<原 著>

血漿アンチトロンビンⅢの臨床的意義 とくに糖尿病の血管障害と関連して

松尾 武文 大木 康雄 近藤 信一

<要 約> 正常人のアンチトロンビンⅢを単純一元免疫拡散法で測定した。正常人を男女別、年代別に各25名づつ選び合計300名の測定値をみると、その平均値は $30.9 \pm 4.4 \text{ mg/dl}$ で加齢に従い男性では40歳代以後に有意の低下がみられたが、女性では加齢との関係は明らかでなかった。このことからアンチトロンビンの増減を比較する場合には、Sex age matched control が必要と考えた。

血栓性疾患(DIC、心筋梗塞急性期、脳梗塞、糖尿病)と肝硬変のアンチトロンビンⅢを Sex age matched で比較した。すると DIC、心筋梗塞急性期、肝硬変、脳梗塞の順に有意の低下がみられた。これは、凝固法によって得られた結果と同じであった。血管障害のない糖尿病は正常人のアンチトロンビンⅢと有意差はなかったが、網膜症が合併し増悪するに従って有意の低下がみられ、増殖性網膜症では $22.8 \pm 6.7 \text{ mg/dl}$ と著明であった。また、糖尿病では、罹病期間が長期間の例や、血小板機能亢進例でもアンチトロンビンⅢの低下がみられた。とくに網膜症があり、罹病期間が5年以上で血小板機能の亢進例でのアンチトロンビンⅢは $20.0 \pm 6.9 \text{ mg/dl}$ と低値を示した。以上のことから糖尿病でのアンチトロンビンⅢは血管障害の増悪と関係していると考えられた。

アンチトロンビンⅢ（以下 AT Ⅲと略）は血中で重要なトロンビン阻害作用を持つ物質で、血中のトロンビンとすみやかに結合しこれを中和する。この作用はヘパリンにより促進されるため heparin cofactor といわれており血中の抗トロンビン作用の大部分は AT Ⅲの作用である¹⁾。最近、先天的に AT Ⅲの低下している家系に静脈血栓が多発することが報告されており、わが国でも、私どもが AT Ⅲの低下家系を報告している²⁾。このように AT Ⅲの低下は、血栓症の発生と関係しているため、血栓症の発生要因の調査には AT Ⅲの測定が必要である。現在 AT Ⅲの測定には生物学的活性を測定する方法と、免疫的活性を測定する方法とが用いられている。とくに前者は、標準的な方法がないため、種々の方法があるが、いずれも凝固時間法で測定するので脱フィブリンの操作が必要とされる。しかし色素結合基質の普及により脱フィブリンの必要はなくなったが、AT Ⅲのスクリーニング検査として色素結合基質は高価なため適当ではない。免疫的測定法は、結果の判定まで長時間を

要するがその活性は特殊な場合を除き生物活性とよく相関するといわれている³⁾。しかし、日常検査として両者の活性をスクリーニング検査として同時に実施することは難点がある。そこで今回は免疫的測定法により正常者と血栓症の AT Ⅲを測定し、免疫的測定法による AT Ⅲの臨床的意義について検討した。

対象と方法

正常者として本院血液銀行の供血者の中から、10、20、30、40、50、60歳の各年代について各々25名合計300名を選び、3.8%クエン酸を1:9の割合で加えて血漿を得た。次に血栓症を主とした各種疾患では AT Ⅲを比較するために、本院内科の DIC 24例、肝硬変24例、心筋梗塞24例、脳梗塞24例糖尿病24例の各群について、年齢、性別をすべて一致させて比較した。とくに糖尿病については糖尿病の血管障害や罹病期間との関係をみるために、糖尿病外来通院中の240名について測定を行ない、AT Ⅲの比較はすべて年齢、性別を一致させた群の間で行なった。

続いて糖尿病の AT Ⅲと血小板機能の関係をみる目的で各症例の血小板凝集能を ADP 2種濃度法によりあわ

T. Matsuo, Y. Ohoki, S. Kondo : 兵庫県立淡路病院
内科

受付日 : 1979. 7. 12

せて測定した⁴⁾。

AT Ⅲの測定は単純一元免疫拡散法 (Behring 製) に
より行ない、測定に用いた標準血清は凝固法⁶⁾にて一定
の生物活性が保たれていることを確かめてから用いた。
また測定が2時間以内に実施出来ない場合は-20℃に凍
結保存した。

結 果

1. AT Ⅲの正常値

正常値を得るため、本院の血液銀行の供血者の中から
各年代別、男女別に各々25例づつ選び計300例を測定し
た。正常者の平均 AT Ⅲは $30.9 \pm 4.4 \text{ mg/dl}$ で、男女
別、年代別に AT Ⅲの平均値をみると (図1) 男女とも
加齢により減少がみられた。男性では10代の AT Ⅲと比
較して40代、50代、60代では有意に低下していたが、女
性では60代でのみ有意の低下であった。

図1 正常者 300例の AT Ⅲの加齢による減少

2. 血栓性疾患と肝硬変の AT Ⅲ

血栓性疾患として DIC、心筋硬塞急性期、脳血栓、
糖尿病と肝硬変の AT Ⅲ濃度を比較するため、これら
の疾患の患者の中からそれぞれ Sex age matched で24
例 (男12例、女12例、平均年齢 59.2 ± 11.5 歳) づつ選ん
だ (図2)。DIC の平均 AT Ⅲは $18.2 \pm 5.4 \text{ mg/dl}$ でも
っとも低下しており、続いて心筋硬塞急性期の平均 $22.0 \pm 3.5 \text{ mg/dl}$ 、肝硬変 $21.6 \pm 6.6 \text{ mg/dl}$ 、脳硬塞 $22.8 \pm 5.0 \text{ mg/dl}$ の順に低下していた。しかし血管障害のない糖尿病では有意の AT Ⅲの低下はみられなかった。またこれらの疾患の中から無作為に30例を選び凝固法との相関をみると、相関係数は $r=0.837$ ($p<0.01$) で両者の間に良好な相関がみとめられた。すなわち AT Ⅲは血栓形成

図2 血栓性疾患と肝硬変の AT Ⅲ

に伴うトロンビンの生成により消費させる場合と肝での
産生の減少による場合に低下がみられた。

3. 糖尿病における AT Ⅲ

糖尿病それ自体では AT Ⅲの低下はみとめられなかつ
た。しかし糖尿病は罹病期間が長いため、AT Ⅲと罹病
期間の関係をみた。罹病期間別に14例の糖尿病を選び、
年齢、性別 (男7例、女7例、平均年齢 56.5 ± 17.3 歳)
と糖尿病性血管障害の種類とコントロールの状態を一致
させて比較した (図3)。すると罹病期間が長くなるに

図3 糖尿病140例の罹病期間と AT Ⅲ

従って AT Ⅲは低下し9年と10年の罹病期間を持つ糖
尿病は、1年未満の糖尿病と比較して有意に低下してい
た。このように糖尿病では、罹病期間が長くなるに従っ
て AT Ⅲが低下していた。次に、糖尿病の網膜症と AT
Ⅲの関係をみた。

網膜症のない糖尿病24例をコントロール群として、単
純性網膜症 (Scott I ~ III) を24例、増殖性網膜症 (Scott

Ⅳ～Ⅴ)を24例選び3群は年齢、性別(男12例,女12例,平均年齢 59.2 ± 11.5 歳)と糖尿病の治療方法やコントロールの状態も一致させた。すると、糖尿病に網膜症の合併し、単純性網膜症から増殖性網膜症に増悪するに従ってATⅢは有意に低下した(図4)。すなわち糖尿病でのATⅢの低下は、網膜症の増悪と関係がみとめられた。

4. 糖尿病でのATⅢと血小板機能の関係

図4 糖尿病網膜症のATⅢ

図5 糖尿病例のATⅢと血凝集能の関係
(A) 糖尿病網膜症での比較
(B) 非血管障害群での比較

私どもは、網膜症と血小板機能の亢進と関係があることをみとめた。そこで、ATⅢとADP2種濃度法による血小板機能との関係をみた。まず、罹病期間と網膜症の影響をさけるために、網膜症の有無と罹病期間の5年未満と以上の4群を作り、各群とも性、年齢(男4例,女2例,平均年齢 56.5 ± 17.3 歳)を一致させた。すると5年以上の罹病期間の糖尿病の中で、血小板機能亢進例ではATⅢの低下がみられた(図5)。

糖尿病性網膜症の中で、血小板機能が高度に亢進している例のATⅢは 20.0 ± 6.9 mg/dlと低下しており、血小板機能が正常の網膜症の 24.9 ± 2.8 mg/dlと比較して有意の低下であった。すなわち5年以上の糖尿病で血小板機能の亢進例ほど、ATⅢの低下がみとめられた。このように、糖尿病が長期にわたり、網膜症が合併すると血小板機能の亢進とともにATⅢが低下し、血管障害をさらに増悪することになる。

考 案

ATⅢの測定は、生物活性による方法と免疫的濃度をみる方法がある。前者には凝固法と色素結合基質法があり、正常活性を100%としてあらわされている。これに対して後者はmg/dlとして測定できる利点がある。免疫拡散法による北欧での正常値をみると⁷⁾加齢とともに男性では有意に低下するが、女性では加齢との関係は明らかでなく、今回の日本人で得られた正常値と同じであった。このように日本人のATⅢには、人種的にみて特別な変化はみとめられなかった。

ATⅢと疾患の関係をみた報告は多いが、その結果は用いられた測定法によって若干異なっている。しかし、家族性ATⅢ欠乏症、肝硬変、DIC、経口避妊薬、手術後に低下することが一般的にみとめられている⁸⁾⁹⁾。

今回の結果でも、DIC、肝硬変では従来の報告と同様に低下していたが、代表的血栓症である心筋梗塞、脳梗塞でも有意に低下していた。このようにATⅢの低下している血栓症に対してヘパリンを投与するとさらにATⅢの消費を招くため¹⁰⁾くりかえしてATⅢを測定する必要がある。さもないと血栓を再発させる危険性がある。

糖尿病の細血管症の合併により予後が悪化することが注目されている。最近では、細血管症の発生と血小板機能の異常の間に関係があるといわれている¹¹⁾。私どもは網膜症での血小板機能異常にアスピリンの併用療法を行ない、血小板機能異常の正常化に伴い眼底所見の改善することを経験している¹²⁾。今回の血管障害とATⅢの

結果では、血管障害のない糖尿病ではATⅢに低下がみられなかったが、網膜症が合併し増悪していくに従ってATⅢの低下がみとめられた。このように網膜症の悪化とATⅢの低下が相関しているため、ATⅢの低下と血小板機能の亢進との間の関係をみた。その結果、罹病期間が5年以上で網膜症の合併があり、血小板機能の亢進例のATⅢが一番低下していた。このことから、糖尿病の血管障害の進展に血小板機能の異常とともにATⅢの低下も関係していることが推定できた。また実験的にも、トロンビンによる血小板凝集がATⅢによって抑制されることがみとめられている¹³⁾。すなわち、血中でのATⅢの低下によるトロンビンの不活性化の障害は、血小板機能の異常をひきおこしやすい状態になっている。そして糖尿病では血小板機能の異常とATⅢの低下が協同して、血管障害を進展させている可能性がある。

以上の結果から免疫的方法によるATⅢの測定は血栓性疾患の診断や治療の判定に対して有用であると考えられた。

ま と め

免疫的測定法により日本人のATⅢの正常値を求めた。その結果ATⅢに性差があり、男性は10歳代と比較して40歳代以後加齢とともに有意に低下したが、女性では加齢との関係は明らかではなかった。これは欧米人ではみとめられている結果とほぼ同じであった。

臨床的に血栓性疾患のATⅢの測定結果をみても、生物学的活性で得られた結果と同一であった。このことから、大量検体のスクリーニングには生物活性による方法よりも本法のような免疫的方法が適していると考えられた。また糖尿病のATⅢは、網膜症の合併も増悪に従って有意に低下した。そして糖尿病の罹病期間が5年以上になり、網膜症が合併し血小板機能の亢進がみとめられる症例のATⅢは、有意に低下を示した。このことからATⅢの低下は血小板機能の亢進とならんで糖尿病の血管障害の増悪に関係していると推定できた。

(本研究は米国 Mount Sinal Medical Center の Shanberg 博士の助言と協力を得た)。

文 献

- 1) Rosenberg, R.D.: Actions and interactions of antithrombin and heparin, *New Eng. J. Med.* **292**: 146, 1975.
- 2) Matsuo, T., Ohki, Y., Kondo, S. and Matsuo, O.: Familial antithrombin III deficiency (AT III Awaji), *Thromb. Res.*, in press.
- 3) Peterson, C., Kelly, R., Minard, B. and Cowley, L.P.: Antithrombin III, comparison of functional and immunologic assays, *Am. J. Clin. Path.*, **69**: 500, 1978.
- 4) Matsuo, T. and Ohki, Y.: Classification of platelet aggregation patterns with two ADP solutions (The double-ADP method) and its clinical application to diabetes mellitus, *Thromb. Res.* **11**: 453, 1977.
- 5) Abildgaard, U., Fagerhol, M.K. and Egeberg, O.: Comparison of progressive antithrombin activity and the concentrations of three thrombin inhibitors in human plasma, *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.* **26**: 349, 1970.
- 6) Bick, R.L., Lovacs, I. and Fekete, L.A.: A new twostage functional assay for antithrombin III (heparin cofactor). Clinical and laboratory evaluation, *Thromb. Res.* **8**: 745, 1976.
- 7) Odegard, D.R., Fagerhol, M.K. and Lie, M.: Heparin cofactor activity and antithrombin III concentration in plasma related to age and sex, *Scand. J. Haematol.* **17**: 258, 1976.
- 8) von Kaulla, E. and von Kaulla, K.T.: Antithrombin III and disease, *Am. J. Clin. Path.* **48**: 69, 1967.
- 9) Damus, P.S. and Wallace, G.A.: Immunologic measurement of antithrombin III—heparin cofactor and α_2 macroglobulin in disseminated intravascular coagulation, and hepatic failure coagulopathy, *Thromb. Res.* **6**: 27, 1975.
- 10) Marciniak, E. and Gockerman, P.J.: Heparin-induced decrease in circulating antithrombin III, *Lancet* **11**: 581, 1977.
- 11) Bern, M.M.: Platelet functions in diabetes mellitus, *Diabetes* **27**: 342, 1978.
- 12) 松尾武文: 血小板機能からみた糖尿病性網膜症、とくにアスピリンの併用効果について、*糖尿病*, **22**: 169, 1979.
- 13) Eika, C. and Abilgaard, U.: Inhibition of thrombin induced aggregation of human platelets by antithrombin III, *Scand. J. Haemat.* **7**: 460, 1970.

Abstract

Clinical Significance of Antithrombin III with Special Reference to Diabetic Retinopathy

Takefumi Matsuo, Yasuo Ohoki and Shinichi Kondo

Antithrombin III (AT III) concentrations in healthy Japanese and with thromboembolic disorders were measured by use of single radial immunodiffusion. 300 healthy controls were examined: 25 males and 25 females in each decade from 10 to 70. The concentration of AT III in healthy males slowly decreases with age. The decrease after the age of forty is even greater. No significant decrease occurs in females. Therefore, in the determination of AT III levels in thromboembolic disorders, it is necessary that the results be compared with age-matched controls.

AT III was determined in patients with various thromboembolic disorders, DIC, myocardial infarction and cerebral infarction, and in patients with liver cirrhosis. 24 patients suffering from each disease were selected, matched by sex and age. The lowest levels of AT III were found with DIC, followed by myocardial

infarction and cirrhosis of the liver. With cerebral infarction no significant changes were found. The results in all cases were the same when a biologic assay was used.

In diabetics, no difference in AT III was found between diabetics without vascular complication and healthy controls. In diabetics with retinopathy there was a significant decrease. The concentrations were even lower in those with retinopathy and proliferative changes. Moreover, in diabetics with vascular complications the degree of decrease in AT III was also related to the duration of the disease. The lowest AT III levels were found in those patients with vascular complications of over 10 years duration in whom platelet hyperaggregability with ADP could also be demonstrated. It is suggested that decreased concentrations of AT III together with platelet hyperaggregability may take a role in pathogenesis of vascular changes in diabetics.

Hyogo Prefectural Awaji Hospital Sumoto, Japan