

## 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

分担研究者 信州大学医学部保健学科 小林隆夫

研究協力者 女川町立病院内科 佐久間聖仁

三重大学大学院医学系研究科循環器内科学 中村真潮

### 研究要旨

肺塞栓症 (PE) と深部静脈血栓症 (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、および静脈血栓塞栓症 (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。その結果、PE 年間症例数は 10 年で 2.25 倍に増加していること、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ことなどが明らかとなった。すなわち、DVT 症例において、DVT の症状なし、右側の DVT、膝窩静脈より近位部の DVT が PE を有するリスクを有意に高くした。

#### 1. 研究目的

肺塞栓症 (PE) と深部静脈血栓症 (DVT) は基本的に同一の疾患の異なった臨床型と考えられ静脈血栓塞栓症 (VTE) として取り扱われることがある。確かに PE の直接的原因として DVT があり、VTE という概念は有用であるが、一方で肺塞栓症を起こす DVT と臨床的に単独で DVT として発見される場合では DVT 発生機序が異なる可能性がある。

今回の研究の目的は以下の 3 点である。1. PE と DVT の発生頻度を明らかにする。2. PE を伴った DVT (PE+ 群) と DVT 単独例 (PE- 群) での下肢の症状、所見に相違が無いかを明らかにする。3. VTE の危険因子の頻度に相違が無いかを明らかにする。

#### 2. 研究方法

全国医療機関への前向きアンケート調査を実施する。アンケート用紙は平成 18 年 7 月上旬に発送した (添付のアンケート用紙参照)。PE、DVT とも平成 18 年 8 月と 9 月 (2 ヶ月間) の新規発症症例とする。

(倫理面への配慮)

本研究は三重大学医学部倫理委員会の承認を得ている。

#### 3. 研究結果及び考察

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。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。DVT 症例において、DVT の症状なし、右側の DVT、膝窩静脈より近位部の DVT が PE を有するリスクを有意に高くした。

#### 4. 結論

1996 年に実施した精神科以外の推定した PE 年間症例数は 3,492 人であり、10 年で 2.25 倍に診断症例数が増加した。PE を伴った DVT 群と DVT 単独群での比較では、危険因子には 2 群間に差がないが、症状、発生部位に差を認めた。

5. 健康危険情報  
なし

#### 6. 研究発表

##### 1) 論文発表

・ Sakuma M, Sugimura K, Nakamura M, Takahashi T, Kitamukai O, Yazu T, Yamada T, Ota M, Kobayashi T, Nakano T, Shirato K. Unusual pulmonary embolism: septic pulmonary embolism and amniotic fluid embolism. *Circ J* 71: 772-775, 2007

・ Sakuma M, Nakamura M, Takahashi T, Kitamukai O, Yazu T, Yamada T, Ota M, Kobayashi T, Nakano T, Ito M, Shirato K. Pulmonary embolism is an important cause of death in young adults. *Circ J* 71: 1765-1770, 2007

・ Sakuma M, Demachi J, Suzuki J, Nawata J, Takahashi T, Sugimura K, Oikawa M, Takase K, Hoshino K, Souma S, Shirato K. Peripheral pulmonary artery aneurysms in patients with pulmonary artery hypertension. *Intern Med* 46: 979-984, 2007

・ Sakuma M, Demachi J, Suzuki J, Nawata J, Takahashi T, Shirato K. Proximal pulmonary artery aneurysms in patients with pulmonary artery hypertension: complicated cases. *Intern Med* 46: 1789-1793, 2007.

・ 佐久間聖仁: 各種疾患による肺動脈性肺高血圧症. 新・目でみる循環器病シリーズ 16 中野尠編集「肺循環障害」メディカルビュー社 2007; pp98-109.

・ 佐久間聖仁、中村真潮、中西宣文、宮原嘉之、田邊信宏、山田典一、栗山喬之、国枝武義、杉本恒明、中野尠、白土邦男: 急性肺塞栓症観伽における深部静脈血栓症診断の現状と問題点. *静脈学* 18: 163-167, 2007.

・ 佐久間聖仁、中村真潮、中西宣文、宮原嘉之、田邊信宏、山田典一、栗山喬之、国枝武義、杉本恒明、中野尠、白土邦男: 急性肺塞栓症の診断と治療: 第 4 回症例登録データから. *Ther Res* 28: 1108-1109, 2007

・ 佐久間聖仁、中村真潮、中西宣文、宮原嘉之、田邊信宏、山田典一、栗山喬之、国枝武義、杉本恒明、中野尠、白土邦男: 下大静脈フィルターによる急性肺塞栓症治療の現状. *Ther Res* 28: 1136-1137, 2007

## 2) 学会発表

・ Sakuma M, Nakamura M, Nakanishi N, Miyahara Y, Tanabe N, Yamada N, Kuriyama T, Kunieda T, Sugimoto T, Nakano T, Shirato K: Inferior vena cava filters reduce the incidence of acute deterioration in patients with acute pulmonary embolism. 第71回日本循環器学会総会 (Kobe, 2007. 3. 17)

・ Sakuma M, Nakamura M, Takahashi T, Kitamukai O, Yazu T, Yamada N, Ohta M, Nakano T, Shirato K: Pulmonary embolism is an important cause of death in young adult. 第71回日本循環器学会総会 (Kobe, 2007. 3. 17)

・ 佐久間聖仁、中村真潮、高橋徹、北向修、矢津卓宏、山田典一、太田雅弘、中野尙、白土邦男: 若年成人の死因としての急性肺塞栓症の重要性. 第104回日本内科学会講演会 (大阪, 2007.

## 4. 3)

・ 佐久間聖仁、中村真潮、中西宣文、宮原嘉之、田邊信宏、山田典一、栗山喬之、国枝武義、杉本恒明、中野尙、白土邦男: 急性肺塞栓症に対する下大静脈フィルター治療. 第27回日本静脈学会総会 (京都, 2007. 6. 18)

・ 佐久間聖仁: 特発性肺動脈高血圧症患者の治療前後での肺動脈造影所見の変化. 第1回 iPUC-II (東京, 2007. 6. 30)

・ 佐久間聖仁、中村真潮、山田典一、伊藤正明、中野尙、白土邦男、小林隆夫: 静脈血栓塞栓症の頻度、臨床的特徴. 第14回肺塞栓症研究会 (東京, 2007. 11. 10)

7. 知的所有権の出願・取得状況  
なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

<書籍>

なし

<雑誌>

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
藤村欣吾	消化器外疾患に対するHelicobacter pylori除菌療法の適応	Helicobacter Research	11(3)	237-246	2007
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
Yamaguchi Y, Seta N, Kaburaki J, Kobayashi K, Matsuura E, <u>Kuwana M</u>	Excessive exposure to anionic surfaces maintains autoantibody response to $\beta_2$ -glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome	Blood	110(13)	4312-4318	2007
Yin T, Takeshita S, Sato Y, Sakata T, Shin Y, Honda S, <u>Kawasaki T</u> , <u>Tsuji H</u> , <u>Kojima T</u> , <u>Madoiwa S</u> , <u>Sakata Y</u> , <u>Murata M</u> , <u>Ikeda Y</u> , <u>Miyata T</u>	A large deletion of the PROS1 gene in a deep vein thrombosis patient with protein S deficiency	Thromb Haemost	98 (4)	783-789	2007
<u>Miyata T</u> , Kokame K, Banno F, Shin Y, Akiyama M	ADAMTS13 assays and ADAMTS13-deficient mice	Curr Opin Hematol	14 (3)	277-283	2007
Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Honda S, Tomoike H, <u>Miyata T</u>	Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients	Thromb Res	120 (2)	181-186	2007
Sakata T, Okamoto A, Morita T, Kokubo Y, Sato K, Okayama A, Tomoike H, <u>Miyata T</u>	Age- and gender-related differences of plasma prothrombin activity levels	Thromb Haemost	97 (6)	1052-1053	2007
Yin T, <u>Miyata T</u>	Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1 - rationale and perspectives	Thromb Res	120 (1)	1-10	2007
Kyotani M, Okumura K, Takagi A, Murate T, Yamamoto K, Matsushita T, Sugimura M, Kanayama N, Kobayashi T, Saito H, <u>Kojima T</u>	Molecular basis of antithrombin deficiency in four Japanese patients with antithrombin gene abnormalities including two novel mutations.	Am J Hematol	82 (8)	702-705	2007
Sanda N, Fujimori Y, Kashiwagi T, Takagi A, Murate T, Mizutani E, Matsushita T, Naoe T, <u>Kojima T</u>	An Sp1 binding site mutation of the PROS1 promoter in a patient with protein S deficiency.	Br J Haematol	138 (5)	663-665	2007

Sugiyama S, Hirota H, Kimura R, Kokubo Y, Kawasaki T, Suehisa E, Okayama A, Tomoike H, Hayashi T, Nishigami K, Kawase I, Miyata T	Haplotype of thrombomodulin gene associated with plasma thrombomodulin level and deep vein thrombosis in the Japanese population.	Thromb Res	119 (1)	35- 43	2007
Miyata T, Kimura R, Kokubo Y, Sakata T	Genetic risk factors for deep vein thrombosis among Japanese: importance of protein S K196E mutation.	Int J Hematol	83 (3)	217- 223	2007
Ohmori T, Sakata Y	Platelet-directed gene therapy.	Transfus Med Hemother	34	429- 439	2007
Madoiwa S, Someya T, Hironaka M, Kobayashi H, Ohmori T, Mimuro J, Sugiyama Y, Morita T, Nishimura Y, Tarumoto T, Ozawa K, Saito K, Sakata Y	Annexin 2 and hemorrhagic disorder in vascular intimal carcinomatosis	Thromb Res.	119 (2)	229- 240	2007
Ohmori T, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Madoiwa S, Mimuro J, Sakata Y	Silencing of a targeted protein in vivo platelets using a lentiviral vector delivering short hairpin RNA sequence.	Arterioscler Thromb Vasc Biol	27 (10)	2266-2272	2007
Ito T, Okada T, Mimuro J, Miyashita H, Uchibori R, Urabe M, Mizukami H, Kume A, Takahashi M, Ikeda U, Sakata Y, Shimada K, Ozawa K	Adenoassociated virus-mediated prostacyclin synthase expression prevents pulmonary arterial hypertension in rats.	Hypertension	50 (3)	531- 536	2007
Mimuro J, Niimura M, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ono T, Ohmori T, Madoiwa S, Okada K, Matsuo O, Sakata Y	Unbalanced Expression of ADAMTS13 and von Willebrand Factor in Mouse Endotoxemia.	Thromb Res	doi: 10.1016/ j. thrombo sis		2007
Niwa K, Mimuro J, Miyata M, Sugo T, Ohmori T, Madoiwa S, Tei C, Sakata Y	Dysfibrinogen Kagoshima with the amid asid substitution gThr-314 to lle:Analyses of molecular abnormalities and thrombophilic nature of this abnormal molecule	Thromb Res	doi: 10.1016/ j. thrombo sis.		2007
川崎 富夫	学会セッションのテーマ変遷から見た医療水準 -静脈血栓症における医療訴訟の検討-	日本血管外科学会雑誌	7 (1)	7- 12	2007
Kokame K, Aoyama Y, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T	Inherited and de novo mutations of ADAMTS13 in a patient with Upshaw-Schulman syndrome	J Thromb Haemost	6 (1)	213- 215	2008

Yano, Y Ohmori, T Hoshide, S Madoiwa, S Yamamoto, K Katsuki, T Mitsuhashi, T Mimuro, J Shimada, K Kario, K Sakata, Y	Determinants of thrombin generation, fibrinolytic activity, and endothelial dysfunction in dual-antiplatelet therapy: involvement of factors other than platelet aggregability in Virchow's triad	Eur Heart J	doi: 10.1093/eurheartj/ehn027		2008
Morishita T, Matsumoto M, Honoki K, Yoshida A, Takakura Y, <u>Fujimura Y.</u>	Successful Treatment of Primitive Neuroectodermal Tumor-associated Microangiopathy with Multiple Bone Metastases.	Jpn J Clin Oncol	37	66-69	2007
Kobayashi T, <u>Wada H.</u> Kamikura Y, Matsumoto T, Mori Y, Kaneko T, Nobori T, Matsumoto M, <u>Fujimura Y.</u> Shiku H.	Decreased ADAMTS13 activity in plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura.	Thomb Res	119	447-452	2007
Ishizashi H, Yagi H, Matsumoto M, Soejima K, Nakagaki T, <u>Fujimura Y.</u>	Quantitative western blot analysis of plasma ADAMTS13 antigen in patients with Upshaw-Schulman syndrome.	Thromb Res.	120	381-386	2007
Yagi H, Ito S, Kato S, Hiura H, Matsumoto M, <u>Fujimura Y</u>	Plasma levels of ADAMTS13 antigen, determined by an enzyme immunoassay using the neutralizing monoclonal antibody, parallel to those of the activity.	Int J Hematol	85	403-407	2007
Bennett CL, Benjamin K, Zakarija A, Bandarenko N, Pandey DK, Buffie CG, McKoy JM, Tevar AD, Cursio JF, Yarnold PR, Kwaan HC, De Masi D, Sarode R, Raife TJ, Kiss JE, Raisch DW, Davidson C, Sadler JE, Ortel TL, Zheng XL, Kato S, Matsumoto M, Uemura M, <u>Fujimura Y</u>	Two mechanistic pathways for thienopyridine-associated thrombotic thrombocytopenic purpura: A report from the Surveillance, Epidemiology, and Risk Factors for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (SERF-TTP) research group and the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project.	J Am Coll Cardiol	50	1138-1143	2007
Matsumoto M, Kawa K, Uemura M, Kato S, Ishizashi H, Isonishi A, Yagi H, Park YD, Takeshima Y, Kosaka Y, Hara H, Kai S, Kanamaru A, Fukuhara S, Hino M, Sako M, Hiraoka A, Ogawa H, Hara J, <u>Fujimura Y</u>	Prophylactic fresh frozen plasma infusion may prevent the development of hepatic VOD after stem cell transplantation via ADAMTS13-mediated restoration of von Willebrand factor plasma levels	Bone Marrow Transplant	40	251-259	2007
Shida S, Nishio K, Sugimoto M, Mizuno T, Hamada M, Kato S, Matsumoto M, Okuchi K, <u>Fujimura Y.</u> Yoshioka A.	Functional imaging of shear-dependent activity of ADAMTS13 in regulating mural thrombus growth under whole blood flow conditions.	Blood	111	1295-1298	2008
Sakakura M, <u>Wada H.</u> Tawara I, Nobori T, Sugiyama T, Sagawa N, Shiku H	Reduced Cd 4 + Cd25+ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura	Thrombosis Research	120	187-193	2007

## 研究成果の刊行物・別冊



## 消化器外疾患に対する *Helicobacter pylori* 除菌療法の適応

藤村欣吾\*

世界中の多くのヒトが感染している *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) は胃を中心とした病変との関連に加えて、最近では多くの全身性の疾患との関連が検討されている。このなかでエビデンスレベルはⅢないしⅣであるが除菌により病態が改善する疾患が注目されている。とくに原因不明の鉄欠乏性貧血で経口鉄剤不応性の鉄欠乏性貧血症例、さらには特発性（免疫性）血小板減少性紫斑病（ITP）においては除菌成功によって貧血の改善や血小板増加反応が認められた報告が多くなされ、除菌適用が検討されている。*H. pylori* によるこれらの疾患の発症には、*H. pylori* による胃分泌機能、胃粘膜組織への影響あるいは抗原分子相同性を介した局所、全身性免疫反応への影響が考えられている。しかし一部の症例しかこれらの病態が発症しない点に関しては、個人のヒト白血球抗原（HLA）の問題や *H. pylori* の遺伝子の多様性によるらしい。

### はじめに

最近、単離 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 菌株の遺伝的変異と人種地理学との関係を調査した結果、*H. pylori* の遺伝的多様性の分布にみられるパターンとヒトの遺伝的多様性の分布にみられるパターンとが類似していること

が報告された。このなかで人類がアフリカから離れ、ほかの大陸へ移動をはじめた約 58 万年前にはすでに *H. pylori* に感染していることが推測され、人類と *H. pylori* は同じ時間経過で東アフリカからほうほうへ拡散したらしいと述べられている<sup>1)</sup>。このように人類と歴史的に深くかかわってきたと思われる *H. pylori* は 1983 年に発見されたグラム陰性桿菌で、上部消化管疾患の発症機序や治療概念に大きな変化をもたらした。すなわち胃粘膜局所に持続感染し、好中球をはじめとした炎症細胞浸潤をきたし萎縮性胃炎、胃潰瘍の主たる原因として考えられ、さらには胃癌や胃のリンパ腫（MALT リンパ腫）の発症

経口鉄剤不応性鉄欠乏性貧血  
特発性（免疫性）血小板減少性紫斑病（ITP）  
自己免疫胃炎  
分子相同性  
除菌療法

\*FUJIMURA Kingo/広島国際大学薬学部病態薬物治療学講座，広島赤十字原爆病院内科

との関連が示されている。1994年には疫学的研究から type I (definite) の癌因子として認定されている<sup>2)</sup>。

最近では *H. pylori* に全人類の半数以上が感染していることから、上部消化管疾患以外にも全身性疾患との関連が注目を集めている。

## 1. *H. pylori* 感染と消化器以外の疾患の概要

たとえば甲状腺炎やシェーグレン症候群、関節リウマチ、膜性腎症など自己免疫疾患との関連をはじめとして血液疾患では悪性貧血、自己免疫性好中球減少症、シェーンライン・ヘノッホ紫斑病や *H. pylori* 除菌により特発性(免疫性)血小板減少性紫斑病(ITP)における血小板減少の改善や経口鉄剤治療抵抗性の鉄欠乏性貧血の改善、monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)の一部に単クローン性 $\gamma$ グロブリン血症が改善する例が報告され、さらには一般の動脈硬化症や冠動脈疾患、慢性蕁麻疹との関連も示唆されている<sup>3)</sup>。しかし、なかには疑問視されている疾患もあり、さらにどのような機序でこれらの疾患が生じるのか明らかではない。

推測されている機序としては、①*H. pylori*の直接作用、②サイトカインの遊離を伴う炎症反応の活性化による、③*H. pylori*菌体と宿主のあいだでの抗原の相同性などがある。ここでは除菌療法の効果が顕著に認められ、除菌療法が適応であると検討されている特発性血小板減少性紫斑病[idiosyncratic (immune) thrombocytopenic purpura: ITP]と鉄欠乏性貧血を中心に話を進める。

## 2. *H. pylori* 感染と血液疾患

### 1) 経口鉄剤治療不応性鉄欠乏性貧血

#### A. 疫学

血液疾患のなかでは最も早く *H. pylori* との関連が報告され、1991年、1993年にそれぞれベルギー、イタリア、フランスから1例ずつ症例報告されたのがはじまりと思われる。いずれの症例も小児ないし青春期中で経口鉄剤に不応の鉄欠乏性貧血症例で *H. pylori* 陽性であり、これらの症例に除菌療法をおこなったところ鉄剤の補充がなくともヘモグロビン値が上昇した報告である。

以来各地で原因不明の鉄欠乏性貧血についての臨床疫

学的研究がなされ、*H. pylori* 感染と貯蔵鉄減少とのあいだには関連性があるとの報告が多い。すなわち *H. pylori* 感染者では血清フェリチン値が17%減少している報告や、デンマークやアラスカ、オーストラリア、米国からの報告でも *H. pylori* 陽性例ではフェリチン値の減少リスクが陰性例にくらべ高く、実際血清フェリチン値が低い<sup>4)5)</sup>。

韓国の報告では、青春期の貧血を対象とした場合、鉄欠乏性貧血や、低フェリチン、鉄欠乏状態では対照群にくらべ有意に *H. pylori* 感染率が高い。

一方では鉄欠乏性貧血と非貧血症例のあいだでは *H. pylori* 感染の頻度には差がないとする報告やフェリチン値と *H. pylori* 感染のあいだには関連を認めないとする否定的報告もわずかではあるが存在する<sup>6)</sup>。

しかし *H. pylori* 感染症例と鉄欠乏状態との関連性を示唆する報告が多く、臨床的に経口鉄剤不応の症例で *H. pylori* 陽性であれば除菌を勧めている報告もある。

#### B. 鉄欠乏状態や経口鉄剤不応の機序について

いくつかの可能性が示されているが確定的なものはない。しかしこれらの可能性はいずれも理論的であり、複合的に作用して発症するものと考えられる。

①*H. pylori* 感染後の胃炎による微量の持続的出血：慢性のびらん性胃炎が引き起こされることによるものと考えがある。

②*H. pylori* 感染後の胃炎によって胃酸分泌低下、アスコルビン酸分泌減少により鉄の吸収障害が生じる。

一般に食事の鉄は3価であり、これは胃酸、アスコルビン酸の作用によって2価の鉄となってはじめて吸収される。したがって胃酸分泌低下、アスコルビン酸分泌減少がつづくとも鉄吸収が障害され鉄欠乏状態が引き起こされることになる。実際原因不明の鉄欠乏性貧血症例について検討した報告では、*H. pylori* 陽性例では陰性例にくらべ有意に胃酸 pH は高く、胃液中のアスコルビン酸濃度も低い。また *H. pylori* 陽性であっても鉄欠乏性貧血のない症例では鉄欠乏性貧血例にくらべ胃酸 pH は低く、アスコルビン酸濃度も高く正常と差がない。したがって *H. pylori* 感染による *H. pylori* 胃炎は胃酸分泌、アスコルビン酸分泌に影響し鉄吸収を妨げると考えられる<sup>7)</sup>。

③細菌による鉄の取り込みと利用

多くの細菌と同様に *H. pylori* も増殖因子として鉄は必要で、鉄の取り込みと貯蔵にかかわる蛋白を発現しているといわれている<sup>4)</sup>。

以上が代表的機序であるが、この他にも鉄欠乏状態を引き起こす機序が報告されており、これらが複合して作用しているものと考えられる。

2) 自己免疫胃炎と鉄欠乏性貧血, ビタミン B<sub>12</sub> 低下症との関係

原因不明の *H. pylori* 陽性鉄欠乏性貧血においては無酸症である症例があること、胃体部にも萎縮性胃炎のあるいわゆる pangastritis の所見を示す症例のあることから、胃の所見と貧血の関係について研究がなされている<sup>8)9)</sup>。

すなわちいわゆる自己免疫胃炎（高ガストリン血症、高い抗壁細胞抗体価を伴う）160 例について赤血球のサイズを検討した。その結果鉄欠乏性貧血（小球性貧血）は 83 例、正球性赤血球は 48 例（このうち半数 24 例は鉄欠乏を示していた）、大球性赤血球 29 例（このうち鉄欠乏は 3 例）で、小球性の症例の年齢は大球性よりも平均 21 歳若く、ほとんどが女性であった。20 歳以下の若年者から 60 歳以上の高齢者にいくにしたがい赤血球サイズは大きくなり、血清フェリチン値、ガストリン値も上昇するのに対し、血清コバラミン値は減少する傾向を示した。また *H. pylori* 感染率は 20 歳以下 87.5% であったが加齢とともに徐々に減少し、60 歳以上では 12.5% であった。以上の結果から、*H. pylori* 感染が引き金になって自己免疫過程により胃炎が発症し、年月を重ねるにしたがって胃粘膜萎縮が拡大し、鉄吸収障害からビタミン B<sub>12</sub> 吸収障害となり大球性貧血が生じてくると考えられる（図①）。大球性ではほぼ全例が（100%）血清ビタミン B<sub>12</sub> 値が低下し悪性貧血と考えられ、正球性では 54% に、小球性では 27% にビタミン B<sub>12</sub> が低下し悪性貧血が疑われた。また高度の粘膜萎縮になると *H. pylori* 自体の発育、増殖は影響を受け感染頻度が低下すると推測している。事実悪性貧血（大球性貧血）においては抗 *H. pylori* 抗体が 1 年あたり 6% の頻度で陰性化

20 歳		60 歳	
赤血球サイズ	microcytic	normocytic	macrocytic
Hb (g/dl)	9.6±1.8	10.1±2.1	11.5±2.5
ガストリン値	↑	↑↑	↑↑↑
血清フェリチン値	↓↓↓	↓↓	↓
血清 B <sub>12</sub> 値	正常	↓	↓↓↓
<i>H. pylori</i> 陽性率 (%)	87.5	47.1	12.5
萎縮性胃炎 (%)	41	54	69
慢性胃炎 (%)	56	38	15

図① 貧血と胃機能の関係

(Hershko C et al 2006<sup>8)</sup>より引用)

しているとの報告がある。

これら一連の過程はレトロスペクティブな研究の結果から組み立てられたものであり今後プロスペクティブな研究によって実証される必要があるが、*H. pylori* の関与として以下の推測がおこなわれている。

*H. pylori* 感染は局所に IL-β や TNFα を誘導し胃壁細胞や腸管クロム親和性細胞 (enterochromaffine cell: ECL) の機能を抑制し、酸分泌を抑制するとともに壁細胞のアポトーシスを誘導し低酸を伴う粘膜萎縮を生じる。さらには *H. pylori* によるアスコルビン酸の分泌抑制により、酸分泌低下とあいまって食餌中の鉄の吸収障害が起これ、小球性傾向になる。また *H. pylori* 陽性症例においては壁細胞と *H. pylori* とのあいだの抗原分子相同性により、たとえば H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase 蛋白に対する抗体の出現頻度が高く、*H. pylori* 感染が胃粘膜に自己免疫病変を引き起こすと考えられている。一方、これらの所見は除菌療法によってガストリン値の低下、胃酸分泌の改善、アスコルビン酸の分泌回復、鉄剤治療の奏功、さらには症例によっては萎縮病変の消失などがみられ、胃の分泌機能、粘膜病変へ *H. pylori* 感染が影響していることが裏付けられている。

しかし除菌をおこなっても胃粘膜抗原に対する抗体が消失したり、力価が低下する症例は少なく、また必ずしも除菌によって改善しない症例もあり、*H. pylori* 感染は自己免疫胃粘膜萎縮の引き金として作用し、自己免疫過程ができあがってしまうともはや *H. pylori* の存在は必ずしも必要ないことを示している。このことは加齢に伴って自己免疫性萎縮性病変の拡大による胃酸、内因子分泌の低下、内因子抗体の出現に伴いビタミン B<sub>12</sub> の吸収低下をきたし、終末像としての悪性貧血に至るものと推測される。

### 3) *H. pylori* 感染と特発性 (免疫性) 血小板減少性紫斑病 (ITP)

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は後天性の血小板減少症で、皮膚や粘膜の紫斑を主体とする出血症状を主徴とし、発症に血小板膜に対する抗体が関与する自己免疫疾患のひとつである。慢性に経過するいわゆる慢性型は成人に多く、とくに女性が男性の 2.5 倍多い。わが国における最近の調査では年齢分布は男女とも 20 歳ごろから増加しはじめ、51~70 歳にピークを認めている。

年間発生率は人口 10 万人あたり 1.25 人で発症機序の解明、診断・治療法の確立を目指して厚生労働省の難病指定を受けている疾患である。治療として副腎皮質ステロイド薬を中心とした免疫抑制療法や血小板破壊場所ならびに抗体産生の中心的役割を果たす脾臓の除去 (摘脾療法) が定着している。これらによる治療成績はおおまかには約 40% の完全寛解 (CR)、いわゆる治癒といってよい症例と、日常生活には何ら支障がないが軽度の血小板数減少が持続する部分寛解 (PR) と考えられる症例が 40%、血小板減少に対する何らかの治療介入が必要な、いわゆる難治症例が約 20% である。

最近本疾患のなかで *H. pylori* 陽性症例に対して除菌療法により約 40~60% の症例が血小板増加効果を示し、*H. pylori* が一部の ITP 症例の発症に関係していることが示唆されている。

#### A. ITP における *H. pylori* 感染頻度

慢性 ITP における *H. pylori* 感染率も一般人口と同様に加齢とともに上昇し、イタリア、わが国からの報告で

は、一般人口の感染率と同様に中高年症例の 70~90% と先進国でも頻度が高く、年齢をマッチさせた一般人口とのあいだでは感染率に差はない。したがって ITP 症例に *H. pylori* に感染率が高いわけではなく、*H. pylori* 感染者の一部に ITP が発症したものと考えられる。また *H. pylori* 陽性 ITP 症例に胃を中心とした消化器症状や消化器病変が多いわけではない。

小児に多い感染を契機とする急性の ITP については *H. pylori* 感染との関連は有意ではなく、急性 ITP の発症に *H. pylori* 感染はかかわっていないとの報告がある。

#### B. *H. pylori* 感染 ITP における除菌療法による血小板増加について

1998 年の Gasbarrini ら<sup>10)</sup> の報告以来、除菌療法による血小板増加効果を検討した報告が多くなされている。その一覧を表 1 に示すが除菌による血小板増加効果は国によって有効率に差があり、スペイン、英国、米国からの報告では除菌による血小板増加効果はほとんど認められないか増加反応を示す症例が少ない。スペインの報告では 13% が PR となっているにすぎない<sup>11)~13)</sup>。一方、イタリアやわが国からの報告では一部を除き約 40% 以上に血小板の増加反応が認められている (33~100%)<sup>14)~17)</sup>。

このように除菌後の血小板増加効果についておおまかに二極化した報告になっているのが現状である。この原因は不明であるが、①対象者の免疫学的背景に差がある、②地域的に感染した *H. pylori* 株によって発現している抗原性の程度が異なる [Cag, Vac がコードする蛋白抗原、Lewis (Le) 抗原など] などが推測されている。

このうち感染菌株についてわが国の報告では血小板減少を伴わない単なる胃・十二指腸潰瘍症例と同様で、*cagA*, *vacA*, *iceA*, IL-8 の発現なども他の *H. pylori* 感染消化器疾患と差はないとされている。したがってわが国では血小板減少を引き起こす特有の菌株や菌の性状は見当たらない<sup>18)</sup>。

#### C. わが国のレトロスペクティブ共同研究による *H. pylori* 陽性 ITP に対する除菌療法の血小板増加反応について<sup>17)</sup>

厚生労働省研究班において 2002 年 7 月~2003 年 12

表① 成人慢性 ITP 症例における *H. pylori* 陽性率と除菌による血小板増加効果 (2006 年 5 月)

報告者	報告年	症例数	<i>H. pylori</i> 感染率 (%)	除菌成功症例数	血小板増加反応例 (%)	平均観察期間 (月)
Gasbarrini <i>et al</i> (伊)	1998	18	11 (61)	8	8 (100)	4
Emilina <i>et al</i> (伊)	2001	30	13 (43)	12	6 (50)	8.3
Jarque <i>et al</i> (スペイン)	2001	56	40 (71)	23	3 (13)	24
Kohda <i>et al</i> (日)	2002	48	27 (56)	19	12 (63)	14.8
Hino <i>et al</i> (日)	2003	30	21 (70)	18	10 (56)	15
Hashino <i>et al</i> (日)	2003	22	14 (64)	13	5 (39)	15
Ando K <i>et al</i> (日)	2003	61	50 (82)	27	16 (59)	11
Michel <i>et al</i> (米)	2004	76	16 (21)	14	0	11.5
Takahashi <i>et al</i> (日)	2004	20	15 (75)	13	7 (53.8)	4
Fujimura <i>et al</i> (日)	2004	435	300 (69)	155	88 (57)	12<
Ando T <i>et al</i> (日)	2004	20	17 (85)	17	15 (85)	24
Sato <i>et al</i> (日)	2004	53	39 (74)	27	15 (55.6)	6
Inaba <i>et al</i> (日)	2005	35	25 (71)	25	11 (44)	6
Veneri D <i>et al</i> (伊)	2005	43	43	41	20 (49)	31.2
Stasi R <i>et al</i> (英, 伊)	2005	137	64 (47)	52	17 (33)	12<
Suzuki <i>et al</i> (日)	2005	36	25 (69)	23	10 (44)	6
Suvajdzic N <i>et al</i> (英)	2006	54	39 (72)	23	6 (26.1)	18
計		1,174	759 (64.7)	510	248 (48.8)	13.1<

月の 18 ヶ月間に血液専門 11 施設の協力のもとにレトロスペクティブ共同研究をおこなった結果は以下のとおりである。

a. *H. pylori* 陽性 ITP の臨床病態

登録された慢性 ITP 435 例のうち 300 例 (69%) が *H. pylori* 陽性で, *H. pylori* 陽性 ITP の頻度は加齢とともに上昇し, わが国における一般人口にみられる年齢別感染率と類似している (図②)。

*H. pylori* 陽性 ITP 症例群と *H. pylori* 陰性 ITP 症例群との臨床的背景については (表②), 性差, ITP 罹病期間, 出血症状を中心とする臨床症状において両群間で差は認められない。ただし年齢は *H. pylori* 陽性群が陰性群にくらべ有意に高い。また *H. pylori* 陽性 ITP では有意に初診時血小板数は激減している症例が少なく, 骨髓巨核球数は増加している症例が多く, ITP の病態としては重症例は少ない傾向がある。 *H. pylori* 感染による胃腸障害の頻度や程度は非感染 ITP と同等で, *H. pylori* 陽性 ITP は消化器症状の面から明らかにすることはできない。

b. 除菌による血小板増加効果 (表②)

