

はじめに

1. 凝固反応は生体防御の一つ

外傷(ケガ)に伴う凝固 > 代謝に伴う凝固

2. 凝固に係わる役者の起源は一緒

仲良し = 異物の検知能力が高い

3. 主役は、血小板・トロンビン・プラスミン・フィブリノーゲン

2価の金属イオン

4. フィブリノーゲンは特異なたんぱく質

キナーゼ(リン酸化反応) > 他酵素

5. たんぱく質の生産

エネルギー : 血球 > 酵素

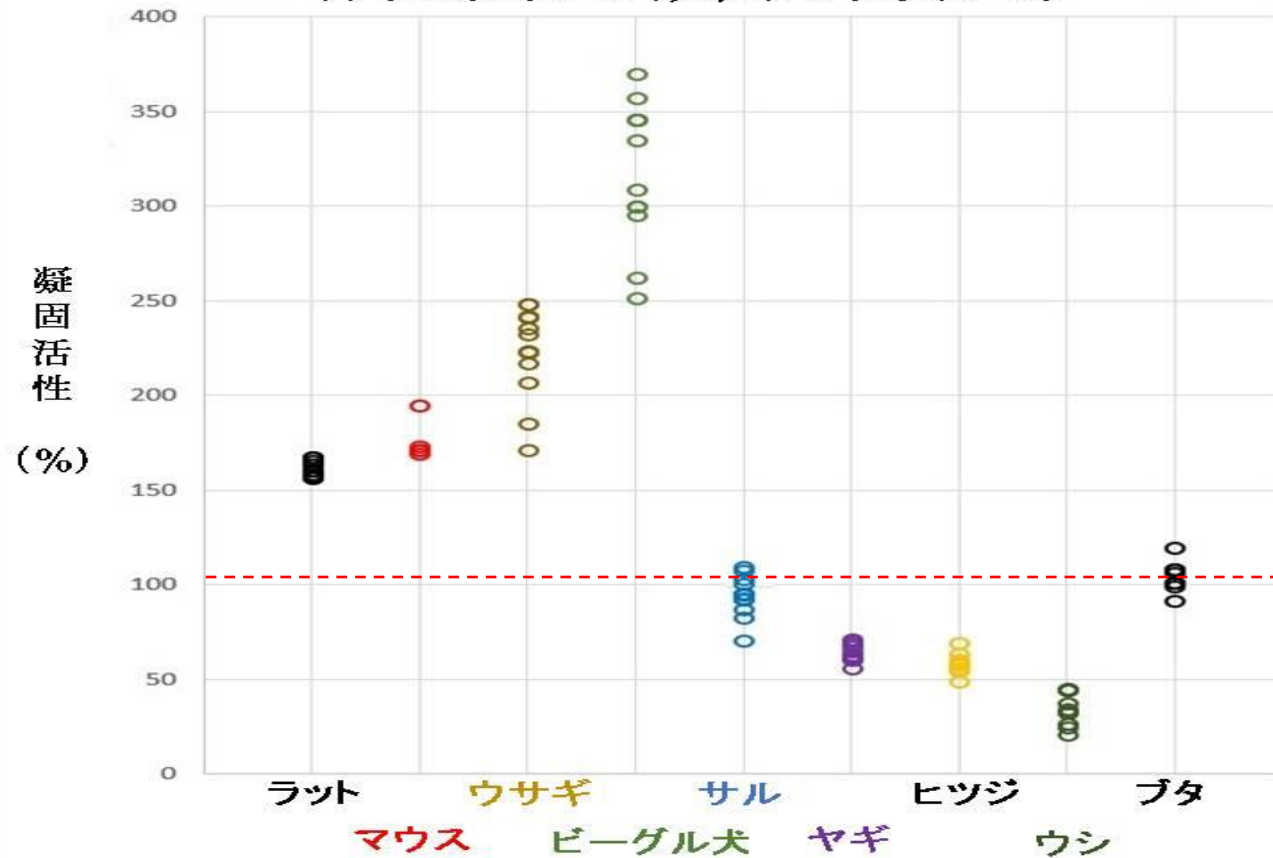
6. 全体を理解

未解明な部分が多い。各自の発想・展開で劇的進歩も！

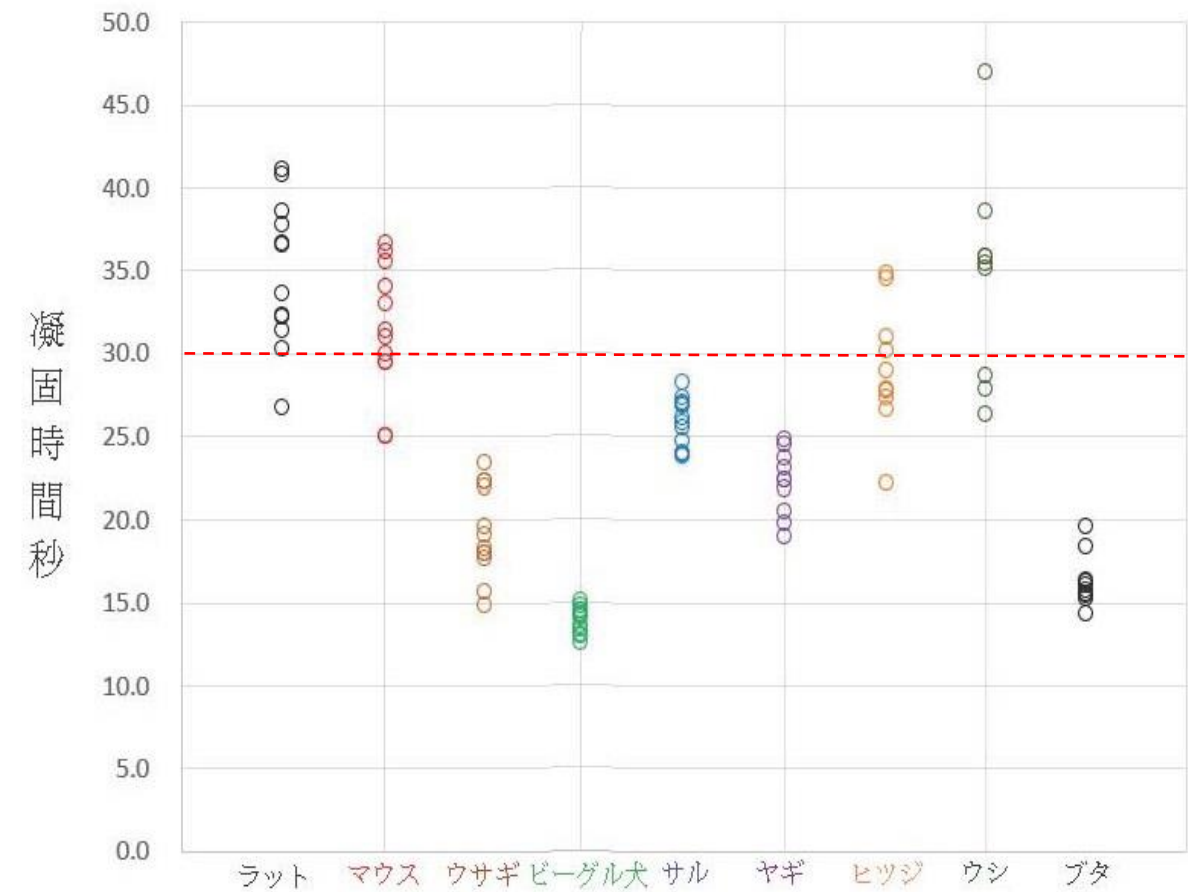
検査項目名	目的	方法
プロトロンビン時間(PT)	外因系の凝固活性を総合的に判定するスクリーニング検査。肝不全、凝固因子欠乏症で遅延し、血栓性静脈炎で短縮する。	生物活性法
活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	内因性凝固活性の指標。PTとともに出血性素因の疑われる患者でスクリーニングに用いられる。血友病で延長する。	生物活性法
フィブリノーゲン(FIB)	血栓を形成するフィブリンの前駆体。炎症で増加し、高度な肝機能障害、DIC等では減少する。	生物活性法
複合因子T(トロンボテスト)	ビタミンK依存性第Ⅱ、Ⅶ、Ⅹ因子の複合体を指し、抗凝血剤(ワーファリン)投与時のモニタリングに用いる検査。	生物活性法
複合因子H(ヘパプラスチンテスト) 血中FDP	凝固第Ⅱ、Ⅶ、Ⅹ因子の活性を総合的に定量する検査。凝固異常や肝障害の指標となり、PIVKAの影響を受けない点がトロンボテストより有用。	生物活性法
尿中FDP	線溶亢進状態の把握に用いられる検査。特にDIC、血栓溶解療法のモニタリングに有用。	抗体法
D-ダイマー	腎の局所における凝固線溶状態を反映する指標。腎疾患の病態鑑別に有用な検査。	抗体法
プロテインC《定量》	FDPとの併用で、一次・二次線溶亢進の鑑別に用いる検査。線維素溶解療法時のモニターとしても有用。	抗体法
プロテインC《活性》	血管内皮細胞で活性化され、抗凝固作用を発揮する、ビタミンK依存性蛋白質。欠損すると反復性の血栓塞栓症をきたす。	抗体法
プロテインS《遊離型抗原量》	血管内皮細胞で活性化され、抗凝固作用を発揮する、ビタミンK依存性蛋白質。欠損すると反復性の血栓塞栓症をきたす。	抗体法
プロテインS《活性》	肝由来の凝固阻害因子プロテインCの補酵素。主に下肢静脈血栓等の遺伝性血栓症の診断に用いられる。	抗体法
プラスミノーゲン活性(PIG)	肝由来の凝固阻害因子プロテインCの補酵素。主に下肢静脈血栓等の遺伝性血栓症の診断に用いられる。	抗体法
	線維素を溶解するプラスミンの前駆物質。肝臓で合成され、重症の肝疾患	抗体法

検査項目名	目的	方法
β-トロンボグロブリン(β-TG)	血小板活性化の指標。血栓性疾患や血栓症準備状況を反映して増加する蛋白質。	抗体法
血小板第4因子(PF-4)	血小板活性化の指標。血栓症の推定や、抗血小板剤のモニタリングに有用な蛋白質。	抗体法
トロンボモジュリン(TM)〈血清〉	血管内皮細胞で産生され、抗凝固作用と線溶促進作用を発揮する蛋白。全身性血管障害を来す疾患で高値を示す。	抗体法
トロンボモジュリン(TM)〈血漿〉	血管内皮細胞で産生され、抗凝固作用と線溶促進作用を発揮する蛋白。全身性血管障害を来す疾患で高値を示す。	抗体法
フォン・ウィルブランド因子定量(第VIII因子様抗原) フォン・ウィルブランド因子活性(リストセチンコファクター) ADAMTS13活性	止血機構および凝固亢進調節にかかわる高分子蛋白の定量測定。von Willebrand病では減少する。	抗体法
ADAMTS13インヒビター定性	止血因子であるフォンウィルブランド因子を特異的に切断する酵素。活性低下で血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)となる。	酵素法
ADAMTS13インヒビター定量	止血因子であるフォンウィルブランド因子を特異的に切断する酵素。活性低下で血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)となる。	酵素法
HIT抗体(血小板第4因子-ヘパリン複合体抗体)	止血因子であるフォンウィルブランド因子を特異的に切断する酵素。活性低下で血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)となる。	酵素法
第4因子-ヘパリン複合体抗体)	抗凝固薬ヘパリン投与で惹起される血小板減少症の診断マーカー。	酵素法
ループスアンチコ	陽性の場合、ヘパリン使用は禁忌とされる。	

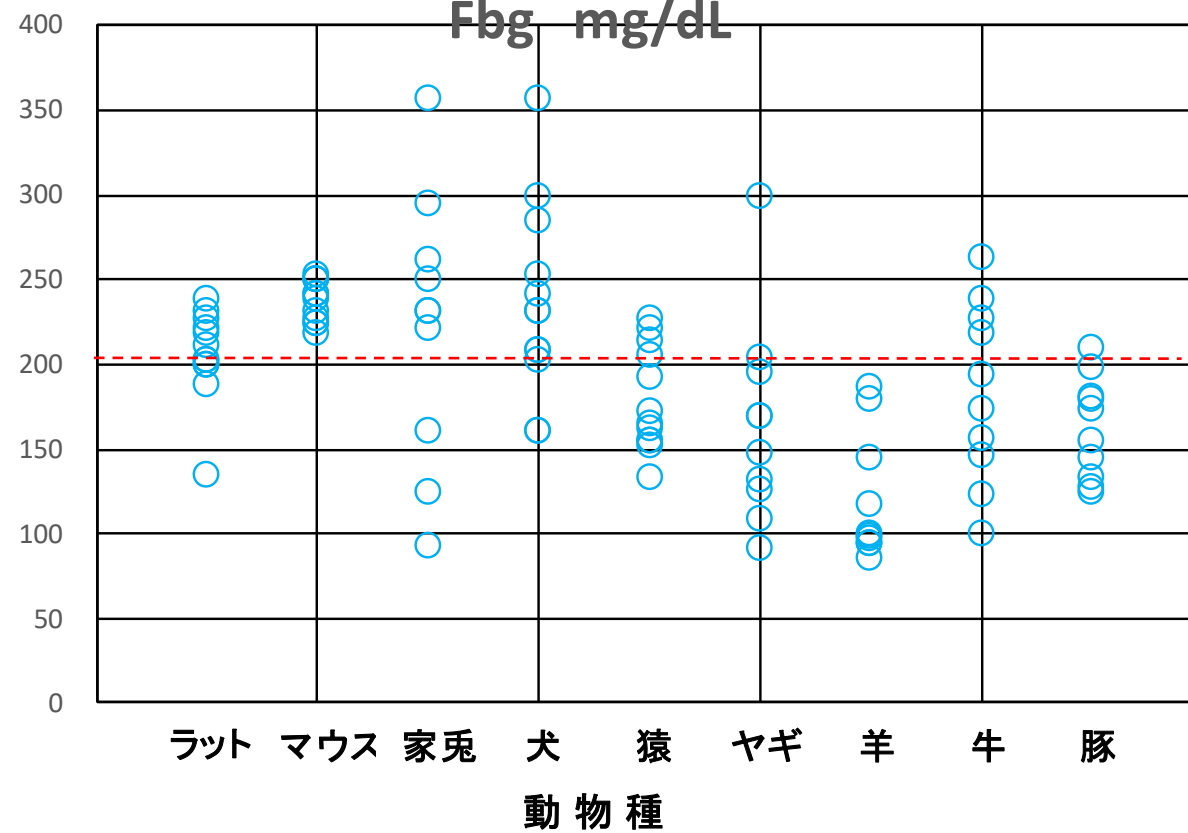
各種動物の凝固時間 (PT)



