

抗 Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) 薬の基礎と臨床

鈴木伸明*

Basic and clinical aspects of anti-tissue factor pathway inhibitor (TFPI)

Nobuaki SUZUKI

要約：血友病治療に Rebalancing therapy という新しい治療概念が登場した。これは凝固と抗凝固のバランスを調整することにより、出血傾向を是正しようというものであり、抗 Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) 薬はその代表的なものである。現在、開発が進む抗 TFPI 薬の多くは、TFPI の K2 ドメインをメインターゲットにした抗 TFPI 抗体で、TFPI の FXa と TF/FVIIa 複合体への不活化反応を阻害することにより、止血能の改善を図る。スパイク試験や動物実験、さらにはヒトにおける臨床試験の結果から、抗 TFPI 抗体の投与により、遊離 TFPI が減少し、その結果、トロンビン生成能の回復につながっていることが示され、これが主な薬効であると考えられている。臨床的な出血抑制効果は、Concizumab の第二相試験では、既存血友病治療と遜色のない治療効果が示され、有害事象としても、目立ったものは見られていない。過去には開発途中で中止となった薬剤もある抗 TFPI 薬であるが、いよいよ実用化が近づいている。

Key words: rebalancing therapy, tissue factor pathway inhibitor (TFPI), concizumab, marstacimab

1. 血友病治療の課題

血友病治療は長らく、欠損する血液凝固因子を補充する補充療法が治療の中心であった。補充療法の問題点は、補充する血液凝固第 VIII, IX 因子 (FVIII, FIX) の半減期が短く、装飾化により半減期を延長した半減期延長製剤が登場した現在でも、特に血友病 A では週 2 回程度の継続的な静脈注射が必要であるという点である。そのような治療特性は、特に小児や血管が細い患者さんにとっては治療の継続困難につながる問題であった。その欠点を克服するために欠損する凝固因子そのものではなく、バイスペシフィック抗体や、凝固カスケードの他の因子を調節する薬剤開発が進められるようになった。そして、それらの薬剤は凝固因子ベースの因子製剤 (Factor 製剤) に対して、non-Factor 製剤と呼ばれ、区別さ

れるようになった。non-Factor 製剤の特徴は抗体医薬などであるため、皮下注射による投与が可能であることや、薬物動態的にフラットな薬効が特徴として挙げられる。non-Factor 製剤のなかでも、エミシズマブはバイスペシフィック抗体による FVIIIa の代替がその薬理的メカニズムであるが、近年、多くのメーカーにより開発が進められている抗 Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) 薬は TFPI による活性型血液凝固第 X 因子 (FXa) と組織因子 (TF) /活性化凝固第 VII 因子 (FVIIa) 複合体の不活化を阻害することにより、血液凝固バランスを変化させ、止血能を高める。このような凝固と抗凝固の不均衡を是正することにより、治療効果を得ることを Rebalancing coagulation コンセプト¹⁾と呼び、そのようなコンセプトに基づく治療法を Rebalancing therapy などと呼んでいる。この治療法の特徴は血友病 A, B いずれにも有効であることである。本稿では抗 TFPI 薬の中でも、開発が進んできている抗 TFPI 抗体薬についてレビューする。

*責任者連絡先：

名古屋大学医学部附属病院輸血部
〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地
Tel: 052-744-2652, Fax: 052-744-2610
E-mail: suzukin@med.nagoya-u.ac.jp

2. TFPI について

TFPI はセリンプロテアーゼインヒビターのひとつで、その構造的な特徴として、酸性領域の N 末端ドメインと塩基性領域の C 末端ドメインの間に Kunitz 型インヒビタードメイン (K ドメイン) を持つ。TFPI の抗凝固作用はこの K ドメインが FXa や TF/FVIIa 複合体の活性中心と結合することにより、発揮される²⁾。TFPI には α , β , δ の 3 つのアイソフォームが存在するが、血液凝固反応での機能が明らかにされているのは α と β である (図 1A)。TFPI α は 3 つの K ドメインを持ち、C 末端ドメインは様々なサイズに切断されている。完全長の C 末端ドメインを持つ TFPI α は遊離型として、単体で血漿中に存在するが、血漿中に存在する TFPI の内、遊離型は約 10% と言われている^{3,4)}。それ以外の TFPI は血液中でもリポ蛋白と結合し、存在している。TFPI β は K1 と K2 の二つの K ドメインをもち、C 末側には glycosylphosphatidyl inositol 連結配列 (GPI 連結配列) を持つ。これを介して細胞、主に血管内皮細胞と結合する。この TFPI α と β は同一遺伝子から生成されるが、選択的スプライシングにより発現調節されている。産生臓器は血管内皮細胞を主として、巨核球/血小板などでも産生される。ただし、血管内皮細胞では TFPI α と β の両方が作られるが、巨核球/血小板で産生されるのは TFPI α のみである。TFPI の抗凝固作用は、先述したように FXa と TF/FVIIa 複合体に TFPI が結合することにより発揮される。K1 ドメインが TF/FVIIa 複合体と結合し、K2 ドメインが FXa と結合するが、TFPI 単独では TF/FVIIa 複合体への結合力は弱く、FXa と合わせた不活化 4 次元複合体の形成が TF/FVIIa 複合体の阻害には重要な役割を果たしている (図 1B)^{2,5)}。また TF/FVIIa 複合体の阻害反応には、K3 ドメインがプロテイン S と結合することによって、K2 ドメインと FXa の結合を促進し、結果的に TFPI の TF/FVIIa 複合体に対する阻害反応を増強することが分かっている (図 1B)^{2,6,7)}。K ドメイン以外の働きでは、生体中で血管内皮上に存在するヘパリン類であるグリコサミノグリカンは TFPI の C 末端と結合し、TFPI の TF/FVIIa 複合体に対する阻害反応を効果的にすることが分かっている^{2,8)}。さら

に、このグリコサミノグリカンと結合している TFPI α はヘパリンの投与により、血漿中に放出され、その血中濃度が 1.5~3.0 倍に上昇する^{3,4)}。なお、これら PS, グリコサミノグリカンの関与は、それぞれ、活性化プロテイン C (Activated protein C: APC) や、AT とは独立した反応として機能している。

3. TFPI に着目した血友病治療の基礎研究

TFPI は日常臨床では測定されることもないため、あまり意識されることが少ない凝固因子であるが、TF/FVIIa 複合体や FXa という血液凝固カスケードの中でも極めて重要な因子の調節を担っている。この TFPI に着目した血友病治療の研究は 20 年以上前からされており、1991 年に最初の基礎研究が報告されている⁹⁾。ここでは血友病 A と B の患者血漿に Extrinsic Pathway Inhibitor (EPI) のインヒビターを添加し、希釈トロンボプラスチンアッセイを実施。EPI を抑制することにより、健常血漿以上に血友病血漿において、効果的な凝固時間の短縮効果を得られた。これに引き続いて、同グループは後天性血友病 A のウサギモデルを作成し、抗 TFPI 抗体 (インヒビター) の投与で TFPI を抑制することにより、健常レベルには及ばないが、出血時間が短縮することを報告した¹⁰⁾。動物実験では血友病 A マウスを用いた実験でも、TFPI の抑制により、テイルカットでの出血時間の改善が報告されているが、興味深いのは、血中の TFPI を阻害する量以上の抗 TFPI 抗体を投与することにより、出血量の減少が得られたという結果である。このことは十分な臨床的効果を引き出すには、血漿中の TFPI を抑制するだけでなく、組織損傷時に放出されると考えられる血小板中の TFPI も阻害することが止血能を高めるためには必要であることを示唆している¹¹⁾。

4. Concizumab

1) Concizumab とは

Concizumab は TFPI の K2 ドメインをターゲットにしたモノクローナル抗体である。ベビーハムスターの腎臓細胞 (BHK) を使い、完全長の遺伝子組み換

