

of thrombocytopenia [14]. In fact, exclusion of 14 ITP patients treated with TPORA led to the decrease in the sensitivity of these assays [IPF% (XE) 78.8 %, IPF% (XN) 81.8 %, and RP% 90.9 %] (Table 2). ROC curve for IPF% (XE), IPF% (XN), and RP% showed area under curve (AUC) of 0.86, 0.96, and 0.96, respectively, indicating that IPF% measured by XN-1000 may be comparable with RP% by flow cytometry.

In summary, the data obtained from our study suggested that IPF% measured by XN-1000 may be of comparable value with RP% as a supportive diagnostic test in distinguishing between thrombocytopenic disorders due to early platelet destruction such as ITP and aplastic thrombocytopenic disorders such as aplastic anemia. In addition, automated hematology analyzer is easy to handle and suitable for daily practice. Limitation of our study is that we examined patients with definitive diagnosis from single institute. Multi-center prospective study would be necessary to further confirm our data.

Acknowledgments This work was supported by Grant-in Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in Japan and the Ministry of Health, Labor and Welfare in Japan.

Conflict of interest Automated hematology analyzers, XE-2100 and XN-1000, were supplied by Sysmex Corp. During this study the authors have no other COI to declare.

References

- Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*. 2002;346:995–1008.
- McMillan R. The pathogenesis of chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol*. 2007;44:S3–11.
- Kashiwagi H, Tomiyama Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia. *Int J Hematol*. 2013;98:24–33.
- Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold DM, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood*. 2009;113:2386–93.
- Brighton TA, Evans S, Castaldi PA, Chesterman CN, Chong BH. Prospective evaluation of the clinical usefulness of an antigen specific assay (MAIPA) in idiopathic thrombocytopenic purpura and other immune thrombocytopenias. *Blood*. 1996;88:194–201.
- McMillan R, Wang L, Tani P. Prospective evaluation of the immunobead assay for the diagnosis of adult chronic immune thrombocytopenic purpura (ITP). *J Thromb Haemost*. 2003;1:485–91.
- Tomiyama Y, Kosugi S. Autoantigenic epitopes on platelet glycoproteins. *Int J Hematol*. 2005;81:100–5.
- Kosugi S, Kurata Y, Tomiyama Y, Tahara T, Kato T, Tadokoro S, et al. Circulating thrombopoietin level in chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 1996;93:704–6.
- Emmons RV, Reid DM, Cohen RL, Meng G, Young NS, Dunbar CE, et al. Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction. *Blood*. 1996;87:4068–71.
- Kurata Y, Hayashi S, Kiyoi T, Kosugi S, Kashiwagi H, Honda S, et al. Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycofibrin, and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol*. 2001;115:656–64.
- Kienast J, Schmitz G. Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders. *Blood*. 1990;75:116–21.
- Richards EM, Baglin TP. Quantitation of reticulated platelets: methodology and clinical application. *Br J Haematol*. 1995;91:445–51.
- Kuwana M, Kurata Y, Fujimura K, Fujisawa K, Wada H, Nagasawa T, et al. Preliminary laboratory based diagnostic criteria for immune thrombocytopenic purpura: evaluation by multi-center prospective study. *J Thromb Haemost*. 2006;4:1936–43.
- Barsam SJ, Psaila B, Forestier M, Page LK, Sloane PA, Geyer JT, et al. Platelet production and platelet destruction: assessing mechanisms of treatment effect in immune thrombocytopenia. *Blood*. 2011;117:5723–32.
- Hayashi S, Nishiyama M, Suehisa E, Kashiwagi H, Kurata Y, Tomiyama Y. Comparison between two methods for the measurement reticulated platelet and their clinical significance—flow cytometry (FCM) method and IPF method using automated hematology analyzer (XE-2000). *Rinsho Byori*. 2009;57:1039–44.
- International agranulocytosis and aplastic anemia study. Incidence of aplastic anemia: the relevance of diagnostic criteria. By the International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. *Blood*. 1987;70:1718–21.
- van der Linden N, Klinkenberg LJ, Meex SJ, Beckers EA, de Wit NC, Prinzen L. Immature platelet fraction measured on the Sysmex XN hemocytometer predicts thrombopoietic recovery after autologous stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2014;93:150–6.
- Junt T, Schulze H, Chen Z, Massberg S, Goerge T, Krueger A, et al. Dynamic visualization of thrombopoiesis within bone marrow. *Science*. 2007;317:1767–70.
- Zhang L, Orban M, Lorenz M, Barocke V, Braun D, Urtz N, et al. A novel role of sphingosine 1-phosphate receptor S1pr1 in mouse thrombopoiesis. *J Exp Med*. 2012;209:2165–81.
- Kienast J, Schmitz G. Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders. *Blood*. 1990;75:116–21.
- Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, et al. Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the XN-series automated hematology analyzers. *J Clin Lab Anal*. 2014;28:341–8.

血小板減少の分子機構

富山佳昭

Tomiyama Yoshiaki

大阪大学医学部附属病院 輸血部

Summary

循環血液中の血小板数は、血小板の産生、破壊、分布のバランスにより一定数に保たれており、何らかの原因によりこれらのバランスが崩れることにより血小板減少をきたす。つまり血小板減少の成因は、血小板の産生低下、破壊の亢進、もしくは分布異常（もしくは希釈）のいずれかに分類される。それぞれの疾患の分子病態が明らかとなりつつあるが、網状血小板比率と血漿トロンボポエチン濃度測定により、血小板産生低下と破壊亢進を効率よく鑑別できる。

Key Words

・ EDTA依存性偽性血小板減少症 ・ 血小板産生 ・ 血小板寿命 ・ 血小板分布異常

はじめに

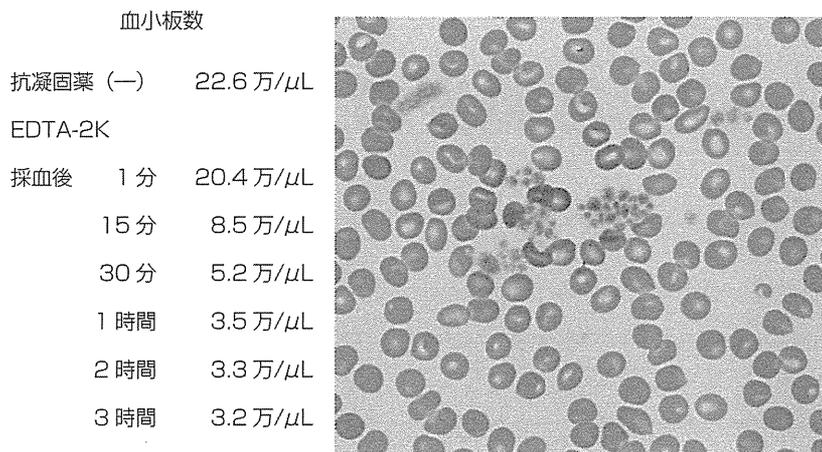
血小板は核をもたない微小な細胞で、直径約 $2\mu\text{m}$ の円盤または碁石状の形状を有しており、末梢血中には約 $15\sim 35$ 万/ μL の血小板が循環している。血小板は止血機構に必要な不可欠な細胞で、血管損傷時にすみやかに損傷部位に粘着し止血する。肝疾患などでは血小板数 15 万/ μL 未満への減少を肝線維化の指標としているが、一般的には血小板数が 10 万/ μL 未満に減少した場合、血小板減少とすることが多い。出血傾向が明らかになるのは血小板数が約 5 万/ μL 未満の場合である。血小板減少の分子病態を鑑別するためには、血小板の産生、寿命、分布などの過程を理解する必要がある¹⁾。

血小板は巨核球造血の最終産物として放出（産生）される。1994年のトロンボポエチンの同定以来、巨核球の分化・成熟過程、さらには最近ではリアルタイム生体内

イメージングによる解析にて血小板放出過程の詳細が明らかにされつつある²⁾。巨核球はきわめてユニークな細胞で、核のDNA量は倍加するが細胞質の分裂はおこらず核が多倍体化し大型となる。分化・成熟するに伴い骨髓内の類洞の近傍に局在し、血管内腔にproplateletと呼ばれる突起様構造物を伸展させ、血小板を血管内に放出する。産生された血小板は循環血液中で約7~10日間の寿命を有し、老化とともに主として脾臓、肝臓の網内系にて処理される。また血小板全体の約3分の1は脾臓にプールされる。循環血液中の血小板数は、これら産生、破壊、分布のバランスにより一定数に保たれており、これらのバランスが崩れることにより血小板減少をきたす。

1. 血小板減少と出血傾向

血小板数が 10 万/ μL 未満に減少しても、すぐに出血



図① EDTA 依存性偽性血小板減少症

EDTA 採血時，EDTA 依存性の抗体により血小板が採血後時間とともに凝集するため，みかけ上血小板数が低値となる．治療は不要である．

左：自験例における血小板減少の経時的変化

右：採血 1 時間後の末梢血塗抹標本

EDTA：ethylenediaminetetraacetic acid（エチレンジアミン四酢酸）

傾向が現れるわけではない．出血傾向が明らかになるのは血小板数が 5 万/ μ L 未満に減少した場合である．出血症状は，主として皮下出血，歯肉出血，鼻出血，性器出血など皮膚粘膜の表在性出血である．血小板数が 1 万/ μ L 未満になると消化管出血や頭蓋内出血の危険性が高い．

血小板数が 5 万/ μ L 未満の症例で易出血性を認めない場合や，末梢血塗抹標本において血小板凝集（+）と報告がある場合には，まずエチレンジアミン四酢酸（ethylenediaminetetraacetic acid：EDTA）依存性偽性血小板減少症を疑う．通常，血小板数測定には抗凝固薬として EDTA が用いられているが，まれにこの EDTA の作用により血小板が凝集塊を形成する場合があります，自動血球計数器においてこの凝集塊が一つの細胞と認識され，みかけ上血小板減少をきたす現象である．免疫グロブリン（immunoglobulin：Ig）が，EDTA 存在下で血小板同士を結合させるためである．塗抹標本や抗凝固薬なしの採血直後に測定し血小板数が正常であることを確認する．この場合生体内では血小板数は正常であるため治療の必要はない（図①）．

