

(1) 凝固因子インヒビター測定法における血漿 pH の安定化法とその応用

(2) 日本の現状に即した肺血栓塞栓症の予防戦略

(ガイドライン問題の法的解決)

川崎富夫<sup>1</sup>、末久悦次<sup>2</sup>、竹尾映美<sup>2</sup>、岸 可那子<sup>2</sup>

1 大阪大学心臓血管外科 2 大阪大学医療技術部

(1) 凝固因子インヒビターの測定は保存凍結血漿を溶融させ、Bethesda 法を用いて行う。反応溶液中の温度上昇と pH 上昇により、特に第 V、第 VIII 凝固因子の活性が低下する。この影響は、凝固因子インヒビターを擬陽性とするだけでなく、ADAMTS 1 3 の測定結果にも及ぶ。この問題は、HEPES 緩衝液 (pH 7.35) を用いることと、容積比を考慮することによりにより、解決できることを明らかにした。この結果、凝固因子検査における施設間格差を解消できる。

(2) 当研究班では、肺血栓塞栓症予防だけでなく、様々な医療ガイドラインを作成する。だが医事関係訴訟が発生した際には、医療側の作成意図から離れて、不本意にも医師の注意義務違反を指摘する手段として利用されている。これはガイドラインの使用者と作成者に大きな負担となっている。この問題を解決するため、日本医事法学会、日本生命倫理学会、そして医療と司法の架橋研究会等において、医と法の対話を続けてきた。司法側がその考え方を明らかにすることはほとんどない。そのような中で、最近、司法側に変化があらわれた。平成 24 年 12 月 10 日大阪大学医学部で開催された「医療訴訟ガイダンス」において、大阪地方裁判所医療集中部の中村也寸志裁判長から、「ガイドラインの前書き等を必ず確認して、裁判においてガイドラインが過度に医療側の負担とならないように配慮している」との非常に前向きな説明があった。今後ガイドラインの作成者と使用者は、(これまで通りに過ぎないのだが)「前書き」に特に注意する必要がある。

## 不育症を対象とした先天性血栓性素因に関する研究

国立循環器病研究センター 分子病態部 宮田敏行、小亀浩市  
国立循環器病研究センター 周産期婦人科 根木玲子、吉松 淳、池田智明  
大阪府立母子保健総合医療センター 藤田富雄、光田信明  
大阪医科大学 産婦人科 藤田太輔、大道正英  
市立貝塚病院 産婦人科 井阪茂之、長松正章

目的：欧米では、不育症と Factor V ライデン変異やプロトロンビン G20210A 変異などの先天性血栓性素因との関連が報告されているが、日本人にはこれら変異は認めず、人種別の解析が重要である。そこで、わが国の不育症と先天性血栓性素因との関連性を明らかにするため、遺伝子解析による検討を行った。

対象：以下の不育症患者、合計 332 例を対象とした。1) 2 回以上連続する原因不明の反復あるいは習慣流産 (recurrent miscarriage) 患者 234 例、2) 妊娠 22 週以降の子宮内胎児発育遅延 (fetal growth restriction, FGR) あるいは子宮内胎児死亡 (intrauterine fetal death, IUFD) を 1 回以上認める患者 98 例、但し、抗リン脂質抗体症候群などの免疫異常、染色体異常、糖尿病、甲状腺機能異常などの内分泌・代謝性疾患、感染症、子宮奇形などが明らかなものは除外した。

方法：患者血球試料から DNA を調製し、プロテイン S 遺伝子 (*PROS1*)、プロテイン C 遺伝子 (*PROC*)、アンチトロンビン遺伝子 (*SERPINC1*) の各遺伝子のタンパク質コード領域およびその近傍を PCR 法で増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。倫理委員会承認の上、インフォームド・コンセントを得て行った。

結果：不育症患者 332 名の 3 種の抗凝固因子の遺伝子解析では、4.8% (16 名) に変異を認め、そのうちの 56% (9 名) にプロテイン S 遺伝子に変異を認めた。日本人に多いとされる、プロテイン S K196E 変異は不育症患者では多くなかった。プロテイン S K196E 変異を除くと、反復あるいは習慣流産患者では、3 種の抗凝固因子のまれな変異は 3.3% に見られた。一方、子宮内胎児発育遅延 (FGR) あるいは子宮内胎児死亡 (IUFD) を認める患者 98 名では、1 名のみにまれな変異を認めた。

