



過去に治療歴のない血友病 A 患者に対する 血漿由来血液凝固第 VIII 因子製剤 (クロスエイト M) の 安全性と有効性の臨床評価

吉岡 章^{*1}, 白幡 聡^{*2}, 福武勝幸^{*3},
神谷 忠^{*4}, 藤巻道男^{*5}

我が国で広く使用されている血漿由来第 VIII 因子製剤であるクロスエイト M について、過去に第 VIII 因子製剤による治療を受けたことのない血友病 A 患者 (PUPs) を対象とした調査研究を行い、その有効性と安全性を前方視的に評価した。24 症例 (重症 10 例, 中等症 6 例, 軽症 8 例) を解析対象とした本剤での止血効果は 534 回の出血エピソードに対して、著効 281 回, 有効 234 回で 96.4% が有効以上であり、無効や悪化の評価はなかった。第 VIII 因子インヒビターの発生は重症の 1 例 (0.9 BU/ml) で報告されたが、一過性と推定された。抗マウス IgG 抗体産生が別の重症の 1 例で報告されたが、これも一過性であり、臨床症状は見られなかった。感染症に関しては HBV, HCV および HIV の感染事例はなかった。ヒトパルボウイルス B19 に関しては本剤による感染を示唆する症例があったが、本件はその後の精密なスクリーニング法 (Receptor-mediated hemagglutination: RHA) の導入とウイルス除去膜の使用により解決された。本剤は止血効果が高く、副作用やインヒビター産生が少ない安全性の高い製剤であることが示された。

Key words: hemophilia A, previously untreated patients, plasma-derived FVIII, clinical study, human parvovirus B19

緒 言

血友病 A 患者の止血管理にはこれまで種々の第 VIII 因子製剤による補充療法が行われてきた。それらは、新鮮 (凍結) 血漿, クリオプレシピテート, 濃縮第 VIII 因子製剤, および、モノクローナル抗体精製第 VIII 因子製剤等、

血漿由来である。前 3 者は第 VIII 因子 / von Willebrand 因子複合体製剤であり、後者は第 VIII 因子単独製剤である。1990 年代に入り、ヒト血漿を原料としない、遺伝子組換え操作によるリコンビナント第 VIII 因子製剤が開発され、我が国でも 1994 年から使用されるようになった。この製剤の第 VIII 因子はヒト第 VIII

^{*1} 奈良県立医科大学小児科 [〒 634-8522 奈良県橿原市四条町 840]

Department of Pediatrics, Nara Medical University [840, Shijo-cho, Kashihara City, Nara 634-8522]

Tel: 0744-29-8881 Fax: 0744-24-9222 e-mail: ayped@narmed-u.ac.jp

^{*2} 産業医科大学小児科 [〒 807-8555 福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1]

Department of Pediatrics, University of Occupational and Environmental Health, Japan [1-1, Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyusyu City, Fukuoka, 807-8555]

^{*3} 東京医科大学臨床検査医学講座 [〒 160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1]

Department of Clinical Laboratory Medicine, Tokyo Medical College [6-7-1, Nishi-Shinjyuku Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023]

^{*4} 愛知県赤十字血液センター [〒 489-8555 愛知県瀬戸市南山口町 539-3]

Japanese Red Cross Aichi Blood Center [539-3 Minamiyamaguchi, Seto, Aichi 489-8555]

^{*5} 東洋公衆衛生学院 [〒 151-0071 東京都渋谷区本町 6-21-7]

Toyo Public Health College [6-21-7, Honmachi, Shibuya-ku, Tokyo 151-0071]

受付日: 2006 年 4 月 27 日, 受理日: 2006 年 7 月 7 日

因子遺伝子を導入したハムスター細胞により産生された蛋白に由来し, ヒト血漿由来の第 VIII 因子とは糖鎖構造などが完全に同一とは言えない。このため第 VIII 因子に対する同種中和抗体であるインヒビターの産生に強い関心が持たれ, ヒト血漿由来製剤に比べて発生率が高いのではないかと懸念されている^{1)~4)}。このような状況の中, 本邦へのリコンビナント製剤の導入に際してはより慎重な対応が求められ, 過去に治療を受けたことのない患者 (previously untreated patients: PUPs) を対象として, インヒビターの発生率を含め, 詳しい安全性の検討が行われた⁵⁾⁶⁾。一方, 我が国においてはヒト血漿由来製剤によるインヒビター発生率を前方視的 (プロスペクティブ) に検討した研究は実施されておらず, 両者を比較することができなかった。そこで我々は日本赤十字社の協力を得て, 国内献血血漿を材料にモノクローナル抗体を用いて精製された血液凝固第 VIII 因子製剤クロスエイト M にて治療される PUPs を対象に, ヒト血漿由来第 VIII 因子単独製剤のインヒビター発生率を前方視的に検討する PUPs Study を計画した。また, 同時に血友病 A 患者の止血管理におけるクロスエイト M の有効性とウイルス伝播を含む副作用発現率等の安全性を再評価した。今般, PUPs Study の成績がまとまったので報告する。

対象および方法

1. 対象と期間

1993 年 10 月に全国の血友病治療を行っている 50 の主要な医療機関に依頼し, これまで血液製剤による治療を受けていない血友病 A 患者 (PUPs) のうち, 十分なインフォームド・コンセントによりクロスエイト M による補充治療に本人あるいは (および) 代諾者が同意した者を登録対象とした。ただし, クロスエイト M の初回投与前に 1~2 回輸血または第 VIII 因子製剤以外の血漿製剤の投与を受けた既往が

ある患者も対象に含めた。本調査期間は 1993 年 10 月から 2000 年 3 月までとした。

2. 使用薬剤

クロスエイト M 250 (250 単位), 500 (500 単位) および 1,000 (1,000 単位) を使用した。

3. 投与方法および投与量

投与にあたっては, 本剤を添付の溶解液 (10 ml) を用いて溶解し, 緩徐に静脈内注射した。投与量は通常 1 回 250~2,000 単位とし, 体重と症状に応じて担当医の判断で適宜増減した。

4. 検査および観察項目

4.1 第 VIII 因子活性 (FVIII: C) および抗原量 (FVIII: Ag)

