

特集 : TTP/HUS/aHUS

# TTP の病態

## Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura

藤村 吉博\*<sup>1</sup> 石西 綾美\*<sup>2</sup>

Yoshihiro FUJIMURA and Ayami ISONISHI

### はじめに

血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura : TTP)は、1924 年米国の Moschowitz<sup>1)</sup>が肺を除く全身諸臓器の細動脈にできた硝子膜血栓をヒアリン膜血栓症と名づけて報告したことに始まる。1966 年には、Amorosi & Ultmann<sup>2)</sup>が自験例 16 例と既報告の 255 例の類似症例を解析し、これらは細血管障害性溶血性貧血、破壊性血小板減少、血小板血栓による臓器機能障害(特に腎機能不全)、発熱、そして動揺性精神神経障害の 5 徴候(pentad)を特徴とする全身性重篤疾患であることを示し TTP と命名した。当時 TTP は、いったん罹患すればその死亡率は 90 % 以上といわれたが、1991 年 Rock ら<sup>3)</sup>の血漿交換(plasma exchange : PE)療法導入による劇的な治療効果により、死亡率は一挙に約 20 % にまで低下した。しかし、TTP の原因についてはほとんど不明で、PE の治療効果についてのエビデンスも不明確なものであった。そのような背景のもと、1998 年に von Willebrand 因子(VWF)特異的切断酵素(VWF-cleaving protease : VWF-CP)の測定法が確立され<sup>4,5)</sup>、また 2001 年には、この VWF-CP が ADAMTS13(a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13)と命名された金属プロテアーゼであり、その酵素活性著減が TTP 病態を招くことが明らかにされた。これらは病態解明に大きな進歩をもたらし<sup>6~11)</sup>現在に至っている。

本稿では TTP の病態解析と治療の現況、また問題点などについて述べる。

### 病態概念

TTP は、上記古典的 5 徴候を特徴とする全身性重篤疾患であるが、類似疾患に腎機能障害を優位とする溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome : HUS)がある。これらは共に、溶血性貧血、血小板減少、血栓による臓器機能障害の 3 主徴を示す病理学的診断名<sup>12)</sup>である血栓性微小血管症(thrombotic microangiopathy : TMA)のカテゴリーに入る。それゆえ、TTP と HUS の鑑別診断は現実的には臨床症状のみでは困難である場合が多かった。しかし、1998 年以降、TTP は VWF 特異的切断酵素(別名 ADAMTS13)活性が著減し、HUS は著減していないことが示され、ADAMTS13 活性測定がその鑑別診断に最も重要と考えられるようになった<sup>4,5)</sup>。一方、TMA 病態はさまざまな要因による内皮細胞活性化によって、同細胞から止血因子 VWF の過剰放出を促し、血中 VWF 量が著増し ADAMTS13/VWF(酵素/基質)均衡が VWF 優位な血栓側に傾いた状態と考えられる。例えば産科領域で、妊娠高血圧症候群(旧妊娠中毒症)は妊婦の約 1 割にみられる高頻度合併症とされるが、そのなかで溶血、肝遊離酵素上昇、そして血小板減少を伴う最重症型は HELLP 症候群(hemolysis, elevated liver-enzymes, low platelets syndrome)と呼ばれ、これも TMA 病態であり<sup>13)</sup>、そのほかにも重篤化インフルエンザや川崎病などの高サイトカイン血症を合併する疾患もほぼ同様と考えられる。以上より、播種性血管内凝固(disseminated intravascular coagulation : DIC)を除く ADAMTS13 活性非著減例の病態には、病理診断学名である TMA が疾患名として使用されることが多い。また、DIC は TMA 類似疾患ではあるが凝固異常を伴い、それはフィブリン血栓が主体で、血小板血栓を主体とする TMA とは異なったカテゴリーと理解すべきである<sup>14)</sup>。しかしフィブリン血栓は、元来、血小板血栓を核と

