

TMA 研究グループ 総括報告

藤村吉博 奈良県立医科大学

血栓性微小血管障害症 (TMA) は①細血管障害性溶血性貧血、②破壊性血小板減少、③細血管内血小板血栓を主徴とする疾患群で、この中には神経症状優位の血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) や腎症状優位の溶血性尿毒症症候群 (HUS) が含まれる。近年、TTP の原因として血漿 von Willebrand 因子特異的切断酵素 (VWF-CP、別名 ADAMTS13) が同定され、この酵素活性が先天的に欠損もしくは後天的にこの酵素に対する自己阻害抗体 (インヒビター) が発生すると、血漿中に超巨大分子量 VWF マルチマー (UL-VWFM) が蓄積され、高ずり応力下に血小板凝集・血栓が生じる事が明らかになった。

TMA 研究グループ代表である藤村吉博は 1998 年に本邦で最初にこの酵素活性測定法を確立し (Int J Hematol 2001, Br J Hematol 2001)、平成 16 年 10 月末で全国の医療施設から依頼された 493 例の TMA 患者について ADAMTS13 解析を行った。この結果、同活性著減例は TMA 全体の 1/3、中等度低下例が 1/3、そして軽度低下ないし正常例が残り 1/3 である事を示した (途中経過を Sem Hematol 2004 で報告)。著減例の中から先天性 TTP (別名 Upshaw-Schulman 症候群) を 21 家系 26 症例発見し、うち 10 家系については班員の宮田敏行を中心に ADAMTS13 遺伝子解析を行い、また後天性 TTP の 3 例についても班員の村田満を中心に同遺伝子解析を終了し、これらの結果は既に論文報告 (PNAS 2003, Blood 2004, Blood 2004) もしくは投稿中で、同プロジェクトは現在も続行中である。また後天性 TTP の中で原因不詳 (特発性) のものは自己免疫疾患のカテゴリーに入るが、基礎疾患に続発するものは極めて多彩であり、これらの中で多発性神経症状を呈した血管内リンパ腫と C 型肝硬変に合併した症例について、いずれも ADAMTS13 インヒビターの存在を証明し、これらの合併症としての血小板減少の原因を明らかにした (Neurology 2004, J Hepatology 印刷中)。一方で、宮田らは ADAMTS13 で切断される VWF サブユニットの 73 アミノ酸残基 (VWF73) を同定し、これは現時点では同酵素の最小基質単位と考えられている (Blood 2004)。さらにこの VWF73 を蛍光標識した合成ペプチドを作成し、短時間で ADAMTS13 活性を測定しうる FRETS-VWF73 アッセイを構築した (論文投稿中)。また藤村らは ADAMTS13 に対するマウスモノクローナル抗体を作成し、その性状解析後、酵素免疫測定法と Western blot 法により TTP 患者の ADAMTS13 抗原解析を行った (論文投稿中)。現在、さらに肝臓での産生部位を同定中である。班員の和田英夫は後天性 TTP の中で、ADAMTS13 活性著減、かつ同インヒビター陽性例では血漿交換療法が卓効する事を自験例で示しその理論を構築した (Transfusion 2002)。この論文は臨床的にも高い評価を得ている。さらに和田は TMA の頻度や治療の標準化を目指し

て、全国の医療施設に対する大規模アンケート調査を行い、データを集積中である。

本 TMA 研究グループでは、今後の 3 年間に上記解析を続行すると共に、ADAMTS13 以外の TMA 病因として注目されつつある補体調節因子 (factor H、CD46) や血管内皮細胞膜結合糖蛋白質 (CD36, CD39) 等を含めた多角的な解析を行い TMA の系統的診断法の確立を目指す。