FVIII: C は凝固一段法で測定した。FVIII: Ag は奈良県立医科大学小児科において第 VIII 因子の L 鎖を認識するモノクローナル抗体 (2 次抗体) を用いたサンドイッチ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA 法)⁷⁾ により一括測定した。

4.2 出血症状および止血効果

投与ごとに, 投与日, 投与量, 出血部位および出血症状等を記録した。本剤投与後の止血に要した時間から, 1 出血ごとに以下の基準で止血効果を判定した。

- 著効 : 1~2 日以内に止血
- 有効 : 3~4 日以内に止血
- やや有効 : 5~7 日以内に止血
- 無効 : 7 日以内に止血しなかった
- 悪化 : 悪化した

4.3 臨床検査および症状

対象症例の出血時にクロスエイト M を長期間にわたり多回投与し, 下記の検査および観察を実施した。検査は各症例につき, 投与前, 投与開始後 1 年までは 3 カ月毎, それ以後は 6 カ月毎に行ない, 原則として 2 年間に以上観察した。ただし, ヒトパルボウイルス B19 以外のウイルス感染症検査は期間中全て 6 カ月間隔で行なうことを原則とした。

1) 一般臨床検査

一般臨床検査として, 血液学的検査 (赤血球

Table 1 List of patient characteristics

	Patient No.	Age at first infusion S	Severity of hemophilia A†	FVIII : C(%)	FVIII : Ag(%)
1	M001	8M	S	<1	15
2	M002*	4D	S	<1	3.0
3	M003	1Y 10M	S	<1	<1
4	M004	50Y 7M	Mi	14	48
5	M006	43Y 8M	Mi	14	16
6	M007	4M	Mo	1.2	5.0
7	M008	10Y 9M	Mi	15	120
8	M009	1Y 1M	S	<1	<1
9	M013	2Y 9M	Mi	14	20
10	M014	20D	S	<1	<1
11	M015	4Y 4M	Mo	3	1.2
12	M016	10M	S	<1	<1
13	M017	14Y 6M	Mi	19	N.D.
14	M018	17Y 3M	Mo	3	15
15	M019	1Y 4M	S	<1	<1
16	M020	1Y 5M	Mi	8.2	5.0
17	M021	9M	Mo	3	6
18	M022	5Y 9M	Mo	3.5	5
19	M023	7M	S	<1	<1
20	M024	1Y 2M	S	<1	<1
21	M025	4Y 9M	Mi	9	<1
22	M027	7Y 2M	Mi	13	4.7
23	M031	1Y 0M	S	<1	N.D.
24	M032	5Y 0M	Mo	5	8.7

* : Inhibitor developing case, N.D : Not determined, S Y: year, M : month, D: day

† : S indicates severe(FVIII:C, <1%); Mo, Moderate(FVIII:C, 1% ~ 5%); Mi, Mild(FVIII:C, >5%)

数, 血色素量, ヘマトクリット値, 白血球数, 白血球分画, 血小板数), 血液生化学的検査 (GOT, GPT, Al-P, γ GTP, 総および直接・間接ビリルビン, LDH, BUN, クレアチニン, 総蛋白, アルブミン, Na, K, Cl) および尿検査 (蛋白, 糖, 沈査) を行なった.

2) FVIII インヒビター

FVIII インヒビター活性 (BU/ml) を Bethesda 法にて測定した⁸⁾.

3) ウイルス感染症検査

製剤を介してのウイルス感染の有無を検討するため, HBs 抗原, HBs 抗体, HBc 抗体, HCV 抗体, HIV 抗体およびヒトパルボウイルス B19 抗体について免疫血清学的検査を行った.

4) 抗マウス IgG 抗体

クロスエイト M 中には製造時に使用するイ

ムノアフィニティーカラムから剥脱するマウスモノクローナル IgG が微量混入する. これに対する患者血漿中の抗体産生量を奈良県立医科大学小児科において, 総 IgG および IgG1, IgG2, IgG4 サブクラスについて ELISA 法で測定した⁹⁾.

4.4 副作用

本剤の投与毎に副作用の有無を観察した.

成 績

1. 登録症例およびその FVIII:C と FVIII:Ag 値 (表 1)

対象症例は血友病 A 患者 24 例で, 本剤の投与開始時の年齢は生後 4 日から 50 歳 7 カ月であった. 症例中 13 例が 2 歳未満であり, 年齢

Table 2 Bleeding site, bleeding episode, number of infusion and infusion dose.

Bleeding site	Bleeding episode	Number of Infusion	Infusion dose (U)
Joint	264	427	139,925
Muscle	43	54	25,000
Subcutaneous	145	209	55,533
Others*	69	126	39,375
More than two sites	13	39	7,400
On demand	534	855	267,233
Regular replacement	—	111	87,500
Total	534	966	354,733

* : Others contain nasal, oral, gingival bleedings and cephalohematoma.

Table 3 Dose of infusion per a bleeding episode classified by bleeding site

Bleeding site	Dose (U/kg)										Number of infusion (%)
	5~<10	10~<15	15~<20	20~<25	25~<30	30~<35	35~<40	40~<45	45~<50	≥50	
Joint (%)	9 (2.1)	58 (13.6)	125 (29.3)	72 (16.9)	102 (23.9)	36 (8.4)	13 (3.0)	3 (0.7)	1 (0.2)	8 (1.9)	427 (100)
Muscle (%)	0 (0.0)	8 (14.8)	2 (3.7)	18 (33.3)	14 (25.9)	5 (9.3)	7 (13.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	54 (100)
Subcutaneous (%)	0 (0.0)	9 (4.3)	68 (32.5)	53 (25.4)	58 (27.8)	17 (8.1)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	209 (100)
Others* (%)	2 (1.6)	13 (10.3)	29 (23.0)	41 (32.5)	17 (13.5)	11 (8.7)	8 (6.3)	1 (0.8)	0 (0.0)	4 (3.2)	126 (100)
More than two sites (%)	0 (0.0)	4 (10.3)	14 (35.9)	5 (12.8)	11 (28.2)	0 (0.0)	5 (12.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	39 (100)
Total (%)	11 (1.3)	92 (10.8)	238 (27.8)	189 (22.1)	202 (23.6)	69 (8.1)	34 (4.0)	5 (0.6)	2 (0.2)	13 (1.5)	855 (100)

84.3% of the bleeding episodes were infused at the dose of 10~<30 U/kg body weight.

