

血栓と循環

Thrombosis and Circulation

別刷

メヂカルレビュー社

1. トロンボモジュリン(TM)

笈田 耕治 福井中央クリニック内科部長

Oida, Koji

検査の概略

トロンボモジュリン(thrombomodulin : TM)はトロンビンと強い親和性を有する糖蛋白質で、血管内皮細胞の膜表面に発現する抗血栓性因子として発見された。しかし近年、TMは抗血栓性に機能するだけでなく、線溶系も阻害しフィブリンを安定化する方向に作用することも明らかになり、TMの生理的役割は血液の凝固および線溶系の両者を調節する重要な因子として位置づけられつつある¹⁾。また、治療的観点からは、スタチンが内皮細胞のTMの発現を亢進することが示され、TMの発現にracやcdc42などのsmall G蛋白が関与していることが明らかにされたことなども注目される²⁾。一方、血漿および尿中にはTM抗体と特異的に結合する可溶性(soluble)の蛋白質が

存在し、それぞれ血漿sTMおよび尿sTMと呼ばれている。血漿sTMは、主に血管内皮細胞の膜表面に発現しているTMが内皮細胞の傷害(damage)によって血漿に逸脱した組織発現TMの分解物と考えられ、内皮細胞傷害の分子マーカーとして位置づけられている。

基準値

現在、わが国では2種類のTM測定試薬が販売されている。基準値は標準精製品の純度や使用する抗体の種類などの問題もあり、試薬ごとのarbitrary unitで示されている(表1)。

異常値を示す病態生理

TMが登場する以前はvon Willebrand factor (VWF)が血管内皮細胞障害の分子マーカーと

表1 TM測定試薬と基準値

製品名	製造元	正常範囲
トロンボモジュリン「MGCC」EIA	三菱ガス化学	血漿：8.7～22.7 MGCCU/mL 血清：12.1～24.9 MGCCU/mL 尿：31.3～76.5 MGCCU/mgCre (随時尿)
TM パナセラ「プレート」	富士レビオ	血漿：4.5 FU/mL 以下 血清：4.5 FU/mL 以下

して利用されてきた。しかし、VWFは内皮細胞の傷害を伴わなくても、後述するように種々のサイトカインにて内皮細胞が刺激されると、血液中に分泌されその濃度が増加してしまうため、内皮細胞の機能障害(dysfunction)の分子マーカーであり、必ずしもsTMと同様の動きを示すとは限らない。

血漿および尿sTMは、ともに還元下のSDS-PAGE(ポリアクリルアミドゲル電気泳動)で105-28 kDa、非還元下で200-25 kDaを示す6~7種のほぼ同じ分子種で構成されている。以下に示すような成績から、循環血漿中に分布するsTMは内皮細胞の傷害によって内皮細胞から逸脱したもので、そのレベルは全身性の血管内皮細胞の傷害を反映すると考えられている³⁾。①ヒト臍帯静脈から内皮細胞を分離培養し、種々の条件下でその培養液中へ遊離するTMの抗原量を測定すると、TMは内皮細胞から積極的に分泌されているのではなく、内皮細胞が傷害を受けたときに初めて培養液中へ遊離する。②培養液中に遊離したTM抗原の分子種は循環血漿または尿中に分布している分子種と極めて類似している。③エンドトキシンの静脈内持続注入で播種性血管内凝固症候群(disseminated intravascular coagulation: DIC)を誘発させたウサギでは、sTMの増加による血漿TMレベルの上昇と組織内皮細胞のTMの低下が観察される。④DIC、膠原病または糖尿病のように全身性の血管内皮細胞障害を伴う疾患では血漿sTMレベルが増加するが、閉塞性動脈硬化症、閉塞性血栓性脈管炎や肺梗塞などの局所血管障害を伴う疾患では上昇しない。⑤内皮細胞を刺激して内皮細胞からVWFや組織プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)などを分泌させる酢酸デスマプレシン(desmopressin acetate: DDAVP)を健常者に投与すると、血漿中のVWFとt-PAのレベルは上昇するが、sTMレベルは上昇しない。

最近、血管病変のない健常時の血漿sTM値の高値は、内皮細胞上のTM発現がもともと高いことを反映しており、虚血性心疾患⁴⁾や脳梗塞⁵⁾

をむしろ発症しにくいとする成績が示されているが、健常時の血漿sTM値がはたして血管壁のTM発現の多さを示しているのか、その明らかなエビデンスはない。

1. 血漿sTM値が増加する疾患(表2)

a. 自己免疫疾患

全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus: SLE)は脈管炎、血管障害そして多臓器不全などを伴う自己免疫疾患である。SLE患者の血漿TM値は健常者のそれより高く、補体C3およびC4とは負の相関を示し、抗DNA抗体とは正相関することから、SLEにおける血管内皮細胞障害を反映する指標として有用とされている。また、抗リン脂質抗体症候群患者およびループスアンチコアグラント(lupus anticoagulant: LA)患者でも血漿sTMの高値が報告されている。その機序として、患者血漿中の自己抗体が血管内皮細胞上で抗原と免疫複合体を形成し、その複合体との接触で活性化された白血球が内皮細胞を障害し、TMを血漿中へ逸脱したものと考えられている。

b. 播種性血管内凝固症候群(DIC)、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)および溶血性尿毒症(HUS)

DICは何らかの基礎疾患に基づく二次的な症候で、血管内のいたるところで血液が凝固し、その結果として凝固因子および血小板が消費され、線溶系が有意となり出血と多臓器不全を来す。一方、TTP(thrombotic thrombocytopenic purpura)およびHUS(hemolytic uremic syndrome)は溶血性貧血、神経症状、発熱、腎症を主要な徴候とし、広範な細動脈血栓が形成される。HUSは主にペロ毒素を産生する腸管出血性大腸菌などの感染によるもので、TTPと比べフィブリンクロットに富んだ血栓が特徴である。これらの疾患の発症は血管内皮細胞の傷害が引き金になると考えられており、患者の血漿sTM値は非発症患者のそれに比べ高値であることが多く報告されている。さらに、血漿sTM値がこれらの疾患の予後

表2 血漿 TM 値が異常を示す各種疾患

疾患名	特徴
自己免疫疾患	SLE で血漿 sTM が増加 (Clin Exp Rheumatol 9 : 495-9, 1991, J Rheumatol 19 : 1704-9, 1992) SLE の活性度を反映して血漿 sTM が増加 (Arthritis Rheum 37 : 572-7, 1994, Clin Exp Rheumatol 15 : 59-65, 1997) 血漿 sTM は、他のどの血清学的マーカーよりも SLE 活性と相関 (Lupus ; 8 : 737-41, 1999, Clin Exp Immunol 119 : 189-95, 2000) 抗リン脂質抗体を有する方が (Blood 79 : 837-8, 1992), ループスアンチコアグラント陽性の方が (Acta Haematol 88 : 22-6, 1992), ループス腎炎の既往のある SLE の方が (J Rheumatol 28 : 514-9, 2001), より血漿 sTM が高値 小児期 SLE および若年性特発性関節炎の活動性指標に一致して sTM 上昇 (Pediatr Allergy Immunol 15 : 270-7, 2004) RA で血漿 sTM が増加し、関節腔滑液中に sTM が存在 (Blood 81 : 726-33, 1993) 活動性 RA 患者を薬物治療すると、病状の改善とともに、sTM や sE-selectin が正常者レベルに低下 (Clin Rheumatol 23 : 430-4, 2004)
DIC, TTP, HUS	DIC では血漿 sTM が高い (Acta Haematol Jpn 51 : 1387-94, 1998, Blood 76 : 2024-9, 1990) DIC 死亡例で更に血漿 sTM が高く、逆に DIC 改善により低下 (Thromb Haemost 68 : 404-6, 1992, Am J Hematol 38 : 281-7, 1991, Am J Hematol 39 : 20-4, 1992 J Med 30 : 19-29, 1999) TTP, HUS で血漿 sTM が高く、死亡例では更に高値 (Am J Hematol 58 : 189-94, 1998, Clin Appl Thromb Hemost 7 : 5-9, 2001)
糖尿病	糖尿患者の血漿 sTM は腎不全で著しく高値だが、腎症なしでも高く細小血管症と関連 (Diabetes Res Clin Pract 10 : 193-6, 1990, Diabetes 39 : 983-8, 1990, Clin Chem 37 : 269-72, 1991) 糖尿患者の血漿・尿 sTM は初期腎症のマーカー (Clin Chim Acta 225 : 89-96, 1994) 2 型糖尿病において、血漿 sTM、可溶性フィブリノモノマーは尿中アルブミン排泄と比例 (Blood Coagul Fibrinolysis 8 : 303-7, 1997)
虚血性心疾患	血漿 sTM は虚血性心疾患における動脈硬化の程度のマーカー (Eur J Haematol 59 : 115-20, 1997) 冠動脈造影後に sTM、P-selectin、VWF 上昇 (Blood Coagul Fibrinolysis 10 : 381-7, 1999) 血漿 sTM 高値は心血管イベントの再発リスク (Lancet 353 : 1729-34, 1999) 血漿 sTM 高値の健常者は初発の心血管イベントを発生しにくい (Lancet 353 : 1729-34, 1999) 血漿 sICAM が高値でも sTM が低ければ心血管イベントを起こしにくい (Circulation 107 : 1729-32, 2003) 血漿 sTM 濃度の冠状動脈大動脈格差は、冠動脈病変の重症度と弱い正相関 (Jpn Heart J 44 : 601-12, 2003) 前向き試験により、VWF、free-TFPI は心血管イベントのリスクマーカーとなりえたが、sTM はならず (Circulation 109 (11) : 1343-8, 2004) 血漿 sTM が PCI 施行後の炎症マーカーの増加に一致して増加し、内皮障害と関連 (Clin Cardiol 27 : 407-10, 2004)
末梢動脈病変	症候性末梢動脈閉塞症で血漿 sTM が動脈硬化の程度 (なし < 1 箇所 < 多箇所) に応じて高値 (Eur J Clin Invest 27 : 916-21, 1997) 血管形成術後の再開塞者で血漿 sTM 増加 (Atherosclerosis 142 : 193-200, 1999) 血漿 sTM、VWF は末梢動脈閉塞患者の方が動脈患者より高値 (Blood Coagul Fibrinolysis 9 : 479-84, 1998)
血管炎	血漿 sTM は Wegener 肉芽腫などの全身性の血管炎で増加 (Am J Med 101 : 387-94, 1996)
高ホモシステイン血症	高ホモシステイン血症に対する葉酸・ビタミン B6 投与 3 ヶ月に血漿 sTM 低下 (Br J Haematol 107 : 776-8, 1999)
心停止	人工蘇生術で血漿 sTM 上昇 (Intensive Care Med 25 : 588-93, 1999)
心房細動	初発急性心房細動患者の発症 24 時間以内に血漿 sTM 上昇 (Heart 90 : 1162-6, 2004)
脳血管障害	慢性脳血栓症患者の血漿 sTM 高値 (Blood Coagul Fibrinolysis 8 : 391-6, 1997) 血漿 sTM の増加は初発脳梗塞のネガティブマーカーに、再発のポジティブマーカーとなる (Stroke. 2004 Aug ; 35 (8) : 1946-51, 2004) 急性脳梗塞患者の入院時血漿 sTM は、重症度と負の相関、アテローム血性脳梗塞患者では発症 1 ヶ月後の sTM が増加 (Eur J Neurol 11 : 329-34, 2004)
腎機能障害	腎不全患者に腎移植をすると血漿、尿 sTM の異常が改善 (Transplantation 50 : 1066-9, 1990) 透析患者では血漿 sTM、VWF が高値だが、sTM は透析期間と正相関、VWF は負相関 (Thromb Res 58 : 413-9, 1990) 慢性腎不全で上昇する血漿 sTM は腎不全の程度、出血時間、血小板凝集と関連 (Thromb Res 88 : 465-72, 1997) アレルギー性腎症で血漿 sTM 上昇 (Arch Dis Child 78 : 240-4, 1998)
肝障害、肝移植	劇症肝炎、肝硬変、活動性の慢性肝炎で血漿 sTM 増加 (Gastroenterol Jpn 25 : 661, 1990) 肝移植後、好中球エラスターゼによって血漿 sTM 上昇 (Transplantation 60 : 462-6, 1995, Transplantation 62 : 916-20, 1996) 血漿 sTM およびクレアチニンキナーゼ BB は肝移植後の内皮障害マーカー (Liver 16 : 237-40, 1996) 地中海熱熱で血漿 sTM 上昇は肝融解のマーカー (Thromb Haemost 82 : 1769-70, 1999)
高血圧症	高血圧患者の血漿 sTM、PAI-1 上昇、ACE 阻害薬にて低下 (Am J Hypertens 12 : 1071-6, 1999) 高血圧患者の血漿 sTM 高値は潜在的動脈硬化を反映する (Hypertens Res 26 : 479-83, 2003)
妊娠中毒症	血漿 sTM は妊娠中毒の血圧上昇よりも preeclampsia のマーカー (Obstet Gynecol 86 : 897-9, 1995) 妊娠高血圧で増加する VWF、E-selectin、sTM のうち、sTM のみが独立した予知マーカーとして有用 (Thromb Res 113 : 123-8, 2004)
高脂血症	複合型高脂血症患者のうち、メタボリック症候群の特徴を有する症例では PAI-1 と sTM が高値である (Atherosclerosis 175 : 345-51, 2004)
スタチン	心臓移植患者で上昇する血漿 sTM をプラバスタチンにて抑制 (Thromb Haemost 83 : 46-8, 2000) CAPD 患者で上昇する血漿 sCD 40 リガンド、sTM の高値をシンバスタチンが是正する (Blood Coagul Fibrinolysis 15 : 463-7, 2004) CHD 患者に 1 年間シンバスタチンかアトルバスタチン投与しても血漿 sTM 変化なし (Atherosclerosis 162 : 179-85, 2002)
肥満	肥満特に腹部肥満の女性では血中のレプチン濃度とともに血漿 sTM、sVCAM-1 が増加しており、減量とともに低下する (Atherosclerosis 172 : 175-80, 2004)
骨髄移植	移植後の敗血症、肝障害、GVHD 併発で血漿 sTM 上昇 (Ann Haematol 76 : 61-5, 1998) 移植後の死亡例では血漿 sTM 増加 (Clin Appl Thromb Hemost 10 : 341-50, 2004)
HIV 感染	HIV 感染者では血漿 sTM、VWF が上昇 (Thromb Haemost 80 : 1015-7, 1998) 抗ウイルス治療によりリポアトロフィーを来す症例は、インスリン抵抗性と sTM が増加 (Thromb Res 110 : 93-8, 2003)
未熟児・新生児	新生児・乳児の血漿 sTM は呼吸困難症 (RDS) の病態程度と比例 (Eur J Pediatr 157 : 327-30, 1998) 未熟児の血漿 sTM 高値は内皮傷害または腎排泄の低下 (Acta Paediatr 86 : 1105-9, 1997)
神経膠芽腫	血漿 sTM は神経膠芽腫の再発および血管新生のマーカー (Cancer Lett 146 : 169-72, 1999)
膵炎	潰瘍性大腸炎患者より急性限局性小腸炎患者で血漿 sTM 上昇 (J Pediatr Gastroenterol Nutr 28 : 418-22, 1999)

