

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14～16年度 総合研究報告書

血液凝固異常症に関する調査研究

主任研究者 池田 康夫  
慶應義塾大学医学部内科学 教授

平成17(2005)年 3月

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

(研究課題番号：H14-難治-002)

平成 14～16 年度  
総合研究報告書

平成 17 年 3 月

..... 研究組織 .....

(主任研究者)

池田康夫 慶應義塾大学医学部内科

(分担研究者)

藤村欣吾	広島大学大学院病態薬物治療学
倉田義之	大阪大学医学部附属病院輸血部
桑名正隆	慶應義塾大学医学部先端医科学研究所
宮田敏行	国立循環器病センター研究所
村田満	慶應義塾大学医学部内科
辻肇	京都府立医科大学附属病院輸血部
坂田洋一	自治医科大学分子病態研究部
藤村吉博	奈良県立医科大学輸血部
小嶋哲人	名古屋大学医学部保健学科
川崎富夫	大阪大学大学院医学研究科外科
和田英夫	三重大学医学部臨床検査医学

(研究協力者)

藤沢康司	東京慈恵会医科大学小児科学
野村昌作	市立岸和田市民病院血液内科
猪子英俊	東海大学医学部分子生物科学系遺伝情報部門
降旗謙一	(株)エスアールエル八王子ラボ

(特別協力者)

難治性疾患克服研究事業疫学班：杉田稔・伊津野孝（東邦大学医学部衛生学）

目 次  
血液凝固異常症に関する調査研究

I.	総括研究報告書	.....	池田康夫
II.	班会議プログラム		
III.	グループ研究報告書・分担研究報告		
[1].	免疫性血小板減少性紫斑病(ITP)サブグループ報告書	.....	藤村欣吾
	班 員：藤村欣吾・倉田義之・桑名正隆		
	協力者：藤沢康司・野村昌作・降旗謙一		
1	ITP の治療ガイドライン作成へ向けて	.....	藤村欣吾
2	ITP 診断における各種検査法の有用性を検討する多施設前向き調査-最終報告	....	桑名正隆
3	特発性血小板減少性紫斑病の病態、診断、治療法に関する研究	.....	倉田義之
[2].	特発性血栓症サブグループ報告書	....	宮田敏行
	班 員：宮田敏行・辻肇・坂田洋一・小嶋哲人・村田満・川崎富夫		
	協力者：猪子英俊		
4	血栓性血小板減少性紫斑病の責任遺伝子 ADAMTS13 に関する研究	.....	宮田敏行
5	先天性アンチトロンビン欠損症（血栓症の遺伝的背景）	.....	辻肇
6	線溶因子およびその補填機構と血栓症	.....	坂田洋一
7	特発性血栓症の分子機構	.....	小嶋哲人
8	日本の現状と肺血栓塞栓症の予防戦略	.....	川崎富夫
[3].	血栓性微少血管障害症（TMA）サブグループ報告書	.....	藤村吉博
	班 員：藤村吉博・宮田敏行・村田満・和田英夫		
	協力者：杉野稔・伊津野孝（疫学班）		
9	血栓性血小板減少性紫斑病の分子病態解析	.....	藤村吉博
10	血栓症における ADAMTS13 の関与	.....	村田満
11	TTP, DIC, ITP, 血栓性素因診断に関する臨床検査的検討	.....	和田英夫
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表		
V.	研究成果の刊行物（別冊）		

## 総合研究報告書

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14年～16年度 総合研究報告書

「血液凝固異常症に関する調査研究」

主任研究者 池田 康夫 慶應義塾大学医学部

（分担研究者）

藤村欣吾 広島大学大学院病態薬物治療学 教授  
倉田義之 大阪大学医学部附属病院輸血部 講師  
桑名正隆 慶應義塾大学医学部先端医科学研究所 講師  
宮田敏行 国立循環器病センター研究所 部長  
村田満 慶應義塾大学医学部内科 講師  
辻肇 京都府立医科大学附属病院輸血部 助教授  
坂田洋一 自治医科大学分子病態研究部 教授  
藤村吉博 奈良県立医科大学輸血部 教授  
小嶋哲人 名古屋大学医学部保健学科 教授  
川崎富夫 大阪大学大学院医学研究科外科 助手  
和田英夫 三重大学医学部臨床検査医学 助教授

（研究協力者）

藤沢康司 東京慈恵会医科大学小児科学 助教授  
野村昌作 市立岸和田市民病院血液内科 部長  
猪子英俊 東海大学医学部分子生物科学系遺伝情報部門 教授  
降旗謙一 (株)エスアールエル八王子ラボ 理事

（特別協力者）

難治性疾患克服研究事業疫学班：杉田稔・伊津野孝（東邦大学医学部衛生学）

---- 研究要旨 ----

本調査研究班は「血液凝固異常症」に関する調査研究を目的に平成14年から開始された。特定疾患治療研究事業の対象とされている特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の他、血栓性微少血管障害症(TMA)、特発性血栓症の3疾患について、その病態の解明と共に我が国の指針となるべき診断・治療ガイドラインの作成を目標として、それぞれの疾患を担当するサブグループを作り、調査研究を展開したが、共通して議論する点も少なからず存在する為、互いのグループが活発に interact し得るように班を組織し、班会議もそのように開催した。研究

期間中に明らかにすべき課題として確認された事は、分子病態解析に基づいた診断基準・治療指針の確立であり、疫学的解析により我が国における発症頻度・予後の把握を行い、医療経済の視点に立ってこれら疾患のより効果的な診療体系を構築する事である。ITPに関してはその分子病態解析に関して、特に抗血小板自己抗体の産生機序について世界をリードする研究成果が得られた。自己抗体の産生には、血小板膜糖蛋白（主として GPIIb/IIIa 複合体）に対する自己反応性 T、B リンパ球の協調作用が必須であり、ITP では GPIIb/IIIa 抗体を産生する B リンパ球が末梢血・脾臓において著しく増加している事が明らかになった。(J. Immunol '02, Blood '03, Am J Med '03)

これらの病態研究の成果に基づき、除外診断に頼らない新しい診断基準（案）が作成された。末梢血検査に加えて、GPIIb/IIIa 抗体を産生する B リンパ球数、網状血小板比率、血漿トロンボポエチン濃度、血小板結合 GPIIb/IIIa 抗体を取り入れる事によって、診断特異性 94%、感度 96%と満足する結果が得られた。現在それぞれの検査をルチン検査として使用出来るよう作業が進められている。一方、治療ガイドラインについては、H. Pylori (HP)菌感染率、除菌による血小板数増加効果に関する 430 例に及ぶ ITP 全国調査の結果を受け、新しい治療指針を提案した。HP に感染している ITP 症例においては、除菌療法により 55%に血小板数の増加がみられ、その効果は長期に持続することが調査により明らかにされた。一方、HP 感染の無い ITP 症例においては除菌療法レジメンは血小板数に全く影響を与えなかったことより、HP 感染の有無の検索と除菌療法の実施を治療ガイドラインに明確に位置づけた。

TMA 研究グループでは先天性 ADAMTS13 欠損を示す Upshaw-Schulman 症候群 26 例を見出し、そのうちの 9 例について ADAMTS13 遺伝子解析を行い、責任遺伝子異常を明らかにした (Blood '04)。この遺伝子には P475S 多型があり、日本人の 10%にそのヘテロ接合体が存在する (PNAS'02)。後天性 TMA については奈良県立医科大学において海外でも類を見ない多数例の ADAMTS13 活性、同インヒビター活性を測定しており、依頼された 381 症例中 133 例 (34.1%) に ADAMTS13 の著減がみられ、TTP と診断されたが、それ以外の ADAMTS13 非著減症例では TTP と HUS の鑑別は必ずしも容易でない事が明らかとなった (SemiHematol '04)。治療との関係では ADAMTS13 活性が著減している症例は血漿交換療法によく反応するが、活性が軽度低下例ではその反応が不良であるとの重要な臨床報告がなされた。(Transfusion '02)。診断に重要な意義を持つ

