

201324005B

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 23-25 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 26 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 23-25 年度

総合研究報告書

平成 26 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 ----- 1
------------	---------------------

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：藤村欣吾 安田女子大学

倉田義之 四天王寺大学

桑名正隆 慶應義塾大学

研究協力者：降旗謙一 株式会社エスアールエル

宮川義隆 埼玉医科大学

野村昌作 関西医科大学

松原由美子 慶應義塾大学

高蓋寿朗 呉医療センター・中国がんセンター

柏木浩和 大阪大学

西本哲也 慶應義塾大学大学院

特別協力者(疫学班)：杉田 稔 東邦大学

島田直樹 国際医療福祉大学

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 :	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
	上田恭典	倉敷中央病院
	宮田敏行	国立循環器病センター研究所
	宮川義隆	埼玉医科大学
	松本雅則	奈良県立医科大学

TMA グループ研究総括 : 藤村吉博 ----- 34

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	厚生会第一病院
	横山健次	慶應義塾大学
	小林隆夫	浜松医療センター
	榛沢和彦	新潟大学

研究協力者	： 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
	平井久也	浜松医療センター
	尾島俊之	浜松医科大学
	杉浦和子	浜松医科大学
	窓岩清治	自治医科大学

特発性血栓症グループ研究総括	： 小嶋哲人	-----	64
分担研究報告	： 小林隆夫	-----	120

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	133
-------------------	-------	-----

Ⅳ. 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 23-25 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」

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、について、それぞれ 3 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/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。本研究(平成 23-25 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。診断基準の確立（改訂）、治療ガイドラインの作成（改訂）、疫学調査、は共通事項である。一方、病態解明、新規治療の確立については各疾患により状況が異なる。また本研究班では、それぞれ 3 つのサブグループに分かれ課題に取り組んでいるが、3 疾患の病態学や疾患の専門性などの特徴から、専門領域が比較的近い専門家間での情報交換が活発であり、班会議以外での場でもグループ間の相互議論が行い易い状況だった。さらに疫学専門家を交えた疫学調査を実行した。

(1) ITP:本研究班では、いまだ不明である ITP の病態解析とそれに基づく診断法および治療法の開発、ITP の疫学調査と治療実態に関する情報の解析、適正な治療を提唱する治療ガイドラインの策定を大きな目的としており、これらの事項は ITP の臨床において必須の要件である。特に、血漿 TP0 濃度測定に関しては、世界に先駆けて情報を発信してきた。また、ITP を自然発症する制御性 T 細胞欠損マウスの開発は世界でも極めてユニークな実験系である。このように、本研究では現在までに蓄積した申請者らの研究実績をもとに、ITP の診療実態の把握を含め、新たな病態解明と治療法の開発を目指した。

(2) TMA (TTP): 本研究では TTP の病因を明らかにし、早期の診断方法と適切な治療法の確立を目指した。2013 年 12 月までに日本国内の医療機関から

ADAMTS13 解析を依頼された微小血管障害症 (TMA) 症例は 1251 例となった。この症例数は全世界での報告数の約半数であり、遺伝子異常と臨床症状との比較を行っている。また、後天性 TTP において、初期治療は血漿交換であるが、これによって逆にインヒビターが上昇する症例があり、その場合にはリツキシマブが非常に有効であることが報告されている。そのため、リツキシマブの TTP に対する保険適用の拡大が期待されているが、TTP の症例数は非常に少ないことから、本研究班が主体となって医師主導治験を行うことは非常に重要である。

(3) 特発性血栓症：超高齢化社会を迎えた我が国において、加齢とともに増加する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、その予知・予防対策の確立が急務である。本研究班の全国横断的調査研究は日本人での静脈血栓塞栓症発症エビデンスを明らかにする貴重なデータであり、これまでに人種間の血栓性素因の違い、プロテイン S K192E 変異が日本人特有な血栓性素因であることを明らかにしてきた。本研究班では、日本人にも決して少なくない静脈血栓塞栓症のエビデンスを収集するとともに、そ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した。

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はじめとして、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した。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った。

(A) ITP 治療の参照ガイドの作成:作成委員会を立ち上げ数回の会合を開き、意見調整した。まず本研究班でのこれまでの臨床研究成果、並びに国内外の ITP 治療ガイドを参考に原案を作成した。これを本研究班員で構成する ITP 治療の参照ガイド作成委員会のメンバーで意見交換し、加筆、修正を加えた。これをさらに本研究班班員全員に公開し意見聴取を行い、訂正されたものを本研究班の見解と

して日本血液学会雑誌「臨床血液」に公表した。さらに臨床個人調査表の改訂(案)も作成した。

妊娠合併 ITP 診療の参照ガイドの作成に関しては、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した。また、理解を深めるためクリニカルクエスチョン (CQ) 形式も取り入れた。今後、「臨床血液」誌に投稿予定しており、広く公開する予定である。

(B) 全国の ITP 臨床調査個人票の解析、各都道府県からのデータを入手し解析：厚生労働省から提供された調査対象年度における特発性血小板減少性紫斑病患者の臨床個人調査票をもとに解析を行った。また、2001 年度～2010 年度のデータについては特定の患者の 10 年間の臨床経過を詳細に解析し、臨床に還元しうる知見を探索することを試みた。臨床個人調査表を基にした疫学調査は平成 15 年から開始し、本研究事業では平成 21-23 年度をまとめることが出来た。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。

(C) 特異的診断法の開発：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、新たに開発した ITP マウスモデルの解析を行った。TPO 測定、網状血小板比率の測定法の検討を行った。

(D) ITP の病態解析：抗血小板自己抗体のエピトープ解析、モデル動物の作成と解析を行った。

(E) 新規治療法の基礎研究：根治的治療法を開発するために世界発の ITP 自然発症モデルマウスを用いて、血小板抗原に対する免疫寛容を誘導する新規治療法の開発をめざした。

(F) 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：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た。

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。TMA 解析センターとしての活動を継続して日本国内の症例を集積する。その中から、先天性 TTP:USS 症例について同意の得られたものから ADAMTS13 遺伝子解析を実施し、同時に詳細な病歴を聴取し、genotype-phenotype 解析を行った。また、

後天性 TTP については、その自己抗体の認識部位などの基礎的な解析を行うとともに、臨床的に inhibitor boosting に注目して解析する。どのような症例で、血漿交換療法でインヒビターの上昇を認めるのか明らかにした。また、どの時期にインヒビターが上昇するのかを明らかにすることで、ADAMTS13 活性とインヒビターの検査が至適な検査間隔が明らかになることが期待される。本研究班が中心となり、TTP の診断と治療に関する 2 つの医師主導治験を計画した。1 つは、リツキシマブの TTP に対する保険適用取得を目指すものであり、もう 1 つは ADAMTS13 活性とインヒビターの測定のための治験である。前者は日本医師会からの支援を受け、後者は試薬開発業者の協力を得て行うが、両者とも TTP 患者数が少数であることから本研究班が主体となって医師主導治験を行う。そのほか、電気泳動やフローサイトメトリーによる解析、aHUS に関しては、補体系遺伝子のフルシークエンス解析、ADAMTS13 P475S 変異を導入した DTCS ドメイン発現ベクターを作製し、これを結晶化させ X 線回折像を取得した。そのデータから、正常型の構造をもとに立体構造を決定した。USS を疑われた患者およびその家族構成員の DNA 試料を調製し、PCR ダイレクト・シークエンス法によって ADAMTS13 遺伝子の塩基配列を解析した。変異が同定された場合、酵素活性に対する効果を分析した。溶血性尿毒症症候群で、先天性と思われる 10 家系の解析は、補体制御因子などの 6 遺伝子の全てのエクソン領域の塩基配列を解析することにより行った。