結論：反復あるいは習慣流産の患者には、先天性血栓性素因を持つ例があることが明らかとなった。

# 自家移植 (ASCT) を施行した、比較的若年の日本人多発性骨髄腫 (MM) 患者における血栓症発症の解析

慶應義塾大学医学部血液内科 横山 健次

## 背景

MM 患者では他の悪性腫瘍患者と同様に静脈血栓塞栓症 (VTE)、動脈血栓症 (AT) 発症率が高いことが報告されている (*Kristinsson SY, et al. Blood 2011*)。欧米における MM 患者の VTE 発症率は、従来の化学療法を施行された患者で 5%、thalidomide (Thal)、lenalidomide (LEN) 投与を受けた患者では 10-30%と報告されている (*Zamagni E, et al. Semin Thromb Haemost 2011*)。また AT 発症が 5.6%の患者でみられたことも報告されている (*Libourel EJ, et al. Blood 2011*)。今回日本人 MM 患者における血栓症発症率を検討することを目的として本解析を施行した。

## 方法

2000 年-2010 年に慶應義塾大学病院で ASCT を施行した MM 患者 98 人を対象として血栓症発症率を解析した。VTE 何らかの症状を有して画像検査で確認されたものを VTE 発症とした。また AT は症状を有して冠動脈疾患、脳梗塞、末梢動脈閉塞症と確定診断されたものを AT 発症とした。

## 結果

対象患者は 98 人 (男 48 人、女 50 人)、診断時年齢中央値は 54 (28-65) 歳、観察期間中央値は 44.5 (10-147) ヶ月、寛解導入療法は VAD 95 人 (97%)、その他が 3 人、48 人が 1 回、50 人が 2 回の ASCT を施行されていた。Thal/LEN は ASCT 前に 5 人 (5%) , ASCT 後に 44 人 (45%) で投与されていた。VTE は 7 人 (寛解導入療法施行中 3 人、ASCT 施行時 2 人、ASCT 後病勢増悪期 2 人) で発症した。ASCT 施行時まで発症した 5 人では、発症時までの Tha/LEN 投与歴はなかった。AT は診断後 9 年に 1 例のみで発症した。

