

第28回 シスメックス血液学セミナー／質疑応答

3. 血小板異常症の分子基盤

藤村 欣吾

【司会・齋藤】 藤村先生，大変ありがとうございました。「血小板異常症の分子基盤」ということで，主として遺伝性の血小板異常症がどこまで分かっているかということ，大変分かりやすくお話をいただきました。

先ほど血小板減少症，あるいは機能異常症でも，そのような患者さんを見たときに，末梢血の塗抹標本で血小板をよく観察することがいかに大事かということを強調されたと思いますが，そういう観察をするチャンスが一番多いのは，やはり臨床検査技師の方々ではないかと思います。

今日，先生は主として先天性の異常症のお話をされましたが，先ほど例で出されたベルナード・スーリエ症候群 (Bernard-Soulier Syndrome: BSS) をITPと誤診して脾摘をするということについて，そもそも，ITPあるいはMDSで血小板が大きくなるというのは，どういうふうに説明されているのですか。

【藤村】 非常に難しいご質問です。分かっているようで分からないというのが，正直な答えです。MDSとITPは少し違うと思いますが，要するにITPは非常に血小板が消費される，抗体によって壊れて減るということですから，片方ではそれを補うためにどんどん作らなければならない。いわゆる正常の血小板産生が亢進している状況だと思います。そうしますと，急いで血小板の数を合わせなければいけないということで，サイズの調節は，ある程度スキップされるのではないかと単純に考えているわけです。

それからMDSの場合には，巨核球の産生自体から異常が考えられるので，そのときの血小板サイズの異常は，巨核球そのものの産生，あるいは血小板産生機構が，腫瘍性かどうかは別として，具体的にどこが異常かというのは分かりませんが，また症例によってその異常が異なると思いますが，産生機構そのものが少しおかしいということだと

思います。具体的にどこがどうということは，分かっていないと思います。

【司会】 それでは，神戸会場から一つ質問がございませう。

一般病院で先天性血小板異常症を疑った場合，本人，それからご家族の同意を得られれば，研究室レベルで詳しく解析していただけますでしょうか。コストベネフィットも含めてということですが，いかかでしょうか。

【藤村】 遺伝子解析という意味でしょうか。

【司会】 それからFACSを含めていろいろ。

【藤村】 FACSとかそういうものは普通の検査レベルですから，別に問題なく行われると思います。しかし，ゲノムの解析となりますと，当然ご本人あるいはそのご家族の了解，同意書を取ります。広島大学の場合にはゲノムの倫理委員会があって，そこで私たちはこういう疾患の遺伝子解析をやってもよろしいという倫理審査を受けているので，患者さんの同意さえあれば，検査をすることは可能です。ただ，それを患者さんに告知するかということ，それから遺伝子のカウンセリングについてはまた別問題で，それは別途にまたご相談することになると思います。

【司会】 ありがとうございました。東京会場から質問が二つあるようですので，檀先生，よろしく願います。

【東京会場・檀】 それでは，東京会場から二つ質問をさせていただきます。

一つめは，術前の検査としての出血時間，デューク法などでの出血時間の検査の必要性，有用性はあるのでしょうかということ。今日のお話では血小板の機能異常の中の，粘着能の異常などを起こすような疾患との関連になるかと思いますが，この点はいかがでしょうか。

【藤村】 確かに出血時間そのものの手技的な問題がきちんとしていけば，出血時間というのは，総

合的にいろいろな血小板機能,あるいはvon willebrand因子の機能,血管内皮の機能,血管系の機能を見るうえで,非常に良い検査法だろうと私は思っております。したがって,手術前に最も簡易にできる検査として,正確を期して出血時間をおやりになるのは,非常に良いのではないかと思っております。

【東京会場・檀】ありがとうございました。もう一つよろしいでしょうか。

先ほどの齋藤先生のご質問とも非常によく似ているのですが,一般的にだと思いますが,巨大血小板の形成がされるというその背景には,血小板の分離膜そのものの合成量が少ないと考えることはどうでしょうか。

【藤村】非常に難しい問題ですね。分離膜の合成が少ないという意味がよく分からないのですが,多くの場合,血小板は,先ほどお示しましたように, microtubulesがずっと伸びたproplateletができて,そこからちぎれるということが,今のところ大まかなコンセンサスが得られていると思います。proplateletができるときに,血小板の胞体からずっと伸びていくわけですから,その分離膜をproplateletと考えていただくと,proplateletができない症例は,今回お話しした中にはございませんが,よくよくいろいろな異常症を解析していくうちに,そういう症例もあるかと思えます。しかし,はっきりそういう分離膜の形成が悪いというものを,どうやって証明するかということが非常に難しい問題でもありますし,またそれをはっきり証明した論文はないと思います。ただ,形態的に分離膜形成が悪いのではないかという報告はありますが,血小板サイズと関連付けた報告はありません。

【司会】ありがとうございました。ここで東京会場から質問がありました,出血時間の術前のスクリーニング検査としての有用性について,もう一度戻りたいと思います。

確かに,出血時間というのは,小さい傷をつけて1次止血を見ているわけですね。しかし,手術のときはもっとたくさん切るわけですし,1次止血だけではなくて,2次止血がかなり出血量に関

与しているのです,あまり術前の出血時間は,術中の出血量と相関しないというデータもあります。例えば典型的な例を挙げますと,血友病の患者さんというのは,出血時間は正常です。しかし術中の出血量は多いです。それは極端な場合なのですが,一般的にも,あまり相関しないのではないかということ,かなり強く言う人もおります。

【藤村】今ご質問を受けたのは,血小板の機能のことだと解釈させていただきましたから,出血時間ということでお話ししましたが,確かにトータルのには当然,凝固系も重要であるということです。

【司会】ここでシンガポール会場から質問があります。

【シンガポール】最近の理解として,放出機能の不全あるいは問題に関して,SPD以外で何か発見がありますでしょうか。PEGのレスポンスのディフェクト等,SPD以外で放出機能の異常に関する最近の所見,発表などはありますか。

【藤村】いわゆるストレージ・プール以外の放出異常があるかというご質問だろうと思います。疾患単位として,きちっと同定されているのは,先天的なものに関しては今のところSPD,先ほどお示したような顆粒の異常というもの以外には,例えばカルシウムの動員が異常を起こして,いわゆる骨格蛋白の再構成がうまくいかなくなって,放出が悪いという報告はあります。しかし,実際カルシウムの動員がどういう具合に悪いのかということまで,詳しく分かっていません。ですから,今は疾患概念としては,例えばカルシウム移動障害といったような中にくくられているだけで,具体的なものはまだはっきりとしていないと理解しております。後天的にはまた別です。今の話は,先天的な場合だけです。

【司会】それでは,東京の檀先生に質問をお願いしたいと思います。

【東京会場・檀】藤村先生に一つお聞きしたいと思います。

先ほどのお話の中のベルナード・スーリエ症候群ですが,これは血小板膜のGP I b/Kの欠損によって粘着能が落ちるわけですが,この疾患は同時に,血小板の数も減りますし,巨大血小板が出現するということでした。このGP I b/Kの欠損と,血小

板の数が減ったり、巨大血小板という形態異常が起きてくることの間には何か関係、説明があるのでしょうか。

【藤村】非常に根本的なところですが、お答えが難しい質問です。実はこのベルナード・スーリエで、なぜ血小板が減って、ご質問のように、なぜ大きな血小板ができるのかについては、いろいろ類推はするのですが、これだという的確な解答をすることができないのです。

類推としては、やはりGPIIb α /K/Vの複合体がない、いわゆるvWFのレセプターがない。したがって、巨核球がproplateletを作って足を延ばすときに、骨髓の中ではそのレセプターが、いろいろな何かこの接着の足掛かりになるのではないかということが一つ考えられます。それで結局、満足なproplateletができにくくなり、血小板の産生が若干低下する。それと、proplateletができて、血小板ができるときに、きちんとproplateletの接着ができないので、きちんとした収縮輪が入りにくい。そういうことで、大きな血小板になると推測しています。あのBSSの血小板は、他の巨大血小板に比べて、やはり非常に異常だろうと私の症例では考えています。このような異常が、具体的にどうということとはなかなか難しいのですが、GPIIbの異常と、必ずや密接に関係しているだろうと思っております。今やin vitroでこういうものを再現することができるので、やらなければいけない今後の仕事だろうと思っております。

的確なお答えができなくて非常に申し訳ないのですが、漠然と今のようなことを考えております。

【司会】それでは、神戸会場の池田康夫先生から、二つ質問があります。二つとも臨床的な非常に興味のある質問です。

まず一つめは、いろいろな血小板膜レセプターの欠損異常、今のBSSやグランツマン血小板無力症がありますが、どれが最も出血症状が顕著なのですか。

また、血小板無力症の出血症状は、加齢とともに軽くなると聞いておりますが、本当なのでしょうか。もしそうだとすると、なぜでしょうか。

【藤村】非常に臨床的に大切な問題です。このような

症例は、例えば血小板無力症にしても、今、集計されているのは、日本で200例ぐらいです。それからBSSでも、多く見積もっても70例ぐらい。そのうちの遺伝子解析ができてるのは50例ぐらいで、非常に少ない病気です。私が、すべてつぶさに経験をしているわけではありませんが、やはり出血傾向という面では、血小板減少を伴っているベルナード・スーリエが、私の経験から最も出血傾向が激しいと思います。

それから血小板無力症の症例は、教科書的には、やはり幼少時から確かに出血傾向があり、私は内科医で、思春期になって診察するので、子供さんのときをつぶさには見ておりませんが、お聞きすると、はいはいを始めるころ、あちこちにぶつけてあざができるということが発端とか、あるいは非常に強力に泣くと、目の周りに隈ができたようにあざができるとか、紫斑ができるというようなことをお母さんがおっしゃいます。あとは乳歯が生えかわるときに出血が止まらなかったとか、あるいはもっと高じてくると、女性の場合には生理が始まると止まらないといったようなことで、そこで輸血をされたというような症例がかなりあります。

血小板無力症の場合には、確かに若年のときには出血傾向が激しくなるのですが、私の症例も、大人になってくるにしたがって、出血傾向がほとんど認められなくなります。機械的な刺激を加えれば別ですが、通常自然出血というのは非常に少なくなります。

これがなぜかということですが、フォンウイルブランド病についても同じようなことがいわれています。なぜ思春期になると出血傾向が減るのかということは、的確な証拠はありませんが、やはりホルモ的な影響が考えられています。いろいろなホルモン分泌が盛んになり、ホルモンの中には凝固を手助けするようなものもあります。そういうものが大きな要因の一つになるのではないかという具合に考えています。具体的に何が変わるからということとは、なかなか難しいと思います。

【司会】もう一つ別の質問です。現在、いろいろな抗血小板薬が開発されていると思います。当然これ

らの薬は心筋梗塞などの血栓症に対して作られているわけですが、同時に出血症状という副作用というか、主作用があるわけです。先生の機能解析をされてきた立場から、どのレセプターを標的として抗血小板薬を作ったらよいでしょうか。

【藤村】この異常症を、なぜ解析しているかというその行き先は、今お話しになったような、何か別の臨床的なものに結びつけるという、大きな目的があるわけです。確かに、今まで血小板無力症の例で、IIb/IIIaがおかしいと出血時間が延びるというようなことから、約10年以上前に、IIb/IIIaをターゲットとしたモノクローナル抗体を薬として使う、いわゆるレオプロというのが発売されました。欧米ではこれをステントのあとの急性冠不全の予防に使うといったことが盛んに行われております。日本では、それほど使わなくてもいいだろうということで、レオプロはまだあまり普及していないと聞いておりますし、同じIIb/IIIaをターゲットとしたインテグリンで、IIb/IIIaを抑え、血小板凝集を抑えて、血栓の形成を抑えるということが盛んに行われました。

その後、先ほどお話ししたような、GPIbを抑えるとか、あるいはGPMを抑えたらどうかとか、そういう異常症の研究から、ヒントはたくさん出てくるわけですが、どれが果たしていちばん良いかということになると、なかなか的確にお答えはできません。例えば、GPMを研究している先生方は、GPMを抑制する方が良いだろうと言われますし、Ibを盛んにやっておられる方は、やはりIbでまず粘着、最初のイニシエーションを抑える方が良いのではないかということも言われます。一般的にこれを抑えるのが一番良いであろうということが言いにくいと考えます。

また、最近では、ADPのレセプターも分かってきましたし、そのアンタゴニストが、今、チクロピジンであります。ああいうソリブルリガンド(soluble ligand)に対するレセプターを押さえることも、これからは一つの方向性として出てくるだろうと思います。どれがいいかと言われると、なかなか的確にお答えできるものはなく、候補はあるのですが、どれが一番メリットがあるのかと

いうことは、ここでは答えがないというのが現状です。

【司会】ありがとうございました。次に、シンガポール会場から二つ質問があります。

【シンガポール】好中球の封入体に関してですが、これの意味はどういうものなのか、お教えてください。MYH9関連症候群に関して、特にお教えいただければ幸いです。

【藤村】まず、今までは、好中球の封入体が、一体何物かということが分からなかったわけですが、ミオシン重鎖9の異常であることが分かってきますと、先ほど電顕で示したように、ミオシン重鎖9の遺伝子異常に基づいて、ミオシン重鎖9がきちんとした筋肉様構造を取らず、糸状の構造を取ってくる。異常の部位によって、いろいろ異なるわけですが、少なくとも異常な形態をした筋肉繊維になってきて、こういうものが好中球の中で、一つの沈着物としてまとまったものが封入体だと考えております。実際、ミオシン9の抗体を使って封入体を染めると、染まるわけです。ですから、その封入体は、恐らく異常なミオシン9の集積であろうと現在、考えられております。

【シンガポール】次の質問です。川崎病で血小板の数が上昇するのはなぜでしょうか。そしてルーチンで血液を見るときに、MPVの意味合いは何なのでしょう。

【藤村】私自身は内科医ですが、川崎病はどちらかというと小児科の病気として、私自身は経験をしたことはありません。それでなぜ血小板が増えるのかということについて、的確なお答えはできかねるのですが、一つには川崎病そのものが、ある炎症反応であるということを知ったことがあります。そうしますと、IL-6といったものを介して若干、血小板が増えるのではないかという懸念を抱いておりますが、定かかどうかは分かりません。詳しく、なぜ増えるのかということ、私自身よく分かりません。

あとMPVの意味でしたか。

【シンガポール】診断のうえでMPVはどういう意味合い、重要性を持ちますか。

【藤村】血小板のボリュームを見ることは、血小板

産生が正常かどうかという、ある程度のスクリーニングにはなるだろうと思います。今は血小板のMPVと一緒に、粒度分布が出てまいります。サイズの分布が、機械で分かるわけですが、そのサイズ分布を見ることによって、この患者さんの血小板産生は本当に正常に行われているのかどうかという、一つの大まかな目安にはなると思います。そういう意味で、一つのマーカーとして使うことができるのではないかと考えています。

【司会】さて、名古屋会場からも質問があります。

【名古屋】偽性の血小板減少症、特にEDTAに依存しているものは、血小板の質的な異常と考えてもよろしいでしょうか。

【藤村】非常に皆さんご経験のある病気ですが、本当のことが分かっていないというのが現状です。今までの報告によりますと、EDTA依存性に凝集するということは、EDTAによって活性化される何らかの抗体が働いて、血小板どうしを凝集してしまうという報告もあります。それがほとんど今、大きな主流を占めていると考えておりますし、そういう症例があったときに、本当に抗体がEDTA依存性にあるのかということ、私自身、実は調べたことがありません。私自身の経験ではなくて、これは文献的な回答です。

【名古屋】ありがとうございました。

【司会】それでは、次に神戸会場から質問が一つあります。

5ヶ月の男児で、Hermansky-Pudlak Syndromeの疑いで、血小板の凝集能を検査しました。ADPは $2\mu\text{mol}$ 、コラーゲン $1\mu\text{g}$ は1次凝集のみで、2次凝集を認めませんでした。ADPを $5\mu\text{mol}$ に上げても、凝集は乖離を認めました。そこで次回、再検を検査室レベルで行う場合、エピネフィリン

での欠如、リストセチンで正常を確認することぐらいでしょうか。また、生後5ヶ月での血小板凝集能の正常値は、成人と変わらないのでしょうか。

【藤村】非常に卑近な症例で日常的に難しいご質問なのですが、生後5ヶ月といますと、私自身先ほど来お話ししているように、なかなか経験がないのですが、今の患者さんのデータをお聞きしますと、やはり次にやるべきものは放出反応を見た方が手っ取り早いのかなという気がします。今、ATPの放出反応を見る機械がありますから、ADPを加えた後、きちんとATPが出ているかを見ていただいて、放出がないということになれば、そういう病気に非常に近いことになります。

ただ、表現形として、本当に先ほどお話ししたような、目の瞳孔の色がどうか、あるいは5ヶ月だと髪の毛はちょっと生えていますが、髪の毛の色がどうか、そういう他の表現形も臨床の先生にフィードバックをしていただいて、確認をしていただけたらと思います。また、電顕で見るのは大変ですから、やはり手っ取り早くできるものとして、放出反応を見るのが非常に重要ではないかと思っています。

それから生後5ヶ月の血小板機能はどうかということですが、通常であれば、やはり正常とそんなに変わらないのではないかと思います。逆に考えてみると、正常と変わる要因が何かあるだろうかと思っていますので、むしろ、ほぼ正常と変わらないのではないかと考えています。

【司会】ありがとうございました。藤村先生、大変分かりやすく、しかも活発なディスカッションを大変ありがとうございました。これでこのセッションを終わります。

【後日ご回答をいただいた質問】

【質問】 TPO-TPO 受容体系では、血小板の自己増殖または成熟・分化が行われるということですが、どのような機序でそれぞれ異なる作用が発現されるのでしょうか。

血小板の分化成熟段階で他の因子の影響を受けているのでしょうか。

【回答】

1) TPO は造血幹細胞の自己複製にもかかわっていますが、血小板そのものの自己増殖は起こさず、血小板増殖はあくまでも巨核球の分化、増殖を介して起こるものです。

造血幹細胞における自己複製のシグナルと巨核球増殖のシグナル伝達機序が同じか異なるかについては明らかではありません。

2) 造血幹細胞から血小板の分化、成熟における TPO 以外の因子については、少なくとも *in vitro* の培養系では TPO と IL-3, SCF (stem cell factor) や牛胎児血清を加えれば造血幹細胞から巨核球、血小板産生が可能です。しかし TPO 単独では造血幹細胞から巨核球産生は困難です。巨核球造血は巨核球コロニーを刺激する因子 (Meg-CSF) と、巨核球の成熟を促進する巨核球増幅因子 (Meg-POT) で調節されているとの考えもあります。前者には IL-3, EPO, GM-CSF, SCF が後者には IL-6, IL-11, M-CSF などが知られ、TPO は程度の差はありますがこの両因子の役割を担っていると考えられています。

従って血小板の分化成熟には TPO 以外の因子の影響も受けているといえます。

【質問】

1) TPO を投与すると高率に骨髓繊維症を併発しますが、そのメカニズムについてご教示ください。

繊維芽細胞に TPO のレセプター (c-mpl) が

存在するためでしょうか。または、CD34 陽性 (stem cell) に TPO が働いたことによるためでしょうか (Stem cell に TPO レセプターが存在するためでしょうか)。

2) vWD と BSS ではリストセチン凝集が低下しますが、リストセチンの血小板凝集惹起作用はどのようなメカニズムで起こるのでしょうか。すなわち、リストセチンのレセプターが vWD と BSS では同じレセプターを介して血小板凝集を起こすためでしょうか。

【回答】

1) TPO が骨髓繊維芽細胞を増殖させるのではなくて TPO により巨核球、血小板が過剰に産生されることにより、これらの細胞の α 顆粒中に含まれる PDGF (platelet-derived growth factor: 血小板由来成長因子) が骨髓間質に放出され、PDGF などによる繊維芽細胞の増殖による骨髓繊維症と考えられます。

しかしながら TPO を使用し続けることによる骨髓繊維症は異常巨核球 (例えばストレージプール病類似の異常) でない限り頻度的にはないと考えますが、合併症の 1 つとして注意深い観察が必要です。

2) リストセチン凝集は、血小板の vWF レセプターである GP I b/K/V 複合体を介して起こります。この時リストセチンがどのような機序で作用するのか確定されていません。

In vitro の研究ではリストセチンが GP I b に作用し vWF と結合しやすくする、或いは vWF に作用して vWF と GP I b の親和性を高める、のいずれも報告されております。現時点ではリストセチンは modulator として vWF に作用し活性化する (GP I b と結合し易くなる) という考えが有力であると思います。