血)の年月日	西暦 年 月 日
初発時の状態:出血の頻度	
出血部位	
最悪時の状態:出血の頻度	
出血部位	
現在の状態:出血の頻度	
出血部位	
貧血の有無	有 無
Hb値	g/dL
創傷治癒異常の有無	有 無
有の場合:具体的に	

匿名化した患者略名	
登録番号(カルテNo.等)	
患者生年月	西暦 年 月 生まれ
年齢	歳
性別	男 女
血液型(ABO式)	A B O AB
血液型(Rh式)	+ -
原(基礎)疾患の有無	有 無 不明
有の場合:疾患名	
VWF低下に関する手術歴・輸血歴・薬剤歴など	
現在の状況	入院 外来 (西暦 年 月 現在)
診断の年月日	西暦 年 月 日
診断(病名)	
転帰	治癒 軽快 不変 悪化
死亡 死因:	
止血の年月日	西暦 年 月 日
止血時のVWF製剤:名称	
量	単位
患者の体重	kg

出血初発時のVWF	VWF 投与前 VWF 投与後 どちらかを選んでください
VWF活性(VWF:C)	% VWF抗原量(VWF:Ag) %
出血最悪時のVWF	VWF 投与前 VWF 投与後 どちらかを選んでください
VWF活性(VWF:C)	% VWF抗原量(VWF:Ag) %
止血時のVWF	VWF 投与前 VWF 投与後 どちらかを選んでください
VWF活性(VWF:C)	% VWF抗原量(VWF:Ag) %
家族のVWF	続柄
(家族は、なるべく多数の症例本人の両親、子供等の血縁関係者としてください。)	VWF活性(VWF:C) % VWF抗原量(VWF:Ag) %
	続柄
	VWF活性(VWF:C) % VWF抗原量(VWF:Ag) %

直近の第8因子(F8)活性	%
---------------	---

出血治療・予防の方法	VWF以外の血液製剤:	抗線溶薬:	その他:
インヒビターの有無	現在 有 無 不明 過去に有	インヒビター確認年月日	西暦 年 月 日
インヒビターの治療方法	免疫抑制薬: ステロイド:	リツキシマブ:	その他:
	血漿交換:	その他:	
インヒビターの治療効果	薬剤名:	により、インヒビターが	消失 減少 不変 上昇 した
その他			

病名	患者略名*	年齢	性別
----	-------	----	----

*調査票と一致させてください。

治療	VWF製剤 輸血など 免疫抑制薬 その他							備考
症状	①出血 ②創傷治癒 ③その他							
検査値	VWF活性(%) 100 80 60 40 20 0							Hb値 (g/dL) 16 12 8 4 0
	抗VWF抗体							
その他	血小板数 PT APTT FDPなど							
年月日		年 第 月 一 日 病 期						

施設名・診療科名			
本症例の担当医師名			
調査票記入年月日	西暦	年	月 日
匿名化した患者略名 登録番号(カルテNo.等)			
患者生年月日	西暦	年	月 生まれ
年齢	歳		
性別	男	女	
血液型(ABO式)	A	B	O AB
血液型(Rh式)	+	-	
原(基礎)疾患の有無 有の場合:疾患名	有	無	不明
第8因子低下に関する 手術歴・輸血歴・薬剤歴など			
現在の状況	入院	外来	(西暦 年 月現在)
診断の年月日	西暦	年	月 日
診断(病名)			
転帰	治癒	軽快	不変 悪化
死亡	死因:		
止血の年月日	西暦	年	月 日
止血時の第8因子製剤:名称			
量	単位		
患者の体重	kg		

発症(出血)の年月日	西暦	年	月 日
初発時の状態:出血の頻度			
出血部位			
最悪時の状態:出血の頻度			
出血部位			
現在の状態:出血の頻度			
出血部位			
貧血の有無	有	無	
Hb値	g/dL		
創傷治癒異常の有無	有	無	
有の場合:具体的に			

