

# 新しい経口抗凝固薬のモニタリング検査

Novel oral anticoagulant and relevance of coagulation monitoring

もりした えりこ  
森下 英理子<sup>1)</sup>

[臨床検査 58 : 979-986, 2014]

## Point

- 新規経口抗凝固薬(NOAC)は、定期的なモニタリングが不要といわれているが、実際には出血や塞栓症の発症時、緊急手術の際には抗凝固能を評価する検査が必要とされてきている。
- NOACの血中濃度は、標的とする活性型凝固因子活性値と最も良好な相関を示す。
- プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)は汎用されている検査で、NOACの血中濃度依存性に延長するが感度が低い。
- PTおよびAPTT測定値は、試薬により薬剤感受性が異なり、個人差も大きく、服薬後の採血時間に影響される。
- 現時点では、NOACの抗凝固効果を判定するマーカーはない。

## Keywords

新規経口抗凝固薬(NOAC), トロンビン阻害薬, 活性型X因子阻害薬, モニタリング, ワルファリン

## はじめに

経口抗凝固薬としては、半世紀以上前からワルファリン〔ビタミンK(vitamin K : VK)拮抗薬〕が唯一の選択肢であった。ワルファリンは、適切に用量を調節すれば安価で非常に有用な薬剤であるが、一方で薬物や食事の影響を受けやすく、かつ出血の副作用なく抗血栓効果を得るための治療域が狭いため、頻回の血液検査によるモニタリングが必要である。そのような点から、患者も医師も“モニタリングの必要のない固定用量で使用で

きる経口抗凝固薬”の登場を長らく心待ちにしていたわけである。

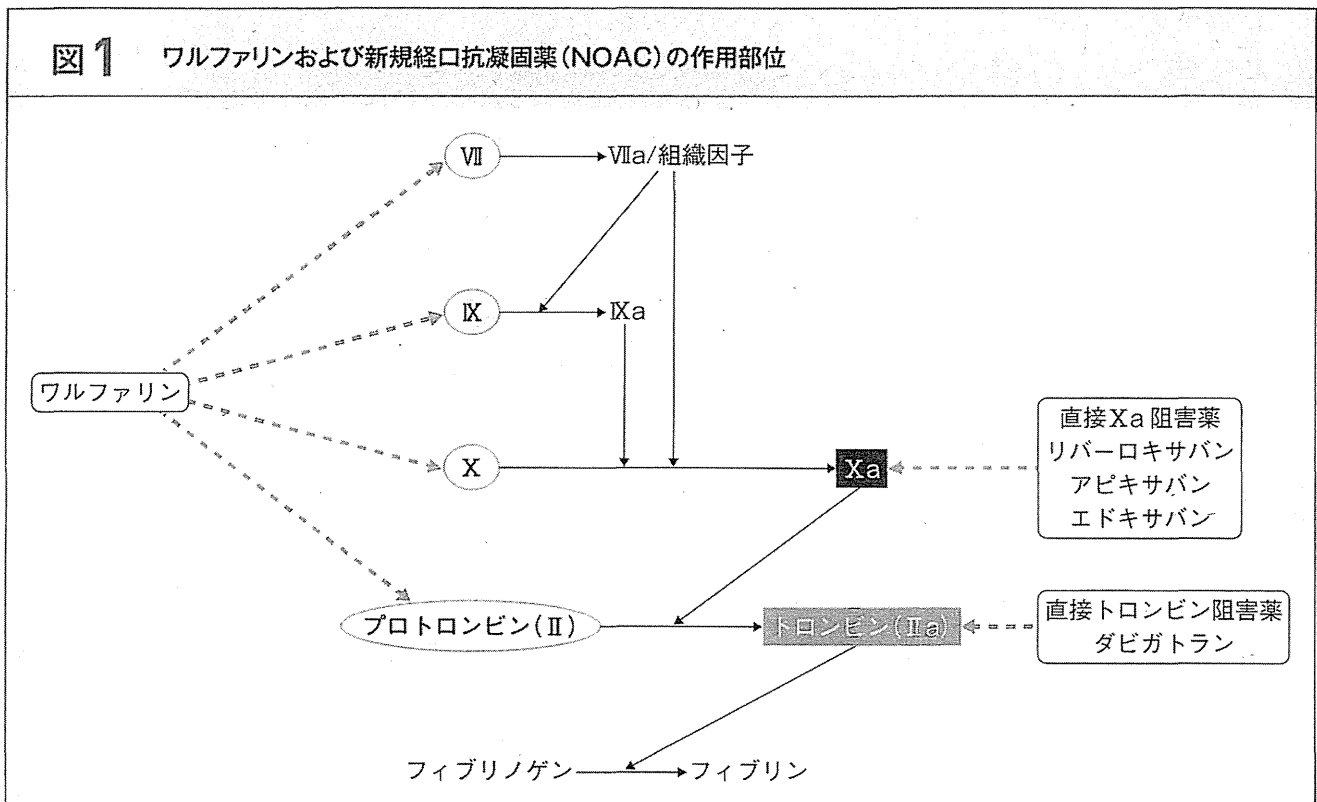
そこで、ワルファリンの問題点を克服すべく期待の星として2011年より相次いで登場してきた薬剤が、経口直接トロンビン阻害薬(direct thrombin inhibitor : DTI)ならびに活性化第X因子(Xa)阻害薬であり、総称して新規経口抗凝固薬(novel oral anticoagulants または new oral anticoagulants : NOAC)と呼ばれている。

1) 金沢大学 医薬保健研究域保健学系病態検査学 〒920-0942 石川県金沢市小立野 5-11-80

ワルファリンはVK依存性血液凝固因子である第Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ因子の産生量を抑制することで抗凝固作用を発揮する。一方、NOACは活性化第Ⅱ因子であるトロンビンを直接阻害する(DTI)、あるいは活性化第Ⅹ因子(Xa)をアンチトロンビン非依存性に直接阻害して間接的にトロン

ピン生成を抑制する(Xa阻害薬)ことによって、抗凝固作用を発揮する(図1)。つまり、複数の凝固因子の産生を抑えるのか、あるいは単一の活性化凝固因子のみを抑えるのか、という点で両者は異なる。

図1 ワルファリンおよび新規経口抗凝固薬(NOAC)の作用部位



### ワルファリンと新規経口抗凝固薬との比較

ワルファリンとNOACにはそれぞれ表1に示すような特徴がある。NOACの最大の利点はイベント抑制効果がワルファリンと同等以上である点と、副作用である出血、特に頭蓋内出血が有意に少ない点である。さらに、納豆などの食事の影響も受けず、薬剤の相互作用も少ない。

一方、モニタリングによる用量調節が不要とされているが、言い換えると薬効を評価するモニタリングが確立されていないともいえる。その結果、発売当初には致死的な出血合併症が相次ぎ、最近ではモニタリングの必要性が議論されるようになってきている。

他方、ワルファリンは、NOACが無効である

心臓機械弁、弁膜症や心筋症などの心房細動にも有効であり、適応疾患が広く膨大な臨床エビデンスがある。また、頻回採血が必要ではあるが、プロトロンビン時間-国際標準化比(prothrombin time-international normalized ratio: PT-INR)を用いたモニタリング法が確立している。

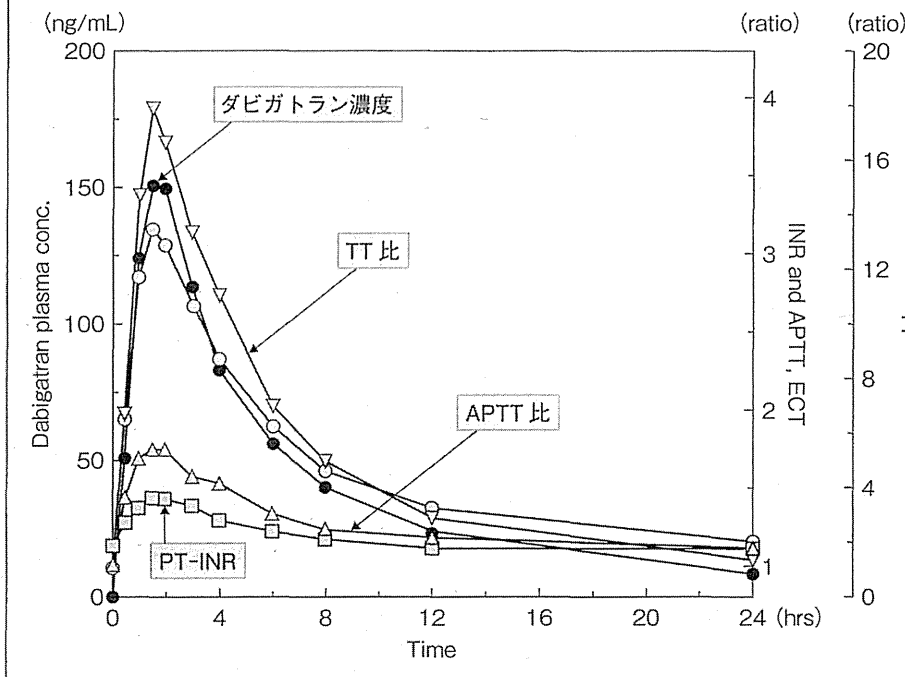
また、両者は効果が発現するまでの時間や内服中止後の止血機能回復までの時間なども異なる。ワルファリンの凝固抑制効果は、VK依存性凝固因子の半減期によって規定される。したがって、内服開始後も半減期が長いプロトロンビンが数日血中に残っているため、抗凝固活性の発現はゆっくりである。また、ワルファリンの半減期は約

表1 ワルファリンとNOACの特徴

	ワルファリン	NOAC
イベント抑制効果	膨大な臨床エビデンスあり	ワルファリンと同等以上
副作用	出血が多い 催奇形性あり	特に頭蓋内出血がワルファリンに比べて有意に少ない
適応疾患	NVAFに限らず、広い	NVAFのみに適応
モニタリング法	確立している (頻回の採血が必要)	確立していない (頻回の採血が不要)
薬物相互作用	多い	ほとんどなし
食事の影響	あり(納豆禁)	なし(納豆, 青汁, クロレラもOK)
中和薬	あり(ビタミンK)	なし
半減期	36~46時間	5~14時間
術前休薬期間	3~4日(3~5日:大手術)	1日(~2日:大手術)
薬価	安い	高い

NVAF : nonvalvular atrial fibrillation (非弁膜性心房細動)。

図2 トロンピン阻害薬(ダビガトラン)内服後の血中濃度と凝固時間の変動



TT : thrombin time, APTT : activated partial thromboplastin time, ECT : ecarin clotting time, PT-INR : prothrombin time-international normalized ratio.  
 [Stangier J, Rathgen K, Stähle H, et al : The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. Br J Clin Pharmacol 64 : 292-303, 2007 より一部改変して転載]

36~46時間と長いため、日内変動は少なくモニタリングが可能となるが、投与中止後の止血機能の回復までには3~4日かかる。一方、NOACの凝固抑制効果は血中濃度に依存している。内服後、0.5~3時間で血中濃度はピークに達し、そ

の後5~12時間の半減期で低下するため、抗凝固活性の発現は速やかであり、また効果の低下も速やかである。このことは、採血時間が凝固検査値に大きく影響することを示している(図2)<sup>1)</sup>。

1. 新規経口抗凝固薬内服で抗凝固能検査が推奨される状況

抗凝固薬の薬効評価に用いる“モニタリング”とは、有効な治療域を維持するために抗凝固効果を評価し、用量調節を行うための特異的な検査を意味する。これは、ワルファリンや未分画ヘパリン投与の際に行われる。一方、NOACは検査結果から抗凝固活性を評価しながら用量調節を行うという“モニタリング”は通常行わないが、実際には抗凝固療法を安全に行うために薬効を確認することが必要な場合がある<sup>2-4)</sup>。例えば、出血や血栓塞栓症発症時、観血的処置や外科手術前、(致死性出血などで)抗凝固活性の正常化を緊急に行った場合、腎障害(ダビガトランは約80%腎排泄)や肝障害(アピキサバンは約75%肝代謝)例、相互作用のある薬剤の内服例、過剰投与の疑い、などである。

2. 抗凝固能活性の評価に適した検査

では、NOACの抗凝固活性の指標として、どの凝固検査が最も適しているのだろうか。臨床で有用な指標の条件として、①利便性：いつでもどこでも容易に検査ができ、緊急時の対応も可能、②薬剤投与量と凝固時間の直線性、③敏感度：薬

剤血中濃度に対する凝固時間延長の度合いが大きく感度が良好、④標準化、を挙げることができるが<sup>3)</sup>、それぞれの検査についてこれらの条件を検討し総合的に判断する必要がある(表2)。

1) 直接トロンビン阻害薬

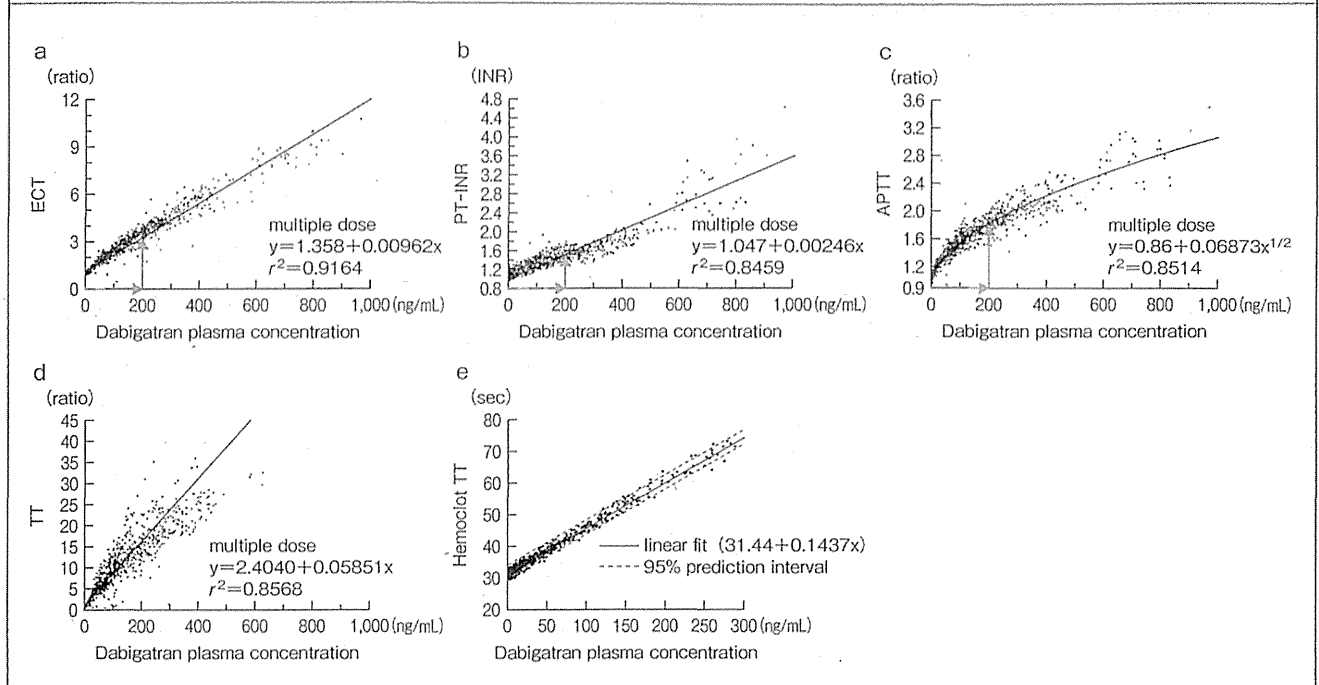
ダビガトランの抗凝固活性評価の検査としては、過剰のトロンビンを検体に加えて血中の残存トロンビン活性を特異的な合成基質を用いて測定する方法(抗トロンビン活性測定法)が感度の点では最も優れている。しかし、広く汎用されている検査ではなく、標準化の点でも問題がある。一方、PTや活性化部分トロンボプラスチン時間(activated partial thromboplastin time: APTT)は通常ほとんどの病院で一般的に行われており、緊急時にも対応可能な検査である。APTTは図3<sup>5)</sup>で示すように薬剤血中濃度依存性に延長するが、高濃度になるとその直線性が失われる。PTは濃度依存性に延長し直線性が維持されているが、治療域血中濃度200 mg/Lにおける延長度がAPTTは約1.8倍に対して約1.5倍と、APTTに比べて感度が悪い<sup>3)</sup>。

DTIの血中濃度との相関が良好で感度が優れている検査として、エカリン凝固時間法(ecarin

表2 NOAC内服患者の出血リスク評価における凝固パラメーターの有用性

	VK拮抗薬	トロンビン阻害薬	FⅩa阻害薬
	ワルファリン	ダビガトラン	リバーロキサバン アピキサバン エドキサバン
PT/PT-INR	感度が高い 血中濃度依存性に延長	血中濃度依存性に延長 感度はAPTTより劣る	血中濃度依存性に延長 試薬によって薬剤感受性が異なる
APTT	試薬によって薬剤感受性が異なる (non linear)	感度はPTより高い(non linear) 試薬によって薬剤感受性が異なる	血中濃度依存性に延長 感度はPTより劣る
抗トロンビン活性 (合成基質法)	適用なし	極めて感度が高い	適用なし
エカリン凝固時間 (ECT)	適用なし	感度が高い 血中濃度依存性に延長	適用なし
トロンビン時間(TT)/ 希釈TT(HTI法)	適用なし	極めて感度が高い	適用なし
抗Ⅹa活性 (合成基質法)	適用なし	適用なし	感度が高い 血中濃度と良好な相関
希釈ラッセル蛇毒時間 (dRVVT)	適用なし	適用なし	感度が高い 血中濃度依存性に延長

図3 トロンビン阻害薬(ダビガトラン)の血中濃度と凝固パラメーターとの相関



a : エカリン凝固時間(ECT)比, b : PT-INR, c : APTT 比, d : トロンビン時間(TT)比, e : 希釈トロンビン時間(HTI 法). HTI : HEMOCLOT<sup>®</sup> thrombin inhibitor assay.

[van Ryn J, Stangier J, Haertter S, et al : Dabigatran etexilate--a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. Thromb Haemost 103 : 1116-1127, 2010 より一部改変して転載]

clotting time : ECT) と希釈トロンビン時間法がある。ECT はヘビ毒エカリンを用いてプロトロンビンを直接活性化させて凝固時間を測定(または合成基質)する。希釈トロンビン時間法(HEMOCLOT<sup>®</sup> thrombin inhibitor assay : HTI) は、アルガトロバンなどの既存の DTI のモニタリング法として開発されたものであり、希釈検体に直接トロンビンを添加して凝固時間(または合成基質)を測定する。ともに血中濃度 200 mg/L における延長度が約 3 倍と感度は極めて良好であり(図 3)<sup>5)</sup>、薬効評価に最も適した検査と考えられるが、汎用性に関して PT や APTT と比べると劣る。

以上を総合的に評価した結果、現時点においては、標準化されたキャリブレーションとコントロールが今後必須ではあるが、HEMOCLOT<sup>®</sup>、ECT あるいは APTT がダビガトランの血中濃度を推測する検査として推奨されている<sup>2,3)</sup>。

