

全身性エリテマトーデスにおける
ループスアンチコアグラントおよび抗リン脂質抗体
の臨床的研究

青森県立中央病院消化器内科
工藤 育男

全身性エリテマトーデスにおけるループスアンチコアグラントおよび
抗リン脂質抗体の臨床的研究

青森県立中央病院消化器内科

工 藤 育 男

(指導 吉田 豊 教授)

本文 13 枚

附図 2枚

附表 7枚

I. 緒言

全身性エリテマトーデス (Systemic Lupus Erythematosus ; SLE) の患者の血清にはリン脂質に対する自己抗体が存在し、抗リン脂質抗体¹⁾と呼ばれている。これは、酵素免疫学的方法²⁾により検出され、その対応抗原は陰性荷電を有するリン脂質で、抗体はIg G, Ig Mに存在する。ループスアンチコアグラント (Lupus anticoagulant ; LA)³⁾は、抗リン脂質抗体のなかで抗凝固活性がみられるもの⁴⁾を指し、トロンビン時間⁵⁾や活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time ; APTT)、カオリン凝固時間 (Kaolin clotting time ; KCT)⁶⁾、組織トロンボプラスチン抑制試験 (tissue thromboplastin inhibition test ; TTIT)⁷⁾、希釈蛇毒凝固時間 (dilute Russell viper venom time ; DRVVT)⁸⁾などの延長、更に患者と健常者の血漿の混和試験による凝固時間の延長などによりその存在が確認される。LA 陽性患者では凝固時間の延長をみるものの臨床的に出血をきたすことは極めて稀である。LA や抗リン脂質抗体の検出例では、逆に脳血栓、深部動静脈の血栓、習慣性流産や早産の原因となる胎盤の血栓などが発生しやすい^{9) 10)}。しかも、リン脂質に対する抗体は、SLE 以外の膠原病¹¹⁾や感染症¹²⁾、薬剤に伴う出現¹³⁾の報告もあり、その追究は、SLE の病態ばかりでなく、血栓発生機構の解明のための重要なアプローチの方法となっている。しかし、抗リン脂質抗体の構造や機能の詳細、その相互関係には、現在も不明のことも多く、また、これまでの報告における成績間に解離もみられる。我々の経験でも、SLE 患者の血清には、陰性荷電ばかりでなく、両性荷電を有するリン脂質に対する自己抗体が検出され、両者間には、これまでの報告とは異なり、有意の関係の存在を思わせる所見が得られており、リン脂質の自己抗体については更に詳細な追究が必要である。

この研究では、SLE 患者の血清についてLA の検出と、陰性、両性荷電を有するリン脂質に対する自己抗体の検出を行い、これらの相互関係、抗原となったリン脂質とその抗体が含有される免疫グロブリンとの関係、抗陰性、抗両性荷電リン脂質自己抗体の関係などについての検討と臨床像との対比を行った。

II. 研究対象

弘前大学医学部附属病院第一内科におけるSLE 患者25例 (男性1例、女性24例) を対象とした。年齢は21~62歳、平均39.2歳である。SLE の診断基準は米国リウマチ協会のSLE 分類基準 (1982年改訂)¹⁴⁾に従った。

血小板数 $10 \times 10^4 / \mu\text{l}$ 以下の血小板減少例は6例 (24%) にみられた。また血栓症の合併は4例 (16%) に認め、下肢静脈血栓2例、脳梗塞1例、網膜動脈閉塞1例であった。

III. 研究方法

SLE 患者血清について抗リン脂質抗体、LA を測定し、さらに各症例の凝血学的マーカーおよび急性炎症マーカーを加え臨床像との関連を検討した。

1. 検体

検体は3.8%クエン酸ナトリウム液 1 溶対全血 9 溶の比率で肘静脈より採血し、3000 rpm、20分間遠沈して作製した乏血小板血漿 (platelet poor plasma ; PPP)を用いた。検体は-80℃で凍結保存し、測定時37℃恒温槽で融解し使用した。

正常対照血漿として25歳から48歳までの健常人30名 (男性18名、女性12名) の血漿をプールしたものを用いた。

2. 抗リン脂質抗体測定

Loizou らの方法¹⁵⁾ に準じ酵素免疫測定法 (Enzyme linked immuno-sorbent assay ; ELISA) で測定した。

1) 試薬

- ・ 正常羊血清 (NGS, Tago社)
- ・ phosphate buffered saline (PBS ; 0.01M Na phosphate, 0.15M NaCl, pH7.4)
- ・ 5% NGS-PBS (ブロック溶液)
- ・ 1% NGS-PBS (検体希釈溶液)
- ・ alkaline phosphatase 標識抗ヒト Ig G および Ig M ヤギ血清 (Sigma社)
- ・ 1M diethanolamine 溶液 (1M diethanolamine, 0.5mM MgCl₂, 0.02% NaN₃, pH 9.8)
- ・ nitrophenyl phosphate 発色基質溶液
- ・ 3N NaOH (反応停止液)
- ・ リン脂質
 - cardiolipin (CL, Sigma社),
 - phosphatidylcholine (PC, Sigma社)
 - phosphatidylserine (PS, Sigma社)
 - phosphatidylethanolamine (PE, Sigma社)
 - phosphatidylinositol (PI, Sigma社)
 - Platelin (General-Diagnostic社)

各リン脂質はエタノールで50 μ g/mlの濃度に調整した。

2) 測定方法

Microtiter plate (Nunc社) の各well にリン脂質溶液を50 μ l (2.5 μ g/well)分注し、4℃条件下12時間でリン脂質を固相化した。5% NGS-PBS を各well に加え、2時間ブロックした後PBS で4回各well を洗浄した。検体を1% NGS-PBS で100倍に希釈後、100 μ lをwell に注入し、室温で1時間インキュベート後、PBS で6回洗浄した。次に1% NGS-PBS で600倍に希釈したalkaline phosphatase 標識抗ヒト Ig G または Ig M を100 μ l注入し、室温で1時間インキュベート後、PBS でwell を6回洗浄した。次に、nitrophenyl phosphate 発色基質溶液 (1mg/ml) を100 μ l 注入し暗所にて室温で1時間インキュベートした。3N NaOHで発色反応を停止させ405nmで吸光度 (O.D.) を測定した。測定値は次の式に基づき Binding Index (B.I.) に換算した。

$$B.I. = \frac{O.D.(\text{ test sample }) - O.D.(\text{ blank })}{O.D.(\text{ reference normal plasma }) - O.D.(\text{ blank })}$$

測定は各々2回行い、その平均値を求めた。判定は健常者15名のB.I.の平均値 + 3 S.D. 以上を抗リン脂質抗体陽性とした。

3. LA測定

LAの検出には、Kaolin clotting time (KCT), tissue thromboplastin inhibition test (TTIT), diluted Russel viper venom time (DRVVT) の3方法を行い、これらの検査で陽性を疑われた症例に対して確認試験としてKCT mixing test と血小板中和試験を行い抗凝固因子であるLA の存在を確認した。フィブリン形成までの凝固時間測定にはAmelung Coagulometer KC4A (Baxter社) を使用した。またスクリーニング検査としてAPTT, プロトロンビン時間 (prothrombin time ; PT) も検討に加えた。

1) Kaolin clotting time (KCT)

Exnerらの方法⁶⁾ に準じて行った。検体は37℃で融解後さらに15000rpmで10分間遠沈し測定まで4℃恒温槽で保存した。Coagulometer のキュベットに検体100 μ lと0.5% kaolin 50 μ lを加え、37℃で5分間インキュベートした。つぎに25mM CaCl₂ 100 μ lを添加すると同時に時間測定を開始し、フィブリン析出までの時間を求めKCT とした。健常人25名の検体の測定値より+3SD以上をKCT延長と判定した。

2) Tissue thromboplastin inhibition test (TTIT)

Schleider の方法⁷⁾ に準じ、組織トロンボプラスチンはSimplastin (General Diagnostics 社) を用いて測定した。Simplastin 1 vial を蒸留水4mlで溶解後、生理食塩水で250倍に希釈したものを希釈Simplastin として使用した。Coagulometer のキュベットに希釈Simplastin 100 μ lと37℃で融解した検体100 μ lを加え、37℃で5分間インキュベートした。つぎに37℃に保温した25mM CaCl₂ 100 μ lを加えると同時に時間測定を開始し、フィブリン析出までの時間を求めた。健常対照群25名での平均時間と検体の時間の比 (検体/正常コントロール) を求め、1.3 以上をTTIT 陽性とした。

3) Dilute Russell Viper Venum Time (DRVVT)

Thiagarajan らの方法⁸⁾ に準じて測定した。検体は37℃で融解後、15000 rpm、10分間遠心した。Russell Viper Venum (Wellcome 社) は0.15M NaCl 2mlで溶解した後、Tris 緩衝液 (0.01M Tris, 0.15M NaCl, pH7.4 ; TBS) で200倍に希釈したものを希釈RVV として用いた。またPlatelin は蒸留水2.5mlで溶解後、TBS で8倍に希釈したものを希釈Platelin として用いた。Coagulometer のキュベットに検体100 μ l、希釈RVV 100 μ l、希釈Platelin 100 μ lを加え、37℃で3分間インキュベート後、25mM CaCl₂ 100 μ l添加と同時に時間測定を開始し、フィブリン析出までに要する時間を求めた。健常人25名の検体の測定値より+3 SD 以上をDRVVT 陽性とした。

4) 確認試験

KCT mixing test は検体と正常血漿の各種比率 (10 : 0、8 : 2、5 : 5、2 : 8、0 : 10) の混合血漿でKCT を測定し、正常血漿にてKCT が補正されないものをLA 陽性と判定

した¹⁶⁾。

血小板中和試験(platelet neutralization procedure; PNP)はTriplett らの方法に準じた¹⁷⁾。検体100 μ lにPlatelet Extract Reagent (Bio Data 社) 100 μ lを加えAPTT を測定した。対照として検体100 μ lに生理食塩水100 μ lを加えAPTT を測定し、対照に比し10秒以上短縮がみられた場合、LA 陽性とした。

4. その他の検査

一般凝血学的マーカーとしてPT, APTTのほか血小板数を、また急性炎症マーカーとして赤沈、C - reactive protein (CRP), fibrinogen を測定した。

5. 統計処理

期待度数が5をこえる場合 χ^2 検定を用い、5以下ではFisher の直接確率計算法を用いて検定を行い、また抗体力価の相互関係を明らかにするために相関係数の算出を行った。いずれも $p < 0.05$ をもって有意とした。

急性炎症マーカーにおける2群の検定にはt検定 (Welth の方法)を用い $p < 0.05$ をもって有意とした。

IV. 結果

1. 抗リン脂質抗体

1) 抗リン脂質抗体陽性頻度

リン脂質別、抗体別の測定結果を図1に示す。抗体の力価はIg M クラスでB.I. が10以上であった2例の他はIg G クラスを含め、全例B.I. 10以下であった。被検全リン脂質に対する抗体は25例中17例 (68%) で陽性であった。抗体のクラス別では、Ig G 単独陽性が10例 (40%)、Ig G, Ig M とも陽性が7例 (28%)、陰性は8例 (32%) であり、Ig M 単独陽性例は認めなかった (表1)。

リン脂質の種類別ではPlatelin に対する抗体が最も高頻度に認められ、免疫グロブリンのクラス別ではIg G 12例、Ig M 1例、Ig G+Ig M 3例の計16例 (64%) で陽性であった。CL に対する抗体はそれぞれ9例、3例、2例の計14例 (56%) に検出され、PS に対してはそれぞれ7例、2例、4例の計13例 (52%) で陽性であった。PC に対する抗体はそれぞれ6例、2例、2例の計10例 (40%)、PE に対してはそれぞれ8例、1例、1例の計10例 (40%) で陽性であった。PI に対する抗体が検出されたのはIg G 3例、Ig M 2例の計5例 (20%) であり、検討したリン脂質のなかでは抗体の陽性頻度が最も低かった。

2) 抗リン脂質抗体含有グロブリンの相互関係

抗リン脂質抗体のうち抗体陽性率の高いCL、PS、Platelin についてIg G 抗体とIg M 抗体力価の相関を検討したが、CL (N=25、 $r = 0.18$ 、 $P > 0.05$)、PS (N=25、 $r = 0.20$ 、 $P > 0.05$)、Platelin (N=25、 $r = 0.06$ 、 $P > 0.05$) のいずれもIg G とIg Mとの間には一定の関

係はみられなかった。

3) 抗CL Ig G 抗体と他のリン脂質に対する抗体との相互関係

陰性荷電を有するPS、PIとの間、両性荷電を有するPC、PEとの間にはいずれも高い相互が、また複合リン脂質のPlatelinとの間には弱い相互関係が認められた(図2)。

4) 血小板数と抗リン脂質抗体抗体価

全脂質についてIg G 抗体とIg M 抗体の抗体価と血小板数との関連を検討したが相関はみられなかった。

2. LA

1) LA 陽性例

表2のように25例中 LA 陽性は6例(35%)であった。このうち2例はAPTTが延長し、KCT、DRVVT、TTITのいずれも陽性であった。他の4例はAPTTは正常であったが、KCT、DRVVT、TTITの一つ以上が陽性であった。6例ともKCT mixing testとPNPで凝固抑制因子の存在が確認されLA陽性と判定した。6例の各LA検出法の陽性数は、KCT 6例(100%)、TTIT 4例(67%)、DRVVT 3例(50%)、APTT 2例(33%)であった。PT延長例はなかった。

LA陽性の6例は全例抗リン脂質抗体陽性であった。抗体クラス別ではIg G 抗体が全例で3種以上のリン脂質に対して陽性であり、Ig M 抗体は4例に認められた。陽性率の高いリン脂質はCL 6例(100%)、Platelin 6例(100%)、PS 5例(83%)、PC 4例(67%)、PE 3例(50%)、PI 1例(17%)であった。

3. 臨床像の検討

1) 抗リン脂質抗体陽性群の検討

抗リン脂質抗体の有無とLA、血小板減少、血栓症合併について検討した。抗リン脂質抗体陽性群(17例)ではLA陽性6例(36%)、血小板減少4例(24%)、血栓症合併4例(24%)であった。抗リン脂質抗体陰性群(8例)と比較すると、血小板減少、LA陽性および血栓症合併とも高い傾向があるものの有意差はみられなかった(表3)。

2) LA 陽性群の検討

LA陽性群6例での検討では、血小板減少が2例(33%)、抗リン脂質抗体6例(100%)、血栓症合併が2例(33%)であり、LA陰性群(19例)に比べ高い頻度であったが、有意ではなかった(表4)。

3) 血小板減少群の検討

血小板減少群6例では血栓症合併2例(33%)、LA陽性2例(33%)、抗リン脂質抗体4例(67%)であった。血小板正常群(19例)と比較するとLA陽性、血栓症合併が多い傾向であったが有意差はみられなかった(表5)。

4) 血栓症合併群の検討

血栓症合併群4例では血小板減少2例(50%)、抗リン脂質抗体4例(100%)、LA 2例(50%)と非合併群(21例)と比較して高い頻度であったが有意ではなかった(表6)。

5) 抗リン脂質抗体力価別症例の検討

抗リン脂質抗体陽性例について高力価症例(B.I. ≥ 5) と低力価症例(B.I. < 5) の2群に分類して検討した。表7に示したように低力価群に比べ、高力価群にLA、血小板減少、血栓症合併が多い傾向があったが、有意差はなかった。しかし、リン脂質別にみた場合には抗CL抗体高力価群で有意に血栓症合併が多かった ($p < 0.05$)。

6) LA および抗リン脂質抗体と急性炎症マーカーとの関連

赤沈、CRP、fibrinogen に関してLA陽性群と陰性群および抗リン脂質抗体陽性群と陰性群について検討したが、各2群間に有意差はみられなかった。

V. 考察

抗リン脂質抗体の検出方法には二つの測定法がある。ひとつは抗リン脂質抗体のなかでリン脂質依存性凝固活性を持つものを凝固時間を測定して検出するものであり、他方はリン脂質を抗原として抗体そのものを酵素免疫測定法 (Enzyme linked immunosorbent assay ; ELISA) で測定する方法である。前者で検出されるものは Lupus anticoagulant (LA) と呼ばれ、Ig G またはIg M に属する免疫グロブリンであることが知られている。LA は個々の凝固因子に対して作用せず、かつリン脂質依存性凝固反応を阻害する抗体であり、その作用はin vitro でリン脂質を添加することによりbypassされる性質を持つものと定義される。LA の診断基準として1990年の国際血栓止血学会委員会においてExnerにより、次のような提案がなされた¹⁸⁾。すなわち、①リン脂質依存性凝固反応の延長、②患者血漿と正常血漿の等量混合血漿の凝固時間は正常血漿のその3SD以上延長、③リン脂質または活性化血小板の添加により延長していた凝固反応が補正されること、④抗凝固活性を有する免疫グロブリンであること、⑤しばしばELISAで抗リン脂質抗体が検出されることである。しかし、この基準に関しても、どのリン脂質依存性凝固検査がLAの検出に優れているのか、またリン脂質添加による凝固時間の補正の検出法についても種々の議論があり、一定の見解は得られていない。現在いくつかのLA検出法が報告されているが、その原理は二つに分けられる。一つは測定系のリン脂質濃度を減少させることによりLAによる凝固反応の延長をより鋭敏に検出する方法であり、他方は測定系に過剰のリン脂質を加えLAの作用を中和することで検出する方法である。前者の方法としてKaolin clotting time (KCT) はリン脂質を加えずに凝固時間を測定する方法であり、感度は高いが検体中に残存する微量の血小板が感度に影響を及ぼすことが報告されている¹⁹⁾。Tissue thromboplastin inhibition test (TTIT) およびdilute Russell viper venom time (DRVVT) はそれぞれ部分トロンボプラスチン試薬および凝固第X因子活性化作用をもつ蛇毒を希釈することにより低濃度のリン脂質存在下での凝固時間を測定するもので、いずれも通常のスクリーニング検査として測定される活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time ; APTT) よりもLAの検出感度が高いとされている。TTIT, DRVVT いずれもヘパリンなどの抗凝固剤、凝固第Ⅷ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅴ因子の欠損症やinhibitorで偽陽性を示すことが知られている¹⁹⁾。

後者の方法としてplatelet neutralization procedure (PNP)があげられる。PNP は測定系に過剰のリン脂質を加え凝固時間を測定するものである。すなわち、LA のもつ抗凝固作用が過剰のリン脂質存在下では中和される結果、延長していた凝固時間が短縮することでLAを検出する方法である。このPNP は確認法として有用とされる²⁰⁾。

これらの方法のいずれがLA 検出に最も有用であるか未だに結論は出ていないのが現状である。一般に、LA 検出のスクリーニング検査としてAPTT が用いられることが多いが、使用されるAPTT 試薬により検出感度に差があることが知られており、また低力価のLA では検出困難なことが多い。したがって今回の検討では、すべての症例でプロトロンビン時間 (prothrombin time ; PT)、APTT、KCT、DRVVT、TTIT を測定し、どの方法が最もLA 検出に適切であるかを検討した。また、以上の測定法でLA の存在が疑われた症例ではKCT mixing test 及びPNP を施行し、LA 陽性を確認した。また、自験例では、いずれもヘパリンなどの抗凝固剤の投与はされておらず、先天性凝固因子欠乏症もないため各検査法の比較検討が可能と判断した。文献上、SLE におけるLA の陽性率は6²¹⁾~73%⁹⁾、平均34%²²⁾であるが、検出法が様々であり一概に論ずることはできない。自験例ではSLE 25例中6例 (24%)にLA を検出した。各LA 検出法の比較では、6例のLA 陽性例中、KCT は全例延長していたが、TTIT は4例、DRVVT は3例、APTT は2例に延長を認めたのみであり、LA の検出法としてはLesperance ら²³⁾の報告と同様にKCT が最も鋭敏であった。APTT は2例と最も少なく、スクリーニング法としては不適切と考えられた。

一方、ELISA による抗リン脂質抗体測定は凝固時間測定によるLA 検出法とは異なり、抗リン脂質抗体を直接免疫学的手法で検出するものである。SLE にみられる抗リン脂質抗体についてHarris らは、cardiolipin (CL)、phosphatidylserine (PS)、phosphatidylinositol (PI)などの陰性荷電を有するリン脂質に対する抗体であると報告した²⁾。また、抗CL 抗体と抗PS、PI 抗体とは良い相関を示すが両性荷電リン脂質であるphosphatidylcholine (PC)、phosphatidylethanolamine (PE)に対する抗体との相関はみられないと報告されている²⁴⁾。しかし、一方でPE のみに対する抗体を持つ抗リン脂質抗体症候群の報告²⁵⁾もあり、単にリン脂質の荷電だけの問題ではない可能性がある。そこで、今回の検討では陰性荷電のリン脂質であるCL、PS、PI の他、両性荷電のリン脂質であるPC 及びPE に対する抗体も同時に測定した。また、抗リン脂質抗体の検出感度を高めるため単一のリン脂質ではなく、複数の混合リン脂質を抗原とした測定の試みがなされている。Branch ら²⁶⁾はトロンボプラスチンを、Ankiri ら²⁷⁾は血小板抽出複合リン脂質を抗原とするELISA で抗リン脂質抗体を測定し、LA との優れた相関を報告している。そこで、筆者は家兎由来の複合リン脂質でAPTT 測定用試薬であるPlatelin を抗原としてELISA により抗リン脂質抗体を測定し、他の単一のリン脂質を抗原としたELISA と比較した。

SLE においてELISA で検出される抗リン脂質抗体の陽性率は21¹¹⁾~63%²⁸⁾、平均44%²²⁾であり、免疫グロブリンクラス別ではIg G 抗体がIg M 抗体より陽性頻度が高いとされている。自験例では25例中17例 (68%)に抗体を認めた。抗リン脂質抗体陽性17

例ではIg G 抗体が全例にみられ、Ig M 抗体は7例で検出され、いままでの報告同様、Ig G 抗体の出現率が高かった。抗原に用いた各リン脂質別の陽性率は、陰性荷電リン脂質であるCL, PSで特に高かった。注目すべきことは両性荷電リン脂質のPC、PE に対する抗体はCL, PS に次いで多く検出され、更にその抗体価はCL に対する抗体価と良好な相関を示したことである。この成績からSLE でみられる抗リン脂質抗体は必ずしも陰性荷電リン脂質に対する抗体に限られたものではなく多種のリン脂質を対応抗原とする heterogeneous なものと推測された。複合リン脂質であるPlatelin を抗原に用いた測定では単一のリン脂質を用いるより高率に抗体が検出されたが、これは多種のリン脂質が混在しているためと思われた。またPlatelin に対する抗体はLA 陽性、血小板減少、血栓合併のいずれの群でも高率に認められ、臨床的にもPlatelin を抗原とすることは有用と考えられた。

どのリン脂質もIg G クラスの出現が高くIg M クラスは低かった。またIg G とIg M の抗体価間には相関はみられなかった。これはIg G とIg M では抗体の出現時期や出現期間が異なることやIg M 抗体は他の自己免疫性疾患でもしばしば出現し、Ig G 抗体と比較して特異性が低いこと²⁹⁾が推測された。血小板減少群6例ではLA 陽性率が高い傾向を示したが有意ではなかった。また抗リン脂質抗体価と血小板数との関連はみられなかった。これは血小板数はSLE 自体の活動性との関連が強いためと考えられた。またLA および抗リン脂質抗体と急性炎症マーカーとの関連は認められないことから、SLE の活動性との関係は低いものと推測された。

LA や抗リン脂質抗体を有する症例では、特有の臨床所見をもつことがあり、抗リン脂質抗体症候群と一括される。症状として反復性血栓症や習慣性流産の他、血小板減少、てんかんや偏頭痛等の神経症状、肺高血圧、皮膚潰瘍や網状皮斑等の皮膚症状が挙げられる²⁸⁾。血小板減少で出血傾向をきたすことは極めて稀であり、臨床的には血栓症が問題となる。流産は胎盤の梗塞による循環障害³⁰⁾、神経症状は微小血栓に伴う脳血管障害、肺高血圧や皮膚症状は血管炎や微小血栓が原因とされており、いずれも易血栓性を基盤にした一連の病態と考えられている³¹⁾。

血栓症は静脈系70%、動脈系30%であり、静脈、動脈両方に発生するのが特徴である。静脈血栓は下肢深部静脈血栓が多く、しかも再発しやすい。脳静脈血栓や網膜静脈血栓などもしばしばみられる。動脈系では脳血栓、狭心症や心筋梗塞、網膜動脈血栓、腎梗塞や肺梗塞などが挙げられる。特に若年の脳梗塞や一過性脳虚血発作、心筋梗塞と抗リン脂質抗体との関連は注目されている³²⁾。自験例では静脈系と動脈系各々2例で16% (4/25) に血栓症がみられた。全例で抗リン脂質抗体陽性であったが、2例はIg G クラスのみが認められ、Harris³³⁾らと同様に血栓症ではIg G 抗体がより重要と考えられた。血栓症4例のうちLA 陽性は2例、血小板減少は2例であった。これは非血栓群と比較して共に高率に合併していたが統計学的に有意ではなかった。

血栓形成におけるLA や抗リン脂質抗体の役割についてはまだ不明な点が多い。LA による血栓形成の機序は、血管内皮細胞上のリン脂質への様々な障害によるためと推測される。LA によるプロスタサイクリン(PGI₂) 産生抑制³⁴⁾、plasminogen activator

inhibitor 1の産生促進³⁵⁾のほか、thrombomodulin 活性化作用阻害³⁶⁾、内皮細胞でのprotein C 活性の抑制³⁷⁾などが報告されているが、いずれも単独の機序では解明できていない。

抗リン脂質抗体と血栓形成に関して現在最も注目されているのは antiphospholipid antibody cofactor³⁸⁾³⁹⁾の存在である。antiphospholipid antibody cofactor は β_2 -glycoprotein I (β_2 -GPI) と同一の物質であり、カルシウム非依存性に陰性荷電をもつリン脂質に結合しやすいという特性のほか血小板膜上のprothrombin 活性抑制⁴⁰⁾やADP による血小板凝集作用抑制⁴¹⁾など抗凝固作用をもつ。従って抗リン脂質抗体が β_2 -GPI の作用を抑制することで、血栓傾向をもたらすことは容易に想像できる。しかし血栓症の発生頻度と β_2 -GPI 濃度とは相関がみられないとの報告⁴²⁾があり、現在のところ β_2 -GPI のみに原因を求めることは困難といえる。

血栓形成の機序が解明されていないため血栓症の治療は対症療法とならざるをえず現在のところ一定の見解はない。静脈血栓では、急性期にはヘパリンが最も有効とされる。これはヘパリンが抗リン脂質抗体と β_2 -GPI-リン脂質複合体との結合を阻害するためと報告⁴³⁾されている。予防的には一般にワーファリンが用いられる。動脈血栓では急性期ではウロキナーゼなど線溶療法を、予防的にはアスピリンやジピリダモールなどの抗血小板療法を行う⁴⁴⁾。また大量の免疫グロブリンや血漿交換も有効との報告がある。習慣性流産に対してはBranch ら⁴⁵⁾は少量のアスピリン (80mg/day 程度) や Lubbe ら⁴⁶⁾はアスピリンとプレドニン (40-50mg/day) の併用が有効であると報告している。

抗リン脂質抗体を有するが臨床症状を欠く症例での対応は一定の見解はない。Harris らは高力価群に有意に血栓症合併が多いと報告³³⁾している。自験例でも血栓症合併例は全例高力価の抗リン脂質抗体を有し、低力価群では血栓症はみられなかった。このことから高力価の抗リン脂質抗体を有する症例はhigh risk として予防的処置をすべきと思われた。

VI. まとめ

1. 当科におけるSLE 患者25例 (男性1例、女性24例) でのLupus anticoagulant (LA) および抗リン脂質抗体の臨床的特徴について検討した。

2. LA は6例(35%)に認めた。LA 検出法ではKCT 6例、TTIT 4例、DRVVT 3例、APTT 2例で陽性でKCT が最も鋭敏であった。また全例で抗リン脂質抗体陽性であった。LA 陽性群では血小板減少2例、血栓症2例でLA 陰性群に比べて高率であった。

3. 抗リン脂質抗体はcardiolipin (CL), phosphatidylserine (PS), phosphatidylcholin (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), Platelin の5種のリン脂質を抗原とした酵素免疫測定法 (ELISA) で検出した。17例(68%)で1つ以上のリン脂質に抗体を認めた。出現の高い脂質はPlatelin 16例、CL 14例、PS 13例、PC 10例、PE 10例、PI 5例

であり、複合リン脂質である Platelin で最も陽性率が高かった。両性荷電を持つ PC, PE に対する抗体も高率に検出され、その抗体価が CL に対する抗体価と相関が認められたことから、SLE でみられる抗リン脂質抗体は heterogenous なものと考えられた。

4. 血小板減少は 6 例にみられた。抗リン脂質抗体陽性 4 例、LA 陽性は 2 例であり、抗体価と血小板数との相関はみられなかった。

5. 血栓症合併は下肢静脈血栓 2 例、脳梗塞 1 例、網膜動脈閉塞 1 例の計 4 例 (16%) に認めた。血栓症合併群では抗リン脂質抗体を全例に認め、特に高力価例で血栓症の合併が有意に高かった (抗 CL 抗体, $p < 0.05$)。

6. 急性炎症マーカーと LA, 抗リン脂質抗体との関連はみられなかった。

以上より SLE では高率に LA, 抗リン脂質抗体が出現することが明らかになった。LA の検出には KCT の感度が高く、ELISA による抗リン脂質抗体検出には複合リン脂質である Platelin を抗原とする検出法が有用と考えられた。臨床問題となる血栓症合併は高力価抗リン脂質抗体陽性群で有意に高く、高力価抗体陽者は血栓予防を含め十分な注意が必要と考えられた。

参 考 文 献


- 1) Harris, E. N., Gharavi, A. E., Hughes, G. R. V. : Anti-phospholipid antibodies. Clin. Rheum. Dis., 11 : 591-609, 1985.
- 2) Harris, E. N., Boey, M. L., Mackworth-Young, C. G. et al. : Anticardiolipin antibodies : Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. Lancet, 2 : 1211-1214, 1983.
- 3) Shapiro, S. S., Thiagarajan, P. : Lupus anticoagulant. Prog. Hemost. Thromb., 6 : 263-285, 1982.
- 4) Feinstein, D. I., Rapaport, S. I. : Acquired inhibitors of blood coagulation. Prog. Hemost. Thromb., 1 : 75-95, 1972.
- 5) Conley, C. L., Hartmann, R. C. : A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. J. Clin. Invest., 31 : 621-622, 1952.
- 6) Exner, T., Rickard, K. A., Kronenberg, H. : A sensitive test demonstrating lupus anticoagulant and its behavioural patterns. Br. J. Haematol., 40 : 143-151, 1978.
- 7) Schleider, M. A., Nachman, R. L., Jaffe, E. A. et al. : A clinical study of the lupus anticoagulant. Blood, 48 : 499-509, 1976.
- 8) Thiagarajan, P., Pengo, V., Shapiro, S. S. : The use of the dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. Blood, 68 : 869-874, 1986.
- 9) Bowie, E. J., Thompson, J. S., Pascuzzi, C. A. : Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. J. Lab. Clin. Med., 162 : 416-430, 1963.
- 10) Hughes, G. R. V., Harris, E. N., Gharavi, A. E. : The anticardiolipin syndrome. J. Rheumatol., 13 : 486-489, 1986.
- 11) Maoussakis, H. N., Gharavi, A. E., Dross, A. A. et al. : Anticardiolipin antibodies in unselected autoimmune rheumatic disease patients. Clin. Immunol. Immunopathol., 44 : 297-307, 1987.
- 12) Vaarala, O., Palosuo, T., Kleemola, M. et al. : Anticardiolipin response in acute infections. Clin. Immunol. Immunopathol., 41 : 8-15, 1986.
- 13) Canoso, R. T., de Oliveira, R. M. : Chlorpromazine-induced anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant : absence of thrombosis. Am. J. Hematol., 27 : 272-275, 1988.
- 14) Tan, E., Cohen, A. S., Fries, J. F. et al. : The 1982 revised criteria for classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum., 25 : 1271-1277, 1982.
- 15) Loizou, S., Mc Crea, J. D., Rudge, A. C. et al. : Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) : standardization and quantitation of results. Clin. Exp. Immunol., 62 : 738-745, 1985.
- 16) 中村克己、久藤真、武内令子 : 循環抗凝血素. Medical Technology, 13 : 247-254, 1985.
- 17) Triplett, D. A., Brandt, J. T., Kiaczor, D. et al. : Laboratory diagnosis of lupus inhibitors : a comparison of the tissue thromboplastin inhibition procedure with a new platelet

- neutralization procedure. *Am. J. Pathol.*, 48: 499-509, 1983:
- 18) Exner, T., Triplett, D.A., Taberner, D. et al : Comparison of test methods for the lupus anticoagulant : international survey on lupus anticoagulants- I (ISLA-1). *Thromb. Haemostas.*, 49 : 478-484, 1990.
 - 19) Triplett, D. A., Brandt, J. T. : Lupus anticoagulants : misnomer, paradox, riddle, epiphenomenon. *Hematol. Pathol.*, 2 :121-143, 1988.
 - 20) Triplett, D. A. : Coagulation assay for the lupus anticoagulant : review and critique of current methodology. *Stroke*, 23 (Supplement I) : 11-14, 1992.
 - 21) Regan, M. G., Lackner, H., Karparkin, S. : Platelet function and coagulation profile in lupus erythematosus. *Ann. Intern. Med.*, 81 : 462-468, 1974.
 - 22) Love, P. E., Santoro, S. A. : Antiphospholipid antibodies : Anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. *Ann. Intern. Med.*, 112 : 682-698, 1990.
 - 23) Lesperance, B., David, M., Rauch, J. et al : Relative sensitivity of different test in the detection of low titer lupus anticoagulants. *Thromb. Haemostas.*, 60 : 217-219, 1988.
 - 24) 小池隆夫 : 抗リン脂質抗体の特異性と臨床的意義. *臨床免疫*, 21 : 85-92, 1989.
 - 25) Staub, H. E., Harris, E. N., Khamasha, M. A. et al : Antibody to phosphatidylethanolamine in a patient with lupus anticoagulant and thrombosis. *Ann. Rheum. Dis.*, 48 : 166-169, 1989.
 - 26) Branch, D.W., Rote, N.S., Scott, J.R. : The demonstration of lupus anticoagulant by an enzyme-linked immunosorbent assay *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 39 : 298-307, 1986.
 - 27) Ankiri, A., Boffa, M.C., Bienvenue, T. et al : Study of the antiphospholipid specificity. Xth international congress on thrombosis (The Mediterranean league against on thrombotic disease) Athens, Greece. May 22-27, 1988.
 - 28) Hughes, G. R. V., Asherson, R. A., Khamashata, M. A. : Antiphospholipid syndrome : linking many specialities. *Ann. Rheum. Dis.*, 48 : 355-356, 1989.
 - 29) Harris, E. N., Hughes, G. R., Gharavi, A. E. : Antiphospholipid antibodies : an elderly statesman dons new garments. *J. Rheumatology*, 14 : 208-213, 1987.
 - 30) Lockshin, M. D., Drust, M.L., Goei, S. et al : Antibody to cardiolipin as a predictor of fetal distress or death in pregnant patients with systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.*, 313 : 152-156, 1985.
 - 31) 家子正昭、小池隆夫 : 抗リン脂質抗体と血栓症. 高久史麿, 宮崎澄雄(編) : *Annual Review 血液*, 初版, 249-258, 中外医学社, 東京, 1994.
 - 32) Hasten, A., Nörberg, R., Bjorkholm, M. et al : Antibodies to cardiolipin in young survivors of myocardial infarction : an association with recurrent cardiovascular event. *Lancet*, 1 : 113-116, 1986.
 - 33) Harris, E. N., Chan, J .K., Asherson, R. A. : Thrombosis, recurrent fetal loss and thrombocytopenia : predictive value of the anticardiolipin antibody test. *Arch. Intern. Med.*, 146 : 2153-2156, 1986.
 - 34) Carreas, L. O., Vermynen, J. G. : Lupus anticoagulant and thrombosis-possible role of inhibition of prostacyclin formation. *Thromb Haemostas.*, 48 : 38-40, 1982.

- 35) Ferro, D., Violi, F., Quintarelli, C. et al : Fibrinolytic balance and lupus anticoagulant in patients with repeated spontaneous fetal loss. *Br. Med. J.*, 305 : 504-505, 1992.
- 36) Freyssinet, J. M., Casenave, J. P. : An Ig M lupus anticoagulant that neutralizes the enhancing effect of phospholipid on purified endothelial thrombomodulin activity - a mechanism of thrombosis. *Thromb. Haemostas.*, 55 : 309-313, 1986.
- 37) Cariou, R., Tobelem, G., Bellucci, S. et al : Effect of lupus anticoagulant on antithrombogenic properties of endothelial cell-inhibition of thrombomodulin-dependent protein C activation. *Thromb. Haemostas.*, 60 : 54-58, 1988.
- 38) Mc Neil, H. P., Simpson, R.J., Chesterman, C.N. et al : Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation : β -glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc. Natl. Acad. Sc. USA*, 87 : 4120-4124, 1991.
- 39) Galli, W., Comfurius, P., Maasem, C. et al : Anticardiolipin antibodies are directed not to cardiolipin but to plasma protein cofactor. *Lancet*, 335 : 1544-1547, 1990.
- 40) Nimpf, J., Bevers, E.M., Bomans, P.H.H. et al : Prothrombinase activity of human platelets is inhibited by β ₂ glycoprotein I. *Biochem. Biophys. Acta.*, 884 : 142-149, 1986.
- 41) Schousboe, I. : Binding of β ₂ glycoprotein I to platelet : effect of adenylate cyclase activity. *Thromb. Res.*, 19 : 225-237, 1980.
- 42) Benedetti, E.D., Reber, G., Miescher, P.A. et al : No increase of β ₂ glycoprotein I levels in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb. Haemostas.*, 68 : 624-628, 1992.
- 43) Dawn, R. W., Mc Intyre, J. A. : Interaction of heparin with β ₂ glycoprotein I and antiphospholipid antibodies in vitro. *Thromb. Res.*, 68 : 495-500, 1992.
- 44) Cohen, M.G., Lui, S.F. : Multiple complications of the antiphospholipid syndrome with apparent response to aspirin therapy. *J. Rheumatol.*, 19 : 803-806, 1992.
- 45) Branch, D. W., Scott, J. R., Kochenour, M.J. K. et al : Obstetric complications associated with the lupus anticoagulant. *N. Engl. J. Med.*, 313 : 1322-1326, 1985.
- 46) Lubbe, W. F., Palmer, S.J., Buitter, W.S. et al : Fetal survival after prednisolone suppression of maternal lupus-anticoagulant. *Lancet*, 1: 1361-1363, 1983.

表1 クラス別抗リン脂質抗体

	IgM抗体陽性	IgM抗体陰性	計
IgG抗体陽性	7	10	17
IgG抗体陰性	0	8	8
計	7	18	25

 は抗体陽性群

数字は症例数

表 2 Lupus anticoagulant 陽性例

	年齢、性別	LA検出法	陽性抗リン脂質抗体
症例 2	30/F	KCT, TTIT	CL, PS, PC, PE, Platelin
症例 3	67/F	KCT, DRVVT, TTIT, APTT	CL, PS, Plateln
症例 9	29/F	KCT, DRVVT, TTIT, APTT	CL, PS, PC, PI, PE, Platelin
症例 14	27/F	KCT, TTIT	CL, PC, Platelin
症例 22	50/F	KCT, DRVVT	CL, PS, PC, PE, Platelin
症例 23	42/F	KCT	CL, PS, Platelin

表3 抗リン脂質抗体陽性とLA,血小板減少、血栓症

	LA (6例)	血小板減少 (6例)	血栓症 (4例)
抗リン脂質抗体陽性群 (17例)	6	4	4
抗リン脂質抗体陰性群 (8例)	0	2	0

数字は症例数

表 4 LAと血小板減少、抗リン脂質抗体、血栓症

	血小板減少 (6例)	抗リン脂質 抗体 (17例)	血栓症 (4例)
LA陽性群 (6例)	2	6	2
LA陰性群 (19例)	4	11	2

数字は症例数

表5 血小板減少例

	年齢、性別	血小板数	LA検出法	抗リン脂質抗体	血栓症
症例 2	30/F	2.1 ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	KCT, TTIT	CL, PS, PC, PE, Platelin	(+)
症例 3	67/F	5.4	KCT, DRVVT, TTIT, APTT	CL, PS, Platelin	(-)
症例 10	60/F	7.8	(-)	(-)	(-)
症例 17	45/F	8.9	(-)	PS, PE, Platelin	(-)
症例 21	35/F	7.5	(-)	CL, PS, PC, Platelin	(+)
症例 24	32/F	6.9	(-)	(-)	(-)

表6 血栓症合併例

	年齢、性別	LA検出法	血小板減少	抗リン脂質抗体	血栓症の部位
症例 1	62/F	(-)	(-)	CL, Platelin	反復性下肢静脈血栓
症例 2	30/F	KCT, DRVVT etc.	(+)	CL, PS, PC, PE, Platelin	両下肢静脈血栓
症例 9	29/F	KCT, DRVVT etc	(-)	CL, PS, PC, PI, PE, Platelin	右網膜動脈閉塞
症例 21	35/F	(-)	(+)	CL, PC, PS, Platelin	脳梗塞

表7 抗リン脂質抗体力価別症例と血小板減少、血栓症、LA

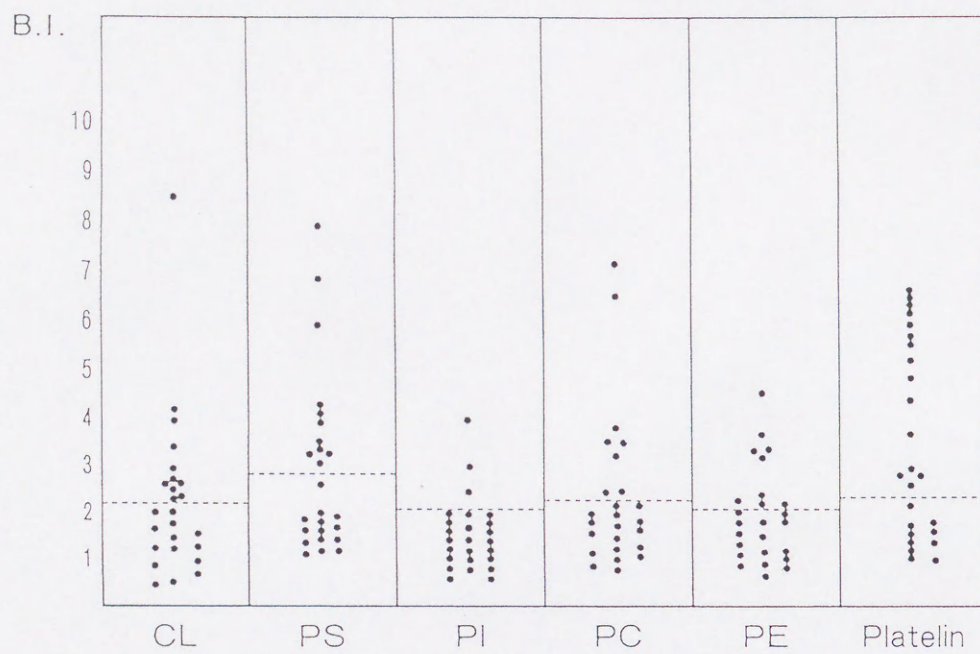
脂 質	LA (6例)	血小板減少 (6例)	血栓症 (4例)
CL (H:4例)	2	1	4
(L:10例)	4	2	0
PS (H:6例)	1	2	3
(L:7例)	5	2	0
PI (H:1例)	0	0	0
(L:4例)	1	1	1
PC (H:4例)	3	1	2
(L:6例)	1	1	0
PE (H:1例)	0	0	0
(L:9例)	3	2	2
Platelin (H:11例)	4	2	2
(L:5例)	12	2	2
全脂質 (H:10例)	4	2	4
(L:7例)	2	2	0

* p < 0.05

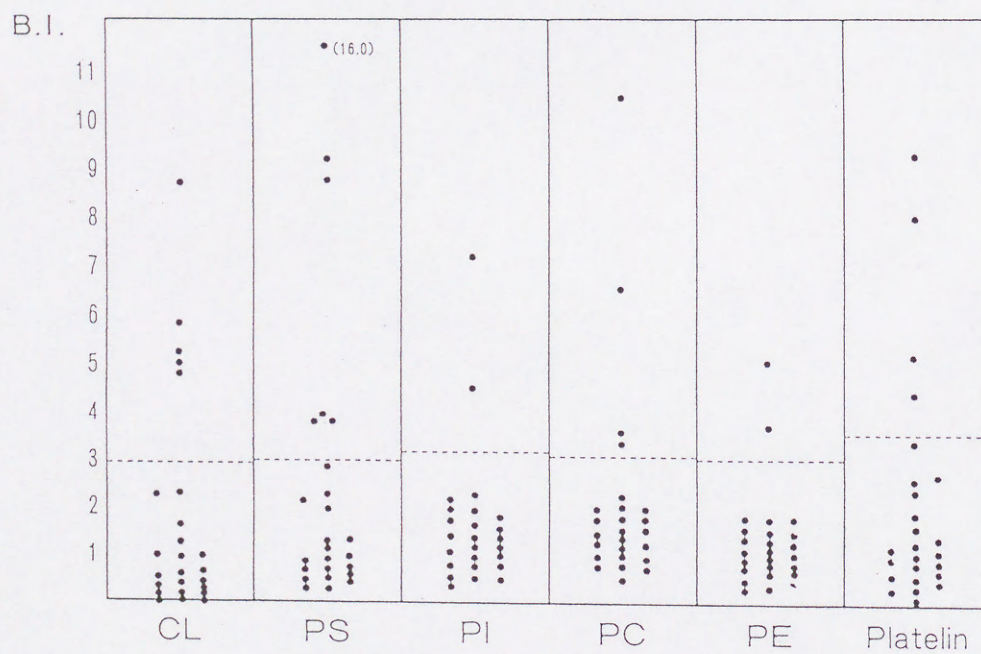
H:高力価群 L:低力価群

数字は症例数

Ig G 抗体



Ig M 抗体



点線は +3SD

図1 抗リン脂質抗体のbinding index (B.I.).

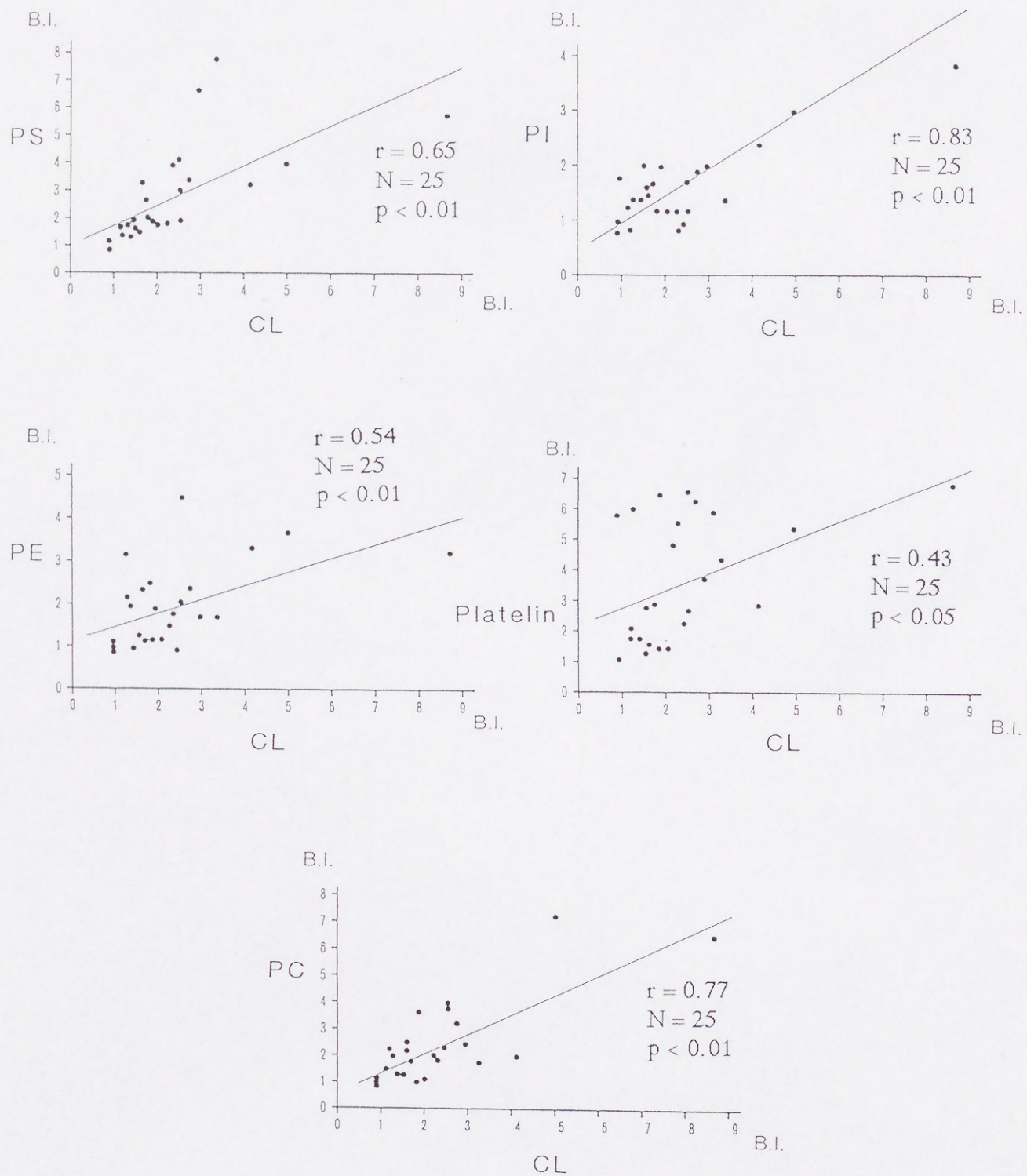


図2 抗cardiolipin 抗体力価と他の抗リン脂質抗体力価.

