

ITP に関しては除菌療法が有用であることが確認された。その特徴として摘脾に匹敵するかそれ以上の有効性を示し、早期に有効性の判定が可能で、除菌が成功すれば有効例には殆ど再発がない、除菌の副作用は軽微で頻度的に副作用が問題となる症例は少ない、など臨床上有益であることが判明した。

従って除菌療法の位置付けとして ITP が疑われた場合にはまずピロリ菌の検査を精度、特異性の高い方法で検査し、陽性であれば病状が許せばまず除菌療法を行うガイドラインを作成した。このようなガイドラインはピロリ菌陽性 ITP が多く且つ除菌療法が有用な症例が多い、日本、イタリアには当てはまると考えられるが、陽性率が低く、また除菌療法による血小板増加効果の頻度が低い米国、スペイン、北欧では受け入れにくいかもしれない。そのような視点からは日本独自のガイドラインと考えている。

すなわち除菌療法を第一段階に位置づけた点が特徴でこれにより ITP 全体の約 40% の症例に副腎皮質ステロイドの副作用が回避可能と試算される。また各治療に治療目標を定め QOL の向上に重点を置き、ステロイドの漫然とした長期の使用を少なくすることにも重点を置いた。付記を多く付け具体的に病態把握、治療選択を行いやすいようにした。など実地医家にも使用可能なものにするよう配慮した。

今後はこの ITP 治療ガイドラインに

よりどの程度 ITP の治癒率や QOL が向上するのかプロスペクティブな研究を行い有用性を検証する必要がある。またこの結果場合によっては改定を行うこともガイドラインの運用の中に記載した。

さらに ITP 治療に除菌療法を保険適応に追加しなければ実質的にはこのガイドラインは運用できないので早期にピロリ菌陽性 ITP に対する除菌療法の健康保険適応拡大を各学会長に要望するよう働きかけを行っている。

結論

日本全国 11 施設に対するアンケート調査によるヘリコバクターピロリ菌陽性 ITP に対するレトロスペクティブな除菌療法の有用性を検証した。この結果に基づきピロリ陽性 ITP 症例に対する除菌療法を早い段階に位置づけた ITP 治療ガイドライン 2004 (案) を作成した。運用には ITP に対する除菌療法の保険適応が問題となる。また承認後はこの治療ガイドラインの有用性の検証を行ってゆく必要がある。

健康危険情報

なし

研究発表

論文発表

1. Fujimoto T.T., Katsutani S., Shimomura T., Fujimura K.
Novel alternatively spliced form of

- $\beta 3$ -endonexin.
Thromb. Res. 105: 63-70, 2002.
2. Fujimura K., Harada Y., Fujikimoto T., Kuramoto A., Ikeda Y., Akatsuka J., Dan K., Omine M., Mizoguchi H. Nationwide study of idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnant women and the clinical influence on neonates. Int. J. Hematol. 75: 426-433, 2002.
3. Nomura. S., Dan K., Hotta T., Fujimura K., Ikeda Y. Effects of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Blood 100: 728-730, 2002.
4. 藤村 欣吾
12年間の多発性骨髄腫検診から得た臨床疫学的知見
広島医学 55: 12-126、2002
5. 藤村 欣吾
疾患別にみた抗血栓療法の実際 TTP/HUS
臨床医 28: 2322-2324、2002
6. 藤村 欣吾
特発性血小板減少性紫斑病
「薬物療法」—グルココルチコイド療法と免疫抑制療法
日本臨床 61, 4: 593-598, 2003. 5
7. Toshiro Takafuta, Mari Saeki, Tetsuro-Takahiro Fujimoto, Kingo Fujimura, Sandor s. Shapiro A new member of the LIM protein family binds to Filamin B and localizes at fibers. J. Biol. Chem. 278(14) 12175-12181, 2003.
8. Tetsuro-Takahiro Fujimoto, Shinya Katsutani, Takeshi Shimomura, Kingo Fujimura Thrombospondin-bound integrin-associated protein (CD47) physically and functionally modifies integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ by its extracellular domain. J. Biol. Chem. 278(29) 26655-26665, 2003.
9. 沖川 佳子、滝本 泰生、野田 昌昭、今川 潤、片山 雄太、坂井 晃、沖田 肇、藤村 欣吾、木村 昭郎
進行性多発性骨髄腫に対するサリドマイド療法の検討
臨床血液 44 (6) 368-374、2003
10. Tetsuro-Takahiro Fujimoto, Satoshi Kohata, Hidenori Suzuki,

Hiroshi Miyazaki, Kingo Fujimura
Production of functional platelet
by differentiated Embryonic
stem(ES) cells in vitro.
Blood 102(12) 4044-4051, 2003

1 1. 藤村 欣吾

特発性血小板減少性紫斑病のトピ
ックス

はじめに

医学のあゆみ 209 : 87, 2004

1 2. Kuwana M., Nomura S.,
Fujimura K., 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.

1 3. Okikawa Y., Sakai A., Takimoto
Y., Noda M., Imagawa J.,
Katayama Y., Kuroda Y., Okita H.,
Fujimura K. & Kimura A.

Progressive myeloma after
Thalidomide therapy in a
patient with immature Phenotype
of myeloma (plasma) cells.

Int.J.Hematol.

79:364-368, 2004.

1 4. Fujimoto T-T., Sora M., Ide K.,

Mizushima M., Mita M., Nishimura S.,
Ueda K. & Fujimura K.

Glanzmann thrombasthenia
associated with a 21-amino acid
deletion (Leu817-Gln837) in
Glycoprotein IIb due to abnormal
splicing in exon25.

Int.J.Hematol. 80:83-90, 2004.

1 5. 藤村 欣吾

ヘリコバクターピロリ菌陽性 ITP
における除菌療法の有用性

血液フロンティア 14 : 81-90,
2004

1 6. 藤村 欣吾

ITP 治療の最前線

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 菌感染の係わり合い

日本血栓止血学会雑誌

15 : 501-509, 2004

学会発表

1. 藤元 貴啓、空 美穂子、

岸本 美保、仲村 佳子、

藤村 欣吾、西村 真一郎、

上田 一博、橋本 大吾、

品川 克至、新谷 憲治、

谷本 光音

GPIIb 遺伝子のスプライシング異
常により GPIIb—IIIa 複合体の発
現低下を認めた血小板無力症の
2 症例

第 4 1 回日本血液学会中国四国
地方会

2002. 3. 2 広島市
2. 浦川 知子、嶋崎 明美、
山中 清史、榎本 錫、
藤村 欣吾
ITPの治療を契機として診断され
た巨大血小板疾患の一例
第45回日本臨床検査医学会近
畿支部総会
2002. 6. 8. 京都市
3. 沖川 佳子、滝本 泰生、
野田 昌昭、坂井 晃、
片山 雄太、木村 昭郎、
沖田 肇、藤村 欣吾
サリドマイド療法中に非分泌型
への移行が疑われた治療抵抗性
多発性骨髄腫の3例
第44回日本臨床血液学会総会
2002. 9. 横浜市
4. 岸本 美保、藤元 貴啓、
小島 研介、品川 克至、
新谷 憲治、谷本 光音、
藤村 欣吾
AMLを発症したGPIIb遺伝子の
新たなスプライシング異常を持
つ血小板無力症
第64回日本血液学会総会
2002. 9.
横浜市 パシフィコ横浜
5. 脇岡 洋子、藤元 貴啓、
小松 万樹、吉浦 孝一郎、
新川 詔夫、沖田 肇、宮崎 洋、
藤村 欣吾
- 常染色体性優性遺伝形式をとる
家族性血小板減少家系の遺伝子
解析
第64回日本血液学会総会
2002. 9.
横浜市 パシフィコ横浜
6. 勝谷 慎也、下村 壮司、
藤元 貴啓、藤村 欣吾、
木村 昭郎
遺伝子組替えファージ抗体を利用
した特発性血小板減少性紫斑
病 (ITP) 患者の自己抗体の分離
第64回日本血液学会総会
2002. 9.
横浜市 パシフィコ横浜
7. 下村 壮司、勝谷 慎也、
藤元 貴啓、藤村 欣吾、
木村 昭郎
抗原輸送系を用いた血小板に対
するT細胞増殖反応の検出
第64回日本血液学会総会
2002. 9.
横浜市 パシフィコ横浜
8. 高畑 諭、藤元 貴啓、
藤村 欣吾
ES細胞からのin vitro機能的血
小板及び遺伝子導入血小板の産
生
第64回日本血液学会総会
2002. 9.
横浜市 パシフィコ横浜
9. 仲村 佳子、岸本 美保、

藤元 貴啓、藤村 欣吾、末広 謙、
垣下 栄三
GPIb α の leucine rich repeat の
新たなアミノ酸欠損により GPIb
-IX-V 複合体の発現低下を認めた
Bernard-Soulier 症候群
第 64 回日本血液学会総会
2002.9.
横浜市 パシフィコ横浜

10. 高畑 諭、藤元 貴啓、宮崎
洋、藤村 欣吾
ES 細胞からの *in vitro* 機能的
血小板及び遺伝子導入血小板の
産生
第 25 回日本血栓止血学会総会、
2002.11. 神戸市

11. Takafuta T., Fujimoto
T.T., Fujimura K., Yatomi Y.,
Ozaki Y., Shapiro S.S.
Differential roles of splicing
variants of FBLP-1 (Filamin-
Binding LIM protein-1)
44th Annual meeting of
American Society of
Hematology 2002.12
Philadelphia, Pennsylvania

12. Kohata S., Imagawa Y.,
Fujimoto T.T., Fujimura K.
Primitive and definitive
megakaryopoiesis from
embryonic stem (ES) cells
in vitro.

44th Annual meeting of
American Society of
Hematology 2002.12
Philadelphia, Pennsylvania

13. Hijioka Y., Fujimoto T.T.,
Komatsu K., Yoshiura K-I.,
Niikawa N., Fujimura K.
A novel autosomal dominant
thrombocytopenia gene maps
to human chromosome 17.
44th Annual meeting of
American Society of
Hematology 2002.12
Philadelphia, Pennsylvania

14. 岸本 美保、仲村 佳子、
藤元 貴啓、藤村 欣吾、
小島 研介、品川 克至、
新谷 憲治、谷本 光音
AML を発症した GPIIb 遺伝子の
新たなスプライシング異常を持つ
血小板無力症
第 4 回中四国 凝固・線溶・血小
板研究会 平成 15 年 2 月 1 日
岡山市

15. 藤村 欣吾
シンポジウム「薬学教育環境の
醸成に向かって」-薬学教育環境
は与えられるものではない、我々
で創り出すものである-
第 4 部 どこまで教える? 今後
の薬学教育
「実践的薬物治療の学び方」
第 123 回 日本薬学会 平成

