

質抗体症候群に関連する $\beta$ 2GPIの活性（あるいはループスアンチコアグラント活性）が発揮された。この $\beta$ 2GPIの2種類のフォームの存在が、これまで仮説にすぎなかった「 $\beta$ 2GPIの構造変化とクリプティックエピトープ」を証明したことになる。

また、最近 $\beta$ 2GPIの翻訳後修飾が病態にかかわる可能性が報告され、興味深い。Ioannouらは、チオレドキシン1 (TRX-1) という酸化還元酵素が $\beta$ 2GPI分子内の遊離チオールを産生させ、それが血小板粘着にかかわっていることを報告した。さらに彼らは、TRX-1や他の酸化還元が培養内皮細胞から蛋白ジスルフィドイソメラーゼとともに産生され、それらが $\beta$ 2GPI分子内チオールを増加させて、内皮細胞の酸化ストレスとそれに

よる細胞死から内皮細胞を防御している可能性をあわせて報告した。aCL/ $\beta$ 2GPIがこの機構を破綻するなら、APSにみられる内皮細胞障害の新たなメカニズムとして注目される。

$\beta$ 2GPIの新たな機能として最近注目されるのが、血管新生に対する効果である。 $\beta$ 2GPIはVEGFとbasic fibroblast growth factor (bFGF)による内皮の増殖、遊走、管腔形成をin vitroで抑制した<sup>4)</sup>。この抑制作用は $\beta$ 2GPIのドメインIの欠落では起こらなかった。内皮細胞のVEGFレセプターであるKDR/Flk-1の発現を抑制し、その下流のシグナルのリン酸化を抑制することが $\beta$ 2GPIの血管新生の抑制機序であった。なお、ニック $\beta$ 2GPI（プラスミン処理による $\beta$ 2GPIの産物で、リン脂質結合能を欠くため、 $\beta$ 2GPIと

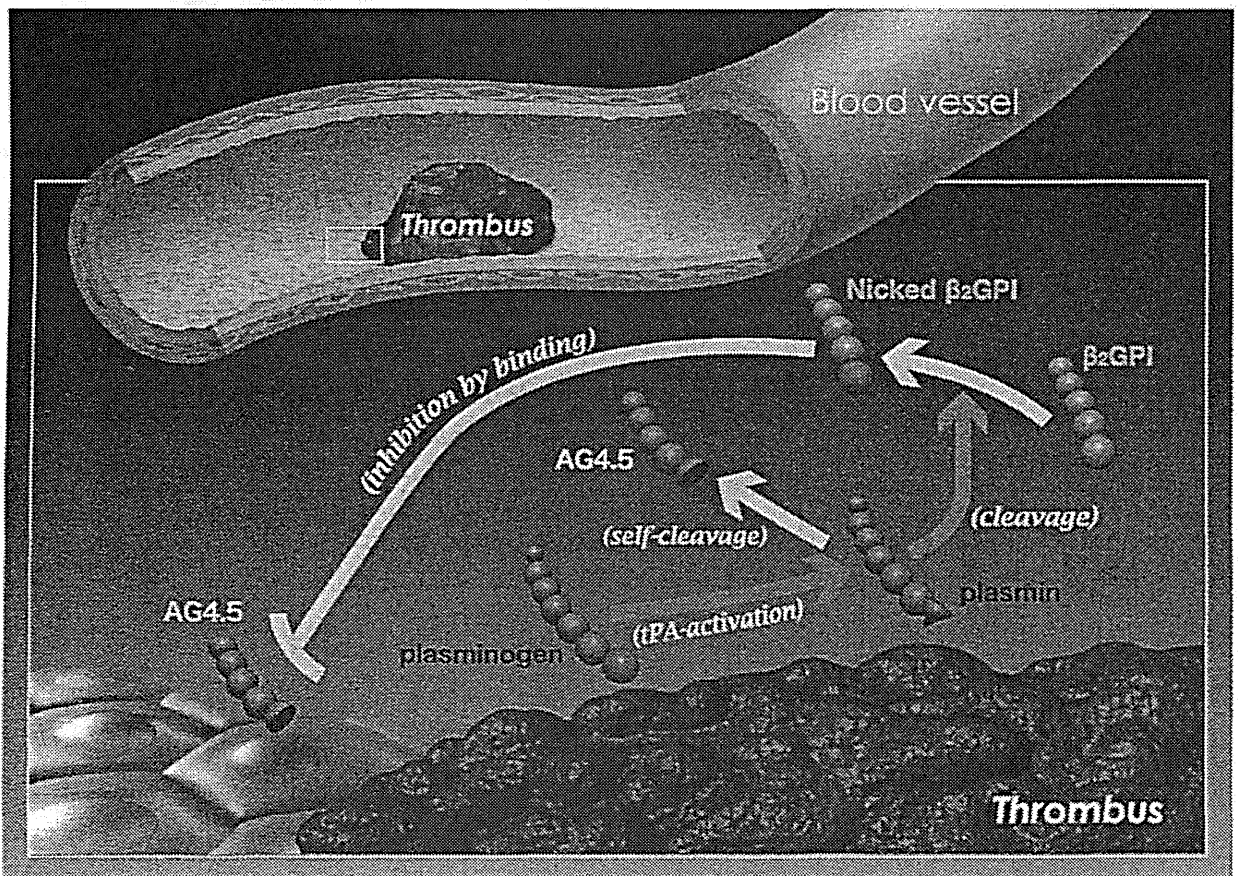


図2 ニック $\beta$ 2-グリコプロテインIのアンジオスタチン (AG4.5) を介した血管新生の促進作用  
血管内で血栓ができたとき、 $\beta$ 2-グリコプロテインI ( $\beta$ 2GPI) は血栓表面でプラスミンによってニック $\beta$ 2GPIとなる。ニック $\beta$ 2GPIはAG4.5に直接結合して、AG4.5の血管新生抑制作用を負に制御する。

はまったく異なる機能をもつ) はまた別の作用をもつ。ニックβ2GPIはプラスミノゲンに結合して線溶反応を抑制し、血管新生を抑制する機能をもつアンジオスタチンはプラスミノゲンと相同性が高い。最近我々は、in vitroおよびin vivoモデルの両者で、ニックβ2GPIがアンジオスタチンを介する血管新生制御機構を負に制御して、結果として血管新生を促進する方向に作用することを見出した<sup>5)</sup> (図2)。一連の現象は、血栓形成とはまた別にAPS患者にみられる虚血性病変の進展の機序に関与する可能性がある。

**B. 抗リン脂質抗体とβ2-グリコプロテインIの相互作用**

抗リン脂質抗体がβ2GPIなどの対応抗原を介して向血栓細胞に作用し、向血栓分子を誘導することはほぼコンセンサスとなっている。一連の研究は、外因系凝固反応のイニシエータである組織因子を発現する単球や内皮細胞を中心に行われてきた。そして、多くの研究者がβ2GPIの細胞表面レセプターの同定を試みた結果、ここ数年で非常に多くの分子がβ2GPIに対するレセプターの候補としてリストアップされた (表1)<sup>6)</sup>。最近われわれ<sup>7)</sup>もゲルゾリンを介してインテグリンα5β1が単球表面レセプターとして機能する可能性を示した。それぞれのレセプターに対応するリガンドも多様であり、すなわちマルチリガンド

とマルチレセプターの相互作用の結果として向血栓細胞が活性化されることが考えられ、事態はかなり複雑である。

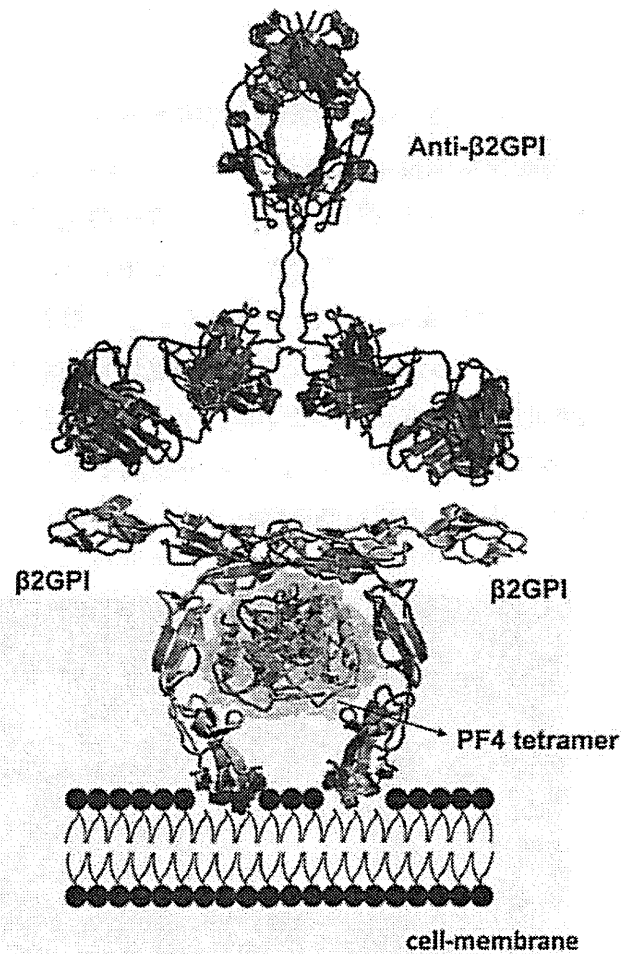


図3 β2-グリコプロテインI依存性抗カルジオリピン抗体 (aCL/β2GPI) と血小板 (文献9より) aCL/β2GPIは血小板表面のPF4テトラマーに結合したβ2GPIダイマーを認識する。

表1 β2-グリコプロテインIの細胞表面レセプター候補

LRP8 (low-density-lipoprotein receptor protein 8) = apolipoprotein E receptor 2
アネクシンA2
グリコプロテインIb α
LRP (low-density-lipoprotein receptor-related protein)
メガリン
Toll様レセプター4
VLDLレセプター
P-セレクトングリコプロテイン・リガンド1
ゲルゾリン-インテグリンα5β1複合体

最近では血小板に対する $\beta$ 2GPIやaCL/ $\beta$ 2GPIの作用も注目される。Sikaraら<sup>8)</sup>は $\beta$ 2GPIと結合する血小板膜蛋白をスクリーニングし、それが血小板第4因子(PF4)であることを同定した。PF4に結合した $\beta$ 2GPIは抗原性を発揮し、APS患者由来のaCL/ $\beta$ 2GPIはPF4と $\beta$ 2GPIの複合体を認識した(図3)。さらにaCL/ $\beta$ 2GPIは、PF4を介してp38MAPKのリン酸化とTXB2の産生を促した。PF4はヘパリン起因性血小板減少症(HIT)および血栓症(HITT)の対応抗原としてもよく知られている。HITTは日本人にはまれであるが、APSの病態と大変よく類似しており、2つの抗体誘発性血栓性疾患がいずれもPF4を介在していることは興味深い<sup>9)</sup>。

### C. 抗リン脂質抗体と補体

APS、とくに妊娠合併症の病態に関する新たな知見として、補体の活性化が注目をあびている。ヒトAPS患者血清から精製した抗リン脂質抗体を含むIgG分画をマウスに導入すると不育症となる。このモデルを用いた検討では、補体成分のC5aとC5aレセプターの相互作用を抑制する抗体やペプチドの処理によって不育症が改善する。C5の活性化によってTNF $\alpha$ が誘導され、抗TNF $\alpha$ 抗体の処理で妊娠合併症が部分的に回避された<sup>10)</sup>。したがって、TNF $\alpha$ は少なくとも一部はAPSの妊娠合併症のエフェクターとして作用する可能性がある。このモデルではヘパリンがin vivoで補体活性化を抑制することが示され、ヘパリンがAPSの妊娠合併症に有効な理由はヘパリンの抗凝固作用にとどまらないかもしれない<sup>11)</sup>。Thurmanら<sup>12)</sup>は、補体活性化の第二経路を特異的に抑制するファクターBに対する抗体がAPSの不育症モデルに治療効果があることを示し、APS不育症における補体第二経路の重要性を確認した。なお、APSに限らず低補体血症が流死

産と相関することは臨床的にも確かめられ<sup>13)</sup>、補体活性化は妊娠予後と直接関連する可能性がある。

APSの血栓症と補体の関連については報告が限られているが、C3欠損およびC5欠損マウスでは抗リン脂質抗体を注入されても血栓傾向にならなかったことが示されている<sup>14)</sup>。

これらの研究はいずれも動物実験の結果であった。最近我々<sup>15)</sup>は、APS患者における補体活性化のプロフィールを明らかにした。SLEを合併しない、すなわち原発性APS患者で血清補体価を測定したところ、健常人や非SLEのリウマチ性疾患コントロールに比べて、明らかに低かった。実際、低C3血症は原発性APS患者の69%、低CH50血症は47%にみられた。低補体血症の原因は、C3、C4の分解産物であるアナフィラトキシン(それぞれC3a、C4a)のレベルが低補体血症を認める原発性APS患者で高かったことから、補体の産生障害ではなく補体活性化によって消費されている結果であることがわかった。補体活性化制御蛋白であるファクターHやファクターIの低下は原発性APS患者ではみられず、また原発性APS患者血清の約70%に免疫複合体が検出されたことから、免疫複合体の過形成が補体活性化の直接の原因である可能性が示唆された。原発性APSでは血清補体価が抗凝固活性(すなわちLA活性)と相関していることから、その免疫複合体は抗リン脂質抗体と対応抗原からなる可能性がある。さらに低補体血症を認める原発性APS患者では血清TNF $\alpha$ のレベルがやや亢進していたことから、補体活性化は向血栓細胞である単球の活性化と関連していることが推定された。

補体の活性化とは、すなわち炎症病態である。APSはこれまで「非炎症性の」血栓傾向であることが疾患の特徴であると考えられてきたが、我々の検討は、動物実験のこれまでの蓄積と併せて考えると、免疫と血栓のクロスロードを仲介する1

つの現象として、補体活性化を伴う炎症機転が重要であることを示唆するものである。

#### D. 抗リン脂質抗体の臨床検査としての 進歩

2007年の国際血栓止血学会標準化委員会で最

初にPengoら<sup>16)</sup>によって提唱されたループスアンチコアグラント検出ガイドラインの改訂案が、J Thromb Haemostに掲載された。エビデンスに基づくものではないが、エキスパートオピニオンとしては承認されたものとみなされている。まず、このガイドラインでは、どのような患者にループスアンチコアグラントを検査すべきかが記載さ

表2 ループスアンチコアグラント改訂ガイドライン (文献16より)

##### (A) 血漿サンプル

1. 抗凝固療法をする前、もしくは中止後に採血を行う
2. 静脈血を1:9の割合で0.109Mクエン酸採血する
3. 二重遠心を行う
4. 血漿サンプルを保存するときは急速冷凍する
5. 凍結サンプルを解凍するときは、37°Cで行う

##### (B) 凝固時間検査の選択

1. 2種類の原理の異なる検査を組み合わせる
2. 希釈ラッセル蛇毒凝固時間 (dRVVT) が第一選択検査
3. 活性化部分トロンボプラスチン時間 (aPTT) が第二選択検査、ただしリン脂質濃度が低く、かつシリカを活性化剤として使用する試薬を使用する
4. 2つのうちどちらかが延長していれば次のステップへ
5. カットオフ値は、それぞれの施設で設定する (40人の健常人の99%タイル法を使用する)

##### (C) ミキシングテスト

1. プール正常血漿をそれぞれの施設で用意するか、あるいは市販の正常血漿 (正しく用意されたもの) も使用可である
2. 患者血漿と正常血漿の混和は1:1とし、凝固時間測定前のインキュベーションは不要で、30分以内にアッセイを行う (ただし、INRが1.5以上の場合は、抗凝固療法を弱めて1.5以内にしてからミキシングテストを行うか、または患者血漿:正常血漿の比を1:2にしてミキシングテストを行うことをすすめる)
3. トロンビン時間が延長している場合は判定できない
4. カットオフ値は40人の健常人の99%タイル法を用いた上限を使用する。もしくは、ループスアンチコアグラント・インデックス (ICA) を用いる [ $ICA = [(b-c)/a] \times 100$ : a, b, cは、その順に患者血漿、混和血漿、正常血漿の凝固時間]

##### (D) 確認テスト

1. 確認テストは、スクリーニングテストのリン脂質濃度を高めて行う
2. 2層またはヘキサゴナル (II) フェーズのリン脂質を使用する
3. カットオフ値はそれぞれの施設できめられ、その計算は[スクリーニング凝固時間-確認試験凝固時間] × 100を使用する。ループスアンチコアグラント血漿はリン脂質濃度を高めても凝固時間が正常範囲まで縮まらない可能性があるため、正常コントロール血漿にこの確認試験を行って正常値を設定すべきである

##### (E) 結果の表現方法

1. ループスアンチコアグラントの結果は、スクリーニング、ミキシング、確認試験いずれも正常血漿との比で表されるべきである

##### (F) 結果の報告方法

1. ループスアンチコアグラントの報告には、なぜそのような判定になったのかの説明が加えられるべきである

れた。はじめに、APSの存在を疑う場合にのみループスアンチコアグラントは検査すべきである、とした。抗リン脂質抗体症候群疑いのレベルを、低（高齢者の血栓症）、中（偶然みつかった凝固時間延長、早期の流産、他に原因の考えられる若年者の静脈血栓症）、高（50歳以下の血栓症、通常でない部位の血栓症、中後期の流産、全身性エリテマトーデス・関節リウマチ・自己免疫性血小板減少症・自己免疫性溶血性貧血のある場合）と分類して、その必要度を考えてから検査をするよう勧告した。そして、12週の間隔をおいて再検することをすすめた（抗リン脂質抗体症候群のサッポロクライテリア・シドニー改変に準ずる）。

実際の検査のステップを表2にまとめた。まず、ヘパリンの使用下ではループスアンチコアグラントの検査は成立しないので、ヘパリンを使用しなくなってもよくなってから検査を行うこととした。低分子ヘパリン使用下では可能かもしれないが、報告がほとんどないのでガイドラインへの記載は適さないとした。経口抗凝固薬使用中の患者については、表2に記載したとおりである。そのほか、第Xa因子阻害薬、抗血小板薬の関与は、現時点では不明である。ハイドロキシクロロキンは弱く干渉する可能性がある。検査の結果を臨床にフィードバックするときは、陽性または陰性で表現することとした。ボーダーラインや疑いは避けるべきとした。

## 文献

- 1) Koike T, Ichikawa K, Kasahara H, et al. Epitopes on beta2-GPI recognized by anticardiolipin antibodies. *Lupus*. 1998; 7 (Suppl 2): S14-7.
- 2) Schwarzenbacher R, Zeth K, Diederichs K, et al. Crystal structure of human beta2-glycoprotein I: implications for phospholipid binding and the antiphospholipid syndrome. *EMBO J*. 1999; 18(22): 6228-39.
- 3) Agar C, van Os GM, Morgelin M, et al. (beta)2-Glycoprotein I can exist in two conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood* (in press).
- 4) Yu P, Passam FH, Yu DM, et al. Beta2-glycoprotein I inhibits vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induced angiogenesis through its amino terminal domain. *J Thromb Haemost*. 2008; 6(7): 1215-23.
- 5) Nakagawa H, Yasuda S, Matsuura E, et al. Nicked (beta)2-glycoprotein I binds angiostatin 4.5 (plasminogen kringle 1-5) and attenuates its antiangiogenic property. *Blood*. 2009; 114(12): 2553-9.
- 6) de Groot PG, Derksen RH, Urbanus RT. The role of LRP8 (ApoER2) in the pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2010; 19(4): 389-93.
- 7) Bohgaki M, Matsumoto M, Atsumi T, et al. Plasma gelsolin facilitates interaction between beta (2) glycoprotein I and alpha 5 beta1 integrin. *J Cell Mol Med* (in press).
- 8) Sikara MP, Routsias JG, Samiotaki M, et al. (beta)2 Glycoprotein I ((beta)2GPI) binds platelet factor 4 (PF4): implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2010; 115(3): 713-23.
- 9) Vlachoyiannopoulos PG, Routsias JG. A novel mechanism of thrombosis in antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun*. 2010 (in press).
- 10) Berman J, Girardi G, Salmon JE. TNF-alpha is a critical effector and a target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol*. 2005; 174(1): 485-90.
- 11) Salmon JE, Girardi G, Lockshin MD. The antiphospholipid syndrome as a disorder initiated by inflammation: implications for the therapy of pregnant patients. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2007; 3(3): 140-7.
- 12) Thurman JM, Kraus DM, Girardi G, et al. A novel inhibitor of the alternative complement pathway prevents antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss in mice. *Mol Immunol*. 2005; 42(1): 87-97.
- 13) Sugiura-Ogasawara M, Nozawa K, Nakanishi T, et al. Complement as a predictor of further miscarriage in couples with recurrent mis-

- carriages. *Hum Reprod.* 2006; 21(10): 2711-4.
- 14) Pierangeli SS, Girardi G, Vega-Ostertag M, et al. Requirement of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated thrombophilia. *Arthritis Rheum.* 2005; 52(7): 2120-4.
- 15) Oku K, Atsumi T, Bohgaki M, et al. Complement activation in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2009; 68(6): 1030-5.
- 16) Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(10): 1737-40.

## 8. 抗リン脂質抗体症候群

### 1 抗リン脂質抗体症候群とは

抗リン脂質抗体症候群 (APS : antiphospholipid syndrome) の概念は、自己免疫血栓症および自己免疫妊娠合併症であり、抗リン脂質抗体が存在する患者に血栓症や妊娠合併症が起これば APS と定義する。APS では下肢深部静脈血栓症が多く、しばしば肺塞栓を合併する。さらに特徴的な点は、APS では静脈のみならず動脈に血栓を起こすことである。しかも脳梗塞、一過性脳虚血発作などの脳血管障害が圧倒的に多く、虚血性心疾患が少ない。妊娠合併症には、妊娠高血圧症と不育症・流産がある。

### 2 抗リン脂質抗体の検出方法と臨床的意義

抗リン脂質抗体測定 of 臨床的意義は、APS あるいは抗リン脂質抗体関連疾患を診断することである。APS と診断するためには、抗リン脂質抗体の証明が必須である (表1)<sup>1)</sup>。しかし抗リン脂質抗体のもつ多様性のため、しばしばその判断は容易ではない。

#### 1. 抗カルジオリピン抗体と抗 $\beta_2$ グリコプロテイン I 抗体

一連の抗リン脂質抗体の測定法のなかで、抗カルジオリピン抗体 (aCL) は最も早くに確立された免疫学的な抗リン脂質抗体の検出法である。当初はリン脂質であるカルジオリピンが aCL の直接の対応抗原と考えられていたが、現在で

表1 抗リン脂質抗体症候群診断基準案(サッポロ基準のシドニー改変〔2006年〕)

臨床所見
1. 血栓症 画像診断, ドプラ検査または病理学的に確認されたもので, 血管炎による閉塞を除く 2. 妊娠合併症 a. 妊娠10週以降で, 他に原因のない正常形態胎児の死亡, または b. 妊娠中毒症, 子癇または胎盤機能不全による妊娠34週以前の形態学的異常のない胎児の1回以上の早産, または c. 妊娠10週以前の3回以上続けての形態学的, 内分泌学および染色体異常のない流産
検査基準
1. 標準化されたELISA法によるIgGまたはIgM型抗カルジオリピン抗体(中等度以上の力価または健常人の99%-tile以上) 2. IgGまたはIgM型抗 $\beta_2$ グリコプロテインI抗体陽性(健常人の99%-tile以上) 3. 国際血栓止血学会のループスアンチコアグラントガイドラインに沿った測定法で, ループスアンチコアグラントが陽性

臨床所見の1項目以上が存在し, かつ検査項目のうち1項目以上が12週の間隔をあげて2回以上証明される時, 抗リン脂質抗体症候群と分類する。(文献1より引用)

はAPSと関連したaCLと, ポリクローナルB細胞活性化を伴う膠原病(APSを合併しないSLE〔systemic lupus erythematosus: 全身性エリテマトーデス〕やシェーグレン症候群)や感染症患者にみられる非特異的なaCLは, 真の対応抗原の違いにより区別され得ることがわかっている。すなわち, APS患者に検出されるaCLはカルジオリピンと $\beta_2$ グリコプロテインI( $\beta_2$ GPI)との複合体に結合しており, しかもその結合エピトープは $\beta_2$ GPIの分子上に存在する。したがってAPSに特異性の高いaCLは, 「 $\beta_2$ GPI依存性aCL」とよばれるアッセイで検出される抗体である。このELISA(enzyme-linked immunosorbent assay: 酵素免疫測定法)では $\beta_2$ GPIの存在下および非存在下で同時にaCLの測定を行い, 前者の力価が基準値を超え, かつ $\beta_2$ GPIの存在下でのaCLの力価が非存在下での力価よりも高いものを陽性とする。 $\beta_2$ GPI依存性と非依存性のaCLが混在している場合があり, また非依存性aCLがELISAブ



レート底に $\beta_2$ GPIが結合していないフリーのカルジオリピンに結合している場合があるので、 $\beta_2$ GPIの存在下でのaCL力価と非存在でのそれとを比較して判定する。

抗 $\beta_2$ GPI抗体は直接 $\beta_2$ GPIをELISAプレートに固相化して行うアッセイであり、基本的には $\beta_2$ GPI依存性aCLと同じ抗体を検出する。わが国では行われていない検査であるが、海外では複数のキットが発売されている。APS分類基準に記載されているため、今後はわが国にも導入される可能性がある。

## 2. ループスアンチコアグラント

ループスアンチコアグラント(LA)は、*in vitro*のリン脂質依存性凝固反応を阻害する免疫グロブリンと定義される。これらの凝固反応自体は簡易な検査であるが、臨床検査上のLAの同定はその多様性から必ずしも容易でない。また、使用する試薬によって感度がかなり異なっているが、それは主に凝固試薬に含まれるリン脂質濃度に依存する。2009年、国際血栓止血学会の抗リン脂質抗体標準化委員会がLA検査のガイドラインを改訂した<sup>2)</sup>。すなわち、①希釈ラッセル蛇毒時間(dRVVT)または活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)でリン脂質依存性凝固時間が延長していることをスクリーニングする、②ミキシングテスト(患者血漿サンプルと正常血漿の比が1:1、ワルファリン使用中は1:2)でこの凝固時間延長が患者血漿中にインヒビターが存在するためであることを示す、③リン脂質による吸収中和試験でこのインヒビターが抗リン脂質抗体であることを確証、④特定の凝固因子に対するインヒビターを除外する、のステップである。

日常臨床では、はじめにAPTTでスクリーニングし(ただし、試薬によってLAの感度が異なるので注意)、延長がみられた場合に確認試験へすすむ。わが国では、2種類のLA確認検査が保険診療で可能である。なお、凝固時間の延長がなければLAは陰性なので、確認試験を行う必要はない。

### 3. ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体

LAには少なくとも2つのサブタイプがあり、 $\beta_2$ GPI依存性LAおよびプロトロンビン依存性LAとよばれる。前者はaCLに該当するが、後者は抗プロトロンビン抗体である。ホスファチジルセリンを固相化、プロトロンビンを吸着して抗原としたものを用いてELISAを行うと(ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体:aPS/PT)、APSの臨床症状やLAの存在と非常に強い相関があることが示された<sup>3)</sup>。LA陽性者の半数はaPS/PTが陽性であり、逆にaPS/PT陽性者は9割以上がLA陽性であった。すなわち、aPS/PTはLAあるいはAPSの新しいマーカーである。とりわけLAの補助診断としての意義が高いことがわかる<sup>4)</sup>。LAの判断は、典型的なパターンをとるものは別にして、通常は容易とはいえない。また、良質な血漿サンプルがないと信頼できる結果が得られない。aPS/PTが陽性なら高い確率でLA陽性であるといえるので、ワルファリンやヘパリンなどの抗凝固療法を施行中でLAアッセイに向かない患者の場合、あるいは何らかの理由により血漿サンプルが得られないときなどにはaPS/PTアッセイの価値は高い。

### 3 抗リン脂質抗体症候群の病態

抗リン脂質抗体は、リン脂質結合蛋白を介して血小板や内皮細胞を刺激して活性化する。抗 $\beta_2$ GPI抗体は $\beta_2$ GPIの存在下で向血栓内皮細胞(血小板、内皮細胞や単球)へ結合し、内皮細胞を活性化あるいは障害をもたらす。そして、活性化した細胞は、たとえば外因系凝固反応のトリガーである組織因子を発現する。その細胞活性化のシグナル伝達の経路も明らかとなっている<sup>5)</sup>。 $\beta_2$ GPIはいわばアンカーとして存在しており、この機序説明においてはAPSの発症に $\beta_2$ GPI自体の機能はあまり重要でないことになる。 $\beta_2$ GPIが結合するリン脂質は主にホスファチジルセリンで、通常の状態では細胞表面には出ていない。何かの刺激でホスファチジルセリンが内皮表面に出たときに、一連の反応が起こると考えられる。

APSの病態に関する新たな知見として、補体の活性化が注目をあびている<sup>6)</sup>。最近我々<sup>7)</sup>は、APS患者における補体活性化のプロフィールを明らかにした。SLEを合併しない、すなわち原発性APS患者で血清補体価を測定したところ、健常人や非SLEのリウマチ性疾患コントロールに比べて、明らかに低かった。低補体血症の原因は、C3、C4の分解産物であるアナフィラトキシン(それぞれC3a、C4a)のレベルが低補体血症を認める原発性APS患者で高かったことから、補体の産生障害ではなく補体活性化によって消費されている結果であることがわかった。補体の活性化とは、すなわち炎症病態である。APSはこれまで「非炎症性の」血栓傾向であることが疾患の特徴であると考えられてきたが、我々の検討は、動物実験のこれまでの蓄積と併せて考えると、免疫と血栓のクロスロードを仲介する1つの現象として、補体活性化を伴う炎症機転が重要であることを示唆するものである。

## 4 治療の指針

APSの基本は、自己抗体と関連する血栓傾向や妊娠合併症の疾患である。ある意味では臓器特異的自己免疫疾患であり、ステロイドや免疫抑制薬は、集中治療が必要な劇症型APSなど特殊な病態を除いて、通常のAPSの治療の原則にならない。実際、レトロスペクティブ解析では免疫抑制療法で抗体価の抑制は必ずしも得られず、血栓再発予防にも効果はなかった<sup>8)</sup>。

肺血栓塞栓症を含めて急性期の動・静脈血栓症に対しては、線溶療法やヘパリン療法など一般の救急処置が行われる。APSに特別な治療法はない。急性発症の深部静脈血栓症に対して、下大静脈に不安定な血栓が存在する場合、出血のリスクがあって十分な抗凝固療法ができない場合、抗凝固療法を行っても血栓の進展が制御できない場合、心不全合併例や循環動態が不安定で小肺塞栓の続発が致命的になる場合などには、大静脈内フィルター留置の適応を考えることも通常の急性深部静脈血栓症と同じである。

再発予防がAPSの治療で最も重要である。血栓の再発は、抗リン脂質抗体が

陽性患者と陰性患者では前者のほうが高いことが知られている<sup>9, 10)</sup>。深部静脈血栓症を発症した場合、抗リン脂質抗体陰性患者では抗凝固療法は通常3～6カ月継続のあと終了となるが、APSと診断された場合は長期の抗凝固療法が必要である。興味深いことは、動脈血栓で発症したAPS患者は90%が動脈血栓を再発し、静脈血栓で発症すれば70%は再発も静脈血栓である。

後述するエビデンスは、もっぱらワルファリンによるものである。しかし筆者は、病態の異なる動脈血栓と静脈血栓とを同一群にしてマネジメントを論ずることに矛盾があると考えている。それぞれの報告の結果からも、APSの凝固異常に由来する静脈血栓症の患者に対しては、他の血栓傾向患者と同様にINR (international normalized ratio : 国際標準化) 約2.0を目標としたワルファリン投与で十分であろう。

#### 処方例 (静脈血栓で発症した場合)

ワルファリン 1～7 mg/分1 (INR 2.0～2.5 目標)

ワルファリン (ワルファリン)

一方、動脈血栓は動脈硬化やスパズムのような血管壁の変化によるずり応力によって血小板が粘着、凝集、活性化するところに発症のきっかけがある。動脈血栓症の患者に対しては、わが国の「脳卒中治療ガイドライン」に準じてワルファリンよりもむしろ抗血小板薬を積極的に使用すべきと考えている。当科 (北海道大学病院第二内科) ではワルファリンは動・静脈両者に血栓がある場合、弁膜症を合併している場合、あるいはトロンビン生成 / 線溶活性化のマーカー (TAT [トロンビン- アンチトロンビン複合体], PIC [プラスミン-  $\alpha_2$  プラスミンインヒビター複合体], Dダイマー, プロトロンビンフラグメント F1 + 2 など) の平常時での上昇があれば併用している。

### 処方例 (動脈血栓で発症した場合)

下記のいずれか、もしくは①+②または①+③の併用

- ① バイアスピリン® (100 mg) 1錠 / 分 1
- ② プレタール® (100 mg) 2錠 / 分 2
- ③ プラビックス® (75 mg) 1錠 / 分 1

バイアスピリン® (アスピリン), プレタール® (シロスタゾール), プラビックス® (クロピドグレル)

これらの方針を案として表2にまとめた。

表2 抗リン脂質抗体症候群における血栓の二次予防案

静脈血栓症で発症した場合
<ul style="list-style-type: none"><li>・ワルファリン (ワーファリン) が第一選択 (INR 2.0 ~ 2.5, Dダイマー陰性目標)</li><li>・少量アスピリン (バイアスピリン® 100 mg 1錠 / 日) の併用</li></ul>
動脈血栓症で発症した場合
<ul style="list-style-type: none"><li>・少量アスピリン (バイアスピリン® 100 mg 1錠 / 日) または / かつ</li><li>・抗血小板薬の併用: シロスタゾール (プレタール®) 200 mg / 日, クロピドグレル (プラビックス®) 50 ~ 75 mg / 日のいずれか</li><li>・症例により*ワルファリン (ワーファリン) の併用 (INR 2.0 ~ 2.5, Dダイマー陰性目標)</li></ul>

\*動静脈両者の血栓症の場合, 抗血小板薬のみで再発した場合, トロンビン生成マーカーが高値の場合など (筆者作成)

## 5 EBM のデータ

ワルファリンが APS の治療薬として標準薬となったのは, 1995 年の Khamashta ら<sup>8)</sup>の報告による。彼らは APS の診断で治療観察されていた 147 例をレトロスペクティブに解析した。そのうち 111 例 (69%) に合計 186 回の血栓の再発がみられた。すなわち, 治療にかかわらず平均 2.3 回の血栓を起こしたことになる。再発までの平均期間は約 12 カ月であった。再発予防にはワルファリ

ンによる抗凝固療法がアスピリンに比して有効であり、静脈血栓の再発は INR 2.0 で、動脈血栓の再発は INR 3.0 のレベルで有意に予防できていた。この報告以来、高強度のワルファリン投与が APS の血栓二次予防として適切かどうか議論されてきた。

高強度の抗凝固療法を推奨する Ruiz-Irastorza ら<sup>11)</sup>は、INR 3.5 を目標に抗凝固療法を行っている APS 患者 66 人のレトロスペクティブ解析を行った。この患者群では血栓再発は毎年 9% であり、いずれも血栓発症時は INR が 2.1 ~ 2.6 に落ちた時であった。一方、出血性合併症は毎年 6% にみられ、特に頭蓋内出血は毎年 1.5% の頻度であったと報告した。このような高頻度の重篤な出血性合併症のリスクを負ってまで、高強度の抗凝固療法の維持が必要なのだろうか？

APS 患者 114 人の抗凝固療法の強度の意義を検討する二重盲検試験が、カナダで行われた<sup>12)</sup>。この試験では、血栓を起こした APS 患者を INR 2.0 ~ 3.0 目標群と 3.1 ~ 4.0 目標群間に分けて、平均 2.7 年観察し、血栓の再発をエンドポイントとした。INR は主治医にブラインドとされ、すなわち主治医は血液の検体を試験センターに送付して、INR の結果の報告を受けないままワルファリンの投与量の調整をセンターから指示されて試験が行われた。その結果、INR 2.0 ~ 3.0 群で血栓再発率が 3.4%、出血性合併症が 6.9% であり、INR 3.1 ~ 4.0 群で血栓再発 10.7%、出血性合併症 5.4% であった。すなわち、高強度の抗凝固療法の優位性は証明されなかった。このスタディに対する批判は、参加した患者は動脈血栓より静脈血栓が多かったこと(後者が 76%)、そして INR 3.1 ~ 4.0 群の血栓の再発はほとんどが INR 3.0 以下になってしまった時に起きていることがある。

## 6 治療上の注意点

抗凝固薬、抗血小板薬とも、注意点は一般の血栓症に対する投与の場合と同様である。再発が多いことから、抗血栓療法は長期におよぶので、血栓傾向および出血傾向のモニターのための問診や D ダイマーなどの定期検査は欠かせない。

## 7 無症候性の抗リン脂質抗体について

他の全身性自己免疫疾患と同様に、APSは血栓症や妊娠合併症があってはじめて「症候群」となる。無症候の場合には基本的には抗リン脂質抗体検査をする必要はないが、① SLEの診断のため、② 妊娠前検査として、③ 血清梅毒反応や凝固時間延長の精査のために、抗リン脂質抗体がスクリーニングされることがある。無症候性の血栓症をどこまで検索すべきかについては、統一した見解はない。一方、APSの病態の基本は「血栓傾向 (thrombophilia)」であり、再発が極めて多いことを考えると、特に血栓症と相関の高い抗リン脂質抗体（たとえば高力価のIgG型の $\beta_2$ グリコプロテインI依存性抗カルジオリピン抗体）が陽性である場合には、当科では全身CTを利用して下肢深部静脈および下大静脈の血栓や肺動脈血栓の有無をスクリーニングしている。また、無症候性ラクナが脳梗塞発症のリスクであることを考え、脳MRIは機会をみて施行する。これらの検査で潜在性の血栓が発見された場合は、二次予防の適応となる。

筆者ら<sup>13)</sup>は、ロンドンの聖トーマス病院でHarrisがaCLのアッセイを確立してAPSの最初の診断基準を示した1986年に、aCLが陽性であり、その後同院で10年の観察が可能であった患者52例の10年の経過を調べた。52例中31例はAPSと診断され、ワルファリンその他の抗血栓療法が行われ、10年間で再発は29%にみられた。1986年当時にAPSの症状がなかった21例は、アスピリンの予防投与が継続あるいは断続的に行われていたが、結果的に10年間で38%に血栓症を発症した。同院はロンドンのSLEと血管炎の診療センターであり、したがって対象患者は基本的に膠原病の背景があった。SLEを対象とした別の研究<sup>14)</sup>でも、抗 $\beta_2$ GPI抗体が血栓症の続発を予想するとされた。一方、最近ノルウェーで行われた一般住民を対象とした大規模観察研究では、508例の深部静脈血栓症と1,464例のコントロールを7年間フォローアップした。その結果、 $\beta_2$ GPI依存性aCLの静脈血栓発症の予測的価値はみられなかった<sup>15)</sup>。

抗リン脂質抗体症候群の血栓症発症のリスクについては、抗体の種類や患者の背景によって異なっており、無症候性の抗リン脂質抗体陽性患者に対する血

血栓の一次予防に関するデータは限られている。まず日常生活で喫煙や避妊ピルなどの他の血栓リスクを減らすよう努め、薬物では習慣的にアスピリンが投与されている。Erkan ら<sup>16)</sup>は、APS の発症を未然に防ぐべく少量アスピリン投与の意義を確認するために二重盲検試験を行った。98 人の血管および妊娠関連イベントの既往のない抗リン脂質抗体陽性者を、アスピリン 81 mg/日とプラセボ投与群にランダム化した。平均追跡期間 2.30 ± 0.95 年の間に、アスピリン群で 3 例の血管イベント(深部静脈血栓症 2 例, 脳梗塞 1 例), プラセボ群ではイベントはなかった(ハザード比 1.04, 有意差なし)。したがって、アスピリンの抗リン脂質抗体陽性者における血栓一次予防効果は証明されなかった。

基本的に、抗血小板薬であるアスピリンは静脈血栓症や肺塞栓の予防効果がない。低強度のワルファリン (INR 1.5) の効果が予想され、現在プロスペクティブ研究が進行中であるが、結果はまだ出ていない。

以上より、血栓の既往のない患者の場合、すなわち偶然に抗リン脂質抗体の存在が証明されたような場合は、特に膠原病の背景をもたない例では、薬物による一次予防をすべきかどうかのコンセンサスはない。

(渥美 達也)

## 文 献

- 1) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al : International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 4 (2) : 295-306, 2006
- 2) Pengo V, Tripodi A, Reber G, et al : Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost* 7 (10) : 1737-1740, 2009
- 3) Atsumi T, Ieko M, Bertolaccini ML, et al : Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum* 43 (9) : 1982-1993, 2000
- 4) Atsumi T, Koike T : Antiprothrombin antibody : why do we need more assays ? *Lupus* 19 (4) : 436-439, 2010
- 5) Bohgaki M, Atsumi T, Yamashita Y, et al : The p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway mediates induction of the tissue factor gene in monocytes stimulated with human monoclonal anti-beta2Glycoprotein I antibodies.



## VI-6. 抗リン脂質抗体症候群の診断

◀ Key words ▶ antiphospholipid antibody, anticardiolipin antibody, beta<sub>2</sub>-glycoprotein I, lupus anticoagulant, antiprothrombin antibody

### Point

- ①抗リン脂質抗体症候群(antiphospholipid syndrome : APS)は自己免疫性血栓症または妊娠合併症を臨床症状とする。
- ②診断にはβ<sub>2</sub>糖蛋白(GP)I依存性抗カルジオリピン抗体あるいはループスアンチコアグラント(LA)の存在を証明することが必要。
- ③抗β<sub>2</sub>GP I抗体、ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体も診断に有用な検査である。
- ④APS以外にも抗リン脂質抗体と関連する臨床症状があり、最近それらは抗リン脂質抗体関連疾患群として提唱された。

抗リン脂質抗体症候群(APS)は、抗リン脂質抗体と関連する自己免疫性血栓症および妊娠合併症と定義される。抗リン脂質抗体はリン脂質あるいはリン脂質と蛋白質の複合体に結合する自己抗体の総称であるが、APSと関連する抗リン脂質抗体の主な対応抗原はβ<sub>2</sub>GP Iとプロトロンビンであることが明らかとなった。

一方、血栓症と妊娠合併症以外にも抗リン脂質抗体と関連する臨床症状があることは以前から知られていたが、これらを一群の「抗リン脂質抗体関連疾患」として臨床研究の対象とすることが提唱された。

APSを定義する臨床症状は明確である。すなわち、APSの診断とは、APSを定義する抗リン脂質抗体の検出・同定にほかならない。

### 1) 概念と臨床症状

APSは、獲得性血栓傾向の原因としては頻度

の高い病態のひとつとして認識され、臨床上重要な位置を占めている。現在のAPSの分類基準は、札幌クライテリア・シドニー改変<sup>1)</sup>と呼ばれている(表1)。

APSは単独で発症すれば原発性と分類されるが、約半数は全身性エリテマトーデス(SLE)に合併する。APSの病態の基本は血栓傾向である。APS患者に発症する血栓症は多様であるが、好発部位が存在する。静脈血栓としては他の血栓傾向と同様に下肢深部および表在静脈の血栓症が多く、しばしば肺塞栓を合併する。深部静脈血栓症が証明されなくとも肺血拴塞栓症が存在する場合もある。ヨーロッパ人のAPS 1,000例の集計では、90例(9%)に肺梗塞の所見がみられた<sup>2)</sup>。その他の静脈血栓症では、網膜中心静脈閉塞がしばしばみられ、またBudd-Chiari症候群の原因としてAPSは最も頻度が高い。理由は不明だが、副腎静脈がAPSの血栓の好発部位であり、二次

表 1 抗リン脂質抗体症候群診断基準(札幌クライテリア・シドニー改変分類基準, 2006)

<p><b>臨床所見</b></p> <p>1. 血栓症          画像診断, ドプラ検査または病理学的に確認されたもので, 血管炎による閉塞を除く</p> <p>2. 妊娠合併症          a. 妊娠 10 週以降で, 他に原因のない正常形態胎児の死亡, または          b. 妊娠中毒症, 子癇または胎盤機能不全による妊娠 34 週以前の形態学的異常のない胎児の 1 回以上の早産          c. 妊娠 10 週以前の 3 回以上続けた形態学的, 内分泌学および染色体異常のない流産</p> <p><b>検査基準</b></p> <p>1. 標準化された ELISA 法による IgG または IgM 型抗カルジオリピン抗体(中等度以上の方価または健常人の 99 パーセントイル以上)</p> <p>2. IgG または IgM 型抗<math>\beta_2</math>GP I 抗体陽性(健常人の 99 パーセントイル以上)</p> <p>3. 国際血栓止血学会の LA ガイドラインに沿った測定法で, LA が陽性</p>
--

臨床所見の 1 項目以上が存在し, かつ検査項目のうち 1 項目以上が 12 週の間隔をあけて 2 回以上証明されるとき抗リン脂質抗体症候群と分類する。

[Miyakis S et al : International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 4 : 295-306, 2006]

性 Addison 病をきたすことがある。

APS の血栓症に特徴的な点は, 静脈のみならず動脈に血栓を起こすことである。しかも APS では脳梗塞, 一過性脳虚血発作などの脳血管障害が圧倒的に多く, 虚血性心疾患が比較的少ない特徴がある。実際に脳血管障害が動脈血栓症の 90% 以上を占めている。脳 MRI では単発性から多発性までさまざまな病巣が観察される。

妊娠合併症には妊娠高血圧症と不育症・流産がある。流産の原因として子宮自体の異常, 染色体異常と並んで APS は最も重要である。通常の流産が胎盤形成以前の妊娠初期に圧倒的に多いことに対して, APS 患者の流産はむしろ妊娠中・後期によく起こることが特徴である。

一方, 妊娠高血圧症やその重症型である子癇が抗リン脂質抗体陽性者に多いことが知られるようになった。

非常にまれであるが, APS の特殊型に分類される病態として, 急激に多臓器不全(とりわけ中枢神経と腎)に陥り, 重症呼吸不全, 重篤な血小板減少症を合併し致死率の高い激症型抗リン脂質抗体症候群(catastrophic antiphospholipid syndrome)がある。播種性血管内凝固症候群(DIC)か血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)に類似した病態を伴っていることが多い。抗凝固療法を急に中止した場合にも起こることがある。

血栓症と妊娠合併症以外では, ①心弁膜症, ②神経疾患(特に舞踏病と横断性脊髄症が特徴), ③皮膚疾患(特にリペド一疹), ④微小血栓による腎障害, ⑤血小板減少症, の 5 つが抗リン脂質抗体と関連する疾患とされる。これらの抗リン脂質抗体関連疾患群は, 今後の臨床研究の対象とされ, それぞれの分類基準が示された<sup>1)</sup>。

## 2) 抗リン脂質抗体の検出方法と臨床的意義

抗リン脂質抗体測定 of 臨床的意義は, APS あるいは抗リン脂質抗体関連疾患を診断することである。APS と診断するためには抗リン脂質抗体の証明が必須である。しかし, 抗リン脂質抗体のもつ多様性のため, しばしばその判断は容易ではない。

### a) 抗カルジオリピン抗体(aCL)と抗 $\beta_2$ GP I 抗体

一連の抗リン脂質抗体の測定法のなかで, aCL は最も早くに確立された免疫学的な抗リン脂質抗体の検出法である。当初はリン脂質であるカルジオリピンが aCL の直接の対応抗原と考えられていたが, 現在では APS と関連した aCL と, ポリクローナル B 細胞活性化を伴う膠原病(APS を合併しない SLE や Sjögren 症候群)や感染症患者にみられる非特異的な aCL は, 真の対応抗原の違いにより区別されることがわかっている。すなわち, APS 患者に検出される aCL は

カルジオリピンと  $\beta_2$ GP I との複合体に結合しており、しかもその結合エピトープは  $\beta_2$ GP I の分子上に存在する。したがって APS に特異性の高い aCL は「 $\beta_2$ GP I 依存性 aCL」と呼ばれるアッセイで検出される抗体である。この ELISA 法では  $\beta_2$ GP I の存在下および非存在下で同時に aCL の測定を行い、前者の力価が基準値を超え、かつ  $\beta_2$ GP I の存在下での aCL の力価が非存在下での力価よりも高いものを陽性とする。 $\beta_2$ GP I 依存性と非依存性の aCL が混在している場合があり、また非依存性 aCL が ELISA プレート底に  $\beta_2$ GP I が結合していない遊離カルジオリピンに結合している場合があるので、 $\beta_2$ GP I の存在での aCL 力価と非存在でのそれとを比較して判定する。

抗  $\beta_2$ GP I 抗体は直接  $\beta_2$ GP I を ELISA プレートに固相化して行うアッセイであり、基本的には  $\beta_2$ GP I 依存性 aCL と同じ抗体を検出する。クライテリアに記載され、正常範囲(カットオフ値)は定義されているものの、アッセイのわが国での標準化は不十分で、診断的意義は今後の課題である。

#### b) ループスアンチコアグラント (LA)

LA は、*in vitro* のリン脂質依存性凝固反応[活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、カオリン凝固時間(KCT)、希釈 Russell 蛇毒時間(dRVVT)など]を阻害する免疫グロブリンと定義される。これらの凝固反応自体は簡易な検査であるが、臨床検査上の LA の同定はその多様性から必ずしも容易でない。また使用する試薬によって感度がかなり異なっているが、それは主に凝固試薬に含まれるリン脂質濃度に依存する。国際血栓止血学会の抗リン脂質抗体標準化委員会が LA 検査のガイドラインを示している。すなわち、① APTT, KCT, dRVVT などリン脂質依存性凝固時間が延長していることをスクリーニングする、② ミキシングテストでこの凝固時間延長が患者血漿中にインヒビターが存在するためであることを示す、③ 障害血小板やリン脂質による吸収中和試験でこのインヒビターが抗リン脂質抗体であることを確認、④ 特定の凝固因子に対するイン

ヒビターを除外する、のステップである。

しかし、わが国の日常臨床ではそのような煩雑な手順で LA の診断ができる施設は限られる。日常的には、APS の臨床症状があったとき、① LA に高感度の APTT 検査で凝固時間をスクリーニング、② LA 確認試薬キットを用いて凝固時間延長が抗リン脂質抗体によるものであることを示す、のステップが推奨される。日本血栓止血学会標準化委員会では、多施設による検討の結果、わが国での LA スクリーニングの標準試薬をロシュ・ダイアグノスティックスの PTT-LA (APTT 検査)と定めた。本試薬による凝固時間延長は LA の検出感度が最も高かった。PTT-LA を用いた APTT 検査は保険適用となり、しかも現時点では LA 検査としてでなく APTT 検査としての収載なので、コストが低く有利である。なお、凝固時間の延長がなければ LA は陰性なので、確認試験を行う必要はない。

#### c) ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体 (aPS/PT)

LA に少なくとも 2 つのサブタイプがあり、 $\beta_2$ GP I 依存性 LA およびプロトロンビン依存性 LA と呼ばれる。前者は aCL に該当するが、後者は抗プロトロンビン抗体である。ホスファチジルセリンを固相化、プロトロンビンを吸着して抗原としたものを用いて ELISA 法を行うと aPS/PT、APS の臨床症状や LA の存在と非常に強い相関があることが示された。LA 陽性者の半数は aPS/PT が陽性であり、逆に aPS/PT 陽性者は 9 割以上が LA 陽性であった。すなわち aPS/PT は LA あるいは APS の新しいマーカーである<sup>3)</sup>。とりわけ LA の補助診断としての意義が高いことがわかる。LA の判断は、典型的なパターンをとるものは別にして、通常は容易とはいえない。また良質な血漿サンプルがないと信頼できる結果が得られない。aPS/PT が陽性なら高い確率で LA 陽性であるといえるので、ワーファリン®やヘパリンなどの抗凝固療法を施行中で LA アッセイに向かない患者の場合、あるいは何らかの理由により血漿サンプルが得られないとき、などには aPS/PT アッセイの価値は高い。

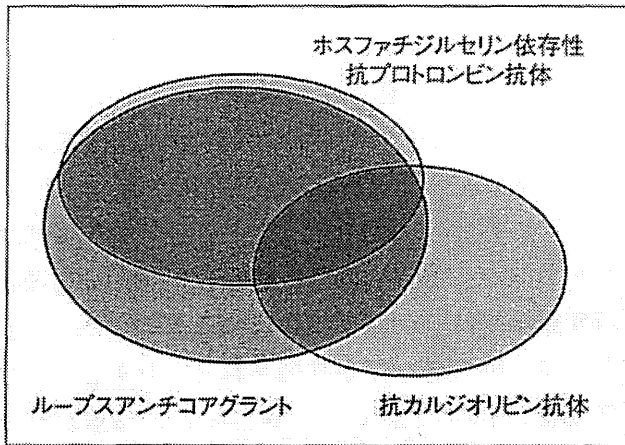


図1 抗リン脂質抗体の相互関係

抗 $\beta_2$ GP I抗体はほぼ抗カルジオリピン抗体と同一の分布である。

#### d) 抗リン脂質抗体間の関係

以上のように、複数の対応抗原に対する自己抗体を複数の免疫検査法で検出することに加えて、その機能を複数の試薬を用いて複数の手順で凝固検査を行わなければならない、抗リン脂質抗体の検

出は臨床検査としては最も煩雑なもののひとつである。一つひとつの検査を整備することも重要であるが、既存の検査を効率よく日常臨床に利用できるように整理することも必要である。

抗リン脂質抗体のおおよその相互関係を図1に示した。

#### ✦文献✦

- 1) Miyakis S et al : International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 4 : 295-306, 2006
- 2) Cervera R et al : Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. Arthritis Rheum 46 : 1019-1027, 2002
- 3) Atsumi T et al : Antiprothrombin antibodies— are they worth assaying? Thromb Res 114 : 533-538, 2004