

加熱第Ⅷ因子濃縮製剤, Haemate P の止血管理下に 拔牙を行った Type II B von Willebrand 病の1例

奈良県立医科大学小児科学教室

田 中 一 郎, 新 家 興, 宮 田 茂 樹
西 尾 健 治, 吉 岡 章, 福 井 弘

奈良県立医科大学輸血部

藤 村 吉 博

奈良県立医科大学口腔外科学教室

山 本 成 美, 杉 村 正 仁

TOOTH EXTRACTIONS WITH THE USE OF A HEAT-TREATED FACTOR VIII CONCENTRATE (HAEMATE P) IN A PATIENT WITH TYPE IIB VON WILLEBRAND'S DISEASE

ICHIRO TANAKA, KOU NIINOMI, SHIGEKI MIYATA,
KENJI NISHIO, AKIRA YOSHIOKA and HIROMU FUKUI

Department of Pediatrics, Nara Medical University

YOSHIHIRO FUJIMURA

Department of Blood Transfusion, Nara Medical University

SHIGEMI YAMAMOTO and MASAHIRO SUGIMURA

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nara Medical University

Received March 31, 1989

Summary: A dental surgery case is described of a 12-year-old boy with type IIB von Willebrand's disease (vWD), suffering from toothache caused by follicular cyst with infection in the mandible. Prior to the surgery, a hemostatic effect of Haemate P was studied. After the infusion of Haemate P (84 U/kg body weight of ristocetin cofactor (Rcof.); 28 U/kg of factor VIII activity (F. VIII: C)), F. VIII: C levels rose from 0.6 U/ml to 1.64 U/ml at 1 hour, 1.08 U/ml at 24 hours and 0.9 U/ml at 48 hours, respectively. The levels of Rcof. increased from 0.24 U/ml to 2.75 U/ml at half an hour after the infusion and then gradually decreased to 0.44 U/ml at 48 hours. The levels of botrocetin cofactor (Bcof.) increased from 0.4 U/ml to 2.6 U/ml at half an hour after the infusion and then gradually decreased to the preinfusion level at 48 hours. Before the infusion, the large multimers were absent in the plasma, whereas all multimers were present in the platelets. After the infusion, the large multimers in the plasma appeared for several hours and gradually disappeared at 48 hours.

Surgical procedures — an extirpation of the cyst in the mandibular bone and the extractions of 3 deciduous teeth (both sides of the second mandibular lower deciduous molars

and the right upper second deciduous molar) and 1 supernumerary tooth in the maxilla — were performed after the infusion of Haemate P (56 U/kg body weight of Rcof.; 18 U/kg body weight of F. VIII: C). Further infusions of Haemate P were given every 12 hours for 2 days and every 24 hours for the following 3 days. After each infusion of Haemate P, there was 2–3 fold increase of 3 activities of F. VIII/vWF. During the course of Haemate P infusions, there was no significant side effect.

Index Terms

type IIB von Willebrand disease, heat-treated factor VIII concentrate, F. VIII/vWF, ristocetin cofactor, multimeric structure, exodontics

緒 言 方 法

von Willebrand 病 (vWD) は、染色体 No. 12 上の von Willebrand 因子 (vWF) 遺伝子の欠陥による vWF 蛋白の量的ないし質的合成障害にもとづく先天性出血性疾患である。vWD は遺伝形式、臨床像、検査所見とくに第Ⅷ因子と vWF の複合体 (F. VIII/vWF) の 3 活性 (F. VIII 活性 (F. VIII: C), vWF 抗原量 (vWF: Ag) および ristocetin cofactor (Rcof.)) と vWF 蛋白の multimer 構成の分析により、①優性遺伝性に出現し、F. VIII/vWF 複合体の 3 活性は低下するが、multimer の各 series は存在する Type I (classical form), ②優性遺伝性 (一部劣性) に出現するが F. VIII/vWF 活性のうち vWF 抗原量は必ずしも低下せず multimer 構造に異常がみられる Type II (variant), ③劣性遺伝性に出現し、F. VIII/vWF の 3 活性は著しく低下し、すべての multimers を欠く Type III (severe, homozygous) に大別される。Type II は血漿 vWF の量的ならびに質的異常が存在するもので、IIA, IIB, IIC, IIE, IIF, IIG, IIH および Type B と呼ばれる subtypes が報告されている^{2)~9)}。

