

(資料2)

ITP 死亡症例調査表 (2次調査)

施設名 :

症例番号 : \_\_\_\_\_

性別 :        男                    女

生年月日 :    19            年    月    (年齢    才)

ITP 発症時期 :            年    月    (年齢    才)

死亡年月日 :            年    月    (年齢    才)

死亡時の ITP の臨床状態 (該当するものに○印) :

寛解中、        薬物でコントロール良好、        不良

この間行った治療に○印をつけてください (複数可)

副腎皮質ステロイド、摘脾、ダナゾール、ピンカアルカロイド、

ビタミンC、ダブソン、エンドキサン、イムラン、IFN- $\alpha$ 、

デカドロン大量、ステロイドパルス、リツキサン、IVI gG、

サイクロスポリン、ピロリ除菌、血小板輸血、

その他 \_\_\_\_\_

死因 : \_\_\_\_\_

ITP 関連死:        Yes            No

合併症 : \_\_\_\_\_

(資料3)

前回の1次調査(平成17年10~12月)で貴施設から  
ご報告頂いた症例数。

現在通院中の難治性 ITP 症例数

\_\_\_\_\_ 例

最近数年間(年限を問いません)死亡した ITP 症例数

\_\_\_\_\_ 例

現在通院中の ITP 症例数

\_\_\_\_\_ 例

以上でした。

厚生労働省難治性疾患克服事業

「血液凝固異常症に関する調査研究班」

班長 池田 康夫 慶応義塾大学医学部 内科

班員 藤村 欣吾 広島国際大学薬学部 病態薬物治療学講座

桑名 正隆 慶応義塾大学医学部 リュウマチ内科

倉田 義之 大阪大学医学部附属病院 輸血部

## 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

分担研究者 倉田義之 四天王寺国際仏教大学人間福祉学科教授

我が国における特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の発症頻度、年齢分布、患者の病状や治療、生活状況を平成 17 年度の臨床個人調査票をもとに解析した。

平成 17 年度における新規患者数は 10 万人あたり 2.43 人であった。日本全体では 3,107 人が発症したと推計された。更新患者数は 10 万人あたり 13.86 人で日本全体では 17,709 人の患者がいたと推計された。新規患者の年齢分布では急性型は 5 歳以下の小児に多く、慢性型は 26～35 歳のピークとともに 51～75 歳にも大きなピークが認められた。更新患者においてはさらに顕著で 26～40 歳のピークは小さく 51～70 歳に大きなピークがみられた。高齢発症、患者年齢の高齢化が進んでいると思われた。

### 1. 研究目的

ITP は比較的まれな疾患である。わが国における実態を把握することは今後の ITP 患者への治療計画、支援計画などをたてるにあたり非常に重要なデータとなる。

今回の調査では、1) 平成 17 年度における ITP 患者の実態調査、2) 昨年、一昨年の調査で確認された高齢発症、患者高齢化の確認、3) 平成 15 年度と平成 16 年度で患者発生数が大きく異なっていたので平成 17 年度での患者発生数の確認を中心に検討した。

### 2. 研究方法

厚生労働省健康局疾病対策課より平成 17 年度の ITP 患者の臨床個人調査表データの提供を受けた。データには新規申請患者分と更新申請患者分のデータが含まれている。データの提供を受けた時点（平成 19 年 11 月）では一部の都道府県のデータが厚生労働省に届いていなかった。新規申

請分でデータが届いていなかった道府県は北海道、秋田、山形、新潟、三重、滋賀、大阪、奈良、福岡、佐賀、熊本、大分、宮崎、鹿児島、沖縄の 15 道府県であった。更新申請分で届いていなかった道府県は東京、長野、三重、滋賀、大阪、奈良、広島、福岡、佐賀、大分、鹿児島、沖縄の 12 道府県であった。

### 3. 研究結果及び考察

#### 1) ITP 患者発生数

平成 17 年度に発症した患者数を表 1 に示す。新規発生患者数は男女合わせて 2,204 名であった。2,204 名を調査道府県の人口（90,625 千人）で除し人口 10 万人あたりで計算すると 2.43 人であった。また 2,204 名は調査道府県での発生数であるので日本の総人口（127,768 千人）でもって推計するとわが国では年間 3,107 名の患者が発生したと推計された。

表1. ITP患者発生数

	全発生数		急性型発生数		慢性型発生数		型不明	
	男	女	男	女	男	女	男	女
患者数	2,204	1,336	633	409	1,237	443	794	134
調査道府県人口(千人)	80,825	46,069	80,825	46,069	80,825	46,069		
10万人あたり	2.43	2.90	0.82	1.02	1.36	0.99	1.72	
総人口(千人)	127,768	65,419	127,768	65,419	127,768	65,419		
推計患者数	3,107	1,887	1,174	685	1,744	620	1,127	

2) 新規患者年齢分布

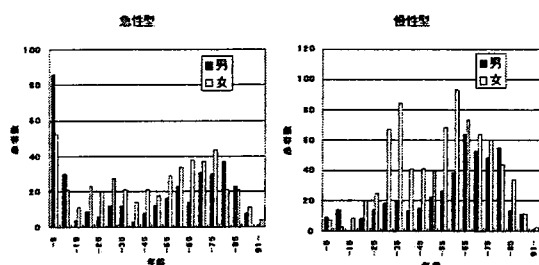


図1. 新規患者年齢分布

新規患者の年齢分布を図1に示す。図1左が急性型、右が慢性型の年齢分布である。急性型では5歳以下の小児にピークがあった。男児が女児の約1.6倍多かった。慢性型、女では26歳～40歳と51歳～75歳にピークがあった。男では56歳～80歳に単一ピークを認めた。26歳～35歳では女が男の約3～4倍多かった。一方、50歳以上では女のほうが約2倍多い程度であった。

新規患者の年齢分布を10万人あたりで解析してみると、急性型では5歳以下にピークがあり、男では76歳～85歳にも軽いピークがみられた。一方、慢性型においては女では26歳～35歳と51歳～85歳にピークが見られた。男では61歳ごろより増加し始め76歳～80歳にピークがみられた。

3) ITP 更新患者数

平成17年度に更新申請があった患者数

を表2に示す。更新患者数は男女合わせて11,971名であった。11,971名を調査道府県の人口(86,392千人)で除して人口10万人あたりで計算すると13.86名であった。また11,971名は調査道府県での更新数であるので日本の総人口(127,768千人)でもって推計するとわが国では平成17年度に17,709名の患者が更新申請をしたと推察された。

表2. ITP更新患者数

	合計患者数		急性型患者数		慢性型患者数		型不明	
	男	女	男	女	男	女	男	女
患者数	11,971	6,487	1,005	613	10,610	3,000	7,610	340
調査道府県人口(千人)	86,392	44,172	86,392	44,172	86,392	44,172		
10万人あたり	13.86	19.21	1.16	1.39	12.29	7.11	17.25	
総人口(千人)	127,768	65,419	127,768	65,419	127,768	65,419		
推計患者数	17,709	12,567	1,482	580	15,703	4,433	11,235	

4) 更新患者年齢分布

慢性型の更新患者の年齢分布を図2に示す。男女とも26歳ごろより増加し始め、51～80歳にピークがあった。女が男の約2.5倍多かった。女においては26～45歳にも小さなピークを認めた。