* : Others contain nasal, oral, gingival bleedings and cephalohematoma.

の中央値は 1 歳 5 カ月であった。

重症度別の分布は、重症 (FVIII:C <1%) 10 例, 中等症 (FVIII:C 1~5%) 6 例, 軽症 (FVIII:C >5%) 8 例であった。重症患者 10 例のうち 7 例は FVIII:C と FVIII:Ag がともに 1% 未満であった。また, 2 例 (M001, M002) の FVIII:C は 1% 未満であったが, FVIII:Ag は各々 15%, 3% であり, 第 VIII 因子分子異常症と考えられた。また, 中等症および軽症の症例においても FVIII:C と FVIII:Ag とに大きな乖離が見られ, 同様の分子異常症と考えられた。

2. 出血症状, 出血回数, 投与量および止血効果

2.1 出血部位別出血回数, 投与回数および投与量

24 例における総出血エピソード回数は 534 回, 本剤の総投与回数は 855 回, 総投与量は 267,233 単位であった。1 出血エピソードあたり平均 1.6 回の投与が行われた。1 回あたり平均 22.81 ± 23.04 単位/kg 体重のクロスエイト M が投与された。24 例中 10 例において 111 回の予防的な定期補充療法がなされ, 87,500 単位

Table 4 Hemostatic efficacy of CROSS EIGHT M for each bleeding episode

Bleeding site	Hemostatic efficacy				Effectiveness **
	Excellent	Good	Fair	None/Worse	
Joint (%)	154 (58.3)	103 (39.0)	7 (2.7)	0 (0.0)	257/264 (97.3)
Muscle (%)	11 (25.6)	31 (72.1)	1 (2.3)	0 (0.0)	42/43 (97.7)
Subcutaneous (%)	80 (55.2)	62 (42.8)	3 (2.1)	0 (0.0)	142/145 (97.9)
Others* (%)	32 (46.4)	31 (44.9)	6 (8.7)	0 (0.0)	63/69 (91.3)
More than two sites (%)	4 (30.8)	7 (53.8)	2 (15.4)	0 (0.0)	11/13 (84.6)
Total (%)	281 (52.6)	234 (43.8)	19 (3.6)	0 (0.0)	515/534 (96.4)

* : Others contain nasal, oral, gingival bleedings and cephalohematoma.

** : Effectiveness = Excellent + Good.

Table 5 Follow up of inhibitor development

Patient No.	Total infusion dose (U)	Total number of infusion	Detection of inhibitor (Bethesda Unit/ml)											
			Months after first infusion											
			0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	
M001	8,900	36	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)							
M002*	12,280	65	NT	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	0.9					
M003	47,675	159	(-)	NT	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	NT	(-)	(-)	(-)	
M004	4,000	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)						
M006	3,000	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			
M007	33,480	119	NT	NT	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			
M008	5,500	5	(-)	NT	(-)	NT	(-)	(-)	(-)	NT	(-)	NT	(-)	
M009	30,300	99	(-)	NT	(-)	NT	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			
M013	500	2	(-)	(-)	(-)	NT	NT	NT	NT	(-)	(-)			
M014	18,250	40	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	NT			
M015	9,250	33	(-)	NT	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)					
M016	8,375	33	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)						
M017	13,500	14	(-)	(-)	NT	NT	(-)	(-)						
M018	7,000	6	(-)	(-)	NT	(-)	(-)	(-)	(-)					
M019	20,750	83	(-)	(-)	(-)	NT	NT	(-)	NT	(-)				
M020	2,500	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	NT	(-)					
M021	5,950	20	(-)	(-)	(-)	NT	(-)	(-)	(-)					
M022	1,250	5	(-)	(-)	NT	(-)	NT	(-)						
M023	9,250	35	(-)	NT	NT	(-)	(-)	(-)						
M024	7,000	28	NT	(-)	(-)									
M025	1,500	4	(-)	NT	NT	(-)								
M027	73,500	70	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)						
M031	3,250	13	(-)	(-)										
M032	250	1	(-)	NT	(-)									

(-): negative, NT: not tested

*: In this case, inhibitors were negative by the test at 8 years and 12 years after the first FVIII infusion.

Table 6 Serological results of viral marker at the end of study in each patient

Patient No.	Observation period (month)	HBV				
		HBs antigen	HBs antibody	HBc antibody	HCV antibody	HIV antibody
M001	12	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M002	18	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M003	48	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M004	12	(-)	(-)	(-)	(+)*	(-)
M006	36	(-)	(+)*	(+)*	(-)	(-)
M007	36	(-)	(+)*	(-)	(-)	(-)
M008	42	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M009	30	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M013	42	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M014	36	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M015	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M016	36	(-)	(+) [§]	(-)	(-)	(-)
M017	18	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M018	27	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M019	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M020	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M021	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M022	18	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M023	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M024	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M025	24	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M027	18	(-)	(+) [§]	(-)	(-)	(-)
M031	18	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
M032	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

*: Positive before infusion of FVIII, §: Vaccination

の本剤が投与された (表 2)。関節出血と皮下出血における 1 回投与量は 15 ~ <30 単位/kg 体重が多く, 筋肉出血では 20 ~ <30 単位/kg 体重が多かった。全体の 84.3% の投与は 10 ~ <30 単位/kg 体重で行われた (表 3)。

2.2 止血効果

止血効果については 534 出血エピソード中, 著効 281 エピソード (52.6%) もしくは有効 234 回エピソード (43.8%) で, 有効率は 96.4% と判定され, 無効および悪化とされたものはなかった (表 4)。

3. インヒビターの発生

全対象 24 症例についての経時的インヒビター検査結果を示した (表 5)。生後 4 日にて初回投与が行われた 1 例 (M002) に本剤初回投与から 24 カ月目, 計 65 回, 12,280 単位の投与

後に 0.9 BU/ml のインヒビターが検出された。インヒビター検出時の前後数回の出血エピソードに対して, 本剤による治療が行われたが, 止血効果は良好であった。調査期間中, 他の症例ではインヒビターは検出されなかった。

4. ウイルス関連検査

4.1 HBV

HBs 抗原は調査期間中, 全症例が陰性のまま推移し, 陽転化症例はなかった (表 6)。HBs 抗体は初回投与前から陽性の 2 例 (M006, M007) と HBV ワクチンによる陽性が 2 例あった。

