

床検査医学会学術集会 (2010. 9. 9-12, 東京, 宮澤幸久)

10) Matsubara K, Kunishima S, Tokafuta T, Uchida Y, Fukaya T, Inoue D, Kashiwagi H, Tomiyama Y, Otsu M, Eto K, Onodera M. (口演) R995W mutation in integrin α IIb-gene (ITGA2B) is a novel cause for congenital macrothrombocytopenia. 第72回日本血液学会学術集会 (2010. 9. 24-26, 横浜, 檀 和夫)

11) 富山佳昭, 宮川義隆, 岡本真一郎, 勝谷慎也, 木村昭郎, 大越靖, 二宮治彦, 小杉浩史, 野村昌作, 尾崎勝俊, 池田康夫, 小尾伸之, 桂幸一, 金倉讓. (口演) Eltronbopag is efficacious in Japanese patients with previously treated chronic ITP. 第72回日本血液学会学術集会 (2010. 9. 24-26, 神奈川, 檀和夫)

12) 本田繁則, 池島裕子, 松田泰幸, 田所誠司, 富山佳昭, 宮田敏行. (ポスター) インテグリン活性化における integrin-linked kinase の役割. 第72回日本血液学会学術集会 (2010. 9. 24-26, 神奈川, 檀和夫)

13) 富山佳昭. (ランチョンセミナー) ITP をめぐる最新の話. 第72回日本血液学会学術集会 (2010. 9. 24-26, 横浜, 檀和夫)

14) 富山佳昭. (シンポジウム) 血小板の活性化機構: ADP の果たす役割. 第17回日本血液代替物学会年次大会 (2010. 10. 18-19, 熊本, 小田切優樹)

15) 野山知美, 福島健太郎, 石橋知彦, 近藤有理, 佐多弘, 南亮太, 徳永正浩, 藤田二郎, 齊藤則充, 前田哲生, 田所誠司, 富山佳昭, 金倉讓. (口演) APTT

モニタリングに基づいた第 VIII 因子製剤の補充で安全に肝、腎腫瘍摘出を行えた、インヒビター保有血友病 A の 1 症例. 第 94 回近畿血液学地方会 (2010. 11. 6, 滋賀, 鈴木孝世)

16) 清川知子, 押田眞知子, 櫻木美基子, 中原千尋, 池田珠世, 青地寛, 永峰啓丞, 林悟, 富山佳昭. (口演) 当院におけるアルブミン製剤管理体制について. 第 54 回日本輸血・細胞治療学会近畿支部総会 (2010. 11. 27, 滋賀, 藤山佳秀)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

平成 22 年度 TMA サブグループ研究報告

グループリーダー：藤村吉博 奈良県立医科大学輸血部 教授

班員：和田英夫 三重大学医学部臨床検査医学 准教授

小亀浩市 国立循環器病センター研究所 室長

研究協力者：森木隆典 慶應義塾大学

日笠聡 兵庫医科大学

松本雅則 奈良県立医科大学

上田恭典 倉敷中央病院

グループ総括

研究分担者：藤村吉博

研究要旨

血栓性微小血管障害症 (TMA) グループは、TMA および血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の病態解析と治療法の開発を目指している。今年度は TMA 解析センターとして 10 年間の活動により集積した TMA 919 例の中からインフルエンザに合併した TMA 2 例を詳細に検討した。症例 1 は、世界で初めて IgG 型の自己抗体によって ADAMTS13 活性著減が証明されたインフルエンザ TTP であった。症例 2 は、ADAMTS13 活性は軽度の低下であるが、サイトカインストームによると思われる von Willebrand 因子 (VWF) 抗原量増加を認めた。症例 2 の VWF マルマー解析を経過中頻回に行ったところ、超高分子量マルチマー (UL-VWFM) を認めることもあるが、日によって高分子量マルチマーまで欠損していることが確認された。インフルエンザ TMA は、多くの場合サイトカインストームが強く、後者による TMA 発症と考えられるが、積極的に血漿交換を行うことでサイトカインストームを軽減して、予後の改善が図れる可能性が示唆された。

A. 研究の目的

血栓性微小血管障害症 (TMA) グループの目標は、TMA および血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の病態解析と治療法の開発を基礎と臨床の両面から行うことである。

和田英夫

- 1) ADAMTS13 に起因しない TMA の解析ならびに VWFpp の意義
- 2) 三重大での TMA 症例の解析

B. 研究方法

平成 22 年度は、個別研究として以下の活動を行った。

小亀浩市

- 1) ADAMTS13 の立体構造解析 (構造未決定のドメインおよび変異体)
- 2) ADAMTS13 活性測定法の改良

分担研究者

藤村吉博 (松本雅則)

- 1) 奈良医大輸血部 TMA データベースの個別解析 (継続)

(1) USS の phenotype 追跡調査

(2) USS 患者で発見した ADAMTS13 遺伝子異常の発現

(3) 後天性特発性 TTP の解析

- 2) ADAMTS13 と同インヒビター複合体の可視化法の開発

- 3) インフルエンザ重篤化要因としての TMA 解析

研究協力者

森木隆典

- 1) VWF および TTP 患者 IgG と ADAMTS13 の反応に関連するアミノ酸配列の解析

日笠聡

- 1) 新規 TMA 患者の集積

- 2) 妊娠 USS 患者の FFP 定期補充と ADAMTS13 解析

上田恭典

- 1) 新規 TMA 患者の集積

2) 新たな治療法の検討

このうち奈良医大輸血部で 2008 年までに集積した TMA919 例の中からインフルエンザに関連して TMA を発症した 2 例について、今年度は詳細な解析を行ったので報告する。

(倫理面への配慮)

検体採取に際しては、主治医より十分な説明を行い、同意を得た。

C. 研究成果

症例 1 は、68 才の女性で、2007 年 3 月に発熱と倦怠感のため近医受診し、簡易検査にてインフルエンザ A と診断され、オセルタミビルの内服を開始した。その翌日になっても発熱など全身状態がさらに悪化するため入院となった。入院時検査所見で、血小板 0.6 万/uL、ヘモグロビン 6.6g/dL 破碎赤血球有り、BUN 88 mg/dL、クレアチニン 2.95 mg/dL、精神神経症状も認め、TTP の 5 徴候により臨床的に TTP と診断された。また同時に行った ADAMTS13 活性は 0.5%未満、抗 ADAMTS13 インヒビターは 6.0 Bethesda 単位/mL (BU/mL) と定型的 TTP と確認された。本症例で認められたインヒビターは、Fig 1 の一番下の段の挿入図に示すように、精製 ADAMTS13 を用いた western blot の結果、IgG 型の自己抗体であることが確認された。本例は、入院後血漿交換とステロイドパルス療法を連日行い治療効果が認められていたが、残念ながら入院 4 日目に心筋梗塞にて死亡した。症例 2 は、18 才の女性。4 才時にインフルエンザ A に罹患時に非典型的溶血性尿毒症症候群と診断され血漿交換にて軽快した既往がある。2009 年 8 月に発熱と悪寒のため近医受診し、簡易検査にてインフルエンザと診断されザナミビルを投与された。2 日後に血尿と鼻出血を認めるため、入院となった。入院時、血小板 0.8 万/uL、ヘモグロビン 11.0g/dL であるが

