

平成27年度厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態解明と治療指針の構築に関する研究

研究分担者 井上 克枝 山梨大学大学院総合研究部医学域臨床検査医学 教授

研究要旨

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診療ガイドライン作成には、その病態についての理解が必要である。当該分担者は患者血中の抗リン脂質抗体が血小板を活性化あるいは活性化を抑制することが、抗リン脂質抗体関連血小板減少症の発症機序であるという仮説を検証すべく、血小板活性化検出法に関する助言を行った。しかし、血小板凝集能検査、T-TASでは、231Dというリン脂質抗体が血小板活性化に与える影響を検出できなかった。今後、別の抗体を検討する。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体関連血小板減少症の診療ガイドライン作成には、その病態についての理解が必須である。血小板減少の原因として、抗リン脂質抗体による血小板の活性化と消費、あるいは、他の抗血小板抗体の存在などが考えられている。抗リン脂質抗体関連血小板減少症患者では血栓傾向と出血傾向が共存している。血栓傾向の原因として、患者血清中に抗リン脂質抗体、あるいは共存する抗血小板抗体による血小板活性化が考えられる。また、血小板減少が著しくない症例でも出血傾向が認められる症例もあり、患者血清中の抗血小板抗体が血小板活性化を抑制するという機序が考えられる。

当該分担者の目的は、血小板活性化検出法に関する効果的な助言を行うことであった。

B. 研究方法

1. 抗リン脂質抗体関連血小板減少症の病態を理解するため、研究代表者の北海道大学免疫・代謝内科講座にて、抗リン脂質抗体症候群の一員となっていることが考えられる、ホスファチジルセリンとプロトンピンの複合体を認識するモノクローナル抗体(231D)を作製した。231DはADP惹起血小板凝集を抑制するという予備的な結果が得られ、同症の出血傾向の原因の一つと考えられた。その後、血小板凝集能を

はじめとする血小板活性化検出法に長けた、山梨大学臨床検査医学講座に抑制効果をきちんと証明する方法について相談があった。

当講座の尾崎らによって開発された散乱光による血小板凝集能検査法、生理的な血栓形成能を検討できる Total Thrombus-formation Analysis System (T-TAS) などで解析し、統計処理を加える方法を紹介した。

2. 倫理面への配慮

本研究は、患者の臨床情報のほかに、データベースに存在するゲノム情報を利用する可能性がある。したがって、本研究はヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針遵守し行われた。すなわち、試料の遺伝子解析にヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(平成25年2月8日文科科学省・厚生労働省・経済産業局省告示第一号)を順守した。

すべての研究はいずれかの倫理委員会にはかり、承認後に研究を進めた。また、本研究は、APS患者および健常人の血液サンプルを使用する研究が含まれる。研究の施行にあたっては、患者に十分なインフォームドコンセントをおこなうとともに、個人情報等の扱いは十分注意しておこなった。

C. 研究結果

1. 健常人多血小板血症を用いた実験で、231DがADP惹起血小板凝集を抑制するというデータの再現は取れなかった。また、T-TASでも、231D

の影響は認められなかった。

D. 考察

本研究により、231D の抗リン脂質抗体関連血小板減少症への関与は明らかとならなかったが、今後、別の抗リン脂質抗体の効果を本実験系を用いて検討することで、機序を明らかにできることが期待できる。

E. 結論

本研究において、抗リン脂質抗体の抗リン脂質抗体関連血小板減少症の発症への関与が明らかとなる可能性がある。

F. 健康危険情報

本年度は特に健康危険情報として報告すべきものはなかった。

G. 研究発表

1. 学会発表

1. Katsue Suzuki-Inoue, Roles of a platelet Clec-2 within and beyond clotting. Proteases in Hemostasis and Vascular Biology, FACEB Science Research Conference (invited speaker) 2015.6.8, Keystone, USA

2. 井上克枝 血小板活性化受容体 CLEC-2 の血栓止血とそれ以外における役割．特別講演（招待講演）第 35 回大阪血液学セミナー 2015.7.24 大阪 大阪大学

3. 井上克枝 血小板活性化受容体 CLEC-2 の血栓止血、癌転移、リンパ管新生における役割 第 17 回さくら造血細胞セミナー 特別講演（招待講演）15.7.1 東京 日本大学医学部リサーチセンター

2. 論文発表

1. Podoplanin-positive periarteriolar stromal cells promote megakaryocyte growth and proplatelet formation in mice by CLEC-2. Tamura S, Suzuki-Inoue K, Tsukiji N, Shirai T, Sasaki T, Osada M, Satoh K, Ozaki Y. Blood. 2016 Jan 21. pii: blood-2015-08-663708.

2. Platelets Regulate the Migration of Keratinocytes via Podoplanin/CLEC-2 Signaling

during Cutaneous Wound Healing in Mice.

Asai J, Hirakawa S, Sakabe J, Kishida T, Wada M, Nakamura N, Takenaka H, Mazda O, Urano T, Suzuki-Inoue K, Tokura Y, Katoh N. Am J Pathol. 2016 Jan;186(1):101-8.

3. Inhibition of IgE-mediated allergic reactions by pharmacologically targeting the circadian clock. Nakamura Y, Nakano N, Ishimaru K, Ando N, Katoh R, Suzuki-Inoue K, Koyanagki S, Ogawa H, Okumura K, Shibata S, Nakao A. J Allergy Clin Immunol. 2015 Nov 7. pii: S0091-6749(15)01370-6.

4. CLEC-2 in megakaryocytes is critical for maintenance of hematopoietic stem cells in the bone marrow.

Nakamura-Ishizu A, Takubo K, Kobayashi H, Suzuki-Inoue K, Suda T. J Exp Med. 2015 Nov 16;212(12):2133-46.

5. Vascular Smooth Muscle Cells Stimulate Platelets and Facilitate Thrombus Formation through Platelet CLEC-2: Implications in Atherothrombosis.

Inoue O, Hokamura K, Shirai T, Osada M, Tsukiji N, Hatakeyama K, Umemura K, Asada Y, Suzuki-Inoue K, Ozaki Y. PLoS One. 2015 Sep 29;10(9):e0139357.

6. Measurement of soluble C-type lectin-like receptor 2 in human plasma.

Kazama F, Nakamura J, Osada M, Inoue O, Oosawa M, Tamura S, Tsukiji N, Aida K, Kawaguchi A, Takizawa S, Kaneshige M, Tanaka S, Suzuki-Inoue K, Ozaki Y. Platelets. 2015;26(8):711-9. doi:

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

