

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

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を行い、エミシズマブ血中濃度とそれぞれの検査法による推定Ⅷ因子活性の関係を調べた。特に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測定・試薬条件や補正方法を検討した。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

基礎的検討の結果、合成基質法を数学的に補正することでTGA結果と合致することが判明した。特にエミシズマブ340nM（治療域血中濃度）では合成気質法の報告値を1/2にするとTGA推定値と近似するため、容易にエミシズマブ投与時の凝固能を推定できることが示された。しかしエミシズマブが極端に高濃度となった場合は、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一致する条件を見出せなかった。また、エミシズマブ

存在下で第Ⅷ因子を追加投与すると、低用量Ⅷ因子では相加効果が保たれるが、高用量を追加すると相加効果が減弱し、さらにⅧ因子活性100%を追加した場合、逆に凝固能がⅧ因子単独より減弱することが示された。

#### 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、臨床検査として著しく再現性に欠ける。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, Amano K, Endo K, **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. Yotsumoto M, Hachiya A, Ichiki A, Amano K, **Kinai E**. Second-generation integrase strand inhibitors can be effective against elvitegravir-derived multiple integrase gene substitutions. *AIDS* 2020;34:2155-2157.
  3. Shinozawa K, Amano K, Hagiwara T, Bingo M, Chikasawa Y, Inaba H, **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
  4. **Kinai E**, Nguyen HDT, Do HQ, Matsumoto S, Nagai M, Tanuma J, Nguyen KV, Pham TN, Oka S. Influence of maternal use of tenofovir disoproxil fumarate or zidovudine in Vietnamese pregnant women with HIV on infant growth, renal function, and bone health. *PLoS One.* 2021 Apr 29;16(4):e0250828. doi: 10.1371/journal.pone.0250828. eCollection 2021.1
  5. Tamura A, Shinozawa K, Uemura S, Nakamura S, Fujiwara T, Tahara T, Yamamoto N, Saito A, Kozaki A, Kishimoto K, Ishida T, Hasegawa D, Muramatsu T, Amano K, Fukutake K, Kosaka Y. 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.
  6. 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
  7. Imai K, Kimura S, Kiryu Y, Watanabe A, **Kinai E**, Oka S, Kikuchi Y, Kimura S, Ogata M, Takano M, Minamimoto R, Hotta M, Yokoyama K, Noguchi T, Komatsu K. Neurocognitive dysfunction and brain FDG-PET/CT findings in HIV-infected hemophilia patients and HIV-infected non-hemophilia patients. *PLoS One.* 2020 Mar 19;15(3):e0230292.
  8. Inaba H, Nishikawa S, Shinozawa K, Shinohara S, Nakazawa F, Amano K, **Kinai E**. Coagulation assay discrepancies in Japanese patients with non-severe hemophilia A. *Int J Hematol.* 2022 Feb; 115(2): 173-187. doi: 10.1007/s12185-021-03256-x.
  9. Ishikawa K, Irimada T, Anzo M, **Kinai E**. Detection of varicella-zoster virus DNA in cerebrospinal fluid in an infant with herpes zoster. *Pediatr Int.* 2022 Jan;64(1):e14852. doi: 10.1111/ped.14852.
  10. **Kinai E**, Ono M, Oh A, Ota M, Miyaguchi Y, Ueda H. Analysis of nationwide hemophilia care: A cohort study using two Japanese healthcare claims databases. *Health Sci Rep.* 2022 Jan 27;5(1):e498. doi: 10.1002/hsr2.498
2. 学会発表
- (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