## 結論

ASCT 施行対象となる比較的若年の MM 患者における VTE 発症率は欧米での報告と大きな差はなかった。一方で AT 発症率は低い可能性が示唆された。

## 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

浜松医療センター 小林 隆夫、平井 久也

【研究目的】浜松医療センターでは入院患者、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っている。この研究の中でプロテインS (PS) も測定しているので、APC-sr と PS との関連性、およびPS抗原とPS活性の比活性からVTEの予知が可能かどうか検討する。【方法】ETPとは、合成基質 (S-2238) を用いて血漿中のトロンビン産生を経時的に測定する方法で、現在では合成基質に変わり蛍光基質 (ZGGR-AMC) を用いた測定法となっている。本測定系にAPCを添加・反応させることでETPを抑制することができるため、患者血漿と正常男性コントロール血漿に8.7nMのAPCを添加した際のETPの抑制率を比で表したものをAPC-srとして算出する。浜松医療センター入院患者において、倫理委員会で承認された本研究に同意が得られた患者血漿のETPおよびAPC-srを測定するが、同時にまた、PS抗原 (total と free) およびPS活性 (シノテスト法) も測定して個々の相関を検討した。手術予定患者は、術前 (入院時)、術後1日、(術後4日)、術後7日、術後14日もしくは退院前の4~5回の採血となる。なお、研究対象患者は、入院時 (手術前) および退院前に超音波検査で深部静脈血栓症 (DVT) の有無を検索し、臨床経過の参考にする。さらに研究に同意が得られたVTE患者も同様に測定し、陽性対象として解析した。【結果および考察】現在解析が終了している帝王切開 (6例)、外科・婦人科悪性腫瘍 (30例)、整形外科下肢手術 (20例) の計56例、およびVTE22例 (肺塞栓症16例、DVT単独6例) で検討した。また悪性腫瘍術後症例で1例にDVTが発症した。現在判明していることとして、1) 妊産婦では帝王切開術前術後ともETPとAPC-srは高い。悪性腫瘍患者では術前のETPとAPC-srはやや高く、術後3-4日目にかけて増加した。整形外科患者では術前のETPとAPC-srはほぼ正常であるものの術後に増加し、4日目に最大となった。2) PS抗原 (total と free) およびPS活性は、悪性腫瘍患者と整形外科患者では術後1日目に減少するものの術前および術後4日目以降は正常であった。妊産婦では帝王切開術前はいずれも50%前後と低値を示し、術後4日目にかけて回復する傾向にあった。3) PS抗原とPS活性の比活性が0.7 (-3SD) 未満を呈した症例はVTE19例中7例、肺塞栓16例中6例であり、そのうちPS活性60%未満はVTE19例中5例、肺塞栓16例中4例であった。PSのII型欠乏症が疑われた。4) APC-srとfree PS抗原・PS活性の間には負の相関がみられ ( $P < 0.01$ )、APC-srの増加とPSの減少との関連性が示唆された。5) 予防的抗凝固薬投与中はETPとAPC-srともに抑制されるが、抗凝固療法施行前に採血できたVTE患者14例のAPC-srは $2.92 \pm 1.47$ で、悪性腫瘍患者術前の $1.27 \pm 0.68$ と整形外科患者術前の $1.27 \pm 0.69$

より有意に高かった ( $P < 0.01$ )。また、術後 DVT 症例では 2.76 と高値で、かつ PS 比活性は 0.61 と低値であった。すなわち、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判明した。

## 肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究

|       |                  |    |      |
|-------|------------------|----|------|
| 研究責任者 | 三重大学大学院循環器・腎臓内科学 | 助教 | 太田覚史 |
| 共同研究者 | 三重大学臨床心血管病解析学    | 教授 | 中村真潮 |
|       | 三重大学大学院循環器・腎臓内科学 | 講師 | 山田典一 |
|       | 浜松医療センター         | 院長 | 小林隆夫 |

肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症（両者を合わせて VTE と呼ぶ）は日本人においても急増傾向にあり、その診断・治療・予防法の確立は喫急の課題である。しかし、欧米人と日本人では VTE の特徴が異なる可能性が高いため日本人の発生頻度などわが国独自の情報が必要となるが、日本人を対象とした臨床研究はきわめて少ない。

VTE の確定診断数の調査は、厚生労働省の科学研究などでこれまで数回行われ、日本人での確定診断数は米国の約 20 分の 1 と報告されている。今回の調査は、これまでの発生頻度調査を引き継いで行うアンケート調査であり、本年度 1 年間の全国での VTE の発生数を推定するものである。具体的には平成 23 年 11 月 1 日から平成 23 年 12 月 31 日までに診断された肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症の患者数、ならびにそのリスク因子などの基本情報を収集した。

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）から回答をいただいた（回答率 29.0%）。

回答いただいた施設において、1964 件（男性 34.4%）の静脈血栓塞栓症が診断されており、初期診断が肺血栓塞栓症であったものが 778 件（男性 37.5%）、深部静脈血栓症であったものが 1186 件（男性 32.3%）であった。肺血栓塞栓症の内訳として、発症時に心停止していたものが 39 例（5.0%）、広範囲型が 64 例（8.2%）、亜広範囲型が 243 例（31.2%）であり、非広範囲型が 369 例（47.4%）であった。深部静脈血栓症において血栓先進部が下大静脈のものが 39 例（3.3%）、右腸骨静脈が 69 例（5.8%）、左腸骨静脈が 155 例（13.1%）、右大腿静脈が 160 例（13.5%）、左大腿静脈が 189 例（15.9%）であった。また、右下腿が 329 例（27.7%）、左下腿が 365 例（30.8%）と、下腿に限局した血栓の指摘も多く認められた。今後、それぞれがもつリスク因子や治療法などの詳細に関し解析を進める予定である。