ADAMTS13 活性／抗原の新しい測定法が開発され(Blood '04)、その TMA の鑑別診断における有用性が現在検討されている。

特発性血栓症研究グループでは、血栓関連因子の日本人での頻度が検討され、欧米との差異が明らかになった (J.Thromb.Haemost. '03, '04)。深部静脈血栓症患者における遺伝子背景、環境要因を検討する為の多施設共同研究が行われた。遺伝子解析研究については各々の施設において倫理委員会での承認を取り、臨床情報のデータベースを作成した。161 例を収集し、遺伝子タイピングを開始した。多型解析の対象となる 5 つの候補遺伝子としては、Plasminogen Tochigi, Protein S Tokushima, ADAMTS13 P475S 変異、PAI-1 4G/5G, Factor XII C46T であり、地域一般住民 3,650 名のタイピングで得られた遺伝子型頻度と比較した。その結果、Protein S Lyn 196 Glu 変異 (Protein S Tokushima) が静脈血栓症患者群で有意に高い事が判明した。(P< 0.001)。この変異の地域一般住民でのアレル頻度は、0.009 であり、約 55 人に 1 人がヘテロ接合体であった。このプロテイン S 変異では、血中の抗原量は正常であるが、活性が低下する異常分子である。この事実は血栓症患者ではプロテイン S 活性の測定が重要であることを示唆している。

## 班会議プログラム



平成14年度厚生労働科学研究費補助金 特定疾患対策研究事業

「血液凝固異常症に関する調査研究班」第2回 班会議

## ＜プログラム＞

日 時：平成15年1月25日（土）午後1時より5時30分 終了予定

場 所：慶應義塾大学医学部 新棟11F 中会議室

13:00～13:10 挨拶 主任研究者 池田康夫（慶應義塾大学医学部内科）

13:10～15:10 「研究グループからの提案と進捗状況」

[1]. 特発性血小板減少性紫斑病グループ（13:10～14:10）

班 員：藤村欣吾（広島大学大学院病態薬物治療学）・倉田義之（大阪大学医学部附属病院輸血部）

桑名正隆（慶應義塾大学医学部先端医学研究所）

協力者：長澤俊郎（筑波大臨床医学系血液内科）・藤沢康司（東京慈恵会医科大学小児科学）

野村昌作（関西医科大学附属大香里病院内科）

- ① ヘリコバクターピロリ感染と血小板減少性に関するアンケート調査報告 ..... 藤村欣吾
- ② ITP 診断における各種検査法の有用性の検討（前向き多施設調査） ..... 桑名正隆

[2]. 特発性血栓症グループ（14:10～15:10）

班 員：宮田敏行（国立循環器病センター研究所）・村田満（慶應義塾大学医学部内科）

辻肇（京都府立医科大学附属病院輸血部）・坂田洋一（自治医科大学分子病態研究部）

小嶋哲人（名古屋大学医学部保険学科）

協力者：猪子英俊（東海大学医学部分子生物学系遺伝情報部門）

川崎富夫（大阪大学大学院医学研究科）

- ① マイクロサテライトを用いたゲノムワイドな相関解析による  
生活習慣病などの疾患感受性遺伝子同定の戦略 ..... 猪子英俊
- ② 特発性血栓症サブグループの研究方針と準備状況 ..... 宮田敏行
- ③ 特発性血栓症サブグループの患者臨床情報データベースのプラットフォーム化 ..... 川崎富夫

