

ITP診断法（網状血小板比率、血中TPO濃度）の標準化と病態解析

研究分担者： 富山 佳昭 大阪大学医学部附属病院 輸血部

研究協力者： 柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

加藤 恒 大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) 診断において幼若な血小板である網状血小板比率の測定は、再生不良性貧血などの低形成性血小板減少症との鑑別に有用である。今回、より簡便な網状血小板測定法である幼若血小板分画 (IPF%) の有用性を、新機種および旧機種において検討したところ、新機種においては Flow cytometry 法に匹敵する感度、特異性を得られた。また骨髄異形性症候群 (MDS) 症例において RP% および血中トロンボポエチン (TPO) 濃度を検討した結果、MDS 症例においては、いずれも正常もしくは再生不良性貧血症例に認められる RP% 正常かつ血中 TPO 著明高値である症例が多かった。MDS においては ITP で認められる RP% 増加かつ TPO 濃度はほぼ正常である症例は認めず、これらの検査は MDS と ITP の鑑別においても有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

ITP の診断の基本は除外診断であるが、特に再生不良性貧血 (AA) や骨髄異形性症候群 (MDS) との鑑別が問題になることが多い。網状血小板 (RP) は細胞内に RNA を豊富に含む幼若な血小板であり、網状血小板比率 (RP%) は血小板寿命を反映していると考えられている。また血中トロンボポエチン (TPO) 濃度は主に血小板および巨核球の総数により規定されている。我々は Flow cytometry を用いた RP% 測定 (FCM 法) と血中トロンボポエチン (TPO) 濃度測定が、AA などの低形成性血小板減少との鑑別に有用であることを報告してきた (Kurata et al. *Am J Clin Pathol* 2001)。しかし FCM 法は精度は高いものの高価な機器と煩雑な操作のため本法による網状血小板測定が実施可能な施設は限られている。近年、シスメックス社製多項目自動血球分析装置において、RNA が含まれ

る血小板分画を幼若血小板分画 (immature platelet fraction, IPF) として簡便かつ迅速に測定することが可能となっている。旧機種である XE-2100 を用いた IPF% 測定は ITP 診断の感度と特異性に難点があったが (林ら、*臨床病理* 2009)、最新機器である XN シリーズにおいては IPF 専用チャネルを設けたことによりその精度の改善が期待されている。我々は ITP 症例と、再生不良性貧血あるいは化学療法後の血小板減少患者の IPF% を XE-2100 および XN-1000 を用いて測定し、FCM 法と比較することにより、新機種における IPF% の ITP 診断における有用性を検討した。更に低形成血小板減少症だけでなく MDS と ITP の鑑別における RP% と血中 TPO 濃度測定の有用性についても検討を行った。

B. 研究方法

1) IPF%測定に関する検討：ITP症例47例(血小板数 5.68 ± 3.38 万/ μ l)、再生不良性貧血(AA)または化学療法による血小板減少例(CIT)28例(血小板数 4.25 ± 2.75 万/ μ l)、正常コントロール80例において、FCM法を用いたRP%測定、XE-2100およびXN-1000を用いたIPF%測定を同一検体を用いて行い、各検査のITP診断における感度および特異度を検討した。また破砕赤血球の影響をみるため、発作性夜間血色素尿症(PNH)患者16例においても検討した。

2) MDS症例における検討：MDS症例39例(うち骨髄芽球5%未満の症例29例、芽球5%以上の症例10例)におけるFCM法によるRP%測定、およびELISAを用いた血中TPO濃度測定を行った。

尚、本研究は大阪大学医学部倫理委員会の承認を得ており、患者からは研究協力に関し、十分な説明の上で書面による同意書を得ている。

C. 研究結果

1) IPF%測定に関する検討：FCM法、XE-2100あるいはXN-1000を用いたIPF%測定のいずれにおいてもITP症例では、正常コントロールに比べ有意に増加していた。一方、AAあるいはCIT症例においては、XN-1000ではXE-2100で認められた偽陽性率が低下し、XE-2100の特異度が75.0%であるのに対し、XN-1000では特異度が89.3%とFCM法と同等の感度・特異度が得られた。またPNH症例16例を検討した結果、XE-2100ではIPF%の基準範囲を大きく上回る症例が6例認められたのに対し、XN-1000およびFCM法ではすべての症例は正常範囲内にあり、XN-1000では