15年3月28日 長崎市

16. 藤村 欣吾
ヘリコバクターピロリ菌感染と
ITP
第4回臨床血液談話会
平成15年4月25日 札幌市
17. 井出 和子、藤元 貴啓、
藤村 欣吾
血小板 GPIIb-IIIa 複合体と相互
作用する細胞内蛋白群の同定
第65回日本血液学会総会、
第45回日本臨床血液学会総会
平成15年8月大阪市
18. 小野 綾、藤元 貴啓、
鈴木 英紀、宮崎 洋、藤村 欣吾
ES細胞由来血小板の電顕的観察と
血小板機能研究への応用
第65回日本血液学会総会、
第45回日本臨床血液学会総会
平成15年8月大阪市
19. 藤村 欣吾、桑名 正隆、倉田
義之、藤元 貴啓、今村 雅寛、
幸田 久平、坂巻 壽、寺村 正
尚、大屋敷 一馬、原田 浩史、
池田 康夫
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
除菌療法の有用性 ー全国多施
設共同研究ー
第65回日本血液学会総会、
第45回日本臨床血液学会総会
平成15年8月大阪市
20. 水島 美代子、松本 卓之、
窪田 俊美、平田 浩司、
藤村 欣吾
塩酸チクロピジン誘発障害発現に
及ぼす患者背景因子に関する検討
第65回日本血液学会総会、
第45回日本臨床血液学会総会
平成15年8月大阪市
21. 下村 壮司、勝谷 慎也、
藤元 哲郎、藤村 欣吾、
木村 昭郎
遺伝子導入リンパ芽球細胞株を利
用した血小板膜糖タンパク反応性T
細胞の検出
第65回日本血液学会総会、
第45回日本臨床血液学会総会
平成15年8月大阪市
22. 小野 綾、藤元 貴啓、
鈴木 英紀、宮崎 洋、藤村 欣吾
ES細胞由来血小板の形態的機能的
検討と遺伝子導入血小板の機能研
究への応用
第26回日本血栓止血学会学術集会
平成15年11月 東京都
23. Aya Ono, Tetsuro-Takahiro
Fujimoto, Hidenori Suzuki,
Hiroshi Miyazaki,
Kingo Fujimura
Generation of gene-manipulated
platelets from embryonic stem
(ES) cells in vitro : the
application for platelet

functional studies.

45th ASH Annual Meeting

2003. Dec. San Diego Convention
Center

24. 藤元 貴啓

ES 細胞からの血小板産生と再生
医学への応用

第290回 周薬会学術講演会

2004 年年1月21日

周南市 徳山保健センター

25. 藤元 貴啓

血小板について

中四国地区赤十字血液センター

医薬情報担当者研修会

2004 年2月20日

広島市 県民文化センター

26. 藤村 欣吾

シンポジウム II 「21世紀の
病院検査室の運営はどうあるべき
か」2. 研究・開発

日本臨床検査自動化学会

第18回春季セミナー

2004 年4月3日 広島国際会議場

27. 藤村 欣吾

ワークショップ 「セファランチン
(最近の研究成果)」

4) ITP 治療におけるセファランチ
ンの位置づけ -ITP 治療ガイド
ライン作成に当たって-

第30回 アルカロイド研究会

2004 年6月19日

東京都 日経ホール

28. 下村 壮司、杉原 清香、藤元
貴啓、藤村 欣吾、木村 昭郎

特発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
菌感染に対する T 細胞免疫の解
析

第66回日本血液学会総会・

第46回日本臨床血液学会総会

2004 年9月 京都市

29. 井出 和子、藤元 貴啓、
藤村 欣吾

血小板 GPIIb-IIIa 複合体の新規
細胞内結合蛋白の解析

第66回日本血液学会総会、

第46回日本臨床血液学会総会

2004 年9月京都市

30. 野副 亜希子、藤元 貴啓、
藤村 欣吾

血小板 GPV の細胞内ドメイン結
合蛋白の同定

第66回日本血液学会総会、

第46回日本臨床血液学会総会

2004 年9月京都市

31. 玉代 一樹、藤元 貴啓、
藤村 欣吾

骨髄間質細胞に発現し巨核球と
の接着に関与する新規膜蛋白の
同定

第66回日本血液学会総会、

第46回日本臨床血液学会総会

2004 年9月京都市

3 2 . Akiko Nozoe, Tetsuro-Takahiro
 Fujimoto, Kingo Fujimura
 Interaction of a SNARE-
 associated protein, snapin with
 the cytoplasmic domain of the
 platelet membrane glycoprotein
 V.
 46th ASH Annual Meeting 2004. Dec.
 San Diego Convention Center

3 3 . Kazuki Tamashiro,
 Tetsuro-Takahiro Fujimoto, Kingo
 Fujimura
 Identification of a novel stromal cell
 membrane protein that binds to
 megakaryocytes.
 46th ASH Annual Meeting 2004. Dec.
 San Diego Convention Center

3 4 . Masataka Kuwana, Yoshiyuki
 Kurata, Kingo Fujimura,
 Koji Fujisawa, Hideo Wada,
 Toshiro Nagasawa, Shosaku Nomura,
 Tetuhito Kojima, Hideo Yagi,
 Yasuo Ikeda
 Initial laboratory findings useful
 for predicting the diagnosis of
 chronic ITP : Results of a
 multicenter prospective study
 46th ASH Annual Meeting 2004. Dec.
 San Diego Convention Center

3 5 . 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 ITP cases
 in Japan.
 46th ASH Annual Meeting 2004. Dec.
 San Diego Convention Center

知的財産権の出願・登録

特許取得	なし
実案新案登録	なし
その他	なし

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-

分担研究者 桑名正隆 (慶應義塾大学医学部先端医科学研究所)

