第35回日本輸血学会総会

総会長講演

止血異常と輸血

—血友病における止血血栓の構築異常—

福武 勝博* 浮田 実 羽田 雅夫 山田 享弘
小池 克昌 福田 稔 今井 正

東京医科大学臨床病理学教室

BLOOD TRANSFUSION AND HEMOSTATIC ABNORMALITIES WITH SPECIAL REFERENCE TO ABNORMAL CONSTITUTION OF HEMOSTATIC PLUG IN HEMOPHILIA

Katsuhiro Fukutake*, Minoru Ukita, Masao Hada, Takahiro Yamada, Katumasa Koike,
Minoru Fukuda and Tadashi Imai

Department of Clinical Pathology, Tokyo Medical College

*Speaker, President of the 35th Annual Meeting of JSBT (1987)

The constitutional nature of hemostatic plug is important for hemostasis, because hemostatic plug might be functioning a direct role to cease bleeding at the site of hemorrhage. Therefore, the structural abnormalities of the plug in patients with hemophilia have been reported recently by us and others. However, there are many unknown mechanisms to produce the qualitative abnormalities of plug structure, which might be constructed mainly fibrin-crosslinked mass and aggregated platelets.

In this paper, the authors observed the time course on the release of factor XIII a subunit from the platelet aggregates to the factor XIII deficient plasma by the use of our ELISA technique with polyclonal antibody against factor XIII a subunit, and it was shown a positive relationship between the release phenomenon of platelet factor XIII and the autolytic destruction process of platelet aggregates, and the 50% release of factor XIII from platelet aggregates was measured about 4 hrs after platelet aggregation induced by ADP or thrombin.

In the experiments of hemophilia A cases the amount of crosslinked von Willebrand factor and fibronectin to fibrin clot tended to increase but the crosslinkage of α_2 plasmin inhibitor to fibrin showed a decreasing tendency in the fibrin clot obtained from the recalcified patient plasma mixed with ^{125}I -labeled α_2 plasmin inhibitor. Those data might indicate the reason for rapid fibrinolysis by urokinase added on the recalcified clot from the plasma collected before and after the administration of factor VIII reparation to hemophiliacs and also the reason for low values of the maximum amplitude in thrombelastography performed on nine patients with hemophilia A.

According to the results above mentioned it might be suggested that the qualitative abnormalities of crosslinked fibrin structure of the hemostatic plug in the patients with hemophilia might effect on the disfunction of the plug, but the reaction mechanisms inducing such abnormal changes of the clot structure are still not elucidated in detail. However, the prolongation of blood clotting time due to low activation of thrombin with untimely supply of platelet factor XIII might be possible as a reacting condition for this abnormal distribution of crosslinkage.

はじめに

止血異常は主に血小板や血漿凝固因子の質的量的な異常に起因した病態であり、臨床的には多様な出血症状を呈する。しかし、疾病により可成り特徴的な出血

所見を認めるものもある。例へば、先天性 XIII 因子欠乏症では打撲後出血と共に脳内出血の頻度は極めて高く、吾々の経験した 3 症例とも脳内出血を経験している。また、血友病においては関節内出血の頻度の高い

図1 血小板凝集におけるフィブリノゲン架橋 (Niewiarowskiら, 1986)

ことは血友病関節症として知られている。

正常人においては血管壁が損傷をうけると、出血所にまず血小板血栓を作り、ついで凝固血栓ができて止血血栓が完成され、止血は完了する。その後、線維素溶解現象を主体とした血栓溶解が起こり、血管壁の正常化への修復がみられる。

損傷局所における血小板血栓の形成は損傷直後に始まり、通常は数分以内に終了して凝固血栓へ移行する。凝固血栓の基本はフィブリン線維により構築され、その構造の強靱性や創傷治癒にたいする機能はフィブリン線維の重合状態に依存している。フィブリン重合はXIII因子による交叉架橋 crosslinkage を介して展開されるが、フィブリン分子同志によって架橋重合とフィブロンectin、von Willebrand 因子、 α_2 プラスミン・インヒビターあるいはコラーゲン等々の関連物質とフィブリンとの架橋重合の様々な組み合わせが止血血栓としての機能に影響する。

1. 血小板と止血血栓

a. 血小板と凝固因子の関関

出血局所で血小板は活性化され、血小板内カルシウムを増加すると共に二次凝集に必要な物質を生成して、血小板同志の凝集を起し、von Willebrand 因子を介して組織に粘着する。血小板凝集に当ってはフィブリノゲン D ドメインの γ 鎖と α 鎖 C 末端部位が、カルシウムの共存のもとで血小板のリセプターすなわち血小板膜の糖蛋白 GP I_b と GP II_b-III_a 複合体と結合して、2 個の血小板の間にフィブリノゲン 1 分子の架橋が行なわれて、血小板凝集が起こる(図 1, Niewiarowski ら, 1983)¹⁾。

また、出血局所での血小板と組織の結合は von Willebrand 因子を介して行なわれるが血小板の活性化によって露出された血小板膜の GP I_b は von Willebrand 因子 N 末端とのリセプターとなり、血小板膜

図2 VIII因子/vWF複合体と止血 (L. Hoyer, 1987)

GP II_b-III_a 複合体は von Willebrand 因子 C 末端のレセプターとなると言われている。元来、von Willebrand 因子はVIII因子と複合体を作って血漿中に存在しているために、von Willebrand 因子が出血局所で血小板と組織の間に介入し、そのために VIII-von Willebrand 因子複合体が出血局所に濃縮固定される。その局所でVIII因子が活性化されて凝固促進作用を発揮する。VIII因子の血中濃度が100ng/ml と凝固因子中最も微量なものであるだけに、VIII因子の出血局所への濃縮化という意味が合理的なメカニズムである(図 2, Hoyer ら, 1987)²⁾。これらの血小板または血小板血栓の組織への結合の仕組は血小板血栓を組織に定着し、血流に拮抗して局所に固定される安定した止血血栓を形成する上に必要な機構でもある。

しかし、血小板の側から血漿凝固因子による凝血を補助する働きを示すメカニズムも存在している。血小板よりの放出物質のうちセロトニンはその血管収縮作用によって間接的に止血機構に関与するし、血小板第3因子はリン脂質の膜面において γ -カルボキシグル

- (注) 1) ()内はXIII因子のSubunit a, bの変化
 2) →は活性化方向
 3) ----→は酵素作用を示す
 4) XIIIaは活性基の露出した活性化XIII因子

図3 フィブリン重合に対応するXIII因子の活性化

タミ酸を介して凝固反応を促進し、血小板第4因子はその抗ヘパリン作用によってヘパリンの凝固阻止反応に拮抗して血液凝固を促進する。また、血小板内にはカテプシン、エラスターゼなどの血液凝固、線溶系に有効であると思われる諸種の酵素を内臓しており、さらにはフィブリノゲン、V因子、VIII因子などが血小板に吸着されており局所の凝固反応に有効である。更に血液凝固反応には直接的な影響はないが、止血血栓内におけるフィブリン重合に重要な酵素であるXIII因子がa subunit 単独のdimerとして血小板内に存在している。

これらの止血血栓の生成に有効な血小板内物質は止血過程において止血局所に供給されなければならない。その供給経路は3つに要約されると思われる。すなわち、1) 血小板の濃縮顆粒や α 顆粒に内臓されている物質は血小板の活性化、凝集に伴って開放小管系を介して細胞外へ能動的に放出される。ついで、2) 血小板第3因子は血小板の活性化によって血小板膜へ近接して血小板第3因子能を増幅し、その後この部から放出される。さらに、3) XIII因子のように能動的な放出機構をもたない物質はおそらく経時的に血小板血栓の内部で血小板の自家融解が起り、血小板に内臓されている有効物質が細胞外に放出される(図3)。

b. 血小板 XIII 因子の放出機構

吾々は抗XIII因子a-subunitポリクロナル抗体を用いて、XIII因子a-subunitを測定するELISA法を開発し(小池, 1987)³⁾、正常血小板と先天性XIII因子

図4 血小板XIII-a subunitの血小板凝集後の血漿への出現

欠乏血漿を混合して多血小板血漿を合成して、これにADP、トロンビンを加えて血小板凝集を起こし、経時的に血漿中に血小板凝集塊から放出されてくるXIII因子a-subunitを定量すると、37℃での経過時間に従って血漿中出现するa-subunit量は増加し、凝集4時間後の検体では、超音波破碎によるa-subunit量を100%とすると、その約50%が血漿中に認められるに至った。対照の血小板凝集誘発物質を添加しない場合の変性血小板および遠心時の自然凝集血小板塊よりの放出は約30%弱であった(図4)。

この所見を透過電子顕微鏡写真ネガティブ染色12,000倍で観察するとトロンビン、ADP添加直後に比して凝集4時間後の血小板凝集塊中では血小板はその数を減少すると共に血小板変性物質と思われるものによって視野の大部分が占められている(写真1, 2, 3,

写真1 トロンビンによる血小板凝集4時間後の電顕像

写真3 ADPによる血小板凝集4時間後の電顕像

写真2 トロンビンによる血小板凝集直後の電顕像

写真4 ADPによる血小板凝集直後の電顕像

4). また、血小板凝集誘発物質を加えない対照実験では遠心時に一部自然凝集を示したが、多血小板血漿の遠心沈渣は4時間後において血小板の変性は進んでいるが、血小板数には著変はなく、可成りの血小板の残存がみられた。

血小板凝集時にみられる通常の能動的放出反応は凝集後数分以内に起るものであるが、XIII因子の血小板融解によると思われる放出は数時間を要する反応であると思われた。このような長時間をかけてのXIII因子

放出反応に対応する止血血栓内での反応はおそらくフィブリン重合のうち α ポリマーの重合に関連するものと思われる。

ちなみに、純化フィブリノゲンをトロンビンおよび活性化XIII因子の共存下で、生成したフィブリン塊を還元SDSポリアクリラマイドゲル電気泳動によって経時的に観察すると、 γ -ダイマーは凝固10分後のフィブリン塊中に充分量が出てきているのに対して、 α -ポリマーの形成は凝固1時間後においても生成途中である

(注) a. incubation for 10 min; b. incubation for 30 min;
c. incubation for 60 min.
(1) α -polymer; (2) γ -dimer; (3) α -chain;
(4) β -chain; (5) γ -chain.

図5 トロンビン、活性化XIII因子の共存下でのフィブリン塊の還元SDSポリアクリラマゲル電気泳動像

ことが示され、その完成には長時間を要するものと思われた(図5)⁴⁾。また、吾々の蛇毒による実験(1986)⁴⁾や Bromback ら (1983)⁵⁾の報告によっても Batroxobin 蛇毒は極めて少量の XIII 因子の活性化を起すに過ぎないが、蛇毒添加によって生ずるフィブリン塊には γ -ダイマーのみを認め、 α -ポリマーを殆んど認めない。上述の実験を併せると、 γ -ダイマーは少量の活性化 XIII 因子によって迅速に生成されるが、 α -ポリマーの生成には大量の活性化 XIII 因子と長時間にわたる生成時間を必要とする。その故に長時間を要する血小板 XIII 因子の放出に対して α -ポリマーの生成が対応していると示唆される。

2. 凝固異常とフィブリン重合

a. フィブリンの静電的重合と阻害

フィブリンの重合は XIII 因子による交叉架橋が行なわれる前の段階で、静電的な電位の変化からフィブリン・モノマーの2個または3個の分子が互に接合する過程がある。フィブリノゲンからトロンビンによって陰性荷電をもつフィブリノペプチド A と B が分離されると、その結果、生成されたフィブリン・モノマーの N 末端 E ドメインの電位は陽性傾向となり、他のフィブリン分子またはフィブリノゲン分子の D ドメイン陰性荷電部位と互に向き合った形で接合し易くな

る。その結果、静電的重合としての DD/E 複合体が形成されて、ついで XIII 因子による架橋のためのイソペプチド反応が続行する。

フィブリン・モノマーの静電的重合に関連している部位は陽性傾向となった E ドメインと他のフィブリン・モノマー分子の陰性荷電を示す D ドメインの2個所であるから、重合阻害の起る部位も E あるいは D ドメイン何れでも起り得ることになる。例えば、E ドメイン中の成分に類似した構造をもつ合成低分子ペプチド Gly-Pro-Arg⁺-Pro は Doolittle ら (1980)⁷⁾によって述べられているようにフィブリン重合を阻害するが、その機序は、この陽性荷電を示す低分子ペプチドがフィブリン・モノマーの陰性荷電 D ドメインと親和性を示すために、フィブリン・モノマー同志の静電的重合に競合してその重合を阻止する作用を示すためであって、フィブリン重合の E 成分による阻止といえる。また、フィブリノゲンの線溶分解物 FgDP-Y 分画は2量体フィブリノゲンから線溶酵素プラスミンによって1つの D ドメインを失った分解物であるが、フィブリン・モノマーの α 鎖 E ドメインの陽性荷電と FgDP-Y の陰性荷電 γ 鎖 D ドメインが親和性を示して静電的接合をするために、フィブリン・モノマー同志の接合と FgDP-Y が競合して、フィブリン・モノマー同志の静電的重合を阻害する。この場合はフィブリン重合の D 成分による阻止といえる (図6)。

これらの重合阻害によってフィブリン・モノマーは連続する重合物を作ることは出来ないので可溶性となり、所謂可溶性フィブリン・モノマー複合体 soluble fibrin-monomer complex (SFMC) と言われる形を取ることになるし、その結果として、後属して起るはずの XIII 因子による交叉架橋すなわちイソペプチド結合によるフィブリン重合の形成も二次的に阻害をうけることになる。

また、吾々の実験によると、FgDP-Y 分画のフィブリンの重合阻害の発現には分子量500以下の重炭酸イオン (HCO₃⁻) やクレアチニン、クレアチンなどの陰性荷電の低分子電解質の共存が重要であって、おそらく FgDP 自身の高次構造に影響するものと思われる (表1)。ちなみに、クレアチニン類似物質であるが、陽性荷電をもつグアニジン系は FgDP の抗トロンビン作用 (抗重合作用) を阻止し、強い陽性傾向を示す硫酸プロタミンの添加は FgDP によって重合阻害をうけて SFMC 状態にあるフィブリン・モノマーから、その阻害をはずしてフィブリン重合物を速やかに生成す

図6 静電的フィブリン・モノマー重合の阻害

表1 Fg DP-Y の抗トロンビン作用に及ぼすグアニデン関連化合物の影響

実験系	凝固時間(sec)
血漿+生食水+生食水+トロンビン	19
血漿+Fg DP+生食水+トロンビン	55
血漿+生食水+クレアチニン+トロンビン	24
血漿+Fg DP+クレアチニン+トロンビン	180>
血漿+生食水+クレアチン+トロンビン	23
血漿+Fg DP+クレアチン+トロンビン	180>
血漿+生食水+グアニデン+トロンビン	26
血漿+Fg DP+グアニデン+トロンビン	56

る働きを示す (福田ら, 1986)⁸⁾。

b. フィブリン重合と XIII 因子の活性化

フィブリン・モノマーの静電的重合に阻害のかからない生理的な状態では、フィブリン・モノマーの分子間で夫々の γ 鎖 D ドメインと α 鎖 E ドメインの間で DD/E 接合体の形成が静電的に起こり、ついで活性化された XIIIa 因子とカルシウムが介入して γ -dimer から α -polymer への交叉架橋反応が進行し、その重合化が充実するに従って安定化フィブリンが形成される。その際、活性化 XIIIa 因子の酵素作用はトランスグルタミナーゼ作用であって、フィブリン分子内のグルタミンと他のフィブリン分子内のリジンとの間で交叉した形でイソペプチド結合を行う。そして γ -dimer

の生成は即時的で、 γ 鎖 C 末端の Lys(6) と glu(14) の間で架橋し、 α -polymer の生成は経時的で、 α 鎖 glu(326, 366) と Lys(508, 584) の間で架橋する (Scherga ら, 1984)⁹⁾。

XIII 因子がフィブリンの交叉架橋反応に参入するためには、まず XIII 因子が活性化されなければならない。一般に認められている XIII 因子活性化の機序は、血漿 XIII 因子が a-subunit と b-subunit から構成されており、 a_2b_2 複合体を形成しているが、トロンビンにより活性化ペプチドを a-subunit から遊離して、XIII 因子 a_2b_2 は a'_2b_2 となり、ついでカルシウムにより subunit が個々に分離して a'_2 -subunit と b_2 -subunit となり、この時点で高次構造の変化が起こり a'_2 -subunit から活性基が露出して活性化 XIII 因子 a'' -subunit になると言われている。

しかし、吾々が開発した XIII 因子の a-subunit と b-subunit に対する抗体を用いた ELISA sandwich 法³⁾による a_2b_2 複合体の測定によって、トロンビン添加後の脱フィブリノゲン EDTA 加血漿中における a_2b_2 複合体の消長を観察すると、トロンビンのみの添加によって血漿中の a_2b_2 複合体はトロンビン濃度に依存して減量を示した (図 7)。またクエン酸塩加正常血漿にトロンビン、カルシウムを同時に添加すると、血漿中の a_2b_2 複合体は極めて迅速に減少し、複合体は完全に a-subunit と b-subunit に解離することが示された (図 8)。これらの成績から a_2b_2 複合体の解離反応はトロンビン添加のみで進行しうが、カルシウムの共存はその反応速度を著しく促進するものと思われた。

この際、トロンビンは a_2b_2 複合体を解離するのみでなく、a-subunit から活性化ペプチドを遊離して a' -subunit とし、さらにカルシウムは a' -subunit の高次構造を変化してトランスグルタミナーゼとしての活性基 a'' -subunit を露出する。その結果、フィブリン・モノマーは交叉架橋して γ -ダイマー、ついで α -ポリマーを生成して安定化フィブリンを形成する。そして、フィブリン網を基本とする止血血栓も安定化し完成される。

しかし、XIIIa 因子による交叉架橋の対象となる基質は単にフィブリン・モノマー同志のみではなく、フィブリン・モノマーの α 鎖 C 末端の Lys 518~584 に対してフィブロンектин、 α_2 PI (α_2 プラスミン・インヒビター)、von Willebrand 因子、コラゲン、トロンボスポンジン、ミオシン、アクチンなどの N 末端 glu の架橋することが知られている (図 9)。このようにフィ

図7 脱フィブリノゲン血漿へのトロンビン添加によるXIII因子 a_2b_2 複合体の解離

図8 正常血漿へのトロンビン、カルシウム添加によるXIII因子 a_2b_2 複合体の解離

図9 XIII_a因子の基質の種々相

ブリンは種々の物質と交叉架橋することが出来ることから、病態に応じて様々な止血血栓を生成しうる事が示唆される。

3. 血友病における止血血栓

a. 血友病血フィブリン塊の重合異常

出血性素因の代表的疾患である血友病について、そ

の止血血栓中のフィブリン重合の病態は血友病における易出血性の原因として重要な位置を占めているものであり、フィブリン血栓の安定性に深く影響する。そこで吾々はフィブリン血栓異常の実験的モデルとして血友病血漿にカルシウムを添加してフィブリン塊を作ると共に、フィブリン・モノマー自身およびフィブリンに交叉架橋する諸物質をアイソトープで標識して、その重合量を観察した。

まず、正常および血友病血漿に¹³¹I 標識フィブリノゲンと¹²⁵I 標識 von Willebrand 因子を添加してカルシウム再加によるフィブリン塊を作り、ついで還元 SDS ポリアクリラマイドゲル電気泳動をフィブリン塊について行い、そのゲルを1.5mm 間隔でスライスしてγ-カウンターによるγ線計測を行うと、図10に示されるようにフィブリン形成18時間後の von Willebrand 因子のフィブリン塊中への交叉架橋による重合

図10 血友病A血漿よりのフィブリン塊中にみられる von Willebrand 因子の重合異常 (フィブリン形成 18 時間後)

図11 フィブリン塊への von Willebrand 因子重合量と凝固時間の相関

量は20%に及び、正常血のフィブリンへの von Willebrand 因子の重合量 1%より明らかに増加している (羽田ら, 1986)⁹⁾。また、その重合部位は α -ポリマーの中間部にみられる。このことは血漿と血清の間で von Willebrand 因子の濃度差が正常血液ではみられないのに反し、血友病 A 血では血漿に比して血清中では明かに減少していることも関連があると思われる (羽田ら, 1982)¹⁰⁾。

血友病血漿にはトロンビンの希釈列を正常血漿にはヒルジンを添加して凝固時間を変化させ、von Willebrand 因子のフィブリンへの重合量を観察すると、正常血漿、血友病血漿ともに凝固時間の延長に従って von Willebrand 因子の重合量が増加する傾向を示した (図11)。このことは恐らく凝固時間の変化が von Willebrand 因子のフィブリンへの重合量を調節する上で重要な機序であることを示唆している (羽田ら, 1986)¹¹⁾。

ついで α_2 プラスミン・インヒビター (α_2 PI) のフィブリン・モノマーへの重合を観察すると、ヒトの 125 I 標

図12 フィブリン α -polymemへの α_2 PI の crosslink

識 α_2 PI を被検血漿に添加してカルシウム再加凝固 1 時間後にフィブリン塊について還元 SDS ポリアクリラマイドゲル電気泳動を行い、ゲルを 1.5mm 間隔でスライスして放射活性を計測すると、正常血漿を検体とした場合のフィブリン塊への α_2 PI の取り込みは α -ポリマーにのみ起り、その重合量は約 9% に及ぶが、血友病 A 血漿 2 症例を検体とした時の凝固 1 時間後のフィブリン塊中の α_2 PI 重合量は約 3% に減少している (図12)。

b. 血友病における止血血栓の UK 溶解性と弾性強度

正常血漿 (n=10) と血友病 A 血漿 (n=2) 0.1ml について、カルシウム再加凝固後にウロキナーゼ (1000 単位/ml) 0.2ml を上層して、フィブリン塊の溶解時間を測ると、血友病 A 血の溶解時間は正常域内に存在するが、やや低値傾向を示した。しかも VIII 因子濃縮製剤 750 単位を同一患者 (n=2) に輸注して 30 分後に再測定を行うと、溶解時間は両症例とも延長する傾向を示した。この成績は血友病 A 患者への VIII 因子輸注によって、フィブリンへの α_2 PI の重合も正常化されることを示唆している (図13)。

さらに、 125 I 標識フィブロネクチンを用いて、フィブリンへの重合量をカルシウム再加フィブリン塊の還元 SDS ポリアクリラマイドゲル電気泳動によって観察すると (表 2)、正常人 (n=19) では重合度が 15% であるのに対して、血友病 A 患者 (n=28) では 36% にも増加している (羽田ら, 1985)¹¹⁾。McDonagh ら (1985)¹²⁾によると、フィブロネクチンのフィブリンへの重合度はフィブリン塊の溶解剤 (5n 尿素, 1% monochloro-acetic acid など) による溶解性に影響し

図 13 血友病の線溶へのⅧ因子輸注の影響

表 2 フィブリン塊への α_2 PI, FN, vWF の crosslink 量

	α_2 PI	FN	vWF
正 常	9%	15%	1%
血 友 病	3%	36%	20%

表 3 血友病A患者の Thrombelastogram

血友病症例(全血液)	r	k	ma
1	58min	48min	53mm
2	143	61	32
3	112	28	65
4	42	39	43
5	94	145	42
6	94	100	40
7	110	29	62
8	44	26	40
9	105	40	61

血友病A患者の ma 平均値 $M \pm SD = 48.7 \pm 11.8$
(正常者の ma 平均値 $M \pm SD = 54.0 \pm 4.0$)

ており、フィブロンectin重合度が50%近くになると部分溶解が起きることを認めており、フィブロンectin重合度の増加はフィブリン塊の溶解剤に対する抵抗性を減弱すると述べている。すなわち、血友病の線溶における易溶性は単にフィブリン塊への α_2 PI の重合量が減少しているためのみでなく、フィブロンectinの重合量の増加も影響していることを示唆している。

また、血友病A患者 (n=9) についてトロンボエストグラムを検査してみると、表3のごとく凝固時間に

関係すると、k は全例とも延長を示すが、血餅の弾性強度を示す ma (mimum elastisty of thrombus) は症例によってやや区々であるが、血友病9症例の平均値 ($M \pm SD$) は 48.7 ± 11.8 mm であって、正常人の平均 54.0 ± 4.0 mm より低く、血友病A患者の血餅の弾性は低下していることが示唆される。

上述のごとく血友病患者の血餅または、フィブリン塊について、線溶にたいする抵抗性が減弱しており、また TEG の極大弾性度の低下傾向を示していることは血友病の止血血栓の構造に異常があり、その結果として検査所見にもフィブリン塊に脆弱性が認められ、臨床的には易出血性であり、出血性素因の一因となっている。基本的にはフィブリン重合の異常が構造物としての止血血栓の機能を障害していると言える。さらに重合異常をもたらす基礎には血友病におけるトロンビン生成不全が存在していると共に XIII 因子の血小板よりの放出とその活性化に対する機能不全が関与しているものと思われる。

おわりに

止血異常の原因として止血血栓内におけるフィブリン重合の異常が認められ、その成因に血小板または血漿凝固因子の欠損があげられた場合には、その欠損因子を補充することが治療の基本であり、通常は輸血あるいは血液製剤の輸注による補充療法が行われる。その結果、病的な止血機序は是正されるが、是正の段階としてはトロンビン生成の正常化と二次的な血小板機能の是正について止血血栓内フィブリン重合の正常化を来して、全体としての止血の機序は回復するに至る。

しかし、頻回の輸血、輸注にさいして重大な副作用が注目されている。輸血の副作用は、1) ウィルス感染、2) 免疫異常、3) 抗体発生に集約されるが、ウィルス感染については既に肝炎ウィルスの予防と治療における難治性は久しく議論されて来た所であるが、最近、HTLV の I 型およびIII型 (HIV) ウィルスの感染ことに後者による後天性免疫低下症候群 (AIDS) の発症が注目され、その国内侵入に対する急速な対策が望まれている。

対策の1つに recobinand 製剤の開発があり、現在、止血異常に対する製剤としてのⅧ因子 recombinant 製剤の完成が近い。この種の製剤はヒト血液を原料とするものではなく、biotechnology による工場生産であることから製品管理が確実であって、ウィルス感染を防止する手段として役立つものと思われる。さらに血友病のように長期頻回の輸注をうけた患者の30%以

上に非ウィルス性と思われる後天性免疫低下状態がみられるが、その原因を反復する aloantigen の侵襲によるものと考えらるならば、recombinant 製剤中には輸注目的以外の物質は可及的に除去されており、aloantigen の侵襲をも回避できる可能性が期待される。しかし、補充物質にたいする抗体の発生についてはその影響は未知であり、現在は血友病患者の約5%に抗体発生をみているが、recombinant 製剤使用後の推移について注目する要のあるものと思われる。

本報告は止血異常の原因として止血血栓とくにフィブリン重合の構築異常について述べ、かつ血小板 XIII 因子の放出についても触れた。

本講演の司会の労をとられた村上省三会長に深謝すると共に、協力をおしなかつた臨床病理学教室の諸氏に感謝する。

文 献

- 1) Niewiarowski, S., et al.: Fibrinogen interaction with platelet receptors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 408: 536—554, 1983.
- 2) Hoyer, L.W.: The critical role of the factor VIII/von Willebrand factor complex in hemostasis. 第35回日本輸血学会総会 (招待講演) 1987.
- 3) 小池克昌: XIII 因子 a-subunit, b-subunit および $\alpha_2\beta_2$ complex の ELISA による測定とその応用. *東京医大誌*, 45: 363—374, 1987.
- 4) 山田享弘: Batroxobin による線溶発現の解析, とくに Des A fibrin polymer と α_2 plasmin inhibitor の架橋形成について. *東京医大誌*, 44: 1067—1077, 1986.
- 5) Okada, M. and Brombäck, B.: Factors in influencing fibrin gel structure studies by flow measurement. *Ann. New York Acad. Sci.*, 408: 233—253, 1983.
- 6) Horwitz B.H., Varadi, A. and Scherga, H.A.: Localization of a fibrin γ -chain polymerization site within segment Thr-374 to Glu-396 of human fibrinogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 81: 5980—5984, 1984.
- 7) Landano, A.P. and Doolittle, R.F.: Studies on synthetic peptides that bind to fibrinogen and prevent fibrin polymerization. *Biochemistry*, 19: 1013—1019, 1980.
- 8) 福田 稔: フィブリン分解物のフィブリン重合阻害に関する研究. *東京医大誌*, 44: 1043—1053, 1986.
- 9) Hada, M., et al.: Covalent crosslinking of von Willebrand factor to fibrin. *Blood*, 68: 95—101, 1986.
- 10) Hada, M., et al.: Possible crosslinking of factor VIII related antigen to fibrin by factor XIII in delayed coagulation process. *Thromb. Research.*, 25(1/2): 163—168, 1982.
- 11) Hada, M., McDonagh, J. and Kaminski, M.: Plasma fibronectin and fibrin formation. *Plasma Fibronectin*, ed. McDonagh, J., Marcel Dekker Inc., New York and Basel, p. 121—148, 1985.
- 12) McDonagh, J.: 同上.