

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）

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

平成27～29年度 総合・分担研究報告書

研究代表者 一瀬 白帝

平成30（2018）年 3月

目 次

. 研究班 班員名簿 -----	1
平成27年度 班員名簿	
平成28年度 班員名簿	
平成29年度 班員名簿	
. 総合研究報告 -----	4
研究代表者 一瀬 白帝	
. 分担研究報告 -----	24
惣宇利正善 山形大学医学部 准教授	
尾崎 司 山形大学医学部 助教	
森兼 啓太 山形大学医学部附属病院 部長	
横山智哉子 山形大学大学院理工学研究科 助教	
和田 英夫 三重大学医学部 准教授	
朝倉 英策 金沢大学附属病院 准教授	
家子 正裕 北海道医療大学歯学部 教授	
橋口 照人 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授	
小川 孔幸 群馬大学医学部附属病院 助教	
浦野 哲盟 浜松医科大学医学部 教授	
岩城 孝行 浜松医科大学医学部 准教授	
北島 勲 富山大学医学薬学研究部 教授	
松下 正 名古屋大学医学部附属病院 教授	
. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	77
平成27年度	
平成28年度	
平成29年度	

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 研究班

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	一瀬 白帝	山形大学医学部 分子病態学	教授
研究分担者	惣宇利 正善	山形大学医学部 分子病態学	准教授
	尾崎 司	山形大学医学部 分子病態学	助教
	家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	教授
	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	教授
	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	教授
	松下 正	名古屋大学医学部附属病院 輸血部	教授
	浦野 哲盟	浜松医科大学 医生理学	教授
	和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 検査医学	准教授
研究協力者	丸藤 哲	北海道大学病院 先進急性期医療センター(救急科)	教授
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講師
	伊藤 俊広	国立病院機構 仙台医療センター 血液内科	医長
	山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学分野	教授
	関 義信	新潟県立新潟田病院 内科 6/1から 新潟大学魚沼教育センター 血液内科	部長教授
	黒澤 秀光	獨協医科大学 小児科学	教授
	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)	助教
	山本 晃士	埼玉医科大学総合医療センター 輸血細胞医療部	教授
	松浦 康弘	成田赤十字病院 第二血液腫瘍科	部長
	川杉 和夫	帝京大学医学部 内科学	教授
	矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	教授
	花房 規男	東京大学医学部附属病院 腎疾患総合医療学講座	特任准教授
	小山 高敏	東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科 先端血液検査学	准教授
	窓岩 清治	東京都済生会中央病院 臨床検査医学科	部長
	小島 稔	海老名総合病院 血液内科	医長
	石田 文宏	信州大学医学部保健学系病因・病態検査学	教授
	朝倉 英策	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部	准教授
	細野奈穂子	福井大学医学部附属病院 がん診療推進センター	助教
	毛利 博	藤枝市立総合病院	事業管理者(院長)
	小林 隆夫	浜松医療センター	院長
	江口 豊	滋賀医科大学 救急集中治療医学講座	教授
	神谷 悦功	国立病院機構 東名古屋病院 血液・腫瘍内科	医長
	杉浦 真弓	名古屋市立大学大学院医学研究科 産科婦人科	教授
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 輸血管理室	医長
	柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	講師
	池田 正孝	国立病院機構 大阪医療センター 外科	医長
	村田 幸平	市立吹田市民病院	副院長
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 がんセンター外科	教授
	日笠 聡	兵庫医科大学 血液内科	講師
	川野 宏樹	神戸大学医学部附属病院 血液内科	医員
	羽藤 高明	愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	病院教授
	岡本 好司	北九州市立八幡病院 消化器・肝臓病センター	副院長兼センター長
	岡村 孝	聖マリア病院 血液・腫瘍内科センター	センター長
	内場 光浩	熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	助教
	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	特任教授

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 研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	一瀬 白帝	山形大学医学部 分子病態学	教授
研究分担者	惣字利 正善	山形大学医学部 分子病態学	准教授
	尾崎 司	山形大学医学部 分子病態学	助教
	家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	教授
	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	教授
	松下 正	名古屋大学医学部附属病院 輸血部	教授
	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)	助教
	浦野 哲盟	浜松医科大学 医生理学	教授
	岩城 孝行	浜松医科大学 薬理学	准教授
	和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 検査医学	准教授
研究協力者	丸藤 哲	北海道大学病院 先進急性期医療センター(救急科)	教授
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講師
	伊藤 俊広	国立病院機構 仙台医療センター 血液内科	医長
	佐藤 秀則	山形大学医学部 メディカルサイエンス推進研究所	助教
	山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学分野	教授
	関 義信	新潟大学魚沼教育センター 血液内科	教授
	黒澤 秀光	獨協医科大学 小児科学	教授
	山本 晃士	埼玉医科大学総合医療センター 輸血細胞医療部	教授
	松浦 康弘	井上記念病院 内科	主任部長
	川杉 和夫	帝京大学医学部 内科学	教授
	矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	教授
	安本 篤史	東京大学医学部附属病院 検査部	特任助教
	花房 規男	東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 血液浄化療法科	准教授
	小山 高敏	東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科 先端血液検査学	准教授
	窓岩 清治	東京都済生会中央病院 臨床検査医学科	部長
	小島 稔	海老名総合病院 血液内科	医長
	石田 文宏	信州大学医学部保健学系病因・病態検査学	教授
	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	教授
	朝倉 英策	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部	准教授
	細野奈穂子	福井大学医学部附属病院 がん診療推進センター	助教
	毛利 博	藤枝市立総合病院	事業管理者、名誉院長
	小林 隆夫	浜松医療センター	院長
	江口 豊	滋賀医科大学 救急集中治療医学講座	教授
	神谷 悦功	国立病院機構 東名古屋病院 血液・腫瘍内科	医長
	杉浦 真弓	名古屋市立大学大学院医学研究科 産科婦人科	教授
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 輸血管理室	医長
	柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	講師
	池田 正孝	国立病院機構 大阪医療センター 外科	医長
	村田 幸平	市立吹田市民病院	副院長
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 がんセンター外科	教授
	日笠 聡	兵庫医科大学 血液内科	講師
	川野 宏樹	神戸大学医学部附属病院 血液内科	医員
	羽藤 高明	愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	病院教授
	岡本 好司	北九州市立八幡病院 消化器・肝臓病センター	副院長兼 センター長
	岡村 孝	聖マリア病院 血液・腫瘍内科センター	センター長
	内場 光浩	熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	助教
	丸山 征郎	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 システム血拴制御学	特任教授

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 研究班

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	一瀬 白帝	山形大学医学部 分子病態学	客員教授
研究分担者	惣宇利 正善	山形大学医学部 分子病態学	准教授
	尾崎 司	山形大学医学部 分子病態学	助教
	森兼 啓太	山形大学医学部附属病院 検査部	部長
	横山 智哉子	山形大学大学院理工学研究科 バイオ化学工学専攻	助教
	家子 正裕	北海道医療大学歯学部 内科学	教授
	橋口 照人	鹿児島大学大学院歯学総合研究科 血管代謝病態解析学	教授
	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)	助教
	和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科 検査医学	准教授
	朝倉 英策	金沢大学附属病院 高密度無菌治療部	准教授
研究協力者	丸藤 哲	北海道大学病院 先進急性期医療センター(救急科)	教授
	玉井 佳子	弘前大学医学部附属病院 輸血部	講師
	伊藤 俊広	国立病院機構 仙台医療センター 血液内科	医長
	三井 哲夫	山形大学医学部 小児科学	教授
	石澤 賢一	山形大学医学部 血液・細胞治療内科学	教授
	佐藤 秀則	山形大学医学部 メディカルサイエンス推進研究所	助教
	山本 正雅	奥羽大学薬学部 生化学分野	教授
	関 義信	新潟大学魚沼教育センター 血液内科	教授
	黒澤 秀光	獨協医科大学 小児科学	教授
	山本 晃士	埼玉医科大学総合医療センター 輸血細胞医療部	教授
	松浦 康弘	井上記念病院 内科	主任部長
	川杉 和夫	帝京大学医学部 内科学	教授
	矢富 裕	東京大学医学部附属病院 検査部	教授
	安本 篤史	東京大学医学部附属病院 検査部	特任助教
	花房 規男	東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 血液浄化療法科	准教授
	小山 高敏	東京医科歯科大学大学院保健衛生学研究科 先端血液検査学	准教授
	窓岩 清治	東京都済生会中央病院 臨床検査医学科	部長
	石田 文宏	信州大学医学部保健学系病因・病態検査学	教授
	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	教授
	小澤 龍彦	富山大学大学院医学薬学研究部 免疫学	助教
	細野奈穂子	福井大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科	助教
	毛利 博	藤枝市立総合病院	事業管理者、名誉院長
	浦野 哲盟	浜松医科大学 医生理学	教授
	岩城 孝行	浜松医科大学 薬理学	准教授
	小林 隆夫	浜松医療センター	名誉院長
	江口 豊	滋賀医科大学 救急集中治療医学講座	教授
	神谷 悦功	国立病院機構 東名古屋病院 血液・腫瘍内科	医長
	松下 正	名古屋大学医学部附属病院 輸血部	教授
	杉浦 真弓	名古屋市立大学大学院医学研究科 産科婦人科	教授
	宮田 茂樹	国立循環器病研究センター 臨床検査部	部長
	柏木 浩和	大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科	講師
	村田 幸平	関西労災病院	副院長
	湯川 真生	近畿大学医学部奈良病院 がんセンター-外科	教授
	池田 正孝	兵庫医科大学 下部消化管外科	准教授
	日笠 聡	兵庫医科大学 血液内科	講師
	川野 宏樹	神戸大学医学部附属病院 血液内科	医員
	羽藤 高明	愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	特任教授
	岡本 好司	北九州市立八幡病院 消化器・肝臓病センター	副院長兼 センター長
	岡村 孝	聖マリア病院 血液・腫瘍内科センター	センター長
	内場 光浩	熊本大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部	助教
	丸山 征郎	鹿児島大学大学院歯学総合研究科 システム血栓制御学	特任教授
	友寄 毅昭	沖縄県立南部医療センター・こども医療センター 血液・腫瘍内科	医長

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））
総合研究報告書

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

研究代表者 一瀬 白帝 山形大学医学部 教授

研究要旨

「後天性出血症」は誰でも罹患する可能性がある疾病であり、これまでは希少であったが、超高齢社会となった我が国では次第に症例数が増加している。特に「自己免疫性出血症」は難治性疾患であるため、本研究では、その総合的な診断基準・重症度分類、診療指針等の作成、改訂と確立などを目的として、全国調査活動を実施している。なお、初年度は、4種類の凝固難病〔自己免疫性出血病XIII/13（AH13）、自己免疫性von Willebrand病（AVWD）、後天性血友病A（AHA）、出血性後天性抗線溶因子欠乏症（HAAFFD）〕を主な対象としたが、平成28年度から自己免疫性第V/5因子欠乏症（AF5D）、平成29年度からは自己免疫性第X/10因子欠乏症（AF10D）を調査に追加した。

毎年5月にリーフレットを作製して全国調査継続の通知と共に関連する診療科や血液専門医など約2100件に配布し、毎年10月に全国アンケート調査を実施した（約2100件に送付）。その結果、平成27年度は485件、平成28年度は459件、平成29年度は388件の回答を得て、それぞれ52例、32例、31例の後天性出血症例が報告された。別途、研究班に直接相談があった症例の内、平成27年度は19例、平成28年度は15例、平成29年度は23例について統一特別委託検査や実験的精密検査を実施して基礎データを集積した。なお、平成28年度はAF5Dに関する検査を、平成29年度はAF10Dに関する検査を、年度の途中から追加したので、統一特別委託検査は28項目に増加した。

また、平成27年度はAH13診断基準研究班版改訂、AH13診断基準日本血栓止血学会案策定を主導、AH13指定難病資料提出、AVWD診断基準案策定・厚労省提出、AHA診療ガイドライン改訂への協力、AHA指定難病基礎資料作成・厚労省提出などを実現した。その結果、AH13が厚労省指定難病288に採用され、平成27年7月1日から公的医療費助成の対象となった。平成28年度はAH13診断基準を改訂するとともに、AHAとAVWDの指定難病基礎資料を作成して厚労省に提出し、指定難病検討委員会の要請に応じて、これらの3凝固難病（AH13、AHA、AVWD）を厚労省指定難病「自己免疫性後天性凝固因子欠乏症288-1、288-2、288-3」として統合することに尽力した。それにより、平成29年4月1日からAHAとAVWDが新規に公的医療費助成の対象となった。また、AH13診断基準研究班版を一部改訂して国際血栓止血学会の科学及び標準化委員会版とし、国際AH13診断基準として刊行した。国内でも、後天性von Willebrand症候群（AVWS）参照ガイドを刊行した。平成29年度は指定難病検討委員会の要請に応じて統合した3凝固難病（厚労省指定難病288-1、288-2、288-3）の概要と診断基準を改訂するとともに、AF5Dの指定難病基礎資料を作成して厚労省に提出し、これら4疾患の臨床調査個人票を統一することに尽力した。この活動は、平成30年4月1日からAF5Dが厚労省指定難病「自己免疫性凝固因子欠乏症288-4」として新規に公的医療費助成の対象となったことで実を結んだ。更に、AH13治療指針研究班案を元に日本血栓止血学会AH13診療ガイドを作成して発刊した。なお、自己免疫性出血病検査アルゴリズムを改訂し、AH13診療ガイドの中に記載した。また、主要な研究班メンバーが日本血栓止血学会の「AHA診療ガイドライン改訂委員会」に参加して、後天性血友病A診療ガイドライン2017年改訂版を発刊した。

以上のように、本研究は極めて順調に進捗した。

研究分担者

惣宇利 正善 (H27-29年度)
山形大学医学部 准教授
尾崎 司 (H27-29年度)
山形大学医学部 助教
森兼 啓太 (H29年度)
山形大学医学部附属病院 部長
横山 智哉子 (H29年度)
山形大学大学院理工学研究科 助教
和田 英夫 (H27-29年度)
三重大学大学院医学系研究科 准教授
朝倉 英策 (H29年度)
金沢大学附属病院 准教授
家子 正裕 (H27-29年度)
北海道医療大学歯学部 教授
橋口 照人 (H27-29年度)
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授
小川 孔幸 (H28、29年度)
群馬大学大学院医学系研究科 助教
松下 正 (H27、28年度)
名古屋大学医学部附属病院 教授
浦野 哲盟 (H27、28年度)
浜松医科大学 医生理学 教授
岩城 孝行 (H28年度)
浜松医科大学医学部 准教授
北島 勲 (H27年度)
富山大学医学薬学研究部 教授

A. 研究目的

目的: 本事業は、本症の症例を確定診断して実態を解明し、診断基準、重症度分類、診療ガイドライン等を作成、確立、改訂することが主な目的であり、その治療の均てん化を目指す。

必要性: 「後天性出血症」に含まれる疾患は、各凝固・抗線溶因子の非遺伝性の欠乏状態であり、活性や抗原量の低下という客観的な指標に基づく疾患概念が確立されている。主な対象とする「自己免疫性出血症 [自己免疫性出血病 XIII/13 (AH13)、自己免疫性 von Willebrand 病 (AVWD)、後天性血友病 A (AHA)、自己免疫性第 V/5 因子欠乏症 (AF5D) など]」は以下の難病 4 要素を満たす; 1) 主に高齢者に発症し、「自己免疫寛容の破綻」が原因であると推定されるものの、全く「発病の機構が明らかでない」。2) AH13 は我が国で推定約 1.5 人 / 1,000 万人、AHA は英国で 1.5 人 / 100 万人、AVWD や AF5D は発症頻度不明の極めて「希少な疾病」である。

3) 症例が少ないため、系統的な介入的臨床研究が不可能であり、現在も「治療方法が確立していない」。4) 完全寛解に到達するのに数ヶ月を要し、その後も再燃することが多い上、1 年以上経過しても寛解しない症例も多く、「長期の療養を必要とする」。誰でも罹患する可能性があり、世界に先駆けて超高齢社会となった我が国では次第に症例数が増加しつつある。

なお、平成 28 年度は自己免疫性第 5 因子欠乏症 (F5 インヒビター) を、平成 29 年度は自己免疫性第 X/10 因子欠乏症 (AF10D) を、年度途中から追加して、調査活動を発展させた。

B. 研究方法

研究体制: 研究を効率的かつ効果的に推進するため、疾病ごとではなく一定の領域の研究者が組織的に研究を行う。領域内の主な疾病を網羅する班構成にして、組織的な研究を推進する体制を整備する。

平成 27 年度:

1) 研究代表者 1 名; 班研究全体を総轄。2) 研究分担者 8 名; 各疾患の確定診断; AH13 (惣宇利、尾崎班員); AHA (家子、橋口班員); AVWD (北島、松下班員); HAAFFD (浦野、和田班員)。3) 研究協力者 35 名; 疑い症例の発掘。

平成 28 年度:

1) 研究代表者 1 名; 班研究全体を総轄。2) 研究分担者 9 名; 各疾患の確定診断; AH13 (惣宇利、尾崎班員); AHA (家子、橋口班員); AVWD (小川、松下班員); HAAFFD (浦野、岩城、和田班員)。3) 研究協力者 37 名 (疫学統計専門家: 山形大学 佐藤秀則助教を含む); 凝固難病疑い症例の発掘。

平成 29 年度:

1) 研究代表者 1 名; 班研究全体を総轄。2) 研究分担者 9 名; 各疾患の確定診断; AH13 (惣宇利、尾崎班員); AHA (家子、橋口班員); AVWD (小川、横山班員); AF5D (和田、朝倉、森兼班員)。3) 研究協力者 42 名 (疫学統計専門家: 山形大学 佐藤秀則助教を含む); 疑い症例の発掘。

研究計画:

基本デザイン: 3 年間本症症例のデータを集積・分析し、そのエビデンスに基づいた全国共通の診断基準・重症度分類の作成や改正、総合的な診療指針の確立や改正及び普及等を行って臨床現場における医療の質の向上を実現させ、広報、講演、ホームページでの公開などを通じて国民へ研究成果を還元する。最初の 2 年で、各出血病の診断基準、診療指針を作成、充実させ、3 年目の終わりに統合するのが基本方針である。

JBAT シート、調査票、検査結果などをまとめて、指針作成の基礎データとする。なお、症例相談と

班員による個別研究の対象者の一部を含めて指針作成の参考とするが、鑑別と確定診断用の統一特別委託検査の実施症例を選択する。

具体的な研究計画：

- 1) 広報活動：代表者が主管
リーフレット配布で本症の周知を図り、年度末に報告書を送付して調査活動の成果を広め、難病情報センターや日本血栓止血学会などのHPで無料公開する。
- 2) 全国症例調査：代表者が主管
毎年同一時期にアンケート用紙を送付して、1年間相談がなかった症例の発掘に努める。
- 3) 臨床研究・調査：4疾患群部門責任者が担当し、選別とまとめは代表者が主管
 - a) 症例相談の受付、全国アンケート調査からの症例発掘とJBATによるスクリーニング
 - b) 統一特別委託検査の実施と解析
 - c) 実験室的精密検査の実施
 - d) 一次基礎疾患別に、二次性欠乏の機序、要因のデータ収集と解析
 - e) 自己免疫性出血症のリスク因子のデータ収集と解析
 - f) 免疫抑制薬を用いた「ステップアップ療法」、「トップダウン療法」の追跡調査
 - g) 止血と寛解段階での治療効果の判定など
 - h) 対象4疾患の症例報告を定期的に文献検索

平成 27 年度：

臨床症例を調査し、各出血病毎の診断基準案、検査アルゴリズム案、診療指針案、JBATを用いた抗線溶薬の止血効果、治療方法評価案などを作成、検証する。

- 1) AH13 診断基準研究班版改訂、日本血栓止血学会案策定、指定難病資料提出、治療指針案作成
- 2) AVWD を含む後天性 von Willebrand 症候群 (AVWS) 参照ガイド刊行、診断基準案策定
- 3) AHA 診療ガイドライン改訂への協力、指定難病基礎資料作成

なお、予算の追加が可能になったので、27年度後半から、より多くのAHA疑い症例について免疫学的に抗FVIII/8抗体を検出する。

平成 28 年度：

臨床調査を継続しつつ、前年度の研究結果に基づき、各出血病の診断基準案、検査アルゴリズム案、診療指針案、JBATの使用法、抗線溶薬の止血治療の推奨ランク、免疫抑制療法の推奨ランクなどを改訂、改良する。

- 1) AH13 治療指針案作成の準備段階として、治療(止血療法/抗体根絶療法)ガイド案、治療効果/寛解の判定基準案を作成
- 2) AVWD 疑い症例調査による症例の蓄積、診断基準案の検証、改訂
- 3) AHA 診断基準案を改訂、治療効果/寛解の判定基準案を作成
- 4) 自己免疫性出血病検査アルゴリズム案の検証、

改訂

平成 29 年度：

臨床調査を継続しつつ、前年度の研究結果に基づき、各出血病の診断基準(案)、検査アルゴリズム(案)、診療指針(案)、JBATの使用法、抗線溶薬の止血治療の推奨ランク、免疫抑制療法の推奨ランクなどを改訂、改良する。

- 1) AH13 治療指針作成の基礎資料として、治療(止血療法/抗体根絶療法)、治療効果/寛解の判定等の新規及び追跡調査を実施
- 2) AVWD 疑い症例調査、実験的精密検査による臨床データの蓄積、診断基準案の検証、改訂
- 3) AHA 診断基準を改訂、抗体の消長を含む治療効果/寛解の判定基準案を作成、検証
- 4) AF5D 診断基準案を新たに作成、提唱し、総合的診療指針に統合
- 5) 自己免疫性出血病検査アルゴリズム、統一特別委託検査の検証、改訂

(倫理面への配慮)

本研究では、重篤な出血症状を呈する症例の検体を使用して、遺伝子多型を含む各種の検査やタンパク質化学的実験を行うので、27年度に山形大学医学部の倫理委員会の承認を得ており、各主治医がそれぞれの所属機関の倫理審査委員会で承認を受けて症例あるいはその家族から文書による同意を得る。精密検査、家族調査の段階で先天性凝固・抗線溶因子欠乏症であることが判明した場合も症例を放置せず、既存の施設、組織と連携して適切な医療が受けられる協力体制を形成する。なお、調査活動の精密検査で得られたデータを症例の主治医に提供し、診療に活用することは妨げない。また、平成27年4月1日発効の倫理指針に則って倫理審査承認されていない医療機関、文書同意取得していない主治医との共同研究は実施しない、あるいは停止/中止する。

倫理規定の遵守：新GCPの倫理規定(1997)を遵守して施行する。作成された統一の研究計画書の内容に関し原則として各施設ごとで倫理委員会の承認を得る。倫理委員会のない施設は、山形大学あるいはグローバル倫理審査機関に外部審査を委託する。

臨床研究参加における任意性の確保：本臨床試験への自発的意志に基づき同意が得られた症例のみを対象とする。なお、研究過程の如何なる時点における離脱も許容され、そのことにより診療上不利益を受ける事の無い旨明記する。

個人情報漏洩に対する防御：得られた情報は分類番号等を付して個人が特定されないように匿名化し、一意の者が厳重に管理する。

検体使用目的に関する制限：検体の売買あるいは

は検体の本研究目的以外の使用は、原則として行なわない。ただし、倫理審査委員会で承認された研究計画書に記述されている本疾患関連の実験的研究（学術的目的）、開発／実用化研究（医療、公衆衛生的目的）等はこの限りでない。