研究要旨

本研究班では特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) に特異的な臨床検査項目を導入した新しい診断基準の作成をめざしている。昨年度から行ってきた血小板減少症を有する患者を対象とした多施設での前向き調査が終了し、その最終結果が得られた。血小板減少症を有する 113 例を対象として 6 ヶ月以降の ITP の診断と関連する初診時の検査所見を調べたところ、貧血なし、白血球数正常、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 TPO 濃度正常または軽度増加の 6 項目が抽出された。今回の症例をこれら 6 項目を含む診断基準案に当てはめると、感度 96%、特異度 79%と良好な結果であった。基準に含まれる臨床検査を行える体制の確立や専門医によるコンセンサスを得る必要があるが、現在の基準案を基本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。

A. 研究目的

我が国では特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の診断に 1990 年に厚生省 (当時) 研究班により提案された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、骨髄検査で巨核球が正常または増加して他の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困難で、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。そのため、専門医の経験に基づいて必要最小限の検査成績により ITP の診断を行っているのが現状である。

そこで、ITP に特異性の高い臨床検査項目を含めた、積極的に ITP を診断する基準の作成が望まれている。平成 14 年度は慶應義塾大学の単施設で血小板減少症のために受診した成人例を対象とした前向き試験を行い、将来の ITP の診断と関連する初診時の臨床検査所見として貧血なし、白血球減少なし、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 (TPO) 濃度正常または軽度増加の 6 項目が ITP の診断と強く相関する因子として抽出された (Am J Med 印刷中)。この結果をもとに ITP を積極的に診断する診断基準案を提案した。そこで、この診断基準案の

有用性を評価するために班員の所属する 8 施設において血小板減少症患者を対象とした前向き試験を行い、その最終結果が得られた。

B. 研究方法

血小板減少または出血傾向を主訴に来院した患者のうち、(a) 血小板数 10 万/ μ l 未満、(b) 末梢血塗抹標本で異型性がない、(c) 副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬による薬物療法や摘脾を受けていない、のすべてを満たす 113 例を対象とした。参加施設は大阪大学、広島大学、慈恵医科大学、三重大学、慶應義塾大学、筑波大学、関西医科大学、名古屋大学、奈良県立医科大学の 8 施設とした。エントリー時に年齢、性別、出血症状の有無、塗抹も含めた末梢血検査の結果を登録し、さらに末梢血検体を用いた以下の 4 つの検査を施行した。

- (1) ELISPOT 法による 10^5 個の末梢血単核球あたりの IgG 抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度
- (2) P-GP-ELISA による IgG 抗 GPIIb-IIIa 抗体
- (3) フローサイトメトリーによる網状血小板比率
- (4) ELISA キット (Quantikine; R&D systems) による血漿 TPO 濃度

末梢血検体はブラインドで慶應義塾大学と大阪大学へと送付し、(1) (2) (4) は慶應義塾大学、(3) は大阪大学 (倉田義之先生) で測定した。最終診断は、6 ヶ月以上経過した時点で各施設の担当医により臨床経過および骨髓検査を含めた各種検査所見により行

われた。合計 10 の臨床項目について 2 群間の平均値および頻度の差は Mann-Whitney U-test, Fisher's 2-tailed exact test を用いて解析した。さらに、各因子の独立性を検討するため多変量解析も行った。

(倫理面への配慮)

末梢血検体の取り扱いに際しては個人情報保護のため、すべて匿名化して検査および集計に用いた。

C. 研究結果

6 ヶ月以上の経過観察による最終診断は 89 例が ITP, 11 例が再生不良性貧血, 10 例が骨髓異形成症候群 (MDS), Fanconi 貧血, May-Hegglin 異常, 骨髓線維症がそれぞれ 1 例ずつであった。診断が ITP 以外の 24 例を非 ITP とし、エントリー時の各種臨床項目を ITP と比較した (表 1)。両群間で性、年齢、出血症状の頻度に差はなかった。貧血および白血球減少の頻度は ITP で非 ITP に比べて有意に低かったが、血小板数に差はなかった。抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度、血小板関連抗 GPIIb-IIIa 抗体価、網状血小板比率は非 ITP 群に比べて ITP 群で有意に高く、血漿 TPO は有意に低かった。

今回データベースに含まれた 10 項目のうち ITP の診断と関連する独立した臨床項目を同定するため多変量解析を行った。その結果、貧血の有無、抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度、網状血小板比率、血漿 TPO 濃度の 4 項目が抽出された。個々の因子のオッズ比は 0.05 ($P = 0.005$), 1.2 ($P = 0.02$), 1.3 ($P = 0.04$), 0.03 ($P = 0.005$) であり、貧血の有無と血漿 TPO 濃度が最も強い負の

相関因子であった。

今回の症例を対象にして ITP と相関があった 6 項目（貧血なし，白血球減少なし，抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度増加，血小板関連抗 GPIIb-IIIa 抗体価増加，網状血小板比率増加，血漿 TPO が正常または軽度増加）のうちで満たす臨床項目数を調べた。3 項目以上を満たす割合は ITP が 96% (感度)，非 ITP が 71% (特異度) となり，以前の単施設での解析結果に比べて特異性が低かった。非 ITP で 3 項目以上を満たした症例の臨床所見を調べると，1 例は MDS (CMMoL) で，白血球減少なし (15300/ μ l)，網状血小板比率増加，TPO 正常の 3 項目を満たし，別の 1 例は May-Hegglin 異常で，貧血なし，白血球減少なし，TPO 正常の 3 項目を満たしていた。そこで，特異度を上げるため，「白血球減少なし」を「白血球数正常」とし，3 項目の中に ITP の特異的な陽性所見（抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度，血小板関連抗 GPIIb-IIIa 抗体価，網状血小板比率）を少なくとも 1 項目を含むことを必要条件としたところ，感度 96%、特異性 79%と改善した。