破砕赤血球などの赤血球粒子の影響を受け難く、溶血性疾患におけるIPF%の偽陽性率が低下することが示された。

2) MDS症例における検討：

ITP患者47例ではほぼ全例がRP%高値、血中TPO濃度は軽度上昇に留まっていたのに対し、AA患者18例においては、RP%正常かつ血中TPO濃度は著明高値を認めた。芽球5%以下の低リスクMDS症例29例においては、全例RP%は正常範囲内に留まったが、血中TPO濃度は約半数の症例で増加を認めた。一方、芽球5%以上の高リスクMDS症例10例においては、2例でRP%高値を認めたが、2例ともに血小板数20万/ μ L以上であり、血小板数10万/ μ L以下の症例においては、RP%の増加した症例は認めなかった。また血中TPO濃度は全例が正常～軽度高値の範囲内であった。

D. 考察

我々は、RP%と血中TPO濃度測定は、ITPとAAなどの低形成血小板減少症との鑑別において有用であることを報告してきたが、FCMを用いたRP%測定は測定方法の煩雑性から標準化することが困難であった。今回の検討により、新機種であるXN-1000を用いたIPF%測定により、簡便にFCM法に匹敵する感度と特異度を持って網状血小板比率を測定することが可能であることが示された。XN-1000においては破砕赤血球によるIPF%の偽陽性を排除することも可能であり、その有用性が高いことが示された。

また、今回、MDS症例におけるRP%と血中TPO濃度を検討したところ、芽球の少ない低リスクMDSにおいては正常もしくはAAパターン(RP%正常かつTPO濃度著明高値)を示し、芽球の多い高リスクMDSに

においても、血小板数高値を認める症例を除いて、正常パターンであった。従って、RP%高値かつTPO濃度は軽度上昇に留まるITPパターンを示す症例は少なく、これらの検査は血小板減少患者におけるITPとMDSの鑑別においても有用であることが示された。

E. 結論

鑑別診断が中心であるITP診断において、RP%および血中TPO濃度測定はAAだけでなくMDSとの鑑別においても有用である。またXN-1000を用いたIPF%測定はRP%に比べより簡便であり、かつ同程度の感度と特異度を有することから、臨床的な有用性が高いと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato H, Nakazawa Y, Kurokawa Y, Kashiwagi H, Morikawa Y, Morita D, Banno F, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. Human CaIDAG-GEFI deficiency increases bleeding and delays IIb/3 activation. *Blood* 128:2729-2733, 2016
- 2) Fujita S, Kashiwagi H, Tomimatsu T, Ito S, Mimura K, Kanagawa T, Endo M, Miyoshi T, Okamura Y, Tani Y, Tomiyama Y, Kimura T. Expression levels of ABCG2 on cord red blood cells and study of fetal anemia associated with anti-Jr(a). *Transfusion* 56:1171-81, 2016
- 3) 柏木浩和. 自己免疫性血小板減少症. **血液科研修ノート**(永井良三, 神田善伸編), 診断と治療社, 東京, 2016, pp360-364

