

201024002B

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 20-22 年度

総合研究報告書

研究代表者 村田 満

慶應義塾大学 医学部

平成 23 年 3 月

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 20-22 年度

総合研究報告書

平成 23 年 3 月

## 目次

### 血液凝固異常症に関する調査研究

I. 総合研究報告書	村田満 慶應義塾大学 ----- 5
------------	--------------------

#### II. 分担研究報告書

##### ITP（特発性血小板減少性紫斑病）研究グループ

グループリーダー：富山佳昭 大阪大学

班員：桑名正隆 慶應義塾大学

倉田義之 四天王寺大学

藤村欣吾 広島国際大学

研究協力者：降旗謙一 株式会社エスアールエル

宮川義隆 慶應義塾大学医学部

野村昌作 関西医科大学

西本哲也 慶應義塾大学大学院

松原由美子 慶應義塾大学医学部

高蓋寿朗 西神戸医療センター

柏木浩和 大阪大学医学部

特別協力者(疫学班)：杉田稔 東邦大学医学部衛生学

島田直樹 昭和大学医学部公衆衛生学

**TMA（血栓性微小血管障害症）研究グループ**

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

和田英夫 三重大学

小亀浩市 国立循環器病センター研究所

研究協力者：森木隆典 慶應義塾大学

日笠聡 兵庫医科大学

松本雅則 奈良県立医科大学

**特発性血栓症 研究グループ**

グループリーダー：小嶋哲人 名古屋大学

班員：坂田洋一 自治医科大学

宮田敏行 国立循環器病センター研究所

川崎富夫 大阪大学

横山健次 慶應義塾大学

辻 肇 京都府立医科大学附属病院

研究協力者：窓岩清治 自治医科大学

**静脈血栓症／肺塞栓症 研究グループ**

グループリーダー：小林隆夫 県西部浜松医療センター

班員：榛沢和彦 新潟大学

研究協力者：佐久間聖仁 国立循環器病センター

中村真潮 三重大学大学院

山田典一 三重大学大学院

静脈血栓症／肺塞栓症グループ研究：小林隆夫 ----- 91

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 119

IV. 研究成果の刊行物・別冊 ----- 153

V. その他

# 総合研究報告書

## 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 20-22 年度総合研究報告書

#### 「血液凝固異常症に関する調査研究班-総括」

研究代表者 村田 満 慶應義塾大学医学部臨床検査医学 教授

#### 研究要旨

血液凝固異常症に関する本調査研究班は特定疾患治療研究対象事業である 3 つの疾患、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、血栓性微小血管障害症（TMA）、特発性血栓症、に加え深部静脈血栓症／肺塞栓（DVT/PE、いわゆるエコノミークラス症候群）について、それぞれ 4 つのサブグループに分かれ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(1)分子病態解析に基づいた診断基準、治療指針の確立と普及、そしてその効果の検証、(2)大規模な疫学的解析による我が国での発症頻度、予後などの正確な把握、を目的としている。本研究（平成 20-22 年度）は過去に確立された研究調査体制を踏襲しつつ、より多くの成果発信、具体的には診療ガイドラインの作成や臨床的有用性の高いデータベース化システムの構築などに注力した。実態調査としては ITP、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)、先天性血栓傾向、ヘパリン在宅自己注射療法アンケート調査、ワルファリン療法実態個別調査を行い、また診断・治療ガイドライン等については、ITP 臨床調査個人票、ITP 診療ガイドライン、ITP 診断基準作成を行った。

#### A. ITP（特発性血小板減少性紫斑病）研究グループ

ITP は特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、本研究班では本疾患の疫学を初めとして、その診断ならびに治療法を向上させることは急務の課題であることを常に念頭おいている。この目的のために、本研究班では ITP に関して、その病態に則した新たな診断基準の作成および、治療薬の副作用を含めた総合的な治療目標の設定などを検討してきた。まず特定疾患治療研究事業の対象疾患であることから、ITP の臨床疫学的研究を経年的に行い最近の ITP の臨床実態を明らかにする。診断基準に関しては、その病態に即した診断法を検討し、除外診断の

みの診断法ではなく、より正確に ITP を診断できるような診断基準を目指す。治療に関しては治療プロトコルを履行するに当たり保険医療上の制約を克服すると共に、難治症例に対する新たな治療法の確立、さらには妊娠合併 ITP に対する妊娠、分娩管理ガイドライン作成へ向けての意見集約などを行う。本研究サブグループでは、ITP の疫学、診断、治療を中心にグループ研究を行ってきた。疫学研究は臨床個人調査表を基に平成 15 年から平成 20 年度まで毎年本邦における ITP の実態を調査把握し、本邦における ITP の疫学に関する貴重な情

報を収集できた。その結果、ITP は発症年齢、更新年齢とも中高年の男女に最も多い事が確認された。また治療においてはヘリコバクタ・ピロリ除菌療法が広く定着している事が伺えた。本研究期間中に、ITP 国際作業部会から本疾患の呼称や、急性および慢性 ITP の定義の見直しが提唱されたこと、および本邦において平成 22 年度にヘリコバクタ・ピロリ除菌療法の保険適応やトロンボポエチン

(TPO) 受容体作動薬が新たに承認されたことなど画期的な進歩があった。これらの進展に対応すべく、本研究班にて臨床個人調査表の改訂および ITP 治療の参照ガイドの改訂を計画し、具体的にその検討作業を開始した。診断に関しては、その診断基準の草案を受け、その診断に必要な諸検査の標準化を検討した。網状血小板比率については IPF 法では FCM 法に比し感度、特異性が劣っていること、さらに IPF% は経時的に変化するため、検体保存ができないことが明らかとなった。検体保存に関しては、その至適保存条件が明らかになった。一方では、TPO 受容体作動薬の承認もあり、TPO 測定の保険適応が急がれる。治療抵抗性 ITP に適応が承認された TPO 受容体作動薬については、ITP 治療に対する位置づけや長期使用による有害事象を加味した適正

使用の推奨が必要である。一方、妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成にむけても検討を開始した。個人研究では調節性 T 細胞の減少が ITP 発症に関係していること、また血小板産生系として脂肪細胞由来の細胞から血小板産生が確認された。臨床的に ITP と鑑別すべき先天性血小板減少症の分子機構に関して、一部の症例において GPIIb-IIIa の変異が関与していることを明らかにした。

本研究班において、ITP の現状を解析するとともに、その診断および治療に関してその標準化を推進するとともに現状での問題点を明らかにした。新たな作用機序を有する薬剤が認可されたことに対し、次年度においてその適正使用を含めた情報発信が急務である。

ITP の診療は、近年大きく変化している。特に *H. Pylori* 除菌療法や新たな TPO 受容体作動薬の登場により、その使用対象や適正使用の正しい情報発信がのぞまれている、この観点から、益々 ITP 研究班の果たす役割は大きくなっている。さらに、基礎的および臨床的解析により、ITP の新たな病態も明らかになってきている。次年度以降も、確実に成果をあげ正しい情報を発信していく必要がある。

## B. TMA (血栓性微小血管障害症) 研究グループ

TMA グループは、TMA および血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の病態解析と治療法の開発を目指している。現在までに TMA グループから Upshaw-Schulam 症候群 (USS) の遺伝子解析、ADAMTS13 活性測定法の開発、ADAMTS13 の立体構造解析など世界をリードする研究成果を発表してきた。その中でも中心的な活動として、1998 年から奈良医大輸血部での TMA 解析センターとしての活動を通じて、本邦 TMA のデータベース化を継続している。

その結果、2010 年 12 月末でその症例数は 1028 例と世界に例を見ない多数例のデータベースとなった。TMA データベースは、日本全国の医療機関から ADAMTS13 とその自己抗体 (インヒビター) の解析による TMA 診断のために奈良医大輸血部に送られた症例を集積したものである。これらの症例での ADAMTS13 活性測定は、1998 年に VWF マルチマー法で開始し、2005 年からはより簡便で高感度な act-ELISA 法にて行っている。TMA デー



データベースへの登録症例数は1998年より年々増加して、2008年12月の段階で919例となった。(Inter Med 49:7-15, 2010)。日本国内でのADAMTS13活性およびインヒビターの測定は、2008年頃より外注検査として対応が可能となったことより、本データベースへの登録症例数は減少傾向にあるが、2010年12月時点でもさらに増加し1028例となった。1028例の内訳は、先天性と考えられる症例が75例、後天性953例であった。このうち、Upshaw-Schulman症候群(USS)は41例で、この2年間増加していない。それ以外の34例は現在までは病因不詳と分類している。後天性の中で特発性TTPに分類される症例が330例と最も多く、その中にはADAMTS13活性著減によるもの240例(72.7%)とTTPの5徴候によって診断された90例(27.3%)が存在した。次に症例数が多いのが、膠原病に関連したTMAで244例であり、詳細な特徴については論文報告した(Thromb Haemost 102:371-378, 2009)。また、チクロピジンとクロピドグレルによるTMAについて日米共同研究を行い、その機序の違いを明らかにした(Kidney Int 75: S20-S24, 2009)。最近の2年間でチクロピジンTTP報告は1例であったが、日本でも2008年よりクロピドグレルが発売されたことで、チクロピジン使用頻度が減ったこ

とによる可能性がある。しかし、我々の経験したチクロピジンTTPはジェネリックであり、従来製薬会社が行っていた副作用警告などの薬剤情報が主治医に十分周知されておらず、TTPと診断されていない可能性が危惧される。

平成20-22年度にTMAグループとして、個別に以下の項目を行った。

- 1) 奈良医大輸血部 TMA データベースの個別解析(継続)
  - (1) USSのphenotype追跡調査
  - (2) USS患者で発見したADAMTS13遺伝子異常の発現
  - (3) 後天性特発性TTPの解析
- 2) ADAMTS13と同インヒビター複合体の可視化法の開発
- 3) インフルエンザ重篤化要因としてのTMA解析
- 4) ADAMTS13に起因しないTMAの解析ならびにVWFppの意義
- 5) 三重大でのTMA症例の解析
- 6) ADAMTS13の立体構造解析(構造未決定のドメインおよび変異体)
- 7) ADAMTS13活性測定法の改良
- 8) VWFおよびTTP患者IgGとADAMTS13の反応に関連するアミノ酸配列の解析
- 9) 妊娠USS患者のFFP定期補充とADAMTS13解析
- 10) 新たな治療法の検討

### C. 特発性血栓症 研究グループ

特発性血栓症サブグループ研究は、近年増加している我が国における静脈血栓塞栓症のエビデンスを収集するとともに、静脈血栓塞栓症の発症原因と発症メカニズムを明らかにし、エコノミークラス症候群として国民から注目される静脈血栓塞栓症の予知・予防のための対策の確立を目的とする。本研究は、全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究と日本人静脈血栓塞栓症患者を対

象とした調査研究から構成される。アンケート調査研究として本邦における静脈血栓塞栓症に対する「ワルファリン使用に関するアンケート調査」、その二次調査として「本邦における静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法に関する全国実態個別調査」を行った結果、大半の調査対象施設において静脈血栓塞栓症予防ガイドラインに準じた用量調節ワルファリン療法が行われていたにも

かかわらず出血症状や血栓症再発の合併症がみられ、さらに「ワルファリン服用患者におけるPT-INR自己測定の有効性と安全性についての検討」が計画された。すなわち、簡易型PT-INR測定機器を導入した患者自身の測定による詳細なPT-INR値を測定により、出血および血栓症イベントとの関わりや自己測定がイベント発症率の軽減に繋がるか否かを、臨床研究「ワルファリン服用患者におけるPT-INR自己測定の有効性と安全性についての検討」を通して明らかにすることが重要であると考えられる。また、静脈血栓塞栓症治療における「ヘパリン在宅自己注射療法の指針（案）」に対するアンケート調査が全国の大学付属病院産婦人科教室を対象に実施され、諸意見を検討の上まとめられた。ヘパリン在宅自己注射療法は現在のところ保険適用されておらず、経費面での負担や実施に関する問題点について各医療機関における倫理委員会などの取り決めに従い慎重に協議した上で行われるべきであるが、「ヘパリン在宅自己注射療法の指針（改正案）」がその実施の一助になることを期待する。また、「先天性血栓性傾向（AT、PC、PS欠損症）日本人患者の実態調査」を実施し、計162例の詳細な情報が得られ、それぞれ若年で静脈血栓塞栓症を発症する例が多く、また再発の危険性も高いことが示唆された。先天性血栓性傾向（AT、PC、PS欠損症）日本人患者の実態調査の中で、AT欠損症患者は、PC欠損症、PS欠損症患者と比較して若年で静脈血栓塞栓症を発症する例が多く、再発の危険性も高いことが示唆された。また、静脈血栓塞栓症を発症した先天性血栓傾向を有する患者の多くでは、発症後長期間抗凝固薬を継続している傾向がみられた。今後とも日本人での先天性血栓性傾向（AT、PC、PS欠損症）患者の実態調査は重要で、エビ

デンスの蓄積が必要と思われた。また、特定疾患・特発性血栓症のなかで治療費の公的助成の対象とする病型・「家族性血栓性素因重症型の認定基準（診断基準）」についてはさらに検討が必要と思われた。日本人静脈血栓塞栓症患者を対象とした調査研究としては、日本人の静脈血栓塞栓症患者173名中にPS K196E変異のヘテロ接合体13名、ホモ接合体2名が同定され、また、妊娠中および産褥期に深部静脈血栓症を発症した44名中17名が血栓性素因をもち、なかでもPS欠損症が7名で最も多く、日本人の血栓性素因としてPS欠損症が多いことが確認された。一方、凝固第V因子の低下が日本人における新しい深部静脈血栓塞栓症の危険因子の可能性が指摘された。さらに、静脈血栓塞栓症家族内発生の見られた先天性AT欠損症ならびに拡張型心筋症合併症家系において、それぞれ原因と思われる遺伝子変異が同定された。また、後天的血栓性素因として知られる妊娠や経口避妊薬服用の原因が、高女性ホルモン・ $17\beta$ -estradiolによりPS $\alpha$ 遺伝子（PROS1）発現が抑制され、PS血中濃度低下をもたらす分子機構を明らかにした。さらに、新たな先天性血栓性素因の遺伝子異常が同定された。その他、日本人一般住民を対象にした研究より、アテローム血栓症に関与する血小板数、ADP凝集能とコラーゲン凝集能の個人差に影響する因子として、性・年齢・脂質量が明らかとなった。日本人一般集団を対象にみられたADP惹起血小板凝集能とコラーゲン惹起血小板凝集能の性差（女性は男性より高値）は欧米での研究と良く一致し、血中脂質量の変化によるものと考えられた。フラミンガム研究でも報告されているHDL-Cのコラーゲン凝集能との負の関連は、HDL-Cの抗血栓機能の一部を説明するものと思われる。

## D. 静脈血栓症／肺塞栓症 研究グループ

深部静脈血栓症 (DVT) / 肺塞栓症 (PE) は、欧米では3大循環器疾患に数えられる非常に頻度の高い疾患であり、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。一方、わが国においては発生頻度の少ない疾患としてこれまで重要視されて来なかったが、生活習慣の欧米化や社会の高齢化、さらには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。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本疾患の現況を調査し、「日本人のエビデンスを明確にする」ことにより、「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つ」、「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) 産科領域における活性化プロテインC感受性比 (APC-sr) と静脈血栓塞栓症 (VTE) リスク：内因性トロンビン産生能を用いた APC-sr を妊産褥婦で測定した結果、妊娠産褥期の血液は過凝固な状態にあり、APCによる凝固抑制機構の破たんと血栓症発症には密接な関係があることが示唆された。

2) 入院患者における静脈血栓塞栓症発症予知に関する研究：県西部浜松医療センター入院患者で、帝王切開 (5例)、外科悪性腫瘍 (15例)、整形外科

下肢手術 (12例) の計32例で内因性トロンビン産生能 (ETP) に基づく APC-sr を測定し、後天性 APC 抵抗性の状態を把握することによって VTE 予知スクリーニング法が確立できるか検討した。術前・術後の超音波検査にて深部静脈血栓症 (DVT) 症例なかったため現時点では明確な結論は出ていない。現在判明していることとして、i) 帝王切開妊産婦では術前術後とも ETP と APC-sr はともに高い。ii) 悪性腫瘍患者では術前の ETP と APC-sr はやや高く、術後3-4日目にかけて増加した。iii) 整形外科患者では術前の ETP と APC-sr はほぼ正常であるものの術後に増加し、4日目に最大となった。iv) APC-sr と PS 抗原 (活性) の間には負の相関がみられ、APC-sr の増加は PS の減少との関連性が示唆された。v) 予防的抗凝固薬投与中は ETP と APC-sr とともに抑制される。すなわち、血栓が形成されにくくなることなどが判明した。今後本測定法により前方視的に VTE リスク判定を行うことができれば、血液凝固学的指標に基づいた予防的抗凝固療法の選択が可能となることが示唆される。

3) 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子：全国医療機関へのアンケート調査により、2009年2月と3月の二ヶ月間での新規発症例を前向きに登録調査したところ、単変量解析では、長期臥床 (オッズ比 (OR) = 2.89; 95%信頼区間 (CI), 1.31-7.01; p=0.006)、活動性癌 (OR, 6.17; 95% CI, 2.58-17.87, p<0.0001) が危険因子であった。最近の外傷・骨折は院外発症 VTE を増加させる傾向にあり (OR, 2.67; 95% CI, 0.99-8.32; p=0.052)、肥満、最近の大手術、糖尿病、高血圧、高脂血症、喫煙、飲酒は院外発症 VTE を増加させなかった。また、院外発症例では症状を有しやすく、

肺塞栓症 (PE) 症例では DVT の症状が少ないことが明らかになった。4) 院外発症静脈血栓塞栓症の危険因子—検診症例との比較：全国医療機関へのアンケート調査により、2009年2月と3月の二ヶ月間での新規発症例を前向きに登録した。それぞれの症例に対応した同性、年齢差が5才以内という条件を満たす最初の検診症例も同時に登録し、コントロール症例とした。住民検診症例とのペアが作れた161ペアの matched case-control から危険因子を評価した。単変量解析では長期臥床、活動性癌、最近の大手術、骨折・外傷が有意な危険因子であった (全て  $P < 0.0001$ )。肥満 (body mass index  $> 25$ ) は VTE で少なかったが ( $P = 0.01$ )、活動性癌で BMI が有意に低く、また、高齢者ほど matched pairs が得られなかった。生活習慣病との関連では糖尿病、高脂血症は有意な危険因子ではなく、高血圧は VTE で少ない傾向にあった ( $P = 0.09$ )。血液型では A 型が多く ( $P = 0.02$ )、O 型で少なかった ( $P = 0.02$ )。5) 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調査：日本人においてもうっ血性心不全症例では欧米と同様に DVT が発生していることが明らかになった。今後は、重症うっ血性心不全患者で特に呼吸性下大静脈虚脱率低下例では薬物による一次予防が必要と考えられた。6) ネフローゼ症候群症例における深部静脈血栓症の発生頻度調査：内科領域の入院患者における VTE の発生頻度を明らかにするため、ネフローゼ症候群症例に関して調査した。三重大学附属病院に入院したネフローゼ症候群 53 例に対して、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ところ、24.5% (13/53) に DVT

を認めた (両側 7 例、左側のみ 4 例、右側のみ 2 例、後脛骨静脈 3 例、腓骨静脈 4 例、ヒラメ静脈 12 例 (重複あり))。高齢者に有意に多く、ワルファリン服用例にはみられなかった。本邦でもネフローゼ症候群による入院患者 (特に高齢者) では高率に DVT が認められ、欧米同様、内科領域の危険因子となりうる。今後の予防措置の必要性が示唆された。7) 震災後の深部静脈血栓症についての検討：新潟県中越地震と中越沖地震および岩手・宮城内陸地震被災者に広報、マスコミを通じて呼びかける検診の形で行った。検診ではエコー検査で下腿静脈の血栓の有無を調べ、ヒラメ静脈最大径を測定した。これらの震災被災者の検診結果から、震災被災者では避難所、仮設住宅など避難生活場所に関係なく下腿静脈の DVT が発生しやすく、また DVT は震災後に発生すると無症状または症状が軽いことから治療されずに放置されることが多く、慢性化し遷延することが確認され、6年以上も影響が残っている。さらに新潟県中越地震・中越沖地震の両者の被災者において、震災後の慢性化した DVT が独立した脳梗塞発症のリスク因子になっている可能性があると考えられた。また DVT は高血圧既往または検診時に測定した血圧が高い方で有意に多いことから、震災時において高血圧や血圧が高い傾向 (白衣高血圧など) がある方では DVT により注意する必要があると考えられた。震災被災者の DVT では無症状の PE が多く認められることから、震災後の DVT は無症状ではあるが二次的健康被害の原因になる可能性があり、予防と治療が必要である。したがって、行政と医療機関が共同で DVT 対策を行う必要性が重要である。