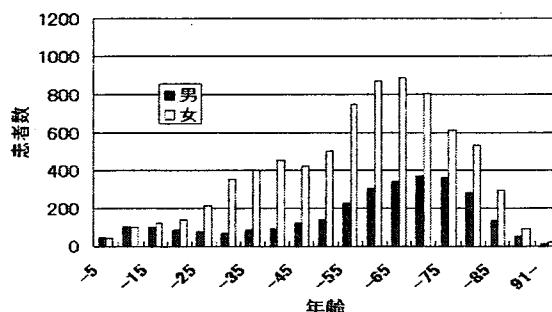


図2. 更新患者年齢分布(慢性型)

5) 罹病期間

更新患者における罹病期間を図3に示す。21年以上の患者においては5年ごとにまとめて示している。罹病期間は1年未

満の患者から 50 年以上に及ぶ患者まで幅広く分布している。ITP が慢性疾患であることを示しているとともに基本的には予後良好な良性疾患であることを意味しているものと思われる。

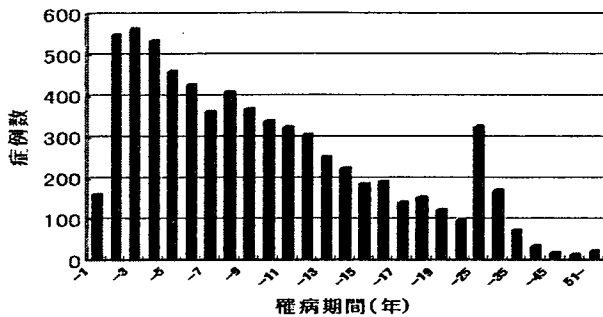


図3. 罹病期間(更新症例)

### 6) 出血症状

新規患者では急性型のほうが出血症状の頻度は高かった (88% vs 64%)。出血の症状は急性型・慢性型ともに紫斑が主で、次いで歯肉出血、鼻出血であった。血尿や下血などの症状は少なかった。

更新患者では急性型、慢性型ともに新規患者に比べ出血症状の頻度は低かった (44%と 41%)。出血症状は急性型、慢性型ともに紫斑が主であった。

### 7) 血小板数

新規症例においては急性型、慢性型ともに血小板数 2 万以下の症例が多かった。特に急性型においては 43%の症例が 1 万以下であった。一方、更新患者において血小板数は 10 万以上の症例が多かった。

### 8) 特殊検査

新規症例における骨髓検査、PAIgG、抗血小板自己抗体検査、網状血小板検査の実施率を表 3 に示す。骨髓検査は急性型、慢性型ともにほぼすべての症例で実施されていた。また多くの症例で PAIgG も測定されていた。PAIgG が増加している (>107ng/10<sup>7</sup>plts) 症例は急性型で 64%、慢性型で 46%に認められた。ITP に特異

的な検査である抗血小板自己抗体検査、網状血小板検査の実施率は非常に低かった。

表3. 特殊検査実施率

検査項目	急性型 (%)	慢性型 (%)
骨髓検査	98.3	98.6
PAIgG	43.0	60.0
抗GP抗体	2.8	4.4
網状血小板	3.2	2.1

### 9) 治療

新規症例において選択された治療法を図 4 に示す。新規・急性型ではプレドニン治療が 77%の症例において選択されていた。次いで大量 IgG 療法、ピロリ除菌と続いていた。急性型では出血症状が強いことと小児が多いことからプレドニン治療に次いで大量 IgG 療法が選択されたと思われる。また新規・慢性型においてもプレドニン治療が 55%の症例に選択されていた。次いでピロリ除菌、大量 IgG 療法が実施されていた。ピロリ除菌療法は保険適応はないが多くの症例ですでに実施されていた。

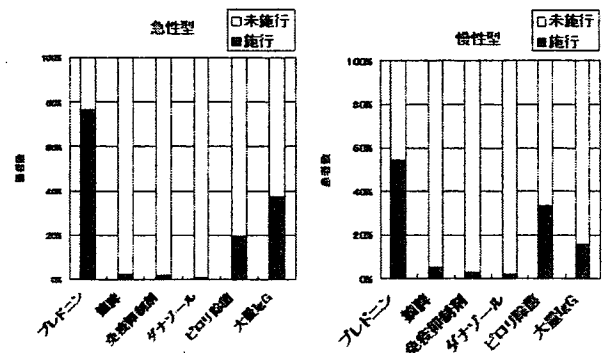


図4. 選択されている治療法(新規症例)

図 5 左が更新症例でこの 1 年間に試みられた治療法、右が全経過でされた治療法を示している。更新症例においてもこの 1 年間ではプレドニン治療が最多で 51%の症例でプレドニン治療されていた。一方、

全経過ではプレドニン治療が 76%、次いで大量 IgG 療法、ピロリ除菌療法、摘脾などであった。

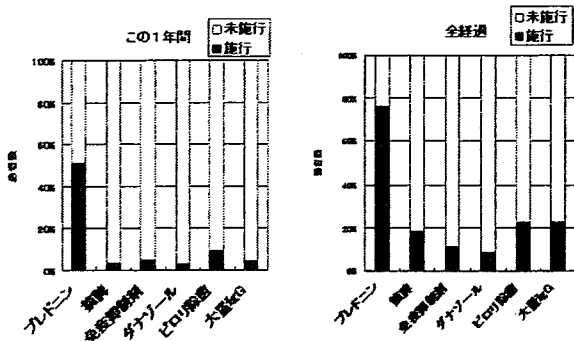


図5. 選択された治療法(更新・慢性型症例)

10) 生活状況、受診状況

ITP 患者の生活状況及び受診状況を図6に示す。新規・急性型患者では約4割が入院していた。就労、就学、家事労働など日常生活が行なえている患者は約半数であった。新規・慢性型患者では入院が約15%、8割弱の症例は日常の生活を維持していた。更新・慢性型患者では入院中の症例はごく一部で大半の症例が日常生活を維持していた。

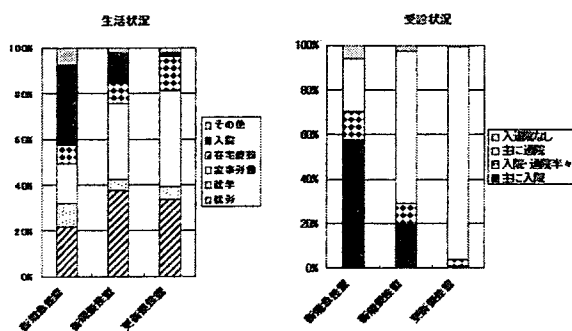


図6. 生活状況と受診状況

図6右に受診状況を示す。新規・急性型患者では主に入院とする症例が6割弱の症例にみられた。一方、新規・慢性型患者では2割の症例が主に入院していた。更新患者では大半の症例が主に通院という結果であった。

4. 結論

今回の調査ではITPの発症頻度は10万人あたり2.43人、更新患者は10万人あたり13.86人であった。発症頻度、更新患者数ともに平成16年度の調査結果とほぼ同じであった。年齢分布の調査結果も高齢者での発症増加が確認できた。更新患者の年齢分布においても高齢者に大きくシフトしていた。今回の成績は平成16年度の調査結果と同じで、ITP患者の高齢化を確認した。

5. 健康危険情報

特になし。

6. 研究発表

1) 論文発表

- 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
- 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
- 倉田義之、林 悟：血小板寒冷凝集素症 血液・腫瘍科、55；142-148
- 倉田義之：「特発性血小板減少性紫斑病」について教えてください きょうの健康 2007年10月号 p121
- 倉田義之：抗血小板抗体 臨床検査ガイド 2007～2008、Medical Practice 編集委員会編、文光堂、p688～689
- 倉田義之：c-Mpl に結合するペプチドおよびノンペプチド化合物の臨床応用の動向 Mebio Oncology、4；64-72
- 倉田義之、清水 勝、岡崎 仁、高本 滋：免疫学的機序による非溶血性輸血副作用頻度実態調査報告 日輸細治会誌、53；43-46
- 富山佳昭、倉田義之：血小板減少症

