

基礎用語集

I. 血算関連

1. CBC(Complete blood count)項目

(1)WBC

白血球数(White Blood Cell)を表します。

(2)RBC

赤血球数(Red Blood Cell)を表します。

(3)HGB

血色素量(ヘモグロビン:Hemoglobin)を表します。

(4)HCT

ヘマトクリット(hematocrit)値を表します。

(5)MCV

平均赤血球容積(Mean Corpuscular Volume)を表します。

RBC と HCT より次式で算出します。

$$\text{MCV(fL)} = \frac{\text{HCT}(\%)}{\text{RBC}(\times 10^4/\mu\text{L})} \times 1000$$

(6)MCH

平均赤血球血色素量(Mean Corpuscular Hemoglobin)を表します。

RBC と HGB より次式で算出します。

$$\text{MCH(pg)} = \frac{\text{HGB}(\text{g/dL})}{\text{RBC}(\times 10^4/\mu\text{L})} \times 1000$$

(7)MCHC

平均赤血球血色素濃度(Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)を表します。

HCT と HGB より次式で算出します。

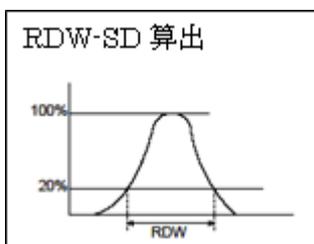
$$\text{MCHC}(\text{g/dL}) = \frac{\text{HGB}(\text{g/dL})}{\text{HCT}(\%)} \times 100$$

(8)PLT

血小板数(Platelet)を表します。

(9)RDW-SD

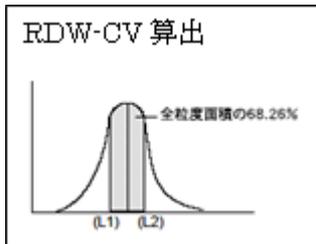
RBC 粒度分布図においてピークの高さを 100%としたときの 20%度数レベルの分布幅を RDW-SD とします。



(10)RDW-CV

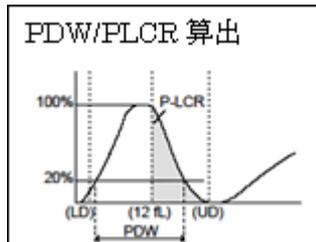
RBC 粒度分布曲線を正規分布曲線と仮定したときの分布幅の指標。RBC 全粒度面積の 68.26%度数の点 L1 および L2 を求め、次式により算出します。

$$\text{RDW-CV}(\%) = \frac{(L2-L1)}{(L2+L1)} \times 100$$



(11) PDW

PLT 分布幅を表します。PLT 粒度分布のピークの高さを 100%としたときの 20%度数レベルの分布幅を PDW とします。



(12) MPV

LD(Lower Discriminator)と UD(Upper Discriminator)の間の血小板の平均容積を表します。

MPV は次式で算出します。

$$\text{MPV (fL)} = \frac{\text{PCT}(\%)}{\text{PLT}(\times 10^4/\mu\text{L})} \times 1000$$

(13) P-LCR

12fL ディスクリ以上の大型血小板比率を表します。LD(Lower Discriminator)と UD(Upper Discriminator)間の粒子数の比率として算出します。

(14) PCT

PLT の度数に重み付けしたもので血小板クリットまたは血小板容積比率と呼びます。

2. DIFF関連項目

(1) NEUT(#, %)

好中球 (Neutrophil) 数及び好中球比率を表します。

$$\text{NEUT}\% = \frac{\text{NEUT}\#}{\text{WBC}} \times 100$$

(2) LYMPH(#, %)

リンパ球 (Lymphocyte) 数及びリンパ球比率を表します。

$$\text{LYMPH}\% = \frac{\text{LYMPH}\#}{\text{WBC}} \times 100$$

(3) MONO(#, %)

単球 (Monocyte) 数及び単球比率を表します。

$$\text{MONO}\% = \frac{\text{MONO}\#}{\text{WBC}} \times 100$$

(4) EO(#, %)

好酸球 (Eosinophil) 数及び好酸球比率を表します。

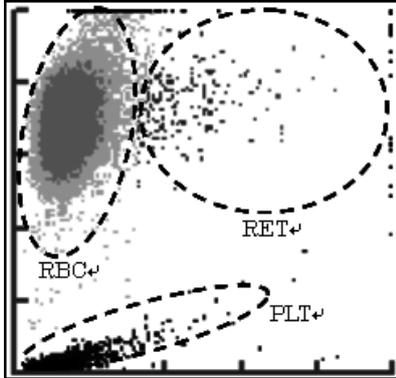
$$\text{EO}\% = \frac{\text{EO}\#}{\text{WBC}} \times 100$$

(5)BASO(#, %)

好塩基球(Basophil)数及び好塩基球比率を表します。

$$\text{BASO}\% = \frac{\text{BASO}\#}{\text{WBC}} \times 100$$

3. RET 関連項目



(1)RET

網赤血球(Reticulocyte)比率及び網赤血球数を表します。

RET#は RET%と RBC より次式で算出されます。

$$\text{RET}\#(\times 10^4/\mu\text{L}) = \frac{(\text{RET}\% \times \text{RBC})}{100}$$

(2)IRF

網赤血球幼若指数(Immature Reticulocyte Fraction)を表します。

MFR と HFR より次式で算出します。

$$\text{IRF} = \text{MFR} + \text{HFR}$$

(3)LFR

低蛍光網赤血球比率(Low Fluorescence Ratio)を表します。

HFR、MFR より次式で算出します。

$$\text{LFR} = 100(\%) - \text{HFR} - \text{MFR}$$

(4)MFR

中蛍光網赤血球比率(Middle Fluorescence Ratio)を表します。

$$\text{MFR} = \frac{\text{MFR領域粒子数}}{\text{網赤血球領域粒子数}} \times 100(\%)$$

(5)HFR

高蛍光網赤血球比率(High Fluorescence Ratio)を表します。

$$\text{HFR} = \frac{\text{HFR領域粒子数}}{\text{網赤血球領域粒子数}} \times 100(\%)$$

4. 測定原理

(1) シースフローDC検出方式 (RBC, HCT, PLT)

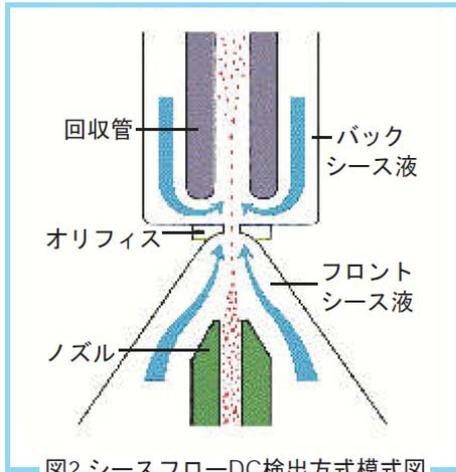


図2. シースフローDC検出方式模式図

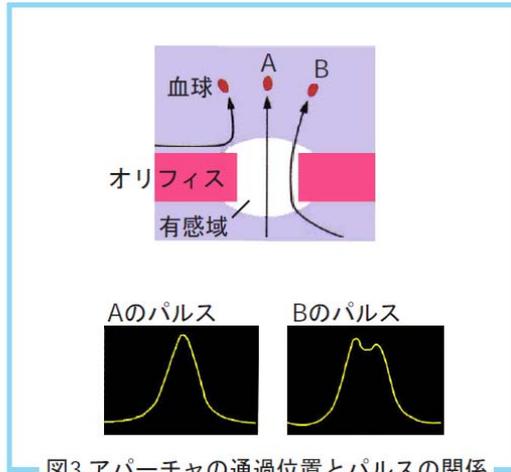


図3. アパーチャの通過位置とパルスの関係

アパーチャをはさみフロントシース側とバックシース側には電極があり、直流電流が流れています。ノズルの先端より希釈された試料が押し出され、血球はフロントシース液に包まれてアパーチャ中央部の一定軌道を通ります。一つ一つの血球がアパーチャの中央部を通るため、容積情報を正確に反映したクリアなパルスが得られます。また、有感域に複数の血球が入ることによって生じる同時通過についても、発生頻度を低く抑えることができます。アパーチャの中央部を通った血球は、再度シース液(バックシース液)に包まれ回収管に回収されます。アパーチャ通過後の血球は、このように速やかに回収されるため、血球の舞い戻り現象は発生しません。

一方、一般のDC検出方式ではアパーチャの辺縁部を通る血球があります。これらの血球では、ひずんだパルスしか得られず(図3参照)、粒度分布や容積関連の項目の誤差要因となります。

DC検出方式は、血球計数装置の原理として最も多く使用されている実績のある方法です。しかし、いくつかの技術的課題も有しています。代表的なものとしては以下のようなものがあります。

① 同時通過の問題

同時に複数の血球が有感域に入り込むことにより生じる血球の数え落としの問題

② 乱れたパルス信号の問題

同時通過やアパーチャの辺縁部を通った血球から得られる乱れたパルス信号(→正確な容積情報が得られない)の問題

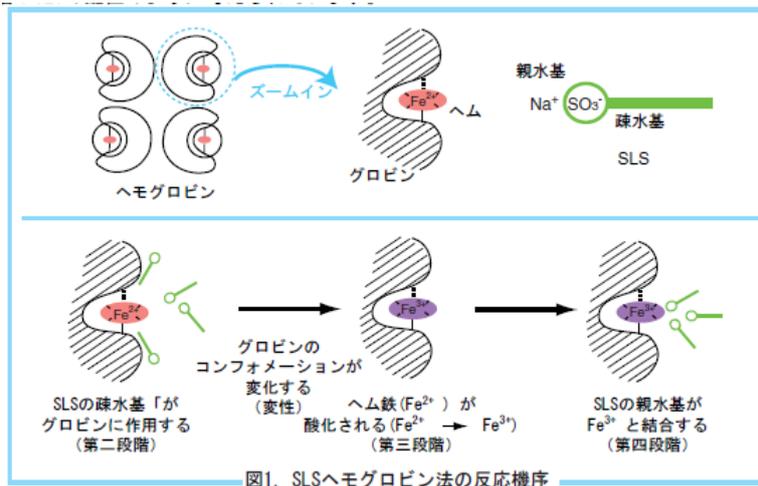
③ 血球の舞い戻りの問題

一度アパーチャを通った血球が舞い戻り、再度有感域に入って血小板レベルの類似パルスを発生する問題

DC検出方式を採用している装置は、これらの誤差要因の影響をできるだけ少なくするよう何らかの対応がなされています。例えば、①同時通過の問題などでは、同時通過補正をするなどして対処しています。これらの問題点を原理上解決したのが、シースフローDC検出方式です。シスメックスは1983年に本方式を採用した装置を市場導入し、改良を重ねながら現在にいたっています。

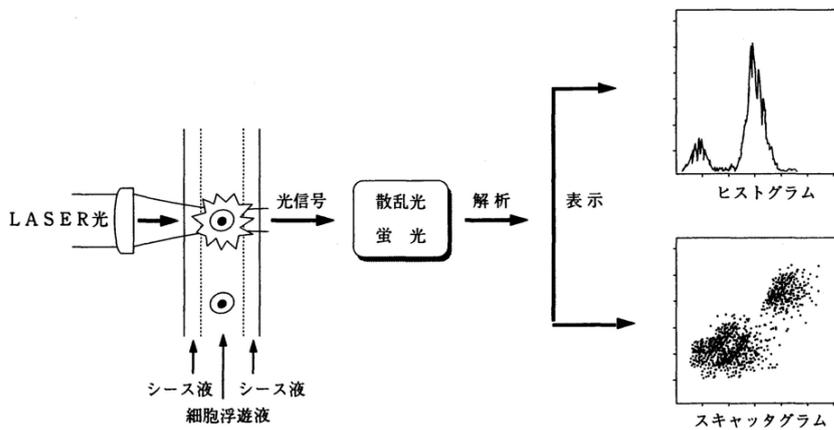
(2) SLS-Hb 法 (HGB)

SLS-ヘモグロビン法は、Sodium Lauryl Sulfate (C₁₂H₂₅SO₄Na;以下SLS)を使用したヘモグロビン濃度測定法です。SLS-ヘモグロビン法の反応機序は(1)第一段階:SLSと赤血球膜と溶血反応、(2)第二段階:SLSによるグロビンの立体構造変化、(3)第三段階:酵素によるヘム鉄の酸化、(4)第四段階:SLSの配位 のように考えられています。



(3)フローサイトメトリー(DIFF,WBC/BASO,RET)

フローサイトメトリー(flow cytometry; FCM)とは、シース液の流れの中に細胞などの粒子を流してレーザー光を照射し、得られる散乱光と蛍光から粒子一つ一つの性状を解析する技術です。散乱光強度と蛍光強度をパラメータとして組み合わせたスキヤッタグラムあるいはヒストグラムを用いて測定試料の解析を行います。



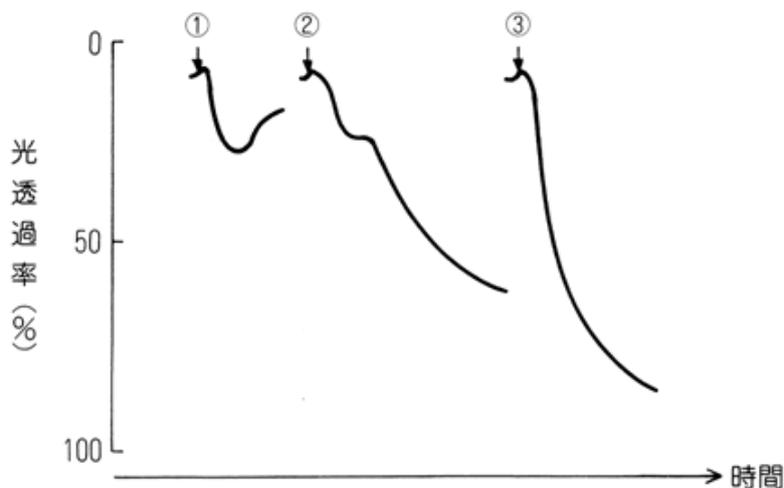
II. 凝固関連

A

(1)ADP

(Adenosine diphosphate; アデノシン二リン酸) C₁₀H₁₅N₅O₁₀P₂ MW427.22

血小板を活性化し凝集させる物質の一つである。ATPを加水分解する事で得る事が出来る。また血小板の濃染顆粒中に含まれており、血小板が活性化され凝集した後、続いて起こる放出反応により血小板から放出され、更なる血小板の凝集反応を惹起し強い血小板血栓をつくる。ADPの血小板凝集作用は、レセプターである血小板膜糖蛋白GPIIb/IIIaを血小板膜表面に露出させ、そこに結合したフィブリノーゲンが橋渡しをすることで血小板どうしが凝集する。このADPを凝集惹起物質として血小板凝集計で血小板の凝集能を測定する。(図1)にADP刺激による血小板の凝集パターンを示す。パターン②の二次凝集は、放出された血小板中のADPやセロトニンにより更なる大きな凝集塊が形成されている事を示している。血小板無力症ではADPによる血小板の一次・二次ともに凝集欠如が見られ、放出機構異常症やストレージ・プール症では二次凝集の欠如がみられる。



