

## 先天性巨大血小板症の鑑別診断

國島 伸治\*

国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター高度診断研究部

### 要 旨

先天性巨大血小板症は先天的に巨大血小板と血小板減少症を呈する疾患群の総称である。従来、本疾患群は極めてまれであると考えられていたが、日常診療で十分遭遇する頻度で存在し、慢性あるいは難治性の特発性血小板減少性紫斑病と診断され不必要な治療を受ける症例が少なくないことが判っている。May-Hegglin 異常に代表される MYH9 異常症と Bernard-Soulier 症候群が最も頻度が高い。先天性巨大血小板症のおよそ半数の症例で、遺伝子レベルでの診断が可能である。

**キーワード：**先天性巨大血小板性血小板減少症，特発性血小板減少性紫斑病，大型血小板，遺伝子診断

**Key words:** congenital macrothrombocytopenia, idiopathic thrombocytopenic purpura, giant platelets, genetic diagnosis

### I はじめに

先天性巨大血小板症は先天的に巨大血小板と血小板減少症を呈する疾患群の総称である。従来、本疾患群は極めてまれであると考えられていたが、日常診療で十分遭遇する頻度で存在し、慢性あるいは難治性の特発性血小板減少性紫斑病（以下 ITP）と診断され不必要な治療を受ける症例が少なくないことが判っている。ITP の診断基準は基本的には除外診断であり、難治性 ITP 症例の中には、先天性血小板減少症症例が含まれている可能性が高い。先天性血小板減少症の診断法確立は、ITP の効果的診断と治療法確立のためにも必要である。

一般的に使用されている自動血球計数装置は測定原理上、大型の血小板を血小板として計数しないため、巨大血小板症では見かけ上実際の血小板数よりさらに低値を示す。MPV のみで血小板サイズを評価してはならない。光学式測定と CD61 モノクローナル抗体を用いた免疫学的血小板測定は有用であるが、末梢血塗抹標本における血小板、白血球、赤血球の形態観察と、目視による血小板サイズ計測および血小板数算定は特に重要である。巨大血小板の明確な定義は無いが、末梢血塗抹標本上、概ね正常血小板の大きさの2倍程度（直径 4  $\mu\text{m}$ ）は大型血小板、赤血球大（直径 8  $\mu\text{m}$ ）以上は巨大血小板と判別される。ITP でも大型血小板はしばしば観察されるが、大多数の血小板は正常大である。先天性巨大血小板症では、大多数の血小板は大

型あるいは巨大であり、正常大血小板はまれである。

### II 血小板サイズによる先天性血小板減少症の分類

表1に先天性巨大血小板症の疾患名一覧を示す。先天性巨大血小板症の鑑別診断においては、およそ半数の症例において遺伝子レベルでの確定診断が可能であり、MYH9 異常症が最も高頻度で（30%）、BSS とその保因者（ヘテロ接合体）が続く（10%）。以下に、頻度順に疾患概要と検査診断、留意点について述べる。

### III 各疾患の概要と診断

#### 1. May-Hegglin 異常 / MYH9 異常症

May-Hegglin 異常（MHA）は巨大血小板、血小板減少および顆粒球封入体を特徴とする代表的な先天性巨大血小板症である。類縁疾患として、封入体形態が異なる Sebastian 症候群、Alport 症状（腎炎、難聴、白内障）を合併する Fechtner 症候群、封入体を認めず Alport 症状を合併する Epstein 症候群が知られている<sup>1)</sup>。MHA を含めた白血球封入体を伴う巨大血小板性血小板減少症は、臨床検査所見および血液異常に合併する臨床症状が異なるため、それぞれ独立した疾患と考えられていたが、何れの疾患も非筋ミオン重鎖 IIA（NMMHC-IIA）蛋白をコードする MYH9 遺伝子異常が原因であることが判明し、新規疾患概念の「MYH9 異常症」で統一することが提唱されている。MYH9 異常症は常染色体優性遺伝性疾患として知られているが、およそ 30% の症例は孤発例である。

MYH9 異常症の最大の特徴は顆粒球細胞質内に見られるデーレ様封入体であるが、通常のメイギムザ染色標本では

2012年7月4日受付，2012年7月4日受理

\* 別刷請求先：〒460-0001 名古屋市中区三の丸4-1-1

国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター高度診断研究部 國島伸治

E-mail: kunishis@nnh.hosp.go.jp

表1 先天性巨大血小板症の分類

疾患	遺伝形式	遺伝子	特徴
MYH9 異常症 May-Hegglin 異常 Sebastian 症候群 Fechtner 症候群 Epstein 症候群	AD	MYH9	明瞭な白血球封入体 やや不明瞭な白血球封入体 Alport 症状を合併 Alport 症状を合併, 認識困難な白血球封入体
Bernard-Soulier 症候群	AR	GP1BA GP1BB GP9	リストセチン凝集欠如
DiGeorge / 口蓋心顔面症候群	AD	22q11.2 del (GP1BB)	隣接遺伝子症候群
2B 型 von Willebrand 病	AD	VWF	リストセチン凝集亢進
GPIIb/IIIa 異常症	AD	ITGA2B ITGB3	恒常的活性化型 GPIIb/IIIa 受容体
X 連鎖性大型血小板減少症	X	GATA1	赤血球造血異常を合併
Paris-Trousseau/Jacobsen 症候群	AD	11q23 del (FLI1)	隣接遺伝子症候群, 巨大 α 顆粒
Gray platelet 症候群	AR	NBEAL2	低染色性 (灰色) 血小板
β1tubulin 異常症	AD	TUBB1	
脳室周囲異所性灰白質	X	FLNA	

採血後の時間経過あるいは染色条件によって染色性が低下し不明瞭になる。すなわち、封入体があるにもかかわらず認識出来ない場合が多い。正常顆粒球ではNMMHC-IIA 蛋白は細胞質全体にびまん性に存在する。MYH9 異常症顆粒球では封入体と同様な形態で存在するため、免疫蛍光染色によるNMMHC-IIA 局在異常の同定と局在分類はMYH9 異常症の診断に極めて有用である<sup>2)</sup>。MYH9 尾部変異は大型で明瞭なNMMHC-IIA 凝集/封入体を形成し、MYH9 頭部変異は小型で不明瞭なNMMHC-IIA 凝集/封入体を形成する(図1)。MYH9 異常症では遺伝子変異部位と合併症(腎炎、難聴)発症に密接な関連性があるため遺伝子診断は特に重要である。

## 2. Bernard-Soulier 症候群

Bernard-Soulier 症候群(BSS)は先天的に出血傾向を呈し、巨大血小板性血小板減少症と出血時間の延長、リストセチンによる血小板凝集欠如を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患である<sup>3)</sup>。本疾患は von Willebrand 因子(vWF)受容体である GPIb/IX 複合体欠損が原因であるため、血小板粘着、すなわち一次止血機能の喪失を引き起こす。血小板機能異常を伴うため、血小板減少の割合に比較して出血症状は重篤である。

BSS は、フローサイトメトリーによる GPIb/IX 発現欠損の同定により確定診断される。本法は、保因者診断にも有用であり、保因者血小板では正常の 50-70% 程度の GPIb/IX 発現が見られる(図2)。保因者では出血症状はなく、血小板機能検査で異常は認めない。しかし、血小板形態は正常

と比較して大型(3-4 μm)であり、自動血球計数装置による血小板数測定では見かけ上さらに血小板減少となる。BSS は 100 万人に 1 例の頻度とされる大変まれな疾患である。しかし、GPIbα, GPIbβ, GPIX 遺伝子のいずれかのホモ接合性変異により引き起こされるため、約 500 人に 1 人は保因者であると計算される。これは日常診療においても十分に遭遇する頻度である。日本人特有の創始者変異が複数あり、特に九州沖縄地方に多く見られる<sup>4)</sup>。GPIbβ 遺伝子は 22q11.2 に存在するため、DiGeorge 症候群に代表される 22q11 欠失症候群は BSS 保因者となる。

## 3. GPIIb/IIIa 異常

GPIIb/IIIa 複合体(インテグリン αIIbβ3)の先天性欠損は、血小板無力症の原因となることは良く知られている。血小板無力症は重篤な出血傾向を呈し、血小板凝集機能を欠如するが、血小板数および形態は正常である。最近、恒常的活性化型 GPIIb/IIIa 受容体を引き起こす GPIIb あるいは GPIIIa 遺伝子のヘテロ接合生変異が先天性巨大血小板症の原因となることが判明した。恒常的活性化型受容体の存在により、巨核球が十分に分化成熟する以前に血小板を放出するため血小板形態異常を来すと考えられている。血小板凝集能はやや低下するが、出血時間は正常範囲内で、顕著な出血症状は認めない。血小板の GPIIb/IIIa 発現は正常の 50-70% 程度に低下し、GPIb/IX 発現は正常の 120-130% 程度に増加する(図3)。活性化型 GPIIb/IIIa の指標である PAC-1 抗体結合が認められるが、血小板活性化マーカーである CD62P 発現は認めない<sup>5)</sup>。

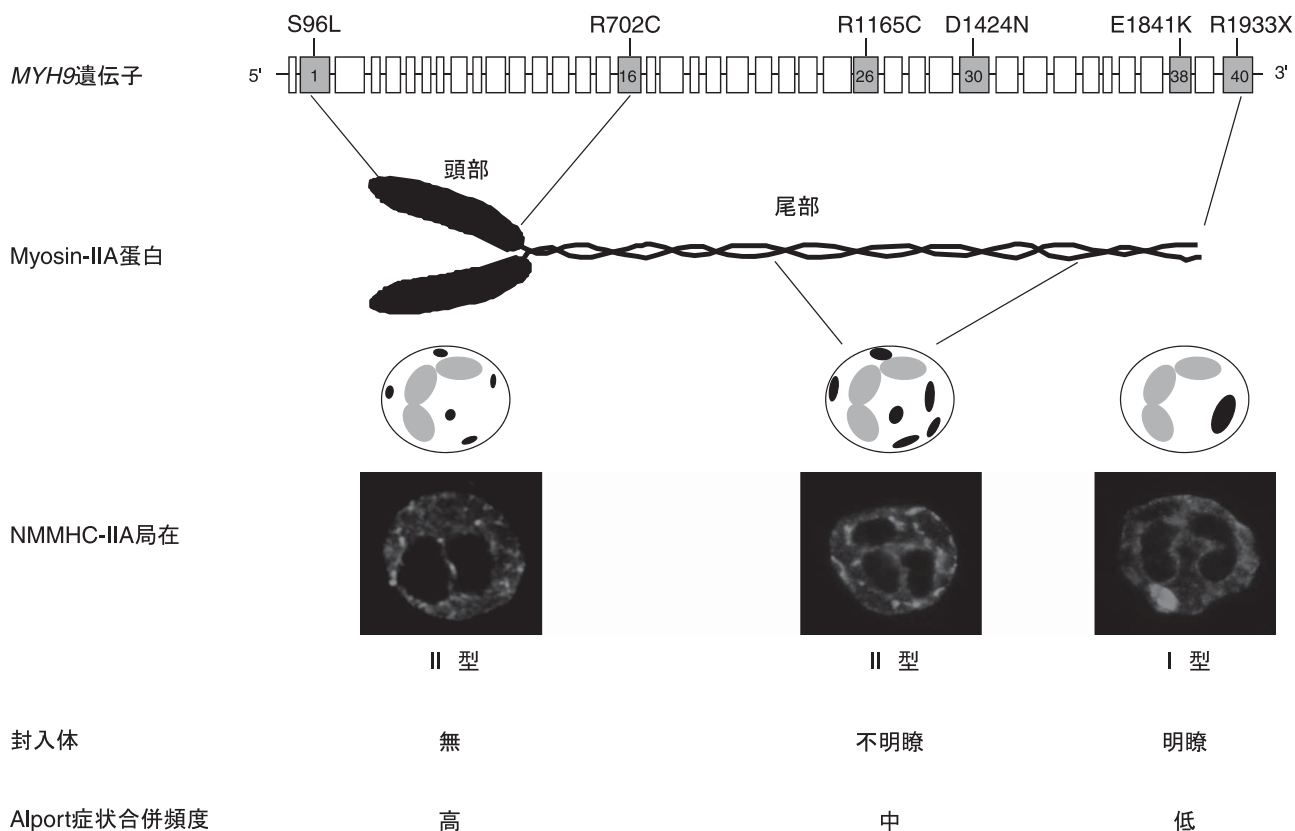


図1 MYH9 遺伝子と myosin-IIA 蛋白の構造および好中球における NMMHC-IIA 蛋白の局在分類

MYH9 遺伝子は 40 の構造エクソンから構成される。MYH9 異常症の原因となる遺伝子変異はエクソン 1, 16, 26, 30, 38, 40 に集中する (図に示す代表的な変異で全症例の約 80% を占める)。2 分子の NMMHC-IIA は尾部において二量体となり、頭部に myosin 軽鎖を結合し myosin IIA 分子を形成する。正常好中球では NMMHC-IIA は細胞質全体にびまん性に存在するが、MYH9 異常症好中球では NMMHC-IIA は細顆粒状から斑状に存在する。メイギムザ染色標本上での封入体は MYH9 尾部変異では明瞭であるが、頭部変異では認められない場合が多い。Alport 症状の合併頻度は頭部変異では高く、尾部変異では低い。

#### 4. 2B 型 von Willebrand 病

von Willebrand 病 (vWD) は vWF の質的あるいは量的異常に起因する一次止血機能障害で、最も頻度の高い先天性出血性疾患である。vWD は vWF の量的減少を呈する 1 型、完全欠損の 3 型、質的異常を呈する 2 型に分類され、2 型には 2A, 2B, 2M, 2N の 4 亜型が存在する。2B 型 vWD は血小板 GPIb/IX に対して親和性の異常亢進した vWF により、高分子 vWF マルチマーの減少と血小板減少をきたす。2B 型 vWD では平常時で 30% の症例で血小板減少を呈し、感染症などのストレス時には 57% に上昇する。また、36% の症例で常に巨大血小板を認め、巨核球からの胞体突起形成不全が指摘されている。臨床検査所見では出血時間正常、APTT 正常範囲内であることも多い。Montreal platelet 症候群として知られていた出血傾向と血小板自然凝集を呈する巨大血小板症は vWF 遺伝子 V1316M 変異による 2B 型 vWD であることが明らかにされている<sup>6)</sup>。

#### 5. $\beta$ 1-tubulin 異常

微小管は  $\alpha$ -、 $\beta$ -tubulin のヘテロダイマーから形成されたプロトフィラメントが集合して管状構造を取り、細胞形態維持や変形、繊毛運動、紡錘糸として染色体の移動、原形質流動に働く。 $\beta$ 1-tubulin は巨核球に特異的に発現する。胞体突起形成を経て血小板が産生される際には、巨核球細胞質内で微小管が再構成される。微小管束は、胞体突起の軸内に入り込み、胞体突起の伸張を進めるとともに、先端の膨隆部では環状となる。 $\beta$ 1-tubulin 遺伝子のヘテロ接合性ミスセンス変異が原因の先天性巨大血小板症では、 $\beta$ 1-tubulin 発現量は約 50% に低下する。変異は  $\alpha$ -tubulin との会合面にあるため  $\alpha\beta$  ヘテロダイマー形成に影響を与え、正常な微小管形成を阻害すると考えられる<sup>7)</sup>。

#### 6. Gray platelet 症候群

血小板  $\alpha$  顆粒はフィブリノゲンや vWF などの接着分子や血小板由来成長因子などの生理活性物質を含み、血小板の活性化に伴い放出されることにより、血小板の粘着・凝

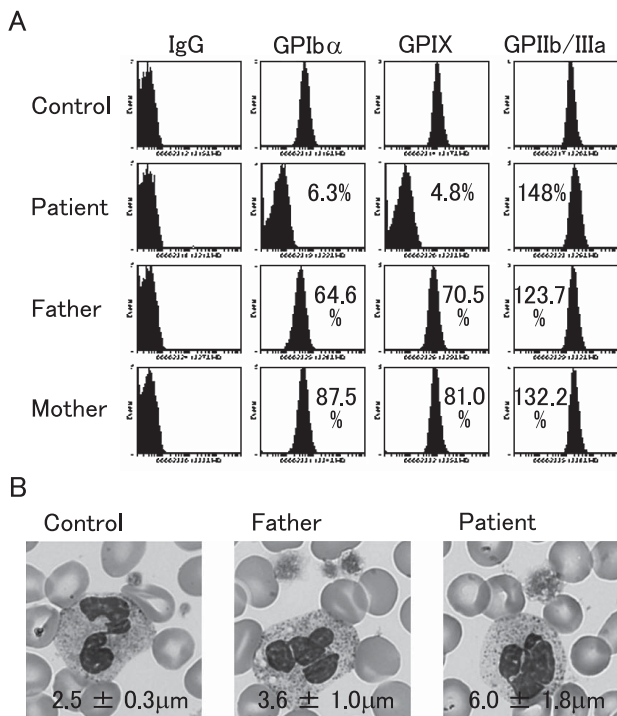


図2 Bernard-Soulier 症候群における血小板 GPIb/IX 発現解析と血小板形態

(A) BSS 患者では血小板膜上への GPIb/IX 発現を欠如する。大型血小板であるために GPIIb/IIIa の平均蛍光強度は正常より高値となる。ヘテロ接合性変異を有する保因者(父, 母)では GPIb/IX は低値, GPIIb/IIIa は高値となる。ヒストグラム内の数字はコントロール血小板で得られた平均蛍光強度に対するパーセント比率を表す。(B) 正常コントロール, ヘテロ接合性保因者の父, ホモ接合性 BSS 患者の血小板と平均血小板直径を示す。

集や創傷治癒に働く。Gray platelet 症候群は、α 顆粒およびその内容を欠如することにより塗抹標本上、きわめて染色性の低下した灰色あるいは無色の血小板を有する。電顕解析では α 顆粒の無い特徴的形態異常が観察される。α 顆粒形成不全により血小板由来成長因子などが骨髄中に放出されるため、多くの症例で骨髄線症を合併する。連鎖解析によって 3p21 領域に責任遺伝子座が同定され、次世代シーケンサーを用いた全エクソン解析によって、原因遺伝子として NBEAL2 (neurobeachin-like 2) が同定された<sup>8-10)</sup>。

#### IV まとめ

図4には自験例からまとめた先天性巨大血小板症の診断フローチャートを示す。詳細な病歴・家族歴、服薬の問診、血小板減少以外の症状の有無の調査により、後天性要因による血小板減少症を除外する。抗凝固剤 EDTA による偽性血小板減少や血小板衛生現象は比較的頻度が高いため、常に念頭におく必要がある。出血傾向が明らかな場合には BSS を疑い、血小板数の変動が見られる場合には vWD 関

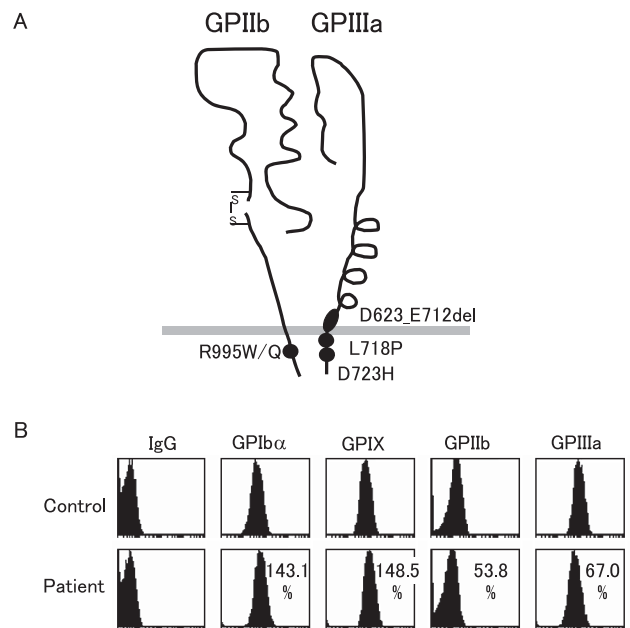


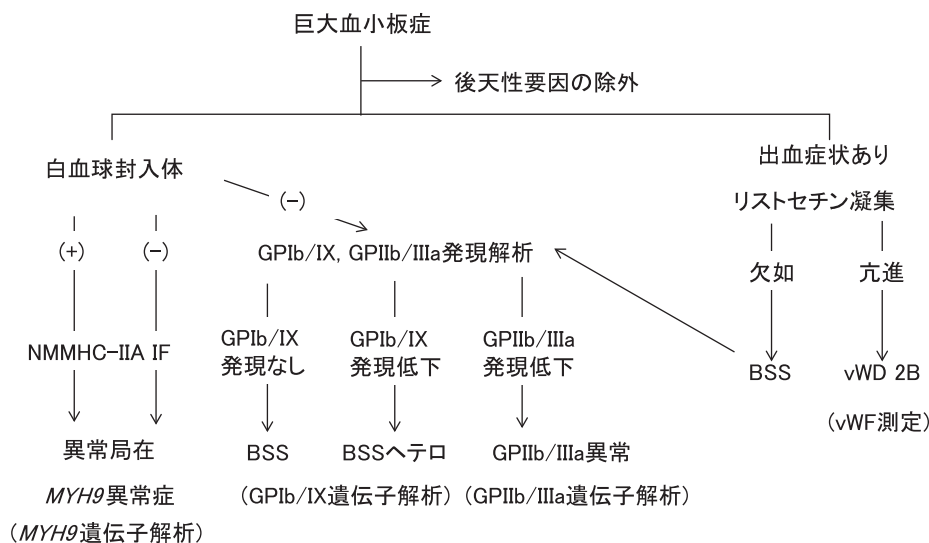
図3 恒常的活性化型 GPIIb/IIIa 変異と血小板 GPIIb/IIIa 発現 (A) 先天性巨大血小板症の原因となるヘテロ接合性恒常的活性化型 GPIIb/IIIa 変異を示す(既報例)。(B) GPIIb R995W 変異症例では、GPIIb および GPIIIa 発現は 50-70% 程度に低下する。

連検査を行なう。末梢血塗抹標本における血小板、白血球、赤血球の形態観察と目視による血小板数算定は特に重要である。顆粒球封入体を認める場合には、塗抹標本を用いた非筋ミオシン重鎖 IIA 免疫染色を行ない、局在分類により関連する MYH9 遺伝子エクソンの配列解析を行なう。顆粒球封入体の存在が不明な場合には、非筋ミオシン重鎖 IIA 免疫染色に加え、フローサイトメトリーにて GPIb/IX と GPIIb/IIIa 発現を同時に解析する。血小板の色調が薄い場合には Gray platelet 症候群、血小板 α 顆粒形態異常がある場合には Jacobsen/Paris-Trousseau 症候群、サラセミア様貧血を合併する場合には GATA-1 変異の可能性がある。FLNA 変異による脳室周囲異所性灰白質では巨大血小板を呈する。

図5には、最近8年間に経験した先天性巨大血小板症を疑う209症例の解析結果を示す。

#### 文 献

- 1) Kunishima S, Saito H: Advances in the understanding of MYH9 disorders. *Curr Opin Hematol*, 17: 405-410, 2010.
- 2) Kunishima S, Matsushita T, Kojima T, et al: Immunofluorescence analysis of neutrophil nonmuscle myosin heavy chain-a in MYH9 disorders: Association of subcellular localization with MYH9 mutations. *Lab Invest*, 83: 115-122, 2003.
- 3) Kunishima S, Kamiya T, Saito H: Genetic abnormalities of Bernard-Soulier syndrome. *Int J Hematol*, 76: 319-327, 2002.



- 上記フローチャートで診断されない場合にはβ1-tubulin解析を行なう
- 灰色血小板の場合には電顕解析を行なう(Gray platelet症候群)
- 赤血球形態異常がある場合にはGATA1解析を行なう
- 血小板α顆粒が巨大である場合にはParis-Trousseau/Jacobsen症候群を疑う

図4 自験例からまとめた先天性巨大血小板症の診断フローチャート

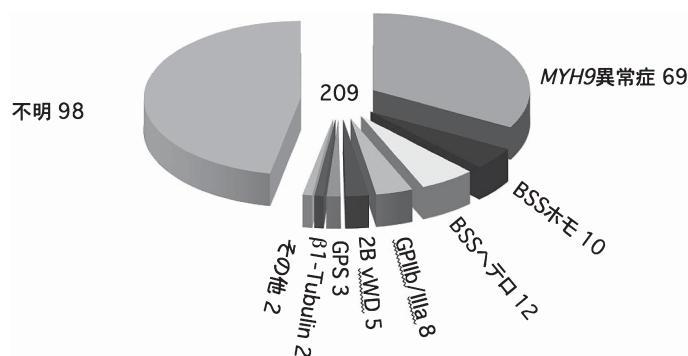


図5 最近8年間に経験した先天性巨大血小板症を疑う209症例の解析結果

- 4) Kunishima S, Yamada T, Hamaguchi M, et al: Bernard-Soulier syndrome due to GPIX W127X mutation in Japan is frequently misdiagnosed as idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol*, 83: 366–367, 2006.
- 5) Kunishima S, Kashiwagi H, Otsu M, et al: Heterozygous ITGA2B R995W mutation inducing constitutive activation of the αIIbβ3 receptor affects proplatelet formation and causes congenital macrothrombocytopenia. *Blood*, 117: 5479–5484, 2011.
- 6) Federici AB, Mannucci PM, Castaman G, et al: Clinical and molecular predictors of thrombocytopenia and risk of bleeding in patients with von Willebrand disease type 2B: A cohort study of 67 patients. *Blood*, 113: 526–534, 2009.
- 7) Kunishima S, Kobayashi R, Itoh TJ, et al: Mutation of the β1-tubulin gene associated with congenital macrothrombocytopenia affecting microtubule assembly. *Blood*, 113: 458–461, 2009.
- 8) Kahr WH, Hinckley J, Li L, et al: Mutations in NBEAL2, encoding a beach protein, cause gray platelet syndrome. *Nat Genet*, 43: 738–740, 2011.
- 9) Gunay-Aygun M, Falik-Zaccai TC, Vilboux T, et al: NBEAL2 is mutated in gray platelet syndrome and is required for biogenesis of platelet α-granules. *Nat Genet*, 43: 732–734, 2011.
- 10) Albers CA, Cvejic A, Favier R, et al: Exome sequencing identifies NBEAL2 as the causative gene for gray platelet syndrome. *Nat Genet*, 43: 735–737, 2011.