

- 17) Sadler JE. : Biochemistry and genetics of von Willebrand factor. *Annu Rev Biochem* **67** : 395–424, 1998.
- 18) Matsumoto M, et al. : Platelets treated with ticlopidine are less reactive to unusually large von Willebrand factor multimers than are those treated with aspirin under high shear stress. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis* **34**(1) : 35–40, 2005.
- 19) Zhang X, et al. : Mechanoenzymatic cleavage of the ultralarge vascular protein von Willebrand factor. *Science* **324**(5932) : 1330–1334, 2009.
- 20) Uemura M, et al. : Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood* **106**(3) : 922–924, 2005.
- 21) Soejima K, et al. : Analysis on the molecular species and concentration of circulating ADAMTS13 in Blood. *J Biochem* **139**(1) : 147–154, 2006.
- 22) Zheng X, et al. : Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem* **276**(44) : 41059–41063, 2001.
- 23) Soejima K, et al. : A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood : possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem (Tokyo)* **130**(4) : 475–480, 2001.
- 24) Soejima K, et al. : ADAMTS–13 cysteine-rich/spacer domains are functionally essential for von Willebrand factor cleavage. *Blood* **102**(9) : 3232–3237, 2003.
- 25) Banno F, et al. : The distal carboxyl-terminal domains of ADAMTS13 are required for regulation of in vivo thrombus formation. *Blood* **113**(21) : 5323–5329, 2009.
- 26) Zheng X, et al. : Cleavage of von Willebrand factor requires the spacer domain of the metalloprotease ADAMTS13. *J Biol Chem* **278**(32) : 30136–30141, 2003.
- 27) Kokame K, et al. : VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS–13. *Blood* **103**(2) : 607–612, 2004.
- 28) Akiyama M, et al. : Crystal structures of the noncatalytic domains of ADAMTS13 reveal multiple discontinuous exosites for von Willebrand factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**(46) : 19274–19279, 2009.
- 29) Kasper CK, et al. : Proceedings : A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. *Thromb Diath Haemorrh* **34**(2) : 612, 1975.
- 30) Scheiflinger F, et al. : Nonneutralizing IgM and IgG antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS–13) in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **102**(9) : 3241–3243, 2003.
- 31) Matsumoto M, et al. : Acquired Idiopathic ADAMTS13 Activity Deficient Thrombotic Thrombocytopenic Purpura in a Population from Japan. *PLoS One* **7**(3) : e33029, 2012.
- 32) Kato S, et al. : Novel monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for determining plasma levels of ADAMTS13 activity. *Transfusion* **46**(8) : 1444–1452, 2006.
- 33) Ferrari S, 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* **109**(7) : 2815–2822, 2007.
- 34) Ferrari S, et al. : IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **7**(10) : 1703–1710, 2009.
- 35) Bettoni G, et al. : ADAMTS–13 activity and autoantibodies classes and subclasses as prognostic predictors in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **10**(8) : 1556–1565, 2012.
- 36) Isonishi A, et al. : Anti-ADAMTS13 Inhibitor Boosting During Plasma Exchange Therapy Often Causes an Intractable Acquired Idiopathic TTP. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* **120** : Abstract 1086, 2012.
- 37) Klaus C, et al. : Epitope mapping of ADAMTS13 autoantibodies in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **103**(12) : 4514–4519, 2004.
- 38) Pos W, et al. : An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood* **115**(8) : 1640–1649, 2010.
- 39) Pos W, et al. : Residues Arg568 and Phe592 contribute to an antigenic surface for anti-

- ADAMTS13 antibodies in the spacer domain. *Haematologica* **96**(11) : 1670–1677, 2011.
- 40) 宮田敏行, 松本雅則. von Willebrand 因子と ADAMTS13. *内科* **110**(1) : 87–90, 2012.
- 41) Zheng XL, et al. : Multiple domains of ADAMTS13 are targeted by autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica* **95**(9) : 1555–1562, 2010.
- 42) Vomund AN, Majerus EM. ADAMTS13 bound to endothelial cells exhibits enhanced cleavage of von Willebrand factor. *J Biol Chem* **284**(45) : 30925–30932, 2009.
- 43) Matsumoto M, et al. : The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Semin Hematol* **41**(1) : 68–74, 2004.
- 44) Bell WR, et al. : Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N Engl J Med* **325**(6) : 398–403, 1991.
- 45) Scully M, et al. : Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol* **158**(3) : 323–335, 2012.
- 46) Scully M, et al. : A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **118**(7) : 1746–1753, 2011.
- 47) Froissart 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* **40**(1) : 104–111, 2012.
- 48) Gutterman LA, et al. : Rituximab therapy for refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Cells Mol Dis* **28**(3) : 385–391, 2002.
- 49) Chemnitz J, et al. : Successful treatment of severe thrombotic thrombocytopenic purpura with the monoclonal antibody rituximab. *Am J Hematol* **71**(2) : 105–108, 2002.
- 50) Kosugi S, et al. : Rituximab provided long-term remission in a patient with refractory relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *International journal of hematology* **81**(5) : 433–436, 2005.
- 51) Tandon NN, et al. : Anti-CD36 antibodies in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* **88**(4) : 816–825, 1994.

リツキシマブが奏効した標準治療抵抗性血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の 1 例—リツキシマブ投与のタイミングについての考察—

吉井 由美¹⁾ 松村 弥生¹⁾ 朴 将源¹⁾ 上辻 由里¹⁾
安田 考志²⁾ 川瀬 義夫²⁾ 松本 雅則³⁾ 藤村 吉博³⁾
魚嶋 伸彦¹⁾

要 旨

症例は 36 歳, 女性. リツキシマブ投与にて寛解に至った標準療法抵抗性血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) の 1 例を経験した. 血漿交換開始後に抗 ADAMTS13 抗体および LD の再上昇を認めた時点で難治性と判断し, リツキシマブを投与した. その結果, 第 30 病日に血漿交換を離脱でき, 約 18 カ月にわたり寛解を維持している. 標準療法抵抗性 TTP において血漿交換開始後の抗 ADAMTS13 抗体価および LD の上昇が難治性の判断に有用であると考えられた.

[日内会誌 102: 147~149, 2013]

Key words 血栓性血小板減少性紫斑病, リツキシマブ, ADAMTS13

症 例

患者: 36 歳, 女性. 主訴: 過多月経. 既往歴・家族歴: 特記事項なし. 現病歴: 2011 年 2 月中旬から出血症状および貧血症状が出現, 3 月中旬に前医にて著明な貧血と血小板減少を指摘され, 同日緊急入院となった. 現症: 意識清明, 血圧 92/58 mmHg, 脈拍 88/分, 体温 37.2°C, SpO₂ 97% (room air), 呼吸数 21/分. 眼瞼結膜に貧

血あり, 眼球結膜に軽度黄染あり. 胸腹部に異常なし. 下腿に浮腫なし, 点状出血あり. 検査所見: WBC 4,600/ μ l, Hb 6.2 g/dl, Plt 0.6 万/ μ l, Ret 8.7%, 破碎赤血球 1.9%, LD 811 IU/l, BUN 17 mg/dl, Cre 0.70 mg/dl, T-Bil 2.4 mg/dl, I-Bil 1.8 mg/dl, ハプトグロビン 感度以下, 直接/間接クームス 陰性. ADAMTS13 活性 < 0.5%, 抗体価 1.8BU/ml. 骨髄はやや過形成骨髄で 3 系統に異常を認めず, 芽球の増生なし.

[第 196 回近畿地方会 (2011/12/17) 推薦][受稿 2012/09/06, 採用 2012/10/01]

¹⁾ 松下記念病院血液科, ²⁾ 同 腎不全科, ³⁾ 奈良県立医科大学輸血部

Case Report; Successful treatment with rituximab in a patient with refractory thrombotic thrombocytopenic purpura. Yumi Yoshii¹⁾, Yayoi Matsumura¹⁾, Shogen Boku¹⁾, Yuri Kamitsuji¹⁾, Takashi Yasuda²⁾, Yoshio Kawase²⁾, Masanori Matsumoto³⁾, Yoshihiro Fujimura³⁾ and Nobuhiko Uoshima¹⁾: ¹⁾Department of Hematology, Matsushita Memorial Hospital, Japan, ²⁾Department of Dialysis, Matsushita Memorial Hospital, Japan and ³⁾Department of Blood Transfusion, Nara Medical University, Japan.

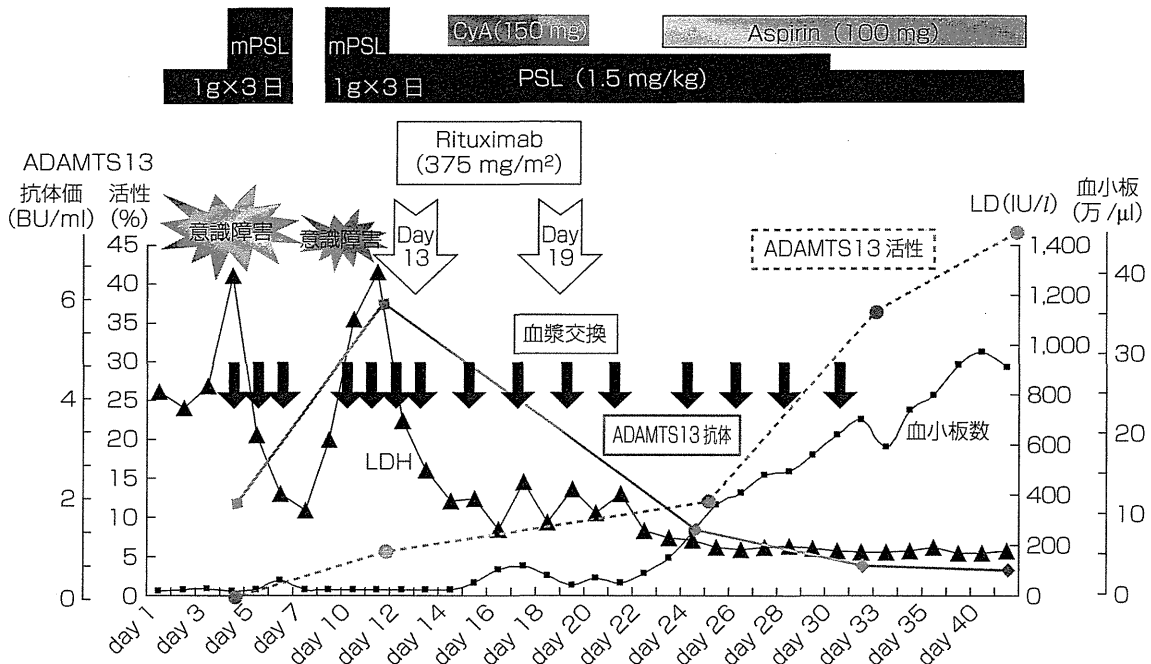


図. 経過表

臨床経過 (図)

破碎赤血球を伴う著明な溶血性貧血と血小板減少を認め、ADAMTS13 活性の低下と抗体価の上昇より血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) と診断した。第 5 病日に突然の意識障害が出現、同日からステロイドパルス療法及び血漿交換療法を開始した。血漿交換後、意識障害は改善し LD も低下したため第 8 病日からはプレドニゾロン (PSL) 1 mg/kg で継続した。第 9 病日に再度昏迷状態となり LD は急激に上昇、血漿交換を連日行うも第 11 病日の ADAMTS13 抗体価は 5.8 BU/ml と血漿交換開始前と比べて上昇を認めた。この間、血小板数および溶血所見の改善は認めなかった。以上から治療抵抗性と判断し、第 13 病日血漿交換後にリツキシマブを投与した。徐々に溶血所見の改善、血小板の上昇、抗体価の低下を認め、第 30 病日に血漿交換を離脱できた。

第 31 病日には抗体価は 0.6 BU/ml まで低下し、その後 PSL を漸減中止できた。現在約 18 カ月にわたり寛解を維持しており経過観察中である。

考 察

TTP の成因は von Willebrand 因子 (VWF) の特異的切断酵素である ADAMTS13 の活性低下 (多くは抗体の産生による) であり¹⁾、超高分子量 VWF 多重体 (UL-VWFM) が ADAMTS13 の欠損により切断されないことで血小板血栓を産生する。標準療法はステロイド投与および血漿交換である。血漿交換の目的は ① ADAMTS13 抗体の除去、② ADAMTS13 の補充、③ UL-VWFM の除去、④ 止血に必要なサイズの VWF の補充、⑤ 炎症性高サイトカイン血症の是正などである。しかし本例のように血漿交換に抵抗性を示す症例が存在し、その原因の一つは過剰な抗体産生下で、血漿中に含まれる ADAMTS13

により抗体がboostされる (inhibitor boosting) ためと考えられている²⁾。このような症例には血漿交換に加え、抗体を産生するB細胞を直接攻撃するリツキシマブの投与が有効であるとの報告が散見される^{3,4)}。本例でもリツキシマブの投与後、速やかにLDの低下、意識状態、血小板数の改善を認め、それと同時にADAMTS13抗体価の減少、活性の上昇を認め寛解となった。

リツキシマブ投与のタイミングについて、Scullyら⁵⁾は新たに診断されたTTP患者において、標準治療に加えて診断後3日以内にリツキシマブを週1回で投与開始した群では寛解率、生存率が有意に高く、再発率も低いと報告している。しかしわが国においてリツキシマブは保険適用がなく、全例に初期から投与するのは現実的ではない。そこで本症例のような難治例を見極め、遅滞なく投与することが重要となる。その判断において、血漿交換開始後のADAMTS13抗体の再上昇が有用であると考えられた。今回の症例では同時にLDも急上昇を認めており、より日常臨床に即したマーカーとしてLDも有用である可

能性が示唆された。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Sadler JE: Von willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 112: 11-18, 2008.
- 2) Isonishi A, et al: Anti ADAMTS13 inhibitor boosting with plasma exchange in acquired TTP: Characterization of inhibitors and efficient treatment with rituximab [abstract]. XXIII congress of ISTH 2011 (Kyoto). Abstract P-WE475.
- 3) Mischelle A, 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. *European Journal of Haematology* 83: 364-372, 2009.
- 4) Caramazza D, et al: Relapsing or refractory idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: the role of rituximab. *Transfusion* 50: 2753-2760, 2010.
- 5) Scully M, et al: A phase II study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 118: 1746-1753, 2011.

血栓性血小板減少性紫斑病

藤村吉博¹, 松本雅則¹, 石西綾美¹, 八木秀男¹,
小亀浩市², 宮田敏行²

Key words: TTP, ADAMTS13, VWF, USS

はじめに

1924年, 米国の Moschcowitz¹⁾ によって肺を除く全身諸臓器の細動脈に出来たヒアリン膜血栓症として最初に報告された重篤疾患は, 1966年に Amorosi & Ultmann²⁾ による自他験例の計 271例の解析にて, 細血管障害性溶血性貧血, 破壊性血小板減少, 血小板血栓による臓器機能障害 (特に腎機能不全), 発熱, そして動揺性精神神経障害の 5 徴候 (pentad) を特徴とする事が示され, 血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura, TTP) と命名された。

一方, 血管内皮細胞で産生される von Willebrand 因子 (VWF) は巨大分子構造を持つ止血因子であるが, 2001年にこの VWF の特異的切断酵素である ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13) が同定された^{3~8)}。今日では TTP 症例の 2/3 以上が, この ADAMTS13 活性欠損により, 血中に未消化の超巨大 VWF 多重体 (unusually large VWF multimers, UL-VWFM) が蓄積し, これにより細血管内で生ずる高ずり応力下に過剰な血小板凝集が生じ, 全身性重篤疾患が引き起こされる事が広く認識されるようになった。この結論に至る迄の約 90 年間の歴史を振り返ると, その後半期の渦中にいた筆者等は改めて基礎と臨床の研究者間の緊密な情報交換の重要性を痛感するのである。本項では, この TTP の病態解明への集約過程と治療について紹介し, 最後に現在直面している問題点について述べる。

表裏一体の VWD-TTP 研究歴史

von Willebrand 病 (VWD) は 1924年フィンランド人医師 Erik Adolf von Willebrand によって同国 Bothnia 湾内の Åland 島で, 血族結婚を繰り返す家系で男女両性に出現する先天性出血性素因として最初に報告された⁹⁾。この背景から VWD 研究の初期は北歐中心に発展し, 1950年代にスウェーデンの Inga Marie Nilsson 等は¹⁰⁾ VWD 患者では凝固 VIII 因子活性が低下している事, VWD 患者に VIII 因子活性を欠く血友病 A 血漿を輸血すると, VIII 因子活性が出現し, しかもその血中半減期が著しく長いという発見をした。1964年に米国の Pool & Shannon¹¹⁾ がクリオ沈殿の分離技術を確立し, これには VIII 因子活性が豊富に含まれる事を示し, この製剤が血友病 A の治療に用いられるようになった。1970年前後にアガロース ゲルクロマトグラフィーでクリオ沈殿から VIII 因子活性を持つ蛋白が高純度に精製された。この分離方法にてオランダの van Mourik 等は¹²⁾ 精製 VIII 因子分画には VWD に見られる血小板粘着能低下を補正する作用がある事を見出した。また, 米国の Zimmerman 等は¹³⁾ 精製 VIII 因子関連蛋白に対する家兔免疫沈降抗体の作成を通じて血友病 A と VWD は免疫学的に鑑別しうる事を示した。しかし, これら VIII 因子と血小板粘着能補正活性は常にその挙動を共にする事から¹⁴⁾ これらは同一分子上に存在すると考えられた。以後, VIII 因子活性を示す蛋白は第 VIII 因子関連抗原 (VIII-related antigen: VIIR:AG) と呼ばれるようになった。結果的にはこの表記は誤りで, VIIR:AG と称されたものは VWF 抗原であった。1985年前後に VIII と VWF の両蛋白質の cDNA クローニングが行われ, 両者が異なった蛋白である事が明瞭となり, VIIR:AG の名称は 1986年に国際血栓止血学会の国際標準化委員会

¹ 奈良県立医科大学 輸血部

² 国立循環器病研究センター研究所 分子病態部

(Scientific and Standardization Committee, SSC) で正式に廃止された^{15~20)}。

van Mourik らは²¹⁾ 1974 年に VIIIIR:AG について、一つの不可思議な現象を報告していた。それは、精製した VIIIIR:AG は巨大分子構造を持つ事が示唆され、ポリアクリルアミドゲル電気泳動ではゲル先端からわずかにしか内部に移動しないが、このサンプルを低イオン強度緩衝液（具体的には低 NaCl 濃度環境）に一昼夜透析しておくで低分子化し、「ゲル内を早く進む蛋白バンド (fast-moving component: FMC) と、遅く進むバンド (slow-moving component: SMC) の二つ (Fig. 1) が出現し、しかも各々のバンドは抗 VIIIIR:AG 抗体と一本の免疫沈降線を形成するが、お互いのバンドは融合しない事から免疫原性は異なる」というものであった。この後、同研究グループからはこの現象を説明できる新たな研究の進捗はなかった。

1980 年、Scripps 研究所の Ruggeri & Zimmerman²²⁾ により SDS アガロースゲル電気泳動による VWF 蛋白の解析法が確立され、正常血漿中の VWF は分子量 500

kD~15,000 kD の多岐にわたる多重体 (multimer, M) 構造を持つ事が示された。一方、個々の VWF バンドは 1 本の主バンドとその上下に各々 1 本のサテライトバンドからなる三連符構造を示す事から、健常人に於いても *in vivo* proteolysis がある事、また type 2 VWD では高分子量 (high molecular weight, HMW)-VWF が欠失している事から、かかる患者では前記の proteolysis が亢進していると考えられるようになった。実際、1987 年に同研究所の Berkowitz 等は²³⁾ 抗 VWF モノクローナル抗体を用いて、還元条件下での SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動後の western blot にて本来の VWF サブユニット分子量 250 kD に対して、type 2A VWD 患者血漿中には分解を受け低分子化した 176 kD と 140 kD のサブユニットバンドがコントロールに比して、より多く存在する事を報告している。さらに同ラボの Dent 等は²⁴⁾ type 2A-VWF を精製し、患者に見られる特異的 VWF サブユニット断片の解析にて、その切断部位は成熟 VWF サブユニットを構成する 2050 アミノ酸残基の Tyr842-Met843 (全長 cDNA レベルのアミノ酸残基では

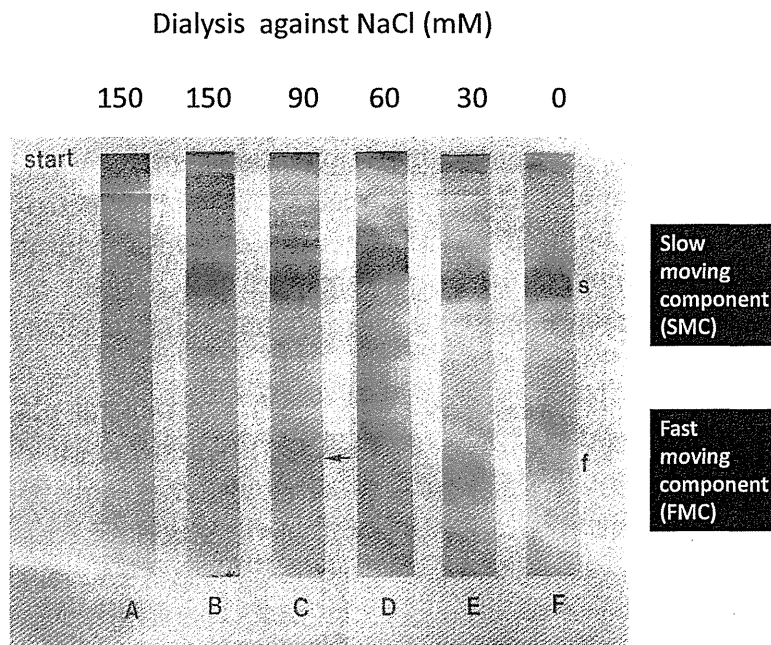


Fig. 1 Large-pore polyacrylamide gel electrophoresis of the “purified factor VIII-related antigen (VIIIIR:AG)” (later shown as VWF). Human cryoprecipitate was separated by agarose gel chromatography, and the “purified VIIIIR:AG” (VWF) was eluted at the void volume. Because of the high molecular weight nature of “purified VIIIIR:AG” (VWF), it did not enter the gel. However, after dialysis against the low ionic strength buffer (pH7.4) over night, the “purified VIIIIR:AG” (VWF) turned to two protein bands, namely slow-moving component (SMC) and fast-moving component (FMC). This phenomenon was a clue to discover ADAMTS13.²¹⁾

Tyr1605-Met1606 に相当) 結合である事を見出した。しかしながら、このペプチド結合切断が VWF-CP (ADAMTS13) という酵素によってなされている事を示したのは、後述のように 1996 年の Furlan 等²⁵⁾、そして Tsai 等²⁶⁾ である。彼らは VWF-CP (ADAMTS13) 活性測定法を確立して、TTP の多くの症例ではこの活性が著減しているというブレークスルーを見出した。即ち、VWF 機能が弱すぎると出血症状が表面に出て VWD となり、逆に強すぎると血栓症状が現れて TTP となる。換言すると、VWD-TTP は両面貨幣 (two-sided coin) の間柄にある。これより、真の VWF-CP 研究はこの年から始まったと考えられる。前記の van Mourik 等の観察は、彼等が精製した VIII:AG はその質量の 99% が VWF で、真の VIII 因子は 1% に満たない程度であった。そして、この VWF に微量ながら VWF-CP/ADAMTS13 が混在 (接着) しており、これが低イオン強度下で酵素機能を発現したと説明できる。

ADAMTS13 活性測定法の進歩

HMW-VWFM は抗生物質リソセチン存在下に強い血小板凝集を惹起する。一方、HMW-VWFM は固相化コラーゲンへの結合能も高く、さらに細コイル灌流、cone plate、そして parallel plate flow chamber などで、高ずり応力環境下に暴露すると、ADAMTS13 による分解反応を受けて低分子化し、酵素反応が完結すると、VWF は N 末端と C 末端の 2 種類のダイマーに転じる事になる。これより、初期の ADAMTS13 活性測定法には様々なものが考案されたが、酵素消化後の測定原理では、1) リソセチン血小板凝集法²⁷⁾、2) VWF サブユニットの N 末端と C 末端を認識する抗 VWF 抗体を用いた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)、3) コラーゲン結合能 ELISA²⁸⁾、4) SDS-アガロース電気泳動²⁹⁾、5) SDS-ポリアクリルアミド電気泳動³⁰⁾、等に分類される。今日、HMW-VWFM は高ずり応力下では速やかに ADAMTS13 で分解される事が知られているが、この高ずり応力下での測定系では高感度定量が難しい。それ故、静止系での測定が主に行われているが、この場合、基質は精製 HMW-VWFM を用いているため、長時間の反応を要する事と、また VWF が消化され易いように 1.5 mol/l 濃度の尿素やグアニジン塩酸などの蛋白変性剤を加える必要があった。

1996 年にスイスの Furlan 等は²⁵⁾ VWF-CP 活性測定法の確立を報告し、TTP ではこれが著減している事を示した。この知見はブレークスルーであったが、測定原理の着想は前記 van Mourik 等²¹⁾ の報告から得たもので、実施は、精製 VWF、正常血漿希釈または患者血漿、終濃度 1.5 mol/l 尿素、10 mM Pefabloc (セリンプロテアー

ゼ阻害剤) を混和し、低イオン強度 (0 mol/l NaCl) 緩衝液で 37°C 下に透析しながら 24 時間酵素消化反応を行うと云うものであった。この反応物はその後 VWFM 解析を行なって判定すると云う時間浪費性のものであった。一方、ほぼ同時期にアメリカの Tsai 等は酵素消化を 1.5 mol/l グアニジン塩酸下に行い、反応物を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で解析するすると云う方法を報告している。以後、Furlan 等²⁹⁾ と Tsai 等³⁰⁾ の二つの研究グループの論文が 1998 年の NEJM に同時掲載され、TTP が世界の注目を引くようになった。

Cruz 等³¹⁾ は、ADAMTS13 での切断部位は VWF-A2 ドメイン内 (Tyr1605-Met1606) で、またこの結合の切断を受け易い type 2 VWD の遺伝子変異がこのドメイン内にある事から、まず His 標識 VWF-A2 ドメイン (Gy1481-Arg1668) の遺伝子発現蛋白を作成し、この基質が静止系で蛋白変性剤非存在下に ADAMTS13 で切断される事を見だし、ELISA による酵素活性測定系を確立した。Kokame 等³²⁾ は VWF-A2 ドメイン内での基質狭小化を計り、最終的に Asp1596-Arg1668 の 73 アミノ酸残基が最小基質となる事を示し、この Gln1599 に蛍光基 Nma を、また Asn1610 に消光基 Dnp を導入することにより、FRETS-VWF73 という蛍光測定法を確立した³³⁾。本法は、今日 ADAMTS13 活性測定法の gold standard 法として世界的に普及している。しかし、本法は被検血漿中の高濃度ビリルビンやヘモグロビンの影響を受ける事が指摘されてきた。これより、最近、蛍光強度を増加させ、前記物質の干渉作用を無くし、また生理的 pH 条件下で測定可能な FRETS-rVWF71 と名付けられた改良型測定法が Muia 等³⁴⁾ によって報告された。

筆者らはルーチンラボでの利便性を考え、chromogenic ADAMTS13 act-ELISA を開発した³⁵⁾。これは ADAMTS13 切断で生じる VWF73 の断端アミノ酸残基 Tyr1605 を特異的に認識するマウスモノクローナル抗体 N10 (IgG) を得たことにより達成された。本法の測定感度は <0.5% (正常 100%) と鋭敏で、前記阻害物質の影響を受けない。一方、他の高感度測定法として GST-VWF73-His を基質に用い、SELDI-TOF-MAS で測定する方法³⁶⁾ が報告されているが、器材が大掛かりである事から汎用性については問題が残る。最近、国内外で ADAMTS13 活性測定法の臨床現場でのリアルタイム測定を視野に入れ、全自動測定法が開発されつつある。一つは化学発光法、他は金コロイド凝集法で、これら 2 方法は共に前記 N10 抗体を利用したものである。測定時間はいずれも 10 分前後で、且つ極めて高感度と伝えられており、今後の進展が待たれる。本邦では ADAMTS13 活性とそのインヒビター測定は現在、薬事承認に向けて準備されつつある。

本邦における血栓性微小血管障害症 (TMA) 患者登録と解析状況の update

筆者らは 1998 年に Furlan 等の VWFm 法による VWF-CP/ADAMTS13 活性測定法を本邦で最初に立ち上げ³⁷⁾, この後, 全国の医療施設から依頼された検体についても, その測定を受諾する事になった。2001 年以降は測定検体数が飛躍的に増え, 当ラボのホームページ (<http://www.narmed-u.ac.jp/~trans/>) を開設し, 検体受け入れをシステム化した。また 2005 年 4 月からは前記の新規開発した chromogenic ADAMTS13 act-ELISA による活性測定を取り入れたため, 平日に検体を受け取ればその日の内に結果を返却できるシステムも構築できた。

原則として ADAMTS13 活性が著減 (通常 <5%) し, 同インヒビターが陰性で, 後述の患者背景と合わせて先天性 TTP (下記 USS) と診断できたものは, 倫理委員会規定に従って国立循環器病研究センターで ADAMTS13 遺伝子解析を実施している。一方, ADAMTS13 活性が著減しておらず, また同インヒビターも陰性であるが, TMA 発作の反復性, 家族性が認められるものは従来, 原因不詳の先天性 TMA (congenital TMA with the etiol-

ogy unknown) と分類していたが, 本年, 徳島大学小児科の香美先生や東京大学腎臓・内分泌内科の南学先生が中心となり, 非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical HUS, aHUS) の診断基準が作成された³⁸⁾。これによると, 我々が原因不詳の先天性 TMA と分類していた患者の殆どが先天性 aHUS のカテゴリーに入る事が示された。先天性 aHUS は補体や補体調節因子の遺伝子異常にて生じ, 遺伝形式は通常, 常染色体優性である。これに対し, 先天性 TTP (USS) の遺伝形式は常染色体劣性なので, 最近の患者数は aHUS が USS を遥かにしのぐ状況となっている。過去 15 年間に本邦の医療機関から VWF-CP/ADAMTS13 活性測定を依頼され, 実施した検体数は膨大で, 集積された TMA 患者数は 2012 年 12 月末で 1,149 例であった (Fig. 2)。これらの内訳を Table 1 に示す。

先天性 TTP (Upshaw-Schulman syndrome, USS) : 診断と治療の問題点

小児血液専門医にとって, USS の hallmark とは, 「新生児期に Coombs 試験陰性の重症黄疸があり, これは交換輸血で救命されるが, その後も貧血と血小板減少が慢性に経過し, これらの症状が血漿輸血にて劇的に改善

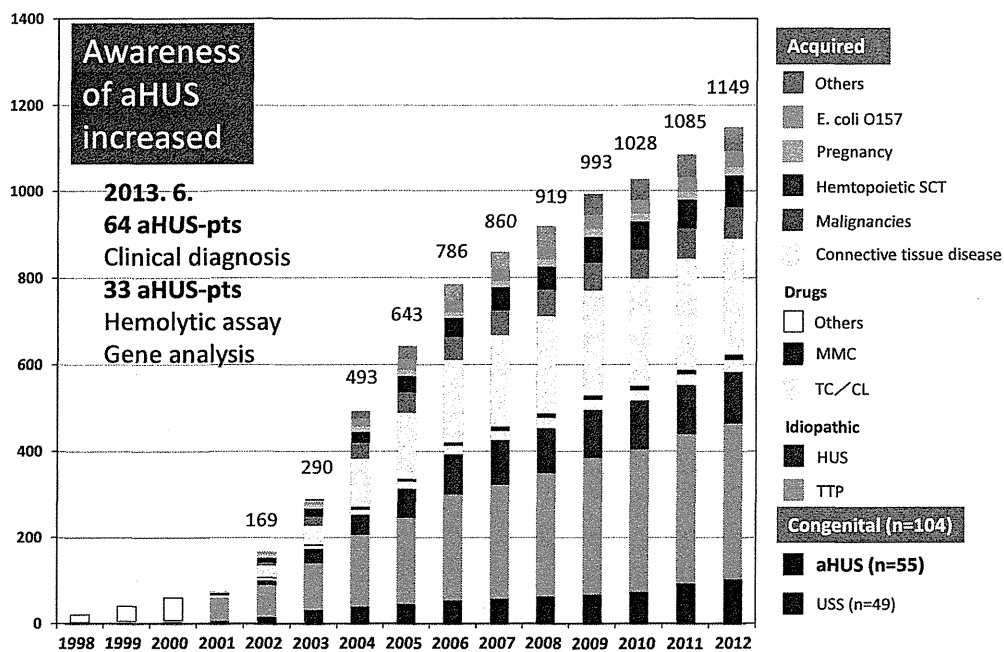


Fig. 2 Cumulative number of TMA patients in NMU registry.

Since 1998, our laboratory of Nara Medical university (NMU) has been functioning as a TMA referral center in Japan through analyzing VWF-cleaving protease/ADAMTS13 activity. Until the end of 2012, the cumulative number reached to 1149, which included 104 patients of congenital TMA (49 with USS and 55 with aHUS). Abbreviations: SCT, stem cell transplantation; MMC, mitomycin C, TC/CL, ticlopidine/clopidogrel.

Table 1 Plasma levels of ADAMTS13 activity and ADAMTS13 inhibitor in 1149 patients with TMA, registered to our laboratory of NMU between 1998 and 2012.

	Congenital TMAs		Acquired TMAs											Total (n=1149)
	Upshaw-Schulman syndrome (USS) (n=49)	aHUS (n=55)	Idiopathic		Secondary									
			Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) (n=361)	Hemolytic-uremic syndrome (HUS) (n=119)	Drug-induced (n=42)			Connective tissue diseases and Autoimmune diseases (CTDs/ADs) (n=263)	Malignancies (n=73)	Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) (n=75)	Pregnancy (n=19)	Stx-E. coli infection (n=37)	Others (Liver cirrhosis, etc) (n=56)	
				Ticlopidine (n=25)/ Clopidogrel (n=2)	Mitomycin C (n=12)	Others (n=3)								
ADAMTS13:AC (%)	(n=48)	(n=55)	(n=361)	(n=119)	(n=25/n=2)	(n=12)	(n=3)	(n=263)	(n=73)	(n=75)	(n=19)	(n=37)	(n=56)	(n=1148)
<3	46	0	269	0	23	0	3	57	8	0	7	0	19	432
3-<25	2	2	70	22	2	2	0	76	24	23	5	6	17	251
25-<50	0	14	19	58	1	6	0	79	25	34	4	21	7	268
≥50	0	39	3	39	1	4	0	51	16	18	3	10	13	197
ADAMTS13:INH (U/ml)	(n=48)	(n=43)	(n=313)	(n=50)	(n=24/n=2)	(n=9)	(n=3)	(n=206)	(n=32)	(n=26)	(n=9)	(n=22)	(n=30)	(n=817)
≥2	0	0	139	0	18	0	0	31	5	0	4	0	12	209
0.5-<2	0	7	140	3	6	1	3	84	10	5	2	3	10	274
<0.5	48	36	34	47	2	8	0	91	17	21	3	19	8	334

() Sample number determined

する疾患」であった。この歴史の詳細については拙著で報告しているので割愛する³⁹⁾。実際、USSの病態解明には多くの研究者の貢献があったが、UpshawとSchulmanの両名の名前が今日も残っているのは、この両者のみが1960年と1978年に、溶血性貧血と慢性血小板減少を示すそれぞれの患者に対して、血小板輸血ではなく血漿輸血により、血小板数が著しく増加する事を報告した事による^{40, 41)}。当時は血漿中に血小板産生刺激因子 (platelet stimulating factor) が存在する事を仮想していたが、この考えは、後年 thrombopoietin (TPO) が同定され、USSとの関連は完全に否定された。

筆者等は1998年以降、本邦USS患者3家系のVWF-CP活性を調べ、患者は活性が著減し、同両親は活性が半減を示すが無症状であることから、本疾患が常染色体劣性遺伝形式であることを報告したが⁴²⁾、その6ヶ月後Levy等⁷⁾によりADAMTS13遺伝子がクローニングされ、USSがADAMTS13変異遺伝子の劣性遺伝による事が示された。現在、世界でUSS患者は約150名同定されているが、筆者等は本邦で2012年末迄に49名の同患者を同定した。USS患者で同定されたADAMTS13遺伝子変異をFig. 3に示す⁴³⁾。注目すべきは欧米で発見された変異と本邦とでは全く異なる点である。また、本邦患

者の自然史 (natural history) を要約するとTable 2のようになる。ここで特筆すべきは、前記のUSS hallmarkである交換輸血を必要とするような新生児重症黄疸を示すearly-onset type (早期発症型) は僅か39%の患者にしか見られない点と、USSの遺伝は常染色体劣性なので、患者数は本来、男女ほぼ同数と想定されるが、登録症例は圧倒的に女性優位である。これはUSS女性の場合、妊娠によりTTP発作が誘導されるので、妊娠適齢期である20~40才間に発見され易いことによる。一方、USS男性にはこの年齢層で正確に診断されている例はなく、40~45才を超えて初めてTTP発作を起こして診断されている例が散見される。かかる例はlate-onset type (晩期発症型) と表現されている。

Taguchi等⁴⁴⁾が2012年に報告した男性症例をlate-onset typeの典型例としてFig. 4に紹介する。症例は1931年生で、来院時は63才であった。男性はこの年齢で初めてTTP発作を起こして来院したが、直後には血漿交換療法の対応が出来ず、同日は血漿輸注だけを行った。しかし翌日に臨床症状と検査値の双方に著しい改善がみられ、以後はTTP発作時に血漿輸注のみで治療していた。しかし加齢と共にTTP発作回数も増加し、77才時(2007年)には小脳梗塞を起こした。この時点で

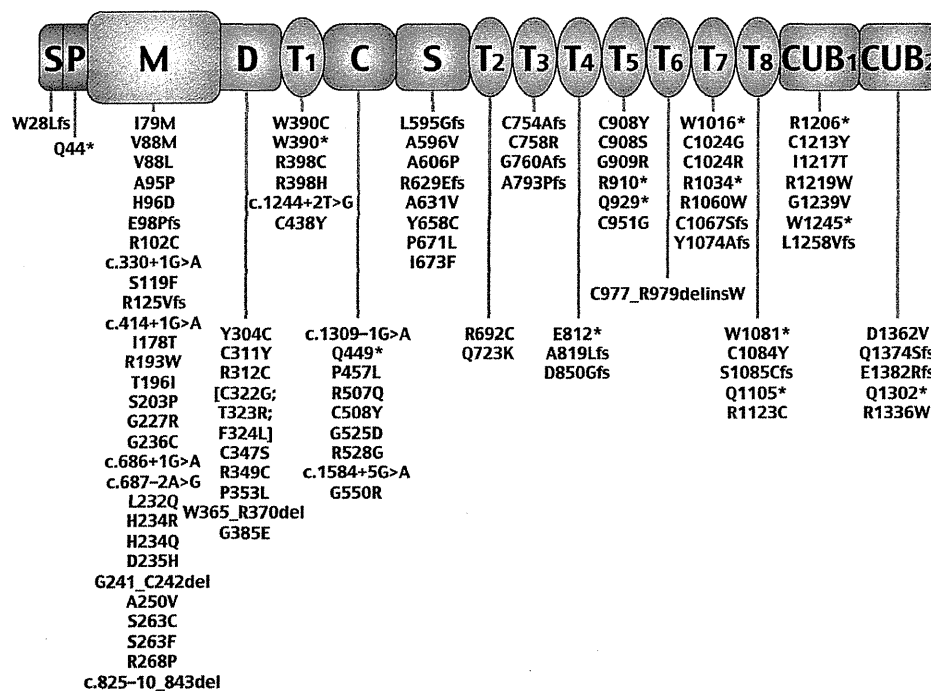


Fig. 3 ADAMTS13 gene mutations responsible for congenital TTP (Upshaw-Schulman syndrome, USS).

The description of protein sequence mutation follows the recommendation of the Human Genome Society (www.hgvs.org/mutnomen/recs-prot.html). Mutations in red were identified in Japanese patients⁴³⁾.

Table 2 Summary of natural history in 49 patients with Upshaw-Schulman syndrome in Japan.**Family:**

- 43 families
- Female predominance (31 F and 18 M)
- Up to 79 years of age

EXBT to severe newborn jaundice: 19 pts/49 (39%)

Hemodialysis for CKD: 5 pts (3 pts were dead)

Aggravating factors:

- Severe infections such as FLU
- **Pregnancy:** 23 occasions in 13 female pts (1 pt was diagnosed after death)
- DDAVP
- interferon
- heavily drinking alcohol
- Aging

ADAMTS13 gene analysis in 47 pts: 9 homo. and 38 compound hetero.

