

◆トピックス◆

血友病 B

中 宏 之*, 嶋 緑 倫*

Hemophilia B

Hiroyuki NAKA*, Midori SHIMA*

Key words : hemophilia B, factor IX, point mutation

1. 概念・歴史

血友病 B は、血液凝固第 IX 因子 (以下第 IX 因子) の量的質的異常に由来する先天性出血性疾患である。第 IX 因子遺伝子は、第 VIII 因子遺伝子と同様 X 染色体に存在するため、基本的には保因者である母親を介して男子のみに発症する X 連鎖劣性遺伝形式をとる。実際には、家族歴のない散発例も存在する。また、出血症状も血友病 A と酷似しているため、遺伝形式と出血症状のみでは血友病 A との鑑別診断は不可能である¹⁾。

血友病は、歴史上 19~20 世紀のヨーロッパに登場した。大英帝国を率いた Victoria 女王は、血友病の保因者であり、8 人の子どものうち 1 人に血友病が発症し、2 人が保因者であった。彼らの子孫が、姻戚関係を持つことによりそれぞれプロシャ・ロシア・スペインの王室に広まり、Royal disease として知られるようになった。また種々の小説の題材ともなっている。もっとも、Royal disease と呼ばれた血友病は、血友病 A なのか、B なのか現時点では結論が出ていない (図 1)。

20 世紀中頃より、凝血学的検査が導入され、

血友病 A と B の鑑別が可能になった。まず、1947 年、Pavlousky は 2 人の (古典的) 血友病と考えられた患者間の血液を混合して、相互に補正されることを見だし (古典的) 血友病には 2 種類の疾患が含まれることを報告した。1952 年、Aggeler や Biggs らの研究により、(古典的) 血友病 (血友病 A) の欠乏因子とは異なる血液因子の欠乏による出血性疾患を、トロンボプラスチン欠乏症あるいは患者の性名に因んで Christmas 病と呼んだ。1953 年、Biggs と Douglas らにより、Al(OH)₃ 吸着血漿と血清を用いたトロンボプラスチン生成試験 (TGT) が考案され、血友病 A と B が鑑別できるようになった。同年、Langschel らにより、部分トロンボプラスチン時間 (PTT) が開発され、現在用いられている欠乏血漿を用いた第 VIII 因子・第 IX 因子の一段測定法に発展した^{2)~4)}。

2. 病 態

第 IX 因子は主に肝臓で合成される分子量 57 kDa の糖蛋白質で、血漿中に約 3~5 $\mu\text{g/ml}$ 存在する。ビタミン K 依存性のセリンプロテアーゼの 1 つで、血液凝固因子第 II, VII, X 因子と

*奈良県立医科大学小児科 [〒 634-8522 橿原市四条町 840]

