

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FV欠乏症の文献検索・解析に関する研究

研究分担者 和田 英夫 三重大学医学部 准教授

研究要旨

三重県における2008年から2015年までの出血性疾患ならびに原因不明出血を検討すると、凝固因子に対するインヒビターは高齢者や自己免疫疾患ならびに悪性腫瘍に見られた。原因がはっきりしない出血30例について検討すると、年間数例が認められ、フィブリンクロット形成段階ならびにクロット形成後の異常による出血も存在することが示唆された。APTT波形はフィブリン生成曲線、一次微分した加速度、二次微分した加速度のピークに至る秒、幅、ピーク高を算定した。

血友病、APS、DIC などでは、2相性波形が高頻度に見られた。ピークに至る秒は血友病やAPSなどで著しく延長した。加速度のピーク高は、抗FVIIIインヒビター例では著しく低下し、妊婦では増加した。以上、APTT波形解析は自己免疫性出血性疾患などの解析に有用である可能性が示唆された。また、2010年～2018年に報告された62例の自己免疫性FV欠乏症について解析すると、男女比は2:1で、高齢者に多くみられた。寛解率は58%で、死亡率は16%であった。種々の出血症状が見られた。基礎疾患は、特発性、感染症、術後、悪性腫瘍などが多かった。免疫抑制療法は約半数に、補充療法は約30%に行われた。

A. 研究目的

- 1) 三重県における2008年から2015年までの出血性疾患ならびに原因不明出血を調べ、自己免疫性凝固因子欠乏症の頻度などの検討をした。
- 2) 活性化部分トロンボプラスチン時間

(APTT)は、凝固時間の解析のみしか行えなかったが、凝固過程を可視化することにより、種々の解析が可能になった。本研究では、フィブリン生成曲線、一次微分した加速度、二次微分した加速度のピークに至る秒、幅、ピーク高を算定し、

疾患の病態との関係を検討した。

3) 自己免疫性凝固第5因子(FV)欠乏症は、自己免疫性 F 欠乏症について多い自己免疫性の出血性疾患である。しかし、自己免疫性FV欠乏症の病態は、いまだよく解明されていない。本研究は、文献検索により、自己免疫性FV欠乏症の病態解明を目指した。

B . 研究方法

1) 対象となる出血性疾患は血友病 A 40 例、血友病 B 10 例、フォンウィルブラント病 20 例、その他の先天性凝固因子異常 12 例、ITP50 例、DIC 86 例、TMA 20 例などであった。凝固因子に対するインヒビター例は 13 例、それ以外の原因による出血例は 29 例あった。これらの症例の、検査所見、基礎疾患、年齢などを検討した。

2) 対象症例は、健常成人 30 名、血友病 11 例、FVIII インヒビター例 5 例、抗リン脂質抗体症候群(APS)12 例、ワーファリン治療例 10 例、整形外科術後抗 Xa 剤投与 18 例、妊婦 12 例、播種性血管内凝固(DIC)20 例であった。APTT-SP®/ACL-TOP®システム(IL 社)を用いて、APTT 波形解析を行った。

3) PubMedにより、FVとinhibitor の組み合わせを検索した。2010年から2018年に報告された62例について、年齢、性、出血症状、基礎疾患、生命予後、FV活性治療法について調べた。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントにより同意を得、匿名化などにより、個人情報の流出を防いだ。

C . 研究結果

1) インヒビター例の内訳は、非血友病 8 例、血友病 5 例であった。12 例が FVIII に対するインヒビターであり、1 例は FV に対するインヒビターであった。非血友病のインヒビターの基礎疾患は、自己免疫疾患 2 例、悪性腫瘍 2 例、不明 4 例であり、高齢者に多く見られた。血友病インヒビター例は殆どが重症血友病例であるが、一部軽症例にも認められた。

30 例の出血性疾患の解析では、妊婦に出血が多いことから、発症年齢は 20-30 歳代に多く、性別では女性に多く見られた。基礎疾患は、不明 16 例、妊娠関連 9 例などであった。原因も不明が 15 例で最も多く、血小板機能低下 7 例、fibrinogen 低下 5 例などであった。これらの患者の FXIII 活性は、69.0%(58.0 - 92.7%)で、フィブリノゲン値は 215mg/dl (169-253 mg/dl)で、プラスミンインヒビター活性は 114%(96 - 117%)であった。