Type IIB は Ruggeri ら²⁾ によって報告された、通常より低濃度の ristocetin で患者血小板多血漿が凝集し、かつ、患者血漿中の vWF の multimer 分析で large multimer が欠乏することを特徴とする病型である。教室では 1984 年、母子 3 例に出現した 1 家系を報告した¹⁰⁾。今回、われわれは本家系の 1 男児の抜歯に際し、加熱処理第Ⅷ因子濃縮製剤である Haemate P を使用し良好な成績を得たので、その臨床経過と、患者血漿中の F. VIII/vWF 活性、vWF multimer 構造の推移を報告する。

1) 出血時間: 耳朶を穿刺する Duke 法¹¹⁾によった。
2) 第Ⅷ因子凝固活性 (F. VIII: C): Hardisty の凝固一段法¹²⁾により測定した。

3) 第Ⅷ因子抗原 (F. VIII: Ag): 嶋らの方法¹³⁾を一部修正して測定した。ELISA 用マルチプレートに重症血友病 A 患者に発生した高力価抗第Ⅷ因子同種抗体より免疫純化した IgG を coating し、適宜希釈した検体を加えた後、同抗体にペルオキシンダーゼを標識したものを二次抗体とした sandwich ELISA 法により測定した。

4) ristocetin cofactor (Rcof.) 活性: ホルマリン固定血小板を用いた Macfarlane らの方法¹⁴⁾に準拠して測定した。すなわち、血小板凝集計の 1 ml ガラスキューベット内に、正常または被検血漿、1% BSA 加リン酸緩衝液、ホルマリン固定血小板浮遊液をそれぞれ添加し、37°C、2 分間加温し最後に終濃度 1 mg/ml の ristocetin を添加し、その凝集パターンから検量線を作成し、被検血漿の Rcof. 活性を測定した。

5) botrocetin cofactor (Bcof.) 活性: Rcof. と同様の系により測定した¹⁵⁾。すなわち、血小板凝集計の 1 ml ガラスキューベット内に、正常または被検血漿、1% BSA 加リン酸緩衝液、ホルマリン固定血小板浮遊液をそれぞれ添加し、37°C、2 分間加温し最後に終濃度 1 mg/ml の botrocetin を添加し、その凝集パターンから検量線を作成し、被検血漿の Bcof. 活性を測定した。

6) vWF 抗原 (vWF: Ag): Laurell¹⁶⁾ のロケット免疫電気泳動によった。

7) vWF multimer 構造の観察: Ruggeri らの方法²⁾に準拠し、被検血漿を SDS-1.4% agarose 上で電気泳動後、自家製の ¹²⁵I 標識抗ヒト F. VIII/vWF 家兎血清 IgG で免疫固定し、autoradiography で描出した。

症 例

症例: N. Y. 12歳男児

主訴: 咬合痛

既往歴: 同胞2名中の第1子. 患児は2歳頃より鼻出血を反復し, 3歳時, 出血傾向の精査のため当院小児科を受診した. 出血時間の延長, F. VIII: C の軽度低下, および Rcof. 活性の中等度低下所見より vWD と診断された. その後, 8才時, 再診し, ristocetin 凝集能の亢進所見, および vWF の multimer 分析で large multimer の欠如することより Type ⅡB vWD と確診した. 患児の弟および母も同様の所見を呈していた¹⁰⁾.

現病歴: 昭和63年1月10日より, 右下顎第二小臼歯部の歯肉腫脹および疼痛が出現し, 兵庫県立こども病院を受診し, 同1月12日, 口腔外科的処置を目的として当院を紹介され小児科に入院した.

入院時現症: 右上顎第二小臼歯および左右下顎第二小臼歯部に乳歯晚期残存がみられ, 右下顎第二小臼歯部顎骨内に follicular dental cyst がみられた. また上顎正中に過剰歯がみられ, cyst の摘出(開窓)および3本

の残存乳歯と1本の過剰歯の抜歯が必要であると診断された (Fig. 1).