2. 血小板減少症の分子機構の分類

血小板減少症は，血小板産生低下，破壊の亢進，もしくは分布異常に起因する．表①に後天性血小板減少症に関して成因別に記述している．血小板減少症の鑑別診断には，表①の成因や疾患を念頭におき，まず病歴や家族歴の詳細な聴取により鑑別を進める．出血の種類，部位や発症の様式（急性か慢性か），基礎疾患の有無や薬剤歴，先行感染の有無の聴取も重要である．

3. 各種血小板減少症の分子病態

1) 先天性血小板減少症

先天性血小板減少症はきわめてまれな疾患である．詳細な病歴や家族歴の聴取（家系内集積など）により本症をまず疑うことが重要である．先天性疾患であり，多くの疾患でその遺伝子異常が明らかにされつつある．常染色体劣性遺伝形式として先天性無巨核球性血小板減少症（トロンボポエチンの受容体である *c-mpl* 遺伝子変異に起因），橈骨欠損に伴う血小板減少症，Bernard-Soulier 症候群〔血小板膜糖蛋白（glycoprotein：GP）Ib-IX の

欠損症, 巨大血小板], などがあげられる. Bernard-Soulier 症候群のキャリアーでも血小板減少を認め, この場合は常染色体優性遺伝形式となる. ほかの常染色体優性遺伝としては, May-Hegglin 異常 (*MYH9* 遺伝子異常に起因, 巨大血小板, 顆粒球封入体が特徴) や GPIIb-IIIa 異常症が, 伴性劣性遺伝として Wiskott-Aldrich 症候群 (*WASP* 遺伝子の変異, 小型血小板) などがあげられる. これらは, その家族歴 (遺伝形式) や血小板サイズの変化, 特徴ある所見および遺伝子解析により診断可能である. 紙面の都合で代表的疾患のみの記述に留めたが, 詳細はほかの総説を参照されたい^{3) 4)}.

2) 血小板破壊・消費の亢進に起因する後天性血小板減少症

a. 特発性血小板減少性紫斑病

特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura : ITP) は, ほかの基礎疾患や薬剤などの原因がなく, 血小板の破壊が亢進するため減少する後天性の疾患である. ITP の成因はいまだ不明であるが, 主体となる血小板減少機序は, おもに血小板に対する自己抗体を介した免疫反応による. ITP においては, 基本的には赤血球系や白血球系において, 形態異常や数の異常を認めない. 最近では, primary immune thrombocytopenia (primary ITP) との名称も提唱されている⁵⁾.

図②に慢性 ITP における血小板減少機序を示す⁵⁾. ITP の主たる病態は, 血小板の破壊亢進である. 慢性 ITP では血小板は抗血小板自己抗体 (おもに IgG) により感作されている. この感作血小板は, 早期に脾臓などの網内系においてマクロファージなどに存在する Ig の Fc 部分に対する受容体 (Fc 受容体) を介して捕捉され, 破壊される. 血小板自己抗体の主要な標的抗原は, GPIIb-IIIa および GPIb-IX である. 貪食された血小板抗原はプロセッシングを受け抗原提示細胞であるマクロファージ上に提示され, さらに抗体産生が誘導される. ITP では, 脾臓がおもな血小板破壊部位であるとともに, 血小板抗体産生部位でもある. 一方では, 血小板抗体は骨髄巨核球にも結合するため, 巨核球の成熟障害や細胞障害を誘導し, 血小板産生の抑制にも作用することが示

表① 血小板減少の分類とその分子機構

<p>【先天性血小板減少症】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・常染色体劣性遺伝形式 <ul style="list-style-type: none"> 先天性無巨核球性血小板減少症 橈骨欠損に伴う血小板減少症 Bernard-Soulier 症候群 ・常染色体優性遺伝形式 <ul style="list-style-type: none"> May-Hegglin 異常 (<i>MYH9</i> 異常症) Bernard-Soulier 症候群のキャリアー GPIIb-IIIa 異常症 (GPIIb-IIIa の活性化変異) Gray platelet 症候群 (血小板α顆粒欠損) ・伴性劣性遺伝 <ul style="list-style-type: none"> Wiskott-Aldrich 症候群
<p>【後天性血小板減少症】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 血小板産生低下 <ul style="list-style-type: none"> 骨髄異形成症候群 再生不良性貧血 放射線, 抗がん剤などの薬剤による骨髄抑制 骨髄浸潤 (癌, 白血病など) 巨赤芽球性貧血 (ビタミン B₁₂ または葉酸欠乏症) 発作性夜間血色素尿症 (PNH) 2. 血小板破壊・消費の亢進 <ul style="list-style-type: none"> 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 二次性免疫性血小板減少症 (SLE, リンパ増殖性疾患など) 薬剤性免疫性血小板減少症 (キニジン, ヘパリンなど) 播種性血管内凝固症候群 (DIC) 血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) 溶血性尿毒症症候群 (HUS) 3. 血小板分布異常または希釈 <ul style="list-style-type: none"> 脾機能亢進症 (肝硬変, Banti 症候群など) 大量輸血 4. その他 <ul style="list-style-type: none"> EDTA 依存性偽性血小板減少症

GP : glycoprotein (血小板膜糖蛋白), SLE : systemic lupus erythematosus (全身性エリテマトーデス), EDTA : ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)

されている⁶⁾.

ITP の診断に関しては, いまだにほかの疾患の除外診断が主体となる. 血小板減少のみが先行する再生不良性貧血や低リスク骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome : MDS) の場合は, ITP との鑑別は容易では

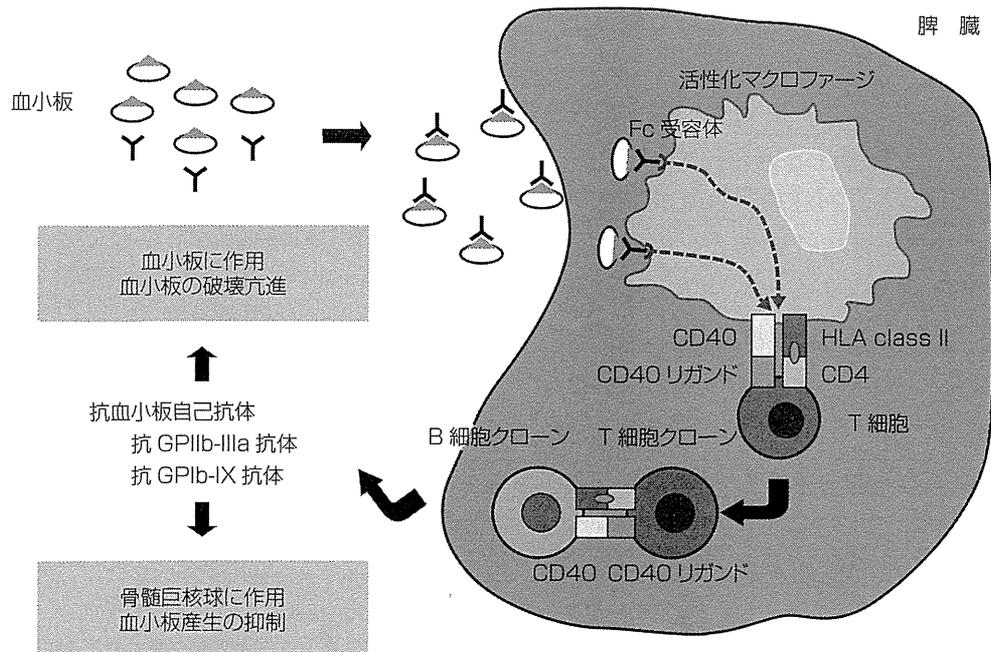


図2 特発性血小板減少性紫斑病の分子機構

おもに脾臓で産生された抗血小板自己抗体（おもに IgG）は血小板膜 GPIIb-IIIa あるいは GPIb-IX に結合し、感作血小板は主として脾臓内でマクロファージ上の Fc 受容体を介して捕捉され、破壊される。血小板を取り込んだマクロファージは GPIIb-IIIa あるいは GPIb-IX の抗原ペプチドを HLA 抗原上に出し、HLA classII-CD4 に加え副刺激経路（ここでは CD40-CD40 リガンドを提示）などを介して自己反応性ヘルパー T 細胞を活性化し、さらには B 細胞を活性化し抗体産生を誘導する。一方では、これらの抗体は巨核球の成熟障害などを誘導し、血小板産生を抑制する。

GP：glycoprotein（血小板膜蛋白），IgG：immunoglobulin G（免疫グロブリン G），HLA：human leukocyte antigen（ヒト白血球型抗原）

（富山佳昭，2011⁹⁾より引用）

ない。2006年より血小板結合 IgG（platelet-associated IgG：PAIgG）の測定が保険適応になったが、PAIgG 上昇は ITP に特異的ではなくほかの血小板減少症でも高値のことがあり、診断的意義は少ない。ITP を診断するうえでより特異的な検査が開発されている。GPIIb-IIIa もしくは GPIb-IX に対する自己抗体検出の診断的意義は高いが、その検出感度は ITP の約 50% と低い。ITP では幼若血小板の指標としての網状血小板比率（%）が増加しており、血漿トロンボポエチン濃度は正常ないしは軽度増加しているのみである。一方、再生不良性貧血など造血障害による血小板減少では血漿トロンボポエチン濃度は著増する（図3）^{7) 8)}。これらの検査は ITP の病態にもとづく診断法であるが、いまだ保険収載されておらず日常臨床での使用にはいまだ至っていない。

b. 血栓性血小板減少性紫斑病

血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura：TTP）は、前述した出血性疾患である ITP とはその病態はまったく異なっており、TTP においては血小板が活性化され細小血管に血栓を形成した結果として血小板が減少するため、本症は血栓性疾患に分類される。

TTP は、血小板減少と細小血管障害性溶血性貧血を呈し、時に動揺性精神神経症状、発熱、腎障害を併発する疾患である⁹⁾。細小動脈に血小板血栓が形成されるため、溶血性貧血（破碎赤血球を認める）、循環障害に伴う臓器機能障害、消耗性血小板減少による出血性素因をきたす。これらの病態は血栓性微小血管症（thrombotic microangiopathy：TMA）症候群として理解されてい

