

## 血液凝固研究の進歩

富山医科薬科大学検査部 桜川 信男

Recent advances on blood coagulation research

Nobuo SAKURAGAWA

*Central Clinical Laboratory, Toyama Medical and Pharmaceutical University*

Recent advances on blood coagulation research are extremely rapid and significant using DNA-technology.

Main topics on these advances are on ① inhibitors including antithrombin III, protein C, heparin cofactor II, ② acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) on hemophiliacs, ③ occurrence of thrombosis in the cases using warfarin, ④ foods and thrombotic tendency derived from platelet function influenced by eicosapentaenoic acid and ⑤ anticoagulant effect of Chinese herbs.

In this paper, these topics were introduced using our results.

**Key words:** Inhibitors, Antithrombin III, Heparin cofactor II, AIDS, Protein C, Eicosapentaenoic acid, Chinese herbs.

阻害因子, アンチトロンビン III, ヘパリンコファクター II, 血友病, エイズ, プロテイン C, エイコサペンタン酸, 和漢薬

先天性出血性素因である血友病の病態研究から開始された今日の血液凝固線溶学は、免疫学、生化学や遺伝子工学の導入により、分子レベルから追求され、止血機構の解明と止血療法の開発がすすめられている。

これまでの基本的な止血療法である補充療法により、肝炎や AIDS の発生をみたが、遺伝子工学の利用による第Ⅷ因子や第Ⅸ因子の製産も試行されており、一方、生前診断としての遺伝子工学の利用<sup>1)</sup>や prenatal stetoscope<sup>2)</sup>が行われている。

一方では、新聞紙上でにぎわっている男女選別受胎も試みられて、血友病患者と正常人女性からの男子は全て

正常人であることから推奨される向がつよい。

一方、血栓症は戦後の食餌の変化により動脈硬化や糖尿病の増加と共にその比率は上昇して脳血栓、深部静脈血栓や虚血性心疾患がめだつようになった。

血栓症も、このような後天性のものとは別にアンチトロンビン III や Heparin cofactor II の欠乏症や異常症によるものが最近注目され、私共もアンチトロンビン III 異常症「富山」を経験し、そのアミノ酸構成より血栓症の原因を究明した。

本稿では、出血性要因や血栓症の病態の基本である血液凝固理論にのっとり、その進展を概説したい。

Print requests to: Nobuo SAKURAGAWA,  
Central Clinical Laboratory, Toyama  
Medical and Pharmaceutical University,  
Sugitani 2630, Toyama 930-01, JAPAN.

印刷請求先: 〒930-01 富山市杉谷 2630  
富山医科薬科大学 検査部 桜川 信男

### 1. 阻害系を重視した凝固機構

凝固機構は発見された順序で命名されたローマ数字の凝固因子により、内・外両因系は明瞭になり、第Ⅸ因子の活性化反応以下は共通系となる。

近年の目覚ましい進展は内因系の接触相であり、prekallikrein の kallikrein の活性化、high molecular weight kininogen の存在および第Ⅻ因子と共に第Ⅶ因子活性化にみられる内・外両系の相関性であり、その上に阻害因子系として Antithrombin Ⅲ, Heparin cofactor Ⅱ, および Protein C-thrombomodulin 複合体による第Ⅴa や第Ⅷa 因子の阻害である。

Antithrombin Ⅲ 欠乏症や異常症<sup>3) 4)</sup>あるいは Heparin cofactor Ⅱ 欠乏症<sup>5)</sup>による血栓症の発見は最近注目されており、血管壁に存在するグリコサミノグリカンズ (GAG) との複合体形成による抗凝固性の発現によることから、血管壁の性状が重視され、PGI<sub>2</sub> 産生能と血小板粘着、t-PA 産生と線溶系などの面からも考察されている。Antithrombin Ⅲ や Heparin cofactor Ⅱ はヘパリンと関連して抗凝固作用を示すことから、ヘパリン中和作用を有するヒスチジン-リッチ・グリコプロテイン (HRG) や血小板第4因子 (pf 4) の存在がこれらの作用に大きく関連することになる<sup>6) 7)</sup>。

Protein C-thrombomodulin 複合体と第Ⅴa や第Ⅷa 因子阻害に関連しては間接的な凝固制御機構として重要である<sup>8) 9)</sup>。

### 2. 血管内皮細胞に存在する GAG と関連をもつ、アンチトロンビンⅢと Heparin cofactor Ⅱ

Antithrombin Ⅲ 欠乏症や異常症は凝固機構が活性化されて、活性型凝固物質の第Ⅹa 因子やトロンビンが出現すると、これを中和する物質やその能力を欠く症例である。従って加齢により血栓形成傾向がよくなれば血栓症に傾斜することになる。