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

Tel.0744-22-3051, Fax.0744-24-9222, e-mail: hinaka@naramed-u.ac.jp

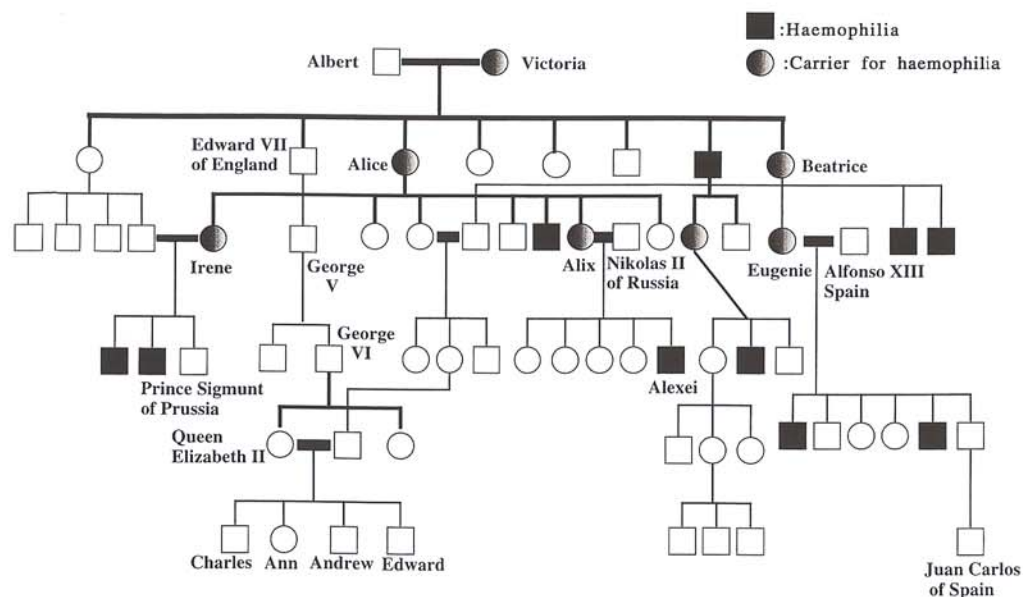


図 1 A pedigree of haemophilia in the Royal families of Europe

Victoria 女王の子どものうち 2 人の娘 Alice・Beatrice が保因者であった。Alice の 7 人の子どものうち、保因者である Irene がプロシヤに、Alix がロシアに嫁いだ。Irene はプロシヤ王子 Sigmunt と 2 人の血友病患者を生んだ。Alix は、ロシア王ニコラス二世の妻となり、血友病患者 Alexei を生んだ。Beatrice の娘 Eugenie は保因者で、スペイン王 Alfonso 十三世の妻となり、6 人の子どもを生んだが 2 人は血友病であった。

現在のイギリス王室が血友病家系でないことがよくわかる。

(Virginia 大学 Robert J. Huskey 博士の BIOL 121 ホームページを改変)

高い相同性を有する。第 IX 因子は、血液凝固内因系では活性化第 XI 因子に、外因系では活性化第 VII 因子/組織因子複合体により活性化される。活性化第 VIII 因子、リン脂質、 Ca^{2+} とともに tenase 複合体を形成し、第 X 因子の活性化を促進させる。従って、第 IX 因子の異常は重大な凝固障害をもたらす、出血症状を呈することになる¹⁾。

3. 疫 学

1997 年の福武らの疫学調査⁵⁾では、1997 年 10 月 30 日現在の生存患者数は、698 人(女性血友病 B 5 人)であり、これは先天性血液凝固異常症の中では、血友病 A (3,288 人)について多く、14.9%を占める。血友病中に占める割合は、血友病 A 82.5%、血友病 B 17.5%であった。

4. 分類・遺伝子解析

血友病 B の臨床的重症度は、第 IX 因子活性と非常によく相関しており、第 IX 因子活性により 1%未満を重症型、1%以上 5%未満を中等症、5%以上を軽症と分類している。軽症ではほとんど自然出血は認めず、大きな外傷や手術時、抜歯時出血症状を認め初めて診断されることが多い。また、免疫学的検査において第 IX 因子抗原により、欠乏する B^{-} 、低下する B^{R} 、正常量存在する B^{+} に分類される。第 IX 因子活性と抗原量とは、必ずしも相関しない。これは、血友病 B を引き起こす第 IX 因子遺伝子異常が多様性に富み、第 IX 因子の分子異常症が多いことに由来する。

第 IX 因子遺伝子は、X 染色体長腕遠位端 Xq 27.1 に存在し、全長約 34 kb で 8 個のエク

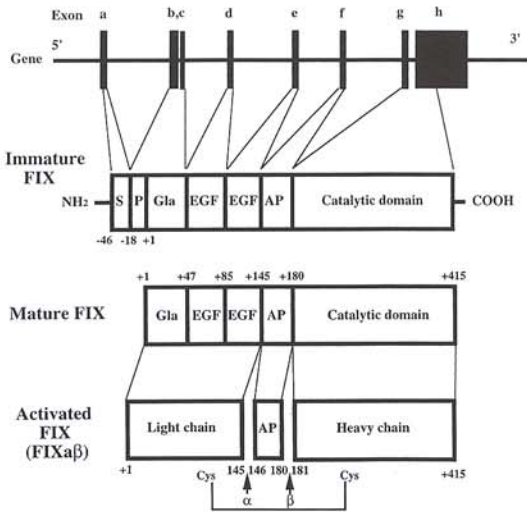


図2 第IX因子の遺伝子・蛋白質構造

S: シグナルペプチド, P: プロペプチド, Gla: Glaドメイン, EGF: Epidermal growth factor様ドメイン, AP: 活性化ペプチド

ソン (a~h) と7個のイントロンよりなり、cDNAは約2.8 kbである。これらの8個のエクソンは461個のアミノ酸よりなる第IX因子前駆体蛋白をコードしている。第IX因子前駆体蛋白は、N末よりシグナルペプチド、プロペプチド、Glaドメイン、第1、第2 EGFドメイン、活性化ペプチド、カタリティックドメインの7つの機能ドメインよりなり、大体エクソンと機能ドメインは一致している⁶⁾⁷⁾ (図2)。蛋白として分泌される成熟第IX因子はシグナルペプチドとプロペプチドを遊離して、415個のアミノ酸よりなる蛋白として分泌される。

第IX因子は第VIII因子に比して血漿含量が多いこと、安定であること、遺伝子サイズが短いことなどより、血友病Bの遺伝子解析は血友病Aより進んでいる。歴史的に異常第IX因子の検索は、2つの方法が行われてきた。1つは、抗原陽性B⁺あるいはB^R症例の患者より異常第IX因子を純化、アミノ酸シーケンスを行うことにより異常部位を決定する生化学的手法で、ほかはPCR法を用いて直接遺伝子異常を決定する遺伝子工学的な手法である。

1984年の最初の報告以来、年々遺伝子異常の報告が蓄積され、最新版(v 9.0)データベースでは、総エントリー数1,918例で、計689種類の遺伝子異常が登録されている。内訳は30塩基以下の短い欠失や挿入は143例のみで、あとはすべて点変異である。血友病Bの遺伝子変異は、第IX因子遺伝子全領域にわたっている。実際、データベースによると、第IX因子前駆体の461個のアミノ酸中425にアミノ酸置換が見つかり、そのうち126個のアミノ酸で2種以上のアミノ酸置換が登録されている(血友病Bのデータベースは、<http://www.umds.ac.uk/molgen>を通して閲覧できる)。これは血友病Bがいかに多様性に富んだ疾患であるかを物語っている。この第IX因子異常の多様性は、第IX因子分子の理解を飛躍的に向上させるきっかけとなった。なぜなら実験的にmutagenesisすることなく、血友病Bの遺伝子解析を通して、第IX因子分子の機能ドメインに関する知見を蓄積することができたからである⁸⁾。特に、プロペプチド・Glaドメイン・第1 EGFドメインの機能解析に果たした役割は大きい。さらに、プロモーター上の点変異の解析により、種々の転写因子の結合の異常が明らかにされた。小児期は血友病Bであるにもかかわらず、思春期以後第IX因子活性が徐々に増加し、出血症状がなくなる特殊病型(FIXLeyden)はあまりにも有名である⁹⁾¹⁰⁾。

5. 症 状

症状は血友病Aとほとんど同様であるため、血友病Aの項参照。

6. 診 断

- 1) 出血歴—関節内出血、筋肉内出血、および深部臓器出血があれば、血友病AかBを疑う。
- 2) 家族歴—詳細な家系調査はX連鎖劣性遺伝形式をとる血友病A、Bの診断には重要であ

表 1 現在市販されている乾燥ヒト血液凝固第 IX 因子製剤

種類	製剤名	製造販売会社	含有量 (単位/バイアル)
第 IX 因子複合体製剤	PPSB-HT	ニチャク	200, 500
第 IX 因子複合体製剤	プロプレックスST	バクスター	400
第 IX 因子単剤製剤	ノバクトM	化血研・藤沢	250, 500, 1,000
第 IX 因子単剤製剤	クリスマシンM	ウェルファイド	400, 1,000
遺伝子組換え型 第 IX 因子単剤製剤	ベネフィックス*	ジェネイクス・山之内	400, 1,000

* 臨床試験終了

る。もちろん、散発例もある。

3) 止血検査—スクリーニング検査として、全血凝固時間 (CT), プロトロンビン時間 (PT), 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を行い, CT と APTT が延長, PT が正常の場合, 第 VIII 因子, 第 IX 因子活性を測定し診断する。第 IX 因子活性は, 欠乏血漿を用いた凝固一段法で, 第 IX 因子抗原は, ロシュ・ダイアグノステック株式会社より市販されているアセラクロム IX: Ag II キット (EIA 法) により測定する。

4) 遺伝子解析—前述したように血友病 B における遺伝子変異はほとんどの場合が, 点変異であるため, 当教室ではゲノム DNA より各エクソンを PCR で増幅し, SSCP 法にて点変異のスクリーニングを行い, ダイレクトシーケンスを行っている。