## グループ研究報告書

## 平成 20-22 年度 ITP(特発性血小板減少性紫斑病)サブグループ

### 研究報告

グループリーダー：富山佳昭 大阪大学医学部附属病院 病院教授

班員：藤村欣吾 広島国際大学薬学部 教授

桑名正隆 慶應義塾大学医学部内科 準教授

倉田義之 四天王寺大学 教授

研究協力者：降旗謙一 株式会社エスアールエル

宮川義隆 慶應義塾大学医学部

野村昌作 関西医科大学

西本哲也 慶應義塾大学大学院

松原由美子 慶應義塾大学医学部

高蓋寿朗 西神戸医療センター

柏木浩和 大阪大学医学部

特別協力者(疫学班)：杉田稔 東邦大学医学部衛生学

島田直樹 昭和大学医学部公衆衛生学

## グループ総括

分担研究者：富山佳昭

### 研究要旨

本研究サブグループでは、ITP の疫学、診断、治療を中心にグループ研究を行ってきた。疫学研究は臨床個人調査表を基に平成 15 年から平成 20 年度まで毎年本邦における ITP の実態を調査把握し、本邦における ITP の疫学に関する貴重な情報を収集できた。その結果、ITP は発症年齢、更新年齢とも中高年の男女に最も多い事が確認された。また治療においてはヘリコバクタ・ピロリ除菌療法が広く定着している事が伺えた。本研究期間中に、ITP 国際作業部会から本疾患の呼称や、急性および慢性 ITP の定義の見直しが提唱されたこと、および本邦において平成 22 年度にヘリコバクタ・ピロリ除菌療法の保険適応やトロンボポエチン (TPO) 受容体作動薬が新たに承認されたことなど画期的な進歩があった。これらの進展に対応すべく、本研究班にて臨床個人調査表の改訂および ITP 治療の参照ガイドの改訂を計画し、具体的にその検討作業を開始した。診断に関しては、その診断基準の草案を受け、その診断に必要な諸検査の標準化を検討した。網状血小板比率については IPF 法では FCM 法に比し感度、特異性が劣っていること、さらに IPF%は経時的に変化するため、検体保存ができないことが明らかとなった。検体保存に関しては、その至適保存条件が明らかになった。一方では、TPO 受容体作動薬の承認もあり、TPO 測定の保険適応が急がれる。治療抵抗性 ITP に適応が承認された TPO 受容体作動薬については、ITP 治療に対する位置づけや長期使用による有害事象を加味した適正使用の推奨が必要である。一方、妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成にむけても検討を開始した。個人研究では調節性 T 細胞の減少が ITP 発症に関係していること、また血小板産生系として脂肪細胞由来の細胞から血小板産生が確認された。臨床的に ITP と鑑別すべき先天性血小板減少症の分子機構に関して、一部の症例において GPIIb-IIIa の変異が関与していることを明らかにした。

#### A. 研究目的

ITP は特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、本研究班では本疾患の疫学を初めとして、その診断ならびに治療法を向上させることは急務の課題であることを常に念頭おいている。この目的のために、本研究班では ITP に関して、その病態に則した新たな診断基準の作成および、治療薬の副作用を含めた総合的な治療目標の設定などを検討してきた。まず特定疾患治療研究事業の対象疾患であることから、ITP の臨床疫学的研究を経年的に行い最近の ITP の臨床実態を明らかにする。診断基準に関しては、その病

態に即した診断法を検討し、除外診断のみの診断法ではなく、より正確に ITP を診断できるような診断基準を目指す。治療に関しては治療プロトコルを履行するに当たり保険医療上の制約を克服すると共に、難治症例に対する新たな治療法の確立、さらには妊娠合併 ITP に対する妊娠、分娩管理ガイドライン作成へ向けての意見集約などを行う。

#### B. 研究方法

1. 疫学研究に関しては特定疾患治療研究事業の対象疾患にもなっており毎年行われる ITP 臨床個人調査表を基に、新規

発症症例数、更新症例数、発症年齢、性、分布、さらには罹病期間、治療内容、合併症、現在のQOL等を解析した。

2. 診断基準に関してはITPの病態に立脚した検査項目のうち、感度、特異度に影響する検査については、全国的に同一の検査精度を維持する必要があるためにSRLへの移管を目指して共同研究を行った。

3. 治療プロトコールに関してはITPに対する除菌療法の保険適応拡大を引き続き学会を通じて行う。難治症例に対する治療薬として新たに承認されたトロンボポイエチン受容体作動薬による治療経験から難治症例に対する適応基準、副作用などを検討する。

妊娠合併ITPの管理については従来のガイドラインを核として各施設での現状をまとめ、その後の知見を取り込んだガイドラインにする。

## C. 研究結果

### 1. ITPの疫学研究（倉田班員）

#### 1) 登録症例数と性差

平成18年～平成20年度まで疫学データをまとめることが出来た。平成18年度における新規患者数は10万人あたり1.88人であり、日本全体では2,405人が発症したと推計された。平成19年度における新規患者数は10万人あたり2.20人であり、日本全体では2,776人が発症したと推計された。平成20年度の推定新規発症症例は3,220名（男1,251名、女1,969名）と昨年 비해約500名の増加であった。その内訳は急性型1,153名、慢性型1,901例であった。急性型の性差は女/男、1.4、慢性型では女/男、1.7で慢性型、慢性型とも女性に多く、特に慢性型で顕著である。平成18年度の更新患者数は10万人あたり13.21人で日本全体では16,873名の患者数と推計、平成19年では10万人あたり15.06人で日本全体では18,994名の患者数と推計され、平成20年では20,257人と推計さ

れ、女/男、は2.5と女性に多い疾患であることには変わりはない。更新患者数は低下傾向にあったが平成19年度の解析では再び増加し平成16年のレベルに近似し、平成20年度はさらに1,263例増加している。

