

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19591130

研究課題名 (和文) 造血幹細胞移植後の TMA/VOD の成因解析

研究課題名 (英文) Analysis of TMA and VOD after allogenic stem cell transplantation

研究代表者

松本 雅則 (MATSUMOTO MASANORI)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：2460160127

研究成果の概要 (和文)：

造血幹細胞移植 (SCT) 後の肝中心静脈閉塞症 (VOD) と血栓性微小血管障害症 (TMA) は致死的血栓性疾患であり、その病態解明や治療法の開発は急務である。今回我々は、同種 SCT 後の肝 VOD 症例において多施設共同研究を行い、肝 VOD の発症を新鮮凍結血漿 (FFP) 投与によって予防できることを発見した。この研究では、参加施設から VOD 発症ハイリスク症例を登録し、FFP 投与群と非投与群に無作為に割り付けたところ、FFP 投与群 23 例より VOD は一例も発症しなかったが、非投与 20 例中 3 例に VOD が発症した。また、奈良医大輸血部は、ADAMTS13 解析を通じて本邦 TMA の解析センターとして機能してきた。2008 年 12 月末で全国の医療機関から解析依頼を受けた TMA 症例が 919 例と世界でも類を見ないデータベースとなった。そのうち、SCT-TMA が 54 例存在したが、ADAMTS13 活性著減例は 1 例も認めなかった。

研究成果の概要 (英文)：

Both hepatic veno-occlusive disease (VOD) and thrombotic microangiopathy (TMA) after stem cell transplantation (SCT) are life-threatening thrombotic complications. We demonstrated that prophylactic fresh frozen plasma (FFP) infusion prevented development of hepatic VOD after SCT in a multicenter, randomized trial. Forty-three patients were divided into two groups: 23 receiving FFP infusions and 20 not receiving it. VOD developed only in three patients not receiving FFP. Since 1998, our laboratory has functioned as a nationwide referral center for TMA by analyzing ADAMTS13. As the end of 2008, we have established a registry of 919 patients with TMA. Of these, one-third of TMA patients had severe deficiency of ADAMTS13 activity. Fifty-four patients were classified as SCT associated TMA. None of the patients in this category had severe deficiency of ADAMTS13 activity as previously reported.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 19 年度 | 1,110,000 | 330,000 | 1,440,000 |
| 20 年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 21 年度 | 800,000 | 240,000 | 1,040,000 |
| 総計 | 2,810,000 | 840,000 | 3,650,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：造血幹細胞移植学

1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞移植 (stem cell transplantation:SCT) は、従来は予後不良であった白血病や重症再生不良性貧血などで治癒が期待できる治療法として確立されている。しかし、SCT には、GVHD、感染症、血栓性微小血管障害症(thrombotic microangiopathy:TMA), VOD (veno-occlusive disease)などの致死合併症が存在し、これらを克服することが今後の課題と考えられている。最近、TMA の病因として von Willebrand 因子 (VWF) を特異的に切断する酵素 (学術名: ADAMTS13) が注目されている。骨髄移植後 TMA では ADAMTS13 活性が低下しないことが報告され、SCT-TMA では本酵素活性が著減しないことが明らかとなった。SCT 後の VOD に関して、共同研究者の朴らは、VOD 発症群 7 例と非発症群 14 例で ADAMTS13 活性を比較し、VOD 発症群では移植前より有意に同酵素活性が低く、その傾向は day 28 まで認められることを報告した

2. 研究の目的

SCT 後の TMA/VOD の病因として様々な凝固線溶系の異常が報告されているが、決定的な因子の関与は明らかとなっていない。TMA の一部が ADAMTS13 活性低下であることが明らかとなった現在、SCT 後の TMA/VOD において、ADAMTS13 のみではなく、その基質である VWF を含めて検討を行うことは極めて重要である。そこで、SCT 後の VOD と TMA 患者において、ADAMTS13 と VWF に焦点を当て解析し、VOD と TMA の病態を明らかにする。さらに、同種 SCT 後患者に ADAMTS13 を補充するという目的で新鮮凍結血漿(FFP)を予防的に投与し、VOD と TMA の発症を予防できるか他施設共同研究を行う。

3. 研究の方法

奈良医大輸血部は、1998 年より全国の医療機関から ADAMTS13 活性測定依頼を受け付けてきた。2008 年 12 月末でその総数が 919 例となり、この中の SCT-TMA 症例について解析を行う。

また、FFP の予防投与による VOD 発症予防研究では、兵庫、大阪、奈良の 10 病

院から、同種 SCT 施行例で、再移植例や肝機能障害を有するなどハイリスク症例を登録し、FFP 投与群と非投与群に無作為割り付けを行った。FFP の投与量は、10kg あたり 1 単位(最大量は 50kg 以上 5 単位)で、週 2 回投与した。

4. 研究成果

VOD の発症予防について研究では、FFP 投与例 23 例、非投与例 20 例の計 43 例が登録され、この中から VOD が 3 例発症したが、全例 FFP 投与群からの発症であった。また、FFP 投与群と非投与群で ADAMTS13 活性の推移を比較したところ、前処置前から 4 週間後まで全く有意な差を認めなかった。一方、基質である VWF を比較すると、day 0, 7, 28 で有意に非投与群が高値であった。また、VOD 発症例で VWF マルチマー解析を行ったところ、前処置前や day 0 などの移植早期で高分子や中分子のマルチマーを欠損していることが判明した。同様に FFP 投与群と非投与群の VWF マルチマーを解析すると、FFP 非投与群では VOD 発症例と同様な欠損を認め、一方投与群ではそのような欠損を認めないことより、FFP 投与によって VWF の調節を行っていることが予想された。

全国から集積した 919 例の SCT の中に SCT-TMA が 54 例存在したが、ADAMTS13 活性が 3%未満に著減した症例は一例もなく、3-25%18 例、25-50%24 例と中等度から軽度の低下がほとんどで、50%以上の正常例も 12 例存在した。SCT-TMA40 例での解析では、ADAMTS13 活性は、 $32 \pm 25\%$ (平均 \pm SD) であった。次に SCT-TTP で同酵素の基質である VWF 抗原量を測定したところ、 $325 \pm 173\%$ と約 3 倍に上昇していた。酵素基質比として、VWF 抗原量/ADAMTS13 活性を算出すると、 19 ± 18 と正常の 19 倍に上昇しており、SCT-TMA の病態は、VWF と ADAMTS13 という酵素基質比のアンバランスによって引き起こされている可能性が示された。また、TMA 死亡例について解析したところ、VWF 抗原が 200%を超えることが多く、ADAMTS13 活性も低下し、酵素基質比 (VWF 抗原/ADAMTS13 活性) が 5 (正常 1) 以上の高度のアンバランスが認められた。VWF マルチマー解析では、高分子から中分子のマルチマーを欠損する症例が存在し、多くの症例で VWF マルチマー

異常が確認された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 25 件)

1. Matsuyama T, Uemura M, Ishikawa M, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Morioka C, Fujimoto M, Kojima H, Yoshiji H, Fujimura Y, Fukui H. Increased von Willebrand factor over decreased ADAMTS13 activity may contribute to the development of liver disturbance and multiorgan failure in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 31:27S-35S, 2007
2. Morishita T, Matsumoto M, Honoki K, Yoshida A, Takakura Y, Fujimura Y. Successful Treatment of Primitive Neuroectodermal Tumor-associated Microangiopathy with Multiple Bone Metastases. *Jap J Clin Onc*. 37:66-69, 2007
3. Ishizashi H, Yagi H, Matsumoto M, Soejima K, Nakagaki T, Fujimura Y. Quantitative western blot analysis of plasma ADAMTS13 antigen in patients with Upshaw-Schulman syndrome. *Thromb Res*. 120:381-386, 2007
4. Kobayashi T, Wada H, Kamikura Y, Matsumoto T, Mori Y, Kaneko T, Nobori T, Matsumoto M, Fujimura Y, Shiku H. Decreased ADAMTS13 activity in plasma from patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res* 119: 447-452, 2007.
5. Ito S, Okuyama K, Nakamura T, Tetanishi JI, Saito K, Matsumoto M, Fujimura Y, Aihara Y, Yokota S. Intravenous gamma globulin for thrombotic microangiopathy of unknown etiology. *Pediatr Nephrol* 22:301-305, 2007
6. Yagi H, Ito S, Kato S, Hiura H, Matsumoto M, Fujimura M. Plasma levels of ADAMTS13 antigen, determined by an enzyme immunoassay using the neutralizing monoclonal antibody, parallel to those of the activity. *Int Hematol* 85: 403-407, 2007
7. Bennett CL, Benjamin K, Zakarija A, Bandarenko N, Pandey DK, Buffie CG, McKoy JM, Tevar AD, Cursio JF, Yarnold PR, Kwaan HC, De Masi D, Sarode R, Raife TJ, Kiss JE, Raisch DW, Davidson C, Sadler JE, Ortel TL, Zheng XL, Kato S, Matsumoto M, Uemura M, Fujimura Y. Two mechanistic pathways for thienopyridine-associated thrombotic thrombocytopenic purpura: A report from the Surveillance, Epidemiology, and Risk Factors for Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (SERF-TTP) research group and the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project. *J Am Coll Cardiol* 50:1138-1143, 2007
8. 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 infusion may prevent the 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.
9. Furukoji E, Tanaka N, Yamashita A, Matsumoto M, Fujimura Y, Yamamoto R, Tamura S, Asada Y. Ecto-nucleotide triphosphate diphosphohydrolase inhibits ATP- and ADP-induced vasoconstriction. *Thromb Res* 121:583-585, 2008 (Letter)
10. Kokame K, Aoyama Y, Matsumoto M, Fujimura Y, Miyata T. Inherited and *de novo* mutations of *ADAMTS13* in a patient with Upshaw-Schulman syndrome. *J Thromb Haemost* 6:213-215, 2008 (Letter)
11. Shida S, Nishio K, Sugimoto M, Mizuno T, Hamada M, Kato S, Matsumoto M, Okuchi K, Fujimura Y, Yoshioka A. Functional imaging of shear-dependent activity of ADAMTS13 in regulating mural thrombus growth under whole blood flow conditions. *Blood* 111:1295-1298, 2008
12. Uemura M, Fujimura Y, Matsumoto M, Ishizashi H, Kato S, Matsuyama T, Isonishi A, Ishikawa M, Yagita M, Morioka C, Yoshiji H, Tsujimoto T, Kurumatani N, Fukui H. Comprehensive analysis of ADAMTS13 in patients with liver cirrhosis. *Thromb Haemost* 99:1019-1029, 2008
13. Horii M, Uemura S, Uemura M, Matsumoto M, Ishizashi H, Imagawa K, Iwama H, Takeda Y, Kawata H, Nakajima T, Fujimura Y, Saito Y. Acute Myocardial Infarction as a Systemic Prothrombotic Condition Evidenced by Increased von Willebrand Factor Protein Over ADAMTS13 Activity in Coronary and Systemic Circulation. *Heart and Vessels* 23:301-307, 2008
14. Morioka C, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Kato S, Ishikawa M, Ishizashi H, Fujimoto M, Sawai M, Yoshida M, Mito A, Yamao J, Tsujimoto T, Yoshiji H, Urizono Y, Hata M, Nishio K, Okuchi K, Fujimura Y, Fukui H. Plasma ADAMTS13 activity parallels the APACHE II score, reflecting an early prognostic indicator for patients with severe acute pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 43:1387-1396, 2008
15. Kanno M, Nakamura S, Kawahara M, Ueno S, Nakamine H, Matsumoto M, Fujimura Y. Chemotherapy-resistant intravascular