D. 考察

今回の小児例を含めた多施設試験でも，成人例に限定して行った以前の単施設での調査と同様に貧血なし，白血球数正常，抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度増加，血小板関連抗 GPIIb-IIIa 抗体価増加，網状血小板比率増加，血漿 TPO 正常または軽度増加 (300 pg/mL 未満) が将来の ITP の診断を予測する因子として抽出された。また，今

回の結果を踏まえて従来の診断基準案に多少の手直しを加えたところ，感度は 96%、特異性は 79%で，この基準が ITP 患者の抽出に有用なことが確認された。

今回の調査では，診断基準案に当てはめた際の特異度がやや低かった。その大きな原因として再生不良性貧血や MDS 症例の一部で抗 GPIIb-IIIa 抗体産生 B 細胞頻度増加，血小板関連抗 GPIIb-IIIa 抗体価増加，網状血小板比率増加などの ITP に特異的な陽性所見を複数有する症例が見られたことが挙げられる。元来，再生不良性貧血や MDS でも副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬などの免疫抑制療法が有効な症例が報告されており，その病態に ITP 様の自己免疫病態が関与する可能性がある。今後，このような症例の扱いについて専門医のコンセンサスを得なければならない。また，今後も継続して多彩な臨床背景を持った多数例のデータを集積し，必要に応じて現在の基準を見直していく必要がある。さらに，診断基準に用いるアッセイは臨床の現場で必要に応じて正確に行える必要があり，そのための検査システムの確立と保険収載も重要な課題である。

E. 結論

ITP の診断と関連する臨床検査を組み合わせることで，積極的に ITP を診断する診断基準の作成が可能と考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

<論文発表>

- 1) Satoh T, Pandey JP, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y, Kuwana M. Single nucleotide polymorphisms of the inflammatory cytokine genes in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 124:796-801, 2004
 - 2) Kuwana M, Ikeda Y. The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of ITP. *Int J Hematol* 81:106-112, 2005
 - 3) Kuwana M, Okazaki Y, Satoh T, Asahi A, Kajihara M, Ikeda Y. Initial laboratory findings useful for predicting the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults: a prospective study. *Am J Med*, 印刷中
 - 4) 桑名正隆: ITPの発症機序と新たな治療戦略. *医学のあゆみ* 209:93-97, 2004
 - 5) 桑名正隆: 特発性血小板減少性紫斑病の分子病態. *炎症と免疫* 12:16-23, 2004
 - 6) 桑名正隆: 自己免疫疾患の遺伝子学. *最新医学* 59:78-92, 2004
 - 7) 桑名正隆, 池田康夫: 特発性血小板減少性紫斑病. *Molecular Medicine* 41:1535-1541, 2004
 - 8) 棚井千春, 壹岐聖子, 中原史雄, 飯島喜美子, 臼杵憲祐, 桑名正隆, 浦部晶夫: Rituximabが有効であった難治性特発性血小板減少性紫斑病. *臨床血液* 45:1181-1186, 2004
 - 9) 桑名正隆: 特発性血小板減少性紫斑病における自己抗体産生の分子機構とその制御. *分子細胞治療* 3:27-31, 2004
 - 10) 桑名正隆, 池田康夫: ITPの免疫学的発症機序とそれに基づいた診断基準作成の試み. *血液フロンティア* 14:25-33, 2004
 - 11) 桑名正隆: *Helicobacter pylori*感染と特発性血小板減少性紫斑病 (ITP). *感染・炎症・免疫* 34:51-53, 2004
 - 12) 桑名正隆: CD40 および CD40 リガンド. *臨床免疫* 43:39-46, 2005
- ### <学会発表>
- 1) 桑名正隆, 朝日厚子, 鈴木秀和, 正岡建弘, 岡崎有佳, 池田康夫: 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) と *H. pylori* 感染 -*H. pylori* 陰性例での除菌療法の結果から-. 第10回日本ヘリコバクター学会(東京). 2004. 7.
 - 2) 桑名正隆, 池田康夫: ITPの免疫動態と新たな治療標的. 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). 2004. 9.
 - 3) 朝日厚子, 桑名正隆, 岡崎有佳, 鈴木秀和, 正岡建弘, 河上裕, 池田康夫: 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) と *H. pylori* 感染 -*H. pylori* 陰性例での除菌療法の結果から-. 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). 2004. 9.
 - 4) 岡崎有佳, 桑名正隆, 村田満, 池田康夫: 各種血小板減少症における抗 GPIIb 抗体産生 B細胞の検出. 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). 2004. 9.

- 5) 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. The 46th American Society of Hematology Annual Scientific Meeting (San Diego). 2004. 12.
- 6) Asahi A, Kuwana M, Suzuki H, Okazaki Y, Masaoka T, Ikeda Y: Therapeutic action of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication in patients with chronic ITP-lessons from eradication therapy on *H. pylori*-negative patients. The 46th American Society of Hematology Annual Scientific Meeting (San Diego). 2004. 12.

