

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

後天性血友病 A 診断及び治療に関する検討

研究分担者 家子 正裕 北海道医療大学歯学部 教授

研究要旨

後天性血友病 A (AHA) は時に致死的な疾患であり、確実な診断と治療が必要であり、そのガイドラインなどの必要性を認める。AHA の診断及び治療効果判定には抗第 VIII 因子抗体 (VIII-INH) の測定が必須であるが、ベセスダ法で測定した VIII-INH 活性だけではなく、ELISA 法で測定した抗体量の測定が診断および治療終了時期の判定に有用である。AHA と診断において最も難しい病態は、出血傾向を有するループスアンチコアグラント (LA)、特に LA-hypoprothrombinemia syndrome (LAHPS) である。その鑑別に VIII-INH 量の測定および APTT 交差混合試験 (cross-mixing test: CMT) が有用であった。AHA 診療に関するガイドラインには、ELISA による VIII-INH 量の測定と CMT の有用性を示すべきと思われた。

A. 研究目的

凝固第VIII因子 (FVIII) に対する自己抗体による後天性血友病(AHA)は、診断、治療が遅れると時に致死になる。診断および治療の指標となるガイドラインは必要である。ガイドライン作成に向けて、より正確な診断と確実な治療方法の確立を目指し、第VIII因子抗体 (VIII-INH) の測定方法の検討を行った。また、誤診例となるループスアンチコアグラント (LA) の鑑別

診断に有用な交差混合試験 (CMT) の標準化を目的とした。

B. 研究方法

1. 疫学的調査：北海道地区における AHA の発生状況および初診時の臨床症状、検査結果などを調査した。
2. 対象：解析依頼のあったAHA21症例51サンプルを対象とした。一方、診断上問題となる出血を伴うLA症例12例18サンプルを比較対照群として同様

の検討を行った。

3. 方法：1) FVIII活性はFVIII欠乏血漿(シスメックス社)を用いて測定した。2) VIII-INH活性はベセスダ法で測定した。3) VIII-INH抗体量は Zymutest Anti-VIII IgG Mono Strip (Hyphen社, France)で測定した。4) AHA診断における交差混合試験(クロスミキシングテスト)の標準化

APTT試薬: APTT-TC, APTT-TC-SLA(以上Sysmex社), コアグピア APTT-N(積水メディカル社), PTT-LA(Roche社)を用いた。

コントロール血漿の検討: 日本ミキシングテスト研究会の検討結果より Precision Biological社製コントロール血漿、および健常人10名より作成した Home-made血漿も用いた。

患者血漿混合比およびポイント数の検討: 患者血漿0, 10, 20, 50, 80, 90, 100%の混合血漿を作成し、即時に測定する即時反応と2時間37 インキュベーション後APTTを測定する遅延反応を行なって、変化率(=実測APTT/予想された混合血漿のAPTT)を求めて、凝固因子欠損症(血友病A)、AHAおよびLAで最も有用な混合比を求めた。

判定方法: 視覚的判定方法(上に凸および直線はインヒビターパターン、下に凸は因子欠損パター

ン)と判断した。

(倫理面への配慮)

本研究は、北海道医療大学歯学部倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

1. 疫学的調査: 平成27年度に8例のAHA疑い症例の診断依頼があった。8例中2例がAHAであったが、4例で血漿プロトロンビン活性の低下を認め出血傾向のあるLA症例(LA-Hypoprothrombinemia syndrome(LAHS))であった。AHAとLAHSは鑑別診断が難しいことが示された。

2. 抗凝固第VIII因子抗体の確認: 上記依頼症例の全例でFVIII活性は低下を認めた。これらの症例で第VIII因子抗体(VIII-INH)をBethesda法による活性とELISA法(Zymutest Anti-VIII IgG Mono Strip; Hyphen, France)による抗体量で測定した。AHAおよびLAHSの6例ではVIII-INH活性を認めたが、ELISAで測定したVIII-INHはAHA2例でのみ検出され、LAHS症例では抗体量は測定されなかった。さらに、発症初期から回復期までの経過が追えた1例の12サンプルについてVIII-INHの活性と抗体量の確認を行った。発症初期より活性(Besethda法)および抗体量(ELISA法)は陽性であったが、約2ヶ月間の免疫抑制療法で活性は消失した。しかし、VIII-INH量はさらに4ヶ月間継続して基準値以上であった。