#### 2) 年齢分布

新規急性型では男性は5歳以下と66歳以上の2つのピークであるのに対し、女性では5歳以下、21～30歳、51歳以降の3つに発症数のピークを認めた。新規の慢性型では男性では56～80歳に、女性は31～40歳、56～75歳に2つのピークを認めている。更新慢性型では男性は56～80歳、女性は31～40歳、56～75歳の2つのピークを認めた。発症年齢分布についてはここ3年間変化なく、ITPは中高年齢者に多い疾患であることが定着している。

#### 3) 治療

治療に関してはピロリ除菌療法が第一選択治療として定着していることが明らかとなり、平成22年度に除菌療法が保険適応されたことは、ITP診療にとって福音である。さらには、除菌療法は安価に行えるため、医療経済的にも画期的であると考えられる。

4) 経過中の合併症については、糖尿病、圧迫骨折、重症感染症など治療関連の疾患が多く、ITP関連の出血、例えば脳出血は頻度的には2%弱である。この他中高年齢者に多いことを反映して悪性腫瘍も4%近く認められている。QOLは保たれている症例が多く慢性に経過する疾病で、ITP自体のコントロールは良好な症例が多いことが伺えた。臨床調査表に基づく疫学研究の問題点はすべての都道府県からのデータが含まれていないことである。これらの欠損データを補うために、人口統計から補正を行い本邦の推定データとしている。従って発症例数が年によって変動するのは欠損データの数に関係している可能性もある。いずれにしてもより多くの都道府



県に協力していただきより正確な傾向を把握したい。

#### 5) 個人調査表の改訂作業

国際的見地からすると、最近 ITP 国際作業部会において本疾患の呼称や、急性および慢性 ITP の定義の見直しが提唱された。ITP は、血小板減少が 6 ヶ月以内に寛解する急性 ITP と 6 ヶ月以上持続する慢性 ITP に分類されている。しかしながら急性との表現は、その曖昧さと 6 ヶ月経過後にレトロスペクティブに診断されるという理由により、その使用は好ましくないと判断された。ITP がどのぐらいの期間持続するかを予測するマーカーが無い場合、新規の ITP はすべて newly diagnosed ITP と表記する。また新たなカテゴリーとして血小板減少が 3 ヶ月～12 ヶ月持続する場合は、persistent ITP と表記する。この範疇には自然寛解しなかった症例や治療を止めた後に血小板が減少した症例も含む。Persistent ITP では自然寛解する可能性がまだ残っていると考えられる。そのため摘脾などのより強力な治療法は persistent ITP に関しては延期しても良いとの意見である。また、この期間設定により chronic ITP は 12 ヶ月以上持続する場合、としている。これらの国際的な動向を考慮し、さらに国際的には骨髓穿刺が ITP 診断の必須の検査項目では無いことより、研究班として個人調査表の改訂を提唱しており、厚生労働省とも改訂案を協議中である。改訂案を本報告書の後に示す。また、改訂案では、個人調査表の内容をより簡便に記載できるように配慮している。具体的には、骨髓検査を「その他、参考となる所見」欄に移動し、末梢血に血小板減少以外の異常（白血球減少や大球性貧血など）を認める場合や年齢が 65 歳以上なら MDS との鑑別に骨髓検査を推奨するとの立場である。PAI gG 測定は必須ではないため、削除する予定である。平成 23 年度、おそくても平成 24 年度には、ITP 個人調査

表を改訂を実現したい。

#### 2. ITP の診断基準の設定と問題点

(富山班員、桑名班員、降旗研究協力者)  
平成 18 年に提案した ITP 診断基準は ITP の病態に基づいたもので、特異度、感度に関しても従来の基準に比し有用性が高い。この基準を一般化するためには一部の特異的検査項目を中央化し全国どこからでも検査可能にする必要がある。そのために約 5 年前から SRL との共同研究を開始し準備は整いつつあるが、依然改善すべき問題点が残っている。血小板抗体産生 B 細胞の定量化法に関しては、SRL での体制は整ってきているが、いまだその精度管理に若干の問題が残っている。網状血小板比率の測定に関しては、簡便法であるシスメックスの機器を用いる IPF 法とフローサイトメトリー法を用いる FCM 法を比較検討した。血小板の破壊亢進状態である ITP 症例と血小板産生低下である AA 症例に対して、両検査の感受性、特異性および予測値を比較検討した。その結果、FCM 法の ITP 診断の感受性 82%、特異性 93%であり、一方 IPF 法は感受性 67%、特異性 63%であった。このように、その感受性、特異性において FCM 法が IPF 法に比較し優れていることが明らかになった。また、IPF 法は血小板数が低値の場合、計測する血小板数が減少するため、その再現性に問題があることも明らかとなった。一方、FCM 法は血小板数が少なくても 1 万個を計測するため、再現性は良好であった。IPF 法を採血後短時間内で測定すれば研 FCM 法とは相関があるため、簡便な点を考慮すると、特異性は低いことを十分理解した上において、ITP 診断に利用できる可能性はある。しかし IPF 法では抗凝固薬として EDTA を使用していることにより網状血小板比率が高めに測定される。このように IPF 法では、保存期間の影響を受けやすいことがあきらとなり、遠隔地

からの輸送検体では精度が低下する問題が生じている。これを克服するためには他の血球計の測定にも影響しない抗凝固薬への変更が必要である。つまり、シスメックス機種を使用している施設では網血小板測定は行えるがそれ以外の施設では網血小板測定項目が使用出来ない可能性がある。この問題を克服するため、種々の凝固薬を用いてIPF法による網状血小板比率測定を検討した。その結果、検体を室温保存し、抗凝固薬としてクエン酸、テオフィリン、アデノシン、ジピリダモールの混合液にて保存すると、採血4日目まで網状血小板比率が安定することが明らかになった。一方、血清トロンボポエチン(TPO)値を測定は安定した結果が得られ、さらに今後使用頻度が増すと考えられるTPO受容体作動薬の適応を考える上でも、有用な検査であると考えられる。

### 3. ITP治療の参照ガイドと妊娠合併ITP管理の参照ガイド(藤村班員、宮川研究協力者、桑名班員、倉田班員、富山班員、村田班長)

平成16年に提案した治療ガイドライン(案)はピロリ関連ITPを診断し除菌を優先する治療が特徴である。これにより中高年齢のITPの治療成績は格段に向上している。平成22年によく除菌療法が保険適応となり、さらに新規薬剤であるTPO受容体作動薬も承認された。これらの変化を受け、研究班では、治療ガイドラインのような司法においても用いられる可能性のある拘束性の強いメッセージではなく、拘束性を若干弱めた形でのITP治療の適正化の啓蒙を目的として治療の参照ガイドの作成を検討した。その理由のひとつには、実臨床でITPに用いられている薬剤の保険適応が無いことがあげられる。平成22年度には計2回の作業部会を開催し、草案は作成できたが、今後細部にわたり慎重に議論を行い、次年度には公表

したい。今年度は新たに妊娠合併ITPの妊娠、分娩、出産後の管理ガイドラインを作成する準備を開始した。若年ITPは女性に多く出産適齢期であるためにこのような管理ガイドラインは必要である。約15年前にも特発性造血器障害調査研究班で提案されたが、医療環境、医療に対する意識、医療手段の変化により必ずしも適切なガイドラインとはいえない状況となってきた。そこで医療環境の異なる各班員の施設で行っている方法をそれぞれ論じ、従来のガイドラインを基本に種々の医療環境でも施行可能な新たなガイドラインを作成する事を目指すことにしている。

### 4. 個人研究

1) 難治性ITPに対する取り組み(桑名、藤村、倉田、富山班員、宮川研究協力者)

重篤な出血傾向を伴い、時には血小板輸血も必要となる難治症例を救うことがITPの治療予後の改善には必要である。新たな治療ガイドラインに準じて治療を行っても約5%の難治症例(通常の副腎皮質ステロイド療法および摘脾療法に反応しない血小板数3万以下の症例)が推定されている。最近これらの症例に対してTPOレセプター作動薬が承認され一部市販された。ITP患者はこれらTPOレセプター作動薬により用量依存的に血小板増加反応を示し、出血傾向は軽快し、併用薬剤の減量や患者のQOLが改善することが臨床治験の段階で明らかとなった。しかし薬理作用から血栓症の発症や、骨髄線維症、白血病を始めとする造血器腫瘍の発症、等の懸念は残されている。またこれらの薬剤は多くのITP症例に対して治癒を誘導するものではなく、長期に渡って使用し続けなければならない治療法である事も従来の治療とは異なっている。これらの点から今後本治療法のITPに対する位置づけ、投与量、投与方法、長期使用に

よる副作用などを加味した適切な使用ガイドラインを作成する予定である。根治的治療を目指した治療薬としてリツキシマブが諸外国では使用され約50%に有効性が認められている。本邦でも難治症例に対し要望は多いが、臨床治験は計画されていない状況である。今後、本研究班でも検討しながら、医師主導型の臨床治験を目指す予定である。

2) 制御性T細胞(Treg)とITPの発症について(桑名班員、西本研究協力者) IT P患者では、制御性T細胞(Treg)の減少や機能障害が報告され、病態との関連が考えられている。制御性T細胞のIT P発症への関与を基礎的に検討する目的で、マウスモデルの作製を行った。BALB/cヌードマウスに同系マウス由来CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>細胞を移入することでTreg欠損マウスを作製し、血小板数、網状血小板比率、血小板関連IgG(PAIgG)を経時的に測定した。Treg欠損マウスの約35%は持続的な血小板減少を自然発症し、網状血小板比率とPAIgGの増加を伴っていた。Treg欠損マウスから採取した脾細胞の培養上清を作製し、培養上清中IgGの血小板結合能をフローサイトメトリーにより調べたところ、正常マウス血小板に結合するIgGが血小板減少マウスに特異的に検出された。大部分の血小板減少マウスで産生される抗血小板自己抗体はGPIIb欠損マウス血小板への結合能が欠如しており、抗血小板抗体の主な対応抗原がGPIIbであることが確認された。一部の血小板減少マウスではGPIIb/IIIaを認識する自己抗体が存在した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>細胞の移入による血小板減少はTregの同時移入により完全に発症が抑制されたが、その作用は抗CTLA-4抗体の投与により消失した。また、ITP発症後にTregを移入しても血小板増加は観察されなかった。Treg欠損によりITP患者と同様の血小板減少が誘導された。TregはCTLA-4を介してITPの発症

抑制に寄与していた。Tregは抗CTLA-4を介してITP発症を抑制するが、ITPに対する治療標的としてCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg単独では不十分と考えられ、今後Tregに加え何らかのファクターがITP発症抑制には必要と考えられる。

