

Abstract

後天性 von Willebrand 症候群の診断のための新しい ELISA

A new ELISA assay for diagnosis of acquired von Willebrand Syndrome

C. Siaka, L. Rugeri, C. Caron and J. Goudemand

稀な出血性疾患である後天性 von Willebrand 症候群 (AVWS) の病態生理については未だ十分に解明されていない。リンパ球増殖性疾患が関連する AVWS をもつ患者では循環血中において von Willebrand 因子 (VWF) に対する抗体が認められるが、これらの自己抗体はルーチンの検査および中和アッセイでは検出が困難である。我々は、ポリスチレンプレート上に固定した VWF 蛋白質にこれらの抗体を結合させて検出するシンプルな ELISA を開発し、今回この ELISA の有用性を検討した。AVWS 患者 10 例を対象とし、うち 8 例はリンパ球増殖性疾患を伴って

いた。8 例で VWF 抗体が検出され、これらの症例はすべて IgG 陽性であり、5 例は IgM についても陽性であった。抗体が検出された 8 例のうち、2 例については機能性アッセイでは抗体が検出されず、今回我々が開発したシンプルな ELISA はより高感度であると考えられた。また、この ELISA は他の検査と併用することにより、一部の症例であるかもしれないが、AVWS の免疫学的機序の解明に有用であるかもしれない。また、これらの患者には血液凝固異常を改善し得る免疫グロブリン静注療法が適していると考えられる。

Table 1. Clinical and basic laboratory characteristics of patients with acquired von Willebrand syndrome (AVWS).

Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Age at diagnosis (Years)/sex	40/M	77/F	55/M	77/M	51/M	63/M	75/F	60/M	67/F	40/M
Bleeding time (min)	P	P	N	P	P	NA	N	NA	N	P
Closure time (s) PFA-100®	NA	NA	P	P	P	P	P	P	P	P
FVIII:C (U dL ⁻¹)*	<5	23	20	30	15	25	13	36	124	17
VWF:Ag (U dL ⁻¹)*	<3	14	8	24	13	14	14	33	81	14
VWF:RCo (U dL ⁻¹)*	<3	10	<1	31	<1	<1	1	17	78	<1
VWF:CB (U dL ⁻¹)*	NA	NA	NA	25	2	<1	1	NA	58	<1
VWF plasma multimers pattern	A	A	A	N	A	A	A	NA	A	A
Neutralization assay	Negative	NA	Negative	NA	Negative	Positive	Positive	NA	NA	Negative
VWF:Ag II (U/do)†	130	84	102	97	215	170	162	137	81	189
Previous surgery without bleeding	None	Hysterectomy	NA	Hemicolectomy	Appendicectomy	None	Mastectomy	Appendicectomy	Inguinal hernia	Appendicectomy
Haemorrhagic syndrome	Postsurgical	Postarteriography	Jaw bleeding	Epistaxis	Epistaxis postsurgery	None	Gastrointestinal bleeding	None	None	Duodenal bleeding
Underlying disease	MGUS	0	MGUS	Waldenstrom	MGUS	Waldenstrom	MGUS	MGUS	Scleroderma multinodular goitre	MGUS
Treatment	VWF IVIg	VWF	VWF dDAVP	O	VWF IVIg‡	VWF IVIg	VWF IVIg‡	NA	dDAVP	VWF IVIg‡

*Normal range: 50–150 U dL⁻¹;†Normal range: 50–120 U dL⁻¹;

‡Corrected levels of VWF after IVIg treatment;

MGUS = monoclonal gammopathy of undetermined significance;

NA = no available, N = normal, A = abnormal (decreased proportion of HMWM), P = prolonged.

Table 2. Results of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) assay in the patients values of Optical density (OD) measured at two plasma dilutions 1:10 and 1:50.

Sample	Plasma dilution				Final interpretation		
	Anti-IgG		Anti-IgM		Anti-IgG	Anti-IgM	Neutralization assay results
	1:10	1:50	1:10	1:50			
1	0.517	0.261	0.522	0.600	P*	P	N
2	1.277	1.073	0.404	0.178	P	P	NA
3	0.169	0.153	0.182	0.165	N	N	N
4	0.546	0.263	0.212	0.18	P*	N	NA
5	1.034	0.492	0.509	0.390	P	P	N
6	1.1	0.684	0.226	0.174	P	P*	P
7	1.49	1.006	0.240	0.181	P	P*	P
8	0.864	0.354	0.093	0.092	P	N	NA
9	1.134	0.504	0.122	0.100	P	N	NA
10	0.327	0.223	0.006	0.067	N	N	N
Normal controls (n = 20)	0.28 ± 0.17	0.21 ± 0.19	0.23 ± 0.06	0.20 ± 0.14			
Positive Cut-off values	>0.62		>0.35				

*Positive because of a dilution effect (see text for details); NA = not available, N = negative, P = positive.