HBc 抗体に関しても初回投与前から既に陽性であった 1 例 (43 歳) (M006) 以外は全て陰性で経過した。

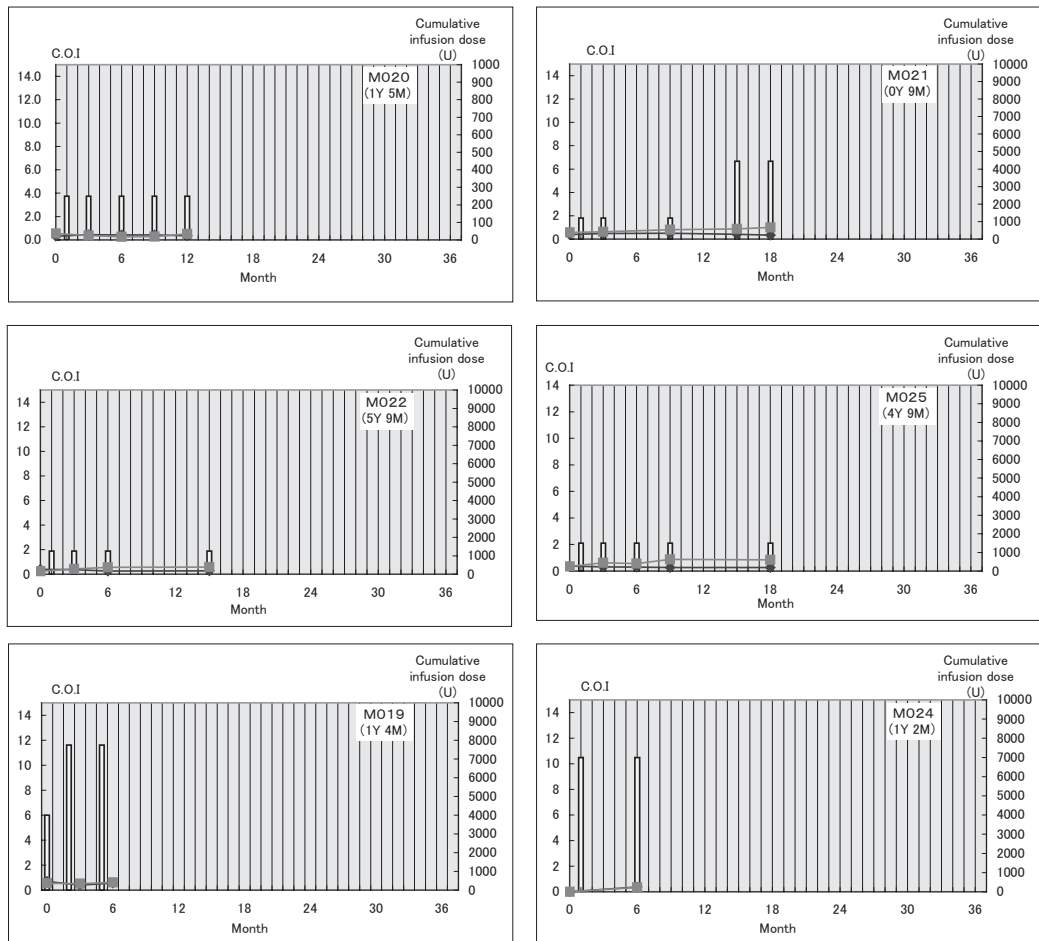


Fig. 1 Follow-up of anti-human parvovirus B19 antibody in hemophilia A patient after infusion of CROSS EIGHT M

Group 1: Hemophilia A patients without human parvovirus B19 infection

Vertical bars show cumulative amount of CROSS EIGHT M infusion dose.

■: IgG class antibody, ◆: IgM class antibody, (): Age at first infusion

C.O.I.: Cut off index

4.2 HCV, HIV

一度の輸血歴がある50歳の1例(M004)で本剤の初回投与前からHCV抗体が陽性であったが、他は全てHCV抗体陰性で経過した。また、HIV抗体は全例で陰性のまま推移した。

4.3 ヒトパルボウイルス B19

観察期間の短い2例(M031, M032)を除いた対象22症例についてヒトパルボウイルス B19に対するIgGおよびIgM抗体をELISA法

によって経時的に測定した。得られた結果を解析すると、抗体の変動パターンは次の3つに分類された。

グループ1: 観察期間中にヒトパルボウイルス B19感染がなかった症例群(6例)。本剤の初回投与時からIgG抗体とIgM抗体はともに陰性のまま推移しており、ヒトパルボウイルス B19未感染者の群である(図1)。

