

201231018A

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 24 年度

総括・分担研究報告書

研究代表者 村田 満

慶應義塾大学 医学部

平成 25 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 24 年度

総括・分担研究報告書

平成 25 年 3 月

目次

血液凝固異常症に関する調査研究

I. 総括研究報告書 村田満 慶應義塾大学 ----- 7

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 安田女子大学

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 国際医療福祉大学

ITP グループ研究総括：富山佳昭 -----15

分担研究報告

富山佳昭：Primary ITP患者におけるPA anti- α IIb β 3抗体のエピトープ解析

桑名正隆：ITP マウスモデルにおける GPIIb 反応性 CD4⁺T 細胞の検出

倉田義之：臨床調査個人票（平成 22 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平成 13～22 年度の 10 年間における個別症例解析の試み

藤村欣吾：嗜好品、代替医療等による血小板減少症に関する検討
—鉄観音茶の中止後に血小板数が増加した難治性 ITP 症例の経験から—

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：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

上田恭典 倉敷中央病院

TMA グループ研究総括：藤村吉博 ----- 59

分担研究報告

藤村吉博：TTP の診断基準の作成

和田英夫：三重県で経験した非典型溶血性尿毒症症候群患者の病態

小亀浩市：USS 診断に有用な ADAMTS13 遺伝子解析の改良と新たな変異の同定

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
小林隆夫 県西部浜松医療センター
榛沢和彦 新潟大学
研究協力者：窓岩清治 自治医科大学
中村真潮 三重大学大学院
山田典一 三重大学大学院
太田覚史 三重大学医学部附属病院
平山久也 県西部浜松医療センター

特発性血栓症グループ研究総括：小嶋哲人 ----- 91

分担研究報告

小嶋哲人：血栓性素因の調査研究：先天性アンチトロンビン欠損症・

SERPINC1 遺伝子解析

坂田洋一：特発性血栓症/静脈血栓塞栓症に対するワルファリン療法施行患者における
プロトロンビン時間(PT-INR)自己測定の有効性と安全性に関する臨床研究

宮田敏行：非典型溶血性尿毒症症候群患者の遺伝子解析に関する研究

川崎富夫：日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略

横山健次：bortezomib が血小板機能に与える影響の解析と臨床的意義

小林隆夫：入院患者における静脈血栓塞栓症（VTE）発症予知に関する研究

榛沢和彦：震災後の静脈血栓塞栓症に関する研究

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表----- 149

V. 研究成果の刊行物・別冊 ----- 167

VI. その他

総括研究報告書

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24年度総括研究報告書

「血液凝固異常症に関する調査研究班」

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

本調査研究班は特定疾患治療研究対象事業である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、の3疾患について、それぞれ3つのサブグループに分かれて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/普及およびその効果の検証、(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、を目指している。平成24年度は、今回の研究班開始2年目として、過去に確立された研究調査体制を踏襲しつつ、より多くの成果を生むべく研究体制を強化した。具体的には、一部の疾患で新たな診断基準の作成を開始、診療ガイドを作成、臨床的有用性の高いデータベース化システムの構築、そして新しい体外診断薬の開発、新規治療の検証と保険適応へ向けての検討を班全員の参加のもとに行った。疫学研究は臨床個人調査表を基に平成22年度の本邦におけるITPの実態を調査把握した。またTMA患者の集積を続行した。診断・治療ガイドライン等については、ITP治療の参照ガイドの改訂/公表したこと、妊娠合併ITP管理の参照ガイドやTTP診断基準に着手したこと、などが挙げられる。また特発性血栓症/静脈血栓症グループにおいては数年来の本研究班活動を通して日本人に多いプロテインS異常症の診断に欠かせない「プロテインS活性測定検査の保険収載」、ならびに「ヘパリン在宅自己注射の保険適用」が診療・予後改善に向けた医療行政上での成果である。

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で公費助成対象疾患である。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、1)疫学調査、2)診断および治療の標準化（特に病態に則した新たな診断基準の作成、治療の参照ガイドの作成お

よび改訂)、3)疾患のさらなる病態解析と新規治療法の開発、などを目的として検討してきた。

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ともなって毎年行われる 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。さらに ITP 臨床個人調査表の改訂作業を行った。その結果、平成 15 年から開始し本年は平成 22 年度をまとめることが出来た。平成 22 年度の推定新規発症症例は 2,800 名と昨年に比べほぼ同程度であった。その内訳は急性型 1,012 名、慢性型 1,788 例であった。ここ数年の傾向であるが、急性型の申請人数の減少が続いている。推定更新症例は 17,919 名であった。これらの症例数は平成 16 年度より低下傾向にあったが平成 19 年度、20 年度の解析では再び増加し平成 16 年のレベルに近似しあるいは増加していたが、平成 21 年に比べ 1,545 の増加であった。

ITP 治療の参照ガイドについては前回の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治療の参照ガイドを作成した。その理由のひとつには、実際に ITP に用いられている薬剤の保険適用が無いことがあげられる。昨年度も含め計 3 回の作業部会を開催し、治療の参照ガイドを完成させた。その内容を「臨床血液」誌 (53 巻 4 号: 433-442, 2012; 2012 年 4 月) に掲載し公開した。

また妊娠合併 ITP 管理の参照ガイドに

ついては参照ガイド作成委員会を組織した。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。産婦人科、小児科、麻酔科の ITP のエキスパートに参画頂き、専門家のコンセンサスの形で診療の参照ガイドを作成する。また、理解を深めるためクリニカルクエスション (CQ) 形式も取り入れるべく作業をすすめている。

その他、個人研究として、嗜好品、代替医療等による血小板減少 (藤村班員、高蓋研究協力者)、ITP における抗 GPIIb-IIIa 自己抗体のエピトープ解析 (富山班員、柏木研究協力者、清水研究協力者)、ITP マウスモデルにおける主要自己抗原である GPIb 反応性 CD4⁺T 細胞の解析 (桑名班員、西本研究協力者)、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) が施行され着実な成果が挙げられた。

TMA (血栓性血小板減少性紫斑病) 研究グループ

血栓性微小血管障害症 (TMA) グループの目標は、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基礎と臨床の両面から行うことである。平成 24 年度は、グループ全体として、TMA

症例の集積、リツキシマブの TTP への保険適用拡大、ADAMTS13 体外診断薬の開発、TTP 診断基準の作成に向けての検討、を行った。

TMAの症例集積：TMAは稀な疾患であることから、多数例での解析を行うことは困難であると言われている。現在までに集積した1149例のTMAとADAMTS13活性とインヒビターの結果を解析した。1149例全体で432例（37.6%）に同活性著減を認めた。最近、ADAMTS13活性と同インヒビターの測定は、検査会社でも検査可能となったため、我々の集積症例数は減少しているが、診断が困難な症例や治療不応例を中心に現在も当ラボへ紹介されてきていると思われる。

リツキシマブのTTPへの保険適用拡大：TTP症例におけるリツキシマブの使用は、国内だけでなく海外においても認可されていない。文献的には多数の報告があり、効果が確認されている。日本国内でも多数のリツキシマブを使用した成功例が報告されている。本年度我々は、厚生労働省の治験推進研究事業に、医師主導治験の研究計画を申請し、早急に医師主導治験を開始する準備を整えている。

ADAMTS13体外診断薬の開発：リツキシマブのTTPへの適応拡大のための医師主導治験を実施する際の患者選択のために、ADAMTS13活性測定が必要となっている。しかし、現在まで体外診断薬として承認されたADAMTS13測定キット存在しなかった。ADAMTS13検査の体外診断薬としての承認を目指して、医薬品医療機器総合機構(PMDA)との事前相談を6月、10月、12月

に行った。今後、臨床検体を50例程度集めて申請する予定である。

以上、本サブグループではTMA解析センターとして1149例のTMAを集積し、それぞれの疾患カテゴリーの解析を継続している。本年度は、USSにおける新規のADAMTS13遺伝子解析の方法の開発、日本国内のaHUS、ai-TTP症例の詳細な検討などを行った。さらに、リツキシマブのTTPへの保険適用の拡大とADAMTS13活性測定を保険適用にするための申請準備を行っている。

特発性血栓症研究グループ

本研究班における特発性血栓症サブグループ研究は、近年我が国でも増加している静脈血栓塞栓症のエビデンス収集とともに、その発症要因や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・予防の対策確立を目的とする。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等から構成される。本年度の各個研究においては、それぞれ「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究」、「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」、「不育症を対象とした先天性血栓性素因に関する研究」、「ワルファリン療法施行患者におけるプロトンピン時間 (PT-INR) 自己測定の安全性と有効性に関

する臨床研究」、「先天性アンチトロンビン欠損症・*SERPINC1* 解析研究」、「自家移植を施行した比較的若年の日本人多発性骨髄腫患者における血栓症発症の解析」、「日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略」、「震災後の静脈血栓塞栓症に関する研究」が行われた。数年来の本研究班活動を通じた特発性血栓症での診療・予後改善に向けた医療行政上での成果として、日本人に多いプロテイン S 異常症の診断に欠かせない「プロテイン S 活性測定検査の保険収載」、ならびに「ヘパリン在宅自己注射の保険適用」があげられる。また全国の医療施設を対象にしたアンケート調査研究として「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究」では、9383 施設(病院 6586 施設, 医育機関 2797 講座)にアンケートを送付し現時点で 2722 施設(病院 1717 施設, 医育機関 1005 講座)から回答が得られ、リスク因子や治療法などの詳細に関し解析の予定である。

個別研究として、「日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略」では、ガイドラインの作成者と使用者は「前書き」を重視する必要があることを提言した。「不育症を対象とした先天性血栓性素因に関する研究」では、反復あるいは習慣流産の患者に先天性血栓性素因を持つ例があることが示された。「ワルファリン療法施行患者におけるプロトロンビン時間 (PT-INR) 自己測定の有効性と安全性に関する臨床研究」では、日本人患者における PT-INR の自己測定は安全で有効な手法であることが報告された。「先天性アンチトロンビン欠損症・*SERPINC1* 解析研究」

では、*SERPINC1* の大規模遺伝子変異に *Alu* 配列が大きな役割を担っていることが示された。「自家移植を施行した、比較的若年の日本人多発性骨髄腫患者における血栓症発症の解析」では、自家移植の対象となる比較的若年の多発性骨髄腫患者での VTE 発症率は欧米と大きな差はなかったことが報告された。「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」では VTE 高リスク患者の APC-sr および PS 抗原と PS 活性の比活性測定が VTE 予知に寄与する可能性が示唆された。「震災後の静脈血栓塞栓症に関する研究」では、イタリア北部地震でも車中泊避難が多数あり肺塞栓症で死亡者もみられ、震災後の車中泊は欧米においても肺塞栓症の危険が明らかになった。

日本人での静脈血栓塞栓症のエビデンスを収集するとともに、発症原因・発症メカニズムを解明することは、我が国における特発性血栓症の予知・予防のための対策の確立に重要と思われる。

グループ研究報告書

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 安田女子大学 教授
桑名 正隆 慶應義塾大学医学部 准教授
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 第一内科
西本 哲也 慶應義塾大学医学部
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血液免疫内科
柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科
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 国際医療福祉大学

サブグループ総括

分担研究者 : 富山 佳昭

研究要旨

ITP に関して、1)疫学調査、2)診断および治療の標準化（特に治療の参照ガイドの作成および改訂）、3)病態解析および新規治療法の開発、を中核としてグループ研究および個別研究を継続して行っていく。疫学研究は臨床個人調査表を基に平成 22 年度の本邦における ITP の実態を調査把握した。平成 22 年度においても発症年齢、更新年齢とも中高年の男女に最も多い事が確認された。本年度の新たな取り組みとして個別症例の臨床経過の解析を行った。国際的には 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こと、および本邦においてヘリコバクタ・ピロリ除菌療法の保険適用やトロンボポエチン (TPO) 受容体作動薬が ITP に承認されたことに対応すべく、本研究班にて「成人 ITP 治療の参照ガイド」を作成し公開した（「臨床血液」誌掲載）、さらに臨床個人調査表の改訂（案）も作成した。一方では、新たに妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成に向け、産科、小児科の専門家も参加した作成委員会を組織した。診断に関しては、引き続き検査の標準化を検討した。個人研究では、ITP における抗 GPIIb-IIIa 抗体のエピトープの局在部位を同定した。新たに開発した ITP マウスモデルを用いて、その自己抗体が主として GPIIb を認識していること、自己抗原である GPIIb に対する反応性 CD4⁺T 細胞の解析を行った。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の分子機構を解析した。

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、1)疫学調査、2)診断および治療の標準化（特に病態に則した新たな診断基準の作成、治療の参照ガイドの作成および改訂）、3)疾患のさらなる病態解析と新規治療法の開発、などを目的として検討してきた。

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。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、本疾患の治療の標準化をめざし「治療の参照ガイド」の作成および啓蒙、難治症例に対するトロンボポエチン受容体など新規治療法の位置づけおよびその適正使用の推進、さらには妊娠合併 ITP に対する妊娠、分娩管理の参照ガイド作成へ向けて作成委員会の立ち上げなどを行う。

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ともなって毎年行われる 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。さらに ITP 臨床個人調査表の改訂作業を計画した。

2. 治療の標準化に関しては、H. Pylori 除菌療法の保険適用、難治症例に対する治療薬として承認されたトロンボポイエチン受容体作動薬の使用基準を啓蒙すべく、成人 ITP 治療の参照ガイドを作成する。のべ3回の作業部会を開催し、成人 ITP 治療の参照ガイドを作成、紙面上（臨床血液）で公開した。

妊娠合併 ITP の管理については従来のガイドラインの改訂をめざし、産婦人科、小児科などの専門家も参画した作成委員会を組織し、治療の参照ガイドの作成に取り組む。

3. ITP の病態解析（個別研究）

ITP の病態解析として、抗血小板抗体である抗 GPIIb-IIIa 抗体のエピトープ解析、ITP モデルマウスを用いた分子病態解析、脂肪前駆細胞からの血小板産生/巨核球分化の分子機構の解析を行う。

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 15 年から開始し本年は平成 22 年度をまとめることが出来た。平成 22 年度の推定新規発症症例は 2,800 名と昨年に比べほぼ同程度であった。その内訳は急性型 1,012 名、慢性型 1,788 例であった。ここ数年の傾向であるが、急性型の申請

人数の減少が続いている。

推定更新症例は 17,919 名であった。これらの症例数は平成 16 年度より低下傾向にあったが平成 19 年度、20 年度の解析では再び増加し平成 16 年のレベルに近似しあるいは増加していたが、平成 21 年にくらべ 1,545 の増加であった。

2) 年齢分布

発症年齢分布についてはここ 5 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。新規・急性型では 66~85 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 26~35 歳、新規・慢性型では 26~40 歳に第二のピークを認めた。更新・慢性型では 61~75 歳に第一のピーク、次いで 31~45 歳に第二のピークを認めた。

しかし、前述のように急性型の申請人数の減少が続いており、実患者数の減少か、申請者のみの減少かを検証する必要がある。

3) 治療

治療に関しては、新規・急性型、慢性型ともにプレドニゾン投与が最多で、83%、59%であった。二番目がピロリ除菌で 30%、36%であった。

ピロリ除菌療法が ITP 治療として定着していることが明らかとなり、平成 22 年に除菌療法が保険承認されたことは、ITP 診療にとって福音となる。さらには、除菌療法は安価に行なえるため、医療経済的にも画期的である。

4) 難治症例の頻度

更新・慢性型 11,952 症例中、摘脾済み、プレドニゾン維持療法中であるが、血小板数 2 万未満、出血症状を認める難治

症例を 306 例 (2.6%) に認めた。

5) 新規症例の検査

骨髓検査は急性型 (90%)、慢性型 (87%) とともに多くの症例で施行されていた。PAIgG も急性型 (64%)、慢性型 (67%) で施行されていた。一方、血小板自己抗原検査は急性型で 5%、慢性型で 7%。網状血小板比率測定は、平成 21 年度の解析では 10%以下であったが、今年度では自動測定機器の普及もあり、急性型で 14%、慢性型で 11%であった。ただし、普及しつつある網状血小板比率測定法である IPF 法の感度、特異性は、本研究班で検証した結果では、ともに 60%台であったことを念頭におく必要がある。

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。さらに、この調査表は基本的には治療が必要となる ITP 患者の実数の把握という理解である。

5) 個別症例解析の試み

臨床調査表は各年度ごとにデータを厚生労働省より提供頂いているが、本年度では、個別の症例に関し経年的な追跡調査を試みた。

平成 13~22 年度の臨床個人調査票の解析では、10 年間での登録症例数は 49,873 例であったが、詳細に解析すると 1 年度のみ登録が 18,665 症例、2 年度が

11,028 症例、3 年度が 7,116 症例などと多くの症例が数年度の登録にとどまっていた。今後、血小板低値の難治症例の分析を行う予定である。

6) 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。研究班として、これらの国際的な動向を考慮し、さらに臨床医に対して調査票記入の労力を軽減すべくより簡便に記載できるように配慮し、個人調査表の改訂を協議し、改訂案を作成した。今後、厚生労働省とも改訂案を協議予定である。

2. 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、桑名班員、倉田班員、富山班員、村田班長、宮川研究協力者、高蓋研究協力者、柏木研究協力者）

2004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。昨年、ようやく除菌療法が保険適用となり、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、前回の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治療の参照ガイドを作成した。その理由のひとつには、実際にITPに用いられている薬剤の保険適用が無いことがあげられる。昨年度も含め計3回の作業部会を開催し、治療の参照ガイドを完成させた。その内容を「臨床血液」誌（53巻4号：433-442, 2012; 2012年4月）に掲載し公開した。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、班研究と連動しながら、医師主導型の臨床治験中。リツキシマブは、現時点では保険適用外であり、治療上の位置づけを議論することは時期尚早である。臨床治験のデータも鑑み今後の検討課題とする。

妊娠合併ITP診療の参照ガイドの作成に関しては、表に示す参照ガイド作成

委員会を組織した。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。一方では、妊娠合併ITPに関しては、妊婦という特殊事情もあり治療のエビデンスは皆無であり、今後も臨床試験を行うことは不可能に近い。なぜなら、ほとんどの妊婦は臨床試験に消極的であるからである。そのため、産婦人科、小児科、麻酔科のITPのエキスパートに参画頂き、専門家のコンセンサスの形で診療の参照ガイドを作成する。また、理解を深めるためクリニカルクエスチョン（CQ）形式も取り入れるべく作業をすすめている。

4. 個人研究

1) 嗜好品、代替医療等による血小板減少（藤村班員、高蓋研究協力者）

鉄観音茶の中止後に血小板数が増加した難治性ITPの報告がなされた。78歳、女性で2010年11月紫斑等の出血症状が出現、血小板数7000と減少しており、当院にて特発性血小板減少性紫斑病と診断された。プレドニゾロン（PSL）、ピロリ除菌にて約4ヵ月の経過で血小板数は5万から6万に上昇した。外来経過観察中にPSL減量に伴って、血小板数2万台に減少し、PSLは7mg以下への減量は困難であり、プレドニゾロン抵抗性の難治性ITPと考えられた。2012年5月内服薬、嗜好品等について再確認したところ、「鉄