- 7) Yamazaki R, Kuwana M, Okazaki Y, Kawakami Y, Ikeda Y, Okamoto S: Impaired platelet production and autoantibody-mediated platelet destruction are two major causes for prolonged thrombocytopenia after allogeneic HSCT. The 46th American Society of Hematology Annual Scientific Meeting (San Diego). 2004. 12.
- 8) Kuwana M: Extra-digestive in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection. The 4th Annual Conference of Korea-Japan Joint Meeting on *Helicobacter* Infection (Beppu). 2005. 2.

G. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)
なし。

表 1. ITP と非 ITP における初診時の臨床所見の比較

臨床および検査所見	ITP (n = 89)	非ITP (n = 24)	<i>P</i>
性 (%女性)	60%	50%	0.5
受診時年齢 (歳)	45.4 ± 21.6	46.7 ± 26.6	0.8
出血症状	46%	50%	0.9
貧血	23%	88%	<0.0001
白血球数減少	15%	50%	0.004
血小板数 (/μL)	4.3 ± 2.5	3.9 ± 2.2	0.5
抗GPIIb-IIIa抗体産生B細胞 (/10 ⁵ PBMC)	10.1 ± 8.9	3.8 ± 5.0	<0.0001
血小板関連抗GPIIb/IIIa抗体 (unit)	16.5 ± 25.1	5.7 ± 13.6	0.006
網状血小板比率 (%)	11.5 ± 6.1	6.4 ± 3.1	0.001
血漿TPO濃度 (pg/mL)	104 ± 83	507 ± 484	<0.0001

表 2. ITP の診断基準案

1. 血小板減少 (10万/μL以下)。
2. 末梢血塗沫標本で3系統すべてに明らかな形態異常を認めない。
3. 以下の検査所見のうち3), 4), 5)のいずれかを含む3つ以上を満たす。
 - 1) 貧血がない。
 - 2) 白血球数が正常。
 - 3) 末梢血中の抗GPIIb-IIIa抗体産生 B 細胞の増加。
 - 4) 血小板関連抗GPIIb-IIIa 抗体の増加。
 - 5) 網状血小板比率の増加。
 - 6) 血漿トロンボポエチンは軽度上昇にとどまる (<300 pg/mL)。
4. 他の免疫性血小板減少性紫斑病 (SLE, リンパ増殖性疾患, HIV感染症, 肝硬変, 薬剤性など) を除外できる。

慢性 ITP の診断には上記の 4 項目全てを満たすこと。

ただし、4項目を満たしても ITP として非典型的な所見を認める場合は骨髄検査を行うことが望ましい。

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
(3年間の総括)
大阪大学医学部附属病院輸血部
倉田義之

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は抗血小板自己抗体により血小板が早期に破壊される自己免疫疾患である。われわれはこの3年間、ITPの病態、診断、治療法について多面的な検討を加えた。抗血小板自己抗体は血小板膜糖タンパクの GPIIb-IIIa や GPIb-IX に結合することが知られている。われわれは抗 GPIIb-IIIa 抗体が GPIIb-IIIa のいかなる部位(エピトープ)に結合するか検討し、抗 GPIIb-IIIa 抗体の 2/3 では GPIIb のアミノ酸 160-161 付近を認識していることを明らかにした。ITP の診断面では、現在に至るまで特異的に ITP を診断しうる検査法が確立していない。そのため ITP の診断は除外診断に頼らざるを得ない状況であった。われわれは幼弱な血小板を測定する系、網状血小板 (RP) 測定法を確立するとともに血中の TPO を測定する系も確立し、ITP 診断における RP、TPO 測定の意義を検討した。ITP では RP が著増、TPO は基準値付近、再生不良性貧血では RP は基準値、TPO は著増との成績が得られ、ITP と再生不良性貧血鑑別に RP、TPO の測定は非常に有用であることを確認した。ITP の治療法ではピロリ除菌療法が注目されている。われわれの施設においても ITP 症例にピロリ除菌療法を施行し、約半数の症例で寛解を認めた。副作用も軽度で、今後は ITP の第一選択の治療法になるであろうと思われた。さらに ITP を治療するにあたって正確に血小板数を測定する必要がある。現在、臨床に普及している自動血球計数器では正確に血小板数を測定することができない。今回、目視法、2種の自動血球計数器、免疫学的測定法で血小板数を測定し、その精度を比較検討した。希釈直線性、同時再現性とも免疫学的測定法がもっとも正確であった。血小板数値の比較では免疫学的測定法と目視法はほぼ一致したが自動血球計数器による方法は血小板数が 6000~8000 高値であった。検査室より報告される血小板数を解釈するにあたり注意が必要であると思われた。

特発性血小板減少性紫斑病 (以下 ITP) はひとたび罹患すると生涯にわたって血小板減少が持続する難治性疾患である。本疾患に対して国内外で多くの研究がなされ、近年では本疾患は自己の血小板に対する自己抗体が産生され、血小板が早期に破壊される自己免疫疾患であるとする概念が確立している。われわれはこの3年間、

本疾患のさらなる病態解析、診断のための特殊検査の確立・検証、最近注目されているヘリコバクタピロリ除菌療法の有効性をわれわれが経過観察している症例に適応し、検証を行った。また ITP 症例を治療していくにあたって正確に血小板数を測定することが重要である。血小板数が著減している検体の血小板数を正確に測定する

方法の確立に向けての検討も行った。

1. 抗血小板自己抗体のエピトープ解析

1) 目的

多くの ITP 症例において抗血小板自己抗体が検出される。これらの抗血小板自己抗体は血小板膜表面糖タンパクである GPIIb-IIIa や GPIb-IX に結合することが知られている。