## 震災被災者における DVT の研究 : 中越地震 8 年後の DVT 検診及びイタリア北部地震(エミリア地震)における VTE の調査

新潟大学 榛沢和彦

平成 24 年 11 月 24 日、25 日に新潟県小千谷市、12 月 8 日、9 日に新潟県十日町市で新潟県中越地震被災者の震災 8 年後の DVT 検診を行った。市の広報、新聞、ラジオなどのマスコミで検診の案内を行い、これまでに DVT 検診を受診された約 2000 人に葉書で通知を行った。検診では血圧測定、酸素飽和度測定、下腿静脈のエコー検査、希望者に採血し D ダイマー値測定を行った。また一部に NT-proBNP 値を形態型の測定装置(COBAS123、ロッシュ)を用いて測定した。さらに希望者に中圧相当のハイソックス型弾性ストッキングの無償配布と着用指導を行った。またほぼ同様のやり方で平成 24 年 10 月 28 日に東日本大震災の岩手県田野畑村仮設住宅、11 月 4 日に岩手県宮古市仮設住宅において DVT 検診を行い、NT-proBNP 値と D ダイマー値測定を受診者全員に行った。まず小千谷市では 860 人(平均年齢  $68.2 \pm 9.9$  才、男 260 人、女 600 人)が受診し、DVT は 59 人(6.9%)に認めた。検診を初めて受けた方は 211 人で、11 人(5.2%)に DVT を認めた。十日町市では 557 人(平均年齢  $68.8 \pm 10.2$  才、男 112 人、女 445 人)が受診し、DVT は 62 人(11.3%)に認めた。このうち検診を初めて受けたのは 250 人で、18 人(7.2%)に DVT を認めた。小千谷市の初日検査における連続例の COBAS123 による D ダイマー値平均は  $0.42 \pm 0.53 \mu\text{g/ml}$  ( $n=293$ )、NT-proBNP 値平均は  $157.8 \pm 358.8 \mu\text{g/ml}$  ( $n=244$ )であった。十日町市の COBAS123 による D ダイマー値は  $0.38 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$  ( $n=341$ )、NT-proBNP 値は  $139.7 \pm 175.9 \mu\text{g/ml}$  であった。また小千谷市と十日町市の検診受診者において DVT 陽性者で有意に単変量解析においてオッズ比 3.3 で震災後に脳梗塞を発症していた( $p < 0.01$ )。さらに未だ解析が終わっていないが、以前の検診で DVT を認めた被災者が少なくとも 6 人その後に肺塞栓症を発症していた。一方、東日本大震災被災地の田野畑村仮設住宅では 46 人( $67.8 \pm 11.0$  才)が受診し DVT を 6 人(13.0%)に認め、D ダイマー値平均は  $0.45 \pm 0.66 \mu\text{g/ml}$ 、NT-proBNP 値平均は  $272.5 \pm 383.8 \mu\text{g/ml}$  であった。宮古市仮設住宅では 97 人(平均年齢  $68.7 \pm 12.7$  才)が受診し 4 人(4.1%)に DVT を認め、D ダイマー値平均は  $0.52 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ 、NT-proBNP 値平均は  $157.7 \pm 265.3 \mu\text{g/ml}$  であった。さらに田野畑村仮設、宮古市仮設では収縮期血圧(SBP) $>140\text{mmHg}$  または拡張期血圧(DBP) $>90\text{mmHg}$  の高血圧群が全体のそれぞれ 67.4%、66%であったが、十日町市では 34.0%であった。また高血圧群における NT-proBNP $>250 \mu\text{g/ml}$  の割合は田野畑村仮設、宮古市仮設、十日町市においてそれぞれ 28.3%、14.1%、12.0%であり、田野畑村仮設で高血圧群の NT-proBNP が高値であった。以上のことから中越地震後 8 年が経過しているが、未だに小千谷市、十日町市では DVT 陽性率が高く、東日本大震災被災地の宮古市仮設住宅の被災者よりも陽性率が高い。一方、田野畑村仮設では宮古市仮設や十日町市住民よりも DVT 陽性率と NT-proBNP 平均値が高く、高血圧群における NT-proBNP $>250 \mu\text{g/ml}$  の割合も多かった。宮古市仮設は NT-proBNP 平均値及び高血圧群における NT-proBNP $>250 \mu\text{g/ml}$  の割合は十日町市とほぼ同程度であった。仮設住宅被災者の DVT 陽性率は活動性低下を、NT-proBNP 平均値が高いこと及び高血圧群の NT-proBNP $>250 \mu\text{g/ml}$  の割合が多いことは高血圧性心負荷が多いこと、すなわち降圧剤服用をしていない被災者が多いことを示し病院受診行動が少ないことを示唆し

ていると考えられる。このことは東日本大震災被災者の仮設住宅における環境条件は様々であり、場所によって二次的健康被害を引き起こす可能性があることを示唆しており早急な対応が必要である。

平成 24 年 5 月 20 日から 6 月 4 日にかけてイタリアのエミリア・ロマーニャ州モデナ県の内陸部においてマグニチュード 5-6 の地震が少なくとも 7 回広い範囲にわたって発生した（イタリア北部地震）。このためモデナ州では 7 月に入っても約 2 万人以上が避難所で生活していた。そこでイタリアの震災後の避難所について日本との比較を行うため現地調査を行った。イタリアでは体育館であれ、テントであれ 48 時間以内にすべての被災者に簡易ベッドが使用できるようにしており、雑魚寝の避難所は 24-48 時間以内であり、2 ヶ月以上雑魚寝で避難生活をしている日本とは様相が異なっていた。また調査を進めるうちにこのイタリア北部地震では新潟県中越地震と同じような小型車による車中泊が地震直後に多数の被災者で行われたことが判明した。その数は約 2 万人以上と言われているが正確な数字は不明である。そのため車中泊による肺塞栓症が発生したことも明らかになり、モデナ市内の救急病院で調べて頂いたところ、震災後 2 ヶ月以内に症候性 DVT が 48 人、症候性肺塞栓症が 36 人救急搬送されていた。この肺塞栓症では 4 人が亡くなり、1 人は重症脳障害を合併していた。震災後 2 ヶ月間の DVT と肺塞栓症の救急搬送数は前年のそれぞれ 1.5、2.0 倍になっており、震災により増加していることが示唆された。以上のことから震災後の静脈血栓塞栓症 (VTE) は日本だけでなく世界中で問題となる可能性が示唆された。その経済性や環境性から小型車が世界中で販売数を伸ばしており、急速に普及しつつあることから、世界中で震災後の車中泊避難による VTE の発症の危険があると考えられる。今後は新潟県中越地震における車中泊による VTE の危険性について慢性期の問題を含めて世界に発信していく必要があると考えられた。



## 鉄観音茶の中止後に血小板数が増加した難治性 ITP の 1 症例

高蓋 寿朗<sup>1)</sup>, 藤村 欣吾<sup>2)</sup>

1) 西神戸医療センター 免疫血液内科,

2) 安田女子大学薬学部

【症例】78歳，女性【経過】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った．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．

【考察】本例においては「鉄観音茶」のchallenge test等は施行しておらず，自然経過で血小板数が改善した可能性も否定はできない．しかし，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には注意が必要である．

### 【参考文献】

1. Azuno Y et al. Thrombocytopenia induced by Jui, a traditional Chinese herbal medicine. Lancet 1999, 354: 304-305.
2. Ohmori T et al. Acute thrombocytopenia induced by Jui, a traditional herbal medicine. J Thromb Haemost 2004, 2: 1479-1480.
3. Royer DJ et al. Thrombocytopenia as an adverse effect of complementary and alternative medicines, herbal remedies, nutritional supplements, foods, and beverages. Eur J Haematol 2010, 84: 421-429.