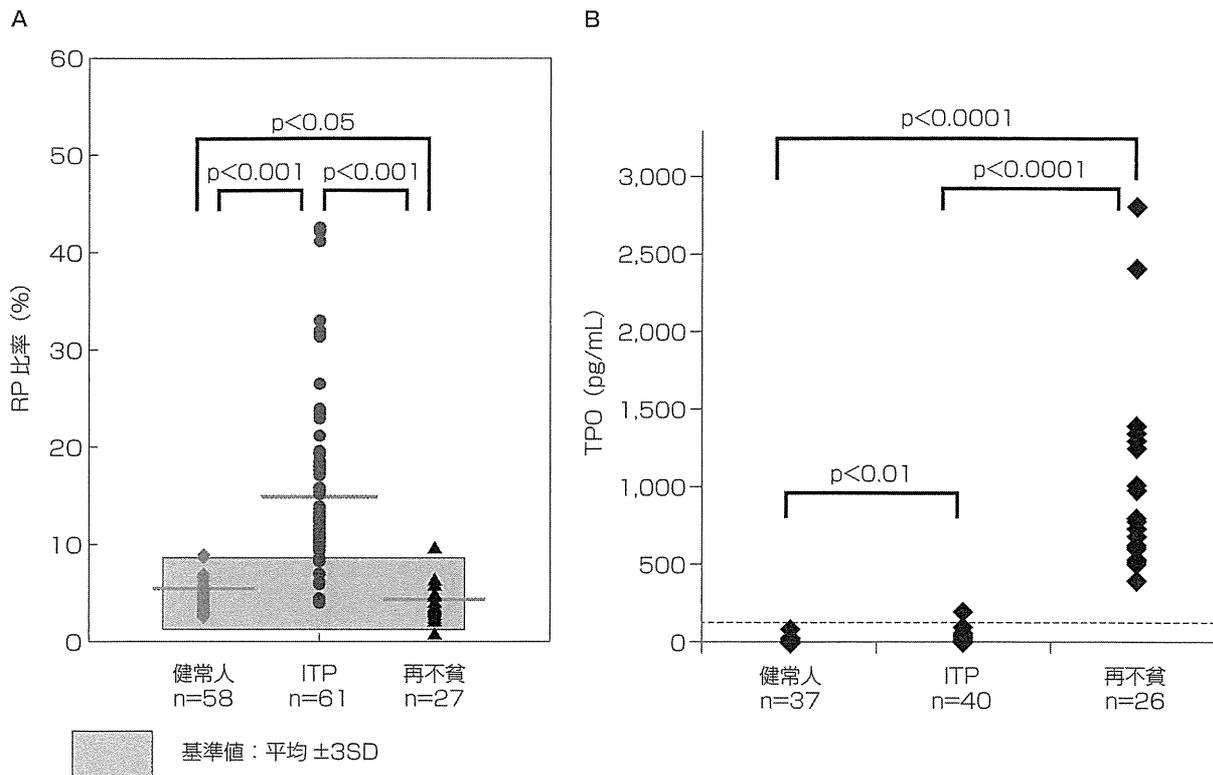


図4 ITPおよび再生不良性貧血（再不貧）における血漿 TPO 濃度および RP 比率の比較検討

A: RP 比率

RP は RNA が豊富に存在する大型血小板で、巨核球から新たに産生された幼若血小板である。患者血小板あたりの RP 比率 (RP%) を検討すると、ITP では RP% は著明に増加しているが、再不貧ではそのような増加はみられない。

B: 血漿 TPO 濃度

TPO はその大部分が肝臓で産生されており、血小板数の変動に関係なくその産生量は一定に保たれている。TPO 受容体である c-Mpl は血小板/巨核球系に発現しており、c-Mpl による TPO 吸着が血漿 TPO レベルを制御している。再不貧では巨核球が減少し血小板産生が低下しているため血漿 TPO 濃度は著増する。一方、ITP においては、血小板減少にもかかわらず血漿 TPO 濃度は正常ないしは軽度増加しているのみであることが特徴である。破線: 基準値上限を示す。

RP: reticulated platelets (網状血小板), ITP: idiopathic thrombocytopenic purpura (特発性血小板減少性紫斑病), TPO: thrombopoietin (トロンボポエチン)

(富山佳昭ほか, 2013⁸⁾ より引用)

る。TMA 症候群には、腸管出血性大腸菌 O-157 感染などの志賀毒素に起因する溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) など種々の疾患が含まれる^{9) 10)}。最近では狭義の TTP は、フォンビルブランド因子 (von Willebrand factor: VWF) 切断酵素 [ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13) と呼ばれる] の欠損あるいは、ADAMTS13 に対する自己抗体 (インヒビター) に起因する疾患であると定義されている¹⁰⁾。

VWF は血管内皮と骨髄巨核球で生合成された後、2,050 アミノ酸残基からなる 1 つのサブユニットがジスルフィド (S-S) 結合により多量体 (マルチマー) 構造をとる。通常 VWF のサブユニットは、ADAMTS13 により Tyr842-Met843 間を特異的に切断され、分子量 500~20,000kDa のさまざまなマルチマー構造を形成するように制御されている。TTP では、この ADAMTS13 活性が著減するため、患者血漿中に通常ではみられない超高分子量の VWF マルチマー (un-usually large VWF

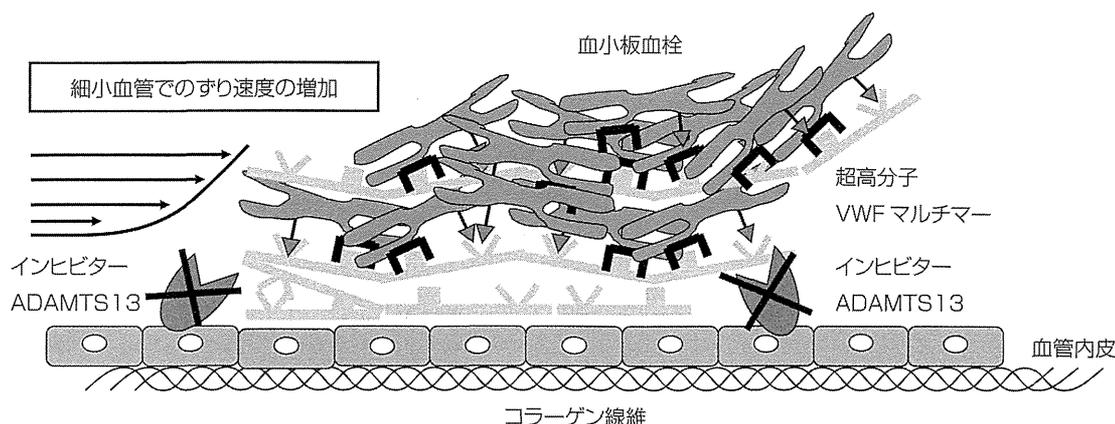


図4 TTPの分子機構

後天性 TTP では、ADAMTS13 に対する IgG 型自己抗体（インヒビター）が産生されることにより、ADAMTS13 活性が著減し超高分子量の VWF マルチマーが病的に形成され、細小血管において血小板血栓を形成し、消耗性血小板減少、溶血や循環障害に伴う臓器機能障害を引き起こす。

TTP：thrombotic thrombocytopenic purpura（血栓性血小板減少性紫斑病），ADAMTS13：a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13，IgG：immunoglobulin G（免疫グロブリン G），VWF：von Willebrand factor（フォンビルブランド因子）

multimer：UL-VWFM）が出現する。細動脈など高いずり応力下において、VWF は血栓形成に強く関与している。VWF は高分子マルチマーになるほど、血小板血栓形成能が増強するため、ADAMTS13 により高分子マルチマーの形成が制御されている。TTP では、ADAMTS13 活性が低下し VWF 高分子マルチマーが病的に形成されるため、細小動脈において血小板血栓を形成し、消耗性血小板減少による出血傾向、溶血や循環障害に伴う臓器機能障害を引き起こす（図4）。

TTP には先天性と後天性が存在する。先天性 TTP（Upshaw-Schulman 症候群）は先天性な ADAMTS13 欠損に起因する。一方、後天性 TTP における典型例では ADAMTS13 に対する IgG 型自己抗体（インヒビター）が産生されることにより、ADAMTS13 の抗原量およびその活性が著明に減少することにより発症する。ITP とは異なり TTP の治療において、血小板輸血は病状が悪化するため原則禁忌である。

c. 播種性血管内凝固症候群

播種性血管内凝固症候群（disseminated intravascular coagulation：DIC）は、敗血症や悪性疾患などの基

礎疾患があり、それにより広範な血管内の凝固亢進を特徴とする症候群である。基礎疾患の有無、臓器障害の有無、血小板数、プロトロンビン時間、血漿フィブリノゲン値、FDP 値により診断する。大動脈瘤や巨大血管腫などの疾患では、血液の鬱滞に伴う慢性的な DIC により血小板が減少する。DIC でみられる微小血栓は細小血管で形成されるフィブリン血栓であるが、TTP では細小動脈に血小板血栓が形成される点異なる。

d. 薬剤性免疫性血小板減少症

免疫性機序により血小板減少をきたす薬剤としてキニン、キニジン、ST（スルファメトキサゾール・トリメトプリム）合剤、H₂ ブロッカー、ダナゾール、メチルドパ、ジゴキシンなど多くの薬剤が報告されている。これらの薬剤が GP との複合体を形成しハプテンとして作用し、これに対する抗体により血小板破壊が起こると考えられている。

一方、最近わが国でも注目されるようになったヘパリン起因性血小板減少症（heparin induced thrombocytopenia：HIT）では、ヘパリンと血小板第4因子（platelet factor：PF4）の複合体に対する抗体が産生さ

れる。このヘパリン-PF4-抗体からなる免疫複合体が血小板Fc受容体に作用し血小板を活性化し、血小板減少をきたすとともに、血栓塞栓症を併発する¹¹⁾。HITでは、明らかな出血がないかぎり、予防的な血小板輸血は控えるべきである。

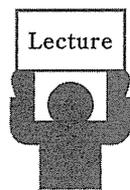
いずれにせよ薬剤性免疫性血小板減少症が疑われる場合は、その薬剤をただちに中止することが重要である。

おわりに

血小板減少に関して、代表的な疾患を中心にその分子機構を概説した。各疾患の分子機構の詳細な解析は、その疾患の診断のみならず特異的な治療法の開発に寄与するものと確信する。

文献

- 1) Greer J *et al* : Wintrobe's clinical hematology. 13th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2014
- 2) Zhang L *et al* : A novel role of sphingosine 1-phosphate receptor S1pr1 in mouse thrombopoiesis. *J Exp Med* **209** : 2165-2181, 2012
- 3) Balduini CL *et al* : Inherited thrombocytopenias frequently diagnosed in adults. *J Thromb Haemost* **11** : 1006-1019, 2013
- 4) 國島伸治 : 先天性血小板減少症. よくわかる 血栓・止血異常の診療. 金倉譲ほか編, 中山書店, 東京, 2014, pp.105-112
- 5) 富山佳昭 : トロンボポエチン受容体作動薬による難治性ITPの治療. *臨床血液* **52** : 627-632, 2011
- 6) McMillan R : The pathogenesis of chronic immune thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* **44** (Suppl 5) : S3-S11, 2007
- 7) Kurata Y *et al* : Diagnostic value of tests for reticulated platelets, plasma glycofibrin, and thrombopoietin levels for discriminating between hyperdestructive and hypoplastic thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol* **115** : 656-664, 2001
- 8) 富山佳昭ほか : 免疫性血小板減少性紫斑病の免疫病態. *臨床免疫・アレルギー科* **59** : 649-657, 2013
- 9) 藤村吉博 : 血栓性血小板減少性紫斑病. *臨床血液* **53** : 185-195, 2012
- 10) George JN *et al* : Syndromes of thrombotic microangiopathy. *N Engl J Med* **371** : 1847-1848, 2014
- 11) Kelton JG *et al* : Heparin-induced thrombocytopenia : a historical perspective. *Blood* **112** : 2607-2616, 2008



解説

妊娠合併ITP診療の参照ガイド*

富山佳昭**

Key Words : primary immune thrombocytopenia, pregnancy, clinical practice guide

はじめに

ITPはわが国ではidiopathic thrombocytopenic purpura(特発性血小板減少性紫斑病)として、2015年から施行された指定難病に認定されている疾患である。一方血小板減少の病態解析より、その自己免疫機序が明らかになるに従い、欧米を中心にprimary immune thrombocytopenia(primary ITP)の名称も使用されるようになってきている¹⁾²⁾。

ITPの治療に関しては、厚生労働省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」班において筆者らは、成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド2012年版を作成し公開した(臨床血液 2012; 53: 433. オープンアクセス https://www.jstage.jst.go.jp/article/rinketsu/53/4/53_433/_article/-char/ja/)³⁾。

ITPは20~40歳代の女性に多く発症するため、血液内科医としてしばしば妊娠合併ITPの管理を行う必要に迫られる。妊娠合併ITPの妊娠・出産に関しては、血液内科だけではなく、産科、麻酔科、小児科の協力が必須であり、前述の治療の参照ガイドでは妊娠合併ITPに関する詳細は記載していないため、新たに妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参照ガイドを作成し公開した(臨床血液 2014; 55: 934. オープンアクセス https://www.jstage.jst.go.jp/article/rinketsu/55/8/55_934/_article/-char/ja/)⁴⁾。本稿ではその概要を紹介する。なお、妊娠合併ITP

患者を対象とした前方視的ランダム化二重盲検試験は皆無に等しく、本稿での記載は広く検索した文献と専門家のコンセンサスによるところが大きい。特に本参照ガイドの特徴として強調したいのは、厚生労働省の班会議の枠を超え、血液内科、産科、麻酔科、小児科の専門家が一同に集まり、各科の視点から何度も意見を交換し、最終的にコンセンサスを得て作成した点であり、この参照ガイドは、日本産科婦人科学会、日本小児科学会、日本麻酔科学会からも承認されており、また周知されている。表1に妊娠合併ITP診療の参照ガイドのサマリーを示す。以下、妊娠合併ITPに関して日常診療において重要な項目を中心に概説する。

妊娠時初発の血小板減少症の鑑別診断

治療に入る前に、まず血小板減少の鑑別診断を行う必要がある。妊娠前よりITPと診断されている場合は問題ないが、多くは妊婦健診ではじめて血小板減少が指摘され、血液内科に紹介される場合が多い。血小板減少は全妊婦の約10%程度に認められるが、約70%と最も多い原因は妊娠性血小板減少症である⁵⁾(表2)。

妊娠性血小板減少症の病態は不明であるが、血小板数低下は軽度であり、通常7万/ μ l以上である⁶⁾。出産後1~2か月で自然寛解し、胎児・新生児血小板減少は起こさない。

次に多いのが妊娠高血圧腎症であり、約20%がこれに相当する。ITPによる血小板減少は

* Clinical practice guide for the management of primary immune thrombocytopenia in pregnancy.

** Yoshiaki TOMIYAMA, M.D.: 大阪大学医学部附属病院輸血部(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-15); Department of Blood Transfusion, Osaka University Hospital, Suita, Osaka 565-0871, JAPAN

表1 妊娠合併ITP診療のポイント

妊娠中の血小板数の目標値	
・ 妊娠初期～中期	非妊娠の成人ITPに準じる：血小板数3万/ μ l以上を維持
・ 分娩時	経陰分娩：血小板数5万/ μ l以上 区域麻酔下による帝王切開：血小板数8万/ μ l以上
妊娠中の治療法	
・ 安全に使用できる薬剤は、副腎皮質ステロイド(プレドニゾロン)、免疫グロブリン大量療法である	
・ ヘリコバクター・ピロリ菌陽性患者に対する除菌療法は、妊娠前あるいは分娩後が望ましい	
・ トロンボポエチン受容体作動薬の使用は、治療上どうしても必要な場合を除き、投与すべきではない	
・ 妊娠中の脾臓摘出は避けたほうがよい	
・ 出産予定日約2か月前の血小板数が5万/ μ l未満の場合、プレドニゾロン10 mg/日を開始し必要に応じて増量。計画分娩なら免疫グロブリン大量療法を行う	
新生児の管理	
・ 分娩時の児血小板数の予測に関しては、前子の血小板数と次子の血小板数がよい相関関係にある	
・ 経皮的臍帯穿刺による胎児血小板数測定、胎児頭皮からの血液採取による血小板数測定は行わない	

表2 妊娠時における血小板減少の原因とその頻度

妊娠特異的	
血小板減少のみ	
妊娠性血小板減少症	70～80%
全身症状を伴うもの	
妊娠高血圧腎症	15～20%
HELLP症候群	<1%
妊娠性急性脂肪肝	<1%
妊娠非特異的	
血小板減少のみ	
一次性ITP	1～4%
二次性ITP	<1%
薬剤性ITP	<1%
フォン・ヴィレブランド病IIB型	<1%
先天性血小板減少症	<1%
全身症状を伴うもの	
TTP/HUS	<1%
全身性エリテマトーデス	<1%
抗リン脂質抗体症候群	<1%
ウイルス感染症	<1%
骨髄系疾患(白血病、骨髄異形成症候群など)	<1%
栄養欠乏症	<1%
脾腫	<1%

備考：TTP(血栓性血小板減少性紫斑病)，HUS(溶血性尿毒症症候群) (文献⁵⁾より引用)

数%であり、そのほかに稀ではあるがHELLP症候群、血栓性血小板減少性紫斑病/溶血性尿毒症症候群(TTP/HUS)、抗リン脂質抗体症候群などの血栓性微小血管障害症や播種性血管内凝固症候群(DIC)が原因になることがある(表2)⁵⁾。

ITPの診断は基本的には除外診断であり、また最も頻度の高い妊娠性血小板減少症の診断も臨

床経過と除外診断によることから、妊娠時初発の血小板減少を確実に診断するための検査はない。病歴と現症をもとに、鑑別すべき疾患および頻度を念頭において検査を行う。問診においては、家族歴、既往歴、薬剤治療歴、過去の妊娠における経過、血小板減少の発症時期、合併症の有無を確認することが推奨される。鑑別が困難で妊娠経過中に血小板数が5万/ μ l以下に減少した場合は妊娠合併ITPとして対応する。妊娠時初発の血小板減少患者においては、まず末梢血塗抹標本の詳細な観察を行い、偽性血小板減少症や先天性巨大血小板減少症、白血病、骨髄異形成症候群などを除外する。肝疾患を除外するため肝機能検査を行い、感染症[ヘリコバクター・ピロリ菌、C型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)]関連の検査を行う。破碎赤血球を認める場合は、血栓性微小血管障害症あるいはDICを疑い、止血、溶血に関する検査と腎機能検査を行う。高血圧、タンパク尿を認める場合は、妊娠高血圧腎症やHELLP症候群の可能性を考慮する。症例により抗リン脂質抗体症候群および全身性エリテマトーデス関連の血清検査を行う。骨髄検査は白血球の数と形態異常、リンパ節腫脹などの症状を伴わない限り原則的に必要ない。

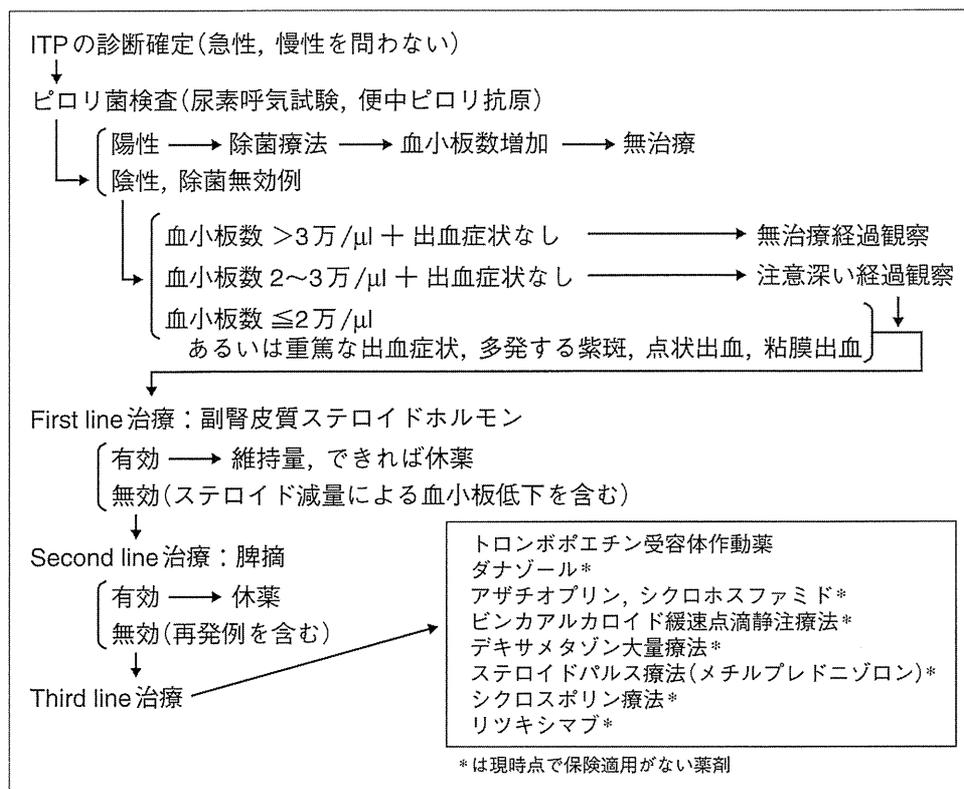


図1 成人ITP治療の参照ガイド2012年版の概要

成人ITP治療の参照ガイド2012年版の概要をフローチャートで示す。治療の目標は血小板数を正常に戻すことではなく、重篤な出血を予防しうる血小板数(血小板数3万/μl以上)に維持することである。本邦において、ヘリコバクター・ピロリ感染ITP患者における除菌療法は緊急時や妊娠合併ITP症例を除くすべての症例において、最優先される治療である。TPO受容体作動薬は、第3選択治療の位置づけとした。

