Inhibitor 保有血友病患者に対する FEIBA の 使用経験と試験管内観察

福武 勝博 藤巻 道男 池松正次郎
羽田 雅夫 福武 勝幸

東京医科大学臨床病理学教室

(昭和56年7月31日受付)

IN VITRO OBSERVATIONS AND CLINICAL EXPERIENCES WITH FEIBA FOR BYPASSING THERAPY TO HEMOPHILIA WITH INHIBITORS

Katsuhiko Fukutake, Michio Fujimaki, Shojiro Ikematsu, Masao Hada and
Katsuyuki Fukutake

Department of Clinical Pathology, Tokyo Medical College

An in vitro analysis and clinical experiences with FEIBA as an agent for bypassing therapy to hemophilic patients with inhibitors are performed and obtained the following results;

1. The time course of generation of Xa and IIa in plasma of hemophilia with or without inhibitors are measured by the use of chromogenic synthetic substrates, S-2222 and S-2238, after the addition of Ancrod in order to defibrinate the plasma. Although the generation of amyolytic activities in the cases with hemophilia decreases remarkably in comparison with normal plasma, the amyolytic activities can be normalized by the addition of FEIBA into the hemophilic plasma with inhibitor.

2. When the hemophilic patients with inhibitors are treated by the drip infusion of FEIBA, the clotting time of PTT are apparently shorten in parallel with the increase of Xa and IIa generations.

3. When antiserum of factor IX or factor VII is added into the mixture of FEIBA and phospholipids suspended in calcium solution, the inhibitory effect of anti-factor VII serum is more stronger than that of anti-factor IX serum on the IIa generation and the former shows marked inhibitory action indicating dose-dependent reaction. Therefore, it is suggested that factor VII in FEIBA might play an important role in the bypassing therapy.

緒 言

Ⅷ因子、またはⅨ因子に対する inhibitor の発生は、血友病の治療に重大な支障を来し、不可能ではないにしても夫々の欠乏因子の補充療法を困難なものにしている。inhibitor の出現頻度は報告者によって種々であって3%から20%台に及んでおり、Weiss (1975)¹⁾によると平均して血友病Aでは8.1%、血友病Bでは7.1%とされている。我が国においても、神谷 (1978)²⁾は1971～1975年の全国集計から、血友病Aで2.3%、血友病B

で2.5%と推察しており、第Ⅷ因子濃縮製剤の使用に伴って発生頻度が約2倍に増加したことを注目している。また福井ら (1980)³⁾は奈良医科大学小児科を受診した1953～1979年間の血友病A患者304例中で18例に第Ⅷ因子抑制物質の発生を認め、頻度は5.9%であったと報告している。

inhibitor の発生は国際血友病センターの調査によっても重症例に発生することが多いが軽症例 (Rosenthal, 1957)⁴⁾、特に補充療法 replacement therapy の施行中の軽症例 (Beck 等 1969)⁵⁾；

Crowell, 1970⁹⁾; Robboy 等1970⁷⁾)にも発生する可能性があることが指摘されている。このような場合に補充療法中止によって inhibitor が消失するとも言われている。しかし、補充療法を再開すると著明な inhibitor 力価の急上昇が見られることも知られている (Strauss and Merler, 1967⁸⁾; Lusher ら, 1968⁹⁾)。そしてこの様な抗体様の inhibitor が発生してⅧ因子凝固活性を阻害する様式を Biggs ら (1972)¹⁰⁾は抗原抗体複合体が二次反応によって複合体を形成するためと解している。

何れにしても血友病患者に inhibitor が発生すると、通常の補充療法が困難になることは、容易に予想される。この困難さを解消する目的で、先ず inhibitor が免疫学的機序によって発生するものと考えて、免疫抑制剤の投与が考えられ、ステロイド (Bidewell, 1966¹¹⁾; Sherman ら, 1969¹²⁾), azathioprine, 6-mercaptopurine (Schulman ら1970)¹³⁾が用いられたが何れも無効であった。また cyclophosphamide (Nilsson, 1974¹⁴⁾)は low responder に対してはやや、有効な成績も得られたが、high responder については無効であった。

一方、Lazerson (1971)¹⁵⁾は、inhibitor の発生は同種免疫によるものと考え、同一家族からのⅧ因子製剤を投与すれば、抗体発生は免れるであろうということを示唆したが、Pool (1971)¹⁶⁾はヒトに生じたⅧ因子抗体は家族からのⅧ因子とも中和反応を示すことを認めている。

この様に inhibitor の発生に対して免疫を抑制するような方向での試みは、現状では成功していないし、inhibitor 発生例に補充療法を強行することは、救急療法としては必要な手段であるかもしれないが、一般的には抗体価の上昇を来す危険もあり、low responder を high responder に追いやる可能性も考えられるのでヒトⅧ因子製剤による補充療法以外の治療法の開発が望まれている。

そして、同種抗体による作用を避ける治療法として、ヒトⅧ因子の代りに動物、特に牛と豚のⅧ因子を投与する方法が既に Macfarlane ら (1957)¹⁷⁾によって試みられたが、異種蛋白によ

る免疫反応の出現によって一般的な治療法としては普及しなかった。一方、凝血過程の上で血友病に欠乏しているⅧ因子、Ⅸ因子の作用点と関係のない因子、例えば活性Ⅹ因子、活性Ⅸ因子などを含む製剤を投与することによってⅧ因子、Ⅸ因子を bypass して止血効果を高めることが、Feteke ら (1972)¹⁸⁾, Kurczynski ら (1973)¹⁹⁾などによって試みられた。これはプロトロンビン複合体製剤によるもので血友病Bの補充療法などに広く用いられるようになったが、その後、副作用として活性型凝血因子が含有されているためと思われる DIC 様の合併症が報告されるに至った。しかし、一方ではこの活性型凝血因子の存在を逆用して inhibitor を持つ血友病Aの治療として、即ち inhibitor の作用を避けて通る治療法としての bypassing therapy にプロトロンビン複合体製剤が用いられた (Sonoda ら, 1976²⁰⁾; Allain ら, 1975²¹⁾; Yolken ら, 1978²²⁾; Mannucci ら, 1979²³⁾; White ら, 1979²⁴⁾; Seligsohn ら, 1979²⁵⁾; Hoots ら1980²⁶⁾; Aronstam ら, 1980²⁷⁾; Charles ら, 1980²⁸⁾)。

この種の活性型の凝血因子を含む製剤としては、最近、FEIBA (イムノ社製)、及び Autoplex (ハイランド社製)が作られ、バイパス療法に用いられている。

FEIBA の臨床的使用経験については既に English ら (1975)²⁹⁾, Pollock ら (1976)³⁰⁾及び Stenbjerg ら (1978)³¹⁾などの報告もあるが、今回我々は FEIBA を inhibitor を伴う血友病A、及び血友病Bの症例に投与する機会を得たので、その成績と共に若干の試験管内実験の成績を添えて報告する。

研究方法

1. ベセスダ単位とⅧ因子製剤投与の回収率:

ベセスダ単位は Kasper ら (1975)³²⁾の方法により測定した。回収率はⅧ因子製剤輸注前のヘマトクリット値から循環血漿量を求め、これを用いて机上計算により上昇予測値を算出し、これに対する輸注30分後の実測活性上昇値の割合(%)を求めた。

2. 活性型凝血因子 の測定：

① XIIa 因子の測定：試料中のXIIa 因子により正常血漿中のプレカリクレインがカリクレインに転換されるので、生成カリクレイン量よりXIIa 因子量に換算した。カリクレイン量は発色性合成ペプチド基質 S-2302から酵素反応で遊離されたpNA を日立333比色計で37℃ 405nm にて初速度法にて測定した。検量線は活性化剤（セフォテスト）で正常血漿 1ml 中のXII因子を十分活性化させた時のカリクレイン量をXII因子 1U/ml として作製した。

② Xa 因子 の測定：試料中のXa 因子により、発色性合成基質 S-2222から解離される pNA をギルフォード社の比色計で37℃ 405nm にて初速度計により 4A/min, を測定し、正常血漿 1ml 中のX因子を RVV により十分活性化して得られたXa 因子量を 1U/ml として換算した。

③ IXa 因子測定法：IXa 因子は、VIII因子、Ca²⁺、リン脂質と複合体を形成してX因子をXa 因子に転換させるので、十分量のX因子、VIII因子、リン脂質、及び Ca²⁺ の存在下で、検体中のIXa 因子によって一定時間内に新たに転換されたXa 因子を発色性合成基質 S-2222で測定すれば試料中のIXa 活性に換算することができる。FEIBA 中には十分量のX因子を含むのでVIII因子として、VIII因子製剤10 μ l (VIII因子量26単位/ml)、燐脂質80 μ l (1mg/ml)、1/5M CaCl₂ 20 μ l を混和し、37℃ 5分間反応させた後、Xa 因子量を測定し、既存のXa 因子量を差し引いて、IXa 因子量に換算した。

④ VIIa 因子測定法：試料50 μ l を緩衝液1200 μ l で希釈し、この希釈試料400 μ l に0.5M CaCl₂ 25 μ l を添加し、発色性合成基質S-2222でXa 因子活性を測定した。即ち、VIII因子を含有しない試料中のVIIa 因子が Ca²⁺ の存在下で、試料中のX因子をXa 因子に転換するので、既存Xa 因子量を差し引いて、VIIa 因子量に換算した。

⑤ IIa 因子の測定：試料中に存在するトロンビンにより、発色性合成基質 S-2238から遊離される pNA をエンドポイント法にて測定し、トロン

ビン量に換算した。

3. 凝血因子の免疫学的測定：

II, VII, X因子を Laurell 法（一元免疫電気泳動）により測定し、正常プール血漿 1ml 中の各因子量を1単位とした。

4. 凝血因子の凝固学的測定：

II因子、V因子、VII因子、及びIX因子、VIII因子、IX因子の各々の欠乏血漿を用いて、Hardisty 1段法により測定した。

5. 凝血阻止物質の測定：

α_1 -アンチトリプシン、 α_2 -マクログロブリン、 α_2 -プラスミンインヒビター、アンチトロンビンIII、C1 イnakチベーターを、single radial immunodiffusion 法により測定した。

6. FEIBA による in vitro のバイパス効果の観察：

血友病A (Bethesda 0U), inhibitor 保存血友病A (Bethesda 12U), 血友病B (Bethesda 0U), inhibitor 保存血友病B (Bethesda 43U) の患者血漿及び、正常者血漿に、各々 FEIBA, 無添加, 0.025U/ml, 0.05U/ml, 0.25U/ml, 0.5U/ml, 2.5U/ml, 25U/ml 添加の状態を作り、PTT 法により、その補正効果を凝固時間の変動から観察した。

7. in vitro における正常者、血友病AおよびB患者血漿のXa 及びIIa 生成経過の観察：

表1のごとく、被検血漿500 μ l にAncrod (107U/ml) 5 μ l を加え、室温にて20分間放置後、脱フィブリノゲンを行い、その上清100 μ l に各製剤 5 μ l を加え30分間37℃にて保温後、APTT 試薬（アクチン）100 μ l を加え、さらに3分間保温し、pH 8.3トリス塩酸緩衝液1,000 μ l、発色性合成基質Xa 測定用として、S-2222 (2mmol/ml) 100 μ l、IIa の測定用として、S-2238 (2mmol/ml) 100 μ l を加え、さらに0.025M 塩化カルシウム液 200 μ l の添加により、反応を開始させ、反応液を37℃に保ちながら405nm で吸光度の変化を経時的に測定した。

8. FEIBA の凝血促進効果への抗血清の影響：

表 1
M E T H O D

1.25単位/ml の FEIBA 100μl に抗ヒトIX因子ウサギ血清 4U/ml 及び 8U/ml, 抗ヒトVII因子ウサギ血清 2U/ml 及び 4U/ml を加え, 30分間, 37°Cにて加温後, 上記の方法にてトロンビンの生成経過を観察し, 抗ヒトVIII因子ウサギ血清の相当量をブランクとして, その測定値を差引いて, 本実験の測定値とした。

研究成績

1. ベセスダ単位とVIII因子製剤投与の回収率

血友病A患者の69症例についてVIII因子 inhibitor を Bethesda 法で測定し, さらにVIII因子製剤の輸注前後におけるVIII因子凝血活性を測定して, 輸注時におけるVIII因子凝血活性の回収率, 即ち輸注時実測値と計算上の期待値の比を算出した。

ベセスダ0.5単位未満の52症例 では回収率の平均は88.3±37.1%であったが, ベセスダ0.5単位以上1.0単位未満の12症例 では回収率75.1±43.0%で, ベセスダ1.0単位以上1.5単位未満の5症例 では, 回収率は30.0±23.5%であった。またベセスダ1.55単位の1症例では回収率10%以下であった (表2)。

表2 Relationship between Bethesda units and recovery of F. VIII infused in Hemophilia A

Bethesda units	unumber	Recovery
0≤B<0.5	52	88.3±37.1%
0.5≤B<1.0	12	75.1±43.0%
1.0≤B<1.5	5	30.0±23.5%

$$\text{Expected } (\%) = \frac{\text{F. VIII injected (U)}}{\text{BW (kg)} \times \frac{1}{13} \left(1 - \frac{\text{Ht}}{100}\right) \times 1000} \times 100$$
$$\text{Recovery } (\%) = \frac{\text{measured F. VIII increase}}{\text{Expected F. VIII increase}} \times 100$$

2. FEIBA 製剤中の凝血因子と阻止因子

FEIBA を inhibitor を伴う血友病症例のバイパス療法として用いる場合には, 製剤中に含まれる凝血因子, 特に活性型凝血因子と阻止因子の分布について知る必要があるであろう。

正常プール血漿を十分に活性化した際に血漿1ml 中に含まれる活性型凝血因子量を1単位と記載すると, 指定通りに溶解した FEIBA 中に, XIIa 因子は, 0.26U/ml, Xa 因子は0.20U/ml, IXa 因子は, 0.10U/ml, VIIa 因子は0.20U/ml また II a 因子は0.19NIHU/ml が存在していた。

FEIBA 中のII因子, IX因子, 及びVIII因子を免疫学的に Laurell 法で測定した所, 正常プール血漿/ml 中の因子量を1単位とすると, II 因子は51.20U/ml, IX因子は51.84U/ml であったが, VIII因子 (VIII R : AG) は全く認められなかった。また, II 因子, V因子, VII+X因子, VIII因子, IX因子を各々の欠乏血漿を用いて凝血学的に Hardisty 1 段法で測定すると, 活性型因子の混在の影響を受けて, 免疫学的測定値より明らかに高い測定値が得られた。即ち, II 因子は620U/ml, V因子は38U/ml, VII+X因子は115U/ml, IX因子は960U/ml であり, VIII因子 (VIII R : AG) は免疫学的には認められないのにも拘らず, 23U/ml の凝固活性値が得られた。

また, FEIBA 中の凝血阻害因子を一元放射免疫拡散法で測定すると, C₁ INA が0.2mg/ml に存在するのみであって, α₁AT, α₂M, α₂PI, AT III は何れもその存在が認められなかった。

3. FEIBA による in vitro バイパス効果

血友病A患者のうち inhibitor 保有者（ベセスダ12単位）と、非保有者について、試験管内での FEIB 添加による補正効果を PTT 法によって観察した。

Fig. 1 に示すように、FEIBA 添加量を増すに従って凝固時間は短縮して、終濃度 FEIBA 2.5 および25単位の添加範囲では、inhibitor の有無に拘らず、殆んど正常血漿の凝固時間と同時間を示すに至っている。

Fig. 1 In vitro Effect of FEIBA on Hemophilia A Plasma with Inhibitor

また、血友病Bについても inhibitor 保有症例（ベセスダ43単位）と非保有症例の血漿に対して FEIBA を添加して、補正効果を PTT 法で観察すると、この場合も inhibitor の有無に拘らず FEIBA 2.5および25単位の添加で殆んど正常血漿と同程度の凝固時間を示した (Fig. 2)。しかし、血友病Aの場合と異なって、inhibitor 非保有の、血友病B症例では少量の FEIBA 添加で著しい PTT 凝固時間の短縮が見られた。恐らく FEIBA 中のIX因子と活性型凝固因子の共存が影響したものである。

血友病Aおよび血友病Bの inhibitor 保有症例の何れもが、FEIBA 2.5単位、及び25単位の添加で PTT 凝固時間を正常化していることは、恐らく両種の欠乏因子に関連のない凝固過程で FEIBA が作用していることを示唆していると思

Fig. 2 In vitro Effect of FEIBA on PTT of Hemophilia B Plasma with Inhibitor

われるが、両種の疾患で PTT が短縮するためには、Xa 因子、または IIa 因子の生成過程の改善がなければならない。

4. 正常者および血友病脱フィブリノゲン血漿の Xa, IIa 生成経過と FEIBA の影響

正常者血漿を用いて Xa 因子およびトロンビン IIa の生成経過を観察すると、反応開始、約4分後より Xa 因子の上昇が見られ、それに続いて約8分後よりトロンビン活性の急上昇が観察された (Fig. 3)。

Fig. 3 IIa and Xa Generation of Normal Defibrinated Plasma (APTT)

血友病A患者血漿について Xa 因子およびトロンビンの生成経過を観察すると、Xa トロンビンとも、その生成は著明に遷延しており、最終生成量も正常血漿に比べ、明らかに低いことが観察された。血友病B患者血漿でも、ほぼ同様の結果を得た (Fig. 4)。

Fig. 4 IIa and Xa Generation of Defibrinated Hemophilia Plasma activated with APTT Reagent

Fig. 5 In vitro Effects of VIII Concentrate and FEIBA on a Hemophilia a with or without Inhibitor

Fig. 5のごとく、血友病A患者血漿にⅧ因子製剤ヘモフィルSの終濃度1U/mlを添加すると、inhibitor非保有の患者血漿の場合、Xaの上昇に続くトロンビン活性の上昇が見られ、正常血漿の場合とほぼ同じ傾向を示すパターンが得られたが、ベセスダ315単位のinhibitor保有患者血漿ではⅧ因子の補充効果はほとんど見られなかった。

FEIBAの終濃度1.25U/mlの添加では、inhibitor非保有患者血漿ではトロンビン活性には明らかな促進効果が見られるが、Xa因子活性はⅧ因子を補充した時のようなトロンビン活性の増加に先立つXa因子活性の増加が見られなかった。また高単位のinhibitor保有患者血漿への添

加でも、トロンビン活性はinhibitorを持たない患者血漿の場合とほぼ等しく上昇し、Xa因子活性も、ほぼ同程度の促進を受けた。

また、Fig. 6のごとく血友病B患者血漿にPCC（クリスマシン）1U/mlの添加では、inhibitor非保有の血友病B患者血漿の場合、Xa活性の上昇に次ぐトロンビン活性の急上昇が見られ、正常者の経過とほぼ同じパターンを示した。ベセスダ45単位のinhibitorをもつ血友病B患者血漿では、PCCを添加してもXaの急激な上昇は見られず、トロンビン活性だけが、ゆるやかな上昇を示した。これに対し、FEIBA、終濃度1.25U/mlの添加では、inhibitorのない血友病B患者血漿の場合、早期のXa活性の急激な上昇が起こり、それに続いてトロンビン活性の急上昇が見られ、この反応は正常者を上まわる速さであった。ベセスダ45単位のinhibitorをもつ血友病B患者血漿ではXa活性の急上昇は見られなかったが、トロンビン活性のみが血友病A患者血漿に添加した場合と同様の上昇を示した。

Fig. 6 In vitro Effects of PCC and FEIBA on a Hemophilia B with or without Inhibitor

5. FEIBA中の凝血促進物質の検出

FEIBAによる血友病血漿の凝血過程は正の機序を明らかにするため、FEIBAにリン脂質とカルシウムイオンを添加した際に生成されるトロンビンが、抗ヒトⅦ因子及び、抗ヒトⅨ因子血清添加により抑制される状況を観察した（Fig. 7）。

Fig. 7 Suppression Effects of Anti VII and IX Serum on IIa Generation of FEIBA

抗IX因子血清 4U/ml 及び 8U/ml の添加では、約50%の抑制効果を示し、添加量による影響は受けなかったが、抗VII因子血清 2U/ml, 4U/ml の添加では、添加量に応じた著明な抑制効果が見られ、トロンビン生成過程においてVII因子あるいは、VIIa 因子が重要な要素となっていることが推測された。

6. FEIBA によるバイパス療法の臨床経験

症例1. 11歳男子(体重35kg), 左大腿部筋肉内出血のために入院した血友病A患者で、VIII因子凝血活性1.4%で、VIII因子 inhibitor としてベセスダ12単位が認められた。FEIBA 2,000単位を1日2回、各2時間の点滴輸注を行い、輸注前後と経日的変化について凝血学的な観察を施行した。

Fig. 8 に示すようにシリコン管 PTT は輸注前に17~22分であったが、輸注終了1時間後には、8~10分短縮し、その後も輸注6時間後にはやや延長を見るが、輸注期間中は、全体として明らかな SPTT の短縮が観察され輸注終了2日後に輸

Fig. 8 Case 1 Y.S. 11y Hemophilia A with inhibitor

注前値に戻っている。PTT では輸注前230~240秒であったが、輸注1時間後には、170~190秒と著明に短縮した。しかし、APTT では、輸注前73秒が輸注後53秒となり、輸注前後で約20秒の短縮が見られに過ぎず、各種、PTT 検査の成績から推察すると、FEIBA のバイパス効果には凝血過程の内、接触因子系の活性化における短絡、あるいは促進化が関与している可能性がうかがわれた。

この効果を TEG で観察すると、輸注前に $r=112$ 分, $k=49$ 分であったが、輸注1時間後には、 $r=43$ 分, $k=22$ 分と短縮し、翌日の輸注前には再び輸注前値に戻っていたが、輸注により前回と同様な TEG の短縮効果が見られた (Fig. 9)。

Fig. 9 Effect of FEIBA Infusion on TEG of Case 1

FEIBA 輸注前後でⅧ因子の凝血活性(Ⅷ:C)及び、関連抗原量(ⅧR:AG)には、変化はなかったが、本例においては inhibitor は初め、ベセスダ12単位であったものが、輸注後次第に低下して投与期間中から投与後、3日間の観察では0.5単位程度に減少していた(Fig. 8).

