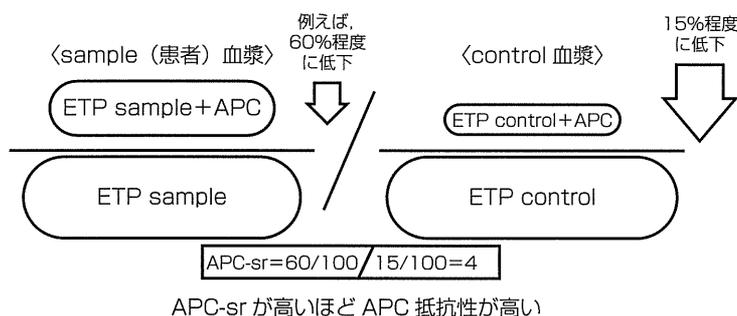


〈APC 抵抗性の有無を判定する検査法〉

ETP 測定時に APC を添加し凝固を抑制 (control で 15%程度)

ETP 抑制の程度を control 血漿との比で算出



図① APC-sr の測定

APC-sr : activated protein C sensitivity ratio (活性化プロテインC感受性比),

ETP : endogenous thrombin potential (内因性トロンビン産生能)

(小林隆夫, 2013⁴⁾ より引用)

このような蛍光基質の水解反応を一次微分した曲線がトロンビン産生曲線であり、その曲線下面積 (area under the curve : AUC) を ETP として算出する。本測定系に APC を添加・反応させることで ETP を抑制することができるため、患者血漿と正常男性コントロール血漿にそれぞれ 8.7nM の APC を添加した際の ETP の抑制率を比で表したものを APC-sr として算出する (図①)⁴⁾。

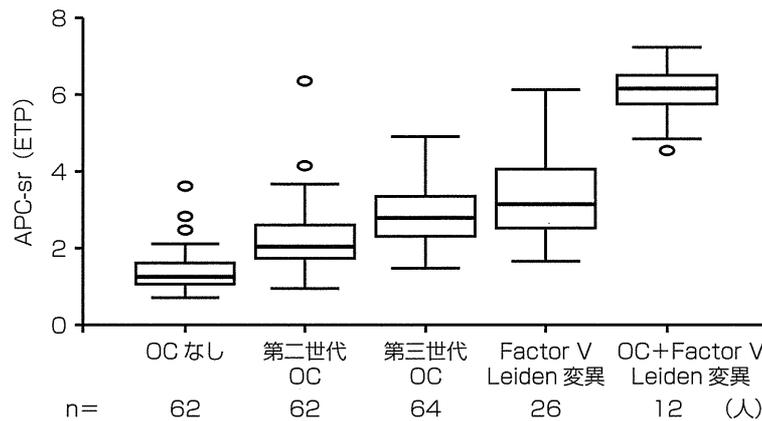
2. APC-sr と OC/LEP

APC-sr と OC 服用者との関係を図②⁷⁾ に示す。APC-sr は、OC 非服用者にくらべ第二世代 OC が約 2 倍、第三世代 OC と Factor V Leiden (FVL) 変異保因者 (OC 非服用者) が約 3 倍、FVL 変異保因者の OC 服用者が約 6 倍高くなるデータが示されている。これは APC-sr が高くなるにつれて血栓症発症リスクが増加することを意味する。わが国でのデータが少ないので明確なことは言えないものの、おそらくプロテイン S (PS) 変異保因者も FVL 変異保因者と同様なことが言えると考えられる (未発表データ)。

つぎに、異なる OC を使用する女性 156 名において APC-sr と血中遊離型 PS および遊離型組織因子経路抑制因子 (tissue factor pathway inhibitor : TFPI) 抗原

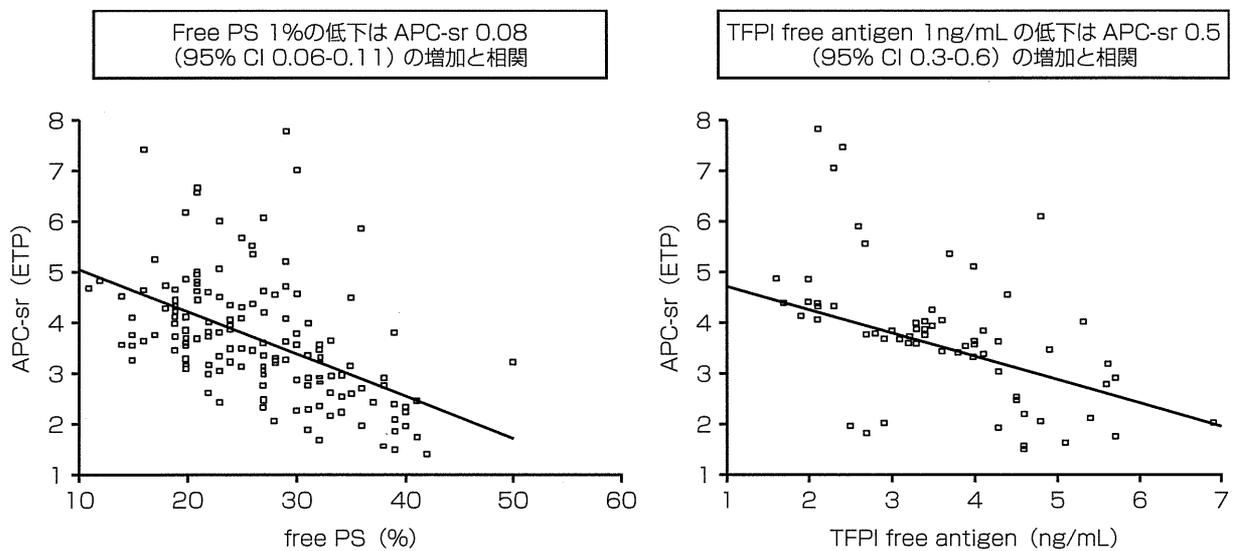
量を測定した van Vliet らのデータを紹介する⁸⁾。APC-sr の増加に反して遊離型 PS も TFPI 抗原量も低下が観察され、遊離型 PS 1% の低下は APC-sr 0.08 (95% CI : 0.06-0.11) の増加と相関 (図③左)⁸⁾、遊離型 TFPI 抗原 1ng/mL の低下は APC-sr 0.5 (95% CI : 0.3-0.6) の増加と相関した (図③右)⁸⁾。すなわち、OC 服用者では、APC-sr はこの両者とも負の相関を示し、APC 抵抗性が発現していることが明らかになった。また、この傾向は第二世代 OC よりも第三世代 OC で顕著であった。

一方、これらとは逆に APC-sr は血漿中性ホルモン結合グロブリン (sex hormone binding globulin : SHBG) の増加と正の相関を示すことが明らかになっている。Raps らが各種避妊方法と SHBG レベルについて検討したところ⁹⁾、レボノルゲストレル IUD (intrauterine device : 子宮内避妊器具) や Cu-IUD (銅付加 IUD) では、OC 非服用者と SHBG レベルはほぼ同等であったが、経口薬では、第二世代 OC のレボノルゲストレルと比較して、第三世代 OC のデソゲストレルや第四世代 OC のドロスピレノン、および酢酸シプロテロンにおいて SHBG レベルが高くなっていた。さらに、エチニルエストラジオール (EE) の膈内リングおよび EE パッチにおいても高い SHBG レベルを示していた。その結果、血漿中 SHBG レベルと APC 抵抗性は指数関数的な相関



