

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：H17 - 難治 - 一般 - 002)

平成 19 年度
総括・分担研究報告書

平成 20 年 3 月

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. グループ研究報告

ITP（特発性血小板減少性紫斑病）研究グループ ... 総括報告 藤村欣吾

サブグループリーダー：藤村欣吾 広島国際大学薬学部
班 員：桑名正隆 慶應義塾大学医学部
倉田義之 四天王寺国際仏教大学
研究協力者：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：(疫学班) 杉田稔・東邦大学医学部 島田直樹・慶應義塾大学医学部

TMA 研究グループ ... 総括報告 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：(疫学班) 杉田稔・東邦大学医学部 島田直樹・慶應義塾大学医学部

特発性血栓症研究グループ ... 総括報告 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
特別協力者：(疫学班) 杉田稔・東邦大学医学部 島田直樹・慶應義塾大学医学部

静脈血栓塞栓症研究グループ ... 総括報告 小林隆夫

サブグループリーダー：小林隆夫 信州大学医学区部
研究協力者：榛沢 和彦 新潟大学大学院
佐久間 聖仁 女川町立病院
中村 真潮 三重大学大学院医学系
山田 典一 三重大学大学院医学系

III. 分担研究報告

- 藤村欣吾 「ITP 死亡例の実態調査—アンケート調査最終回収のまとめ」
倉田義之 「臨床個人調査票（平成 17 年度）集計による
特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査」
- 桑名正隆 「特発性血小板減少性紫斑病の新規マウスモデル作製の試み」
藤村吉博 「チクロピジンとクロピドグレル— TTP の臨床的相違」
村田 満 「ADAMTS13 における VWF 結合部位ならいに後天的 TTP 患者 IgG 結合部位のエピトープ解析」
和田英夫 「三重大学で過去 3 年間に経験した TMA 症例について-FRC X IPF の意義-」
宮田敏行 「凝固第 V 因子遺伝子 R2 ハプロタイプおよび
tissue factor pathway inhibitor N221S 変異と静脈血栓症」
- 坂田洋一 「ワルファリン使用に関する全国アンケート調査と実態調査への展開」
小嶋哲人 「先天性血栓性素因・PC 欠損症の遺伝子解析」
川崎富夫 「日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略
—診療と訴訟とガイドライン—」
- 辻 肇 「ヘパリン在宅自己注射療法の指針(案)」
小林隆夫 「産婦人科領域の静脈血栓塞栓症の調査—2001 年から 2005 年」
山田典一 「うっ血性心不全症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査」
中村真潮 「精神科病棟入院患者における肺血栓塞栓症に関する検討」
榛沢和彦 「震災後の被災者における深部静脈血栓症調査」
佐久間聖仁 「肺塞栓症と深部静脈血栓症の頻度、臨床的特徴」

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

VI. その他

総括研究報告書

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 19 年度総括研究報告書

「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 慶應義塾大学医学部内科 教授

分担研究者

藤村 欣吾	広島国際大学薬学部 教授
倉田 義之	四天王寺国際仏教大学 教授
桑名 正隆	慶應義塾大学医学部内科 准教授
藤村 吉博	奈良県立医科大学輸血部 教授
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中央臨床検査部 教授
和田 英夫	三重大学医学部臨床検査医学科 准教授
坂田 洋一	自治医科大学分子病態研究部 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
辻 肇	京都府立医科大学 准教授
小林 隆夫	信州大学医学部保健学科小児母性看護学講座 教授

研究協力者

野村 昌作	市立岸和田市民病院血液内科 部長
降旗 謙一	株式会社エスアールエル 理事
小亀浩市	国立循環器病センター研究所 室長
松本雅則	奈良県立医科大学輸血部 准教授
森木隆典	慶義塾大学保健管理センター 講師
佐久間 聖仁	東北大学大学院医学系研究科循環器病態学
榛沢 和彦	新潟大学大学院医歯学総合研究科呼吸循環外科
中村 真潮	三重大学大学院医学系研究科循環器内科学
山田典一	三重大学大学院医学系研究科循環器内科学
杉野 稔	東邦大学医学部衛生学
島田 直樹	慶應義塾大学医学部衛生学

研究要旨

本調査研究班は、平成 17 年度から特定疾患治療研究対象事業である特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、血栓性微少血管障害症（TMA）、特発性血栓症、深部静脈血栓症／肺塞栓（DVT/PE、いわゆるエコノミークラス症候群）を対象とし

て開始された。19年度もこれら4テーマ毎のサブグループに分け、それぞれの課題に取り組むとともに、グループ間の相互議論を活発に行うことによって出血性疾患・血栓性疾患の理解を深めるように計画し、班会議もその形態の利点を生かすべく実施された。本研究班は、これら疾患の分子病態の解明とともに病態解析に基づいた診断基準、治療指針の確立および我が国における正確な発症頻度や予後の把握を目標としている。