観音茶を飲んでいる」との事で、一度中止してみることを提案した。その後、血小板数は3ヵ月後に5万代に回復し、7ヵ月後にはPSLも3mgまで減量が可能であった。これまでも本邦からハーブティーの一種である”Jui”による血小板減少の報告が本邦から2例報告されており、嗜好品、代替医療等による血小板減少の可能性も考慮する必要がある。

2) ITPにおける抗GPIIb-IIIa自己抗体のエピトープ解析(富山班員、柏木研究協力者、清水研究協力者)

ITPの約40~60%の症例において血小板関連抗GPIIb-IIIa自己抗体

(Platelet-associated anti-GPIIb-IIIa autoantibodies)が検出されるが、抗GPIIb-IIIa抗体の認識部位(エピトープ)に関しては未だ明らかではない。血小板関連抗GPIIb-IIIa自己抗体とは、すでに患者血小板に結合している抗体であり自己抗体の要件を満たしている。一方、血清(血漿)中にも血小板抗体は存在するがその陽性率は低く、また抗HLA抗体など同種抗体も含まれるため注意が必要である。そのため、ITP患者から血小板を分離し血小板に結合した抗体

(Platelet-associated anti-GPIIb-IIIa autoantibodies)をエーテル解離し、その特性を解析した。ITPの抗GPIIb-IIIa抗体はマウスGPIIb-IIIaとの反応性が著明に低下し、この反応性の低下はマウスGPIIbとヒトGPIIbの差違に起因していることを初めに見出した。ヒトとマウスGPIIbはアミノ酸レベルで81%(核酸レベルで82%)の相同性を有している。N

末端には449個のアミノ酸より構成されるβプロペラ構造が存在し(W1~W7の7つのプロペラより構成されている)、特にそのループ構造においてヒトとマウス間でアミノ酸の相違が見られる。そこでさらにエピトープを限定するため、抗GPIIb-IIIa抗体を有するITP患者15例に関してヒトGPIIbのN末端から各ループ構造までを順番にマウスGPIIbに置換したキメラGPIIbを作製し、ヒトGPIIIaと共発現させ解析した。また、逆にマウスGPIIbのN末端から各ループ構造までをヒトGPIIbに置換したキメラGPIIbも作製し、最終的には関連するアミノ酸を1つつマウス配列に置換して検討した。その結果、βプロペラ領域のN末端から前半部分(W1~W4 4-1ループ、N末端から235番のトリプトファン酸残基まで)が自己抗原として重要であることが明らかとなった。さらに、βプロペラ領域のN末端から前半部分において主要な自己抗体のエピトープ領域を3か所同定し(グループA、グループB、グループC)、さらに3例においてそのエピトープの局在を限定することが可能であった。このようにITPにおける抗GPIIb-IIIa抗体のエピトープは、GPIIbのβプロペラ構造のごく限定された領域に存在することが示された。これに合致する成績として、血小板関連抗GPIIb-IIIa抗体(IgG)のκとλの比率を検討すると、多くの症例でκあるいはλのみが検出され、ITPにおいて極めて限定されたB細胞が自己抗体を産生していることを示唆する成績と考えられる。

3) ITP マウスモデルにおける主要自己抗原である GPIb 反応性 CD4⁺T 細胞の解析 (桑名班員、西本研究協力者)

BALB/c ノードマウスに同系マウス由来 CD4⁺CD25⁻細胞を移入することで作製した Treg 欠損マウスは、その約 35%が ITP 病態を自然発症することをすでに発表している。この ITP モデルマウス (Treg 欠損マウス) において産生される抗血小板自己抗体の主な対応抗原は GPIb である。さらに、Treg 欠損マウスの脾細胞を用いて、非特異的な刺激による T 細胞からのサイトカイン産生プロファイルを解析したところ、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。本年度はさらに血小板抗原特異的な自己反応性 T 細胞の免疫応答を詳細に解析するため、ITP マウスにおける GPIb 反応性 T 細胞の検出を試みた。

