シンポジウム 血液凝固と線溶

(1) 血管内凝固症候群の病態生理

新潟大学医学部第一内科学教室

桜川 信男

SYMPOSIUM ON THE BLOOD COAGULATION AND FIBRINOLYSIS

(1) PATHOPHYSIOLOGY OF DISSEMINATED INTRAVASCULAR COAGULATION SYNDROME

Nobuo SAKURAGAWA, M.D.

The First Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine

I. 緒 言

血管内凝固症候群 (intravascular coagulation syndrome, 以下D I C) は先行する基礎疾患があつて、流血中に凝固活性化物質が流入し、凝固因子が活性化されてトロンビンが出現して種々の臓器に血栓を生ずる:

D I Cの初期の研究は産科領域で行なわれ、1947年Michigan大学のSchneider¹⁾²⁾により前置胎盤早期剥離における症状は胎盤からの組織トロンボプラスチン (tissue thromboplastin, 以下T P L N) に基づく凝固活性化によると判明し、Seegers³⁾によりフィブリノーゲン、第V因子、プロトロンビンが減少することが判明した。内科的疾患では急性前骨髄球性白血病 (acute promyelocytic leukemia, 以下A P L) や全身性転移癌 (胃癌、卵巣癌、膵臓癌など) にD I Cが多発し、他に重症感染症や重症肝疾患にもみられる。これらの疾患で、障害をうけた組織からT P L N様物質が流血中に入ると外因系凝固活性化が惹起され凝固因子は消費されてトロンビンが出現する。出現したトロンビンはプラスミン、トリプシンや活性第X因子などとともにserine proteaseといわれフィブリノーゲンをフィブリンに転化させる作用以外に凝固線溶系因子や血小板にも影響を与える。一方、

局所に血栓が生ずると末梢循環障害がみられ、その血栓部位を通過する赤血球は形態異常を呈して破壊され、溶血を来す (microangiopathic hemolytic anemia)。

本稿ではA P Lと胃癌の症例で、それらのD I Cの成因となる病的細胞や胃癌組織のtrigger substanceとしての性状を追求し、D I Cで血中に出現するトロンビンと他の凝固要因 (凝固線溶系因子および血小板) との関連から、D I Cの診断について組織トロンボプラスチンを用いる従来のプロトロンビン測定値と蛇毒 (echis carinatus venom, 以下E C) を用いる測定値との解離の意義についてのべ、トロンビンとプラスミンが血中に存在するD I Cの治療として抗凝固抗線溶作用をもつTrasylolの大量投与が有効であることをのべる。

II. 血管内凝固症候群の成因について

新潟大学医学部第一内科で経験したD I C症例はA P L 34例、転移性癌疾患25例、産科的合併症8例の総計67例であるが、そのうちA P Lと転移性胃癌についてそのD I Cの成因となる病的細胞と胃癌組織の性状を追求した。

病的細胞リザートはプロトロンビンをトロンビンに転化する凝固活性 (図1) とフィブリン平板法およびフィブリン・フィルム法で線溶能を示す

図1. 白血病細胞リザートの凝固活性

ことが認められた。胃癌組織生食水抽出液にも同様な成績が得られ、adenocarcinomaにcarcinoma simplexよりつよい活性が認められた⁴⁾。病的細胞リザートおよび胃癌抽出液をSephadex G-200 column chromatographyで分離すると3つの峰がみられ、第1峰(void volume)に凝固線溶活性が認められた。これらの物質を家兎へ注入すると定型的なDIC症状がみられ、剖検で肺、腎などに血栓形成が認められた。この凝固活性は第X因子活性化を介して行なわれ、線溶活性はプラスミン作用とプラスミノゲン-アクチベータ作用を示した。

III. serine proteaseとしてのトロンビンの凝固線溶血小板へおよび影響

DICでtrigger substanceにより血中にトロンビンが生ずるが、トロンビンはprotease作用でプロトロンビンを限定分解してプレトロンビンに転化し、PR部を分離する⁵⁾。プレトロンビンは通常のTPLNを用いるプロトロンビン測定法(プロトロンビン欠乏血漿を用いる一段法)によつては測定されず、ECを用いる方法によつて測定される。PR部は抗トロンビンと抗活性第X因子作用を示した。

純化トロンビンを純化プロトロンビンに反応させると、図2のようにトロンビンとプロトロンビ

図2. トロンビンによるプロトロンビンの活性化

ンは急速に失活して測定されなくなる。しかし、ECを用いるプロトロンビン測定法(プロトロンビンとプレトロンビンを測定する)ではほぼ100%測定把握され、SDS-disc電気泳動像でもECによる活性化が確かめられた。

家兎へ純化トロンビン⁶⁾1000単位を注入し、注入前と注入後1時間で活性化部分トロンボラスチン時間(PTT)を測定すると注入後で延長し、TPLNを用いた方法でのプロトロンビン値はECを用いたプロトロンビン値より約15%低値を示した。この血漿をDEAE-cellulose column chromatographyで分離すると抗活性第X因子作用を強く示す峰が認められた。同様な結果を正常人血漿と転移性胃癌患者血漿で検索して得た。

トロンビンの他凝固因子におよぼす影響について、トロンビン注入家兎血漿で検討すると上記成績のほかに第V、VIII因子、アンチトロンビン、フィブリノーゲンは減少し、血小板数は減少、血小板停滞率は低下した。線溶系ではプラスミノゲン、アンチプラスミンの減少、serial thrombin time (STT)の延長がみられた。不安定因子の第V、VIII因子はトロンビンにより障害され、一方トロンビンにより線溶亢進も惹起された(図3)。

トロンビンの血小板機能への影響は微量で短時間反応させると血小板ADP凝集は促進された

図3. 純化トロンビンの凝固線溶系因子に及ぼす作用 (in vivoウサギに注入)

が、高濃度では抑制された⁷⁾。

トロンビンの線溶作用をプラスミノゲン(一)フィブリン平板とプラスミノゲン(十)フィブリン平板で検索すると両者に溶解窓がみられ、プラスミノゲン(十)平板に大きく認められた⁹⁾。従つてトロンビンにはプラスミン作用とプラスミノゲン-アクチベータ作用が存在し、線溶系活性化はトロンビンの血中出现によつても行なわれ、上記のトロンビン家兎注入実験からも実証された。線溶亢進にはプラスミンが出現するが、プラスミンもserine proteaseであつて凝固因子に影響をおよぼす。

家兎へurokinase(ミドリ十字社製) 100,000単位を注入すると高度の線溶亢進がみとめられ、ユーグロブリン溶解時間の短縮、STTの延長、フィブリンノーゲン減少が認められたが、凝固系では第V、VIII因子、アンチトロンビン減少も著明であつた。プロトロンビンはTPLNを用いる方法で80%に減少して測定されたが、ECによつてもほぼ同値であり、プラスミンによるプロトロンビンの出現はないものと考えられる。従つてTPLNを用いる方法でのプロトロンビン値とECを用いる方法での値の解離10%以上の存在は、一次線溶亢進とDICの鑑別に有用である。

家兎へTPLN、胃癌組織抽出液、APLの病的細胞リザート、活性第X因子、家兎赤血球溶血

図4. 蛇毒Echis Carinatusを用いたプロトロンビン測定法

液、乳酸、endotoxinを注入すると凝血所見でDICが認められ、TPLNでのプロトロンビン値とECでの値の解離が明白に認められた。一方、線溶剤urokinaseや、トリプシンを注入すると同様に凝固線溶、血小板系に障害が認められたが、剖検での血栓形成はなく、上記のプロトロンビン値の解離は存在しなかつた。

ECを用いるプロトロンビン測定法を図4に示したが、プロトロンビン値は正常人の標準曲線よりper centとして表示される。

プロトロンビンを免疫学的に測定(single radial immunodiffusion)すると、APLでのDIC症例でECを用いたプロトロンビン値より多量に測定されたが、全身性転移胃癌や産科的合併症でのDIC症例および肝硬変症では両者はほぼ同値であり、APLでのDIC症例ではECで測定されないプロトロンビンの存在も考えられる。トロンビンはアンチトロンビンⅢで失活されるが、純化したアンチトロンビンⅢ⁸⁾はトロンビンよりも活性第X因子を効率よく失活させ、血中でのトロンビン出現を抑制している。

VI. 血管内凝固症候群の診断

内科疾患でのDIC発現は緩慢であり、頻回の凝血異常の検索で診断することが大切である。

DICで血中出现したトロンビンは、血栓形成のほかにそのprotease作用から他の凝固因子や血小板を障害し、一方線溶亢進をももたらす。

この凝血障害の度合は血中に流入する凝固活性物質の量や強さに基づくが、他方、生体の凝血

	転移性胃癌	急性白血病 慢性白血病	死後凝固	肝硬変
血小板数	↓	↓	↓	↓
血小板停滞率	↓	↓	↓	↓
血小板第4因子	↑	↑	↑	↑
プロトロンビン時間	↑	↑	↑	↑
部分トロンボプラスチン時間	↑	↑	↑	↑
シリコン部分トロンボプラスチン時間	↓	↓	↓	↓
フィブリノーゲン量	↑	↑	↑	↑
クリオフィブリノーゲン量	↑	↑	↑	↑
アンチトロンビン	↓	↓	↓	↓
トロンビン時間	↑	↑	↑	↑
S T T	↑	↑	↑	↑
ユーグロブリン溶解時間	↓	↓	↓	↓
プラスミノジェン	↓	↓	↓	↓
アンチプラスミン	↓	↓	↓	↓
第V因子	↓	↓	↓	↓
第VII因子	↓	↓	↓	↓
第XIII因子	↓	↓	↓	↓
F D P	↑	↑	↑	↑
第II因子 (トロンボプラスチンとE Carinatusによる凝集の阻害)	↑	↑	↑	↑

図5. D I C症例と肝硬変症の凝血学的検査成績

要素の産生度および網内系の処理能力によつてもきまり、その変動は急激である。D I Cの診断はスクリーニングテストを血小板系、凝固系および線溶系について行ない、疑診をみた場合に確定診断のためにさらに詳細な検索を行なう。この際、E Cを用いるプロトロンビン測定法は重要である。

A P L、全身性転移胃癌、産科的合併症でのD I C症例と凝血異常所見が近似する軽症肝硬変症での成績を図5に示した。肝硬変症では肝に産生される凝固因子(第II, V, VII, IX, X, XIII因子)の低下による凝固異常と軽度の線溶亢進および血小板減少はみられるが、フィブリノーゲンは減少せず、第VIII因子はむしろ増加し、T P L Nを用いたプロトロンビン値とE Cでの値との解離は認められずD I Cではない。

V. 血管内凝固症候群の治療

D I Cの治療に凝固線溶系の亢進を阻止する目的で、ヘパリンとt-AMCHA(抗線溶剤)の併用が行なわれている。D I Cではヘパリンcofactor(アンチトロンビンⅢと同じ)が減少し、血小板第4因子(ヘパリン中和作用を有する)が増加してヘパリンの有効性に差が生じ、一方フィブリノーゲンの極度の減少や血管炎の併発する場合にはヘパ

リン投与には出血の危険がある。

Trasylolは抗凝固抗線溶作用を有し、抗線溶作用が強力であるが、大量投与ではヘパリン同様トロンビン阻止効果を発揮し、またヘパリンと異なつて補助因子を必要とせず直接作用を示す。

家兎へ胃癌組織抽出液(組織学的にadenocarcinoma mucocerule)を注入して定型的なD I Cを惹起させた後に、2.5万単位のTrasylolを注入すると著しくバランスが崩壊されていた凝血異常が急速に正常化した。臨床例として産科合併症(死児稽留)でのD I CにTrasylol 10万単位ずつ3回投与すると、第V, VIII因子は徐々に回復増加し、T P L NあるいはE Cを用いたプロトロンビン値の解離は縮小消滅し、止血をみた。線溶系ではS T Tが正常化した。F D Pの正常化には2日を要し、障害された血小板A D P凝集能は4日後に正常化した。以上からTrasylolの大量投与はD I Cの治療に有効ともいえる。

VI. 考 案

D I Cには血中に凝固活性化物質が流入して凝固因子が活性化されると同時に消費され、トロンビンが生じて血栓形成をみるが、その際血小板が用いられて減少する。一方、血栓部位は虚血におち入つて該部から組織のプラスミノゲン-アクチベータが放出されることで、2次線溶の出現が説明されて来た。従つてD I Cは消費性凝固症(consumption coagulopathy)ともいわれた。しかし、純化トロンビンには凝固活性とともに線溶活性やエステラーゼ作用もあり、プラスミン、活性第X因子やトリプシンとともにserine proteaseといわれる。このトロンビンはアンチトロンビンⅢで失活されるが、progressive inhibitorといわれるアンチトロンビンⅢの反応はおそい⁸⁾。一方、トロンビンの凝固因子へおよぼす作用は瞬間的であつてプロトロンビン、第V, VIII因子タンパクを障害して凝固亢進を阻止するfeedback inhibitionを示し、また血小板膜を障害してその機能を低下させて血栓形成を阻止し、同時に線溶系を活性化させて血栓溶解を推進させることが判る。これは

生体に存在するhemostasisの面からみると合理的な防衛機構とみられる。線溶亢進で出現するプラスミンも凝固系と血小板へ作用して血栓形成を抑制している。

トロンビン線溶活性化作用はDICにおける凝固系と線溶系の同時発生を示し、一方APLの病的細胞リザートや胃癌組織抽出液が純系でプロトロンビンをトロンビンに転化し、またこれら自体に線溶活性化作用をみたことも凝固活性化と同時に線溶亢進をもたらすことになる。

このような凝固線溶の亢進をみるDICの診断は凝血異常の多彩なことからも困難なこともあるが、血中にトロンビンが存在することで出現するプレトロンビンを測定検出すれば確実になる。その点ECを用いるプロトロンビン測定法は重要であり、DICと鑑別に困難な肝硬変症や一次線溶における出血現象も容易に判別される。

DICの治療について、実験的DIC家兎や産科合併症での症例でTrasyloを30万単位（1日量）投与すると出血症状の軽快ならびに凝血的障害の改善に著効がみられた。従来、ヘパリンとt-AMCHAの併用が用いられているが、出血症状が著しい症例での投与には抵抗を感じ、また「治療」の項でのべたように、フィブリノーゲンの減少、血管炎の存在、血小板第4因子の増加やヘパリンcofactorの減少などの場合には使用量の有効性からも問題があり、Trasylo大量投与がすすめられ、その効果は10万単位1回投与で約6時間持続した。

VII. 結 論

血管内凝固症候群の病態生理を血中に生ずるトロンビンの作用の面から検索した。

(1) DICでは種々のtrigger substancesにより凝固活性化がおり、凝固因子は用いられてトロンビンが血中に出現する。APLの病的細胞リザートや胃癌組織抽出液は凝固活性と線溶活性を有する。

(2) トロンビンは凝固活性（フィブリノーゼンをフィブリンに転化）と線溶活性（プラスミ

ン作用とプラスミノーゲン-アクチベータ作用）を有し、血管内凝固、線溶活性化を同時に行ない、そのprotease作用で少量では血小板機能を亢進させるが増量して阻害作用を示し、第V、VIII因子を障害する。さらにプロトロンビン分子を限定分解してプレトロンビンと阻害因子（抗トロンビン作用と抗活性第X因子作用）を生ずる。プレトロンビンは通常のTPLNを用いるプロトロンビン測定法では把握されないが、ECを用いる方法で測定される。従つてDICの診断にはTPLNを用いるプロトロンビン測定値とECによる値の解離を求めればよい。

(3) DICの治療は凝固線溶活性を有するトロンビンを阻害することが大切である。抗線溶抗凝固作用を有するTrasyloの大量投与は有効である。

文 献

- 1) Schneider, C.L.: The active principle of placental toxin: Thromboplastin; its activation in blood. Amer. J. Physiol. 149: 123, 1947. —2) Schneider, C.L.: Etiology of fibrinopenia: Fibrination, defibrination. Ann. N.Y. Acad. Sci. 75: 634, 1959. —3) Johnson, J.F., W. H. Seegers and R.G. Braden: Plasma Ac-Globulin changes in placenta abruptio. Amer. J. clin. Path. 22: 322, 1952. —4) 桜川信男, 高橋 薫, 星山真理, 神保長三, 松岡松三, 小出武比古, 大西義久, 北条晴人: 凝固線溶系因子の精製と代謝 (VII), DICの引き金因子としての病的白血球および胃癌組織の凝固線溶能. 第16回臨床血液学会総会 (京都) に発表, 1974. —5) Seegers, W.H., D.A. Walz, J. Reuterby and L.E. McCoy: Isolation and some properties of thrombin-E and other prothrombin derivatives. Thrombosis Res. 4: 829, 1974. —6) 桜川信男: プロトロンビン活性化機構について. 日本臨床, 32: 901, 1974. —7) Matsuoka, M., T. Watanabe, K. Koike and N. Sakuragawa: Platelet aggregation from interaction between washed platelets and purified thrombin, plasmin or trypsin. Thrombos. Diathes. Haemorrh. (Suppl) LX: 185, 1974. —8) 高橋 薫, 桜川信男, 星山真理, 神保長三, 小池和夫, 松岡松三, 小出武比古, 大西義久, 北条晴人: 凝固線溶系因子の精製と代謝 (VIII), アンチトロンビンⅢの精製とその凝固線溶, 血小板へおよびその影響. 第37回日本血液学会総会に発表, 1975. —9) 桜川信男, 小出武比古: トロンビンの凝固線溶血小板へおよびその影響. 新潟医学会雑誌. 89: 91, 1975.