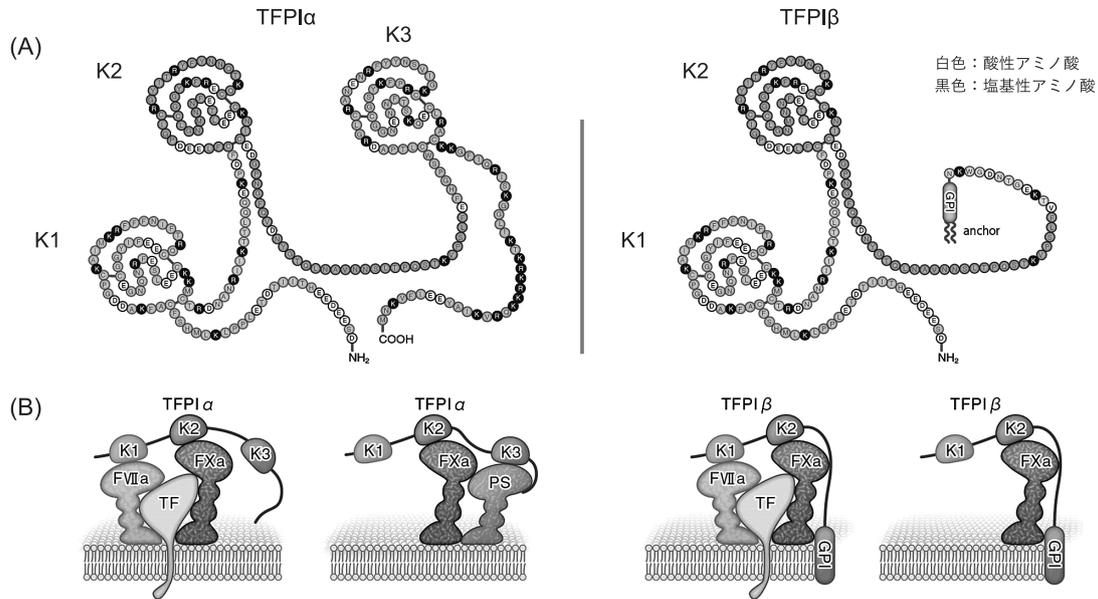


図1 TFPIの構造と働き（文献3を参考に著者作成。イラストレーションBY森真由美）

(A) TFPI α は酸性アミノ酸を多く含むN末端領域、3つのKドメイン、塩基性アミノ酸を多く含むC末端領域からなる。TFPI β はK3以降のC末端側領域を欠き、GPI連結配列を持つ。
 (B) TFPIの抗凝固機能。機能としては血管内皮細胞上のTFPIが最も強い作用を持つ。遊離型TFPI α 、さらにリポプロテインと結合するTFPIの抗凝固作用は、この順に低くなっている。

えヒトTFPIを作成し、それをマウスに投与して免疫し、脾細胞からハイブリドーマを作製。そこから産生される抗TFPI抗体の中から、FXaとTF/FVIIa/FXa/TFPI（不活化四次元複合体）の阻害作用が高いものを選びだし、ヒトIgG4をフォーマットにして作製している。このように作製されたConcizumabはK2ドメインを介して、血漿中と内皮細胞表面に存在するTFPIと結合することが確認されている¹²⁾。

2) 第一相試験 (explore 1)¹³⁾ と第二相試験 (explore 4 & 5)¹⁴⁾ の概要

第一相試験は9か国13施設による多施設共同ランダム化比較試験として実施された。主要評価項目は安全性評価であり、最終的にプラセボを含めて、健康ボランティア28名と重症血友病患者24名を組み入れた。Concizumabは静脈注射群と皮下注射群に分けて投与されている。投与後は43日間の観察期間に入り、この期間、血算、生化学、凝固学的検査などの血液検査のほか、心電図などを実施し、安全性評価を行った。

第二相試験にはインヒビターを保有する血友病A、

B患者（Hemophilia A(B) with inhibitor: HAwi and HBwi）を対象にしたexplore4試験とインヒビターのない血友病A患者（Hemophilia A: HA）を対象にしたexplore5試験が該当する。いずれの試験もグローバル試験であり、explore4試験は12か国17施設を参加施設として実施され、非インヒビター症例を対象としたexplore5試験は11か国、26施設を参加施設として実施された。プロトコールはインヒビター症例を対象としたexplore4では最初の24週間をオンデマンド治療での観察期間とし、その後に、Concizumab 0.5 mg/kgを初回loading doseとして投与、その後は0.15 mg/kgを連日皮下注射する。explore5試験では最初からConcizumab 0.15 mg/kgを連日皮下注射していく。いずれの試験でも12週間に自然出血が3回認められたら、Concizumabの投与量を0.20 mg/kg、0.25 mg/kgと増量していく。主要評価項目は出血予防効果で年間当たりの出血回数（annualized bleeding rate: ABR）として評価し、副次的項目として、安全性と免疫原性の評価と薬物動態の評価があり、免疫原性では抗薬物抗体の発症件数

を主な評価項目としている。登録患者は explore 4 試験が, HAwI と HBwI をそれぞれ, 9 名と 8 名. explore 5 試験では HA 患者 36 名がエントリーしている。

