

導し、血小板産生も抑制する<sup>9)</sup>。

ITP における抗血小板抗体の産生機序について、血小板に対する自己反応性T細胞に関する知見が集積されてきた。血小板との共培養で IL-2 を産生する自己反応性 CD4<sup>+</sup>T細胞の報告に始まり<sup>6)</sup>、その後抗血小板抗体の主要な標的抗原 GPIIb/IIIa を認識する CD4<sup>+</sup>T細胞についての詳細な解析が行われた<sup>7,8)</sup>。ITP 患者由来の GPIIb/IIIa 反応性T細胞は抗血小板抗体産生を誘導するヘルパー活性を有する。これらT細胞は人為的に構造を修飾した GPIIb/IIIa を取り込んだ抗原提示細胞に対して反応性を示すが、native な GPIIb/IIIa に対して反応しない<sup>7,8)</sup>。この現象は GPIIb/IIIa 反応性T細胞が native な GPIIb/IIIa からのプロセッシングでは作られない潜在性 (cryptic) ペプチドを認識することで説明可能である。潜在性ペプチドとは、通常は免疫応答を誘導する十分量が抗原提示細胞により提示されないペプチドのことで、それらを認識する自己反応性T細胞は胸腺での負の選択を逃れて正常のレパトアに存在する。この点は GPIIb/IIIa 反応性T細胞が ITP 患者に限らず健常人の多くで検出された事実と一致する<sup>7,8)</sup>。ただし、GPIIb/IIIa 反応性T細胞の末梢血中頻度およびその活性化レベルは健常人に比べて ITP 患者で高く<sup>7)</sup>、その理由として ITP 患者の抗原提示細胞における GPIIb/IIIa 由来の潜在性ペプチドの発現が考えられる。さらに、活性化した GPIIb/IIIa 反応性T、B細胞は脾臓でのみ検出されたことから、それら潜在性ペプチドが発現される部位は主に脾臓と考えられた<sup>2)</sup>。ITP 患者の網内系マクロファージは Fc $\gamma$  受容体を介してオプソニン化血小板を大量に貪食する。その際に大量に取り込まれる GPIIb/IIIa を始めとした血小板膜糖タンパク質のプロセッシングにより、本来は潜在性のペプチドが免疫応答を誘導するのに十分量発現される可能性が考えられる。以上の結果から想定される ITP における抗血小板抗体の産生機序を図2に示す。抗血小板抗体が産生されると、オプソニン化血小板を貪食した網内系マクロファージが GPIIb/IIIa 由来ペプチドを発現し、それを認識した GPIIb/IIIa 反応性T細胞が活性化され、B細胞からの自己抗体産生を誘導する<sup>9)</sup>。ITP 患者では、この GPIIb/IIIa 反応性T細胞、B細胞、網内系マクロファージのサイクルが成立し、その結果抗血小板

抗体の産生が持続する。

## 診 断

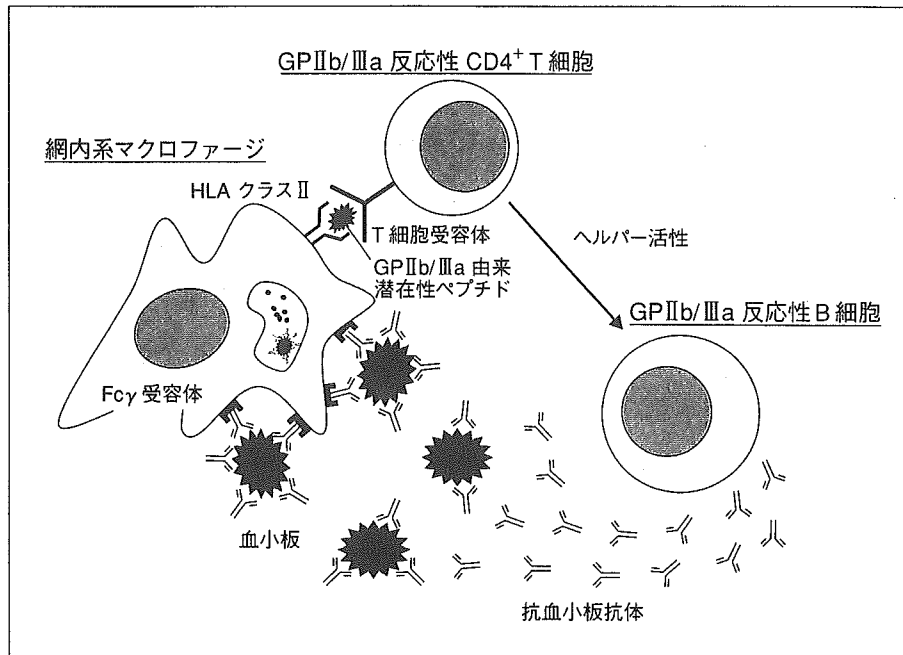
ITP の診断は主に血小板減少をきたす他疾患の除外による。現状では、病歴、身体所見、末梢血塗抹標本で ITP に矛盾せず、他の疾患を疑う臨床所見がなければ ITP と診断している<sup>10)</sup>。他疾患の除外を目的とする骨髓検査の必要性に関しては議論があるが、ITP として非典型的な臨床所見がある場合、骨髓異形成症候群の好発年齢である 60 歳以上、摘脾を考慮する場合は積極的に行うべきである。一方、我が国で広く測定されている血小板関連 IgG (PAIgG) は、欧米のガイドラインで ITP の診断には不要とされている<sup>10)</sup>。測定原理上、PAIgG は抗血小板抗体だけでなく、非特異的に血小板に結合あるいはプールされている免疫グロブリン成分も検出するため、他の血小板減少症でも上昇することが多く特異性は低い。そこで、以下に示す ITP に選択的と考えられる臨床検査を取り入れることで積極的に ITP を診断する試みが検討されている<sup>11)</sup>。

### 1. 抗血小板膜糖タンパク質特異抗体の検出

GPIIb/IIIa など血小板膜糖タンパク質に対する自己抗体の検出は ITP に特異的と考えられることから、その検出法が数多く考案されてきた。特に血小板膜糖タンパク質に対するモノクローナル抗体を用いた手法が広く行われ、特異性が高いものの 30～60% と検出感度が低い欠点が知られている<sup>12)</sup>。その理由として、モノクローナル抗体と自己抗体が同一もしくは近傍のエピトープを認識する場合に偽陰性となることが挙げられる。また、患者における抗血小板抗体の多くは流血中で血小板に結合した状態で存在することから、検体として血清や血漿でなく血小板を用いる必要があり、操作が煩雑となる。これらの要因が本検査法の普及を妨げてきた。

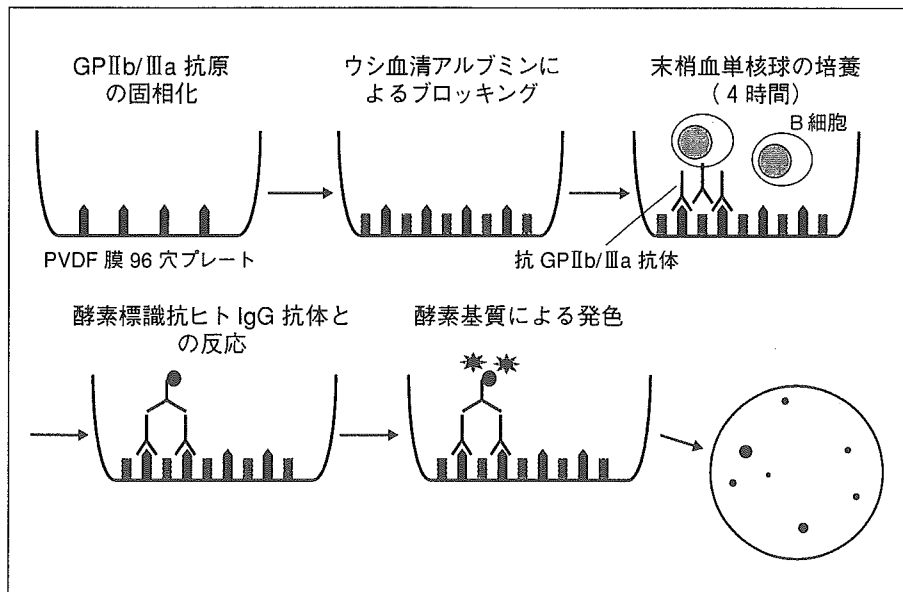
そこで、私たちは抗 GPIIb/IIIa 抗体を産生する末梢血 B 細胞を直接検出する方法を考案した<sup>13)</sup>。図 3 に抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞を検出する ELISPOT 法の原理を示す。96 穴プレート上に精製 GPIIb/IIIa 抗原を固相化し、そのうえで患者末梢血単核球を培養する。その間に B 細胞から分泌され、固相化抗原に結合した抗 GPIIb/IIIa 抗体

図2 ITP において抗血小板抗体産生を誘導する病的サイクル



抗血小板抗体が結合してオプソニン化した血小板を貪食した網内系マクロファージが GPII b/III a 由来ペプチドを発現することで GPII b/III a 反応性 T 細胞を活性化し、B 細胞からの抗血小板抗体産生を誘導する。ITP 患者ではこのサイクルが成立し、抗血小板抗体産生が維持される。

図3 抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞を検出する ELISPOT 法の原理



PVDF 膜 96 穴プレート上に GPII b/III a 抗原を固相化し、ウシ血清アルブミンでブロック後にその上で患者末梢血単核球を 4 時間培養する。その間に B 細胞から分泌された抗 GPII b/III a 抗体を酵素標識抗ヒト IgG 抗体・酵素基質によりスポットとして検出する。

を膜上のスポットとして検出する。骨髓異形成症候群や播種性血管内凝固症などの非免疫性血小板減少症患者を対照として、ITP 患者の抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞頻度を調べたところ、その上昇は ITP における感度、特異度ともに 90% 以上と良好であった。すでに本測定法のキット化に成功し、検査センターでの測定を目指している。

## 2. 血小板回転の簡便な指標

ITP 患者の多くで血小板寿命の短縮と血小板回転の亢進が見られ、その所見は ITP の診断に有用なことが知られてきた。しかし、従来のアイソトープで標識した血小板を用いる手法は操作が煩雑で、特定の施設でしか行えず、一般化しなかった。近年、血小板回転を反映する簡便な指標として網状血小板比率と血中トロンボポエチン (TPO) が報告され、それらの ITP 診断における有用性が示されてきた<sup>14)</sup>。網状血小板は幼弱な血小板で、ITP 患者では末梢での血小板破壊亢進を反映して流血中に残存する血小板に占める網状血小板の比率が高くなる。一方、TPO 濃度は巨核球低形成を呈する再生不良性貧血や無巨核球症で著増し、ITP では正常あるいは軽度の上昇にとどまる。そのため、TPO の著増があれば ITP を除外できる。これらアッセイ法についても、臨床検査として測定可能になることが期待されている。

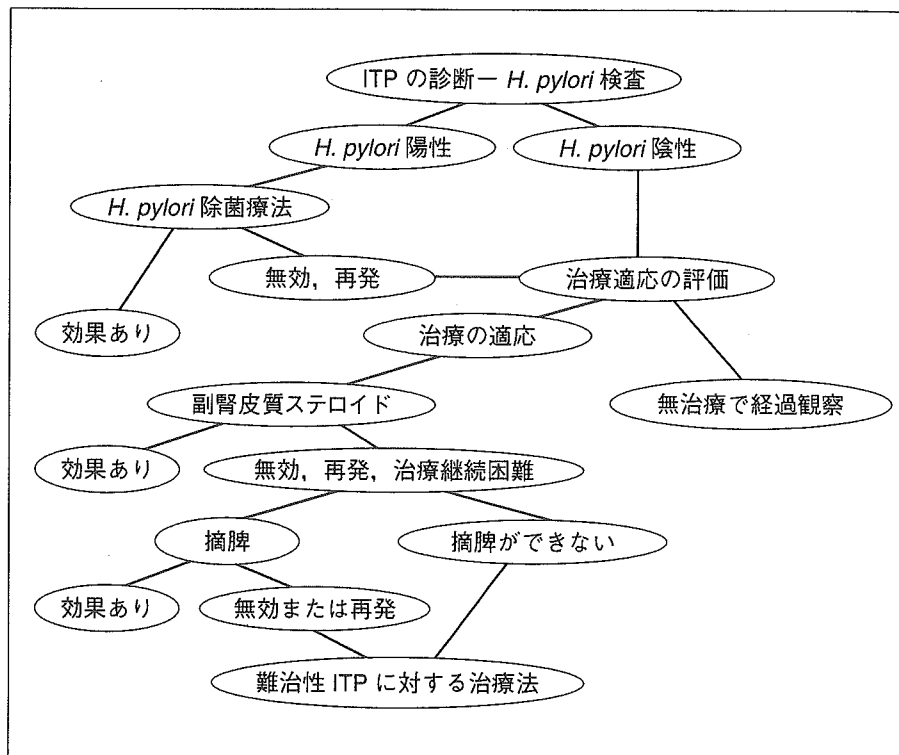
## 治 療

ITP 治療の基本方針は 15 年以上前から基本的に変わっていない。すなわち、血小板数を正常に戻すのではなく、出血症状の改善、重篤な出血の予防を目標とし、血小板数と出血症状の程度に基づいて治療適応を決定する。適応となる症例では、まず副腎皮質ステロイド、次いで摘脾を行う。一方、副腎皮質ステロイド、摘脾で血小板数を出血の危険の少ないレベルに維持できない症例は難治性と呼ばれ、免疫抑制薬やダナゾールなどさまざまな治療法が試みられているが、現時点で確立された治療法がない。最近、このような従来の治療指針の変更につながる画期的な知見が報告された。

### 1. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 除菌療法

*H. pylori* は胃粘膜に持続感染するグラム陰性桿菌で、消化性潰瘍や慢性萎縮性胃炎などの原因となる。Gasbarrini らは *H. pylori* 陽性

図4 ITP の新しい治療指針案 (試案)



*H. pylori* を保菌する ITP 患者に対する除菌療法を優先し、除菌無効例および *H. pylori* 陰性例に対して従来の副腎皮質ステロイド療法、摘脾を行う。

ITP 11 例に除菌療法を行い、除菌に成功した 8 例全例で血小板数が増えたことを報告した<sup>15)</sup>。この報告は追試され、我が国では *H. pylori* 陽性 ITP 患者の約半数で除菌により血小板数が増加することが確認された<sup>16)</sup>。反応例の多くは長期に渡って寛解が維持される。本療法が ITP に効く機序は明らかでないが、*H. pylori* の菌体成分と血小板膜抗原の交差反応などが想定されている。*H. pylori* 陽性例に対する除菌療法の有効率と安全性の高さは副腎皮質ステロイドや摘脾に比べて遜色なく、画期的な治療法である。そのため、従来の治療指針を変更し、ITP と診断されればまず *H. pylori* の検査を行い、保菌例では副腎皮質ステロイドの前に除菌療法を行うこと、さらに *H. pylori* 保菌例に対しては血小板数や出血症状にかかわらず除菌療法を行うことが提案されている (図 4)。

## 2. 分子標的療法

難治性 ITP に対する治療として、抗血小板抗体産生にかかわる免

疫担当細胞を標的とした分子標的療法が注目されている。例えば、元来B細胞系悪性リンパ腫に対する治療薬として開発された CD20 を標的としたキメラ型モノクローナル抗体 rituximab の有効性が報告されている。CD20 は前駆細胞から成熟B細胞までB細胞系統に幅広く発現する膜表面分子であり、rituximab が結合したB細胞は生体内で貪食細胞により除去される。効果発現機序として抗血小板抗体産生B細胞の除去や免疫グロブリン大量療法と同様の網内系機能抑制が考えられている。rituximab を投与された ITP 症例の約半数で血小板数が増加し、そのうち半数で長期に渡る寛解が得られる<sup>17)</sup>。

一方、活性化T細胞に一過性に発現される副刺激分子 CD40 リガンドを標的としたヒト化モノクローナル抗体の ITP に対する効果も報告されている。抗 CD40 リガンド抗体は CD40 リガンドと CD40 の結合を選択的に抑制し、B細胞分化・増殖やT細胞プライミングなど獲得免疫応答に重要なシグナル伝達を遮断する。ITP 患者末梢血T細胞を用いた *in vitro* の実験系で、抗 CD40 リガンド抗体によりT細胞ヘルパー活性阻害と IL-10 高発現の調節性T細胞の誘導を介した免疫抑制の少なくとも2つの異なる機序により *in vitro* での抗 GPIIb/IIIa 抗体産生が抑制されることが示された<sup>18)</sup>。また、難治性 ITP 患者を対象としたヒト化抗 CD40 リガンド抗体の単回投与により、GPIIb/IIIa に対するT細胞、B細胞の抑制とともに一過性の血小板数の増加が報告された<sup>19)</sup>。ただし、抗 CD40 リガンド抗体療法と血栓症の関連が疑われ、現在臨床試験が一時中断されている。

#### おわりに

最近の ITP の病態、診断、治療におけるトピックスを概説した。これら集積された研究成果をもとに、ITP の病因解明、さらには有効な治療法の確立が期待される。

#### 文 献

- 1) Cines DB, et al: Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 346 (13): 995-1008, 2002.
- 2) Kuwana M, et al: Spleen is a primary site for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura.