- 4) 柏木浩和. ITP の治療. **EBM 血液疾患の治療 2017-2018**(金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2016, pp392-396
- 5) 柏木浩和. 本態性血小板血症の分子病態と治療の進歩. **Ph 陰性骨髄増殖性疾患 ~ 分子病態と治療の最前線 ~**(金倉 譲編), 医薬ジャーナル, 大阪, 2016, pp392-396
- 6) 富山佳昭, 佐藤金夫, 尾崎由基男, 清水美衣, 田村典子, 西川政勝, 野村昌作, 堀内久徳, 松原由美子, 矢富 裕, 山崎昌子, 羽藤高明. 透過光血小板凝集検査法の標準化:「国際血栓止血学会血小板機能部会からの提言」の紹介と解説. **血栓止血誌** 27:365-369, 2016
- 7) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病(ITP). **メディカル・テクノロジー** 44:362-367, 2016
- 8) 富山佳昭. 輸血療法とその副作用対策. **Medical Practice** 33:1461-1465, 2016
- 9) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. **日常診療に活かす 診療ガイドライン UP-TO-DATE 2016-2017**(門脇孝, 小室一成, 宮地良樹編), pp448-452, 2016
- 10) 富山佳昭. 妊娠 ITP の治療方針は? **EBM 血液疾患の治療 2017-2018**(金倉 譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編), 中外医学社, 東京, 2016, pp389-391
- 11) 細川美香, 中山小太郎純友, 櫻木美基子, 中尾まゆみ, 森川珠世, 清川知子, 青地 寛, 永峰啓丞, 和田浩志, 丸橋繁, 江口英利, 永野浩昭, 富山佳昭. ABO 血液型メジャー不適合成人人体肝移植におけるリツキシマブ投与例,

非投与例の抗 A ,抗 B 抗体価の推移と FFP の使用状況 .**日本輸血細胞治療学会誌** 62:24-31, 2016

2. 学会発表

- 1) The 9th Congress of the Asian-Pacific Society on Thrombosis and Hemostasis (2016.10.6-9, Taipei International Convention Center, Taiwan, Ming-Ching Shen) (Oral) Tomiyama Y. Pathology and diagnosis of ITP.
- 2) **第 41 回日本脳卒中学会総会** (2016.4.14-16 **ロイトン札幌他, 北海道, 寛金清博**)(シンポジウム) 柏木浩和 . 血小板血栓形成の分子メカニズム: 最新の話題
- 3) **第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会** (2016.4.28-30, **国立京都国際会館, 京都, 前川 正**)(シンポジウム) 柏木浩和, 藤田聡子, 富松拓治, 木村正, 富山佳昭 . Jra 不適合妊娠の臨床像と胎児貧血の機序
- 4) **第 64 回日本輸血・細胞治療学会総会** (2016.4.28-30, **国立京都国際会館, 京都, 前川 正**)(シンポジウム) 富山佳昭 . 血小板減少症の診断と治療
- 5) **第 38 回日本血栓止血学会学術集会** (2016.6.16-18 . **奈良春日野国際フォーラム**, **奈良, 嶋 緑倫**)(シンポジウム) 加藤 恒, 柏木浩和, 富山佳昭 . Integrin inside-out activation: the role of CalDAG-GEFI in platelet integrin IIb 3 activation.
- 6) **第 38 回日本血栓止血学会学術集会** (2016.6.16-18 . **奈良春日野国際フ**

オーラム, **奈良, 嶋 緑倫**)(口演) 富山佳昭 . 血小板減少症の病態と治療

- 7) **第 38 回日本血栓止血学会学術集会** (2016.6.16-18 . **奈良春日野国際フォーラム**, **奈良, 嶋 緑倫**)(口演) 森川陽一郎, 加藤 恒, 芥田敬吾, 柏木浩和, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭 . The association of PAR4 polymorphism with human platelet reactivity in Japanese
- 8) **第 17 回日本検査血液学会学術集会** (2016.8.6-7, **福岡国際会議場, 福岡, 赤司浩一**)(シンポジウム) 柏木浩和 . ITP の病態, 診断および治療
- 9) **第 78 回日本血液学会学術集会** (2016.10.13-15, **パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷綱子**)(シンポジウム) 富山佳昭 . Practical guide for the management of adult primary immune thrombocytopenia
- 10) **第 78 回日本血液学会学術集会** (2016.10.13-15, **パシフィコ横浜, 神奈川, 三谷綱子**)(口演) 森川陽一郎, 加藤 恒, 芥田敬吾, 柏木浩和, 本田繁則, 金倉 譲, 富山佳昭 . トロンピン受容体 PAR4 多型性の血小板機能における意義

【メディア】

- 1) 富山佳昭, 聖教新聞. 特発性血小板減少性紫斑病. 2016 年 9 月 18 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし