

血友病HIV感染者における二重特異性抗体に対応した新規凝固検査の開発研究（実施研究課題名）

研究分担者 木内 英
東京医科大学・臨床検査医学分野・主任教授

研究要旨 血友病 A 治療薬である二重特異性抗体（エミシズマブ）では従来の凝固検査が不正確となるが、代替検査がないため出血時や手術中のモニタリングができず、癌治療の障害となっている。本研究ではエミシズマブに対応した新規検査系を基礎検討・臨床検討の2段階で開発し、高齢化が進む血友病患者における癌治療円滑化に寄与する。

A. 研究目的

血友病A治療は従来第Ⅷ因子製剤の補充が原則だったが、2018年に登場した二重特異性抗体（エミシズマブ）は飛躍的に利便性が向上し、輸注困難な小児や高齢者を中心に使用が急増している。しかし、エミシズマブ投与下ではAPTTが極端に短縮し、凝固モニタリングができない。本研究の目的は、エミシズマブを投与している患者における、適切かつ汎用可能な凝固モニタリング方法の確立し、高齢化が進む血友病HIV合併患者の癌治療に貢献することである。

B. 研究方法

1) 基礎的検討：標準血漿およびⅧ因子欠乏血漿に段階希釈した第Ⅷ因子、エミシズマブをspikeして、凝固一段法、凝固波形解析、合成基質法、トロンビン生成試験、ROTEMを行う。トロンビン生成試験（TGA）を参照値として第Ⅷ因子活性とエミシズマブ濃度の関係を算出し、この関係性に最も近似しかつ再現性に優れた修正合成基質法の試薬条件を決定し、検査方法を確立する。

2) 臨床的検討：基礎的に決定した合成基質法における臨床的な再現性とばらつきを調べるために、血友病患者における第Ⅷ因子活性とエミシズマブ血中濃度の関係を評価する。トロンビン生成量および合成基質生成量を基準に、個々の患者におけるⅧ因子活性とエミシズマブ濃度の関係を割り出し、基礎データとの乖離、臨床的ばらつきを評価する。

（倫理面への配慮）

臨床的検討においては、一部のエミシズマブ新規導入患者において薬物動態試験を行うため、倫理委員会審査を経たのち、インフォームドコンセントを適切に取得する。

C. 研究結果

現在、基礎的検討をほぼ終了し、凝固一段法や凝固波形検査ではいかなる試薬条件でもエミシズマブ特性を反映しないことが示された。一方、合成基質法を数学的に補正することでTGA結果とほぼ合致することが判明し、エミシズマブ350nM（ヒト投与中の安定的血中濃度）における第Ⅷ因子活性はおよそ14%と推定された。しかしエミシズマブ濃度2000nM以上では合成基質法とTGAで乖離が生じ、反応凝固因子量や反応時間・検体希釈を変えても乖離が解消しないことが判明した。また、エミシズマブ存在下で第Ⅷ因子を追加投与すると、ほぼ相加的に効果が

得られることが確認された。

D. 考察

エミシズマブ存在下での凝固モニタリング方法として唯一エビデンスが存在するTGAは、使用できる施設が極めて限定されているうえ、臨床検査としては非常に不安定である。本研究で安定性に優れ保険適応もある合成基質法によって、エミシズマブがTGAとほぼ同等に評価できることが確認された意義は大きい。一方、エミシズマブとⅧ因子を併用した場合の凝固パラメータや、高濃度エミシズマブにおける凝固パラメータが合成基質法とTGAで乖離する場合があります。これらの課題の解決が必要である。さらに、基礎的に確立された合成基質法が、臨床検体においてどの程度ばらつきを持つのか評価していくことで、臨床検査として汎用可能なものとなる。血友病患者の高齢化が進行し、利便性の高いエミシズマブの使用が広がる一方で、発がんにおける手術を安全・円滑に行えることから、発がん治療に貢献すると思われる。

E. 結論

基礎的検討では合成基質法を数学的に補正することで、エミシズマブを適切に評価することが可能と判明した。今後は臨床的検討を通して臨床検査としての標準値・適応範囲を決定し、高齢化が進む血友病患者の癌治療の円滑化に貢献する。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Chikasawa Y, **Kinai E**. Safety and blood loss in spinal surgery for haemophiliacs: Case series of Japanese haemophiliacs. *Haemophilia*. 2021 Jan;27(1):e143-e146. doi: 10.1111/hae.14103. Epub 2020 Jul 22.

2. Shinozawa K, **Kinai E**, Fukutake K. Genetic analysis of carrier status in female members of Japanese hemophilia families. *J Thromb Haemost*. 2021 doi: 10.1111/jth.15301. Online ahead of print. PMID: 33760382

3. Tamura A, Shinozawa K, et al. Early elevation of factor IX level in Japanese brothers with Haemophilia B Leyden who are carrying c.

-35 g > a mutations in the promoter region of F9. Haemophilia.2021 Jan 11. doi: 10.1111/hae.14248. Online ahead of print. PMID: 33427373 No abstract available.

4. Shinozawa K, Yada K, Kojima T, Nogami K, Taki M, Fukutake K, Yoshioka A, Shirahata A, Shima M; study group on JAPAN HEMOPHILIA INHIBITOR STUDY (J-HIS). Spectrum of F8 Genotype and Genetic Impact on Inhibitor Development in Patients with Hemophilia A from Multicenter Cohort Studies (J-HIS) in Japan. Thromb Haemost. 2021 May;121(5):603-615. doi: 10.1055/s-0040-1721385. Epub 2020 Nov 30.

PMID: 33254277

2. 学会発表

1. 山口知子、木内英ほか：エミシズマブ定期投与患者に対し半減期延長凝固第Ⅷ因子血液製剤で止血管理を行った際の合成基質法による凝固能評価についての臨床経験：日本小児血液学会 2020年5月

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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