

III. 分担・総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（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 全国調査の実施と症例登録レジストリの構築

研究分担者 今田 恒夫 山形大学大学院医学系研究科 教授
惣宇利 正善 山形大学大学院医学系研究科 准教授

研究要旨

2018年度；出血性後天性凝固異常症の経験症例についての全国アンケート調査を実施し、本疾患27例について、分布、背景、診断、治療に関する情報を収集した。検体検査精度管理のための台帳と難病プラットフォーム用のテンプレートを市販のデータベースソフトウェアで作成した。

2019年度；出血性後天性凝固異常症の経験症例についての全国アンケート調査を新たな「2段階方式」で実施し、本疾患30例について、分布、背景、診断、治療に関する情報を収集した。2018年度に市販のデータベースソフトウェアを用いて作成した検体検査精度管理のための台帳と難病プラットフォーム用のテンプレートを利用して記録した。

2020年度；出血性後天性凝固異常症の経験症例についての全国アンケート調査を再度「2段階方式」で実施し、本疾患32例について、分布、背景、診断、治療に関する情報を収集した。また、2018年度に作成したテンプレートを利用して、AMEDプロジェクトの「難病プラットフォームレジストリシステム」を完成して運用を開始し、倫理指針に適合した症例の臨床情報を入力して長期にわたってデータを蓄積する事業を推進した。

A. 研究目的

出血性後天性凝固異常症について、全国アンケート調査を行い、その現状を明らかにするとともに、症例の発掘を行う。

B. 研究方法

出血性後天性凝固異常症を診察する可能性のある全国の診療科宛てに、アンケート用紙を郵送し、返信された用紙の症例情報をもとに、出血性後天性凝固異常症の分布や背景、診断、治療について解析する。

（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。アンケートでは、名前などの個人が特定される情報は削除し、匿名化された情報を収集した。

C. 研究結果

2018年度；全国の対象となる2018診療科にアン

ケートを郵送し、371件の回答を得た（回答率18.6%）。そのうち、当該疾患の診察経験ありは27件、診察経験なしが344件であった。27件の該当症例について、性別、年齢、検査値（出血時間、凝固因子活性/抗原量）、出血の部位や誘因、出血に対して行った治療、などをまとめた。

研究班事務局にデータベースソフトウェア「ファイルメーカー」を導入し、検体検査精度管理のための台帳と難病プラットフォーム用のテンプレートを作成した。

2019年度；アンケート調査を2段階に分けて実施した全国の対象となる1960診療科にアンケート葉書を郵送し、536件の回答を得た（回答率27.6%）。そのうち、当該疾患の診察経験ありは42件、診察経験なしが491件であった。二次調査を行った42件中、現在、30件の該当症例について、性別、年齢、検査値（出血時間、凝固因子活性/抗原量）、出血の部位や誘因、出血に対して行

った治療、などをまとめることができた。研究班事務局にデータベースソフトウェア「ファイルメーカー」を導入し、昨年度作成した検体検査精度管理のための台帳と難病プラットフォーム用のテンプレートを用いて、記録・保存した。

2020年度；今年度も、アンケート調査を2段階に分けて実施した全国の対象となる2011診療科あるいは血液分野の研究者にアンケート葉書を郵送し、609件の回答を得た（回答率30.7%）。そのうち、当該疾患の診察経験ありは47件、診察経験なしが561件であった。これをもとに二次調査を行った47件中、現時点で32件の該当症例について、性別、年齢、検査値（出血時間、凝固因子活性/抗原量）、出血の部位や誘因、出血に対して行った治療、などをまとめることができた。

また、3年にわたって準備を進めてきたAMEDプロジェクトの「難病プラットフォームレジストリシステム」を構築して、2021年2月1日から実際に運用を開始したので、全国調査の二次調査に回答し、且つ倫理指針に適合した一部の症例の主治医にはデータベースにアクセスするアカウントを授与して症例情報を登録して頂いた。入力された情報は電子的に記録され、長期にわたって症例のデータが保存・蓄積されるので、本疾患の実態調査の基盤となった

D. 考察

2018年度；アンケートによる全国調査により、出血性後天性凝固異常症の頻度や検査値、治療について、情報を収集することができた。これから、各症例をさらに詳細に解析することにより、我が国における、本疾患の現状が明らかになれば、今後の本疾患の診断や治療法の改善に向けた基礎的情報になると思われる。導入したデータベースソフトウェア「ファイルメーカー」を使用して、検体検査精度管理のための台帳と難病プラットフォーム用のテンプレートを作成したので、試用を開始する。正確かつ効率良くデータ入力、記録、管理、解析が可能になると期待される。

2019年度；二段階方式のアンケートによる全国調査により、出血性後天性凝固異常症の頻度や検査値、治療について、情報を収集することができた。各症例をさらに蓄積して詳細に解析することにより、我が国における本疾患の現状が明らかになれば、今後の本疾患の診断や治療法の改善に向けた基礎的情報になると期待される。昨年度導入したデータベースソフトウェア「ファイルメーカー」を使用して、検体検査精度管理のための台帳と難病プラットフォーム用のテンプレートを作成したので、試用を開始した。これにより、正確かつ効率良くデータ入力、記録、管理、解析が可

能になりつつある。

2020年度；二段階方式のアンケートによる全国調査により、出血性後天性凝固異常症の頻度や検査値、治療について、情報を収集することができた。各症例をさらに蓄積して詳細に解析することにより、我が国における本疾患の現状が明らかになれば、今後の本疾患の診断や治療法の改善に向けた基礎的情報になると期待される。一昨年度に導入したデータベースソフトウェア「ファイルメーカー」を使用して難病プラットフォーム用のテンプレートを作成したので、約3ヶ月という短期間でデータベース開発が完了し、1ヶ月間試用した後、運用を開始することができた。今後もこれを維持・拡充することにより、正確かつ効率良くデータ入力、記録、管理、解析が可能になる。

E. 結論

1年目は、従来通り1回の全国アンケート調査により、本疾患のわが国における分布や背景、診断、治療について基本的情報を収集したが、2年目からは定期全国調査を2段階に分けて実施したところ、回答率も新症例有りの回答数も増加したので、今後も「2段階方式」で全国調査を実施し、その効果を検証する予定である。

また、1年目に検査精度管理のための台帳と難病プラットフォームの症例情報の「ファイルメーカー」テンプレートを試作し、2年目に全国アンケート調査の回答項目も共用できるように改良を加えた。これを利用して3年掛りで完成した「難病プラットフォームレジストリシステム」を活用することにより、本症の調査研究活動の成果を半永久的に保存・蓄積し、世界にも類のない国家規模の症例記録データベースを築く計画である。

F. 研究発表

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 自己免疫性第 XIII/13 因子欠乏症例の精査、
ならびに自己免疫性第 V/5・第 X/10 因子欠乏症の自己抗体検出

研究分担者 惣宇利正善 山形大学大学院医学系研究科 准教授

研究要旨

- ・ AiF13D：17 例の AiF13D 疑い症例を精査し、8 例を AiF13D と判定した。
- ・ AiF5D：11 例の AiF5D 疑い症例すべてに、抗 F5 自己抗体を検出した。
- ・ AiF10D：2 例の AiF10D 疑い症例を検討し、1 例に抗 F10 自己抗体を検出した。
- ・ 過去の症例を含めて診断後の追跡解析を行い、AiF13Dにおける自己抗体の持続傾向とF13異種4量体の長期欠乏傾向が明らかとなった。

A. 研究目的

自己免疫性第 XIII/13 因子欠乏症 (AiF13D) 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。AiF13D の確定診断にあたっては、抗 F13-A 抗体の検出に開発されたイムノクロマト法について、他の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 自己抗体の免疫ブロット解析といった一連の精査が不可欠である。

自己免疫性第 V/5 因子欠乏症 (AiF5D) は、自己免疫性出血症の中でも後天性血友病 A に次いで頻度が高いとされている。また、頻度は低いものの自己免疫性第 X/10 因子欠乏症 (AiF10D) 症例も存在する。何とも、活性測定によりインヒビターの検出が可能であるものの、確定診断にあたっては抗第 V 因子 (F5)、抗第 X 因子 (F10) 自己抗体の検出が不可欠である。

本研究期間において、AiF13Dを疑われた17例について精査し、また、AiF5D疑い症例11例、AiF10D疑い症例2例について、抗F5/F10抗体の検出を検討した。さらに、過去にAiF13Dと診断された症例の自己抗体・インヒビター消失とFXIII抗原・活性の回復について詳細に解析した。

B. 研究方法

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。F13 活性およびその 5 段階混合試験について、 α_2 -プラスミンインヒビター (α_2 -PI) へのビオチン標識アミン取り込みを ELISA で測定した (PI-BAPA 法)。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 F13-B 自己抗体については、分泌型ルシフェラーゼ (MetLuc) 融合組換え F13-B を用いた免疫沈降を検討した。

抗 F5 および抗 F10 自己抗体について、精製 F5/F10 タンパク質を固相化したプレートを用いた ELISA により、F5/F10 と反応する IgG を検出した (固相法)。

(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

[AiF13D 疑い症例の精査]

17 例の AiF13D 疑い症例のうち、dot blot 解析で抗 F13-A 抗体陽性が認められたのは 5 例であった。この 5 例はいずれも 5 段階交差混合試験で著しい阻害を示し、かつ A₂B₂ 異種四量体が検出されないことから、Aa 型の AiF13D と診断された。

Dot blot 陰性の症例について、1 例は PI-BAPA 法による 5 段階交差混合試験で阻害を認め、A₂B₂ 異種四量体が検出されないこと、ELISA 法で F13-A と反応する IgG が検出されたことから、Aa 型 AiF13D と判断された。

別の dot blot 陰性 1 例では、PI-BAPA 法による 5 段階交差混合試験でも阻害を認めなかったものの、F13-A 抗原量に対する PI-BAPA 活性（比活性）の明らかな低値を示した。正常血漿と混合した場合にフィブリン α 鎖の架橋反応に明らかな阻害を認めたこと、活性化 F13-A に結合する IgG が ELISA 法で検出されたことから、Ab 型の AiF13D と判断された。

さらに、別の 1 例では、症状発症後数ヶ月後の血漿を用いて精査を行ったところ dot blot 陰性、5 段階交差混合試験で欠乏パターンを示したものの、フィブリン架橋反応は遅延を認めた。そこで、発症直後の血清を正常血漿と混合したところ、明らかな PI-BAPA 活性の阻害が認められ、また、ELISA において抗 F13-A IgG が検出されたことから、AiF13D と判断された。

[AiF13D 症例における抗 F13-B 自己抗体の再検討]
過去に Dot blot で抗 F13-B 自己抗体が陽性に検出された症例 13 例について、ELISA により抗 F13-B 自己抗体 (IgG) の有無を再検討した。固相において 9 例に IgG 陽性を認め、そのうち 4 例は液相でも陽性であった。ELISA で強陽性であった 1 例は MetLuc 融合 F13-B を高効率での免疫沈降が確認され、第 6 スドメインを認識することも判明した。この抗 F13-B 強陽性症例は Aa 型自己抗体も検出されていたが、診断時点で F13-B 抗原が検出されておらず、抗 F13-B IgG の消失に伴い F13-B 抗原の回復が認められたことから、抗 F13-B 自己抗体による F13-B のクリアランス亢進が強く示唆された。

[AiF13D 症例の経過解析]

経過測定を行なった Aa 型 24 例について、抗 F13-A IgG 半減期の平均は 84 日 (中央値 50 日) であり、AiF5D の抗 F5 IgG の半減期 (平均 23 日) と比べて長期化傾向が認められた。6 例では、追跡期間 (平均 457 日、中央値 298 日) 終日に 10% 以上の抗 F13-A 自己抗体が残存していた。インヒビターの消失と比活性の回復は自己抗体の消失とほぼ同期していた一方で、A₂B₂ 異種四量体の回復は著