グループ2: 観察期間中にヒトパルボウイルス

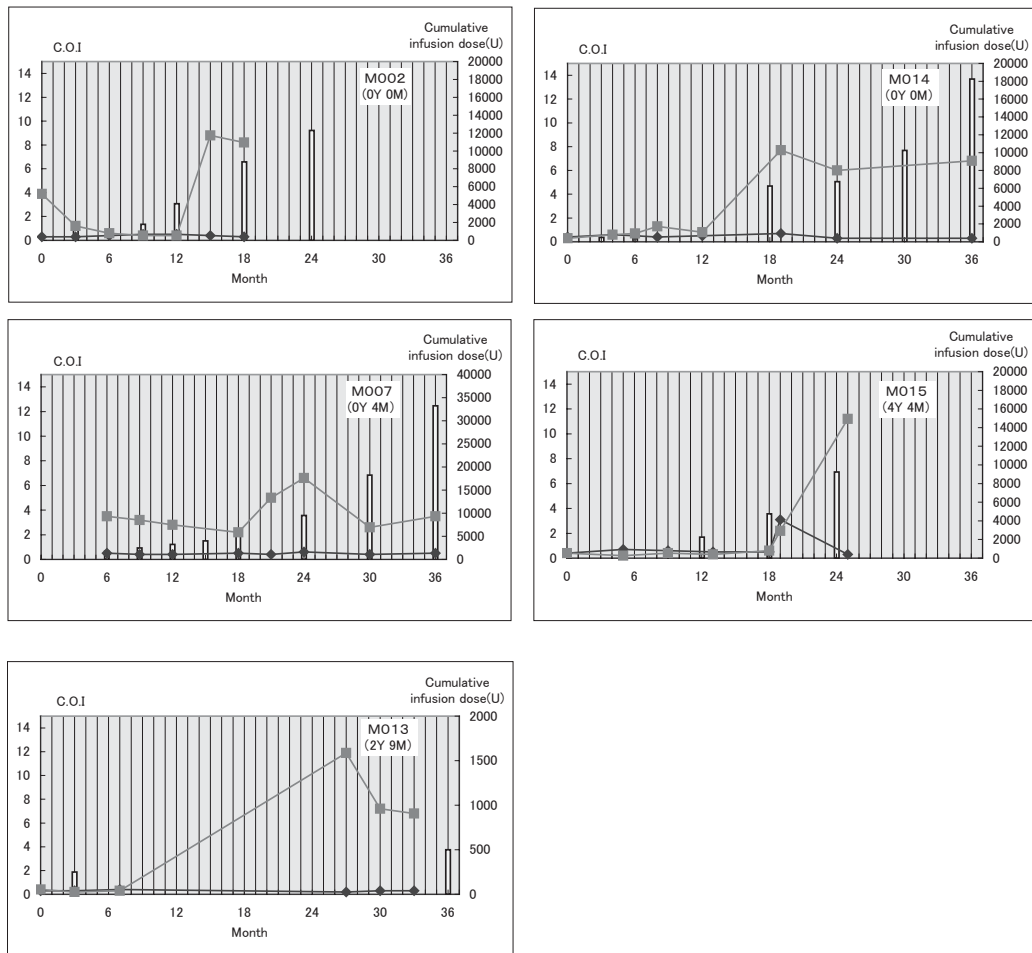


Fig. 2 Follow-up of anti-human parvovirus B19 antibody in hemophilia A patient after infusion of CROSS EIGHT M

Group 2a: Hemophilia A patients with human parvovirus B19 infection who developed anti-human parvovirus B19 antibody at least after 6 months from the first infusion.

Vertical bars show cumulative amount of CROSS EIGHT M infusion dose.

■: IgG class antibody, ◆: IgM class antibody, (): Age at first infusion

C.O.I.: Cut off index

ス B19 の感染があった症例群 (12 例)。うち 2 例 (M015, M027) は感染症状が現れたが, 残り 10 例は無症候性で抗体陽転により感染が判明した (不顕性感染)。本剤投与と感染成立時期との関係を詳しく見るとさらに 2 重群に分けられた。

グループ 2a: 本剤の初回投与後, 抗体陰性時期を経て少なくとも 6 カ月以後に感染した

症例 (5 例) (図 2)。

グループ 2b: 初回投与時は陰性であったが, 本剤投与開始後間もなく IgG 抗体が上昇し, 感染が成立した症例 (7 例) (図 3)。本グループのこれら症例はいずれも本剤による感染を示唆するものであるが, そのうち M027 については入院中の感染のため経過が詳細に検討され別途 Matsui らにより既に報告されている¹⁰⁾。

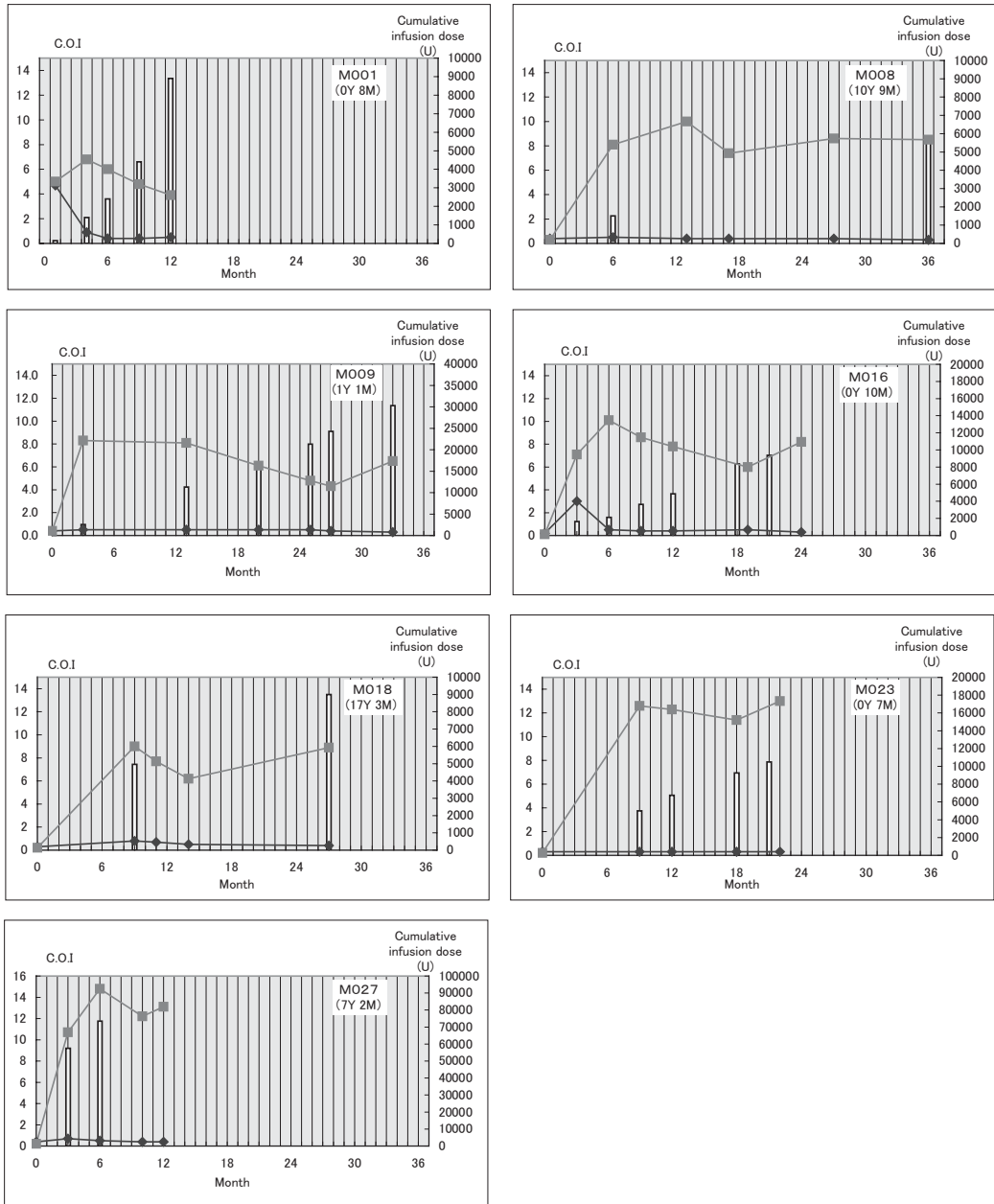


Fig. 3 Follow-up of anti-human parvovirus B19 antibody in hemophilia A patient after infusion of CROSS EIGHT M Group 2b: Hemophilia A patients with human parvovirus B19 infection who developed anti-human parvovirus B19 antibody within a short time after the first infusion.
 Vertical bars show cumulative amount of CROSS EIGHT M infusion dose.
 ■ : IgG class antibody, ◆ : IgM class antibody, () : Age at first infusion
 C.O.I : Cut off index