個人情報秘匿の担保：本研究で得られた成果の取り扱い個人情報保護法に準拠する。

情報開示義務：本研究で得られた情報は対象者が希望する場合、結果が得られているものについては知見解釈を含めて原則全面開示とする。

C. 研究結果

平成27年度：

臨床症例を調査し、各出血病毎の診断基準案、検査アルゴリズム案、診療指針案、JBATを用いた抗線溶薬の止血効果、治療方法評価案などを作成、検証した。

I. 広報活動

本事業の開始にあたり、平成27年5月にリーフレットを作製して全国調査再開の通知と共に2137件に配布した。また、10の関連学会の学術集会にリーフレットを送付して配布を依頼した。また、業績欄に記述した通り、14編の原著、総説を出版し、36回の学会講演、研究会発表などを実施し、本研究の対象疾患の広報、周知活動に努めた。その結果、論文や講演で知ったという前書きのある、症例の主治医からのコンサルテーションが増加しつつある。

なお、今年度中に、本冊子体報告書も後述する日本血栓止血学会 AH13 診断ガイド別刷と共に、全国に配布して、更に本出血症の周知に資する予定である。

II. 全国調査

平成27年10月に全国アンケート調査を実施し、2116件（30件無効）送付して485件（23.3%）の回答を得た。その内訳は、循環器内科、整形外科、救急部、皮膚科などの診療科は約20~33%の回収率で、個人の血液内科医などの回収率は約15%であった。出血症状のある症例の回答は52例であったが、血液内科医から約半数の25例で最多であった。

以上のように、合計52例の後天性出血症例が報告されたので、現在二次調査中である（最多はAHA疑い36症例、AH13疑い4症例、AVWD疑い3症例、その他4症例、不明5症例であった）。

III. 臨床症例研究

1) 事務局に直接相談があった症例の内、15例について統一特別委託検査（22項目）や実験的精密検査を実施した（平成28年2月4日現在）。今後、診断基準や治療ガイドの作成に活用するための基礎データとして集積中である。

本年度後半から、新たに事務局でも免疫学的に抗FVIII/8抗体検出を開始したところ、測定法に

よる抗体量の相違が認められたので、機能的測定法と比較してより合理的であるものを選定するために、引き続き検討中である。

各症例の調査票、JBATも症例の主治医から提出して頂いて、データを蓄積中である。

2) 分担研究については、研究分担者が後に記述する。

以上を合計すると、平成28年2月4日現在で74例が登録されている。なお、現在までにHAAFFD症例は発見されていない。

IV. 診断基準

1) AH13 診断基準研究班版改訂、日本血栓止血学会案策定、指定難病資料提出、治療指針案作成

1. AH13 診断基準研究班版改訂

班員のメール会議で、研究班案の文言の修正を提案し、了承された。

2. AH13 診断基準日本血栓止血学会案策定

研究班案を元にして、研究班員が参加している学会の診断基準作成委員会で基準を策定した。その後、委員会案は理事会で3回審議され、承認された。最終的に学会診断基準として、学会誌に発表された。

3. AH13 指定難病資料提出

研究班案の修正案を厚労省に再提出し、これが指定難病検討委員会で審議され、平成27年5月に最終的に採択された。その後、平成27年7月1日から公的医療費助成が開始されている。

4. AH13 治療ガイド試案作成

現在、研究班案が班員にメールで配布され、検討中である。

2) AVWS 参照ガイド刊行、診断基準案策定

1. AVWS 参照ガイド刊行

平成26年度末の作成委員会案を継続して検討し、改訂版を国内誌に投稿した。

2. AVWD 診断基準案策定・厚労省提出

本研究は、最終段階で「総合的」診療指針を作成することを目標にしているため、AH13 診断基準を適応して班員有志で研究班案を作成し、厚労省に提出した。現在、この研究班案の改訂を、メール会議で検討中である。

3) AHA 診療ガイドライン改訂への協力、指定難病基礎資料作成

1. AHA 診療ガイドライン改訂への協力

日本血栓止血学会の改訂委員会に研究班員が参加しており、改訂に協力した。改訂案を学会理事会で審議した結果、承認されたので、平成27年度補遺版として学会HPに掲載される予定である。

2. AHA 指定難病基礎資料作成・厚労省提出

本研究は、最終段階で「総合的」診療指針を作成することを目標にしているため、AH13 診断基準を適応して班員有志で研究班案を作成し、厚労省に提出した。現在、この研究班案の改訂を、メール会議で検討中である。

平成 28 年度：

多数の臨床症例を調査し、以下にまとめた通り各出血病毎の診断基準案、検査アルゴリズム案、診療指針案、JBAT、治療方法評価案などを作成、検証、改訂した。

1) AH13 診断基準研究班版を国際基準に改訂、日本血栓止血学会版一部改訂、治療指針研究班案から日本血栓止血学会版診療ガイド作成、指定難病改訂資料作成

2) 「AVWD を含む後天性 von Willebrand 症候群 (AVWS) 参照ガイド」刊行、診断基準案策定、指定難病資料作成

3) 日本血栓止血学会 AHA 診療ガイドライン改訂への協力、指定難病資料作成

なお、F5 インヒビター症例が初めて班研究で確定診断されたので、28 年度後半から対象疾患に追加して、より多くの F5 インヒビター疑い症例について調査した。

I. 広報活動

本事業の開始にあたり、平成 28 年 5 月にリーフレットを作製して全国調査再開の通知と共に 2130 件に配布した。また、7 つの関連学会の学術集会にリーフレットを送付して配布を依頼した。また、12 編の原著、総説を出版し、33 回の学会講演、研究会発表などを実施し、本研究の対象疾患の広報、周知活動に努めた。その結果、論文や講演で知ったという前書きのある、症例の主治医からのコンサルテーションが増加している。

なお、今年度は日本血栓止血学会 AH13 診療ガイド別刷をリーフレットとともに配布した。更に、来年度初めには AVWS 診療ガイド別冊を後述する日本血栓止血学会 AH13 診療ガイド別刷と共に全国に配布して、更に本出血症の周知に資する予定である。

II. 全国調査

平成 28 年 10 月に全国アンケート調査を実施し、2130 件 (38 件返送) 送付して 459 件 (21.9%) の回答を得た。循環器内科、整形外科、救急部、皮膚科などの診療科は約 18~33% の回収率で、個人の血液内科医などの回収率は約 15% であった。出血症状のある症例の回答は 32 例であったが、血液内科医から半数の 16 例で最多であった。

以上のように、合計 32 例の後天性出血症例が報告されたので、二次調査中である。

III. 臨床症例研究

1) 事務局に直接相談があった症例の内、19 例について統一特別委託検査 (26 項目) や実験的精密検査を実施した (平成 29 年 3 月 31 日現在)。今後、診断基準や治療ガイドの作成に活用するための基礎データとして集積中である。

平成 27 年度後半から、新たに事務局でも免疫学的に抗 FVIII/8 抗体検出を開始し、今年度も継続して、AHA の診断と治療における抗 FVIII/8 抗体量測定の意義と有用性を検討中である。

各症例の調査票、JBAT も症例の主治医から提出して頂いて、データを蓄積中である。

2) 分担研究については、研究分担者が後に記述する。

IV. 診断基準、診療ガイドなど

1) AH13 診断基準研究班版を国際基準に改訂、日本血栓止血学会版一部改訂、治療指針研究班案から日本血栓止血学会版診療ガイド作成、指定難病改訂資料作成

1. 国際 AH13 診断基準刊行 (平成 28 年 9 月)

AH13 診断基準研究班改訂版を 2015 年 6 月にトロントでの国際血栓止血学会科学及び標準化委員会第 XIII/13 因子と FIBRINOGEN 小委員会で国際基準として本研究代表が提案し、審議の結果採択された。それを研究代表者が小委員版として英文化し、血栓止血領域の国際雑誌 THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS に発表した。

2. AH13 診断基準日本血栓止血学会版一部改訂と治療指針研究班案から日本血栓止血学会版診療ガイド作成

研究班案を元にして作成した AH13 診断基準日本血栓止血学会版を研究班員が参加している学会の診療ガイド作成委員会 (本研究班代表が委員長) で改訂するとともに、研究班案を元にして作成した AH13 治療ガイドと統合して、AH13 診療ガイドを策定した。委員会案は理事会で 3 回審議され、パブリックコメントを経て承認され、最終的に学会 AH13 診療ガイドとして、学会誌平成 29 年 6 月号に発表される予定である。その別冊を来年度の初めに新しい広報リーフレットとともに全国に配布する予定である。

3. AH13 指定難病改訂

平成 27 年 7 月 1 日から公的医療費助成開始されている指定難病 288 AH13 の改訂について厚労省から依頼があり、研究分担者と研究協力者のメンバーでワーキンググループを作って資料を作成、提出した。その後、後述するように指定難病検討委員会から新規に提案した 2 凝固難病との統合を要請され、指定難病 288 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症のうちの 288-1 AH13 とすることとなった。この修正案を厚労省に再提出し、指定難病検討委員会で審議され、最終的に決定された。

2) AVWD を含む後天性 von Willebrand 症候群 (AVWS) 参照ガイド刊行、診断基準案策定と厚労省指定難病採択

1. AVWS 参照ガイド刊行

平成 26 年度末の研究班作成委員会案を一部修正した改訂版を、発行部数の多い国内医学雑誌である「最新医学」に投稿し、平成 28 年 4 月に発刊された。その別冊を来年度の初めに新しい広報リーフレットとともに全国に配布する予定である。

2. AVWD 診断基準案策定・厚労省提出と厚労省指定難病採択

本研究は、最終段階で「総合的」診療指針を作成することを目標にしているため、AH13 診断基準を適応して作成し、平成 27 年 11 月厚労省に提出していた研究班案に対して、平成 28 年 9 月に指定難病検討委員会から他の 2 凝固難病

との統合を要請され、指定難病 288 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症のうちの 288-3 自己免疫性後天性 von Willebrand 因子欠乏症（あるいは AVWD）とすることとなった。この修正案を厚労省に再提出し、指定難病検討委員会で審議され、最終的に決定された。その後、平成 29 年 4 月 1 日から公的医療費助成が開始されている。

3) 日本血栓止血学会 AHA 診療ガイドライン改訂への協力、厚労省指定難病採択

1. AHA 診療ガイドライン改訂への協力

平成 27 年 9 月に日本血栓止血学会の改訂委員会が発足したので、その委員に研究班員を推薦して、改訂に協力している。委員会案が完成し次第、理事会で審議され、承認後は学会 HP に掲載される予定である。

2. AHA 厚労省指定難病採択

本研究は、最終段階で「総合的」診療指針を作成することを目標にしているため、AH13 診断基準を適応して作成し、平成 27 年 11 月厚労省に提出していた研究班案に対して、平成 28 年 9 月に指定難病検討委員会から他の 2 凝固難病との統合を要請され、指定難病 288 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症のうちの 288-2 自己免疫性後天性第 VIII/8 因子欠乏症（あるいは AHA）とすることとなった。この修正案を厚労省に再提出し、指定難病検討委員会で審議され、最終的に決定された。その後、平成 29 年 4 月 1 日から公的医療費助成が開始されている。

平成 29 年度：

I. 広報活動

本事業の開始にあたり、平成 29 年 5 月に全国調査再開の通知と共にリーフレットを 2097 件に配布した。また、9 つの関連学会の学術集會にリーフレットを送付して配布を依頼した。また、業績欄に記述した通り、7 編の原著、総説を出版し、22 回の学会講演、研究会発表などを実施し、本研究の対象疾患の広報、周知活動に努めた。

なお、同時に日本血栓止血学会 AH13 診療ガイド別刷を全国に配布して、更に本出血症の周知に努めた。

II. 全国調査

平成 29 年 10 月に全国アンケート調査を実施し、2097 件送付して 388 件(18.9%)の回答を得た。その内訳は、循環器内科、整形外科、救急部、皮膚科などの診療科は約 15-35%の回収率で、個人の血液内科医などの回収率は約 11%であった。出血症状のある症例の回答は 33 例であったが、血液内科医から 12 例で最多であった。

以上のように、合計 31 例の後天性出血症例が報告されたので、二次調査中である。

III. 臨床症例研究

1) 事務局に直接相談があった症例の内、23 例について統一特別委託検査や実験的精密検査を実施した(平成 30 年 3 月 31 日現在)。今後、診断基準や治療ガイドの作成に活用するための基礎データとして集積中である。

平成 27 年度後半から、新たに事務局でも免疫学的に抗 FVIII/8 抗体検出を開始し、今年度も継続して、AHA の診断と治療における抗 FVIII/8 抗体量測定の意義と有用性を検討中である。

各症例の調査票、JBAT、出血重症度分類も症例の主治医から提出して頂いて、データを蓄積中である。

なお、年度の途中から AF10D に関する検査を追加したので、統一特別委託検査は 28 項目に増加した。

2) 分担研究については、研究分担者が個別に記述する。

IV. 各疾患のまとめ

1) AH13

今年度は 14 名の AH13 症例が新規に報告され、4 名の AH13 症例が新たに診断されたので、これまでにわが国だけで 67 症例の AH13 が確認された。診断時の平均年齢は 70.1 歳と高齢者に多く、やや男性が多い。海外では 38 例で、やや女性が多い。予後は良くない。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。

2) AHA

今年度は 14 名の AHA 症例が新規に報告された。我が国全体の AHA 症例の総数は不明であるが、人口 193 万人の県でこれまでに 29 症例が診断されているので、1,500 名以上は発症しているものと推定される。本研究班による全国アンケート調査でも 2014 年度は 15 例、2015 年度には 33 症例の回答があり、最も多い自己免疫性凝固因子欠乏症であることは確実である。2015 年度の症例の初期死亡率は 21%と高く、出血死よりも免疫抑制療法中の感染死が多いので、AHA の診療には細心の注意が必要なことを示している。

3) AVWD

今年度は 1 名の AVWD 症例が新規に報告された。後天性 VWF 欠乏症の多くは二次性 VW 症候群で、研究班による論文と学会抄録の詳細な検討、実験的精密検査によって確認された AVWD 症例は 31 名である。男性 14 名、女性 17 名で、平均年齢は 54.1 (12~84) 歳、中央値は 58 歳であった。基礎疾患は、なし、自己免疫性疾患、骨髄増殖性疾患、リンパ増殖性疾患(MUGS を含む)が多かった。VWF 抗原量平均 26.1%、VWF 活性平均 9.0%、比活性平均 0.34 で、F8 活性平均 14.7%であった。半数は改善(回復)しており、死亡者は 1 名で誤嚥性肺炎が原因であった。我々が知る限り出血死した症例は無いので、本疾患の出血症状は、AH13 や AHA に比較して軽症である可能性がある。

4) AF5D

今年度は 3 名の AF5D 症例が新規に報告された。これまでの研究班による論文と抄録の検討、実験

的精密検査によって確認された AVWD 症例は 100 名で、男性 74 名、女性 26 名と男性が多い(約 3:1)、平均年齢は 70.9 (42~93) 歳で、中央値 72.5 歳である。平均 F5 活性は 3.4(0.6-14)%、平均 PT は 56.7(19.2-142)秒、平均 APTT は 125.6(35-400)秒、インヒビター力価は 19.9(0.7-1500)BU/mL である。出血症状は尿路出血や消化管出血が多いが、頭蓋内出血(6 例)など致命的出血も少なくない。従来の「軽症の出血傾向」という評価とは異なり、死亡した症例(12%)の半数は出血死であるので、認識を改めることを研究班は提唱している。一方、無治療と明記された 1 例以外にも記載無しの 47 例があり、経過観察のみの症例も多いものと推察される。

5) AF10D

今年度に後天性 F10 欠乏症の 80 代女性症例の相談があり、F10 活性は 1%未満と著減していたが、F10 活性の交差混合試験は欠乏パターン、F10 インヒビターは検出感度以下であった。ところが、研究班の実験的精密検査で ELISA により IgG 型抗 F10 自己抗体が同定され、AF10D と確定診断された。そこで、綿密に文献検索したところ、F10 インヒビター陽性で抗 F10 抗体が証明されているのは 5 症例しか論文報告されておらず、全て海外の症例であった。また、F10 インヒビター陽性であるが抗 F10 抗体検出検査がされていない症例も 14 例報告されており、中和型抗 F10 抗体が原因の AF10D である可能性が高い。これらも全て海外の症例である。

一方、F10 インヒビター陰性の重度の後天性 F10 欠乏症は 13 例報告されており、我が国の 2 症例が含まれる。少なくともこれらの症例の一部は非中和型の抗 F10 自己抗体が原因の AF10D であると思われる、より多くの症例が見逃されている可能性がある。

6) 本研究による全国調査活動をまとめた「我が国における自己免疫性凝固因子欠乏症の実態と診療ガイド」を、総説として日本血栓止血学会誌に寄稿したので(資料)、本疾患群に対する理解が更に深まることが期待される。

V. 診断基準、診療ガイドなど

1) 指定難病検討委員会の要請に応じて統合した 3 凝固難病 (AH13、AHA、AVWD; 厚労省指定難病「自己免疫性凝固因子欠乏症 288-1, 288-2, 288-3」) の概要と診断基準を改訂した。

2) AF5D の指定難病基礎資料を作成して厚労省に提出し、平成 30 年 4 月 1 日から厚労省指定難病「自己免疫性凝固因子欠乏症 288-4」として新規に公的医療費助成の対象となった。

3) 指定難病検討委員会の要請に応じて、これら 4 疾患の臨床調査個人票を統一することに協力した。

4) AH13 治療指針研究班案を元にした日本血栓止血学会 AH13 診療ガイドを作成して発刊した。なお、自己免疫性出血病検査アルゴリズム案を改訂し、AH13 診療ガイドの中に記載した。

5) 主要な研究班メンバーが日本血栓止血学会の「AHA 診療ガイドライン改訂委員会」に参加して、後天性血友病 A 診療ガイドライン 2017 年改訂版を発刊した。

D. 考察

平成 27 年度:

1) AH13

事務局に直接相談のあった症例に統一特別委託検査や実験的精密検査を実施したが、今年度新しく確定診断された AH13 症例は僅か 2 名に過ぎない(平成 28 年 2 月 4 日現在)。その内のある AH13 症例の主治医は、「平成 26 年度は後天性出血病の全国調査が中断されていたので、症例相談を保留していた」とのコメントを寄せておられるので、昨年度相談症例数が激減した原因の一つであると推測される。全国調査再開を通知する文書とリーフレットを配布したり、全国アンケート調査を実施したものの、まだ十分に周知されていない可能性もある。また、厚労省指定難病 288 の診断基準において、「『ほぼ確定 probable』の症例を本疾患と診断する」と記述したため、F13 インヒビターを機能的検査で検出して、確定診断のための免疫学的な自己抗体検出を省略している可能性もあり、事務局への相談を妨げている要因となっているものと思われる。自己抗体の産生を停止させて根絶しなければ、完全寛解とはならないので、今後、正しい理解を広げて行く必要がある。

AH13 の確定診断法の詳細については、研究分担者の各論的な報告書に譲るが、新しい検査診断のアルゴリズム(総説 4 の図 3) で実施しており、現時点では自己抗体のターゲットの違いや性状によって複数の検査が必要である。本研究とは異なるが、日本医療開発研究機構 (AMED) の実用化事業において、今後も検査技術の開発を推進することが求められている。

AH13 の診断については、研究班の診断基準を元にして、日本血栓止血学会の診断基準が作成され、刊行されたので、今後、徐々に全国に広まって行くことが期待される。従って、厚労省指定難病 288 として診断されて、公的医療費助成の対象となり、経済的に救済される症例が増えると思われる。

しかし、治療についての指針は、本研究班の前身が平成 24~25 年度総合研究報告書に原案を記載した後、組織的に検討が加えられていないままである。症例の主治医から、診断についてと同時に治療についての相談もあるので、治療ガイドも必要であるのは明白であり、前述した原案を一部修

正して、本研究班としての治療ガイド試案を作成する試みを早急に開始する。

なお、平成 28 年 1 月末に、日本血栓止血学会に AH13 診断ガイド作成委員会が設立されたので、本研究班の治療ガイド案を叩き台として提供する予定である。

特に、治療効果判定、寛解判定、経過観察などについて、F13 阻害能以上に抗体量が重要であると予想されているが、基礎的なデータの蓄積が必要である。これまでの症例の追跡調査を実施して、寛解、再燃などの実態も明らかにする必要がある。

2) AVWD

本研究の対象疾患の内でも、AVWD はその実態が不明な疾患の最たるものである。昨年度の相談症例数は 0 名であったが、今年度は疑い症例が事務局で 1 例、名古屋大で 5 例と、(平成 25 年度以前と比較して) やや回復した。富山大学での文献検索ではより多数の症例がヒットしているので、今後も広報活動を推進して新規症例の発見に努めて、本疾患の実態を解明し、その診療の改善と均てん化に繋げる必要がある。

3) AHA

「AHA 疑い」症例のコンサルテーションや全国アンケート調査など今年度前半の班研究で、同疾患症例が増えていることが明らかになっている。鹿児島大学での文献検索結果は 27 例と少ないが、本疾患は頻度が高いため、症例報告がされにくくなっているのが一因であろう。

なお、精査した AHA 症例の中には、免疫抑制薬の投与にも拘らず、遊離の中和型抗体が存続する例や、免疫複合体となっている抗体が残存する例もあることが判明した。そこで、これまでは、本研究の統一特別委託検査では FVIII/8 活性を指標にした機能的検査 (FVIII/8 インヒビター測定) のみを診断に用いてきたが、今年度の後半からは事務局でも本疾患の原因である抗 VIII/8 自己抗体自体を測定することとした。この試みにより、これまで自己抗体を測定してきた北海道医療大学、鹿児島大学のデータに加えて、より多くの基礎データを蓄積して、本疾患の実態調査と病態の理解を推進し、成果を臨床に迅速に還元して診療を改善することが可能になると期待される。

これらの活動の成果を総合して、最終的な目的である本疾患の「診断と治療の指針作成」のために活用する予定である。

4) HAAFFD (出血性後天性抗線溶因子欠乏症)

2009 年に全国調査を開始して以来、抗線溶因子自己抗体が検出された症例は皆無であり、偶然、先天性症例が発見されたのみなので、本研究の方針を見直す時期にある。特に、統一特別委託検査の内、PAI-1 については以前から感度に疑問があると指摘されているので、来年度からは「高感度 PAI-1 測定法」を開発した浜松医大の岩城博士に研究分担者として参加して頂き、本研究の弱点の一つを強化することとした。

従って、平成 28、29 年度の 2 年間の調査活動により、世界で初めて HAAFFD が我が国で発見さ

れる可能性がある。

5) その他:

初年度は、研究協力者の施設に予め「統一特別委託検査」の採血キットを配布して、必要に応じて使用して頂く体制を整備した。しかし、採血キットの一部に使用期限があり、年度の途中で差し替えが必要であるため、作業の手間、時間、費用が発生することが判明した。このことは、本研究の予算を確実に圧迫するので、来年度からは新規に症例が発生した時に事務局に連絡して頂き、必要に応じて発送するシステムに変更する(経費節減のため平成 27 年末から実施している)。

平成 28 年度:

1) AH13

昨年度末から、過去に班研究で確認された AH13 症例の追跡調査を実施して、中間まとめを行ったところ、発症初期(受診/入院直後を含む)に出血死する例が多いこと、初期の救命に成功した場合はその 2、3 年後に原疾患であるガンや感染症、その他の生活習慣病などで死亡することが多いこと、その後寛解が続いても数年後から最長 10 年後に再燃して出血死する例があることなどが判明した。このことは、本疾患の原因が自己免疫不全であり、一時的には完全寛解しても治癒することがないことを如実に示しており、長期にわたり綿密な経過観察が不可欠であるという研究班の見解を支持するデータである。

また、F13 インヒビターは交差混合試験などの機能的検査で検出されるが、免疫学的な自己抗体検出も不可欠であり、自己抗体の産生を停止させて根絶して完全寛解を目指すのか、遊離型自己抗体の増加を抑制するマイルドな(緩和的)治療を選択するのか、という主治医と症例、その家族の判断を左右する重要な検査項目である。この点でも、正しい理解を広げて行く必要がある。

なお、研究代表者が日本医療開発研究機構 (AMED) の実用化事業で実施していた抗 F13-A サブユニット抗体検出イムノクロマトキットの開発は、残念ながら昨年度末で研究実施期間が終了した。今後は何らかの新規の研究資金を得て、キットを完成し、市販することが望まれる。

長らく主治医の皆さんから待望されてきた本疾患の治療についての指針は、本研究班案を元にして日本血栓止血学会 AH13 診療ガイド作成委員会(委員長は研究班代表で、委員は研究班員)が診療ガイドを完成したので、早晚、学会誌に発表される予定である。来年度の広報リーフレットとともにその別冊を送付するので、是非とも活用して頂きたい。

2) AVWD

本研究の対象疾患の内でも、AVWD はその実態が不明な疾患の最たるものである。今年度は本疾患疑いの相談症例数が事務局で 1 例、名古屋大で 5 例であった。山形大学でも医学中央雑誌や PUBMED を利用して綿密に文献検索をして逐一精密に読解したところ、研究班の症例を含めると国内で合計 31 症例が確認された。今後も広報活動を推進

して新規症例の発見とエビデンスの蓄積に努め、本疾患の実態を解明して、その診療の改善と均てんに繋げる必要がある。

3) AHA

「AHA 疑い」症例のコンサルテーションや全国アンケート調査で同疾患症例が増えていることが、これまでの班研究で明らかになっている。鹿児島大学での検索結果では平成 28 年 1 年間で 42 例とされており、平成 27 年度のアンケート調査で回答のあった 33 名より増加しているが、本疾患は頻度が高いため、症例報告がされにくくなっていると推定されるので、実際にはこれよりも多い可能性がある。

なお、精査した AHA 症例の中には、免疫抑制薬の投与にも拘らず、遊離の中和型抗体が存続する例や、免疫複合体となっている抗体が残存する例もあることが判明した。そこで、これまで、本研究の統一特別委託検査では FVIII/8 活性を指標にした機能的検査 (FVIII/8 インヒビター測定) のみを診断に用いてきたが、平成 27 年度の後半からは事務局でも本疾患の原因である抗 VIII/8 自己抗体自体を測定することとしている。この試みにより、これまで自己抗体を測定してきた北海道医療大学、鹿児島大学のデータに加えて、より多くの基礎データを蓄積して、本疾患の実態調査と病態の理解を推進し、成果を臨床に迅速に還元して診療を改善することが可能になると期待される。

これらの活動の成果を総合して、最終的な目的である本疾患の「診断と治療の指針作成」のために活用する予定である。

4) HAAFFD (出血性後天性抗線溶因子欠乏症)

2009 年に全国調査を開始して以来、抗線溶因子自己抗体が検出された症例は皆無であり、偶然、先天性欠乏症例が発見されたのみなので、本研究の方針を見直す時期にある。そこで、統一特別委託検査の PAI-1 については以前から感度に疑問があることが指摘されていたので、今年度は「高感度 PAI-1 測定法」を開発した浜松医大の岩城博士に研究分担者として参加して頂き、本研究の弱点の一つを強化した。

しかるに、平成 28 年度の 1 年間の調査活動によっても HAAFFD 症例は発見されず、少なくとも我が国では本疾患の症例はほとんど発生していない可能性が高い。貴重な税金を使用する調査活動なので、来年度からは班研究の主な標的から一段ランクを下げざるを得ないであろう。ただし、26 項目の検査リストには α_2 PI とともに PAI-1 が含まれているので、今後もスクリーニング検査は残されることになる。

5) AF5D

今年度、班研究として第 1 例の F5 インヒビター症例を確定診断した。これを契機に綿密な文献検索を実施したところ、国内のみでも約 100 名の症例が存在していることが判明した。これは最も多い AHA に次ぐ症例数であり、その実態調査を継続するのみならず、診断基準や診療指針を作成す

る必要がある。また、可及的速やかにエビデンスをまとめ上げて、自己免疫性凝固因子欠乏症の一つとして厚労省指定難病に追加することが望ましい。

6) その他:

27年度は、研究協力者の施設に予め「統一特別委託検査」の採血キットを配布して、必要に応じて使用して頂く体制を整備した。しかし、採血キットの一部に使用期限があり、途中で差し替えが必要で、作業の手間、時間、費用が発生することが判明した。これは、研究予算を確実に圧迫するので、28年度からは新規に症例が発生した時点で事務局に連絡して頂き、必要に応じて発送するシステムに変更した(経費節減のため平成27年末から実施した)。そのため、最初の相談から統一特別委託検査の結果が届くまでの時間が長くなってしまっているのが問題である。

平成 29 年度:

I. AH13

AH13 症例は保険適応のある副腎皮質ステロイド薬を経口投与されていることが多く、1ヶ月投与して効果が認められなければ、サイクロフォスファミドやサイクロスポリン A などの免疫抑制薬に変更したり、併用したりされている(ステップアップ療法)。治療抵抗性で慢性化したり、いったん寛解しても再燃する症例が少なくないので、研究班では最初からステロイドパルス療法やリツキシマブ投与を考慮するよう推奨している(トップダウン療法)が、これらは保険適応外である。

今後班研究の実態調査の結果をまとめて、本疾患の最適な治療法を提唱することが望ましい。

II. AHA

これまでに研究班で精査した AHA 症例の中には、免疫抑制薬の投与にも拘らず、遊離の中和型抗体が存続する例や、免疫複合体となっている抗体が残存する例もあり、本研究では統一特別委託検査の FVIII/8 活性を指標にした機能的検査 (FVIII/8 インヒビター測定) のみならず本疾患の原因である抗 VIII/8 自己抗体自体を測定している。この自己抗体の測定により、免疫抑制薬の効果判定や投与終了、退院/外来診療の可否をより科学的に判定することが可能になることが期待される。

III. AVWD

後天性 VW 症候群症例は多いが、その中で AVWD は稀である。現時点では抗 VWF 抗体検出キットが市販されていないので、多くの症例が見逃されている可能性がある。

AVWD では、致命的な出血をする症例から自然に寛解に達する症例まで多彩であるが、治療に抵抗して長年にわたって遷延する症例も少なくない。さらに、いったん寛解した後に再燃する症例もあるので、定期的検査を含む長期間の経過観察が必要である。

IV. AF5D

昨年度、研究班に70代女性のF5インヒビター疑い症例の相談があり、実験的精密検査でIgG型抗F5抗体が同定されたので、AF5Dと確定診断された。その後4例のF5インヒビター疑い症例が続いたので、概要と臨床調査個人票を提出し、厚労省指定難病288-4として採択された。

本疾患は自然に寛解に達する症例から致死的な出血をする症例まで多彩であり、治療に抵抗して長年にわたって遷延する症例も少なくない。さらに、いったん寛解した後には再燃する症例も報告されているので、定期的検査を含む長期間の経過観察が必要である。なお、偶然発見された無症状の症例でも、将来出血症状が現われる可能性があるため、定期的な経過観察が必要である。

我が国には、AHAに次ぐ頻度で多発していると推察されるので、今後も重点的に調査したい。

V. AF10D

前述したように、より多くのAF10D症例が見逃されていると思われるので、2018年度からの新規の班研究では全国調査対象疾患に新たに追加する予定である。なお、ほとんどのAF10DあるいはAF10D疑い症例では、何らかの出血症状があるので、調査研究の進捗状況に応じて新しい指定難病288-5として追加採用を申請し、「公平な支援」による診療の均てん化に貢献したい。

VI. その他の自己免疫性凝固因子欠乏症

第VII/7因子や第IX/9因子などその他の凝固因子の自己免疫性欠乏症も発生していると予想されるが、我々が知る範囲では症例報告の論文はほとんどない。少なくともビタミンK依存性凝固因子には相同性があり、分子量/表面積も似ているので、抗F10抗体と同様に自己抗体が生じる可能性は否定できない。事実、プロトロンビン、F10、F9に交差反応する自己抗体の報告もあるので、今後も注意を払う必要がある。

以上をまとめると、我が国における自己免疫性凝固因子欠乏症の症例数は、多い方からF8、F5、F13、VWF、F10の順である。原因不明の後天性出血症の診療に当たる際は、このことを念頭におくことを推奨する。

E. 結論

平成27年度：

1年間のブランクはあったものの、研究体制、主治医ネットワークなどが健在であったので、広報活動、全国調査、臨床症例研究、診療ガイドライン関係の各実施計画は、スムーズにスタートし、順調に進捗している。来年度からも、実施計画に沿いつつ、臨機応変に修正を加えながら、当初の目標を達成するために邁進する。

平成28年度：

2つの凝固難病を新しく厚労省指定難病に追加

するのみならず指定難病検討委員会の要請に応じて3疾患の統合を実現し、更に国際AH13基準を刊行するなど、国内外で班研究の成果を挙げることができた。研究体制、主治医ネットワークなども強化され、広報活動、全国調査、臨床症例研究、診療ガイドライン関係の各実施計画も、スムーズに且つ順調に進捗している。来年度も、当初の実施計画に従いつつも、F5インヒビターの調査を強化するなど臨機応変に修正を加えながら、最終目標を達成するために邁進する。

平成29年度：

凝固難病AF5Dを新しく厚労省指定難病に追加するのみならず指定難病検討委員会の要請に応じて従来の3疾患の概要と診断基準を改訂し、更にAH13診療ガイドを刊行するなど、大いに班研究の成果を挙げることができた。研究体制、主治医ネットワークなども強化され、広報活動、全国調査、臨床症例研究、診療ガイドライン関係の各実施計画も、スムーズに且つ順調に進捗した。来年度からは、新規の班研究の中でAF10Dの調査活動を強化しながら、自己免疫性凝固因子欠乏症診療の均てん化を達成するために邁進したい。特に、自己免疫性出血難病の予後を改善するためには、臨床現場迅速試験(point of care test; POCT)の普及による「正確かつ早期の診断」と自己抗体根絶のための最適な免疫抑制療法の確立が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

山形大学分のみをまとめた。他の研究機関のものも、それぞれの分担研究報告書に記載した。

平成27年度：

1. 論文発表

(原著)

1. Souri M, Osaki T, Ichinose A. Anti-factor XIII A subunit (FXIII-A) autoantibodies block FXIII-A₂B₂ assembly and steal FXIII-A from native FXIII-A₂B₂. J Thromb Haemost. 2015 May;13(5):802-14.
2. Souri M, Osaki T, Ichinose A. The Non-catalytic B Subunit of Coagulation Factor XIII Accelerates Fibrin Cross-linking. J Biol Chem. 2015 May 8;290(19):12027-39.
3. Osaki T, Sugiyama D, Magari Y, Souri M, Ichinose A. 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 May 26;113(6):1347-56.
4. Kotake T, Souri M, Takada K, Kosugi S, Nakata S, Ichinose A. Report of a patient with chronic intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-factor XIII/13 antibodies who died of hemorrhage after sustained clinical remission for 3 years. *Int J Hematol.* 2015 Jun;101(6):598-602.
 5. 井原章裕, 鈴木伸明, 松下 正, 一瀬白帝: ITP に合併した抗 VWF 抗体による 76 歳後天性 von Willebrand 症候群. *臨床血液* 2015 Jul;56(7): 901-4.
 6. Uchida E, Watanabe K, Arai R, Yamamoto M, Souri M, Osaki T, Ichinose A, Miura O, Koyama T. Autoimmune Hemorrhaphilia Resulting from Autoantibody against the A Subunit of Factor XIII. *Intern Med.* 2015;54(18):2383-7.
 7. Ichinose A, Osaki T, Souri M; Japanese Collaborative Research Group (JCRG) on AH13 (supported by the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare). Clinical features of 32 new Japanese cases with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. *Haemophilia.* 2015 Sep;21(5):653-8.
 8. Yoshida T, Souri M, Osaki T, Saito S, Meijers JC, Kurachi H, Ichinose A. The plasma levels of protein Z-dependent protease inhibitor increase after gynecological surgery independently of estrogen. *Thromb Res.* 2015 Nov;136(5):980-6.
 9. Kojima M, Ichinose A, Souri M, Osaki T, Kawai H, Amaki J, Numata H, Miyamoto M, Ogiya D, Tsuboi K, Ogawa Y, Ozawa S, Ando K. Successful bypass surgery for esophageal carcinoma under adequate factor XIII/13 replacement therapy in a case of intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-Factor XIII/13 antibodies. *Int J Hematol.* 2015 Nov 30. [Epub ahead of print]. doi: 10.1007/s12185-015-1917-7
 10. 柳澤邦雄, 小川孔幸, 三井健揮, 野口紘幸, 清水啓明, 石崎卓馬, 半田 寛, 家子正裕, 一瀬白帝, 野島美久. 併存する食道癌に対する放射線治療後に寛解に至った後天性血友病の一例. *臨床血液*. 2016; in press.
 11. 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内藤千晶, 三原正大, 半田 寛, 静 怜子, 井上まどか, 内藤澄悦, 家子正裕, 一瀬白帝, 野島美久. 免疫性血小板減少症の治療中に発症した後天性血友病 A に関する検討. *臨床血液*. 2016; in press.
- (総説)
1. 一瀬白帝: オーバービュー. 鈴木重統, 後藤信哉, 松野一彦編集, *止血・血栓ハンドブック*. 2015; 2-11 (2015年4月24日発行)
 2. 一瀬白帝: プロテイン Z 依存性プロテアーゼインヒビターの構造と機能. *日本血栓止血学会誌*. 2015; 26(3): 330-8 (2015年6月1日発行)
 3. 一瀬白帝, 丸山征郎: 止血機構と血栓症 オーバービュー. 一瀬白帝, 丸山征郎, 内山真一郎 編著, *新・血栓止血血管学 分冊 1: 血管と血小板*. 京都; 株式会社金芳堂, 2015: 1-14 (2015年8月1日発行)
 4. 一瀬白帝: 凝固線溶系因子の名称と国際疾病分類. 一瀬白帝, 丸山征郎, 内山真一郎 編著, *新・血栓止血血管学 分冊 1: 血管と血小板*. 京都; 株式会社金芳堂, 2015: 19-27 (2015年8月1日発行)
 5. 一瀬白帝: フィブリノゲンと第 XIII/13 因子の分子病態. 一瀬白帝, 丸山征郎, 家子正裕 編著, *新・血栓止血血管学 分冊 2: 凝固と炎症*. 京都; 株式会社金芳堂, 2015: 8-19 (2015年9月1日発行)
 6. 一瀬白帝: 自己免疫性出血病 XIII/13 と出血性後天性第 XIII/13 因子欠乏症. 一瀬白帝, 丸山征郎, 家子正裕 編著, *新・血栓止血血管学 分冊 2: 凝固と炎症*. 京都; 株式会社金芳堂, 2015: 115-125 (2015年9月1日発行)
 7. 一瀬白帝: 後天性出血(血友)病の病態と診断. *The Word on Hematology* 2015; 1: 4-5. (2015年9月)
 8. 一瀬白帝: 線溶系 オーバービュー. 一瀬白帝, 丸山征郎, 和田英夫 編著, *新・血栓止血血管学 分冊 3: 抗凝固と線溶*. 京都; 株式会社金芳堂, 2015: 115-125 (2015年10月1日発行)
 9. 一瀬白帝: 後天性第 XIII/13 因子欠乏症の診断と治療 - 全ての難病指定医のために -. *臨床血液* 2015; 56(10):2110-22. (2015年10月)
 10. 自己免疫性出血病 FXIII/13 日本血栓止血学会診断基準作成委員会(一瀬白帝, 和田英夫, 惣宇利正善, 橋口照人, 矢富 裕, 小川孔幸, 北島 勲, 朝倉英策, 岡本好司, 家子正裕, 山本晃士, 江口 豊): 自己免疫性出血病 FXIII/13 診断ガイド. *日本血栓止血学会誌*. 2015; 26(6): 658-68 (2015年12月)
2. 学会発表 (国際学会)

1. Ichinose A: A Historic Recollection of Factor XIII Research. The XXV(25)th International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) Congress with 61st Annual Scientific and Standardization Committee (SSC) Meeting, SSC Subcommittee Sessions (Factor XIII and Fibrinogen), Metro Toronto Convention Centre (MTCC) (Toronto, Canada); June 20-25, 2015
 2. Sourì M, Osaki T, Ichinose A: Development of a novel assay method of coagulation factor XIII activity for the detection of its inhibitor in plasma (OR250). The 25th International Society on Thrombosis and Haemostasis (XXV ISTH) Congress and 61st Annual Scientific and Standardization Committee (SSC) Meeting, Metro Toronto Convention Centre (MTCC), Toronto, Canada, June 20-25, 2015.
- (国内学会：特別講演等)**
1. 一瀬白帝：後天性第XIII因子欠乏症．第37回日本血栓止血学会学術集会 教育講演，甲府市総合市民会館（山梨）；2015年5月21～23日
 2. 一瀬白帝：von Willebrand 因子(vWF)の機能と後天性 von Willebrand 症候群（AVWS）．第47回日本動脈硬化学会総会・学術集会 シンポジウム1（動脈硬化に起因する大動脈弁狭窄症をめぐる最近の進歩），仙台国際センター（仙台）；2015年7月9～10日
 3. 一瀬白帝：後天性第XIII/13因子欠乏症の診断と治療 - 全ての難病指定医のために- ．第77回日本血液学会学術集会 教育講演，石川県立音楽堂、他（金沢市）；2015年10月16～18日（教育講演は10月16日）臨床血液 2015；56(10):2110-22, 2015年10月
 4. 一瀬白帝，小嶋聡一，人見清隆：医科学へ進歩し続けるトランスグルタミナーゼ研究．BMB2015（第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会）ワークショップ（2W26-p），神戸ポートアイランド（神戸）；2015年12月1～4日
 5. Sourì M, Osaki T, Ichinose A: Overlooked role of the non-catalytic B subunit for coagulation factor XIII (plasma transglutaminase) in fibrin cross-linking. BMB2015（第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会）ワークショップ（2W26-p-3），神戸ポートアイランド（神戸）；2015年12月2日
- (国内学会：一般演題)**
1. 白澤由加里，井上澄子，藤澤慶子，宮原祥子，福澤正男，惣宇利正善，尾崎司，一瀬白帝：異なる原因で発症した出血性後天性FXIII欠乏症
 - 2 症例の確定診断的検査の重要性．第64回日本医学検査学会 血液17 No.64，福岡国際会議場（福岡）；2015年5月16～17日 医学検査 2015；64(別冊)：64 (2015.05)
 2. 竹内一夫，沼田 修，惣宇利正善，一瀬白帝．出生時より広範囲な脳出血を認めた複合ヘテロ接合体による重症型プロテインC欠乏症の新生児例．第37回日本血栓止血学会学術集会（0-005），甲府市総合市民会館（山梨県甲府市）；2015年5月21～23日 日本血栓止血学会誌 2015；26(2)：179 (2015.04)
 3. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：先天性プロテインC欠損症の新生児例で同定された触媒残基 Asp299Asn(D299N)変異体の解析．第37回日本血栓止血学会学術集会（0-006, P-005），甲府市総合市民会館（山梨県甲府市）；2015年5月21～23日 日本血栓止血学会誌 2015；26(2)：179 (2015.04)
 4. 尾崎 司，惣宇利正善，一瀬白帝：先天性プラスミノゲン欠損症例における代替的線溶経路に關与するプロテアーゼの検索．第37回日本血栓止血学会学術集会（0-041），甲府市総合市民会館（山梨県甲府市）；2015年5月21～23日 日本血栓止血学会誌 2015；26(2)：197 (2015.04)
 5. 津田麻理子，喜安純一，杉尾勝代，日高大輔，池田元彦，藤岡絵里子，惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：自発性脾破裂を契機に診断され、肝動脈解離を併発した出血性自己免疫性第13因子欠乏症の一例．第37回日本血栓止血学会学術集会（0-054, P-038），甲府市総合市民会館（山梨県甲府市）；2015年5月21～23日 日本血栓止血学会誌 2015；26(2)：203 (2015.04)
 6. 後藤あずさ，柳澤邦雄，小川孔幸，三井健揮，野口紘幸，内藤千晶，三原正大，清水啓明，石崎卓馬，半田 寛，家子正裕，一瀬白帝，野島美久．後天性血友病Aの急性期に食道癌への放射線治療を併用した一例．第37回日本血栓止血学会学術集会（0-055, P-030），甲府市総合市民会館（山梨県甲府市）；2015年5月21～23日 日本血栓止血学会誌 2015；26(2)：204 (2015.04)
 7. 来住 修，根津櫻子，惣宇利正善，尾崎 司，毛利 博，一瀬白帝：過多月経、貧血を呈した、持続性第13因子欠乏症とtype 1 von Willebrand 病(VWD)疑いの14才女児．第37回日本血栓止血学会学術集会（P-010），甲府市総合市民会館（山梨県甲府市）；2015年5月21～23日 日本血栓止血学会誌 2015；26(2)：234 (2015.04)
 8. 小川孔幸，柳澤邦雄，内海英貴，合田 史，石崎卓馬，半田 寛，惣宇利正善，尾崎 司，家子正裕，一瀬白帝，野島美久．当院における

