

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08388

研究課題名(和文) 活性値の乖離に着目した血友病性関節症の病態解明とアンメットニーズの開拓

研究課題名(英文) Elucidation of the pathogenesis of hemophilic arthropathy and development of unmet needs by focusing on the divergence of activity levels.

研究代表者

鈴木 伸明 (Suzuki, Nobuaki)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70637686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：非重症血友病A61症例の解析を行い、そのうち16症例で凝固一段法(OSA)と合成基質法(CSA)での活性値に2倍以上の乖離を認めた。これらの乖離症例におけるトロンビン生成能の特徴は本研究では明らかにできなかった。また、どちらの活性測定法が臨床的止血能と関係性が高いのかは明らかではなかった。ただし、客観的な比較データとして整えることは出来ていないが、OSAとCSAのどちらが高い、あるいは低い値を呈するにしても、活性乖離のない同程度の活性値の血友病A患者の出血症状、あるいは関節症の進行度と比較した場合、低い方の活性値と相関性が強いことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CSAが保険収載されるまでは、OSAでの測定しか実施されず、OSAでの活性値のみで評価されてきた。しかし、OSAの活性値が高くとも、CSAの活性値が低い症例ではOSA活性値が同程度の症例よりも出血頻度が高い傾向があり、CSAでも測定評価する意義があると考えられた。また本研究で、活性乖離症例が非重症症例の中で30%近く占めていることが明らかになったことから、活性乖離症例は稀な病態ではないことが明らかになった。今後はこのような症例があることをアナウンスしていくことにより、血友病A患者がより正しく病態評価され、適切な治療を受けられる可能性がある点で診療レベル向上の点で意義がある。

研究成果の概要(英文)：We analyzed 61 cases of nonsevere hemophilia A. In 16 of these cases, we found a more than 2-fold dissociation between the activity values by the one-stage coagulation method (OSA) and the synthetic substrate method (CSA). The characteristics of thrombin generation potential in these divergent cases could not be determined in this study. It was also not clear which activity assay was more relevant to clinical hemostatic capacity. However, although we have not been able to establish objective comparative data, our results suggest that higher or lower values of OSA or CSA are strongly correlated with lower values of activity when compared to bleeding symptoms or progression of arthropathy in hemophilia A patients with similar activity levels without activity discrepancies.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：血液学

キーワード：血友病A 遺伝子解析 血液凝固検査

1. 研究開始当初の背景

血友病の凝固因子活性測定は従来、凝固一段法(one stage assay:OSA)という APTT をベースにした方法にて測定され、その値をもって重症度分類されてきた。近年、OSA に加えて合成基質法(chromogenic substrate assay:CSA)という、発色性合成基質を用いた測定法が保険収載された。

前研究において、当院を受診する非重症血友病 A 患者の中で、関節内出血を未発症にもかかわらず、サイレントに血友病性関節症を発症した患者を集積調査し、その特徴について検討した所、CSA の活性値が OSA の活性値よりも有意に低いという特徴がみられた。

血友病の因子活性に関して 2 つの測定法が保険収載されたものの、それぞれの測定法が持つ意義については明確にされていない。前研究の結果はそれに対するヒントと考えられた。また近年では血友病に対して使用される凝固因子製剤は凝固因子に様々な装飾を施すことにより薬物動態の改善を得ている。これらの製剤では恐らくはその装飾が活性測定に影響を与え、CSA と OSA で値が大きく乖離するものがある。そして、そのような性質を有する薬剤は増加してきている。

このような治療環境的背景からも OSA と CSA のそれぞれの活性測定の性質と値が与える臨床的意義を明らかにする必要があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、まずは非重症血友病患者における 2 つの活性測定法により活性値の解離を示す症例の発症頻度を明らかにすること。次にそれらの乖離症例における臨床的出血症状の特徴と血友病性関節症の発症に関する特徴を明らかにすること。そして、血友病の原因凝固因子である FVIII と FIX はトロンビン生成に寄与する因子であるが、そのトロンビン生成能という最終産物生成からの視点で見た活性乖離の意味について明らかにすることである。

3. 研究の方法

非重症血友病患者に対して、研究同意を得たのち、2 つの活性測定法で活性測定するとともに、遺伝子解析により血友病原因バリエーションを同定する。トロンビン生成能評価として、組織因子で反応開始する検査系のほかに、活性化血液凝固第 XI 因子(FXIa)刺激によるトロンビン生成試験(TGA)をセットアップし、トロンビン生成能における特性の違いを評価する。臨床的評価として、出血イベント数を調査し、年間出血回数として換算評価。血友病性関節症の評価として、レントゲン評価に加えて関節エコーを実施し、血友病性関節症のスコアリングシステムとして知られる HEAD US により評価を実施する。

4. 研究成果

当初は血友病 A と B を研究対象としていたが、血友病 B では活性乖離を呈する症例が見つからず、血友病 A のみを対象として研究を進めることとした。

非重症血友病 A 55 症例の解析を行い、そのうち活性値ベースでは 16 症例で OSA と CSA との活性値に 2 倍以上の解離を認めた。海外からの既報では、このような活性乖離症例は非重

症症例の中で 20-30%程度存在すると報告されており、日本でも同程度の頻度で発症していると考えられ、本邦においても活性乖離症例は稀な病態ではないことが明らかになった。また、既報からこのような性質を示すのは特定の病因バリエーションであるとされているが、同じバリエーションであっても活性乖離を示す症例と示さない症例があり、不思議な点であった。今後の検討課題の一つにあげられる。

さらに血友病 B 症例では解離症例がないことは新たな知見である。臨床的には大きな問題ではないが、FIX のタンパク性質の特性と関わりがあるのかもしれない。

これらの乖離症例におけるトロンビン生成能の特徴は本研究では明らかにできなかった。また、どちらの活性測定法が臨床的止血能と関係性が高いのかを客観的に示すほどのデータが得られなかった。これを明らかにするには条件設定を整えた前向き試験が必要である。傾向としては、OSA と CSA のどちらが高い、あるいは低い値を呈するにしても、活性乖離のない同程度の症例と比較してみた場合、低い方の活性値が一致する症例と臨床的出血症状、および関節症の進行は同等であることが伺われた。

本研究を遂行する中で、FVIII 活性の測定に関する知見が副次的成果として得られた。それは OSA の活性測定において、使用する APTT 試薬以外に欠乏血漿の種類、ロットが大きく活性値に関与するという点である。今回、この知見を確かめるための派生的研究として、4 種類の APTT 試薬と 3 種類の FVIII 欠乏血漿を含む合計 12 種類の試薬の組み合わせを用い、OSA における FVIII 活性のばらつきについて検討した。測定検体としては FVIII 欠乏血漿に 9 種類の FVIII 製剤をスパイク添加した血漿を使用した。結果として、OSA の活性値は使用する APTT 試薬に由来する差異に加えて、FVIII 欠乏血漿に依存する差異変動が認められた。また一部の製剤では特定の APTT 試薬と FVIII 欠乏血漿の組み合わせで得られる結果がかなりばらつくことが確認され、回収率にも変動が認められた。複雑なことにこの変動は FVIII 欠乏血漿のロットによっても異なることから、FVIII 欠乏血漿における FIX の低下による接触活性化の障害に関連している可能性も考えられた。最終的な結論としては、APTT 試薬に加えて、OSA に使用される FVIII 欠乏血漿のばらつきも FVIII 活性の結果に影響を及ぼす可能性がある。そのため、OSA に使用される APTT 試薬と同様に FVIII 欠乏血漿も慎重に選択されるべきであり、特にロット変更をした場合には注意が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Atsuo Suzuki, Nobuaki Suzuki, Takeshi Kanematsu, Shuichi Okamoto, Naruko Suzuki, Shogo Tamura, Ryosuke Kikuchi, Akira Katsumi, Tetsuhito Kojima, Tadashi Matsushita	4. 巻 -
2. 論文標題 Variability in combinations of APTT reagent and substrate plasma for a one-stage clotting assay to measure factor VIII products	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Int J Lab Hematol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ijlh.14258.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 鈴木伸明	4. 巻 24
2. 論文標題 血友病診療における検査の役割	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本検査血液学会雑誌	6. 最初と最後の頁 481-487
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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木伸明	
2. 発表標題 血友病診療における検査の役割	
3. 学会等名 第24回日本検査血液学会学術集会（招待講演）	
4. 発表年 2023年	

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鈴木伸明	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メディカルレビュー社	5. 総ページ数 133
3. 書名 血友病性関節症(年間出血回数)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

血栓止血研究コンソーシアム
https://j-threc.jp/

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
研究分担者	高橋 伸典 (takahashi nobunori) (20570196)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	
研究分担者	田村 彰吾 (tamura shogo) (60722626)	北海道大学・保健科学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	鈴木 敦夫 (suzuki atsuo) (80835398)	名古屋大学・医学部附属病院・主任臨床検査技師 (13901)	
研究分担者	寺部 健哉 (terabe kenya) (10816870)	名古屋大学・医学部附属病院・病院助教 (13901)	

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
---------	---------