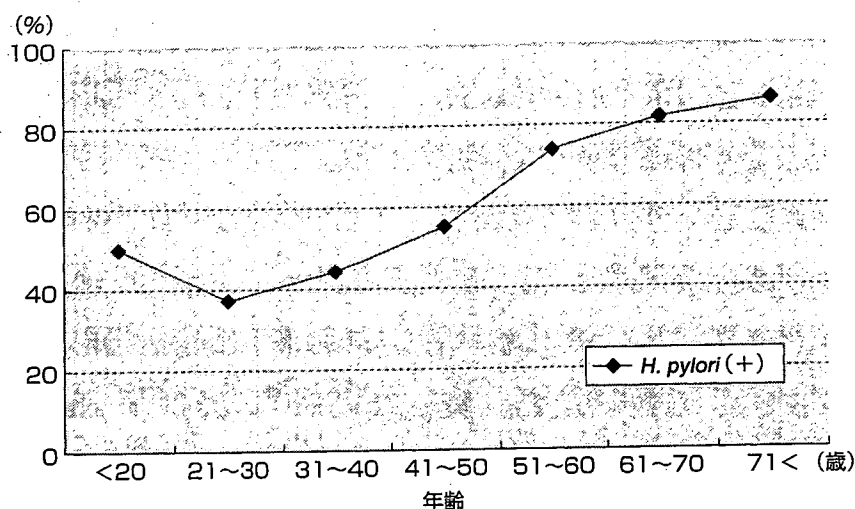
*H. pylori* 陽性 ITP 300 例のうち 228 例に除菌療法がお

こなわれ, 除菌効果判定が可能であった 207 例中 161 例 78% に除菌が成功している。用いられた除菌療法はほとんどが通常のアモキシシリン, クラリスロマイシン, プロトンポンプ阻害薬 (PPI) の 3 剤, 7 日間併用療法である。

除菌後 12 ヶ月以上経過観察された 155 例 (除菌成功群 122 例, 除菌不成功群 33 例) の長期予後は, 除菌成功群のうち 79 例は血小板数増加を維持し, このうち 28 例は除菌後無治療で血小板数 15 万以上となり CR の症例である (23%)。残り 51 例の多くは血小板数 5 万以上となりほとんどが無治療観察 (PR) となっている (42%)。43 例は除菌に成功したものの血小板数の増加が認められない症例で (35%), 除菌後の血小板数は除菌前値と変わりなく軽微な増減にとどまっている (表②)。すなわち除菌成功群では 65% の症例が 12 ヶ月以上のあいだ何らかの血小板増加を維持したことになる。

この頻度は除菌不成功群 (9/34, 27%) にくらべ有意に高く, *H. pylori* の除去が血小板増加に密接にかかわっていることが確認された。

さらに *H. pylori* 除菌療法が *H. pylori* 陽性 ITP に特異



図② ITP 症例における年齢別 *H. pylori* 陽性率  
(Fujimura K *et al*, 2005<sup>17)</sup> より引用)

表② 除菌後 12 カ月を経た時点での血小板増加反応  
(Retrospective analysis in Japan 2003)

除菌直前の 血小板数 ( $\times 10^3 / \mu l$ )	n (%)			計
	CR	PR	NR	
<b>除菌成功群 (n=122)</b>				
<1	0	2 (67)	1 (33)	3
1~3	8 (20)	23 (58)	9 (23)	40
3~5	8 (21)	16 (42)	14 (37)	38
5~10	12 (29)	10 (24)	19 (46)	41
計	28 (23)	51 (42)	43 (35)	122
<b>除菌不成功群 (n=33)</b>				
<1	0	0	2 (100)	2
1~3	1 (11)	1 (11)	7 (78)	9
3~5	1 (7)	3 (21)	10 (71)	14
5~10	3 (38)	0	5 (63)	8
計	5 (15)	4 (12)	24 (73)	33

CR: 血小板数 >15 万 PR: 血小板数 3~15 万

NR: 除菌前値血小板数 1 万以下の場合: 除菌後 3 倍以上増加しない。

除菌前値血小板数 1~3 万の場合: 除菌後血小板数 5 万以上とならない。

除菌前血小板数 3~10 万の場合: 除菌後血小板数 3 万以上増加しない。

(Fujimura K *et al*, 2005<sup>17)</sup> より引用)

的な現象で、かつ血小板増加反応に直接的に関係していることは以下の報告からも支持されている。

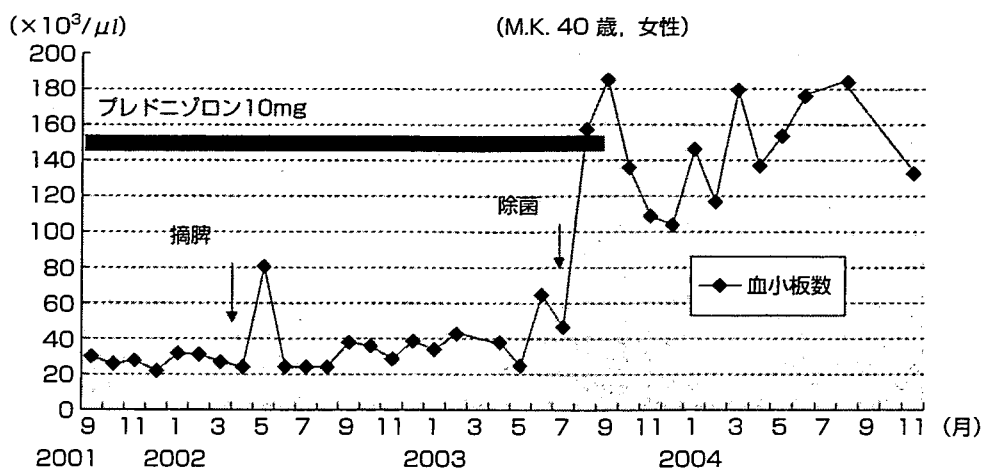
①全身性エリテマトーデス (SLE) に伴う血小板減少においては *H. pylori* 陽性であっても、除菌による血小板増加反応は認められない<sup>15)</sup>。

② *H. pylori* 陰性 ITP 症例に無作為的に除菌を試みた報告では血小板増加反応を示した症例は認められず、除

菌療法による非特異的血小板増加作用ではない<sup>13)</sup>。

③ *H. pylori* 陽性 ITP 症例を無作為的に除菌療法をおこなう群 (13 例) とおこなわない群 (12 例) の 2 群に分け血小板増加反応を検討した報告では除菌群のみに血小板増加が認められる<sup>18)</sup> などである。

以上より、*H. pylori* 陽性 ITP のなかには除菌治療と臨床的に密接な関係を示す症例が多いことからこのよう



図③ プレドニゾン、摘脾無効 除菌有効症例 2001年1月診断

な ITP 症例を *H. pylori* 関連 ITP と呼称する根拠として  
いる。

c. 除菌による血小板増加反応の特徴

わが国での臨床研究から性差、年齢、除菌直前の血小  
板数、除菌直前の ITP 治療の有無、治療の内容などい  
わゆる ITP の臨床病態や過去の治療経過は除菌による血  
小板増加効果に影響しない結果を得た。すなわちステロ  
イド療法や摘脾に対して不応性の症例に対しても除菌療  
法により血小板増加が認められる点は大きな利点であ  
る<sup>15)17)</sup>(図③)。しかし極度に血小板数が少ない1万以下  
の症例では血小板増加反応が認められても軽度である傾  
向がある。ITP としての罹病期間が短い群 ( $6.52 \pm 4.67$   
年) が長い群 ( $9.85 \pm 7.77$  年) にくらべて有意に除菌成功  
後の血小板増加を示し、罹病期間が血小板増加反応に影  
響している傾向がある<sup>19)</sup>。

以上、除菌後の血小板増加効果は従来の ITP に対する  
副腎皮質ステロイド療法や摘脾療法を凌駕し、これらの  
治療よりもはるかに副作用も少なく、除菌後1ヵ月には  
効果が出はじめ、再発がみられない特徴がある。このこ  
とから現在では *H. pylori* 陽性 ITP に対する除菌療法の  
保険適用を申請中である。

D. *H. pylori* 感染による血小板減少機序

前述の経口鉄剤不応性鉄欠乏性貧血のように、*H.*  
*pylori* 感染部位である胃を中心とした病変ないしその病  
変に誘導される疾患については、*H. pylori* 感染による発

症機序は理解可能であるが、直接的にも間接的にも関連  
が見出せない ITP の発症機序については種々の臨床的  
研究がなされてきた。通常 *H. pylori* 陽性症例において  
は、*H. pylori* に対する特異的な全身性の免疫反応は末梢  
血リンパ球の検索からは認められず、また臓器非特異的、  
特異的自己抗体(抗核抗体、抗平滑筋抗体、抗ミクロソ  
ーム抗体など)の出現頻度はコントロールと差がないと報  
告されている<sup>20)</sup>。しかし最近小児においては *H. pylori* 陽  
性群においては臨床症状とは関係なく陰性群にくらべ、  
抗胃壁細胞抗体、抗ミクロソーム抗体の出現頻度が有意  
に高く、小児における *H. pylori* 菌感染は自己免疫的胃炎  
や他の自己免疫疾患の誘引となると報告され<sup>21)</sup>、局所の  
*H. pylori* 感染から全身的免疫反応への進展の可能性を示  
唆している。

除菌により血小板が増加した ITP 症例では Th1/Th2  
リンパ球の比が除菌後上昇することは、*H. pylori* 感染が  
全身的な免疫反応の不均衡を引き起していることを裏づ  
け興味深い。また最近 *H. pylori* 陽性 ITP 症例においては  
末梢血において特異的な T 細胞のクローナルな増殖が  
認められ、除菌効果に伴ってクローンが消失すると報告  
され、*H. pylori* に対する全身的な免疫反応が血小板減少  
と関連していることが示されている<sup>22)</sup>。局所感染から血  
小板減少を引き起こす機序として以下のような説が提示  
されている。

#### a. Lewis 抗体の関与

*H. pylori* 感染症例においては高い Lewis 抗体価を示す例がある。この抗 Lewis 抗体が認識するエピトープを有する組織にこの抗体が結合し自己免疫疾患を起こす (molecular mimicry)。たとえば胃壁細胞の  $H^+/K^+$ -ATPase の一部は Lewis 抗原エピトープを有し抗 Lewis 抗体が壁細胞障害を生じ胃炎を引き起こす説もある。この抗 Lewis 抗体が血小板に非特異的に吸着され血小板減少を引き起こすと考えられる<sup>23)</sup>。

#### b. 分子相同性

従来から微生物由来のリポポリサッカライドや DNA などはアジュバントとしてはたらき、無関係の抗原に対して容易に免疫反応を起こす結果、自己抗原に対しても異種抗原と同じように T 細胞の反応を引き起こしやすいといわれている。また一方、抗原分子相同性 (molecular mimicry) により微生物由来の抗原ペプチドと自己抗原ペプチドのあいだに交差性があれば自己抗体として認識され自己免疫疾患が発症すると推測される。*H. pylori* 陽性 ITP 症例の血小板から誘出した抗体は *H. pylori* の CagA 抗原と反応することが免疫プロテイング法で明らかにされた<sup>16)</sup>。さらに除菌により血小板数が回復すると CagA 抗原と反応する抗体は誘出液中には認められなくなるが、除菌による血小板数の増加が認められない症例においては抗体の消失は認められない。さらに *H. pylori* 陰性 ITP 症例の血小板誘出液も CagA を認識することから、*H. pylori* 陰性 ITP の血小板に結合している自己血小板抗体は CagA にも血小板抗原にも反応すると理解される。すなわち CagA 抗原と血小板膜抗原 (この場合 GP IIb/IIIa と考えられている) のあいだの分子相同性が推測されている。また抗 CagA IgG 抗体価が高い症例には除菌による血小板増加反応を示す症例が有意に多いとの報告は、CagA 抗原が ITP 発症の免疫反応にかかわっていることを別の角度から示唆したものである<sup>18)</sup>。

いずれにしても CagA 抗原とこれに反応する抗体が血小板減少の発症に関連している報告が集積されつつあるのが現状である。

#### c. vWF (von Willebrand factor), 抗 *H. pylori* 抗体による血小板活性化反応<sup>24)</sup>

ある *H. pylori* 株は vWF, 抗 *H. pylori* 抗体の存在下で血小板凝集反応を引き起こすことが報告された。この血小板活性化が局所の炎症反応、潰瘍形成に、また心血管傷害に関係し、さらには血小板活性化による慢性的血小板消費による血小板減少が引き起こされるとする報告もある。

これら諸説のなかでは分子相同性を示唆する機序が理解しやうい。 *H. pylori* 菌に対する免疫反応の発現については *H. pylori* 菌の菌体自体が免疫反応にかかわる必要はなく、むしろ *H. pylori* 菌が産生する CagA 抗原のように胃粘膜細胞に侵入し細胞の増殖、分化に影響を与え、炎症反応を引き起こし細胞が破壊される。その結果抗原認識細胞をはじめとする免疫担当細胞と CagA 抗原が接触し、免疫反応が引き起こされる可能性がある。また感染から ITP 発症までに時間が経過する点については自己抗原認識のための T 細胞のプライミングに時間が必要で、いわゆる抗原エピトープの拡大に要する時間と考えれば理解可能である。今後はこれらの仮定を証明することが必要である。

#### E. *H. pylori* 感染によって ITP を生じる症例の特徴

*H. pylori* 感染者は非常に多いにもかかわらず ITP を発症する症例はそのごく一部で、多くは ITP を発症しない。これについては、たとえば CagA と交差反応する血小板抗原を認識する免疫反応の個体差が関係していると考えられ、ヒト白血球抗原 (HLA) 系を検索した報告がある。それによると *H. pylori* 陽性 ITP では HLA-DRB1\*11, 14, と HLA-DQB1\*03 が、*H. pylori* 陰性 ITP にくらべ有意に高く、HLA-DRB1\*03 が有意に低い結果が得られている。このような HLA 系を有するヒトが *H. pylori* 感染により *H. pylori* 関連 ITP を発症する可能性が高くなることが示唆される<sup>19)</sup>。しかし HLA 系の頻度は人種によって差があり普遍化には問題があり、今後それぞれの人種間で検討し結論を出す必要がある。

#### おわりに

以上 *H. pylori* との関連性が多く検討されている代表



的消化器外疾患について述べた。この他にも冒頭に述べたようにシェーグレン症候群、リウマチ様関節炎、I型糖尿病、ギラン-バレー症候群、慢性蕁麻疹など免疫異常が推測されている疾患の発症に *H. pylori* が関わっている報告がある。その多くは *H. pylori* の抗体保有頻度が高い、また *H. pylori* 感染によって誘導される抗熱ショック蛋白 65 (Hsp65) 抗体の頻度が高い、一部には除菌により症状が軽快するなどの臨床研究からその関連を指摘している。しかしこれらの報告に対しては反証もあり現時点では積極的に除菌を支持するほどの説得力に乏しくここでは割愛した。

一方、ここに取り上げた経口鉄剤不応性鉄欠乏性貧血やITPに関しては除菌による治療的意義を認める報告が多く、またこれらの疾患には除菌を認めるべきとのコメントもあり、今後 *H. pylori* 感染と消化器外疾患の関連を研究するうえでのモデル疾患と考えられる。しかしながら、これらの消化器外疾患は *H. pylori* 感染者のごく一部でありほとんどの感染者はこれらの病変を引き起こさない。このことが通常の感染症とは趣を異にし、関連性が認知されにくい点である。この理由は不明であるが、関連性を問題にされている疾患は免疫機序が考えられている疾患であることから、*H. pylori* に対する反応の個体差がその原因のひとつと考えられる。これに対してはITPにおいてHLAの違いが感染後のITPの発症に差があることが今後有力な根拠となるであろう。また *H. pylori* の遺伝子に多様性がありこれは人種によって異なることが報告され、このことは除菌による治療効果が国によって異なる理由の説明となるかもしれない。いずれにしても多くの人類が *H. pylori* に感染している現状では、今後は消化管病変のみならず全身的な病変とのかかわりあいをプロスペクティブに検討すべきであるとともに、HLAの検索や *H. pylori* の遺伝的変異と疾患、人種との関連性を検索すべきであろう。

#### 謝辞

わが国でのプロスペクティブ研究は厚生労働省 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 池田康夫教授(慶應義塾大学)のもと、大阪大学 倉田義之先生、