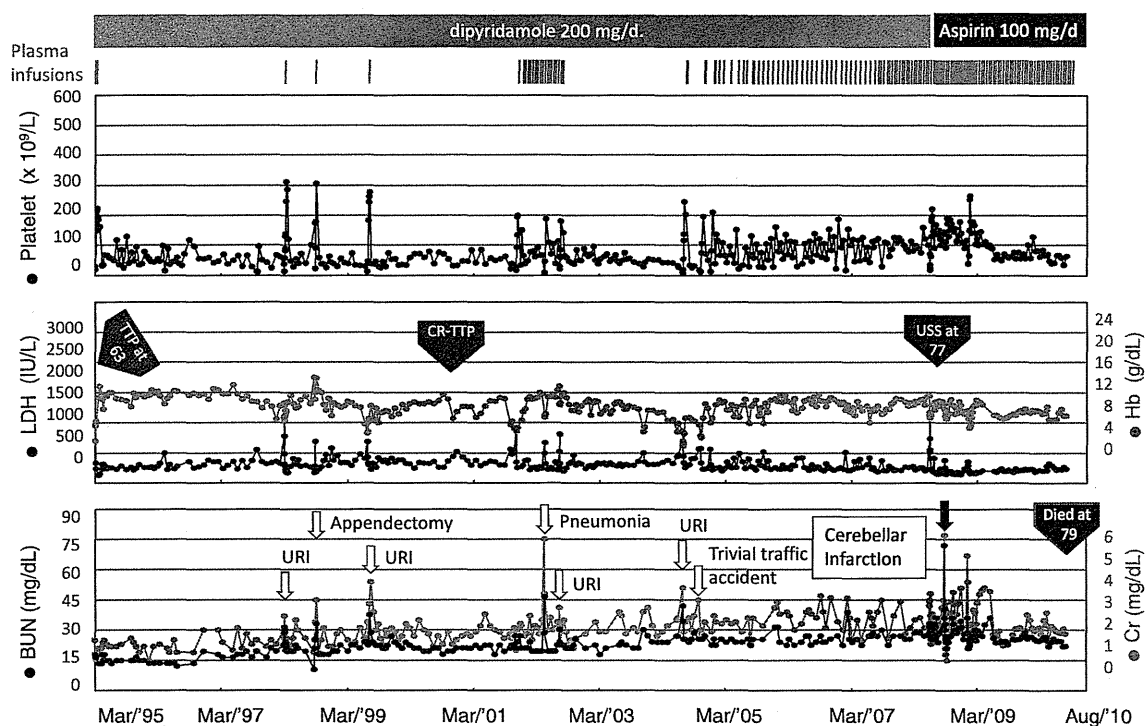


Fig. 4 Clinical course of a representative case of Upshaw-Schulman syndrome (USS) with the late-onset phenotype. This Japanese male patient first developed a TTP-bout at the age of 63 years and was admitted to a local hospital, where plasma exchange was not ready available, and so he was treated with plasma infusion, which dramatically improved his clinical conditions on the following day. Since then, he had been treated with plasma infusion on demand at TTP-bouts, but its frequency became quite often with aging. At age of 77 years, he had cerebellar infarct, and on that occasion ADAMTS13 was analysed, that disclosed a moderate deficiency of ADAMTS13 activity (2.4-3.4% of the normal) and a homozygous ADAMTS13 gene mutation of p.C1024R. His parents were indeed the first cousins. As for his natural history, he worked as a business man until the age of 60 years and received health examination annually, but he never had appreciable abnormalities in both laboratory and clinical findings⁴⁴.

ADAMTS13 解析を実施し、ADAMTS13 活性は 2.4~3.4%と著減し、また ADAMTS13 遺伝子解析では p.C1024R のホモ接合型変異が同定された。これより、家族歴を詳細に再調査すると患者の御両親はいとこ婚であった。本患者は会社員として定年迄勤務し、その間毎年定期健康診断を受けていたが、特に異常を指摘された事はなかったという。本患者はこの後 79 才で小脳梗塞の関連後遺症で逝去されたが、本症例が典型的な late-onset phenotype の経過模様を示した理由として、(1) 男性、(2) ADAMTS13 活性は 2.4~3.4%と僅かながら検出される例であった、の 2 点があげられる。これは TTP 発作の契機は前記のように、血管内皮細胞からの UL-VWFM 放出が過剰に起こる時と考えられており、女性では妊娠、特に妊娠後期がこれにあてはまるが、男女を問わず、40 才を超えると VWF 量は青年期のほぼ 1.5 倍に増えてくる事が知られているので、男性ではこの年齢層 (40~60 才) で TTP 発作が発来し、USS 体質が発見され易いと説明される。

【治療】USS 患者の約半数は診断確定後、約 2 週間に 1 回の頻度で定期的 FFP 輸注 (5~10 ml/kg BW) を受けている。これは ADAMTS13 活性と抗原の血中半減期が略 2.5 日である事と、輸血後に血小板数は 7~10 日目でピークを迎えると云うデータに基づいている。懸念される ADAMTS13 インヒビター発生の報告例は現在のところ皆無であるが、我々のデータでは⁴⁵⁾2011 年に検索した USS 患者 43 例中 7 例 (16.2%) に IgG 型の非中和抗体が検出されているので、今後、中和抗体の発生についても慎重に見守ってゆく必要性があると考えている。一方、日本赤十字社の血液製剤については 1988 年以降から HCV 検査が導入されているが、それ以前から血漿輸注療法を受けている USS 患者では HCV 既感染者もいる。現在、遺伝子発現 ADAMTS13 製剤の Phase I 臨床試験が欧米で開始されたと伝えられているので、その成果と同製剤の速やかな臨床への導入が期待されている。

後天性 TTP : 診断と治療の問題点

TTP 患者の 90%以上は後天性 TTP で、この診断は、ADAMTS13 活性著減と ADAMTS13 に対する活性中和抗体 (IgG 型インヒビター) あるいは非中和抗体 (主に IgG 型) が陽性の結果で診断される群と、ADAMTS13 活性は略正常であっても古典的 5 徴候 (pentad) でなされる群の 2 種類がある。筆者等は前者を仮に定型 TTP、後者を非定型 TTP と呼んでいるが、非定型 TTP は非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome, aHUS) との鑑別が困難で、また aHUS には先天性と後天性の双方があるため、後天性 TTP で定型と非定型の患者割合は報告者によって大きく異なる。筆者ら

が 1998~2012 年の間に奈良医大輸血部で登録した 1,149 名の TMA 患者の解析結果では TTP は 361 名で TMA 全体の 31.4% (361/1,149) であり、このうち 74.5% (269/361) は定型 TTP であった。TTP の発生頻度については ADAMTS13 発見以前に、人口 100 万人当たり 4.7 人という数字が出されているが、現在ではこれよりも遥かに高い頻度と推定される。実際、今日では血小板減少と貧血があり、ADAMTS13 活性著減が確認されれば、これで定型 TTP と診断されている。後天性・定型 TTP では再発率が高い事、また非定型 TTP ではこれが少ない事も近年報告されている。一方、後天性の定型及び非定型 TTP のいずれもが、一次性 (特発性) に生じるものと、基礎疾患、薬物、移植等に関連して二次性に生じるものがある。また、後天性・定型 TTP に発生する IgG 型 ADAMTS13 インヒビターのエピトープは共通して Spacer ドメイン内にある。このドメインは VWF 切断時に、この基質を捕捉するに重要な部位と考えられており、Pos 等^{46,47)}はこのエピトープの詳細な解析にて Spacer ドメイン内の 5 アミノ酸残基 (Arg568-Phe592-Arg660-Tyr661-Tyr665) が特に重要である事を示した。

【治療】(1) 血漿交換 (plasma exchange, PE) : 後天性定型的 TTP に対する first-line 治療は PE である。PE の効用については、① ADAMTS13 インヒビター除去、② UL-VWFM の除去、③ ADAMTS13 の補充、④ 止血に必要な正常サイズの VWFM の補充、そして⑤炎症性サイトカインの除去、などで説明されている⁴⁸⁾。実施は 1 回 40~60 ml/kg (1 日当たり循環血液 [血漿] 量の 1~1.5 容) を輸注する。開始して 3 日間は 1 日当たり循環血液 [血漿] 量の 1.5 容/回で連日行う。殆どの症例でステロイド使用やステロイドパルス療法 (後述) が併用される。PE の効果は血小板数、神経症状、LDH などの溶血モニターを観察しながら判断し、反応が悪ければ 5 日間連日行う事もしばしばある。現行 PE に対する保険適応は週 3 回、1 ヶ月に 12 回、期間は 3 ヶ月以内という制限がある。しかし、後述のように難治性・後天性 TTP においては様々な免疫療法と PE の併用が長期に渡って求められる事がしばしばあり、保険適応の期間と回数については、早急に見直しが必要と考えている。(2) ステロイド療法 : 多くの症例で、ステロイドパルス療法として PE 開始初期から実施されている。その方法は、PE 終了直後にメチルプレドニゾン 1,000 mg を生理食塩水 100 ml に溶解し、1 日 1 回約 1 時間かけて点滴静注する。これを 3 日間連続して行う。4 日目からはプレドニン錠 (5 mg) を 1 mg/kg、分 1 で投与開始する。その後、臨床症状を見ながら急速に減量する。(3) 抗血小板薬 : PE にて血小板数が回復し始めた時期 (英国ガイドラインでは 50,000/uI 以上) に使用が考慮され、1)

低用量アスピリン (100 mg) 1錠分1 (保険適用外), の使用が推奨されている。その他として, 2)ペルサンチン (100 mg) 3錠分3 (保険適用外) があるが, 出血時間延長が懸念される。最近, 出血副作用が少ない為に, TTP 治療の新しい抗血小板療法剤として注目されているのが, 3)シロスタゾール (100 mg) 2錠分2 (保

険適用外) である。しかし, これら全ての抗血小板剤については, その効果検証の課題が残っている。(4)難治性 TTP に対する治療: PE 治療に抵抗性を示す症例に対し, 保険適応外であるが, 1)シクロスポリン経口療法 (保険適用外) [処方例] ネオーラルカプセル 6 mg/kg 分3 (保険適用外), 2)シクロホスファミド経口療法 [処