Heparin cofactor Ⅱ は抗トロンビン作用のみを有する物質であるが、Antithrombin Ⅲ よりも早くその抗凝固作用を発揮するもので、この欠乏が50%で、Antithrombin Ⅲ が100%存在しても血栓症となる<sup>5)</sup>。

しかし、これらは前述のごとく、血管壁内皮細胞産生のグリコサミノグリカンズと複合体を形成することが重要である。

この複合体形成を制御するものは HRG や pf 4 である。この両者の作用で上記の2つの阻害物質はその活動

を制御される<sup>10)</sup>。

血管壁内皮細胞を培養させると、GAG が出現するが、これと ATⅢ-異常症「トヤマ」との関連でも抗凝固作用を発現しない<sup>11)</sup>。これから生体内での血栓形成傾向は実証された。

他方、トロンビンと複合体を形成したトロンボモジュリンは Protein C を活性化するが、この複合体のトロンビンは Antithrombin Ⅲ や Heparin cofactor Ⅱ に及ぼす GAG の影響をうけない<sup>12)</sup>。

従ってトロンボモジュリン-トロンビン複合体は Heparin cofactor Ⅱ や Antithrombin Ⅲ と異った阻害系を示し、生体制御が成立しているものである。

ヘパリン依存性タンパク体として上述の他のものとしては、Protein C inhibitor があり、これも血管内皮細胞に存在する GAG との関係でその Protein C に対する阻害作用を示すものである<sup>13)</sup>。

これは、Antithrombin Ⅲ との複合体を形成して抗凝固作用を発揮した場合と同様のものであり、GAG 依存性プロテアーゼ阻害物質としての large family がみられる。

これとは別に Protease nexin もグリコサミノグリカンズ依存性物質であり、PGI<sub>2</sub> と同様に生理的作用を考察されねばならない<sup>14)</sup>。

### 3. 血友病治療の問題点と将来

先天性凝固阻害の代表的なものは血友病 A (第Ⅷ因子欠乏症) と B (第Ⅸ因子欠乏症) であり、全体の80~90%を占め、他の von Willebrand 病などの血友病類似疾患が残りである。血友病は伴性劣性遺伝型式をとるが、後者は常染色体優性遺伝型式をとる。

これらの先天性凝固阻害の治療は欠乏因子を補充することであるが、今日では B 型肝炎ウイルスや AIDS ビールスの伝播予防により、加熱 (65°C 72時間) 処理した製剤を用いている。

#### a) 肝炎および AIDS と補完療法

血友病治療製剤の血液はその殆んどが米国より輸入されているものであって、従来は B 型肝炎ウイルスの混入があり、血友病患者は長期間補充する必要があることから、そのほぼ全例が血液肝炎に罹患した。

しかし、その後、供血者の肝炎罹患チェックを完全に行うことにより、製剤への混入が防止されてきた。

ところが、近年の AIDS 問題から血友病製剤の加熱処理によるウイルス処理がなされており、その感染防止もみられている。

しかし、これまで注入をかけた患者では30~60%が抗

体陽性を示している。これまでは、これらの肝炎罹患血友病患者は止血を優先させて治療を行い、重症肝炎ではその治療を併行させて来た<sup>15)</sup>。

このような製剤自体が原因で罹患する肝炎や AIDS とは別に、頻回に輸注することにより第Ⅷ因子に対する抗体が出現する。抗体出現には個体差があって high responder と low responder があり、総計して日本人は5%前後に抗体が出現する<sup>16)</sup>。

これらの抗体出現を防禦する為には polyethylene glycol や liposome に内包して経口投与することが考えられる<sup>17)</sup>。

polyethylene glycol や liposome に内包した第Ⅷ因子や第Ⅸ因子製剤は脈管より吸収される際には安定であり、しかも、血中においても、これに対する破壊作用を示す plasmin や protein Ca より安定性を維持させる<sup>18)</sup>。

このような、レトロウイルス感染より安全で、しかも血中では安定で長時間有効性を示し、その上抗体形成をみない剤型工夫がなされれば、患者に対しても福音となる。

#### 4. 経口抗凝固療法時での血栓症

ワーファリン投与によりビタミン K を中和すると、人工的なビタミン K 欠乏症より肝で産生される凝固因子のプロトロンビン複合体（第Ⅱ，第Ⅶ，第Ⅸおよび第Ⅹ因子）の他に Protein C や Protein S が欠乏する。ところで、これらの半減期は第Ⅶ因子が5時間、第Ⅸ因子25時間、第Ⅹ因子40時間および第Ⅱ因子（プロトロンビン）が65時間であり、Protein C は6～8時間、Protein S は確認されていない。ビタミン K が欠乏されるが、この半減期が短いものの順序で減少して行くことになる。

まず、第Ⅶ因子と Protein C がワーファリン投与後1日60～70%が減少するが、他の凝固因子は図1のごとく、10～20%しか減少しなく、充分凝固性を維持している<sup>19)</sup>。従って、ワーファリン投与後1～2日は本剤投与により凝固状態が変化する。すなわち、第Ⅴaや第Ⅷa因子を抑制する Protein C が減少することから、凝固がむしろ亢進することとなり、血栓症の惹起の危険をまねくこととなる。

ワーファリンが抗凝固療法として用いられ始めた頃、Warfarin induced skin necrosis として臨床的にみとめられて来た血栓症の病態生理もこのようにして判明した<sup>20)</sup>。

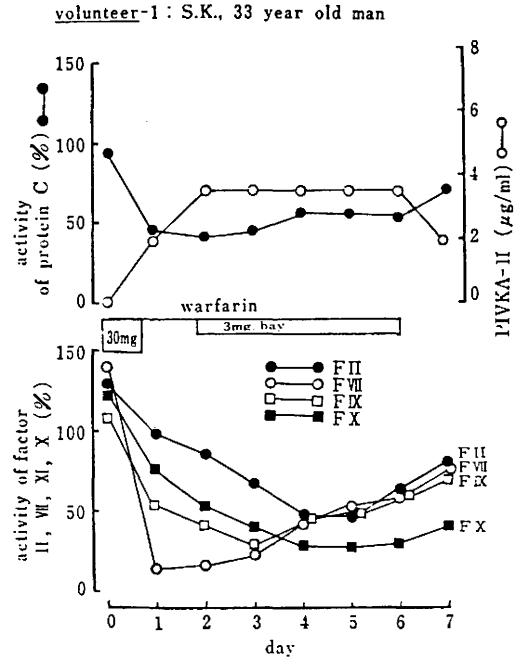


図1 正常人（第1例）でのワーファリン投与による凝血系の変動

#### 5. 食餌及び加齢と凝固系

血液凝固系は加齢と共に亢進状態となり、血管系のぜい弱性も増加し、これに加わるに高血圧傾向による脳出血などの出血現象に対応して凝固亢進が認められるようになる。しかし、近年、塩分制限や医療機関の発達と一般医療の普及により高血圧のコントロールが行きとどき、脳出血での死亡は増加しないが、一方では、脳血栓での死亡が増加している。

この原因の1つとしては、食生活と生活様式（車社会）の変化によるものと考えられる。

食生活では、脂肪摂取が多くなり、血中脂質の増加による血栓形成傾向がめだつ、生活様式では車社会による運動不足が考えられる。運動は血液循環の推進により全身血管より組織プラスミノゲン—アクチベータの放出がみられ、血栓形成を阻止することとなる。

ところで、食餌との関連で血栓症が多発する北欧デンマークと血栓症が少なく、むしろ出血傾向を示すエスキモー人で検討すると、デンマーク人はアラキドン酸（AA）とエイコサペンタエン酸（EPA）の比較で AA が多く、エスキモー人は EPA が多いことが判っており、デンマーク人は動物性バターや獣肉食を摂取し、エ

スキモー人は青ものの魚類を摂取することが判った<sup>21)</sup>。

日本人は AA と EPA の比率が、エスキモー人とデンマーク人の中間に位置しており、デンマーク人と比較して血栓症が少ないことが判る。

## 6. 和漢薬と凝固系

和漢薬は古くから、経験上、各病態に薬効を示すことから、投与されて来たものであり、従って前述のエスキモー人での魚類と同じで日常生活に直結したものである。

この和漢薬で「出血や血栓」と関係した生薬を抽出して、その凝固・線溶・血小板に対する作用を検討すると、ガイ葉に強力な抗凝固作用が認められ、山挽子には線溶促進作用が認められた<sup>22)</sup>。

ガイ葉の抗凝固作用について検討するとリン脂質上での反応で、第 Xa 因子がプレトロンビンに作用する個所を抑制することが判明した。また本剤は、リンパ球の分裂を促進して T-cell の活性を亢進させることが判った<sup>23)</sup>。

## 7. ま と め

凝血系をしめる緒問題として先天性出血性素因の①ATⅢ や HCⅡ と血栓症、②血友病、③食餌や加齢との関係、④最後に和漢薬について述べた。

この小論文が、凝固学に興味を持つ医師や学生の参考になれば幸甚である。

## 参 考 文 献

- 1) 西野正人, 福井 弘, 他: 第Ⅷ因子遺伝子 DNA プロローベ (F8A) と ST14 プロローベを用いた血友病 A 家系における保因者診断. *Acta Haematol. Jpn.*, 50: 493, 1987.
- 2) 相馬広明, 小川俊隆, 藤巻道男: 血友病の出生前診断. 立山シンポジウムⅡ: 凝固・線溶・血小板研究—基礎と臨床 (風間睦美, 松田道生, 櫻川信男編), 157~161頁, 東京, 1984.
- 3) Matsuo, T., et al.: Familial antithrombin III deficiency in a Japanese Family. *Thromb. Res.*, 16: 815~823, 1979.
- 4) Sakuragawa, S., Takahashi, K., Koide, T., et al.: Antithrombin III "Toyama". A hereditary abnormal antithrombin III of a patient with recurrent thrombophlebitis. *Thromb. Res.*, 31: 305~317, 1983.
- 5) Train, T.H., Bounameaux, H., Bonkanen, H., et al.: Association of hereditary heparin cofactor II deficiency with thrombosis. *Lancet.*, 24: 413~414, 1985.
- 6) 山岸良一, 丹羽正弘, 櫻川信男: ヘパリン依存性蛋白質に関する研究. *Biomedical Science.*, 6: 131~134, 1986.
- 7) 櫻川信男: 凝固制御機能異常とその調節因子. 日本内科学会雑誌, 76: 8~13, 1987.
- 8) Griffin, J.M., Evatt, B., Zimmerman, T.S.: Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J. Clin. Invest.*, 68: 1370~1373, 1981.
- 9) Kamiya, T., Sugihara, T., Ogata, K., et al.: Inherited deficiency of protein S in a Japanese family with a recurrent venous thrombosis: A study of three generations. *Blood*, 67: 402~410, 1986.
- 10) 高橋 薫, 佐藤伸二, 櫻川信男: Histidine-rich glycoprotein と platelet factor 4 の硫酸ムコ多糖中和作用について. 第27回日本臨床血液学会で発表 (1985年).
- 11) 斎藤宗一, 高橋 薫, 櫻川信男: 異常 antithrombin III 富山の培養血管内皮細胞との反応. 日本血液学会雑誌, 50: 483, 1987.
- 12) 櫻川信男, 丹羽正弘, 山岸良一, 他: トロンビン—トロンボモジュリン複合体に対する各種阻害物質の作用. 第27回日本脈管学会総会 (甲府市) で発表.
- 13) Suzuki, K., et al.: Protein C inhibitor. Purification from human plasma and characterization. *J. Biol. Chem.*, 258: 163~168, 1983.
- 14) Knauer, D.J., Thompson, J.A. and Cunningham, D.D.: Protease Nexins: Cell-secreted Proteins that mediate the binding, internalization, and degradation of regulatory serine proteases. *J. Cell. Physiol.*, 117: 385~396, 1983.
- 15) 山田兼雄: Acquired Immunodeficiency Syndrome: AIDS. 立山シンポジウムⅡ: 凝固・線溶・血小板研究—基礎と臨床, 171~176頁, 東京, 1983.
- 16) 岩垣克己: 「抗体の発生」血友病 (福武勝博, 藤巻道男, 長尾 大編), 269~275頁, 全国ヘモフィリア友の会, 名古屋, 1981.

- 17) Sakuragawa, N., Niiya, K. and Kondo, S.:  
Oral administration of factor VIII concentrate  
preparation in von Willebrand's disease.  
*Thromb. Res.*, **38**: 681~685, 1985.
  - 18) 桜川信男, 他: 血友病およびその類似疾患の新しい  
治療法, 立山シンポジウムⅢ: 凝固・線溶・血小板  
研究—基礎と臨床, 184~189頁, 宇宙堂八木書店,  
東京, 1985年.
  - 19) 桜川信男, 前田美雪, 丹羽知登世, 他: Protein C  
測定法の検討並びにワーファリン服用時の protein  
C を含むビタミン K 依存性凝固因子の変動. 臨床  
病理, **34**: 464~468, 1986.
  - 20) Faraci, P.A., Deterling, R.A., Stein, A.M.,  
et al.: Warfarin induced necrosis of skin.  
*Surg. Gynecol. Obstet.*, **146**: 695~700, 1978.
  - 21) Bang, H., Dyerberg, T. and Hjørne, H.:  
The composition of food consumed by Gre-  
enland Eskimos. *Acta Med. Scand.* **200**: 69~  
73, 1976.
  - 22) 桜川信男: 和漢薬の血液凝固学的検討. 漢方医学,  
**7**: 18~23, 1983.
  - 23) 桜川信男, 他: 艾葉のリン脂質上で起こる凝固反  
応に対する阻害作用. *Therapeutic Res.*, **6**: 679  
~683, 1987.
-