

各種腎疾患における血液凝固線溶分子マーカーの検討

新潟大学医学部第一内科学教室（主任：柴田 昭教授）

和田 研

Evaluation of Molecular Markers of Blood
Coagulation and Fibrinolysis in
Patients with Renal Diseases

Ken WADA

*The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Akira SHIBATA)*

Thrombosis is one of the main complications in patients with renal diseases, especially nephrotic syndrome. Previously, urinary FDP or fibrinopeptide A has been used as a thrombotic markers in these patients. I measured plasma levels of various coagulation and fibrinolytic markers in 32 patients with renal diseases. Plasma concentration of plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex (PIC), thrombin-antithrombin III complex (TAT) and D-dimer were significantly elevated in patients with renal diseases as compared to healthy subjects; 0.85 ± 0.70 vs 0.24 ± 0.13 $\mu\text{g/ml}$, 2.94 ± 1.11 vs 1.86 ± 0.47 $\mu\text{g/l}$, 185.58 ± 269.41 vs 30 ± 14 ng/ml , respectively. Plasma PIC and TAT levels were relatively high in patients with rapidly progressive glomerular nephritis (RPGN) and lupus glomerular nephritis (lupus GN). These findings indicate that these molecular markers were useful for the assessment of hypercoagulable and/or hyperfibrinolytic renal diseases.

Key words: renal diseases, molecular marker, thrombin-antithrombin III complex, plasmin- α_2 -plasmin inhibitor complex, D-dimer.

腎疾患, 分子マーカー, トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体, プラスミン α_2 プラスミンインヒビター複合体, Dダイマー

緒 言

糸球体腎炎をはじめとする多くの腎疾患は免疫学的機序により発症することは衆知のことである。しかしなが

ら、近年その病勢の進展、増悪に凝固線溶系が深く関わっているものと推定されており、多くの報告がなされている。また腎疾患、特にネフローゼ症候群では静脈血栓症の合併が多く、臨床において抗凝固療法が施行されてい

Reprint requests to: Ken WADA,
The First Department of Internal Medicine,
Niigata University School of Medicine,
Asahimachi dori 1, Niigata City, 951,
JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部第一内科学教室

和田 研

表1 腎疾患全体での凝固線溶分子マーカーの健常人との比較

	Renal disease	Normal	
urine-P (g/day)	1.24±1.47 (n=26)		
s-alb (g/dl)	4.10±0.85 (n=24)	4.1~5.0 (4.6)	
PIC (μg/ml)	0.85±0.70 (n=32)	0.24±0.13 (n=25)	p<0.001
TAT (μg/l)	2.94±1.11 (n=32)	1.86±0.47 (n=25)	p<0.001
D-dimer (ng/ml)	185.58±269.41 (n=32)	30±14 (n=12)	p<0.001
tPA/PAI-C (ng/ml)	6.73±5.20 (n=32)	5.8±3.7 (n=11)	NS
activePAI (ng/ml)	7.14±5.83 (n=32)	8.5±6.7 (n=11)	NS

る¹⁾。これまで腎局所の凝固線溶動態あるいはそれに対する抗凝固療法の評価の指標として尿中 FDP あるいは尿中フィブリノペプチドA (FPA) が有用とされてきた²⁾³⁾。今回各種疾患において血漿凝固線溶分子マーカーを測定し、その動態を検討した。

対象症例

対象症例は腎生検を施行され診断された腎疾患32例とした。その内訳は IgA 腎症 (IgA GN) 4例, 急速進行性糸球体腎炎 (RPGN) 3例, 膜性増殖性糸球体腎炎 (MPGN) 3例, 糖尿病性腎症 (DM nephropathy) 2例, 慢性糸球体腎炎 (CGN) 11例, SLE 腎症 (lupus nephropathy) 5例, その他の腎疾患 (others) [急性腎不全, 妊娠中毒症, Schönlein-Henoch 紫斑病, 混合性結合組織病] 4例である。

