

MEMO

臨床個人調査票（平成 22 年度）集計による特発性血小板減少性紫斑病（ITP）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

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

A. ITP の全国疫学調査

1. 研究方法

厚生労働省より平成 22 年度の 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 1,012 名、新規・慢性型が 1,788 名であった。

更新・急性型が 1,563 名、更新・慢性型が 16,356 名であった。

2) 年齢分布

新規・急性型では 66～85 歳、新規・慢性型では 61～675 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。

3) 特殊検査（新規症例のみ）実施状況

骨髄検査は急性型（90%）、慢性型（87%）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%、網状血小板測定は、急性型で 14%、慢性型で 11%と低率であった。

4) 治療

新規・急性型、慢性型ともにプレドニゾロン投与が最多で、83%、59%であった。二番目が平成 22 年度より保険適応となったピロリ除菌で 30%、36%、三番目が大量 IgG 療法で 30%、14%であった。

5) 難治症例頻度

更新・慢性型 11,952 症例中、摘脾済み、プレドニゾロ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。

B. 個別症例解析の試み

1. 研究方法

厚生労働省より平成 13～22 年度の臨床個人調査票入力ファイルの提供を受け、個々の症例の臨床経過の解析を試みた。

2. 研究結果

1) 登録症例数

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。

2) 脳出血合併症例の解析

平成 21 年度、22 年度に脳出血を合併した症例を抽出し、過去 10 年間の血小板数の推移を検討したところ多くの症例が長期に渡って血小板数が 2 万以下で推移していた。

平成 24 年度 血液凝固異常症の調査研究 第 2 回会議（平成 25 年 1 月）

妊娠合併ITPの診療ガイドライン（仮称）の作成

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（安田女子大）、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. 進捗状況

(ア) 妊娠合併ITPの診療ガイドラインを作成するにあたり、血液凝固異常症の調査研究班 ITPサブグループメンバーを中心に、小児科、産科、産科麻酔科領域のITPに詳しい専門医を集めた。

(イ) 小児領域は、日本小児血液学会ITP委員会（現：日本小児血液・がん学会 血小板委員会）が2004年に小児ITPのガイドラインを作成している。一方、日本産婦人科新生児血液学会が、免疫性血小板減少性紫斑病合併妊娠の治療ガイドライン作成を進めている。日本小児血液・がん学会、日本産婦人科新生児血液学会のITPガイドラインの執筆担当者に、当班会議が作成する診療ガイドラインの作成に協力を依頼した。

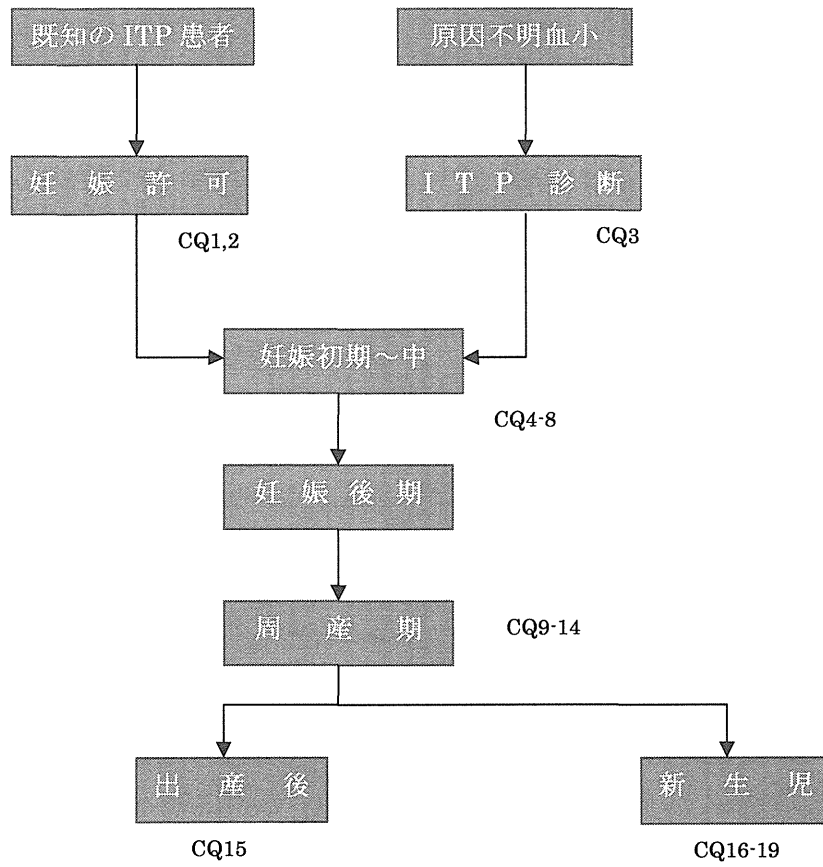
専門分野	委員名（所属）
血液内科	宮川義隆（慶大）、柏木浩和（阪大）、高蓋寿朗（西神戸医療セ）、藤村欣吾（安田女子大）、桑名正隆（慶大）、倉田義之（四天王寺大）、村田満（慶大）、富山佳昭（阪大）
小児科	今泉益栄（宮城県立こども病院）、高橋幸博（奈良医大）、松原康策（西神戸医療セ）
産科	小林隆夫（浜松医療センター）、木村正（阪大）、安達知子（愛育病院）、渡辺尚（自治医科大学）
産科麻酔科	照井克生（埼玉医大）