出血初発時の第8因子	F8 投与前	F8 投与後	どちらかを選んでください
第8因子活性(F8:C)	%	第8因子抗原量(F8:Ag)	%
出血最悪時の第8因子	F8 投与前	F8 投与後	どちらかを選んでください
第8因子活性(F8:C)	%	第8因子抗原量(F8:Ag)	%
止血時の第8因子	F8 投与前	F8 投与後	どちらかを選んでください
第8因子活性(F8:C)	%	第8因子抗原量(F8:Ag)	%
家族の第8因子	続柄		
(家族は、なるべく多数の 症例本人の両親、子供等の 血縁関係者としてください。)	第8因子活性(F8:C)	%	第8因子抗原量(F8:Ag)
	続柄		
	第8因子活性(F8:C)	%	第8因子抗原量(F8:Ag)
直近のVWF活性と抗原量	VWF活性	%	抗原量 %

出血治療・予防の方法	第8因子以外の血液製剤:	抗線溶薬:	その他:
インヒビターの有無	現在 有 無 不明 過去に有	インヒビター確認年月日	西暦 年 月 日
インヒビターの治療方法	免疫抑制薬: ステロイド:	リツキシマブ:	その他:
	血漿交換:	その他:	
インヒビターの治療効果	薬剤名:	により、インヒビターが	消失 減少 不変 上昇 した
その他			

病名	患者略名*	年齢	性別	備考
*調査票と一致させてください。				
治療	F8製剤 輸血など 免疫抑制薬 その他			
症状	①出血 ②創傷治癒 ③その他			
検査値	F8活性(%) 100 80 60 40 20 0 抗F8抗体			Hb値 (g/dL) 16 12 8 4 0
その他	血小板数 PT APTT FDPなど			
年月日		年 月 日	第 一 病 期	

原因不明の出血！（血栓症疑いも）

出血症状（や血栓症疑い）があるのに原因の分からない患者さんを診たら？

後天性凝固異常症の可能性がります

症状

- ① 出血性素因の家族歴、既往歴が無く、抗凝固薬、抗血小板薬を服用中でない患者さんで、
- ② a. 原因不明の皮下出血、筋肉出血、あるいは後出血（一旦止血した12~36時間後に再び出血すること）がある時、いわゆるウー징グ様の（血が滲み出るような）出血が見られる時は、自己免疫性出血病XIII/13、後天性血友病、抗線溶因子（アルファ₂プラスミンインヒビターやプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1など）欠乏症の可能性、
あるいは、
b. 原因不明の鼻出血、口腔内出血などの粘膜出血を繰り返す時は、後天性フォン・ヴィレブランド症候群などである可能性があります。
なお、血小板の減少や機能低下を伴っている場合もあるので、ご注意ください。

原因

第XIII/13因子、第VIII/8因子、フォン・ヴィレブランド因子、抗線溶因子に対する抗体（や抑制物質）による中和や除去の亢進、
あるいは、
それらの因子の過剰な消費や産生減少による低下などが基盤となっています。

検査・診断

凝固・線溶系検査で第XIII/13因子、第VIII/8因子、フォン・ヴィレブランド因子、抗線溶因子のいずれかの活性が著しく低下していること。確定診断には、各因子の抗原量、インヒビターや抗体の有無、力価などの精密検査が必要です。

治療

- ① 診断後即時止血療法：欠乏している各因子製剤の補充、DICがなければ抗線溶薬の投与（後天性フォン・ヴィレブランド症候群では、デスマプレッシン投与も）
- ② 抗体確認後：抗体根絶療法：自己抗体の産生阻止のため、免疫抑制薬投与
抗体減少療法：自己抗体の除去のため、血漿交換、抗体吸着など

