

## 維持透析患者における血管内皮傷害に関する研究

—凝固・線溶能およびトロンボモジュリンからの検討—

奈良県立医科大学公衆衛生学教室

大野安男

## STUDIES OF VASCULAR ENDOTHELIAL INJURY IN PATIENTS UNDERGOING MAINTENANCE HEMODIALYSIS : WITH REFERENCE TO COAGULATION, FIBRINOLYSIS SYSTEM AND THROMBOMODULIN

YASUO OHNO

*Department of Public Health, Nara Medical University*

Received November 30, 1991

*Summary* : This study was performed to evaluate the degree of vascular endothelial damage by examining coagulation activity, fibrinolytic activity and vascular endothelial cell function in patients undergoing maintenance hemodialysis treatment (MDT). Twenty-seven patients with chronic renal failure due to primary glomerular disease were enrolled in this study. The items measured were fibrinogen, antithrombin-III (ATIII), thrombin-antithrombin III complex (TAT) as parameters for coagulation activity, plasminogen (Plg),  $\alpha_2$ -plasmin inhibitor ( $\alpha_2$ -PI),  $\alpha_2$ -plasmin inhibitor-plasmin complex (PIC), D-dimer, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), tissue plasminogen activator (t-PA) antigen and its activity for fibrinolytic activity, and von Willebrand factor antigen (vWF : Ag) and thrombomodulin (TM) for vascular endothelial cell function.

Predialysis levels of fibrinogen, TAT, PIC, D-dimer, vWF : Ag and TM in MDT patients increased significantly compared with those in normal subjects, while ATIII, Plg,  $\alpha_2$ PI, PAI-1 and t-PA antigen decreased significantly. During single hemodialysis, TAT, PIC, D-dimer, t-PA antigen and its activity, vWF : Ag and TM increased significantly, while PAI-1 apparently decreased. In addition, t-PA activity was consistently elevated during single hemodialysis. There was a positive correlation between predialysis level of TM and duration of MDT.

These results suggest that TAT, PIC and D-dimer can be used as good indicators in the coagulation-fibrinolysis system function even in patients with impaired renal function, and that TM is also an excellent indicator in finding out the condition of vascular endothelial injury. Meanwhile, it seemed quite plausible that long-term MDT facilitates the thromboembolic lesion and the atherosclerosis in MDT patients.

**Index Terms**

maintenance hemodialysis, thrombomodulin, von Willebrand factor, vascular endothelial cell

---

## 緒 言

本邦における現在の維持透析患者数は10万人を超えている<sup>1)</sup>。その原因は、糖尿病性腎症をはじめとする二次性腎疾患患者の透析導入の増加によるが、透析技術の進歩や透析管理の向上による維持透析患者の死亡数の減少も大きく寄与している。また至適透析の進歩は維持透析患者の社会復帰を著しく向上させた。一方では、維持透析療法についても多くの問題が残されている。とくにCa代謝異常に伴う腎性骨症、エリスロポエチン産生低下による腎性貧血、長期透析時の透析アミロイドーシス、心血管合併症、微量金属代謝異常に基づく合併症など治療困難な透析合併症は、早急に解決を必要とする課題である。

維持透析患者における死因は、第1位が心不全(32.7%)で、脳血管障害(12.3%)がそれに続いている。とくに心血管合併症についての対策は生存率の改善に重要といえる。また最近、糖尿病性腎症患者の透析導入増加に加えて高齢化社会を反映した高齢者維持透析患者の増加が顕著となっている。したがって、維持透析患者における動脈硬化症および動脈硬化性心血管障害の進展・予防は従来にも増して重要な課題といえる。維持透析患者においては血液透析自体が動脈硬化症および動脈硬化性心血管障害の発生・進展機序に大きく関与しているものと推測される。とくに透析操作は血管内皮傷害を惹起して動脈硬化を促進させる重要な因子と考えられる。

現在までに維持透析による血管内皮傷害を検討した報告は少ない<sup>2)</sup>。そこで今回著者は、維持透析患者における動脈硬化症の進展に対する血管内皮傷害の関与を、単回透析時の凝固・線溶能および血管内皮由来物質の推移から検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

対象は、中野総合病院内科において維持透析中の患者27例である。その性別は男性9例、女性18例、年齢は30から60歳(平均 $42.3 \pm 2.1$ 歳)、透析期間は8から265カ月(平均 $114.1 \pm 57.3$ カ月)である。全例の基礎疾患は、腎生検、あるいは臨床経過から慢性糸球体腎炎と診断されている。

対照には、健康成人29例を選んだ。その性別は男性10例、女性19例、年齢は29から59歳(平均 $49.4 \pm 3.3$ 歳)である。

### 2. 透析

透析は酢酸セルロースホローファイバー・ダイアライ

ザーを用いる4~5時間の重曹透析、ヘパリン化はヘパリンカルシウムを用いる全身法によった。

なお、血液凝固・線溶系に影響する可能性のある薬物はヘパリンを除いて一切使用を禁止した。

### 3. 検査方法

#### (1) 採血方法

透析前、透析中(開始後60分と120分)および透析終了時に、ダイアライザーの動脈ラインから17G AVF針(ニプロ社製)を用いて3.8%クエン酸ナトリウム0.2ml入り採血管に1.8ml採血した。

#### (2) 測定項目

1) 凝固能: フィブリノゲン、アンチトロンビンIII(AT III)、トロンビン・アンチトロンビンIII複合体(TAT)。

2) 線溶能: プラスミノゲン(Plg),  $\alpha_2$ プラスミンインヒビタ( $\alpha_2$ PI),  $\alpha_2$ PI・プラスミン複合体(PIC), Dダイマー, 組織プラスミノゲンアクチベータ(t-PA)抗原量, プラスミノゲンアクチベータインヒビタ-1抗原量(PAI-1), t-PA活性。

3) 血管内皮由来物質: von Willebrand 因子抗原量(vWF: Ag), トロンボモジュリン抗原量(TM)。

#### (3) 測定方法

##### 1) 凝固能

フィブリノゲン: KC-10(ロッシュ社製)を用いるトロンビン時間法。

AT III: 発色性合成基質(KABI社製)を用いる活性測定法。

TAT: Pelzer et al.<sup>3)</sup>のビーズを用いるサンドイッチEIA(Behringwerke社製)法。

##### 2) 線溶能

Plg および  $\alpha_2$ PI: 発色性合成基質(KABI社製)を用いる活性測定法。

PIC: モノクローナル抗体<sup>4)</sup>を用いる1ステップ・サンドイッチEIA(帝人社製)法。

Dダイマー: モノクローナル抗体<sup>5)</sup>を用いるサンドイッチEIA(AGEN社製)法。

t-PA抗原量: IMUBIND t-PA(American Diagnostica社製)を用いるサンドイッチEIA法。

PAI-1: モノクローナル抗体用いるサンドイッチEIA(Monozym社製)法。

t-PA活性: Wiman et al.<sup>6)</sup>と Verheijen et al.<sup>7)</sup>の方法に準じて調製したユーグロブリン分画を可溶性フィブリンよりなるt-PAスティミュレーター(BMY社製)とGlu-プラスミノゲン(American Diagnostica社製)の存在下で反応させ、その活性を発色性合成基質(American

Diagnostica 社製)を用い測定した。その詳細は以下の通りである。得られたクエン酸加血漿 0.5 ml へ予め氷冷しておいた精製水 4.5 ml を速やかに加えて 10 倍希釈した。3~4 回転倒混和し、0.5% 酢酸 100  $\mu$ l を加えて氷中で 30 分間放置し、ユーグロブリン分画を析出させた。ついで、4°C で 3,000 rpm, 10 分間遠心分離し、上清を吸引除去した。沈殿物にトリス緩衝液(0.05 M Tris, 0.15 M NaCl, pH 8.5)を 0.5 ml 加えて溶解した。この溶解液 16  $\mu$ l に活性化液(プラスミノゲン 8  $\mu$ g と t-PA ステイミュレーター 16  $\mu$ g を含むトリス緩衝液)120  $\mu$ l を加えて 4 分間反応させ、ついで 2 mM の合成基質(ノルロイシル-ヘキサヒドロチロソニル-リジン-p-ニトロアニリド: H-D-Nle-HHT-Lys-pNA)80  $\mu$ l を加えて遠心式自動分析装置コバスファラ(ロッシュ社製)のセル内(37°C)で反応させた。合成基質から遊離した p-ニトロアニリン(p-NA)量を 405 nm の波長で経時的に吸光度を測定し、t-PA 活性を求めた(Fig. 1)。

3) 血管内皮由来物質

vWF: Ag: ASSERACHROM vWF: Ag(STAGO 社製)によるサンドイッチ EIA 法。

TM: TM(その構造模式図<sup>9)</sup>を Fig. 2 に示す)は第 1~第 3 Epidermal Growth Factor(EGF)様構造領域を認識するモノクローナル抗体(MFTM-4)と第 5 EGF 様構造領域に対して特異性をもつモノクローナル抗体(MFTM-6)の両方を組み合わせた 1 ステップサンドイッチ EIA 法(富士薬品工業社製)により測定した。その詳細は以下の通りである。ポリスチレン試験管に血漿 50

$\mu$ l あるいは標準品 50  $\mu$ l を分注し、300  $\mu$ l の標識抗体 Fab'(MFTM-6)-POD を加えた。ついでモノクローナル抗体(MFTM-4)で固相化したポリスチレンビーズを添加し、37°C, 60 分間インキュベーションしてからリン酸緩衝液で洗浄した。そこに基質(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン: TMBZ 0.25 mg/ml)300  $\mu$ l と 75  $\mu$ g/ml 過酸化水素水 300  $\mu$ l を加えてから 37°C で 30 分間インキュベーションして発色させた後、1.75 mM 硫酸 800  $\mu$ l を加えて反応を停止させた。ついで、分光光度計 Ubest-35 型(日本分光社製)を用いて 450 nm の吸光度を測定し、同時に実施した標準直線から TM 抗原量を求めた。

4. 推計学的処理

各測定値は平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。推計学的処理は、各群間の対応のない比較には分散分析法、対応のある比較には Student-*t* 検定法を用いた。

成 績

1. 維持透析患者における単回透析前の血中凝固・線溶解および血管内皮由来物質濃度

(1) 凝固能

維持透析患者における単回透析前の凝固能は、フィブリノゲンと TAT の両者が健常対照に比して有意の高値、AT III が有意の低値を示した(Table 1)。

(2) 線溶解能

1) t-PA 活性測定法: 今回実施した t-PA 活性測定法の再現性を Table 2 に示した。再現性の検体は、健常者より調製した血漿検体 A~D を用い、同時再現性(検

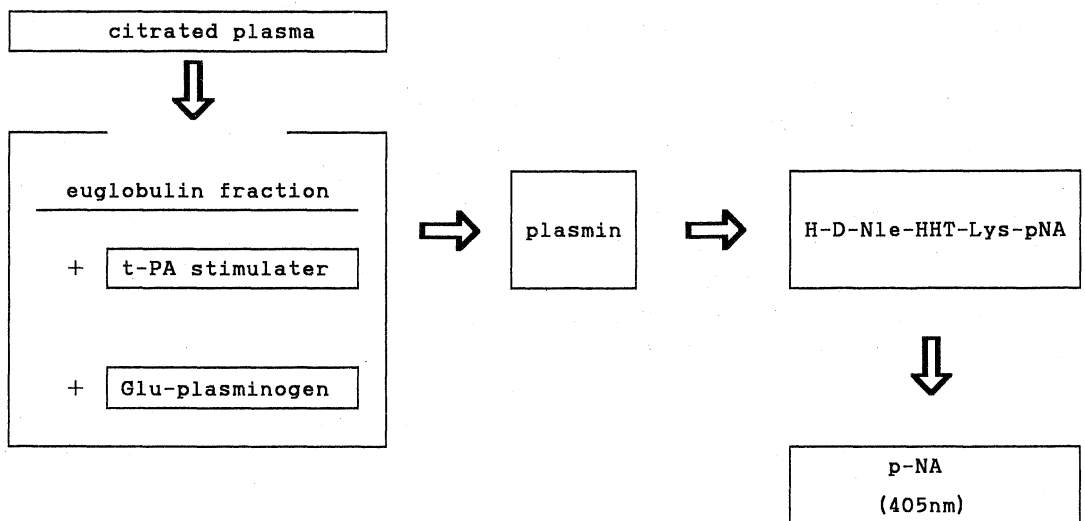


Fig. 1. Principle of enzymatic assay for t-PA in plasma.

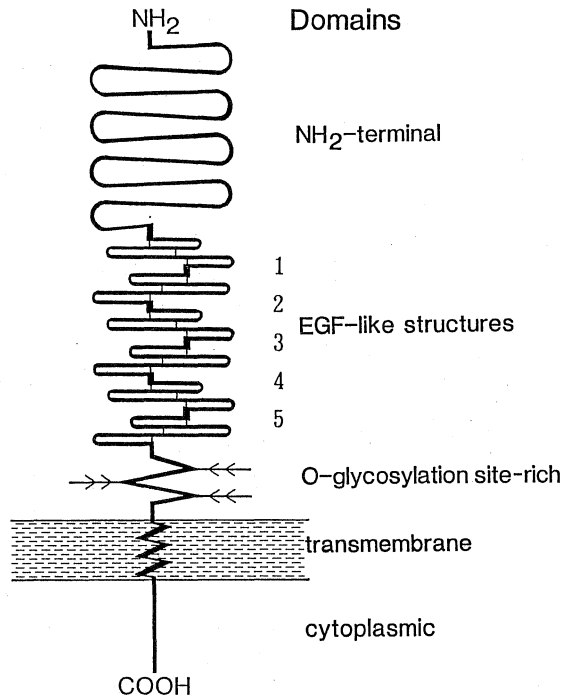


Fig. 2. Schema of domains structure of human thrombomodulin (TM).

Table 1. Plasma level of coagulation, fibrinolysis and endothelium parameters in maintenance dialysis patients

Items		n	patients	n	normal subjects	statistical significance
Fibrinogen	(mg/dl)	27	314±15	29	244±15	p<0.01
ATIII	(%)	27	84±8	29	115±2	p<0.01
TAT	(ng/ml)	18	3.8±0.6	29	1.9±0.2	p<0.001
Plg	(%)	27	82±4	29	112±3	p<0.01
$\alpha_2$ PI	(%)	27	91±3	29	110±2	p<0.01
PIC	( $\mu$ g/ml)	27	0.9±0.1	29	0.4±0.1	p<0.001
D-dimer	(ng/ml)	27	198±45	29	79±33	p<0.001
PAI-1	(ng/ml)	18	14±6	29	22±2	p<0.01
t-PA antigen	(ng/ml)	18	2.2±0.6	29	4.4±1.1	p<0.01
activity	(IU/ml)	18	0.06±0.01	29	0.06±0.01	ns
vWF:Ag	(%)	15	161±11	29	102±10	p<0.01
TM	(ng/ml)	15	24.2±0.9	29	3.7±0.2	p<0.001

Values are mean±SE.

体 A, B), 日差再現性(検体 C, D)について行った。変動係数(CV)は7%以下, 測定範囲は0.03から5.0 IU/mlであり, 今回用いた測定方法の妥当性が証明された。

2) 線溶能: 維持透析患者における単回透析前の線溶能は, t-PA 活性を除いてすべての項目が健常対照に比

して有意差を示した。つまり, PICとDダイマーは有意の高値, Plg,  $\alpha_2$ PI, PAI-1 および t-PA 抗原量は有意の低値を示した(Table 1)。

(3) 血管内皮由来物質濃度

1) TMの測定法: 今回の検討に用いた測定法の再

現性を Table 3 に示した。再現性の検討は、健常者血漿(検体 E, G)および全身性エリテマトーデス患者血漿(検体 F, H)から調製したのを用い、同時再現性(検体 E, F)、日差再現性(検体 G, H)について行った。CV は 7% 以下、測定範囲は 1.0 から 64 ng/ml であり、今回用いた測定方法の妥当性が証明された。

2) 血管内皮由来物質濃度: vWF: Ag の単回透析前値は健常対照に比して有意の高値を示した。また、TM の単回透析前値も健常対照に比して有意の高値を示した

Table 2. Reproducibility of t-PA activity level in plasma with intra or inter-assay

Mode of assay	Sample	t-PA	
		IU/ml	CV (%)
Intra-assay	A	0.737±0.040	0.5
	B	2.878±0.123	4.3
Inter-assay	C	1.475±0.069	4.7
	D	2.749±0.174	6.3

Table 3. Reproducibility of TM level in human plasma with intra or inter-assay

Mode of assay	Sample	TM	
		ng/ml	CV (%)
Intra-assay	E	3.2±0.1	3.1
	F	22.5±0.5	2.2
Inter-assay	G	3.2±0.2	6.3
	H	21.7±0.6	2.8

Table 4. Changes in plasma level of fibrinogen, ATIII and TAT during single hemodialysis

items	n	before	60 min	120 min	after
Fibrinogen (mg/dl)	15	314±15	335±27	325±25	330±22
ATIII (%)	15	84±8	82±10	83±10	83±9
TAT (ng/ml)	18	3.8±0.6	5.4±1.2***	—	5.2±1.1***

Values are mean±SE. \*\*\* p<0.001.

Table 5. Changes in plasma level of fibrinolysis parameters during single hemodialysis

items	n	before	60 min	120 min	after
Plg (%)	16	82±4	80±4	81±4	82±4
α <sub>2</sub> PI (%)	17	91±3	90±4	90±4	86±4
PIC (μg/ml)	15	0.9±0.1	0.9±0.2	1.3±0.3**	1.7±0.2***
D-dimer (ng/ml)	15	198±45	408±31**	—	264±20*

Values are mean±SE. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001.

(Table 1).

2. 維持透析患者における単回透析時の血中凝固・線溶能および血管内皮由来物質濃度

(1) 凝固能

フィブリノゲンと AT III は単回透析中に有意の変動を示さなかった。TAT は、単回透析前値が 3.8±0.6 ng/ml あったのに対して開始 60 分が 5.4±1.2 ng/ml、透析終了時が 5.2±1.1 ng/ml であり、透析時に有意の上昇を示した (Table 4)。

(2) 線溶能

Plg と α<sub>2</sub>PI の両者は透析中に有意の変動を示さなかった。PIC は、単回透析前値が 0.9±0.1 μg/ml、開始 60 分が 0.9±0.2 μg/ml であったのに対して開始 120 分が 1.3±0.3 μg/ml、透析終了時が 1.7±0.2 μg/ml であり、開始 120 分から有意に上昇し、しかも透析終了時では開始 120 分と比してさらに上昇した。

D ダイマーは、透析前値が 198±45 ng/ml、開始 60 分が 408±31 ng/ml、透析終了時が 264±20 ng/ml であった。つまり、D ダイマーは、透析開始 60 分に有意に上昇したが、透析終了時には開始 60 分に比して有意に低下した。しかし、透析終了後もなお透析前に比して有意に上昇していた (Table 5)。

t-PA 抗原量は、単回透析前値が 2.2±0.6 ng/ml、開始 60 分が 2.5±0.5 ng/ml、透析終了時が 2.8±1.0 ng/ml であった。つまり開始 60 分より有意に増加しており、透析終了時にはその増加が顕著になった。

PAI-1 は、透析前値が 14±1 ng/ml、開始 60 分が 13±

2 ng/ml, 透析終了時が  $11 \pm 1$  ng/ml であった。つまり, PAI-1 は透析開始 60 分より有意に低下しており, 透析終了時にはその低下がより顕著になった。

t-PA 活性は, 透析前値が  $0.06 \pm 0.01$  IU/ml, 開始 60 分が  $0.36 \pm 0.09$  IU/ml, 透析終了時が  $0.64 \pm 0.19$  IU/ml であり, 透析前に比して開始 60 分に有意に増加した (Fig. 3)。

(3) 血管内皮由来物質濃度

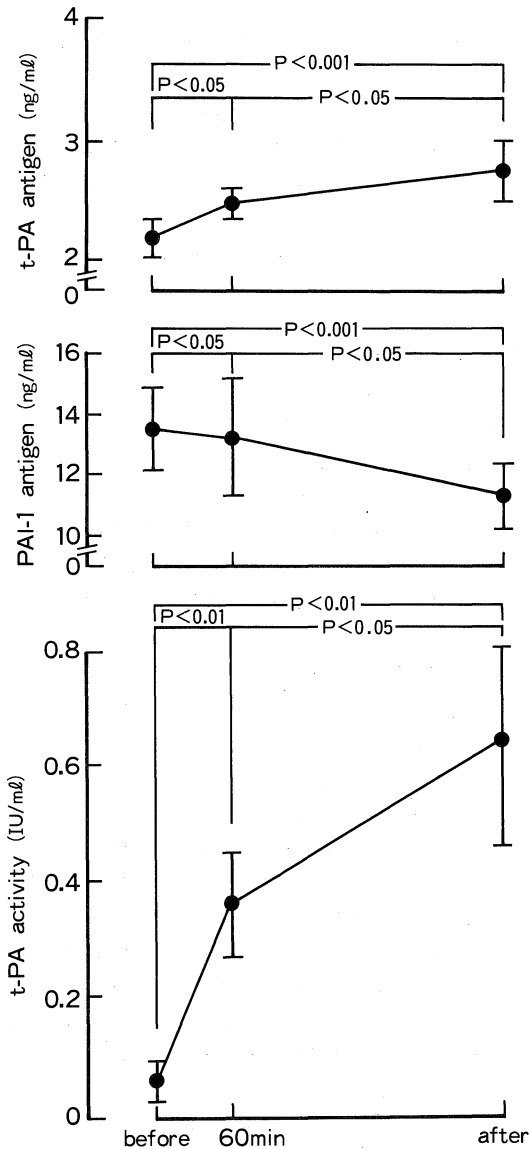


Fig. 3. Changes in plasma level of t-PA, PAI-1 antigen and t-PA activity during single hemodialysis.

vWF:Ag は, 単回透析前値が  $161 \pm 16$  %, 透析開始 60 分が  $175 \pm 18$  % であったのに対して透析終了時が  $220 \pm 18$  % であり, 透析終了時に有意の増加を示した。

TM は, 単回透析前値が  $24.2 \pm 0.9$  ng/ml, 透析開始 60 分が  $25.2 \pm 0.9$  ng/ml であったのに対して透析終了時が  $27.9 \pm 4.2$  ng/ml であり, 透析終了時に有意の増加を示し (Fig. 4)。

3. 血管内皮由来物質と透析期間および患者年齢との関係

(1) vWF:Ag と透析期間

単回透析の vWF:Ag 値は透析期間と相関を示さなかった。透析終了時の vWF:Ag 値と透析前時の vWF:Ag 値との値の差から求めた単回透析時の vWF:Ag 変化量は透析期間と負相関を示した ( $r=0.69$ ,  $p<0.005$ ) (Fig. 5)。

(2) TM と透析期間

TM の単回透析前値は透析期間と正相関を示したが ( $r=0.66$ ,  $p<0.005$ ) (Fig. 5), 単回透析時の TM 変化量は透析期間と相関を示さなかった。

(3) vWF:Ag および TM と患者の年齢

単回透析前値の vWF:Ag と TM は相関を示さな

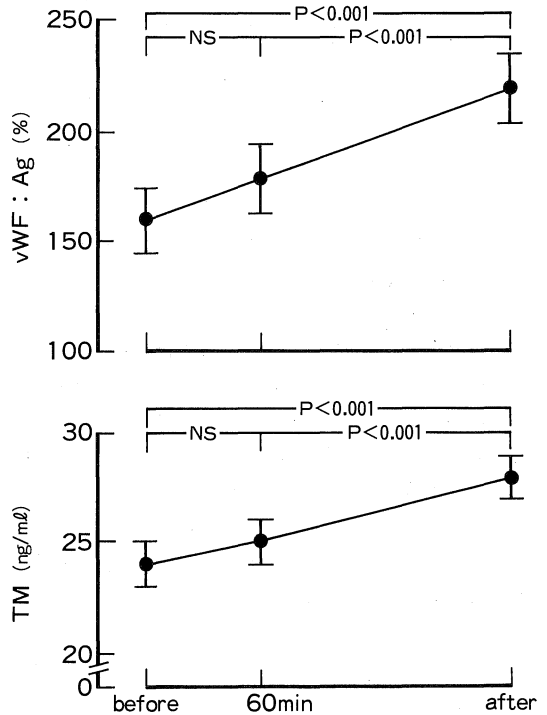


Fig. 4. Changes in plasma level of vWF:Ag and TM during single hemodialysis.

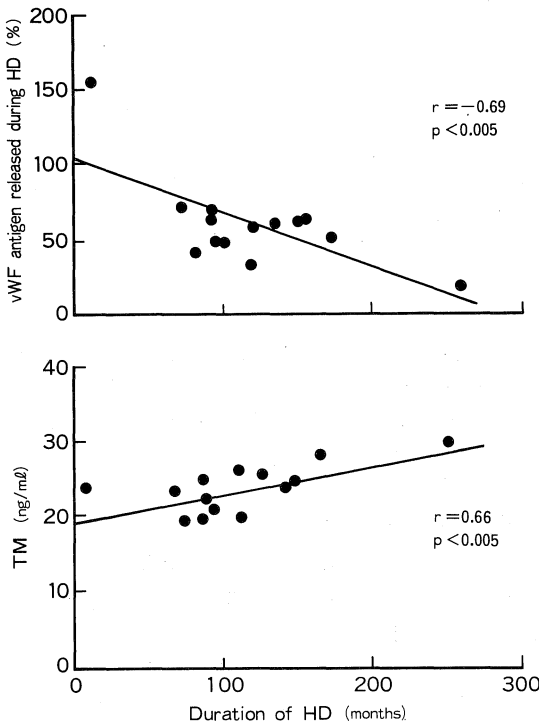


Fig. 5. Correlation between TM level or the amount of vWF:Ag released during hemodialysis and duration of hemodialysis.

った。vWF:AgおよびTMの単回透析前値は患者の年齢と相関を示さなかった。

### 考 察

#### 1. 維持透析患者の単回透析前における凝固・線溶能および血管内皮由来物質

##### (1) 凝固能

従来から維持透析患者は血栓性疾患合併頻度の高いことが知られており、血液凝固・線溶能や血小板機能について検討が重ねられてきた。それらの報告をまとめると、維持透析患者は、過凝固状態にあり<sup>9)~13)</sup>、特に血小板機能の亢進が顕著であるという<sup>14)~16)</sup>。今回の検討は、単回透析前にフィブリノゲン値が健常対照に比して上昇していたこと、それに呼応して凝固阻止作用を有するAT IIIが減少していたことを確認しており、従来の報告を裏付けたことになる。

近年、日常の臨床検査として導入されたTATは、凝固過程で生ずるトロンビンとそのインヒビターであるAT IIIとの複合体であり、トロンビン生成、血栓形成時に検出される。一方、Dダイマーは、フィブリン塊が線溶酵

素のプラスミンによって分解された時に生成される分解産物であり、二次線溶の指標になるとされている。今回の成績は、TATとDダイマーが単回透析前にすでに有意に高値であったことを明らかにしており、維持透析患者が凝固亢進状態にあることを示唆している。

##### (2) 線溶能

維持透析患者における線溶能に関する従来の報告は、線溶能の低下を強調した成績や逆に透析時の上昇を示した成績<sup>17)~19)</sup>とが混在している。つまり、これらの成績の異なる理由は、尿毒症性物質(uremic toxin)の影響を重視する意見<sup>18)20)</sup>もあるが、特異性あるいは感度に問題を残しているユーグロブリン溶解時間を線溶能測定に使用していることに起因すると思われる。

そこで著者は、線溶能の新しい検査項目であるPICについて検討を加えた。PICは、プラスミノゲンが線溶活性化因子(プラスミノゲンアクチペータ)によってプラスミンに変換され、このプラスミンが即時的なインヒビターである $\alpha_2$ PIにより阻害されて不可逆性の複合体を形成したものであり、プラスミン生成の指標とされる。今回の検討は、維持透析患者における単回透析前の血中PIC値が高値であったことから、プラスミン生成の亢進、言い換えると線溶能の亢進を明らかにしたといえる。また、透析前のt-PA抗原量とPAI-1が低値を呈した今回の成績は、凝固亢進に付随して線溶能も亢進するが、究極には線溶系諸因子が消費されることを示唆している。つまり、前述の凝固能の成績を合わせると維持透析患者では、透析前から凝固・線溶能が亢進していると推察される。

##### (3) 血管内皮由来物質

vWF:Agは、血管内皮細胞ならびに巨核球で生成されており、血漿中で第VIII因子と複合体を形成する。vWF:Agは、運動、1-ジアミン-8-アルギニンバソプレシン(DDAVP)投与あるいは駆血のような刺激に反応して内皮細胞から血液中に遊離されるので<sup>21)22)</sup>、内皮細胞機能を反映すると考えられている。また血中vWF:Agは、内皮細胞傷害の程度と正相関を示すので、内皮細胞傷害の指標ともみなされている<sup>23)</sup>。今回の検討は、単回透析前の血中vWF:Ag値が有意の高値を示すことを明らかにしており、維持透析患者が健常成人に比して内皮細胞機能の亢進あるいは内皮細胞傷害の進展した状態にあることを示唆している。

TMは、プロテインCの活性化に必要なトロンビンの補因子タンパク質であり、トロンビンの受容体として血管内皮<sup>24)</sup>、胎盤の合体層<sup>25)</sup>および血小板<sup>26)</sup>の細胞膜上に存在する。また血中の可溶性TMは、内皮細胞の放出

反応に由来せず、内皮細胞傷害時に内皮細胞から遊離するとされており、内皮細胞傷害の指標と考えられている<sup>27)~29)</sup>。今回の検討は、維持透析患者における単回透析前の血中 TM 値の上昇を明らかにしたものであり、維持透析患者では内皮細胞傷害が健常成人に比して顕著であることを示唆している。しかも、前述の凝固・線溶能の亢進を考え合わせると、維持透析患者における内皮細胞傷害は凝固・線溶能の亢進に起因している可能性が高い。

## 2. 維持透析患者における単回透析時の凝固・線溶能および血管内皮由来物質の推移

### (1) 凝固能

フィブリノゲンと AT III は単回透析中に有意の変動を示さなかった。一方、透析時の TAT は透析前に比して上昇していた。つまり、TAT は、フィブリノゲンや AT III では把握し得ない凝固能の亢進を捕捉し得る検査法と考えられよう。

### (2) 線溶能

今回の検討では、Plg と  $\alpha_2$ PI は透析時に有意の変動を示さなかった。しかし、PIC、t-PA 抗原量および t-PA 活性は、透析前値に比して透析時に有意に増加しており、透析終了時に頂値を示した。逆に PAI-1 は有意に減少した。また、D ダイマーは、透析前値に比して開始 60 分、透析終了時において有意に増加したが、開始 60 分に頂値を示した。さらに PIC は透析中に高値を持続していた。つまり、今回の成績は、維持透析患者の線溶能が単回透析前から健常人に比して亢進しており、しかも線溶能は透析中にさらに亢進するものと推測される。

最近、Speiser et al.<sup>17)</sup>は、t-PA とそのインヒビターである PAI を測定し、透析中の線溶亢進は t-PA の放出によると報告した。今回著者も、t-PA と PAI-1 を測定して、同様の結果を得ている。t-PA は、血管内皮で合成、貯蔵される主要な線溶活性化因子であり、視床下部下垂体からの分泌されるホルモンや DDAVP 投与または駆血などの刺激で血液中へ放出される<sup>21)30)</sup>。したがって、透析時における t-PA 活性の上昇は体外循環時の内皮細胞刺激で血中へ放出されたことによると判断される。また、PAI-1 の低値は血中に放出された t-PA を中和して消費されたものと推測される。透析中の刺激を特定することはできないが、透析中に血管内皮から t-PA が放出される機序は、透析中に発生する低酸素血症、補体活性化や血小板活性化などが想定される。

### (3) 血管内皮由来物質

今回の検討は、vWF:Ag が透析前値に比して透析終了後に 1.4 倍に増加、TM が 1.2 倍に増加したことを明らかにしている。この成績は、透析中に発生する低酸素、

補体活性化、血小板活性化あるいは白血球プロテアーゼの遊離などを介して TM と vWF:Ag が内皮細胞から放出されること、さらにその放出が内皮細胞傷害に起因することを示唆している。

## 3. 血管内皮由来物質と透析期間および患者年齢の関係

今回の検討では、単回透析前の TM 値は透析期間と正相関を示した。つまり、内皮細胞傷害は透析期間の延長とともに進展するものと考えられる。

透析時の vWF:Ag 変化量と透析期間とが負相関を示した。維持透析患者では、透析期間の延長とともに腹部大静脈壁石灰化の進展が顕著となり、駆血に対する内皮細胞の反応性が低下するという<sup>31)</sup>。この知見と著者の成績とを合わせて考えると、透析期間の延長は内皮細胞傷害を悪化させるが、一方で内皮細胞放出能を低下させると推測される。

今回の検討では年齢および高血圧は vWF:Ag および TM 値と相関を示さなかった。

以上のことから、長期間の維持透析療法は、血栓性病変およびアテローム性動脈硬化症に対する危険因子になると示唆される。

## 結 論

維持透析患者における動脈硬化症の発症・進展機序に対する血管内皮傷害の関与を、単回透析時の凝固能(フィブリノゲン、AT III、TAT)、線溶能(Plg、 $\alpha_2$ PI、PIC、D ダイマー、t-PA 抗原量、t-PA 活性、PAI-1 抗原量)および血管内皮由来物質(vWF:Ag、TM)の推移から検討した。

(1)凝固能：単回透析前では、フィブリノゲンと TAT が健常対照に比して有意の高値、AT III が有意の低値を示した。単回透析時では、フィブリノゲンと AT III は有意の変動を示さなかったが、TAT は透析時に有意の上昇を示した。

(2) 線溶能：単回透析前では、PIC と D ダイマーは健常対照に比して有意の高値、Plg、 $\alpha_2$ PI、PAI-1 および t-PA 抗原量は有意の低値を示した。単回透析時には PIC、D ダイマー、t-PA 抗原量および t-PA 活性は有意の増加、PAI-1 は有意の低下を示した。一方、Plg と  $\alpha_2$ PI は有意の変動を示さなかった。

(3) 血管内皮由来物質：単回透析前では、vWF:Ag と TM は健常対照に比して有意の高値を示した。単回透析時には vWF:Ag と TM は有意の増加を示した。

(4) 単回透析前の vWF:Ag 値は透析期間と相関を示さなかったが、透析終了時と透析前時との値の差から



求めた vWF:Ag 変化量は透析期間と負相関を示した。TM の単回透析前値は透析期間と正相関を示したが、単回透析時の TM 変化量は透析期間と相関を示さなかった。vWF:Ag および TM の単回透析前値は患者の年齢と相関を示さなかった。

以上の成績は、維持透析患者が維持透析前から凝固・線溶能亢進状態にあり、単回透析時には凝固・線溶能がさらに亢進することを明らかにした。また、維持透析患者の内皮細胞傷害も健常成人に比して顕著であり、内皮細胞傷害は凝固・線溶能の亢進に起因していることを明らかにした。また長期の維持透析療法は動脈硬化症に対する危険因子の1つと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました森山忠重教授に深甚の謝意を捧げますとともに、御校閲の労を賜りました本学第1内科学教室石川兵衛教授、小児科学教室福井 弘教授に深謝の意を表します。

また本研究に直接御指導、御教示を賜りました公衆衛生学教室土肥祥子助教授、第1内科学教室土肥和絃講師および中野総合病院内科戸村成男部長に深謝致します。さらにご協力くださいました教室の諸兄に厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨は、第13回国際血栓止血学会(1991年7月、アムステルダム)において発表した。

文 献

- 1) 久保和雄, 安藤稔: 循環器系障害一心不全. 腎と透析 31 : 895, 1991.
- 2) 永島佳代子, 中村一路, 森岡真知子, 宮島ゆかり, 桑原千枝子, 木下忠俊, 風間睦美, 中野昌彦, 石井秀美: 血管内皮マーカー Thrombomodulin の各種腎疾患における測定意義. 日腎誌. 30 : 585, 1988.
- 3) Pelzer, H., Schwarz, A. and Heimbürger, M. : Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. Thromb. Haemostas. 59 : 101, 1988.
- 4) Mimuro, J., Koike, Y., Sumi, Y. and Aoki, N. : Monoclonal antibodies to discrete regions in  $\alpha_2$  plasmin inhibitor. Blood 69 : 446, 1987.
- 5) Rylatt, D. B., Blake, A. S., Cottis, V. E., Massinglam, D. A., Fletcher, W. A., Masci, K. K., Whioaker, A.N., Elms, M., Bunce, I.,

- Webber, A. J., Wyatt, D. and Bundesen, P. G. : An immunoassay for human D dimer using monoclonal antibodies. Thromb. Res. 31 : 767, 1983.
- 6) Wiman, B. and Ranby, M. : Plasminogen activator release during venous stasis and exercise as determined by a new specific assay. Clin. Chim. Acta 127 : 279, 1983.
- 7) Verheijen, J. H., Mullaart, E., Chang, G. T. G., Kluft, C. and Wijngaards, G. : A simple, sensitive spectrophotometric assay for extrinsic (tissue-type) plasminogen activator applicable to measurements in plasma. Thromb. Haemostas. 48 : 266, 1982.
- 8) Suzuki, K., Kusumoto, H., Deyasiki, Y., Nisioka, J., Maruyama, I., Zushi, M., Kawahara, S., Honda, G., Yamamoto, S. and Horiguchi, S. : Structure and expression of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for protein C activation. EMBO J. 6 : 1891, 1987.
- 9) Barton, C. H. and Vaziri, N. D. : Central retinal vein occlusion associated with hemodialysis. Am. J. Med. Sci. 277 : 39, 1979.
- 10) Turney, J. H., Woods, H. F., Fewell, M. M. and Weston, M. J. : Factor VIII Complex in uraemia and effects of hemodialysis. Br. Med. J. 282 : 1653, 1981.
- 11) 巽 陽一, 巽 純子, 巽 典之, 大野安男, 板橋光春, 本間宏子, 青山正明: 腎不全の血中 FPA および B $\beta$  15-42 について. 血液と脈管 15 : 687, 1984.
- 12) Tomura, S., Ohno, Y., Kuriyama, R. and Takeuchi, J. : Plasma concentration of fibrinopeptide A and fibrinopeptide B $\beta$  15-42 in glomerulonephritis and the nephrotic syndrome. Arch. Intern. Med. 145 : 1033, 1985.
- 13) 金内雅夫, 土肥和絃, 竹中義正, 藤本 隆, 熊田光雄, 藤井謙裕, 濱口尚重, 林 需, 石川兵衛: 原発性糸球体疾患における血液凝固線溶能の動態. 腎と透析 12 : 189, 1982.
- 14) Remuzzi, B., Benigni, A., Dosesini, P., Schieppati, A., Gotti, E., Livio, M., Mecca, G., Donati, M. B. and de Getano, G. : Platelet function in patients on maintenance hemodialysis : depressed or enhanced? Clin. Nephrol. 17 : 60, 1982.

- 15) Viener, A., Aviram, M., Better, O. S. and Brook, J. G. : Enhanced *in vitro* platelet aggregation in hemodialysis patients. *Nephron* **43** : 139, 1986.
- 16) 中村義弘, 松井則明, 中川成之輔 : 血小板感受性試験を用いた安定期透析患者の血小板機能の評価. *透析会誌*. **22** : 1341, 1989.
- 17) Speiser, W., Wojta, J., Korninger, C., Kirchheimer, J. C., Zazgornik, J. and Binder, B. R. : Enhanced fibrinolysis caused by tissue plasminogen activator release in hemodialysis. *Kidney Int.* **32** : 280, 1987.
- 18) Martin, A. M., Gibbins, J. K., Jones, W. T. and Smith, C. : The effects of carbon hemoperfusion and hemodialysis on fibrinolysis. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.* **25** : 142, 1980.
- 19) Brommer, E. J. P., Schicht, I., Wijngaards, G., Verheijen, J. H. and Rijken, D. C. : Fibrinolytic activators and inhibitors in terminal renal insufficiency and in anephric patients. *Thromb. Haemostas.* **52** : 311, 1984.
- 20) Homma, T. and Ichikawa, T. : Studies of fibrinolytic activity of uremic and longterm hemodialytic patients with special reference to fibrinolytic inhibitor. *Biochem. Exp. Biol.* **15** : 229, 1979.
- 21) Cash, J. D., Gader, A. M. A. and DA. Costa, J. : The release of plasminogen activator and factor VIII to lysine vasopressin, arginine vasopressin, DDAVP, angiotensin and oxytocin in man. *Br. J. Haematol.* **27** : 363, 1974.
- 22) Juhan-Vague, I., Conte-Bevolx, B., Aillaud, M. F., Mendez, C., Oliver, C. and Collen, D. : Effects of DDAVP and venous occlusion on the release of tissue-type plasminogen activator and von Willebrand factor in patients with panhypopituitarism. *Thromb. Res.* **33** : 653, 1984.
- 23) Brinkhous, K. M., Sultzter, D. L., Reddick, R. L. and Griggs, T. R. : Elevated plasma von Willebrand factor (vWF) levels as an index of acute endothelial injury : Use of a hypotonic injury model in rats. *Fed. Proc.* **39** : 630, 1980.
- 24) Esmon, N. L., Owen, W. G. and Esmon, C. T. : Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *J. Biol. Chem.* **257** : 859, 1982.
- 25) Maruyama, I., Bell, C. E. and Majerus, P. W. : Thrombomodulin is found on endothelium of arteries, veins, capillaries, and lymphatics, and on syncytiotrophoblast of human placenta. *J. Cell Biol.* **101** : 363, 1985.
- 26) Suzuki, K., Ninioka, J., Hayashi, T. and Kosaka, Y. : Functionally active thrombomodulin is present in human platelets. *J. Biochem.* **104** : 628, 1988.
- 27) Uchiyama, H., Hiraishi, S., Ohtani, H., Ishii, H. and Kazama, M. : Plasma thrombomodulin is originated by damage of endothelial cell. *Thromb. Haemostas.* **62** : 276, 1989.
- 28) Ishii, H. and Majerus, P. W. : Thrombomodulin is present in human plasma and urine. *J. Clin. Invest.* **76** : 2178, 1985.
- 29) Giddings, J. C., Coles, P. and Williams, B. D. : Comparison of thrombomodulin and von Willebrand factor antigen in human plasma in various diseases. *Thromb. Haemostas.* **62** : 333, 1989.
- 30) Benetato, G. and Dumitrescu-Papahagi, E. : The effect of ultra-short wave stimulation of the hypothalamic region upon the fibrinolytic activity of the blood in relation to age. *Stud. Cercet. Fiziol.* **3** : 39, 1964.
- 31) Deguchi, K., Izumi, K., Noguchi, M., Wada, H. and Shirakawa, S. : Response of the cubital vein to occlusion and calcification of the abdominal aorta in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. *Thromb. Res.* **49** : 69, 1988.