2) 加速度、速度、フィブリン形成の速度、高さ、幅を算定した。血友病では、著しい凝固時間の延長と2相性の波形が認められた。血友病インヒビター例では、凝固時間の延長とともにピーク高の低下が認められた。加速度秒は血友病、インヒビター例、APS、抗凝固療法患者などで有意に延長した。加速度高は、血友病、APS、抗凝固療法患者で有意に低下し、特にインヒビター例では著しい低下を示した。また、妊婦などでは有意な増加を示した。

3) 発症年齢は0歳から92歳までに分布し、ピークは60台に認められた。性差は、女性21例、男性41例であった。生命予後は2例が不明で、60例の解析では寛解率は58%、死亡率は16%であった。基礎疾患は、特発性25%、感染症19%、術後16%、悪性腫瘍11%、虚血性疾患/抗凝固療法8%、肝移植後4%、FV欠乏症4%であった。出血症状は、無症血23%、血尿19%、消化管出血18%、皮下出血13%、全身性出血11%、血腫11%、口腔内出血11%、鼻血10%、頭蓋内出血8%、腹腔内出血3%、その他の出血10%であった。FV活性は、3例が不明、低値あるいは50%以下の記載が6例、10~20%が3例、3~10%が10例、3%以下が40例であった。インヒビターは不明7例、陰性3例、陽性のみ記載5例で、数値記載がある47例の検討では、0~10BU/mlが最も高頻度であった。免疫抑制療法は、ステロイド52%、シクロホスファミド11%、リツキシマブ11%、免疫グロブリン大量療法11%、シクロスポリン3%、その他2%であった。補充療法では、新鮮凍結血漿32%、濃厚血小板液21%、血漿交換8%、プロトロンビン複合体6%、リコンビナントFVIIa5%などであった。

D. 考察

出血性疾患の頻度としては、血友病、ITP、DIC、TMAなどの頻度が圧倒的に多かったが、その他の原因による出血傾向も多数認められた。インヒビターでは、基礎疾患が血友病でなくてもみられ、高齢者に多く認められた。今回の検討では、FVIIIに対する抗体が圧倒的に多く、

FXIII やフォンウィルブランド因子ならびに線溶系因子に対する抗体は認められていないが、見過ごされている可能性は否定できない。出血原因は、血小板機能低下が疑われる症例も多かったが、原因不明例が最も多かった。また、フィブリノゲン低下も複数例みられ、1例は後天性フィブリノゲン異常症が疑われた。このことから、フィブリノゲンの低下が出血に関与する症例が予想以上に多いことが推測された。FXIII 値の著明低下は見られなかったが、多くの症例でFXIII の中等度低下がみられた。FXIII の中等度低下と出血との因果関係は不明であった。APTT波形の解析は、従来は2相性波形の解析から始まったが、フィブリン形成、速度、加速度の3つのピークを解析でき、ピークになる時間の延長とピークの高さを解析できる。速度波形、加速度波形の詳細な意義はまだ解明されていないが、フィブリン形成秒を測る従来法に比べて、加速度波形を解析することにより、より正確なAPTTを算出できると考えられる。また、加速度高が著しく低くなると、インヒビターの存在が疑われる。2010年~2018年に報告された62例について解析した。現時点では、症例数が少なく欠損値も多くみられた。男女比は2:1で、高齢者に多くみられた。基礎疾患は、特発性、感染症、術後、悪性腫瘍などが多かったことから、高齢者と男性に多いことの理由と考えられた。寛解率は58%で、死亡率は16%で、意外と治療成績が悪いこと

が驚かされた。臨床症状も、種々の出血症状が見られ、治療法も血漿輸血から血小板輸血も行われていた。

免疫抑制療法は半数に、補充療法は約30%に行われ、もう少し積極的に治療が行われれば、治療成績も良くなることが示唆された。さらに、文献的考察を加えて、診療ガイドなどの作成が望まれる。

E . 結論

原因不明の出血は、年間何例か認められ、FXIII や fibrinogen などのフィブリンクロット形成段階の異常による出血も存在することが示唆された。APTT 波形の解析により、より詳細な止血能を測定できるようになった。加速度高の減少は、特にインヒビターの診断に有用である可能性が示唆された。

