

Figure 3 Procedures of FRET assay.

温で測定する場合は 120 分間測定する。蛍光値の増加はほぼ直線に乗るので、その傾き、すなわち  $\Delta$  蛍光値/分 ( $\Delta F/\text{min}$ ) を算出する (Fig. 4)。

標準曲線を作成するために、標準血漿を 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6  $\mu\text{l}$  用いたウェルも同時に測定しておく。それぞれから得られた  $\Delta F/\text{min}$  をプロットして回帰曲線を作成し、被検血漿 4  $\mu\text{l}$  の  $\Delta F/\text{min}$  に相当する標準血漿量を求める。標準血漿の ADAMTS13 活性を 100% とした時、標準血漿を 0~6  $\mu\text{l}$  用いれば、0~150% の値が得られる。

種々の緩衝液を比較検討した結果、現在のところ、5mM Bis-Tris, 25mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.005% Tween-20, pH 6.0 が最適である。

### V. FRET 法における留意点

紹介したすべての測定法に共通することであるが、通常、血漿試料はクエン酸ナトリウムを抗凝固剤として調製した血漿である。ヘパリン血漿も使用可能であるが、その際は対照とする標準血漿(一般に複数の健常者のプール血漿が用いられる)も同じ条件にすべきである。血清でも測定できるが、実施例は少ない。EDTA を含む血漿では測定できない。

ADAMTS13 は血漿中で比較的安定であり、数日間冷蔵保存しても活性はほとんど変化しない。血漿の凍結融解操作に対しても影響を受けにくい。ただし、これは一般論であり、ADAMTS13 の安定性を損なわせる状態をもたらす病態がないとは限らない。

FRETS-VWF73 は、株式会社ペプチド研究所で製

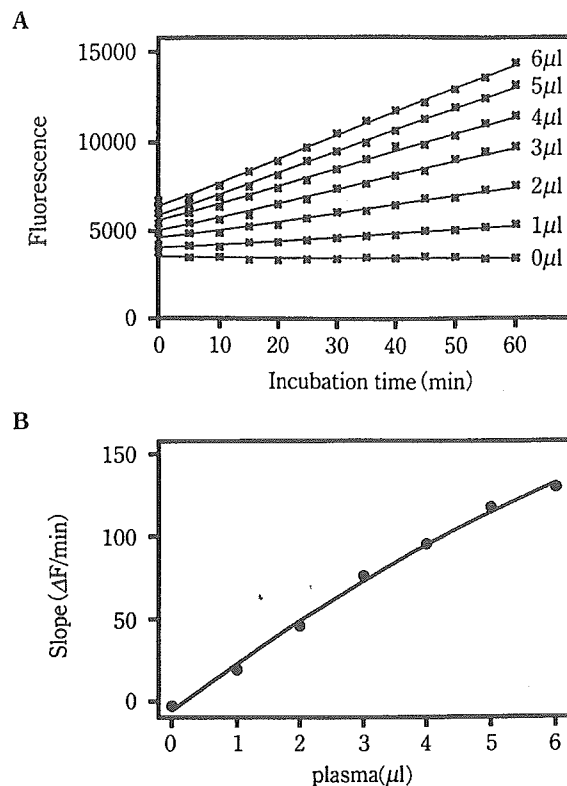


Figure 4 Plasma-dose dependency on FRET assay.

A. Fluorescence was measured at five-minute intervals after the addition of FRETS-VWF73 to 0~6  $\mu\text{l}$  normal plasma.

B. Each slope was plotted against plasma dosage.

造販売されている (<http://www.peptide.co.jp/jpn/new/pinews/FRETS-VWF73.htm>)。バイアルに入った粉末を、100  $\mu\text{M}$  となるよう 25%ジメチルスルホキシド水溶液で溶解し、エッペンドルフタイプのチューブに移す。-20°C で保存すれば、少なくとも数ヶ月間は問題なく使用できる。前述の緩衝液で必要量を 25 倍希釈し、測定に用いる。反応時の終濃度は 2  $\mu\text{M}$  となる。使用する 96 ウェルプレートは白色プラスチック製が良く、黒色では感度不足である。底面から測光するタイプの蛍光プレートリーダーであれば透明プレートを用いるべきである。最近、株式会社エスアールエルが ADAMTS13 活性の受託測定サービスを開始した。

### VI. 今後の課題

これまで ADAMTS13 活性測定は、簡便化を目指して工夫されてきた。現時点では FRET 法が最も単純な手順で実施でき、かつ定量性のある結果を得ら

れる方法である。しかし、TTP発症の可能性のある深刻な患者を眼前にした時、たとえ定性的であっても、蛍光リーダーなどの機器を使用せずに活性の有無を知る手段があると良いであろう。その開発の核としてVWF73が役立つと期待している。

TTPの大半はADAMTS13に対する自己抗体の出現による。もしも、*in vivo*でVWF切断を阻害するにも拘らず、*in vitro*でVWF73切断を阻害しない自己抗体があれば、FRET法ではADAMTS13活性陽性と判断されてしまう。一方、従来のVWFマルチマーを基質とした測定法でも、反応に必要な蛋白質変性剤で阻害能力を失う自己抗体があれば、それも偽陽性として判断されてしまう。VWFの構造変化が切断性に関わっていることに由来する、難しい問題である。

現在、TTP確定診断のためのカットオフ値は標準血漿の5%と言われている。しかし、用いる標準血漿のADAMTS13活性あるいは測定法の相違などによって異なる可能性があり、その値はまだ絶対的なものではない。筆者らがこれまでに測定した結果から判断すると、もう少し高く設定しても良いのかもしれない。今後、より多くの測定結果が集積することによって判断されるであろう。

このように残された問題を考慮しながら、ADAMTS13活性と病態との関連を詳細に分析し、TTPや溶血性尿毒症症候群などの効果的な診断に結びつけることが重要である。

## 文 献

- 1) 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: 1432-5.
- 2) Soejima K, Mimura N, Hirashima M, Maeda H, Hamamoto T, Nakagaki T, et al. A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem* 2001; 130: 475-80.
- 3) Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* 2001; 276: 41059-63.
- 4) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413: 488-94.
- 5) Banno F, Kaminaka K, Soejima K, Kokame K, Miyata T. Identification of strain-specific variants of mouse Adamts13 gene encoding von Willebrand factor-cleaving protease. *J Biol Chem* 2004; 279: 30896-903.
- 6) Furlan M, Robles R, Lämmle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by *in vivo* proteolysis. *Blood* 1996; 87: 4223-34.
- 7) Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996; 87: 4235-44.
- 8) Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, Yagi H, Ishizashi H, Funato M, et al. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 11902-7.
- 9) Kokame K, Miyata T. Genetic defects leading to hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura. *Semin Hematol* 2004; 41: 34-40.
- 10) Gerritsen HE, Turecek PL, Schwarz HP, Lämmle B, Furlan M. Assay of von Willebrand factor (vWF)-cleaving protease based on decreased collagen binding affinity of degraded vWF: a tool for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *Thromb Haemost* 1999; 82: 1386-9.
- 11) Obert B, Tout H, Veyradier A, Fressinaud E, Meyer D, Girma JP. Estimation of the von Willebrand factor-cleaving protease in plasma using monoclonal antibodies to vWF. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1382-5.
- 12) Böhm M, Vigh T, Scharrer I. Evaluation and clinical application of a new method for measuring activity of von Willebrand factor-cleaving metalloprotease (ADAMTS13). *Ann Hematol* 2002; 81: 430-5.
- 13) Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN, et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. *Blood* 2002; 100: 4033-9.
- 14) Studt JD, Böhm M, Budde U, Girma JP, Varadi K, Lämmle B. Measurement of von Willebrand factor-

- cleaving protease (ADAMTS-13) activity in plasma: a multicenter comparison of different assay methods. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1882-7.
- 15) Tripodi A, Chantarangkul V, Böhm M, Budde U, Dong JF, Friedman KD, et al. Measurement of von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS-13): results of an international collaborative study involving 11 methods testing the same set of coded plasmas. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1601-9.
- 16) Remuzzi G, Galbusera M, Noris M, Canciani MT, Daina E, Bresin E, et al. von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2002; 100: 778-85.
- 17) Whitelock JL, Nolasco L, Bernardo A, Moake J, Dong JF, Cruz MA. ADAMTS-13 activity in plasma is rapidly measured by a new ELISA method that uses recombinant VWF-A2 domain as substrate. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 485-91.
- 18) 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: 607-12.
- 19) Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T. FRETs-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* 2005; 129: 93-100.
- 20) Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2004; 407-23.
-

# 胃癌の骨髄転移に併発した 血栓性血小板減少性紫斑病

大渡 五月<sup>①③</sup> 松本 雅則<sup>②</sup> 高塚 祥芝<sup>①</sup>  
竹内 昇吾<sup>①</sup> 牧野 虎彦<sup>①</sup> 魚住 公治<sup>③</sup>  
藤村 吉博<sup>②</sup> 宇都宮 興<sup>①</sup>

## 緒 言

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura : TTP) は、血小板減少、細血管障害性溶血性貧血 (microangiopathic hemolytic anemia : MAHA)、腎機能障害、発熱、動揺性精神神経症状を古典的5徴候とする疾患である<sup>1)</sup>。かつては、致死率90%以上と予後不良の疾患であったが、血漿交換によって致死率は20%以下となった<sup>2)</sup>。TTPは、特発性と膠原病、妊娠、造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation : HSCT)、悪性腫瘍などを基礎疾患とする二次性に分類される。これらの中で、HSCTや悪性腫瘍に合併したTTPは、血漿交換が無効であることより<sup>3)</sup>、特発性などの血漿交換が有効なTTPとは発症機序が異なることが予想されてきた。近年、von Willebrand因子 (VWF) 切断酵素 (ADAMTS13) による病態解析が進み、特発性TTPの多くはIgG型の自己抗体 (インヒビター) の存在によってADAMTS13活性が著減していることが示された<sup>4)5)</sup>。しかし、二次性TTPの中には、HSCT後のTTPでADAMTS13活性が低下していないと報告されるなど<sup>6)</sup>、基礎疾患によってこの酵素の動態が異なることが明らかになってきた。

今回我々は、胃癌手術後約6年後にTTPを発症し、それをきっかけに骨髄への再発が発見された症例を経験したので報告する。

## I. 症 例

患者：65歳，男性。  
主 訴：労作時の息切れ。  
家族歴：特記事項無し。

既往歴：1995年2月に胃癌のため胃全摘術を受けた。病理組織検査の結果、中分化型管状腺癌が胃筋層まで浸潤していた。Ⅲ群リンパ節転移も認め、治癒切除ではなかった。術後、2ヵ月間、テガフル0.8gの連日内服とOK432 5KEの週1回の注射を行ったが自己判断で中止した。

現病歴：2000年12月下旬頃より体動時に息切れを自覚するようになった。2001年1月6日、近医で著明な貧血 (Hb 5.5 g/dl) を認め、1月11日当院血液内科に紹介入院となった。

入院時現症：身長164.0cm，体重55.5kg，体温38.0℃，脈拍84/分，整，血圧120/82mmHg，眼瞼結膜に貧血，眼球結膜に軽度の黄疸を認める。心肺に異常なく，腹部に圧痛無し。肝脾触知せず，四肢異常なし。皮下出血斑なし。神経学的異常所見なし。

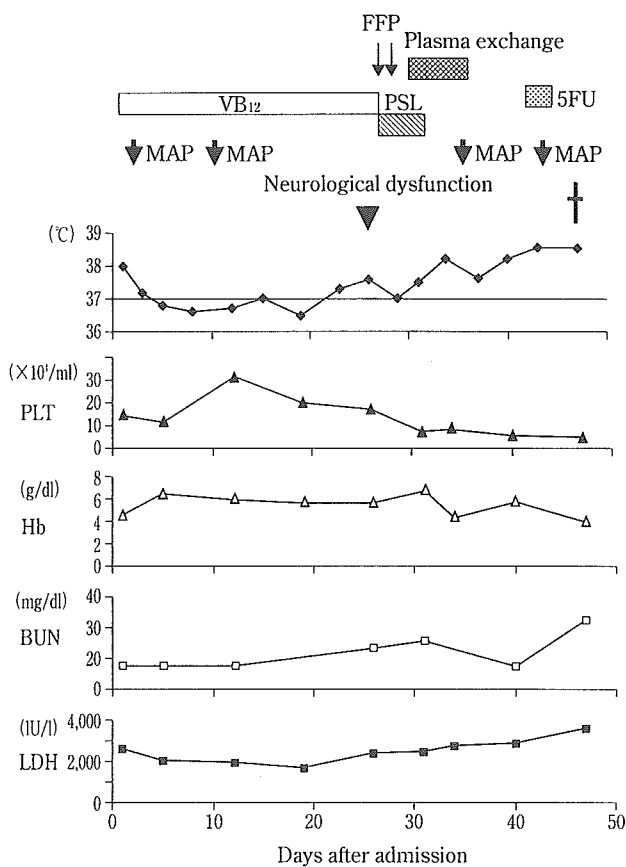
入院時検査所見 (Table 1)：RBC  $109 \times 10^4 / \mu\text{l}$ ，Hb 4.5 g/dlと大球性高色素性貧血を認めた。ビタミンB<sub>12</sub> 97pg/dlと低下しており，クームス試験は直接，間接とも陰性であった。

入院後経過 (Fig. 1)：大球性高色素性貧血を認め，入院時の骨髄穿刺で巨赤芽球性変化を示し，ビタミンB<sub>12</sub>の低下も認めていたため巨赤芽球性貧血を疑い，ビタミンB<sub>12</sub>の投与を行ったが貧血の改善はみられなかった。入院26日目に，錯乱などの動揺性の精神神経症状が発現し，原因精査のため，頭部CTを撮ったが異常所見は認めなかった。末梢血塗抹標本の再確認で典型的な破碎赤血球が認められた (Fig. 2A)。LDHの上昇，間接ビリルビンの上昇，ハプトグロビンの低下などの溶血性貧血の所見，精神症状，発熱，血小板の低下などから，TTPと診断した。この時のADAMTS13活性は56%と有意な低下は認められなかった。VWF抗原量232%でVWFマルチマー解析ではunusually large VWF multimer (UL-

①今村病院分院血液内科 ②奈良県立医科大学輸血部  
③鹿児島大学医学部血液膠原病内科

**Table 1** Laboratory data on admission

Peripheral blood		Blood chemistry		Urinalysis	
RBC	109 × 10 <sup>4</sup> /μl	T-Bil	1.77mg/dl	PH	6.7
Hb	4.5 g/dl	D-Bil	0.7mg/dl	Protein	(+)
Ht	12.8%	T.P.	6.2 g/dl	Glucose	(-)
MCV	117.3 μm <sup>3</sup>	AST	72 IU/l	Urobilinogen	(4+)
MCH	40.8pg	ALT	16 IU/l	Occult blood	(±)
MCHC	34.8%	LDH	2,536 IU/l		
WBC	8,400/μl	ALP	323 IU/l	<b>Bone marrow</b>	
Baso.	1%	BUN	14.8 g/dl	NCC	25.6 × 10 <sup>4</sup> /μl
Stab.	7%	Cr	0.6mg/dl	Myeloblast	1.2%
Seg.	63%	Na	138mEq/l	Erythropoiesis	
Lymphocyte	19%	K	4.3mEq/l	Baso. macro	6.4%
Monocyte	9%	Cl	109mEq/l	Poly. macro	19.2%
Atypical lymph.	1%	CRP	1.2mg/dl	Poly. normo	14.4%
Erythroblast	6%	Vitamine B <sub>12</sub>	97pg/dl	Ortho. Normo	17.2%
Reticulocyte	112%	Folic acid	10.4ng/dl	Megaloblastic change	(+)
PLT	14.6 × 10 <sup>4</sup> /μl	Haptoglobin	<10mg/dl		
Fragmented red cells	(+)	Coombs test			
		direct	(-)		
		indirect	(-)		



**Fig. 1** Hematological changes and clinical course

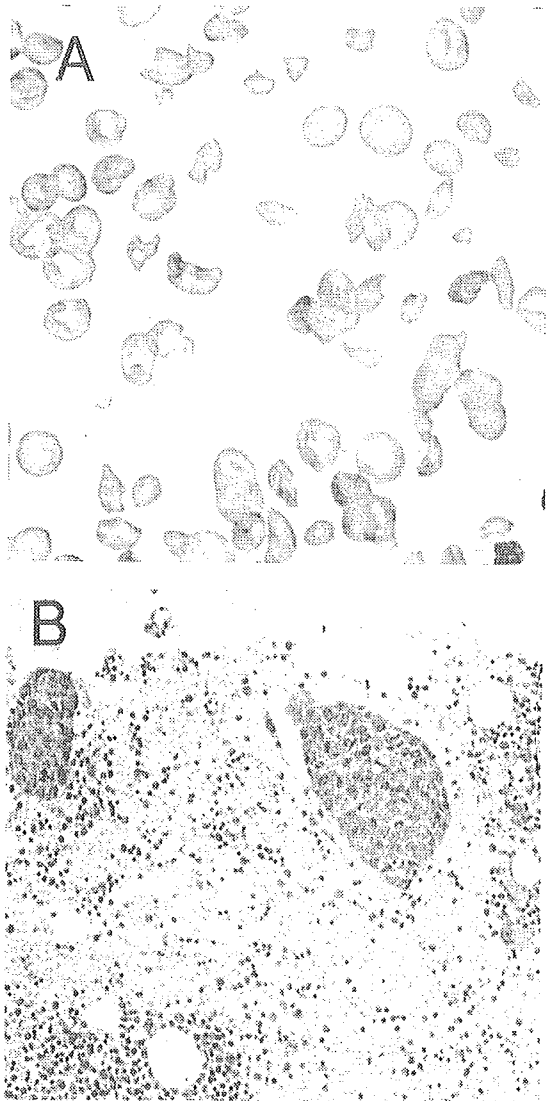
VWFM) も large VWF multimer (L-VWFM) も認めなかった (Fig. 3)。TTP 診断時の凝固系は PT11.8秒, フィブリノーゲン332mg/dl で正常, FDP は10μg/dl (基準値10μg/dl 以下) で, ほぼ正常で DIC の診断基準は満たさなかった。TTP

に対する治療として血漿輸注とステロイドパルス療法を行ったが, 症状が改善しないため3日後に血漿交換を行った。血漿交換を施行しても意識障害など症状の増悪を認めたため骨髄穿刺を再検したところ骨髄クロット標本で, PAS 染色陽性の腺癌のネストを認め骨髄癌腫症と診断された (Fig. 2B)。入院時の骨髄穿刺ではクロットを行わず, 癌細胞は認めていなかった。クロット標本は, 6年前の胃癌病理組織像に矛盾しない所見であり, 胃癌の骨髄転移が強く示唆された。その後, 5FU の投与を行ったが効果なく, 患者は入院後47日目に死亡した。

**II. 考 案**

VWF は主に血管内皮細胞から分泌されるが, 分泌されて間もない VWF は非常に大きな UL-VWFM と呼ばれる。UL-VWFM は比活性が高く, 高い粘り応力がかかる部位では, 血小板と反応して血小板血栓を形成する。しかし, 通常は ADAMTS13によって UL-VWFM は切断され, 通常サイズの VWF に調節されている。ADAMTS13活性が著減している TTP 患者では, UL-VWFM が存在することで血小板血栓が形成され, 臓器虚血により症状が引き起こされると考えられている<sup>7)</sup>。

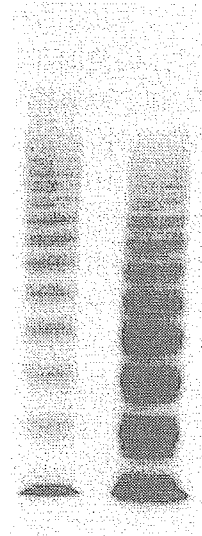
TTP を ADAMTS13活性で分類すると, 酵素活性が著減する定型的 TTP と正常から中等度の低下の非定型的 TTP がある。定型的 TTP では, ほとんどの症例で ADAMTS13 に対するインヒビ



**Fig. 2** A : Peripheral blood smear showed red blood cell fragmentation (May-Giemsa stain,  $\times 400$ ).  
 B : Clot of bone marrow aspiration showed the nest of adenocarcinoma. Periodic-acid-Schiff (PAS) staining with diastase digestion ( $\times 50$ ).

ターを認め、血漿交換やステロイド治療に良く反応し予後が良い<sup>8)</sup>。それに対して非定型的 TTP では、インヒビターは存在せず、血漿交換などの治療に反応せず予後が不良であると報告されている<sup>9)</sup>。この理由として、定型的 TTP においては、血漿交換によりインヒビターの除去、UL-VWFM の除去、ADAMTS13 の補充、正常サイズの VWFM の補充などの効果が認められると想定される。しかし、非定型的 TTP においても、メカニズムは解明されてはいないが、血漿交換は一定の効果が認められることもある。

一般に悪性腫瘍に合併した TTP では、血漿交



NP Pt (Feb 5, 2001)  
 VWF antigen 232%

Plasma von Willebrand factor (VWF) multimer was analyzed by SDS -0.9% agarose gel electrophoresis and luminographic detection. Patient showed very high VWF antigen level and absence of unusually large VWF multimer, even absence of large VWF multimer present in normal plasma (NP).

**Fig. 3** von Willebrand factor multimer analysis

換が無効であることより、非定型的 TTP であることが予想される。文献的には、TTP 症状には関係なく、転移のある悪性腫瘍症例では転移のない症例と比較して有意に ADAMTS13 活性が低下していることが示された<sup>10)</sup>。また、転移を認める悪性腫瘍患者に、血小板減少と MAHA を合併した 4 症例では、ADAMTS13 活性は 35%~84% と正常から軽度の低下に留まることが報告されている<sup>11)</sup>。本邦の悪性腫瘍合併 TTP 21 例の解析では、Intravascular lymphomatosis (IVL) のみが ADAMTS13 活性が 3% 未満に著減しており、3~25% が 9 例、26~50% が 8 例、50% 以上のほぼ正常が 3 例という結果であり、IVL 以外は非定型的 TTP であった<sup>12)</sup>。

本症例は、胃癌の手術後に貧血を認めたため巨赤芽球性貧血を疑ったが、結果的に古典的 5 徴候の存在により TTP と診断した。その後、TTP の基礎疾患の検索により、骨髄への転移・再発が明らかになった。ADAMTS13 活性は 56% と低下しておらず、非定型的 TTP であり、予想通り血漿交換やステロイド治療に無効で死亡された。TTP 診断時の VWF 抗原は 232% と増加していたが、マルチマー解析では UL-VWFM だけでなく、健

常人でも存在するL-VWFMも存在しなかった。L-VWFMの欠損は、定型的TTPの急性期にも認められる現象で、血小板血栓の形成による消費の可能性が高いが、血小板から分泌されるcalpainなどのプロテアーゼによるVWFの分解の可能性もある<sup>7)</sup>。本症例のTTPの発症機序として、抗がん剤や腫瘍細胞由来のサイトカインなどによる血管内皮細胞障害が原因の1つとして考えられた。

悪性腫瘍の経過観察中に原因の明らかでない血小板減少や溶血性貧血を認めた場合、TTPも鑑別診断の1つとして考慮すべきであると思われた。

### 文 献

- 1) Moschcowitz, E.: Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries; a hitherto undescribed disease. Proc NY Pathol Soc, 24: 21-24, 1924.
- 2) Zheng, X. L. et al.: Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood, 103: 4043-4049, 2004.
- 3) British Society of Haematology: Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias. Br J Haematol, 120: 556-573, 2003.
- 4) Matsumoto, M. et al.: The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Semin in Hematol, 41: 68-74, 2004.
- 5) Tsai, H. et al.: Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med, 339: 1585-1594, 1998.
- 6) Van der Plas, R. M. et al.: von Willebrand factor proteolysis is deficient in classic, but not in bone marrow transplantation-associated, thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood, 93: 3798-3802, 1999.
- 7) Fujimura, Y. et al.: von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman syndrome. Int J Hematol, 75: 25-34, 2002.
- 8) Furlan, M. et al.: von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. N Engl J Med, 339: 1578-1584, 1998.
- 9) Mori, Y. et al.: Predicting response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura with measurement of vWF-cleaving protease activity. Transfusion, 42: 572-580, 2002.
- 10) Oleksowicz, L. et al.: Deficient activity of von Willebrand's factor-cleaving protease in patients with disseminated malignancies. Cancer Res, 59: 2244-2250, 1999.
- 11) Fontana, S. et al.: Microangiopathic haemolytic anaemia in metastasizing malignant tumors is not associated with a severe deficiency of the von Willebrand factor-cleaving protease. Br J Haematol, 113: 100-102, 2001.
- 12) Kawahara, M. et al.: Diffuse neurodeficits in intravascular lymphomatosis with ADAMTS13 inhibitor. Neurology, 63: 1731-1733, 2004.

# アルコール性肝炎における ADAMTS13と von Willebrand 因子の 動態—重症度との関連—

奈良県立医科大学第三内科

松山 友美 植村 正人 石川 昌利 藤本 正男 小嶋 秀之  
櫻井 伸也 石井 禎庸 浪崎 正 豊原 眞久 山崎 正晴  
吉治 仁志 山尾 純一 福井 博

奈良県立医科大学輸血部

松本 雅則 石指 宏通 加藤 誠司 藤村 吉博

飛鳥病院精神科

瀧村 力

## 1. はじめに

アルコール性肝炎, 特に重症アルコール性肝炎 (severe alcoholic hepatitis; SAH) は, 劇症肝炎に類似し, 肝性脳症, 肺炎, 急性腎不全, 消化管出血などの多臓器不全を合併し, 多くは1ヶ月以内に死亡する予後不良な疾患である<sup>1)~3)</sup>. その成因として, 肝網内系機能不全と腸管の透過性亢進に基づくエンドトキシン血症が, 各種サイトカイン血症の引き金となり, 全身炎症性反応 (systemic inflammatory response syndrome; SIRS), 微小循環障害を惹起させ, 肝不全や多臓器不全に至らしめると考えられている<sup>3)~6)</sup>.

一方, 近年止血因子である von Willebrand 因子 (VWF) を特異的に切断する酵素 ADAMTS13 (A Disintegrin-like And Metalloproteinase domain, with Thrombospondin type-1 motif 13) が血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の発症との関連で注目されている<sup>7)~10)</sup>. ADAMTS13

は, 血管内皮細胞で産生され血中に放出された超高分子量 VWF マルチマー (UL-VWFM) を分解する<sup>7)~10)</sup>. 本酵素は主に肝臓で産生されるメタロプロテアーゼであるが, 最近我々はこの酵素が肝臓の hepatic satellite cells (肝星細胞) で産生されることを明らかにした<sup>11)</sup>. 本酵素が低下した病態では, UL-VWFM が切断されず血小板 GPIb 受容体と反応し, 血小板微小凝集塊を形成する結果, 血小板減少とともに諸臓器の微小循環障害が惹起される<sup>7)~10)</sup>.

現在まで, 肝疾患において本酵素活性を検討した報告は少ない. 肝硬変では ADAMTS13 活性は低下する<sup>12)</sup>が, 我々は肝硬変において本酵素活性は肝予備能の低下に伴って著明に低下すること, この酵素活性の低下は, 肝腎症候群, 肝性脳症, 貧血, 血小板減少, 脾腫大の程度と密接に関連することを指摘した<sup>13)</sup>. また, 胆道閉鎖症において, 肝移植前に低下していた ADAMTS13 活性が移植後には正常レベルにまで回復することを

## Plasma activity of ADAMTS13 and von Willebrand factor antigen in patients with alcoholic hepatitis - Relationship to severity of liver disturbance.

Tomomi Mstsuyama<sup>1)</sup>, Masahito Uemura<sup>1)</sup>, Masatoshi Ishikawa<sup>1)</sup>, Masanori Matsumoto<sup>2)</sup>, Hiromichi Ishizashi<sup>2)</sup>, Seiji Kato<sup>2)</sup>, Masao Fujimoto<sup>1)</sup>, Hideyuki Kojima<sup>1)</sup>, Shinya Sakurai<sup>1)</sup>, Hironobu Ishii<sup>1)</sup>, Tadashi Namisaki<sup>1)</sup>, Masahisa Toyohara<sup>1)</sup>, Masaharu Yamazaki<sup>1)</sup>, Hitoshi Yoshiji<sup>1)</sup>, Jyunichi Yamao<sup>1)</sup>, Yoshihiro Fujimura<sup>2)</sup>, Chikara Takimura<sup>3)</sup>, Hiroshi Fukui<sup>1)</sup>. <sup>1)</sup>Third Department of Internal Medicine, and <sup>2)</sup>Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University. <sup>3)</sup>Asuka Hospital, Department of Psychiatry.



報告している<sup>14)</sup>。さらに、アルコール性肝炎、特に重症アルコール性肝炎において、ADAMTS13活性が著減し、多臓器不全の進展に参与する可能性を指摘した<sup>15)</sup>。今回は、ADAMTS13活性のみならずその基質であるVWF抗原を測定し、本酵素と基質の両面からアルコール性肝炎の病態との関連性を検討した。

2. 対象と方法

(1) 対象

対象はアルコール性肝炎 (AH) 23例, 重症アルコール性肝炎 (SAH) 5例である (表1)。このうち、AHの9例, SAHの全例は肝硬変を合併していた。SAHはAHに比し、血清総ビリルビン、白血球数、好中球数、血清クレアチニンが高く、血清アルブミン、プロトロンビン活性、ヘモグロビン、血小板数が低値であった (表1)。なお、SAH 5例中3例が死亡した。

表1 入院時検査所見

	アルコール性肝炎 (AH)	重症アルコール性肝炎 (SAH)
Age	52.5 (23-67)	41.0 (30-61)
Sex (MF)	2/12	4/1
T.Bil (mg/dl)	3.9 (0.3-24.0)	13.5** (8.0-27.7)
AST (IU/L)	199 (40-673)	320 (67-709)
ALT (IU/L)	135 (25-407)	87 (30-165)
γ-GTP (IU/L)	672 (37-2022)	472 (81-1000)
Alb. (g/dl)	4.1 (2.3-4.9)	2.7** (1.8-3.0)
PT (%)	88 (58-100)	36*** (23-40)
WBC (/mm <sup>3</sup> )	7598 (3000-17100)	13020** (6500-23600)
Neutrophil (/mm <sup>3</sup> )	4629 (1462-9167)	11345** (3220-25004)
Hb (g/dl)	13.3 (9.1-17.0)	9.0*** (7.3-11.1)
Plat. (x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	16.6 (6.9-27.9)	8.8** (2.8-16.4)
CRP (mg/dl)	1.2 (0.1-13.8)	4.2 (0.5-12.2)
Cr (mg/dl)	1.0 (0.6-1.8)	3.5*** (0.4-8.0)
肝硬変合併	9	5

(2) ADAMTS13活性およびVWF抗原の測定

全例入院時 (AH, SAH 極期) に ADAMTS13活性, VWF抗原を測定し、うちAHの6例, SAHの3例で経過を追って測定した。

ADAMTS13活性は Furlanらの方法を改変して測定した<sup>8)</sup>。すなわち、被検血漿をPMSF, Ba, 尿素存在下に、プロテアーゼ free VWFと直接混和し、37℃の恒温槽で反応させ、24時間後、EDTAで反応を停止させた。続いて、アガロースゲル電気泳動にて分離後、western blotを行い、ペルオキシダーゼ標識抗ヒトVWF抗体で反応させ、ルミノール化学反応後、X線フ

ィルムに転写させた。健常人60例 (男性30例, 女性30例, 年齢20-39才)の本酵素活性は、102±23% (mean±SD) (n=60)であり、健常者の平均値-2SDに満たない50%以下を低値と評価した<sup>16)</sup>。

VWF抗原の測定は、抗ヒトVWF抗体 (Dako)を用いたELISA法およびローレル法にて行い、健常人54例 (男性30例, 女性24例, 年齢20-39才)の測定値は100±53% (mean±SD)であった。

3. 結果

(1) 入院時 (極期) の ADAMTS13活性およびVWF抗原

AH 極期の ADAMTS13活性は高低幅広く分布したが、平均62±33%と健常者 (103±23%)に比し有意に低値を示した (p<0.01) (図1)。SAHでは、24±22%とAHに比してさらに低値 (p<0.02)であり、特に多臓器不全を合併し死亡した3例の酵素活性は、それぞれ4.5%, 5.0%,

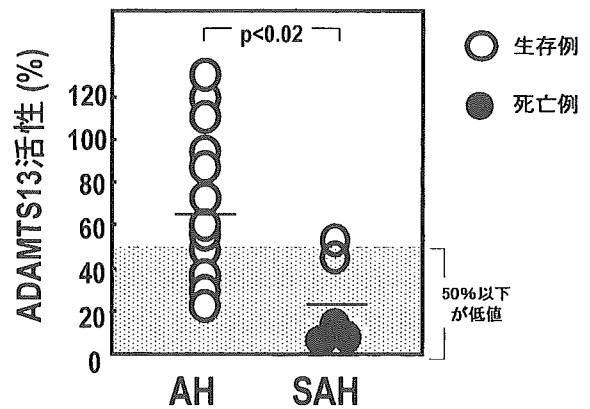


図1 アルコール性肝炎における ADAMTS13活性

表2 SAH5例の入院時血液所見と合併症

脳症	腹水	腎不全	DIC	肺炎	心不全	予後	ADAMTS13 (%)	VWF抗原 (%)	VWF抗原/ADAMTS13
1	II	+	+	+	+	死亡 (61日)	4.5	940	209
2	III	+	+	+	+	死亡 (2日)	5.0	1800	360
3	III	+	+	+	+	死亡 (6日)	16.0	560	35
4	-	+	+	+	-	生存 (30日*)	52.0	940	18
5	-	+	-	-	-	生存 (90日*)	44.0	880	20

Age/Sex	T.Bil. (mg/dl)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	Alb. (g/dl)	PT (%)	WBC (/mm <sup>3</sup> )	Hb (g/dl)	Plat. (x10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	CRP (mg/dl)
1 61 M	8.0	368	78	955	2.7	38	5000	7.3	2.8	12.2
2 35 M	13.8	709	165	1000	1.8	27	9900	8.2	6.3	2.7
3 42 M	24.3	292	123	225	2.5	36	26600	8.2	16.4	2.7
4 30 M	8.0	119	63	145	3.1	39	14800	11.1	4.9	1.5
5 38 F	11.4	340	97	181	3.0	38	8300	10.3	13.5	1.7

\*T.Bil.が正常化するまでの期間

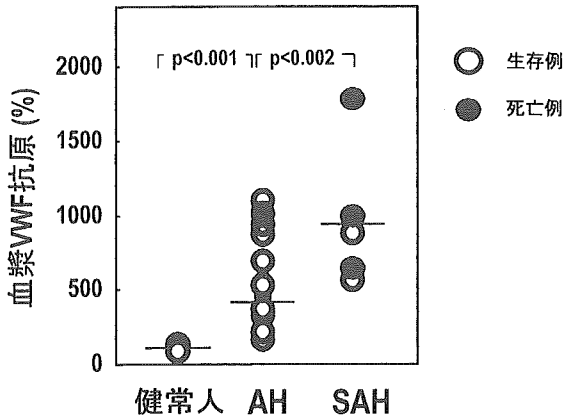


図2 アルコール性肝炎における VWF 抗原

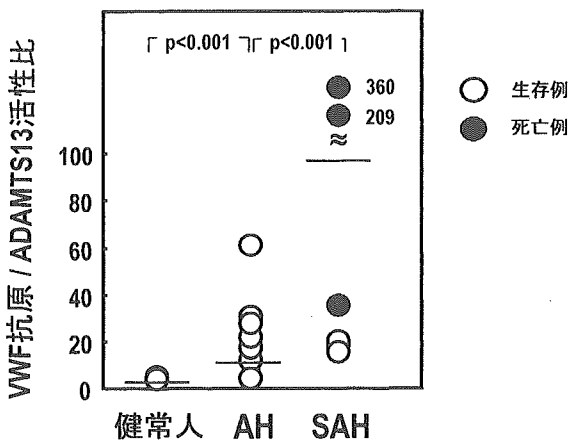


図3 血漿 VWF 抗原/ADAMTS13活性化

16.0%と著しい低値を示した(図1, 表2). SAH 生存例2例の本酵素活性は52%, 44%と軽度低下に留まった.

VWF 抗原は, AH 極期では $483 \pm 286\%$ と健常人の約5倍高値であり, SAH では平均 $1024 \pm 462\%$ とAHに比しさらに高値を示し, 健常人の約10倍にまで増加していた(図2, 表2).

以上, アルコール性肝炎ではADAMTS13活性の低下, VWF 抗原の増加が観察されたことから, 酵素活性に対する基質の比率, すなわちVWF 抗原/ADAMTS13活性比を検討した. この比は, 健常人では $1.0 \pm 0.6$ であるのに対し, アルコール性肝炎極期では $12.8 \pm 14.0$ と約10倍高値であり, SAH 極期では $128 \pm 152$ と約100倍高値を示し, 特にSAH 死亡例において著明に上昇していた(図3, 表2).

(2) 経過観察例のADAMTS13活性およびVWF 抗原

ADAMTS13活性は, SAH の回復期には上昇

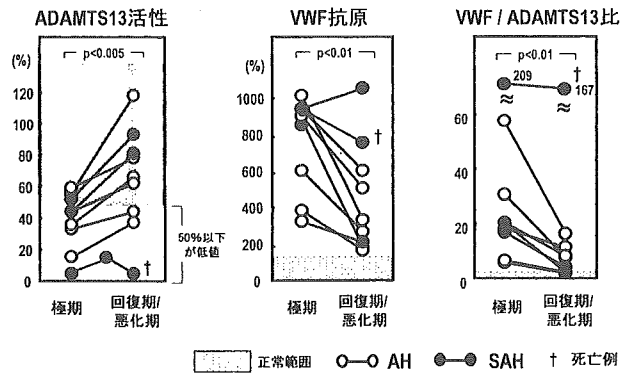


図4 ADAMTS13活性とVWF 抗原の変化

し, AHの2例を除き正常範囲に復した(AH:  $41 \pm 16\% \rightarrow 68 \pm 29\%$ ,  $p < 0.02$ , SAH:  $52\% \rightarrow 93\%$ ,  $44\% \rightarrow 81\%$ ). 一方SAH 死亡例の1例では, 活性は一旦軽度上昇するものの最終的には著減した( $4.5\% \rightarrow 12.0\% \rightarrow 4.5\%$ ) (図4左).

VWF 抗原は, AH, SAH の回復期には1例を除き全例で低下したが, 健常者に比し未だ高値を示した(AH:  $589 \pm 335\% \rightarrow 448 \pm 259\%$ ,  $p < 0.01$ , SAH:  $880\% \rightarrow 175\%$ ,  $940\% \rightarrow 1050\%$ ). 一方, SAH 死亡例では軽度低下するものの健常者の約8倍の高値に留まっていた( $940\% \rightarrow 750\%$ ) (図4中).

VWF 抗原/ADAMTS13活性比は, AH, SAH の回復期に低下したが, 健常者に比し未だ高値であった(AH:  $23.4 \pm 20.5 \rightarrow 6.6 \pm 5.4$ ,  $p < 0.05$ , SAH:  $20.0 \rightarrow 2.2$ ,  $18.1 \rightarrow 11.3$ ). 一方, SAH 死亡例では健常者に比べ著しい高値を持続した( $209 \rightarrow 167$ ) (図4右).

(3) SAH 5例の臨床所見とADAMTS13, VWF 抗原との関係

症例1~3は入院時, 肝性脳症II~III度で, 腹水を認め, 腎不全, 肺炎, 心不全ならびにDICを合併し, 多臓器不全の様相を呈した(表2). これら3例は来院時, 循環不全をきたしており, 血漿交換療法を施行し得ず, 症例1は入院61日後, 症例2は2日後, 症例3は6日後に死亡した. これらの例ではADAMTS13活性の著減, VWF 抗原の著増ならびにVWF 抗原/ADAMTS13活性比の著しい上昇が認められた. 症例4は, 腎不全, DIC, 肺炎を合併したが, 脳症はみられず, VWF 抗原は著増しているもののADAMTS13活

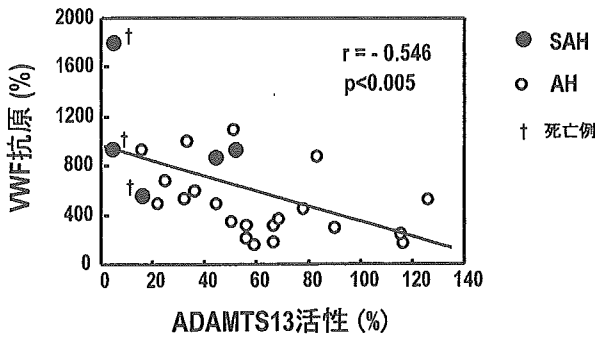


図5 ADAMTS13活性とVWF抗原の関係

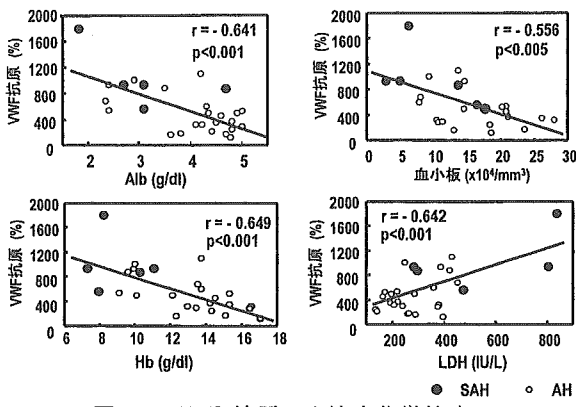


図6 VWF抗原と血液生化学検査

性は比較的保たれており、持続透析濾過療法を6回施行し、FOY投与にて入院30日後に回復した。症例5は腹水を中等量認めたが、多臓器不全の合併は見られず、入院90日後に血清総ビリルビンが正常化した(表2)。

(4) ADAMTS13活性、VWF抗原および臨床データとの関係

AH, SAH 極期において、ADAMTS13活性とVWF抗原との間には負の相関関係がみられた ( $r = -0.546$ ,  $p < 0.005$ ) (図5)。この際、SAHの中でも本酵素活性が著減し、VWF抗原が著増する症例の予後は不良であった(図5)。また、VWF抗原は、アルブミン ( $r = -0.641$ ,  $p < 0.001$ )、血小板 ( $r = -0.556$ ,  $p < 0.005$ ) およびヘモグロビン ( $r = -0.649$ ,  $p < 0.001$ ) と負の相関関係、LDHと正の相関関係 ( $r = -0.642$ ,  $p < 0.001$ ) にあった(図6)。

4. 考 察

既報の如く<sup>15)</sup>、AH極期のADAMTS13活性は、健常者に比し低下しており、特に多臓器不全を合併して死亡したSAH例では本酵素活性は著減し

ていた(図1)。一方、今回検討した本酵素の基質であるVWF抗原は、AH極期では健常人の約5倍、SAHでは約10倍にまで著増し、結果としてVWF抗原/ADAMTS13活性比は、AH極期では健常者に比べ約10倍、SAH極期では約100倍高値であり、特にSAH死亡例では著しい高値を示した(図3, 図5)。経過観察例では、ADAMTS13活性は、AH, SAH生存例とも回復期には増加するのに対し、SAH死亡例では著減すること、VWF抗原は、AH, SAH生存例では回復期には低下するものの、SAH死亡例では未だ高値を示し、結果としてVWF抗原/ADAMTS13活性比は、SAH死亡例では健常者に比べ著しい高値を示した(図4)。これらの結果は、AH, 特にSAHにおけるADAMTS13活性とVWF抗原の動態は、アルコール性肝炎の重症度と密接に関連し、予後の指標になる可能性を示唆している。

近年、血漿ADAMTS13活性は、TTPの発症との関連で注目をされており、本酵素活性が著減すると、UL-VWFMが切断されず、血小板とUL-VWFMが微小凝集塊を形成し、諸臓器の微小循環障害が惹起される<sup>7-10)</sup>。その結果、高度な血小板減少、腎障害、動揺性精神障害、溶血性貧血、発熱のいわゆるMoschowitzの5徴候に代表されるTTPを来すとされている<sup>17)</sup>。一方、SAHでは、高率にみられるエンドトキシン血症が、各種サイトカイン血症の引き金となり、全身炎症性反応と微小循環障害を引き起こし、肝不全とともに多臓器不全をもたらすと考えられている<sup>3)-6)</sup>。今回、多臓器不全を合併したSAH死亡例ではADAMTS13活性は典型的TTPに匹敵する程度にまで著減し、VWF抗原は著増しており、VWF抗原/ADAMTS13活性比は著しい高値を示したことから、SAH死亡例は凝血学的にはTTPと類似した病態を呈しており、ADAMTS13の著減とVWFの著増はSAHにおける多臓器不全の進展に関与している可能性がある。さらに、アルコール性肝障害、特にSAHでは軽度から高度のveno-occlusive disease (VOD)が高頻度に観察され<sup>18), 19)</sup>、VODが高度な症例ほど、腹水が高度であるという<sup>18)</sup>。我々は

既に造血幹細胞移植後の VOD 合併例は非合併例に比べ ADAMTS13 活性が著明に低下しており、移植前の酵素活性が VOD 発症の予測につながることを見出しており<sup>20)</sup>、今回の成績は SAH における VOD 発症機序の解明にも繋がるものと考えられる。

ところで、アルコール性肝障害の発症、進展に肝微小循環障害の関与が考えられており、肝細胞腫大、線維化形成による肝類洞の狭小化<sup>4),5)</sup>、著明な血管収縮作用を有するエンドセリンと血管拡張作用を有する NO の不均衡<sup>21)</sup>、肝星細胞の収縮亢進<sup>22)</sup>などが想定されている。ADAMTS13 が肝星細胞で主に産生されることが明らかとなった<sup>11)</sup>が、類洞内皮細胞は類洞壁を覆い、篩板状小孔 (sinusoidal endothelial fenestration; SEF) を介して類洞と肝細胞間の物質交換の制御ならびに類洞血流を調節する役目を担っている<sup>23)</sup>。肝障害により Disse 腔に線維化が起ると、類洞内皮細胞直下に基底膜が形成され、SEF の数の減少、直径の縮小がみられ、類洞内皮細胞の毛細血管化を来す<sup>24),25)</sup>。アルコール性肝障害では、毛細血管化した類洞内皮細胞に早期より ADAMTS13 の基質である VWF 抗原の産生がみられること<sup>26),27)</sup> から、AH、特に SAH における ADAMTS13 活性の著明な低下と VWF の著増は、肝類洞内微小循環障害の一因となり、肝細胞障害を増悪させる可能性がある。

ADAMTS13 活性が、各種臨床パラメータのうち血清ビリルビン値と CRP に密接に関連することは既に報告した<sup>11)</sup>が、今回 VWF 抗原が血清アルブミン、血小板、ヘモグロビンと負の相関、LDH と正の相関関係にあったことは興味深い (図 6)。ADAMTS13 活性が炎症所見が著しい肝予備能低下例で低値を示し、VWF 抗原が肝予備能低下例のみならず血小板減少と貧血が高度な例で高値を示したことは、本酵素とその基質がアルコール性肝炎の病態の進展ならびに重症度と密接に関連して変動することを示唆するものである。

AH において本酵素活性が減少する原因は明らかではないが、アルコールの ADAMTS13 活性に対する直接作用、基質である VWF、UL-VWFM の増加による ADAMTS13 の消費、イン

ヒビター (自己抗体) の出現あるいは各種サイトカインの関与などが想定される。我々は進行した肝硬変に合併した TTP では、ADAMTS13 活性の著明な低下と IgG 型のインヒビターの存在を確認している<sup>28)</sup>が、最近 IL-6 が ADAMTS13 の作用を抑制し、IL-8, TNF $\alpha$  が UL-VWFM の放出を増強させることが報告され、炎症性サイトカインと ADAMTS13 の動態との関連が注目されている<sup>29)</sup>。アルコール性肝炎では、これらサイトカインが高度に上昇し、特に TNF $\alpha$ , IL-8 は AH の重症度と相関し、死亡例では著増を示す<sup>3),30),31)</sup>ことから、今後サイトカインと ADAMTS13 活性、VWF および UL-VWFM の動態ならびに本酵素のインヒビターの有無などについてアルコール性肝炎の病態との関連のもとにさらに検討していく必要がある。

## 文 献

- 1) 高田 昭, 奥平雅彦, 大田康幸, 他. アルコール性肝障害に対する新しい診断基準案の提案. 肝臓 34: 888-896, 1993.
- 2) 堀江義則, 石井裕正. 重症型アルコール性肝炎の全国調査. 日消誌. 99:1326-1333, 2002.
- 3) Ishii K, Furudera S, Kumashiro R, et al. Clinical and pathological features. and the mechanism of development in severe alcoholic hepatitis. especially in comparison with acute type fulminant hepatitis. Alcohol Alcohol 1B:97-103. 1993.
- 4) Menon KV, Gores GJ, Shah VH. Pathogenesis. diagnosis. and treatment of alcoholic liver disease. Mayo Clin Proc 76:1021-92, 2001.
- 5) 池島健一, 佐藤信敏. アルコール性肝障害の発生機序. 肝胆障. 40:35-42, 2000.
- 6) Fukui H, Brauner B, Bode JC, et al. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay. J Hepatol 12:162-169. 1991.
- 7) Tsai H-M, Lian ECY. Antibody to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. New Engl J Med 339: 1585-1594, 1998.
- 8) Furlan M, Robles R, Solenthaler M, et al. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood 89:3097-3103, 1997.

- 9) Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H, et al. von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman syndrome. *Progress in Hematology. Int J Hematol* 75:25-34, 2002.
- 10) 藤村吉博. VWF 切断酵素 (ADAMTS13) の動態解析による TTP/HUS 診断法の進歩. *日本内科学雑誌* 93:451-459, 2004.
- 11) Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, et al. Stellate cells produce ADAMTS13 in human liver. *Blood* (in press). 2005.
- 12) Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, et al. Changes in health and disease of the metalloproteinase that cleaves von Willebrand factor. *Blood* 98:2730-2735, 2001.
- 13) 植村正人, 松本雅則, 石指宏通, 他. 慢性肝疾患における von Willebrand 因子 (vWF) および超高分子量 vWF multimer の動態. *肝臓*;45:Supplement 1. A83, 2004.
- 14) Matsumoto M, Chisuwa H, Nakazawa Y, et al. Living-related liver transplantation rescues reduced vWF-cleaving protease activity in patients with cirrhotic biliary atresia. *Blood* 96:636a (abstr.), 2000.
- 15) Uemura M, Matsuyama T, Ishikawa M, et al. Decreased activity of plasma ADAMTS13 may contribute to the development of liver disturbance and multiorgan failure in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* (in press), 2005.
- 16) Mori Y, Wada H, Gabazza EC, et al. Predicting response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura with measurement of vWF-cleaving protease activity. *Transfusion* 42:572-80. 2002.
- 17) Moschowitz E. Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proc NY Pathol Soc* 24:21-24, 1924.
- 18) Kishi M, Maeyama S, Iwaba A, et al. Hepatic veno-occlusive lesions with severe alcoholic hepatitis and alcoholic liver cirrhosis: A comparative histological study in autopsy cases. *Alcohol Clin Exp Res* 24; 74S-80S, 2000.
- 19) Goodman ZD, Ishak KG. Occlusive venous lesions in alcoholic liver disease: a study of 200 cases. *Gastroenterology*. 83; 786-796, 1982.
- 20) Park Y-D, Yoshioka A, Kawa K, et al. Impaired activity of plasma von Willebrand factor-cleaving protease may predict the occurrence of hepatic veno-occlusive disease after stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 29:789-794, 2002.
- 21) Oshita M, Takei Y, Kawano S, et al. Roles of endothelin-1 and nitric oxide in the mechanism for ethanol-induced vasoconstriction in rat liver. *J Clin Invest*. 91:1337-1342, 1993.
- 22) Itatsu T, Oide H, Watanabe S, et al. Alcohol stimulates the expression of L-type voltage-operated Ca<sup>2+</sup> channels in hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun* 251:533-537, 1998.
- 23) Wisse E, De Zanger RB, Charles K, et al. The liver sieve: consideration concerning the structure and function of endothelial fenestrated sinusoidal wall and the space of Disse. *Hepatology* 5; 683-692, 1985.
- 24) Mak KM, Lieveer CS. Alteration in endothelial fenestration in liver sinusoid of baboons fed alcohol: a scanning electron microscopic study. *Hepatology* 4; 386-391, 1984.
- 25) Horn T, Christofferson P, Henriksen J. Alcoholic liver injury: defenestration in non-cirrhotic livers—a scanning electron microscopic study. *Hepatology* 7; 77-82, 1987.
- 26) Urashima S, Tsutsumi M, Nakase K, et al. Studies on capillarization of the hepatic sinusoids in alcoholic liver disease. *Alcohol* 28:77-84, 1993.
- 27) Nanji AA, Tahan SR, Khwaja S, et al. Elevated plasma levels of hyaluronic acid indicate endothelial cell dysfunction in the initial stages of alcoholic liver diseases in the rat. *J Hepatol* 24:368-374, 1996.
- 28) Yagita M, Uemura M, Yamahara H, et al. Development of ADAMTS13 inhibitor in a patient with hepatitis C virus-related liver cirrhosis causes thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Hepatol* 42:420-421, 2005.
- 29) Bernardo A, Ball C, Nolasco L, et al. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood* 104: 100-106, 2004.
- 30) Mookerjee RP, Sen S, Davies NA, et al. Tumor necrosis factor alpha is an important mediator of portal and systemic haemodynamic derangements in alcoholic hepatitis. *Gut* 52:1182-1187, 2003.
- 31) Fujimoto M, Uemura M, Nakatani Y, et al. Plasma endotoxin and serum cytokine levels in patients with alcoholic hepatitis: Relation to severity of liver diseases. *Alcohol Clin Exp Res* 23:33S-38S, 2000.

## Evans 症候群を合併した Basedow 病

黒田裕行<sup>1</sup>, 木田雅也<sup>1</sup>, 渡辺秀樹<sup>1</sup>,  
松永卓也<sup>2</sup>, 新津洋司郎<sup>2</sup>, 松本雅則<sup>3</sup>

症例は60歳、女性。2004年10月にめまい感と全身倦怠感にて他医入院となった。心不全と重症貧血を指摘され、当院に紹介となった。直接クームステスト陽性の溶血性貧血と、PAIgGの上昇を伴う血小板減少を認め、自己免疫性溶血性貧血 (autoimmune hemolytic anemia, AIHA) と特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) を合併した Evans 症候群と診断した。さらに甲状腺機能亢進症を認め、抗 TSH receptor 抗体が上昇していたことから、Basedow 病と診断した。血漿交換に加えてステロイドとチアマゾールの併用投与を行うことにより、ともに病状が改善した。Basedow 病に AIHA または ITP などの血液疾患がしばしば合併することは知られているが、Evans 症候群の合併は稀であり報告する。  
(臨床血液 46 (10) : 1118 ~ 1122, 2005)

Key words : Basedow disease, Evans syndrome, Autoimmune hemolytic anemia, Idiopathic thrombocytopenic purpura, Association

### 緒 言

甲状腺機能亢進症に特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP) の合併が多いことは知られているが、Basedow 病に ITP と自己免疫性溶血性貧血 (autoimmune hemolytic anemia, AIHA) が合併した Evans 症候群を同時に併発した報告は稀である。われわれは急性心不全を契機に発見された Evans 症候群合併 Basedow 病の1例を経験したので文献的考察を併せて報告する。

### 症 例

患者：60歳、女性。

主訴：めまい感、全身倦怠感。

既往歴・家族歴・薬剤服用歴：特記事項なし。

現病歴：2004年10月12日にめまい感と全身倦怠感のため、近医に入院となった。同医で心不全と診断され、さらに高度の貧血 (Hb 5.8g/dl) を指摘され MAP 4 単位の輸血を施行された。また、黄疸と意識障害を認めたため、同年10月15日に当科へ紹介され入院となった。

入院時現症：身長 155cm, 体重 60kg, 体温 36.7℃。血圧 167/64mmHg, 脈拍 108/分・整。意識レベルは JCS (Japan Coma Scale) 2。結膜に貧血および黄疸と、眼球突出を認めた。前頸部に弾性軟のびまん性甲状腺腫を触知した。胸部聴診所見では胸骨左縁に収縮期駆出性雑音 Levine II°, 両下肺に湿性ラ音を認めた。肝脾および表在リンパ節は触知しなかった。皮膚は軽度湿潤し、顔面と下腿に浮腫を認めるも、出血斑はなかった。

入院時検査所見 (Table 1) : 末梢血では貧血および血小板減少を認め、網赤血球は 39.0% と増加していた。生化学検査では間接ビリルビンおよび ALP の上昇を認め、血清学検査で炎症所見を認めるもハプトグロビン値はむしろ低下していた。なお BNP 値は上昇し、ポリクローナルな免疫グロブリン増加を認めた。凝固線溶系検査では軽度の異常を認めるも、DIC の基準を満たさなかった。また、血液像では破碎赤血球を認めず、von Willebrand 因子切断酵素活性の中和抗体 (ADAMTS13 抗体) は検出感度以下であることが後に判明した。一方、直接クームス試験が陽性であり、さらに PAIgG 値が上昇していた。なお、骨髓検査では赤芽球系細胞が軽度過形成を呈し、巨核球の血小板産生像はほとんど認められなかった。以上から、AIHA および ITP の合併である Evans 症候群と診断した。一方で甲状腺ホルモンは Free T<sub>3</sub> 12.11pg/ml, Free T<sub>4</sub> 6.37ng/ml と高値を呈し、TSH は 0.015 μIU/ml と著明に低下していた。なお、サイロイドテスト 6400X, マイクロゾームテスト 1600X, 抗 TSH receptor 抗体

受付：2005年4月11日

受理：2005年6月2日

<sup>1</sup> 市立千歳市民病院消化器科

<sup>2</sup> 札幌医科大学第四内科

<sup>3</sup> 奈良県立医科大学輸血部

Table 1 Laboratory findings on admission

[Peripheral blood]		[Blood chemistry]		[Serology]	
RBC	366 × 10 <sup>4</sup> /μl	T-Bil	10.7 mg/dl	CRP	1.54 mg/dl
Hb	9.1g/dl	D-Bil	1.4 mg/dl	IgG	4053 mg/dl
Hct	30.0%	GOT	32 IU/l	IgA	558 mg/dl
MCV	81.9fl	GPT	24 IU/l	IgM	136 mg/dl
MCH	25.0pg	LDH	154 IU/l	D. Coombs	(++)
WBC	2900/μl	ALP	743 IU/l	I. Coombs	(-)
Neu	80.5%	BUN	19 mg/dl	Cold agglutinin	16X
Lym	18.1%	Cr	0.4 mg/dl	PAIgG	66.9 ng/10 <sup>7</sup> cells
Mono	1.0%	Hpt	42 mg/dl	Thyroid test	6400X
Eos	0.4%	TSH	0.015 mIU/ml	Microsome test	1600X
Bas	0.1%	F-T <sub>3</sub>	12.11 pg/ml	Anti-TSH-R	72.7%
Ret	39.0%	F-T <sub>4</sub>	6.37 ng/ml	ANA	(-)
Plt	8.2 × 10 <sup>4</sup> /μl	BNP	395.3 pg/ml	RF	(-)
				Parvovirus B19	
				IgM	(-)
				IgG	(+)
[Urinalysis]		[Coagulation]		[Myelogram]	
pH	8.0	PT-INR	1.49	NCC	13.4 × 10 <sup>4</sup> /μl
Protein	(-)	APTT	40.2 sec	Mgk	94/μl
Glucose	(-)	Fib	132 mg/dl	M/E ratio	2.01
Occult blood	(-)	FDP	8.1 μg/dl	Blasts	0.6%
Urobilinogen	(++)	AT-III	52.0%	Granulocytes	58.4%
Sediment		ADAMTS13 activity		Lymphocytes	12.0%
WBC	(+++)		20.0%	Erythroblasts	29.0%
		ADAMTS13 antibody			
			< 0.5 Bethesda/ml		

72.7%と上昇しており、Basedow病と診断した。それ以外の自己抗体については調べ得た範囲で全て陰性であり、またSLEの合併はなかった。胸部CT検査では心胸郭比の拡大と肺うっ血および著明な右側胸水を認めた (Fig. 1)。さらに頸部CT検査で甲状腺腫大を認めた。

臨床経過 (Fig. 2) : 転院直後、発熱、軽度の意識障害、溶血および血小板減少を認め、血栓性血小板減少性紫斑病が否定できず、入院同日から血漿交換を施行した。心不全の治療に加えて、Evans症候群に対してメチルプレドニゾロン 1g/日のステロイドパルス療法を行った。またBasedow病の確定診断後にチアマゾールの併用投与を開始した。上記の治療により、貧血および血小板減少の改善が認められ、甲状腺ホルモン値も低下したため、プレドニゾロンおよびチアマゾールを漸減し2004年12月5日に退院となった。

### 考 察

Basedow病とEvans症候群の合併は稀であり、今回

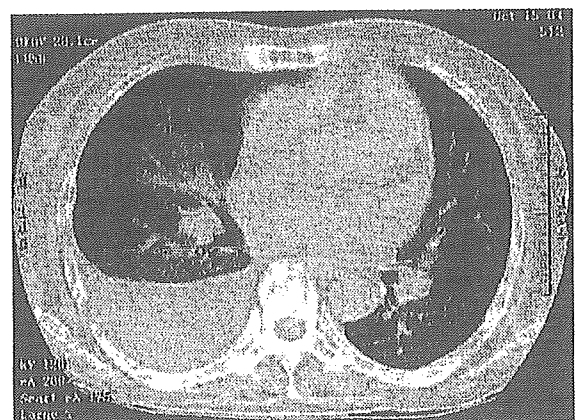


Fig. 1 Computed tomography (CT) of the chest on admission revealed pulmonary congestion and right-sided pleural fluid.

われわれが検索し得た限り本邦では過去20年間で自験例を含めて15例であった<sup>1-7)</sup> (Table 2)。両疾患の発症時期については、Evans症候群またはITPやAIHAの先

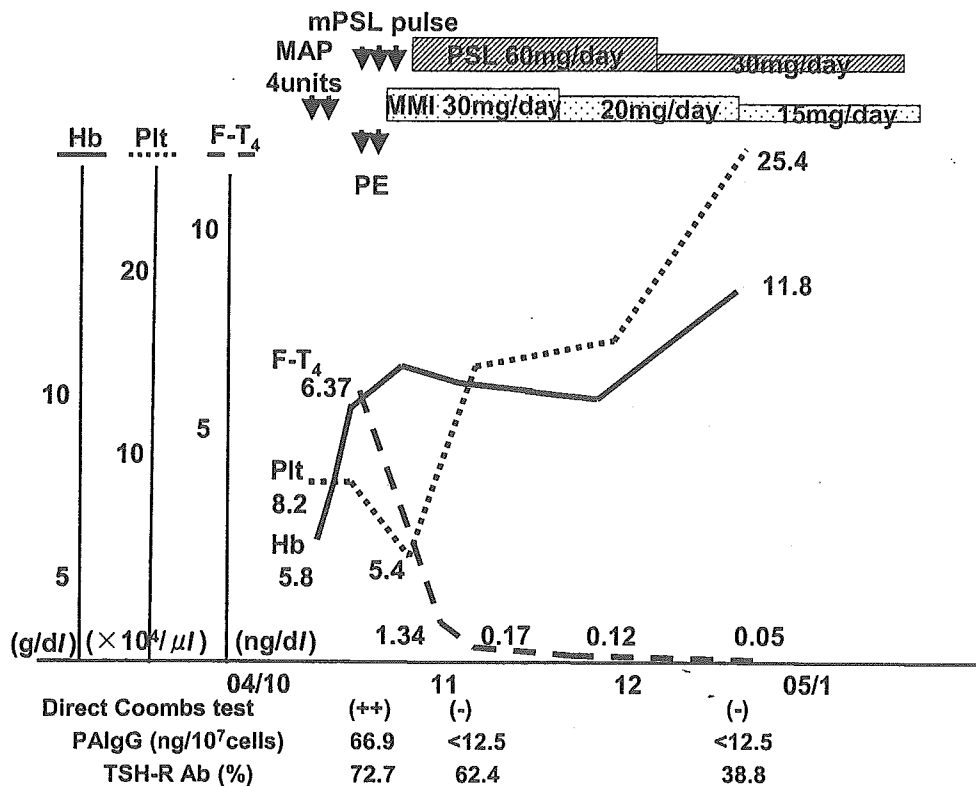


Fig. 2 Clinical course

MAP : red blood cell concentrates in mannitol-adenine-phosphate, mPSL : methylprednisolone, MMI : thiamazole, PAIgG : platelet-associated IgG, TSH-RAb : anti-thyroid stimulating hormone (TSH) receptor antibody.

Table 2 Japanese cases of Basedow Disease associated with Evans syndrome previously reported for the last twenty years

Year	Author	Age	Sex	TSH-RAb	Hb(g/dl)	Plt( $\times 10^4/ml$ )	Preceding disease	Therapy
1985	Itou M, et al	36	M	ND	10.4	2.6	AIHA	PSL+MMI
1988	Hiraoka N, et al <sup>1)</sup>	23	M	43.6%	12.4	4.2	same	PSL+MMI
1989	Sawada Y, et al	54	F	ND	7.8	12.6	same	PSL+MMI+IVIG
1991	Sakai H, et al <sup>2)</sup>	32	F	90.2%	6.3	0.4	ITP	PSL+MMI+IVIG
1993	Fujii S, et al	43	F	32.1%	ND	1.1	Evans	PSL+MMI
1995	Takayanagi N, et al <sup>3)</sup>	41	F	49.3%	5.7	0.2	same	PSL+MMI
1996	Yashiro M, et al <sup>4)</sup>	36	F	64.3%	10.3	0.1	Basedow	PSL+MMI
1997	Nakayama K, et al	53	F	ND	ND	ND	ITP	MMI
1997	Ishihara H, et al <sup>5)</sup>	46	M	92.1%	14.8	3.1	AIHA	PSL+MMI+ <sup>131</sup> I
1998	Koizumi M, et al	35	F	ND	ND	1.8	Basedow	PSL+MMI
2000	Muneta S, et al	51	F	ND	2.7	1.9	Basedow	PSL+ <sup>131</sup> I
2001	Ikeda K, et al <sup>6)</sup>	20	F	36.1%	5.7	8.9	Basedow	PSL+ <sup>131</sup> I
2002	Nojima H, et al	48	F	78.7%	3.4	1.1	same	PSL+MMI
2004	Muto J, et al <sup>7)</sup>	48	F	positive	9.3	33.4	Evans	PSL
2005	Our case	60	F	72.3%	5.8	8.2	same	PSL+MMI

ND : not described, TSH-RAb : anti-thyroid stimulating hormone-receptor antibody

PSL : prednisolone, MMI : thiamazole, IVIG : intravenous immunoglobulin, <sup>131</sup>I : sodium iodide



行が6例, Basedow病先行が4例であり, 同時期に診断されたものが5例であった。以上から両疾患が同時期に発症する例は少なく, 各々の疾患の経過観察中に他の疾患を合併する場合が多い傾向にあった。本症例では初診時に両疾患を認めたと, すでに甲状腺腫大と眼球突出を認めており, 少なくともBasedow病に長期間罹患していたことが推定された。しかし本症例におけるEvans症候群の発症時期は不明であるため, どちらの疾患が先行したのかは実際のところ明らかでない。

本症例では抗TSH receptor抗体・抗赤血球抗体・PAIgGが存在したことから, 甲状腺機能亢進症・溶血性貧血・血小板減少のそれぞれに免疫機序の関与が示唆された。ところでBasedow病とEvans症候群はともに臓器特異的なADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) 機序を介したII型アレルギーであることが知られている。両疾患の合併機序については未だ明らかにされていないが, 共通の免疫異常が背景にある可能性が推測されている<sup>4)</sup>。本症例の自己抗体が甲状腺・赤血球・血小板に対して交差反応を示すか検討していないが, 下袴田ら<sup>9)</sup>の報告にあるようにそれらの抗原性に違いあることから, 自験例の自己抗体が共通のエピトープを認識しているとは考え難い。一方でBasedow病とEvans症候群のそれぞれの発症時期が異なる症例も認められ<sup>2, 4, 6, 7)</sup>, またIkedaらの報告<sup>6)</sup>では病勢においても相違がみられた (Table 2)。このため両疾患の合併機序については, 共通した免疫異常が背景にある可能性は否定できないが, 膠原病の重複現象と同様に臓器特異的な自己抗体が併存した状態として解釈されてもよい<sup>9)</sup>。

さらにBasedow病を合併したEvans症候群の血球減少については, 別の要因も考えられている。まず, 甲状腺機能亢進に伴い網内系が賦活化され, 脾機能亢進による血球破壊によって血小板減少が引き起こされる機序が指摘されている<sup>10, 11)</sup>。また抗TSH receptor抗体はポリクローナルなIgGであり, 非特異的に赤血球表面にも付着することが報告されている<sup>12)</sup>。Basedow病に伴う循環血流量亢進により, 抗TSH receptor抗体の付着した赤血球が血小板同様に破壊されるため, 溶血が助長する可能性も推察されている<sup>13)</sup>。以上よりBasedow病を合併したEvans症候群では, 自己免疫学的機序とは別の要因も加わるため, 貧血や血小板数低下がより重篤化する可能性も考慮すべきであろう。

なおEvans症候群の先行例では, 甲状腺機能亢進症の合併によりステロイドの薬物代謝が促進されるため, 治療効果が減じて血球減少が進行することが推測されている<sup>5)</sup>。以上からBasedow病に合併したAIHAやITPの

治療については, ステロイド等の免疫抑制剤をできるだけ早期に開始すると同時に甲状腺機能の正常化を図ることが望ましいといわれている<sup>3)</sup>。実際, Evans症候群とBasedow病の合併例に対する治療については, これまでの14例中12例(85.7%)でプレドニゾロンとチアマゾールまたは無機ヨードの併用投与が施されていた (Table 2)。なお, 著明な血小板減少を合併した際の急性期の治療法として, 高用量グロブリン製剤を投与した報告も認められた<sup>2)</sup>。

Basedow病に併発したEvans症候群では, 自己免疫機序による貧血や血小板減少に加えて, 甲状腺機能亢進症それ自体に伴う血球減少を考慮して診療する必要があり, 興味深い症例と思われ報告した。

## 文 献

- 1) 平岡範也, 瀬戸口純子, 後藤功, ほか. Basedow病を伴ったEvans症候群の1例. 松仁会医誌. 1988; 27: 79-86.
- 2) 酒井裕幸, 本多光一, 富永仁, ほか. Evans症候群に合併したGraves病の1例. ホルモンと臨. 1991; 39増刊: 64-66.
- 3) 高柳典弘, 幸田久平, 松本修二, ほか. Evans症候群を合併したBasedow病の1例 本邦報告例5例の集計結果を加えて. 旭川赤十字病医誌. 1995; 9: 84-87.
- 4) Yashiro M, Nagoshi H, Kasuga Y, et al. Evans' syndrome associated with Graves' disease. Intern Med. 1996; 35: 987-90.
- 5) \* 石原宏尚, 津曲兼実, 清水妙子, ほか. Evans症候群を合併したバセドウ病の一例. 日内分泌会誌. 1996; 72: 831.
- 6) Ikeda K, Maruyama Y, Yokoyama M, et al. Association of Graves' disease with Evans' syndrome in a patient with IgA nephropathy. Intern Med. 2001; 40: 1004-1010.
- 7) 武藤潤, 鈴木布衣子, 木花いづみ, 一色郁子. 皮疹出現を契機にSLEと診断されたEvans症候群の1例. 臨床皮. 2004; 58: 221-223.
- 8) 下袴田陽子, 福田尚文, 篠原健次, 井上康. 同時期に発症したバセドウ病と自己免疫性溶血性貧血. 臨床血. 2001; 42: 328-331.
- 9) 黒田広生, 杉山紘子, 野坂英樹, ほか. 膠原病の重複例および主な合併疾患の検討. 臨床リウマチ. 2004; 16: 126-133.
- 10) Lamberg BA, Kivikangas V, Pelkonen R, Vuopio P. Thrombocytopenia and decreased life-span of thrombocytes in hyperthyroidism. Ann Clin Res. 1971; 3: 98-102.
- 11) Kurata Y, Nishioeda Y, Tsubakio T, Kitani T. Thrombocytopenia in Graves' disease: effect of T3 on platelet kinetics. Acta Haematol. 1980; 63: 185-190.
- 12) Sato A, Zakarija M, McKenzie JM. Characteristics of thyrotropin binding to bovine thyroid plasma membranes and the influence of human IgG. Endocr Res Commun. 1977; 4: 95-113.
- 13) Ogihara T, Katoh H, Yoshitake H, Iyori S, Saito I. Hyperthyroidism associated with autoimmune hemolytic anemia and periodic paralysis: a report of a case in which antihyperthyroid therapy alone was effective against hemolysis. Jpn J Med. 1987; 26: 401-403.

## Basedow disease associated with Evans syndrome

Hiroyuki KURODA<sup>1</sup>, Masaya KIDA<sup>1</sup>, Hideki WATANABE<sup>1</sup>, Takuya MATSUNAGA<sup>2</sup>, Yoshiro NIITSU<sup>2</sup>  
and Masanori MATSUMOTO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Division of Gastroenterology, Chitose City Hospital

<sup>2</sup>Fourth Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University

<sup>3</sup>Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University

---

Key words : Basedow disease, Evans syndrome, Autoimmune hemolytic anemia, Idiopathic thrombocytopenic purpura, Association

---

A 60-year-old woman was admitted to a hospital complaining of dizziness and general fatigue in October, 2004. Because of heart failure and severe anemia, she was referred to our hospital. Based on a positive direct Coombs test and an elevated level of platelet-associated IgG (PAIgG), the patient was diagnosed as having autoimmune hemolytic anemia (AIHA) associated with idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP), i.e., Evans syndrome. Basedow disease was also diagnosed due to hyperthyroidism with an elevation of anti-thyroid stimulating hormone (TSH) receptor antibodies. Both the Evans syndrome and Basedow disease were considerably ameliorated with plasma exchange, corticosteroid and thiamazole therapy. Although Basedow disease is known to be associated with hematological disorders such as AIHA or ITP, the combination of Basedow disease and Evans syndrome is rare. We report here a case of Basedow disease associated with Evans syndrome. (Jpn J Clin Hematol 46 (10) : 1118 ~ 1122, 2005)