[3]. 血栓性血小板減少性紫斑病グループ（15:10～15:30）

班 員：藤村吉博（奈良県立医科大学附属病院輸血部）・宮田敏行・村田満

和田英夫（三重大学医学部臨床検査医学）

- ① TTP/HUS の確定診断法と治療法のガイドライン作成 ..... 藤村吉博

15:30～15:45 休憩

15:45～17:30 「各個研究報告」 — 発表10分・討論2分 —

- ① 救急領域のDIC診断基準 ..... 和田英夫
- ② 血小板減少症鑑別診断における血中トロンボポエチン、網状血小板測定の有用性の検討 ..... 倉田義之
- ③ 後天性 TTP における WB 法による VWF-CP インヒビターの検出 ..... 藤村吉博・松本雅則
- ④ 2家系の先天性血栓性血小板減少性紫斑病の遺伝子解析、責任変異と多型 ..... 宮田敏行・坂野史明
- ⑤ 日本人に多い"易血栓性"遺伝子多型 ..... 村田満
- ⑥ 血管内皮細胞における血栓形成調節に及ぼすADPの影響 ..... 辻肇
- ⑦ 拘束ストレス負荷マウスにおける血栓傾向とPAI-1の発現—加齢の影響— ..... 小嶋哲人
- ⑧ 線溶系からみた血栓傾向 ..... 坂田洋一・窓岩清治

以上

平成15年度厚生労働科学研究費補助金 特定疾患対策研究事業

「血液凝固異常症に関する調査研究班」第1回 班会議

## ＜プログラム＞

日時：平成15年7月31日（木）午後1時より5時 終了予定

場所：慶應義塾大学医学部 北里記念図書館2F 第一会議室

13:00～13:10 挨拶 主任研究者 池田康夫（慶應義塾大学医学部内科）

13:10～ 「研究グループからの提案と進捗状況」

### [1]. 特発性血小板減少性紫斑病グループ (13:10～14:10)

班員：藤村欣吾(広島大学大学院病態薬物治療学)・倉田義之(大阪大学医学部附属病院輸血部)

桑名正隆(慶應義塾大学医学部先端医科学研究所)

協力者：藤沢康司(東京慈恵会医科大学小児科学)

野村昌作(関西医科大学附属大香里病院内科)

- ① ITPにおけるヘリコバクタ感染と除菌効果 第2次アンケート調査結果 ..... 藤村欣吾
- ② ITP診断における各種検査法の有用性を検討する多施設前向き調査(中間報告) ..... 桑名正隆
- ③ 血小板著減検体におけるフローサイトメトリー法による血小板数測定法の有用性について.. 倉田義之

### [2]. 特発性血栓症グループ (14:10～14:40)

班員：宮田敏行(国立循環器病センター研究所)・村田満(慶應義塾大学医学部内科)

辻肇(京都府立医科大学附属病院輸血部)・坂田洋一(自治医科大学分子病態研究部)

小嶋哲人(名古屋大学医学部保険学科)・川崎富夫(大阪大学大学院医学研究科)

協力者：猪子英俊(東海大学医学部分子生物科学系遺伝情報部門)

- ① 特発性血栓症サブグループの進捗状況 ..... 宮田敏行

### [3]. 血栓性血小板減少性紫斑病グループ (14:40～15:10)

班員：藤村吉博(奈良県立医科大学附属病院輸血部)・宮田敏行・村田満

和田英夫(三重大学医学部臨床検査医学)

- ① TTP/HUSのアンケート調査の集積状況 ..... 藤村吉博

15:15～ 「研究グループ 打ち合わせ」

16:15～ 「研究グループからの提案」(各グループ10分づつ)

16:45 　　まとめ 主任研究者 池田康夫

以上

特別協力者(特定疾患研究対策事業 疫学班)：杉田稔・伊津野孝(東邦大学医学部衛生学)

平成15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」第2回 班会議

## ＜プログラム＞

日時：平成16年1月16日（金）午後2時より6時10分 終了予定

場所：（財）国際医学情報センター会議室

14:00～14:10 挨拶 主任研究者 池田康夫（慶應義塾大学医学部内科）

14:10～14:20 挨拶 厚生労働省健康局疾病対策課 菊岡修一課長補佐

14:20～18:10 「研究グループからの提案と進捗状況」

[1]. 特発性血小板減少性紫斑病報告（14:20～15:15）.....司会 藤村欣吾

班員：藤村欣吾（広島大学大学院病態薬物治療学）・倉田義之（大阪大学医学部附属病院輸血部）  
桑名正隆（慶應義塾大学医学部先端医科学研究所）

協力者：藤沢康司（東京慈恵会医科大学小児科学）  
野村昌作（関西医科大学内科）

- ① ITPの治療研究：ヘリコバクター菌感染と除菌の有用性について..... 藤村欣吾 14:20-14:40
- ② ITPの診断基準改定をめざして ..... 桑名正隆 14:40-15:00
- ③ 慢性ITPにおける抗GPIIb-IIIa自己抗体のエピトープ解析 ..... 富山佳昭、小杉智、倉田義之 15:00-15:15

[2]. 血栓性血小板減少性紫斑病報告（15:15～16:35）.....司会 藤村吉博

班員：藤村吉博（奈良県立医科大学附属病院輸血部）・宮田敏行（国立循環器病センター研究所）  
村田満（慶應義塾大学医学部内科）

協力者：和田英夫（三重大学医学部臨床検査医学）

- ① TTP研究報告のまとめ ..... 藤村吉博 15:15-15:35
- ② ADAMTS13遺伝子の変異同定、後天性TTP患者におけるインヒビターのエピトープ解析、  
慢性肝疾患におけるADAMTS-13の動態 ..... 藤村吉博・松本雅則 15:35-15:50
- ③ TTP/HUSにおけるADAMTS13活性と予後の関係について..... 森美貴（和田英夫代理） 15:50-16:05
- ④ HUS症例より見出されたADAMTS13遺伝子変異 ..... 村田満 16:05-16:20
- ⑤ ADAMTS13の活性測定法 ..... 宮田敏行 16:20-16:35

16:35～16:50 休憩

[3]. 特発性血栓症報告（16:50～18:10）.....司会 宮田敏行

班員：宮田敏行・村田満・辻肇（京都府立医科大学附属病院輸血部）

坂田洋一（自治医科大学分子病態研究部）・小嶋哲人（名古屋大学医学部保健学科）

川崎高夫（大阪大学大学院医学研究科）

協力者：猪子英俊（東海大学医学部分子生物学系遺伝情報部門）

- ① プロトロンビン遺伝子の多型解析..... 宮田敏行 16:50-17:10
- ② マイクロサテライトを用いたゲノムワイドな相関解析による疾患関連遺伝子マッピング.. 猪子英俊 17:10-17:25
- ③ 先天性アンチトロンビン欠損症 -血栓症の遺伝的背景-..... 辻肇 17:25-17:40
- ④ in vivo ストレス負荷モデルにおけるTFの組織特異的発現と血栓形成..... 小嶋哲人・山本晃士 17:40-17:55
- ⑤ 白血球エラスターゼを介する線溶反応の検討 ..... 坂田洋一・窓岩清治 17:55-18:10

特別協力者 難治性疾患克服研究事業疫学班：杉田稔・伊津野孝（東邦大学医学部衛生学）

以上

平成16年度厚生労働科学研究費補助金 難治疾患克服研究事業  
血液凝固異常症に関する調査研究班  
第1回班会議

日時：平成16年7月28日（水）午後1時～5時終了予定  
場所：国際医学情報センター 会議室 信濃町煉瓦館3F

## プログラム

(サブグループ研究報告：20分 各個研究：10分)

**1：00～ 主任研究者 挨拶** 池田康夫

**1：10～ ITP 研究班** ... 司会 桑名正隆

サブグループリーダー：藤村欣吾 広島大学医学部  
班 員： 桑名正隆 慶應義塾大学医学部  
倉田義之 大阪大学医学部  
研究協力者： 藤沢康司 慈恵会医科大学  
降旗謙一 エスアールエル  
野村昌作 岸和田市民病院