A. ITP サブグループ

1. 疫学研究：厚生労働省による特定疾患調査の中で ITP に関する平成 17 年度の臨床個人調査表を解析し前 2 年間（平成 15 年、16 年度）の解析結果と比較検討した。平成 17 年度の臨床個人調査表に基づく解析では新規患者推計発生数は 3,107 名で人口 10 万人当たり 2.43 となり平成 16 年度より若干減少したが平成 15 年度の新規発生 1,598 名、人口 10 万人当たり 1.25 に比し約 2 倍である。短期間の観察ではあるが ITP は年間約 3,000 名新規症例が急性、慢性を問わず発生していると考えられるが、増加傾向は明らかでない。新規症例の年齢分布ではこの 3 年間でいずれも急性型は男女とも 5 歳以下に発症のピークがあり、慢性型では男性は 60 歳以上に、女性では 30 歳代と 50 歳代以降の 2 つにピークを認め全体として中高年例の発症が多く認められるようになった。このことから慢性 ITP の治療に関しては合併症を併発していることが多く、また治療に対する副作用の出やすい中高年齢者が対象となることを念頭に置いた取り組みが必要である。昭和 40 年代に行われた調査に比べ発症年齢の高齢化、罹病期間の長期化、が認め

られ、日常生活においては自宅での生活、就労が多く症例で可能となっていることが判った。

2. 新たな ITP 診断基準の標準化に関する研究：血小板抗体産生 B 細胞の定量化 (ELISPOT assay)、網状血小板の測定に関して、輸送による影響、検体採取から検査までの時間、日数の影響、これら検査項目の特異度、感度、について検討した。検体は新規血小板減少症例について各班員から慶應義塾大学、SRL にそれぞれ同一検体を輸送して頂き解析した。提案した診断基準は免疫性血小板減少症の発症機序からみて特異的な検査項目が組み込まれていることが特徴である。この基準を全国的に適応するためには各施設で検査が困難な項目として血小板抗体産生 B 細胞の測定 (ELISPOT assay) と網状血小板数、血小板関連抗 GPII b / IIIa 抗体の検査が挙げられる。そこでこれらの検査の内 ELISPOT assay と網状血小板数の測定を中央化し全国展開するために SRL の協力の下新規血小板減少症例についてこれら検査項目の特異度、感度について検討した。両検査結果とも慶應義塾大学との間で相関性を認め、感度、特異度共にほぼ満足できる結果とな

った。また遠隔地から検体の輸送による検査結果への影響も少なく全国からの検査の要望に耐えられることが判った。特に網状血小板数に関しては ITP 症例において他の血小板減少症例に比し有意に高値であることが確認された。抗体産生 B 細胞の測定においても ITP と他の血小板減少症例と区別するための基準値を設定する事が出来、本診断基準を全国的に施行することが可能となっている。

3. ITP 死亡例のアンケート調査と新治療ガイドラインによる治療成績に関する研究：死亡例については前年度に行った第1次アンケート調査に引き続いて第2次調査を行った結果をまとめた。新たな治療ガイドラインによる治療成績については2005年1月から2007年4月までの間に本ガイドラインによって治療された新規 ITP 症例について班員の方々に個人が特定できない事に留意したアンケート調査（資料添付）を依頼し解析した。第2次アンケート調査により33施設から56例の ITP 死亡例が集積された。死亡例の男女比は1:1.2で、男女とも50歳以降の死亡例が多い。約30%はいわゆる急性 ITP 症例と考えられ、中高年齢者での急性型には注意が必要であることが判った。慢性型では ITP 死亡例の男性は9年以内に集中しているのに対し、女性では10年以上経過して死亡する症例が40%認められ、若年で発症し長期に渉る療養後死亡する症例が比較的多い。死因は出血、感染症、癌の順に多く、原疾患のコントロール、治療による合併症、癌発症年齢

などが関係している。この点から中高年齢者を考慮に入れた治療プロトコルを導入し死亡例の減少に努める必要がある。新規 ITP 治療プロトコルによる治療成績については本研究班班員の内5施設から57症例が提供され解析した。男女比は1:1.2で平均年齢55.9歳、初診時の平均血小板数は4.2万であった。約50%に皮下出血、20%に粘膜出血を認めている。これらの背景を持つ症例に今回の治療ガイドラインを適応して治療された結果は、最終的に26%が完全寛解に、68%が部分寛解となり5%が所謂難治症例と考えられた。部分寛解の92%以上は無治療となっており、短期間の観察であるが治療を継続されている症例は全体で14%にすぎない。完全寛解の多くは除菌治療によるもので、中高年発症 ITP にはピロリ罹患率が高く除菌療法が有効な治療手段であることが再確認された。

4. ITP モデル動物作成：正常マウスに免疫源として正常ヒト血小板、還元処理し潜在エピトープを露出させたヒト血小板、マウス GPIIb/IIIa を強制発現させたヒト巨核球細胞株を用いて免疫した。さらにヌードマウスへ同系マウス由来 CD4+CD25+制御性 T 細胞を除去した CD4+T 細胞分画を移入し観察した。約25%に自然発症血小板減少マウスが発症した。血小板減少を認めなかったマウスにヒト血小板を免疫すると13%に血小板減少を誘導する事が可能となった。これらのマウスの網状血小板数は増加し、PAIgG が増加し、血漿中に GPIIb、IIIa に対する

自己抗体が認められた。これらより制御性T細胞の減少がITP発症に関係していることが明らかとなり、またヒトITPに近い病態を示すITP動物モデルと考えられ今後のITP研究への貢献が期待される。

B. TMAサブグループ

本研究サブグループではこれまでTMAの中でも特に先天性の血栓性血小板減少性紫斑病(Upshaw-Schulman症候群, USS)の患者発掘とその遺伝子解析に焦点を合わせて多大な成果を挙げてきた。また簡便で迅速に結果が得られるADAMTS13活性測定法を開発し、この方法を用いて全国の医療機関から解析依頼を受けたTMAについてADAMTS13活性および同インヒビター測定を行った。

