ヘパリン負荷試験 血管内皮より遊離してくる PF4 と内皮の機能

塚里 孝和* 丸山 征郎** 大勝 洋祐***

Heparin infusion test : Releasable PF4 and endothelial antithrombogenic activity

Takakazu TSUKASATO*, Ikurou MARUYMA**
and Yousuke OHKATSU***

Key words: platelet factor 4 (PF4), antithrombin III (AT III),
endothelial cell (EC), heparin, thrombosis

To evaluate the antithrombogenic activity of endothelium, we intravenously injected heparin (60 U/kg) in patients with thrombotic tendency and healthy controls, and measured both plasma concentration of platelet factor 4 (PF4) and β -thromboglobulin (β TG).

The plasma PF4 increased transiently 5 minutes after heparin injection, while β TG did not. PF4 bound to cultured human umbilical venous endothelial cell monolayer was also released by the incubation with heparin (1 U/ml) in vitro.

As the heparin exerts its anticoagulant activities by potentiating the antithrombin III (AT III) against the coagulation factor proteinases, more increasing amounts of PF4 released from endothelium neutralize larger heparin-like molecules on the endothelium and decrease the antithrombogenic activities of endothelium.

We designated the heparin-releasable PF4 as Δ PF4 and β TG before heparin injection as pre- β TG respectively. It is assumed that Δ PF4 is one of a marker of the endothelial antithrombogenic activity and pre- β TG is a marker of the platelet activation in vivo.

In healthy controls, there was a direct correlation between pre- β TG and Δ PF4. The patients with thrombotic tendency (cerebral thrombosis, DM, rheumatoid disease, DIC,

* 出水市立病院内科 (〒 899-01 鹿児島出水市六月田 2005); Internal Medicine, Izumi Municipal Hospital, Kagoshima-ken, Japan.

** 鹿児島大学医学部第三内科, The Third Department of Internal Medicine, Kagoshima University School of Medicine, Kagoshima, Japan.

*** 大勝病院, Ohkatsu Hospital, Kagoshima, Japan. 受付: 1988. 1.10, 受理: 1988.12.22.

and malignancy) showed abnormal profile, that is high β TG with increased heparin releasable PF4.

In conclusion, heparin infusion test is appeared to be a useful method for the evaluation of the endothelial antithrombogenic activity.

はじめに

血管内皮細胞はヘパリン様分子を合成し、それには ATⅢ と PF4 が結合している¹⁾²⁾。ここで外からヘパリンを静注すると、一過性に内皮より PF4 が遊離してくる³⁾。このヘパリン負荷後の PF4 を諸疾患について測定し、血小板と内皮のダイナミクスについて検討した。

I. 方 法

ヘパリン (60 U/kg) を静注し、その前と 5

分後の β TG と PF4 を ERISA 法で測定した。対象は正常者 41 例 (60 歳以上 23 例), 悪性腫瘍 6 例, DM 53 例, 関節リウマチ 45 例, 脳血栓症 44 例, DIC 4 例である。また臍帯静脈血管内皮細胞を培養し, PF4 を遊離せしめ, ヘパリン添加の効果も検討した。

II. 結果と考察

正常者にヘパリンを静注すると PF4 は 1.6 IU/ml から 5 分後に 40 IU/ml に一過性に上昇したが, β TG は上昇せず, むしろ漸減した。

Fig. 1 The profile of the PF4 and β TG plasma levels in a young healthy subject after heparin infusion. PF4 is released from the endothelium.

Fig. 2 Δ PF4 and β TG Plasma levels in patients with thrombotic tendency (cerebral thrombosis, DIC and malignancy).

また、同時に測定した尿中の PF4 は、ヘパリン静注後増加したが、 β TG は低下していた(図 1)。培養内皮に結合せしめた PF4 もヘパリン添加で遊離したことから、ヘパリン静注後一過性に上昇する PF4 は内皮細胞から遊離してくるものであろうと推定された。また、ヘパリン静注 5 分後の β TG には有意な変化を認めなかったことより、血小板からの PF4 や β TG の放出は血中増加に影響しないと考えられた⁴⁾。

正常者の 85% において、ヘパリン負荷 5 分後の PF4 の上昇値(Δ PF4)は 40 IU/ml 以下となり加齢による変動はなく⁴⁾、ヘパリン負荷前の β TG は 10~40 IU/ml であった。このことから、 Δ PF4 を横軸に、縦軸に前値の β TG をとると、高 β TG-高 Δ PF4 (type 1)、正常 β TG-高 Δ PF4 (type 2)、高 β TG-正常 Δ PF4 (type 3)、正常 β TG-正常 Δ PF4 (type 4) に分けえた。60 歳以下の正常者は 83% 以上が type 4 に属したが、加齢とともに β TG が上昇し、80 歳以上では 70% が type 3、または type 1 であった。

脳血栓症では 25% が type 1 で、type 2 が 16

%, type 3 が 11% であった。DM では type 1 が 19%, 関節リウマチでは type 1 が 29%, DIC は全例 type 1, 悪性腫瘍では 50% が type 1 であった(図 2)。

凝血のプロセスは血管内皮により制御されていることがあきらかにされつつある⁵⁾。それらは、PGI₂ 合成による血小板機能の抑制であり⁶⁾、thrombomodulin による凝固系の制御である^{7,8)}。また、内皮表面のヘパリン様分子に結合した ATIII による凝血の制御である。

血管内血小板凝集のプロセスでは PF4 が放出され、この PF4 は内皮上のヘパリンに結合するものと想定されるが、過剰の PF4 は内皮のヘパリン・ATIII 結合をモジュレートし、内皮の抗血栓活性を低下せしめる可能性が推定される⁹⁾。上述の諸疾患では、血栓準備状態や血栓傾向にあるとされるが、これらの病態では単に血小板の凝集の亢進(β TG の上昇)のみならず、内皮のモジュレーションを惹起されている可能性が示唆された。

このようにヘパリン負荷は血小板のみでなく、内皮の機能を窺い知る一方法と考えられる。

文 献

- 1) Marcum, J. A., Rosenberg, R. D.: Heparin-like molecules with anticoagulant activity are synthesized by cultured endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **126**: 365~372, 1985.
 - 2) Dawes, J., Smith, R. C., Pepper, D. S.: The release, distribution, and clearance of human β -thromboglobulin and platelet factor 4. *Thromb. Res.*, **12**: 851-861, 1978.
 - 3) Dawes, J., Pumphrey, C. W., McLaren, K. M., et al.: The in vivo release of human platelet factor 4 by heparin. *Thromb. Res.*, **27**: 65~76, 1982.
 - 4) 塚里孝和, 他: DIC における血管内皮細胞の抗血栓活性の低下. *臨床血液*, **28**: 2110~2116, 1987.
 - 5) Maruyama, I.: The regulation of blood coagulation by the endothelium. *Acta Haematol. Jap.*, **49**: 1610~1617, 1986.
 - 6) Baenziger, N. L., Dillender, M. J., Majerus, P. W.: Cultured human skin fibroblasts and arterial cells produce a labile platelet-inhibitory prostagrandin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **78**: 294~301, 1977.
 - 7) Esmon C. T., Owen, W. G.: Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **78**: 2249~2252, 1981.
 - 8) Maruyama, I., Bell, C. E., Majerus, P. W.: Thrombomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and on syncytiotrophoblast of human placenta. *J. Cell. Biol.*, **101**: 363~371, 1985.
 - 8) 塚里孝和, 他: 血管内皮細胞の抗血栓活性の評価法—ヘパリン負荷試験の有用性—. *医学のあゆみ*, **141**: 107~108, 1987.
-