抜歯時の止血管理: 抜歯に先立ち予め, 本患児に対し加熱第Ⅷ因子製剤である Haemate P の輸注効果を検討した. F. VIII: C として 28 U/kg 体重, Rcof. として 84 U/kg 体重の Haemate P 1,500 U を輸注し, 輸注後48時間にわたり, 患者血漿中の F. VIII/vWF 諸活性および vWF multimer 構造の推移を観察したところ, F. VIII: C は輸注前 0.6 U/ml から1時間後には 1.64 U/ml と上昇し24時間後には 1.08 U/ml, 48時間後には 0.9 U/ml と低下した. Rcof. は輸注前 0.24 U/ml から30分後 2.75 U/ml と上昇し48時間後には 0.44 U/ml と低下した. リストセチンと同様に vWF の血小板 GPIb への binding を惹起する蛇毒ボトロセチンを用いて測定した Bcof. は輸注前 0.4 U/ml から30分後に 2.6 U/ml とピークに達し48時間後には 0.36 U/ml とほぼ輸注前の値に復し, Rcof. とほぼ同様に推移した. vWF: Ag は輸注前 0.6 U/ml から30分後に 3.2 U/ml と上昇し48時間後には 1.00 U/ml と低下した (Fig. 2). 本患児の輸注前の vWF multimer 構造は, large multimer を欠き

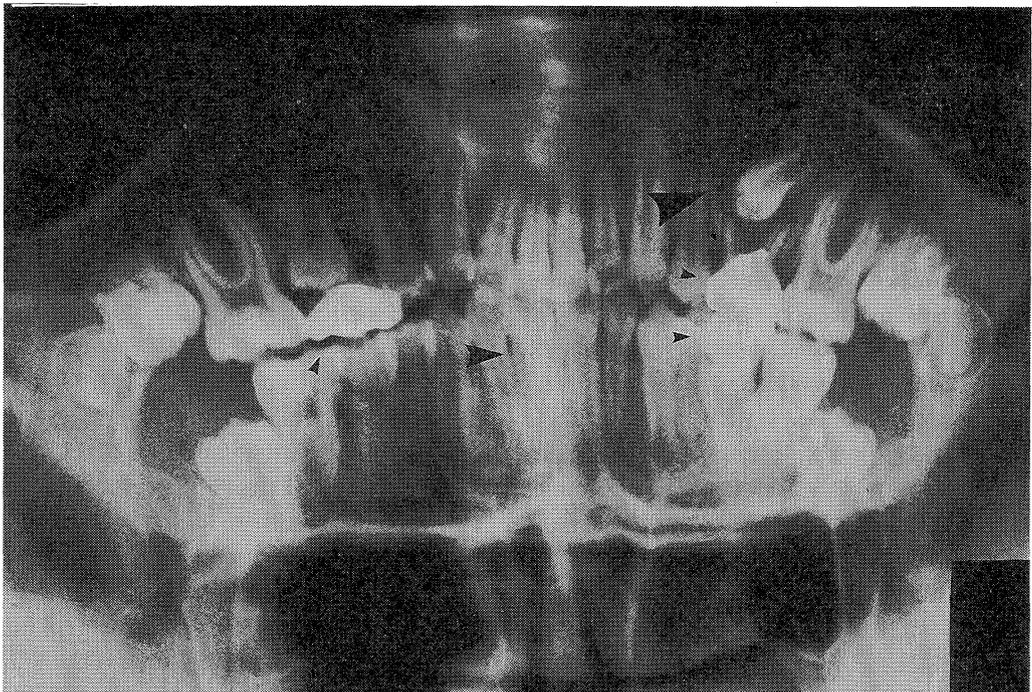


Fig. 1. Panorama X-ray.

A follicular cyst in the mandible (◄) as well as a supernumerary tooth in the maxilla (◄) can be seen. Both sides of the second mandibular lower deciduous molars and the right upper second deciduous molar remain (◄).

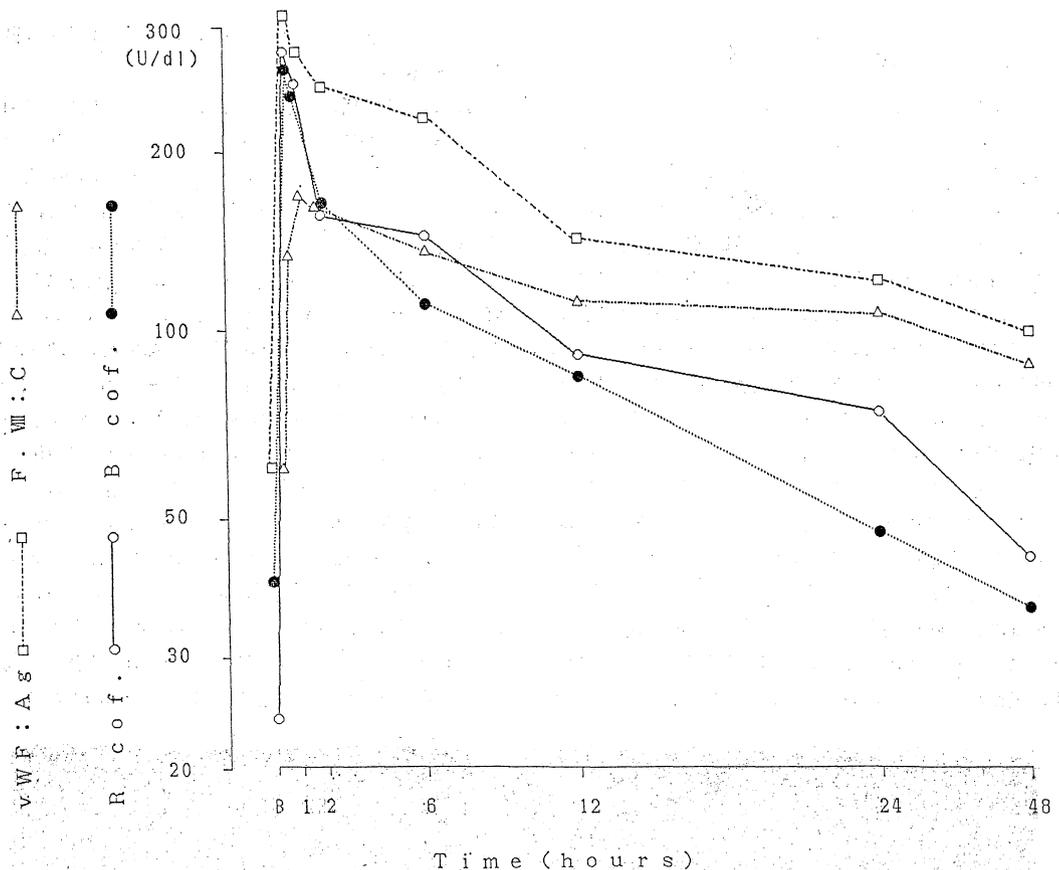


Fig. 2. Reaction of F. VIII: C, vWF: Ag, Rcof. and Bcof. at various intervals after infusion of Haemate P (1,500 U).

intermediate から small multimer のみにより構成されていた。Haemate P 輸注30分後には small, intermediate より large multimer の一部まで multimer band が出現し、それぞれの band の濃度も増加した。その後、large multimer より主体に消失し始め、48時間後にはほぼ輸注前の multimer 構造に復した (Fig. 3)。

以上の輸注効果を踏まえ、昭和63年1月27日、抜歯術前1時間前に F. VIII: C として 18 U/kg 体重、Rcof. として 56 U/kg 体重の Haemate P 1,000 U を輸注し、局所麻酔下に3本の残存乳歯と1本の過剰歯を抜歯し、かつ右下顎小臼歯部の follicular dental cyst を摘出 (開窓) した。術後、上下顎にエルゴプレスによる止血シーネを装着した。その後2日間は12時間間隔、後3日間は、24時間毎に同量輸注した。その間、出血時間は正常範囲内で推移し F. VIII: C, F. VIII: Ag, Rcof., vWF: Ag は、十分な上昇を保ち、著明な血小板減少を示すことなく、良好な止血効果を得た (Fig. 4)。

