

## II. 総括研究報告書

### 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業） 総括研究報告書

#### 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 客員教授

#### 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、本事業は、本症に含まれる各疾患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、改定することが主な目的であり、その治療の均てん化を可能にする。

これまでは、4種類の凝固難病「自己免疫性第XIII/13因子欠乏症（AiF13D）、自己免疫性von Willebrand因子欠乏症（AiVWFD）、自己免疫性第VIII/8因子欠乏症（AiF8D）、自己免疫性第V/5因子欠乏症（AiF5D）」を主な調査対象としてきたが、平成29年度からは自己免疫性第X/10因子欠乏症（AiF10D）を追加している。AiF13D、AiF8D、AiVWFD、AiF5Dは調査を継続的に実施してきており、今年度も患者公的支援の「公平性」という点からAiF10Dを新たな対象疾患として重視し、全国調査した。令和2年12月末にAiF10D診断基準を改訂・提出して指定難病288に新たに追加申請し、AiF13DとAiF5Dの診断基準改訂案を提出したことが特筆される。

また今年度は、本症の検査、診断、治療のデータを集積・分析しながら、各疾患の診断基準、重症度分類、診療指針を作成・確立・検証・改定しつつ、3年を掛けて「難病プラットフォーム」の症例情報登録レジストリを完成し、運用を開始した。

その他の主な成果としては、症例相談と全国アンケート調査の結果、登録症例を蓄積したこと、研究班ホームページを維持・更新して広報活動に活用したこと、AiF13Dの統一特別委託検査のデータを国際専門誌に発表して凝固・線溶系の異常と1:1混合試験の有用性を証明したこと、AiF10DとAiF5Dの国内外の報告症例をレビュー論文としてまとめて、症例の症候や病態を明らかにしたこと、等が挙げられる。

#### 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

尾崎 司

山形大学大学院医学系研究科 助教

横山 智哉子

山形大学大学院理工学研究科 助教

和田 英夫

三重大学医学系研究科 リサーチアソシエイト

朝倉 英策

金沢大学附属病院 准教授

橋口 照人

鹿児島大学医歯学総合研究科 教授

小川 孔幸

群馬大学医学部附属病院 講師

（赤字下線部は、交付申請書で変更・追加した文章である。）

## A. 研究目的

### I. 目的

本事業は、本症に含まれる各疾患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、改定することが主な目的であり、その治療の均てん化を可能にする。

3年間にわたり本症の検査、診断、治療のデータを集積・分析しながら、診断基準、重症度分類、診療指針を作成、確立、改定しつつ、初年度から本格稼働する「難病プラットフォーム(以下難プラ)」を利用して、1年目は患者レジストリ構築の準備、2年目は試験的使用、3年目に運用を開始したい(流れ図；省略)。

### II. 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。対象とする「自己免疫性第XIII/13因子欠乏症(AiF13D)、自己免疫性von Willebrand因子欠乏症(AiVWFD)、自己免疫性第VⅢ/8因子欠乏症(AiF8D)、自己免疫性第V/5因子欠乏症(AiF5D)、自己免疫性第X/10因子欠乏症(AiF10D)」は難病4要素を満たしており、超高齢社会となった我が国では症例数が増加しつつある。

既にAiF13D、AiF8D、AiVWFD、AiF5Dは調査を実施しており、公的患者支援の公平性という点からもAiF10Dを新たな対象疾患として全国調査し、診断基準を作成して指定難病288に追加申請したい。

### III. 特色・独創性

自己免疫性出血症全体を網羅して各疾患の診療指針を統合することが本研究の特色であり、このような研究は世界に例がなく極めて独創的である。また、AiF13D研究では世界をリードして、情報発信している。なお、AiVWFDやAiF10Dの頻度は全く報告がない。

### IV. 現在までの研究との関係

AiF13Dの診断基準、検査・診断のアルゴリズムを作成し、国内外で確立した。AiVWFDについてはVWF抗体を検出して的確な治療法の選択を可能にした。また、症例の出血症状の記録と客観的評価を可能にするため、日本語版出血スコア(JBAT)を作成して、約300例に適用した。本研究を通じてAiF13Dは厚労省指定難病288に認定され、AiF8D、AiVWFD、AiF5Dもそれぞれ指定難病288-2、288-3、288-4として採用済みである。なお、令和元年度は難プラ参加経費の見積りま

で進んだが追加予算申請が不採択で実現できなかったため、今年度は(分担研究費や旅費を削減して)当初予算に組み込んで実現する。

## B. 研究方法

**I. 研究体制** 研究を効率的かつ効果的に推進するため、領域内の主な疾病を網羅する班構成で、全国的に組織的な研究を推進する体制を整備する(今年度は研究分担者を一部整理する)。1) 研究代表者；班研究全体を総轄。2) 研究分担者8名；定期全国調査の実施(今田班員)、各疾患の確定診断；AiF13D(惣宇利、尾崎班員)；AiF8D(橋口班員)；AiVWFD(小川、横山班員)；AiF5DとAiF10D(和田、朝倉班員)。3) 研究協力者45名；症例の発掘、疫学統計専門家：山形大学 佐藤秀則助教、レジストリ専門家：自治医科大学 牧野伸子准教授

### 研究計画

**II. 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定、総合的な診療指針の確立や改定及び普及等を行い、広報、講演、ホームページ(HP)での公開などを通じて国民へ研究成果を還元する(流れ図；省略)。

日本語版出血スコア(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(年間100例が目標)を含めて指針作成の参考とする。症例相談の結果に応じて、鑑別診断と確定診断用の統一特別委託検査と研究的精密検査を実施する。

### III. 具体的な研究計画

#### 全期間：

#### 1) 広報活動

チラシ配布や学会、研究会発表、2018年度に作成した本研究班HPと難病情報センター、日本血栓止血学会などのHPで本症や本研究事業を周知

#### 2) 症例実態調査

- 主治医からの症例相談：事務局、研究分担者、研究協力者が通年受付
- 本研究班HPからの登録：臨床調査票等を常時ダウンロード可能にしてメールで受付
- 定期調査：往復はがきで新症例有りとは回答した主治医にメールやHP経由で症例登録

を依頼

d. 対象5疾患の症例報告を事務局、研究分担者が定期的に文献検索

e. 難病プラに参加して新しい症例レジストリを構築し、症例を効率的に蓄積(図;省略)

### 3) 臨床研究・調査

a. 症例相談の受付、定期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. 研究的精密検査の実施

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. 危険因子のデータ収集と解析

f. 抗体根絶療法の追跡調査

g. 止血と寛解段階での治療効果の判定など

h. 複数凝固因子欠乏に対応した検査診断アルゴリズムを作成

## 令和2年度:

平成30年、令和元年の2年間だけでも42症例の情報提供があり、今年度から使用開始する難プラのデータ及びそれまでに蓄積したデータと合わせて解析して診療指針を作成・改訂する予定である。

### 1) AiF13D

a. AiF13D 治療指針作成の基礎資料として、止血療法/抗体根絶療法、治療効果/寛解判定等の追跡調査を実施

b. AMED 事業で開発したイムノクロマトグラフィ法による抗F13自己抗体検出迅速検査を試用し、確定診断した結果を蓄積

c. 国際共同研究でF13Bサブユニット濃度を決定した国際標準血漿を用いて、精度管理を実施

### 2) AiF8D

a. 合成基質法によるF8活性、抗原量、抗F8自己抗体を測定することにより症例の病勢、病態などを解析

b. F8インヒビターが陰性化しても抗F8自己抗体量が高いと再燃する症例があるので、寛解判定基準の修正を検討

### 3) AiVWFD

a. 後天性VWF症候群と混同され易いAiVWFD疑い症例の調査、研究的精密検査によりデータを蓄積し、診断基準案を検証

b. 精度管理のため、複数の測定システムを

用いて抗VWF自己抗体の検出感度、特異性を検討

### 4) AiF5D

a. 本疾患の極めて多彩な症状と検査所見、病態との関連を解析

b. F5インヒビターと抗F5自己抗体を測定し、非中和抗体の検出が診断と治療効果判定に有用か否か検討

### 5) AiF10D

a. AiF10D診断基準案を周知し、本疾患の実態を調査

b. F10インヒビターと抗F10自己抗体検査を実施し、非中和抗体の検出が診断と治療効果判定に有用か検証

c. 本疾患に類似したALアミロイドーシスにおける凝血学的検査結果について調査し、その鑑別診断法を提唱

**各出血病の診療指針等の現状:** AiF13Dは、診断基準、検査・診断アルゴリズムを国内外で公表済み、日本血栓止血学会と厚労省の診断基準策定済み。AiF8Dは同学会の診療ガイドライン2017が公開済み。AiVWFDは参照ガイドを国内雑誌に、AiF13Dは診療ガイドを学会誌で刊行したので、別冊を平成29年度に配布済み。AiF13D、AiVWFD、AiF8Dは厚労省との協同で統合済み。AiF5D診断基準は新規に採択され、公的助成開始済み。

**主たる関連学会との連携:** 「自己免疫性出血症」の各疾患に関連が深いのは、国際血栓止血学会/科学及び標準化委員会(ISTH/SSC)の5小委員会であり、国内では日本血栓止血学会のSSC委員会の4部会であるので、これらの関連組織と連携して各出血病の診療指針の整合性を確保する。

### (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、既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、既存の組織、施設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は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

今年度は、新型コロナ禍の影響で、研究費の交付が8月中旬となったため、全体的に事業の進捗が遅れたので、年度の後半に目標達成のために研究調査活動を継続・加速した。

### I. 研究班全体活動の成果

今年度の最大の成果は難病プラットフォームレジストリ参加と完成である。

#### 1) 難病プラットフォーム：

今年度は8月下旬に研究費入金が通知されたので直ちに「難病プラットフォームレジストリ」構築を開始して注力したところ、12月下旬に納入された。2021年度1月中旬に班員が入力を試行して、2月1日から主治医による最終版の実地使用を開始した。本報告書作成時点で、36名の主治医により14名の症例の登録が完了している。

#### 2) 症例調査：

今年度も、全国アンケート調査を2段階に分けて実施した。第一段階では実態調査の往復ハガキ（2011件）を送付し（**資料A；往復ハガキ**）、609件（30.7%）の回答を主治医から得た（**資料B；全国アンケート調査の内訳**）。診察経験なしは561件であった。次に47件の症例有りの回答者に対して登録票を送付して二次調査を実施したところ（**資料C；アンケート（二次調査）用紙**）、32例の後天性出血症疑い症例の情報が提供された（**資料D；報告症例のまとめ**）。現時点で15症例が登録されている。

#### 3) 文献検索：

調査研究対象5疾患について、事務局及び各研究分担者が適宜検索を実施し、最新の症例報告を精読して、本疾患群に該当する症例を集積した。

班研究での実験的精密検査と文献検索の結果を総合すると、我が国におけるAiCFD症例数は、多い順にAiF8Dが推算で2,160名、AiF5Dは実数173名、AiF13Dは実数79名、AiVWFDは実数33名、AiF10Dは実数3名が確認されている（2021年3月31日現在）。

#### 4) 主治医からの症例相談：

主治医から事務局に相談のあった本疾患疑い44症例について検討し、本疾患の可能性が高く「倫理指針」に適合した15症例を登録して、統一特別検査と実験的精密検査を実施し、基礎データを蓄積中である。なお、検査リストにF10活性、1;1混合検査を追加して必要に応じて実施している。

#### 5) 検体検査精度管理：

改正医療法に準じて令和元年度に策定した班研究における生体（検体）検査の管理台帳とその手続き等を遵守して実施中である。また、同様に市販の「ファイルメーカー」データベースソフトウェアで作成した検体検査精度管理のための台帳を試用中である（**資料E；難プラデータベースログイン画面**）。

#### 6) モデル医療機関：

今年度も群馬大学血液内科と金沢大学高密度無菌治療部をモデル医療機関として、新規症例の迅速な確定診断と治療開始を試行中である。6症例が対象となって実際に「迅速登録」された。

#### 7) 広報活動：

リーフレット（**資料F；リーフレット配布・HP掲載した関連学会**）を全国アンケート調査に同封したり、2関連学会の学術集会に送付したりして配布した。新型コロナ禍の影響で学術集会がオンライン開催になった1関連学会の学術集会のHP

にリーフレットとポスターを掲載して頂いた。広報した学会数が例年より激減しており、来年度は新型コロナ禍の影響でオンライン開催になる学術集会が殆どであると予想されるので、十分な期間の余裕を持って予めホームページ掲載を依頼する必要がある。

また、日本血栓止血学会の HP に全国調査活動のお知らせを掲載し、事務局 HP にて疾患に関する情報を掲載、更新した。6 件以上の学術論文を公表し (資料 G ; Haemophilia (Ichinose A ら) 始頁、資料 H ; Thrombosis and Haemostasis (Ichinose A ら) 始頁、資料 I. Thrombosis Medicine (一瀬 白帝) 始頁)、国際学会発表を含む 9 件以上の学会報告をして本疾患について広報した。

#### 8) Minds 診療ガイドライン掲載 :

厚労省に提出する研究成果申告書に記載されている「Minds 診療ガイドライン」への掲載を実現するために、令和 2 年 12 月に公益財団法人日本医療機能評価機構に「自己免疫性出血病 FXIII/13 診療ガイド」の審査を申請したところ、令和 2 年 3 月中旬に選定された。現在掲載開始のための手続き中である。

#### 9) 研究班ホームページ(HP) :

大学病院医療情報ネットワーク (UMIN = University hospital Medical Information Network) センター (通称 : UMIN センター) に開設して頂いている

(<http://square.umin.ac.jp/kintenka/index.html>) を維持・更新して、研究協力者や症例の主治医に研究活動の開始、一時休止、再開、調査における注意事項などを通知したり、本疾患に関する参考文献を追加して周知・広報活動に活用している。今年度は、自己免疫性第 X/10 因子欠乏症 (AiF10D) の診断基準や難プラ「症例レジストリ」の運用開始、AiF13D (F13 インヒビター) のスクリーニング検査の通知などを新たに掲載した。

#### 10) 班会議 :

新型コロナ禍の影響で 6 月上旬に第 1 回班会議を資料文書送信の上でメール会議として開催し、本年度の事業や難病プラへの参加について協議し、確認した (資料 J ; 第 1 回班会議配布資料リスト)。第 2 回オンライン班会議を 9 月中旬に開催し、難プラデータベースに関する種々の問題と開発委託契約の是非について協議し、最終的に契約することを決定した (資料 K ; 第 2 回班会議議事次第)。また、令和 3 年 2 月中旬に第 3 回班会議をオンライン開催し、本年度の事業進捗状況、難プラデータベース登録の促進方

策や来年度からの新しい研究体制等について討議した (資料 L ; 第 3 回班会議議事次第)。

## II. 疾患別の成果

### 1) AiF13D :

1-a. AiF13D 治療指針作成の基礎資料とするために、治療 (止血療法 / 抗体根絶療法)、治療効果 / 寛解の判定等についての第 2 回追跡調査を継続中である。症例の主治医は若手医師が多く頻繁な異動のため回答が得られたのは半数以下であるが、第 1 回追跡調査と合計した結果をまとめることを計画している。

1-b. AMED 事業で開発したイムノクロマトグラフィ法による抗 F13 自己抗体検出迅速検査の内、感度が不十分であった抗 F13B サブユニット自己抗体検出法のマウスモノクローン抗体を内製化した「ラット」モノクローン抗体に置換して高感度化を試みた。詳細な検討の結果、感度は不十分なままで、しかも抗 F13A サブユニット自己抗体陽性症例の検体でもテストラインが現れたので、その原因と改良方法を検討中である。

1-c. 国際共同研究で F13B サブユニット濃度を決定した国際標準血漿を用いて精度管理済みの方法で、本疾患疑い症例の検体の ELISA による F13B サブユニット抗原量を測定し、精密検査の結果を診断に活用している。

なお、令和 2 年 10 月に厚労省から診断方法の一般化の状況について問い合わせがあったので、大手検査受託センターと相談したところ、症例の血漿検体と健常対照の血漿検体の 1:1 混合試験によって F13 インヒビター検出を外注することが可能になった。また、長年にわたって実施してきた本研究活動で蓄積された合計 54 症例の凝固・線溶系パラメーターのデータをまとめて解析し、上述した 1:1 混合試験が AiF13D における F13 インヒビターのスクリーニングに有用であることを証明した (資料 G ; Haemophilia (Ichinose A ら) 始頁)。

後述するように、AiF13D 診断基準を一部改訂して厚労省に提案した (資料 M ; 改訂版 AiF13D 診断基準)。

### 2) AiF8D :

2-a. AiF8D 症例の検体を解析したところ、F8 抗原量は正常であるが残存 F8 活性は低い症例や残存 F8 活性が 20%程度である症例には抗原抗体複

合体が血中に存在し、F8 抗原量も残存 F8 活性も激減している症例は強い F8 阻害作用のみならずクリアランス亢進型抗体を持つという相異なる病態が示唆された。

**2-b.** ループスアンチコアグラント (LA) が陽性であったり、F8 以外の凝固因子活性も激減している複数因子欠乏症 (あるいはインヒビター) 疑い症例の鑑別診断が、迅速な治療開始に不可欠である。そこで、F8 インヒビターや抗 F8 自己抗体が検出されて「ほぼ確定」、「確定」診断された AiF8D 症例の 18 検体を用いて実験的精密検査を実施したところ、「合成基質を用いた活性」測定や抗原量との比活性の算出が有用であることが判明した。これらと ELISA による F8 自己抗体検出結果を総合することにより、迅速な診断と的確な治療を開始することが可能になると期待される。

発症時と治療開始後の複数回採血された AiF8D 症例の検体を収集中であり、抗 F8 自己抗体量を測定して、抗体の消長を含む治療効果/寛解の判定基準案を作成し、必要に応じて AiF8D 診断基準を修正する予定である。

**2-c.** 凝固波形による small tissue factor induced FIX activation (sTF/FIXa) を考案して論文発表した ([資料 N ; Thromb Res \(H. Wada ら\) 始頁](#))。AiF8D の新しい検査方法として新しく追加できる可能性があるので、検証中である。

### 3) AiVWFD :

**3-a.** AiVWFD 疑い 2 症例について ELISA 法で抗 VWF 自己抗体の有無を判定したところ、共に陰性であることが確認された。特に、現行の診断基準では「ほぼ確定診断」項目である VWF インヒビター陽性例も自己抗体陰性であったので、より多くの症例のデータを蓄積して診断基準の「インヒビター」と「自己抗体」条項を再検証する必要があることが確認された。

**3-b.** 上述した AiVWFD 疑い症例で遊離型と複合体型の自己抗体検出法を用いたが、何れも陰性と判定された。3 年間のデータをまとめて検出感度、特異性を検定する予定であったが、高感度化が必要である可能性が大であり、自家製ラット抗ヒト VWF モノクローン抗体を用いて抗体検出方法を改良することが次の課題となっている。

なお、令和 3 年 3 月末までの本疾患の論文検索は終了しており、本年度分の成果をまとめて総説論文を作成中である。

### 4) AiF5D :

**4-a.** 本疾患の極めて多彩な症状と検査所見、

病態との関連を明らかにするために、原著文献を検索・精読し、国内外の 152 例を選択して症例解析を行い、システマティックレビューの論文を完成・投稿した。

**4-b.** F5 インヒビターと抗 F5 自己抗体検査を実施して確定診断した症例を追跡調査し、中和型、非中和型の如何に拘らず抗体検出が診断と治療効果判定に有用であることを立証した。特に非中和型では抗体検出が必須であった。

また、症例検体を Ig 吸着処理前後に F5 インヒビターを測定することによって、抗 F5 自己抗体の有無と阻害能を間接的に確認することを可能にした。

**4-c.** 上述したように、間接的抗 F5 自己抗体検出方法を利用することにより、「ほぼ確定診断」の要件を満たすことを確認したので、AiF5D 診断基準の一部改訂案を令和 2 年 1 2 月末に厚労省に提出して提案した ([資料 0 ; 改訂版 AiF5D 診断基準](#))。

**4-d.** AiF8D 以上に、ループスアンチコアグラント (LA) が陽性であったり、F5 以外の凝固因子活性も激減している複数因子欠乏症 (あるいはインヒビター) 疑い症例が多く、その鑑別診断が迅速な治療開始に不可欠である。そこで、F5 インヒビターや抗 F5 自己抗体が検出されて「ほぼ確定」、「確定」診断された AiF5D 症例の 13 検体を用いて実験的精密検査を実施したところ、「合成基質を用いた活性」測定や抗原量との比活性の算出が有用であることが判明した。これらと ELISA による F5 自己抗体検出結果を総合することにより、迅速な診断と的確な治療を開始することが可能になると期待される。

### 5) AiF10D :

**5-a.** これまでに学会誌等で提案して研究班 HP に掲示してきた AiF10D 診断基準案を、文言を修正したり、診断のカテゴリーを分かりやすくするために表にまとめるなどして一部改訂し、最終版を作成して差し替えた。また、執筆中の AiCFD の総説シリーズに掲載するなど、今後も周知活動を継続する予定である。

**5-b.** 新規の AiF10D 疑いの症例相談があり、当初 F10 活性が激減していたのに拘らず aPTT クロスミキシングテスト陰性であったが、その後弱いインヒビター力価が確認されて「ほぼ確定」診断と判定された。年度末に倫理指針適合状態が確認され、確定診断のための実験的精密検査の準備中である。

我が国ではまだ 3 例しか発見されていないので、前項の周知活動を推進することにより、より多く

の症例を集積して本疾患の実態解明を継続する必要がある。

5-c. 新規の症例のF10 インヒビターと抗 F10 自己抗体検査を含む研究検査を実施してこれまでの症例と海外の症例の情報をまとめてレビュー論文を作成し、抗体検出が確定診断と鑑別診断、治療効果判定に必須であることを強調した。この論文は止血血栓領域の国際専門誌である Thrombosis and Haemostasis に採択され、印刷中である (資料 H ; Thrombosis and Haemostasis (Ichinose ら) 始頁)。

5-d. 止血血栓領域の学会誌等に掲載し、研究班 HP に掲示していた AiF10D 診断基準案を一部改訂した最終版を令和 2 年 1 2 月末に厚労省に提出し、指定難病 288-5 としてノミネートした (資料 P ; 提出版 AiF10D 診断基準 (案))。

5-e. 令和元年の報告書に記載した原著論文 (Int J Hematol (H Asakura ら)) でも指摘した通り、出血を伴う AL アミロイドーシス 症例では F10 活性が著減していることが多いので、本疾患から鑑別する方法を見定めることが喫緊の課題である。

### III. 各研究分担者の成果：

各研究分担報告書で詳述する。

## D. 考察

### I. 難病プラットフォームデータベース完成の意義と問題点：

今年度は、3 年間の到達目標であった難プラレジストリデータベースの構築に成功し、運用を開始した。昨年度の報告書に記述したように、難プラデータベースを完成したことには非常に大きな意義がある：

- 1) 診療指針の基礎となるエビデンス取得システムの構築
- 2) 疾患の長期予後の解明
- 3) 主治医の負担減と症例登録の促進
- 4) 症例データの信頼性向上
- 5) 調査活動の成果還元促進

また、実際的にも

- 1) 主治医自身が入力するので本人が確認してエラーを修正することが可能となる
- 2) 主治医が難プラに永続的にアクセスできる
- 3) 蓄積したデータが中央のデータベースに残るので長く活用できる

等の利点がある。

ただし、難プラ参加には問題点も多く、その維持・拡充にも相当な労力が必要だと予想される。

1) 難プラレジストリに参加するための費用が高額な上、維持するための保守・維持費用もユーザー数と共に増大するので、今後の難プラレジストリの維持・拡充にも経済的な負担が大きい。公的なレジストリである筈の難プラデータベースの構築・運用の経費を個別の研究班が負担するという現在のシステムには再考の余地がある。

2) 難プラレジストリに既に参加している厚労科研研究班の具体的な情報が全くなく、現在も参加済み研究班名さえ不明なままであるので、公的な難プラデータベースに関する情報を公開すべきである。

3) 上述した理由により、他の研究班のデータベースのアクセス権の設定や入力項目や入力方法やなども参考にすることができず、暗中模索のままデータベースを構築せざるを得なかったため、全ての研究班に難プラ参加を促し、症例情報を我が国の財産とするためには、より細かな支援（直接、相互の両方）が必要である。

4) AMED「難プラ」研究班事務局とデータベース開発受託会社との契約に関する情報が得られなかったのみならず突然データベース開発受託会社の体制や社名も変更されたため、データベース開発受託会社と「本研究班が全く未経験の」開発契約を締結するのが躊躇された。最終的には、1 ヶ月以上を要して厚労省担当部署の方とオンライン面談で相談しつつ、急遽班会議を開催してデータベース開発契約を決断したが、公的な難プラデータベースの開発であるから公的運用機関である難プラ事務局が個別の研究班を代表して直接契約することが望ましい。

5) 決算期である 3 月に突然「難プラデータベースのメインコンピュータシステムを難プラ研究班代表者が所属する国立大学から海外企業に移転する」という通知が難プラ事務局から届き、移行期間は運用が停止した。我が国独自の症例情報を蓄積して国の貴重な財産にするという難プラデータベースの説明に基づいて参加したので、セキュリティに懸念がある。

6) 難プラデータベースに入力するまでの行程が、症例相談、倫理審査関連文書送付、倫理審査承認、文書同意取得、倫理指針適合状態報告・確認、レジストリアカウント作成と授与、難プラ事務局への通知、ライセンス認証通知、ライセンス取得、難プラデータベースへのアクセス・ログイン、と極めて長大且つ煩雑なので、主治医の負担を軽減するために大幅に簡潔化されることが「強く」望まれる。

## II. AiCFD 診断基準の作成と改訂：

今年度の最大の成果は、本研究の主目的である AiCFD 診断基準の作成と改訂を実施したことである。

令和 2 年 12 月末に、先ず AiF10D 診断基準案を厚労省に提出して AiCFD の一疾患として指定難病告示番号 288 への追加を申請した。診断基準と重症度分類の関係学会での承認が令和 2 年度から新規追加の要件になっていたとの情報提供があったので、日本血栓止血学会理事であり研究班副代表の橋口鹿兒島大学教授に依頼して理事会に提案したところである。現在までに、難病検討委員会で審議するための資料として、学会承認の進捗状況、重症症例の割合、基礎疾患などの情報を厚労省に提供している。AiF10D が指定難病 288-5 として採用されれば、現時点では我が国で 3 例、国外でも 23 例しか報告されていない本疾患症例がより多く発見されるようになり、その実態が明らかにされると期待される。

次に、研究成果の章で述べたように、厚労省からの問い合わせに対応して、1) 原著論文で有用性を証明した、1:1 混合試験を用いた AiF13D のスクリーニング検査を研究班以外の一般病院からも外注可能にしたり、2) 治療的 F13 製剤投与試験で、投与直後の F13 活性の回収率、比活性(活性/抗原量)の大幅な低下などにより F13 活性阻害が認められれば、F13 インヒビターの生体内での証明として良い、という条項を追加したり、3) 阻害性抗体(F13 インヒビター)の場合は、抗ヒト Ig 抗体や抗血清による中和前後、あるいはプロテイン A、プロテイン G-セファロースなどでの吸着処理前後で F13 インヒビター力価の大幅な減少が認められれば、抗 F13 自己抗体の間接的証明として良い、という条項を追加したりして、「ほぼ確定診断」の要件を緩和する方向での改訂を令和 2 年 12 月末に提案した。

更に、AiF5D についても同様に、阻害性抗体(F5 インヒビター)の場合は、抗ヒト Ig 抗体や抗血清による中和前後、あるいはプロテイン A、プロテイン G-セファロースなどでの吸着処理前後で F5 インヒビター力価の大幅な減少が認められれば、抗 F5 自己抗体の間接的証明として良い、という条項を追加して、「ほぼ確定診断」の要件を緩和することを提案した。なお、当初交差混合試験で欠乏型であっても、その後インヒビター型に変化することもあるので、期間をおいて複数回検査することが望ましい、という文言も追加(改訂)することを提案した。

これらの提案が指定難病検討委員会で採用されれば、より多くの医療機関を受診した本疾患の症例が公的医療費助成を申請することが容易になり、認定によって救済される症例が増加すると期待される。

## III. 確定診断用検査の改良と安定的実施

本疾患群の「スクリーニング検査」には抗原量の測定(および比活性の算出)を参考にし、「確定診断」と的確な治療、治療の「効果判定」には自己抗体を検出することを必須としている。抗原量測定と自己抗体検出を普及させるために、高品質・高性能の抗凝固因子抗体の内製化と安定的供給を目標として、F13A, F13B, F8, VWF などのモノクローン抗体を内製して、以前 AMED 実用化研究で企業と共同開発した ELISA やイムノクロマトグラフィーによる自己抗体検出・測定検査の改良(高感度且つ高特異度化)を試みてきた。

今年度までに、ラット抗 F13B モノクローン抗体を作製し、これらを用いて AMED プロジェクトで企業と協働して開発した抗 F13B 自己抗体検出システムを改良したり、ラット抗 VWF モノクローン抗体を作製して ELISA 法で AiVWF 疑い症例の検体で自己抗体検出を試みているが、現時点では高感度且つ高特異的な結果を得ることに成功していない。F(ab')<sub>2</sub>化が完了していないため非特異反応が残存することや、検出に使用している抗ラット IgG 抗体がヒト IgG に反応していることが、その一因と思われる。

特に F13 の場合は、理論的にはキャプチャー抗体が抗 F13A 抗体あるいは抗 F13 B 抗体のどちらであっても、同様に A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> 四量体を認識して結合するので、測定検体中に抗 F13 B 抗体あるいは抗 F13A 抗体が存在すれば、同様に陽性反応を呈する(偽陽性反応)と推定される。従って、感度を上げるために A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> 四量体を追加供給する混合法では、却って直接法よりも偽陽性反応を生じ易くなると考えられる。

そこで、ドットブロット法のように F13-B タンパク質を固相に塗付するなどの工夫をして B 型特異的なイムノクロマト(ICT)法や ELISA を開発すれば、「殆ど」の抗 F13 自己抗体陽性症例を判定できるようになる可能性がある。また、A 型、B 型検出用の抗体を混合して塗付することで「全て」の抗 F13 自己抗体陽性症例を判定することを可能にし、ICT キットの感度を改良して「より一般的」に利用されるようにしたい。

## IV. 全国調査の改善：

平成 30 年度までは、症例のアンケート調査の回答率は約 19%と低かったため、令和元年度からは定期全国調査を 2 段階に分け、先ず往復はがきを郵送して新症例有り回答した主治医のみに次にメールで症例登録を依頼している。その結果、令和元年度は一次回答率が約 27%、令和 2 年度は約 31%と改善した。また、平成 30 年度は 27 例であった新症例有りの回答数も令和元年度は 42 例、令和 2 年度は 47 例に増加したの

で、今後も「2段階方式」で全国調査を実施してその効果を検証し、更なる改善策を検討する予定である。

#### V. 研究班ホームページの運用と維持:

令和元年2月末に事務局でHPを開設し、それ以来「調査開始・休止のお知らせ」、「全国アンケート調査実施のお知らせ」、「本疾患に関する参考文献の追加」、「二次調査のお知らせ」などを掲示したり、各種の文書をダウンロードできるようにリンクしたりして、新規の本症疑い症例を相談する主治医に本HPから必要な情報を得ることを可能にしている。

今後も、これを充実させて非専門医へ本研究事業や本症、特に診断方法、医療費助成申請等の紹介、周知にも活用したい。

#### E. 結論

今年度は、3年間にわたる研究の主たる目標である難プラレジストリの運用を開始し、本研究の目的である新しい診断基準案の作成と既存の診断基準の改訂案を作成して提案することができた。今後も調査研究を継続してこの研究基盤を維持・拡充し、全ての指定難病288の症例が「公平に支援」され、その診療が「均てん化」されるように努力したい。

(協力・支援して頂いた全国の主治医・研究者、厚生省の担当者、企業・団体の皆さんに深く感謝の意を表します。)

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

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

#### I. 論文発表

##### 1) 原著

- Ichinose A, Osaki T, Souri M. Autoimmune Coagulation Factor X Deficiency as a Rare Acquired Hemorrhagic Disorder: A Literature Review. *Thromb Haemost.* 2021 in press.
- Ichinose A, Osaki T, Souri M. Pathological coagulation parameters in as many as 54 patients with autoimmune acquired factor XIII deficiency due to

anti-factor XIII autoantibodies. *Haemophilia.* 2021 in press.

- Ogawa Y, Yanagisawa K, Naito C, Uchiyama 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 Apr;111(4):544-549.
- 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 Apr;111(4):550-558.
- 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.* 2020.05;61(5):445-450.

#### 2) 総説・著書

- 一瀬 白帝. 厚生労働省「後天性出血症診療の『均てん化』(略称)」研究班. 【指定難病に見る出血・凝固の異常-病態研究と診療】自己免疫性後天性凝固因子欠乏症(指定難病288)(解説/特集). *Thrombosis Medicine.* 2021.03;11(1):27-38.

#### II. 学会発表

##### 1) 特別講演・一般演題等

- 長谷川 広大, 白蓋 万葉子, 渡邊 弘樹, 仲田 真弓, 渡邊 眞一郎, 尾崎 司, 惣宇利 正善, 一瀬 白帝, 中島 秀明, 藤巻 克通. 自己免疫性後天性凝固 FXIII/13 因子欠乏症の一例(抄録) 第33回 藤沢市内科医学会;2021.2
- 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. 第28回 山形分子生物学セミナー プログラム・要旨集;2020.11
- 惣宇利 正善, 尾崎 司, 一瀬 白帝. タンパク質架橋化反応から展開する医療と創薬へ向けた基礎研究 細胞内凝固第 XIII 因子(血漿ト

ランスグルタミンナーゼ)の役割(会議録). 日本生化学会大会プログラム・講演要旨集 93回;2020.09 :2S02a-03

4. ○ 金田 裕人, 福野 賢二, 堀之上 亜紀子, 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. 厚労科研「均てん化(略称)」研究班. 線溶亢進型 DIC を合併した自己免疫性後天性凝固第V因子欠乏症(会議録/症例報告). 日本検査血液学会雑誌. 2020.06;21:S226
5. ○ 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(会議録). 日本血栓止血学会誌. 2020.05;31(2):256
6. ○ 金田 裕人, 福野 賢二, 堀之上 亜紀子, 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(会議録). 日本血栓止血学会誌. 2020.05;31(2):255
7. ○ 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(会議録). 日本血栓止血学会誌. 2020.05;31(2):253
8. ○ 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(会議録). 日本血栓止血学会誌. 2020.05;31(2):253
9. ○ 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. 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因子欠乏症例(会議録). 日本血栓止血学会誌. 2020.05;31(2):252

## 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