

Flora Peyvandi: 私の今回の発表および、来年度以降に予定されている多くの ISTH 活動は、教育、特に遺伝子治療における困難な分野についてのもので、遺伝子治療の仕組みとそれが患者と医師にどう意味するかを理解し、今後必要とされる知識をどのように得るかを模索するものです。

血友病の治療は、欠乏している凝固因子を静脈内に投与する補充療法です。血友病 A の場合、第 VIII 因子を投与しています。血友病 B の場合、それは第 IX 因子になります。

血友病患者の治療については多くの変化があり、患者が全血で治療されていた 1950 年代から飛躍的な進化を遂げています。まず、寒冷沈降物（クリオプリシピレート）を用いた新鮮凍結血漿（FFP）による治療が始まり、次いで 70 年代には血漿由来製剤が用いられるようになりました。残念なことに、この時代の血友病患者治療には、患者の C 型肝炎と HIV の感染という、非常に暗い出来事と不確実な分野でもありました。

その後、1990 年代に入ると、AT で取得された第 VIII 因子と第 IX 因子のクローニングのデータを使う機会が生まれました。これは 1992 年に販売された第一世代の遺伝子組み換えの第 VIII 因子を用いたものでした。1994 年には第二世代の遺伝子組み換えの第 IX 因子が販売され、因子の品質が大きく改善し、製剤中のヒトタンパク質の量が減少させることで、製剤の安全性がますます改善しました。

これは HIV および HCV の問題と血液製剤により伝搬した感染症の問題がほぼ解消したことを意味します。2015 年になると組み替え第 VIII 因子も第四世代になり、ヒトタンパク質は全く含まれなくなりました。

こうした製剤進化の最も重要な部分は安全性です。熱処理と溶媒洗浄剤というウイルス不活化の二つのシステムが完全に理解されるようになり、ろ過や新技術を用いた精製過程が、製剤をますます安全なものにしています。

同時に、患者の治療方針も変化を続けました。初期にはオンデマンド止血療法という形で出血時のみ治療が行われていましたが、後には軽度または中等度の血友病患者に対する臨床像は、重度の血友病と呼ばれる因子活性が 1% 未満の患者とは非常に異なることが判明しました。



最小限の残存因子（約 1～2、3%）を有する中等症の血友病患者における自然出血の頻度は重度の患者と比べて非常に少なく、これは医師に対する教育上重要な点です。患者における出血兆候を改善させるためには、欠乏している凝固因子の定期的な静脈内注入による予防治療（定期補充療法）によって患者の表現型を変更することです。それは現在行われている治療であり、血友病 A 患者には静脈内注入が週に 2～3 回、血友病 B 患者には週に約 2 回行われています。

安全性は有意に改善しましたが、患者、特に青少年や小児にとっては、（週に） 2～3 回の静脈内注入は容易ではありません。特に、静脈アクセスが困難な場合、子供の静脈アクセスが良くない場合は、なおさらでした。両親にとっても難しいことでした。また血栓症、感染症の問題もあります。これら全てが、状況を非常に困難にしていました。

こうした問題の原因は凝固因子の半減期が短いためでした。それが注射の頻度に関連しており、同時に、ピーク（最高値）とトラフ（最低値）が非常に短い間隔で見られました。注射直後は凝固因子レベルが高く、8～12 時間後にはずっと低くなっていたのです。レベルが維持されていなかったからといって、患者に完全な予防ができなかったという意味ではありませんが、この部分が治療で改善が必要とされる部分であり、患者をさらに良く予防することが期待されていたのです。

規格化された製剤は自宅治療や予防療法を受けている患者の生活の質を大きく変化させてはいましたが、いまだに不十分でした。それが、この 10 年でインヒビターの保有と非保有で患者の管理を試みる新規療法のオプションによって、血友病の治療がさらに改善したのです。

さて、インヒビターとは何でしょうか？ インヒビターは、主として第 VIII 因子、時には第 IX 因子に対する抗体で、因子の活性を中和させます。そのため患者は第 VIII 因子で治療することができなくなり、バイパス製剤と呼ばれる、より強い治療、および、より高価な種類の治療が必要になります。

これらの新規療法のオプションとは何でしょうか？ これらは新しい種類の治療で、数年前に開発され、非常な発展を続けている新しい種類の治療で 3 つの方法があります。1 番



目は半減期の延長、2 番目は非補充療法、3 番目は遺伝子治療です。それぞれのカテゴリの製剤を挙げて、現在の状況を説明しましょう。

半減期延長製剤には、2 つの方法が用いられています。まず左側のものですが、これはペグ化で、ポリエチレングリコールを遺伝子組み換え第 VIII 因子に化学結合させた物質を意味します。これは分子の流体力学的容積を増加させるために、分子が腎臓からクリアランスされるのを防ぎます。ペグ化のサイズは異なり、5 キロダルトンから 10、20、40 まで、一部には 60 キロダルトンのものもあります。

2 番目の製剤カテゴリは融合タンパク質です。これは IgG 免疫グロブリンの結晶形成フラグメント、すなわち Fc、またはアルブミンを融合させるもので、遺伝子組み換え第 VIII 因子または第 IX 因子に結合させることができます。この方法は、腎臓による分子のクリアランスを減少させ、循環中の製品の半減期を増加させるものです。Fc フラグメントとアルブミンは、血管内皮細胞の表面にある Fc リガンドの受容体を通してリサイクルされるので、これが分子の半減期を増加させます。

前述のように、この技術はペグ化と融合です。いろいろな製薬会社がこれらの 2 つの方法を試み、3 種のペグ化と 1 種の Fc 融合、合計 4 種の第 VIII 因子製剤を製造しました。また 3 種の半減期延長第 IX 因子製剤があり、それらの各々は単一技術を使ったもので、1 つはペグ化したペグ化第 IX 因子製剤、1 つは Fc 融合第 IX 因子製剤、そしてもう 1 つはアルブミン融合第 IX 因子製剤です。

本題は、これらの製剤のどちらが安全性と有効性においてより良いかです。医師として、私たちはどの製剤がより安全であるか、または他よりも優れているかを判断するのに十分なデータを持っているでしょうか？

そこで私はこれらすべてのデータをまとめることを試みました。第 VIII 因子については、50～60% の増加を達成しており、全製剤でほぼ同様です。こうした増加が患者の生活に及ぼした影響を見ると、血友病 A 患者では、年間で静脈注入数が約 30-35% 減少しています。

それでは予防はどうでしょうか？先ほど予防は、第 VIII 因子または第 IX 因子のレベルを 1% 超に保つ方法であることを説明しました。しかし、この製品規格では、実際の注入数



で、患者を防御するための 3~5% のトラフ（最低値）レベルを達成することは非常に困難です。一部の患者では、最大 3% またはそれより少し高いレベルを達成したことがわかります。

この全データをまとめますと、半減期延長製剤は、重度の血友病 A の患者では、中等度の表現型に変換することができました。これは出血数と注入数の減少を意味します。これらの患者の将来の有効性がどのようになるかを理解するには、より多くの実際のデータが必要です。

血友病 B の患者においては、半減期延長第 IX 因子製剤はさらにより良い作用を示し、結果はさらに好ましいものとなっています。Fc 製剤とアルブミン融合およびペグ化製剤で約 3~6 倍の増加が見られました。これは、血友病 B における静脈注入数がほぼ 50、さらには 60~65% 減少したことを意味しています。特にトラフレベルが非常に重要で、5~10 IU/dl (%)の増加を見せています。患者の臨床像において、これは重度の血友病が軽度の表現型に変換できたことを意味します。これは非常に意義のあることで、血友病 B 患者の生活の質が大きく変化したことを意味します。

第 IX 因子の半減期延長製剤についての結論を言えば、目標は達成されました。第 VIII 因子についても、一部の成果を得ることができましたが、減少率は 30~35% で、さらなる改善が求められます。

なぜその様な限界が存在するのでしょうか？ 静脈注入数は減少され、より高いトラフレベルが実現され、出血数も減少しました。ということは、今後さらに多く優れた実際のデータが得られることを意味しています。ただし、待ち望んでいた完璧な成果はまだ達成されていません。

それはなぜでしょう？ 循環中の第 VIII 因子はキャリアー（安定化因子）であるフォン・ヴィレブランド因子と結合します。循環中のフォン・ヴィレブランド因子の半減期は 18 時間です。方法を変えない限り、フォン・ヴィレブランド因子の半減期を延長することができません。それが次世代の半減期延長製剤に必要な理由で、既に 2 種類がありますが、まだ臨床治験中で市販されていません。それらはフォン・ヴィレブランド因子のフラグメントを含有します。



最初のものは、XTEN を D'D3 フォン・ヴィレブランド因子に付加した Fc 第 VIII 因子組み替え分子です。XTEN は生物分解性のポリペプチドで、これもまた腎臓でのクリアランスを減少させます。2 番目の分子はアルブミンに融合した第 VIII 因子単鎖で、これもまた次世代の半減期延長製剤で、この分子もまた D'D3 のフォン・ヴィレブランド因子を付加したものです。

お話しした最初の分子、組み替え Fc フォン・ヴィレブランド XTEN の成果はとても興味深いものです。重度の血友病患者を対象とした第 1/2a 治験は、最長 37 時間の延長を示し、第 VIII 因子の平均活性は、5 日ごとで 13% で、注入後 7 日で 5.6% を示していました。これは血友病 A 患者の生活の質と将来を大きく変化させるものです。