考 案

vWD は血漿中で F. VIII と複合体 (F. VIII/vWF) を形成している vWF 蛋白の量的ないし質的合成障害で、諸種の病型が存在することが知られている¹⁾。従って、本症の出血に対する治療はこの F. VIII/vWF を含有する第VIII因子製剤による補充療法が行われる。また、vWF は血管壁で合成されることが明らかにされており、血管壁よりの vWF 放出を目的とした合成利尿ホルモン剤の 1-dea-mino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) も最近使用されるようになった¹⁷⁾¹⁸⁾。

現在、血友病 A に用いられている第VIII因子濃縮製剤の多くは vWD に対する出血時間短縮効果は無く、止血効果は弱いことが観察されている。粗製第VIII因子製剤であるクリオプレシビテートあるいは Cohn 分画 I-O は vWD に対し、出血時間の一過性短縮と、F. VIII: C, F. VIII: Ag, および Rcof. 活性の上昇をもたらすので、

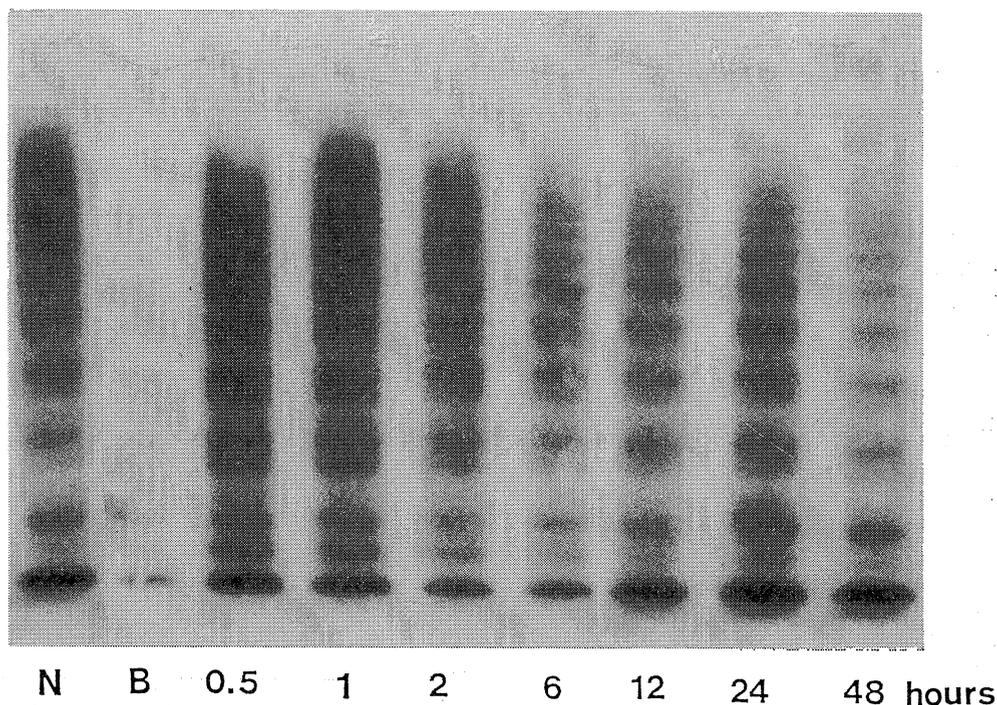


Fig. 3. Autoradiograph pattern of plasma vWF from a patient with Type II B vWD before (B) and at various intervals after infusion of Haemate P (N: normal plasma vWF).

有効治療剤として用いられている¹⁹⁾。しかし、両剤とも F. VIII: C, Rcof. 活性分画の含有量は低く、十分な止血効果を得るには大量の輸注が必要で、循環負担を招来するため使用量には一定の制約があり、また肝炎の発生頻度が高いことなどの難点があった。吉岡らは数種の非加熱および加熱処理第Ⅷ因子濃縮製剤中に含まれる F. VIII/vWF の諸活性とその multimer 構造を検討し、Haemate P (Behringwerke 社) および Confact 8 (化血研社) は他剤に比し、Rcof. を高度に有し、かつ、vWF の multimer 構造が比較的保たれていることを報告した²⁰⁾。福井ら²¹⁾²²⁾は Haemate P は vWD の type I, type II A, Type III 症例に止血効果のあることを観察したが、type II B については検討しえなかった。前述した如く、DDAVP は軽症血友病 A および Type I vWD の出血に対し有用であることが認められているが、Type II B 症例には本剤投与は血小板凝集および減少をきたすことが知られている²³⁾。このようなことから、今回、Type II B vWD の抜歯に際し、DDAVP の投与はむしろ不相当と考え、Haemate P を用いることを企図し、予め、本例に Haemate P 1,500 U (F. VIII: C として 28 U/Kg 体重, Rcof. として 84 U/Kg 体重)

を投与してその止血効果を検討した。F. VIII: C, Rcof., Bcof., vWF: Ag は輸注後、30分から1時間でピークに達し、以後漸減し、48時間後には Rcof. 活性および Bcof. 活性はほぼ輸注前値に復し、F. VIII: C および vWF: Ag は前値をやや上回る値を示した。multimer 構造解析においては輸注30分後には large multimer が出現し、以後 large multimer より主体に消失しはじめ、48時間後にはやや intermediate から small multimer が残存するものの、ほぼ輸注前の multimer 構造に戻った。

実際の口腔外科的処置に際して、抜歯術前1時間前に Haemate P 1,000 U (F. VIII: C として 18 U/kg 体重, Rcof. として 56 U/kg 体重) を輸注し、3本の残存乳歯と1本の過剰歯を抜歯し、follicular dental cyst を摘出(開窓)した。その後2日間は12時間間隔、後3日間は、24時間毎に同量輸注することによって、出血時間は正常範囲内で推移し F. VIII: C, F. VIII: Ag, Rcof., vWF: Ag は、十分な上昇を保つことができた。この間、血小板減少等、重篤な副作用の出現もなく、臨床的にも良好な止血効果が得られ、本製剤は Type II B vWD 症例に対しても有効であると思われた。

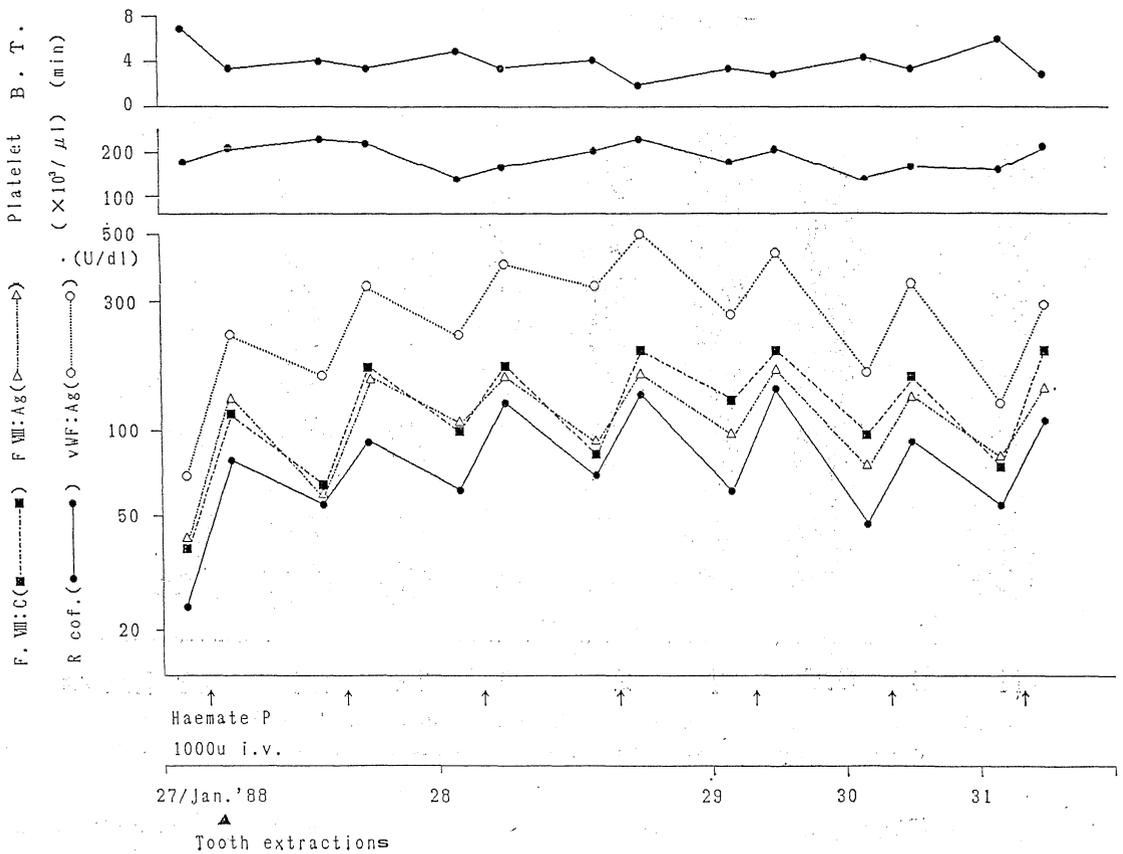


Fig. 4. Change of F. VIII: C, F. VIII: Ag, vWF: Ag, Rcof., platelet and bleeding time after tooth extractions.

結 語

Type II B vWD 患者の抜歯時の止血管理に加熱処理第VIII因子濃縮製剤である Haemate P を使用した。輸注後、充分な F. VIII: C, Rcof. の上昇と、large multimer の出現が観察され、特記すべき副作用もなく、良好な止血効果が得られた。

本論文の要旨は第回日本小児科学会奈良地方会に於て発表した。

文 献

- 1) 福井 弘: von Willebrand 病の最近の知見. 臨床血液 29: 1980-1990, 1988.
- 2) Ruggeri, Z.M. and Zimmerman, T.S.: Variant von Willebrand's disease. Characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of

factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelets. J. Clin. Invest. 65: 1318-1325, 1980.

- 3) Ruggeri, Z.M., Nilsson, I.M., Holmberg, L. and Zimmerman, T.S.: Aberrant multimeric structure of von Willebrand factor in a new variant of von Willebrand's disease (Type II C). J. Clin. Invest. 70: 1124-1127, 1982.
- 4) Kinoshita, S., Harrison, J., Lazerson, J. and Abildgaard, C.F.: A new variant of dominant type II von Willebrand's disease with aberrant multimeric pattern of factor VIII-related antigen (type II D). Blood 63: 1369-1371, 1984.
- 5) Zimmerman, T.S., Dent, J.A., Ruggeri, Z.M. and Nannini, L.H.: Subunit composition of plasma von Willebrand factor. Cleavage is present in normal individuals, increased in IIA and IIB von Willebrand disease, but minimal in variants with

