

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

平成11年度研究業績報告書

平成12年3月

分科会会長 中 川 雅 夫

目 次

I 分科会員構成	3
II 総括研究報告	7
III 分科会員分担研究報告	13
血管内皮細胞における血液凝固調節機構に及ぼすエンドセリンの影響に関する研究	15
(京都府立医科大学第2内科 中川 雅夫)	
動物 DIC モデルの病態比較とエンドセリン受容体拮抗薬の効果	18
(金沢大学医学部附属病院高密度無菌治療部 朝倉 英策)	
抗血小板抗体産生を誘導する自己反応性 T 細胞が認識する GP II b-III a のエpite- ト-プの解析	22
(慶應義塾大学医学部内科 池田 康夫)	
アンチトロンビンによる血管内皮細胞活性化の抑制	28
(熊本大学医学部臨床検査医学講座 岡嶋 研二)	
血液凝固第 V ・ VIII 因子合併欠損家系の ERGIC-53 遺伝子解析	32
(九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学(第一内科) 岡村 孝)	
Cyclosporin A と Tacrolimus の血小板凝集亢進作用	34
(兵庫医科大学第二内科 垣下 榮三)	
急性深部静脈血栓症の実践的診断法に関する研究	37
(大阪大学付属病院血管外科 川崎 富夫)	
連鎖解析による May-Hegglin 血小板異常症の責任遺伝子座同定	40
(名古屋大学医学部 小嶋 哲人)	
白血球エラスターゼによる線溶機構の解析	44
(自治医科大学止血血栓 坂田 洋一)	
RNA/DNA オリゴヌクレオチドによるアンチトロンビン III 欠損症治療に関する研究	51

(京都府立医科大学輸血部 辻 肇)

活性型ビタミン D₃ 及びその誘導体の抗凝固作用に関する研究 54

(東京医科歯科大学第一内科 広沢 信作)

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) における FcγR の遺伝子多型と治療効果 60

(広島大学大学院医学系研究科病態薬物治療学 藤村 欣吾)

フォンビルブランド因子特異的プロテアーゼの欠損による血栓性疾患の病態解析 66

(奈良県立医科大学輸血部 藤村 吉博)

内因性カンナビノイドによる凝固の制御 69

(鹿児島大学医学部臨床検査医学 丸山 征郎)

先天性凝固制御因子欠乏症と血栓症 71

(国立循環器病センター研究所脈管生理部 宮田 敏行)

DIC 診断における Global Test の評価—多施設での検討— 75

(三重大学第二内科 和田 英夫)

IV 発表文献 79

I. 分科会構成員

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	中川 雅夫	京都府立医科大学 第二内科	教 授
分担研究者	朝倉 英策	金沢大学医学部附属病院高密度無菌治療部	助教授
	池田 康夫	慶応義塾大学医学部 内科	教 授
	岡嶋 研二	熊本大学医学部 臨床検査医学講座	助教授
	岡村 孝	九州大学医学部 第一内科	講 師
	垣下 栄三	兵庫医科大学 内科	教 授
	川崎 富夫	大阪大学医学部 病態制御外科 (第二外科)	助 手
	小嶋 哲人	名古屋大学医学部 保健学科	助教授
	坂田 洋一	自治医科大学 生体機能分子教室	助教授
	辻 肇	京都府立医科大学附属病院 輸血部	助教授
	広沢 信作	東京医科歯科大学医学部 第一内科	助教授
	藤村 欣吾	広島大学 大学院医学系研究科	教 授
	藤村 吉博	奈良県立医科大学附属病院 輸血部	教 授
	丸山 征郎	鹿児島大学医学部 臨床検査医学講座	教 授
	宮田 敏行	国立循環器病センター研究所	室 長
和田 英夫	三重大学医学部 第二内科	助 手	
(事務局)	本郷佐都子	京都府立医科大学 第二内科 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上がる梶井町465 TEL (075)251-5511 FAX (075)251-5514	

Ⅱ. 総括研究報告

平成 11 年度総括研究報告

分科会長 中川雅夫
京都府立医科大学第二内科

I. 研究目標

本分科会は、特発性血小板減少性紫斑病 (ITP)、血栓性血小板減少性紫斑病 (TTP) および特発性血栓症を調査研究対象疾患とし、これらの病態解明、診断ならびに治療法の確立に寄与する基礎的ならびに臨床的研究を幅広く行うことを目的とした。

II. 研究成果のまとめ

平成 12 年 2 月 12 日に平成 11 年度分科会総会が京都で開催され、16 題の臨床調査研究報告がなされた。

1) ITP、TTP 等関連の研究

ITP における抗血小板抗体の産生には血小板膜蛋白 GPIIb-IIIa を認識する CD4 陽性 T 細胞が重要な役割を果たすことが明らかにされてきている。池田らは、GPIIb、GPIIIa の部分断片を発現する 7 つのリコンビナント融合蛋白を用いて、23 例の ITP 患者末梢血中の GPIIb-IIIa 反応性 T 細胞が認識する GPIIb-IIIa 上のエピトープ領域を検討した。7 つの GPIIb、GPIIIa 融合蛋白は ITP 患者末梢血 T 細胞により様々な組み合わせで認識され、特に GPIIb、GPIIIa とともに N 末端側をコードする融合蛋白がそれぞれ 48%、57% の ITP 患者末梢血 T 細胞により認識された。さらに、ITP 患者 5 例から樹立した GPIIb-IIIa 反応性 CD4 陽性 T 細胞株のうち、単一の GPIIb、GPIIIa 融合蛋白と反応する 8 株についてはいずれも HLA-DR 拘束性で、おもに GPIIb、GPIIIa の N 末端側を認識した。これら GPIIb-IIIa 反応性 T 細胞株は自己末梢血または脾臓 B 細胞から抗 GPIIb-IIIa 抗体産生を誘導した。以上の成績より、抗血小板抗体産生を誘導する GPIIb-IIIa 反応性 T 細胞が認識する主要なエピトープは GPIIb、GPIIIa の N 末端側の細胞外ドメインに存在することが明らかにされた。一方、ITP における主要な血小板減少機序は、網内系細胞による FcR を介する血小板抗体結合血小板の貪食反応によると考えられ、摘脾が有効であることの根拠とされる。しかし摘脾の有効性は 60% に留まり、その有効性を術前に予測する手段はないのが現状である。藤村 (欣) らは、FcγR の遺伝子多型の解析結果において、FcγRIIIA の遺伝子多型は摘脾や薬物療法の有効性には関係を認めないが、FcγRIIIA の 158 番目が Val/Val(V/V) タイプは Phe/Val(F/V)、Phe/Phe(F/F) タイプに比し摘脾奏効率が低く、むしろ薬物療法の有効例が多い傾向にあり、F/V、F/F タイプは摘脾の奏効率が高い傾向にあることを示した。このことは、FcγRIIIA 遺伝子多型の解析が治療法の選択における有用性を示唆すると考えられ、今後の成果が期待される。ITP との鑑別について問題となる May-Hegglin 血小板異常症 (巨大血小板、血小板減少症および顆粒球 Dohle 様封入体を 3 主徴とする) の生化学的異常は同定されておらず、異常蛋白の同定から異常遺伝子の同定へと解析を進めることができないのが現状である。小嶋らは、同症の原因遺伝子同定のために連鎖解析を行い、その責任遺伝子座を 22q12.3-13.2 (D22S280 から D22S272)

の 13.6cM の領域と同定し、原因遺伝子の解析が進められている。

近年、動脈血栓形成にフォンビルブランド因子 (vWF) の機能を規定するマルチマー構造の調節物質の異常が関与することが推察され、そのひとつとして vWF を特異的に切断する血漿中の酵素(vWF プロテアーゼ) が注目される。藤村 (吉) らは、先天性慢性反復性血栓性血小板減少症として知られ、少量の血漿輸注で血小板減少が改善する Upshaw-Shulman 症候群(USS) 2 家系において、vWF プロテアーゼ活性を検討した。USS 患者は vWF プロテアーゼ遺伝子のホモ接合体欠損症、両親はヘテロ接合体欠損症と考えられ、新鮮凍結血漿(FFP) の輸注により vWF プロテアーゼ活性のわずかな上昇と、血小板数の増加を認め、TTP の病態並びに治療法を考察するうえで有用な成績と考えられた。一方、垣下らは骨髄移植後の TTP の発症における免疫抑制剤の cyclosporin A (CsA) ならびに tacrolimus (Tc) の血小板凝集に及ぼす影響を検討し、これらが要因になることを示唆する成績を報告した。

2) 血液凝固異常症の成因・治療に関する研究

血管内皮細胞が血栓形成の制御に重要な役割を果たしていることが知られる。岡嶋らは、アンチトロンビン(AT)が血管内皮細胞表面上のグリコサミノグリカンと相互作用することで、血管内皮細胞からのプロスタサイクリン産生を促進し、臓器障害発生を抑制すること、また TNF-alpha や IL-1beta、LPS などの刺激による血管内皮細胞表面上の白血球接着因子の発現増加を濃度依存的に有意に抑制することを報告した。一方、丸山はエンドトキシン (LPS) による低血圧性ショックを惹起する際の原因メディエーターとして、内因性カンナビノ

イド (内因性マリファナ様物質) のアナンダマイドと 2-AG が初期メディエーターとして重要であることを報告した。

また、坂田らは解析の進んでいるプラスミノゲンアクチベータープラスミン系を介する線維素溶解反応系に対して、未解明な点の多い白血球エラスターゼなどの細胞由来プロテアーゼを介する線溶機構の役割について検討し、白血球エラスターゼによる線溶機構は、プラスミノゲンアクチベータープラスミン系の線溶機構を代償する反応系となる可能性を示すとともに、両反応系にプラスミノゲン関連因子を介する密接な連関が存在することを示唆した。

一方、ビタミン A 誘導体 (レチノイド) が白血球細胞における組織因子 (TF) の発現低下及び thrombomodulin (TM) の発現増加をもたらし、抗凝固効果を発揮することが報告されている。広沢らは、活性型ビタミン D₃ [1,25(OH)₂D₃] (以下 D₃) においても、レチノイドと同様の抗凝固作用を認め、D₃ の新規誘導体である 22R-Me-20-epi-1,25(OH)₂D₃ (KY3) と oxacalcitriol (OCT) が、単球系細胞において TF の発現低下及び TM の発現上昇を遺伝子転写レベルでもたらし、抗凝固作用を発揮することを明らかにした。また、D₃ 及び D₃ 誘導体は、腫瘍壊死因子や酸化低比重リポ蛋白による凝固促進活性をも抑制することが報告された。

3) 播種性血管内凝固症 (DIC) の病態と診断

DIC の病態解析において動物 DIC モデルが用いられるが、組織因子 (TF) および lipopolysaccharide (LPS) により誘発される病像は異なると考えられる。朝倉らは両モデルを検討し、TF モデルは線溶優位型 DIC に、LPS モデルは凝固優位型 DIC に類似したモデルであることを示した。さら

に、両モデルに対してエンドセリン受容体拮抗薬を投与したところ、LPSモデルに対してのみ臓器障害の改善がみられ、薬効評価にあたってモデルの相違が留意点として重要であることを報告した。一方、中川らはエンドセリンのDICの病態の成立における役割を検討し、エンドセリンは培養ラット血管内皮細胞においてAおよびBレセプターを介して、血管内皮細胞を血栓形成方向に導くことを示し、DICの多臓器不全の成立、進展に関与するのではないかと推測した。

近年、国内外でDIC診断基準の見直しの機運が高まってきている。和田らは、多施設共同研究によるGlobal Testの評価を行い、松田試案と厚生省のDIC診断基準の一致率が、造血管腫瘍79.3%、非造血管腫瘍69.7%と報告した。Fibrinogenは特異度は高いが、感度は低く、特に非造血管腫瘍では有用性が低かった。PT比はCut off値を下げることにより、感度・特異度とも増加した。FDPはCut off値を下げることにより、感度ならびに特異度を改善させた。PT比のCut off値を下げ、非造血管腫瘍のFibrinogenを除いた修正案は、ほぼ厚生省のDIC診断基準と一致し、非造血管腫瘍Pre-DICの36.8%をDICと早期診断し得ると報告した。

4) 特発性血栓症

特発性血栓症に関する研究において、凝固制御因子であるプロテインC(PC)およびアンチトロンビン(AT)の先天性欠損が静脈血栓症の素因となることが明らかにされるが、動脈閉塞症への関与は明確ではない。宮田らは、先天性PCならびにAT欠損症患者の臨床背景を検討し、PC欠損症ではAT欠損症に比べ、動脈閉塞症への関与が大きいこと、さらにその発症に高血圧や高脂血症などの要因が寄与していることも

明らかにした。一方これらの疾患の治療に関連し、辻らはHuH-7細胞においてRNA/DNAオリゴヌクレオチド(RDO)による遺伝子変異導入を試み、本法が点突然変異を原因とするような各種特発性血栓症の治療にも有用である可能性を示唆した。さらに、血液凝固第V・VIII因子合併欠損症家系におけるERGIC-53遺伝子の解析結果より、本疾患の原因となる他の蛋白の存在を岡村らは示唆した。

近年重要性が注目される深部静脈血栓症(DVT)の簡易診断法の開発と評価が、川崎らによりCTを用いて行われた。CTで大腿筋束断面積比1.2以上では中枢型DVTを認め、容易に急性期DVTの診断が可能と考えられた。

Ⅲ. 分科會員分担研究報告

血管内皮細胞における血液凝固調節機構に及ぼすエンドセリン の影響に関する研究

(分担) 研究者：中川 雅夫

京都府立医科大学 第2内科

研究要旨

エンドセリン-1 (以下 ET-1) は、強力な血管収縮作用を示す生理活性ペプチドとして知られているが、DICの病態の成立においても重要な役割を果たしている可能性が報告されている。今回、血管内皮細胞において産生される凝固系調節因子である tissue factor (以下 TF)、tissue factor pathway inhibitor (以下 TFPI)、線溶系調節因子である、plasminogen activator inhibitor-1 (以下 PAI-1)、tissue type plasminogen activator (以下 TPA) の発現に及ぼす ET-1 の影響を培養ラット血管内皮細胞及び northern blot 法を用いて検討した。培養ラット血管内皮細胞において ET-1 は添加濃度、及び反応時間に依存して培養血管内皮細胞における TF および PAI-1 mRNA の発現を亢進させ、TFPI、TPA mRNA の発現には変化を与えなかった。これらの反応は、non-selective ET receptor antagonist では有意に抑制されたが、selective な ETA、ETB receptor antagonist によっては抑制されなかったことより、ETA・ETB 両 receptor を介して作用し、血管内皮細胞を血栓形成方向に導くものと考えられ、DICにおける、凝固線溶調節機構を血栓形成方向に誘導し多臓器不全の成立、進展に関与するのではないかと推察された。

A、研究目的

ET-1 は、21 アミノ酸残基からなる生理活性ペプチドであり、ブタ血管内皮細胞培養上清中から発見された。主な産生部位は血管内皮細胞であり、血管平滑筋細胞や神経系の細胞でも産生されることが知られている。また、エンドセリンファミリーには ET-1 の他に、異なる遺伝子座にコードされているアイソフォームの ET-2、ET-3 の存在が報告されている。ET に対する受容体として、ETA および ETB の2種類の存在が確認されており、ETA 受容体は主に血管平滑筋細胞に存在し、ET-1 に選択的で、血管収縮を介した昇圧作用に関与しているとさ

れ、ETB 受容体は血管内皮細胞上に存在し、ET-1 及び ET-3 の受容体で、血管弛緩に関与する ETB1 と、血管収縮に関与する ETB2 のサブクラスが報告されている¹⁾。我々は今までアンギオテンシンII等の血管収縮性物質が血管内皮細胞における組織因子や PAI-1 の産生を誘導することで血管内皮細胞を血栓形成方向へ導いていると報告してきた²⁾。DIC患者において多臓器不全を有する者の血中エンドセリン濃度は、多臓器不全を有しない者に比して著明に高く、かつ血漿中 PAI-1 及びトロンボモジュリン濃度と血中エンドセリン濃度は高い相関を示し、多臓器不全の発症・進展に関与している可能性が報告されている^{3,4,5)}。今回、

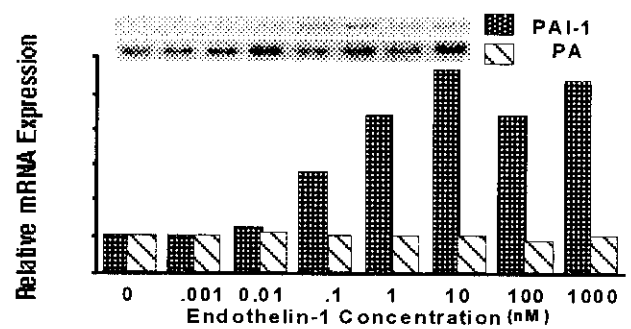
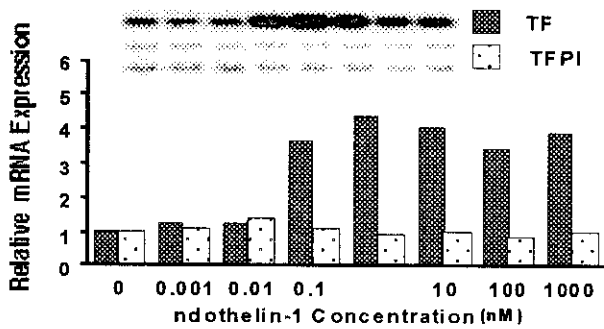


図-1. The effects of Endothelin-1 on TF, TFPI, PAI-1 and TPAmRNA expression.

ET-1 もアンジオテンシンⅡと同様の作用を有している可能性を想定し、DICの病態におけるET-1の影響を明らかにすることを目的として検討した。

B、研究方法

実験には培養ラット胸部大動脈血管内皮細胞を用いた。SD系ラットより胸部大動脈を切離し、explant法にて血管内皮細胞を分離、培養、4~6世代の細胞を実験に用いた。1%BSAを含んだDMEMにて48時間pre conditionを行った後、培養上清中にET-1を添加し内皮細胞を3時間刺激した。また、Non-selective ET receptor antagonistであるTAK-044、Selective ETA receptor antagonistであるBQ-485、またSelective ET B receptor antagonistであるBQ-788はET-1 10nMでの刺激30分前に、各濃度の各種receptor antagonist

で前処置を行い効果を検討した。

血管内皮細胞よりRNeasy total RNA Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)を用いてtotal RNAを抽出し、TF、TFPI、PAI-1およびTPAの各mRNA発現量を、それぞれのラットcDNA probeを用いてnorthern blotting法にて検討した。また各mRNA発現量はdensitometryにより定量化し、GAPDH mRNAをコントロールとして補正を行った。

当実験は京都府立医科大学実験動物委員会の承認を得て行った。

C、結果

ET-1によるTF、TFPI、PAI-1、TPAmRNA発現への影響を図-1に示す。ET-1によるTFmRNAの発現量はcontrolに比較して濃度依存性に増加したが、TFPI mRNAの発現量に変化は認めら

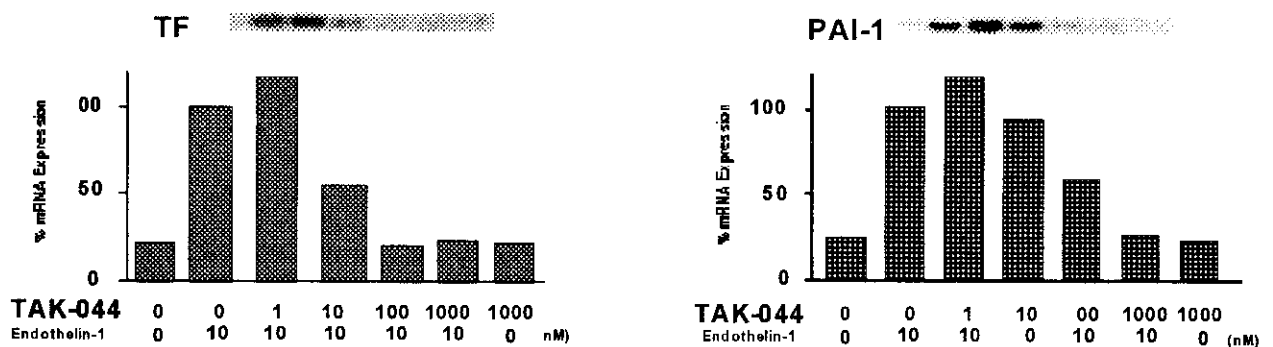


図-2. The effects of ET-1 Non-selective receptor antagonist (TAK-044) on Endothelin-1 induce TF and PAI-1 mRNA expression.

れなかった。

ET-1による PAI-1、TPA mRNA 発現への影響については PAI-1mRNA 発現量は濃度に依存して増加を示し、TPA についてはほぼ変化を認めなかった。ET-1 10nM で刺激した場合の時間経過では TF、PAI-1 mRNA の発現量は、いずれも時間依存性に 2~4 時間をピークに増加し、以後漸減した。以上より、ET-1 は濃度並びに時間依存性に血管内皮細胞における TF・PAI-1mRNA の発現を誘導することが示された。

これらの作用に関与する receptor について、それぞれの receptor antagonist を用いて検討した結果を図-2 に示す。

ET-1 の TFmRNA 発現に及ぼす receptor antagonist の影響は、Non-selective な receptor antagonist である TAK-044 では、10nM 以上において TFmRNA 発現量を有意に抑制したが、selective な ETA receptor antagonist である BQ-485 あるいは、ETB receptor antagonist である BQ-788 の抑制効果は認められなかった。PAI-1mRNA 発現に対しても TF と同様に、TAK-044 は濃度依存性に、PAI-1 mRNA 発現を抑制したが、BQ-485 並びに BQ-788 では抑制効果は認められなかった。

D、考察

今回の実験により血管収縮性物質として存在する ET-1 は血管内皮細胞において組織因子や PAI-1 の産生を誘導することで血管内皮細胞を血栓形成方向へ導いていることが推察された。DIC 患者における血中 ET-1 濃度の上昇が多数報告されており、多臓器不全の発症・進展におけるメカニズムの一つとして ET-1 を介する血液凝固線溶機構が関与しているものと考えられた。

またこれらの反応に対して ETA・ETB 両 receptor に non-selective な ET-1 receptor antagonist のみが抑制し、それぞれに selective な antagonist は効果を示さなかったことにより、ET-1 は ETA・ETB 両 receptor を介して血管内皮細胞に作用し、血栓形成方向に導くものと考えられた。

E、結論

DIC における、血中の ET-1 濃度の上昇は、局所の循環不全のみならず、血管内皮細胞を介した凝固線溶調節機構を血栓形成方向に誘導し多臓器不全の成立、進展に関与する可能性が示唆された。

F、参考文献

1. K.Kusumoto, T. Watanabe et al : Role of Endothelin in Cardiovascular Disease. J. Takeda Res. Lab. 55, 1-52, 1996.
2. H.Nishimura, M. Nakagawa et al : Angiotensin II increases Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Tissue Factor mRNA Expression without Changing that of Tissue Type Plasminogen Activator or Tissue Factor Pathway Inhibitor in Cultured Rat Aortic Endothelial Cells. Thromb Haemost. 77, 1189-1195, 1997
3. H.Asakura et al: Role of Endothelin in Disseminated Intravascular Coagulation. Am. J. Hematol. 41, 71-75, 1992.
4. H.Ishibashi, et al: Endothelin-1 as an Aggravating factor of Disseminated Intravascular Coagulation Associated with Malignant Neoplasms. Cancer, 73, 191-195, 1994.
5. M.Ishibashi, et al: Plasma Endothelin-1 Levels In Patients with Disseminated Intravascular Coagulation. New Engl J Med, 21, 1516-1517, 1991.

動物 DIC モデルの病態比較とエンドセリン受容体拮抗薬の効果

(分担) 研究者：朝倉英策

金沢大学医学部附属病院 高密度無菌治療部

研究要旨

動物 DIC モデルの誘発物質として組織因子 (TF) または lipopolysaccharide (LPS) が、同じ DIC モデルとして区別されることなく使用されてきた。しかし、用いる DIC 誘発物質により病像が異なるのではないかと考え、凝血学的分子マーカーおよび病理学的評価も含め比較検討した。また、DIC の治療法改善の探究を目的に、エンドセリン受容体拮抗薬の効果を検討した。その結果、両モデルは、血中 TAT の上昇度がほぼ同じで凝固活性化は同程度であったが、TF モデルでは、血中 D-dimer が著増した後、速やかに消失したのに対し、LPS モデルでは、D-dimer の上昇は軽度 (PAI は著増) であった。LPS モデルでのみ臓器障害、腎糸球体フィブリン沈着が高度であった。この点、TF モデルは臨床の線溶優位型 DIC に、LPS モデルは凝固優位型 DIC に類似したモデルと思われた。両モデルに対してエンドセリン受容体拮抗薬を投与したところ、LPS モデルに対してのみ臓器障害の改善がみられた。薬効評価にあたってはモデルにより成績が大きく異なることがあることも留意点と思われた。

A. 研究目的

播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation ; DIC) における過剰な凝固活性化は、全ての症例に共通しているものの、基礎疾患によりあるいは症例ごとに DIC の病態は相当異なることが明らかになりつつある。DIC の病態解明、DIC の新規治療薬の可能性の探究を目的として動物 DIC モデルがしばしば用いられるが、この際、DIC 誘発物質として TF および LPS が頻用され、両モデルは同じ DIC モデルということで区別されることなく使用されてきたのが現状である。しかし、臨床 DIC の病態に差異がみられるように、動物モデルにおいても用いる誘発物質により DIC 像が異なるのではないかと考え、各種凝固線溶関連分子マーカー、病理所見を含め比較検討した。

DIC 治療としてヘパリンなどの抗凝固療

法を行っても臓器不全の進展は阻止しえないことが少なくなく、DIC 合併症例の予後の改善のためには、早期診断とともに治療法の改善は急がれる研究課題である。敗血症に合併した DIC において多臓器不全 (MOF) をきたしやすい理由としては、線溶活性化が軽度に留まることの他に、強力な血管収縮作用を有するペプチドである血中エンドセリンが上昇し、重要臓器における微小循環障害が助長されているためではないかとする報告もみられる。そこで我々は、抗凝固療法以外の観点からの治療法改善の探究を目的に、エンドセリン受容体拮抗薬 (TAK-044 ; 以下 TAK) の効果を検討した。

B. 研究方法

(1) ラット DIC model の病態比較の検討
TF 誘発 DIC モデルの作成は、体重 180

～200 g, 6～7週齢のWistar系雄性ラットにおいて尾静脈より留置針を留置し, 4 hr かけTF 3.75 単位/kg/4 hr を持続点滴した。

LPS 誘発 DIC モデルの作成は, 4 hr かけ LPS 30 mg/kg/4 hr または LPS 50 mg/kg/4 hr (TAK の検討に使用) を持続点滴した。

TF 4 hr 持続点滴群, LPS 4 hr 持続点滴群ともに投与開始時間を 0 hr とし 1, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 28 hr 後に, 開腹し腹部大動脈より採血を行った。

検討項目は, 血小板数, プロトロンビン時間 (PT), 血中フィブリノゲン濃度 (Fbg), 血中 D ダイマー (DD), AT Ⅲ, トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体 (TAT), プラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI), 血中アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) および血中クレアチニン (Cr) である。

病理学的検討として, 腎糸球体におけるフィブリン沈着の程度を検討するため, リンタングステン酸ヘマトキシリン染色 (PTAH 染色) を行い, 100 個の糸球体中フィブリン沈着陽性の糸球体の個数を数え, %GFD (percentage of glomerular fibrin deposition) として示した。

(2) DIC モデルに対する TAK の効果

TAK のラット DIC モデルに対する効果を検討した。また, 低分子ヘパリン (LMWH) および TAK を併用した場合の成績と比較検討した。

TAK 2 mg/kg, 10 mg/kg および 50 mg/kg は, TF または LPS 投与開始 30 分前から投与終了時まで尾静脈より持続点滴した。LMWH は, 200 U/kg を生理食塩液に溶解し, TF または LPS 投与開始 30 分前から投与終了時まで尾静脈より持続点滴し

た。採血は TF または LPS 投与終了時に行った。

データは平均値±標準誤差 (mean ± S.E.) で示し, TF または LPS 誘発 DIC model 群と薬物投与を行った DIC 誘発群を Wilcoxon 検定を用いて $P < 0.05$ を有意差有りとした。

C. 研究結果

(1) ラット DIC model の病態比較の検討
各時間ごとの TF モデルと LPS モデルのマーカーを比較すると, 血小板数の低下度および経時的変化, 血中 TAT の上昇度および経時的変化はほぼ同様であった。血中 Fbg の低下については, LPS 群において回復が遅延した。PT の延長については, LPS 群において回復が遅延した。血中 D-dimer については, TF 群において, 投与開始より 1 hr, 3 hr, 4 hr で有意に高値で (TF 群のピークは 4 時間後で, $12.24 \pm 2.07 \mu\text{g/ml}$, LPS 群のピークは 5 時間後で, $2.85 \pm 0.43 \mu\text{g/ml}$; 対照 $0.24 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$), 7 hr, 9 hr, 11 hr で有意に低値であった (ともに $P < 0.01$)。血中 PAI 活性については, TF 群において, 投与開始より 3 hr-11 hr で有意に低値であった (ともに $P < 0.05$) (TF 群のピークは 5 時間後で, $61.8 \pm 13.8 \text{U/ml}$, LPS 群のピークは 9 時間後で, $194.8 \pm 21.5 \text{U/ml}$; 対照 $6.9 \pm 2.5 \text{U/ml}$)。血中 AT Ⅲについては, LPS 群において有意に低活性であり, 回復も遅延した。血中 Cr および ALT 値については, LPS 群において明らかに上昇したのに対して TF 群では正常のまま推移した。腎糸球体におけるフィブリン沈着では, 全ての時間において TF 群において有意に軽度であった (ともに $P < 0.01$)。