図② APC-sr と Factor V Leiden 変異の影響

APC-sr : activated protein C sensitivity ratio (活性化プロテイン C 感受性比), ETP : endogenous thrombin potential (内因性トロンビン産生能), OC : oral contraceptives (Tchaikovski S *et al*, 2006⁷⁾ を参照して作成)



図③ APC-sr と Free PS および TFPI free antigen との関係

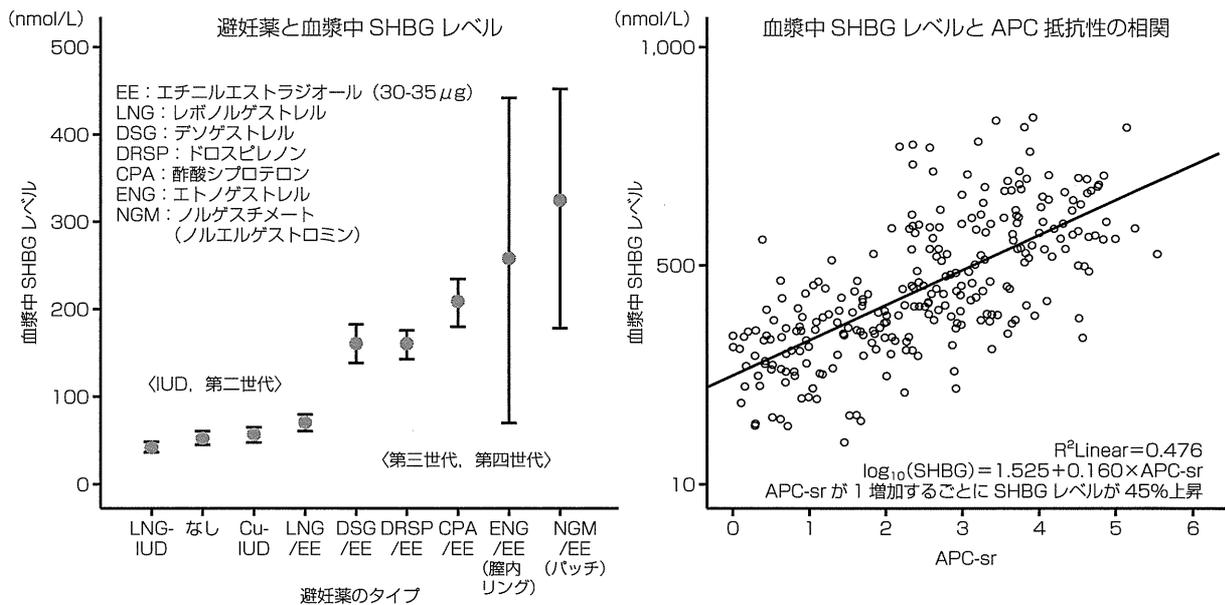
APC-sr : activated protein C sensitivity ratio (活性化プロテイン C 感受性比), free PS : free protein S (遊離型プロテイン S), TFPI free antigen : tissue factor pathway inhibitor free antigen (遊離型組織因子経路抑制因子抗原), ETP : endogenous thrombin potential (内因性トロンビン産生能) (van Vliet HA *et al*, 2008⁸⁾ を参照して作成)

関係が認められ、APC-sr が1増加するごとに SHBG レベルが45%増加することが判明した (図④)⁹⁾。

さらに Tchaikovski ら¹⁰⁾ は、第四世代 OC のドロスピレノンと月経周期における上記の指標を測定し、ドロスピレノン OC の服用者では、遊離型 PS が約20%の低下、

遊離型 TFPI が約46%の低下、SHBG が約4倍に増加し、結果として APC-sr は2.4倍に増加したと報告している。このことは APC 抵抗性が高くなり、血栓症発症リスクが高まることを意味している。

以上をまとめると、APC-sr は APC 抵抗性の指標であ



試験方法：経口薬、リング、パッチによる避妊法をおこなう女性 262 例において、APC-sr および血漿中 SHBG レベルを測定

図4 APC-sr と血漿中 SHBG レベルとの関係

APC-sr : activated protein C sensitivity ratio (活性化プロテイン C 感受性比), SHBG : sex hormone binding globulin (性ホルモン結合グロブリン), Cu-IUD : copper-intrauterine device (銅付加子宮内避妊器具)
 (Raps M *et al*, 2012⁹⁾ を参照して作成)

り、その高値は易血栓傾向を示すが、APC-sr は遊離型 PS および TFPI 抗原量と逆相関し、SHBG レベルと正の相関を示す。ただし、APC-sr、TFPI、SHBG は通常のラボでは測定できないが、遊離型を含めた PS 抗原・活性は通常検査可能で、保険適用されている。したがって、APC 抵抗性の指標は、PS 抗原・活性で代用でき、一般臨床で活用可能と考えられる。しかし、OC/LEP を服用すると PS 活性は低下するので、PS 測定は OC/LEP 投与前に測定しなければ PS 変異保因者を含めた APC 抵抗性のスクリーニングには役立たない。なお、スクリーニングの場合は、保険診療できないことに留意されたい。

3. プロゲステンの世代によってなぜ APC 抵抗性に差が出るのか？

現在わが国で発売されている OC/LEP 製剤には、第一世代から第四世代までのプロゲステンが含有されているが、エストロゲンとして含有されている EE は同じな

のに、プロゲステンの世代によってなぜ APC 抵抗性に差が出るのかが大きな疑問である。この説明はむずかしいが、まず一つには、Suzuki らが報告したように、エストロゲンそのものがヒストンの脱アセチル化により PS 遺伝子のヒストン蛋白への結合を強固にし、その転写を抑制していること、すなわち、PS 遺伝子 (*PROSI*) の down-regulation が明らかにされたことである¹¹⁾。この PS の発現抑制は、エストロゲンの種類によって異なるとされる (未発表データ)。一方、Hughes らは、プロゲステンがプロゲステロン受容体 B を介して PS 遺伝子の転写促進作用を有すること、すなわち、PS 遺伝子の up-regulation を明らかにし、この転写促進の程度は、プロゲステンの種類によって異なるという興味深い結果を報告している¹²⁾。

以上のことから、OC/LEP では、EE とプロゲステンの配合比率や第一世代から第四世代までのプロゲステンの種類にもよるが、EE による PS 産生抑制作用が減弱化する可能性が考えられる。すなわち、さまざまなエス

トロゲンとプロゲステンの組合せにより PS 発現抑制に差が出るのが APC-sr 値に反映し、易血栓性の差となって現れるものと推察される。

おわりに

OC を服用すれば APC 抵抗性となり、どのような OC であっても一定頻度で VTE をはじめ動脈血栓症のリスクを高めることは紛れもない事実である。しかし、OC に含まれるエストロゲンとプロゲステンの組合せにより PS 発現抑制に差が出るため、プロゲステン世代別で VTE 発症リスクが異なるものと考えられる。第 4 回目以降は、わが国における OC/LEP 服用中の血栓症の実際について考察する。

● 文 献 ●

- 1) 小林隆夫：低用量ピルによる血栓症リスク。日本医事新報 **4690**：60-61, 2014
- 2) 小林隆夫ほか：女性ホルモン剤と血栓症の歴史。 *Thromb Med* **4**：373-377, 2014
- 3) 小林隆夫ほか：経口避妊薬と活性化プロテイン C 凝固制御系。 *Thromb Med* **5**：73-77, 2015
- 4) 小林隆夫：静脈血栓塞栓症発症の予知と早期診断。 *心臓* **45**：924-927, 2013
- 5) Sugimura M *et al*：Detection of marked reduction of sensitivity to activated protein C prior to the onset of thrombosis during puerperium as detected by endogenous thrombin potential-based assay. *Thromb Haemost* **82**：1364-1365, 1999
- 6) Rosing J *et al*：Oral contraceptives and venous thrombosis：different sensitivities to activated protein C in women using second- and third-generation oral contraceptives. *Br J Haematol* **97**：233-238, 1997
- 7) Tchaikovski S *et al*：Venous thrombosis and oral contraceptives：current status. *Womens Health (Lond Engl)* **2**：761-772, 2006
- 8) van Vliet HA *et al*：Different effects of oral contraceptives containing different progestogens on protein S and tissue factor pathway inhibitor. *J Thromb Haemost* **6**：346-351, 2008
- 9) Raps M *et al*：Sex hormone-binding globulin as a marker for the thrombotic risk of hormonal contraceptives. *J Thromb Haemost* **10**：992-997, 2012
- 10) Tchaikovski SN *et al*：Changes in haemostatic parameters during the menstrual cycle and subsequent use of drospirenone-containing oral contraceptives. *Thromb Res* **134**：1032-1037, 2014
- 11) Suzuki A *et al*：Down-regulation of *PROS1* gene expression by 17 β -estradiol via estrogen receptor α (ER α)-Sp1 interaction recruiting receptor-interacting protein 140 and the corepressor-HDAC3 complex. *J Biol Chem* **285**：13444-13453, 2010
- 12) Hughes Q *et al*：Upregulation of protein S by progestins. *J Thromb Haemost* **5**：2243-2249, 2007

経口避妊薬と活性化プロテインC凝固制御系

小林隆夫¹⁾ 杉浦和子²⁾

Kobayashi Takao, Sugiura Kazuko

1) 浜松医療センター院長

2) 浜松医科大学健康社会医学講座

●ポイント●

- ①活性化プロテインC (APC) 凝固制御系と凝固系活性とのバランスが、生体内での血栓形成調節に重要な役割を果たしている。
- ②経口避妊薬 (OC) 服用中はエストロゲンの影響により APC 凝固制御系の機能が低下する。
- ③先天性プロテインS (PS) 欠乏症、とくに徳島変異は日本人特有の先天性血栓性素因で、APC 凝固制御系の機能を低下させる。
- ④OC 服用者や PS 欠乏症患者は APC 抵抗性となり、易血栓性となる。

●Key Words ●

経口避妊薬 (OC), エストロゲン, 活性化プロテインC (APC) 凝固制御系, 活性化プロテインC (APC) 抵抗性

はじめに

海外では経口避妊薬 (OC: oral contraceptives, 低用量ピル) として使用されている女性ホルモン剤が、2008年以降、わが国では月経困難症の治療薬 (low dose estrogen progestin: LEP) として保険適用され、その服用者は増加の一途を辿っている¹⁾。本連載「女性ホルモン剤と血栓症」シリーズ第1回目では、「女性ホルモン剤と血栓症の歴史」を紹介したが、第2回目ではOC/LEPの血栓症発症機序について最も関係があるとされる活性化プロテインC (activated protein C: APC) 凝固制御系について解説する。

生体内の血液凝固制御系

1) おもな血液凝固制御系

健康人の生体内での凝固制御系は、主として3制御系

がある。それは、①TFPI (tissue factor pathway inhibitor: 組織因子経路抑制因子) 凝固制御系、②AT (anti-thrombin: アンチトロンビン) 凝固制御系、③APC 凝固制御系である (図1)²⁾。TFPI 凝固制御系とAT 凝固制御系は、それぞれに強力な凝固制御活性があり、TFPI 凝固制御系は“組織因子の阻害”で、AT 凝固制御系は“トロンビンおよびFXa (aは活性化血液凝固因子を意味する。以下同様) をはじめとする活性化凝固因子の阻害”を通して凝固を制御する。とくにATはトロンビンに対するもっとも強い凝固制御系である。一方APC 凝固制御系は、凝固系が活性化されトロンビンが形成されてはじめて動きはじめる凝固制御系で、その活性は凝固系の活性に比例して調節される。すなわち、トロンビンは凝固系の活性が亢進しすぎるとみずからネガティブフィードバックをかけて凝固系を制御し、凝固活性と凝固制御活性のバランスの調整をおこなっていると考えられる。したがって、凝固系とAPC 凝固制御系

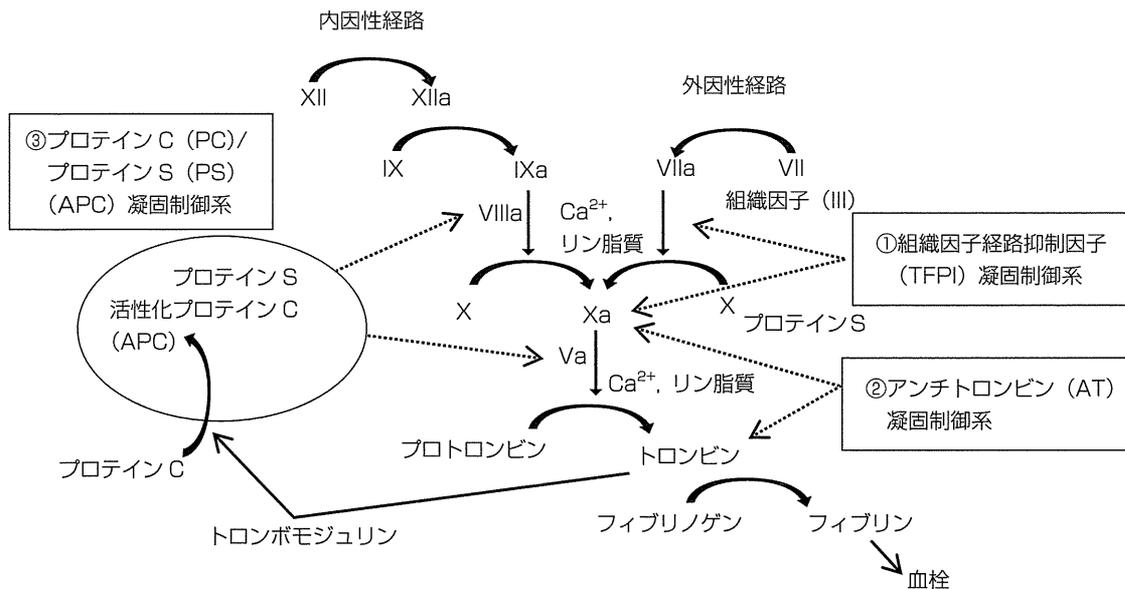


図1 おもな血液凝固制御経路

TFPI : tissue factor pathway inhibitor (組織因子経路抑制因子), AT : antithrombin (アンチトロンビン), APC : activated protein C (活性化プロテイン C), PC : protein C (プロテイン C), PS : protein S (プロテイン S), Va, VIIIa などの a は、活性化血液凝固因子を意味する
(濱崎直孝, 2011²⁾ より引用して作成)

とのあいだで適切なバランスが崩れると異常な血栓形成が起こることが推測される。

2) APC 凝固制御系の機序^{3) 4)}

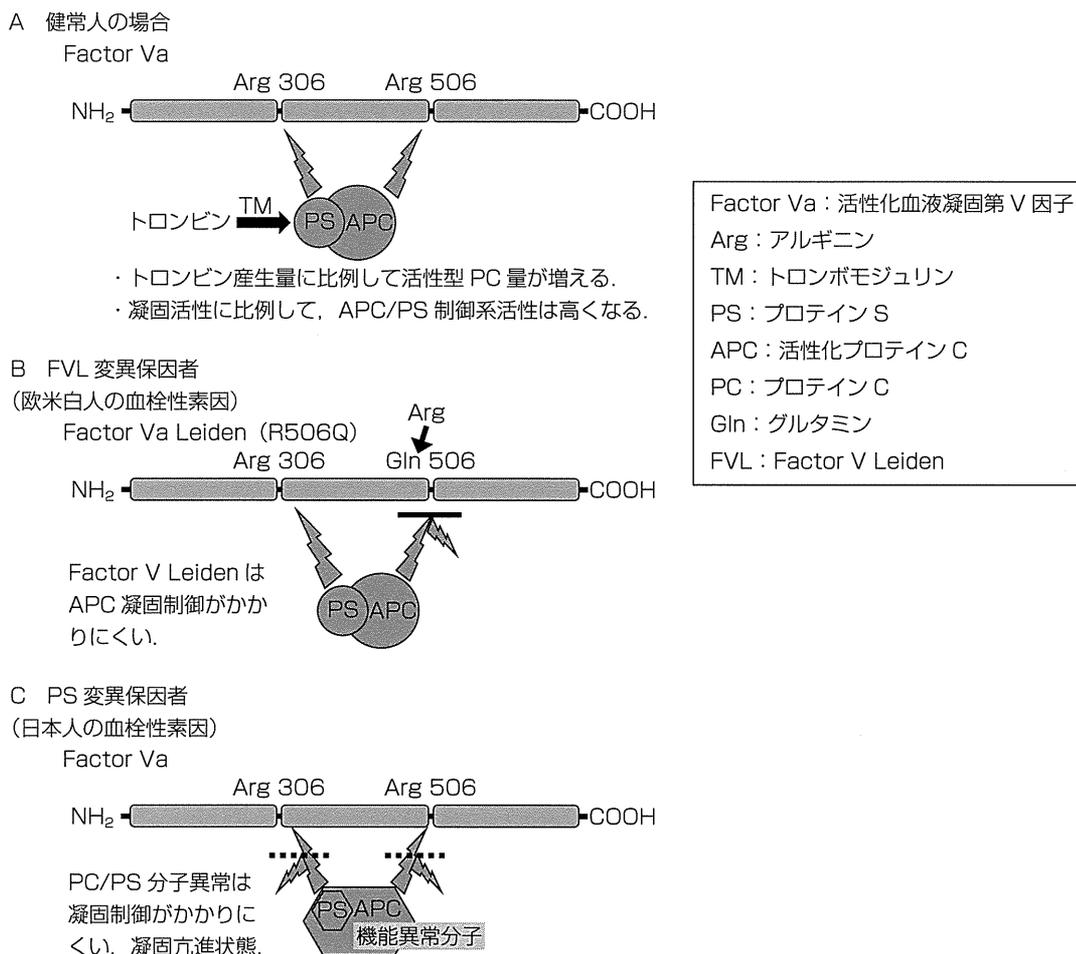
まず、健常人の場合の APC 凝固制御系の機序について説明する。プロテイン C (protein C : PC) はセリンプロテアーゼの前駆体であり、凝固系の最終産物であるトロンビン・トロンボモジュリン複合体で PC 分子の一部が切断され、その結果できた APC がセリンプロテアーゼ活性を発揮できるようになる (図2 A)。しかし、APC 分子はそれだけでは十分なプロテアーゼ活性を示すことはできず、プロテイン S (protein S : PS) と結合した APC/PS 複合体を形成してはじめて十分なセリンプロテアーゼ活性 (= APC 凝固制御系) を発揮する。APC/PS 複合体は、FVa の 506 番目のアルギニンをまず切断、つぎに 306 番目のアルギニンを切断し、FVa を不活性化して凝固活性を抑制する。すなわち、PS は APC 凝固制御活性を左右する重要な因子である。

一方、欧米白人の血栓性素因である Factor V Leiden

(FVL) 変異では、第 V 因子の 506 番目のアルギニンがグルタミンに変異しているために、APC 凝固制御系では切断されなくなり、FVa の不活性化が健常人の場合よりも遅れることになる。APC 凝固制御系は、FVL 変異でも第 V 因子の 306 番目のアルギニン部分は切断可能であるので、FVa はそのうちに切断・不活性化されるが、健常人に比較して凝固制御が遅れる。その結果、FVL 変異保因者では、凝固活性が APC 凝固制御活性より相対的に強くなって過剰な血栓形成が起こり、血栓症が発症しやすくなると考えられる (図2 B)。

そして PS 活性低下 (PS 変異) に代表されるアジア人、とくに日本人の血栓性素因では、図2 C に示すように PS 活性が低下しているために APC 凝固制御系活性全体が低下し、凝固制御がかかりにくくなる。この場合も凝固活性が APC 凝固制御活性よりも相対的に強くなって血栓形成傾向が起こり、血栓症を発症しやすくなると考えられる。

以上のことより、欧米白人の FVL 変異保因者であっても、日本人の PS 変異保因者であっても、“凝固活性が



図② APC 凝固制御系の機序

(文献 2～4 より引用して作成)

APC 凝固制御活性よりも相対的に強くなった状態”になっていることが血栓症発症機序といえる。このような状態を APC 抵抗性という。すなわち、APC 凝固制御系と凝固系活性とのバランスが、生体内での血栓形成調節に重要な役割を果たしていることを示している。

3) プロテイン S 欠乏症

先天性 PS 欠乏症は、わが国での発症頻度は AT や PC とは異なり欧米人より高いため、アジア人、とくに日本人特有の先天性血栓性素因といえる。先天性 PS 欠乏症は、抗原量・活性値ともに減少するタイプ I、抗原量が正常で活性値のみ減少するタイプ II のほかに、遊離型 PS のみ低下するタイプ III に分けられる。通常は常染色

体優性遺伝である²⁾。なお、ホモ接合体では、新生児劇症紫斑病がみられ、予後不良である (PC も同様)。

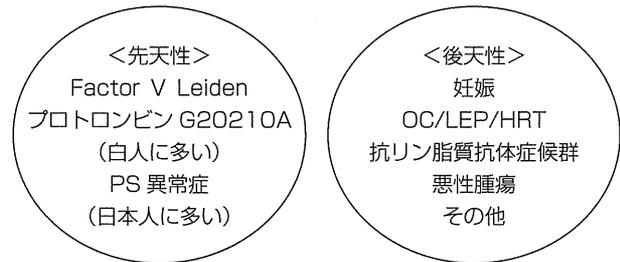
PS はビタミン K 依存性蛋白で、肝で合成される (PC も同様)。血漿中半減期は 42 時間で、遊離型が 40%、C4bBp (complement 4b-binding protein) との蛋白結合型が 60% で循環している⁵⁾。遊離型 PS のみが APC に対する co-factor としての生物作用を発揮するため、逆に C4bBp を増加させるような状況である妊娠、炎症、手術のストレスなどは PS 活性を減少させる。とくに妊娠経過とともに PS 活性は減少し、正常妊娠でも 30% 前後に低下することがある。この現象は OC/LEP 服用中も同様で、PS 活性は減少する。Suzuki らはこの機序として、エストロゲンそのものが PS の mRNA 発現を抑

制することを報告した⁶⁾。エストロゲン刺激は、ヒストンの脱アセチル化により PS 遺伝子のヒストン蛋白への結合を強固にし、その転写を抑制していること、すなわち、PS 遺伝子の down-regulation が示唆されたのである。その強さはエストロゲンの種類によって異なると考えられるが、この現象によって C4bBp の増加に関係なく、妊娠初期もしくは OC/LEP 服用直後から PS 活性が低下することが説明できる。

前述したように PS は補酵素として APC がリン脂質と結合するのを強め、APC の FVa, FVIIIa に対する凝固阻害作用を促進する。また、PS は TFPI による FXa 阻害活性をも促進する。PS 遺伝子にはたくさんの遺伝子変異や多型がみられ、これらの PS 活性の多くは減少するが、血栓症をきたす可能性はおのおのかなり異なる。

近年、日本人の PS 徳島変異 (K196E) は非常に多く、深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis : DVT) 患者における発症頻度が欧米人の約 5~10 倍で、日本人 DVT 患者の 31% がこの変異をもっていたこと⁷⁾、および日本人における PS 徳島変異は欧米人の約 10 倍で、日本人 DVT 患者のオッズ比は 5.58 であり、日本人における血栓性素因として欧米人の FVL 変異に匹敵するものであることが明らかになった⁸⁾。PS 徳島変異は、1993 年に徳島大学と名古屋大学でほぼ同時に血栓症患者で見出された PS 分子異常である^{9) 10)}。血中に分泌された PS 分子の 196 番目のリジン (K) がグルタミン酸 (E) に変異しており、PS 活性が低下している。発見当初は K155E と呼ばれていたが、K196E と同じもので、アミノ酸番号の付け方で残基番号が違っているだけである。健常日本人の 55 名に 1 名の高頻度でヘテロ接合体として見出されている。PS 徳島変異分子をホモ接合体として保因している DVT 患者がみつまっているが、その患者の血中 PS 活性は 35% (蛋白量は 94%) であり、PS 徳島変異分子の分子活性 (= 比活性) は約 40% 弱に低下している。

今後更なる詳細な検討が必要ではあるが、PS 徳島変異と静脈血栓塞栓症 (venous thromboembolism : VTE) の因果関係に関しては、①日本人では、PS 徳島変異分子をヘテロ接合体で保因する健常人が 2% 弱の頻度で存在す



図④ 活性化プロテイン C (APC) 抵抗性 (activated protein C resistance)

PS : protein S (プロテイン S), OC : oral contraceptives, LEP : low dose estrogen progestin, HRT : hormone replacement therapy

(文献 11 ~ 13 より引用して作成)

ること、②その割合が DVT 患者で上昇し、オッズ比が 5.9-9.3 になることなどから、PS 徳島変異は日本人における有力な血栓性素因の一つであると考えてよい^{3) 7)~10)}。

4) APC 抵抗性と APC 感受性比

FVL 変異では第 V 因子に先天異常があるため APC による FVa の分解が遅れるが、一方の日本人でも PS の変異によりやはり第 V 因子 (FVa) の分解が遅れるので、どちらの場合にも APC 抵抗性が起こることになる。APC 抵抗性はこれら先天性血栓性素因以外に OC/LEP 服用や妊娠、抗リン脂質抗体症候群、悪性疾患などによっても後天的に起こることが報告されている (図③)^{11)~13)}。

APC 抵抗性は、内因性トロンビン産生能 (endogenous thrombin potential : ETP) にもとづく APC 感受性比 (APC sensitivity ratio : APC-sr) を測定することによって把握できる。OC/LEP 服用中や妊娠中は APC-sr が増加し APC 抵抗性となる結果、易血栓性になるものと考えられる。もちろん、APC 抵抗性のみではすぐ血栓症を発症するとはかぎらないが、いくつかの付加的风险因子が加重することによって血栓症が発症しやすくなる。

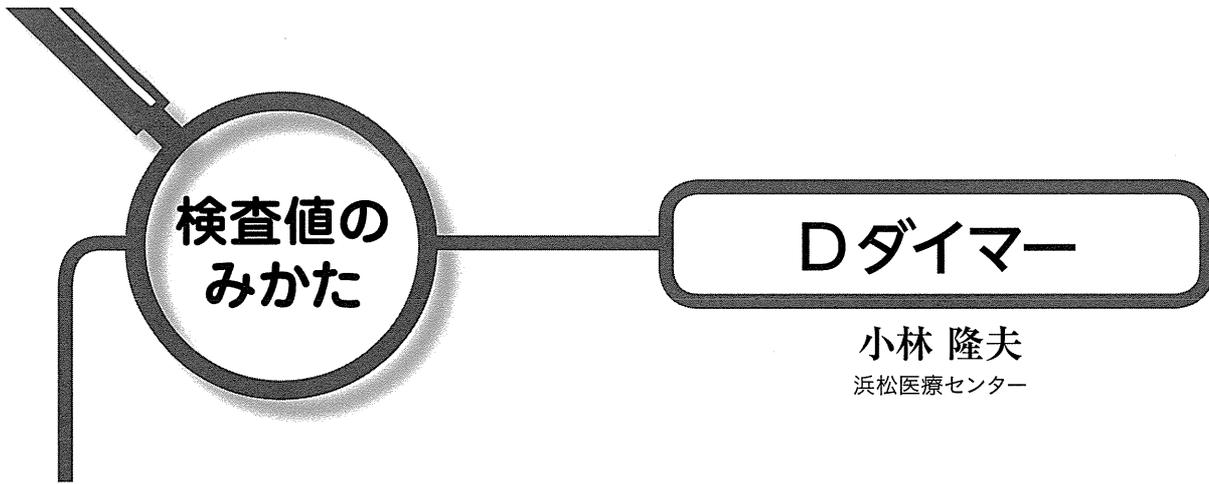
おわりに

OC/LEP 服用中や妊娠中は PS 遺伝子の down-regu-

lation が起こるため、APC 凝固制御系の機能が低下し、易血栓性となる。次回の第3回目では、OC/LEP服用と APC-sr の実際について紹介し、プロゲステン世代別で VTE 発症頻度が異なる機序について考察する。

● 文 献 ●

- 1) 小林隆夫：低用量ピルによる血栓症リスク. 日本医事新報 **4690** : 60-61, 2014
- 2) 濱崎直孝：日本およびアジアにおける血栓性素因のスクリーニング. シスメックス学術, 神戸, pp.1-31, 2011
- 3) 濱崎直孝：日本人特有の血栓性素因-プロテイン S, プロテイン C 分子異常-. 日本血栓止血学会誌 **17** : 136-143, 2006
- 4) 濱崎直孝：アジア人特有な血栓性素因の研究. 長崎国際大学論叢 **8** : 275-281, 2008
- 5) Dahlbäck B *et al* : High molecular weight complex in human plasma between vitamin K-dependent protein S and complement component C4b-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **78** : 2512-2516, 1981
- 6) Suzuki A *et al* : Down-regulation of *PROS1* gene expression by 17 β -estradiol via estrogen receptor α (ER α)-Sp1 interaction recruiting receptor-interacting protein 140 and the corepressor-HDAC3 complex. *J Biol Chem* **285** : 13444-13453, 2010
- 7) Kinoshita S *et al* : Protein S and protein C gene mutations in Japanese deep vein thrombosis patients. *Clin Biochem* **38** : 908-915, 2005
- 8) Kimura R *et al* : Protein S-K196E mutation as a genetic risk factor for deep vein thrombosis in Japanese patients. *Blood* **107** : 1737-1738, 2006
- 9) Shigekiyo T *et al* : Protein S Tokushima : An abnormal protein S found in a Japanese family with thrombosis. *Thromb Haemost* **70** : 244-246, 1993
- 10) Yamazaki T *et al* : A phenotypically neutral dimorphism of protein S : the substitution of Lys155 by Glu in the second EGF domain predicted by an A to G base exchange in the gene. *Thromb Res* **70** : 395-403, 1993
- 11) 小林隆夫：静脈血栓塞栓症発症の予知と早期診断. 心臓 **45** : 924-927, 2013
- 12) Sugimura M *et al* : Detection of marked reduction of sensitivity to activated protein C prior to the onset of thrombosis during puerperium as detected by endogenous thrombin potential-based assay. *Thromb Haemost* **82** : 1364-1365, 1999
- 13) Rosing J *et al* : Oral contraceptives and venous thrombosis : different sensitivities to activated protein C in women using second- and third-generation oral contraceptives. *Br J Haematol* **97** : 233-238, 1997



最新女性医療 創刊号 (Vol.1 No.1) 別刷



フジメディカル出版
FUJI MEDICAL PUBLISHING

〒530-0035 大阪市北区同心 2-4-17 サンワビル
TEL. 06-6351-0899 FAX. 06-6242-4480

検査値の みかた

Dダイマー

小林 隆夫

浜松医療センター

FDPと Dダイマーとは^{1,2)}

線溶系の活性化により生成されたセリンプロテアーゼであるプラスミンは、フィブリノゲンおよびフィブリンを分解し、フィブリノゲン/フィブリン分解産物 (fibrinogen/fibrin degradation products: FDP) を形成する。FDPとは、広義にはフィブリノゲン/フィブリン分解産物のことを示すが、その主要な分解産物は安定化フィブリンの線溶(二次線溶)によって生じる物質であるため、狭義にはフィブリン分解産物のことをいう。

フィブリノゲンがプラスミンによって分解されると、最初にまずX (DED)分画が生成され、さらに分解が進むと、1分子のX分画からY (DE)分画とD分画が1分子ずつ形成される。Y分画はさらにプラスミンの作用を受けD分画とE分画に分解される。すなわち、フィブリノゲン1分子から2分子のD分画と1分子のE分画が生成される (fibrinogen degradation products: FgDP)。これを一次線溶 (fibrinogenolysis) といい、DIC (disseminated intravascular coagulation) などの高度線溶亢進時にみられる。一方、血液凝固第 XIII 因子によって架橋されたフィブリン (安定化フィブリン) がプラスミンによって分解されると、種々のDダイマー/E分画複合体、Dダイマー、E分画に分解され、最終的には等モルのDダイマーとE分画が生成される。DDが第 XIII 因子によって強固に結合 (架橋) されると、Dダイマー (D-D) となり、この部位はもはやプラスミンによって切断されなくなる。安定化フィブリンの分解産物のうちDダイマー構造を有する分画をとくにDダイマーと称し、二次線溶を反映するマーカーと認識されている (図)²⁾。

測定法と 臨床的意義

FDPは免疫学的測定法で検出されるが、用いられる抗体はフィブリノゲンとフィブリンともに交差反応を示すので、検体にトロンビンを加えることによって血清として測定する。正常値は $10\mu\text{g/mL}$ 以下であるが、DIC、血栓症、線溶亢進、妊娠高血圧症候群重症などで増加する。正常妊娠でも妊娠経過とともに増加する³⁾。DICスコアの検査項目に挙げられている重要な検査法である。なお、最近はDモノマーに反応性の高い抗ヒトFDPモノクローナル抗体を使用し、血漿中のFDPを特異的に検出することが可能になった¹⁾。

Dダイマーは、FDP同様に免疫学的測定法で検出されるが、特異性が高いモノクローナル抗体を用いるため、フィブリノゲンとの交差反応はみられず、最終的な安定化フィブリンの分解産物である。国際血栓止血学会では、Dダイマーをフィブリン由来のDダイマーおよび関連物質で免疫されて作られたモノクローナル抗体を用いて検出される抗原物質と定義しているため、用いるDダイマー試薬によって検出される抗原物質が異なる。さらに、各メーカーが使用するcalibratorの濃度表示は、含有Dダイマー量をフィブリノゲン量に換算したFEU (fibrinogen equivalent

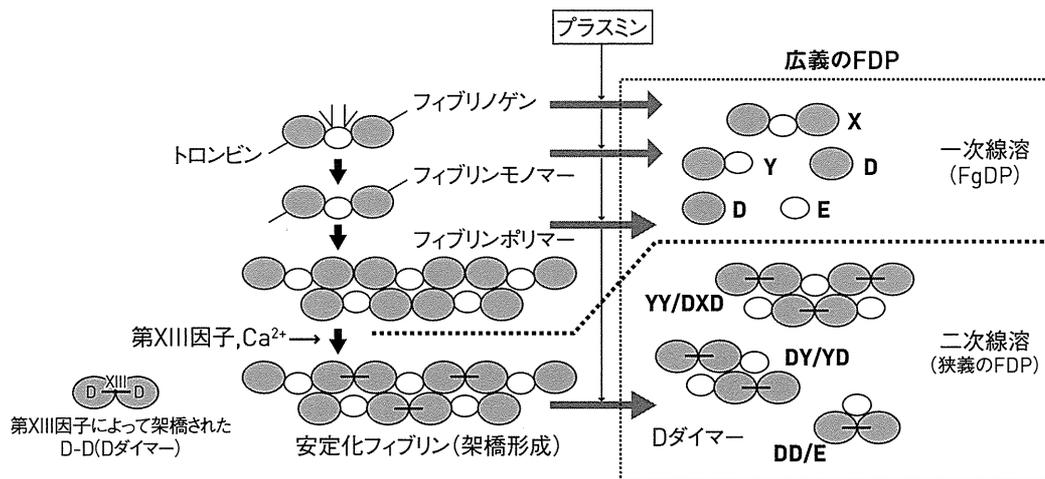


図 フィブリノゲン/フィブリン分解産物の生成過程のモデル
(文献2より引用作成)

FDP: fibrin degradation products, FgDP: fibrinogen degradation products

units) で表示する場合と、純化Dダイマー分量に換算したDD unitsで表示する場合がある。一般に海外の試薬はFEUで表示し500ng/mLが正常上限であり、国内の試薬はDD unitsで表示し1,000ng (1 μ g) /mLが正常上限であることが多い。したがって、表示単位が μ g/mLであっても、どちらの単位に基づくかによって異なる結果となる⁴⁾。

Dダイマーの産生増加は安定化フィブリンのプラスミンによる分解亢進、すなわち二次線溶亢進を意味し、Dダイマーの測定によって二次線溶亢進と一次線溶亢進との鑑別が可能となり、二次線溶亢進をきたすDICや各種の血栓症、悪性腫瘍の診断、病態把握、治療効果判定の指標として有用である。FDPと同様妊娠高血圧症候群重症などで増加するが、正常妊娠でも妊娠経過とともに増加する^{1,2)}。

Dダイマーは、深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis: DVT) や肺塞栓症 (pulmonary embolism: PE) 診断においても、きわめて高い陰性的中率を誇ることが報告されている。DVT診断において陰性的中率98～99%という報告もあり、Dダイマーが正常であればDVTをほぼ否定できる^{5,6)}。逆に陽性的中率は高くないため、Dダイマーが高値だとしてもDVT/PEと診断できるわけではない。

検体は、3.8%のクエン酸ナトリウム入り試験管にクエン酸ナトリウム1容量に対し血液9容量を加えて採血する。

文献

- 1) 小林隆夫: 産婦人科領域における血液凝固線溶系—最近の動向. 産科と婦人科 77(8): 880-887, 2010
- 2) 福武勝幸: Dダイマーの現状と標準化に向けた課題. 生物試料分析 32(5): 380-385, 2009
- 3) Onishi H et al: Fibrin monomer complex in normal pregnant women: a potential thrombotic marker in pregnancy. Ann Clin Biochem 44: 449-454, 2007
- 4) 阪田敏幸: 血栓止血関連マーカーの標準化. 血栓止血誌 19(4): 471-473, 2008
- 5) Ginsberg JS et al: Sensitivity and specificity of a rapid whole-blood assay for D-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism. Ann Intern Med 129(12): 1006-1011, 1998
- 6) de Moerloose P et al: A multicenter evaluation of a new quantitative highly sensitive D-dimer assay for exclusion of venous thromboembolism. Thromb Haemost 100(3): 505-512, 2008

平成 27 年度厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等政策研究事業

血液凝固異常症等に関する研究班

第 1 回班会議

日時：平成 27 年 7 月 10 日（金）午前 10 時～午後 5 時終了予定

場所：慶應義塾大学病院 2 号館 11 階中会議室

プログラム・抄録集

研究代表者 村田 満

血液凝固異常症等に関する研究班 第1回班会議プログラム

日時：平成27年7月10日（金）午前10時～午後5時終了予定

場所：慶應義塾大学病院 2号館11階中会議室

10：00～ 研究代表者 挨拶 村田 満

10：10～ 国立保健医療科学院 武村 真治 様

10：20～ **I T P研究班** 研究計画 富山 佳昭

サブグループリーダー：富山 佳昭 大阪大学医学部

研究分担者：桑名 正隆 日本医科大学アレルギー膠原病内科

羽藤 高明 愛媛大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部

研究協力者：

藤村 欣吾 安田女子大学／倉田 義之 四天王寺大学

柏木 浩和 大阪大学大学院医学系研究科／高蓋 寿朗 呉医療センター

宮川 義隆 埼玉医科大学医学部

10：40～ **T T P研究班** 研究計画 松本 雅則

サブグループリーダー：松本 雅則 奈良県立医科大学

研究分担者：和田 英夫 三重大学医学部

宮川 義隆 埼玉医科大学医学部

小亀 浩市 国立循環器病研究センター

研究協力者：

藤村 吉博 奈良県立医科大学／森木 隆典 慶應義塾大学医学部

日笠 聡 兵庫医科大学血液内科／上田 恭典 倉敷中央病院

八木 秀男 近畿大学奈良病院血液内科

11：00～ **特発性血栓症研究班** 研究計画 森下 英理子

サブグループリーダー：森下 英理子 金沢大学大学院医学系研究科病態検査学

研究分担者：小嶋 哲人 名古屋大学医学部

宮田 敏行 国立循環器病研究センター

小林 隆夫 浜松医療センター

研究協力者：

坂田 洋一 自治医科大学／津田 博子 中村学園大学大学院栄養科学研究科

横山 健次 東海大学医学部附属八王子病院／中村 真潮 村瀬病院

榛沢 和彦 新潟大学教育研究院／尾島 俊之 浜松医科大学

杉浦 和子 浜松医科大学／根木 玲子 国立循環器病研究センター

關谷 暁子 金沢大学大学院医学系研究科病態検査学

11:20～12:20 各グループミーティング

12:20～13:00 昼食

13:00～13:45

I T P 班研究報告：司会 富山 佳昭

羽藤高明・島田直樹・倉田義之 「ITP の全国疫学調査」

桑名正隆 「抗 GPIIb/IIIa 抗体産生 B 細胞検出法の実用化に向けた試み」

柏木浩和 「ITP 診断における新機種を用いた IPF% の有用性

および ITP 治療における血小板機能測定の意義に関する検討」

13:45～14:30

T T P 班研究報告：司会 松本 雅則

松本雅則 「Upshaw-Schulman 症候群における維持透析患者の臨床的特徴と予後」

和田英夫 「PRESS が疑われた血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)の一例」

小亀浩市 「ADAMTS13 遺伝子解析によって確定診断された

ADAMTS13 インヒビター陰性の後天性 TTP」

14:30～14:45 休憩

14:45～15:45

特発性血栓症班研究報告：司会 森下 英理子

森下英理子 「先天性プロテイン S 欠損症 6 症例の遺伝子解析および

変異型プロテイン S 蛋白の機能解析」

小嶋哲人 「血栓性素因の調査研究：先天性アンチトロンビン欠損症の遺伝子異常解析」

宮田敏行 「日本人静脈血栓塞栓症の遺伝的リスクであるプロテイン S K196E 変異の

ELISA 法の測定精度評価」

小林隆夫 「先天性プロテイン S 欠損症患者の妊娠管理および女性ホルモン剤使用に関する

診療ガイドラインの策定」

終了

平成 27 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業

血液凝固異常症等に関する研究班 研究代表者：村田 満

事務局：慶應義塾大学医学部臨床検査医学 富田ゆかり・佐野有果

村田教授室Tel：03-5363-3838

サブグループ研究

ITP サブグループ

| | |
|---------------|------------------|
| グループリーダー：富山佳昭 | 大阪大学医学部附属病院 病院教授 |
| 班員：桑名正隆 | 日本医科大学 教授 |
| 羽藤高明 | 愛媛大学医学部附属病院 病院教授 |
| 村田 満 | 慶應義塾大学医学部 教授 |
| 研究協力者：藤村欣吾 | 安田女子大学 教授 |
| 倉田義之 | 四天王寺大学 教授 |
| 高蓋寿朗 | 国立病院機構呉医療センター 科長 |
| 柏木浩和 | 大阪大学大学院医学系研究科 講師 |
| 宮川義隆 | 埼玉医科大学 教授 |
| 島田直樹 | 国際医療福祉大学 教授 |

ITP 診療に関して本研究班では、従来の成果を継続、発展すべく、

- 1) 疫学研究、
- 2) 治療の標準化、特に ITP 治療の参照ガイドの作成、
- 3) ITP 診断法の標準化と病態解析を基盤とした新規診断法の検討
を 3 つの柱として ITP の解析を行っていく予定。

以下にその概要を記載

- 1) 疫学研究の継続、発展（羽藤、倉田、島田）

ITP に関して、厚労省より平成 24 年度の ITP 患者の臨床個人調査票ファイルの提供を受け解析した。ITP 医療受給者証所持患者は 24,100 人であった。成人に焦点を当てた解析を今後も継続して行う。本年度より班会議にて作成した臨床個人調査表の様式に改訂されている。トロンボポエチン受容体作動薬の使用実態および、難治症例の頻度やその治療内容に関する解析する予定。

- 2) ITP 治療の参照ガイドの作成の継続（2012 年版の改訂作業の準備）（班員全員）

成人慢性 ITP の診療に関して海外のガイドを参照しつつ、H.Pylori 除菌療法、TPO 受容体作動薬を含めわが国のデータを加味し ITP 治療の参照ガイド 2012 年度を作成、公開した（現在オープンアクセス化）。現在リツキシマブは ITP に対する適用はないが、難治性 ITP に対するリツキシマブの医師主導治験も終了し、その適応拡大に向けて準備中である。そのため、リツキシマブの ITP に対する適応拡大が確定した時点で、2012 年版の改訂作業を進める予定。2016 年度（あるいは 2017 年度）に改訂版を公開予定。

妊娠合併 ITP 治療の参照ガイドは本班会議の枠にとらわれず、産婦人科、小児科、麻酔科など多くの診療領域からのエキスパートが参画。日本血液学会の機関紙である「臨床血液」に受理されオープンアクセス掲載。さらに本班会議から関係する医師に別冊配布した。「臨床血液」に掲載されている、成人 ITP 治療の参照ガイド 2012 年版もオープンアクセス掲載となった。さらに「血液凝固等の研究班」のホームページを作成した（村田）

3) 病態解析と ITP 診断検査の開発とその普及 (桑名、富山、柏木)

ITP の診断は、いまだ除外診断が主体となっている。そのため、さらなる病態解析とそれに基づく診断法の開発が必要である。当 ITP サブグループが提唱した ITP 診断基準案に関して、その基盤となる検査法の一般化、標準化、保険収載にむけて検討する。

同時に ITP における抗血小板抗体の解析とその検出法の開発、ELISPOT assay の実用化、網状血小板比率測定その他施設共同研究の検討、血小板減少症の鑑別診断、血小板減少時の機能検査法の検討など、ITP 診断法の検討およびその病態の解析法の検討を行う予定。

TTP サブグループ

グループリーダー：松本 雅則 奈良県立医科大学輸血部 教授

班員：宮川 義隆 埼玉医科大学総合診療内科 教授

和田 英夫 三重大学医学部臨床検査医学 准教授

小亀 浩市 国立循環器病研究センター 部長

研究協力者： 森木 隆典 慶応義塾大学保健管理センター 准教授

日笠 聡 兵庫医科大学血液内科 講師

上田 恭典 倉敷中央病院 血液内科 部長

宮田 敏行 国立循環器病研究センター 前部長

八木 秀男 近大奈良病院 血液内科 准教授

藤村 吉博 奈良県立医科大学輸血部 特任教授

目的

日本国内のTTP症例の病態解析を行い、独自のTTP診断と治療ガイドラインを作成する。

本年度の計画

サブグループとしては以下の5項目を行うが、本年度は3)～5)を重点的に行う。

- 1) 全国の医療機関から血栓性微小血管症（TMA）症例の集積を続行し、日本の症例の特徴を解析する。
- 2) 先天性TTP（Upshaw-Schulman症候群）診断のためADAMTS13遺伝子解析を継続する。
- 3) TTP治療ガイドラインを作成する。
添付のような試案を作成した。これをたたき台として、広く意見を募り、治療ガイドラインの完成を目指す。
- 4) リツキシマブのTTPへの保険適用拡大を目指す。
2014年に医師主導治験を実施した。
- 5) ADAMTS13検査の保険収載と同活性測定キットの体外診断薬承認を得る。
キットの体外診断薬承認のため、患者検体を使った治験を計画している。

TTP 治療ガイド エキスパートオピニオン（案）

血栓性血小板減少性紫斑病（thrombotic thrombocytopenic purpura : TTP）は、緊急に治療を必要とする致死性疾患である。原因不明の血小板減少と溶血性貧血を認めた場合に本疾患を疑うことが重要である。指定難病の診断基準では、ADAMTS13 活性が 10%未満の症例のみを TTP としているが、それ以外の症例でも同様の治療方法が必要な症例も存在する。また、ADAMTS13 活性の結果が判明するまでに現状では数日を要するため、病状によってはその結果を待たずに治療を開始する必要がある。

TTP には先天性（Upshaw-Schulman 症候群 : USS）と、後天性が存在する。先天性は ADAMTS13 遺伝子異常により、後天性は ADAMTS13 に対する自己抗体（インヒビター）が産生されることにより発症する。ADAMTS13 活性が 10%未満に低下している症例でインヒビターが存在すれば後天性である。それ以外の症例は USS が疑われるが、経時的な同活性の確認や両親の検査で後天性との鑑別が可能な場合があるが、最終的な診断は ADAMTS13 遺伝子解析が必要である。

本ガイドラインでは後天性を中心に記載し、最後に先天性を別項目として記載する。後天性は成人について記載しており、小児に対する薬剤の用法・用量は経験が少ないため注意を要する。ADAMTS13 活性非著減例（10%以上）の治療については、本ガイドでは扱わない。

1. 後天性 TTP

1) 急性期

原因不明の血小板減少と溶血性貧血を認めた場合、後天性 TTP を疑うことが重要である。できるだけ、早期に治療を開始することが必要である。他疾患との鑑別のため直接クームス試験陰性を確認し、破碎赤血球の存在が参考になる。また、急性期には心血管イベントによる死亡が問題となるため、トロポニンを確認する。

A 初期治療

a) 血漿交換（1 A）

新鮮凍結血漿（fresh frozen plasma: FFP）を置換液とした血漿交換を 1 日 1 回連日施行する。FFP の量は、患者循環血漿量の 1~1.5 倍（一般に循環血漿量は 40~50 mL/kg とされる）を用いて交換する。血漿交換が有効である理由として、1) ADAMTS13 の補充、2) ADAMTS13 インヒビターの除去、3) ADAMTS13 で切断できない超高分子量 von Willebrand 因子重合体の除去、などが予想される。1) の効果が期待できないため、アルブミンを置換液として使用してはいけない。

血漿交換

FFP 50-75mL/kg を置換液として、1 日 1 回連日施行する。

理想としては、英国ガイドラインに記載されているように、血小板が正常化（15 万/uL 以上）して、2 日後まで連日施行することであるが、日本国内では保険適用（1 週間