

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08823

研究課題名(和文) トロンビン増幅経路に關与する凝固因子の相互作用に着目した凝固因子濃縮製剤の開発

研究課題名(英文) The development of coagulation factor concentrate based on thrombin burst interaction between coagulation factors

研究代表者

小川 覚 (Ogawa, Satoru)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：50636131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：凝固因子の複合的欠乏が本態となる希釈性凝固障害に対しては、新鮮凍結血漿の投与では生体のトロンビン生成を十分に改善することが難しい。今回、凝固因子混合濃縮製剤である第7因子・第10因子複合体製剤(FVII/FX)を用いて希釈性凝固障害における止血効果を評価した。血液希釈モデルにおいて十分なFXが存在していることで、効率的なFVIIによるトロンビン生成が可能であった。FVIIa/FXの遺伝子組み換え活性型第VII因子製剤に対する優位性は、血友病患者における同製剤の臨床使用濃度の1/4から1/8程度の低用量でも明らかで、FVIIa/FXは希釈性凝固障害時の有用な止血製剤となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血液希釈下において十分な第X因子が存在することで効率的な第VII因子によるトロンビン生成が可能であった。遺伝子組み換え活性型FVII因子製剤に対するFVIIa/FXの優位性は、血友病患者における活性型FVII製剤における臨床使用濃度に比較しても低い濃度でも明らかであった。このことは、凝固カスケード上で主要な凝固因子を少量で組み合わせる事で、不必要な酵素誘導に起因した血栓性合併症を低下できることを示唆している。今後、第II因子、第V因子、第VII因子、第X因子に着目して、新規混合物を作成することで、新たな凝固因子濃縮製剤の開発の足がかりとしたい。

研究成果の概要(英文)：After severe hemodilution, the decrease of thrombin generation is caused by the multiple loss of procoagulant factors. We hypothesized that the combination of FX with FVIIa (FVIIa/FX) could improve prohemostatic activity of recombinant activated factor FVII (FVIIa) in dilutional coagulopathy. In diluted plasma, the addition of either FVIIa/FX or rFVIIa shortened the lag time and increased the peak thrombin generation (TG), but FVIIa/FX at 0.35 µg/mL was more effective than rFVIIa at 6.4 µg/mL. In thromboelastometry, FVIIa/FX restored the clotting time most efficiently. FVIIa/FX facilitates the initiation of TG more efficiently than rFVIIa alone in dilutional coagulopathy. The combination of FX may reduce the requirement of FVIIa in cardiac surgery.

研究分野：血栓止血学

キーワード：血液凝固 止血異常 輸血 血栓症 凝固因子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

人工心肺を用いた心臓手術では、血液希釈に伴う複合凝固因子欠乏が契機となり、難治性の止血異常が発生する。そのため、人工心肺離脱後には新鮮凍結血漿を用いた凝固因子補充療法を必要とする事も多いが、長時間に及ぶ人工心肺症例では、高度のトロンビン生成障害が原因で、血漿投与に治療抵抗性である事も稀ではない。これに対して、私たちは、遺伝子組み換え活性型第VII因子製剤 (recombinant activated factor VII concentrate: rFVIIa) やプロトロンビン複合体製剤 (prothrombin complex concentrates: PCCs) などの凝固因子濃縮製剤がトロンビン生成を効率的に増加させ [Ogawa, et al. *Br J Anaesth.* 2013; 111: 1013-23.], 同種血製剤の使用量を削減可能な事を報告してきた [Tanaka, Ogawa, et al. *Transfusion.* 2013: 53, 920-1.]. その一方、これらの投与で生じた第VII因子の極めて高い酵素誘導は、心臓手術において動脈性の血栓性合併症を有意に増加させることから [Ogawa, et al. *J Anesth* 2012; 26: 9-19.], 現在では適正使用への警鐘が鳴らされている。血友病患者のバイパス療法として、2種類の凝固因子を混合させた凝固因子濃縮製剤、第7因子・第10因子複合体製剤 (FVII/FX Mixture) が本邦にて開発された。我々は、rFVIIa に代表される単一での凝固因子補充に比較して、凝固因子を複合的に補充するアプローチが、止血効果を損なわずに、血栓性有害事象を減少させると仮説した。

### 2. 研究の目的

心臓手術の止血困難時において、凝固因子濃縮製剤の適用は同種血製剤の削減効果が高い。また、私たちは、適切なタイミングで凝固障害に介入する事により、患者アウトカムの改善に繋がることを前向き臨床研究にて報告してきた [Nakayama, Ogawa, et al. *Br J Anaesth.* 2015; 114. 91-102.]. 凝固因子補充の方法に関しては、血友病治療で認められる様な、rF a などの酵素活性体を単独かつ高濃度で適用するよりも、凝固カスケード上の基質や補酵素を組みあせた止血アプローチを検討する方が、全般に凝固因子が欠乏する希釈性凝固障害では理にかなっている。本研究では、現在までに評価されていない凝固因子混合物をトロンビン生成試験や血液灌流実験を用いてその効果を評価し、外科手術時の止血異常に適用可能な、あたらしい凝固因子濃縮製剤の可能性を探索した。

### 3. 研究の方法

健常人12名から得られた乏血小板血漿に、0.9%生理食塩液を加えることで (V:V=1:1)、希釈性凝固障害モデルを作成した。これに、rFVIIa、FVII/FX Mixture (混合比 1:10) を添加調整した治療群を作成した。作成した各検体に対して、トロンビン生成試験 (TGA)、トロンボエラストメトリーの測定を実施した。

### 4. 研究成果

血友病患者における rFVIIa、および FVIIa/FX の臨床使用濃度は、それぞれ、2.1 - 6.4 µg/ml、1.4 - 2.8 µg/ml 程度である。作成した血液希釈モデルに対して rFVIIa (1.4, 2.8, 6.4 µg/ml)、FVIIa/FX (0.35, 0.7, 1.4 µg/ml) を添加した治療モデルを作成した。FVIIa/FX は各濃度において TGA の潜時を有意に短縮させ、またトロンビン生成量のピーク値を増加させた。一方で、FVIIa/FX の 0.35 µg/ml は、rFVIIa 6.4 µg/ml に比較して、潜時を有意に短縮させ、ピーク値

も増加させた。トロンボエラストメトリーでは、FVIIa/FX 0.35 µg/ml は、rFVIIa 6.4 µg/ml と比較して潜時を有意に短縮させた。FVIIa/FX は用量依存性にトロンボエラストメトリーの潜時が短くなる傾向を示した。

血液希釈下において十分な FX が存在することで効率的な FVII によるトロンビン生成が可能であった。FVIIa/FX の優位性は血友病患者における臨床使用濃度の 1/4 から 1/8 程の低い濃度であっても明らかであった。今後、第 II 因子、第 V 因子、第 VII 因子、第 X 因子に着目して、新規混合物を作成することで、新たな凝固因子濃縮製剤の開発の足がかりとしたい。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 M. Judd, E. Strauss, S. Hasan, E. Abuelkasem, J. Li, S. Deshpande, M.A. Mazzeffi, Satoru Ogawa, KA. Tanaka	4. 巻 34
2. 論文標題 Clotting time results are not interchangeable between EXTEM and FIBTEM on rotational thromboelastometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cardiothorac Vasc Anesth	6. 最初と最後の頁 1467-1473
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.jvca.2019.12.030.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shusuke Takeshita, Kenichi A. Tanaka, Teiji Sawa, Masashi Sanda, Toshiki Mizobe, Satoru Ogawa	4. 巻 130
2. 論文標題 Whole Blood Point-of-care Testing for Incomplete Reversal with Idarucizumab in Supratherapeutic Dabigatran	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anesthesia & Analgesia	6. 最初と最後の頁 535-541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1213/ANE.0000000000004419.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shusuke Takeshita, Satoru Ogawa, Yoshinobu Nakayama, Nobuhiro Mukai, Yasufumi Nakajima, Toshiki Mizobe, Teiji Sawa, Kenichi A. Tanaka	4. 巻 129
2. 論文標題 Prohemostatic Activity of Factor X in combination with Activated Factor VII in Dilutional Coagulopathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anesthesia & Analgesia	6. 最初と最後の頁 339-345
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1213/ANE.0000000000003858.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 小川覚, 竹下秀祐	4. 巻 38
2. 論文標題 外科周術期管理に関連した血小板・血液凝固領域における最新の知見	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本臨床麻酔誌	6. 最初と最後の頁 519-530
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Satoru Ogawa
2. 発表標題 Point-of-care Coagulation Monitoring in Cardiac Surgery
3. 学会等名 The 96th Annual Scientific Meeting of the Korean Society of Anesthesiologists, Seoul, South Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Satoru Ogawa
2. 発表標題 Point-of-care Coagulation Monitoring in Cardiovascular Surgery
3. 学会等名 The 17th International Congress of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, Seoul, South Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 小川覚
2. 発表標題 大量出血症例に対する血液製剤の適正な使用ガイドラインを考える。「フィブリノゲン製剤・クリオプレシピテートの使用について」
3. 学会等名 第24回日本心臓血管麻酔学会 学術集会、京都市 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 小川覚
2. 発表標題 経口抗凝固薬に対する拮抗治療の最前線
3. 学会等名 第46回日本集中治療医学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 小川 寛
2. 発表標題 術中大量出血と凝固因子補充療法
3. 学会等名 臨床検査技師会輸血検査講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年～2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関