

Acknowledgements

We thank Ms. Yumi Yoshida and Ms. Ayuri Nakamura for their technical assistance.

Conflicts of interest

None declared.

References

1. Ruggeri ZM. Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1335–1342.
2. Sugimoto M, Matsui H, Mizuno T, et al. Mural thrombus generation in type 2A and 2B von Willebrand disease under flow conditions. *Blood* 2003; 101: 915–920.
3. Lenting PJ, Pegon JN, Groot E, et al. Regulation of von Willebrand factor-platelet interactions. *Thromb Haemost* 2010; 104: 449–455.
4. Matsui H, Sugimoto M, Mizuno T, et al. Distinct and concerted functions of von Willebrand factor and fibrinogen in mural thrombus growth under high shear flow. *Blood* 2002; 100: 3604–3610.
5. Shida Y, Nishio K, Sugimoto M, et al. Functional imaging of shear-dependent activity of ADAMTS13 in regulating mural thrombus growth under whole blood flow conditions. *Blood* 2008; 111: 1295–1298.
6. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413: 488–494.
7. Fujioka M, Hayakawa K, Mishima K, et al. ADAMTS13 gene deletion aggravates ischemic brain damage: a possible neuroprotective role of ADAMTS13 by ameliorating postischemic hypoperfusion. *Blood* 2010; 115: 1650–1653.
8. Zhao B-Q, Chauhan AK, Canault M, et al. von Willebrand factor-cleaving protease ADAMTS13 reduces ischemic brain injury in experimental stroke. *Blood* 2009; 114: 3329–3334.
9. De Meyer SF, Schwarz T, Deckmyn H, et al. Binding of von Willebrand factor to collagen and glycoprotein 1b alpha, but not to glycoprotein 11b/IIIa, contributes to ischemic stroke in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1949–1951.
10. Banno F, Kokame K, Okuda T, et al. Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2006; 107: 3161–3166.
11. Takeda Y, Uemura S, Iwama H, et al. Treatment with recombinant placental growth factor (PIGF) enhances both angiogenesis and arteriogenesis and improves survival after myocardial infarction. *Circ J* 2009; 73: 1674–1682.
12. Akiyama M, Takeda S, Kokome K, et al. Crystal structures of the noncatalytic domains of ADAMTS13 reveal multiple discontinuous exosites for von Willebrand factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 19274–19279.
13. Kokame K, Nobe Y, Kokubo Y, et al. FRETSS-VWF73. A first fluorogenic substrate for ADAMTS13 assay. *Br J Haematol* 2005; 129: 93–100.
14. De Meyer SF, Savchenko AS, Haas MS, et al. Protective anti-inflammatory effect of ADAMTS13 on myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *Blood* 2012; Epub ahead of print. doi:10.1182/blood-2012-06-439935.
15. Tao Z, Wang Y, Choi H, et al. Cleavage of ultralarge multimers of von Willebrand factor by C-terminal-truncated mutants of ADAMTS-13 under flow. *Blood* 2005; 106: 141–143.
16. Zhang P, Pan W, Rux AH, et al. The cooperative activity between the carboxyl-terminal TSP1 repeats and the CUB domains of ADAMTS13 is crucial for recognition of von Willebrand factor under flow. *Blood* 2007; 110: 1887–1894.
17. Chauhan AK, Kisucka J, Brill A, et al. ADAMTS13: a new link between thrombosis and inflammation. *J Exp Med* 2008; 205: 2065–2074.

トロンボモジュリン-プロテイン C 凝固制御系の新しい細胞保護作用-放射線障害の改善

Pharmacological targeting of the Thrombomodulin-activated protein C pathway mitigates radiation toxicity
Geiger H, et al.: Nat Med 2012, Epub ahead of print (doi: 10. 1038/nm.2813)

トロンボモジュリン (TM)-プロテイン C (PC) 凝固制御系の抗炎症・細胞保護作用が注目されているが、本論文では、この系が放射線による造血器障害を低減することを示した。筆者らはまず、レトロウイルスをマウス造血幹/前駆細胞に感染させてランダムに突然変異を誘発させる方法により、電離放射線による造血器障害に関連する遺伝子を単離した。その結果、従来から注目されていた遺伝子も単離されたが、新たに TM 遺伝子の関与が浮かび上がってきた。レトロウイルスの TM 遺伝子上流領域への挿入により、造血細胞における TM 発現が上昇し、その結果、放射線障害が改善されることが示唆された。筆者らは次に、致死量の放射線を照射したマウスに可溶性の組換え型 TM あるいは活性化プロテイン C (activated PC: APC) を投与したところ、骨髄における造血幹/前駆細胞の再活性化が促進され、また、放射線照射に起因する死亡率が半減することが示された。注目すべきことに、放射線照射の 24 時間後に APC を投与しても、死亡率は著しく低下した。したがって、放射線に起因する組織損傷の改善と死亡率の低減のための新規治療法として、TM 製剤や APC 製剤の有用性が示唆された。他方、これらの製剤による造血細胞保護の分子機序については不明な点が多く残った。

本論文では、トランスジェニック・マウスを用いた解析から、TM による造血系細胞の保護作用は、TM により活性化された APC による作用の寄与が大きいことが推定された。しかし、骨髄中の微小環境のなかで、造血細胞や内皮細胞に発現した内在性 TM による PC の活性化はどのように制御されているのか？ こうした局所で生成した APC は造血幹/前駆細胞の増殖や分化に影響するか？ PC 活性化以外の TM の抗炎症・細胞保護機能の関与は？ などの新たな疑問も浮上してきた。

(鳥取大学大学院医学系研究科 矢倉裕奈, 崇城大学生物生命学部 武谷浩之)

重度高ホモシステイン血症マウスは血栓傾向を示さないというパラドックス

Paradoxical absence of a prothrombotic phenotype in a mouse model of severe hyperhomocysteinemia
Sanjana Dayal, Anil K. Chauhan, Melissa Jensen, Lorie Leo, Cynthia M. Lynch, Frank M. Faraci,
Warren D. Kruger, and Steven R. Lentz
Blood 119, 3176-3183, 2012 (DOI: 10.1182/blood-2011-09-380568)

ホモシステイン (Hcy) の血中濃度は通常 5-15 μM であるが、軽度~中度高 Hcy 血症 (一般人口の 5~7%) では 15-50 μM , 重度では 100 μM を超える。多くの疫学的研究から、高 Hcy 血症は心筋梗塞や脳卒中、静脈血栓など血栓性疾患の危険因子であると信じられている。一方、中度高 Hcy 血症患者の血中 Hcy 濃度はビタミン B 摂取によって低下するが血栓症は改善されないという臨床試験結果や、重度高 Hcy 血症患者の血栓症はビタミン B/葉酸摂取およびメチオニン摂取制限によって改善するが Hcy 濃度はそれほど低下していないというパラドックスが存在する。これまで実験モデルとして利用されていた Hcy 代謝関連酵素欠損マウスや高メチオニン/低葉酸食マウス・サルでは、発生・発育に対する影響や Hcy 以外の代謝物の影響が無視できなかった。そこで本論文では、給水中の亜鉛イオンで任意に発現調節できるヒト cystathionine β -synthase (CBS) 遺伝子を CBS 欠損マウスに導入し、通常食のまま重度高 Hcy 血症を誘導した。このマウスでは、期待通り、アセチルコリン依存性の血管拡張能が低下しており、内皮障害が生じていた。ところが、頸動脈の光化学傷害モデル、塩化鉄傷害モデル、下大静脈の結紮モデルでは、血栓傾向を全く示さなかった。血圧や血流、血管壁厚、内径の測定、血液学的検査等の結果も、対照マウスと差が無かった。つまり、血中 Hcy 濃度の上昇で血管内皮の機能障害は起こるものの、それだけでは血栓形成を促進しないという結論である。高 Hcy 血症と血栓症の因果関係を巡る研究は振り出しに戻った感もあるが、本論文は、冒頭に記述したパラドックスがマウスでも成り立つことを示した。Hcy 代謝に関連する別の因子が血栓症に寄与するのかもしれないし、そもそもマウスではヒトの現象を再現できないのかもしれない。高 Hcy 血症は血栓症の危険因子か指標かという問いに対する正答を知るには、今後の研究を待たなければならない。

(国立循環器病研究センター分子病態部 小亀浩市)