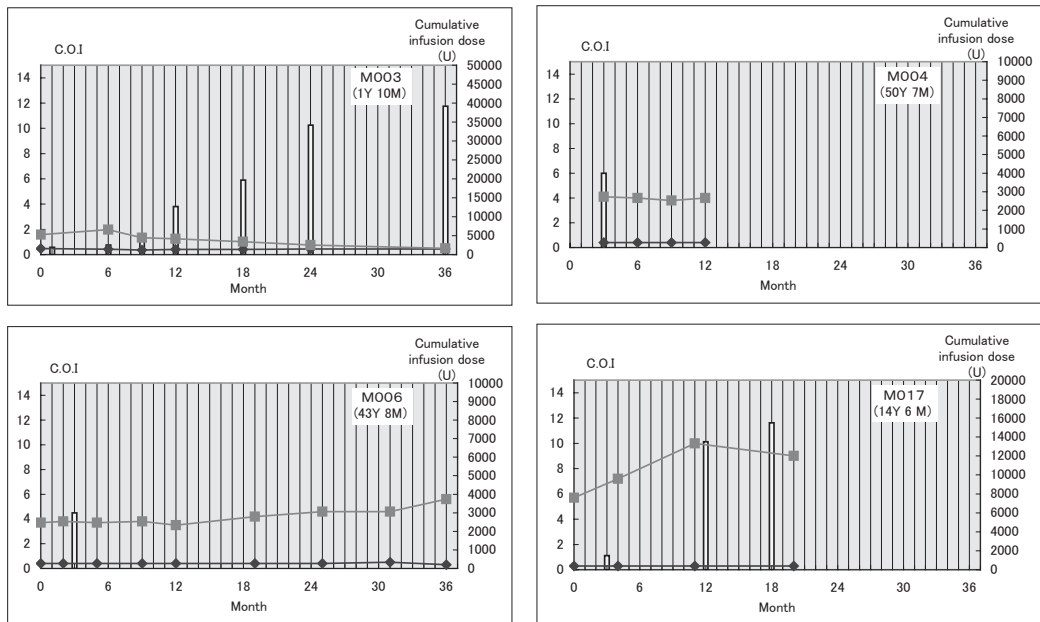


Fig. 4 Follow-up of anti-human parvovirus B19 antibody in hemophilia A patient after infusion of CROSS EIGHT M
Group 3: Hemophilia A patients who had been already infected with human parvovirus B19 before the first infusion.

Vertical bars show cumulative amount of CROSS EIGHT M infusion dose

■: IgG class antibody, ◆: IgM class antibody, (): Age at first infusion

C.O.I.: Cut off index

グループ3: 本 PUPs Study の前に既にヒトパルボウイルス B19 の感染のあった症例 (4 例) (図 4)。

5. 抗マウス IgG 抗体

24 例中 1 例 (M003) のみで投与開始 24 カ月後にマウス IgG に対する IgG 抗体 (IgG4 サブクラス) が出現したが本抗体に起因すると考えられる臨床症状はみられず, 48 カ月以後の検査では抗体は全て陰性であった。その後も本剤による止血管理が安全に継続され, 止血効果は良好であった。

6. 副作用

対象症例 24 例の 534 出血エピソードに対して合計 855 回の投与と 111 回の予防的定期補充療法が行われたが, 副作用の発現はなかった。

考 案

今回, 我々は過去に治療歴のない PUPs に献血血漿由来のモノクローナル抗体精製第 VIII 因子製剤 (クロスエイト M) を長期 (1993 年 - 2000 年) 多回投与し, その有効性 (止血効果), インヒビター発生率, 副作用発現頻度および各種ウイルスに対する安全性を各症例につき, 少なくとも 2 年以上観察する調査を実施した。

本剤の止血効果の有効率は 534 出血エピソード中 96.4% で, 本剤開発時に行われた臨床試験の成績¹¹⁾の有効率 92.9% とほぼ同等であった。止血管理を行った出血部位別頻度をみると, 関節出血, 皮下出血, 筋肉出血の順であり, 本臨床研究では皮下出血に対して止血管理を行った症例が比較的多かった (表 2)。また, 出血部位別の 1 回平均投与量を比較すると, 関節出

血では15～<30 U/kg, 筋肉出血では20～<30 U/kg, 皮下出血では15～<30 U/kgであり, 筋肉出血でやや多い傾向であったが, 大差はなかった(表3). 出血部位別の止血効果に関しては三者で大差はなかったものの, 筋肉出血ではExcellentよりGoodが多く, 投与量が近似しておれば, 止血効果の面で若干低い評価になるものと考えられた(表4)

対象症例24例中1例(M002, 重症)に生後4日目の本剤初回投与から24カ月後に0.9 BU/mlのインヒビターが検出された. 本症例のこの時点での総投与回数は65回, 総投与量は12,280単位であった. その後, 本調査とは別に平成13年(投与開始8年後)と平成17年(投与開始12年後)にインヒビター検査を行い陰性であることを確認した(吉岡, 私信). 本症例は研究期間中およびその後の補充療法でも止血効果は良好であったことからlow responder, かつ, 一過性インヒビターであったものと推定される.

インヒビター発生率には, 以下に述べる各種の要因が影響を与えるものと考えられる. 患者側の要因としては, 重症と中等・軽症, Cross-reacting material negative (CRM⁻)とCRM reduced (CRM^R)・CRM positive (CRM⁺), 遺伝子異常のタイプなど血友病Aとかかわるもののほか, 年齢, 投与方法(on demandか定期補充投与か, 持続投与の有無), ワクチン, 感染症やmajor histocompatibility class-II (MHC-II)等も関与すると考えられる. 製剤側の要因も重要で, 特に, いかなるウイルス不活性化か, 血漿由来か遺伝子組換え型か, 第VIII因子単独か第VIII因子/von Willebrand因子複合体製剤か, 等について長年にわたり議論されているが, まだ結論には至っていない¹²⁾.

検討方法を統一して, わが国では我々が中心に行ったPUPsを対象とした前方視的研究では, 2社のリコンビナント製剤のインヒビター発生率はコージネイトが15/43 (34.4%), 重症例に限ると13/31 (41.9%), リコネイトが4/22

(18.2%), 重症例に限ると3/13 (23.1%)であった⁵⁾⁶⁾. 本剤のPUPsでのインヒビター発生率は1/24 (4.2%), 重症例に限ると1/10 (10.0%)であった. しかし, 本研究では観察期間が短い症例があることから, 観察期間12カ月以上の症例を対象にして求めたインヒビター発生率は, 1/20 (5.0%)であった. 重症例に限ると, 観察期間12カ月以上では1/8 (12.5%)であった. 本研究では対象症例数も比較的少なく, かつ, 重症例の割合が少なかったことから, 3剤を同一レベルで比較することは困難であるものの, 少なくとも前述したリコンビナント製剤2剤より高い頻度ではなかった.

B型肝炎については製剤を通じて伝播した例はなかった. 本調査開始当初, HBc抗体が陽性化したものが3症例報告されたが, これは検査試薬の品質不良でPaul-Bunnell反応を起こしたための非特異反応であることが後日明らかにされたため, 本報告では陰性扱いとした. HBs抗原が陽性化したものはなく, HBs抗体もB型肝炎ワクチンを接種された症例を除いて陽性化した症例はなかった.

C型肝炎およびHIV抗体も陽性化した症例はなかった. 一方, ヒトパルボウイルスB19については観察期間中に抗体陽転例が12例見られ, うち2例には感染による典型的な臨床症状が出現した. 抗体陽転例についてクロスエイトM投与時期と陽転時期の関係等をさらに詳細に検討したところ, 投与後6～18カ月の間を置いて陽性化したもの(グループ2a)と投与後直ちに陽転化したもの(グループ2b)とがあった. 前者については本剤との因果関係が必ずしも明確でなく, 自然感染の可能性が考えられる. しかし, 後者についてはPUPs Studyに使用されたクロスエイトMからの感染が疑われる. 特に, 顕性感染となった症例M027についてはその可能性が極めて高い. この患者では発症前に投与された本剤と患者血清中のヒトパルボウイルスB19のDNA塩基配列を比較し, 両者は同じジェノタイプに属し, わずかに3塩基

しか違ってないことが確認されている (未発表)。

血友病患者におけるヒトパルボウイルス B19 感染についてこれまで多くの報告がなされている¹³⁾⁻²⁰⁾。ヒトパルボウイルス B19 はエンベロープを持たず、大きさが 20 nm と小型のウイルスであるため、クロスエイト M の製造工程中に組み込まれた S/D 処理やウイルス除去膜 (平均孔径 35 nm) を過でも不活化, 除去できず, PUPs Study の初期に使用された本剤の多くでヒトパルボウイルス B19 DNA が検出されている。この事態に対応するべく, 日本赤十字社では 1997 年 9 月からウイルス受容体を介した血球凝集反応 (Receptor-mediated hemagglutination: RHA) によるスクリーニングを行い, 同年 12 月以後に製造されたクロスエイト M (2M223 ロット以降) は全てヒトパルボウイルス B19 DNA は陰性となっている²¹⁾。さらに, 2005 年 4 月には孔径 20nm のウイルス除去膜を製造工程に導入し, 本ウイルスを含む小型ウイルスの除去効果をより一層高め, 本製剤の安全性は極めて高いものとなっている。

以上, 今回の PUPs Study で使用されたクロスエイト M では不活化や除去の困難なヒトパルボウイルス B19 の感染を推定させる症例が見られたが, その後の製造工程の改良によりこの問題は解決されている。従って, 本剤は止血効果が高く, 副作用やインヒビターの産生が少ない安全性の高い製剤であることが示された。

文 献

- Schwartz RS, Abildgaard CF, Aledort LM, Arkin S, Bloom AL, Brackmann HH, Brettler DB, Fukui H, Hilgartner MW, Inwood MJ, Kasper CK, Kernoff PBA, Levine PH, Lusher JM, Mannucci PM, Scharer I, MacKenzie MA, Panchar N, Kuo HS, Allred RU, and the recombinant factor VIII study group: Human recombinant DNA-derived antihemophilic factor (factor VIII) in the treatment of hemophilia A. *N Eng J Med* **323**: 1800-1805, 1990.
- Lusher JM, Arkin S, Abildgaard CF, Schwartz RS, for the Kogenate Previously Untreated Patient Study Group: Recombinant factor VIII for the treatment of previously untreated patients with hemophilia A—Safety, efficacy, and development of inhibitors. *N Eng J Med* **328**: 453-459, 1993.
- Bray GL, Gomperts ED, Courter S, Gruppo R, Gordon EM, Manco-Johnson M, Shapiro A, Scheibel E, White G, Lee M: A multicenter study of recombinant factor VIII (recombinate): safety, efficacy, and inhibitor risk in previously untreated patients with hemophilia A. *The Recombinate Study Group. Blood* **83**: 2428-2435, 1994.
- Goudebrand J, Rothschild C, Demiguel V, Vinciguerra C, Lambert T, Chambost H, Borel-Derlon A, Claeysens S, Laurian Y, Calvez T and the members of the FVIII-LFB and Recombinat FVIII study groups: Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A. *Blood* **107**: 46-51, 2006.
- Yoshioka A, Fukutake K, Takamatsu J, Shirahata A, and the Kogenate Post-Marketing Surveillance Study Group: Clinical evaluation of a recombinant factor VIII preparation (Kogenate) in previously untreated patients with hemophilia A. *Int J Hematol* **78**: 467-474, 2003.
- 吉岡章, 福武勝幸, 新井盛夫, 稲葉 浩, 花房秀次, 三間屋純一, 高松純樹, 嶋 緑倫, 白幡 聡, 藤巻道男, リコネイト (PUPs) 研究会: 過去に治療歴のない血友病 A 患者に対する遺伝子組換え型血液凝固第 VIII 因子製剤 (リコネイト) の市販後の多施設臨床評価 (特別調査). *血栓止血誌* **15**: 522 ~ 534, 2004.
- Kamisue S, Shima M, Nishimura T, Tanaka I, Nakai H, Morichika S, Takata N, Kuramoto A, Yoshioka A: Abnormal factor VIII Hiroshima: defect in crucial proteolytic cleavage by thrombin at Arg1689 detected by a novel ELISA. *Br J Haematol* **86**: 106-111, 1994.
- Kasper CK, Aledort LM, Counts RB, Edson JR, Frantatoni J, Green D, Hampton JW, Hilgartner MW, Lazerson J, Levine PH, McMillan CW, Pool JG, Shapiro SS. A more uniform measurement of factor VIII inhibitors [letter]. *Thromb Diath Haemorrh* **34**: 869-872, 1975.
- Shima M, Sawamoto Y, Nakai H, Kamisue S, Murakami T, Morichika S, Tanaka I, Hayashi K, Yoshioka A. Measurement of anti-factor VIII IgG, IgG4 and IgM alloantibodies in previously untreated hemophilia A patients treated with recombinant factor VIII. *Kogenate Japanese Clinical Study Group. Int J Hematol* **62**: 35-43, 1995.
- Matsui H., Sugimoto M, Tsuchi S, Shima M, Giddings J, Yoshioka A: Transient hypoplastic anemia caused by primary human parvovirus B19 infection in a previously untreated patient with hemophilia transfused with a plasma-derived, monoclonal antibody-purified factor-VIII concentrate. *J Pediatr Hematol Oncol* **21**: 74-76, 1999.
- 藤巻道男, 後藤三雄, 宮崎保, 櫻田恵右, 森和夫, 石川正明, 木下忠俊, 福武勝幸, 稲垣稔, 花房秀次, 長尾大, 高橋芳右, 松田保, 塩原信太郎, 齋藤英彦, 吉岡慶一郎, 木下清二, 安永幸二郎, 大久保進, 垣下榮三, 西田恭治, 上田一博, 小林正夫, 白幡聡: モノクローナル抗体精製第 VIII 因子濃縮製剤 (RCG-11) の臨床試験成績, *基礎と臨床* **26**: 1109-1129, 1992.
- DiMichele DM: Inhibitors to factor VIII—epidemiology and treatment, in Erik Berntorp, Keith Hoots, Christine Lee (eds): *Textbook of Hemophilia*, Blackwell publishing, 2005, p64-70
- Mausser-Bunschoten EP, Zaaier HL, van Drimmelen AAJ, de Vries S, Roosendaal G, van den Berg HM, Lelie PN: High prevalence of parvovirus B19 IgG antibodies among Dutch hemophilia patients. *Vox Sang* **74**: 225-227, 1998.
- Brown SA, Dasani H, Collins PW: Long-term follow up of patients treated with intermediate FVIII concentrate BPL 8Y. *Haemophilia* **4**: 89-93, 1998.
- Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, Azzi A, Morfini M, Musso R, Santoro R, Schiavoni M: Transmission of

- parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degree C heat after lyophilization. *Transfusion* **37** : 517-522, 1997.
- 16) Ragni MV, Koch WC, Jordan JA: Parvovirus B19 infection in patients with hemophilia. *Transfusion* **36** : 238-241, 1996.
- 17) Eis-Hubinger AM, Oldenburg J, Brackmann HH, Matz B, Schneweis KE: The prevalence of antibody to parvovirus B19 in hemophiliacs and in the general population. *Zentralbl Bakteriol* **284** : 232-240, 1996.
- 18) Eis-Hubinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, Kaiser R, Matz B, Schneweis KE: Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation FVIII products. *Thrombo Haemost* **76** : 1120, 1996.
- 19) Soucie JM, Siwak EB, Hooper WC, Evatt BL, Hollinger FB, and the Universal Data Collection Project Working Group: Human parvovirus B19 in young male patients with hemophilia A: associations with treatment product exposure and joint range-of-motion limitation. *Transfusion* **44** : 1179-1185, 2004
- 20) Wu C, Mason B, Jong J, Erdman D, McKernan L, Oakley M, Soucie M, Evatt B, Yu MW: Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion* **45** : 1003-1010, 2005.
- 21) Takeda Y, Wakisaka A, Noguchi K, Murozuka T, Katsubayashi Y, Matsumoto S, Tomono T, Nishioka K: Receptor-mediated haemagglutination screening and reduction in the viral load of parvovirus B19 DNA in immunopurified Factor VIII concentrate (Cross Eight M). *Vox Sang* **81** : 266-268, 2001.

Clinical evaluation of safety and efficacy of a plasma-derived factor VIII (CROSS EIGHT M) in previously untreated patients with hemophilia A

Akira YOSHIOKA, Akira SHIRAHATA, Katsuyuki FUKUTAKE,

Tadashi KAMIYA and Michio FUJIMAKI

Key words: hemophilia A, previously untreated patients, plasma-derived FVIII, clinical study, human parvovirus B19

Surveillance study was performed in 24 (severe 10, moderate 6, and mild 8) previously untreated patients with hemophilia A to evaluate the safety and efficacy of plasma-derived factor VIII (CROSS EIGHT M, Japanese Red Cross) which has been widely used in Japan. In a total of 534 bleeding episodes during the study, 226 and 138 were judged to be "excellent" and "good" in hemostatic efficacy, respectively. The overall efficacy rate including more than "good" reached 96.4% without any "none" or "worse" cases. One severe patient transiently developed 0.9 BU/ml of inhibitor to factor VIII. Another severe patient developed transient anti-mouse IgG antibody did not show clinical symptoms. Regarding virus transmission, no HBV, HCV or HIV infection was reported, but human parvovirus B19 transmission through this product can not be excluded. The manufacturer has been improving the safety measures against this virus using a screening test by receptor-mediated hemagglutination (RHA) and introduction of nanofiltration during the manufacturing. These results indicate that CROSS EIGHT M has high ability in hemostatic efficacy and low activity in adverse reaction and inhibitor formation.