妊娠中および出産時の 血小板数の目標値

妊娠合併ITP診療の参照ガイドを概説する前に、まず成人ITP治療の参照ガイド2012年度版の要約を図1に示す^{3)7)~10)}。ITPの治療の目標は血小板数を正常に戻すことではなく、重篤な出血を予防しうる血小板数に維持することである。具体的には血小板数3万/μl以上、可能なら血小板数5万/μl以上に維持する。血小板数を正常化すべく薬剤を長期にわたり多量に投与することは、その副作用のため患者QOLを低下させるため、避けるべきである。以下に妊婦を除いた成人ITPの具体的な管理を示す³⁾。

- 血小板数3万/μl以上で重篤な出血症状がない場合には無治療で経過を観察する。
- 血小板数2~3万/μlで出血症状があれば治療開始。出血症状がなければ、1か月に1回程度の注意深い経過観察を行い、治療がいつでも行

える状態にあることが必要である。

- 以下の症例では、積極的治療対象となる。

i) 重篤な出血症状(脳内出血, 下血, 吐血, 血尿, 多量の性器出血, 止血困難な鼻出血, 口腔内出血, 外傷部位の止血困難など), 多発する紫斑, 点状出血を伴う症例。

ii) 血小板数2万/μl以下の症例。

iii) 血小板数2~3万/μlであっても出血傾向の有無にかかわらず, 60歳以上, 高血圧症, あるいは活動性の高い症例(肉体労働者, 激しい運動をする方など)。

1. 妊娠中の血小板数の目標値

では, 妊娠合併ITP患者の血小板数はどのように管理するのか。妊娠中の血小板数の目標値について前向きに検討した報告はなく, またITP合併妊娠患者と通常の成人ITP患者で異なる目標値を設定する根拠も存在しない。したがって, 妊娠初期から中期の出血症状がない妊婦においては非妊娠の成人ITPと同様に, 血小板数3万/μl

以上を維持するように努めることが妥当であると思われる⁴⁾。

2. 分娩時に必要な血小板数

分娩時の血小板数について安全といえる血小板数の閾値は明確でないが、経膈分娩であれば5万/ μl 以上、区域麻酔下による帝王切開であれば8万/ μl 以上が目安となる⁴⁾。

妊娠中の治療法

1. 副腎皮質ステロイド療法と免疫グロブリン大量療法

成人ITPの治療に関しては、図1に示すようにさまざまな治療選択があるが、妊娠合併ITPの場合に関しては、安全に使用できる薬剤は限られており、副腎皮質ステロイド療法(プレドニゾロン)あるいは免疫グロブリン大量療法のみである。使用方法は、妊娠時期、その他の合併症なども考慮して決定するべきであるが、以下に出血傾向に応じた使用例を提示する⁴⁾。

- 出血傾向が比較的軽微である場合は、妊娠前と同様に経過観察または維持量のステロイドを継続する。

- 出血傾向が明らかな場合は、プレドニゾロン10～20 mg/日の比較的低用量の内服で開始し、治療効果をみながら維持量5～10 mg/日に漸減する。

- 妊娠前にITPと診断されておらず、妊娠中に著明な血小板減少と強い出血傾向を呈して発症したような症例に対しては、プレドニゾロン0.5～1 mg/kg/日の通常成人に対する初期投与量から開始することも考慮する。この場合、血小板数2～3万/ μl 以上となり出血傾向も改善すれば、2週間程度で早期に漸減を検討する。

- 出血傾向が強く、即効性を期待する場合には、免疫グロブリン大量療法(0.4 g/kg/日、3～5日間)、あるいはメチルプレドニゾロンパルス療法(1,000 mg/日、3日間)、血小板輸血を考慮する。

- 副腎皮質ステロイド療法と免疫グロブリン大量療法の併用も可能である。

産科側より、不測の事態や緊急時に備え妊婦の血小板数をより高い値に維持してはどうかとの意見も出たが、そのために多量の薬剤を使用する

ことになるため、現実的ではないとの結論となった。

2. ヘリコバクター・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

成人ITPに対して、ヘリコバクター・ピロリ菌陽性患者に対する除菌療法は第1選択治療となっている。一方、妊婦と胎児に対する除菌薬(クラリスロマイシン、アンピシリン、プロトンポンプインヒビターなど)の安全性と除菌による血小板増加効果が確立しておらず治療経験も乏しい。このため、あらかじめヘリコバクター・ピロリ菌感染が確認されていれば、妊娠前に除菌療法を行っておくことが望ましい。妊娠中であればヘリコバクター・ピロリ菌検査が陽性であっても、副腎皮質ステロイドや免疫グロブリン大量療法などで血小板数や出血傾向のコントロールは可能であることが多いために、除菌療法は分娩後に行うことが推奨される。

3. 妊娠合併ITPに対するトロンボポエチン受容体作動薬

トロンボポエチン受容体作動薬に関して、現時点では妊婦に対して投与した十分なデータがなく、胎児への影響も不明であることから参照ガイドにおいては、妊娠中のトロンボポエチン受容体作動薬は、治療上どうしても必要な場合を除き投与すべきではない、と結論した。

また、成人ITP治療の参照ガイドで第3選択治療に記載されている薬剤に関して、アザチオプリン、ダナゾール、シクロホスファミド、ピンカアルカロイド、シクロスポリン、リツキシマブの各薬剤については、添付文書において妊婦に対する投与は望ましくないとの記載があるため推奨しない。また、デキサメタゾン大量療法については、妊婦での使用もやむを得ない場合には可能であるが、エビデンスが乏しいため推奨しない。

4. 妊娠中における脾臓摘出術

妊娠中の脾臓摘出術(脾摘)について、安全性と有効性を検討した無作為比較試験はない。妊娠中に脾摘を行った症例報告は数例あるが、いずれも出血や流産などのトラブルなく無事に生児を得たという一例報告である。欧米のガイドラインでは、妊娠初期に脾摘をすると流産の危険性が高く、妊娠末期(29週以後)での脾摘は子宮

が大きいため技術的に困難であるため妊娠中期に行うべきであるとしている^{7)~10)}。術式としては腹腔鏡下の脾摘を勧めている³⁾⁴⁾。妊娠中の脾摘の適応は、副腎皮質ステロイドや免疫グロブリン大量療法を実施しても血小板数が1万/ μ l以上に増加せず、出血症状も持続する妊婦となるが、実際に脾摘が必要になるのはきわめて稀であると考えられる。

したがって、妊娠中の脾臓摘出術は避けた方がよい、との結論となった。

出産時の管理

前述のように、分娩時経膈分娩であれば血小板数5万/ μ l以上、区域麻酔下による帝王切開であれば8万/ μ l以上を推奨している。

出産予定日約2か月前の時点で血小板数が5万/ μ l未満の場合、プレドニゾロン10 mg/日を開始して必要に応じて増量、もしくは計画分娩であれば免疫グロブリン大量療法(0.4 g/kg/日、5日間)をあらかじめ行うことが推奨される⁵⁾。妊婦において両治療法の有効性と安全性を直接比較した臨床研究はない。プレドニゾロンと免疫グロブリン大量療法のいずれも無効で分娩時に出血症状がある場合、必要に応じて血小板輸血を検討する^{3)~5)}。上記の血小板数はあくまで目安であり、最終的には個々の症例ごとに血小板数、出血症状、合併症の有無などを加味して産科主治医が麻酔科医、血液内科医と相談して判断することが推奨される^{8)~10)}。

分娩様式に関しては、児の頭蓋内出血の頻度に関して、新生児血小板数5万/ μ l以下の重症例に限っても、帝王切開例で1/28(3.8%)、経膈分娩例で2/41(4.9%)と分娩様式に依存しないと報告されており、帝王切開が経膈分娩より血小板数が減少している胎児にとって安全であるという科学的根拠はない⁹⁾。したがって、妊娠合併ITPの分娩様式は純粹に産科的適応で決定すればよい。また、胎児の出血リスクを増加させる懸念がある頭皮電極、吸引分娩、鉗子分娩などの処置は回避することが望ましい。

新生児の管理

ITP合併妊婦から出生した児のうち出生後に、

血小板数が5万/ μ l未満、2万/ μ l未満に減少する割合は、それぞれ約10%、約5%である¹¹⁾¹²⁾。最も重大な出血症状は頭蓋内出血である¹²⁾。通常は生後1~3日以内で発生するが、胎内発症の報告例もある。頻度は1%弱¹²⁾と低いといったん発症すると予後は悪い¹³⁾。半数程度が死亡または重篤な神経学的後遺症を残す。帝王切開が経膈分娩と比較して、頭蓋内出血の危険を減らすというエビデンスはない。頭蓋内出血症例には、血小板数が5万/ μ l以上の場合や無症候性の場合もある¹³⁾。