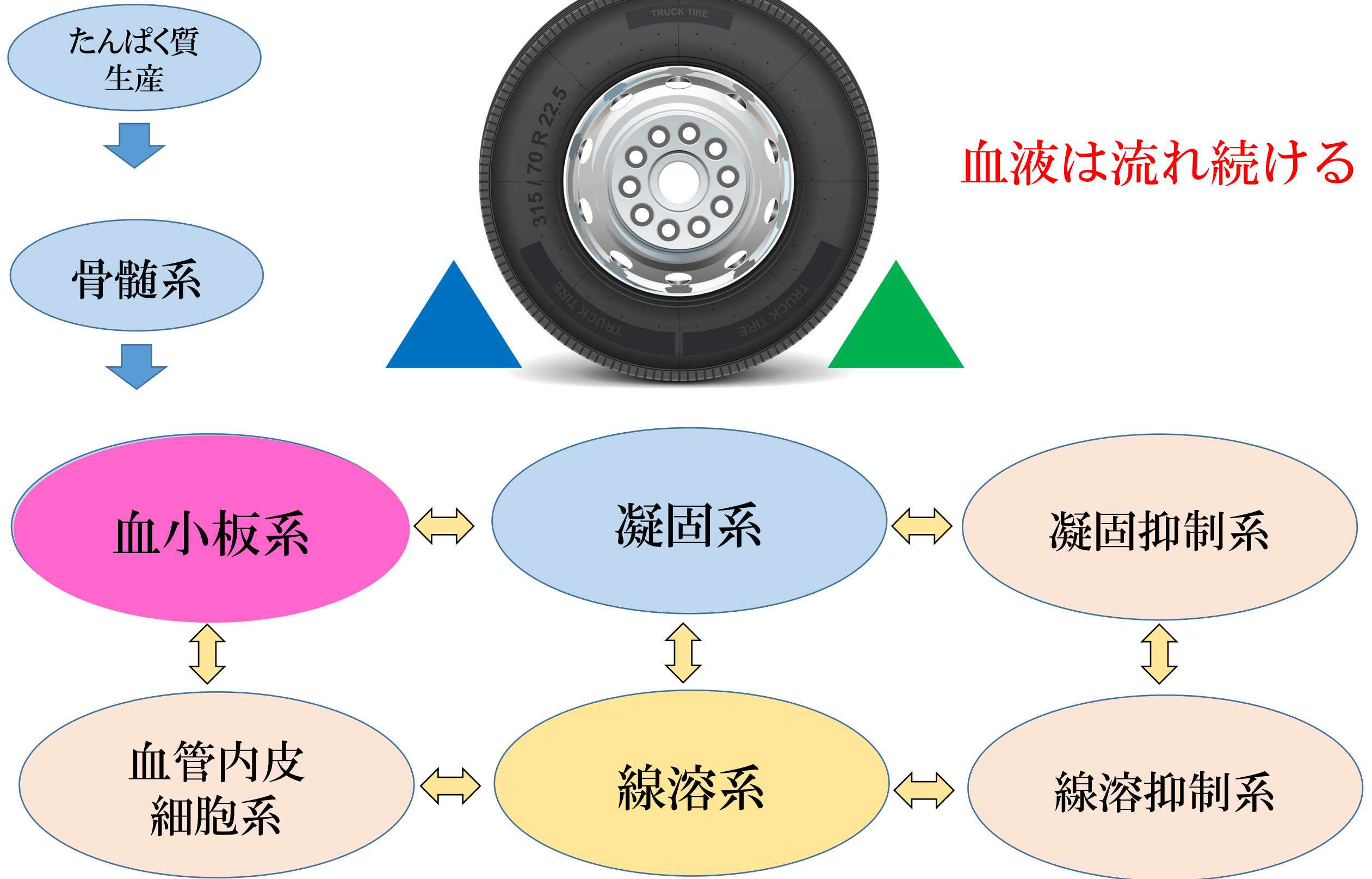
各種動物の A P T T 凝固時間 (秒)



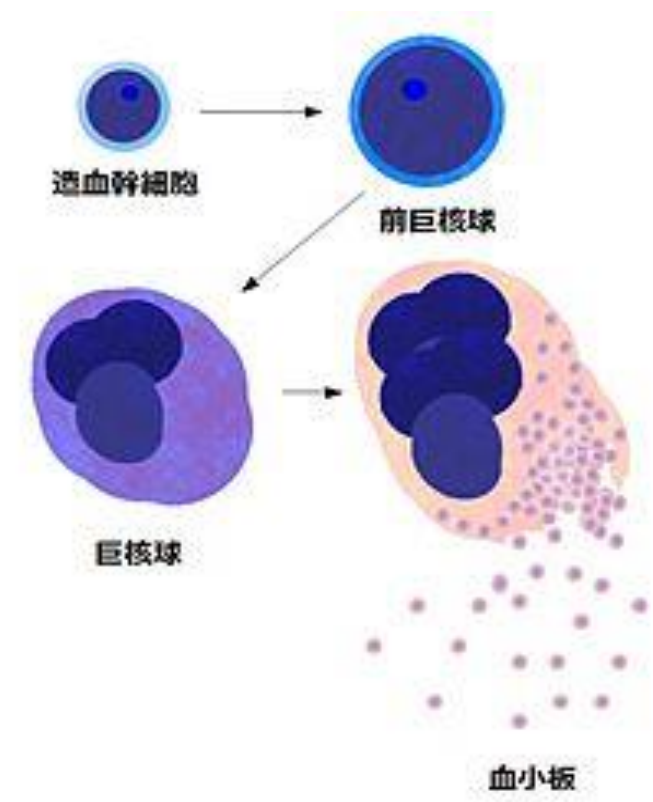
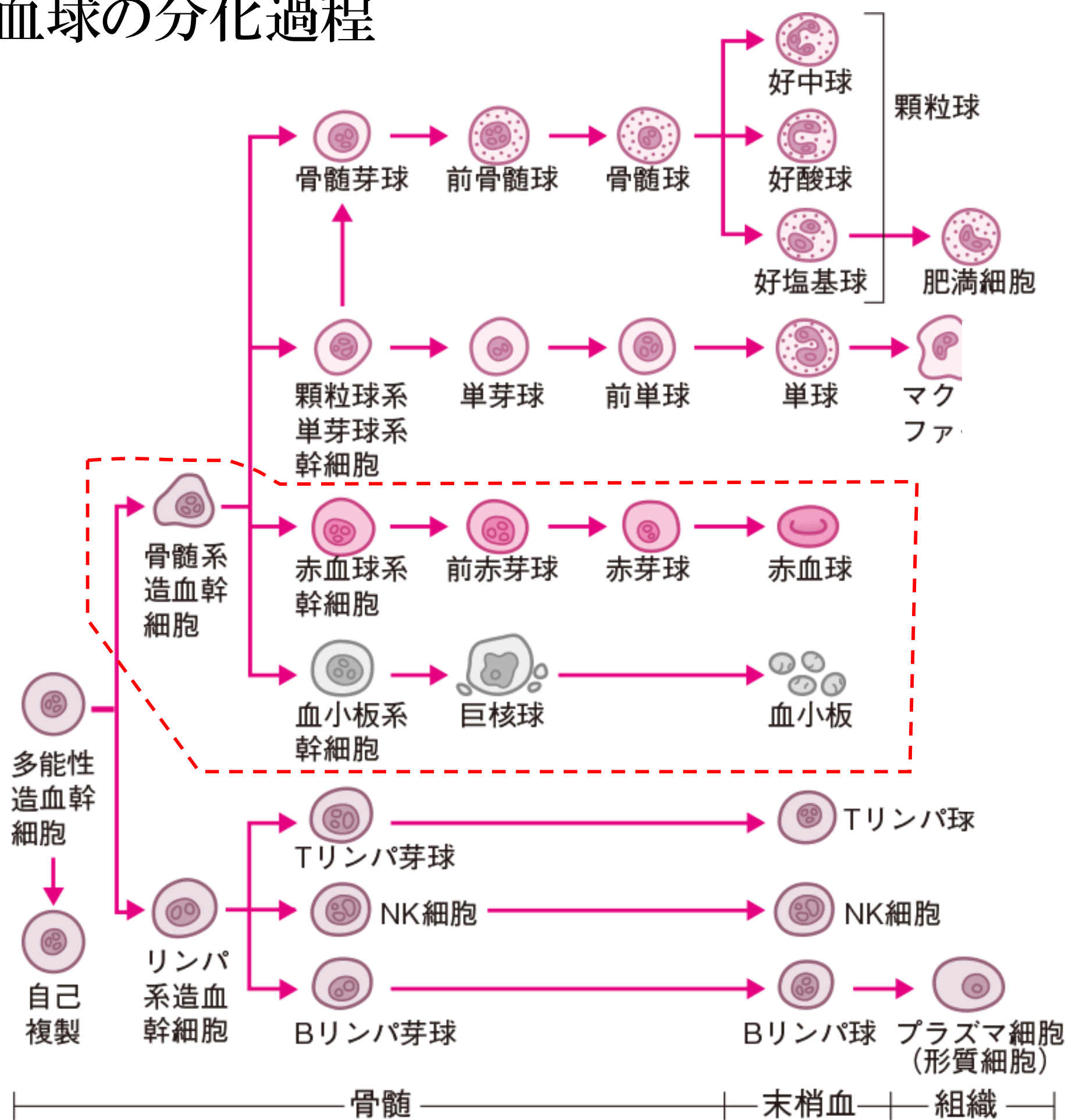
Fbg mg/dL



出血と凝固 止血と血栓

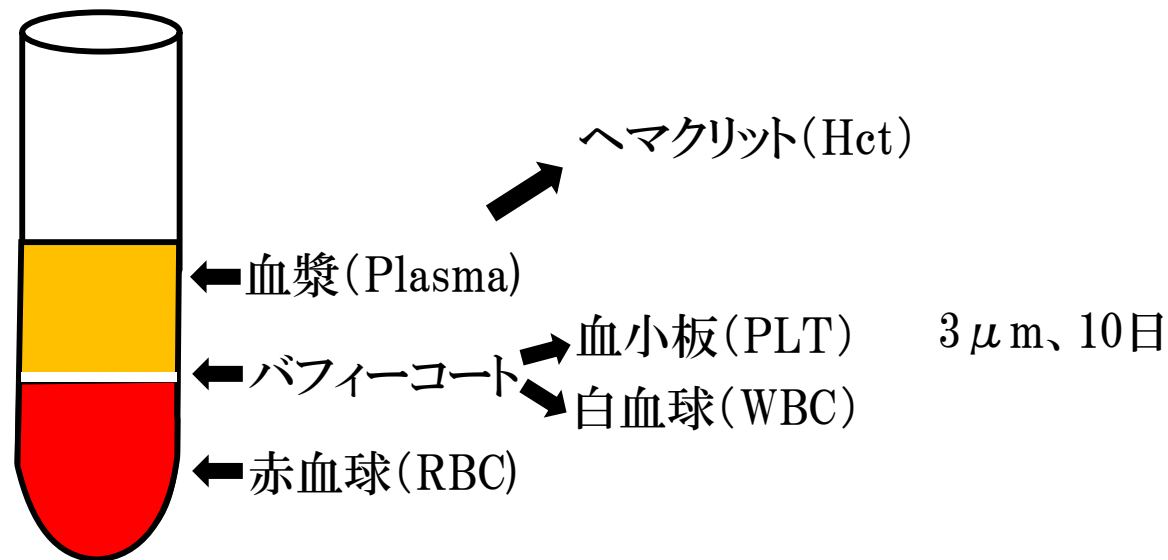


血球の分化過程



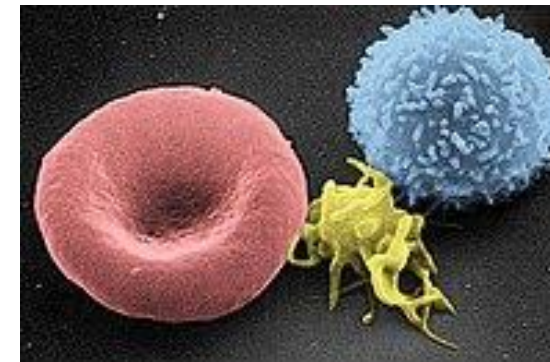
トロンボポエチン(TPO) - Meg-CSF, Meg-POT
 エリスロポエチン(EPO) - Meg-POT[注 5]
 SDF-1 - TPO存在下でのみ血小板数増加
 GM-CSF - Meg-CSF
 SCF - GM-CSFとIL-3との共存でMeg-CSF
 FL - GM-CSF、IL-3、SCFとの共存でMeg-
 インターロイキン3(IL-3) - Meg-CSF
 インターロイキン6(IL-6) - Meg-POT
 インターロイキン7(IL-7) - Meg-POT
 インターロイキン11(IL-11) - Meg-POT
 LIF - Meg-POT
 OSM - Meg-POT

血小板 (Platelet, PLT)



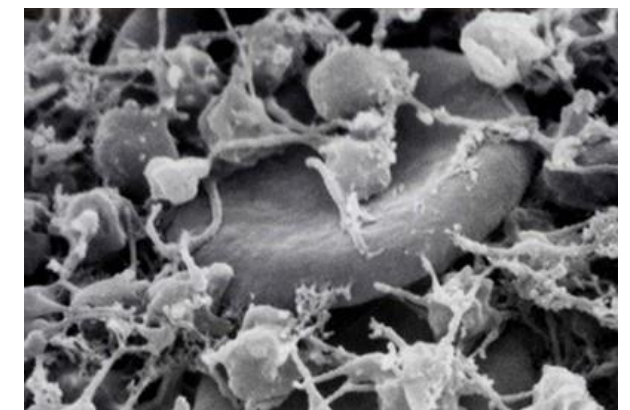
一次止血

血管壁の損傷があると、血小板内の細胞骨格系が変化すると同時に、新たに細胞膜上に細胞接着因子の受容体(糖タンパク質のGP I b α や GPIIb/IIIa など)が発現する=血小板の活性化。これらの糖タンパク受容体やその他の接着因子などを介して血小板は血管内皮に接着し、血小板どうしが凝集し傷口を塞いで血栓を形成する。これを一次止血と呼ぶ。



