

## 第23回シスメックス血液学セミナー / 神戸会場での質疑応答

## 1. 血栓・止血分野 - 血栓形成の分子機構をめぐって -

池田 康夫

【司会】 池田先生には血栓形成機序,特に,止血のための血栓と血管内にできる病的血栓との違い,あるいは,静脈血栓症の成因と動脈血栓症の成り立ち,それぞれについてお話しいただきました。その他,フローサイトメトリーを利用しているいろいろな活性化血小板の検出ができること,さらに,TTP,HUSにおける最近の話題として,vWF因子のクリアリングプロテアーゼのインヒビターのお話,また,血栓止血関係のノックアウトマウスからどのようなことを学ぶことができるかということなど,非常に幅広くお話しいただきました。質問のある方はどうぞ。

【質問者】 血流が血栓形成に非常に重要なファクターであることがとてもよくわかったのですが,血小板自体に流れを感知するメカニズムというか,流れセンサーのようなものがあるのかというのが疑問です。もし先生が何かお考えになっていらっしゃるがあれば教えてください。

【池田】 これは細胞生物学のトピックスになっていて,実は,内皮細胞も流れセンサーあるいはずり応力をどのように感知するか,そのレセプターは何なのかということですが,結論からいうと,内皮細胞でも血小板でもそのメカニズムは,ものは取れていない,そういう物理的な刺激を感知するメカニズムはわかっていないというのが正確なところだと思います。ただ,血小板は非常に高いずり応力を受けた場合,vWF因子と血小板の膜タンパクであるGP bが結合しやすくなるということはエスタブリッシュされた事実として受け取ってかまわないと思うのですが,そのメカニズムも実は2つの考え方があります。

1つは,vWF因子は,普通は丸いglobular formという折り畳んだような形をしている

のですが,ずり応力がかかると伸びたようなextended formになって,それがvWF因子のactivated formではないかと言われるようになりました。

これは,電顕を見せましたが,ああいう電顕があると同時に,これはエビデンスとして取っていいと思うのです。では血中にそういうextended formのvWF因子がどれくらい流れているのかということ測定する手段を我々は持たないのでわからないのですが,ああいうことが起こっている。

一方,血小板のレセプター側にそういう流れによって変化が起こるかどうかというのは,実は長年の議論になっています。特にGP bは,先程size polymorphismの話をしました,非常に背の高いレセプターです。ああいうレセプターは,速い流れの状況下,高いずり応力を受けると立体構造の変化を起こしてGP bのバインディングサイトを開けるのではないかという話が仮説としてあります。それで,GP bのことをshear stress responsive receptorというような呼び方で呼んでいる人もいますが,エビデンスがないのです。私どもの実験データは,GP bの立体構造が変わって,それがセンサーになってつきやすくなっているというデータはむしろ否定的だろうと思いますので,血小板側に関しては,流れを感知するようなメカニズムというのは今はわかっていない。ただ,GP bが関与していることだけはわかっている。それ以外のものが関与してGP bの立体構造を変えたりすることなどがあるのかどうか,その辺はまだわかっていないと思います。

【質問者】 どうもありがとうございました。

【司会】 こちらに2~3質問が来ております。それでは,2つ,池田先生に伺います。

(質問) スtentを入れた時には、抗凝固療法よりも抗血小板療法がいいというデータを先生は示されましたが、人工弁の置換後の場合はワーファリンが主流です。人工弁の患者さんでアスピリンなどの抗血小板療法の効果というのはどのようなものでしょうか。

【池田】 人工弁で抗血小板療法だけを使ってはっきり効果が現れた確実なデータはあまりないのではないかと私は理解しています。人工弁に関しては、血小板の活性化はもちろんあるのですが、血栓に結び付くようなものは人工弁のことではない。むしろ人工弁で問題なのは、これは心房細動でも同じなのですが、心腔内に血栓ができてそれが脳の方に飛ぶとか、そういう問題が多くて、それは静脈の血栓と同じように、血液の流れない場所が心臓の腔の中に一部出て、その場所でトロンピンができてそこに血栓ができる。その血栓が何かの場合に飛んで脳に引っ掛かるとか、そのような考え方が強いので、そういう場合はやはりトロンピンの生成をきっちり抑えなければいけないので、明らかに抗血小板よりも抗凝固療法の方が効果があることがわかっています。ただし、心房細動に限って言えば、抗血小板剤でも全く効かないわけではなく、ある論文によると、抗凝固療法よりは効果は悪いが何もやらないよりは心房細動の患者が起こしてくる脳梗塞の発生頻度を抑えるというデータはあるように思います。

【司会】 もう1つ、同じ方からの質問です。

(質問) 先程、いろいろな種類の抗血小板剤のお話がありましたが、活性化された血小板のみ機能を抑える薬はあるのでしょうか。

【池田】 それはないと思います。理論的にはできる可能性があると思うのですが、例えば、活性化血小板のディテクションは血小板の表面に新しい分子が表出する、その表出した分子に対する抗体を使ってフローサイトメトリーで検出するというのが活性化血小板の今の新しい考え方だと思うのです。

その1つに、血小板凝集のキーのタンパクであるGP b/aという分子、複合体タンパクがあるのですが、活性化していますと、その分子は活性型に変わっているのです。レセプターとして機能するような状況になっているということですから、非活性型の b/aは認識しないが、活性型に変わった b/aを認識するようなモノクローナル抗体があれば、今のご質問のような抗血小板剤が作れる。実際に検査として使っているのはPAC-1というIgMの抗体が唯一あります。それを使って我々は b/aの活性型をフローサイトメトリーで検出しているのですが、これはIgMの抗体で、薬としてそれを使って何かしようということにはなっていませんので、現時点ではそういう考え方はあってもおかしくないのですが、物としてはないということだと思います。

【司会】 もう1つ関連して、他の方から、血小板関係の質問です。

(質問) リストセチンによる血小板凝集のメカニズムと臨床的意義、特に後天性疾患との関係についてはいかがでしょうか。

【池田】 リストセチンは抗生物質として開発されたのですが、臨床試験をやっていたら血小板がどんどん減ってきて、これは副作用が多くて使えないため開発が中止になった経緯があります。その後リストセチンはおしまいになっていたのですが、ある時、vWF因子が欠損しているvWF病の患者さんにこれを入れたら凝集しない、普通の人は凝集するということがわかりました。

リストセチンはvWF因子または血小板のGP bに結合して、血小板の膜のチャージを落とすのです。血小板の膜の表面にマイナスチャージがあるのですが、これがくっつくことで陰性荷電が減少し、vWF因子がくっつきやすくなるのです。vWF因子を糊にして、血小板のGP bを介して血小板どうしが凝集するというのがリストセチン凝集のメカニズムで

す。リストセチン凝集は非常に強い凝集ですから、これは、vWF因子が欠損しているか、あるいは、GP bが欠損しているか、機能異常があるかという、どちらかという出血性疾患の診断にいい。

では、同じvWF因子とGP bのインタラクションは病的な血栓にも大事なのだから、その病的な血栓のメカニズムを追究したり、あるいは血栓が形成しやすいところにこのリストセチン凝集が使えないかということですが、あまりにもセンシティブティが低いのです。もともと低下を見るように作られた検査ですから、亢進状態を見るのにはふさわしくないのです、出血性疾患の診断に使えるけれども、病的な血栓の起こしやすさ、あるいは機能亢進というものをこれで見るとは非常に難しいだろうと思います。

【司会】 これは確か、リストセチン凝集が他の血小板凝集、例えばADPやコラーゲン凝集と違うところは、ホルマリンで固定した死んだ血小板でも凝集するのですよね。

【池田】 そうです。先生のおっしゃるとおりです。血小板中のいろいろなシグナルを全く必要としないのです。極端なことをいえば、ラテックスの表面にGP bをくっつけてvWF因子と交ぜてリストセチンを入れればラテックスは凝集するということですから、普通のADPやトロンビンの血小板凝集とは全く意味が違います。

【司会】 そういう意味で、アグリゲーションではなく、アグルチネーションという言葉を使う人もいますね。

【池田】 そうです。その方が正しいですね。アグリゲーションというとシグナルが関与する。ただ単にくっついていただけという意味で、アグルチネーションというのが正確な表現だと思います。

【司会】 他にいかがでしょうか。もちろんいろいろな質問があるのですが、時間の都合ですべて答えることができないので、答えられ

なかった部分については後程シスメックスのホームページで回答させていただきます。

あと手元に来ているものでは、今日は、池田先生はこれにお触れにならなかったのですが、ヘパリン依存性の血小板凝集、ヘパリン依存性の血小板減少についての質問です。

(質問) ヘパリン依存性の血小板減少、その検査による診断法、例えば、ヘパリンをアゴニストとして血小板凝集計で凝集を測定する方法などあれば教えてください。

【池田】 ヘパリン依存性の血小板減少症は欧米では非常に多く、ヘパリン投与中に血小板が急に減ってきた時はこの疾患を考えるのは常識です。ひどい症例になりますと、ヘパリンが投与されることによって血小板が凝集し、その凝集塊が血栓を作る。ヘパリンはもともと血栓を予防するために使われる抗凝固剤なのですが、ヘパリンを投与している最中に非常にひどい血栓が起こってくるという患者さんがいるのです。それは、ヘパリンによって血小板凝集が惹起されるということなのですが、これは日本では非常に稀です。欧米では徐々にこのメカニズムが検討され、日本でもやっている人がいないわけではないのですが、Fcレセプターが関与した凝集メカニズムだということがわかってきました。

検査法は、おそらくヘパリンに対する抗体を見つける、あるいはヘパリンを投与して凝集を惹起させるかどうか、それにかかっているのではないかと思います。ただ、我が国ではほとんど見られないのではないかと思います。なぜかというのは今後検討していかなければいけないと思いますが。

【司会】 もう一つ、これも今日は直接お話しにならなかったDICに関する質問です。

(質問) 細菌感染症を基礎疾患とするDICの早期で、FDPは高いがAPTT、PTの凝固検査はほぼ正常であるケースがあります。FDPの産生量が多いが凝固因子の消費が少ない理由、細菌感染症が基礎疾患なので、例えば

IL-6のようなものでacute phase reactantのフィブリノーゲンが増えています。したがって、FDPがたまたま高いのか、その辺はいかがでしょうか。

【池田】 FDPの場合、高いのはいくつか理由があるのですが、肝臓のクリアランスの問題もあると思います。FDPがどういう仕組みでクリアランスされるか、それから、例えば胸水がたまっていたり腹水がたまっていたりすると、そこにフィブリンができ、FDPが高い場合には、クリアランスの問題と滲出液がどこかにあるかというようなことが、普通に考えているより以上にFDPの高さを生む可能性があると思います。

細菌感染の場合、例えば敗血症の場合、FDPは線溶が亢進していますから、実際に血栓ができた後の二次線溶と考えるわけです。DICの場合は凝固優位型か線溶優位型かという考え方があると思います。凝固優位型は凝固の活性が非常に高まっている。線溶優位型は、凝固も高まっていますが、線溶の活性の方が目立って見られる。DICの基礎疾患によって、血液疾患等は線溶優位型の方が多い。ところが、細菌感染のようなものは凝固優位型になりますので、TAT(トロンピン-アンチトロンピンコンプレックス)が非常に高い訳です。私自身はTATの上がりと比べてFDPが非常に目立って高くなるような細菌感染の症例をあまり意識して見たことはないのですが、もしそういう症例があったら、もう少しディテールを教えていただければその辺の

ことについて考えることはできると思うのですが、一般論としてあまりFDPだけが際立って高いような細菌感染のDICはないのではないかと私は理解しています。

【司会】 そうですね。ほぼ時間になりましたが、1つ私から伺いたいのですが、先程、reticulated plateletが測れるようになったということで、例えばITPとか、そういう時は測るとどうなっているのですか。

【池田】 血小板減少の診断に非常に役に立つだろうと思うのですが、reticulated plateletはやはり少し増加していると思います。ですから、同じ血小板減少の程度でも、ITPはご承知のように除外診断ですので、いろいろな血小板減少症を除外して残った診断として普通は診断基準ができています。そういう面では、産生不全のための血小板減少なのか、例えば、MDSのようなもので血小板減少だけが目立っていて、白血球や赤血球系統に異常がないような場合は非常に鑑別が難しいのですが、同じ血小板の減少の程度だと、reticulated plateletは高い、TPOのレベルは逆に低いというような2つの組み合わせで、産生不全による血小板減少なのか、ディストラクションによって血小板減少が起こるITPなのかということが鑑別できるのではないかと期待をされていると思います。

【司会】 それでは、ちょうど時間となりました。長時間、大変興味あるお話をありがとうございました。