

図1 試験管内の凝固反応 (Cascade 説)

試験管内凝固反応では、外因系 (PT) はトロンボプラスチン、内因系 (APTT) はセファリンによって開始される。

ンビンの生成により、可溶性フィブリノゲンを不溶性フィブリンに変換する説得力のある説である。この説を基盤に PT, APTT が臨床利用されている (図 1)。しかし、臨床的に、血友病は APTT が著明に延長するものの PT は基準範囲内にある。そして、外因系凝固は共通系として第 X 因子活性化反応に合流するにもかかわらず出血症状を呈する。また、先天性第 VII 因子欠乏症の中には内因系凝固反応に異常がない試験管内凝固反応系では説明が困難な臨床例が存在する¹⁾。

そこで、近年、生体内凝固反応経路という新しい考え方が導入されている²⁾。生体内では、血管内皮細胞の障害や活性により露出した組織因子が血液中出现することにより凝固反応が開始される。組織因子は循環血液中に存在する活性第 VII 因子と複合体を形成し、第 IX 因子の活性化を介した第 X 因子活性化経路が生体内凝固の主な反応系である。従って、生体内では、第 XII 因子活性化から始まる内因系凝固の関与は少ないことが特徴である (図 2)。

3. 凝固系検査

(1) 活性化凝固時間 (ACT, activated clotting time)

ベットサイドで簡易に実施できる採血した血液が凝固するまでの時間を測定する検査である。この検査は凝固反応に必要なリン脂質を供給するために、十分な血小板数が必要である。測定誤差や個人差が大きく、体外循環導入時にヘパリン効果判定や終了時のプロタミンによるヘパリン中和能の判定に臨床的有用性がある。(基準値：90-120 秒)

(2) プロトロンビン時間 (PT)

Cascade 説に基づく組織因子で開始される外因系および共通系についての検査である。先天性凝固因子欠損・異常症、肝機能障害、ビタミン K 欠乏症 (凝固第 II, VII, X 因子, DIC, 凝固阻害因子 (ループスアンチコアグラント, 凝固因子インヒビター等)、ヘパリン投与で延長する。

PT 延長の国際的基準として、INR-PT (international normalized ratio-PT) を活用する。

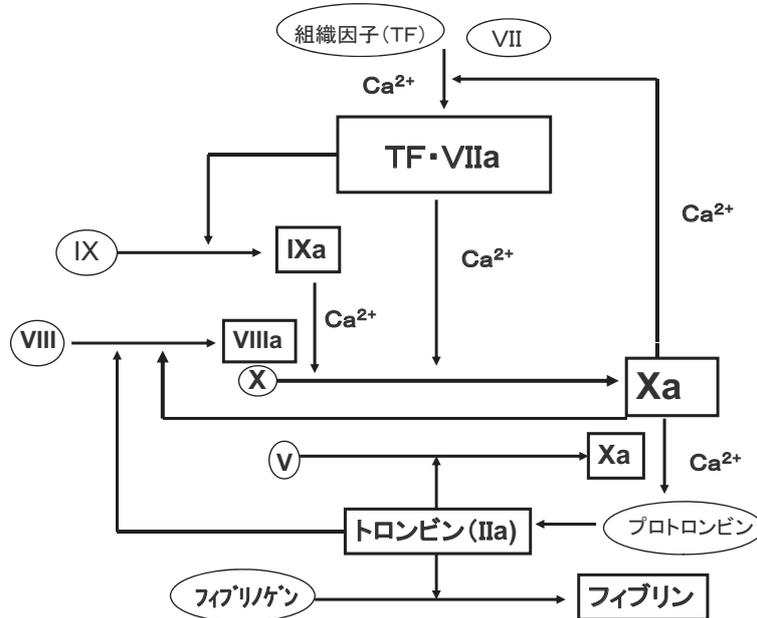


図2 生体内凝固反応経路 (Williams 改変)

組織因子により開始され、VII因子による第IX因子を介した第X因子活性化経路が主体である。内因系反応は重要な役割を担っていない。

$INR = (\text{検体 PT} / \text{対象 PT})^{ISK}$ で算出され、国際感度指標 ISR は各試薬のロットごと使用機器ごとに個別に設定されている。INR-PT 値は、経口抗凝固療法の治療域は、肺血栓塞栓症、深部静脈血栓症では 1.5~2.5、人工弁置換術患者は 2.0~3.0 で、4.0 を超えると出血の危険が高いと推定できる。

(3) 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

Cascade 説に基く凝固内因系および共通経路を調べる検査である。基準は 30~40 秒であるが、試薬の種類により測定値に幅が生じるため、一般に、正常対照との差が 10 秒以内を正常と判断する。延長が認められた場合、凝固因子の低下と凝固阻害因子の存在が考えられる。PT 延長・APTT 延長時はフィブリノゲン、プロトロンビン、第 V 因子、第 X 因子、複合因子欠損、PT 延長・APTT 正常では第 VII 因子欠乏、PT 正常・APTT 延長時には、第 VIII 因子、第 IX 因子、第 XI 因子、第 XII 因子、フォンビレ

ブラント因子、高分子キニノゲン、プレカリクレイン欠損を疑う。

(4) トンボテストとヘパラスチンテスト

トンボテストは protein induced by vitamin K absence or antagonists (PIVKA) の影響を含めた凝固活性を反映し、ワルファリンなどによる抗凝固薬療法のモニターに用いられる。測定時にバリウム吸着ウシ血漿し、第 V 因子が補充されるため、第 V 因子欠損では低下しない。ヘパラスチンテストは、PIVKA に対する感受性が低く、肝臓における凝固因子の産生能を反映するため、肝臓の蛋白合成能の評価にも利用できる。また、トンボテストとヘパラスチンテストの差から、PIVKA 量の推定ができる。

4. 抗凝固系検査

生体内では、凝固反応の活性化を適切に抑制する機構を有している。この機構が低下すると血栓症が生じやすくなる。そのため、抗凝固機

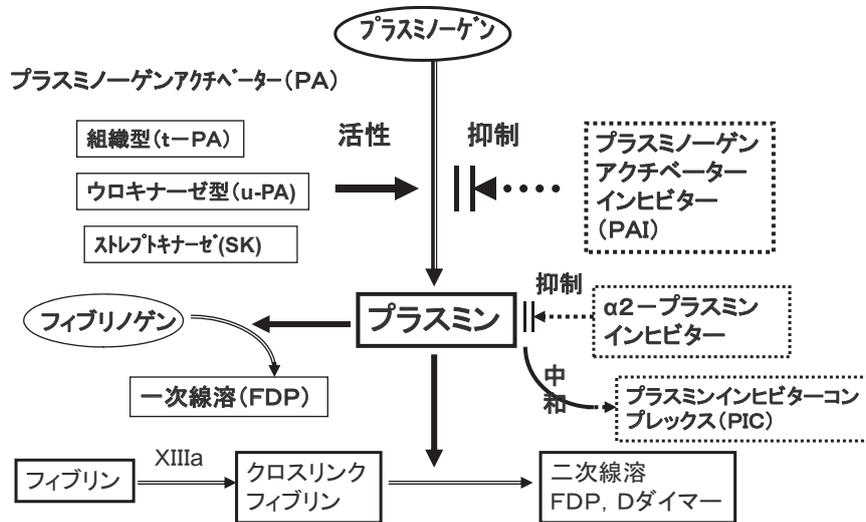


図3 線溶機構に関わる因子と臨床検査

構を検査することは、血栓症の病因・診断・予後判定に重要な情報を得ることができる。

(1) アンチトロンビン (AT)

アンチトロンピンはトロンピンと1:1の割合で複合体を形成し、トロンピン作用を不活できる生理阻害物質である。ATはトロンピン以外に凝固第II, IX, X, XIも阻害する。ATはヘパリン存在下で約1000倍にトロンピン活性化阻害速度が加速され(ヘパリンコファクター活性)、臨床検査で測定されるAT活性値はこのヘパリンコファクター活性である。先天性アンチトロンピン欠損症は500人に1人という頻度のため、血栓症病因の重要な疾患であることを念頭において診療する必要がある。

(2) プロテインC (PC)

ビタミンK依存性蛋白質で、生成されたトロンピンと血管内皮細胞上のトロンボモジュリンの複合体によって活性化され、プロテインS (PS)を補酵素として活性化第V因子と活性化第VIII因子を選択的に不活性化する。PCは第VII因子と同様、その半減期が非常に短いため、ワルファリンを投与すると、プロトロンピンなどの凝固因子低下による抗凝固作用発現以前にPCが低下する。このため、ワルファリン投与

開始時に、一時的に血栓傾向が高くなる可能性が生ずることに注意すべきである。

(3) プロテインS (PS)

ビタミンK依存性蛋白質の1つでPCの補酵素として作用する。血漿中PSは約60%が補体制御因子C4b結合蛋白質と結合し、活性化PCの補酵素活性を有しない。残りの40%に補酵素活性があり、さらにPSは血小板や血管内皮細胞の膜表面にも存在している。PS欠損症は日本人において0.4-2%も存在し、欧米人に比し高頻度である点と、ワルファリン投与によりPSがさらに低下するため、深部静脈血栓症の重要な原因精査でPSを検査する際は、ワルファリン投与前に実施することが重要である。

5. 線溶系検査

プラスミノゲンアクチベーターによりプラスミンが生成される過程が線溶反応の開始点である。プラスミンはフィブリノゲンやフィブリンに作用し、種々の分解産物を生成する。プラスミンが主にフィブリノゲンを分解する段階までを1次線溶といい、FDPが生成される。さらに凝固反応が進み、トロンピンが作用して

SFMCが生成され、さらにXIII因子で架橋された安定化フィブリンが形成されると、生体はプラスミンをさらに活性化し、安定化フィブリンを分解する。この段階を二次線溶といい、FDPとDダイマーが生成される。生体内ではFDPやDダイマーは単一な分子ではなく、様々な分解過程の生成物で多様性に富んでいることに留意すべきである。また、線溶系においても血中に抑制物質が存在し、プラスミンは $\alpha 2$ プラスミンインヒビターにより中和され、プラスミン・ $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体(PIC)が生成される(図3)³⁾。

(1) プラスミノゲン

線溶反応の主役を演じるプラスミンは、その前駆体であるプラスミンが組織プラスミノゲンアクチベータ(t-PA)によって活性化され生成される。日本人では、先天性プラスミノゲン異常症の頻度が高く、ヘテロ接合体の症例は健常者の約3%に認められる。しかし、ヘテロ例では、血栓症の頻度は有意に高くない。また、近年、t-PA治療が心筋梗塞、脳梗塞で実施されるようになったが、t-PA投与により、プラスミノゲンはプラスミンにより活性化され、消費により減少する。

(2) フィブリン分解産物(FDP)

抗フィブリン抗体を用いたラテックス凝集反応法で測定されるtotal-FDPと抗FDP-E抗体を用いた測定系が存在する。従って、検査に用いる抗体により認識されるFDPが異なることに留意すべきである。また、Total-FDP、FDP-Eは、測定原理上フィブリンと交差反応を示すので、検体からフィブリンを完全に除去する必要がある。さらにヘパリン投与時の検体では十分に凝固していない可能性もある。最近、フィブリン分解産物を特異的に認識するモノクローナル抗体を用いた特異的測定法が利用できるようになっている。

(3) Dダイマー

抗DDモノクローナル抗体で測定される

FDPがDダイマーである。この抗DD抗体は、フィブリンと反応しないため検体としては、血漿、血清どちらも用いることができる。Dダイマーは測定試薬や測定法の違いから基準範囲が異なることに注意する必要がある。(ラテックス凝集法 1.0~0.2 $\mu\text{g/ml}$ 、ラテックス免疫比濁法 <1.0 $\mu\text{g/ml}$) 肺血栓塞栓症の診断に有用性が認められている。

(4) プラスミン・ $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体(PIC)

$\alpha 2$ プラスミンインヒビターは即時的にプラスミンと結合してPICを生成する。PICは血中半減期が約6時間で網内系で処理されるため、比較的近い時間のプラスミン活性を評価できる。基準範囲は0.8 mg/ml未満で、軽度~中等度線溶亢進状態では0.8~3.2 mg/ml 高度線溶亢進状態になると3.2 mg/mlを超える値を示す。

(5) プラスミノゲンアクチベーターインヒビター(PAI-1)

PAI-1はプラスミン生成を抑制し線溶系反応を制御しているため、その上昇は血栓溶解能の低下を示唆する。また、感染症(特に敗血症)で高値を示し、病態を反映するため多臓器障害の予後の指標として注目されている。PAI-1検査で注意すべき事項として、血小板にも存在し、血小板活性化に伴い血液中に放出されるため、採血時のトラブルや採血後室温で検体を放置すると高値を示す。また、日内変動が知られており、早朝が最も高く、夜間に低値を示すことも知っておく必要がある。

文 献

- 1) 高宮脩: 凝固検査成績と臨床症状との乖離—新しい凝固機序の考え方—. 日本検査血液学会雑誌 9(1): 60-68, 2008.
- 2) Hoffman H: Remodeling the blood coagulation cascade. J Thromb Haemost 16: 17-20, 2003
- 3) 山口桂司, 北島勲: FDP, FgDP, FDP-E. 血栓症検査ガイドブック. 血栓と循環 12(4): 101-104, 2004.