(ウ) ガイドラインの内容

日本血液学会が作成を進めている造血器腫瘍診療ガイドライン等を参考に、実地診療で使いやすいクリニカル・クエスチョン形式で執筆予定（別紙）。

2. 今後の予定

平成 25 年度はガイドラインの執筆・編集作業を進める。



- CQ1 妊娠前のITP患者に妊娠を許可する基準はあるか？
(アドバイス、妊娠中の再発・増悪リスクと脾摘後寛解例の妊娠で気をつけること、新生児の血小板減少のリスクを含めて)
- CQ2 妊娠を希望するITP患者に脾摘を勧めるか？
(勧める場合、どのような患者かも含めて)
- CQ3 妊婦の血小板減少症の鑑別のために行うべき検査は何か？
(ITP、妊娠性血小板減少症、HELLPなどの鑑別。骨髄検査の必要性を含めて)
- CQ4 妊娠中の血小板数の目標値は？
- CQ5 妊娠中の治療法は？
- CQ6 ピロリ菌陽性患者に対する除菌療法の安全性と施行時期は？
- CQ7 妊娠中のトロンボポエチン受容体作動薬の使用は可能か？
(可能ならその効果は？)
- CQ8 妊娠中における脾摘は？またその適応は？
- CQ9 分娩時期をどのように計画するか？
- CQ10 分娩時の血小板数の目標値は？また治療方法は？
(経膈分娩、帝王切開の両者について言及)
- CQ11 DVT予防を行うべきか？
- CQ12 分娩様式はどのように選択するか？
(分娩時の注意点(器械分娩、弛緩出血など)を含めて)
- CQ13 分娩時の麻酔はどのように選択するか？
(腰椎(くも膜下)麻酔・硬膜外麻酔の適応と必要な血小板数など)
- CQ14 帝王切開時時にはどのような点に注意すべきか？
(例：皮膚切開の方向、膀胱フラップの扱い、ドレーンの可否)
- CQ15 ITP治療中の患者に授乳は可能か？
- CQ16 新生児の出血のリスクは？また分娩前に児の血小板数を予測する方法はあるか？
- CQ17 胎児血小板数を測定すべきか？
- CQ18 新生児の採血はいつ行うべきか？
- CQ19 新生児の血小板減少の治療法は？

MEMO

ITP 患者の PA anti- α IIb β 3 抗体の多くは α IIb の β -プロペラ領域内の極めて限定された部位に結合する

大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科

柏木 浩和、清水 一亘

大阪大学医学部附属病院 輸血部

富山 佳昭

【諸言】 PA anti- α IIb β 3 抗体は ITP の病因に重要な役割を果たしているが、その epitope の詳細は明らかでない。我々は本抗体がマウスの α IIb β 3 にはほとんど結合しないことを見出した。この特性を利用して、ヒト-マウスのキメラ α IIb β 3 を用いて epitope の同定を行った。

【方法】 Primary ITP 患者よりエーテル解離法にて platelet eluate を作成し、ヒト-マウスキメラ α IIb β 3 発現 293T 細胞と反応させ FACS にて解析した。

【結果と考察】 Primary ITP 患者 78 名中 29 名に PA anti- α IIb β 3 抗体が認められた。うち 15 名について epitope 解析を行った。まずこれらの抗体の大部分は GPIIb の β プロペラ領域の N 端側 (W4:4-1 loop まで) を認識していた。さらに自己抗原として次の 3 つの主要な部位を同定した。1) W1:1-2 と W2:3-4 loop からなる領域: これらのループは隣り合う構造にあり、2 名がこの部位を認識していた。さらに 1 アミノ酸のみマウス配列に変異させた W1:1-2 の S29K、R32S 及び W2:3-4 の E136Q、R139G 変異により、これらの抗体の結合は著明に抑制された。2) W1:2-3 を含む領域: 5 名はこの領域を認識しており、うち 1 名は W1:2-3 のみを認識し、W1:2-3 loop 内の G44N、P45A にてほとんど結合がみられなくなった。残り 4 名は W1:2-3 に加えて W2:3-4 および W3:3-4 loop により構成される領域を認識すると考えられた。3) W3:4-1 を含む領域: 4 名はこの領域を認識していた。うち 3 名は W3:4-1 に隣接する W4:4-1 も含めた領域を認識すると考えられた。さらに PA anti- α IIb β 3 抗体の大部分において、 κ/λ 鎖の偏りが観察された。