1. ADAMTS13活性測定法の評価: 現行のADAMTS13活性測定法には、①基質にVWFMを用いるものと、②基質に小亀らが同定したVWF-A2ドメインのTyr1605-Met1606結合を含むポリペプチド(VWF73等)を用いる方法がある。より最近にはVWF73類似であるが、異なるポリペプチドVWF78をビオチン化したものを基質に用い、これが切断された後、ビオチン化部分はアビジンAガロースで吸着・分離されるので、この原理を利用したADAMTS13活性測定法が報告された。これらの測定法については、汎用化に向けて、その精度、また測定に要する時間や費用などが今後さらに検討される必要がある。
2. TMA患者登録とADAMTS13活性と同インヒビターの測定: 先天性TMAと

考えられる症例は計59例であった。うち35例(30家系)は同活性著減のUSSで、残り24例は原因不祥であった

(うち一例は別の厚労省研究班研究費にてFactor H遺伝子解析を行い、複数の異常部位の存在を確認した)。USSの24家系についてはADAMTS13遺伝子解析を終了し、その異常部位を同定した。後天性TMAは802例で、うち特発性TMAは370例(臨床症状による分類で、TTP 265例、HUS 105例)であり、二次性TMAは432例であった。二次性TMAの内訳は、薬物33例(うちチエノピリジン誘導体21例、マイトマイシンC 10例、他の薬物2例)、膠原病206例、悪性腫瘍58例、造血幹細胞移植54例、妊娠14例、病原大腸菌O157感染30例、その他37例であった。

3. ADAMTS13遺伝子解析: USS 35例中、遺伝子解析は29症例についてなされたが、Family XのUSS患者(X-5)については責任変異部位を同定できなかった。残り23家系28例中、「ホモ接合体変異」は4家系4例で、残りの19家系24例は「複合型ヘテロ接合体」であった。この中には1例(Family P)がde novo変異を示した。
4. USSの臨床症状の特徴: 小児期に血小板減少症のエピソードを確認できた症例は35例中27例(77%)と高率であった。また残り8例はこの時期に血小板減少症が無かったという訳ではなく、血小板数そのものを検査したか否かが不明というものであった。不幸な事に、小児期に血小板減少症に気づかれていても、これが

「ITP」と診断されている例が多く、この診断のもとで成人期を迎えている例が多々あった。この典型例が妊娠を契機に突然TTPを発症したかに思えるUSSである。

5. ADAMTS13 抗原の解析：モノクローナル抗体 A10 と C7 を用いたサンドイッチ ELISA と、WB 解析の 2 法で行なった。正常人でのこれらの値は chromogenic act-ELISA で得られた ADAMTS13 活性と一定の相関を示した ($r^2=0.33$)。しかし、C7 を固相化し、A10 を酵素標識した場合の antigen-ELISA の値は同酵素活性との相関は認められなかった。このように活性阻害抗体を固相化し、一次抗体として使用した場合、得られた抗原量はその活性値を比較的によく反映するという成績は VWF でも証明されており (Murdock PJ, et al. *Thromb Haemost*, 1997)、今後この A10-C7 sandwich antigen-ELISA は同活性と抗原の自動化迅速測定法の開発にも寄与できるものと考えられる。

6. チェノピリジン誘導体に関連した TTP の日米共同研究 (SERF-TTP Study I) :、Northwestern 大学 (シカゴ) の Charles N. Bennett 教授からの申し入れにより、前記の共同研究を行い、同じチェノピリジン誘導体でありながらチクロピジン関連 TTP は症例の約 80% が抗 ADAMTS13 自己抗体を生じる「定型的」TTP であり、しかもその発現は投薬後 2-4 週の間には殆ど生じる事、また一方、クロピドグレル関連 TTP は前者よりも発生頻度の絶対数は遥かに低く、また抗 ADAMTS13 自

己抗体を生じる「定型的」TTP は 20% に過ぎず、残り 80% は ADAMTS13 活性が略正常の「非定型」TTP である事が明らかにされた。

7. 生体肝移植時の TMA 病態解析：肝硬変患者に生体肝移植を行うと、移植後約 1 週間で ADAMTS13 活性が著減し、同時に血小板数低下を伴う事を自験例 3 症例で見出した (Ko et al, *Liver Transplantation*, 2006)。この現象は和田らによって、異なった施設での多数例解析でも追認された。さらに、この時の TMA 病態のモニタリングには全自動機器による破碎赤血球と網状血小板の測定が有用である事が報告された (論文未発表)。これらの結果は肝臓の虚血再灌流障害により同所での ADAMTS13 産生能が大きく損なわれる事を示し、肝臓での微小循環障害は肝線維化などの肝機能障害の原因となりうる事を示唆している。

8. フェージディスプレイ法による ADAMTS13 のエピトープ解析：本方法により ADAMTS13 の N 末端 (MP ドメイン領域)、Cys-rich/Spacer ドメイン領域、そして C 末端 (CUB ドメイン領域) の 3ヶ所に、高ずり応力下にこの酵素が基質 VWF に結合し、これを消化するに必須の部分がある事が示されている。これらの結果が TTP 患者の予後にどのように反映されるかは次世代の本研究班の重要な課題でもある。