<原 著>

脳卒中診療医における観血的処置時の抗血栓薬の 休薬に関する多施設アンケート調査結果

田中 智貴¹⁾ 神吉 秀明¹⁾ 山本 晴子²⁾
豊田 一則³⁾ 宮田 敏行⁴⁾ 長東 一行¹⁾

要旨：【背景及び目的】観血的処置に際しての抗血栓薬の休薬についての問題は、近年エビデンスの蓄積により一定のコンセンサスを得られるようになってきている。しかし、抗血栓療法は新薬の登場や併用療法等、さらに複雑化の様相を呈している。今回我々は脳卒中診療に従事する医師にアンケートを取ることで現状の把握と問題点について検討した。【方法】2010年1～2月にかけて12施設にアンケートを依頼した。対象は180人であり、様々な背景を設定した症例に対して観血的処置をすると想定した場合の抗血栓薬の休薬について質問を行った。また、抗血栓薬中断に関するガイドライン利用の有無、抗血栓薬中断時の脳梗塞発症経験の有無についても質問を行った。【結果】抜歯、白内障手術においては、抗血小板薬の内服を継続するとの回答が多く得られたが(75～90%)、内視鏡処置では処置のリスクや脳梗塞再発リスクにより回答が分かれた。ワルファリン服用時の休薬に関しても同様の結果であった。休薬時にヘパリンに置換するかどうかについては、心房細動時に選択する回答は多くみられたが(53～77%)、症候性頸動脈狭窄においてはヘパリン置換を選択する回答は少なかった(37%)。さらには、抗血栓薬2剤併用時の対応についての回答はばらつきがみられた。また、様々な基礎疾患において抗血栓薬休薬中に実際血栓症の発症を経験したことがあるかどうかについては、頸動脈狭窄、頭蓋内動脈狭窄いずれにおいても有意に症候性の症例で多くの脳梗塞の発症経験があり、ワルファリンについても、奇異性脳塞栓症や発作性心房細動に比べ、弁膜性、非弁膜性心房細動でより脳梗塞を経験しているとの回答が得られた($p < 0.01$)。【結論】抜歯、白内障手術については、多くの医師が抗血栓療法を継続すると回答し、ガイドラインが普及しつつあると考えられた。一方、内視鏡処置時の対応、休薬中のヘパリンの使用、抗血小板薬の多剤併用時等に関する対応についてはエビデンスが乏しく、一定のコンセンサスが得られていないのが現状であり、今後の課題と考えられる。

Key words: discontinuation, antithrombotic agents, dental extraction, cataract, endoscopic procedures

(脳卒中 34: 147-155, 2012)

はじめに

脳梗塞を始め多くの血栓症や塞栓症の予防を目的として抗血栓療法が行われているが、近年様々な新薬の登場によって、さらに高度化、多様化の様相を呈している。そういった中、抗血栓療法中に観血的な処置が必要となった場合、抗血栓療法についてど

¹⁾ 国立循環器病研究センター脳血管部門脳神経内科

²⁾ 同 先進医療・治験推進部

³⁾ 同 脳血管部門脳血管内科

⁴⁾ 同 分子病態部

(2011年12月12日受付, 2012年1月14日受理)

Table 1 内視鏡処置の分類

低リスク処置	高リスク処置
生検, 粘膜凝固	粘膜切除術 (EMR, ESD)
マーキング	ポリペクトミー, EST, PEG
クリッピング	超音波ガイド下穿刺
消化管, 痔, 胆道ステント	消化管ブジー拡張
	胃食道静脈瘤治療

EMR: endoscopic mucosal resection, ESD: endoscopic submucosal dissection, EST: endoscopic sphincterotomy, PEG: percutaneous endoscopic gastrostomy
内視鏡治療時の抗凝固薬, 抗血小板薬使用に関する指針³⁾より

う対応したらいいかという問題が常に生じることとなる。2004年, 日本循環器学会より「循環器疾患における抗凝固・抗血小板療法に関するガイドライン」¹⁾が発表されており, 2009年には脳卒中学会からの「脳卒中治療ガイドライン2009」²⁾において2004年版にはなかった抗血栓薬使用中の観血的処置における休薬についての項目が新たに記載された。

今回我々は脳卒中診療に従事する医師にアンケートを取ることで, 2006年に行われた同様のアンケート調査と対比し, 抗血栓薬の休薬についての現状の把握と問題点について検討したので報告する。

対象・方法

「複雑化する脳・心血管疾患病態における適切な抗血栓治療の開拓(循環器病研究委託費21指-10)」*注)に参加し, 急性期脳卒中診療を行っている12施設(荏原病院, 大阪医療センター, 大阪大学, 岡山医療センター, 九州医療センター, 京都第二赤十字病院, 広南病院, 神戸市立医療センター中央市民病院, 国立循環器病研究センター, 東京女子医科大学, 中村記念病院, 星ヶ丘厚生年金病院, 50音順)で脳卒中診療に従事している医師に対し, 2010年1月から2月にアンケートを依頼した。

アンケートでは観血的処置を抜歯, 白内障手術, 内視鏡処置(低リスク・高リスク: 日本消化器内視鏡学会リスクマネージメント委員会による内視鏡治療時の抗凝固薬, 抗血小板薬使用に関する指針³⁾)に準じて分類した。それぞれの処置についてはTable 1に示す)に分けて, Fig. 1に示すように症例の背景を症候性・無症候性頸動脈狭窄, 症候性・無症候性頭蓋内主幹動脈狭窄, ラクナ梗塞, 頸動脈ステント留置, 弁膜性・非弁膜性心房細動, 発作性心房細動, 機械

弁置換術後, 奇異性脳塞栓症に分けて想定し, 抗血栓薬の休薬についてそれぞれ質問を行った。また, 抗血小板薬の実際の休薬期間, 自施設での休薬の基準があるかどうかについて質問した。さらに, 様々な基礎疾患の抗血栓療法中断中に脳梗塞再発の経験がどのような基礎疾患であるか, どの処置の際の休薬中に塞栓症の経験をしたことがあるかについて調査した。連続数については平均値±標準偏差で表し, 比較にはカイ2乗検定を用いて行った。

*注)循環器病研究委託費21指-10「複雑化する脳・心血管疾患病態における適切な抗血栓治療の開拓」は, 国立循環器病センターの独法化により1年で終了し, 平成22年度循環器病研究開発費21-1-1「血栓症発症抑制を目的とした抗血小板薬の薬効評価法ならびに血栓症を高頻度に合併する疾患群の最適診断法を目指した病院・研究所共同研究」に引き継がれている。

結 果

アンケート調査では12施設, 180人の医師より回答を得ることができた。そのうち, 常勤医は121人, レジデントは58人(未回答1人)であり, 科別にみると脳外科医は62人, 神経内科または脳血管内科医は113人(残り5人は未回答)という内訳であった。脳卒中診療歴は平均11.3±8.8年であった。

まず, 無症候性, 症候性頸動脈狭窄例に対するアスピリン単剤使用時の休薬については, 抜歯, 白内障においてはいずれも多くは回答がアスピリン継続を指示する結果となった(75~90%, Table 2)。内視鏡処置については, 高リスク処置では休薬を選択する回答が多くみられたが(52~77%), 低リスク処置においてはガイドラインと異なり, 無症候性, 症候

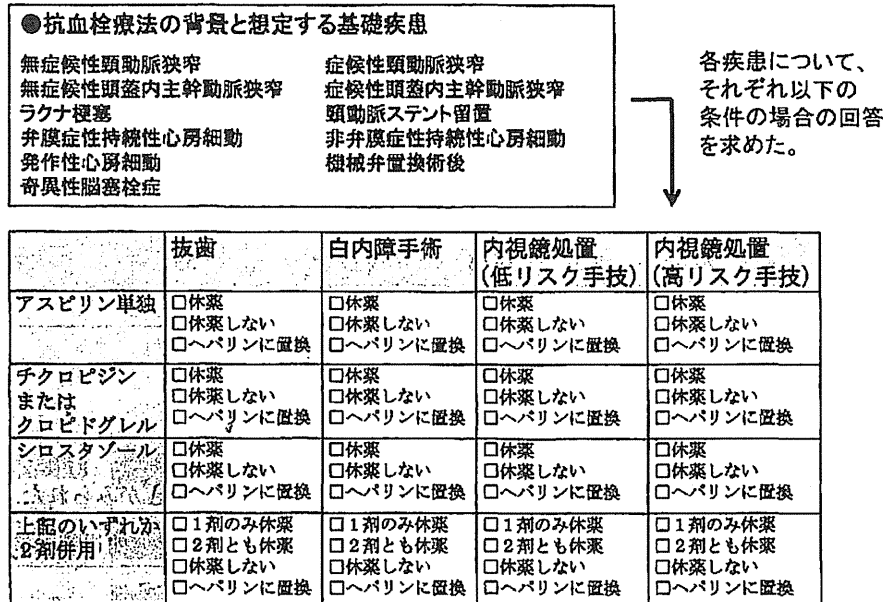


Fig. 1 抗血栓療法の休薬についてのアンケート調査について

Table 2 無症候性、症候性頸動脈狭窄症に対するアスピリン単剤の休薬について (n=180)
無症候性、症候性内頸動脈狭窄症例ともに抜歯、白内障はアスピリン内服継続の回答が多くみられた。

	無症候性				症候性			
	抜歯	白内障	内視鏡処置		抜歯	白内障	内視鏡処置	
			低リスク	高リスク			低リスク	高リスク
内服継続	85	75	35	5	90	81	44	7
休薬	14	21	55	77	9	14	37	52
ヘパリンに置換	0	2	8	17	1	3	17	37
その他、未回答	1	2	2	1	0	2	2	4

(%)

性いずれにおいても内服継続を選択するとの回答が多くみられた(35~44%)。また、血栓症の高リスク群と考えられる症候性頸動脈狭窄例において、内視鏡処置時の休薬中にヘパリン置換を選択する回答は少なかった(17~37%)。無症候性、症候性の間での結果には有意な違いはみられなかった。

次に、非弁膜性心房細動例に対するワルファリンの休薬については、抜歯、白内障手術においては、頸動脈狭窄例と同様ワルファリン内服継続を選択する回答が多く得られた(73~82%, Table 3)。内視鏡処置については、ヘパリン置換を選択する例は低リスク処置(180人中95人, 53%)、高リスク処置(180人中139人, 77%)のいずれとも症候性頸動脈狭窄例に比べ多くみられた(低リスク処置: 180人中31人,

17%, 高リスク処置: 180人中67人, 37%)。

続いて、症候性頸動脈狭窄例に対する抗血小板薬2剤併用時の休薬について質問を行った。抜歯、白内障処置については66~67%が内服継続を支持する結果となったが、内視鏡処置、特に低リスク処置については回答にかなりばらつきがみられた(Table 4)。

内視鏡処置における各抗血小板薬の休薬期間についてはTable 5 (*日本消化器内視鏡学会ガイドライン³⁾、日本循環器病学会ガイドライン¹⁾、日本脳卒中学会ガイドライン²⁾推奨期間を付記する)のような結果となった。また、自施設で抗血栓薬の休薬の基準があるかどうかの質問については「ある」と回答したのが抜歯で18%、白内障で14%、内視鏡で22%であり、大半が基準なし、もしくは不明との回答であった

Table 3 非弁膜性心房細動に対するワーファリンの休薬について (n=180)
抗血小板薬と同様, ワーファリンについても抜歯, 白内障では内服継続の回答が多くみられた.

	抜歯	白内障	内視鏡処置	
			低リスク	高リスク
内服継続	82	73	26	0
休薬	10	11	20	21
ヘパリンに置換	7	15	53	77
その他, 未回答	1	1	1	2

(%)

Table 4 症候性頸動脈狭窄症における抗血小板薬2剤併用時の休薬について (n=180)
抗血小板薬2剤併用については, 特に内視鏡処置において回答にばらつきがみられた.

	抜歯	白内障	内視鏡処置	
			低リスク	高リスク
内服継続	67	66	29	3
1 剤のみ休薬	18	16	20	12
2 剤とも休薬	12	10	27	40
ヘパリンに置換	1	5	21	42
その他, 未回答	2	3	3	3

(%)

Table 5 内視鏡処置における抗血栓薬の休薬期間について
抗血栓薬の休薬期間についてはガイドラインごとにも推奨日数が異なっており, 回答にもばらつきがみられた.

		今回の アンケート結果 中央値(四分位範囲)	消化器内視鏡 ガイドライン 推奨期間	循環器病 ガイドライン 推奨期間	脳卒中 ガイドライン 推奨期間
アスピリン	低リスク	7 (3-7) 日	3 日	3 日	3 日
	高リスク	7 (7-7) 日	* リスクでの 区別なし	7 日	7 日
クロピドグレル or チクロピジン	低リスク	7 (3-7) 日	5 日	5 日	5 日
	高リスク	7 (7-10) 日	* リスクでの 区別なし	10-14 日	10-14 日 *クロピドグレルは 14 日
シロスタゾール	低リスク	3 (2-4.5) 日	* 記載なし	3 日	2 日
	高リスク	3 (3-7) 日		* リスクでの 区別なし	3 日
ワルファリン	低リスク	3 (3-5) 日	3-4 日	3-4 日	3-5 日
	高リスク	5 (3-7) 日	* リスクでの 区別なし	* リスクでの 区別なし	* リスクでの 区別なし

* 有効回答数 : アスピリン : n=165, クロピドグレル or チクロピジン : n=163, シロスタゾール : n=162, ワルファリン : n=162

Table 6 施設での休薬基準があるかどうかについて (n=180)
施設ごとに休薬の基準が決まっている施設は少なく、不明との回答も多かった。

	抜歯	白内障	内視鏡処置
基準あり	18	14	22
基準なし	41	45	38
不明	39	39	38
未回答	2	2	2

(%)

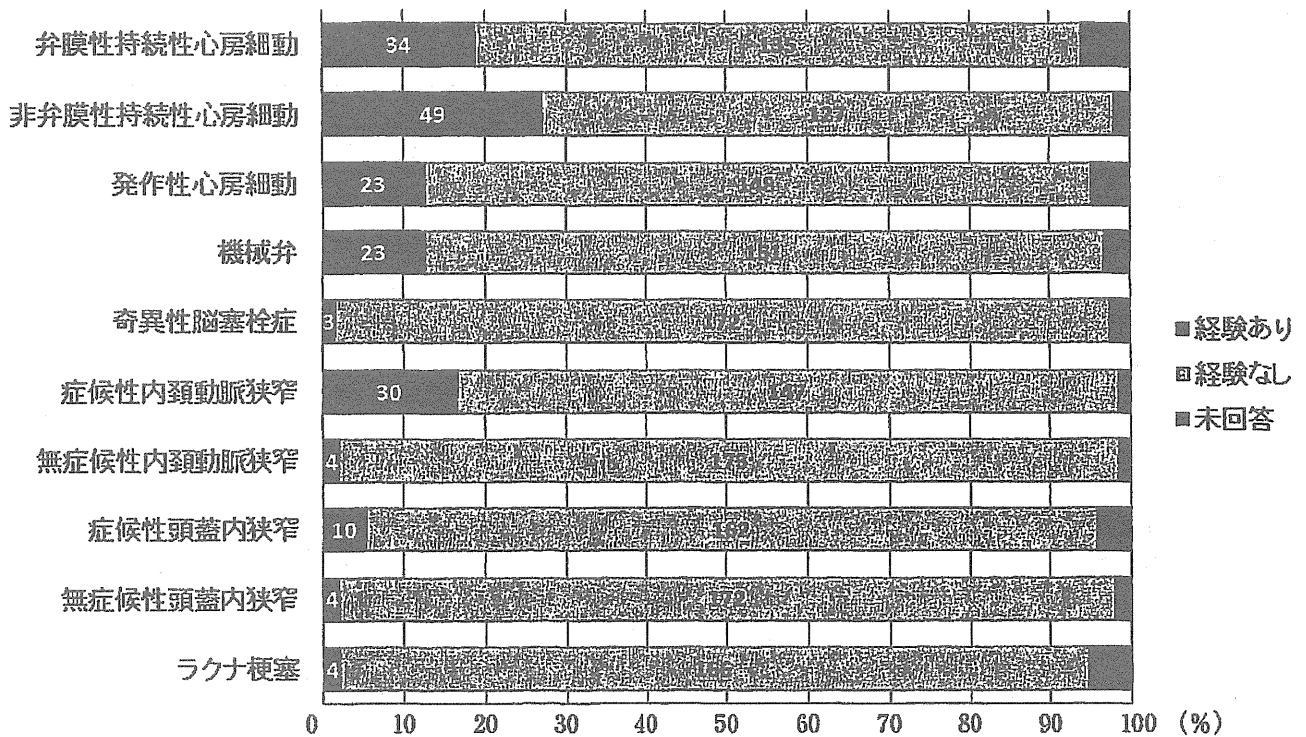


Fig. 2 実際の休薬中に脳梗塞の経験があるかどうかについて (n=180)

症候性内頸動脈狭窄例、心房細動例、機械弁例において休薬中の脳梗塞の経験があるとの回答が多く、特にその中でも症候性内頸動脈狭窄例、持続性心房細動例において発症経験があるとの回答が多かった。

(Table 6).

次に、様々な基礎疾患において抗血栓薬休薬中に、実際に血栓症の発症を経験したことがあるかどうかについて質問したところ、頸動脈狭窄、頭蓋内動脈狭窄例いずれにおいても、無症候性に比べて症候性の症例で血栓症の発症経験があるとの回答が多く得られた(経験あり：症候性6~17%，無症候性2%， $p < 0.01$, Fig. 2)。また、ワルファリンを使用する基礎疾患群においては抗血小板薬使用群に比べ、さらに休薬中の脳梗塞発症経験が多く、その中でも心房細

動においては発作性心房細動や奇異性脳塞栓症に比べ、非弁膜性、弁膜性持続性心房細動例で多くの血栓症を経験しているとの回答が多く得られた(経験あり：発作性13%，奇異性2%，非弁膜性27%，弁膜性19%， $p < 0.01$, Fig. 2)。その中で、休薬中の脳梗塞発症を経験したとの回答の最も多く得られた非弁膜性持続性心房細動例(180人中49人、27%)において、塞栓症を経験したことがある医師に、どの処置中に塞栓症を経験したことがあるかについて質問したところ、内視鏡処置で起こしたとの回答が最も多

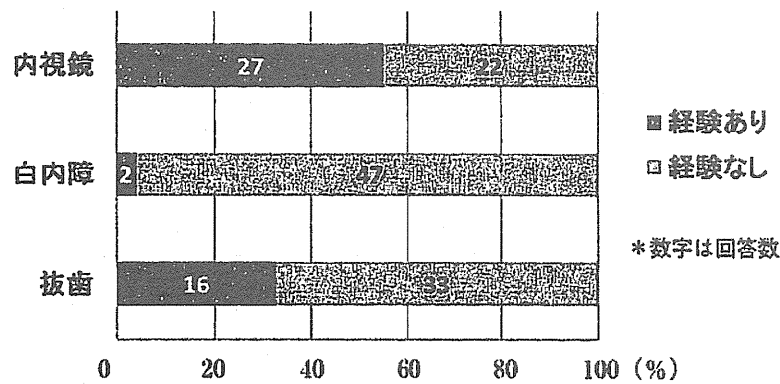


Fig. 3 どの処置で休薬中に塞栓症を経験したことがあるか (NVAF 例で塞栓症を経験した 49 人中, 複数回答可)
休薬中に脳梗塞発症を経験したとの回答が最も多かった非弁膜性持続性心房細動例(180 人中 49 人)においてどの処置中に塞栓症を発症した。

く得られた(49 人中 27 人, 55%, Fig. 3).

考 察

脳卒中診療に従事していると我々はしばしば, 抗血栓薬の休薬中の脳梗塞の発症に遭遇する。Maulaz らは, アスピリンを服用している脳梗塞患者 309 例で 4 週間服薬を中断したところ, 13 例で脳梗塞を発症し(服薬継続例では 309 例中 4 例), 休薬による脳梗塞/TIA 発症のオッズ比は 3.4 と報告している⁴⁾。また, アメリカの学会からのステント留置患者の抗血小板療法の勧告では, 抗血小板薬の中断により 29% で血栓が発症するとされており⁵⁾。抗血栓薬の休薬については慎重な対応が要求される。我々のアンケート結果においても, 血栓症のハイリスク群と考えられる症候性頸動脈狭窄, 頭蓋内動脈狭窄, 非弁膜性心房細動, 弁膜性心房細動においては有意に血栓症の経験が多いとの回答が得られた。

今回のアンケート調査により, 抜歯, 白内障処置における休薬の対応については一定のコンセンサスを得られている結果であったが, 内視鏡処置については回答に相違がみられた。以下, 抜歯, 白内障, 内視鏡処置それぞれにおいて, 現在の現状と問題点について考察する。

1. 抜歯と白内障

抜歯においてはアスピリン 100~325 mg 継続群と中断群の比較観察研究では, 継続群で出血時間の延長と血小板凝集能の抑制は認められるものの, 術後出血はみられないという報告があり⁶⁻⁸⁾, 本邦からの

報告でも抗血小板薬の継続投与下に抜歯した場合, 術後出血は 0~2% で発生したが, 重篤なものではなく, 局所止血で処置が可能であったとされている⁹⁾。

抜歯をする場合には原則として「科学的根拠に基づく抗血栓療法患者の抜歯に関するガイドライン 2010 年版」¹⁰⁾において抗血小板服用患者では, 抗血小板薬を継続して抜歯を行っても, 重篤な出血性合併症を発症する危険性は少ない(エビデンスレベル II)。また, 十分に局所止血処置を行うことが推奨される(エビデンスレベル VI)とされ, 推奨グレード B となっている。また, ワルファリン服薬に関しても, 実際に我が国で行われた複数の観察研究において INR 3.0 以下であれば休薬せずに安全に抜歯が可能との報告があり^{11, 12)}, 至適治療域に INR をコントロールした上でのワルファリン内服継続下の抜歯は可能とされている。

また, 白内障手術については Katz らの報告では約 2 万例の白内障手術例において, 24.2% が抗血小板薬を, 4% が抗凝固薬を服用していたが, 休薬の有無にかかわらず, 出血頻度は低く, 継続群と休薬群に差は認めなかった¹³⁾。その後も, 白内障手術は技術革新により, 侵襲や出血リスクはさらに低下していると考えられており, 原則抗血栓療法の継続下にて施行されている。

今回の我々のアンケート結果においても多くの医師が内服継続を支持する結果であり, 2006 年に矢坂らが報告した結果¹⁴⁾(アスピリンにおいては抜歯で 69%, 白内障で 57%, ワルファリンにおいては抜歯

で58%、白内障で48%が内服継続と回答)と比べても有意に内服継続を支持する回答が得られており($p<0.01$)、より一定のコンセンサスが得られてきていることがわかる。

ただ、白内障に関しては、現在日本でのガイドラインへの記載等はない。さらなる周知のためにはガイドラインの作成や学会間での連携が必要であると思われる。

2. 内視鏡処置

現在、心血管・脳血管イベントの予防における抗血栓薬のエビデンスの蓄積に伴い、抗血栓薬を服用している患者は漸増傾向にあり、消化管内視鏡検査を受ける患者の約15%が抗血栓薬を服用していると報告されている¹⁵⁾。日本消化器内視鏡学会による「消化器内視鏡ガイドライン第3版」³⁾によると抗血小板薬は、アスピリンは3日、チクロピジン³⁾は5日、両者併用の場合は7日間の休薬が推奨されており、低リスク処置の場合にはさらに短くてよい場合もあるとされている。また、抗凝固療法は内視鏡処置の危険度に関係なく、3~4日間中止することが推奨され、高リスク処置の場合はINRが1.5以下であることを確認して行うこととなっている。抗血小板薬休薬の根拠としては、健常男性11人にアスピリン、チクロピジン、両薬併用を1週間継続投与し検討したところ、内服前と有意差がなくなり出血傾向が消失するのは、アスピリンで休薬3日後、チクロピジンで5日後、併用時では7日後であったことによる¹⁶⁾。しかしながら、推奨休薬期間の根拠としてはこの論文しかなく、ガイドラインそのものの臨床的な妥当性については十分検討されておらず、Table 5にあるように各学会のガイドラインでも統一した推奨期間が定まっていないのが現状である。また、欧米においては、内視鏡による生検処置において抗血小板薬の出血リスクは少なく、休薬の必要はないとされている¹⁷⁾。しかし、日本人においてはアスピリン服用患者において、生検後出血時間が延長することが報告されており、人種による相違がある可能性が考えられている¹⁸⁾。よって、本邦では休薬せずに生検するコンセンサスが得られておらず、施設によっても一定していない。今回のアンケート調査でも2006年の矢坂らのアンケート結果¹⁴⁾(57%が中止、17%が継続を選択)に比べ、むしろ生検時の抗血栓薬の継続を選択した回答(35~44%が継続を選択)が多くみられており、現場での混乱を来していると考えられる。

さらには、クロピドグレルやダビガトランといった新しい抗血栓薬、抗血栓薬多剤併用時についての対応や、実際どういった症例で血栓のリスクが高いと考え、ヘパリンの置換を行った方がいいのか、ヘパリンにより血栓症の発症が本当に抑制されるのかなどについても臨床的な裏付けがない。我々のアンケート調査でも内視鏡処置については脳卒中診療医においても内視鏡の高リスク処置、低リスク処置、基礎疾患におけるヘパリンの使用等についての一定の見解は得られていないことが明らかとなった。欧米とのガイドラインの相違、基礎疾患のリスクと処置のリスクについての理解など様々な問題があり、それらの整合性を示す日本でのエビデンスは乏しいため、今後さらなるデータの蓄積が必要と考えられる。

多くの抗血栓薬が新たに開発され、実際に臨床の現場に導入され、抗血栓療法はさらなる複雑化の様相を呈している。今後、抗血栓療法の休薬についての対応について異なった専門を持った医師同士の連携、各学会の合同で統一したガイドラインの確立、ガイドライン周知がさらに必要となると考えられる。

結 論

以前に比べ、白内障、抜歯時の休薬に関する知識は周知されつつあり一定のコンセンサスを得られるようになってきている。しかし、内視鏡処置における休薬については、処置のリスクごとに層別化した休薬の方法、休薬期間、休薬中のヘパリンの使用、抗血小板薬の多剤併用時の休薬方法、新たな抗血栓薬などについての対応などの回答にかなりのばらつきがみられた。これらに関してはエビデンスが未だ乏しく、各学会におけるガイドライン、欧米との違いもあり、コンセンサスが得られていないのが現状であり、今後の課題と考えられる。

謝 辞

本アンケート調査に御協力頂いた病院の医師の皆様へ深く感謝申し上げます。また、本研究は「複雑化する脳・心血管疾患病態における適切な抗血栓治療の開拓(循環器病研究委託費21指-10)」の研究助成金および平成22年度循環器病研究開発費21-1-1「血栓症発症抑制を目的とした抗血小板薬の薬効評価法ならびに血栓症を高頻度に合併する疾患群の最適診断法を目指した病院・研究所共同研究」によって助成された。

参考文献

- 1) 堀 正二, 池田康夫, 石丸 新ら: 循環器疾患における抗凝固・抗血小板療法に関するガイドライン (2009年改訂版).
- 2) 篠原幸人, 小川 彰, 鈴木則宏ら: 脳卒中治療ガイドライン 2009. 協和企画
- 3) 小越和栄, 金子榮藏, 多田正大ら: 内視鏡治療時の抗凝固薬, 抗血小板薬使用に関する指針. *Gastroenterol Endosc* 47: 2691-2695, 2005
- 4) Maulaz AB, Bezerra DC, Michel P, et al: Effect of discontinuing aspirin therapy on the risk of brain ischemic stroke. *Arch Neurol* 62: 1217-1220, 2005
- 5) Grines CL, Bonow RO, Casey DE Jr, et al: Prevention of premature discontinuation of dual antiplatelet therapy in patients with coronary artery stents: a science advisory from the American Heart Association, American College of Cardiology, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, American College of Surgeons, and American Dental Association, with representation from the American College of Physicians. *Catheter Cardiovasc Interv* 69: 334-340, 2007
- 6) Brennan MT, Valerin MA, Noll JL, et al: Aspirin use and post-operative bleeding from dental extractions. *J Dent Res* 87: 740-744, 2008
- 7) Krishnan B, Shenoy NA, Alexander M: Exodontia and antiplatelet therapy. *J Oral Maxillofac Surg* 66: 2063-2066, 2008
- 8) Partridge CG, Campbell JH, Alvarado F: The effect of platelet-altering medications on bleeding from minor oral surgery procedures. *J Oral Maxillofac Surg* 66: 93-97, 2008
- 9) Morimoto Y, Niwa H, Hanatani A, et al: Hemostatic management during oral surgery in patients with a left-ventricular assist system undergoing high-level anticoagulant therapy: efficacy of low molecular weight heparin. *J Oral Maxillofac Surg* 66: 568-571, 2008
- 10) 日本有病者歯科医療学会 編. 科学的根拠に基づく抗血栓療法患者の抜歯に関するガイドライン 2010年版. 東京, 楳谷書店
- 11) 森本佳成, 丹羽 均, 米田卓平ら: 抗血栓療法施行患者の抜歯における出血管理に関する検討. *日口腔学会誌* 53: 74-80, 2004
- 12) 牧浦倫子, 矢坂正弘, 峰松一夫: 抗凝固療法中患者の抜歯時の出血管理. *脳卒中* 27: 424-427, 2005
- 13) Katz J, Feldman MA, Bass EB, et al: Risks and benefits of anticoagulant and antiplatelet medication use before cataract surgery. *Ophthalmology* 110: 1784-1788, 2003
- 14) 矢坂正弘, 岡田 靖, 井上 亨ら: 観血的な医学的処置時の抗血栓療法の管理に関する研究-全国アンケート調査結果. *BRAIN and NERVE* 59: 871-876, 2007
- 15) Ono S, Fujishiro M, Hirano K, et al: Retrospective analysis on the management of anticoagulants and antiplatelet agents for scheduled endoscopy. *J Gastroenterol* 44: 1185-1189, 2009
- 16) Komatsu T, Tamai Y, Takami H, et al: Study for determination of the optimal cessation period of therapy with antiplatelet agents prior to invasive endoscopic procedures. *J Gastroenterol* 40: 698-707, 2005
- 17) Eisen GM, Baron TH, Dominitz JA, et al: Guideline on the management of anticoagulation and antiplatelet therapy for endoscopic procedures. *Gastrointest Endosc* 55: 775-779, 2002
- 18) Goto S: Are Japanese patients more prone to gastro-duodenal mucosal injury and bleeding with the use of antiplatelet agents? *Thromb Res* 120: 463-464, 2007

Abstract**Questionnaire survey on Japanese stroke specialists regarding discontinuation of antithrombotic agents for invasive surgical procedures**

Tomotaka Tanaka, M.D.,¹⁾ Hideaki Kanki, M.D.,¹⁾ Haruko Yamamoto, M.D.,²⁾
Kazunori Toyoda, M.D.,³⁾ Toshiyuki Miyata, Ph.D.,⁴⁾ and Kazuyuki Nagatsuka, M.D.¹⁾

¹⁾ Department of Neurology, National Cerebral and Cardiovascular Center

²⁾ Department of Advanced Medical Technology Development Research & Development Initiative Center,
National Cerebral and Cardiovascular Center

³⁾ Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center

⁴⁾ Department of Molecular Pathogenesis Research Institute, National Cerebral and Cardiovascular Center

Background and purpose: Antithrombotic agents, such as aspirin and warfarin, are recognized as having preventive effects against cerebral and cardiovascular events in patients with atherothrombotic disease. However, antithrombotic agents are known to increase the risk of bleeding in patients undergoing invasive surgical procedures. Therefore, we conducted a questionnaire survey to examine the current state and issues regarding the discontinuation of antithrombotic agents for invasive surgical procedures in Japan.

Methods: A questionnaire containing items on the management of antithrombotic therapy for the invasive surgical procedures including dental extraction, cataract surgery, and endoscopic procedures was conducted on stroke specialists in 12 institutions in Japan in January and February 2010.

Results: Responses were obtained from 180 stroke specialists. Dental extraction and cataract surgery were performed under the continuation of aspirin or warfarin therapy by 75% and 90% of respondents, respectively. For endoscopic procedures, especially low-risk procedures, 35–45% of respondents indicated that they performed the procedures under the continuation of antithrombotic agents, which goes against the established guidelines. Stroke due to transient withdrawal of antithrombotic agents occurred significantly more frequently in patients with symptomatic carotid stenosis or chronic atrial fibrillation than with asymptomatic carotid stenosis or paroxysmal atrial fibrillation ($p < 0.01$).

Conclusions: The majority of respondents performed dental extraction and cataract surgery under antithrombotic therapy. However, as many respondents do not follow the guidelines for endoscopic procedures, there is no consensus on the correct procedures.

Key words: discontinuation, antithrombotic agents, dental extraction, cataract, endoscopic procedures

(Jpn J Stroke 34: 147–155, 2012)

《モニタリング》

2 遺伝子多型と抗凝固・抗血小板薬

宮田 敏行*

ポイント

- ワルファリンの投与量は VKORC1 と CYP2C9 の遺伝型に影響を受ける。
- 少量のワルファリンでコントロールされる遺伝型をホモ体で保持すると、きわめて少量の維持量でコントロールできる場合がある。
- クロピドグレルは2段階の酵素反応により活性化体に変換され ADP 受容体のアンタゴニスト機能を発揮する。
- CYP2C19 の機能消失変異保有者はイベント再発率が高いとの報告が多い。



キーワード ワルファリン, クロピドグレル, 遺伝子多型, ビタミンK拮抗薬, ADP受容体阻害薬

*国立循環器病研究センター研究所 分子病態部

●ワルファリンの作用メカニズム

経口抗凝固薬であるワルファリンの作用機序は以下に記すように考えられる。凝固因子であるⅡ, Ⅶ, Ⅸ, Xおよび凝固制御因子であるプロテインC, S, Zは、N末端約50残基中にある8残基程度のGlu残基がカルボキシル化され、凝固能を発揮する。このカルボキシル化は還元型ビタミンKを要求し、カルボキシル化によりビタミンKはエポキシド型に変換される。エポキシド型ビタミンKはビタミンKエポキシド還元酵素(VKORC1)により還元型に戻り、再度この反応に用いられる。ワルファリンはVKORC1の活性を阻害し、これによりビタミンKが再生できなくなり、その結果として、プロトロンビンをはじめとする凝固因子のGlu残基のカルボキシル化が阻害され、凝固能が低下する。これがワルファリンの作用点である。

●ワルファリンの作用に影響を与える遺伝子多型

ワルファリンの標的酵素はVKORC1である。また、ワルファリンは肝ミクロソームに存在するP450で分解されるが、なかでもCYP2C9の寄与が大きいとされる。この2つの遺伝子に存在する多型がワルファリンの投与量の個人差の40%程度を説明するとされる¹⁾。

VKORC1がクローニングされるや否や、わが国を含め各国から、本酵素の遺伝子多型とワルファリン投与量の関連が報告された。VKORC1の遺伝子多型は複数の1塩基多型がハプロタイプを構成しており、日本人を含めた東アジア人はハプロタイプH1が約90%を占める(表1)²⁾。このH1および日本人にはみられないH2は、VKORC1の肝でのmRNAの発現量が低いことが示されている²⁾。これらH1・H2ハプロタイプ保有者は低用量のワルファリンでコントロールされるので、VKORC1の発現量が少ないこととうまく説明される。一方、ハプロタイプH7は東ア

表 1 VKORC1 のハプロタイプ頻度

ハプロタイプ	頻度 (%)			
	欧米人*	アジア人*	日本人	
H1	12	89	91	低用量ワルファリンで コントロールされる
H2	26	0	0	
H7	21	10	9	
H8	14	0	0	高用量ワルファリンで コントロールされる
H9	24	0	0	
他のハプロタイプ	4	1	0	

H1, H2 保有者の肝 VKORC1 mRNA 発現量は低く, H7, 8, 9 保有者の発現量は高い。

(*Rieder MJ, et al. : N Engl J Med 352 : 2285-2293, 2005²⁾より引用)

アジア人で約 10% を占め, H7, H8, H9 などハプロタイプ VKORC1 mRNA の発現量が高く, したがってこれらのハプロタイプ保有者は高用量のワルファリンを要求する。表 1 に示すように, 日本人を含めた東アジア人と白人の間には, ハプロタイプの頻度に大きな違いが認められる。この頻度の違いが, 日本人は白人に比べ低用量のワルファリンでコントロールされることをうまく説明する。

一方, ワルファリンを分解する CYP2C9 には酵素活性を消失する変異として, CYP2C9*2 と CYP2C9*3 が知られ, 変異アレル保有者はワルファリンの分解能が低下しているため, 低用量のワルファリンでコントロールされる¹⁾。白人は両変異を持ち, 野生型アレルをホモとして有する頻度は 60~70% である。一方, 日本人では 90% 以上の人々が野生型アレルのホモ体であり, CYP2C9*2 はみられず, CYP2C9*3 が約 7% の頻度で見られる。日本人には頻度が低いといえども, CYP2C9*3 ホモ体が見られる。CYP2C9*3 ホモ体, かつ VKORC1 の H1 ハプロタイプホモ体, すなわち, CYP2C9 と VKORC1 の両遺伝子多型がともにワルファリンの低用量で維持可能なホモ型の患者では, ワルファリンの維持用量は 0.5 mg/日であるとの報告もなされている。こういった患者への初期のワルファリン投与は注意を払う必要がある。

International Warfarin Pharmacogenetics Consortium は 4,043 名の患者の臨床的なデータと遺伝子データに基づいて, 適切なワルファリン

投与量を推定するアルゴリズムを開発した³⁾。このアルゴリズムは, 目標の INR に到達するために, 週にワルファリン 21 mg 以下の投与を受ける患者, および週に 49 mg 以上の投与を受ける患者には薦められるという³⁾。年齢, 身長, 体重, VKORC1 遺伝型, CYP2C9 遺伝型, 人種, 酵素誘導剤 (リファンピシンなど), アミオダロン, といった 8 項目を入力すると Computed Weekly Starting Dose (mg/week) が表示される表が本論文にあるので参照されたい³⁾。

●クロピドグレルの作用メカニズム

ADP の強力な血小板凝集アゴニスト活性は P2Y₁₂ を介して行われる。クロピドグレルはプロドラッグであり, 2 段階の活性化を経てチオール基を有する活性化体へ変換され, これが P2Y₁₂ の細胞外領域に存在する遊離システイン残基と反応し, ADP による P2Y₁₂ の活性化を阻止する⁴⁾。クロピドグレルを活性化体へ変換する酵素は肝ミクロソームの P450 群である (図)。なかでも, CYP2C19 の機能消失変異がクロピドグレルの効き目に影響するとの報告が多くみられる。一方, クロピドグレルの吸収には ABCB1 でコードされる P-糖タンパク質がかかわり, 本遺伝子多型もクロピドグレルの薬効に影響するとの報告もあるが, CYP2C19 ほど一定の評価を得ていない。2011 年 1 月にパラオキソネース 1 (PON1) がクロピドグレルの活性化体への変換

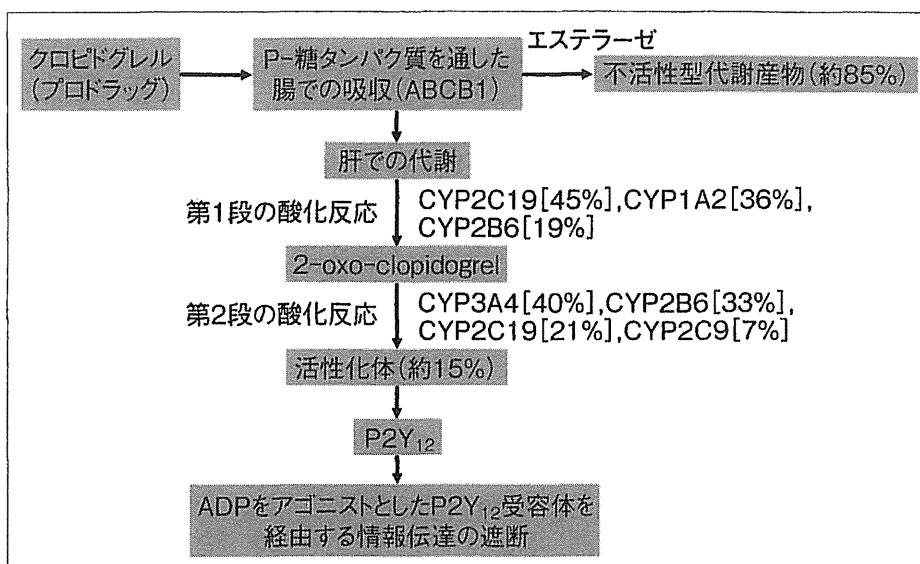


図 クロピドグレルの吸収と活性化経路

表 2 CYP2C19 機能消失変異アレルの死亡、心筋梗塞、脳梗塞との関連

サブグループ	全患者数 n=2,208		PCI を受けた患者 数 n=1,535	
	調整ハザード比 (95% CI)	P 値	調整ハザード比 (95% CI)	P 値
CYP2C19 機能消失変異		0.003		0.005
0 アレル	1.00		1.00	
1 アレル	0.69 (0.51~0.93)		0.78 (0.50~1.21)	
2 アレル	1.98 (1.10~3.58)		3.58 (1.71~7.51)	

(Simon T, et al. : N Engl J Med 360 : 363-375, 2009⁷⁾ より引用)

に大きくかわり、Q192R 多型がイベントの再発に関連するとのセンセーショナルな報告がなされた⁵⁾。しかし、その後の多くの研究はこの結果を追試することができていない。

● CYP2C19 の遺伝子多型

CYP2C19*2 および 2C19*3 の変異は、フレームシフトおよび停止コドンを起こし CYP2C19 の機能を消失させる。日本人は両変異を保有し、日本人の3分の2にあたる人は少なくとも1つのアレルに変異を持ち、野生型アレルを2つ持つ日本人は約3分の1にしすぎない。白人は CYP2C19*2 を持つが、2C19*3 を持たな

いので、約70%の白人は野生型アレルを2本持つ。このため、白人はクロピドグレルを活性体へ変換する能力が高いと考えられる。CYP2C19*17 はプロモータ領域内にあり転写活性を上昇させる。CYP2C19 の活性亢進を伴う 2C19*17 は白人には広くみられるものの日本人にはまれである⁴⁾。

2009年1月にクロピドグレルの心血管イベント発症予防効果における遺伝的背景に関する研究が、New Engl J Med 誌に連報で発表された^{6,7)}。はじめの論文では、CYP2C19 の機能消失変異アレル保有者は、クロピドグレル活性化体の血中濃度が低く、血小板凝集抑制能も低く、虚血性心血管疾患が高率に再発する、というものであった⁶⁾。

それに続く論文では、CYP2C19の機能消失変異アレルを2アレル持つ患者は、心筋梗塞や脳梗塞の再発率が高く、特に経皮的冠動脈インターベンションの患者では顕著にみられた(表2)⁷⁾。しかし、同誌に翌年10月に発表されたCYP2C19の機能消失変異とクロピドグレルのイベント再発予防の関連を調べた研究では、活性消失変異とイベント再発の間に関連を見出せなかった⁸⁾。

まとめ

本稿ではワルファリンとクロピドグレルにかかわる遺伝子に関して、いくつかの研究を紹介した。ワルファリンの場合、VKORC1とCYP2C19の遺伝子多型により、ワルファリン投与量の約40%が説明される。米国FDAは両遺伝子の多型タイピングをすすめているが、実地臨床では行われていない。また、クロピドグレルの活性化体への変換酵素の遺伝子多型は、クロピドグレルの活化体の血中濃度や残存の血小板凝集能との関連は確かに観察されるものの、心血管イベント再発との関連に関しては必ずしも一定した評価を得られていないようである。再現性のある臨

床研究の難しさを感じさせる。

文献

- 1) Yin T, Miyata T : Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1—rationale and perspectives. *Thromb Res* 120 : 1-10, 2007
- 2) Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. : Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 352 : 2285-2293, 2005
- 3) Klein TE, Altman RB, Eriksson N, et al. : Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med* 360 : 753-764, 2009
- 4) Yin T, Miyata T : Pharmacogenomics of clopidogrel : evidence and perspectives. *Thromb Res* 128 : 307-316, 2011
- 5) Bouman HJ, Schomig E, van Werkum JW, et al. : Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat Med* 17 : 110-116, 2011
- 6) Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. : Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 360 : 354-362, 2009
- 7) Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, et al. : Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 360 : 363-375, 2009
- 8) Pare G, Mehta SR, Yusuf S, et al. : Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment. *N Engl J Med* 363 : 1704-1714, 2010

血栓性素因の成因と病態

宮田 敏行

Pathogenesis of Thrombophilia

TOSHIYUKI MIYATA, Ph.D.

Director, Department of Molecular Pathogenesis, National Cerebral and Cardiovascular Center,
5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 5658565

Thrombosis is a life-threatening disease in the developed countries. Thrombotic complications can be partly explained by the genetic mutations. Deficiencies of protein C, protein S, and antithrombin are well-known risk factors for venous thromboembolism and a race specific genetic mutation, protein S K196E, is recently identified in Japanese population. Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is characterized with a microangiopathic hemolytic anemia and thrombocytopenia caused by the platelet thrombi under high shear stress in the microcirculation. Patients with TTP show the severe deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease ADAMTS13 and congenital deficiency of this protease is identified in patients with TTP. Hemolytic uremic syndrome (HUS) is characterized with hemolytic anemia, thrombocytopenia and renal impairment. Atypical HUS defines non Shiga-toxin-HUS and designates a primary disease due to a disorder in complement alternative pathway regulation. Accumulated evidences of the disease-causing mutations in thrombosis would open a new way for prognosis and treatment.

Key Words : ADAMTS13, Hemolytic Uremic Syndrome, Race Specific Genetic Mutation,
Venous Thromboembolism, Thrombotic Thrombocytopenic Purpura

はじめに

止血は血管の損傷から閉鎖血管系を維持するために必要とされる生体防御機構であり、傷口から流血を防ぐことにより生存に有利に働く。一方、血栓は心筋梗塞や脳梗塞などの原因となり、生命に対して致命的に働く場合がある。止血機構と血栓反応についてはこれまでに莫大な研究が行われ詳細なメカニズムが明らかにされてきた。なかでも、遺伝子異常による出血症や血栓症の研究は、それぞれの因子がどのようなメカニズムで出血症や血栓症にかかわるのかが明らかにしてきた。本稿では、まず凝固反応と

その制御反応を概説し、次いで静脈血栓症の遺伝的素因、最後に2000年以降の研究で明らかになってきた血栓性微小血管障害症を解説する。

血栓凝固反応とその制御反応

凝固反応は内因系凝固反応と外因系凝固反応から成る(図1)¹⁾。生体内では組織因子に活性型VII(VIIa)が結合することで始まる外因系凝固反応が重要である^{1,2)}。内因系凝固反応はXII因子の活性化で始まるが、XII因子の活性化に必要とされる生理的な陰電荷物質が永らく不明であったため、生体内での重要性が疑問視されて

いた。ごく最近、血小板濃染顆粒から放出されるポリリン酸がⅫ因子活性化能を示すことが報告され、その重要性が再認識されている³⁾。

凝固反応はトロンビンとフィブリンを生成する。この凝固反応は膜タンパク質である組織因子がⅦa因子と複合体を形成することで開始する。Ⅶ因子の0.5～1%はⅦa因子として循環しているが、このⅦa因子は活性を示さず、組織因子と複合体を形成してはじめて活性を示す。このⅦa-組織因子複合体はⅦ因子、Ⅸ因子、Ⅹ因子をそれぞれ活性化し(図1)、少量のトロンビンが生成する。このわずかな量のトロンビンが凝固反応の補助因子であるⅧ因子とⅤ因子を、それぞれⅧa因子とⅤa因子へと活性化する。これにより凝固反応が増幅され、その結果大量のトロンビンが生成される。

増幅反応はリン脂質膜上で効率よく進行する。Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ、プロトロンビンはN末端の50～60残基内に10～12個のGlu残基を持つ。このGlu残基は、肝細胞の小胞体膜に存在する

γ -グルタミルカルボキシラーゼのビタミンK依存性の触媒作用により、 γ -カルボキシグルタミン酸(略称, Gla)に変換され成熟型となり、 Ca^{2+} 存在下(Mg^{2+} が要求される場合もある)でリン脂質膜に結合する能力を獲得する。後述するプロテインCとプロテインSもGla残基を持つ。これらGla残基を持つ凝固因子をビタミンK依存性凝固因子と呼ぶ。経口抗凝固薬であるワルファリンは、ビタミンKアンタゴニストとして働き、プロトロンビンを含めた全てのビタミンK依存性凝固因子のGla残基の形成を阻害することにより凝固能を抑制する。ワルファリンの標的酵素はビタミンKエポキシド還元酵素である。本酵素活性が阻害されるとビタミンKエポキシドが還元型ビタミンKへと再生されなくなり、その結果還元型ビタミンKが不足する。そして γ -グルタミルカルボキシラーゼが働かなくなり、その結果、全てのビタミンK依存性凝固因子の成熟型への変換が障害される。これがワルファリンの作用機構である⁴⁾。

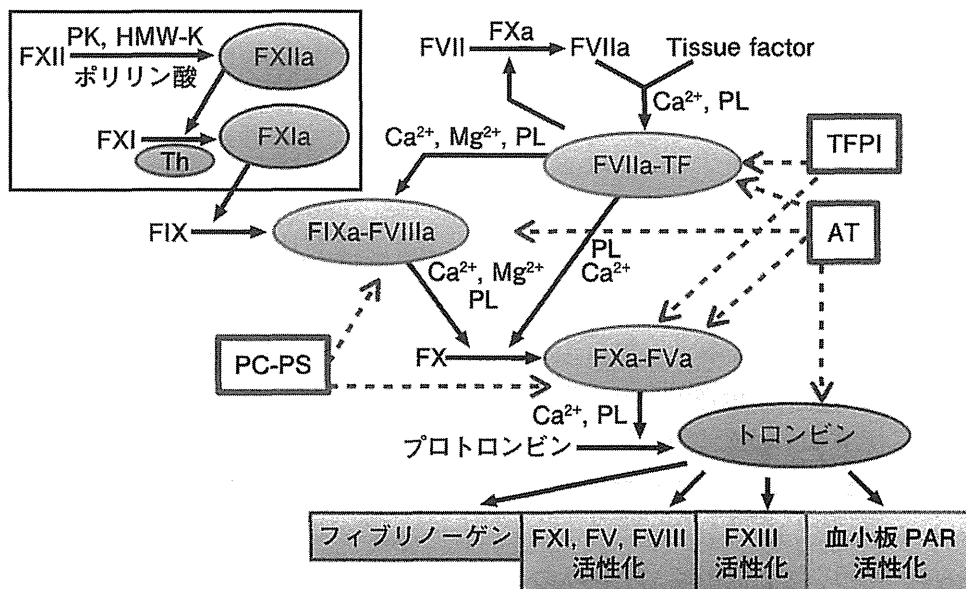


図1. 凝固反応とその制御因子の作用点

凝固反応は組織因子で始まる外因系凝固反応とⅫ因子の活性化から始まる内因系凝固反応がある。生体内の凝固反応は組織因子で始まる経路で説明されている。最近、血小板から放出されるポリリン酸がⅫ因子の活性化に必要な陰電荷表面を提供するとの報告がなされ、Ⅻ因子から始まる凝固反応の重要性が再認識されている。いずれの経路も、トロンビンの生成に繋がり、トロンビンが血小板の活性化を含めた多彩な生理反応を發揮する。したがって、血栓の抑制はトロンビンが重要な標的になる。

トロンビンの多彩な生物作用

生成したトロンビンは図1に示すように、フィブリノーゲンのフィブリンへの変換、XI、V、VIII、XIIIの活性化、血小板 Protease activated receptor (PAR) の活性化を通して血栓形成能を発揮する。血小板 PAR の活性化とは、トロンビンによる血小板膜上の7回膜貫通型のトロンビン受容体である PAR の特異的な切断を指し、これにより細胞内に情報が伝達され血小板を活性化させる(図2)¹⁾。トロンビンによる血小板の活性化反応は、コラーゲンによる血小板活性化とならび、血栓止血反応に極めて重要である¹⁾。このように、血小板は凝固反応で生じるトロンビンと、内皮細胞の下層にあるコラーゲンにより活性化を受ける。血小板はトロンビンにより活性化されるので、生体内での血栓形成を抑制するため、Xa 阻害剤によるトロンビン生成の抑制、トロンビン阻害剤や PAR アンタゴニストによるトロンビン活性の抑制な

どが開発されている。

トロンビンは血管内皮細胞上のトロンボモジュリンに結合すると、抗凝固プロテアーゼであるプロテインC 活性化能および抗線溶因子 TAFI (thrombin-activatable fibrinolytic inhibitor) 活性化能を獲得し、血栓形成を制御する(図3)²⁾。血管内皮プロテインC 受容体 (EPCR) に結合したプロテインC は、トロンビン-トロンボモジュリン複合体により活性化プロテインC (APC) に変換され、APC はVIIIa と Va をそれぞれVIIIi と Vi に限定分解し不活化することにより血栓形成を抑制する。一方、TAFIa はカルボキシペプチターゼB 活性を持ち、プラスミンにより分解されてフィブリン上に露出した塩基性アミノ酸残基(特にLys 残基)を切り出す活性を持つ。TAFIa によるフィブリンからのLys 残基の遊離により、Lys 残基の側鎖のアミノ基に結合するプラスミノーゲンと tPA (組織プラスミノーゲン活性化因子) が集まる“場”が失われ、線溶反応の進行が阻害される。

