A rapid activated protein C sensitivity test as a diagnostic marker for a suspected venous thromboembolism in pregnancy and puerperium

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2011-08-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平井, 久也 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2569

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第　５８４号	学位授与年月日	平成２３年　３月　９日
氏　　名	平　井　久　也		
論文題目	A rapid activated protein C sensitivity test as a diagnostic marker for a suspected venous thromboembolism in pregnancy and puerperium （妊娠産褥期の静脈血栓塞栓症を予測するための診断的マーカーとしての活性化プロテインＣ感受性迅速試験）		

博士(医学)　　平 井 久 也

論文題目

A rapid activated protein C sensitivity test as a diagnostic marker for a suspected venous thromboembolism in pregnancy and puerperium

（妊娠産褥期の静脈血栓塞栓症を予測するための診断的マーカーとしての活性化プロテインC感受性迅速試験）

論文の内容の要旨

［はじめに］

妊娠は静脈血栓塞栓症(VTE)の危険因子として広く認識されており、欧米や日本においてもVTEに付随して発症する肺塞栓症(PE)が妊産婦死亡の主要原因となっている。VTEの診断指標としてはフィブリンの分解産物であるDダイマーが多く用いられているが、妊娠中や産褥早期では胎盤循環に生じる微小血栓や分娩後の子宮腔内に形成される凝血塊に対する線溶反応の影響でDダイマーが上昇するため、同時期のVTE診断マーカーとしての意義は低いと考えられている。

内因性トロンビン産生能(ETP)とは凝固反応中の血漿内のトロンビン濃度を時間積分した値で、トロンビン産生をモニターする新規測定方法として注目されており、健常妊婦においてETPが妊娠経過とともに上昇することが示されている。プロテインCは補酵素であるプロテイン S の存在下に活性化第Ⅴ因子及び第Ⅷ因子を不活化することにより凝固抑制作用を示す蛋白であり、血栓症発症において重要な役割を担っていることが示唆されている。活性化プロテインC(APC)に対する感受性の変化を調べたいくつかの症例報告からは、妊娠中にAPCに対する感受性が減少すること、VTEを発症した産褥婦においてAPCに対する感受性が減少したことが示されている。そこで本研究では、健常な妊娠女性とVTEを発症した妊婦におけるAPC感受性をETPに基づいた新規測定系によって比較することで、本測定系が妊娠産褥期VTE発症を診断するマーカーとなるかどうか検討した。

［材料並びに方法］

2007年12月から2008年11月の期間に浜松医科大学周産母子センターで分娩した妊婦111例(うち経腟分娩53例、帝王切開58例)について妊娠期間中及び産褥1日目の血漿を採取した。また同期間にVTEを発症した妊婦7例に対し、発症時の血漿を採取した。対照群として健常な非妊娠女性 200 例から血漿を採取した。本研究は浜松医科大学倫理委員会の承認に基づき、十分な説明の上で同意を得て行われた。

ETPは､Hemkar及びDuchemin らが示したトロンビン産生試験を一部変更して測定した。血漿サンプルに組織因子、リン脂質、カルシウムと蛍光基質を添加し外因系凝固反応を起こし、産生されたトロンビンにより遊離した蛍光基からの発色を蛍光リーダー(Fluoroskan Ascent: Thermo Fisher Scientific, Inc.)を用い経時的に測定しデータ解析ソフト

（ThrombinoscopeTM software: Synapse B.V.)にてトロンビン産生曲線を作成しその曲線下面積を ETP として算出した。APC 感受性比(APC-sr)は ETP 測定時に最終濃度 10.7nM となる量の APC を血漿に添加し APC の有無によりトロンビン産生がどの程度抑制されるかを、得られた ETP の結果より算出し、それをコントロール血漿での値との比として算出した。APC の添加量はコントロール血漿での ETP が非添加時の 10%となるように調整し、決定した。また、血漿中の D ダイマーを測定した。

［結果］

非妊娠女性(control)と比較し、妊娠、産褥期には ETP が有意に上昇した(control: 1352±209, 妊娠後期: 1827±359, 産褥期: 1836±386 nM×min, $p<0.05$)。また、APC-sr は妊娠後期、産褥期に上昇し、非妊娠女性と比較し APC に対する感受性が有意に減少した(control: 1.52±0.83, 妊娠後期: 2.78±0.91, 産褥期: 3.37±1.03, $p<0.05$)。VTE 発症妊婦では正常妊婦と比較し ETP には有意差が認められなかった(1787±249 nM×min)が、APC に対する感受性は有意に減少した(5.95±1.5, $p<0.05$)。ETP と APC-sr には相関性を認めず($r=0.18$, $p<0.05$)、また、分娩様式による違いも認めなかった(帝王切開術後: 1832±340 nM×min, 3.20±1.05, 経腟分娩後: 1841±434 nM×min, 3.55±0.99)。

VTE の発症に関して APC-sr のカットオフ値を 5 とした場合のオッズ比は 31.9(5.3-191.1, 95%CI, $p<0.05$)であった。D ダイマーのカットオフ値を 5μg/ml と設定して検討したが、VTE 非発症妊婦との間に有意差を認めなかった（オッズ比 2.6, 0.4-14.7, 95%CI, $p=0.241$）。

［考察］

ETP に基づいた APC 感受性試験の結果から、正常な妊娠産褥女性と比較し VTE 発症例では APC に対する感受性が低下していることが示された。APC-sr をカットオフ 5 とした場合のオッズ比が 31.9 であったのに対し D ダイマーでは有意差を認めなかったことから APC 感受性試験は妊娠産褥期の VTE 発症を示唆するマーカーとなりえることが示された。今回の結果では、正常な妊娠産褥女性と比較し VTE 発症妊婦では有意に APC に対する感受性が減少していた。西欧諸国から同様の報告がなされているが、その中にはライデン型第Ⅴ因子異常症のヘテロ型保因者が多く含まれている。欧米の人口における APC 抵抗性を有する割合は 3〜7%と報告されているが、これと対照的に日本人にこれまでライデン型第Ⅴ因子異常症の報告は 1 例もないため、今回示された日本人の妊婦における APC 抵抗性は第Ⅴ因子異常症という遺伝的因子を排除した集団においての表現型としての APC 抵抗性であると考えられる。

今回の研究では、APC に対する感受性が減少したことが VTE 発症の原因となったのか、あるいは結果として生じた現象なのかを結論付けることは出来なかったが、正常な妊娠産褥女性と VTE 発症妊婦の間で ETP には有意差がなかったことから単に過凝固な状態であるだけではなくそこに APC による凝固抑制系の変化が加わることが VTE 発症に重要な因子であることが示唆された。

［結論］

ETP に基づいた APC 感受性試験により、妊娠及び産褥早期の APC 感受性の減少を測定することは VTE の発症を疑い、精査を行っていくための補助的な検査法となりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

妊娠は静脈血栓塞栓症 (VTE) の危険因子で、これに付随する肺塞栓症 (PE) は妊産婦の主要な死因の一つである。妊娠中は凝固活性が亢進するが、凝固抑制系の機能低下もその一因とされる。申請者は主要な凝固抑制因子である活性化プロテイン C (APC) に着目し、健常な妊娠女性と VTE 発症妊婦を対象にその感受性を測定し、妊娠産褥期 VTE 発症の診断マーカーとしての意義を検討した。

2007 年 12 月からの 1 年間に本学附属病院で分娩した妊婦 111 例（経腟分娩 53 例、帝王切開 58 例）及び同期間に VTE を発症した妊婦 7 例を対象とし、健常非妊娠女性 200 例を対照群とした。APC 感受性比 (APC-sr) は、組織因子、リン脂質、カルシウム添加により測定した内因性トロンビン産生能 (ETP) に対する添加 APC の抑制効果とし、対照血漿との比で表わした。ETP は対照群 (1352±209 nM×min) に比し妊娠期 (1827±359)、産褥期 (1836±386) に有意 ($p<0.05$) に高値を示した。APC-sr は妊娠後期 (2.78±0.91) 及び産褥期 (3.37±1.03) に非妊娠女性 (1.52±0.83) に比し有意 ($p<0.05$) に高く、APC 感受性の低下が示唆された。VTE 発症妊婦では正常妊婦と比較し ETP には有意差を認めなかった (1787±249 nM×min) が、APC 感受性の有意な低下を示した (5.95±1.5, $p<0.05$)。APC-sr のカットオフ値を 5 とした場合の VTE 発症のオッズ比は 31.9 (5.3-191.1, 95％CI, $p<0.05$) であった。これより妊娠時の凝固活性亢進には APC 感受性低下が関わるとし、APC-sr は DVT 発症の診断マーカーとなりうるとした。

新規測定法を用い妊娠時 DVT 発症における APC 感受性低下の関与を明らかにし、診断指標としての可能性を初めて示した点を審査員一同高く評価した。

以上により、本論文は博士（医学）の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者　主査　　浦野 哲盟
副査　　梅村 和夫　　副査　　海野 直樹