

退任記念講演

「私の臨床・研究カルテと処方箋」

藤村 欣吾

広島大学大学院医歯薬学総合研究科  
病態薬物治療学講座 血液・腫瘍科教授  
平成17年3月2日  
(於：広島大学医学部第5講義室)



藤村 欣吾 教授 略歴

- 昭和16年 東京都生まれ
- 昭和41年 日本医科大学卒業
- 昭和47年 広島大学大学院医学研究科終了
- 昭和47年 広島大学医学部附属病院  
中央検査部 助手
- 昭和48年 広島大学医学部附属病院  
原爆放射能医学研究所内科 助手
- 昭和49年 医学博士（広島大学）
- 昭和52年 広島大学医学部附属病院  
原爆放射能医学研究所内科 講師
- 昭和56年 米国カルフォルニア大学サンフランシスコ校  
心臓血管研究所血栓止血部門留学
- 昭和60年 広島大学原爆放射能医学研究所  
臨床第一（内科）研究部門 助教授
- 平成8年 広島大学医学部総合薬学科 教授
- 平成11年 広島大学大学院医学系研究科臨床薬学専攻  
病態薬物治療学講座 教授
- 平成14年 広島大学大学院医歯薬学総合研究科  
病態薬物治療学講座 血液・腫瘍科 教授

研究領域：臨床血液学——血栓止血機構，特に血小板の生化学的，分子生物学的解析  
臨床免疫学——免疫性血液疾患の発症機構に関する研究，M-蛋白血症の疫学的研究

主な所属学会：日本内科学会，  
日本血液学会（評議員，理事）  
日本臨床血液学会（評議員）  
日本血栓止血学会（評議員）  
米国血液学会，国際血液学会，国際血栓止血学会 他

## はじめに

私は学園紛争（インターン闘争）が最もピークに達した，また前代未聞の医師国家試験をボイコットした世代，昭和41年の卒業である。従ってまともな臨床実習を行うことなく1年半を過ごし，秋風の吹く昭和42年10月に国家試験を受験し医師免許証を取得後約1年遅れて入局した。

以来約38年間もの間広島大学にお世話になることになろうとは全く考えても見なかった。

入局は現在の血液内科の前身である原医研臨床第一部門 内科で，当時の教授は現京都大学名誉教授内野治人先生であった。新進気鋭の一言でいえば人を乗せ上手で，学位の研究を行いながら血液学の基礎を学ぶことが出来た。その後気配りの蔵本教授（現広島大学名誉教授）が教室を主宰され，小生の血小板研究が始まり研究の柱が確立した。

本日は研究面を中心に主として平成7年に医学部総合薬学科に転任した後に行った研究の概略を述べる。

薬学科へ転任してから，今後の10年の間にどんな研究を薬学の事情を踏まえて行えばよいかを考えた。医学科と異なり潤沢に博士課程の大学院生がいるわけではなく，また何よりも女性が多く，研究には興味を持つが臨床的な背景のない修士の学生が戦力であることから，どんな研究が向いているのかを探ることが課題となった。

そこで基礎研究として既存の“物”を扱うことよりもっと基礎的に何か新しい未知の“物”を探し出すことを目的とし，標的として従来より行って来た血小板の活性化にかかわる新たなたんぱく質の同定，さらには今まで手をつけることができなかった血小板産生に関わる系の確立を対象とした。

一方臨床研究としては従来から行っていた免疫性血小板減少症の病態と治療に加え，患者さんの要望と我々の希望であった遺伝性血小板異常症の遺伝子解析，家族性血小板減少症の原因究明など，臨床的な関心事に薬学を目指す学生が興味を示すのか不安であった。しかし藤元助教授の熱心な指導によりこれらの不安は徒労に終わり，毎年多くの優秀な修士の学生に恵まれてきたことは本当にありがたかった。

## 基礎的研究

### 1. 血小板産生に関する研究

#### 1) ES細胞から血小板産生系の確立とその特徴

血小板産生に関して従来より人やマウスの骨髄や末梢血から造血幹細胞を取り出し，トロンボポエチンによる血小板産生を観察することが行われていた。この系では充分な血小板が得られないこと，血小板に遺伝子導入し機能異常血小板を作成し，血小板の機能を人為的に変異させるような系の確立が難しいこと等，難点があった。すなわち血小板は無核の細胞であるために有核細胞とは異なり，遺伝子導入が直接できないことが血小板機能解析研究の進歩においてネックとなっていた。そこで我々はマウス ES細胞に着目した。すでにこの当時マウス ES細胞から血小板を含めた3系統の血球系細胞が産生可能であることが明らかになっていたが，血小板産生状態や機能については明らかになっていなかった。そこでES細胞から産生される血小板は末梢血中の血小板と機能的に同等か否か，遺伝子導入したES細胞から変異血小板を作成可能か，について研究を行った。

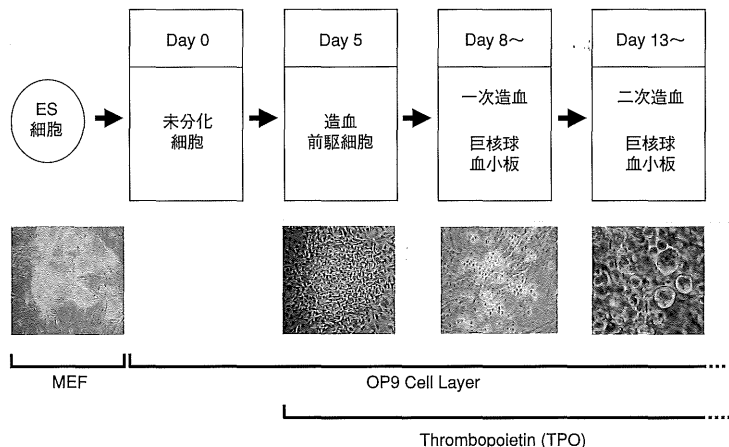


図1. ES細胞から巨核球, 血小板への分化過程

ES細胞(幹性胚細胞)は特異な条件下によって種々の細胞に分化することは明らかになっており, 再生医学の一つとして盛んに研究の対象とされ, 私たちも血小板輸血の代替療法としての将来性を検討することも研究の目的の一つであった。マウスES細胞をLIF(Leukemia Inhibitory Factor)存在下でマウス間質細胞OP9上(M-CSFの発現が欠損しているために大理石病となるモデルマウス由来——共同研究者 阪大仲野 徹教授より供与)で増殖させた後, 5日目にTPO(Thrombopoietin)を添加培養すると8日目頃より巨核球コロニー形成が認められ, その後血小板前駆細胞とも言うべきproplateletが形成され, 血小板が培養上清中に浮遊してくる様子が観察され, 血小板造血過程が約2週間で追えることが明らかとなった(図1)。但しこの系を確立するには種々の思考錯誤の繰り返しが必要であった。

この間に気付いたことは, 産生された血小板数は9日目ですでに1回目の小さな血小板数増加のピークを迎え, その後5日目ですらに多くの血小板が産生される, いわゆる血小板増加反応には2つのピークがあることが判った(図2)。これを第一波(1st wave), 第二波(2nd wave)と名付け, 各々の血小板を産生する巨核球のDNA量および産生された血小板の形態を電顕的に観察した。その結果1st waveの巨核球はDNA量が4Nのものが多いのに

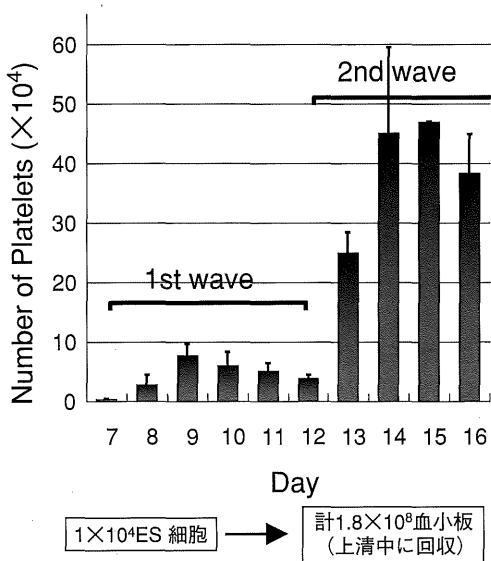


図2. 培養上清中への血小板産生

比し, 2nd waveの巨核球は8Nが最も多く, さらに16N, 32N, 64N, 128Nの巨核球もこれに続いて多く存在することがわかった(図3)。また2nd wave由来血小板は形態学的にも特殊顆粒を十分に含み, 末梢血の血小板と同等であるのに対し, 1st wave由来血小板は顆粒の数が少なく, 明らかに末梢血血小板とは異なっていた。すなわち1st waveと2nd waveを形成する造血は根本的に異なる可能性を示し, このことはES細胞から血小板が産生される過程は, 哺乳類の血液造血が胎児期には主に肝臓, 脾臓で行われ, その後産生が近くなるにつれ骨髓造血に移る造血過程と類似していることが示唆され, 非常に興味深い所見であった。次にES細胞から産生された血小板が正常の止血機能を有するか否かが問題である。これについてはトロンピンアナログで血小板を刺激するとフィブリンノーゲンを結合し, 血小板凝集反応や放出反応が起こることを指標に検討すると, 2nd wave由来血小板は末梢血血小板と同等の機能を持つことが明らかとなり, 充分止血に耐

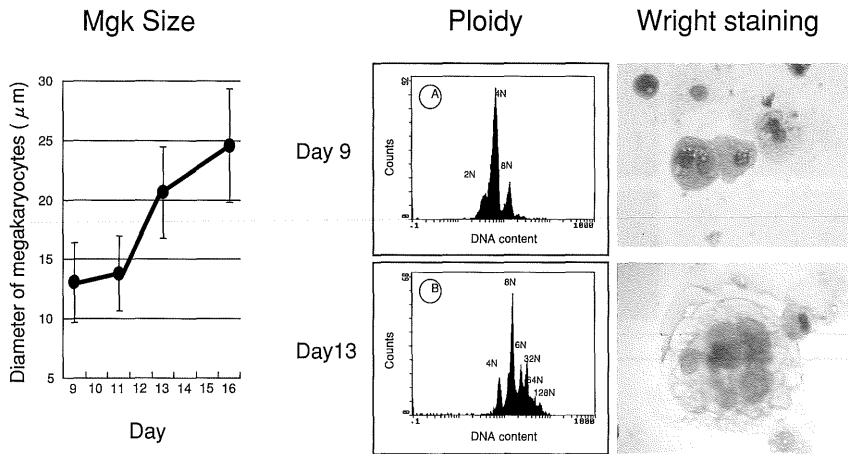


図3. ES細胞由来1次, 2次造血巨核球

えられると考えられた。この様にES細胞から血小板輸血の代替となる血小板を試験管内で作成可能であることを示した点にマスコミは注目し、一時新聞や放送に借り出されたことは懐かしい思い出である。しかし現実には血小板輸血の需要を満たすには相当量の培地、培養タンクが必要で、経済効率の面からはマイナス面が大きいと考えている。

ES細胞を研究に導入した目的の一つは、今後吊り上げるであろう新規遺伝子の機能を明らかにする手法の一つとしてのノックアウトマウスの作成であったが、これはさておき血小板機能解析が蛋白レベルの域を超えられなかった理由として前述したように無核の血小板を遺伝子レベルで変異させることが不可能である点であった。そこでES細胞を用いることによりこの問題を解決しようとした。すなわちES細胞の段階で遺伝子を導入する系を確立することによって目的遺伝子を変異させたり、活性化させたり、発現を抑制した血小板が作成可能であろうとの仮定からの出発である。

手始めに最も判りやすい色素を発現する血小板が作成可能か否か検討した。GFP (Green Fluorescence Protein) 遺伝子をES細胞に電気的に導入し、この遺伝子が入った細胞のみをピックアップし、前述の方法で血小板を産生させるものである。その結果緑に染まった巨核球, proplatelet, さらには血小板の産生が認められ、遺伝子導入血小板が作成可能であることが判った(図4)。この結果を基に変異レセプターを発現させ血小板機能を低下させた血小板の産生にも成功した。以上の研究は国内はもとより米国血液学会においても反響を呼び、多くの問い合わせをいただくとともに、日本血液学会からは若手研究者に与えられる2002年度の学会奨励賞の5名の内の一人に選ばれ、担当した研究生も日ごろの苦勞が報われた感じがした。

## 2) 巨核球と間質細胞の相互作用に関する新規蛋白のクローニング

造血は造血幹細胞、あるいは各造血前駆細胞が単独で増殖、分化するわけではなく、他の細胞との協調関係があって初めて正常な細胞が効率よく産生されることが考えられる。

ES細胞が何故間質細胞OP9上でないと増殖、分化しないのか、それにはES細胞と間質細胞との間に液性因子なり、レセプターを介してなり、何らかの関連があるはずである。そこでシグナルシーケンストラップ法を用いて骨髄間質細胞由来の膜レセプター蛋白、分泌蛋白のスクリーニングを行った。その結果117個の遺伝子が拾えたが、未知因子は21個であった。この中でAdipocyte-specific protein (ASP)としてデータベースに登録されている遺伝子に注目した。ASPは最近Glial細胞に発現し、脳血液関門を構成するとの報告はあるが、骨髄、血球系での発現、機能については未知の遺伝子であった。

ASPは442個のアミノ酸からなり、膜貫通領域をもち、細胞外に2つのIgドメインを有する蛋白であることが判った。またASPはmRNAのレベルではいずれの間質細胞にも発現しているが、血球系には全く発現がなく、また作成したASP抗体を用いた蛋白発現の検討ではmRNAと同様に血球系には発現はなく、間質細胞膜上に発現していることが明らかとなった(図5)。また作成したリコンビナントASPはヒト骨髄幼稚細胞、成熟細胞表面と

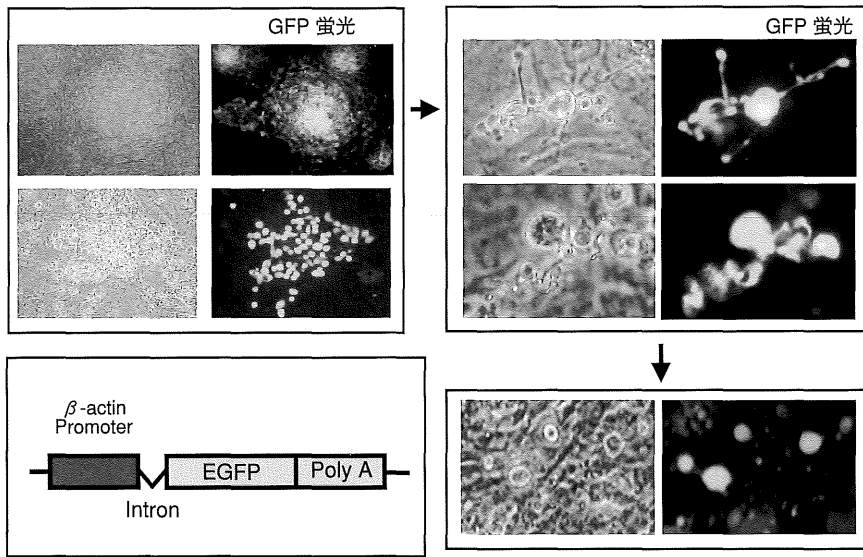


図4. GFP 遺伝子を導入した緑色巨核球の産生

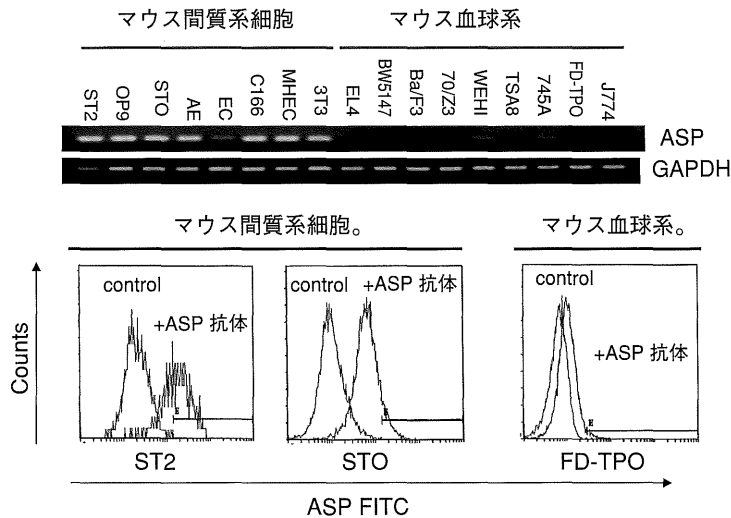


図5. ASP の造血系における発現

結合することから、ASP は間質細胞膜に発現し、リガンドは不明であるが血球細胞の表面と結合するレセプターの可能性が考えられた。すなわち ASP は骨髓間質細胞表面に発現し、ES 細胞、造血系の幼若細胞、および巨核球系の細胞との細胞間接着に関与し細胞の分化に関与する蛋白と考えている (図6)。

3) トロンボポイエチン (TPO) により巨核球系細胞に誘導されるたんぱく質の解析

TPO は造血幹細胞の自己複製にもかかわるが、その主たる作用は巨核球系への分化、増殖による血小板産生の亢進である。*In vivo* 投与で血小板数が著明に増加することはマウスのレベルのみならずヒトのレベルでも明らかにされ10年が経過した。

TPO によって特異的に誘導される遺伝子を明らかにすることが出来れば造血幹細胞からいかなる機序で巨核球へ分化し、またどのような機序で血小板が増加するのか遺伝子レベルで明らかになると考えられる。

そこで TPO 存在、非存在下での mRNA をディファレンシャルディスプレイ法で解析してみた。その結果多く

の遺伝子が明らかとなったが、その中で 9-27, Leu13 (その後この遺伝子は IFI17 と命名された) に注目した。それは Leu13 に対するモノクローナル抗体は細胞増殖を抑制するとの報告と、最近マウスの生殖細胞の分化に関与する蛋白、フラジリスと同一であるとの報告からである。IFI17 はインターフェロンで誘導される遺伝子群のひとつであるが、TPO によっても濃度、時間依存的に誘導されることがわかった。すなわち TPO はヒト巨核球系細胞株 CMK 細胞に  $\alpha$  インターフェロンほどではないが  $\gamma$  インターフェロンよりも強く、IFI17 を 24 時間まで誘導することが明らかとなった。IFI17 は IL-6 を除くほかのサイトカインでは誘導されず、IL-6 で若干誘導されるに過ぎなかった。またこの蛋白の疎水性の検討から 1 本鎖の蛋白で、2 つの膜貫通領域を有していることが判明した。問題はこの機能であるが作成した IFI17 抗体は血小板への成熟過程は抑制しないが巨核球数を減少させることから、TPO によって IFI 17 が幹細胞や巨核球前駆細胞に誘導され、それによってリガンドや相手のレセプターは不明であるがシグナルが導入され、巨核球への分化誘導、血小板産生の増強が起こるのではないかと考えている (図 7, 8)。臨床的に少量の  $\alpha$  インターフェロンを血小板減少症例に用いると血小板が増加することが明らかとなっているがその機序は不明であった。この研究結果は血小板増加の機序として IFI 17 の発現がかかわっている可能性を示唆するものと考え注目している。

ASP は骨髄間質細胞表面に発現し、ES 細胞、造血系の幼若細胞、及び巨核球系細胞との細胞間接着に関与して、細胞の分化に関与しているタンパクであると考えられた。

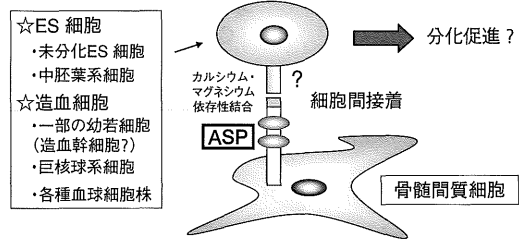


図 6. 骨髄間質細胞に発現する ASP についての“まとめ”

## 2. 血小板活性化機構に関する研究

血小板は通常はラグビーボール様の形態で血流中を血管壁に沿ってスムーズに流れているが、刺激を受けると野球ボール様の球形に変形するとともにマトリクスへ粘着し、放出反応を起こし止血に必要な細胞内容物を放出し、一方では偽足を出し変形する。これら一連の過程を血小板活性化過程と称し、粘着、放出、凝集反応のいずれが欠けても満足な止血は行われないことは遺伝性血小板機能異常症の研究からも明らかとなっている。これら反応の中の一つの現象として、血小板はアゴニストやマトリックスへの接着による刺激を受けると血小板表面のレセプターが活性化され、フィブリノーゲンなどの高分子接着蛋白を結合し、粘着反応の更なる強化、凝集反応が生じる。したがってレセプター分子の活性化機構を明らかにすることは、血小板の機能制御にも係わり、抗血小板療法など臨床的に重要な点である。この様な観点から従来より世界の多くの研究者の血小板研究の標的のひとつは血小板表面のフィブリノーゲンレセプター (GPIIb/IIIa complex, Integrin  $\alpha$  IIb  $\beta$  IIIa) の活性化機構である。

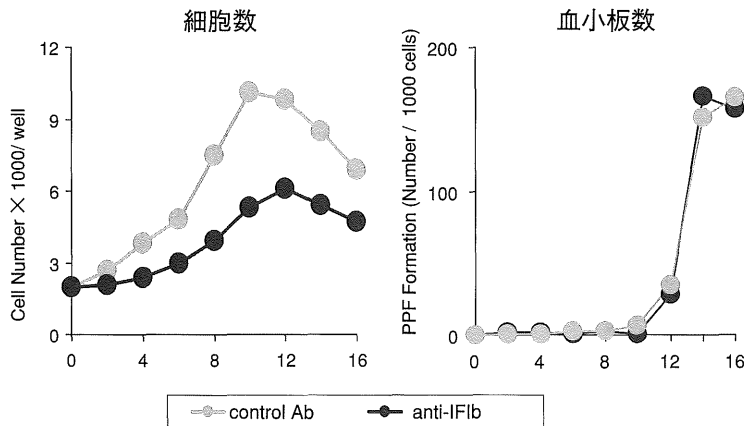


図 7. Megakaryocyte Growth and Maturation from CD34 Cells

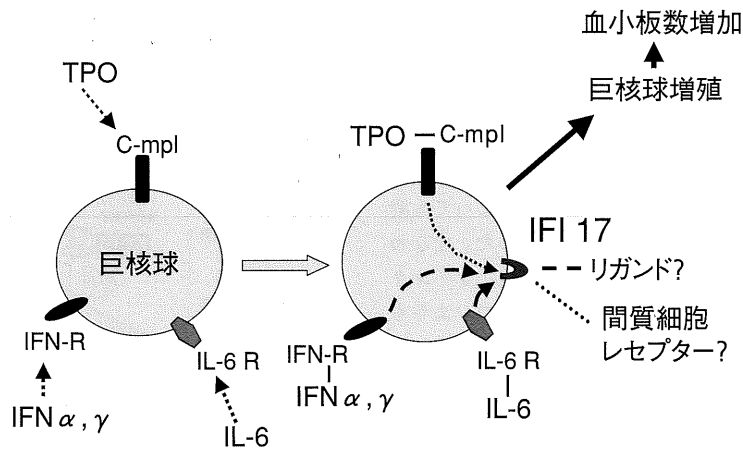
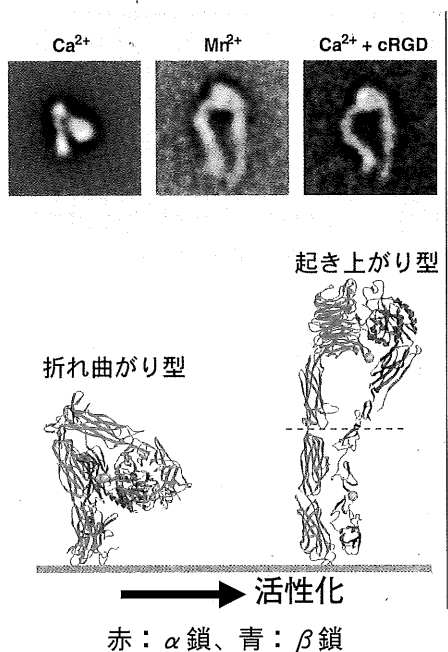


図8. IFI 17の発現と作用

すなわち GPIIb/IIIa complex は通常はフィブリノーゲンを結合できない状態にあるが、血小板の活性化シグナルに出会うと GPIIb/IIIa complex は形態変化を起こしフィブリノーゲン結合部位が露出し、フィブリノーゲンを結合し、血小板凝集、強固な接着を起こす。最近同族のインテグリン  $\alpha V\beta 3$  complex の結晶解析研究とレセプターの電顕解析から、このレセプターは静止状態では血小板膜表面上で折れ曲がり型をとっているが、活性化に伴って起き上がり型に形態変化することが明らかにされている (図9)。この形態変化によってフィブリノーゲンに対する結合能をもたらす分子基盤が研究課題と言う訳である。



Takagi J. Nature Struct. Biol. 2001 より引用

図9.  $\alpha V\beta 3$  Integrin の構造変化

フィブリノーゲンレセプターの活性化には血小板がアゴニスト刺激や他の接着レセプターを介してマトリックスへ接着する結果、刺激が血小板に入る必要があります。これを inside-out signal と呼んでいる。このシグナルにより GPIIb/IIIa complex の形態変化が生じフィブリノーゲンを結合すると、この結合が GPIIb/IIIa complex を介して細胞内へシグナルを発信し (outside-in signal), 血小板の進展, 拡張, 粘着の促進を引き起こし血小板血栓形成の最終段階を迎えることになる (図10)。

このような背景の中で我々の研究目標は inside-out signal によって GPIIb/IIIa complex の細胞内ドメインに結合し、このレセプターの活性化に係わる分子の探索である。この分子の探索は世界中で行われ、報告がなされているが決定的なものはない。いずれも用いた手法は Yeast two hybrid 法である。我々も同様な手法で100以上のクローンを得た。そのうち新規と思われるクローンを5つ選び (Nmi, RYBP, KIAA0970, Calponin 3, FHL 2) 機能解析を行った。これら遺伝子にコードされた5つの蛋白はウエスタン, プロットエイニング, 免疫組織化学でいずれもヒト血小板, ヒト巨核球, 巨核球系培養細胞株に発現していることが確認された。またこれら蛋白は免疫蛍光抗体による二重染色で GPIIb/IIIa complex と細胞内で共存し, 免疫沈降法でも GPIIb/IIIa complex と共沈することがわかった。すなわちこれら Yeast two hybrid 法で吊り上げた蛋白は血小板, 巨



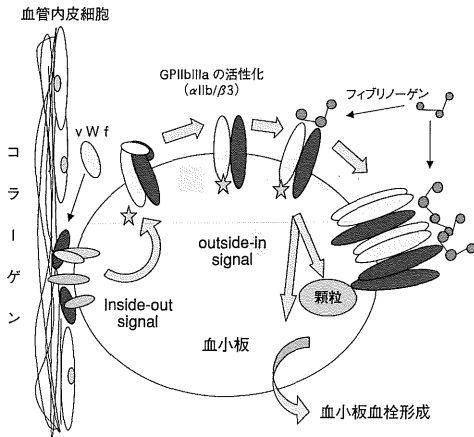


図10. Inside-out, outside-in signal によるインテグリン GPIIb/IIIa 複合体の活性化

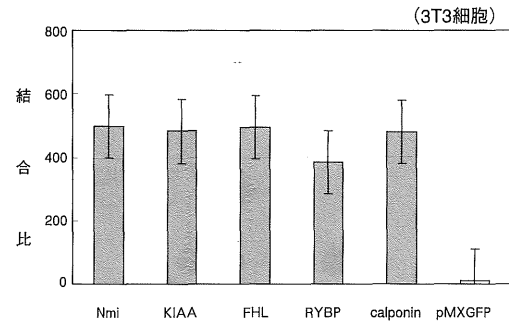


図11. 液相フィブリノーゲンとの反応

核球系細胞に発現し、細胞内で GPIIb/IIIa complex と共存して存在することが明らかとなった。次にこれら蛋白が血小板機能に関係しているか否かが問題である。そこでこれら遺伝子を巨核球系細胞株に導入し、蛋白を強発現させる系を作成してフィブリノーゲン結合能が増強するか否かが検討した。その結果これら遺伝子を強制発現させた細胞はフィブリノーゲンの結合能が増加し、また GPIIb/IIIa complex が活性化されて初めて結合することが出来るモノクローナル抗体 (PAC1) の結合能も増すことから、これら GPIIb/IIIa complex の細胞内ドメインと結合する蛋白はこのレセプターの活性化に係わっていることを示唆するものとして注目している (図11)。そのためにはこれら5つの蛋白がすべて係わるのか、順序があるのか、inside-out signal によってこれらの反応が誘導されるのかなど、既報の蛋白における同様の問題点が残されている。

しかしこれらレセプター機能を促進する蛋白が明らかとなれば今後抗血小板薬の開発における分子標的となりうる可能性があり、現在でも多くの研究者が参入している。

## 臨床研究

38年間の臨床活動は小生にとってもっともやりがいのあるものであった。根っからの臨床好きで、患者さんからの情報が研究のテーマなりアイデアとなった。したがって臨床現場がなければ研究も好きになれなかったし、研究テーマも浮かばなかったのも事実である。長い間多くの患者さんから解決せねばならない問題を投げかけていただいたが、残念ながら問題点が解決される研究成果は少なく中途半端になってしまっている。以下臨床現場に直結した2~3の研究について述べてみたい。

### 1. 家族性血小板減少症の原因遺伝子の探索

私が血小板研究に参加して間もない昭和60年、血小板減少(4~6万)の11才、女兒例が紹介され来院した。紫斑、鼻出血を繰り返し輸血まで受けている。また解熱のための小児用バツファリン、鎮痛性坐薬にて血尿、鼻出血が出現する。しかし血小板減少以外に検査所見に異常は認められなかった。家族歴を聴取すると家系内に同様な出血を来す人が居られることが判り家系調査が開始され、その結果4世代17名に血小板減少が確認され、常染色体性優性遺伝形式をとることがわかった(図12)。血小板形態異常は認められないが、骨髓においては巨核球増加傾向にあり、不思議なことに骨髓内では多くの血小板が集簇し、骨髓内では十分な血小板が認められるのに反し、末梢血中には血小板は少ないことが臨床上一不思議であった。血小板減少の原因について新たな疾患ではないかとの想定で当時可能な限りの検査を行った。血小板膜蛋白解析が行われ始めた頃で、早速行って見たが異常はなく、アロの血小板を用いた血小板寿命検査も血小板機能も正常であった。以来原因不明の家族性血小板減少症として対症療法による止血を試みる以外に血小板減少に対してはなすすべがなく経過した。当時の発症者は現

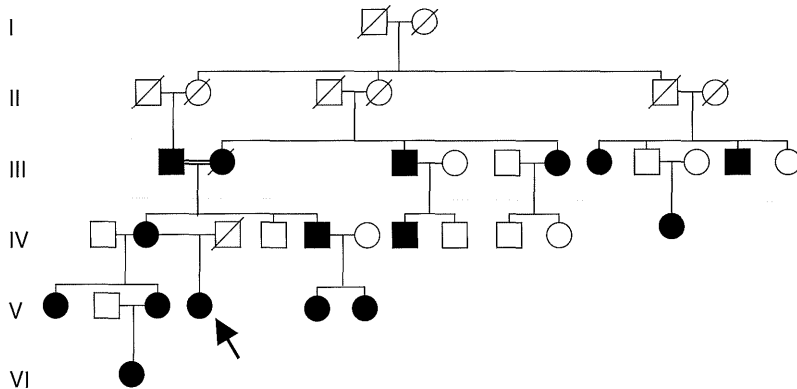
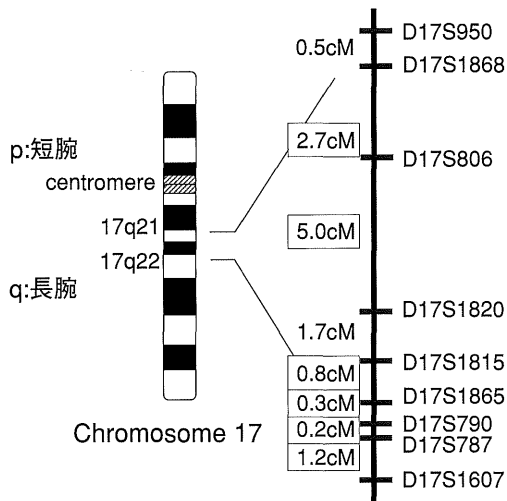


図12. 家族性血小板減少家系 (●■血小板減少者)



候補領域は17番染色体長腕上17q21~22に位置し、全長約12cMであった。

図13. 候補遺伝子領域

在では2児の母親として血小板減少以外は健康で生活しておられる。私としては何とかならないものかと気にかけてながら今日まで経過していた。2000年になって連鎖解析に協力していただける施設をあるところから紹介していただき早速共同研究を開始した。

その結果約一年半かけて異常遺伝子と思われる候補遺伝子を見出すことが出来た。この間約30年の月日が流れた。その異常は17番染色体長腕 D17S1815~D17S1868 の間約 12cM の領域に存在し、この中の主たる遺伝子を検索したところ何の因果か GPIIIa の1塩基が置換していることがわかった (図13)。この point mutation により蛋白レベルでは744番目のロイシンがプロリンに変化し、これは血小板減少を示す症例に特徴的であった。しかしこの異常は genomic DNA にのみ認められ、末梢血小板 cDNA には認められなかった。この点について前述の骨髓標本の所見に照らして、GPIIIa 変異アレル由来の巨核球は異常血小板を産生し、骨髓内で凝集し、末梢血には遊出しない。しかし正常 GPIIIa アレル由来の巨核球からの血小板は正常血小板を産生し、これが末梢血中を流れて

いるために末梢血小板からの cDNA には異常が認められない。従って減少例は末梢血中の血小板数が極端に減少することなく4~10万弱に推移するのであろうと解釈した。このような症例は報告がなく新たな異常としてまとめ中である。この異常遺伝子を組み込んだ細胞の GPIIIa の発現は正常で、かつ GPIIb と複合体を十分に形成し、正常に活性化された。したがって骨髓標本で見られた所見はこの遺伝子異常に起因する可能性を証明することは出来ていないが、このレセプターの機能から血小板同士の結合に関連している可能性は否定できない。今後は本異常遺伝子の意味を記述の ES 細胞系で明らかにする仕事が残っている。この研究成果は一昨年末米国血液学会で発表したが、本年5月イタリアからメールが届き類似症例を検索しているため共同研究を行わないかとの申し込みがあり、具体的な方法を互いに検討中である。

## 2. 遺伝性血小板機能異常症 (血小板無力症、バルナードスーリエ症候群) 15家系の遺伝子解析

分子生物学の進歩に伴い臨床の研究室でも容易に遺伝子解析が行えるようになって来た。血小板無力症はフィ

プリノーゲンレセプター， GPIIb/IIIa 複合体遺伝子異常， ベルナードスーリエ症候群はフォンウィルブランド因子 (vWF) レセプター， GPIb/IX/V 複合体遺伝子異常であることが明らかになって以来臨床例でこれら遺伝子異常の検索がなされるようになった。これら症例は稀少症例であるために全国ネットで拠点形成が自然発生的に行われ、我々のところは中四国，九州の症例を主に検索する機会に恵まれた。これら症例の検索結果については割愛するが世界的に初めての症例については論文として報告しデータベースに登録されている。

### 3. 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の病態と治療

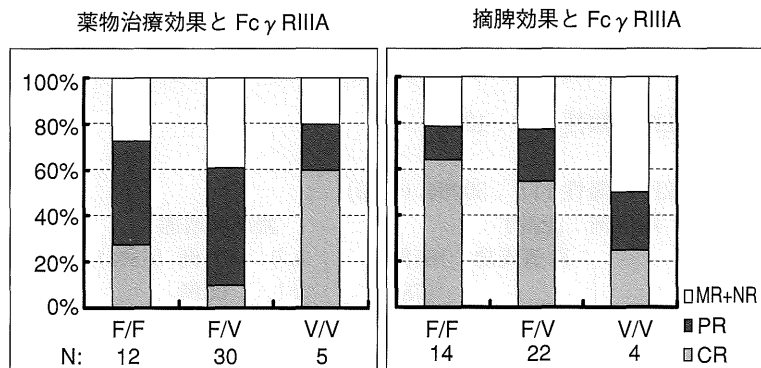
ITP は数的血小板異常症の中で最も多い後天性の自己免疫疾患で，血小板抗体による血小板の破壊が亢進することによる血小板減少症である。長年血小板外来を行っているとなつて自然に本症例が集まって来るようになり，最盛期には約150症例が外来を賑やかすようになった。また昭和47年から厚生省特発性造血障害研究班に参画し，ITP の診断，治療に貢献する必要がある。これらの背景から ITP に関する臨床研究は一つの柱となりライフワーク的になり現在でも続いている。

#### 1) ITP における摘脾有効性の予知に関する研究 (Fc レセプターの遺伝子多型解析から)

1994年原医研内科在籍当時の159症例の治療成績をまとめたが約24%の症例が所謂治療抵抗性症例となり，この中から死亡例が多く発生することが明らかとなつたが治療抵抗性症例の扱いについては現在もなお手探りの状態である。このような中であつて摘脾療法が本症における最も信頼性のある治療法ではあるが，約50%は完全寛解に至らず摘脾を躊躇する要因である。もし摘脾の有効性をあらかじめ予知できれば治療成績を向上させることが出来，患者さんへの摘脾の理解も得やすい。摘脾有効性の予知に関しては従来から多くの研究がなされているが満足行くものではない。私たちは抗体による血小板減少が主として網内系細胞の Fc レセプターを介して行われることから，Fc レセプター特に Fc $\gamma$  RIIIA, Fc $\gamma$  RIIA の遺伝子多型と摘脾の有効性についてレトロスペクティブに検討した。その結果 Fc $\gamma$  RIIA の遺伝子多型については関連性を認めなかったが，Fc $\gamma$  RIIIA の F158V の多型において以下の結果が得られた。すなわち158番目のアミノ酸がフェニールアラニンのホモタイプ，或いはバリンとのヘテロタイプはバリンのホモタイプに比し摘脾の有効性が約80%と高く，Fc $\gamma$  RIIIA の遺伝子多型解析は摘脾の有効性を予知することが出来ることがわかり，プロスペクティブ研究で検証されることを望んでいる (図14)。

#### 2) ITP におけるクローン性T細胞の存在に関する研究

一般に自己免疫疾患における自己抗体産生機序についての詳細は明らかではない。ITP の病態の一端を明らかにする目的で果たしてクローン性T細胞が存在するか否かについて検討した。T細胞レセプター (TCR) の V $\beta$  領域について TCR-SSCP を用いて解析した。その結果 ITP 症例では正常人に比し V $\beta$  3, 6, 10, 13.1, 14 の使用頻度が高く，クローンとして存在していることがわかった。これらのT細胞はいずれも CD4 陽性であることから，血小板抗原を認識し抗体産生を導く細胞と考えている。



(Brit.J.Haematol. 2001)

00.1 KF

図14. ITP 治療効果と Fc $\gamma$  RIIIA 遺伝子多型

### 3) ヘリコバクターピロリ菌と ITP

1998年にイタリアからヘリコバクターピロリ菌 (HP 菌) 陽性 ITP においては除菌療法によって血小板が増加する症例が少数例ではあるが報告された。以来本邦でも有効例が散発的に報告され我々も経験することとなった。すなわち現在まで長年に渡って各種薬物療法や摘脾に反応しなかった所謂治療抵抗性症例に対し、たまたま HP 陽性であったことから除菌を行ってみたいところ今まで考えられなかったように血小板数が増加し通院が必要なくなる症例を20例以上経験した。

早速厚労省難治性疾患克服事業研究班において除菌療法の有効性と其の位置づけを明らかにするように依頼され、全国11の ITP 専門施設から約1年間で HP 陽性 ITP 症例300例を集積し解析した。その結果除菌成功例では63%に血小板増加反応が認められ、不成功例に比し有意であった (表1)。この事から従来 ITP と診断していた中に HP 菌関連 ITP がサブグループとして存在することを提唱し、新たな ITP 治療ガイドラインを作成した。現在 HP 菌陽性 ITP に対する除菌療法の保健適応を申請中である。HP 菌の特異抗原である Cag 抗原と血小板表面のフィブリノーゲンレセプター GPIIb/IIIa 複合体との抗原類似性が報告されており (山口大学 高橋ら)、自己免疫疾患の一部には細菌、或いはウイルス感染が原因となっていることを臨床的に明らかにしたものと考えている。感染症と自己免疫疾患の関連は従来より指摘はされていたがこれほど多くの臨床例で明らかにされた報告はなく、今後自己免疫疾患の原因を考える上で貴重なエビデンスである。

### 薬剤の副作用に関する研究

臨床薬学研究に籍を置く関係上、薬に関する何らかの研究を立ち上げる必要があった。

丁度その頃薬剤の副作用に関する臨床研究に興味を示す大学院生が入学してきたことも手伝って臨床薬に関する臨床研究を始めた。薬は我々が取っつきやすい抗血小板剤チクロピジンを選んだ。この薬剤は脳血栓、心筋梗塞などの血管障害の一次予防薬として、またこれら疾患の再発予防薬として EBM が確立されており、多くの症例に用いられ日常臨床の中でなくてはならない薬剤の一つになっている点、またこの薬剤の作用機序がやっと最近遺伝子がクローニングされ、研究が盛んになっている ADP レセプターの拮抗薬である点、また肝障害に対する副作用報告が出され臨床問題視されている点など、研究するにはタイムリーな薬剤と考えたからである。チクロピジンの副作用として頻度が高い肝障害についての臨床的背景、その特徴、併用薬剤の影響など、レトロスペクティブに過去4年間広島大学病院において処方された全症例を対象にして検討した。これには医療情報部におけるデータベースが転用可能かを知る試金石ともなり共同研究を実施した。塩酸チクロピジン処方症例1592例中約3.9%、62例に肝機能検査の異常変動を認め、このうち55例は投与開始1ヶ月以内、特に2週間以内の発症が多いことがわかった (図15)。また塩酸チクロピジンの代謝に関係する CYP2C9 と薬物代謝が競合したり、阻害する薬物との併用は本剤による肝障害を減少させることも明らかとなったが、一方では本来の治療効果への影響が問題である。また肝障害は日本人の HLA ハプロタイプ頻度が高い A33-B44, A33-B44-DR6 において有意に塩酸チクロ

表1. H.P. 菌検出 ITP 症例の除菌効果まとめ (Int.J.Hematol. 2005)

H.P. 菌陰性 ITP : 135例

H.P. 菌陽性 ITP : 300例 (69%)

{	除菌例 : 228例	血小板増加
	除菌成功 : 161例	あり 101例 (63%)
	(78%)	なし 60例
	不成功 : 46例	あり 15例 (33%)
(20%)	なし 31例	
不明 : 21例		
除菌無し : 72例		

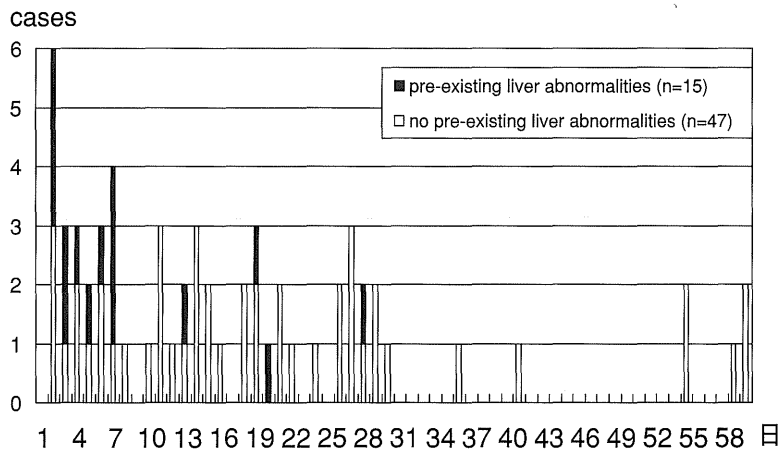


図15. The distribution of the day which caused initial liver function abnormalities in the Cases group

ビジンによる肝障害が多く、欧米には本剤による肝障害が少なく日本を含めたアジアに本剤による肝障害が多い理由がこの事から説明可能である。またこれからは HLA ハプロタイプ A33-B44, A33-B44-DR6 を有する人はあらかじめ本剤の投与を避ければ肝障害の頻度が減ると予想され、今後 HLA の検索は所謂テーラーメイド治療の一つとして有用と考えている。

## 社会活動

以上のような基礎、臨床研究と共に臨床家である以上社会とのつながりが日常茶飯事であり、社会的に種々の要請を受けた。

### 1. チェルノブイリ原子力発電所事故被災児に対する検診活動

代表的な社会活動としてチェルノブイリ原発事故被災児に対する検診活動が印象に残っている。これは約10年の歳月に渡った点、未だ正式に訪れたことのない、また情報が少ない国における活動であった点、膨大な予算が投じられている点、全日本の一員として他大学（中心となったのは広島大学原医研と長崎大学原研）、他施設との共同で行う国際協力であった点など小生にとってまさに初めての経験であった。原発事故が起きた1986年4月から約5年が経過した1991年5月からこの検診活動はスタートした。

広島、長崎の原爆被災者検診の経験、研究成果を元に濃厚汚染地区5カ所を選択し（ロシア：クリンシー市、白ロシア：ゴメリ市、モギリョフ市、ウクライナ：キエフ市、コロステン市）、それぞれに検診センターを設け、臨床検査における地域の中核施設として立ち上げた。そこを拠点として検診バスを走らせ村々を巡回検診し、全身の線量測定、末梢血血液検査、血清鉄、フェリチン、甲状腺ホルモン、甲状腺抗体、甲状腺エコー、必要に応じて甲状腺生検、等を行った。対象は事故当時0才から10才までの小児で、これは次世代を担う人材で、かつ被爆年齢が若年ほど放射線障害が現れやすい等が主な理由である。最初は医療技術の遅れから、また医学水準の低さから上記検査を行うために医師や技術者の教育に1～2年を要し、何とか5つのセンターがほぼ同じ能力を身につけることが出来た。従って信憑性のあるデータがそろったのは2年目も終わろうとする頃からであった。お互いに言葉が通じず、通訳を介しての会話であるために相当ひどい言葉を投げかけても、またけんけん諍々となっても心に残ることなく、迷走しながらではあったが多くの施設と協力して5つのセンターを機能させることができた。これらのセンターは現在でもそれぞれの地域の中核検査、診断センターとして機能している。この10年間、毎年2～3回、延べ約20日前後各センターを巡回したり、毎年行うシンポジウムの指導などを行ってきた。日本の患者さんからはまたロシアですか？といわれ、体力的にも、精神的にも減入することもあったが、そのたびに広大なロシアの風景にかき消され、お陰様で事故もなく約13万人の小児の検診を行うことが出

表2. HEMATOLOGICAL ABNORMALITIES BY REGION AND SEX IN CHILDREN AGED 0-10 AT THE TIME OF THE ACCIDENT(1991-1994)

Diagnosis	Region														
	Mogilev (17,550)			Gomel (13,792 / 10,453)			Bryansk (17,205)			Kiev (18,700)			Zhitomir (18,775)		
	B	G	%	B	G	%	B	G	%	B	G	%	B	G	%
<b>Anemia</b> Hb<110g/L	10	21	0.2	32	41	0.5	14	28	0.2	44	67	0.6	29	54	0.4
<b>Leukopenia</b> B:WBC<3.8 x 10 <sup>9</sup> /L G:WBC<3.6 x 10 <sup>9</sup> /L	58	33	0.5	48	16	0.5	56	28	0.5	56	27	0.4	24	7	0.2
<b>Leukocytosis</b> B:WBC>10.6 x 10 <sup>9</sup> /L G:WBC>11.0 x 10 <sup>9</sup> /L	309	223	3.0	301	236	3.9	256	226	2.8	402	462	4.6	341	312	3.5
<b>Thrombocytopenia</b> PLT<100 x 10 <sup>9</sup> /L	5	14	0.11	3	2	0.04	9	4	0.08	5	9	0.07	8	7	0.08
<b>Thrombocytosis</b> PLT>440 x 10 <sup>9</sup> /L	136	146	1.6	106	96	1.5	89	73	0.9	163	161	1.7	88	100	1.0
<b>Eosinophilia</b> Eo>0.5 x 10 <sup>9</sup> /L	1,274	1,156	13.8	692	704	13.4	1,745	1,638	19.7	1,270	1,367	14.1	1,620	1,865	18.6

Figures in parentheses are the number of children examined. In Gomel, eosinophil was assayed in 10,453 children.

B : boys, G : girls, % : percentage of children (boys and girls) with the respective abnormalities

来た。この詳細は2冊の英文の単行本として発表している（Chernobyl A decade 1997年, Chernobyl: Message for the 21<sup>st</sup> Century 2002年）ので簡単に我々が担当した血液分野について述べる（表2, 1994年までの結果である）。1995年度末では貧血481名（殆どが鉄欠乏性貧血）、白血球減少609名、これは再検査すると殆ど一過性で、最終的に18名が白血球減少を持続、血小板減少は109名で再検査により27名がITPや原因不明の血小板減少、好酸球増加が約13000名に認められ、多くは寄生虫感染で、検診が進むにつれ、経済状態も良くなると共に好酸球増加は減少している。

造血器腫瘍は5名に認められ急性白血病3名、慢性リンパ性白血病1名、ホジキン病1名であった。従って血液学的には経済状態や思春期を反映した異常症が多く、懸念された造血器腫瘍の発生は多くないと結論した。しかし甲状腺腫瘍は増加しており事故の影響は無情である。

## 2. 広島県地域保健対策協議会（地対協）活動

医療職種間での連携、所謂チーム医療が唱えられてきたことを背景に、また医薬分業が行われるようになり、薬物療法を仲立ちに医師、歯科医師、薬剤師、看護師の連携、情報の共有などが必要となってきた。地対協においても平成11年から薬を巡るチーム医療をテーマに活動グループが創設され、以来在宅服薬に関するチーム医療へと発展した。さらに最近では健康食品ブームにより日常的に使用されるようになったサプリメントをはじめとする所謂健康食品による健康被害の問題を取り上げて来た。これらそれぞれのテーマに対し提言やマニュアル作成、県民公開講座など、県民の健康の保守に医師、歯科医師、薬剤師、看護師が、時には医療介護士が加わりチーム医療の実践を行ってきた。しかし各々の立場や仕事の内容の理解が不十分で満足な効果は現れていないがこのような取り組みが将来何らかの形でお役に立つことを願っている。

## 終わりに

駆け足で平成7年医学部総合薬学科へ赴任して以来或いは前後の研究、社会活動の主たるものをご紹介した。紙面に制限もあり、論文ではないのでずいぶん端折ってしまっているので理解しにくい部分が多々あることをお許し頂きたい。赴任して10年は瞬く間にすぎ去り反省点ばかりが残るこの頃であるが、自分なりに火を燃やすことが出来た期間であった。それには最後に掲げさせていただいた多くの研究協力者の支えや、38年の臨床で診させていただいた多くの患者さんの教えがなければとうていなしえなかったものであり、ここに改めてお礼を申し

述べたい。

最後にこのようなすばらしい働き場を提供して頂いた広島大学のさらなる発展を祈りながら終わらせて頂きます。

#### 研究協力者

助教授 藤元 貴啓

平成16年度

博士課程後期：井出 和子，水島 美代子，三田 将史

博士課程前期（修士）：玉代 一樹，河相 景子，永島 香織，野副 亜希子

池田 有佳里，寺内 香里

学生（4年生）：清瀬 紀子，中島 麻里，中本 実佳，東田 裕子

この他平成8年から15年まで在籍した25名の修士課程の大学院生。

広島大学原爆放射線医科学研究所 腫瘍外科：山口 佳之，宮原 栄治

広島大学原爆放射線医科学研究所 附属国際放射線情報センター：星 正治

広島大学病院医療情報部：石川 澄

国立大竹病院：沖田 肇，下村 壮司

西神戸市民病院：高蓋 寿朗

広島市民病院：野田 昌昭

広島赤十字原爆病院：岩戸 康治，土肥 博雄

岡山大学：新谷 賢治

慶応大学：桑名 正隆，池田 康夫

大阪大学：倉田 義之，中野 徹

福岡大学：丹生 恵子

長崎大学医歯薬学総合研究科付属原爆後障害医療研究施設：新川 詔夫，山下 俊一，柴田 義貞，朝長 万左男

東京都立臨床研：鈴木 英紀

Millenium Pharmaceuticals, Inc. CA: Prof. David R. Phillips

Jefferson Medical College PA: Prof. Sandor S. Shapiro

Laboratory for Thrombosis Res.

KU Leuven Campus Kortrijk, Belgium: 勝谷 慎也