方法

尿中タンパク量は CBB 法にて定量, 血清アルブミンは BCG 法にて測定した。血漿プラスミン- α_2 プラスミンインヒビター (α_2 PI) 複合体 (PIC) はポリクローナル抗プラスミノゲン抗体とペルオキシダーゼ標識モノクローナル抗 α_2 PI 抗体を用いた one-step sandwich ELISA (PIC テスト; 帝人) にて定量した⁴⁾。トロンビン-アンチトロンビン III (AT III) 複合体 (TAT) は2種類の異なった抗体, すなわち抗トロンビン抗体とペルオキシダーゼ標識抗アンチトロンビン III 抗体を用いた sandwich ELISA (エンザイグノスト TAT, ヘキスト) にて測定した⁵⁾。その他, Dダイマー (D-dimer, 富士レリオ), 組織プラスミノゲンアクチペーター-プラスミ

表2 各凝固線溶分子マーカーおよび尿タンパク, 血清アルブミン間の相関

	n	r	
TAT vs PIC	n=31	r=-0.05	NS
D-dimer vs PIC	n=31	r=0.50	p<0.001
D-dimer vs TAT	n=31	r=0.18	NS
urine-p vs PIC	n=25	r=0.25	NS
s-alb vs PIC	n=24	r=-0.32	NS
urine-p vs TAT	n=24	r=-0.08	NS
s-alb vs TAT	n=32	r=-0.07	NS
activePAI vs PIC	n=31	r=-0.07	NS
activePAI vs TAT	n=31	r=0.13	NS
activePAI vs D-dimer	n=32	r=-0.02	NS
activePAI vs PIC/TAT	n=30	r=-0.06	NS

ノゲンアクチペーターインヒビター複合体 (tPA-PAI-C, 帝人), 活性型プラスミノゲンアクチペーターインヒビター (active PAI, 帝人) も ELISA にて測定した。

結果

測定し得た対象腎疾患患者の一日尿中タンパク量の平均±SD は 1.24±1.47 g/day (n=26), 血清アルブミン値は 4.10±0.85 g/dl (n=24) であった (表1)。対象腎疾患全体での凝固線溶分子マーカーの平均±SD は PIC 値 0.85±0.70 μg/ml (n=32), TAT 値 2.94±1.11 μg/l (n=32), D-dimer 値 185.6±269.4 ng/ml (n=32), tPA-PAI-C 値 6.73±5.20 ng/ml (n=32) と対象健常人に比し高値を示した。特に PIC 値 (p<0.001), TAT 値 (p<0.001), D-dimer 値 (p<0.001)

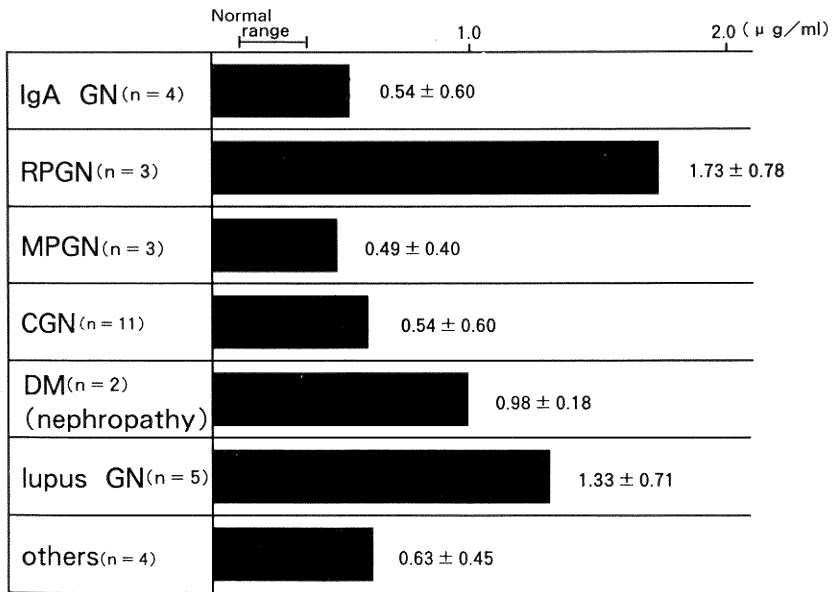


図 1 各種腎疾患における平均 PIC 値

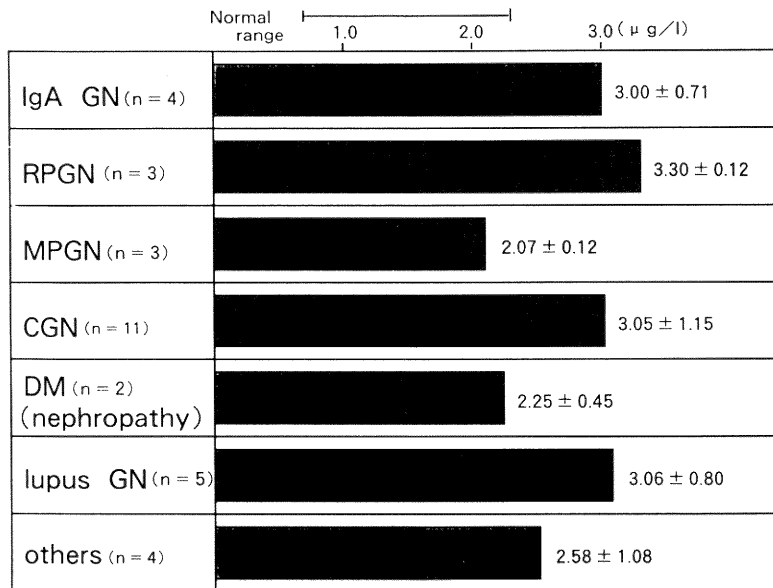


図 2 各種腎疾患における平均 TAT 値

の上昇は統計学的に有意であった(表 1)。尿中タンパク量、血清アルブミン値、各分子マーカーの間では PIC 値と D-dimer 値との間のみ統計的有意な正相関 ($r = 0.50, p < 0.001$) を認めた(表 2)。各種腎疾患別の

分子マーカーの検討では、PIC 値は RPGN, lupus GN で比較的高値を示した(図 1)。TAT 値は RPGN, lupus GN, CGN, IgA GN で比較的高値を示したが、疾患群別の差異は軽度であった(図 2)。D-dimer 値は RPGN,

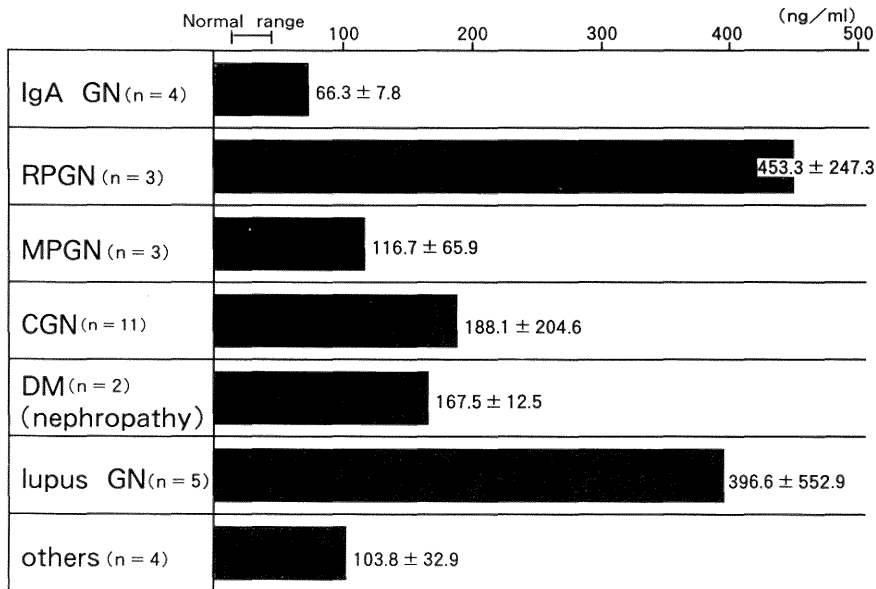


図3 各種腎疾患における平均 D-dimer 値

lupus GN で高値を示したが、他疾患群では正常域にとどまった (図3)。tPA-PAI-C 値は RPGN, DM nephropathy, others で高値を示した。active PAI は others でのみ高値を示した。

考 察

腎疾患、特にネフローゼ症候群で血栓症が生じやすいことがよく知られている¹⁾。その原因として近年 AT III⁶⁾、プロテインC、Sの異常が多数報告されている⁷⁾。また従来より腎局所の血栓存在の指標としては主として尿中 FDP あるいは尿中 FPA が有用とされ²⁾³⁾、血栓溶解療法の指標として多施設で測定されている。今回筆者は各種腎疾患における血漿を検体とした凝固線溶分子マーカーの動態を検討した。

従来、FDP の測定で間接的に推測していた線溶の活性化を、より直接的に捉えることを目的として近年開発されたものが PIC 測定である。本複合体を測定することにより生体内プラスミン生成を直接的に捉えることが可能となり DIC を始めとする各種血栓性疾患の診断に多用されている⁴⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。つぎに、生体内における血液凝固活性化の指標として、FPA、 β トロンボグロブリン、血小板第4因子が指標とされてきたが、近年 TAT 定量法が開発され、より直接的に血液凝固亢進状態を知ることが可能となった⁵⁾⁹⁾¹⁰⁾。また、従来用いられてき

たポリクローナル抗体を用いた血清 FDP 測定法では、検出される FDP がフィブリン由来であるかフィブリノゲン由来であるかを区別できなかった。そこで近年、モノクローナル抗体を用い安定化フィブリン分解産物 (XDP: crosslinked fibrin degradation products, D-dimer) のみを検出する方法が開発され血栓性疾患の診断に多用されている¹¹⁾¹²⁾。これまで述べた3種の凝固線溶分子マーカーは1988年より厚生省 DIC 診断基準の補助的診断項目に指定されている。つぎに tPA-PAI-C, active PAI に関しては、線溶反応は血栓ができる時、これに血管壁内皮細胞由来のプラスミノゲンアクチベーター (tPA) とプラスミノゲンが特異的に結合することで開始する。そこで線溶反応の発動に関わる tPA とその特異的インヒビター (PAI) の複合体を測定することで、より早期に血栓準備状態を予測できるものと考えられ開発された¹³⁾。通常生体内では tPA に比し活性型の PAI (active PAI) が過剰に存在し、tPA は産生されるとその90%程度が活性型 PAI と複合体を形成するとされている。従って本複合体を測定することは血管内皮細胞の tPA 産生を反映することになる。

今回測定した各種腎疾患全体での凝固線溶分子マーカーの検討では active PAI を除きすべてのマーカーで健康人に比し高値を示した。なかでも PIC, TAT, D-dimer は統計学的に有意に高値であった。各疾患群の

検討では凝固系分子マーカー (TAT) に比し線溶系分子マーカー (PIC, D-dimer, tPA-PAI-C, active PAI) の異常が高度であった。特に腎疾患のなかでも予後不良とされる RPGN, lupus GN において著明な高値を示したことは興味深い。Gordge ら¹⁴⁾ は血漿 D-dimer 値は腎機能と相関は認めず、むしろそれはE分画と逆相関を示したと報告した。しかし CRF, DM nephropathy, ARF 群における D-dimer 値は健常者に比し有意な高値を示すことより、腎疾患 (腎不全) における血栓 (フィブリン) の形成、溶解 (線溶) の有用なマーカーであると報告している。筆者の結果では D-dimer 以外の線溶マーカーも高値を示しており、種々のマーカーを測定することにより従来の検討に比しより詳細な情報を得られるものと思われた。従って、血漿を検体とする分子マーカーの検討でも腎疾患における凝固線溶系の活性化がとらえられる可能性が示唆された。今後これらの所見が主として腎局所 (糸球体レベル) での病変を反映するものか、全身的な凝固線溶動態を示しているものか更に検討が必要と思われる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、直接御指導頂きました新潟大学第一内科、柴田 昭教授、高橋芳右助手に深謝いたします。また貴重な検体を供与頂きました新潟大学第二内科、荒川正昭教授、鈴木亨先生に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Llach, F.: Hypercoagulability, renal vein thrombosis and other thrombotic complication of nephrotic syndrome. *Kidney International*, **28**: 429~439, 1985.
- 2) Taira, K., Matsuda, T., Kawahara, S., Sakamoto, S. and Kamitsuji, H.: Fragments of urinary fibrin/fibrinogen degradation products and cross-linked fibrin degradation products in various renal diseases. *Thromb. Res.*, **53**: 367~377, 1989.
- 3) 海津嘉蔵, 岡 治道, 波多野道信, 有賀豊彦, 明石善久, 大柴 進: 尿中 FPA と腎血管内凝固。血液と脈管, **11**: 309~316, 1980.
- 4) 青木延雄, 他: EIA 法による α_2 PI (TD-80) および α_2 PI プラスミン複合体 (TD-80C) 測定キットの基礎的検討。臨床病理, **35**: 1275~1281, 1987.
- 5) Pelzer, H.: トロンビン/アンチトロンビン III 複合体 (TAT) — 血栓状態を検査する新しい指標 —。臨床病理, 特 **81**: 198~201, 1989.
- 6) Kauffman, R., Veltkamp, J., Van Tilburg, N. and Van Es, L.: Acquired antithrombin III deficiency and thrombosis in the nephrotic syndrome. *Am. J. Med.*, **65**: 607~613, 1978.
- 7) Gouault-Heilmann, M., Gadelha-Parente, T., Levent, M., Intrator, L., Rostoker, G. and Lagrue, G.: Total and free protein S in nephrotic syndrome. *Thromb. Res.*, **49**: 37~42, 1988.
- 8) Wada, K., Takahashi, H., Tatewaki, W., Takizawa, S. and Shibata, A.: Plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex in patients with thromboembolic diseases. *Thromb. Res.*, **56**: 661~665, 1989.
- 9) 高橋芳右: 凝固線溶因子・阻止因子複合体。Annual Review 血液, 1991, 198~208, 1991.
- 10) 高橋芳右, 和田 研, 帯刀 亘, 庭野裕恵, 高桑悦子, 柴田 昭: 血液トロンビン-アンチトロンビン III 複合体およびプラスミン- α_2 プラスミンインヒビター複合体からみた各種疾患における凝固線溶活性化。血栓止血学会誌, **1**: 502~511, 1990.
- 11) Elms, M.J., Bunce, H., Bundesen, P.G., Rylatt, D.B., Webber, A.J., Masci, P.P. and Whitaker, A.N.: Measurement of crosslinked fibrin degradation products—An immunoassay using monoclonal antibodies. *Thromb. Hemostas.*, **50**: 591~594, 1983.
- 12) Nieuwenhuizen, W.: New strategies in the determination of fibrin and fibrin (ogen) derivatives by monoclonal antibodies. *Blut*, **57**: 285~291, 1988.
- 13) 坂田洋一: t-PA/PAI-1 複合体測定の意味。臨床病理, **37**: 256~260, 1989.
- 14) Gordge, M.P., Faint, R.W., Rylance, P.B., Ireland, H., Lane, D.A. and Neild, G.H.: Plasma D-dimer: A useful marker of breakdown in renal failure. *Thromb. Haemostas.*, **61**: 522~525.

(平成4年1月21日受付)