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。

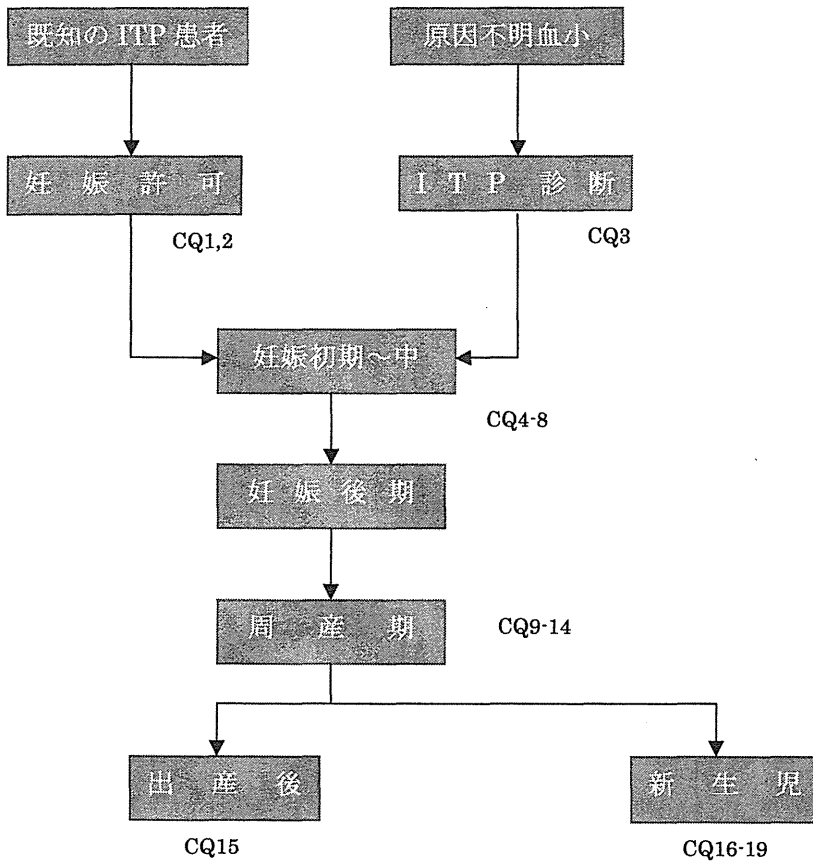
| 専門分野  | 委員名 (所属)   |
|-------|--|
| 血液内科  | 宮川義隆 (慶大)、柏木浩和 (阪大)、高蓋寿朗 (西神戸医療セ)、藤村欣吾 (安田女子大)、桑名正隆 (慶大)、倉田義之 (四天王寺大)、村田満 (慶大)、富山佳昭 (阪大) |
| 小児科   | 今泉益栄 (宮城県立こども病院)、高橋幸博 (奈良医大)、松原康策 (西神戸医療セ)   |
| 産科    | 小林隆夫 (浜松医療センター)、木村正 (阪大)、安達知子 (愛育病院)、渡辺尚 (自治医科大学)  |
| 産科麻酔科 | 照井克生 (埼玉医大)  |

### (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臨床的・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？  
(経膣分娩、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？

ITP 患者の PA anti- $\alpha$  IIb  $\beta$  3 抗体の多くは  $\alpha$  IIb の  $\beta$ -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- $\alpha$  IIb  $\beta$  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  $\alpha$  IIb  $\beta$  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  $\alpha$  IIb  $\beta$  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  $\alpha$  IIb  $\beta$  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- $\alpha$  IIb  $\beta$  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  $\beta$  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- $\alpha$  IIb  $\beta$  3 抗体の大部分において、 $\kappa/\lambda$  鎖の偏りが観察された。

**【結語】** ITP 患者の PA-anti- $\alpha$  IIb  $\beta$  3 抗体は  $\alpha$  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。

## ITP マウスモデルにおける GPIIb 反応性 CD4<sup>+</sup>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<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>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<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>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  $0.33 \times 10^6/\mu\text{l}$  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 ( $10 \cdot \text{g}/\text{mL}$ ) で 7 日間培養した。その際、培養終了 16 時間前に [<sup>3</sup>H] 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 ( $5 \cdot \text{g}/\text{mL}$ ) 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<sup>+</sup>T 細胞が増殖していると考えられた。



## 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  $29 \pm 14$  pg/ml、day 12 では  $8 \pm 2$  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。