3) 遺伝性血小板減少症例に見いだされた $\alpha$ IIb $\beta$ 3変異(富山班員、柏木研究協力者、高蓋研究協力者) 本研究班において、異なる家系における遺伝性血小板減少症の詳細が明らかにされた(柏木研究協力者、高蓋研究協力者)。

第一例目は31歳、女性。8歳の時に他院小児科にてITPと診断され、 $\gamma$ グロブリン大量療法など受けたとのことだが詳細は不明。初回妊娠時(25歳)より、当科受診中。非妊娠期は血小板数5から7万で推移。第1子、第2子妊娠中ともに血小板数は3~5万と減少し、軽度の紫斑、鼻出血などの出血傾向を呈した。妊娠後期に血小板数は3万台となり、プレドニゾロン、 $\gamma$ グロブリン大量療法にても効果はなく、血小板輸血の上、帝王切開にて分娩を管理した。2回の分娩は血小板輸血によって管理が可能であった。第1子の出産後の血小板数は10万前後であり、出血症状もないため、特別な経過観察はしていなかった。第2子の出産後の血小板数は6万と低下がみられ、出血症状はなかったが、小児科外来にて経過観察となった。生後4か月の時点でも血小板数の回復はみられず、再度家族歴について聴取したところ、発端者の父が軽度の血小板減少のため、他院にて骨髄穿刺を施行されたが、原因がはっきりしなかったことが判明した。3世代にわたる軽度の血小板減少がみられるため、家族性の先天性血小板減少症を疑った。血小板表面のGPIIb/IIIaの発現量が軽度低下していることが判明し、遺伝子解析を施行したところ、GPIIbの変

異 (R995W) が見いだされた。第二例目は、24歳、女性。15歳頃、ふらつきあり近医受診した際に、鉄欠乏性貧血とともに軽度血小板減少を指摘。その後、近医にて血小板減少および鉄欠乏性貧血に関し経過をみられていたが、血小板数は常に7-10万程度であった。高校生頃までは生理出血が多かった。また時に下肢に紫斑 (petechiae) を認めることあり。家族 (母親および母方祖父) に同様の軽度血小板減少を指摘されている方がいたため、精査をおこない、上記の遺伝子異常 GPIIb (R995W) 変異をヘテロで有することが明らかとなった。患者血小板はやや大型で、血小板数は7~10万/ $\mu$ lと軽度に低下していた。aIIb (R995W) 変異により aIIb $\beta$ 3 は恒常的に活性化された状態になり、また aIIb $\beta$ 3 活性化後に認められる細胞内シグナル、FAK の恒常的な活性化も認められた。更に発現細胞において異常な細胞突起や膜表面の波打ちが認められた。これらの結果から aIIb $\beta$ 3 の活性化制御機構およびシグナル異常が血小板数の恒常性維持に関与している可能性が示された。このように、軽度の血小板減少を呈する家族性血小板減少症が I T P として診断されている可能性が明らかとなった。

#### 4) 血小板産生機構に関する研究とそれに基づく治療戦略の可能性 (松原研究協力者)

I T P の発症には血小板破壊および巨核球分化の抑制・血小板産生低下が関与している。本研究では特に後者に着目した研究を幹細胞からの *in vitro* 分化誘導血小板産生の実験システムを用いて遂行している。H20-H22の研究期間において、実験システムの樹立、そのシステムを応用して皮下脂肪組織、脂肪前駆細胞株から血小板が産生することを見いだした。この血小板産生は遺伝子改変を要さず、造血幹細胞から血小板産生を行う際のプロトコルで行うことが出来る。骨髓

細胞を用いる場合と比し、患者本人の細胞採取が比較的容易な点と得られる血小板数が多いことから、皮下脂肪組織からの *in vitro* 血小板産生システムは薬剤開発や疾患マネージメントの研究ツールとして、また現在不明点の残る巨核球分化・血小板産生の pathway 解明への貢献が期待できる。今後、本研究成果を発展させ I T P の病態解明とより有用なマネージメント法の開発に繋げたい。

#### 5) I T P に合併した後天性血小板 GPVI 欠損症の解析

症例は12歳女兒、生来健康であったが、I T P の発症とともに止血困難な鼻出血および紫斑が出現。その後数ヶ月で血小板数は10万程度に回復するも、軽度の出血傾向が持続。血小板凝集にては、コラーゲン凝集能が特異的に低下していた。患者血小板では GPVI が特異的に欠損していたが、患者血漿中には抗 GPVI 抗体は検出されなかった。また GPVI や FcR $\gamma$  の翻訳領域に遺伝子異常を認めなかった。患者血小板の PAIgG が増加していたため、血小板結合抗体をエーテルにて解離し解析すると、以外なことに抗 GPIIb-IIIa 抗体に加えて抗 GPVI 抗体が検出された。つまり本例では血小板 GPVI が著減しているのにも拘わらず抗 GPVI 抗体が血小板から検出された。本例を無治療にて経過観察していると、血小板数の回復とともに GPVI の発現の回復が観察され、後天性 GPVI 欠損症であることが明らかとなった。GPVI の回復と共に血小板結合 GPVI 抗体の減少が観察されたため、その関連性が示唆された。

#### D. 考案

I T P の診療は、近年大きく変化している。特に *H. Pylori* 除菌療法や新たな T P O 受容体作動薬の登場により、その使用対象や適正使用の正しい情報発信がのぞまれている、この観点から、益々 I T P 研究班の果たす役割は大きくなっ