【日本血栓止血学会サイト お役立ちリンク集】

日本血栓止血学会サイトに掲載しているおすすめコンテンツのリンクをご紹介します。

- 診療ガイドライン
- ・研修医のお役立ち論文コンテンツ
- ・用語集

本編は次ページより掲載しております。

半減期延長型血友病製剤について

藤井輝久*

Extended half life coagulation products for hemophilia

Teruhisa FUJII

要約:血友病において,不足した凝固因子を定期的に補う"定期補充療法"が最も止血抑制効果の高い治療法であるが,FVIIIでは週3回または2日に1回,FIXでは週2回または3日に1回補う必要がある.しかし,凝固因子に修飾物を付加することで,生体内半減期が延長する製剤も開発され,既に使用されている.本稿では,そのメカニズムを紹介すると共に,臨床での使用法,とくに標準型製剤との違いなどについて述べる.また残された課題についても言及する.

Key words: extended half life coagulation product, in vivo recovery, area under the curve, time above the trough level



藤井輝久

1991年3月 広島大学医学部医学科卒業 1991年6月

広島大学医学部附属病院(内科研修医) 1994年4月

広島大学大学院医学研究科博士課程 (内科系専攻)入学

1997年4月

広島大学医学部附属病院 助手(輸血部) 2003年4月

広島大学医学部・歯学部附属病院 助手 (輸血部)

2008年4月

広島大学病院 輸血部 講師・副部長 2010年4月

広島大学病院 輸血部 准教授・部長, 同エイズ医療対策室長 現在に至る

1. はじめに

血友病において,不足した凝固因子を定期的に補う"定期補充療法"が最も止血抑制効果の高い治療法である¹⁻³⁾. しかし,凝固第 VIII 因子(FVIII),第 IX 因子(FIX)とも他の凝固因子に比べて生体内半減期が必ずしも長いものではない.そのため,血漿由来であれ遺伝子組み換えであれ,血友病 A では FVIII を週3回または2日に1回,血友病 B では FIX を週2回または3日に1回補う必要がある.患者にとってみれば,出血は防ぐことができるものの,頻回の注射時の痛みや製剤使用量の増加に伴う頻回の病院受診を受け入れなければならない.

2014年に本邦で初めて半減期延長型第 IX 因子製剤が上市され、続いて 2015年には半減期延長型第 VIII 因子製剤が使用できるようになった。その後も

*責任者連絡先:

広島大学病院輸血部

〒 734-8551 広島県広島市南区霞 1-2-3 Tel: 082-257-5581, Fax: 082-257-5581

E-mail: teruchan@hiroshima-u.ac.jp

各社から半減期延長型製剤が続々発売されており、 前述したような"患者の我慢"はある程度軽減される ものと思われる。しかし一方で、半減期延長でない 従来の製剤(標準型製剤)も製造・販売が継続されて おり、患者にとってどちらがよいのか、医学的な効 果のみならず、患者個々のライフスタイルに合わせ た使い分けが必要となってくる。

本稿では、現在治験中のものも含めて血友病患者に使用される半減期延長型(EHL: extended half life)製剤の特徴を紹介すると共に、標準型製剤との"役割分担"を考察した。

2. 血友病患者に使用される EHL 製剤

1) 半減期延長のテクノロジー(表1)

凝固因子の半減期を延長するための方法として、他の薬剤と同様、PEG 化(糖 PEG 化も含む)と Fc フュージョンがある $^{4,5)}$. また FIX のみアルブミンとのフュージョンした製剤もある $^{6)}$. そのような修飾物を付けずに FVIII を 1 本鎖とし、フォンヴィレブランド因子 (VWF) との結合能を高めて半減期が延長した

表1 半減期延長のテクノロジー

	Fc Fusion	Albumin Fusion	(Glyco) Pegylation
機序	・IgG1のFc部分の二量体が、 HEK細胞由来の遺伝子組み換え凝固因子に融合 ・Fc部分がFcRnに結合してリソゾームの分解を逃れ、血中へ再循環される	・遺伝子組み換えアルブミンが、リンカーペプチドを介して、CHO細胞由来の遺伝子組み換え凝固因子に融合・活性化時リンカーペプチドがはずれる	 ・(製造会社によって付加部位は違うが)ペグまたは糖ペグを付加 ・遺伝子組み換え第 VIII 因子には、全長型、Bドメイン欠失型、Bドメイン分断型などの種類がある
製品名	エフトレノナコグ α (rFIX-Fc) エフラロクトコグ α (rFVIII-Fc)	アルブトレペノナコグ α (rFIX-FP)	ルリオクトコグαペゴル (BAX855) BAY94-9027 N8-GP, N9-GP

