

Figure 3 Effects of anticoagulants on the transition of IPF% in 19 healthy volunteers.

Samples were stored at room temperature for 4 days with various anticoagulants (EDTA, 3.13% Na-citrate, ACD, or CTAD). Upper panels show IPF% value of each subject. Lower panels show mean value and standard deviation in each condition. N.S.; not significant.

ACD を使用した場合は、IPF%低値の症例においては経時的に軽度の上昇を認める傾向にあった。しかし IPF%高値の症例では Case 1(—●—)のように、EDTA, Na-citrate, ACD とともに経時的に IPF%の低下を認める症例や、Case 2(—■—)のように EDTA では経時的に著明な低下を認め、ACD では 4 日目に著増するなど、IPF%が大きく変動する症例が認められた。それに対して CTAD を使用した場合は、Case 1, 2 を含めた全症例において採血後 4 日目まで安定した IPF%値が得られた。

III. 考 察

RP は一般的に FCM 法を用いて測定されてきたが^{3)~5)}、近年、煩雑な測定方法が必要な RP に代わり自動血球分析装置を用いた簡便かつ迅速な IPF 測定法の有用性が多数報告されている^{6)~9)}。FCM 法は、精度・検体安定性が優れている反面、高価であり小

規模施設において自動血球分析装置との両機種を導入することは困難であること、また標準的な測定プロトコルが確立されるに至っておらず基準値が施設間で異なるなどの問題がある。一方、IPF%測定は、操作の簡便性・迅速性に優れているが、検体の保存が困難であり安定性に問題がある^{9)~11)}。また我々の検討では FCM 法に比して ITP 診断における感度・特異性が劣っていた¹⁷⁾。

本研究では IPF%測定の標準化を目指して、各種抗凝固剤および保存温度の IPF%に及ぼす影響について検討を行った。その結果、①使用した 5 種類の抗凝固剤のいずれにおいても 4°C 保存では IPF%は経時的に増加すること、また NaF 採血では室温保存においても IPF%は経時的に増加すること、② EDTA, Na-citrate, ACD を用いた場合は、健常人では室温保存にて IPF%は比較的安定しているが、ITP 症例においては、保存により IPF%値の変動を

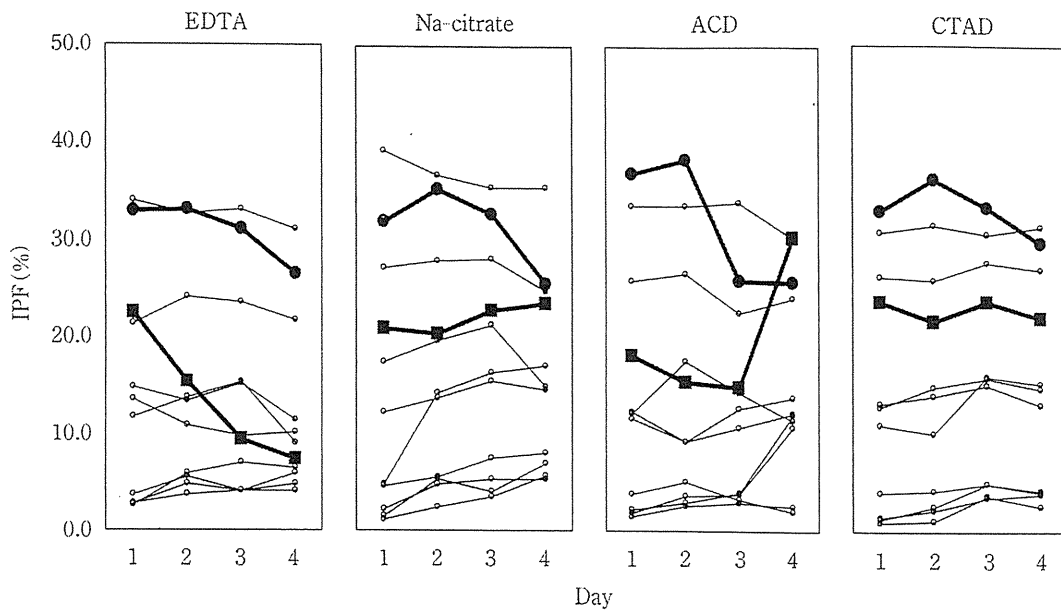


Figure 4 Effects of anticoagulants on the transition of IPF% in 11 patients with ITP. Samples were stored at room temperature for 4 days with various anticoagulants (EDTA, 3.13% Na-citrate, ACD, or CTAD). Note that IPF% values of case 1 (●) and case 2 (■) are highly fluctuated under EDTA, Na-citrate and ACD-anticoagulated conditions.

認める症例が存在すること、③CTAD 採血では、室温保存において、健常人、ITP 症例ともに採血後 4 日目まで安定した IPF%を示すこと、を明らかにした。

IPF%の変動の要因としては、①IPF 絶対数が低値の検体ではバラツキが大きく、IPF%のバラツキも大きい⁹⁾、②大型血小板が存在する検体において IPF%は偽高値を示す、③低温暴露による血小板構造変化が血小板破壊を誘発し、流出した血小板内 RNA が、他の血小板に非特異的に付着して IPF%が偽高値を示す¹⁰⁾¹¹⁾、ことなどが報告されている。Osei-Bimpong らは、EDTA 採血検体を 4°C で 24 時間保存した場合に IPF%が上昇することを報告しているが¹⁰⁾¹¹⁾、今回我々は、健常人において EDTA のみならず Na-citrate, ACD, CTAD, NaF を用いても 4°C 保存では IPF%が経時的に増加することを見出した。塗抹標本を検討したところ、室温保存では血小板、白血球ともに形態が比較的保持されていたのに対し、4°C 保存では EDTA を除く Na-citrate, ACD, CTAD で血小板凝集塊形成、全ての抗凝固剤で血小板と白血球の破壊像を認めた (data not shown)。このことから 4°C 保存における IPF%の著しい上昇は、血小板や白血球破壊により流出した細胞内 RNA が、血小板に非特異的に付着する可能性があること¹⁰⁾¹¹⁾、また血小板凝集塊の形成により大型血小板と認識さ

れたことがその一因と考えられる。

健常人においては、EDTA, Na-citrate, ACD, CTAD を使用し室温保存した場合は、4 日目まで比較的安定した IPF%が得られたが、ITP 症例においては、EDTA, Na-citrate, ACD において室温保存にも拘らず、IPF%が著しく変動する症例が認められた。一方、CTAD を用いた場合は、ITP 全症例において採血後 4 日間にわたって非常に安定した IPF%値が得られた。CTAD は他の抗凝固剤と異なり、採血後の血小板活性化を抑制することから、血小板の活性化状態が IPF%に何らかの影響を与える可能性が示唆される。実際 ITP においては活性化された血小板が増加している可能性を指摘している報告もあり¹⁸⁾、ITP 症例における活性化血小板が CTAD 以外の抗凝固剤を用いた際の IPF%の不安定性に関与している可能性が考えられる¹⁹⁾。

今回我々は、IPF%測定に関して抗凝固剤として CTAD を用いれば、室温保存にて採血 4 日目まで安定した値が得られることを明らかにした。CTAD は液状であるため希釈によるバラツキが生じる可能性は免れないものの、これにより検体の中央検査機関での測定が可能となり、また標準化が進むことも期待され、IPF%の臨床的評価に非常に有用であると思われる。

IV. 結 語

多項目自動血球分析装置 XE-5000 を用いた IPF% 測定における, 抗凝固剤および保存温度の検体安定性に及ぼす影響を検討した。CTAD による採血かつ室温保存にて, 健常人, ITP 症例ともに採血 4 日目まで安定した IPF% 値が得られることが明らかとなった。

本検討を行うにあたり, CTAD 液採血管 (Vacutainer®) を快くご提供いただいた Becton Dickinson 株式会社に心より深謝致します。

本稿の一部は厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患研究克服事業), 「血液凝固異常症に関する調査研究」の助成をうけた。

本稿の要旨は第 57 回日本臨床検査医学会学術集会(東京都)にて報告した。

文 献

- 1) Richards EM, Baglin TP. Quantitation of reticulated platelets: methodology and clinical application. *Br J Haematol* 1995; 91: 445-51.
- 2) 桑名正隆, 池田康夫. 特異的検査を取り入れた新しい ITP の診断基準. *血栓止血誌* 2005; 16: 607-13.
- 3) Kurata Y, Hayashi S, Kiyoi T, et al. Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycofibrinogen, and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 656-64.
- 4) 林 悟, 押田真知子, 清井映男, 他. 網状血小板測定法の基礎的検討および各種血小板減少症における網状血小板比率の測定. *臨床血液* 1999; 40: 205-12.
- 5) 西山美保, 林 悟, 二日市良彰, 他. 全血法による網状血小板測定法の基礎的・臨床的検討. *臨床病理* 2000; 48: 872-6.
- 6) Abe Y, Wada H, Tomatsu H, et al. A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res* 2006; 118: 463-9.
- 7) Kickler TS, Oguni S, Borowitz MJ, et al. A clinical evaluation of high fluorescent platelet fraction percentage in thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 282-7.
- 8) Briggs C, Kunka S, Hart D, et al. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2004; 126: 93-9.
- 9) 西山美保, 林 悟, 二日市良彰, 他. 血小板減少症患者における多項目自動血球分析装置 XE-2100 を用いた未熟血小板分画の測定—基礎的検討および血小板減少症鑑別診断における有用性の検討—. *日本検査血液学会雑誌* 2006; 7: 313-8.
- 10) Osei-Bimpong A. The effect of storage on the clinical utility of the immature platelet fraction. *Hematology* 2009; 14: 118-21.
- 11) Osei-Bimpong A, Saleh M, Visner MS, et al. Correction for effect of cold storage on immature platelet fraction. *J Clin Lab Anal* 2010; 24: 431-3.
- 12) International Council for the Standardization in Haematology. Protocol for evaluation of automated blood cell counters. *Clin Lab Haematol* 1984; 6: 69-84.
- 13) 高久史麿. 厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班平成 2 年度研究業績報告集. 1991. p.57-8.
- 14) Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009; 113: 2386-93.
- 15) Macey M, Azam U, MacCarthy D, et al. Evaluation of the anticoagulants EDTA and Citrate, Theophylline, Adenosine, and Dipyridamole (CTAD) for assessing platelet activation on the ADVIA 120 hematology system. *Clin Chem* 2002; 48: 891-9.
- 16) 田中千晶, 長井孝明, 中村真佐徳, 他. 多項目自動血球分析装置 XE-5000 の概要と基礎性能. *Sysmex J Web* 2007; 8.
- 17) 林 悟, 西山美保, 末久悦次, 他. 網状血小板測定法 2 法の比較検討と臨床的有用性の検討—フローサイトメトリー (FCM) 法と多項目自動血球分析装置 XE-2100 による自動測定 (IPF) 法—. *臨床病理* 2009; 57: 1039-44.
- 18) Rinder HM, Tracey JB, Recht M, et al. Differences in platelet α -granule release between normals and immune thrombocytopenic patients and between young and old platelets. *Thromb Haemost* 1998; 80: 457-62.
- 19) 林 悟, 押田真知子, 清川知子, 他. 活性化血小板測定法の基礎的検討ならびに特発性血小板減少性紫斑病における活性化血小板の測定. *臨床病理* 2001; 49: 1287-92.

特集—自己免疫性疾患の最新

特発性血小板減少性紫斑病

～最近の話題～

●ITPの発症頻度とその病態 ●ITPの診断 ●ITPの病態に即した新たな診断法 ●ITPにおける治療目標と新規治療



大阪大学医学部附属病院 輸血部 病院教授 富山 佳昭

INTRODUCTION

特発性血小板減少性紫斑病 (Idiopathic Thrombocytopenic Purpura, 以下ITPと略す)は、抗血小板自己抗体により脾臓での血小板破壊が亢進し血小板減少をきたす後天性の自己免疫疾患であり、厚生労働省の特定疾患治療研究事業対象疾患(特定疾患)に認定されている。欧米では特発性(idiopathic)というよりは、免疫性(immune)あるいは自己免疫性(autoimmune)という表現が用いられているが、最近では国際作業部会がPrimary ITP (Primary immune thrombocytopenia)との名称を提唱している^{1,2)}。本稿では、ITPに関する最近の知見および新規治療法を中心に概説する。

1 ITPの発症頻度とその病態

本邦における有病者数は約2万人で、年間発症率は人口10万人あたり約2.16人と推計される³⁾。つまり年間約3,000人が新規に発症している。慢性ITPは従来20～40歳代の若年女性に発症することが多いとされていたが、最近の調査では60～80歳での発症ピークが認められるようになってきている。高齢者の発症には男女比に差はない。急性ITPは5歳以下の発症が圧倒的である(図1)。この調査結果より、慢性ITPの治療を考える上で、高齢者が多く存在することを念頭に置くべきであり、骨髄異形性症候群などをきっちりと鑑別する必要がある。

ITPはその発症様式と経過より、急性型と慢性型に分類され、6カ月以内に自然寛解する病型は急性型、それ以

後も血小板減少が持続する病型は慢性型と分類される。しかしながら、発症時に急性型か慢性型かを区別することは極めて困難であり、実際には発症後6カ月経過した時点において、6カ月以内に寛解したものを急性型、そうでないものを慢性型として分類することになる。

ITPにおける血小板減少の主たる病態は、血小板の破壊亢進である。血小板の寿命は健康人において8～10日であるが、ITP患者では血小板寿命は正常の1/10以下に短縮している。慢性ITPでは血小板は抗血小板自己抗体(主にIgG)により感作されており、自己抗体に感作された血小板は早期に脾臓を中心とした網内系においてマクロファージのFc受容体を介して捕捉され、破壊され血小板減少をきたす。血小板自己抗体の主要な標的抗原としては、血小板膜糖蛋白GP IIb-IIIaおよびGP I b-Xが知られている⁴⁾。これらの標的抗原は抗原提示細胞であるマクロファージによりプロセッシングを受け、そのHLA上に表出され、抗体産生を誘導する。このようにITPでは、脾臓が主な血小板破壊部位であると共に、血小板抗体産生部位でもある(図2)。

血小板破壊亢進に加え、ITPにおいては巨核球の成熟障害や細胞障害を生じており、血小板産生も抑制されていることが明らかにされている。血小板自己抗体が骨髄巨核球にも結合し、血小板の産生障害を引き起こしていると考えられる⁵⁾。

2 ITPの診断

ITPの診断に関しては、いまだに他

の疾患の除外診断が主体となる。血小板減少の基準は、10万/ μ L未満である。出血の持続により貧血を示すことがある。凝固検査は正常。骨髄検査は必須ではないが、高齢者(60歳以上)や骨髄異形性症候群などが疑われる場合は積極的に行うべきである。

ITPと同様の免疫学的機序で血小板が減少する病態として、全身性エリテマトーデスなどの膠原病やリンパ系腫瘍、HIV感染などが挙げられるが、これらの疾患に伴う血小板減少は二次的ITPとして分類される。詳しい病歴の聴取や身体所見、検査成績などにより、先天性血小板減少症や薬剤性血小板減少症、さらには血小板産生障害に起因する骨髄異形性症候群や再生不良性貧血などの鑑別を行う。

PAIgG (Platelet-associated IgG: 血小板関連IgG)の測定は、2006年に保険収載された。ITPにおいてはその90%以上の症例においてPAIgGが上昇しておりその疾患感受性は高いが、PAIgGは血小板に結合した(あるいは付着した)非特異的なIgGも測定するため再生不良性貧血などの血小板減少時にもPAIgGが高値になることがあり、その特異性は低く27%とも報告されている。そのためITPの診断においてPAIgGの診断的意義は少ない⁶⁾。

3 ITPの病態に即した新たな診断法

ITPの病態に即した新たな診断法と

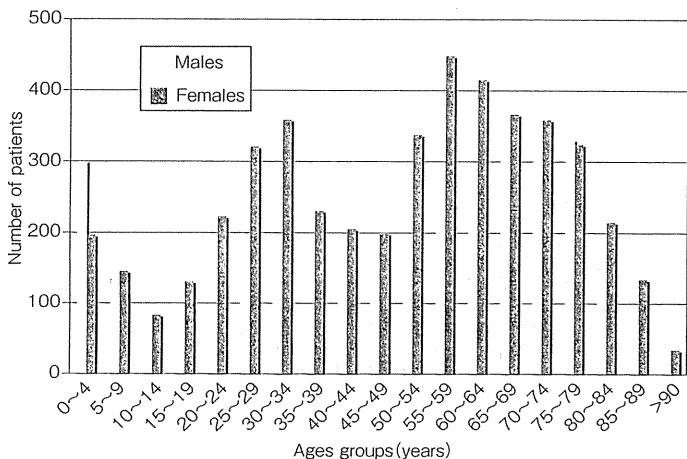


図1 ITPの疫学(文献3)より引用)

2004年～2007年度の調査結果の平均を示している。慢性ITPにおいては、従来の20～40歳代の若年女性での発症に加え、60～80歳での発症ピークが認められる。

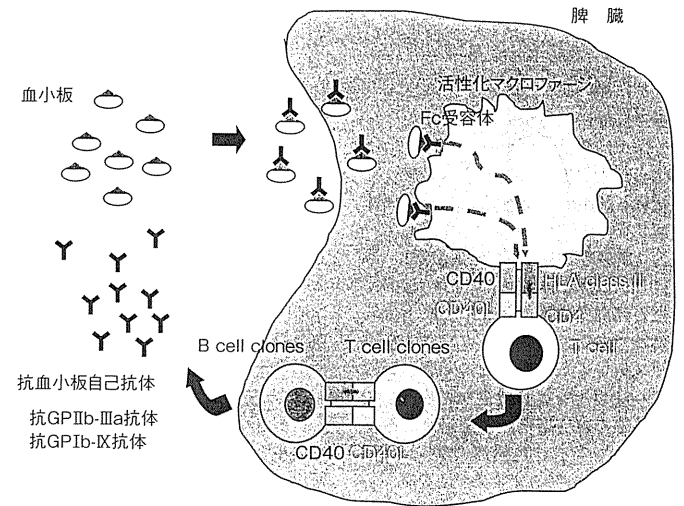


図2 ITPにおける病態

主に脾臓で産生された抗血小板自己抗体(主にIgG)は血小板膜GPIIb-IIIaあるいはGPIb-IXに結合し、感作血小板は主として脾臓内でマクロファージ上のFc受容体を介して捕捉され、破壊される。血小板を取り込んだマクロファージはGPIIb-IIIaあるいはGPIb-IXの抗原ペプチドをHLA抗原上に表出し、さらに抗体産生を誘導する。

して以下のような検査が行われている。しかしながら、これらの検査の保険適応はなく日常臨床での使用には至っていない。

1. 網状血小板比率

新たに産生された幼若血小板の指標として、網状血小板比率(%)が測定されており、ITPなど血小板破壊亢進時では網状血小板比率が増加する。

2. 血漿トロンボポエチン(TPO)値

ITPでは、血小板産生因子であるTPO値は正常ないしは軽度増加しているのみである。一方、再生不良性貧血など造血障害による血小板減少では血漿TPO値は著増する(図3)⁶⁾。

3. GP IIb-IIIaもしくはGP I b-Xに対する自己抗体検出

GP IIb-IIIaもしくはGP I b-Xに対する自己抗体が検出されれば、その診断特異性は80～90%と高いが、ITPの約40～60%にしか検出されない点が問題である。

4 ITPにおける治療目標と新規治療

治療目標は、血小板数を正常化させることではなく、危険な出血を予防することである。一般的には血小板数3万/ μ L以上を維持するように努める。一方、初診時血小板が3万/ μ L以上あり出血傾向を認めない場合は、無治療での経過観察とする。血小板数を正常に維持するために高用量の副腎皮質ステロイドを長期に使用すべきではない。図4に「血液凝固異常症に関する調査研究」班で作成中のITP治療の参照ガイドの概要を示す。

1. H. Pylori除菌療法

ITPにおいてH. Pylori感染陽性の場合、緊急時を除き血小板数に関係なく、H. Pylori除菌療法を行う。除菌療法奏効例のうち約60～70%において血小板増加が認められる。2010年6月より保険適応。

2. 副腎皮質ステロイド療法(第一選択治療)

ITPの第一選択薬は副腎皮質ステロ

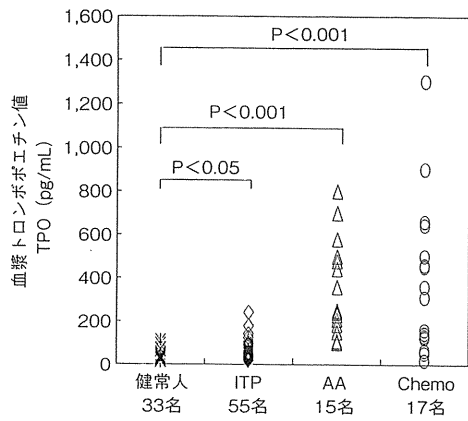


図3 各種血小板減少症における血漿トロンボポエチン値

ITPでは血漿トロンボポエチン値は正常から軽度上昇に留まるが、造血障害に起因する再生不良性貧血(AA)や化学療法後(Chemo)の血小板減少では血漿トロンボポエチン値は高値を示す。

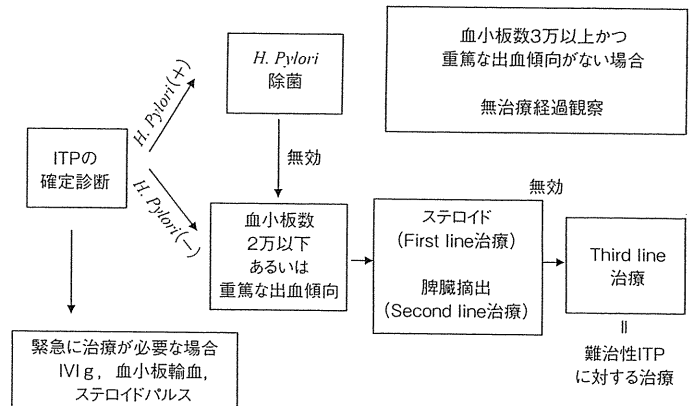


図4 ITP治療の参照ガイド案

「血液凝固異常症に関する調査研究」班で作成中のITP治療の参照ガイドの概要。トロンボポエチン受容体作動薬はThird line治療に位置する。

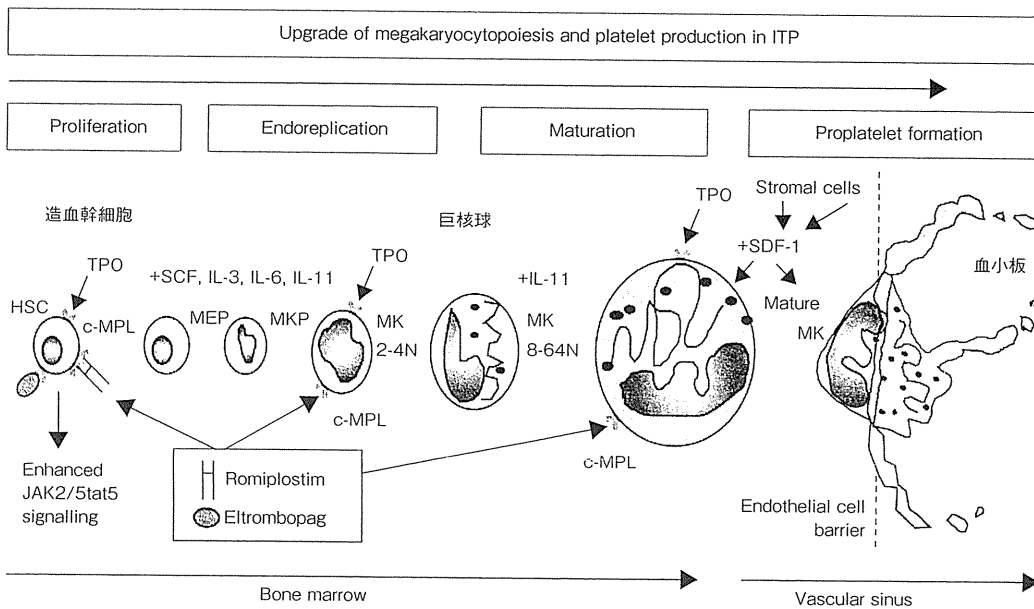


図5 トロンボポエチン受容体作動薬の作用点(文献8)より引用し一部改変)

TPO受容体作動薬は巨核球のみならず造血幹細胞にも作用し巨核球分化を促進する。血小板数のピークは薬剤開始後、約10~14日で得られる。

イド(プレドニゾン)である。副腎皮質ステロイドは網内系における血小板の貪食および血小板自己抗体の産生を抑制する。50~75%において血小板が増加するが、多くは副腎皮質ステロイド減量に伴い血小板が減少する。4~6週間投与後、血小板数の増加がなくても徐々に減量。血小板数および出血症状を見ながら5mgの割合でゆっくり減量し10mg/日で維持。経過が良ければさらに減量する。

3. 脾臓摘出術(第二選択治療)

ITPにおいて脾臓は主たる自己抗体産生の部位であるとともに、血小板破壊の場である。発症後6カ月以上経過し、ステロイドの維持量にて血小板数3万/μL以上を維持できない症例、ステロイドの副作用が顕著な症例は積極的に脾摘を行う。寛解率(血小板5万以上)は約60~70%である⁷⁾。

4. 難治ITP症例への新規治療法(第三選択治療)

本項で述べる薬剤は、ステロイド療法無効例で、脾摘が無効あるいは何らかの理由で脾摘困難な症例が対象となる。最近注目されている治療法を述べ

る。
1) トロンボポエチン受容体作動薬

ITPでは血小板造血が障害されていること、また血漿TPO濃度が正常~軽度上昇に留まることより、治療薬としてTPOが期待されていた。しかしながら、リコンビナントTPO投与により血小板は増加したものの、投与を繰り返すとTPOに対する抗体が産生され内因性TPOも抑制され血小板減少をきたす有害事象が発生しその開発が中止となった。この有害事象を克服するため新たにTPO受容体作動薬、エルトロンボバグ(経口薬、レボレード[®])およびロミプロスタム(皮下注、ロミプレート[®])が開発され、最近本邦においても承認、市販された。両薬剤ともTPOと同一性はなく、TPO受容体を活性化し血小板産生を促進する。血小板数3万/μL以下の難治性ITP症例を対象に試験が行われた結果、その有効率(血小板数が5万/μL以上となった場合を有効と判断)は、両薬剤とも70~80%と良好であった^{8,9)}。図5に示すように、TPO受容体作動薬は巨核球のみならず造血幹細胞にも作用し巨核球分化を

促進するため、血小板数のピークは薬剤開始後、約10~14日で得られる¹⁰⁾。経口薬のエルトロンボバグでは、興味深いことに日本人では欧米人と比べより低用量で同等の効果を発揮することが明らかとなり、本邦における投与開始量は安全性を重視し12.5mg/日に設定された(欧米人では50mg/日が開始量)。しかしながら、両薬剤とも血小板造血刺激剤であるため、血栓症や骨髄異常誘導などの可能性についての長期的な安全性はまだ確立しておらず、今後注意深い検討が必要である。

2) 抗CD20抗体(リツキシマブ)(保険適応外)
本邦では保険適応外。欧米における

後方視的解析では、48%に完全寛解(血小板数15万/μL以上)、60%に部分寛解以上(5万/μL以上)の効果を誘導するとされている。しかしながら、ウイルスの再活性化や進行性多巣性白質脳症の発症などが問題となっている¹¹⁾。

おわりに

ITPの治療は、トロンボポエチン受容体作動薬の登場により大きく変化しようとしている。新規薬剤の長期安全性は今後の課題であり、その適正な使用が望まれる。

(本稿の一部は厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患研究克服事業)、「血液凝固異常症に関する調査研究」の助成を受けた)。

文献

- 1) Cines DB, et al : N Engl J Med 346 : 995-1008, 2002
- 2) 富山佳昭 : 臨床血液 49 : 1298-1304, 2008
- 3) Kurata Y, et al : Int J Hematol 93 : 329-335, 2011
- 4) McMillan R, et al : Blood 70 : 1040-1045, 1987
- 5) Kelton JG, et al : Blood 60 : 1050-1053, 1982
- 6) Kurata Y, et al : Am J Clin Pathol 115 : 656-664, 2001
- 7) Vianelli N, et al : Haematologica 90 : 72-77, 2005
- 8) Bussell JB, et al : N Engl J Med 357 : 2237-2247, 2007
- 9) Kuter DJ, et al : Lancet 371 : 395-403, 2008
- 10) Nurdan AT, et al : Lancet 374 : 1562-1569, 2009
- 11) Arnold DM, et al : Ann Intern Med 146 : 25-33, 2007

■好評既刊

鼻アレルギー診療ガイドライン

— 通年性鼻炎と花粉症 — 2009年版(改訂第6版)CD-ROM付
鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会 編

●B5判 並製 115頁 定価: 3,990円(本体3,800円+税) ISBN978-4-89801-297-0
(株)ライフ・サイエンス

【特発性血小板減少性紫斑病—最近の話題】

Recent advance in primary immune thrombocytopenia

富山 佳昭

Yoshiaki Tomiyama

Key words

血小板減少, 自己抗体, 網状血小板比率,
トロンボポエチン受容体アゴニスト

要約

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は, 血小板減少 (10万/ μ l未満) のみの異常をきたす自己免疫疾患である。その病態としては, 主として血小板膜糖蛋白 (GP) IIb-IIIa や GPIb-IX に対する自己抗体が産生され, これらの抗体により血小板が早期に脾臓を中心とした網内系で破壊され血小板減少をきたすことが明らかにされている。ITP の診断はいまだ除外診断が主体であるが, 最近では網状血小板比率や血漿トロンボポエチン (TPO) 濃度, さらに抗 GPIIb-IIIa 抗体検出など ITP の病態に即した検査法の有用性も示されている。治療の第一目標は, 出血傾向を認める場合には血小板数 3万/ μ l 以上の維持である。副腎皮質ステロイド, 摘脾が標準治療であり, 2010年6月新たに H.Pylori 除菌が保険適応となった。さらに最近, 難治例に対する新規治療薬として TPO 受容体アゴニストが開発され, その有効性が示されている。

はじめに

特発性血小板減少性紫斑病 (Idiopathic Thrombocytopenic Purpura, ITP) は, 抗血小板自己抗体により主として脾臓での血小板の破壊が亢進し血小板減少を来す後天性の自己免疫疾患である。欧米では特発性 (idiopathic) というよりは, 免疫性 (immune) あるいは自己免疫性 (autoimmune) という表現が用いられているが, 最近では国際作業部会の提唱により Primary ITP との名称が用いられる傾向にある^{1,2)}。本稿では, ITP に関する最近の知見を中心にその病態と治療を概説する。

1. ITP の病態

ITP はその発症様式と経過より, 急性型と慢性型に分類され, 6カ月以内に自然寛解する病型は急性型, それ以後も血小板減少が持続する病型は慢性型と分類される。しかしながら, 発症時に急性型か慢性型かを区別することは極めて困難であり, 実際には発症後6カ月経過した時点において, 6カ月以内に寛解したものを急性型, そうでないものを慢性型として分類することになる。

本邦における年間発症率は人口10万人あたり1.5~3.3人と推計される。慢性ITPは従来20~40歳代の若年女性に発症することが多いとされていたが, 2005年の「血液凝固異常症に関する調査研究」班の調査では従来ピークに加え, 60~80歳での発症ピークが認められるようになってきている。高齢者の発症には男女比に差はない。急性ITPは5歳以下の発症が圧倒的である。この調査結果より, 慢性ITPの治療を考える上において, 高齢者が多く存在することを念頭に置くべきであり, 骨髓異形性症候群などをきっちりと鑑別する必要がある (図1)。

ITPにおける血小板減少の主たる病態は, 血小板の破壊亢進である。血小板の寿命は健常人において8~10日であるが, ITP患者では血小板寿命は正常の1/10以下に短縮している。慢性ITPでは血小板は抗血小板自己抗体 (主にIgG) により感作されており, 自己抗体に感作された血小板は早期に脾臓を中心とした網内系においてマクロファージなどに存在する免疫グロブリンのFc部分に対する受容体 (Fc

大阪大学医学部附属病院 輸血部

Department of Blood Transfusion, Osaka University Hospital

〒565-0871 大阪府吹田市吹田市山田丘2-15 TEL: 06-6879-5887

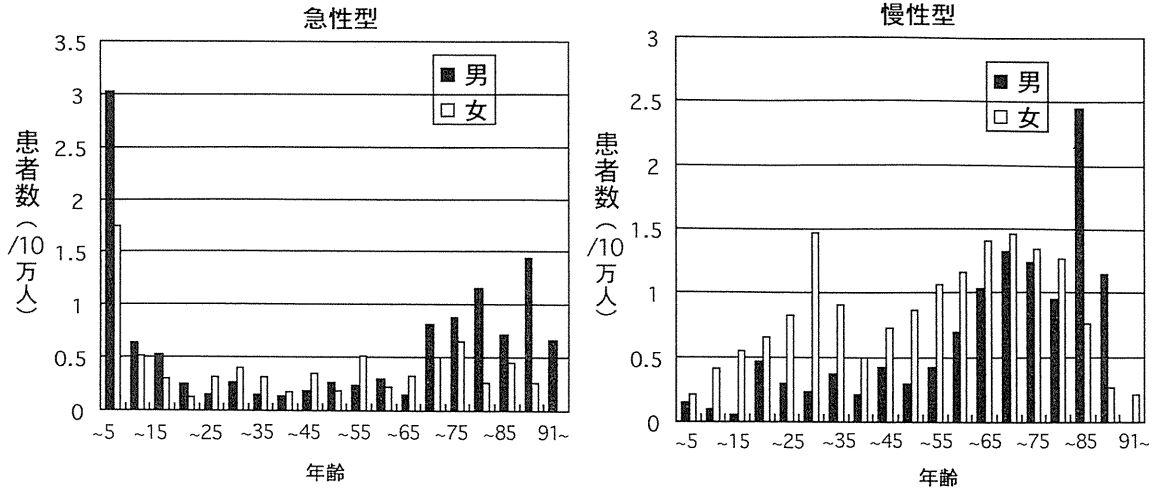


図1 新規発症ITPの疫学調査（「血液凝固異常症に関する調査研究」班報告書より抜粋）
慢性ITPにおいては、従来の20～40歳台の若年女性での発症に加え、60～80歳での発症ピークが認められるようになってきた。

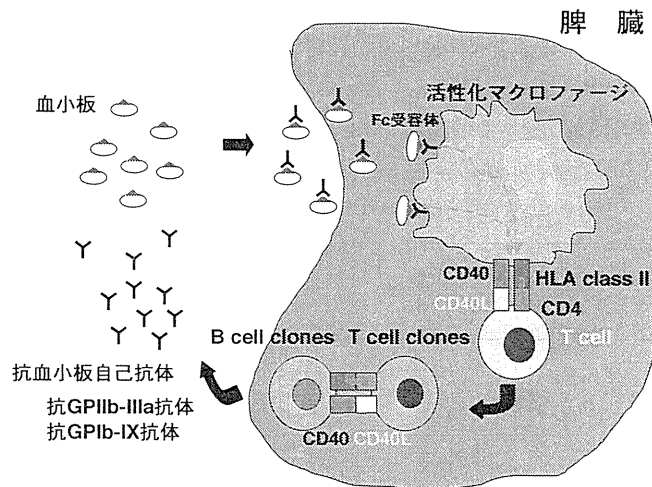


図2 ITPにおける抗血小板自己抗体産生機序

主に脾臓で産生された抗血小板自己抗体（主にIgG）は血小板膜 GPIIb-IIIaあるいは GPIb-IX に結合し、感作血小板は主として脾臓内でマクロファージ上のFc受容体を介して捕捉され、破壊される。血小板を取り込んだマクロファージは GPIIb-IIIaあるいは GPIb-IX の抗原ペプチドを HLA 抗原上に表示し、さらに抗体産生を誘導する。

受容体)を介して捕捉され、破壊され血小板減少をきたす。血小板自己抗体の主要な標的抗原としては、血小板膜糖蛋白 GPIIb-IIIa および GPIb-IX が知られているが³⁾、これらの標的抗原は抗原提示細胞であるマクロファージによりプロセッシングを受け、その HLA 上に表出され、抗体産生を誘導する。このように ITP では、脾臓が主な血小板破壊部位であると共に、血小板抗体産生部位でもある (図 2)。

上記の血小板破壊亢進に加え、ITP においては巨核球の成熟障害や細胞障害を生じており、血小板産生も抑制されていることが明らかにされている。巨

核球はトロンボポエチン (TPO) などの様々なサイトカインにより造血幹細胞から分化・成熟し最終的に血小板を産生・放出する。血小板抗体は骨髓巨核球にも結合し、これらの障害を引き起こしていると考えられる。

2. ITP の診断

ITP の診断に関しては、いまだに他の疾患の除外診断が主体となる。ITP においては、基本的には赤血球系や白血球系において、形態異常や数の異常を認め

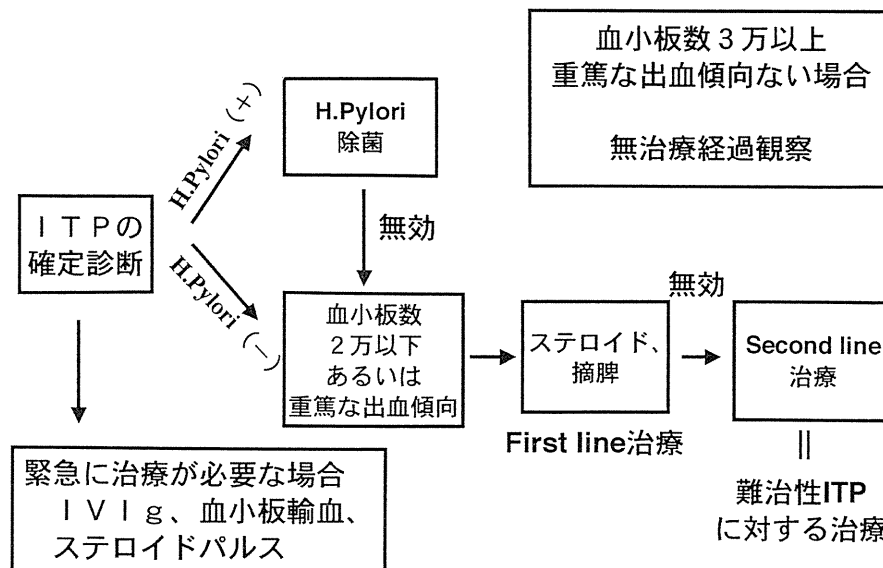


図3 診療の参照ガイド

ない。血小板減少の基準としては、 $10万/\mu l$ 未満としている。しかしながら、出血傾向が明らかになるのは血小板数が約 $5万/ml$ 以下の場合である。出血の持続により貧血を示すことがある。凝固検査は正常。骨髓検査では、巨核球数は正常あるいは増加しており、その他に特に異常を認めない。

ITPと同様の免疫学的機序で血小板が減少する病態として、全身性エリテマトーデスなどの膠原病やリンパ系腫瘍、HIV感染などが挙げられるが、これらの疾患に伴う血小板減少は二次的ITPとして分類される。詳しい病歴の聴取や身体所見、時には骨髓穿刺により先天性血小板減少症や薬剤性血小板減少症、さらには血小板産生障害に起因する骨髓異形性症候群や再生不良性貧血などの鑑別を行う。

PAIgG (Platelet-associated IgG, 血小板関連IgG)の測定は、2006年に保険収載された。ITPにおいてはその90%以上の症例においてPAIgGが上昇しておりその疾患感受性は高いが、PAIgGは血小板に結合した(あるいは付着した)非特異的なIgGも測定するため再生不良性貧血などの血小板減少時にもPAIgGが高値になることがあり、その特異性は低く27%とも報告されている。そのためITPの診断においてPAIgGの診断的意義は少ない³⁾。

一方、補助診断として以下のような特異的な検査が開発されている。

1) GPIIb-IIIaもしくはGPIb-IXに対する自己抗体検出

GPIIb-IIIaもしくはGPIb-IXに対する抗原特異的な抗体検出法のITPの診断特異性は80-90%と高い。

しかしながら、抗体検出感度はITPの約40-60%と低く、この点が診断法としては問題である。

2) 網状血小板比率および

血清トロンボポエチン(TPO)値の測定

ITPでは幼若血小板の指標としての網状血小板比率(%)が増加しており、また血小板造血因子である血清TPO値は正常ないしは軽度増加しているのみである。一方、再生不良性貧血など造血障害による血小板減少では血清TPO値は著増する³⁾。

これらの検査はITPの病態に基づいた診断法であり特異性も高いが、残念ながら現在のところ保険適応はなく、日常臨床での使用には至っていない。

3. 治療と予後

ITPでは血小板数が $3万/\mu l$ 以上では死亡率は正常コントロールと同じであるが、 $3万/\mu l$ 以下だと出血や感染が多くなり死亡率が約4倍に増加すると報告されており、 $3万/\mu l$ 以上であれば比較的予後は良好である。従って治療目標としては、血小板数 $3万/\mu l$ 以上を維持するように努める。血小板が $3万/\mu l$ 以上あり出血傾向を認めない場合は、無治療での経過観察とする。このようにITPでは血小板数を正常に維持する必要はなく、正常を維持するために高用量の副腎皮質ステロイドを長期に使用すべきではない。図3に「血液凝固異常症に関する調査研究」班のITP診療の参照ガイド案を示す。

1) First line の治療

(1) H.Pylori 除菌療法

2010年6月にITPの治療に関して、H.Pylori除菌療法が保険適応となった。H.Pylori感染ITPにおいて除菌療法奏功例のうち約60-70%において血小板増加が認められる。

(2) 副腎皮質ステロイド療法

ITPは血小板に対する自己抗体が産生される自己免疫疾患であるため、その治療には副腎皮質ステロイド(プレドニゾロン)が有効である。副腎皮質ステロイドは網内系における血小板の貪食および血小板自己抗体の産生を抑制する。50~75%において血小板が増加するが、多くは副腎皮質ステロイド減量に伴い血小板が減少する。4-6週間投与後、血小板数の増加がなくても徐々に減量。血小板数および出血症状を見ながら5mgの割合でゆっくり減量し10mg/日で維持。経過が良ければさらに減量する。

(3) 摘脾

ITPにおいて脾臓は主たる自己抗体産生の部位であるとともに、血小板破壊の場である。発症後6カ月以上経過し、ステロイドの維持量にて血小板数3万/ml以上を維持できない症例、ステロイドの副作用が顕著な症例は積極的に摘脾を行う。寛解率は約60%である。

2) Second line の治療

本項で述べる薬剤は、ステロイド療法無効例で、摘脾が無効あるいはなんらかの理由で困難な症例が対象となる。最近注目されている治療法を述べる。

(1) 抗CD20抗体(リツキシマブ)(保険適応外)

ITPでは抗血小板自己抗体がその病態の中核をなしているため、抗CD20抗体の有効性が期待される。抗CD20抗体はB細胞性リンパ腫に対して開発されたが、自己抗体産生B細胞に対しても細胞傷害作用を有することより現在までに種々の自己免疫疾患に対してその有効性が示されている。ITPに対しては、本邦では適用外であるが、欧米における解析では、48%に完全寛解(血小板数15万/ μ l以上)、60%に部分寛解以上(5万/ μ l以上)の効果を誘導しうるとされている。しかしながら、ウイルスの再活性化や進行性多巣性白質脳症の発症などの発症が問題となっている⁸⁾。

(2) トロンボポエチン受容体アゴニスト

ITPでは血小板造血が障害されていること、また血清TPO濃度が正常~軽度上昇していることより、

治療薬としてTPOが期待されていた。しかしながら、リコンビナントTPO投与により、抗体が産生され内因性TPOが抑制され血小板減少を来す有害事象が発生し開発が中止となった。この副作用を解消するため低分子化合物としてTPO受容体アゴニスト[Romiplostim (AMG531, 皮下注)やEltrombopag (経口薬)]が開発され、臨床治験が行なわれている。血小板数3万/ml以下のITP症例を対象に治験が行なわれた結果、その有効率(血小板数が5万/ml以上となった場合を有効と判断)は、両薬剤とも80%と良好であった。しかしながら、両薬剤とも血小板造血刺激剤であるため、骨髄異常などの誘導の可能性などに関する長期的な安全性はまだ確立しておらず、今後注意深い検討が必要である^{9, 10)}。両薬剤とも2011年には本邦でも市販される予定である。

(本稿の一部は厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患研究克服事業)、「血液凝固異常症に関する調査研究」の助成をうけた)。

文 献

- 1) Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 346:995-1008, 2002
- 2) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. *臨床血液* 49:1298-1304, 2008
- 3) McMillan R, Tani P, Millard F, *et al.* Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. *Blood* 70:1040-1045, 1987
- 4) Kelton JG, Powers PJ, Carter CJ. A prospective study of the usefulness of the measurement of platelet-associated IgG for the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 60:1050-1053, 1982
- 5) Kurata Y, Hayashi S, Kiyoi T, *et al.* Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycoalbumin, and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol.* 115:656-664, 2001
- 6) Vianelli N, Galli M, de Vivo A, *et al.* Efficacy and safety of splenectomy in immune thrombocytopenic purpura: long-term results of 402 cases. *Haematologica.* 90:72-77, 2005
- 7) McMillan R, Durette C. Long-term outcomes in adults with chronic ITP after splenectomy failure. *Blood.* 104:956-960, 2004
- 8) Arnold DM, Dentali F, Crowther MA, *et al.* Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med.* 146:25-33, 2007
- 9) Bussel JB, Cheng G, Saleh MN, *et al.* Eltrombopag for the treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 357:2237-2247, 2007
- 10) Kuter DJ, Bussel JB, Lyons RM, *et al.* Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet* 371:395-403, 2008

血小板の活性化機能：ADPの果たす役割

Molecular mechanism for platelet activation: a role for ADP

富山 佳昭

Yoshiaki Tomiyama

和文抄録

血小板がその止血機能を発揮する際、血小板内から放出されるアデノシン二リン酸（ADP）が重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。血小板ADP受容体としてはG蛋白共役型受容体であるP2Y₁およびP2Y₁₂が存在するが、特にP2Y₁₂はG α i蛋白を共役しており、ADP刺激による細胞内cAMPの低下を惹起し血小板機能発現に極めて重要な役割を担っている。このP2Y₁₂の重要性は、P2Y₁₂欠損患者における出血傾向、P2Y₁₂欠損血小板を用いたex vivo実験での血栓形成能の障害からも明らかである。P2Y₁₂を介したシグナルはフィブリノゲン受容体であるインテグリン α _{IIb} β ₃ (GPIIb-IIIa)の活性化を持続させるために必須であり、最終的に止血血栓の安定化に寄与している。さらに、最近ではチエノピリジン系P2Y₁₂阻害剤の優れた抗血栓作用が明らかにされ、P2Y₁₂が抗血小板薬の分子標的としても注目されている。

Abstract

Recent advance in platelet biology has revealed that adenosine-5'-diphosphate (ADP) play a crucial role in platelet function. Platelets possess at least two major G protein-coupled ADP receptors: P2Y₁ and P2Y₁₂. P2Y₁₂ is a G α -coupled receptor responsible for mediating the inhibition of adenylyl cyclase and sustained platelet aggregation. The importance of P2Y₁₂ is underscored by the clinical features of patients with P2Y₁₂ deficiency and ex vivo experiments using P2Y₁₂-deficient platelets. ADP interaction with P2Y₁₂ plays a critical role in the maintenance of α _{IIb} β ₃ activation. Moreover, P2Y₁₂ is now the target of efficacious antithrombotic thienopyridine agents such as clopidogrel and prasugrel.

Keywords

ADP, P2Y₁₂, integrin α _{IIb} β ₃, bleeding tendency

1. はじめに

人工血小板の作製において、血小板による止血機構の詳細な解析は血小板機能発現の中核を成す分子を同定する上においても必要不可欠である。血管が傷害され血管内皮が脱落すると、流血中の血小板は血管内皮を裏打ちしている血管内皮下組織、主としてコラーゲン線維、に曝露され直ちに活性化し血管傷害部位を閉塞し止血する。この過程は、① 血小板粘着 → ② 血小板活性化と放出反応 → ③ 血小板凝集、の段階により構成されており、その主要な分子機構を図1に示す^{1,3)}。血小板膜に存在する接着分子受容体であるGPIb-IXやインテグリン α _{IIb} β ₃ (GPIIb-IIIaとも呼ばれている)はそれぞれ血小板の初期の粘着と、血小板凝集に必須の糖蛋白であるが、これらの糖

蛋白に加え血小板内から放出されるアデノシン二リン酸（ADP）とその受容体であるP2Y₁₂の重要性が明らかとなってきている。

2. P2Y₁₂の血小板における機能

血小板活性化物質であるADPは赤血球内にも存在するが、血小板内においては濃染顆粒内に貯蔵されている。血小板10¹¹個あたり約2.5 μ mol存在し、血小板の活性化に伴い細胞外に放出され血栓形成局所においては数 μ Mの濃度になると考えられる。放出されたADPはさらなる血小板の活性化を促す。ADPはin vitroの血小板凝集惹起作用に関してその活性は決して強力ではないものの、生体内での血栓形成において極めて重要な

大阪大学医学部附属病院 輸血部 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15 Department of Blood Transfusion, Osaka University Hospital, 2-15 Yamada-oka, Suita, Osaka565-0871, JAPAN

論文受付 2010年12月14日 論文受理 2011年1月24日

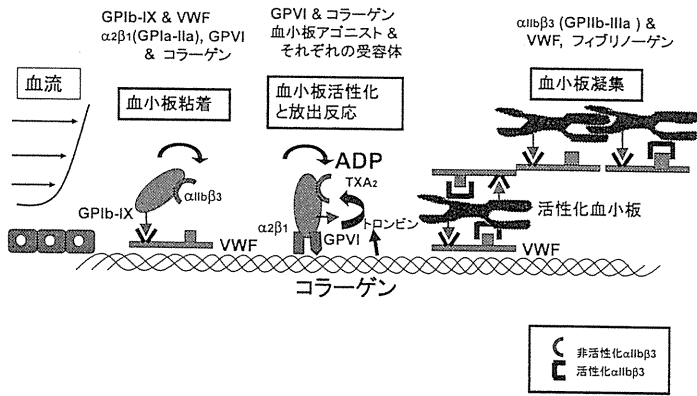


図1. 止血栓形成の分子機構 (文献3より引用). 止血栓および病的血栓の形成過程は1) 血小板粘着 → 2) 血小板活性化と放出反応 → 3) 血小板凝集の段階により構成されている. 血小板粘着には GPIIb-IX が, 血小板凝集にはインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb-IIIa) が必須であるが, 血小板から放出される ADP は血小板活性化反応および $\alpha_{IIb}\beta_3$ の活性化を維持する上で極めて重要である.

役割を担っている. 血小板は 2 種類の ADP 受容体を有しており, 1996年に $P2Y_1$ が, 2001年に $P2Y_{12}$ が同定された⁴⁾. どちらも 7 回膜貫通型の受容体であり G 蛋白が共役している (図2). ヒトではこれらの遺伝子は 3 番染色体の長腕に存在し, $P2Y_1$ は 373 個の, $P2Y_{12}$ は 342 個のアミノ酸から構成されている. ADP 刺激により同時にこれら 2 つの受容体が作働するが, $P2Y_1$ 受容体は G 蛋白質の $G_{\alpha q}$ を共役しており, ホスホリパーゼ C (PLC) を活性化し, 細胞内 Ca イオンの上昇, 血小板の形態変化 (shape change) や一過性の血小板凝集を惹起する. 一方, $P2Y_{12}$ 受容体は $G_{\alpha i}$ を共役しており, ADP 刺激による細胞内 cAMP の低下を惹起すると共に, 放出反応の増強や血小板凝集の安定化に必要である (図2)^{5,6)}.

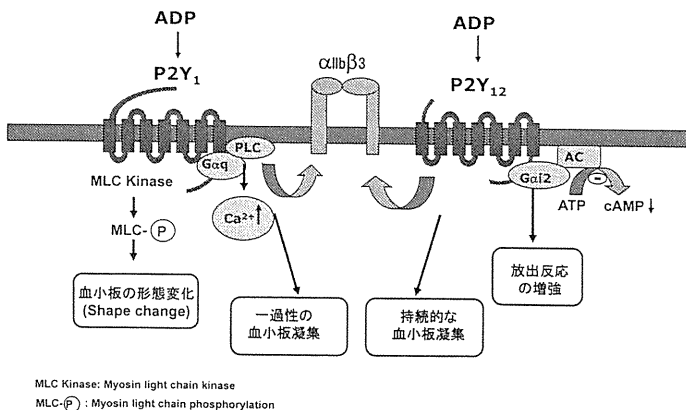


図2. 血小板における ADP 受容体 (文献5を一部改変し引用). 血小板は 2 種類の ADP 受容体 ($P2Y_1$ および $P2Y_{12}$) を有しており, $P2Y_1$ 受容体は $G_{\alpha q}$ を介して, ホスホリパーゼ C (PLC) を活性化し, 細胞内 Ca イオンの上昇, 血小板の形態変化 (shape change) や一過性の血小板凝集を惹起し, $P2Y_{12}$ 受容体は $G_{\alpha i}$ を介して, アデニルシクラーゼ (AC) を抑制し, 細胞内 cAMP の低下を惹起すると共に, 血小板の持続的な凝集に必要である.

3. $P2Y_{12}$ 欠損患者の臨床症状

筆者らは本邦初の $P2Y_{12}$ 欠損患者を同定しているが, この患者では $P2Y_{12}$ の翻訳開始コドン ATG が AGG に変異するホモ接合体異常を有しており, その結果 $P2Y_{12}$ が完全に欠損していた. 臨床症状としては出血時間の延長と軽度の出血傾向が認められた. 過去に出産 2 回, 中絶 1 回を経験しているが, 出血量は多かったものの輸血するほどの多量出血ではなかった. この患者の血小板凝集能検査を図3に示す⁷⁾. ADP 惹起血小板凝集が極端に障害されているのが解る. さらに興味深いこととして ADP 以外にも, 低濃度のコラーゲンや U46619 (トロンボキサン A_2 のアナログ) に対しても血小板凝集が障害されていた. このように, ADP 以外の血小板活性化物質の刺激により血小板が凝集する場合においても活性化血小板から放出された ADP は血小板凝集に重要な機能を担っていることが理解できる.

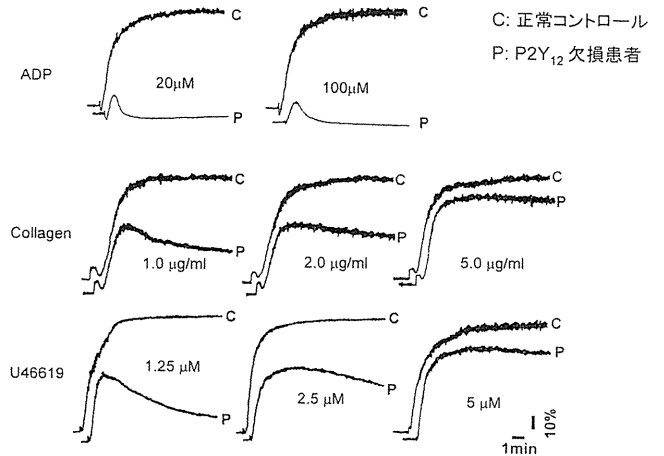


図3. ADP 受容体 $P2Y_{12}$ 欠損患者における血小板凝集異常 (文献7より引用). ADP 受容体 $P2Y_{12}$ が欠損すると, ADP 以外にも, コラーゲンや TXA_2 アナログである U46619 に対しても血小板凝集が障害され, 血小板凝集塊は極めて脆弱となる.

血小板凝集には血小板膜上の接着分子受容体であるインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb-IIIa) の活性化が必要不可欠である. $\alpha_{IIb}\beta_3$ はフィブリノゲンおよびフォンビルブランド因子の受容体であり, 活性化型となって初めてその機能を発揮する. この $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活性化は活性化型の $\alpha_{IIb}\beta_3$ のみを認識するユニークな PAC1 抗体の結合で解析可能である. 図4に示すように, 強力な血小板活性化物質であるトロンピンで血小板を活性化させると $\alpha_{IIb}\beta_3$ が活性化すると共に, α 顆粒放出の指標である Pセレクチンが発現してくる. 筆者らは, $P2Y_{12}$ 阻害剤を添加しない状態で血小板をトロンピンで活性化させ, 活性化が完了した時点において $P2Y_{12}$ 阻害剤を加えると, Pセレクチンの発現は変化しないが PAC1 抗体の結合が低下し $\alpha_{IIb}\beta_3$ が非活性化状態に戻ることが明らかになった⁸⁾. この成績は, トロンピン刺激による $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活性化の持続には血小板から放出された ADP と $P2Y_{12}$ の反応が必須であり, この反応が阻害されると $\alpha_{IIb}\beta_3$ が非活性化型に戻

ることを示している (図4)。生体に近い条件にすべく、血流下での *ex vivo* の血栓形成実験を行なうと、P2Y₁₂欠損血小板では血栓形成能が悪く正常血小板による血栓に較べ約半分の高さの血栓しか形成できず、また形成された血栓も極めて脆弱であることが明らかとなった⁷⁾。このようにP2Y₁₂が欠損すると $\alpha_{IIb}\beta_3$ の安定した活性化が阻害される結果、血小板凝集反応が障害され血栓形成が脆弱となり、また血栓サイズも減少することが示された。

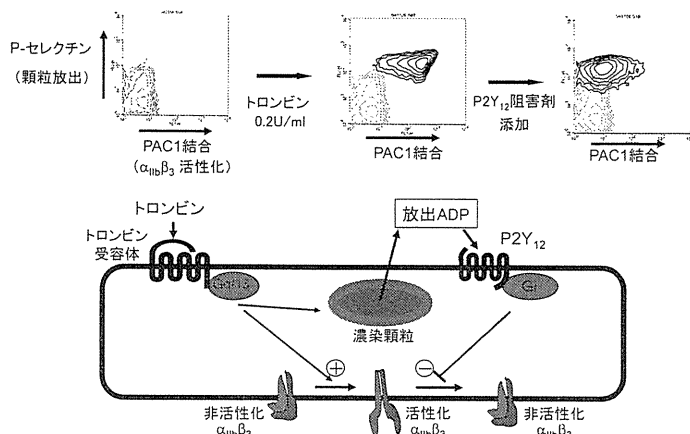


図4. P2Y₁₂のインテグリン $\alpha_{IIb}\beta_3$ 活性化維持機構。トロンビンで血小板を活性化させると $\alpha_{IIb}\beta_3$ が活性化 (= PAC1の結合)すると共に、 α 顆粒放出の指標であるPセレクトインが発現するが、P2Y₁₂阻害剤を加えると、Pセレクトインの発現は変化しないがPAC1抗体の結合が低下し $\alpha_{IIb}\beta_3$ が非活性化状態に戻る。このようにP2Y₁₂を阻害すると $\alpha_{IIb}\beta_3$ の安定した活性化が障害される。

4. P2Y₁₂阻害薬の臨床成績

P2Y₁₂阻害剤としてはチエノピリジン系抗血小板薬であるチクロピジン、クロピドグレルやプラスグレルが知られており、これらの薬剤は優れた抗血栓作用を有することが示されている^{5,6)}。クロピドグレル75mg/日は、アスピリン325mg/日との二重盲検比較試験においてハイリスク患者における血管性イベント(脳梗塞, 心筋梗塞, 末梢動脈疾患)を約8.7%減少させた(CAPRIE試験)⁹⁾。さらに、クロピドグレルと較べより効果発現が早くより強力な作用を有するP2Y₁₂阻害剤、プラスグレルとクロピドグレルとの二重盲検比較試験が行われた(TRITON-TIMI38試験)¹⁰⁾。プラスグレル群の血管性イベントはクロピドグレル群よりも約18%減少したものの(プラスグレル群9.9%, クロピドグレル群12.1%), 出血合併症は約33%増加した(プラスグレル群2.4%, クロピドグレル群1.8%)¹¹⁾。これらの成績は、より強力なP2Y₁₂阻害は血管イベントの抑制効果は増強するが、一方では血小板機能を障害し出血の合併症も増加させることを示している。

5. おわりに

血小板からの放出ADPとその受容体であるP2Y₁₂は、血小板の止血機能に極めて重要な役割を担っている。これらの成績より、ADPを内包した人工血小板の作製は、血管傷害部位において局所ADP濃度を上昇させることにより流血中の血小板に必要な部位に効率よくリクルートし安定な止血血栓を形成することに寄与すると推察される。

謝辞

本研究の一部は、独立行政法人日本学術振興会科学研究費補助金および厚生労働科学研究費補助金の助成を受けた。

文献

1. Savage B, Almus-Jacobs F, Ruggeri ZM. Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. *Cell* 1998; 94: 657-666.
2. Kulkarni S, Dopheide SM, Yap CL, et al. A revised model of platelet aggregation. *J Clin Invest* 2000; 105: 783-791.
3. 富山佳昭. 血栓形成のメカニズム up-to-date. *Angiology Frontier* 2007; 6: 11-17.
4. Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* 2001; 409: 202-207.
5. Gachet C. ADP receptors of platelets and their inhibition. *Thromb Haemost* 2001; 86: 222-232.
6. Dorsam RT, Kunapuli SP. Central role of the P2Y₁₂ receptor in platelet activation. *J Clin Invest* 2004; 113: 340-345.
7. Shiraga M, Miyata S, Kato H, et al. Impaired platelet function in a patient with P2Y₁₂ deficiency caused by a mutation in the translation initiation codon. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 2315-2323.
8. Kamae T, Shiraga M, Kashiwagi H, et al. Critical role of ADP interaction with P2Y₁₂ receptor in the maintenance of $\alpha_{IIb}\beta_3$ activation: association with Rap1B activation. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1379-1387.
9. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348: 1329-1339.
10. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007; 357: 2001-2015.
11. Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, et al. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-thrombolysis in myocardial infarction 38. *Circulation* 2008; 118: 1626-1636.

P2Y₁₂受容体阻害抗血小板薬

富山佳昭*

abstract

アテローム血栓症 (atherothrombosis) 発症において、血小板から放出されるアデノシン二リン酸 (ADP) はきわめて重要な役割を担っている。血小板には少なくとも2種類のADP受容体、P2Y₁およびP2Y₁₂が存在するが、特にP2Y₁₂はG α iタンパクを共役しており、ADP刺激による細胞内cAMPの低下を惹起する。P2Y₁₂を介したシグナルは血小板アゴニストにより惹起されたインテグリン α _{IIb} β ₃活性化を維持するうえで必要であり、この作用を介して血小板凝集の安定化に寄与する。最近チエノピリジン系P2Y₁₂受容体阻害薬の活性体への代謝に肝シトクロムP450 (CYP) の遺伝子多型が影響し、その治療効果にも差異が認められることも明らかとなってきた。さらには、肝での代謝を必要とせず活性体として直接P2Y₁₂阻害する非チエノピリジン系薬剤も開発され注目されている。

はじめに

動脈硬化と血栓症は双方向に関連しあっており、これらの病態は多臓器におよぶ全身性疾患のためアテローム血栓症 (atherothrombosis) として理解されている。動脈血栓形成にはアデノシン二リン酸 (ADP) が重要な役割を担っており、その受容体であるP2Y₁₂が抗血小板薬の分子標的として注目されている。本稿では、P2Y₁₂受容体阻害薬につき新規薬剤を中心に概説する。

P2Y₁₂の機能

血小板活性化作用を有するADPは赤血球内にも存在するが、血小板内においては濃染顆粒内に貯蔵されている。ADPは血小板10¹¹個あたり約2.5 μ mol存在し、血小板の活性化に伴い細胞外に放出され血

栓形成局所においては数 μ Mの濃度になると考えられる。放出されたADPはさらなる血小板の活性化を促す。ADPは*in vitro*の血小板凝集惹起作用に関してその活性は決して強力ではないものの、生体内での血栓形成においてきわめて重要な役割を担っている。血小板は少なくとも2種類のADP受容体を有しており、1996年にP2Y₁が、2001年にP2Y₁₂が同定された¹⁾。どちらも7回膜貫通型の受容体でありGタンパクが共役している (図1)。P2Y₁は373個の、P2Y₁₂は342個のアミノ酸から構成されている。ADP刺激により同時にこれら2つの受容体が作動するが、P2Y₁受容体はGタンパク質のG α qを共役しており、ホスホリパーゼC (phospholipase C: PLC) を活性化し、細胞内Ca²⁺イオンの上昇、血小板の形態変化 (shape change) や一過性の血小板凝集を惹起する。一方、P2Y₁₂受容体はG α iを共役しており、ADP刺激による細胞内cAMPの低下を惹起するとともに、放出反応の増強や血小板凝集の安定化に必

* 大阪大学医学部附属病院輸血部病院教授

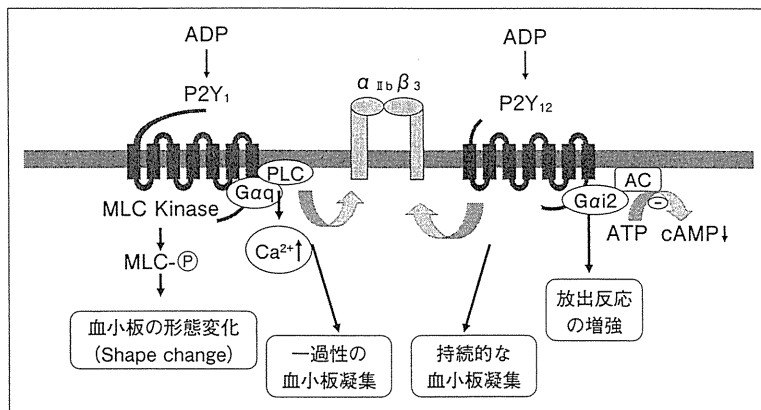


図1 血小板におけるADP受容体

血小板は2種類のADP受容体 (P2Y₁およびP2Y₁₂) を有しており、P2Y₁受容体はGαqを介して、ホスホリパーゼC (PLC) を活性化し、細胞内Ca²⁺イオンの上昇、血小板の形態変化 (shape change) や一過性の血小板凝集を惹起し、P2Y₁₂受容体はGαiを介して、アデニル酸シクラーゼ (AC) を抑制し、細胞内cAMPの低下を惹起するとともに、血小板の持続的な凝集に必要である。

MLC Kinase : Myosin light chain kinase

MLC-Ⓟ : Myosin light chain phosphorylation

[参考文献2]より引用改変]

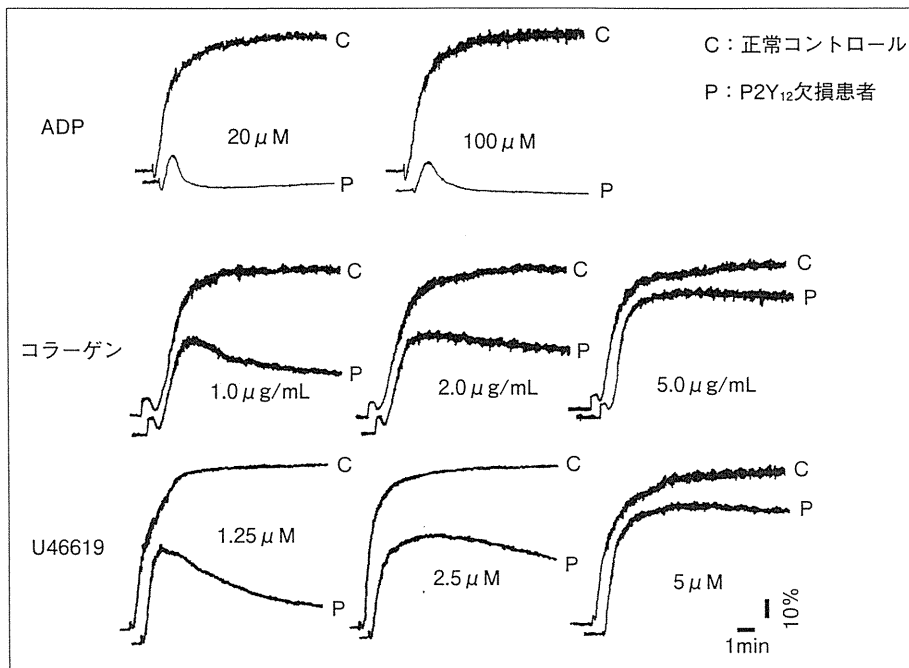


図2 ADP受容体P2Y₁₂欠損患者における血小板凝集異常

ADP受容体P2Y₁₂が欠損すると、ADP以外にも、コラーゲンやTXA₂アナログであるU46619に対しても血小板凝集が障害され、血小板凝集塊はきわめて脆弱となる。

[参考文献4]より引用改変]

要である (図1)^{2),3)}。筆者らは本邦初のP2Y₁₂受容体欠損患者を同定している。この患者の血小板凝集能検査を図2に示す⁴⁾。ADP惹起血小板凝集が極端に障害されているが、ADP以外にも、コラーゲンやU46619 (トロンボキサンA₂ [TXA₂] のアナログ) に対しても血小板凝集が障害されていた。このように、放出されたADPは種々の血小板活性化物質による血小板凝集に重要な機能を担っていることが理解できる。

血小板凝集には血小板膜上の接着分子受容体であるα_{IIb}β₃ (GP IIb-IIIa) が必要不可欠である。α_{IIb}β₃ はフィブリノゲンおよびフォンビルブランド (von Willebrand) 因子の受容体であり、活性化型となっ

て初めてその機能を発揮する。筆者らは、α_{IIb}β₃ 活性化の持続には血小板から放出されたADPとP2Y₁₂の反応が必須であり、この反応を阻害するとα_{IIb}β₃が非活性化型に戻ることを明らかにした⁵⁾。P2Y₁₂が欠損するとα_{IIb}β₃の安定した活性化が阻害される結果、血小板凝集反応が障害され血栓形成が脆弱となり、また血栓サイズも減少する⁴⁾。



P2Y₁₂受容体阻害薬の種類と臨床成績

P2Y₁₂受容体阻害薬としてはチエノピリジン系抗血小板薬であるチクロピジン、クロピドグレルやprasugrelが知られている。チエノピリジン系薬剤

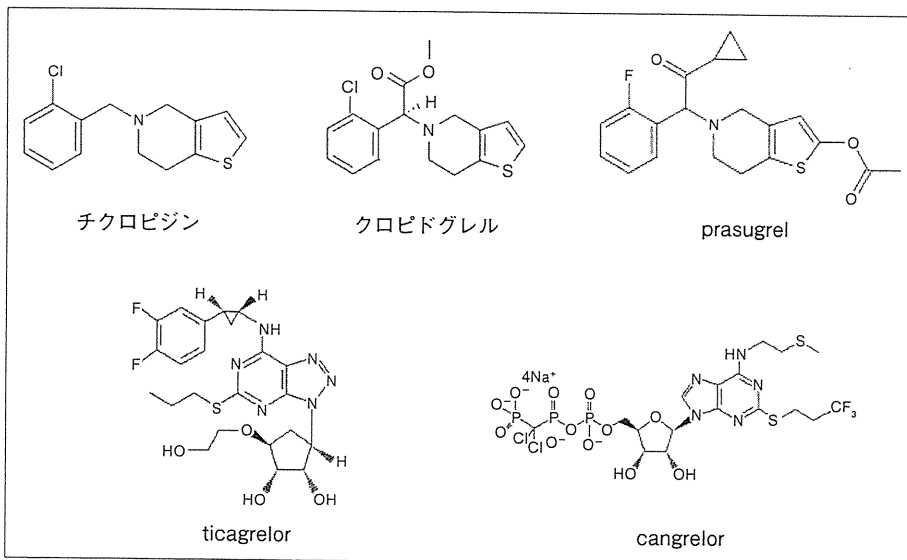


図3
P2Y₁₂受容体阻害薬の構造
(筆者作成)

はプロドラッグであり肝で代謝され活性体となりP2Y₁₂を非可逆的に阻害する。一方、最近ではticagrelorなどP2Y₁₂を可逆的に阻害するチエノピリジン系の薬剤が開発されている。図3にこれらの薬剤の構造を示す。

1 チエノピリジン系薬剤

チエノピリジン系薬剤はプロドラッグであり、肝で代謝され活性体となり作用する。初代チエノピリジン系薬剤であるチクロピジンは、肝障害などの副作用が多いため、現在ではより安全性の高いクロピドグレルに変更されつつある。

1) クロピドグレル

CAPRIE試験においてクロピドグレル75mg/日は、アスピリン325mg/日との二重盲検比較試験においてハイリスク患者における血管性イベント(脳梗塞、心筋梗塞、末梢動脈疾患)を約8.7%減少させた⁶⁾。クロピドグレル投薬中にもかかわらず血栓が再発する症例が存在するが、これらは、いわゆる“クロピドグレル抵抗性”として認知されている。CYP2C19の遺伝子多型としてCYP2C19*2(exon5におけるG→A変異)やCYP2C19*3(exon4におけるG→A変異)などによりCYP2C19の機能が欠失することが知られているが、最近これらの機能欠失変異を有する患者ではクロピドグレルの活性体への代謝が減弱し治療成績が悪いことが明らかにされた^{7),8)}。この成績は“クロピドグレル抵抗性”の一因を明らかに

した点で興味深い。

2) prasugrel

prasugrelは本邦で開発されたP2Y₁₂受容体阻害薬であり、ヨーロッパおよび米国にて販売されているが、本邦では2011年4月現在において未承認薬である。

prasugrelはクロピドグレルに比べ効果発現が早くより強力な作用を有する。prasugrelのCYP2C19依存性はクロピドグレルに比べ低く、また、個人による効果のばらつきも少ない。

prasugrelとクロピドグレルの二重盲検比較試験(TRITON-TIMI38試験)において、prasugrel群では血管性イベントは約19%減少したものの(prasugrel群9.9%, クロピドグレル群12.1%), 出血合併症は約33%増加した(prasugrel群2.4%, クロピドグレル群1.8%)⁹⁾。これらの成績は、より強力なP2Y₁₂阻害は血管イベントの抑制効果を増強するが、一方では出血の合併症も増加させることを示している。特に脳梗塞や一過性脳虚血発作(transient ischemic attack:TIA)の既往を有する患者、60kg以下の低体重者や75歳以上の高齢者では、prasugrelの使用は慎重を期すべきとの結果であった。一方、興味深いことにTRITON-TIMI38において心血管イベント再発のハイリスク群である糖尿病合併患者に対してのサブグループ解析では、prasugrelは重篤な出血イベントを増加させず血管イベントを約30%

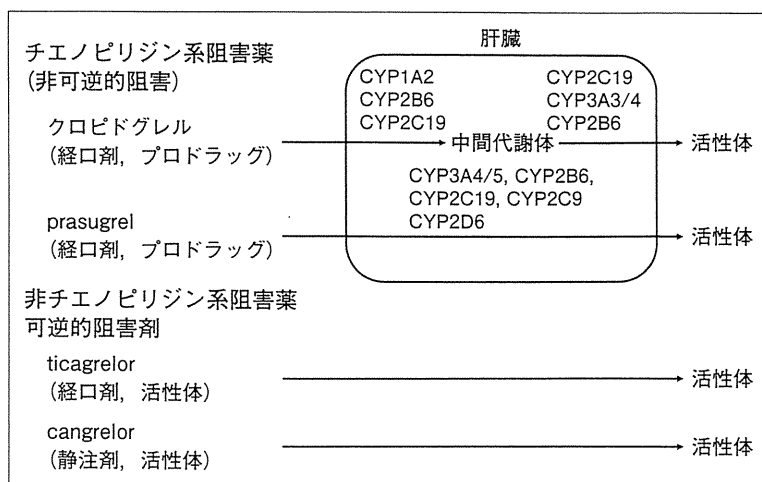


図4 P2Y₁₂受容体阻害薬の代謝経路 (筆者作成)
P2Y₁₂受容体阻害薬は、大きくチエノピリジン系と非チエノピリジン系に分類される。前者は肝臓で代謝され活性体に変化しP2Y₁₂を非可逆的に阻害する。一方、後者は肝での代謝を必要とせず、その阻害は可逆的である。

減少させることが示されている¹⁰⁾。

2 非チエノピリジン系薬剤

最近になり、肝の代謝を必要とせず直接活性体として、P2Y₁₂を可逆的に阻害する以下の薬剤が開発されている。

1) ticagrelor

クロピドグレル600mg服薬にて8時間後に発揮される抗血小板作用をticagrelor 180mgでは30分以内に到達でき、また中止後2~3日以内に抗血小板作用が消失する。

急性冠症候群に対してのticagrelorとクロピドグレルの前方視的無作為二重盲検法による比較試験(PLATO試験)が行われた¹¹⁾。PLATO試験においてticagrelorはクロピドグレルに対して血管イベントを約16%減少させた。注目すべきことに、重篤な出血イベントは増加しなかった。本剤は、薬剤代謝経路に依存しないため阻害効果の個人差が少なくクロピドグレル抵抗性患者に対しても有効であると考えられる。さらには冠動脈バイパス術など侵襲処置を必要とする患者の場合には、作用発現および消失が短時間であるため、より安全に観血的処置が行えることが期待される¹²⁾。

2) cangrelor

cangrelorは静注用の非チエノピリジン系薬剤である。作用は即効性であり、可逆的阻害のため作用消失時間も短い。

cangrelorが有する即効性の作用に対して、現在までに急性冠症候群を中心に2つの臨床試験

(CHAMPION試験)が行われている^{13),14)}。冠動脈インターベンション直前にcangrelorを投与し、終了後にクロピドグレルを開始する群とクロピドグレル単独群での比較がされた。しかしながら予想に反して、cangrelor投与群でのイベント数の減少は証明されなかった。その原因は不明であるが、cangrelor使用の優位性が証明されていないのが現状である。

IV おわりに

上記のように、P2Y₁₂受容体阻害薬として種々の薬剤が開発されている。それぞれの薬剤には上記のような特徴があり、これらの薬剤の特徴を活かした至適用法、および用量の検討が必要である。

【謝辞】

この研究の一部は厚生労働省科学研究費補助金事業、文部科学省科学研究費補助金事業の助成を受けた。

参考文献

- Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, et al : Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. Nature 409 : 202-207, 2001
- Gachet C : ADP receptors of platelets and their inhibition. Thromb Haemost 86 : 222-232, 2001
- Dorsam RT, Kunapuli SP : Central role of the P2Y₁₂ receptor in platelet activation. J Clin Invest 113 : 340-345, 2004
- Shiraga M, Miyata S, Kato H, et al : Impaired platelet func-

- tion in a patient with P2Y₁₂ deficiency caused by a mutation in the translation initiation codon. *J Thromb Haemost* 3 : 2315-2323, 2005
- 5) Kamae T, Shiraga M, Kashiwagi H, et al : Critical role of ADP interaction with P2Y₁₂ receptor in the maintenance of α IIb β 3 activation : association with Rap1B activation. *J Thromb Haemost* 4 : 1379-1387, 2006
 - 6) CAPRIE Steering Committee : A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 348 : 1329-1339, 1996
 - 7) Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, et al : Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 360 : 363-375, 2009
 - 8) Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al : Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 360 : 354-362, 2009
 - 9) Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al : Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 357 : 2001-2015, 2007
 - 10) Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, et al : Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-thrombolysis in myocardial infarction 38. *Circulation* 118 : 1626-1636, 2008
 - 11) Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al : Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 361 : 1045-1057, 2009
 - 12) Cannon CP, Harrington RA, James S, et al : Comparison of ticagrelor with clopidogrel in patients with a planned invasive strategy for acute coronary syndromes (PLATO) : a randomised double-blind study. *Lancet* 375 : 283-293, 2010
 - 13) Harrington RA, Stone GW, McNulty S, et al : Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med* 361 : 2318-2329, 2009
 - 14) Bhatt DL, Lincoff AM, Gibson CM, et al : Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. *N Engl J Med* 361 : 2330-2341, 2009

II. 臨床

6. 今後の抗血小板療法

大阪大学医学部附属病院輸血部病院教授 富山 佳昭 (Tomiyama, Yoshiaki)

THROMBOSIS and Circulation

§ 論文のポイント

- [1] アテローム血栓症 (Atherothrombosis) は、動脈硬化と微小血栓が互いに密接に関連し合いながら形成され進展する。
- [2] 閉塞性動脈硬化症 (ASO) はアテローム血栓症の一症状であり、致命的な心筋梗塞や脳梗塞合併の危険性が高い。
- [3] 新規 P2Y₁₂ 阻害薬に関しては、肝の代謝を必要とせず直接活性体として P2Y₁₂ を可逆的に阻害する非チエノピリジン系薬剤が開発されている。
- [4] ヒト血小板にはトロンビン受容体として PAR1 および PAR4 が発現しているが、トロンビンに対する高親和性受容体である PAR1 に対して阻害薬が開発され治験中である。
- [5] コラーゲン受容体である GPVI に対する抗ヒト GPVI 抗体がその臨床応用に向けて開発中である。

§ キーワード

アテローム血栓症 / P2Y₁₂ 阻害薬 / CYP2C19 / PAR1 阻害薬 / GPVI 阻害薬

はじめに

動脈硬化と血栓症は互いに密接に関連し合いながら病態を形成するが、これらの病態は全身性疾患であるアテローム血栓症 (Atherothrombosis) として理解されている¹⁾²⁾。閉塞性動脈硬化症 (ASO) はアテローム血栓症の一症状として捉えられるが、動脈硬化は全身性に進展するため ASO では冠動脈硬化症による心筋梗塞や脳動脈硬化症による脳梗塞の発症の危険性を常に併せもっている。このことは世界的規模で行われ、6万人を超える患者の観察試験である REACH registry によっても明らかにされている³⁾。ASO の薬物治療においては、その症状の緩和のみなら

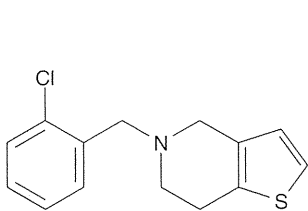
ず、その病態の悪化、進展を予防するために抗血小板薬の投与が不可欠である。本稿では新たな抗血小板薬の開発状況に関して紹介する。

動脈硬化と血小板

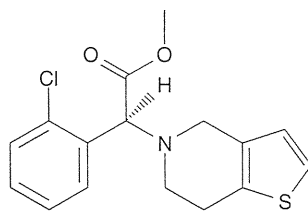
正常な血管内皮は NO やプロスタサイクリンあるいは組織プラスミノゲンアクチベーターなどを産生・発現し抗血栓性に作用するとともに、血小板などの細胞成分の活性化を抑制している。一方、糖尿病などのリスクファクターにより活性化した血小板は IL-1 β 、CD40L、RANTES などのサイトカインを放出し、血管内皮や単球/マクロファージの活性化を誘導し動脈硬化を進展させると考えられている¹⁾²⁾。

ASO に関する薬物治療は、血小板内の cAMP 濃度を上昇させ、血小板機能を抑制するペラプロストナトリウムやシロスタゾールなどの cAMP 代謝作動薬が使用されることが多い。これらの薬剤は、一般に血小板機能抑制作用に加え血管拡張作用および平滑筋増殖抑制作用を有しているが、これらの薬剤の血小板機能抑制は軽微であり血管への作用がその主たる作用と考えられる。そのため出血の副作用が少ない。

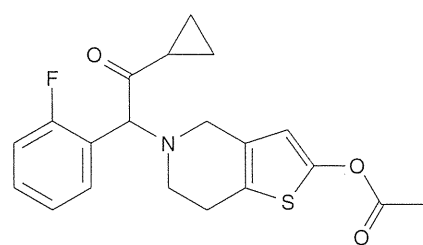
アテローム血栓症の予防、特に心筋梗塞予防の観点から考えると、上記薬剤の血小板機能抑制作用は弱い。そのため、より強力な抗血小板薬である P2Y₁₂ 受容体阻害薬が主として用いられている⁴⁾。出血と抗血栓作用は表裏一体であるものの、理想的には



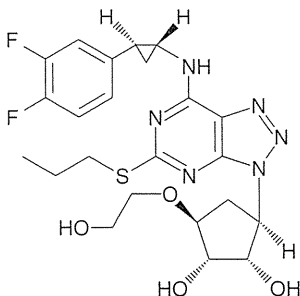
チクロピジン



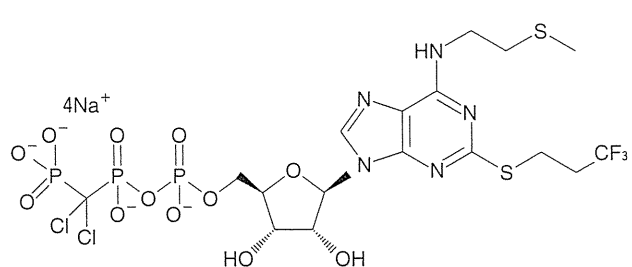
クロピドグレル



Prasugrel



Ticagrelor



Cangrelor (静注)

図1 P2Y₁₂ 阻害薬の構造

出血のリスクが少なく抗血小板作用が強力である薬剤の開発が求められており、非可逆的な薬理作用を可逆性に改良する、あるいは新たな分子標的を探索するなどの研究が行われている。

P2Y₁₂ 阻害薬

1. チェノピリジン系 P2Y₁₂ 阻害薬

P2Y₁₂ 阻害薬としては、現在チェノピリジン系抗血小板薬であるチクロピジン、クロピドグレルや prasugrel (国内未発売) が知られており、これらの薬剤の優れた抗血栓作用は周知の通りである⁵⁾。これらの薬剤は P2Y₁₂ を非可逆的に阻害するが、プロドラッグであるためその作用発

現には肝臓で代謝され活性体に変化する必要がある。クロピドグレルの活性体産生には主として肝チトクローム P450 遺伝子 *CYP2C19* が制御する 2 段階の代謝過程が必要である(図 2)。*CYP2C19* の遺伝子多型として *CYP2C19*2* (exon5 における G → A 変異) や *CYP2C19*3* (exon4 における G → A 変異) などにより *CYP2C19* の機能が欠失することが知られているが、これらの機能欠失変異を有する患者ではクロピドグレルの活性体への代謝が減弱し治療成績が悪いことが明らかにされた⁶⁾⁷⁾。この成績はクロピドグレル抵抗性の一因を明らかにした点で興味深い。欧米人の約 3% が *CYP2C19* の機能欠失変異を有するのに対し、邦人を

含めアジア人では 18~23% にみられており、邦人においてクロピドグレルに対する反応性に大きな個人差がみられる可能性があると考えられる⁸⁾。一方、prasugrel の活性体への代謝には *CYP2C19* の遺伝子多型に影響されないことが示されている⁹⁾。抗血小板薬の併用薬としてプロトンポンプ阻害薬(PPI)が用いられることが多いが、PPI も *CYP2C19* により代謝されるため、チェノピリジン系薬剤との相互作用が懸念されており、話題になっている。現在のところ、PPI はチェノピリジン系薬剤の代謝に影響するものの、治療効果を左右するまでの薬剤干渉は起こっていないとの意見が多いようである¹⁰⁾

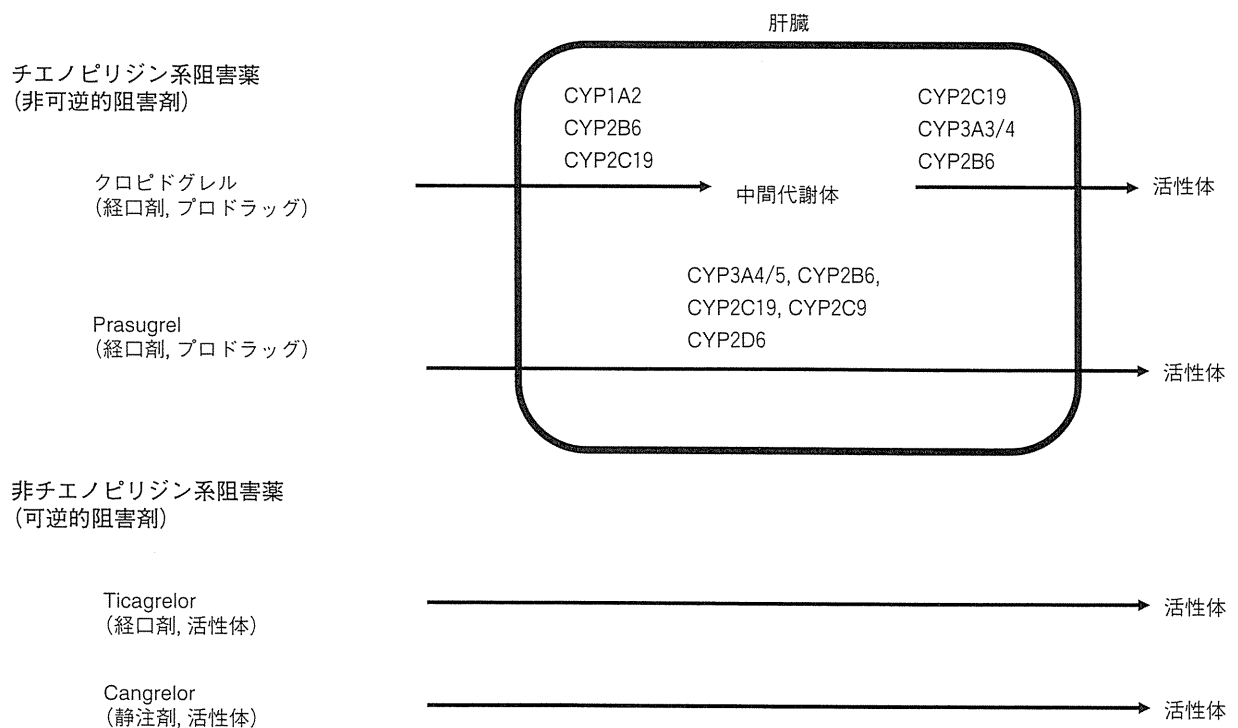


図 2 P2Y₁₂ 阻害薬の分類と活性体への代謝経路

P2Y₁₂ 阻害薬はプロドラッグであるチェノピリジン系薬剤(P2Y₁₂ の非可逆的阻害剤)と Ticagrelor や Cangrelor など肝での代謝を必要としない P2Y₁₂ の可逆的阻害剤に大別される。