## 2) 直接的 Xa 阻害薬

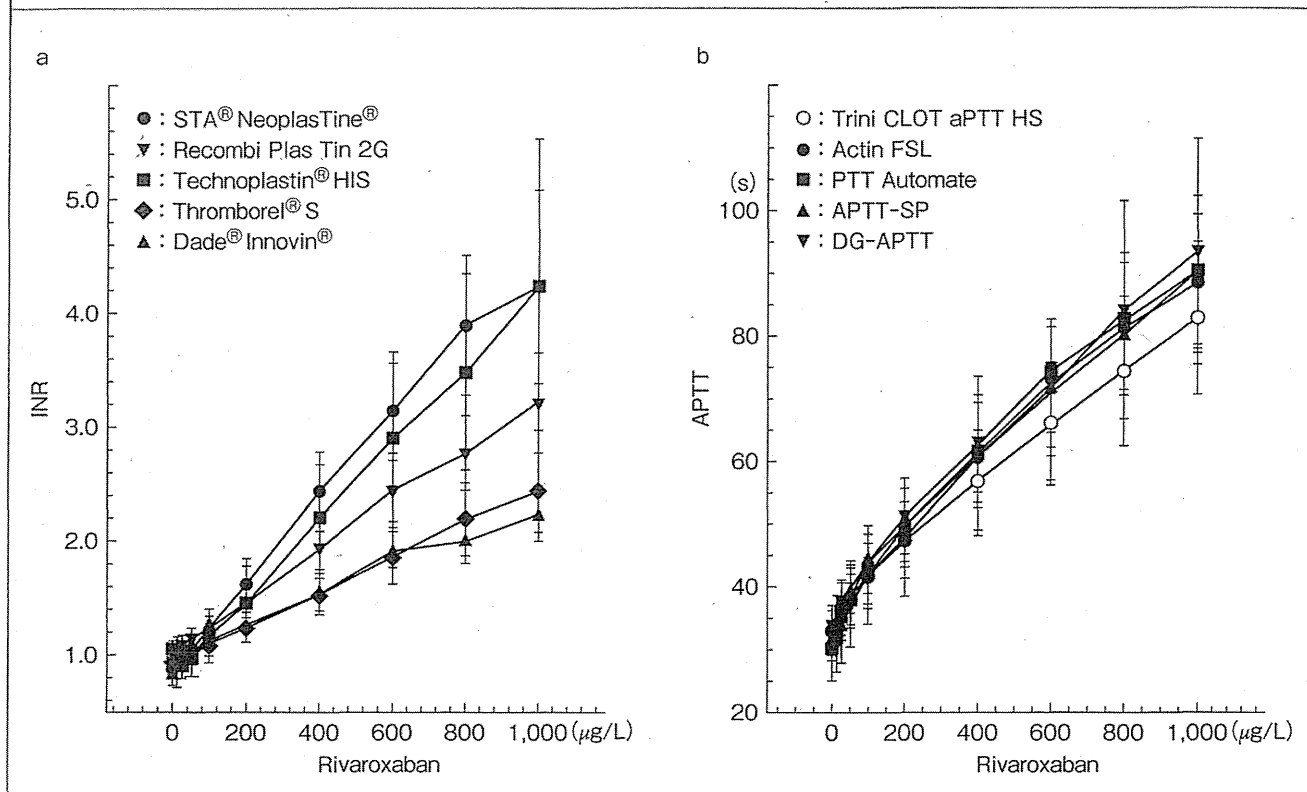
リバーロキサバンの抗凝固活性評価の検査としては、過剰の Xa を検体に加えて血中の残存 Xa 活性を特異的な合成基質を用いて測定する方法

(抗 Xa 活性測定法)が、感度の点では最も優れている。また、ラッセルクサリヘビ毒を用いて血液凝固第 X 因子(FX)を活性化し、生成した Xa に対する阻害活性を凝固時間で測定する希釈ラッセル蛇毒時間(dilute Russel viper venom time : dRVVT)法も、血中濃度との相関が良好で感度も優れている<sup>2,3)</sup>。しかし、これらの方法は広く一般的には行われない検査であり、緊急時には対応できない。

一方、PT、APTT は濃度依存性に延長し直線性が維持されているが、治療域血中濃度 200 mg/L における延長度がダビガトランと比較して小さく感度が悪い。特に APTT は、PT に比べてさらに感度が悪い。また、図 4<sup>6)</sup>に示すように、PT や APTT は治療域においても試薬間(特に PT 試薬)で薬剤に対する感受性が異なる点も問題である。

以上、総合的に評価すると、Xa 阻害薬に関しては、特異的な合成基質を用いた抗 Xa 活性測定が薬剤の血中濃度を推定する検査として、海外では推奨されている<sup>2~4)</sup>。しかし、この測定法においても、薬剤の血中濃度を間接的に評価しているだけであり、血栓予防効果の判定になるかどうか

図4 Xa阻害薬(リバーロキサバン)の血中濃度と凝固パラメーターとの相関



a: PT-INR(Quick-type PT 法), b: APTT.  
 組織因子の由来・濃度, リン脂質の組成の違いにより, Xa阻害薬に対する感受性が異なる。  
 [Hillarp A, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, et al: Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. J Thromb Haemost 9: 133-139, 2011 より一部改変して転載]

はわからない。また, Xa 活性以外の凝固因子量をトータルに反映していないので, 凝固因子予備能が低下している高齢者や肝障害患者では, 出血合併症の予測が困難になる可能性がある。

わが国では抗 Xa 活性測定は保険収載されていないので, 日常臨床には使用できない。したがって, あくまでも“薬剤の抗凝固能を相対的に評価することを前提”としたうえで, PT を用いることとなる。PT の利用に際しては, ①試薬ごとに薬剤感受性が異なる[海外の報告ではネオプラスチンプラス(ロシュ・ダイアグノスティックス社)が最も感受性が優れている<sup>7)</sup>], ②同一試薬を用

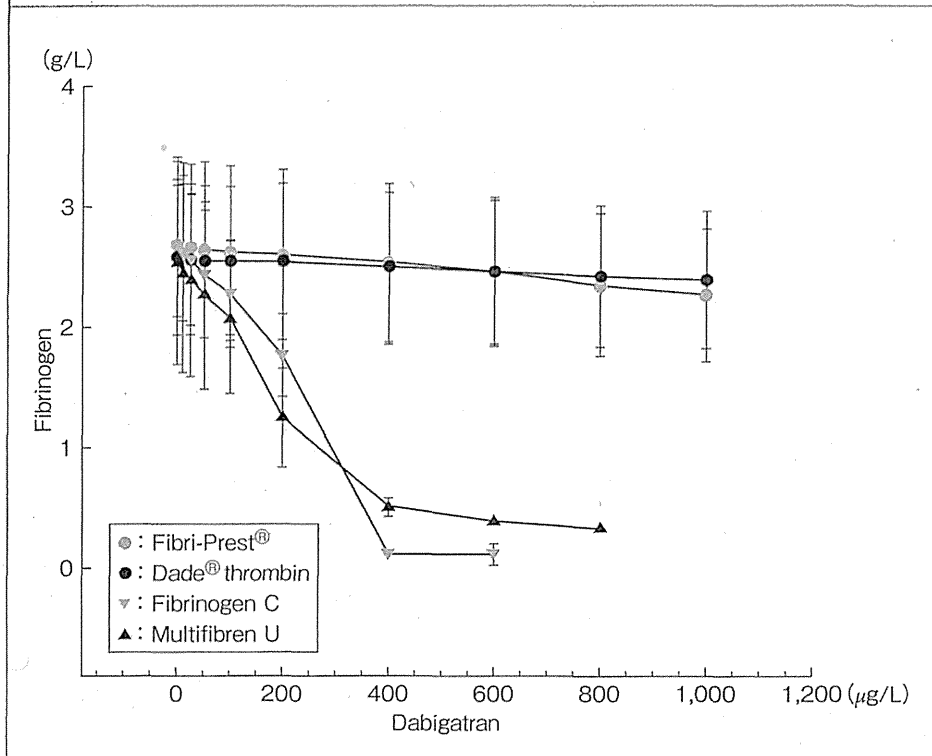
いても個人差が大きい, ③内服後の採血時間に影響される, などの点に注意する必要がある。採血ポイントをトラフとするかピークとするかは, 議論の分かれるところである。内服直前のトラフ時の PT あるいは APTT 値から, 少なくとも薬剤の過剰投与は推測できるかもしれないが, 出血合併症の予測にはピーク時の採血のほうが有用かもしれない。また, PT, APTT は血中濃度を間接的に推測することはできても, 抗凝固能評価に適しているかどうかは不明である。今後, どのマーカーが効果判定の指標になりうるのか, 検討が必要であろう。

### 凝血学的マーカーへの影響

NOAC は, 凝血学的マーカーに影響を及ぼす場合がある。DTI 内服の場合, トロンビン時間(thrombin time: TT)を用いて測定されるフィブリノゲン値が偽低値となる試薬がある(図 5)<sup>8)</sup>。

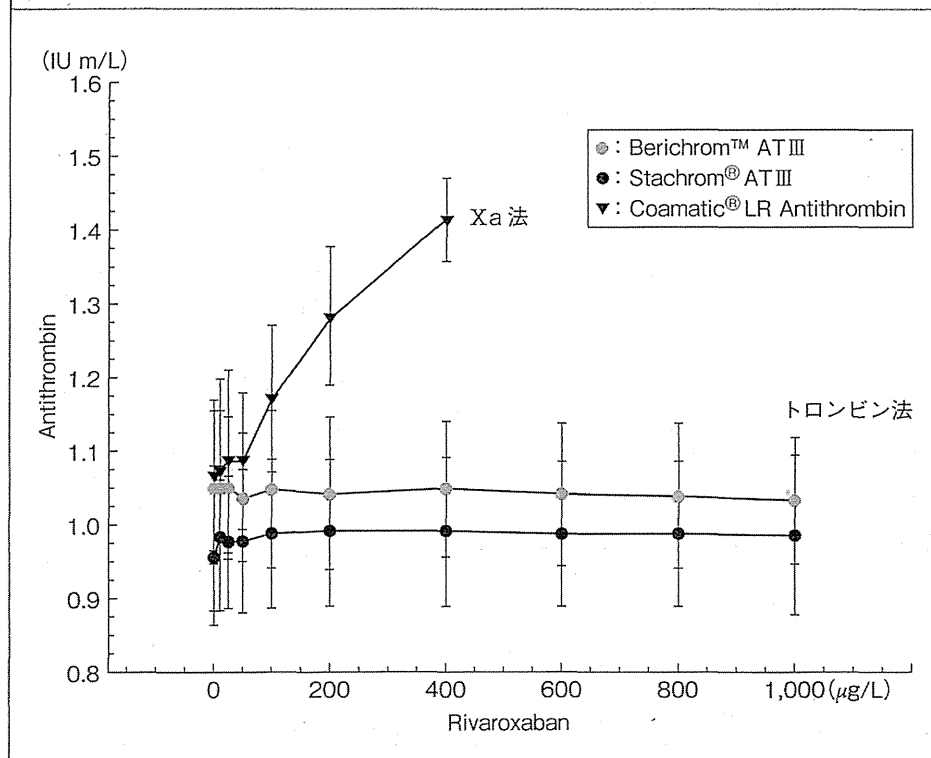
また, アンチトロンビン(antithrombin: AT)活性測定において, Xa 阻害薬内服では合成基質を用いた Xa-based AT 活性が, DTI 内服ではトロンビン based AT 活性が過剰評価され偽高値とな

図5 トロンピン阻害薬(ダビガトラン)の血中フィブリノゲン値への影響



治療域 200 mg/dL で、フィブリノゲン値が 100 mg/mL まで偽低値となる試薬がある。  
 [Lindahl TL, Baghaei F, Blixter IF, et al : Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays. Thromb Haemost 105 : 371-378, 2011 より一部改変して転載]

図6 Xa 阻害薬(リバーロキサバン)のアンチトロンビン活性(合成基質法)への影響



[Hillarp A, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, et al : Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. J Thromb Haemost 9 : 133-139, 2011 より一部改変して転載]

る可能性がある(図6)<sup>6)</sup>。プロテイン C(protein C : PC) 活性ならびにプロテイン S(protein S : PS) 活性<sup>3)</sup>も、APTT を用いた測定法では偽高値

となる可能性があり、NOAC 内服時には先天性血栓性素因を見落とす可能性がある。

一方、後天性血栓性素因の代表である抗リン脂



**表3** NOACの血栓性素因検査への影響

	測定法		ロロンビン阻害薬	Xa阻害薬
	アンチトロンビン(AT)活性	合成基質法	トロンビン法	過剰評価
	Xa法		なし	過剰評価
プロテインC(PC)活性	凝固時間法		過剰評価	過剰評価
	合成基質法		なし	なし
プロテインS(PS)活性	凝固時間法		過剰評価	過剰評価
ループスアンチコアグラント(LA)検査	dRVVT		延長	延長

AT : antithrombin, PC : protein C, PS : protein S, LA : lupus anticoagulant, dRVVT : dilute Russel viper venom time.