- 後天性血友病 A 症例の診療経験．第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (P-031), 甲府市総合市民会館 (山梨県甲府市); 2015 年 5 月 21~23 日 日本血栓止血学会誌 2015; 26(2): 242 (2015.04)
9. 大塚泰幸, 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝, 錦織桃子, 高折晃史: 後天性血友病 XIII(13) が疑われた、播種性血管内凝固症候群を併発した慢性骨髄単球性白血病の一例．第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (P-039), 甲府市総合市民会館 (山梨県甲府市); 2015 年 5 月 21~23 日 日本血栓止血学会誌 2015; 26(2): 245 (2015.04)
10. 福澤正男, 三宅知美, 上條史尚, 妹尾紀子, 伊藤俊朗, 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝. 薬剤性過敏症症候群の治療中に発症した後天性血友病 13 の 1 例．第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (P-040), 甲府市総合市民会館 (山梨県甲府市); 2015 年 5 月 21~23 日 日本血栓止血学会誌 2015; 26(2): 245 (2015.04)
11. 三宅知美, 芦田敦子, 宇原 久, 奥山隆平, 福澤正男, 一瀬白帝. 皮膚癌の術後出血が診断の契機となった後天性 13 因子欠乏症の 1 例．第 114 回日本皮膚科学会総会 (P48-1), パシフィコ横浜 (横浜); 2015 年 5 月 29~31 日. 日本皮膚科学会雑誌 2015; 125(4): 955
12. 杉山大輔, 山本莉央, 曲 泰男, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 後天性自己免疫性血友病 FXIII(AHF13)迅速診断キットの検討．第 16 回日本検査血液学会学術集会 (口演), 名古屋国際会議場(名古屋); 2015 年 7 月 11~12 日 日本検査血液学会雑誌 2015; 16(学術集会): S153
13. 川野宏樹, 鈴木知秀, 石井慎一, 若橋香奈子, 川野裕子, 定 明子, 一瀬白帝, 片山義雄: 後天性出血症における臨床出血スコアと凝固第 13 因子活性の相関に関する単施設での後方視的解析．第 77 回日本血液学会学術集会 (OS-1-79), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日
14. 能野翔太, 山下浩司, 藤井由香里, 鈴木宗弘, 畑尾克裕, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 皮質ステロイド薬単独による免疫抑制療法で完全寛解が得られた後天性自己免疫性出血 (血友) 病 XIII/13. 第 77 回日本血液学会学術集会 (PS-1-265), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日
15. 岸本磨由子, 小川実加, 兼松 毅, 鈴木伸明, 松下 正, 清井 仁, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 膝関節置換術後の再発性出血で発症し、筋肉内出血を反復した後天性自己免疫性出血 (血友) 病 XIII/13 の一例．第 77 回日本血液学会学術集会 (PS-1-266), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日 臨床血液 2015; 56(9): 1654 (2015.09)
16. 小山田亮祐, 樋口敬和, 岡田 定, 島 彰吾, 藤井本晴, 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝: 凝固第 XIII/13 因子補充療法下で成功した自己免疫性出血病 XIII/13 症例における致死性脳出血の血腫摘出術．第 77 回日本血液学会学術集会 (PS-1-267), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日
17. 中村洋祐, 齊藤達也, 迎 純一, 半田 誠, 一瀬白帝, 山本 晃: 真性多血症の経過中に広範な皮下血腫を合併した後天性第 XIII 因子欠乏症の一例．第 77 回日本血液学会学術集会 (PS-1-268), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日 臨床血液 2015; 56(9) 1655 (2015.09)
18. 魚嶋伸彦, 一瀬白帝, 惣宇利正善, 尾崎 司, 伊佐玲子, 山口順子, 丹波和奈, 堤 康彦, 河田英里, 赤荻照章, 内山人二, 小林 裕: 先天性 XIII 因子 B サブユニット欠損症: 世界で 12 例目の症例報告．第 77 回日本血液学会学術集会 (PS-1-269), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日
19. 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内藤千晶, 半田 寛, 静 怜子, 井上まどか, 内藤澄悦, 家子正裕, 一瀬白帝, 野島美久: ITP の治療中に発症した後天性血友病 A に関する検討. 第 77 回日本血液学会学術集会 (PS-2-109), 石川県立音楽堂 ほか (石川県金沢市); 2015 年 10 月 16~18 日
- (研究会: 特別講演等)**
1. 一瀬白帝: 厚労省指定難病となった凝固異常症. 第 3 回血栓竹田フォーラム 特別講演, 竹田市総合社会福祉センター (大分); 2015 年 9 月 5 日
2. 一瀬白帝: 難治性後天性出血性疾患と闘う!. 第 1 回新潟血液凝固線溶研究会 特別講演, 新潟第一ホテル (新潟); 2015 年 9 月 12 日
3. 一瀬白帝: 苦節 12 年! 難病指定に至る道: AH13 の分子病態と検査. 第 50 回日臨技九州支部医学検査学会 特別講演, 城山観光ホテル (鹿児島); 2015 年 11 月 14~15 日 (講演は 14 日)
- (研究会: 一般演題)**
1. 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 後天性自己免疫性出血病 FXIII/13 の原因となる自己抗体のエピトープ解析 (0-13). 日本生化学会東北支部会第 81 回例会, 東北大学片平さくらホール (仙台); 2015 年 5 月 9 日
2. 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 指定難病「自己免疫性出血病 XIII/13」のイムノクロマ

ト法による確定診断．第1回山形県血液研究会，ホテルメトロポリタン山形（山形）；2015年9月25日

3. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：Overlooked role of the non-catalytic B subunit for coagulation factor XIII (plasma transglutaminase) in fibrin cross-linking（ポスター）．第18回トランスグルタミナーゼ研究会学術集会，理化学研究所 神戸事業所（神戸）；2015年12月4日
4. 尾崎 司，惣宇利正善，一瀬白帝：抗FXIII/13自己抗体の質量分析を用いたエピトープ解析（ポスター）．第18回トランスグルタミナーゼ研究会学術集会，理化学研究所 神戸事業所（神戸）；2015年12月4日
5. 尾崎 司，惣宇利正善，一瀬白帝：質量分析を用いた後天性自己免疫性出血病FXIII/13の原因となる自己抗体のエピトープ解析（演題03）．第23回山形分子生物学セミナー，山形大学医学部（山形）；2015年12月21日
6. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：凝固XIII因子インヒビターの鋭敏な検出のための新規XIII因子活性測定法の開発（演題04）．第23回山形分子生物学セミナー，山形大学医学部（山形）；2015年12月21日
7. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：凝固XIII因子インヒビターの鋭敏な検出のための新規XIII因子活性測定法の有用性．第16回TTMフォーラム学術集会，大手町サンケイプラザ（東京）；2016年3月5日

平成28年度：

1. 論文発表 （書籍）

1. 一瀬白帝：【図書】止血の仕組み．永井良三 シリーズ総監修，神田善伸 責任編集，血液科 研修ノート．東京；株式会社 診断と治療社，2016：54-57（2016年5月15日発行）総560頁
2. 一瀬白帝：（著書）血液凝固第XIII/13因子欠乏症の分子病態と臨床検査．神戸；シスメックス株式会社 学術本部 総66頁（2017年1月発行）

（雑誌）

1. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）「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」AVWS 診断の参照ガイド作成委員会（毛利 博，松下 正，家子正裕，田村俊寛，一瀬白帝）：後天性 von

Willebrand 症候群診断の参照ガイド．最新医学．2016；71(4)：883-890（2016年4月）

2. 一瀬白帝：後天性第XIII/13因子欠乏症の診断と課題．Thrombosis Medicine，2016；6(2)：115-123．（2016年6月1日発行）
3. 一瀬白帝：苦節12年！自己免疫性出血（血友）病XIII/13(AH13)の難病指定に至る道．難病と在宅ケア．2016；22(7)：7-11（2016年10月1日発行）
4. Ichinose A; Japanese Collaborative Research Group on AH13. Autoimmune acquired factor XIII deficiency due to anti-factor XIII/13 antibodies: A summary of 93 patients. Blood Rev. 2017 Jan;31(1):37-45.
5. Souri M, Mokuda S, Inanami H, Osaki T, Takasugi K, Ichinose A. Non-autoimmune combined factor XIII A and B subunit deficiencies in rheumatoid arthritis patients treated with anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody (tocilizumab). Thromb Res. 2016 Apr;140:100-105.
6. 柳澤邦雄，小川孔幸，三井健揮，野口紘幸，清水啓明，石崎卓馬，半田 寛，家子正裕，一瀬白帝，野島美久．併存する食道がんに対する放射線治療後に寛解に至った後天性血友病．臨床血液．2016 Apr；57(4)：451-455.
7. 小川孔幸，柳澤邦雄，石崎卓馬，内藤千晶，三原正大，半田 寛，静 怜子，井上まどか，内藤澄悦，家子正裕，一瀬白帝，野島美久．免疫性血小板減少症の維持療法中に発症した後天性血友病A．臨床血液．2016 Apr；57(4)：456-460.
8. Tsuda M, Kiyasu J, Sugio K, Hidaka D, Ikeda M, Fujioka E, Souri M, Osaki T, Yufu Y, Ichinose A. Spontaneous splenic rupture accompanied by hepatic arterial dissection in a patient with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. Haemophilia. 2016 Jul;22(4):e314-e317.
9. Ichinose A, Kohler HP, Philippou H; Factor XIII and Fibrinogen SSC Subcommittee of the ISTH. Recommendation for ISTH/SSC Criterion 2015 for autoimmune acquired factor XIII/13 deficiency. Thromb Haemost. 2016 Sep 27;116(4):772-774.
10. 小川孔幸，柳澤邦雄，石崎卓馬，清水啓明，三井健揮，一瀬白帝，野島美久，半田 寛：自己免疫性血栓止血性疾患に対するリツキシマ

ブ療法後の遅発性好中球減少症 単施設における解析 . 臨床血液 . 2017 Jan;58(1):42-46 .

2. 学会発表 (国際学会)

1. Ichinose A: Molecular Mechanisms of Autoimmune Hemorrhaphilia Due to Anti-Factor XIII Antibodies. The 9th Congress of the Asian-Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis, Symposium 9 (S9-4), Taipei International Convention Center (TICC) (Taipei, Taiwan), October 6-9, 2016
2. Ieko M, Naito S, Yoshida M, Takahashi N, Ogawa Y, Ichinose A: Significance of quantity of factor VIII antibody in patients with acquired hemophilia A. The 9th Congress of the Asian-Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis, Symposium 13 (S13-4), Taipei International Convention Center (TICC) (Taipei, Taiwan), October 6-9, 2016
3. Ichinose A: Acquired FXIII deficiency. 61st Annual Meeting of the Society of Thrombosis and Hemostasis Research (GTH), Special Symposium (Clinical Aspects of Factor XIII), Congress Center Basel (Switzerland), February 15-18, 2017

(国内学会 特別講演等)

1. 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝: A Novel Function of the Non-catalytic B Subunit of Coagulation Factor XIII: It Rather Accelerates Fibrin Cross-linking Than Inhibits: 第38回日本血栓止血学会学術集会, SPC1 学術推進委員会シンポジウム(血液凝固とその制御機構の最近の話題), 奈良春日野国際フォーラム 薨 ~I・RA・KA~ (奈良県奈良市); 2016年6月16日
2. 一瀬白帝, 武谷浩之: 単一分子、細胞レベルの血小板フィブリン血栓形成とその溶解過程を目撃しよう! 第89回日本生化学会大会 シンポジウム(1S17), 仙台国際センター/東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市); 2016年9月25~27日
3. 一瀬白帝: 凝固難病(疑い)症例に遭遇した時は? 日本血栓止血学会第4回教育セミナー, クロス・ウエーブ梅田(大阪府大阪

市); 2016年10月29~30日

4. 一瀬白帝: 抗線溶因子としてのFXIII/13と自己免疫性出血病XIII/13診療ガイドについて. 第10回日本血栓止血学会学術標準化委員会(SSC)シンポジウム(口演), 野村コンファレンスプラザ日本橋(東京都中央区); 2017年1月21日

(国内学会 一般演題)

1. 一瀬白帝, 尾崎 司, 惣宇利正善: 自己免疫性出血病XIIIと非自己免疫性出血性後天性凝固第XIII因子欠乏症の凝固パラメーターの比較. 第38回日本血栓止血学会学術集会(0-008, P-12), 奈良春日野国際フォーラム 薨 ~I・RA・KA~ (旧 奈良県新公会堂, 奈良県奈良市); 2016年6月16~18日
2. 尾崎 司, 杉浦真弓, 岩本尚太郎, 花房繁寿, 五味香織, 大島弘彰, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 妊婦および不育症例におけるプロテインSの測定とプロテインZ依存性凝固インヒビターとの比較. 第38回日本血栓止血学会学術集会(0-034, P-05), 奈良春日野国際フォーラム 薨 ~I・RA・KA~ (旧 奈良県新公会堂, 奈良県奈良市); 2016年6月16~18日
3. 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 先天性プラスミノゲン欠乏症例におけるフィブリン分解に関わるプロテアーゼの探索. 第38回日本血栓止血学会学術集会(0-036, P-44), 奈良春日野国際フォーラム 薨 ~I・RA・KA~ (旧 奈良県新公会堂, 奈良県奈良市); 2016年6月16~18日
4. 小林宣彦, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内海英貴, 半田 寛, 鈴木伸明, 松下 正, 一瀬白帝, 野島美久: 免疫抑制療法中に病勢悪化を認めた抗リン脂質抗体症候群合併後天性von Willebrand症候群の長期経過. 第38回日本血栓止血学会学術集会(0-069, P-61), 奈良春日野国際フォーラム 薨 ~I・RA・KA~ (旧 奈良県新公会堂, 奈良県奈良市); 2016年6月16~18日
5. 惣宇利正善, 魚嶋伸彦, 阿部昂平, 武石岳大, 平井竣悟, 尾崎 司, 一瀬白帝: 遺伝性XIII因子Bサブユニット欠乏症家系で同定された新規G513R変異の分子病態学的解析. 第38回日本血栓止血学会学術集会(0-082), 奈良春日野国際フォーラム 薨 ~I・RA・KA~ (旧 奈良県新公会堂, 奈良県奈良市); 2016年6月16~18日

6. 鈴木 聡, 遠藤雄大, 平岩 幹, 経塚 標, 安田 俊, 藤森敬也, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 常位胎盤早期剥離を繰り返し妊娠性第XIII/13因子欠乏および家族性プロテインS欠乏症が疑われた1例. 第52回日本周産期・新生児医学会学術集会 (P-241), 富山国際会議場 ほか (富山県富山市); 2016年7月16~18日
7. 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝: 凝固第XIII因子Aサブユニットの細胞内での活性化. 第89回日本生化学会大会, 仙台国際センター (宮城県仙台市); 2016年9月25~27日
8. 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 自己免疫性出血病XIII/13の発症機序解明に向けた全エクソームシーケンス解析および血漿プロテオーム解析. 第89回日本生化学会大会 (3P-121), 仙台国際センター (宮城県仙台市); 2016年9月25~27日
9. 山田昌秀, 村田幸平, 近藤篤史, 三島麻衣, 徳永正浩, 井上慎也, 森田隆子, 富永信彦, 一瀬白帝: 胃癌術後の大量出血を契機に診断した自己免疫性出血病XIIIの一例. 第78回日本血液学会学術集会 (PS-1-248), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
10. Katsuragi T, Tanaka A, Yamaguchi T, Kitamura N, Sato T, Osaki T, Souri M, Ichinose A, Tsukada J: Long-lasting anti-FXIII-A subunit autoAbs caused cerebral bleeding 9 years after clinical remission. 第78回日本血液学会学術集会 (PS-1-249), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
11. 嬉野博志, 木塚遥菜, 佐野晴彦, 西岡敦二郎, 進藤岳郎, 久保田寧, 安藤寿彦, 尾崎 司, 惣宇利正善, 片山義雄, 小島研介, 一瀬白帝, 木村晋也: 広範な皮下血腫と高度の貧血を呈した真性多血症と第XIII/13因子 (F13) 欠乏症の合併症例. 第78回日本血液学会学術集会 (PS-1-250), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
12. 沖 将行, 津田歩美, 小澤秀樹, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 高木敦司: 8年の経過で診断された関節リウマチ (RA) 合併自己免疫性出血病XIII/13 (AH13). 第78回日本血液学会学術集会 (PS-1-251), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
13. 水原諒子, 沖 将行, 津田歩美, 堀田和子, 海老原吾郎, 小澤秀樹, 一瀬白帝, 高木敦司: DICによるF13欠乏症から慢性硬膜下血腫を合併したカサバツハメリット症候群. 第78回日本血液学会学術集会 (OS-2-175), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
14. 惣宇利正善, 北條宣政, 尾崎 司, 一瀬白帝: 致死性自己免疫性出血病XIII/13症例の実験的精密検査による病態解析. 第78回日本血液学会学術集会 (OS-3-131), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
15. 一瀬白帝, 惣宇利正善, 尾崎 司: 厚労省指定難病288自己免疫性出血病XIII/13の診療ガイドライン確立のための予後調査のまとめ. 第78回日本血液学会学術集会 (OS-3-132), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
16. 大嶺 謙, 窓岩清治, 畑野かおる, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 大森 司, 坂田洋一, 村田 満, 神田善伸: 第XIII因子欠乏は第XI因子インヒビターの出血症状を増悪させる. 第78回日本血液学会学術集会 (OS-3-133), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
17. 安本篤史, 成島三長, 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 矢富 裕: 広範な血管奇形に伴う消費性凝固異常症に対してダビガトランが奏功した一例. 第78回日本血液学会学術集会 (OS-3-138), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
18. 尾崎 司, 惣宇利正善, 小川孔幸, 小林桂子, 家子正裕, 橋口照人, 山口宗一, 一瀬白帝: 後天性血友病A (自己免疫性第VIII/8因子欠乏症) における抗第VIII/8因子自己抗体測定の意義. 第78回日本血液学会学術集会 (OS-3-148), パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市); 2016年10月13~15日
- (研究会 特別講演等)**
1. 一瀬白帝: 難治性後天性出血病と闘う! . 第1回創傷治癒・出血疾患セミナー 特別講演, リーガロイヤルホテル小倉 (福岡県北九州市); 2016年 8月26日

2. 一瀬白帝：抗第XIII/13因子抗体の性状：結合部位と親和性．第4回血栓竹田フォーラム 教育講演，竹田市総合社会福祉センター（大分県竹田市）；2016年 9月10日
3. 一瀬白帝：小児の希少凝固難病．第69回東北小児白血病研究会 特別講演，山形テルサ（山形県山形市）；2016年10月 1日

（研究会 一般演題）

1. 嬉野博志，木塚遥菜，佐野晴彦，西岡敦二郎，進藤岳郎，久保田寧，安藤寿彦，尾崎 司，惣宇利正善，片山義雄，小島研介，一瀬白帝，木村晋也：広範な皮下血腫と高度の貧血を呈した真性多血症症例（口演）．佐賀・久留米凝固を学ぶ会，マリトピア（佐賀県佐賀市）；2016年5月27日
2. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：凝固第XIII因子Aサブユニットの細胞内での活性化．第6回トランスグルタミナーゼ研究会&日本ポリアミン学会 合同学術集会（口演），仙台国際センター（宮城県仙台市）；2016年9月24日
3. 尾崎 司，惣宇利正善，一瀬白帝：自己免疫性出血病XIII/13の発症機序解明に向けた全エクソームシーケンス解析および血漿プロテオーム解析．第6回トランスグルタミナーゼ研究会&日本ポリアミン学会 合同学術集会（口演），仙台国際センター（宮城県仙台市）；2016年9月24日
4. 尾崎 司，惣宇利正善，小川孔幸，小林桂子，家子正裕，橋口照人，山口宗一，一瀬白帝：後天性血友病A（自己免疫性第VIII/8因子欠乏症）における抗第VIII/8因子自己抗体測定の意義．北日本後天性血友病診療ネットワーク学術集会・東北止血血栓研究会 合同学術集会（口演），キャンパス・イノベーションセンター（東京都港区）；2016年10月12日
5. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：凝固XIII因子インヒビターの検出における活性測定法の比較検討．第2回山形県血液研究会（口演），パレスグランデール（山形県山形市）；2016年11月18日
6. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：凝固第XIII因子Aサブユニットの細胞内での活性化．第24回山形分子生物学セミナー（口演），山

形大学農学部（山形県鶴岡市）；2016年12月3日

7. 尾崎 司，杉山大輔，高岡勇輝，曲 泰男，山口宗一，橋口照人，北島 勲，惣宇利正善，一瀬白帝：イムノクロマト法を用いた自己免疫性出血病XIII/13と出血性後天性XIII/13因子欠乏症の迅速鑑別診断（口演）．第17回TTMフォーラム学術集会，大手町サンケイプラザ（東京都千代田区）；2017年3月4日

平成29年度：

1. 論文発表

（原著）

1. Ogawa Y, Yanagisawa K, Souris 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 Apr 6;137(3):141-147
2. 小林宣彦，小川孔幸，柳澤邦雄，石崎卓馬，内海英貴，鈴木伸明，松下正，一瀬白帝，半田寛：抗リン脂質抗体症候群を合併した自己免疫性の後天性von Willebrand症候群．*臨床血液* .2017 June; 58(6): 613-618
3. 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 Jul;106(1):82-89
4. Arishima H, Neishi H, Kikuta KI, Morita M, Hosono N, Yamauchi T, Souris M, Ichinose A: Lobar Hemorrhage Induced by Acquired Factor XIII Deficiency in a Patient with Cerebral Amyloid Angiopathy. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2017 Oct;26(10):e203-e205

（総説・図書）

1. 自己免疫性出血病FXIII/13 日本血栓止血学会診療ガイド作成委員会（一瀬白帝，和田英夫，惣宇利正善，橋口照人，矢富裕，小川孔幸，北島勲，朝倉英策，岡本好司，家子正裕，山本晃士，江口豊）：自己免疫性出血病

FXIII/13 診療ガイド．日本血栓止血学会誌．
2017；28(3)：393-420

2. 後天性血友病A 診療ガイドライン作成委員会（酒井道生，天野景裕，小川孔幸，高見昭良，徳川多津子，野上恵嗣，羽藤高明，藤井輝久，松本功，松本剛史）：後天性血友病A 診療ガイドライン2017年改訂版．血栓止血誌．2017；28(6)：715-747
3. 一瀬白帝：後天性フォンヴィルブランド症候群（病）．日本臨床増刊 動脈・静脈の疾患（下）．2017；75(Suppl5)：918-925

2. 学会発表

（国内学会 特別講演等）

1. 尾崎 司，惣宇利正善，小澤龍彦，村口 篤，一瀬白帝：自己免疫性出血病XIII/13症例より作製したヒト単クローン抗体のエピトープ解析（ワークショップ 1AW06-7）．2017年度生命科学系学会合同年次大会（第40回日本分子生物学会年会，第90回日本生化学会大会），神戸ポートアイランド（神戸市中央区）；2017年12月6日
2. 小川孔幸，一瀬白帝：群馬大学での自己免疫性出血病XIII/13の診療経験．第12回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム，野村コンファレンスプラザ日本橋（東京都中央区）；2018年2月10日

（国内学会 一般演題）

1. 一瀬白帝：我が国の自己免疫性凝固因子欠乏症の実態（ポスター126）．第114回日本内科学会総会・講演会，東京国際フォーラム（東京都千代田区）；2017年4月14～16日
2. 小川ひな，大久保里枝，川西智子，若井幸子，叶内和範，惣宇利正善，森兼啓太，一瀬白帝：透析後止血困難で当初第VIII、第IX因子インヒビターが疑われた高力価第V因子インヒビター症例（0-018）．第39回日本血栓止血学会学術集会，名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）；2017年6月8～10日
3. 叶内和範，惣宇利正善，小川ひな，大久保里枝，若井幸子，森兼啓太，一瀬白帝：複合的凝固系異常所見を示した高力価の中和型抗V因子抗体（第V因子インヒビター）の実験的解析（0-020，P-008）．第39回日本血栓止血学会学術集会，名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）；2017年6月8～10日

4. 金谷秀平，柳澤邦雄，小川孔幸，田原研一，清水啓明，三井健揮，齋藤貴之，一瀬白帝，半田 寛：自然軽快と再燃を繰り返した後天性von Willebrand症候群（AvWS）の1例．第39回日本血栓止血学会学術集会（0-033，P-074），名古屋国際会議場

5. 惣宇利正善，尾崎 司，一瀬白帝：凝固第XIII因子の細胞内活性および基質タンパク質の探索（0-073）．第39回日本血栓止血学会学術集会，名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）；2017年6月8～10日

6. 尾崎 司，高岡勇輝，杉山大輔，曲 泰男，惣宇利正善，一瀬白帝：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（0-074）．第39回日本血栓止血学会学術集会，名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）；2017年6月8～10日