特発性血栓症研究グループ 総括報告

宮田敏行 国立

特発性血栓症サブグループの研究

以前に、国立循環器病センターが行った日本人の地域一般住民を対象とした活性測定の結果から推察すると、頻度は、プラスミノゲン欠乏症 4.29%（このうちプラスミノゲン異常症、3.87%）、アンチトロンビン欠乏症 0.15%、プロテインC欠乏症 0.13%、プロテインS欠乏症 1.12%である。これらの欠乏症のうち、アンチトロンビン、プロテインC、プロテインSの欠乏症は静脈血栓症の危険因子であることが判明している。これらの推定頻度からすると、欠乏症のキャリアーは全国で100万人を超えることが予測される。本研究は、血栓症の予防や予知に資するため、多施設共同研究として静脈血栓症患者試料を収集するとともに、患者データベースを作成し、静脈血栓症の発症原因を明らかにすることを目的とする。静脈血栓症の遺伝的背景を検討するため、候補遺伝子アプローチおよびゲノム網羅的アプローチをとる。

特発性血栓症サブグループ6施設では、静脈血栓症の遺伝子解析のための研究計画の承認を倫理委員会で行ったあと、161例の試料の収集を行った。また、「特発性静脈血栓症疾患遺伝子プロジェクト診療情報共通記録用紙」を作成し、臨床情報を収集した。161例の試料を対象に次の5遺伝子多型のタイピングを行った。ADAMTS13 P475S 変異、プラスミノゲン A601T 変異 (plasminogen Tochigi mutation)、プロテイン S E155K 変異 (protein S Tokushima mutation)、XII 因子 C46T 多型、プラスミノゲン活性化因子インヒビター4G/5G 多型。正常対照群として、地域一般住民の試料約1,800人もしくは約3,600人を用いた。タイピング法として、TaqMan法を用いた。解析の結果、プロテイン S E155K 変異が有意に静脈血栓症患者群に高いことが明らかとなった。

TMA 患者における血漿 ADAMTS13 抗原解析

奈良県立医科大学 藤村 吉博、○松本 雅則

【緒言】TTP や HUS などの TMA 患者での ADAMTS13 活性やインヒビター測定については多くの報告があるが、これら患者における ADAMTS13 抗原解析については全く報告がない。我々は、recombinant ADAMTS13 を用いて同モノクローナル抗体(mAb)を3種類作成した。うち、2種類(A10, C7)は奈良医大で、1種類(WH2-11-1)は化血研で作成されたものである。これらの抗体の性状を検討し、Western blot 法(WB)により ADAMTS13 抗原を解析した。

【方法】対象は、健常人 60 人、Upshaw-Schulman 症候群(USS)患者 19 家系 24 症例およびその家族 49 人、特発性 TTP 96 症例、薬剤性 TTP 11 症例、O157:H7 による HUS 8 症例。非還元条件下 WB では A10 を、還元条件下 WB では WH2-11-1 を用いた。

【結果】ADAMTS13 mAb の認識部位は、A10: ディスインテグリンドメイン、WH2-11-1: TSP-1 の 4 番目、C7: TSP-1 の 7/8 番目とすべて異なっていた。いずれの抗体も非還元 WB で血漿中の抗原と反応し、うち WH2-11-1 のみが還元 WB でも抗原と反応した。A10 は IgG 終濃度 50 ug/ml で完全に酵素活性を阻害した。C7 は 100 ug/ml でも部分阻害しか示さず、WH2-11-1 は阻害活性を認めなかった。非還元および還元 WB では、先天性、後天性 TTP ともに ADAMTS13 抗原量の低下と分解亢進像が確認された。一方、O157:H7 陽性 HUS では、このような分解亢進像は認められなかった。

【まとめ】TTP 患者では、血漿 ADAMTS13 の分解亢進によって同酵素活性が低下していることが予想され、今後この分解亢進がどのような機序か検討する予定である。