- J Immunol 168 (7): 3675-3682, 2002.
- 3) Olsson B, et al: T-cell-mediated cytotoxicity toward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nat Med* 9 (9): 1123-1124, 2003.
  - 4) McMillan R, et al: A non-thrombocytopenic bleeding disorder due to an IgG4- $\kappa$  anti-GPIIb/IIIa autoantibody. *Br J Haematol* 95 (4): 747-749, 1996.
  - 5) McMillan R, et al: Suppression of in vitro megakaryocyte production by antiplatelet autoantibodies from adult chronic ITP patients. *Blood* 103 (4): 1364-1369, 2004.
  - 6) Semple J W, et al: Increased antiplatelet T helper lymphocyte reactivity in patients with autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 78 (10): 2619-2625, 1991.
  - 7) Kuwana M, et al: Autoreactive T cells to platelet GPIIb-IIIa in immune thrombocytopenic purpura. Role in production of anti-platelet autoantibody. *J Clin Invest* 102 (7): 1393-1402, 1998.
  - 8) Kuwana M, et al: Immunodominant epitopes on glycoprotein IIb-IIIa recognized by autoreactive T cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 98 (1): 130-139, 2001.
  - 9) Kuwana M, et al: The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of ITP. *Int J Hematol* 81 (2): 106-112, 2005.
  - 10) George J N, et al: Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 88 (1): 3-40, 1996.
  - 11) Kuwana M, et al: Initial laboratory findings useful for predicting the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med.* (In press)
  - 12) Kiefel V, et al: Monoclonal antibody—specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): A new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* 70 (6): 1722-1726, 1987.
  - 13) Kuwana M, et al: Detection of circulating B cells secreting platelet-specific autoantibody is useful in the diagnosis of autoimmune thrombocytopenia. *Am J Med* 114 (4): 322-325, 2003.
  - 14) Kurata Y, et al: Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycolocalicin, and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 115 (5): 656-664, 2001.
  - 15) Gasbarrini A, et al: Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 352 (9131): 878, 1998.
  - 16) Fujimura K, et al: Is eradication therapy useful as the first line of treatment in *Helicobacter pylori*-positive idiopathic thrombocytopenic purpura? Analysis of 207 eradicated chronic ITP cases in Japan. *Int J Haematol* 81 (2): 162-168, 2005.
  - 17) Cooper N, et al: The efficacy and safety of B-cell depletion with anti-CD20 monoclonal antibody in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 125 (2): 232-239, 2004.

- 18) Kuwana M, et al: Suppression of autoreactive T-cell response to glycoprotein IIb/IIIa by blockade of CD40/CD154 interaction: implications for treatment of immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 101 (2): 621–623, 2003.
- 19) Kuwana M, et al: 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 (4): 1229–1236, 2004.

---

### Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

Masataka Kuwana<sup>1</sup>, Yasuo Ikeda<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Advanced Medical Research, Keio University School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine



## Helicobacter pylori 感染と ITP の関連を解析する —抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞より—

// 桑名正隆\* //

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は GP II b/III a など血小板膜糖蛋白に対する自己抗体により誘導される血小板減少症である。抗血小板抗体が結合した血小板が網内系で Fc $\gamma$  受容体を介してマクロファージなどに捕捉され、貪食・破壊されることが主たる病態である。Helicobacter pylori (H. pylori) 除菌後に血小板数が増加した ITP 症例では末梢血中の抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞が減少する。ただし、除菌療法後の血小板増加は抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞の減少に先行する場合が多い。したがって、除菌療法の効果発現はおもに抗血小板抗体産生の抑制によると考えられるが、除菌直後には、より発現が早いほかの機序もはたらく可能性が高い。

### はじめに

特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura : ITP) は、薬剤などの原因や基礎疾患が明らかでないにもかかわらず血小板の破壊が亢進し、血小板減少をきたす後天性疾患である<sup>1)</sup>。主体となる血小板破壊の機序は血小板に対する自己抗体を介した免疫反応によることから、自己免疫疾患として把握されることが多い。ITP 患者では頭蓋内出血などの重篤な出血によ

る死亡はまれだが、副腎皮質ステロイド、摘脾の標準的治療法に反応しない難治例は予後が悪い。

最近、ITP 患者における Helicobacter pylori (H. pylori) 除菌療法の有効性が明らかとなり、従来の治療指針の変更が検討されている<sup>2)</sup>。そこで、本稿では ITP の自己免疫病態について概説し、H. pylori 除菌が血小板に対する自己免疫応答にあたえる効果について筆者らのデータをもとに解説する。

### 1. ITP の病態

本症の母親から生まれた児が一過性の血小板減少を伴うことから、何らかの液性因子が血小板減少に関与することが古くから推測されていた。1951年に、Harringtonら<sup>3)</sup>は ITP 患者血漿の輸注により健常人で一過性の血小

word	抗血小板抗体	word
	自己反応性 T 細胞	
	ELISPOT 法	
word	自己抗体	word

\* KUWANA Masataka/慶應義塾大学医学部先端医科学研究所

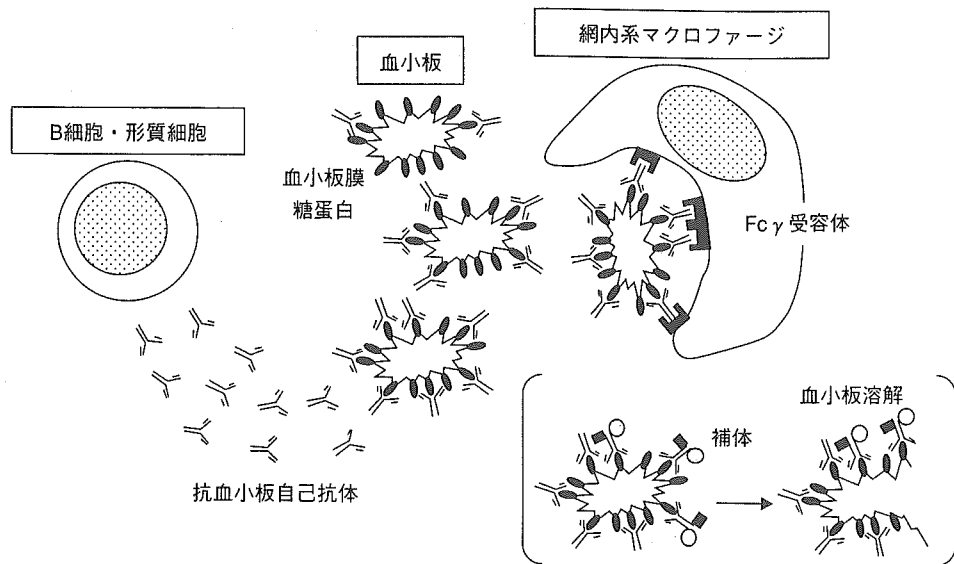


図 1. ITP における血小板破壊の機序

(筆者作成)

血小板減少が誘導されることを示し、血小板減少の原因物質が血漿中に存在することを証明した。その後、血漿中の病原因子はガンマグロブリン分画に存在することが示され、さらに正常血小板によりその活性が吸収されることから血小板に対する自己抗体の存在が明らかにされた<sup>4)</sup>。ITP における血小板破壊の機序は、血小板に対する自己抗体が結合してオプソニン化された血小板が網内系で Fc $\gamma$  受容体を介してマクロファージなどの貪食細胞に捕捉され、貪食・破壊される病態である<sup>1)</sup>(図 1)。IgM 型あるいは大量の IgG 型抗血小板抗体が血小板に結合すれば補体活性化を介して血小板の血管内破壊が起こる可能性もあるが、病態におけるその重要度は低い。多くの ITP 患者で脾臓がおもな血小板破壊場所であるとともに血小板抗体産生部位であり<sup>5)</sup>、その摘出が ITP に対して有効率の高い治療であることが実証されている。

抗血小板抗体の標的抗原として GP IIb/IIIa, GP I b/IX, GP I a/II a など各種血小板膜糖蛋白が同定されている<sup>6)</sup>(表 1)。とくに抗 GP IIb/IIIa 抗体の頻度が高く、高感度な検出法を用いると 90%以上で陽性となる。これら対応抗原はいずれも血小板凝集にかかわるリガンドの受容体のため、自己抗体による血小板機能障害も出血を助長する<sup>7)</sup>。また、抗血小板抗体の対応抗原は血小板のみ

ならず骨髓巨核球にも発現することから、これら自己抗体は巨核球の成熟障害や細胞傷害を誘導し、血小板産生も抑制する<sup>8)</sup>。抗血小板抗体の産生は GP IIb/IIIa など血小板膜蛋白を特異的に認識する CD4<sup>+</sup>T 細胞の活性化に依存する<sup>9)</sup>。

