

## 脳血管障害—研究と診療の進歩 (5)

## 脳血管障害の凝血学的検査

東京女子医科大学医学部神経内科学

ヤマザキ マサコ ウチヤマシンイチロウ  
山崎 昌子・内山真一郎

(受理 平成19年10月31日)

Cerebrovascular Disease: Recent Progress in Research and Clinical Practice (5)  
Hemostatic Abnormalities in Cerebrovascular Disease

Masako YAMAZAKI and Shinichiro UCHIYAMA

Department of Neurology, Tokyo Women's Medical University School of Medicine

Various hemostatic tests are used to understand the mechanism of thrombus formation in cerebral infarction, and are useful for diagnosis and treatment of the infarction. Hemostatic markers show different patterns of abnormalities among the clinical categories of cerebral infarction, that is atherothrombotic, lacunar, and cardioembolic. The different patterns of abnormalities are suggested to reflect both the underlying pathophysiological mechanisms and the hemostatic activation induced by cerebral infarction itself. On the other hand, it is known that various hemostatic abnormalities can cause cerebral infarction. In particular, in patients who suffered cerebral infarction without atherosclerotic changes in their vessels, it is necessary to perform various hemostatic tests to investigate the etiology of the cerebral infarction. Hemostatic tests are also useful to monitor the intensity of antithrombotic therapy during the treatment of cerebral infarction. The international normalized ratio (INR) of prothrombin time is used as an index for anticoagulation with warfarin. The recommended INR level differs according to the underlying heart disease which caused the cerebral infarction. Contrary to anticoagulation, there is no established marker for antiplatelet therapy, but it is necessary to develop a method to monitor the intensity of recent potent antiplatelet therapy.

**Key words:** cerebral infarction, thrombus formation, hemostatic markers, hemostatic abnormalities, monitoring

## はじめに

脳梗塞は、血栓による脳動脈の閉塞が原因となって発症する症例が大多数を占める。脳梗塞における血栓形成のメカニズムは、アテローム血栓性、ラクナ、心原性、その他という脳梗塞の臨床病型によって異なる<sup>1)</sup>。また、脳梗塞の本質的な治療である抗血栓療法もその発症機序により異なってくるため、血栓形成の病態を把握することは重要である。さまざまな凝血学的検査は、脳梗塞の各臨床病型における血栓形成メカニズムの相違を反映して異なったパターン<sup>2)~4)</sup>の異常を示すため、病態把握に有用である。また、先天性および後天性の血液凝固異常症が原因となる特殊な脳梗塞では、凝血学的検査が診

断に必要である<sup>5)~8)</sup>。さらに、脳梗塞の治療に抗血栓療法を行う際のモニターとしても、凝血学的検査が用いられている<sup>9)~11)</sup>。本稿では、凝血学的検査による脳梗塞の病態把握、血液凝固異常症の診断と抗血栓療法のモニターについて概説する。

## 1. 凝血学的検査

血液は血小板、凝固因子、線溶因子およびその阻止因子が複雑に関係して、生体内では流動性を保ちながら全身を循環している反面、血管が損傷されると直ちに止血血栓を形成し凝固する。近年、この血栓形成のメカニズムが分子レベルで解明されてきており、種々の凝血学的検査が可能となっている(表1)。特に、反応生成物としての凝血学的分子マーカー

表1 凝血学的検査

凝固線溶系
血液凝固検査
プロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間
血漿因子
フィブリノゲン, ATIII, PC, PS, 第VII因子活性, TFPI活性, PAI-1
凝固活性化マーカー
TAT, F1+2, SFMC
線溶活性化マーカー
D-dimer, PIC, t-PA・PAI-1 complex
血小板機能検査法
出血時間
血小板凝集能
血小板放出能
β-トロンボグロブリン, 血小板第4因子
アラキドン酸代謝産物
トロンボキサンB <sub>2</sub> , 11デヒドロトロンボキサンB <sub>2</sub>
フロー・サイトメトリーを用いた活性化血小板の測定
膜受容体の変化 (PAC-1, p-セレクトイン, CD63)
血小板由来マイクロパーティクル
血小板寿命
可溶性p-セレクトイン, 血小板由来マイクロパーティクル (ELISA)
内皮傷害マーカー
vWF, Thrombomodulin, E-selectin, ICAM-1
ATIII: antithrombin III,
PC: protein C,
PS: protein S,
TFPI: tissue factor pathway inhibitor,
PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1,
TAT: thrombin-antithrombin III complex,
F1+2: prothrombin fragment 1+2,
SFMC: soluble fibrin monomer complex,
PIC: plasmin α <sub>2</sub> -plasmin inhibitor complex,
t-PA: tissue-type plasminogen activator,
vWF: von Willebrand factor,
ICAM-1: Intercellular adhesion molecule-1.

の測定は、従来の検査では捉えることのできなかった生体内における凝固・線溶・血小板活性化を高感度に反映して変動するため、脳梗塞症例における病態把握に有用である。

## 2. 脳梗塞における病態把握

凝固・線溶分子マーカーや血小板活性化マーカーは、脳梗塞の病型や病期によって異なる病態を反映して鋭敏に変動するため、血栓形成の病態を把握するのに有用である(表2, 図1)<sup>3)</sup>。また、凝血学的分子マーカーは抗血栓療法によっても変動するため、治療を行う場合に有用な情報も得られる(図2)<sup>3)</sup>。

### 1) 脳梗塞臨床病型による相違

アテローム血栓性脳梗塞は、大動脈弓、頸部、脳内の主幹動脈のアテローム硬化性病変を基盤とし、

①プラーク上の血小板血栓の成長やプラークの破綻などによる局所での血管内腔の閉塞(血栓性)、②プラークや血栓の断片による遠位側動脈の閉塞(塞栓性)、③脳灌流圧の高度の低下(血行力学性)などの機序により脳梗塞を生じる。血小板血栓が主体となるが、動脈が閉塞すると血流が低下することにより凝固系も活性化されてフィブリン血栓の形成も起こる。凝血学的には、高度な血小板活性化と、急性期には軽度～中等度の凝固活性化が認められる<sup>1)~3)</sup>。

一方、ラクナ梗塞は単一の深部穿通枝の閉塞による直径15mm未満の小梗塞である。細い穿通枝を閉塞させる小さな血栓が形成されるため、血小板と凝固系のいずれの活性化所見も乏しい。ただし、フロー・サイトメトリーなどの高感度の測定法を用いると、血小板活性化の検出が可能となる<sup>1)~3)</sup>(図1)。

これに対して、心原性脳塞栓症は心内に形成された血栓や、心内を経由した栓子が脳血管を閉塞することにより発症する。心腔内や静脈系では、血流うっ滞により凝固系が活性化されフィブリン血栓が形成されるが、凝固系活性化に伴い産生されたトロンビンは血小板も活性化する。凝血学的検査では、高度な凝固活性化とともに、血小板活性化も認められる<sup>1)~3)</sup>。

上記のように、脳梗塞各病型では異なったパターンの凝血学的分子マーカーの上昇が認められ、鑑別診断的な意義まではないものの血栓形成の病態を把握するのに有用である。また、凝血学的分子マーカーの上昇は慢性期に比べて急性期に著明であり、脳梗塞の病期による変動が認められることから、脳梗塞発症後の二次的な凝固線溶血小板活性化も反映していると考えられる<sup>1)2)</sup>。脳梗塞症例の凝血学的検査異常を評価する際には、脳梗塞発症前から危険因子として存在する病態と、脳梗塞発症後に生じる変化の両者が反映されていることを考慮する必要がある。

### 2) 抗血栓療法による相違

われわれの検討では、血小板活性化マーカーは抗血小板療法を施行していない群に比べ抗血小板療法を施行している群で低値を示し、抗血小板療法を施行している中では、アスピリン単独群に比べアスピリン・チクロピジン併用群で低値を示した(図2)<sup>3)</sup>。このように、凝固・線溶・血小板活性化マーカーは、抗凝固療法や抗血小板療法によって低下し、より強力な抗血栓療法でより低値を示すなど、治療効果も反映して変動する。脳梗塞であっても凝血学的分子マーカーが上昇していない症例の場合には抗血栓療

表2 脳梗塞の臨床概念による病型分類と凝血学的検査

臨床概念	アテローム血栓性	心塞栓性	ラクナ
病因	大血管の粥状硬化	左房・左室・静脈血栓	穿通枝の細動脈硬化
危険因子	高血圧, 糖尿病 高脂血症, 喫煙	心内塞栓源	高血圧, 糖尿病 高脂血症, 喫煙
梗塞部位・大きさ	皮質/中~大	皮質/大	皮質下/小
血栓の組成	血小板主体	フィブリン主体	血小板
凝固系分子マーカー	↑	↑↑	→~↑
線溶系分子マーカー	→~↑	↑↑	→
血小板活性化マーカー	↑↑	↑	→~↑
抗血栓療法	抗血小板療法	抗凝固療法	抗血小板療法

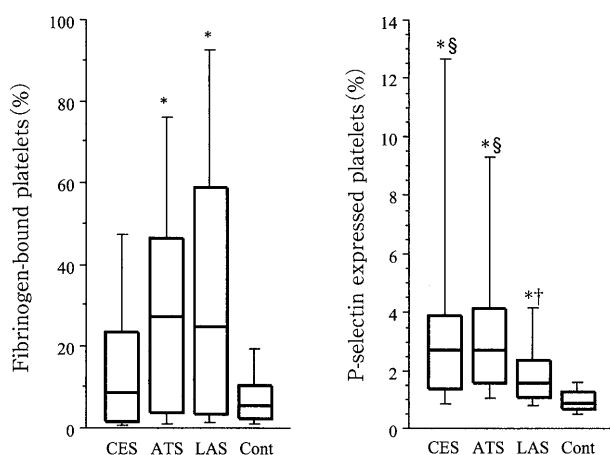


図1 脳梗塞病型による血小板活性化マーカーの比較  
CES: 心原性脳塞栓症, ATS: アテローム血栓性脳梗塞, LAS: ラクナ梗塞, CONT: 患者対照.  
\*  $p < 0.05$  (患者対照と比較), †  $p < 0.05$  (心原性脳塞栓症と比較), §  $p < 0.05$  (ラクナ梗塞と比較).

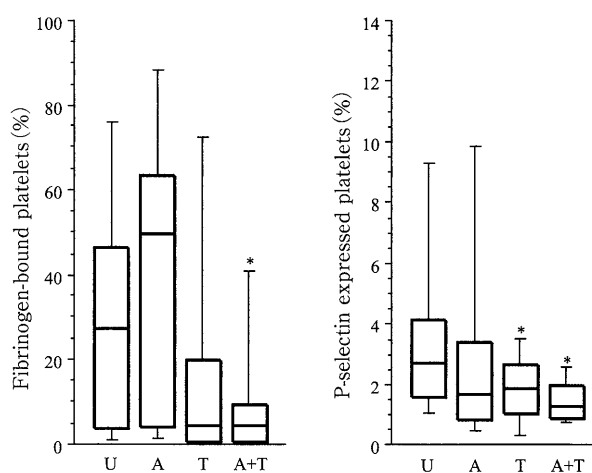


図2 アテローム血栓性脳梗塞における血小板活性化マーカーの抗血小板療法による比較  
U: 抗血小板薬非投与群, A: アスピリン投与群, T: チクロピジン投与群, A+T: アスピリン・チクロピジン併用群. \*  $p < 0.05$  (抗血小板薬非投与群と比較).

法の指標とはなり得ないが、多くの症例では治療を行う際に有用なマーカーとなり得る。

### 3. 脳梗塞の原因となる血液凝固異常症

血小板、凝固因子、線溶因子およびその阻止因子に先天性または後天性の機能異常(血液凝固異常症)が存在すると何らかの凝固亢進を引き起こす刺激が引き金となって血栓症を発症することが知られている。脳梗塞は動脈硬化を基盤とする血栓形成により発症する疾患だが、動脈硬化所見を認めない若年性脳梗塞の原因としていくつかの血液凝固異常症が挙げられ、さらにさまざまな血液凝固異常症の遺伝子多型も脳梗塞の危険因子として報告されている<sup>5)~8)12)~15)</sup>(表3)。

先天性の血液凝固異常症には、凝固線溶因子の遺伝子異常に基づき血中の蛋白濃度が低下している欠損症と、蛋白濃度は正常範囲内でも機能が低下している分子異常症とがあり、両者を総称して欠乏症と呼ぶことが多い。遺伝的血栓性素因には、①凝固制

御因子(アンチトロンビン III, プロテイン C, プロテイン S, ヘパリン・コファクター II など)の機能不全、②凝固因子の機能亢進(プロトロンビン, 第 VII 因子, 第 XII 因子や第 XIII 因子の遺伝子多型, 高第 VIII 因子血症など)、③線溶系因子(組織プラスミノゲンアクチベーター, プラスミノゲン, プラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1)の機能不全が挙げられる。これらの血液凝固異常症で生じる血栓症のほとんどは深部静脈血栓症・肺塞栓症であるが、頻度は低いものの脳梗塞も認められる<sup>5)~8)</sup>。

一方、後天性血栓性素因は、組織破壊や炎症、サイトカインなどにより組織因子が活性化されて凝固亢進が起こるとともに、血管内皮細胞上の抗血栓性も破壊されて血栓形成に傾く病態で、血液疾患、自己免疫疾患、内分泌疾患などさまざまな疾患において認められる。

これらの血液凝固異常症の中で、脳梗塞の原因として最も頻度が高い疾患は抗リン脂質抗体症候群

表3 脳梗塞の原因となりうる血液凝固異常症

先天性血栓性素因
凝固制御因子の機能不全
アンチトロンビンⅢ欠乏症
プロテインC欠乏症
プロテインS欠乏症
線溶系因子の機能不全
プラスミノゲン異常症
高リポ蛋白(a)血症
高ホモシステイン血症
血小板膜糖蛋白の遺伝子多型
後天性血栓性素因
抗リン脂質抗体症候群
ヘパリン誘発性血小板減少症
高ホモシステイン血症
悪性腫瘍に伴う播種性血管内凝固症候群

(antiphospholipid syndrome : APS)である。そのほかには、ヘパリン誘発性血小板減少症、ホモシステイン血症、リポ蛋白(a)[Lp(a)]血症などが脳梗塞の危険因子として注目されている<sup>5)6)</sup>。

血栓症の既往歴または家族歴がある脳梗塞症例、動脈硬化所見の認められない脳梗塞症例や若年性脳梗塞では、血液凝固異常症の可能性を考え、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、抗カルジオリピン抗体、 $\beta_2$ -glycoprotein I、ホモシステイン、Lp(a)、プロテインC、プロテインSなどの凝血的検査を行う必要がある。

#### 4. 抗血栓療法のモニタリング

脳梗塞の治療の基盤となる抗血栓療法は、血小板や凝固系の活性化を抑制することによって動脈を閉塞するような血栓の形成を予防する目的で行われる。しかし、現在の抗血栓療法では、病的な血栓形成とともに生理的な止血も抑制されてしまうため、出血が最も重大な副作用となる。理論的には、生体の止血機序には大きな生理的予備能があるので、出血の危険性を最小限に抑えながら血栓症の発症を予防することが可能である。実際に、脳梗塞をはじめとするアテローム血栓性疾患における抗血栓療法の有効性について検討した多くの大規模臨床試験とそのメタアナリシスの成績からも、出血合併症などの副作用を上回る血栓症の予防効果が証明されている<sup>16)</sup>。ただし、抗血栓療法の有効性はまだ十分ではなく、有効性を高めようとして抗血栓療法を強力に行うほど出血合併症の危険性も高くなり有効性が相殺されてしまうことが多い。出血合併症を最小限に抑えながら脳梗塞の再発予防効果を高めるためには、

抗血栓療法を行う際に適切な凝血的検査を用いて抗血栓効果をモニターすることが有用と考えられる。現在、抗凝固療法を行う場合には、ヘパリンではAPTT、ワルファリンではプロトロンビン時間(prothrombin time : PT)の国際標準化比(international normalized ratio : INR)が用いられているが、抗血小板療法はモニタリングをせずに行われていることが多い。

##### 1) 抗凝固療法のモニタリング

血栓塞栓症の予防目的にワルファリンを投与する際のPT-INRのモニタリングについては多くの大規模臨床試験の成績があり、PT-INRの推奨値が明らかとなっている。抗凝固療法を必要とする基礎疾患によって血栓塞栓症の発症リスクが異なるため、PT-INRの推奨値は基礎疾患ごとに設定されている。PT-INRがこの推奨値よりも高くなれば出血合併症が増加し、低くなれば血栓塞栓症の再発が増加するため、定期的にPT-INRの検査を行って目標範囲に入るようにワルファリンの投与量を調節する必要がある。

脳梗塞の中で抗凝固療法の適応となるのは心原性脳塞栓症であり、基礎心疾患としては非弁膜症性心房細動が最も多い。非弁膜症性心房細動による心原性脳塞栓症の再発予防の場合、INRが2.0以下で脳梗塞が増加し、INRが3.0以上で重篤な出血性合併症が増加したことから、INRの推奨値は2.0~3.0とされている<sup>17)18)</sup>。基礎心疾患が人工弁置換術の場合には、非弁膜症性心房細動よりも血栓塞栓症のリスクが高いため、INRは2.5~3.5が推奨され、抗血小板薬も併用される。一方、高齢者では脳梗塞のリスクも高い反面、出血性合併症も増加することからINR 1.6~2.6の低用量ワルファリン療法が推奨されている<sup>17)~19)</sup>。

ワルファリンのINRによるモニタリングはエビデンスが豊富なものの、ワルファリンの効果には個人差が大きく、同一個人においても食事や併用薬の影響を受けてINRが変動しやすいなど、ワルファリン投与量の調節は煩雑である。このため、ワルファリン投与の適応となる症例でも投与されていない場合が少なくなく、安全域が広く、モニタリングを必要としない抗凝固薬が開発され、臨床試験が行われている。

一方、脳梗塞急性期の抗凝固療法では、APTTが1.5~2倍に延長することを目標にヘパリンが投与される。ヘパリンの薬効にも個人差が大きいこと、

ヘパリンの用量反応曲線は急峻な立ち上がりを示しAPTTが1.5~2倍に延長する部分では投与量の変更によるAPTTの変化が大きいこと、などからAPTTのモニタリングによるヘパリン投与量の調節も煩雑である。

## 2) 抗血小板療法

抗血小板療法は、従来、血小板機能を評価せずに広く行われてきた。その理由は、①薬効の個体差が抗凝固薬に比べて少ないこと、②現在の抗血小板薬では著明な出血傾向が出現することは稀で、血小板機能をモニターする必要性が低いと考えられていること、③抗凝固療法におけるPT-INRに相当する適切なモニター法が確立されていないことなどである。血小板機能のモニターが抗血小板薬の有効投与量の決定や出血の予防に有用であるかどうかについては、大規模試験での血小板機能検査実施が困難なこともあり、臨床試験の成績に乏しいのが現状である。しかし、①新しい薬理作用を持つ抗血小板薬の開発や、作用機序の異なる抗血小板薬の併用など強力な抗血小板療法が検討され、抗血栓効果とともに出血の危険性が增大する危険性があること、②期待される薬効が得られないアスピリン抵抗性が注目されていること、などから血小板機能抑制をモニターする必要性は高まっている。

抗血小板薬のモニタリングに適当な血小板機能検査はまだ確立していないが、現時点では、血小板凝集能検査が用いられていることが多い<sup>9)~11)</sup>。血小板凝集を測定する検査の中では、透光度法(Bornの比濁法)が最も一般的であるがその他には、透光度法に比べ小さな凝集塊の評価も可能な検査法<sup>20)</sup>や、ずり応力という生理的な刺激を加える検査法<sup>21)</sup>、全血における血小板凝集能を測定する検査法も開発されている。

透光度法は、多血小板血漿(platelet rich plasma: PRP)にアデノシン二リン酸(adenosine diphosphate: ADP)、コラーゲンなどの凝集惹起物質を加えた時に血小板が凝集することによって生じる濁度変化を光の透過率としてとらえて、凝集曲線を描出する方法である。本法は、感度が鈍い、必ずしも生体内の血小板機能を反映していない、測定法の標準化が行われていないなどの問題があり活性化血小板の検出には適さないが、抗血小板療法の評価には有用である。抗血小板薬を投与すると一定濃度の血小板凝集惹起物質による凝集能が低下し、手技が簡単で、抗血小板療法のモニタリングの要求が高まっている

ため、現在、抗血小板薬投与中の薬効やコンプライアンスの評価に最も広く用いられている。

抗血小板薬のモニタリングに使う凝集惹起物質は、薬剤の種類によって使い分ける必要があるが、臨床的な薬効評価にどのような凝集惹起物質が有用なのかは明らかではない。一般に、アスピリンではアラキドン酸やコラーゲン、チクロピジンではADPが適しているとされている。われわれの検討でも、脳梗塞患者にアスピリン、チクロピジン、両者の併用投与を行ったところ、アスピリンによりADPの二次凝集とアラキドン酸凝集が、チクロピジンによりADPの一次および二次凝集が抑制された<sup>22)</sup>。また、虚血性脳血管障害患者への抗血小板薬投与開始後に、アゴニスト惹起血小板凝集は、非再発群では有意に抑制されていたが、再発群では有意な抑制が認められなかった<sup>10)</sup>。

## おわりに

血栓形成には、①血管壁の性状の変化、②血液成分の変化、③血流の変化という3つの要因が密接に関連して作用すると考えられているが、それぞれが単独で血栓症を発症することは少なく、お互いに影響を及ぼし合う。凝血学的検査を病態把握や治療のモニタリングに用いる場合には、それぞれの検査の特徴と限界も認識しておく必要がある。

## 文 献

- 1) 内山真一郎：虚血後の血栓形成・凝固亢進—抗血栓療法を選択は変化しているか？ 脳と循環 8：123-129, 2003
- 2) Yamazaki M, Uchiyama S, Maruyama S: Alterations of haemostatic markers in various subtypes and phases of stroke. Blood Coag Fibrinol 4: 707-712, 1993
- 3) Yamazaki M, Uchiyama S, Iwata M: Measurement of platelet fibrinogen binding and p-selectin expression by flow cytometry in patients with cerebral infarction. Thromb Res 104: 197-205, 2001
- 4) Uchiyama S, Yamazaki M, Maruyama S et al: Shear-induced platelet aggregation in cerebral ischemia. Stroke 25: 1547-1551, 1994
- 5) 山崎昌子：過凝固状態と脳梗塞。「血栓症ナビゲーター」(池田康夫監修, 内山真一郎他編)。pp118-119, メディカルレビュー社 (2006)
- 6) 内山真一郎：血液凝固異常と脳卒中。脳と循環 10：39-44, 2005
- 7) 内山真一郎：血液凝固異常症による脳梗塞の診断と治療の手引き。「若年者脳卒中診療の手引き、循環器病研究委託費 12 指-2 若年世代の脳卒中の診断、治療、予防戦略に関する全国多施設共同研究 (主任研究者：峰松一夫)」(矢坂正弘編)。pp31-37, (2003)
- 8) 宮田敏行, 内山真一郎：血栓性素因。脳卒中 (山口武典, 内山真一郎他編)。pp199-214, 医学書院, (1998)

- 9) 山崎昌子, 内山真一郎: 5 血小板機能検査による薬効評価。「抗血小板薬の新しい使い方」(内山真一郎, 堀 正二編) p68-81, 医薬ジャーナル社, 東京 (2006)
- 10) 内山真一郎, 山崎昌子, 中村智実: 血栓症に関する臨床検査. 3. 薬剤モニターと検査 c 抗血小板療法. 血栓と循環 8: 155-161, 2000
- 11) 尾崎由基男: 抗血小板薬投与中は機能検査(血小板凝集能検査)が必要か?—積極的な立場から—. 脳と循環 8: 325-328, 1993
- 12) 村田 満: 特集 脳卒中と遺伝子 血栓性素因遺伝子の網羅的検索と脳卒中リスク. 分子脳血管病 3: 143-148, 2004
- 13) Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE et al: Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18000 cases and 58000 controls. Arch Neurol 61: 1652-1661, 2004
- 14) Sonoda A, Murata M, Ito D et al: Association between platelet glycoprotein Iba genotype and ischemic cerebrovascular disease. Stroke 31: 493-497, 2000
- 15) Reiner AP, Kumar PN, Schwartz SM et al: Genetic variants of platelet glycoprotein receptors and risk of stroke in young women. Stroke 31: 1628-1633, 2000
- 16) Antithrombotic Trialists' Collaboration: Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. Br Med J 324: 71-86, 2002
- 17) 篠原幸人, 吉本高志, 福内靖男ほか編: 脳梗塞慢性期 2-3. 抗凝固療法「脳卒中ガイドライン 2004 第 1 版」pp82-85, 協和企画, 東京 (2004)
- 18) 高野健太郎: 心房細動と凝固亢進状態—分子マーカーによる解析—. 総合臨 54: 2213-2170, 2005
- 19) Yamaguchi T, for Japanese NVAf-Embolism Secondary Prevention Cooperative Study Group: Optimal intensity of warfarin therapy for prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation. A multicenter, prospective, randomized trial. Stroke 31: 817-821, 2000
- 20) 尾崎由基男: 散乱光を用いた血小板凝集能の検査. 臨病理 特集 96 号: 46-56, 1993
- 21) Ikeda Y, Handa M, Kawano K et al: The role of von Willebrand Factor and fibrinogen in platelet aggregation under varying shear stress. J Clin Invest 87: 1234-1240, 1991
- 22) Uchiyama S, Sone R, Nagayama T et al: Combination therapy with low-dose aspirin and ticlopidine in cerebral ischemia. Stroke 20: 1643-1647, 1989