しく遅延しており、追跡期間終日において、15 例に渡り A₂B₂ 異種四量体抗原量が未回復 (70%未満) であった。

[AiF5D の抗 F5 自己抗体検出]

AiF5D が強く疑われた 11 例について、ELISA により 11 例ともに抗 F5 IgG が検出された。6 例について、1 年以内に陰性レベルに抗 F5 IgG が減少し、そのうち 4 例では 2 ヶ月以内で陰性となっていた。1 例は抗 F5 IgG が 2 ヶ月で半減したものの、陰性との境界レベルで 1 年以上推移していた。

[AiF10D 疑い症例の抗 F10 自己抗体検出]

AiF10D 疑い症例 2 例のうち、1 例では 2019 年 5 月の血漿で抗 F10 抗体 (IgG) が強く検出されたが、2021 年 2 月の時点では陰性となっていた。別の 1 例では抗 F10 抗体は検出されなかった。

D. 考察

[AiF13D 診断における PI-BAPA 法の有用性] 研究期間中、新たに 4 例目の Ab 型 AiF13D 症例を同定した。Ab 型インヒビターの特徴として、

- ・不活性型 F13 との反応が弱く、通常の免疫学的手法では自己抗体を検出できない例がある
- ・AR 法では活性阻害がほとんど検出されない
- ・フィブリン γ 鎖二量体化の遅延は認められないなどが挙げられ、症例を見落とす危険性をこれまで指摘してきた。PI-BAPA 法は Aa 型と同等に Ab 型インヒビターを鋭敏に検出する活性測定法として開発し、過去の 3 例いずれも、5 段階混合試験での明白な阻害を確認している。今回の症例では、5 段階混合試験において阻害を検出することはできなかったものの、AR 法で正常値を示した比活性が PI-BAPA 法では著しい低値を認めたことが、インヒビター (自己抗体) 検出の大きな手がかりとなった。ELISA で比較した場合に不活性型 F13-A に結合する IgG は健常対照レベルであり、活性化 F13 に対する抗体の反応性も他の Ab 型症例と比べて極めて低いことから、自己抗体量が非常に少ないことが、5 段階混合試験で阻害が検出されなかった原因であると考えられる。

[抗 F13-B 自己抗体について]

抗 F13-B 自己抗体はこれまで、dot blot 解析において 13 例に陽性を認めていたものの、Aa 型抗 F13-A 自己抗体が同時に検出されていたか、もしくは抗原量・活性に顕著な低下を認めていなかったこと、さらに健常者にもしばしば dot blot 陽性を認めていたことから、F13 欠乏症への関与について判断が困難であった。今回の再検討で抗 F13-B 抗体強陽性が判明した Aa 型陽性 1 例は F13-A、A₂B₂ 異種四量体に加えて F13-B も検出され

ておらず、抗 F13-B IgG の消失に伴い F13-B 抗原の回復を認めたことから、抗 F13-B 自己抗体による F13-B のクリアランス亢進が強く示唆される。本症例では F13-B 抗原の回復後も A₂B₂ 異種四量体の著減と活性阻害の持続、抗 F13-A 抗体の存在が継続して検出されており、Aa 型と B 型の複合症例として注目される。

[AiF13D における抗 F13 自己抗体の推移と F13 抗原・活性の回復]

Aa 型 AiF13D において、抗 F13-A 抗体が長期にわたって残存し、特に A₂B₂ 異種四量体抗原量の回復が著しく遅延していることが今回改めて浮き彫りとなった。F13 活性の阻害は見かけ上抗 F13-A 抗体の消失と同期しており、出血症状の軽減・回復につながっているものと考えられる。しかし、およそ 1/3 の症例では比活性が正常レベルに回復しておらず、インヒビターの残存が検出されている。さらに、A₂B₂ 異種四量体にいたっては 2/3 の症例で回復が認められず、クリアランス型抗体の長期持続が強く疑われる。免疫抑制療法の有無や出血症状の推移について現在調査中であるが、AiF13D について長期にわたる経過観察の必要性は明白である。

研究期間中同定された AiF13D 症例のうち、3 例は精査において Dot blot 偽陰性であった。1 例は 5 段階希釈試験で阻害が検出され、1 例は日活性の低下が確認されたものの、もう 1 例は発症後数ヶ月を経て採血された血漿であったため、阻害も認められなかった。確実に症例を捉える上で、極力発症から間を置かずに精査する必要がある。

[AiF5D の抗 F5 自己抗体検出] 研究期間中に解析した 11 例はいずれも F5 に対して比較的高い反応性を示す自己抗体が検出され、希釈血漿でも十分に陽性判定が可能であった。しかし、しばしば偽陽性を示す健常対象者も存在するため、陽性判定が難しい場合もありうる。感度・特異度のさらなる改善を検討する必要がある。

AiF5D は AiF13D と比べて自己抗体の半減期が短く (平均 AiF13D = 84 日、AiF5D = 23 日)。1 ~ 3 ヶ月で検出感度以下に低下する症例も認められた。したがって、AiF5D における抗 F5 自己抗体の検出は、発症後速やかに行うべきである。

E. 結論

AiF13D 症例 8 例、AiF5D 症例 11 例、AiF10D 症例 2 例を同定した。Aa 型 AiF13D では自己抗体が長期にわたって持続する傾向があり、経過観察の必要性が示された。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

1. ○ Mori M, Mochizuki K, **Souri M**, Nakamura Y, Tokuman N, Kanouchi K, Morikane K, Ichinose A. Complete remission in a bleeding patient with idiopathic autoimmune factor X deficiency caused by non-neutralizing anti-factor X autoantibody. *Haemophilia*. 2019; 25(2):e106-e109

2. ○ Ogawa H, **Souri M**, Kanouchi K, Osaki T, Ohkubo R, Kawanishi T, Wakai S, Morikane K, Ichinose A. A high titer of acquired factor V inhibitor in a hemodialysis patient who developed arterial thrombosis. *Int J Hematol*. 2019; 109(2):214-220

3. 明石直樹, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 大崎洋平, 清水啓明, 石崎卓馬, 井上まどか, 村上正巳, **惣宇利正善**, 一瀬白帝, 半田寛. 初回寛解から 4 年後に再発した後天性凝固第 V 因子インヒビター. *臨床血液*. 2019; 60(1):46-50.

4. ○鈴木 聡, 安田 俊, 遠藤 雄太, 平岩 幹, 石橋 真輝帆, 齋藤 史子, 経塚 標, 山口 明子, 尾崎 司, **惣宇利 正善**, 一瀬白帝, 藤森敬也. 常位胎盤早期剥離を繰り返した妊性第 XIII 因子欠乏および家族性プロテイン S 欠乏症の 1 例・日本周産期・新生児医学会雑誌. 2018; 05; 54(1):178-183

5. ○Yokoyama C, Ikeda S, Osaki T, **Souri M**, Ichinose A: Generation and Application of Rat Monoclonal Antibodies Specific for a Human Blood Coagulation Protein: von Willebrand Factor. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*. 2019; 38(3):133-136.

6. ○Matsumoto A, Ogawa Y, Osaki T, **Souri M**, Yanagisawa K, Ishizaki T, Naito C, Ishikawa T, Miyazawa Y, Shimizu H, Inoue M, Hayakawa M, Murakami M, Ichinose A, Handa H: Successful management of acquired factor V deficiency developing shortly after induction of hemodialysis. *Rinsho Ketsueki* 2020; 61(5): 445-450.

2) 総説・著書

II. 学会発表

1) 特別講演等

1. **惣宇利正善**, 尾崎司, 小澤龍彦, 村口篤、一瀬白帝: 自己免疫性第XIII因子欠乏症例で生じた抗第XIII因子自己抗体のモノクローン化による機能解析. 日本生化学会国立京都国際会館(京都府京都市); 2018年9月23日
2. **惣宇利正善**, 尾崎司, 一瀬白帝: 細胞内凝固第XIII因子(血漿トランスグルタミナーゼ)の役割. 第93回日本生化学会大会; Web開催; 2020年9月

2) 一般演題

1. 横山知哉子, 尾崎司, **惣宇利正善**, 一瀬白帝: ヒト血液凝固関連 von Willebrand 因子特異的ラットモノクローナル抗体の樹立と性状解析. 第91回日本生化学会大会, 京都; 2018年9月26日
2. 明石直樹, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 松村郁子, 寺崎幸恵, 大崎洋平, 清水啓明, **惣宇利正善**, 一瀬白帝, 半田寛: 寛解後4年で再発した後天性凝固第V因子インヒビターインヒビターの治療経過. 第40回日本血栓止血学会学術集会, 札幌; 2018年6月29日
3. 寺崎幸恵, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 中山敬太, 田原研一, 石崎卓馬, **惣宇利正善**, 一瀬白帝, 半田寛: 機能的寛解達成後2年以上経過して病勢再燃した自己免疫性出血病FXIII/13症例. 第40回日本血栓止血学会学術集会, 札幌; 2018年6月29日
4. **惣宇利正善**, 横山智哉子, 尾崎司, 和田秀穂, 一瀬白帝: 凝固第XIII因子の非酵素サブユニット認識抗体によるフィブリン架橋阻害. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津; 2019年6月22日
5. 野崎華加, 北原茉莉, 植木俊充, 中澤英之, **惣宇利正善**, 尾崎司, 一瀬白帝, 小林光: 難治性自己免疫性第XIII/13因子欠乏症の一例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津; 2019年6月22日
6. 島崎裕正, 三宅隆明, 伊藤俊輔, 井上政弥, 高橋勉, 鈴木律朗, 尾崎司, **惣宇利正善**, 一瀬白帝, 鈴宮淳司: 治療抵抗性の自己免疫性第13因子欠乏症の1症例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津; 2019年6月22日
7. 松本彬, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 内藤千晶, 石川哲也, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 井上まどか, 泉絢子, 北沢早希, 早川昌基, **惣宇利正善**, 一瀬白帝, 半田寛: 維持透析導入後早期に発症した後天性凝固第V因子インヒビター症

例. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津; 2019年6月22日

8. 落合友則, 三澤恭平, 岩尾憲明, 小池道明, 小松則夫, 叶内和範, 森兼啓太, **惣宇利正善**, 一瀬白帝: 内視鏡下胃瘻造設術を契機に自己免疫性第V/5因子欠乏症を発症した大脳皮質基底核変性症. 第41回日本血栓止血学会学術集会, 津; 2019年6月22日
9. **惣宇利正善**, 尾崎司, 一瀬白帝: 自己免疫性第XIII因子欠乏症における自己抗体の消失について. 第42回日本血栓止血学会学術集会, 大阪(紙面発表); 2020年6月
10. 尾崎司, **惣宇利正善**, 一瀬白帝: 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の血漿プロテオーム解析. 第42回日本血栓止血学会学術集会, 大阪(紙面発表); 2020年6月
11. 杉崎真人, 小川孔幸, 尾崎司, **惣宇利正善**, 明石直樹, 石川哲也, 内藤千晶, 小林宣彦, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 一瀬白帝, 半田寛: 継時的な抗FXIII自己抗体の測定をガイドとして治療を遂行した自己免疫性凝固第XIII因子欠乏症例. 第42回日本血栓止血学会学術集会, 大阪(紙面発表); 2020年6月
12. 金田裕人, 福野賢二, 堀之上亜希子, 野中有利, 南裕貴, 黒木泰則, **惣宇利正善**, 尾崎司, 朝倉英策, 一瀬白帝: 凝固第V因子インヒビター陰性, 非中和型抗第V因子抗体陽性の自己免疫性後天性第V因子欠乏症. 第42回日本血栓止血学会学術集会, 大阪(紙面発表); 2020年6月
13. 明石直樹, 小川孔幸, 尾崎司, **惣宇利正善**, 杉崎真人, 石川哲也, 内藤千晶, 小林宣彦, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 朝倉英策, 一瀬白帝, 半田寛: 後天性凝固第X因子欠乏, 線溶異常を契機にALアミロイドーシスの診断に至った一症例. 第42回日本血栓止血学会学術集会, 大阪(紙面発表); 2020年6月