Modern Physician, 27; 511-514

- 倉田義之：臨床個人調査票（平成16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 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 平成18年度 総括・分担研究報告書、p89-99
- 倉田義之：免疫学的輸血副作用実態調査報告（2006年） 厚生労働科学研究費補助金 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業 免疫学的輸血副作用の把握とその対応に関する研究 平成18年度報告書、p6-33

## 2) 学会発表

- 倉田義之：血小板輸血の適応と禁忌 第55回日本輸血・細胞治療学会総会教育講演、名古屋
- 加藤栄史、高本 滋、倉田義之、比留間 潔、藤田 浩：免疫学的輸血副作用の実態調査 第55回日本輸血・細胞治療学会総会 “ワークショップ” 非溶血性輸血副作用”、名古屋
- 永峰啓丞、押田眞知子、中尾まゆみ、岩上みゆき、清川知子、青地 寛、林 悟、倉田義之、玄 景明：原因抗体の検出に苦慮した抗 Jkb 抗体に起因すると考えられた遅発性溶血性輸血副作用の症例 第55回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋
- 押田眞知子、中尾まゆみ、岩上みゆき、清川知子、青地 寛、永峰啓丞、林 悟、倉田義之：細胞培養目的の自己血清採取法について 第55回日本輸血・細胞治療学会総会、名古屋
- 倉田義之：変異型クロイツフェルト・ヤコブ病と輸血による感染にリスク

第10回北海道ウイルス感染症セミナーの会、特別講演、平成19年9月8日 ホテルロイトン札幌

- 白杉由香里、小川吉明、安藤 潔、橋野 聡、長澤俊郎、小島 寛、倉田義之、富山佳昭、岸本裕司、岩戸康治、藤村欣吾、北村 聖、曾根原裕介、大倉征幸、大津智子、Janet N Nichol：新規血小板造血刺激たん白製剤 AMG531 の慢性 ITP に対する安全性と有効性に関する検討 第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会合同総会、平成19年10月11日～13日、パシフィコ横浜
- 倉田義之：ITP 診療の現状と今後期待される治療法 第15回日本小児 ITP 研究会 特別講演、2007年11月10日都市センターホテル
- 清川知子、押田眞知子、中原千尋、池田珠世、矢尾真希子、青地 寛、永峰啓丞、林 悟、富山佳昭、倉田義之：輸血後感染症検査実施率向上にむけての取り組み 第51回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会、和歌山

臨床個人調査票集計による特発性血小板減少性紫斑病の  
全国疫学調査（3年間のまとめ）

分担研究者 倉田義之 四天王寺国際仏教大学人文社会学部人間福祉学科教授

我が国における特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の発症頻度、年齢分布、治療状況などを平成15年度、16年度、17年度の臨床個人調査票をもとに解析し、経時的な推移を検討した。

新規患者数は毎年3,200人前後が発症していると推計され、10万人あたりでは2.5人前後の発症数であった。新規患者の年齢分布は急性型では5歳以下に、慢性型では26～35歳のピークとともに51～70歳にも大きなピークが認められた。更新患者数は18,000人前後と推計された。更新患者（慢性型）の年齢分布では20～40歳のピークは小さく51～75歳に大きなピークがみられた。高齢発症、患者年齢の高齢化が進んでいると思われた。

治療法では副腎皮質ホルモン療法が最も多く、新規症例では急性型で70%前後の症例、慢性型で50%強の症例で行われていた。更新症例（慢性型）においても50%前後の症例において副腎皮質ホルモン療法が実施されていた。

1. 研究目的

ITP患者の実態調査は今後のITP患者への治療計画、支援計画などをたてるにあたり非常に重要なデータである。われわれの研究班では平成15年度、16年度、17年度のITPの実態調査結果を比較し、ITP患者の実態の経時的推移を検討した。

した患者数を表1に示す。

新規発生患者数（推計）は男女合わせて1,598名～3,277名であった。平成16年度、17年度は3,200名前後であったが、平成15年度は1,598名と少なかった。少なかった原因は不明であるが特定疾患に対する医療費助成制度の変化などが影響し、一時的に特定疾患の届け出が減少したのではないかと推測している。

表1. ITP患者発生数(推計)  
(平成15～17年度)

平成年度	全発生数	男	女	急性型	男	女	慢性型	男	女
15年	1,598	683	915	573	311	263	942	333	609
16年	3,277	1,300	1,980	1,318	614	704	1,776	824	1,154
17年	3,107	1,215	1,897	1,174	511	665	1,744	820	1,127

過去の発症頻度の報告との比較を表2に示す。平成15年度の調査では10万人あたり1.25人と少なかった。平成16年度、17年度は2.5人前後と平成15年度と比べほぼ2倍となっている。過去に報告されているITP疫学データと比較すると2001～2002年の高知県でのITP発症数は10万人あたり2.28人であったと報告されている。欧米においても発症頻度の報告がある。

2. 研究結果及び考察

1) ITP患者発生数

平成15年度、16年度、17年度に発症



デンマークでは 2.68 人、イギリスでは 1.6 人と報告されており、ほぼ日本人と同じ発症頻度であると考えられる。

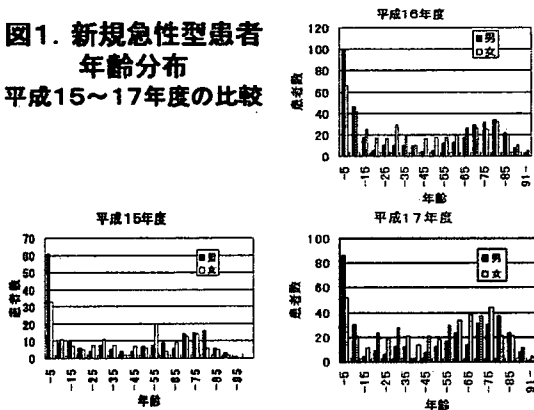
表2. 患者発生数の比較

	10万人あたり		
	全	男	女
高知県のデータ (2001~2002)	2.28	1.70	2.80
デンマークのデータ (1973~1995)	2.68		
イギリスのデータ (1993~1999)	1.6		
平成15年度の 全国調査	1.25	1.09	1.41
平成16年度の 全国調査	2.56	2.08	3.03
平成17年度の 全国調査	2.43	1.95	2.90

## 2) 新規患者年齢分布

新規患者、急性型の年齢分布を図1に示す。

図1. 新規急性型患者  
年齢分布  
平成15~17年度の比較

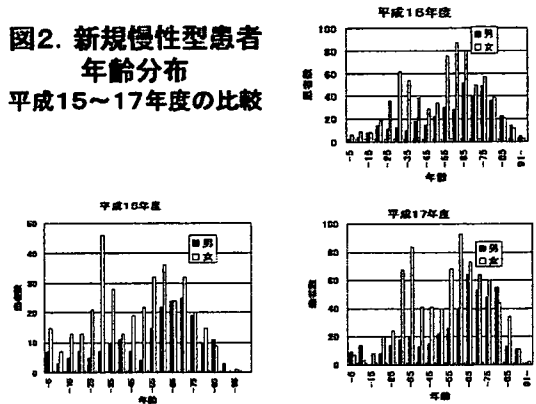


急性型では5歳以下の小児にピークがあり、男児が女児の約 1.5~2 倍多かった。高齢者にもピークがあった。70 歳台が中心で、男女差はなかった。3 年間を通じて変化はなかった。