C. 特発性血栓症サブグループ

本研究は、深部静脈血栓症の発症原因と発症メカニズムを明らかにし、血栓症発症の予知・予防のための方策を

検討することを目的とする。このため、深部静脈血栓症の治療と予防に関するアンケート調査を行うとともに、多施設共同で深部静脈血栓症患者を大規模に収集し遺伝子解析を行い、エコノミークラス症候群として国民から注目される深部静脈血栓症の予防対策のエビデンスを提供する。日本人を対象に深部静脈血栓症発症の予知・予防のためのエビデンスを収集し、これを用いて安全・安心な医療実現を目指す。また、これまで日本人を対象に行われた深部静脈血栓症患者の遺伝子解析の結果を調査する。

1. 日本人の血栓症の背景に関する調査研究

(1) 日本人の深部静脈血栓症における凝固第V因子遺伝子 R2 ハプロタイプおよび tissue factor pathway inhibitor N221S 変異に関する調査研究: 約 170 名の日本人深部静脈血栓症患者を対象とし、日本人の深部静脈血栓症の遺伝的要因として、凝固第V因子(FV)遺伝子の R2 ハプロタイプおよび組織因子経路インヒビター(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)を検討した。FVR2 ハプロタイプは深部静脈血栓症患者群と一般住民群との間に頻度の差を認める傾向を示したものの、有意差は認めなかった ($P=0.055$)。TFPI 遺伝子は、シーケンス解析により N221S 変異を同定した。本変異の S アレル保持者 (NS+SS 型) は NN 型と比べ total TFPI 量が有意に増加していた ($P=0.006$) もの、一般住民群との間に頻度の差は認めなかった

($P=0.89$)。これらの研究から、FV R2 ハプロタイプと TFPI N221S 変異は、日本人の深部静脈血栓症の遺伝的要因となる可能性は低いと考えられた。また、電撃性紫斑病、深部深部静脈血栓症、あるいは親族に肺梗塞あるいは門脈血栓症の家族歴をもち、PC 活性の著減 (電撃性紫斑病症例)、もしくは半減を認めた先天性血栓性素因・PC 欠損症について解析を行った。電撃性紫斑病では、それぞれミスセンス変異 (p.Arg220Trp) のホモ接合体、ミスセンス変異 PC Osaka10 (p.Arg42Ser) と PC Osaka2 (p.Met406Ile)、あるいは一塩基欠失 (c.1268del; PC Nagoya) とミスセンス変異 (p.Arg211Trp; PC Tochigi) の複合ヘテロ接合体を認めた。他の症例では、一塩基欠失 (c.1268delG; PC Nagoya)、あるいはミスセンス変異 (p.Cys147Tyr、p.Arg211Trp; PC Tochigi、p.Val211Met) をヘテロに認めた。これらはいずれも既報の変異であった。

(2) 日本人でのプロテイン C、プロテイン S、アンチトロンビンの欠乏症の遺伝子変異の調査研究: これまで、深部静脈血栓症患者を中心に、プロテイン C、プロテイン S、アンチトロンビンも遺伝子解析が進められ、変異が同定されてきた。これらの変異の多くは、論文として報告されているものの、変異をまとめた集大成したものはない。そこで、これまでに日本人に同定されたプロテイン C、プロテイン S、アンチトロンビンの各遺伝子の変異を文献調査し、その成果を名古屋大学のホームページで公開した。

2. 日本人の深部静脈血栓症の治療に関する調査研究

(1) ヘパリン在宅自己注射療法の指針(案)：在宅医療の普及を踏まえ、特発性血栓症の予防法の確立を目的として、「ヘパリン在宅自己注射療法の指針」を設定した。アンケート調査結果から、ヘパリン在宅自己注射には未分画ヘパリン(皮下注用)が最も用いられ、1日2回の投与がなされていた。投与量は、52%は固定用量、44%は凝固能を指標に決定されていた。未分画ヘパリンの皮下投与量は10,000単位/日が最も多く、ついで5,000単位/日であった。凝固能を指標とする場合、APTTを用いて、皮下注後1~4時間において、測定値が1.5倍に延長するように投与量が決定されていた。

(2) 静脈血栓塞栓症の予防・診断・治療ガイドライン(阪大)の完成：大阪大学医学部附属病院では2003年12月から独自のコンセプトに基づいて深部静脈血栓症および肺塞栓症に関する予防ガイドラインを作成して運用している。日本では血栓症の頻度や発生機序が欧米と異なるため、当初見直しを前提に作成した。しかし現在までほとんど修正することなく運用可能であった。本ガイドラインの特徴である多段階の予防策が、比較的緩いルールのため実効性が高く、かつ有用性と教育的価値が高いことにつながった。なかでも、入院時の血栓症持ち込み症例のスクリーニングを世界に先駆けて実践し有効性を確認した意義は大きい。

(3) ワルファリン使用に関する全国

アンケート調査と実態調査への展開：本邦医療機関におけるワルファリン使用の現状を把握することを目的に、大学付属病院及び500床以上の一般病院と日本血栓止血学会評議員の1,470件を対象に、「ワルファリン使用に関するアンケート調査」を実施した。ワルファリンの平均使用期間が6ヶ月以上のものは、先天性および後天性血栓性素因を有する症例ではそれぞれ91.9%、84.0%に対して、血栓性素因が明らかでない症例では56.7%であった。ワルファリンコントロールの指標は、PT-INR値を1.5-2.5に設定している施設が89.6%と大半を占めており、その多くは1ヶ月ごとにモニタリングされていた。コントロールにFDPあるいはD-ダイマーいずれかを指標としているものが41.6%であった。本調査結果は、日本人に適した静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法を確立するために、重要な臨床的資料となるものと考えられる。

