



Episode 15

血栓溶解と止血

本コーナーのタイトル「Be Ambitious!」はウィリアム・エス・クラーク博士の名言“Boys, be ambitious like this old man”から拝借しました。「未来を自ら切り拓くべし」という後進への強い期待の意も込めて、長年に渡り、血液学の世界で活躍して来られた名誉会員の先生方から現役の先生方に向けた熱く且つ含蓄豊かなメッセージをお届けいたします。



東京医科歯科大学名誉教授
青木 延雄

最初の誤診・誤報



医学部を卒業して研修医3年目の頃（1957年の頃）のことです。外来で止血異常の患者の検査を受け持ちました。当時は、検査技師なるものは存在しないか、存在しても極めて少なく、勿論中央検査室なるものは存在せず、検査は原則として殆ど受け持ち医が行っていました。千葉から来た若い女性患者が幼少時より紫斑ができ易いとのことで、研究室で採血して、いろいろしらべてみました。当時は血小板の数・活性などを正確に測定する方法、勿論血小板凝集計などはなく、VIII因子をはじめとして凝固因子の正確な測定法も存在しなかったと思います。勿論、von Willebrand因子の測定もできなかったと思います。しかし、なんと大胆に、von Willebrand病として、1960年（昭和35年）の“臨床血液”創刊号に研究室仲間との共著の中で発表しました¹⁾。それから20年後、当時勤務していた自治医科大学に、その患者から電話がありました。その患者が千葉大学を受診した際に、昔、東大で私の診察を受けたことがあると言い、私が渡した病名などを書いたメモを取り出して見せたところ、「その医者は今自治医大にいる」と言われ、早速、自治医大の私のところに電話をかけてきたわけです。ぜひ、もう一回診察してくれということで、はるばる千葉の田舎から自治医大まで来られました。患者は、その後、無事に妊娠・出産し、子供も特に異常なく成人になったとのことで、依然、時折出血斑は出るが大事はなかったとのことでした。患者は古い紙を取り出して見せてくれましたが、それには、まぎれもなく私の筆跡で病気の説明と日常生活での注意が書いてありました。後生大事に持っていてくれたらしく、黄色くなって、ぼろぼろになったその紙を見て、私は大変嬉しく、医者冥利に尽きることは、このようなことかなと思いました。ところが、早速、採血してよくしらべてみますと、血小板無力症であり、von Willebrand病ではないことが分かりました。昔は血小板凝集検査などを含め検査法が不備で、von Willebrand病の病態も不明な点が多く von Willebrand因子の測定は勿論できなかったのにも拘わらず von Willebrand病と診断したことは、何ともうかつで、いい加減な推論で診断したことになり、恥じ入るばかりです。

Vascular plasminogen activator (VPA) と tPA



1890年以降、採血後、試験管内でできた血液凝塊は、種々の

条件で溶けることが観察され、特に、ショックとか種々の薬物で血管が収縮または拡張すると強く出現することや、組織標本上に作成したフィブリン膜の溶解の観察などから、その現象は血管壁内皮から分泌されて循環血中に出現する物質がフィブリンに吸着してフィブリンを溶かすためと考えられた。その物質は、直接フィブリンを溶かすのではなく、プラスミノゲンを活性化してフィブリン溶解酵素プラスミンにするプラスミノゲン活性化酵素であり、できたプラスミンがフィブリンを溶かすと理解された。そのプラスミノゲン活性化酵素 (plasminogen activator, PA) は血管由来であるので、我々は vascular plasminogen activator (VPA) または単に vascular activator とよんだ。そこで、この VPA を物質として取り出せないかと考えた。留学でコロラド大学医学部内科に在籍中の 1971 年のことである。外科で静脈瘤の手術の際得られた静脈切片をもらい、その静脈片の両端を閉じるように結んで、その静脈内に生食を注入し、しばらくしてから、その注入した生食を抜き取ってしらべると極めて高い PA 活性が認められた。しかし量が少ないので、より多量に得られる方法として、病理の協力を得てヒトの死体解剖の際に腸骨動脈から灌流液を流し込み、静脈側から出てくる液を集めてしらべてみると、かなりの PA 活性が認められ、そこから VPA の精製を試みた。数回の試行錯誤の結果、数回の灌流液から、ある程度の部分精製物を得ることができた²⁾。この部分精製物でプラスミノゲン活性化反応と抗原性をしらべてみると、唯一の既存の精製 PA である尿由来のウロキナーゼ (UK) とは異なることが判明した³⁾。帰国後、短期間、東邦大学医学部生化学と自治医大で細々と VPA の精製を試み始めた⁴⁾ が、環境を整えることができず成果は全くあがらなかった。そのうち、オーストリアの Binder も我々と同じ方法で得た血管灌流液からある程度 VPA の精製に成功したが、収量が少なく、推定分子量 67,000 の一本鎖のセリンプロテアーゼであることを明らかにしたのみであった。さらにフィブリンへの親和性がウロキナーゼ (UK) より著しく強いことが示された。これらの研究は 1971 年から 1980 年の間に行われた。

一方、多くの研究者によりヒトを含めた各種哺乳動物の組織から PA が分離精製され、UK とは異なった PA であり tissue type PA (tPA) と称された。そのうち、組織学的に PA の局在を同定する試みが行われ、tPA は血管内皮由来であり、さらにヒト血管内皮細胞培養液中からも証明され、VPA は結局 tPA と同一のものとされた。1981 年にメラノーマ細胞培養液に多量の tPA が見出され、その培養液から tPA が精製され、tPA の物理化学的・生物学的性状が解明された。特に得られた tPA の抗体により血中 PA ひいては VPA も免疫学的に tPA と同一であることが判明し、以来、VPA なる用語も用いられなくなり、VPA を直接ヒト

血管内皮細胞培養液などから精製して、その性質をしらべようという研究も行われなくなった。メラノーマ tPA から得られた情報を基にして、組換え tPA が作成され、製品化され臨床の場で血栓性疾患、心筋梗塞、脳梗塞などの急性期に有効な血栓溶解剤として使用されるに至った。

血栓溶解の阻止因子



以上述べたように、フィブリン溶解 (血栓溶解) は、生理的には、主として血管由来の tPA すなわち VPA によって行われることが明らかになった。そのフィブリン溶解を阻止する血中因子として、1970 年代には、単純にプラスミンを阻止する因子としての $\alpha 2M$ と $\alpha 1AT$ が考えられていた。これらの因子は、遊離のプラスミン活性を時間をかけて、ゆっくりと中和する能力が高い。しかし、プラスミノゲン活性化酵素である UK, VPA, tPA 等の PA を用いたフィブリン溶解系でしらべてみると、 $\alpha 2M$, $\alpha 1AT$ は阻止因子としては有効ではないことが判明した。すなわち、市販の粗製フィブリンノゲン (この中には多量のプラスミノゲンが含まれている) に PA を加え、さらにトロンピンを加えて形成されるフィブリンの溶解を観察すると、主として、その溶解を阻止する血中因子は $\alpha 2M$, $\alpha 1AT$ 以外の未知の因子によるものであることが判明した。すなわち、血漿のゲル濾過分画で、 $\alpha 2M$, $\alpha 1AT$ のピークとは異なるところにフィブリン溶解阻止活性のピークが認められ、また、その阻止活性は $\alpha 2M$, $\alpha 1AT$ の抗体とは反応しないことが確かめられた。新しい未知の阻止因子 (インヒビター) の発見である。

$\alpha 2$ -plasmin inhibitor



前項に述べたように、PA を加えて起こるフィブリン溶解を最も効果的に阻止する血漿中の因子は既知の因子とは異なる新しい因子であることが分かって、そのものが何であるかを追求する努力が自治医大で引き続き行われた。しかし、血漿蛋白の精製という生化学の技術に疎い MD の私にとっては難しいことであった。試行錯誤の結果、ある程度の精度のものが得られたが、充分ではない。そこで、この道に慣れた PhD である諸井将明君 (当時は、東大理学部大学院を終えたばかりであったが、その後、久留米大学の生化学教授になられた) の助けを求め、単一の成分として血漿から取り出すことに成功した⁵⁾。取り出された物は plasminogen, plasmin に親和性が強く、plasmin 活性を即時的 (時間をかけずに極めてすみやかに) に阻害する。電気泳動的に $\alpha 2$ 分画に

属するので、 $\alpha 2$ -plasmin inhibitor ($\alpha 2$ PI) と命名した⁵⁾。 $\alpha 2$ PI は単なるプラスミンのインヒビターであるのみならず、さらに二つの重要な性質を有することが判明した。一つは plasminogen に親和性が強いという性質があり、フィブリン溶解（血栓溶解）の初期段階である plasminogen のフィブリンへの結合を競争的に阻害する。他は凝固の際にトロンビンによって活性化された XIII 因子（フィブリン安定化因子ともよばれる）によりフィブリンに不可逆的に結合することである。フィブリンに結合することにより、フィブリン分子上でフィブリンを直接的にプラスミンの作用から保護する^{6~8)}。これらの性質により、 $\alpha 2$ PI は単に plasmin 活性のインヒビターであるだけでなく、フィブリン溶解（血栓溶解）のインヒビターとして有効に働いていることになる。

$\alpha 2$ -plasmin inhibitor ($\alpha 2$ PI) の生理的意義



$\alpha 2$ PI の抗体をウサギに作成し、その抗体を用いて各種患者血漿中の $\alpha 2$ PI 抗原量を測定した⁹⁾。肝疾患特に肝硬変その他肝細胞の障害がある場合には $\alpha 2$ PI の血中レベルの低下が見られ、 $\alpha 2$ PI は肝臓で産生されていることが示唆された。その後、蛍光抗体法を利用して組織をしらべると、肝実質細胞が染まり、 $\alpha 2$ PI は肝で産生されることが示された。DIC その他血栓性疾患で $\alpha 2$ PI のレベルの低下が見られ、血管内のフィブリン形成に伴ういわゆる二次線溶の結果、消費されて低下することが示唆された⁹⁾。実際、後日、これらの場合には、プラスミンが $\alpha 2$ PI によって中和されて形成されるプラスミン・ $\alpha 2$ PI 複合体の血中レベルが上昇することが観察された。このように、 $\alpha 2$ PI は生体内で血栓溶解阻止に働いていることが示された。しかし、 $\alpha 2$ PI の生理的意義を決定づけたのは、先天性 $\alpha 2$ PI 欠損症の発見である¹⁰⁾。

先天性 $\alpha 2$ PI 欠損症の発見



沖縄の那覇市で開業しておられた古波蔵正照博士は、幼児より出血傾向のある 16 歳の男の患者を診察した。患者は 3 歳頃よりわずかな外傷でも出血がなかなか止まらないことに気付かれていた。10 歳を過ぎてからは皮下出血、関節内出血などが出現し血友病が疑われた。しかし、止血に関するルーチン検査はいずれも正常範囲で、“血友病らしい疾患”だが詳細不明とされていた。1972 年 6 月に患者は自然気胸を起こして古波蔵クリニックに入院した。その際、全血凝固時間あるいはカルシウム再加凝固時間

の検査でいったん固まったフィブリン塊が翌日には完全に溶解していることに気付かれた。まず XIII 因子の異常を疑い、患者の凍結血漿を母校の名古屋大学第一内科（神谷忠、鯉江捷夫両博士）に送られ検査を依頼された。しかし、結果は XIII 因子欠損に否定であった。次の可能性として凝固の接触相の異常による線溶の亢進が考えられた。そこで、当時 Cleveland の Case Western Reserve 大学において接触相の研究を活発に行っておられた同じ名古屋大学第一内科出身の斎藤英彦先生が一時帰国された際に患者凍結血漿を預け検査を依頼された。斎藤先生は丁度私と共同研究を始めた頃であり、同じく米国に戻られる際に $\alpha 2$ PI の抗体を患者凍結血漿と共に持ち帰った。そして、研究室に戻られてから患者血漿と抗体を掛け合わせてみたら反応がみられない。すなわち患者血漿には $\alpha 2$ PI の抗原がないことをみつけられた。先天性 $\alpha 2$ PI 欠損症の発見である¹⁰⁾。

この報告を受け、神谷、鯉江両先生と私は沖縄に飛び、古波蔵先生があらかじめ調査された家系成員のそれぞれと患者についての検査を行った。患者より採血した血液は試験管内でいったん固まるが、その後目に見えて凝塊が小さくなり、数時間で消えていく有様を見たとき、また精製 $\alpha 2$ PI を採血直後に血液に微量添加するだけで、この溶解が完全に阻止されるのを見たときには、一種の感動を禁じえなかった。この患者の出血傾向は、止血のために局所にできた微小血栓（止血栓）が $\alpha 2$ PI がいないために容易に溶けることによって再出血するためと説明できる。すなわち、 $\alpha 2$ PI は単にフィブリン溶解の阻止因子であるというより、それによって止血機序にも深く関わっていると考えられる。また、 $\alpha 2$ PI がいないだけで血栓が容易に溶けるということは、生体には通常、血栓を自然に溶かす能力が備わっているが $\alpha 2$ PI によって覆い隠されていると理解できる。

