

CASE REPORT

Open Access

# Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years: a case report

Koki Mise<sup>1,6\*</sup>, Yoshifumi Ubara<sup>1,3,6</sup>, Masanori Matsumoto<sup>4</sup>, Keiichi Sumida<sup>1,6</sup>, Rikako Hiramatsu<sup>1</sup>, Eiko Hasegawa<sup>1</sup>, Masayuki Yamanouchi<sup>1</sup>, Noriko Hayami<sup>1,6</sup>, Tatsuya Suwabe<sup>1,6</sup>, Junichi Hoshino<sup>1,6</sup>, Naoki Sawa<sup>1</sup>, Kenichi Ohashi<sup>2</sup>, Koichi Kokame<sup>5</sup>, Toshiyuki Miyata<sup>5</sup>, Yoshihiro Fujimura<sup>4</sup> and Kenmei Takaichi<sup>1,3</sup>

## Abstract

**Background:** Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is frequently associated with renal abnormalities, but there have been few reports about renal abnormalities in patients with hereditary TTP. In particular, little is known about the long-term prognosis of patients with childhood-onset congenital TTP.

**Case presentation:** We report a Japanese patient with congenital TTP (Upshaw-Schulman syndrome) who was followed for 19 years after initiation of hemodialysis when he was 22 years old. At the age of 6 years, the first episode of purpura, thrombocytopenia, and proteinuria occurred without any precipitating cause. He underwent living-related donor kidney transplantation from his mother, but the graft failed after 5 months due to recurrence of TTP. Even after resection of the transplanted kidney and resumption of regular hemodialysis, TTP became refractory to infusion of fresh frozen plasma (FFP). Therefore, splenectomy was performed and his disease remained in remission for 10 years. However, TTP recurred at the age of 39 years. Plasma activity of ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type I domain 13) was less than 3%, while ADAMTS13 inhibitor was not detected (< 0.5 Bethesda units/mL). The patient died suddenly after hemodialysis at the age of 41 years. Subsequent genetic analysis of this patient and his parents revealed two different heterozygous mutations of ADAMTS13, including a missense mutation in exon 26 (c.3650T>C causing p.I1217T) inherited from his father and a missense mutation in exon 21 (c.2723G>A causing p.C908Y) inherited from his mother. The former mutation has not been detected before in Japan, while the latter mutation is common in Japan. A retrospective review showed that serum C3 levels were consistently low while C4 levels were normal during follow-up, and C3 decreased much further during each episode of TTP.

**Conclusion:** Congenital TTP was diagnosed from the clinical, biochemical, and genetic findings. Infusion of FFP controlled each thrombotic episode, but the effect was limited and of short duration. Review of the complement profile in this patient suggested that a persistently low serum C3 level might be associated with refractory TTP and a worse renal prognosis.

**Keywords:** Congenital thrombotic thrombocytopenic purpura, ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type I domain 13), Chronic hemodialysis, Complement activation, C3, Alternative pathway

\* Correspondence: kokims-frz@umin.ac.jp

<sup>1</sup>Nephrology Center, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan

<sup>6</sup>Nephrology Center, Toranomon Hospital Kajigaya, 1-3-1, Kajigaya, Takatu-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa-ken 213-0015, Japan

Full list of author information is available at the end of the article

## Background

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a rare disorder characterized by thrombocytopenia and microangiopathic hemolytic anemia. Congenital TTP has been reported to be associated with severe deficiency of the plasma activity of ADAMTS13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin type I domain 13), which is reduced to <5% of normal by mutation of the ADAMTS13 gene, and this is known as the Upshaw–Schulman syndrome (USS) [1,2]. Deficiency of ADAMTS13 activity can also be caused by inhibitory antibodies targeting ADAMTS13, leading to acquired TTP. ADAMTS13 is a metalloproteinase that specifically cleaves multimeric von Willebrand factor (VWF) [2], while VWF is a large glycoprotein that is essential for platelet adhesion and aggregation under high shear stress conditions [3]. ADAMTS13 is mainly synthesized in the liver by stellate cells [4,5]. In addition, it is expressed by the podocytes and endothelium of the renal glomeruli, where podocyte-derived ADAMTS13 might have a local protective effect in the high shear stress glomerular microcirculation [6].

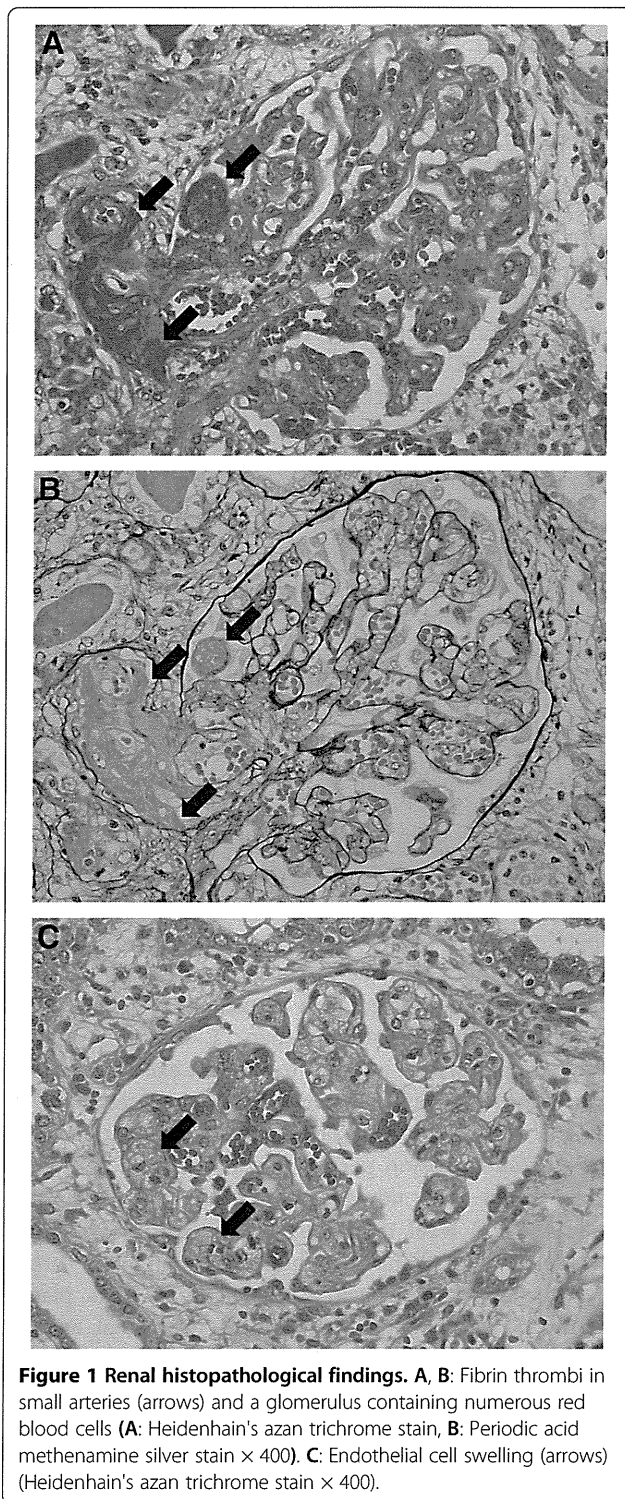
TTP is often associated with renal abnormalities and there have been some reports about such abnormalities in TTP patients, but few about hereditary TTP. In particular, there is little information about the long-term prognosis of patients with childhood-onset congenital TTP [7]. Here, we report a Japanese man with congenital TTP confirmed by genetic analysis, who was followed up for 19 years after initiation of hemodialysis.

## Case presentation

A 22-year-old man was admitted to our hospital for renal transplantation. He was the third of five children of non-consanguineous parents. There was no history of severe neonatal jaundice. Purpura of the lower extremities, thrombocytopenia, and proteinuria occurred without any precipitating cause at the age of 6 years, and hemolytic uremic syndrome (HUS) was diagnosed. This episode subsided spontaneously without treatment, but there were repeated recurrences and his renal function deteriorated gradually. In 1990, at the age of 22 years, hemodialysis was started for end-stage renal disease (ESRD) along with the occurrence of cerebral infarction. After 4 months, living-related kidney transplantation was performed with his mother as the donor. Immunosuppressive therapy included prednisolone (70 mg daily), cyclosporine (420 mg daily), antilymphocyte globulin (1 g daily), and azathioprine (100 mg daily). At 7 days after surgery, he developed thrombocytopenia ( $23.1$  to  $1.8 \times 10^4/\mu\text{L}$ ) and hemolytic anemia (Hb: 10.3 to 8.2 g/dL), along with an increase of serum creatinine (1.1 to 2.1 mg/dL), lactate dehydrogenase (LDH: 208 to 785 IU), and total

bilirubin (0.4 to 2.2 mg/dL). Haptoglobin was decreased to 3.4 mg/dL. Serum levels of C3 and C4 were also decreased (C3: 63.0 to 51.7 mg/dL, normal range; 83 to 177 mg/dL, C4: 34.4 to 22.9, normal range; 15 to 45 mg/dL). Activation of HUS was suspected to have been caused by cyclosporine, so it was switched to deoxyspergualin (200 mg daily). After methylprednisolone pulse therapy (500 mg/day for 3 days) and infusion of fresh frozen plasma (FFP) (800 mL  $\times$  5 days), HUS subsided temporarily. However, there was frequent relapse of HUS, so azathioprine was changed to mizoribine and muromonab-CD3 was administered. Plasma exchange or infusion FFP was effective for terminating each episode of HUS. After 50 days, cerebral hemorrhage occurred, followed by gastrointestinal bleeding at 90 days. Then HUS recurred with thrombocytopenia and hemolytic anemia, which was refractory to plasma exchange or infusion of FFP, and his renal function deteriorated gradually. In May 1991, removal of the kidney graft was performed and hemodialysis was restarted. Examination of the resected kidney showed thrombi, endothelial cell swelling, and numerous red blood cells in the glomeruli and small arteries (Figure 1). After nephrectomy, jejunal bleeding was treated by transcatheter arterial embolization of an arteriovenous malformation in the superior mesenteric artery territory.