破碎赤血球を認め、尿タンパク、尿潜血陽性より臨床的に TMA と診断した。

ADAMTS13 活性は 37%と軽度の低下で、ADAMTS13 インヒビターは 0.8 BU/mL とごく軽度に認めるのみで、非定型 TMA と確認された。また、インフルエンザは遺伝子解析にて H1N1 と新型インフルエンザと確定された。入院後、新鮮凍結血漿 (FFP) 輸注や血漿交換などの治療にて速やかに軽快した。その後、腎生検を施行し、血管内皮細胞障害が示唆される所見で TMA に合致する結果となった。Fig. 2 の右図に示すように VWF マルチマー解析を行った結果、Day 7 までは血漿 VWF 抗原量は増加していたが、超高分子量 VWFM (UL-VWFM) を認めるのは day4 と 7 のみで、day3 や 5 では UL-VWFM のみでなく高分子 VWFM を欠損していることが確認された。

D. 考察

インフルエンザによる精神神経症状を認める場合、インフルエンザ脳症が有名である。しかし、インフルエンザ脳症患者の脳や脳脊髄液からインフルエンザウイルスが確認されることが少ないなど、その発症機序は不明な部分が多い。今回我々は、全く異なった機序の 2 例の TMA を経験したが、インフルエンザに精神神経症状を認めた場合、TMA を鑑別診断として思い浮かべることが必要と考えられた。症例 1 は、IgG 型の自己抗体によって ADAMTS13 活性の著減が証明された世界で最初のインフルエンザ TTP である。症例 2 は、ADAMTS13 活性は著減しないが UL-VWFM が増加する非定型 TMA である。インフルエンザに感染した場合、TNF α をはじめとしたサイトカインストームが惹起され、血管内皮細胞が障害されて UL-VWFM が血液中に大量に放出される。それによって、ADAMTS13 活性が著減した場合と同様の機序で血小板血栓が産生され、TMA を発症する。インフルエンザ TMA では大多数の場合、後者の非定型であると考えられる。定型的 TTP にお

いて血漿交換は、最初に選択すべき治療法であるが、非定型 TMA においても治療効果が期待できる。インフルエンザ TMA の場合、サイトカインの除去、UL-VWFM の除去などが期待できる。また、インフルエンザ脳症でも血漿交換で改善した症例も報告されている。インフルエンザ TMA を早期に診断し、血漿交換療法を早期に導入することで予後の改善が図れる可能性が期待された。

E. 結論

TMA 解析センターとして集積した 919 例の中から、インフルエンザに合併した TMA を解析した結果、2つの機序で TMA を発症することが明らかとなった。今後、インフルエンザ TMA における血漿交換の効果を検討する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

英文

1) Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: Database of Nara Medical University during 1998-2008. *Inter Med* 49: 7-15, 2010.

2) Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsumoto M, Nakajima Y, Fukui H. Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. *Int J Hematol* 91:20-29, 2010.

3) Sato A, Hoshi Y, Onuma M, Sato R, Tsunematsu Y, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y, Imaizumi M. A 9-month-old infant with acquired idiopathic thrombotic thrombo- cytopenic purpura caused by inhibitory IgG-autoantibody

to ADAMTS13. *Pediatr Hematol Oncol* 27:56-61, 2010.

4) Kurita T, Onishi K, Dohi K, Takamura T, Fujimoto N, Tanigawa T, Imanaka-Yoshida K, Wada H, Nobori T, Ito M: Conventional therapy with an ACE inhibitor diminishes left ventricular dyssynchrony during the progression of heart failure. *Int J Cardiol.* 2010; 140: 48-54

5) Ikejiri M, Tsuji A, Wada H, Sakamoto Y, Nishioka J, Ota S, Yamada N, Matsumoto T, Nakatani K, Nobori T, Itoh M: Analysis three abnormal Protein S genes in a patient with pulmonary embolism. *Thromb Res.* 2010; 125: 529-532

6) Okamoto K, Wada H, Hatada T, Uchiyama T, Kawasugi K, Mayumi T, Gando S, Kushimoto S, Seki Y, Madoiwa S, Asakura H, Koga S, Iba T, Maruyama I; Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee: Frequency and hemostatic abnormalities in pre-DIC patients. *Thromb Res.* 2010; 126: 74-78

7) Nakamura A, Sugimoto Y, Ohishi K, Sugawara Y, Fujieda A, Monma F, Suzuki K, Masuya M, Nakase K, Matsushima Y, Wada H, Katayama N, Nobori T: Diagnostic Value of PCR Analysis of Bacteria and Fungus from Blood in Empiric Therapy-Resistant Febrile Neutropenia. *J Clin Microbiol.* 2010; 48: 2030-2036

8) Oh D, Jang MJ, Lee SJ, Chong SY, Kang MS, Wada H: Evaluation of modified non- overt DIC criteria on the prediction of poor outcome in patients

- with sepsis. *Thromb Res.* 2010; 126: 18-23
- 9) Sugiyama T, Kobayashi T, Nagao K, Hatada H, Wada H, Sagawa N: Group A strepto- coccal toxic shock syndrome with extremely aggressive course in the third trimester. *J Obstet Gynaecol Res*, 2010; 36: 852-855
- 10) Nomura H, Wada H, Mizuno T, Yamashita Y, Saito K, Kitano S, Katayama N, Yamada N, Sugiyama T, Sudo A, Usui M, Isaji S, Nobori T: Elevated Fibrin-Related Markers in Patients with Malignant Diseases Suspected of Having Thrombotic Disorders. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2010; 16: 266-272
- 11) Kaneko T, Wada H, Nobori T, Yamada N, Nakamura M, Ito M: Prevention of venous thromboembolism according to the guidelines of a domestic manual. *Int J Hematol.* 2010; 91: 909-911
- 12) Hosoki K, Nakamura A, Nagao M, Hiraguchi Y, Tokuda R, Wada H, Nobori T, Fujisawa T: Differential activation of eosinophils by 'probiotic' *Bifido- bacterium bifidum* and 'pathogenic' *Clostridium difficile*. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010; 152 Suppl 1: 83-9
- 13) Ito-Habe N, Wada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Murata M, Izuno T, Sugita M, Ikeda Y: A second national questionnaire survey of TMA. *Int J Hematol.* 2010. 92: 68-75
- 14) Ikejiri M, Wada H, Sakamoto Y, Ito N, Nishioka J, Nakatani K, Tsuji A, Yamada N, Nakamura M, Ito M, Nobori T: The association of protein S Tokushima-K196E with a risk of deep vein thrombosis. *Int J Hematol.* 2010 ; 92: 302-305
- 15) Wada H, Hatada T, Okamoto K, Uchiyama T, Kawasugi K, Mayumi T, Gando S, Kushimoto S, Seki Y, Madoiwa S, Okamura T, Toh CH; Japanese Society of Thrombosis Hemostasis/DIC subcommittee. : Modified non-overt DIC diagnostic criteria predict the early phase of overt-DIC: *Am J Hematol.* 2010; 85: 691-694
- 16) Hikari Miura, Koji Hashida, Hirofumi Sudo, Yoshitaka Awa, Mika Takarada-Iemata, Koichi Kokame, Tetsuya Takahashi, Masayasu Matsumoto, Yasuko Kitao, Osamu Hori: Deletion of Herp facilitates degradation of cytosolic proteins. *Genes Cells* 15, 843-853, 2010
- 17) Yuji Shono, Chiaki Yokota, Yuji Kuge, Shinsuke Kido, Akina Harada, Koichi Kokame, Hiroyasu Inoue, Mariko Hotta, Kenji Hirata, Hideo Saji, Nagara Tamaki, Kazuo Minematsu: Gene expression associated with an enriched environment after transient focal ischemia. *Brain Res.* (In press).
- 18) Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: Database of Nara Medical University during 1998-2008. *Inter Med* 49:7-15, 2010
- 19) Kosugi N, Tsurutani Y, Isonishi A, Hori Y, Matsumoto M, Fujimura Y. Influenza A infection triggers thrombotic thrombocytopenic purpura by producing the anti-ADAMTS13 IgG