3. 平成28年度まで解析依頼のあったAHA及びLA症例を詳細に解析した。AHA21

例及び LA15 例の FVIII 活性（中央値）は 3.0%及び 19.8%、VIII-INH 活性は 15.8 BU/mL 及び 2.1 BU/mL であった。AHA 症例より得た 51 サンプル及び LA 症例 18 サンプルにおける VIII-INH の活性と抗体量を比較検討した。AHA 症例のサンプルでは VIII-INH 活性も抗体量も検出されたが、LA 症例では活性は認められたものの抗体量は検出されなかった。VIII-INH の活性および抗体量の双方を測定することにより AHA の診断効率は上がった。また、AHA 再発例において免疫抑制療法中止期には、VIII-INH 活性は消失しているが抗体量は残存していることを確認した。

4. AHA と出血傾向も有する LA、特に LAHPS は鑑別が極めて難しいが、鑑別に有用なのは APTT 交差混合試験（cross-mixing test: CMT）である。しかし、CMT の検査方法は標準化されておらず、今回標準化を試みた。即時反応（incubation 時間なし）では患者血漿 0, 10, 20, 50, 100% と 5 ポイント、遅延反応（2 時間 incubation）では患者血漿 0, 50, 100% の 3 ポイントでの検討が有用であることを確認した。LA は遅延反応の 10, 20% に表示されやすく、また AHA では 50% の混合血漿で即時反応と遅延反応に差異を認めることが確認された。

5. 以上の結果より、診断および治療判断には ELISA 法による VIII-INH 量の確認および CMT の施行が有用であり、AHA 診療に関するガイドライン等に含まれるべきものと考えられる。

D. 考察

疫学的な検討より、AHA と鑑別診断が非常に困難な病態は出血を伴う LA 症例であった。特に、LAHPS との鑑別は難しく、AHA の正確な診断を目的としたガイドラインは必要であると考えられた。その中で、重要なポイントの 1 つが、VIII-INH の確認である。LA 症例でも FVIII 活性低下、VIII-INH 陽性の場合も少なくない。LA は血栓症のリスクファクターであり、その基本的な治療は抗血栓療法である。もし、LA 症例を AHA と誤診し止血剤を投与することになれば、重大な副作用を生じる可能性がある。本研究の結果のように VIII-INH 抗体量は、LA 症例ではすべて陰性であり、診断が疑わしい症例では ELISA による抗凝固第 VIII 因子抗体量の測定が有用になると思われる。

AHA の免疫抑制療法中止判断も現在は VIII-INH 活性で判断される。しかし、我々の検討で示されたように、VIII-INH 活性が消失しても、ELISA で測定される VIII-INH 抗体量が検出される症例もある。ELISA で測定された抗体のすべてが FVIII 活性を中和する抗体ではないが、その一部は FVIII のクリアランス抗体として作用するものも含まれる可能性があり、FVIII 活性に影響する可能性も否定できない。もし、再発を予防するなら、ELISA 法で VIII-INH 抗体量が消失したことを確認した上で免疫抑制療法を中止するのが理想的と考えられる。

AHA診断におけるCMTは有用であり、LAHPSの鑑別にも役に立つ。しかし、現在までCMTの標準化は行われていなかった。我々の検討から、CMTのコントロール血漿としてホームメイドコントロール血漿または市販コントロール血漿、共に推奨できた。また、APTT試薬は、LA感受性の良好な試薬が推奨できる。混合血漿の患者血漿比率は、即時反応（混合血漿を即時に測定）では0, 10, 20, 50, 100%が、遅延反応（混合血漿を2時間インキュベーション後に測定）では0, 50, 100%が推奨できた。この混合比率は、被検血漿の量も少なく、標準化案として推奨できるものと考えられる。

E. 結論

1. AHA の診断にはまだ十分な注意が必要であり、そのためのガイドラインなどは必要である。
2. AHAの診断が明確でない場合には、ELISAでVIII-INH量を確認することが有用であり、免疫抑制療法の中止時期もVIII-INH活性だけの判断では再発する可能性がある。
3. APTT-CMT は、患者血漿比率 0, 10, 20, 50, 100%を用いて、即時反応は5ポイントで、遅延反応は3ポイントで行うことが推奨できる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Saito M, Kanaya M, Izumiya K, Mori

A, Irie T, Tanaka M, Morioka M, Ieko M. Treatment of bleeding in acquired hemophilia A with the proper administration of recombinant activated factor VII: single-center study of 7 cases. *Int J Gen Med.* 2016; 9: 393-399.

2. Ogawa Y, Yanagisawa K, Uchiumi H, Ishizaki T, Mitsui T, Gouda F, Ieko M, Ichinose A, Nojima Y, Handa H. Clinical characteristics and outcomes of acquired hemophilia A: experience at a single center in Japan. *Int J Hematol.* 2017; 106: 82-89.
3. 家子正裕. ループスアンチコアグラント: 測定法から見える謎多き病態. *日本検査血液学会雑誌* 2017; 18: 409-418.

2. 学会発表

1. 小川孔幸、他: 当院における後天性血友病A症例の診療経験. *日本血栓止血学会誌* 2015; 26: 204.
2. Yoshiyuki Ogawa, et al: Acquired hemophilia A that developed during immunosuppressive therapy for immune thrombocytopenia. *臨床血液* 2015; 56: 1723.
3. Ieko M, Naito S, Yoshida M, Takahashi N, Ogawa Y, Ichinose A. Significance of quantity of anti-factor VIII antibody in patients with acquired hemophilia A. The 9th Congress of the Asian-Pacific

Society on Thrombosis and Hemostasis.
(Program Book, p111, 2016)

4. 篠沢圭子, 天野景裕, 備後眞登, 鈴木隆史, 稲葉浩, 小島奈央, 橋本祐樹, 本倉徹, 家子正裕, 福武勝幸. 先天性第V因子欠乏患者に同定した3つのミスセンス変異. 日本血栓止血学会誌. 2017: 28: 36.

5. 内藤澄悦, 家子正裕, 吉田美香, 鈴木健史, 高橋伸彦, 若宮信隆, 森谷満. Lupus anticoagulant陽性症例に認められる凝固因子インヒビター活性の確認. 日本血栓止血学会誌. 2017: 28: 38.

6. 金谷秀平, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 大崎洋平, 清水啓明, 井上まどか, 家子正裕, 一瀬白帝, 半田寛. ステロイド治療中に深部静脈血栓症と腸管気腫症を合併した後天性血友病Aの1例. 日本検査血液学会雑誌. 2017: 18: S32.

7. 吉田美香, 内藤澄悦, 大村一将, 高橋伸彦, 家子正裕. 凝固因子活性低下を伴うループスアンチコアグラント症例における凝固因子インヒビター量の確認の意義. 日本検査血液学会雑誌. 2017: 18: S36.

8. 内藤澄悦, 家子正裕, 須長宏行, 吉田美香, 福武勝幸. APTT交差混合試験の標準化への試みーコアプレスタミキングテスト研究会推奨法の普及と課題(第9報). 日本検査血.

9. 家子正裕. ループスアンチコアグラント: 測定法から見える謎多き病態. 日本

検査血液学会雑誌. 2017: 18: S79.

10. Osaki T, Souri M, Ogawa Y, Kobayashi K, Ieko M, Hashiguti T, Yamakuchi M, Ichinose A. 臨床血液 2017: 57: 1561.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし