

抗リン脂質抗体症候群の 鑑別診断と血栓形成機序

野島 順三

山口大学大学院 医学系研究科・生体情報検査学：山口県宇部市南小串 1-1-1（〒755-8505）

キーワード

抗リン脂質抗体症候群, 抗カルジオリピン抗体, 抗 β_2 -グリコプロテイン I 抗体, ループスアンチコアグラント, 抗ホスファチジルセリン/プロトロンビン抗体

はじめに

近年、生活習慣の欧米化に伴い、わが国でも虚血性心疾患や脳血管障害など血栓塞栓症をベースとする疾患が死因の上位を占めており、血栓症の診断や発症機序の解明に関する研究は極めて重要な課題である。血栓症の発症原因は、先天性血栓性素因と後天性血栓性素因とに大別される。先天性血栓性素因の多くは、血液凝固制御因子や線溶促進因子などの単一遺伝子の異常を直接の病因とするものが多く、診断法や治療法の確立は比較的容易である。一方、後天性血栓性素因の場合は、血栓症の発症に血管内皮細胞の異常・血液成分の異常・血流の異常など複数要因と生活環境因子（食生活・加齢など）が混在しており、その診断は極めて困難となる。実際、臨床検査診断学が目覚しく進歩した現在でも後天性血栓症の発症原因を確定できる症例は30%に満たない。

近年、抗リン脂質抗体症候群という新たな疾患概念が後天性血栓性素因の代表的疾患として定着しつつある。本症候群は、生体内にリン脂質に関連する自己抗体である抗リン脂質抗体が産生されることにより種々の血栓性合併症を呈する患者群の総称であり、その鑑別診断法の確立や病態発症機序の解明に関して急速に研究が進められている。本稿では、抗リン脂質抗体症候群の疾患概念について述べると共に、抗リン脂質抗体症候群の鑑別診断および血栓形成機序について、最近の知見を中心に概説する。

抗リン脂質抗体症候群

抗リン脂質抗体症候群（anti-phospholipid syndrome: APS）は、抗カルジオリピン抗体（anti-cardiolipin antibodies; aCL）・抗 β_2 -グリコプロテイン I 抗体（anti- β_2 glycoprotein I antibodies; a β_2 GPI）・ループスアンチコアグラント（Lupus Anticoagulant; LA）などに代表される抗リン脂質抗体の出現と、それに伴う動脈および静脈の血栓塞栓症や習慣性流死産等妊娠合併症などの病態を呈する自己免疫性血栓塞栓性疾患である¹⁻³⁾。本症候群は、1983年にHughesらにより抗リン脂質抗体の出現と血栓症や血小板減少症との関連が指摘され⁴⁾、1986年に同研究グループによって提唱された疾患概念である⁵⁾。

APSは、臨床的に原発性APSと続発性APSに分類される。原発性APSは、既知の膠原病や明らかな基礎疾患・誘因を持たないタイプで、抗リン脂質抗体の出現に伴い脳梗塞・心筋梗塞・深部静脈血栓症や原因不明の習慣性流死産が認められる。一方、続発性APSは膠原病に合併するタイプで基礎疾患としては全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus: SLE）が最も代表的である。特にSLEに合併するAPSは、血中に出現する抗リン脂質抗体も多様であり、抗体により引き起こされる合併症も重篤な動脈血栓症から軽微な静脈血栓症まで極めて多彩である⁶⁾。さらに、稀ではあるがAPSの特殊型として、全身広範な血栓で発症し、急激な多臓器不全・重症呼吸不全・重篤な血小板減少症などを合併し、極めて予後不良な劇症型APSがみられる。

APSの診断に際しては、1998年に札幌で開催された第8回国際抗リン脂質抗体カンファレンスで提唱された分類基準案“Sapporo Criteria”が世界的に広く用いられてきた⁷⁾。その後、2005年にシドニーで開催された第11回国際抗リン脂質抗体カンファレンスで“Sapporo Criteria”の改訂が討議され、2006年に発表されたAPS診断分類基準(“Sapporo Criteria” Sydney改訂版)⁸⁾が、現在有用である(表1)。この“Sapporo Criteria” Sydney改訂版では、「臨床所見」として画像検査や病理所見で確定診断された動脈および静脈の血栓塞栓症、あるいは分類基準に従って診断された流死産等妊娠合併症のうち1つ以上が確認される事としている。さらに「検査所見」としては、①国際血栓止血学会の診断ガイドラインに基づいた方法でLA活性が陽性、②IgG型またはIgM型のaCLが陽性(健常人の99パーセントイル以上または40単位以上)、③IgG型またはIgM型の $\alpha\beta_2$ GPIが

陽性(健常人の99パーセントイル以上)、のいずれかの抗リン脂質抗体を12週間以上の間隔をあけて2度以上確認する事が求められている。

「臨床所見」と「検査所見」について、各々1つ以上が確定した場合にAPSと診断すると提唱している。

APSの臨床所見

APSの診断は、臨床所見と検査所見の双方で成され、臨床所見として最も重要なのが血栓塞栓症である(表1)。APS患者では動脈・静脈を問わず全身の血管に繰り返し血栓が発生する。この点は他の血栓性疾患と大きく異なるAPSの特徴である。APS患者では、無治療では1年以内に40～50%、2年以内に70～80%の症例で血栓症が再発すると報告されている。

表1. 抗リン脂質抗体症候群の診断分類基準

臨床所見

1. 血栓症(画像診断、ドップラー検査または病理学的に確認されたもので血管炎による閉塞を除く)
 - a. 動脈血栓症: 脳血管障害・虚血性心疾患など
 - b. 静脈血栓症: 深部静脈血栓症・肺塞栓症・網膜中心静脈血栓・腸間膜静脈血栓・副腎静脈血栓など
2. 妊娠合併症
 - a. 妊娠10週以降で、他に原因のない正常形態胎児の死亡、または
 - b. 妊娠中毒症、子癇または胎盤機能不全による妊娠34週以前の形態学的異常の無い胎児の1回以上の早産
 - c. 妊娠10週以前の3回以上続けての流産(母体の解剖学的異常、内分泌学的異常、染色体異常を除く)

検査所見

Category 1: リン脂質依存性凝固反応による定性検査

1. ループスアンチコアグulant(LA): 国際血栓止血学会のガイドラインに基づいた測定法で、12週間以上の間隔をあけて、2回以上陽性であること。

Category 2: 各種固相化抗原を用いたELISAによる定量検査

2. 抗カルジオリピン抗体(aCL): IgG型またはIgM型のaCLが中等度以上の力価(>健常人の99%-tile, >40単位)で、12週間以上の間隔をあけて、2回以上陽性であること。
3. 抗 β_2 グリコプロテインI抗体($\alpha\beta_2$ GPI): IgG型またはIgM型の $\alpha\beta_2$ GPIが中等度以上の力価(>健常人の99%-tile)で、12週間以上の間隔をあけて、2回以上陽性であること。

*臨床所見が一つ以上確認され、かつ検査所見が一つ以上確定した場合に抗リン脂質抗体症候群と診断する。

APSに関連する血栓性病態は極めて多彩であるが、好発部位が存在する^{9, 10)}。動脈血栓症としては脳梗塞(単発性から多発性まで様々な脳梗塞)や一過性脳虚血発作などの脳血管障害が最も多く、動脈血栓症全体の約90%を占めている。次いで症例数は少ないが心筋梗塞など虚血性心疾患も重要な動脈血栓症である。一方、静脈血栓症としては下肢深部静脈血栓症が最も多く、しばしば肺塞栓症を併発する重篤な合併症を呈する。また網膜中心静脈血栓症・腸間膜静脈血栓症・腎静脈血栓などAPSでは多彩な静脈血栓症が認められる。

さらにAPSでは罹患患者の多くが若い女性ということもあり、習慣性流産などの妊娠合併症も重要な病態である。妊娠合併症に関しては、①妊娠10週以降の奇形を伴わない子宮内胎児死亡、②妊娠34週未満の妊娠高血圧症あるいは胎盤機能不全による低出生体重児出産、③妊娠10週未満の3回以上連続した習慣性流産(胎児奇形や母体の要因による流産は除外する)がAPS関連妊娠合併症と定義されている。その発症機序は詳細には解明されていないが、胎盤内多発性血栓による胎盤の機能不全が主な病因と推測されている。

今回改訂されたAPS診断分類基準では、本症候群に比較的特異的な臨床症状として、血小板減少症・心弁膜症・神経症状・皮膚疾患(特に網状皮斑)・腎疾患の5つがAPS関連症状(APS診断の臨床所見には含まない)として記載されている。その中でも血小板減少症は、APS患者の約30%の症例で確認され、本症候群を疑うきっかけとなる重要な臨床所見である。APSに発症する血小板減少症は、血小板数が5~10万/ μL の比較的マイルドな血小板減少症が多く、出血傾向を呈することはほとんどない。APSにおける血小板減少の機序としては、血小板膜表面に抗リン脂質抗体が結合することにより脾臓や網内系による処理が亢進する免疫学的な機序が考えられるが、脳梗塞など動脈血栓症の発症に先行して血小板減少をきたす症例が認められることから、血栓症の発症に伴い血小板の消費が亢進する可能性なども指摘されている。

APSの検査診断

APS診断における抗リン脂質抗体検査基準は、2006年のAPS診断分類基準("Sapporo Criteria" Sydney改訂版)で以下の3点に変更された。①抗リン脂質抗体の持続的陽性を確認する間隔が6週間以上から12週間以上に引き伸ばされた。②aCLについて「 β_2 GPI依存性aCLである」という条件が外された。③ $a\beta_2$ GPIが新たな検査項目として追加された。

APSの検査診断は、患者血中に抗リン脂質抗体が存在していることを証明することに尽きるが、その検出方法の違いにより大きく2つのカテゴリーに分類される(表1)。第1は、リン脂質依存性凝固反応に対する阻害活性として検出するLA活性である。これは、抗リン脂質抗体が示す「*in vitro*の凝固時間をリン脂質依存性に延長させる」という性質を利用して、その阻害活性を測定することによりサンプル血漿中に抗リン脂質抗体が存在していることを間接的に証明する定性検査である。第2は、標準化されたELISAを用いて検出するaCLと $a\beta_2$ GPIである。LA活性の定性検査とは異なり、aCLあるいは $a\beta_2$ GPIにそれぞれ対応する固相化抗原を用いて抗体の実質そのものを定量する検査である。

1. リン脂質依存性凝固反応によるLA検査

1. LAの定義と測定手順

APS患者では、しばしばAPTT(時にはPTも)の延長が確認される。これは、抗リン脂質抗体がリン脂質濃度の限られた試験管内において、リン脂質を介する反応を阻害(特に凝固カスケードの主要な複合体であるTenaseやProthrombinaseの形成を抑制)することにより、凝固時間を延長させる(LA活性を発現する)と考えられている。よってLA活性は次のように確認される。①*in vitro*でのリン脂質依存性凝固時間の延長、②凝固時間延長の原因がインヒビターであることの証明、③存在するインヒビターが個々の凝固因子に対してではなくリン脂質に対して特異的であることの証明、これらをすべて満たしてはじめてLAと定義される。

新たに改訂されたLA診断改訂ガイドライン¹¹⁾では、LA活性の判定に①スクリーニング試験→②クロスミキシング試験→③確認試験と3段階のステップを要求している(図1)。

2. LA検査：血漿検体の処理方法

LAは、血漿検体の処理や保存方法が不適切な場合には偽陰性を呈することが多く注意が必要である¹²⁾。クエン酸ナトリウムで抗凝固した静脈血をできるだけ速やかに遠心分離し良質な血漿を得ることが大切である。その際は、血漿中に血小板が極力残存しないように、二重遠心分離処理(2,000G・15分間遠心→血漿分離後2,500G・10分間再遠心→再度血漿分離)法を用いる。血漿分離後ただちにLA検査を実施できない場合には、血漿を-80℃で凍結保存する必要があるが、血漿中に血小板が残存していると、凍結融解操作の際に血小板由来のリン脂質が溶出してサ

ンプル中のリン脂質濃度が過剰になり偽陰性を呈する危険性がある。また、クロスミキシング試験の際に用いる正常血漿にも同様の処理が必要で、市販の正常血漿はLA測定用には適さない。

LA測定用血漿サンプル(被検血漿および正常血漿)の作成方法として、0.2μmフィルター処理により残存血小板を完全に除去した血漿は、凍結融解してもLA検査用サンプルとして極めて有用であることが示されている。しかし、フィルター処理した血漿は、凝固第Ⅷ因子やvon Willebrand因子などの低下が確認されており、他の凝固機能検査には使用できない。

また、患者が急性期血栓症や重症感染症、妊娠中の場合には活性型凝固因子の増加によりLAが偽陰性を呈するケースがある。一方、ワルファリンやヘパリン類などによる抗凝固療法中の患者では、LAが偽陽性を示すことがあるので注意が必要である。

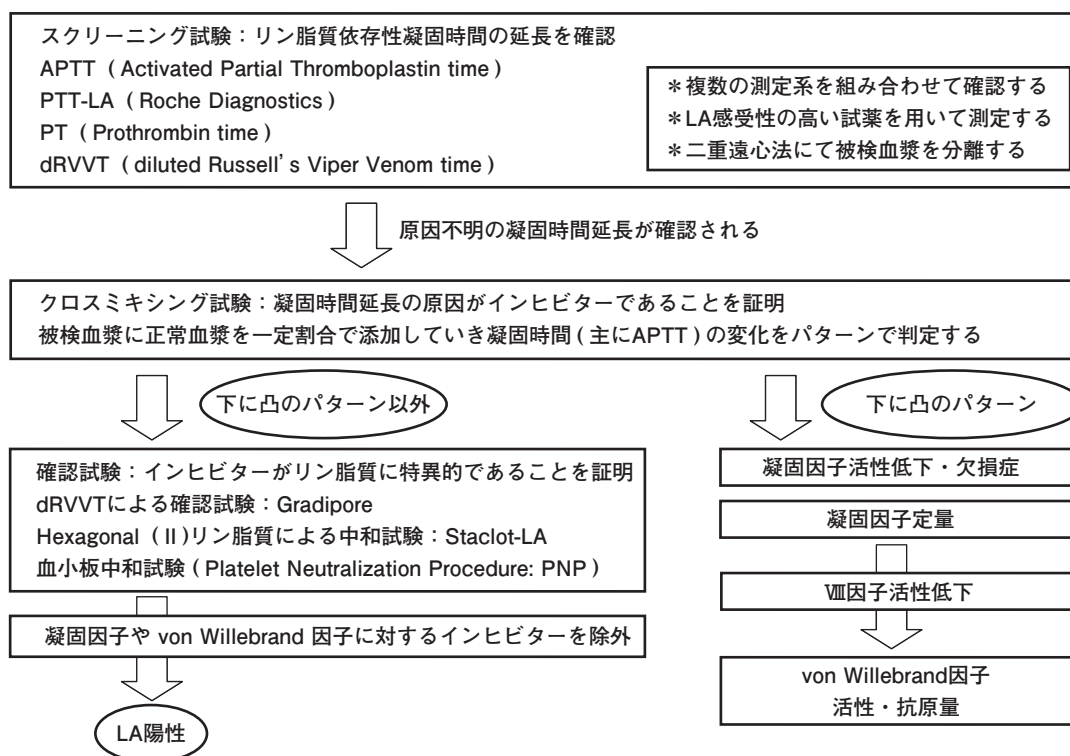


図1. ループスアンチコアグラント(LA)の診断手順

3. LA スクリーニング試験

LA 検査の第1段階は、リン脂質依存性凝固時間の延長を確認することである。検査法として、プロトロンビン時間 (Prothrombin Time ; PT)・活性化部分トロンボプラスチン時間 (Activated Partial Thromboplastin Time ; APTT)・希釈ラッセル蛇毒試験 (diluted Russell's Viper Venom Test ; dRVVT)・PTT-LA などの測定系が用いられるが、それぞれの測定法で検出できる LA が若干異なっているため、複数の測定系を組み合わせ (例えば APTT と dRVVT) スクリーニング試験を行う必要がある。通常、多くの検査室ではスクリーニング試験として APTT を第1選択とし、APTT が正常の場合は LA 陰性と判断しがちであるが、APTT は使用する試薬により LA に対する感受性が大きく異なる (試薬中のリン脂質の組成や配合比による違い) ため、APS を疑う症例では高感度の測定系にて確認する必要がある。日本血栓止血学会 (JSTH) 標準化委員会は LA 検出に最も高感度で特異性の高い検査試薬として PTT-LA[®] を推奨しているが、トロンボチェック APTT-SLA[®] やヒーモス IL APTT-SP[®] なども極めて良好な LA 感受性を有していることが示されている。

現在、わが国で保険収載されている LA 検査用試薬として MBL 社のグラディポア (dRVVT test) がある。

dRVVT test は、ラッセル蛇毒によりリン脂質・カルシウムイオン・活性化第 V 因子存在下で直接凝固第 X 因子を活性化し、Prothrombinase を形成することによりプロトロンビンをトロンビンに転化させるため、凝固 VIII 因子欠乏症や VIII 因子に対するインヒビターを除外できるメリットがある。

4. クロスミキシング試験

スクリーニング試験で凝固時間の延長が確認された場合、その延長が個々の凝固因子活性の低下ではなく、インヒビターによるものであることを証明するためにクロスミキシング試験を実施する。

LA 診断改訂ガイドラインでは、クロスミキシング試験は被検血漿と正常血漿を 50 : 50 で等量混和した 1 ポイントでの判定を許可しているが、しばしば LA 陽性の判定に困惑する。現時点では、被検血漿と正常血漿を 7 ポイント (被検血漿 : 正常血漿 = [100 : 0]・[90 : 10]・[80 : 20]・[50 : 50]・[20 : 80]・[10 : 90]・[0 : 100]) で測定し、[100 : 0] と [0 : 100] を結ぶ直線より上に凸のパターンか下に凸パターンか判定することを推奨したい。

典型的なクロスミキシング試験のパターンを **図2** に示した。凝固因子活性低下・欠損症では添加した

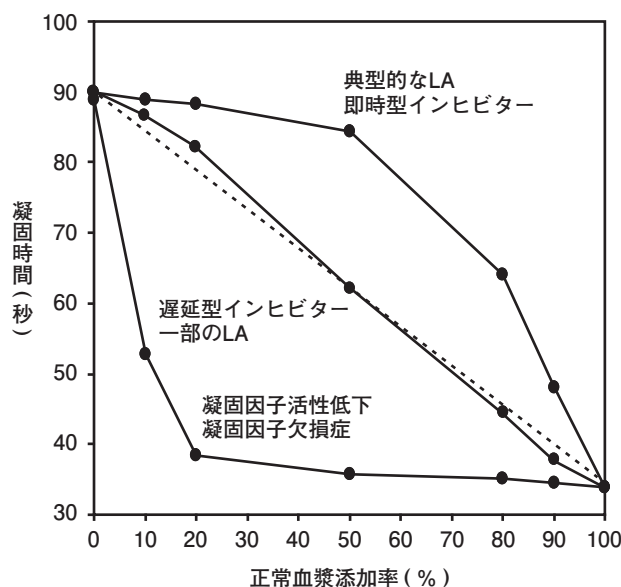


図2. クロスミキシング試験のパターンと評価法

正常血漿により反応中の凝固因子活性が補われるため延長していた凝固時間が速やかに是正される下に凸のパターンを呈する。一方、大部分のLAはリン脂質に対する即時型インヒビターであり、正常血漿を添加しても凝固時間の延長がすぐには是正されない上に凸のパターンを示す。しかし、LAの10～20%の症例で、血友病インヒビターのような遅延型のパターン（混合直後では上に凸のパターンを示さない）を呈するケースがあり判定に困惑する。さらにクロスミキシング試験のパターンは、使用するAPTT試薬のLA感受性に大きく左右される¹³⁾。LA高感度の試薬で測定すると、LA陽性検体では典型的な上に凸のパターンを描き視覚的にも判定しやすいが、LA低感度の試薬では明確なLAパターンを示さないケースが度々見受けられる。また、添加する正常血漿の良し悪しでもクロスミキシング試験のパターンが変化する。特にLA低力価の症例では市販のコントロール血漿を用いた場合、[100:0]と[0:100]を結ぶ中央線に重なるパターンや逆S字様パターンなど判定に困惑する。将来的には、LAクロスミキシング試験専用の市販正常血漿の開発が望まれる。

クロスミキシング試験の判定で重要なポイントは、本試験がLAの確定検査ではなく、LA陽性を確定するためには引き続き確認試験を実施するという点である。つまりクロスミキシング試験の段階では1ポイントでも上に凸のポイントがあれば、すなわち完全なる下に凸のパターン（凝固因子活性低下症・欠乏症パターン）でなければ、LAの存在を疑って次の確認試験に進むべきである（**図2**）。

5. LA 確認試験

クロスミキシング試験でLAを含むインヒビターの存在が疑われたサンプルに関しては、被検血漿に過剰なリン脂質を添加することにより延長していた凝固時間がある一定レベル短縮することを確認し、インヒビターがリン脂質に特異的であることを証明する。

確認試験として汎用されている測定キットがグラディアア（dRVVT test）である。Reagent 1（低濃度リン脂質含有試薬）による凝固時間とReagent 2（高濃度リン脂質含有試薬）による凝固時間の比が1.3倍以上の場合に

LA陽性と判定する。ただし、このdRVVT testでは、ワルファリン服用患者で偽陽性が高頻度で出現するので、被検血漿と正常血漿を混合（1:1または4:1）し凝固因子活性の低下を補ってから確認試験を実施する必要がある。

内因系凝固機序のLA確認試験として保険収載されているキットがStaclot LA[®]である。被検血漿にHexagonalリン脂質（フォスファチジルエタノールアミン）と正常血漿を添加し、LA感受性の高いPTT-LS試薬を用いてAPTTを測定する。Hexagonalリン脂質を添加した被検血漿中のLAは中和され、APTTは短縮する。比較対照（バッファー添加）のAPTTより8秒以上凝固時間が短縮した場合にLA陽性と判定する。

2. ELISA による抗リン脂質抗体の定量

ELISAで検出する抗リン脂質抗体として、APS診断分類基準改訂版に採用されているのが、aCL（IgG型あるいはIgM型）とa β_2 GPI（IgG型あるいはIgM型）である。わが国で保険収載されているELISAキットは、MBL社の「MESACUP カルジオリピンテスト」とヤマサ社の「抗CL・ β_2 GPIキット」の2種類であるが、どちらのキットもIgG型抗体の測定系のみで、IgM型aCLは保険収載されていない。一方、a β_2 GPIの測定に関しては、検査用キットが国内販売されておらず、一般の検査室には普及していない。

1. aCL と a β_2 GPI の測定方法

当初、aCLはカルジオリピン（CL）などの酸性リン脂質に直接結合する自己抗体だと考えられていた。しかし、研究の過程でAPSに関連するaCLは固相化CLに直接反応するのではなく、CLと結合する際に β_2 GPIというリン脂質結合タンパクの関与を必要とすることが明らかとなった。その後、aCLはCLなどの酸性リン脂質に結合することにより構造変化を起こした β_2 GPI分子上に新たに出現するエピトープを認識して結合する抗体、すなわちaCL/ β_2 GPIであることが確認されている（**図3-A**）¹⁴⁾。

一方、固相化リン脂質を用いないELISAも考案され、現在のAPS診断分類基準改訂版に採用されてい

る。ELISA に用いられるポリスチレンプレートに γ 線などの放射線を照射し、強力な酸化処理を施したプレートに β_2 GPI を物理吸着させると酸性リン脂質 (CL) と結合した際と同様の構造変化が生じ、抗体に対するエピトープが発現することが明らかとなっている¹⁵⁾。この ELISA で測定される抗リン脂質抗体を $\alpha\beta_2$ GPI と呼ぶ (図 3-B)。

現在普及している α CL-ELISA は、その測定原理上、真のエピトープに対する抗体 (APS の血栓性合併症に関連が強い抗体) 以外にも固相化 CL に直接結合する抗体 (APS の合併症と関連が弱い抗体) などを含めて総合的に測定されている可能性が示唆されている。一方、 $\alpha\beta_2$ GPI-ELISA では、 β_2 GPI 分子上のエピトープに特異的な抗体のみが測定でき、臨床的有用性が極めて高い。新しい APS 分類基準に沿った診断のためには、わが国でも $\alpha\beta_2$ GPI-ELISA が保険収載され、

測定キットが国内販売されることを切望する。

2. 抗ホスファチジルセリン/プロトロンビン抗体 (aPS/PT)

近年、細胞膜の主要な酸性リン脂質であるホスファチジルセリン (PS) とプロトロンビン (PT) との複合体に対する抗リン脂質抗体 (aPS/PT) が発見され、研究室レベルではあるが測定系が確立されている¹⁶⁾。本抗体は固相化 PS に Ca^{2+} 存在下で結合した PT 分子上のエピトープを認識して結合する抗体であることが確認されている (図 3-C)。これまでの臨床研究から、aPS/PT は LA 活性を示す主要な抗リン脂質抗体であり、APS の血栓性合併症に特異性が高いことが示されている¹⁷⁾。現時点では、APS 診断分類基準に採用されていないが、将来的に有望視される抗リン脂質抗体である。

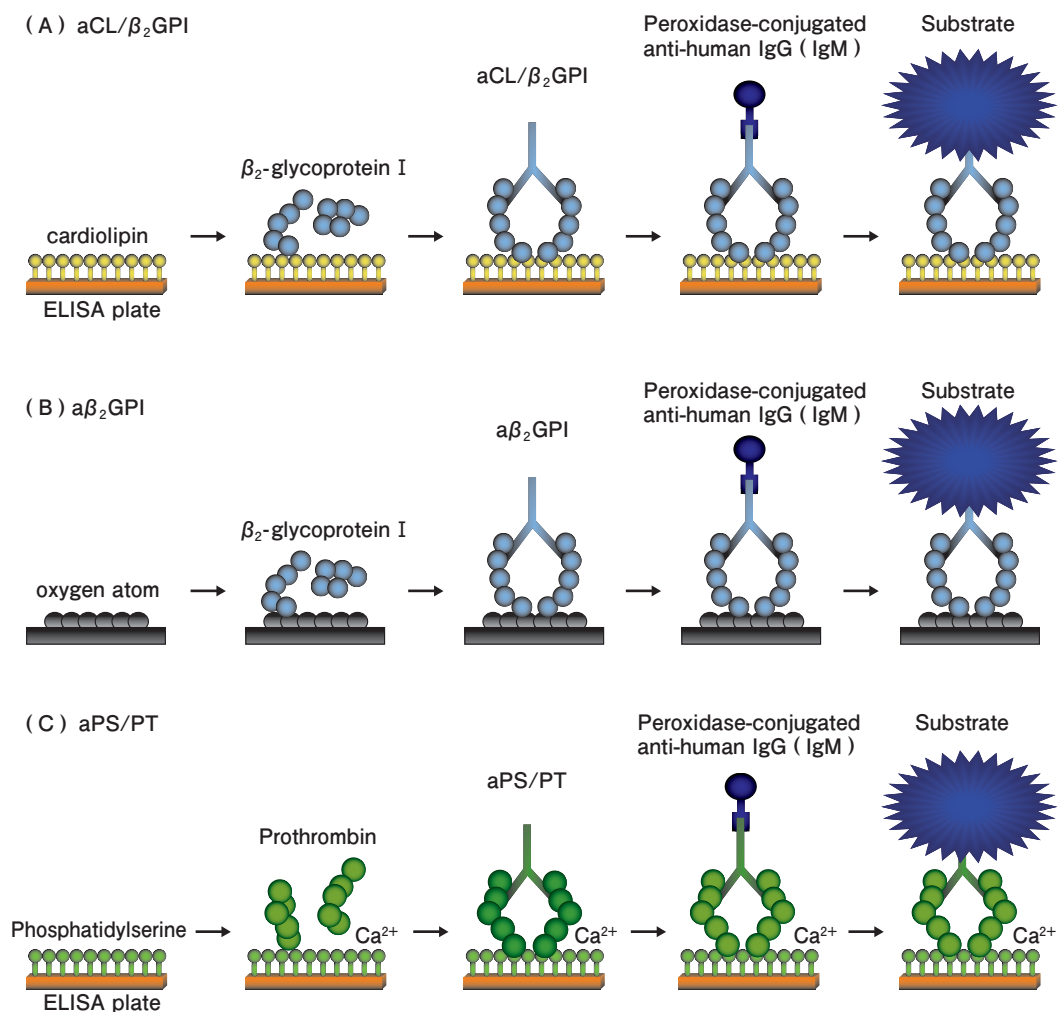


図 3. 各種抗リン脂質抗体-ELISA の反応ステップ

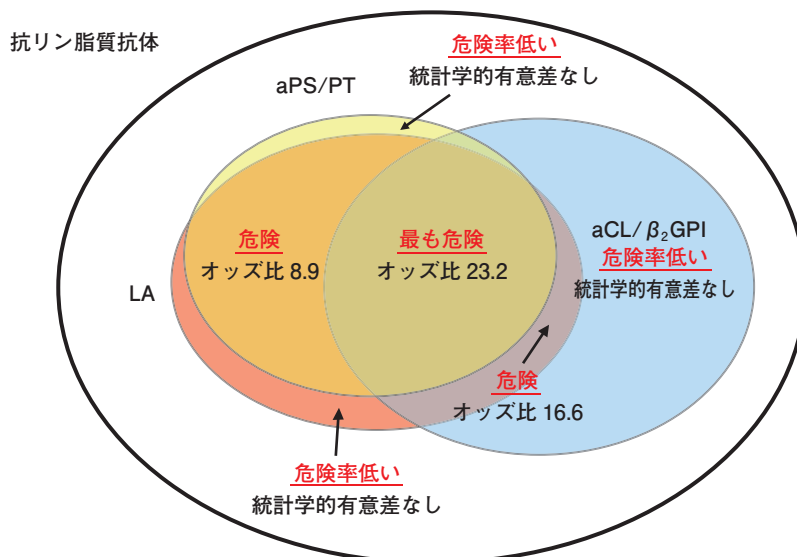
わが国では、MBL社とコスミックコーポレーションより2種類のaPS/PT-ELISAキットが発売されているが、保険収載されておらず臨床研究用として測定されている。

各種抗体によるAPS鑑別診断

抗リン脂質抗体は、抗原特異性が多様であり、認識するエピトープの違いから幾つかのタイプが存在している。特にSLE患者に合併するAPSでは、その臨床症状の多彩さに加え、患者血中に出現する抗リン脂質抗体のタイプも多様である。SLE168症例を対象とした我々の検討では、抗リン脂質抗体が陽性だった症例の約45%でaCL/ β_2 GPI(あるいはa β_2 GPI)とaPS/PTがオーバーラップしていた。さらに、それぞれの抗体とLA活性の関係を検討した結果、aCL/ β_2 GPI陽性患者でLA活性が陽性だった症例は約60%であり、aCL/ β_2 GPIの40%近い症例がLA活性陰性だった。一方、aPS/PT陽性患者では約90%がLA活性陽性であり、aPS/PTは非常にLA活性

依存性が高い抗体であることが示唆された。さらにAPSの臨床病態(動脈/静脈血栓症, 習慣性流死産)の発症と各種抗リン脂質抗体出現との関連性を統計学的に解析した結果、LA活性・aCL/ β_2 GPI・aPS/PTの3つの抗体が重複する患者では、APS臨床病態を発症する危険率が極めて高いことが示唆された(オッズ比=23.2, 図4)。次いで、LA陽性のaCL/ β_2 GPIを持つ患者がオッズ比=16.6, LA陽性のaPS/PTを持つ患者がオッズ比=8.9と、いずれも有意な危険率を示した。一方、LA活性のみ陽性の症例や、LA活性が陰性のaCL/ β_2 GPIおよびaPS/PTが出現した症例では、APS臨床病態発症との間に有意な関連性は認められなかった。

このようにSLE患者血中にはタイプの違う抗リン脂質抗体が重複あるいは単独で出現し、その組み合わせの違いにより動脈/静脈血栓症や習慣性流死産の発症の危険率が大きく異なってくる可能性が示唆された。これらの結果からも、APSの正確な検査診断には、LA検査とELISAの両方を実施することが重要であることがわかる。



SLE168症例を対象にAPS臨床病態(動脈・静脈血栓症, 習慣性流死産)の発症と各種抗リン脂質抗体出現との関連性を統計学的に解析した。

図4. 抗リン脂質抗体の組み合わせによるAPS臨床病態(動脈・静脈血栓症, 習慣性流死産)発症の危険率

抗リン脂質抗体による血栓形成機序

「凝固時間を延長させる抗リン脂質抗体が、なぜ血栓症の発症に関連するのか？」という疑問を持つ方も多いと思われる。その答えは、試験管内と生体内における抗リン脂質抗体の作用の違いである。血管内皮細胞など細胞成分が存在せず、リン脂質濃度の限られた試験管内では、抗リン脂質抗体は血液凝固反応に対するインヒビター（抗凝血素）として作用する。一方、生体内では血管内皮細胞表面においてリン脂質を介した抗血栓機構を阻害する、あるいは細胞膜リン脂質に結合し血小板や単球・マクロファージ、血管内皮細胞などを活性化させることにより種々の血栓形成作用を示すことが確認されている。

抗リン脂質抗体が活性化プロテイン C (APC) 系凝

固制御機構を阻害することが、以前より多くの研究者により報告されている (図5)。APS 患者では後天性に APC レジスタンス反応を示す症例がしばしば確認され、このような患者では静脈血栓症が好発することが知られている¹⁸⁾。また、抗リン脂質抗体が活性化血小板の膜表面に結合することにより血小板の活性化を亢進させ、トロンボキサン A2 (thromboxane A2: TXA2) の産生を促すことも多くの研究者が実証している (図6)。APS 患者に多発する脳血管障害の発症機序として、この血小板活性化促進作用による血小板血栓の形成が強く関連していると推測される¹⁹⁾。さらに最近注目されている血栓形成機序は、抗リン脂質抗体がエpiteope 提供タンパクを介して単球・マクロファージや血管内皮細胞表面に結合し、それらの細胞を活性化させることにより

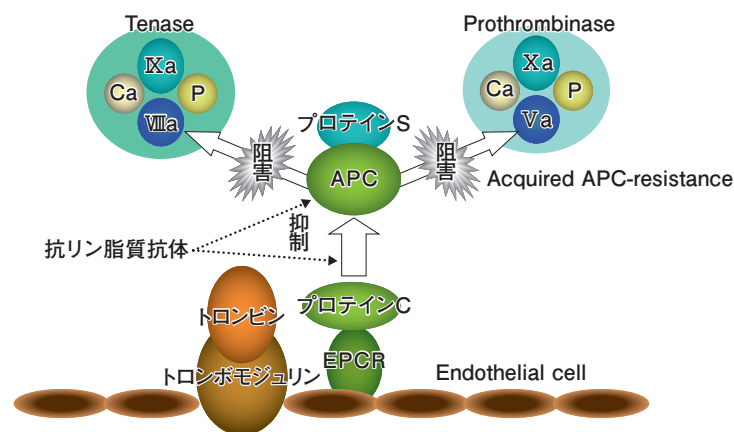


図5. 抗リン脂質抗体による活性化プロテイン C 系凝固制御機構の阻害

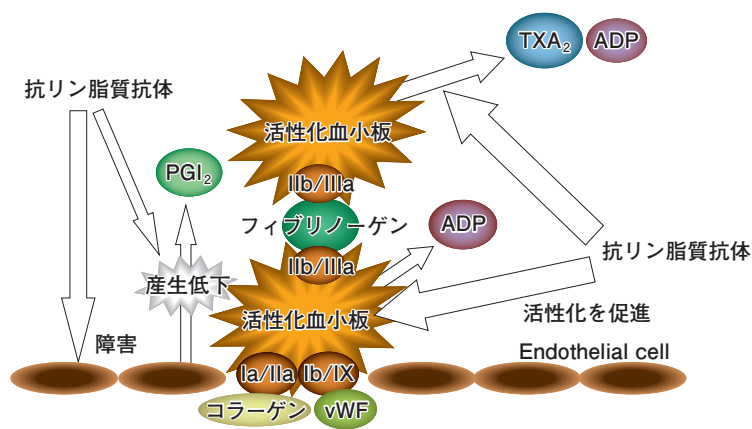


図6. 抗リン脂質抗体による血小板活性化の亢進

細胞表面組織因子 (tissue factor: TF) の発現や炎症性サイトカインの産生を亢進させることである (図7)。特に抗リン脂質抗体が細胞表面 TF の発現を増幅させる作用は、動脈血栓症と静脈血栓症の両方の発症機序に関連していることが示唆されており、APS に関連する多彩な血栓性合併症の中心的な病因と推測される²⁰⁻²²⁾。

抗リン脂質抗体が、どのような細胞内シグナル伝達経路を介して単球・マクロファージや血管内皮細胞の TF 発現を惹起 (増幅) させるのかは未だ詳細に

は解明されていない。現時点で推測される抗リン脂質抗体による細胞内シグナル伝達経路を図8に示した。患者血中に出現するいくつかのタイプの抗リン脂質抗体が、それぞれのエピトープ提供タンパクを介して細胞内に活性化シグナルを入れ、p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK)・核内転写因子 (Nuclear Factor- κ B: NF- κ B)・細胞外シグナル調節キナーゼ (Extracellular Signal-regulated Kinase: ERK 1/2) などの経路を活性化させることにより TF の発現に至ると推測されている。

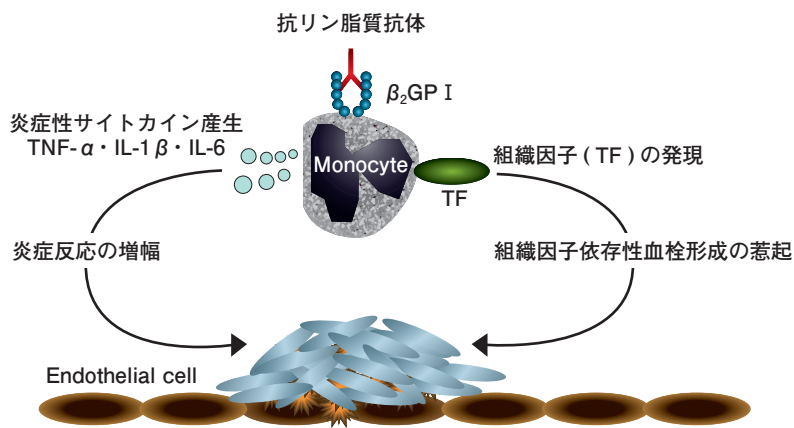


図7. 抗リン脂質抗体による単球組織因子発現および炎症性サイトカイン産生の亢進

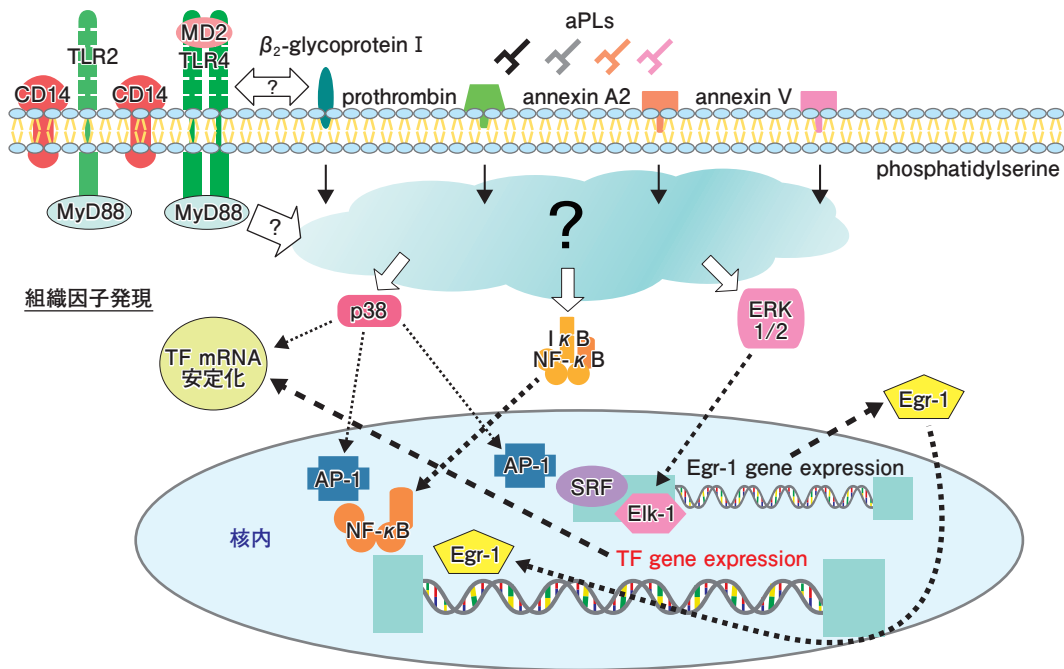


図8. 抗リン脂質抗体による細胞内シグナル伝達経路 (Lupus 17, 952-958, 2008 より改変)

おわりに

近年、APSの鑑別診断および血栓形成機序の解明は、分子レベルの研究により新たな展開を迎えようとしている。

APS検査診断に関しては、抗リン脂質抗体は認識するエピトープの違いから aCL・a β_2 GPI・aPS/PT などいくつかのタイプが存在しており、患者血中に出現する抗リン脂質抗体の組み合わせの違いにより血栓性合併症や習慣性流産の発症リスクが異なってくるというエビデンスから、今後は各種 ELISA と LA 検査を組み合わせ、患者血中に存在する抗リン脂質抗体のタイプの決定と抗体価の定量、さらに LA 活性の有無を鑑別することが重要となってくる。

さらに、抗リン脂質抗体による血栓形成機序に関しても、抗リン脂質抗体が認識するエピトープ提供タンパクの違いにより、血小板活性化促進作用や凝固制御機構に対する阻害作用、さらには細胞表面 TF 発現増幅作用など様々な血栓形成機序が生じ、それらが複雑に絡み合って多彩な血栓性合併症が発症すると推測される。今後、それぞれのエピトープ提供タンパクの解析がさらに進み、個々の抗体が及ぼす作用が明らかになるにつれ、APSの病態が解明されると期待される。

参考文献

- 1) Hughes GR. The antiphospholipid syndrome : ten years on. *Lancet*. 1993 ; 342 : 341-344
- 2) Roubey RA. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins : a new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. *Blood*. 1994 ; 84 : 2854-2867
- 3) Ruiz-Irastorza G et al. Antiphospholipid syndrome. *Lancet* . 2010 ; 376 : 1498-1509
- 4) Harris EN et al. Anticardiolipin antibodies : detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1983 ; 2 : 1211-1214
- 5) Hughes GR et al. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* . 1986 ; 13 : 486-489
- 6) Nojima J et al. Association between the prevalence of antibodies to beta (2) -glycoprotein I, prothrombin, protein C, protein S, and annexin V in patients with systemic lupus erythematosus and thrombotic and thrombocytopenic complications. *Clin Chem*. 2001 ; 47 : 1008-1015
- 7) Wilson WA et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome : report of an international workshop. *Arthritis Rheum*. 1999 ; 42 : 1309-1311
- 8) Miyakis S et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006 ; 4 : 295-306
- 9) 山崎雅英. 一瀬白帝 編著. 図説 血栓・止血・血管学 血栓症制圧のために : 3 ◆凝固反応 : 17 抗リン脂質抗体症候群. 東京 : 中外医学社 ; 2005. 410-421
- 10) 渥美達也. 抗リン脂質抗体症候群の診断. 日本血栓止血学会誌. 2008 ; 19 : 329-332
- 11) Pengo V et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J Thromb Haemost*. 2009 ; 7 : 1737-1740
- 12) 山崎雅英. 抗リン脂質抗体症候群の検査と診断. *Medical Technology*. 2007 ; 2 : 149-160
- 13) 家子正裕 他. 抗リン脂質抗体症候群における診断的臨床検査であるループスアンチコアグラントの検出方法としてのクロスミキシングテスト (交差混合試験). *臨床病理*. 2009 ; 57 : 990-998
- 14) Igarashi M et al. Human beta2-glycoprotein I as an anticardiolipin cofactor determined using mutants expressed by a baculovirus system. *Blood*. 1996 ; 87 : 3262-3270
- 15) Koike T et al. Anti- β_2 -glycoprotein I antibody : specificity and clinical significance. *Lupus*. 1996 ; 5 : 378-380
- 16) Atsumi T et al. Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum*. 2000 ; 43 : 1982-1993
- 17) Nojima J et al. The presence of anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies as risk factor for both arterial and venous thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Haematologica*. 2006 ; 91 : 699-702

- 18) Nojima J et al. Acquired Activated Protein C Resistance Associated with IgG Antibodies against β_2 -Glycoprotein I and Prothrombin as a Strong Risk Factor for Venous Thromboembolism. *Clin Chem.* 2005 ; 51 : 545-552
- 19) Nojima J et al. Strong correlation between the prevalence of cerebral infarction and the presence of anti-cardiolipin/ β_2 -glycoprotein I and anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies. *Thromb Haemost.* 2004 ; 91 : 967-976
- 20) Knev AV et al. Tissue factor in the antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 2008 ; 17 : 952-958
- 21) Nojima J et al. Tissue factor expression on monocytes induced by anti-phospholipid antibodies as a strong risk factor for thromboembolic complications in SLE patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 ; 365 : 195-200
- 22) Boles J et al. Role of tissue factor in thrombosis in antiphospholipid antibody syndrome. *Lupus.* 2010 ; 19 : 370-378
-

Differential Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome Based on the Pathogenic Mechanisms of Thrombosis

Junzo NOJIMA

Department of Laboratory Science, Yamaguchi University Graduate School of Medicine,
1-1-1 Minami-Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505

Key Words

Anti-phospholipid Syndrome, Anti-cardiolipin Antibodies, Anti- β_2 -glycoprotein I Antibodies, Lupus Anticoagulant, Anti-phosphatidylserine/Prothrombin Antibodies