- inhibitor. *Inter Med*, 49; 689-693, 2010
- 20) Sato A, Hoshi Y, Onuma M, Sato R, Tsunematsu Y, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y, Imaizumi M. A 9-month-old infant with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura caused by inhibitory IgG-autoantibody to ADAMTS13. *Pediatr Hematol Oncol*. 27:53-58. 2010
- 21) Okano E, Ko S, Matsumoto M, Fujimura Y, Nakajima Y. ADAMTS13 activity decreases after hepatectomy, reflecting a postoperative liver function. *Hepato-Gastro- enterology* 57:316-320, 2010
- 22) Kato K, Kobayashi C, Katayama Y, Moriyama N, Shiono J, Kudo K, Koide K, Aoki K, Fujisawa K, Okada M, Matsumoto M, Fujimura Y, Tsuchida M. A 42-day-old boy with acute idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Int* 52:485-487, 2010
- 23) Ishikawa M, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Morioka C, Fujimoto M, Kojima H, Yoshiji H, Tsujimoto T, Takimura C, Fujimura Y, Fukui H. Potential Role of Enhanced Cytokemia and Plasma Inhibitor on the Decreased Activity of Plasma ADAMTS13 in Patients With Alcoholic Hepatitis: Relationship to Endotoxemia. *Alcohol Clin Exp Res* 34:S25-S33, 2010
- 24) Hiura H, Matsui T, Matsumoto M, Hori Y, Isonishi A, Kato S, Iwamoto T, Mori T, Fujimura Y. Proteolytic fragmentation and sugar chains of plasma ADAMTS13 purified by a conformation-dependent monoclonal antibody. *J Biochem* 148: 403-411, 2010
- 25) Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsumoto M, Nakajima Y, Fukui H. Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. *Int J Haematol* 91:20-29, 2010. (Review)
- 26) Takemitsu T, Wada H, Hatada T, Ohmori Y, Ishikura K, Takeda T, Sugiyama T, Yamada N, Maruyama K, Katayama N, Isaji S, Shimpo H, Kusunoki M, Nobori T: Prospective evaluation of three different diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation. *Thromb Haemost*. 2011; 105: 40-44
- 27) Kanemitsu S, Shimono T, Nakamura A, Yamamoto K, Wada H, Shimpo H: Molecular diagnosis of nonaneurysmal infectious aortitis. *J Vasc Surg*. 2011 Nov 17. [Epub ahead of print]
- 28) Jinda S, Nakatani K, Nishioka J, Yasuda K, Soya Y, Hayashi A, Wada H, Nobori T. : Personalized treatment in the eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Int J Mol Med*. 2011: 27: 255-261
- 29) Ito-Habe N, Wada H, Matsumoto T, Ohishi K, Toyoda H, Ishikawa E, Nomura S, Komada Y, Ito M, Nobori T, Katayama N. Elevated Von Willebrand factor propeptide for the diagnosis of thrombotic microangiopathy and for predicting a poor outcome. *Int J Hematol*. 2011; 93: 47-52
- 30) Akiyama R, Komori I, Hiramoto R, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y. H1N1 influenza (swine flu)-

associated thrombotic micro-angiopathy with a gigantically high plasma ratio of von Willebrand factor to ADAMTS13. Intern Med (in press)

和文

- 1) 秋山正志, 武田壮一, 小亀浩市, 高木淳一, 宮田敏行: VWF 切断酵素 ADAMTS13 のエキソサイト認識機構. 生化学 82, 950-956 (2010)
- 2) 伊藤晋, 山本茂一, 林司, 加藤誠司, 日裏久英, 松本雅則, 藤村吉博. ADAMTS13 活性測定用 ELISA キットの開発. 日輪細治会誌. 56;27-35, 2010
- 3) 藤村吉博. 抗血栓性:ADAMTS13. 動脈硬化予防 MEDICAL VIEW 9 :110-112, 2010.
- 4) 藤村吉博, 八木秀男. IV-3 赤血球破碎症候群. 血液診療エキスパート 貧血. 中外医学社 pp196-203, 2010.
- 5) 藤村吉博. 血栓性血小板減少性紫斑病/溶血性尿毒症症候群. 血液疾患 最新の治療 2011-2013. 南江堂. pp289-294.
- 6) 松本雅則 藤村吉博. ADAMTS13. 分子脳血管病. 10:74-77, 2011.
- 7) 藤村吉博. Q.48 TMA-TTP/HUS. DIC のすべて. 救急・集中治療. 総合医学社. 22 1637-1641, 2010

学会発表

- 1) 和田英夫:DIC 診断に関する最新のエビデンス、教育講演、第8回日本検査血液学会冬季セミナー、2010年2月20-21日
- 2) 和田英夫:第三世代のフィブリン関連マーカー(SF)による血栓症の診断、教

育講演、第33回日本血栓止血学会学術集会、2010年4月22日-24日

- 3) Wada H: Guidelines for management of DIC, The 6th Congress of Asia Pacific Society on Thrombosis and haemostasis, Bali 10/13-16/2010
- 4) 和田英夫, 山田典一, 杉山隆, 池尻誠, 中村真潮: 静脈血栓塞栓症における二次的血栓性素因異常の検討のための臨床研究、学術標準化委員会シンポジウム「静脈血栓塞栓症予防ガイドライン改訂の方向性と今後の課題」、シンポジウム, 第33回日本血栓止血学会学術集会、2010年4月22日-24日
- 5) 畑田剛、和田英夫: 日本血栓止血学会プロスペクティブスタディの解析報告、日本救急医学会ジョイントシンポジウム「DIC-診断と治療の最前線」、第33回日本血栓止血学会学術集会、2010年4月22日-24日
- 6) 和田英夫: DIC の新しい概念と治療への展望~臨床検査部の立場から~、シンポジウム「DIC治療の新しい展開~リコメジュリン製剤の登場~」、第11回日本検査血液学会学術集会、2010年7月24-25日、東京ビッグサイト
- 7) 和田英夫: 血栓症の臨床 up-to-date、シンポジウム III 「血栓症高まる検査の役割」、第42回日本臨床検査自動化学会、2010年10月7日-9日、神戸国際会議場
- 8) 和田英夫: プロスペクティブスタディの解析結果からのDIC診断における止血系マーカーの評価、第5回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、東医会館、2010、10月30日
- 9) 和田英夫: 静脈血栓塞栓症における

フィブリン関連マーカーの有用性の検討、第5回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム、東医会館、2010、10月30日

10) 秋山正志, 武田壮一, 小亀浩市, 高木淳一, 宮田敏行: 立体構造にもとづく ADAMTS13 のドメイン間相互作用の解析. 第33回日本血栓止血学会学術集会, 鹿児島, 2010年4月.

11) 樋口(江浦)由佳, 宮田敏行, 小亀浩市: 小胞体関連分解 (ERAD) で機能する膜タンパク質 Herp の欠損は耐糖能と虚血耐性の低下につながる. 第8回血液・血管オルビス, 東京, 2010年8月.

12) Hirofumi Sudo, Mika Takarada-Iemata, Koji Hashida, Koichi Kokame, Yasuko Kitao, Osamu Hori: Roles of ERAD molecule Herp in the Parkinson's disease (PD) models. 第33回日本神経科学大会・第53回日本神経科学大会・第20回日本神経回路学会大会, 神戸, 2010年9月.

13) 平田健司, 久下裕司, 横田千晶, 生野雄二, 小亀浩市, 原田晃名, 半澤宏子, 河嶋秀和, 佐治英郎, 峰松一夫, 玉木長良: 脳虚血後の環境刺激による神経機能回復において proBDNF の関与は小さい. 第22回日本脳循環代謝学会総会, 豊中, 2010年11月.

14) 樋口(江浦)由佳, 宮田敏行, 小亀浩市: 小胞体関連分解 (ERAD) 因子の発現量は臓器依存的に調節されており Derlin-3 欠損の影響を受ける. 第83回日本生化学会大会・第33回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010年12月.

15) Yuka Eura, Yuji Arai, Toshiyuki Miyata, and Koichi Kokame: Derlin-1 and Derlin-2 but not Derlin-3

deficient mice were embryonic lethal. 50th ASCB Annual Meeting, Philadelphia, USA, December, 2010.

16) 中川央充, 森木隆典, 山口雄亮, 猪狩敦子, 副島見事, 松本雅則, 藤村吉博, 村田満. ADAMTS13 活性に関するディスインテグリンドメイン内のペプチド配列. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)

17) 山口直子, 八木秀男, 松本雅則, 志田泰明, 杉本充彦, 藤村吉博. TTP モデルの血流下におけるシロスタゾールの有用性の検討. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)

18) 日裏久英, 松井太衛, 堀勇二, 石西綾美, 松本雅則, 藤村吉博. 精製した血漿 ADAMTS13 の3種プロテアーゼによる切断修飾と糖鎖部分構造解析. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)

19) 松本雅則, 石西綾美, 加藤誠司, 堀勇二, 八木秀男, 藤村吉博. 後天性・特発性 TTP で ADAMTS13 活性著減を示す195例と古典的 pentad で診断された89例の比較検討. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)

20) 八木秀男, 松本雅則, 石西綾美, 藤村吉博. 乳幼児期発症の後天性・特発性 TTP-hitherto poorly recognized-6 例の臨床学的検討. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)

21) 藤村吉博. TTP モデルの血小板輸血禁忌の病態. 第58回日本輸血・細胞治療学会総会. (教育講演, 於:名古屋国際会議場、平成22年5月29日)

22) Koichi Kokame, Yoshihiro Fujimura. Fluorogenic and chromogenic assays of ADAMTS13 activity. 56th Annual Scientific and Standardization Committee Meeting of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. May 23 2010

23) Michiko Kajiwara, Toshiaki Ono, Shuuki Mizutani, Naoyuki Miyasaka, Toshirou Kubota, Ayami Isonishi, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura. Periodical plasma infusion is useful in management of pregnancy in typical Upshaw-Schuman syndrome. 第72回日本血液学会学術集会。(於:パシフィコ横浜、平成22年9月26日)

24) 井上明威、濱崎あゆ美、藤原志保、宮川寿一、宮家宏定、内場光浩、米村雄士、松本雅則、藤村吉博. 長期間ADAMTS13の変動を観察し得たTTP2症例. 第72回日本血液学会学術集会。(於:パシフィコ横浜、平成22年9月26日)

25) 松本雅則、藤村吉博. 血小板減少症におけるHIT抗体検査の重要性-奈良医大での経験. 2010年度第31回日本アフェレシス学会学術大会。(シンポジウム, 於:ディズニーアンバサダーホテル、平成22年11月6日)

26) 前田美和、西田幸代、辻内智美、長谷川真弓、原田純子、門池真弓、早川正樹、松本雅則、藤村吉博. 血漿分画製剤管理の現状と問題点. 第54回日本輸血・細胞治療学近畿支部総会(於:ピアザ淡海、平成22年11月27日)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