自己免疫性FV欠乏症の男女比は2:1で、高齢者に多くみられた。寛解率は58%で、死亡率は16%であった。種々の出血症状が見られた。基礎疾患は、特発性、感染症、術後、悪性腫瘍などが多かった。免疫抑制療法は半数に、補充療法は約30%に行われた。さらに多くの症例を集積する必要があると考えられた。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katayama H, Wada H, et al: An Evaluation of Hemostatic Abnormalities in Patients With

Hemophilia According to the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform. Clin Appl Thromb Hemost. 2018

- 2) Iba T, Wada H, et al: A Proposal of the Modification of Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis (JSTH) Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) Diagnostic Criteria for Sepsis-Associated DIC. Clin Appl Thromb Hemost. 2018; 24: 439-445. doi: 10.1177/1076029617720069
- 3) Hasegawa M, Wada H, et al: Monitoring of hemostatic abnormalities in major orthopedic surgery patients treated with edoxaban by APTT waveform. Int J Lab Hematol. 2018; 40(1): 49-55.
- 4) Matsui T, Wada H, et al: Platelet Activation Assessed by Glycoprotein VI/Platelet Ratio Is Associated With Portal Vein Thrombosis After Hepatectomy and Splenectomy in Patients With Liver Cirrhosis. Clin Appl Thromb Hemost. 2018; 24: 254-262
- 5) Takahashi N, Wada H, et al: Elevated Soluble Platelet Glycoprotein VI Levels in Patients After Living Donor Liver Transplantation. Clin Appl Thromb Hemost. 2017; 23: 274-281

- 6) Ikejiri M, Wada H, et al: High prevalence of congenital thrombophilia in patients with pregnancy-related or idiopathic venous thromboembolism/pulmonary embolism. *Int J Hematol.* 2017; 105: 272-279
- 7) Hasegawa M, Wada H, et al: The Evaluation of D-Dimer Levels for the Comparison of Fibrinogen and Fibrin Units Using Different D-Dimer Kits to Diagnose VTE. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2017;
- 8) Tanaka Y, Wada H, et al: Attempt to Harvest a Sufficient Number of Mononuclear Cells in an Appropriate Blood Product Volume By Modification of the Default Apheresis Setting. *Ther Apher Dial.* 2017; 21:507-511
- 9) Matsumoto T, Wada H, et al: An Evaluation of the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2017
- 10) Ikejiri M, Wada H, et al: Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with direct oral anticoagulant. *Thromb J.* 2017
- 11) Habe K, Wada H, et al: The Plasma Levels of ADAMTS-13, von Willebrand Factor, VWFpp, and Fibrin-Related Markers in Patients With Systemic Sclerosis Having Thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2017
- 12) Ikejiri M, Wada H, et al: Protection From Pregnancy Loss in Women With Hereditary Thrombophilia When Associated With Fibrinogen Polymorphism Thr331Ala. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2017; 23: 494-495.
- 13) Matsumoto M, Wada H, et al; For TTP group of Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour, and Welfare Sciences Research Grants.: Diagnostic and treatment guidelines for thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) 2017 in Japan. *Int J Hematol.* 2017; 106: 3-15
- 14) Wada H, et al; DIC subcommittee of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis.: The approval of revised diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J.* 2017; 15: 17
- 15) Usui M, Wada H, et al: Platelet activation and liver transplantation. *Journal of Liver* 2017; 6: 2
- 16) Wada H, et al : Emicizumab Prophylaxis in Hemophilia A with

- Inhibitors. *N Engl J Med.* 2017; 377: 2193-4.
- 17) Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N.: The efficacy of the administration of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with DIC. *Int J Hematol.* 2016; 103: 173-179
- 18) Aota T, Wada H, Fujimoto N, Sugimoto K, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Kawasugi K, Madoiwa S, Asakura H, Katayama N.: The valuable diagnosis of DIC and pre-DIC and prediction of a poor outcome by the evaluation of diagnostic criteria for DIC in patients with hematopoietic injury established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. *Thromb Res.* 2016; 147:80-84
- 19) Aota T, Wada H, Fujimoto N, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Uchiyama T, Seki Y, Katayama N: Evaluation of the Diagnostic Criteria for the Basic Type of DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016 Oct 11
- 20) Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Okamoto K, Katayama N. An Evaluation of the Modified Diagnostic Criteria for DIC Established by the Japanese Society of Thrombosis and Hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016 Jun 14
- 21) Iba T, Di Nisio M, Thachil J, Wada H, Asakura H, Sato K, Kitamura N, Saitoh D.: Revision of the Japanese Association for Acute Medicine (JAAM) disseminated intravascular coagulation (DIC) diagnostic criteria using antithrombin activity. *Crit Care.* 2016; 20: 287.
- 22) Iba T, Gando S, Saitoh D, Wada H, Di Nisio M, Thachil J.: Antithrombin supplementation and risk of bleeding in patients with sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res.* 2016; 145:46-50
- 23) Squizzato A, Hunt BJ, Gary T, Kinasevitz GT, Wada H, ten Cate H, Thachil J, Levi M, Vicente V, Angelo AD, Di Nisio M: Supportive management strategies for disseminated intravascular coagulation-An international consensus, *Thromb Haemost,*