3) 安全性評価

第一相試験である explore1 試験では重篤な有害事象 (Adverse event: AE) の発現はなかったが, 52 人中 34 人において, 76 の AE が確認された。この内, 治験薬投与に関連すると判断されたものは 5 つであり, さらに, この中で Concizumab 投与をうけた症例に発生したものは 3 イベントであった (他の 2 つはプラセボ群)。もっとも印象的なのは 1.0 mg/kg の皮下注射後に起こった血栓性静脈炎である。これは投与 5 日目に出現し, 症状発現の翌日に自然軽快している。その他の AE は 0.25 mg/kg の静脈注射後に起こった微量タンパク尿と 0.9 mg/kg の静脈注射後に起こった腹痛である。全体として, 用量依存性に AE が増加することなく, 健常人ボランティア群と血友病患者群で AE の発現傾向に違いは認められなかった。皮下注射製剤であり, 局所反応が気になる所であるが, 評価された 3,331 件の投与で, 19 名の被検者に 65 件の軽度な, そして, 1 名に中等度の注射部位反応が見られたが, バイタルサインに影響が出るようなものはなかった。第二相試験である explore 4 & 5 でも重篤な有害事象は認めず, 非重篤なものとしては, 投与部位の出血が 16 例で見られた。投与部位の出血に関しては第一相試験でも, 健常ボランティアで一件発症しており, 血友病患者に対する投与に限ったものではないと考えられ, また, 投与した Consizumab 濃度やその時の遊離 TFPI 濃度とも関係がないようである。

出血時治療でのバイパス製剤の併用, あるいは第 VIII 因子製剤の併用に関しても, 血栓性有害事象などは報告されていないが, 第二相試験での出血イベントが HAwI & HBwI 群で 47 エピソード, HA 群で 70 エピソードと限られた件数での評価であるため, 止血時治療併用に関する安全性については今後も継続評価が必要であろう。

抗薬物抗体である抗 Concizumab 抗体については HAwI & HBwI 群と HA 群で 3 症例ずつ (計 53 症例中 6 例) 中和作用のある抗 Concizumab 抗体が一過性に検出されたが, 力価的には微弱で, PK データなどに

も明らかな影響は見られなかった。

4) Concizumab の薬物動態とトロンビン生成能

薬物動態に関しては静脈注射においても, 皮下注射においても投与量が多くなると (血中濃度が高くなると), 半減期は長くなり, クリアランスは小さくなるといった特徴が見られた (図 2AB)。これは Target mediated clearance と呼ばれるモノクローナル抗体で比較的良好に見られる現象であり, Concizumab と TFPI とが結合することにより, Concizumab のクリアランスが早くなるという特性であるが, 低濃度の状態であるほど, その影響を受ける。また, 健常人, 血友病患者の両方で, コンシズマブの薬物濃度依存的に遊離 TFPI 濃度が減少することが確認された (図 2C)。TFPI の濃度減少が確認されたのは, 静脈注射では 0.25 mg/kg 以上, 皮下注射では 1.0 mg/kg 以上と皮下注射の方が多量投与を要したが, このことは皮下注射の方が, 静脈注射よりも吸収に時間がかかり, 血中濃度のピークが低くなることと関係している。Concizumab の血中濃度とトロンビン生成能の間には相関性が見られ, 血中の Concizumab が増加するにつれて, トロンビン生成は改善し, 血中の Concizumab 濃度が 100 ng/mL 以上になると, 血友病患者のピークトロンビン生成は健常レベルとなった (図 2D)¹⁵⁾。そして, このレベルの Concizumab 血中濃度を安全に維持するための投与方法と投与間隔は, 皮下注射では連日投与が必要であることがシミュレートされたため, 第二相試験からは皮下注射による連日投与を選択している。

5) 血液凝固学的検査所見

Concizumab の血中濃度依存性に D ダイマーとプロトロンビンフラグメント (F_{1+2}) の上昇が確認されている (図 3AB)¹⁴⁾。そして, D ダイマー, F_{1+2} の上昇と遊離 TFPI の間には逆相関が見られたため, D ダイマーと F_{1+2} の上昇は Concizumab の投与により, 遊離 TFPI が減少したことに起因していると考えられる。D ダイマーはフィブリンの分解物であり, F_{1+2} はプロトロンビンがトロンビンへと活性化する際に遊離するペプチドである。これらが高値となることは一般的に凝固能が亢進していることを示す。そして, これらの事象を止血能改善と捉えるか, 血栓リスクの増加と考えるかは判断が難しく, 今後の検討