慢性型の年齢分布を図2に示す。女では 21 歳~40 歳と 51 歳~80 歳にピークがあった。男では 61 歳~80 歳に単一のピークを認めた。20 歳~35 歳では女が男の約 3~5 倍多かった。一方、50 歳以上では女のほうが約 1.5 倍多い程度であった。66 歳以上では男女差はなかった。この3年間で年

齢分布に変化はなかった。

図2. 新規慢性型患者  
年齢分布  
平成15~17年度の比較



新規申請症例の年齢分布を昭和 49 年度と比較した成績を図3に示す。昭和 49 年度では5歳以下にピークがあり、急性型を反映したピークと考えられた。小児では男女差がなかった。さらに女では 20 歳~30 歳に小さなピークがあった。慢性型を反映したピークと思われる。平成 17 年度においても5歳以下の小児にピークを認めるのは同じであるが男児が女児の 1.5 倍多い点が異なっていた。成人のピークは高齢者に大きくシフトし、従来の 20~40 歳のピークを凌駕していた。人口の高齢化とともに高齢発症の ITP が増加しているのではないかと推察された。

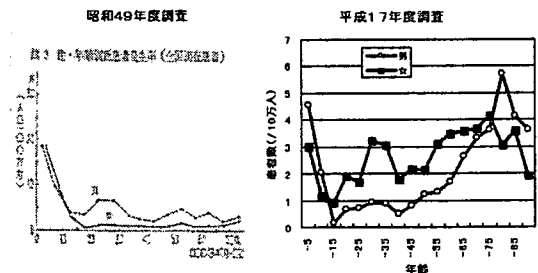


図3. 新患発生数

## 3) ITP 更新患者数

更新患者数を表3に示す。更新患者数は 16,446~18,261 名と推計された。

ITP の新規患者、更新患者を含めた ITP 患者数を過去の成績と比較した成績を表4に示す。昭和 49 年の全国調査では 10

万人あたり 5.5 人～11.5 人と報告されている。この 3 年間は 10 万人あたり 14.14～16.86 人であり、患者数は少し増加しているとの成績であった。

表3. ITP更新推計患者数  
(平成15～17年度)

平成年度	合計患者数	男		女		急性型		慢性型	
		男	女	男	女	男	女	男	女
15年	18,448	4,873	11,573	1,597	943	954	14,488	4,108	10,380
16年	18,281	5,350	12,927	1,598	671	928	16,222	4,539	11,700
17年	17,709	5,144	12,567	1,482	580	909	15,703	4,433	11,285

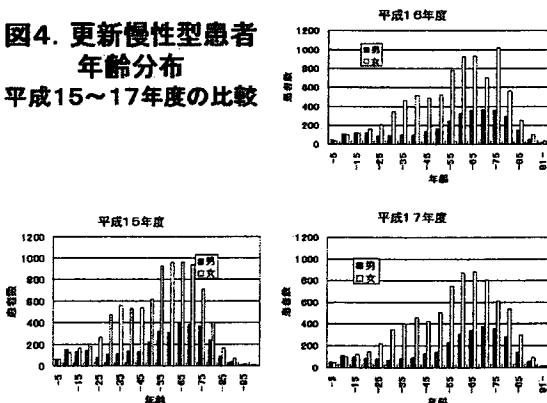
表4. ITP患者数の比較

	10万人あたり(人)
昭和49年の全国調査	5.5～11.5
平成15年度の全国調査	14.14
平成16年度の全国調査	16.86
平成17年度の全国調査	16.29

4) 更新患者年齢分布

更新患者慢性型の年齢分布を図4に示す。男女とも 51～75 歳に大きなピークがあり、女子では 26～45 歳にも小さなピークがあった。この 3 年間で変化はなかった。

図4. 更新慢性型患者年齢分布  
平成15～17年度の比較



5) ITP 患者の年齢分布

急性型、慢性型及び新規症例、更新症例をまとめた ITP 患者の年齢分布を過去

(昭和 49 年) の成績と比較した成績を図 5 に示す。

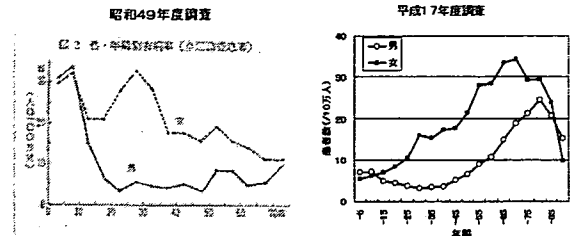


図5. ITP患者年齢分布

昭和 49 年では 10 歳以下のピークとともに 20 歳～40 歳の女に発症のピークがある。しかしながら今回の調査では 20 歳～40 歳のピークはなく 60 歳～85 歳の高齢に男女ともピークを認めた。高齢で発症した ITP 症例が長期にわたって経過観察されている結果と考えられた。

6) 治療

新規症例及び更新症例において試みられた治療法を図 6～10 に示す。

最初に新規症例における治療法を図 6～8 に示す。図 6 は副腎皮質ホルモン療法のこの 3 年間の推移で左が急性型、右が慢性型である。急性型で 70～77% の症例、慢性型においても 53～55% の症例で副腎皮質ホルモン療法が実施されていた。平成 15 年度に比べ 16 年度、17 年度と急性型、慢性型ともに増加傾向にあった。

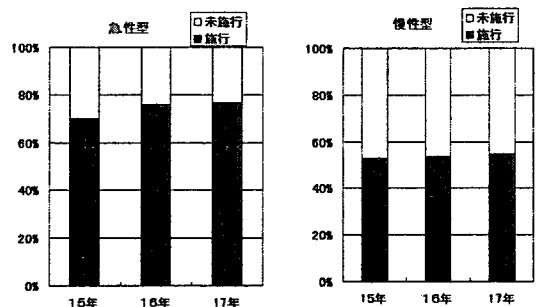


図6. 副腎皮質ホルモン療法(新規症例)  
平成15、16、17年度の比較

図 7 にピロリ除菌療法の実施率を示す。急性型で 15～19%、慢性型で 24～33% の症

例に実施されていた。急性型、慢性型ともにこの3年間では増加傾向を示していた。

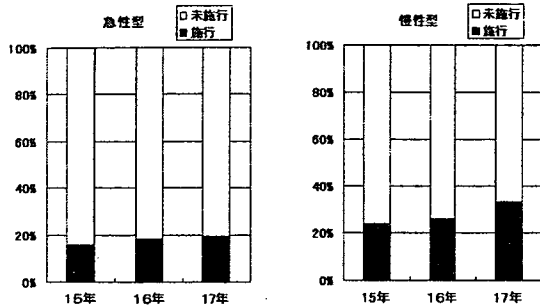


図7. ピロリ除菌療法(新規症例)  
平成15、16、17年度の比較

図8に大量IgG療法の実施率を示す。急性型で37~46%、慢性型で13~16%の症例に大量IgG療法が実施されていた。この3年間では実施率に変化はなかった。

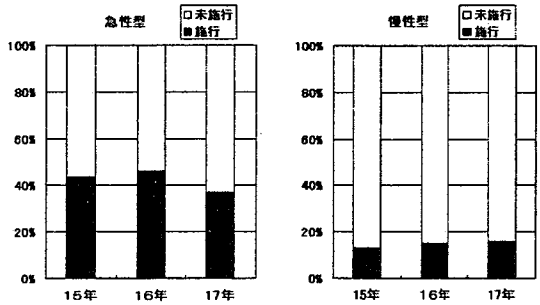


図8. 大量IgG療法(新規症例)  
平成15、16、17年度の比較

次いで更新症例、慢性型におけるこの1年間の治療実施率を図9~10示す。図9左は副腎皮質ホルモン、右が摘脾の実施率である。副腎皮質ホルモンの実施率は50~51%でこの3年間で変化はなかった。摘脾はいずれも4%と非常に低い実施率であった。

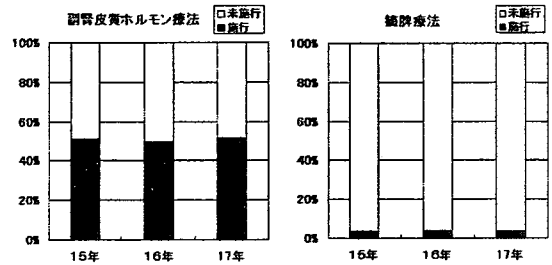


図9. 副腎皮質ホルモン療法・摘脾  
(更新・慢性型、この1年間)  
平成15、16、17年度の比較

図10左はピロリ除菌療法、右は大量IgG療法の実施率である。ピロリ除菌療法はいずれも10%、大量IgG療法も5%と低い実施率であった。

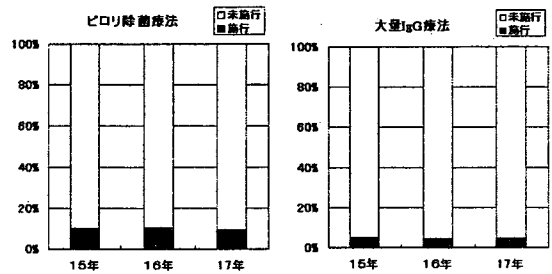


図10. ピロリ除菌療法・大量IgG療法  
(更新・慢性型、この1年間)  
平成15、16、17年度の比較

### 3. 結論

- 1) 新規患者発生数は3,200名前後、10万人あたり2.5人前後であった。
- 2) 新規患者の年齢分布では慢性型において20~35歳の女性とともに60~80歳台の高齢者に男女ともに発症のピークがあった。
- 3) 更新患者数は1,800人前後で、10万人あたり15人前後であった。
- 4) 更新患者の年齢分布は50~75歳の高齢者に男女ともに発症のピークがあった。
- 5) 新規症例・急性型ではプレドニゾロン治療、大量IgG療法、ピロリ除菌療法の順で施行されていた。一方、慢性型ではプレドニゾロン、ピロリ除菌療法、大量IgG療法の順で治療がなされていた。

## 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

分担研究者 桑名正隆 慶應義塾大学医学部内科 准教授  
主任研究者 池田康夫 慶應義塾大学医学部内科 教授  
研究協力者 佐藤隆司 慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター特別研究助教  
研究協力者 西本哲也 慶應義塾大学大学院医学研究科大学院生

### 研究要旨

これまでに集積された患者検体から得られた知見に基づいて、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)病態を再現する新規マウスモデルの作製を試みた。正常マウスにヒト血小板とアジュバントとの混合液、潜在性エピトープの発現を促すために還元したヒト血小板、マウス GPIIb/IIIa を強制発現させたヒト巨核芽球を免疫源として用いたが、血小板減少は誘導できなかった。ヌードマウスに同系マウス由来 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性 T 細胞(Treg)を除去した CD4<sup>+</sup>T 細胞分画を移入した Treg 欠損マウスを作製したところ、約 35%が血小板減少を自然発症した。血小板減少を認めなかった Treg 欠損マウスにヒト血小板を免疫すると約 10%で血小板減少を誘導できた。これら血小板減少マウスでは、網状血小板比率と血小板関連 IgG の増加を認め、血漿中にマウス GPIIb、GPIIIa に対する抗血小板自己抗体が検出された。以上より、ITP 発症抑制に Treg が重要であることが示された。Treg 欠損マウスは ITP の新規モデルと考えられ、ITP の自己免疫病態の動的評価や新規治療法のスクリーニングに応用可能と考えられた。

### A. 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病(ITP)は血小板膜糖蛋白に対する自己抗体産生により、血小板の破壊が亢進し、血小板減少をきたす自己免疫疾患である。これまでの ITP 患者検体を用いた解析により、抗血小板抗体の対応抗原は多種類の血小板糖蛋白であることや、その産生に CD4<sup>+</sup>T 細胞が重要な役割を果たしていること、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>免疫制御性 T 細胞(regulatory T cell: Treg)の減少が報告されている。しかしながら、ITP の発症機転や病態については依然不明な点が多く、未だ根本的な治療の開発には至っていない。

これまで、ITP に類似した病態を呈するマウスモデルが報告されてきた。雄性(NZW/BXSB)F1 マウスは、4ヶ月齢以降に抗血小板抗体の産生がみられ、血小板減少を自然発症するが、全身性エリテマトーデス(SLE)や抗リン脂質抗体症候群を併発する。また、発症に Y 染色体上の自己免疫促進遺伝子(*Yaa* 遺伝子)が関連することから、遺伝素因の少ない ITP とは異なる。他に、ラット血小板を特定系統のマウスに免疫すると、抗血小板自己抗体の産生と一過性の血小板減少を誘導できるが、このモデルは ITP というよりむしろ輸血後血小板減少症のモデルと考えられている。本

研究では、これまで ITP 患者検体を用いた解析で集積された知見に基づいて、ITP 病態に類似性の高い新規マウスモデルの作製を試みた。

## B. 研究方法

### 1. ITP 病態評価法の確立

雄性(NZW/BXSB)F1 マウスの血小板数(n=11)、網状血小板比率(n=5)、PAIgG(n=7)をフローサイトメトリー法により毎週経時的に測定し、発症前に比べて有意な変化を示した時点での数値をカットオフとした。

### 2. ヒト血小板の免疫

BALB/c マウス、CBA マウス(雌、8 週齢)各群 2 匹にヒト血小板による免疫を毎週計 4 回行い、その後 11 週間 ITP 病態を評価した。具体的には、抗凝固剤(ヘパリン)含有ヒト新鮮血液から分取したヒト血小板  $10^8$  個(初回)または  $5 \times 10^7$  個(2 回目以降)を腹腔内または尾静脈に免疫した。アジュバントと共に免疫する検討では、完全/不完全フロイントアジュバント(CFA/IFA)または Imject Alum を用い、ヒト血小板とアジュバントとの混合液を腹腔内に免疫した。コントロール群は PBS またはアジュバントのみを投与した。抗ヒト血小板抗体はマウス血漿をヒト血小板と反応させた後、FITC 標識ヤギ抗マウス IgG 抗体を反応させて、フローサイトメトリー法を用いて検出した。

### 3. 構造修飾したヒト血小板の免疫

#### 3.1 還元したヒト血小板の免疫

BALB/c マウス、CBA マウス(雌、8 週齢)各群 2 匹に免疫は毎週計 4 回行い、7 週間 ITP 病態を評価した。還元血小板はヒト血小板をジチオトレイツール(100mM)と 37℃、30 分間反応させ、

その後洗浄することで作成した。還元ヒト血小板または還元ヒト血小板とアジュバントとの混合液を  $10^8$  個(初回)または  $5 \times 10^7$  個(2 回目以降)で腹腔内に免疫した。コントロール群には PBS またはアジュバントのみを投与した。

#### 3.2 マウス GPIIb/IIIa 発現ヒト巨核芽球性白血病細胞株の免疫

BALB/c マウス(雌、8 週齢)各群 4 匹に免疫を毎週計 4 回行い、8 週まで ITP 病態の評価を行った。マウス GPIIb、GPIIIa の全長をコードする DNA 配列を PCR で増幅し、アデノウイルス発現ベクターにクローニング後、AD-293 細胞内でアデノウイルスを生成した。GPIIb アデノウイルス(15MOI)および GPIIIa アデノウイルス(30MOI)を感染させたヒト巨核芽球性白血病細胞株(MEG-01)は 25% でマウス GPIIb/IIIa の発現を確認した。マウス GPIIb/IIIa 発現 MEG-01 は腹腔内に  $10^7$  個、または尾静脈に  $10^6$  個免疫した。また、抗ヒト血小板抗体による MEG-01 の全感作を目的として MEG-01 による免疫 1 週前にヒト血小板( $10^8$  個)を 1 回尾静脈から投与した。コントロール群はインサートを挿入していないアデノウイルスを感染させた MEG-01 で免疫した。

### 4. Treg 欠損マウスを用いた検討

#### 4.1 Treg 欠損マウスの作製

BALB/c マウス(雌、8~11 週齢)の末梢血、脾細胞より採取した単核球から、磁気細胞分離により  $CD4^+CD25^-$  細胞を回収した。その後、BALB/c-nu/nu ノードマウス(雌、6~8 週齢)の尾静脈に  $0.5 \times 10^7$  個または  $2 \times 10^7$  個の  $CD4^+CD25^-$  細胞を移植し、移植後 13 週まで ITP 病態の評価を行った。

#### 4.2 ヒト血小板の免疫

細胞移植後 4 週目までに血小板減少がみられ

なかった Treg 欠損マウスを対象に、ヒト血小板  $10^8$  個(初回)または  $5 \times 10^7$  個(2 回目以降)を腹腔内または尾静脈に毎週 (5~8 週) 計 4 回投与した。

#### 4.3 抗血小板自己抗体の検出

マウス血小板を抗原として使用し、SDS-7% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動し、ニトロセルロース膜に転写後、5%スキムミルク/TBS でブロッキングした。マウス血漿、陽性コントロールとして抗 GPIb 抗体、抗 GPIIb 抗体、抗 GPIIIa 抗体を反応させた後、化学発光により検出した。

### 5. 統計学的解析

血小板数、網状血小板比率、PAIgG は Mann-Whitney *U*-test を用いて 0 週に対して比較した。血小板減少群、血小板非減少群の抗血小板抗体陽性率は Fisher's test を用いて比較した。

## C. 研究結果

### 1. ITP 病態の評価法

生後 9 週齢の雄性(NZW/BXSB)F1 マウスと比較して、血小板数は 15 週齢で有意な減少を示し、網状血小板比率と PAIgG は 13 週齢で有意な増加がみられた。血小板数は正常値の 40%、網状血小板比率は 11.5%、PAIgG は MFI(mean fluorescence intensity)=3 をカットオフとした。

### 2. ヒト血小板の免疫

ヒト血小板を BALB/c マウス、CBA マウスの腹腔内に免疫し、免疫後 11 週まで観察したが、血小板数、網状血小板比率、PAIgG に有意な変化は見られなかった。また、尾静脈より免疫した検討、ヒト血小板とアジュバントの混合液を免疫

した検討でも同様の結果であった。免疫部位、マウスの系統に関わらず、ヒト血小板を免疫したマウスの血漿中から全例でマウス血小板と反応しない抗ヒト血小板抗体が検出された。

### 3. 構造修飾したヒト血小板の免疫

還元ヒト血小板の BALB/c マウス腹腔内への免疫、マウス GPIIb/IIIa 発現 MEG-01 の BALB/c マウスの腹腔内または尾静脈への免疫を行ったが、8 週までに血小板数、網状血小板比率、PAIgG に有意な変化は見られなかった。

### 4. Treg 欠損マウスを用いた検討

$0.5 \times 10^7$  個の  $CD4^+CD25^-$  細胞を移植した Treg 欠損マウスでは、ヒト血小板による免疫の有無に関わらず全例で血小板数減少、網状血小板比率増加、PAIgG 増加を認めなかった。 $2 \times 10^7$  個の  $CD4^+CD25^-$  細胞を移植すると、移植後 3~4 週目に血小板数減少、網状血小板比率増加、PAIgG 増加を自然発症するマウスを 49 例中 17 例(35%)で認めた。また、5 週までに血小板減少のみみられなかったマウスに計 4 回ヒト血小板を尾静脈より免疫すると、9~10 週目に血小板数減少、網状血小板比率増加を示すマウスが 21 例中 2 例(10%)で確認された。血小板減少を呈したマウスは全て 4 週以上血小板数減少が持続した(図 1)。一方、腹腔内にヒト血小板を免疫した群(n=2)、ヒト血小板による免疫を行わなかった群(n=6)では血小板減少、網状血小板比率増加、PAIgG 増加を認めなかった。マウス血漿中の抗マウス血小板抗体を免疫プロットにより調べると、血小板非減少マウス 14 例からは GPIb、GPIIb、GPIIIa と反応する自己抗体は検出できなかった。一方、血小板減少マウス 13 例中 5 例が抗 GPIIb 抗体陽性、2 例が抗 GPIIIa 抗体陽性であった(図 2)。抗

GPIIb 抗体または抗 GPIIIa 抗体の陽性頻度は血小板減少マウスで非減少マウスに比べて有意に高かった(54% vs 0%, p=0.002)。

#### D. 考察

マウスに対するヒト血小板の免疫では、異種抗原であるヒト血小板に対する免疫応答を誘導することはできたが、自己抗原であるマウス血小板に対する抗体産生は誘導できなかった。また、還元したヒト血小板やマウスとヒトの GPIIb/IIIa を同時に発現する細胞株を免疫源として用いて抗原性の向上を試みたが ITP 病態を誘導できなかった。したがって、自己血小板に対する免疫寛容の破綻には抗原修飾のみでは不十分であった。

一方、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>の Treg を欠損するマウスでは自己血小板に対する免疫応答が惹起され、ITP 病態を自然発症した。このことは、Treg が自己血小板抗原反応性 T 細胞の不活化を介して ITP の発症抑制に重要な役割を果たしていることを示す。また、ITP 病態の発症率は移植した CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 細胞数と相関し、移植細胞数が多いほど増加した。この現象は移植細胞に含まれる自己血小板反応性 T 細胞は移植した細胞数に依存するためと考えられた。自己血小板反応性 T 細胞数の不足による発症率の低さは異種血小板抗原による免疫を組み合わせることである程度解消できることが示された。

本 ITP マウスモデルにおける血小板減少は長

期に渡って持続し、その経過は慢性型の ITP に類似性が高い。また、雄性(NZW/BXSB) F1 マウスにみられる心筋梗塞のような致死的な合併症がないため長期の観察が可能である。ただし、発症率が 35%程度で、作製に時間を要し、コストがかかることが欠点である。これらの克服が今後の課題ではあるが、本マウスモデルは ITP の自己免疫病態の動的評価や新規治療法のスクリーニングに応用可能と考えられる。

#### E. 結論

Treg の欠損により ITP が自然発症することから、ITP の病態に Treg 機能障害が関与することが示された。Treg 欠損マウスは ITP の病態を反映する新規疾患モデルと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

なし

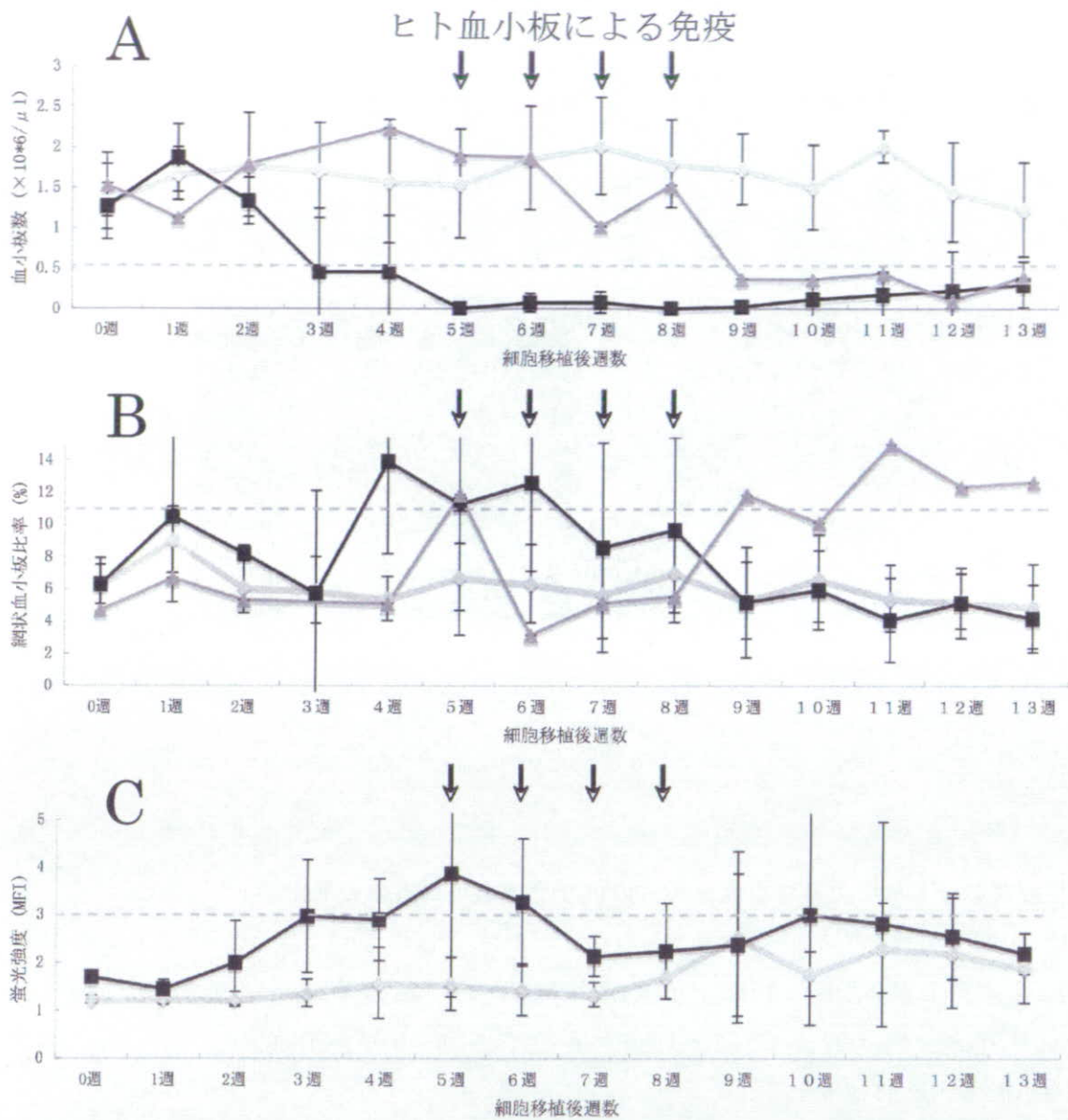


図1 Treg 欠損マウス(移植細胞数:  $2 \times 10^7$  個)の検討

それぞれの数値は平均±標準偏差で表し、血小板数(A)、網状血小板比率(B)、PAIgG(C)を示す。■は血小板減少を自然発症した群(n=17)、▲はヒト血小板を免疫後に血小板減少した群(n=2)、◐はヒト血小板免疫後に血小板減少しなかった群(n=19)を示す。破線はITP病態評価項目のカットオフ値を示す。



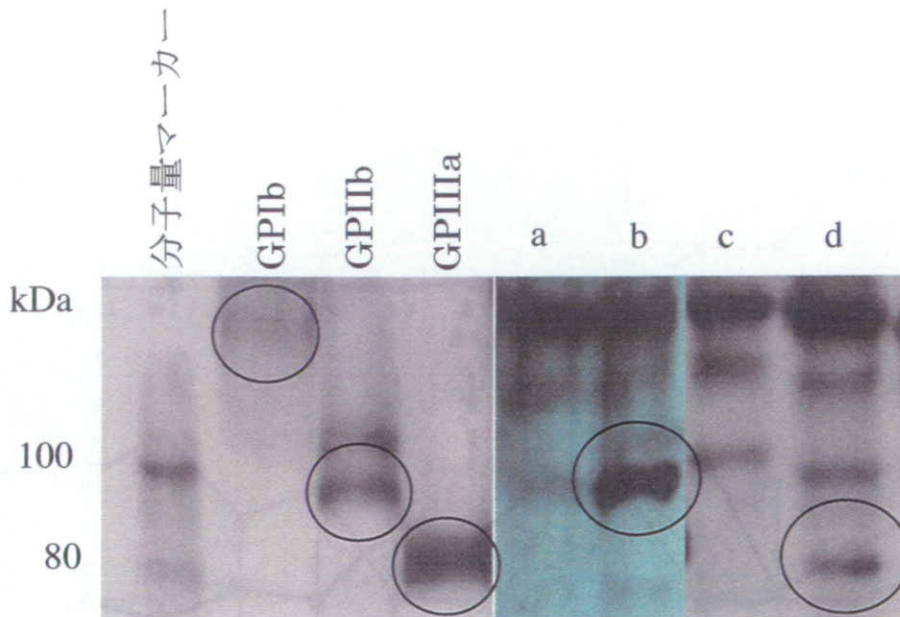


図2 免疫プロット法によるマウス血漿中の抗マウス血小板抗体の検出

抗原としてBALB/cマウスの血小板を使用し、Treg欠損マウス血漿、陽性コントロールとして抗GPIb、抗GPIIb、抗GPIIIa抗体を反応させた。a: Treg欠損マウスA(血小板減少前: 移植時)、b: Treg欠損マウスA(血小板減少後: 移植後4週)、c: Treg欠損マウスB(血小板減少前: 移植時)、d: Treg欠損マウスB(血小板減少後: 移植後6週)。

## チクロピジンとクロピドグレル-TTP の臨床的相違

分担研究者 藤村 吉博 奈良県立医科大学 輸血部 教授  
研究協力者 松本 雅則 奈良県立医科大学 輸血部 准教授  
加藤 誠司 奈良県立医科大学 輸血部 研究員

### 研究要旨

チクロピジン (TC) およびその後継薬であるクロピドグレル (CL) は、抗血小板薬として本邦でも広く使用されるようになった。日本では TC の使用が多いが、海外では重篤な副作用である TTP の発症頻度が少ない CL が多く使用されている。今回、日米共同研究を通じて TC-と CL-TTP の臨床的相違について検討した。TC-TTP は、内服後 2-4 週で発症し、ADAMTS13 活性がインヒビターの存在によって著減することが明らかとなった。それに対して、CL-TTP は 2 週以内に発症する症例が多く、ADAMTS13 活性はほとんどの症例で軽度の低下であった。TC-TTP では、血漿交換の効果は著効するが、CL-TTP では効果が明らかではなく、発症機序の相違が予想された。TC-TTP は、免疫学的機序によって ADAMTS13 活性が著減するが、CL-TTP は CL 自体が直接血管内皮細胞を障害することで TTP が発症すると考えられた。

### A. 研究の目的

チクロピジン (パナルジン®) およびその後継薬であるクロピドグレル (プラビックス®) を使用している患者で、最も注意が必要な副作用として血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) がある。両者は、抗血小板効果としての薬効にほとんど差はないが、副作用出現頻度は大きく異なるため、海外では CL が主として用いられている。CL は、本邦でも 2006 年以降、虚血性脳障害や急性冠症候群に対して保険適応が認められ、今後急速に使用症例が増加し、副作用として TTP 症例が増加する可能性がある。

我々は、米国 Northwestern 大学 Bennett 教授との共同研究 (SERF-TTP)

を通じて、CL と TC-TTP の臨床的特徴について報告した (JACC 2007;50:1138-1143)。また、本邦第一例目と思われる CL-TTP を経験したので、本邦における TC と CL-TTP の臨床的相違についてのまとめを報告する。

### B. 研究方法

奈良医大輸血部では、1998 年から 2007 年 12 月末までに日本全国の医療機関から様々な血小板減少症の ADAMTS13 活性測定依頼を受け付け、血栓性微小血管障害症 (TMA) 症例は 861 例であった。その中で TC-TTP 症例を 20 例、CL-TTP を 1 例診断した。

SERF-TTP 研究は、米国 FDA に報告された 29 例、論文報告された 40 例、米

国の SERF-TTP 参加アフエレーシスセンター8ヶ所から42例、日本からは奈良医大で集積した上記20例のTCのうち2年前までに診断した17例の計128例 (CL35例、TC93例) について解析した。

ADAMTS13活性は、従来のマルチマー法と我々が新規に開発したELISA (Kato et al. Transfusion 2006;46:1444-1452) の2つの方法で測定した。

(倫理面への配慮)

検体採取に際しては、主治医より十分な説明を行い、同意を得た。

### C. 研究成果

#### i) SERF-TTP 研究

表1にSERF-TTP研究128例の臨床的特徴を示した。TCとCL-TTP全体の平均年齢は62.4歳で、明らかな男女差は認めなかった。ADAMTS13活性が15%未満に低下している症例は66.7%と約2/3で、血小板減少は77%に認めたが、クレアチニン上昇や神経学的所見を認める症例は約30%であった。次にTCとCL-TTPについて比較すると、発症時期は内服14日以内に発症する症例は、TCでは9.7%に対してCLが74.3%であった。ADAMTS13活性の低下は、TCでは80%に認めたが、CLでは22.2%と少なかった。また、血小板減少はTCでは80%に認めたが、CLでは60%であった。クレアチニンの上昇は、TCでは27.8%であったが、CLでは55.2%であった。

図1にTCとCL-TTPの内服開始後の

TTP発症症例数を示した。CL-TTPは内服14日以内にほとんどの症例が発症しているが、TC-TTPでは、14日以内に発症する症例はほとんど存在せず、14日から40日にほとんどの症例が発症した。

また、表2では血漿交換の有無での生存率の比較を行った。全症例でもTPEあり生存率81.6%、なし50.0%と血漿交換を行ったほうが予後は良好であった。TC-TTPでも、TPEあり85.5%、なし45.8%と血漿交換は有効であったが、CL-TTPでは、あり72.4%、なし66.7%と血漿交換の有効性は認めなかった。

#### ii) 本邦のTC-とCL-TTPの経験

CLが2006年5月に発売された2ヶ月後に本邦初発例と思われるCL-TTPを経験した。症例は80歳女性、主訴は起立困難。既往歴として、10年以上前から気管支喘息で治療を受けていたが、プロピオン酸フルチカゾンの吸入を自己中止していた。現病歴は、2006年6月20日朝に呼びかけても発語せず、座位でも不安定であった。失語と軽い左片麻痺を指摘され、脳梗塞と診断され入院した。入院時現症として、意識状態は清明、体温35.7℃、血圧140/88mmHg、心拍数72/min、体重56.5Kg、眼瞼結膜貧血なし、眼瞼結膜軽度黄染あり、呼吸音にラ音聴取せず、心雑音なし、胸部・下肢に点状出血が散在、神経学的所見として左下肢でChaddock, Stranski反応陽性。入院後経過を図2に示すが、入院当初アルガ

トロバンで脳梗塞の治療を行った。その後、6月25日よりクロピドグレル75 mg/日内服開始した。6月29日より下肢に出血斑を認め、7月1日には、血小板6.3万低下した。7月3日には血小板2.2万まで低下し、破碎赤血球も認めため血漿交換を行った。その後回復傾向にあったが、脳梗塞を再度発症し、7月22日に死亡された。血漿交換前のADAMTS13活性は34%と軽度の低下で、インヒビターは認めなかった。

表3に我々の経験したTCとCL-TTPの特徴を示す。TC-TTPでは、20例中18例でADAMTS13活性は5%未満に低下しており、また1例を除いて全例でADAMTS13に対するインヒビターを認めた。TCの内服期間は、ほとんどの症例が30日未満で、20例中17例が寛解となり3例が死亡した。

#### D. 考察

我々は、CL-TTPを1例しか経験していないが、日米共同研究の結果などより、TCとCL-TTPの臨床的な相違を表4のようにまとめることができている。CL-TTPは内服後2週間から1ヶ月に発症し、ADAMTS13活性は著減し、血小板減少は高度であるが、腎障害は軽度で、血漿交換が著効する。これに対して、CL-TTPは発症までの期間は内服直後から2週間以内で、ADAMTS13活性は軽度の低下で、血小板減少は軽度であるが、腎障害は高度で、血漿交換の効果は明らかではない。このように、2つの薬は同様の作用機序

の抗血小板薬であるが、全く異なった機序でTTPが発症すると考えられる。TC-TTPは、IgG型の抗体が発生する免疫学的機序によって、CL-TTPは血管内皮細胞に対するCLの直接の障害によって発症すると考えている。

文献的には、TC-TTPは1万人のTC内服者から2-6人のTTPが発症するが、CL-TTPは8,500-26,000人のCL内服患者から1人発症すると報告されている。これらは、一般人口における100万人あたり3.7人のTTP発症よりかなり頻度は高い。また、CL-TTPはTC-TTPより発症頻度が低いいため、海外ではTCに代わってCLが主として用いられている。

本邦でも、CLの保険収載が行われ、虚血性脳血管障害に加えて急性冠症候群に適応が拡大された。これに伴い、CL内服患者が増加し、CL-TTPの発症例も増加する可能性がある。CL-TTPの特徴として、内服開始後早期に発症することであり、TC-TTPとは大きく異なることから注意が必要である。また、CL-TTPでは血漿交換の有用性が明らかでないことより、早期に診断してCL内服を中止することで予後が改善する可能性が高い。

#### E. 結論

CL-TTPは、TC-TTPに比べて、発症までの内服期間が短く、ADAMTS13活性は著減せず、血漿交換が著効しないことより予後が悪い可能性がある。本邦でもCL内服症例が増加することから、CL-TTPについて臨床医への啓蒙が重