D. 深部静脈血栓・肺塞栓症(DVT/PE)サブグループ

欧米では頻度の高い重篤な疾患と認識されているDVT/PEはわが国では頻度は高くないと考えられており、これまで重要視されなかった。しかし、生活習慣の欧米化、社会の高齢化、手術を含めた医療処置の複雑化に伴い、その発生数は急激に増加している。特に手術後や出産後、骨折後、あるいは急性内科疾患の入院患者に多発して不幸な転帰をとる。この結果、本症は入院患者の突然死の原因として、医療

界ばかりでなく社会的にも非常に注目を集める疾患となっている。本疾患はまた、エコノミークラス症候群（旅行者血栓症）として広く一般にも知られ、平成16年10月の新潟中越地震の被災者、特に車中泊をされている方々にPEが多発し、「日本人には肺塞栓症は多くない」という従来の認識を覆す極めて高い頻度で発生している。本研究ではわが国において様々な状況下で発症するDVT/PE（静脈血栓塞栓症：VTE）の現況を調査し、もって医療従事者はもちろん、国民にも本疾患を広く周知徹底するとともに、医療行政や災害対策にも役立て本疾患での死亡例減少に貢献することが本研究の目的である。

1. 産婦人科領域の静脈血栓塞栓症の調査—2001年から2005年
21世紀に入った5年間（2001年から2005年）に新たに発症した産婦人科領域における静脈血栓塞栓症（VTE）の調査を行い、発症数、発症頻度、リスク因子、予防対策等を明らかにすることを目的としてアンケート調査を実施した。調査票は、全国すべての大学病院（分院も含む）および500床以上の総合病院など、計322施設に送った。調査：回答率37%（119/322）時点での集計結果ではDVT476例（うち無症候性130例）、PE239例（うち無症候性61例）が報告された。産科症例では、DVT153例（うち無症候性14例）、PE44例（うち無症候性3例）であり、婦人科では、DVT323例（うち無症候性116例）、PE195例（うち無症候性58例）であった。

2. 肺塞栓症と深部静脈血栓症の頻度、臨床的特徴に関する研究

PEとDVTの新規発生頻度、PEを合併したDVTとDVT単独例で下肢の症状・所見に相違がないかどうか、およびVTEの危険因子の頻度に相違がないかを明らかにすることを目的として全国医療機関への前向きアンケート調査を実施した。症例は平成18年8月と9月（2ヶ月間）の新規発症症例とした。報告された症例とアンケートの回収率から推定したPE年間症例数は精神科以外で7,864人、精神科で286人、DVTは精神科以外で14,674人、精神科で286人であった。PE合併群ではDVTの存在部位に左右差がなかったが、DVT単独群では左側のDVTが多かったこと、長期臥床、最近の大手術、悪性腫瘍などVTEの危険因子には2群間に差は認められなかった。

3. 震災後の被災者における深部静脈血栓症調査

新潟県中越地震後1年目の検査で7.8%の下肢DVTが見つかったことから、これが地震の影響かどうか検討するため、新潟県阿賀町において新潟県中越地震対照地DVT検査を行った。また、新潟県中越地震後3年目のDVT検査も行った。さらに中越地震後に発生した能登半島地震および新潟中越沖地震（直後と4ヵ月後）においてもDVT検査を行った。中越地震対照地のDVT検査では、6人（1.8%）に血栓を認めた。中越地震3年目では、小千谷市で18人（9.3%）に血栓を認め、十日町で12人（10.2%）に血栓を認めた。能登半島地震後では、212人（車中泊7人）のう

ち23人(10.6%)に血栓を認めた。新潟中越沖地震直後では、1週間目に449名(車中泊30名)のうち49名(6.9%)に血栓を認め、2週間目に546名(車中泊193名)のうち31名(3.3%)に血栓を認めた。地震発生2週間以内全体では4.9%の血栓有病率であった。新潟県中越沖地震発生4ヵ月後では、255人中16人(6.3%)に血栓を認めた。

4. うっ血性心不全症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査：三重大学にうっ血性心不全で入院した連続161例(男性117例、平均年齢69.3±10.8歳、原因：虚血性心疾患73例(45.3%)、弁膜症29例(18%)、拡張型心筋症25例(15.5%)、その他34例(21.2%))に対して、下肢静脈超音波検査(圧迫法)にて鼠径部より下腿まで血栓の有無を検索した。但し、VTEの既往、悪性疾患、下肢の麻痺、術後3ヶ月以内の症例は除外した。検討項目は、血栓存在部位(左右差、存在静脈枝)、発生頻度(重症度別など)である。うっ血性心不全症例における静脈血栓塞栓症の発生頻度は、全体では11.2%(18/161)であった。血栓は両側4例、左側6例、右側8例で、存在部位(重複あり)はヒラメ静脈が最も多く16例、腓骨静脈7例、膝窩静脈3例、後脛骨静脈3例であった。心不全の重症度別の頻度はNYHA II度4.4%、III度4.8%、IV度25.5%(odds ratio 4.1; 95%CI 1.2-14.6)であった。

グループ研究報告書

平成 19 年度 ITP サブグループ研究報告

(分担研究者)

藤村 欣吾	広島国際大学薬学部 教授
桑名 正隆	慶応義塾大学医学部内科 准教授
倉田 義之	四天王寺国際仏教大学 教授

(研究協力者)

野村 昌作	市立岸和田市民病院 血液内科部長
降旗 謙一	株式会社 エスアールエル 理事

(特別協力者)

杉田 稔	東邦大学医学部衛生学 教授
島田 直樹	慶応義塾大学医学部衛生学 教授

研究要旨：

ITP の臨床に還元出来るような基礎的研究を行い、疫学的、臨床的研究に基づいた診断、治療法を確立し、QOL の向上を目指す事を目的としている。

ITP の疫学：ITP の臨床個人調査表を基に平成 17 年度の実態がまとめられ過去 2 年間の調査を勘案し近年の I T P の現状が明らかとなった。その結果昭和 40 年代に行われた調査に比べ発症年齢の高齢化、罹病期間の長期化、が認められ、日常生活においては自宅での生活、就労が多く症例で可能となっていることが判った。

診断基準の提案：平成 16 年度に抗体産生 B 細胞の定量(ELISPOT assay)や、血小板産生能を指標に除外診断から一步前進した ITP 診断基準を報告した。この診断基準を広めるために検査の中央化を計ることを計画し、SRL と共に検査項目、特に網状血小板、ELISPOT assay について遠隔からの検体を集め、精度管理を行った。その結果慶応大学とのダブルチェックにおいても精度、特異度が安定し全国レベルで検査可能な体制が確立されつつある。

治療ガイドラインの提案：ピロリ除菌療法を組み入れた治療ガイドラインを平成 16 年度に提案し、本年度は除菌療法の保険適応を申請中である。また本ガイドラインによる治療成績について本研究班員の間で検討し、最終的に無治療例が多くなり、90%以上の症例でQOLが保たれている事が判明した。またITP死亡症例についての全国的な調査を行い、経過中に臓器出血を来す症例が長期にわたって観察されており、出血、感染、癌が3大死因で中でもコントロール不能例に出血死が多い実態が確認された。

ITP モデルマウスの作成：ヌードマウスに制御性 T 細胞を除去した T 細胞を移入することによりヒトの ITP の病態に類似した ITP モデルマウスを作成すること

に成功した。このモデル動物は ITP の病態研究や新規治療薬のスクリーニングに応用可能と考えられる。

目的

ITP の病態を基礎的に解明し、疫学的臨床的研究に基づいた診断、治療法を確立し、QOL の向上を目指して研究を続けて来た。今年度は 3 年目の最終年に当たり従来から行ってきた研究について或る程度の結論をまとめることを目標とした。

疫学研究については前年度に引き続き平成 17 年度の臨床個人調査表（特定疾患調査表）を解析し 3 年間の傾向を明らかにする。

診断基準については新たに提案した診断基準を全国的に普及させるための検査体制の確立を行う。

治療については新たに提案した治療ガイドラインを用いた治療成績をパイロット的に検討すること、また従来の治療による ITP の死亡例についての実態を明らかにする。

研究方法

疫学研究（倉田分担研究者担当）：厚生労働省による特定疾患調査の中で ITP に関する平成 17 年度の臨床個人調査表を解析し前 2 年間（平成 15 年、16 年度）の解析結果と比較検討する。新たな ITP 診断基準の標準化に関する研究（桑名分担研究者、降旗研究協力者担当）：血小板抗体産生 B 細胞の定量化（ELISPOT assay）、網状血小板の測定に関して、輸送による影響、検体採取から検査までの時間、日数の影響、これら検査項目の特異度、感度、

について検討した。検体は新規血小板減少症例について各班員から慶応大学、SRL にそれぞれ同一検体を輸送して頂き解析した。

ITP 死亡例のアンケート調査と新治療ガイドラインによる治療成績に関する研究（藤村分担研究者）：死亡例については前年度に行った第 1 次アンケート調査に引き続いて第 2 次調査を行った結果をまとめた。新たな治療ガイドラインによる治療成績については 2005 年 1 月から 2007 年 4 月までの間に本ガイドラインによって治療された新規 ITP 症例について班員の方々に個人が特定できない事に留意したアンケート調査（資料添付）を依頼し解析した。疫学的研究、アンケート調査などは stand alone のコンピューターにて解析し情報が外部へ流出しないように心がけた。

ITP モデル動物作成（桑名分担研究者）：正常マウスに免疫源として正常ヒト血小板、還元処理し潜在エピトープを露出させたヒト血小板、マウス GPIIb/IIIa を強制発現させたヒト巨核球細胞株を用いて免疫した。さらにヌードマウスへ同系マウス由来 CD4+CD25+制御性 T 細胞を除去した CD4+T 細胞分画を移入し観察した。

結果と考案

ITP に関する疫学研究

平成 17 年度の臨床個人調査表に基づく解析では新規患者推計発生数は 3、

107名で人口10万人当たり2.43となり平成16年度より若干減少したが平成15年度の新規発生1,598名、人口10万人当たり1.25に比し約2倍である。短期間の観察ではあるがITPは年間約3,000名新規症例が急性、慢性を問わず発生していると考えられるが、増加傾向は明らかでない。