また、FEIBA 中には前述のごとく、活性型凝血因子が含有されているので、輸注により、血管内で血栓を形成する可能性が否定できない。そのため血管内凝血症候群 DIC に類似した検査所見を呈することも有り得るので、FEIBA 輸注前後における血小板数、血漿フィブリノゲン量、ATⅢ及び FDP の変化を観察した。本症例では、Fig. 10に示される様に、フィブリノゲン量に輸注2日目以後に軽度ではあるが、明らかな低下が認められ、ATⅢは輸注毎に若干の減少が観察されたが、総合的には DIC 様の極端な変化は認められなかつたし、臨床的にも血栓形成の徴候は得られなかつた。

Fig. 10 Case 1

上述の成績から inhibitor を伴う血友病 A 症例への FEIBA の投与は単に臨床症状の改善のみでなく、その凝血学的検査所見においても PTT 特にシリコン PTT と TEG の所見に著しい改善が認められた。しかも、DIC 様の変化は認められず、バイパス療法としての効果が得られたものと思われた。

症例 2. 46歳(体重58kg)の男子で後腹腔内出血で入院した血友病 A 患者で、Ⅷ因子の凝血活性は1%以下の重症型で、Ⅷ因子 inhibitor として

ベセスダ 37単位が認められた。入院直後に高濃度Ⅷ因子製剤3,000単位を輸注したが、inhibitor 陽性が確かめられたので FEIBA 3000単位を1日2回4時間の持続輸注8日間に切り換え、経過中第3日目より再び高濃度Ⅷ因子製剤(ヘモフィル S) 1日2500単位を併用した症例である。

本症例の入院時には、血色素量が9.0g/dlであったが、FEIBA 輸注3日目に至って返って血色素量が7.6g/dlに低下していたので、濃厚赤血球2単位の単回輸血と高濃度Ⅷ因子製剤の午前1500単位、午後1000単位を6日間に渡って FEIBA と併用した。血色素は次第に増加し、12g/dlに至り、出血も停止したと思われたので、FEIBA、Ⅷ因子製剤の投与を中止した。

その間における凝血学的観察は Fig. 11に示したように、シリコン管 PTT で第1日に輸注前8分が、輸注後4分に短縮したが、その値は次第に輸注効果が減退する傾向が見られ、前述のような血色素量の低下も随伴した。しかし、高濃度Ⅷ因子製剤と併用すると、FEIBA の輸注効果も再現してシリコン管 PTT として5分程度の短縮が見られ、止血効果も確認された。一方、PTT、及び APTT の所見もシリコン管 PTT と類似した成績であったが、シリコン管 PTT に比して、明確な変動を示さなかつた。

本症例の全経過を通じてⅧ因子の凝血活性には変動は見られなかつたが、高濃度Ⅷ因子製剤輸注

Fig. 11 Case 2 Y.S. 46y Hemophilia A with inhibitor

Fig. 12 Effect of FEIBA Infusion on TEG on TEG of Case 2

によるⅧ因子関連抗原の増加傾向が認められ、またⅧ因子製剤の投与5日目附近からⅧ因子抗体と思われるⅧ因子 inhibitor の増加が認められた。

FEIBA 輸注前後で TEG を検査すると、輸注前 $r=93$ 分、 $k=28$ 分が輸注1時間後には $r=37$ 分、 $k=16$ 分に短縮した (Fig. 12)。また、全経過に渡って血小板数、血漿フィブリノゲン、FDP、及び AT Ⅲを測定すると FEIBA 投与後に血小板は若干の減少を示すが、止血効果が得られた頃から FEIBA 投与を持続しているにも拘わらず血小板は、むしろ増加傾向を示した。一方、血漿フィブリノゲンは投与中、若干の低下を示したが、FDP は単独投与中には変化はなく、併用投与中はむしろ、低下傾向を示した。

また、AT Ⅲは全経過を通じて投与開始時に 4mg/dl 程度の低下を示したのみで殆んど一定した測定値を示した。本例において臨床所見として血管内凝血によると思われる症状は認められなかった (Fig. 13)。

Fig. 13 Case 2

症例3. 6歳男子 (体重19kg)、右膝関節内出血のために入院した血友病Bの患者で、ベセスダ14単位の inhibitor が認められた。FEIBA 1000単位を1日2回、3日間に渡り輸注し、臨床症状は

著明に改善された。凝血学的な検査所見として、まず、シリコン管 PTT は、輸注前30~60分が輸注1時間後には11~12分と毎回短縮を示し、PTT も輸注前330~390秒が輸注1時間後には240~310秒となった。また APTT もその縮少巾はやや小さいが、輸注前に比して輸注後には10秒前後の短縮が見られ、かつ投与期間中は総体的な APTT 値の短縮が見られ、投与中止後には輸注前値に復した (Fig. 14)。

Fig. 14 Case 3 Y.S. 6 y Hemophilia B with inhibitor

TEG による FEIBA 輸注前後の変化を見ると、輸注前 $r=157$ 分、 $k=44$ 分が輸注1時間後には $r=61$ 分、 $k=28$ 分と短縮した (Fig. 15)。しかし、FEIBA 投与中に、IX因子凝血活性には変化は見られず、inhibitor の力価にも増加は認められなかったが、投与3週後にベセスダ60単位と著明な上昇を示し7週後には再びベセスダ13.5単位と、投与前値に復した。

