

### III. 分担研究報告書

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

自己免疫性出血症診療の「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 自己免疫性後天性フォン・ヴィレブランド病に関する研究

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

疾患概念を啓蒙するとともに多岐にわたる鑑別疾患・鑑別法について啓蒙を行なった。レジストリ・レポジトリのシステムは完了して、1症例のレポジトリーを行なった。改良型インヒビター検出法試用を目指す。

#### A. 研究目的

システマティックレビューを作成して疾患概念を啓蒙するとともに多岐にわたる鑑別疾患・鑑別法について啓蒙する。

また、レジストリ・レポジトリを進捗させ改良型インヒビター検出法の試用を目指す。

#### B. 研究方法

自己免疫性後天性フォン・ヴィレブランド病の疑われる症例のレジストリー・レポジトリー、ならびに診療支援、実験的精密検査を行った。

（倫理面への配慮）

鹿児島大学臨床研究倫理委員会の承認を得て実施。

#### C. 研究結果

レジストリ・レポジトリのシステムを構築した。1症例のレジストリー・レポジトリー、ならびに診療支援、実験的精密検査を行った。2例の症例相談を受けたが、いずれも甲状腺機能低下症による後天性非自己免疫性フォン・ヴィレブランド病であり、レジストリに至らなかった。文献収集したが（国内外を含め10年間に50症例以下と思われる）システマティックレビューの作成までには至らなかった。学会発表にて疾患概念、鑑別疾患・鑑別法について啓蒙した。インヒビター検出法の改良は未達成であった。

#### D. 考察

疾患概念の普及ならびに診断法の未発達により国内外において本疾患の多数の症例が見逃されている可能性がある。また、フォン・ヴィレブランド因子の低下を示す多数の類似病態との鑑

のための迅速な検査法の開発が必要と思われる。

#### E. 結論

本疾患の迅速な確定診断のための抗体の検出法（イムノクロマト法、ELISA法）の開発が必要である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

日本血栓止血学会・日本検査血液学会ジョイントシンポジウム「新しい血栓止血関連検査と治療法への応用」：橋口照人

「自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の診断と治療」

#### 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）  
分担研究報告書

自己免疫性出血症診療の「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 定期全国調査と自己免疫性第 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 国立大学法人山形大学・大学院医学系研究科・准教授

**研究要旨**

- ・ 例年通り全国アンケート調査を実施し、29 件の症例情報を得た。
- ・ 9 例の自己免疫性第 XIII/13 因子欠乏症 (AiF13D) 疑い症例を精査し、9 例ともに抗 FXIII-A 自己抗体陽性を認めた。
- ・ 抗 FXIII-A 抗体を認めた 1 例を含めて 3 例の自己免疫性第 V/5 因子欠乏症疑い症例を解析した。
- ・ 1 例の自己免疫性第 X/10 因子欠乏症疑い症例に抗第 X 因子自己抗体を検出した。

**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 B サブユニット (F13-B) との異種四量体の形成および活性化を阻害する 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。

本年度は、AiF13D を疑われた 9 例について精査し、AiF5D が疑われた症例 3 例および AiF10D 疑い症例 1 例について、抗 F5/F10 抗体の検出を検討した。AiF10D については過去に同定した症例を含めて抗 F10 自己抗体の性状を解析した。

**B. 研究方法**

定期全国調査は 2 段階に分け、先ず往復はがきを郵送して新症例有り と回答した主治医のみに次にメールで症例登録を依頼した。

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。F13 活性およびその 5 段階混合試験について、 $\alpha_2$ -プラスミンインヒビター ( $\alpha_2$ -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、免疫クロマト法および組換え体 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 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**

【全国調査】 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2004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、533件の回答を得た(回答率26.7%)。そのうち、当該疾患の診察経験ありは36件、診察経験なしが497件であった。これをもとに二次調査を行った36件中、現時点で29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。

【AiF13D 疑い症例の精査】 9例のAiF13D 疑い症例のうち、4例(症例2、6、7、9)はDot blot法、免疫クロマト法共に抗F13-A抗体陽性を認め、A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>抗原の著しい低値と交差混合試験での強い阻害を示したことから、Aa型のAiF13Dと判断された。また、症例4はDot blot法では陰性であったものの免疫クロマト法で抗F13-A抗体陽性であり、さらにA<sub>2</sub>B<sub>2</sub>抗原が著しく低値であることと交差混合試験で強い阻害を示したことからAa型と判定した。症例1はDot blot法、免疫クロマト法ともに抗F13-A抗体陽性で、交差混合試験で阻害を認めなかったもののA<sub>2</sub>B<sub>2</sub>抗原の著しい低値とフィブリン $\gamma$ 鎖二量体化の著しい遅延を示したことからAa型と判断した。症例8もDot blot法、免疫クロマト法共に抗F13-A抗体陽性で、交差混合試験で弱い阻害を認めF13-A抗原の著減とともにA<sub>2</sub>B<sub>2</sub>抗原の著しい低値を示した。

Dot blot法陰性・免疫クロマト法で抗F13-A抗体陽性を示した症例5は、比活性は明らかに低値であったものの交差混合試験では阻害を認めず、A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>抗原はおおよそ半減していた。抗F13-A抗体をELISAで確認したところ、結合型の抗体が検出された一方で遊離型はほとんど検出されなかった。

AiF5Dも疑われていた症例3は、Dot blot法陰性・免疫クロマト法共に陰性であったものの交差混合試験での阻害とA<sub>2</sub>B<sub>2</sub>抗原の低値を認め、ELISA法で抗F13-A抗体が確認された。

【AiF5D 疑い症例】 2例のAiF5D 疑い症例について、精製F5を用いて抗F5交代のELISAを行ったところ、陽性判定は困難であった。これまでに陽性判定されたAiF5D 14症例と健常者14例によるROC解析では、Youden indexをcut off値とした場合に今回の2例はいずれも陽性と判定された。

AiF13Dの症例3では抗F5抗体が強く検出され、ベセスダ単位100を超える強いF5インヒビターが確認された。

【AiF10D 疑い症例】 AiF10D 疑い症例1例について、精製F10を用いたELISAで抗F10抗体が検出された。分泌型ルシフェラーゼ融合組換えF10(FX-MetLuc)を添加した血漿にProtein G-SepharoseでIgGを回収した場合にFX-MetLucも共沈降されたことから、抗F10抗体の存在が確定した。今回の症例の抗F10抗体にはIgG1、IgG3に加えてIgMも存在しており、IgMとIgG3にはCa<sup>2+</sup>依存性も確認された。以前に同定した2症例を含めて、3症例ともにGla残基を認識する抗体の存在も確認された一方で、交差混合試験ではF10活性の阻害を認めなかったこと、3症例ともに血漿中のF10抗原が著減していたことから、クリアランス亢進型の非中和抗体であることが示唆された。

#### D. 考察

【AiF13D について】 免疫クロマト法で陽性を示した8例のうち2例がDot blot法では陰性であったことから、免疫クロマト法の感度が良好であり、かつDot blot法と比べて抗F13-A抗体の検出により適していることが示された。

免疫クロマト法では血漿中に存在するF13-Aと結合した抗体(結合型抗体)を検出するのに対して、Dot blot法ではF13と結合していない遊離型抗体を検出する。これまで分担者が経過を追ったAiF13D症例において、遊離型抗体は比較的早期に消失するのに対して、結合型抗体は長期にわたって残存する傾向にある。また、F13活性の阻害が比較的早期に消失することから、遊離型抗体のほとんどが中和抗体であるものとみなされる。したがって、発症から時期が経つにつれて、Dot blot法での抗体および交差混合試験での阻害の検出が困難になるため、診断においてはなるべく発症直後の血漿を用いることが望まれる。また、症例3のように免疫クロマト法やDot blot法で陰性であっても交差混合試験で阻害を示し、ELISAで陽性が確認された例もこれまで数例経験しており、見落としを防ぐためには現状の精査は当面必要なようである。

本年度はまた、AiF13DとAiF5Dが併発した症例が認められた。F5・F13に対する抗体の産生機序に興味を持たれるとともに、注意深く検査を行う必要性をあらためて気付かされる。

【AiF5D について】

本年度解析した3症例のうち2症例は陽性判定が困難であった。ELISAでの抗FV抗体の検出では、精製F5を補足として用いているため主に遊離型抗体が検出される。結合型抗体を含めた検出のため、測定法に工夫が必要とされる。また、健常者における抗F5抗体の存在やcut off値の設定

などの検討が望まれる。

#### [AiF10D について]

本年度同定した1例を含め、これまでに同定したAiF10D 3症例とも、交差混合試験における凝固法での阻害が認められず、血漿中のF10抗原量が著しい低値を示していたことから、これらの症例の抗F10抗体がクリアランスを促進する非中和抗体であることが強く示唆された。一方で、リン脂質膜への結合に関わるGla残基を認識し、かつその反応性にCa<sup>2+</sup>依存性が認められることから、血小板を含めた実際の止血栓形成への影響も否定できない。

#### E. 結論

本年度、AiF13D 8例、AiF5D 2例、AiF5DとAiF13Dの併発例1例、AiF10D 1例を同定した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### I. 論文発表

###### 1) 原著

Shimoyama S, Kanisawa Y, Ono K, **Souri M**, Ichinose A. First and fatal case of autoimmune acquired Factor XIII/13 deficiency after COVID-19/SARS-CoV-2 vaccination. *Am J Hematol.* 2022 97(2):243-245. PMID: 34856014

Osaki T, **Souri M**, Ichinose A. Important roles of the human leukocyte antigen class I and II molecules and their associated genes in the autoimmune coagulation factor XIII deficiency via whole-exome sequencing analysis. *PLoS One.* 2021 Sep 10;16(9):e0257322. doi: 10.1371/journal.pone.0257322. eCollection 2021. PMID: 34506591

Ichinose A, Osaki T, **Souri M**. Autoimmune Coagulation Factor X Deficiency as a Rare Acquired Hemorrhagic Disorder: A Literature Review. *Thromb Haemost.* 2021 Apr 30. doi: 10.1055/a-1496-8527. Online ahead of print. PMID: 33930902

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 May;27(3):454-462. doi: 10.1111/hae.14298. Epub 2021 Apr 12. PMID: 33847063

###### 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

1. 尾崎司、横山智哉子、高岡勇輝、杉山大輔、曲泰男、**惣宇利正善**、一瀬白帝. ラット抗ヒトモノクローン抗体を用いたB型抗第XIII/13因子自己抗体検出イムノクロマト法の改良. 第43回日本血栓止血学会学術集会、オンライン、2021年5月29日
2. 尾崎司、**惣宇利正善**、一瀬白帝. 全エクソン解析と血漿プロテオーム解析から探る自己免疫性凝固因子欠乏症の危険因子. 第43回日本血栓止血学会学術集会、オンライン、2021年5月29日
3. **惣宇利正善**、尾崎司、一瀬白帝. 自己免疫性第XIII因子欠乏症に関するupdate. 第43回日本血栓止血学会学術集会、オンライン、2021年5月29日
4. 松本彬、小川孔幸、尾崎司、**惣宇利正善**、武井寿史、石川哲也、小林宣彦、宮澤悠里、石崎卓馬、井上まどか、一瀬白帝、半田寛. 早期胃癌切除により凝固能的完全寛解を達成した後天性血友病Aの一例. 第43回日本血栓止血学会学術集会、オンライン、2021年5月29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（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

自己免疫性出血症診療の「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 凝固波形解析（CWA）を用いたトロンビン時間法による、  
トロンビンバースト解析に関する研究

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**

研究要旨：トロンビン時間(TT)がトロンビンバースト現象を反映するか否か、凝固波形解析（CWA）を用いて評価した。極少量のトロンビンは凝固第Ⅷ因子欠乏血漿を凝固させないが、正常血漿を凝固させ得る。また、正常血漿に比べて多くの凝固因子欠乏血漿では、少量のトロンビン添加によるCWAの異常が認められた。以上、トロンビンバースト現象には多くの凝固因子が関与し、ごく少量のトロンビンによるTTで評価できた。また、トロンビンバースト現象は血小板により増強され、血小板減少症血漿では低下した。この成果をもとに、FXIII測定系を構築する予定である。

**A. 研究目的**

トロンビン時間(TT)がトロンビンバースト現象を反映するか否か、凝固波形解析（CWA）を用いて評価した。また、トロンビンバースト現象に、血小板が関与するか否かも検討した。これらの成績をもとに、凝固第13因子活性法の開発を目指す予定である。

**B. 研究方法**

0.01～5.0 IU までのトロンビンを用いて、TTを測定し、ACL-TOP を用いて CWA を解析した（CWA-TT）。対象検体は、凝固第Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅷ、Ⅸ、Ⅹ、Ⅺ、Ⅻ欠乏血漿、正常血漿ならびに患者血漿を用いた。健常人ならびに特発性血小板減少性紫斑病（ITP）ならびに担癌患者から採血し、多血小板血漿（PRP）ならびに乏血小板血漿（PPP）を作成した。

（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) トロンビン濃度が 0.01～0.1 IU/ml では、凝固第Ⅷ欠乏血漿では凝固しなかったが、正常血漿では peak 時間は延長するが凝固した。トロンビン濃度が 0.05 IU/ml 以上から増加するに従い、peak time ならびに peak height は増加した。
- 2) 凝固第Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅷ、Ⅸ、ⅩならびにⅪ欠乏血漿では、CWA-TT の peak time あるいは peak height に異常を認めたが、凝固第ⅫならびにⅬ

欠乏血漿では異常を認めなかった。

2) 健常人 PRP と PPP の比較では、PRP では peak time が短縮し、peak height は増加した。また、PRP では 2 双性の peak を認めた。ITP 患者の PRP では 2 双性 peak が認められず、担癌患者では著明な 2 双性 peak の増加がみられた。

**D. 考察**

凝固第Ⅷ欠乏血漿ではトロンビンバーストが起こりにくいので、極小濃度のトロンビンでは凝固は起こらない。一方正常血漿ではトロンビンバーストが起こるので、極小濃度のトロンビンではフィブリンクロットを形成できないが、トロンビンバースト現象により、時間はかかるがトロンビン生成量を増加させ、フィブリンクロット形成に至った。トロンビンバースト現象が起こりにくいのは、凝固第Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅷ、Ⅸ、ⅩならびにⅪ欠乏血漿であり、凝固第Ⅱ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅷ、Ⅸ、ⅩならびにⅪ因子がトロンビンバーストに関与すると考えられる。

PPP と PRP の比較から、血小板によりトロンビンバースト現象が増強することが確認された。また、2 番目の peak が主に血小板により増強される凝固反応と考えられた。ITP 患者ではトロンビンバーストがあまり起こらず、担癌患者では著明なトロンビンバーストの peak が認められた。CWA-TT は ITP 患者の凝固異常や担癌患者の過凝固状態の評価にも有用であることが示唆された。

また、これらのトロンビンバースト現象の成果

を用い、FXIII 活性の測定にも応用できることがわかった。

#### E. 結論

止血機構にトロンビンバースト現象は重要であり、CWA-TTによりトロンビンバースト現象を観察することは可能であった。また、トロンビンバースト現象は、血小板により増強され、凝固反応に血小板が重要な働きをすることが確認された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### I. 論文発表

###### 原著

- 1) Wada H, Yamamoto A, Tomida M, Ichikawa Y, Ezaki M, Masuda J, Yoshida M, Fukui S, Moritani I, Inoue H, Shiraki K, Suzuki K, Imai H, Shimaoka M, Shimpo H.: J Clin Med. Proposal of Quick Diagnostic Criteria for Disseminated Intravascular Coagulation. 2022; 11: 1028.
- 2) Wada H, Ichikawa Y, Ezaki M, Yamamoto A, Tomida M, Yoshida M, Fukui S, Moritani I, Shiraki K, Shimaoka M, Iba T, Suzuki-Inoue K, Shimpo H.: Elevated Plasma Soluble C-Type Lectin-like Receptor 2 Is Associated with the Worsening of Coronavirus Disease 2019. J Clin Med. 2022; 11: 985.
- 3) Hiramatsu D, Ogihara Y, Matsumoto T, Sato K, Takasaki A, Kurita T, Okamoto R, Wada H, Dohi K.: Endovascular Treatment for Lower-extremity Arterial Thrombosis in a Patient with Congenital Afibrinogenemia and a History of Bleeding Complications. Intern Med. 2022; 61: 361-364
- 4) Ikeda N, Wada H, Ichikawa Y, Ezaki M, Tanaka M, Hiromori S, Shiraki K, Moritani I, Yamamoto A, Shimpo H, Shimaoka M.: D-dimer kit with a High FDP/D-Dimer Ratio is Useful for Diagnosing Thrombotic Diseases. Clin Appl Thromb Hemost. 2022 Jan-Dec; 28: 10760296211070584.
- 5) Wada H, Ichikawa Y, Ezaki M, Shiraki K, Moritani I, Yamashita Y, Matsumoto T, Masuya M, Tawara I, Shimpo H, Shimaoka M.: Clot Waveform Analysis Demonstrates Low Blood Coagulation Ability in Patients with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. J Clin Med. 2021 Dec 20;10: 5987
- 6) Kobayashi M, Wada H, Fukui S, Mizutani H, Ichikawa Y, Shiraki K, Moritani I, Inoue H, Shimaoka M, Shimpo H.: A Clot Waveform Analysis Showing a Hypercoagulable State in Patients with Malignant Neoplasms. J Clin Med. 2021; 10: 5352.
- 7) Seki Y, Honda G, Kawano N, Uchiyama T, Kawasugi K, Madoiwa S, Takezako N, Ikezoe T, Wada H: Clinical features of DIC according to the French-American-British (FAB) classification in patients with acute leukemia and thrombomodulin alfa treatment – A cohort study using a post-marketing surveillance database – Clin Appl Thromb Hemost. 2021 Jan-Dec; 27:10760296211054094.
- 8) Wada H, Ichikawa Y, Ezaki E, Matsumoto T, Yamashita Y, Shiraki K, Shimaoka M, Shimpo H: The reevaluation of thrombin time using a clot waveform analysis. J. Clin. Med. 2021, 10, 4840.
- 9) Yamamoto A, Wada H, Ichikawa Y, Mizuno H, Tomida M, Masuda J, Makino K, Kodama S, Yoshida M, Fukui S, Moritani I, Inoue H, Shiraki K, Shimpo H.: Evaluation of Biomarkers of Severity in Patients with COVID-19 Infection. J Clin Med. 2021; 10: 3775.
- 10) Hayashi K, Wada H, Shiraki K, Makino K.: Immune Thrombocytopenia and Cerebral Hemorrhaging Associated with COVID-19. Intern Med. 2021; 60: 3513.
- 11) Nishigaki A, Ichikawa Y, Ezaki E, Yamamoto A, Suzuki K, Tachibana K, Kamon T, Horie S, Masuda J, Makino K, Shiraki K, Shimpo H, Shimaoka M, Suzuki-Inoue K, Wada H: Soluble C-type lectin-like receptor 2 elevation in patients with acute cerebral infarction. J Clin Med. 2021; 10: 3408.
- 12) Madoiwa S, Honda G, Kawano N, Uchiyama T, Kawasugi K, Takezako N, Suzuki K, Seki Y, Ikezoe T, Okamoto K, Wada H.: An evaluation of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis criteria for disseminated intravascular coagulation as a predictor of prognosis in patients with infection. Int J Lab Hematol. 2021; 43: 1566-74.
- 13) Yamamoto A, Wada H, Ichikawa Y, Tanaka M, Tashiro H, Shiraki K, Shimpo H, Yamashita Y, Matsumoto T, Shimaoka M, Iba T, Suzuki-Inoue K.: Soluble C-Type Lectin-Like Receptor 2 Is a Biomarker for Disseminated Intravascular Coagulation. J Clin Med. 2021 Jun 28;10: 2860.
- 14) Habe K, Wada H, Mizutani K, Matsushima Y, Kondo M, Yamanaka K.: The clinical significance of a shortened activated partial thromboplastin time in patients with connective tissue disease. Clin Rheumatol. 2021 Jun 16.
- 15) Hasegawa M, Tone S, Wada H, Naito Y, Matsumoto T, Yamashita Y, Shimaoka M, Sudo A: The evaluation of hemostatic abnormalities using a CWA-small amount tissue factor induced FIX activation assay in major orthopedic surgery patients. Clin Appl Thromb Hemost. 2021 Jan-Dec; 27: 1076029620976913.
- 16) Maeda K, Wada H, Shinkai T, Tanemura A, Matsumoto T, Mizuno S.: Evaluation of hemostatic abnormalities in patients who underwent major hepatobiliary pancreatic surgery using activated partial thromboplastin

- time-clot waveform analysis. *Thromb Res.* 2021; 201:154-160.
- 17) Kawasaki 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.
- 18) 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
- 19) 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
- 総説**
- 20) Iba T, Umemura Y, Wada H, Levy H.: The Roles of Coagulation Disorder and Microthrombosis in Sepsis: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Arch Med Res.* 2021; 52: 788-797.
- 21) Wada H, Ichinose A, Katsuya Shiraki K, Shimpo H, Shimaoka M: Coagulation factor V inhibitors, a review of the case report literature. *Thrombosis Update* 2021; 4 100058
- 22) 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: 330-6
- 23) 和田英夫、宮村優里：二次性 TMA、*Thrombosis Medicine*、2021; 11: 56-60
- 24) 和田英夫、池田望：自己免疫性凝固第 V/5 因子欠乏症、*Thrombosis Medicine*、2021; 11: 292-295

## II. 学会発表

### 1) シンポジウム等

1. 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
2. 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

3. 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、DICの予後を著しく悪くする。—リコモジュリン市販後調査成績の解析—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

## 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（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

自己免疫性出血症診療の「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 後天性血友病診断時の注意点

研究分担者 朝倉英策 金沢大学附属病院高密度無菌治療部准教授

研究要旨

後天性血友病の正しい診断のためには、第VIII因子は、一段法のみならず合成基質法による測定が不可欠と考えられた。特に、出血症状が軽度な場合は後天性血友病のみでなく、ループスアンチコアグラントも十分に鑑別すべきである。

**A. 研究目的**

後天性血友病（AHA）は、第VIII因子（FVIII：以下も凝固因子は同様に略）に対する自己抗体が出現することでFVIII活性が低下して、重症の出血傾向をきたす。活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長でスクリーニングされ、確定診断には、FVIII低下とFVIIIに対するインヒビター（ベセスダ法）を検出して診断される。

一方、ループスアンチコアグラント（LA）は、抗リン脂質抗体症候群（APS）の診断に用いられる抗リン脂質抗体の一つである。AHAと同様に、しばしばAPTTの延長が見られる。LA陽性のAPSは血栓傾向のため、本来はLA陽性とAHAは簡単に鑑別しうるはずである。しかし、力価の高いLAでは、FVIIIを含む複数の凝固因子活性が低下したり、FVIIIなどに対するインヒビター活性が偽陽性となることがこれまでも報告されている。

本研究班の活躍により、AHAの疾患概念が臨床医に浸透してきている。そのため、臨床各科からの、AHAではないかとのコンサルトが増えている。一方で、臨床医が陥りやすいピットフォールも見えてきた。この度、AHAとして診断され長年治療されてきた症例において、FVIII凝固因子活性測定に「凝固一段法」のみならず「合成基質法」を併用することにより、簡単に正しい診断に到達できた教訓的な症例を経験したので報告する。

**B. 研究方法**

本年度は、AHAが疑われて、6症例の紹介があった。その内の1例が極めて教訓的であったため、詳細にデータを検討した。

症例：50歳代、女性

主訴：20XX年にAHAの経過観察中のコロナウイルスワクチン接種相談のため来院。

現病歴：

- ・20XX-16年 智歯抜歯後の止血困難のため、A病院でAHAと診断され副腎皮質ステロイド（PSL）1mg/kgより開始された。

- ・20XX-11年 PSL 5mg/日まで減量されてAPTTは50～60秒で推移していた。

- ・20XX-10年 M国に赴任し、AHAの診断の下で、リツキシマブ4回の投与が行われた。ステロイド治療も継続された。M国に居住期間中、尿路結石による血尿と、予防接種数回のうち1回のみ皮下出血が見られた。ベセスダ法によるFVIIIインヒビターは陽性であった。

- ・20XX-2年 日本へ帰国

- ・20XX年 COVID-19に対するワクチン接種に関してAHAが心配となり近医B病院を受診し、当院を紹介された。

**C. 研究結果**

A病院、M国病院、B病院、当院での検査結果について以下に示す。いずれの病院の検査でもAPTTの延長がみられた。凝固因子活性はA病院では、内因系凝固因子であるFVIII、IX、XI、XIIがいずれも著減し、FVIII&IXインヒビター活性ともに高力価であった。A病院にて、AHAの診断のもとステロイド治療が開始された。

M国病院およびB病院でも、FVIII（凝固一段法）は低下が持続しており、FVIIIインヒビター（ベ



セスダ法) 陽性も持続していた。

凝固因子活性	20XX-16年	20XX-10年	20XX年	20XX年
	A病院	M国病院	B病院	金沢大
II				76
V	66			76
VII	48			84
VIII(凝固一段法)	3	18	13	9
IX(凝固一段法)	3			11
X	49			66
XI	<3			10
XII	7			9
VIII INH	19	1.3	3	3
IX INH	30			3
VIII(合成基質法)				77
IX(合成基質法)				116.7

当院での結果は、FVIII、IX、XI、XII (いずれも凝固一段法) とともに低値であり、FVIII&IX インヒビター活性 (ベセスダ法) とともに陽性であった。一方、本症例は本院で初めて「合成基質法」による FVIII、IX 活性が測定された。その結果、合成基質法による両因子活性はいずれも正常値となり、凝固一段法の結果と大きく乖離していた。

FVIII希釈測定		凝固検査所見		基準
FVIII(×10)	9 %	第VIII因子 インヒビター (ベセスダ法)	3 BU/mL	検出 せず
FVIII(×20)	15 %			
FVIII(×30)	20 %	第VIII因子 自己抗体 IgG (ELISA法)	<1 AU/μL	≤12
FVIII(×40)	25 %			
FVIII(×80)	35 %			

さらに、FVIII 活性 (凝固一段法) の多段階希釈測定を行うと希釈率が高くなるにつれて FVIII 活性が高くなることが示された。ELISA 法による FVIII インヒビター-IgG 力価測定を行うと陰性となった。

APTT クロスミキシングテストは、A 病院、M 国病院、本院、いずれも上に凸のインヒビター陽性の判定となった。

本院では、合成基質法の FVIII&IX 活性が正常値であったこと、ELISA による FVIII インヒビター-IgG 力価陰性所見から AHA が否定された。さらに、APTT ミキシングテスト、FVIII 活性 (凝固一段法) による多段階希釈測定結果から LA 陽性症例であると診断した。つまり、本症例でこれまでなされていた AHA の診断は誤診であると結論づけた。

なお、本年度に相談を受けた AHA 疑いの 6 症例は、本例を含めて全て AHA ではなく LA 陽性症例であった。

#### D. 考察

本症例は、FVIII 活性低下、FVIII インヒビター活性陽性であっても、AHA とは限らないということが改めて示された教訓的な症例であった。LA

陽性の場合、凝固一段法の測定方法に影響を与えて、FVIII 活性の偽低値や凝固一段法を応用したインヒビター測定 (ベセスダ法) の偽陽性が起こりうることを念頭におき AHA と鑑別する必要がある。

本症例を通して、LA 陽性と AHA の鑑別に合成基質法による凝固因子活性測定が極めて有効であることが認識された。特に、AHA を疑っても出血症状が軽症である場合は、必ず合成基質法による凝固因子活性測定を併用し、真の凝固因子活性低下の有無を確認することによって簡便に誤診を防ぐことができると考えられた。

#### E. 結論

AHA の正しい診断のためには、FVIII は、一段法のみならず合成基質法による測定が不可欠と考えられた。特に、出血症状が軽度な場合は AHA のみでなく、LA も十分に鑑別すべきであると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### I. 論文発表

##### 1) 原著

- 1) Yamada S, Asakura H: Management of disseminated intravascular coagulation associated with aortic aneurysm and vascular malformations. Int J Hematol 113: 15-23, 2021.
- 2) Asakura H: Diversity of disseminated intravascular coagulation and selection of appropriate treatments. Int J Hematol 113:10-14, 2021.
- 3) Asakura H, Ogawa H: COVID-19 associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. Int J Hematol 113:45-57, 2021.
- 4) Suga Y, Kubo A, Katsura H, Staub Y, Tashiro K, Yamada Y, Morishita E, Asakura H: Detailed exploration of pathophysiology involving inflammatory status and bleeding symptoms between LPS- and TF-induced disseminated intravascular coagulation in rats. Int J Hematol 114: 172-178, 2021.
- 5) 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 DIC. Int J Infect Dis 102: 529-531, 2021.

- 6) Yamada S, Ogawa H, Asakura H: Etiology and management of bleeding during ECMO in a COVID-19 patient. *J Atheroscler Thromb* 28: 402-403, 2021.
  - 7) Ogawa H, Kakuchi Y, Asakura H: Possibility of PMX-DHP therapy as a principal strategy against cytokine storm in COVID-19 - Insights from reconstructed coagulation data. *J Clin Apher* 36: 785-786, 2021.
  - 8) Yamada S, Asakura H: Vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia (VITT) - update on diagnosis and management considering different resources: COMMENT from Yamada et al. *J Thromb Haemost* 20 : 540-541. 2022.
  - 9) Suga Y, Tashiro K, Staub Y, Komura S, Yamada S, Morishita E, Asakura H: Potential of continuous tPA infusion for MOF from lipopolysaccharide-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb Res* 206: 84-87. 2021.
  - 10) Yamada S, Arahata M, Morishita E, Asakura H: Blue Rubber Bleb Nevus Syndrome Complicated by Enhanced-Fibrinolytic-Type DIC: A Case Report. *Ann Vasc Dis* 14: 252-255, 2021.
  - 11) Suga Y, Akita F, Yamada S, Morishita E, Asakura H: Recombinant human EPO attenuates hepatic dysfunction by suppressing the hepatocellular Apoptosis in LPS-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Biomed Rep* 2022; 16(1): 5.
  - 12) Yamada S, Asakura H: Therapeutic strategies for disseminated intravascular coagulation associated with aortic aneurysm. *Int J Mol Sci*, in press.
- 2) 総説
- 1) 山田真也、朝倉英策: 大動脈瘤・血管奇形とDIC。日本検査血液学会雑誌 22 : 58-67, 2021.
  - 2) 朝倉英策: DICの新しい診断基準。日本医師会雑誌 150 巻・特別号(1) (生涯教育シリーズ100) : 88-94, 2021.
  - 3) 朝倉英策: 内科疾患の診断基準・病型分類・重症度(播種性血管内凝固)。内科 127: 927-930, 2021.
  - 4) 朝倉英策、小川晴彦: COVID-19 と血栓症。心血管薬物療法 8: 9-20, 2021.
  - 5) 朝倉英策: COVID-19 の血栓症と出血リスクの評価。SRL 宝函 42:37-40, 2021.
  - 6) 朝倉英策: エキスパートに学ぶ DIC の診断と治療～ガイドラインと“オレ流”は共存できる?～。Thrombosis Medicine 11 : 132-138, 2021.
  - 7) 朝倉英策: なぜ血栓ができるのか。2021 年 LiSA (別刷秋号) 28: 33-39, 2021.
  - 8) 山田真也、朝倉英策: 凝血学的検査(迷わないための基礎知識 II)。救急医学 45: 857-866, 2021.
  - 9) 山田真也、朝倉英策: 凝固異常症の血液検査所見(COVID-19 凝固異常症)。Thrombosis Medicine 11 : 189-199, 2021.
  - 10) 山田真也、朝倉英策: COVID-19 と凝血学的異常。J-IDEO 5: 702-711, 2021.
  - 11) 山田真也、朝倉英策: 大動脈瘤に合併した DIC の治療。Thrombosis Medicine 11: 301-310, 2021.
  - 12) 山田真也、朝倉英策: 抗血小板薬の種類、薬理作用と適応。日本医師会雑誌 150: 1947-1951, 2022.
  - 13) 山田真也、朝倉英策: 凝固線溶検査。日本医師会雑誌 151 巻・特別号(1)、印刷中。
  - 14) 山田真也、朝倉英策: 凝固線溶検査。日本医師会雑誌 (特別号: 血液疾患のすべて)、印刷中。
  - 15) 荒幡昌久、朝倉英策: AL アミロイドーシスと出血傾向。日本医師会雑誌 151 巻 (特別号: 血液疾患のすべて)、印刷中。
  - 16) 山田真也、朝倉英策: 異常出血時における血液検査の進め方。救急医学、印刷中。
  - 17) 荒幡昌久、朝倉英策: AL アミロイドーシスと出血。救急医学、印刷中。
  - 18) 山田真也、朝倉英策: 大動脈瘤・血管奇形に起因する DIC。救急医学、印刷中。
- 3) 著書
- 1) 朝倉英策: 播種性血管内凝固。「スタンダード検査血液学第4版」(日本検査血液学会監修) 医歯薬出版株式会社、東京、400-403, 2021.
  - 2) 朝倉英策: 止血・線溶の生理学。臨床薬学テキストシリーズ(望月眞弓編)、中山書店、東京、8-14, 2021.
  - 3) 朝倉英策: 凝固線溶系分子マーカーと臨床検査(単著)。シスメックス、東京、1-68, 2021.
  - 4) 朝倉英策: 骨髄増殖性腫瘍に伴う血栓症(JAK2 遺伝子変異を含む)。「脳神経内科診断ハンドブック」(下畑 享良編)、中外医学社、東京、567-573, 2022.
  - 5) 朝倉英策: 播種性血管内凝固。「内科学 第12版」(矢崎義雄、小室一成総編集)、朝倉書店、東京、印刷中。
  - 6) 朝倉英策: 抗凝固薬と抗血小板薬。「血液疾

患 最新の治療 2023-2025」(松村到、張替秀郎、神田善伸編集)、南江堂、東京、印刷中。

## II. 発表

### 1) 学会シンポジウム

- 1) 朝倉英策：COVID-19 と凝固線溶異常・血栓症。第 21 回日本抗加齢医学会総会シンポジウム「血管炎症としての COVID-19 の病態機序」2021.6.25.
- 2) 山田真也、朝倉英策：大動脈瘤・血管奇形に合併した DIC の病態と治療。第 16 回日本血栓止血学会学術標準化委員会(SSC)シンポジウム (WEB) 2022.2.19.

### 2) 学会講演

- 1) 朝倉英策:COVID-19 と血栓症。第 6 回日本心血管協会 (JCVA) 学術集会。2021.4.25.
- 2) 朝倉英策：静脈血栓塞栓症 (VTE) の臨床。日本離床学会。2021.5.23.
- 3) 朝倉英策：新型コロナウイルス感染症と血栓症。日本離床学会。2021.5.23.
- 4) 朝倉英策：DIC の臨床。第 43 回日本血栓止血学会学術集会 教育講演 (宮崎) 2021.5.28.
- 5) 朝倉英策:コロナ禍における凝固検査の重要性ー臨床応用とピットフォールー。第 22 回日本検査血液学会学術集会 (神奈川) 2021.9.11.
- 6) 朝倉英策：成人血友病 A 治療の課題 と新たな治療戦略。令和 3 年度第 2 回愛知県病院薬剤師会 HIV 部会学術講演会 (愛知) 2021.10.11.
- 7) 朝倉英策：COVID-19 と血液凝固異常。日本臨床衛生検査技師会 北日本支部医学検査学会 (第 9 回) 2021.11.1.
- 8) 朝倉英策：血小板/凝固異常症の診断と治療 (後天性血友病を含めて)。第 11 回若手臨床血液学セミナー (日本血液学会)。2021.11.21.

## 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（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

自己免疫性出血症診療の「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抗FVIII自己抗体測定の実施

研究分担者 小川 孔幸 群馬大学医学部附属病院 血液内科 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。また当院で経験した後天性血友病A（AiF8D）症例における抗FVIII自己抗体を測定し、その有用性を検証した。

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、強いつ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、当院では今年度、AiF8D症例を4名経験した。AiF8D症例の検体を用いて抗FVIII自己抗体を測定し、自己抗体測定の意義を検証する。

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2021年12月末現在まで文献検索し文献を精読する。

(2) AiF8D症例の経時的検体を用いてELISA法で抗FVIII自己抗体を測定し、治療による変化をベセスダ法によるインヒビター力価と比較し、自己抗体測定の意義を検証した。

C. 研究結果

(1) PUB-MEDで検索すると796文献がヒットし、内容を目視で確認したところ、474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、2020年 47件であった。

(2) 本年度に経験したAiF8D症例3例の抗FVIII自己抗体をELISA法で測定し、免疫抑制療法実施による変化をベセスダ法によるインヒビター力価と比較し、ほぼ並行して推移すること、ベセスダ法感度以下になっても少量の抗FVIII自己抗体が残存していることを確認した。

## 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、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。

また、抗FVIII自己抗体の有用性についても症例を追加して検討していく予定である。

## 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. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### I. 論文発表

#### 1) 原著

なし

### II. 学会発表

#### 1) 特別講演等

なし

#### 2) 一般演題

1. 松本彬, 小川孔幸, 尾崎司, 惣宇利正善, 武井寿史, 石川哲也, 小林宣彦, 宮澤悠里, 石崎卓馬, 井上まどか, 一瀬白帝, 半田寛. 早期胃がん切除により凝固能的完全寛解を達成した後天性血友病Aの一例. 第43回日本血栓止血学会学術集会、宮崎WEB、2021年5月28日-31日

2. Ogawa Y, Amano K, Tezuka Y, Okada N, Murakami Y, Nakamura T, Suita H, Nogam

i K. ORIHIME Study: Real World Treatment Patterns and Clinical Outcomes of 338 Patients with Acquired Hemophilia A from a Japanese Health Claims Database. 63th ASH Annual Meeting and Exposition, 2021/12/11-12/14

## 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

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

自己免疫性出血症診療の「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V(5)及びVIII(8)因子欠乏症におけるELISAによる凝固因子  
自己抗体測定の意義に関する研究

研究分担者 家子 正裕 岩手県立中部病院臨床検査科長

**研究要旨**

凝固第V(5)及び第VIII(8)因子に対する自己抗体をELISAで確認することにより、自己免疫性凝固第V(5)因子欠乏症(AiFVD)及びAiFVIIIIDの正確な診断が可能となった。特にLupus anticoagulant(LA)との鑑別が確実にできることを立証できた。また、免疫抑制療法の治療効果の判定においても、ELISAで抗第V因子抗体及び抗第VIII因子抗体の消失を確認する方法により再燃症例を減らす可能性が示唆された。

**A. 研究目的**

凝固第V(5)因子に対するインヒビター症例で、その診断及び治療効果判定にELISAによる抗第V(5)因子抗体の測定が有用であるか検討する。また、同時に凝固第VIII(8)因子抗体についても同様に検討する。

**B. 研究方法**

昨年度から当院に検査依頼のあった凝固第V(5)因子インヒビター症例6例と第VIII(8)因子インヒビター症例11例について、各々凝固因子活性、Bethesda法による凝固因子インヒビター価、及びELISA法(Hyphen社製、France)による抗凝固因子自己抗体量を測定した。各値を臨床症状と対比し、それらの検査の有用性を検討した。

**C. 研究結果**

1) AiFVD: 検討した6例中1例は、Bethesda法によるインヒビター力価は検出したが、ELISAでは抗第V(5)因子抗体は検出されなかった。この症例は強力なLupus anticoagulant(LA)を有しており、インヒビター力価は見かけ上の値であり、ELISA法により、正確な診断が可能となった。

2) AiFVIIIID: 検討した11例中全例が、診断時にBethesda法によるインヒビター力価及びELISA法による抗第VIII因子自己抗体を認めた。11例中8例でインヒビター力価が消失する

まで経過を追うことができたが、そのうち2例がELISAで測定する抗FVIII因子抗体が消失しなかった。うち1例はAiFVIIIIDの再燃を認めた。

**D. 考察**

インヒビター力価の検出だけでは、自己免疫性凝固因子インヒビター症例の正しい診断には至らない場合があったが、抗凝固因子自己抗体(IgG)の測定は診断に有用であった。また、インヒビター力価が消失しても、自己抗体が検出されるとAiFVIIIIDが再発することも確認した。これらの知見は、中和抗体の消失に関係なく、凝固因子に対するクリアランス抗体の存在が、対応する凝固因子の活性を低下させる可能性があることを示唆した。インヒビター力価の消失と対応する凝固因子活性の改善に基づいて治療効果を判断することは可能だが、ELISAによる自己抗体の測定は正確な診断と治療効果の判定につながると思われる。

**E. 結論**

ELISA法による抗凝固因子抗体の測定は自己免疫性凝固因子欠乏症の診断、治療効果判定に極めて有用である。

**F. 健康危険情報**

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表:

(1) Ieko M, Ohmura K, Naito S, Yoshida M, Saito M, Kiyohara K, Miyazima S, Maeta T, Ohtsu A, Shimosegawa K, Takahashi N, Ichinose A: Measurement of coagulation factor antibody levels is useful for diagnosis and determining therapeutic efficacy in hemorrhagic patients with autoantibodies to coagulation factor VIII and factor V: results from a single center in Japan. Int J Hematol. 2022;115: 11-20.

### 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

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

自己免疫性出血症診療の「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 小児領域での自己免疫性出血症診療の啓発・普及

分担代表者 酒井 道生 宗像水光会総合病院 小児科部長

**研究要旨**

本事業では、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、改定することを目的として、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、診療指針を普及させつつ、AMED 事業と連携して構築した「難病プラットフォーム」を活用して、症例レジストリ運用を円滑化・拡充すると共に検体バイオレポジトリ運用を実施する。

初年度の今年は、診療ガイドラインに、新たに「自己免疫性第X/10因子欠乏症 (AiF10D)」を組み入れるとともに、これまでの内容の見直しを図り、実臨床に則した部分的な修正を行った。また、個人情報に十分配慮をした患者相談にも応じた。さらに、学会および講演会での講演時に、本研究事業の広報を行い、非専門医に本症についての周知を図った。

次年度以降は、上記の継続とともに、とくに小児領域において、本症全体に対する認知普及を図り、診療水準の向上に努める。そのため、今後は市民公開講座等の開催も検討する。

**A. 研究目的**

**I. 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、改定することを目的として、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、診療指針を普及させつつ、AMED 事業と連携して構築した「難病プラットフォーム」を活用して、症例レジストリ運用を円滑化・拡充すると共に検体バイオレポジトリ運用を実施する。

その結果、全国調査に基づいた患者の実態把握、エビデンスに基づいた診療ガイド等が普及するので、本症全体の診療水準が向上する。更に症例を直接診察する非専門医に本症について周知するので、診断、治療の「均てん化」が促進されることを目的とする。

**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 V III/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。さらに、小児領域では、医療者の本症に対する認識も十分とは言えず、見逃されている症例を含めて、国内での発生数や治療状況に関する現状把握も必要である。

**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。

#### IV. 現在までの研究との関係

本研究にはこれまでに十分な研究実績がある。しかし、小児領域での本症への認識は十分とは言えない。小児領域の出血性凝固異常症は、血友病に代表される先天性が主である。一方で、高リン脂質抗体症候群のように、感染症等に伴う一過性の凝固異常症は見逃されていることも少なくない。そのため、小児科医も本研究に参画し、本研究を推進する意義があると考えられる。

### 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。今回のその班員の中で、私は唯一の小児科医として参画した。

#### 研究計画

##### II. 基本デザイン（研究班全体）

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)で公開する。

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。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

学会や研究会発表で、本症や本研究事業の周知に努める。

###### 2) 患者相談

主治医からの症例相談に適宜応じる。

###### 3) 診療ガイドラインの見直し

診断に必要な検査項目等で、一般診療では測定が難しい項目等があるため、実臨床に即した見直しを図る。

**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)

患者相談においては、患者が特定できない情報収集に留め、また、相談内容に関しては秘守する。

**倫理規定の遵守：**新GCPの倫理規定(1997)を遵守して施行する。

**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。

### C. 研究結果

今年度は、新型コロナ禍の影響で、人的交流が必要な活動に抑制がかかった。

#### I. 広報活動：

救急医を対象とした学会で講演し、本症の認知を推進し、本事業の活用方法に関しても広報した。

#### II. 患者相談：

主治医からの直接私宛の数件の患者相談に応じ、本症に対する理解をサポートするとともに、本事業の有効活用に関して助言を行った。

#### III. 診療ガイドラインの見直し

新たに、自己免疫性第X/10因子欠乏症(AiF10D)を組み入れた。

自己免疫性第VⅢ/8因子欠乏症(AiF8D)の確定診断のために検査項目に関して、実臨床に即した見直しを行った。

#### IV. 班会議：

開催された班会議に参加し、研究内容を共有するとともに、今後の課題と問題点について討議した。

### D. 考察

今回の診療ガイドラインの改定により、自己免疫性第X/10因子欠乏症(AiF10D)に対する認知向上が期待される一方で、救急領域を含め、本症全体に対する診療水準はまだ不十分と考えられる。とくに、小児領域における本症に対する認識は不

足しており、医療者および市民に対する継続した広報活動が必要である。

#### **E. 結論**

診療ガイドラインの適切な使用より、本症全体の診断向上が期待される。しかし、医療者全体における本症に対する認知はまだ不十分であり、継続した広報活動が不可欠である。

#### **F. 健康危険情報**

特になし

#### **G. 研究発表**

##### **I. 論文発表**

特になし

##### **II. 学会発表**

###### **1) 特別講演・一般演題等**

1. ○ 酒井道生. 九州地区における血友病診療の現状とこれから. 第25回日本救急医学会九州地方会. 2021.6

#### **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