一方、ITP 患者における血小板破壊機序に関して古くから細胞傷害性 T 細胞の関与が想定されてきた。最近、ITP 患者末梢血 T 細胞で細胞傷害性 T 細胞に高発現されるパーフォリンやグランザイムの遺伝子発現亢進が報告され、細胞傷害性 T 細胞の活性化が示された<sup>10)</sup>。ただし、この細胞傷害活性が GP IIb/IIIa などの血小板特異抗原の認識を介した反応か、あるいは非特異的な傷害活性によるかは明らかでない。

## 2. 抗血小板抗体の検出法

ITP では、その病態から抗血小板抗体の存在が疾患を特徴づける標識となり、その検出は診断や疾患活動性評価に有用である。ただし、臨床検査としてその標準的な検出法がまだ確立していない。抗血小板抗体の検出を目的として従来は血小板結合性 IgG (PAIgG) が測定されてきた。PAIgG は血小板に結合している IgG 成分のことで、競合固相酵素抗体法あるいはフローサイトメトリー

表 1. 抗血小板抗体の標的となる血小板膜糖蛋白分子

標的分子	ほかの呼称	分子量 (kDa)	リガンド	ITP での陽性頻度*	関連する特殊病態
GP II b/III a	$\alpha_{IIb}\beta_3$ CD41/CD61	145/110	フィブリノーゲン、 フィブロンекチン、CD154	30~93%	
GP I b/IX	CD42abc	170/17	vWF、トロンビン	20~80%	
GP I a/II a	$\alpha_2\beta_1$ CD49b/CD29	160/138	コラーゲン	10~28%	バルプロ酸誘発性血小板減少症
GP IV	CD36	88	コラーゲン、トロンボスポンジン	10~38%	
GP V	CD42d	82	GP I b/IX と結合して存在	<10%	水痘後急性 ITP 金製剤誘発性血小板減少症

\*：陽性頻度は検出法、報告により大きく異なる。

(筆者作成)

により半定量的に検出する。ITP における検出感度は約 90% と高いが、血小板減少をきたすほかの疾患でも上昇する例が多く、特異性は低い<sup>11)</sup>。PAIgG には GP II b/III a など血小板膜蛋白に対する自己抗体も含まれるが、非特異的に血小板に結合している IgG 成分も同時に検出されるため、非免疫性の血小板減少症でも高値を呈する。このことは、血清免疫グロブリン濃度と PAIgG が相関すること、疾患を問わず血小板数と PAIgG が逆相関することからも明らかである。そのため、米国のガイドラインでは、PAIgG の測定は ITP 診断に不要かつ不適切とされている<sup>12)</sup>。

そこで、血小板に対する自己抗体に選択性の高い手法として GP II b/III a など血小板膜糖蛋白に対する自己抗体の選択的な検出法が数多く考案されてきた<sup>13)~15)</sup>。とくにモノクローナル抗体を用いた antigen-capture assay が広くおこなわれ、代表的な monoclonal antibody immobilization of platelet antigens (MAIPA) では被検血小板を溶解して得られた血小板膜抗原とそれに対する自己抗体の複合体を固相化した血小板膜抗原に対するモノクローナル抗体により捕捉する<sup>13)</sup>。この検出法は特異性が高く偽陽性は少ないが、ITP における検出感度は 30~60% と高くない<sup>16)</sup>。その理由として、モノクローナル抗体と自己抗体が同一もしくは近傍のエピトープを認識する場合に結合部位を競合することがあげられている。PAIgG と antigen-capture assay の ITP 診断における有用性を調べた報告では、PAIgG は感度 78%、特異度 19%であったのに対して、抗 GP II b/III a 抗体を検出する MAIPA は感度

39%、特異度 91%であった<sup>17)</sup>。同時に抗 GP I b/IX 抗体も測定すると、いずれかが陽性の場合の感度は 66%まで上昇し、複数の血小板膜蛋白に対する抗体を同時に測定することで検出感度を改善できることが示された。ただし、用いるモノクローナル抗体や検出法の違いにより検査結果にばらつきがあり<sup>16)</sup>、この手法を普及させるためには標準化が必要である。現時点で antigen-capture assay は研究室レベルでしかおこなわれておらず、ルーチンに測定できない。本法の普及を妨げているおもな理由は、使用可能と報告されているモノクローナル抗体のほとんどが市販されていないこと、血小板の分離、溶解など操作が煩雑なことである。今後、本検出法が臨床に導入されるためには汎用性のあるキットの開発が必須である。

ITP における抗血小板抗体はおもに流血中で血小板に結合した形で存在し、抗原に結合していないフリーの状態のものは少ない。血清中に GP II b/III a に対する抗体が検出される場合があるが、これらは細胞内ドメインを認識するなど膜表面上の native な分子に対して反応性を有さないことが多い<sup>18)</sup>。したがって、血清や血漿を検体として用いた検出法では病態と関連する抗血小板抗体の検出はできず、抗血小板抗体の検出には血小板を試料として用いる必要がある。そのため、検査法の操作を煩雑にし、普及を妨げる大きな原因となっている。この点を解消するため、われわれは enzyme-linked immunospot (ELISPOT) 法の原理を用いて抗血小板抗体を産生する B 細胞を検出するアッセイ法を考案した<sup>19)</sup>。図 2 に抗

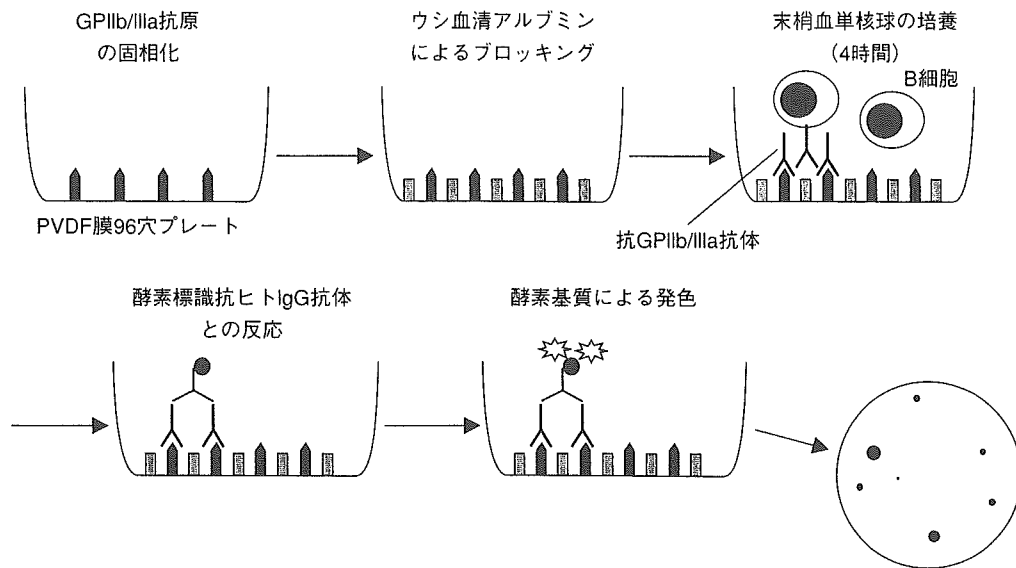


図 2. 抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞を検出する ELISPOT 法の原理

(筆者作成)

GP II b/III a 抗体産生 B 細胞を検出する ELISPOT 法の原理を示す。PVDF 膜 96 穴プレート上に精製 GP II b/III a 抗原を固相化し、非結合部位をウシ血清アルブミンでブロックする。さらに、患者末梢血から分離した単核球を膜上で 4 時間培養する。その間に B 細胞から分泌された抗 GP II b/III a 抗体は固相化 GP II b/III a と結合する。細胞を除去したあとで酵素標識抗ヒト IgG 抗体、つづいて酵素基質を加えると、抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞が存在した部位が膜上にスポットとして検出される。ITP と非免疫性血小板減少症（骨髄異形成症候群、再生不良性貧血、血栓性血小板減少性紫斑病、播種性血管内凝固症）で末梢血中の抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞頻度を調べたところ、抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞頻度増加の ITP における感度は 91%、特異度は 94%であった<sup>19)</sup>。この結果は、同時に測定した血小板関連抗 GP II b/III a 抗体と特異性は同等だが、感度は PAIgG に匹敵していた。すでに、GP II b/III a 抗体産生 B 細胞の測定を検出キットが開発され、近日中に検査センターでの測定が可能となる予定である。

### 3. *H. pylori* 除菌療法後の抗血小板抗体の推移

ITP 患者で *H. pylori* 除菌療法後に血小板が増加した

というイタリアの Gasbarrini ら<sup>20)</sup>による報告をきっかけにして、ITP と *H. pylori* との関連が注目された。この成績は世界各地で追試され、とくに日本とイタリアでは *H. pylori* を保菌する ITP 患者の半数程度で除菌療法後に血小板が増加することが確認された<sup>21)</sup>。詳細は他項に譲るが、*H. pylori* 除菌療法は副腎皮質ステロイドにくらべて寛解導入率は高く、副作用もはるかに少ないため、*H. pylori* 陽性例では除菌療法を第一選択とする新しい治療指針が提案されている<sup>2)</sup>。

ITP 患者のなかに *H. pylori* 除菌療法が有効な一群が存在することは明白だが、ITP の病態に *H. pylori* がかわる機序についてはいまだ明らかでない。この点を明らかにするためには、まず *H. pylori* 除菌療法が ITP 患者で血小板数を増やす効果が本当に *H. pylori* を除菌した結果によるかを確認する必要がある。抗生物質 2 剤を 1 週間服用すれば *H. pylori* 以外の細菌も除菌され、それらのなかに ITP と関連する真の病原体が含まれる可能性も否定できない。また、抗生物質投与により正常細菌叢も大きく変化し、とくにリンパ組織である腸管細菌叢の変化は免疫応答に影響を及ぼす可能性も考えられる。さらに、除菌に用いるクラリスロマイシンやプロトンポンプ阻害薬 (proton pump inhibitor : PPI) には免疫調節作用が

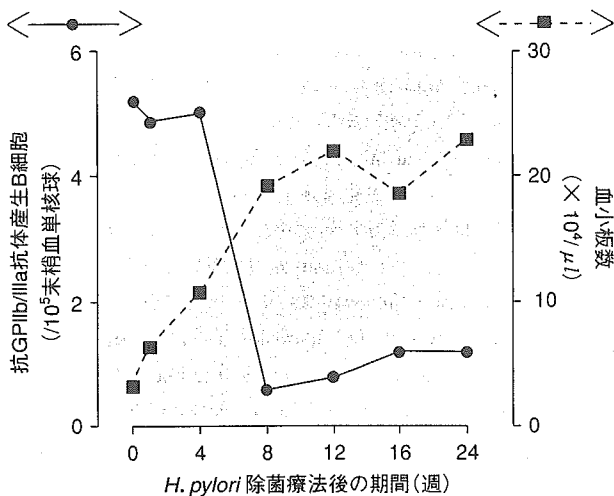


図 3. ITP 症例における *H. pylori* 除菌後の血小板数と抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞の推移

(筆者作成)

報告され、実際に ITP 患者への単剤投与で血小板増加が報告されている。したがって、現時点でこれらの機序による効果を排除できない。そこで、私たちは *H. pylori* 感染の有無にかかわらず ITP 患者にアンピシリン、クラリスロマイシン、ランソプラゾールによる標準的除菌療法をおこない、その効果を調べる前向き調査をおこなった。26 例の *H. pylori* 陽性患者を含む 37 例に除菌療法をおこない、*H. pylori* 陽性の全例で除菌に成功した。血小板増加は *H. pylori* 陽性の 56% にみられたが、陰性 11 例全例で血小板増加はみられなかった。すなわち、血小板増加は *H. pylori* 陽性患者のみに観察され、*H. pylori* 除菌療法による血小板増加効果は *H. pylori* そのものの除菌によることが確認された。したがって、除菌失敗例や PPI 阻害薬のみの投与例でみられる血小板増加は *H. pylori* 菌数の減少を反映した現象と考えられる。

ITP の治療に用いられる副腎皮質ステロイド療法や摘脾後には末梢血中の抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞が減少する<sup>5)</sup>。図 3 にわれわれの施設で経験した *H. pylori* 除菌が有効であった症例の血小板数と GP II b/III a に対する抗血小板抗体を産生する B 細胞の推移を示す。除菌療法開始後 1 週の時点ですでに血小板は増加し、その後は徐々に増えて 8 週の時点で正常域に達している。一方、抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞は 4 週までは大きな変化

はないが、4~8 週のあいだに急激に減少している。すなわち、*H. pylori* 除菌後に抗 GP II b/III a 抗体産生が抑制されることが示された。ただし、血小板数の増加は抗血小板抗体産生の抑制に先行し、この二つの現象には時間的な解離が存在する。症例によって効果発現の経過にばらつきはあるが、われわれの施設で経時的な検討をしえた半数以上の症例で血小板増加が抗 GP II b/III a 抗体産生 B 細胞の減少に先行した。そこで、私たちは ITP 患者において *H. pylori* 除菌が血小板を増やす効果は、少なくとも二つ以上の段階を経ると考えている。初期には抗血小板抗体産生抑制を介さない機序（たとえば網内系機能抑制など）がはたらき、遅れて血小板に対する自己免疫応答が抑制される可能性が高い。最近、抗血小板抗体が *H. pylori* の構成蛋白 CagA と交差反応し、除菌後に交差反応を示す抗体が消失することが報告された<sup>22)</sup>。ただし、多くの例で血小板増加は除菌療法開始 1~2 週間後に観察されるが、この時点で CagA に対する抗体価の顕著な減少はみられない。そのため、この交差反応のみで *H. pylori* 除菌療法の効果発現機序を説明することは困難と思われる。

## おわりに

*H. pylori* 除菌療法は ITP 治療におけるブレイクスルーであった。今後の課題は *H. pylori* 除菌療法が血小板数を増やす機序の解明である。この課題が解決されれば、そのメカニズム利用した *H. pylori* 陰性例や除菌療法無効例に対する新たな ITP の治療法の開発につながることを期待される。



## 文献

- 1) Cines DB, Blanchette VS: Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 346: 995-1008, 2002
- 2) Fujimura K, Kuwana M, Kurata Y *et al*: Is eradication therapy useful as the first line of treatment in *Helicobacter pylori*-positive idiopathic thrombocytopenic purpura? Analysis of 207 eradicated chronic ITP cases in Japan. *Int J Haematol* 81: 162-168, 2005
- 3) Harrington W, Minnich V, Hollingsworth JW *et al*: Demon-

- stration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med* **38** : 1-10, 1951
- 4) Karpatkin S, Siskind GW : *In vitro* detection of platelet antibody in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and systemic lupus erythematosus. *Blood* **33** : 795-812, 1969
  - 5) Kuwana M, Okazaki Y, Kaburaki J *et al* : Spleen is a primary site for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *J Immunol* **168** : 3675-3682, 2002
  - 6) McMillan R : Autoantibodies and autoantigens in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* **37** : 239-248, 2000
  - 7) McMillan R, Bowditch RD, Tani P *et al* : A non-thrombocytopenic bleeding disorder due to an IgG4- $\kappa$  anti-GP II b/IIIa autoantibody. *Br J Haematol* **95** : 747-749, 1996
  - 8) Chang M, Nakagawa PA, Williams SA *et al* : Immune thrombocytopenic purpura (ITP) plasma and purified ITP monoclonal antibodies inhibit megakaryocytopoiesis *in vitro*. *Blood* **102** : 887-895, 2003
  - 9) Kuwana M, Ikeda Y : The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of ITP. *Int J Hematol* **81** : 106-112, 2005
  - 10) Olsson B, Andersson PO, Jernas M *et al* : T-cell-mediated cytotoxicity toward platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nat Med* **9** : 1123-1124, 2003
  - 11) Chong BH, Keng TB : Advances in the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* **37** : 249-260, 2000
  - 12) George JN, Woolf SH, Raskob GE *et al* : Idiopathic thrombocytopenic purpura : A practical guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* **88** : 3-40, 1996
  - 13) Keifel V, Santoso S, Weisheit M *et al* : Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA) : A new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* **70** : 1722-1726, 1987
  - 14) McMillan R, Tani P, Millard F *et al* : Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. *Blood* **70** : 1040-1045, 1987
  - 15) Hürlmann-Forster M, Steiner B, von Felten A *et al* : Quantitation of platelet-specific autoantibodies in platelet eluates of ITP patients measured by a novel ELISA using purified glycoprotein complexes GP II b/IIIa and GPIb/IX as antigens. *Br J Haematol* **98** : 328-335, 1997
  - 16) Berchtold P, Müller D, Beardsley D *et al* : International study to compare antigen-specific methods used for the measurement of antiplatelet autoantibodies. *Br J Haematol* **96** : 477-483, 1997
  - 17) Warner MN, Moore JC, Warkentin TE *et al* : A prospective study of protein-specific assays used to investigate idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* **104** : 442-447, 1999
  - 18) Fujisawa K, O'Toole TE, Tani P *et al* : Autoantibodies to the presumptive cytoplasmic domain of platelet glycoprotein IIIa in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Blood* **77** : 2207-2213, 1991
  - 19) Kuwana M, Okazaki Y, Kaburaki J *et al* : Detection of circulating B cells secreting platelet-specific autoantibody is a sensitive and specific test for the diagnosis of autoimmune thrombocytopenia. *Am J Med* **114** : 322-325, 2003
  - 20) Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R *et al* : Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* **352** : 878, 1998
  - 21) Franchini M, Veneri D : *Helicobacter pylori* infection and immune thrombocytopenic purpura : an update. *Helicobacter* **9** : 342-346, 2004
  - 22) Takahashi T, Yujiri T, Shinohara K *et al* : Molecular mimicry by *Helicobacter pylori* CagA protein may be involved in the pathogenesis of *H. pylori*-associated chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* **124** : 91-96, 2004