- lymphoma accompanied by ADAMTS13 inhibitor successfully treated with rituximab. *Int J Hematol* 88:345-347, 2008. (Letter)
16. Fujimura Y, Matsumoto M, Kokame K, Isonishi A, Soejima K, Akiyama N, Tomiyama J, Kazuhiko Natori K, Kuranishi Y, Imamura Y, Inoue N, Higasa S, Seike M, Kozuka T, Hara M, Wada H, Murata M, Ikeda Y, Miyata T, George JN. Pregnancy-induced thrombocytopenia and thrombotic microangiopathy in Upshaw-Schulman syndrome: Clinical observations and *ADAMTS13* gene analysis in nine patients representing six families. *Br J Haematol* 144:742-754, 2009
 17. Takemoto Y, Kawata H, Soeda T, Imagawa K, Somekawa S, Takeda Y, Uemura S, Matsumoto M, Fujimura Y, Jo JI, Kimura Y, Tabata Y, Saito Y. Human Placental Ectonucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase Gene Transfer via Gelatin-Coated Stents Prevents In-Stent Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29:857-862, 2009
 18. Shimizu M, Nomura S, Ishii K, Mohri Y, Umei N, Suzuki S, Matsuo Y, Isonishi A, Matsumoto M, Urase F, Maeda Y, Fujimura Y. The significance of ADAMTS13 in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura complicated autoimmune hepatitis. *Thromb Haemost.* 101:599-600, 2009. (Letter)
 19. Watanabe N, Ikeda H, Kume Y, Satoh Y, Kaneko M, Takai D, Tejima K, Nagamine M, Mashima H, Tomiya T, Noiri E, Omata M, Matsumoto M, Fujimura Y, Yatomi Y. Increased production of ADAMTS13 in hepatic stellate cells contributes to enhanced plasma ADAMTS13 activity in rat models of cholestasis and steatohepatitis. *Thromb Haemost* 102:389-396, 2009.
 20. Matsuyama T, Kuwana M, Matsumoto M, Isonishi A, Inokuma S, Fujimura Y. Heterogeneous pathogenic processes of thrombotic microangiopathies in patients with connective tissue diseases. *Thromb Haemost* 102:371-378, 2009.
 21. Kobayashi T, Wada H, Usui M, Sakurai H, Matsumoto T, Nobori T, Katayama N, Uemoto S, Ishizashi H, Matsumoto M, Fujimura Y, Isaji S. Decreased ADAMTS13 levels in patients with living donor liver transplantation. *Thromb Res* 124: 541-545, 2009.
 22. Ito N, Wada H, Matsumoto M, Fujimura Y, Murata M, Izuno I, Sugita M, Ikeda Y. National Questionnaire Survey of TMA. *Int J Hematol* 90:328-335, 2009
 23. Fujimura Y, Matsumoto M. Registry of 919 patients with thrombotic microangiopathies across Japan: Database of Nara Medical University during 1998-2008. *Inter Med* 49:7-15, 2010
 24. Kosugi N, Tsurutani Y, Isonishi A, Hori Y, Matsumoto M, Fujimura Y. Influenza A infection triggers thrombotic thrombocytopenic purpura by producing the anti-ADAMTS13 IgG inhibitor. *Inter Med*, 49: 689-693, 2010
 25. Sato A, Hoshi Y, Onuma M, Sato R, Tsunematsu Y, Isonishi A, Matsumoto M, Fujimura Y, Imaizumi M. A 9-month-old infant with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura caused by inhibitory IgG-autoantibody to ADAMTS13. *Pediatr Hematol Oncol.* 27:53-58. 2010
- [学会発表] (計 16 件)
1. Matsumoto M, Fujimura Y. The ADAMTS13 analysis on thrombotic microangiopathies in Japan, 6th World Congress of the International Society for Apheresis/World Apheresis Association 11th Congress, Yokohama (Japan), 2007
 2. Hiura H, Isonoshi A, Kato S, Matsumoto M, Fujimura Y. Immuno-purification of ADAMTS13 and its physico-chemical characterization. XXI Congress of the ISTH, Geneva (Switzerland), 2007
 3. Koyama N, Makinodan K, Tamaki S, Fukuoka A, Hamada K, Matsumoto M, Fujimura Y, Kimura H. Alternation of von Willebrand factor and ADAMTS13 activity and its clinical significant in patients with obstructive sleep apnea syndrome. XXI Congress of the ISTH, Geneva (Switzerland), 2007
 4. Matsuyama T, Matsumoto M, Isonishi A, Uemura M, Inokuma S, Fujimura Y. Analysis of ADAMTS13 in patients with collagen disease-associated TMAs. XXI Congress of the ISTH, Geneva (Switzerland), 2007
 5. Matsuyama T, Matsumoto M, Isonishi A, Inokuma S, Fujimura Y. Analysis of ADAMTS13 and its IgG-autoantibodies in 170 patients with connective tissue disease-associated thrombotic microangiopathy indicates more than 2 types on its pathogenesis. 49th ASH annual meeting. Atlanta (USA), 2007
 6. Bennett CL, Luu TH, Zakarija A, Kwaan HC, Bandarenko N, Pandey DK, Curio JF, McKoy JM, Buffie C, Winters JL, Ortel TL, Sarode R, Zheng XL, Raife TJ, Matsumoto M, Fujimura Y, Rock GA. Clinical and outcomes findings for thrombotic thrombocytopenic purpura among 467 persons with severely versus not severely deficient ADAMTS-13 levels. 49th ASH