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 (AiF13D)、自己免疫性凝固第 VIII/8 因子
欠乏症 (AiF8D)、自己免疫性後天性フォンヴィルブランド因子欠乏症 (AiVWFD)
の自己抗体検出

研究分担者 尾崎 司 山形大学大学院医学系研究科 助教

研究要旨

自己免疫性凝固第 XIII/13 因子 (F13) 欠乏症 (AiF13D; 厚労省指定難病 288-1) 疑い症例については 3 年間で 19 例の検査を実施し、新たに合計 8 例を同定した。自己免疫性凝固第 VIII/8 因子 (F8) 欠乏症 (AiF8D; 厚労省指定難病 288-2) 疑い症例については 3 年間で 6 例の検査を実施し、新たに合計 6 例を同定した。自己免疫性後天性フォンヴィルブランド因子 (vWF) 欠乏症 (AiVWFD; 厚労省指定難病 288-3) 疑い症例については 3 年間で 5 例の検査を実施したが、いずれも自己抗体陰性だった。

AiF8D や自己免疫性凝固第 V/5 因子欠乏症 (AiF5D; 厚労省指定難病 288-4) では凝固法で測定すると F8 活性や凝固第 IX/9 因子 (F9) 活性はいずれも阻害されるため、鑑別診断が困難になる。そこで AiF8D 13 例、AiF5D 2 例について各々の F8、F9 活性を合成基質法で測定した。AiF8D ではいずれも F8 活性は低値を示したが、F9 活性は 1 例を除いて正常値であった。AiF5D ではいずれも F8 活性、F9 活性ともに正常値を示した。合成基質法では各々の凝固因子に特異的な阻害が検出されたことから、鑑別診断に有用であると考えられた。

自己免疫性凝固第 IX/9 因子 (F9) 欠乏症 (AiF9D) 患者は確認されていないが、検査体制を確立するために、F9 を固相化したプレートを用いて血友病 B インヒビター症例の同種抗体を検出することに成功した。同様な手法で AiF9D 疑い症例について自己抗体の検出は可能であると考えられた。

A. 研究目的

自己免疫性後天性凝固因子欠乏症は AiF13D、AiF8D、AiVWFD、AiF5D からなる難治性出血性疾患である。それぞれ F13、F8、vWF、F5 に対する自己抗体が原因で出血傾向を来す疾患である。

これら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、AiF13D 疑い症例については 3 年間で 19 例、AiF8D 疑い症例については 3 年間で 6 例、AiVWFD 疑い症例については 3 年間で 5 例をイムノクロマト法、あるいは ELISA 法によって確定診断を行った。

また、凝固因子に対して高力価の自己抗体が存在する場合、凝固法で測定すると自己抗体が認識する凝固因子以外の凝固因子に対しても見かけ上活

性阻害が認められることがあり、自己抗体が認識する凝固因子の特定が困難になる。そこで、合成基質法を用いた検査で特異的な阻害が検出されるか検討した。

さらに、F9 など他の凝固因子に対する自己抗体が原因の症例も存在する可能性があり、実態把握のためには診断法の確立が必要である。

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、あるいは抗 F13B サブユニット (F13-B) モノクローナル抗体を塗布したストリップを用いた。希釈血漿、洗浄液、金コロイド標識抗ヒト Ig (G+M+A) 抗体希釈溶液を順次展開した (直接法)。陽性コントロールの吸光度を 1 とした時の吸光度 0.18 をカットオフ値に設定

し、判定を行った。F13抗原量が極端に少ない症例での偽陰性を避けるために、健康人血漿と37°C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 抗原量の測定、および抗 F8 自己抗体の検出

市販のELISAキットを用いてF8抗原量の測定、および遊離の抗F8自己抗体の検出を行った。抗F8自己抗体の有無は説明書に従って判定した。

F8 活性、および F9 活性の測定

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

F8インヒビターの力価の測定は、56°C、30分で非働化した検体を生理食塩水で希釈し、等量の標準血漿と混合し、37°C、2時間反応後、上述の方法で残存するF8活性を測定した。等量の生理食塩水と標準血漿を混合後のF8活性と比較して50%失活した場合を1 BU/mLとした。

イムノクロマト法による抗vWF自己抗体の検出

遊離の抗vWF自己抗体は市販の精製vWFを塗布したストリップを用いた。希釈血漿、洗浄液、金コロイド標識抗ヒトIg(G+M+A)抗体希釈溶液を順次展開した(直接法)。陽性コントロールの吸光度を1とした時の吸光度0.18をカットオフ値に設定し、判定を行った。

vWF-抗vWF自己抗体抗原抗体複合体の検出のために2種類の抗vWFモノクローナル抗体をそれぞれ塗布したストリップを用いた。vWF抗原量が極端に少ない症例での偽陰性を避けるために、vWF(40 µg/mL)と患者血漿を1:1で混合後、37°Cで1時間反応後の検体のイムノクロマト法を実施した(混合法)。

自家製 ELISA 法による抗 vWF 自己抗体の検出

遊離の抗vWF自己抗体は市販の精製vWFをプレートに固相化して測定した。vWFを固相化したプレートに希釈検体を入れ、結合した抗vWF自己抗体をペルオキシダーゼ標識抗ヒトIg(G+M+A)抗体とTMBにより検出した。

vWF-抗vWF自己抗体抗原抗体複合体の検出のために3種類の抗vWFモノクローナル抗体を固相化したプレートに希釈検体を入れ、結合したvWF-抗vWF自己抗体抗原抗体複合体をペルオキシダーゼ標識抗ヒトIg(G+M+A)抗体とTMBにより検出した。

自家製 ELISA 法による抗 F9 同種抗体の検出

遊離の抗F9同種抗体は市販の精製F9をプレートに固相化して測定した。F9を固相化したプレートに希釈検体を入れ、結合した抗F9同種抗体をペルオキシダーゼ標識抗ヒトIg(G+M+A)抗体とTMBにより検出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、山形大学の倫理委員会の承認を得て

おり、検体使用に関しては、各主治医が症例あるいはその家族から文書による同意を得ている。

C. 研究結果

AiF13D の確定診断

AiF13D 疑い 19 症例についてイムノクロマト直接法、混合法を実施し、自己抗体の有無を判定したところ、8 例は直接法、混合法いずれも陽性、11 例は直接法、混合法いずれも陰性であった。

AiF8D の確定診断

AiF8D 疑い 6 症例について市販のELISAキットを用いて自己抗体の有無を判定したところ、いずれも陽性であった。

AiF8D、AiF5D の F8 活性、および F9 活性

AiF8D 13 例、AiF5D 2 例について合成基質法によりF8活性を測定したところ、AiF8Dは1-12%(中央値4%: 基準値 50-200%)と非常に低値を示したのに対し、AiF5Dはそれぞれ91%、186%と正常値を示した。

一方、F9活性はAiF8Dの1例は6%と非常に低値を示した(基準値 60-140%)のに対し、残り12例は正常値、あるいはやや高値(85-145%; 中央値107%)を示した。AiF5Dはそれぞれ94%、116%と常値を示した。

AiVWFD の確定診断

AiVWFD 疑い 5 症例についてイムノクロマト法、あるいはELISA法を用いて自己抗体の有無を判定したところ、遊離型、複合体型ともいずれも陰性であった。

血友病 B インヒビター症例の抗 F9 同種抗体検出

血友病 B インヒビター疑い 1 症例についてELISA法を用いて同種抗体の検出を行ったところ、インヒビター力価と抗体量の増減に相関が認められた。

D. 考察

AiF13D 疑い 19 症例のうちイムノクロマト陽性だった 8 例のうち 7 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。1 例はドットプロット法で陰性だったが、ELISA 法で自己抗体が検出されており、イムノクロマト法は迅速診断に有用であると考えられる。しかし、陰性だった 11 例のうち、1 例はインヒビター陽性で微量の自己抗体が存在することが後に判明した。感度の問題で偽陰性になる可能性も考慮に入れる必要がある。

AiF8D 疑い 6 症例はいずれも自己抗体が検出されたのでAiF8Dと確定した。一方、AiVWFD 疑い 5 症例はいずれも自己抗体が検出されなかったが、疑い症例の自己抗体陽性率が低いので、カットオフ値の再考も必要であると考えられる。また、vWF-抗vWF自己抗体複合体は健常対照でも高値を示すものがあり、カットオフ値についてはさらなる検討が必要である。

AiF8DとAiF5Dの合成基質法によるF8活性、F9

活性測定の結果、AiF8DではF8活性は非常に低値を示したが、F9活性は1例を除き、正常値で、AiF5DではF8活性、F9活性いずれも正常値だったことから、鑑別に有用であると考えられた。

血友病Bインヒビター症例の同種抗体量とインヒビター力価に相関が認められたことから、自家製 ELISA はある程度正確に測定出来ており、今後出てくる可能性のある AiF9D 疑い症例の診断に有用であると考えられる。

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が、感度の問題で偽陰性になる可能性も考慮に入れる必要がある。

抗vWF自己抗体検出には健常対照でさらに検討し、最良のカットオフ値を設定する必要がある。

合成基質法による F8 活性、F9 活性の測定は自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の鑑別診断、除外診断にも有用であると考えられる。

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が、特に F13B に対する自己抗体については感度の問題で偽陰性になる可能性も考慮に入れる必要がある。同様に抗 vWF 自己抗体検出についても感度の問題で偽陰性になる可能性はあるので改良が必要である。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

- Ogawa H, Souri M, Kanouchi K, **Osaki T**, Ohkubo R, Kawanishi T, Wakai S, Morikane K, Ichinose A.: A high titer of acquired factor V inhibitor in a hemodialysis patient who developed arterial thrombosis. *Int J Hematol.* 2019; 109(2): 214-220.
- Yokoyama C, Ikeda S, **Osaki T**, Souri M, Ichinose A. Generation and Application of Rat Monoclonal Antibodies Specific for a Human Blood Coagulation Protein: von Willebrand Factor. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.* 2019; 38(3):133-136.
- Matsumoto A, Ogawa Y, **Osaki T**, Souri M, Yanagisawa K, Ishizaki T, Naito C, Ishikawa T, Miyazawa Y, Shimizu H, Inoue M, Hayakawa M, Murakami M, Ichinose A, Handa H. [Successful management of acquired factor V deficiency developing shortly after induction of

hemodialysis]. *Rinsho Ketsueki.* 2020; 61: 445-450.

