

Dec. San Diego Convention
Center

12. Kingo Fujimura, Masataka
Kuwana, Yoshiyuki Kurata,
Masahito Imamura, Hiroshi
Harada, Hisashi Sakamaki,
Masao Teramura, Kyuhei Koda,
Shosaku Nomura, Sayaka
Suguhara, Takeshi Shimomura,
Tetsuro Takahiro Fujimoto,
Kazuma Oyashiki, Yasuo Ikeda
Clinical features and effects of
eradication on Helicobacter
pylori positive 207 ITPcases in
Japan.

46th ASH Annual Meeting 2004.

Dec. San Diego Convention
Center

知的財産権の出願・登録

1. 特許取得 なし
2. 実案新案登録 なし
3. その他 なし

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) に対する (資料 1)

治療ガイドライン作成とその活用にあたって

治療ガイドライン作成の目的：

1982 年に ITP 治療指針が発表され 20 年以上経過し、治療指針は定着した感があり一定の成果を挙げている。しかしこの治療指針による治療成績には限界が明らかとなってきた。

またこの間の基礎研究の成果が臨床へ応用可能となりつつあり、一方臨床疫学的解析からも新たな事実が報告されている。

今後より有効な治療を模索し治癒率の向上を目指すためにはこれらのエビデンスに基づいた新たな ITP 治療に対するガイドラインが必要である。

治療ガイドライン作成の理由：

従来の ITP 治療計画による治療成績に限界が認められたため。

- ・副腎皮質ステロイドによる完全寛解率は 10~30%に留まる
- ・治療不応性 ITP 症例が 20~30%生じる
- ・維持量の副腎皮質ホルモンを長期間服薬する症例が多く薬剤による副作用対策が重要となって来た。

ITP が免疫学的機序により発症することが再確認されると共に血小板抗体産生細胞を定量化することが可能となり、免疫性血小板減少症の診断が確立されてきた。これを背景に新たな免疫抑制療法が有用である事が示唆されている。

ピロリ菌陽性 ITP 症例に対してはまず除菌療法の有効性から、その治療の位置付けを考える必要がある。

- ・本邦の ITP 症例は中高年齢者が多くしかもヘリコバクタピロリ菌感染症例がその中の 70~80%を占める。厚生労働省の研究班でこれら症例に対するピロリ除菌療法の効果を検証した所 64%の症例に血小板増加効果を認め、また他の維持療法を中止しても増加効果は維持され、永続性があることが判明した。

従来より世界的に治療に関しての無作為臨床試験の成績はなく、米国における ITP 症例の生命予後を推計学的に検討した報告や、米国血液学会におけるエキスパートによる治療経験に基づいた治療計画を本邦でも検討する必要がある。

クリニカルパスに準拠した治療法が行われるようになり、クリニカルパス作成のための基本となるべき最新の情報に基づいた治療ガイドラインが必要である。

新 ITP ガイドラインの特徴：

本邦の ITP の多くを占めるピロリ菌陽性 ITP 症例の約 60%に副腎皮質ステロイド療法による副作用が回避可能となる。

また治癒症例頻度が増すと共に部分寛解症例においても維持療法を必要としない症例が増す。

血小板数と自覚症状、客観的所見、出血傾向増悪に関する因子、等から治療の必要性を選択することで臨床実態に即した適格な治療が行われる。

薬物療法による初回療法、維持療法をみ直し、特に副腎皮質ステロイド療法を極力短期間にし長期投与による副作用の軽減に努めた。

外科的、或いは出産時、重篤な出血傾向時などには積極的にガンマグロブリン大量療法、血小板輸血を行い致死的出血を避けると共に出血による機能障害を出来る限り避ける様に務める。

全体として ITP 治療費の削減が期待できる。

ガイドライン適応症例：

原則として 18 歳以上の慢性 ITP 症例。

初診時に当たっては慢性、急性の区別は必ずしも容易ではなく、両者を区別することなく緊急療法、その他を行う。

小児 ITP に関しては、急性型が多い、ピロリ菌感染症例が少ない、血小板数と出血傾向が必ずしも相関せず軽微な例が多い、等の特徴があり本ガイドラインを適応しないものとする。

小児 ITP に関しては日本小児血液学会 ITP 委員会作成の「小児特発性血小板減少性紫斑病診断・治療・管理ガイドライン」日小血会誌 18: 210~218, 2004 を参照して頂きたい。

ガイドライン使用に当たって：

本ガイドラインは過去の治療データと臨床経験、研究論文に基づいて作成した平均的指針である。従って当該症例に画一的診療を規定するものではなく、個々の症例の臨床上、社会生活上の個別性を考慮した上で柔軟に用いるべきである。

ガイドラインの保守、点検について：

本ガイドラインは変化する臨床情報に対応するため、また本ガイドラインの有用性を検証するために原則として3～5年に1度見直しを行う。
また実情にそぐわない点が生じた場合には随時変更に努力する。

参考文献：

1. Portielje J.E.A. Westendorf R.G.J. Kluin-Nelemans H.C., Brand A. Morbidity and mortality in adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 97: 2549-2554, 2001
2. Cortelazzo ., Finazzi G., Buelli M., Molteni A., Viero P., Barbui T. High risk of severe bleeding in aged patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 77:31-33,1991
3. Cohen Y.C., Djulbegovic B., Shamai-Lubovitz O., Mozes B. The bleeding risk and natural history of idiopathic thrombocytopenic purpura in patients with persistent low platelet counts. *Arch. Intern. Med.* 160: 1630-1638. 2000
4. George J.M., Woolf S.H., Raskob G.E., Wasser J.S., Aledort L.K., Ballem P.J., Blanchette V.S., Bussel J.B., Cines D.B., Kelton J.G., Lichitin A.E., McMillan R., Okerbloom J.A., Regan D.H., Warrier I. Idiopathic thrombocytopenic purpura: A practice guideline developed by explicit methods for the American Society Hematology. *Blood* 88: 3-40, 1996.
5. Kuwana M., Nomura S., Fujimura K., Nagasawa T., Muto Y., Kurata Y., Tanaka S., Ikeda Y. Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 103: 1229-1236, 2004.
6. 藤村 欣吾 免疫性血小板減少性紫斑病 (ITP) におけるヘリコバクターピロリ菌除菌療法の有用性 —多施設共同研究報告—
厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
平成15年度 総括・分担研究報告書 血液凝固異常症に関する調査研究 (主任研究者 池田康夫) 平成16年3月

平成 16 年 9 月 30 日

厚生労働省 「難治性疾患克服研究事業」血液凝固異常症に関する調査研究

班長 慶應大学医学部 内科

池田 康夫

班員 広島大学 医歯薬総合研究科 血液・腫瘍科

藤村 欣吾

班員 大阪大学医学部附属病院 輸血部

倉田 義之

班員 慶應大学医学部先端医科学研究所

桑名 正隆

(資料2)

成人 ITP 治療ガイドライン (2004 年度)

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

血液凝固異常症に関する調査研究班

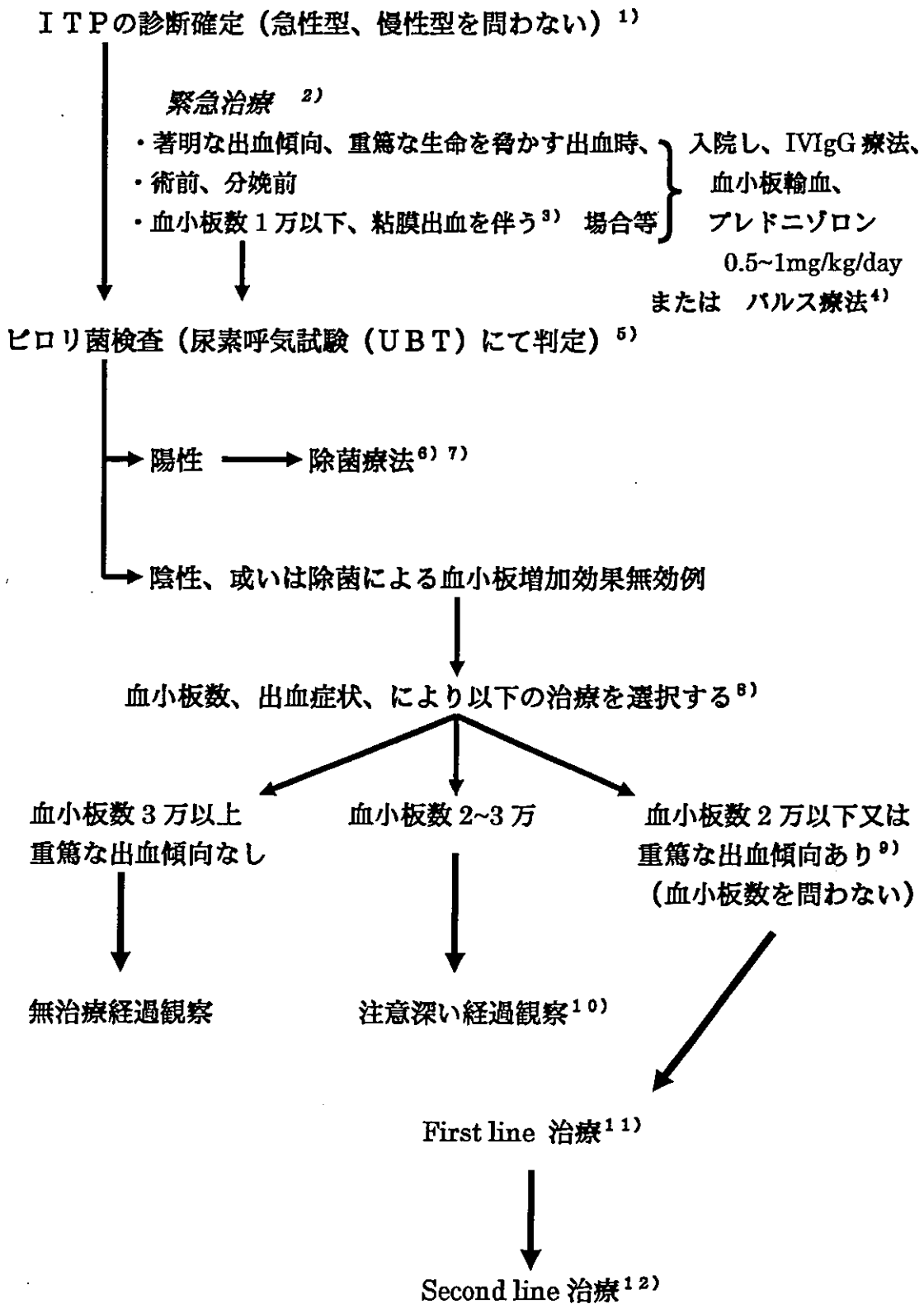
(班長 池田 康夫)

ITP 研究班

藤村 欣吾、倉田 義之、桑名 正隆、

藤沢 康司、降旗 謙一、野村 昌作、

I T P 治療ガイドライン (2004 年試案改定版)



付記：

- 1) 診断時に慢性型、急性型の区別がつきにくい場合があり臨床症状、検査所見が該当すれば本ガイドラインを適応する。
- 2) 緊急に止血が必要時（脳内出血、胸腔内、腹腔内出血など）、重篤な出血のリスクが高い確率で予測される場合、には緊急治療を適応し出血による障害、生命危機を回避するように務める。具体的治療は“緊急治療”に記す。
- 3) 鼻出血、消化管出血、生理出血、口腔内出血、 など
- 4) これらの治療により一時的に血小板数を増加させ事態を終息させた後に以下の検査,治療に進む
- 5) UBT 以外に糞便中のヒロリ抗原、生検などでヒロリ菌の診断を行っても良い
- 6) 除菌療法の副作用（皮疹、消化器症状、出血傾向の悪化など）に注意
血小板数>1 万で除菌療法を行うことが望ましい
除菌療法例：アモキシシリン 750mg/day,
クラリスロマイシン 200mg/day,
プロトンポンプ阻害剤(ランソプラゾール 30mg/day)の 3 剤を 1 日 2 回、
同時併用 7 日間（各用量は 1 回量を示す）
- 7) 除菌 4～6 週間後に除菌効果を判定する（UBT による）
除菌不成功例では再除菌を行い血小板増加効果の有無を確認する
- 8) 血小板数は 1 回の測定ではなく数回の測定で判断する
出血傾向は軽微な機械的刺激や、自然出血によるものを意味する。
強力な外力によって生じたものは除く
- 9) 大きな血腫、溢血斑、鼻出血、消化管出血、生理出血、口腔内出血、多発する点状出血、など臓器障害や貧血、出血傾向の増悪をきたす恐れのある状態
- 10) 少なくとも 1 ヶ月に 1 回は診察を行い、連絡を密にする。
- 11)、12) 治療内容は以下に示す。

First line 治療

A 副腎皮質ステロイドホルモン療法

プレドニゾン 0.5~1mg/kg/day 2~4週間 経口

(但し 最大 70mg/body 以下とする)

以後血小板数にかかわらず漸減し

維持量 5~10mg/day とする。

治療目標：

レベル1：血小板数正常化し無治療となる（期待値は30%以下）

レベル2：治療中止、或いは維持量で血小板数3万以上を目指すことが望ましい

レベル3：血小板数は3万以下であるが維持療法で出血傾向を減少させることを最低目標にせざるを得ない場合

付記：

1) 高齢（70歳以上）、骨粗鬆症、コントロール不良高血圧症、糖尿病予備群、肥満、免疫機能低下状態、ウイルス性肝炎、慢性感染症など要注意群では投与量を1/2に減じて慎重に行うか、当面の出血傾向の軽減を目的にプレドニゾン維持量を最初から用いてもよい。

このような状況下では摘脾、或いは Second line 治療を選択する場合もありうる。

2) 活動性感染症保有状態や消化性潰瘍保有者ではこれら病態が完治した後或いは病態をコントロールしながら治療を行う。

3) 要注意群では併存疾患の治療を併用しながら行う。

4) 副腎皮質ステロイドによる副作用が問題となる治療法であるため、出現する副作用に対する対策を考慮しながら行う。

レベル3で出血傾向の軽減が維持できれば副作用の点から無治療を選択する場合もありうる。

B 摘脾

対象：

- ・ ITP 診断後 6 ヶ月以上経過した症例であること
- ・ 副腎皮質ステロイド療法により治療目標レベル 3 の症例、
- ・ 或いはレベル 2 の中で無治療、維持量で血小板数 5 万以下の症例
- ・ 副腎皮質ステロイド療法の副作用が強い場合
- ・ 副腎皮質ステロイド不適応症例 など

方法：

腹腔鏡下内視鏡手術（副脾を残さない様に注意する）

（ただし術式は外科の判断にゆだね腹腔鏡下内視鏡手術にこだわらない）

目標：

レベル 1：血小板数正常化

レベル 2：薬物療法中止後も血小板数 3 万以上

レベル 3：薬物療法中止後も血小板数は 3 万以下であるが
出血傾向が認められなくなる

付記：

- 1) 摘脾後の感染症に注意し発熱など感染症が疑われる場合には早め
まずペニシリン系の抗生剤の使用を考慮する。
- 2) レベル 2、3 を保つために維持量の副腎皮質ステロイド
(5~10mg/day) を用いる場合もある。

Second line 治療

対象：

- ・副腎皮質ステロイド治療や摘脾効果が不十分の症例（無反応例、あるいはレベル3）
- ・摘脾の了解が得られない症例
- ・first line の薬物治療が選択されにくい症例

治療目標：

レベル1：血小板数正常化

レベル2：維持療法中止あるいは維持療法にて血小板数を3万以上に維持する。

レベル3：維持療法中止あるいは維持療法にて出血傾向軽減（血小板数は3万以下）

この場合の維持療法は副腎皮質ステロイド或いは当該薬物療法の維持量を示す。

Second line 治療に当たって以下の点に留意する

- ・ Second line 治療法はいずれもエビデンスレベルIV,Vである事。
- ・ これらの薬剤はすべてITPに対し保険適応となっていない。
- ・ それぞれ特有の副作用が知られており注意を払う必要がある。
- ・ これらの治療は1~2クール、或いは1.5~2ヶ月行い効果が無ければ中止し他の治療法を選択する。
- ・ 以下の Second line 治療を2~3試みた後、無効であればプレドニン維持量（5~10mg/day）のみで経過観察する選択肢もある。

*ダナゾール（ボンゾール）：100~400mg/day 経口

*デキサメサゾン大量療法（デカドロン）：40mg/day 4日間

経口或いは静注

*ステロイドバルス療法（ソルメドロール）：500~1000mg/day 3日間

点滴静注、以後漸減

*シクロスポリン（サンデュミン、ネオーラル）：4~6mg/kg/day 経口

血中濃度を200ng/ml前後にコントロールする量を用いる

*サイクロフォスファミド（エンドキサン）：50~100mg/day 経口

*アザチオプリン（イムラン）：50~100mg/day 経口

*Rituximab（リツキサン）：375mg/m² 点滴静注 週1回 4週間

等から適宜選択する。

緊急治療

対象：

- 1) 緊急時
- 2) First, Second line いずれの治療中であっても出血傾向の悪化や血小板数の急激な減少時、
- 3) 出産、外科的処置前

対応： 入院し以下の治療を一つないし複数選択する

- ・ IVIgG 療法 : 完全分子型ヒト免疫グロブリン
400mg/kg/day 5日間 点滴静注
或いは、急ぐときは
1000mg/kg/day 2日間 点滴静注
(本投与法は保健適応はない)

いずれも指定された静注速度を守りゆっくり時間をかけて行う。
(400mg/kg/day の場合、初日は4時間半以上かけ、2日目は3時間、
3日以降は2時間半以上を目安とする)

- ・ 血小板輸血 : 10~20 単位/day
- ・ ステロイドパルス療法 (既述)

血小板著減検体における正確な血小板数測定法の確立に関する研究
—血小板数測定への破碎赤血球の影響についての検討—

分担研究者 倉田 義之 大阪大学医学部附属病院輸血部講師

研究要旨

血小板数は特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の重症度・治療法を考慮する上で重要なマーカーであるが、血小板数が著減している検体では正確な血小板数を測定することができないと言われている。血小板数測定精度を検討するため血小板数 5 万以下の特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 37 例を含む血液疾患 97 例で血小板数を目視法、自動血球計数器 2 機種、免疫学的な方法 (FCM 法) で測定した。希釈直線性、再現性は FCM 法が最も優れていた。血小板数の比較では目視法と FCM 法はほぼ一致したが自動血球計数器による測定では 6,000~9,000/ μ l 高値 (偽性高値) を示した。偽性高値の原因として破碎赤血球が推測されているため破碎赤血球数と偽性高値の関係を検討したところ有意の相関を認めた。以上より血小板偽性高値の主因は破碎赤血球であると考えた。

1. 研究目的

血小板数は特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の重症度・治療法を考慮する上で重要なマーカーである。しかしながら臨床現場で汎用されている自動血球計数器では見かけ上、血小板数が高値 (血小板偽性高値) となり、患者血小板数を正確に測定することができないという問題点がある。

血小板数が 2 万/ μ l 以下の検体では目視法にて測定することが望ましいとされているが時間・労力を要するため多くの施設では実施困難であり、自動血球計数器での血小板数が臨床サイドに報告されている。

自動血球計数器測定では血球のサイズで血小板と赤血球・白血球を区別している。そのため血小板と同サイズの粒子が混在すると血小板と判定され、血小板偽性高値の原因となる。血小板と同サイズの粒子としては破碎赤血球が考えられる。破碎赤血球出現症例で血小板数が偽性高値を示したとの症例報告も散見される。

近年、血小板数を正確に測定する方法として血小板を認識するモノクローナル抗体を用いて正確に血小板を確認し、血小板数を測定する免疫学的測定法が開発・報告されている。

今回、われわれは血小板減少を示す ITP を含む血液疾患症例の血小板数を目視法、自動血球計数器 2 機種

(NE-8000、H-2)、免疫学的方法 (FCM 法) の 4 法で測定し、FCM 法を血小板数の基準とし、他の 3 法の血小板数を比較検討した。さらに血小板偽性高値の原因が破碎赤血球か否かを検討するため検体の破碎赤血球数も測定し、血小板偽性高値の原因が破碎赤血球か否かについても検討したのでその成績も報告する。

2. 研究方法

【対象】

4 法にて血小板数を測定した症例は血小板数が 5 万以下の ITP 37 例、再生不良性貧血 16 例、血液悪性腫瘍 44 例。

血小板数と破碎赤血球を同時に測定した症例は ITP 12 例、再生不良性貧血 3 例、骨髓異形性症候群 7 例、血液悪性腫瘍 6 例、その他の疾患 6 例の計 34 例。

【血小板数の測定法】

1) 自動血球計数器による測定

NE-8000 (電気抵抗法、Sysmex) および Technicon H-2 (光学法、Bayer Medical、以下 H-2) にて測定。

2) 目視法による測定

光学顕微鏡と Bürker-Türk の計算板を用い、Rees-Ecker 法に準じて測定。

3) FCM 法

EDTA 加全血 $10 \mu\text{l}$ と PE 標識抗 CD42b 抗体 (SZ2、Immunotech) $10 \mu\text{l}$ を室温で 10 分間反応させ、粒子数既知

Flow-Count 標準粒子 $100 \mu\text{l}$ を加え、FCM (FACScan、Becton Dickinson) にて測定した。FCM での測定は、X 軸を forward scatter (FSC)、Y 軸を PE (FL2) としたスキャッタグラム上で、血小板と Flow-Count 標準粒子のイベント数を合計で 1 万個計数し、次いで血小板および Flow-Count 標準粒子の各領域をゲートし (図 1)、各ゲート内のイベント数を計算式に当てはめることにより血小板数を算出した。

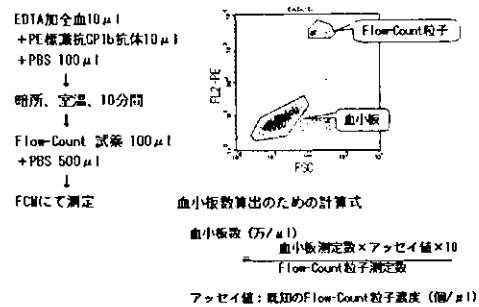


図 1. FCMを用いての血小板数測定法

【破碎赤血球の測定法】

1) 視算法 (以下 FRC 視算法)

May-Grünwald-Giemsa 染色塗抹標本上で赤血球 1000 個中の破碎赤血球の割合 (破碎赤血球%) を算定した。破碎赤血球は Dacie & Lewis の定義に基づいて判定した。

2) FCM を用いた免疫学的測定法 (GPA 法)

EDTA 加全血 $5 \mu\text{l}$ 、PE 標識抗 CD42b 抗体 $10 \mu\text{l}$ 、80 倍希釈 PE 標識抗 Glycophorin A 抗体 (GA-R2、Becton Dickinson) $10 \mu\text{l}$ を混和し、室温で 30 分間反応させた。反応後 1%ホルムアルデヒド 3ml を加えて FCM にて測定

した。FCMでの測定は、X軸をFSC、Y軸をside scatter (SSC)としたスキャッタグラム上で血小板と赤血球のイベント数を合計で5万個計数した(図2A)。

次いでその5万個についてX軸をFSC、Y軸をPE (FL2)としたスキャッタグラム上に展開した。図2B,Cに健常人と破碎赤血球出現症例のドットプロットパターンを示した。健常人15例より求めた正常赤血球サイズの下限にゲートを作製し(図2B,C縦点線)、これより左側を破碎赤血球として解析した。

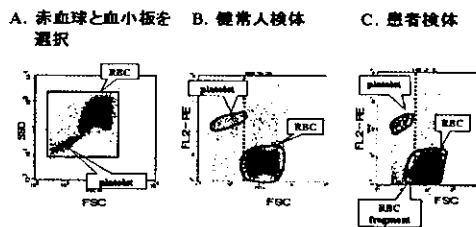


図2. 健常人検体、患者検体での破碎赤血球測定例

3. 研究結果

1) 血小板数測定法4法の希釈直線性

希釈直線性を図3に示す。FCM法、H-2は128倍(約 $0.04 \times 10^4 / \mu l$)まで直線性を認め、血小板数も期待値に近似した。一方、目視法とNE-8000は32倍(約 $0.16 \times 10^4 / \mu l$)までしか直線性を認めず、低値で上方あるいは下方へ外れる傾向を示した。

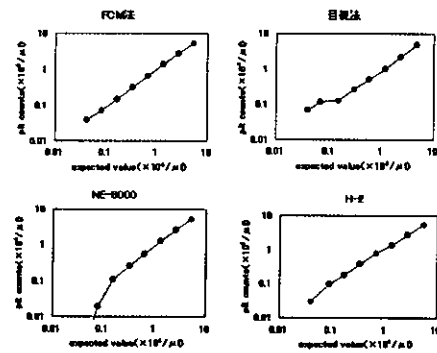


図3. 希釈直線性

2) 同時再現性

同時再現性を表1に示す。FCM法が最も優れており、次いでNE-8000、H-2であった。目視法のCVは血小板著減検体では著しく不良であった。

表1. 同時再現性

| | 血小板数4.5万前後のITP検体の血小板数 | | | 血小板数1.5万前後のITP検体の血小板数 | | |
|---------|-----------------------|------|-----|-----------------------|------|------|
| | 平均 | SD | CV | 平均 | SD | CV |
| FCM法 | 3.88 | 0.19 | 4.8 | 1.29 | 0.07 | 5.2 |
| 目視法 | 4.61 | 0.15 | 3.3 | 1.53 | 0.19 | 10.1 |
| H-2 | 4.49 | 0.29 | 6.3 | 1.47 | 0.09 | 5.9 |
| NE-8000 | 4.77 | 0.18 | 4.8 | 1.58 | 0.13 | 8.2 |

血小板数1万以下のITP検体の血小板数

| | 平均 | SD | CV |
|---------|------|------|------|
| FCM法 | 0.45 | 0.01 | 2.5 |
| 目視法 | 0.67 | 0.11 | 16.3 |
| H-2 | 1.45 | 0.12 | 8.3 |
| NE-8000 | 0.79 | 0.08 | 7.2 |

同一検体を10回測定。

3) 4法で測定した血小板数の比較(図4)

FCM法と目視法はほぼ一致したが、NE-8000、H-2は高値を示した。再生不良性貧血、血液悪性腫瘍においてもほぼ同様の成績であった。

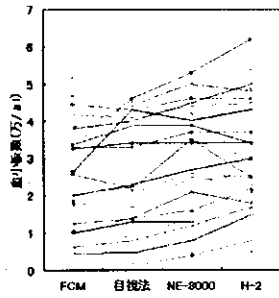


図4. 4法で測定した血小板数 (ITP例)

さらに FCM 法と目視法、NE-8000 および H-2 間の相関を検討した (図 5)。FCM 法と目視法はほぼ一致したが NE-8000 および H-2 は高値の傾向を示した。なお疾患による差は認められなかった。

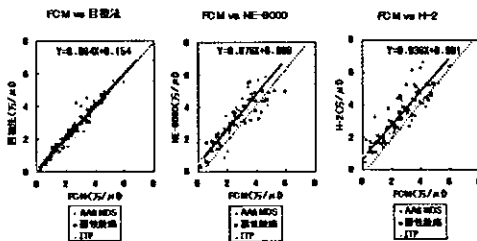


図5. 4法による血小板数の相関

4) 血小板数偽性高値間の相関

NE-8000 の血小板数と FCM 法の血小板数の差 (NE-8000 の血小板高値分) と、H-2 の血小板数と FCM 法の血小板数の差 (H-2 の血小板高値分) 間の相関を検討した (図 6)。NE-8000 の血小板高値分と H-2 の血小板高値分間に正の相関を認め両機種で異常高値を示した検体はほぼ一致していると思われた。

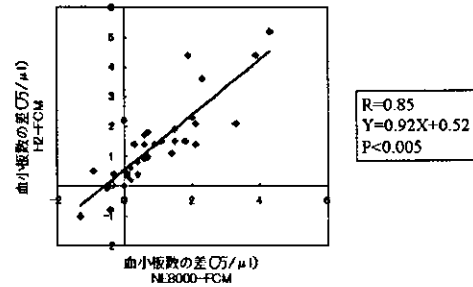


図6. 自動血球計数器2機種の血小板数高値分の相関

5) 破碎赤血球測定法間の相関

FRC 視算法と GPA 法間で破碎赤血球%、絶対数ともに正の相関を認めた (図 7)。

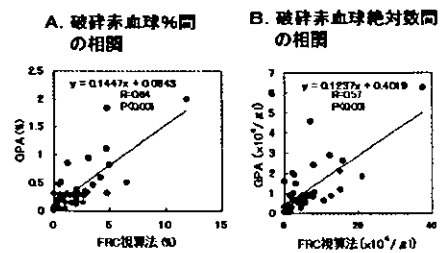


図7. 破碎赤血球測定法間の相関

6) 自動血球計数器での血小板数偽性高値分と破碎赤血球間の相関

NE-8000、H-2 とともに血小板高値分と FRC 視算法による破碎赤血球絶対数間に正の相関を認めた (図 8)。

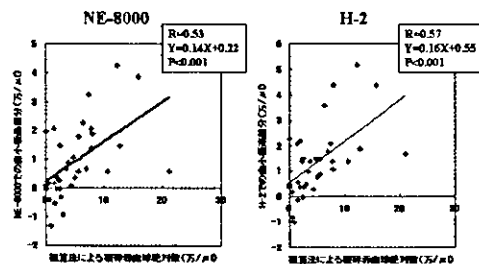


図8. NE-8000、H-2での血小板高値分とFRC視算法による破碎赤血球絶対数との相関

またH-2の血小板高値分とGPA法による破碎赤血球絶対数間にも正の相関を認めた。NE-8000の血小板高値分とGPA法による破碎赤血球絶対数間も同様の傾向を認めたが統計的には有意ではなかった(図9)。