質抗体症候群(antiphospholipid antibody syndrome : APS)の診断に欠かせないループスアンチコアグラント(lupus anticoagulant : LA)の検

査(dRVVT)も影響を受け<sup>3)</sup>, LA判定が不能となりAPSの診断に影響を及ぼす(表3)。

### おわりに

定期的なモニタリングが不要な抗凝固薬を切望し続け、NOACが登場してきた。いざ登場すると、やはり臨床の現場では個別に抗凝固能の評価が必要な状況が出現し、その指標となる有用な検査法が求められている。残念ながら現時点では、

ワルファリンのPT-INRに相当するような検査法はない。今後、試薬の標準化が進み、血中濃度とイベントとの関連が明らかになり、出血の危険域や有効治療域が設定されるようになると、さらに使いやすい抗凝固薬になるであろう。

### 文献

- 1) Stangier J, Rathgen K, Stähle H, et al : The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol* 64 : 292-303, 2007
- 2) Jackson LR 2nd, Becker RC : Novel oral anticoagulants: pharmacology, coagulation measures, and considerations for reversal. *J Thromb Thrombolysis* 37 : 380-391, 2014
- 3) Tripodi A : The laboratory and the new oral anticoagulants. *Clin Chem* 59 : 353-362, 2013
- 4) Mueck W, Schwes S, Stampfuss J : Rivaroxaban and other novel oral anticoagulants: pharmacokinetics in healthy subjects, specific patient populations and relevance of coagulation monitoring. *Thromb J* 11 : 10, 2013
- 5) van Ryn J, Stangier J, Haertter S, et al : Dabigatran etexilate—a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost* 103 : 1116-1127, 2010
- 6) Hillarp A, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, et al : Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *J Thromb Haemost* 9 : 133-139, 2011
- 7) Samama MM, Contant G, Spiro TE, et al : Evaluation of the prothrombin time for measuring rivaroxaban plasma concentrations using calibrators and controls: results of a multicenter field trial. *Clin Appl Thromb Hemost* 18 : 150-158, 2012
- 8) Lindahl TL, Baghaei F, Blixter IF, et al : Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays. *Thromb Haemost* 105 : 371-378, 2011



## III. 検査診断学の進歩

## 遺伝子検査

森下英理子

## Genetic analysis

Eriko Morishita

Laboratory Medicine, School of Health Sciences,  
College of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University

## Abstract

Deficiencies of natural anticoagulant proteins including antithrombin (AT), protein C (PC) and protein S (PS) are important risk factors for venous thromboembolism (VTE) in Japanese people. The identification of deficiencies of these proteins is important for the prevention and treatment of VTE. Genetic analysis can help in making a definitive diagnosis of these inherited deficiencies, and can be useful both for the individual and potential thrombotic risk to family members. Mutations of AT, PC and PS are usually detected by direct DNA sequencing and multiple ligation-dependent probe amplification (MLPA). Large cohort studies have shown that AT and PC mutations are identified in 85 % and 70 % of patients, respectively. On the other hand, the detection rate in PS deficiency is lower in around 40 % of patients.

**Key words:** genetic analysis, antithrombin, protein C, protein S

## はじめに

血栓症は、遺伝的あるいは環境的要因と生活イベントとの相互作用により発症することがよく知られている。遺伝的要因を有し血栓傾向をきたす病態を血栓性素因といい、生理的凝固阻止因子であるアンチトロンビン(AT)、プロテインC(PC)、プロテインS(PS)の遺伝子異常は、静脈血栓塞栓症(VTE)の重要な発症要因である。欧米では、更に血液凝固第V因子Leiden変異やプロトロンビン20210遺伝子多型が頻度の高いVTEの血栓性素因として知られているが、我が国ではこれらの遺伝子異常は報告されていない。

AT, PC, PSの遺伝子異常を正確に診断することは、発症者の血栓症再発を予防したり、抗凝固療法の実施期間を決定したり、家系員の血栓症の発症予防を行ったりするうえで重要である。診断に際しては、通常first lineとしてAT, PC, PSの活性測定を行う。しかしながら、AT, PC, PS活性は、年齢、性別、重症肝障害、妊娠、経口抗凝固薬(ワルファリンなど)、エストロゲン製剤、ループスアンチコアグラント、ビタミンK(VK)欠乏、血栓症急性期など、様々な要因による影響を受けるため、活性値のみで正確な診断を行うことはしばしば困難となる。したがって、様々なバックグラウンドに左右され

ずに決定的な診断を行うことができる手段として、遺伝子解析は重要である。

本稿では、主に AT(*SERPINC1*)、PC(*PROC*)、PS(*PROS1*) 遺伝子異常の遺伝子解析について解説する。最近、プロトロンビンの遺伝子異常である‘AT 抵抗性’といった新しい血栓性素因が我が国から報告されたが、その変異については別稿に詳述されているので参照されたい。

## 1. 遺伝子解析方法<sup>1)</sup>

先天性 AT、PC、PS 欠損症の遺伝子解析の一般的な手順は、比較的安価で高い処理能力を有するシーケンス解析法の出現により、まずダイレクトシーケンス法を用いて目的とする遺伝子の全エクソンおよび隣接するイントロン領域の塩基配列を決定する。遺伝子変異の同定には、点変異検出のためのシーケンス解析と同時に、ヘテロ接合性の大欠失やヘテロ/ホモ接合体性の重複を検出するための用量解析が必要である。PCR やシーケンス解析法の技術だけでは、正常アレルの増幅により用量的な変異はマスクされてしまうため、大欠失や重複は見逃されてしまう。近年、用量解析法として multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法が出現し、大欠失や重複の検出が可能となった。現在は、*SERPINC1*、*PROC*、*PROS1* それぞれについて MLPA 法のキットが市販されている。また最近では、SNP マイクロアレイによる用量解析法により、*SERPINC1* や *PROS1* の単一遺伝子を超えて広がるような大欠失が検出された<sup>2)</sup>。特殊な解析法として、日本人に特異的で頻度の高い PS Tokushima 変異 (K196E) を簡便で安価に同定する方法として、restriction fragment length polymorphism (RFLP) 法が用いられている。

一般的には、ミスセンス変異により産生された一部構造が異なる変異タンパクは、機能異常タンパクとして血中に分泌されるか、あるいは細胞内に異常タンパクとして停滞し分解されてしまう。ナンセンス変異、スプライシング異常、欠失、挿入などの変異は典型的には null mutation として、タンパク質合成が不完全な形

で終了し、不完全タンパク質は速やかに分解されてしまう。

## 2. 先天性 AT 欠損症

### 1) 発症頻度、分類

先天性 AT 欠損症は常染色体優性遺伝形式をとり、ほとんどの症例がヘテロ接合体として認められる。ホモ接合体は、しばしば胎生致死をきたす。日本人におけるヘテロ接合体の発症頻度は約 650 人に 1 人 (0.15%)<sup>3)</sup> と推定され、欧米人と同程度である。我が国からの報告<sup>4)</sup> で 173 例の深部静脈血栓症 (DVT) 患者の遺伝子解析を行ったところ、14 例 (8.1%) に AT 欠損症を認めた。

ヘテロ接合体の血中 AT 活性は、正常の約 40-70% 程度を示す。活性、抗原量値から、抗原量・活性ともに低下する産生異常 (I 型)、抗原量が正常であるが活性が低下する分子異常 (II 型) に分類される。II 型は更に、① 反応部位の異常 (RS タイプ)、② ヘパリン結合部位の異常 (HBS タイプ)、③ 複合的に異常を認めるタイプ (PE タイプ) の 3 つのサブタイプに分類される。しかし、現在用いている活性測定法はヘパリン依存性の AT を測定しているためサブタイプを分類することは困難であり、正確に分類するためには遺伝子解析が必要となる。II 型 HBS タイプは、他のタイプに比較して明らかに VTE のリスクが低いことが判明しており、血栓症のリスクを予測するうえでサブタイプまで同定する必要がある。

### 2) 遺伝子変異

*SERPINC1* は第 1 染色体に位置し 7 個のエクソンを含む 13.4 kb の遺伝子であり、464 個のアミノ酸をコードする。*SERPINC1* 遺伝子の解析は、通常は全エクソンをシーケンスする。最近、mRNA 翻訳レベルに影響する可能性があるプロモーター領域の変異 (g.2143C>G: 翻訳開始コドンから 170 bp 上流に位置) が報告され、近位部位のプロモーター領域まで解析を行うべきであることが示唆された<sup>5)</sup>。Human Gene Mutation Database (HGMD [http://www.hgmd.org] 2013 年 12 月) によると、現在までに登録さ

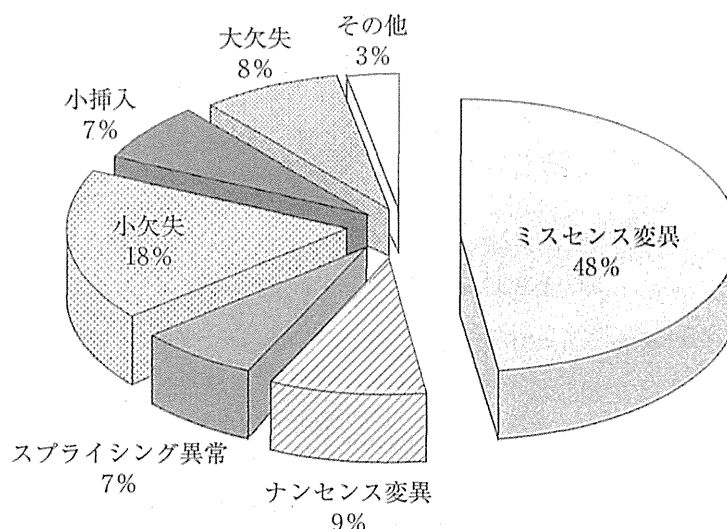


図1 先天性AT欠損症—*SERPINC1* 遺伝子変異の分布  
(HGMD[<http://www.hgmd.org>]よりデータを収集改変)

れている *SERPINC1* 遺伝子変異総数は324種類であり、そのうち約半数がミスセンス変異である(48%)。そのほかナンセンス変異9%、スプライシング異常7%、小欠失18%、小挿入7%、大欠失8%が報告されている(図1)。大欠失や重複が10%前後と多いのも、AT欠損症の特徴である。

欠損症の原因となるような *SERPINC1* 遺伝子変異の検出率は、一般的に85%程度と *PROC* や *PROS1* に比べて高率である。Caspersら<sup>9)</sup>の検討によると、AT活性が50%以下の患者では変異検出率は90%と極めて高率であった。AT活性が増加するにつれて検出率はわずかに低下するが、驚くべきことに活性が70-75%と高値でも70%と比較的高率を維持していた。彼らは以上の結果より、‘正常以下’のAT活性を示す症例はすべて遺伝子解析の適応であると述べている。AT活性が79%でも変異が検出されており、‘正常以下’の活性値を何%に設定すればよいのかは今後の課題である。血栓性素因が疑われる場合は、少なくとも80%未満の症例は遺伝子解析の適応とすべきかもしれない。

### 3. 先天性PC欠損症

#### 1) 発症頻度, 分類

先天性PC欠損症は常染色体優性遺伝形式を

とり、日本人の地域一般住民におけるヘテロ接合体の発症頻度は0.13%と推定され<sup>3)</sup>、欧米(0.15-0.33)と同程度である。DVT 173例の遺伝子解析を行った研究<sup>4)</sup>では、9.8%にPC欠損症を認めた。ホモ接合体や複合ヘテロ接合体は極めてまれであり、出生後に新生児電撃紫斑病をきたす。ATと同様、産生異常(I型)と分子異常(II型)とに分類されるが、I型とII型とで血栓症の発症頻度に差はない。

PC活性測定としては、試薬の安定性が優れているため一般的に合成基質法が用いられている。しかし、合成基質法では一部のPC欠損症患者(PC K193del変異など)の活性低下を検出できず、今後PC欠損症のスクリーニング検査として凝固時間法も併用することが必要であろう。

#### 2) 遺伝子変異

*PROC*は第2染色体に位置し9個のエクソンを含む10.8kbの遺伝子であり、461個のアミノ酸をコードする。HGMD mutation databaseによると、*PROC* 遺伝子変異総数359種類のうちほとんどの変異がミスセンス変異であり(69%)、ナンセンス変異6%、スプライシング異常8%、小欠失7%、小挿入4%、大欠失1%である(図2)。ATやPS欠損症と比べるとミスセンス変異が多く、小欠失/挿入/重複が少ない。また、用

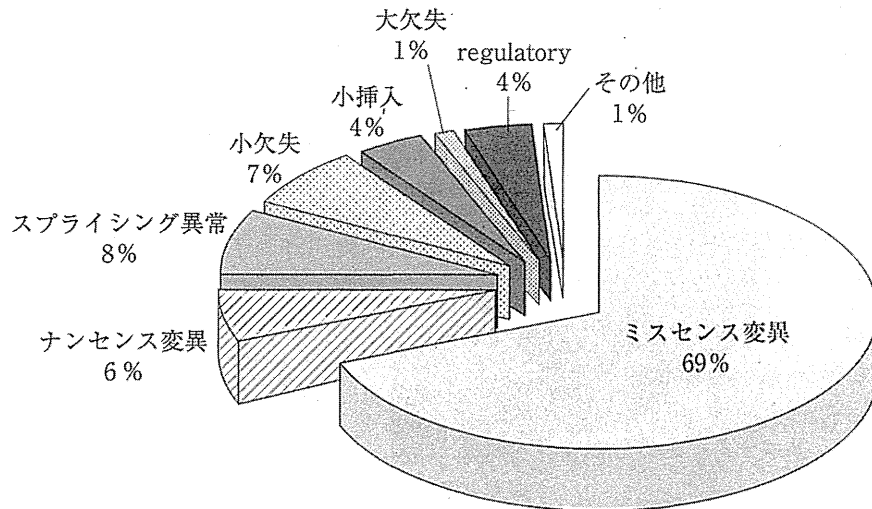


図2 先天性PC欠損症—*PROC* 遺伝子変異の分布  
(HGMD[<http://www.hgmd.org>]よりデータを収集改変)

量的解析が広く行われていないため、大欠失の報告は少ない。

遺伝子変異検出率はATに比べると低く、70-80%といわれている。Koelemanら<sup>7)</sup>も、PC欠損症家系の10-30%は*PROC* 遺伝子上に変異を検出できないと指摘している。Caspersら<sup>8)</sup>の検討によると、遺伝子変異検出率はPC活性が10-25%の場合は100%、15-55%の場合でも70-80%程度を維持していたが、60-65%になると急激に10%に低下し、70%以上では変異は検出されなかった。以上の結果より、彼らはPC活性が70%以上では遺伝子解析の適応はないと結論づけている。一方、PC活性の‘正常’変動幅の設定についても、あまりよくわかっていない。*PROC* 遺伝子プロモーター領域の遺伝子多型や*PROC* 遺伝子とは異なる遺伝子の遺伝子多型によって、PC活性値は6%程度変動するとの報告<sup>8)</sup>があり、これらも検出率低下の要因になっているかもしれない。

#### 4. PS欠損症

##### 1) 発症頻度、分類

先天性PS欠損症は常染色体優性遺伝形式をとり、その報告の大分部がヘテロ接合体である。日本人の一般住民におけるヘテロ接合体の発症頻度は1.1-2.0%と際立って多く<sup>9)</sup>、DVT患者173例における割合も16.8%(29例)<sup>4)</sup>と、他の

血栓性素因と比べると高率であった。特に、PS Tokushima 変異(K196E)は日本人特有の変異であり、かつ高頻度(ヘテロ接合体は一般人口の55人に1人)に認められ、日本における重要なVTEの危険因子である<sup>10)</sup>。一方、欧米人におけるPSヘテロ接合体の発症頻度は0.16-0.21とPC欠損症と同程度である。最近のVTE患者を対象とした大規模臨床研究の報告<sup>11)</sup>では、free PS抗原量の低下を認めた症例はわずか0.4%であり、欧米では主要な血栓性素因とは考えられていない。

PS活性測定による欠損症の診断には、限界があることも最近指摘されている。PS Tokushima 変異ヘテロ接合体のPS活性は40-110%と幅広く分布しているのに対し、変異をもたない一般住民のPS活性も40-170%と重複した分布を示し、PS活性測定だけでは両者は識別できないことが報告された<sup>12)</sup>。

##### 2) 遺伝子解析

*PROS1*は第3染色体に位置し15個のエクソンを含む101kbの大きな遺伝子であり、676個のアミノ酸をコードする。*PROS1*の遺伝子の近傍には96%の相同性を示すpseudogene(*PROSP*)が位置しているため、プライマーの設定やシーケンス解析の際に考慮する必要がある。更には、*PROS1* 遺伝子配列はAとT塩基の比率が高く、PCR条件設定やシーケンス解析をより困

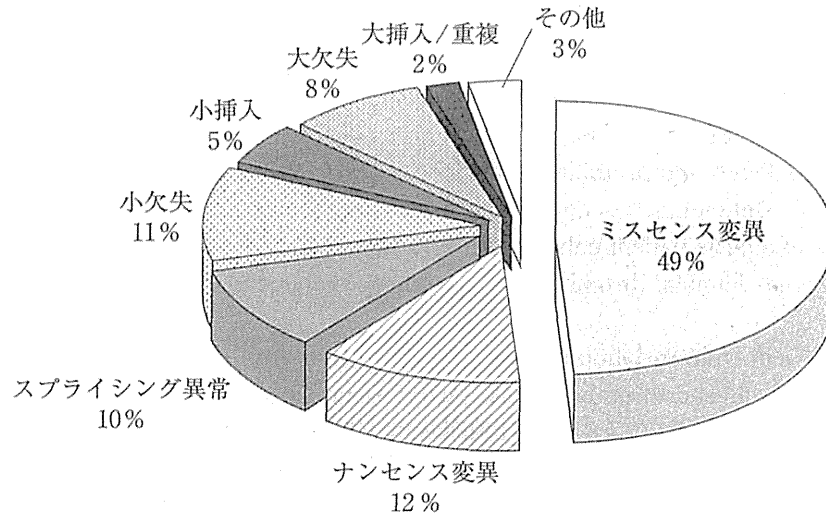


図3 先天性PS欠損症—*PROS1* 遺伝子変異の分布  
(HGMD[<http://www.hgmd.org>]よりデータを収集改変)

難にしている。HGMD mutation databaseによると、*PROS1* 遺伝子変異総数334種類のうちAT欠損症と同様に約半数の変異がミスセンス変異であり(49%)、ナンセンス変異12%、スプライシング異常10%、小欠失11%、小挿入5%、大欠失8%、大挿入/重複2%である(図3)。大欠失の頻度が高いことより、*PROS1* 遺伝子には再構成のホットスポットが存在することが示唆される。

PS欠損症の遺伝子変異検出率は、ATおよびPC欠損症と比べて43-50%と極めて低い。Caspersら<sup>9)</sup>の検討によると、PS活性が15%と低下している症例においても、変異検出率はわずか75%であった。変異検出率はPS活性が更に増加すると急激に低下し、55%以上の症例では変異は検出されなかった。検出率の低下の原因として、活性・抗原量の検査精度の限界や、PS活性が年齢、性別、妊娠、経口避妊薬使用、VK拮抗薬使用などの後天性要因に影響されることが考えられている。更には、*PROS1* 遺伝子