2) 総説・著書

なし

II. 学会発表

1) 特別講演等

なし

2) 一般演題

- 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 厚労省指定難病288-2 自己免疫性第VIII/8因子欠乏症(後天性血友病A)の凝血的解析, 第4回山形県血液研究会, 山形; 2018年10月5日
- 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 厚労省指定難病288 自己免疫性凝固因子欠乏症(AiCFD)関連疾患の病態検査. 東北ヘマトロジーネットワークセミナー2019, ホテルメトロポリタン仙台(仙台市青葉区); 2019年9月1日
- 尾崎司, 惣宇利正善, 佐藤裕子, 三井哲夫, 一瀬白帝: 血液凝固第V/5因子、第IX/9因子インヒビターの分子病態学的解析. 第5回山形県血液研究会, 山形国際ホテル(山形市); 2019年11月8日
- 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の血漿プロテオーム解析. 日本血栓止血学会, 大阪(リモート, 抄録のみ); 2020年6月20日
- 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: 自己免疫性凝固第XIII / 13因子欠乏症の全エクソン解析により明らかになったヒト白血球抗原クラスIおよびII遺伝子とその関連遺伝子の重要性. 山形分子生物学セミナー, 山形(リモート); 2020年11月7日

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

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

研究分担者 森兼啓太 山形大学医学部附属病院 准教授

研究要旨：後天性の原因不明の出血の素因の解析を行い、第 V 因子活性低下症例 3 例と第 IX 因子活性低下症例に対して凝固異常症の診断と詳細な因子解析を行った。4 症例の出血傾向の原因は、凝固因子欠乏・自己抗体産生・インヒビター存在の可能性のあるものに大別された。凝固因子活性低下症例には、様々な病態があることが推定される。

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

後天性原因不明出血素因の存在が疑われる患者の血液検体を用いて、各種血液凝固関連臨床検査値、各種凝固因子活性、その因子に対する自己抗体検索を目的とした正常血漿補正混合試験を行った。更に、インヒビターの検索として、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

凝固第 V 因子活性の低下症例 3 例を検討した。そのうち 2 例が因子欠乏の可能性があり、1 例が自己抗体産生のある症例であった。

また、凝固第 IX 因子活性の低下症例 1 例を検討した。インヒビターによるものと推定された。

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、血液凝固の機序に関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 因子活性低下の 3 症例、および第 IX 因子活性低下の 1 症例に対して、障害の本態を検討した。

その結果、第 V 因子活性低下症例では因子自体の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。また、第 IX 因子活性低下症例では、インヒビターの存在が推定された。

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 因子の障害に起因すると考えられる後天性出血性疾患の 3 症例、および第 IX 因子の障害に起因すると考えられる出血性疾患の 1 症例を解析した。因子欠乏と自己抗体・インヒビターの存在という多様な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. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa H, Souri M, Kanouchi K, Osaki T, Ohkubo R, Kawanishi T, Wakai S, Morikane K, Ichinose A. A high titer of acquired factor V inhibitor in a hemodialysis patient who developed arterial thrombosis. Int J Hematol. 2019 Feb;109(2):214-220.

2. 学会発表
なし

G. 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 研究的精密検査（主に VWF）

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
	惣宇利 正善	山形大学大学院医学系研究科	准教授
	尾崎 司	山形大学大学院医学系研究科	助教

研究要旨

自己免疫性後天性凝固第XIII／13因子 (F13) 欠乏症 (AiF13D) をはじめ、F5, F8, F9, F10について、それぞれの自己免疫性後天性凝固因子欠乏症および自己免疫性 von Willebrand病 (AiVWFD) の診断および治療効果判定に用いるモノクローン抗体を作製し、抗原量測定、自己抗体検出に使用するための解析を実施した。

A. 研究目的

AiF13Dなどの診断および治療効果判定には、それぞれの抗原量の測定や自己抗体の検出が不可欠である。これらの疾患の診断基準・重症度分類、診療指針等に必要で、確定診断の基準となる精密検査の一般化に必須なモノクローン抗体の内製化と安定供給を目的とした。

B. 研究方法

F13AおよびBについては組換えヒトタンパク質、F5, F9, F10 については各精製ヒトタンパク質、および半減期延長型遺伝子組換え F8 製剤アドベイトを抗原とした。また、活性型 F13aA' はトロンビン処理により調整した。それぞれの抗原をラットに免疫し、腸骨リンパ節法により、モノクローン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ン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。

サンドウィッチ ELISA 法による各抗原量の測定はラット抗モノクローン抗体を用いて実施した。モノクローン抗体を固相化したプレートに希釈検体を入れ、結合した vWF をペルオキシダーゼ標識した別のモノクローン抗体と TMB により検出した。

（倫理面への配慮）

当院の院内倫理委員会より研究実施の承認を得た。

C. 研究結果

① サンドウィッチ ELISA 法による vWF 抗原量の測定、および抗 vWF 自己抗体の検出

抗 vWF 抗体を使用したヒト血中 vWF 濃度測定と抗 vWF 抗体の検出を試みて、その有用性を検証、確認した。また、樹立した抗 VWF モノクローン抗体について、その有用性を検討した成果を学会にて発表した。さらに、抗ヒト VWF ラットモノクローン抗体の樹立とこれらを用いた検出系の確立を学術論文としてまとめた。

② 抗 F13B モノクローン抗体の作製

これまで使用してきた市販の抗 F13B 抗体の供給が途絶したのでラットモノクローン抗体を作製し、10 以上のクローンを得た。その内、8 クローンはヒト F13B と反応することが確認され、測定に有用であることが示唆された。

③ 抗 F5 モノクローン抗体の作製

作製したモノクローン抗体を用いたサンドウィッチ ELISA 法により、4 クローンがヒト正常血漿中の F5 を認識するモノクローン抗体として得られた。

④ 抗 F8 モノクローン抗体の作製

ELISA 法およびウェスタンブロット法において、抗原であるアドベイトを認識する抗体を 6 クローン得た。

⑤ 抗 F13A モノクローン抗体の作製

抗 F13A 抗体の安定供給のためラット抗体を作製し、10 以上のクローンを得た。

⑥ 抗 F13aA' モノクローン抗体の作製

トロンビン処理により調整した F13aA' タンパク質を免疫し、抗体産生ハイブリドーマ細胞を作製した。不活性型 F13A、活性型 F13aA' およびトロンビンを抗原とした ELISA 法のサブトラクションにおいて、目的とした F13aA' 特異的な抗体は得られなかった。

⑦ 抗 F9 モノクローン抗体の作製

ELISA 法およびウェスタンブロット法において、F9 タンパク質を認識する抗体を 2 クローン得た。また、これら 2 クローンは、精製抗原を用いたウェスタンブロットにおいて、1 つは非還元状態、もう一方は還元状態の抗原を特異的に認識した。

⑧ 抗 F10 モノクローン抗体の作製

ELISA 法およびウェスタンブロット法において、F10 タンパク質を認識する抗体を 4 クローン得た。また、正常ヒト血漿を用いたウェスタンブロットにおいて、4 クローンは、非還元ヒト血漿を用いた場合においてのみ、バンドを検出した。

D. 考察

樹立した抗 vWF、F13B、F5 モノクローン抗体を用いた、正常血漿中の抗原の検出法が確立できたため、今後患者血漿を用いた診断基準に用いられると期待される。抗 F8 モノクローン抗体については、血漿中の F8 抗原量が非常に少ないため、樹立した抗体の評価系の確立が必要である。抗 F13A 抗体の作製について、10 クローン以上の陽性ハイブリドーマ細胞が得られたが、モノクローン化ができていないため、今後クローニングが必要である。抗 F13aA' 抗体の作製について、目的の活性型 F13aA' を特異的に認識する抗体は得られず、免疫する抗原やスクリーニング方法の検討の必要がある。抗 F9 モノクローン抗体については、正常ヒト血漿での検出系は未確立であるため、今後の課題である。さらに、抗 F10 モノクローン抗体について、今後はこれらの抗体を用いたサンドウィッチ ELISA 法の確立により、患者血漿を用いた診断基準に用いられると期待される。

E. 結論

本研究課題において、多くの血液凝固関連因子および血液凝固因子についてのモノクローン抗体が樹立された。モノクローン抗体は、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ン抗体は非常に有用であると考えられる。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

1. ○ Yokoyama C, Ikeda S, Osaki T, Souri M, Ichinose A. Generation and Application of Rat Monoclonal Antibodies Specific for a Human Blood Coagulation Protein: von Willebrand Factor. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.* 2019; 38(3):133-136.

2) 総説・著書

該当なし

II. 学会発表

1) 特別講演等

該当なし

2) 一般演題

6. 横山智哉子, 尾崎司, 惣宇利正善, 一瀬白帝: ヒト血液凝固関連 von Willebrand 因子特異的ラットモノクローナル抗体の樹立と性状解析. 第91回日本生化学会大会, 国立京都国際会館(京都市左京区); 2018年9月24日~26日

G. 知的所有権の取得状況

1). 特許取得

該当なし

2). 実用新案登録

該当なし

3). その他

該当なし

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 凝固波形（CWA）による small amount of tissue factor induced FIX activation
（CWA-sTF/FIXa）の開発

研究分担者 和田英夫 三重大学医学系研究科 リサーチアソシエイト

研究要旨

自己免疫性 FV 欠乏症のシステミックレビューを行った。死亡率 16.8%、寛解率 66.7% であった。基礎疾患は特発性、感染症、悪性腫瘍、循環器疾患、自己免疫疾患の順であった。無出血も含めて、種々の出血症状が認められた。種々の補充療法ならびに免疫抑制療法が行われた。

活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）に対する凝固波形（CWA）による評価では、FVIII濃度が低下する検体ではAPTT試薬により凝固時間が異なり、標準化が必要と考えられた。また、従来のAPTTやプロトロンビン時間（PT）に換る生理的凝固反応測定系として、small amount of tissue factor induced FIX activation（sTF/FIXa）法を開発した。本法は血小板の異常による止血異常も反映し、バイパス療法のモニターにも有用であった。APTTでは捉えられない、血小板減少ならびに抗凝固療法による止血異常や癌や妊娠に伴う過凝固状態を鋭敏に反映し、新しい検査法として有用と考えられた。

A. 研究目的

自己免疫性 FV 欠乏症の文献的にシステミックレビューし、自己免疫性 FV 欠乏症の頻度、病態、検査値異常、生命予後、治療効果などを解析し、自己免疫性 FV 欠乏症の診断基準ならびにガイドライン作成の資料とする。同時に自己免疫性凝固因子欠乏症の診療相談を行う。

従来の活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）やプロトロンビン時間（PT）は、過剰のリン脂質、組織因子（TF）、接触因子の活性化物質を含み、生理的な凝固反応を反映していない。また、血小板の異常を反映する、ルーチン検査法が必要とされており、多血小板血漿（PRP）を用いた small amount of tissue factor induced FIX activation（CWA-sTF/FIXa）法を開発した。本法は、インヒビター測定法の改良にも有用と考えられる。

B. 研究方法

I. 2018 年度

PubMed で FV inhibitor で検索した 205 例のなかから、FV 活性 20%以下で、FV インヒビターを有する 146 症例をピックアップした。患者背景因子、検査値、症状、治療法、治療効果ならびに生命予後を抽出し、統計解析をおこなった。

II. 2019 年度

1) HemosIL APTT-SP, HemosIL SynthASil, STA Cephascreen, STA PTT Automate, C.K. Prest, Coagpia APTT-N, Thrombocheck APTT-SLA,

Thrombocheck APTT, Dade[®] Actin[®] FS Activated PTT Reagent, Dade[®] Actin[®] FSL Activated PTT Reagent, Dade[®] Actin[®] FSL Activated Cephaloplastin Reagent, Pathromtin[®] SL の 12 種類の APTT 試薬を用い、CWA-APTT を測定した。検体は FVIII濃度が 100%、10%、1%の血漿を用いた。

2) PT 試薬(HemosIL RecombiPlasTin 2G)を希釈して、正常血漿を活性化するが FVIII欠乏血漿を活性化しない、希釈濃度を決定する。

3) 2)で決定した系（CWA/sTF と呼ぶ）で、多血小板血漿（PRP）を持ちることにより、血小板減少症の止血異常を同定する。

III. 2020 年度

対象は健康人 30 人、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）7 例、造血器腫瘍 12 例、良性貧血 8 例、妊婦 7 例、固形癌 12 例、抗凝固療法患者 12 例、抗血小板療法患者 14 例であった。検体は、100g ならびに 1400g の遠心で調節した PRP ならびに PPP を使用した。

CWA-APTT は、PPP に APTT-SP[®]を添加し、CWA-sTF/FIXa は PRP に HemosIL RecombiPlasTin 2G を添加し、ACL-TOP system にて測定した。CWA 解析では、peak height と peak time を評価した。

（倫理面への配慮）

当院の院内倫理委員会より研究実施の承認を得た。

C. 研究結果

I. 2018 年度

死亡率 16.8%、寛解率 66.7%であった。基礎疾患は特発性、感染症、悪性腫瘍、循環器疾患、自己免疫疾患の順であった。無出血も含めて、種々の出血症状が認められた。種々の補充療法ならびに免疫抑制療法が行われた。

II. 2019 年度

1) FVIII濃度が 100%では、12 の APTT 試薬で波形変化は認められなかったが、FVIII濃度が低下するに従い、APTT 試薬の波形に著明な差が認められた。

2) 3000 倍希釈 PT 試薬は、正常血漿を活性化したが FVIII欠乏血漿を活性化しなかった。この系を用いて、FVIII活性の測定が可能であり、APTT 法による FVIII活性との相関は良好であった。

III. 2020 年度

1) ITP や造血器腫瘍患者では APTT の延長などの異常は認められないが、血小板減少のために、CWA-sTF/FIXa の peak height 低下と peak time 延長が認められた。

2) 妊婦や固形癌患者では、過凝固状態のため、CWA-APTT の peak height 増加ならびに、CWA-sTF/FIXa の peak height の著明増加が認められた。

3) 抗凝固療法患者では、CWA-APTT の peak time は延長し、CWA-sTF/FIXa の peak time 延長ならびに peak height 低下が認められた。

4) 抗血小板療法患者では、CWA-sTF/FIXa の peak time 延長が認められた。

D. 考察

自己免疫性FV欠乏症は高齢者、感染症、術後、悪性腫瘍などに多く見られた。寛解率は低く、死亡率はまだまだ高く、意外と治療成績が悪いことに驚かされた。治療法も血漿輸血から血小板輸血も行われ、強力な免疫抑制療法は約半数に行われ、もう少し積極的に治療が行われれば、治療成績も改善され得ることが示唆された。

インヒビター測定の基となる APTT で、FVIII濃度の低下により、APTT 試薬で値が異なった。今後、APTT 試薬の標準化が必要になるであろう。また、低濃度の TF による CWA/sTF では、血小板の凝固系に対する作用が確認された。CWA/sTF により、ITP や LA、インヒビター症例の鑑別がより容易になると考えられた。また、CWA/sTF は後天性血友病などにおけるバイパス療法のモニターに有用

であった。

血小板減少症で、従来の CWA-APTT と異なり、CWA-sTF/FIXa では peak time 延長や PH 低下が認められ、血小板系の異常を含めた総合的な止血異常が診断できる可能性が示唆された。また、抗血小板療法のモニターに有用である可能性もあり、今後検討が必要である。

また、従来の APTT や PT は出血性疾患の診断に有用であるが、過凝固状態の診断は困難であった。本研究では、妊婦や固形癌で CWA-sTF/FIXa の peak height が著明に増加し、過凝固状態であることが示唆された。CWA-sTF/FIXa により血栓症リスクがより鋭敏に予測できることが期待される。

さらに、CWA-sTF/FIXa は PRP を持ちいることにより、リン脂質試薬の影響を受けないことがない。このため、抗リン脂質抗体などの影響を受けずにインヒビター測定が可能になるかもしれない。

E. 結論

自己免疫性FV欠乏症はまだよく知られていない疾患で、エビデンスを確立して、積極的な診断治療がなされることが期待される。

後天性自己免疫性凝固因子欠乏症の診断には、APTT試薬の標準化が必要である。また、少量のTFと特殊なリン脂質を用いた、CWA-sTF/FIXaは血小板異常による止血異常の診断や、バイパス療法のモニターにも有用であった。また、抗凝固療法や抗血小板療法のモニターにも有用である可能性が示唆された。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

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; 24(7): 1170-1176
2. Matsumoto T, Wada H, et al: An Evaluation of the Activated Partial Thromboplastin Time Waveform Clin Appl Thromb Hemost. 2018; 24(3): 764-770.
3. Suzuki K, Matsumoto T, Iwashita Y, Ishikura K, Fujioka M, Wada H, Katayama N, Imai H.: Clinicopathological features of TAFRO syndrome complicated by acquired hemophilia A and development of cardiopulmonary arrest that were successfully treated with VA-ECMO and tocilizumab. Int J Hematol. 2019; 109(6): 737-743
4. Habe K, Wada H, Higashiyama A, Akeda T, Tsuda K, Mori R, Kakeda M, Yamanaka K, Mizutani H: Elevated plasma D-dimer levels

- in dermatomyositis patients with cutaneous manifestations. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1410.
5. Iba T, Arakawa M, Mochizuki K, Nishida O, Wada H, Levy JH.: Usefulness of Measuring Changes in SOFA Score for the Prediction of 28-Day Mortality in Patients with Sepsis-Associated Disseminated Intravascular Coagulation. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019 Jan-Dec 25:1076029618824044
 6. Yamashita Y, Suzuki K, Mastumoto T, Ikejiri M, Ohishi K, Katayama N, Suzuki-Inoue K, Wada H.: Elevated plasma levels of soluble C-type lectin-like receptor 2 (CLEC2) in patients with thrombotic microangiopathy. *Thromb Res.* 2019; 178: 54-58
 7. Suzuki K, Wada H, Matsumoto T, Ikejiri M, Ohishi K, Yamashita Y, Imai H, Iba T, Katayama N: Usefulness of the APTT waveform for the diagnosis of DIC and prediction of the outcome or bleeding risk. *Thromb J* 2019; 17:12
 8. Kageyama Y, Matsumoto T, Tawara I, Wada H, Katayama N: Life-Threatening Tongue and Retropharyngeal Hemorrhage in a Patient with Hemophilia A with Inhibitors. *Am J Case Rep.* 2019;20: 1022-1026
 9. Suzuki Y, Shiba M, Wada H, Yasuda R, Toma N, Suzuki H.: Case of Hemorrhagic Moyamoya Disease Associated with Von Willebrand Disease. *World Neurosurg.* 2019; 130: 335-338
 10. Ichkawa Y, Wada H, Ezaki E, Tanaka M, Hiromori S, Shiraki S, Moritani I, Yamamoto A, Tashiro H, Shimpo H, Shimaoka M: Elevated D-dimer levels predict a poor outcome in critically ill patients. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2020 Jan-Dec; 26:
 11. Kawano N, Wada H, Uchiyama T, Kawasugi K, Madoiwa S, Takezako N, Suzuki K, Seki Y, Ikezoe T, Hattori T, Okamoto K.: Analysis of the association between resolution of disseminated intravascular coagulation (DIC) and treatment outcomes in post-marketing surveillance of thrombomodulin alpha for DIC with infectious disease and with hematological malignancy by organ failure. *Thromb J.* 2020; 18: 2.
 12. Wada H, Shiraki K, Matsumoto T, Ohishi K, Shimpo H, Shimaoka M: Effects of platelet and phospholipids on clot formation activated by a small amount of tissue factor. *Thromb Res* 2020; 193: 146-153
 13. Wada H, Honda G, Kawano N, Uchiyama T, Kawasugi K, Madoiwa S, Takezako N, Suzuki K, Seki Y, Ikezoe T, Iba T, Okamoto K: Severe Antithrombin Deficiency May be Associated With a High Risk of Pathological Progression of DIC With Suppressed Fibrinolysis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2020 Jan-Dec;26
 14. Wada H, Shiraki K, Matsumoto T, Shimpo H, Yamashita Y, Shimaoka M: The evaluation of a scoring system for diagnosing atypical hemolytic uremic syndrome – A review analysis for Japanese aHUS – Thrombosis Update 2020; 1: December
 15. Sakai K, Wada H, Nakatsuka Y, Kubo M, Hayakawa M, Matsumoto M: Characteristics Behaviors of Coagulation and Fibrinolysis Markers in Acquired Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *J Intensive Care Med.* 2021; 36: 436-442
 16. Iba T, Connors JM, Spyropoulos AC, Wada H, Levy JH: Ethnic differences in thromboprophylaxis for COVID-19 patients: should they be considered? *.Int J Hematol.* 2021; 113: 330-336
 17. Wada H, Shiraki K, Matsumoto T, Ohishi K, Shimpo H, Sakano Y, Nishii H, Shimaoka M. The Evaluation of APTT Reagents in Reference Plasma, Recombinant FVIII Products; Kovaltry® and Jivi® Using CWA, Including sTF/7FIX Assay. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2021 Jan-Dec;27
 18. Kawasugi K, Wada H, Honda G, Kawano N, Uchiyama T, Madoiwa S, Takezako N, Suzuki K, Seki Y, Ikezoe T, Iba T, Okamoto K.: Hypofibrinogenemia is associated with a high degree of risk in infectious diseases: a post-hoc analysis of post-marketing surveillance of patients with disseminated intravascular coagulation treated with thrombomodulin alfa. *Thromb J.* 2021; 19: 12
- 2) 総説・著書
1. Matsumoto T, Wada H, et al: Modified clot waveform analysis to measure plasma coagulation potential in the presence of the anti-factor IXa/factor X bispecific antibody emicizumab: comment. *J Thromb Haemost*, 2018; 16 (7): 1665-1666
 2. Wada H, Matsumoto T, Yamashita Y, Ohishi K, Ikejiri M, Katayama N.: Routine measurements of factor VIII activity and inhibitor titer in the presence of emicizumab utilizing anti-idiotypic monoclonal antibodies: comment. *J Thromb Haemost.* 2019; 7(3):555-556.
 3. Wada H, Matsumoto T, Wada H, Ohishi K, Yamashita Y, Ikejiri M, Katayama N: Comments to: An

- Evaluation of Hemostatic Abnormalities in Patients With Hemophilia by APTT Waveform, Peak Heights of APTT Waveform Are Useful for Diagnosing Hemophilia or Inhibitor. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019 Jan-Dec; 25:
4. Iba T, Watanabe E, Umemura Y, Wada T, Hayashida K, Kushimoto S; Japanese Surviving Sepsis Campaign Guideline Working Group for disseminated intravascular coagulation, Wada H: Sepsis-associated disseminated intravascular coagulation and its differential diagnoses. *J Intensive Care.* 2019 May 20; 7: 32
 5. Iba T, Levy JH, Thachil J, Wada H, Levi M; Scientific and Standardization Committee on DIC of the International Society on Thrombosis and Haemostasis; The progression from coagulopathy to disseminated intravascular coagulation in representative underlying diseases. *Thromb Res.* 2019 Apr 29; 179:11-14.
 6. 和田英夫: 播種性血管内凝固、未来型血液治療学、編集小松則夫、中外医学社、pp263-269、2019
 7. Wada H, Shiraki K, Shimaoka M: The prothrombin time ratio is not a more effective marker for evaluating sepsis-induced coagulopathy than fibrin-related markers. *J Thromb Hemost* 2020; 18: 1506-1507
 8. Wada H, Shiraki K, Shimaoka M: Errors in the diagnosis for DIC due to a statistical misunderstanding. *J Thromb Haemost.* 2020; 18: 1791-1792.
 9. Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Shiraki K, Shimaoka M: Update on the Clot Waveform Analysis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2020 Jan-Dec; 26
 10. Iba T, Connors JM, Spyropoulos AC, Wada H, Levy JH: Ethnic differences in thromboprophylaxis for COVID-19 patients: should they be considered? *Int J Hematol.* 2021 Jan 20.
 11. 和田英夫: 血栓性微小血管症、診療ガイドライン UP-T0-DADE 2020-2021, 門脇 孝、小室一成、宮地良樹 監修、メディカルレビュー社、大阪市、2020年、pp513-517
- 名古屋国際会議場、2018年8月26日(日)
3. 鈴木圭、今井寛、和田英夫、松本剛史: DIC 患者の凝固波形解析、第13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、2019年2月16日
 4. 和田英夫: APTT 波形による出血能のモニター、第13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、2019年2月16日
 5. 和田英夫: APTT 波形による抗凝固療法のモニター、第13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、2019年2月16日
 6. 和田英夫: 凝固波形解析 (CWA) の有用性、プロジェクト報告、血栓・止血専門委員会、題 59 回日本臨床化学会年次学術集会、仙台国際センター会議棟、2019年9月27日-29日
 7. 和田英夫: DIC に対するトロンボモジュリン製剤の臨床試験ならびに市販後調査などの解析、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「新しい DIC 診療ガイドライン作成への問題点」、第42回日本血栓止血学会学術集会 (オンデマンド発表 2020年7月)
 8. 和田英夫: DIC に対するトロンボモジュリン製剤の臨床試験ならびに市販後調査などの解析、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「新しい DIC 診療ガイドライン作成への問題点」、第42回日本血栓止血学会学術集会 (オンデマンド発表 2020年7月)
 9. Wada H: Update on the management of DIC. Symposium: Janus Diseases with Thrombosis and Bleeding. Virtual Congress of the XIth APSTH 2021 (Korea, Gwangju), 2021, March 18-20 (Virtual)

II. 学会発表

1) 特別講演・シンポジウム等

1. 和田英夫: 新DIC診断基準の評価とDIC診断の問題点、第19回日本検査血液学会学術集会、大宮ソニックシティ、2018年7月21日
2. 和田英夫: 血栓・出血のバイオマーカー、第58回日本臨床化学会年次学術集会教育講演5、
3. 和田英夫: Small amount tissue factor induced FIX activation (sTF/FIXa) assay、第15回日本血栓止血学会 SSC シンポジウム、2021、2月27日 (東京) Video 発表
4. 和田英夫、本田剛一、河野 徳明、内山俊正、

川杉和夫、窓岩清治、竹迫直樹、鈴木 圭、
関 義信、池添隆之、岡本好司、射場敏明：
後天性の著明アンチトロンビン低下は、線溶
抑制を伴い、D I Cの予後を著しく悪くする。
ーリコモジュリン市販後調査成績の解析ー第
15 回日本血栓止血学会 SSC シンポジウム、
2021、2月27日（東京）Video 発表

2). 実用新案登録

なし

3). その他

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1). 特許取得

なし

厚生労働科学研究費補助金（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 後天性第 X 因子欠乏症の鑑別

研究分担者 朝倉英策 金沢大学附属病院 准教授

研究要旨

臨床的に問題となりやすい後天性第 X 因子欠乏症の原因としては、インヒビターとともに AL アミロイドーシスが挙げられる。この3年間で、凝固、線溶マーカーを用いて適切に鑑別する方法について、検討を重ねてきた。

A. 研究目的

第X因子インヒビターは稀な疾患であるが、時に致命的な出血を来すために、早期診断、早期治療が必要である。ただし、後天性に第X因子活性が低下する疾患として、ALアミロイドーシスもあり、その鑑別は重要である。

ALアミロイドーシスの一部で凝固線溶異常が報告されているが、臨床医に周知されていないために出血性素因の存在が見逃されている症例が存在すると考えられる。また、第X因子インヒビターが疑われた場合の鑑別すべき疾患として最重要である。凝固線溶系の検査異常の特徴と出血症状や治療経過との関連について把握する。

COVID-19 では血栓症の合併が病態を悪化させる要因としてよく知られている。一方で、ECMO装着例や剖検例での報告から、重症例では致命的な出血症状の出現も多い。しかし、COVID-19 における出血の機序は不明である。我々は、全世界から発信されている多数論文の精査を行い、COVID-19 における出血の原因についての検討を行った。

B. 研究方法

対象は、金沢大学附属病院と南砺市民病院の2施設において、2005年4月1日～2021年3月31日の間に全身性ALアミロイドーシスを診断された全例を対象とした。

分析方法は、データベースの各例について、後方視的に診療録を参照し、全身性ALアミロイドーシスと診断された症例のみを分析対象として登録した。各登録例について、診断の契機となった症候、アミロイドーシスに対する治療介入前の

出血の有無、凝固線溶検査等を調査した。

COVID-19 については、凝固線溶異常に言及している全ての論文を PubMed から抽出して精査した。

（倫理面への配慮）

2施設において院内倫理委員会より研究実施の承認を得た。

C. 研究結果

2施設で診断されたALアミロイドーシス全例を抽出した。抽出された症例毎に、診断の契機となった症候、化学療法開始前の出血症状の有無、凝固線溶検査所見、基礎疾患、M蛋白の種類、病理検査所見等を調査した。

項目	出血群		非出血群	P
	N=8			
PT (sec.)	13.7	(11.9-28.3)	11.6 (10.3-13.8)	<0.01
APTT (sec.)	32.3	(24.8-54.7)	28.3 (22.0-35.6)	0.11
Fbg (mg/dL)	322	(148-538)	341 (233-801)	0.55
FDP (μ g/mL)	11.8	(3.1-43.0)	6.4 (1.0-20.0)	0.09
D-dimer (μ g/mL)	2.5	(1.6-19.8)	2.8 (0.4-8.0)	0.72
AT (%)	97	(59-107)	93 (71-120)	0.95
TAT (ng/mL)	7.6	(1.9-58.7)	4.2 (1.3-13.7)	0.2
PIC (μ g/mL)	10.9	(1.3-18.4)	4.3 (1.1-8.7)	0.04
α_2 PI (%)	52	(39-62)	67 (46-99)	0.08
PIg (%)	62	(29-62)	66 (58-100)	0.19
Factor X (%)	47	(6-52)	90 (76-98)	<0.01

その結果、27例のALアミロイドーシス（原発性16例、骨髄腫合併10例、悪性リンパ腫1例）が抽出された。年齢中央値は69(39-90)歳、男性11例、女性16例であり、初診時に出血症状を伴った例が9例（以下、「出血群」）、出血症状のない例は18例（以下、「非出血群」）であった。出血症状は、消化管出血3例、肉眼的血尿2例、関節内出血1例、皮下出血3例であった。そのう

ち7例は出血が初発症状（主訴）であったが、他の2例は心不全兆候で発症し、初診時の身体所見で異常な皮下出血斑を指摘されていた。

出血群は、非出血群と比較して有意に PT 延長（中央値 13.7 vs. 11.6 秒; $P < 0.01$ ）と FX 活性低下（47 vs. 90%; $P < 0.01$ ）を認め、FDP と PIC が高値であった（それぞれ、11.8 vs. $6.4 \mu\text{g/mL}$; $P = 0.09$ 、10.9 vs. $4.3 \mu\text{g/mL}$; $P = 0.04$ ）。出血症状と FX 欠乏、PIC 増加の特徴的な凝固線溶所見を伴った AL アミロイドーシスの1剖検例では、全身の血管壁に特異的に強いアミロイド沈着を認めていた。

COVID-19における出血の原因については、多数論文の精査の結果、現時点では以下が出血の原因となっていることを究明した。1) 抗凝固療法の副作用としての出血、2) 線溶亢進型 DIC の合併、3) 血管炎（血管の脆弱性）、4) 後天性 von Willebrand 症候群の合併、5) 血小板数の低下（COVID-19 そのもの、DIC、免疫性血小板減少性紫斑病、血球貪食症候群、HIT、薬剤性など）。この中でも、特に線溶亢進型 DIC の合併については、著者自身が気付いていない報告がほとんどであった。

D. 考察

AL アミロイドーシスの症例を蓄積したことにより、統計学的に更に有意な結果を得ることができた。AL アミロイドーシスにおける FX 欠乏の病態は、血管壁に沈着したアミロイド蛋白による FX の吸着であるとされる。一方、FXa が一定の条件下で線溶活性化のトリガーとなり得ることも報告されている。これら一連の機序（FX の血管壁への吸着→活性化→線溶活性化トリガーとしての消費）により、特徴的な凝固線溶異常と出血傾向を呈している可能性がある。PT 延長、FX 欠乏および線溶亢進が AL アミロイドーシスにおける出血傾向を惹起し得る。その病態の証明については、今後のさらなる検討が必要である。

COVID-19における血栓症、出血の両者を管理するためには、適切な検査項目の選択が重要であることを明らかにした。

E. 結論

後天性第 X 因子欠乏症の原因としては、インヒビターとともに AL アミロイドーシスを鑑別する必要がある。出血例における過剰な線溶活性化と第 X 因子活性低下は、AL アミロイドーシスの鑑別に有用な所見となり得る。アミロイド沈着の証明は生検に依らざるをえないが、深部血管にのみ沈着している例があり、その場合は通常の生検では検出されないことがある点にも注意が必要である。

COVID-19に線溶亢進型DICを合併するとしばしば大出血をきたすが、適切に診断、加療することにより救命可能である。適切な検査項目の選択と追跡は極めて重要である。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

1. ○ Kadohira Y, Asakura H, et al: A discrepancy between prothrombin time and Normotest results is useful for diagnosis of acquired factor V inhibitors. *Int J Hematol.* 2018; 108:145-150.
2. Arahata M, Asakura H: Antithrombotic therapies for elderly patients: handling problems originating from their comorbidities. *Clin Interv Aging.* 2018; 13: 1675-1690.
3. Nagaya S, Asakura H, et al: Congenital coagulation FX deficiency: Genetic analysis of five patients and functional characterization of mutant FX proteins. *Haemophilia.* 2018; 24: 774-785.
4. Iba T, Asakura H, et al: A proposal of the modification of Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis (JSTH) DIC diagnostic criteria for sepsis-associated DIC. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018; 24: 439-445.
5. ○ Yamada S, Asakura H, et al: The first reported case of acquired haemophilia A in which bleeding episodes were successfully treated via administration of a single-dose mixture of activated factor VIIa/X. *Haemophilia.* 2019; 25(5): e350-e352.
6. Ito T, Thachil J, Asakura H, Levy JH, Iba T: Thrombomodulin in disseminated intravascular coagulation and other critical conditions—a multi-faceted anticoagulant protein with therapeutic potential. *Crit Care.* 2019; 23(1):280.
7. Togashi T, Nagaya S, Nagasawa M, Meguro-Horike M, Nogami K, Imai Y, Kuzasa K, Sekiya A, Horike SI, Asakura H, Morishita E: Genetic analysis of a compound heterozygous patient with congenital factor X deficiency and regular replacement therapy with a prothrombin complex concentrate. *Int J Hematol.* 2020; 111: 51-56.
8. ○ Arahata M, Takamatsu H, Morishita E,

- Kadohira Y, Yamada S, Ichinose A, Asakura H: Coagulation and fibrinolytic features in AL amyloidosis with abnormal bleeding and usefulness of tranexamic acid. *Int J Hematol*. 2020; 111(4): 550-558.
9. Ogawa H, Asakura H: Consideration of Tranexamic Acid Administration to COVID-19 Patients. *Physiol Rev*. 2020; 100(4): 1595-1596.
 10. ○ Yamada S, Okumura H, Morishita E, Asakura H: Complete hemostasis achieved by factor XIII concentrate administration in a patient with bleeding after teeth extraction as a complication of aplastic anemia and chronic disseminated intravascular coagulation. *Blood Coagul Fibrinolysis*; 2020.31: 274-278.
 11. Asakura H, Ogawa H: Potential of heparin and nafamostat combination therapy for COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020;18: 1521-1522.
 12. Asakura H, Ogawa H: Perspective on fibrinolytic therapy in COVID-19: The potential of inhalation therapy against suppressed-fibrinolytic-type DIC. *J Intensive Care* 2020;8: 71.
 13. Ogawa H, Asakura H: The adjunctive therapies for early withdrawal from extracorporeal membrane oxygenation. *J Card Surg* 35: 3671- 3672, 2020.
 14. Asakura H, Ogawa H: Overcoming bleeding events related to extracorporeal membrane oxygenation in COVID-19. *Lancet Respir Med* 8(12): e87-8, 2020.
 15. Asakura H, Ogawa H: COVID-19 associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Int J Hematol* 113:45-57, 2021.
 16. Yamada S, Asakura H: Management of disseminated intravascular coagulation associated with aortic aneurysm and vascular malformations. *Int J Hematol* 113: 15-23, 2021.
 17. Asakura H: Diversity of disseminated intravascular coagulation and selection of appropriate treatments. *Int J Hematol* 113:10-14, 2021.
 18. Takahashi W, Yoneda T, Koba H, Ueda T, Tsuji N, Ogawa H, Asakura H: Potential mechanisms of nafamostat therapy for severe COVID-19 pneumonia with disseminated intravascular coagulation. *Int J Infect Dis* 102: 529-531, 2021.
 19. Yamada S, Ogawa H, Asakura H: Etiology and management of bleeding during ECMO in a COVID-19 patient. *J Atheroscler Thromb*, in press.
- ## 2) 総説・著書
1. ○ 門平靖子、朝倉英策: 第V因子インヒビター。臨床に直結する血栓止血学改訂2版(朝倉英策編), 中外医学社, 東京, p60- 62, 2018.
 2. ○ 朝倉英策: トロンボテスト, ヘパプラスチンテスト。臨床に直結する血栓止血学改訂2版(朝倉英策編), 中外医学社, 東京, p63- 65, 2018.
 3. ○ 門平靖子、朝倉英策: 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症(後天性血友病)。私の治療[2019-2020年度版]、日本医事新報、東京、\$ 9-38, 2019.
 4. 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群。中山書店「内科学書 改訂第9版」248-254、中山書店、東京、2019.
 5. 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群(DIC)。「血液専門医テキスト(改訂第3班)」(日本血液学会編)南江堂、東京、416-419, 2019.
 6. 朝倉英策: 血栓・止血・凝固線溶について。「新臨床静脈学」(日本静脈学会編)メディカルビュー社、東京、32-37, 2019.
 7. 朝倉英策: 悪性腫瘍と血栓症。日本検査血液学会誌 20: 89-97, 2019.
 8. 朝倉英策: 出血と凝固。日本外科学会誌 120: 475-477, 2019.
 9. 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群。臨床検査 63: 510-511, 2019.
 10. 朝倉英策: 線溶亢進型DIC-造血器腫瘍-Thrombosis Medicine 9: 333-339, 2019.
 11. 朝倉英策: 播種性血管内凝固症候群(DIC)。「今日の治療指針2020年版」(福井次夫、高木誠、小室一成編)医学書院、東京、717-719, 2020.
 12. 朝倉英策: 臨床に直結する凝固線溶検査の第一歩。日本検査血液学会雑誌 21: 336-343, 2020.
 13. 朝倉英策: COVID-19と検査血液学。日本検査血液学会雑誌 21: 344-357, 2020.
 14. 朝倉英策: COVID-19と凝固検査。日本血栓止血学会誌 31: 604-618, 2020.
- ## II. 学会発表
- ### 1) シンポジウム等
1. ○ 荒幡昌久、高松博幸、朝倉英策: ALアミロイドーシスにおける凝固線溶異常。第13回日本血栓止血学会学術標準化委員会(SSC)シ

- ンポジウム（東京）2019. 2. 16.
2. ○ 山田真也、朝倉英策：後天性第V因子インヒビター。第81回日本血液学会学術集会（東京）2019. 10. 11.
 3. ○ 荒幡昌久、朝倉英策：ALアミロイドーシスにおける凝固線溶異常（第2報）。第14回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム（東京）2020. 2. 22.
 4. ○ 荒幡昌久、朝倉英策：ALアミロイドーシスにおける出血傾向と凝固線溶異常（第3報）。第15回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム（東京）2021. 02. 27.
 5. 朝倉英策、山田真也：COVID-19の凝固線溶異常とその意義。第15回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム（東京）2021. 02. 27.
 6. 菅 幸生、朝倉英策：ラット DIC モデルを用いた研究のピットフォール—DIC 誘発物質による病態の違い—。第15回日本血栓止血学会学術標準化委員会（SSC）シンポジウム（東京）2021. 02. 27.

2) 講演等

1. 朝倉英策：止血系検査結果の読み解き方。第47回日本集中治療医学会学術集会エキスパートセミナー（名古屋）2020. 3. 8.
2. 朝倉英策：DIC 診断の Pitfall。第47回日本集中治療医学会学術集会教育セミナー（名古屋）2020. 3. 8.
3. 朝倉英策：COVID-19と検査血液学。第21回日本検査血液学会学術集会（大会長講演）（金沢）2020. 7. 11.
4. 朝倉英策：臨床に直結する凝固線溶検査の第一歩。第21回日本検査血液学会学術集会（大会長講演）（金沢）2020. 7. 11.

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

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 調査と実験の実施（主にVIII/8因子抗体症例）：

後天性血友病 A の治療効果の判定に関する検討～抗第VIII因子抗体量の測定意義と抗体活性との比較～

研究分担者 家子 正裕 北海道医療大学歯学部生体機能病態学系内科学分野 教授

研究要旨

後天性血友病A（AHA）では、診断と共に免疫抑制療法を開始し、抗FVIII抗体（FVIII-INH）活性<1.0 BU/mLで治癒と判断する。しかし、AHAの再燃率は20～30%と比較的高く、FVIII-INH活性による治癒判定が適切であるかを、ELISAで測定したFVIII-INH量と比較検討した。本研究期間内に当科に診断補助依頼のあったAHA症例11例を対象とした。FVIII-INH活性で治癒判定をしたが、FVIII-INH量が高かった症例は、FVIII活性も低く、再燃例も出現した。一方、FVIII-INH量も基準値以内の症例ではFVIII活性も回復し再燃例は認めなかった。FVIII-INH活性の消失による治癒判断は不十分であり、Bethesda法では測定できないFVIIIに対するクリアランス抗体が残存している可能性がある。AHAの治癒判定は、ELISAで測定するFVIII-INH量も参考にする必要があると考えられた。

A. 研究目的

後天性血友病A（AHA）は、凝固第VIII因子（FVIII）に対する自己抗体によりFVIII活性（FVIII:C）が低下することにより、時に致死的な突然の出血をきたす指定難病である。AHA診療ガイドラインでは、AHAと診断されたなら即時に免疫抑制療法を開始し、Bethesda法で測定する抗FVIII抗体（FVIII-INH）活性の低下でその中止を考慮するとされている。AHA治癒の判定はFVIII-INH 活性 < 1.0 BU/mLとされているが、AHAの再燃率は比較的高く20～30%と言われている。AHA再燃率が高い原因とAHA治療終了の判断としてFVIII-INH活性の測定が適切であるかを、ELISAで測定したFVIII-INH量と比較して検討した。

B. 研究方法

1. 対象：本研究期間内に当科にAHA診断補助の依頼があったANA 11症例（51サンプル）を対象とした。うち、3例は初診時のみの検討であった。
2. 方法：（1）FVIII活性はFVIII欠乏血漿（Sysmex）を用いて、凝固検査測定汎用機CP3000（積水メディカル）で測定した。（2）FVIII-INH 活性および量の測定：FVIII-INH活性はBethesda 法で測定した。また、FVIII-INH 量は、Hyphen Biomedical社製測定キ

ット（Zymutest Anti-VIII IgG Mono Strip）を用い、取り扱い説明書に従い12.0 AU/mL以下を正常域、12.0～24.0 AU/mL をグレイゾーン（±）とした。24.0 AU/mL以上を陽性とした。

（倫理面への配慮）

本学歯学部倫理委員会より研究実施の承認を得た。

C. 研究結果

1. 本研究期間内に当科に診断補助依頼のあったAHA 11 症例中、FVIII-INH 活性が<1.0 BU/mLとなり治癒判断まで追えた8症例を対象とした。（表1）。
2. 8例中5例は FVIII-INH 活性が陰性化した際に、FVIII-INH 量は基準値以上であった。この5例の治癒判定時のFVIII:Cは全例基準値未満であった。そのうち、2例はさらに免疫抑制療法を継続しFVIII-INH 量も基準値以下となった。残りの3例中1例は、238 日後に再燃を認めた。我々の症例における再燃率は12.5%であった。
3. 治癒判定時（FVIII-INH 活性<1.0 BU/mL）にFVIII-INH 量が基準値以下であった3症例ではFVIII:Cは基準値内であった。
4. AHA11例において、FVIII:CはFVIII-INH活性と極めて弱い相関を認めた（ $r = -0.384$, $P = 0.009$ ）が、FVIII-INH量とは強い相関を示した（ r

= -0.623, P < 0.001)。また、FVIII-INH 活性と FVIII-INH 量も良好な相関を示した (r = 0.731, P < 0.001)。

表 1. 後天性血友病 A 症例の詳細

Patient no	Sample no.	Gender	Age (years)	Time after hospitalization (days)	APTT (sec)	FVIII:C (%)	FVIII-INH (BU/mL)	Anti-FVIII Ab IgG (AU/mL)
VIII-1	1	M	74	1	90.6	1.2	285.3	1073.6
	2			20	98.9	1.2	239.5	939.7
	3			28	99.4	1.3	227.5	884.4
	4			46	90.8	2.3	103.8	726.1
	5			61	88.9	4.3	49.7	509.0
	6			76	76.0	10.3	9.7	241.4
	7			90	56.7	23.6	1.4	68.8
	8			111	42.9	64.4	0.0	15.1
VIII-2	1	M	87	1	77.9	2.2	136.3	559.9
	2			8	85.2	2.4	92.4	623.1
	3			29	86.9	2.2	83.1	608.3
	4			43	79.0	2.1	83.9	552.4
	5			56	85.9	2.1	60.1	480.6
	6			85	73.7	2.8	22.0	291.5
	7			113	53.2	15.4	1.9	66.3
	8			127	42.0	37.5	0.0	46.3
VIII-3	1	F	87	1	86.4	2.0	327.0	829.2
	2			20	86.2	2.9	339.8	784.2
	3			47	50.7	18.5	0.7	633.3
	4			70	47.2	36.2	0.6	36.5
	5			87	39.4	73.0	0.0	14.2
VIII-4	1	F	55	1	74.3	7.6	35.0	613.6
	2			6	82.9	2.1	36.7	605.6
	3			21	94.5	2.3	15.2	429.8
	4			35	78.5	4.4	6.7	362.6
	5			49	60.8	8.5	2.5	196.0
	6			56	47.8	19.7	1.1	142.5
	7			63	41.1	38.6	0.0	75.7
	8			301	77.5	4.3	25.2	229.0
	9			322	54.5	12.0	3.8	45.0
	10			407	41.5	36.1	0.0	21.4
VIII-5	1	M	84	1	110.6	1.3	365.9	708.4
	2			10	122.4	1.5	568.5	654.8
	3			50	116.3	3.6	100.7	448.6
	4			85	52.2	34.5	1.7	71.2
	5			100	39.9	109.1	0.0	18.8
VIII-6	1	M	72	1	109.1	3.2	8.9	297.0
	2			14	89.1	3.7	6.8	214.2
	3			35	52.4	20.6	0.5	60.2
	4			48	47.4	29.3	0.0	34.2
VIII-7	1	F	73	1	111.1	4.1	10.8	257.7
	2			35	54.9	29.6	1.6	63.2
	3			48	65.7	16.6	4.0	105.1
	4			70	68.2	30.9	2.4	92.8
	5			103	55.8	82.2	0.0	16.0
VIII-8	1	M	68	1	79.8	3.5	3.2	370.1
	2			27	37.4	37.9	0.0	50.2
	3			34	29.5	92.6	0.0	13.7
Normal range						≥60.0	<1.0	≥24.0

FVIII:C: activity of factor VIII,

FVIII-INH: activity of inhibitor to factor VIII,

D. 考察

今回の検討から、FVIII-INH 活性による治癒判定 (<1.0 BU/mL) 時においても、FVIII-INH 量が高値で FVIII に対する自己抗体が存在している症例があり、FVIII:C も回復していないことが明らかとなった。FVIII-INH 活性に反映されない抗 FVIII 自己抗体の一部がクリアランス抗体として FVIII:C の低下を引き起こしている可能性が示唆された。一般的には、FVIII-INH 活性と FVIII:C は相関を示さないことが報告されているが、我々の症例は弱い相関を認めた。一方、FVIII:C は FVIII-INH 量と極めて良好な相関を示し、AHA 患者血中には FVIII に対する中和抗体だけではなく、クリアランス抗体も大きな影響を与えている可能性があると思われた。

FVIII-INH 量の高値は FVIII に対するなんらかの自己抗体の残存を示し、AHA の再燃を予測している可能性がある。AHA の治癒判定には ELISA で測定される FVIII-INH 量が有用であると思われた。

E. 結論

AHA の治療効果判定および治癒判断は、FVIII-INH 活性消失に加えて、ELISA による FVIII-INH 量の消失をも確認することが必要である。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

1. Ogawa Y, Yanagisawa K, Naito C, Uchiumi H, Ishizaki T, Shimizu H, Gohda F, **Ieko M**, Ichinose A, Handa H. Overshoot of FVIII activity in patients with acquired hemophilia A who achieve complete remission. Int J Hematol. 2020; 111: 544-549.

2. 吉田こず恵, 柳谷綾子, 村井一範, 濱田宏之, 佐藤彰宜, 宮入泰郎, **家子正裕**, 和野雅治. 免疫性血小板減少症を伴って発症した後天性血友病

A. 臨床血液 2019; 60: 1567~1572.

2) 総説・著書

なし

II. 学会発表

1) 特別講演等

なし

2) 一般演題

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 相談と研究的精密検査（主に F8）

研究分担者 橋口照人 鹿児島大学医歯学総合研究科 教授

研究要旨

自己免疫性出血症の疑われる症例について、コンサルトを行ない、本症の診断指針に有益であるとされるクロスミキシングテストの解釈上の問題点を検討した。肝予備能の低下した症例においては本症との鑑別において注意が必要である（2018年度）。自己免疫性出血症の検査データの解釈について、止血血栓領域を専門としない医師のコンサルトを行い、診断の効率を高めることを目的とした。肝予備能の低下した症例、慢性の播種性血管内凝固症候群の症例では、後天性に凝固因子が低下することより、自己免疫性出血症との鑑別を要する患者は実臨床において多く存在する（2019年度）。原因不明の出血症状をきたす場合、自己免疫性凝固因子欠乏症は必ず鑑別診断に挙がる。自己抗体の証明がなされないままに本症の診断となり免疫抑制薬の投与がなされている症例もある。本症は生命を脅かす重篤な出血をきたす一方、積極的な治療のためには確定診断が必要である。今後、迅速な確定診断法の開発が必須である（2020年度）。

A. 研究目的

自己免疫性出血症の一般臨床での検査データの解釈について凝固を専門としない医師のコンサルトを行い理解を深め、診断の効率を高める（2018～19年度）。実臨床にて自己免疫性凝固因子欠乏症の鑑別診断となりうる病態候補を挙げる（2020年度）。

B. 研究方法

APTT の延長した症例ならびに後天性の出血傾向を示す症例のクロスミキシングテストを含む一般臨床での凝固検査データのコンサルトを行った。原因不明の出血症状をきたした症例の相談を受けるにあたって診断のプロセスと治療介入が適切に実行されているかを検証した。

（倫理面への配慮）

当院の院内倫理委員会より研究実施の承認を得た。

C. 研究結果

クロスミキシングテストにおける凝固因子の欠乏あるいはインヒビター、LA の存在の判定は上・下凸の波形判断では不十分である。また、肝予備

能の低下した症例では、後天性に凝固因子が低下することより、自己免疫性出血症との鑑別に苦慮される可能性がある（2018～19年度）。自己免疫性第 V 因子欠乏症、自己免疫性第 VIII 因子欠乏症（後天性血友病）の診断にあたっては、PT、APTT、クロスミキシングテスト、凝固因子活性の測定がなされ、結果として正しい診断のもとに治療介入がなされていた。しかし、自己免疫性第 XIII 因子欠乏症においては、第 XIII 因子の抗原量のみでの測定にてその確定診断がなされないままに免疫抑制薬が投与された症例、あるいは最終的に自己抗体が証明されなかった第 XIII 因子低下症例や IgA 血管炎において当初、自己免疫性第 XIII 因子欠乏症が鑑別に挙がっていた（2020年度）。

D. 考察

クロスミキシングテストの結果の解釈は診断・治療方針に影響することから、上・下凸による解釈ではなく、本質的な解釈を一般臨床医に周知すべきである。また、実臨床においては、肝予備能の低下による凝固因子の低下から出血傾向をきたす症例が多く存在しており、自己免疫性出血症との鑑別を要する場合があることから自己免疫性出血症患者の血液中の抗体を検出する診断キットの開発が望まれる（2018～19年度）。PT、APTT、クロスミキシングテスト、凝固因子活性の測定が

有効な自己免疫性凝固因子欠乏症においては正しい診断がなされる確率が高いが最終診断に必要な自己抗体の結果を待たずに治療を介入せざるを得ない現状である。自己免疫性第XIII因子欠乏症は第XIII因子の抗原量の測定のみでは非自己免疫性との鑑別が困難であり診断方法の普及が必要である（2020年度）。

E. 結論

止血血栓領域を専門としない一般臨床医に対して、自己免疫性出血症の存在と凝固検査データの解釈について更に周知する活動を継続する必要がある（2018～19年度）。自己免疫性凝固因子欠乏症の診断において簡便に行なえる自己抗体の証明法の確立が必須の課題である（2020年度）。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

なし

II. 学会発表

1) シンポジウムの企画

第81回 日本血液学会学術集会（2019.10.11-13 東京国際フォーラム）凝固因子インヒビター（座長 橋口照人、朝倉英策）

1. 出血性後天性凝固異常症の診断
鈴木伸明
2. 後天性血友病 A～診断と治療～
徳川多津子
3. 後天性第 V 因子インヒビター
山田真也、朝倉英策
4. 自己免疫性後天性凝固第 XIII/13 因子欠乏症
小川孔幸

5. 後天性フォンヴィレブランド症候群について
早川正樹

2) 特別講演等

1. T. Hashiguchi.
Coagulation Factor XIII Disorder.
APSTH, Korea, 2021

3) 一般演題

1. 中島 篤人、山口 宗一、吉村 明子、古城 剛、小濱 祐行、竹之内 和則、大山 陽子、政元 いずみ、高嶋 博、橋口 照人：親子間で病型の異なるフォン・ヴィレブランド病の一家系. 第41回 日本血栓止血学会学術集会，三重県総合文化センター；2019年6月20日～22日

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（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

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 講師

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の標準化されたスクリーニング検査の開発と治療法の標準化が必要であろう。

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。その中で自己抗体産生に起因したAVWSが、自己免疫性von Willebrand因子欠乏症(AiVWD＝厚労省指定難病288-3)と定義される。AVWSの基礎疾患としては、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、強いは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(AiVWD)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。

尚、当院ではこの3年間でAiF8D症例を5名、AiF13D症例を1名、AiF5D症例を1名、非免疫性のAVWSを1名、後天性フィブリノゲン欠乏症を1名経験した。

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で毎年12月末時点までの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AVWD症例の詳細な経過を考察し、報告する。

(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758文献がヒットし、内容を目視で確認したところ、427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、2018年49件、2019年42件、2020年41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AVWD症例の長期治療経過の詳細と考案について第38回日本血栓止血学会で発表し、その後専門誌に掲載されたが(臨床血液. 2017. 58:613-18)、それ以降3年間に同様の自己免疫性VW欠乏症(autoimmun vWF deficiency; AiVWFD)症例は報告されていない。

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、2018年末までに344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 243件(24.3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。特に2020年に発表された論文の半分以上(25/41文献)は体外循環に関連したAVWSに関するものであった。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AiVWD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。AiVWD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。AiVWD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AiVWD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

AiVWD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。

F. 研究発表

I. 論文発表

1) 原著

1. 明石直樹, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 大崎洋平, 清水啓明, 石崎卓馬, 井上まどか, 村上正巳, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 半田寛. 初回寛解から4年後に再発した後天性凝固第V因子インヒビター. 臨床血液. 2019;60(1):46-50.

2. Ogawa Y, Yanagisawa K, Nauto C, Uchi mi H, Ishizaki T, Shimizu H, Gohda F, Ieko M, Ichinose A, Handa H. Overshoot of FVII I activity in patients with acquired hemophilia A who achieve complete remission. Int J Hematol. 2020;111: 544-549.

3. 松本彬, 小川孔幸, 尾崎司, 惣宇利正善, 柳澤邦雄, 石崎卓馬, 内藤千晶, 石川哲也, 宮澤悠里, 清水啓明, 井上まどか, 早川昌基, 村上正巳, 一瀬白帝, 半田寛. 血液透析導入後早期に発症した自己免疫性凝固第V/5因子欠乏症の管理. 臨床血液 2020;61(5): 445-450.

2) 総説

1. 小川孔幸. 後天性血友病Aの診断と治療. 血栓止血誌. 2018; 29(3):262-272.

2. 小川孔幸. 自己免疫性後天性凝固第XIII/13因子欠乏症. 臨床血液 2020;61(7): 799-808.

II. 学会発表

1) 特別講演等

1. 小川孔幸. 自己免疫性後天性凝固第XIII/13因子欠乏症. 第81回日本血液学会学術集会(シンポジウム4)、東京、2019年10月11日

2. 小川孔幸. 「いつか、どこかで、あなたも遭遇する: 後天性血友病Aの診断と治療」. 第64回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会(ランチョンセミナー)、奈良、2020年11月21日.

2) 一般演題

1. 寺崎幸恵, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 中山敬太, 田原研一, 石崎卓馬, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 半田寛.

機能的寛解達成後2年以上経過して病勢再燃した自己免疫性出血病FXIII/13症例. 第40回日本血栓止血学会学術集会(札幌)、2018年6月28日-30日

2. 明石直樹, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 松村郁子, 寺崎幸恵, 大崎洋平, 清水啓明, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 半田寛. 寛解後4年で再発した後天性凝固第V因子インヒビターの治療経過. 第40回日本血栓止血学会学術集会(札幌)、2018年6月28日-30日

3. 内藤千晶, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 内海英貴, 石崎卓馬, 清水啓明, 冢子正裕, 一瀬白帝, 半田寛. 後天性血友病A患者における寛解後のFVIII活性overshootに関する検討. 第80回日本血液学会学術集会(大阪)、2018年10月12日-14日

4. Ogawa Y, Yanagisawa K, Ishizaki T, Shimizu H, Ichinose A, Handa H. Overshoot of FVIII activity in patients with acquired hemophilia. 60th ASH Annual Meeting (San Diego)、2018年11月30日-12月4日

5. 松本彬, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 内藤千晶, 石川哲也, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 井上まどか, 泉絢子, 北沢早希, 早川昌基, 惣宇利正善, 一瀬白帝, 半田寛. 維持透析導入後早期に発症した後天性凝固第V因子インヒビター症例. 第41回日本血栓止血学会学術集会、三重・津、2019年6月20日-22日

6. Ogawa Y, Yanagisawa K, Uchi mi H, Uchiyama Y, Naito C, Ishizaki T, Shimizu H, Ichinose A, Handa H. Single center analysis of clinical characteristics and outcomes of patients with acquired hemophilia A. ISTH2019, Melbourne, 2019年7月6日-10日

7. 杉崎真人, 小川孔幸, 尾崎司, 惣宇利正善, 明石直樹, 石川哲也, 内藤千晶, 小林宜彦, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 一瀬白帝, 半田寛. 経時的な抗FXIII自己抗体の測定をガイドとして治療を遂行した自己免疫性凝固第XIII因子欠乏症. 第42回日本血栓止血学会学術集会、大阪、2020年6月18日-20日

8. 明石直樹, 小川孔幸, 尾崎司, 惣宇利正善, 杉崎真人, 石川哲也, 内藤千晶, 小林宜彦, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 朝倉英策, 一瀬白帝, 半田寛. 後天性凝固第X因子欠乏, 線溶異常を契機にALアミロイドーシスの診断に至った一症例. 第42回日本血栓止血学会学術集会、大阪、2020年6月18日-20日

G. 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