新規症例の年齢分布ではこの3年間でいずれも急性型は男女とも5歳以下に発症のピークがあり、慢性型では男性は60歳以上に、女性では30歳代と50歳代以降の2つにピークを認め全体として中高年例に発症が多いことが1980年代に行われた調査とは大きく異なっている。

このことから慢性ITPの治療に関しては合併症を併発していることが多く、また治療に対する副作用の出やすい中高年齢者が対象となることを念頭に置いた取り組みが必要である。推計更新症例数は17年度が17,709名で人口10万人当たり13.86人となる。これは平成15年度よりは増加し、16年度よりは減少した値となり3年間の平均値に近くなることから、約17,000から18,000名の症例が本邦ではITPとして何らかの治療介入を受けていると考えられる。また更新症例数は新規発症症例分増加し続ける傾向よりも一定の数か、微増に止まっていることから治療介入が成功している症例も存在することが伺えた。更新症例の年齢分布は男女とも50~70歳の中高年にピークがあり、若年、中高年で発症した症例が長期に渡って経過観察

されていることが明らかとなった。

治療に関して新規症例では副腎皮質ステロイド、γグロブリン大量療法が大半を占め、慢性型では副腎皮質ステロイド、ピロリ除菌療法が多い。特にピロリ除菌療法が年々増加している。これはITP発症年齢がピロリ陽性頻度の高い中高年であることに一致する点と除菌成功により約6割の症例に血小板増加反応をもたらす事によると考えられる。しかも治療法が簡単に行え、短期間に終了し、安価である事などが受け入れられている要因であろう。

慢性ITPの罹病期間は17年度の調査では10年以内が約6割、11~20年が約3割、残りは20年以上となり慢性に経過する予後良好な疾患であることを裏付けているが、医療側には長期の対応が求められている。長期の罹病期間で問題になるのが生活状況である。更新している慢性型では約8割が家事労働を始め就学、就労が可能で社会生活は保持されていると考えられるが、約1割の症例で入院が必要となっており出血傾向のコントロールが難しい難治例であることが類推された。

新規ITP診断基準に関する検査体制の確立に関する研究

提案した診断基準は免疫性血小板減少症の発症機序からみて特異的な検査項目が組み込まれていることが特徴である。この基準を全国的に適応するためには各施設で検査が困難な項目として血小板抗体産生B細胞の測

定 (ELISPOT assay) と網状血小板数、血小板関連抗 GPIIb/IIIa 抗体の検査が挙げられる。そこでこれらの検査の内 ELISPOT assay と網状血小板数の測定を中央化し全国展開するために SRL の協力の下新規血小板減少症例についてこれら検査項目の特異度、感度について検討した。各班員から検体を SRL と慶応大学へ送付し、両施設間での測定結果のばらつきも合わせ検討した。両検査結果とも慶応大学との間で相関性を認め、感度、特異度共にほぼ満足できる結果となった。また遠隔地から検体の輸送による検査結果への影響も少なく全国からの検査の要望に耐えられることが判った。特に網状血小板数に関しては ITP 症例において他の血小板減少症例に比し有意に高値であることが確認された。抗体産生 B 細胞の測定においても ITP と他の血小板減少症例と区別するための基準値を設定する事が出来、本診断基準を全国的に施行することが可能となっている。

ITP 死亡例の検討と新規 ITP 治療プロトコールによる治療成績

ITP 死亡例の実態

第 2 次アンケート調査により 33 施設から 56 例の ITP 死亡例が集積された。死亡例の男女比は 1:1.2 で、男女とも 50 歳以降の死亡例が多い。約 30% は謂急性 ITP 症例と考えられ、中高年齢者での急性型には注意が必要であることが判った。慢性型では ITP 死亡例の男性は 9 年以内に集中しているのに対し、女性では 10 年以上経過して

死亡する症例が 40%認められ、若年で発症し長期の療養後死亡する症例が比較的多い。死因は出血、感染症、癌の順に多く、原疾患のコントロール、治療による合併症、癌発症年齢などが関係している。この点から中高年齢者を考慮に入れた治療プロトコールを導入し死亡例の減少に努める必要がある。この点からも 2004 年に提案した新規 ITP 治療プロトコールによる治療成績が期待される。

新規 ITP 治療プロトコールによる治療成績

本研究班班員の内 5 施設から 57 症例が提供され解析した。男女比は 1:1.2 で平均年齢 55.9 歳、初診時の平均血小板数数は 4.2 万であった。約 50% に皮下出血、20% に粘膜出血を認めている。これらの背景を持つ症例に今回の治療ガイドラインを適応して治療された結果は、最終的に 26% が完全寛解に、68% が部分寛解となり 5% が所謂難治症例と考えられた。部分寛解の 92% 以上は無治療となっており、短期間の観察であるが治療を継続されている症例は全体で 14% にすぎない。完全寛解の多くは除菌治療によるもので、中高年発症 ITP にはピロリ罹患率が高く除菌療法が有効な治療手段であることが再確認された。無治療例の中にも完全寛解例や血小板増加例が多く、また治療された症例の多くがその後無治療となっており日常生活の QOL は十分に保たれていると判断された。また合併症は 12 例に認められているが死亡に至るような重篤なもの