\*<sup>1</sup> 奈良県立医科大学名誉教授・特任教授

\*<sup>2</sup> 奈良県立医科大学輸血部

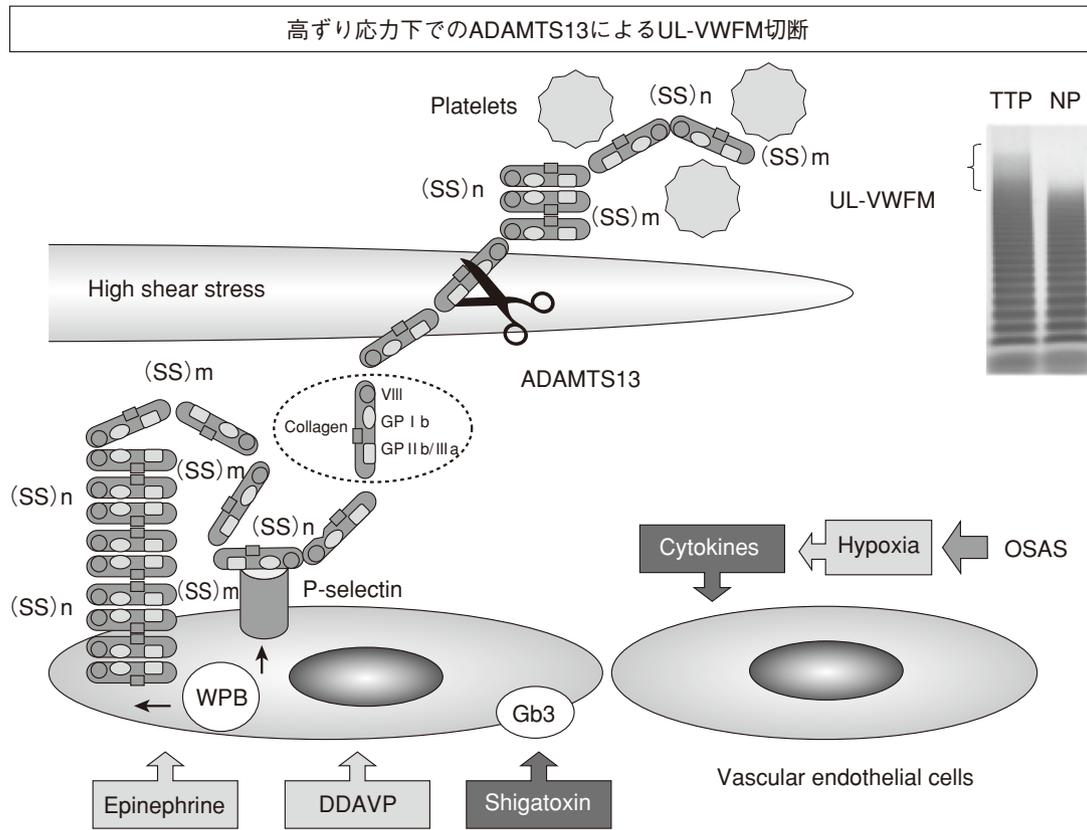


図 1 ADAMTS13 による UL-VWFM 切断の模式図

さまざまな刺激により血管内皮細胞から放出された UL-VWFM は、P-selectin を介して内皮細胞に固相化され、この状態で血中の高ずり応力に曝されると、進展構造になる。これにて VWF-A2 ドメインが露出された部分に ADAMTS13-Spacer ドメインが結合し、ADAMTS13-MP ドメインが基質 VWF-A2 ドメイン内の Tyr1605-Met1606 結合を切断する。

して形成されるため、病初期は TMA で、その後 DIC に移行する例は多々あると考えられるので、病態変化の経時的評価が重要である。

### 病態生理

止血因子として知られている VWF は、血中で凝固第 VIII 因子の「キャリアー蛋白質」として働くとともに、一次止血における血小板粘着反応の“分子糊”として重要な機能を担っている<sup>15)</sup>。VWF の約 80 % が血管内皮細胞で産生され、放出されて間もない VWF は超高分子量 VWF 多重体 (unusually large VWF multimer : UL-VWFM) といわれ、最も生物学的活性が高く血小板膜受容体 GPIb と過剰反応を示し、血小板過凝集や血栓を起こす。通常、正常な生体機能のもとでは、ADAMTS13 により UL-VWFM は適度に切断され低分子化されることで、「止血には適するが、過剰な血小板血栓の形成は抑制する働き」を示す。つまり、

ADAMTS13 の欠損、分泌障害、または自己抗体などによる ADAMTS13 そのものの機能阻害や作用機序に何らかの障害があるような病態に陥ると、完全に血栓傾向に傾き病的血栓が形成され TTP を発症する。

図 1<sup>16)</sup> は、UL-VWFM が切断される過程を模式図化したものであるが、まず産生された UL-VWFM は、細胞内小器官である Weibel-Palade 体 (WPB) に蓄積され、刺激により血管内皮細胞表面に移動する。ここで、同じく WPB から移動してきた P-selectin を介して細胞表面に繫留され、細小血管内で生じる高ずり応力によりその分子構造が進展型に変化し、ADAMTS13 で切断されると考えられている。この際、ADAMTS13 自身も血管内皮細胞表面に固相化された状態のほうが遊離型より効果的に UL-VWFM を切断すると考えられる。この固相化因子として、細胞表面の CD36 がその受容体として以前から注目され、CD36 は TSP1 の受容体であることから、TSP1 ドメインの繰り返し構造を分子内に持つ ADAMTS13 は、CD36 との結合を介して内皮細胞に

固相化されると推定される。一方、1994年 Tandon ら<sup>17)</sup>により後天性 TTP 患者の約 80% に抗 CD36 抗体が検出されたことが報告され、病理学的意義は証明されていないものの、ADAMTS13 の内皮細胞表面固相化を阻害すると考えられる。つまり、仮に血漿中の ADAMTS13 活性が正常であっても、血管内皮細胞機能が障害されていると、ADAMTS13 は内皮細胞へ結合できず、効果的な UL-VWFM の切断ができないと考えられる。

次に、ADAMTS13 と VWF の産生機能面から病態を把握する。まず、ADAMTS13 は主に肝臓の肝星細胞(旧 伊東細胞)<sup>18)</sup>で産生されていることが同定され、肝硬変進展に伴う ADAMTS13 活性低下が示された<sup>19)</sup>。肝星細胞は、線維芽細胞への形質転換を通じて肝硬変の進展に密接に関連していることが報告されており、これは、ADAMTS13 の活性低下を裏づけることになる。また、ADAMTS13 はこのほか、血小板<sup>20)</sup>、血管内皮細胞<sup>21)</sup>、そして腎臓のポドサイト<sup>22)</sup>にも存在することが示されたが、これらと病態との関連は今後の課題となっている。UL-VWFM の血管内皮細胞からの放出作用については、最もよく知られているのは酢酸デスマプレシン(1-deamino-8-D-arginine vasopressin : DDAVP)で、さまざまな炎症性サイトカインも同様の働きをする。すなわち、敗血症やインフルエンザなどの重篤感染症では、サイトカインストームと呼ばれる高サイトカイン血症が引き起こされるが、培養血管内皮細胞を用いた *in vitro* 実験では、IL-6(+その受容体との複合体)、IL-8、TNF  $\alpha$  が強い UL-VWFM 放出作用を示す<sup>23)</sup>。また、培養臍帯血管内皮細胞を低酸素状態におくと UL-VWFM 放出が起こること、さらに志賀毒素 1, 2 も UL-VWFM の放出を起こすことが示された<sup>24)</sup>。前者は睡眠時無呼吸症候群<sup>25)</sup>に合併する血栓症の引き金として、また、後者は志賀毒素を産生する病原大腸菌感染症の重篤合併症である HUS の増悪因子として注目されている。いずれにおいても、ADAMTS13/VWF(酵素/基質)の不均衡が招く血栓傾向の状態で、TTP 病態との鑑別には病因との関連と ADAMTS13 活性が重要な指標となる。

### ADAMTS13

ADAMTS13 遺伝子は染色体 9q34 にあり、cDNA は 29exon から成り、アミノ酸 1427 残基から成る糖蛋白酵素である。分子量は 190 kD で、分子はメタロプロテアーゼドメイン(M)、ジスインテグリン様ドメイン(D)、トロンボスポンジタイプ-1(T)モチーフ、システインリッチドメイン

(C)、スパーサドメイン(S)、T<sub>2</sub>~T<sub>8</sub>、CUB ドメインが続く多彩な構造から成り立っている<sup>6~11)</sup>。さらに分子内に Zn<sup>2+</sup>を持つ金属プロテアーゼで、酵素作用を発現するためには反応系に Ca<sup>2+</sup>などの二価陽イオンを必要とする。それゆえ、活性測定時の注意点として、抗凝固薬として用いられる EDTA のように、非可逆的カルシウムキレート剤溶液中では、全く酵素作用を示さないことを理解すべきである。

血液中の ADAMTS13 濃度は約 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  といわれ、基質となる VWF 濃度の約 1/10 とされる。本酵素が VWF を切断する反応には、両者の初期結合、基質認識、そして異化作用の三段階が重要とされ、それらのほとんどは、上記の MDTCS 部分が担っていることもわかってきた。また、これまでその酵素活性を *in vitro* で確認するには、基質となる VWF を pH やイオン強度、蛋白変性剤などで立体構造を変化させる工夫がなされ、ADAMTS13 が VWF を切断しやすいう、頻雑なアッセイを用いていた。しかし、2004 年に国立循環器病センター研究所の Kokame ら<sup>26)</sup>は、結合部位を含む VWF-A2 ドメインの 73 アミノ酸残基を glutathione S-transferase (GST) tag と histidine (His) tag で挟み込んだ遺伝子を大腸菌で発現した GST-VWF73-His 蛋白は、尿素などの蛋白変性剤を必要とせずに、ADAMTS13 にて簡単に切断されることを示し、ADAMTS13 活性測定法が一挙に簡便化された。これより、今日世界規模で用いられている測定法は、蛍光測定法である FRETS-VWF73<sup>27)</sup>と、その VWF73 を用いてわれわれと日本臨床医学検査研究所が共同開発した chromogenic act-ELISA<sup>28)</sup>である。ごく最近では、金コロイド凝集法を用いて生化学自動分析装置への導入の開発も行われ、ますます測定の迅速化が図られている。われわれが開発した act-ELISA 法では、切断された VWF73 断端を特異的に認識するマウスモノクローナル抗体 N10 を用い、切断産物を直接定量することを可能とした。本法の測定感度は現時点で最鋭敏とされている(検出限界 0.5%、従来法は 3%)。以上の測定法を用いて、凝固 VIII 因子インヒビター(活性中和抗体)測定の Bethesda 法に準じて、ADAMTS13 インヒビター力価を定量することも可能となった。なお、このインヒビターの測定においては、あらかじめ患者血漿を 56°C で 60 分加熱することにより、被検血漿中の内因性 ADAMTS13 活性を失活させておき、遠心後、加熱被検血漿を正常の非加熱血漿と等量混合し、37°C で 2 時間孵置後、残存酵素活性を測定する。1 Bethesda 単位とは、これにて正常血漿中の ADAMTS13 活性を 50% 破壊する力価をいう。このインヒビターは IgG 型抗体がほとんどであるが、その後、IgM 型の非中和抗体ならびに IgA 型抗体の存在も

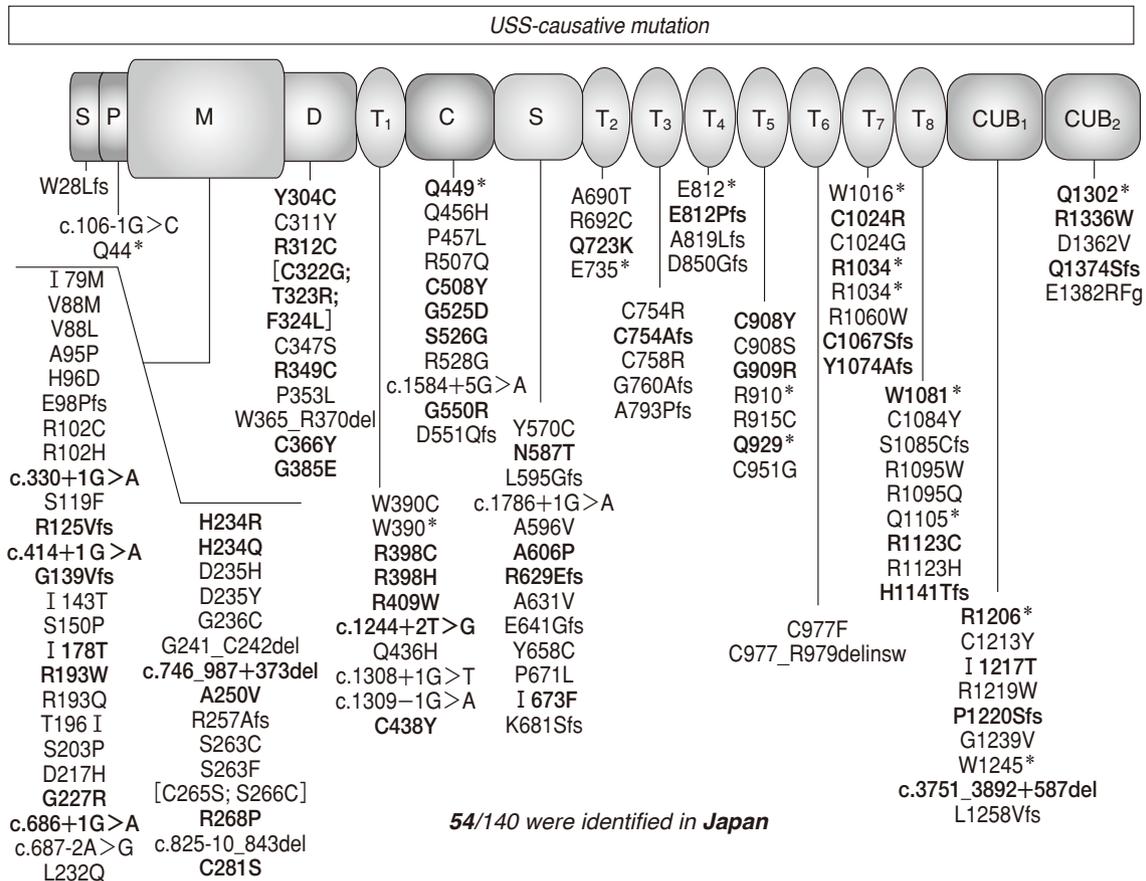


図 2 USS の遺伝子変異

本邦にてわれわれが同定した USS 患者の遺伝子変異は 54 アレル(太字)に及び、それらは欧米で発見された変異と全く異なる。

示された。さらに、IgG 型の活性中和抗体のエピトープが同酵素の S ドメインにあることが示されている。この ADAMTS13 活性測定が普及し、同酵素やインヒビターの両活性測定がほぼリアルタイムで行われるようになり、患者の利益に繋がる事が望まれる。

### 先天性 TTP (Upshaw-Schulman 症候群)

Upshaw-Schulman 症候群(USS)は 1960 年に Schulman ら<sup>29)</sup>、また 1978 年に Upshaw<sup>30)</sup>によって報告された疾患で、その特徴として、「新生児期に交換輸血を必要とする Coombs 試験陰性の重症黄疸があり、その後も血小板減少と溶血性貧血を反復するが、これら症状が新鮮凍結血漿 (fresh frozen plasma : FFP) の輸注により劇的に改善する原因不明の血液疾患」とされていた。症状反復性から、Moake ら<sup>31)</sup>は 1982 年から慢性反復性 TTP (chronic relapsing TTP : CR-TTP) という病名を用い、寛解期の 4 例の同患者血中に UL-VWFM が出現するとの重要な観察を行ったが、結果的

にこの病名は TTP が先天性と後天性に起こるという事実を曖昧にしてしまった。

実際、1997 年 Furlan ら<sup>32)</sup>は、別の 4 例の CR-TTP 患者では VWF 切断酵素(後の ADAMTS13)活性が著減しているというブレークスルーを発見した。しかし後方視的には、うち 2 例は兄弟例で先天性と思われるものの、残り 2 例は明らかに後天性と判断され、さらに前者の兄弟例の両親は正常の VWF-CP 活性を示すなど、やや整合性を欠く報告がなされた。われわれ<sup>33)</sup>は Furlan らの報告を受け、本邦 USS3 家系の VWF-CP 活性を測定し、患者はいずれも 3% 以下の検出限界に低下していること、また患者の両親はいずれも正常の約 1/2 (50%) に低下していることを報告し、USS が先天性 TTP の概念であることを提唱した。この後間もなく、VWF-CP が ADAMTS13 であること、またこの遺伝子異常が家族性 TTP 患者にみられることが Levy ら<sup>10)</sup>によって報告され、USS の診断名が復活した。以後、USS 患者は現在までに世界中で約 150 例が発見されており、140 種類の変異部位が同定されている(図 2)<sup>34)</sup>。日本は USS 患者の

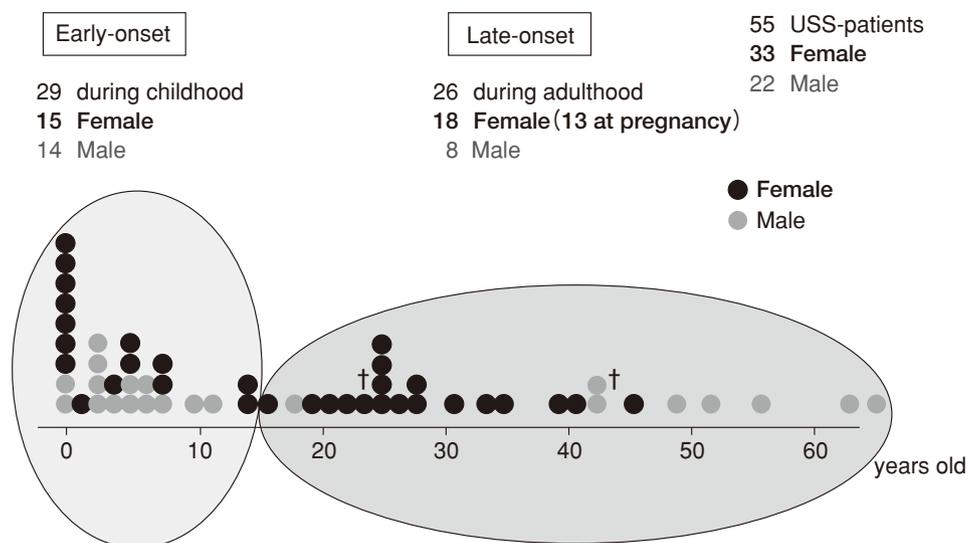


図3 本邦USS患者55例の診断時期

本邦にてわれわれが診断した55例のUSS(女性33例, 男性22例)について natural history 解析を行い, それぞれのTMA発症年齢を正確なUSS診断時期として図表化した。15歳以下の小児期発症者は29例で, 女性15例, 男性14例と略同数であった。彼らはEarly-onset phenotypeと考えられた。15歳以降のLate-onset phenotypeは概ね2種に分けられ, 15~45歳の時期は圧倒的に女性で, しかも妊娠期であった。一方, 45歳以降にTTP発症した症例はほとんど男性であった。

コホート研究では世界をリードしており, 1998年以降, 奈良県立医科大学と国立循環器病センター研究所の共同研究により, 本邦USS患者55例の診断と54種類のADAMTS13遺伝子変異を同定している。USSの遺伝形式は常染色体劣性で, 患者の両親が血縁の場合はホモ接合体変異, また非血縁の場合は複合ヘテロ接合体変異であることが多い。当然, 両親はいずれか一方の遺伝子異常を持ち, 血漿ADAMTS13活性は約50%に半減しているが無症状である。これより, 理論的にはUSSの男女出現比は1対1であるが, 奈良県立医科大学TMA解析センターに登録されているUSS患者55例中, 男性は22例で, 女性は33例と女性優位である<sup>35)</sup>。また, USS患者は発症時期によって, Early-onset typeとLate-onset typeの2型が示されている。その違いがなぜか, という疑問はいまだ完全には解決されていない。しかし, USS患者がTTP発作を起こすにはさまざまな増悪因子の関与が示されており, これらには, インフルエンザのような重症感染症, 妊娠, 加齢, 大量飲酒, デスマプレシン(DDAVP)使用などが知られている。特に女性は, 妊娠後期に出産に備えてVWFが著増するためTTPの発症リスクが高まると考えられ, また男性は40歳以降, 加齢によるVWF増加が著しく, 発症要因になると考えられている。自験例では, USS患者55例中Late-onset typeの患者が26例同定されたが, うち13例は発見時20~30代の

女性で, いずれも初妊娠中に診断された。また8例は男性で, うち50歳以降に発症した患者は4例であった(図3)。さらにADAMTS13活性測定法の感度上昇によって, 活性が絶えず0.5%以下のものとそれ以上のものでは明らかにphenotypeが異なることも示された。自験例<sup>36)</sup>を紹介すると, ある男性患者は63歳で初めてTTPを発症し, 以後CR-TTPと診断され新鮮凍結血漿(FFP)を2~3週間隔で予防投与されていた。しかし, 77歳時に小脳梗塞をきたし, ADAMTS13解析を実施したところ同活性は2.4~3.4%と中等度に欠損し, ADAMTS13遺伝子解析にてp.C1024Rのホモ接合体変異が同定されUSSと確定診断された。患者は79歳で小脳梗塞後の合併症で死亡したが, 国内外で報告されているUSS患者中では最高齢者であった。さらに前記のように, USSには通常2週間に1度の割りでFFP5~10mL/kg体重の予防投与が行われているが, 最近の報告<sup>37)</sup>では, この量と頻度では慢性腎不全への移行を完全に防止できないとの報告もあり, 早期にADAMTS13濃縮製剤(遺伝子発現または血漿由来)の臨床応用が望まれている。

### 後天性 TTP

TTP患者の90%以上は後天性TTPで, この診断は, 1) ADAMTS13活性著減とADAMTS13に対するIgG型活性中

和抗体(インヒビター)陽性(>0.5 Bethesda U/mL 以上)の結果で診断される群と、2)ADAMTS13 活性は略正常であっても古典的 5 徴候(pentad)で診断される群、の 2 種類がある。本邦では従来、前者を定型 TTP、後者を非定型 TTP と呼んできたが、近年、TTP の定義が「ADAMTS13 活性著減」に収斂されてきたため、非定型 TTP という診断名はほとんど使われなくなり、これに TMA という「病理学的」診断名が多用されている。われわれが 1998~2008 年に奈良県立医科大学輸血部で登録した 919 例の TMA 患者の解析結果では、定型 TTP は 324 例で TMA 全体の約 1/3(35%)であった<sup>38)</sup>。また、ADAMTS13 活性測定迅速化とともに、TTP の診断においては前記の古典的 5 徴候に左右されることなく、「溶血性貧血と血小板減少の 2 徴候があればまず TTP を疑う」ことが一般的になってきた。これにより、TTP の発生頻度は人口 100 万人当たり 4.7 人という数字が過去に出されているが、現実にははるかに多いものと推定される。

後天性・定型 TTP は一次性(特発性)に生じるものと、自己免疫疾患や薬物の影響によって二次性に生じるものがある。共に ADAMTS13 自己抗体が検出される。この抗体は IgG 型の活性中和抗体(インヒビター)が主で、エピトープは ADAMTS13 分子の広範囲にわたるが、インヒビター作用を示すものは共通して ADAMTS13-Sp ドメインにある<sup>39)</sup>。これは、ADAMTS13-Sp ドメインが基質となる VWF の認識部位であり、それをブロックすることは酵素作用を失うことを意味する。これら IgG 抗体のサブクラス解析で IgG4 が最も高頻度で検出されたとの報告もある。このほか IgA 抗体や活性非中和抗体の IgM 型もある<sup>40)</sup>。これら抗体の解析が患者の予後にどのように影響するのには興味深いところで、今後の課題となっている。また、DIC との鑑別診断のためは、凝固・線溶系検査を含めた DIC マーカーの測定も必須であり、血小板減少症の一つとして知られるヘパリン起因性血小板減少症(heparin-induced thrombocytopenia: HIT)との鑑別も重要である。そのためは、抗 HIT 抗体(抗ヘパリン-血小板第 4 因子複合体抗体)の測定が必要となる<sup>41)</sup>。

### 小児期の後天性・定型 TTP

後天性・定型 TTP は主に成人期以降の疾患とされてきたが、小児期にもしばしばみられる。奈良県立医科大学輸血部の前記 TMA 919 例のデータベースでは、ADAMTS13 活性著減(<0.5%)とインヒビターを確認した後天性・特発性 TTP は 195 例で、このうち 15 歳以下の小児期発症例は

14 例(7.2%)、また 2 歳以下は 5 例(2.6%)であった。性別は男児 9 例、女児 5 例で、年齢は 9 カ月から 15 歳で中央値は 11 歳であった<sup>42)</sup>。TTP 5 徴候のなかで、血小板減少と溶血性貧血は全例に認め、他の症状は精神神経症状 10 例(71%)、腎機能障害 10 例(71%)、発熱 13 例(93%)の頻度でみられた。それゆえ、特に 2 歳以下の乳幼児の TTP は、先天性 TTP である USS との鑑別が困難なことがあるので留意すべきである。

一方、後天性の二次性 TMA 患者で膠原病関連のものは 221 例(221/919:24%)で、このうち 15 歳以下の小児期発症例は 11 例、うち 3 例は ADAMTS13 活性著減例(<0.5%)を示す定型 TTP であった。これらの原疾患は SLE(systemic lupus erythematosus)が 2 例、MCTD(mixed connective tissue disease)が 1 例であった<sup>43)</sup>。いずれにおいても再発率は低く予後は良好であった。興味あるのは発症順番で、まず TTP を発症し、後で膠原病を発症した例がしばしばみられたため、小児の後天性 TTP については、その後の経過観察も重要である。

## TTP 治療の現状<sup>41)</sup>

### 1. 先天性 TTP(USS)

USS は ADAMTS13 活性の先天性欠損症であるため、治療にはほぼ 2 週間に一度の割合で FFP 5~10 mL/kg 体重を投与し、ADAMTS13 補充療法を行うことが必要である。われわれのデータによると、USS 患者への FFP 輸注後、同酵素活性の生体内半減期は約 2.5 日であった。多くの本邦 USS 患者にとって、2 週間に一度の通院とこれに伴う医療費負担は大きな問題となっている。また、FFP 輸注による強または弱アレルギー反応を示す患者も少なくない。

欧米では、FFP の代わりに界面活性剤処理(solvent/detergent-treated)で病原体不活化処理をした血漿製剤(Octaplas<sup>®</sup>)を用いている国もあり、この場合、感染リスクがないこと、アレルギー反応がほとんどみられないこと、また、TRALI などの重篤輸血副作用がないことが知られており、本邦でもかかる製剤の導入が望まれる。一方、これまで FFP 定期輸注を行ってきた USS 患者のうち、ADAMTS13 インヒビターの陽性転化例は皆無であるが、非中和抗体出現例は約 5%に認められている<sup>44)</sup>。以上の理由から、近い将来、FFP に代わって精製 ADAMTS13 製剤(血漿由来あるいは遺伝子発現)による補充療法の実施が切望されている。

### 2. 後天性(定型)TTP

後天性・定型 TTP 治療の第一選択は血漿交換(plasma

exchange : PE)療法である。PE のエビデンスは、①ADAMTS13 インヒビター除去、②UL-VWFM の除去、③ADAMTS13 の補充、④止血に必要な正常サイズの VWFM の補充、そして⑤VWF 放出を促す炎症性サイトカインの除去、などで説明され、1回 40~60 mL/kg (1日当たり循環血液〔血漿〕量の1~1.5容)を輸注し、開始して3日間は1日当たり循環血液〔血漿〕量の1.5容/回で連日行う。ほとんどの症例でステロイドパルス療法、ステロイド漸減療法が併用され、それらの効果は血小板数、神経症状、LDH などの溶血モニターを観察しながら判断し、可能であれば連日のインヒビター力価の動向を見ながら PE の回数を判断する<sup>45)</sup>(本特集の「血栓性微小血管症における血漿交換」を参照)。

### 3. 難治性 TTP の治療 (特に inhibitor boosting 症例)

後天性・定型 TTP で PE に対して治療抵抗性なのは難治性 TTP と呼ばれている。かかる症例に対し、いずれも保険適用外であるが、1) シクロスポリン経口療法(保険適用外)[処方例]ネオーラルカプセル 6 mg/kg 分3 (保険適用外)、2) シクロホスファミド経口療法[処方例]エンドキサン錠(50 mg)2 錠分2 (保険適用外)、3) ビンクリスチン(VCR)注初回1~2 mg 静注。1週間後1 mg 追加静注(保険適用外)、4) リツキシマブ注1回 375 mg/m<sup>2</sup>、1週1回、点滴静注、4~8回(保険適用外)(後に詳述)、5) 脾摘などがある。脾摘は、かつては難治性 TTP の最終の選択肢と考えられていたが、リツキシマブの効用が広く認められるようになってから、脾摘実施例はきわめて少なくなったと考えられる。

最近、特に難治性 TTP の一表現型として、PE 後に IgG 型の ADAMTS13 インヒビター力価が急上昇(inhibitor boosting)<sup>46)</sup>する症例があることが確認された。自験例の定型 TTP では約42%がこの型を示した。この inhibitor boosting が確認されると、通常の PE 単独療法やステロイドパルス療法の併用もほとんど効果がなくなる。かかる例には抗 CD20 キメラ抗体であるリツキシマブを投与して B リンパ球を枯渇し、インヒビター(IgG)産生を抑制しつつ、PE を併用することにより優れた治療結果があることが示されて

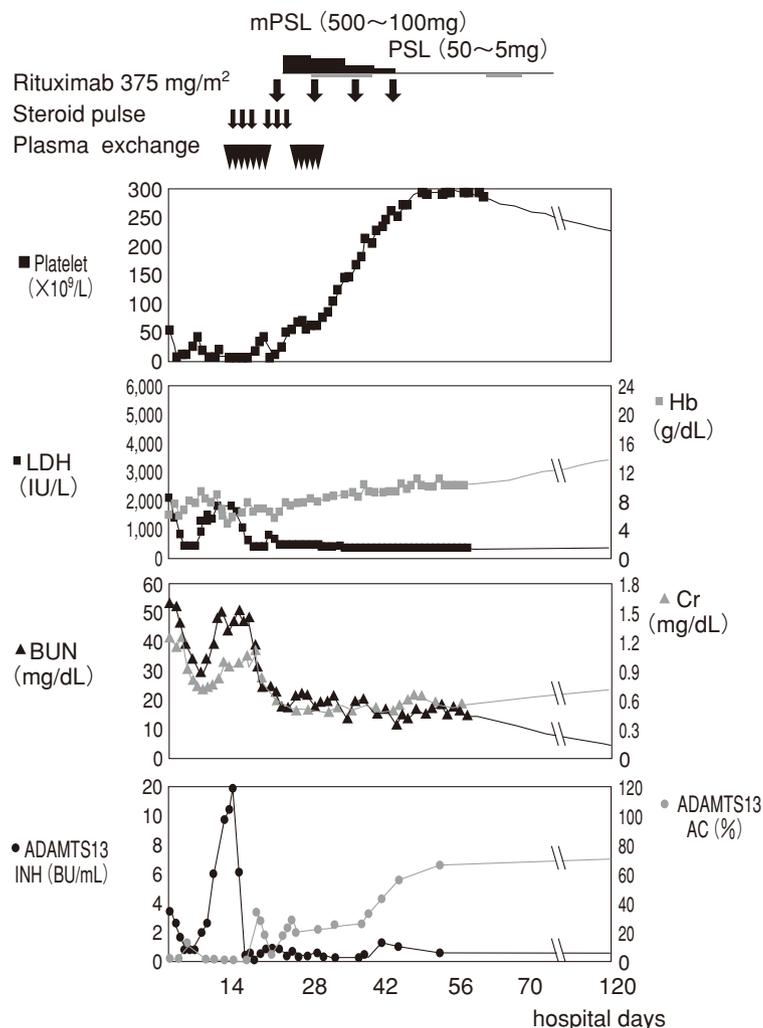


図4 PE とリツキシマブ併用が奏効した難治性 TTP

後天性・特発性 TTP 患者(55 歳、男性)に、連日血漿交換(PE)とステロイドパルスを実施するも治療抵抗性で、PE 後は逆に ADAMTS13 インヒビター(IgG 型抗体)力価が上昇していることが確認された。抗体産生を抑制するためにリツキシマブを併用し、ようやく寛解が得られた。

いる。欧米の研究者らは比較的早期から、TTP 患者を選別することなく、リツキシマブを投与した群では再発が少ないことを指摘している<sup>45,46)</sup>。われわれが経験した典型例では、PE 治療前に高いインヒビター力価(>2 Bethesda U/mL)を示した TTP 症例は、PE 治療後、数日間は反応して血小板数もやや増大するが、1週間以内に血小板数の再低下がみられ、この時点で inhibitor boosting が確認された。図4に奈良県立医科大学救急科で経験した1例を示す。なお、インヒビター症例に対するリツキシマブの医師主導治験が現在実施中である(責任者: 埼玉医科大学教授 宮川義之先生)。

## 謝 辞

本研究の一部は、1999～2000年は厚生省特定疾患：血液系疾患調査研究班-血液凝固異常症分科会(分科会会長：中川雅夫 京都府立医科大学教授)，2001～2006年は厚生労働科学研究費補助金の難治性疾患克服研究事業：血液凝固異常症に関する調査研究(主任研究者：池田康夫 慶應義塾大学医学部教授)，そして2007年以降は継続同班(主任研究者：村田満 慶應義塾大学医学部教授)からの研究費，文部科学省科学研究助成費，そして武田医学特別研究助成費にて行った。ここに謝辞を記す。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

## 文 献

- Moschcowitz E. Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: A hitherto undescribed disease. *Proc NY Pathol Soc* 1924; 24: 21-24.
- Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: Report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* 1966; 45: 139-159.
- Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* 1991; 325: 393-397.
- Furlan M, Robles R, Galbuseram M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998; 339: 1578-1584.
- Tsai HM, Lian ECY. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1998; 339: 1585-1594.
- Gerritsen HE, Robles R, Lämmle B, Furlan M. Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. *Blood* 2001; 98: 1654-1661.
- Plaimauer B, Zimmerman K, Volkel D, Antoine G, et al. Cloning expression and characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). *Blood* 2002; 100: 3626-3632.
- Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D. Purification of human vWF-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 2001; 98: 1662-1666.
- Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K. Structure of von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13), a metalloproteinase involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* 2001; 276: 41059-41063.
- Levy GG, Nichols, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413: 488-494.
- Soejima K, Mimura N, Hirashima M, et al. A novel human metalloproteinase synthesized in the liver and secreted into the blood: Possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem* 2001; 130: 475-480.
- Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med* 2002; 347: 589-600.
- Hulstein JJJ, van Rinnard-Heimel PJ, Frank A, et al. Acute activation of the endothelium in increased levels of active von Willebrand factor in hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) syndrome. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2569-2575.
- Wada H, Wakita Y, Nakase T, et al. Increased plasma-soluble fibrin monomer levels in patients with disseminated intravascular coagulation. *Am J Hematol* 1996; 51: 255-260.
- Fujimura Y, Titani K. Structure and function of von Willebrand factor. In: Bloom AL, Forbes CD, Thomas DP, Tuddenham EGD (eds) *Haemostasis and Thrombosis*. Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, Tokyo: Churchill-Livingstone, 1994: 379-395.
- 藤村吉博, 石西綾美, 八木秀男. 総論-TMAの病態解析の最近の進歩. *細胞* 2014; 46: 2-6.
- Tandon NN, Rock G, Jamieson GA. Anti-CD36 antibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1994; 88(4): 816-825.
- Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Ishikawa M, Iwamoto T, Mori T, Wanaka A, Fukui H, Fujimura Y. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood* 2005; 106: 922-924.
- Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Matsuyama T, Isonishi A, Ishikawa M, Yagita M, Morioka C, Yoshiji H, Tsujimoto T, Kurumatani N, Fukui H. Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 2008; 99(6): 1019-1029.
- Suzuki M, Murata M, Matsubara Y, Uchida T, Ishihara H, Shibano T, Ashida S, Soejima K, Okada Y, Ikeda Y. Detection of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 313(1): 212-216.
- Turner N, Nolasco L, Tao Z, Dong JF, Moake J. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *J Thromb Haemost* 2006; 4(6): 1396-1404.
- Manea M, Kristoffersson A, Schneppenheim R, Saleem MA, Mathieson PW, Morgelin M, Bjork P, Holmberg L, Karpman D. Podocytes express ADAMTS13 in normal renal cortex and in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2007; 138(5): 651-662.
- Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong J. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood* 2004; 104: 100-106.
- Motto DG, Chauhan AK, Zhu G, Homeister J, Lamb CB, Desch KC, et al. Shigatoxin triggers thrombotic thrombocytopenic purpura in genetically susceptible ADAMTS13-deficient mice. *J Clin Invest* 2005; 115(10): 2752-2761. *Epub* 2005/10/04.
- Koyama N, Matsumoto M, Tamaki S, Yoshikawa M, Fujimura Y,

- Kimura H. Reduced larger von Willebrand factor multimers at dawn in OSA plasmas reflect severity of apnetic episodes. *Eur Respir J* 2012 ; 40 : 657-664.
26. Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13. *Blood* 2004 ; 103 : 607-612.
27. Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T. FRETS-VWF73, a first fluologenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* 2005 ; 129 : 93-100.
28. Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y. Novel monoclonal antibody-based immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* 2006 ; 46 : 1444-1452.
29. Schulman I, Pierce M, Likens A, Currimbhoy Z. Studies on thrombopoiesis. I. A factor in normal human plasma required for platelet production ; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood* 1960 ; 14 : 943-957.
30. Upshaw JD. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1978 ; 298 : 1350-1352.
31. Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colannino NM, Azocar J, et al. Unusually large plasma factor VIII : von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1982 ; 307(23) : 1432-1435. Epub 1982/12/02.
32. Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Wassmer M, Sandoz P, Lammler B. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1997 ; 89(9) : 3097-3103. Epub 1997/05/01.
33. Kinoshita S, Yoshioka A, Park Y-D, Ishizashi H, Konno M, Funado M, Matsui T, Titani K, Yagi H, Matsumoto M, Fujimura Y. Upshaw-Schulman syndrome revisited : A concept of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2001 ; 74 : 101-108.
34. Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y. ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japan. *Haemostaseologie* 2013 ; 33 : 131-137.
35. Fujimura Y, Kokame K, Yagi H, Isonishi A, Matsumoto M, Miyata T. Hereditary deficiency of ADAMTS13 activity- Upshaw-Schulman syndrome. In : ADAMTS13. Springer (in press).
36. Taguchi F, Yagi H, Matsumoto M, Sadamura S, Isonishi A, Soejima K, Fujimura Y. The homozygous p. C1024R-ADAMTS13 gene mutation links to a late-onset phenotype of Upshaw-Schulman syndrome in Japan. *Thromb Haemost* (Letters to the Editor) 2012 ; 107 : 1003-1005.
37. Doi T, Ohga S, Ito N, Ishimura M, Suga N, Nomura A, Takada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Hara T. Limited renal prophylaxis in regular plasmapheresis for heritable ADAMTS13 deficiency. *Pediatr Blood Cancer* 2013 ; 60(9) : 1557-1558. doi : 10.1002/pbc. 24553. Epub 2013 Apr 29.
38. Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan : Database of Nara Medical University during 1998-2008. *Intern Med* 2010 ; 49 : 7-15.
39. Soejima K, Matsumoto M, Kokame K, Yagi H, Ishizashi H, Maeda H, Nozaki C, Miyata T, Fujimura Y, Nakagaki T. ADAMTS-13 cysteine-rich/spacer domains are functionally essential for von Willebrand factor cleavage. *Blood* 2003 ; 102 : 3232-3237.
40. Sheflinger F, Knobl P, Trattner B, Plaimauer B, Mohr G, Dockal M, Dorner F, Rieger M. Nonneutralizing IgM and IgG antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS1-13) in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2003 ; 102 : 3241-3243.
41. Kelton JG, Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia : a historical perspective. *Blood* 2008 ; 112 : 2607-2616.
42. Yagi H, Matsumoto M, Fujimura Y. Paradigm shift of childhood TTP with severe ADAMTS13 deficiency. *la Presse Médicale* (Review) 2012 ; 41 : e137-155.
43. Matsuyama T, Kuwana M, Matsumoto M, Isonishi A, Inokuma S, Fujimura Y. Heterogeneous pathogenic processes of thrombotic microangiopathies in patients with connective tissue diseases. *Thromb Haemost* 2009 ; 102 : 371-378.
44. Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, Yagi H, Kokame K, Soejima K, Murata M, Miyata T. Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. *J Thromb Haemost* (State of the art 2011) 2011 ; 9 : 283-301.
45. Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al ; French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med* 2012 ; 40 : 104-111.
46. Isonishi A, Bennett CL, Plaimauer B, Scheiflinger F, Matsumoto M, Fujimura Y. A rockier road than expected for acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura in Japan ; flare-ups, inhibitor boosting, and long-term persistence of abnormal ADAMTS13 antigens. (submitted).