良否の推定に有効とする成績もみられる。トロンビン・アンチトロンビン複合体(TAT)、Dダイマー、可溶性フィブリンモノマーなどは凝固亢進状態を反映するので、これらの疾患の発症と正相関を示すが、予後の良否とは相関しない。一方、これらの疾患による死亡例の血漿 sTM 値は、生存例に比し著しく高値で、予後の良否あるいは多臓器不全のマーカーとして有効であるというものである。

c. 糖尿病

糖尿病において血漿 sTM 値が増加するとの報告は、著者をはじめとしてこれまでに数多くみられ、内皮細胞傷害に起因すると推測されている。しかし、糖尿病腎症による腎機能の低下により血漿 sTM 値は大きく影響を受け、その値は増加する。2型糖尿病において、蛋白尿を伴った患者の血漿 sTM 値は蛋白尿を伴っていない患者や健常者のそれより約2倍高値を示す。血漿 sTM 値は腎症2期の微量アルブミン尿期ですでに増加し、3期の顕性蛋白尿期ではさらに増加する。一方、糖尿病網膜症と血漿 sTM 値の関係をみると、前増殖性>増殖性>非増殖性網膜症の順で高値を示し、この傾向は腎症を除いた糖尿病患者でも認められる。ストレプトゾドシン(streptozocin: STZ)誘発糖尿病ラットを用いた成績では、対照ラットに比しSTZ投与8日後の肺、脾、腎、脾臓の組織内TM量は有意に低下し、血漿および尿中sTM値の有意な上昇が、血管内皮細胞の傷害を示す走査型電子顕微鏡像とともに観察されている⁶⁾。このモデル動物実験では血清クレアチニン値が対照群と同じ健常域にあり、腎障害を伴わない糖尿病患者の病態と酷似していた。以上のことから、糖尿病患者での血漿sTM値は腎症がない段階でも高値を示し、2期以上の腎症によってさらに上昇するものの、細小血管症や大血管症を予知する分子マーカーとして有用と考えられる。他方、尿sTMと尿クレアチニンの比は尿中アルブミンより速く変動し、糖尿病早期腎症の診断に有効である可能性が指摘されている。おそらく、尿sTMは糖尿病に限らず、微量アルブミン尿よ

