

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) に関する臨床的研究

第 1 編

ITP の予後と血小板表面関連免疫グロブリン platelet associated IgG (PAIgG) との関係

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

鶴 見 尚 和

(平成 3 年 1 月 8 日受稿)

Key words : ITP, refractory ITP, PAIgG

緒 言

特発性血小板減少性紫斑病 idiopathic thrombocytopenic purpura (以下 ITP と略す) は, 原因不明で特発性とされていたが, 1951年 Harrington ら¹⁾により, ITP 患者血漿を正常人へ輸注することにより, その直後より血小板数の低下が見られたことから ITP 患者血漿中に抗血小板抗体の存在することが示された。その後, この抗血小板抗体が 7S ガンマグロブリン分画に含まれる抗体であることが証明され²⁾, ITP も自己の血小板に対する抗体を産生する自己免疫疾患と考えられるに至った。1975年, Dixon ら³⁾により, 初めて血小板膜表面に結合した IgG 量を示す, いわゆる血小板表面関連免疫グロブリン platelet associated IgG (以下 PAIgG と略す) が complement lysis inhibition 法によって測定され, ITP では正常範囲より遙かに高値を示し, ITP の病態と相関することが示唆され, ITP に於ける PAIgG の臨床的重要性が指摘された。Dixon らの指摘以後 PAIgG の測定に関しては, Fab-antiFab assay⁴⁾ radioactive anti-immunoglobulin test⁵⁾⁶⁾, solid phase radioimmunoassay⁷⁾, EIA⁸⁾⁹⁾等が開発された。Dixon らの成績も, 測定値が正常値も含め異常に高いことが指摘されたり, その特異性にも問題のあることが提起されている。今回著者は,

あらゆる施設で測定可能であると思われる Mancini¹⁰⁾らによって発表された一元放射状免疫拡散法 single radial immunodiffusion 法 (SRID 法) による PAIgG の測定法による検討を行なった。

また一方, ITP の予後に関しては, 副腎皮質ステロイド (以下ステロイドと略す) 治療の有効性がほぼ確立され, またその不応例に対しても摘脾の有効性が認められている。しかし, 何れの治療法にも良好に反応せず, 治療に難渋する症例がある。そこで出血の危険から開放されることと, ステロイドの副作用を免れることを考慮に入れ, “半年以上のステロイド療法の経過後に臨床的になんらかの出血傾向を認め, かつ prednisolone 10mg/day 以下では血小板数を 5 万/ μ l 以上に維持出来ない症例” をステロイド難反応性 ITP として抽出し, その病態を解明する必要がある。今回, PAIgG を含めたパラメーターと ITP に対するステロイド治療効果および予後との関連について検討し, ステロイド難反応性 ITP の予後推定の指標の一助とせんとした。

対象と方法

1. 対 象

1983年から当科に入院, もしくは外来通院した特発性血小板減少性紫斑病症例45例を対象とした。その詳細は男性12例, 女性33例で, 年齢

は10歳から69歳で、平均年齢は41.5歳であった。全症例のうち、未治療時に PAIgG を測定し得た症例（以下未治療例）は、男性9例、女性16例の計25例であった。ステロイド難反応性 ITP およびステロイド反応性 ITP の判定については“半年以上のステロイド療法の経過後に臨床的になんらかの出血傾向を認め、かつ prednisolone 1日量にして10mg以下では血小板数を5万/ μ l以上で維持することが不可能な症例”をステロイド難反応性 ITP とし、それ以外の症例をステロイド反応性 ITP とした。対象の ITP 45症例のうち、ステロイド反応性 ITP は25例（男5例 女20例、年齢の中央値34歳）で、ステロイド難反応性 ITP は20例（男7例、女13例、年齢の中央値は46.5歳）であった（表1）。

2. PAIgG の測定方法

1) 末梢血からの血小板材料の調整法

肘静脈より ACD-A 採血（血液8.75容：ACD-A 1.25容）した血液より207g、10分間遠沈にて platelet rich plasma (PRP) を得た後に、ACD-A 1/10量を添加し、2,000g、5分間遠沈し、上清を吸引、廃棄した後に、残った pellet を1% 蔞酸アンモニウムにて洗浄後、生理的食塩水にて型通り4回洗浄後、総血小板数を Brecher-Cronkeite 法により直接算定した。最後に遠沈して得られた platelet pellet に Triton X 100 を加え、これを血小板材料とした。測定までは-20℃にて凍結保存した。

2) single radial immunodiffusion 法 (SRID 法) による PAIgG の測定法

PAIgG の測定は、市販の LC パルチゲン IgG 平板 (Behring-werke AG, Marking, West Germany) に上記の方法で得た血小板材料を1well 当り40 μ l 添加し室温、湿潤箱に水平に置いて48時間反応させた。測定は、duplicate にて行った。標準曲線は humann IgG positive control (CAPPEL LABORATORIES, USA) を使用して作成した。形成された沈降輪の直径を二乗して得られた標準曲線は図1のごとく、 $Y = 22.58 + 0.033X$ で、相関関数は $r = 0.999$ と standard curve として満足のいくものであった。測定範囲は160ng から2600ng であった。得られた値を血小板 10^7 個あたりに換算し、PAIgG 値と

した。正常値の設定は正常健常人28名を測定し、 $x \pm 2SD$ より求めた。正常健常人28名の PAIgG は、血小板 10^7 個あたり26.9ng から65.9ng で、平均値43.5ng、標準偏差11.7ng であったので、正常値を20.1から66.9ng/ 10^7 血小板 platelets (以下 plts と略す) とした。同時再現性の C.V.=2.8、日差再現性は C.V.=1.0 であった。

結 果

1. ITP 症例の PAIgG 及び血小板数との関係

1) ITP の未治療例およびその他の血液疾患における PAIgG 値について

未治療例25例の治療前 PAIgG は57.3ng/ 10^7 plts から530.3ng/ 10^7 plts にあり、その平均値は $197.8ng \pm 21.6$ (SE) ng/ 10^7 plts で、健常人コントロールに比較して有意に ($p < 0.005$) 高値を示した。(図2) PAIgG が正常値を示した者

表1 対象症例

	ステロイド 反応性 ITP	ステロイド 難反応性 ITP
症例数	25例	20例
男：女	1：4	7：13
年 齢 (中央値)	10歳～69歳 34歳	23歳～63歳 46.5歳