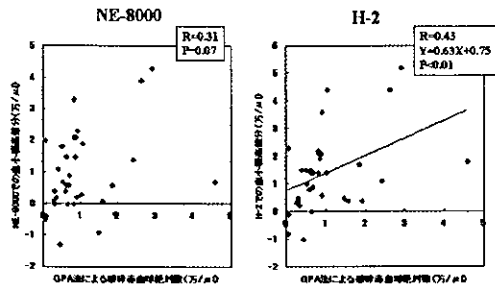


図9. NE-8000、H-2での血小板高値分とGPA法による破碎赤血球絶対数との相関

4. 考察

近年、血小板に対するモノクローナル抗体とFCMを組み合わせ、赤血球数との比率より血小板数を求める免疫学的測定法が検討され、国際標準法とされている。この測定法により、従来の自動血球計数器では血小板数が偽性高値を示す検体についても正確な血小板数測定が可能となった。その血小板数算定方法は赤血球数にFCMで求めた血小板イベント数/赤血球イベント数比を乗じるものであるが、測定総イベント数が5万個であるにもかかわらずその大部分は赤血球イベントで占められている。従って、血小板数が $1 \times 10^4/\mu l$ のような血小板著減検体においては血小板イベント数は100個しか得られず正確な血小板数を測定することはできない。国際標準法においても血小板イベント数を最低1000

個測定する必要があると述べている。それに対してFCM法は、既知の標準粒子濃度に血小板イベント数/標準粒子イベント数比を乗じるものであり、 $0.1 \times 10^4/\mu l$ の極端な血小板著減検体であっても測定総イベント数1万個あたり血小板イベント数がおおよそ1000個得られる。このことから、血小板著減検体においても血小板数を非常に正確に測定可能である。Dickerhoffら、Arroyoらも絶対数測定用試薬を用いた免疫学的測定法が、重篤な血小板減少症における正確な血小板測定法として非常に優れていると報告している。われわれも希釈直線性、同時再現性および目視法との相関においてFCM法が最も優れているとの成績を得た。

今回の検討では血小板数が $2.0 \times 10^4/\mu l$ 以下の著減例35例を含む血小板数が $5.0 \times 10^4/\mu l$ 以下の97例を対象とした。血小板数が $2.0 \times 10^4/\mu l$ 以下の著減例に限ってもFCM法は目視法と血小板数がほぼ一致した。一方NE-8000とH-2は高値を示し、FCM法は著減例にも非常に有用であることが示された。

自動血球計数器で血小板数が偽性高値を示す主な原因は破碎赤血球が血小板として算定されているためではないかと推測されている。しかし、偽性高値分が破碎赤血球であることを確認した報告はない。そこで我々は破碎赤血球が出現している34例を用いて、血小板数偽性高値分と破碎赤血球出現頻度との相関について検討し

た。

上記を検討するにあたり破碎赤血球を正確に算定する必要がある。従来のFRC視算法による破碎赤血球の判定および定量は熟練した技師であっても主観による影響を避け難く、客観性・再現性が乏しい。我々はモノクローナル抗体を用いたGPA法で客観的に破碎赤血球を検出し、破碎赤血球%および絶対数を算定した。

GPA法は正常赤血球サイズの下限より左側を破碎赤血球としており、血小板高値分と破碎赤血球の関連を検討するにはGPA法がFRC視算法よりも適していると思われた。

これまで個々の症例について血小板数と破碎赤血球%の変動の様子を観察し、血小板偽性高値と破碎赤血球との関連性を報告するものが大半であった。それに対して我々は多数例について血小板偽性高値と破碎赤血球絶対数の関係を検討した。その結果、血小板数偽性高値分と破碎赤血球絶対数間に相関を認め、破碎赤血球が血小板偽性高値の原因であるとの所見を得た。

以上の結果より塗抹標本上で破碎赤血球が観察された検体について破碎赤血球の出現頻度と血小板高値分は相関すること、すなわち、自動血球計数器での血小板高値分は破碎赤血球であることを示唆する所見を得た。

5. 結論

- 1) 自動血球計数器による血小板数測定は免疫学的な測定法に比べ

高値であった。

- 2) 破碎赤血球が血小板数偽性高値の主因であると考えられた。

6. 健康危険情報
特になし。

7. 研究発表

- 1) 論文発表

- Kuwana, M, Nomura, S, Fujimura, K, Nagasawa, T, Muto, Y, Kurata, Y, Tanaka, S, Ikeda, Y: Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood*, 103; 1229-1236.
- 西山美保、林 悟、二日市良彰、末久悦次、倉田義之：血小板著減症例におけるFlow cytometerを用いた免疫学的血小板測定法の有用性。臨床病理、52; 103-108.
- Kashiwagi, H, Shiraga, M, Honda, S, Kosugi, S, Kamae, T, Kato, H, Kurata, Y, Tomiyama: Activation of integrin α IIb β 3 in the glycoprotein Ib-high population of a megakaryocytic cell line, CMK, by inside-out signaling. *J Thromb Haemost*, 2; 177-186.
- 倉田義之：難治性 ITP に対する治療の現状。医学のあゆみ、209; 105-108.
- 倉田義之：特発性血小板減少性紫

- 斑病 (ITP) 合併妊婦のマネジメント。EBM ジャーナル、5; 80-84.
- 倉田義之: 血小板輸血。日医雑誌、131; 891-893.
 - 小杉 智、倉田義之: ITP の血小板膜糖蛋白抗体。臨床検査、48; 297-301.
 - 倉田義之: 免疫性血小板減少性紫斑病の治療。血小板生物学、池田康夫、丸山征郎編集、p841-849、メディカルレビュー社。
 - 倉田義之: 特発性血小板減少性紫斑病難治例に対する治療法: ステロイド、脾摘無効例の治療はどのようにしたらよいか? EBM 血液疾患の治療 2005-2006。押味和夫、他編集、p599-603、中外医学社。
 - Honda, S, Kashiwagi, H, Kiyoi, T, Kato, H, Kosugi, S, Shiraga, M, Kurata, Y, Tomiyama, Y: Amino acid mutagenesis within ligand-binding loops in αv confers loss-of-function or gain-of-function phenotype on integrin $\alpha v \beta 3$. Thromb Haemost, 92; 1092-1098.
 - 倉田義之: ITP の疫学~発症頻度と長期予後~ 血液フロンティア 12; 1907-1913.

2) 学会発表

- 平成16年4月8日-10日 第101回日本内科学会講演会 (東京)
- 白鹿正通、宮田茂樹、加藤 恒、

柏木浩和、本田繁則、倉田義之、富山佳昭: ADP 受容体 P2Y₁₂ 欠損症の血小板機能解析

平成16年7月3日-4日 第5回日本検査血液学会学術集会 (北海道)

- 林 悟、西山美保、白鹿正通、小西一郎、富山佳昭、倉田義之: 寒冷血小板凝集素により偽性血小板減少症を呈した3症例

平成16年9月17日-19日 第66回日本血液学会総会・第46回日本臨床血液学会総会 (京都)

- 柏木浩和、白鹿正通、本田繁則、加藤 恒、田所誠司、釜江 剛、倉田義之、金倉 譲、富山佳昭: 巨核球/血小板系における WASP family 蛋白、WAVE の発現および局在に関する検討
- 倉田義之、林 悟、西山美保、白鹿正通、小西一郎、富山佳昭: 寒冷血小板凝集素により偽性血小板減少症を呈した3症例
- 加藤 恒、吉田 均、柏木浩和、白鹿正通、田所誠司、釜江 剛、本田繁則、倉田義之、金倉 譲、富山佳昭: SHPS-1 の血小板 CD4 を介した血小板機能抑制作用の検討

平成16年10月30日 第48回日本輸血学会北海道支部例会 (北海道)

- 特別講演
- 倉田義之: 自己免疫性血小板減少

症 (ITP)・好中球減少症における
血小板抗体・顆粒球抗体の最近の
知見

平成 16 年 11 月 18 日～20 日 第 27
回日本血栓止血学会学術集会 (奈良)

- 柏木浩和、富山佳昭、白鹿正通、
加藤 恒、本田繁則、田所誠司、
釜江 剛、山本直子、倉田義之、
金倉 譲: Semaphorin 3A による血
小板機能抑制

平成 16 年 12 月 4～7 日 The 46th
Annual Meeting of the American
Society of Hematology (San Diego)

- Shiraga, M, Miyata, S, Kamae, T,
Kato, H, Kiyoi, T, Kashiwagi, H,
Honda, S, Kurata, Y, Tomiyama, Y,
Kanakura, Y: Impaired platelet
function in a P2Y12-deficiency
platelet caused by a mutation in
the translation initiation
codon.
- Kato, H, Kashiwagi, H, Shiraga,
M, Honda, S, Miyata, S, Yamamoto
J, Kurata, Y, Funahashi, T,
Shimomura, I, Tomiyama, Y,
Kanakura, Y: Enhanced platelet
aggregation and thrombogenic
tendency in
adiponectin-deficient mice.
- Kashiwagi, H, Shiraga, M, Kato,
H, Kamae, T, Yamamoto, N,
Tadokoro, S, Kurata, Y, Tomiyama,
Y, Kanakura, Y.: Negative

regulation of platelet function
by a secreted cell repulsive
protein, semaphorin 3A.

- Kuwana, M, Kurata, Y, Fujimura,
K, Fujisawa, K, Wada, H, Nagasawa,
T, Nomura, S, Kojima, T, Yagi, H,
Ikeda, Y.: Initial laboratory
findings useful for predicting
the diagnosis of chronic ITP:
Results of a multicenter
prospective study.
- Fujimura, K, Kuwana, M, Kurata,
Y, Imamura, M, Harada, H,
Sakamaki, H, Teramura, M, Koda,
K, Nomura, S, Sugihara, S,
Shimomura, T, Fujimoto, TT,
Oyashiki, K, Ikeda, Y: Clinical
features and effects of
eradication on Helicobacter
Pylori positive 207 ITP cases in
Japan.

8. 知的財産権の出版・登録状況
特になし。