ADAMTS13 の消光性蛍光基質の開発と血栓症の解析への応用

国立循環器病センター研究所 宮田敏行、○小亀浩市

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) は、先天性もしくは後天性の ADAMTS13 欠乏症により起こる。ADAMTS13 は、フォンビルブランド因子 (VWF) 切断酵素活性を示す血漿プロテアーゼであり、超巨大 VWF マルチマーを適度に切断することにより、過度の血小板凝集を抑制している。本酵素の活性測定法は数種類報告されているものの、時間がかかり精度にも問題があった。そこで私達は、VWF の A2 ドメインのアミノ酸配列をもとに基質領域の絞り込みを試み、73 残基が最小であることを見出し、これを VWF73 と命名した (Kokame et al, Blood, 2004)。本法は 5 時間で測定を終了できるものの、ウエスタンプロット法を使用するために操作がやや煩雑で、更なる改良が待たれていた。そこで今回、VWF73 に蛍光共鳴エネルギー転移 (FRET 原理) に基づいた蛍光基と消光基を導入することにより、ADAMTS13 の新しい基質 FRET-S-VWF73 の合成に成功した。本基質は、正常血漿の用量依存性および反応時間依存性の蛍光強度の増大を示し、96 穴プレートを用いて 1 時間以内での定量が可能となった。反応条件を検討した結果、5mM Bis-Tris, 25mM CaCl₂, 0.005% Tween 20, pH 6.0 が最も適した緩衝液であった。VWF マルチマーの減少を観察する SDS-アガロース電気泳動法 (Furlan 法) と本法は R²=0.75 を示し、良い相関関係を示した。TTP 患者血漿では蛍光の増大を示さず、HUS・DIC・ITP の患者血漿では蛍光の増大が見られた。本法を用いて、一般住民 (男性 167 名、女性 214 名) の活性を測定したところ、活性は 30%~150%以上の広い分布を示し、男性の平均活性値は女性より有意に低く、男女ともに加齢による活性の減少を示した。FRET-S-VWF73 は、日本・米国・ヨーロッパで販売が開始され、ADAMTS13 活性の測定に広く使用されると期待される。

ADAMTS13 と血栓症

慶應義塾大学医学部内科 村田 満

Von Willebrand factor切断酵素 (VWF-CP : ADAMTS-13) の著明な活性低下はHUS/TTPの発症に関与することが知られている。一方、本酵素の軽度の低下が血栓症の発症に及ぼす影響については必ずしも明確ではない。軽度の低下は各種後天的要因や疾患のみならず、先天的な要因、特にADAMTS13遺伝子多型によっても起こりうる。VWFと血栓性疾患の関連に関しては、血中VWFの上昇は心筋梗塞の危険因子あるいは予後不良因子であり、動物実験でVWFに対するモノクローナル抗体が動脈血栓の発症を抑えたとの報告もあるが、VWF活性を生理的に制御する筈のADAMTS13と、体内でのVWF活性や血小板機能との関連はこれまで十分に検討されていなかった。これまでの国立循環器病センターや我々の研究で、頻度の高い一塩基置換が日本人で数種類同定されており、これらの多型が血栓性疾患に及ぼすインパクトを見極める事は日本人における血栓症の原因を探る上で甚だ重要である。

ここでは、(1) ADAMTS13遺伝子多型 vs ADAMTS13活性、(2) ADAMTS13活性 vs 血中VWF (抗原量、活性)、(3) ADAMTS13遺伝子多型 vs 血中VWF (抗原量、活性)、(4) 血中VWF vs ずり依存性血小板機能、(5) ADAMTS13遺伝子多型 vs ずり依存性血小板機能、など、in vivoにおける関連について健常人検体を用いて検討した。さらにADAMTS13の産生組織に関して、特異抗体による免疫組織学的方法等を用いて正常細胞や培養細胞について検討した。これらの成績について報告する。

TTP 二次アンケート調査の解析途中経過
三重大臨床検査医学 ○和田英夫、森 美貴

血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）ならびに/溶血性尿毒症症候群（HUS）に対する 2 次調査の解析結果を報告する。

回収された 182 例の内訳は、女性 103 例、男性 79 例であり、原因ならびに基礎疾患は、家族性 17 例、薬剤性 6 例、妊娠 2 例、自己免疫性疾患 16 例、悪性腫瘍 9 例、移植症例 9 例、病原性大腸菌性 60 例、原発性 60 例であった。死亡率は全体で 19.8%であり、それぞれ家族性 5.9%、薬剤性 16.7%、妊娠 0%、自己免疫性疾患 31.3%、悪性腫瘍 85.7%、移植症例 77.8%、病原性大腸菌性 1.7%、原発性 23.1%で、悪性腫瘍や移植による TTP/HUS が最も悪く、典型的 TTP と考えられる自己免疫性ならびに原発性の死亡率は 23-31%であった。

ADAMTS13 活性は 70 例で測定されており、10%以下が 37 例(52.9%)、10-50%が 19 例(27.1%)、50%以上が 14 例(20%)であった。家族性では 6 例で ADAMTS13 活性は著減し、3 例が中等度低下し、2 例が正常値であった。ADAMTS13 の著明減少は、薬剤性、妊娠、悪性腫瘍、移植例では認められず、自己免疫性では 50%、原発性では 61%に認められた。1 例のみ測定された病原性大腸菌性では、ADAMTS13 活性が著明減少していた。

先天性ならびに後天性とも、ADAMTS13 の低下例と非低下例が見られたが、自己免疫性ならびに原発性 TTP/HUS の約 50%以上が ADAMTS13 の著減により発症したことが示唆された。また、TTP/HUS 例での ADAMTS 測定はいまだ 50%以下であり、今後さらに ADAMTS13 測定の普及が必要と考えられた。

また、網血小板（RP）は骨髄での血小板産生を反映し、特発性血小板現象性紫斑病（約 80 例）での検討では、感度 80%、特異度 90%、NPV85%であり、小数例での検討であるが TTP でも有意に増加した。

日本の現状に即した新しい発想の肺塞栓症予防戦略—大阪大学病院の試み—
大阪大学病態制御外科、大阪大学附属病院心臓血管外科 川崎富夫

日本では血栓症の頻度や発生機序が欧米と異なることが明らかになり、欧米の予防ガイドラインをそのまま日本に当てはめることはできないことが分かってきた。2004年に肺塞栓症研究会と日本循環器学会から発表されたガイドラインはいずれも日本のデータが無く限られた内容となっている。そのため、大学病院を中心にEBMに基づいた実用的な日本のガイドライン作成が急務となっている。大阪大学病院では、ガイドラインが日本の現状に即していること、普遍性を有していること、実効性を有していることを必要条件と判断し、内容の改善方法を含めた病院の安全管理システムとして構築した。内容は、ハイリスク患者の選定、予防法の選択、診断と治療、看護介入マニュアル、院内体制、ガイドラインの改訂方法より構成されている。またエビデンスとして、2002年7月から2003年6月まで1年間の大阪大学婦人科悪性腫瘍手術患者の下肢周囲径測定データ、1スライス単純CT像の応用結果、止血機能と分子マーカーから見たカプロシン皮下注射の安全性についての結果を使用した。2003年12月から2004年6月までの大阪大学における運用結果では、深部静脈血栓症/肺塞栓症患者は36名であった。そのうち、入院時点（手術前、長期臥床前）の超音波検査で発見された患者数は11例のうち6例は既往歴が明らかであったが、他の5例は既往歴が不明であった。ガイドラインによるスクリーニングが行われなかった場合には、これら5例の診断が遅れて院内発症症例として扱われる可能性や、より重篤な血栓症を発症する可能性が高いと考えられる。従って、詳細な既往歴の聴取や触診や視診等の基本的診察が特に重要であると考えられた。このように大阪大学では、得られたデータに基づき様々な情報を現場に戻すとともに、システムとしてのガイドラインの完成をめざしている。

敗血症 DIC の病態と線溶系因子

自治医科大学分子病態研究部 坂田洋一 ○窓岩清治

重症感染症に伴う DIC は、微小血栓に起因する虚血障害により多臓器不全を合併することが多い。重症感染症に対する治療が肝要であるものの、そのコントロールは容易ではない。このような場合、併発する DIC に対して可及的に抗凝固療法を施されなければ、致命的な病態へと進展することが多い。旧厚生省 DIC 診断で用いられているグローバルマーカー（血小板数、プロトロンビン時間比、血漿フィブリノゲン値および血清 FDP）のみを用いた診断基準は、感染症に併発する DIC を至適な時期に診断し抗凝固療法を開始するための十分な基準とは必ずしもいえない。本研究では、感染症症例で Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) 基準を満たした病態、いわゆる敗血症を基礎疾患とする敗血症 DIC に対して、その早期診断および病態を把握する上で有用な新規線溶系分子マーカーを検討する。旧厚生省の診断基準で DIC ないしは DIC 疑いと診断された症例をもとに、凝固線溶系検査項目、補助的検査項目（トロンビン-アンチトロンビン III 複合体：TAT, プラスミン- α 2 プラスミンインヒビター複合体：PIC, D-ダイマー)、および PAI-1 について非敗血症 DIC と敗血症 DIC の 2 群間での比較検討を行った。その結果、次のようなことが明らかとなった。(1) グラム陰性菌による敗血症 DIC は、グラム陽性菌と比較して臓器障害を合併する頻度が有意に高い。(2) 敗血症 DIC では、非敗血症 DIC と比較して、血漿フィブリノゲン値が高く、血清 FDP の増加が抑制されている状態にある。(3) 線溶系分子マーカーである PIC、D ダイマー変動が少ない。(4) これら線溶反応の抑制は、血漿 PAI-1 の増加に起因する。血漿 PAI-1 は、敗血症 DIC における臓器障害の程度および予後と良く相関する。以上より、敗血症 DIC を早期診断するためには、血漿 PAI-1 等の新規線溶系分子マーカーを加えた診断が有用である可能性が示された。現在これらの臨床解析をもとに、種々の線溶系因子ノックアウトマウスを利用して、敗血症に伴う多臓器不全の病態に果たす線溶系因子の役割を解析中である。

先天性アンチトロンビン欠損症の遺伝的背景

京都府立医科大学輸血部 辻 肇

アンチトロンビン (AT) は、トロンビンをはじめとする血液凝固セリンプロテアーゼに対する生理的インヒビターとして重要な役割を果たしており、その欠損は主として静脈系血栓症の原因となり、特発性血栓症の一つとして位置づけられている。

昨年度の調査研究において、独立した先天性AT欠損家系(32家系)の欠損患者64名を対象に、血栓症発症の臨床的背景を中心に検討を行い報告した。欠損者における血栓症の既往は、男性に多く、その平均初発年齢は35.4才であった。血栓症の内訳では、静脈血栓症、特に下肢深部静脈血栓が最も多く、他の静脈系血栓の重複を認めた。また、その76%は誘因なく発症した。

先天性AT欠損症患者の遺伝子解析によって、多くの遺伝子異常が国内外において報告され、欠損症における血栓症の発症機序を解明するうえで、また診断を確定するうえで遺伝子解析は必須のものと考えられている。欧米人を中心として、海外で同定された遺伝的背景は必ずしも日本人集団に適用できるものではないと考えられ、血栓症の発症に関与すると考えられる血栓性素因の遺伝子異常を日本人で明らかにし、血栓発症との関連を明らかにすることを目的として検討した。また、ヒトの肝細胞(HuH-7)を用いた基礎的研究において、RNA/DNAオリゴヌクレオチド(RDO)法により変異遺伝子の修正が可能であり、本欠損症における遺伝子治療の可能性も報告した。今回、現在まで進められた先天性AT欠損症のType I及びType IIに関する遺伝子解析の成績をまとめ報告する。

血栓性素因プロテイン S 欠損症の遺伝子解析

名古屋大学医学部保健学科 小嶋哲人

【緒言】 プロテイン S (PS) はビタミン K 依存性凝固制御因子の一つで活性化プロテイン C が活性化第 V 因子および第 VIII 因子を不活化する際に補酵素として機能しており、PS 欠損症は血栓症を起こすことが知られている。我々は、先天性 PS 欠損症 8 症例について遺伝子解析を行い、計 8 種類の PS α 遺伝子の変異を同定した。

【方法】 症例はいずれも深部静脈血栓症または肺梗塞を発症、精査の結果 PS 欠損症と診断された。インフォームドコンセントを得た後、患者あるいはその家族から末梢白血球より DNA を抽出し、各 PS α 遺伝子の全エクソンをイントロンとの境界領域を含め PCR 増幅、ダイレクトシーケンシング法にて塩基配列を解析した。変異の家族内伝播様式解析は PCR-RFLP にて試行した。なお、本研究は名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得て施行。

【結果】 解析の結果、PS α 遺伝子の新規ミスセンス変異を 2 種類 G508A (C80Y)、G1210A (R314H)、5 塩基欠失 887CTCTG-del (C206X) とナンセンス変異 G891T (E208X) を各 1 例ずつ同定。また、既報の G405C (V46L)、Ex10+5A→G、C2147T (P626L) を各 1 例、A732G (K155E) を 2 例に検出した。なお、症例 2 の発端者は A732G と 887CTCTG-del の複合ヘテロ接合体であった。

【考察】 先天性 PS 欠損症解析の結果、計 8 種の PS α 遺伝子変異を同定した。家族内解析の結果、症例 1 家系で G405C をもつ発端者、父親、長兄はいずれも PS 活性が低く、この変異は PS 欠損症の病因と考えられた。A7321G と 877CTCTG-del の複合ヘテロ接合体であった症例 2 家系では、PS 活性低下は後者と一致し、前者と一致しなかった。一方、症例 5 家系では A732G をもつ発端者と母親、娘はいずれも PS 活性が低値で、これは A732G の伝播と一致した。A732G に伴う PS 活性値は家系により異なり、症例 2 家系には PS 活性変動に関与する A732G 以外の要因の存在が示唆され、今後さらに解析が必要である。

ITP の診断基準改定をめざして

慶應義塾大学医学部先端医科学研究所 桑名正隆

我が国では 1990 年に厚生省研究班により作成された ITP の診断基準が広く用いられている。この基準では、出血症状と血小板減少症があり、骨髄検査で巨核球の減少や他系統に異型性がなく、血小板減少をきたしうる他の疾患が除外されれば ITP と診断してよい。しかし、血小板減少をきたす全ての疾患を除外することは現実的に不可能で、他疾患の除外のために数多くの検査を行うことは医療経済上も好ましくない。そこで、近年 ITP に特異性の高いとされる各種検査法が報告されたことから、それらを導入することで ITP を積極的に診断する基準の作成を試みた。最初のステップとして、まず血小板減少症のために初診した成人 61 例を対象とした単施設での前向き試験を行った。その結果、6 ヶ月以降の ITP の診断と関連する初診時の検査所見として白血球減少なし、貧血なし、抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞頻度の増加、血小板関連抗 GPIIb/IIIa 抗体陽性、網状血小板比率の増加、血漿トロンボポエチン正常または軽度増加の 6 項目が抽出された。これら 6 項目のうち 3 項目以上を満たす場合を ITP とすると、感度は 96%、特異度 94% と良好な結果が得られた。さらに、この基準案の検定を目的として、異なる血小板減少症患者群を対象とした多施設前向き試験を行った。1 年間で小児を含む 113 例がエントリーされ、上記基準にあてはめると感度 93%、特異度 75% であった。特異度の低下は、主に免疫性血小板減少症を合併したと考えられる再生不良性貧血、骨髄異形成症候群症例に起因していた。さらに多彩な臨床背景を持った多数例での検討が必要であるが、現在の基準案を基礎とすることで新しい ITP の診断基準の作成が可能と考えられた。また、診断基準に含まれる検査法は臨床の場で必要に応じて正確に行える必要があり、そのための臨床検査システムの確立、保険収載も重要な課題である。