【結語】 ITP 患者の PA-anti- α IIb β 3 抗体は α IIb の極めて限定された領域を認識しているものが多く、一部の症例では強い clonality が示唆された。

MEMO

ITP マウスモデルにおける GPIIb 反応性 CD4⁺T 細胞の検出

○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、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 欠損マウスの約 35%が ITP 病態を自然発症することを報告した。また、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 GPIIb であった。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。そこで本年度は、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 GPIIb 反応性 T 細胞の検出を試みた。

【方法】 BALB/c マウスの脾細胞から CD4⁺CD25⁻細胞を分離し、同系ノードマウスに移入することで Treg 欠損マウスを作製した。このとき、細胞移入 4 週後に血小板数が $0.33 \times 10^6/u1$ 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マウスとした。また、GPIIb をコードする cDNA を主なドメイン（・1:Leucine-rich repeat、・2:vWF 結合部位、・3:Threonine-rich repeat、・4:細胞膜貫通部分、・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。そして、ITP マウス (n=7)、コントロールマウス (n=8)、BALB/c マウス (n=6) の脾臓から比重遠心法により脾細胞単核球を回収し、GPIIb リコンビナント蛋白存在下 (10・g/mL) で 7 日間培養した。その際、培養終了 16 時間前に [³H] 標識 Thymidine を添加し、各 well の放射線量を測定することで細胞増殖を検出した。一部の実験では、抗 MHC class II 抗体 (5・g/mL) の存在下で培養をおこなった。

【結果】 ITP マウスは全例 (7 例/7 例) でいずれかの GPIIb リコンビナント蛋白 (・1 ~ ・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 GPIIb 抗原ペプチドのうち、・1、・4、・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。

【考察】 ITP マウスにおいて GPIIb に対する抗原特異的な T 細胞を検出するアッセイ系を確立した。T 細胞により認識される GPIIb 上のエピトープは複数存在し、ITP 患者における T 細胞の GPIIb/IIIa に対する認識パターンと同様であった。ITP マウスとコントロールマウスの反応性の違いは脾細胞中に含まれる特異的 T 細胞の数の差により説明できることから、ITP マウスでは in vivo で GPIIb 反応性 CD4⁺T 細胞が増殖していると考えられた。

MEMO

脂肪前駆細胞からのトロンボポエチン分泌と巨核球分化・血小板産生

研究協力者：松原 由美子

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点が多い。これまでの班会議において、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いることを報告した。また、それら脂肪前駆細胞が有する転写因子の中でも 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と報告した。

今回、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。マウス脂肪前駆細胞株 3T3-L1、マウス皮下脂肪組織から血小板分化過程のトロンボポエチンと c-mpl 遺伝子発現を検討したところ、トロンボポエチンに関しては、分化誘導前から誘導中に高い遺伝子発現を認め、c-mpl に関しては、分化誘導に伴って遺伝子発現を認めた。マウス皮下脂肪組織を TPO (-) の条件下で血小板への分化誘導を行い、その培養上清中の TPO 濃度を ELISA で測定したところ、day 0 ではバックグラウンドと同等のレベル、day 7 では 29 ± 14 pg/ml、day 12 では 8 ± 2 pg/ml を認めた。3T3-L1 を用いた検討でも同様の結果を得た。3T3-L1、マウス皮下脂肪組織を TPO (+/-) の条件下で血小板へ分化誘導を行ったところ、CD41 発現頻度や DNA ploidy の程度は、いずれの条件にて得られた細胞においても同等であった。マウス皮下脂肪組織からの TPO (-) における血小板分化誘導を c-mpl のブロッキング抗体 AMM2 (+/-) の条件下で行ったところ、AMM2 (+) にて得られた CD41 陽性細胞数は AMM2 (-) に比し、約 10 分の 1 であった。次に、3T3-L1、マウス皮下脂肪組織から TPO (+/-) の条件下それぞれの培養にて得られた巨核球を CFSE ラベルし、血小板減少マウス (7days post-2.0Gy exposure) に輸注後の *in vivo* における血小板産生能、*ex vivo* 流動状態下における血栓形成能を検討した結果、いずれの条件にて得られた細胞においても同等であることを認めた。

以上の結果より、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。現在、この知見の分子機序の解明研究を行っている。

MEMO