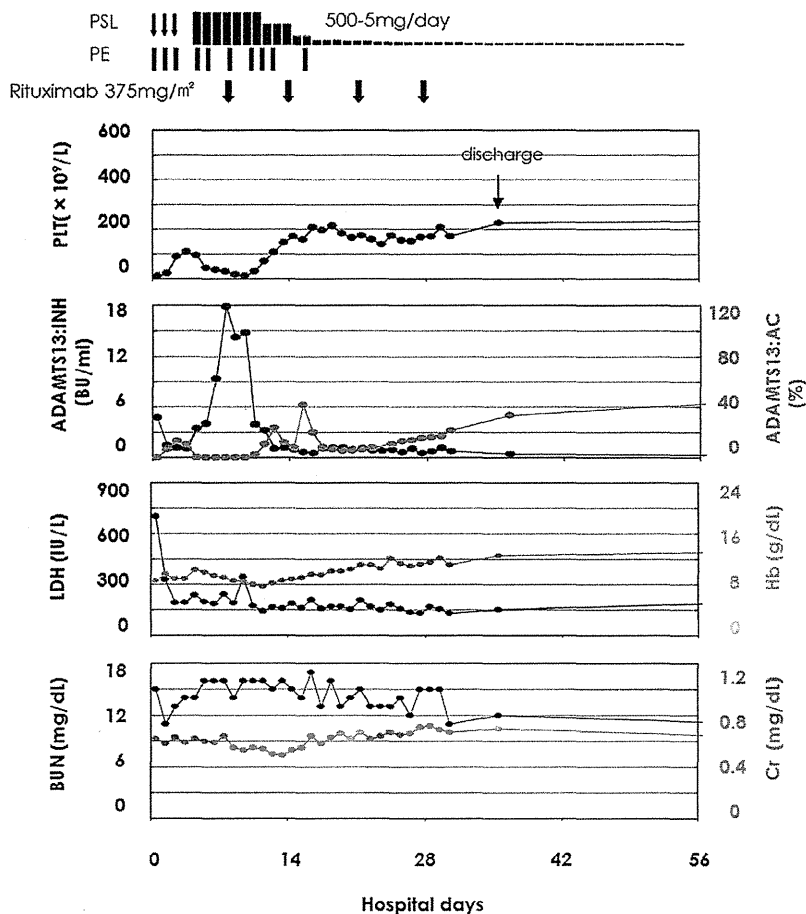


Fig. 5 The clinical course of ai-TTP patient with ADAMTS13 inhibitor boosting by plasma exchange.

A 67-year female was admitted to our hospital with complaints of thrombocytopenia (platelet count $10 \times 10^9/l$), hemolytic anemia (hemoglobin 8.6 g/dl and lactate dehydrogenase 703 IU/l), unconsciousness, and fever ($38^\circ C$), without any known etiology. At that time, plasma levels of ADAMTS13 activity and inhibitor were $<0.5\%$ (of the normal), and 4.7Bethesda U/ml, respectively. Plasma exchange was performed for the consecutive 3 days with a steroid pulse therapy (methylpredonisolone 1 g/day \times 3) that resulted in an increase of ADAMTS13 activity (13%) and/or platelet count ($100 \times 10^9/l$). However, soon after this, both platelet count and ADAMTS13 activity dropped again, and the inhibitor titer was re-increased up to 18 Bethesda U/ml (inhibitor boosting). Rituximab was then administered from the day 7 after plasma exchange initiation, with a dose of 375 mg/m² per week for 4 times. Then, the clinical and laboratory findings rapidly improved to remission.

方例] エンドキサン錠 (50 mg) 2錠分2 (保険適用外), 3) ピンクリスチン (VCR) 注 初回 1~2 mg 静注。1週間後 1 mg 追加静注 (保険適用外), 4) リツキシマブ注 1回 375 mg/m², 1週1回, 点滴静注, 4~8回 (保険適用外) (後に詳述), 5) 脾摘などがある。(5) 次世代の TTP 治療薬: 最近, 欧米では recombinant (r) ADAMTS13 製剤の Phase I 治験が開始された。一方, ADAMTS13 は UL-VWFM の構造・機能モジュレーターで, 作用物質は UL-VWFM である。UL-VWFM 依存性高ずり応力惹起血小板凝集においては, VWF-血小板膜糖蛋白 GPIb 軸の反応制御が最も効果的な抗血栓作用を示すと考えられている。このような分子標的療法として, AWJ-2 に代表される VWF-A1 ドメイン認識キメラ抗体, 南米ラマで産生された nanobody (AKX-0681, Abylynx NV 社, Belgium), VWF-A1 ドメインアプタマー (ARC 1779, Archmix 社, Boston) 等がある。これらの多くが, 海外では臨床治験対象と考えられている。

【リツキシマブと Inhibitor boosting】リツキシマブは本来 B 細胞性リンパ腫の治療薬であるが, 本剤が後天性・定型 TTP に対しても極めて有効である⁴⁹⁾ との結果が 2002 年以降, 多数報告されている。これより, 2012 年にフランスの TMA レファレンスセンターグループによって PE と併用したリツキシマブ治療効果について, 22 例の TTP に対して前方視的研究がなされた⁵⁰⁾。この時のリツキシマブ投与量は 375 mg/m² で, 回数は計 4 回と従来法に準じているが, 投与日は TTP 診断日を X とすると, (X, X+3, X+7, X+14) 日と最初の 2 週間以内に 4 回投与する形になっている。結果は, 1) 血小板数の回復が速やかで, 寛解に至るまでの期間が短縮した, 2) 寛解後 1 年以内の再発が皆無であった, 3) この 1 年期間中, ADAMTS13 活性はリツキシマブ使用群でより高値, また同結合 IgG 抗体はより低値との結果が示された。しかし予想に反して, 4) PE の血漿使用量については両群で差を認めず, また, 5) 末梢の B リンパ球枯渇期間 9 ヶ月は B-リンパ腫での使用と同じであった。これを裏付けるように, 実際, この期間中の再発は皆無であった。しかし, 6) 寛解後 1 年を超えると再発例が 14% (3/21, 1 例は早期死亡) に見られた。

我々は最近, 難治性 TTP の一表現型として, PE 後に IgG 型の ADAMTS13 インヒビター力価が急上昇 (inhibitor boosting) するものがある事を確認した (Fig. 5)。自験例の後天性・定型 TTP では約 40% がこの型を示した。この inhibitor boosting が確認されると, 通常の PE 単独療法やステロイドパルス療法の併用も殆ど効果がなくなる。かかる例には PE とリツキシマブの併用は必須と考えている。我々が経験した典型例では, PE 治療前に高いインヒビター力価 (>2 Bethesda U/ml) を示し

た TTP 症例は, PE 治療後, 数日間は反応して血小板数も増大するが, 1 週間以内に血小板数の再低下が見られ, この時点で inhibitor boosting が確認された。かかる例にはリツキシマブの効用はより顕著であった。このような事実を受け, ごく最近, 後天性定型的 TTP に対するリツキシマブの医師主導型治験 (代表: 埼玉医科大学総合診療内科 宮川義隆) の実施が厚生労働省から認可された。該当症例は ADAMTS13 活性著減例で, PE 連続 5 日間実施するも臨床症状の改善のないもの, あるいは PE 治療前の ADAMTS13 インヒビター力価が 2 Bethesda U/ml 以上と高いものとの条件がある。興味のある方は宮川先生までご連絡下さい。

謝 辞

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

著者の COI (conflicts of interest) 開示: 藤村吉博; 特許使用料 (アルフレッサファーマ株式会社), 講演料 (旭化成株式会社, アレクシオンファーマ株式会社), 研究費 (アレクシオンファーマ株式会社, 武田医学特定研究助成)

文 献

- 1) Moschcowitz E. Hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries: a hitherto undescribed disease. Proc NY Pathol Soc. 1924; **24**: 21-24.
- 2) Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore). 1966; **45**: 139-159.
- 3) Gerritsen HE, Robles R, Lämmle B, Furlan M. Partial amino acid sequence of purified von Willebrand factor-cleaving protease. Blood. 2001; **98**: 1654-1661.
- 4) Plaimauer B, Zimmerman K, Völkel D, et al. Cloning, expression, and functional characterization of the von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13). Blood. 2002; **100**: 3626-3632.
- 5) Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. Blood. 2001; **98**: 1662-1666.

- 6) Zheng X, Chung D, Takayama TK, Majerus EM, Sadler JE, Fujikawa K. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Biol Chem.* 2001; **276**: 41059-41063.
- 7) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the *ADAMTS* gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature.* 2001; **413**: 488-494.
- 8) Soejima K, Mimura N, Hirashima M, et al. A novel human metalloprotease synthesized in the liver and secreted into the blood: possibly, the von Willebrand factor-cleaving protease? *J Biochem.* 2001; **130**: 475-480.
- 9) von Willebrand EA. Hereditär pseudohefemofili. *Fin Läkarsällsk Handl.* 1926; **67**: 7-112.
- 10) Nilsson IM, Blombäck M, Jorpes E, Blombäck B, Johansson SA. V. Willebrand's disease and its correction with human plasma fraction 1-0. *Acta Med Scand.* 1957; **159**: 179-188.
- 11) Pool JG, Shannon AE. Production of high-potency concentrates of antihemophilic globulin in a closed-bag system. *N Engl J Med.* 1965; **273**: 1443-1447.
- 12) van Mourik JA, Mochtar IA. Purification of antihemophilic factor (factor VIII) by gel chromatography. *Biochim Biophys Acta.* 1970; **221**: 677-679.
- 13) Zimmerman TS, Ratnoff OD, Powell AE. Immunologic differentiation of classic hemophilia (factor VIII deficiency) and von Willebrand's disease: with observations on combined deficiencies of antihemophilic factor and proaccelerin (factor V) and on an acquired circulating anticoagulant against antihemophilic factor. *J Clin Invest.* 1971; **50**: 244-254.
- 14) Bouma BN, Wiegerinck Y, Sixma JJ, van Mourik JA, Mochtar IA. Immunologic characterization of purified antihemophilic factor A (factor VIII) which corrects abnormal platelet retention in Von Willebrand's disease. *Nat New Biol.* 1972; **236**: 104-106.
- 15) Toole JJ, Knopf JL, Wozney JM, et al. Molecular cloning of cDNA encoding human antihemophilic factor. *Nature.* 1984; **312**: 342-347.
- 16) Vehar GA, Keyt B, Eaton D, et al. Structure of human factor VIII. *Nature.* 1984; **312**: 337-342.
- 17) Sadler JE, Shelton-Inlose BB, Sorace JM, Harlan JM, Titani K, Davie EW. Cloning and characterization of two cDNAs coding for human von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985; **82**: 6394-6398.
- 18) Verweij CL, Diergaarde PJ, Hart M, Pannekoek H. Full-length von Willebrand factor (vWF) cDNA encodes a highly repetitive protein considerably larger than the mature vWF subunit. *EMBO J.* 1986; **5**: 1839-1847.
- 19) Ginsberg D, Handin RI, Bonthron DT, et al. Human von Willebrand factor (vWF): Isolation of complementary DNA (cDNA) clones and chromosomal localization. *Science.* 1985; **228**: 1401-1406.
- 20) Shelton-Inloses BB, Titani K, Sadler JE. cDNA sequences for human von Willebrand factor reveal five types of repeated domains and five possible protein sequence polymorphisms. *Biochemistry.* 1986; **25**: 3164-3171.
- 21) van Mourik JA, Bouma BN, LaBruyère WT, De Graaf S, Mochtar IA. Factor VIII, a series of homologous oligomers and a complex of two proteins. *Thromb Res.* 1974; **4**: 155-164.
- 22) Ruggeri ZM, Zimmerman TS. Variant von Willebrand's disease: characterization of two subtypes by analysis of multimeric composition of factor VIII/von Willebrand factor in plasma and platelets. *J Clin Invest.* 1980; **65**: 1318-1325.
- 23) Berkowitz SD, Dent J, Roberts J, et al. Epitope mapping of the von Willebrand factor subunit distinguishes fragments present in normal and type IIA von Willebrand disease from those generated by plasmin. *J Clin Invest.* 1987; **79**: 524-531.
- 24) Dent JA, Berkowitz SD, Ware J, Kasper CK, Ruggeri ZM. Identification of a cleavage site directing the immunochemical detection of molecular abnormalities in type IIA von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990; **87**: 6306-6310.
- 25) 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.* 1996; **87**: 4223-4234.
- 26) Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood.* 1996; **87**: 4235-4244.
- 27) Böhm M, Vigh T, Scharrer I. Evaluation and clinical application of a new method for measuring activity of von Willebrand factor-cleaving metalloprotease (ADAMTS13). *Ann Hematol.* 2002; **81**: 430-435.
- 28) Gerritsen HE, Turecek PL, Schwarz HP, Lämmle B, Furlan M. Assay of von Willebrand factor (vWF)-cleaving protease based on decreased collagen binding affinity of degraded vWF: a tool for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *Thromb Haemost.* 1999; **82**: 1386-1389.
- 29) Furlan M, Robles R, Galbuseram M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.* 1998; **339**: 1578-1584.
- 30) Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 1998; **339**: 1585-1594.
- 31) Cruz MA, Whitelock J, Dong JF. Evaluation of ADAMTS-13 activity in plasma using recombinant von Willebrand Factor A2 domain polypeptide as substrate. *Thromb Haemost.* 2003; **90**: 1204-1209.
- 32) Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. VWF73, a region from D1596 to R1668 of von Willebrand factor, provides a minimal substrate for ADAMTS-13. *Blood.* 2004; **103**: 607-612.
- 33) 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.
- 34) Muia J, Gao W, Haberichter SL, Dolatshahi L, Zhu J, Westfield LA, Covill SC, Friedman KD, Sadler JE. An optimized fluorogenic ADAMTS13 assay with increased sensitivity for the investigation of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost.* 2013; **11**: 1511-1518.
- 35) 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**: 1444-1452.
- 36) Jin M, Cataland S, Bissell M, Wu HM. A rapid test for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura using surface enhanced laser desorption/ionization time-of-flight (SELDI-TOF)-mass spectrometry. *J Thromb Haemost.* 2006; **4**: 333-338.
- 37) Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H, Yoshioka A, Matsui T, Titani K. Von Willebrand factor-cleaving protease and Upshaw-Schulman syndrome. *Int J Hematol.* 2002; **75**: 25-34.
- 38) 非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会. 非典型溶血性尿毒症症候群 診断基準. *日腎会誌.* 2013; **55**: 91-93.
- 39) 藤村吉博. Upshaw-Schulman 症候群—仮面血小板減少症. *日小児会誌.* 2006; **110**: 1491-1504.
- 40) Schulman I, Pierce M, Likens A, Currimbhoy Z. Studies on thrombopoiesis. I. A factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood.* 1960; **14**: 943-957.
- 41) Upshaw JD Jr. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 1978; **298**: 1350-1352.
- 42) Kinoshita S, Yoshioka A, Park YD, et al. Upshaw-Schulman syndrome revisited: a concept of congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol.* 2001; **74**: 101-108.
- 43) Miyata T, Kokame K, Matsumoto M, Fujimura Y. ADAMTS13 activity and genetic mutations in Japan. *Hamos-taseologie.* 2013; **33**: 131-137.
- 44) Taguchi F, Yagi H, Matsumoto M, et al. The homozygous p.C1024R-ADAMTS13 gene mutation links to a late-onset phenotype of Upshaw-Schulman syndrome in Japan. *Thromb Haemost.* 2012; **107**: 1003-1005.
- 45) Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, et al. Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. *J Thromb Haemost.* 2011; **9 Suppl 1**: 283-301.
- 46) Pos W, Crawley JT, Fijnheer R, Voorberg J, Lane DA, Luken BM. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood.* 2010; **115**: 1640-1649.
- 47) Pos W, Sorvillo N, Fijnheer R, et al. Residues Arg568 and Phe592 contribute to an antigenic surface for anti-ADAMTS13 antibodies in the spacer domain. *Haematologica.* 2011; **96**: 1670-1677.
- 48) Matsumoto M, Yagi H, Ishizashi H, Wada H, Fujimura Y. The Japanese experience with thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. *Semin Hematol.* 2004; **41**: 68-74.
- 49) 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**: 347-359.
- 50) Froissart A, Buffet M, Veyradier A, et al. French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. Efficacy and safety of first-line rituximab in severe, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura with a suboptimal response to plasma exchange. Experience of the French Thrombotic Microangiopathies Reference Center. *Crit Care Med.* 2012; **40**: 104-111.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Transfusion and Apheresis Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/transci

Case Report

Successful treatment of an elderly frail patient with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura under close monitoring of ADAMTS13 activity and anti-ADAMTS13 antibody titers

Keigo Sano, Hideo Yagi^{*}, Hitoshi Hanamoto, Mariko Fujita, Takashi Iizuka, Keiko Yamazaki, Kazuo Tsubaki

Department of Hematology, Nara Hospital, Kinki University School of Medicine, Ikoma, Nara, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 August 2013

Accepted 29 October 2013

Available online xxx

Keywords:

TTP

ADAMTS13

Inhibitor

PE

FFP

ABSTRACT

A 68-year-old woman was admitted to the regional hospital because of hemolytic anemia, thrombocytopenia, and neurological abnormalities including unconsciousness. One week before admission, she suffered from diarrhea and subsequently passed out and hit her face on the ground. She was suspected of having TTP and was transferred to our hospital. We performed the assays of ADAMTS13 activity and anti-ADAMTS13 antibody titers, and confirmed the diagnosis of acquired idiopathic TTP with total deficiency of ADAMTS13 activity with its inhibitor. She was initially treated with plasma exchange combined with corticosteroids, however, we were forced to substitute plasma exchange with fresh frozen plasma infusion due to procedure-associated complications. The infusion of fresh frozen plasma was known as less effective and more likely to boost inhibitor titers compared to plasma exchange. In this circumstance, we could successfully switch the plasma therapy under close monitoring of ADAMTS13 activity and anti-ADAMTS13 antibody titers which precisely revealed the disease status of TTP in our patient, and eventually she achieved complete remission with normal level of ADAMTS13 activity and no inhibitor. Our experience suggested that the measurement of ADAMTS13 activity and inhibitor titer might be valuable not only for making the diagnosis but also for guiding treatment decisions by precise evaluating of disease status in patients with the acquired form of TTP.

© 2014 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-SA license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>).

1. Introduction

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a life-threatening systemic disorder characterized by the clinical pentad of microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, renal failure, fluctuating neurological signs, and fever [1,2]. Severe deficiency of plasma ADAMTS13 (a dis-

integrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13) activity has been identified in patients with TTP, but not in patients with hemolytic uremic syndrome (HUS) [3,4]. ADAMTS13 is a metalloprotease that specifically cleaves the Tyr1605–Met1606 bond in the A2 domain of von Willebrand factor (VWF) [5–9]. In the absence of ADAMTS13 activity, unusually large VWF multimers (UL-VWFMs) are released from vascular endothelial cells, which accumulate in the circulation and induce the formation of platelet thrombi in the microvasculature under conditions of high shear stress, resulting in thrombocytopenia and multi-organ dysfunction [10]. TTP consists of 2

^{*} Corresponding author. Address: Department of Hematology, Kinki University School of Medicine, Nara Hospital, Ikoma City, Nara 630-0293, Japan. Tel.: +81 743 77 0880x5170; fax: +81 743 77 0090.

E-mail address: hyagi@nara.med.kindai.ac.jp (H. Yagi).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.transci.2013.10.010>

1473-0502/© 2014 The Authors. Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-SA license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>).

distinct clinical forms, congenital and acquired. In congenital TTP, Upshaw–Schulman syndrome (USS), ADAMTS13 deficiency is due to mutations in ADAMTS13 [11–14]. Acquired TTP is caused by inhibitory autoantibodies against ADAMTS13 [15,16]. Plasma exchange (PE) combined with steroid therapy has been established as first-line therapy for acquired TTP [17]. Combination therapy should be initiated as soon as possible when TTP is suspected; however, it was often delayed due to difficulties in differentiating TTP from HUS unless ADAMTS13 activity is measured. Convenient and highly sensitive assays of ADAMTS13 activity and titers of its inhibitor have been developed [18,19], and they have been confirmed to be quite useful for making the diagnosis of TTP. However, the usefulness of monitoring these values to evaluate treatment response remained unclear.

Herein we describe an elderly patient with acquired TTP who was successfully treated with PE and corticosteroids followed by plasma infusion while ADAMTS13 activity and inhibitor titers were being monitored. Our experience suggests that close monitoring of these ADAMTS13 parameters might be helpful for the precise evaluation of treatment response in patients with TTP.

2. Case report

A 68-year-old woman was admitted to the regional hospital because of hemolytic anemia, thrombocytopenia, and neurological abnormalities including unconsciousness. One week before admission, she suffered from diarrhea and subsequently passed out and hit her face on the ground. She was suspected of having TTP and was transferred to our hospital. On admission, she had a disorder of consciousness, purpura on her face and extremities, and icterus. Laboratory findings included an increased white blood cell count ($13.3 \times 10^9/L$) with immature granulocytes and erythroblasts, decreased red blood cell count ($1.49 \times 10^{12}/L$), increased reticulocyte count ($0.16 \times 10^{12}/L$), and severely decreased platelet count ($6 \times 10^9/L$). Schistocytes (5%) were detected on the blood film. The levels of aspartate aminotransferase (114 IU/L), alanine aminotransferase (40 IU/L), lactate dehydrogenase (1714 IU/L), total bilirubin (5.2 mg/dL), uric acid (8.7 mg/dL), blood urea nitrogen (58.7 mg/dL), and creatinine (1.3 mg/dL) were elevated. Haptoglobin was under the detection limit. Hemostatic tests showed increased levels of fibrin degradation products (FDP, 17.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$), D-dimer (8.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$), TAT (24.4 $\mu\text{g}/\text{L}$), PIC (1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), and thrombomodulin (TM, 4.1 FU/mL). Levels of fibrinogen (217.7 mg/dL) and anti-thrombin III (103.9%) were normal. Stool samples were negative for enteropathogenic *Escherichia coli*, Shiga toxin, and O-157 LPS. Bone marrow examination revealed no abnormalities. We suspected acquired idiopathic TTP because she fulfilled the clinical pentad, and immediately initiated PE combined with steroid pulse therapy. On the second hospital day (HD), assays of ADAMTS13 activity and ADAMTS13 inhibitor titers were performed. Plasma levels of ADAMTS13 activity and ADAMTS13 inhibitor titers were measured by a chromogenic ADAMTS13-act-ELISA (Kainos Inc., Tokyo, Japan) [19]. The ADAMTS13 activity

of pooled plasma samples from normal controls was defined as 100%, and the detection limit of this assay was 0.5% of the normal controls. The ADAMTS13 inhibitor titers were expressed in Bethesda units (BU), where 1 BU was defined as the amount necessary to reduce ADAMTS13 activity to 50% of control. A titer of <0.5 BU/mL was considered to be negative. We confirmed the diagnosis of acquired idiopathic TTP with values of ADAMTS13 activity and inhibitor titers, which were less than 0.5% and 1.4 BU/mL, respectively (see Fig. 1).

Although the patient was treated with a standard regimen of PE combined with steroid therapy for idiopathic TTP, she developed severe convulsions followed by apnea, necessitating mechanical ventilation. Computed tomography of the head did not show any intracranial complications such as hemorrhage or infarction, and we continued PE for 5 consecutive days. On HD 2, ADAMTS13 activity level rose to 8.8% and ADAMTS13 inhibitor titers dropped to 0.9 BU/mL. These results suggested she responded well to PE plus steroid therapy. Subsequently, her platelet count gradually increased without any transfusions of platelets, reaching $50 \times 10^9/L$ on HD 5. On HD 7, the platelet count was increased ($98 \times 10^9/L$), plasma levels of lactate dehydrogenase were decreased (396 IU/L), and the red blood cell count was increased ($2.50 \times 10^{12}/L$). We were convinced that her clinical condition was remarkably improved because the values of ADAMTS13 activity and ADAMTS13 inhibitor titers were 5.8% and <0.1 BU/mL, respectively. Although these results strongly suggested that her clinical condition was improving, we were forced to substitute PE with fresh frozen plasma (FFP) transfusion (400 mL/day) because her circulatory system was unstable during PE. We also carefully tapered the steroid dose. Mechanical ventilation discontinued on HD 8. Subsequently, schistocytes were not detected on HD 10, and the platelet count normalized by HD 14. ADAMTS13 activity increased to 25% on HD 15, 50% on HD 23, and 75% on HD 41. Based on these results, we decreased the frequency of FFP infusion to 3 times a week on HD 26, and discontinued it on HD 51. She was discharged from our hospital on HD 62.

3. Discussion

Herein we presented the case of an elderly female patient with acquired idiopathic TTP initially treated with PE and corticosteroids that was subsequently changed to FFP infusion due to procedure-associated complications. PE was established as first-line therapy by randomized clinical trials for acquired TTP [20]. The treatment objectives of PE are not only to remove anti-ADAMTS13 neutralizing autoantibodies, UL-VWF, and harmful cytokines from the circulation of TTP patients, but also to replenish ADAMTS13. In fact, urgent introduction of PE reduced mortality to 10% or less. In this context, it was acceptable to initiate PE even when not all of the diagnostic criteria were fulfilled. Corticosteroids are used in conjunction with PE to reduce the production of specific inhibitors against ADAMTS13. PE is sometimes associated with complications related to venous access, including bleeding and infection.

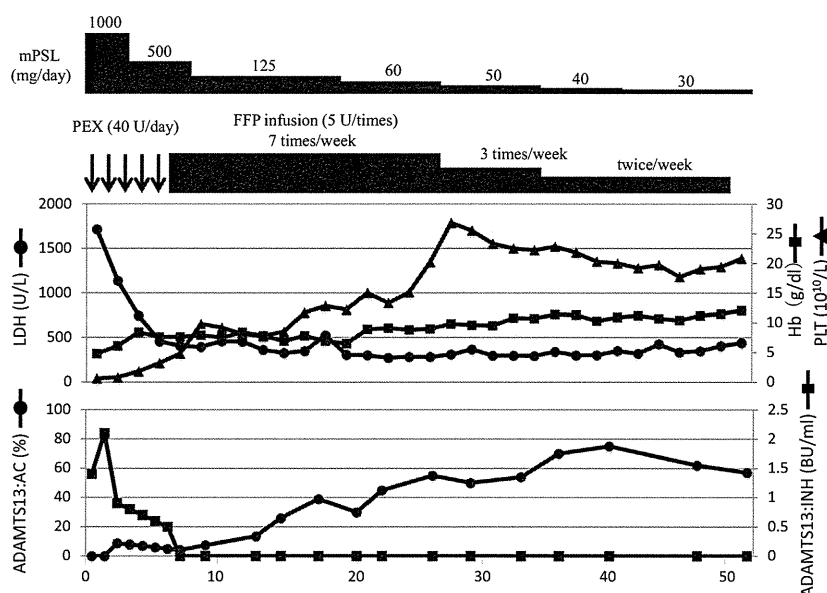


Fig. 1. Change of laboratory data and clinical course in the patient with acquired thrombotic thrombocytopenia purpura. She was diagnosed as having acquired idiopathic TTP because her ADAMTS13:AC and ADAMTS13:INH were less than 0.5% and 1.4 BU/mL, respectively. She was introduced to standard therapy for idiopathic TTP, including plasma exchange and steroid pulse. We continued PE during five consecutive days, and her platelet count reached up to $50 \times 10^9/L$ on the 5th HD. On 7th HD, she showed increased platelet count ($98 \times 10^9/L$), decreased plasma level of lactate dehydrogenase (396 IU/L), and the values of ADAMTS13:AC and ADAMTS13:INH was 5.8% and <0.1 BU/mL, respectively. Because of the complication associated PE procedures, we changed PE for the infusion of fresh frozen plasma (FFP) (400 mL/day) every day, and carefully tapered the dosage of steroid. Fortunately, she recovered from apnea on the 8th HD, schistocytes were not detected on 10th HD, and platelet count normalized on 14th HD. The values of ADAMTS13:AC increased up to 25% on 15th day, 50% on 23rd HD, and 75% on 41st HD, respectively. Based on these results, we changed FFP infusion 3 times a week on 26th HD, and successfully stopped on 51st HD. Finally, she discharged our hospital on 62nd HD.

Sometimes it causes major complications such as hypotension and transfusion reactions [21,22]. PE might not be tolerated by elderly frail adults or young patients with TTP because it is associated with systemic circulatory insufficiency, which can result in stroke, cardiac complications, and renal failure.

In fact, our patient developed cardiac insufficiency due to PE. Thus, we modified her treatment, changing PE to FFP infusion, and carefully observed her disease status under close monitoring of levels of ADAMTS13 activity and titers of its inhibitor. It is known that some patients with acquired idiopathic TTP do not respond to PE. Such patients usually have relatively high titers of ADAMTS13 inhibitor which remain present throughout treatment. Furthermore, some patients have a boost in anti-ADAMTS13 inhibitor levels after initiation of PE. Recently, Isonishi et al. reported 6 Japanese patients with acquired TTP with increased titers of anti-ADAMTS13 inhibitor after PE treatment as demonstrated by monitoring. They demonstrated that rituximab, a chimeric monoclonal antibody directed against the CD20 antigen on B lymphocytes, was highly effective for the treatment of those patients [23]. These results suggest that measurement of both ADAMTS13 activity and levels of its inhibitor might be important not only for diagnosing TTP but also for guiding treatment.

Currently PE combined with corticosteroids would be implemented as first-line therapy in all patients with acquired idiopathic TTP and continued until resolution of their clinical symptoms and normalization of their laboratory data. In clinical practice, platelet count and lactate

dehydrogenase level are usually used to assess disease status and treatment efficacy. Recently, Yang et al. reported the clinical usefulness of measuring ADAMTS13 antigen levels during the course of treatment [24]. They found that ADAMTS13 antigen levels are more variable when ADAMTS13 activity is severely deficient. They also showed that severe deficiency of ADAMTS13 antigen at disease onset and poor recovery of this value during therapy are associated with poor prognosis. Thus, they concluded that measuring ADAMTS antigen levels provides useful information for the management of patients with acquired TTP. However, the measurement of ADAMTS13 antigen levels is not yet commercially available, making monitoring inconvenient. In this context, monitoring of ADAMTS13 activity and inhibitor titers would provide useful data for the management of patients with acquired idiopathic TTP.

In conclusion, we successfully treated an elderly frail patient with acquired idiopathic TTP under close monitoring of ADAMTS13 activity and inhibitor titers. The measurement of these parameters might be valuable not only for the diagnosis of TTP but also for guiding treatment decisions.

Acknowledgement

The authors thank Ms. Ayami Isonishi in Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University for her excellent technical assistance performing ADAMTS13 activity and inhibitor assays.