本邦 TMA のデータベース：2013 年 12 月までに日本国内の医療機関から ADAMTS13 解析を依頼された微小血管障害症 (TMA) 症例は 1251 例となった。

TTP の診断基準の作成については、国際的な基準との整合性を保つため、英国の TTP 診断基準作成責任者 Scully 先生を日本にお招きし、当研究班の診断基準作成委員会と意見交換を行った。今後、この診断基準について修正を行い、日本血液学会に提出して承認後に、公表する予定である。

また現在までに発見された USS について ADAMTS13 遺伝子解析を実施した。そのうち、9 例がホモ接合体変異、40 例が複合ヘテロ接合体変異であった。これらの日本国内の症例で発見した ADAMTS13 遺伝子変異は、欧米のものとは全く異なることを明らかにした。

難治性、再発性 TTP に対するリツキシマブの医師主導治験の開始については TTP に対するリツキシマブの保険適用取得のため、新たに厚生労働科学研究班を組織し、2016 年 1 月より医師主導治験を開始予定である。この治験は、本研究班のメンバーが主体となり、現在まで本研究班で蓄積してきた成果を基に実施する。

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

を目的とした。全国実態個別調査に基づき、日本人の静脈血栓塞栓症に適したワルファリンの適正使用の指針づくりを目指す、日本人特有な先天性血栓性素因・プロテイン S K196E 変異につき静脈血栓塞栓症の発症・再発予防に資するエビデンスを収集する、日本人での静脈血栓塞栓症の遺伝的背景調査研究を行い、発症リスク変異の同定や再発予防に資するエビデンスを収集する、新潟中越／中越沖／岩手・宮城内陸の各地震、東日本大震災後の被災者に発症した静脈血栓塞栓症の調査を行い、発症予防に資するエビデンスを収集する、日本人での周術期や産婦人科、精神科、内科領域とくに悪性腫瘍患者などでの静脈血栓塞栓症の発生頻度調査を行い、その発症予防対策確立に資するエビデンスを収集する、等を実行した。

(1) 血栓性素因の分子病態解析：血栓症発症症例において、候補遺伝子（生理的凝固制御因子であるアンチトロンビン（AT）、プロテイン C（PC）、プロテイン S（PS）など）の変異解析とその発症分子病態解析、ならびに新たな血栓性素因・ATレジスタンスの症例解析とその検出法開発

(2) 特発性血栓症のリスクファクター：AT・PC・PS 遺伝子の各変異解析結果は、他者からの日本人症例での報告も合わせて、Japanese Thrombophilia Mutation Database (JTMD) として当研究室のホームページに掲載・公表。

(3) 特発性血栓症/静脈血栓塞栓症（深部静脈血栓症、肺動脈血栓塞栓症）で血栓塞栓症の予防目的でワルファリン療法を

施行している患者を対象として、コアグチェックによる PT-INR 値の自己測定の安全性と有効性の検証を行った。

(4) 凝固因子活性およびそのインヒビターの安定性と再現性の高い測定法の開発：難治性疾患としての血栓症の病因解明においては凝固因子を測定する。

(5) 日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略：大阪大学病院独自の肺塞栓症・深部静脈血栓症の予防と治療ガイドラインを 2003 年から使用してきた。その結果、このガイドラインが安価で信頼性の高いことが明らかとなった。

(6) 多発性骨髄腫治療薬 Bortezomib が血小板機能に与える影響の解析：健常人血液に *in vitro* で Bortezomib を添加、各種の方法を用いて血小板機能に与える Bortezomi の影響の解析を行った。

(7) 自家末梢血幹細胞移植療法を施行した日本人多発性骨髄腫患者における動静脈血栓塞栓症発症の後方視的解析：慶應義塾大学病院で自家末梢血幹細胞移植を施行した多発性骨髄腫患者の診療録を参照してデータを収集、静脈血栓塞栓症発症頻度、時期の解析を行った。