提供検体の統一特別検査と精密検査を実施します。

出血性後天性凝固異常症（血栓症疑いも対象です）の患者さんに遭遇された場合は、研究班代表（山形大学一瀬白帝）までご連絡／ご相談下さい。裏面の研究分担者あるいは協力者の施設に「統一特別検査用採血キット」を保管して頂いております。

厚労委託・難治性疾患実用化研究事業「後天性凝固異常症のP.O.C.テストによる迅速診断システムの開発（後天異常POCT）」研究班 研究代表者

一瀬 白帝（山形大学医学部分子病態学講座）

厚生労働科学研究委託費 難治性疾患等実用化研究事業(難治性疾患実用化研究事業)

「後天性凝固異常症のP.O.C.テストによる迅速診断システムの開発」研究班

統一特別検査用採血キットのある医療機関と連絡先(北から南の順)

氏名	所属	メールアドレス
一瀬 白帝	山形大学医学部 分子病態学	aichinos@med.id.yamagata-u.ac.jp
家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	iekom@hoku-iryo-u.ac.jp
丸藤 哲	北海道大学病院 先進急性期救急センター	gando@med.hokudai.ac.jp
玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	ytamai@cc.hirosaki-u.ac.jp
伊藤 俊広	国立病院機構 仙台医療センター 血液内科	toshi_ito_ito@yahoo.co.jp
山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学	n-yamamoto@pha.ohu-u.ac.jp
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	madochan@jichi.ac.jp
黒澤 秀光	獨協医科大学 小児科学	hidekuro@dokkyomed.ac.jp
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)	yo-ogawa@gunma-u.ac.jp
矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	yatoyuta-ky@umin.ac.jp
花房 規男	東京大学医学部附属病院 血液浄化療法部	hanafusa-ky@umin.ac.jp
小山 高敏	東京医科歯科大学 生体検査科学/血液内科	koyama.img@tmd.ac.jp
川杉 和夫	帝京大学医学部 内科学	kaz@med.teikyo-u.ac.jp
石田 文宏	信州大学医学部 内科学第二	fumishi@shinshu-u.ac.jp
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	kitajima@med.u-toyama.ac.jp
朝倉 英策	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部	hasakura@staff.kanazawa-u.ac.jp
細野 奈穂子	福井大学医学部附属病院 血液腫瘍内科	hosono@u-fukui.ac.jp
毛利 博	藤枝市立総合病院	mohrih@hospital.fujieda.shizuoka.jp
小林 隆夫	浜松医療センター	tkoba@hmedc.or.jp
浦野 哲盟	浜松医科大学 医生理学	uranot@hama-med.ac.jp
松下 正	名古屋大学医学部附属病院	tmatsu@med.nagoya-u.ac.jp
杉浦 真弓	名古屋市立大学大学院医学研究科 産婦人科	og.mym@med.nagoya-cu.ac.jp
和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 検査医学	wadahide@clin.medic.mie-u.ac.jp
宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 輸血管理室	smiyata@hsp.ncvc.go.jp
柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	kashi@hp-blood.med.osaka-u.ac.jp
池田 正孝	国立病院機構 大阪医療センター 外科	mikeda@onh.go.jp
湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 外科	yukawa@nara.med.kindai.ac.jp
目笠 聡	兵庫医科大学 血液内科	parasol@mua.biglobe.ne.jp
羽藤 高明	愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	takahato@m.ehime-u.ac.jp
岡本 好司	北九州市立八幡病院 消化器・肝臓病センター	kohji.okamot@gmail.com
岡村 孝	久留米大学医学部 内科学講座 血液・腫瘍内科	okamura@med.kurume-u.ac.jp
内場 光浩	熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	mituhiro-uchiba@fc.kuh.kumamoto-u.ac.jp
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	terutoha@m3.kufm.kagoshima-u.ac.jp
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	rinken@m3.kufm.kagoshima-u.ac.jp

出血性後天性凝固異常症※についてのアンケート

2015.10.06

※ 自己免疫性出血病 XIII/13、後天性血友病、後天性 α_2 プラスミンインヒビター(α_2 PI)欠乏症、後天性プラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1(PAI-1)欠乏症、後天性フォン・ヴィレブランド(VW)症候群など

施設名 () 診療科名 () 記入者名 () 通算番号 ()
メールアドレスあるいは連絡先 ()

① ここ 1 年間に、貴科で、血小板数が正常(基準)範囲あるいは正常(基準)範囲に近いのにも拘らず「原因不明の」出血症状を呈する症例(死亡例も含む)を診療されたことがありますか？

ある ・ ない (いずれかに○をつけてください。)

①で「ある」と回答された方のみ、②と③へお進みください。

② 以下について、お知らせください。

性別 (男 ・ 女) 年齢 (才) 基礎疾患 (有 ; 疾患名) ・ 無)

③ もし、出血時間を測定されていたらご記入ください。

測定年月日 20 年 月 日 出血時間 (分 秒) 測定方法 ()

④ 症例の凝固第 13 因子(F13)、第 8 因子(F8)、 α_2 PI、PAI-1、VW 因子などの因子の活性、抗原量を測定されましたか？

測定した ・ 測定しなかった (いずれかに○をつけてください。)

④で各因子の活性/抗原量を「測定した」と回答された方のみ、⑤~⑨へお進みください。

(空欄があっても結構です。複数の症例を経験された方は、本用紙をコピーしてご記入ください。)

⑤ ④の中で重大な異常のあった因子の活性値/抗原量をご記入ください。(括弧内に因子名を明記してください。)

a. () 因子 測定年月日 (20 年 月 日) 活性値 (%) 抗原量 (%)
b. () 因子 測定年月日 (20 年 月 日) 活性値 (%) 抗原量 (%)
c. () 因子 測定年月日 (20 年 月 日) 活性値 (%) 抗原量 (%)

⑥ もし、以下の項目を測定されていたらご記入ください。

測定年月日

a. 20 年 月 日 F13 活性 (%) F13 抗原量 (%)
b. 20 年 月 日 F13-B 抗原量 (%) F13 インヒビター (有 ・ 無)
c. 20 年 月 日 F8 活性 (%) F8 インヒビター (有 ・ 無)
d. 20 年 月 日 Fibrinogen 量 (mg/dL) 測定方法 ()
e. 20 年 月 日 α_2 PI 活性 (%) α_2 PI 抗原量 ()
f. 20 年 月 日 FDP (μ g/mL)
g. 20 年 月 日 D-dimer (μ g/mL)
h. 20 年 月 日 PIC* (μ g/mL) *プラスミン- α_2 プラスミンインヒビター複合体
i. 20 年 月 日 総 PAI-1 抗原量 (ng/mL)
j. 20 年 月 日 VW 因子活性 (%) VW 因子抗原量 (;)
k. 20 年 月 日 ループスアンチコアグラント (方法名:) (有 ・ 無 ; 単位)

⑦ その症例の出血症状について、該当するものに○をつけてください。

出血部位(1) (a.筋肉内、b.皮下、 c.胸腔、 d.腹腔、 e.頭蓋内、 f.その他 ;)
出血部位(2) (a.下肢、 b.体幹、 c.上肢、 d.頭部、 e.その他 ; n)
出血の誘因 (a.外傷 ; b.手術 ; c.薬剤 ;
d.妊娠/分娩 ; e.その他 ;)
その他：後出血、ウーミング様出血などの出血の性状・特徴、創傷治癒の異常(遅延、異常肉芽等)など ()

⑧ その症例の出血に対する治療について、該当するものに○をつけてください。

薬剤 [a.血液製剤(名前)、b.免疫抑制薬(名前)、
c.抗線溶薬(名前)、d.その他 ;]
薬剤の使用期間(a.1ヶ月、 b.3ヶ月、 c.6ヶ月、 d.1年間、 e.その他 ;)
処置 (a.血漿交換、 b.その他 ;)
処置の期間(a.3ヶ月、 b.6ヶ月、 c.1年間、 d.その他 ;)
効果・予後(a.止血が得られた、 b.因子の値が正常化した、 c.治療中、 d.その他 ;)

⑨ その症例の治療上、問題になった事柄がありましたら、自由にご記入ください。

288 自己免疫性出血病 XIII

○ 概要

1. 概要

自己免疫性出血病 XIII/13 は、血が固まる(凝固)ために必要なタンパク質の一つである凝固第 XIII/13 因子が、生まれつきではない(遺伝ではない)理由で著しく少なくなるため、血を止める(止血)ための血の固まり(止血栓)が弱くなって簡単に壊れやすくなり、自然にあるいは軽い打撲などでさえ重い出血をする病気である。

2. 原因

自分の凝固第 XIII/13 因子に結び付く抗体(自己抗体)が作られて第 XIII/13 因子が働かなくなること(インヒビター)や、第 XIII/13 因子とその自己抗体が合体したもの(免疫複合体)が迅速に除去されるために第 XIII/13 因子が失われることが、出血の原因となる場合が多いと推測される。何故、自己抗体ができるかは不明である。

3. 症状

血の固まる速さを調べる一般的な検査(PT、aPTTなどの凝固時間)の値はあまり異常ではないのにも拘らず、突然出血する。体の軟らかい部分である筋肉・皮膚の出血が多いが、身体のどの部位にでも出血する可能性がある。急に大量に出血するので貧血になり、ショック状態を起こすこともある。

出血する部位によって様々な症状が合わさって起こる(合併症)可能性がある。特に脳を含む頭蓋内の出血では脳神経系に、心臓や肺がある胸腔内の出血では循環系に重い障害を起こし、致命的となる場合もある。

4. 治療法

出血を止めるために濃縮第 XIII/13 因子製剤を注射することが必要である。ただし、「2. 原因」に書いた自己抗体によるインヒビターや免疫複合体除去亢進があるので、注射した第 XIII/13 因子が著しく早く効かなくなるため、それだけで出血を止めることは難しい。したがって、さらに免疫を弱める薬(免疫抑制薬)を注射して自己抗体を作らせないようにする必要がある。

5. 予後

出血死後に検体が届いて確定診断される例が約1割、急性期に出血死する例が約1割、年余にわたり遷延して出血死する例が約1割、遷延して長期療養中の症例が約2割、発症後1年未満で治療中の症例が約2割、寛解中の症例が約3割である。

○ 要件の判定に必要な事項

1. 患者数
100人未満
2. 発病の機構
不明(自己免疫寛容機構の破綻が推定されるが解明されていない。)
3. 効果的な治療方法
未確立(対症療法や免疫抑制薬を用いるが十分に確立されていない。)
4. 長期の療養
必要(根治せず、寛解と再燃を繰り返す。)
5. 診断基準
あり(研究班作成の診断基準あり。)
6. 重症度分類
過去1年間に重症出血を1回以上起こした例を重症例とし、対象とする。

○ 情報提供元

「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 山形大学医学部 教授 一瀬白帝

<診断基準>

暫定診断、確定診断例を対象とする。

自己免疫性出血病 XIII/13 の診断基準

<疑い(疑診)>

以下の項目全てを満たす症例では、AHFXIII/13 を考慮すべきである。

- (1)過去 1 年以内に発症した出血症状がある。
- (2)先天性/遺伝性凝固第 XIII/13 因子(FXIII/13)欠乏症の家族歴が無い。
- (3)とくに過去の止血負荷(手術や外傷、分娩等)に関係した出血症状の既往歴が無い。
- (4)抗凝固薬や抗血小板薬などの過剰投与が無い。
- (5)検査上、FXIII/13 に関するパラメーター(通常活性、抗原量が 50%以下)の異常がある。

