

「第VIII、第IX因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究」

—第VIII因子、第IX因子、サイトカイン遺伝子異常に関する研究—

研究代表者名：奈良県立医科大学 小児科学教室 教授 嶋 緑倫

## 目次

1. 目的.....	4
2. 背景と意義.....	4
3. 研究対象.....	4
4. 調査方法 .....	5
4.1. 調査期間.....	5
4.2. 調査項目 .....	5
4.3. 調査方法.....	5
5. 統計解析.....	5
5.1 主要解析項目.....	5
5.2 副次的解析項目 .....	5
6. 遺伝子解析の実施.....	5
6.1. 遺伝子解析方法.....	5
6.4. 「遺伝子検査検体送付用キット」の送付.....	7
6.5. 遺伝子解析結果の報告 .....	7
7. 試料について .....	7
7.1 試料の種類・量.....	7
7.2 試料の保管・破棄 .....	7
7.3 試料の破棄.....	7
7.4 試料の利用 .....	7
8. 解析結果の開示.....	7
8.1 本人への開示.....	7
8.2 代諾者への開示.....	8
8.3 他の医療機関への遺伝情報の開示.....	8
9. 研究成果の帰属と結果の公表.....	8
10. 遺伝カウンセリング .....	8
10.1 必要性 .....	8
10.2 実施体制.....	8
11. 倫理的事項.....	8
11.1. 遵守すべき諸規則 .....	8
11.2. 倫理審査委員会での審査と承認 .....	8
11.3. インフォームド・コンセント .....	9
11.4. 代諾者の選定 .....	9
11.5. 個人情報の保護.....	9
11.6. 試料提供者に対する予測される危険や不利益.....	9
11.7 補償 .....	9
12. 研究費用.....	9
12.1 使用する主な研究費.....	9
12.2 研究に関する経費 .....	9

13. 研究の終了（中止） .....	9
14. 研究組織.....	10
14.1 研究代表者 .....	10
14.2 運営委員会 .....	10
14.3 厚生労働省坂田班分担研究嶋班研究事務局 .....	11
14.4 Japan Hemophilia Inhibitor Study 研究事務局(J-HIS 研究事務局) .....	11
14.5 Japan Hemophilia データセンター（JH データセンター） .....	11
14.6 遺伝子解析実施機関.....	11
（別紙1）共同研究機関（2012.12.7 現在） .....	12
（別紙2）遺伝子検査用検体の輸送に関する手順書.....	12

## 1. 目的

本研究は厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）『血友病の治療とその合併症の克服に関する研究』の分担研究『第Ⅷ、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究』における一研究として、血友病患者の第Ⅷ因子、第Ⅸ因子および免疫反応因子やサイトカインの遺伝子解析を行い、インヒビター発生要因の検討を行うものである。

## 2. 背景と意義

血友病の治療上、きわめて深刻であり、解決すべき重大な合併症はインヒビター（同種抗体）の発生である。インヒビターの発生には患者関連の要因と治療関連との要因に大別される。前者としては遺伝子異常、蛋白異常、免疫応答、人種、その他遺伝学的要因が、後者としては補充療法製剤の種類、投与方法、治療開始年齢、定期補充療法、手術や重篤な出血のための高用量治療の有無などが上げられている。遺伝子異常については、インヒビターは第Ⅷ因子遺伝子（*F8*）の欠失、逆位、ナンセンス点変異などの null 遺伝子変異例に多いが、ミスセンス変異例は少ない。したがって、インヒビターの発生率は遺伝子異常の種類によっても異なる。さらに同じ null 遺伝子異常である大きな欠失例と逆位例とでは前者のインヒビター発生率が高い。Malmo International Brother Study(MIBS)によると同じ逆位を有する家系におけるインヒビター発生の一一致率は 40%に過ぎない。したがって、インヒビターの発生要因を検討するためには *F8*以外の免疫応答機構に関与する免疫反応因子やサイトカインなどのポリモルフィズムや遺伝子異常の解析も必要である。

現在、わが国ではインヒビター発生要因と遺伝子異常に関する知見はない。現 奈良県立医科大学 学長の吉岡 章が主任研究者となり、平成 19 年度～21 年度の間、厚生労働科学研究費補助金レギュラトリーサイエンス総合研究事業『第Ⅷ、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究』において、わが国のインヒビターに関する nation-wide なデータ収集と、研究体制の拡充を図った。その中で、インヒビターに関する患者の前方視的・後方視的な実態調査を J-HIS（Japan Hemophilia Inhibitor Study の略称）と命名し、調査研究を行った。平成 22 年度より、奈良県立医科大学小児科学教室 教授の嶋 緑倫が研究を継承・継続している。J-HIS の中で、既に実施しているインヒビター発生例や、2007 年以降に出生した血友病患者を対象に集積されつつある臨床データとあわせて、血友病患者の第Ⅷ因子あるいは第Ⅸ因子、免疫反応因子やサイトカインなどの遺伝子解析を実施することは、インヒビターの発生要因をさらに明らかにするのみならず、今後の血友病の治療ならびに研究においてきわめて重要である。

## 3. 研究対象

●厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）『血友病の治療とその合併症の克服に関する研究』の分担研究『第Ⅷ、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究』の第1研究である「インヒビター発生患者の実態調査：J-HIS1」に登録されたインヒビター発生血友病患者

106名

●厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）『血友病の治療とその合併症の克服に関する研究』の分担研究『第Ⅷ、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究』の第2研究である「新規血友病患者のデータベース構築によりコホート研究：J-HIS2」に登録された血友病患者

350名

## 4. 調査方法

### 4.1. 調査期間

承認日～2018年3月31日

### 4.2. 調査項目

血友病A患者 第Ⅷ因子遺伝子、TNF $\alpha$  遺伝子、IL-10遺伝子、CTLA-4遺伝子

血友病B患者 第Ⅸ因子遺伝子

### 4.3. 調査方法

①遺伝子解析スケジュール（下記「6.2 遺伝子解析スケジュール」参照）に従い、調査用紙を配布する。

②患者に同意取得を行った後、調査用紙を記入し、JHデータセンター宛に送付する。

遺伝情報が既知の患者については、同意取得後、調査用紙へ本研究に該当する遺伝子の情報を記載し、送付する。

③遺伝子検査が未実施の患者に関しては、遺伝子解析を実施する。遺伝子解析の実施方法については、6.遺伝子解析の実施を参考にすること。

## 5. 統計解析

先行する J-HIS1・J-HIS2 研究で集積されている被験者の診療情報より得た臨床情報と照合させ、以下解析を行う。

### 5.1 主要解析項目

J-HIS1対象患者：インヒビターの消長と遺伝子変異

J-HIS2対象患者：インヒビターの発生と遺伝子変異

### 5.2 副次的解析項目

臨床項目と遺伝子変異の種類、部位について探索的に解析を行う

## 6. 遺伝子解析の実施

### 6.1. 遺伝子解析方法

①第Ⅷ因子遺伝子および第Ⅸ因子遺伝子解析：患者の末梢血から核酸(ゲノム DNA)を抽

出し、各疾患に対応した遺伝子領域の全エクソンとエクソン・イントロン境界を PCR 法にて増幅し、CSGE (Conformation Sensitive Gel Electrophoresis) 法にて変異の有無をスクリーニングする。変異の疑いのある断片に関しては、その遺伝子配列を決定し変異部位を同定する。逆位、転座、欠失、挿入などの DNA の構造変異に関してはサザンハイブリダイゼーション法にて変異を検出する。

②TNF $\alpha$  遺伝子、IL-10 遺伝子、CTLA-4 遺伝子解析：患者の末梢血から核酸(ゲノム DNA)を抽出し、TaqMan 1 塩基変異多型 (SNPs) ジェノタイピングアッセイにより解析を行う。データ解析については StepOne Plus Real-Time PCR system にて行う。

## 6.2. 遺伝子解析スケジュール

Aグループ施設症例の検査実施	承認後	—	2017年12月31日
Bグループ施設症例の検査実施	2011年1月1日	—	2017年12月31日
Cグループ施設症例の検査実施	2012年1月1日	—	2017年12月31日

(別紙1参照)

## 6.3. 遺伝子解析実施機関

遺伝子解析実施機関は事務局にて下記 3 機関の中から割り振られ、依頼者へ通知される。

なお、免疫系の遺伝子 (TNF $\alpha$  遺伝子、IL-10 遺伝子、CTLA-4 遺伝子) 解析においては全て東京医科大学にて実施する。

また、遺伝子解析実施機関の登録症例の第Ⅷ・第Ⅸ遺伝子解析については、原則、各施設で実施する。

### 【血友病 A】

●奈良県立医科大学 小児科学教室

〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840

TEL:0744-22-3051

遺伝子解析研究責任者：教授 嶋 緑倫

●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

TEL:03-3342-6111

遺伝子解析研究責任者：教授 福武勝幸

### 【血友病 B】

●名古屋大学医学部保健学科

〒461-8673 名古屋市東区大幸南 1-1-20

TEL:052-719-3118

遺伝子解析研究責任者：教授 小嶋哲人

#### 6.4. 「遺伝子検査検体送付用キット」の送付

施設倫理委員会での承認が確認された施設より、各施設登録医師宛に上記「6.2 遺伝子解析スケジュール」に従い、「検体送付用キット」を送付する（詳細は別紙2を参照）。

##### 検体送付用キット【内容】

- ・クエン酸加採血管
- ・スクリーキャップ式プラスチックバイアル
- ・緩衝剤
- ・検体送付連絡票兼検査依頼書
- ・A4 サイズ緩衝剤付輸送用封筒（着払・冷蔵・運送伝票貼付）
- \* 同意説明文書
- \* 同意書 【複写式：原本）病院保管 写）患者保管】

\* 同意書・同意説明文書の封入には事前に倫理委員会承認後の、説明文書・同意書を J-HIS 事務局宛メール（j-his@nicpsmo.com）への送信が必要です。

#### 6.5. 遺伝子解析結果の報告

解析結果は、各施設へ検査機関より送付される。

### 7. 試料について

#### 7.1 試料の種類・量

末梢血 5 ml 静脈より採血

#### 7.2 試料の保管・破棄

遺伝子解析結果の正確性を期するため、再検に備える目的で検体は核酸を抽出して各検査機関にて保存する。研究期間終了後は、保存の同意が得られている資料については、連結可能匿名化の状態での保存し、同意が得られていない資料等については廃棄を行う。但し、検査によって得られた情報はスタンドアロンのコンピュータで Subject ID により管理される。

#### 7.3 試料の破棄

廃棄の方法：連結不可能な状態にし、速やかに焼却破棄する。

#### 7.4 試料の利用

本研究以外の目的では使用しない

### 8. 解析結果の開示

#### 8.1 本人への開示

原則、解析依頼機関の担当医師より開示する

## 8.2 代諾者への開示

原則、解析依頼機関の担当医師より開示する

## 8.3 他の医療機関への遺伝情報の開示

解析依頼を行った医療機関に対し、解析実施機関より開示する。

## 9. 研究成果の帰属と結果の公表

本研究の成果は、本研究組織に帰属する。

また、本研究結果は、毎年度末に厚生労働省へ提出される総括報告書にて開示される。

## 10. 遺伝カウンセリング

### 10.1 必要性

すでに診断された患者を対象としているため、遺伝子検査の実施が患者に大きな不安を与える結果となることはない。但し、研究の成果により遺伝子異常が明確に解明された場合、遺伝カウンセリングを希望される可能性はある。

### 10.2 実施体制

必要に応じて、遺伝カウンセリング担当者（奈良県立医科大学 遺伝カウンセリング室の専門医）による遺伝カウンセリングを施行する。希望するものは主治医を通じ、各施設担当者へ連絡すること。

遺伝カウンセリングの申込先

担当者：奈良県立医科大学 小児科学教室（総合周産期母子医療センター新生児集中治療部門） 西久保 敏也  
（電話：0744-22-3051（代表））

## 11. 倫理的事項

### 11.1. 遵守すべき諸規則

本研究においては、「ヒト・ゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守する。

### 11.2. 倫理審査委員会での審査と承認

本研究は、奈良県立医科大学「医の倫理委員会」にて承認済である。各施設においては、倫理委員会承認後、J-HIS研究事務局（052-846-2888）宛に「承認書」をFAXする。

なお、各施設において倫理委員会に該当する委員会が設置されていない場合には、事務局に申し出ること。検査機関にて倫理委員会の承認を得るようJ-HIS研究事務局が手配する。

### 11.3. インフォームド・コンセント

研究担当医師は、患者又は患者の保護者に同意説明文書と口頭で、この研究についての目的と参加の重要性を説明する。この研究への参加を検討するに十分な時間を与えるとともに、患者又は患者の保護者からの全ての質問に対し、患者又は患者の保護者が十分に理解できるように回答する。患者の保護者が内容を十分に理解したことを確認した後、患者又は患者の保護者の自由意思による研究参加の同意を文書により取得する。

### 11.4. 代諾者の選定

試料提供者の利益を最もよく代弁できると考えられる人とし、次の人の中から選定することとする。

- (1) 任意後見人、親権者、後見人や補佐人が定まっているときはその人。
- (2) 試料提供者本人の父母、およびそれらに準ずると考えられる人。

### 11.5. 個人情報の保護

検体は被験者を特定できないように、Subject ID により管理される。各施設は個人情報保護管理責任者が指名され、管理責任者の管理の下、Subject ID と患者氏名・カルテ番号の判別が可能な対応表を作成し、保管する。(連結可能匿名化)

### 11.6. 試料提供者に対する予測される危険や不利益

診療の採血の際に血液を採取する。試料提供者が採血時に『痛み』や『不快感』を起こしうる。しかし、通常採血であるため、安全性に問題はなく、手技面からの危険や不利益は全くなないと考えられる。

### 11.7 補償

設定していない

## 12. 研究費用

### 12.1 使用する主な研究費

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

### 12.2 研究に関する経費

検査費用は研究費より支払われるため、通常診療を超える患者の負担は発生しない。

## 13. 研究の終了（中止）

担当医の交代、患者の同意撤回により、研究継続が不可能と判断した場合

## 14. 研究組織

### 14.1 研究代表者

研究の運営に責任を持ち、研究を円滑に進めるため、以下の業務を行う

- ・ 実施計画書の内容の細目について、多施設間で一貫性を維持するための承認
- ・ 研究中に生じた実施計画書の解釈上の疑義の調整
- ・ 実施計画書・症例報告書の見本の作成及び改定に関する助言
- ・ 集積されたデータの確認

奈良県立医科大学 小児科学教室 嶋緑倫

### 14.2 運営委員会

運営委員会は、研究代表者の要請に基づき、以下の業務を行う。

- ・ 実施計画書、症例報告書、同意・説明文書等の最終決定及び改定の決定
- ・ 研究継続・中止の最終決定
- ・ 症例取り扱いの決定
- ・ 進捗管理
- ・ 統計解析計画書の承認
- ・ 各種 SOP、マニュアルの承認

東京医科大学 臨床検査医学講座	福武勝幸
東京医科大学 血液凝固異常症遺伝子研究寄附講座	篠澤圭子
名古屋大学医学部保健学科 検査技術科学専攻	小嶋哲人
奈良県立医科大学 小児科	矢田弘史
宮城県立こども病院 血液腫瘍科	今泉益栄
山口大学大学院医学系研究科 小児科学	大賀正一
兵庫医科大学病院 小児科	大塚欣敏
札幌徳洲会病院 小児科・血液科	岡 敏明
千葉県こども病院 血液・腫瘍科	沖本由里
鹿児島市立病院 小児科	川上 清
神奈川県立こども医療センター	気賀沢寿人
広島大学病院 小児科	小林正夫
産業医科大学 小児科	酒井道生
北九州八幡東病院	白幡 聡
愛知県赤十字血液センター	高松純樹
聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院 小児科	瀧 正志
東京大学医科学研究所附属病院 関節外科	竹谷英之
国立感染症研究所 血液・安全性研究部	種市麻衣子
国立成育医療センター 総合診療部	中舘尚也
荻窪病院 小児科	花房秀次
国立感染症研究所 血液・安全性研究部	濱口 功

兵庫医科大学 血液内科	日笠 聡
広島大学 小児科	藤井輝久
静岡県立こども病院 血液腫瘍科	堀越泰雄
久留米大学病院 小児科	松尾陽子
名古屋大学附属病院 輸血部	松下 正
三重大学医学部附属病院 輸血部	松本剛史
奈良県立医科大学	吉岡 章

#### 14.3 厚生労働省坂田班分担研究嶋班研究事務局

奈良県立医科大学 小児科学教室  
奈良県橿原市四条町 840 番地  
TEL:0744-29-8881 FAX : 0744-24-9222

#### 14.4 Japan Hemophilia Inhibitor Study 研究事務局(J-HIS 研究事務局)

(株)名古屋臨床薬理研究所  
名古屋市千種区千種二丁目 22 番 8 号名古屋医工連携インキュベータ 417  
TEL:052-733-7601 FAX : 052-846-2888

#### 14.5 Japan Hemophilia データセンター (JH データセンター)

- ・ 研究代表者の指示のもとに、症例の登録業務、データ固定を行う。
- ・ 臨床データの情報処理 (データ入力、症例一覧表等)
- ・ 臨床データの集計

(株)名古屋臨床薬理研究所  
名古屋市千種区千種二丁目 22 番 8 号名古屋医工連携インキュベータ 417  
TEL:052-733-7601 FAX : 052-846-2888

#### 14.6 遺伝子解析実施機関

- 奈良県立医科大学 小児科学教室  
〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840 TEL:0744-22-3051  
遺伝子解析研究責任者：教授 嶋 緑倫
- 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 TEL:03-3342-6111  
遺伝子解析研究責任者：教授 福武勝幸
- 名古屋大学医学部保健学科  
〒461-8673 名古屋市東区大幸南 1-1-20 TEL:052-719-3118  
遺伝子解析研究責任者：教授 小嶋哲人

(別紙1) 共同研究機関 (2014.10.31 現在)

#### A グループ

- ・ 奈良県立医科大学附属病院
- ・ 東京医科大学病院
- ・ 名古屋大学医学部附属病院

#### B グループ

- ・ 聖マリアンナ医科大学病院
- ・ 聖マリアンナ医科大学 横浜市西部病院
- ・ 札幌徳州会病院
- ・ 静岡県立こども病院
- ・ 九州大学病院
- ・ 兵庫医科大学病院
- ・ 荻窪病院
- ・ 産業医科大学病院
- ・ 広島大学病院
- ・ 鹿児島市立病院

#### C グループ

- |                          |                   |                  |
|--------------------------|-------------------|------------------|
| ・ 愛知三の丸病院                | ・ 札幌北楡病院          | ・ 福岡大学病院         |
| ・ 愛媛大学医学部附属病院            | ・ 三重大学医学部附属病院     | ・ 北野病院           |
| ・ 旭川医科大学附属病院             | ・ 秋田大学医学部附属病院     | ・ 獨協医科大学病院       |
| ・ 綾部市立病院                 | ・ 新潟県立がんセンター新潟病院  | ・ 足利赤十字病院        |
| ・ 安城更生病院                 | ・ 聖隷浜松病院          | ・ 高知赤十字病院        |
| ・ 茨城県立こども病院              | ・ 相原内科医院          | ・ 医療法人泉壽会加納病院    |
| ・ 岩手県立大船渡病院              | ・ 大館市立総合病院        | ・ 帝京大学千葉総合医療センター |
| ・ 亀田総合病院                 | ・ 大津赤十字病院         | ・ 宮崎大学医学部附属病院    |
| ・ 久留米大学病院                | ・ 大分記念病院          | ・ 千葉県こども病院       |
| ・ 釧路赤十字病院                | ・ 大分県立病院          | ・ 熊本赤十字病院        |
| ・ 公立那賀病院                 | ・ 長野赤十字病院         | ・ 日本医科大学千葉北総病院   |
| ・ 国立国際医療センター             | ・ 鶴岡市立荘内病院        | ・ 網走厚生病院         |
| ・ 国立成育医療研究センター           | ・ 帝京大学医学部附属病院     | ・ 宮城県立こども病院      |
| ・ 国立病院機構四国こどもとおとなの医療センター | ・ 東京大学医科学研究所附属病院  | ・ 岩見沢市立総合病院      |
| ・ 国立病院機構西多賀病院            | ・ 東京都立小児総合医療センター  | ・ 佐賀大学医学部附属病院    |
| ・ 札幌医科大学附属病院             | ・ 東北大学病院          |                  |
|                          | ・ 日本赤十字社和歌山医療センター |                  |

(別紙2) 遺伝子検査用検体の輸送に関する手順書

検体送付用キットに同封されたクエン酸加採血管で採血を行い、全血のまま採血当日に冷蔵(4℃)で、指定された解析機関に、午前着指定で当日出荷する。

※解析機関では、土曜日・日曜日・祝日・夕方以降の配達物を受け取ることはできないことを考慮し、採血日より最短日数で到着できるように送付すること。(月一水曜日の発送が望ましい)

※当日配送ができない場合は、冷蔵(4℃)で保存し、採血日より最短日数で到着できるように発送すること。

※遠隔地においては、解析機関までの所要日数を確認の上、採血日を決定すること。

検体の準備と送付については、以下の手順に従って実施して下さい

1. Subject ID を確認し、検体送付用キットを準備する  
(検体送付用キットは、倫理委員会承認書受領後、Subject ID 毎にセットされ対象症例分送付される)
2. 検体送付用キットに同封された「採血管」と「検体送付連絡票兼検査依頼書」を用意する。
3. 採血直前に、研究対象者と Subject ID に間違いがない事を再度確認し、「採血管ラベル」に検体採取日を記入する。
4. 「検体送付連絡票兼検査依頼書」を記入し、解析機関宛に FAX を行う。  
※受取側の準備のため、必ず送付前に FAX すること
5. 「採血管」で、採血(5ml)を行う。※全血のまま送付
6. 採血後、「採血管」の破損を防ぐため、「スクリュウキャップ式のプラスチックバイアル」に入れる。  
※採血管とプラスチックバイアルの空間は、同封している緩衝剤を利用し、空間を埋めて下さい。
7. 配送用緩衝剤付封筒に貼付されている運送伝票にご依頼主欄・お届け日を記載する
8. 採血管を入れた「プラスチックバイアル」と「検体送付連絡票兼検査依頼書」を配送用緩衝剤付封筒に入れ、指定された解析機関へ当日配送する。



9. 発送は、原則、採血当日に要冷蔵便で翌日午前着指定で発送する。(要冷蔵(4℃))
10. 検体到着後、各解析機関から検体受領の FAX が主治医宛発信される。
11. 検査結果は1年に2回(8月中旬と2月中旬) J-HIS 研究事務局より主治医宛に発送される

【お問合せ先】

J-HIS 研究事務局 (TEL: 052-733-7601 受付時間: 平日 10時-5時)

## 審査結果通知書

平成26年12月15日

申請者 所属 小児科学講座  
職氏名 教授 嶋 緑 倫 殿  
所属長 職氏名 教授 嶋 緑 倫 殿

奈良県立医科大学  
学長 細井 裕 司



受付番号 311-6

課題名 「第Ⅷ、第Ⅸ因子製剤のインヒビター発生要因に関する研究

—第Ⅷ因子、第Ⅸ因子、サイトカイン遺伝子異常に関する研究—

平成26年10月31日付けで変更申請のあった上記課題の実施計画について、下記のとおり判定したので通知します。

### 1. 判定

- (1) 非該当
- (2) 承認
- (3) 条件付承認
- (4) 変更の勧告
- (5) 不承認

### 2. 条件・勧告又は理由