(8) 浜松医療センターにおいて入院患者、とくに術前患者において内因性トロンビン産生能（Endogenous Thrombin Potential：ETP）に基づく、活性化プロテイン C 感受性比（Activated Protein C sensitivity ratio：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静脈血栓塞栓症（VTE）予知スクリーニング法を確立する研究を行う。

(9) 新潟県中越地震被災地の小千谷市、十日町市で広報、新聞・ラジオなどのマ

スコミを通じて中越地震および東日本大震災被災者に深部静脈血栓症 (DVT) の検診受診を通知する。検診日は小千谷市、十日町市で 10 月から 12 月までの土日の 2 日間とし、検診当日はアンケート調査、血圧測定、酸素飽和度測定、希望者に採血、下腿の下肢静脈エコー検査を行う。また検診受診者の希望者に DVT 予防の弾性ストッキング配布・着用指導を行う。

結論と今後の展望について

研究期間の 3 年間に診療参照ガイドや疫学調査において成果を充分にあげることができた。ITP については上記実績に加え、ITP 診断に向けた検査の開発ならびに標準化、それらの保険収載などに取り組む必要がある。TMA については多くの TTP 症例を集積して、データベース化をし、TTP 診断基準案が作成されたことより、今後は TTP の治療指針の作成が必要である。TTP の診断指針、治療指針の作成のためには、日本国内で保険適用になっていない ADAMTS13 検査の保険適用取得や TTP におけるリツキシマブ使用を目指して今後も活動する予定である。また特発性血栓症については人種差を認めるものの日本人にも決して少なくない特発性血栓症（静脈血栓塞栓症）の先天的な誘因となる「先天性血栓性素因」について、その診断基準ならびに診療ガイドラインの作成を目指す。なかでも、日本人に頻度の高い「先天性プロテイン S 欠損症」の妊娠合併症例診療ガイドラインの作成は重要な課題である。

グループ研究報告書

平成 23-25 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 安田女子大学 教授
倉田義之 四天王寺大学 教授
桑名正隆 慶應義塾大学医学部 准教授

研究協力者：降旗謙一 株式会社エスアールエル
宮川義隆 埼玉医科大学医学部
野村昌作 関西医科大学 第一内科
松原由美子 慶應義塾大学医学部
高蓋寿朗 呉医療センター・中国がんセンター
柏木浩和 大阪大学大学院医学系研究科
西本哲也 慶應義塾大学医学部

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

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た。疫学研究は臨床個人調査表を基に平成 21～23 年度の本邦における ITP の実態を調査把握した。平成 21～23 年度の解析においても、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。本邦においてヘリコバクタ・ピロリ除菌療法やトロンボポエチン（TPO）受容体作動薬が ITP に保険適用になったことに対応すべく、「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）。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、麻酔科の専門家も参加した作成委員会を組織し、「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」を作成中である。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 抗体のエピトープ解析、血小板減少時の機能検査法の検討、トロンボポエチン受容体作動薬に関する有効性、安全性に関する検討、新たな ITP マウスモデルの開発とその病態解析ならびにそれを用いた新規治療法の検討を行った。

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とその啓蒙（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」の作成および啓蒙を行い、さらに「妊娠合併 ITP 診療の参照ガイド」作成へ向けて作成委員会を立ち上げその草案を作成中である。

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、「治療の参照ガイド」は班会議の ITP サブグループ

班のメンバーを中心に、「妊娠合併 ITP 診療の参照ガイド」については班会議のメンバーを中心に、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んだ。

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、血小板減少状態での血小板機能解析、ITP モデルマウスの作製とそれを用いた分子病態解析と新規治療法の開発、TPO 受容体作動薬による ITP 病態修飾など ITP 病態の解析を行った。

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

疫学調査は平成 15 年から開始しており平成 21~23 年度をまとめることが出来た。

平成 21~23 年度の間、新規患者数 (推計) は、3,075 名、2,933 名、3,567 名、更新患者数も 17,966 名、18,407 名、19,201 名と増加の傾向であった。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。

