

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
分担研究報告書

自己免疫性出血症治療の「均てん化」のための実態調査と「総合的」診療指針の作成
に関する研究

分担研究課題 自己免疫性凝固第 XIII/13 因子欠乏症 (AH13) と後天性血友病 A (AHA) の
自己抗体検出
および AHA の FVIII 抗原量、活性、抗 FVIII 自己抗体量の経時変化の測定

研究分担者 尾崎 司 山形大学医学部 助教

研究要旨

自己免疫性凝固第XIII/13因子欠乏症 (AH13; 厚労省指定難病288-1) 疑い16症例についてイムノクロマト法を用いて確定診断を行い、新たに2例を同定した。また、後天性血友病A (AHA; 厚労省指定難病288-2) 疑い14症例について市販のELISA キットを用いて確定診断を行い、新たに2例を同定した。また、AHA症例5例についてF8抗原量、F8活性、および抗F8自己抗体量の経時変化を測定したところ、自己抗体が短期間で消失 (2週間で半減) し、抗原量、活性が回復した集団 (3例) と自己抗体が長期間 (2か月以上) 消失せず、活性が回復しなかった集団 (2例) に大別されることが判明した。

A . 研究目的

自己免疫性後天性凝固因子欠乏症は自己免疫性凝固第XIII/13因子欠乏症 (AH13)、後天性血友病A (AHA)、自己免疫性後天性フォンウィルブランド病 (AVWD)、自己免疫性後天性凝固第V/5因子欠乏症からなる難治性出血性疾患である。それぞれ第XIII/13因子 (F13)、第VIII/8因子 (F8)、フォンウィルブランド因子 (vWF)、第V/5因子 (F5) に対する自己抗体が原因で出血傾向をきたす疾患である。これらの自己免疫性後天

性凝固因子欠乏症の総合的な診断基準・重症度分類、診療指針等の作成を最終的な目的として、実態把握のためにAH13疑い16症例とAHA疑い14症例についてそれぞれイムノクロマト法、あるいはELISA法によって確定診断を行った。また、AHAの予後を知るために、AHA症例5例についてF8抗原量、F8活性、および抗F8自己抗体量の経時変化を測定した。

B . 研究方法

イムノクロマト法による抗 F13 自己抗体の検出

イムノクロマト法は抗 F13A サブユニット (F13-A) モノクローナル抗体を塗布したストリップを用いた。希釈血漿、洗浄液、金コロイド標識抗ヒト Ig (G+M+A) 抗体希釈溶液を順次展開した (直接法)。陽性コントロールの吸光度を 1 とした時の吸光度 0.18 をカットオフ値に設定し、判定を行った。F13 抗原量が極端に少ない症例での偽陰性を避けるために、健常人血漿と 37 で 5 分間混合後の検体についてもイムノクロマト法を実施した (混合法)。

ELISA キットによる F8 抗原量、および抗 F8 自己抗体の検出

市販の ELISA キットを用いて F8 抗原量、および遊離の抗 F8 自己抗体量を測定した。抗 F8 自己抗体の有無は説明書に従って判定した。

F8 活性の測定

合成基質法を測定原理として用いた市販のキットにより、F8 活性を測定した。市販の標準血漿 (コアグトロール N) の活性を 100% として算出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、山形大学の倫理委員会の承認を得ており、検体使用に関しては、各主治医が症例あるいはその家族から文書による同意を得ている。

C . 研究結果

AH13 の確定診断

AH13 疑い 6 症例について直接法、混合法を実施し、判定を行ったところ、2 例は直接法、混合法いずれも陽性、4 例は直接法、混合法いずれも陰性であった。

AHA の確定診断

AHA 疑い 4 症例について市販の ELISA キットを用いて測定を行ったところ、2 例は陽性、2 例は陰性であった。

AHA 症例の F8 抗原量、F8 活性、抗 F8 自己抗体量の経時変化の測定

AHA 症例 5 例の F8 抗原量、F8 活性、抗 F8 自己抗体量の経時変化を測定したところ、3 例は比較的早期に自己抗体が消失 (2 週間で半減) し、抗原量、活性も回復したのに対して、2 例は長期間 (2 か月以上) 自己抗体が消失せず、活性も全く回復しなかった。

D . 考察

AH13 疑い 6 症例のうちイムノクロマト陽性だった 2 例は、抗 F13-A 自己抗体検出のための ELISA 法、ドットプロット法でも陽性だったので、迅速診断に有用であると考えられる。しかし、抗 F13-B 自己抗体検出イムノクロマト法は現在改良中であり、これが使用できるようになると、より効率良く検出が可能になると考えられる。

AHA 疑い 4 症例のうち、2 例は自己抗体が検出されたが、2 例は検出されなかった。この 2 例遊離の抗 F8 自己抗体は存在しないと考えられるが、抗 F8 自己抗体-F8 複合体については存在する可能性も考えられる。

AHA 症例 5 例の F8 活性、F8 抗原量、抗 F8 自己抗体量の経時変化を調べたところ、自

己抗体が短期間で消失し、抗原量、活性が回復した集団と自己抗体が長期間消失せず、活性が回復しなかった集団に大別されることが判明した。免疫抑制療法などの治療が有効な症例と自己抗体の消失が困難な症例の違いについては今後検討する必要がある。

E . 結論

AH13 疑い症例の自己抗体の検出については現行のイムノクロマト法が有用であると考えられる。また、現在改良中の抗 F13-B 自己抗体検出用イムノクロマト法も使用できるようになるとより効率的に迅速診断が可能になる。

遊離の抗 F8 自己抗体検出には市販の ELISA キットが有用であると考えられるが、今後は抗 F8 自己抗体-F8 複合体を検出できる測定法を確立する必要がある。

F . 健康危険情報 なし

G . 研究発表 1. 論文発表

原著論文

1. Ogawa Y, Yanagisawa K, Souri M, Mihara M, Naito C, Takizawa M, Ishizaki T, Mitsui T, Handa H, Osaki T, Nojima Y, Ichinose A. Successful Management of a Patient with Autoimmune Hemorrhaphilia due to Anti-Factor XIII/13 Antibodies Complicated by Pulmonary Thromboembolism. *Acta Haematol.* 2017, **137**, 141-147

2. 学会発表

1. イムノクロマト法による A 型自己免疫性出血病 XIII/13 の迅速診断, 口頭, 尾崎 司, 高岡 勇輝、杉山大輔、曲 泰男、惣宇利 正善、一瀬 白帝, 愛知県名古屋市 (第39回日本血栓止血学会学術集会), 2017/6/10, 国内.

H . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし