

したが、HELLP 症候群の診断にて妊娠 8ヶ月で死産した。2002 年に第二子妊娠し、妊娠 33 週に血小板減少のため ITP と診断され、帝王切開にて健児を得た。

この姉妹も、2003 年に ADAMTS13 活性著減およびインヒビター陰性から、USS と診断された。

家系 O

両親に出血症状、血栓症の既往はない。

症例(O-4)：1958 年生。新生児重症黄疸、小児期の血小板減少は認めない。1984 年第一子を妊娠した。妊娠 23 週目に鼻出血、血小板減少 (20,000/μℓ) がみられ、ITP と診断された。妊娠 25 週時に経膈分娩となったが、2 日後に新生児は死亡した。その後、母親は意識が消失し、溶血性貧血がみられ、TTP と診断された。血漿交換を行い、症状は改善した。その後、1ヶ月に一度の血漿輸注が必要となった。FFP の定期輸注を続けながら、1989 年第 2 子を妊娠した。妊娠中も 1-2 週に一度の FFP 定期輸注を続けた。妊娠 20 週以降には FFP から高分子量分画を

分離し、3-7 日間隔で投与しながら、妊娠 33 週に経膈分娩で健児を得た¹⁹⁾。その後も、現在まで 3-4 週に一度の FFP 定期輸注を続けている。

この症例は、2005 年に ADAMTS13 活性の著減とインヒビター陰性が確認され、USS と診断された。

家系 X

両親に出血症状、血栓症の既往はない。

症例(X-4)：1982 年生まれ。新生児期に重症黄疸はなし。生後 8ヶ月時に全身に紫斑があり、アレルギー性紫斑病と診断されているが、無治療であった。以降 4、5 才まで、発熱を伴った感冒時には四肢に紫斑を認めたが、一日程度で消失した。2005 年第一子を妊娠したが、妊娠 23 週から血小板減少が出現し、ITP として経過観察されていた。妊娠 30 週に頭痛出現し、妊娠 31 週で胎動が消失した。胎児死亡が確認され、帝王切開で娩出した。その後、血小板減少 (14,000/μℓ) と意識障害を含む TTP の 5 徴候が出現し血漿交換、ステロイド治療を行った。この時、ADAMTS13 活性が著減しておりインヒビ

Table1 (症例のまとめ)

家系	患者	既往歴	妊娠回数	妊娠週数	分娩 (治療)	遺伝子異常のドメイン	現在の治療
K	姉 (K-3)	ITP	1	24	帝切、死産	Dis/Cys	FFP 定期輸注
	妹 (K-4)	新生児重症黄疸 血小板減少	1	29	帝切、生児 (FFP)	Dis/Cys	FFP 定期輸注
L	姉 (L-2)	不詳	1	28	死産	MP/Cub-2	なし
			2	37	帝切、生児 (Asp)		
			3	37	帝切、生児 (Asp)		
			4(双胎)	32	帝切、生児 (Asp)		
妹 (L-3)	血小板減少	1	25	死産	MP/Cub-2	なし	
		2	24	死産			
M	姉 (M-3)	不詳	1	20	流産	MP/Dis	なし
	妹 (M-4)	不詳	1	28	死産	MP/Dis	なし
2			33	帝切、生児			
O	O-4	不詳	1	25	新生児死亡	MP/Tsp1-5	FFP 定期輸注
			2	33	経膈分娩 (FFP)		
X	X-4	アレルギー性紫斑病	1	31	帝切、死産	MP/Spacer	FFP 定期輸注

ITP: idiopathic thrombocytopenic purpura, FFP: fresh frozen plasma, Asp: low dose aspirin

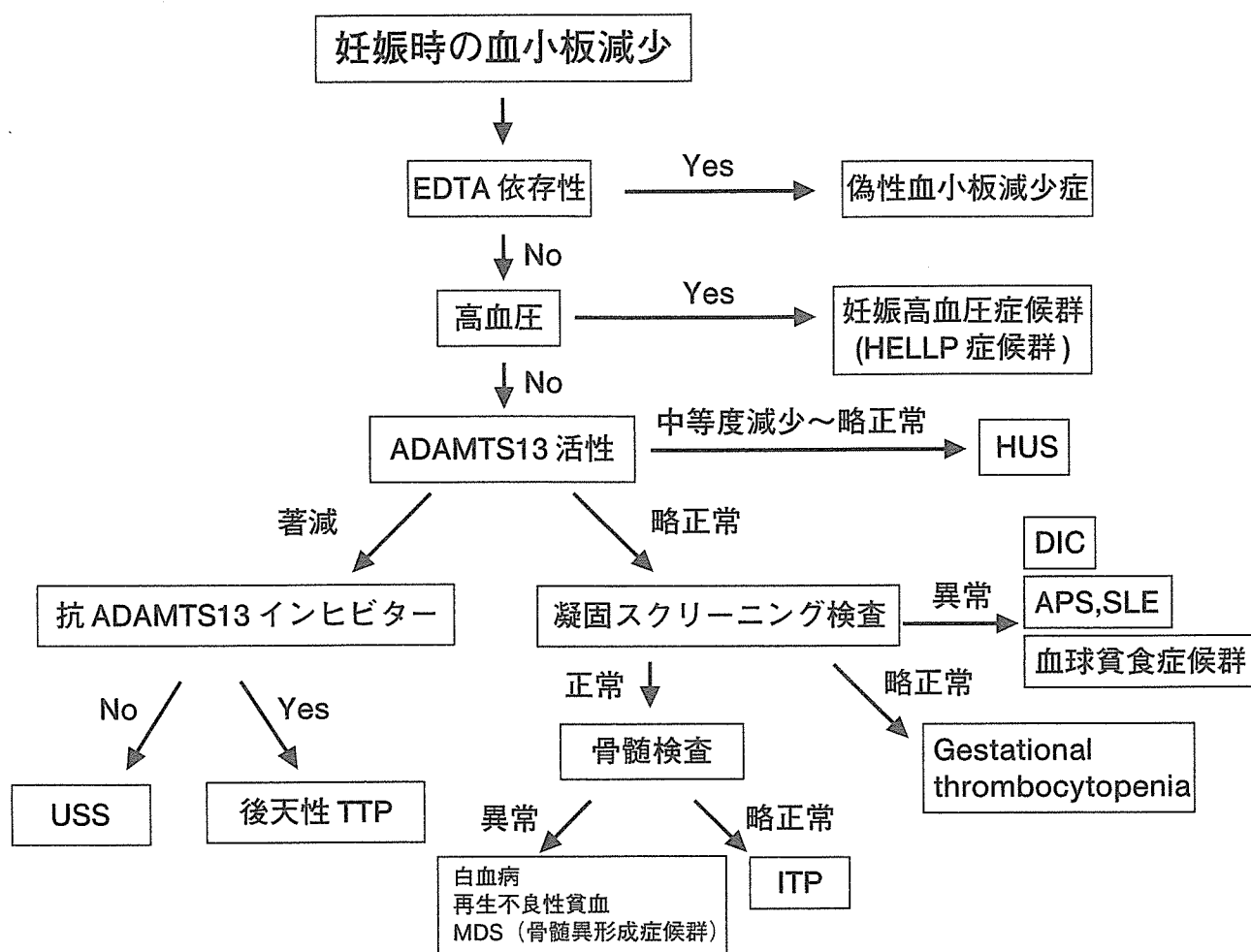


Figure 4. Differential diagnosis of thrombocytopenia during pregnancy

注) ウイルス感染症や薬剤性のものを除外して診断を進める。診断に際しては貧血や溶血の有無、肝機能、腎機能、血液凝固系検査等を参考にする。多胎妊娠では血小板数減少を来すことが多いので注意する。また、Gestational thrombocytopenia では、アンチトロンビン活性低下を伴うことがある。

HELLP: hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count ; HUS: hemolytic uremic syndrome ; USS: Upshaw-Schulman syndrome ; TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura ; ITP: idiopathic thrombocytopenic purpura ; DIC: disseminated intravascular coagulation ; APS: antiphospholipid syndrome ; SLE: systemic lupus erythematosus

ターが存在しないことから、USSと診断され、以降、定期的な FFP の投与が必要となっている。

症例のまとめ (Table 1)

上記の5家系8症例は、妊娠時の症状から初めてUSSと診断されているが、既往歴を詳細に検討すると血小板減少を認める症例が多い。また、全例、妊娠初期には血小板数は正常であるが、妊娠20週以降に血小板減少が明らかとなり、妊娠20～30週で流早産、子宮内胎児死亡および死産に至っている。

これらの症例のTTP発作時には、5徴候全部が出現するものもあるが、当初2徴候に始まり、病状が進行するに従い、5徴候が出現してくる傾向にある。また、発作時の血圧は全例正常であることより、HELLP症候群とは鑑別可能と思われる。8症例14回の妊娠のうち、健児を得ているのは4症例6回の妊娠である。このうち、USS患者でありながら、双子を含む4人の健児を得ている家系Lの姉は、世界的にも極めて稀な症例であると思われる。この症例は、アスピリンを内服しながら健児を得ており、その作

用機序は現在のところ不明であるが興味深い。家系M妹は、血小板減少を認めたが、予防的治療がなされずに2回目の妊娠で健児を得ている。家系Kの妹、および家系O患者はFFPの定期輸注を行いながら健児を得ている。現段階では、USS症例の妊娠維持のためには、FFPの予防投与が最も確実な方法であると考えられる。しかし、輸血感染症などの問題もあり、今後の検討が必要である。

遺伝子解析の結果は、全例で責任遺伝子変異が確認されたが、Figure 2に示すように特にhot spotと呼べるドメインは存在せず、新生児期から発症する典型的なUSSと同様の結果であった。8症例とも、初妊以前はFFPの定期輸注は受けていなかったが、妊娠後にFFPの定期輸注が必要となった症例が4例あった。また、姉妹間の比較では、同じ遺伝子変異を持つUSSでありながら、TTPの重症度や妊娠経過などに相違があり、大変興味深い。

妊娠時の血小板減少症例の診断

今回報告した8症例は、妊娠時の症状によって初めてUSSと診断されているが、詳細な既往歴の聴取によって小児期に血小板減少を呈する症例が多いことが明らかとなった。このことから、今後、ITPをはじめとした血小板減少症の診断時には、ADAMTS13活性の測定が必須であると思われる。また、妊娠時のTTP発作の初期には、血小板減少以外の症状は認められなかったことから、妊娠経過中に血小板減少が認められた場合、早期にADAMTS13活性を測定することが重要である。USSを早期に診断することによって、症例L妹のように妊娠中であっても適切な妊娠管理を行い、健児を得ることも可能であることから、ADAMTS13活性を測定することなく、安易にITPやHELLP症候群と診断することは許されない。現段階での、我々の妊娠時血小板減少症の鑑別診断に関する考えをFigure 4に示す。

最近までは、ADAMTS13活性の測定には長時間を要し、どの施設でも簡便に測定できる方法はなかった。最近、FRET-S-VWF73²⁰⁾やELISA法を用いた簡便な測定法²¹⁾が開発され、数時間でADAMTS13活性を測定できるようになりつつある。

最後に

原因不明とされてきた反復性流産症例や妊娠時のITPと診断されている症例の中には、少なからずUSSが隠れている可能性がある。USSを見逃すことによって、胎児ばかりか母体にも危険が及ぶことになる。このような仮面を被った血小板減少症に注意していただき、早期にUSSと診断することで、母児ともに健康で生まれる症例が増えることを願っている。

追記：診断にお困りの血小板減少症例やADAMTS13活性測定法についてご質問がございましたら、奈良県立医科大学附属病院輸血部のホームページ<http://www.naramed-u.ac.jp/~trans/flame.html>を参照していただき、我々に御連絡下さい。

文献

- 1) Moschcowitz E. Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proc NY Pathol Soc* 1924;24: 21-4.
- 2) Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R. Hämolytisch-urämische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. *Schweiz Med Wochenschr* 1955; 85: 905-9.
- 3) Furlan M, Robles R, Galbusera M, Rumuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, Krause M, Scharrer I, Aumann V, Mittler U, Solenthaler M, Lammle B. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998; 339: 1578-84.
- 4) Tsai HM, Lian ECY. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1998; 339: 1585-94.
- 5) Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H, Yoshioka A, Matsui T, Titani K. von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman

- syndrome. In : *Progress in Hematology. Int J Hamatol* 2002 ; 75 : 25-34.
- 6) Matsumoto M, Kawaguchi S, Ishizashi H, Yagi H, Iida J, Sakaki T, Fujimura Y. Platelets treated with ticlopidine are less reactive to unusually large VWF multimers than are those treated with aspirin under high shear stress. *Pathophys Haemost Thromb* 2005 ; 35 : 35-40.
 - 7) Schulman I, Pierce M, Lukens 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.
 - 8) Upshaw J.D. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1978 ; 298 : 1350.
 - 9) Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colannino NM, Azocar J, Seder RH, Hong SL, Deykin D. Unusually large plasma factor VIII : von Willebrand" factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Eng J Med* 1982 ; 307 : 1432-5.
 - 10) Furlan M, Robles R, Solenthaler M, Wassmer M, Sandoz P, Lammle B. Deficient activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1997 ; 89 : 3097-103.
 - 11) 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 : 101-8.
 - 12) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, Sarode R, Shurin SB, Chandrasekaran V, Stabler SP, Sabio H, Bouhassira EE, Upshaw JD, Ginsburg D, Tsai HM. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001 ; 413 : 488-94.
 - 13) Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, Yagi H, Ishizashi H, Funato M, Tamai H, Konno M, Kamide K, Kawano Y, Miyata T, Fujimura Y. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002 ; 99 : 11902-7.
 - 14) Matsumoto M, Kokame K, Soejima K, Miura M, Hayashi S, Fujii Y, Iwai Y, Ito E, Tsuji Y, Takeda-Shitaka M, Iwadate M, Umeyama H, Yagi H, Ishizashi H, Banno F, Nakagaki T, Miyata T, Fujimura Y. Molecular characterization of ADAMTS13 gene mutations in Japanese patients with Upshaw-Schulman syndrome. *Blood* 2004 ; 103 : 1305-10.
 - 15) Uchida T, Wada H, Mizutani M, Iwashita M, Ishihara H, Shibata T, Suzuki M, Matsubara Y, Soejima K, Matsumoto M, Fujimura Y, Ikeda Y, Murata M. Identification of novel mutations in ADAMTS13 in an adult patient with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004 ; 104 : 2081-3.
 - 16) Shibagaki Y, Matsumoto M, Kokame K, Ohba S, Miyata T, Fujimura Y, and Fujita T. Novel compound heterozygote mutations (H234Q/R1206X) of the ADAMTS13 gene in an adult patient with Upshaw-Schulman syndrome showing predominant episodes of repeated acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant. (in press)* 2006.
 - 17) Brenner B, Zwang E, Bronshtein M, Seligsohn. Von Willebrand factor multimer patterns in pregnancy-induced hypertension. *Thromb Haemost* 1989 ; 62 : 715-7.
 - 18) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y. The Japanese experience with TTP/HUS. *Semin Hematol* 2004 ; 41 : 68-74.

- 19) Koyama T, Suehiro A, Kakishita E, Taira S, Isojima S, Norioka M, Ito K. Efficacy of the High molecular weight fraction of plasma for the maintenance of pregnancy associated with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* 1990 ; 35 : 179-83.
- 20) 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.
- 21) Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y. Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion (in press)* 2006.

◆特集：血栓症治療の最前線◆

TTP の診断と治療の進歩

松本雅則*

Recent progress in diagnosis and treatment of TTP

Masanori MATSUMOTO*

Key words: TTP, TMA, ADAMTS13, UL-VWFM



松本雅則

1989年3月 自治医科大学卒業
 1989年5月 奈良県立奈良病院 研修医
 1991年4月 奈良県立医科大学 第二内科入局
 1991年5月 十津川村国保小原診療所 所長
 1993年7月 奈良県立奈良病院内科医員
 1995年7月 十津川村国保上野地診療所 所長
 1997年7月 奈良県立奈良病院内科・輸血部医長
 1999年7月 奈良県立医科大学輸血部 助手
 2004年7月 奈良県立医科大学輸血部 講師

血栓性血小板減少性紫斑病 (Thrombotic Thrombotic Purpura: TTP) は、最近になって病態が明らかにされたことにより、注目を集めている疾患であるが、その歴史は古く、80年以上も前の1924年にニューヨークの医師 Eli Moschcowitz¹⁾ によってはじめて報告された。その症例は、16歳の女性で、上肢の脱力感を主訴として発症し、貧血、発熱、さらに上下肢の不全麻痺、顔面神経麻痺を認め、肺水腫を伴い、約1週間の経過で死亡した。病理解剖により、心、肝、腎の細動脈、毛細血管に多数の硝子様血栓が認められ、それまでに報告のない特異な症例であったので、翌年正式な症例報告がなされている²⁾。その中でTTPに対するDr. Max Ledererの治療法が既に紹介されている。Dr. Ledererは原因不明で臨床的に上記と同様な4症例を経験し、全例1回の輸血によって治療に成功したとのことであった。輸血量が不明であるので、その効果については判断できないが、血漿交換のない時代の治療法の中では、最善の治療法であったと思われる。

その後、1959年にRubensteinら³⁾によって、新鮮血による交換輸血の劇的な効果が報告された。1977年には、Bukowskiら⁴⁾は、TTP治療

で全血の代わりに血漿を使用し、有効であった2症例を報告した。当時の血漿交換は、3~6単位の血漿で行われたが、その後、血漿交換の自動機器の発達にともない、多量の血漿を交換できる時代となった。そして、1991年のCanadian Apheresis Groupによる報告⁵⁾によって、血漿交換の有用性が確立された。血漿交換が導入される前には、TTPの致死率は90%を越えており⁶⁾、交換輸血によっても半数しか効果は認めなかったが、血漿交換の導入によって80%の生存率が得られるようになった。

しかし、TTPの病因が不明であったため、この血漿交換の劇的な効果の理由を説明できない時代が長く続いた。1996年、von Willebrand因子 (VWF) 切断酵素 (別名ADAMTS13) の活性測定法が開発⁷⁾⁸⁾され、TTP患者では本酵素活性が著減していることが明らかとなり、血漿交換をはじめとしたTTP治療法の効果が説明可能となった。

TTPとは

TTPは、古典的5徴候と呼ばれる血小板減少、溶血性貧血、腎機能障害、発熱、精神神経

* 奈良県立医科大学 輸血部 (〒634-8522 橿原市四条町840)

Nara Medical University Department of Blood Transfusion Medicine (840 Shiyo-cho, Kashihara City, Nara 634-8522, Japan)
 Tel: 0744-22-3051 Fax: 0744-29-0771 e-mail: mmatsumo@naramed-u.ac.jp

症状が有名である。しかし、5徴候がすべてそろうのは稀であるため、原因不明の血小板減少と溶血性貧血を認めれば、鑑別疾患の1つとしてTTPを思い浮かべることが重要である。また、血小板減少、溶血性貧血、腎不全を3徴候とする溶血性尿毒症症候群 (Hemolytic Uremic Syndrome: HUS)⁹⁾も鑑別が必要である。従来より、精神神経症状を認めればTTP、腎機能障害が重症であればHUSと診断される傾向があるが、TTPの35%に精神神経症状を認めないとの報告⁵⁾もあり、臨床的に両者を鑑別することは困難な場合が多い。このような背景から、TTP/HUSや血栓性微小血管障害症 (Thrombotic Microangiopathy: TMA)¹⁰⁾と両者を総称する名前が好んで用いられることがある。

1998年にFurlanら¹¹⁾、そしてTsaiら¹²⁾によって、ADAMTS13活性を測定することでTTPとHUSの鑑別が可能であることが報告された。彼らによれば、ADAMTS13活性は、TTP患者では著減しており、HUS患者ではほぼ正常であること、また、後天性TTP患者は、IgG型の自己抗体 (インヒビター) の存在によってADAMTS13活性が低下しており、後天性TTPは自己免疫疾患であることが示された。

UL-VWFM と ADAMTS13

ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13) は、VWFを特異的に切断する酵素である。VWFは血管内皮細胞や骨髄巨核球で産生されるが、血管内皮細胞で産生されたVWFは内皮細胞内のWeibel-Palade体にいったん蓄積され、刺激によって血液中に放出される。VWFは、2,050アミノ酸残基からなる1つのサブユニットが、ジスルフィド (SS) 結合することによって、多重体 (マルチマー) という特徴的な構造をとっている。血漿VWFは分子量500kDaから15,000kDaに至る幅広い範囲の様々なマルチマー構造を持っている。サブユニ

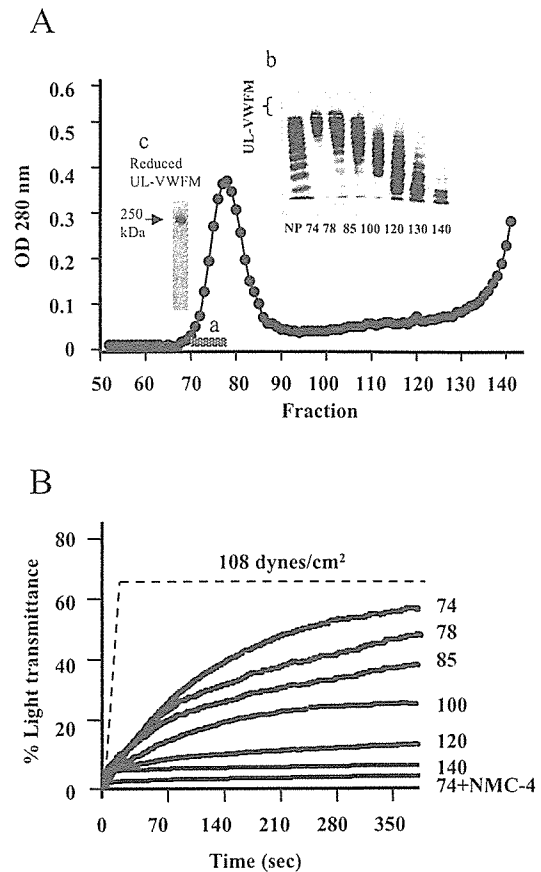


図1 VWFのマルチマーサイズ依存性の高ずり応力下血小板凝集

- A. Sepharose 4B カラムによる VWF の分離. a: UL-VWFM (unusually-large VWF multimers) の位置. b: VWF マルチマー解析. 74 と 78 に UL-VWFM を認めた. c: 還元条件下での VWF の精製度の確認. 250kDa の 1 本のバンドのみであった.
- B. 高ずり応力下の血小板凝集. 正常人の洗浄血小板に精製した VWF を加えて解析した. VWF の分子量が大きいほど、強い凝集を認めた.
- (文献 13 より引用)

ットが幾重にも重合した超巨大分子構造を持ったVWFは、UL-VWFM (unusually large-VWF multimer) と呼ばれ、血管内皮細胞から放出されて間もないVWFと考えられており、通常血漿中には存在しない。マルチマー構造が大きいほど生物学的比活性も高いことが知られており (図1)¹³⁾、UL-VWFMが血漿中に存在することは、血栓症のリスクとなる。また、UL-VWFMは高ずり応力によって形態が変化し、大動脈などの比較的低ずり応力の生じている部位では、分子が非伸展構造 (球状) をとり非活性型である。細小動脈や毛細血管などの高ずり応力の発

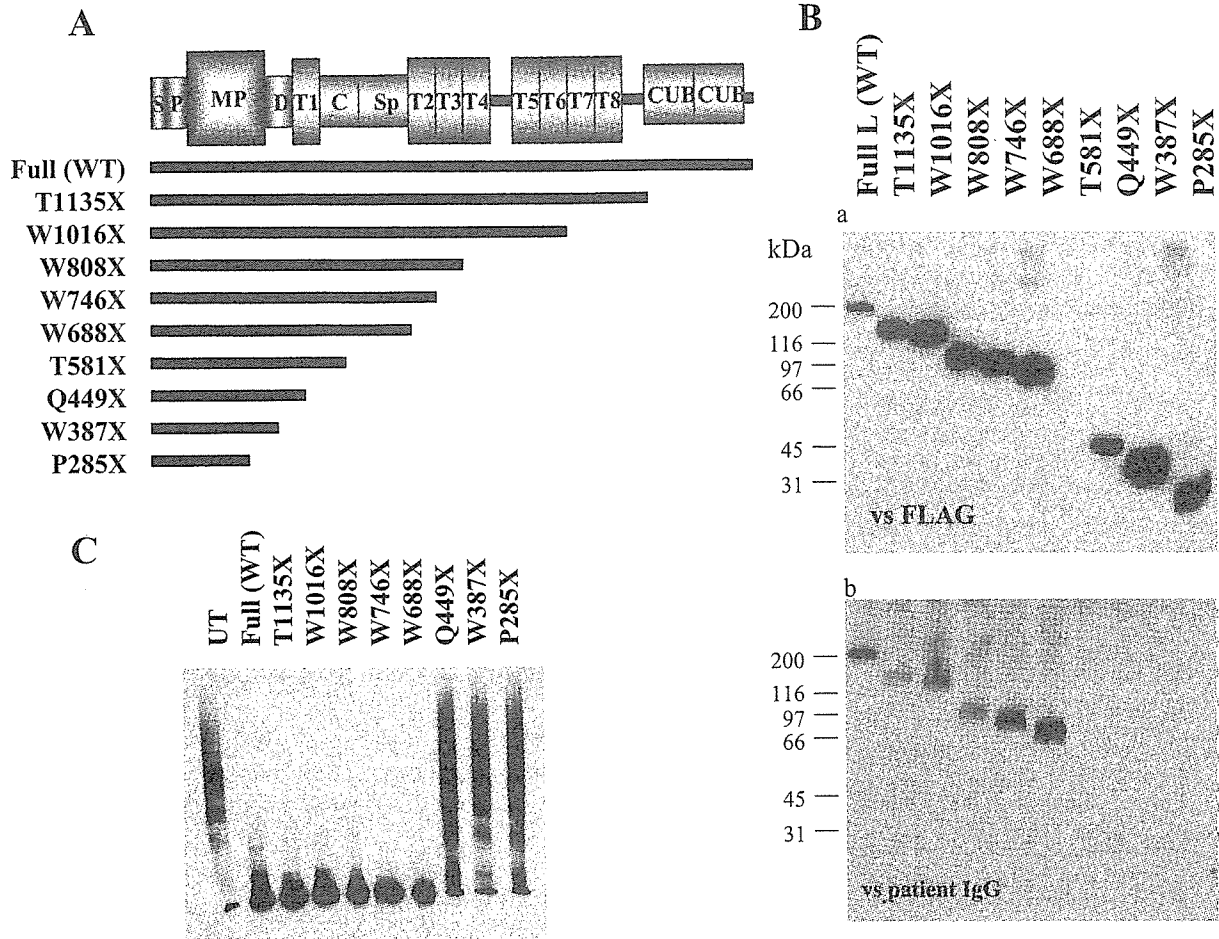


図2 ADAMTS13 構造とドメインの機能解析

- A. ADAMTS13 のマルチドメイン構造と C 末端欠損体の部位. ADAMTS13 は, マルチドメイン構造を取っている. S: シグナルペプチド P: プロペプチド MP: メタロプロテアーゼドメイン D: ディスインテグリン様ドメイン C: システインリッチドメイン Sp: スペーサードメイン T: TSP1 モチーフ
- B. HeLa 細胞発現上清のウエスタンブロット (WB). a: 発現上清を電気泳動し, WB にて抗 FLAG 抗体と反応. T581X 以外はすべて上清に分泌されている. b: 後天性 TTP 患者血漿から IgG を精製し, WB にて反応. W668X まで反応し, Q449X では反応しないことから, 自己抗体の認識部位は C/Sp であることが判明した.
- C. 発現上清中の ADAMTS13 活性測定. 精製した VWF に発現上清を加えて 24 時間切断反応を行った. C/Sp を持たないと ADAMTS13 活性を消失している. (文献 14 参照)

生する部位では UL-VWFM 分子の立体構造が変化し, 活性型の伸展構造に転ずる. よって, UL-VWFM は高ずり応力にさらされる部位では, 血小板凝集を起こし病的血栓の原因となると考えられる.

UL-VWFM 依存性の血小板血栓形成を防止するために, VWF マルチマーサイズを減少させる働きをするのが, ADAMTS13 である. しかし, TTP 患者では, 本酵素活性が低下するので, UL-VWFM が血漿中に蓄積する. それによって, ずり応力が強い細動脈や毛細血管で

血小板血栓が形成され, 冒頭に紹介した Moschcowits の症例に認められた病理所見が観察される.

ADAMTS13 は, 図 2A に示すようにマルチドメイン構造をとっている. それぞれのドメインの働きは十分解明されていないが, Soejima ら¹⁴⁾ は, ADAMTS13 の C 末端からドメインを 1 つずつ欠損した変異体に FLAG タグを付け, HeLa 細胞で発現し, ドメインの機能解析を行った. 図 2B の a のように ADAMTS13 変異体は発現上清に分泌され (T581X を除く), 上清

中のADAMTS13活性を測定した(図2C). その結果, Thrombospondine type-1 (T) の2番目まで欠損しても, Wild type (WT) と同様に酵素活性が認められたが, Cys-rich (C) と Spacer (Sp) ドメインを欠損すると酵素活性が消失した. このことより, C/Sp ドメインがADAMTS13酵素活性発現に重要な働きをしていることが示された. さらに, 10例の後天性TTP患者血漿よりIgGを精製し, 自己抗体の認識部位を同定した. ウェスタンブロット(WB)で反応した4例すべてがC/Spドメインに自己抗体の認識部位があることが判明した(図2B).

ADAMTS13 活性測定法

現在では, TTPの確定診断には, ADAMTS13活性およびそのインヒビターの測定は, 必須の検査となっているが, ごく最近まで, この検査はどの施設でも簡便に行える検査ではなかった. 最近, ADAMTS13によって切断されるVWFの最小基質が, A2ドメインの73アミノ酸(VWF73)であることがKokameらによって同定され¹⁵⁾, 簡便な方法が相次いで報告された.

ADAMTS13活性測定法は, ADAMTS13が同定される以前から, VWFを切断する酵素活性として測定されてきた. 1996年に報告された古典的な方法は, 精製したVWFを基質として使用し, Ca^{2+} や Ba^{2+} などの2価の陽イオンと尿素やグアニジン塩酸などの蛋白変成剤入りの反応液に被検血漿を加えて, 37°Cで長時間反応後, SDS-ポリアクリルアミドゲル⁶⁾やアガロースゲル⁷⁾を用いて電気泳動し, 解析するものであった. その後, コラーゲン結合能による方法¹⁶⁾, サンドイッチELISA法¹⁷⁾, リストセチン惹起血小板凝集を用いた方法¹⁸⁾などの簡便な方法が報告されたが, 広く普及するには至らなかった.

2004年にKokameら¹⁵⁾は, GSTとHisを付加した蛋白(GST-VWF73-His)を大腸菌で発現させ, ADAMTS13で切断される最小基質を同定した. GST-VWF73-Hisを基質として用い

た場合, 蛋白変成剤は不要で, 反応時間は約1時間と短時間で切断反応が可能であった. 当初WBで活性を定量する方法を用いたが, 他の研究者から同様の基質を用いたELISAが報告された^{19) 20)}. その後, Kokameらは, 原法を改良して, VWF73に蛍光基と消光基を導入したFRET-S-VWF73を用いたADAMTS13活性測定法を開発した²¹⁾. この方法は, 非常に簡便であり, 世界中のラボで広く使用されている.

臨床医としての立場からFRET-S-VWF73の問題点として, TTP患者を治療する病院には蛍光測定器が無い場合が多く, ベットサイドでの診断には適していなかった. そこで, 我々は, ベットサイドで診断可能な方法として, 高感度ELISAの開発を行った. まず, VWF-A2ドメインの切断部位:Tyr1605-Met1606が, ADAMTS13によって切断後に露出するTyr1605を特異的に認識するモノクローナル抗体を作成した(N10-146). この抗体を用いて, 通常のELISA機器で対応でき, 簡便で迅速に結果の得られるADAMTS13活性測定法を確立した²²⁾. この方法は, 約3時間で結果が得られ, 検出感度は正常の0.5%で, 従来法が3~5%であることより, 迅速なTTPの診断のみではなく, 今後TTPの病態解明に寄与することが期待される.

TTPの分類(表1)

TTPは, 先天性と後天性に大別され, 先天性にはADAMTS13遺伝子異常によってADAMTS13活性が著減するUpshaw-Schulman症候群(USS)²³⁾と原因不詳の症例²⁴⁾がある. 原因不詳例は, Factor Hなどの補体調節因子の異常が予想されるが, 本邦ではまだ報告が無い. 後天性には, 基礎疾患のない特発性と膠原病, 造血幹細胞移植, 悪性腫瘍, 薬物などと関連して発症する二次性が存在する. 我々の検討²⁵⁾では, 特発性やチクロピジンなどによる薬物性の場合にはADAMTS13活性が著減し, インヒビターを認めることが多く, 定型的TTPと呼んでいる.

表1 TMA の ADAMTS13 による分類

	基礎疾患	ADAMTS13 活性	ADAMTS13 インヒビター	分類
先天性	USS	著減	無	USS
	原因不詳	略正常	無	病因不詳
後天性	特発性	著減	有	定型的TTP
	薬物(チクロピジンなど)	著減	有	
	膠原病	著減～略正常	無/有	中間型
	妊娠	著減～略正常	無/有	
	悪性腫瘍	略正常	無	非定型TTP
	造血幹細胞移植	略正常	無	
	薬物(MMC)	略正常	無	
	HUS(O157以外)	略正常	無	
	O157 関連	略正常	無	

悪性腫瘍や造血幹細胞移植に関連したものは、ADAMTS13 活性は著減しておらず、インヒビターも認めないことより、非定型 TTP と呼んでいる。非定型 TTP の病因として、腫瘍細胞自体の影響やサイトカイン、抗癌剤投与、放射線照射などの影響によって血管内皮細胞が障害され、血管内皮細胞から UL-VWFM の放出が増加していることを予想している。また、膠原病や妊娠に関連した症例では、定型、非定型どちらの症例も存在し、中間型であると考えている。なお、O157 に関連した TMA は、ADAMTS13 活性は著減しておらず、世界的に HUS に分類されている。

TTP の治療

TTP の治療方針は、先天性と後天性によって異なる。現段階での我々の TTP の分類と治療方針に対する考え方を図 3 に示す。

先天性 TTP

USS は、インヒビターが存在せず、ADAMTS13 活性が著減していることより、血漿交換は必要ではなく、血漿輸注のみで治療可能である。また、血小板減少などの症状を来す前に、新鮮凍

結血漿 (Fresh Frozen Plasma: FFP) を 3～5 ml/kg, 2～3 週間ごとに予防的に投与されていることが多い。中には、無治療で血小板減少などの所見を認めない症例もあるが、感冒や妊娠などで血小板減少が明らかとなり、急性期のみ FFP で治療されている症例もある。

後天性 TTP

1) 初期治療

a) 血漿交換

TTP の治療法の中で、血漿交換のみが唯一有効性の evidence がある治療法である。1991 年に報告された Canadian Apheresis Group による血漿交換と血漿輸注の前向き比較研究⁵⁾の結果、単なる血漿投与より血漿交換の方が、9 日目と 6 カ月目の寛解率、死亡率ともに優れていた。これによって、TTP 治療における血漿交換の有効性が確立されたが、血漿交換群は、血漿輸注群の 3 倍の血漿が投与されているという批判もある。しかし、血漿投与を血漿交換と同じ量で行うことは、容量負荷のため受血者に危険であるので実際には不可能である。また、最近の後天性 TTP の ADAMTS13 による病態解明の結果より、血漿輸注のみより血漿交換が優れているエビデンスが説明可能となった。

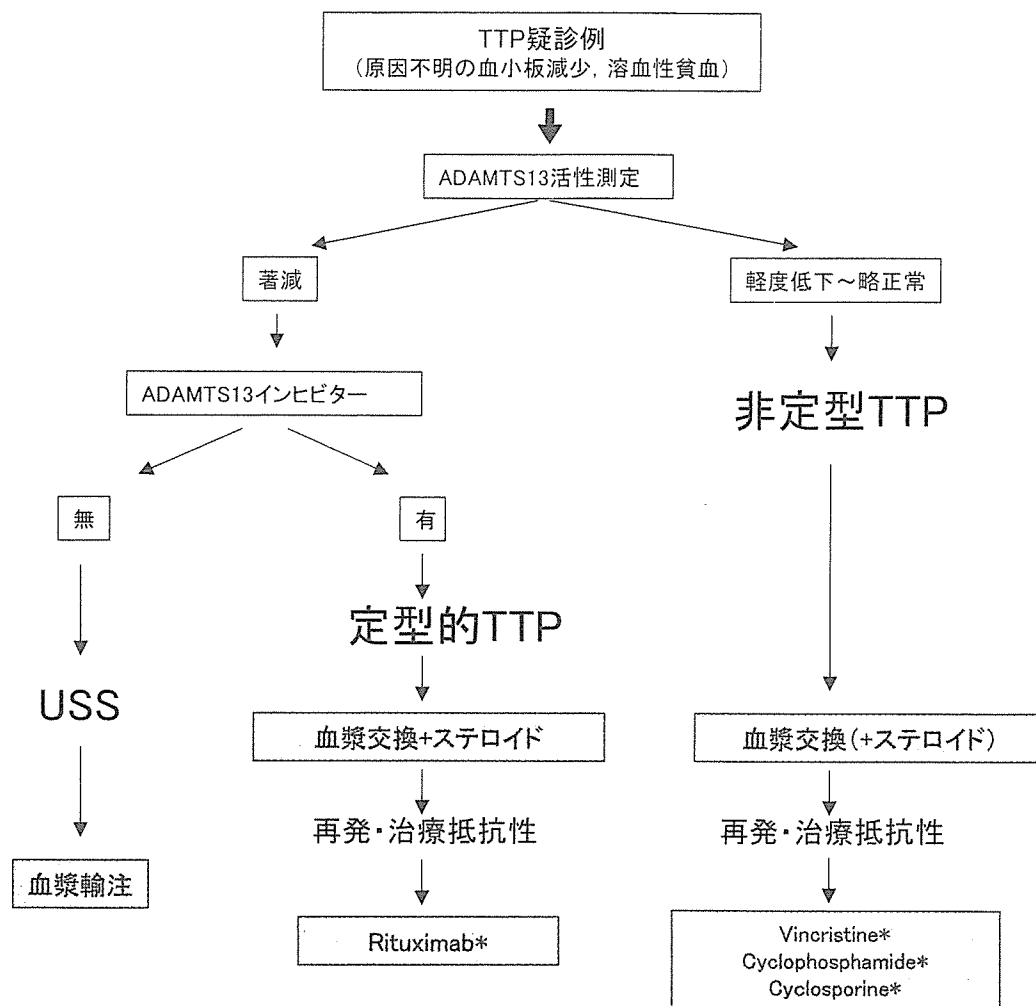


図3 TTP患者における治療法の選択

先天性TTPの場合は血漿輸注。後天性の場合は、定型的、非定型TTPともに初期治療は血漿交換を行う。

*は保険適応外。USS: Upshaw-Schulman症候群

定型的TTPの場合、血漿交換の効果として1) ADAMTS13の血漿中への補充, 2) ADAMTS13インヒビターの血漿中からの除去, 3) UL-VWFMの除去, 4) 通常サイズのVWFの補充などが考えられる。実際、Moriらとの共同研究²⁶⁾で定型的TTPでは、血漿交換が有効で予後が良いという結果が得られている。一方、非定型のTTPの場合、従来から血漿交換などの治療を行っても予後不良であることが報告されている。しかし、一部に血漿交換が効果のある症例が認められ、他に有効な治療法がないことより、血漿交換をまず行うべきであると考えている。非定型TTPの場合、血漿交換が有効な理由として、3) UL-VWFMの除去, 4) 通常サ

イズのVWFの補充、とともに、5) 高サイトカイン血症の是正などが予想されている。

TTPの血漿交換で用いられる置換液はFFPであるが、UL-VWFMの少ない cryosupernatant plasma (CSP) が有効であるとの報告がある²⁷⁾。しかし、少数例での検討であるが、前向き研究で置換液としてFFPとCSPを比較したところ、治療効果に差は認めなかった^{28) 29)}。現時点では、CSPを用いることでFFPと同等以上の効果が得られる可能性はあるが、日本国内ではCSPが入手困難であることを考えると、FFPを用いるべきであると考えている。

血漿交換はリスクを伴う治療であり、米国オクラホマからの報告では、206例の血症交換を

受けた TMA 患者で、5 例の死亡例が認められ³⁰⁾、3 例がカテーテル挿入時の出血、2 例がカテーテルに関連した敗血症とのことであった。また、53 例で細菌感染症、静脈血栓、ドーパミンを必要とするような血圧低下などの重大な副作用が認められた。このような急性の副作用以外にも、FFP によって HIV や B 型、C 型肝炎ウイルスなどの感染の可能性があるが、血漿交換による効果が、これらの危険性より高いことより、TTP を疑った場合、血漿交換をためらってはならない。また、TTP 診断後 24 時間以内に血漿交換を開始しないと予後が悪いという報告もあり³¹⁾、早期に血漿交換を行うことが推奨されている。

TTP に対する血漿交換として、最初の最低 3 日間は循環血漿量 (= 40 ml/kg) の 1.5 倍の FFP を置換液として、血漿交換を行う。その後、循環血漿量の 1 倍の FFP で連日血漿交換を行い、できれば血小板数が正常値になった後、さらに 2 日間は続けることが推奨されている。その後は隔日に施行するなど間隔を空けていく。日本では、健康保険によって画一的に、血漿交換は 1 カ月で 13 回までと制限されており、上限の撤廃が期待される。

b) ステロイド

TTP に対するステロイド治療は、有効性のエビデンスが示されていないにもかかわらず、広く用いられている。多くの場合、血漿交換に併用して行われているが、内服と静脈内投与のどちらが良いのか、投与量・投与期間など明確なエビデンスはない。ステロイドの作用機序として、定型的 TTP の場合、IgG 型の自己抗体の産生を抑えるという意味で、効果的であると考えられる。また、非定型 TTP の場合には、サイトカインを抑え、血管内皮細胞の障害を抑える働きも予想され、効果は期待できる。副作用を最小限にするためにも、ステロイド投与は、短期間に留め、ステロイドパルス療法 (methylprednisolone 1 g を 3 日間投与：保険適応外) が推奨されている³²⁾。

c) 抗血小板薬

血漿交換とステロイド治療が TTP の first line の治療法として確立されているが、これらに抗血小板薬を併用することを考慮する機会が多い。抗血小板薬の中で、チクロピジンとその後継薬クロピドグレルは、血小板膜状の ADP 受容体の 1 つである P2Y₁₂ を選択的に阻害することで、抗血小板作用を発揮する。これらは、理論的には血小板血栓を抑制し、TTP 治療に有効であると思われる。しかし、実際にはチクロピジン、クロピドグレルともに、TTP を引き起こした症例が存在し、TTP の治療薬としては使用されていない。また、アスピリンとジピリダモールを、血漿交換とステロイド治療に併用すると予後を改善するという報告がある³³⁾。しかし、出血傾向を悪化させる可能性もあるため、積極的に併用は行われていない。

2) 再発例 / 難治例に対する治療

a) リツキシマブ

TTP の一部が、自己免疫疾患であることが明らかになり、CD20 に対するキメラ型モノクローナル抗体：Rituximab (リツキシマブ) が、TTP の治療に使用され、その有効性が報告されている。血漿交換とステロイド治療に対して抵抗性の難治例や再発例の治療法として、本剤は大変注目されている³⁴⁾。リツキシマブは、主に B 細胞系の悪性疾患の治療に対して使用される³⁵⁾が、最近では関節リウマチや SLE などの膠原病 (自己免疫疾患) に対する有用性も報告されるようになってきている³⁶⁾。

文献的には血漿交換などの従来の治療で再発し、ADAMTS13 活性が著減し、インヒビターが存在する定型的 TTP26 症例で、リツキシマブを投与したところ 25 例が寛解に至った³⁷⁾。我々も定型的 TTP で、一旦血漿交換で寛解導入に成功したが再発し、脾摘などの治療が無効で、リツキシマブが著効した 1 症例を経験している³⁸⁾。

TTP では、ADAMTS13 に対する自己抗体以

外に、CD36に対する自己抗体³⁹⁾の存在が報告され、病態への関与が予想されている。このように非定型TTPにおいても自己抗体の関与が予想されるので、リツキシマブが有効である可能性がある。また、膠原病に合併したTTPの難治例や再発例では、ADAMTS13に対するインヒビターの存在に関わらず、膠原病を治療するという目的でリツキシマブを使用すると、結果的にTTPが軽快するのではないかと考えている。

リツキシマブが、TTPに有用であることが示され、有望な薬剤であることは間違いないが、その副作用について十分認識する必要がある。低酸素血症、肺浸潤、成人呼吸窮迫症候群、心筋梗塞、心原性ショックなどの重篤な副作用が報告されている。TTPにおける我々の使用例や報告例から、大部分の症例では安全に使用できると思われるが、リツキシマブによりTTPが完全寛解に至った後、心原性ショックに陥った症例の報告があり⁴⁰⁾、十分な経過観察を必要とする。

本剤のTTPに対する使用法として、375mg/m²を毎週一回点滴静注し、4週間もしくはそれ以上投与している報告例が多い。ただし、本剤は日本国内ではTTPに対して保険適応になっていない。

b) それ以外の治療法

再発例/難治例に対する治療法としては、ビンクリスチン、サイクロフォスファミド、シクロスポリンなどの免疫抑制剤、γグロブリン大量療法、脾摘などの種々の治療法が報告されているが、症例報告程度で、明確なエビデンスがない。TTP症例の一部が自己免疫疾患であることが明らかになったことより、これらの薬剤の作用機序が裏付けられたが、今後どのような症例にどの薬剤が有効であるのかを検討する必要がある。

今後のTTP治療

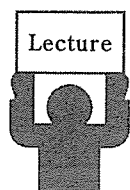
現在は、ADAMTS13を補充する方法として

FFPが用いられているが、血漿中からADAMTS13を精製することが可能となり、また遺伝子発現にてADAMTS13を産生することが可能となったことより、ADAMTS13製剤の開発が期待される。ADAMTS13製剤を用いることで、FFP投与によるウイルスなどの感染の危険性を減らすことが可能となるばかりか、より大量の酵素補充が可能となり治療期間の短縮が可能となる。また、自己抗体の産生を抑える方法として、従来のステロイドなどの免疫抑制剤の変わりに、リツキシマブという分子標的療法が登場した。より副作用の少ない、特異的な免疫抑制が可能となり、今後適応拡大を期待したい。また、非定型TTPに関しては、病態に応じた治療法を選択するために、さらなる病態解明が必要である。

文 献

- 1) Moschcowitz E: Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: A hitherto undescribed disease. *Proc N Y Patholl Soc* 24 : 21-24, 1924.
- 2) Moschcowitz E: An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries; an undescribed disease. *Arch Intern Med* 36 : 89-93, 1925.
- 3) Rubinstein MA, Kagan BM, MacGillviray MH, Merliss R, Sacks H: Unusual remission in a case of thrombotic thrombocytopenic purpura syndrome following fresh blood exchange transfusions. *Ann Intern Med* 51 : 1409-19, 1959.
- 4) Bukowski RM, King JW, Hewlett JS: Plasmapheresis in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 50 : 413-417, 1977.
- 5) Rock G, 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. *New Engl J Med* 325 : 393-397, 1991.
- 6) Amorosi EL, Ultmann JE : Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* 45 : 139-159, 1966.
- 7) Furlan M, Robles R, Lämmle B: Partial purification and characterization of protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 87 : 4223-4234, 1996.
- 8) Tsai H-M: Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 87 : 4235-4244, 1996.
- 9) Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R: Hämolytisch-uramische Syndrome: bilaterale Nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen hämolytischen Anämien. *Schweiz Med Wochenschr* 85 : 905-909, 1955.
- 10) Symmers WSC: Thrombotic microangiopathic haemolytic anaemia (Thrombotic microangiopathy). *Brit Med J* 2 : 897-903, 1952.

- 11) Furlan M, Robles R, Galbuseram M, Remuzzi G, Kyrle P, Brenner B, Krause M, Scharrer I, Aumann V, Mittler U, Solenthaler M, Lämmle B: von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **339** : 1578-1584, 1998.
- 12) Tsai HM, Lian EY: Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* **339** : 1585-1594, 1998.
- 13) Matsumoto M, Kawaguchi S, Ishizashi H, Yagi H, Iida J, Sakaki T, Fujimura Y: Platelets treated with ticlopidine are less reactive to unusually large VWF multimers than are those treated with aspirin under high shear stress. *Pathophys Haemost Thromb* **34** : 35-40, 2005.
- 14) Soejima K, Matsumoto M, Kokame K, 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* **102** : 3232-3237, 2003.
- 15) 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* **103** : 607-612, 2004.
- 16) 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* **82** : 1386-1389, 1999.
- 17) 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* **82** : 1382-1385, 1999.
- 18) Böhm M, Vigh T, Scharrer I: Evaluation and clinical application of a new method for measuring the activity of von Willebrand factor-cleaving metalloprotease (ADAMTS13). *Ann Hematol* **81** : 430-435, 2002.
- 19) Zhou W, Tsai H-M: An enzyme immunoassay of ADAMTS13 distinguishes patients with thrombotic thrombocytopenic purpura from normal individuals and carriers of ADAMTS13 mutations. *Thromb Haemost* **91** : 806-811, 2004.
- 20) Wu JJ, Fujikawa K, Lian EC, McMullen BA, Kulman JD, Chung DW: A rapid enzyme-linked assay for ADAMTS-13. *J Thromb Haemost* **4** : 129-136, 2006.
- 21) Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T: FRETs-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* **129** : 93-100, 2005.
- 22) Kato S, Matsumoto M, Matsuyama T, Isonishi A, Hiura H, Fujimura Y: Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* (in press), 2006.
- 23) Fujimura Y, Matsumoto M, Yoshioka A, Matsui T, Titani K: von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman syndrome. In: *Progress in Hematology. Int J Hematol (Review)* **75** : 25-34, 2002.
- 24) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y: The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Semin in Hematol* **41** : 68-74, 2004.
- 25) 藤村吉博: ADAMTS13-TMAの診断と血小板輸血の重要指標. *日本血栓止血学会誌* **17** : 144-164, 2006.
- 26) Mori Y, Wada H, Gabazza EC, Minami N, Nobori T, Shiku H, Yagi H, Ishizashi H, Matsumoto M, Fujimura Y: Predicting response to plasma exchange in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura with measurement of vWF-cleaving protease activity. *Transfusion* **42** : 572-580, 2002.
- 27) Byrnes JJ, Khurana M: Treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with plasma. *N Engl J Med* **297** : 1386-1389, 1977.
- 28) Rock D, Anderson D, Clark W, Leblond P, Palmer D, Sternbach M, Sutto D, Wells G: Does cryosupernatant plasma improve outcome in thrombotic thrombocytopenic purpura? No answer yet. *Br J Haematol* **129** : 79-86, 2005.
- 29) Zeigler ZR, Shaddock RK, Gryn JF, Rintels PB, George JN, Besa EC, Bodensteiner D, Silver B, Kramer RE: Cryoprecipitate poor plasma does not improve early response in primary adult thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *J Clin Apher* **16** : 19-22, 2001.
- 30) Howard MA, Williams LA, Terrell DR, Duvall D, Vesely SK, George JN: Complications of plasma exchange in patients treated for clinically suspected thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Transfusion* **46** : 154-156, 2006.
- 31) Pereira A, Mazzara R, Monteagudo J, Sanz C, Puig L, Martinez A, Ordinas A, Castillo: Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome: a multivariate analysis of factors predicting the response to plasma exchange. *Ann Hematol* **70** : 319-323, 1995.
- 32) Allford SL, Hunt BJ, Rose P, Machin SJ: Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias. *Br J Haematol* **120** : 556-573, 2003.
- 33) Bobbio-Pallavicini E, Gugliotta L, Centurioni R, Porta C, Vianelli N, Billio A, Tacconi F, Ascari E: Antiplatelet agents in thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). Results of a randomized multicenter trial by the Italian Cooperative Group for TTP. *Haematologica* **82** : 429-35, 1997.
- 34) Yomtovian R, Niklinski W, Silver B, Sarode R, Tsai HM: Rituximab for chronic recurring thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report and review of the literature. *Br J Haematol* **124** : 787-795, 2004.
- 35) Boye J, Elter T, Engert A: An overview of the current clinical use of anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Ann oncology* **14** : 520-526, 2003.
- 36) Chambers SA, Isenberg D: Anti-B cell therapy (rituximab) in the treatment of autoimmune diseases. *Lupus* **14** : 210-214, 2005.
- 37) Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, Wolf M, Kaplanski G, Binaut R, Rieger M, Scheiflinger F, Poullin P, Deroure B, Delarue R, Lesavre P, Vanhille P, Hermine O, Remuzzi G, Grunfeld JP: Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood* **106** : 1932-1937, 2005.
- 38) Kosugi S, Matsumoto M, Ohtani Y, Take H, Ishizashi H, Fujimura Y, Kuyama J: Rituximab provided long-term remission in a case with refractory relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* **81** : 433-436, 2005.
- 39) Tandon NN, Rock G, Jamieson GA: Anti-CD36 antibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* **88** : 816-825, 1994.
- 40) Bandarenko N, Stagg KF, Hay SN, Brecher ME: Cardiogenic shock complicates successful treatment of refractory TTP with rituximab. *Transfusion* **4(9S):44A(abst)**, 2004.



解説

ヘパリン起因性血小板減少症の病態と診断, 治療*

八木 秀男^{**} 伊藤 武文^{****} 児山 紀子^{****} 松本 雅則^{***}
木村 弘^{****} 椿 和央^{**} 藤村 吉博^{***}

Key Words : HIT, heparin, PF4, argatroban, thrombocytopenia

はじめに

ヘパリンはイズロン酸あるいはグルクロン酸とグルコサミンが重合した酸性ムコ多糖類で、血漿中のアンチトロンビンⅢおよびヘパリンコファクターⅡと複合体を形成し、トロンビン、活性化凝固第Ⅸ, X, XI, XII因子を阻害することにより抗凝固作用を発揮する。製剤中に含まれるヘパリンはその分子量によって未分画ヘパリン(分子量3,000~10,000)と低分子ヘパリン(分子量5,000)に分類されている。ヘパリン起因性血小板減少症(heparin induced thrombocytopenia ; HIT)は血栓症の治療ならびにその予防や体外循環時の血液凝固予防に用いられたヘパリンによって引き起こされる重大な副作用であり、急激な血小板減少と新たな動静脈血栓症が引き起こされる¹⁾。欧米では1980年代からこの疾患の存在とその重要性が認識されていたが、本邦ではこの疾患についての発表や症例報告が少なかったために、その発症頻度は欧米と比較して稀であろうと誤解され、ほとんど注目されていなかった。近年、HITの存在がヘパリンによる副作用の観点から広く臨床医に周知されるに従って多くの症例報告がなされるようになり、従来考えられていたよりも頻度の高い疾患であることが推測されている。また、食生活の欧米化により急性心

筋梗塞や不安定狭心症などの急性冠動脈症候群の患者が増加しており、その治療として経皮的冠動脈形成術や冠動脈内血栓溶解療法が頻繁に行われていること、さらに糖尿病性腎不全患者の透析導入が増加していることにより、その治療薬であるヘパリンが以前よりも多数の症例に頻用されていることから、今後もHITの頻度が増すことが予想される。

HITはその発症様式からⅠ型とⅡ型に大別されており、その病因として前者はヘパリンの血小板に対する直接の刺激によるもので、ヘパリン自体の物理生物的特性がその原因となっている。すなわち、非免疫的機序による一過性の血小板減少であり、その程度も軽度(10~20%)であることが多く、ヘパリンを中止しなくてもそのまま無治療で自然に軽快することから、最近ではこのⅠ型をHAT(heparin associated thrombocytopenia)として区別していることが多い。一方、Ⅱ型は免疫学的機序による血小板減少でヘパリン依存性の自己抗体(HIT抗体)の産生により発症する。通常、ヘパリン投与開始後 5~14日で発症し、血小板数は前値の50%以下もしくは10万/ μ l以下に減少する²⁾。発症初期にヘパリンを中止すれば血小板数はすみやかに回復するが、気づかずにヘパリンを継続、もしくは基礎疾患の増悪と誤診して逆に増量した場合にはさらに血小板数は減少し、動静脈血栓症

* Heparin-induced thrombocytopenia : pathogenesis, diagnosis, and treatment.

** Hideo YAGI, M.D. & Kazuo TSUBAKI, M.D.: 近畿大学医学部奈良病院血液内科(☎630-0293 生駒市乙田町1248-1) ; Department of Hematology, Nara Hospital, Kinki University School of Medicine, Ikoma 630-0293, JAPAN

*** Masanori MATSUMOTO, M.D. & Yoshihiro FUJIMURA, M.D.: 奈良県立医科大学輸血部

**** Takefumi ITO, M.D., Noriko KOYAMA, M.D. & Hiroshi KIMURA, M.D.: 奈良県立医科大学内科学第二講座

を合併して死に至る場合もあるため十分な注意が必要である。すなわち、ヘパリンを投与した症例ではすべてにHIT発症の可能性があり、その中でも発症リスクの高い症例では頻回に血小板数をモニタリングすることがその早期診断にもっとも重要である。本稿ではこのⅡ型をHITとして概説する。

HITの病態

血小板第4因子(PF4)は骨髄巨核球で産生され、血小板に移行した血小板特異タンパクであり、血小板の α 顆粒に存在するCXCケモカインである。遺伝子座4q12-q21,70アミノ酸残基、分子量7,700のサブユニットからなる熱安定性のタンパク質で4量体を形成する³⁾。PF4は、血小板の活性化により血中に放出されるが血管内皮細胞上のヘパラン硫酸との親和性が強く、その大部分が結合するため血中半減期は数分と短い。そして外部から投与されたヘパリンには強く結合することにより、アンチトロンビンⅢとヘパリンとの複合体形成を障害し、ヘパリンの抗凝固作用を中和する。ヘパリンが投与されていると放出されたPF4は血中でヘパリンと結合して複合体を形成するためにPF4はその3次元構造に変化をきたし、新たな抗原として認識され、自己抗体(HIT抗体)が産生される。未分画ヘパリンと比較して低分子ヘパリンでHITの発症頻度が低いのはその分子量が小さいために複合体を形成してもPF4の3次元構造に変化をきたしにくいとされている⁴⁾。HIT抗体にはその種類としてIgG, IgA, IgM型の存在が報告され、IgG型が全体の80%以上を占めており、サブクラスとしてはIgG1が優位である。HIT抗体はこのヘパリン-PF4複合体と免疫複合体を形成し、抗体のFc部分が血小板膜上のFc γ RⅡa(CD32)と結合することによって血小板を活性化し、血小板凝集をひき起こす。その結果、凝集した血小板から新たにPF4やP-セレクチンを含む血小板由来のマイクロパーティクルが血中に放出されることで血小板凝集がさらに促進され、最終的に血小板減少と血栓形成をきたす⁵⁾。またHIT抗体は好中球や単球を活性化する作用もっており、活性化した好中球は血小板と結合して凝集塊を形成し、活

性化した単球は組織因子やIL-8やIL-1 β などのサイトカインの放出や血管内皮と結合して内皮細胞を活性化する。その結果、活性化した内皮細胞は組織因子やPAI-1を発現することでトロンビンが生成され、血栓形成が促進される⁶⁾。

このように、HITの病態とはHIT抗体が免疫複合体を形成して直接血小板に作用することによる血小板減少とトロンビン産生を促進することによる全身性の動静脈血栓症である。HITはその発症機序からもヘパリン投与を受けているすべての患者に発症する可能性があり、その発症頻度は欧米からの報告では0.5~5%とされている⁷⁾。本邦における頻度としては急性冠動脈症候群で1.6%⁸⁾、透析導入患者で3.9%⁹⁾と報告されており、ほぼ欧米の報告と同等であるため、かなりの症例が見逃されているのではないかと考えられている。そしてHITの発症のリスクは使用されたヘパリンの量やその種類とその期間、そして投与された患者の病態により異なる。すなわち、持続投与などで大量のヘパリンを使用した患者の方がルートキープなどのヘパリンフラッシュと比較してその発症頻度は高く、そのヘパリンの種類ではウシ由来ヘパリン、ブタ由来ヘパリン、低分子ヘパリン、ダナパロイドの順にリスクは低下し、投与期間が長い患者ほど発症頻度が高い。そして血小板の活性化が生じるような病態、すなわち外科的治療を受ける患者、心血管系疾患患者、透析患者などでは血小板が活性化されているため、多くのPF4が血中に放出されており、HIT抗体が産生されやすい状態になっているものと考えられている¹⁰⁾¹¹⁾。HITの初期症状は血小板減少であり、他の血小板減少をきたす疾患と大きく異なる点は出血症状を示さずに凝固亢進状態による血栓症がひき起こされることである。通常、この血小板減少はヘパリン投与開始後5~14日後に起こるのが一般的であり、その判断基準としてヘパリン投与前と比較して血小板数は50%以下もしくは10万/ μ l以下に低下するとされている。そしてヘパリンの中止により、すみやかに回復するのがその特徴である。しかし、以前にヘパリンの投与を受けていたためにHIT抗体が産生されており、そのまま陰性化せず保有していた場合には投与直後から急激な血小板

表 1 HIT診断のためのスコアリングシステム

	点数		
	2	1	0
血小板減少	50%以上の減少 で最低値が2万/ μ lまで	30~50%以上の減少もしくは 最低値が1万~1.9万/ μ lまで	30%以下の減少もしくは 最低値が1万/ μ l以下に減少
発症時期	投与後5~10日目 または投与後1日以内で 過去30日に投与歴あり	投与後10日以上もしくは不明 または投与後1日以内で 過去31~100日に投与歴あり	投与後4日目以内で 最近の投与歴なし
血栓症	明らかな新しい血栓 皮膚壊死 ヘパリン静注時の 急性全身性反応	進行性もしくは反復性の血栓 皮膚紅斑 血栓症を疑わせる症状	なし
他の血小板減少の原因	なし	可能性あり	あり

点数が6~8点でHITの可能性高, 4~5点で中, 3点以下で低. ただし, ヘパリン投与初日を0日目とする.

減少を呈する. さらにヘパリン投与の既往がなくてもHIT抗体を自然獲得している症例もあり, その場合も投与直後から血小板減少が出現する. 一方, ヘパリンの中止にもかかわらず遅発性に発症するHITも報告されているため, 血小板減少の発症時期だけでHITの可能性を判断することは困難である. さらにHITではトロンビンの生成が亢進していることから, 高頻度(30~75%)に動静脈血栓症が出現する. 一般に静脈に血栓が生じやすいが, 動脈血栓症も少なくないため臓器障害をきたし, 重症例では多臓器不全となって不幸な転帰をとるものもある. 主なものとしては深部静脈血栓症, 肺梗塞, 脳梗塞, 心筋梗塞, 下肢壊疽, 皮膚壊死などがあげられる. 血小板減少はヘパリン中止によりすみやかに回復するが, 血栓症についてはヘパリン中止後もしばらくその危険性は続くと言われているため, 十分な注意と血栓症が判明した際には十分な抗凝固療法が必要である¹²⁾.

HITの診断

HITの診断はまずヘパリン使用後の血小板減少と凝固亢進状態からその発症の可能性を疑うことが重要である. そのためには①血小板減少, ②発症時期, ③血栓症, ④他の原因の有無の4項目を点数化することでHITの可能性を検討するスコアリング(表1)¹³⁾が有用である. 満点は8点で, 6点以上だとHITの可能性が高く(80%以上)

3点以下だと可能性は低い(5%以下). そして4または5点の場合にはその診断にHIT抗体の測定が必須となる. HIT抗体の測定法には抗体活性を測定する方法と抗体量を測定する方法があり, 前者はヘパリン惹起血小板凝集試験(heparin-induced platelet aggregation test; HIPAT)¹⁴⁾, ¹⁴C-セロトニン放出試験(serotonin release assay; SRA), そしてマイクロパーティクル試験などであり, 後者は酵素免疫測定法(ELISA法)である. 欧米ではSRAとELISA法がHIT抗体の検出に汎用されているが, 本邦でSRAに比べて感度は低いが放射性同位元素を用いる必要のないHIPATとELISA法が主に用いられている. HIPATは健常者の多血小板血漿(platelet rich plasma)にサンプルとして患者血漿もしくは患者血清を等量混合し, ヘパリンを添加して血小板凝集能測定装置により血小板凝集を測定する方法である. もしサンプル中にHIT抗体が存在すれば低濃度(終濃度0.1~1.0単位/ml)で凝集が起こるが, 高濃度(終濃度50~100単位/ml)では凝集が解離する. この方法は特異性が高いためHIT抗体の証明に有用であるが, 健常者のPRPのHIT抗体に対する反応性に左右されることや, その測定には血小板凝集能測定装置が必要なことより, 一部の施設を除いてその実施は困難である. 現在ではその簡便性と汎用性からELISA法が主流となっており, すでにキット化され, 本邦ではAsserachrom HPIA(Stage社)とPF4 Enhanced(GTI社)の2種類が市販さ

表2 奈良県立医科大学輸血部におけるHIT抗体の検討

症例	担当科	HIT抗体	基礎疾患	症例	担当科	HIT抗体	基礎疾患
1	消化器外科	陰性	肝移植	21	循環器内科	陽性	透析
2	心臓外科	陰性	僧帽弁閉鎖不全	22	心臓外科	陰性	大動脈弁置換術
3	心臓外科	陰性	僧帽弁置換術	23	心臓外科	陰性	心筋梗塞
4	神経内科	陽性	脳梗塞	24	泌尿器外科	陰性	透析
5	産婦人科	陰性	脳梗塞, 卵巣がん	25	循環器内科	陰性	透析
6	脳神経外科	陰性	内頸動脈閉塞	26	循環器内科	陰性	心筋梗塞
7	循環器内科	陰性	肺炎	27	心臓外科	陽性	僧帽弁狭窄
8	呼吸器内科	陽性	肺血栓塞栓症	28	循環器内科	陰性	透析
9	消化器内科	陰性	肝移植	29	心臓外科	陰性	腹部大動脈瘤
10	呼吸器内科	陽性	下肢深部動脈血栓症	30	循環器内科	陰性	心筋梗塞
11	循環器内科	陰性	心房細動	31	循環器内科	陰性	透析
12	心臓外科	陰性	右総腸骨動脈閉塞	32	循環器内科	陽性	透析
13	循環器内科	陽性	透析	33	心臓外科	陰性	冠状動脈バイパス術
14	心臓外科	陰性	感染性心内膜炎	34	循環器内科	陰性	透析
15	消化器外科	陰性	肝移植	35	循環器内科	陽性	心筋梗塞
16	呼吸器内科	陽性	肺がん	36	循環器内科	陰性	透析
17	循環器内科	陰性	心筋梗塞	37	循環器内科	陰性	心筋梗塞
18	脳神経外科	陰性	脳腫瘍	38	循環器内科	陰性	強皮症
19	循環器内科	陽性	透析				
20	循環器内科	陰性	全身性エリテマトーデス				

れている。その測定原理は前者が固相化抗原としてヘパリン-PF4複合体を用いているのに対して、後者はスルホン化ポリビニール-PF4複合体を用いて被検検体中のHIT抗体であるIgG, IgM, IgA抗体と免疫複合体を形成させ、さらにこの免疫複合体に酵素標識抗体を反応させることにより発色させ、比色計で測定する。サンプルとしては血漿および血清のどちらでも測定可能であり、どちらのキットにも陽性、陰性のコントロール血漿が添付されている。両キットの違いは固相化抗原が異なることだけであり、両キットの測定結果の相関も良好であるが、結果が不一致の症例も存在する¹⁵⁾。さらに、サンプルの採取時期も重要であり、一般にHIT抗体はヘパリンの中止により抗体価が徐々に低下して陰性化していくが、症例によってはわずか1週間で陰性化してしまうものもあるため、症状が落ち着いてからの採血では検出できない場合がある。逆に、最初の検査では陰性でも経過中に陽性化する症例もあるため、臨床経過からHITを疑う症例に遭遇した際には治療前はもちろんのこと経過中の血液サンプルも採取して、その後の検討のために保存しておくことが必要であろう。

HIT症例の検討

奈良県立医科大学輸血部では、血小板減少と血小板血栓形成により多臓器障害をきたす疾患である血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP)の確定診断としてのADAMTS13酵素活性測定に取り組んでおり、最近では同輸血部において開発されたELISA法¹⁶⁾により従来のVWFマルチマー法と比較して高感度かつ簡便にて迅速に診断することが可能となっている。この結果、原因不明の血小板減少症に対して血小板輸血が禁忌であるTTPを鑑別することが可能となっている。HITもHIT情報センターもしくは外注検査に依頼してHIT抗体の検出が可能であるが、検体を出してから報告が得られるまで数日を要するのが現状である。そこでTTPと同様に血小板減少をきたすが血小板輸血を回避する必要性のあるHITを、確実かつ迅速に診断するために2005年初めより輸血部においてHIT発症が疑われる症例についてHIT抗体の有無をELISA法(PF4-Enhanced GTI社)で検討を行っている。現在までにHITが疑われた38症例についてHIT抗体を測定し、うち10例が陽性でHITと確定診断した。その内訳は男性8例、女性2例。

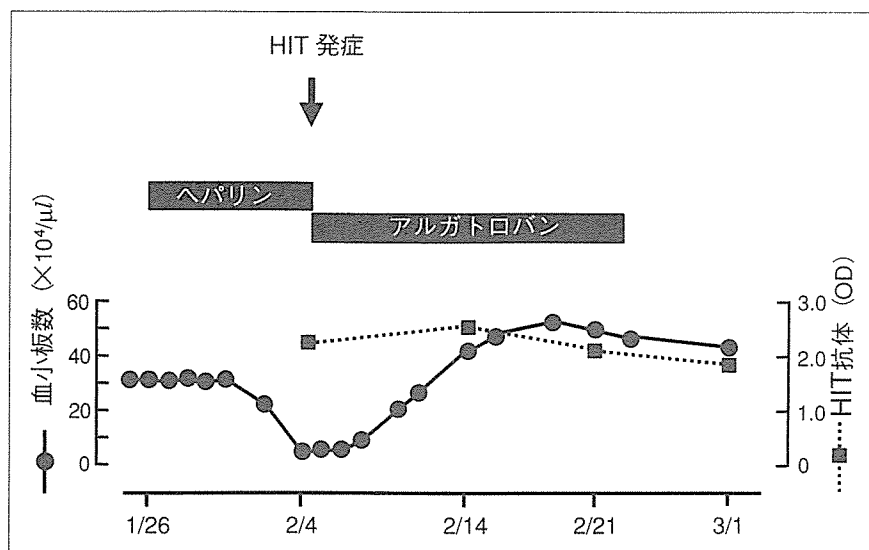


図1 HIT症例の入院後経過

急性肺血栓塞栓症の診断でただちにヘパリンとウロキナーゼの投与が開始された。治療経過は良好であったが、ヘパリン開始後10日目に著明な血小板減少を認めたためHITを疑い、HIT抗体を測定したところOD値で2.05と強陽性であったためHITと診断。同日よりヘパリンを中止し、アルガトロバンの投与を開始した。これらの治療により血小板数はすみやかに回復するも、HIT抗体は逆に軽度増加していた。そして病状がほぼ軽快した退院時においてもなお強陽性であり、高力価のHIT抗体の存在が認められた。

基礎疾患としては透析4例、脳梗塞1例、肺血栓塞栓1例、下肢深部動脈血栓症1例、肺がん1例、心臓弁置換術1例、心筋梗塞1例であり、全例で基礎疾患の治療目的でヘパリンの投与が行われていた(表2)。その中で発症ならびにその治療経過中にHIT抗体価を経時的に測定した症例を提示する。

症例は42歳男性。既往歴なし。喫煙20本/日×20年、機会飲酒。現症は身長180cm、体重93kg、脈拍60/分整、血圧113/58mmHg、呼吸18回/分、体温36.2℃。眼瞼結膜貧血なし、眼球結膜に黄染なし。表在リンパ節触知せず。呼吸音正常、ラ音なし、心雑音なし。心音Ⅱ音の軽度亢進を認める。腹部は平坦で軟、肝脾腎は触知せず。左下肢の発赤腫脹とチアノーゼの出現を認める。神経学的異常所見は認めない。現病歴は2005年1月13日に腰痛と左下肢の発赤腫脹と疼痛が出現したため、近医を受診。内服薬を処方されるが、症状は改善されなかった。同月26日早朝に自宅トイレで意識消失しているところを家人に発見され、近医に救急搬送された。入院時に著明な低酸素血症を呈し、胸部X線で肺動脈の拡張と心拡大がみられ、心臓超音波検査により右心房

と右心室の拡張、肺動脈圧の上昇、そして三尖弁逆流症などの右心負荷所見が認められた。胸部造影CTでは左右肺動脈内に造影の欠損が認められ、肺換気シンチは正常であるのに対して肺血流シンチにより右上葉への血流が完全に欠損しており、その他の部位にも多数の欠損・血流低下を認めていたため、急性肺血栓塞栓症と診断された。ただちにヘパリン20,000単位/日とウロキナーゼ48万単位/日が開始され、当院呼吸器内科紹介転院となった。ヘパリンは最終的には40,000単位/日にまで増量したが、治療経過は良好で、低酸素血症と右心負荷所見の改善を認めていた。しかし、同月4日に著明な血小板減少を認めたためHITを疑い、HIT抗体を測定したところ強陽性であったためHITと診断した。同日よりヘパリンを中止し、アルガトロバンの投与を60mg/日より開始した。これにより血小板はすみやかに回復したが、咳嗽が出現したため胸部造影CTを施行したところ、左肺動脈内に新たな血栓の形成を認め、左肺のS6に肺梗塞の出現を認めた。アルガトロバンをAPTTでモニタリングしながら最終的には390mg/日にまで増量したところ咳嗽は軽快し、退院時の胸部造影CTで血栓

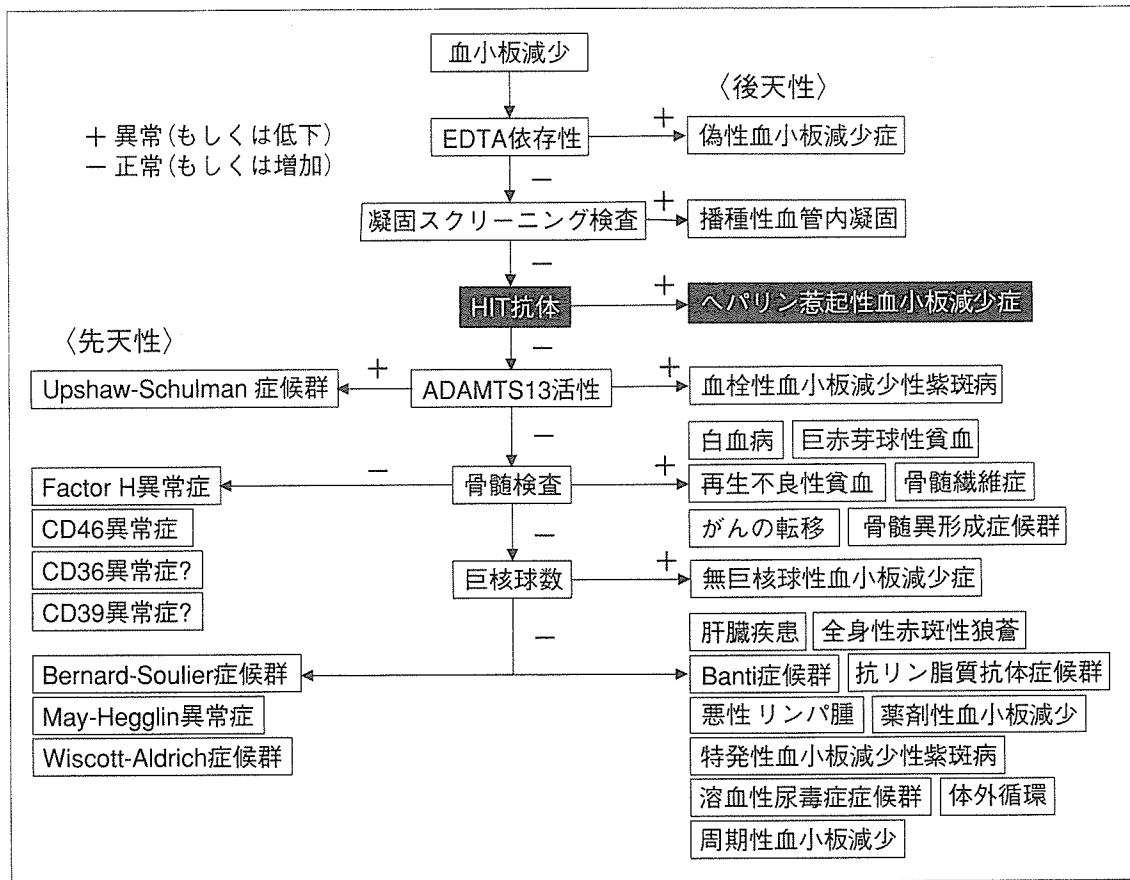


図2 血小板減少の診断フローチャート(文献²²⁾より引用)

は著明に縮小し、肺血流シンチでも肺血流の欠損ならびに低下は認められず、正常となった。経時的に測定したHIT抗体の推移は発症時にはOD値で2.05と高値であり、ヘパリンの中止とアルガトロバンの投与により血小板減少が改善しても2.25と増加していた。そして病状がほぼ軽快した退院時においてもなお1.96と低下していないことから、本症例では血小板数や血栓症が改善したのちも高力価のHIT抗体が存在することが判明した(図1)。

HITの治療

HIT治療はまずHITを疑った時点でその原因薬物であるヘパリンの中止が必要である。さらに、基礎疾患の治療のためにヘパリン以外の体替の抗凝固療法が必要であり、HITによる血栓症の有無にかかわらずトロンビンの抑制を目的に抗トロンビン作用が強力な薬物を選択する必要性がある。欧米ではアルガトロバン¹⁷⁾、ヒルジン誘導体¹⁸⁾、ダナパロイド¹⁹⁾などがヘパリンの代替薬品

として用いられているが、本邦ではその有効性と安全性からアルガトロバンが第一選択として用いられている。アルガトロバンはトロンビンのactive siteのみに可逆的に結合することにより抗凝固活性を発揮する合成トロンビン阻害薬²⁰⁾であり、ヘパリンのようにアンチトロンビンⅢなどのコファクターは必要とせず、PF4などによっても作用が阻害されない。さらに抗原性についてもヘパリンと交差反応性はないことよりHIT患者にも安心して使用できる薬剤である。しかし、本邦では慢性動脈閉塞症、脳血栓急性期、そして血液透析については保険適応が認められているが、HITについては未承認であり、現在、その適応獲得のために医師主導型臨床治験が行われている。HITに対するアルガトロバンの投与方法についてはHIT情報センターから試案²¹⁾が出されており、それによると血栓に対する抗凝固療法としては0.7μg/kg/minで開始し、APTTで投与前の1.5~2.0倍になるように用量を調節する。心臓カテーテル検査や冠動脈形成術時には開始時に