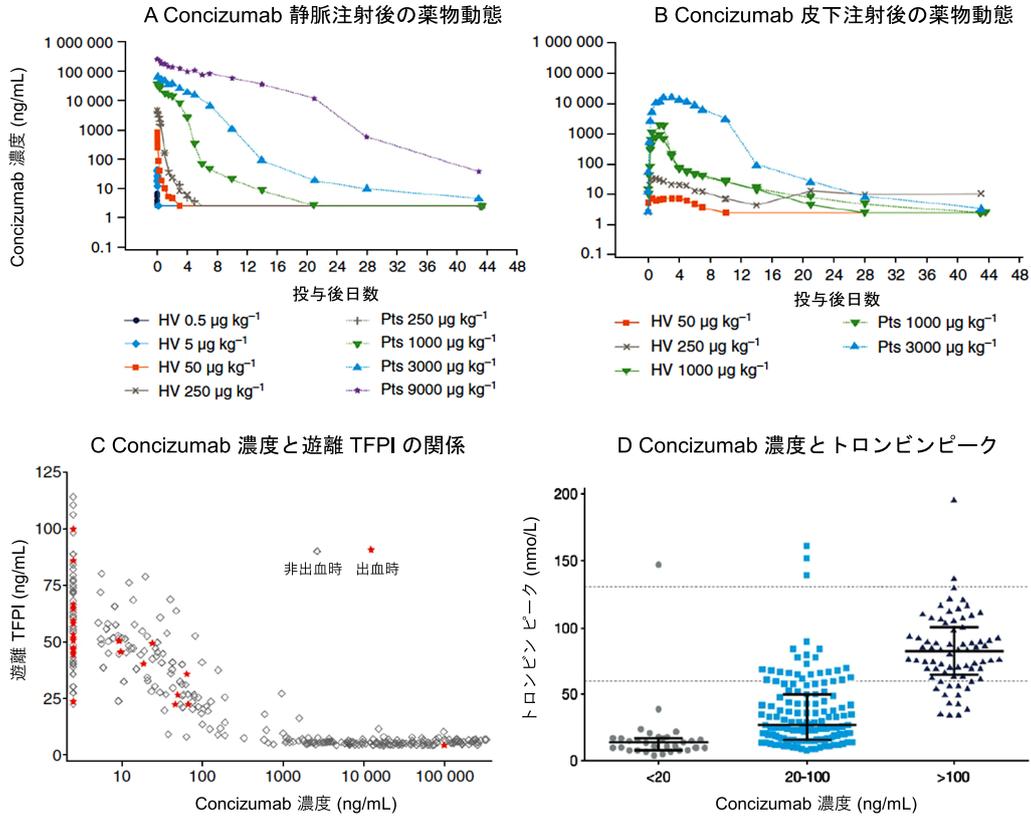


図2 Concizumab の薬物動態と血液凝固能に与える影響

- (A) (B) HV: Healthy volunteers, Pts: Hemophilia patients, Concizumab¹³⁾
- (C) Concizumab 濃度が増加するにつれて、遊離 TFPI 濃度は低下する¹³⁾
- (D) Concizumab 投与された血友病患者の血漿における Concizumab 濃度とピークトロンビン生成量の関係。点線の水平線はトロンビン生成能の正常範囲 (60~130 nmol/L) を示す¹⁵⁾

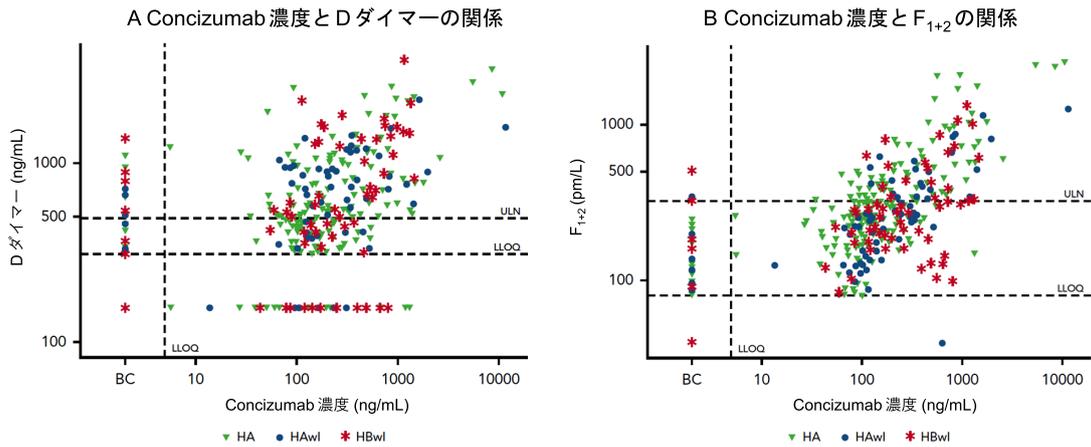


図3 Concizumab の血中濃度とDダイマー、F₁₊₂ との関係¹⁴⁾

- (A) (B) Dダイマー、F₁₊₂ いずれも Concizumab 濃度の上昇と共に増加している
- ULN: 正常上限 LLOQ: 定量下限

表1 Concizumab の出血抑制効果 (explore 4 & 5)¹⁴⁾

(A) HAwI & HBwI 群				
	オンデマンド治療期間	コンシズマブ治療期間	病型別	減少率
総 ABR	20.4 (14.4:29.1)	4.5 (3.2:6.4)	HAwI 3.0 (1.7:5.3) HBwI 5.9 (4.2:8.5)	78%
ABR (自然出血)	18.5 (12.4:27.6)	2.3 (1.4:3.6)	HAwI 2.0 (1.0:3.8) HBwI 2.6 (1.4:4.9)	88%
ABR (関節内出血)	15.0 (10.4:21.6)	3.2 (2.2:4.7)	HAwI 4.9 (2.8:8.5) HBwI 3.8 (2.4:5.9)	79%
(B) HA 群				
総 ABR	7.0 (4.6:10.7)			
ABR (自然出血)	2.5 (1.5:4.3)			
ABR (関節内出血)	4.9 (2.8:8.5)			

ABR は、試験の主要期間を補正項目とした負の二項回帰モデルに基づいて算出した推定値

課題と思われる。

6) 臨床的止血効果

Explore 4 の HAwI & HBwI 群を対象とした結果を表 1A に示した。総 Annualized bleeding rate (ABR) はオンデマンド療法による観察期間から、Concizumab 治療に変更することにより、ABR 減少率 78%と大きく減少した。とりわけ、出血形態別に見ると、関節内出血の減少率も 79%と大きい。特に自然出血の減少率は 88%と 9 割近い出血抑制効果を認めた。HA 群 (explore 5) の ABR (表 1B) も十分な出血抑制効果を示しているが、懸念される点としては、いずれの病型においても、起こった出血イベントは関節内出血が最も多く、HAwI & HBwI 群では 72%を、HA 群では 63%を全出血の内、関節内出血が占めていた。近年の血友病治療のトレンドでは関節内出血を限りなくゼロに近づけることを治療目標としている。その観点からは長期的な治療効果としての関節症発症が気になる。これについては長期的な課題とすべきであろう。

5. Marstacimab

1) Marstacimab とは

Marstacimab も TFPI の K2 ドメインに結合し、TFPI

と FXa との結合を阻害するようにデザインされたモノクローナル抗体 (ヒト IgG1) である。

2) 安全性評価と薬物動態

第一相試験は 18 歳から 55 歳の健常男性ボランティア 41 人を対象にした二重盲検試験として行われ、9 人がプラセボ投与群、32 人が Marstacimab 投与群であり、単回の薬物投与による評価である。主要評価項目である安全性に関しては重篤な有害事象は発生せず、治験薬投与群で見られた非重篤な有害事象は 16 例であった。内訳としては頭痛や倦怠感、その他、非特異的な痛みや不快感といったものであった。投与部位の局所反応も第一相試験では見られなかった。抗薬物抗体である、抗 Marstacimab 抗体については、32 例の内、15 例 (47%) に発現が見られた。そして、その内 3 例が低力価ではあるが、中和抗体であった。この中和抗体の測定は 1 回しかされておらず、持続性のものであったのかは明らかではない。今回、抗 Marstacimab 抗体の発現率は非常に高くなっているが、この原因として測定法が挙げられており、血中の TFPI の影響を受けて正しく測定できていない可能性が指摘されており、正しい抗 Marstacimab 抗体の発現率評価は、引き続きこれからの課題である。

薬物動態に関しては 300 mg の皮下注射で有効な

血中濃度 $> 5 \text{ mg/mL}$ を7日以上維持できることが示され、第二相試験では週1回の皮下注射投与でプロトコール作成されている。この点がConcizumabとの大きな違いといえる。

3) Ex vivo での血液凝固能評価¹⁶⁾

血友病 A, B 患者の全血に Marstacimab を添加して、TF を反応開始物質として ROTEM を実施。TF 20, 50, 100 nmol/L のいずれの添加においても、クロット形成の開始時間、クロット形成速度などのパラメータ改善効果が見られ、対照として使用した遺伝子組み換え製剤添加の検体と比較して、因子活性 40% 相当の血液凝固能と評価された。同様に Platelet poor plasma (PPP) と Platelet rich plasma (PRP) に Marstacimab を添加して、トロンビン生成試験を実施しているが、これらでもトロンビン生成能の改善効果が見られている。

6. その他の抗 TFPI 薬

Concizumab と Marstacimab 以外にも、基礎研究段階の抗 TFPI 抗体薬として MG1113¹⁷⁾ と Befovacimab¹⁸⁾ がある。MG1113 は Concizumab と Marstacimab 同様に K2 ドメインに対する抗 TFPI 抗体であり、TFPI α と β の機能を阻害する。Befovacimab は K1 と K2 ドメインに対するモノクローナル抗体であるため、他の薬剤との効果の違いが注目される。この両者は共にスパイク試験の結果が報告されており、いずれもトロンビン生成試験でトロンビン生成能の改善が見られ、ROTEM でもクロット形成の改善が見られている。今後の生体を対象とした研究結果が待たれる。

7. 抗 TFPI 薬の現状のまとめ

現在、開発が進行中である抗 TFPI 抗体薬についてまとめた。いずれも K2 ドメインをターゲットにした薬剤 (Befovacimab は K1 と K2) であり、K2 ドメインの機能を抑制することにより、TFPI が持つ、抗 FXa 効果、さらには抗 TF/FVIIa 効果を減弱させ、トロンビン生成能を回復するというのが、主な薬効のようである。

しかしながら、今までの解析はいずれも血液をサンプルとして用いた解析であり、血管内皮細胞上に多く存在する TFPI に対する抗 TFPI 薬の影響については検討されていない。実際にはトロンビン生成に大きく関与するのは血漿中に含まれる TFPI である¹⁹⁾ とされているが、血管内皮細胞上の TFPI にも作用する可能性はあるため、その効果への影響は気になる点である。

有害事象に関してはすでにヒトでの投与が実施された Concizumab と Marstacimab では重篤なものは報告されておらず、皮下注射製剤でよく見られる注射部位反応も目立つものではない。抗薬物抗体に関しては、一定頻度での発現はあるものの、薬効を中和する中和抗体の出現頻度や程度は低そうである。

最も開発の進んでいる Concizumab は、すでに第二相試験も終わっており、ヒトでの臨床的效果も確認されている。その結果からは特に自然出血の抑制効果という点では高い効果が期待できると考えられる。しかしながら、関節内出血が一定の頻度見られることから長期的な関節症予防の効果が気になる点である。また、懸念点の一つに現在、実施可能な臨床検査でのモニタリングが困難である点が挙げられる。

TFPI の効果判定は PT や APTT といった日常診療で利用されている検査項目では評価できない^{9, 13, 20, 21)}。これまでの研究では抗 TFPI 薬の効果判定には ROTEM や TGA が利用されている。これらは現在の所、一般に普及している検査機器とはいえず、また治験薬の効果判定に使われた ROTEM の条件設定も通常の最適化された試薬設定ではなく、TF 濃度を低くして、治験薬評価をしやすくした条件設定である¹⁶⁾。

最も簡便に抗 TFPI 抗体の薬効を評価できるものとしては、Marstacimab で使用された希釈プロトロンビン時間法 (dPT 法) がある。これは PT で使用する試薬の TF 濃度を下げることにより、より鋭敏に差を検出できるようにしたものであり¹⁶⁾、日常臨床への応用はしやすそうである。抗 TFPI 薬の想定される使用法としては日常止血管理における出血予防薬であり、細かいモニタリングが必要とされる状況は考えにくいだが、特に過量投与による血栓症を未然に防ぐために、日常臨床で利用できる何らかの検査方法が

期待される。

抗TFPI薬は、これまでの所、すべての病型の先天性血友病患者を対象に臨床試験を進めている。しかし、その中でもとりわけ、現在、バイパス製剤しか効果的な止血治療がないインヒビターを保有する血友病B患者には非常に効果的な薬剤となるため、実用化が大いに待たれるところである。

著者の利益相反 (COI) の開示：

臨床研究 (治験) (サノフィ株式会社)

文献

- 1) 嶋緑倫：血友病治療の新展開。血栓止血誌 **28**: 488–491, 2017.
- 2) 坂田飛鳥, 大森司：【血液凝固の制御機構と臨床応用への展望】Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) の基礎。血栓止血誌 **25**: 5–10, 2014.
- 3) Broze GJ, Jr., Girard TJ: Tissue factor pathway inhibitor: Structure-function. *Front Biosci (Landmark Ed)*. **17**: 262–280, 2012.
- 4) 荻原建一, 野上恵嗣：【血液凝固の制御機構と臨床応用への展望】Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) の新知見と臨床応用。血栓止血誌 **25**: 11–22, 2014.
- 5) Broze GJ, Jr., Warren LA, Novotny WF, et al.: The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits the factor VII-tissue factor complex also inhibits factor Xa: Insight into its possible mechanism of action. *Blood* **71**: 335–343, 1988.
- 6) Hackeng TM, Seré KM, Tans G, et al.: Stimulates inhibition of the tissue factor pathway by tissue factor pathway inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 3106–3111, 2006.
- 7) Ahnström J, Andersson HM, Hockey V, et al.: Identification of functionally important residues in TFPI Kunitz domain 3 required for the enhancement of its activity by protein S. *Blood* **120**: 5059–5062, 2012.
- 8) Nagase H, Enyoji K, Kamikubo Y, et al.: Effect of depolymerized holothurian glycosaminoglycan (DHG) on tissue factor pathway inhibitor: In vitro and in vivo studies. *Thromb Haemost* **78**: 864–870, 1997.
- 9) Nordfang O, Valentin S, Beck TC, et al.: Inhibition of extrinsic pathway inhibitor shortens the coagulation time of normal plasma and of hemophilia plasma. *Thromb Haemost* **66**: 464–467, 1991.
- 10) Erhardtsen E, Ezban M, Madsen MT, et al.: Blocking of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) shortens the bleeding time in rabbits with antibody induced haemophilia A. *Blood Coagul Fibrinolysis* **6**: 388–394, 1995.
- 11) Maroney SA, Cooley BC, Ferrel JP, et al.: Absence of hematopoietic tissue factor pathway inhibitor mitigates bleeding in mice with hemophilia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**: 3927–3931, 2012.
- 12) Hilden I, Lauritzen B, Sørensen BB, et al.: Hemostatic effect of a monoclonal antibody mAb 2021 blocking the interaction between FXa and TFPI in a rabbit hemophilia model. *Blood* **119**: 5871–5878, 2012.
- 13) Chowdary P, Lethagen S, Friedrich U, et al.: Safety and pharmacokinetics of anti-TFPI antibody (concizumab) in healthy volunteers and patients with hemophilia: A randomized first human dose trial. *J Thromb Haemost* **13**: 743–754, 2015.
- 14) Shapiro AD, Angchaisuksiri P, Astermark J, et al.: Subcutaneous concizumab prophylaxis in hemophilia A and hemophilia A/B with inhibitors: Phase 2 trial results. *Blood* **134**: 1973–1982, 2019.
- 15) Eichler H, Angchaisuksiri P, Kavakli K, et al.: Concizumab restores thrombin generation potential in patients with haemophilia: Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling results of concizumab phase 1/1b data. *Haemophilia* **25**: 60–66, 2019.
- 16) Patel-Hett S, Martin EJ, Mohammed BM, et al.: Marstacimab, a tissue factor pathway inhibitor neutralizing antibody, improves coagulation parameters of ex vivo dosed haemophilic blood and plasmas. *Haemophilia* **25**: 797–806, 2019.
- 17) Kwak H, Lee S, Jo S, et al.: MG1113, a specific anti-tissue factor pathway inhibitor antibody, rebalances the coagulation system and promotes hemostasis in hemophilia. *Res Pract Thromb Haemost* **4**: 1301–1312, 2020.
- 18) Martin EJ, Nolte ME, Kuhn J, et al.: An in vitro pharmacodynamic spiking study of befovacimab, a tissue factor pathway inhibitor monoclonal antibody, in blood samples from patients with severe FVIII deficiency. *Haemophilia* **27**: 690–698, 2021.
- 19) Chelle P, Montmartin A, Damien P, et al.: Tissue factor pathway inhibitor is the main determinant of thrombin generation in haemophilic patients. *Haemophilia* **25**: 343–348, 2019.
- 20) Cardinal M, Kantaridis C, Zhu T, et al.: A first-in-human study of the safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of PF-06741086, an anti-tissue factor pathway inhibitor mAb, in healthy volunteers. *J Thromb Haemost* **16**: 1722–1731, 2018.
- 21) Welsch DJ, Novotny WF, Wun TC: Effect of lipoprotein-associated coagulation inhibitor (LACI) on thromboplastin-induced coagulation of normal and hemophilic plasmas. *Thromb Res* **64**: 213–222, 1991.