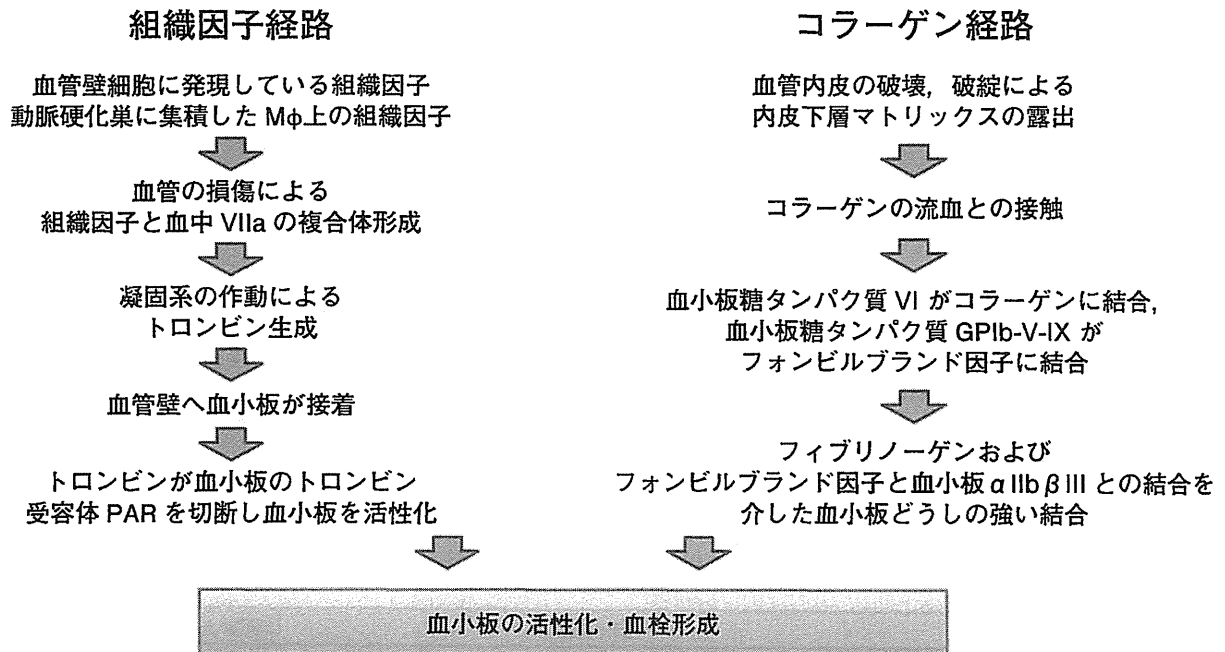


図2. 血小板の2つの活性化経路

血小板はトロンビンとコラーゲンにより活性化され血栓形成に関わる。トロンビンは組織因子依存性に形成され血小板を活性化させる。コラーゲンは通常血漿成分と接触しないが、病的な血管では血液に露出し血小板を活性化させる¹⁾。

血管内皮細胞上の EPCR に結合した APC は、内皮細胞に発現する PAR を切断し、血管保護作用を発揮する (図3) ⁵⁾。また、血管内皮細胞は NO やプロスタサイクリンの産生、および ecto-ATPDase (CD39) の発現による ADP の分解を通して抗血栓能を示す ²⁾。このように血管の内側は強い抗血栓能を持つ血管内皮細胞が覆っていて、血栓の形成を抑えている。

アテローム血栓症では、アテロームのプラークの破裂により、細胞外マトリックス中にあるコラーゲンが血液に露出し、血小板の活性化反応が進行する (図2) とともに、脂質をためたマクロファージ上に発現した組織因子が血液に

露出する。これらの血栓誘発因子により、血栓の形成が始まると考えられている ²⁾。

血栓性素因としての凝固制御因子の遺伝子変異

血栓性素因として、凝固制御因子であるプロテイン C、プロテイン S、アンチトロンビンの欠損症が知られている (表1)。これらの凝固制御因子の活性が低下すると、血栓能が亢進し血栓症を示す。最近の凝固制御因子の遺伝子の研究から、静脈血栓症の遺伝的背景には人種差があることがわかってきた ⁶⁾。

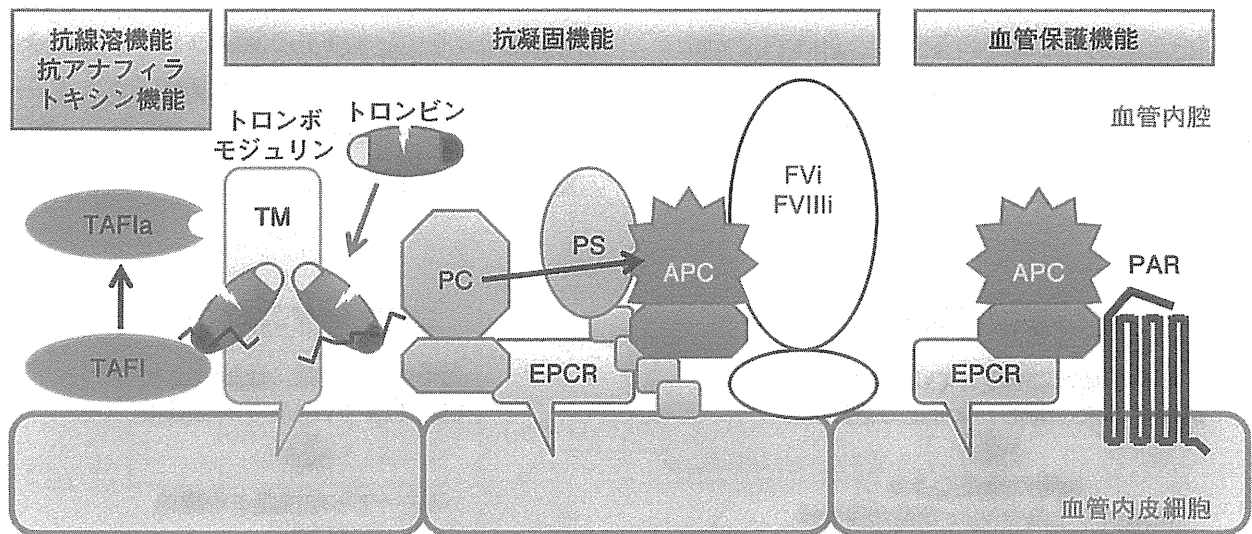


図3. 血管内皮細胞上のプロテイン C 抗凝固メカニズム

血管の内腔に一層で存在している内皮細胞は強力な抗血栓能を示す。内皮細胞は、ここに示すプロテイン C を介した抗凝固機構に加え、一酸化窒素、プロスタサイクリン、ADP 分解酵素である ectoATPDase、組織プラスミンゲン活性化酵素 (tPA) などを産生して、抗血栓能を発揮する ²⁾。TAFIa の抗線溶機能および抗アナフィラトキシン機能、APC-EPCR-PAR の血管保護機能も示す。

表1. 静脈血栓症の遺伝的背景

	白人種	日本人
Low frequency variation	Factor V Leiden Prothrombin G20210A	Protein S K196E
Very rare mutation	Deficiencies of protein C, protein S, antithrombin	Deficiencies of protein C, protein S, antithrombin

極めて稀な頻度で見られるプロテイン C, プロテイン S, アンチトロンビンの欠損症は, 白人種と日本人に頻度の差は見られない。しかし, Low frequency variation と呼ばれる遺伝子変異には, 大きな人種差が見られることが明らかになってきた。表1に示すように, 白人種では第 V 因子 Leiden 変異 (Arg506Gln 変異) とプロトロンビン G20210A 変異 (3' 非翻訳領域中の変異) が一般住民中にも数%の頻度で見られ, これらは静脈血栓塞栓症のリスクであることが確立している。両変異は日本人には見られないものの, 日本人は静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクとしてプロテイン S K196E 変異を保有していることが明らかになってきた。

日本人に比較的広く見られる プロテイン S K196E 変異

日本人の静脈血栓塞栓症の遺伝素因に関する研究は, 国内6施設が参加した共同研究と九州大学および三重大学で行われた単施設研究がある⁷⁻⁹⁾。これらの研究結果を表2にまとめた。いずれもプロテイン S K196E は静脈血栓塞栓症のリスク (オッズ比 3.7-8.6) であることを示

した。K196E の残基番号はプロテイン S の開始 Met 残基から数えた番号である。プロテイン S は遺伝子構造が解明される前に, タンパク質のアミノ酸配列が決定された。こうした経緯から, K196E 変異は, プロテイン S 成熟タンパク質の N 末端アミノ酸から数えて 155 番目に位置するので, プロテイン S K155E 変異ともよばれる。また, 凝固異常症の研究では, 初めて変異が同定された地名を付ける習慣がある。例えば, 日本人の 3% が保有するプラスミノーゲン異常症は自治医大にちなんでプラスミノーゲン栃木と呼ばれ, A601T 変異を持つ。こういった習慣から, 本変異はプロテイン S 徳島変異とも呼ばれる。蛇足であるが, 凝固異常症の研究はとても古く, 症例に患者名が使われた時代もある。XII 因子は当該因子の欠損症患者の名前から Hageman 因子と呼ばれ, 2010 年に Hageman 氏の家系の責任遺伝子変異が報告された¹⁰⁾。より時代を遡れば, 血友病はヨーロッパの王室に広く見られたことから, 「王室病」と呼ばれる。2009 年, ロシアの王室の墓に埋葬されている血友病患者の遺伝子解析が報告され, IX 因子に責任変異が同定されたことから, 血友病 B であったことが確定した¹¹⁾。

表2. 静脈血栓症の遺伝的背景

VTE (n)		controls (n)		odds ratio	95% CI	adjustment	reference
総数	K196Eヘテロ (総数での割合)	総数	K196Eヘテロ (総数での割合)				
161	15 (0.093)	3,651	66 (0.018)	4.72	2.39-9.31	age, sex	Kimura et al, Blood, 2006
85	5 (0.059)	304	5 (0.016)	3.74	1.06-13.23	none	Kinoshita et al, Clin Biochem, 2005
60	6 (0.100)	234	3 (0.013)	8.56	2.07-35.3	none	Ikejiri et al, Int J Hematol, 2010