- ① ADP 0.5 μ M/l : 低濃度のADPでは放出反応を伴わない可逆的な一次凝集のみが見られる。
- ② ADP 2.0 μ M/l : 一次凝集と顆粒の放出による二次凝集への移行が見られる。
- ③ ADP 5.0 μ M/l : 高濃度のADPでは、一次凝集と二次凝集が続いて起こる。

図1 ADP惹起による血小板凝集曲線

(2)AHF

(Antihemophilic factor) [第VIII因子](#)のこと。

(Antihemophilic factor; 抗血友病因子; Factor VIII:C)

第VIII因子の分子量は、SDSゲル電気泳動では約280,000、cDNAによると2,332のアミノ酸から構成される一本鎖の糖タンパク質であり、その分子量は264,763である。血液中では、von Willebrand factorと非共有結合で複合体を形成しており、血漿中には、100~200ng/ml存在している。その生体内における半減期は、9~18時間である。ペルオキシダーゼ染色を使った免疫学的方法により検出される第VIII因子抗原の組織内局在は、リンパ節、肺、肝臓、脾臓と血小板に存在しているが、これらの所で作られているのか貯蔵されているだけなのかはよく判っていない。内因系の凝固過程で第IXa因子やトロンビンにより限定分解をうけて作用力の強い第VIIIa因子となり、Ca²⁺イオン・リン脂質と共に第IXa因子が第X因子を活性化するのを補助する。第IXa因子による第X因子の活性化は、これらの補助因子や第VIIIa因子がこの反応に加わることで5,000倍にも増加する。しかし、第VIIIa因子それ自身には蛋白質の分解能はない。第VIII因子は、もう一つの補助因子である第V因子と構造がよく似ているが、この二つの補助因子は進化の途中で分かれたのであろうと考えられている。このタンパク質の欠

損症は、血友病A(古典的血友病)と呼ばれ、約1万人の男性に1人の割合で出現し血友病の中での出現率は最も高い(血友病患者の約70%)。血友病は、その活性量の多少により重症 (<0.01U/ml), 中等症(0.01~0.05 U/ml), 軽症(>0.05U/ml)の三群に分けられる。症状は、皮下や筋肉内血腫、及び関節腔内出血とそれによる関節の硬直であり、出血斑が見られる事は稀である。抜歯の際に大出血をする事がある。また第VIII因子遺伝子は、X染色体長腕末端(Xq28)に存在しており、伴性劣性の遺伝形式をとる為、多くは保因者である母親を介して男子に発症する。検査成績は、出血時間正常・APTT延長・PT正常を示す。確認には、第VIII因子欠乏血漿を基質とした拡張APTTまたはVIII:C抗原の定量を行う。分子異常の解析のために、遺伝子による診断が行われている。治療には、ヒト血漿由来の濃縮第VIII因子製剤の補充療法が行われているが、反復する補充療法により第VIII因子に対する抗体ができてくることもあり、このような場合、以後の治療が難しくなる。近ごろ、遺伝子操作により作られたリコンビナント第VIII因子製剤の使用も許可されるようになった。

(3)APTT

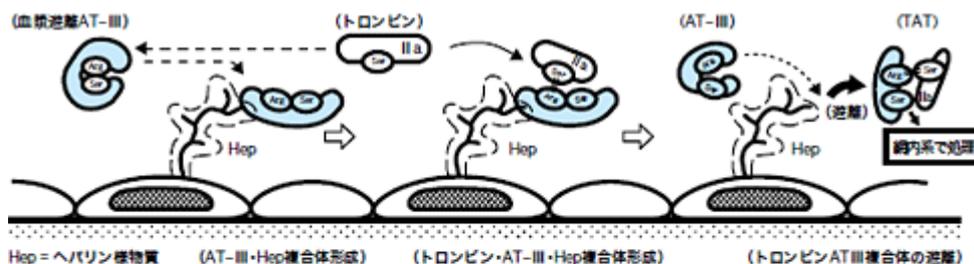
(Activated Partial Thromboplastin Time; 活性化部分トロンボプラスチン時間)

クエン酸血漿中にセファリン(リン脂質)と活性化剤を添加し、陰性荷電膜面による第XII因子の接触活性化からフィブリンの析出までの内因系凝固反応を測定する。同じ内因系凝固反応を反映する検査のカルシウム再加試験やPTTよりも再現性に優れている。検体には、抗凝固剤として血液の1/9量の3.2%クエン酸ナトリウムを加えた乏血小板血漿を用いる。接触活性化にはカオリンやセライトを用いるが、フィブリン析出による濁度の上昇を反応の終点としている自動測定装置用の試薬ではカオリンの濁りを嫌い透明なエラジン酸を使用している。凝固反応の進む場所と条件として充分量のリン脂質とカルシウムを加えている。正常値は、試薬によって異なるが30~45秒程度に調整されている。

(4)ATIII

(AntithrombinIII; 抗トロンビンIII)

血漿中に約300μg/ml存在する抗凝固因子で、432のアミノ酸からなる、分子量約58,200の糖タンパク質である。肝臓で作られる。トロンビンや第Xa因子等のセリン酵素の活性中心にあるセリン残基とATIIIの393番目のアルギニン残基がアシル結合することで複合体を形成し、それらの持つ酵素活性(血液凝固作用)を抑制する血液凝固反応の重要な調節物質である。ATIIIは、ヘパリン又はヘパリン様物質の五糖類上の硫酸基と塩基性アミノ酸(Arg13, Lys125, Arg46, Arg47, Lys125, Arg129, Arg132)の所で結合してそれ単独の場合より約750倍もの抗トロンビン作用を現す(図2)。重篤な肝疾患のような産生低下時やDIC等凝固因子消費の亢進する疾患で低下する。また、先天的な欠損症や分子異常症では、若年からの血栓症の反復が報告されている。先天的な欠損症は約5,000人に一人の頻度でみられ、その遺伝子は第1染色体上にあり、常染色体優性の遺伝形式をとる。血栓傾向があり、治療には経口凝血薬のワーファリンの投与やATIII濃縮製剤が有用である。



ATIIIはヘパリンと複合体を形成することにより、高次構造が変化してトロンビンなどのセリン酵素と結合しやすい形になる。ATIII・ヘパリン複合体は、ATIIIのC末端近くでトロンビンと結合し、トロンビン・ATIII・ヘパリン複合体ができる。しかしATIIIはヘパリンよりもトロンビンとの親和性が大きい為、トロンビン・ATIII複合体(TAT)が血中に遊離する。単体となったヘパリン様物質は別の遊離型ATIIIと再び複合体を形成する。

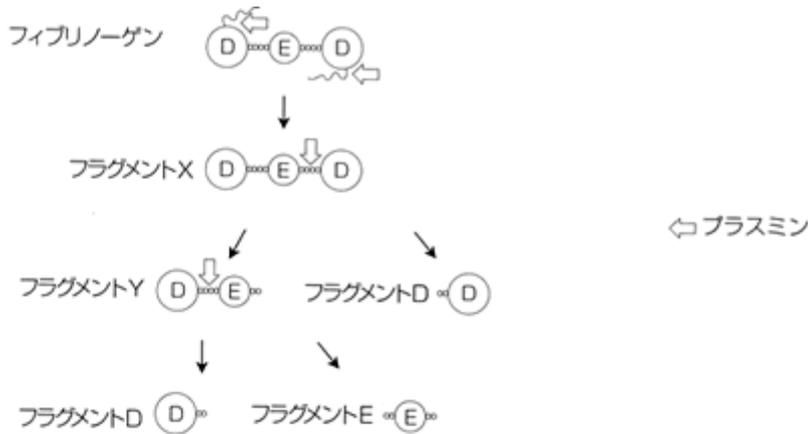
F

(1) FDP

(Fibrin or Fibrinogen degradation products) [フィブリン分解産物](#) のこと。

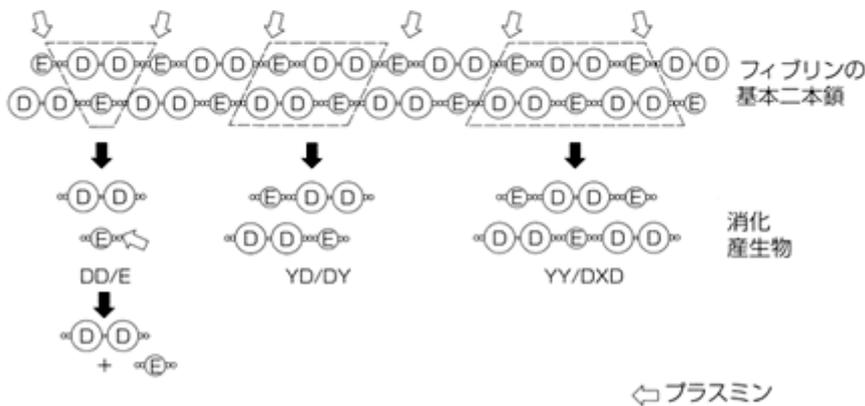
(Fibrin or Fibrinogen degradation products ; FDP)

FDPには、一次線溶でできるものと、二次線溶でできるものの 2 種類のものがある。一次線溶とは何らかの原因で線溶が亢進し、フィブリノーゲンを分解することでその分解産物が血中に出現する。これを模式(図 17)にする。二次線溶とは、血管内で凝固が進み血栓ができたためにこれを溶かすべく、線溶が亢進し、フィブリンの分解(FDP)血中に出現することで その様子を図にすると(図 18)のようになる。



一分子のフィブリノーゲンが分解されて、二つのD分画と一つのエ分画が産生される。

図 17 一次線溶



二次線溶で産生された FDP は、その中に D ダイマー構造を持つのが特徴である。

図 18 二次線溶

L

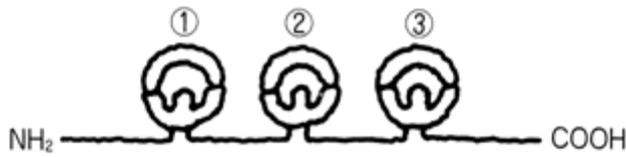
(1) LACI

(Lipoprotein-associated coagulation inhibitor : リポ蛋白質結合性プロテアーゼインヒビター) [TFPI](#)のこと。

(Tissue factor pathway inhibitor; LACI、リポ蛋白質結合性外因系血液凝固インヒビター)

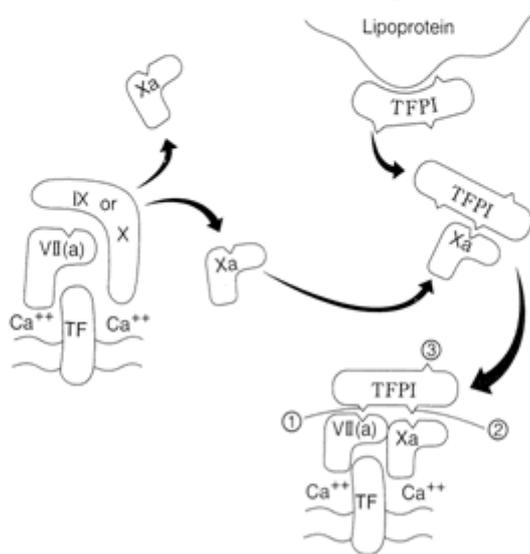
肝臓、内皮細胞、単球など多くの細胞で生成される。その遺伝子は第 2 染色体に存在している。血漿中では、大部分がVLDL、HDLなどのリポ蛋白質と結合した形で存在しているため、動脈硬化と血栓形成機構の新しい指標として注目されている。276 のアミノ酸残基からなり、3 つの Kunitz 型インヒビタードメインを持つ分子量約

42,000 の蛋白質である(図 4)。その作用は、典型的なトラジロール型、即ち、セリン酵素を阻害するインヒビターである。その抗凝固機序は、外因系凝固反応を抑制するのであるが、第 VIIa 因子が第 X 因子を活性化するのを直接阻害するのではなく、まず第 2 の Kunitz 型インヒビタードメインで第 Xa 因子と結合し、それを阻害すると共に、第 1 の Kunitz 型インヒビタードメインで組織因子/第 VIIa 因子複合体とも結合し、組織因子と第 VIIa 因子の複合体による第 X 因子や第 IX 因子の活性化を阻害することである。(図 5)。その凝固活性は、ヘパリンによって増強される。現在、動脈硬化症との関係が注目されている。健常者の血漿中には 100ng/ml 以下とされている。



- ①②③はKunitz型インヒビターとしての反応部位。
- ①は第VII a 因子と、②は第X a 因子と結合する領域である。
- ③の機能はよくわかっていない。

図 4 TFPI



TFPI の外因系凝固阻害機序は、①と第 VII a 因子が②と第 X a 因子が結合することで、組織因子に結合した第 VII a 因子と第 X a 因子の両者の活性を阻害する。

図 5 TFPI による外因系凝固阻害機序

P

(1) PIC

(Plasmin- $\alpha 2$ plasmininhibitor complex; プラスミン- $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体)

線溶現象の担い手であるプラスミンは、血液中には酵素前駆体のプラスミノゲンとして存在していて、一旦活性化されても、速やかに生理的インヒビター($\alpha 2$ プラスミンインヒビター)が結合して複合体を形成しその活性を阻

害される。この複合体がPICである。この複合体は網内系で処理されるが、その半減期は短くて約 6 時間の為、この複合体量を測定することで、身体内で起こっている近過去の線溶現象を推測できる。測定方法は、EIA法が使われているが、抗プラスミノゲン抗体と抗 $\alpha 2$ プラスミンインヒビターの2種類の抗体でPICを両側からサンドイッチする特異な測定法により測られる。

正常値 $0.8 \mu\text{g/ml}$ 以下新生児で高い。線溶亢進・DIC時に高くなる。

(2) PIVKA

(Protein induced by vitamin K absence; ビタミンK依存性凝固因子前駆物質)

ビタミンK依存性凝固因子には第 II 因子, 第 VII 因子, 第 IX 因子と第 X 因子がある。プロテインC・プロテインSは凝固阻害因子であるが、この二つもビタミンK依存性である。これらの因子は、肝臓で作られる際、凝固因子前駆物質のNH₂末端近くに存在する約 10 個のGlu(グルタミン酸)残基の γ 位の炭素が肝細胞ミクロゾームにあるカルボキシラーゼによってカルボキシル化され、Gla(γ カルボキシグルタミン酸)残基に変えられる。ビタミンK依存性凝固因子は、このGlaドメインでリン脂質膜面上のCaイオンと結合してリン脂質膜面上に集まり次々と凝固反応を促進していく。ビタミンKは、このカルボキシル化反応の補助因子であり、これが欠乏したり、薬物(クマリン系抗凝血薬など)で阻害されると、Gla残基に変わらなければならないアミノ基が、Glu残基のままの凝固因子前駆物質が血中に出現するために血液凝固反応(カスケード反応)が進んでいかない(図 3)。ビタミンKの摂取は、主に腸内細菌が作ったビタミンKに依っているため、これが欠乏することはまず無い。しかし、抗生物質の長期投与時等では、腸内細菌の死滅によりビタミンK欠乏になることがある。また母乳で哺育された新生児に起こることがあり、新生児出血性疾患の原因と考えられている。ビタミンK拮抗経口抗凝血薬(ワーファリン)投与による血栓症の予防・治療はこの性質を利用している。この時、過剰投与による出血防止・管理のために、血液の凝固活性を調べる。治療には、PT活性で15~40%位に、トロンボテストでは10%前後に維持される。

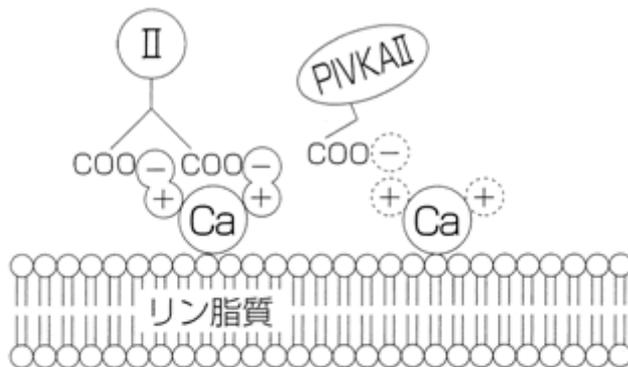


図 3

PIVKAはCa⁺⁺を介してリン脂質膜面に結合することができない為に、凝固因子が集まることができず、カスケード反応が進んでいかない。

(3) PT

(Prothrombin Time; プロトロンビン時間)

試薬の組織トロンボプラスチンとカルシウムを被検乏血小板クエン酸血漿に充分量加え、フィブリン析出までの時間を測定する。外因系凝固反応すなわち第 VII 因子, 第 X 因子, 第 V 因子, 第 II 因子とフィブリノーゲンの量と質に影響を受ける。正常値は約 12 秒前後に調整されている。PTは上記因子の欠損, DIC, 肝硬変, ワーファリン投与時などで延長する。経口抗凝血薬投与による抗血栓治療時には、PTが約 20 秒であれば、旨くコントロールできている。

S

(1) SLE型阻害物質

(Lupus anticoagulants; LA)

活性トロンボプラスチン複合体形成の阻害物質で、外因系、内因系の両系を阻害する。細胞膜に内在するフォスファチジルセリンやカルジオライピンなどのリン脂質に対する抗体である。SLEの患者以外にもこの抗体を持つ症例があり、その臨床症状は、血栓症、血小板減少、反復する流産である。測定法は、固相化したリン脂質に被検血清を加えELISAで検出する方法と、リン脂質濃度を低くしたAPTT試薬を用いて患者血漿にAPTTを実施し、正常血漿と比較して、その凝固阻害活性を測定する測定法がある。

T

(1) TAT

(Thrombin Anti-ThrombinIII Complex; トロンビンアンチトロンビン III 複合体)

血管内においてトロンビンが産生されても、その基質であるフィブリンや生理的抗凝固物質に結合し速やかに血中から消失する。したがって、血中のトロンビン量を知ることは困難であった。トロンビンとアンチトロンビン III が結合したトロンビンアンチトロンビン III 複合体(TAT)は 比較的短時間内に網内系で処理されるが、このTATの血中濃度上昇は、近時点の血管内でのトロンビン産生すなわち凝固亢進の指標となる。測定には、抗トロンビン抗体と抗ATIII 抗体の二種類の抗体でTATをサンドイッチするELISA法が使われる。正常値は、3.0ng/ml 以下。DIC、DIC準備状態、各種血栓症で増加する。

(2) TFPI

(Tissue factor pathway inhibitor; LACI、リポ蛋白質結合性外因系血液凝固インヒビター)

肝臓、内皮細胞、単球など多くの細胞で生成される。その遺伝子は第 2 染色体に存在している。血漿中では、大部分がVLDL、HDLなどのリポ蛋白質と結合した形で存在しているため、動脈硬化と血栓形成機構の新しい指標として注目されている。276 のアミノ酸残基からなり、3 つの Kunitz 型インヒビタードメインを持つ分子量約 42,000 の蛋白質である(図 4)。その作用は、典型的なトラジロール型、即ち、セリン酵素を阻害するインヒビターである。その抗凝固機序は、外因系凝固反応を抑制するのであるが、第 VIIa因子が第 X 因子を活性化するのを直接阻害するのではなく、まず第 2 の Kunitz 型インヒビタードメインで第 Xa因子と結合し、それを阻害すると共に、第 1 の Kunitz 型インヒビタードメインで組織因子/第 VIIa因子複合体とも結合し、組織因子と第 VIIa因子の複合体による 第 X 因子や第 IX 因子の活性化を阻害することである。(図 5)。その凝固活性は、ヘパリンによって増強される。現在、動脈硬化症との関係が注目されている。健常者の血漿中には 100ng/ml 以下とされている。

英数 その他

(1) α 1-抗トリプシン

(α 1-antitrypsin; α 1-AT)

分子量約 50,000 の糖蛋白で、主として肝細胞でつくられる。血清中正常値は 150~350mg/dl で、血小板表面にもある。セリンプロテアーゼのインヒビターであるが、特に第 IXa因子と第 Xa因子を抑制し抗凝固作用を現す。トロンビンの抑制作用は弱い。プラスミンやウロキナーゼにも抑制的に働く。この欠損症では、肺気腫が起こる。

(2) α 2-プラスミンインヒビター

(α 2-Plasmin inhibitor; α 2-PI)

α 2-グロブリンに属し肝臓で合成される一本鎖の糖蛋白質で、分子量は 67,000 である。 α 2-PIは、プラスミンと複合体を形成し、瞬間的にそのエステラーゼ活性を抑制する。 α 2-PIはC末端近くのプラスミンに親和性を示す部分でプラスミノーゲンと結合し、プラスミノーゲンがフィブリンに結合するのを阻害する。そして、その反応部位である Arg364-Met365 が プラスミンの活性中心のセリン残基 Ser740 と 共有結合して複合体を形成すること

でプラスミンの活性を阻害する。試験管の中では他のセリン酵素も抑制するが、生体中では抗プラスミン作用以外には カリクレインと第 XIa因子に対するインヒビターとして何らかの作用をしていると考えられている。血漿中濃度は約 $70 \mu\text{g/ml}$ であり、モル濃度ではプラスミノゲンの $1/2$ 程しかなく、 $\alpha 2\text{-PI}$ が消費されてしまった後の抗プラスミン作用は $\alpha 2\text{-MG}$ が司っていると思われる。測定法には、被検血漿に一定過剰量のプラスミンを加え、残ったプラスミン活性を特異合成基質を用いて比色測定して $\alpha 2\text{-PI}$ 活性量とする方法と、EIA法で抗原量を測定する方法がある。免疫学的測定法では、プラスミン $\alpha 2\text{-}$ プラスミンインヒビター複合体も $\alpha 2\text{-PI}$ として測り込む危険がある。肝障害で低下し、特にDICでは著明な消費性の低下を示す。また出血傾向を示す先天性な欠損症、分子異常症も報告されている。

(3) $\alpha 2$ -マクログロブリン

($\alpha 2\text{-Macroglobulin}$; $\alpha 2\text{-MG}$)

$\alpha 2\text{-MG}$ は 1,451 のアミノ酸残基からなる分子量約 180,000 の相同なサブユニット 4 個で構成されている、分子量 726,000 の大きな糖蛋白質で、肝臓で産生される。セリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼなど生体のほとんど全てのプロテアーゼを阻害する。凝固因子のトロンビン、第 Xa因子、tPAなどとの反応はかなり緩やかである。 $\alpha 2\text{-MG}$ はトロンビンやプラスミンと 1:1 又は 1:2 の複合体を形成して、それらを包み込むようにして活性を阻害する。血中の抗トロンビン作用の約 $1/4$ を担っていると言われ、ATIIIに次ぐ抗凝固因子である。 $\alpha 1\text{-AT}$ と同じく急性相反応蛋白で全身性ストレス状態で血中濃度は著しく高まる。血漿中には $1\sim 3\text{mg/ml}$ 存在し、播種性血管内凝固症候群(DIC)や重症肝疾患、線溶亢進等、産生低下や消費の亢進する疾患時で低下し、妊娠、ネフローゼや経口避妊薬服用時には高値を示す。

(4) β -トロンボグロブリン

($\beta\text{-Thromboglobulin}$; $\beta\text{-TG}$)

血小板の α 顆粒に存在する分子量 35,000 の血小板固有の蛋白質であるが、その生理的な意義は、判っていない。しかし、血小板の活性化による α 顆粒の放出反応で初めて血中に出現するために、血小板活性化による放出反応の指標として、この蛋白質の血中濃度が測定される。測定方法は、EIA法が使われている。血漿中には、 $10\sim 40\text{ng/ml}$ 存在する。DICや脳血栓症急性期、心筋梗塞、SLE、糖尿病等で高くなる。 $\beta\text{-TG}$ の血小板 α 顆粒からの放出反応は、軽度の刺激で起こるため、ダブルシリンジを使用する等、採血には細心の注意を払わなければならない。

あ

(1) アラキドン酸

(Arachidonic acid); $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$ MW304. 46

必須脂肪酸の一種。血小板膜からホスホリパーゼA2 によって切り出されたアラキドン酸は、シクロオキシゲナーゼによって、プロスタグランジンに合成される。このプロスタグランジンはトロンボキサン合成酵素により最終的にトロンボキサンB2(TXB2) になり、血小板を凝集させるとともに、血管を収縮させ止血を助ける。一方、血管内皮細胞の細胞膜からホスホリパーゼA2によって切り出されたアラキドン酸は、シクロオキシゲナーゼによって、プロスタグランジンに合成される。このプロスタグランジンはプロスタサイクリン合成酵素により最終的にプロスタサイクリン(PGI₂)になり、血小板の血管壁への粘着を妨げる。またアラキドン酸は、ロイコトリエンの前駆物質でもある。

アラキドン酸



(2) アルガトロバン

(Argatoroban)

分子量 527 の合成抗トロンビンの一種で、アンチトロンビン III やヘパリンコファクターII とは無関係にトロンビンを阻害する。静脈内注射で用いられる。動物実験では、 $1 \mu\text{M}$ 以下の濃度でも、血栓症を予防する。

(3) インテグリンファミリー

(Integrin Family)

インテグリンは、 α 鎖と β 鎖 2 つの蛋白質が非共有結合性の複合体を形成しており、かつ細胞接着機能を持つ蛋白質の総称である。それらは、細胞膜に存在しその殆どは細胞外に出ており、短い細胞質部で細胞骨格に結合している。それらの基本的な構造の模式図を示す(図 6)。フィブロネクチン、ビトロネクチン、コラーゲンなどの細胞外基質蛋白質が持つ接着部位の基本構造であるRGD(Arg-Gly-Asp)配列に対するレセプター群のことで、その数は多い。カルシウムイオンなど 2 価金属イオンに依存性である。血小板膜にある糖蛋白質(glycoprotein: GP)の GPIa/IIa複合体(コラーゲン受容体)やGPIIb/IIIa(フィブリノーゲン、フィブロネクチン、von Willebrand 因子、ビトロネクチン受容体)などがそれである。このGPIIb/IIIaは、 $\alpha\text{IIb}\beta 3$ とも表される。インテグリンファミリーは、細胞接着することで細胞の移動、増殖、分化また血液凝固、炎症反応、免疫機能など多くの重要な機能に関係している。

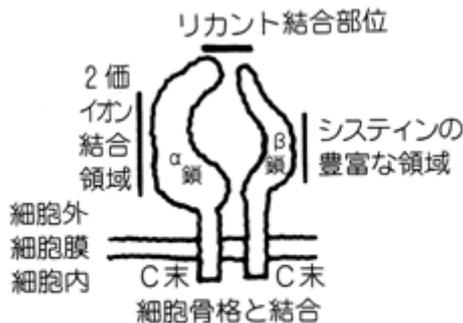
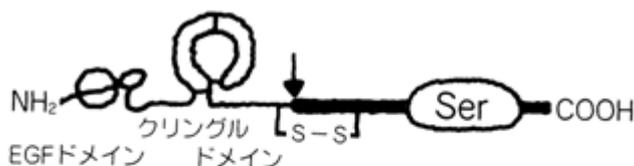


図6 インテグリンファミリーの構造

(4) ウロキナーゼ

(Urokinase; UK; Urokinase type plasminogen activator; u-PA)

腎細胞で産生され、尿及び血中に存在するプロテアーゼで、プラスミノーゲンを限定分解し活性化してプラスミンにする。尿から精製されるUKはLys158-Ile159で開裂した二本鎖で分子量 54,000 の高分子のもの(図 7)と比活性が約 $1/4$ の低分子(分子量 33,000)のものがあるが、低分子UKは高分子UKがプラスミンやカリクレインによりLys134-Lys135の所を切断され、N末端から 143 残基が切り離された分解産物である。プラスミノーゲン測定試薬に添付されているのは、高分子のタイプである。血栓症の溶解治療薬としても使われている。最近では、この酵素の持つ細胞の分化、遊走、ホルモンの産生など多くの機能が判ってきつつある。



プラスミン等によってLys₁₃₄-Lys₁₃₅を限定分解され二本鎖になり、活性を現わす。

図7 ウロキナーゼUK

(1) 活性化部分トロンボプラスチン時間

(Activated partial thromboplastin time) [APTT](#)のこと。

(Activated Partial Thromboplastin Time; 活性化部分トロンボプラスチン時間)

クエン酸血漿中にセファリン(リン脂質)と活性化剤を添加し、陰性荷電膜面による第 XII 因子の接触活性化からフィブリンの析出までの内因系凝固反応を測定する。同じ内因系凝固反応を反映する検査のカルシウム再加試験やPTTよりも再現性に優れている。検体には、抗凝固剤として血液の1/9量の 3.2%クエン酸ナトリウムを加えた乏血小板血漿を用いる。接触活性化にはカオリンやセライトを用いるが、フィブリン析出による濁度の上昇を反応の終点としている自動測定装置用の試薬ではカオリンの濁りを嫌い透明なエラジン酸を使用している。凝固反応の進む場所と条件として充分量のリン脂質とカルシウムを加えている。正常値は、試薬によって異なるが30~45秒程度に調整されている。

(2) 可溶性フィブリンモノマー複合体

(Soluble fibrin monomer complex; SFMC)

フィブリンモノマーは、フィブリノーゲン、フィブリン分解産物の初期産物X、Y分画や、フィブロネクチンと複合体を形成する。これらの複合体をSFMCと呼ぶ。このSFMCの存在は、血中でトロンビンが産生されたことを意味するため、血栓症、特に播種性血管内凝固症候群(DIC)のスクリーニング検査としてSFMCの測定が用いられている。SFMCの検出には傍凝固検査(エタノールゲル化試験、硫酸プロタミン試験)が行われて来たが、感度が低く、最近ではフィブリンモノマーで感作したヒト赤血球[O型, Rh(-)]に被検血漿を加えて感作赤血球の凝集反応でSFMCを検出する FMテストが用いられる。この方法だと血漿中のSFMCの濃度が $20 \mu\text{g/ml}$ で陽性を示す。

(3) カルシウム イオン

(Calcium ion; Ca^{2+} ; 凝固第 IV 因子)

凝固反応に不可欠な補助因子であり、凝固因子中唯一の無機物質である。血漿中には、 2mM 存在する。また、血小板活性化や凝集時には、血小板細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度がセカンドメッセンジャーとして重要な役割を果たしている。血小板には、正常静止時で $2\sim 4 \mu\text{M}$ 存在している。血小板濃染顆粒が電子顕微鏡写真で黒く写るのは、 Ca^{2+} の存在による。

(4) カルシウム再加時間

(Plasma recalcification time)

クエン酸で脱カルシウムをして得た血漿に充分量のカルシウムを再び加えてフィブリンの析出までの時間を測定するもので、内因系の凝固因子ばかりでなく、内因系凝固が進んで行く場であるリン脂質(Platelet factor-3, Pf-3)の提供者である血小板の数や機能も影響する。検体は、血小板富裕血漿 (Platelet Rich Plasma, PRP) と血小板乏血漿 (Platelet Poor Plasma, PPP)を用い、本来PRPの方がPPPの凝固時間よりも短い、PRPとPPPの凝固時間に差がないときは血小板の異常を疑う。

(5) 吸着血漿

(BaSO_4 -absorbed normal plasma; $\text{Al}(\text{OH})_3$ -absorbed normal plasma)

Glaドメインを持つビタミンK依存性の凝固蛋白質群(第II因子、第VII因子、第IX因子、第X因子、プロテインC、プロテインS)は、硫酸バリウム(BaSO_4)や水酸化アルミニウム($\text{Al}(\text{OH})_3$)に、そのGlaドメインで結合する。正常血漿(シュウ酸塩で抗凝固したもの)に BaSO_4 や $\text{Al}(\text{OH})_3$ を加えた後、それらを除去すると、VK依存性の凝固蛋白質群も吸着除去される。この吸着除去された血漿のことを吸着血漿という。PTやAPTTで凝固時間の延長を見た検体中に欠乏している血液凝固因子を推定する為に行う拡張試験に用いる。

吸着血漿に存在する凝固因子、フィブリノーゲン、第V因子、第VIII因子、第XI因子、第XII因子、第XIII因子

(6) クマリン系抗凝血薬

(Dicumarol; 経口抗凝血薬)

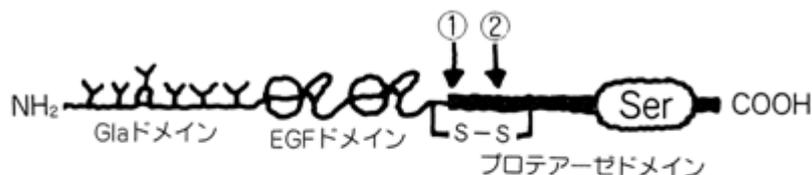
ビタミンK依存性の凝固因子前駆体は、肝細胞の中でγグルタミルカルボキシラーゼの作用を受け、リン脂質上のCa²⁺イオンとの結合能を持つ凝固因子になる。クマリン系抗凝血薬は、このγグルタミルカルボキシラーゼの作用を抑制する。このために、クマリン系抗凝血薬を使用すると、ビタミンK依存性の凝固因子前駆体は、N末端にある約10個のGlu残基がGla残基に変わることができず、生理的な条件では凝固因子としての能力の無いPIVKA(Protein Induced Vitamin K Absence)が産生される。そこでこの薬は、抗凝固療法・血栓症の予防に用いられる。

(7)クリスマス因子

(Christmas factor) [血液凝固第IX因子](#)のこと。

(Factor IX; Christmas factor)

第IX因子は、X染色体に存在していて伴性劣性遺伝をする。即ち、この因子が欠損もしくは分子異常が起こると、男子では出血傾向を示す血友病Bとなり、女子の場合は保因者となる。女子が発病することは非常に稀である。第IX因子は415個のアミノ酸から成る分子量約57,000の一本鎖の糖蛋白質で肝臓で産生される。第IX因子はプロトロンビン等と同じく、ビタミンK依存性の凝固因子でNH₂末端に12のγ-カルボキシグルタミン酸残基を持っており(図9)、このGlaドメインでリン脂質膜面上のCa²⁺と結合する。又、第IX因子はGlaドメイン以外にもCa²⁺部位があり、それは第1、EGFDドメインにある。第2のEGFDドメインにアミノ酸の変異がある血友病Bが報告されており、このドメインは第VIII因子、第V因子との作用部位ではあろうと考えられている。第IX因子は第XIa因子により Arg145-Ala146とArg180-Val181を限定分解されて二本鎖の第IXa因子となり、Ca²⁺存在下、リン脂質膜面上で第VIIIa因子の助けをかり、第X因子を活性化する。この反応は通常の内因系の凝固反応であるが、第IX因子は、第VIIa因子+組織因子+リン脂質+Ca²⁺の複合体によっても活性化されて、第IXa因子となる。しかし、第IX因子活性の低下した血漿はAPTTで延長するのみで、PTは延長しない。この第IXa因子は活性部位が典型的なトリプシン様のセリンプロテアーゼである。第IX因子の先天的な欠損症、又は分子異常症が血友病Bである。第IX因子の測定は、第IX因子欠乏血漿を用いて第IXa因子の凝固活性を測定するか、免疫学的手法を用いた抗原量の測定、分子異常症には遺伝子解析が用いられる。後天的には、重篤な肝疾患、経口抗凝血薬投与中時に低下する。第IX因子は血漿中に3~5μg/ml存在している。活性としての正常値は70~130%である。



第IX因子は、第XI a因子によって① Ala₁₄₅-② Arg₁₈₀の所が切り取られて、二本鎖のIX a βになる。

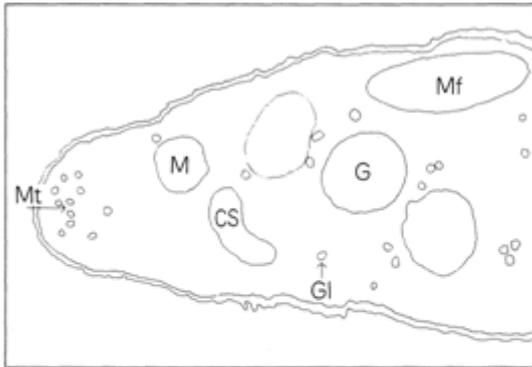
図9 第IX因子

(8)血小板

(Platelet; Thrombocyte; 栓球)

骨髓巨核球が成熟すると、その細胞質は形質膜が細胞内部に陥入してできる血小板分離膜によって数多くの小部屋に区切られる。この一つ一つが血小板になる。したがって核は持たない。一つの巨核球から約2,000コの血小板が生まれる。血小板は2~4μmで基石に似た形をした小さな細胞で血液中に16万~35万/μl存在する。この血小板は何らかの刺激(トロンビン, コラーゲンなど)を細胞膜面上の受容体が受けると、偽足を出しつつ血小板は球形に変化する。変形した血小板は膜面から出ているGPIIb/IIIaでフィブリノーゲンと結合し、そのフィブ

リノーゲンを架橋として、互いに接着しあう。この間に凝固蛋白質(フィブリノーゲン, フィブロネクチン, vWF, 第 V 因子など)を多く含む α 顆粒、さらなる凝集放出反応を促す物質(セロトニン, ADP, ATP, カルシウムなど)を含む濃染顆粒の中心化が起こり、アクチオニンによる細胞の収縮などにより顆粒の放出が起こる。開放小管系を通り放出されたセロトニンは血管を収縮し、ADPはさらなる血小板凝集を促す。一方、血小板膜のリン脂質からホスホリパーゼA2により、アラキドン酸が遊離され、アラキドン酸代謝系(プロスタグランジン合成系)によって、トロンボキサンA2(TXA2)が産生される。TXA2も強い血小板凝集作用を持っており、更に血管収縮作用もあり、止血における忘れられない重要な因子である。また、血小板が核となって血液の凝固因子が次々に活性化され、フィブリン糸を析出させる。これが更に血栓を強固なものに仕上げ、血管の傷を防ぎ出血を止める。この様に血小板は止血時の主人公である。



CM : 細胞膜 CS : 開放小管系
 Mt : 微小管 Mf : 細線粒 G : α 顆粒
 Gl : グリコーゲン M : ミトコンドリア

(9) 血小板第3因子

(Platelet factor3; PF-3)

第 X 因子の活性化は、リン脂質上で第 IXa 因子, 第 VIIIa 因子, Ca イオンが複合体を形成することで行われる。プロトロンビンをトロンビンに活性化する プロトロンビナーゼ複合体も第 Xa 因子, 第 Va 因子, Ca イオンがリン脂質上で集合することで構成される。この時のリン脂質膜面を提供するのが 血小板膜にあるリン脂質で PF-3 と呼ばれる。

(10) 血小板第4因子

(Platelet factor4; PF-4)

血小板第 4 因子 (PF-4) は、分子量 7,800 のサブユニットの 4 量体からなる、分子量 29,000 の蛋白質である。骨髓巨核球で作られていると考えられている。PF-4 はグリコサミノグリカンと複合体を作ることができ、特にヘパリンに対して高い特異性を持っている。その生理的意義は血管の透過性の調節、Ca の骨髓からの移動、および血小板活性化の調整などが考えられる。この蛋白質は身体の中で血小板にしか存在しない血小板の特異蛋白質であり、血漿中の蛋白質が増加するということは、血小板の活性化が起こっていることを意味する。この測定には、RIA法やEIA法が使われ、その基準値は $14 \pm 6 \text{ ng/ml}$ である。

(11) 血清プロトロンビン時間

(Serum prothrombin time; Prothrombin consumption test; プロトロンビン消費試験)

本来、血清中のプロトロンビンは正常血漿の 25% 以下になるが、血友病など内因系の凝固因子が欠損又は減少していると、血清になってもプロトロンビンが多く残存していることがある。測定法は、被検血清にフィブリノーゲン・第 V 因子として吸着血漿を加えたものに、組織トランボプラスチンと Ca を加えて、プロトロンビン時間を測定する。測定時間から残存していたプロトロンビンの量を推定する。測定値が短縮している方が内因系凝固に異常があり、血友病では 10 秒以下のこともある。

(12) 血友病A

(HemophiliaA; FactorVIII deficiency) 先天的第 VIII 因子欠乏症のこと。 [第 VIII 因子](#)の項を参照。

(Antihemophilic factor; 抗血友病因子; Factor VIII:C)

第 VIII 因子の分子量は、SDS ゲル電気泳動では約 280,000、cDNAによると 2,332 のアミノ酸から構成される一本鎖の糖タンパク質であり、その分子量は 264,763 である。血液中では、von Willebrand factor と非共有結合で複合体を形成しており、血漿中には、100~200ng/ml 存在している。その生体内における半減期は、9~18 時間である。ペルオキシダーゼ染色を使った免疫学的方法により検出される第 VIII 因子抗原の組織内局在は、リンパ節、肺、肝臓、脾臓と血小板に存在しているが、これらの所で作られているのか貯蔵されているだけなのかはよく判っていない。内因系の凝固過程で第 Xa因子やトロンビンにより限定分解をうけて作用力の強い第 VIIIa 因子となり、Ca イオン・リン脂質と共に第 IXa因子が第 X 因子を活性化するのを補助する。第 IXa因子による第 X 因子の活性化は、これらの補助因子や第 VIIIa因子がこの反応に加わることで 5,000 倍にも増加する。しかし、第 VIIIa因子それ自身には蛋白質の分解能はない。第 VIII 因子は、もう一つの補助因子である第 V 因子と構造がよく似ているが、この二つの補助因子は進化の途中で分かれたのであろうと考えられている。このタンパク質の欠損症は、血友病A(古典的血友病)と呼ばれ、約1万人の男性に1人の割合で出現し血友病の中での出現率は最も高い(血友病患者の約 70%)。血友病は、その活性量の多少により重症 (<0.01U/ml)、中等症(0.01~0.05 U/ml)、軽症(>0.05U/ml)の三群に分けられる。症状は、皮下や筋肉内血腫、及び関節腔内出血とそれによる関節の硬直であり、出血斑が見られる事は稀である。抜歯の際に大出血をする事がある。また第 VIII 因子遺伝子は、X染色体長腕末端(Xq28)に存在しており、伴性劣性の遺伝形式をとる為、多くは保因者である母親を介して男子に発症する。検査成績は、出血時間正常・APTT延長・PT正常を示す。確認には、第 VIII 因子欠乏血漿を基質とした拡張APTTまたは VIII:C抗原の定量を行う。分子異常の解析のために、遺伝子による診断が行われている。治療には、ヒト血漿由来の濃縮第 VIII 因子製剤の補充療法が行われているが、反復する補充療法により第 VIII 因子に対する抗体ができてくることもあり、このような場合、以後の治療が難しくなる。近ごろ、遺伝子操作により作られたリコンビナント第 VIII 因子製剤の使用も許可されるようになった。

(13)血友病B

(HemophiliaB; FactorIX deficiency)

血友病Bは伴性劣性の遺伝形式で第 IX 因子凝固活性の減少する疾患であり、その臨床症状は血友病Aと同じく反復する深部出血、すなわち関節・筋肉や消化管出血を特徴とする。その症状は、第 IXa因子凝固活性とほぼ平行する。その凝固活性量(第 IX 因子:Ag)により重症(<1%)、中等度(1~5%)、軽症(5%~60%)に分けられる。出現頻度は血友病Aの約 1/5 で男子 10 万人に約 1.5 人である。女子は男子の 1%もない。又、第 IX 因子活性 (FIX:C)、第 IX 因子抗原 (FIX:Ag) 共に欠損又は欠乏している型(B-)と、第 IX 因子活性は持たないが、抗原性は中等度持つもの(B+)があることがわかった。このタイプでは正常な第 IX 因子からのアミノ酸置換がみられるがその置換されるアミノ酸残基は数多くの報告がある。血友病Bの患者血漿は、PT正常、APTTの延長を示し、第 IX 因子欠乏血漿に患者血漿を加えてのAPTTを短縮させない。現在ではその診断に 遺伝子工学的手法のサザンブロット法を用いて第 IX 因子遺伝子の有無を検出している。

(14)血友病BM

(Hemophilia BM)

ウサギや人の脳のトロンボプラスチンを用いたプロトロンビン時間(PT)は正常を示すが、牛の脳トロンボプラスチンを用いたPTが延長を示す。

(15)抗第 VIII 因子抗体

(FactorVIII inhibitors)

第 VIII 因子欠損症の治療には、血漿製剤による補充療法が行われてきたが、この治療を受けた患者の約 15%に第 VIII 因子に対する抗体(同種抗体)が生じる。この抗体はほとんど IgGであり、第 VIII 因子抗原を中和するが沈降反応は示さない。抗体が生じると以後の補充効果が減少するために、治療が困難になる。このインヒビターは、

補充治療を受けた血友病患者以外でも自己免疫疾患患者や、特に疾病を持たない高齢者に産生されることがある。これらの場合でも第 VIII 因子活性が低下し出血傾向が現れる。インヒビターの発生したものは治療開始後数年で出現するようである。インヒビター値の測定にはベセスタ (Bethesda) 法が用いられる。正常血漿に pH7.4, 0.05M イミダゾール緩衝液 (含 0.1M NaCl) で希釈した患者血漿を加え、37°C で 2 時間放置、この間に正常血漿中の第 VIII 因子活性を第 VIII 因子欠乏血漿を基質に用いた APTT で測定する。被検血漿の代わりに、緩衝液をもちいた系の測定値を対照値として残存活性比を求める。この方法で正常血漿 1ml 中の第 VIII 因子活性を 50% 不活化するインヒビター量が 1 ベセスタ単位/ml である。

(16) 高分子キニノーゲン

(High molecular weight kininogen; フィッツジェラルド因子)

キニン前駆体である血漿中キニノーゲンには、高分子と低分子の二種のキニノーゲンがあるが、接触活性の促進能のあるのは高分子キニノーゲンであり、その分子量は約 120,000 である。高分子キニノーゲンは 626 個のアミノ酸からなる一本鎖の糖蛋白質であり血中には約 70 μ g/ml 存在する。血漿中ではプレカリクレインが第 XI 因子との複合体の形で存在する。第 XI 因子とプレカリクレインは高分子キニノーゲンを介して陰性荷電膜面に結合して第 XIIa 因子によって活性化される。高分子キニノーゲンはこうして接触活性化を促進する補助因子である。高分子キニノーゲンはカリクレインより限定分解をうけて、血管透過性亢進、痛みを現すブラジキニンを放出する。高分子キニノーゲンの測定は、抗原抗体反応によるか、又は被検血漿からキニンを遊離させ、このキニンの生理活性であるラットの子宮等の平滑筋収縮作用を測定する方法がある。血中の高分子キニノーゲン量は、約 80 μ g/ml である。

さ

(1) 蛇毒

(Snake venoms)

蛇の中には、強力な毒を持つものが多くいることが知られているが、その毒には多くのタイプがある。代表とも云えるコブラ蛇の毒は神経毒で、中枢神経に作用し呼吸を麻痺させる。クサリ蛇の仲間では第 X 因子を活性化することは良く知られており、第 X 因子の活性化の試薬として使われている。ハブやマムシ毒は、赤血球を血管外へ漏出させる。マムシの亜科の Bothrops やヒメハブからは血小板凝集能をもつ毒が、ハブからは血小板凝集抑制を示す毒が精製されている。

(2) 出血時間

(Bleeding time)

出血時間は、血小板の減少・機能不全や血管異常及びフォンウイルブランド病を疑う時のスクリーニング試験として行う。耳垂 (Duke 法) や前腕 (Ivy 法) の皮膚を穿刺して、わき出す血液を 30 秒ごとに濾紙で吸い取り、出血しなくなるまでの時間を測定する。5 分以内で止血すれば正常である。

(3) ストレプトキナーゼ

(Streptokinase; SK)

A, C, D 群の連鎖球菌の分泌する分子量約 45,000~50,000 の菌体外毒素の一つで、ヒトの血液中にはプラスミノゲンプロアクチベーターを活性化してプラスミノゲンプロアクチベーターにする。これによりプラスミノゲンはプラスミンとなりフィブリンやフィブリノーゲンを溶解する。SK それ自身にプラスミノゲンをプラスミンにする作用はない。血漿中のプラスミノゲン量の測定には、プラスミノゲンをプラスミンに変えて、その活性をプラスミノゲン量にしているが、この時の活性化物質に SK や UK が使われる。

(4) セリン酵素

(Serine proteinase; セリンプロテアーゼ)

酵素活性をもつ活性部位のアミノ酸配列の中で、活性中心にセリンがある酵素であり、その作用は、ポリペプチド

中のペプチド結合を切断して、新たに2つの小さなペプチドを作り出すことである。トロンビン、第 VIIa 因子、第 IX a 因子、第 Xa 因子、第 XIa 因子、第 XIIa 因子、カリクレイン、など第 Va 因子、第 VIIIa 因子と第 XIIIa 因子以外の活性型凝固因子は、全てこれに含まれる。また、線溶因子のプラスミンもセリン酵素である。

(5) セルピン蛋白質

(Serpins; Serin proteinase inhibitor proteins)

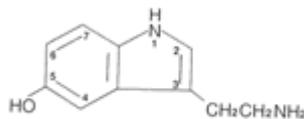
セルピン蛋白質は ATIII に代表されるセリン酵素インヒビターの一群であり、いずれも分子量 45,000~75,000 の一本鎖の蛋白質である。各セルピン蛋白質には、C 末端近くに共通した反応部位があり、この部位でセリン酵素と結合して、その活性を阻害する。セルピン蛋白質に属するインヒビターには ATIII, ペパリンコファクター II, PCI, α 1AT, α 1ACT, C1INH, α 2PI, PAI-1, PAI-2 があり、そのいずれも重要な凝固抑制物質である。又、インヒビター活性を示さないが構造の相同性が高い蛋白群(セルピンスーパーファミリー蛋白質)がある。サイロキシン結合グロブリン(TBG), アンジオテンシンノーゲン(ANG10), 卵白アルブミン(OVALB), 大麦由来のプロテインZなどは、一次構造で高い相同性(20%~45%)がみられるがセリンプロテアーゼにみられる様な二次構造上の特徴的形態をとるドメイン構造はみられず、それぞれのセルピン蛋白質の反応部位周辺のアミノ酸配列の構造上の相同性も低い。

(6) セロトニン

(Serotonin; 5-hydroxytryptamine; 5-HT) C₁₀H₁₂N₂O MW176.21

血小板の濃染顆粒に存在しており、血小板の活性化により血小板の外に放出されて、さらなる血小板凝集を促すだけでなく、血管を収縮させて出血を抑制させると言う重要な使命を持っている。そのほか、肺静脈を収縮させることで換気血流比を改善してガス交換の効率を高めるように働く低酸素性肺血管収縮への関与や肺血栓塞栓症への増悪因子などと考えられている。

セロトニン



(7) 組織因子

(Tissue Factor; 組織トロンボプラスチン; 第 III 因子)

細胞や組織由来の凝固因子である組織因子は、263 残基からなる分子量 46,000 の糖蛋白質で、膜内在性であり細胞膜のリン脂質二重層に錨を下ろした形で存在する。その遺伝子は、第 1 染色体に存在する。細胞の外に出ている部分は 219 残基で、ここに第 VII 因子との結合部位がある。組織因子はそれ自身プロテアーゼ活性を持たないが、外因系凝固のスタート因子であり、Ca イオン依存性に第 VIIa 因子/組織因子複合体の形で第 X 因子・第 IX 因子を活性化する。通常、血管内皮細胞は組織因子を発現しておらず、血管外膜の繊維芽細胞には多くの組織因子が存在している。即ち、血液は組織因子から隔離されていて、血管内皮細胞が損傷を受け血液が繊維芽細胞に触れることで初めて第 VIIa 因子/組織因子複合体を形成して外因系の血液凝固がスタートする、という説明ができる。血管内皮細胞や単球・マクロファージはエンドトキシン、IL-1, TNF などの刺激によって細胞膜に組織因子を発現する。また、癌細胞や白血病細胞の一部にも組織因子を発現しているものもある。血漿中の組織因子抗原量は約 150pg/ml と微量であるため、測定法には高感度 ELISA が用いられる。播種性血管内凝固症候群(DIC)や血管炎時に上昇することが判っている。

(8) 組織トロンボプラスチン

(Tissue thromboplastin; Tissue factor; 第 III 因子)

組織因子のこと。リポ蛋白質であり、血液凝固外因系のスタート因子である。プロトロンビン時間測定を試薬として、動物の脳や肺から抽出した組織トロンボプラスチンが用いられている。

た

(1)胎盤由来抗凝固蛋白質

(PAP-I, Annexin V;カルホバインディン-I)

PAP-Iは、ヒト胎盤から分離精製された抗血液凝固作用を持つ蛋白質なので、placental anticoagulant protein(PAP)と名づけられた。PAP-Iの分子量は約36,000で319個のアミノ酸からできており、アネキシン族に属する蛋白質である。その凝固作用は、正常血漿に添加すると、PAP-Iの濃度依存性に、その血漿のPT、APTT時間を延長させる。第Xa因子による富血小板血漿の凝固を阻害する。第Xa因子-第Va因子-リン脂質-Ca²⁺複合体によるプロトロンビンの活性化反応を阻害するが、この系からリン脂質を除くと阻害は起こらない。トロンビンによるフィブリノーゲン→フィブリンへの変換反応には影響を与えない。Ca²⁺存在下におけるホスファチジルコリン80%とホスファチジルセリン20%から成る合成リン脂質小胞との結合力は、第Xa因子のその結合力より約100倍強い。すなわちPAP-Iは、Ca²⁺存在下、リン脂質にすばやく結合し、血液凝固因子がリン脂質膜面に結合するのを防ぎ、競合的に凝固反応を阻害すると考えられる。その抗凝固能力は、100μlの正常血漿に0.1μgのPAP-Iを加えただけで、そのAPTT時間を600秒以上に延長させる強いものである。ELISAで測定した血漿中のPAP-I抗原量は、健常人男性で3.6±0.6ng/ml、健常人女性で4.6±1.4ng/mlである。妊婦では5.4±3.5ng/mlと健常人よりも高い。この蛋白質は胎盤のみならず、肝臓・腎臓・大腸・血管内皮細胞・赤血球・白血球・血小板といろいろな臓器細胞に存在している。胎盤における細胞内局在は母体血に面した栄養芽層合胞体細胞表層部、およびその微絨毛に存在している。このことは、PAP-Iは、合胞体細胞が損傷すると遊出して、他の凝固抑制物質とともに胎盤内での血液凝固を抑制し、母体血の流動性を保持していると考えられる。他の作用には、ホスホリパーゼA2活性阻害による抗炎症作用、分泌機構や神経細胞における情報伝達へのかかわりが考えられているが、生体内における作用は、まだよくわかっていない。

(2)第I因子

(FactorI) フィブリノーゲンのこと。

(Fibrinogen; 第I因子;線維素元)

フィブリノーゲンは、分子量約340,000で、肝臓で産生され、その遺伝子は第4染色体上にある。血漿中に200~400mg/dl存在する。Aα, Bβ, γの3本のポリペプチド鎖がS-S結合で繋がれた二量体で、トロンビン、プラスミンの基質蛋白質である。その模式構造(図15)およびフィブリノーゲンがトロンビンにより重合する様子を図にする(図16)。血漿中の濃度は、免疫学的に抗原量を求める方法と、トロンビン法による凝固時間を用い、その時間からフィブリノーゲン量を求める測定が行われている。この二法間の値に乖離があり免疫学的抗原量の方が高い場合、フィブリノーゲンの分子異常を疑う。フィブリノーゲンは感染症、悪性腫瘍、脳・心筋梗塞発作後、妊娠時等に高値を示し、重度の肝疾患による産生障害、DIC、血栓症、線溶亢進時に減少する。また、フィブリノーゲンに第VIII因子を加えた製剤が外科手術時の生理的組織接着剤として使われている。

(3)第V因子

(FactorV)

第V因子は、分子量約330,000の一本鎖の糖蛋白質である。その遺伝子は第1染色体にあり、肝細胞や骨髄巨核球、内皮細胞などで産生される。第V因子は同じ補助因子であるVIII因子と構造も機能もよく似ている。第V因子は第Xa因子やトロンビンによって限定分解を受け、活性化されて二本鎖の第Va因子になる。第Va因子は、Ca²⁺を介してリン脂質膜面に結合し、同じくリン脂質膜面上のプロトロンビンと第Xa因子に結合し、プロトロンビンを活性化してトロンビンにする第Xa因子の酵素活性を促進させる。その作用は、第Xa因子活性を約3000倍にも増強する。第Va因子は、凝固抑制因子である活性化プロテインCによって2ヶ所を限定分解されその活性を阻害される。第V因子の先天性欠乏症は、パラ血友病と呼ばれ穏やかな出血症状が続く。症状が出るのはホモ接合体の場合で、その出現は100万人に1人よりも稀であろう。第VIII因子との合併欠損症もある。第V因

子の測定は、第Ⅴ因子欠乏血漿を用いて第Ⅴa因子の凝固活性を測定するか、EIA法による抗原量の測定がある。血漿中の抗原量は約 $10 \mu\text{g/ml}$ で活性の正常値は 75~130%である。肝障害やDIC時にも低下する。

(4) 第Ⅶ因子

(FactorⅦ; Stable clotting factor)

第Ⅶ因子は、406個のアミノ酸から成る分子量約 50,000の一本鎖糖蛋白質でセリン酵素前駆体である。肝臓でビタミンK依存性に産生され、その遺伝子は第13染色体にある。その構造は、他のビタミンK依存性の凝固因子である第Ⅸ因子や第Ⅹ因子とよく似ている。NH₂末端に続くGlaドメインには10個のGla残基があり、Ca²⁺を介してリン脂質膜面へ結合している。第Ⅶ因子はArg152-Ile153の所を限定分解されて二本鎖の活性型第Ⅶa因子になる(図8)。この限定分解を行う酵素は主として第Ⅹa因子であり、その他第Ⅸa因子、 α -トロンビン、第Ⅻa因子、第Ⅶa因子がある。第Ⅶ因子は組織因子と複合体を形成することで、第Ⅶ因子の活性化を促進され、又第Ⅶa因子と組織因子の複合体では第Ⅶa因子のプロテアーゼ活性を亢進する。第Ⅶa因子と組織因子の複合体は第Ⅸ因子と第Ⅹ因子を活性化する。外因系凝固といわれている系のスタート因子である。この因子が先天的に欠乏する第Ⅶ因子欠乏症は非常に稀で、50万人に1人と云われている。第Ⅶa因子活性が2%以下になると血友病A、Bと同じ様な重篤な出血症状がでる。その他、重症の肝疾患、経口抗凝血薬投与時には第Ⅶ因子は低下する。第Ⅶ因子の測定は、第Ⅶ因子欠乏血漿を用いて第Ⅶa因子の凝固活性を測定するか、EIA法による抗原量の測定がある。血漿中の抗原量は約 $0.5 \mu\text{g/ml}$ で活性の正常値は 70~140%である。第Ⅶ因子の半減期は他のビタミンK依存性凝固因子よりも短く、1.5~6時間と考えられている。

(5) 第Ⅷ因子

(Antihemophilic factor; 抗血友病因子; FactorⅧ:C)

第Ⅷ因子の分子量は、SDSゲル電気泳動では約 280,000、cDNAによると 2,332のアミノ酸から構成される一本鎖の糖タンパク質であり、その分子量は 264,763である。血液中には、von Willebrand factorと非共有結合で複合体を形成しており、血漿中には、100~200ng/ml存在している。その生体内における半減期は、9~18時間である。ペルオキシダーゼ染色を使った免疫学的方法により検出される第Ⅷ因子抗原の組織内局在は、リンパ節、肺、肝臓、脾臓と血小板に存在しているが、これらの所で作られているのか貯蔵されているだけなのかはよく判っていない。内因系の凝固過程で第Ⅹa因子やトロンビンにより限定分解をうけて作用力の強い第Ⅷa因子となり、Caイオン・リン脂質と共に第Ⅸa因子が第Ⅹ因子を活性化するのを補助する。第Ⅸa因子による第Ⅹ因子の活性化は、これらの補助因子や第Ⅷa因子がこの反応に加わることで 5,000倍にも増加する。しかし、第Ⅷa因子それ自身には蛋白質の分解能はない。第Ⅷ因子は、もう一つの補助因子である第Ⅴ因子と構造がよく似ているが、この二つの補助因子は進化の途中で分かれたのであろうと考えられている。このタンパク質の欠損症は、血友病A(古典的血友病)と呼ばれ、約1万人の男性に1人の割合で出現し血友病の中での出現率は最も高い(血友病患者の約70%)。血友病は、その活性量の多少により重症 (<0.01U/ml)、中等症(0.01~0.05U/ml)、軽症(>0.05U/ml)の三群に分けられる。症状は、皮下や筋肉内血腫、及び関節腔内出血とそれによる関節の硬直であり、出血斑が見られる事は稀である。抜歯の際に大出血をする事がある。また第Ⅷ因子遺伝子は、X染色体長腕末端(Xq28)に存在しており、伴性劣性の遺伝形式をとる為、多くは保因者である母親を介して男子に発症する。検査成績は、出血時間正常・APTT延長・PT正常を示す。確認には、第Ⅷ因子欠乏血漿を基質とした拡張APTTまたはⅧ:C抗原の定量を行う。分子異常の解析のために、遺伝子による診断が行われている。治療には、ヒト血漿由来の濃縮第Ⅷ因子製剤の補充療法が行われているが、反復する補充療法により第Ⅷ因子に対する抗体ができてくることもあり、このような場合、以後の治療が難しくなる。近ごろ、遺伝子操作により作られたリコンビナント第Ⅷ因子製剤の使用も許可されるようになった。

(6) 第Ⅸ因子

(FactorⅨ; Christmas factor)

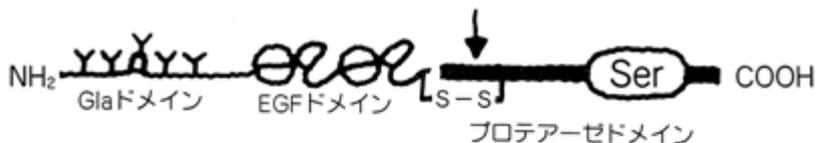
第Ⅸ因子は、X染色体に存在していて伴性劣性遺伝をする。即ち、この因子が欠損もしくは分子異常が起こると、

男子では出血傾向を示す血友病Bとなり、女子の場合は保因者となる。女子が発病することは非常に稀である。第IX因子は415個のアミノ酸から成る分子量約57,000の一本鎖の糖蛋白質で肝臓で産生される。第IX因子はプロトロンビン等と同じく、ビタミンK依存性の凝固因子でNH₂末端に12のγ-カルボキシグルタミン酸残基を持っており(図9)、このGlaドメインでリン脂質膜面上のCa²⁺と結合する。又、第IX因子はGlaドメイン以外にもCa²⁺部位があり、それは第1、EGFDドメインにある。第2のEGFDドメインにアミノ酸の変異がある血友病Bが報告されており、このドメインは第VIII因子、第V因子との作用部位ではあろうと考えられている。第IX因子は第XIa因子により Arg145-Ala146-とArg180-Va1181を限定分解されて二本鎖の第IXa因子となり、Ca²⁺存在下、リン脂質膜面上で第VIIIa因子の助けをかり、第X因子を活性化する。この反応は通常の内因系の凝固反応であるが、第IX因子は、第VIIa因子+組織因子+リン脂質+Ca²⁺の複合体によっても活性化されて、第IXa因子となる。しかし、第IX因子活性の低下した血漿はAPTTで延長するのみで、PTは延長しない。この第IXa因子は活性部位が典型的なトリプシン様のセリンプロテアーゼである。第IX因子の先天的な欠損症、又は分子異常症が血友病Bである。第IX因子の測定は、第IX因子欠乏血漿を用いて第IXa因子の凝固活性を測定するか、免疫学的手法を用いた抗原量の測定、分子異常症には遺伝子解析が用いられる。後天的には、重篤な肝疾患、経口抗凝血薬投与中に低下する。第IX因子は血漿中に3~5μg/ml存在している。活性としての正常値は70~130%である。

(7)第X因子

(Factor X; Stuart factor)

第X因子は447個のアミノ酸から成る分子量約59,000の二本鎖の糖蛋白質であり二本鎖はジスルファイド結合(-S-S)で結ばれている(図10)。ビタミンK依存性で肝臓で産生され、NH₂末端に11個のGla残基をもつ。その染色体は第13染色体上にある。第X因子はそのGlaドメインでリン脂質にCa²⁺を介して結合し、その上にある第IXa因子によって第VIIIa因子を補助因子として活性化される。又、組織因子、リン脂質、Ca²⁺と複合体を作っている第VIIa因子によっても活性化され、この第Xa因子は第Va因子、リン脂質、Ca²⁺とともにプロトロンビナーゼ複合体を形成し、プロトロンビンを活性化する。その他第Xa因子は第VII因子・組織因子複合体に働いて第VII因子を第VIIIa因子にするという外因系のスタートにもかかわっている。第X因子活性の測定は、第X因子欠乏血漿を用いてAPTTで凝固活性を測定するかまたは、ラッセルクサリ蛇の毒(RVV)を用いて第Xa因子にして、その水解能を合成基質を用いて測定する。又、第X因子抗原量は免疫学的測定法で測定する。血漿中には、5~10μg/ml存在しており、正常活性値は80~120%である。第X因子の先天的な欠損症は稀であり、その出血症状も血友病に較べると軽く、関節内出血などはほとんどない。重篤な肝疾患、経口抗凝血薬投与時、炎症、DIC時等で減少する。



第X因子は、第IXa因子によって、Arg₁₄₅-Ile₁₄₆の間を限定分解されて、52個のアミノ酸からなるペプチドを切り取られて第IXa因子になる。

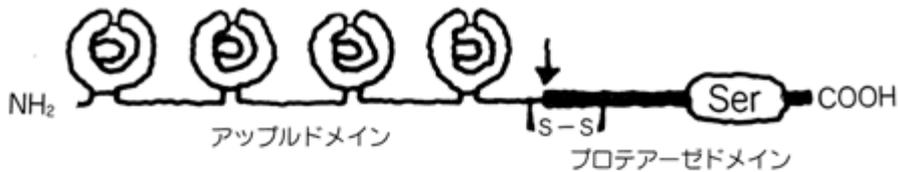
図10 第X因子

(8)第XI因子

(Factor XI; plasma thromboplastin antecedent)

第XI因子は607個のアミノ酸から成る分子量約80,000のものダイマー型として存在し、血中では2分子の高分子キニノーゲンと複合体を作っている。第XI因子の遺伝子は第4染色体に局在する。第XI因子は、高分子キニノーゲンを介して異物面に結合した後、第XIIa因子によってArg369-Ile370の間を限定分解され、二本鎖の第XI

a因子となる(図11)。この活性化はトロンビン、第XIa因子自身によっても起こる。第XIa因子はCa²⁺の存在下、第IX因子を限定分解してプロテアーゼの第IXa因子にする。第XI因子の遺伝子は第4染色体に局在する。先天的欠損症はユダヤ人の中で多く、日本人では少ない。第XI因子欠損症での出血症状は軽く、自然出血を示すことは少ない。第XI因子欠乏血漿を用いた、凝固活性の測定と、ELISA法による抗原量の測定がある。血中濃度は約4 μg/ml、活性は70~120%である。



NH₂末端・最初のアップルドメインでHMW-キニノーゲンと結合する。
第XII a因子によってArg₃₅₃-Ile₃₇₇の間を限定分解されて、第XI a因子になる。

図11 第XI因子

(9)第XII因子

(Factor XII; Hageman factor)

第XII因子は、最初に発見された出血傾向はほとんどないが、全血凝固時間の延長する未知の凝固因子欠損患者の名前からHageman因子と名付けられたが、その後この因子は第XII因子と命名された。第XIa因子やカリクレインによって活性化され第XIIa因子になる。セリン酵素前駆体である。第XII因子は596個のアミノ酸から成る分子量約80,000の一本鎖糖蛋白質でその遺伝子は第5染色体に存在している。第XII因子は、ガラス、カオリン、基底膜、コラーゲン等の異物面(陰性荷電膜面)と接触すると、その立体構造を変え、N基末端近くで異物面と結合し、カリクレイン等にArg₃₅₃-Val₃₅₄の所を限定分解され活性化を受け二本鎖の第XIIa因子となる(図12)。この反応にはCa²⁺イオンは必要としないが、高分子キニノーゲンとプレカリクレインが必要である。この時の高分子キニノーゲンは補助因子として働き、プレカリクレインは第XIIa因子によって活性化されカリクレインとなり、第XII因子を活性化するという相互活性化作用を持っている。第XIIa因子は異物面上で第XI因子を活性化し、内因系の凝固反応をスタートさせる。第XIIa因子には凝固反応だけでなく、細胞分裂促進作用、線溶系の活性化、補体の活性化、カリクレインを介しての高分子キニノーゲンからのキニンの産生と、多くの生体反応に関与していることが報告されている。第XII因子の血中濃度は約30 μg/mlであり、肝細胞で産生される。ELISAを用いた抗原量の測定と、第XII因子欠乏血漿を基質に用いたAPTTにより第XII因子凝固活性を求める方法がある。活性の基準値は50~150%と個人差がある。本症は、ほとんど出血症状を示さないが、外科的処置など出血が予想される場合のみ、血漿輸注などの処置をする。

(10)第XII因子

(Factor XII; Hageman factor)

第XII因子は、最初に発見された出血傾向はほとんどないが、全血凝固時間の延長する未知の凝固因子欠損患者の名前からHageman因子と名付けられたが、その後この因子は第XII因子と命名された。第XIa因子やカリクレインによって活性化され第XIIa因子になる。セリン酵素前駆体である。第XII因子は596個のアミノ酸から成る分子量約80,000の一本鎖糖蛋白質でその遺伝子は第5染色体に存在している。第XII因子は、ガラス、カオリン、基底膜、コラーゲン等の異物面(陰性荷電膜面)と接触すると、その立体構造を変え、N基末端近くで異物面と結合し、カリクレイン等にArg₃₅₃-Val₃₅₄の所を限定分解され活性化を受け二本鎖の第XIIa因子となる(図12)。この反応にはCa²⁺イオンは必要としないが、高分子キニノーゲンとプレカリクレインが必要である。この時の高分子キニノーゲンは補助因子として働き、プレカリクレインは第XIIa因子によって活性化されカリクレインとな

り、第 XII 因子を活性化するという相互活性化作用を持っている。第 XIIIa 因子は異物面上で第 XI 因子を活性化し、内因系の凝固反応をスタートさせる。第 XIIIa 因子には凝固反応だけでなく、細胞分裂促進作用、線溶系の活性化、補体の活性化、カリクレインを介しての高分子キニノーゲンからのキニンの産生と、多くの生体反応に関与していることが報告されている。第 XII 因子の血中濃度は約 $30 \mu\text{g/ml}$ であり、肝細胞で産生される。ELISAを用いた抗原量の測定と、第 XII 因子欠乏血漿を基質に用いたAPTTにより第 XII 因子凝固活性を求める方法がある。活性の基準値は 50~150%と個人差がある。本症は、ほとんど出血症状を示さないが、外科的処置など出血が予想される場合のみ、血漿輸注などの処置をする。

(11) 第 XIII 因子

(Factor XIII; Fibrin stabilizing factor)

Ca イオンの存在下、トロンビンにより活性化されてトランスグルタミナーゼ活性を持つ第 XIIIa 因子になる酵素前駆体である。第 XIII 因子は分子量約 75,000 のa鎖と分子量約 80,000 のb鎖が2本ずつ結合したa₂b₂ の形をしており、a鎖に酵素活性化部位がある。bはその全んどがスシ(寿司)ドメインで成っており、C4 結合蛋白質のa鎖などと同じグループに含まれる。第 XIIIa 因子はそのトランスグルタミナーゼ活性で基質蛋白質分子間で、一方の分子のグルタミン残基と他方のリジン残基間に 強固なイソペプチド結合を形成する(図 13)。フィブリンの γ 鎖間、 α 鎖間に働いて不溶性のフィブリンにし、フィブリンの α 鎖と フィブロネクチン、コラーゲンとフィブロネクチン間で働き創傷治癒に関与する。スシドメインを含む蛋白質の機能は、補体系血液凝固反応、リンパ系の制御など多岐にわたるが、スシドメインの機能は判っていない。血漿中に約 $10 \mu\text{g/ml}$ 存在する。第 XIII 因子欠損症患者は、出血と創部治癒不良を示す。

(12) 低分子ヘパリン

(Low molecular weight heparin)

ヘパリンは色々な長さのポリマーを形成しており、その分子量は約 3,000~20,000 程度であるが、この中から平均分子量が5,000程度の低分子のものばかりを集めて低分子ヘパリンと呼ぶ。この低分子ヘパリンは抗トロンビン作用・血小板活性化抑制作用は低下しているが抗第 Xa因子活性は維持しており、未分画のヘパリンに比して輸注時の血栓形成傾向や出血傾向が少なく播種性血管内凝固症候群(DIC)等の治療に副作用の少ない安全な抗凝固剤として期待されている。

(13) トロンビン

(Thrombin; 第 IIa 因子)

トロンビンが PF-3 や組織トロンボプラスチンのリン脂質膜面上で Ca や第 V 因子と複合体を形成した第 Xa 因子により 限定分解を受けてセリンプロテアーゼの α トロンビンになる(図 23)。この α トロンビンは、①フィブリノーゲンを重合させフィブリンにする、また ②第 XIII 因子を活性化してフィブリンを強固に架橋結合させる、③血小板を活性化する、④第 VIII 因子・第 V 因子を活性化して凝固を促進させる等その酵素作用を表わす。一方、トロンボモジュリンに補足されて、プロテインCを活性化して凝固を抑制する作用を持つことも忘れてはならない。血液中に産生されたトロンビンは、ヘパリンと複合体を形成したATIII と速やかに結合し酵素作用を阻害され、その複合体(TAT)は網内系で処理される。トロンビン活性測定は、血漿を蛇毒で活性化してトロンビンを生成し、その活性を合成基質(S-2238 等)で測定する。



プロトロンビンは第Ⅹa因子によって Arg₂₇₁-Thr₂₇₁①と Arg₂₇₁-Ile₂₇₁②を開裂されて、αトロンビンを産出する。

図 23 プロトロンビン

(14) トロンビンレセプター

(Thrombin receptor)

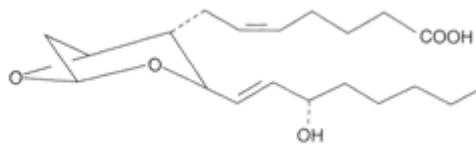
トロンビンレセプターは、トロンビンとの結合部位を細胞の外に出し、C末端の方で血小板膜に縫い付けられるような形で存在していると考えられている。トロンビンが結合すると、そのことを細胞内に伝え血小板の活性化を起こす。巨核球や単球内皮細胞等にも存在していて、細胞の機能発現に関与していると考えられる。

(15) トロンボキサン A₂

(Thromboxan A₂; TXA₂) C₂₀H₃₂O₅

血小板細胞膜のリン脂質にフォスホリパーゼA₂ が働きアラキドン酸を切り出す。このアラキドン酸は、さらにシクロオキシゲナーゼ(プロスタグランジン合成酵素)とトロンボキサン合成酵素の働きでトロンボキサン A₂ になる。TXA₂ は、血小板の形態変化、凝集、放出反応を促進するとともに、フィブリノーゲン受容体を発現、さらに血管の収縮をも促す重要な止血作用がある。血小板への作用は、血小板膜面にあるTXA₂ 受容体を介して行われる。

トロンボキサン A₂



(16) トロンボモジュリン

(Thrombomodulin ; TM)

557 個のアミノ酸残基からなる、分子量約 105,000 の蛋白質である。血管内皮細胞の細胞膜面上に存在しており、トロンビンを捕捉し、1:1 の複合体を形成することでトロンビンの基質選択性をフィブリノーゲンからプロテインCに変化させその作用を抗凝固作用に変える(図 14)と共に血小板活性化能を失わせる。活性化されたプロテインCは第Ⅷa因子と第Ⅴa因子を分解して血液凝固を抑制する。このことで血管内皮細胞の血液凝固を保護する作用の重要な役目を負っている。血中トロンボモジュリンの基準値は 20±6ng/ml である。

して 第 XIIa 因子によって活性化される。高分子キヌノーゲンはこうして接触活性化を促進する補助因子である。高分子キヌノーゲンはカリクレインより限定分解をうけて、血管透過性亢進、痛みを現すブラジキニンを放出する。高分子キヌノーゲンの測定は、抗原抗体反応によるか、又は被検血漿からキニンを遊離させ、このキニンの生理活性である ラットの子宮等の平滑筋収縮作用を測定する方法がある。血中の高分子キヌノーゲン量は、約 80 μ g/ml である。

(4) フィブリノーゲン

(Fibrinogen ; 第 I 因子 ; 線維素元)

フィブリノーゲンは、分子量約 340,000 で、肝臓で産生され、その遺伝子は第4染色体上にある。血漿中に 200~400mg/dl 存在する。A α , B β , γ の 3 本のポリペプチド鎖がS-S結合で繋がれた二量体で、トロンビン、プラスミンの基質蛋白質である。その模式構造(図 15)およびフィブリノーゲンがトロンビンにより重合する様子を図にする(図 16)。血漿中の濃度は、免疫学的に抗原量を求める方法と、トロンビン法による凝固時間を用い、その時間からフィブリノーゲン量を求める測定が行われている。この二法間の値に乖離があり免疫学的抗原量の方が高い場合、フィブリノーゲンの分子異常を疑う。フィブリノーゲンは感染症、悪性腫瘍、脳・心筋梗塞発作後、妊娠時等に高値を示し、重度の肝疾患による産生障害、DIC、血栓症、線溶亢進時に減少する。また、フィブリノーゲンに第 VIII 因子を加えた製剤が外科手術時の生理的組織接着剤として使われている。

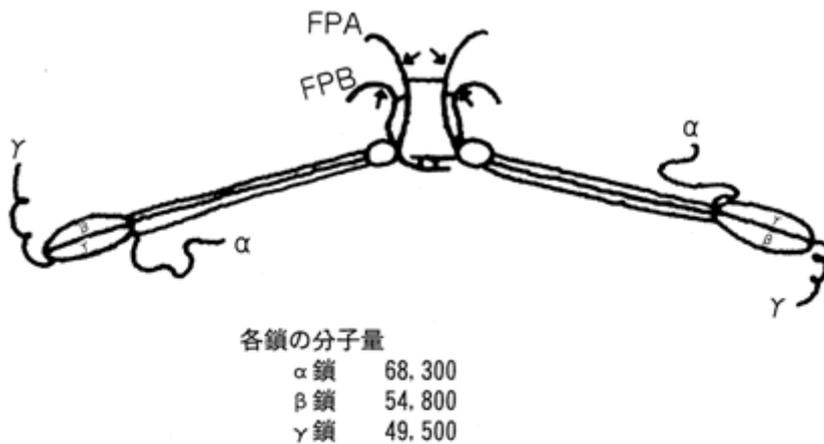
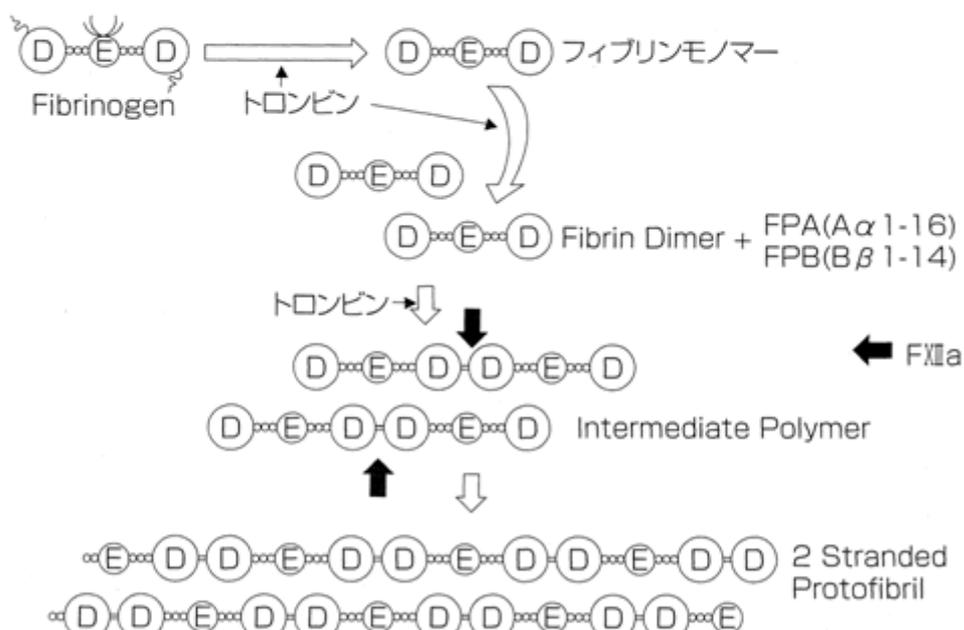


図 15



フィブリノーゲンは、トロンビンにより重合され、さらに第 XIII 因子の働きにより、架橋されて強固な不溶性のフィブリンになる。

図 16 トロンビンによるフィブリン糸の析出

(5) フィブリノペプチド

(Fibrinopeptide)

トロンビンがフィブリノーゲンに働くときには、まずA α 鎖のN末端から16番目のArgと17番目のGlyの間を加水分解し、フィブリノペプチドAを切りだす。次にB β 鎖のN末端から14番目のArgと15番目のGlyの間を切ってフィブリノペプチドBを切りだす。またプラスミンがフィブリノーゲンに働くときには、まずB β 鎖のN末端から42番目のArgと43番目のAlaの間を加水分解し、フィブリノペプチドB β 1~42を切りだす。また先にトロンビンがフィブリノーゲンに働いたあと、プラスミンがフィブリノーゲンに働くときには、フィブリノペプチドB β 15~42を切りだす。これらの切り出されたフィブリノペプチドの機能はよく判らないが、これらが多く血中に存在すると言うことは、血管内で凝固もしくは線溶が起こったと言う証拠になる。フィブリノペプチドの測定には、RIA法が使われている。

(6) フィブリノペプチドB β 1~42

(Fibrinopeptide B β 1~42)

プラスミンがフィブリノーゲンに最初に作用する部位は、フィブリノーゲンのB β 鎖のArg42-Ala43で、ここを限定分解する。こうして、切断されて血中に遊離したペプチドをフィブリノペプチドB β 1~42という。したがって血漿中のフィブリノペプチドB β 1~42が増加しているということは一次線溶亢進を現している。二次線溶が起こっていればB β 鎖は、まずトロンビンで1~14を切り取られている為に、B β 15~42が血中に増加することになる。これらフィブリノペプチドの測定はラジオイムノアッセイ(RIA)が用いられている。

(7) フィブリン

(Fibrin)

フィブリノーゲンはトロンビンによって最初にA α 鎖からフィブリノペプチドAを切り取られて α フィブリン(α , B β , γ)₂に、さらに、B β 鎖からフィブリノペプチドBを切り離されて β フィブリン(α , β , γ)₂になる。 β フィブリンは、互いに結合しあうが、最初は二本鎖の原線維が形成され、これが二次元三次元へと次々に結合してフィブリンはゲル化する。 γ 鎖間のLys406とGlu398を第XIIIa因子によってイソペプチド結合され(図13)さらに強いフィブリンとなる(γ - γ ダイマーの形成)。その後、 α 鎖の間にもイソペプチド結合が形成される。第XIIIa因子の働いたフィブリンは5Mの尿素等を添加されても溶けないため、不溶性フィブリンと呼ばれる。

(8) フィブリン安定化因子

(Fibrin stabilizing factor ; 第XIII因子) [血液凝固第XIII因子](#)のこと。

(Factor XIII; Fibrin stabilizing factor)

Caイオンの存在下、トロンビンにより活性化されてトランスグルタミナーゼ活性を持つ第XIIIa因子になる酵素前駆体である。第XIII因子は分子量約75,000のa鎖と分子量約80,000のb鎖が2本ずつ結合したa₂b₂の形をしており、a鎖に酵素活性化部位がある。bはその全んどがスシ(寿司)ドメインで成っており、C4結合蛋白質のa鎖などと同じグループに含まれる。第XIIIa因子はそのトランスグルタミナーゼ活性で基質蛋白質分子間で、一方の分子のグルタミン残基と他方のリジン残基間に強固なイソペプチド結合を形成する(図13)。フィブリンの γ 鎖間、 α 鎖間に働いて不溶性のフィブリンにし、フィブリンの α 鎖とフィブロネクチン、コラーゲンとフィブロネクチン間で働き創傷治癒に関与する。スィドメインを含む蛋白質の機能は、補体系血液凝固反応、リンパ系の制御など多岐にわたるが、スィドメインの機能は判っていない。血漿中に約10 μ g/ml存在する。第XIII因子欠損症患者は、出血と創部治癒不良を示す。

(9) フィブリン単量体

(Fibrin monomer ; フィブリンモノマー)

フィブリノーゲンにトロンビンが作用するとまずフィブリノペプチドAとフィブリノペプチドBが遊離して(α 1, β 1 γ)₂の形になる。このものは二量体ではあるが、フィブリン単量体と呼ばれる。

(10) フィブリン分解産物

(Fibrin or Fibrinogen degradation products ; FDP)

FDPIには、一次線溶でできるものと、二次線溶でできるものの 2 種類のものがある。一次線溶とは何らかの原因で線溶が亢進し、フィブリノーゲンを分解することでその分解産物が血中に出現する。これを模式(図 17)にする。二次線溶とは、血管内で凝固が進み血栓ができたためにこれを溶かすべく、線溶が亢進し、フィブリンの分解(FDP)血中に出現することで その様子を図にすると(図 18)のようになる。

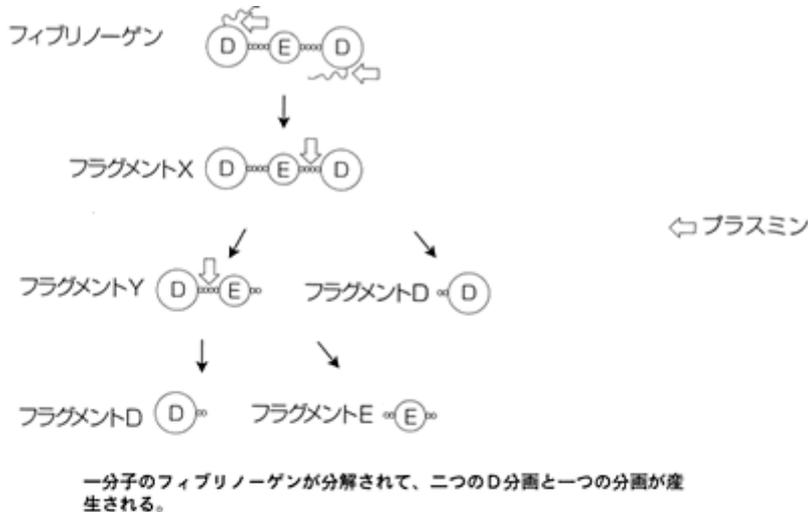
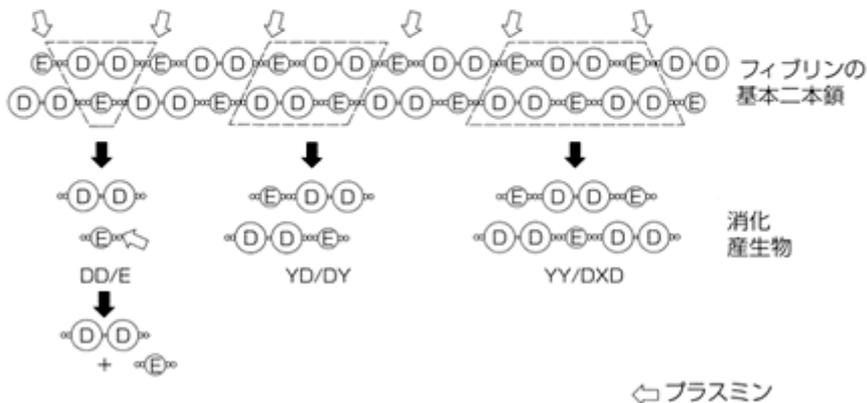


図 17 一次線溶



二次線溶で産生されたFDPは、その中にDダイマー構造を持つのが特徴である。

図 18 二次線溶

(11)フォンウィルブランド因子

(von Willbrand factor ; vWF)

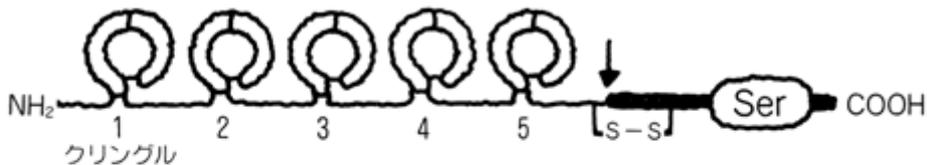
vWFは骨髄巨核球と血管内皮細胞で産生される。2,050 残基から成る分子量 275,000 の糖蛋白質であるが、血中では種々の大きさに重合して分子量 50 万から 2000 万もの大きな重合体で存在している。血中には 5~10 μ g/ml 存在する。その 100 分子に数個の割合で第 VIII 因子と結合している。第 VIII 因子の安定因子やキャリアー蛋白質の作用をしている。この vWFは、出血時内皮下組織に接触し活性化され血小板粘着時に、血小板の膜糖蛋白質の GPIb, GP II/IIIaと結合し、もう一方でコラーゲンと結合し、血小板とコラーゲンの結合の橋渡しをする粘着分子の働きをする。一次止血に重要な役目をする。したがってこの vWFが欠乏すると、血小板減少症と同様の症状すなわち、著明な出血時間の延長と皮膚粘膜出血などの浅在性出血症状を呈する。vWFの先天的欠損症は vW病といわれ、通常、常染色体優性遺伝をする。(遺伝子は第 12 染色体に局在している)。しかし、

vW病には種々のタイプがあり、I, II, III 型およびその亜型に分類されている。又、遺伝子異常も多く報告されている。vW病は、約 20 万人に 1 人発現する。vW病の診断は、出血時間、血小板粘着能、第 VIII 因子凝固活性(F VIII:C), vWF抗原 (vWF:Ag)リストセチン惹起血小板凝集を行う。病原の分類は、vWF:Ag の交差免疫電気泳動法、SDSアガロースゲル電気泳動、蛇毒ボトロセチン惹起血小板凝集によるマルチマー分析を行う。

(12) プラスミノーゲン

(Plasminogen)

プラスミノーゲンは 790 個のアミノ酸から成る分子量約 88,000 の一本鎖糖蛋白質である。肝臓で産生され、その遺伝子は第 6 染色体上にある。プラスミノーゲンは、ウロキナーゼ(UK)や組織プラスミノーゲンアクチベーター等によって Arg560-Val561 の所を限定分解されると、二本鎖のプラスミンになる。プラスミノーゲンアプチベーターが大量であればプラスミノーゲンは産生されたプラスミンによって Lys76-Lys77, Lys77-Val78, Arg67-Met68 を限定分解する。これらをリジンプラスミンと呼ぶ。プラスミンの主な作用はフィブリンやフィブリノーゲンを分解することである。プラスミノーゲンの構造模式図(図 19)を示す。まずプラスミノーゲンは第 5 クリングルドメインを介してフィブリンのリジン側鎖に結合し、同じくフィブリンに結合していたプラスミノーゲンアクチベーターによって活性化を受ける。フィブリン分解が進むとさらにフィブリンのリジン残基が露出し、ここにプラスミンは第 1, 2, 3 クリングルドメインで結合し、分解はさらに進むと考えられている。プラスミノーゲンはヒト血漿中に約 100~170 μg/ml 存在する。プラスミノーゲン分子異常症の場合は、抗原量は健常者と変わりがないがプラスミン活性がホモ接合体の場合には 3%以下の活性しか示さず、繰り返し血栓症が出現する。プラスミノーゲン分子異常症の場合は遺伝子解析による診断が必須である。



クリングル1が最もリジン結合能が高い。ウロキナーゼ等によって Arg₅₆₀-Val₅₆₁の間を切断されて、二本鎖のプラスミンになる。

図 19 プラスミノーゲン

(13) プラスミノーゲンアクチベーター

(Plasminogen activator)

線溶系を促進させる主なプラスミノーゲンアクチベーターには二種類ある。その一つはウロキナーゼ(u-PA)(図 7)であり、もう一つが組織プラスミノーゲンアクチベーター(t-PA)である。t-PAは血管内皮細胞で産生され、527 個のアミノ酸から成る分子量約 70,000 の糖蛋白質であり、その遺伝子は第8染色体上にある。t-PAはフィブリンと結合するとその酵素活性が約 1,000 倍も増強する。そして同じくフィブリンに結合しているプラスミノーゲンを活性化させプラスミンにする。t-PAのフィブリン又はフィブリノーゲンを結合する部位はクリングルドメインである。(図 20)。t-PAの抗原量や活性量は、ストレスや血管の緊縛、運動負荷で増加する為、採血には細心の注意を払う。抗原量は報告者によりかなり差があるが、約 5 μg/ml ぐらいである。プラスミノーゲンアクチベーターは有効な血栓溶解剤であるが、その使用量や使用期間・時期が難しい。

(14) プラスミノーゲン アクチベーター インヒビター-1

(Plasminogen activator inhibitor 1, P A I-1)

線溶はプラスミノーゲンをプラスミノーゲンアクチベーター(PA)が活性化しプラスミンにすることで始まるが、この反応を抑制する系は、プラスミンインヒビターとPAを抑制するプラスミノーゲンアクチベーター インヒビター1(PA

I-1)である。PAI-1は分子量約50,000の一本鎖の糖蛋白質で、組織型・ウロキナーゼ型PAと複合体を形成してその作用を抑制するセリン酵素である。血漿中には約20ng/ml存在する。EIA法で測定される。

(15)プレカリクレイン

(Prekallikrein; Fletcher factor)

プレカリクレイン(PK)は619個のアミノ酸から成る分子量約85,000の一本鎖糖蛋白質で、血中では高分子キノーゲンと1:1の複合体を作っている。陰性荷電膜面に高分子キノーゲンを介して結合し、第XIIa因子によってArg371-Ile372の所を限定分解されて酸素活性を持つ二本鎖のカリクレインになる。そのカリクレインは第XII因子を活性化して、さらに異物面での接触活性化を促進する。カリクレインはその他に、高分子キノーゲンからのブラジキニンの産生や、線溶亢進にも関与している。PKの構造は、リンゴの切り口に似ていることから名付けられたアップルドメインがNH₂末端から4個つながり、その後活性中心であるセリン残基のあるプロテアーゼドメインが続く。この構造は第XI因子と酷似している。肝臓で合成され血漿中には約50μg/ml存在する。PK欠乏血漿は、APTTの延長を示すが、カオリンでの活性化時間を長くすると時間が短縮する。PKの測定は、PK欠乏血漿を用いたAPTTで凝固活性を測定するか、第XIa因子で活性化後、特異性の高い合成基質を用いて(S-2302等)活性を測定する。この合成基質に対する活性は他のセリンプロテアーゼとよく似ている為、それらに対するインヒビターを使用する等の注意が必要である。

(16) フレッチャー因子

(Fletcher factor) [プレカリクレイン](#)のこと。

(Prekallikrein; Fletcher factor)

プレカリクレイン(PK)は619個のアミノ酸から成る分子量約85,000の一本鎖糖蛋白質で、血中では高分子キノーゲンと1:1の複合体を作っている。陰性荷電膜面に高分子キノーゲンを介して結合し、第XIIa因子によってArg371-Ile372の所を限定分解されて酸素活性を持つ二本鎖のカリクレインになる。そのカリクレインは第XII因子を活性化して、さらに異物面での接触活性化を促進する。カリクレインはその他に、高分子キノーゲンからのブラジキニンの産生や、線溶亢進にも関与している。PKの構造は、リンゴの切り口に似ていることから名付けられたアップルドメインがNH₂末端から4個つながり、その後活性中心であるセリン残基のあるプロテアーゼドメインが続く。この構造は第XI因子と酷似している。肝臓で合成され血漿中には約50μg/ml存在する。PK欠乏血漿は、APTTの延長を示すが、カオリンでの活性化時間を長くすると時間が短縮する。PKの測定は、PK欠乏血漿を用いたAPTTで凝固活性を測定するか、第XIa因子で活性化後、特異性の高い合成基質を用いて(S-2302等)活性を測定する。この合成基質に対する活性は他のセリンプロテアーゼとよく似ている為、それらに対するインヒビターを使用する等の注意が必要である。

(17)プロテインC

(Protein C; 蛋白 C)

プロテインC(PC)は、ビタミンK依存性の蛋白質で、肝臓で産生され、その分子量は約62,000である。血液中には二本鎖の形をとり、L鎖のN基末端に9個のGla残基を持つ(図21)。何らかの刺激により産生されたトロンビンは、血管内皮細胞の膜面上に存在するトロンボモジュリン(TM)に結合してその反応の基質をフィブリノーゲンからPCへと変化させPCを活性化して、抗凝固因子のaPCにする。すなわち、今までフィブリン析出、血小板の活性化等血液凝固反応を進める主人公ともいえるトロンピンが凝固を抑制するようになる。その活性化は、TMと複合体を形成したトロンピンによってL鎖のN基末端から12番目のAeg12-Leu13を切断され、活性化されて活性化プロテインC(aPC)になる。この酵素活性ドメインはHis(42), Asp(88), Ser(191)で構成されている。aPCは凝固第Va因子と凝固第VIIIa因子を分解し、その活性を阻害する。第Va因子と第VIIIa因子の活性が阻害されたことで(第IXa因子+第VIIIa因子+PF-3+Ca²⁺)複合体及び(第Xa因子+第Va因子+PF-3+Ca²⁺)複合体の形成が阻害され、血液凝固が抑制される。このaPCの抗凝固作用は補酵素のプロテインSが必要である。又、このaPCは血小板や血管内皮細胞から分泌されるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1

を中和して線溶活性を高める。これら 2 つの働きで aPC は血液の凝固亢進を抑制する (図 14)。血漿中 PC の測定にはローレル法や ELISA 法を用いて抗原量を測定するか、又はトロンビンや PC アクチベーター活性を持つ蛇毒 (Protac) で PC を活性化させ、その生物活性を活性化部分トロンボプラスチン時間か合成基質を用いて測定する。血漿中の PC の抗原量は約 $4 \mu\text{g/ml}$ である。先天性 C 欠損症の中で PC の抗原量、活性ともに低下する常染色体 (第 2 染色体) 優性遺伝の形式をとるものでは深部静脈血栓症、肺血栓、肺塞栓を反復発症するが、劣性遺伝型のヘテロ接合体では無症状のものもある。無症候性のヘテロ接合体のタイプが多く約 300 人に 1 人、発症型のヘテロ接合体の頻度は約 16,000 人に 1 人、ホモ接合体は 50 万人に一人といわれる。もう一方は抗原量は変わらず、活性のみ低下している分子異常でありこの場合も静脈血栓症が起こる。



プロテイン C は、トロンボモジュリンと結合したトロンビンにより、12 個のアミノ酸からなるペプチドを切り取られ、活性化される。

図 21 プロテイン C

(18) プロテイン C インヒビター

(Protein C inhibitor; PCI, PAI-3) プロテイン C インヒビターは 387 アミノ酸残基から成る一本鎖の糖蛋白質で、分子量は約 57,000 であり、セルピンファミリー蛋白質の一つである。活性化プロテイン (aPC) と 1:1 の複合体を形成し、その酵素活性を阻害する。血液中には約 $5 \mu\text{g/ml}$ 存在している。

(19) プロテイン S

(Protein S; 蛋白 S)

プロテイン S (PS)、分子量約 69,000 で、679 個のアミノ酸から成る一本鎖の糖蛋白である。遺伝子は、第 3 染色体に局在している。又、活性化プロテイン C による第 VIIIa 因子、第 Va 因子の失活化の補助因子として働く。PS は、主に肝臓その他、血管内皮細胞、骨髄巨核球などで産生される。血漿中に約 $25 \mu\text{g/ml}$ 存在するが、多くは C4b 結合蛋白質 (補体系の調節因子) と結合しており、活性を持つ遊離型は 40% 程度である。PS は、11 個の Gla 残基を持つ VK 依存性の蛋白質であるが、その補酵素としての活性を表すためには 4 つの EGF ドメインの高次構造の変化が重要であると考えられている (図 22)。PS の血漿中濃度は、ローレル法や EIA 法を用いて抗原量を測定する方法と、PS 欠乏血漿を用いて生物活性を求める方法がある。PS が欠乏すると静脈性血栓症や静脈炎を起こす。そして、ワーファリンの投与時に PS はビタミン K 依存症であるため減少するが、血栓症を起こすことはまずない。



図 22 プロテイン S PS

(20) プロトロンビン

(Prothrombin, 第 II 因子)

プロトロンビンは分子量が約 72,000 の糖蛋白質で、セリン酵素トロンビンの前駆体である。プロトロンビンはプロトロンビナーゼ複合体を形成した第 Va 因子によって Arg320-Ile321 の間が切断され活性化されてメソトロンビンになる。次にフラグメント 1, フラグメント 2 が切り取られ、Arg271-Thr272 間が切断されて α トロンビンになる。構造模式図を示すが(図 23)ビタミン K 依存症凝固因子であるプロトロンビンはその N 末端から 7~33 の間に 10 個の Gla 残基を持ち、それに続く 2 つのクリングルドメインがあり、その後にはトロンビンとなって酵素活性を現わした時の活性中心となる Ser 残基のあるプロテアーゼドメインから成っている。血漿中には 100~150 μ g/ml 存在するが、ビタミン K 欠乏時やワーファリンの投与時には、N 末端に続く Gla 残基が γ -カルボキシ化されずグルタミン酸のまま血中に出現する。この蛋白質は凝固活性がなく、異常プロトロンビン(PIVKaII)と呼ばれる。プロトロンビンの遺伝子は第 11 染色体に存在する。この因子の先天的な欠損症は非常に稀である。プロトロンビンの測定は、ELISA による抗原量を測定する方法と、第 II 因子欠乏血漿による凝固活性の測定法がある。又、蛇毒で活性化した生成したトロンビン活性を合成基質(S-2238 等)を用いて測定する方法もあるが、この方法では、PIVKaII も活性をもつ為、二者の区別が必要となる。



プロトロンビンは第 X a 因子によって Arg₃₂₀-Ile₃₂₁ ①と Arg₂₇₁-Thr₂₇₂ ②を開裂されて、 α トロンビンを産出する。

図 23 プロトロンビン

(21)プロトロンビン時間

(Prothrombin Time; PT) [PT](#)のこと。

(Prothrombin Time; プロトロンビン時間)

試薬の組織トロンボプラスチンとカルシウムを被検乏血小板クエン酸血漿に充分量加え、フィブリン析出までの時間を測定する。外因系凝固反応すなわち第 VII 因子, 第 X 因子, 第 V 因子, 第 II 因子とフィブリノーゲンの量と質に影響を受ける。正常値は約 12 秒前後に調整されている。PTは上記因子の欠損, DIC, 肝硬変, ワーファリン投与時などで延長する。経口抗凝血薬投与による抗血栓治療時には、PTが約 20 秒であれば、旨くコントロールできている。

(22)ヘパリン

(Heparin)

ヘパリンは、ウロン酸とヘキソサミンが結合した酸性ムコ多糖体であり、種々の長さのものがあその平均分子量は約 15,000 である。ヘパリンはATIIIと1:1の複合体を形成して、ATIIIの抗トロンビン作用、抗第 Xa 因子作用を増強することで、血液凝固阻止作用を現わす。このために播種性血管内凝固症候群(DIC)の治療、深部静脈血栓の予防や治療、抗血小板薬、透析中の抗凝固剤として使用されている。治療時には、活性化トロンボプラスチン時間(APTT)の延長が正常人の 1.5~2.5 倍になる様にコントロールする。その他のヘパリン測定法として、被検血漿にATIIIを加え、ヘパリン・ATIII複合体を作らせたところへ、既知で過剰量の Xa 因子を加え、残存する第 Xa 因子量を合成基質(S-2222Kabi 社など)を用いて測定し、ヘパリン量を推定する方法もある。

ら

(1)リポ蛋白結合性プロテアーゼインヒビター

(Lipo-protein asoiate protease inhibitor; LACI) [外因系凝固反応阻害因子\(TFPI\)](#)のこと

(Tissue factor pathway inhibitor; LACI、リポ蛋白質結合性外因系血液凝固インヒビター)

肝臓、内皮細胞、単球など多くの細胞で生成される。その遺伝子は第 2 染色体に存在している。血漿中では、大部分がVLDL、HDLなどのリポ蛋白質と結合した形で存在しているため、動脈硬化と血栓形成機構の新しい指標として注目されている。276 のアミノ酸残基からなり、3 つの Kunitz 型インヒビタードメインを持つ分子量約 42,000 の蛋白質である(図 4)。その作用は、典型的なトラジロール型、即ち、セリン酵素を阻害するインヒビターである。その抗凝固機序は、外因系凝固反応を抑制するのであるが、第 VIIa 因子が第 X 因子を活性化することを直接阻害するのではなく、まず第 2 の Kunitz 型インヒビタードメインで第 Xa 因子と結合し、それを阻害すると共に、第 1 の Kunitz 型インヒビタードメインで組織因子/第 VIIa 因子複合体とも結合し、組織因子と第 VIIa 因子の複合体による第 X 因子や第 IX 因子の活性化を阻害することである。(図 5)。その凝固活性は、ヘパリンによって増強される。現在、動脈硬化症との関係が注目されている。健常者の血漿中には 100ng/ml 以下とされている。

(2) ループスアンチコアギュラント

(Lupus anticoagulant) [SLE型阻害物質](#)のこと。

(Lupus anticoagulants; LA)

活性トロンボプラスチン複合体形成の阻害物質で、外因系、内因系の両系を阻害する。細胞膜に内在するフォスファチジルセリンやカルジオライピンなどのリン脂質に対する抗体である。SLE の患者以外にもこの抗体を持つ症例があり、その臨床症状は、血栓症、血小板減少、反復する流産である。測定法は、固相化したリン脂質に被検血清を加え ELISA で検出する方法と、リン脂質濃度を低くした APTT 試薬を用いて患者血漿に APTT を実施し、正常血漿と比較して、その凝固阻害活性を測定する測定法がある。

(3) 硫酸プロタミン

(Protamine Sulfate)

ヘパリンの作用に拮抗。硫酸プロタミンは塩基性でヘパリンの陰性荷電を中和して、その作用を消失させる。