今回、さらに ITP の病態を詳細に検討するため抗 GPIIb-IIIa 抗体が GPIIb-IIIa のいかなる部位 (エピトープ) に結合するか検討した。

2) 方法

対象は ITP 101 例、血小板産生障害 17 例である。患者血小板より抗血小板自己抗体をエーテル解離し検討に用いた。

抗 GPIIb-IIIa 抗体の検出は抗 GPIIb-IIIa 抗体を固相したマイクロプレートを用いる Modified antigen capture ELISA によった。

エピトープ解析には、2 アミノ酸挿入によりフィブリノーゲン結合性を喪失した変異 GPIIb (KO variant) との結合性を検討した。

3) 結果

ITP 例 101 例中 41 例で抗 GPIIb-IIIa 抗体を検出した。血小板産生低下例では 17 例すべて陰性であった。

抗 GPIIb-IIIa 抗体陽性 34 例中 11 例は野生型 GPIIb-IIIa との反応性に比べ変異 GPIIb-IIIa との反応性は 50% 以下であった。

4) 考案

ITP の多くの症例で抗 GPIIb-IIIa 抗体が検出された。抗 GPIIb-IIIa 抗体の認識エピトープを検討すると 2/3 は GPIIb のアミノ

酸 160-161 付近を認識していると考えられた。ITP において抗血小板自己抗体のエピトープは一定の部位に集中しているが、一方では唯一ではなく、認識部位は一定ではないことが考えられた。

5) 結論

ITP の 4 割の症例で抗 GPIIb-IIIa 抗体を認めた。抗 GPIIb-IIIa 抗体の 2/3 は GPIIb の 160-161 アミノ酸付近を認識していた。

2. ITP 診断のための特殊検査法の開発・検証

1) 目的

ITP の診断は血小板減少をきたす他の多くの疾患を除外する必要がある。現時点では ITP を診断しうる特殊検査法は確立していない。近年、幼弱血小板である網状血小板 (RP) やトロンボポエチン (TPO) の測定が可能となった。ITP では RP が増加、TPO はほぼ基準値に近いと報告されている。われわれも RP の測定法を確立し、自施設の症例につき RP および TPO を測定し、診断に有用か否か検討した。

2) 方法

RP の測定は蛍光色素であるチアゾールオレンジ (Retic-COUNT) を用いて血小板の RNA を染色し、フローサイトメータで測定した。血漿中の TPO は TPO 測定キット (Quantikine Human TPO Immunoassay) を用いての EIA で行った。

対象は血小板数が $10 \text{ 万}/\mu\text{l}$ 以下の ITP 症例 65 例、再生不良性貧血 20 例、血液悪性腫瘍症例 22 例。健康人対象も 60 例測定した。

3) 結果

RP は健康人では $7.7 \pm 2.7\%$ であった。一方、ITP 症例では $23.8 \pm 11.6\%$ と著明な高

値であった。再生不良性貧血や化学療法後の血小板減少ではほぼ基準値以内であった。

TPO の基準値は $43 \pm 29 \text{ pg/ml}$ であった。再生不良性貧血では 349 ± 210 、化学療法後では 402 ± 329 と著明な高値であった。ITP 症例では 74 ± 66 とほぼ基準値であった。

RP と TPO を同時に測定すると ITP と再生不良性貧血を鑑別するのに感度は 72%、特異度は 100% と非常に良好な成績が得られた。

4) 考案

RP は ITP で高値、再生不良性貧血では基準値以内、TPO は逆に再生不良性貧血で高値、ITP ではほぼ基準値との成績で ITP と骨髓血小板産生低下疾患との鑑別に非常に有用であるとの成績が得られた。

しかしながら RP、TPO とともに血小板産生の程度を反映している検査である。ITP の病態に直接関与していると考えられる抗血小板自己抗体などを検出しているものではない。ITP と血小板動態が同じ DIC や血栓性血小板減少性紫斑病においても ITP と同じ成績が得られる。ITP と血小板動態が同じ疾患の鑑別は臨床所見により除外する必要がある。

5) 結論

RP と TPO の測定は ITP と血小板産生低下による血小板減少症（再生不良性貧血や化学療法後の血小板減少症）の鑑別に非常に有用である。

3. ピロリ除菌療法の有効性の検討

1) 目的

ITP の治療は、副腎皮質ホルモン、摘脾、免疫抑制剤が標準的な治療法として確立している。1998 年 Gasbarrini らがヘリコバ

クタピロリの除菌が ITP に有効であると報告して以来、ピロリ除菌療法は ITP の新しい治療法として注目されるようになった。われわれは経過観察中の ITP 症例に除菌療法を実施し、ITP に対する有効性につき検証した。

2) 方法

対象は血小板数が $10 \text{ 万}/\mu\text{l}$ 以下の ITP 症例 58 例。ピロリ感染の有無は血中の抗ピロリ菌抗体検査で行った。除菌はランソプラゾール 60mg、アモキシシリン 1500mg、クラリスロマイシン 400mg、7 日間で行った。

3) 結果

ピロリ菌陽性者は 29 例であった。ピロリ菌陽性者と陰性者間で血小板数に差を認めなかった。ピロリ陽性は年齢とともに上昇し、50 歳以上では 80% 以上陽性であった。

ピロリ除菌は血小板数が 5 万以下でインフォームドコンセントが得られた 15 例で施行した。2 例は副作用のため途中で中止。13 例が 7 日間服用した。4 例では除菌に失敗、再除菌により成功。2 例は他の治療法を加えたため脱落した。

8 例中 5 例で血小板数は 10 万以上に上昇した。副作用は下痢・軟便 3 例、口内炎 1 例とともに重篤ではなかった。

4) 考案

ピロリ除菌療法は経口で抗生物質 2 種類、プロトンポンプ阻害剤 1 種類を 7 日間服用する非常に簡便な治療法である。しかも約半数の症例で寛解が得られ、摘脾無効例においても除菌により寛解が得られた。今後は ITP の第一選択の治療法になるであろうと考えられた。

ITP 症例のうち約半数の症例はピロリ感染が関与していると考えられ、ITP の病態

を考えるうえで非常に重要なデータであると思われた。

5) 結論

ピロリ除菌療法は約半数の ITP 症例で寛解が得られる非常に有望な治療法であり、今後は ITP における第一選択となる治療法であろうと思われた。

4. 正確な血小板数測定法の確立

1) 目的

ITP 患者を治療するにあたって重症度の判定、治療開始時期の決定などに出血症状とともに血小板数が判断材料となる。日常臨床において血小板数は自動血球計数器で測定されている。自動血球計数器で測定する際の問題点は血小板数が著減している検体の血小板数は正確に測定できないという点である。近年、血小板を認識するモノクローナル抗体を用いて免疫学的に血小板数を測定する方法が開発された。今回、血小板著減検体につき目視法、自動血球計数器による方法、免疫学的測定法で血小板数を測定し、血小板数の正確度について検討した。

2) 方法

血小板数の測定を目視法、自動血球計数器である NE-8000 (電気抵抗法) および H-2 (光学法)、免疫学的測定法の 4 法で行った。免疫学的測定法は抗 CD42b モノクローナル抗体で血小板を捕捉し、粒子数既知の蛍光標識標準粒子を加えて血小板数をフローサイトメータで測定するものである。

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 例である。

3) 結果

希釈直線性は免疫学的測定法がもっとも

優れていた。次いで H-2、NE-8000 の順であった。目視法は 2000 以下では測定できなかった。

同時再現性も免疫学的測定法がもっとも良好であった。次いで NE-8000、H-2 が良好であった。目視法は不良であった。

4 法間の血小板数の相関では免疫学的測定法と目視法はほぼ一致したが NE-8000、H-2 は免疫学的測定法に比べ 6000~9000 高値であった。

4) 考案

今回の検討結果から免疫学的測定法が希釈直線性、同時再現性ともに優れており、正確に血小板数を測定可能であると思われた。しかしながら免疫学的測定法はフローサイトメータが必要なことなど一般の病院でのルーチン検査としては適していないと思われた。一方、目視法は簡便ではあるが希釈直線性が不良、同時再現性が不良など問題があり、血小板著減検体の測定には不向きであると思われた。自動血球計数器法である NE-8000、H-2 は簡便ではあるが血小板数が 6000~8000 高値となる問題点がある。日常臨床で血小板数を測定するにあたって上記のような問題点があることを知った上で血小板数の値を解釈する必要があると思われた。

5) 結論

血小板著減検体の測定には免疫学的測定法がもっとも優れていた。自動血球計数器による測定では血小板数が 6000~8000 高値となる、目視法は同時再現性に問題がある。検査室から報告される血小板数を解釈するにあたり注意が必要であると考え。

特発性血栓症サブグループ研究報告

- 国立循環器病センター研究所、部長 宮田 敏行
京都府立医科大学、助教授 辻 肇
自治医科大学、教授 坂田 洋一
名古屋大学医学部、教授 小嶋 哲人
慶應義塾大学医学部、講師 村田 満
大阪大学医学部、助手 川崎 富夫
- 研究協力者
国立循環器病センター研究所、室員 木村 利奈
東海大学医学部、教授 猪子 英俊

日本人の静脈血栓症の発症原因を明らかにし、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 161 例を収集し、データベースを作成した。この試料を対象に血栓症にかかわると考えられる 5 つの候補遺伝子多型をタイピングし、地域一般住民約 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、プロテイン Lys196Glu 変異(成熟型での番号では Lys155Glu 変異、プロテイン S 徳島変異とも呼ばれる)が静脈血栓症患者群で有意($P < 0.001$)に高いことが判明した。本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。本プロテイン S 変異体は血中の抗原量は正常であるが、活性は低下する異常分子である。したがって、血栓症患者ではプロテイン S 活性の測定が重要であろう。

1. 研究目的

特発性血栓症は、発症原因が明確でない血栓症を指す。本症には先天性・後天性血栓形成素因を基盤として発現すると考えられる血栓傾向あるいは血栓疾患が含まれる。特発性血栓症は単一の原因によって引き起こされるものではなく、いくつかの要因が複合して発症するものと考えられる。先天性血栓性素因として、プロテイン C, S, アンチトロンビンの各欠乏症が広く知られている。後天性血栓性素因として、長期臥床、手術肥満などがある。しかし、これらの危険因子が必ずしも血栓症を誘発するものではない。このような危険因子が相互作用 (Gene-gene interaction および Gene-environmental interaction) した結果、血栓症が発症すると考えられる。しかし、

日本ではこれまで大規模に特発性血栓症の研究は行われていない。

本研究は、特発性血栓症の発症メカニズムを解明し、発症を予防する方策を検討するため、多施設共同で静脈血栓症患者を大規模に収集する。収集した血栓症患者の臨床情報をデータベース化しパネルを作成する。

これまで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、プラスミノーゲン異常症 3.87%、プラスミノーゲン欠損症 (I 型) 0.42%、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%であった (1-3)。

これらの先天性欠乏症のうち、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