7. 一瀬白帝，惣宇利正善，尾崎 司：厚生省指定難病288診療ガイド作成の基礎となる自己免疫性出血病XIII/13症例追跡調査結果のまとめ（0-075）．第39回日本血栓止血学会学術集会，名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）；2017年6月8～10日

8. 上村由樹，西村拓哉，富田秀春，尾崎 司，惣宇利正善，一瀬白帝：長年出血症状を多発するも診断を得られずに経過していた自己免疫性出血病XIII/13の1例（P-013）．第39回日本血栓止血学会学術集会，名古屋国際会議場（愛知県名古屋市）；2017年6月8～10日

9. 松村郁子，小川孔幸，柳澤邦雄，小倉秀充，尾崎 司，惣宇利正善，一瀬白帝，半田 寛：止血に難渋した気道出血を契機に診断された成人発症の凝固第XIII/13因子欠乏症例（一般演題No.15）．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（北海道札幌市）；2017年7月22～23日

10. 金谷秀平，小川孔幸，柳澤邦雄，石崎卓馬，大崎洋平，清水啓明，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（一般演題No.16）．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（北海道札幌市）；2017年7月22～23日

11. Tsutsumi Y, Okamoto H, Komori Y, Sasaki N, Kawata E, Akaogi T, Souri M, Osaki T,

Ichinose A, Uoshima N, Kobayashi Y:
Autoimmune hamorrhaphilia XIII/13(AH13)
initially presenting subcutaneous &
intraabdominal bleeding (OS3-11C-2) . 第
79回日本血液学会学術集会, 東京国際フォー
ラム (東京都千代田区) 2017年10月20~22日

12. 杉田聖子, 瀧島 勳, 甲斐貴彦, 鈴木浩二,
猪野友里, 沢登貴雄, 尾崎 司, 惣宇利正善,
一瀬白帝: 原因不明で多彩な出血症状を繰り返
し自己免疫性出血病XIII/13と診断しえた
1例(口演). 日本内科学会 第633回関東地
方会, 日内会館(東京都文京区); 2017年6
月10日

(研究会 特別講演等)

1. 一瀬白帝: 後天性第13因子欠乏症の全て.
第7回後天性第XIII(13)因子欠乏症研究会学
術集会 特別講演, JPタワー名古屋ホール&
カンファレンス(名古屋市); 2017年 6月10
日
2. 一瀬白帝: 我が国の難知性疾患(難病)対
策の進展と血液凝固難病について. 第5回血栓
竹田フォーラム・第3回Q-may凝固線溶セミナー
学術集会 教育講演, 竹田市総合社会福祉
センター(大分県竹田市); 2017年 9月2日
3. 一瀬白帝: 指定難病に追加された特発性血
栓症と追加提案中のF5インヒビター. 第3回山
形県血液研究会 教育セミナー, 山形国際ホ
テル(山形県山形市); 2017年10月6日

(研究会 一般演題)

1. 惣宇利正善, 尾崎 司, 一瀬白帝: 巨核球
における凝固XIII因子の活性と基質(口演).
第25回山形分子生物学セミナー, 山形大学工
学部 百周年記念会館(山形県米沢市); 2017
年11月11日
2. 尾崎 司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 自己免
疫性出血病XIII/13症例より作製したヒト単
クローン抗体のエピトープ解析(口演). 第
25回山形分子生物学セミナー, 山形大学工学
部 百周年記念会館(山形県米沢市); 2017
年11月11日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

わが国における自己免疫性凝固因子欠乏症の実態と診療ガイド

一瀬白帝*

The present condition of and clinical guidance for autoimmune coagulation factor deficiencies in Japan

Akitada ICHINOSE

要約：わが国では、自己免疫性凝固因子欠乏症の診断症例数が増加する傾向にある。自己抗体は、中和抗体(いわゆるインヒビター)が非中和抗体(主に除去亢進)あるいは両者の混合型であり、凝固活性阻害や凝固因子著減の結果、出血に至る。自己抗体が生じる原因は不明であるが、自己免疫疾患、悪性腫瘍などの基礎疾患を伴う症例が半数であり、免疫寛容/制御機構の破綻が推定される。残りの半数は特発性であり、高齢者に多いので加齢も危険因子であろう。出血重症度は、標的の凝固因子、症例によって、無症状から出血死までと大きく異なる。各凝固因子を補充するのが止血療法の原則であるが、バイパス製剤が有効な疾患もある。抗体根絶療法として免疫抑制薬を投与するが、慢性化、寛解後再燃する症例も多く、最適の方法は未確立である。厚労省研究班による調査活動の結果、4種類の自己免疫性凝固因子欠乏症が指定難病288として公的医療費助成の対象疾患となっている。

Key words: acquired bleeding disorder, designated intractable disease, coagulation factor inhibitor, autoantibody, non-neutralizing antibody

1. 自己免疫性凝固因子欠乏症の概念

血液凝固反応機構は、外因系、内因系、共通経路からなり、約10種類のタンパク質(凝固因子)が酵素前駆体あるいは補助因子として逐次的活性化増幅反応を支えている。これらの凝固因子遺伝子の突然変異によって遺伝性凝固因子欠乏症が生じ、先天性

出血傾向を呈する。遺伝性凝固因子欠乏症の止血や出血予防には、それぞれの症例で欠乏している凝固因子を補充するのが原則であるが、遺伝的に欠如しているため免疫寛容を獲得していないため、治療目的で投与された凝固因子に対して同種抗体を生じることがある。とくに多いのは、遺伝性第VIII/8因子(F8)欠乏症(血友病A)における抗F8中和抗体(F8インヒビターあるいは循環抗凝固物質)で、約1/4の症例に発生する¹⁾。ところが、遺伝性第IX/9因子(F9)欠乏症(血友病B)ではF9インヒビターは約5%の症例にしか発生しない。この差異の原因は不明であるが、分子量の違い、とくに分子表面に現れる抗

*責任者連絡先：

山形県立米沢栄養大学大学院研究科
〒992-0025 山形県米沢市通町6-15-1
Tel: 0238-22-7330, Fax: 0238-93-2935
E-mail: aichinos@med.id.yamagata-u.ac.jp

第29巻第3号



一瀬白帝

学歴

1978年3月 鹿児島大学医学部卒業、医学士号取得
1978年5月 医籍登録
1988年6月 九州大学理学部にて学位取得(理学博士号)
1989年12月 鹿児島大学医学部にて学位取得(医学博士号)
2003年5月 ハンガリー・デブレセン大学医学部(名誉博士号)

職歴

1978年6月 鹿児島大学医学部第三内科研修医
1980年4月 自治医科大学研究生、内科非常勤医
1983年4月 鹿児島大学医学部第三内科医員
1983年9月 ワシントン大学医学部生化学部門 上級研究員
1987年7月 同 研究助教授
1989年7月 同 研究准教授
1992年6月 山形大学医学部分子病態学講座教授
(2006年1月 山形大学医学部副学部長)
(2014年4月 同 副学部長)
2017年4月 山形大学 名誉教授
山形大学医学部 客員教授
山形県立米沢栄養大学・健康栄養学部健康栄養学科 教授
2018年4月 山形県立米沢栄養大学・大学院研究科長

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

自己免疫性出血病 XIII/13 症例の精査と

自己免疫性第 V・X 因子欠乏症における抗第 V・X 因子自己抗体の検出

研究分担者 惣宇利正善 山形大学医学部 准教授

研究要旨

新規に確立した第 XIII 因子(F13)インヒビターを高感度に検出する F13 活性測定法を用いて、研究期間にわたり、53 例の自己免疫性出血病 XIII/13(AH13)疑い症例を精査し、11 例の AH13 を同定した。過去に診断された症例を含めた 13 例の AH13 症例について、F13 抗原及び抗 F13 抗体の経過を追跡した。について、第 V 因子インヒビター（自己免疫性第 V 因子欠乏症）が疑われた 5 症例のうち 4 例について、抗第 V 因子自己抗体の検出に成功し、また、1 例の自己免疫性第 X 因子欠乏症例における抗第 X 因子自己抗体も確認した。

A. 研究目的

自己免疫性出血病 XIII/13 (AH13) は、第 XIII 因子 (F13) に対する自己抗体を生じた結果血中の F13 抗原・活性が著しく低下し、重篤な出血を呈する後天性疾患である。抗 F13 自己抗体には、不活性型の A サブユニット (F13-A) と結合し活性化を阻害する Aa 型、活性化した F13-A を認識し触媒活性を阻害する Ab 型、B サブユニット (F13-B) に結合しクリアランスを促進する B 型が存在することを我々は

これまでに明らかにしている。AH13 の確定診断にあたっては、抗 F13-A 抗体の検出に AMED 研究費で開発されたイムノクロマト法 (キューメイ研究所) について、分担研究者により良好な成績が示されているものの、抗 F13-B 抗体に対するイムノクロマト法は現在も実用段階には至っておらず、ELISA による各サブユニットの定量、活性の 5 段階混合試験、フィブリン架橋反応、抗 F13 自己抗体のドットブロット解析といった一連の精査が不可欠

である。
汎用されている従来のF13活性測定法(アンモニア放出法・ダンシルカダベリン取り込み法)ではAa型・Ab型いずれかのインヒビターを見落とす危険性があり、また血漿の状態による影響を受けやすく低感度(アンモニア放出法)あるいは測定対象物の沈殿化による煩雑な手技と沈殿物の難溶性(ダンシルカダベリン取り込み法)といった問題点があるため、より簡便かつ高感度にインヒビターを検出できる活性測定法の確立がAH13の確定診断における課題であった。

自己免疫性第V因子欠乏症(AF5D)は第V因子(F5)に対する自己抗体によりF5活性が欠乏し出血傾向を示す疾患で、その頻度は後天性血友病Aに次ぐものとみられている。F5インヒビターはPT・APTTの交差混合試験で検出可能であるものの、抗F5自己抗体の検出は必ずしも容易ではない。第X因子(F10)に対する自己抗体による自己免疫性F10欠乏症(AF10D)は極めて稀とされている。

本分担研究では、まず期間早期により簡便かつ高感度にインヒビターを検出するF13活性測定法を確立し、AH13を疑われた症例の精査に用いた。確定診断されたAH13症例について、F13抗原および抗F13自己抗体の経過を追跡した。また、F5あるいはF10インヒビターが疑われた症例について、抗F5・F10抗体の検出を検討した。さらに、症例のスクリーニングにおいて無フィブリノゲン(Fbg)血症が

疑われた症例について、遺伝子変異の検索を行った。

B. 研究方法

新規活性測定法について、フィブリン多量体化阻害剤存在化でビオチン標識アミンをトロンビン、カルシウムとともに血漿と反応し、血漿中に存在する α_2 -プラスミンインヒビター(α_2 -PI)に取り込まれたビオチンをELISAにより定量検討した。F13各サブユニットおよび異種四量体はELISAにより定量した。フィブリン架橋反応について、血漿にトロンビンとカルシウムを加えて生じたclotをSDS-PAGE解析した。抗F13抗体は、組換え体F13-A、F13-Bを用いたDot blot法により検出し、また、ELISA法により定量した。

抗F5自己抗体について、Protein A-Sepharoseを用いて症例血漿からIgG分画を調製し、精製F5タンパク質を固相化したプレートを用いたELISAにより、F5と反応するIgGを検出した(固相法)。また、あらかじめ精製F5とIgG分画を液相でインキュベートした後、マウス抗F5抗体をコートしたプレートにF5とともに結合するIgGを検出した(液相法)。

抗F10自己抗体は、精製F10タンパク質を固相化したプレートに希釈した血漿を反応させて検出した。

無Fbg血症疑い症例のFbgの3種類の遺伝子(FGA, FGB, FGG)について、PCR増幅してその塩基配列を決定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、山形大学倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

[簡便な活性測定法の検討] ビオチン標識アミンを血漿に添加し、フィブリン多量体化阻害剤存在化でトロンビンおよびカルシウムと反応させた。反応停止後、抗₂-PI抗体を固相化したプレートに移し、酵素標識ストレプトアビジンを用いてELISAを行ったところ、F13に依存した₂-PIへのビオチンの取り込みが検出された。短時間(5分間)の取り込み反応でも高感度に活性が検出され、また、健常血漿との5段階混合試験でAa型、Ab型ともに高感度に阻害が検出された。

[AH13疑い症例の精査] AH13疑い53例について精査を行った。新規活性測定法による5段階混合試験で、11例にF13活性の阻害が認められた。11例のインヒビター症例のうち、3例ではdot blot解析で抗F13-A抗体陰性であり、共同研究分担者が行ったイムノクロマト法では1例が陰性～弱陽性であったが、11例ともにELISAによりF13-Aに対する抗体が検出されたことから、AH13と診断された。

抗F13-A抗体陰性の症例のうち、dot blot解析において2例に抗F13-B抗体が検出され、そのうち1例についてF13-A抗原が検出感度以下であったことから、洗浄血小板のF13-Aを検討したところ、immunoblot解析で検出を認めず先

天性F13-A欠乏症が強く示唆された。

抗F13抗体がいずれとも陰性の1例において、F13-A抗原量に対する比活性が低いにもかかわらず、5段階希釈試験で阻害を認めなかった。トロンビン処理後の血漿についてフィブリノゲンB鎖の切断の遅延を認め、F13-A活性化ペプチドの切断の障害もWestern blot解析で確認された。正常血漿との混合試験で活性化ペプチドの切断が阻害されること、患者血漿をより高濃度のトロンビンで処理した場合にF13比活性が正常レベルに回復することから、トロンビン活性の阻害(インヒビター)が強く示唆された。

[AH13症例の経過追跡] 過去にAH13(Aa型)と診断された13例について、F13抗原および抗F13-A抗体の経過を測定した。2例は診断後6ヶ月以内にF13-A抗体が検出感度以下となり、F13異種四量体の回復を認めた。8例では検出可能なレベルの抗F13-A抗体が残存するにもかかわらず、ほぼ正常レベルに異種四量体が検出された。2例は13ヶ月後に抗F13-A抗体がほぼ検出不可能なレベルにまで低下したにもかかわらず、F13抗原は依然として低レベルであった。1例は診断から5年が経過しても抗F13-A抗体陽性かつ異種四量体陰性であった。

[自己免疫性F5欠乏症の抗F5自己抗体検出] F5インヒビターの存在が強く疑われた5例について、血漿からIgG分画を調製し、dot blot解析を行ったところ、1例に抗F5 IgGが検出された。精製F5

タンパク質を用いた固相法による ELISA を行なったところ、2 例に抗 F5 IgG の存在が確認された。液相法での ELISA も検討したところ、固相法で陰性であった 1 例に F5 と結合する IgG が検出された。

[自己免疫性 F10 欠乏症の抗 F10 抗体検出] F10 インヒビターの存在が疑われた 1 例について、精製 F10 を用いた固相法 ELISA により抗 F10 IgG が検出された。本症例の抗 F10 IgG は、2 ヶ月後に再説された血漿ではほぼ検出不可能なレベルにまで抗 F10 IgG が消失していた。

[無 Fbg 血症の遺伝子解析]

本研究調査の過程で無 Fbg 血症が疑われた症例について、Fbg 遺伝子 (FGA, FGB, FGG) の塩基配列を解析した。FGA のイントロン C からエクソン IV にかけて、1,241 塩基の欠失がホモ接合性に同定された。FGB, FGG には遺伝子変異を認めなかった。FGA 1,241 塩基の欠失は母親にもヘテロ接合性に確認されたことから、先天性無 Fbg 血症であると判断された。

D. 考察

本研究にあたって新規に確立した活性測定法により、11 例の F13 インヒビターを検出した。このうち 3 例では Dot blot 解析では陰性であり、1 例はイムノクロマト法で陰性～弱陽性であったが、ELISA 法で抗 F13-A 抗体陽性と判定されており、的確な AH13 診断を裏付けている。過去の症例も合わせて検討したところ、Aa 型、Ab 型ともに 1:1 交差混合試験で 50%以上

の阻害率を示すこと、ROC 試験で極めて良好な感度および特異性を表していることから、F13 インヒビターの検出に有用であると考えられる。

現在、本法の免疫クロマト化も実現可能であることを実証しており、開発を進めている。

本研究期間中 2 例に抗 F13-B 抗体が陽性に検出されたが、F13-B 抗原量の著しい低下は認めず、活性阻害も検出されていない。過去に抗 F13-B 抗体陽性に検出された症例のほとんどで F13-B 抗原の著しい低下を認めておらず、しばしば健常人血漿でも抗 F13-B 抗体が陽性に検出されていることから、疾患原因であるか否かの判断は極めて難しい。抗 F13-B 抗体が陽性に検出された 2 例のうち 1 例は、血漿のみならず血小板内の F13-A も検出されなかったことから先天性 F13-A 欠乏症の可能性が極めて高い。後天性 F13 欠乏症疑いで精査した結果先天性 F13-B 欠乏症と同定された症例もあり、常に先天性欠乏症も考慮すべきである。

抗 F13 抗体が陰性でありながら、F13 の活性化に障害を示し、トロンビンインヒビターの存在が疑われる症例にも遭遇した。過去にはフィブリン形成が阻害された症例も経験したが、本症例ではフィブリノーゲン B 鎖の切断も部分的に障害されているものの、フィブリンクロットの形成には遅延を認められなかった。(プロ)トロンビンに対する抗体の検出も試みたが、健常人コントロールでも陽

性に検出されるなど、信頼できる検出方法を確立できていない。今後、合成基質を用いた直接的なトロンビン活性測定によるインヒビター検出を検討する必要がある。

AH13 疑い症例の精査でしばしばフィブリ(ノゲン)が低下した例に遭遇する。本研究では1例の無 Fbg 血症症例が遺伝子解析で確定診断された。同定された1,241塩基配列の欠失は先に日本人症例で報告があり、日本人の創始者変異である可能性がある。Fbg 欠乏についても的確な抽出・診断が望まれる。

本研究で経過を追跡した13例とも、総抗 F13-A 抗体は大幅に減少しており、免疫抑制効果が認められる。しかしながら、年を超えて一定レベルに抗体が残存するケースがほとんどであり、ほぼ完全に抗体が消失していたのは2例のみであった。2例ともに診断当時の抗体レベルが他の症例と比べて相対的に低く、3～6ヶ月と短期間で検出可能レベル以下に減少していた。おそらく、抗体発生から比較的早期に診断を受けたことで、免疫抑制が有効に機能したものと推測される。多くの症例では低レベルの抗体を保持しながらも F13 異種四量体の回復が認められていることから、多クローンに発生した抗体のうち、有害なクローンは低減・消失し、無害なクローンが定常化したものと想像される。これらの症例では再燃する可能性もあり、持続したモニタリングが必要である。

本研究では4例の抗 F5 抗体症例が同定された。抗 F5 抗体の検出について、希釈血漿では正常血漿でも陽性に検出されたことから、Protein A-Sepharose で調製した IgG 分画で特異的な自己抗体の検出が可能となった。しかしながら、Protein A で回収されないサブタイプの抗 F5 自己抗体が存在する可能性もあり、F5 抗原の安定入手を含め、血漿もしくは血清での抗 F5 自己抗体の検出法を検討する必要がある。抗体の検出について、dot blot で陽性を確認できたのは1症例のみであり、3例は検出できなかった。固相法の ELISA では dot blot 陽性を含めて3例に抗 F5 IgG が検出され、一例は固相法では陰性であるものの液相法では陽性に認められた。一方、Dot blot 陽性の症例では液相法では著しく反応性が低下するなど、症例(抗体)による液相と固相との反応性の違いは、抗体を検出する上で考慮すべき問題である。また、血漿・血清で直接検出することは今のところ不可能であり、新たな抗体検出法を検討する必要がある。

本研究事業では初めて F10 に対する自己抗体を有する症例が確認された。本症例の抗 F10 抗体は直接血漿から検出でき、抗 F5 抗体と比べて容易であった。しかしながら、抗 F5 抗体と同様の液相と固相との反応性の問題を生じる可能性は十分予想され、今後の注意が必要である。

E . 結論

高感度にインヒビターを検出する F13

活性測定法を確立し、11例のAH13症例を確定診断した。多くの症例では、抗F13抗体は低レベルに持続する可能性が高く、長期にわたるモニタリングが必要である。F5インヒビター症例4例について、抗F5抗体の検出に成功した。F10インヒビター症例について、抗F10抗体を検出した。抗体の検出に際して、液相と固相との反応性の違いを考慮すべきであることを指摘した。

G . 研究発表

1. 論文発表

1) Uchida E, Watanabe K, Arai R, Yamamoto M, **Souri M**, Osaki T, Ichinose A, Miura O, Koyama T. Autoimmune Hemorrhaphilia Resulting from Autoantibody against the A Subunit of Factor XIII. Intern Med. 2015;54(18):2383-7.

2) Ichinose A, Osaki T, **Souri M**; Japanese Collaborative Research Group (JCRG) on AH13 (supported by the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare). Clinical features of 32 new Japanese cases with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. Haemophilia. 2015 Sep;21(5):653-8.

3) **Souri M**, Osaki T, Ichinose A. The Non-catalytic B Subunit of Coagulation Factor XIII Accelerates Fibrin

Cross-linking. J Biol Chem. 2015 May 8;290(19):12027-39.

4) Osaki T, Sugiyama D, Magari Y, **Souri M**, Ichinose A. 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 Jun;113(6):1347-56.

5) **Souri M**, Osaki T, Ichinose A. Anti-factor XIII A subunit (FXIII-A) autoantibodies block FXIII-A2 B2 assembly and steal FXIII-A from native FXIII-A2 B2. J Thromb Haemost. 2015 May;13(5):802-14.

6) Kotake T, **Souri M**, Takada K, Kosugi S, Nakata S, Ichinose A. Report of a patient with chronic intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-factor XIII/13 antibodies who died of hemorrhage after sustained clinical remission for 3 years. Int J Hematol. 2015 Jun;101(6):598-602.

7) Tsuda M, Kiyasu J, Sugio K, Hidaka D, Ikeda M, Fujioka E, **Souri M**, Osaki T, Yufu Y, Ichinose A. Spontaneous splenic rupture accompanied by hepatic arterial dissection in a patient with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies. Haemophilia. 2016, 22:e314-7.

8) **Souri M**, Mokuda S, Inanami H, Osaki T, Takasugi K, Ichinose A.

Non-autoimmune combined factor XIII A and B subunit deficiencies in rheumatoid arthritis patients treated with anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody (tocilizumab). *Thromb Res.* 2016, 140:100-5.

9) Kojima M, Ichinose A, **Souri M**, Osaki T, Kawai H, Amaki J, Numata H, Miyamoto M, Ogiya D, Tsuboi K, Ogawa Y, Ozawa S, Ando K. Successful bypass surgery for esophageal carcinoma under adequate factor XIII/13 replacement therapy in a case of intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-Factor XIII/13 antibodies. *Int J Hematol.* 2016, 103:341-7.

10) Arishima H, Neishi H, Kikuta KI, Morita M, Hosono N, Yamauchi T, **Souri M**, Ichinose A. Lobar Hemorrhage Induced by Acquired Factor XIII Deficiency in a Patient with Cerebral Amyloid Angiopathy. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2017, 26:e203-e205.

11) 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) Souri M, Osaki T, Ichinose A. Development of a novel assay method of coagulation factor XIII activity for the detection of its inhibitor in plasma. XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Toronto, Canada. June, 2015.

2) Souri M, Osaki T, Ichinose A. Overlooked role of the non-catalytic B subunit for coagulation factor XIII (plasma transglutaminase) in fibrin cross-linking. 第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会合同大会 神戸 2015 年 12 月

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

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)、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因子欠乏症 (AVWD) 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32症例 (平成27年度11例、28年度15例、29年度6例) についてAMED研究費で作成したイムノクロマト法を用いて確定診断を行い、新たに11例 (平成27年度2例、28年度7例、29年度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17症例 (平成27年度6例、28年度7例、29年度4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11例 (平成27年度5例、28年度4例、29年度2例) を同定した。一方、自己免疫性後天性フォンウィルブランド因子 (von Willebrand factor : VWF) 欠乏症 (AVWD; 厚労省指定難病288-3) 疑い5症例についてイムノクロマト法とELISA法を用いて自己抗体の検出を行い、いずれも3例の陽性判定を得た。しかし、いずれもVWFを固相化して遊離の自己抗体を検出する方法で抗VWF自己抗体-VWF複合体は認識しない。抗VWF抗体を作製し、抗VWF自己抗体-VWF複合体を検出する測定系の確立が望ましい。

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132症例 (平成27年度11例、28年度15例、29年度6例) とAHA疑い17症例 (平成27年度6例、28年度7例、29年度4例) についてそれぞれAMED研究費で作成したイムノクロマト法、あるいはELISA法によって確定診断を行った。また、AVWD疑い5症例についてイムノクロマト法、およびELISA法による自己抗体検出法について検討を行った。一方、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 (キューメイ研究所) 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 (VisuLize™ FVIII Antigen Kit; Affinity Biologicals Inc.)、および遊離の抗F8自己抗体量 (ZYMUTEST Anti-VIII IgG MonoStrip; HYPHEN BioMed) 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

F8 活性測定には合成基質法を原理とした市販の色素生成活性検査キット BIOPHEN FVIII:C (HYPHEN BioMed) を用いた。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。

抗 vWF 自己抗体の検出

精製 vWF を用いて遊離の抗 vWF 自己抗体量の測定を行った。

イムノクロマト法は vWF を塗布したストリップ (キューメイ研究所) を用いて AVWD 疑い症例 5 例、および健常対照 4 例について検討を行った。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後、テストラインの強度を自動読み取り装置で数値化して、健常対照 4 例の吸光度の平均+2SD をカッ

トオフ値に設定して判定を行った。

ELISA 法は vWF を固相化した 96 ウェルプレートを用いて AVWD 疑い症例 5 例、および健常対照 40 例について検討を行った。ブロッキング後、希釈血漿、HRP 標識抗ヒト Ig (G+M+A) 抗体を順次反応し、TMB で発色を行って 450 nm の吸光度を測定した。健常対照 40 例の吸光度の平均+2SD をカットオフ値に設定して判定を行った。

(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 32 症例について直接法、混合法で測定を行ったところ、21 例は直接法、混合法いずれも陰性であったが、1 例は混合法でのみ陽性、10 例は直接法、混合法いずれも陽性であった。

AHA の確定診断 AHA 疑い 17 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、11 例は陽性、6 例は陰性であった。

抗VWF自己抗体の測定

イムノクロマト法では AVWD 疑い 5 症例のうち 3 例陽性、2 例陰性判定であった。また、健常対照は 4 例すべて陰性判定であった。

一方、ELISA 法でも AVWD 疑い 5 症例のうち 3 例陽性、2 例陰性判定であった。また、健常対照は 40 例のうち 2 例陽性判定、38 例陰

性判定であった。

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 32 症例のうちイムノクロマト陽性だった 11 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 自己抗体陽性の 1 例は検出できなかった。AHA 疑い 17 症例のうち、11 例は自己抗体が検出されたが、6 例は検出されなかった。この 6 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。

抗 VWF 自己抗体検出については症例を増やして検証する必要があるが、健常対照のイムノクロマト法は 3 例すべて陰性、ELISA 法は 40 例中 38 例陰性だったことから無病正診率は高いといえる (100% と 95%)。一方、AVWD 疑い 5 症例はイムノクロマト法、ELISA 法いずれも 3 例陽性、2 例陰性だったことから感度を向上させる必要があると考えられる。今回用いた測

定系は遊離抗 VWF 自己抗体を検出するもので、抗 VWF 自己抗体-VWF 複合体は検出しないことから、今後は抗 VWF 自己抗体-VWF 複合体を検出する系の確立が望まれる。

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。

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、遊離の抗 VWF 自己抗体検出は今回確立したイムノクロマト法と ELISA 法で可能であると考えられる。しかし、今後は抗 F8 自己抗体-F8 複合体、および抗 VWF 自己抗体-VWF 複合体を検出できる測定法の確立が望まれる。

G . 研究発表

1.Kojima M, Ichinose A, Souri M, Osaki T, Kawai H, Amaki J, Numata H, Miyamoto M, Ogiya D, Tsuboi K, Ogawa Y, Ozawa S,

Ando K. Successful bypass surgery for esophageal carcinoma under adequate factor XIII/13 replacement therapy in a case of intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-Factor XIII/13 antibodies. *Int J Hematol.* 2015; **103**: 341-347.

2.Uchida E, Watanabe K, Arai R, Yamamoto M, Souri M, Osaki T, Ichinose A, Miura O, Koyama T. Autoimmune Hemorrhaphilia Resulting from Autoantibody against the A Subunit of Factor XIII. *Intern Med.* 2015; **54**: 2383-2387.

3.Ichinose A, Osaki T, Souri M; Japanese Collaborative Research Group (JCRG) on AH13 (supported by the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare). Clinical features of 32 new Japanese cases with autoimmune haemorrha-philialia due to anti-factor XIII antibodies. *Haemophilia.* 2015; **21**: 653-658.

4.Souri M, Osaki T, Ichinose A. Anti-factor XIII A subunit (FXIII-A) autoantibodies block FXIII-A2 B2 assembly and steal FXIII-A from native FXIII-A2 B2. *J Thromb Haemost.* 2015; **13**: 802-814.

5.Tsuda M, Kiyasu J, Sugio K, Hidaka D, Ikeda M, Fujioka E, Souri M, Osaki T, Yufu Y, Ichinose A. Spontaneous splenic rupture accompanied by hepatic

arterial dissection in a patient with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies.

Haemophilia. 2016; **22**: e314-e317.

6. 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. 尾崎 司、杉山 大輔、曲 泰男、惣宇利 正善、一瀬 白帝: 指定難病「自己免疫性出血病 XIII/13」のイムノクロマト法による確定診断. 第1回山形血液研究会, 山形; 2015年9月25日

2. 後天性血友病 A (自己免疫性第 VIII/8 因子欠乏症) における抗第 VIII/8 因子自己抗体測定の意義, 口頭, 尾崎 司, 惣宇利 正善, 小川 孔幸, 小林 桂子, 平瀬 伸尚, 家子 正裕, 橋口 照人, 山口 宗一, 一瀬 白帝, 東京都港区芝浦 (北日本後天性血友病診療ネットワーク学術集会・東北止血血栓研究会

合同学術集会), 2016/10/12, 国内.

3. Anti-factor VIII/8 (FVIII/8) autoantibodies in acquired hemophilia A (autoimmune FVIII/8 deficiency). 口頭, 尾崎 司, 惣宇利 正善, 小川 孔幸, 小林 桂子, 平瀬 伸尚, 家子 正裕, 橋口 照人, 山口 宗一, 一瀬 白帝, 横浜市 (第78回日本血液学会学術集会), 2016/10/15, 国内.

4. イムノクロマト法を用いた自己免疫性出血病 XIII/13 と出血性後天性 XIII/13 因子欠乏症の迅速鑑別診断, 口頭, 尾崎 司, 杉山 大輔, 高岡 勇輝, 曲 泰男, 山口 宗一, 橋口 照人, 北島 勲, 惣宇利 正善, 一瀬 白帝, 東京都千代田区大手町 (第17回 TTM フォーラム), 2017/3/4, 国内

5. 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.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 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（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

国内外の先天性および後天性の血友病を含む出血性疾患の調査研究

研究分担者 森兼啓太 山形大学医学部附属病院 部長

研究要旨：後天性の原因不明の出血の素因の解析を行い、特に第 V 因子活性低下および第 X 因子活性低下が疑われる症例における凝固異常症の診断と詳細な因子解析を行った。5 症例の解析を行い、その原因が因子活性低下によるものと自己抗体産生の可能性があるものに大別された。

A．研究目的

後天性の原因不明の出血の素因の診断および解析を行う。

B．研究方法

患者に残存している因子活性および、その因子に対する自己抗体の検索のために正常血漿補正混合試験を PT, APTT で行い、凝固因子の特定を行った。凝固第 X 因子活性の低下症例が 1 例、凝固第 V 因子活性の低下症例が 4 例判明した。5 症例の凝固因子活性値の測定、およびインヒビターの検索をベセスダ法にて定量測定を行った。

（倫理面への配慮）

患者情報は連結不可能匿名化して行い、情報管理を徹底して行った。

C．研究結果

5 症例の解析を行い、凝固第 X 因子活性の低下症例が 1 例、凝固第 V 因子活性の低下症例が 4 例であった。凝固第 X 因子の 1 例は因子欠乏症の可能性が疑われる症例であり、凝固第 V 因子の 4 例については 2 例が自己抗体産生の可能性があり、2 例は欠乏症例の可能性のある症例であった。

D．考察

後天性出血性疾患に関しては、その疫学や素因に関して不明な点が多い。更に、血液凝固の機序に關与する凝固因子をはじめとする様々な因子のいずれか一つが欠落しても出血性疾患に至る可能性があり、詳細な病態把握が治療に不可欠である。本研究班では、様々な凝固因子の障害に関して分担して研究を進めており、我々は第 V 因子と第 X 因子の障害に起因すると考えられる 5 症例に対して障害の本態を検討した。

その結果、因子活性または欠乏と自己抗体産生という大きく異なる病態が推定された。このような詳細な検討を今後も重ねていくことにより、後天性出

血性疾患に対する理解が更に深まり、早期診断と治療に結びつけることができると考えられた。

E．結論

第 V 因子および第 X 因子の障害に起因すると考えられる後天性出血性疾患の 5 症例を解析した。因子欠乏と自己抗体という大きく異なる病態が推定された。このような詳細な検討を今後も重ねていくことにより、後天性出血性疾患に対する理解が更に深まり、早期診断と治療に結びつけることができると考えられた。

F．健康危険情報

（総括研究報告書にまとめて記入した）

G．研究発表

1. 論文発表

Kanouchi K, Narimatsu H, Ohnuma O, Morikane K, Fukao A. Clinical usefulness of the dilute Russell viper venom time test for patients taking warfarin. Int J Hematol. 2017 Aug; 106(2):206-211.

2. 学会発表

叶内和範、惣宇利正善、小川ひな、大久保里枝、若井幸子、森兼啓太、一瀬白帝 複合的凝固系異常所見を示した高力価の中和型抗V因子抗体（第V因子インヒビター）の実験的解析 第39回日本血栓止血学会学術集会 2017年6月9日 名古屋市、口演

小川ひな、大久保里枝、川西智子、若井幸子、叶内和範、惣宇利正善、森兼啓太、一瀬白帝 透析後止血困難で当初第VIII, 第IX 因子インヒビターが疑われた高力価第V因子インヒビター症例 第39回日本血栓止血学会学術集会 2017年6月9日 名古屋市、口演

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

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 血液凝固関連von Willebrand因子、血液凝固第XIII/13因子Bサブユニットおよび第V/5因子に
対するモノクローナル抗体の作製

研究分担者 横山 智哉子 山形大学大学院理工学研究科 助教

研究要旨

自己免疫性von Willebrand因子（VWF）欠乏症、自己免疫性凝固第XIII/13因子（F13）欠乏症および自己免疫性凝固第V/5因子（F5）欠乏症の診断および治療効果判定には、それぞれの因子（抗原）や自己抗体の検出が不可欠である。本年度は、これらの検出に用いる、VWF、F13-BサブユニットおよびF5に対するモノクローナル抗体を作製した。また、作製したモノクローナル抗体を用いたELISA法により、正常血漿および患者血漿中のVWF、F13-Bおよび抗F13-B自己抗体を測定した。

A．研究目的

自己免疫性VWF欠乏症（AVWD）、自己免疫性F13欠乏症（AH13）および自己免疫性F5欠乏症（AH5）の診断および治療効果判定には、それぞれの抗原や自己抗体の検出が不可欠である。これらの診断基準・重症度分類、診療指針等の作成に基準となる有用なモノクローナル抗体の作製と安定供給を目的とした。

B．研究方法

モノクローナル抗体の作製

ヒト精製VWFタンパク質、リコンビナントF13Bサブユニットタンパク質（F13-B）およびヒト精製F5タンパク質をそれぞれラットに免疫し、腸骨リンパ節法により、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞を樹立した。作製したモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞クローンのスクリーニングは、ELISA法およびウェスタンブロット法を用いた。

抗原および自己抗体の検出

作製したラットモノクローナル抗体および市販の抗体を用いたELISA法にて、抗原および自己抗体の検出をおこなった。

（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こなった。

C．研究結果

抗VWFモノクローナル抗体の作製とELISA法による抗原の検出

樹立したモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞のスクリーニングにより、内在性VWFを認識するラットモノクローナル抗体を3クローン得た。また、樹立したモノクローナル抗体を2種用いたサンドウィッチELISA法により、正常血漿および患者血漿中のVWF抗原の検出が可能であった。

抗F13-Bモノクローナル抗体の作製とELISA法による抗原および自己抗体の検出

樹立したモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞のスクリーニングにより、内在性F13-Bを認識するラットモノクローナル抗体を21クローン得た。また、樹立したモノクローナル抗体と市販のウサギポリクローナル抗体を用いたサンドウィッチELISA法により、正常血漿および患者血漿中のF13-B抗原の検出が可能であった。さらに、作製したモノクローナル抗体を捕捉抗体として用いたELISA法により、患者血漿中の自己抗体の検出が可能であった。

抗F5モノクローナル抗体の作製

樹立したモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞のスクリーニングにより、内在性F5を認識するラットモノクローナル抗体を22クローン得た。

D．考察

抗VWFモノクローナル抗体および抗F13-Bモノクローナル抗体は、正常および患者血漿中の抗原の検出に有用であり、抗F13-Bモノクローナル抗体は患者血漿中の自己抗体の検出も可能であった。したがって、これらの抗体はAVWD、AH13およびAH5の診断および治療効果判定に有用であると考えられる。現在、抗VWFモノクローナル抗体による自己抗体の検出の条件検討および抗F5モノクローナル抗体を用いたELISA法の検討をおこなっている。

E．結論

本年度は、ヒト血漿中の内在性の因子を認識するモノクローナル抗体を作製し、抗原および自己抗体の検出のため、これらの抗体を用いたELISA法を確立した。これらはモノクローナル抗体であり、半永久的に均一な品質の抗体が安定供給できる。したがって、正確で確実な診断および治療効果判定において、これらのモノクローナル抗体は非常に有用であると考えられる。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

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

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

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

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調査研究
に関する研究

分担研究課題 第V因子インヒビターの診断と治療に関する検討

研究分担者 朝倉 英策 金沢大学附属病院 准教授

研究要旨

後天性第V因子インヒビターの診断においては、突然のPT、APTTの延長とHPTとの乖離所見が有用であり、HPTはクロスミキシング試験と同様にFVインヒビターの診断に欠かせない検査と考えられた。治療においては、無症候の症例では自然軽快が期待される一方で、致命的出血をきたす例もあり注意が必要である。

A. 研究目的

第V因子（FV）インヒビター（自己免疫性第5因子欠乏症（AFV/5D））発生例において、実際には診断に要する時間が課題である。クロスミキシング試験は即日結果が得られる施設が増えているが、凝固因子活性やインヒビター力価は、院内測定可能な施設は限られており、外注している医療機関では結果が判明するまでに日本では1週間程度を要することが多い。

そこで、我々は、多くの施設で即日検査可能であるヘパラスチンテスト（HPT）に注目した。突然のPT、APTT両者の延長を認めた際に、HPTを測定し、両者の間に乖離を認めた場合、HPT検査の特性からFV欠乏あるいはFVインヒビターの存在を疑い、クロスミキシング試験の結果と併せてより迅速にFVインヒビターの診断が可能になるか検討した。

B. 研究方法

2009年から2017年に当施設で経験したFVインヒビターを集積した。その結果、5例の後天性FVインヒビター症例が判明した。

いずれも発症時のPTとHPTとの間に乖離を認めており、FVインヒビターの診断においてHPTは有用な検査と想定されたので、これらの症例について検討を加えた。

また、出血症状のない症例はいずれも自然軽快しており、発症当初よりFVインヒビターを疑うことで、治療介入の必要性の有無について迅速に判断を行うことが可能であった点においてもHPT測定の意義があるかどうか検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は、金沢大学の倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

【Case 1】50歳代男性。2008年にB型肝炎硬変、食道静脈瘤と診断された。同年に肝細胞癌を指摘され当院へ紹介となり、ラジオ波焼灼術（radiofrequency ablation: RFA）を施行した。2009年に食道静脈瘤の治療目的に当院再入院となった。入院時血液検査では血小板数 $35 \times 10^9/L$ （基準値： $130-350 \times 10^9/L$ ）、PT13.6秒（基準値：10.5-12.9秒）、APTT32.2秒（基準値：27.3-40.3秒）、肝予備能はChild - Pugh A（6点）であった。第2病日に食道静脈瘤に対し内視鏡的硬化療法（endoscopic sclerotherapy: EIS）を施行した。この際、穿刺部にトロンピン（ウシトロンピン製剤）を散布し、穿刺後の止血に問題を認めなかった。第9病日に再度EISを施行し、抜針後に針孔出血を認め、圧迫止血に約30分要した。第10病日の採血で、PT28.9秒、APTT59.6秒と延長を認め当科紹介となった。PTが変動したのにもかかわらずHPTは不変であったことより、FVインヒビターを疑った。クロスミキシング試験は遅延型のインヒビターパターンを示し、FV活性1%、FVインヒビター16.0BU/mLであり、後天性FVインヒビターと診断した。第10病日以降、出血症状を認めず、自然経過にて約3週間でPTは改善した。

【Case 2】70歳代男性。2009年下血を認め、精査の結果、進行性直腸癌、多発肝転移と診断された。前医の術前検査にてPT79.0秒、APTT132.5秒と延長を認め、新鮮凍結血漿（FFP）輸注が行われたが改善しなかった。HPT90%と正常であり、FV欠乏症またはFVインヒビターが疑われ、当院外科転院および当科紹介となった。クロスミキシング試験は、遅延型のインヒビターパターンを示し、FV活性1%、FVインヒビター4.2BU/mLであり、後天性FVインヒビターと診断した。腫瘍による腸閉塞の危険性が高く、早

急に手術が必要となり、第 9 病日、第 11 病日、第 13 病日に血漿交換を施行した。血漿交換 3 回施行後に PT15.7 秒、APTT32.3 秒まで改善し、第 14 病日に腹腔鏡補助下直腸低位前方切除術を施行した。また、術後に血小板製剤 (PC) 10 単位輸注し、止血は良好であった。しかしながら、術後 1 週間で PT70.0 秒、APTT160.1 秒と再延長し、術後 2 週間頃より再び下血を認めるようになった。インヒビターに対し免疫抑制療法を検討したが、転移巣が増大し、大腸癌に対し積極的な治療を行わない方針となったこと、高齢であること、術後であることなどから免疫抑制療法によるメリットが少ないと判断し、下血の際は PC 輸注で対応することとし、術後約 3 週間で転院した。

【Case 3】60 歳代男性。C 型肝硬変にて通院中、2009 年に食道静脈瘤破裂に対し内視鏡的静脈瘤結紮術 (endoscopic variceal ligation: EVL) を施行、2010 年に肝細胞癌に対し RFA を施行、2010 年 2011 年に食道静脈瘤に対し複数回 EIS を施行された。2012 年肝細胞癌再発、食道静脈瘤の加療目的に当院入院となった。入院時検査所見では、血小板数 $6.4 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、PT14.5 秒、APTT33.2 秒、肝予備能は Child - Pugh B (9 点) であった。第 3 病日に肝動脈化学塞栓療法を施行し、第 12 病日に EVL を施行した。EVL の際にトロンビン (ウシトロンビン製剤) 散布を行い止血に問題を認めなかった。第 13 病日に PT 20.0 秒、APTT 42.5 秒と延長、HPT の推移は不変であり、後天性 FV インヒビターの疑いで当科紹介となった。クロスミキシング試験の結果は直線的で典型的なインヒビターパターンではなかったが、FV 活性 22% と低下を認め、後天性 FV インヒビターと診断した。診断時には出血症状を認めず、自然経過にて約 2 週間で PT は改善した。

【Case 4】70 歳代女性。C 型肝硬変、肝細胞癌にて通院中、2013 年肝細胞癌に対する加療目的に当院入院となった。入院時検査所見では、血小板数 $18.8 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、PT11.8 秒、APTT27.9 秒、肝予備能は Child - Pugh A (6 点) であった。第 12 病日に RFA を施行し、セフトリアキソンを開始した。第 19 病日に蕁麻疹が出現したため、セフトリアキソンを中止し、レボフロキサシンを開始した。第 22 病日の検査で PT 30.5 秒、APTT 72.0 秒と延長を認め当科紹介となった。HPT87% と正常であり、後天性 FV インヒビターを疑った。クロスミキシング試験は遅延型のインヒビターパターンであり、FV 活性 7% と低下を認め、後天性 FV インヒビターと診断した。診断時には出血症状を認めず、自然経過にて約 1 週間で PT は改善した。

【Case 5】70 歳代女性。C 型慢性肝炎にて通院中、2017 年肝細胞癌に対する加療目的に当院入院となった。入院時検査所見では、血小板数 $12.8 \times 10^4 / \mu\text{L}$ 、

PT11.4 秒であった。第 2 病日、第 9 病日に RFA を施行し、セフトリアキソンを開始した。第 10 病日に皮疹が出現し、蕁麻疹の疑いでセフトリアキソンを中止した。第 14 病日の検査で PT 24.3 秒、APTT 48.0 秒と延長を認め当科紹介となった。HPT92% と正常であり、後天性 FV インヒビターを疑った。クロスミキシング試験は遅延型のインヒビターパターンであり、FV 活性 26% と低下を認め、後天性 FV インヒビターと診断した。診断時には出血症状を認めず、自然経過にて約 1 週間で PT は改善した。

なお、Case3、4、5 は、当科紹介時、既に PT は改善傾向にあり、出血症状も認めていなかったため、FV インヒビター (Bethesda 法) の測定は行わなかったが、クロスミキシング試験のインヒビターパターンと一時的な FV 活性低下より、後天性 FV インヒビターと確診された。

D. 考察

後天性 FV インヒビターに関する過去の報告の多くは、手術時の止血目的に用いられるウシトロンビン分画を含むフィブリン糊の使用後に発生している。ウシトロンビン分画中に少量混入しているウシ FV が、ヒト FV との共通抗原に対して抗体産生を促すと考えられている。ウシ由来トロンビン分画からヒト血漿由来トロンビン分画への変更や遺伝子組換えトロンビンの使用の増加により、ウシ FV 関連の FV インヒビター症例は今後減少していくと考えられる。なお、ヒト血漿由来トロンビン分画による FV インヒビターも報告されているが、発症の原因として、過去のウシトロンビン暴露との関連が考えられている。