7. 治療

血友病 B の治療の原則は欠乏因子である第 IX 因子の静脈内補充療法である。現在我が国で市販されている第 IX 因子濃縮製剤を表 1 に示す。最近新たにリコンビナント第 IX 因子製剤が開発され, 我が国でも臨床試験が終了している。1 単位 (1 U) の第 IX 因子とはプールしたヒト血漿 1 ml 中に含まれる第 IX 因子の量である。体重 1 kg 当たり 1 U の第 IX 因子濃縮製剤を静脈内に投与すると, 患者血漿中の第 IX 因子は 1~1.5% 上昇する。血友病 A で第 VIII 因子製剤を静脈内に投与した場合と異なり, 理論的期待値よりも低い。この理由は血管外のプ

ールの違いに由来すると考えられている。また, 第 IX 因子の血漿中半減期は, 第 VIII 因子に比して長く, 約 18~24 時間である。出血症状の種類・程度や手術の種類により, 第 IX 因子濃縮製剤の投与量・投与回数・投与期間を決定する。通常の間節などの関節内出血では, 目標第 IX 因子レベルを 40% 程度の一回投与で, 十分である。

最近のトピックスとして血友病 B の遺伝子治療に触れておく。1999 年に施行された血友病 B に対する adeno-associated-virus (AAV) を用いた遺伝子治療の臨床試験の途中経過が報告された¹¹⁾。臨床試験は, 第 IX 因子 cDNA を担った AAV を 3 人の重症型血友病 B 患者に, マウスやイヌモデルで必要と考えられるより少ないウィルス量を一回だけ筋肉内投与するという方法で実地された。AAV 導入後, 約 200 日経過した結果では, まったく副反応はなく, 血漿中の第 IX 因子レベルの増加はあまり認めないものの, 補充療法を必要とする出血回数は著しく減少し, 臨床病型は重症型から軽症型に改善している。また, 筋肉生検では筋肉内において第 IX 因子の発現が確認されている。第 IX 因子の cDNA がクローニングされてから, まだ 20 年もたっていないが, この結果は血友病の遺伝子治療が目前に迫っていることを示している。もちろん, ウィルス量・長期予後・倫理的な問題など, まだまだ克服されなければならない問題も多いことは言うまでもない。

文 献

- 1) 吉岡 章: 血友病, 最新内科学大系 21. 中山書店, 1992, 185-200.
- 2) 福井 弘: 血友病の歴史と疫学. 小児内科 **23**: 161-165, 1991.
- 3) Aggeler PM, White SG, Glendening MB, Page EW, Leake TB, Bates G: Plasma thromboplastin component (PTC) deficiency: a new disease resembling hemophilia. *Proc Soc Exp Biol Med* **79**: 692-694, 1952.
- 4) Biggs R, Douglas AS, Macfarlane RG, Dacie JV, Pitney WR, Merskey C, O'Brien JR: Christmas disease. A condition previously mistaken for haemophilia. *Brit Med J* **2**: 1378-1382, 1952.
- 5) 福武勝幸, 白幡 聡, 瀧口正志: 血液凝固異常症全国調査報告書: 9-17, 1997.
- 6) Yoshitake S, Schach BG, Foster DC, Davie EW, Kurachi K: Nucleotide sequence of the gene for human factor IX (antihemophilic factor B). *Biochemistry* **24**: 3736-3750, 1985.
- 7) Anson DS, Choo KH, Rees DJG, Giannelli F, Gould K, Huddleston JA, Brownlee GG: The gene structure of antihemophilic factor IX. *EMBO* **3**: 1053-1060, 1984.
- 8) Robert HR: Molecular biology of hemophilia B. *Thromb Haemost* **70**: 1-9, 1993.
- 9) Crossley M, Brownlee GG: Disruption of a C/EBP binding site in the factor IX promoter is associated with haemophilia B. *Nature* **354**: 444-446, 1990.
- 10) Crossley M, Ludwig M, Stowell KM, De Vos P, Olerk K, Brownlee GG: Recovery from hemophilia B Leyden: an androgen-responsive element in the factor IX promoter. *Science* **257**: 377-379, 1992.
- 11) Kay MA, Manno CS, Ragni MV, Larson PJ, Couto LB, McClelland A, Glader B, Chew AJ, Tai SJ, Herzog RW, Arruda V, Johnson F, Scalten C, Skarsgard E, Flake W, High KA: Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nat Genet* **24**: 257-261, 2000.