ITP サブグループ研究報告： 藤村欣吾

「ITP 治療ガイドライン”案” と難治性 ITP 治療に向けた今後の取り組み」

班員報告：

桑名正隆「ITP 診断における各種検査法の有用性を検討する多施設前向き調査- 最終報告-」

降旗謙一「検査センターにおける ITP の診断のための検査体制について」

ITP 総合討論

## **2 : 0 0 ~ TTP 研究班** ... 司会 村田満

サブグループリーダー： 藤村吉博 奈良県立医科大学  
班 員： 宮田敏行 国立循環器病センター研究所  
村田 満 慶應義塾大学医学部  
和田英夫 三重大学医学部

### TTP サブグループ研究報告： 藤村吉博

「TTP 班の研究進捗状況の概要 (+ 血小板減少を合併する IVL の病態解明)」

#### 班員報告：

和田英夫 「TTP の二次アンケート調査報告」  
村田 満 「ADAMTS13 と血栓症のリスク」  
藤村吉博 (松本雅則) 「慢性肝疾患に合併する血小板減少の病態解明」  
宮田敏行 (小亀浩市) 「FRET 原理を用いた新しい ADAMTS13 測定法の開発」

### TTP 総合討論

## **3 : 1 5 ~ 休憩**

## **3 : 3 0 ~ 特発性血栓症研究班** ... 司会 坂田洋一

サブグループリーダー： 宮田敏行 国立循環器病センター研究所  
班 員： 小嶋哲人 名古屋大学医学部  
坂田洋一 自治医科大学  
辻 肇 京都府立医科大学  
村田 満 慶應義塾大学医学部  
川崎富夫 大阪大学医学部  
研究協力者：猪子英俊 東海大学医学部

### 特発性血栓症サブグループ研究報告： 宮田敏行 「特発性血栓症サブグループ研究の進捗」

#### 班員報告：

猪子英俊 「マイクロサテライトを用いた相関解析による疾患関連遺伝子の同定」  
辻 肇 「先天性 AT 欠損症における血栓症の発症要因」  
小嶋哲人 「血栓性素因プロテイン S 欠損症の遺伝子解析」  
坂田洋一 「プロテアーゼと出血傾向」  
宮田敏行、木村利奈 「VWF の第 2 8 エクソン内の 7 種のミスセンス変異の同定」

### 特発性血栓症 総合討論

## **5 : 0 0 ~ 終了 及び 事務連絡**

以上

**平成 16 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**

第 2 回班会議

日時：平成 17 年 1 月 15 日（土）午前 10 時～4 時 30 分終了予定

場所：慶應義塾大学医学部北里記念図書館 2 F 北里講堂

**プログラム**

**抄録集**

主任研究者 池田 康夫

平成16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**

第2回班会議

日時：平成17年1月15日（土）午前10時～4時30分終了予定

場所：慶應義塾大学医学部北里記念図書館2F 北里講堂

**プログラム**

（サブグループ研究報告：30分 各個研究：10分 討論含む）

**10：00～ 主任研究者 挨拶 池田康夫**

**10：10～ 厚生労働省（疾病対策課）挨拶**

**10：20～ ITP 研究班 ... 統括報告 藤村欣吾**

サブグループリーダー：藤村欣吾 広島大学医学部  
班 員：桑名正隆 慶應義塾大学医学部  
倉田義之 大阪大学医学部  
研究協力者：藤沢康司 慈恵会医科大学  
降旗謙一 エスアールエル  
野村昌作 岸和田市民病院  
特別協力者：杉野稔・伊津野孝 東邦大学医学部（疫学班）

**10：50～ TTP 研究班 ... 統括報告 藤村吉博**

サブグループリーダー：藤村吉博 奈良県立医科大学  
班 員：宮田敏行 国立循環器病センター研究所  
村田 満 慶應義塾大学医学部  
和田英夫 三重大学医学部  
特別協力者：杉野稔・伊津野孝 東邦大学医学部（疫学班）