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

大阪大学医学部附属病院輸血部 倉田義之

【目的】血小板数は 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血球自動計数装置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できない問題点がある。今回、われわれは破碎赤血球が血小板偽性高値の原因か否かについて検討した。

【対象および方法】塗沫標本上で破碎赤血球を認める血小板数 6 万以下の 40 例（ITP 13 例、その他の血液疾患 18 例、その他の疾患 9 例）を対象とした。血小板数の測定は NE-8000、H-2 を用いての自動血球計数装置による方法、検鏡による目視法、抗 GPIb 抗体と標準粒子を用いフローサイトメトリーにて測定する FCM 法によった。破碎赤血球の測定は塗沫標本で検鏡する視算法と PE 標識抗 Glycophorin A 抗体を用い FCM により測定する GPA 法によった。

【結果】 1) 破碎赤血球測定法間の相関：視算法と GPA 法間で破碎赤血球% ($R=0.64$ 、 $P<0.001$)、破碎赤血球絶対数 ($R=0.57$ 、 $P<0.001$) とも良好な相関が得られた。 2) 血小板数偽性高値分と破碎赤血球数間の相関：NE-8000、H-2 にて測定した血小板数の偽性高値分と視算法にて測定した破碎赤血球絶対数間に有意の相関を認めた（NE-8000、H-2 ともに $R=0.60$ 、 $P<0.001$ ）。また GPA 法にて測定した破碎赤血球絶対数間とも有意の相関あるいは傾向を認めた（NE-8000 ; $R=0.45$ 、 $P<0.005$ 、H-2 ; $R=0.30$ 、 $P<0.06$ ）。

【結語】自動血球計数装置にて血小板数測定時は破碎赤血球が血小板として算定され、血小板数は偽性高値となる。

検査センターにおける ITP 診断検査の準備状況について

エスアールエル 降旗謙一

我々は特発性血小板減少性紫斑病（以下 ITP）の診断に関して、除外診断によらない新たな診断基準の作成のために、すでに本研究班で検討された以下の検査項目に関して、一般の検査センターでの実施の可能性に関して検討中である。

- 1 血漿トロンボポエチン濃度の測定
- 2 網状血小板比率（IPF）の測定
- 3 抗血小板 GPIIb-IIIa 抗体産生リンパ球の頻度（ELISPOT）
- 4 抗血小板 GPIIb-IIIa 抗体の直接検出

まず1の血漿トロンボポエチン濃度の測定に関しては、すでに当センターで測定系が完成しており、一般の検体を受け入れている。

2の網状血小板比率の測定に関しては、シスメックス社と共同で基礎的な検討を行った。XE-2100 に新たに開発されたプログラムをインストールし、RET の測定データを解析することにより Immature Platelet Fraction を算出することが可能である。本件に関しては、参加施設との実際的な調整が終わり次第、検査として実施可能である。

3の ELISPOT アッセイに関しては MBL 社が検査キットを開発し、慶応大学、MBL および当社で検査の実施に向けて最後の調整段階に入っている。近々参加施設の協力により、実際の患者検体を用いて検査としての信頼性の検証を行う予定である。

4に関しては、2および3に関する検討が終了しだい、アッセイ系の開発に取り掛かる予定である。