<暫定診断>

(6)上記の(1)～(5)に加え、FXIII/13 インヒビターが存在する*[標準的なアンモニア放出法やアミン取り込み法などによる正常血漿との交差混合試験(37°Cで 2 時間加温後)などの機能的検査で陽性]。

<確定診断>

(7)上記の(1)～(5)に加え、抗 FXIII/13 自己抗体が存在する*(イムノブロット法、ELISA、イムノクロマト法などの免疫学的検査で陽性)。

* ;非抗体、非タンパク質が原因であるとした欧米の報告が複数あるので注意する。

注 1 ;第 XIII/13 因子を「FXIII/13」と略称する。

注 2 ;抗 FXIII/13 抗体による後天性自己免疫性出血病を「自己免疫性出血病 FXIII/13

(Autoimmune Hemorrhaphilia FXIII/13; AHFXIII/13)」と略称する。

<参考>

A 症状

AHXIII/13 の臨床症状は、多発性の皮膚・粘膜出血から致死性の体腔内出血に至るまで多彩である。症例は、多様な合併する病態や病因機構(例えば、活性型第 XIII/13 因子[FXIII/13]に対する中和性自己抗体、活性化の阻害、FXIII/13-A サブユニット、FXIII/13-B サブユニットに結合性の自己抗体による除去亢進等)を反映して、様々な重症度の出血症状を突然発症する。

簡略版国際血栓止血学会/科学および標準化委員会出血評価票 2010 年版(Bleeding Assessment Tool ver. 2010)のような標準化出血質問票は、AHXIII/13 症例における上述したような多様な出血症状の正確且つ客観的な評価に有用であろう。また、重症度分類も同時に判定して、重症例を見逃さないように努めるべきである。

症例の半数は特発/本態性と報告されているが、全例で基礎疾患の検索を実施すべきである。

B 検査所見

(1)一般凝固検査

出血時間 - 殆どの症例では正常だが、基礎疾患によっては延長していることがある。

PT と aPTT - 殆どの症例では正常だが、先行する出血による失血量や基礎疾患によっては延長していることがある。

血小板数 - 殆どの症例では正常だが、先行する出血による失血量や基礎疾患によっては減少していることがある。

(2)特異的凝固検査

FXIII/13 活性、FXIII/13 抗原量 - 通常、両者とも低下している。ただし、一部の症例、例えば、抗 FXIII/13-B サブユニット自己抗体が原因の症例では、病歴全体での時期や FXIII/13 製剤による治療によって両者とも正常範囲に近くなることもある。FXIII/13 単独の高度の低下は AHXIII/13 を疑い、他の複数の凝固因子の低下を伴って軽度～中等度に低下する場合は DIC、重度の肝障害などによる二次性 FXIII/13 欠乏症であることが多い。

FXIII/13 比活性 - 抗 FXIII/13-A サブユニット自己抗体が原因の殆どの症例では低下しているが、抗 FXIII/13-B サブユニット自己抗体が原因の症例では正常である。

FXIII/13-A サブユニット、FXIII/13-B サブユニット、FXIII/13-A₂B₂ 抗原量 - 抗 FXIII/13 自己抗体のタイプ/性状によって、様々な程度まで低下している。

(3)確定診断的検査

FXIII/13 インヒビターの機能的検査 - これはアミン取込み法やアンモニア放出法などを用いた混合検査法で実施されるが、両者とも FXIII/13 活性化や活性型 FXIII/13 (FXIII/13a) の酵素活性を阻害する抗体のみを検出するので、注意が必要である。FXIII/13 インヒビターを検出するスクリーニング法としては、症例の血漿と健常対照の血漿を用いた 1:1 交差混合試験が一般的である。5 段階希釈混合試験も、FXIII/13 低下が「インヒビター型」であるか「因子欠乏型」であるかを区別するのに有用である。FVIII/8 インヒビターの Bethesda 単位のように、症例の検体を段階的希釈して健常対照の検体と混合し、残存活性を測定することにより、FXIII/13 インヒビターのカリバーを決定することも可能である。