← 活性化に伴い、円盤状から偽足を形成

* アクチン結合部位



* 二次凝集

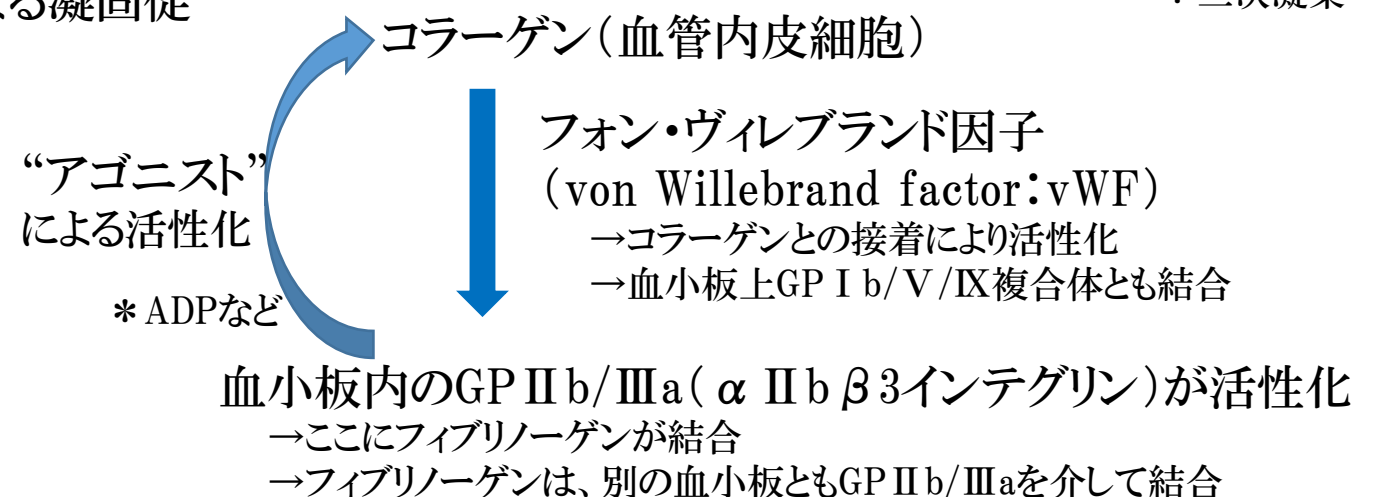
作用

(1) 一次止血

破綻した血管壁に血栓のような塊り(血小板塊)をつくる。

(2) 顆粒放出

フィブリンを形成させるためにリン脂質などの原料となる凝固促進物質を分泌する。



作用

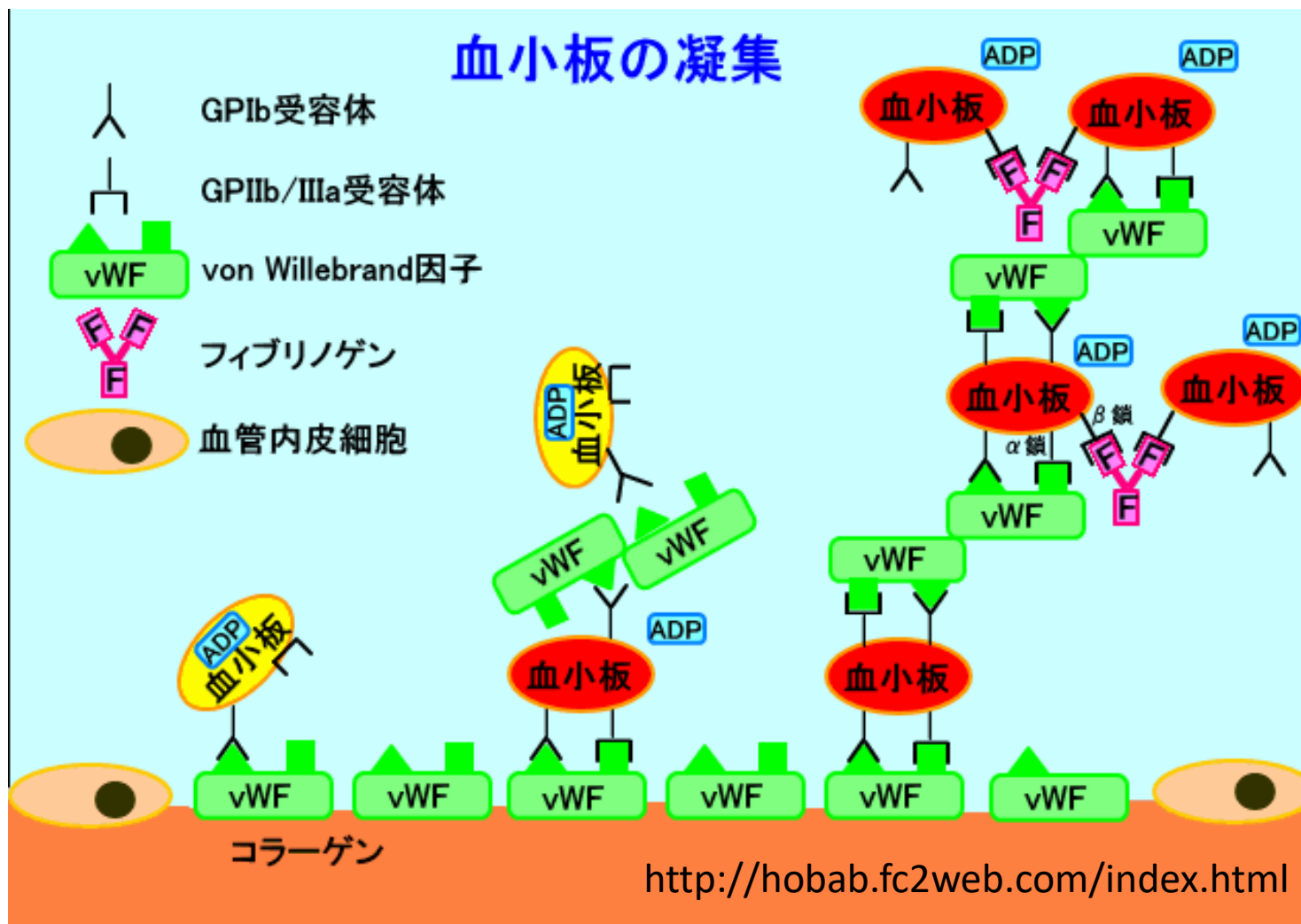
(2) 顆粒放出

血小板は、 α 顆粒、濃染顆粒、リソソームなどの膜状の顆粒と、開放小管系(OCS[42])と呼ばれる細胞小器官が存在。
血小板が活性化すると、これらの細胞小器官が機能し、顆粒内物質を細胞外へ放出する。

* アラキドン酸カスケード

脂質活性物質を作る経路。

phospholipase A2 (PLA2)によりアラキドン酸が放出され、アラキドン酸を材料にシクロオキシゲナーゼ-1(COX-1)によって合成されるプロスタグランジンH2(PGH2)を経由して合成される。ここで作られ放出されたTXA2は、他の血小板のTXA2受容体(TPと呼ばれる)に結合し、活性化を増強する。



顆粒

ATP

ADP

Ca²⁺

セロトニン →⇒血管収縮

トロンビン

A 顆粒

フィブリノゲン、

vWF、

凝固第V因子、

血小板第4因子、

血小板由来成長因子(PDGF)、

フィブロネクチン Fibronectin、

α 1-antitrypsin、

β -トロンボグロブリン(β -thromboglobulin: β -TG)

P-セレクチン、

トロンボスポンジン(TSP)、など

二次放出

トロンボキサンA2(TXA2)

その他

リン脂質

抗血小板薬一覧

①トロンボキサンやプロスタグランジンに関与する薬剤

COX-1阻害 : アスピリン

プロスタグランジン製剤 : オパルモン、プロレナール
ドルナー、プロサイリン

トロンボキサン合成酵素阻害剤 : オザグレルナトリウム
(カタクロット、キサンボン)

②cAMP濃度とカルシウムイオン濃度を標的とする薬剤

チエノピリジン誘導体 : (パナルジン)プラビックス、
プラスグレル(エフィエント)、
チクロピジン

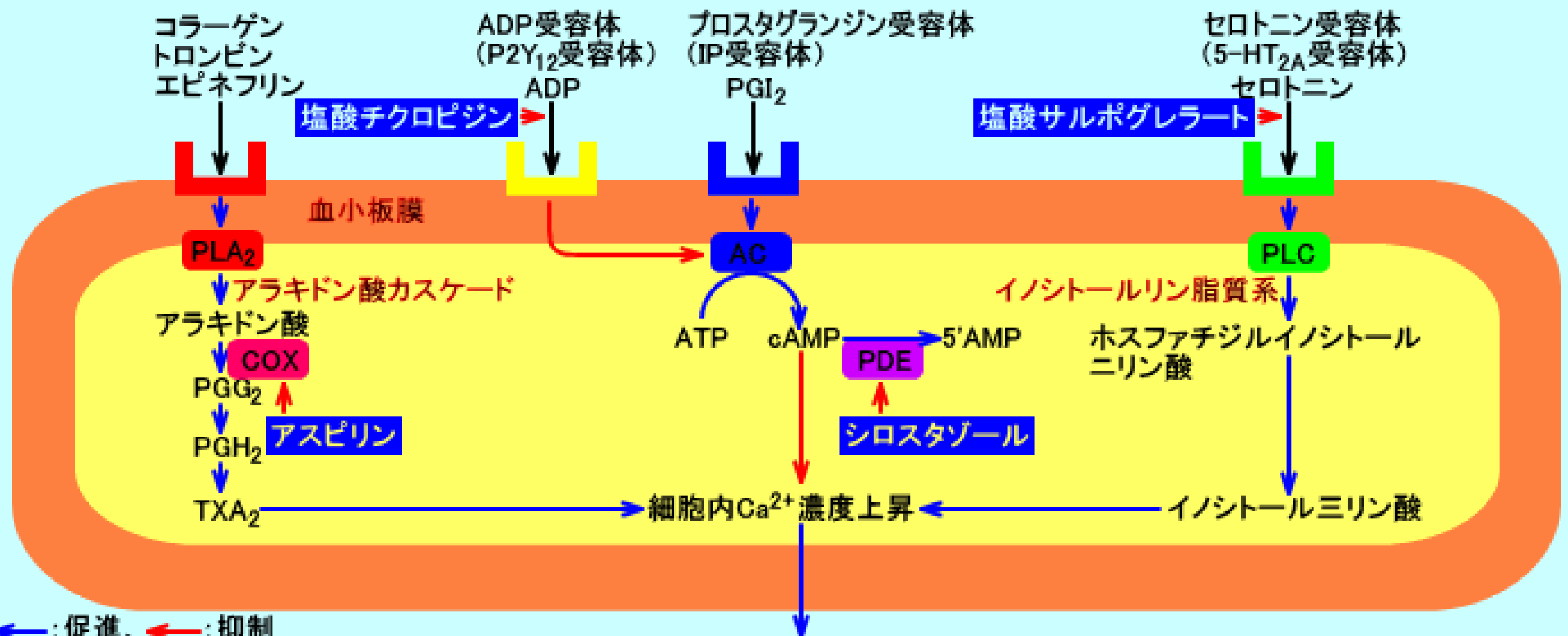
: プラビックス(成分名:クロピドグレル)、

5-セロトニン受容体2拮抗剤

塩酸サルボグレラート(アンプラーク)

③血小板凝集に関わる受容体グリコプロテインIIb/IIIaを遮断する薬剤

血小板の活性化



←: 促進、→: 抑制

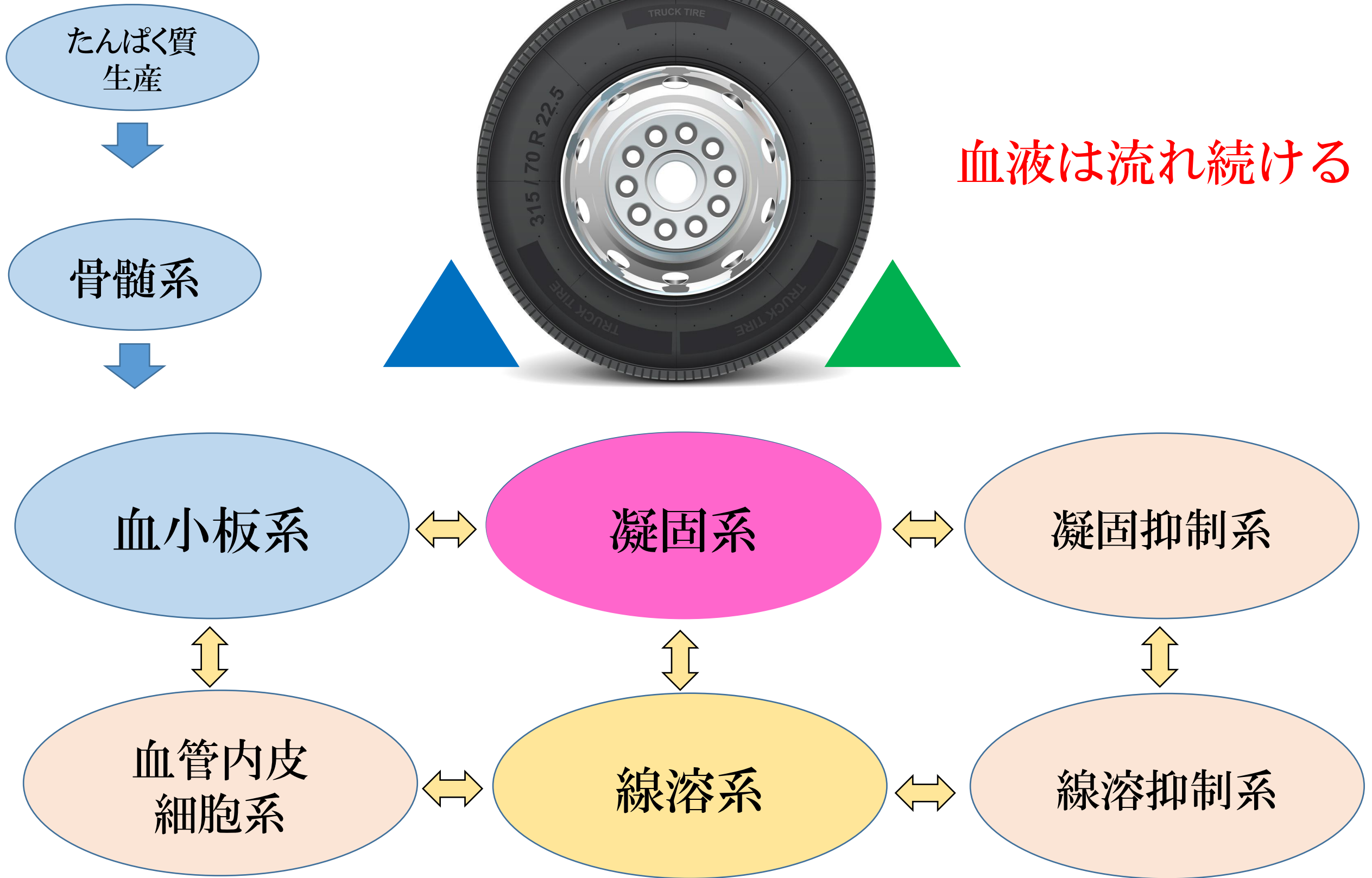
AC: アデニル酸シクラーゼ、COX: シクロオキシゲナーゼ

PDE: ホスホジエステラーゼ、 PLA_2 : ホスホリパーゼA₂

PLC: ホスホリパーゼC

血小板凝集反応
顆粒放出反応 (ADP、セロトニン)

出血と凝固 止血と血栓



内因系までの凝固カスケード

外因系

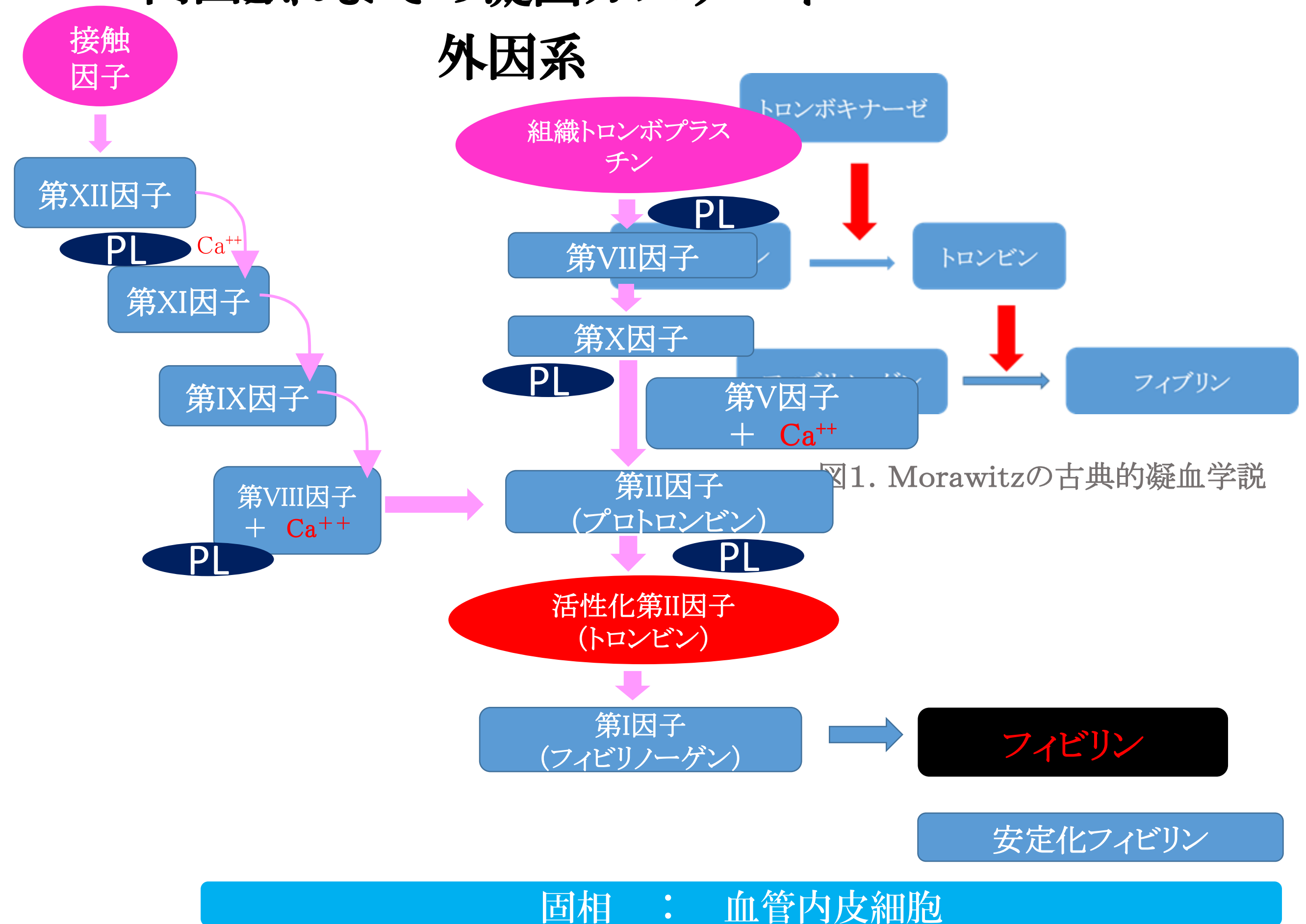
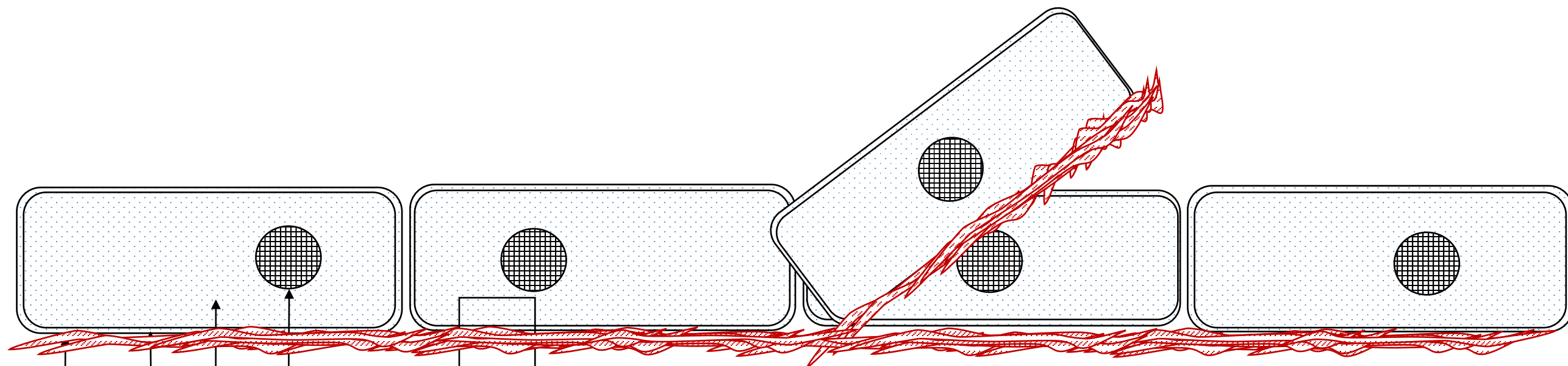


図1. Morawitzの古典的凝血学説



細胞

細胞膜

細胞質

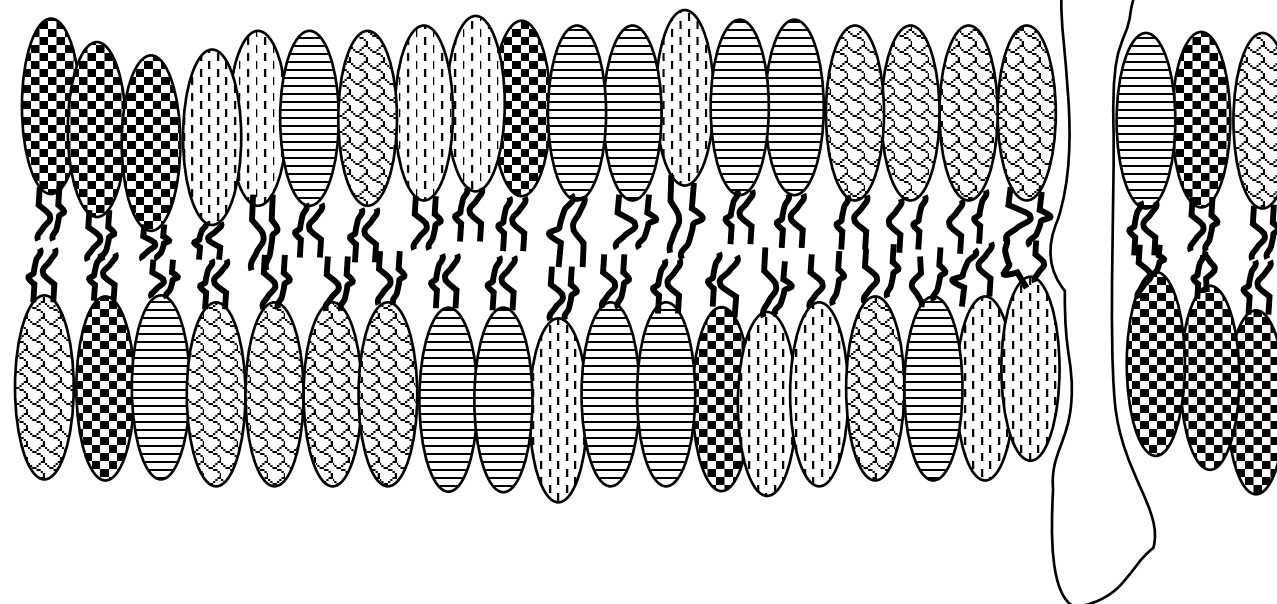
核

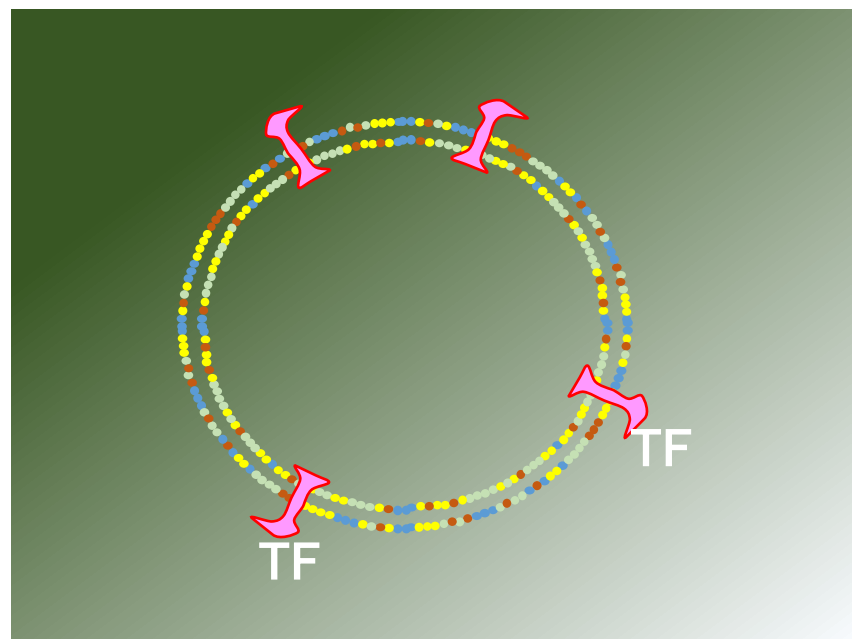
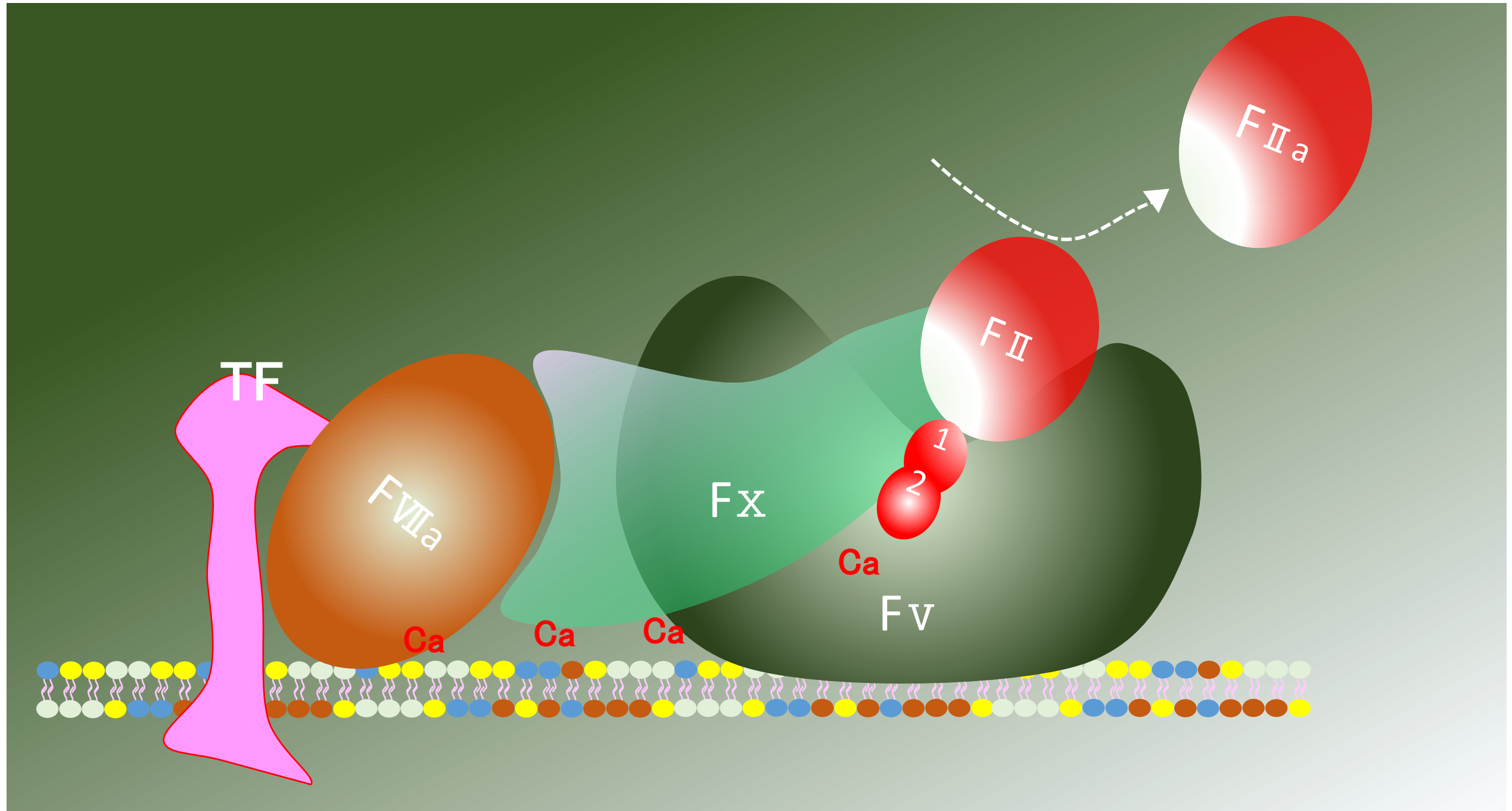
コラーゲン

リン脂質二重膜

PC・PE・PS・PI、etc.

膜貫通たんぱく質



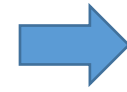


TF-M p (Micro Particle)

||

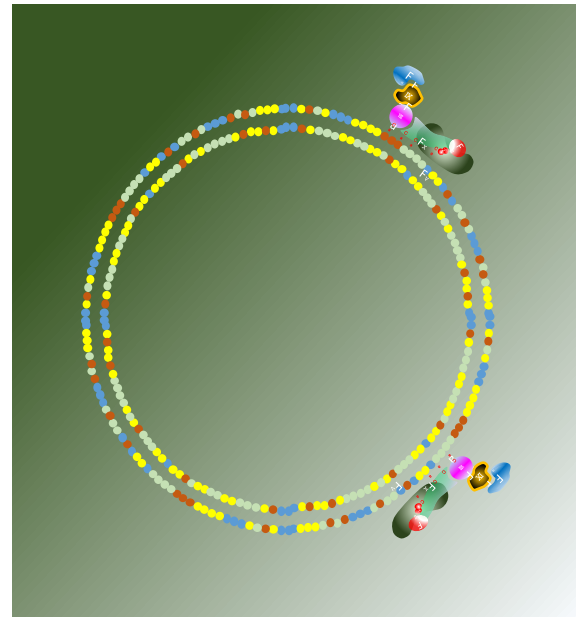
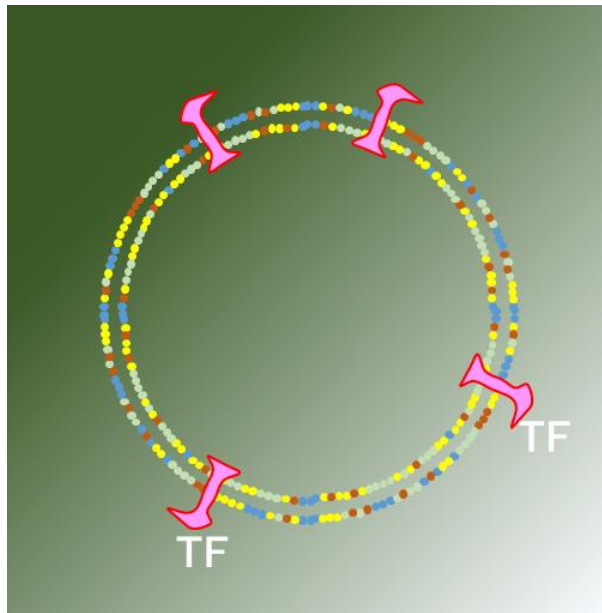
PT試薬

• 凝固活性



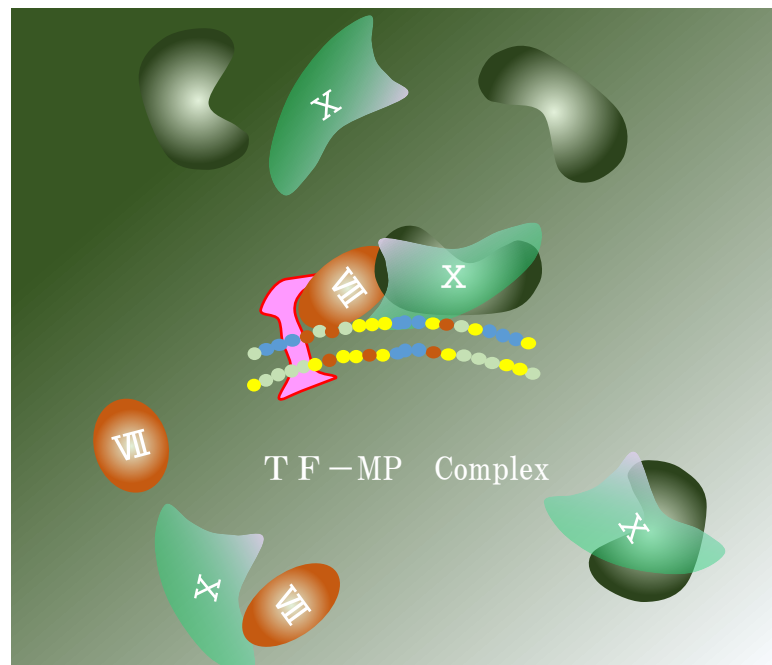
2つの方法

- ①凝固時間を短くする方法
- ②凝固時間を延長させる方法



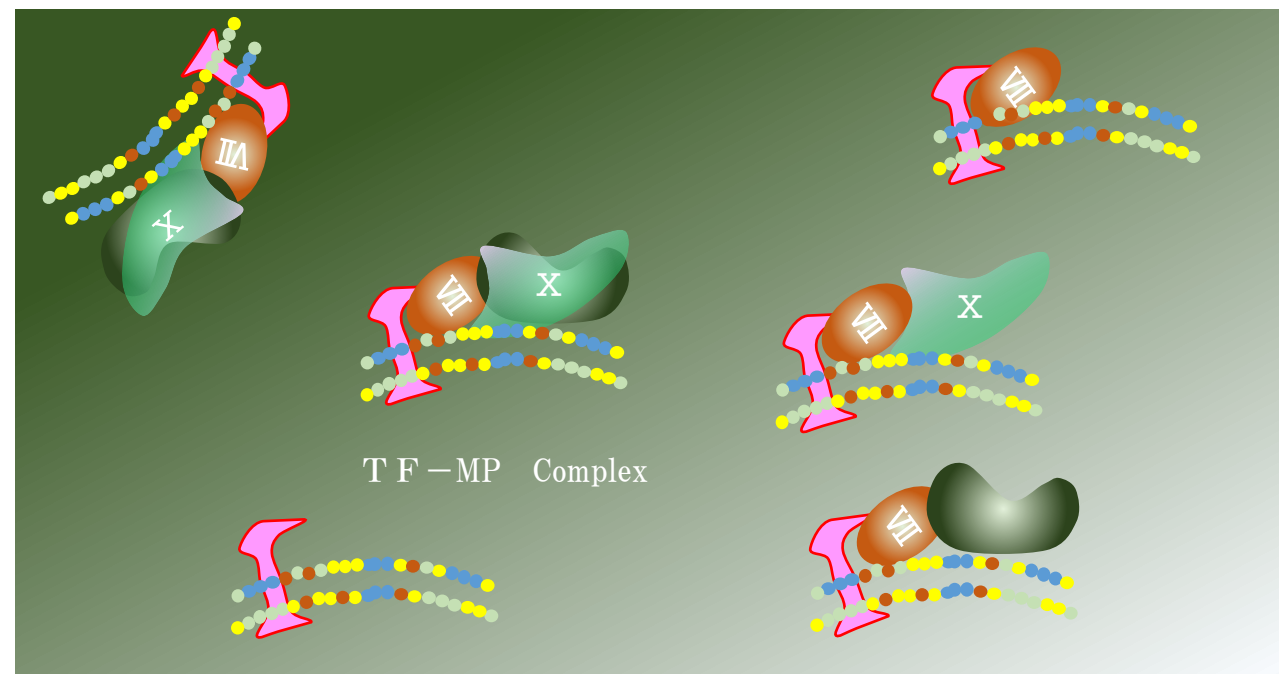
TF-Mp (Micro Particle)

• 感度(ISI値)



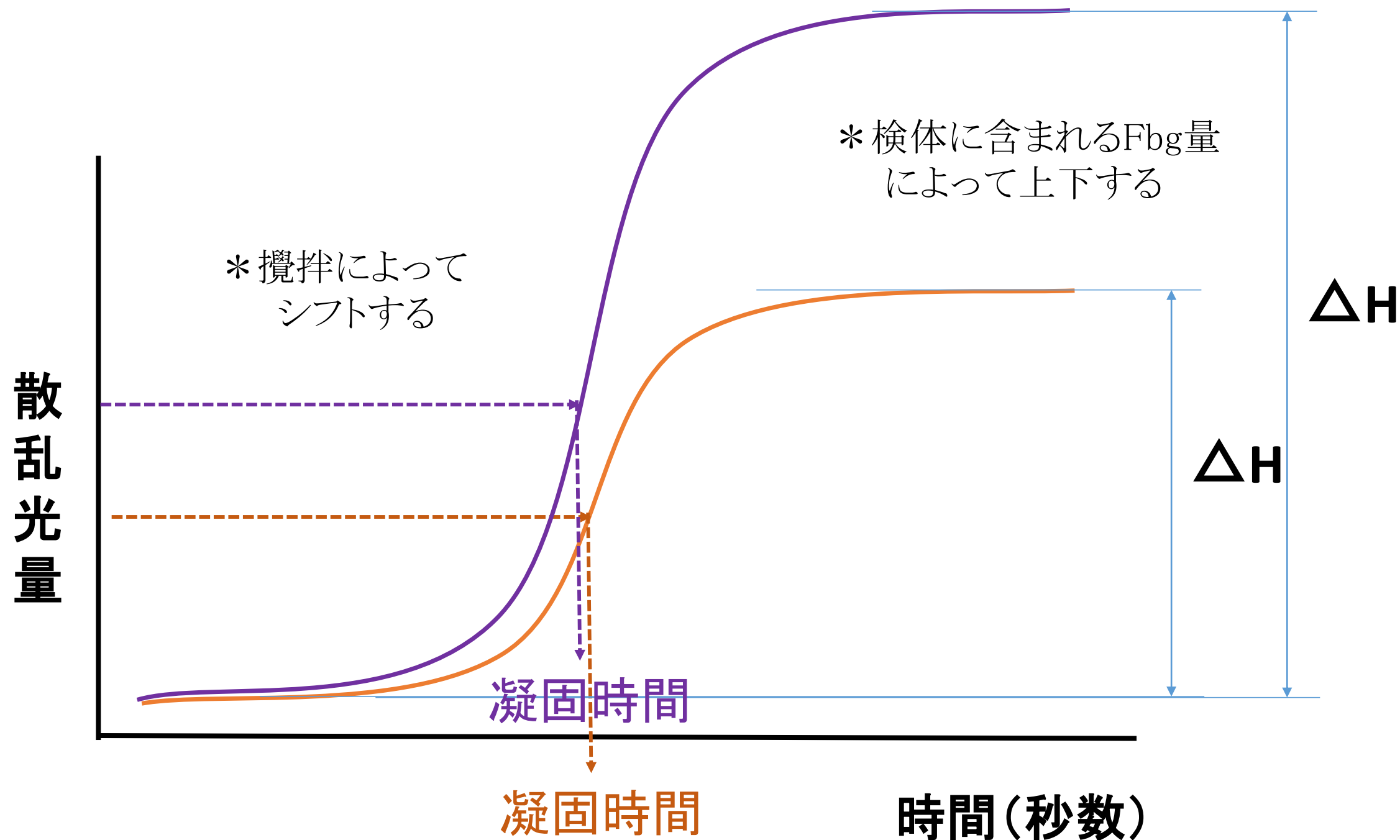
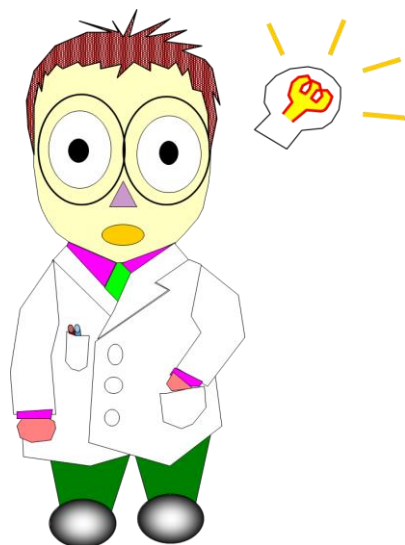
Mpが少ない場合

