第6回 DAIICHI-SANKYO SYMPOSIUM FOR THROMBOSIS UPDATE

Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) と Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) ～病態解明と診断確定のための新たなマーカー～

Novel markers for differential diagnosis and treatment to thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and hemolytic uremic syndrome (HUS)

奈良県立医科大学 輸血部 教授 藤村吉博

Key words: ADAMTS13, TTP, HUS, USS, aHUS

1. はじめに

血栓性微小血管障害症 (thrombotic microangiopathy ; TMA) は、病理学的診断名であり、細血管障害溶血性貧血、血小板減少、急性腎障害の3つの病態が特徴である。その代表的なものとして血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura ; TTP) と溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome ; HUS) があり、加えて、移植に伴う TMA、産婦人科領域の HELLP*症候群などがそのカテゴリーに含まれる。

TTP は元来、血液の専門医によって主に血漿を用いた治療が行われてきた。現在の問題点としては、70%以上の症例で ADAMTS13 (a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs 13) の活性が著減していること、わが国では ADAMTS13 活性の測定が保険適応外であること、さらに、ADAMTS13 活性を測定するにあたってその感度と測定回数が定まっていないことなどが挙げられる。

一方 HUS は、主に腎臓専門医によって治療がなされてきた。HUS の90%は志賀毒素産生病原性大腸菌による出血性腸炎に合併すること (典型 HUS)、残りの10%は志賀毒素産生病原性大腸菌とは無関係であり、補体もしくは補体調節因子の異常によって起こる非典型 HUS (atypical HUS ; aHUS) であることが知られている。

2. 後天性・特発性 TTP

ADAMTS13 は、止血因子 von Willebrand 因子 (VWF) の特異的切断酵素で、ADAMTS ファミリーに属する13番目の亜鉛型メタロプロテアーゼとして2001年に発見された¹⁾。1,427のアミノ酸残基からなるマルチドメイン構造の一本鎖糖タンパクで、VWF サブユニットの結合を特異的に切断することにより、超高分子量 VWF 多重体 (UL-VWFM) による過剰な血小板凝集を抑制する。TTP は、ADAMTS13 の遺伝子異常、抗 ADAMTS13 抗体の産生などにより、ADAMTS13 活性の低下が原因となって起こることが知られている。

われわれは、1998年から2008年にかけて、ADAMTS13 活性が欠損している後天性・特発性 TTP186例 (男性84例、女性102例) について解析を行った (図1)²⁾。これまで後天性・特発性 TTP は女性に多く、高齢者で多いとされていたが、われわれの検討では、男性の患者数が決して少なくないこと、年齢的には60~70歳にピークがあるものの、40歳、50歳代の患者数も多いことが明らかとなった。また、すでに2歳迄の乳児に ADAMTS13 に対する抗体が生じている症例も存在した。小児の場合には、特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura ; ITP) と誤診断されることが多いが、小児期の ITP を診断するにあたっては、ADAMTS13 活性

*溶血 (Hemolysis)、肝酵素上昇 (Elevated Liver enzyme)、血小板減少 (Low Platelet) を主兆候とする症候群

186 aTTP patients with severe ADAMTS13 deficiency at NMU (1998-2008)

図1 後天性特発性 TTP 患者の年齢分布と ADAMTS13 活性

が正常であることを除外項目に入れることが推奨される。

後天性・特発性 TTP に対する治療としては、血漿交換の有用性が 1991 年に Rock らによって報告され³⁾、以来、臨床で行われるようになっていく。当時はまだ ADAMTS13 は発見されておらず、なぜ血漿交換が有効なのかについては不明な点が多かった。しかし、ADAMTS13 が 2001 年に発見されてからは、インヒビターや UL-VWF、炎症性サイトカインなどの除去が機序として説明できるようになり、現在ではその有用性は確固たるものになっている。

しかし、すべての症例に血漿交換が有効なわけではない。われわれのデータでは、全体の 56% は血漿交換をすることによって抗 ADAMTS13 中和抗体が低下し、それに伴って ADAMTS13 活性の上昇が認められる。しかし、血漿交換によってかえってインヒビターが上昇する症例もみられる (inhibitor boosting)。そのような難治性 TTP には、現時点では保険適応外であるが、抗 CD20 キメラ抗体であるリツキサン投与でインヒビター産生を抑制し、同時に血漿交換を併用する治療が有効である。

ADAMTS13 活性とインヒビター力価の測定

は、後天性 TTP の確定診断において必須である。aHUS との鑑別診断にも有用で、さらに ITP を除外する診断としても注目されつつある。日本では保険適応外となっているが、早期に承認されることが望まれる。

3. 先天性 TTP (Upshaw-Schulman syndrome ; USS)

USS に関しては、低年齢で診断される early onset と、成長後に診断される late onset における病態の違いがこれまで明らかではなかった。

われわれは 49 例の USS を同定し、さまざまな解析を行っている⁴⁾。まず 15 歳までに血小板減少を指摘された人は 37 名 (男性 15 名、女性 22 名) であった。また、15 歳から 45 歳の間に指摘された人は 9 名ですべて女性、うち 7 名は妊娠期の女性であった。45 歳を過ぎてから指摘された人は 3 名 (すべて男性) という結果であった。

一方、USS あるいは TTP/HUS と確定診断された時期を調べたところ、15 歳までに診断された症例は 26 例 (男性 13 例、女性 13 例)、15 歳を超えてから診断された症例は 23 例 (男性 5 例、女性 18 例) であった。女性の 18 例中、13 例が

Age at a diagnosis of USS or first TMA-bout in 49 Japanese patients

臨床症状からUSS或はTMAと診断された年齢

図2 臨床症状からUSSあるいはTMAと診断された患者の年齢

妊娠期の女性であった (図2)。

対象者の ADAMTS13 活性を測定したところ、10%もの活性が認められた人や、0.5~2%と活性に幅のある人などもいたが、多くの症例は0.5%以下であった。この活性を、early onsetとlate onsetとに分けて見てみると、early onsetはほとんどが1%以下と活性は低く、それに対し、late onsetには数%の活性がある人が含まれているという結果であった (図3)。

一般に、early onset では ADAMTS13 のメタロプロテアーゼに異常があるとされているが、この検討では変異部位に一定の傾向は認められていない。ADAMTS13の遺伝子型から発症型を予測することは困難である。USSの確定診断と治療選択のためには、ADAMTS13活性を測定し、0.5%以下の症例に着目することが重要である。

4. 非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical HUS ; aHUS)

aHUSの多くは遺伝性であり、しかも優性遺伝であることが知られている。欧米では1990年以降多く報告された疾患で、わが国における報告はなかったが、2011年に信州大学小児科のグループが本邦第一症例を報告したことをきっかけに、国内でも注目されるようになってきた⁵⁾。

aHUSの多くは、補体活性化第2経路の調節因子の異常によって起こることが明らかにされている。なかでもH因子(CFH)の遺伝子異常が数多く報告されている。また、CFHに加え、CFHR1, CFHR3, MCP (membrane cofactor

Plasma levels of ADAMTS13:AC in 49 USS-patients

49 USS-patients

31 F

18 M

Diagnosis after death

○

○

Phenotype

□ Early-onset

□ Late-onset

TTPの急性期には大量のVWF放出のため、ADAMTS13活性が一時的により低下する。
Lotta et al.
Blood Cells,
Molecules and
Diseases 2013

図3 USS患者におけるADAMTS13活性

表1 aHUS の病態に関連する因子

Summary of Clinical Outcome (Waters AM et al. <i>Pediatr Nephrol</i> 26:41-57, 2011)				
Genetic defect	Frequency	Response to short plasma therapy (Rate of remission)	Long-term outcome (Rate of Death or ESRD)	Outcome after RTX (Rate of recurrence)
CFH	20-30%	60%	70-80%	80-90%
CFI	4-10%	30-40%	60-80%	80-90%
CFHR1 & 3 with CFH autoantibody	6%	70-80%	30-40%	20%
MCP	10-15%	No indication for therapy	<20%	15-20%
CFB	1-2%	30%	70%	Recurrence in one case
C3	5-10%	40-50%	60%	40-50%
THBD	5%	60%	60%	Recurrence in one case

protein), C3, トロンボモジュリンなども aHUS を引き起こす候補と考えられている (表1)⁶⁾.

aHUS の病態に関与する因子として最近注目されているのがトロンボモジュリンである. 2009 年に Delvaeye らは, トロンボモジュリンは C3b と CFH に結合し, CFH または C4b 結合蛋白の存在下で I 因子を介した C3b の不活化を促進することにより, 補体の活性化を抑制することを報告した⁷⁾. また, トロンボモジュリンはトロンピンを阻害するとともに, thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) を活性化する. この TAFIa は, アナフィラトキシンである C5a, C3a の強力なインヒビターであることから, トロンボモジュリンそのものが抗補体作用を持つと考えられる.

しかし, こうした報告はすべて海外での報告であり, わが国における病態の解析, 診断基準などは大きく立ち遅れているのが現状であった. 2013 年 2 月, ようやく日本腎臓学会によって aHUS の診断基準がまとめられている⁸⁾.

われわれは 1,149 例による TMA のレジストリーを行っているが⁹⁾, その結果, 新しい診断基準に照らし合わせてみると, 従来は aHUS と診断がつかなかった症例のすべてが aHUS であることが明らかとなり, 最終的に, TMA 症例 1,149 例中, 先天性 TMA (USS および aHUS) は 104 例という頻度であった.

aHUS の診断法としては, 溶血アッセイが有用である. これまで溶血アッセイは再現性に問題が

表2 aHUS 患者の遺伝子異常の種類と血漿療法に対する短期的予後

aHUS患者の遺伝子異常の種類と血漿療法に対する短期的予後 (Noris et al. 2005)				
Gene	Protein Affected	Frequency (%)		Response to short-term plasma therapy
		Overseas	Japan (n=30 ※)	
No identified mutation	*	30-50 %	26.7 % (8/30) (2 patients had anti-FH autoantibody)	No data
CFH	Factor H	20-30 %	10.0 % (3*/30)	Rate of remission 60%
CFHR1/3	CFHR1/3	6 %	6.7 % (2/30)	Rate of remission 70-80% (plasma exchange combined with immunosuppression)
MCP	MCP	10-15 %	13.3 % (4**/30)	No definitive indication for therapy
CFI	Factor I	4-10 %	0 % (0/30)	Rate of remission 30-40%
CFB	Factor B	1-2 %	3.3 % (1/30)	Rate of remission 30%
C3	C3	5-10 %	43.3 % (13**/30)	Rate of remission 40-50%
THBD	Thrombomodulin	5 %	3.3 % (1*/30)	Rate of remission 60%

※ 24 patients were analyzed in National Cerebral and Cardiovascular Center.

* One patient had the mutation in CFH+THBD. **One patient had the mutation in C3+MCP.

あるとされていた. しかしわれわれは解析に先立ち, CFH に対するポリクローナル抗体を用いて血漿からの CFH の生成を行い, 6 種類のモノクローナル抗体を同定した. その 6 種類のうち, 特に強い CFH 活性阻害作用がある 052 抗体および 072 抗体を用いて解析を行っている. この 2 つのモノクローナル抗体を用いることにより, 再現性の高い溶血反応の亢進が可能である.

aHUS 30 例を対象として, この 2 抗体を用いて溶血アッセイを行ったところ, 約 30% で溶血反応の亢進が認められた. 一方, 遺伝子解析では約 70% の異常が同定されており, 溶血アッセイと遺伝子解析の結果がマッチする結果となった. 溶血アッセイと遺伝子解析 (PCR-RFLP) の組み合わせは, 確定診断において有用と考えられる.

なお, C3 の変異も重要であるが, 残念ながら C3 の変異は溶血アッセイで解析することは困難である. C3 の解析には, RFLP による検出が簡便である.

5. おわりに

日本における TMA の解明は, ようやく本格的な段階に入ってきたといえる. aHUS 患者を例にしてみれば, 遺伝子異常の頻度としては, 欧米では CFH の変異が多いのに対し, わが国では CFH の変異は 10% 程度である. 一方, C3 の変異は

43%と欧米より圧倒的に多い(表2)¹⁰⁾。日本人においてどのような特徴があるのか、今後、さらなる病態解明を行うことが望まれる。

Disclosure of Conflict of Interest

The author indicated no potential conflict of interest.

文 献

- 1) Sadler JE : Von Willebrand factor, ADAMTS13, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* **112**(1) : 11-18, 2008.
- 2) Matsumoto M, Bennett CL, Isonishi A, Qureshi Z, Hori Y, Hayakawa M, Yoshida Y, Yagi H, Fujimura Y : Acquired idiopathic ADAMTS13 activity deficient thrombotic thrombocytopenic purpura in a population from Japan. *PLoS One*. 7 : e33029, 2012.
- 3) 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**(6) : 393-397, 1991.
- 4) Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, Yagi H, Kokame K, Soejima K, Murata M, Miyata T : Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. *J Thromb Haemost* **9** Suppl 1 : 283-301, 2011.
- 5) 天野芳郎, 日高義彦, 伊藤有香子, 松崎聡, 高山雅至, 中村真一, 南勇樹, 森哲夫, 山崎崇志, 幡谷浩史, 廣田(川戸洞) 雅子, 若林早紀, 江原孝史, 小池健一 : 補体制御因子 factor H の遺伝子変異を持つ非典型的溶血性尿毒症症候群の1例. *日小児会誌* **115**(1) : 107-112, 2011.
- 6) Waters AM, Licht C : aHUS caused by complement dysregulation : new therapies on the horizon. *Pediatr Nephrol* **26**(1) : 41-57, 2011.
- 7) Delvaeye M, Noris M, De Vriese A, Esmon CT, Esmon NL, Ferrell G, Del-Favero J, Plaisance S, Claes B, Lambrechts D, Zoja C, Remuzzi G, Conway EM : Thrombomodulin mutations in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* **361**(4) : 345-357, 2009.
- 8) 日本腎臓学会 : 非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) 診断基準. <http://www.jsn.or.jp/guideline/ahus.php>
- 9) Fujimura Y, Matsumoto M : Thrombotic thrombocytopenic purpura : Results of the patients with thrombotic microangiopathies across Japan by ADAMTS13 analysis during 1998-2008. *Vox Sanguinis* **4** : 174-181, 2009. (これに未発表データを追加)
- 10) Noris M, Remuzzi G : Atypical hemolytic uremic syndrome. *N Engl J Med* **361** : 1676-1687, 2009.