一方、他の症例と同様に、FEIBA 輸注前後における血小板数、血漿フィブリノゲン、AT Ⅲ、FDP の変化を観察すると、Fig. 16のごとく投与後6日間の観察では全経過に渡って血小板数、血

Fig. 15 Effect of FEIBA Infusion on TEG of Case 3

Fig. 16 Case 3

漿フィブリノゲンは軽度な減少傾向を示し、ATⅢは投与初期に若干の低下を示した。しかし、これらの減少は、正常域内での変動であったし、FDPには全く変化は見られず、臨床的にも、血栓形成の徴候は認められなかった。

考 察

血友病の治療中にそれぞれの欠乏因子に対する抗体様のinhibitorを生じて補充療法replacement therapyを困難にすることは、最近特に注目を集めている。本研究においてもinhibitorの発生頻度は、日常診療の上にはあまり問題とならないベセスダ1.0単位以下の症例は69症例中64症例であって、残りの5症例がinhibitor陽性例と考えられ、頻度として7%を占めている。しかもベセスダ1単位以上の症例ではⅧ因子製剤投与時の回収率は30%前後となるため、臨床的には補充療法の適否が考慮されねばならない程度であると思われる。

今回、我々は血友病Aでベセスダ12単位と37単位の2症例、及び血友病Bでベセスダ14単位を示す1症例にFEIBAによるバイパス療法を試み、疼痛の解消、血腫の縮小など、臨床的に有効であったばかりでなく、凝血学的所見にも改善が認め

られ、バイパス療法はinhibitorを伴う血友病患者の治療法として、試みるべき一方法であると思われた。しかし、症例2のごとくFEIBAの単独投与では十分な止血効果が得られなかったが、Ⅷ因子製剤の併用によって初めて臨床的に有効となった症例を経験した。しかもこの症例のようにⅧ因子製剤の併用は投与後にinhibitorの増強を来す結果となったし、同様のことは血友病Bの症例3についてもFEIBA中のⅨ因子の存在が結果的にinhibitorの増強を来した症例を経験した。

これらの点はFEIBAの単独投与の有効性、あるいは適応について、血友病AにおけるⅧ因子製剤の併用、血友病Bに対するFEIBAの投与によりinhibitor増強作用などの点を含めて、さらに検討する必要があることを示唆している。また、患者の選択に際しては、low responderとhigh responderとの鑑別を十分に行わなければならないであろう。

一方、FEIBA投与後に見られる凝血学的な有効性は、どのような機序によって起こるものであろうか。我々の成績によってもFEIBA中には多くの活性型凝血因子が含まれており、しかもCⅠINAを除いて殆んど阻止因子は欠如している。このことから考えても、FEIBAが輸注された時に活性型凝血因子の何れかがinhibitorを避けて止血に対して有効に働くことは十分に考えられる。そして、その作用点として血小板と血漿因子に大別して考察すると、先ず、Vermeylenら(1978)³³⁾はFEIBAによって血小板X因子アクチベータの活性が増強されると考えたが、本論文の如く乏血小板血漿を用いた試験管内観察でも、血小板がなくとも血友病血漿の凝固遅延をFEIBAの添加によって是正することができ、少

なくとも血漿のみの凝固過程においても、FEIBA は血友病血漿の凝固時間の延長を是正する何らかの活性物質を含有していると考えられる。この活性物質が何であるか、その作用機転はどのようなかはいずれの文献においても明確ではなく、単に凝血学的なパラメータとしての全血凝固時間、PTT などの是正が述べられているに過ぎない (Stenbjerg ら1978³¹⁾; Buchanan ら1978³⁴⁾, Blatt ら, 1977³⁵⁾).

我々もパラメータとしてシリコン管PTT, PTT, APTT および TEG を用いて、FEIBA 投与による是正効果を認めている。その効果を生ずる機転について試験管内で FEIBA を inhibitor をもつ血友病血漿に加え、さらに APTT 試薬を添加して、発色性合成ペプチド基質 S-2222, S-2238 を用いて X 因子、II 因子の活性型への移行状況を観察すると、両因子の活性型への生成速度は共に促進されており、特にトロンビンの生成に著しい改善がみられている。このような現象はおそらく FEIBA 中の VIIa, Xa, IIa 因子のいずれかが外因性経路または共通経路によって患者血漿中の X 因子、II 因子の活性化を促進しているものと思われる、中でも II 因子の活性化には、患者血漿中の V 因子が功みに利用されていることが示唆される。一方、FEIBA 中には IXa 因子も存在しているが (Hultin, 1979³⁶⁾), 患者血漿と FEIBA には VIII 因子が存在していないので、IXa 因子が是正効果を示すためには IXa 因子が接触系を介すなどして外因系 VII 因子を活性化する過程を考えなくてはならないであろう。また、FEIBA 中には VII 因子あるいは VIIa 因子が多量に含まれており、直接外因系の VII 因子によるバイパス効果も重要な経路と考えられる。我々の実験成績において、試験管内実験ではあるが、抗 VII 因子血清による抗体中和法により FEIBA のトロンビン生成能が著明に阻害されることからその重要性が推測される。

FEIBA が inhibitor を伴う血友病、特に VIII 因子欠乏症に対して有効なバイパス効果を示すことは上述のようであるが、FEIBA の副作用として活性型凝血因子による DIC 様の血栓形成傾向が

Stenbjerg ら (1978)³¹⁾, Rashe ら (1977)³⁷⁾ によって 2 症例について報告されている。本報告の 3 症例では活性型凝血因子の輸注によると思われる若干の検査所見の変動は得られたが、DIC または血栓形成を示唆するような著明な変化ではなく、臨床的にも血栓形成を確認する所見は得られなかった。しかし、試験管内実験からみると、low responder あるいは力価の低い inhibitor を伴う血友病 B 患者への FEIBA の連続輸注は Xa, IIa 生成の急上昇による凝血亢進状態を惹起する可能性が示唆されるので血友病 B 患者への FEIBA 投与は慎重でなくてはならないであろう。

結 論

inhibitor を伴う血友病の治療法としての FEIBA によるバイパス療法について、in vitro および in vivo の観察を行い、次のごと結論を得た。

1) 血友病 A 69 症例のうちベセスダ 1.0 単位以上の 5 症例 (約 7%) を検出し、これらの症例における VIII 因子製剤輸注後の回収率は、inhibitor を伴わない症例より明らかに低下していることが認められた。

2) FEIBA 中に活性型凝血因子として XIIa 因子、IXa 因子、Xa 因子、VIIa 因子、IIa 因子の存在することを発色性合成ペプチド基質を用いて検出した。一方、Laurell 法で II 因子、IX 因子を多量に認めたが、VIII 因子 (VIII R : AG) は全く認められず、また、生理的凝血阻害因子は C1 INA を除き、 α_1 -AT、 α_2 -M、 α_2 -PI、AT-III はいずれも検出されなかった。

3) 血友病 A (ベセスダ 12 単位) と血友病 B (ベセスダ 43 単位) の各血漿に終濃度として FEIBA 2.5 および 25 単位を添加したところ、PTT の凝血時間は正常化された。

4) 血友病 A および B の各症例の血漿に FEIBA 1.25 単位を混合して APTT 試薬を加えて、Xa および IIa の生成状態を発色性合成ペプチド基質によって観察すると、Xa および IIa の生成過程は促進され、特に IIa 生成が著明に促進を受けた。しかも、FEIBA による IIa 生成は抗 VII 因子血清添加により著明に抑制され、IIa 生成に

FEIBA 中のⅦ因子あるいはⅦa 因子が重要な意味をもつと推測された。

5) inhibitor を伴う血友病 A (ベセスダ12単位) と血友病 B (ベセスダ14単位) の症例にそれぞれ FEIBA 4000U/day および2000U/day を点滴静注し、臨床的に出血症状を改善すると共に PTT, APTT, S-PTT および TEG に明らかな改善が認められた。また, inhibitor (ベセスダ37単位) を伴う血友病 A の1症例への FEIBA 6000 U/day の単独輸注では3日後にも臨床的な出血症状の改善が認められなかったが, Ⅷ因子製剤2500 U/day の併用によって臨床症状および検査所見に改善を認めた。

6) FEIBA 投与によって、各症例とも血漿フィブリノゲンと AT-Ⅲ に若干の低下が認められたが、臨床的には DIC 様の血栓形成の所見は得られなかった。

上記の成績から inhibitor を伴う血友病3症例に対する FEIBA によるバイパス療法は有効であったが、その詳細なバイパス機構についてはさらに観察を重ねる必要があると思われる。しかし、少なくとも本報告のごとき in vitro および in vivo における経験からすると、FEIBA によるバイパス療法は inhibitor を伴う血友病症例には試みるべき治療法であろうと思われる。

文 献

- 1) Weiss, A.E.: Circulating Inhibitors in Hemophilia A and B: Epidemiology and Methods of Detection. In: Handbook of Hemophilia Part II, pp. 629—646, Eds Brinkhous K.M. & Hemker, H.C., Excerpta Medica, Amsterdam, 1975.
- 2) 神谷 忠: 成分輸血と抗体産生. 臨床病理, 26: 291—297, 1978.
- 3) 藤村吉博, 他: Ⅷ因子抑制物質測定法に関する検討. Immunohaematology—免疫と血液—, 2: 252—257, 1980.
- 4) Rosenthal, M.C.: A mechanism of plasma refractoriness in hemophilia. In: Hemophilia and Hemophiloid Diseases. Ed. Brinkhous, K.M., University of North Carolina Press, Chapel Hill, N.C., 1957.
- 5) Beck, P., Giddings, J.C. and Bloom, A.L.: Inhibitor of factor VIII in mild haemophilia.

- Brit. J. Haemat., 17: 283—288, 1969.
- 6) Crowell, K.W.E.: A factor VIII inhibitor in a mild hemophilic. Amer. J. Med. Sci., 260: 261—263, 1970.
- 7) Robboy, S.J., Lewis, E.J., Schur, P.H. and Coleman, R.W.: Circulating anticoagulants to factor VIII. Immunochemical studies and clinical response to factor VIII concentrates. Amer. J. Med., 49: 742—752, 1970.
- 8) Strauss, H.S. and Merler, E.: Characterization and properties of an inhibitor of factor VIII in the plasma of patients with hemophilia A following repeated transfusions. Blood, 39: 137—150, 1967.
- 9) Lusher, J.M., Shuster, J., Evans, P.K. and Poulik, M.D.: Antibody nature of an AHG (factor VIII) inhibitor. J. Pediat., 72: 325—331, 1968.
- 10) Biggs, R., Austen, D.E.G., Denson, K.W.E., Borret, R. and Rizza, C.R.: The mode of action of antibodies which destroy factor VIII. I Antibodies which have secondorder concentration graphs. Brit. J. Haemat., 23: 125—135, 1972.
- 11) Bidwell E.: Treatment of hemophilia and other coagulation disorders. In: Ed. Biggs, R. & Macfarlane, R.G., Blackwell, Oxford, pp. 93—106, 1966.
- 12) Sherman, L.A., Goldstein, M.A. and Sise, H.S.: Circulating anticoagulants (anti-Factor VIII) treated with immunosuppressive drugs. Thromb Diath Haemorrh, 21: 249, 1969.
- 13) Schulman, I., Abildaard, C.F., Johnson, C. and Lindley, A.: Immunosuppressive therapy in the management of acquired inhibitors of Factor VIII in hemophilia. In: Ed. Brinkhous, K.M., Hemophilia and New Hemorrhagic states. University of North Carolina Press, Chapel Hill, N.C. pp. 164, 1970.
- 14) Nilsson, I.M., Hedner, U. and Holmberg, L.: Suppression of Factor VIII antibody by combined Factor VIII and cyclophosphamide. Acta Med. Scand, 195: 65—72, 1974.
- 15) Lazerson, J.: The prophylactic approach to hemophilia A. Hosp. Pract., 6: 99, 1971.
- 16) Pool, J.G.: Studies on the interaction between Factor VIII in the normal population and Factor VIII inhibitors in hemophilic patients. Bibl Haemat., 22: 517, 1971.
- 17) Macfarlane, R.G., Mallam, P.C., Witts, L.J., Bidwell, E., Biggs, R., Fraenkel, G.J., Honey, G.E. and Taylor, K.B.: Surgery in haemophilia. The use of animal antihemophilic glo-

- bulin and human plasma in thirteen cases. *Lancet*, II: 251—259, 1957.
- 18) Feteke, L.L., Holst, S.S., Peetoom, F. and De Veber, L.L.: Autofactor IX concentrate; a new therapeutic approach to treatment of hemophilia A patients with inhibitors. (Abstr.) XIV International Congress of Hematology, San Paulo pp. 295, 1972.
  - 19) Kurczynski, E.M. and Penner, J.A.: Activated prothrombin concentrate for patients with F VIII inhibitors. 16th Annual Meeting of the American Soc. of Hematology, Chicago, Ill, p. 62 (Abstr.) 1973.
  - 20) Sonoda, T., et al.: Use of Prothrombin Complex Concentrates in the Treatment of a Hemophilic Patients with Inhibitor of Factor VIII. *Blood*, 47: 983—989, 1976.
  - 21) Allain, J.P. and Krieger, G.R.: Prothrombin complex concentrates in treatment of classical haemophilia with factor VIII antibody (Letter) *Lancet*, II: 1203, 1975.
  - 22) Yolken, R.H. and Hilgartner, M.W.: Prothrombin complex concentrates. Use in treatment of hemophiliacs with factor VIII inhibitors. *Am. J. Dis. Child.*, 132: 291—293, 1978.
  - 23) Mannucci, P., Federici, F., Vigano, S. and Cattaneo, M.: Multiple dental extractions with a new prothrombin complex concentrate in two patients with factor VIII inhibitors. *Thromb Res.*, 15: 359—364, 1979.
  - 24) White, G.C., Lundblad, R.L. and Kingdon, H.S.: Prothrombin complex concentrates. Preparation, properties and clinical uses. *Curr. Top. Hematol.*, 2: 203—244, 1979.
  - 25) Seligsohn, U., Kasper, C.K., Osterud, B. and Rapaborn, S.: Activated factor VIII: Presence in circulation after infusion. *Blood*, 53: 828—837, 1979.
  - 26) Hoots, W.K., Snyder, M.S. and McMillan, C.S.: Effects of activated prothrombin complex concentrates (APCC) for crainospinal hemorrhage in classic hemophiliacs with factor VIII inhibitors. *Pediatr Res.*, 14: 535, 1980.
  - 27) Aronstam, A., Aston, L., Wassef, M. and Hamad, Z.: New activated factor IX product in Hemophilia. *Lancet*, II: 1294, 1980.
  - 28) Charles F. Abildgaard, John A. Penner and Edward, J. Watson-Williams: Anti-inhibitor coagulant complex (Autoplex) for treatment of factor VIII inhibitors in hemophilia. *Blood*, 56: 978—984, 1980.
  - 29) English, P.J., Sheppard, E.M. and Wensley, R.T.: Factor VIII inhibitor bypassing activity. *Lancet*, II: 207—208, 1976.
  - 30) Pollock, A. and Lewis, M.J.: Factor VIII inhibitor bypassing activity. *Lancet*, II: 43—44, 1976.
  - 31) Stenbjerg, S. and Jwrgensen, J.: Activated FIX concentrate (FEIBA) used in the treatment of hemoph8lic patients with antibody to F.VIII. *Acta. Med. Scand*, 203: 471—476, 1978.
  - 32) Kasper, C.K.: A more uniform measure ment of factor VIII inhibitors. *Thromb Diath Haemorrh (Stuttg)*, 34: 869—871, 1975.
  - 33) Vermynen, J., Schetz, J., Sermerato, N., Mertens, F. and Verstraete, M.: Evidence that 'Activated' Prothrombin concentrates enhance platelet coagulant activity. *Brit. J. Haemat.*, 38: 235—242, 1978.
  - 34) Buchaman, G.R. and Kevy, S.V.: Use of prothrombin complex concentrates in hemophiliacs with inhibitors: Clinical and laboratory studies. *Pediatrics*, 62: 767—774, 1978.
  - 35) Blatt, P.M., White, G.C. and McMillan, C.W.: Treatment of anti-factor VIII antibodies. *Thrombos Haemostas (Stuttg)*, 38: 514—523, 1977.
  - 36) Hultin, M.B.: Activated clotting factors in factor IX concentrates. *Blood*, 54: 1028—1038, 1979.
  - 37) Rashe, H., Bindewald, H., Kohle, W., Scheck, R., Heinrich, R. and Seibert, K.: Notfallbe handlung von blutungskomplikationen bei hemmkörperhamophilie mit aktivierten prothrombin-koplex-konzentraten. *Dtsch. Med. Wochenschr*, 102: 319—323, 1977.