- 2016;115: 896-904
- 24) Asakura H, Takahashi H, Uchiyama T, Eguchi Y, Okamoto K, Kawasugi K, Madoiwa S, Wada H; DIC subcommittee of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis.: Proposal for new diagnostic criteria for DIC from the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis. *Thromb J.* 2016 Sep 28;14:42. Review.
- 25) Nagatsuka K, Miyata S, Kada A, Kawamura A, Nakagawara J, Furui E, Takiuchi S, Taomoto K, Kario K, Uchiyama S, Saito K, Nagao T, Kitagawa K, Hosomi N, Tanaka K, Kaikita K, Katayama Y, Abumiya T, Nakane H, Wada H, Hattori A, Kimura K, Isshiki T, Nishikawa M, Yamawaki T, Yonemoto N, Okada H, Ogawa H, Minematsu K, Miyata T: Cardiovascular events occur independently of high on-aspirin platelet reactivity and residual COX-1 activity in stable cardiovascular patients. *Thromb Haemost.* 2016; 116: 356-68
- 26) Toyoda H, Wada H, Miyata T, Amano K, Kihira K, Iwamoto S, Hirayama M, Komada Y: Disease recurrence after early discontinuation of eculizumab in a patient with atypical hemolytic uremic syndrome with complement C3 I1157T mutation" *J Pediatr Hematol Oncol.* 2016; 38: e137-9
- 27) Nakajima H, Dohi K, Tanabe M, Nakamura A, Kanemitsu S, Wada H, Yamada N, Nobori T, Shinpo H, Ito M: Infective Endocarditis Caused by Panton-Valentine Leukocidin-producing Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* Identified by the Broad-range PCR Method. *Intern Med.* 2016; 55: 1871-5
- 28) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Matsubara K, Morioka T, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H. Presence of Antiphospholipid Antibodies as a Risk Factor for Thrombotic Events in Patients with Connective Tissue Diseases and Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Intern Med.* 2016; 55: 589-95.
- 29) Habe K, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Ikejiri M, Tsuda K, Kondo M, Kamimoto Y, Ikeda T, Katayama N, Mizutani H: Plasma ADAMTS13, von Willebrand Factor (VWF), and VWF Propeptide Profiles in Patients With Connective Tissue Diseases and Antiphospholipid Syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016 Jan 11.
- 30) Ikejiri M, Wada H, Yamaguchi T,

- Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Sakaguchi A, Matsumoto T, Ohishi K, Fujimoto N, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Comparison of three different anti-Xa assays in major orthopedic surgery patients treated with fondaparinux. *Int J Hematol* 2016;103:554-559
- 31) Yamaguchi T, Wada H, Miyazaki S, Hasegawa M, Wakabayashi H, Asanuma K, Fujimoto N, Matsumoto T, Ohishi K, Sakaguchi A, Yamada N, Ito M, Katayama N, Sudo A: Fibrin related markers for diagnosing acute or chronic venous thromboembolism in patients with major orthopedic surgery. *Int J Hematol*, 2016;103: 560-566
- 32) Wada H, Matsumoto T, Aota T, Yamashita Y, Suzuki K, Katayama N.: Management of cancer-associated disseminated intravascular coagulation: guidance from the SSC of the ISTH: comment. *J Thromb Haemost.* 2016; 14: 1314-5
- 33) Wada H, Matsumoto T, Aota T, Imai H, Suzuki K, Katayama N.: Efficacy and safety of anticoagulant therapy in three specific populations with sepsis: a meta-analysis of randomized controlled trials: comment. *J Thromb Haemost.* 2016; 14:2308-9
- 34) Wada H, Matsumoto T, Fujimoto N, Imai H, Suzuki K, Katayama N.: Shock, acute disseminated intravascular coagulation, and microvascular thrombosis: is 'shock liver' the unrecognized provocateur of ischemic limb necrosis: comment. *J Thromb Haemost.* 2016 14: 2315-6
- 35) Kamimoto Y, Wada H, Ikejiri M, Nakatani K, Sugiyama T, Osato K, Murabayashi N, Yamada N, Matsumoto T, Ohishi K, Ishikawa H, Tomimoto H, Ito M, Ikeda T: High frequency of decreased antithrombin level in pregnant women with thrombosis. *Int J Hematol.* 2015; 102: 253-8
- 36) Aota T, Wada H, Yamashita Y, Matsumoto T, Ohishi K, Suzuki K, Imai H, Usui M, Isaji S, Katayama N.: The efficacy of the administration of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with DIC. *Int J Hematol.* 2016; 103: 173-179
- 37) Yamada N, Nakamura M, Ito M: Anti-Xa activity in VTE patients treated with fondaparinux. *Clin Chim Acta*, 2015; 442: 22-23
- 38) Wada H, Aota T, Matsumoto T, Suzuki K, Imai H, Katayama N: Antithrombin or thrombomodulin

administration in severe pneumonia patients with sepsis and disseminated intravascular coagulation: comment on two papers. J Thromb Haemost. 2015; 13: 684-5

39) Wada H, Aota T, Yamashita Y, Matsumoto T, Katayama N: New Insights of the Tissue Factor Pathway Inhibitor in Patients with Hypercholesterolemia Treated with Statins. J Atheroscler Thromb. 2015; 22: 654-5

2. 学会発表

1)和田英夫：血栓症/出血マーカー、シンポジウム「臨床検査の最新知見」、第56回 日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会第334回 日本臨床化学会東海・北陸支部例会連合大会、国際会議場（名古屋）、2017年3月12日

2)Wada H: Natural history of disseminated intravascular coagulation. JSLH/ISLH Joint symposium 1: Disseminated intravascular coagulation (DIC), 第18回日本検査血液学会学術集会、札幌コンベンションセンター、2017年7月22日
23日

Symposium

3) Wada H: Diagnosis and treatment of DIC. The 33rd World Congress of Internal Medicine, WCIM Bali 2016, Bali, Indonesia, August 22-25, 2016

4) 和田英夫:止血系マーカーによる過凝固

(前血栓)状態の検討、第5回プロテインS研究会シンポジウム、第38回日本血栓止血学会学術集会、奈良春日野国際フォーラム、2016年6月16-18日

5) 和田英夫: 悪性腫瘍と静脈血栓塞栓症、悪性腫瘍に合併する血栓止血異常、第17回日本検査血液学会、福岡国際会議場、2016年8月6日~7日

6) Wada H: Guide for managing TTP and aHUS. シンポジウム7 血栓止血領域の診療ガイド、第78回日本血液学会学術集会、10/13-15/2016、パシフィコ横浜+

7) Matsumoto T, Takahashi T, Usui M, Naitoh K, Wada H, Ohishi K, Katayama N, Isaji I: Elevated soluble platelet glycoprotein VI levels in patients after living donor liver transplantation. XXVth ISTH Congress, Tronto, June 20-25, 2015

8) 池尻誠、和田英夫：三重大学における先天性血栓性素因の遺伝子診断、静脈血栓塞栓症の危険因子 先天性血栓性素因と後天性要因、第9回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、野村コンファレンスプラザ日本橋、2015年2月28日

9) 青田卓実、和田英夫、松本剛史、山下芳樹、片山直之：日本血栓止血学会DIC診断基準案の検討、新DIC診断基準案と実際の臨床、野村コンファレンスプラザ日本橋、2015年2月28日

4) 和田英夫：日本血栓止血学会DIC診断基準暫定案検討、日本血栓止血学

会・日本救急医学会ジョイントシンポジウム「重症敗血症とDIC - 新しいDIC診断基準とアンチトロンビンの役割-」、第37回日本血栓止血学会学術集会、甲府市総合市民会館（甲府市）2015年5月21日～23日

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得
特記すべき事項なし

2. 実用新案登録
特記すべき事項なし

3. その他
特記すべき事項なし