原 著

新しいDダイマー測定試薬を用いた各種血栓性疾患
における安定化フィブリン分解産物の測定

和田 研* 高橋 芳右* 帯刀 亘*
滝沢 慎一郎** 柴田 昭*

Measurement of crosslinked fibrin derivatives by a new reagent in patients with thromboembolic diseases

Ken WADA*, Hoyu TAKAHASHI*, Wataru TATEWAKI*,
Shin-ichiro TAKIZAWA** and Akira SHIBATA*

Key words : crosslinked fibrin derivatives, FDP, D-dimer, fibrinolysis

In patients with various thromboembolic diseases and normal subjects, plasma levels of crosslinked fibrin derivatives (XDP) were measured by a latex agglutination procedure using a new monoclonal antibody. Plasma XDP was undetectable ($<1 \mu\text{g/ml}$) in all normal subjects, and in all patients with chronic arterial or venous thromboembolic diseases. It was elevated in 2 of 6 patients with acute venous thromboembolism, in 3 of 13 patients with acute arterial thromboembolism, and in all 18 patients with disseminated intravascular coagulation (DIC). In patients with DIC, XDP values correlated well with currently used FDP, and changed in parallel with the clinical course of DIC. Following the fibrinolytic therapy, plasma XDP level increased in 4 of 12 patients studied. It was suggested that this new reagent for the quantitation of XDP is useful for the assessment of secondary fibrinolysis, although it is not sensitive to mild elevation of XDP.

* 新潟大学医学部第一内科 (〒 951 新潟市旭町通 1-754), The First Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine, Niigata, Japan.

** 新潟こばり病院内科, Division of Internal Medicine, Niigata Kobari Hospital, Niigata, Japan. 受付: 1989. 1. 4. 受理: 1989. 3. 6.

緒 言

安定化フィブリン分解産物(XDP)の測定は血栓由来の FDP 測定法として広く用いられつつある¹⁻⁵⁾. 今回, 新たに開発された抗Dモノクローナル抗体 (JIF-23) を用いたラテックス凝集法にて, 各種血栓性疾患および線溶療法前後で XDP を測定し, その有用性を検討したので報告する.

I. 対象および方法

1. 対 象

正常人 15 例, 急性期静脈血栓塞栓性疾患 6 例, 慢性期静脈血栓塞栓性疾患 8 例, 急性期動脈血栓塞栓性疾患 13 例, 慢性期動脈血栓塞栓性疾患 18 例, 糖尿病 10 例, 播種性血管内凝固症候群 (DIC) 18 例を対象とした. 線溶療法施行例ではウロキナーゼ (UK) 24~48 万単位または pro-UK 3000~6000 単位を投与した.

2. 測定法

1) XDP の測定

Dダイマーを抗原として得られたモノクローナル抗体(JIF-23)⁶⁾をラテックスに吸着させたDダイマー測定試薬(ヤトロン)を用いた. 本抗体は DD/E やDダイマーおよびDモノマーと抗原抗体反応に基づいて結合する⁶⁾が, 感作ラテックスはエピトープを2個持つ DD/E やDダイマーとは抗原抗体反応に基づく凝集をおこし, エピトープを1個しかもたないDモノマーとは凝集をおこさないという原理に基づいて, 検体中のフィブリン分解産物を特異的に測定できる. 本試薬の測定下限値は $1 \mu\text{g/ml}$ である. 検体はクエン酸加血漿を使用し, 結果は DD/E にて表現した.

2) 他の凝血学的指標の測定

従来の血清 FDP は FDP テスト (ベリ

Fig. 1 Changes of DD/E in various diseases. VT; venous thrombosis, AT; arterial thrombosis, DIC; disseminated intravascular coagulation, DM; diabetes mellitus.

Fig. 2 Correlation between DD/E and FDP in DIC.

ンガー・マンハイム山之内), α_2 プラスミンインヒビター (α_2 PI) およびアンチトロンビン III (AT III) は合成基質法 (第一化学薬品), α_2 PI-プラスミン (Plm) 複合体は酵素抗体法 (PIC テスト, 帝人) にて行った⁷⁾. フィブリノゲンはトロンビン時間法にて測定した. また定量的 XDP 測定法である Dimertest-EIA (富士レビオ) を一部で併用した.

Fig. 3 Changes in fibrinolytic parameters during fibrinolytic therapy with urokinase or pro-urokinase.

1, 2: pulmonary embolism,
3: deep vein thrombosis, and
4~12: acute myocardial infarction.

II. 結 果

1. 各種疾患における DD/E 値

各種疾患における DD/E 値を 図 1 に示した。正常人および慢性期動・静脈血栓性疾患は全例 $1 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。糖尿病では 10 例中 1 例のみ高値であった。急性期静脈血栓性疾患では 6 例中 2 例高値、また急性期動脈血栓性疾患では 13 例中 3 例で高値であった。DIC では全例高値（平均 $5.7 \pm \text{SD } 6.9 \mu\text{g/ml}$ ，範囲 $1 \sim 32 \mu\text{g/ml}$ ）を示し，FDP との相関は $r=0.950$ ($p<0.001$) と良好であった（図 2）。

2. 線溶療法時での検討

線溶療法を施行した経皮的冠動脈内血栓溶解療法例 9 例中 1 例，肺塞栓症 2 例中 2 例，深部静脈血栓症 1 例中 1 例は投与前から DD/E の上昇を認め，線溶療法後更に増加した。これら増加例 4 例中 3 例のみ従来の FDP も増加した。投与前検出不能例（ $1 \mu\text{g/ml}$ 以下）では

Fig. 4 Clinical course of DIC in a patient with acute promyelocytic leukemia.

1 例も上昇をみなかった。DD/E 不変例 8 例中 3 例では従来の FDP が上昇した（図 3）。今回の対象例では，DD/E および FDP の変動と投与薬剤の種類および量との間には一定の関係は認められなかった。

Fig. 5 Changes in fibrinolytic parameters in a patient with DIC associated with sepsis.

Fig. 6 Changes in fibrinolytic parameters in a patient with acute pulmonary embolism.

Fig. 7 Changes in hemostatic parameters in a patient with deep vein thrombosis complicated by septic shock.

3. 臨床経過と DD/E

経時的に観察した急性前骨髄球性白血病症例 (図 4), 敗血症に伴う DIC 例 (図 5) および急性肺塞栓症例 (図 6) では DD/E はその経過と一致して変動し, FDP の変動とも平行していた。しかし敗血症性ショックを合併した深部静脈血栓症の 1 症例では DD/E と FDP の間に解離が見られた (図 7)。本症例で最も FDP が高値であった時でも Dimertest-EIA による XDP 値は 465 ng/ml と軽度上昇を認めたのみであった。

III. 考 案

従来用いられてきたポリクローナル抗体を用いた血清 FDP 測定法では, 検出される FDP がフィブリン由来であるかフィブリノゲン由来であるか全く区別できなかった。そのため最近ではモノクローナル抗体を用い XDP を特異的に検出する測定系が開発されてきている^{1)~5)}。血栓性疾患とくに深部静脈血栓症および肺塞栓症, DIC, 線溶療法時などに血中 XDP が上昇することがすでに報告されており^{1)~5)7)8)}, 一次線溶と二次線溶の鑑別, 更には線溶療法の効果

判定等に重要と考えられている。

今回ここに新しいDダイマー測定試薬を用いて検討した成績を報告した。正常人はすべて陰性 ($1\mu\text{g/ml}$ 以下) で、DIC 症例ではすべて陽性 ($1\mu\text{g/ml}$ 以上) であり、両群間に明らかな差を認めた (図1)。しかも従来の FDP とよく相関する (図2) こと、また経時的にみても DIC の経過と比較的よく一致して変動すること (図4, 5) から、DIC 例では XDP が総 FDP 量と平行して生成されていることが確かめられた。最近の Koppert ら⁹⁾の検討でも、一般の DIC においてはフィブリノゲン分解産物の生成は殆ど認められないとされている。図7に示した例では FDP と DD/E が著明に解離していた。これが一次線溶亢進によるフィブリノゲン分解産物によるものか、フィブリンモノマー、非凝固性フィブリノゲンの存在によるものは、更に検討を要するが、本例は本測定法の XDP に対する特異性を示す1例と考えられる。

しかし多くの血栓塞栓性疾患症例では陰性であり、これまでの XDP 測定法での成績^{1)~5)7)8)}と比較するとやや感度が劣っている可能性がある。線溶療法後でも上昇が認められない症例が多い原因もこのためと思われる。本法の測定限界である $1\mu\text{g/ml}$ 以下のレベルでの変動があった可能性は否定できない。以上より本法での DD/E 陽性例ではある程度以上の XDP が生成されていることを示すものとして評価し、より低値領域を問題とする場合は酵素免疫測定法による定量法にて検討すべきと考えられた。また本法は比較的凝集反応の見やすいラテックス凝集法であり、簡便かつ迅速な XDP 測定法となり得るものと思われる。

結 語

新しいDダイマー測定試薬 (ヤトロン) を用いて各種血栓性疾患で血中 XDP を検討した。やや感度が低いものと思われるが、簡便かつ迅速な XDP 測定法として有用と思われた。

謝辞：本研究の一部は厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究費の助成を受けた。またDダイマー測

定試薬を提供して頂いたヤトロン[®]に感謝する。

文 献

- 1) Rylatt, D.B., Blake, A.S., Cottis, L.E., Massingham, D.A., Fletcher, W.A., Masci, P.P., Whitaker, A.N., Elms, M., Bunce, I., Webber, A.J., Wyatt, D. and Bundesen, P.G.: An immunoassay for human D-dimer using monoclonal antibodies. *Thromb. Res.*, **31**; 767~778, 1983.
- 2) Elms, M.J., Bunce, I.H., Bundesen, P.G., Rylatt, D.E., Webber, A.J., Masci, P.P. and Whitaker, A.N.: Measurement of crosslinked fibrin degradation products--An immunoassay using monoclonal antibodies. *Thromb. Haemostas.*, **50**; 591~594, 1983.
- 3) Whitaker, A.N., Elms, M.J., Masci, P.P., Bundesen, P.G., Rylatt, D.B., Webber, A.J. and Bunce, I.H.: Measurement of crosslinked fibrin derivatives in plasma: An immunoassay using monoclonal antibodies. *J. Clin. Pathol.*, **37**; 882~887, 1984.
- 4) Elms, M.J., Bunce, I.H., Bundesen, P.G., Rylatt, D.B., Webber, A.J., Masci, P.P. and Whitaker, A.N.: Rapid detection of cross-linked fibrin degradation products in plasma using monoclonal antibody-coated latex particles. *Am. J. Clin. Pathol.*, **85**; 360~364, 1986.
- 5) Amiral, J., Grosley, B. and Mimilla, F.: Measurement of D. Dimer with a monoclonal enzyme immunoassay. (Ultin, O.N. and Vinazzer, H.: *Thrombosis and Hemorrhagic Diseases*), Gozlem Matbaacilik Koll. Sti., Isutambul, 1986, p. 363.
- 6) 照喜名重治, 吉田信彦, 坂田洋一, 松田道生, 徐 吉夫, 河野 功, 本間美千代: フィブリノゲン分解産物: late D1 のN末構造を認識するモノクローナル抗体. *日血会誌*, **50**: 483, 1987.
- 7) Takahashi, H., Takizawa, S., Hanano, M., Tatewaki, W., Nagasaki, Y., Sasagawa, Y., and Shibata, A.: Evaluation of fiblynoritic therapy by measuring cross-linked fibrin derivatives and plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex in plasma. *Tohoku J. Exp. Med.*, **153**; 295~302, 1987.

- 8) Hunt, F. A., Rylatt, D. B., Hart, R. A. and Bundeson, P. G.: Serum cross-linked fibrin (XDP) and fibrinogen/fibrin degradation products (FDP) in disorders associated with activation of the coagulation or fibrinolytic systems. *Br. J. Haematol.*, **60**; 715~722, 1985.
 - 9) Koppert, P. W., Kuipers, W., Hoegee-de Nobel, B., Brommer, E. P. J., Koopman, J. and Nieuwehuizen.: A quantitative enzyme immunoassay for primary fibrinogenolysis products in plasma. *Thromb. Haemostas.*, **57**; 25~28, 1987.
-