ウシトロンビン関連や FV 欠損症患者で発生する FV インヒビター症例を除くと、基礎疾患として自己免疫性疾患や悪性腫瘍を認める症例は約 30% である。何らかの薬剤を使用していた症例は約 40% で、抗生剤の投与が最も多く、その他手術、感染症、移植なども発症要因としてあげられる。実際には、悪性腫瘍、手術、感染症、抗生剤使用などいくつかの要因が重なることが多く、インヒビター発生の要因の特定は困難である。また、約 20% は特発性であった。自験例では、いずれの症例も消化器悪性腫瘍が背景にあり、症例 1、3 では食道静脈瘤の治療に際してウシトロンビン製剤を使用していること、症例 4、5 では RFA 後に抗生剤を使用していることやその他肝炎ウイルスなどもインヒビター発症の要因と考えられ、要因を一つに特定することは困難であった。

これら基礎疾患や薬剤使用の有無、出血症状の有無に関わらず、突如、PT、APTT の延長を認めた際には、凝固因子インヒビターの存在を念頭に、診断に必要な検査を進める。今回の症例は、いずれも入院経過中に、突如 PT、APTT 両者の延長を認め、全例で発症時の PT、APTT と HPT との間に乖離所見を認めた。5 例全例で、この乖離所見が最初に FV インヒビター

を疑う契機となった。

HPT は、PT に類似した検査で、外因系凝固因子活性を反映する。測定試薬に組織因子および硫酸バリウム吸着ウシ血漿が添加され、FV、フィブリノゲンが補われているため、外因系凝固活性化機序のうち FV とフィブリノゲンの影響が除かれ、ビタミン K 依存性凝固因子である第 VII、X、II 因子の変化を反映する。このため、PT が延長しているにも関わらず、HPT が正常であれば、FV の低下が疑われる（フィブリノゲンの低下がないことが前提）。PIVKA の影響を受けにくい点がトロンボテストと異なる。HPT は肝で生成される第 VII、X、II 因子活性を総合的に反映するため、肝予備能のマーカーとして使用される。日本では、近年まで全国の医療機関、特に消化器内科や肝臓専門医によって頻りに測定されてきた。

肝予備能の低下した症例では HPT の低下を認める。ただし、PT、APTT の突然の延長にもかかわらず HPT が低下しなければ、両者の間に乖離があると判断する。今回とくに、症例 1、3 では肝予備能の評価目的に HPT が定期的に検査されていたため、PT、APTT 延長時の HPT が低下していたにも関わらず、その推移は不変であり、乖離所見があると即座に判断できた。そして、この乖離所見より、後天性 FV インヒビターを疑い、クロスミキシング試験、FV 活性値、臨床経過などから総合的に判断し、FV インヒビターの診断を確定した。

HPT を評価する際の注意として、前述の肝予備能が低下している症例のほか、測定試薬に硫酸バリウム吸着ウシ血漿が添加され、FV が補われているが、FV インヒビター力価の高い症例では、試薬中の FV が中和されてしまうので HPT が低下する可能性もあると推測される。また、HPT は主に肝予備能のマーカーとして用いられてきたが、PT でも代用可能な検査であるため、本邦では 2018 年 4 月から、保険点数のつかない検査となった。しかしながら、HPT は FV インヒビターの診断のためには簡便かつ有用な検査であり、今後も果たす役割は大きいと考えられる。

クロスミキシング試験は、FV インヒビターの診断に欠かせない検査であり、患者血漿に正常血漿を添加し、延長している凝固時間が短縮しなければインヒビターの存在を考える。第 VIII 因子に対するインヒビターの反応は通常、2 時間の加温が必要な遅延型であるが、FV インヒビターは 15 分以内で FV を不活化する即時型が多いとの報告もある。しかし、我々の 5 例中全例で、クロスミキシング試験曲線の即時反応はいずれもほぼ直線的であり、インヒビターの確認のために 2 時間の加温（遅延型インヒビターの精査）も必要とした。この点については、同様の報告も見られており、インヒビター力価との関連が示唆されるが、FV インヒビターを疑った場合のクロスミキシング試験は混合直後（0 時間）のみならず 37、2 時間加温後も実施することが望ましい。

FV インヒビターは、約半数は自然に抗体が消失す

るため、通常、無症候性の場合には治療の必要がない。我々の経験例でも、症例 2 以外は無症候性であり、発症時より FV インヒビターが疑われたため、慎重に経過観察とした。出血症状に対する止血治療としては、FFP、PC、活性型プロトロンビン複合体製剤（APCC）、遺伝子組換え活性型凝固第 VII 因子製剤（rFVIIa）などが用いられるが、FFP 中に含まれる FV は少量のためインヒビターにより容易に不活化され、止血効果は期待できない。血小板には顆粒中に FV が多量に存在しており、活性化して脱顆粒するまではインヒビターから保護されるため、PC 輸注は臨床的に効果があると考えられる。また、重症出血に対しては rFVIIa も使用されるようになってきており効果を得ている。出血症状を認めた症例 2 においても、FFP の効果は得られなかったが、血漿交換を実施し、PC10 単位を輸注したところ、術後の止血コントロールは良好であった。

インヒビターに対する免疫抑制療法としては、副腎皮質ホルモン単独投与あるいは cyclophosphamide、azathioprine などの併用で約 70% が良好な反応を得られると報告されている。また、近年は抗 CD20 抗体である rituximab の有効性も報告されている。血漿交換や免疫吸着療法も、急速にインヒビター力価が低下し効果的である。症例 2 は、早急に手術を行う必要があり、短期間でインヒビター除去を目的として術前に計 3 回の血漿交換を施行し、良好な反応を得た。しかしながら、抗体を一時的に除去するだけで抗体産生自体を抑制しないため、効果は持続せず、約 1 週間程度であった。症例 2 を除いてはいずれも発症時に明らかな出血症状を認めなかったため、治療の介入は行わず慎重に経過観察したところ、出血症状をきたすことなく約 1-3 週間で自然軽快し、その後再発は認めていない。

（その他の自己免疫性凝固因子欠乏症に関する成果）

後天性血友病 A は、重症の出血症状をきたすことが知られている。止血治療として、遺伝子組換え活性型凝固第 VII 因子製剤、血漿由来活性型プロトロンビン複合体製剤に加えて、血漿由来第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤が加わった。我々の使用経験から、血漿由来第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤は、即効性および効果持続の両面で有効である可能性が考えられた。

E. 結論

FV インヒビターは、後天性凝固因子インヒビターの中でも稀な疾患で症状が多彩である。出血症状が軽微あるいは無症状で自然軽快する場合もあれば、致命的な出血症状を呈し、治療を要する場合もあり、診断と治療介入の迅速な判断が重要である。

当施設で経験した 5 例の後天性 FV インヒビター症例は、いずれも悪性疾患を背景に突如、PT、APTT 両者の延長を認め、全例で PT と HPT に乖離を認めた。1 例を除いて診断時に出血症状は認めず、1-3 週間

で自然軽快した。出血症状を認めた1例では血漿交換、血小板輸血を行った。

後天性 FV インヒビターの診断においては、突然の PT、APTT の延長と HPT との乖離所見が診断に有用と考えられた。出血症状が軽微である場合は、自然軽快が期待される。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kadohira Y, Yamada S, Hayashi T, Morishita E, Asakura H, Ichinose A: A discrepancy between prothrombin time and Normotest (Hepaplastintest) results is useful for diagnosis of acquired factor V inhibitors. Int J Hematol, in press.

2. 学会発表

- 1) 門平靖子、寺上貴子、朝倉英策：後天性凝固因子インヒビター～第 VIII、第 V 因子を中心に～。第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム。2017.1.21.

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

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的になる。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, Sourì 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

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

研究分担者 橋口 照人 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨

自己免疫性出血症であるVIII/8因子抗体症例の出血症状は重篤であり致死率も高い。集積した症例検体を利用して、簡易診断キットの試作品による鋭敏かつ包括的なスクリーニング検査法の有用性を検証した。また、本症の診断のスクリーニングに有用とされるクロスミキシングテストの客観的評価方法についてAPTTクロスミキシングテストを施行した25症例について検討を行った。その結果、結果の解釈は従来の上凸、下凸の波形パターンではなく、たとえ下凸であっても正常血漿の混合によってしっかりと補正されなければ本症の病態の可能性を考えて検査室より報告するべきであると考えられた。

A．研究目的

VIII/8因子抗体症例は、これまでは希少とされているが、超高齢社会となった我が国では次第に症例数が増加しつつある。その症状は重篤であり、生命の危機に瀕する可能性が高いため、その総合的な診断基準・重症度分類・診療指針等の整備を目的として、鋭敏かつ包括的なスクリーニング検査法の有用性を検証した。また、自己免疫性凝固因子欠乏症の診断の過程においてクロスミキシングテストが有用であり、その判定は一般的に上凸

がインヒビターパターン、下凸が凝固因子欠損パターンとされる。しかし判定に苦慮する症例が少なくない。本研究ではクロスミキシングテストの判定において上凸、下凸の波形パターンに依存しない解釈を試みた。

B．研究方法

平成27年度に完成させたイムノクロマトグラフィーの試作品を用いて、抗FVIII/8抗体を有する患者検体との反応性の基礎的検討を試みた。また、応性の基礎的検討クロス

ミキシングテストを施行した25症例を下凸、上凸、下上凸以外（判定困難）に分類した上で手術を施行した症例、インヒビターあるいは因子欠損の診断のついた症例、数値判定（CMT / Rosner index）について検討した。また20%の正常血漿の混合における2時間インキュベーション後のAPTT補正率を検討した。

（倫理面への配慮）

鹿児島大学病院臨床研究倫理審査委員会の承認を得た。

C . 研究結果

山形大学にて検体の収集は順調に行われた。補足抗体として候補に挙がった4種類の抗体を用いたイムノクロマト法の試作品を用いて、6症例の後天性血友病患者の血清に対してその反応性を評価した。自己抗体の検出には成功したが、特異度に問題を残す結果となった。APTTクロスミキシングテストの波形パターンにて下凸は10症例、上凸は4症例、判定困難は11症例であった。最終診断のついた症例はLA：7症例、自己免疫性凝固因子欠乏症（VIII / 8因子抗体症例）：2症例、凝固因子欠損：5症例であった。判定困難の11症例のうち7症例が数値判定ではインヒビターであった。20%の正常血漿の混合により上凸ならびに判定困難の15症例の全症例が35%以上補正されずLAまたはインヒビターの可能性を示唆した

D . 考察

本邦における後天性血友病症例の発生は医中誌に2018年に報告された数だけでも42

件に及ぶ。従ってその簡易診断法を確立することの意義は大きい。今回の検討において、イムノクロマトグラフィーによる簡易診断は可能であることが示された。臨床応用への実現を目指して、感度、特異度の更なる検証を進めていく必要がある。クロスミキシングテストの解釈は上凸・下凸ではなく、正常血漿の混合によってしっかりと補正されなければ自己免疫性凝固因子欠乏症、LA、インヒビターの病態の存在の可能性を考えて検査室より報告するべきであると考え。今後、このような観点から症例を重ね、自己免疫性凝固因子欠乏症の存在を疑うための正常血漿の添加によるAPTTの補正率のカットオフ値について検討していきたい。

E . 結論

後天性血友病の背景にある様々な病態（自己免疫疾患、悪性腫瘍、炎症など）に対する非特異的反応の検討とその対処法を確立して実用化への検討を継続する。

自己免疫性凝固因子欠乏症の診断のスクリーニングに有用とされるクロスミキシングテストの評価方法においては上凸、下凸の波形パターンではなく客観的評価方法が必要である。

F . 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
パターン解析について（日本臨床検査自動

化学会第49回大会、2017年 9月)

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

なし

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

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

von Willebrand因子抗体症例の調査と実験の実施

研究分担者 小川 孔幸 群馬大学医学部附属病院 助教

研究要旨

「後天性von Willebrand症候群（AVWS）」の症例実態を明らかにするために、文献的検索調査を実施した。近年、特に2010年以降にAVWSの報告が増加し、AVWS21症例のうち9例(39%)が自己免疫性AVWS（＝厚労省指定難病288-3，自己免疫性von Willebrand因子欠乏症：AVWD）であったという報告より、潜在的に自己免疫性AVWSが診断されずに多く存在する可能性が示唆された。また当院で免疫抑制療法により一旦寛解に至った後に再発し、治療に難渋する自己免疫性AVWS症例を経験した。従って、自己免疫性AVWSの標準的化されたスクリーニング検査の開発と治療法の標準化、長期管理の指針が必要であろう。

A．研究目的

後天性出血症の中で、難病の要素を満たす「後天性 von Willebrand 症候群（以下 AVWS）」は、基礎疾患を背景に様々な機序により von Willebrand 因子(VWF)の質的・量的異常を呈する疾患の総称である。基礎疾患としては、心血管疾患や M 蛋白を伴うリンパ増殖性疾患、悪性腫瘍、自己免疫疾患が多いとされる。その病態はいまだ不明な点も多く、基礎疾患ごとに発症機序も異なり、強いずり応力により

高分子 VWF マルチマーが分解される、腫瘍細胞等により高分子 VWF マルチマーが吸着される、VWF の産生が低下する、自己抗体による免疫学的機序等多岐に渡っている。そのような多様性に富む AVWS の実態を文献検索により調査し、その詳細を明らかにする。その中でも本分担研究の対象となる von Willebrand 因子抗体を有し自己免疫性の機序で発症する自己免疫性 AVWS(＝厚労省指定難病 288-3，自己免疫性 von Willebrand 因子欠乏症：AVWD)に

関する情報を発信することにより、疾患認知度を上げ、診断をされずに存在する症例を拾い上げる。

B．研究方法

(1) AVWSの報告による実態調査：PUB-MEDを用いてacquired von Willebrand syndromeで2017年12月末現在まで文献検索し文献を精読する。

(2) 実症例の検討：当院で経験した自己免疫性AVWS症例の詳細な経過を考察し、報告する。

(3) 本研究の対象疾患の症例集積：本研究の全対象疾患の症例を集積し、調査活動に役立てる。

(倫理面への配慮) 本研究は、群馬大学倫理審査委員会に課題名「国内外の先天性および後天性の血友病を含む出血性疾患の調査研究」として承認を得た。

C．研究結果

(1) PUB-MEDで検索すると579文献がヒットし、内容を目視で確認したところ、295文献がAVWSに関する報告であった。内訳は、1999年以前 67件、2000年 3件、2001年 7件、2002年 8件、2003年 8件、2004年 6件、2005年 3件、2006年 13件、2007年 7件、2008年 11件、2009年 10件、2010年 12件、2011年 16件、2012年 9件、2013年 13件、2014年 29件、2015年 25件、2016年 18件、2017年 30件であった。

(2) ステロイドによる免疫抑制療法により一旦寛解を達成した後に、再発した自己

免疫性AVWS症例の長期治療経過の詳細と考察について第38回日本血栓止血学会で発表し、その後、学術誌に掲載された(臨床血液. 2017.58:613-18)。

(3) 当院では、平成28年度に1名のAVWS、1名のAH13、2名のAHA症例を経験し、平成29年度に2名のAHA、1名のF5インヒビター症例を経験した。

D．考察

1968年に全身性エリテマトーデスに合併した症例報告がなされて以来、2016年末までに265文献が報告されていた。1979年以前 18件(1.5件/年)、1980年代 26件(2.6件/年)、1990年代 23件(2.3件/年)、2000年代 76件(7.6件/年)、2010年代 152件(19.0件/年)と近年特に2010年以降に報告数が急増していた。

これまでの文献で最多であったのは、大動脈弁狭窄を主とした心血管疾患に伴うAVWSであり、近年は体外循環に関連したAVWSの報告が増えている。その他には、造血器腫瘍(リンパ増殖性疾患や骨髄増殖性疾患、特にMタンパクを有する疾患)やSLE等の自己免疫性疾患に合併する症例の報告が多かった。AVWSの21症例のうち9例(39%)が自己免疫性AVWSであったという報告より、相当数の自己免疫性AVWS症例が診断されず、潜在的に存在する可能性が示唆された。AVWSの治療の原則は基礎疾患の治療であり、出血時には止血治療が実施される。自己免疫性のAVWS症例に対しては、一般的に大量ガンマグロブリン治療やステロイドなどの免疫

抑制療法が検討される。当院で経験した再発難渋例の経過から自己免疫性のAVWSに対する免疫抑制療法の是非や種類、長期管理に関して、本邦においてさらなる症例の蓄積が必要であると考えられた。

E . 結論

自己免疫性 AVWS は、未だその診断法や治療法が標準化されていないため、本研究班で症例を蓄積し、将来の「均てん化」を目指す。また難治性の病態であり、長期の管理が必要となる場合がある。本研究の成果により、難病指定されたことが、患者の費用負担の軽減と実態把握に役立つと考える。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) 柳澤邦雄, 小川孔幸, 三井健揮, 野口紘幸, 清水啓明, 石崎卓馬, 半田寛, 家子正裕, 一瀬白帝, 野島美久. 併存する食道がんに対する放射線治療後に寛解に至った後天性血友病. 臨床血液.2016年.57:451-55.
- 2) 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内藤千晶, 三原正大, 半田寛, 静怜子, 井上まどか, 内藤澄悦, 家子正裕, 一瀬白帝, 野島美久. 免疫性血小板減少症の維持療法中に発症した後天性血友病A. 臨床血液.2016年.57:456-60.
- 3) 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 清水啓明, 三井健揮, 一瀬白帝, 野島美久, 半田寛. 当院におけるリツキシマブによる遅発性好中球減少症を生じた自己免疫性

血栓止血性疾患の検討.臨床血液.2016年.58:42-46.

4) 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 hemophilia due to anti-factor XIII/13 antibodies complicated by pulmonary thromboembolism. Acta Haematol. 2017;137(3):141-147.

5) 小林宣彦, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内海英貴, 鈴木伸明, 松下正, 一瀬白帝, 半田寛. 抗リン脂質抗体症候群を合併した自己免疫性の後天性von Willebrand症候群. 臨床血液.2017年.58:613-18.

6) Ogawa Y, Yanagisawa K, Uchiumi H, Ishizaki T, Mitsui T, Gouda F, Ieko M, Ichinose A, Nojima Y, Handa H. Clinical characteristics and outcome of acquired hemophilia A: experience at a single center in Japan. Int J Hematol. 2017;106:82-89.

2. 学会発表

- 1) 小林宣彦, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内海英貴, 鈴木伸明, 松下正, 一瀬白帝, 野島美久, 半田寛. 免疫抑制療法中に病勢再燃した自己免疫性後天性von Willebrand症候群の長期経過. 第38回日本血栓止血学会学術集会(奈良)、2016年6月16日-18日
- 2) 小川孔幸, 柳澤邦雄, 飯野宏允, 内藤千

晶，内山由理，小林宣彦，石崎卓馬，野島美久，半田寛. リツキシマブによる遅発性好中球減少症を生じた後天性凝固異常症の検討. 第38回日本血栓止血学会学術集会(奈良)、2016年6月16日-18日

3) 金谷秀平，柳澤邦雄，小川孔幸，田原研一，清水啓明，三井健揮，斉藤貴之，尾崎司，惣宇利正善，一瀬白帝，半田寛. 増悪寛解を繰り返す後天性von Willebrand Syndrome (AvWS)の1例. 第39回日本血栓止血学会学術集会(名古屋)、2017年6月8日-10日

4) 松村郁子，小川孔幸，柳澤邦雄，小倉秀充，尾崎司，惣宇利正善，一瀬白帝，半田寛. 止血に難渋した気道出血を契機に診断された成人発症の凝固第XIII/13因子欠乏症例. 第18回日本検査血液学会学術集会(札幌)、2017年7月22日-23日

5) 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. 第18回日本検査血液学会学術集会(札幌)、2017年7月22日-23日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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 後天性線溶異常症に関する研究

研究分担者 浦野 哲盟 浜松医科大学医学部 教授

研究要旨

自己免疫性出血症の内、線溶系因子に対する自己抗体による症例の診断及び重症度分類の基盤となる、検査法の確立を目指す。具体的には「包括的線溶活性測定法」と「微量 PAI-1 活性測定法」の確立を目指す。

A. 研究目的

自己免疫性出血症の内、線溶系因子に対する自己抗体による症例の診断及び重症度分類の基盤となる、検査法の確立を目指す。

することにより、各検体固有の線溶活性、並びに固有のフィブリン安定化程度を検出することができる。今回、全血クロット作成時の、凝固あるいはフィブリン形成過程がどのように溶解時間に影響するかという基礎的事項を検討した。

B. 研究方法

包括的線溶活性測定法の確立

前回の厚労科研時に取り組んだ「包括的線溶活性測定法」の検証を行い、線溶系因子の異常をどのように反映するか検証する。方法は、採血後の全血をトロンビン処理後、一定時間反応後に生成された D-dimer 量を測定する方法である。その際アプロチニン添加により線溶系を抑制した検体における D-dimer 量と比較

微量 PAI-1 活性測定法の確立

AlphaLISA 法を用いた、微量 PAI-1 抗原量、並びに活性型 PAI-1 測定法を本学薬理学講座の岩城孝行准教授と共同で確立する。抗原量に関しては、通常の ELISA 法に比べ 2 オーダー高い感度で測定可能である結果をすでに得ている。今回 home-made の種々抗体を用い、測定法の最適化を検討する。

PAI-1 中和抗体の同定及び活性測定

法の確立

PAI-1 欠損症例は、euglobulin clot lysis time (ECLT) が calcium ion (Ca^{++}) 存在下で短縮するという PAI-1 依存性及びトロンビン依存性の現象を欠く事実より発見された。同法を用いて、正常血漿の患者血漿添加に伴う Ca^{++} 依存性 ECLT の短縮が患者血漿により消失する現象を用い、PAI-1 中和抗体存在のスクリーニングが可能か検討する。また を用いて、正常血漿中の活性型 PAI-1 量への PAI-1 中和抗体の影響を解析し、スクリーニング法として妥当か検討する。

低 PAI-1 活性による出血症例の検討

PAI-1 低値による異常出血症例に関して、遺伝子検査により先天性欠損症を除外するとともに、その原因を検討する。
(倫理面への配慮)

症例の解析においては、連結可能匿名化により検体を扱い患者保護を徹底する。

C. 研究結果

包括的線溶活性測定法の確立

ユーグロブリン溶解時間では、クロット形成に必要とするトロンビン濃度に応じて溶解時間は短縮する。これはトロンビンによる plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) の高分子複合体形成による活性中和による。血漿を用いた系においてもクロット形成に要する添加トロンビン量を増加させると高濃度では溶解時間が短縮したが、低濃度では逆に延長した。また血漿クロット作成時に外

因系、並びに内因系凝固カスケードを活性化させ内因性トロンビン産生を増加させると溶解時間は短縮した。その際 2Antiplasmin をフィブリンに架橋する FXIIIa の阻害薬、及び thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) の阻害薬を添加しておく、溶解時間はさらに短縮した。これらの結果を基盤に後述のように TAFI の活性をより良く反映する方法も含め、条件を再検討している。

微量 PAI-1 活性測定法の確立

commercial base の抗体の信頼性、並びに供給の継続性を勘案し、home-made 抗体を作成し評価している。Biotin 標識 uPA を用いた活性型 PAI-1 の測定に関しては、すでに良好な検量線を得ており、測定可能となっている。これに関しても home-made 抗体の適性を評価している。

PAI-1 中和抗体の同定及び活性測定法の確立

PAI-1 中和抗体を用いて正常血漿を用いた ECLT への影響を解析した。中和抗体は ECLT を有意に短縮し、抗 PAI-1 自己抗体の検出に有用と考えられた。PAI-1 欠損を疑わせる ECLT 所見を有しながら遺伝子解析で異常が認められなかった症例が増えており、自己抗体の有無を検査は必須である。

低 PAI-1 活性による出血症例の検討

3 症例を検討した。いずれも遺伝子異常は認めず、PAI-1 中和抗体の存在も含め検討中である。

D. 考察

線溶異常症の解析には現在進行中の「包括的線溶活性測定法」と「微量 PAI-1 活性測定法」が有効と考え、早期の確立を目指している。その中で後天性の異常症に関しては中和抗体の存在とその活性を解析する必要があり、「PAI-1 中和抗体の同定及び活性測定法」を中心に、その手法の確立を目指している。また最近の基礎的研究により、TAFI による線溶制御の重要性を再認識した。これまでの TAFI 活性の測定は、血漿クロット溶解時間を carboxypeptidase inhibitor の存在下、及び非存在下で測定し、その差から TAFI 活性を測定していた。我々の最近の研究で可溶性トロンボモジュリンを添加しないと TAFI の全活性を血漿クロット溶解時間に反映することは難しい事実が明らかになった (Brzoska T, et al, *Thromb Haemost* 2017)。新規の血漿 TAFI 活性測定法の確立を目指し、その生理的意義を再検討する予定である。

E. 結論

線溶異常症の同定方法の確立と、異常症を惹起する自己抗体の同定方法および活性測定方法の確立に向け努力中である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Iwaki T, Nagahashi K, Takano K, Suzuki-Inoue K, Kanayama N,

Umemura K, Urano T. Mutation in a highly conserved glycine residue in strand 5B of plasminogen activator inhibitor 1 causes polymerization. *Thromb Haemost* 2017 117(5):860-869

2. Urano T, Castellino FJ, Suzuki Y. Regulation of Plasminogen Activation on Cell Surfaces and Fibrin. *J Thromb Haemost* in press

2. 学会発表

1. Brzoska T, Suzuki S, Suzuki Y, Sano H, Tomczyk M, Tanaka H, Urano T. "Coagulation-dependent initiation of fibrinolysis takes place on the surface of activated platelets, and is targeted by TAFI. The 1st Joint Meeting of ISFP and PA Workshop. 2016. 10. 17
2. Iwaki T, Nagahashi K, Takano K, Suzuki-Inoue K, Kanayama N, Umemura K, Urano T. "A mutation of highly conserved glycine in strand 5B of plasminogen activator inhibitor 1 caused its deficiency due to self-polymerization, which was also observed in other serin proteinase inhibitors. The 1st Joint Meeting of ISFP and PA Workshop. 2016. 10. 17
3. Urano T. "Demonstration of Coagulation-Dependent Initiation of Fibrinolysis by Real Time Imaging Analyses in Vitro and in Vivo." The 9th Congress of Asia Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis. 2016.10.9
4. Urano T. "Coagulation-Dependent Initiation and Amplification of Fibrinolysis on Activated Platelets Demonstrated by Confocal Microscopy Imaging Analyses." 62nd Annual Meeting of Scientific

& Standardization Committee of the
ISTH. 2016. 5. 26

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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 後天性線溶異常症に関する研究

研究分担者 岩城 孝行 浜松医科大学医学部 准教授

研究要旨

先天性plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)欠損症患者では生命の危険を伴うような後出血を特徴とする出血傾向を呈する。本研究では、PAI-1に対する自己抗体産生に伴う後天性PAI-1低下症により出血傾向を呈する患者のスクリーニング法の確立を目指す。

A．研究目的

PAI-1に対する自己抗体産生に伴う出血傾向を呈する症例の診断及び重症度分類の基盤となる、検査法の確立を目指す。

B．研究方法

微量PAI-1活性測定法の確立

AlphaLISA法を用いた、微量PAI-1抗原量、並びに活性型PAI-1測定法を既に開発している。抗原量に関しては、通常のELISA法に比べ2オーダー高い感度で測定可能である結果をすでに得ている。現在home madeの種々抗体を用い、最適な組み合わせを検討している。

PAI-1中和抗体の同定及び活性測定法の確立

PAI-1欠損症例は、euglobulin clot lysis time (ECLT) がcalcium ion (Ca⁺⁺) 存在下で短縮するというPAI-1依存性及びトロンビン依存性の現象を欠く事実より発見された。昆虫細胞を利用した抗体ライブラリーのスクリーニングを通して、PAI-1抗体を作出しECLT法やAlphaLISA法による中和抗体のスクリーニング並びに精製を行う。

ライブラリーより作出されたPAI-1中和抗体を標準物質として使用し、PAI-1抗体産生による後天性PAI-1低下症患者をスクリーニングする。

症例の解析においては、連結可能匿名化により検体を扱い、患者保護を徹底する。

C．研究結果

微量PAI-1活性測定法の確立

AlphaLISA法を用いた、微量PAI-1抗原量、並びに

活性型PAI-1測定法を既に開発している。抗原量に関しては、通常のELISA法に比べ2オーダー高い感度で測定可能である結果をすでに得ている。Biotin標識uPAを用いて活性型PAI-1の良好な検量線を得た。当初準備したBiotin標識uPAが、活性中心mol濃度の測定には十分な高濃度でなかったため、再度標識中である。測定法の一部は新規のPAI-1欠損症例の報告に際し紹介した(Iwaki T et al, Thromb Haemost 2017 117(5):860-869)。

PAI-1中和抗体の同定及び活性測定法の確立

現在PAI-1中和抗体を用いて正常血漿を用いたECLT (Calcium ion存在下及び非存在下)への影響を解析しているところである。PAI-1欠損を疑わせるECLT所見を有しながら遺伝子解析で異常が認められなかった2症例で自己抗体の有無を検査予定である。

D．考察

「微量PAI-1活性測定法」は先天性PAI-1欠損症の発見に非常に有用であるが、後天性の異常症に関しては中和抗体の存在とその活性を解析する必要がある、「PAI-1中和抗体の同定及び活性測定法」を中心に、その手法の確立が望まれる。

E．結論

後天性PAI-1異常症の同定方法の確立と、異常症を惹起する自己抗体の同定方法および活性測定方法の確立が望まれる。

F．健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- . Iwaki T, Nagahashi K, Takano K, Suzuki-Inoue K, Kanayama N, Umemura K, Urano T. Mutation in a highly conserved glycine residue in strand 5B of plasminogen activator inhibitor 1 causes polymerization. Thromb Haemost 2017 117(5):860-869

2. 学会発表

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし

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 von Willebrand 因子抗体症例の調査と実験の実施

研究分担者 北島 勲 富山大学医学薬学研究部 教授

研究要旨

「後天性 von Willebrand 症候群（AVWS）」の症例実態を明らかにするために、文献的検索調査を実施した。2013 年以降 AVWS が増加し、AVWS21 症例のうち 9 例(39%)が自己免疫性 AVWS であった報告より、潜在的に自己免疫性 AVWS が診断されずに多く存在する可能性が示唆された。従って、自己免疫性 AVWS のスクリーニング検査の確立が望まれる。

A．研究目的

後天性出血症の中で、難病の要素を満たす「後天性 von Willebrand 症候群（AVWS）」の実態を調査し、その詳細を明らかにするための検査法確立（スクリーニング検査としての point of care test）を目的とする。

B．研究方法

1) AVWS 報告に実態調査：PUB-MED を用いて acquired von Willebrand syndrome で 2015 年 12 月現在まで文献検索し文献を精読する。2) ヒト血漿中の抗 VWF 自己抗体検出は、抗原をリコンビナント VWF（IHvWF-1656、Inovative 社）二次抗体ヒト IgG-HRP を用いたウタンプロットを行った。3) 抗 VWF 自己抗体検出のための ELISA および EIA 構築とイムノクロマトをキューメイ研究所（大分市）との共同研究を実施した。

（倫理面への配慮）富山大学倫理審査委員会に課題名「国内外の先天性および後天性の血友病を含む出血性疾患と血栓性疾患の調査研究」の実施計画書を提出し、平成 27 年 7 月 7 日付けで承認を受けた。

C．研究結果

1) PUB-MED で検索すると 102 文献がヒットし、2015 年 11 件、2014 年 14 件、2013 年 10 件、2012 年 4 件、2011 年 9 件、2010 年 3 件、2009 年 3 件、2008 年 4 件、2007

件 3 件、2006 年 9 件、2005 年 1 件、2004 年 4 件、2003 年 3 件、2002 年 4 件、2001 年 6 件、2000 年 2 件、1999 年以前 19 件が AVWS に関する報告であった。2) ウエスタンブロット法による自己免疫性後天性 v W F 症候の群診断：臨床研究として、自己免疫性後天性 VWF 病疑例血漿をウエスタンブロット法で検討した。A 病院症例は、血漿 50 倍希釈に対して VWF(600ng)まで反応した。B 病院症例は、血漿 50 倍希釈に対して VWF(300ng)、C 症例は、血漿 50 倍希釈に対して VWF(37.5ng)まで反応した。なお、健康者血漿でも症例により、VWF(300ng)以上では弱い非特異バンドが検出されることがあった。

D．考察

2013 年以降 AVWS が増加し、AVWS21 症例のうち 9 例(39%)が自己免疫性 AVWS であった報告より、潜在的に自己免疫性 AVWS が診断されずに多く存在する可能性が示唆された。そこで、臨床現場で簡便に抗 VWF 自己抗体スクリーニング検査法の確立が重要と考えられた。まず、ウエスタンブロット法により臨床検体を検討した結果、臨床的に疑われた 3 症例で、抗 VWF 自己抗体を検出することができた。今後、EIA による定量検査とイムノクロマト法の確立が望まれる。

E．結論

AVWS は、2013 年以降、症例報告が増加しており、その中でも、わが国において自己免疫性 AVWS が診断されずに存在している可能性がウエスタンブロット法による解析で示唆された。そこで、本疾患を臨床現場で迅速・簡便に診断できる POC テストの確立が望まれる。

G . 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし

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

インヒビターによると考えられるAcquired von Willebrand Syndrome (AvWS)の診断法確立
と病勢評価法の開発に関する研究

研究分担者 松下 正 名古屋大学医学部附属病院輸血部教授

研究要旨

インヒビターによると考えられる Acquired von Willebrand Syndrome (AvWS)の診断法確立と病勢評価法の開発を行った。インヒビターにより発症したと考えられる AvWS 症例の血液検体を対象として、ELISA による抗体の検出、リストセチンコファクターベースのベセスダ法によるインヒビター力価の評価、トロンビン生成試験、ROTEM について検討した。ELISA によるインヒビターの半定量を行ったところ、約半数の症例で抗体が同定されず、非働化血漿・血清を用いる等今後の課題が必要と考えられた。ベセスダ法に関しては検出される力価の範囲が非常に狭く、また値自体が低値であるため、病勢評価の利用について今後の検討を要する。VWF には血小板 GPIb と結合し、血小板凝集を進める働きと FVIII と結合し、FVIII を安定化させる内因系凝固因子としての働きがある。AvWS においては VWF 活性だけでなく、FVIII 活性が低下している症例も多く見られるため、VWF 活性のみを対象にした評価だけでなく、FVIII 活性も含めた評価を行うことが、実臨床では重要であると考えた。

A. 研究目的

インヒビターによると考えられる Acquired von Willebrand Syndrome (AvWS)の診断法確立と病勢評価法の開発を行う。

価（病勢評価法）

3. トロンビン生成試験(治療効果評価)
4. ROTEM(治療効果評価)

以上の凝血学的パラメータについて検討を行った。

B. 研究方法

インヒビターにより発症したと考えられる AvWS 症例の血液検体を用いて、以下の検討を行った。

1. ELISA による抗体の検出（診断法）
2. リストセチンコファクターベースのベセスダ法によるインヒビター力価の評

（倫理面への配慮）

名古屋大学医学部生命倫理委員会の許可の下研究を行った。

C. 研究結果

インヒビターにより発症したと考えられる AvWS 症例の血液検体を用いて、以下の検討を行った。

1. ELISA による抗体の検出（診断法）：感度と特異度の両方に問題があり、実用には引き続き改良を行っていく必要がある。
2. リストセチンコファクターベースのベセスダ法によるインヒビター力価の評価（病勢評価法）：病勢評価を行うには結果の力価が低いため、利用には課題が多いが、症例を積み重ねていく事により、診断法としての可能性が見出された。
3. トロンビン生成試験（治療効果評価）：治療前後の検体を用いて、検討を行った。3例中2例で治療により FVIII 活性が回復したもののトロンビン生成の改善は認められず、FVIII 活性は実際の止血能を反映していない可能性が考えられた。
4. ROTEM（治療効果評価）：治療により、FVIII 活性とリストセチンコファクター活性が改善した症例において検討したが、ROTEM においては改善が見られなかった。特にトロンビン生成試験において改善が見られた症例でも、ROTEM では改善が見られなかった。これらの結果は AvWS の止血異常メカニズムが単一因子、経路の阻害でなく、もっと複雑である可能性を示唆している。

D. 考察

ELISAによるインヒビターの半定量を行い、確定診断と病勢評価の検査法としての可能性を追求したが、約半数の症例で抗体が同定されず、非働化血漿・血清を用いてアッセイを行う等試みているが、感度の改善は得られていない。ベセスダ法に関しては検出される力価の範囲が非常に狭く、また値自体が低値であるため、病勢評価の利用について今後の検討を要する。

VWFには血小板GPIbと結合し、血小板凝集を進める働きとFVIIIと結合し、FVIIIを安定化させる内因系凝固因子としての働きがある。AvWSにおいてはVWF活性だけでなく、F

VIII活性が低下している症例も多く見られるため、VWF活性のみを対象にした評価だけでなく、FVIII活性も含めた評価を行うことが、実臨床では重要であると考えた。そのため、治療評価の方法として、トロンビン生成試験やROTEMを用いた包括的凝固能の評価方法を検討した。興味深いことに、FVIII活性が回復した症例でも必ずしもトロンビン生成が改善していない症例や、FVIII活性とVWF活性が共に回復した症例でもROTEMで改善が見られない症例が多く見られた。

E. 結論

AvWSの凝固異常が、単にVWFの働きのみを阻害しているのか、ほかの経路も阻害しているのかを今後検討する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsushita T.

Current progress and future direction of hemophilia treatment.

Rinsho Ketsueki. 2015

Oct;56(10):2100-9.

2. Ihara A, Suzuki N, Matsushita T, Itinose A.

[Acquired von Willebrand syndrome in a patient with immune thrombocytopenic purpura].

Rinsho Ketsueki. 2015 Jul;56(7):901-4.

3. Suzuki N, Hirakawa A, Kishimoto M,

Kanematsu T, Ogawa M, Kiyoi H, Matsushita T. Retrospective analysis of in vivo recovery and clearance during continuous infusion of recombinant factor VIII products: a single-institution study. Haemophilia. 2017 Feb 24 ;23:215-221

2. 学会発表

1. 松下正 第 37 回日本血栓止血学会学術集会イブニングセミナー

「凝固第 因子インヒビターとその対策」

平成 27 年 5 月 21 日 (木)

甲府市総合市民会館

2. VWF 抗原が偽高値を示した von Willebrand 病症例 ポスター 三田直美、梶浦容子、小川実加、兼松毅、岸本磨由子、鈴木伸明、小嶋哲人、中村栄男、松下正

第 38 回日本血栓止血学会学術集会

2016/6/17 国内

3. 凝固障害症診断と治療の進歩 von

Willebrand 病の治療戦略 口頭 松下正

第 38 回日本血栓止血学会学術集会

2016/6/18 国内

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

研究成果の刊行に関する一覧表(平成27年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kojima M, Ichinose A, Souri M, Osaki T, Kawai H, Amaki J, Numata H, Miyamoto M, Ogiya D, Tsuboi K, Ogawa Y, Ozawa S, Ando K.	Successful bypass surgery for esophageal carcinoma under adequate factor XIII/13 replacement therapy in a case of intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-Factor XIII/13 antibodies.	Int J Hematol.	in press	in press	2016
Ichinose A, Osaki T, Souri M; Japanese Collaborative Research Group (JCRG) on AH13 (supported by the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare).	Clinical features of 32 new Japanese cases with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies.	Haemophilia.	21(5)	653-8.	2015

Kotake T, Souri M, Takada K, Kosugi S, Nakata S, Ichinose A.	Report of a patient with chronic intractable autoimmune hemorrhaphilia due to anti-factor XIII/13 antibodies who died of hemorrhage after sustained clinical remission for 3 years.	Int J Hematol.	101(6):	598-602.	2015
Osaki T, Sugiyama D, Magari Y, Souri M, Ichinose A.	Rapid immunochromatographic test for detection of anti-factor XIII A subunit antibodies can diagnose 90 % of cases with autoimmune haemorrhaphilia XIII/13.	Thromb Haemost.	113(6):	1347-56.	2015
Souri M, Osaki T, Ichinose A.	Anti-factor XIII A subunit (FXIII-A) autoantibodies block FXIII-A ₂ B ₂ assembly and steal FXIII-A from native FXIII-A ₂ B ₂ .	J Thromb Haemost.	13(5):	802-14.	2015

研究成果の刊行に関する一覧表（平成28年度）

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
一瀬白帝	止血の仕組み .	永井良三 シリーズ 総監修, 神田善伸 責任編集	血液科 研修 ノート .	株式会 社 診断 と治療 社	東京	2016	総560頁 54-57
一瀬白帝	血液凝固第 XIII/13因子欠乏 症の分子病態と 臨床検査 .		血液凝固第 XIII/13因子 欠乏症の分子 病態と臨床 検査 .	シスメ ックス 株式会 社 学術 本部	神戸	2017	総66頁

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）「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」AVWS 診断の参照ガイド作成委員会（毛利 博，松下 正，家子正裕，田村俊寛，一瀬白帝）.	後天性 von Willebrand 症候群診断の参照ガイド .	最新医学 .	71(4)	883-90.	2016
一瀬白帝 .	後天性第 XIII/13 因子欠乏症の診断と課題 .	Thrombosis Medicine	6(2)	115-23.	2016

一瀬白帝 .	苦節 12 年！自己免疫性出血（血友）病 XIII/13 (AH13) の難病指定に至る道 .	難病と在宅ケア .	22(7)	7-11.	2016
Ichinose A; Japanese Collaborative Research Group on AH13.	Autoimmune acquired factor XIII deficiency due to anti-factor XIII/13 antibodies: A summary of 93 patients.	Blood Rev.	31(1)	37-45.	2017
Souri M, Mokuda S, Inanami H, Osaki T, Takasugi K, Ichinose A.	Non-autoimmune combined factor XIII A and B subunit deficiencies in rheumatoid arthritis patients treated with anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody (tocilizumab).	Thromb Res.	140	100-5.	2016
柳澤邦雄 , 小川孔幸 , 三井健揮 , 野口紘幸 , 清水啓明 , 石埜卓馬 , 半田 寛 , 家子正裕 , 一瀬白帝 , 野島美久 .	併存する食道がんに対する放射線治療後に寛解に至った後天性血友病 .	臨床血液 .	57(4)	451-5.	2016
小川孔幸 , 柳澤邦雄 , 石埜卓馬 , 内藤千晶 , 三原正大 , 半田 寛 , 静 怜子 , 井上まどか , 内藤澄悦 , 家子正裕 , 一瀬白帝 , 野島美久 .	免疫性血小板減少症の維持療法中に発症した後天性血友病 A .	臨床血液 .	57(4)	456-60.	2016

Tsuda M, Kiyasu J, Sugio K, Hidaka D, Ikeda M, Fujioka E, Souri M, Osaki T, Yufu Y, Ichinose A.	Spontaneous splenic rupture accompanied by hepatic arterial dissection in a patient with autoimmune haemorrhaphilia due to anti-factor XIII antibodies.	Haemophilia.	22(4)	e314-7.	2016
Ichinose A, Kohler HP, Philippou H; Factor XIII and Fibrinogen SSC Subcommittee of the ISTH.	Recommendation for ISTH/SSC Criterion 2015 for autoimmune acquired factor XIII/13 deficiency.	Thromb Haemost.	116(4)	772-4.	2016
小川孔幸 , 柳澤邦雄 , 石埜卓馬 , 清水啓明 , 三井健揮 , 一瀬白帝 , 野島美久 , 半田 寛 .	自己免疫性血栓止血性疾患に対するリツキシマブ療法後の遅発性好中球減少症単施設における解析 .	臨床血液 .	58(1)	42-6.	2017
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	18	409-418	2017

研究成果の刊行に関する一覧表（平成29年度）

書籍

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
一瀬白帝	後天性フォンヴィルブランド症候群（病）	日本臨床増刊 動脈・静脈の疾患（下）	75(Supp15)	918-925	2017

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
一瀬白帝, 和田英夫, 惣宇利正善, 橋口照人, 矢富裕, 小川孔幸, 北島勲, 朝倉英策, 岡本好司, 家子正裕, 山本晃士, 江口豊	自己免疫性出血病FXIII/13 診療ガイド	日本血栓止血学会誌	28(3)	393-420	2017
Ogawa Y, Yanagisawa K, Souris M, Mihara M, Naito C, Takizawa M, Ishizaki T, Mitsui T, Handa H, Oshizaki T, Nojima Y, Ichinose A	Successful Management of a Patient with Autoimmune Hemorrhaphilia due to Anti-Factor XIII/13 Antibodies Complicated by Pulmonary Thromboembolism.	<i>Acta Haematol.</i>	137	141-147	2017
小林宣彦, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 石群卓馬, 内海英貴, 鈴木伸明, 松下正, 一瀬白帝, 半田寛	抗リン脂質抗体症候群を合併した自己免疫性の後天性von Willebrand症候群	臨床血液	58(6)	613-618	2017June
Ogawa Y, Yanagisawa K, Uchiyama 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	<i>Int J Hematol</i>	106(1)	82-89	2017Jul

Arishima H, Neishi H, Kikuta K, I, Morita M, Hoso-sono N, Yamauchi T, Souru M, Ichinose A	Lobar Hemorrhage Induced by Acquired Fibrinolytic Factor XIII Deficiency in a Patient with Cerebral Amyloid Angiopathy	J Stroke Cerebrovasc Dis	26(10)	e203-e205	2017 Oct
酒井道生, 天野景裕, 小川孔幸, 高見昭良, 徳川多津子, 野上恵嗣, 羽藤高明, 藤井輝久, 松本功, 松本剛史	後天性血友病A 診療ガイドライン2017改訂版	血栓止血誌	28(6)	715-747	2017
Kanouchi K, Narimatsu H, Ohnuma O, Morikane K, Fukao A.	Clinical usefulness of the dilute Russell viper venom time test for patients taking warfarin.	International Journal of Hematology	106(2)	206-211	2017
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.	Open access	Open access	2018
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	40	49-55	2018
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	105	272-279	2017
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.	Epub	Epub	2017

Matsumoto T, Wada H, et al	An Evaluation of the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform.	Clin Appl Thromb Hemost.	Epub	Epub	2017
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.	Open access	Open access	2017
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.	23	494-495	2017
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	Open access	Open access	2017
Kadohira Y, Yamada S, Hayashi T, Morishita E, Asakura H, Ichinose A	A discrepancy between prothrombin time and Normotest (Hepaplastintest) results is useful for diagnosis of acquired factor V inhibitors.	Int J Hematol	Epub	Epub	2018
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	18(3)	409-418	2017