分娩時における児の血小板数の予測に関しては、前子の血小板数と次子の血小板数がよい相関関係にあることが明らかにされている¹⁴⁾。したがって、分娩歴のあるITP妊婦では、出産前に前子の出生時や出生後の血小板数をあらかじめ把握することがきわめて重要である。残念ながら、第1子の場合には児の血小板数を予測しうる有効な予測因子は存在しない。

児の血小板数把握のため、以前行われていた、経皮的臍帯穿刺を用いた胎児血小板数測定や、胎児頭皮からの血液採取による血小板数測定は、その安全性や有効性に問題があり、本ガイドでは推奨しない。

出生後の新生児の血小板数の管理

ITP合併妊娠の妊婦から出生した児は、出生時から血小板数が減少している場合もあるが、出生数日後(通常最低値は日齢2~5)に減少することもある¹¹⁾¹²⁾。出血症状の有無にかかわらず全例、出生時に臍帯血を用いてまたは生後早期に末梢血を用いて、血小板数の評価を推奨する。15万/ μ l未満の血小板減少の場合には、反復採血して正常化するか少なくとも上昇傾向を確認する。経過中に血小板数が5万/ μ l未満になった場合には、頭部エコーなどの画像検査を積極的に施行すべきである。

まとめ

妊娠合併ITPの診療に関して、本邦での診療の参照ガイドを概説した。なお、診療の参照ガイドは個々の状況に応じて柔軟に参考にすべきものであり、医師の裁量権を規制するものではない。

ITP の病態は多彩であり、症状の軽重も症例によりさまざまである。したがって、主治医が個々の患者に最適と考える診療を医療者としての経験をもとに、患者の価値観を加えて行うことが望まれる。本参照ガイドが妊娠合併 ITP の診療の助けになることを願っている。

文 献

- 1) Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children : report from an international working group. *Blood* 2009 ; 113 : 2386.
- 2) 富山佳昭. ITP に関する用語の標準化 : 国際作業部会からの報告. *日本血栓止血学会誌* 2010 ; 21 : 278.
- 3) 藤村欣吾, 宮川義隆, 倉田義之, ほか. 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* 2012 ; 53 : 433.
- 4) 宮川義隆, 柏木浩和, 高蓋寿朗, ほか. 妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参照ガイド. *臨床血液* 2014 ; 55 : 934.
- 5) Gernsheimer T, James AH, Stasi R. How I treat thrombocytopenia in pregnancy. *Blood* 2013 ; 121 : 38.
- 6) McCrae KR. Thrombocytopenia in pregnancy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010 ; 2010 : 397.
- 7) George JN, Woolf SH, Raskob GE, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura : a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996 ; 88 : 3.
- 8) British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) in adults, children and in pregnancy. *Br J Haematol* 2003 ; 120 : 574.
- 9) Provan D, Stasi R, Newland AC, et al. International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood* 2010 ; 115 : 168.
- 10) Neunert C, Lim W, Crowther M, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2011 ; 117 : 4190.
- 11) Gill KK, Kelton JG. Management of idiopathic thrombocytopenic purpura in pregnancy. *Semin Hematol* 2000 ; 37 : 275.
- 12) Kadir RA, McLintock C. Thrombocytopenia and disorders of platelet function in pregnancy. *Semin Thromb Hemost* 2011 ; 37 : 640.
- 13) Koyama S, Tomimatsu T, Kanagawa T, et al. Reliable predictors of neonatal immune thrombocytopenia in pregnant women with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 2012 ; 87 : 15.
- 14) Christiens GC, Nieuwenhuis HK, Bussel JB. Comparison of platelet counts in first and second newborns of mothers with immune thrombocytopenic purpura. *Obstet Gynecol* 1997 ; 90 : 546.

* * *

A novel *MYH9* mutation in a patient with *MYH9* disorders and platelet size-specific effect of romiplostim on macrothrombocytopenia

Jun Yamanouchi¹ · Takaaki Hato^{1,2} · Shinji Kunishima³ · Toshiyuki Niiya⁴ · Hisashi Nakamura⁵ · Masaki Yasukawa¹

Received: 10 May 2015 / Accepted: 30 May 2015 / Published online: 9 June 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Dear Editor,

MYH9 disorders are characterized by macrothrombocytopenia, leukocyte inclusion bodies, and Alport manifestations including nephropathy, deafness, and cataract, all of which derive from mutations of the *MYH9* gene encoding nonmuscle myosin heavy chain IIA (NMMHC-IIA) [1]. The severity of Alport manifestations observed in patients with *MYH9* disorders generally depends on mutation sites of *MYH9* gene and such a genotype-phenotype relationship has been constructed and extended by a series of case reports [2, 3]. We report here a patient with *MYH9* disorders carrying a novel *MYH9* mutation. In addition, we report the platelet size-specific effect of romiplostim on macrothrombocytopenia during the treatment for neurosurgery with romiplostim.

A 42-year-old female had long-standing purpura and thrombocytopenia. There were many giant platelets in her peripheral blood, and the platelet count, as determined by phase contrast microscopy, was $25 \times 10^9/L$, indicating

macrothrombocytopenia. This finding led us to sequence analysis of the *MYH9* gene, which revealed a novel missense mutation of c.5507A>G (p.Q1836R). Immunofluorescence of neutrophil NMMHC-IIA showed fine aggregate formation, although leukocyte inclusion bodies were not visible in a May-Grunwald-Giemsa-stained blood smear. Audiograms showed high-frequency hearing loss. Neither proteinuria nor renal dysfunction was observed. No cataract was detected by ophthalmological evaluation. She had large cerebral aneurysm, and craniotomy was planned in order to prevent the rupture of aneurysm. We considered short-term romiplostim as a means of hemostatic management for neurosurgery [4–7]. After approval of the ethical committee of Ehime University Hospital, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ romiplostim was started 6 weeks before the scheduled day of surgery and gradually increased to 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Romiplostim increased the platelet count, but there were little increase in giant platelets and predominant increase in intermediate- and normal-sized platelets (Fig. 1). When her platelet count was $84 \times 10^9/L$, the surgical procedure was performed without any bleeding complications, and no neurological sequelae were left. Romiplostim was tapered and discontinued after 1 month.

This report has two medical implications. First, we have added p.Q1836R to the list of *MYH9* mutation. The Q1836R residue is located at a long alpha-helical coiled coil region of the tail domain, which connects two NMMHC-IIA molecules to form functional myosin filaments [8]. The mutations in this region cause Alport manifestations variably [2, 3]. The E1841K, a mutation close to Q1836R, is a hot spot of *MYH9* mutation, and the incidences of nephropathy, deafness, and cataract were 18, 43, and 23 %, respectively [3]. The mutations around residues 1836–1841 may predispose to deafness among Alport manifestations. Second, this study shows that romiplostim preferentially increased non-giant platelets. It remains to be determined whether this effect is a

✉ Jun Yamanouchi
yamanouc@m.ehime-u.ac.jp

¹ Department of Hematology, Clinical Immunology and Infectious Diseases, Ehime University Graduate School of Medicine, 454Shitsukawa, Toon, Ehime 791-0295, Japan

² Division of Blood Transfusion and Cell Therapy, Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Ehime, Japan

³ Department of Advanced Diagnosis, Clinical Research Center, Nagoya Medical Center, National Hospital Organization, Nagoya, Aichi, Japan

⁴ Division of Laboratory Medicine, Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Ehime, Japan

⁵ Department of Neurosurgery, Juzen General Hospital, Niihama, Ehime, Japan

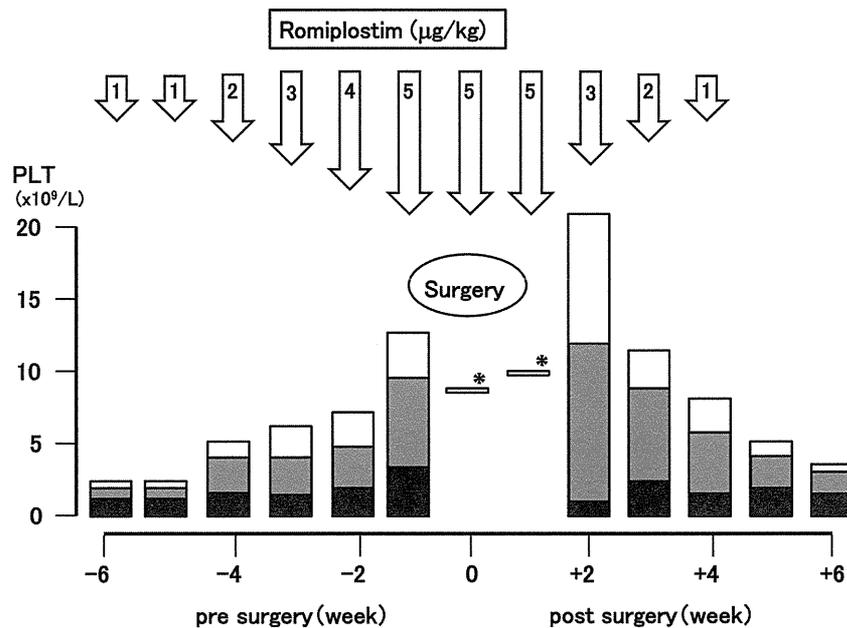


Fig. 1 Platelet counts during the treatment with romiplostim. Platelet counts were measured by an optical light scatter analyzer and phase contrast microscopy. The results measured by the both methods were essentially identical. Platelets were classified into three groups by their size: giant (*closed bar*), intermediate-sized platelets (*hatched bar*), and normal-sized platelets (*open bar*). The giant platelet was defined by a size

equal to or larger than that of erythrocytes on blood smear. The normal-sized platelet was defined by a size of half or less than that of erythrocytes. The intermediate-sized platelet was defined by a size between the giant and normal-sized platelets. The total height of *stacked bar* indicates the total platelet count. *Asterisk* means that only the total platelet count is shown because the data of each platelet size are not available

general phenomenon for *MYH9* disorders because such analysis has not been reported in *MYH9* disorders. A recent study suggests that the *MYH9* mutations have a dominant negative effect on shear-induced NMMHC-IIA activation critical for production of normal-sized platelets [9]. Romiplostim may affect this mechanism and induce predominant production of smaller sizes of platelets. Our report would provide useful information on the patient management with romiplostim and help better define the molecular pathogenesis of *MYH9* disorders.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Kunishima S, Saito H (2010) Advances in the understanding of MYH9 disorders. *Curr Opin Hematol* 17(5):405–410. doi:10.1097/MOH.0b013e32833c069c
- Saposnik B, Binard S, Fenneteau O, Nurden A, Nurden P, Hurtaud-Roux MF, Schlegel N, French MYH (2014) Mutation spectrum and genotype-phenotype correlations in a large French cohort of MYH9-related disorders. *Mol Genet Genomic Med* 2(4):297–312. doi:10.1002/mgg3.68
- Pecci A, Klersy C, Gresele P, Lee KJ, De Rocco D, Bozzi V, Russo G, Heller PG, Loffredo G, Ballmaier M, Fabris F, Beggiato E, Kahr WH, Pujol-Moix N, Platokouki H, Van Geet C, Noris P, Yerram P, Hermans C, Gerber B, Economou M, De Groot M, Zieger B, De Candia E, Fraticelli V, Kersseboom R, Piccoli GB, Zimmermann S, Fierro T, Glembofsky AC, Vianello F, Zaninetti C, Nicchia E, Guthner C, Baronci C, Seri M, Knight PJ, Balduini CL, Savoia A (2014) MYH9-related disease: a novel prognostic model to predict the clinical evolution of the disease based on genotype-phenotype correlations. *Hum Mutat* 35(2):236–247. doi:10.1002/humu.22476
- Palandri F, Zoli M, Polverelli N, Noris P, Sollazzo D, Catani L, Vianelli N, Palandri G (2015) MYH9-related thrombocytopenia and intracranial bleedings: a complex clinical/surgical management and review of the literature. *Br J Haematol*. doi:10.1111/bjh.13324
- Pecci A, Barozzi S, d'Amico S, Balduini CL (2012) Short-term eltrombopag for surgical preparation of a patient with inherited thrombocytopenia deriving from MYH9 mutation. *Thromb Haemost* 107(6):1188–1189. doi:10.1160/TH12-01-0005
- Pecci A, Gresele P, Klersy C, Savoia A, Noris P, Fierro T, Bozzi V, Mezzasoma AM, Melazzini F, Balduini CL (2010) Eltrombopag for the treatment of the inherited thrombocytopenia deriving from MYH9 mutations. *Blood* 116(26):5832–5837. doi:10.1182/blood-2010-08-304725
- Gropper S, Althaus K, Najm J, Haase S, Aul C, Greinacher A, Giagounidis A (2012) A patient with Fechtner syndrome successfully treated with romiplostim. *Thromb Haemost* 107(3):590–591. doi:10.1160/TH11-07-0474
- Balduini CL, Pecci A, Savoia A (2011) Recent advances in the understanding and management of MYH9-related inherited thrombocytopenias. *Br J Haematol* 154(2):161–174. doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08716.x
- Spinler KR, Shin JW, Lambert MP, Discher DE (2015) Myosin-II repression favors pre-/proplatelets but shear activation generates platelets and fails in macrothrombocytopenia. *Blood* 125(3):525–533. doi:10.1182/blood-2014-05-576462

最新の静脈血栓形成機序から治療を考える

羽藤 高明

●要 約：最近，静脈狭窄により血流を低下させることによってヒト DVT 類似の血栓が形成されるモデルマウスが登場した。このマウスを用いることによって予想を超えるほど見事な生体反応が静脈血栓を形成していることが明らかになってきた。静脈血栓の形成は血流のうっ滞が血管内皮の活性化を引き起こし，粘着蛋白や炎症性サイトカインを発現することによって，単球，好中球，血小板が集積することに始まる。単球は組織因子を発現して外因系凝固を稼働させ，好中球は自らの核構造物 (NETs) を細胞外に放出して第 XII 因子から始まる内因系凝固を稼働させる。血小板は白血球の集積を助け，NETs 形成を促進する。この新たな血栓形成機序から DVT の治療戦略を考えると第 XII 因子阻害薬，抗 NETs 薬などの有用性が浮上している。DVT の発症機序がわかってきたことによって現在使用されている薬剤の作用が明確化し，さらに新たな抗血栓薬開発の道が開かれつつある。

●索引用語：静脈血栓症，好中球，単球，血小板，第 XII 因子

静脈学 2015 ; 26(1) : 1-8

はじめに

深部静脈血栓症 (DVT) は血流のうっ滞によって誘発されることが知られているものの血流のうっ滞から静脈血栓が形成されていく詳細な機序は不明のままであった。この機序を明らかにするためには血栓形成過程を経時的に観察できる動物モデルが必須である。最近，静脈を狭窄して血流を低下させることによってヒト DVT 類似の血栓が形成されるマウスモデルが登場した¹⁾。このモデルを解析することに

よって，予想を超えるほど見事な生体反応が静脈血栓を形成していることが明らかになってきた。本稿では最新の静脈血栓形成機序を紹介し，この機序を基盤にした DVT の治療戦略を考えてみる。

ヒト静脈血栓の特徴を持つ血栓モデルマウスの作成

ヒト静脈血栓の病理組織学的特徴は，1) 無傷の血管内皮に血栓が付着している，2) 血栓は赤色部分と白色部分に分けられる，3) 血栓の断面には木の年輪のような層状構造があることである。このような特徴を持つ血栓を動物モデルで得ることがこれまでできなかった。静脈を完全結紮して血流を遮断するモデルでは血栓を容易に作成できるが，血流の全くない条件下での血栓であるためヒト DVT における血栓形成の環境とは異なり，また血栓の組織像も上述した特徴を備えていなかった。静脈を狭窄すること

愛媛大学医学部附属病院輸血・細胞治療部

受付：2014 年 11 月 25 日

第 34 回日本静脈学会総会 (2014 年 4 月，沖縄) 教育講演 2
にて講演

doi: 10.7134/phleb.14-26

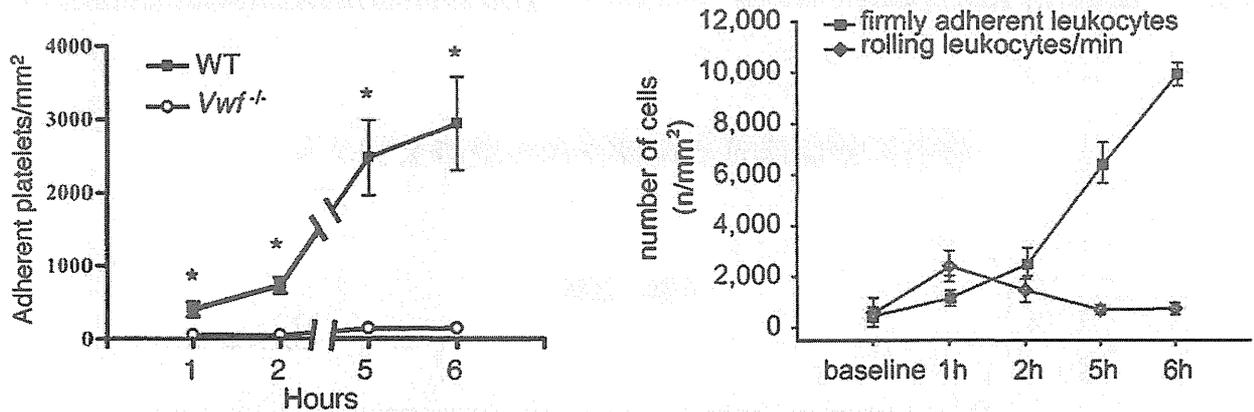


Fig. 1 Dynamics of the recruitment of platelets (A) and leukocytes (B) during DVT initiation. Adapted from references 1) and 3).

A | B

によって血流を保ったまま血栓を作成するモデルも作られていたが、血管内皮に損傷を加えないと血栓ができなかった。最近、Massbergらのグループは血管内皮を全く損傷することなく静脈を狭窄して血流を80%低下させることによって、ヒトDVTの組織学的特徴をすべて備えた血栓が形成されるマウスを作成することに成功した¹⁾。このマウスモデルを解析することによって新たな血栓形成機序が明らかになってきた。以下、このマウスの血栓形成機序について解説する。

新たにわかった静脈血栓形成機序とは？

1) 血小板・白血球の集積

血管内皮細胞は血流の低下(おそらく低酸素状態)を感知することによって活性化され、炎症性サイトカイン、ケモカインを産生するとともに細胞内にあるWeibel-Palade小体を放出する²⁾。その小体内にはvon Willebrand Factor(vWF)とP-selectinが含まれており、これらの粘着蛋白は血管内皮細胞の表面に結合する。この結合によって固層化されたvWFは流血中の血小板と結合するようになり、P-selectinは白血球と結合することによって血小板と白血球が集積される^{1,3)}。ただし、この集積は数時間を要するほどのスローペースで進行していく(Fig. 1)。これは動脈血栓におけるわずか数分で血管内皮損傷部位に血小板凝集塊が形成される現象とは対照的であり、静脈での血小板集積は静脈狭窄1時間後でもまばらにしか観

察されない。また、静脈血栓では血小板と白血球の集積は並行して増加していくが、この同時進行の集積には血小板膜蛋白受容体GPIIbと白血球膜蛋白受容体Mac-1が結合して互いの細胞が集積を補完している機序が関与していると思われる⁴⁾。vWFに対する血小板受容体であるGPIIbを欠如させた遺伝子改変マウスを静脈狭窄に供すると血小板とvWFの結合が生じなくなるため血小板の集積は減少したが、同時に白血球の集積も激減することが観察された。これらのことから血小板は凝集するよりも白血球を集積させる作用の方が強いように思われた。

2) フィブリンの産生

静脈狭窄6時間後の時点で集積している白血球の約90%は好中球で、残り10%が単球であった。これらの細胞が活性化されると凝固の引き金となる組織因子が表面に発現することが知られているが、集積した白血球に発現している組織因子は大部分単球由来であった。すなわち、量的にははるかに少ない単球の方が組織因子を発現して外因系凝固の引き金を引き、フィブリンを産生していた。フィブリン産生量は血小板・白血球の集積と時間的に並行して増加していたのでこれら白血球の集積がフィブリン産生に深く関与していると考えられた。なお、組織因子は血管内皮細胞を含む血管壁側にも豊富に存在しているが、血管壁の組織因子は正常だが白血球組織因子が著減しているマウスではフィブリンが全く産生されなかったことから、血管内皮損傷のない静脈血栓で

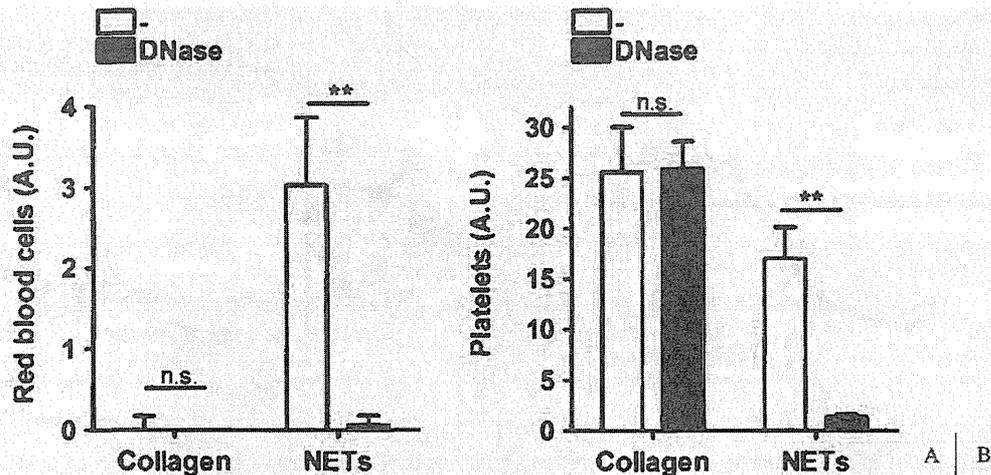


Fig. 2 Recruitment of RBCs (A) and platelets (B) in collagen- or NETs-coated flow chamber with or without DNase. Adapted from reference 12).

は単球由来組織因子がフィブリンを産生しているものと思われた。

3) Neutrophil extracellular traps (NETs) の形成

集積した白血球の大多数を占める好中球は何をしているのであろうか？ 集積した好中球をよく観察すると、その多くは自らの核を細胞外に放出していた。放出された核物質はDNAとヒストンを主成分としており、さらに好中球エラスターゼやミエロペルオキシダーゼなどの殺菌性蛋白分解酵素を含んでいた。このような構造物はNETsと呼ばれていて、好中球が細菌を捕獲する新しい機序として2004年に発見された⁵⁾。好中球の主な抗菌作用として貪食と顆粒放出の2つが昔から知られていたが、好中球はNETsというねばねばした網状の構造物を細胞外に投げて細菌を捕獲し、捕らえた細菌をヒストンと殺菌性酵素蛋白が持つ強い抗菌活性によって殺している⁶⁾。したがってNETsは好中球死滅後でも殺菌作用を発揮できることになり、自然免疫において重要な役割を担っている。好中球が細菌を認識してNETsを放出するには相当な時間がかかるとされていたが、細菌を認識した血小板が好中球に結合するとわずか数分以内にNETsが放出されることが報告された⁷⁾。すなわち、血小板はNETs形成を飛躍的に促進する作用を有していることになる。NETsは血中の細菌を一網打尽にするという生体にとって有益な機能であるが、このような細かい網目状の物質が血中

に多く存在すると血流は低下し、広範囲なNETs形成は臓器の虚血障害を引き起こすことになるので、過剰な反応は生体にとって有害となる⁷⁾。NETsは膠原病などの無菌的炎症下でも産生されていることがわかり、DVTも無菌環境下でNETsが産生される疾患の一つである⁸⁻¹¹⁾。

4) NETsの血栓促進作用

NETsに結合した血小板は突起を出して活性化された形態をしており、また多数の赤血球を結合している¹²⁾。NETsの主成分であるヒストンを血小板浮遊液に添加すると強い血小板凝集が惹起されるので、NETsは血小板を直接活性化する能力を有している^{12,13)}。Fuchsら¹²⁾はフローチャンバーを用いてコラーゲンとNETs上に血流下で形成される血栓を観察したところ、コラーゲン上の血栓は血小板主体で赤血球をほとんど含んでいなかったが、NETs上の血栓は血小板に加えて赤血球を豊富に含んでいた(Fig. 2)。また、DNaseの添加はコラーゲン上の血栓に何ら影響を与えなかったが、NETs上の血栓は形成されなくなった。これらのことから、NETs上の血栓は血管内皮損傷時に露出するコラーゲン上の血栓とは性状が異なり、形態的には赤血球を多く含む静脈血栓に近かった。

NETsは血小板の活性化だけでなく凝固反応も促進する。NETsが凝固を促進する機序として、NETsに含まれている好中球エラスターゼやカタプシンG

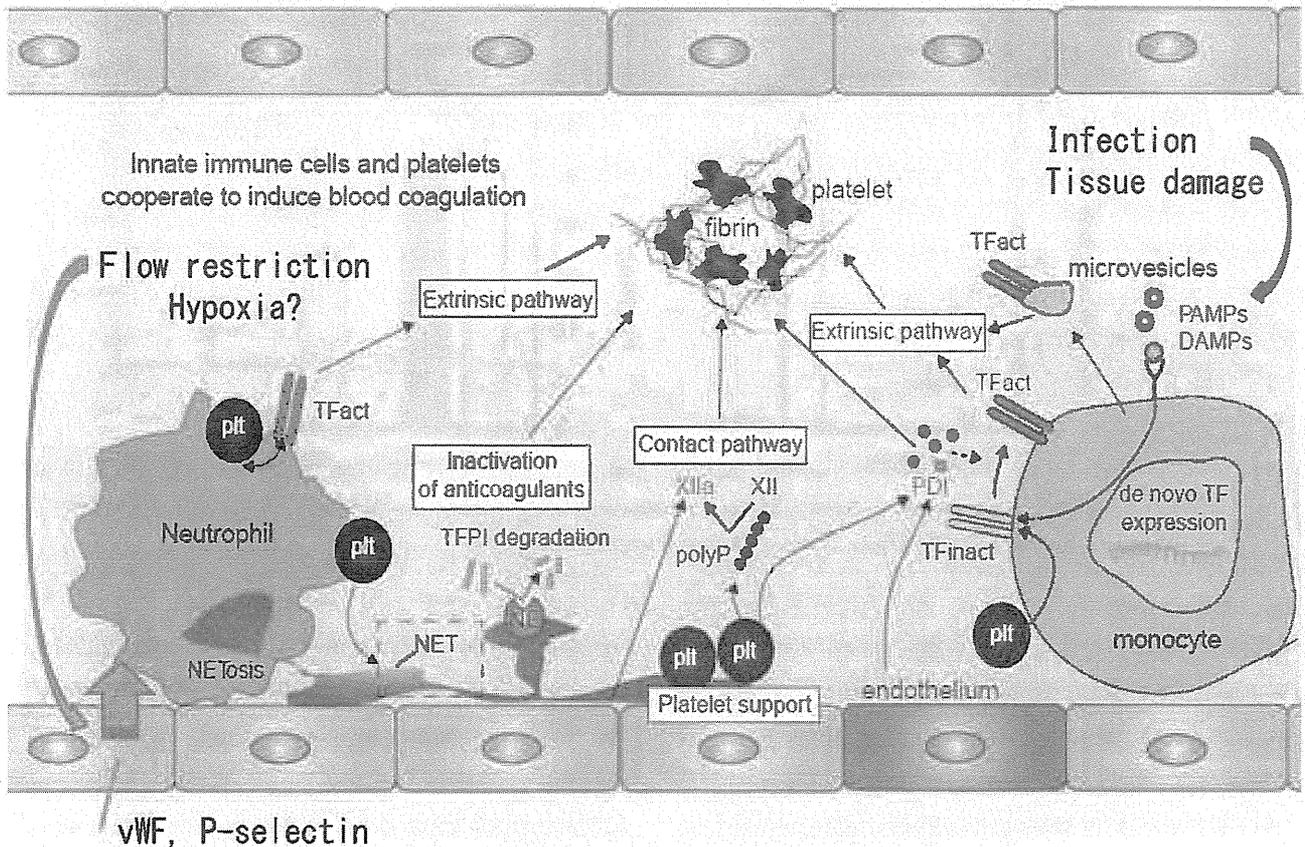


Fig. 3 Mechanism for venous thrombosis. Monocytes, neutrophils and platelets cooperate to induce blood coagulation in response to flow restriction and inflammation. Adapted and modified from reference 19).

などの酵素蛋白が Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) を分解することや NETs のヒストンがプロテイン C とトロンボモジュリンに結合してプロテイン C の活性変換を阻害することが明らかになっている^{14, 15)}。さらに、ヒストンは血小板表面にホスファチジルセリンを露出させ、凝固反応に必要なリン脂質を提供している¹³⁾。すなわち NETs が形成された場では血小板・凝固系とともに血栓を形成させる方向に突き進むことになる¹⁶⁾。これは細菌や局所で産生された有害物質が血流に乗って全身に播種するのを阻止するという生体防御反応の1つと考えると理解しやすい。

5) NETs の第 XII 因子 (FXII) 活性化作用

NETs 表面には FXII が結合しており、その FXII は活性化されていた。この FXII 活性化が内因系凝固カスケードの開始点となり、NETs 表面でフィブリンが形成される。FXII ノックアウトマウスでは血栓形成が著しく低下したことから、FXII は静脈血栓の形成に極めて重要な役割を担っている。FXII の活性化

は血液が異物面に触れたときに生じることはよく知られていたが、生理的なトリガーはよくわかっていなかった。今回、NETs は FXII 活性化のトリガーとなりうるということが明らかとなり、FXII は生体内でもまさに凝固因子として機能していることがわかった¹⁷⁾。

血管内血栓は病的血栓か？

静脈血栓の形成機序をまとめると Fig. 3 のようになる。血流のうっ滞が血管内皮を活性化し、粘着蛋白や炎症性サイトカインを発現することによって、単球、好中球、血小板が集積してくる。単球は組織因子を発現して外因系凝固を稼働させ、好中球は NETs を放出して凝固の場を提供するとともに大量の赤血球を取り込み、さらに NETs 表面では FXII から始まる内因系凝固が生じる。血小板は単球、好中球の集積を助け、NETs 形成を飛躍的に促進する役割を担っている。このような白血球・血小板・凝固の協調体制は病原体を局所に封じ込めたり、組織破壊