表 2 半減期延長第 IX 因子製剤

Product	Company	In vivo recovery (IU/dL)/(IU/kg)*1	Half-life (h)*1	AUC (h×IU/dL)*2
rFIX-Fc	バイオベラティブ	0.59~0.92	57.6~82.1	1619
rFIX-FP	CSLベーリング	0.95~1.5	89.6~94.8	7142
N9-GP	ノボノルディスク	1.4~2.0	69.6~96	7247
rFIX(参考)	_	0.68	19.3	715

^{*1}一般に年齢が低いと、これらの値は低い

遺伝子組み換え製剤もある(CSL627)⁷. しかし半減期の延長は、標準型の 1.2 倍程度にとどまっている. 表中 BAY94-9027 は、既に承認・使用されている遺伝子組み換え第 VIII 因子製剤オクトコグ β の B ドメインを欠失させて、さらに PEG 化したものである⁸. オクトコグ β の半減期は標準型製剤オクトコグ α に比べて 1.2 倍程度延長している⁹. つまり CSL627 の半減期延長はオクトコグ β と同程度であることより、正確には EHL 製剤とは言えないため、表には掲載しなかった。また血漿由来凝固因子 (pdFVIII, pdFIX) に修飾物を付加して半減期を延長させた製剤はない。

第 IX 因子製剤の半減期は $3\sim5$ 倍に延長されたが 10,11 , 第 VIII 因子製剤の半減期は 1.5 倍程度 12,13 にとどまっている。FIX は単体で血漿に存在するのに対して FVIII は VWF に結合することが,その大きな原因と考えられている。つまり VWF の生体内半減期が $12\sim18$ 時間であり,結合 FVIII がその影響を受けるからとされる。VWF の血漿濃度が高い患者に FVIII を補充した場合,FVIII の半減期が長いことがいくつかの論文で報告されている 13,14 .

2) EHL 第 IX 因子製剤(表 2)

2017年5月現在. Fc フュージョン(エフトレノナ コグ α) とアルブミンフュージョン(アルブトレペノ ナコグα)の製剤が承認・販売をされている. 標準 型製剤では週2回または3日に1回のFIXの定期補 充療法が一般的であったが、同じ凝固因子トラフ値 を得るのであれば、7~14日に1回の注射で十分で あり、かつ AUC (area under the curve) の増加が得ら れる。エフトレノナコグ α の生体内同収率(IVR: in vivo recovery)は、低用量では0.77と標準型遺伝子組 み換え製剤(rFIX)と同様であるが、 高用量では 1.02 と pdFIX と同じレベルに上昇する⁵⁾. アルブトレペ ノナコグαは、アルブミンが付加しており FcRn の リガンドでもある15). 半減期延長のメカニズムはエ フトレノナコグ α と同じで、細胞内 FcRn と結合⇒ リソゾーム分解の回避⇒血中への再循環である(図 1)¹⁶⁾. しかし. 同用量投与で比較すると. アルブト レペノナコグ α のIVRが高いだけでなく、AUCが 増大し半減期も長い110. その理由はまだ明らかにさ れていない.

^{*250} IU/kg 輸注時

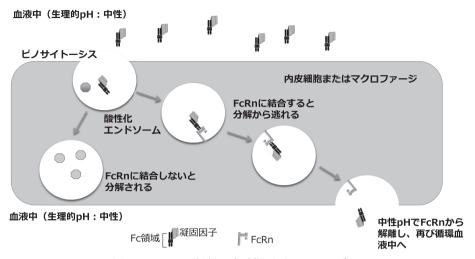


図1 Fc-fusion 製剤の半減期延長のメカニズム

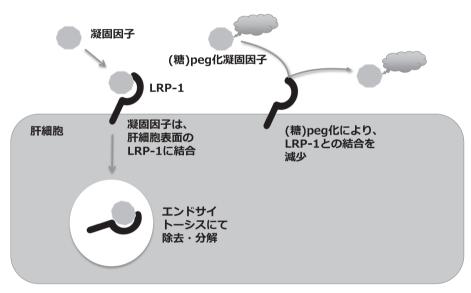


図2 (糖)peg 化製剤の半減期延長のメカニズム

近々N9-GPも承認される予定である¹⁷⁾. これは糖PEG 化することで、肝での受容体(LRP-1 受容体)を介した取り込みおよび細網内皮系システムによるクリアランスを抑制し、半減期を延長させている(**図**2). その他一般にPEG 化は、抗原性を抗原提示細胞からマスクすることで免疫原性を軽減することが知られており、これも半減期延長に寄与しているものと考えられる.

3) EHL 第 VIII 因子製剤(表 3)

2017 年 5 月現在、Fc フュージョン (エフラロクトコグ α) と PEG 化(ルリオクトコグ α ペゴル) 製剤が承認・販売をされている、標準型製剤では週 3 回ま

たは2日に1回の FVIII の定期補充療法が一般的であったが、同じ凝固因子トラフ値を得るのであれば、週2回または3日に1回の注射となる。 IVR は標準型製剤と変わらないが、半減期は1.5倍程度の延長にとどまるため、AUC の増加は第 IX 因子製剤に比べて少なく、2倍弱である。 BAY94-9027 8) はルリオクトコグ α ペゴルと同様 PEG 化製剤であり、N8-GPは糖 PEG 化製剤である 18)、PEG 化と糖 PEG 化で、基本的に半減期延長のメカニズムの違いはない。しかるに、Fc フュージョンと共に前述した通りである。

4) EHL 製剤投与時の凝固因子活性のモニタリング 本邦では凝固因子活性測定は、凝固一段法が保険

Product	Company	In vivo recovery (IU/dL)/(IU/kg)*1	Half-life (h)*1	AUC (h×IU/dL)
rFVIII-Fc	バイオベラティブ	1.83	18.8	2800*2
BAX855 (ルリオクトコグαペゴル)	バクスアルタ	2.5	14.3	2073*3
N8-GP	ノボノルディスク	2.5	18.4	3004*4
BAY94-9027	バイエル	2.5	18.5	4329*5
rFVIII(参考)	_	2.0	11.0	1800*2

表3 半減期延長第 VIII 因子製剤

収載されているが、ヨーロッパでは合成基質法が凝 固因子活性の標準的な測定法とされている. 両法を 比較すると合成基質法の方が、一般に測定値が高い 傾向になるが19)、患者によっては逆に低い結果とな るものもいる. 第IX 因子の EHL3 製剤のうち、両 法の差がほとんどないのはアルブトレペノナコグα のみである。エフトレノナコグαは、凝固一段法の 際に用いる活性化剤としてエラグ酸を使用すれば測 定値の差が小さくなるとされているが、他の製剤で は合成シリカの方がより差が小さいとする報告もあ る²⁰⁾. 承認されている第 VIII 因子製剤 2 剤において は、Fc フュージョン製剤であるエフラロクトコグ α は、エフトレノナコグ α と同様であるが、ルリオク トコグ α ペゴルは、付加した PEG の分子量が小さ いため(20 kD)か、凝固一段法でも凝固反応を阻害 せず, 合成基質法と同様の結果が得られる. BAY94-9027. N8-GP. N9-GP が上市された際には、凝固因 子活性をモニタリングする方法として、凝固一段法 が適切かどうか注視すべきであり、一方で、本邦で も合成基質法によるモニタリングができるよう準備 する必要がある.

3. EHL 製剤の臨床での使用

EHL製剤は、前述の通り AUC の増加が得られるため、1回の輸注あたり目標とする凝固因子トラフ値以上の活性を維持する時間(Time above the trough level)が標準型製剤に比べて長い(図3). そのため定期補充療法には標準型製剤に比べて、優位性が高

い製剤と言える. とくに、EHL 第 IX 因子製剤であ るアルブトレペノナコグαは、100 U/kg、1 回輸注で 14 日後 FIX を 12%以上に保つことができる. と されている。承認・販売後の本邦でのデータはまだ ないが、 定期補充療法施行患者において、 注射回数 を減らすと共に出血0が可能になることが予想され る. 一方, EHL 第 VIII 因子製剤の半減期延長はせ いぜい 1.5 倍であるので、第 IX 因子製剤ほどの劇 的な効果や患者の満足(注射回数の減少)を得られる かどうかわからない. 前述の通り、血友病 A にお いて標準型製剤を用いた定期補充療法は. 週3回ま たは2日に1回であるが、EHL製剤を用いても週2 回または3日に1回となり、標準型製剤を用いた血 友病 B の注射回数および間隔にとどまる. そのため 患者にとって注射回数の減少の満足は得られにくい と想像される. また定期補充療法中は、次の注射直 前が最も因子レベルが低いが、その凝固因子トラフ 値は1回輸注量が同量であれば、標準型製剤とEHL 製剤でほとんど差がない、そのため出血抑制効果も 標準型製剤を使用した場合に比べて劇的な変化はな いと思われる.

周術期にどちらの製剤を用いるべきか議論がある。UKHCDOのガイダンスでは、データが不十分なためとくに推奨はされていない²¹⁾。大手術の場合、標準型製剤ではしばしば持続輸注が選択されるが、EHL 製造会社は、溶解後の安定性についてのデータは持っていない。そのため、EHL 製剤で周術期の止血を行う場合には、現在のところワンショット静注で行うのがよいと思われる。一般に EHL 第 VIII 因

^{*1} 一般に年齢が低いと、これらの値は低い

^{*&}lt;sup>2</sup>65 IU/kg 輸注時 *³45 IU/kg 輸注時

^{*&}lt;sup>4</sup>50 IU/kg 輸注時 *⁵60 IU/kg 輸注時

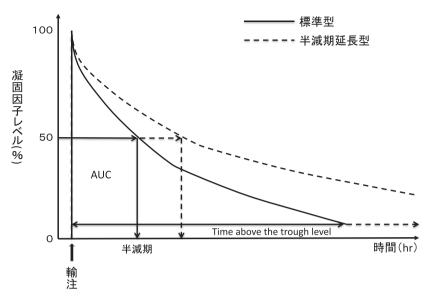


図3 標準製剤と EHL 製剤の薬物動態の違い

子製剤の場合、術直前も含めて1日1回の投与となるが、EHL 第 IX 因子製剤は術日投与後2日に1回で良好な止血が得られた、とするデータがある²²⁾.

1) 血友病 A における EHL 製剤の使用法

定期補充療法については前述の通りであるが、定 期補充療法中の破綻出血に対しても同様に EHL 製 剤を用いて止血を図るのがよいと思われる. ボーラ ス輸注時の生体内回収率は標準型、EHL共に差が なく. 止血効果に差がないと想像されるからであ る. また定期補充療法施行患者に対して, 標準型と EHL 両製剤を処方して、破綻出血には標準型製剤 を使用するよう指示しても患者が従うかどうか不明 である. さらに多くの定期補充療法患者の年間出血 回数(ABR: annualized bleeding rate)が0になれば, 標準型製剤を使用する機会がなく、結局使用期限切 れとなり廃棄される懸念が生じる。標準型。EHL 両 製剤を製造する製薬会社は、EHL 発売後も標準型製 剤は残す方針のようだ. しかし, 薬物動態的に大き な差がないので、いずれ標準型製剤は EHL 製剤に 取って変わられるであろう.

周術期の使用も同様である。現在はエビデンスの蓄積がないので UKHCDO でも"推奨していない" $が^{21)}$, いずれボーラス輸注で推奨されることが想像できる。

2) 血友病 B における EHL 製剤の使用法

血友病 B においては、EHL 製剤は出血抑制効果よ りも注射回数の減少が患者にとっての最大のメリッ トかも知れない. もともと同じ重症度で比較した場 合. 血友病 B の方が出血頻度は少ない²³⁾ので. 前述 した"破綻出血時には標準型"といった使用法はより 取られないかも知れない.しかし、注射間隔が2~5 倍に延長するものの、目標のトラフ値付近の低い凝 固因子レベルが持続する時間が長くなることがある. その時間帯に活動性の高いスポーツ等を行う場合に は、やはり破綻出血はあり得る。大きな筋肉内出血 の場合は、1回の輸注では止血効果は得られにくく 追加輸注が必要となる. 追加輸注の間隔は. 標準型 製剤が1日に1回、EHL製剤は2日に1回が推奨さ れているが、EHL 製剤の薬価が 2 倍以上のため、同 じ止血効果を得るために EHL 製剤を使用すると、非 常に高額の医療コストが掛かることになる. これは 周術期の止血管理においても同じである. 日本の血 友病患者は医療費の自己負担がないため、医療者も 無頓着となりがちであるが、同じ効果であれば費用 対効果が高い治療法を選択すべきである. しかるに, 私見ではあるが、定期補充療法や出血時(on-demand) 輸注の患者に対しては EHL 製剤を使用し、数回以 上の輸注が必要な大きな筋肉内出血や頭蓋内出血. 周術期には標準型製剤を使用することを推奨する.

表 4 補充療法以外の止血治療薬

一般名	機序	投与法	半減期	備考
Emicizumab	FIXa と FX に結合する バイスペシフィック抗体		28.3~33.4 d(s.c.)	FVIIIa の役割を果たす抗体・血友病 B には効果がない
Concizumab	抗 TFPI 抗体		74.8~116 h(s.c.) 31.1~74.1 h(i.v.)	·A, B, インヒビターの有無問わず有効
Fitusiran	Antithrombin 合成を抑制 する siRNA	皮下注	Undocumented	・A, B, インヒビターの有無問わず有効 ・月1回の注射で AT<50%を維持できる

3) EHL 製剤の課題

周術期においては、出血により生体内凝固因子クリアランスが上昇する。そのため EHL 製剤でも通常の使用時とは違う薬物動態を示すはずであるが、そのデータは未だ乏しい。またスポーツを毎日行うような活動量の高い患者に対しては、より高い因子レベルを維持する必要があるが、EHL 製剤を連日あるいは2日に1回定期輸注することは、現在本邦では保険で承認されていない。そのため、そういった患者では標準型製剤で対応する方が費用対効果は高い

その他不明な点として、インヒビターの発生リスクがある。より注射回数を少なくしたい幼児には、標準型製剤より EHL 製剤を使用したい感情が働くが、使用には慎重になるべきである。前述の通り、EHL は免疫担当細胞への刺激を抑制している可能性がある。さらに免疫寛容療法に EHL 製剤を用いると寛解までの期間が短縮されるとする報告もある²⁴. そういった点より、少なくとも標準型製剤と同等あるいは低いインヒビター発生率と期待されるが、PUPs (previously untreated patients)のデータが待たれるところである。

また修飾物として付加された PEG の体内蓄積の問題もある. PEG 化製剤は EHL 製剤発売前から他疾患で広く使用されているが、血友病ほど長期間で、かつ頻回に体内に注射されることはなかった. そのため他疾患では PEG の蓄積による有害事象はほとんどないが、血友病では今後起こるかも知れない. これについても明らかにされることが望ましい. Fc フュージョン、アルブミンフュージョンの製剤は、そういった懸念はないが、生体内に存在しない分子構造なので、免疫原性の問題は残る.

4. 最後に

EHL 製剤は血友病患者の補充療法において、今後主流となると思われるが、現時点ではまだ使用しづらい患者や状況が存在する。エビデンスがないものについては、今後実臨床でエビデンスが蓄積されると思われるが、一方で補充療法以外の止血治療薬も開発されてきている(表4)²⁵⁻²⁷⁾。それらは、皮下注射が可能で、かつ週1回またはそれ以上の間隔でも満足いく止血効果が得られるものと期待されている。また Emicizumab は血友病 B には無効であるが、Concizumab や Fitusiran は、血友病 A でも B でも、またインヒビターの有無にかかわらず効果が得られる。これらの製剤の安全性が確立されれば、血友病の止血治療の主流に躍り出ることは確実であり、EHL 製剤もその役割に幕を下ろすことになるかも知れない。

著者の利益相反(COI)の開示:

臨床研究(治験)中外製薬,バクスアルタ,バイエル薬品

文献

- Nilsson IM, Berntorp E, Löfqvist T, Pettersson H: Twentyfive years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. J Intern Med 232: 25–32, 1992.
- 2) Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, Ingram JD, Manco-Johnson ML, Funk S, Jacobson L, Valentino LA, Hoots WK, Buchanan GR, DiMichele D, Recht M, Brown D, Leissinger C, Bleak S, Cohen A, Mathew P, Matsunaga A, Medeiros D, Nugent D, Thomas GA, Thompson AA, McRedmond K, Soucie JM, Austin H, Evatt BL: Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. N Engl J Med 357: 535–544, 2007.
- 3) Manco-Johnson MJ, Kempton CL, Reding MT, Lissitchkov T,

- Goranov S, Gercheva L, Rusen L, Ghinea M, Uscatescu V, Rescia V, Hong W: Randomized, controlled, parallel-group trial of routine prophylaxis vs. on-demand treatment with sucrose-formulated recombinant factor VIII in adults with severe hemophilia A (SPINART). J Thromb Haemost 11: 1119–1127, 2013.
- Saenko EL, Pipe SW: Strategies towards a longer acting factor VIII. Haemophilia 12 (Suppl 3): 42–51, 2006.
- 5) Shapiro AD, Ragni MV, Valentino LA, Key NS, Josephson NC, Powell JS, Cheng G, Thompson AR, Goyal J, Tubridy KL, Peters RT, Dumont JA, Euwart D, Li L, Hallén B, Gozzi P, Bitonti AJ, Jiang H, Luk A, Pierce GF: Recombinant factor IX-Fc fusion protein (rFIXFc) demonstrates safety and prolonged activity in a phase 1/2a study in hemophilia B patients. Blood 119: 666–672, 2012.
- Metzner HJ, Weimer T, Kronthaler U, Lang W, Schulte S: Genetic fusion to albumin improves the pharmacokinetic properties of factor IX. Thromb Haemost 102: 634–644, 2009.
- Zollner SB, Raquet E, Müller-Cohrs J, Metzner HJ, Weimer T, Pragst I, Dickneite G, Schulte S: Preclinical efficacy and safety of rVIII-SingleChain (CSL627), a novel recombinant single-chain factor VIII. Thromb Res 132: 280–287, 2013.
- Gu JM, Ramsey P, Evans V, Tang L, Apeler H, Leong L, Murphy JE, Laux V, Myles T: Evaluation of the activated partial thromboplastin time assay for clinical monitoring of PEGylated recombinant factor VIII (BAY 94-9027) for haemophilia A. Haemophilia 20: 593–600, 2014.
- Shah A, Delesen H, Garger S, Lalezari S: Pharmacokinetic properties of BAY 81-8973, a full-length recombinant factor VIII. Haemophilia 21: 766–771, 2015.
- 10) Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, Ozelo MC, Valentino LA, Mahlangu JN, Josephson NC, Perry D, Manco-Johnson MJ, Apte S, Baker RI, Chan GC, Novitzky N, Wong RS, Krassova S, Allen G, Jiang H, Innes A, Li S, Cristiano LM, Goyal J, Sommer JM, Dumont JA, Nugent K, Vigliani G, Brennan A, Luk A, Pierce GF; B-LONG Investigators: Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B. N Engl J Med 369: 2313–2323, 2013.
- 11) Santagostino E, Negrier C, Klamroth R, Tiede A, Pabinger-Fasching I, Voigt C, Jacobs I, Morfini M: Safety and pharmacokinetics of a novel recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rIX-FP) in hemophilia B patients. Blood 120: 2405–2411, 2012.
- Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, Chowdary P, Josephson NC, Pabinger I, Hanabusa H, Gupta N, Kulkarni R, Fogarty P, Perry D, Shapiro A, Pasi KJ, Apte S, Nestorov I, Jiang H, Li S, Neelakantan S, Cristiano LM, Goyal J, Sommer JM, Dumont JA, Dodd N, Nugent K, Vigliani G, Luk A, Brennan A, Pierce GF; A-LONG Investigators: Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. Blood 123: 317–325, 2014.
- 13) Konkle BA, Stasyshyn O, Chowdary P, Bevan DH, Mant T, Shima M, Engl W, Dyck-Jones J, Fuerlinger M, Patrone L, Ewenstein B, Abbuehl B: Pegylated, full-length, recombinant factor VIII for prophylactic and on-demand treatment of severe hemophilia A. Blood 126: 1078–1085, 2015.
- 14) Tang L, Leong L, Sim D, Ho E, Gu JM, Schneider D, Feldman

- RI, Monteclaro F, Jiang H, Murphy JE: von Willebrand factor contributes to longer half-life of PEGylated factor VIII in vivo. Haemophilia 19: 539–545, 2013.
- Chaudhury C, Brooks CL, Carter DC, Robinson JM, Anderson CL: Albumin binding to FcRn: distinct from the FcRn-IgG interaction. Biochemistry 45: 4983–4990, 2006.
- Roopenian DC, Akilesh S: FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. Nat Rev Immunol 7: 715–725, 2007.
- 17) Østergaard H, Bjelke JR, Hansen L, Petersen LC, Pedersen AA, Elm T, Møller F, Hermit MB, Holm PK, Krogh TN, Petersen JM, Ezban M, Sørensen BB, Andersen MD, Agersø H, Ahmadian H, Balling KW, Christiansen ML, Knobe K, Nichols TC, Bjørn SE, Tranholm M: Prolonged half-life and preserved enzymatic properties of factor IX selectively PEGylated on native N-glycans in the activation peptide. Blood 118: 2333–2341, 2011.
- 18) Stennicke HR, Kjalke M, Karpf DM, Balling KW, Johansen PB, Elm T, Øvlisen K, Möller F, Holmberg HL, Gudme CN, Persson E, Hilden I, Pelzer H, Rahbek-Nielsen H, Jespersgaard C, Bogsnes A, Pedersen AA, Kristensen AK, Peschke B, Kappers W, Rode F, Thim L, Tranholm M, Ezban M, Olsen EH, Bjørn SE: A novel B-domain O-glycoPEGylated FVIII (N8-GP) demonstrates full efficacy and prolonged effect in hemophilic mice models. Blood 121: 2108–2116, 2013.
- Potgieter JJ, Damgaard M, Hillarp A. One-stage vs: chromogenic assays in haemophilia A. Eur J Haematol 94 (Suppl 77): 38–44, 2015.
- 20) Bowyer AE, Hillarp A, Ezban M, Persson P, Kitchen S: Measuring factor IX activity of nonacog beta pegol with commercially available one-stage clotting and chromogenic assay kits: a two-center study. J Thromb Haemost 14: 1428–1435, 2016.
- 21) Collins P, Chalmers E, Chowdary P, Keeling D, Mathias M, O'Donnell J, Pasi KJ, Rangarajan S, Thomas A: The use of enhanced half-life coagulation factor concentrates in routine clinical practice: guidance from UKHCDO. Haemophilia 22: 487–498, 2016.
- 22) Melchiorre D, Linari S, Manetti M, Romano E, Sofi F, Matucci-Cerinic M, Carulli C, Innocenti M, Ibba-Manneschi L, Castaman G: Clinical, instrumental, serological and histological findings suggest that hemophilia B may be less severe than hemophilia A. Haematologica 101: 219–225, 2016.
- 23) Powell JS, Apte S, Chambost H, Hermans C, Jackson S, Josephson NC, Mahlangu JN, Ozelo MC, Peerlinck K, Pasi J, Perry D, Ragni MV, Wang X, Jiang H, Li S, Cristiano LM, Innes A, Nugent K, Brennan A, Luk A, Allen G, Pierce GF, Robinson B: Long-acting recombinant factor IX Fc fusion protein (rFIXFc) for perioperative management of subjects with haemophilia B in the phase 3 B-LONG study. Br J Haematol 168: 124–134, 2015.
- 24) Groomes CL, Gianferante DM, Crouch GD, Parekh DS, Scott DW, Lieuw K: Reduction of Factor VIII Inhibitor Titers During Immune Tolerance Induction With Recombinant Factor VIII-Fc Fusion Protein. Pediatr Blood Cancer 63: 922–924, 2016.
- 25) Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, Muto A, Kojima T, Soeda T, Yoshihashi K, Okuyama-Nishida Y, Saito H, Tsunoda H, Suzuki T, Adachi H, Miyazaki T, Ishii S, Kamata-Sakurai M,

- Iida T, Harada A, Esaki K, Funaki M, Moriyama C, Tanaka E, Kikuchi Y, Wakabayashi T, Wada M, Goto M, Toyoda T, Ueyama A, Suzuki S, Haraya K, Tachibana T, Kawabe Y, Shima M, Yoshioka A, Hattori K: A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. Nat Med 8: 1570–1574, 2012.
- 26) Agersø H, Overgaard RV, Petersen MB, Hansen L, Hermit
- MB, Sørensen MH, Petersen LC, Hilden I: Pharmacokinetics of an anti-TFPI monoclonal antibody (concizumab) blocking the TFPI interaction with the active site of FXa in Cynomolgus monkeys after iv and sc administration. Eur J Pharm Sci **56**: 65–69, 2014.
- 27) Ragni MV: Targeting Antithrombin to Treat Hemophilia. N Engl J Med **373**: 389–391, 2015.