- aberrant structure of individual oligomers (types II C, II D and II E). *J. Clin. Invest.* 77: 947-951, 1986.
- 6) **Mannucci, P.M., Lombardi, R., Federici, A.B., Dent, J.A., Zimmerman, T.S. and Ruggeri, Z.M.:** A new variant of type II von Willebrand disease with aberrant multimeric structure of plasma but not platelet von Willebrand factor (type II F). *Blood* 68: 269-274, 1986.
- 7) **Gralnick, H.R., Williams, S.B., McKeown, L.P., Maisonneuve, P., Jenneau, C. and Sultan, Y.:** A variant of type II von Willebrand's disease with an abnormal triplet structure and discordant effects of protease inhibitors on plasma and platelet von Willebrand factor structure. *Am. J. Hematol.* 24: 259, 1987.
- 8) **Mannucci, P.M., Lombardi, R., Lattuada, A., Muleo, G. and Federici, A.B.:** High-resolution multimeric analysis identifies a new variant of type II von Willebrand's disease (type II H) inherited in an autosomal recessive manner. *Ric. Clin. Lab.* XVI: 237, 1986.
- 9) **Howard, M.A., Salem, H.H., Thomas, K.B., Hau, L., Perkin, J., Coghlan, M. and Firkin, B.G.:** Variant von Willebrand's disease type B- Revisited. *Blood* 60: 1420-1428, 1982.
- 10) **Fukui, H., Yasui, M., Takahashi, Y., Niinomi, K. and Yoshioka, A.:** Type II B von Willebrand's disease: Report on the first case in Japan. *Acta Paediatr. Jpn.* 26: 544-553, 1984.
- 11) **Duke, W.W.:** The relation of blood platelets to hemorrhagic disease; description of a method for determining the bleeding time and coagulation time and report of three cases of hemorrhagic disease relieved by transfusion. *JAMA* 55: 1185, 1910.
- 12) **Hardisty, R.M. and Macpherson, J.C.:** A one-stage factor VIII (antihemophilic globulin) assay and its use on venous and capillary plasma. *Thromb. Diathes. Haemorrh.* 7: 215-219, 1962.
- 13) **Shima, M., Yoshioka, A., Tanaka, I., Fujiwara, T., Imai, S., Tsubura, Y. and Fukui, H.:** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of factor VIII antigen using a monoclonal antibody devoid of factor VIII inhibitor activity. *Blood & Vessel* 18: 48-59, 1987.
- 14) **Macfarlane, D.E., Stibbe, J., Kirby, E.P., Zucker, M.B., Grant, R.A. and McPherson, J.:** A method for assaying von Willebrand factor (ristocetin cofactor). *Thrombos. Diathes. haemorrh.* 34: 306-308, 1975.
- 15) **西尾健治:** 蛇毒 Botrocetin で発現される von Willebrand 因子活性に関する研究 I. Botrocetin cofactor 活性測定 of 検討. *奈医誌.* 39: 673-682, 1988.
- 16) **Laurell, C.B.:** Quantitative estimation of protein by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Analyt. Biochem.* 15: 45-52, 1966.
- 17) **安居資司, 高瀬俊夫, 西村拓也, 福井 弘, 清水豊信, 増原健二:** DDAVP の止血管理下に左大腿部慢性囊性血腫摘除術を行った von Willebrand 病 Type I の1例. *日本輸血学会雑誌* 29: 394-401, 1983.
- 18) **福井 弘, 高瀬俊夫:** DDAVP の止血効果. *臨床血液* 26: 1069-1079, 1985.
- 19) **Blatt, P.M., Brinkhaus, K.M., Culp, H.R., Krauss, J.S. and Roberts, H.R.:** Antihemophilic factor concentrate therapy in von Willebrand's disease. Dissociation of bleeding time factor and ristocetin-cofactor activities. *JAMA* 236: 2770-2772, 1976.
- 20) **Yoshioka, A., Shima, M., Nishino, M., Yoshikawa, N. and Fukui, H.:** In vitro characterization of various heat-treated factor VIII concentrates. *Proc. 4th Intern. Symp. Hemophilia Treatment.* p 163-170, 1984.
- 21) **福井 弘, 西野正人, 吉岡慶一郎, 木下清二, 白川茂, 出口克己, 長野 正, 白川 充, 岸田邦雄, 三間屋純一, 山田兼雄, 常泉いづみ, 稲垣 稔, 森和夫, 鈴木宗三, 高橋芳右:** von Willebrand 病に対する加熱第Ⅷ因子濃縮製剤 Haemate P の止血効果—I Haemate P 単回投与による出血時間, 第Ⅷ因子抗原, リストセチンコファクター活性, フオン・ウイレブランド因子抗原とフオン・ウイレブランド因子蛋白マルチマー構成の推移. *新薬と臨床* 35: 111-125, 1986.
- 22) **Fukui, H., Nishino, M., Terada, S., Nishikubo, T., Yoshioka, A., Kinoshita, S., Niinomi, K. and Yoshioka, K.:** Hemostatic effect of a heat-treated factor VIII concentrate (Haemate P) in von Willebrand's disease. *Blut* 56: 171-178, 1988.
- 23) **Homberg, L., Nilsson, I.M., Borge, L.,**

Gunnarsson, M. and Sjorin, E.: Platelet aggregation induced by 1-deamino-8-D-arginine vaso-

pressin (DDAVP) in type IIB von Willebrand's disease. *N. Engl. J. Med.* **309**: 816-821, 1983.