

## グループ研究報告書

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	准教授
班員：	桑名正隆	日本医科大学	教授
	羽藤高明	愛媛大学医学部附属病院	准教授
	村田 満	慶應義塾大学医学部	教授
研究協力者：	藤村欣吾	安田女子大学	教授
	倉田義之	千里金蘭大学	
	高蓋寿朗	国立病院機構呉医療センター	科長
	柏木浩和	大阪大学大学院医学系研究科	講師
特別協力者（疫学班）：	島田直樹	国際医療福祉大学	教授

## 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) 治療の標準化（特に ITP 治療の参照ガイドの作成および改訂）、3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討、を中核としてグループ研究および個別研究を行った。平成 17 年度から 26 年度（10 年間）の ITP 臨床調査個人票のデータを用いて消化管出血と脳出血の実態と脾臓摘出術（脾摘）の実施状況について調査した。治療の標準化に関しては、本研究班にて作成した「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」の改訂に向けて論点を整理し、治療アルゴリズム改定案の作成および主要な評価項目に関する検討を班員間で行った。さらに執筆活動や市民公開講座により、その啓発に努めた。個別研究では、診断に関して構成仕様を確立した抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定キットの感度を高める改良を行った。また、TPO を測定するサンドイッチ ELISA 系を構成する固相抗体、二次抗体、校正用基準物質の作成をほぼ終了した。

#### A. 研究目的

ITP は平成 26 年度までは特定疾患治療研究事業の対象疾患であり、平成 27 年 1 月よりは指定難病医療費助成制度の対象疾患として、難病に位置づけられる疾患である。本研究班では本疾患を克服すべくその疫学を初めとして、治療ならびに診断を向上させることを課題として継続して検討を重ねている。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) 治療の標準化とその啓発（治療の参照ガイドの作成および改訂）、3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討（特に病態に則した新たな診断基準の作成）を大きな柱として検討してきた。

平成 29 年度においては、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した。治療に関しては治療プロトコー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「成人 ITP 治療の参照ガイド」、「妊娠合併 ITP 治療の参照ガイド」の作成および公開を行ってきた。本年度は、「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」の改訂に向けて論点の整理など、改訂作業に取り組んだ。ITP に関する新たな診断法として、ELISPOT 法の改良、血中 TPO 測定キット開発に向けての検討を行った。

#### 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う毎年行われる 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、「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」、の公開と啓発に努めたが、今年度より 2012 年版の改訂準備に取り組んだ。方法としては、班員間でのメール審議を通して、参照ガイド改訂に向けての論点の整理、今後の改訂の進め方に関する討議を行った。

3. ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討、(個別研究)

ITP の補助診断法として抗血小板抗体検出法である ELISPOT 法のキット化の推進、新たに企業とともに血中トロンボポエチン (TPO) 濃度測定キットの開発を開始した。

#### (倫理面への配慮)

臨床研究に関しては、当該施設の臨床研究倫理審査委員会での承認を得たのち、インフォームドコンセントを得て施行した。また、一部研究では、残余検体を用いた。

### C. 研究結果

#### 1. ITP の疫学研究 (羽藤、倉田、島田)

##### 1. 臨床調査個人票登録数

平成 17 年度から 26 年度の 10 年間における新規登録患者数は 21,811 人であり、更新登録患者数はのべ 126,009 人であった。各年度別登録患者数は平成 19 年度を除くとほぼ一定の範囲の登録数であったが、平成 19 年度は ITP 医療受給者証保持者の約 12%の臨床調査個人票しか回収できておらず、極端に少なかった。これは都道府県から厚労省への臨床調査個人票データの入力率が低下したため、厚労省データベースのデータ量が減少したことによるものと推察された。

##### 2. 消化管出血 (下血)

重篤な出血合併症である消化管出血の発生状況とリスク因子について検討した。消化管出血発生時に近いデータを得るためには出血発生時に登録がなされる新規登録患者のデータベースを用いることとした。平成 17~26 年度の 10 年間における新規登録 ITP 患者 21,811 人中 1,291 人 (5.9%)に消化管出血がみられた。消化管出血は男性比率 52.3%とやや男性に多く、平均年齢は 67.5 歳と高齢者に多かった。血小板数は平均  $0.76$  万/ $\mu$ l であり、血小板数  $5000/\mu$ l 以下の患者が 59%と多数を占めていた。消化管出血非合併例と比較するため、カイ 2 乗検定による単変量解析を行うと、男性、60 歳以上、血小板数  $1$  万/ $\mu$ l 以下であることが消化管出血発症の有意なリスク因子であった。また、検査値では網状血小板比率上昇が有意に相関していたが、これは消化管出血の結果として引き起こされた変化の可能性もある。さらに、皮下出血や粘膜出血などの出血症状との相関を解析すると、単変量解析では紫斑、歯肉出血、鼻出血、血尿、月経過多、脳出血の存在が消化管出血の発生と相関していた。月経過多は閉経後の女性には当然見られないため、年齢バイアスが大きく関与していると推察された。月経過多を除いて単変量解析で有意差が見られた項目について多変量ロジスティック回帰解析を行うと、男性、60 歳以上、血小板数  $1$  万/ $\mu$ l 以下、歯肉出血、鼻出血、血尿が独立リスク因子として同定された。

##### 3. 脳出血

重篤な出血合併症である脳出血の発生状況とリスク因子について検討した。平成 17~26 年の 10 年間における新規登録 ITP 患者 21,811 人中 233 人 (1.1%)に脳出血が

みられた。脳出血例の男性比率 45.9%であり、平均年齢は 71.2 歳であった。血小板数は平均 1.03 万/ $\mu$ l であり、血小板数 5000/ $\mu$ l 以下の患者が 49%を占めていた。脳出血非合併例と比較するため、カイ 2 乗検定による単変量解析を行うと、男性、60 歳以上、血小板数 1 万/ $\mu$ l 以下であることが脳出血発症の有意なリスク因子であった。また、検査値では網状血小板比率上昇が有意に相関していた。さらに、皮下出血や粘膜出血などの出血症状との相関を解析すると、単変量解析では歯肉出血、鼻出血、血尿、消化管出血の存在が脳出血の発生と相関していた。これら単変量解析で有意差が見られた項目について多変量ロジスティック回帰解析を行うと、60 歳以上、血小板数 1 万/ $\mu$ l 以下、血尿が独立リスク因子として同定された。

#### 4. 脾臓摘出術（脾摘）

平成 17～26 年度の 10 年間における更新患者データベースから、脾摘実施日を基に脾摘を実施した患者を抽出した。この 10 年間に脾摘が行われた患者は 715 名であり、要治療 ITP 患者の約 0.7%が脾摘治療を受けていた。年度別の脾摘率は平成 17 年度から 20 年度の間は 0.92-1.08%であったが、その後、徐々に減少し、平成 21 年度から 26 年度の間は 0.61-0.77%に微減していた。脾摘患者の平均年齢は 49.4 $\pm$ 19.3 歳（6-88 歳、中央値 53 歳）、女性が 65%とやや多く、発症から脾摘までの期間は 5.0 $\pm$ 6.7 年（0-52 年、中央値 2 年）であった。発症から 5 年以内に脾摘された患者のうち、患者の 41%は発症から 1 年以内に脾摘されていた。脾摘を実施した年度における血小板最低値は 0.9 $\pm$ 0.9（0-7、中央値 0.6）万/ $\mu$ l であり、70%の症例が血小板数 1 万/ $\mu$ l 以下

であった。これらのことから、高度な血小板減少例で脾摘以外の治療法が無効な症例では診断から 1 年以内の早期に脾摘治療が選択されている可能性が示唆された。

## 2. ITP 治療の参照ガイドの改訂の準備（柏木、高蓋、羽藤、桑名、村田、藤村、倉田）

研究班では、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。これらの成果はすべてオープンアクセス化している。

[https://www.jstage.jst.go.jp/article/inketsu/53/4/53\\_433/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/inketsu/53/4/53_433/_article/-char/ja/)

本研究班では、「参照ガイド」との名称を意識して使用しているが、その理由としては、エビデンスレベルが高くなく専門家のコンセンサスにて作成していること、ITP に用いられている薬剤に関して保険適用が無い薬剤が多いこと、があげられ、あくまで標準的な目安を提示している。個別の症例に対しては、個々に存在する状況を鑑み、総合的に診療を行うべきである。本年度においても研究班が作成した上記参照ガイドの普及、啓発に学会シンポジウムや総説原稿にて活発に行った。実際「臨床血液」誌のダウンロード数において、一位が成人特発性血小板減少性紫斑病治療の参照ガイド 2012 年版であり、二位は妊娠合併特発性血小板減少性紫斑病診療の参照ガイドであり、この 2 編が圧倒的なダウンロード数（約 1,500/月）であり、その使命を果たしていることが裏付けられた。さらに本年度では、新たに市民公開講座を開催し、ITP を初めとして当班会議が担当する血液難病についての教育と啓発に努め、参加者から高評価

を得た。

「参照ガイド」の改訂案としては、ステロイド不応例に対して、脾摘、TPO 受容体作動薬およびリツキシマブを 2nd Line として併記すること、各々の治療の有効性と安全性に関し文献的検索を行い、それぞれの治療の長所・短所を提示する必要があることで合意した。また 1st Line 治療としての副腎皮質ステロイドの投与方法、およびステロイド、脾摘、TPO 受容体作動薬、リツキシマブ以外の 3rd Line 治療に関する 2012 年以降の文献的検討を追加することで合意した。

治療の各論においては、i) 基本的には、前回の参照ガイドをベースに、最初に各治療について概論（有効性、安全性）を記載する、ii) 次に、一般的な投与方法を具体的に記載する、iii) 次に Question に関して、Answer（および可能であれば推奨度）を記載し、その後に解説を加える（文献の選択は筆者に一任するが、RCT は原則すべて検討する。それを基に推奨度を Grade に準拠し決定する。）ことを確認した。

### 3) 病態解析に基づいた ITP 診断法の標準化

#### 1) 抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定法（桑名、富山、柏木）

本年度は、プロトタイプではあるがキット化に成功している抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞（ITP-ELISPOT、MBL 社）を体外診断薬として精度を高めることを目的とした。まずキット化した ITP-ELISPOT 法を用いて、大阪大学にて IRB 審査後に、ITP 患者検体を用いたパイロットスタディを施行したが、残念ながら良好な結果が得られなかった。その原因は検出感度の低下であった。そのため、検出感度の改善を目的に以下の改良

を加えた。キメラ型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生株 OPG2 を用いてキットと in-house 法を比較したところ、キットに比べて従来の in-house 法が検出感度が優れていることが確認された。そこで、プレート、基質液、標識二次抗体、Tween 20 洗浄の有無の条件を組み合わせ、最適な測定条件を検討した。その検討結果を踏まえ、キット仕様を変更し、感度を高める改良を行った。キット改良版を用いて ITP 患者 3 名と健常人 6 名で抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定法を測定したところ、全例でスポットが検出された。ただし、スポット数は健常人では  $2.0 \pm 0.4$  に対して ITP 患者で  $12.8 \pm 4.2$  と明らかに多かった。

#### 2) TPO 測定キットの開発（桑名、富山、柏木）

ITP の診断の基本は除外診断であるが、本研究班では、ITP の診断における網状血小板比率（RP%あるいは IPF%）と血中血中トロンボポエチン（TPO）濃度の有用性を明らかにしてきた。本年度は、その実用化に向けて血中 TPO 測定キットの開発に着手した。

サンドイッチ ELISA の構成内容として以下の作成に成功した。

- ・固相抗体 - TN1 を安定産生する CHO 細胞株を作成した。培養上清中には固相化した rTPO、抗マウス IgG 抗体に結合活性を有するマウス抗ヒト TPO モノクローナル抗体の産生を確認した。

- ・rTPO - TN1 が認識するエピトープは高次構造依存的であることから、糖鎖修飾を含めた native な構造を持つ rTPO を取得する必要がある。そこで、組換え rTPO を安定産生する CHO 細胞株を限界希釈法で複数樹立した。その中で安定して増殖し、rTPO を発

現する細胞株 TPO-50-1-9 を選択した。培養上清を抗 His タグ抗体によるアフィニティで精製することで、90%以上の純度の高い rTPO を得ることができた。免疫ブロットでは抗 His タグ抗体、抗 TPO 抗体と反応する約 80kDa の蛋白 (rTPO) が確認された。

・二次抗体 - TPO-50-1-9 細胞株上清から精製した rTPO をウサギに免疫し、脾臓から抗体ファージライブラリを構築した。rTPO を抗原としたパンニングにより、結合親和性の高いクローンを複数取得した。現在、そのうち 4 クローンの IgG 組換え抗体を作成中である。

#### D. 考案

ITP の診療は、近年大きく変化している。新たに ITP に対するリツキシマブの医師主導型治験の成績も本班員が中心となり遂行しその成果を発表している。リツキシマブは 2017 年 3 月に ITP に対して保険収載されたこと、さらに 2012 年に参照ガイドを公開してから 5 年が経過していることより、改訂の至適時期であると考えている。

ステロイド不応性の ITP 患者における 2nd Line 治療としての TPO 受容体作動薬の安全性に関しては、メタアナリシスの結果から (Wang, et al. Sci Rep. 2016 Dec 19;6:39003)、その有効性と安全性が確立されてきている。またリツキシマブに関しては、欧米の報告では短期的には 60%程度、長期的には 20-30%程度の有効率であり、本邦における臨床治験においても 30%程度の有効率が報告されている (Miyakawa Y, et al. Int J Hematol 2015, 102: 654-661)。脾摘に関しては、現時点においても最も有効率が高い治療法ではあるが、敗血症や血栓症の頻度の増加が報告されてきている (Boyle S et al. Blood

2013;121:4782-4790)。以上のような点から、2nd Line 治療として、TPO 受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘の選択は個々の症例毎に考慮することが望ましいということで合意を得た。今後、それぞれの治療の有効性、安全性を含めた特徴を文献的に考察し提示していく予定である。また、1st Line 治療および 3rd Line 治療に関しても、最新の情報を整理して提示し、臨床家が使用しやすい参照ガイドの改訂を目指したい。

さらに ITP の診断はいまだ除外診断である現状を打開し、より良い診療を確立するために、本研究班では、ITP 診断基準案を 2004 年に提唱しているが、その検査法の保険収載にむけて、一步一步前進しているところである。今後、これらの検査法に関して他施設共同で評価していく予定である。

以上のように今後も、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 の現状を把握し、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「ITP 治療の参照ガイド」を改訂し、継続して情報発信に努めていく予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tomiyama Y. Autoantigens in ITP. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p53-62, 2017
- 2) Tomiyama Y. Thrombopoietin

- receptor agonists. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p171-181, 2017
- 3) Tomiyama Y, Differential diagnosis: Hypoplastic thrombocytopenia. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p107-114, 2017
  - 4) Kashiwagi H, Tomiyama Y. ITP in adults. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p75-84, 2017
  - 5) Kashiwagi H, Tomiyama Y. Diagnosis in General. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p87-95, 2017
  - 6) Hato T, Kurata Y: Epidemiology. Autoimmune Thrombocytopenia. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p41-49, 2017
  - 7) Hato T: Transfusion. Autoimmune Thrombocytopenia. (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, pp191-197, 2017
  - 8) Sakuragi M, Hayashi S, Maruyama M, Kiyokawa T, Nagamine K., Fujita J, Maeda T, Kato H, Kashiwagi H, Kanakura Y, Tomiyama Y. Immature platelet fraction (IPF) as a predictive value for thrombopoietic recovery after allogeneic stem cell transplantation. Int J Hematol, 2018;107(3):320-326.
  - 9) Morikawa Y, Kato H, Kashiwagi H, Nishiura N, Akuta K, Honda S, Kanakura Y, Tomiyama Y. Protease-activated receptor-4 (PAR4) variant influences on platelet reactivity induced by PAR4-activating peptide through altered Ca<sup>2+</sup> mobilization and ERK phosphorylation in healthy Japanese subjects. Thromb Res. 162:44-52, 2018
  - 10) Casey N, Fujiwara H, Azuma T, Murakami Y, Yoshimitsu M, Masamoto I, Nawa Y, Yamanouchi J, Narumi H, Yakushijin Y, Hato T, Yasukawa M: An unusual, CD4 and CD8 dual-positive, CD25 negative, tumor cell phenotype in a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma. Leuk Lymphoma 2018 in press
  - 11) Mori S, Yamanouchi J, Okamoto K, Hato T, Yasukawa M: A novel frameshift mutation leading to inherited type I antithrombin deficiency. Blood Coagul Fibrin 28:189-192, 2017
  - 12) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 臨床検査 61: 124-130, 2017
  - 13) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 内科学第 11 版 (矢崎義雄総編集)、朝倉書店、東京、2017, p2023-2025
  - 14) 富山佳昭. ワンポイントアドバイス. 出血傾向のない見かけ上の血小板減少症. Medical Practice34:1211, 2017
  - 15) 富山佳昭. ITP-最新の話題-. 臨床血液 58:537-541, 2017
  - 16) 富山佳昭. 参照ガイドに基づいた成人

- 特発性血小板減少性紫斑病の治療戦略.  
臨床血液 58:843-848, 2017
- 17) 酒井道生、天野景裕、小川孔幸、高見昭良、徳川多津子、野上恵嗣、羽藤高明、藤井輝久、松本功、松本剛史 後天性血友病A診療ガイドライン 2017年改訂版 日本血栓止血学会誌 28:715-747, 2017
  - 18) 羽藤高明、横山健次、國島伸治 2016 Hot Topics 血小板分野 日本血栓止血学会誌 28:79-82, 2017
  - 19) 羽藤高明 輸血・血液型検査 今日の臨床検査 2017-2018 pp129-136, 2017 南江堂 東京
  - 20) 羽藤高明 HLA 検査 今日の臨床検査 2015-2016 pp137-142, 2017 南江堂 東京
2. 学会発表
- 1) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** (Poster) Kato H, Ito Y, Kashiwagi H, Morikawa Y, Akuta K, Nishiura N, Honda S, Kokame K, Miyata T, Kanakura Y, Tomiya Y. Complete failure of integrin  $\alpha$ Ib $\beta$ 3 activation in kinetic assay associates with severe bleeding tendency in a patient with Kindlin-3 deficiency.
  - 2) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** (Poster) Akuta K, Kashiwagi H, Yujiri T, Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, Tomiya Y. Acquired Glanzmann thrombasthenia due to marked reduction of surface  $\alpha$ Ib $\beta$ 3 expression with non function blocking anti- $\alpha$ Ib $\beta$ 3 antibodies.
  - 3) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** (Poster) Morikawa Y, Kato H, Akuta K, Kashiwagi H, Honda S, Kanakura Y, Tomiya Y. The association of PAR4 polymorphism with human platelet reactivity in Japanese.
  - 4) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** Yamanouchi J, Hato T, Ikeda Y, Takeda H, Yasukawa M: A heterozygous mutation of G-protein-coupled receptor 25 in a family with thrombocytopenia and thrombosis.
  - 5) **The 32<sup>nd</sup> Annual Congress of Korean Society on Thrombosis and Hemostasis (2017.9.8, Seoul National University, Seoul, Korea).** Tomiya Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia.
  - 6) **第 39 回日本血栓止血学会学術集会 (2017.6.8-10. 名古屋国際会議場)** (口演) 加藤恒、伊藤康彦、柏木浩和、森川陽一郎、芥田敬吾、西浦伸子、金倉讓、富山佳昭. Kindlin-3 欠損に起因

- した血小板無力症/白血球接着不全症 (LAD-III) の解析
- 7) 第 39 回日本血栓止血学会学術集会 (2017. 6. 8-10. 名古屋国際会議場) (口演) 芥田敬吾、柏木浩和、湯尻俊昭、西浦伸子、森川陽一郎、加藤恒、本田繁則、金倉讓、富山佳昭. GPIIb/IIIa の著明な発現低下を認めた後天性血小板無力症.
- 8) 第 39 回日本血栓止血学会学術集会 (2017. 6. 8-10. 名古屋国際会議場) 山之内純、池田祐一、羽藤高明. ゲノム定量PCR 法と X 染色体不活化偏位解析が有用であった女性血友病 B 患者の遺伝子解析
- 9) 第 79 回日本血液学会学術集会 (2017. 10. 20-22, 東京フォーラム、東京、木崎昌弘) (口演) 加藤恒、伊藤康彦、柏木浩和、森川陽一郎、芥田敬吾、西浦伸子、本田繁則、小亀浩市、金倉讓、富山佳昭.  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 activation kinetics reveals distinctive roles of critical molecules in inside-out signaling.
- 10) 第 79 回日本血液学会学術集会 (2017. 10. 20-22, 東京フォーラム、東京、木崎昌弘) (口演) 芥田敬吾、柏木浩和、湯尻俊昭、西浦伸子、森川陽一郎、加藤恒、本田繁則、金倉讓、富山佳昭. 非機能阻害抗体により血小板表面の著明なインテグリン  $\alpha$  IIb  $\beta$  3 発現低下を来した後天性血小板無力症
- 11) 第 79 回日本血液学会学術集会 (2017. 10. 20-22, 東京フォーラム、東京、木崎昌弘) 山之内純、羽藤高明、池田祐一、竹田浩之、安川正貴 先天性血小板減少症と血栓症を有する家系における GPR25 遺伝子変異
- 12) 第 24 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム (2017. 10. 13, ホルトホール大分, 大分, 佐分利能生) (シンポジウム) 富山佳昭. 血小板の質的・量的異常症と血小板輸血
- 13) 第 24 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム (2017. 10. 13, ホルトホール大分, 大分, 佐分利能生) 羽藤高明 急性白血病患者における血小板輸血 第 24 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム 2017. 10. 13 大分
- 14) 羽藤高明 血小板減少と出血傾向 第 11 回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2017. 1. 21 東京
- 【市民公開講座】
- 1) 市民公開講座 血液の難病に挑むー出血と血栓に関連する血液難病についてー (2018. 2. 3. 大手町サンケイプラザ、東京、村田満) 富山佳昭: 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## 成人 ITP 治療ガイド改訂に向けての検討

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

### 研究要旨

当研究班から 2012 年に発表された「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」は、実臨床において広く利用されてきている。しかし、参照ガイド作成後、既に 5 年が経過し、当時保険収載された直後であったトロンボポエチン受容体作動薬の長期的な有効性や安全性に関するデータが蓄積されてきた。また 2017 年には新たにリツキシマブが保険適用となったこともあり、参照ガイドの改訂が必要な時期となってきている。本年度は、ガイド改訂に向けて論点を整理し、治療アルゴリズム改定案の作成および主要な評価項目に関する検討を班員間で行った。

#### A. 研究目的

当研究班から「成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版」が発表されてから、既に 5 年以上が経過しようとしている。この 5 年間に於いて成人 ITP 治療の治療適応、治療目標、治療の流れにおいて大きな変化はなく、大筋において本参照ガイドは現時点でも有用なものであると考える。ただ、2012 年は承認発売された直後であったトロンボポエチン(TPO)受容体作動薬も、その長期的な有効性と安全性が明らかにされ、使用例が増えてきている。また、欧米のガイドラインではステロイド不応例の 2nd Line に位置づけられていたリツキシマブが、2017 年、本邦において保険適用となった。一方で、従来、不動の 2nd Line 治療に位置付けられていた脾摘は、TPO 受容体作動薬の普及および感染症や血栓症の増加などの問題点が指摘されてきたこともあり、実施例は減少傾向にある。2012 年版ガイドでは 2nd Line として脾摘を推奨し、TPO 受容体作動薬およびリツキシマブは脾摘不応の場合の 3rd Line として推奨して

いるが、以上のような状況から 2nd Line 治療に関し、臨床現場ではその選択に悩む症例が増えてきている。そこで、本改訂の第 1 の目的は、ステロイド不応例の 2nd Line 治療として脾摘、TPO 受容体作動薬およびリツキシマブをどのように位置づけるか、各々の治療の有効性と安全性に関し、文献的検索を行い、その指針を提示したい。また、新規発症 ITP におけるステロイド療法においても、主に海外からデキサメタゾン大量療法の有効性が報告されてきている。また 3rd Line 治療に関しても新たな知見が蓄積されつつある。これらの情報を整理し、参照ガイドに提示していきたい。

#### B. 研究方法

班員間でのメール審議を通して、参照ガイド改訂に向けての論点の整理、今後の改訂の進め方に関する討議を行った。

#### C. 研究結果

ステロイド不応例に対して、脾摘、TPO 受容体作動薬およびリツキシマブを 2nd

Lineとして併記すること、各々の治療の有効性と安全性に関し文献的検索を行い、それぞれの治療の長所・短所を提示する必要があることで合意した(下図)。また1st Line治療としての副腎皮質ステロイドの投与方法、およびステロイド、脾摘、TPO受容体作動薬、リツキシマブ以外の3rd Line治療に関する2012年以降の文献的検討を追加することで合意した。

治療の各論においては、i) 基本的には、前回の参照ガイドをベースに、最初に各治療について概論(有効性、安全性)を記載する、ii) 次に、一般的な投与方法を具体的に記載する、iii) 次にQuestionに関して、Answer(および可能であれば推奨度)を記載し、その後解説を加える(文献の選択は筆者に一任するが、RCTは原則すべて検討する。それを基に推奨度をGradeに準拠し決定する。)ことを確認した。

#### D. 考察

ステロイド不応性のITP患者における2nd Line治療としてのTPO受容体作動薬の安全性に関しては、メタアナリシスの結果から(Wang, et al. Sci Rep. 2016 Dec 19;6:39003)、その有効性と安全性が確立されてきている。また本邦において保険適用となったリツキシマブに関しては、欧米の報告では短期的には60%程度、長期的には20-30%程度の有効率であり、本邦における臨床治験においても30%程度の有効率が報告されている(Miyakawa Y, et al. Int J Hematol 2015, 102: 654-661)。脾摘に関しては、現時点においても最も有効率が高い治療法ではあるが、敗血症や血栓症の頻度の増加が報告されてきている(Boyle S et al. Blood 2013;121:4782-4790)。以上のよ

うな点から、2nd Line治療として、TPO受容体作動薬、リツキシマブ、脾摘の選択は個々の症例毎に考慮することが望ましいということで合意を得た。今後、それぞれの治療の有効性、安全性を含めた特徴を文献的に考察し提示していく予定である。また、1st Line治療および3rd Line治療に関しても、最新の情報を整理して提示し、臨床家が使用しやすい参照ガイドの改訂を目指したい。

#### E. 結論

ITP治療参照ガイド改訂に向けて、その大枠に関する検討を終了した。今後、個々の治療に関するガイドの作成を進めていく。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tomiyaama Y. Autoantigens in ITP. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p53-62, 2017
- 2) Tomiyaama Y. Thrombopoietin receptor agonists. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p171-181, 2017
- 3) Tomiyaama Y. Differential diagnosis: Hypoplastic thrombocytopenia. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p107-114, 2017
- 4) Kashiwagi H, Tomiyama Y. ITP in adults. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y,

- Tomiya Y ed.) Springer nature, Singapore, p75-84, 2017
- 5) Kashiwagi H, Tomiyama Y. Diagnosis in General. “Autoimmune thrombocytopenia” (Ishida Y, Tomiyama Y ed.) Springer nature, Singapore, p87-95, 2017
  - 6) Sakuragi M, Hayashi S, Maruyama M, Kiyokawa T, Nagamine K., Fujita J, Maeda T, Kato H, Kashiwagi H, Kanakura Y, Tomiya Y. Immature platelet fraction (IPF) as a predictive value for thrombopoietic recovery after allogeneic stem cell transplantation. Int J Hematol, 2018;107(3):320-326.
  - 7) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 臨床検査 61: 124-130, 2017
  - 8) 富山佳昭. 特発性血小板減少性紫斑病. 内科学第11版(矢崎義雄総編集), 朝倉書店, 東京, 2017, p2023-2025
  - 9) 富山佳昭. ワンポイントアドバイス. 出血傾向のない見かけ上の血小板減少症. Medical Practice34:1211, 2017
  - 10) 富山佳昭. ITP-最新の話題-. 臨床血液 58:537-541, 2017
  - 11) 富山佳昭. 参照ガイドに基づいた成人特発性血小板減少性紫斑病の治療戦略. 臨床血液 58:843-848, 2017
2. 学会発表
- 1) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** (Poster) Kato H, Ito Y, Kashiwagi H, Morikawa Y, Akuta K, Nishiura N, Honda S, Kokame K, Miyata T, Kanakura Y, Tomiya Y. Complete failure of integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 activation in kinetic assay associates with severe bleeding tendency in a patient with Kindlin-3 deficiency.
  - 2) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** (Poster) Akuta K, Kashiwagi H, Yujiri T, Nishiura N, Morikawa Y, Kato H, Honda S, Kanakura Y, Tomiya Y. Acquired Glanzmann thrombasthenia due to marked reduction of surface  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 expression with non function blocking anti- $\alpha$ IIb $\beta$ 3 antibodies.
  - 3) **International Society on Thrombosis and Hemostasis 2017 Congress (2017.7.8-13, City Cube Berlin and Messe Berlin, Berlin, Germany)** (Poster) Morikawa Y, Kato H, Akuta K, Kashiwagi H, Honda S, Kanakura Y, Tomiya Y. The association of PAR4 polymorphism with human platelet reactivity in Japanese.
  - 4) **The 32<sup>nd</sup> Annual Congress of Korean Society on Thrombosis and Hemostasis (2017.9.8, Seoul National University, Seoul, Korea).** Tomiya Y. Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia.
  - 5) **第 39 回日本血栓止血学会学術集会**

- (2017. 6. 8-10. 名古屋国際会議場)  
 (口演)加藤恒、伊藤康彦、柏木浩和、森川陽一郎、芥田敬吾、西浦伸子、金倉讓、富山佳昭. Kindlin-3 欠損に起因した血小板無力症/白血球接着不全症 (LAD-III) の解析
- 6) 第 39 回日本血栓止血学会学術集会  
 (2017. 6. 8-10. 名古屋国際会議場)  
 (口演)芥田敬吾、柏木浩和、湯尻俊昭、西浦伸子、森川陽一郎、加藤恒、本田繁則、金倉讓、富山佳昭. GPIIb/IIIa の著明な発現低下を認めた後天性血小板無力症.
- 7) 第 79 回日本血液学会学術集会  
 (2017. 10. 20-22, 東京フォーラム、東京、木崎昌弘) (口演)加藤恒、伊藤康彦、柏木浩和、森川陽一郎、芥田敬吾、西浦伸子、本田繁則、小亀浩市、金倉讓、富山佳昭. aIIb3 activation kinetics reveals distinctive roles of critical molecules in inside-out signaling.
- 8) 第 79 回日本血液学会学術集会  
 (2017. 10. 20-22, 東京フォーラム、東京、木崎昌弘) (口演)芥田敬吾、柏木浩和、湯尻俊昭、西浦伸子、森川陽一郎、加藤恒、本田繁則、金倉讓、富山佳昭. 非機能阻害抗体により血小板表面の著明なインテグリン aIIb3 発現低下を来した後天性血小板無力症
- 9) 第 24 回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム (2017. 10. 13, ホルトホール大分, 大分, 佐分利能生) (シンポジウム) 富山佳昭. 血小板の質的・量的異常症と血小板輸血
- 【市民公開講座】
- 1) 市民公開講座 血液の難病に挑む-出血と血栓に関連する血液難病について- (2018. 2. 3. 大手町サンケイプラザ、東京、村田 満) 富山佳昭: 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)
1. 特許取得  
     該当なし
  2. 実用新案登録  
     該当なし
  3. その他  
     該当なし

## ITP診断に有用な臨床検査法の実用化に向けた試み

研究分担者：桑名正隆 日本医科大学アレルギー膠原病内科 教授

研究分担者：富山佳昭 大阪大学医学部附属病院輸血部 部長

### 研究要旨

特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の診断には、いまだ血小板減少をきたす他疾患の除外に主眼を置いた基準が用いられている。平成 16 年度に本研究班が ITP に感度または特異度の高い臨床検査を組み合わせた診断基準案を提唱したが、含まれる項目の多くが保険診療上測定できない。そこで、すでにキット化に成功している抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞およびトロンボポエチン（TPO）測定法の体外診断薬としての承認申請を目指した検討を進めている。本年度は、構成仕様を確立した抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定キットの感度を高める改良を行った。また、TPO を測定するサンドイッチ ELISA 系を構成する固相抗体、二次抗体、校正用基準物質の作成をほぼ終了した。これらキット最終仕様のカットオフ値の設定、保存性や安定性など詳細な条件設定を行うプレ臨床試験の実施に向けた準備が完了した。

#### A. 研究目的

我が国では 1990 年に厚生省研究班により作成された特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の診断基準が現状も用いられている。この基準では、出血症状と血小板減少症があり骨髓検査で巨核球の減少や他系統に異型性がなく、血小板減少をきたしうる他疾患の除外が診断根拠となる。血小板減少をきたす全ての疾患を診療で除外することは現実的に不可能で、そのために数多くの検査を行うことは医療経済上好ましくない。そこで、平成 16 年度に本研究班で多施設前向き研究を実施し、ITP に感度、特異度の高い臨床検査を組み合わせ積極的に ITP を診断する基準案を作成した。本基準は侵襲性の低い血液検査のみで迅速に結果が得られ、感度 93%、特異度 75%と良好な結果を示した。しかしながら、項目に含まれる抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、血小板関連抗 GPIIb/IIIa

抗体、網血小板比率、血漿トロンボポエチン（TPO）は保険診療で測定できない。抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、網血小板比率、血漿 TPO は研究目的での受託測定が可能になったが、検査費用が発生することから一般診療で普及していない。これら問題点を解決するためには再現性・汎用性の高い臨床検査キットの作成およびその体外診断用医薬品としての承認が不可欠である。そこで、すでにキット化されている抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞検出試薬（ITP-ELISPOT; MBL 社）、TPO 測定試薬（エスアールエル社）を診断用医薬品に求められる基本性能を満たし、体外診断用医薬品として申請することを目的とした検討を行ってきた。GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞検出キットについては、昨年度までに陽性コントロールや標準化のために必要な校正用基準物質としてヒト GPIIb/IIIa に対するキメラ抗体産生細胞

および陽性・陰性コントロールビーズの作成に成功し、キット構成仕様を確立した。また、TPO 測定は 2 種類の抗 TPO 抗体を組み合わせたサンドイッチ ELISA として測定系が構築されているが、現状でまだキット化されていない。そこで、今回新たに TPO 測定系を体外診断用医薬品として申請するために必要なキット仕様の構築を同時に行う。

## B. 研究方法

### 1) 抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定法

キメラ型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生株 OPG2 を用いて昨年度までに構築したキット仕様の性能を評価した。一部の実験では ITP 患者および健康人サンプルを用いて抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞を測定した。また、従来研究室で測定してきた方法 (in-house 法) とキットでの測定を同時に行い比較した。さらに、測定結果の差に関与する要因を検討するため、プレート (96 穴プレート、8 列スプリットプレート)、基質液 (キット、in-house 法)、標識二次抗体 (Capel 社製、MBL 社製)、Tween 20 洗浄 (有、無) の複数の条件を組み合わせた検討を行った。

### 2) TPO 測定法

TPO 測定系はサンドイッチ ELISA であることから、その構成内容として固相抗体 (抗ヒト TPO 抗体)、二次抗体 (標識抗ヒト TPO 抗体)、較正用基準物質としてリコンビナントヒト TPO (rTPO) が必要である。固相抗体はマウス抗ヒト TPO モノクローナル抗体クローン TN1 の配列を入手し、それを基に発現ベクターを構築して CHO 細胞に遺伝子導入して安定細胞株を樹立した。さらに、ヒト TPO をコードする遺伝子の C 末端に His タグを付加した

ベクターを作成し、CHO 細胞に遺伝子導入して rTPO を安定的に産生する細胞株を樹立した。また、得られた rTPO をウサギに免疫して、抗体ファージライブラリを構築し、パンニングにより rTPO に結合親和性の高いクローンを得た。

### (倫理面に対する配慮)

本研究では一部でヒト検体を使用することから、学内倫理委員会で承認済みである。患者本人に対して研究内容を説明し、文書による同意を得た上で実施した。

## C. 研究結果

### 1) 抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定法

キメラ型抗 GPIIb/IIIa 抗体産生株 OPG2 を用いてキットと in-house 法を比較したところ、キットに比べて in-house 法の方でスポット数が  $2.2 \pm 0.3$  倍多く検出された。また、in-house 法ではキットに比べてスポットが大きく、より鮮明であった。そこで、プレート、基質液、標識二次抗体、Tween 20 洗浄の有無の条件を組み合わせて、最適な測定条件を検討した。その結果、プレートでは 8 列スプリットプレート、基質液は in-house 法、標識二次抗体は MBL 社製、Tween 20 洗浄有りの条件でスポットがより明瞭であった。そこで、これら条件を組み合わせてキット仕様を変更し、感度を高める改良を行った。キット改良版を用いて ITP 患者 3 名と健康人 6 名で抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定法を測定したところ、全例でスポットが検出された。ただし、スポット数は健康人では  $2.0 \pm 0.4$  に対して ITP 患者で  $12.8 \pm 4.2$  と明らかに多かった。

### 2) TPO 測定法

サンドイッチ ELISA の構成内容として以下の作成に成功した。

・固相抗体 - TN1 を安定産生する CHO 細胞株を作成した。培養上清中には固相化した rTPO、抗マウス IgG 抗体に結合活性を有するマウス抗ヒト TPO モノクローナル抗体の産生を確認した。

・rTPO - TN1 が認識するエピトープは高次構造依存的であることから、糖鎖修飾を含めた native な構造を持つ rTPO を取得する必要がある。そこで、組換え rTPO を安定産生する CHO 細胞株を限界希釈法で複数樹立した。その中で安定して増殖し、rTPO を発現する細胞株 TPO-50-1-9 を選択した。培養上清を抗 His タグ抗体によるアフィニティーで精製することで、90%以上の純度の高い rTPO を得ることができた。免疫プロットでは抗 His タグ抗体、抗 TPO 抗体と反応する約 80kDa の蛋白 (rTPO) が確認された。

・二次抗体-TPO-50-1-9 細胞株上清から精製した rTPO をウサギに免疫し、脾臓から抗体ファージライブラリを構築した。rTPO を抗原としたパンニングにより、結合親和性の高いクローンを複数取得した。現在、そのうち 4 クローンの IgG 組換え抗体を作成中である。

#### D. 考察

抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定キットを改良することで感度を上昇させることができた。パイロット検討では ITP 患者末梢血サンプルで多数のスポットが検出できたが、健常人サンプルでも少数のスポットが観察された。そのため、診断用医薬品として開発するためにはカットオフの設定が必要になる。今後は ITP に加えて骨髄異形成症候群、再生不良性貧血など疾患対照、さらには健常人検体を用いた検討で、至適なカットオフを設定する必要がある。

一方、TPO 測定系の構成する固相抗体、二次抗体、校正用基準物質 rTPO の作成はほぼ終了した。これらを組み合わせたキット構成を行い、改良版抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞測定キットとともにヒト検体を用いた検証を行いたい。その結果に基づき最終仕様を確定し、多施設での臨床性能試験を実施する予定である。

平成 16 年度に提案した ITP 診断基準案に含まれる抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞、TPO 測定に、自動血球計測器による幼若血小板比率を加えることで、わが国の保険診療下で実施可能な診断基準の策定を今後も進める予定である。

#### E. 結論

抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞および TPO の測定キットのキット構成仕様がほぼ完了した。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

論文発表

該当なし

学会発表

該当なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

## 臨床調査個人票集計による特発性血小板減少性紫斑病の全国疫学調査

研究分担者：羽藤高明 愛媛大学医学部附属病院輸血・細胞治療部 特任教授

研究協力者：島田直樹 国際医療福祉大学基礎医学研究センター 教授

研究協力者：倉田義之 千里金蘭大学看護学部内科学 客員教授

### 研究要旨

平成 17 年度から 26 年度（10 年間）の ITP 臨床調査個人票のデータを用いて消化管出血と脳出血の実態と脾臓摘出術（脾摘）の実施状況について調査した。消化管出血および脳出血の頻度はそれぞれ 5.9%, 1.1%であり、これら重篤な出血のリスク因子として男性、60 歳以上、血小板数  $1 \text{ 万}/\mu\text{l}$  以下、血尿が同定された。脾摘率は約 0.7%であり、発症から脾摘までの期間中央値は 2 年であった。

#### A. 研究目的

特発性血小板減少性紫斑病（以下 ITP）は、しばしば治療に難渋し、長期間にわたって治療を必要とする難治性疾患である。厚生労働省は ITP を特定疾患に指定し、患者への支援を実施してきている。今後の ITP 患者への治療計画、支援計画をたてるにあたりわが国における ITP 患者の実態を把握することは非常に重要であると考え。本研究では ITP 患者より厚生労働省へ提出された臨床調査個人票をもとに ITP 患者の実態を解析した。

#### B. 研究方法

厚生労働省健康局疾病対策課より平成 17 年度から 26 年度の間提出された ITP 症例の臨床調査個人票をもとに入力されたデータの提供を受けた。このデータを用いて重篤な出血をきたすリスク因子の同定と脾臓摘出術（脾摘）の実施状況について調査した。（倫理面への配慮）

本疫学研究の施行に当たっては愛媛大学医学部附属病院倫理委員会の承認を得た。

#### C. 研究結果および考察

##### 1. 臨床調査個人票登録数

平成 17 年度から 26 年度の 10 年間における新規登録患者数は 21,811 人であり、更新登録患者数はのべ 126,009 人であった。各年度別登録患者数は平成 19 年度を除くとほぼ一定の範囲の登録数であったが、平成 19 年度は ITP 医療受給者証保持者の約 12%の臨床調査個人票しか回収できておらず、極端に少なかった。これは都道府県から厚労省への臨床調査個人票データの入力率が低下したため、厚労省データベースのデータ量が減少したことによるものと推察された。

##### 2. 消化管出血（下血）

重篤な出血合併症である消化管出血の発生状況とリスク因子について検討した。消化管出血発生時に近いデータを得るためには出血発生時に登録がなされる新規登録患者のデータベースを用いることとした。平成 17～26 年度の 10 年間における新規登録 ITP 患者 21,811 人中 1,291 人（5.9%）に消化管出血がみられた。消化管出血は男性比率 52.3%

とやや男性に多く、平均年齢は 67.5 歳と高齢者に多かった。血小板数は平均 0.76 万/ $\mu$ 1 であり、血小板数 5000/ $\mu$ 1 以下の患者が 59%と多数を占めていた。消化管出血非合併例と比較するため、カイ 2 乗検定による単変量解析を行うと、男性、60 歳以上、血小板数 1 万/ $\mu$ 1 以下であることが消化管出血発症の有意なリスク因子であった。また、検査値では網状血小板比率上昇が有意に相関していたが、これは消化管出血の結果として引き起こされた変化の可能性もある。さらに、皮下出血や粘膜出血などの出血症状との相関を解析すると、単変量解析では紫斑、歯肉出血、鼻出血、血尿、月経過多、脳出血の存在が消化管出血の発生と相関していた。月経過多は閉経後の女性には当然見られないため、年齢バイアスが大きく関与していると推察された。月経過多を除いて単変量解析で有意差が見られた項目について多変量ロジスティック回帰解析を行うと、男性、60 歳以上、血小板数 1 万/ $\mu$ 1 以下、歯肉出血、鼻出血、血尿が独立リスク因子として同定された。

### 3. 脳出血

重篤な出血合併症である脳出血の発生状況とリスク因子について検討した。平成 17～26 年の 10 年間ににおける新規登録 ITP 患者 21,811 人中 233 人 (1.1%)に脳出血がみられた。脳出血例の男性比率 45.9%であり、平均年齢は 71.2 歳であった。血小板数は平均 1.03 万/ $\mu$ 1 であり、血小板数 5000/ $\mu$ 1 以下の患者が 49%を占めていた。脳出血非合併例と比較するため、カイ 2 乗検定による単変量解析を行うと、男性、60 歳以上、血小板数 1 万/ $\mu$ 1 以下であることが脳出血発症の有意なリスク因子であった。また、検査値では

網状血小板比率上昇が有意に相関していた。さらに、皮下出血や粘膜出血などの出血症状との相関を解析すると、単変量解析では歯肉出血、鼻出血、血尿、消化管出血の存在が脳出血の発生と相関していた。これら単変量解析で有意差が見られた項目について多変量ロジスティック回帰解析を行うと、60 歳以上、血小板数 1 万/ $\mu$ 1 以下、血尿が独立リスク因子として同定された。

### 4. 脾臓摘出術 (脾摘)

平成 17～26 年度の 10 年間ににおける更新患者データベースから、脾摘実施日を基に脾摘を実施した患者を抽出した。この 10 年間に脾摘が行われた患者は 715 名であり、要治療 ITP 患者の約 0.7%が脾摘治療を受けていた。年度別の脾摘率は平成 17 年度から 20 年度の間は 0.92-1.08%であったが、その後、徐々に減少し、平成 21 年度から 26 年度の間は 0.61-0.77%に微減していた。脾摘患者の平均年齢は 49.4  $\pm$  19.3 歳 (6-88 歳、中央値 53 歳)、女性が 65%とやや多く、発症から脾摘までの期間は 5.0  $\pm$  6.7 年 (0-52 年、中央値 2 年) であった。発症から 5 年以内に脾摘された患者のうち、患者の 41%は発症から 1 年以内に脾摘されていた。脾摘を実施した年度における血小板最低値は 0.9  $\pm$  0.9 (0-7、中央値 0.6) 万/ $\mu$ 1 であり、70%の症例が血小板数 1 万/ $\mu$ 1 以下であった。これらのことから、高度な血小板減少例で脾摘以外の治療法が無効な症例では診断から 1 年以内の早期に脾摘治療が選択されている可能性が示唆された。

## D. 結語

1. ITP で消化管出血を併発する率は 5.9%

であり、男性、60歳以上、血小板数1万/ $\mu$ l以下、歯肉出血、鼻出血、血尿が独立リスク因子として同定された。

2. ITPで脳出血を併発する率は1.1%であり、60歳以上、血小板数1万/ $\mu$ l以下、血尿が独立リスク因子として同定された。
3. 平成17~26年の10年間における脾摘実施率は約0.7%であり、近年、徐々に低下傾向にある。
4. 脾摘患者の平均年齢は53歳と比較的高齢で、血小板数中央値は0.6万/ $\mu$ lと極めて低く、発症から脾摘までの中央値は2年であるが1年以内の症例が相当数あったことから、脾摘以外の治療に不応で高度の血小板減少が持続している患者に脾摘が実施されている可能性が示唆された。

## E. 健康危険情報

特になし。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Casey N, Fujiwara H, Azuma T, Murakami Y, Yoshimitsu M, Masamoto I, Nawa Y, Yamanouchi J, Narumi H, Yakushijin Y, Hato T, Yasukawa M: An unusual, CD4 and CD8 dual-positive, CD25 negative, tumor cell phenotype in a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2018 in press
- 2) Mori S, Yamanouchi J, Okamoto K, Hato T, Yasukawa M: A novel frameshift mutation leading to inherited type I antithrombin deficiency. *Blood Coagul Fibrin*

28:189-192, 2017

- 3) 酒井道生、天野景裕、小川孔幸、高見昭良、徳川多津子、野上恵嗣、羽藤高明、藤井輝久、松本功、松本剛史 後天性血友病A診療ガイドライン 2017年改訂版 日本血栓止血学会誌 28:715-747, 2017
- 4) 羽藤高明、横山健次、國島伸治 2016 Hot Topics 血小板分野 日本血栓止血学会誌 28:79-82, 2017

### 2. 著書

- 1) Hato T, Kurata Y: *Epidemiology. Autoimmune Thrombocytopenia* pp41-49, 2017 Springer
- 2) Hato T: *Transfusion. Autoimmune Thrombocytopenia* pp191-197, 2017 Springer
- 3) 羽藤高明 輸血・血液型検査 今日の臨床検査 2017-2018 pp129-136, 2017 南江堂 東京
- 4) 羽藤高明 HLA検査 今日の臨床検査 2015-2016 pp137-142, 2017 南江堂 東京

### 2. 学会発表

- 1) 羽藤高明 血小板減少と出血傾向 第11回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2017.1.21 東京
- 2) 羽藤高明 急性白血病における血小板輸血 第24回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム 2017.10.13 大分
- 3) 山之内純、池田祐一、羽藤高明 ゲノム定量PCR法とX染色体不活化偏位解析が有用であった女性血友病B患者の遺伝子解析 第39回日本血栓止血学会学

術集会 2017.6.9 名古屋

- 4) Ikeda, Y., Yamanouchi, J., Hato, T., Yasukawa, M: A favorable subpopulation of MDS with thrombocytopenia may have high serum thrombopoietin levels. 2017 Highlight of ASH in Asia-Pacific, 2017.3.10-12, Hong Kong, China
- 5) Yamanouchi J, Hato T, Ikeda Y, Takeda H, Yasukawa M: A heterozygous mutation of G-protein-coupled receptor 25 in a family with thrombocytopenia and thrombosis. The 26th congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis, 2017.7.10 Berlin, Germany
- 6) Nakao A, Yamanouchi J, Hato T, Ishii E, Yasukawa M: Participation of

clionical psychologist in a non-hemophilic treatment center. The 26th congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis, 2017.7.11 Berlin, Germany

- 7) 山之内純、羽藤高明、池田祐一、竹田浩之、安川正貴 先天性血小板減少症と血栓症を有する家系における GPR25 遺伝子変異 第 79 回日本血液学会学術集会 2017.10.22 東京

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし