

MEMO

臨床個人調査票（平成 21 年度）集計による特発性血小板減少性紫斑病の 全国疫学調査および臨床個人調査票の改訂作業進捗状況

分担研究者 倉田義之 四天王寺大学人文社会学部人間福祉学科 教授

ITP の全国疫学調査

1. 研究方法

厚生労働省より全国の ITP 患者の臨床個人調査票入力ファイルの提供を受け、解析を行った。

2. 研究結果

1) 患者数（推計）

新規・急性型が 1,033 名、新規・慢性型が 1,848 名であった。

更新・急性型が 1,383 名、更新・慢性型が 14,991 名であった。

2) 年齢分布

新規・急性型では 71～75 歳、新規・慢性型では 61～65 歳に最大のピークがあり、次いで新規・急性型では 26～30 歳、新規・慢性型では 31～35 歳に第二のピークを認めた。更新・慢性型では 61～65 歳に第一のピーク、次いで 31～35 歳に第二のピークを認めた。

3) 出血症状

新規・急性型では 77% の症例に紫斑を認め、歯肉出血や鼻出血、血尿なども約 20% の症例に認めた。一方、新規・慢性型では 58% の症例に紫斑を認めたが歯肉出血や鼻出血などは約 10% 程度と低かった。更新・慢性型では 39% の症例に紫斑を認めたが、歯肉出血や鼻出血は約 5% 程度と低かった。

4) 血小板数

新規・急性型では 1 万以下の症例が 64% を占めていた。一方、新規・慢性型では 27% の症例が 1 万以下であった。更新・慢性型では 11% の症例が 1 万以下であり、53% の症例は 5 万以上であった。

5) 検査（新規症例のみ）

骨髄検査は急性型（89%）、慢性型（96%）ともに施行されていた。PAIgG も急性型（63%）、慢性型（66%）ともに多くの症例で施行されていた。一方、血小板自己抗原検査や網状血小板測定はともに 10% 以下と実施率は低率であった。

6) 治療

新規・急性型、慢性型ともにプレドニゾン投与が最多で、81%、57% であった。二番目がピロリ除菌で 27%、30%、三番目が大量 IgG 療法で 24%、13% であった。

A. 臨床個人調査票の改訂作業

- ITP サブグループで検討していた臨床個人調査票の改定案および新規認定基準案を 2011 年 9 月に村田班班員へ送付し、意見聴取を行った。
- 寄せられた意見をもとに再度、ITP サブグループで再検討を行い、11 月に最

終案を村田班長へ送付した。

- 議論された点は骨髄有核細胞数低値症例の扱いで、“要骨髄生検”としていたが、技術的な問題で低値となる場合もあるので“低値であっても ITP と認定する”に変更した点であった。

I T P 治療の参照ガイド作成について

広島国際大学薬学部	藤村 欣吾
慶應義塾大学医学部免疫内科	桑名 正隆
慶應義塾大学医学部血液内科	宮川 義隆
西神戸医療センター 血液免疫内科	高蓋 寿朗
四天王寺大学人文社会学部	倉田 義之
大阪大学医学部附属病院 輸血部	富山 佳昭

I T P 治療に対する治療ガイドラインは、1988 年に特発性造血障害調査研究班によって「特発性血小板減少性紫斑病の治療の手引き」(野村 武夫)として発表されたのが最初である。以来副腎皮質ステロイドホルモン、摘脾が治療の主流として長年定着してきた。その後我が国ではヘリコバクター・ピロリ陽性 I T P 症例に対する除菌治療効果が明らかとなり、本研究班では 2004 年にピロリ除菌療法の位置づけを加えた I T P 治療ガイドライン(案)を作成した。

近年、新たな作用機序を持った薬剤、トロンボポエチン受容体作動薬が治療抵抗性 I T P に対し有効性、有用性が示された。さらに昨年これら新薬や I T P の病名でのピロリ除菌療法が健康保険適用となり、新たな診療ガイドが必要となってきた。

このような背景に基づき本研究班として治療ガイドライン作成に取り組み、I T P サブグループで「I T P 治療の参照ガイド」として今回提案した。

- 特徴は
- 1) ピロリ陽性症例に対してはまずピロリ除菌を行うこと
 - 2) 以後の治療に関しては血小板数と出血症状によって開始する
 - 3) 治療目標を設定し漫然とした治療を避ける
 - 4) First line 治療 は副腎皮質ステロイド
Second line 治療 は脾摘
Third line 治療 は今回保険適用となったトロンボポエチン受容体作動薬を始めとした各種薬剤 を使用する
 - 5) これらの治療に対して推奨度(GRADE system による)を付記した
 - 6) 保険適用薬と未承認薬を明確にした

等である。

MEMO

特発性血小板減少性紫斑病に対するリツキシマブの医師主導治験（R-ITP 試験）

宮川義隆、藤村欣吾、倉田義之、桑名正隆、富山佳昭、村田満

研究目的

特発性血小板減少性紫斑病（ITP）に対するリツキシマブの適応拡大

研究の背景

血液凝固異常症の調査研究班が作成した ITP 治療ガイドライン（2004 年）、ITP 治療の参照ガイド（2011 年）、米国血液学会 ITP 診療ガイドライン（2011 年）に採用されているリツキシマブは、国内では ITP に対する適応を得ていない。稀少疾患である ITP に対し、製薬企業には開発予定がない。海外では有効かつ安全性が高いセカンドライン治療として、その臨床的位置づけが明確な薬剤である。国内における難治例の救済、適応外使用の問題を解決するひとつの施策として、ITP に対するリツキシマブの医師主導治験（厚生労働科学研究 治験推進研究事業、研究代表者：宮川義隆）の支援を行う。

方法

自ら治験を実施する者（10 施設）との合同キックオフミーティングへの出席、治験審査委員会への治験実施申請、治験実施体制の整備、治験届の作成と提出に必要な情報提供と支援を行う。

結果

合同キックオフミーティング（平成 23 年 6 月 18 日、慶應大学）、院内治験審査委員会（IRB）への治験実施申請、治験実施体制の整備に必要な情報提供と支援を行った。平成 23 年 10 月 7 日、医薬品医療機器総合機構に治験届を提出し、治験開始日を 10 月 26 日とした。平成 24 年 1 月 17 日現在、目標症例数 24 名のうち 7 名が本登録をしている。本研究を通じて、国内外の ITP に対するリツキシマブの臨床的位置づけを確認し、同時に R-ITP 医師主導治験を円滑に進めることができた。平成 24 年度も、同治験に対する支援を継続予定である。

MEMO

当院における ITP 合併妊娠の管理について

西神戸医療センター 免疫血液内科¹⁾, 小児科²⁾,
広島国際大学 薬学部³⁾
高蓋寿朗¹⁾, 松原康策²⁾, 藤村欣吾³⁾

ITP 合併妊娠の妊娠, 分娩管理については, すでに内外のガイドラインが示されているが, 施設間, 症例間で様々な管理方法が実施されていると考えられる. 当院で経験した ITP 合併妊娠例について, 妊娠, 分娩管理に加え, 新生児の血小板減少の管理の実際をまとめ 2009 年の本学会にて報告したが, その後の症例も加え, 再度報告する. 1997 年から 2011 年 12 月までに当院で出産した 21 名 (33 分娩例: 2 回出産 8 名, 3 回出産 2 名) (以後, 各分娩管理を「1 例」として示す)の分娩について解析した. 23 例は無治療, 10 例において妊娠後期以降に血小板増加のための治療 (ステロイド 9 例, IVIG 2 例, 血小板輸血 1 例)が必要であった. また, 初回分娩後に 1 名では摘脾を, 3 例ではピロリ除菌療法を施行し, いずれも血小板数の増加を認め, 2 回目の妊娠においてはより安全な管理が可能であった. 10 例は経膈分娩, 23 例が帝王切開を施行した. 2 例の経膈分娩において重大な出血がみられ, 1 例は母体が死亡した. その他の例では赤血球輸血は不要であった. 新生児については, 5 例で血小板数 10 万以下に低下し, IVIG, ステロイド等による積極的な治療が必要であったが障害なく回復した. 新生児の血小板数については, 先行子で血小板減少がみられた場合, 母体の PA-IgG が高値であった場合に低値をきたす傾向があった. また, 2009 年の報告時には ITP 合併妊娠として報告した 1 症例はその後の分娩後に家族性血小板減少症であることが判明しており, 鑑別診断の重要性も強調したい. 当院では, 免疫血液内科, 産婦人科, 小児科が緊密に連携する体制をとっており, 本邦のガイドラインに基づいた管理方針を作成している. 帝王切開については, 原則産科的適応がある場合に施行することとしているが, 他施設よりも頻度が高いと思われる. 当院の経験が, 今後の新ガイドラインの作成の一助となればと考えている.

MEMO

妊娠合併 ITP の診療ガイドラインの改訂

宮川義隆（慶大）、柏木浩和（阪大）、高蓋寿朗（西神戸医療セ）、藤村欣吾（広島国際大）、桑名正隆（慶大）、倉田義之（四天王寺大）、村田満（慶大）、富山佳昭（阪大）

1. 目的：妊娠合併 ITP の診療ガイドラインの改訂
2. 背景：ITP は結婚・出産が多い 30 歳代の女性に多く発症する。血小板数が少ない ITP 女性患者の妊娠維持、分娩様式、新生児に対する前向き研究はない。妊婦に対する治療は、副腎皮質ステロイドと免疫グロブリン大量療法が中心となる。1990 年代まで帝王切開が推奨されていたが、最近では原則として自然分娩を選択し、産科的適応がある場合にのみ帝王切開が行われている。医療技術の進歩、新薬の登場、医療を取り巻く社会情勢の変化を受け、妊娠合併 ITP の診療ガイドラインの改訂が必要になった。
3. 方法
 - (ア) 基礎資料となる過去の文献調査
 - (イ) 他領域専門家との意見交換と、ガイドライン改定作業に必要な委員会設立に向けた準備
4. 結果
 - (ア) ガイドライン改訂に必要な参考資料として、以下のガイドラインと調査結果を選出した。
 - ① 造血障害調査研究班による ITP 治療ガイドライン（1994 年）
 - ② 血液凝固異常症調査研究班による ITP 治療ガイドライン（2004 年）
 - ③ アメリカ血液学会による ITP 診療ガイドライン（1996 年、2011 年改訂）
 - ④ 英国血液学会による ITP 診療ガイドライン（2003 年）
 - ⑤ ITP 診療に関する国際コンセンサス報告書（2010 年）
 - ⑥ 血液凝固異常症に関する調査研究班に対するアンケート結果（2010 年、藤村欣吾）
 - ⑦ 国内の妊娠合併 ITP 患者 284 名を対象とする調査研究（藤村欣吾ら、Int J Hematol 2002, 75:426）
 - (イ) 妊娠した ITP 患者の健康を維持し、安全な出産と新生児の合併症を少なくするためには、血液内科、産科、麻酔科、小児科（特に新生児科）の連携が必要である。現状把握のため、各領域の専門医を対象に意見聴取を行った。ITP は稀少疾病であり、妊娠合併 ITP 患者からの新生児に致命的な脳出血が起こる確率は約 1%と低いこと、さらに領域横断的なガイドラインがないことから、各領域の専門医が十分な知識と経験を有していないことが懸念された。

5. 今後の予定

- (ア) 妊娠合併 ITP の診療実態をアンケート調査する。
- (イ) ガイドラインの改訂作業に必要な委員会を設立し、改訂作業を行う。

インテグリン・IIb・3 変異による遺伝性血小板減少症の病態解析

大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科 柏木 浩和

大阪大学医学部附属病院輸血部 富山 佳昭

インテグリン・IIb・3 変異は、従来、血小板数や血小板形態には影響を与えないと考えられていたが、國島および我々は・IIb (R995W) 変異が本邦の複数の macrothrombocytopenia 家系に存在することを見いだした。これらの血小板における・IIb・3 発現は正常の 70%程度に低下しており、また・IIb (R995W) 変異を CHO 細胞などに発現させると恒常的な・IIb・3 活性化が認められた。・IIb・3 膜周辺領域は・IIb・3 活性化制御に重要な役割を果たしていることが、近年になりこの領域において複数の・IIb・3 活性化変異が見いだされており、いずれも macrothrombocytopenia を示すことが報告されている。我々は macrothrombocytopenia を伴う血小板無力症様患者において新たな変異・IIb (G991C) を見いだした。患者は 9 歳女児。生後 4 ヶ月時に大腿、上肢に皮下出血を繰り返したため近医受診。10 万程度の軽度血小板数減少を認めるのみであったため、それ以上の精査はなされなかった。2010 年 6 月に抜歯後の止血困難、頻回の鼻出血、皮下出血斑を主訴に近医受診。血小板数の低下と血小板凝集能の著明な低下を認めたため、病態解析の依頼が当院にあった。患児血小板表面の・IIb・3 発現は正常の 5-10%程度に低下していたが、細胞内の・IIb・3 は正常の 60%程度発現していた。本例の血小板数は 3 万程度に低下しており、また血小板サイズの増大が認められた。興味深いことに、父親は 10 万程度の血小板減少と血小板サイズの増大を認め、母親においては血小板数、形態ともに正常であった。遺伝子解析の結果、患児は父親由来の・IIb (G991C) 変異と母親由来の・IIb (R422X) 変異の複合ヘテロ接合体であった。・IIb (G991C) 変異を 293T 細胞に発現させたところ、強い・IIb・3 の活性化が認められた。この結果と従来の報告から膜領域近傍の・IIb・3 活性化変異を有するヘテロ患者においては、軽度～中等度の macrothrombocytopenia をきたすこと、ホモあるいは本例のような nonsense mutation との複合ヘテロ患者においては、macrothrombocytopenia に加え・IIb・3 の発現低下が顕著となり血小板無力症様の病態を呈すると考えられた。我々は、・IIb・3 恒常的活性化と血小板減少および形態変化の関連およびそのメカニズムを明らかにするため、症例における検討を進めるとともに、R995W ノックインマウスを用いた検討を行っている。

MEMO

Th1 型の免疫応答が ITP 病態の発症を促進する

○桑名正隆 西本哲也 慶應義塾大学リウマチ内科

【背景・目的】 これまでに、人為的に制御性 T 細胞 (Treg) を欠損させたマウスの約 35% が ITP 病態を自然発症することを報告し、ITP の発症に Treg が重要な役割を果たしていることを示した。しかしながら、ITP 病態を発症しないマウスも存在しており、Treg 欠損マウスにおいて ITP 病態の発症を規定する因子は明らかではなかった。そこで、今年度は ITP モデルマウスにおけるヘルパー T 細胞 (Th) のサイトカイン産生プロファイルに着目し、ITP の発症を促進する自己免疫病態の解析をおこなった。

【方法】 BALB/c マウスの脾細胞から CD4⁺CD25⁻細胞を分離し、同系ヌードマウスに移入することで Treg 欠損マウスを作製した。細胞移入 4 週後に血小板数が $0.33 \times 10^6 / \mu\text{l}$ 以下となったマウスを ITP マウスと定義し、血小板減少を呈さなかったマウスをコントロールとした。Treg 欠損マウスから回収した脾細胞を用いて、フローサイトメトリーの細胞内染色により IFN- γ (Th1)、IL-4 (Th2)、IL-17 (Th17) を産生する CD4⁺細胞を検出した。また、Treg 欠損マウスの脾細胞から磁気細胞分離により CD4⁺細胞を分離後、マイトジェン存在下で 4 日間培養し、培養上清中に産生されたサイトカイン (IFN- γ 、IL-4、IL-17) 濃度をフローサイトメトリーにより測定した。さらに、脾細胞の培養上清を正常マウス血小板と反応させ、血小板に結合した IgG のサブクラスをフローサイトメトリーで解析した。

【結果】 ITP マウス 16 例とコントロールマウス 10 例を対象とした。細胞内染色では、ITP マウスにおいて CD4⁺T 細胞中における Th1 細胞の割合が増加していた ($P < 0.05$)。さらに、Th1/Th2 比、Th1/Th17 比が上昇していた (ともに $P < 0.05$)。脾細胞の培養上清中では、ITP マウスにおいて IL-4 濃度が低下していた ($P < 0.05$)。また、IFN- γ /IL-4 比、IFN- γ /IL-17 比が上昇していた (ともに $P < 0.05$)。細胞内染色による Th1/Th2 比と培養上清中の IFN- γ /IL-4 比は強く相関していた ($r = 0.84$, $P < 0.01$)。ITP マウスの脾細胞培養上清中に存在する抗血小板抗体のサブクラスは主に IgG_{2a} であったが、IgG₁ または IgG_{2b} を主に産生するマウスの存在も認めた。

【考察】 ITP マウスにおけるサイトカイン産生プロファイルや抗血小板抗体のサブクラスはある程度の多様性を認めたが、ITP 患者と同様に Th1 優位の免疫応答を示した。Th1 型の免疫応答が Treg 欠損マウスにおける ITP 病態の発症を促進する可能性が示唆された。

MEMO

血小板減少症の病態解明と新しい治療戦略開発を目指した基礎的研究：
巨核球分化・血小板産生機構の解明

研究協力者：松原 由美子

巨核球・血小板の細胞運命決定に重要な転写因子はこれまで不明であったが、最近その因子として p45NF-E2、その結合因子である Maf G と Maf K を見いだした。具体的には、これら遺伝子をヒト皮膚繊維芽細胞に導入し、巨核球・血小板分化誘導培地で培養すると巨核球サイズの細胞の約 99%は CD41 陽性を示し、DNA ploidy や形態観察、血小板の機能検討の結果、p45NF-E2/Maf G/Maf K 遺伝子導入のヒト皮膚繊維芽細胞は巨核球・血小板に分化しうることを認めた。これら遺伝子を導入しないヒト繊維芽細胞は巨核球・血小板分化を認めなかった。本研究では、この知見を発展させ p45NF-E2/Maf G/Maf K 遺伝子導入のヒト皮膚繊維芽細胞の micro RNA を解析し、巨核球分化・血小板産生の遺伝子制御ネットワークの解明を行い、血小板減少に対する新たな診断法・治療法の提案につなげたい。

今回、ヒト皮膚繊維芽細胞と p45NF-E2/Maf G/Maf K 遺伝子導入のヒト皮膚繊維芽細胞 (day 2) の RNA を抽出し、3D-Gene (東レ) chip を用いて各サンプルの micro RNA を網羅的に解析した。その結果、約 1,700 解析因子中、遺伝子導入の皮膚繊維芽細胞で 6 因子が有意に増加、325 因子が有意な減少を示した。これら有意差を示した因子の中で、ヒト造血幹細胞から MEP 分化過程で減少することが知られている miR-130a の減少が認められた。この因子の標的は Maf B が知られ、既報では、miR-130a の減少による Maf B の発現量増加は integrin・IIb、GATA1、SP1、ETS1 発現を enhance することが報告されている。また、c-mpl 発現を調節する miR708、miR151 の減少も認められた。実際に c-mpl 発現はヒト皮膚繊維芽細胞では認められないが、p45NF-E2/Maf G/Maf K 遺伝子導入のヒト皮膚繊維芽細胞では認められた。

今回の micro RNA 発現解析の結果、p45NF-E2/Maf G/Maf K 遺伝子導入のヒト皮膚繊維芽細胞は、造血幹細胞で報告されている巨核球分化に重要である因子の発現調節を介して巨核球・血小板分化を示すことが示唆された。造血幹細胞や多能性幹細胞を用いる場合に比し、他の血球分化に関与する micro RNA のコンタミネーションは低いと考え、巨核球・血小板分化に特異的な micro RNA の検出、疾患の血中バイオマーカー検出に発展させて行きたい。