りも早期に腎機能障害を反映して増加するものと思われる。

d. 虚血性心疾患

心血管イベントの再発と血漿sTM値との間に正相関があること、冠動脈性心疾患や末梢動脈閉塞症などの動脈硬化性疾患と血漿sTM値も正相関することが報告されている。しかしながら、前述したように健常者の血漿sTM高値例では、むしろ心血管イベントの初発が少ないという成績が示されるようになってきている。

e. その他の疾患

その他にも種々の疾患で血漿または尿中sTM値が変動することが報告されている(表2)。

異常値のピットフォール

前項の糖尿病で取り上げたように、血漿sTM値は血管内皮傷害を反映して増加するだけでなく、腎機能の低下によっても増加する。しかも、血清クレアチニンの上昇のみられない腎機能障害の段階でも増加する。したがって、血漿sTM値の異常高値を認めた場合には、まず腎機能障害による影響を受けていないか注意する必要がある。尿sTMは主に血漿sTMに由来しており、腎機能低下による血漿sTM値の増加は尿sTMの排泄低下に起因していると考えられる。実際、腎不全患者に腎移植を施すと血漿および尿sTM値の異常は改善される。しかし一方で、ネフローゼ症候群のように尿中への蛋白質の漏れが増加しても尿中へのsTM排泄増加や血漿sTM値の低下は観察されない。腎透析患者の血漿sTMとVWFのレベルは健常者レベルより高く、sTM値は透析期間と正相関の関係にあり、VWFは逆に透析期間とは逆相関するとの報告がある。これらのことは、透析期間が長くなると内皮細胞の障害が進み、血漿sTM値は上昇し、一方で刺激に対する内皮細胞の反応性が低下するためにVWF値は低下するのではないかと想定されている。

検査方法

市販されている測定試薬の測定原理は2種類以

上のモノクローナル抗体を組み合わせた1段法サンドイッチ酵素抗体法(ELISA)である。血液検体は血漿および血清いずれでもよい。血漿の場合、抗凝固薬としてはEDTA-2 Naまたは3.8%クエン酸を用いる。クエン酸を用いた場合、希釈された分だけ測定値は低くなるので注意が必要である。血漿・血清または尿の保存は冷蔵で5日間、凍結保存で6ヵ月間は安定であるが、凍結融解の繰り返しは避ける。防腐剤としてアジ化ナトリウムの使用は避ける。

References

- 1) 石井秀美：トロンボモジュリン その臨床的意義。Annual Review 血液 2001 : 247-256, 2001
- 2) Masamura K, Oida K, Kanehara H, et al : Pitavastatin-induced thrombomodulin expression by endothelial cells acts via inhibition of small G proteins of the Rho family. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23 : 512-517, 2003
- 3) 石井秀美：血管内皮細胞障害マーカーとしてのトロンボモジュリン。血液・腫瘍 28 : 248-256, 1994
- 4) Wu KK : Soluble thrombomodulin and coronary heart disease. *Review Curr Opin Lipidol* 14 : 373-375, 2003
- 5) Olivot JM, Labreuche J, Aiach M, et al : Soluble thrombomodulin and brain infarction : case-control and prospective study. *Stroke* 35 : 1946-1951, 2004
- 6) Nakano M, Furutani M, Shinno H, et al : Elevation of soluble thrombomodulin antigen levels in the serum and urine of streptozotocin-induced diabetes model rats. *Thromb Res* 99 : 83-91, 2000