抗 FXIII/13 自己抗体の免疫学的検査 - 必ずしも全ての AHXIII/13 症例の原因が中和型/阻害型抗 FXIII/13 自己抗体の産生ではないので、抗体の検出検査の実施は必須である。非中和型/非阻害型抗 FXIII/13 自己抗体は、ELISA が原理の方法や、イムノドットプロットアッセイ、イムノクロマトグラフィ法等を用いた抗原抗体結合検査法で検出されている。理論的には、二次性 FXIII/13 欠乏症に偶然合併した、無害な FXIII/13 結合抗体もあり得るが、その場合は基礎疾患の治療により、出血症状も消失する。

附. 治療試験/追加検査

(1)FXIII/13 製剤投与試験; AHXIII/13 の診断を、治療試験である程度明らかにできることがある; AHXIII/13 の病因や抗体の性状によっては、(回収率や半減期を測定することによって)FXIII/13 を含有する濃縮血液製剤の投与の後除去の亢進が確認される。これは、次回からの FXIII/13 製剤の投与量や投与間隔等の止血治療計画を立てる上で有用である。

(2)フィブリン γ 鎖、 α 鎖の架橋結合反応; 即ち、 γ 鎖二量体化、 α 鎖多量体化は、それぞれ通常著しく遅延しているか欠如している。

(3) 架橋 α_2 -plasmin inhibitor (α_2 -PI) (血漿 α_2 -PI から血清 α_2 -PI を減じる); FXIII/13 活性が正常の 50% 以下に低下すると、架橋 α_2 -PI 量と比率も低下する。ただし、AHXIII/13 に特異的な検査所見ではない。

(4) 血小板内 FXIII/13 量; 正常量が検出されるので、先天性/遺伝性 FXIII/13 欠乏症の可能性を除外するのに有用である。

AHXIII/13 を伴う基礎疾患の検索を実施することは不可欠である。

C 遺伝学的検査(ただし、疾患との相関は不明)

1. 第 XIII/13 因子 A サブユニット遺伝子の変異/多型性

2. 第 XIII/13 因子 B サブユニット遺伝子の変異/多型性

3. 免疫関連遺伝子の変異/多型性

<重症度分類>

過去1年間に重症出血の(1)~(4)のいずれかを1回以上起こした例を重症例とし、対象とする。

1. 重症出血:

(1) 致命的な出血

(2) 重要部位、重要臓器の出血(例えば、頭蓋内、脊髄内、眼球内、気管、胸腔内、腹腔内、後腹膜、関節内、心嚢内、コンパートメント症候群を伴う筋肉内出血等)

(3) Hb 値 8 g/dL 以下の貧血、あるいは 2 g/dL 以上の急速な Hb 値低下をもたらす出血

(4) 24 時間内に 2 単位以上の全血あるいは赤血球輸血を必要とする出血

2. 軽症出血*:

上記以外の全ての出血**

*: 日本語版簡略版出血評価票 (JBAT) も参考にすることを推奨

** : 多発性および有痛性の出血は、重症に準じて止血治療を考慮すべき

※診断基準及び重症度分類の適応における留意事項

1. 病名診断に用いる臨床症状、検査所見等に関して、診断基準上に特段の規定がない場合には、いずれの時期のものを用いても差し支えない(ただし、当該疾病の経過を示す臨床症状等であって、確認可能なものに限る)。
2. 治療開始後における重症度分類については、適切な医学的管理の下で治療が行われている状態で、直近 6 ヶ月間で最も悪い状態を医師が判断することとする。
3. なお、症状の程度が上記の重症度分類等で一定以上に該当しない者であるが、高額な医療を継続することが必要な者については、医療費助成の対象とする。