慶應義塾大学 桑名正隆先生、ならびに北海道大学、旭川赤十字病院、昭和大学藤が丘病院、東京都立駒込病院、東京女子医科大学、東京医科大学、関西医科大学、広島大学、広島赤十字原爆病院の各血液内科の先生方の協力を得ておこなわれたもので、改めて深謝いたします。



#### 文 献

- 1) Linz B, Balloux F, Moodley Y *et al* : An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature* **445** : 915-918, 2007
- 2) Suerbaum S, Michetti P : *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* **347** : 1175-1186, 2002
- 3) Gasbarrini A, Carloni E, Gasbarrini G *et al* : *Helicobacter pylori* and extragastric diseases—Other *Helicobacters*. *Helicobacter* **8** : 68-76, 2003
- 4) DuBois S, Kearney DJ : Iron-deficiency anemia and *Helicobacter pylori* infection : A review of the evidence. *Am J Gastroenterol* **100** : 453-459, 2005
- 5) Cardenas VM, Mulla ZD, Ortiz M *et al* : Iron deficiency and *Helicobacter pylori* infection in the United States. *Am J Epidemiol* **163** : 127-134, 2006
- 6) Gessner BD, Baggett HC, Muth PT *et al* : A controlled, household-randomized, open-label trial of the effect that treatment of *Helicobacter pylori* infection has on iron deficiency in children in rural Alaska. *J Infect Dis* **193** : 537-546, 2006
- 7) Annibale B, Capurso G, Lahner E *et al* : Concomitant alternations in intragastric pH and ascorbic acid concentration in patients with *Helicobacter pylori* gastritis and associated iron deficiency anaemia. *Gut* **52** : 496-501, 2003
- 8) Hershko C, Ronson A, Souroujon M *et al* : Variable hematologic presentation of autoimmune gastritis : age-related progression from Iron deficiency to cobalamin depletion. *Blood* **107** : 1673-1679, 2006
- 9) Hershko C, Hoffbrand AV, Keret D *et al* : Role of autoimmune gastritis, *Helicobacter pylori* and celiac disease in refractory or unexplained Iron deficiency anemia. *Haematologica* **90** : 585-595, 2005
- 10) Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R *et al* : Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* **352** : 878-878, 1998
- 11) Jarque I, Andreu R, Llopis I *et al* : Absence of platelet response after eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Brit J Haematol* **115** : 1002-1003, 2001

- 12) Michel M, Khellaf M, Desforbes L *et al* : Autoimmune thrombocytopenic purpura and *Helicobacter pylori* infection. *Arch Intern Med* **162** : 1033-1036, 2002
- 13) Michel M, Cooper N, Christelle J *et al* : Does *Helicobacter pylori* initiate or perpetuate immune thrombocytopenic purpura? *Blood* **103** : 890-896, 2004
- 14) Emilia G, Longo G, Luppi M *et al* : *Helicobacter pylori* eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* **97** : 812-814, 2001
- 15) Kohda K, Kuga T, Kogawa K *et al* : Effect of *Helicobacter pylori* eradication on platelet recovery in Japanese patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura and secondary autoimmune thrombocytopenic purpura. *Brit J Haematol* **118** : 584-588, 2002
- 16) 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. *Brit J Haematol* **124** : 91-96, 2004
- 17) 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 Hematol* **81** : 162-168, 2005
- 18) Suzuki T, Matsushima M, Masui A *et al* : Effect of *Helicobacter pylori* eradication in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura—a randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol* **100** : 1265-1270, 2005
- 19) Stasi R, Rossi Z, Stipa E *et al* : *Helicobacter pylori* eradication in the management of patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Med* **118** : 414-419, 2005
- 20) Pellicano R, Touscoz GA, Smedile A *et al* : Prevalence of non-organ-specific autoantibodies in patients suffering from duodenal ulcer with and without *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* **49** : 395-398, 2004
- 21) Guariso G, Brotto F, Basso D *et al* : Organ-specific autoantibodies in children with *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* **9** : 622-628, 2004
- 22) Ishiyama M, Teramura M, Iwabe K *et al* : Clonally expanded T-cells in the peripheral blood of patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and *Helicobacter pylori* infection. *Int J Hematol* **83** : 147-151, 2006
- 23) McCrae KR : *Helicobacter pylori* and ITP : many questions, few answers. *Blood* **103** : 752-753, 2004
- 24) Byrne MF, Kerrigan SW, Corcoran PA *et al* : *Helicobacter Pylori* binds von Willebrand factor and interacts with GPIb to induce platelet aggregation. *Gastroenterology* **124** : 1846-1854, 2003
- 25) Veneri D, Gottardi M, Guizzardi E *et al* : Idiopathic thrombocytopenic purpura, *Helicobacter pylori* infection, and HLA class II alleles. *Blood* **100** : 1925-1926, 2002

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

M. Kuwana,<sup>1\*</sup> S. Iki,<sup>2</sup> and A. Urabe<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Division of Hematology, NTT Kanto Medical Center, Tokyo, Japan

**Rituximab is becoming popular as a treatment for immune thrombocytopenic purpura (ITP). We report here a patient with ITP, who initially responded to rituximab, but later became refractory. In this patient, the appearance of plasma cells producing anti-platelet autoantibodies is likely to be one of the mechanisms for rituximab resistance. Am. J. Hematol. 82:846–848, 2007. © 2007 Wiley-Liss, Inc.**

## Introduction

Immune thrombocytopenic purpura (ITP) is an acquired hemorrhagic condition of accelerated platelet consumption caused by anti-platelet autoantibodies, which mainly target platelet surface glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) [1]. The majority of ITP patients maintain a safe platelet count by taking corticosteroids and/or undergoing a splenectomy, but 9–30% require additional treatment after failing to respond to initial treatment [2]. A number of immunosuppressants and other reagents are currently used for refractory ITP, but no gold standard has been established to date. Rituximab is a chimeric monoclonal antibody directed against CD20, which is a transmembrane protein present on the surface of a broad spectrum of B cells, but not on plasma cells [3]. Rituximab has been used extensively in the treatment of B-cell lymphoma, and several studies and case series in adults and children with refractory ITP have reported that approximately half the patients show a significant platelet response [3–6]. Because of its efficacy and relative safety, rituximab is becoming popular as a treatment for refractory ITP. Patients who achieve a complete response tend to maintain it for more than one year, but the relapse rate is approximately 40% [4,6]. We report here a patient with refractory ITP who initially responded to rituximab, but later became refractory. In this patient, the appearance of plasma cells producing anti-GPIIb/IIIa antibodies is likely to be responsible for rituximab resistance.

## Results

As shown in Fig. 1A, platelet-associated anti-GPIIb/IIIa antibodies and anti-GPIIb/IIIa antibody-producing cells were markedly reduced during the first rituximab treatment, but these levels did not change during the third one. Flow cytometric analysis of the patient's PBMC revealed that CD19<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> and CD20<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup> B cells were completely lost after rituximab treatment in both the first and third courses, although the pretreatment proportion of B cells was very low (<1%) for the third rituximab treatment (Fig. 1B). Interestingly, CD20<sup>-</sup>CD138<sup>+</sup> plasma cells were detected in the circulation before and after the third rituximab course, when the patient had become refractory. To determine whether the CD20<sup>-</sup>CD138<sup>+</sup> plasma cells in the peripheral blood produced anti-GPIIb/IIIa antibodies, PBMC depleted of CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD138<sup>+</sup>, or CD34<sup>+</sup> cells were used for the ELISPOT assay. As shown in Fig. 2, in samples taken before the first rituximab treatment, cells producing anti-GPIIb/IIIa antibodies were completely lost following the depletion of CD19<sup>+</sup> or CD20<sup>+</sup> cells, but not following the depletion of

CD138<sup>+</sup> cells, indicating that the anti-GPIIb/IIIa antibody-producing cells were exclusively CD19<sup>+</sup>CD20<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup> B cells. In contrast, before the third rituximab treatment, when the patient had become refractory to rituximab, the depletion of the CD19<sup>+</sup> or CD20<sup>+</sup> cells had a minimal effect on the number of antibody-producing cells, but CD138<sup>+</sup> cell depletion markedly reduced them, indicating that CD19<sup>-</sup>CD20<sup>-</sup>CD138<sup>+</sup> plasma cells predominantly produced the anti-GPIIb/IIIa antibodies. Bone marrow cells obtained three months after the third rituximab treatment also showed plasma cells to be the dominant population responsible for anti-GPIIb/IIIa antibody production. When PBMC from 10 randomly selected ITP patients who never received rituximab were examined using the ELISPOT assay, none of them had CD138<sup>+</sup> plasma cells producing anti-GPIIb/IIIa antibodies. HACA were positive and at an intermediate titer (174 ng/mL) at the time of the third rituximab treatment, but were not detectable prior to rituximab use.

## Discussion

Our patient with refractory ITP initially responded to rituximab, but after retreatment she became refractory to it. Rituximab resistance is probably not simply due to HACA induced by the repeated use of this chimeric antibody, because the third rituximab treatment still induced complete B-cell depletion, and bone marrow cells responsible for anti-GPIIb/IIIa antibody production obtained three months after the third rituximab treatment showed a plasma cells phenotype. Data on the clinical significance of HACA during rituximab therapy are limited, but HACA have been discussed primarily in association with adverse events, including infusion reactions and serum sickness [7]. Rapid clearance of the drug may be of concern, but successful rituximab retreatment of lymphoma has been reported in a patient with HACA [8]. An alternative explanation, however, was suggested by our patient's having plasma cells producing anti-GPIIb/IIIa antibodies in the circulation as well as in

Contract grant sponsor: The Japanese Ministry of Health, Welfare and Labour.

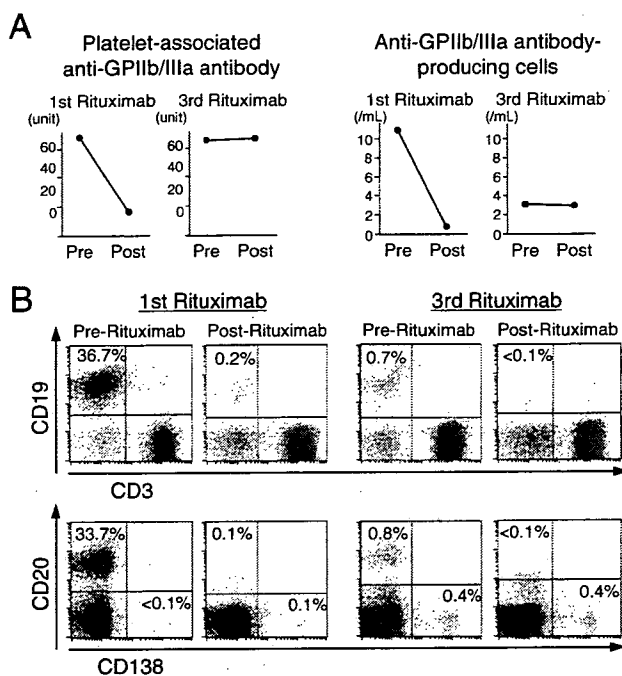
\*Correspondence to: Masataka Kuwana, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan.  
E-mail: kuwanam@sc.itc.keio.ac.jp

Received for publication 17 January 2007; Accepted 26 February 2007

Am. J. Hematol. 82:846–848, 2007.

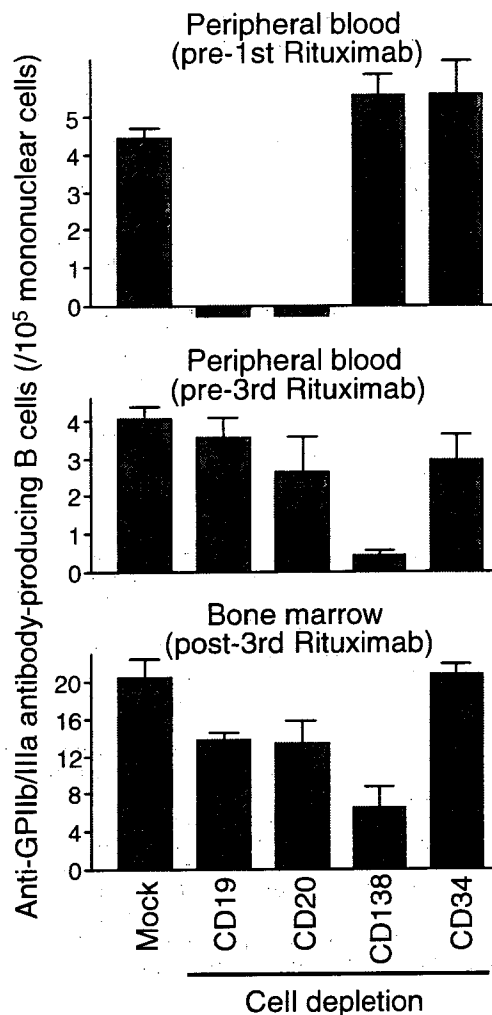
Published online 15 May 2007 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

DOI: 10.1002/ajh.20951



**Figure 1.** Serial measurements of anti-GPIIb/IIIa antibody responses and circulating B cell subsets before and after the first and third courses of rituximab. **A:** Platelet-associated IgG anti-GPIIb/IIIa antibody was measured by enzyme-linked immunosorbent assay using purified human GPIIb/IIIa as the antigen, and the antibody units were calculated based on a standard curve obtained from serial concentrations of a standard plasma. IgG anti-GPIIb/IIIa antibody-producing cells were detected using enzyme-linked immunospot assay and are shown in the absolute number per 1 mL of peripheral blood. **B:** Serial flow cytometric analysis of CD19<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> B cells, CD20<sup>+</sup>CD138<sup>-</sup> B cells, and CD20<sup>+</sup>CD138<sup>+</sup> plasma cells. Relative proportions of the subsets of interest are shown in each panel.

the bone marrow while she was refractory to rituximab. Since rituximab, which was designed to target B lineage cells, does not eliminate plasma cells, the appearance of plasma cells producing anti-platelet autoantibodies could be one of the mechanisms of rituximab resistance. In this regard, there is increasing evidence that plasma cells can survive as long as memory B cells, and such long-lived plasma cells are thought to be involved in the pathogenesis of various autoimmune diseases through their continuous production of pathogenic autoantibodies [9]. Because anti-GPIIb/IIIa antibody-producing plasma cells were undetectable in our patient before rituximab treatment and in 10 additional ITP patients who never received rituximab, it is possible that repeated doses of rituximab might induce a compensatory shift in the dominance of autoantibody-producing cells from B cells to plasma cells, following the rituximab-induced loss of the B cells. The mechanism involved in this process remains unclear, but it might be mediated through longevity of autoantibody-producing plasma cells, because rituximab blocks differentiation of memory B cells into plasma cells. Currently, there is little information regarding the efficacy of rituximab retreatment in ITP patients who relapse after one cycle of treatment, but we should take this potential mechanism for rituximab resistance into account in developing future therapeutic strategies for refractory ITP.



**Figure 2.** IgG anti-GPIIb/IIIa antibody-producing cells in mononuclear cells that were mock-treated or were depleted of CD19<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD138<sup>+</sup>, or CD34<sup>+</sup> cells. IgG anti-GPIIb/IIIa antibody-producing cells in peripheral blood or bone marrow mononuclear cells were detected using enzyme-linked immunospot assay. The cell depletion was performed using magnetic bead-coupled corresponding monoclonal antibodies, followed by separation on a MACS column. The frequency of circulating anti-GPIIb/IIIa antibody-producing B cells was calculated as the number per 10<sup>5</sup> mononuclear cells. Results shown are the mean and standard deviation obtained from three independent wells.

## Materials and Methods

### Case report

A 75-year-old woman presented with multiple ecchymoses and nasal bleeding in June 2003. Physical examination revealed petechiae on her palate and scattered diffusely on her arms, legs, and trunk. Her complete blood count showed hemoglobin 8.5 g/dL, leukocyte  $4.0 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$  with normal differential, and platelet  $12 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ . Coagulation and blood chemistry studies were normal. Antinuclear antibody was negative, but IgG anti-cardiolipin antibody was strongly positive (74 GPL). A bone marrow evaluation showed normocellular marrow without dysplasia or megakaryocytic hypoplasia. The patient was initially treated with prednisolone (1 mg/kg), but there was no clear platelet response, and she required frequent platelet transfusions, because of severe persistent thrombocytopenia (platelets  $< 5 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ ) with oral mucosal bleeding. The patient was then given intravenous immunoglobulin (IVIg) 0.4 g/kg for 5 days, which was followed by an increased platelet count ( $96 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ ). Splenectomy was performed, but her platelet count fell