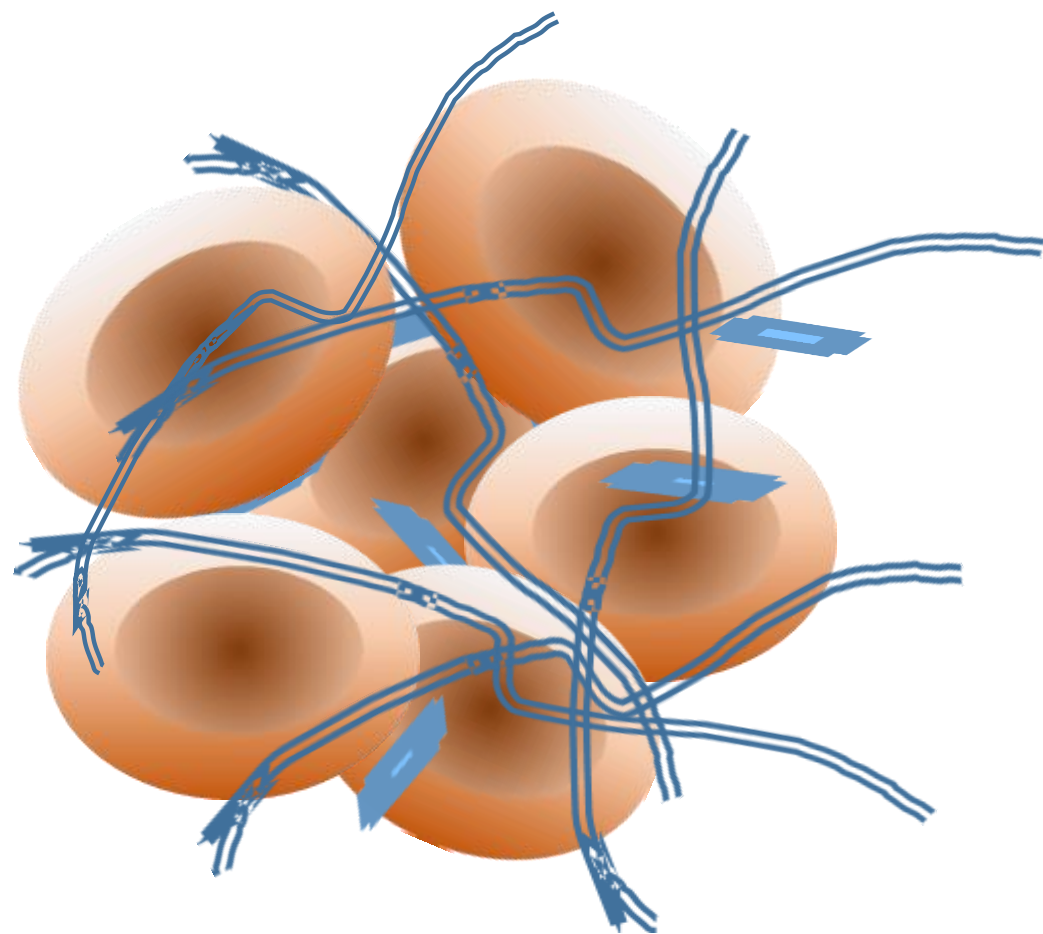
Mpが少ない場合 = ISI値は高値になる



Mpが多い場合

Mpが多い場合 = ISI値は1.0に近くなる

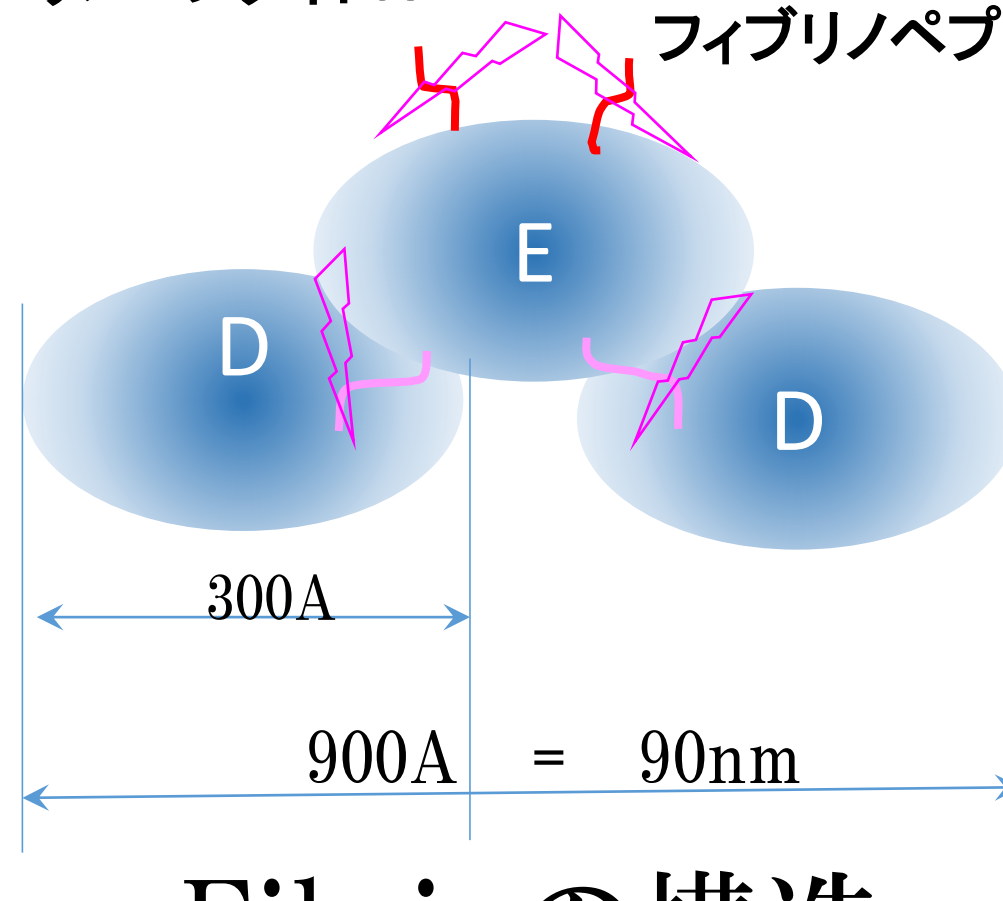




血栓

フィブリノペプチドA

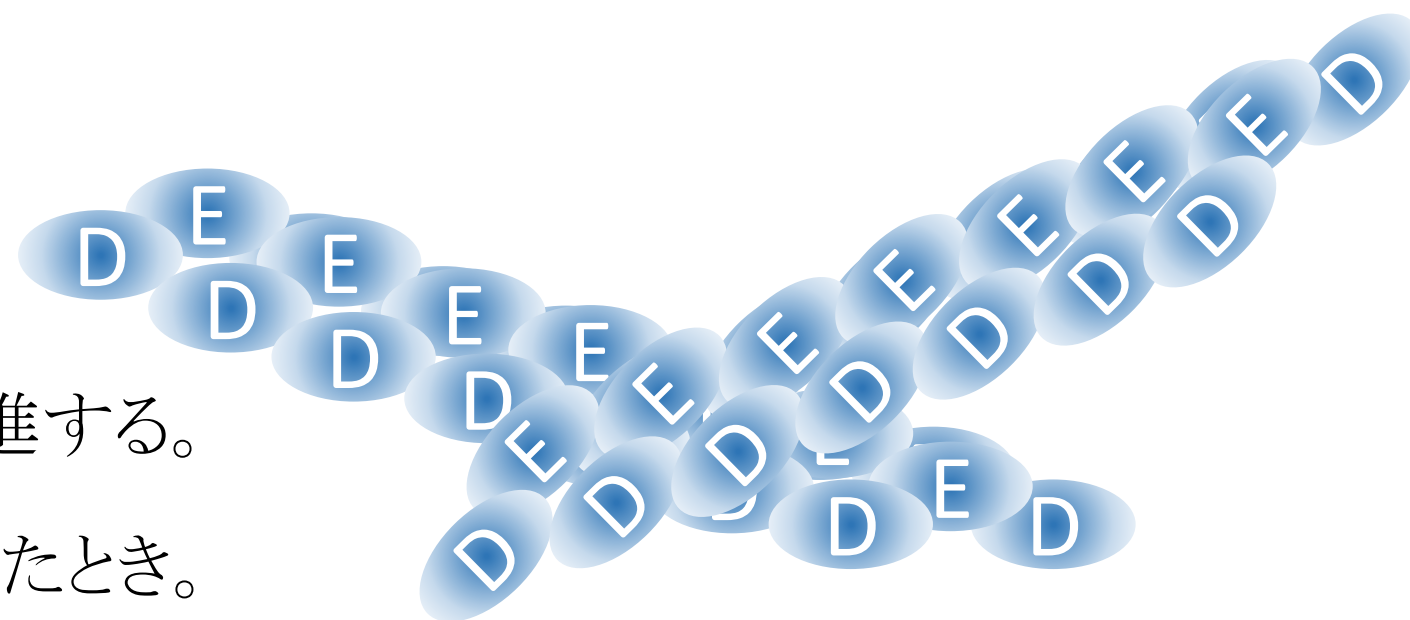
フィブリノペプチドB



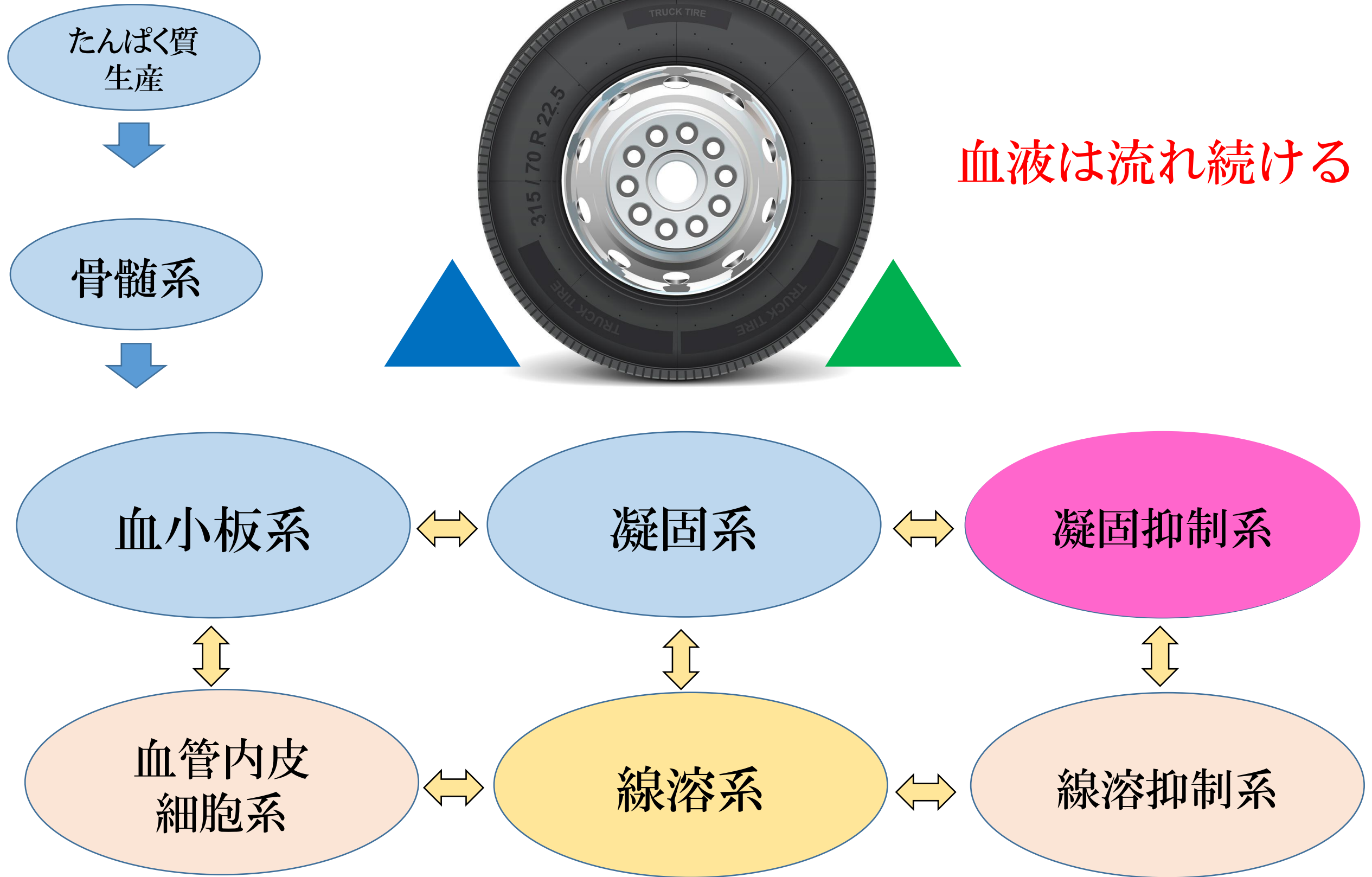
Fibrinの構造

- * トロンビンはフィブリノゲンをフィブリンに変化させる。
血中で作用すると共に、血管内皮細胞にも作用する。
またフィブリンに巻き込まれ、線溶を亢進する。

- * 光学的検出は約7個以上のFnが重合したとき。
約 $90\text{nm} \times 7 = 630\text{nm}$ ← 660nm

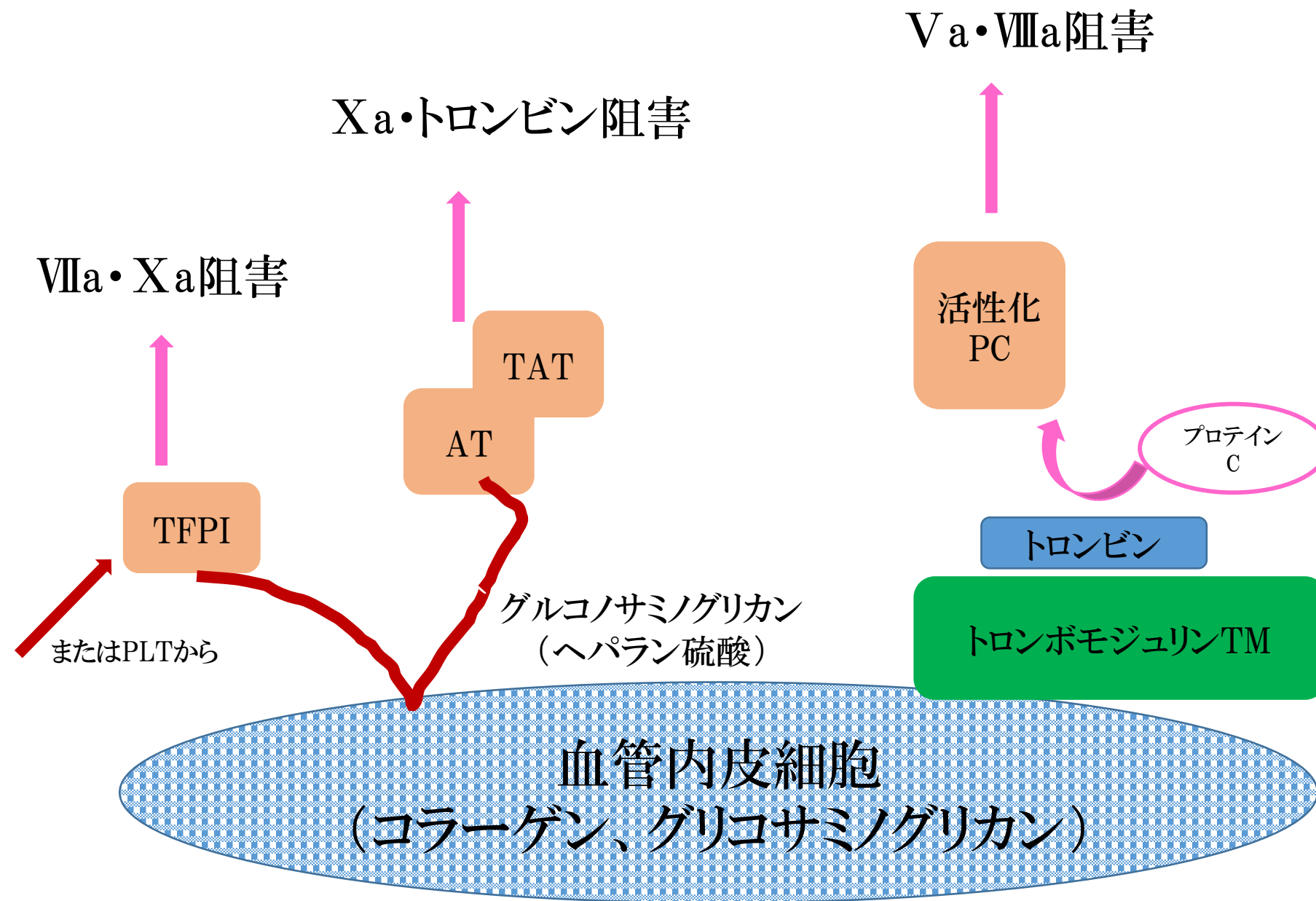


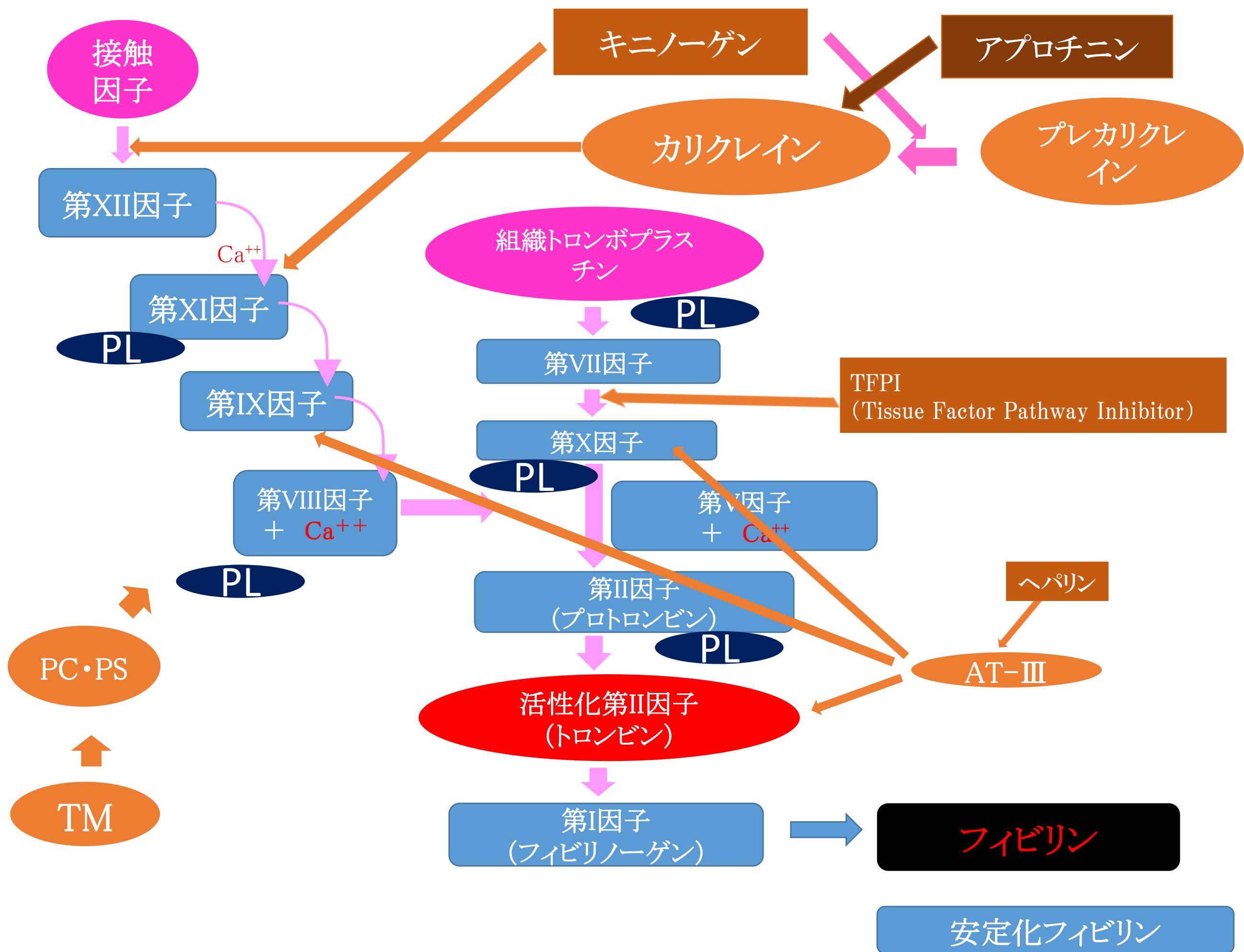
出血と凝固 止血と血栓

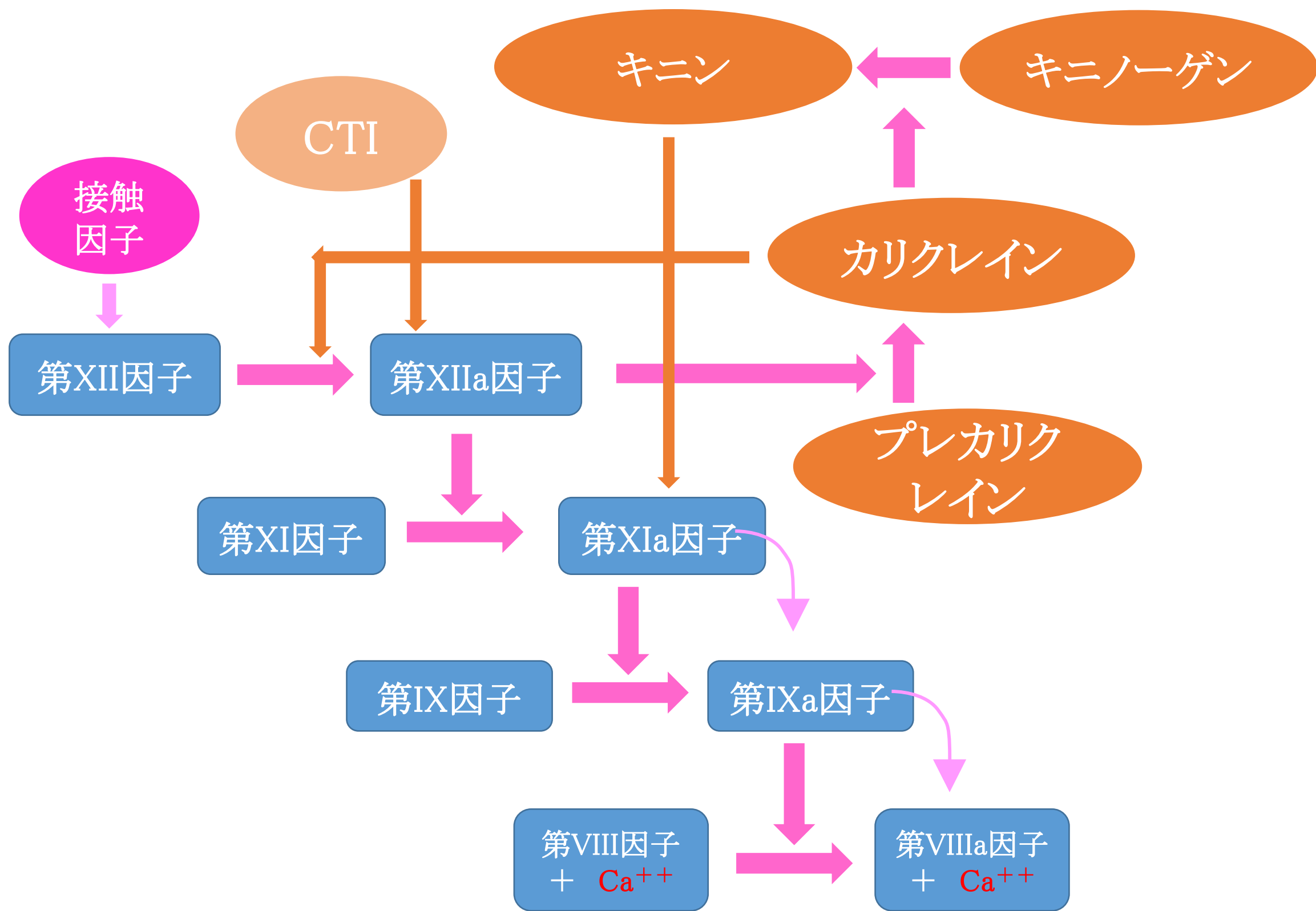


凝固抑制系

凝固抑制系 (Anti-Thrombin)







凝固抑制系 (Anti-Thrombin)

凝固阻止物質 2

クエン酸

血漿中の遊離Ca⁺⁺イオンをキレート化することでトロンビンの形成を阻止する。

クエン酸は体内成分でもあり、体内では速やかに代謝されて凝固活性が問題にならない濃度になるため、体外循環回路内や輸血用保存血液の凝固阻止にも使用される。

エチレンジアミン四酢酸(EDTA)

ヒトの体の成分ではなく、体内では代謝されず二価金属イオンをキレートしたまま尿中へ排泄される。

アスピリン

シクロオキシゲナーゼを阻害し、血小板のアラキドン酸からプロスタグラジン、トロンボキサンA₂の生合成を阻害することにより抗血小板作用を発揮する医薬品。採血した血液に直接加えても、凝固を阻止しない。

ワルファリン

血栓形成を抑制する目的で使用される医薬品。経口内服すると、肝で血液凝固因子が生合成される際にCa結合部位であるγ-カルボキシグルタミン酸の生成を阻害して血液凝固因子(VII・IX・X・II)の機能を損なうことにより、血液凝固を阻害。 *PIVKA

NOAC or DOAC

(non-vitamin K antagonist oral anticoagulants)

新しい抗凝固薬 IIa: プラザキサ、
 Xa: エリキュース、イグザレルト、
 リクシアナ

凝固阻止物質 1

アンチトロンビンIII(AT3)

分子量65000。肝および血管内皮細胞で産生、血流中に放出。

第Xa因子やトロンビンの作用を阻害

アロステリック部位へのヘパリンの結合により活性が1000倍。

凝固の連鎖反応(カスケード)の中で生じる、トロンビン(活性化第II因子、IIa)、活性化第X因子(Xa)、活性化第IX因子(IXa)などと結合して、これらの働きを停止させる。ある程度進んでしまった凝固反応を止める働きがあると考えられている。

ヘパリン

多糖類であり、アンチトロンビンIIIを活性化させる。

また低分子量ヘパリンはフォン・ウィルブランド因子の活性をも低下させ、血小板との反応を抑制する。

プロテインC

トロンビンにより活性化プロテインC(Activated Protein C; APC)となり、補酵素であるプロテインSと結合する。

活性型第V因子や活性型第VIII因子に結合し抑制する。

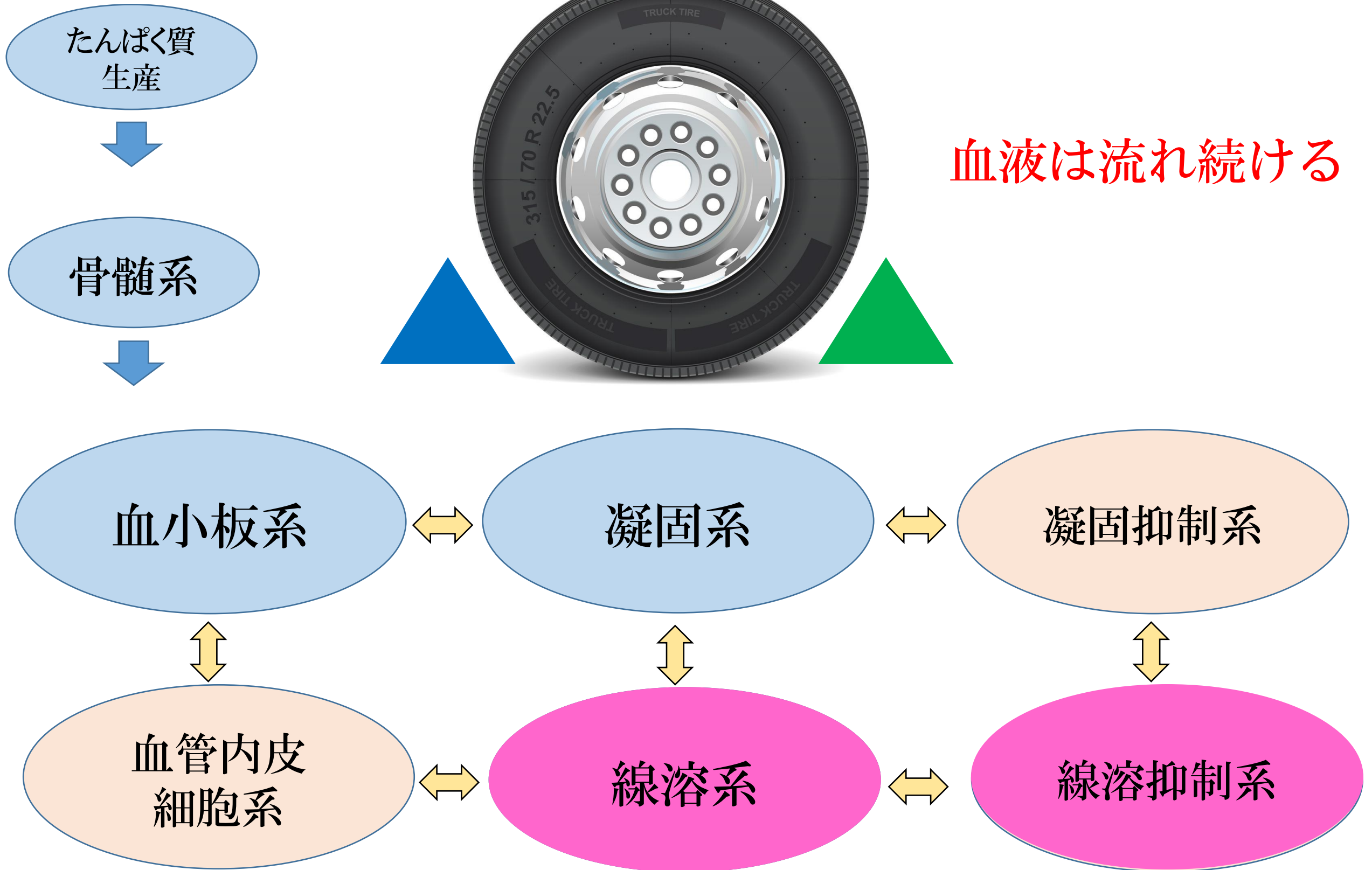
プロテインS

APCの補酵素であり、APCと結合し抗凝固作用を示す。

組織因子経路インヒビター(Tissue factor pathway inhibitor, TFPI)

TFPIの血中濃度は極めて低いこと(1-4 nmol/L)、またTFPIはVIIa-TF複合体とXa因子の両方を阻害できることから、TFPIは少量のVIIa-TF複合体が凝固第X因子を活性化する初期の凝固反応に働き、効率良く反応を負に制御すると考えられている。

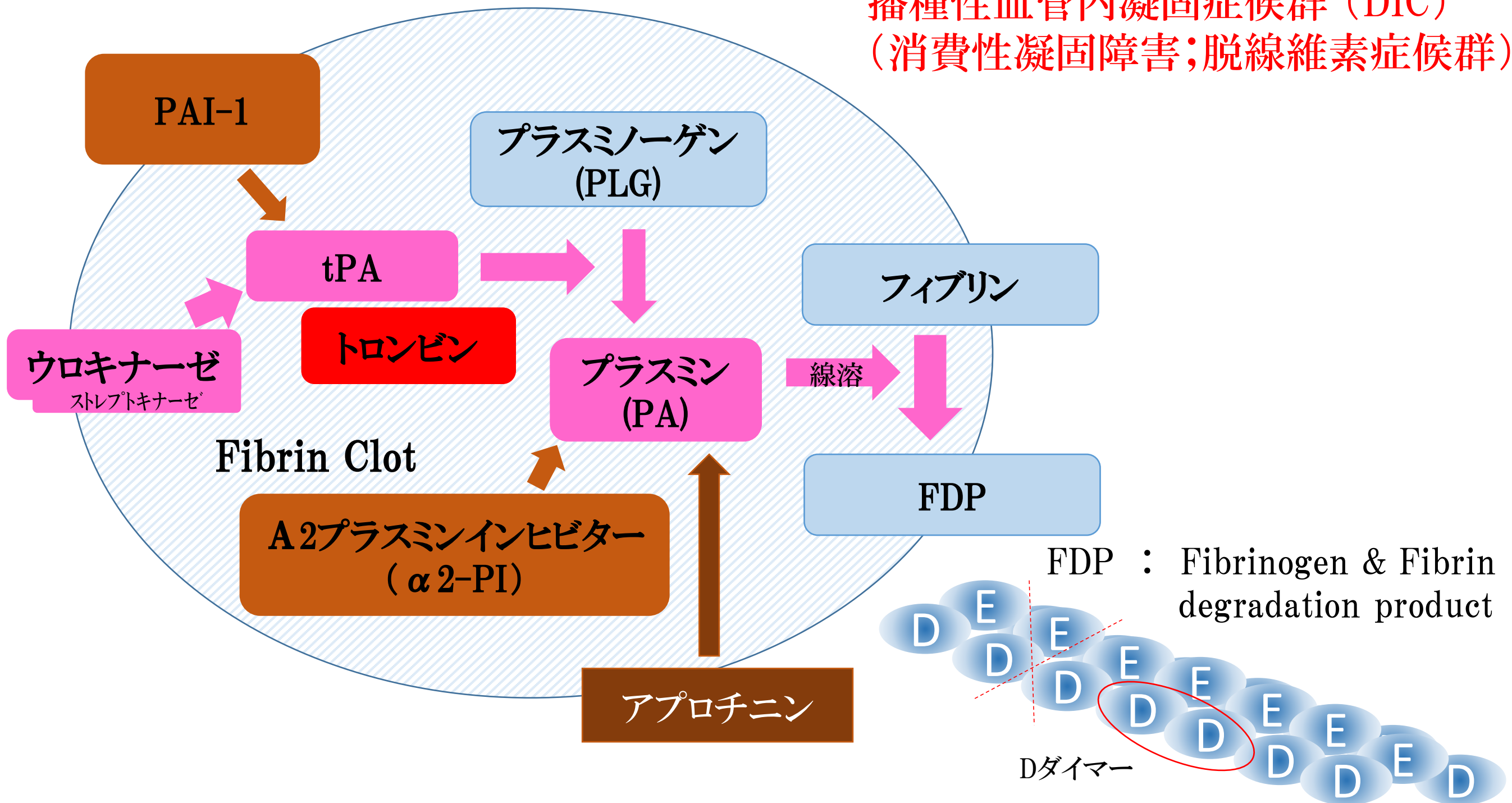
出血と凝固 止血と血栓



線溶系・線溶抑制系

線溶系は生成した血栓を溶かす反応系
線溶抑制系は線溶系の反応を抑制する系

播種性血管内凝固症候群 (DIC)
(消費性凝固障害; 脱線維素症候群)



一次線溶異常亢進

→⇒ FDPの増加

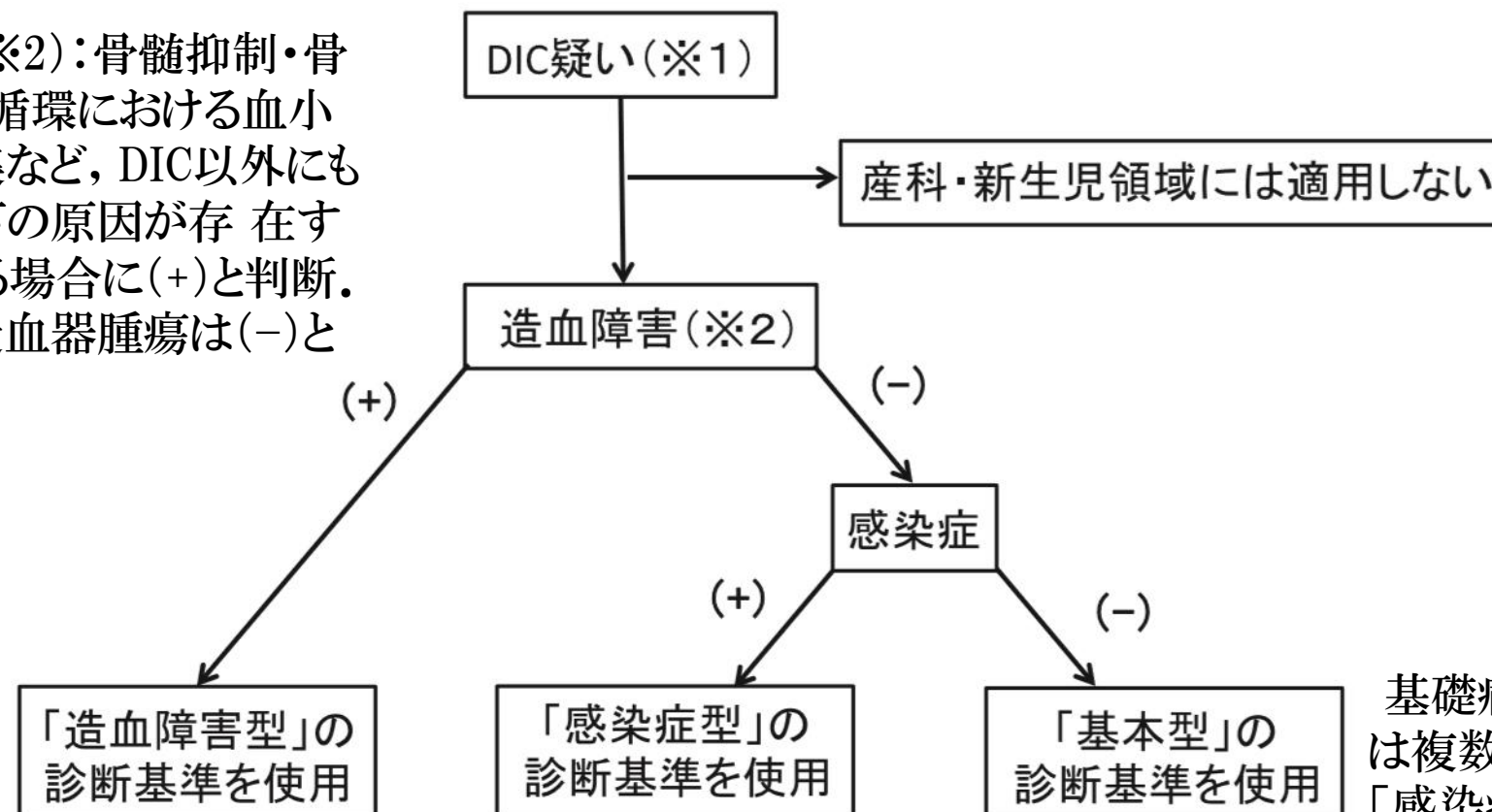
二次線溶：播種性血管内凝固症候群(DIC) →⇒ Dダイマーの増加

• 播種性血管内凝固症候群 (DIC) (消費性凝固障害；脱線維素症候群)

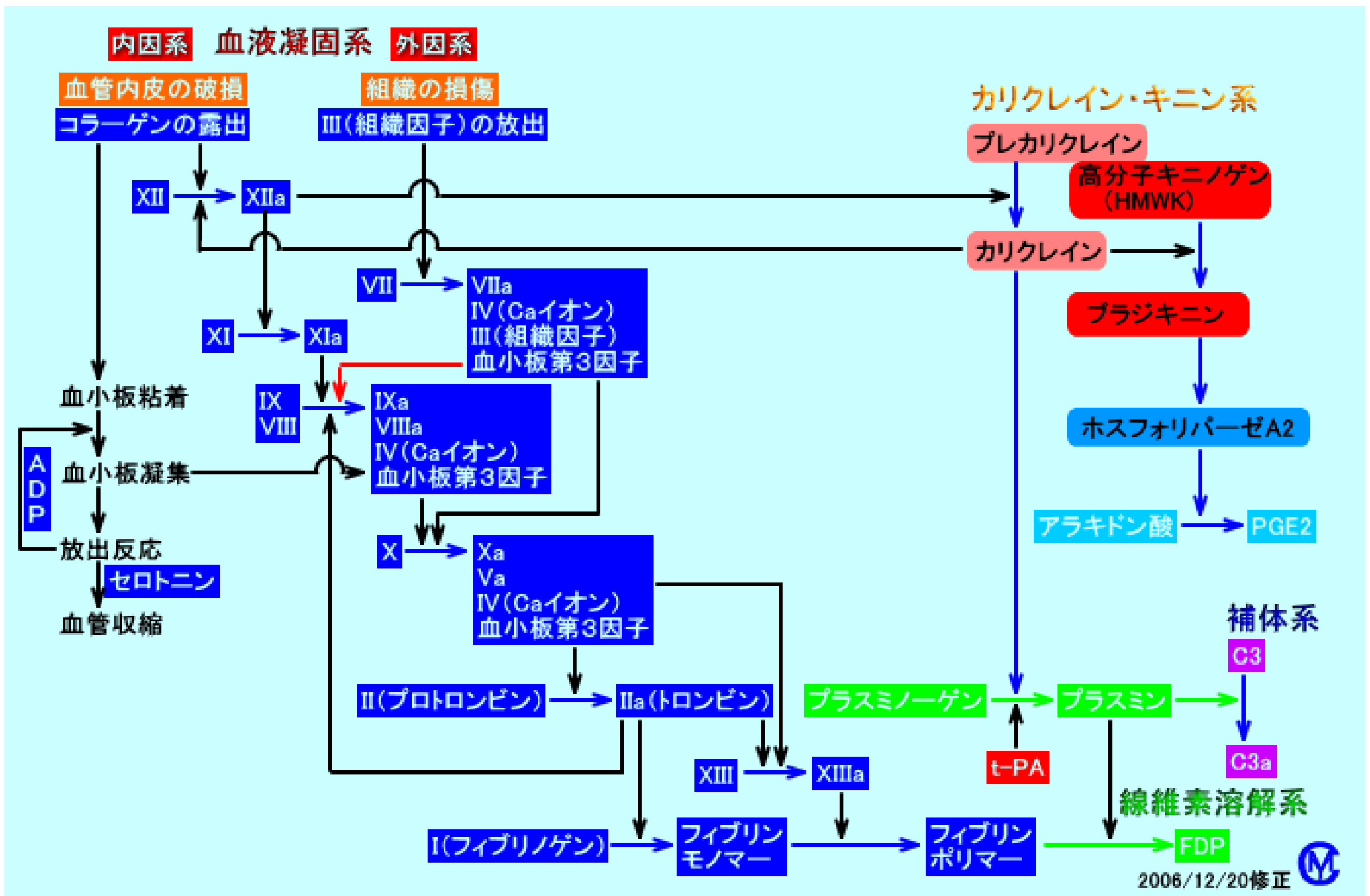
• 血栓塞栓症

• DIC疑い(※1)：DICの基礎疾患を有する場合(表II-1)，説明の付かない血小板数減少・フィブリノゲン低下・FDP上昇などの検査値異常がある場合，静脈血栓塞栓症などの血栓性疾患がある場合など。

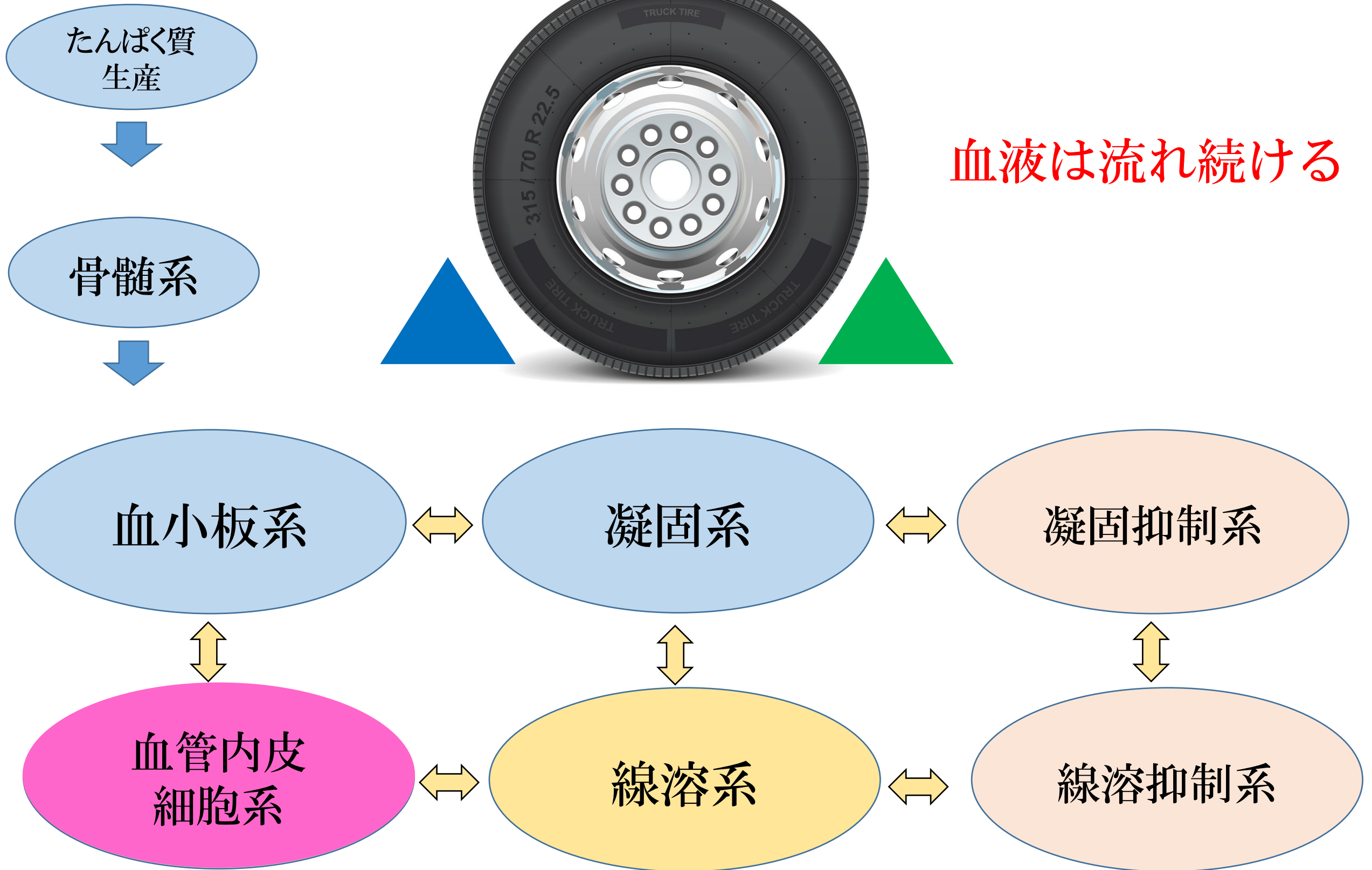
• 造血障害(※2)：骨髓抑制・骨髓不全・末梢循環における血小板破壊や凝集など，DIC以外にも血小板数低下の原因が存在すると判断される場合に(+)と判断。寛解状態の造血器腫瘍は(-)と判断。



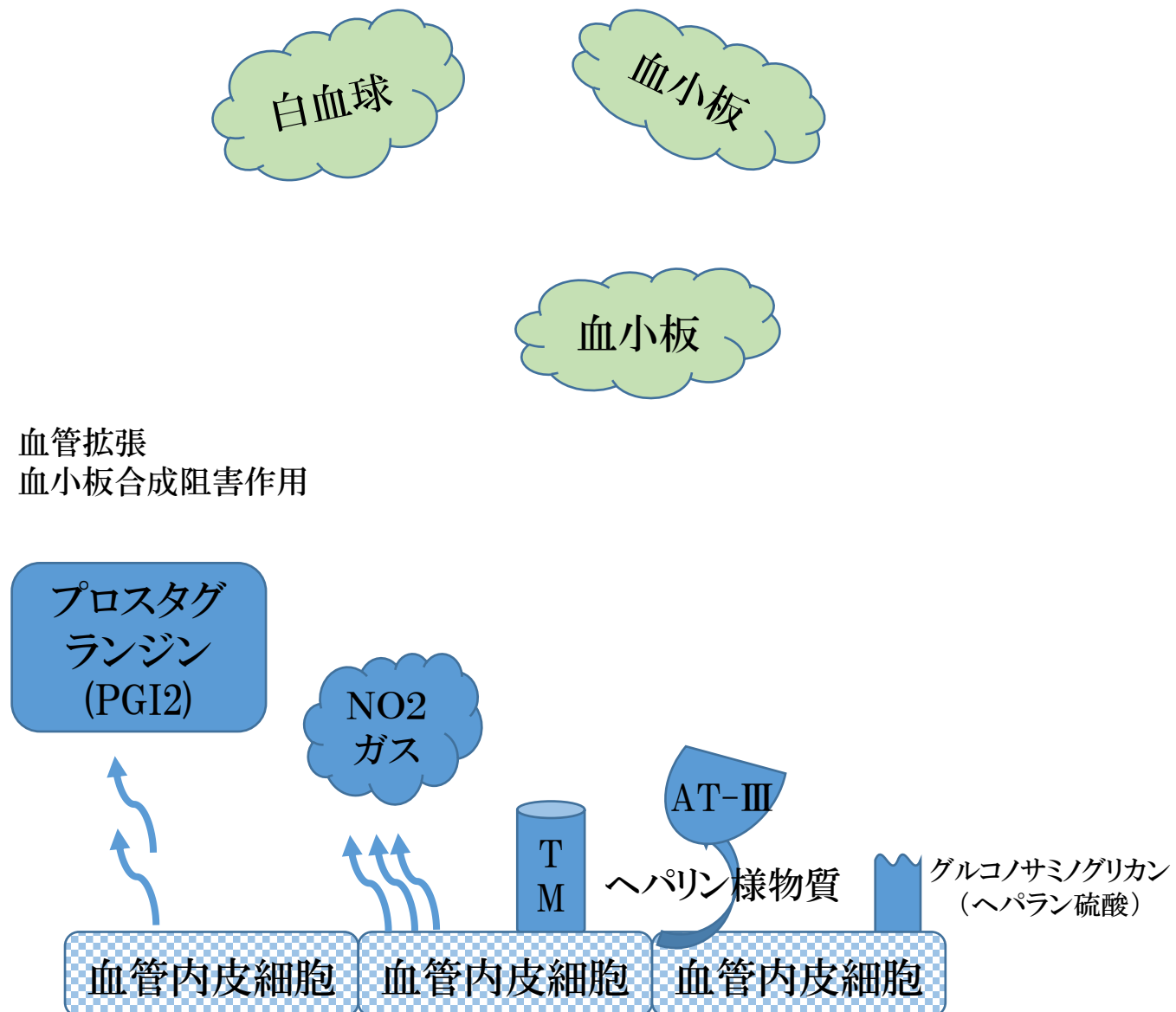
基礎病態を特定できない(または複数ある)あるいは「造血障害」「感染症」のいずれにも相当しない場合は基本型を使用する。例えば，固形癌に感染症を合併し基礎病態が特定できない場合には「基本型」を用いる。



出血と凝固 止血と血栓



抗血栓作用を発揮

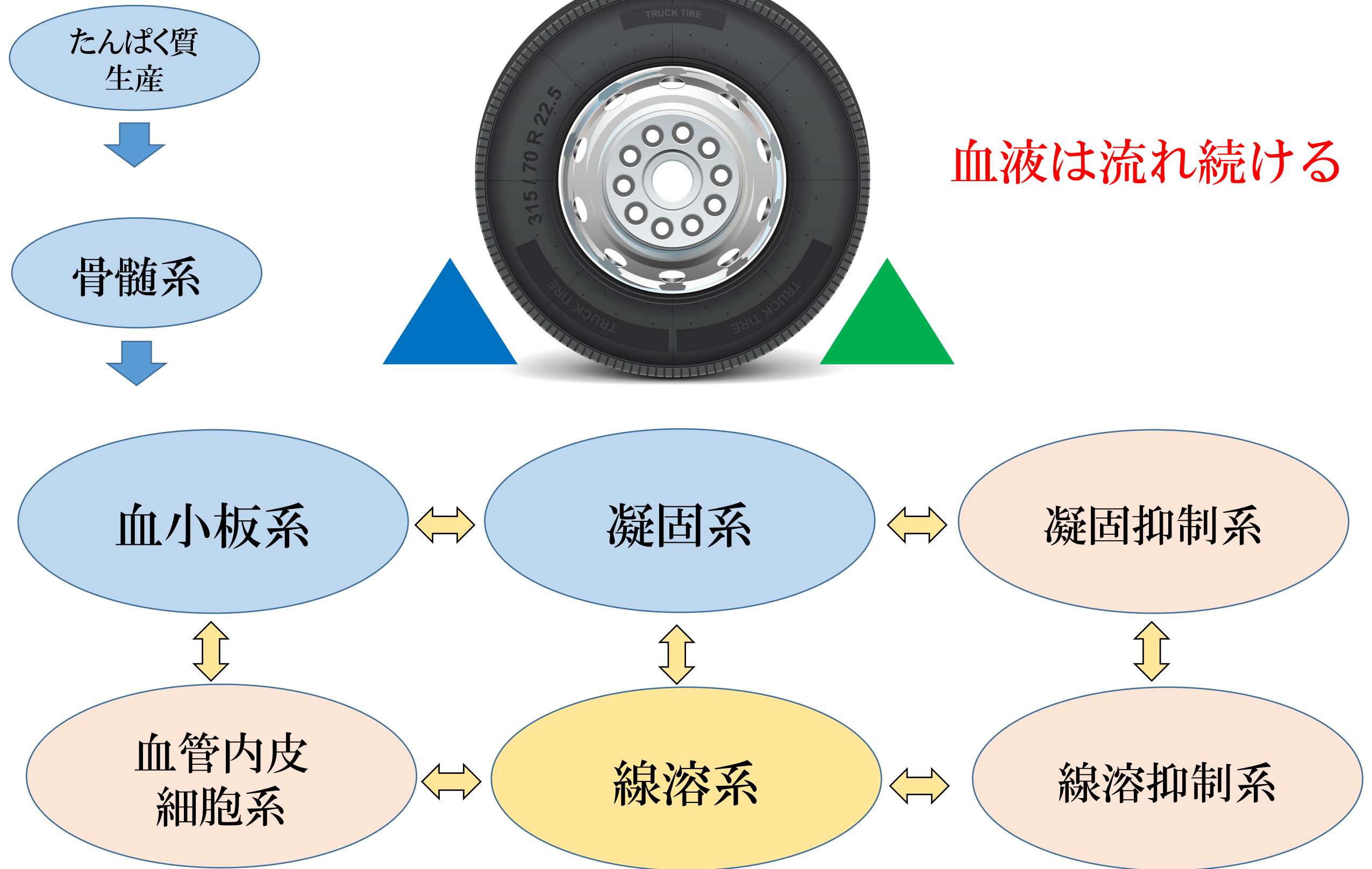


血液が凝固しなかった理由

- トロンボモジュリン(TM) : TATの形成・APC形成
- ヘパリン様物質(ヘパラン硫酸): AT-IIIやTFPIが結合
- t-PA
- プロスタサイクリン(PGI₂): 血小板機能抑制、血管拡張作用
- 一酸化窒素(NO):: 血小板機能抑制、血管拡張作用

出血と凝固

まとめ



勉強会資料

終わり

1. 凝固反応は生体防御の一つ

外傷(ケガ)に伴う凝固 > 代謝に伴う凝固

2. 凝固に係わる役者の起源は一緒

仲良し = 異物の検知能力が高い

3. 主役は、血小板・トロンビン・プラスミン・フィブリノーゲン

2価の金属イオン

4. フィブリノーゲンは特異なたんぱく質

キナーゼ(リン酸化反応) > 他酵素

5. たんぱく質の生産

エネルギー : 血球 > 酵素

6. 全体を理解

未解明な部分が多い。各自の発想・展開で劇的進歩も！



ご清聴有難うございました。
米村