血友病患者の非補充療法である 2 番目の治療群は異なる機序で作用します。ここでは、第 VIII 因子と第 IX 因子の投与を行わずに、生体に存在する抗凝固因子を阻害することで実行します。これにより、トロンビンの生成を増幅することができ、有効性の高い止血法となり得ます。これらには、活性化プロテイン C を阻害すること、抗組織因子経路 (TFPI) のモノクローナル抗体による阻害が挙げられます。抗凝固作用のあるアンチトロンピンをと RNA 干渉の技術によりをサイレンシングして転写を制御することもできます。さらに異なるアプローチとして、または第 IX 因子と第 X 因子の二重特異性を持つモノクローナル抗体を使って第 VIII 因子の機能をバイパスする、または経路を代替するなどの異なる方法を用いることもできます。

将来、さらに新しい方法が出てくることは確実ですが、これにより、私たちが止血機序や異なる止血メカニズムを理解することになります。異なる作用機序を有する薬剤は、第 VIII 因子と第 IX 因子を測定するだけでは十分でないことを意味します。これらの製剤を使う際には、特に出血時、その他の種類の製剤や止血剤と併用する場合には、どの様な解析をすべきか、止血効果をどの様に評価すべきかを学ぶ必要があります。

すでに使用が可能な唯一の製品は、二重特異性ヒト化抗体で、これからそれを示します。残りの製剤は現在治験中で、それらの一部は、第 II 相から第 III 相に進んでおり、まもなく、その大半が使用可能になります。SerpinPC は前臨床の段階で、間もなく第 I 相の臨床治験に入ります。



エミズマブは完全に新規の治療製剤で、ACE 9-10とも呼ばれ、第 IXa 因子と第 X 因子に対する完全ヒト化二重特異性キメラ抗体です。この製品は第 VIII 因子の補因子の機能を模倣し、一つの腕で第 IXa 因子と結合し、別な腕で第 X 因子に結合します。それらを特に適切な位置で配置することで、第 IXa 因子が第 X 因子の活性化を触媒することを促進します。この種の特性は、インヒビターの有無に関わらず、血友病 A 患者の治療を著しく改善するさせることができ、両群の患者に使うことが可能です。

FDA および EMA は、インヒビター保有と非保有の血友病 A 患者において、成人患者と小児患者の両方に対する予防にエミズマブを承認しました。初期においては、最初の 4 週間には週に 1 回 3mg/kg、続いて週に 1 回 1.5mg を維持用量として使用されました。現在では、この間隔は 2 週間ごと、また将来には 4 週間ごとになる可能性があります。

ただし、急性出血中のオンデマンド治療としては使えず、予防向けのみです。この製品は現在米国でインヒビター保有と非保有の両方の患者で使用可能で、欧州では主としてインヒビター保有の患者で使用でき、欧州の数か国ではインヒビター非保有の患者でも使用できます。

エミズマブの初期の臨床試験で、血栓性微小血管症（TMA）が 3 例認められました。特にそれは、高用量での活性化プロトロンビン複合体製剤の投与 24 時間以内に発生していました。その後、この薬物の併用が患者に有害であることが理解され、その他のバイパス製剤に治療方法が変更され、以降 TMA 症例は見られませんでした。

少数の血栓性合併症と 10 例の死亡が報告され、その内 3 例は人道的使用時に起こりました。薬剤に対する中和抗体の事象が 1 例報告されました。現在、特に死亡事例についてのデータは報告中であり、すべての製剤でその様なデータは得られておりません。したがって、この薬剤だけでなく、将来のすべての新規薬剤についても、登録後の監視をしっかりと行い、それらがどの様に機能しているか、安全性はどうかをしっかりと把握していくことが必要です。スライドでご覧にいたれたものは、現在までに報告された数に過ぎないことを念頭に置いてください。



結論として、新しい治療方針は、患者の治療方法を著しく変更し、出血管理においてはインヒビター保有と非保有の患者に対する標準的治療よりも有意な改善があると考えられます。安全性に対する懸念の一部はまだ残っているため、それらについてはリスク緩和の実施が必要です。その一部はすでに既に開始されていますが、特に非補充療法については、それらの患者はもはや重度患者ではなく、中等度の患者であるため、急性出血時の治療法をどうするかを学ぶ必要があります。

私は、長期観察と患者と医師に対する教育を推奨します。この分野をあまり専門としない医師と患者に対する教育が必要です。これらの薬剤は従来のもものと異なるため、より多く学び、その作用機序についても理解が必要です。

最後のカテゴリーは遺伝子治療で、これは血友病で機能しない凝固因子遺伝子を、体外から機能的な凝固因子遺伝子と交換するもので、機能していない遺伝子を治癒するか、または外部から補充した正常遺伝子を長期に発現できるようにするものです。

遺伝子治療の前臨床試験は 1997 年から 2006 年まで行われ、AAV2 を使った最初の臨床試験は前述のように Avigen によって 2006 年に血友病 B の患者について実施されました。しかし、発現は短期間だけでした。ほぼ 4 年後に、University College of London の Amit Nathwani 教授と Ted Tuddenham 教授が、St. Jude's Children's Research Hospital での私どもの同僚と一緒に新しい AAV8 ベクターを使って、最初の重度の血友病 B の患者を治療しました。この患者には、最初の 6 回の治療では 3 種類の異なる用量で行われ、優れた結果を示しました。次に患者数は 10 名までに増加し、大半が、現在遺伝子治療開始から約 9 年を経て、安全性には何も問題がなく、発現はほぼ安定しています。それは、この試験で得られた、止血法分野状極めて重要な結果でした。

この結果の後で、異なる会社が、異なる用量でアデノ関連遺伝子治療を開始しました。後ほど、Padua のグループによって報告された新しい変異が挿入された第 IX 因子遺伝子バリエーションは、発現レベルを増加させることができました。これによって第二世代の遺伝子治療が開始され、Spark 社によって 18~33% の発現率が可能になることが報告され



ました。このような第 IX 因子の発現は uniQure 社の結果でも認められ、重度の血友病 B の患者の治療概念を変えています。

ご存知の様に、血友病 A の患者では、遺伝子が大きいため遺伝子治療はもっと複雑です。大きければ大きいほど複雑さが増します。そのため、コドン最適化、肝臓特異的プロモーターによる B-ドメインの欠失などの、異なる方法と方針が用いられてきました。in-vivo 遺伝子発現がマウスと非ヒト霊長類を対象にして 2004～2011 年に行われました。ファースト・イン・ヒューマンの遺伝子治療治験は BioMarin 社によって AAV5 を使って行われ、この結果は New England Journal of Medicine に発表されており、興味深いものです。

現在では、この表で現在の状況がご覧になれるように、様々な会社が、AAV2、AAV5、AAV8 の異なるベクターを使っています。前述のように、様々なレベルの第 VIII 因子の発現が達成されています。BioMarin は第 VIII 因子の発現正常化をもたらし、その結果は驚くほどであり、BioMarin がメルボルンで今年の ISTH 中に、第 III 相治験の臨床結果を発表することを報告しましたので、現在良い結果を期待しています。その他の会社もまた、興味深い結果を達成しています。

この 30 分のプレゼンテーションをまとめてみます。半減期延長製剤と非補充療法に加えて、遺伝子治療も血友病の管理に強力なアプローチで、長期治療効果をもたらします。最後に、将来は、レンチウイルスなど他の種類のベクターを使って、さらには遺伝子編集などで、完璧な治癒が可能になることも考えられます。AAV ベクターを使った遺伝子治療の治験結果は、第 IX 因子の長期発現を強く示しています。第 VIII 因子の治験結果は、3 年後の ISTH で報告される予定です。

もちろん、これらの患者全員に対して、私たちは、利益、安全性、有効性に関して長期調査をどのように追跡するか、全医師、科学者および患者に伝ええる大きな責任があります。各施設が使用することになる最小限のデータセットを設計することが必要です。遺伝子治療を受ける全患者がこのデータベースと全国的かつ国際的なデータベースに含まれること、これらの全国的データベースへのリンクを使用可能にすること、そして規制当局と大学機関がこのデータにアクセスできるようにすることが必要です。この種の独立したデータ収



集は、こうした方針は優れて有効であるかについて、現在と同様に明瞭な情報を伝えてくれるでしょう。

重要な問題点。すべてがうまくいっているようですが、遺伝子治療の凝固因子発現の耐久性について、注視することが必要です。静脈注射の8～12週後に肝臓酵素の上昇があるのはなぜか、一部の患者でこの酵素の上昇を起こしている要素は何なのかを理解する必要があります。また、AAVの異なる血清型の安全性プロファイルも理解が必要です。ベクター製造過程の影響と、異なる患者での発現レベルと変動、ベクターのバッチ間の違いも知る必要があります。

潜在的な遺伝毒性は極めて重要です。肝臓へ遺伝子治療ベクターが遺伝子挿入されているかどうかを理解する必要があります。これに、どんなリスクがあるか、どの程度の遺伝子挿入が存在するのか、遺伝子治療で治療された患者の肝臓生検データを得ることが将来非常に重要になります。

最後に、どの様な臨床検査を使うべきかを理解することも必要です。さもないと、一つの治験で達成したことは、他のものとは異なることとなり、二つの異なる種類の戦略で達成した結果の有効性を比較することはできません。

ご静聴ありがとうございました。

