

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 山口 宗一 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 准教授

研究要旨

自己免疫性後天性フォン・ヴィレブランド病の概念を啓蒙するために、文献的考察を遂行し、鑑別疾患・鑑別法についての検討を行なった。フォン・ヴィレブランド病の病型診断のために重要なフォン・ヴィレブランド因子マルチマー解析の構築により、依頼症例の検査を通じて症例の診断治療に寄与した。また、改良型インヒビター検出法試用を目指した研究を進めた。

なる改良点を検討する。

A. 研究目的

システマティックレビューをもとに、疾患概念を社会に啓蒙し、医療界に鑑別疾患・鑑別法を周知する。本研究班においてフォン・ヴィレブランド病の病型診断に必要な検査一式を実施可能として、速やかな診断を目指し、自己免疫性後天性フォン・ヴィレブランド病の診療に寄与する。その確定診断として重要な改良型インヒビター検出法の構築を進める。

B. 研究方法

I. 診療ガイドの改訂：

2016年に発刊した診療ガイドを改訂するために、多くの症例の臨床的考察を目的として、これまでに症例相談を受けた症例や文献検索による報告症例について、昨年度途中経過を学術誌に発表したのを、引き続き検討を継続する。

II. 患者相談：

構築したレジストリ・レポジトリのシステムにて令和5年度も引き続き患者の相談受け入れを行う。相談を受けた症例について、研究班で実施可能な検査項目を測定して相談元の医療機関と情報を共有して患者の治療や学術面の支援を行う。

III. インヒビター検出法の改良：

抗VWF自己抗体検出法を従来の方法を基に改良して、検出感度を向上する。臨床検体を使用して、改良検出法の試用により、学術的にその問題点、さら

C. 研究結果

I. 診療ガイドの改訂：

2017年までの国内31例の報告(Ichinose A et al. Semin Thromb Hemost 48(8):911-925, 2023)と2017年～2022年の5年間の国内外の症例報告を学術誌に発表した後の2年足らずに報告された症例を整理し

図1 2017年1月～2024年2月に報告されたAiAVWD症例

報告年	国	年齢	性別	基礎疾患	自己抗体
2017	USA	20歳	女性	全身性エリテマトーデス	不明
2017	日本	42歳	女性	抗リン脂質抗体症候群	IgG1/IgG2
2018	日本	40代	男性	食道がん	IgG
2019	イタリア	19歳	女性	全身性エリテマトーデス	IgG/IgM
2021	カナダ	92歳	男性	慢性リンパ性白血病	IgG
2022	ドイツ	80歳	男性	IgM蛋白異常症	IgM
2022	USA	59歳	男性	不明	不明
2023	無し				

*臨床化学 51(4)：311-319, 2022 「自己免疫性後天性フォン・ヴィレブランド病」に2022年以降の報告2例を追加

た。2例の後天性VWDを抽出したが、自己免疫性の確定までは至らなかった(図1)。

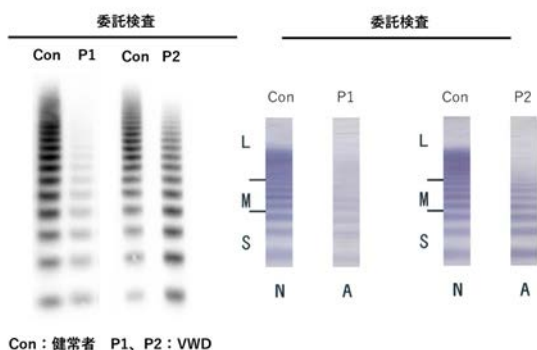
II. 鑑別疾患の鑑別・除外方法の提案と患者相談：

AiVWFDの除外診断、病型の同定のため、昨年度はVWFマルチマー解析の構築を行った。VWFマルチマー解析は、本邦で解析施行・判定が可能な施設は少なく、外部委託を行っているが、化学発光によるマルチマーのバンドを高感度、高解像度で取り込み可能なカメラを設備し、図2のように委託検査と同等の品質を得ることが出来た。

この検査構築を基に、本年度は6月にレジストリ・レポジトリの症例紹介が1例あったので、紹介元の医療機関と情報共有をしつつ、血漿検体の検査を行

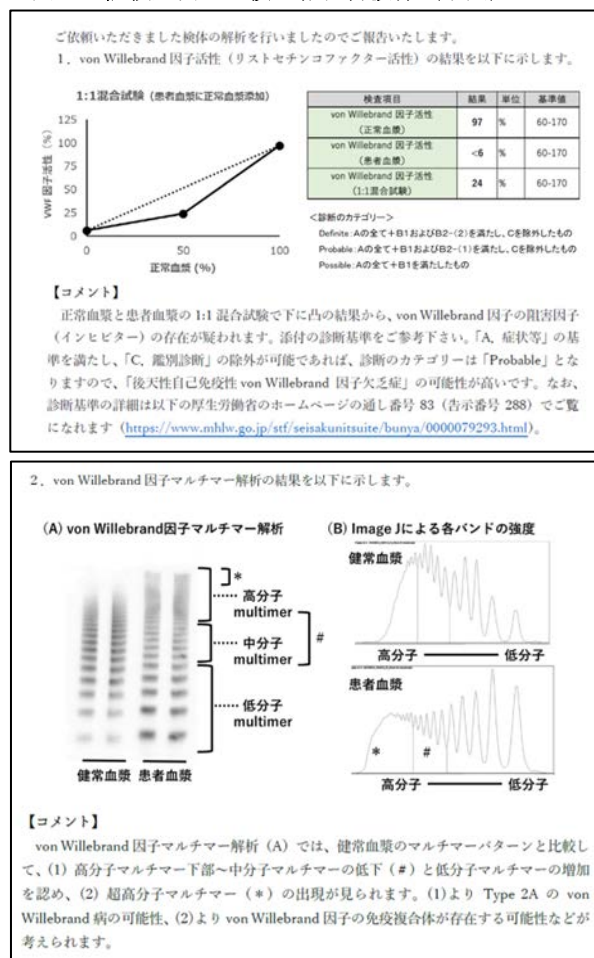
った。その結果と診断補助となる考察を報告書として提示した（図3）。

図2 VWFマルチマー解析（自験症例と委託検査の比較）



Con : 健康者 P1, P2 : VWD

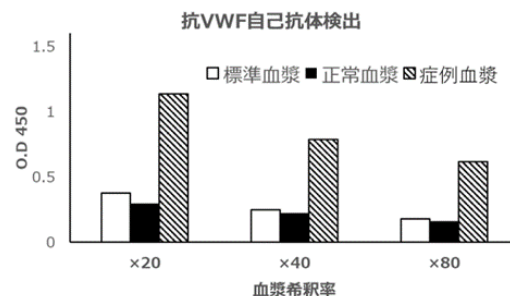
図3 依頼症例への検査報告書抜粋（下図）



III. インヒビター検出法の改良：

本疾患の確定診断に必要なVWFインヒビター検出法についての改良を行った。改良した検出法で前項の依頼された症例でインヒビター検出を試みた。図4のようにELISA法による検討で、患者血漿（症例血漿）中の抗VWF自己抗体を80倍希釈にて検出可能であった。標準血漿、健康者血漿と比較して有意に吸光度の高値、つまりインヒビターの存在が確認できた（図4）。

図4 ELISAによる抗VWF自己抗体検出解析例



D. 考察

文献検索により5例のAiVWFDに加え、可能性のある症例を抽出した。自己免疫性と考えられるが、確定診断に至らず、自己抗体の検出法確立の重要性が改めて認識できた。また、疾患概念が広く周知されていないために、多くの症例が見逃されている可能性があり、今後の社会への広報活動の必要性を感じた。

本年度は1症例の紹介、検査依頼があり、昨年度よりセットアップしてきたVWFマルチマー解析を含め多方面から検査、検討を行い、症例の診断治療などの助言を行うことが出来た。今後もレジストリ・レポジトリ症例を引き続き行い、症例の収集、学会、学術誌による啓蒙活動を積極的に行っていく。

確定診断に必要なVWF自己抗体検出法の改良を行い、依頼症例の自己抗体の検出についてELISA法を用いて行った。検出法の特異度を向上させる更なる改良工夫が必要である。

E. 結論

文献検索により更に得られた国内外のAiVWFD症例を検討し、AiVWFDの診断治療の課題を考察できた。構築したVWFマルチマー解析を使用して依頼症例の検査と診断補助を行うことが出来た。また本疾患の確定診断に重要な迅速で高感度な抗体検出法（ELISA法）を改良し試用した。以上から本疾患の学術的、臨床的、社会的貢献の一端を達成できた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

I. 関連論文発表

1. 橋口 照人. 出血性疾患と血栓性疾患 実地医家が見落とさないためのポイント 出血性疾患(先天性・後天性) 後天性出血性疾患 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症(後天性血友病以外). Medical Practice.

2023;40(6):891-895.

2. 東 貞行, 藤崎 知園子, 橋口 照人. 自己免疫性凝固因子欠乏症のすべて(第8回)「非」自己免疫性「後天性出血症」Thrombosis Medicine. 2023;13(1):68-73.

II.学会発表

なし

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: AIVWD) 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、強い抵抗力により高分子 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。また、本研究の対象 5 疾患 (AIF13D, AIF8D, AIF5D, AIF10D, AIVWD) の症例を集積・登録し実態調査に貢献をすることも目的としている。当院では今年度、AIF8D 症例の新規診断例を 5 名経験した。その検体を用いて抗 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 2023 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 886 文献がヒットし、内容を目視で確認したところ、507 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、2021 年 47 件、2022 年 46 件、2023 年 33 件、であった。

(2) 2021 年 8 月～2023 年 9 月の 2 年間に経験した AIF8D 症例 9 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おり、より深い治療効果判定と再発予見のマーカーになり得ることを確認した。

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 年以降に発表された論文の半分以上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関してさらに症例を追加して検討を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

特になし

G. 研究発表

I. 論文発表

1. 小川 孔幸. 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の診断と治療. 臨床血液. 2023;64(9):1116-1123.
2. 小川孔幸. COVID-19 ワクチンと血栓止血異常 COVID-19 ワクチンと後天性血友病. Thrombosis Medicine. 2023;13(3):185-191.
3. 小川孔幸. 診断の糸口はここにある 手がかりから紐解く臨床推論 (第9章) 血液 [Case 2] 広範な皮下筋肉内出血 アザがどんどん広がってきて腰から足が痛いんです. 内科. 2023;132(3):625-628.
4. 小川孔幸. 出血性疾患と血栓性疾患 実地医家が見落とさないためのポイント 出血性疾患 (先天性・後天性) 後天性出血性疾患 後天性血友病 A. Medical Practice. 2023;40(6):884-890.
5. Tajika T, Kuboi T, Sakane H, Hatori Y, Saida R, Shinagawa S, Shitara H, Ogawa Y, Chikuda H. Total elbow arthroplasty for hemophilic osteoproliferative elbow arthritis with severe flexion contracture: A case report. SAGE Open Med Case Rep. 2023; Dec13:11:2050313X231216597.
6. Tsukagoshi M, Harimoto N, Araki K, Ishii N, Hagiwara K, Hoshino K, Yanagisawa K, Ogawa Y, Handa H, Shirabe K. Laparoscopic hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with hemophilia A and B: a report of two cases. Clin J Gastroenterol. 2023;16(6):884-890.
7. Shima M, Amano K, Ogawa Y, Yoneyama K, Ozaki R, Kobayashi R, Sakaida E, Saito M, Okamura T, Ito T, Hattori N, Higasa S, Suzuki N, Seki Y, Nogami K. A prospective, multicenter, open-label phase III study of emicizumab prophylaxis in patients with acquired hemophilia A. J Thromb Haemost. 2023;21(3):534-545.

II. 学会発表

1) 特別講演等

1. 小川孔幸. 教育講演：自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の診断と治療. 第 85 回日本血液学会学術集会、東京、2023 年 10 月 15 日

2) 一般演題

1. 梶田樹矢、小川孔幸、柳澤邦雄、松本彬、小坂橋るみ子、野口紘幸、小林宣彦、宮澤悠里、一瀬白帝、半田寛. 後天性血友病 A 患者の抗 FVIII 結合抗体に関する臨床的検討. 第 45 回日本血栓止血学会学術集会、北九州、2022 年 6 月 16 日 (優秀ポスター賞)
2. 吉田源也、小川孔幸、惣宇利正善、明石直樹、金谷秀平、野口紘幸、小林宣彦、大崎洋平、宮澤悠里、一瀬白帝、半田寛. 寛解から 9 年後に再発した自己免疫性凝固第 13 因子欠乏症の 1 例. 第 45 回日本血栓止血学会学術集会、北九州、2022 年 6 月 16 日
3. 反町百花、小川孔幸、廣本宜峻、内山由理、松本

彬、井上真紀、森田晶人、柳澤邦雄、松本直通、半田寛. Type II 血小板無力症妊婦の分娩管理の経験. 第45回日本血栓止血学会学術集会、北九州、2022年6月17日

4. 内山由理、小川孔幸、内藤千晶、松本彬、柳澤邦雄、内海英貴、半田寛、松本直通. 成人期に初めて血小板減少を指摘された巨大血小板減少症の特徴. 第45回日本血栓止血学会学術集会、北九州、2022年6月17日

5. Matsumoto A, Ogawa Y, Naito C, Yanagisawa K, Kobayashi N, Miyazawa Y, Uchiumi H, Hirakata A, Kobayashi Y, Matsumoto M, Handa H. Outcomes of immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura at a single center in Japan. ISTH 2023, 2023/6/25, Montreal.

6. Uchiyama Y, Ogawa Y, Yanagisawa K, Matsumoto A, Mizuguchi T, Uchiumi H, Handa H, Matsumoto N. The utilities of multiple genetic analyses for rare coagulation deficiencies and rare bleeding disorders. ISTH 2023, 2023/6/25, Montreal.

7. Shima M, Suzuki N, Nishikii H, Amano K, Ogawa Y, Yoneyama K, Ozaki R, Kobayashi R, Mizuno N, Sakaida E, Saito M, Okamura T, Ito T, Hattori N, Higasa S, Seki Y, Nogami K. Final analysis results from a Phase III study of emicizumab prophylaxis for acquired hemophilia A (AGEHA). ISTH 2023, 2023/6/25, Montreal.

8. Ogawa Y, Yanagisawa K, Matsumoto A, Kajita M, Miyazawa Y, Kobayashi N, Osaki T, Souri M, Ichinose A, Handa H. A single-center study of reduced-dose corticosteroids therapy for patients with acquired hemophilia A. ISTH 2023, 2023/6/27, Montreal.

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 因子欠乏症例の定期全国調査と精査

研究分担者 惣宇利正善 国立大学法人山形大学医学部 准教授

研究要旨

・11 例の自己免疫性第 XIII/13 因子欠乏症 (AiF13D) 疑い症例を精査し、4 例を AiF13D と確定した。

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。

本年度は、AiF13D を疑われた 11 例について精査した。

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、昨年度に改良した PI-BAPA 法 (α_2 -プラスミンインヒビターへのビオチン化アミン取り込み測定法) で行った。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。

(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

11 例の AiF13D 疑い症例のうち、3 例は Dot blot 法、免疫クロマト法共に抗 F13-A 抗体陽性を認め、 A_2B_2 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、別の 1 例は 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_2B_2 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。

D. 考察

昨年度に改良を行った PI-BAPA 法について、本年度同定した AiF13D 4 例いずれも比活性の著しい低値と 5 段階混合試験での強い阻害パターンを示しており、あらためてインヒビター検出に有効であることが確認された。

免疫クロマト法で陽性を示した 4 例のうち 1 例は 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 活性の障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障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。

E. 結論

本年度、AiF13D 4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

- Kadono M, Souri M, Shimomura T, Kuroda Y, Munemasa S, Ozaki T, Ichinose A. [Autoimmune acquired coagulation factor XIII/13 deficiency caused by type Ab anti-FXIII-A autoantibody]. *Rinsho Ketsueki*. 2023;64(12):1508-1513. *Japanese*.
- Kaneda Y, Fukuno K, Minami H, Nonaka Y, Horinoue A, Kuroki Y, Osaki T, Souri M, Asakura H, Ichinose A. Autoimmune-acquired coagulation factor V deficiency with hyperfibrinolytic disseminated intravascular coagulation. *Int J Lab Hematol*. 2023 Dec 19. Epub ahead of print.
- Onishi A, Shimura Y, Nakamura T, Souri M, Osaki T, Mizutani S, Tsukamoto T, Kobayashi T, Ichinose A, Kuroda J. Management of Acquired Factor X Deficiency Caused by In Vitro Non-neutralizing Anti-factor X Autoantibodies with Preemptive Corticosteroid Therapy. *Intern Med*. 2023;62(16):2401-2406.
- Ichinose A, Osaki T, Souri M. Clinical features and laboratory diagnostic issues of non-immune, non-amyloid related acquired factor X deficiency. *Haemophilia*. 2023;29(4):1150-1154.
- Matsumoto A, Ogawa Y, Osaki T, Souri M, Takei H, Ishikawa T, Kobayashi N, Miyazawa Y, Ishizaki T, Inoue M, Ichinose A, Handa H. [Coagulative complete remission following early gastric cancer resection in a patient with steroid-resistant acquired hemophilia A and nephrotic syndrome]. *Rinsho Ketsueki*. 2023;64(3):203-208. *Japanese*.
- Ishimori N, Wakabayashi M, Sakurai K, Suda A, Souri M, Osaki T, Ichinose A. [Autoimmune coagulation factor V/5 deficiency during chronic disseminated intravascular coagulation]. *Rinsho Ketsueki*. 2023;64(2):113-118. *Japanese*.
- Kaneko M, Ishimaru N, Nakajima T, Kanzawa Y, Seto H, Kinami S, Osaki T, Souri M, Ichinose A. Management of autoimmune factor XIII deficiency in a frail, elderly patient. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2023;34(6):408-413.
- Osaki T, Yokoyama C, Magari Y, Souri M, Ichinose A. Novel Immunochromatographic Test for Anti-factor XIII B Subunit Autoantibodies to Diagnose Autoimmune Acquired Factor XIII Deficiency. *Thromb Haemost*. 2023;123(8):793-803.
- Souri M, Yokoyama C, Osaki T, Ichinose A. Antibodies against Noncatalytic B Subunit of Factor XIII Inhibit Activation of Factor XIII and Fibrin Crosslinking. *Thromb Haemost*. 2023;123(9):841-854.
- Osaki T, Souri M, Ozawa T, Muraguchi A, Ichinose A. Epitope analysis of human monoclonal antibodies from a patient with autoimmune factor XIII deficiency reveals their inhibitory mechanisms. *FEBS Lett*. 2023;597(9):1275-1289.
- Sorimachi M, Ogawa Y, Matsumoto A, Souri M, Koitabashi R, Kajita M, Akashi N, Naito C, Ishikawa T, Kobayashi N, Miyazawa Y, Ichinose A, Handa H. [Acquired hemophilia A that developed after BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccination and worsened following re-vaccination]. *Rinsho Ketsueki*. 2023;64(1):60-65. *Japanese*.
- Arakaki S, Ono S, Kawamata F, Ishino S, Uesato Y, Nakajima T, Nishi Y, Morishima S, Arakaki S, Maeshiro T, Souri M, Ichinose A, Masuzaki H, Takatsuki M. Fatal acquired coagulation factor V deficiency after hepatectomy for advanced hepatocellular carcinoma as a possible immune checkpoint inhibitor-related adverse event: a case report. *Surg Case Rep*. 2023;9(1):1-7 (Article number :16).

13. Souri M, Ozawa T, Osaki T, Koyama T, Muraguchi A, Ichinose A. Cloning of human anti-factor XIII monoclonal antibody dissects mechanisms of polyclonal antibodies in a single patient. J Thromb Haemost. 2023;21(2):255-268.
14. Osaki T, Souri M, Yokoyama C, Magari Y, Ichinose A. Unmet Need for Reliable Immunological Detection Method for Anti-von Willebrand Factor Autoantibodies. Thromb Haemost. 2023;123(4):478-481.
15. Souri M, Osaki T, Shimura Y, Ichikawa S, Mori M, Ogawa Y, Ichinose A. Identification of non-neutralizing anti-factor X autoantibodies in three Japanese cases of autoimmune acquired factor X deficiency. Haemophilia. 2023;29(2):555-563.
16. Katsuren E, Kohagura K, Kinjyo T, Zamami R, Nakamura T, Oshiro N, Sunagawa Y, Omine K, Kudo Y, Shinzato Y, Osaki T, Souri M, Ichinose A, Yamazato M, Ishida A, Ohya Y. Acquired factor V inhibitor with erythema and eosinophilia in a patient with end-stage renal disease. CEN Case Rep. 2023;12(1):91-97.
17. Owari M, Harada-Shirado K, Togawa R, Fukatsu M, Sato Y, Fukuchi K, Endo M, Takahashi H, Kimura S, Osaki T, Souri M, Ichinose A, Shibata Y, Hashimoto Y, Ikezoe T. Acquired von Willebrand Syndrome in a Patient with Multiple Comorbidities, Including MALT Lymphoma with IgA Monoclonal Gammopathy and Hyperviscosity Syndrome. Intern Med. 2023;62(4):605-611.

から9年後に再発した自己免疫性凝固第13因子欠乏症の1例. 日本血栓止血学会、北九州；2023年6月.

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

2) 総説・著書

1. 惣宇利 正善. 自己免疫性凝固第 XIII 因子欠乏症. 臨床検査. 2022;66(2):193-197.
2. 惣宇利 正善. 自己免疫性後天性凝固第 XIII(13)因子欠乏症. 臨床化学. 2022; 51(4): 281-286.

II. 学会発表

1) 特別講演等

なし

2) 一般演題

1. 吉田源也、小川孔幸、惣宇利正善、明石直樹、金谷秀平、野口紘幸、小林宣彦、大崎洋平、宮澤悠里、一瀬白帝、半田寛. 寛解

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、トロンビンバーストに基づく凝固補充療法の作用
機序の解析に関する研究

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

活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、希釈プロトロンビン時間（dPT）、希釈トロンビン時間（dTT）は、凝固波形解析（CWA）により、トロンビンバースト現象を反映していることがわかった。このトロンビンバースト現象の Key になる蛋白は凝固 VIII 因子（FVIII）であり、血小板上のリン脂質がトロンビンバースト現象を増強させる。自己免疫性出血症における補充療法の作用機序を解明し、本成果をもとに、FVIII 測定系を構築する予定である。

A. 研究目的

活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、希釈プロトロンビン時間（dPT）、希釈トロンビン時間（dTT）は、凝固波形解析（CWA）によりトロンビンバースト現象を反映していることがわかった。自己免疫性出血症における補充療法 CWA を用いて、止血機序、止血能などを解析し、有効なモニター法を提案する。

B. 研究方法

- 1) CWA-APTT、CWA-dPT ならびに CWA-TT を用いて、先天性 FVIII 欠乏症ならびに自己免疫性 FVIII 欠乏症に対する、凝固能を評価した。
- 2) 先天性 FVIII 欠乏症ならびに自己免疫性 FVIII 欠乏症に対して、濃縮 FVIII 製剤、バイパス製剤（FVIIa 製剤、活性化プロトロンビン複合体製剤、emicizumab）などを投与し、治療効果を検討した。
- 3) CWA-TT を用いて、上記患者の FVIII 活性を測定した。
- 4) 上記検討を多血小板血漿（PRP）ならびに乏血小板血漿（PPP）を用いて行った。
- 5) CWA-dPT ならびに CWA-dTT では、APTT 試薬の有無でも検討を行った。
（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) CWA-APTT、CWA-dPT、CWA-TT とも、先天性 FVIII 欠乏症ならびに自己免疫性 FVIII 欠乏症では、

peak time（PT）の延長とともに、著明な peak height（PH）の低下が認められた。

- 2) 濃縮 FVIII 製剤の投与により、先天性 FVIII 欠乏症は CWA により改善を認め、自己免疫性 FVIII 欠乏症では CWA の改善は軽度であった。
- 3) バイパス製剤の投与により、自己免疫性 FVIII 欠乏症の CWA 異常が著明に改善した。
- 4) 活性化プロトロンビン複合体製剤の投与により、CWA-APTT の異常は著明に改善した。
- 5) FVIIa の投与により、CWA-dPT の異常は著明に改善した。
- 6) emicizumab 投与下では、CWA-dTT によりモニターが可能であり、emicizumab の影響を受けずに FVIII 活性測定が可能になった。
- 7) 濃縮 FVIII 製剤の投与により、先天性 FVIII 欠乏症は過凝固状態であることが示唆された。

D. 考察

凝固第 VIII 欠乏血漿ではトロンビンバーストが起りにくいので、先天性 FVIII ならびに自己免疫性 FVIII 欠乏症では著明な出血症状を呈する。すなわち、これらの出血症状を理解するには、トロンビンバースト現象を評価する必要がある。しかし、ルーチンの APTT や PT ではトロンビンバースト現象を評価できない。トロンビン生成試験やトロンボエラストグラムは、トロンビンバースト現象を評価できるが、ルーチンには用いることができない。ルーチン検査である、APTT、dPT、dTT は CWA を持ちることにより、トロンビンバースト現象を評価できる。CWA-dTT、CWA-dPT、CWA-APTT の順に感度が良い。ま

た、トロンビンバースト現象の Key 蛋白は FVIII なので、トロンビンバースト現象を利用して FVIII 活性が可能になった。

自己免疫性 FVIII 欠乏症に対するバイパス療法の評価も CWA により可能になったが、CWA-APTT、CWA-dPT ならびに CWA-TT にはそれぞれ特性があり、CWA-APTT は活性化プロトロンビン複合体製剤のモニターに、CWA-dPT は FVIIa のモニターに有用であり、CWA-dTT は emicizumab 投与下の止血能モニターが可能であり、emicizumab の影響を受けずに FVIII 活性測定が可能になった。現在 emicizumab に対する中和抗体を用いて、emicizumab 投与例の FVIII 活性は測定されていたが、簡易な CWA-TT による FVIII 測定が普及することが望まれる。

また、濃縮 FVIII 製剤はトロンビンバースト現象を利用して止血効果を効率良く発揮しており、CWA-dPT により、高濃度の濃縮 FVIII 製剤投与は過凝固状態を起こす恐れも危惧された。今後さらに、高濃度の FVIII 製剤投与の可能性があり、血友病においても血栓症のリスクが増加する恐れが示唆された。

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-APTT、CWA-dPT、CWA-dTT によりトロンビンバースト現象を観察でき、種々のバイパス療法のモニターが可能となった。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、濃縮 FVIII 製剤の投与は過凝固状態を起こす恐れがあると考えられた。

F. 健康危険情報

濃縮 FVIII 製剤の過剰投与は過凝固状態を起こす恐れがある

G. 研究発表

I. 論文発表

1. Fukui S, Ikeda K, Kobayashi M, Nishida K, Yamada K, Horie S, Shimada Y, Miki H, Goto H, Hayashi K, Nakazawa Y, Mizutani H, Kamon T, Tanigaito Y, Kodama S, Kato T, Nishiura Y, Suga D, Terashima T, Ichikawa Y, Moritani I, Yamamoto A, Takaba K, Yasumoto K, Wada H, Shiraki K. Predictive prognostic biomarkers in patients with COVID-19 infection. *Mol Med Rep.* 2023; 27: 15.

2. Kamon T, Horie S, Inaba T, Ito N, Shiraki K, Ichikawa Y, Ezaki M, Shimpō H, Shimaoka M, Nishigaki A, Shindo A, Wada H. The Detection of Hypercoagulability in Patients with Acute Cerebral Infarction Using a Clot Waveform Analysis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2023; 29: 10760296231161591.

3. Ezaki M, Wada H, Ichikawa Y, Ikeda N, Shiraki K, Yamamoto A, Moritani I, Shimaoka M, Shimpō H. Plasma Soluble Fibrin Is Useful for the Diagnosis of Thrombotic Diseases. *J Clin Med.* 2023; 12: 2597

4. Yamamoto A, Wada H, Tomida M, Ichikawa Y, Ezaki M, Shiraki K, Shimaoka M, Iba T, Suzuki-Inoue K, Kawamura M, Shimpō H. Super Formula for Diagnosing Disseminated Intravascular Coagulation Using Soluble C-Type Lectin-like Receptor 2. *Diagnostics (Basel).* 2023;13: 2299

5. Matsumoto T, Wada H, Shiraki K, Suzuki K, Yamashita Y, Tawara I, Shimpō H, Shimaoka M. The Evaluation of Clot Waveform Analyses for Assessing Hypercoagulability in Patients Treated with Factor VIII Concentrate. *J Clin Med.* 2023; 12: 6320.

6. Shinkai T, Kuriyama N, Usui M, Hayasaki A, Fujii T, Iizawa Y, Tanemura A, Murata Y, Kishiwada M, Katoh D, Matsumoto T, Wada H, Yoshida T, Isaji S, Mizuno S. Clinical Significance of Plasma Tenascin-C Levels in Recipients with Prolonged Jaundice After Living Donor Liver Transplantation. *Transplant Proc.* 2023; 55: 913-923.

7. Wada H, Kawasugi K, Honda G, Kawano N, Uchiyama T, Madoiwa S, Takezako N, Suzuki K, Seki Y, Ikezoe T, Iba T, Okamoto K. Sepsis-Associated DIC with Decreased Levels of Antithrombin and Fibrinogen is the Target for Combination Therapy with Thrombomodulin Alfa and Antithrombin. *TH Open.* 2023; 7: e65-e75.

8. Iba T, Tanigawa T, Wada H, Levy JH. The antithrombin activity recovery after substitution therapy is associated with improved 28-day mortality in patients with sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Thromb J.* 2023; 21: 112.

9. Wada H, Teranishi H, Shimono A, Kato N, Maruyama S, Matsumoto M. Application of a scoring system in Japanese patients diagnosed with atypical hemolytic uremic syndrome to assess the relationship between the score and clinical responses to eculizumab. *Thromb J.* 2023; 21:43.

総説

1. Wada H. Biomarkers of Hypercoagulability in COVID-19. *J Clin Med.* 2023; 12: 3525.
2. Matsumoto M, Miyakawa Y, Kokame K, Ueda Y, Wada H, Higasa S, Yagi H, Ogawa Y, Sakai K, Miyata T, Morishita E, Fujimura Y; For TTP group of Blood Coagulation Abnormalities Research Study Team, Research on Rare and Intractable diseases, Health and Labour Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Diagnostic and treatment guidelines for thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) in Japan 2023. *Int J Hematol.* 2023; 118: 529-546.
3. Wada H, Shiraki K, Matsumoto T, Shimpo H, Shimaoka M. Clot Waveform Analysis for Hemostatic Abnormalities. *Ann Lab Med.* 2023; 43: 531-538.
4. Iba T, Wada H, Levy JH. Platelet Activation and Thrombosis in COVID-19. *Semin Thromb Hemost.* 2023; 49: 55-61.
5. Wada H, Shiraki K, Shimpo H, Shimaoka M, Iba T, Suzuki-Inoue K. Thrombotic Mechanism Involving Platelet Activation, Hypercoagulability and Hypofibrinolysis in Coronavirus Disease 2019. *Int J Mol Sci.* 2023; 24: 7975.
6. Wada H, Matsumoto T, Shiraki K. "Communication from the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Hemostasis on sepsis-induced coagulopathy in the management of sepsis": Comment from Wada et al. *J Thromb Haemost.* 2023; 21: 1677-1678.
7. Uchiyama S, Suzuki-Inoue K, Wada H, Okada Y, Hirano T, Nagao T, Kinouchi H, Itabashi R, Hoshino H, Oki K, Honma Y, Ito N, Sugimori H, Kawamura M. Soluble C-type lectin-like receptor 2 in stroke (CLECSTRO) study: protocol of a multicentre, prospective cohort of a novel platelet activation marker in acute ischaemic stroke and transient ischaemic attack. *BMJ Open.* 2023; 13: e073708.
8. Wada H, Yamamoto A, Shiraki K, Shimpo H. Reply to Ishikura, H. What Does Soluble C-Type Lectin-like Receptor 2 (sCLEC-2) × D-Dimer/Platelet (PLT) (sCLEC-2 × D-Dimer/PLT) Mean for Coagulation/ Fibrinolysis Conditions? Comment on "Yamamoto et al. Super Formula for Diagnosing Disseminated Intravascular Coagulation Using Soluble C-Type Lectin-like Receptor 2. *Diagnostics* 2023, 13, 2299". *Diagnostics (Basel).* 2023; 14: 42.
9. 和田英夫、市川由布子、江崎実： COVID-19 の止血異常と血小板活性化、日本検査血液学会雑誌第 2023; 24: 448-459

10. 和田英夫、江崎実、市川由布子、池田望： 修正凝固波形解析、血栓止血誌、2023; 34: 36-42 著書監修
11. 和田英夫他 11 名：病気が見える、Vol.血液 改訂第 3 版、メディックメディア社、pp1-333、2023

II.学会発表

国際学会

Wada H: Anti Xa assays: current role in antithrombotic therapy. 12th Congress of The Asian-Pacific Society of Thrombosis and Haemostasis (APSTH) from October 18th to 21st 2023 at the Borneo Convention Centre Kuching (BCKC), Sarawak, Malaysia.

シンポジウム等

1. 和田英夫:CWA による自己免疫性後天性凝固異常症の診断 CWA 解析の UPDATE、第 17 回日本血栓止血学会 SSC シンポジウム、2023、2 月 18 日(東京)
2. 和田英夫:DIC 診断・治療における臨床検査の役割、第 45 回日本血栓止血学会学術集会、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 DIC の再評価 (北九州)2023 年 6/15-17
3. 和田英夫:COVID-19 の止血異常と血小板活性化、第 45 回日本血栓止血学会学術集会、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 COVID-19 associated coagulopathy と血栓止血関連検査(北九州)2023 年 6/15-17

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 自己免疫性後天性凝固因子欠乏症の的確な鑑別

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

APTT 延長や出血性素因の原因は単一とは限らない。特にループスアンチコアグラントや線溶亢進型 DIC の合併を適切に診断する必要がある。そのためには、合成基質法による凝固因子活性測定、各種分子マーカーの測定が重要である

A. 研究目的

本研究班の活躍により、自己免疫性後天性凝固因子欠乏症（凝固因子インヒビター）が周知されるようになった。それに伴い、原因不明の APTT 延長症例において本疾患ではないかとのコンサルトが増えている。ただし、精査の結果、本疾患ではないと診断されることの方が遥かに多い状況にある。

具体的には、自己免疫性後天性凝固第 VIII (8) 因子欠乏症 (AiF8D) が疑われてコンサルトがあった場合、実際は、AiF8D でなくループスアンチコアグラント (LA) 陽性であることが最も多い。誤診されやすくなる理由として、いずれの場合であっても APTT 混合試験が抑制型になることや、VIII 因子活性の低下と VIII 因子インヒビターが陽性になることが挙げられる。対策としては、出血の臨床症状の有無に注意することと、FVIII 活性を凝固一段法と合成基質法の両方で測定することが肝要である。

また、APTT の延長や出血症状がみられた場合、原因が一つとは限らない場合もある。

今後、誤診対策の啓蒙活動も重要と考えられる。

B. 研究方法

症例：80 歳代男性

主訴：凝固異常の精査

既往歴：幼少期から外傷時の止血困難を自覚。10 年前に抜歯時に止血困難。関節内出血や筋肉内出血の既往はなし。

家族歴：兄弟 5 人のうち、兄 1 人で出血傾向あり（外傷、抜歯時）。

現病歴：

X 年 6 月、泌尿器科で腎盂癌、膀胱癌の診断。

術前検査で APTT 65.1 秒と延長（PT は正常）。

第 VIII 因子が 21% と低下しており、vWF 低下は見られなかったため、軽症血友病 A と診断（インヒビターは陰性）。FVIII 因子製剤の補充療法についてコンサルトを受けた。

C. 研究結果

＜第 VIII 因子低下症例＞（APTT 延長の原因が複数）
凝固一般検査：PT 11.4 秒、APTT 65.6 秒、Fbg 566 mg/dL、FDP 3.3 μ g/mL、DD 0.9 μ g/mL、TAT 1.2 ng/mL、PIC 0.8 μ g/mL

凝固因子活性（凝固一段法）：II 82%、V 126%、VII 108%、VIII 21%、IX 79%、X 82%、XI 89%、XII 93%、XIII 145%

その他の因子など：VWF 活性 139%、VWF 抗原 146%、VIII インヒビター：陰性、IX インヒビター：陰性、抗リン脂質抗体パネル：陰性。

VIII（合成基質法）22%

LA（リン脂質中和法）：陽性

ここまでのデータの疑問

第 VIII 因子活性が 20% と低下してはいるものの、この程度の低下では APTT 65.6 秒と著明な延長は説明できない。

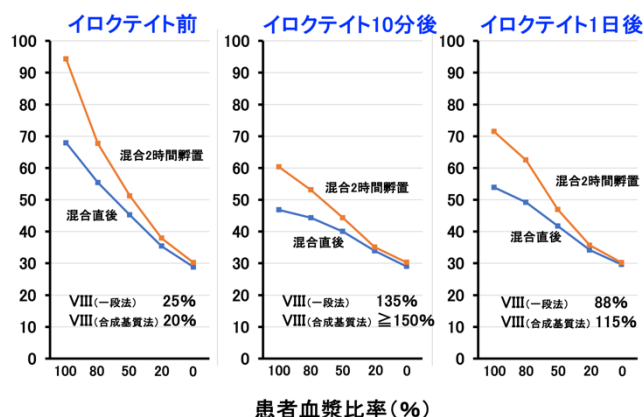
APTT 混合試験

混合直後、2 時孵置ともに直線的な曲線になった。

本症例では、手術を前提にしていたために、第 VIII 因子製剤の輸注試験が行われた。第 VIII 因子製剤輸注の 10 分後、1 日後にも混合試験が行われた。その結果、輸注に伴い、VIII 因子活性は 135%、88% と正常化した。やはり APTT は延長したままであった。また、混合試験のカーブは、上に凸が鮮

明になった。

APTTクロスミキシング試験



解釈

本症例は、血友病 A (輕症) に LA を合併した症例と考えられた。単独の病態で説明できない APTT 延長に遭遇した場合、LA 合併を意識すべきである (第 46 回日本血栓止血学会学術集会 2024 年にて発表予定)。

<第 V 因子低下症例> (出血の原因が複数)

80 歳代女性。胸腹部大動脈瘤を認め経過観察中、誘因なく大臀筋内血腫を発症。

WBC 2500/ μ l、Hb 9.3 g/dl、Plt 7.9 万/ μ l、APTT 71.7 秒、PT-INR 2.70、FV < 3%、FV インヒビター (-)、交差混合試験は凝固因子欠乏型。右後脛骨静脈に深部静脈血栓あり。

自己免疫性出血症治療の「均てん化」班による検査 (ELISA) では、抗第 V 因子抗体陽性。自己免疫性後天性凝固第 V 因子欠乏症 (AiF5D) と診断された。

一方で、Fbg 61.0 mg/dl、FDP 168.8 μ g/ml、D-dimer 59.3 μ g/ml、TAT 89.7 μ g/ml、SF 75.5 μ g/ml、PIC 8.4 μ g/ml。

すなわち、AiF5D に線溶亢進型 DIC の合併した症例であった。プレドニゾロン (PSL: 0.5mg/kg) で FV 活性が改善し、アピキサバン (5mg/日) とトラネキサム酸 (TXA) (500mg/日) の併用で DIC 改善を認め、血腫は消退した (Int J Lab Hematol, 2024)。その後も 4 年間安定している (第 46 回日本血栓止血学会学術集会 2024 年にて発表予定)。

出血の原因が自己免疫性後天性凝固因子欠乏症のみとは限らない。例えば、線溶亢進型 DIC の合併もありうる。

<第 XIII 因子低下症例>

AiF13D 疑いで相談される出血性素因のうち、多くの症例では大動脈瘤や大動脈乖離に起因する線溶亢進型 DIC (しばしば XIII 因子活性が低下) であった。AiF13D と大動脈瘤や大動脈乖離に起因する

る線溶亢進型 DIC の鑑別のポイントや第 XIII 因子製剤による治療の可能性につき、学術専門誌や学術集会で発表した。

<第 X 因子低下症例>

AiF10D 症例は、AL-アミロイドーシスに起因する第 X 因子活性低下の症例と的確に鑑別することが臨床的に最も重要であり、学術専門誌で発表した。

D. 考察

後天性血友病などの自己免疫性後天性凝固因子欠乏症 (凝固因子インヒビター) の診断は、APTT の延長が契機となることが多い。ただし、APTT の延長が単一の原因とは限らないために注意が必要である。今回の経験症例のように、第 VIII 因子製剤補充療法後の APTT クロスミキシング試験によって病態が解明されることもある。

一つの出血性素因の確定診断がなされると、そのほかの出血性素因があっても見逃されることがありうる。各種分子マーカーを駆使して、全ての出血性素因の診断を行った上で、全ての病態に対する的確な治療を行うことが肝要である。

E. 結論

APTT 延長や出血性素因の原因は、単一とは限らない。特にループスアンチコアグラントや線溶亢進型 DIC の合併を適切に診断する必要がある。そのためには、合成基質法による凝固因子活性測定、凝固因子製剤補充療法後の APTT クロスミキシング試験、各種分子マーカーの測定が重要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

I. 論文発表

英文

- 1) Yamada S, Asakura H, Kubo M, Sakai K, Miyamoto T, Matsumoto M: Distinguishing immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura from septic disseminated intravascular coagulation using plasma levels of haptoglobin and factor XIII activity. Res Pract Thromb Haemost. 2023; 7(2): 100076.
- 2) Arahata M, Asakura H, Morishita E, Minami S, Shimizu Y: Identification and prognostication of end-of-life state using a Japanese guideline-based diagnostic method: A diagnostic accuracy study. Int J Gen Med 16: 23-36, 2023.

- 3) Yamada S, Suga Y, Morishita E, Asakura H: Effect of anticoagulant/antifibrinolytic combination therapy on enhanced-fibrinolytic-type DIC in end-of-life stage solid tumor patients. *J Palliat Med* 26: 307-311, 2023
- 4) Yasaka M, Yokota H, Suzuki M, Asakura H, Yamane T, Ogi Y, Kimoto T, Nakayama D: Idarucizumab for Emergency Reversal of the Anticoagulant Effects of Dabigatran: Final Results of a Japanese Postmarketing Surveillance Study. *Cardiol Ther* 12: 723-740, 2023.
- 5) Miyakawa Y, Imada K, Ichikawa S, Uchiyama H, Ueda Y, Yonezawa A, Fujitani S, Ogawa Y, Matsushita T, Asakura H, Nishio K, Suzuki K, Hashimoto Y, Murakami H, Tahara S, Tanaka T, Matsumoto M: The efficacy and safety of caplacizumab in Japanese patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura: an open-label phase 2/3 study. *Int J Hematol* 117: 366-377, 2023.
- 6) Kaneda Y, Fukuno K, Minami H, Nonaka Y, Horinoue A, Kuroki Y, Osaki T, Souri M, Asakura H, Ichinose A: Autoimmune acquired coagulation factor V deficiency with hyperfibrinolytic disseminated intravascular coagulation. *Int J Lab Hematol* 46: 395-399, 2024.
- 7) Nishikage S, Fujisawa A, Endoh H, Suzuki T, Kanzawa M, Ishii S, Okano M, Nitta E, Yakushijin K, Asakura H, Nozu K, Katayama Y, Nitta R, Sakaguchi K: Amyloid deposition through endocytosis in vascular endothelial cells. *Exp Hematol* 129:104129, 2024.
- Practice 40 : 836-844, 2023.
- 6) 山田真也、朝倉英策：この症例から何を学ぶか（出血傾向の鑑別）。*Medical Practice* 40 : 958-963, 2023.
- 7) 朝倉英策：播種性血管内凝固。 *Medical Practice* 40 : 921-927, 2023.
- 8) 山田真也、朝倉英策：播種性血管内凝固（DIC）。 *薬局* 74: 1438-1445, 2023.
- 9) 山田真也、朝倉英策：COVID-19 における凝固線溶異常。 *薬局* 74: 1446-1449, 2023.
- 10) 朝倉英策：匠から学ぶ 血栓止血検査ガイド（TAT）。「検査と技術」51 巻 9 号・増大号 989-992, 2023.
- 11) 朝倉英策：匠から学ぶ 血栓止血検査ガイド（DIC）。「検査と技術」51 巻 9 号・増大号 1082-1087, 2023.
- 12) 山田真也、朝倉英策：VITT と凝固線溶異常・DIC。 *Thrombosis Medicine* 13:162-168, 2023.
- 13) 山田真也、朝倉英策：COVID-19 と凝固線溶検査。 *臨床検査* 67 : 964-971, 2023.
- 14) 朝倉英策、山田真也：血栓・止血関連検査の読み方。 *内科* 132: 705-711, 2023.
- 15) 朝倉英策：外来で遭遇しやすい播種性血管内凝固。 *日本医師会雑誌* 152: 1373-1376, 2024.
- 16) 朝倉英策：DIC の病態解析から新しい治療法への挑戦。 *日本検査血液学会雑誌* 25 : 68-79, 2024.
- 17) 朝倉英策：抗凝固療法とその中和のポイントを知る。 *医学のあゆみ* 288 : 999-1000, 2024.

II. 学会発表

1) 学会シンポジウム

- 1) 山田真也、朝倉英策：血管関連疾患における DIC。第 45 回日本血栓止血学会学術集会会長企画シンポジウム（北九州）2023. 6. 16.
- 2) 山田真也、朝倉英策：COVID-19 における凝固線溶検査の評価法。第 45 回日本血栓止血学会学術集会 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（北九州）2023. 6. 17.
- 3) 山田真也、朝倉英策：DIC 診療を支える血栓止血関連検査（DIC 治療薬の選択に有用な検査は何か？） 第 24 回日本検査血液学会学術集会（名古屋）日本検査血液学会/日本血栓止血学会ジョイントシンポジウム 2023. 7. 29.
- 4) 朝倉英策：大動脈瘤・血管奇形に合併した DIC に対する治療戦略。第 64 回日本脈管学会学術総会シンポジウム（横浜）2023. 10. 26.
- 5) 山田真也、古賀震、朝倉英策：血管異常。第 18 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）2024. 2. 17.

2) 学会講演

和文

- 1) 石坂真菜、遠藤俊祐、玉井亨、倉田多鶴子、寺崎靖、大田聡、石田陽一、朝倉英策、家子正裕、一瀬白帝：透析導入後に自己免疫性後天性凝固第Ⅴ因子欠乏症を発症し、脳出血を呈した血液透析患者の 1 例。 *日本透析医学会雑誌* 56(1):29~36, 2023.
- 2) 山田真也、朝倉英策：SARS-CoV-2 ワクチンと凝固線溶異常。 *日本検査血液学会雑誌* 24:11-23, 2023.
- 3) 山田真也、朝倉英策：COVID-19 における DIC の特徴—敗血症性 DIC との相違—。 *炎症と免疫* 31 : 41-47, 2023.
- 4) 山田真也、朝倉英策：領域別臨床検査データの診かた～凝固線溶系マーカー～臨床と研究 100 : 163-173, 2023.
- 5) 山田真也、朝倉英策：出血性疾患の医療面接・身体診察と臨床検査の進め方。 *Medical*

- 1) 朝倉英策：DIC の臨床。第 24 回日本検査血液学会学術集会 教育講演（名古屋） 2023. 7. 29.
- 2) 朝倉英策：血小板/凝固異常症の診断と治療。第 13 回若手臨床血液学セミナー（日本血液学会） 2023. 11. 25.
- 3) 朝倉英策：血栓症の予防と治療のいろは。市民公開講座 世界血栓症デー日本 2023 講演会（日本血栓止血学会） 2024. 1. 15.

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：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味に関する研究

研究分担者 家子 正裕 札幌保健医療大学 教授

研究要旨

今年度は、依頼症例 11 例中 6 例のみの解析できた。自己免疫性凝固第 V 因子欠乏症 (AiFVD) が 3 例、AiFVIII D 1 例、残り 2 例が血栓リスク因子であるループスアンチコアグラント (LA) 症例であった。AiFVD の 2 例が LA も合併していた。LA 合併 AiFVD では血栓症を呈する場合もあり、診断・治療方針決定に注意を要する。また、LA は臨床検査上、凝固第 V 因子 (FV) や FVIII などの見かけ上の活性低下やインヒビター偽陽性をもたらすため、AiFVD および AiFVIII D の真偽確認が重要である。AiFVD 2 症例では FV インヒビター力価 (Bethesda 法：中和抗体) は検出されなかったが、ELISA による抗 FV 抗体 (クリアランス抗体) が検出された。本研究で、ELISA 法による FV に対する自己抗体量の測定は、真の AiFVD の診断に有用であることを確認した。

対象となる症例では、インフォームドコンセントで患者および患者家族の同意を得て検
討試料を確保した。

A. 研究目的

本研究班に依頼のあった AiFVD および AiFVIII D 症例の解析を行い、LA 合併とその臨床所見上および検査所見上への影響を確認する。特に、LA 合併症例における診断および治療方針決定において、ELISA による抗 FV 抗体量の測定の有用性を検討する。

B. 研究方法

今年度、本研究班に検討依頼のあった AiFVD および AiFVIII D 症例について、FV 活性 (FV:C), FVIII:C, FV インヒビター力価 (FV-INH, Bethesda 法) および FVIII-INH を既存の方法で測定した。また、FV および FVIII に対する自己抗体 (aFV-Ab および aFVIII-Ab) を ELISA (Hyphen 社、France) で測定。LA 活性は dRVVT-LA (Gradipore LA, MBL 社) および APTT-LA (StacLOT-LA, 富士レビオ社) で測定した。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。

(倫理面への配慮)

本研究は、鹿児島大学および本学、北海道医療大学での倫理委員会で承認を得た。また、

C. 研究結果

令和 5 年度は、AiFVD および AiFVIII D 疑い 11 例の依頼があり、うち 6 例が解析できた。残り 5 例は測定 kit の確保ができなかったため、令和 6 年度で検討予定である。検討できた 6 例中、3 例が AiFVD、1 例が AiFVIII D および残り 2 例は LA 症例であった。AiFVD のうち 2 例が LA 合併例であった。AiFVD 症例 (平均 63 歳、全員男性) では FV:C <3%~24% であった。FV-INH (Bethesda 法) は 1 例で検出 (116.2BU) されたが、他 2 例では検出されなかった。aFV-Ab-IgG は全ての症例で検出され、FV-INH 陽性症例で 646.6AU/mL と強陽性で、FV-INH が検出陰性症例では 64.5, 104.8 AU/mL であった。FV-INH 陽性 1 症例と陰性 1 症例では LA も陽性であった。一方、AiFVIII D 症例 (59 歳、女性) では FVIII:C 5%, FVIII-INH 3.3BU/mL で、LA 陰性だったが aFVIII-Ab-IgG は 218 AU/mL であっ

た。また、2 例の LA 症例は、FVIII:C 16~38%、FVIII-INH 3.3~4.0BU/mL であり「AHA 疑い」での精査依頼があった。しかし、aFVIII-Ab は検出されず、LA が強陽性であった。

D. 考察

1. LA と AiFVD・AHA

LA 陽性者では、FV:C, FVIII:C 偽低下、FV-INH, FVIII-INH 偽陽性になることはよく知られているが、今年度私どもに依頼があった LA 2 症例のように、いまだに誤診されているケースが少なくない。自己免疫性凝固因子インヒビター症例 (AiCFD) の正しい診断には抗凝固因子自己抗体 (IgG のみならず IgM クラス抗体) の測定は診断に有用であることを再確認した。また、LA 合併 AiFVD および AiFVIII D 症例も少なくなく、文献上 (参考文献 1) 多数の症例が報告されており、今回我々の検討でも確認できた。これらの症例では、臨床症状に血栓症をきたすことも少なくなく (27.3~31.3%)、診断および治療決定に十分留意することが重要であると思われる。

2. AiFVD 診断における抗 FV 抗体測定の重要性

興味深いことに、今回検討した 3 例の AiFVD のうち 2 例が精査時に FV-INH が検出されなかった。FV 活性低下は間違いなかったため、ELISA による FV 自己抗体量の測定が行われ、2 例ともクリアランス抗体としての抗 FV 抗体が確認された。もし、抗 FV 抗体量の測定がなければ、FV 欠乏症として処理され、治療法が異なっていた可能性がある。AiFVIII D と比べ、AiFVD ではクリアランス抗体症例が多い印象がある。ELISA などの免疫学的手法による FV 自己抗体量の測定が保険収載下でルーチンに行われるべき必要性を痛感している。

E. 結論

LA 合併 AiFVD または AiFVIII D は少なくなく、また bethesda 法によるインヒビター力価の検出では不十分な症例が増えている。ELISA 法による抗凝固因子抗体量の測定は AiFVD や AiFVIII D の診断、治療効果判定に必須であることを確認した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

I. 論文発表

英文

- 1) Ieko M, Ohmura K, Naito S, Yoshida M, Sasaki H, Satoh T, Sugawara N, Takahashi N, Ichinose A. Considerations for simultaneous detection of autoantibodies to coagulation factor and lupus anticoagulant. Explor Immunol. 2023; 3: 286-299.

II. 学会発表

- 1) 家子正裕. 自己免疫性凝固第 V 因子欠乏症とループスアンチコアグラント. 第 18 回日本血栓止血学会学術標準委員会シンポジウム. 東京. 2024 (2/17).

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