## ITP と *Helicobacter pylori* 感染

桑名 正隆<sup>1)</sup> 朝日 厚子<sup>1)</sup> 池田 康夫<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 慶應義塾大学医学部先端医科学研究所, <sup>2)</sup> 同 内科

### 要 旨

ITPはGPIIb/IIIaなど血小板膜糖蛋白に対する自己抗体により誘導される血小板減少症である。最近、ITPと*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)感染との関連が注目されている。我が国の調査では*H. pylori*陽性ITP患者の半数以上で抗生剤2種類とプロトンポンプ阻害薬による*H. pylori*除菌療法後に血小板数が増加することが確認された。*H. pylori*陰性例に対して除菌療法と同じ薬物療法を行っても効果がないことから、血小板増加効果は*H. pylori*が除菌されたことによる。ただし、*H. pylori*がどのようにITPの病態に影響を与えるかは現時点で明らかでない。*H. pylori*除菌後には末梢血中の抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞が減少し、24週後には多くの症例で陰性化した。ただし、除菌療法後の血小板増加は抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞の減少に先行する場合が多く、除菌療法の効果発現は抗血小板抗体産生の抑制だけでなく、発現が早い他の機序も関与する可能性が高い。*H. pylori*除菌療法は従来用いられてきた副腎皮質ステロイドに比べて寛解導入率は高く、副作用もはるかに少ないことから、*H. pylori*陽性ITPでは除菌療法を第一選択とする新しい治療指針が提案されている。

### はじめに

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は、薬剤などの原因や基礎疾患が明らかでないにもかかわらず血小板の破壊が亢進し、血小板減少をきたす後天性疾患である<sup>1)</sup>。主体となる血小板破壊の機序は血小板に対する自己抗体を介した免疫反応によることから、自己免疫疾患として把握されることが多い。ITPの治療には従来から副腎皮質ステロイド、摘脾が行われ、これら標準的治療法に反応

しない難治例では男性ホルモン製剤や免疫抑制薬などが用いられてきた。ITP患者では頭蓋内出血などの重篤な出血による死亡はまれだが、難治例では治療に関連した副作用の影響も加わり決して予後はよくない<sup>2)</sup>。最近、ITP患者における*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)除菌療法の有効性が明らかとなり、従来の治療指針に大きな変革をもたらした。そこで、本稿ではITP治療における*H. pylori*除菌療法の位置づけと*H. pylori*がITPの病態に与える影響について概説する。

### *H. pylori*と関連する疾患および病態

*H. pylori*はらせん型の小桿菌で、1983年にオーストラリアのWarrenとMarshallにより胃内に生息する細菌として発見された。*H. pylori*は強力なウレアーゼを産生することで胃酸を中和し、長期に渡って胃粘膜に持続感染することができる

Kuwana Masataka

(〒160-8582 東京都新宿区信濃町35番地)

アドレス: kuwanam@sc.itc.keio.ac.jp

キーワード: 特発性血小板減少性紫斑病, ヘリコバクター・ピロリ, 自己抗体, 除菌, 抗GPIIb/IIIa抗体

特異な細菌である。感染経路はいまだ確定されていないが、乳幼児期に経口感染するルートが有力である。*H. pylori*の感染率は先進国で低く、年齢と共に上昇する<sup>3)</sup>。フランスやイギリスでは10歳台までの感染率は5%未満で、50歳以降も40%程度にとどまるのに対し、中国やインドでは20歳までに90%以上に達する。我が国での感染率は、若年者では緩徐に増加して30歳台で30%程度だが、40歳台以降に急上昇して70%を越える<sup>4)</sup>。昭和40年頃の上下水道の急速な普及時期の前あるいは後に乳幼児期を過ごしたかにより感染率が大きく異なることから、乳幼児期の衛生状況が*H. pylori*感染にかかわる大きな要因と考えられている。

*H. pylori*の感染は胃粘膜局所の慢性炎症を引き起こし、慢性萎縮性胃炎、腸上皮化生、さらには胃癌発生と関与する。さらに、*H. pylori*が持続感染する胃粘膜にストレス、血行障害など他の要因が加わると胃、十二指腸潰瘍を容易に発症する。また、*H. pylori*は悪性リンパ腫の病型のひとつmucosa-associated lymphoid tissue (MALT)リンパ腫の胃原発病変の病因としても注目されている。*H. pylori*の除菌のみで胃MALTリンパ腫の約70%は退縮、消失する<sup>5)</sup>。*H. pylori*感染は胃粘膜局所に強い免疫反応を惹起し、種々の炎症性サイトカインの産生や免疫担当細胞の活性化を介して胃粘膜障害を引き起こす。さらに、*H. pylori*は空胞化サイトトキシンVacAや宿主細胞に挿入されると細胞形態変化や増殖を惹起する病原因子CagAなどを介して、組織障害や発癌を誘導する<sup>6)</sup>。日本ヘリコバクター学会によるガイドラインでは、*H. pylori*除菌が勧められる疾患群(Aグループ)として胃・十二指腸潰瘍と胃MALTリンパ腫が挙げられている<sup>7)</sup>。また、早期胃癌に対する内視鏡的粘膜切除術後と慢性萎縮性胃炎も*H. pylori*除菌が望ましい疾患(Bグループ)とされている。

一方、*H. pylori*は胃、十二指腸の病変のみならず、消化管以外の疾患との関連も報告されている。原因不明の慢性蕁麻疹患者では*H. pylori*除菌により臨床症状が改善することが報告されたが、その後の追試では再現性が得られていない<sup>8)</sup>。

*H. pylori*と虚血性心疾患などの動脈硬化との関連も示されており、その根拠のひとつは重度の動脈硬化病変を有する患者で*H. pylori*に対する抗体価が高いことである。実際に、冠動脈のプラーク中に*H. pylori*のゲノムが検出されたとする報告もある。また、von Willebrand factorに結合した*H. pylori*が循環血中の抗*H. pylori*抗体との結合を介して血小板の活性化を惹起することが動脈硬化を進行させるメカニズムとして報告されている<sup>9)</sup>。さらに、シェーグレン症候群、ベーチェット病、アレルギー性紫斑病などの炎症性疾患との関連が報告されているが、いずれも単独の報告しかなく、その結果は再現されていない。これらの消化管外症状と*H. pylori*との関連に関する信頼性の高いエビデンスはほとんどないのが現状である。

#### ITPと*H. pylori*除菌療法

消化管以外の疾患で*H. pylori*との強い関連が認められる唯一の疾患がITPである。その関連が注目されたきっかけは、イタリアのGasbarriniらによる*H. pylori*を保菌するITP患者で除菌療法後に血小板が増加したという短報である<sup>10)</sup>。この成績は世界中の施設で追試され、日本とイタリアからの複数の報告では、*H. pylori*を保菌するITP患者の半数程度で除菌療法後に血小板が増加することが確認された<sup>11)~15)</sup>。一方、スペインや米国からの報告では有効率は10%にも満たず、retrospectiveな調査におけるこの程度の効果からは有効とはいえないと結論づけられている<sup>16)17)</sup>。そこで、平成15年度に我が国の厚生労働省研究班がITP患者における*H. pylori*感染状況に関するアンケート調査を行った<sup>18)</sup>。その結果、ITP患者435例中300例(69%)が*H. pylori*陽性で、陽性率は年齢と共に上昇し、我が国の一般人口における年齢毎の陽性率と差はなかった。この知見は*H. pylori*感染がITPの直接的な原因ではないことを示唆する。*H. pylori*陽性ITP患者の中で除菌療法を受け、後に除菌が確認された163例のうち103例(63%)で血小板数の増加がみられた。また、除菌が不成功に終わった症例の33%でも血小板数の増加が認められている。18%で副作



用がみられ、通常の消化性潰瘍に対する除菌療法と同様に下痢、軟便、胃不快感などの胃腸障害が最も多かった。一過性の血小板減少により出血症状が悪化した症例が1例みられたが、その他に重篤な副作用は報告されていない。*H. pylori* 除菌療法の有効性を予測する背景因子を検索したところ、罹病期間が短い症例ほど有効率が高かったが、血小板数や摘脾の有無などの治療歴との相関はみられなかった。注目すべき点は、副腎皮質ステロイド、摘脾に反応せず、その他の免疫抑制薬などの治療でも安全な血小板数を維持できなかった難治例の中にも有効例がみられたことである。ただし、従来の報告では*H. pylori*の検索方法、除菌療法の使用薬剤や期間、血小板数増加の効果判定が統一されておらず、個々の報告間の比較は慎重に行わなければならない。*H. pylori* 検出法としては生検組織を用いた鏡検・培養、尿素呼気試験、抗*H. pylori*抗体、便中*H. pylori*抗原、迅速ウレアーゼ試験などがある。感度と特異性の高さ、簡便さから<sup>13</sup>C-尿素を用いた呼気試験が広く用いられているが、それでも偽陰性の結果が得られる場合がある。

このように、プロトンポンプ阻害薬と2種類の抗菌薬（通常はアモキシシリンとクラリスロマイシン）を1週間服用するだけの除菌療法のITPにおける有効性は特筆に値する。また、最近では除菌後3年を越えて経過観察できた症例が増えており、有効例における血小板増加効果は長期に渡って持続することが明らかになりつつある。*H. pylori* 除菌療法は従来用いられてきた副腎皮質ステロイドに比べて寛解導入率は高く、副作用もはるかに少ない。そのため、*H. pylori*陽性例では除菌療法を第一選択とする新しい治療指針が提案されている（図1）<sup>10)</sup>。すなわち、ITPと診断されれば全例でまず*H. pylori*の検索を行い、陽性であれば血小板数や出血症状と関係なく*H. pylori*除菌療法を行う。除菌に成功したにもかかわらず血小板が増加しない無効例は、*H. pylori*陰性例とともに従来の治療指針に従って治療の適応を判断し、治療を必要とする場合は副腎皮質ステロイド療法を開始する。この指針に従って*H. pylori*除菌療法を最初に行うことにより、副腎皮質ステロイド

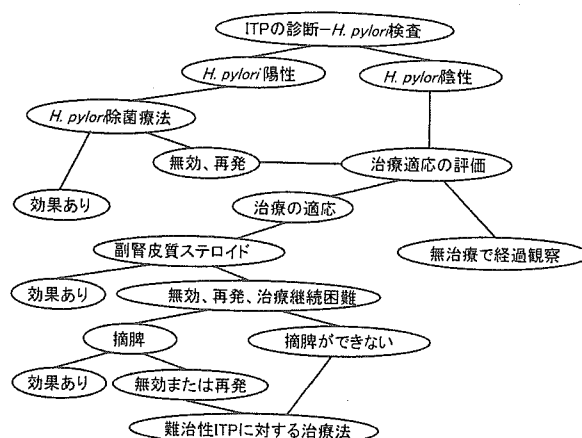


図1. ITPの新しい治療指針案（試案）

*H. pylori*を保菌するITP患者に対する除菌療法を優先し、除菌無効例および*H. pylori*陰性例に対して従来の副腎皮質ステロイド療法、摘脾を行う。

以下の従来の治療法を受ける患者数は確実に減ると考えられる。その結果、従来の治療に伴う副作用の軽減、医療費の削減に貢献することが予想される。ただし、*H. pylori*除菌後には逆流性食道炎などの胃食道逆流症や肥満（体重増加）などの問題点が指摘されており、適切な患者指導を行い、除菌後には血小板数以外の症状を含めた注意深い経過観察が必要である。また、近年クラリスロマイシン耐性の*H. pylori*が増加傾向にあり、再除菌を含めた適正な除菌方法についても消化器内科専門医にコンサルトの上で適切に判断すべきである。現在、厚生労働省研究班、関連学会を通じてITPに対する*H. pylori*除菌療法の保険収載を働きかけており、早期の承認が待たれる。

ITP患者に対する*H. pylori*除菌療法については、その作用機序だけでなく、不明な点が多く存在する。民族間の効果の差もそのひとつである。これまで*H. pylori*除菌療法の奏効率が高いことが知られているのは日本とイタリアである。ヨーロッパでもスペイン、フランス、イギリスでの有効率はイタリアに比べてはるかに低い。日本とイタリアはいずれも先進国の中で*H. pylori*保菌率が高い点は共通しているが、遺伝背景や*H. pylori*菌株は大きく異なる。今度、開発途上国を含めた多くの国でのデータが蓄積され、宿主側の遺伝・環境要因、*H. pylori*の遺伝子型などを比較する

ことで、この点について回答が得られることが期待される。また、ITPと同様の自己抗体を介した機序で血小板減少をきたす他の疾患、例えば全身性エリテマトーデスなど膠原病では*H. pylori*の除菌により血小板数が増加することはきわめてまれである。その理由も現時点で明らかでない。

#### *H. pylori*の除菌が血小板数を増やす

ITP患者の中に*H. pylori*除菌療法が有効な一群が存在することは明白だが、ITPの病態に*H. pylori*がどのように関わっているかは明らかでない。除菌失敗例でも血小板数の増加がみられる場合があり、それは*H. pylori*菌数の減少を反映した現象と解釈されている。また、除菌療法後の寛解期に*H. pylori*の再感染によりITPが再発した症例も報告されている。このような臨床観察から、*H. pylori*感染そのものがITPの病因と考え、*H. pylori*陽性ITPを*H. pylori*関連ITP (*H. pylori*-associated ITP)とよぶ研究者もいる<sup>20)</sup>。ただし、上述した通り*H. pylori*の感染頻度はITP患者と一般人口で差はなく、ITPそのものの有病率から考えても*H. pylori*感染そのものが直接ITPの発症を誘発するとは考えづらい。したがって、*H. pylori*は多因子疾患であるITPの病態を促進する主要な要因の一つと考えるのが妥当と思われる。

ITP患者の多くで*H. pylori*除菌療法後に血小板数が増えることは事実だが、その効果が本当に*H. pylori*を除菌した結果によるかを確認する必要がある。抗生物質2剤を1週間服用すれば*H. pylori*以外の細菌も除菌され、それらの中にITPと関連する真の病原体が含まれる可能性も否定できない。また、抗生物質投与により正常細菌叢も大きく変化し、特にリンパ組織である腸管の細菌叢の変化は免疫応答に影響を及ぼす可能性もある。さらに、除菌に用いるクラリスロマイシンやプロトンポンプ阻害薬固有の免疫調節作用が報告されており、実際にITP患者への単剤投与で血小板増加が報告されている。したがって、現時点でこれら*H. pylori*除菌以外の機序を介した効果を排除できない。そこで、私たちは*H. pylori*感染の有無にかかわらずITP患者にアンピシリン、クラリスロマイシン、プロトンポンプ阻害薬に

よる標準的除菌療法を行い、その効果を調べる前向き調査を行った。26例の*H. pylori*陽性患者を含む37例に除菌療法を行い、*H. pylori*陽性の全例で除菌に成功した。血小板増加は*H. pylori*陽性の56%にみられたが、陰性11例全例で血小板増加はみられなかった。すなわち、血小板増加は*H. pylori*陽性患者に限って観察され、*H. pylori*除菌療法による血小板増加効果は*H. pylori*そのものの除菌によることが確認された。したがって、クラリスロマイシンやプロトンポンプ阻害薬のみの投与例でみられる血小板増加は*H. pylori*菌数の減少を反映した現象と考えられる。

#### ITPにおける*H. pylori*除菌の作用機序

ITPにおける血小板破壊の主な機序は、血小板に対する自己抗体が結合してオプソニン化された血小板が網内系でFc $\gamma$ 受容体を介してマクロファージなどの貪食細胞に捕捉され、貪食・破壊される病態である<sup>1)</sup>。抗血小板抗体の標的抗原としてGPIIb/IIIa, GPIb/IX, GPIa/IIaなど各種血小板膜糖蛋白が同定されている。特に抗GPIIb/IIIa抗体の頻度が高く、高感度な検出法を用いると90%以上で陽性となる。多くのITP患者で脾臓がおもな血小板破壊場所であるとともに抗血小板抗体産生部位であり<sup>21)</sup>、このことは摘脾がITPに対して有効率の高い治療であることから実証されている。これまでのGPIIb/IIIaに対する自己反応性T、B細胞の詳細な解析から、次のようなITP慢性期の病態が想定されている<sup>22)</sup>。抗血小板抗体が産生されるとITP患者の網内系マクロファージはFc $\gamma$ 受容体を介してオプソニン化血小板を大量に貪食する。その際に大量に取り込まれるGPIIb/IIIaなどの血小板膜糖蛋白のプロセッシングにより、本来は発現されない‘潜在性’の抗原ペプチドがHLA分子とともに提示される。それを認識した自己反応性T細胞が活性化され、B細胞からの抗血小板抗体産生が誘導される。ITP患者では、この自己反応性T細胞、B細胞、網内系マクロファージのサイクルが成立し、その結果として抗血小板抗体の産生が持続する。従来のITPに対する治療は全てこのサイクルを断ち切ることで効果を発揮する。その主な作用点としては、

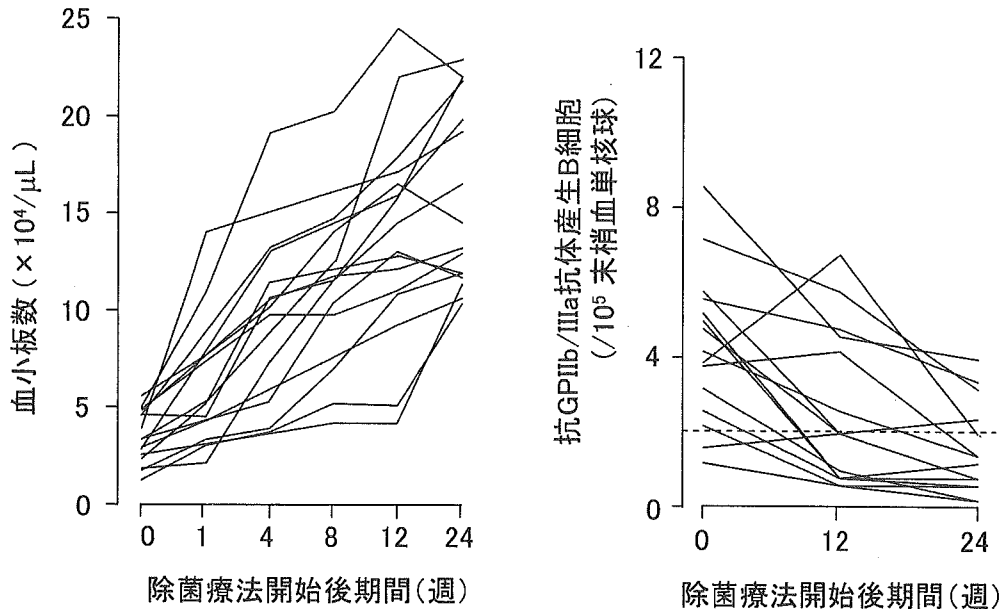


図2. *H. pylori*除菌療法が有効であったITP16例における血小板数、末梢血中の抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞数の推移

約半数の症例で1週後に血小板数が増加していたが、それに比べて抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞の減少は緩徐であった。24週後には約2/3の症例で抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞が正常域まで減少した。点線はカットオフ値(2.0)を示す。

自己反応性T, B細胞からの抗血小板抗体産生の抑制, 網内系マクロファージによるオプソニン化血小板破壊の抑制の2つがある。副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬は前者, 免疫グロブリン大量静注療法は後者が主な作用機序だが, *H. pylori*除菌療法がいずれの作用機序を介しているかは明らかでない。そこで, *H. pylori*除菌療法前後での抗血小板抗体産生の変化を検討した。ITPにおける抗血小板抗体の多くは流血中で血小板に結合した形で存在することから, 従来血小板, 血清, 血漿を検体として用いた抗体検出法では抗血小板抗体産生を正確に定量評価できない。そこで, enzyme-linked immunospot (ELISPOT)法の原理を用いて末梢血中の抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞を定量的に検出した<sup>23)</sup>。図2に我々の施設で経験した*H. pylori*除菌が有効であったITP症例16例の血小板数とGPIIb/IIIaに対する抗血小板抗体を産生するB細胞の推移を示す。約半数の症例で除菌療法開始1週の時点ですでに血小板は増加していたが, 2例は12週以降に血小板数が急速に増加した。症例毎に除菌療法後の経過は多様であっ

たが, 多くの症例で*H. pylori*除菌の成功, 不成功を評価する12週時点で血小板数が10万/ $\mu$ l以上に達していた。抗GPIIb/IIIa抗体産生B細胞は12週, 24週と緩徐に減少し, 24週時点では75%の症例が正常域にまで回復した。すなわち, *H. pylori*除菌後に抗GPIIb/IIIa抗体の産生が抑制された。ただし, 半数近くの症例では血小板数の増加が抗血小板抗体産生の抑制に先行し, この2つの現象には時間的な解離が存在した。この結果を踏まえて, 私たちはITP患者において*H. pylori*除菌が血小板を増やす効果は, 少なくとも2つ以上の段階を経る可能性を考えている。初期には抗血小板抗体産生抑制を介さない機序(例えば網内系機能抑制など), 遅れて血小板に対する自己免疫応答が抑制される。最近, 抗血小板抗体が*H. pylori*の構成蛋白CagAと交差反応し, 除菌後に交差反応を示す抗体が消失することが報告された<sup>24)</sup>。ただし, 多くの例で血小板増加は除菌療法開始1~2週間後に観察されるが, この時点でCagAに対する抗体価の顕著な減少はみられない。そのため, *H. pylori*菌体成分との交差反応

のみで *H. pylori* 除菌療法の効果発現機序を説明するのは困難と思われる。

おわりに

*H. pylori* 除菌療法の高い有効率は従来のITP治療指針を変えるだけのブレイクスルーであった。今後の課題は *H. pylori* 除菌療法が血小板数を増やす機序の解明である。この課題が解決されれば、そのメカニズムを利用して *H. pylori* 陰性例や除菌療法無効例に対する新たなITPの治療法の開発につながる可能性がある。

## 文 献

- 1) Cines DB, et al: Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 346: 995—1008, 2002.
- 2) Cohen YC, et al: The bleeding risk and natural history of idiopathic thrombocytopenic purpura in patients with persistent low platelet counts. *Arch Intern Med* 160: 1630—1638, 2000.
- 3) Graham DY: *Helicobacter pylori*: its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 6: 97—105, 1991.
- 4) Asaka M, et al: Relationship of *Helicobacter pylori* to serum pepsinogens in an asymptomatic Japanese population. *Gastroenterology* 102: 760—766, 1992.
- 5) Wotherspoon AC, et al: Regression of primary low-grade B cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 342: 575—577, 1993.
- 6) Covacci A: *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science* 284: 1328—1333, 1999.
- 7) 日本ヘリコバクター学会ガイドライン作成委員会: *Helicobacter pylori* 感染の診断と治療のガイドライン 2003年改訂版. 日本ヘリコバクター学会誌 4 (suppl): 1—16, 2003.
- 8) Wedi B, et al: *Helicobacter pylori* infection in skin diseases: a critical appraisal. *Am J Clin Dermatol* 3: 273—282, 2002.
- 9) Byrne MF, et al: *Helicobacter pylori* binds von Willebrand factor and interacts with GPIb to induce platelet aggregation. *Gastroenterology* 124: 1846—1854, 2003.
- 10) Gasbarrini A, et al: Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 352: 878, 1998.
- 11) Emilia G, et al: *Helicobacter pylori* eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 97: 812—814, 2001.
- 12) Kohda K, et al: Effect of *Helicobacter pylori* eradication on platelet recovery in Japanese patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura and secondary autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 118: 584—588, 2002.
- 13) Hashino S, et al: Platelet recovery in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura after eradication of *Helicobacter pylori*. *Int J Hematol* 77: 188—191, 2003.
- 14) Ando K, et al: Can eradication therapy for *Helicobacter pylori* really improve the thrombocytopenia in idiopathic thrombocytopenic purpura? Our experience and a literature review. *Int J Hematol* 77: 239—244, 2003.
- 15) Franchini M, Veneri D: *Helicobacter pylori* infection and immune thrombocytopenic purpura: an update. *Helicobacter* 9: 342—346, 2004.
- 16) Jarque I, et al: Absence of platelet response after eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 115: 1002—1003, 2001.
- 17) Michel M, et al: Does *Helicobacter pylori* initiate or perpetuate immune thrombocytopenic purpura? *Blood* 103: 890—896, 2004.
- 18) Fujimura K, et al: Is eradication therapy useful as the first line of treatment in *Helicobacter pylori*-positive idiopathic thrombocytopenic purpura? Analysis of 207 eradicated chronic ITP cases in Japan. *Int J Haematol* 81: 162—168, 2005.
- 19) 藤村欣吾, 他: 成人ITP治療ガイドライン (2004年度). 厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業平成16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」p63—69, 2005.
- 20) Fujimura K: *Helicobacter pylori* infection and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 8: 113—118, 2005.
- 21) Kuwana M, et al: Spleen is a primary site for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *J Immunol* 168: 3675—3682, 2002.
- 22) Kuwana M, et al: The role of autoreactive T-cells in the pathogenesis of ITP. *Int J Hematol* 81: 106—112,