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・急性型では男女とも 56~85 歳に幅広いピーク (最大ピークは男女とも 71~75 歳) があり、加えて女子では 31~35 歳に小さなピークがあった。男女とも 5 歳以下にも小さなピークがあった。新規・慢性型では、男女とも 51~85 歳に大きなピーク (男で

は 76~80 歳、女では 71~75 歳に最大ピーク) を認めた。女では更に 16~40 歳に幅広いピーク (26~30 歳に最大ピーク) を認めた。16~75 歳で女は男の約 1.3~5.9 倍多かった。一方、76 歳以上では男女差を認めなかった。

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

平成 23 年度での解析では、新規・急性型、慢性型ともにプレドニゾン投与が最多で 84%、62%、次いで急性型では大量 IgG で 31%、慢性型では平成 22 年度より保険適応となったピロリ除菌が 35% であった。平成 22 年 12 月に発売が開始された TPO アゴニストは平成 23 年度にはレボレード 665 名、ロミプレート 117 名で投与されていた。

ピロリ除菌は、この 3 年間、急性型、慢性型とも 30% 台で変化はなかった。

4) 難治症例の頻度

難治症例の定義は明確ではないが、摘脾を含む各種治療を行っても血小板数が低く (血小板数 2 万以下)、出血傾向を示している症例と考え、臨床調査個人票から上記条件にて絞り込み、難治症例数を推計した。

更新申請症例で慢性型 14,992 例を対象とした。まず血小板数 2 万以下の症例に絞り込むと 2,783 例 (18.6%) の症例が対象となった。血小板数 2 万以下の症例を、さらに出血傾向を示していた症例に絞り込むと 2,204 例 (14.7%) が対象となった。出血傾向を示している症例の

うちプレドニゾン治療をされていた症例は1,641例(10.9%)であった。各種治療に抵抗性であるとの考えに従い、摘脾済み症例に絞り込むと大幅に減少し、420例(2.8%)が難治例に相当すると考えられた。

5) 新規症例の検査

新規症例における骨髓検査、PAIgG、抗血小板自己抗体検査、網状血小板検査の実施率を検討した。骨髓検査は急性型で90%、慢性型で87%とほぼすべての症例で実施されていた。ITPに特異的な検査である抗血小板自己抗体検査は5~6%、網状血小板検査は11~14%と実施率は非常に低かった。

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。

6) 個別症例解析の試み

臨床調査表は年度ごとにデータを厚生労働省より提供頂いているが、平成22年度より、個別の症例に関し経年的な追跡

調査を試みている。

7) 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ヵ月以内に寛解する急性ITPと6ヵ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ヵ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とため、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。厚生労働省に改訂案を提出済み。

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)

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治療の参照ガイドを作成し「臨床血液」誌(53巻4号:433-442, 2012; 2012年4月)に掲載し公開した。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。

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)形式も取り入れ作成中である。今後、「臨床血液」誌に投稿予定しており、広く公開する予定である。

3. 個人研究

1) トロンボポエチン受容体作動薬の有効

性と有害事象(藤村班員、高蓋研究協力者)

トロンボポエチン受容体作動薬(TRAs)として、2010年に経口製剤エルトロンボパグ、2011年に注射製剤のロミプラスチムが本邦でも発売され、難治性ITPの治療薬として使用されている。最近、TRAsによる治療によって血小板数が回復した症例の中に、治療を中断しても長期寛解が得られる症例の報告がある。一方、海外で再生不良性貧血に対するTRAsによる治療研究が行われており、少数ではあるが染色体異常を伴う異常クローンが出現した症例があるとの報告がある。今回我々の経験したITP症例の中から、TRAs投与中止後も血小板数が維持された症例と投与開始後数ヶ月で急性骨髄性白血病へと進展した症例を提示した。これらの経験を基に、TRAsの有効性と有害事象についてさらに検討する必要性を明らかにした。他にも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。

2) ITPの病態解析: 特異的診断法開発への試み(富山班員、柏木研究協力者)

ITPは抗血小板自己抗体による血小板破壊および産生障害に基づく血小板減少がその主たる病態であるが、その診断はいまだ除外診断が主体となっている。

ITPでは網状血小板比率(%RP)が増加しており、そのITP診断的意義は大きい。この%RPとほぼ同じ意味で、簡便法であるシスメックスの機器を用いるIPF法が用いられているが、検体の保存状況、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。その改善法を検討すべく、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、ITP と鑑別すべき疾患に遺伝性血小板減少症があげられる。インテグリン α IIb β 3 (GPIIb-IIIa) 変異は、血小板無力症の原因であり、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。しかしながら α IIb (R995W) 変異が本邦の複数の先天性巨大血小板減少症家系に存在することを明らかにした。 α IIb (R995W) 変異をヘテロで有すると α IIb β 3 の発現は正常の 70%程度に低下し、また α IIb (R995W) 変異を CHO 細胞などに発現させると恒常的な α IIb β 3 活性化が認められ、 α IIb β 3 活性化が巨大血小板減少症と関連していると考えられる。さらに、巨大血小板減少症を伴う血小板無力症様患者において新たな変異 α IIb (G991C) を見いだした。本患者では、 α IIb のナンセンス変異と G991C の複合ヘテロであった。その結果、患者では巨大血小板減少症に加え、 α IIb β 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。

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見出した。さらに、局在部位を限定し抗 GPIIb-IIIa 抗体の多くは、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を示した。

自己抗体の結合部位によっては血小板機能が障害され、出血症状を増悪させる可能性がある。しかしながら血小板減少患者の血小板機能を把握することは従来の血小板機能検査では困難であった。本研究ではフローサイトメトリーを用いた血小板機能の多角的な評価方法を確立し、インテグリン α IIb β 3 変異に起因する遺伝性血小板減少症患者における血小板機能異常を解析した。

3) モデルマウスを用いた ITP の根治的治療法の開発 (桑名班員、西本研究協力者)

BALB/c ヌ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 (Treg 欠損マウス)。この ITP モデル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。

次に、ITP に対する新たな治療として抗 CD154 抗体を用いた免疫寛容導入療法に着目し、本モデルマウスを用いた検討

を予定した。理論的に副刺激遮断は抗原曝露時に最大の効果が得られることから、トロンボポエチン (TPO) 投与後の血小板増加時に抗 CD154 抗体を投与するプロトコルを立案した。予備実験では、予想に反して TPO 投与のみで血小板が長期に渡って増加した。そこで、TPO 投与が ITP 病態に及ぼす効果とそのメカニズムについて検討するため、ITP マウスに TPO または溶解液のみを 5 日間連日静脈内投与し、血小板数、GPIb 反応性 CD4⁺T 細胞の抗原特異的な増殖反応を 4 週間以上に渡って観察した。さらに、血小板増加に伴い Treg が誘導された可能性を検証するため、脾細胞における Treg 比率、血漿中 TGF- β 濃度を測定した。TPO 投与マウスでは血小板数の持続的な回復が再現された。TPO 投与マウスの脾細胞では GPIb 反応性 T 細胞の増殖反応の抑制と CD4⁺CD25^{hi}Foxp3⁺Treg 比率の増加がみられ、その機序として TGF- β による Treg 誘導促進が想定された。以上の結果から、TPO 投与は血小板産生促進だけでなく Treg 分化誘導を介して ITP の自己免疫病態を是正する可能性ある。本作用メカニズムは免疫寛容を誘導する ITP の根治的治療法の開発に応用可能である。また、ITP モデルマウスは新規治療法の開発にきわめて有用であることが確認された。

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た。さらに、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。ITP 診療の参照ガイドを示し、さらには妊娠合併 ITP 診療の標準化をめざし、班会議の枠を超え、小児科、産科、麻酔科のエキスパートと妊娠合併 ITP 治療の参照ガイドを作成し、その完成の近い所まできている。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。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予定である。

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。