平成 23 年度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班

第 1 回班会議

日時：平成 23 年 9 月 9 日（金）午前 10 時～午後 5 時終了予定

場所：慶應義塾大学病院 新棟 11 階中会議室

プログラム・抄録集

研究代表者 村田 満

平成 23 年度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班

第 1 回班会議 プログラム

日時：平成 23 年 9 月 9 日（金）午前 10 時～午後 5 時終了予定

場所：慶應義塾大学病院 新棟 11 階中会議室

（サブグループ研究計画：25 分 各個人研究計画：10 分 討論含む）

10：00～ 研究代表者 挨拶 村田 満

10：05～ 厚生労働省健康局疾病対策課 中川 義章 様

10：10～ 特発性血栓症研究班 研究計画 小嶋 哲人

サブグループリーダー：小嶋 哲人 名古屋大学医学部

班員： 坂田 洋一 自治医科大学

川崎 富夫 大阪大学医学部

宮田 敏行 国立循環器病研究センター

横山 健次 慶應義塾大学医学部

小林 隆夫 県西部浜松医療センター

榛沢 和彦 新潟大学教育研究院

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

平井 久也 浜松医療センター／太田 覚史 三重大学医学部附属病院

10：35～ TMA 研究班 研究計画 藤村 吉博

サブグループリーダー：藤村 吉博 奈良県立医科大学

班員： 和田 英夫 三重大学医学部

小亀 浩市 国立循環器病研究センター

研究協力者：

森木 隆典 慶應義塾大学医学部／日笠 聡 兵庫医科大学血液内科

松本 雅則 奈良県立医科大学／上田 恭典 倉敷中央病院

11：00～ I T P 研究班 研究計画 富山 佳昭

サブグループリーダー：富山 佳昭 大阪大学医学部

班員： 藤村 欣吾 広島国際大学薬学部

桑名 正隆 慶應義塾大学医学部

倉田 義之 四天王寺大学

研究協力者：

降旗 謙一 株式会社エスアールエル／野村 昌作 関西医科大学 第一内科

宮川 義隆 慶應義塾大学医学部／柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科

高蓋 寿朗 西神戸医療センター

11：25～12：30 昼休み

12 : 30～13 : 50

特発性血栓症班研究報告：司会 小嶋 哲人

小嶋哲人 「血栓性素因の分子病態解析」

坂田洋一・窓岩清治「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」

川崎富夫 「1. 大阪大学病院ガイドラインの運用結果 2. 血漿の凍結融解における凝固因子の安定性の検討 3. 緊急危険情報」

宮田敏行 「プロテインS K196E 変異の血栓症における重要性」

横山健次 「造血器悪性腫瘍患者と血栓症発症」

小林隆夫 「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

ー内因性トロンビン産生能 (ETP)を用いた活性化プロテインC感受性比 (APC-sr) ー」

榛沢和彦 「震災被災者のVTEについての調査・研究」

太田覚史 「肺血栓塞栓症・深部静脈血栓症 発症数の全国調査研究」

13 : 50～14 : 30

TMA班研究報告：司会 藤村 吉博

藤村吉博・松本雅則 「汎用生化学自動分析装置で測定可能な ADAMTS13 活性測定法の開発」

和田英夫・伊藤尚美「DIC 患者における 血漿中 ADAMTS13, Von Willebrand Factor (VWF) ならびに VWF Propeptide の動態」

小亀浩市 「血栓性血小板減少性紫斑病の責任遺伝子 ADAMTS13 に関する研究」

猪狩敦子、森木隆典 「後天性 TTP 患者における ADAMTS13 機能ドメイン特異的自己抗体の定量的解析の試み」

14 : 30～14 : 50 休憩

14 : 50～15 : 50

ITP班研究報告：司会 富山 佳昭

藤村欣吾・高蓋 寿朗 「ITP治療の参照ガイド作成について」

倉田義之 「特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査」

宮川義隆 「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」

富山佳昭・柏木 浩和 「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」

桑名正隆・西本哲也 「モデルマウスを用いた ITP の根治的治療法の開発」

松原由美子「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：  
皮下脂肪組織からの巨核球分化・血小板産生機構の解明」

終了

平成 23 年度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班 研究代表者：村田 満

事務局：慶應義塾大学医学部臨床検査医学 村田教授室 Tel : 03-5363-3838 内線 62553