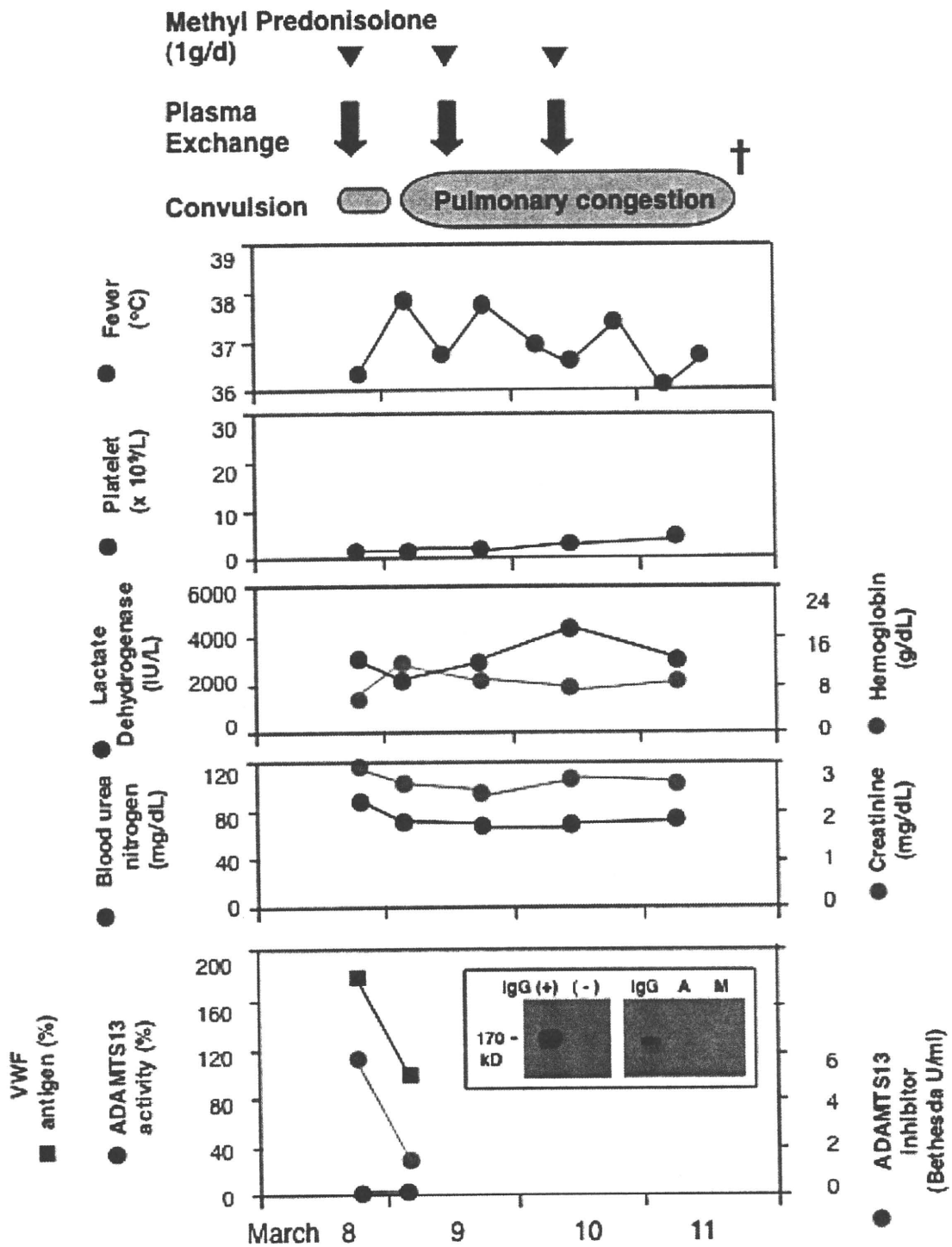


図1. 症例1の臨床経過

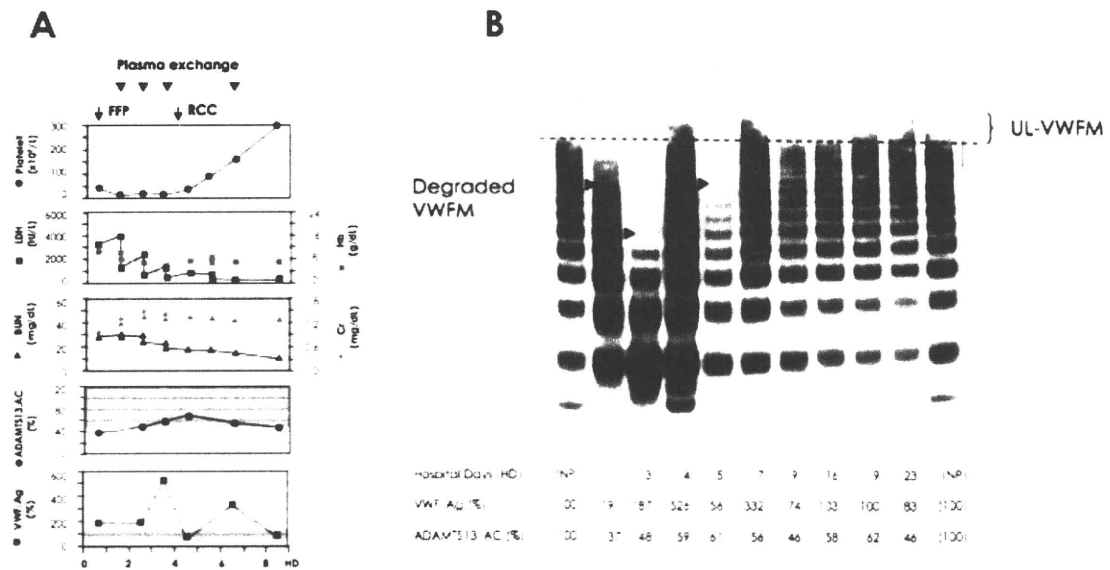


図2. 症例2の臨床経過とVWFマルチマー解析

後天性・特発性 TTP における ADAMTS13 活性著減例と 古典的 5 徴候で診断された症例の比較検討

研究分担者：藤村吉博 奈良県立医科大学 輸血部 教授
研究協力者：松本雅則 奈良県立医科大学 輸血部 准教授

研究要旨

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) は ADAMTS13 活性著減でも診断されるが、同活性非著減例でも TTP の古典的 5 徴候を認める場合があり臨床的に TTP と診断される。本年度我々は、後天性特発性(ai-)TTP における活性著減例と非著減例の臨床的特徴を多数例で比較した。2008 年 12 月までに奈良医大輸血部で集積した血栓性微小血管障害症(TMA)919 例のうち、ADAMTS13 活性が 3%未満に著減した症例 195 例(著減例)と、TTP の 5 徴候を持つ 89 例(非著減例)を ai-TTP と診断した。活性著減例は、60 才前後に最も大きなピークを認めたが、30 才以下の症例も一定の割合で認められ、2 才未満の症例も 5 例認めた。活性非著減例のピークは、70 才以上にあり、20 才未満の症例はわずか 3 例であった。ADAMTS13 インヒビターは著減例で 195 例中 193 例(99%)、非著減例でも 89 例中 37 例(42%)に認めた。しかし、非著減例では最高値 1.9 BU/ml(活性 5%)であり、比較的低位のインヒビターであった。それに対して、活性著減例では 5 BU/ml 以上の症例が 44 例(23%)も存在することが明らかになり、このような症例における血漿交換の効果などの治療経過を今後検討する予定である。

A. 研究の目的

血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の診断に ADAMTS13 活性著減が有名であるが、同酵素活性非著減例においても TTP の 5 徴候が全部揃う症例が存在し、TTP と診断せざるを得ない場合もある。TTP は、急激に発症する急性疾患であり症例数も多くないことから、1 施設で多数例を集積することは困難である。そのため、ADAMTS13 活性著減例と非著減例の臨床的特徴を多数例で比較することは困難であった。奈良医大輸血部では、日本全国から ADAMTS13 活性とインヒビターの測定を通じて、1998 年より血栓性微小血管障害症(TMA)症例のデータベース化を行っている(Inter Med 49;7-15, 2010)。TMA は、溶血性貧血、消耗性の血小板減少、微小循環障害による臓器障害を特徴とする病態名であり、TTP や溶血性尿毒

症候群が含まれる。2008 年末までに集積した 919 例の TMA の中に、ADAMTS13 活性著減例、および古典的 5 徴候によって診断された後天性・特発性(ai-)TTP が 284 例存在したので、多数例による臨床的特徴の比較を行い昨年報告した。今回、さらに ADAMTS13 に対する自己抗体(インヒビター)について解析した。

B. 研究方法

対象:1998 年 7 月から 2008 年 12 月までに奈良医大輸血部で集積した 919 例の TMA で ai-TTP と診断された 284 例。内訳は、3%未満への ADAMTS13 活性著減例 195 例と、古典的 5 徴候によって診断された 89 例。

古典的 5 徴候とは、(i)溶血性貧血(ヘモグロビン $\leq 12\text{g/dL}$)、(ii)血小板減少

($\leq 100 \times 10^9/L$), (iii)腎障害 (検尿異常を含む), (iv)精神神経症状, (v)発熱 $\geq 37^\circ\text{C}$

ADAMTS13 活性およびインヒビター測定: ADAMTS13 活性は, 284 例のうち 263 例は act-ELISA (Technoclone) で測定したが, 21 例は血漿サンプルが残っておらず, VWF マルチマー法のみで測定した。ADAMTS13 インヒビターでの 1 Bethesda 単位/ml (BU/ml) とは ADAMTS13 活性を 50% 低下させる値と定義した。0.5 BU/ml 以上をインヒビター陽性とした。

(倫理面への配慮)

検体採取に際しては, 主治医より十分な説明を行い, 同意を得た。

C. 研究成果

ai-TTP の年齢分布を著減例と非著減例に区分して図1に示す。活性著減例 (<3%) は, 60 才前後に最も大きなピークを認め, 35 才前後にも 2 番目のピークを認めた。この群には, 30 才以下の症例も一定の割合で認められ, 驚いたことに 2 才未満の症例も 5 例認めた。それに対して, 活性非著減例のピークは, 70 才以上にあり, 60 才以上の症例がほとんどであった。この群には 20 才未満の症例はほとんど認めなかった (3/89, 3.4%)。次に, 図2に著減例, 非著減例で男女別にインヒビターの分布を示す。どちらの群でも男女間に差は認めなかった。著減例では, 195 例中 193 例 (99%) にインヒビターを認めたが, 非著減例でも 89 例中 37 例 (42%) にインヒビターを認めた。しかし, 非著減例では最高値 1.9 BU/ml (活性 5%) であり, 比較的低力価のインヒビターであった。それに対して, 活性著減例では, 0.5- <2 BU/ml の症例が 81 例 (42%) であり, 2 BU/ml 以上が 57% と高力価のインヒビター症例が過半数であった。さらに, 5 BU/ml 以上の症例が 44 例 (23%) も存在することが明らかになった。

D. 考察

ADAMTS13 活性著減による ai-TTP は, 自己免疫疾患であることが明らかとなり, 20-40 才の女性が多いことが予想された。しかし, 実際には女性がやや多い (54%) が, それほど女性優位ではなく, 年齢分布も 60 才前後に最も大きなピークを認めた。さらに, 活性著減例は, 20 才未満にも一定の割合で認められ, 特に 2 才未満に 5 例も存在することを確認し, 発症機序など非常に興味深い。活性非著減例は, 60 才以上に多いが, 40 才未満では少なく, 20 才未満ではほとんど認めなかった。ADAMTS13 インヒビターに関しては, 今回用いた活性測定法が高感度であり, 活性著減例で 99%, 非著減例で 58% にインヒビターを認めた。さらに, 活性著減例では高力価のインヒビターが多く存在することが判明した。現在までの我々の経験から, 高力価のインヒビター症例は, 血漿交換によって一旦血小板が上昇しても再度低下し, 血漿交換に抵抗性になることがある。この場合, インヒビターが再上昇しており, 血漿交換のみを単独で続けるのではなく, リツキサンなどの免疫抑制剤を追加することが必要となる。今後, 高力価インヒビター症例の経過について検討を行う予定である。

E. 結論

多数例を集積することが困難であると考えられていた ai-TTP 284 例において, ADAMTS13 活性著減例と非著減例の臨床所見の比較検討を行った。その結果, 活性著減例では, 発症年齢が若く, 血小板減少が高度であるが, 腎機能障害は軽度であり, 短期予後も良好であることが確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表
英文

- 1) Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: Database of Nara Medical University during 1998-2008. *Inter Med* 49;7-15, 2010
- 2) Kosugi N, Tsurutani Y, Isonishi A, Hori Y, Matsumoto M, Fujimura Y. Influenza A infection triggers thrombotic thrombocytopenic purpura by producing the anti-ADAMTS13 IgG inhibitor. *Inter Med*, 49; 689-693, 2010
- 3) Sato A, Hoshi Y, Onuma M, Sato R, Tsunematsu Y, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y, Imaizumi M. A 9-month-old infant with acquired idiopathic thrombotic thrombo- cytopenic purpura caused by inhibitory IgG- autoantibody to ADAMTS13. *Pediatr Hematol Oncol*. 27:53-58. 2010
- 4) Okano E, Ko S, Matsumoto M, Fujimura Y, Nakajima Y. ADAMTS13 activity decreases after hepatectomy, reflecting a postoperative liver function. *Hepato-Gastro- enterology* 57:316-320, 2010
- 5) Kato K, Kobayashi C, Katayama Y, Moriyama N, Shiono J, Kudo K, Koide K, Aoki K, Fujisawa K, Okada M, Matsumoto M, Fujimura Y, Tsuchida M. A 42-day-old boy with acute idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Int* 52:485-487, 2010
- 6) Ito-Habe N, Wada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Murata M, Izuno T, Sugita M, Ikeda Y. A second national

questionnaire survey of TMA. *Int J Hematol* 92:68-75. 2010

- 7) Ishikawa M, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Morioka C, Fujimoto M, Kojima H, Yoshiji H, Tsujimoto T, Takimura C, Fujimura Y, Fukui H. Potential Role of Enhanced Cytokemia and Plasma Inhibitor on the Decreased Activity of Plasma ADAMTS13 in Patients With Alcoholic Hepatitis: Relationship to Endotoxemia. *Alcohol Clin Exp Res* 34:S25-S33, 2010
- 8) Hiura H, Matsui T, Matsumoto M, Hori Y, Isonishi A, Kato S, Iwamoto T, Mori T, Fujimura Y. Proteolytic fragmentation and sugar chains of plasma ADAMTS13 purified by a conformation-dependent monoclonal antibody. *J Biochem* 148: 403-411, 2010
- 9) Akiyama R, Komori I, Hiramoto R, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y. H1N1 influenza (swine flu)- associated thrombotic micro- angiopathy with a gigantically high plasma ratio of von Willebrand factor to ADAMTS13. *Intern Med* (in press)
- 10) Uemura M, Fujimura Y, Ko S, Matsumoto M, Nakajima Y, Fukui H. Pivotal role of ADAMTS13 function in liver diseases. *Int J Haematol* 91:20-29, 2010. (Review)

和文

- 1) 小西康司, 吉田克法, 多山幸, 切畑屋智史, 岩下裕一, 横田基次, 萱島道徳, 米田龍生, 石西綾美, 松本雅則, 藤村吉博. 奈良県立医科大学透析部におけるヘパリン起因性血小板減少症(HIT)症例の検討. *奈透析会誌* 15:59-63, 2010

- 2) 伊藤晋, 山本茂一, 林司, 加藤誠司, 日裏久英, 松本雅則, 藤村吉博. ADAMTS13 活性測定用 ELISA キットの開発. 日輸細治会誌. 56:27-35, 2010
- 3) 藤村吉博. 抗血栓性:ADAMTS13. 動脈硬化予防 MEDICAL VIEW 9 :110-112, 2010.
- 4) 藤村吉博, 八木秀男. IV-3 赤血球破砕症候群. 血液診療エキスパート 貧血. 中外医学社 pp196-203, 2010.
- 5) 藤村吉博. 血栓性血小板減少性紫斑病/溶血性尿毒症症候群. 血液疾患 最新の治療 2011-2013. 南江堂. pp289-294.
- 6) 松本雅則 藤村吉博. ADAMTS13. 分子脳血管病. 10:74-77, 2011.
- 7) 藤村吉博. Q. 48 TMA-TTP/HUS. DIC のすべて. 救急・集中治療. 総合医学社. 22 1637-1641, 2010

学会発表

- 1) 中川央充, 森木隆典, 山口雄亮, 猪狩敦子, 副島見事, 松本雅則, 藤村吉博, 村田満. ADAMTS13 活性に関するディスインテグリンドメイン内のペプチド配列. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)
- 2) 山口直子, 八木秀男, 松本雅則, 志田泰明, 杉本充彦, 藤村吉博. TTP モデルの血流下におけるシロスタゾールの有用性の検討. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)
- 3) 日裏久英, 松井太衛, 堀勇二, 石西綾美, 松本雅則, 藤村吉博. 精製した血漿 ADAMTS13 の3種プロテアーゼによる切断修飾と糖鎖部分構造解析. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)
- 4) 松本雅則, 石西綾美, 加藤誠司, 堀勇二, 八木秀男, 藤村吉博. 後天性・特発性TTPでADAMTS13活性著減を示す195例と古典的pentadで診断された89例の比較検討. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)
- 5) 八木秀男, 松本雅則, 石西綾美, 藤村吉博. 乳幼児期発症の後天性・特発性TTP-hitherto poorly recognized-6例の臨床学的検討. 第33回日本血栓止血学会学術集会. (鹿児島、平成22年4月22日)
- 6) 藤村吉博. TTP モデルの血小板輸血禁忌の病態. 第58回日本輸血・細胞治療学会総会. (教育講演, 於:名古屋国際会議場、平成22年5月29日)
- 7) Koichi Kokame and Yoshihiro Fujimura. Fluorogenic and chromogenic assays of ADAMTS13 activity. 56th Annual Scientific and Standardization Committee Meeting of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Cairo, May 23 2010
- 8) Michiko Kajiwara, Toshiaki Ono, Shuuki Mizutani, Naoyuki Miyasaka, Toshirou Kubota, Ayami Isonishi, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura. Periodical plasma infusion is useful in management of pregnancy in typical Upshaw-Schuman syndrome. 第72回日本血液学会学術集会. (於:パシフィコ横浜、平成22年9月26日)
- 9) 井上明威, 濱崎あゆ美, 藤原志保, 宮川寿一, 宮家宏定, 内場光浩, 米村雄士, 松本雅則, 藤村吉博. 長期間ADAMTS13の変動を観察し得たTTP2症例.

第 72 回日本血液学会学術集会。(於:パシフィコ横浜、平成 22 年 9 月 26 日)

10) 松本雅則、藤村吉博. 血小板減少症における HIT 抗体検査の重要性-奈良医大での経験. 2010 年度第 31 回日本アフエレシス学会学術大会。(シンポジウム, 於:ディズニーアンバサダーホテル、平成 22 年 11 月 6 日)

11) 前田美和、西田幸代、辻内智美、長谷川真弓、原田純子、門池真弓、早川正樹、松本雅則、藤村吉博. 血漿分画製剤管理の現状と問題点. 第 54 回日本輸血・細胞治療学近畿支部総会(於:ピアザ淡海、平成 22 年 11 月 27 日)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

图1. 年龄别患者分布

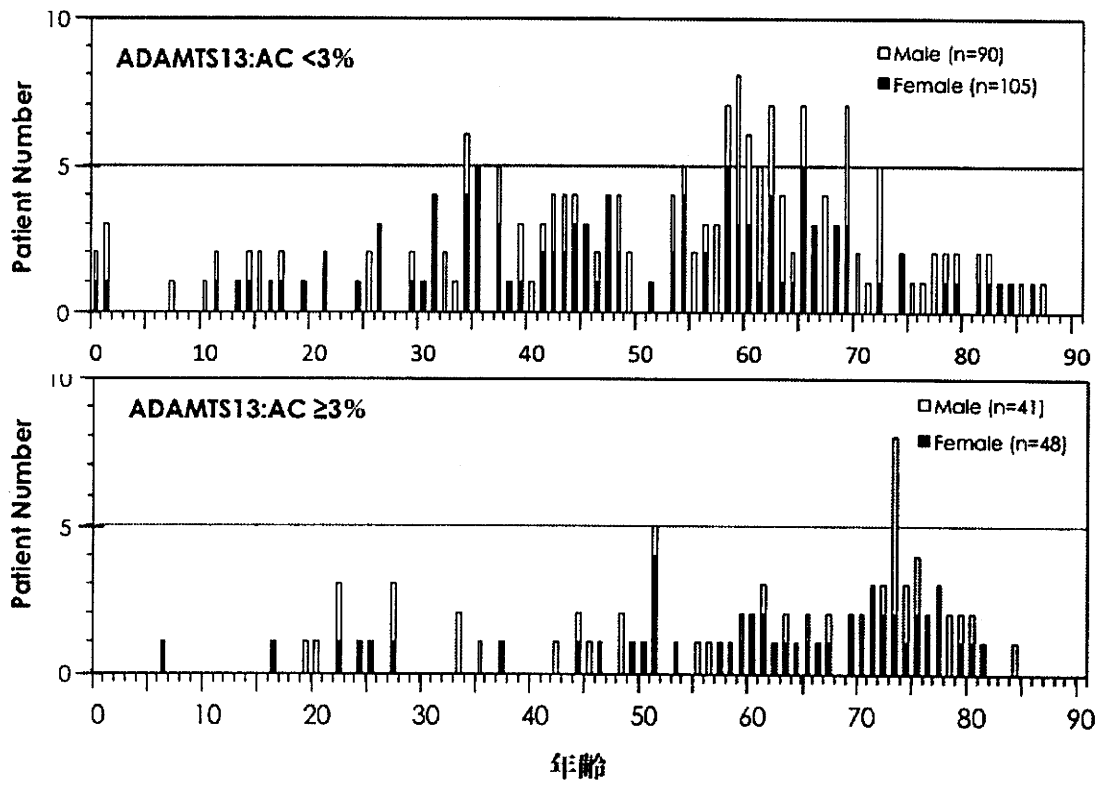
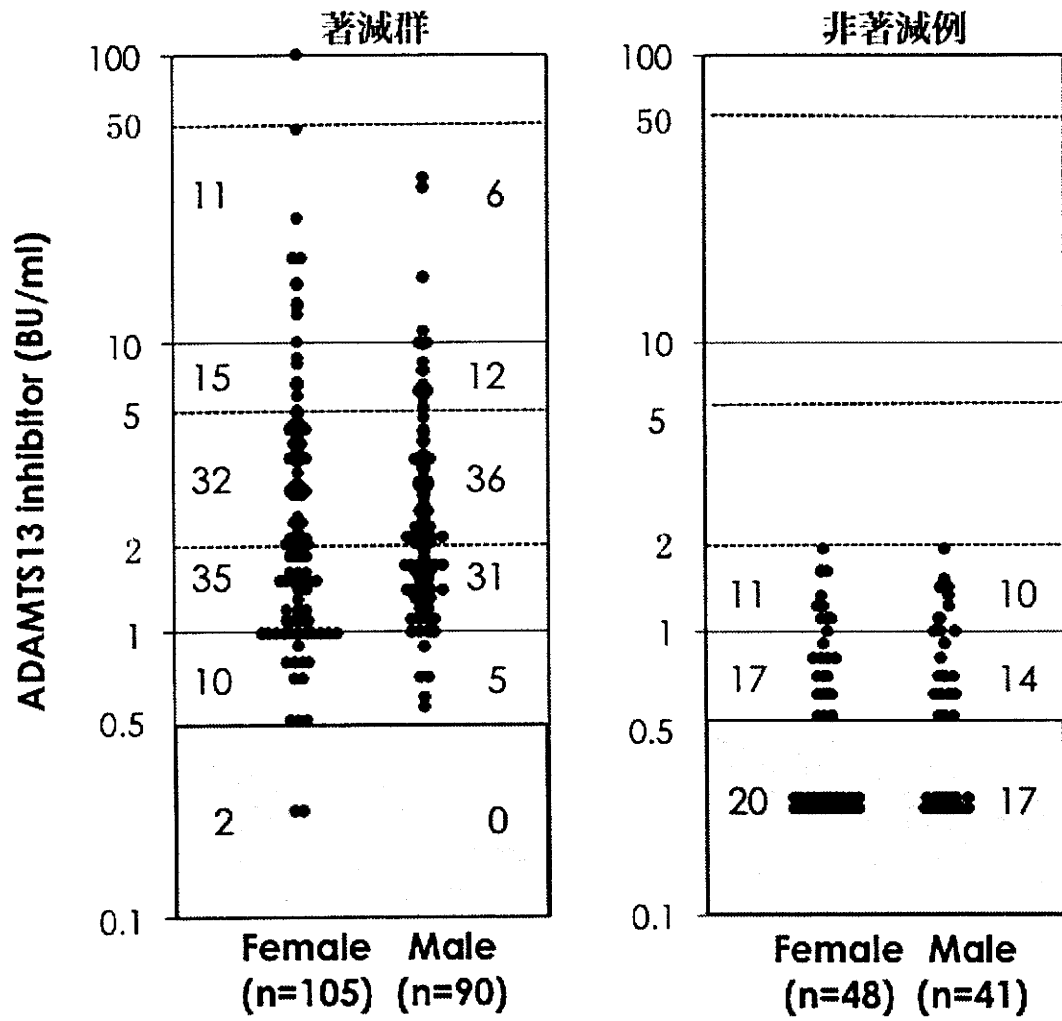


図2.両群間のADAMTS13インヒビター比較



肝移植後の VWF プロペプチドの変動

研究分担者：和田英夫 三重大学大学院医学系研究科 病態解明医学講座
臨床検査医学 准教授

研究協力者：伊藤尚美 三重大学大学院医学系研究科 病態制御医学講座
造血病態内科学 大学院

研究要旨

40 例の肝移植患者を対象に、血中 ADAMTS13、von Willebrand factor (VWF)、VWF propeptide (VWFpp) を測定した。血中 ADAMTS13 値は、術後 1 日で著しく低下し、術後 28 日までその低下は持続した。血中 VWF ならびに VWFpp 値は術前高値であるが、術後 1 日に VWF 値は著しく低下し、VWFpp は高値を持続した。その結果、VWFpp/VWF 比は術後 1 日に著しく増加した。術後 1 日目の VWF、VWFpp、ADAMTS13 値と、90 日後の生命予後とは相関しなかったが、28 日後の ADAMTS13 の低下と VWFpp の増加は、肝移植の生命予後に相関した。以上、肝移植後の TMA の発症ならびに生命予後に、VWF/ならびに ADAMTS13 系が関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

ADAMTS13 測定の普及により、thrombotic microangiopathy (TMA) の診断は著しく向上したが、ADAMTS13 が著明低下しない TMA の客観的診断はいまだ困難である。von Willebrand factor (VWF) propeptide (VWFpp) は、様々な病態で生理あるいは病理的刺激により VWF と同時に分泌され、VWF とは独立したマーカーとして評価されている。今回は、肝移植後の TMA 診断における VWFpp 測定の有用性について検討したので報告する。

B. 研究方法

対象症例は、三重大学医学部附属病院にて生体部分肝移植を受けた患者 40 例で、TMA 合併例は 17 例、非合併例は 23 例であった。このうち、90 日後の死亡例は 8 例 (TMA 群 5 例、非 TMA 群 3 例であった)。ADAMTS13 は FRETs 法にて、VWF pp は GTi DIAGNOSTiCs の VWF&Propeptide assay キットを用い、ELISA 法 (サンドイッチ

法) にて測定した。測定成績は中央値：25% - 75% tile で示した。

(倫理面への配慮)

倫理委員会の承認を得て、倫理委員会の指針に従い、個人情報保護に留意して、患者名は匿名化して行った。

C. 研究結果

血中 ADAMTS13 値は、肝移植前日 (65.0%: 45.0 - 98.8%) にやや低値であるが、術後 1 日 (21.9%: 7.1-29.7%) では著しく低下し ($p < 0.001$)、術後 28 日までその低下は持続した (図 1)。血中 VWF 値は、術前 (255%: 193-300%) 高値であるが、術後 1 日 (168%: 137-224%) に著しく低下し ($p < 0.001$)、術後 7 日に著しく増加を示し、その増加は術後 28 日まで持続した ($p < 0.001$) (図 2)。血中 VWFpp は肝移植前ならびに術後は 200U/dl 以上を呈し、術後 14 日目では低下傾向を示した (図 3)。VWFpp/VWF 比は、術後 1 日