内あるいはVK依存性の $\gamma$ -カルボキシル化関連遺伝子内の遺伝子多型がPS活性・抗原量に影響する<sup>13,14)</sup>可能性もあり、ボーダーラインの症例における検出率の低下につながっている。

#### おわりに

AT、PC、PS欠損症患者の遺伝子解析を、ルーチン検査として実施することは推奨できない。しかしながら、①先天性か後天性か判断が困難な症例の鑑別診断や、②活性値がボーダーラインの症例の診断、③遺伝子変異がもたらす病態学的メカニズムの解明、などを行う際に、遺伝子解析は有用な情報を提供する。遺伝子検査による変異検出率を上昇させるためには、活性測定精度を高め、後天性低下の要因を的確に聴取することにより、遺伝子解析の適応症例を的確に選択することが重要である。また、遺伝子解析に要する高額な費用も問題であり、今後解析技術の進歩により安価に検査を実施できるようになることを期待したい。

#### ■ 文 献

- 1) Cooper PC, et al: Quality in molecular biology testing for inherited thrombophilia disorders. *Semin Thromb Hemost* 38: 600-612, 2012.
- 2) Kim HJ, et al: Heterogeneous lengths of copy number mutations in human coagulopathy revealed by genome-wide high-density SNP array. *Hematologica* 97: 304-309, 2012.
- 3) Sakata T, et al: Protein C and antithrombin deficiency are important risk factors for deep vein

- thrombosis in Japanese. *J Thromb Haemost* **2**: 528–530, 2004.
- 4) Miyata T, et al: Prevalence of genetic mutations in protein S, protein C and antithrombin genes in Japanese patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res* **124**: 14–18, 2009.
  - 5) de la Morena-Barrio ME, et al: Regulatory regions of SERPINC1 gene: identification of the first mutation associated with antithrombin deficiency. *Thromb Haemost* **107**: 430–437, 2012.
  - 6) Caspers M, et al: Deficiencies of antithrombin, protein C and protein S—practical experience in genetic analysis of a large patient cohort. *Thromb Haemost* **108**: 247–257, 2012.
  - 7) Koeleman BP, et al: Familial thrombophilia: a complex genetic disorder. *Semin Hematol* **34**: 256–264, 1997.
  - 8) Spec CA, et al: Genotypic variation in the promoter region of the protein C gene is associated with plasma protein C levels and thrombotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **15**: 214–218, 1995.
  - 9) Sakata T, et al: Prevalence of protein S deficiency in the Japanese general population: the Suita Study. *J Thromb Haemost* **6**: 1012–1013, 2004.
  - 10) Kimura R, et al: Protein S–K196E mutation as genetic risk factor for deep thrombosis in Japanese patients. *Blood* **107**: 1737–1738, 2006.
  - 11) Pintao MC, et al: Protein S levels and the risk of venous thrombosis: results from the MEGA case–control study. *Blood* **122**: 3210–3219, 2013.
  - 12) Kimura R, et al: Plasma protein S activity correlates with protein S genotype but is not sensitive to identify K196E mutant carriers. *J Thromb Haemost* **4**: 2010–2013, 2006.
  - 13) Leroy–Matheron C, et al: Genetic modulation of plasma protein S levels by two frequent dimorphisms in the PROS1 gene. *Thromb Haemost* **82**: 1088–1092, 1999.
  - 14) Kimura R, et al: Polymorphisms in vitamin K–dependent gamma–carboxylation–related genes influence interindividual variability in plasma protein C and protein S activities in the general population. *Int J Hematol* **84**: 387–397, 2006.

## 造血幹細胞移植後関連 TMA

林 朋恵\*, 森下英理子

### Transplantation associated TMA

Tomoe HAYASHI, Eriko MORISHITA

要約：造血幹細胞移植後関連 TMA (transplantation associated TMA; TA-TMA) は移植治療における重篤な合併症の一つであるが、その病態解明は十分とはいえず、未だ確立された治療も存在しない。移植前処置や感染症、GVHD およびそれに伴う高サイトカイン血症、カルシニューリンインヒビターの使用等が契機となって、①消耗性の血小板減少症、②微小血管での溶血性貧血、③微小血管血栓症による臓器障害を認めるが、現在使用されている診断基準も満足いくものとは言い難く、TMA と診断できていない症例も数多く存在するものと考えられる。近年、TA-TMA 病態における補体の関与など新たな知見が得られており、病態メカニズムに基づいた治療薬の使用経験も増えつつある。新たに治療薬として期待されている薬剤もふくめ、TA-TMA の診断、治療について概説する。

**Key words:** thrombotic microangiopathy, hematopoietic stem cell transplantation, endothelial cell

#### 1. はじめに

1966 年に本邦初の骨髄移植が行われてから約 50 年、今や造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation; HSCT) は一部の施設に限定して行われる特別な医療ではなく、市中病院でも広く行われる日常的な診療行為となった。しかしながら、各種治療薬や補助療法の開発など移植を取り巻く環境が大きく進歩したにもかかわらず、未だ移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD) や日和見感染症などをはじめとした多くの合併症の問題があり、移植関連死亡が 10% を下回することは難しい。血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy; TMA) はこうした移植関連合併症の一つであるが、今なおその病態メカニズムは不明な点も多く決定的な治療法も確立されていない。本稿では HSCT 後関連 TMA (transplantation associated TMA; TA-TMA) の病態および診断、有望視されている治療法について最近の知見も

あわせて概説する。

#### 2. TMA の病態

TMA は、①消耗性の血小板減少症、②微小血管での溶血性貧血 (microangiopathic hemolytic anemia; MAHA)、③微小血管血栓症による臓器障害を 3 主徴とする臨床病理学的症候群であり、血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP) や溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome; HUS) をも包括する疾患概念である。最近の知見により、TTP は von Willebrand 因子 (vWF) 切断酵素である ADAMTS13 活性の著減によっておこることが明らかとなった<sup>1,2)</sup>。TTP には、先天的に ADAMTS13 遺伝子に異常を認める Upshaw-Schulman 症候群<sup>3)</sup>と ADAMTS13 に対する自己抗体が産生される後天性 TTP がある<sup>2)</sup>が、両疾患とも ADAMTS13 活性が著減することで、血管内皮細胞から放出された超高分子量 vWF 重合体 (UL-VWHM) が切断されずに血液中に蓄積し、微小血管内で生じる高圧力下で過剰な血小板凝集、すなわち血栓の形成をきたす。このため後天性 TTP では、① ADAMTS13 に対する自己抗体の除去、② UL-VWHM の除去、

\*責任者連絡先：

金沢市立病院 血液内科

〒921-8105 石川県金沢市平和町3丁目7番3号

Tel: 076-245-2600 (代)

E-mail: tomoehayashi1111@gmail.com



③ ADAMTS13の補充という点からも血漿交換が有効な治療法と考えられる<sup>4,5)</sup>。一方、TA-TMAではADAMTS13活性は著減しないことが知られており<sup>6)</sup>、血漿交換の効果があまり期待できない所以と推測される。HUSはそのほとんどがO157:H7などの志賀毒素産生病原性大腸菌(*shiga toxin-producing E.coli*; STEC)感染が原因となって発症するが<sup>7)</sup>、近年ではSTEC-HUS以外にもFactor Hなどの補体制御因子の変異による補体経路の過剰な活性化が原因となって起こる非典型(atypical)HUS(aHUS)が報告され注目されている<sup>8)</sup>。aHUSに対する治療としては、補体C5に対するモノクローナル抗体であるエクリツマブの有用性が確立されており<sup>9)</sup>、本邦でも2013年9月、正式にaHUS治療薬として認可された。

### 3. TA-TMAの原因およびリスク因子

報告によってかなり異なるが、TA-TMAは移植後約0.5~63.6%に発症し、その死亡率は60~90%に及ぶ<sup>10)</sup>。TA-TMA発症要因には、移植前処置(大量化学療法、放射線全身照射)や感染症、GVHD、高サイトカイン血症、カルシニューリンインビヒター(cyclosporinやtacrolimus)の使用などがあるが、それらすべての病態に共通しているのが血管内皮障害である<sup>11-14)</sup>。血管内皮細胞はvWFやトロンボモジュリン(thrombomodulin; TM), tissue-type plasminogen activator(tPA), plasminogen activator inhibitor(PAI-1), protein S, 血管内皮細胞由来マイクロパーティクル(endothelial cell-derived microparticle; EDMP), prostacyclin(PGI<sub>2</sub>), thromboxane A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>), 一酸化窒素(NO)など様々な血液凝固関連蛋白や血管作動性物質を産生し、血管内における血液の流動性を維持している。TA-TMAでは、障害された血管内皮細胞上を舞台に上記のような液性因子の産生に変化が生じ、血栓が形成されるものと考えられている(図1)<sup>15,16)</sup>。実際、TTP/HUS症例と比較してTA-TMA症例では血中TMレベルが有意に高いことが報告されており、TA-TMAにおける血管内皮障害の関与を裏付ける根拠となっている<sup>17)</sup>。その他にも、TA-TMA症例における血中fibrinogen, tPA, PAI-1, vWF抗原, TM, intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1), EDMP<sup>18-23)</sup>の上昇が報告されているが、松本らは

Veno Occlusive Disease(VOD)発症直前にUL-VWFMが出現する現象を報告しており<sup>24)</sup>、TA-TMA/VODの発症機序を考える上で非常に興味深い。

TA-TMA発症のリスク因子としては、女性、人種(アフリカ系アメリカ人)、急性GVHD、年齢、重度の肝障害の既往、原疾患の状態(進行期症例)などに加え、非血縁者間移植、HLAミスマッチ移植、ブスルファン+TBIレジメンなど移植そのものに関わる要素についても多数報告されている<sup>25-30)</sup>。また上述したようにカルシニューリンインビヒターやsirolimusの使用もTMA発症の重要なリスク因子である<sup>31)</sup>。

### 4. TA-TMAの臨床像および診断

TA-TMAの臨床像は基本的に他のTMA病型と同様、MAHA、腎障害、中枢神経障害、虚血性腸炎等の臓器障害に基づいている。具体的には発熱、下痢、下血、中枢神経症状、黄疸、体重増加等に加え、破碎赤血球の増加、LDH上昇、血小板輸血に反応しない進行性の血小板減少がみられる。TA-TMA診断における最大の問題点は、TMAを発症する患者群が、TMAそのものの発症リスクでもありかつTMAとの鑑別が重要となる急性GVHDや血管親和性の高いサイトメガロウイルス(CMV)感染を併発する可能性が非常に高い集団であるということである。また、移植後であれば前処置を含めた多数の薬剤の影響や造血の不安定さも診断をより複雑にするかもしれない。腎障害や中枢神経症状も様々な要因で起こりうる。病理診断は有用な情報となるが、腸管以外の生検は困難であることが多い。