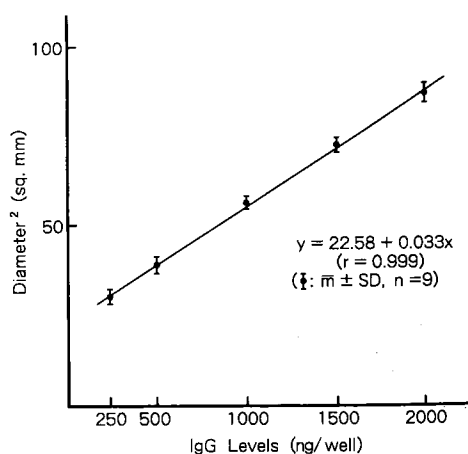


図1 SRID 法による PAIgG 測定時における標準曲線

は25例中2例(8%)のみであった。

他の血液疾患に於ける PAIgG は再生不良性貧血 (n=6) では 58.2 ± 11.9 (SE) ng/10⁷plts で、1例(16.7%)が比較的高値を示したが、健常成人コントロールとの間に有意の差は認められなかった。白血病 (n=11) では 67.4 ± 5.5 (SE) ng/10⁷plts で、5例が高値を示し、健常人コントロールに比して有意の (p<0.005) 上昇が認められた。その他の血液疾患5例 (IgD型多発性骨髄腫、溶血性貧血、Fanconi貧血、鉄欠乏性貧血、von Willebrand病) では、すべて正常値を示した。IgG型多発性骨髄腫 (n=4) 例では、全例が高値を示し、 147.5 ± 22.1 (SE) ng/10⁷plts でコントロールに比して有意の (p<0.005) 上昇が認められた。脾機能亢進症 (n=4) では4例中3例が高値を示し、 84.1 ± 11.9 (SE) ng/10⁷plts であり、正常コントロールとの間に有意差 (p<0.005) を認めた。有意の高値を示した白血病と脾機能亢進症と比較しても ITP 症例で有意の上昇が認められた (前者 p<0.005, 後者 p<0.05) (図2)。また ITP 以外の疾患で高値を示すものがあつたので、これら疾患での高値が輸血歴の有無と関係があるか否かを検討した。輸血歴のあるもの (n=15) では 64.4 ± 6.4 (SE)

ng/10⁷plts, ないもの (n=7) では 92.1 ± 47.7 (18.0 SE) ng/10⁷plts であり、輸血歴の有無による差は認められなかった。さらに、輸血歴のあるものにおいて、濃縮血小板血漿 platelet concentrate (以下 PC と略す) を輸注した後の血小板の上昇と PAIgG の関係について検討した。PC10単位輸注後の血小板数の反応により、上昇のみられなかったもの、0から2万/μlまで、2から4万/μlまで、4万/μl以上上昇の4群に分け、その PAIgG を比較したが、むしろ4万/μl以上上昇した例で PAIgG の高いものが認められ、血小板輸注効果と PAIgG の間にも有意の関連が認められなかった。さらに輸注した PC の単位数と PAIgG の値との間にも関連は認められなかった。

次に、ITP 症例の輸血既往歴と PAIgG との関連については、輸血歴のない ITP 症例 (n=19) では、 182.5 ± 31.7 (SE) ng/10⁷plts, 輸血歴のある ITP 症例 (n=6) の PAIgG 値は 199.4 ± 27.6 (SE) ng/10⁷plts であり、ITP 症例においても輸血既往歴の有無による差は認められなかった。

次に、ITP 症例の妊娠歴と PAIgG との関連については、妊娠歴のある女性 ITP 症例 (n=22) の PAIgG は 141.8 ± 26.9 (SE) ng/10⁷plts で、妊娠歴のない ITP 症例 (n=7) の PAIgG 値は 175.1 ± 34.6 (SE) ng/10⁷plts であり、妊娠歴の有無による差は認められなかった。

2) ITP 症例の血小板数と PAIgG 値の相関について

既治療例も含めて ITP45症例の血小板数と PAIgG の相関を見た。ITP 症例の血小板数は0.7万/μlから20.7万/μlにあり、その平均値は 4.8 ± 4.8 万/μl であった。PAIgG は31.6ng/10⁷plts から530.3ng/10⁷plts までで、平均値は 157.1 ± 15.9 (SE) ng/10⁷plts であった。ITP 症例の血小板数と PAIgG の間には、血小板数を X 軸、PAIgG を Y 軸にとれば $Y = 221.9 - 13.4X$ と危険率1%未満で有意な負の相関 (r = -0.603) が認められた。また未治療例だけの検討でも危険率5%未満 (r = -0.458) で $Y = 267.3 - 28.7X$ と負の相関が認められた。(図3)

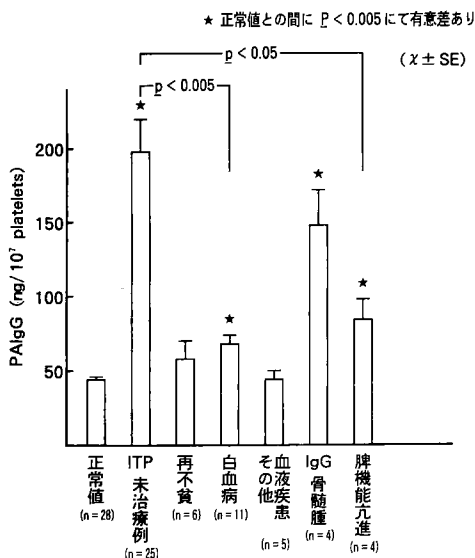


図2 ITP ならびにその他の疾患における PAIgG 値

3) ITP 症例の免疫関連因子と PAIgG との関係

PAIgG を抗核抗体, CH50, 抗マイクロゾーム抗体, 免疫複合体 circulating immune complex (以下 CIC と略す) の陽性者, 陰性者について比較した (表 2)。

抗核抗体の陽性群では 179.3 ± 32.1 (SE) ng/ 10^7 plts, 陰性群では 135.6 ± 16.9 (SE) ng/ 10^7 plts であった。抗マイクロゾーム抗体の陽性群では 125.4 ± 36.0 (SE) ng/ 10^7 plts, 陰性群では 149.4 ± 13.6 (SE) ng/ 10^7 plts であった。CH50 の上昇している群では 170.1 ± 22.3 (SE) ng/ 10^7 plts, 正常群では 164.8 ± 27.3 (SE) ng/ 10^7 plts, CH50 の低下している群では 94.4 ± 25.8 (SE) ng/ 10^7 plts であった。免疫複合体の陽性群では 123.6 ± 25.6 (SE) ng/ 10^7 plts, 陰性群では 134.3 ± 18.6 (SE) ng/ 10^7 plts であった。しかし, 抗核抗体, CH50, マイクロゾーム抗体, 免疫複合体いずれの場合にも PAIgG との間には特に有意な関連は認められなかった。

次に, ITP 症例の PAIgG と血清 IgG 値につ

いて検討したが, 有意の相関は認められなかった。しかし, ITP 以外の疾患に於ける PAIgG と血清 IgG 値との間には, $r=0.559$ と有意の相関が認められた。

表 2 ITP の免疫関連因子と PAIgG との関係

	PAIgG (ng/ 10^7 血小板)
抗核抗体:	
陽性群 (n=7)	179.3 ± 32.1 (SE)
陰性群 (n=31)	135.6 ± 16.9 (SE)
抗マイクロゾーム抗体	
陽性群 (n=11)	125.4 ± 36.0 (SE)
陰性群 (n=27)	149.4 ± 13.6 (SE)
CH50:	
上昇群 (n=15)	170.1 ± 22.3 (SE)
正常群 (n=15)	164.8 ± 27.3 (SE)
低下群 (n=6)	94.4 ± 25.8 (SE)
免疫複合体 (CIC)	
陽性群 (n=3)	123.6 ± 25.6 (SE)
陰性群 (n=22)	134.3 ± 18.6 (SE)

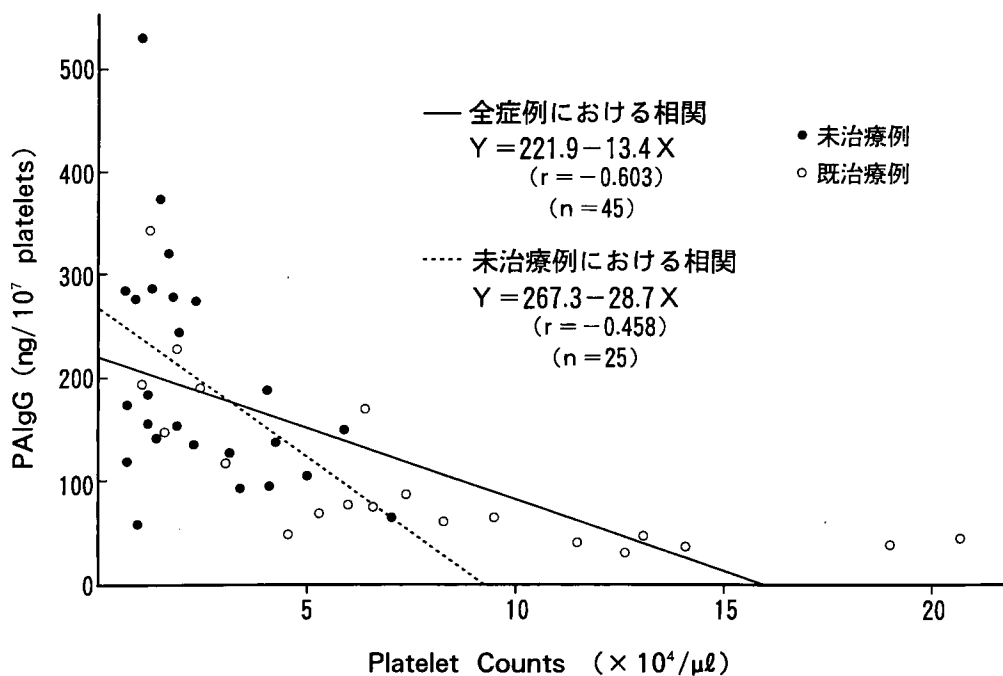


図 3 ITP 症例における血小板数と PAIgG 値の相関

4) ステロイド治療による PAIgG 値の変動 (図4-A, 図4-B)

ITP 症例の血小板数と PAIgG の間には相関関係のあることが判明したので、次にステロイド治療、またその効果との関係について検討した。ITP 症例におけるステロイド治療の効果を下記のように判定した。

治療後無治療で血小板数が10万/ μ l 以上にあるものをステロイド完全寛解 (Ast), 治療後血小板数が5万/ μ l 以上で無治療のものをステロイド著効 (Bst₁), 治療後 prednisolone を10mg/day 未満に減量でき血小板数が5万以上にあるものをステロイド有効 (Bst₂) とし、この三者を併せてステロイド反応性 ITP とした。ついで、以下のものをステロイド難反応性 ITP とした。即ち、治療後、血小板数を5万以上に維持するのに prednisolone 10mg/day 以上を要するものをステロイド低反応 (Cst), 初期導入治療にて血小板数の上昇を認めるも、5万以上に維持出来なかったものをステロイド一過性反応 (Dst₁), 治療にて血小板数の上昇を認めなかったものをステロイド無効 (Dst₂) とした。

ステロイド投与前後の PAIgG を測定できた17症例全例についてみると、未治療時に226.5 \pm 27.9 (SE) ng/10⁷plts であったものが、ステロイド治療により66.7 \pm 10.7 (SE) ng/10⁷plts に減少した。これを、ステロイド反応性 ITP (8例), ステロイド難反応性 ITP (9例) の2群に分けてみると、ステロイド反応性 ITP では投与前227.8 \pm 33.3 (SE) ng/10⁷plts であったものが、投与後46.5 \pm 5.9 (SE) ng/10⁷plts となり、ステロイド難反応性 ITP 9例でも投与前225.3 \pm 43.6 (SE) ng/10⁷plts であったものが、投与後84.7 \pm 17.7 (SE) ng/10⁷plts と、治療効果に拘らず著明な (前者 p<0.005, 後者 p<0.05) 減少が認められた (図4-A)。

しかし、ステロイド治療後に減少する症状固定期の PAIgG 値も、既治療例も含めて詳細に検討すると、図4-Bに示すようにステロイド難反応性 ITP であるステロイド一過性反応とステロイド無効を併せた群では129.7 \pm 20.0 (SE) ng/10⁷plts で、ステロイド完全寛解とステロイド著効を併せた群の45.6 \pm 3.9 (SE) ng/10⁷plts

とステロイド有効群の59.9 \pm 3.9 (SE) ng/10⁷plts に比して明らか (前者で p<0.005, 後者で p<0.05) に高値に留まることが認められた。

5) 摘脾による PAIgG 値の変動

摘脾の効果判定基準を下記のように行なった。摘脾後無治療で、血小板数が10万/ μ l 以上にあるものを摘脾完全寛解 (Asp), 摘脾後無治療で、

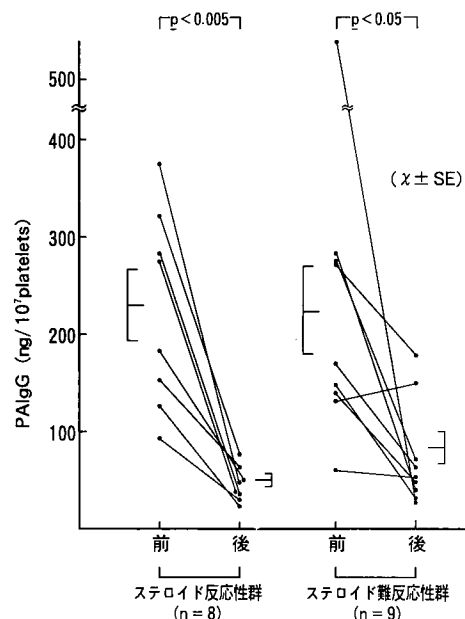


図4-A ステロイド投与前後における PAIgG 値の変動

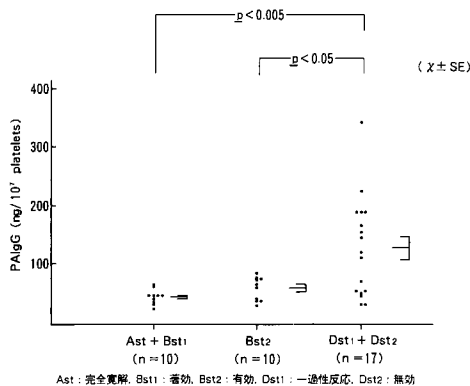


図4-B ステロイド治療効果と症状固定期の PAIgG 値について

血小板数が 5 万/ μ l 以上のものを摘脾著効 (Bsp), 摘脾後, 血小板数を 5 万以上維持するのに prednisolone 10mg/day 以上を要するものを摘脾低反応 (Csp), 摘脾後, 血小板数の上昇を認めないものを摘脾無効 (Dsp) とした。

摘脾による PAIgG 値の変動を摘脾完全寛解と、摘脾無効で比較してみると、摘脾前後の PAIgG は摘脾完全寛解では 128.7 ± 23.7 (SE) ng/ 10^7 plts から 64.7 ± 14.3 (SE) ng/ 10^7 plts に有意に ($p < 0.05$) 減少していたが、摘脾無効では、摘脾前の 68.3 ± 12.4 (SE) ng/ 10^7 plts から 209.2 ± 36.5 (SE) ng/ 10^7 plts と逆に有意に ($p < 0.05$) 上昇した (図 5)。

2. PAIgG と治療予後, 特にステロイド難反応性 ITP との関係

治療前に高値を示し, 血小板数と逆相関することが認められた PAIgG 値は, ステロイド治療により低下した, そこでステロイド反応性 ITP とステロイド難反応性 ITP で, その変動を比較してみた。

1) ステロイド未治療時に於ける比較

ステロイド治療前に PAIgG を測定し得たものは, ステロイド反応性 ITP 10 例, ステロイド難反応性 ITP 12 例であった。治療前 PAIgG は, 前者では 206.5 ± 29.9 (SE) ng/ 10^7 plts, 後者では 207.1 ± 35.2 (SE) ng/ 10^7 plts であり, 両者間には有意の差が認められなかった。また, 治療前血小板数は, 前者で 2.5 ± 0.4 (SE) 万/ μ l, 後者で 1.6 ± 0.2 (SE) 万/ μ l で, 両者間にも有意

の差が認められなかった。ITP の治療前 PAIgG 値および血小板数からはステロイド反応性 ITP とステロイド難反応性 ITP の推測は不可能であった (図 6)。

2) ステロイド治療後症状固定期における比較 (図 7)

ステロイド初期治療 (1 mg/kg/日) 開始から 6 ヶ月以上経過した臨床的にも血小板数の面からも大した変動の見られなくなった症状固定期に測定した PAIgG について, ステロイド反応性 ITP とステロイド難反応性 ITP との間で比較した。血小板数は前者では 15.6 ± 1.6 (SE) 万/ μ l, 後者では 2.9 ± 0.4 (SE) 万/ μ l と当然のことながら有意差 ($p < 0.005$) が認められたが, PAIgG においても, 前者では 52.7 ± 4.0 (SE) ng/ 10^7 plts 後者では 129.7 ± 20.0 (SE) ng/ 10^7

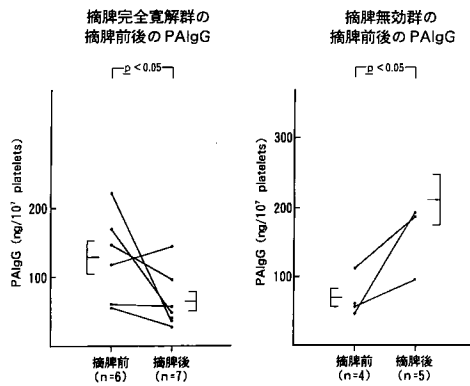


図 5 摘脾完全寛解, 摘脾無効の摘脾前後の PAIgG 値

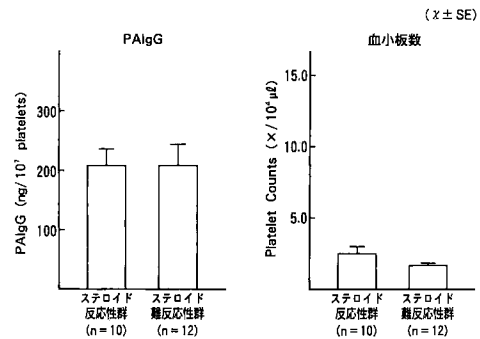


図 6 ステロイド反応性 ITP とステロイド難反応性 ITP 患者の治療前 PAIgG および血小板数の比較

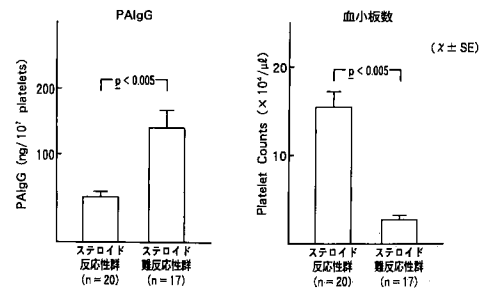


図 7 ステロイド反応性 ITP とステロイド難反応性 ITP 患者の症状固定期における PAIgG と血小板数

plts と、両者間で危険率0.5%にて有意の差が認められた。即ち、ステロイド難反応性 ITP では、ステロイド治療によっても PAIgG が低下せず高値が持続することが確認された。

3) ステロイド初期治療の反応性についての比較

ステロイド治療の反応性と ITP の予後との関係をみるために、ステロイド投与を開始した後に上昇した血小板数の最高値とそれに要した日数をみてみると、血小板の最高値はステロイド反応性 ITP では 27.8 ± 3.0 (SE) 万/ μl 、ステロイド難反応性 ITP では 19.3 ± 3.0 (SE) 万/ μl であり、有意差は認められなかった。また、最高値までの日数は前者では 20.7 ± 5.4 (SE) 日、後者では 27.3 ± 7.4 (SE) 日で、やはり有意差は認められなかった。そこで、最高値を日数で割った比、即ち、血小板数の上昇率を比較してみると、ステロイド反応性 ITP では 2.7 ± 0.8 (SE)、ステロイド難反応性 ITP では 1.1 ± 0.3 (SE) と、両者間に危険率5%で有意差が認められ(図8)、ステロイド初期治療開始後に、短期日に急峻な血小板数の増加がみられる症例に臨床的予後が良好であることが伺われた。血小板数が5万/ μl 、10万/ μl 、15万/ μl に至るまでの日数を、ステロイド難反応性 ITP、ステロイド反応性 ITP

間で比較したが、いずれも有意の差を認めなかったが、ステロイド難反応性 ITP では10万/ μl 、15万/ μl にいたるまでの日数が長い傾向にあった(図9)。

4) PAIgG 以外の免疫関連因子とステロイド難反応性 ITP との関連について

PAIgG 以外の免疫関連因子、即ち表3に示すように、血小板結合性 IgG platelet binding IgG (以下 PBIgG と略す)、抗マイクロゾーム抗体、サイロイドテスト、抗核抗体、LE 細胞、LE テスト、直接、間接クームステスト、CH50、C₃、C₄、免疫複合体 (CIC)、リンパ球幼若化試験 (PHA, ConA) などとの間で、治療予後との関連について検討してみた。抗マイクロゾーム抗体についてのみ、有意の関連がみられた。抗マイクロゾーム抗体が陽性を示す症例はステロイド反応性 ITP に属し(危険率5%)、予後良好であることが解った。PBIgG を含めてその他の因子は ITP において異常を認める頻度も少なく、関連は認められなかった。

考 察

特発性血小板減少性紫斑病は、病因不明で「特発性」とされていたが、自己の血小板に対する抗体を産生する自己免疫疾患と考えられるに至

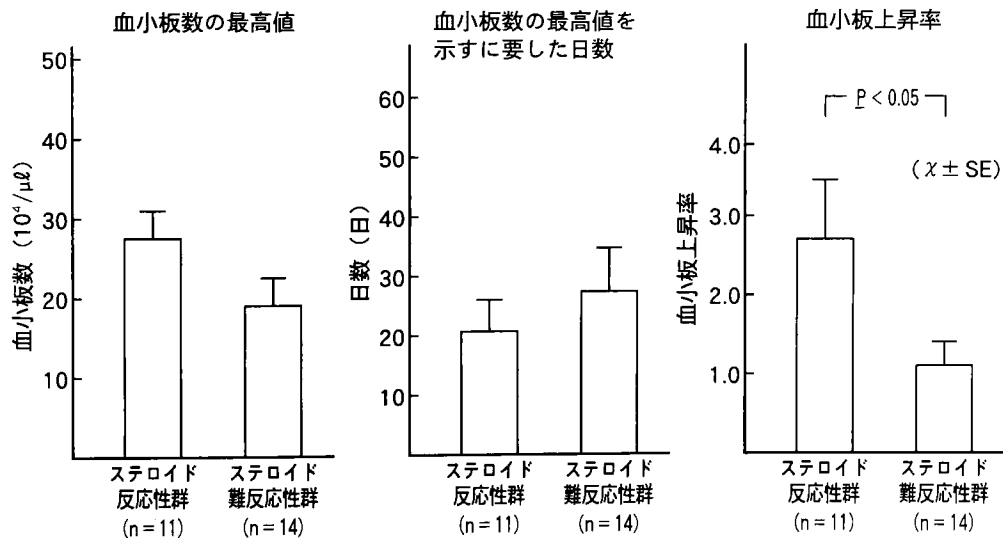


図8 ステロイド初期治療開始後の血小板数の最高値とそれに要した日数および血小板上昇率

った¹²⁾。その後、血小板抗体を直接検出する試みがなされ、Karparkin¹¹⁾や、Steffen¹²⁾らは、antiglobulin consumption test を、Karparkin¹³⁾は platelet factor 3 test (PF-3 test) を、McMillan⁴⁾は ¹³¹I Fab-anti F(ab)₂ を発表したが、感度、再現性、病気の重症度と関連しないなど問題点も多く、日常臨床に普及するに至っていなかった。1975年、Dixon³⁾により、初めて血小板膜表面に結合したIgG量を示す、いわゆる血小板表面関連免疫グロブリン platelet associated IgG (PAIgG) が、complement lysis inhibition 法によって測定され、ITP では正常範囲より遙かに高値を示すこと、また、末梢血小板数と逆相関を示すこと、治療効果の予測に有用であることが報告され、ITPに於けるPAIgGの重要性が注目された。その後PAIgGの測定は、complement lysis inhibition assay¹⁴⁾、Fab-anti Fab radioimmuno assay¹⁵⁾、¹²⁵I anti-IgG antiglobulin consumption assay、標準化ヒト免疫グロブリン法原理を利用した¹²⁵I Coombs test (radio-active anti-IgG test)⁶⁾、enzyme-labelled antihuman immunoglobulin assay や固相免疫反応法原理を利用した¹²⁵I staph Protein A assay (solid phase RIA⁷⁾)、competitive solid phase EIA⁹⁾¹⁷⁾などの方法が開発され、Dixonらの測定正常値は非常に高値

であり、その特異性にも問題があることが指摘された。

今回著者の一元放射状免疫拡散法 single radial immuno diffusion 法 (SRID 法) により測定した PAIgG の測定値は $43.5 \pm 11.7 \text{ ng} / 10^7 \text{ plts}$ であり、Kelton¹⁴⁾の $4.7 \pm 3.1 \text{ fg} / \text{plate}$

表3 PAIgG 以外の免疫関連因子とステロイド難反応性 ITP との関連について

項目名	陽 性 率	
	ステロイド反応性 ITP	ステロイド難反応性 ITP
PBIgG	1/22 (4.5%)	0/16
抗マイクロソーム抗体	8/22 (36.4%)*	1/16 (6.3%)*
サイロイドテスト	3/21 (14.3%)	0/16
抗核抗体	5/23 (21.7%)	2/15 (13.3%)
LE 細胞	0/22	0/13
LE テスト	0/21	0/14
直接クームステスト	4/18 (22.2%)	1/17 (5.9%)
間接クームステスト	4/18 (22.2%)	0/17
CH50 上昇	7/19 (36.8%)	8/17 (47.1%)
CH50 低下	4/19 (21.1%)	2/17 (11.8%)
C3 上昇	2/16 (12.5%)	4/17 (23.5%)
C3 低下	0/16	1/17 (5.9%)
C4 上昇	2/15 (13.3%)	2/17 (11.8%)
C4 低下	0/15	1/17 (5.9%)
免疫複合体 (CIC)	2/14 (14.3%)	1/11 (9.1%)
リンパ球芽球化試験		
PHA	2/13 (15.4%)	1/13 (7.7%)
ConA	1/13 (7.7%)	0/13

* 危険率 5%にて有意差有り

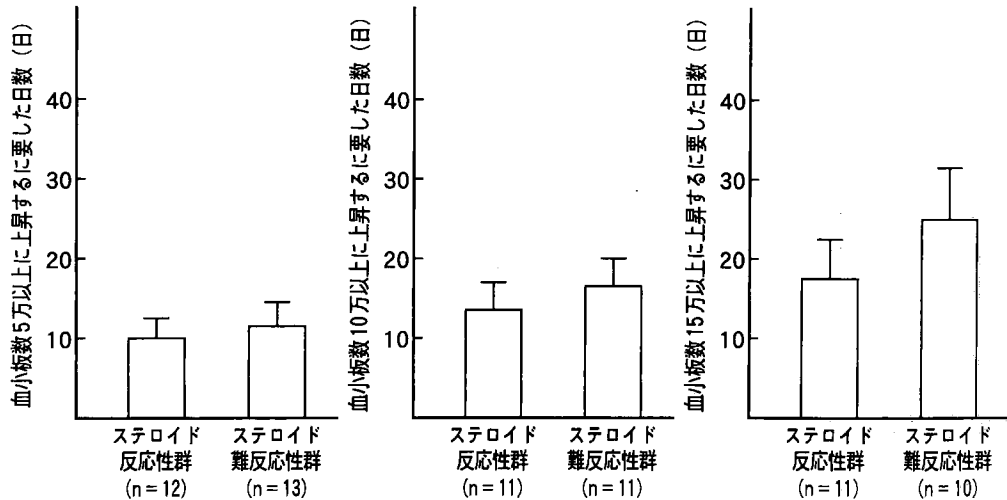


図9 ステロイド初期治療開始後、血小板数が5万、10万、15万以上に上昇するに要した日数

let ($47 \pm 31 \text{ ng}/10^7 \text{ plts}$) や椿尾ら¹⁷⁾の $21.6 \pm 6.6 \text{ ng}/10^7 \text{ platelets (plts)}$ と近似した値を示した。また他の測定法に比し、極めて簡便性にすぐれ、ヒト IgG コントロールを使用した標準曲線は、 $Y = 22.58 + 0.033X$ で $r = 0.999$ と相関も高く、再現性も十分に満足のものであった。ITP の未治療時における PAIgG の陽性率は、92% であり、Luiken¹⁵⁾、Cines⁵⁾、Hymes⁷⁾、椿尾¹⁷⁾らと同等であった。以上より、今回著者が測定した SRID 法による PAIgG の測定は他の報告と較べても、正常値および、ITP における陽性率も妥当なものと考えられた。しかも、アイソトープを使用せず、特殊な手技を要しない為、あらゆる施設で測定可能であることより、有効な検査法であると考えられる。

ITP の PAIgG と血小板数との関係では、未治療症例では $r = -0.458$ ($n = 25$) と逆相関が、また既治療例を含めると $r = -0.603$ ($n = 45$) と逆相関が見られた。このことは ITP における PAIgG は、PAIgG の高い症例ほど、網内系における貪食が亢進し、血小板数が減少していることを示唆しており、ITP の診断ならびに治療効果、予後の推測に有用な指標となる可能性を示している。

ITP 以外の疾患における PAIgG は、白血病、IgG 型多発性骨髄腫、脾機能亢進症で、正常コントロールに比し有意の上昇を認めたが、白血病と脾機能亢進症では ITP より有意に低下していた。

ITP 以外の疾患において PAIgG の高値が認められたことに関しては、PAIgG が ITP に必ずしも特異的でないとする考えもある。実際、Nell⁹⁾らも、慢性リンパ性白血病と SLE にて、Hymes⁷⁾は慢性リンパ性白血病で、Kelton ら¹⁴⁾は、多発性骨髄腫と肝硬変にて高値を示すことを認めている。しかし、本邦では、脾機能亢進症については正常者との間に差を認めないとする報告¹⁸⁾や、肝硬変16例全例に PAIgG の上昇を認めたが血小板数との間に相関がなく、ITP と肝硬変では PAIgG 上昇の病態生理学的意義が異なることを示唆している¹⁹⁾ものがある。さらに、PAIgG が ITP に必ずしも特異的でないとする考えに関して、血小板抗体以外にも、Fc 部分で

非特異的に結合した免疫複合体 circulating immune complex (CIC) を測定している可能性が指摘されている。Lurhuma²⁰⁾や Trent²¹⁾らは ITP 患者の血清中に CIC が高頻度に検出されそれらの titer は血小板数と逆相関を示すことを報告している。このことは、血小板の表面に存在する Fc レセプターに CIC が結合し、CIC の結合した血小板は網内系で早期に貪食され、流血中から消失する可能性を示唆している。しかし、倉田ら²²⁾は CIC を Ciq-ELISA および FcR 法により同時に測定し、CIC を高率に検出したが、血小板数との間には、相関を認めなかったとし、ITP における CIC は血小板結合性 IgG platelet binding IgG (PBIgG) と同じく血小板崩壊の結果生じた二次的な産物を検出している可能性を示唆していると考えている。また McMillan²³⁾や Endressen²⁴⁾らも、患者血清あるいは脾細胞培養上清をペプシンやパパインで消化し IgG を Fab 部分とした後も、正常人血小板に結合するという事実より血小板障害因子は CIC ではなく血小板抗体であることを示唆している。我々の ITP 症例にて血清 CIC を測定した25例中陽性例は3例のみで、CIC は血小板障害因子の主たるものではないと考えた。

ITP 治療に対するステロイドの作用機序としては、ITP に対するステロイドの投与は chemical splenectomy とも言われ、抗体産生の抑制、抗体で被覆された血小板のマクロファージによる捕捉の抑制等が考えられている。今回著者は、ステロイド投与前後の PAIgG を測定できた17症例全例について検討したところ、未治療時に 226.5 ± 27.9 (SE) $\text{ng}/10^7 \text{ plts}$ であったものが、ステロイド治療により 66.7 ± 10.7 (SE) $\text{ng}/10^7 \text{ plts}$ に有意に減少することを確認した。ステロイド反応性 ITP 8例、ステロイド難反応性 ITP 9例の2群に分けてみても、ステロイド反応性 ITP では、投与前 227.8 ± 33.3 (SE) $\text{ng}/10^7 \text{ plts}$ であったものが投与後 46.5 ± 5.9 (SE) $\text{ng}/10^7 \text{ plts}$ となり、ステロイド難反応性 ITP 9例でも、投与前 225.3 ± 43.6 (SE) $\text{ng}/10^7 \text{ plts}$ であったものが投与後 84.7 ± 17.7 (SE) $\text{ng}/10^7 \text{ plts}$ と、治療効果に拘らず著明に減少(前者 $p < 0.005$, 後者 $p < 0.05$) することが判明した。(図4-A)し

かし、ステロイド治療後の症状固定期の PAIgG 値も、既治療例も含めて詳細に検討すると、図 4-B に示すように、ステロイド一過性反応とステロイド無効を併せた群17名では、 129.7 ± 20.0 (SE) ng/10⁷plts で、ステロイド完全寛解と、ステロイド著効を併せた群の 45.6 ± 3.9 (SE) ng/10⁷plts やステロイド有効の 59.9 ± 3.9 (SE) ng/10⁷plts に比して明らかに (前者で $p < 0.005$, 後者で $p < 0.05$) 高値に留まることが解った。

このことは、ステロイドの投与が抗血小板自己抗体の産生を抑制していること、抗体産生を充分抑制しきれない症例においてステロイド難反応性 ITP となること、PAIgG の測定が治療予後の指標として有用であることを示している。

脾臓は最大の網内系臓器であり血小板の捕捉処理をする他、抗血小板自己抗体産生に関与することが知られており²⁵⁾、今回著者は、摘脾による PAIgG 値の変動を摘脾後無治療で血小板数が 10 万/ μ l 以上の摘脾完全寛解と、摘脾後血小板数の上昇を認めない摘脾無効で比較したところ、摘脾前後の PAIgG は摘脾完全寛解では 128.7 ± 23.7 (SE) ng/10⁷plts から 64.7 ± 14.3 (SE) ng/10⁷plts に有意に ($p < 0.05$) 減少していたが、摘脾無効では、摘脾前の 68.3 ± 12.4 (SE) ng/10⁷plts から 209.2 ± 36.5 (SE) ng/10⁷plts と逆に有意に ($p < 0.05$) 上昇することを認めた。このことは摘脾完全寛解では、脾臓における抗体産性が消失することにより寛解したと考えられるのに対し、摘脾無効では抗体産性が脾臓のみならず、Lightsey²⁶⁾が報告している様に骨髓などの他の部位で産性され続けている、貪食を逃れた PAIgG の上昇した血小板が増えている可能性を示唆しており、PAIgG で摘脾前に摘脾効果を推測することは出来なかったが、PAIgG の消長は摘脾効果を追跡する上での指標になり得ることを示している。

ステロイド治療に対する ITP の治療効果および予後について何か明確な指標となるものが必要とされている。そこで、ステロイド初期治療の反応性と ITP の予後との関係を検討した。ステロイド投与を開始した後に上昇した血小板数の最高値と、それに要した日数をみても、ステロイド反応性 ITP とステロイド難反応性

ITP との間には、治療後に上昇する血小板数の最高値では有意差は認められなかった。また、最高値に達するまでの日数でも、やはり有意差は認められなかった。そこで、血小板数の上昇率を比較してみると、ステロイド反応性 ITP ではステロイド難反応性 ITP に比し有意に高値が示され (図 8)、ステロイド初期治療開始後に短期日に急峻な血小板数の増加がみられる症例に、臨床的予後が良好であることが伺われた。

従って、ステロイド治療後のステロイド難反応性 ITP になるか否かの予後推定には、PAIgG と治療初期の血小板の上昇率が有用な予後の指標と成り得ることが判明した。

結 論

今回著者は、あらゆる施設で測定可能であると思われる一元放射状免疫拡散法 single radial immunodiffusion 法 (SRID 法) により ITP 症例の PAIgG を測定し、ITP の病態および治療予後との関連につき検討した。ITP 症例のうち、“半年以上のステロイド療法の経過後に臨床的になんらかの出血傾向を認め、かつ prednisolone 10mg/day 以下では血小板数を 5 万/ μ l 以上に維持出来ない症例”をステロイド難反応性 ITP とし抽出し、PAIgG がステロイド難反応性 ITP の予後推定の指標となるか否かを検討し、次の結果を得た。

1) SRID 法にて、健常コントロール28例から求めた PAIgG の正常値は 20.1 から 66.9 ng/10⁷plts であった。ITP 45症例では 157.1 ± 15.9 (SE) ng/10⁷plts と有意に高値を示し、且つ PAIgG と血小板数の間には有意な負の相関を示した。

2) ステロイド初期治療後には、ステロイド反応性 ITP、ステロイド難反応性 ITP にかかわらず PAIgG は有意に減少することが確認されたが、症状固定期に測定した PAIgG は、ステロイド難反応性 ITP でなお有意に高値にとどまることが確認された。

3) 摘脾による PAIgG 値の変動は摘脾完全寛解では、摘脾後有意に減少したが、摘脾無効では、むしろ摘脾後に有意の上昇を認め、摘脾後の PAIgG が病態の指標となり得ることが判明した。

4) ステロイド投与開始後の血小板数の上昇率が、ステロイド反応性 ITP ではステロイド難反応性 ITP に比して有意に高いことが確認され、ステロイド初期治療開始後に、短期日に急峻な血小板数の増加がみられる症例に臨床的予後が良好であることが伺われた。

従って、ステロイド治療後のステロイド難反応性 ITP になるか否かの予後推定には、SRID

法によって測定した PAIgG と、治療初期の血小板の上昇率が指標と成り得ることが判明した。

稿を終るにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師木村郁郎教授に謝意を捧げますと共に、終始御懇篤なる御指導を賜った林久智講師に深謝致します。

文 献

- 1) Harrington WJ, Minnich V, Hollingsworth JW and Moore CV : Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med* (1951) **38**, 1—10.
- 2) Shulman NR, Marder VJ and Weinrach RS : Similarities between known antiplatelet antibodies and the factor responsible for thrombocytopenia in idiopathic purpura. Physiologic, serologic and isotopic studies. *Ann New York Acad Sci* (1965) **124**, 499—542.
- 3) Dixon R, Rosse W and Ebbert L : Quantitative determination of antibody in idiopathic thrombocytopenic purpura. *N Eng J Med* (1975) **292**, 230—236.
- 4) McMillan R, Smith RS and Longmire RL : Immunoglobulins associated with human platelets. *Blood* (1971) **37**, 316—322.
- 5) Cines DB and Schreiber AD : Immune thrombocytopenia. Use of a Coombs antiglobulin test to detect IgG and C 3 on platelets. *N Eng J Med* (1979) **300**, 106—111.
- 6) Mueller-Eckhardt C, Mahn I, Schulz G and Mueller-Eckhardt G : Detection of platelet autoantibodies by a radioactive anti-immunoglobulin test. *Vox Sang* (1978) **35**, 357—365.
- 7) K Hymes, Shulman S and Karpatkin S : A solid-phase radioimmunoassay for bound anti-platelet antibody. Studies on 45 patients with autoimmune platelet disorders. *J Lab Clin Med* (1979) **94**, 639—648.
- 8) Leporrier M, Dighiero G, Auzemery M and Binet JL : Detection and Quantification of platelet-bound antibodies with immunoperoxidase. *Br J Haematol* (1979) **42**, 605—611.
- 9) Nel JD and Stevens K : A New method for the simultaneous quantitation of platelet-bound immunoglobulin (IgG) and complement (C 3) employing an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) procedure. *Br J Haematol* (1980) **44**, 281—290.
- 10) Mancini G, Carbonara AO and Heremans JF : Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* (1965) **2**, 225—262.
- 11) Karpatkin S : Autoimmune thrombocytopenic purpura. *Blood* (1980) **56**, 329—343.
- 12) Steffen C : Results obtained with the antiglobulin consumption test and investigations of autoantibody eluates in immunohematology. *J Lab Clin Med* (1960) **55**, 9—28.
- 13) Karpatkin S and Siskind GW : In vitro detection of platelet antibody in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura and systemic lupus erythematosus. *Blood* (1969) **33**, 795—812.
- 14) Kelton JG, Neame PB, Bishop J, Ali M, Gaudie J and Hirsh J : The direct assay for platelet-associated IgG (PAIgG) : Lack of association between antibody level and platelet size. *Blood* (1979) **53**, 73—80.

- 15) Luiken GA, McMillan R, Lightsey AL, Gordon P, Zevely S, Schulman I, Gribble TJ and Longmire R : Platelet-associated IgG in immune thrombocytopenic purpura. *Blood* (1977) **50**, 317—325.
- 16) Kelton JG, Powers PJ and Carter CJ : A prospective study of the usefulness of the measurement of platelet-associated IgG for the diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* (1982) **60**, 1050—1053.
- 17) 椿尾忠博, 倉田義夫, 木谷照夫 : ITP における抗血小板抗体の研究 : Competitive solid-phase EIA による血小板膜表面 IgG と血小板結合性 IgG の測定. 厚生省特発性造血障害研究班昭55研究報告書 (1981), pp 206—214.
- 18) 小鶴三男, 鶴池直邦 : 特発性血小板減少性紫斑病における血小板結合 IgG の定量とその臨床的意義. 厚生省特発性造血障害研究班昭55研究報告書 (1981), pp 220—225.
- 19) 野村武夫, 五味聖二 : 血小板結合性免疫グロブリン (PAIgG) に関する研究 : 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) と肝硬変の対比. 厚生省特発性造血障害研究班昭61研究報告書 (1986), pp 144—145.
- 20) Lurhuma AZ, Riccomi H and Masson PL : The occurrence of circulating immune complexes and viral antigens in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Clin Exp Immunol* (1977) **28**, 49—55.
- 21) Trent RJ, Clancy RL, Danis V and Basten A : Immune complexes in thrombocytopenic patients. Cause or effect? *Br J Haematol* (1980) **44**, 645—654.
- 22) 倉田義之, 林 悟, 押田真知子, 椿尾忠博, 米沢 毅 : 特発性血小板減少性紫斑病における血小板抗体および血中免疫複合体. *臨血* (1985) **26**, 177—183.
- 23) McMillan R, Tani P and Mason D : The demonstration of antibody binding to platelet-associated antigens in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood* (1980) **56**, 993—995.
- 24) Endressen GKM and Følre Φ : Studies on the binding of immunoglobulins and immune complexes to the surface of human platelets. IgG molecules react with platelet Fc receptors with CH₃ domain. *Int Arch Allergy Appl Immunol* (1982) **67**, 33—39.
- 25) Karpatkin S, Strick N and Siskind W : Detection of splenic anti-platelet antibody synthesis in idiopathic autoimmune thrombocytopenic purpura (ATP). *Br J Haematol* (1972) **23**, 167—176.
- 26) Lightsey AL, McMillan R, Koenig HM, Schanberger JE and Lang JE : In vitro production of platelet-binding IgG in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediatr* (1976) **88**, 414—418.

Clinical study on idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)
Part 1. The relationship between the platelet associated IgG (PAIgG) level
and the prognosis of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)

Naokazu TSURUMI

Department of Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

Platelet associated IgG (PAIgG) levels in 45 ITP patients were measured by the single radialimmunodiffusion (SRID) technique to determine whether PAIgG could be used as a prognostic index for ITP.

The PAIgG levels in ITP patients were significantly higher than those in normal controls and showed an inverse correlation with the platelet count (Y221.9-13.4X, $p < 0.01$).

The PAIgG level decreased significantly after the first course of steroid therapy in both the steroid responsive and the steroid resistant ITP patients. However, in the clinically stable period, the PAIgG level in the steroid resistant patients remained significantly higher than in the responsive patients ($p < 0.005$).

Although the PAIgG level after splenectomy decreased significantly ($p < 0.05$) in the patients with complete remission, it remained significantly higher ($p < 0.05$) in the nonresponders.

Maximum platelet count after therapy divided by the number of days elapsing from the time of therapy to the day showing the maximum platelet count, was significantly higher in the responders.

The PAIgG level in the stable period after steroid therapy, and the rate of increase in the platelet counts in the early period after steroid therapy were suggested to be useful as indices of the prognosis of ITP.