家系成員の検査により、この欠損家系は常染色体劣性遺伝によることが分かり、ヘテロの成員の血中 $\alpha 2$ PI レベルは正常の半分しかないが出血傾向を呈しないことが認められた。この沖縄の先天性遺伝性 $\alpha 2$ PI 欠損症は世界で初めての第 1 例であり、その後第 2 例（白人）がカリフォルニアから、第 3 例が奈良医大から報告されており、2000 年の時点で世界で 20 家系が報告されていたが、現在どの位存在するかは不明ようである。

生理的血栓溶解機序とその抑制機序



$\alpha 2$ PI 欠損患者血漿のみならず人工的に抗 $\alpha 2$ PI 抗体を加えて作成した $\alpha 2$ PI 欠損血漿等を用いた実験の結果から生理的血栓溶解機序とその抑制機序の解明が進んだ。 $\alpha 2$ PI 欠損血漿を試験管

内に放置しておいても何ら変化が起きないが、凝固してフィブリンが析出すると、または他で作成したフィブリンを添加すると、それだけでプラスミノーゲンの活性化が起こりフィブリンの溶解が進行する^{11, 12)}。すなわち、フィブリンの存在が一連の生理的フィブリン溶解機序の発動に必要にして十分な条件である。広汎に血管内にフィブリンが析出する DIC では、フィブリン溶解が例外なしに認められ、それに伴った $\alpha 2\text{PI}$ の消費による減少が認められる。さらに主として $\alpha 2\text{PI}$ 欠損血漿を用いた詳細な実験結果から、フィブリン（フィブリノゲンではない）にプラスミノーゲン、プラスミノーゲン活性化酵素（前述の vascular plasminogen activator, VPA）が結合して、フィブリン分子上でプラスミノーゲンが活性化してプラスミンが生成してフィブリン溶解が始まることが分かった¹²⁾。 $\alpha 2\text{PI}$ がこの一連の反応を、先ずプラスミノーゲンがフィブリンに結合することを阻止し、最終的にはフィブリン上にて生成するプラスミンを即座に阻止することにより、フィブリン溶解を効果的に阻止している。なお、プラスミノーゲンのフィブリンへの結合に阻止的に働く合成薬物トランサミンが抗フィブリン溶解剤（抗線溶薬）として用いられているが、 $\alpha 2\text{PI}$ 欠損患者の出血傾向にも有効である。 $\alpha 2\text{PI}$ 欠損患者では、これらの阻止反応が起きないため、止血のためにできた止血栓の溶解が容易に起き、止血栓の早期崩壊を来し出血傾向が出現するものと理解できる。さらに、フィブリン（血栓）溶解機序が生理的に存在しているが通常 $\alpha 2\text{PI}$ によって抑制されていることと、その生理的フィブリン溶解機序は試験管内凝塊を数時間で完全に溶かしてしまうほど強力なものであることが示された。

血栓溶解療法



抗血栓療法としては、主として抗血小板療法、抗凝固療法が行われているが、血栓溶解療法も考慮される。現在、心筋梗塞、脳梗塞の急性期になるべく早期に、主として組替え tPA の血管内投与による血栓溶解療法が行われている。しかし、生理的に血栓を溶解する強力な機序が存在しているが通常抑制され隠されていることが明らかになったことから、これらの知見を利用して血栓形成を抑制し予防する何らかの方法が考えられないであろうか。薬物主として血管作動性薬物を投与すると、一過性に VPA の増加が認められるが、薬物によって持続的に血液の血栓溶解活性を増強させる試みの報告はない。運動を欠かさないことによって、ある程度 VPA の増加による血栓溶解能を維持することは考えられる。また、VPA は血管壁により産生されることから漠然と血管の“健康”を維持することが望ましいと想像される。一方、 $\alpha 2\text{PI}$ の血中レベルを低下させることは血栓溶解に有利に働くこ

とは考えられるが、 $\alpha 2\text{PI}$ は肝臓で恒常的に産生される蛋白で、その人為的制御は不可能に近い。同じく血栓溶解を抑制する PAI ンヒビター（PAI）は恒常的に産生される蛋白ではなく種々の刺激によって変動することが知られており、そのレベルを人為的に低下させることは可能と考えられ、その試みが行われたが、現在、実際に臨床で効果的に行われてはいないようである。

Disseminated intravascular coagulation (DIC)



1970 年代初頭に私はアメリカ・コロラド州 Denver のコロラド大学医学部内科学教室の血液部門で働いており、主として止血異常、血栓症関係の患者について担当医師（レジデント）の相談にのっていた。その多くは DIC であった。当時、日本では、DIC の存在は一般に認められること少なく、その実態については、多くの医師は無知であった。たとえば、帰国後、大学病院で求めに応じて DIC の話をしたが、演題名を示したポスターを見た友人の外科医の一人は“あまり新しい病気を作ってくれるなよ、面倒でしょうがない”と冗談めいて言ったのを覚えている。

Denver で経験した 52 例の DIC 症例の検査結果をまとめて、帰国後、1973 年に“臨床血液”に発表した¹³⁾。そのような多数例の DIC 症例の解析は当時日本にはなく、かなり注目された。その結果であろうか、1977 年度に厚生省の特定疾患研究班として、私を班長として初めて DIC 研究班が発足した。当時、日本以外では DIC は治療の対象ではなく研究対象にもなっていなかった。やがて、日本の DIC の研究が注目されるようになり、日本の厚生省 DIC 研究班の DIC 診断基準は、彼らが遅まきながら作成した国際血栓止血学会の DIC 診断基準に大きく取り入れられた。厚生省研究班の DIC 診断基準には、フィブリン溶解機序に伴う $\alpha 2\text{PI}$ の血中レベルの低下が取り入れられている。厚生省 DIC 研究班はその後、対象を DIC 以外にも拡大して、班名を“血液凝固異常症等に関する研究班”と変えて、班長を交替しながら現在まで継続されている。この研究班は、日本でのこの方面の研究の推進に多に貢献した。

文 献



- 1) 大屋匡人, 山中学, 菊池晃, 青木延雄, ほか. 最近経験せる血友病および類似疾患について. 臨血. 1960; 1: 182.
- 2) Aoki N, von Kaulla KN. The extraction of vascular plas-

- minogen activator from human cadavers and a description of some of its properties. *Am J Clin Path.* 1971; 55: 171-179.
- 3) Aoki N, von Kaulla. Disimilarity of human vascular plasminogen activator and human urokinase. *J Lab Clin Med.* 1974; 78: 354-362.
- 4) Aoki N. Preparation of plasminogen activator from vascular trees of human cadavers. *J Biochem.* 1976; 75: 731-741.
- 5) Moroi M, Aoki N. Isolation and characterization of α 2-plasmin inhibitor from human plasma. A novel proteinase inhibitor which inhibits activator-induced clot lysis. *J Biol Chem.* 1976; 251: 5956-5965.
- 6) Sakata Y, Aoki N. Cross-linking of α 2-plasmin inhibitor to fibrin by fibrin-stabilizing factor. *J Clin Invest.* 1980; 65: 290-297.
- 7) Sakata Y, Aoki N. Significance of cross-linking of α 2-plasmin inhibitor to fibrin in inhibition of fibrinolysis and in hemostasis. *J Clin Invest.* 1982; 69: 536-542.
- 8) Tamaki T, Aoki N. Cross-linking of α 2-plasmin inhibitor to fibrin catalyzed by activated fibrin-stabilizing factor. *J Biol Chem.* 1982; 257: 14767-14772.
- 9) Aoki N, Moroi M, Matsuda M, Tachiya K. The behavior of α 2-plasmin inhibitor in fibrinolytic states. *J Clin Invest.* 1977; 60: 361-369.
- 10) Aoki N, Saito H, Kamiya T, Koie K, Sakata Y, Kobakura M. Congenital deficiency of α 2-plasmin inhibitor associated with severe hemorrhagic tendency. *J Clin Invest.* 1979; 63: 877-884.
- 11) Aoki N, Sakata Y, Matsuda M, Tateno K. Fibrinolytic states in a patient with congenital deficiency of α 2-plasmin inhibitor. *Blood.* 1980; 55: 483-488.
- 12) Aoki N, Sakata Y, Ichinose A. Fibrin associated plasminogen activation in α 2-plasmin inhibitor deficiency. *Blood.* 1983; 62: 1118-1122.
- 13) 青木延雄. 汎発性血管内凝固 (DIC) 臨床例における凝固線溶系諸検査成績について. *臨血.* 1973; 14: 29-34.