以上のような背景をふまえ、近年、北米(BMT-CTN; Bone Marrow Transplant Clinical Trial Network)とヨーロッパ(IWG; International Working Group)のグループからそれぞれ独自の診断基準が発表された<sup>32,33)</sup>(表1)。どちらも溶血性貧血をいかに診断するかにポイントをおいて作成されているが、前者が腎障害や神経学的障害などの臨床症状を重視しているのに対し、後者は微小血管症に伴う血液異常に注目しているという相違点がある。BMT-CTNの基準はより簡便で理解しやすいが、臓器症状が出現している時点ですでに進行期であることが予想され、早期診断・早期治療という点ではやや鈍感といわざる

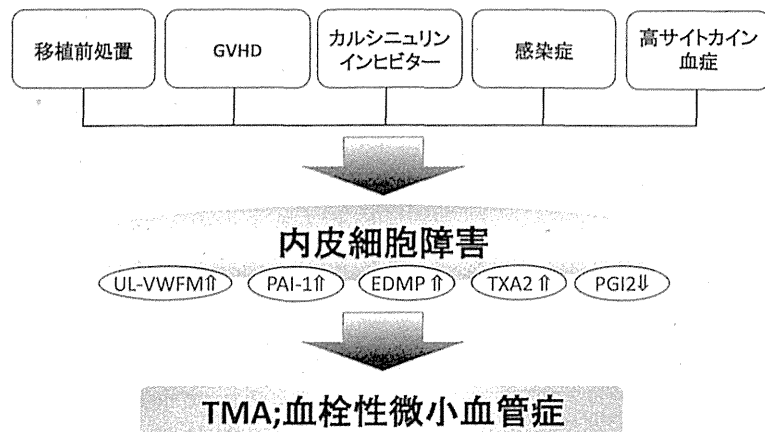


図1 TA-TMA 発症メカニズム

表1 TA-TMA 診断基準

北米 BMT-CTN 毒性評価委員会	IWG(ヨーロッパ EBMT) (以下 5 項目をすべて満たす)
1. 破碎赤血球の存在(強拡大 1 視野 2 個以上)	1. 末梢血中の破碎赤血球の増加(>4%)
2. LDH の上昇(施設基準値以上)	2. 新規発症で遷延性もしくは進行性の血小板減少症(5 万/ $\mu$ L 未満あるいは前値と比較して 50%以上の低下)
3. 他に説明可能な腎障害または神経学的障害の存在	3. 急速に出現し遷延する LDH の上昇
4. 直接, 間接クームス試験陰性	4. ヘモグロビン値の低下もしくは赤血球輸血の増加
	5. 血清ハプトグロビンの低下

を得ない。また、IWG 基準においては破碎赤血球の頻度が 4%以上となっているが、病初期には破碎赤血球が目立たない症例もあり、比較的多くの TMA 症例が同基準を満たさない可能性がある。実際、HSCT 後患者 314 人を対象とした病理解剖の結果では、約 20%もの患者腎に TMA の所見が確認されており<sup>34)</sup>、腎や腸管に TMA の所見が確認されているにもかかわらず臨床的に上記診断基準をみたさない患者がかなりの割合で存在することも報告されている<sup>35,36)</sup>。Cho らは BMT-CTN と IWG、両診断基準を組み合わせたより緩やかな基準を用いることによって診断率の向上を図ることを提案している<sup>37,38)</sup>、今後早期診断、早期治療実現のためにもより精度の高い診断基準の確立が急務と考えられる。近年、LDH の上昇、タンパク尿(尿中蛋白/Cr 比)、高血圧が TMA の早期マーカーとして有用であり、>30 mg/dL のタンパク尿、および補体活性化マーカーとしての血清 C5b9(膜侵襲複合体)の上昇が予後不良マ-

ーカーになり得るとの報告もあり<sup>39)</sup>、今後の検証に期待したい。

## 5. 治療

現時点で TA-TMA に対して確立された治療法は存在しない。TA-TMA と診断した時点でまず行うべきことはカルシニユリンインヒビターの中止または減量である<sup>40)</sup>。前述したように、TA-TMA では後天性 TTP と異なり血漿交換の有効性が低いことが知られているが、Cho らは、不可逆的な臓器障害を来す前のより早い段階で診断された probable TMA 症例に対しカルシニユリンインヒビターの中止に加えて血漿交換、defibrotide(後述)の投与を行った場合、その予後は比較的良好であると報告している<sup>38)</sup>。また、GVHD 非合併例では GVHD 合併例と比較して血漿交換の有効性が高いとする報告もあり<sup>41)</sup>、症例によっては血漿交換の効果が期待できるかもしれ

ない。松本らは早期診断、早期治療の観点からハイリスク患者に対し移植前から FFP を予防投与することで VOD 発症を予防できると報告している<sup>24)</sup>。ADAMTS13 だけでなく正常サイズの VWF を補充するという点でも予防効果が期待できるかもしれない。

血漿交換以外には、defibrotide<sup>42)</sup>、リツキシマブ<sup>43,44)</sup>、GVHD 治療薬としてのダクリズマブ<sup>45)</sup>、血管内皮細胞障害の改善を目的とした遺伝子組み換え TM 製剤<sup>46)</sup>、補体阻害薬であるエクリツマブ<sup>47)</sup>等が TMA 治療の候補薬としてあげられる。いずれも、未だエビデンスに乏しい薬剤ではあるが、それぞれ今後の追加検討が期待されている。

## 6. Defibrotide

Defibrotide は、抗血栓、抗炎症、血栓溶解作用を併せ持つ単鎖デオキシリボ核酸である。Heparin や tPA 等とは異なり血管内皮細胞に特異的に結合するため、全身的な抗凝固作用を有さず、より出血の副作用が少ない安全な薬剤と考えられている<sup>48)</sup>。主に肝類洞閉塞症候群 (sinusoidal obstruction syndrome; SOS, VOD と同義) においてその有用性が報告されている<sup>49,50)</sup>が、その病態の類似性から TA-TMA においても効果が期待される。しかし、SOS 予防薬としても注目されているにもかかわらず未だ本邦での認可がなく、投与には臨床試験への参加あるいは海外からの個人輸入が必要である。

## 7. リツキシマブ

抗 CD20 モノクローナル抗体であるリツキシマブは、CD20 陽性 B 細胞性リンパ腫以外にも様々な自己免疫疾患に対してその効果が明らかとなっている薬剤である。近年 ADAMTS13 に対する自己抗体を有する特発性 TTP<sup>51)</sup>や、補体制御因子である Factor H に対する自己抗体を有する aHUS においてもその有用性が報告された<sup>52)</sup>。

TA-TMA に対しても、リツキシマブ単剤あるいは血漿交換、Defibrotide との併用による治療効果が報告されているが<sup>43,44)</sup>、TA-TMA においてリツキシマブがどのように作用しているかは不明な点が多

い。なんらかの免疫調整作用および抗体産生、補体活性化阻害作用が影響していると考えられているが、今後より詳細なメカニズムの解明により TMA 治療薬としての位置づけがより明確になることに期待したい。

## 8. ダクリズマブ

ダクリズマブは CD25 すなわち IL2 レセプターに対する遺伝子組み換えヒト・マウスキメラ型モノクローナル抗体である。TA-TMA は GVHD との関与が非常に大きいにも関わらず GVHD 予防および治療薬であるカルシニューリンインヒビターの減量、あるいは中止が必要であるというジレンマを有している。GVHD 予防および治療薬としてダクリズマブを用いることで GVHD、TA-TMA 双方への治療効果が期待できるかもしれない。

## 9. 遺伝子組み換えトロンボモジュリン (rTM)

TM はトロンビンと結合することで抗トロンビン作用を発揮するのみでなく、凝固阻止因子であるプロテイン C 活性化作用、トロンビン活性化線溶阻害因子 (thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor; TAFI) 活性化作用、レクチン様ドメインを介した抗炎症作用など多彩な機能を有する抗血栓性蛋白である。rTM は遺伝子組み換え技術を用いて作成された可溶性蛋白であり、TM の主要活性部位を有する細胞外 3 ドメインからなる。本来、DIC 治療薬として認可されている薬剤であるが、rTM は移植後の様々な凝固異常の病態に使用されており、その効果は TMA/SOS のみならず生着症候群や体重増加 (血管透過性亢進) に対しても認められている<sup>53,54)</sup>。野村らは、ヘパリンを使用しているにもかかわらず HSCT 後にみられる sE-selectin や sVCAM-1 などの内皮障害マーカーの上昇が、rTM 投与例では全くみられなかったと報告しており<sup>55)</sup>、rTM が抗血栓作用のみならず、血管内皮細胞障害へ直接働きかける機序を有していると考えられた。TA-TMA 発症予防薬としても期待される結果である。

## 10. エクリツマブ

近年, aHUSのみならず, TA-TMAにおいても補体の関与が注目されている。Jodeleらは, 同種移植後TMAを発症した3例すべてに補体制御因子である complement factor H(CFH)に対する自己抗体を認め, またTMAを発症した移植患者6例中5例にCFH related(CFHR)蛋白1および3の遺伝子欠損が認められることを報告した<sup>56)</sup>。エクリツマブは補体C5に対するモノクローナル抗体であり, C5に結合することによりC5aとC5bへの分解を阻害し, C5b-9による細胞膜侵襲作用を抑制する。実際に, 中枢神経症状までみられたTA-TMA症例に対しエクリツマブを投与し非常に良い経過をたどった症例が報告されているが<sup>47)</sup>, 本症例ではFHに対する抗体は検出されなかった。非常に高価な薬剤であることもふまえ, 今後, 補体が関与する病態の解明, および同定方法(FH抗体やFHR遺伝子欠損など)の開発が重要になると考えられる。

TA-TMAは病態も複雑であり, 治療標的をしぼることが非常に難しい疾患である。近年明らかとなった様々な知見をもとに早期診断, 早期治療介入を積極的に行うことが重要と考える。

著者全員の利益相反(COI)の開示:

本論文発表内容に関連して開示すべき企業との利益相反なし

### 文献

- 1) Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, Krause M, Scharrer I, Aumann V, Mittler U, Solenthaler M, Lämmle B: von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **339**: 1578–1584, 1998.
- 2) Tsai HM, Lian EC: Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* **339**: 1585–1594, 1998.
- 3) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, Yang AY, Siemieniak DR, Stark KR, Gruppo R, Sarode R, Shurin SB, Chandrasekaran V, Stabler SP, Sabio H, Bouhassira EE, Upshaw JD, Ginsburg D, Tsai HM: Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* **413**: 488–494, 2001.
- 4) Sadler JE: Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **112**: 11–18, 2008.
- 5) Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, Blanchette VS, Kelton JG, Nair RC, Spasoff RA: Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med* **325**: 393–397, 1991.
- 6) van der Plas RM, Schiphorst ME, Huizinga EG, Hené RJ, Verdonck LF, Sixma JJ, Fijnheer R: von Willebrand factor proteolysis is deficient in classic, but not in bone marrow transplantation-associated, thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **93**: 3798–3802, 1999.
- 7) Karmali MA, Petric M, Lim C, Fleming PC, Arbus GS, Lior H: The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. *J Infect Dis* **151**: 775–782, 1985.
- 8) Noris M, Remuzzi G: Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **361**: 1676–1687, 2009.
- 9) Nürnberger J, Philipp T, Witzke O, Opazo Saez A, Vester U, Baba HA, Kribben A, Zimmerhackl LB, Janecke AR, Nagel M, Kirschfink M: Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **360**: 542–544, 2009.
- 10) George JN, Li X, McMinn JR, Terrell DR, Vesely SK, Selby GB: Thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome following allogeneic HPC transplantation: a diagnostic dilemma. *Transfusion* **44**: 294–304, 2004.
- 11) Pettitt AR, Clark RE: Thrombotic microangiopathy following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **14**: 495–504, 1994.
- 12) Maslo C, Peraldi MN, Desenclos JC, Mougenot B, Cywiner-Golzenzer C, Chatelet FP, Jacomet C, Rondeau E, Rozenbaum W, Sraer JD: Thrombotic microangiopathy and cytomegalovirus disease in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* **24**: 350–355, 1997.
- 13) Holler E, Kolb HJ, Hiller E, Mraz W, Lehmacher W, Gleixner B, Seeber C, Jehn U, Gerhartz HH, Brehm G: Microangiopathy in patients on cyclosporine prophylaxis who developed acute graft-versus-host disease after HLA-identical bone marrow transplantation. *Blood* **73**: 2018–2024, 1989.
- 14) Laskin BL, Goebel J, Davies SM, Jodele S: Small vessels, big trouble in the kidneys and beyond: hematopoietic stem cell transplantation-associated thrombotic microangiopathy. *Blood* **118**: 1452–1462, 2011.
- 15) Takahashi H, Hanano M, Wada K, Tatewaki W, Niwano H, Tsubouchi J, Nakano M, Nakamura T, Shibata A: Circulating thrombomodulin in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol* **38**: 174–177, 1991.
- 16) Cohen H, Bull HA, Seddon A, Enayat MS, Hill FG, Woolf N, Machin SJ: Vascular endothelial cell function and ultrastructure in thrombotic microangiopathy following allogeneic bone marrow transplantation. *Eur J Haematol* **43**: 207–214, 1989.
- 17) Zeigler ZR, Rosenfeld CS, Andrews DF, Nemunaitis J, Raymond JM, Shaddock RK, Kramer RE, Gryn JF, Rintels PB, Besa EC, George JN: Plasma von Willebrand Factor Antigen (vWF:AG) and thrombomodulin (TM) levels in Adult Thrombotic Thrombocytopenic Purpura/Hemolytic Uremic Syndromes (TTP/HUS) and bone marrow transplant-associated

- ed thrombotic microangiopathy (BMT-TM). *Am J Hematol* **53**: 213–220, 1996.
- 18) Testa S, Manna A, Porcellini A, Maffi F, Morstabilini G, Denti N, Macchi S, Rosti G, Porcellini G, Cassi D, Ferrari L: Increased plasma level of vascular endothelial glycoprotein thrombomodulin as an early indicator of endothelial damage in bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **18**: 383–388, 1996.
  - 19) Richard S, Seigneur M, Blann A, Adams R, Renard M, Puntous M, Boiron JM, Amiral J, Reiffers J, Boisseau M: Vascular endothelial lesion in patients undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **18**: 955–959, 1996.
  - 20) Salat C, Holler E, Kolb HJ, Pihusch R, Reinhardt B, Hiller E: Endothelial cell markers in bone marrow transplant recipients with and without acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* **19**: 909–914, 1997.
  - 21) Nürnberger W, Michelmann I, Burdach S, Göbel U: Endothelial dysfunction after bone marrow transplantation: increase of soluble thrombomodulin and PAI-1 in patients with multiple transplant-related complications. *Ann Hematol* **76**: 61–65, 1998.
  - 22) Kanamori H, Maruta A, Sasaki S, Yamazaki E, Ueda S, Katoh K, Tamura T, Otsuka-Aoba M, Taguchi J, Harano H, Ogawa K, Mohri H, Okubo T, Matsuzaki M, Watanabe S, Koharazawa H, Fujita H, Kodama F: Diagnostic value of hemostatic parameters in bone marrow transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Bone Marrow Transplant* **21**: 705–709, 1998.
  - 23) Nomura S, Ishii K, Kanazawa S, Inami N, Uoshima N, Ishida H, Yoshihara T, Kitayama H, Hayashi K: Significance of elevation in cell-derived microparticles after allogeneic stem cell transplantation: transient elevation of platelet-derived microparticles in TMA/TTP. *Bone Marrow Transplant* **36**: 921–922, 2005.
  - 24) Matsumoto M, Kawa K, Uemura M, Kato S, Ishizashi H, Isonishi A, Yagi H, Park YD, Takeshima Y, Kosaka Y, Hara H, Kai S, Kanamaru A, Fukuhara S, Hino M, Sako M, Hiraoka A, Ogawa H, Hara J, Fujimura Y: Prophylactic fresh frozen plasma may prevent development of hepatic VOD after stem cell transplantation via ADAMTS13-mediated restoration of von Willebrand factor plasma levels. *Bone Marrow Transplant* **40**: 251–259, 2007.
  - 25) Ruutu T, Hermans J, Niederwieser D, Gratwohl A, Kiehl M, Volin L, Bertz H, Ljungman P, Spence D, Verdonck LF, Prentice HG, Bosi A, Du Toit CE, Brinch L, Apperley JF; EBMT Chronic Leukaemia Working Party: Thrombotic thrombocytopenic purpura after allogeneic stem cell transplantation: a survey of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol* **118**: 1112–1119, 2002.
  - 26) Uderzo C, Bonanomi S, Busca A, Renoldi M, Ferrari P, Iacobelli M, Morreale G, Lanino E, Annaloro C, Volpe AD, Alessandrino P, Longoni D, Locatelli F, Sangalli H, Rovelli A: Risk factors and severe outcome in thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* **82**: 638–644, 2006.
  - 27) Roy V, Rizvi MA, Vesely SK, George JN: Thrombotic thrombocytopenic purpura-like syndromes following bone marrow transplantation: an analysis of associated conditions and clinical outcomes. *Bone Marrow Transplant* **27**: 641–646, 2001.
  - 28) Paquette RL, Tran L, Landaw EM: Thrombotic microangiopathy following allogeneic bone marrow transplantation is associated with intensive graft-versus-host disease prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* **22**: 351–357, 1998.
  - 29) Uderzo C, Fumagalli M, De Lorenzo P, Busca A, Vassallo E, Bonanomi S, Lanino E, Dini G, Varotto S, Messina C, Miniario R, Valsecchi MG, Balduzzi A: Impact of thrombotic thrombocytopenic purpura on leukemic children undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **26**: 1005–1009, 2000.
  - 30) Daly AS, Hasegawa WS, Lipton JH, Messner HA, Kiss TL: Transplantation-associated thrombotic microangiopathy is associated with transplantation from unrelated donors, acute graft-versus-host disease and venoocclusive disease of the liver. *Transfus Apher Sci* **27**: 3–12, 2002.
  - 31) Labrador J, López-Corral L, López-Godino O, Vázquez L, Cabrero-Calvo M, Pérez-López R, Díez-Campelo M, Sánchez-Guijo F, Pérez-López E, Guerrero C, Alberca I, Del Cañizo MC, Pérez-Simón JA, González-Porras JR, Caballero D: Risk factors for thrombotic microangiopathy in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving GVHD prophylaxis with tacrolimus plus MTX or sirolimus. *Bone Marrow Transplant* **49**: 684–690, 2014.
  - 32) Ho VT, Cutler C, Carter S, Martin P, Adams R, Horowitz M, Ferrara J, Soiffer R, Giral S: Blood and marrow transplant clinical trials network toxicity committee consensus summary: thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **11**: 571–575, 2005.
  - 33) Ruutu T, Barosi G, Benjamin RJ, Clark RE, George JN, Gratwohl A, Holler E, Iacobelli M, Kentouche K, Lämmle B, Moake JL, Richardson P, Socié G, Zeigler Z, Niederwieser D, Barbui T; European Group for Blood and Marrow Transplantation; European LeukemiaNet. Diagnostic criteria for hematopoietic stem cell transplant-associated microangiopathy: results of a consensus process by an International Working Group. *Haematologica* **92**: 95–100, 2007.
  - 34) Changsirikulchai S, Myerson D, Guthrie KA, McDonald GB, Alpers CE, Hingorani SR: Renal thrombotic microangiopathy after hematopoietic cell transplant: role of GVHD in pathogenesis. *Clin J Am Soc Nephrol* **4**: 345–353, 2009.
  - 35) Siami K, Kojouri K, Swisher KK, Selby GB, George JN, Laszik ZG: Thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an autopsy study. *Transplantation* **85**: 22–28, 2008.
  - 36) El-Seisi S, Gupta R, Clase CM, Forrest DL, Milandinovic M, Couban S: Renal pathology at autopsy in patients who died after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **9**: 683–688, 2003.
  - 37) Cho BS, Min CK, Eom KS, Kim YJ, Kim HJ, Lee S, Cho SG, Kim Y, Kim DW, Lee JW, Min WS, Kim CC: Clinical impact of thrombotic microangiopathy on the outcome of patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* **41**: 813–820, 2008.