はなく、全体で今回の症例の中には死亡例は無かった。以上少ない症例でしかも短期間の解析結果ではあるが、本プロトコールは ITP の治癒率に関しては従来のプロトコールに勝るとは限らないが、無治療でコントロール可能な症例が多くなり、日常生活上の QOL が向上していると考えられる。また治療に伴う副作用およびこれに関する治療も格段に減少していると予測され現時点では有用であることが伺えた。今後多くの症例で長期の観察を行う必要がある。

ITP モデル動物の作成

ITP のさらなる病態研究、及び新規治療薬のスクリーニングや作用機序の解析には動物モデルは大切である。当初は正常マウスにヒト血小板や還元処理し潜在抗原エピトープを発現した血小板、さらにはマウス GPIIb/IIIa を強制発現させたヒト巨核球細胞株などを免疫源として免疫したが血小板減少は生じなかった。

そこでヌードマウスに同系マウス由来制御性 T 細胞を除去した CD4+T 細胞分画を移入し経過観察したところ約 25% に自然発症血小板減少マウスが発症した。血小板減少を認めなかったマウスにヒト血小板を免疫すると 13% に血小板減少を誘導する事が可能となった。これらのマウスの網状血小板数は増加し、PAIgG が増加し、血漿中に GPIIb、IIIa に対する自己抗体が認められた。これらより制御性 T 細胞の減少が ITP 発症に関係していることが明らかとなり、またヒト ITP に近

い病態を示す ITP 動物モデルと考えられ今後の ITP 研究への貢献が期待される。

結論

ITP の疫学研究から急性、慢性型 ITP は毎年約 3000 名新患発生が認められ、急性型は男女とも 5 歳以下に発症のピークを認めた。慢性型は男性は 60 歳代に、女性は 30 歳代と 50 歳代にピークを認めたが最大ピークは女性も 50 歳代であり、ITP は男女とも中高年齢者に多く発症していることが改めて確認された。また治療にはピロリ除菌が定着しつつあり、特に慢性型では副腎皮質ステロイド療法に次いで多くの症例で行われている。10 年以上経過している症例が約 4 割を占め、長期に療養している症例が多いが 8 割以上の症例で就労、就学が可能となっており日常生活での QOL は多くの例で保たれていることが判った。

診断基準を全国的に適応するため特に抗体産生 B 細胞の定量化や、網状血小板数の検査項目について、特異度、感度が遠隔地からの検体で影響されないか否か検討した。その結果慶応大学と SRL の 2 施設間での検査結果はほぼ一致し、検査の中央化に目処が立ちつつある。

ITP 死亡例の検討では中高年齢者の死亡例が多く、死亡原因は出血、感染、癌が 3 大死因となっている。中でも出血は 46% を占め、この内約 8 割は脳出血が致命傷となっている。また若年発症例には出血死が多く、中高年発症例には感染、癌が多い傾向がある。全体

の約3割はITP発症後1年以内に死亡しており今後急性ITPを含めた急激な血小板減少に対する対応を確立する必要がある。

新規ガイドラインによる治療成績は対象症例57例、観察期間約2年と限定された中での解析であったが、ピロリ関連ITPが全体の約3割を占め、本邦では依然として除菌療法は重要な位置を占めていると考えられた。また無治療観察症例が約3割存在し、殆ど短期間の観察中に悪化することはなく無治療観察が続けられている。最終的に95%が血小板数3万以上を維持し、86%が無治療となり出血傾向も軽快していた。また血小板数3万以下で治療継続中の所謂難治例と思われる症例は3例、約5%となっており、新規ガイドラインはITPのコントロールには満足すべきガイドラインと考えられた。

個人研究でITPモデル動物の作成が種々の方法を用いて試みられ、中でもヌードマウスへ制御性T細胞を除去したCD4⁺T細胞分画を移入し、制御性T細胞欠損マウスを作成し経過を観察したところ、一部にヒトITPと病態が類似した血小板減少マウスが誘導された。このことから制御性T細胞がITPの発症に関係していることを明らかにすると共に動物ITPモデルが作成されたことにより、免疫病態の評価や新たな治療戦略のスクリーニングへの応用が可能となった。

健康危険情報

なし

研究発表

1. 論文発表

1) Kuwana M, Iki S, Urabe A

The role of autoantibody-producing plasma cells in immune thrombocytopenic purpura refractory to rituximab

Am J Hematol 82(9) 846-848 2007

2) Yamaguchi Y, Seta N, Kaburaki J,

Kobayashi K, Matsuura E, Kuwana M
Excessive exposure to anionic surfaces maintains autoantibody response to β_2 -glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome

Blood 110(13) 4312-4318 2007

3) Yasuoka H, Yamaguchi Y, Mizuki N,

Nishida T, Kawakami Y, Kuwana M
Preferential activation of circulating CD8⁺ and $\gamma\delta$ T cells in patients with active Behçet's disease and HLA-B51

Clin Exp Rheumatol In press

4) 倉田義之

ITP (特発性血小板減少性紫斑病)
血液フロンティア、17; 39-46
2007

5) 倉田義之

特発性血小板減少性紫斑病
(ITP) : 最新の治療
臨床血液、48; 355-362 2007

6) 倉田義之、林 悟

血小板寒冷凝集素症
血液・腫瘍科、55; 142-148 2007

7) 倉田義之

抗血小板抗体
臨床検査ガイド 2007~2008、