GPIb α をコードする cDNA を主なドメイン (α 1:Leucine-rich repeat、 α 2:vWF 結合部位、 α 3:Threonine-rich repeat、 α 4:細胞膜貫通部分、 α 5:細胞質内部分) ごとに 5 分割し、大腸菌プラスミドに組み込んだ後、MBP 融合タンパクとして発現し、T 細胞増殖反応に用いる抗原に使用した。ITP マウスは全例 (7 例/7 例) でいずれかの GPIb リコンビナント蛋白 (α 1 \sim α 5) に対して増殖反応を認めたが、コントロールマウス (1 例/8 例) と BALB/c マウス (1 例/6 例) ではほとんどみられなかった。また、ITP マウスでは 5 種類の GPIb 抗原ペプチドのうち、 α 1、 α 4、 α 5 に対して高頻度に増殖反応を認めた (すべて 5 例/7 例)。さらに、これらの抗原ペプチドによる細胞増殖は MHC class II の阻害により

抑制された。これらの結果より、ITP マウスでは *in vivo* で GPIb 反応性 CD4⁺T 細胞が増殖していると考えられた。

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)

ITP の病態解明とより有用なマネジメント法の開発には血小板産生機序の解明は重要な課題であるため、*in vitro* 分化誘導システムを用いて血小板産生機構の解析を行っている。血小板は *in vitro* 分化誘導において脂肪前駆細胞から効率よく産生される。しかし脂肪前駆細胞からの血小板産生機序は不明な点が多い。脂肪前駆細胞は p45NF-E2 や GATA2 など巨核球分化や血小板産生に重要な転写因子を有しており、中でも p45NF-E2 は、結合因子 Maf とともに皮膚線維芽細胞に遺伝子導入を行うと、その線維芽細胞は血小板分化能を獲得することから、巨核球・血小板分化に非常に重要な転写因子である考えられる。

本年度は脂肪前駆細胞からの血小板産生過程において、トロンボポエチン (TPO) と c-mpl に着目した検討を行った。その結果、脂肪前駆細胞は血小板分化誘導刺激により TPO を分泌し、c-mpl を介して巨核球・血小板分化に至ることが示された。

D. 考案

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を受けて、その使用対象や適正使用の正しい情報発信を行った。今後もさらに ITP 研究班の果

たす役割は大きくなると考えられる。次年度以降の急務の課題としては、妊娠合併 ITP の治療に関しての標準化が挙げられ、班研究の枠を超え内科以外の多分野における ITP 専門家と共同して作成する予定である。今後も、研究班として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。

E. 結論

ITP の現状把握し、問題点を早期把握すると共に、新たな薬剤に関してその適正使用を含めた情報発信が急務であり、今後の課題として継続して取り組む予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kiyomizu K, Kashiwagi H, Nakazawa T, Tadokoro S, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. Recognition of highly restricted regions in the β -propeller domain of α IIb β 3 autoantibodies in primary immune thrombocytopenia. *Blood* 120:1499-1509, 2012
- 2) Kodama T, Hikita H, Kawaguchi T, Shigekawa M, Shimizu S, Hayashi Y, Li W, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Kanto T, Hiramatsu N, Kiyomizu K, Tadokoro S, Tomiyama Y, Hayashi N, Takehara T. Mcl-1 and Bcl-xL regulate

Bak/Bax-dependent apoptosis of the megakaryocytic lineage at multistages. *Cell Death Differ* 19:1856-1869, 2012