**11：20～ 特発性血栓症研究班 ... 統括報告 宮田敏行**

サブグループリーダー：宮田敏行 国立循環器病センター研究所  
班 員：小嶋哲人 名古屋大学医学部  
坂田洋一 自治医科大学  
辻 肇 京都府立医科大学  
村田 満 慶應義塾大学医学部  
川崎富夫 大阪大学医学部  
研究協力者：猪子英俊 東海大学医学部  
特別協力者：杉野稔・伊津野孝 東邦大学医学部（疫学班）

**11：50～12：30 昼休み**

**12:30～13:30**

**TTP 班員報告：**

- 松本雅則（藤村吉博）「TMA 患者における血漿 ADAMTS13 抗原解析」  
小亀浩市（宮田敏行）「ADAMTS13 の消光性蛍光基質の開発と血栓症の解析への応用」  
村田 満 「ADAMTS13 と血栓症」  
和田英夫 「TTP の二次アンケート調査の解析途中経過」

**13:30～14:30**

**特発性血栓症班員報告：**

- 川崎富夫「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」  
窓岩清治（坂田洋一）「敗血症 DIC の病態と線溶系因子」  
辻 肇 「先天性アンチトロンビン欠損症の遺伝的背景」  
小嶋哲人「血栓性素因プロテインS欠損所の遺伝子解析」

**14:30～15:00 休 憩**

**15:00～16:00**

**ITP 班員報告：**

- 桑名正隆「ITP の診断基準改定をめざして」  
倉田義之「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  
—血小板測定への破碎赤血球の影響についての検討—」  
降旗謙一「検査センターにおける ITP 診断検査の準備状況について」

**終 了**

---

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金 難治疾患克服研究事業  
血液凝固異常症に関する調査研究班  
主任研究者：池田康夫  
事務局：慶應義塾大学医学部内科池田教授室 Tel: 03-3353-1211 内線 62421



## ITP 研究グループ 総括報告

広島大学大学院病態薬物治療学講座 血液・腫瘍科 藤村 欣吾

### 成人特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) に対する治療ガイドラインの提案

標準的 ITP 治療は 1982 年に厚生省特発性造血器障害治療研究班から ITP 治療指針として発表され今日まで定着し汎用されている。

本指針を用いたプロスペクティブな治療研究結果は完全寛解率は約 40%、無反応例は約 30% である。また副腎皮質ホルモン単独による完全寛解は 33% に認められたが、その後の施設間での寛解率は 10~30% と必ずしも良好ではない。また長期の副腎皮質ホルモン服薬による副作用対策が必要となり、医療情報の普及、意識の向上など従来指針が医師、患者に受け入れにくい場合も生じている。

さらに免疫学の進歩により発症機序からよりの確な ITP 診断法が提案され、新たな免疫抑制療法の有用性が示唆されている。

また本研究班におけるレトロスペクティブ研究において、ヘリコバクターピロリ菌 (HP 菌) 感染 ITP 症例に対する除菌療法は未治療例、既治療例を問わず、治療抵抗性を超えて除菌成功例では約 65% に血小板数の増加が認められ、殆どの症例は ITP の治療から脱却可能となっている。除菌療法は 1 週間で、副作用が軽微であり HP 菌陽性 ITP 症例においては有用な治療と考えられた。この除菌効果は米国、北欧などでは認められず本療法を治療に組み入れるガイドラインは本邦で独自に作成される必要がある。

これらの理由により ITP 治療ガイドライン (2004 年試案) を作成した。

本ガイドラインの特徴は①ピロリ菌の検査、除菌療法を組み込み、②除菌無効例、ピロリ菌陰性例に対して First line, Second line 治療を示し、③それぞれに治療目標を設定し、④自覚症状、臨床症状、など臨床実態に即したもので、⑤副腎皮質ステロイドの使用期間を極力短くして副作用の発現を少なくする、⑥緊急時、重篤な出血時にはガンマグロブリン療法を積極的に用いる、などである。

本ガイドラインを履行することにより QOL の改善、全体的な ITP 治療費の削減が可能になると期待される。

## 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。