

第43回日本輸血学会総会記録

総会長講演 平成7年3月23日(木)

止血機構異常と輸血

愛知県赤十字血液センター

神谷 忠

はじめに

血管が破綻し出血すると、やがて血餅が形成されて止血する。この血餅も徐々に溶解除去されて創傷部位は治癒をする。日常よくみられるこの現象の基礎には血管内皮細胞を提供する血管系と血小板系、凝固系、線溶系と凝固、線溶系に対する制御因子が複雑にからみ合い、調和のとれた反応を示しているからである。これを止血機構と呼んでいる。

血管が破綻し、内皮細胞がはがれると、内皮下組織が現われ、コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニンなどが流血中に露呈し、血小板の粘着がみられるが、なかでも傷害組織への von Willebrand 因子 (vWf) を介する血小板粘着と、それに続く血小板内顆粒からの凝集促進物質の放出、さらには血小板凝集塊を主体とした血小板血栓の形成が重要であり、これを一次止血と呼んでいる。この血小板血栓は血流の変化に対する物理的抵抗性は弱く、止血をより安定化させるためには

フィブリン塊からなる血栓の形成、二次止血が不可欠である。

フィブリン血栓は多数の凝固因子が連続的に逐次活性化され、最後はトロンビンによるフィブリノゲンのゲル化、活性化 XIII 因子によるフィブリンゲルの安定化により形成される (Fig. 1)。

この止血機構に異常があると大出血をきたすこともあれば、逆に血栓につながる場合もある。この止血機構は数々の先天性の凝固、線溶因子と阻止因子の欠損症、機能異常症の発見と、これら因子の反応系への関与を克明に解析することにより解明された。

近年、この分野の研究は従来のタンパクレベルに分子生物学的手法が加わり、さらに詳細な機序の解明が進んでいる。すなわち、凝固、線溶因子、血小板、血管内皮細胞などの遺伝子クローニングが進められ、cDNA はもとより genomic DNA の構造が次々に解明され、まさに止血、血栓、線溶、組織修復などの生

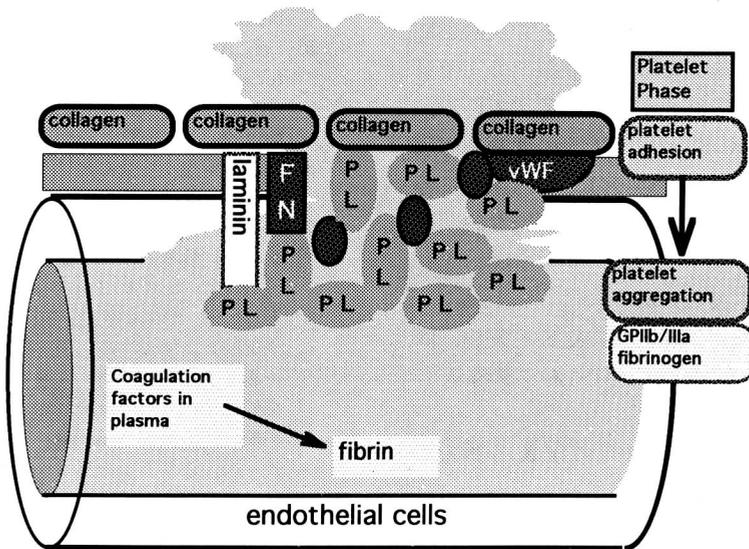


Fig. 1 Scheme of hemostasis

FN : fibronectin, vWF : von Willebrand factor, PL : platelet.

体反応について分子生物学の新しい幕明けとなった。

本稿では、まず止血機構の解明に著者がたずさわった先天性の α_2 -plasmin inhibitor (α_2 -PI) 欠損症と Protein S 欠損症の発見の道程とその成績について述べ、続いて著者の経験に基づいて、先天性凝固異常症の止血管理の一端を解説する。

1) 先天性 α_2 -plasmin inhibitor (α_2 -PI) 欠損症

世界初の先天性 α_2 -PI 欠損症発見の経緯

著者が最初に本患者に出会ったのは、 α_2 -PI がヒト血漿より分離精製され、その存在が確認された1976年であった。当時、本患者は主治医である古波倉正照博士（那覇市）の診療を受けていた。患者は沖縄県出身で1952年生まれ、当時24歳の男性であった。患者は出生時には特に異常はなく、臍帯脱落部からの異常出血もなかった。しかし、軽度の打撲でも血腫を生じやすく、創傷部の止血に明らかな遅延傾向がみられた。6歳時にガラスの破片で足底部を切り、止血困難で創傷治癒に2カ月を要したのをはじめ、たびかさなる出血症状を繰り返し、16歳頃からは両膝関節への出血をきたし、止血に輸血を要すようになり、血友病に匹敵する出血症状を繰り返すが、血友病の出血と異なる点は、打撲や創傷による出血が一旦止血した後、しばらく遅れて再出血することであり、この出血の仕方は先天性第 XIII 因子欠乏症の出血に似ていた。1976年9月、患者はこの出血性素因の精査のため著者の外来へ紹介された。家族歴では、家系内に複雑な血族結婚が存在したが、患者以外に異常出血者はなかった。

初診時の検査所見でもっとも明らかな異常は、全血溶解が37°C 4時間で完了することと、ユーグロブリン溶解時間が短縮していることで、線溶現像の異常亢進が示唆された。しかし、フィブリノゲン値をはじめ、既知の血液凝固因子活性はすべて正常で、線溶系の検査でもプラスミノゲン値は正常で、プラスミン活性およびフィブリン体分解産物 (FDP) も検出されなかったことから、この時点で線溶亢進の原因が何であるかを結論づけることはできなかった。

1977年9月、患者は重篤な右血胸をおこし、沖縄県立中部病院に入院した。輸血下に開胸術を受け治癒したが、計3,200mlの輸血を要した。丁度この頃、著者らは凝固、線溶系の阻止物質について検討していたが、既知のインヒビターはすべて正常範囲にあることから、青木教授（当時、自治医大）らが発見した α_2 -PI について測定してみることを考えた。 α_2 -PI の測定を斎藤教授（当時、Case Western Reserve 大学）に依頼

した。彼は α_2 -PI の測定を免疫拡散法で行い、患者血漿では全く沈降輪の形成の見られないことを確認した。再度患者から採血し、測定を試みたが、結果は同じであった。1978年5月、著者は青木教授と共に沖縄へ渡り、患者と家族の検査を行った。止血検査では全血溶解が4時間で完全溶解することとユーグロブリン溶解時間が軽度短縮していることは以前と同様であった。 α_2 -PI については、抗原量がRIA法で0.1mg/dl以下で検出不能であった。活性値もfibrinolytic activity (UK-induced clot lysis法) で検出不能であり、合成基質 (S-2251) でのamidolytic assayでも3~5%と低値であることから、本患者の線溶系の異常亢進はこの α_2 -PI の欠損に起因するものと考えられた。その後の検討で、患者血漿に精製した α_2 -PI を添加してfibrinolytic activity, amidolytic activityを測定すると、血漿中の α_2 -PI 濃度に比例して活性の回復がみられ、本患者は先天性 α_2 -PI 欠損症と診断された¹²⁾。

α_2 -PI 欠損症患者の家系調査

本症例の家系図を Fig. 2 に示す。VI-3が発端者で、患者の父方の祖母と母方の祖母が従姉妹であり、さらに、母親の両親が従兄妹どうしであると云う複雑な血族結婚が存在した。 α_2 -PI の活性値と抗原量の測定結果では、父親は活性値39%（合成基質法）、抗原量2.5mg/dl（正常値5.3~7.0mg/dl）、母親も活性値44%、抗原量2.5mg/dl、いずれも正常の50%以下に低下しており、両親はheterozygoteの欠損症であることが判明した。その他では、父親の祖母 (IV-6)、兄 (V-1)、母親の妹 (V-10)、発端者の兄弟すべて (IV-2, 4, 5, 6) がheterozygoteであった。結局、本家系では発端者のみが α_2 -PI のhomozygous deficiencyで、その他の9名はheterozygous deficiencyと診断された。9名のheterozygoteの家族では発端者にみられたような異常出血は全く認められなかった (Fig. 2)。

α_2 -PI 欠損症と抗線溶療法

トラネキサム酸は主にプラスミノゲンのリジン結合部位へ結合してプラスミノゲンのフィブリンへの結合を阻害し、線溶阻止作用を発揮する。著者は患者にトラネキサム酸を投与した時の抗線溶効果をみるため、UK-induced clot lysis法により検討した。方法は α_2 -PI 患者血漿0.1ml に t-AMCHA (0~1,000 μ g/ml の各濃度) を4°Cで等量加え、その後0.1mlのUK (240u/ml) と等量のトロンビン (10u/ml) を加えて、37°Cにてこの溶解時間をみる方法である。その結果は、t-AMCHAを加えない患者血漿のみの場合の溶解時間

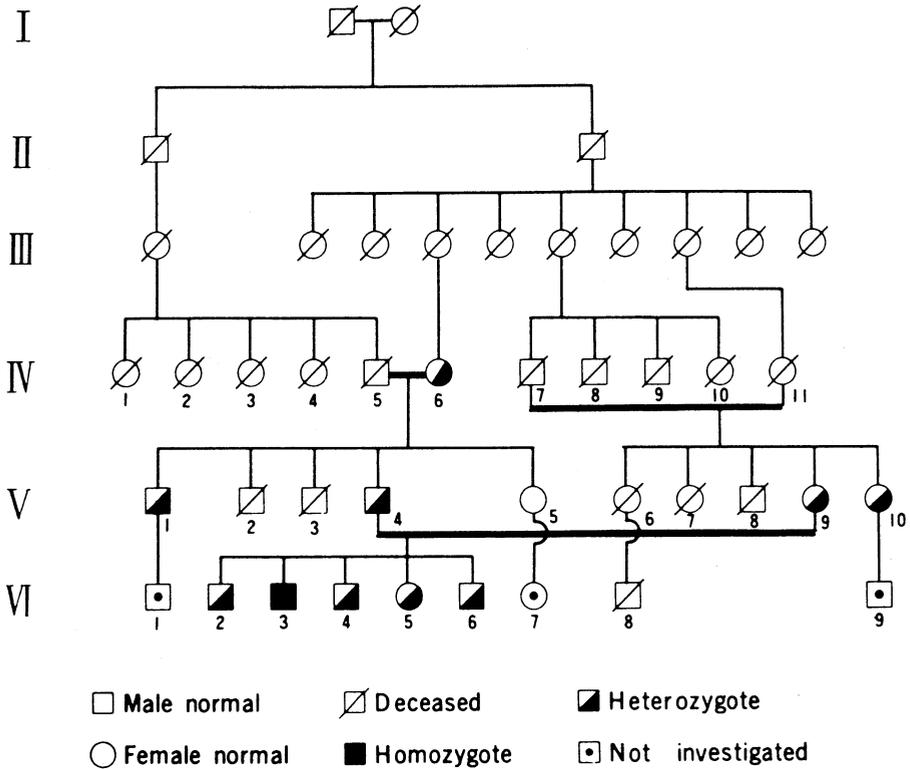


Fig. 2 The pedigree of family M with α_2 -PI deficiency.

The patient (VI-3) was believed to be homozygous because of the absence of α_2 -PI in his plasma. None of the family members except the patient reported any episode suggestive of hemorrhagic diathesis.

は6分であるが、t-AMCHAの濃度が $2.5\mu\text{g/ml}$ で11分、 $5\mu\text{g/ml}$ で19分、 $50\mu\text{g/ml}$ では60分以上と、t-AMCHAの濃度が増すにつれて溶解時間は直線的に延長した。

患者にトラネキサム酸を投与した場合の血中濃度と溶解時間について検討した結果、トラネキサム酸 1.5g/day 服用中の場合、その血中濃度は $4.25\mu\text{g/ml}$ で溶解時間は14分、 3.0g/day 服用では血中濃度が $8.72\mu\text{g/ml}$ で溶解時間が20分となった。この場合、対照として測定した健常者プール血漿の溶解時間が22分であることから、患者にトラネキサム酸 3.0g/day を投与すると、正常人と同程度の線溶状態が保持されるものと考えられた。

α_2 -PI 欠損症の報告例

先天性 α_2 -PI 欠損症の報告は本症例を第1例として、その後世界で12家系報告されている。

出血症状は重篤な出血症状を呈することが多く、特

徴は外傷後いったん止血して数時間後に再出血する後出血である。これは α_2 -PI 欠乏症ではフィブリン形成後に線溶亢進が生ずることによると考えられる。

α_2 -PI では欠損症の他に分子異常症の症例も報告されている。この症例はオランダの報告例で、 α_2 -PI の抗原量は83%と正常であるのに、活性値が4%に低下し、重篤な出血を呈している³⁾。この症例は遺伝子レベルでも異常部位が明らかにされている⁴⁾。

2) 先天性プロテインS (PS) 欠損症

本邦初の PS 欠損症発見の経緯と調査

血漿蛋白の研究の進歩により、反復する血栓症の原因が先天的な血漿蛋白の欠損または異常によるものと考えられる疾患がいくつか発見されてきた。異常フィブリンゲン血症、プラスミノゲン異常症、アンチトロンビンIIIの低下症と異常症、プロテインC欠損症、ヘパリンコファクターIIの欠損症と本項で述べるプロテインS欠損症などがあげられる。

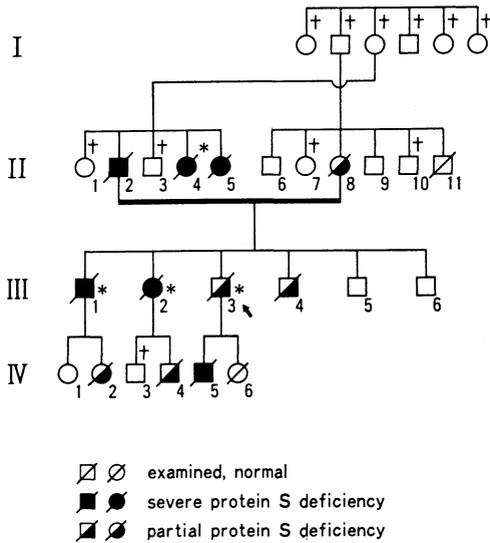


Fig. 3 Family with protein S deficiency.

The proband is indicated by the arrow. The presence of consanguinity is shown by a solid line between II-2 and II-8. The history of clinical thrombosis is indicated by*.

本症例の発端者は当時37歳の男性で、両親がいとこ結婚である。患者は35歳までは特に異常もなく健康に過したが、35歳の時、右下肢の腫脹、疼痛をきたし近医に入院した。10日後には左下肢にも同様の症状が出現し、血管撮影で両側総大腿静脈血栓症と診断された。

止血検査ではプラスミノゲン、フィブリノゲン、アンチトロンビンIII、プロテインCはいずれも正常であった。そこで、当時(1984年)は血栓性の因子としては知られていなかったPS抗原値をローレル法で測定した。その結果、PS抗原値は正常の38%に低下しておりPS欠損症の可能性が示唆された。診断を確実にするにはPS活性の測定が不可欠であり、その凝血学的測定法を開発し、患者とその家族のPS活性値の測定を行った。その結果をFig. 3に示すが、発端者のPS活性値は9%と低値であった。家系の測定結果では、父の活性値が5%以下、母が29%でいずれも低値を示した。その他では父方の叔母2名(II-4, II-5)、兄(III-1)、姉(III-2)、発端者の長男(IV-5)の活性値はいずれも5%以下でsevere PS deficiencyと考えられた。また、弟(III-4)、兄の次女(IV-2)、姉の長男(IV-4)の活性値は9~15%の低値でpartial deficiencyと考えられた。したがって、活性値を測定した13名のうち11名がPS欠乏症と診断された。

この11名のうち8名が成人であり、8名中4名に血栓症を認めた⁵⁾⁶⁾(Fig. 3)。

3) von Willebrand病(vWD Type III)の止血管理

von Willebrand病(vWD)は常染色体性の出血性疾患で、血友病について多くみられる。本邦での患者数は約800名と推定されている。出血症状は皮膚粘膜出血、特に鼻出血や過多月経を特徴とする。本症の病因は12番目の染色体上のvon Willebrand因子(vWF)の遺伝子異常に基づくvWFの量的、質的異常である。本症は遺伝形式、第VIII因子(FVIII)とvWF量、vWFのマルチマー構造の相異などからType I, Type II(IIA~IID), Type III, 血小板型等の病型に分類される。以下に症例呈示するType III vWDは、いわゆる重症型で血漿中のvWFは著明な低下を示す。遺伝形式は常染色体性劣性を示し、通常、無症候性heterozygoteの両親から同時に異常遺伝子を受け継いだhomozygoteとされる。出血症状は重篤で血友病類似の関節出血、深部組織への出血をする。

症例は1956年生まれの女性で、幼少時より鼻出血、皮下筋肉内出血を繰り返し、6歳時にvWDの診断を受けた。その後、両足関節へ出血をくり返し、その都度クリオの輸注による止血管理を受けてきた。1986年以降は加熱VIII因子製剤(ヘマーテP, コンファクトF)により止血管理を受けている。

止血検査での主な異常は、出血時間が20分以上の著明な延長であり、VIII:C 3%, vWF:Ag 3%, リストセチンコファクター(Rcof) 6%で、いずれの値も著明な低値を示すことである。

今回、本患者は子宮内膜症チョコレート嚢腫の摘出のため入院した。手術にさきだつてvWFを含有する第VIII因子製剤(コンファクトF)による輸注試験を試みた。その成績をFig. 4に示す。コンファクトF 2,000単位(実測値2,239単位)輸注後のFVIII:C, vWF:Ag, Rcofの推移は、FVIII:Cが輸注1時間後の活性値で59%と上昇期待値82%に比し低値にとどまったが、vWF:Ag, Rcofは124%, 118%といずれも上昇期待値をはるかに上まわる値を示した。その後の推移はいずれも二相性を示し、輸注8時間後の測定値は3つのパラメーターともに44~51%の値であった(Fig. 4)。

輸注試験の結果を参考にFig. 5の輸注スケジュールにより手術を施行した。術前にコンファクトF 3,500単位(実測値3,680単位を輸注し、12時間後に同

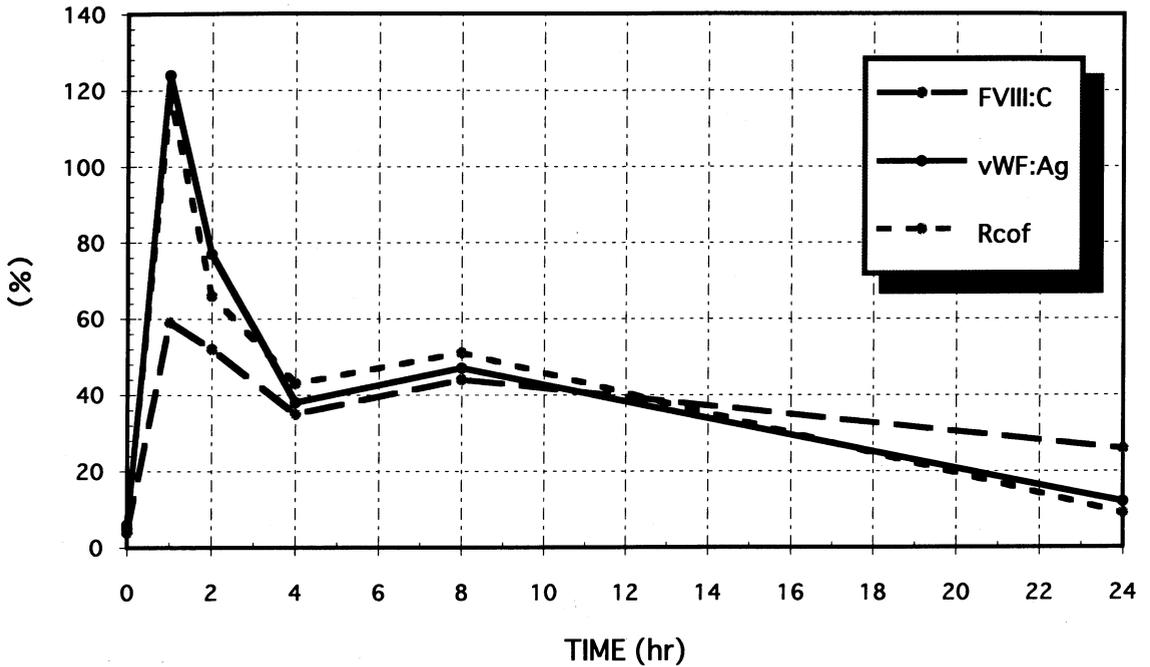


Fig. 4 FVIII: C, vWF: Ag and Rcof in relation to time after infusion of 2,000U of Contact F for a vWD patient (K.M.).

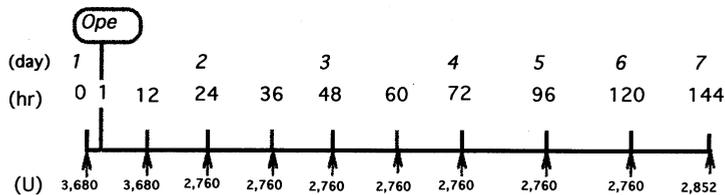


Fig. 5 Transfusion schedule of Contact F for a vWD patient (K.M) before and after the operation.

量を輸注，その後，第2～第4病日迄は12時間毎に2,500単位(実測値2,760単位)，第5～第7病日には24時間毎に2,500単位を輸注した。輸注は7日間で終了した。輸注期間中のFVIII:C, vWF:Ag, Rcofの測定値は16.8%～52%に維持されており，術中，術後の異常出血は認められなかった (Fig. 5)。

4) 先天性第V, VIII因子合併欠乏症の止血管理

先天性第V, VIII因子合併欠乏症は稀な疾患で，現在までに世界で約30家系の報告をみるにすぎない。本症の病因についての議論は興味深く，1980年，Marlarらは活性化プロテインC(APC)が活性化第V因子(Va), VIII因子(VIIIa)を分解し，抗凝固作用を示すことに着目し，APCを特異的に阻害する活性化プロテインC

インヒビター(PCI)の欠損を本症の本態であると推論した⁷⁾。しかし，この仮説はCanfieldら⁸⁾，Suzukiと著者ら⁹⁾により否定された。遺伝形式についても諸説があるが，常染色体劣性をとる症例が多い。また，家系内に血族結婚の存在の多いのも特徴的である。

出血症状は自然出血は少なく，抜歯後の止血困難，外傷時の異常出血などであり，これらの症状が発見のきっかけになることが多い。

血友病のような関節出血，深部組織への出血はほとんど認められない。

著者は本症の4家系を経験しているが¹⁰⁾，ここでは，この中の1例の胃癌摘出例について，その止血管理を述べる。

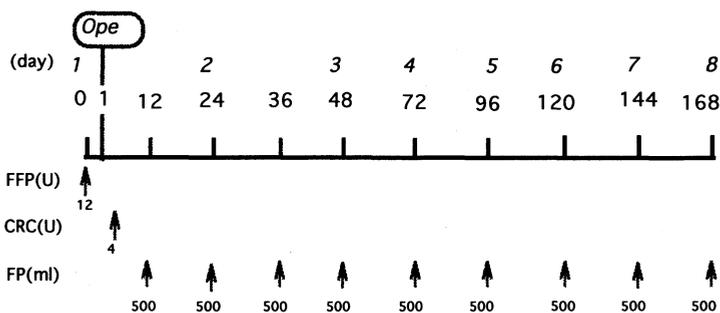


Fig. 6 Transfusion schedule of FFP, CRC and FP for a combined deficiency of FV and FVIII (K.N) before and after the operation.

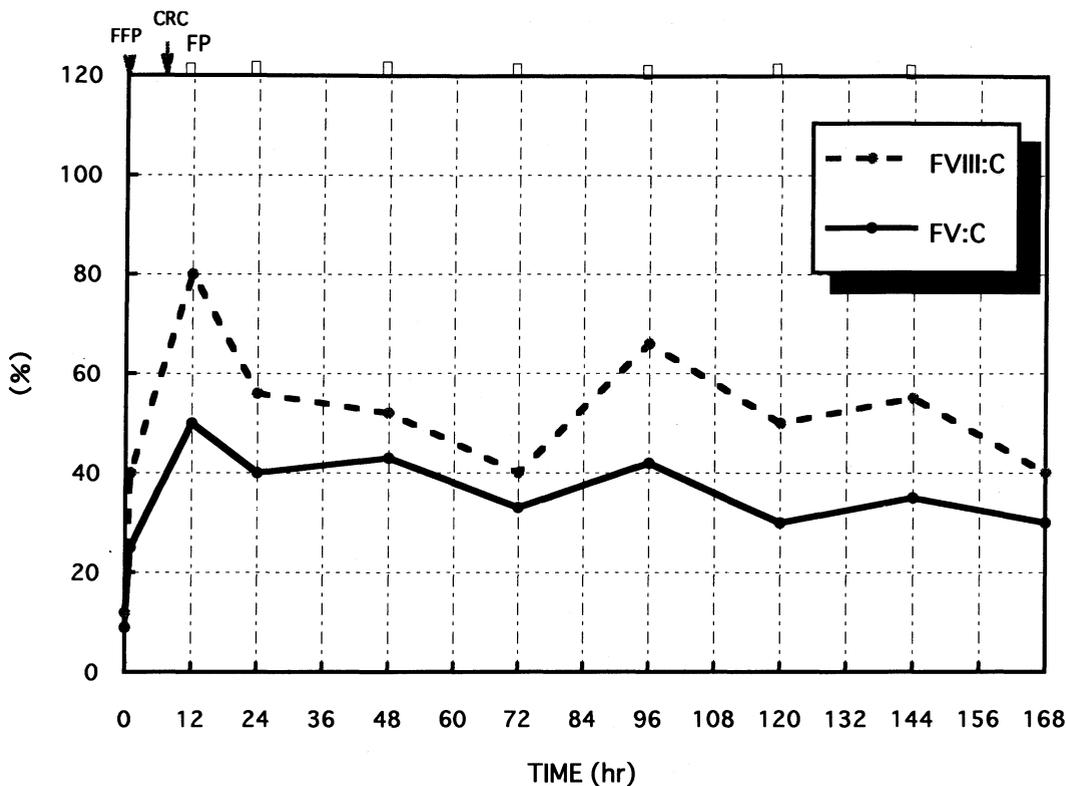


Fig. 7 FVIII: C and FV: C in relation to time before and after the operation.

本症例は1929年生まれ的女性で、家族歴に両親のいとこ結婚が存在した。出血症状では抜歯後の止血困難があり、分娩後の出血多量では輸血を受けている。1982年名大病院を受診し本症と診断された。翌年、胃癌(IIc)と診断され、手術のために入院した。

止血検査では、プロトロンビン時間が19.0秒(対照10.5秒)、APTT 157秒(対照45秒)といずれも著明な延長を示した。第V因子、第VIII因子凝固活性はそれぞれ

11%、15%であった。

手術前後の輸注スケジュールを Fig. 6 に示す。

術前に新鮮凍結血漿 (FFP) 12単位を輸注し、術中、出血量に応じて濃厚赤血球 (CRC) 4単位を輸血、さらに FFP 輸注の12時間後にアフエレーシス由来の新鮮血漿 (FP) 500ml を輸注した。第2病日には12時間毎に、第3病日から第8病日迄は24時間毎に FP 500 ml を輸注した (Fig. 6)。

輸注期間中の第V, VIII因子活性の推移を Fig. 7 に示す。第V因子活性は50%~30%に, 第VIII因子活性は80%~40%に維持されていた (Fig. 7)。

先天性凝固因子欠乏症の手術時の止血管理では, 補充する凝固因子の種類とその生物学的半減期, 手術の状況により輸注する因子量は異なる。特に本症例のように複数の因子を補充しなければならず, しかも一方の因子に濃縮製剤がない場合には, 基本的にはFFPまたはFPの輸注にたよらざるを得ない。そのモデルケースとして本症例を報告した。

講演ではこの他に先天性無フィブリノゲン血症, 先天性第VIII因子欠乏症の分娩例, 腹部大動脈瘤に起因するDIC症例, 血友病におけるインヒビター発生とその要因についても述べたが, 紙面の都合で割愛した。

文 献

- 1) Koie, K., Kamiya, T., Ogata, K., Takamatsu, J. and Kobakura, M.: α -plasmin-inhibitor deficiency. (Miyasato disease). *Lancet*, December 23 & 30: 1334—1336, 1978.
- 2) Aoki, N., Saito, H., Kamiya, T., Koie, K., Sakata, Y. and Kobakura, M.: Congenital deficiency of α_2 -plasmin inhibitor associated with severe hemorrhagic tendency. *J. Clin. Invest.*, 63: 877—884, 1979.
- 3) Kluft, C., Nieuwenhuis, H.K., Rijken, D.C., Groeneveld, E., Wijngaards, G., van Berkel, W., Dooijewaard, G. and Sixma, J.J.: α -Antiplasmin Enschede: Dysfunctional α -antiplasmin molecule associated with an autosomal recessive hemorrhagic disorder. *J. Clin. Invest.*, 80: 1391—1400, 1987.
- 4) Holmes, W.E., Lijnen, H.R., Nelles, L., Kluft, C., Nieuwenhuis, H.K., Rijken, D.C. and Collen, D.: α -Antiplasmin Enschede: Alanine insertion and abolition of plasmin inhibitory activity. *Science*, 238: 209—211, 1987.
- 5) Kamiya, T., Sugihara, T., Ogata, K., Saito, H., Suzuki, K., Nishioka, J., Hashimoto, S. and Yamagata, K.: Inherited deficiency of protein S in a Japanese family with recurrent venous thrombosis: A study of three generations. *Blood*, 67: 406—410, 1986.
- 6) 神谷 忠: プロテインSと血栓症。血液と脈管, 17: 89—98, 1986.
- 7) Marljar, R.A. and Griffin, J.H.: Deficiency of protein C inhibitor in combined factor V/VIII deficiency disease. *J. Clin. Invest.*, 66: 1186—1189, 1980.
- 8) Canfield, W.M. and Kisiel, W.: Evidence of normal functional levels of activated protein C inhibitor in combined factor V/VIII deficiency disease. *J. Clin. Invest.*, 70: 1260—1272, 1982.
- 9) Suzuki, K., Nishioka, J., Hashimoto, S., Kamiya, T. and Saito, H.: Normal titer of functional and immunoreactive protein-C inhibitor in plasma of patients with congenital combined deficiency of factor V and factor VIII. *Blood*, 62: 1266—1270, 1983.
- 10) 神谷 忠, 杉原卓朗, 高松純樹, 緒方完治, 鈴木宏治, 西岡淳二, 橋本仙一郎, 齋藤英彦: 遺伝学的に異なる2病系で, プロテインCインヒビター活性が正常であった先天性第V, 第VIII因子合併欠乏症。血液と脈管, 15: 479—486, 1984.