Even after hemodialysis was resumed, transient ischemic attacks and cerebral infarction occurred every time his platelet count decreased spontaneously, subsiding in response to infusion of FFP. However, TTP became refractory to FFP in 1998. Because indium platelet scintigraphy showed high uptake in the spleen and his platelets had a short lifespan (1.76 days), splenectomy was performed in order to prevent excessive platelet destruction. Thereafter, thrombotic episodes requiring the infusion of FFP did not occur for 10 years until 2008. During this remission period, the serum level of C3 was always lower than normal and serum C4 was normal, while the C3 level decreased much further with each episode of TTP. When cerebral infarction with thrombocytopenia occurred again at the age of 39 years, plasma ADAMTS13 activity was less than 5% of normal, as measured by the FRETs-VWF73 assay [8], while ADAMTS13 inhibitor was negative (<0.5 Bethesda units/mL) [9]. USS was diagnosed because he had severe deficiency of ADAMTS13 activity without any detectable inhibitor in conjunction with appropriate clinical criteria. Although the thrombotic episodes subsided following infusion of FFP, he died suddenly after hemodialysis in 2010 at the age of 41 years. After the patient's death, we measured plasma ADAMTS13 activity and inhibitor in his parents using a chromogenic ELISA [10]. Both of them had ADAMTS13 activity around 30% of normal and the inhibitor was negative.



### Genetic analysis

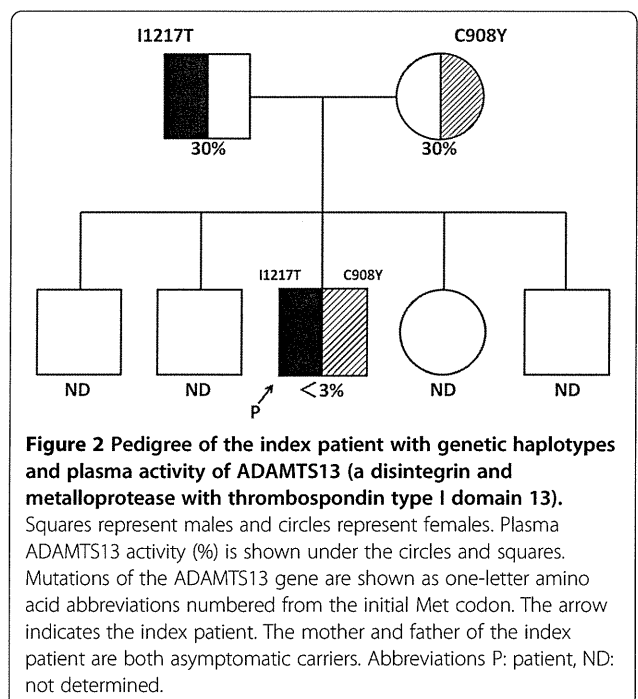
After obtaining consent from his parents, genetic analysis of the patient and parents was performed with the approval of the Ethics Committees of Nara Medical University, the National Cerebral and Cardiovascular Center, and Toranomon Hospital. Genetic analysis of

the patient was carried out at the National Cerebral and Cardiovascular Center using DNA extracted from the resected spleen. For his parents, analysis was performed at the Department of Blood Transfusion Medicine of Nara Medical University.

It was demonstrated that the patient had compound heterozygous mutations of ADAMTS13, comprising a missense mutation in exon 26 (c.3650T>C causing p.I1217T) that was inherited from his father and a missense mutation in exon 21 (c.2723G>A causing p.C908Y) inherited from his mother. A diagnosis of congenital TTP (USS) was confirmed by these findings (Figure 2).

### Discussion

It is widely recognized that TTP is associated with renal abnormalities, with renal failure occurring secondary to damage caused by microthrombi that develop because of decreased plasma ADAMTS13 activity. The common renal manifestations of TTP are proteinuria and hematuria. Acute renal failure (ARF) affects 11% of patients with severe congenital TTP and often recurs with exacerbation of this disease [7]. Although ARF requiring dialysis was reported to be less frequent (0–9.7%) in four series of patients with acquired TTP [11–13], the percentage of patients with congenital TTP who need regular dialysis is unclear. Tsai et al. [7] reported that five out of nine patients with USS progressed to ESRD requiring dialysis, and three of them had episodes of ARF. Therefore, repeated episodes of ARF may be associated with progression to ESRD.



Because infusion of plasma is effective for acute exacerbation of congenital TTP, plasma exchange is the standard treatment. In patients with relapsing and/or refractory TTP, splenectomy can be effective. The mechanism is assumed to be that splenectomy decreases autoantibody production by removing a large reservoir of B lymphocytes [14], which is a reasonable explanation for patients with acquired TTP and elevated levels of ADAMTS13 inhibitor. However, Snider et al. [15] reported a patient with relapsing and refractory congenital TTP who remained in complete clinical remission for 4 years after splenectomy. In our patient, remission of TTP persisted for 10 years after splenectomy, but the effect was limited. The mechanism by which splenectomy improves congenital TTP is unknown, although it is possible that a state like idiopathic thrombocytopenia purpura (ITP) might have coexisted with TTP in our patient because his short platelet lifespan was compatible with ITP. Since TTP remained in remission for 10 years after splenectomy without the need for FFP, this case shows that splenectomy can be a useful option for relapsing/refractory congenital TTP. There has only been one previous case report of renal transplantation for chronic renal failure in a patient with congenital TTP, and the graft showed early failure due to disease recurrence [16]. In our case, the graft also failed due to chronic relapsing TTP only 5 months after transplantation. Therefore, renal transplantation may not be a feasible option for ESRD in patients with congenital TTP.

Several mutations of the ADAMTS13 gene have been reported in congenital TTP. It is thought that specific ADAMTS13 mutations are more common among certain ethnicities [17]. Fujimura et al. [17] evaluated 43 USS patients in Japan and found ADAMTS13 mutations that were specific to Japanese individuals with congenital TTP. The present patient had p.C908Y with maternal inheritance, which is one of the common ADAMTS13 mutations found in Japanese patients [17]. However, the patient also had p.I1271T (inherited from his father) and this has not been reported before in Japanese patients, was although it is consistent with the missense mutation reported by Park et al. [18] in a Korean patient who had congenital TTP complicating moyamoya disease. Fujimura et al. [17] reported that two out of 43 patients with congenital TTP progressed to ESRD requiring dialysis. One of them was homozygous for c.414 + 1G > A, while the other was heterozygous for c.1885delT (paternal inheritance) and p.C908Y (maternal inheritance). However, these mutations were also detected in some of their TTP patients without progression to dialysis. In fact, five of the 43 patients had the p.C908Y mutation that was detected in our case, but only one of them progressed to dialysis during follow-up. Therefore, as Tsai et al. [7] concluded, the relation between

ADAMTS13 mutation and the renal prognosis remains uncertain [17].

With regard to the occurrence of renal impairment in this patient, it may be important to focus on the complement system. Ruiz-Torres et al. [19] studied thrombotic microangiopathy patients with congenital ADAMTS13 deficiency and patients with ADAMTS 13 inhibitors, and they reported that four of out of six patients (66%) showed a moderate decrease of C3 in the acute phase, which was indicative of complement activation and consumption. They hypothesized that platelet microthrombi caused activation of the alternative pathway in patients with ADAMTS13 deficiency. Moreover, Noris et al. [20] reported 2 sisters who had the same compound heterozygous ADAMTS13 mutations, while one sister also had a heterozygous mutation of the gene encoding complement factor H, a plasma factor that inhibits activation of the alternative pathway. The second sister had severe disease, with renal involvement requiring chronic dialysis, and eventually died of a stroke. She had subnormal serum C3 levels and normal C4 levels. In addition, one of the four congenital TTP patients reported by Ruiz-Torres et al. had a subnormal C3 level even in remission and her serum creatinine level was 5.73 mg/dL, suggesting ESRD. Considering these reports, some patients with congenital TTP may have persistently low C3 levels that may be associated with a worse renal prognosis. The findings in our case seem to support this hypothesis. If a persistently depressed C3 level and normal C4 level, indicating selective activation of the alternative pathway, is one of the causes of severe TTP, the anti-C5 monoclonal antibody eculizumab may be an effective treatment for refractory TTP. In fact, Chapin et al. [21] reported that eculizumab was effective for refractory TTP, so use of eculizumab might have been a good treatment option in our case.

## Conclusion

We encountered a male patient with congenital TTP who remained on hemodialysis for 19 years. His ADAMTS13 gene had two mutations, which were p.I1271T (the first report of this mutation in Japan) and p.C908Y (common in Japan). Infusion of FFP was effective for controlling thrombotic episodes, but the improvement was limited and of short duration. The profile of complement components in this patient suggests an association of persistently low serum C3 level with refractory TTP and a worse renal prognosis.

## Consent

Written informed consent was obtained from the patient's parents for the genetic analyses, as well as for publication of this case report and any accompanying images. We could not obtain written consent from the patient himself because he was already dead when we wrote this paper.

#### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

#### Authors' contributions

KM contributed to analyzing and interpretation of data and writing the manuscript. YU contributed to analyzing and interpretation of data and writing the manuscript. MM contributed to analyzing and interpretation of data and writing the manuscript. KS contributed to managing the patient and assessing data. EH contributed to managing the patient and assessing data. MY contributed to managing the patient and assessing data. NH contributed to managing the patient and assessing data. TS contributed to managing the patient and assessing data. JH contributed to managing the patient and assessing data. NS contributed to managing the patient and assessing data. KO contributed to analyzing and interpretation of pathological findings. KK contributed to analyzing the ADAMTS13 gene of patient. TM contributed to analyzing the ADAMTS13 gene of patient. YF contributed to analyzing and interpretation of data and writing the manuscript. KT contributed to analyzing and interpretation of data and management the patient. All authors read and approved the final manuscript.

#### Acknowledgements

This work was partly supported by a grant from the Okinaka Memorial Institute for Medical Research and by grants-in-aid from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan; the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan; the Japan Society for the Promotion of Science; and Takeda Medical Foundation of Japan.

#### Author details

<sup>1</sup>Nephrology Center, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan. <sup>2</sup>Department of Pathology, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan. <sup>3</sup>Okinaka Memorial Institute for Medical Research, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan. <sup>4</sup>Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University, Nara, Japan. <sup>5</sup>Department of Molecular Pathogenesis, National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan. <sup>6</sup>Nephrology Center, Toranomon Hospital Kajigaya, 1-3-1, Kajigaya, Takatu-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa-ken 213-0015, Japan.

Received: 8 March 2013 Accepted: 9 July 2013

Published: 20 July 2013

#### References

1. Bianchi V, Robles R, Alberio L, Furlan M, Lammle B: **Von willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in thrombocytopenic disorders: a severely deficient activity is specific for thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Blood* 2002, **100**(2):710-713.
2. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, et al: **Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Nature* 2001, **413**(6855):488-494.
3. Ruggeri ZM: **Structure and function of von willebrand factor.** *Thromb Haemost* 1999, **82**(2):576-584.
4. Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, Fujimoto M, Matsuyama T, Ishikawa M, Iwamoto TA, Mori T, Wanaka A, Fukui H, et al: **Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver.** *Blood* 2005, **106**(3):922-924.
5. Zhou W, Inada M, Lee TP, Bente D, Lyubsky S, Bouhassira EE, Gupta S, Tsai HM: **ADAMTS13 is expressed in hepatic stellate cells.** *Lab Invest* 2005, **85**(6):780-788.
6. Manea M, Kristoffersson A, Schneppenheim R, Saleem MA, Mathieson PW, Morgelin M, Bjork P, Holmberg L, Karpman D: **Podocytes express ADAMTS13 in normal renal cortex and in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Br J Haematol* 2007, **138**(5):651-662.
7. Tsai HM: **The kidney in thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Minerva Med* 2007, **98**(6):731-747.
8. Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, Okayama A, Miyata T: **FRETS-VWF73, a first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay.** *Br J Haematol* 2005, **129**(1):93-100.
9. Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, Krause M, Scharer I, Aumann V, Mittler U, et al: **von willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome.** *N Engl J Med* 1998, **339**(22):1578-1584.
10. 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* 2006, **46**(8):1444-1452.
11. Vesely SK, George JN, Lammle B, Studt JD, Alberio L, El-Harake MA, Raskob GE: **ADAMTS13 Activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients.** *Blood* 2003, **102**(1):60-68.
12. Raife T, Atkinson B, Montgomery R, Vesely S, Friedman K: **Severe deficiency of VWF-cleaving protease (ADAMTS13) activity defines a distinct population of thrombotic microangiopathy patients.** *Transfusion* 2004, **44**(2):146-150.
13. Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE: **Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Blood* 2004, **103**(11):4043-4049.
14. Bouw MC, Dors N, van Ommen H, Ramakers-van Woerden NL: **Thrombotic thrombocytopenic purpura in childhood.** *Pediatr Blood Cancer* 2009, **53**(4):537-542.
15. Snider CE, Moore JC, Warkentin TE, Finch CN, Hayward CP, Kelton JG: **Dissociation between the level of von willebrand factor-cleaving protease activity and disease in a patient with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Am J Hematol* 2004, **77**(4):387-390.
16. Veyradier A, Lavergne JM, Ribba AS, Obert B, Loirat C, Meyer D, Girma JP: **Ten candidate ADAMTS13 mutations in six french families with congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (upshaw-schulman syndrome).** *J Thromb Haemost* 2004, **2**(3):424-429.
17. Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, Yagi H, Kokame K, Soejima K, Murata M, Miyata T: **Natural history of upshaw-schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan.** *J Thromb Haemost* 2011, **9**(Suppl 1):283-301.
18. Park HW, Oh D, Kim N, Cho HY, Moon KC, Chae JH, Ahn HS, Choi Y, Cheong H: **Congenital thrombotic thrombocytopenic purpura associated with unilateral moyamoya disease.** *Pediatr Nephrol* 2008, **23**(9):1555-1558.
19. Ruiz-Torres MP, Casiraghi F, Galbusera M, Macconi D, Gastoldi S, Todeschini M, Porrati F, Belotti D, Pogliani EM, Noris M, et al: **Complement activation: the missing link between ADAMTS-13 deficiency and microvascular thrombosis of thrombotic microangiopathies.** *Thromb Haemost* 2005, **93**(3):443-452.
20. Noris M, Bucchioni S, Galbusera M, Donadelli R, Bresin E, Castelletti F, Caprioli J, Brioschi S, Scheiflinger F, Remuzzi G: **Complement factor H mutation in familial thrombotic thrombocytopenic purpura with ADAMTS13 deficiency and renal involvement.** *J Am Soc Nephrol* 2005, **16**(5):1177-1183.
21. Chapin J, Weksler B, Magro C, Laurence J: **Ecuzumab in the treatment of refractory idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura.** *Br J Haematol* 2012, **157**(6):772-774.

doi:10.1186/1471-2369-14-156

**Cite this article as:** Mise et al.: Long term follow up of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura (Upshaw-Schulman syndrome) on hemodialysis for 19 years: a case report. *BMC Nephrology* 2013 **14**:156.

**Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:**

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at  
www.biomedcentral.com/submit



## 5. 後天性 TTP に対するリツキシマブ療法

奈良県立医科大学輸血部准教授 松本雅則

同 輸血部教授 藤村吉博

**key words** thrombotic thrombocytopenic purpura, rituximab, anti-ADAMTS13 autoantibody, anti-CD20 monoclonal antibody

### 動 向

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura) の初期治療として、後天性では血漿交換とステロイドパルス療法などが実施されている<sup>1)</sup>。これらの治療により、TTP の死亡率は90%以上から約20%に劇的に低下した<sup>2,3)</sup>。しかし、腸管出血性大腸菌感染による溶血性尿毒症症候群 (HUS: hemolytic uremic syndrome) の急性期死亡率が3~5%<sup>4)</sup>であることと比較すると、未だ非常に高い死亡率である。今後TTPの予後を改善するためには、血漿交換不応例と寛解後の再発例への対処が重要である。従来からこのような症例に対して、血漿交換とステロイド治療に加えて、ビンクリスチンやエンドキサンなどが使用されることがあった。しかし、症例報告に基づく限定的な有効性しか確認されず、科学的根拠の明らかな標準的治療法は存在しなかった。近年、後天性TTPは、von Willebrand 因子 (VWF) 切断酵素ADAMTS13に対するIgG型の自己抗体 (インヒビター) が産生され同活性が著減することで発症することが明らかとなり<sup>5,6)</sup>、後天性TTPの多くは自己免疫疾患であることが判明した。

抗CD20に対するモノクローナル抗体であるリ

ツキシマブは、1990年代後半から悪性リンパ腫の治療薬として使用されているが<sup>7)</sup>、B細胞を除去することから<sup>8)</sup>、自己抗体産生抑制を目的として、米国では難治性の慢性関節リウマチ (RA)<sup>9)</sup>に対する適応を取得している。また、自己免疫疾患である後天性血友病、特発性血小板減少性紫斑病に対して海外の一部で保険適用を受けている。2002年以降、後天性TTPにおいても初期治療の不応例、もしくは頻回再発例でのリツキシマブの有効性が海外<sup>10-12)</sup>や国内<sup>13)</sup>から報告されるようになった。2011年には、イギリスからphase 2研究として不応例や再発例ではなく、急性期の初期治療としてリツキシマブを使用し、再発率を有意に低下させるなどの有効性が報告された<sup>14)</sup>。また、フランスのグループからも急性期の血漿交換不応例にリツキシマブを追加して、寛解までの期間が有意に短縮したことが報告された<sup>15)</sup>。後天性TTPにおいてリツキシマブは、日本国内では保険適用となっていない状態で血漿交換不応例や再発例に対して救命のために使用されているが、急性期の初期治療としても有効である可能性が高い。

## A. TTPとは

TTPは、1924年にはじめて報告された疾患<sup>16)</sup>で、血小板減少、溶血性貧血、腎機能障害、発熱、精神神経症状の古典的5徴候<sup>17)</sup>で有名である。適切な治療を行わなければ致死率が90%以上の極めて予後不良の疾患である<sup>17)</sup>が、血漿交換療法が実施されるようになり致死率は20%以下に著減した<sup>2,3)</sup>。血漿交換療法を早期に行うことが予後改善につながるため<sup>18)</sup>、最近ではTTPの診断基準として、他に原因がない血小板減少と溶血性貧血の2徴候が用いられることが多い<sup>19)</sup>。

1998年にTTPの病因としてADAMTS13活性著減が報告された<sup>5,6)</sup>。先天性TTP (Upshaw-Schulman症候群)では遺伝的にADAMTS13活性が欠損<sup>20)</sup>、後天性TTPではIgG型の自己抗体が産生されることでADAMTS13活性が著減すること<sup>6)</sup>が明らかになった。ADAMTS13はVWFを特異的に切断する酵素である。VWFは、凝固第VIII因子の保護と、血小板との結合による血小板血栓形成という2つの機能を持つ血漿糖タンパク質である。産生細胞として骨髄巨核球と血管内皮細胞が報告されているが、血管内皮細胞から分泌直後のVWFは非常に大きな分子量で、UL-VWFM (unusually large VWF multimers)とよばれている。VWFの血小板との結合能力はその分子量に依存し、UL-VWFMは血小板血栓を形成しやすい。ADAMTS13活性が著減した場合にはUL-VWFMが切断されずに血液中に存在することになり、腎臓や脳などの微小血管で血小板血栓が形成され、腎障害や精神神経症状が出現し、TTPを発症する。ただし、後天性TTPのすべての症例でADAMTS13活性が著減するのではなく、後天性特発性TTPの約70%が著減例である<sup>19,21)</sup>。また、造血幹細胞移植や悪性腫瘍関連などによる二次性TTPでは、多くの症例でADAMTS13活性は著減しないが、SLEなどの膠

原病<sup>22)</sup>や抗血小板薬チクロピジンなど特定の原因によるもので自己抗体の存在によって同酵素著減例を認める場合がある<sup>21)</sup>。ADAMTS13活性が著減しないTTPの発症機序として、大量のサイトカインによって血管内皮が刺激され、UL-VWFMが過剰に分泌されるのではないかと考えられている。

## B. 後天性TTPにおける抗ADAMTS13抗体

後天性TTPにおけるADAMTS13に対する自己抗体には、中和抗体 (インヒビター) と非中和抗体が存在し、インヒビターは、*in vitro*でのADAMTS13活性測定法で検出できる。一方、非中和抗体は、ADAMTS13と結合するのみで*in vitro*では活性を阻害しないが、ELISAなどによって検出され、血液中からのADAMTS13のクリアランスを増加させる、もしくは細胞やVWFなどの血漿蛋白へのADAMTS13の結合を阻害する、などの作用が予想されている<sup>23)</sup>。後天性TTP患者で認められる自己抗体のほとんどがIgG型であり<sup>6)</sup>、IgAやIgM型も少数例で報告されているが、その臨床的な意義が明らかになっていない。IgG型のサブクラス解析では、海外からの報告ではIgG4陽性が90%と最も多く、IgG1, 2, 3はそれぞれ30~50%程度であった<sup>24)</sup>。後天性TTPにおけるADAMTS13抗体検査の臨床的意義として、1) 診断時にインヒビターが存在する症例は再発が多い<sup>25-27)</sup>、2) 診断時の高力価抗体の存在は血漿交換不応であり血漿交換の回数と使用する血漿量が多くなる<sup>27)</sup>、3) 診断時に2 Bethesda単位/mL以上のインヒビターを持つ症例は死亡率が高いこと<sup>28)</sup>などが報告されている。

### C. 後天性 TTP の治療と予後

後天性 TTP で唯一科学的根拠が明らかな治療法は血漿交換である<sup>2)</sup>が、ADAMTS13 による病態解明までは“なぜ血漿交換が有効であるのか”は不明であった。抗 ADAMTS13 抗体による同活性著減 TTP 患者で血漿交換が有効な理由として、1) ADAMTS13 抗体の除去、2) ADAMTS13 酵素の補充、3) UL-VWFM の除去などが考えられている<sup>29)</sup>。後天性 TTP での血漿交換療法の問題点は、病因である自己抗体の対応抗原 ADAMTS13 を投与して暴露することである。血漿交換によって自己抗体は除去されるが、新たに外因性に抗原刺激を行い、抗体産生自体を亢進させる可能性がある。実際、我々の経験でも血漿交換で血小板数が一時上昇するも、血漿交換を継続すると再度血小板数が低下することがある<sup>30)</sup>。このような症例で ADAMTS13 活性とインヒビターを頻回に測定したところ、ADAMTS13 インヒビター力価が血漿交換開始後 7~10 日目に急上昇していることを確認し、これを ADAMTS13 inhibitor boosting と命名した<sup>31)</sup>。このような症例は、初期治療不応例に分類される(表 1 の 2)。また、後天性 TTP では血漿交換が著効し完全寛解に至っても、再発率が高いことが問題であり、後天性 TTP 生存例で約 1/3 の症例に再発が認められると報告されている<sup>32,33)</sup>。この再発率は、ADAMTS13 活性著減例の方が高く、アメリカからの報告では著減例で 34%、非著減例で 4%であった<sup>33)</sup>。

このような不応例や再発例に対してステロイドに加えてエンドキサン、ピンクリスチン、シクロ

スポリンなどの免疫抑制剤が使用されることが多かった。しかし、自己抗体による ADAMTS13 活性著減例に再発が多いことが明らかとなり、特異的な抗体抑制療法として、リツキシマブが使用されるようになった。

### D. リツキシマブと後天性 TTP

リツキシマブは CD20 に対するキメラ型モノクローナル抗体である。ヒト CD20 抗原は Pro-B 細胞や形質細胞を除くほとんどの B リンパ球に発現している抗原であり、B リンパ球以外の細胞には発現していない。リツキシマブの保険適応は、日本国内では CD20 陽性の B 細胞性非ホジキンリンパ腫に限られているが、米国では慢性リンパ性白血病の他に、RA にも承認されている。悪性リンパ腫への米国 FDA の承認は 1997 年、日本での保険承認は 2001 年であるが、その高い有効性と安全性のため急速に使用されるようになった薬剤である。

後天性 TTP におけるリツキシマブの効果は 2002 年頃から症例報告され<sup>10-12,34)</sup>、本邦でも 2005 年から報告が散見される<sup>13,30)</sup>。報告の多くは再発例であるが(表 1 の 3)、初発例で血漿交換に不応例も含まれている(表 1 の 2)<sup>11,13,30)</sup>。また、多くの症例がインヒビターによる ADAMTS13 活性著減例であり、自己免疫疾患であることを確認して使用されている。報告例でのリツキシマブの投与量は、悪性リンパ腫と同様の 375mg/m<sup>2</sup> 週 1 回投与であり、計 2~6 回投与されていた。これらの症例検討により、有効性と安全性が確認され、その後、少数例ながら前向き研究が実施された<sup>35)</sup>。この研究の中で、頻回の再発を繰り返し、寛解期にも ADAMTS13 インヒビターが残存した 5 症例に対して TTP 発症予防目的でリツキシマブを使用し(表 1 の 4)、インヒビターの消失と 6 カ月以上の寛解維持を確認した

表 1 後天性 TTP におけるリツキシマブの使用適応

1	急性期の初期治療導入時
2	急性期の初期治療不応例
3	寛解後の再発例
4	寛解期の再発予防



ことが報告され<sup>35)</sup>、再発予防にも効果があることが示された。

### E. 後天性TTP初期治療としての リツキシマブ使用

2011年に後天性TTPの急性期治療としてのリツキシマブ使用に関して、イギリスのグループからphase 2研究の結果が報告された<sup>14)</sup>。TTPの診断はADAMTS13活性ではなく、血小板減少、溶血性貧血、正常凝固検査、正常上限の1.5倍以上のLDH上昇で行った。2006年から2009年に症例登録を行い、入院後12カ月以上経過観察ができた40症例を解析した。過去に同グループの病院で、リツキシマブ以外で治療された類似の後天性TTP患者40例を対照とした。リツキシマブ投与群40例中で3例死亡、4例再発を確認した。リツキシマブ投与群の治療効果として、血小板数の正常化は中央値12日目、LDHの正常化は8日目とかなり早期に治療効果を認めた。寛解までの血漿交換の回数は、リツキシマブ群で16.5回、

対照群18回で有意な差は認めなかった。入院期間の短縮も有意な差は認めなかった(リツキシマブ群16.5日、対照群20日)が、ICUに入室した重症15例を除くと入院期間は中央値7日と有意な短縮を認めた。全リンパ球数に対するCD19をマーカーとしたBリンパ球の割合は、入院時の23%から最低値のリツキシマブ4回目投与前の0.5%まで低下したが、血清IgGやIgAは正常値を維持した。この研究でリツキシマブの治療効果として最も注目されるのが、図1に示すようにTTPの再発率低下である。リツキシマブ投与群の37例の生存例から4例の再発を認めたが、1年以内の再発は認めず、再発例では1例死亡、残り3例は再度のリツキシマブ投与で寛解となった。対照群の再発率は、38例中21例と非常に高く、1年以内にも6例に認めた。図1に示すように再発率はリツキシマブ投与によって57%から10%に有意に低下した。リツキシマブの投与によってADAMTS13活性は上昇し、抗ADAMTS13抗体が減少したことが報告されているが、著減例と非著減例に分割して検討されていないのが残念であ

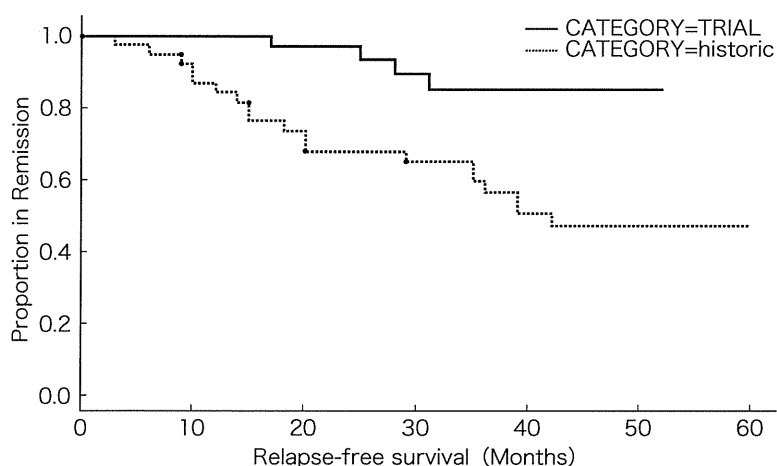


図1 後天性TTPでのリツキシマブ投与群と非投与群の再発率の相違(文献14より)  
リツキシマブ投与群(TRIAL実線)では、12カ月以内に再発は認めず、最終的な再発率は10%であった。リツキシマブ非投与群(historic点線)では再発率57%で有意差を認めた。

る。

2012年には、フランスのグループから後天性TTPで初期治療として血漿交換とステロイド治療を行い、効果が悪い (suboptimal response) の症例 (初期治療不応例, 表1の2) にリツキシマブを投与した研究が報告された<sup>15)</sup>。12施設が参加した前向き研究で、登録21例は溶血性貧血と血小板減少で診断されたが、全例ADAMTS13活性が10%未満の著減例であった。リツキシマブの投与量は375mg/m<sup>2</sup>で他の研究と同じであるが、最初の3回は1週以内に投与し、4回目はその1週後に、すなわち2週間に4回リツキシマブを投与した。対照群として過去のリツキシマブ非投与症例と比較した。血小板数は、血漿交換開始後35日までに21例全例で正常化した。寛解に

至るまでの血漿交換量は対照群と比較して減少しなかったが、寛解に至るまでの期間は中央値12日と有意に短縮した。本研究でもリツキシマブ投与後1年以内の再発は認めなかったが、その後3例が再発し、3例とも再度リツキシマブ投与で寛解となった。また、イギリスの研究とは異なり再発率は対照群と比較して有意差は認めなかった。この研究で注目される結果は、ADAMTS13活性とその抗体価の推移を図2に示すようにリツキシマブ投与群と対照群で比較していることである。それによるとリツキシマブ投与群では、対照群と比較して治療後のADAMTS13活性が有意に高く、抗体価が有意に低くなるが、それは9カ月までで12カ月では有意差はなくなった。このことは、12カ月以降に再発例が発生することに一致

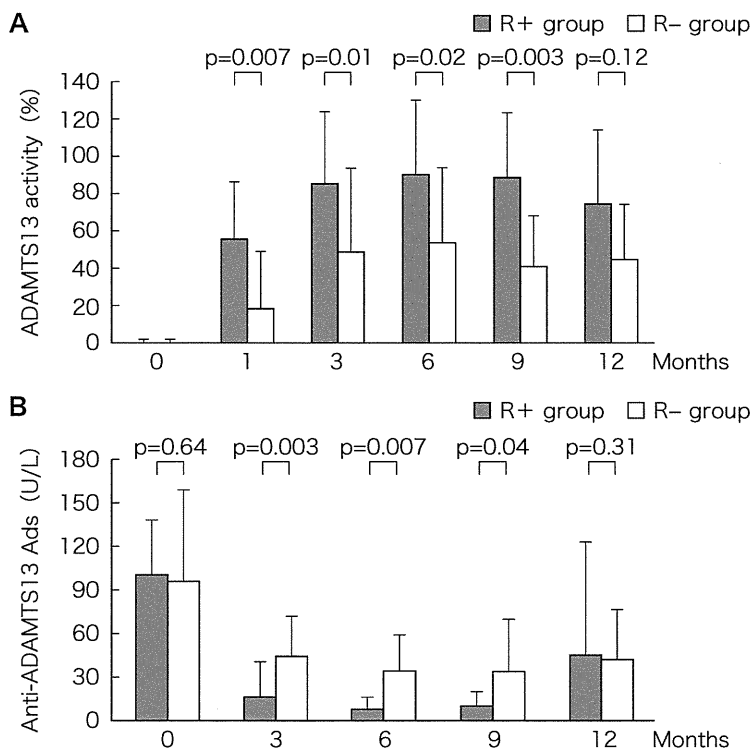


図2 後天性TTPにおけるリツキシマブ投与のADAMTS13に対する影響 (文献15より)  
 リツキシマブ投与群 (R+ group) とリツキシマブ非投与群 (R- group) を比較した。  
 9カ月までは投与群でADAMTS13活性が高く、ADAMTS13抗体価が有意に低いが、  
 12カ月では有意差を認めなくなった。

しており興味深い。

## F. ADAMTS13 活性非著減症例への リツキシマブの適応

後天性TTPで現在までに報告されたリツキシマブ有効例のなかには、治療前にADAMTS13活性非著減症例が存在する。Kamedaら<sup>36)</sup>は、ADAMTS13活性正常例でリツキシマブが有効であった2症例(SLEと混合性結合組織病)を報告し、リツキシマブが有効な理由としてBリンパ球から産生されるサイトカインを低下させるのではないかと考察している。しかし、これらの症例の場合、基礎疾患である膠原病自体にリツキシマブが効いた可能性がある。また、2002年以降現在までに報告された100例もの後天性特発性TTPにおけるリツキシマブ投与のまとめ報告<sup>37)</sup>においても、ADAMTS13活性非著減例でリツキシマブの効果が認められる症例が散見される。この報告では、全体の寛解導入率が98%と非常に高いが、ADAMTS13活性著減やADAMTS13抗体保有例に限れば99%とほぼ100%になることより、この2つのADAMTS13検査はリツキシマブが有効であることの指標となり、リツキシマブ投与を考慮するには検査すべきであると述べている。以上のことから、現段階においてADAMTS13活性が著減せず、同抗体が検出できない症例に対するリツキシマブ投与は慎重であるべきであると考えられる。

### むすび

後天性TTPに対するリツキシマブ投与は非常に有効な治療法であり、重大な副作用も報告されていない。しかし、本邦はもちろん海外でも後天性TTPに対する適応は認可されておらず、高価な薬剤であることから安易な使用は避けるべきである。現段階では、通常の治療で治療不応例と頻

回再発例で、ADAMTS13抗体の存在によって同活性が著減している症例が適応となると考えられる。アメリカでは登録症例数が少ないために治験が中止となったが、日本国内では医師主導治験が計画されており早期に保険適用となることが期待される。

### 文献

- 1) Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol.* 2012; 158: 323-35.
- 2) Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med.* 1991; 325: 393-7.
- 3) Matsumoto M, Bennett CL, Isonishi A, et al. Acquired idiopathic ADAMTS13 activity deficient thrombotic thrombocytopenic purpura in a population from Japan. *PLoS One.* 2012; 7: e33029.
- 4) Noris M, Remuzzi G. Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16: 1035-50.
- 5) Furlan M, Robles R, Galbusera M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1578-84.
- 6) Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1585-94.
- 7) Boye J, Elter T, Engert A. An overview of the current clinical use of the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Ann Oncol.* 2003; 14: 520-35.
- 8) Reff ME, Carner K, Chambers KS, et al. Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood.* 1994; 83: 435-45.
- 9) Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, et al. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab

- in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2004; 350: 2572-81.
- 10) Gutterman LA, Kloster B, Tsai HM. Rituximab therapy for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Cells Mol Dis.* 2002; 28: 385-91.
  - 11) Chemnitz J, Draube A, Scheid C, et al. Successful treatment of severe thrombotic thrombocytopenic purpura with the monoclonal antibody rituximab. *Am J Hematol.* 2002; 71: 105-8.
  - 12) Zheng X, Pallera AM, Goodnough LT, et al. Remission of chronic thrombotic thrombocytopenic purpura after treatment with cyclophosphamide and rituximab. *Ann Intern Med.* 2003; 138: 105-8.
  - 13) Kosugi S, Matsumoto M, Ohtani Y, et al. Rituximab provided long-term remission in a patient with refractory relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol.* 2005; 81: 433-6.
  - 14) Scully M, McDonald V, Cavenagh J, et al. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2011; 118: 1746-53.
  - 15) Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med.* 2012; 40: 104-11.
  - 16) Moschcowitz E. Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. *Proceeding New York Pathological Society.* 1924; 24: 21-4.
  - 17) Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine.* 1966; 45: 139-59.
  - 18) Pereira A, Mazzara R, Monteagudo J, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome: a multivariate analysis of factors predicting the response to plasma exchange. *Ann Hematol.* 1995; 70: 319-23.
  - 19) Sadler JE. Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2008; 112: 11-8.
  - 20) Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H, et al. Von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman syndrome. *Int J Hematol.* 2002; 75: 25-34.
  - 21) Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: database of Nara Medical University during 1998-2008. *Intern Med.* 2010; 49: 7-15.
  - 22) Matsuyama T, Kuwana M, Matsumoto M, et al. Heterogeneous pathogenic processes of thrombotic microangiopathies in patients with connective tissue diseases. *Thromb Haemost.* 2009; 102: 371-8.
  - 23) Scheiflinger F, Knöbl P, Trattner B, et al. Nonneutralizing IgM and IgG antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2003; 102: 3241-3.
  - 24) Ferrari S, Scheiflinger F, Rieger M, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. *Blood.* 2007; 109: 2815-22.
  - 25) Vesely SK, George JN, Lämmle B, et al. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. *Blood.* 2003; 102: 60-8.
  - 26) Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, 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.* 2004; 103: 4043-9.
  - 27) Coppo P, Wolf M, Veyradier A, et al. Prognostic value of inhibitory anti-ADAMTS13 antibodies in adult-acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2006; 132: 66-74.
  - 28) Hovinga JA, Vesely SK, Terrell DR, et al. Survival and relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2010; 115: 1500-11; quiz 662.
  - 29) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, et al. The

- Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Semin Hematol.* 2004; 41: 68-74.
- 30) Kaneko H, Matsumoto M, Okamoto K, et al. Refractory thrombotic thrombocytopenic purpura successfully treated with a combination of rituximab and vincristine. *Rinsho Ketsueki.* 2007; 48: 144-7.
- 31) Isonishi A, Plaimauer B, Scheiflinger F, et al. Anti-ADAMTS13 inhibitor boosting with plasma exchange in acquired TTP: Characterization of inhibitors and efficient treatment with rituximab. XXIII congress of ISTH 2011 (Kyoto). Abstract P-WE-475. <http://www.isth2011.com/prgrm-common/abstracts/html/00742.html> 2011.
- 32) Shumak KH, Rock GA, Nair RC. Late relapses in patients successfully treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Group. *Ann Intern Med.* 1995; 122: 569-72.
- 33) Elliott MA, Heit JA, Pruthi RK, et al. Rituximab for refractory and or relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura related to immune-mediated severe ADAMTS13-deficiency: a report of four cases and a systematic review of the literature. *Eur J Haematol.* 2009; 83: 365-72.
- 34) Tsai HM, Shulman K. Rituximab induces remission of cerebral ischemia caused by thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol.* 2003; 70: 183-5.
- 35) Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, et al. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood.* 2005; 106: 1932-7.
- 36) Kameda T, Dobashi H, Kittaka K, et al. Two cases of refractory thrombotic thrombocytopenic purpura associated with collagen vascular disease were significantly improved by rituximab treatment. *Clin Rheumatol.* 2007; 26: 2159-62.
- 37) Tun NM, Villani GM. Efficacy of rituximab in acute refractory or chronic relapsing non-familial idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review with pooled data analysis. *J Thromb Thrombolysis.* 2012; 34: 347-59.

特集：自己抗体  
総説

## 抗 ADAMTS13 自己抗体と血栓性血小板減少性紫斑病

松本雅則

### anti-ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura

Masanori MATSUMOTO

*Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University*

(Accepted February 25, 2013)

#### summary

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a disorder caused by excessive platelet aggregation in multiple organs. Unless the patients are treated with plasma exchange, this disorder leads to early death. Recent studies show that TTP is caused by deficiency of a plasma metalloprotease ADAMTS13, which specifically cleaves von Willebrand factor (VWF). In the absence of ADAMTS13, unusually large VWF multimers (UL-VWFMs) released from endothelial cells are not cleaved appropriately, and cause platelet-rich microvascular thrombosis under high shear stress. Deficiency of ADAMTS13 is caused by autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired TTP and mutations of the *ADAMTS13* gene in congenital TTP. ADAMTS13 antibodies may inhibit enzymatic function or clear ADAMTS13 from circulation. Anti-ADAMTS13 antibodies are comprised predominantly of immunoglobulin class G (IgG). Epitope mapping studies showed that antibodies direct towards the spacer domain of ADAMTS13 are present in most patients with acquired TTP. The Spacer domain contributes to the binding of ADAMTS13 to unfolded VWF. Plasma exchange therapy for acquired TTP is effective because of removing ADAMTS13 autoantibodies and UL-VWFMs, and supply of ADAMTS13. In addition to plasma exchange, corticosteroids are usually used for reducing the production of anti-ADAMTS13 antibodies. Recent studies have shown benefit in using rituximab as a first line therapy of acute acquired TTP.

**Key words**—thrombotic thrombocytopenic purpura; ADAMTS13; anti-ADAMTS13 autoantibody; von Willebrand factor

#### 抄録

血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) は、血小板減少と溶血性貧血を特徴とし、全身に血小板血栓が形成されることで発症する。無治療では 90% 以上の症例が早期に死亡する致死性疾患であるが、von Willebrand 因子 (VWF) 切断酵素 ADAMTS13 活性が著減することで発症することが報告された。ADAMTS13 が欠損すると、血管内皮細胞から分泌された超高分子量 VWF マルチマー (UL-VWFM) が切断されずに切れ残り、高ずり応力下で微小血管に血小板血栓が形成される。後天性 TTP は ADAMTS13 自己抗体により、先天性 TTP は *ADAMTS13* 遺伝子異常によって、同活性が低下する。抗 ADAMTS13 自己抗体には、活性中和抗体と血液中から酵素の除去を促進する可能性のある非中和抗体がある。大部分の ADAMTS13 自己抗体は IgG で、認識部位はスペーサードメインであるが、この部位は ADAMTS13 が VWF と結合する際に重要である。後天性 TTP において血漿交換は、ADAMTS13 自己抗体や UL-VWFM の除去、ADAMTS13 の補充などの機序によって有効である。ステロイド治療が ADAMTS13 抗体産生抑制のために通常使用されるが、最近の研究では、リツキシマブが後天性 TTP の急性期治療に有効であることが報告された。

## I. はじめに

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura : TTP) は、直前まで健康であった比較的若年の患者に急性に発症する疾患で、無治療の場合は 90%以上の症例が死亡する極めて予後不良の疾患である<sup>1)</sup>。現在では、治療法として血漿交換の有効性が明らかになり、致死率は 20%程度に低下している<sup>2)</sup>。典型的な TTP の発症頻度は、人口 100 万人あたり約 4 人と報告されており、非常に稀な疾患であることから経験が少なく、診断が遅れる場合がある。しかし、早期に血漿交換を開始しないと予後が悪化することが示されており<sup>3)</sup>、血小板減少症の鑑別診断として常に念頭に置くべき疾患と思われる。

TTP の治療法として血漿交換の有効性は示されていたが、病態が不明であったので何故血漿交換が有効であるのか、理由が説明できない期間が長く続いた。von Willebrand 因子 (VWF) を特異的に切断する酵素 ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motifs-13) が登場したことにより、TTP の病態が明らかになった。TTP には、先天性と後天性が存在するが、その多くは後天性である。先天性 TTP

(Upshaw-Schulman 症候群 : USS) は ADAMTS13 遺伝子の変異により、後天性 TTP では ADAMTS13 に対する自己抗体が産生されることによって ADAMTS13 活性が著減することが報告された<sup>4,5)</sup>。本稿では、自己免疫疾患であることが判明した後天性 TTP の発症機序を理解するために、VWF および ADAMTS13 による TTP の病態解析と抗 ADAMTS13 抗体について概説する

## II. TTP と類縁疾患 (図 1)

TTP は、血小板減少、溶血性貧血、腎障害、発熱、動揺性精神神経症状の古典的 5 徴候<sup>1)</sup>で有名であるが、最近では 5 徴候がすべて揃う前に血漿交換を開始すべきであるとの考えもあり、他に原因のない血小板減少と溶血性貧血で本疾患を疑うことが重要と考えられている<sup>6)</sup>。TTP と鑑別が困難な疾患として、溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome : HUS) がある。HUS は、血小板減少、溶血性貧血、腎不全の 3 徴候<sup>7)</sup>で知られているが、この 3 徴候は TTP の 5 徴候にすべて含まれている。HUS の約 90%は、O157 などの腸管出血性大腸菌感染に伴うもので、TTP との鑑別は容易である。残りの 10%は下痢を伴わず、非典型 HUS と呼ばれているが、補体制御因子である H 因子や補体成分

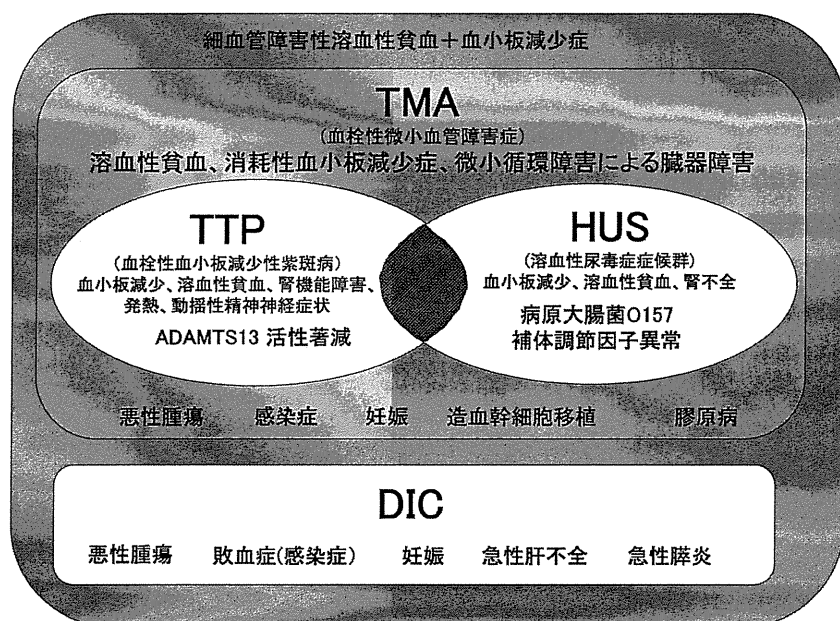


図 1 TTP と類縁疾患との関連

TTP は ADAMTS13 活性の著減、HUS は腸管出血性大腸菌感染と代表的な病因が存在するが、臨床的には鑑別が難しい。TTP、HUS は、TMA に含まれる代表的な疾患であり、微小血管の血小板血栓が特徴である。DIC は、様々な基礎疾患に伴い微小血管にフィブリン血栓が形成されることで発症する。

C3 自体の遺伝子に異常がある症例が報告され、最近注目されている<sup>8)</sup>。さらに、抗がん剤マイトマイシン C による HUS などの存在が知られているが、HUS と TTP との鑑別は臨床的に困難であることから、両者を敢えて区別せず、血栓性微小血管障害症 (thrombotic microangiopathy : TMA) と呼ばれることがある<sup>9)</sup>。TMA はもともと病理学的な名称であるが、移植後 TMA など広く病名として使用されている。

その他に TTP と鑑別すべき疾患として、播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation : DIC) がある。TTP で認める血栓は主として血小板血栓、DIC は主としてフィブリン血栓という大きな相違があるが<sup>10)</sup>、臨床的に両者を区別することが困難な場合がしばしばある。DIC では出血症状と血栓症による臓器障害が主たる症状であるが、TTP では出血症状は稀である。しかし、DIC の中でも感染症に伴う DIC は、血栓症状がメインで、症状のみでは両者を鑑別できない。

### III. TTP の治療法の進歩と病態解析の歴史

TTP と考えられる最初の症例報告は非常に古く、1924 年にニューヨークの医師 Eli Moschowitz によって最初になされた<sup>11)</sup>。その症例は、16 歳の女性で、上肢の脱力感で発症し、貧血、発熱、上下肢の不全麻痺、顔面神経麻痺などを認め、肺水腫なども合併して約 1 週間という短期間の経過で死亡した。病理解剖が行われ、心、肝、腎の細動脈や毛細血管

に多数の硝子様血栓が認められる非常に重篤な血栓症であることが判明した。その後も同様の症例報告が散見されるが、有効な治療法もなく Moschowitz 病などと呼ばれ、恐れられていた。1959 年に Rubenstein ら<sup>12)</sup>が、新鮮血を用いた交換輸血が TTP 症例で劇的な効果をもたらしたことを報告した。また、1977 年に Bukowski ら<sup>13)</sup>は、全血の代わりに血漿を用いても有効であることを報告した。当時の血漿交換は、少量の血漿を用いたものであったが、その後血漿交換の自動機器の発達に伴い、大量の血漿を交換できるようになった。1991 年にカナダのグループから<sup>2)</sup>、血漿交換と血漿輸注の比較試験が報告され、TTP において血漿交換療法が第一選択であることが確立された。しかし、当時はなぜ血漿交換が有効であるのか、全く説明ができなかった。

1982 年にアメリカの Moake ら<sup>14)</sup>が、慢性再発性 TTP の患者血漿中に超高分子量 VWF 重合体 (unusually large VWF multimers : UL-VWFM) (図 2) が存在することを報告し、TTP と VWF の関連が初めて示された。その後、宮崎医大 (現宮崎大学) の浅田ら<sup>10)</sup>は、TTP 患者に認められる血栓は VWF を主体とした血小板血栓であり、DIC 患者ではフィブリン/フィブリン主体のフィブリン血栓であることを報告した。1996 年に ADAMTS13 活性測定法が確立され<sup>15,16)</sup>、1998 年に TTP 患者では ADAMTS13 活性が著減するという歴史的な報告がなされた<sup>4,5)</sup>。その報告の中で、後天性 TTP におい

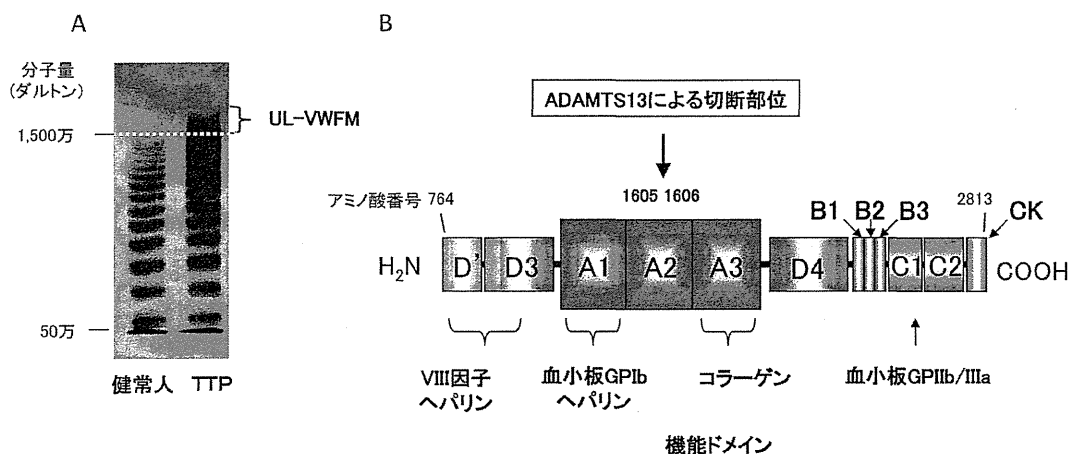


図 2 VWF の構造と機能

A. VWF マルチマー解析 健常人では認められない非常に大きな分子量の UL-VWFM (unusually large VWF multimer) が、TTP 患者血漿では認められる。  
 B. 1 つのサブユニットに血小板やコラーゲンと結合する部位が存在する。ADAMTS13 は、VWF A2 ドメイン内の Tyr1605 と Met1606 間を特異的に切断する。



ては ADAMTS13 活性を阻害する抗体（インヒビター）の存在が示され、IgG 型であることが報告された<sup>5)</sup>。

#### IV. VWF

VWF は、血管内皮細胞と血小板で産生される血漿糖タンパク質である<sup>17)</sup>。血小板で産生される VWF は糖鎖を持たず、血漿中の VWF はほとんど血管内皮細胞で産生される。VWF は、50 万から 2000 万ダルトンの様々な大きさの分子量を持つ重合体（マルチマー）として血液中に存在する（図 2A）。約 25 万ダルトンの 1 つのサブユニット上に、血小板の GPIb や GPIIb/IIIa と結合する部位や、凝固第 VIII 因子やコラーゲンと結合する部位などが存在する（図 2B）。ADAMTS13 で切断される部位は、A2 ドメインと呼ばれるサブユニットのほぼ中央である。VWF は 2 つの重要な役割を持ち、血小板と血小板を結合させる分子糊としての役割と、第 VIII 因子と結合して安定化させるという働きがある。

血小板を結合させる能力は、その分子量の大きさに応じて強くなり、血管内皮細胞から分泌直後の UL-VWFM は、非常に強い活性を持つ<sup>18)</sup>。そのため、UL-VWFM が血液中に存在することは血栓症の原因となることから、ADAMTS13 によりただちに切断される。また、VWF の機能の特徴として、ずり応力との関連がある。ずり応力とは、物体をひ

ずませる力で、血流の早さに比例し、血管半径に反比例する。VWF は、大動脈などずり応力が低い部位では折り畳まれて血小板血栓を作らないが、微小血管など高いずり応力が発生する部位では引き延ばされて、血小板血栓を作りやすくなる。また、ADAMTS13 による VWF の切断反応もずり応力と関連している。大動脈などの低いずり応力下では、VWF の ADAMTS13 による切断部位 A2 ドメインは折り畳まれているので内部に隠れて切断されず、逆に高いずり応力下では引き延ばされて A2 ドメインが露出することで ADAMTS13 により切断されやすくなる<sup>19)</sup>。このように、VWF の機能は ADAMTS13 によって絶妙に制御されており、ADAMTS13 は過剰に働きすぎて出血傾向を来す危険が少ないと考えられている。

ADAMTS13 活性著減時の TTP の発症機序を、図 3 に示す。ADAMTS13 活性が著減する場合、血管内皮細胞から分泌された UL-VWFM は切断されずに血液中に存在する。大動脈などでは折り畳まれているため血小板血栓を形成しないが、細小血管などでは高ずり応力により UL-VWFM は進展され、活性化して血小板血栓が形成され、それによって、腎臓や脳などの終末臓器の障害が発生すると考えられる。

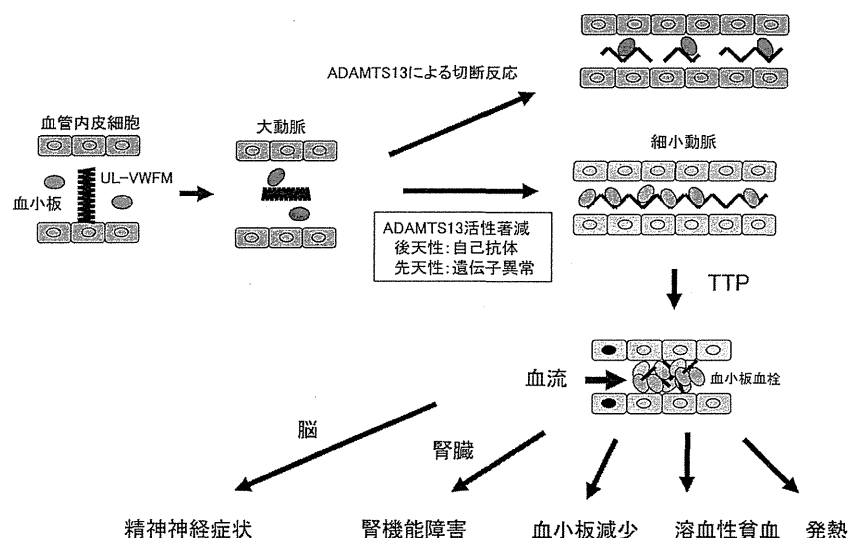


図 3 ADAMTS13 活性著減時の TTP 発症機序

血管内皮細胞で分泌された UL-VWFM は、低ずり応力下の大動脈では折り畳まれているが、末梢の血管では高いずり応力により進展構造となる。進展構造となれば、血小板と結合しやすくなるため、健常人では ADAMTS13 により切断される。ADAMTS13 活性が著減する場合は、UL-VWFM が血液中に残存し、細小動脈で血小板血栓を形成して、TTP を発症する。

## V. ADAMTS13 の構造と VWF の認識機構

ADAMTS13 は、分子量約 19 万ダルトンの糖タンパク質で、主として肝星細胞で産生されている<sup>20)</sup>。血漿中での濃度は約 1 ug/ml と報告されており<sup>21)</sup>、VWF 濃度の約 1/10 である。VWF と同様にマルチドメイン構造であるが (図 4A)、ドメインの機能は十分解明されていない。アミノ末端から順に、シグナルペプチド (Sig)、プロペプチド (P)、メタロプロテアーゼドメイン (M)、ディスインテグリン様ドメイン (D)、トロンボスポンジン 1 モチーフ (T) の 1 番目、システインリッチドメイン (C)、スパーサードメイン (S)、T の 2-8 番目、CUB ドメインが 2 つ続くドメイン構造である<sup>22,23)</sup>。このうち S と P の部分はフリンによって切断され、血液中に存在する成熟型 ADAMTS13 には存在しない。VWF を切断する酵素活性には、MDTCS の部分が重要であることが報告されている<sup>24)</sup>。それより C 末端領域は、高圧応力下での ADAMTS13 の VWF 切断効率を高めることが判明している<sup>25)</sup>。

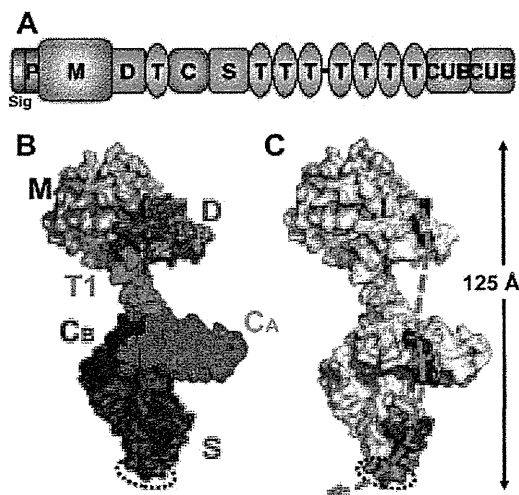


図 4 ADAMTS13 の構造と VWF との結合部位 (文献 40 より引用)

- A. ADAMTS13 のマルチドメイン構造  
シグナルペプチド (Sig)、プロペプチド (P)、メタロプロテアーゼドメイン (M)、ディスインテグリン様ドメイン (D)、トロンボスポンジン 1 モチーフ (T)、システインリッチドメイン (C)、スパーサードメイン (S)
- B. 立体構造解析による MDTCS モデル  
C ドメインは、構造的に C<sub>A</sub> と C<sub>B</sub> の 2 つの部分に分けることができる。
- C. ADAMTS13 と VWF の結合  
基質である VWF をオレンジ破線で示した。色付けした D, C, S の 3 つの部分で ADAMTS13 と VWF は結合する。S ドメインの破線の部分に ADAMTS13 自己抗体が結合し、ADAMTS13 の活性を阻害する。

これらのドメインのうち、S ドメインを欠くと酵素活性が無くなること、後天性 TTP で認められるインヒビターの大部分の結合部位が S ドメインであることが報告され<sup>24,26)</sup>、S ドメインが VWF 切断に重要であることが判明した。しかし、メタロプロテアーゼとしての本酵素の触媒部位は M ドメインであり、なぜ S ドメインが活性に関与するのか不思議であった。また、ADAMTS13 が VWF を切断する部位は、VWF A2 ドメイン内の 1605 番目のチロシンと 1606 番目のメチオニンである。しかし、切断される基質として 1596-1668 の 73 個のアミノ酸 (VWF73) が最低限必要であることが示された<sup>27)</sup>、なぜこれほど長い基質を必要とするのかも疑問であった。MDTCS の結晶構造解析の結果と MDTCS の変異体を用いた検討により、VWF と結合する 3 つの領域 (エキソサイト) が示された<sup>28)</sup>。D, C, S ドメインは、VWF73 にそれぞれ結合し、部位は隔たっているものの直線上に分布していることが判明し (図 4C)、上記の疑問が解決された。ADAMTS13 は、このように非常に厳格に基質を認識し、確実に決まった切断部位に働く極めて精巧な機序で VWF を切断していることが明らかになった。

## VI. 抗 ADAMTS13 自己抗体

抗 ADAMTS13 自己抗体には、活性中和抗体 (インヒビター) と非中和抗体が存在する。インヒビターの検出は、活性測定法によって検査する。あらかじめ被検血漿を 56°C、30 分で非劣化し、被検血漿の ADAMTS13 活性を失活させた後に、等量の正常血漿を添加して 37°C、2 時間静置して残存酵素活性を測定する。正常血漿中の酵素活性を 50% 阻害する力価を 1 ベセスダと表記する<sup>29)</sup>。非中和抗体も ELISA やウエスタンブロットなどで検出できるが、非中和抗体は血液中からの ADAMTS13 のクリアランスの増加、もしくは細胞や VWF などの血漿蛋白への ADAMTS13 の結合を阻害するなどの作用によって ADAMTS13 の活性を低下させることが予想されている<sup>30)</sup>。日本国内の後天性 TTP で、ADAMTS13 活性著減例 186 例におけるインヒビターの陽性率は 99% であった<sup>31)</sup>。この陽性率は、症例の診断基準や使用する活性測定法により大きく異なるが、我々の使用している ADAMTS13 活性測定法<sup>32)</sup>が、感度が高いため、非常に高いインヒビター陽性率となっていると考えられる。

後天性 TTP で認められる自己抗体の大部分が、

IgG<sup>5)</sup>型である。一部 IgA 型<sup>33)</sup>や IgM 型<sup>30)</sup>があるが、臨床的な意義は明らかではない。IgG のサブクラス解析では、後天性 TTP 患者での陽性率は、IgG1 52%、IgG2 50%、IgG3 33%、IgG4 90%と IgG4 が最も高率であった<sup>34)</sup>。初発 TTP のみでは、IgG4 抗体単独陽性は 18%で、他のサブクラスと同時に認める 68%と合わせて 86%であった。一方、再発例では、全例で IgG4 陽性であるが、単独も 65%と高率であった。IgG4 と IgG1 の抗体価の推移は逆相関しており、IgG4 が高く、IgG1 が低い症例は再発しやすいと報告されている<sup>34)</sup>。また、イタリアからの報告では、急性期に IgA、IgG1、IgG4 を検出する TTP では、血小板数が低いことが報告されている<sup>35)</sup>。しかし、これらの IgG サブクラスの頻度報告は海外からのものであり、少数例での検討であるが我々の日本人での結果と異なっており、今後日本人での解析が必要であると考えている<sup>36)</sup>。

ADAMTS13 自己抗体、特にインヒビターの認識部位は、システインリッチ (C)、スパーサー (S) ドメインが中心である<sup>24,26,37)</sup>。このうち、S ドメインが特に重要で、最近の報告ではインヒビターの認識部位は、Arg568, Phe592, Arg660, Tyr661, Tyr665 の 5 つのアミノ酸が重要であることが示された<sup>38,39)</sup>。これらのアミノ酸は、ADAMTS13 の立体構造解析<sup>28)</sup>で分子の表面に隣接して位置することが示されている。図 4C に示すように、この部分は ADAMTS13 が VWF73 と結合する際の部位と一致しており (点線で囲んだ丸)、この部位に抗体が結合することで VWF 切断の際の認識を阻害することが予想された<sup>40)</sup>。Klaus ら<sup>37)</sup>の報告によれば、ADAMTS13 活性著減・後天性 TTP に認められる ADAMTS13 インヒビターの認識部位は、CS 領域に対するものが 100%、CUB 1, 2 番目 64%、MDT 56%、T の 1 番目 56%、T の 2-8 番目が 28%であった。最近注目されているのが、C 末端領域 (T 2-8 番目と CUB ドメイン) を認識する抗体である。この領域を認識する抗体を持つ TTP 症例は、血小板数がより低いことが示されているが<sup>41)</sup>、どのように ADAMTS13 の VWF 切断能を低下させるのか明らかになっていない。ADAMTS13 の C 末端領域は血管内皮細胞との接着<sup>42)</sup>や、ずり応力下での VWF の制御に関与していることが示されており<sup>25)</sup>、どのような機序で TTP に関与しているのか興味深い。

## VII. ADAMTS13 自己抗体の制御

後天性 TTP における唯一エビデンスの明らかな治療法は、血漿交換である<sup>2)</sup>。ADAMTS13 インヒビターによって同活性が著減した後天性 TTP で血漿交換が有効である理由として、1) ADAMTS13 酵素の補充、2) ADAMTS13 インヒビターの除去、3) UL-VWFM の除去、4) 血液中の過剰なサイトカインの除去、などが考えられている<sup>43)</sup>。海外では、血小板数が正常化するまで連続で血漿交換を行うことから、血漿交換の回数は平均 15.8 回 (3-36 回) との報告がある<sup>2)</sup>。日本国内では、保険診療の関係で週に 3 回、月に 12 回までと血漿交換の回数が制限されているので、注意が必要である。ADAMTS13 活性著減例は、約 1/3 が再発すると言われているが、残りの症例はこの短い期間で血小板数が回復すると考えられる。この結果より、過半数の症例は ADAMTS13 インヒビターの産生は発症後 2 週間程度の短期間に過ぎず、一旦 ADAMTS13 インヒビターを除去すると再度増えることがないと考えられ、ADAMTS13 自己抗体の大量の産生が持続しないことが示唆された。

また、血漿交換と同時にステロイド治療が経験的に併用されてきた<sup>44)</sup>。質の高い臨床研究に基づく使用ではないが、後天性 TTP が自己免疫疾患であることが明らかになり、ADAMTS13 インヒビター産生抑制のためにステロイド治療が推奨されている<sup>45)</sup>。再発例や血漿交換無効例において、ビンクリスチン、エンドキサシ、シクロスポリン、脾摘などが行われてきたが、少数例での成功のみで、経験的に実施されてきた。

最近、CD20 に対するモノクローナル抗体リツキシマブが後天性 TTP 治療においても有効であることが示されている<sup>46,47)</sup>。B 細胞を除去することから自己抗体の産生抑制を目的として、慢性関節リウマチ、特発性血小板減少性紫斑病などの自己免疫疾患に対して有効性が報告されている。後天性 TTP においても初期治療の不応例、もしくは頻回再発例でのリツキシマブの有効例が国内外<sup>48-50)</sup>から報告されていた。最近、不応例や再発例ではなく急性期 TTP の初期治療としてリツキシマブを使用し、再発率を有意に低下させるなどの有効性がイギリスから報告された<sup>46)</sup>。また、フランスからも急性期の血漿交換不応例にリツキシマブを追加して、寛解までの期間が有意に短縮したことが報告された<sup>47)</sup>。この

ように、後天性 TTP に対するリツキマブの使用は、確実に ADAMTS13 自己抗体を減少させる非常に有効な治療法と考えられる。特に、ADAMTS13 インヒビターによる後天性 TTP の場合、血漿交換によりインヒビター力価が急激に上昇する場合がある (ADAMTS13 inhibitor boosting)<sup>36)</sup>。これは、血漿交換によって外部から ADAMTS13 酵素を補充することで、それに反応してインヒビターが過剰に産生されることで発生すると考えられる。この場合、血漿交換を続けるとさらにインヒビター力価が上昇する可能性があり、自己抗体の産生抑制のために、リツキシマブが非常に有効であることが経験されている。しかし、現状では日本国内で TTP に対してリツキシマブは保険適用になっていないため注意が必要であるが、今後医師主導治験が計画されている。

#### おわりに

後天性 TTP が ADAMTS13 自己抗体による自己免疫疾患であることが明らかになり、経験的に行われてきた治療法の作用機序が説明できるようになった。さらに、ADAMTS13 インヒビターが認められない後天性 TTP においてもリツキシマブの効果が認められるとの報告もあり、ADAMTS13 以外の自己抗体<sup>31)</sup>が後天性 TTP の病態に関与している可能性が高いと考えられる。現在の治療法では、致死率が 20%程度と高いことから、生存率のさらなる上昇のためには、病態解析をさらに進めること、リツキシマブなどの新規の治療法の開発などが必要である。

#### 文 献

- 1) Amorosi EL, Ultmann JE. : Thrombotic thrombocytopenic purpura : report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* **45**(2) : 139-159, 1966.
- 2) Rock GA, et al. : Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* **325**(6) : 393-397, 1991.
- 3) Pereira A, et al. : Thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome : a multivariate analysis of factors predicting the response to plasma exchange. *Ann Hematol* **70**(6) : 319-323, 1995.
- 4) Furlan M, et al. : von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **339**(22) : 1578-1584, 1998.
- 5) Tsai HM, Lian EC. : Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* **339**(22) : 1585-1594, 1998.
- 6) Sadler JE. : Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **112**(1) : 11-18, 2008.
- 7) Gasser C, et al. : Hemolytic-uremic syndrome : bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia. *Schweiz Med Wochenschr* **85**(38-39) : 905-909, 1955.
- 8) Noris M, Remuzzi G. : Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **361**(17) : 1676-1687, 2009.
- 9) Moake JL. : Thrombotic microangiopathies. *N Engl J Med* **347**(8) : 589-600, 2002.
- 10) Asada Y, et al. : Immunohistochemistry of vascular lesion in thrombotic thrombocytopenic purpura, with special reference to factor VIII related antigen. *Thrombosis research* **38**(5) : 469-479, 1985.
- 11) Moschowitz E. : Hyaline Thrombosis of the terminal arterioles and capillaries : a hitherto undescribed disease. *Proceeding New York Pathological Society* **24** : 21-24, 1924.
- 12) Rubinstein MA, et al. : Unusual remission in a case of thrombotic thrombocytopenic purpura syndrome following fresh blood exchange transfusions. *Ann Intern Med* **51** : 1409-1419, 1959.
- 13) Bukowski RM, et al. : Plasmapheresis in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **50**(3) : 413-417, 1977.
- 14) Moake JL, et al. : Unusually large plasma factor VIII : von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* **307**(23) : 1432-1435, 1982.
- 15) Furlan M, et al. : Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* **87**(10) : 4223-4234, 1996.
- 16) Tsai HM. : Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* **87**(10) : 4235-4244, 1996.