- annual meeting. Atlanta (USA), 2007
7. Richey EA, Bennett CL, Kwaan HC, Zakarija A, Bandarenko N, Pandey DK, Yarnold PR, Raisch DW, Winters JL, Raife TJ, Curio JF, Fisher MJ, Ortel TL, Tallman MS, Matsumoto M, Fujimura Y. Moake JL. Ticlopidine- and Clopidogrel- associated thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP): final results from the surveillance epidemiology and risk factor- TTP study group. 49th ASH annual meeting. Atlanta (USA), 2007
 8. Morioka C, Uemura M, Matsuyama T, Matsumoto M, Kato S, Ishikawa M, Ishizashi H, Fujimoto M, Tsujimoto T, Nishio K, Okuchi K, Fujimura Y, Fukui H. Plasma ADAMTS13 activity markedly decreased in patients with severe acute pancreatitis: Its potential role on the development of multiorgan failure. 49th ASH annual meeting. Atlanta (USA), 2007
 9. Fujimura Y, Matsumoto M, Kokame K, Yagi H, Isonishi A, Matsuyama T, Kato S, Ishizashi H, Shida Y, Kenji N, Akiyama N, Tomiyama J, Natori K, Kuraishi Y, Imamura Y, Inoue N, Higasa S, Seike M, Kozuka T, Hara M, Sugimoto M, Wada H, Murata M, Miyata T, Ikeda Y. Natural history of 33 patients with Upshaw-Schulman syndrome has revealed that all the gravida develop thrombocytopenia, often followed by thrombotic microangiopathy with stillbirth. 49th ASH annual meeting. Atlanta (USA), 2007
 10. Yusuke Yamaguchi, Takanori Moriki, Hideo Wada, Masanori Matsumoto, Yoshihiro Fujimura, Terumichi Nakagawa, Atsuko Igari, Yasuo Ikeda, Mitsuru Murata. Identification of ADAMTS13 peptide sequences recognized by autoantibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. 50th ASH annual meeting. San Francisco (USA), 2008
 11. Masatoshi Ishikawa, Masahito Uemura, Tomomi Matsuyama, Masanori Matsumoto, Masao Fujimoto, Hiromichi Ishizashi, Seiji Kato, Chie Morioka, Tatsuhiro Tsujimoto, Toshiyuki Kitazawa, Hidehito Kawaratani, Yoshihiro Fujimura, Hiroshi Fukui. Potential role of enhanced cytokinemia and endotoxemia on the decreased activity of plasma ADAMTS13 in patients with alcoholic hepatitis. 50th ASH annual meeting. San Francisco (USA), 2008
 12. Fujimura Y, Kokame K, Matsumoto M, Isonishi A, Kato S., Hiura H., Miyata T. Identification of 41 Japanese patients with Upshaw-Shulman syndrome, with special reference to its genotype-phenotype analysis. XXII ISTH congress, July 2009 (Boston)
 13. Ito N, Wada H., Sugita M, Matsumoto M, Fujimura Y, Murata M, Ikeda Y. National questionnaire survey of TMA XXII ISTH congress, July 2009 (Boston)
 14. Fujimura Y, Matsumoto M. Thrombotic thrombocytopenic purpura: Results of the patients with thrombotic microangiopathies across Japan by ADAMTS13 analysis during 1998-2008. XXth Regional Congress of the ISBT, Asia - Academy program (Hemostasis), November 2009 (Nagoya)
 15. Nakagawa T, Moriki T, Yamaguchi Y, Igari A, Soejima K, Matsumoto M, Fujimura Y, Murata M. Multiple Mapping of Peptide Sequences Recognized by Various Monoclonal Anti-ADAMTS13 Antibodies with Functional or Nonfunctional Effects On the Catalytic Activity. 51th ASH Annual Meeting, 2009
 16. Matsumoto M, Isonishi A, Kato S, Ishizashi H, Yagi H, Fujimura Y. Characterization of Two Patient Groups with Acquired Idiopathic Thrombotic Thrombocytopenic Purpura, Defined by ADAMTS13 (n=195) and/or Classic Pentad (n=89). 51th ASH Annual Meeting, 2009
- [図書] (計 7 件)
1. Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H. Thrombotic microangiopathy. Recent Advances of Thrombosis and Hemaostasis. Springer Verlag, pp625-639, 2008.
 2. 松本雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病. TODAY'S THERAPY 2008 今日の治療方針 私はこう治療している. 524-526, 2008
 3. 松本雅則、藤村吉博. von Willebrand 病 -最近の進歩. Annual Review 血液 2008. 211-220, 2008
 4. 松本雅則. 血栓性微小血管障害症 (TMA). ガイドラインパースペクティブ 造血幹細胞移植 (豊嶋崇徳編). 医薬ジャーナル社, 116-121
 5. 松本雅則, 吉岡章. 輸血療法. 小児救急アトラス (内山聖, 安次嶺馨 編) p4-6, (西村書店) 2009
 6. 松本雅則. 血栓性血小板減少性紫斑病疫学. 血小板減少症・増加症 (池田康夫編) 最新医学 別冊 (最新医学社) 2009
 7. 松本雅則、藤村吉博. ADAMTS13 と TTP -最近の進歩-. Annual Review 血液 2009. 209-216, 2009
- [産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

奈良県立医科大学輸血部ホームページ
<http://www.narmed-u.ac.jp/~trans/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

松本 雅則 (MATSUMOTO MASANORI)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：60316081

(2)研究分担者

藤村 吉博 (FUJIMURA YOSHIHIRO)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：80118033