- 3) Tomiyama Y, Miyakawa Y, Okamoto S, Katsutani S, Kimura A, Okoshi Y, Ninomiya H, Kosugi H, Nomura S, Ozaki K, Ikeda Y, Hattori T, Katsura K, Kanakura Y. A lower starting dose of eltrombopag is efficacious in Japanese patients with previously treated chronic immune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 10:799-806, 2012
- 4) Shirasugi Y, Ando K, Miyazaki K, Tomiyama Y, Iwato K, Okamoto S, Kurokawa M, Kirito K, Hashino S, Ninomiya H, Mori S, Yonemura Y, Usuki K, Wei H, Lizambri R. An open-label extension study evaluating the safety and efficacy of romiplostim for up to 3.5 years in thrombocytopenic Japanese patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Int J Hematol* 95:652-659, 2012
- 5) Nishimoto T, Satoh T, Takeuchi T, Ikeda Y, and Kuwana M. Critical role of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in preventing murine autoantibody-mediated thrombocytopenia. *Exp Hematol* 40(4): 279-289, 2012
- 6) Satoh T, Tanaka Y, Okazaki Y, Kaburaki J, Ikeda Y, and Kuwana M. Heparin-dependent and -independent anti-platelet factor 4

- autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2012; 51(9): 1721-1728, 2012
- 7) Nishimoto T, Satoh T, Simpson EK, Ni H, and Kuwana M. Predominant autoantibody response to GPIb/IX in a regulatory T-cell-deficient mouse model for immune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* In press.
- 8) Ono Y, Wang Y, Suzuki H, Okamoto S, Ikeda Y, Murata M, Poncz M, Matsubara Y. Induction of functional platelets from mouse and human fibroblasts by p45NF-E2/Maf. *Blood* 120: 3812-3821, 2012.
- 9) Matsubara Y, Murata M, Ikeda Y. Culture of megakaryocytes and platelets from subcutaneous adipose tissue and a preadipocyte cell line. *Methods Mol Biol*. 788: 249-58, 2012.
- 10) Matsubara Y, Ono Y, Suzuki H, Arai F, Suda T, Murata M, Ikeda Y. OP9 bone marrow stromal cells differentiate into megakaryocytes and platelets. *Plos One*. (in press)
- 11) 富山佳昭. ITPにおけるTPO受容体作動薬の使い方. *Annual Review 血液* 2012 (高久史麿, 小澤敬也, 坂田洋一, 金倉 譲, 小島勢二編), 中外医学社, 東京, 2012, pp198-206
- 12) 富山佳昭. 臨床血液学 今後の展望 (2012年版) —血小板・凝固・線溶系疾患— オーバービュー. *臨床血液* 53:176-177, 2012
- 13) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病(ITP)治療の参照ガイド. *血液フロンティア* 22:487-493, 2012
- 14) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. *内科* 109:1111-1114, 2012
- 15) 富山佳昭. 血小板増加薬としてのトロンボポエチン受容体作動薬とその使い方. *最新医学* 67:124-129, 2012
- 16) 富山佳昭. 新規薬剤による免疫性血小板減少症の治療. *日本内科学会雑誌* 101:2725-2732, 2012
- 17) 富山佳昭. トロンボポエチン受容体作動薬の安全性と副作用をみる —副作用の頻度とその対策—. トロンボポエチン受容体作動薬のすべて (池田康夫編), 先端医学社, 東京, 2012, pp62-74
- 18) 富山佳昭. トロンボポエチン受容体作動薬の臨床応用に関する Question. トロンボポエチン受容体作動薬のすべて (池田康夫編), 先端医学社, 東京, 2012, pp105-107
- 19) 富山佳昭. P2Y₁₂受容体に関する遺伝子関連検査. *血栓止血誌* 23:450-456, 2012
- 20) 柏木浩和, 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. *臨床血液* 53:178-184, 2012
- 21) 柏木浩和, 富山佳昭. 血栓形成の分子機構; 血小板機能異常症の解析からみた最近の進歩. *Pharma Medica* 30:9-14, 2012
- 22) 藤村欣吾, 宮川義隆, 倉田義之, 桑名正隆, 富山佳昭, 村田 満. 成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド 2012年版. *臨床血液* 53:433-442, 2012
- 23) 藤村欣吾. 抗血栓薬・血液疾患治療