

小児微小変化型ネフローゼ症候群における ずり応力惹起血小板凝集

高川 健^{*1,2} 中島 充^{*1} 平 康二^{*3} 坂上義次^{*1}
上田 卓 赤澤英樹 丸橋欣之 下山弘展
高橋幸博^{*4} 藤村吉博^{*5} 上辻秀和^{*6} 吉岡 章^{*1}

Shear stress-induced platelet aggregation in children with minimal change nephrotic syndrome

Ken TAKAGAWA^{*1,2}, Mitsuru NAKAJIMA^{*1}, Koji TAIRA^{*3}, Yoshitsugu SAKAGAMI^{*1}, Taku UEDA,
Hideki AKAZAWA, Yoshiyuki MARUHASHI, Hironobu SHIMOYAMA, Yukihiko TAKAHASHI^{*4},
Yoshihiro FUJIMURA^{*5}, Hidekazu KAMITSUJI^{*6}, and Akira YOSHIOKA^{*1}

^{*1} Department of Pediatrics, Nara Medical University, ^{*4} Division of Neonatal Intensive Care,

^{*5} Division of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University Hospital,

^{*2} Department of Pediatrics, Haibara Municipal Haibara General Hospital,

^{*3} Department of Pediatrics, National Nara Hospital,

^{*6} Department of Pediatrics, Nara Prefectural Nara Hospital, Nara, Japan

Analysis of the hemostasis system using biochemical techniques in children with minimal change nephrotic syndrome(MCNS) has previously been restricted to *in vitro* assays. The recent introduction of measurement of shear stress-induced platelet aggregation(SIPA) using platelet-rich plasma(PRP) has facilitated detailed investigation of the hemostatic system *in vivo*. In order to further analyze the etiology of the thrombotic tendency exhibited by patients with childhood MCNS, we investigated SIPA at both low shear stress(L-SIPA) and high shear stress(H-SIPA) in 14 children with MCNS using PRP collected weekly after commencing prednisolone therapy. Seven patients were newly diagnosed cases of MCNS (ND) whereas the remainder had suffered a disease relapse(DR). Prior to prednisolone therapy L-SIPA, which was thought to be affected by fibrinogen(Fbg) levels, was significantly increased in both patient groups compared to normal controls(17.4±4.1% vs. 3.6±0.7%, ND vs control, p<0.01; 11.7±3% vs. 2±0.7%, DR vs control, p<0.01) with values declining at weekly intervals thereafter. Plasma Fbg levels in simultaneously collected samples followed a similar course. In contrast, H-SIPA, which was thought to be affected by von Willebrand factor(VWF), was significantly enhanced in MCNS patients after 1 week of prednisolone therapy compared to the controls(45±5.1% vs. 26.3±3.5%, ND vs normal, p<0.05; 36.9±3.3% vs. 25.5±1.6%, DR vs. normal, p<0.05). Plasma ristocetin cofactor and VWF antigen levels in simultaneously collected samples followed a similar course, whereas thrombin-antithrombin complex (TAT) levels remained constant. These results indicate that SIPA is enhanced in the acute stage of childhood MCNS, especially L-SIPA prior to the initiation of prednisolone therapy and H-SIPA after 1 week of prednisolone therapy, and that these phenomena may be affected by plasma Fbg and VWF levels, respectively. The enhanced SIPA may play an important thrombogenic role in the acute phase of childhood MCNS.

Jpn J Nephrol 2002 ; 44 : 380-388.

Key words : shear stress-induced platelet aggregation, minimal change nephrotic syndrome, von Willebrand factor, children

^{*1} 奈良県立医科大学小児科, ^{*4} 同 附属病院新生児集中治療部, ^{*5} 同 輸血部, ^{*2} (現)榛原町立榛原総合病院小児科, ^{*3} 国立奈良病院小児科, ^{*6} 県立奈良病院小児科 (平成14年2月12日受理)

緒 言

小児特発性ネフローゼ症候群の 80% を占める微小変異型ネフローゼ症候群(minimal change nephrotic syndrome: MCNS)は、副腎ステロイド薬投与により速やかな寛解状態が期待できる¹⁾。しかしながら、成人^{2~7)}のみならず小児⁸⁾においても重大な合併症として、初発時および再発時には稀に血栓症を合併することが知られている。その発症機序として、従来から活性化血小板の存在⁹⁾、血小板機能の亢進¹⁰⁾、フィブリノゲン(Fbg)や第Ⅷ因子の増加などの凝固系の異常、ならびに plasminogen の減少、といった線溶系の異常が指摘されている^{1,11~13)}。これらのうち、血液凝固および線溶因子の変化には、血中蛋白の尿中への漏出や低蛋白血症の結果作動する肝臓での蛋白合成の亢進が影響しており¹⁴⁾、必ずしもこれらの向血栓性因子の変化が血栓症発症の直接的要因であることを示唆するものではない。さらに、われわれがすでに示してきたように、初発時や再発時に血漿抗血栓因子であるアンチトロンビン(AT)、プロテイン C(PC)および遊離型プロテイン S(free PS)が低下することも MCNS の血栓症発症に大きく関与しているものと思われる^{13,15)}。しかし、これらの抗血栓因子の低下は、静脈系血栓への関与は大きいものの、動脈系血栓の形成を十分に説明し得るものではない。

近年、血栓症発症の病態に血流、特に、ずり応力(shear stress: τ)の関与が注目されている¹⁶⁾。ずり応力とは、血管内を流れる血流に生じた速度勾配によって発生するもので、ADP などのアゴニストの添加によって誘発される血小板凝集とは全く異なった性質を持つ。この血小板凝集をずり応力惹起血小板凝集(shear stress-induced platelet aggregation: SIPA)と呼び¹⁶⁾、生体内における血栓形成機構に深く関与していると推察されている^{17~19)}。

今回、われわれは小児 MCNS における血栓形成性を生理的血流状況により近い条件で検討する目的で、初発時あるいは再発時から各週毎に 4 週間にわたり SIPA を測定した。また、同時に血栓形成に関与する von Willebrand 因子(VWF)、Fbg、AT およびトロンビン-アンチトロンビン複合体(TAT)の推移とあわせて検討した。

対 象

1998 年 1 月から 2000 年 6 月の間に奈良県立医科大学附属病院小児科ならびにその関連病院に入院した 5~14 歳(平均 8.4±1.4 歳)の MCNS 初発患児 7 例(初発群: 男児 6

例, 女児 1 例)および 5~16 歳(平均 9.7±1.5 歳)の MCNS 再発患児 7 例(再発群: 男児 6 例, 女児 1 例)を対象とした。なお、これらの症例はいずれも動脈あるいは静脈血栓症を併発しなかった。ネフローゼ症候群の診断は 1974 年の厚生省研究班の診断基準²⁰⁾に準拠した。なお、通常のスステロイド薬治療で速やかに寛解状態が得られ、その後の漸減投与を含む治療の後、6 カ月以内に再発を認めないものを MCNS とした。また、再発は、早朝尿で(+++)以上の蛋白尿が 3 日以上続くものとした。正常対照として健常成人ボランティアの検体を用いた。なお、検体採取については患児とその両親もしくは保護者にインフォームド・コンセントを行い同意を得た。

方 法

1. 血液検体採取

血液検体の採取は初発例ではプレドニゾロン投与前に、再発例ではプレドニゾロン再投与前または増量前に行い、以後 1 週間毎に 4 週目まで行った。また、正常対照として、健常成人ボランティアの血液検体の採取を患児の血液検体採取と同時にを行った。

静脈から採血した全血 9 容に対し、3.8%クエン酸ナトリウム 1 容を混和後、800 rpm で 10 分間遠心分離し、多血小板血漿(platelet-rich plasma: PRP)を得た。さらに 3,000 rpm で 15 分間遠心分離して乏血小板血漿(platelet-poor plasma: PPP)を得た。PPP で PRP 中の血小板数を $300 \times 10^3/\mu\text{l}$ に調整し、PPP とともに採血から 2 時間以内に SIPA の測定を行った。PPP は VWF、Fbg、AT および TAT の測定に供した。また、同時に採取した血清を用いて血液生化学検査(血清総蛋白、アルブミンならびに総コレステロール値)を行った。尿検査は同日の早朝尿を用いて行った。

2. ずり応力惹起血小板凝集(SIPA)

Fukuyama らの開発したコーンプレート型 SIPA 測定装置²¹⁾を用いた。すなわち、血小板数 $300 \times 10^3/\mu\text{l}$ に調整した PRP 400 μl をコーンプレート型回転粘度計のプレートに注入し、コーンを回転させることで血小板にずり応力を負荷した。負荷開始時から 6 分間、ヘリウム-ネオンレーザー光源から発生したレーザー光をコーンとプレートの間隙を通過させ、光ダイオードセンサーで透光量を連続的に測定することで血小板凝集率を測定した。PPP をプレートに満たしたときの透光量を 100%、負荷開始時の透光量を 0% として負荷開始 6 分後の透光量を百分率で表示した。

ざり応力は、コーンの回転速度を調整することで0～108 dynes/cm²まで任意にプログラムを組むことができ、6～12 dynes/cm²程度の低いざり応力で惹起される low-SIPA (L-SIPA) と、90～100 dynes/cm²程度の高いざり応力で惹起される high-SIPA (H-SIPA) に分けて測定した²²⁾。

3. VWF 抗原量 (VWF:Ag)

2種類のモノクローナル抗体を用いた ELISA 法によるキット (SHIELD DIAGNOSTICS von Willebrand Factor Activity Kit, SHIELD DIAGNOSTICS Ltd., Dundee, UK) を用いて測定した。すなわち、一次抗体として抗ヒト VWF マウス IgG モノクローナル抗体を固相したウエルに、添付の希釈液 [0.5%ウシ血清アルブミンと 0.1% bronopol を含む 0.05M リン酸緩衝液 (pH7.4)] で 50 倍および 200 倍に希釈した検体 (PPP)、あるいは VWF 標準物質の希釈系列を各 100 μ l ずつ加え、18～25°C で 60±10 分間インキュベート後、同じく添付の洗浄液 [0.32% bronopol を含む 0.16M ホウ酸緩衝液 (pH7.4)] で 5 回洗浄した。これに二次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ヒト VWF ウサギ抗体を各ウエルに 100 μ l ずつ添加し、18～25°C で 60±10 分間反応させた。再び洗浄液で 5 回洗浄し、発色液 [0.025%過酸化水素と 0.2M 酢酸/0.004M クエン酸緩衝液 (pH6.0) にジメチルスルオキシド (DMSO) および 3, 3', 5, 5', tetramethyl benzidine (TMB) を溶解したもの] 100 μ l を添加して発色させた後、吸収波長 450 nm で吸光度を測定した。VWF:Ag は検体測定の際に同時に測定した VWF 標準物質 [ヒト血漿 (凍結乾燥品) 中の VWF 抗原は、3rd International Reference Standard 91/666 により補正済み] の希釈系列の吸光度から作製した検量線から求めた。

4. VWF リストセチンコファクター活性量 (VWF:RCo)

Macfarlane ら²³⁾ および Read ら²⁴⁾ の方法に準じ、血小板凝集計 (HEMATRACER-1; NKK, 東京) を用いて測定した。すなわち、凝集計のキュベット内に 200×10³/ μ l に調整した固定血小板 (formalin-fixed platelets: FFP) を 25 μ l 入れ、HBS 緩衝液 (20mM HEPES, 0.15M NaCl, pH7.35) を 190 μ l 添加後、HBS 緩衝液で 10 倍に希釈した検体血漿を 50 μ l 加えた。これに HBS 緩衝液で 25 mg/ml に調整したリストセチン (ALPHARMA AS, Oslo, Norway) 10 μ l を添加して、吸光度の変化から得られた凝集曲線の開始点からの傾き (tan θ) を用いて測定した。VWF:RCo は、検体測定の際に同時に測定した正常プール血漿の希釈系列の吸光度から得られた tan θ を用いた検量線から求めた。

5. フィブリノゲン (Fbg)

トロンビン時間法²⁵⁾によるキット (データファイ・フィブリノゲン, Dade Behring Inc., Marburg, Germany) を用いて測定した。すなわち、オーレン-ベロナール緩衝液 (pH7.35) で 10 倍希釈した血漿 200 μ l に、トロンビン液 (100 u/ml, Dade Behring Inc.) を 100 μ l 加えてトロンビン時間を測定した。フィブリノゲン量は、検体の測定に際し同時に測定したフィブリノゲン標準血漿の希釈系列のトロンビン時間で作製した検量線から求めた。

6. アンチトロンビン (AT)

合成基質法²⁶⁾によるキット (ペリクローム アンチトロンビン III オート B, Dade Behring Inc.) を用いて測定した。すなわち、検体血漿または生理食塩水それぞれ 3 μ l にトロンビン試液 [800 U/l ヘパリンを添加したウシ α -トロンビン (2,500 IU/l, Dade Behring Inc.) を 0.1M トリス-ヒドロキシメチル-アミノメタン-NaCl 緩衝液 (pH8.2) に溶解したもの] 175 μ l を加えて 37°C 3 分間反応させ、合成基質溶液 (トシル-グリシル-プロリル-アルギニル-5-アミノ-2-ニトロ安息香酸イソプロピルアミド 3.8 mmol/l, Dade Behring Inc.) 33 μ l を添加して素早く攪拌後、405 nm における 0, 60 および 120 秒後の吸光度を測定し、吸光度変化率を算出した。AT 値は、検体の測定に際し同時に測定した添付の標準血漿の吸光度変化率との比から求めた。

7. トロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT)

ELISA 法によるキット (エルジア・F システム, TAT Test Kokusai-F, 国際試薬 (株), 神戸) を用いて測定した。すなわち、生理食塩水で 21 倍希釈した検体血漿 200 μ l および緩衝液 [bovine serum albumin および chicken 血清を添加した 10mM リン酸緩衝液 (pH7.2)] 100 μ l を抗トロンビンマウス抗体を固相したチューブに入れ、37°C で 10 分間反応させ、洗浄液 [0.1M グリシン-亜硝酸ナトリウム-水酸化ナトリウム溶液 (pH10.5)] で洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト AT ウサギ抗体液 300 μ l を添加して 37°C で 9 分間インキュベートした。洗浄液で洗浄後、HPPA 基質液 [3-(p-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸 4.0 mg/ml などを含む溶液] 300 μ l を添加して 37°C で 10 分間反応させ、発色後、反応停止液 [Tween20, EDTA Na₂ を含む 10mM リン酸緩衝液 (pH7.0)] 1 ml を添加して反応を停止させた。励起波長 323 nm, 蛍光波長 410 nm で蛍光強度を測定した。また、TAT 量は、検体の測定に際し同時に測定した TAT 標準物質の希釈系列の蛍光強度から作製した検量線から算出した。

Table 1. Changes of clinical characteristics in patients with fresh MCNS

Variable	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
T-P (g/dl)	4.0±0.2	4.8±0.4	5.7±0.1	6.1±0.1	6.2±0.2
S-Alb (g/dl)	1.6±0.2	2.6±0.3	3.5±0.2	3.9±0.1	4.2±0.1
T-Cho (mg/dl)	454±19	421±41	356±19	326±26	312±17
U-P (g/day)	3.54±1.05	0.52±0.32	0.03±0.01	0.04±0.02	0.05±0.02

Values are means±SE.

T-P : total protein, S-Alb : serum albumin, T-Cho : total cholesterol, U-P : urinary protein

Table 2. Changes of clinical characteristics in patients with relapse MCNS

Variable	0 week	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks
T-P (g/dl)	5.5±0.3	5.5±0.2	6.0±0.1	6.1±0.1	6.2±0.2
S-Alb (g/dl)	3.3±0.2	3.3±0.1	3.9±0.1	4.0±0.1	4.2±0.1
T-Cho (mg/dl)	289±29	376±30	324±22	283±16	266±12
U-P (g/day)	8.15±4.56	0.06±0.02	0.06±0.01	0.05±0.01	0.18±0.13

Values are means±SE.

T-P : total protein, S-Alb : serum albumin, T-Cho : total cholesterol, U-P : urinary protein

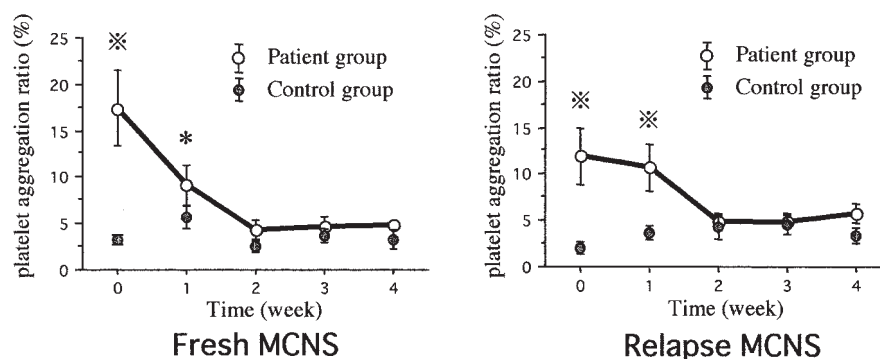


Fig. 1. Low shear stress-induced platelet aggregation(L-SIPA) in children with minimal change nephrotic syndrome(MCNS)

Values are means±SE. (※p<0.01, *p<0.05)

8. 統計学的検討

Mann-Whitney の U テストで検定し、5%未満を有意水準とした。

成 績

1. 臨床検査所見

尿蛋白は初発時および再発時には(++)以上を認めたが、プレドニゾロン投与2週後には全例で(-)になった。また、血清総蛋白とアルブミンの低下ならびにコレステロールの高値を認めたが、プレドニゾロン投与4週後には全例ですべて正常域になった(Table 1, 2)。

2. SIPA

1) L-SIPA

初発群ではプレドニゾロン投与前のL-SIPAが17.4±4.1%と、正常対照3.6±0.7%に比し有意(p<0.01)に高値であった。プレドニゾロン投与1週後では9.2±2.2%と低下傾向を示したが、依然、正常対照5.2±1.2%に比し有意(p<0.05)に高値であった。プレドニゾロン投与2週後以降はさらに低下し、正常対照との間に有意差はみられなくなった。再発群のL-SIPAはプレドニゾロン増量前11.7±3.0%、プレドニゾロン増量1週後10.5±2.5%で、それぞれの正常対照2.0±0.7%、3.6±0.6%に比し有意(p<0.01)に高かった。プレドニゾロン増量2週後以降は低下し、正常対照との間に有意差はみられなくなった(Fig. 1)。

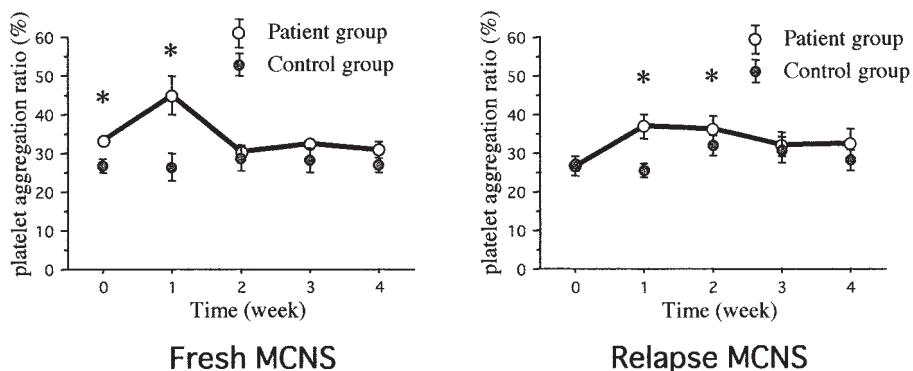


Fig. 2. High shear stress-induced platelet aggregation (H-SIPA) in children with minimal change nephrotic syndrome (MCNS)
Values are means \pm SE. (* $p < 0.05$)

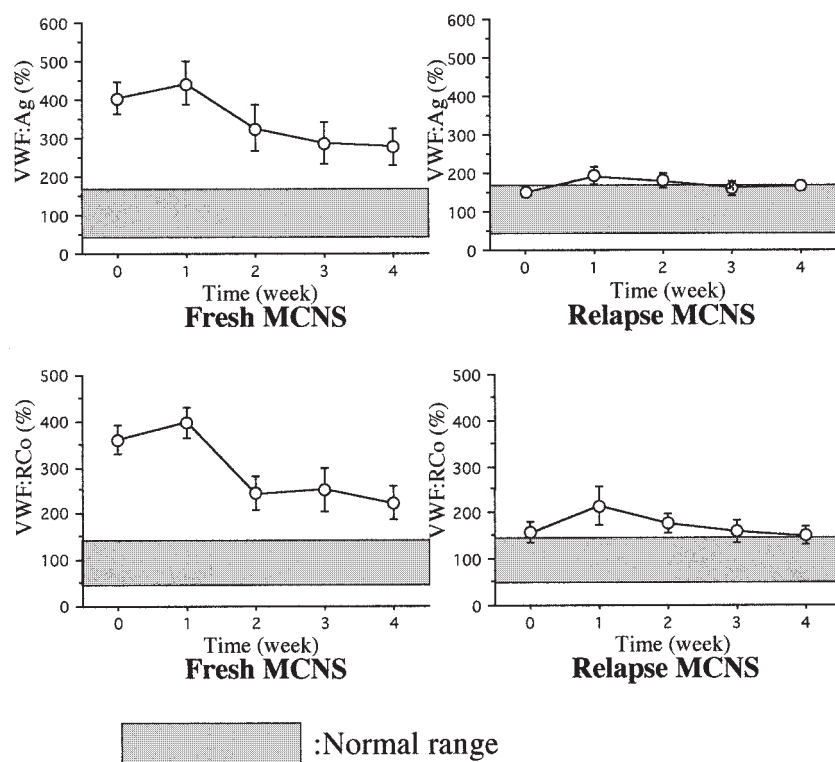


Fig. 3. von Willebrand factor antigen (VWF:Ag) and ristocetin cofactor (VWF:RCo) in children with minimal change nephrotic syndrome (MCNS)
Values are means \pm SE.

2) H-SIPA

初発群の H-SIPA はプレドニゾロン投与前 $33.2 \pm 1.1\%$ 、プレドニゾロン投与 1 週後 $45.0 \pm 5.1\%$ で、ともにそれぞれの正常対照 $26.8 \pm 1.7\%$ 、 $26.3 \pm 3.5\%$ に比して有意 ($p < 0.05$) に高値であった。プレドニゾロン投与 2 週後以降の H-SIPA の値は減少し、正常対照との間に有意差はみられなくなった。再発群の H-SIPA はプレドニゾロ

ン増量前が $26.6 \pm 2.6\%$ で正常対照 $27.1 \pm 1.9\%$ との間に有意差は認めなかったが、プレドニゾロン増量 1 週後では $36.9 \pm 3.3\%$ 、プレドニゾロン増量 2 週後では $36.4 \pm 3.4\%$ と、それぞれの正常対照 $25.5 \pm 1.6\%$ 、 $32.2 \pm 2.5\%$ に比して有意 ($p < 0.05$) に高値を示した。プレドニゾロン増量 3 週後および 4 週後は漸減し、正常対照に比し、有意差はみられなくなった (Fig. 2)。

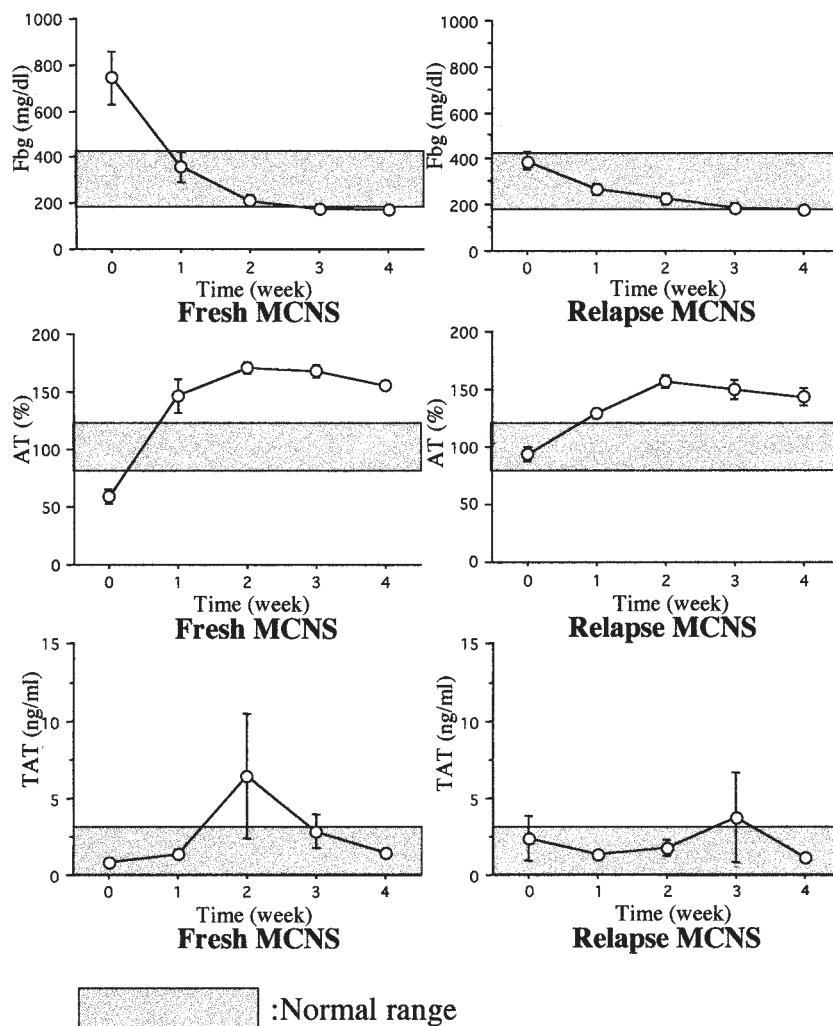


Fig. 4. Fibrinogen (Fbg), antithrombin (AT) and thrombin-antithrombin complex (TAT) in children with minimal change nephrotic syndrome (MCNS)

Values are means ± SE.

3. VWF:Ag

初発群の VWF:Ag は、プレドニゾロン投与前 $404 \pm 43\%$ で、正常域 $45 \sim 165\%$ に比して著しく高値であった。プレドニゾロン投与 1 週後も $443 \pm 56\%$ と高値が持続し、プレドニゾロン投与 2 週後以降は徐々に低下したが、4 週後でも $278 \pm 49\%$ とやや高値であった。再発群ではプレドニゾロン増量前が $149 \pm 13\%$ とほぼ正常域であったが、プレドニゾロン増量 1 週後は $194 \pm 22\%$ 、2 週後では $181 \pm 18\%$ とわずかではあるが高値を示した。増量 3 週後以降は上昇傾向なく、増量 4 週後には $167 \pm 13\%$ となった (Fig. 3)。

4. VWF:RCo

初発群では、プレドニゾロン投与前の VWF:RCo が $360 \pm 32\%$ で正常域 $45 \sim 140\%$ に比して高値であった。プ

レドニゾロン投与 1 週後では $398 \pm 33\%$ と高値が持続したが、2 週後では $245 \pm 36\%$ と 2 週後以降は徐々に低下し、プレドニゾロン投与 4 週後では $224 \pm 37\%$ であった。再発群では、プレドニゾロン増量前の VWF:RCo は $158 \pm 23\%$ とわずかに高値を示しただけであったが、プレドニゾロン増量 1 週後には $216 \pm 43\%$ といった上昇し、増量 3 週後以降は徐々に低下して、増量 4 週後には $151 \pm 19\%$ となった (Fig. 3)。

5. Fbg

初発群の Fbg は、プレドニゾロン投与前が 743 ± 115 mg/dl で、正常域 (男性 $180 \sim 340$ mg/dl, 女性 $190 \sim 420$ mg/dl) に比して著しく高値であった。プレドニゾロン投与後は低下し、開始 1 週後は 358 ± 68 mg/dl とほぼ正常

域に入り、以降は正常下限になった。再発群でもプレドニゾロン増量前は 390 ± 38 mg/dl とわずかに高値であったが、その後は低下し、プレドニゾロン増量 1 週後には 270 ± 25 mg/dl とほぼ正常域となり、増量 2 週後以降は正常下限になった (Fig. 4)。

6. AT

初発群の AT は、プレドニゾロン投与前が 61.7 ± 6.3 % で、正常域 80~120 % に比して低値であった。しかし、プレドニゾロン投与 1 週後ならびに 2 週後ではそれぞれ 147 ± 15 %、 171 ± 5.2 % と上昇し、その後は上昇傾向はなく投与 4 週後には 159 ± 5.4 % となった。再発群では、プレドニゾロン増量前は 93 ± 6.5 % と正常域であったが、プレドニゾロン増量 1 週後 129 ± 4.2 %、増量 2 週後 157 ± 5.9 % とわずかであるが高値を示した。増量 3 週後以降は上昇傾向なく、増量 4 週後では 144 ± 7.5 % であった (Fig. 4)。

7. TAT

初発群の TAT は、プレドニゾロン投与前と投与 1 週後ではそれぞれ 0.85 ± 0.16 ng/ml、 1.36 ± 0.26 ng/ml と正常域 (≤ 3.0 ng/ml) であった。しかし、プレドニゾロン投与 2 週後では 6.43 ± 4.08 ng/ml と上昇し、その後は低下して投与 4 週後には 1.43 ± 0.11 ng/ml と正常域になった。再発群では、プレドニゾロン増量前と増量 1 週後、2 週後では 2.39 ± 1.43 ng/ml、 1.34 ± 0.25 ng/ml、 1.79 ± 0.54 ng/ml といずれも正常域であった。プレドニゾロン増量 3 週後では 3.77 ± 2.92 ng/ml とわずかに上昇傾向を示したものの、増量 4 週後には 1.10 ± 0.16 ng/ml と正常域になった (Fig. 4)。

考 察

近年、より生理的な血流状況を再現した種々の血栓形成に関する *in vitro* 実験系が確立され、従来の静止系では得られなかった新たな血栓形成機構が明らかにされてきた。特に、血管内に生じるずり応力は血栓形成過程に重大な影響を及ぼすことが示され、注目を集めている^{16~18,27)}。

ずり応力とは、血管内を流れる血流から生じるもので、

$$\tau = \mu (\text{血液粘度}) \times \left\{ \frac{du(\text{血流速度})}{dy(\text{血管径})} \right\}$$

の式で示される。血流速度は血管内では一定でなく、血管の中央部で最大で、壁では最小となり、この間に速度勾配 (du) が生じる。この速度勾配はずり応力を発生し、ずり応力により特別な惹起物質を必要とせず血小板が凝集する。この凝集が SIPA である^{17~19)}。

1989 年に Fukuyama らは、SIPA を解析する装置を開

発²¹⁾するとともに、6~12 dynes/cm²程度の低ずり応力域で凝集がみられる L-SIPA と、90~100 dynes/cm²程度の高ずり応力域で凝集する H-SIPA が存在することを明らかにした¹⁸⁾。L-SIPA はずり応力により血漿 Fbg が血小板膜上の粘着蛋白受容体である glycoprotein (GP) IIb/IIIa に結合して惹起されると考えられている。一方、H-SIPA は血漿 VWF が血小板膜上の粘着蛋白受容体である GP Ib/IX と GP IIb/IIIa とに結合して惹起されると考えられている^{18,28)}。このうち、L-SIPA は生理的カルシウム濃度を有する血漿では全く認められないことから一般に生理的意義は低いとされているが、H-SIPA は生体内における血栓形成機構、特に、動脈血栓に深く関与していると推察されている¹⁸⁾。

今回われわれは、小児 MCNS における血栓形成傾向をより近い生理的条件下で検討する目的で、MCNS の初発時および再発時とその後 4 週間にわたり経時的に SIPA を測定した。その結果、MCNS 初発例では、H-SIPA はプレドニゾロン治療開始前から亢進しており、開始後 1 週でさらに亢進し、その後は徐々に減少した。また、MCNS 再発例の変化は、初発時のように著明ではないものの、やはり同様の变化を示した。また、同時に測定した H-SIPA に関連する VWF:Ag および VWF:RCo は H-SIPA と同様の变化を示した。

このことから、MCNS においては VWF:Ag および VWF:RCo の変動が H-SIPA の変化の関連要因となっていることが推察された。MCNS における VWF:Ag および VWF:RCo の変動の機序についてはいまだ十分解明されていないが、これらの値が MCNS の急性期あるいは増悪期に亢進し、血清総蛋白の改善および尿蛋白の消失に従って改善傾向を示したことから、血中蛋白の尿中への漏出や低蛋白血症により蛋白合成が亢進し、その一環として血管内皮細胞における VWF の合成が亢進した可能性も考えられる。

一方、L-SIPA は MCNS 初発例では、プレドニゾロン治療開始前に有意に高値であったが、その後は徐々に改善し、治療開始 2 週以後は正常化した。MCNS 再発例では、初発例のように著明ではないものの、やはり同様の变化を示した。L-SIPA と関連する Fgn は、肝臓での蛋白合成と関連して総コレステロールと同様に、プレドニゾロン治療開始前あるいは増量前に最も高値を示し、その後経過とともに改善した。

L-SIPA の生理的意義については、いまだ十分に解明されておらず、血栓症発症への関与は不明である。しかし、

Fgn の高値は過粘稠度症候群を惹起することで知られており²⁹⁾、血栓症発症のリスクとなると考えられる³⁰⁾。

今回得られた成績では、小児 MCNS の急性期には生理的血流状況下での血小板凝集能を反映する H-SIPA の亢進が明らかになった。また、従来から MCNS の急性期にみられた VWF の高値が H-SIPA の亢進に深く関わっていることをも示した。しかし、MCNS で発症する血栓症は多くが静脈血栓症であり、動脈血栓症は少ないこと、また、小児 MCNS の血栓症は成人に比べると合併頻度が少なく、今回のわれわれの検討症例でも発症していないこと、また、トロンビン形成の分子マーカーである TAT も、初発時および再発時には高値を示さず、発症後 2~3 週に一時変動がみられたのみであったことから、トロンビン活性は亢進していなかったことが示唆された。

以上より、H-SIPA の亢進が MCNS に合併する血栓症の直接のマーカーになりうるかどうかには疑問が残る。例えば、小児の MCNS では、成人に比し血管の粥状硬化がさほど進んでいない、などの血管壁による血栓形成の抑制機序の関与も想定され、今後の研究に期待したい。

結 語

1) 小児 MCNS における血栓形成能を生理的血流状況により近い条件で検討する目的で SIPA を経時的に測定し、血漿 VWF、Fgn、AT および TAT の推移とあわせて検討した。

2) 小児 MCNS の H-SIPA はプレドニゾロンによる治療開始 1 週後に亢進し、その後は徐々に改善した。血漿 VWF:Ag および VWF:RCo も同様の変化を示し、H-SIPA の亢進は血漿 VWF を反映したものと考えられた。

3) 小児 MCNS の L-SIPA はプレドニゾロンによる治療開始前にすでに亢進し、その後は徐々に改善した。血漿 Fbg 値も同様の変化を示し、L-SIPA の変化は血漿 Fbg を反映したものと考えられた。

4) 小児 MCNS の急性期においては、生理的血流状況下での血小板凝集能を示唆する H-SIPA が亢進しており、そのマーカーとして血漿 VWF の値が重要であることが示唆された。

文 献

1. Barnett HL, Schoeneman M, Bernstein J, Edelmann CM Jr. The Nephrotic Syndrome. In: Edelmann CM Jr.(eds) Pediatric Kidney Disease. Volume II. Boston: Little,

Brown and Company, 1978: 679-95.

2. Andrassy K, Ritz E, Bommer J. Hypercoagulability in the nephrotic syndrome. *Klin Wochenschr* 1980; 58: 1029-36.
3. Sullivan III MJ, Hough DR, Agodoa LCY. Peripheral arterial thrombosis due to the nephrotic syndrome: The clinical spectrum. *South Med J* 1983; 76: 1011-6.
4. Llach F. Hypercoagulability, renal vein thrombosis, and other thrombotic complications of nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1985; 28: 429-39.
5. 北代修司, 梅田幸久, 高島啓文, 谷口浩也, 田村晃浩, 森田 寛, 泉岡利雄, 岩坂壽二, 稲田満夫. 微小変化型ネフローゼ症候群の治療中に Wallenberg 症候群を呈した 1 症例. *腎と透析* 1991; 31: 788-90.
6. 内田昌子, 井島 宏, 松本順二, 衣笠由紀. ネフローゼ症候群に発生した左腸骨大腿動脈血栓症の 1 例. *外科* 1994; 56: 215-8.
7. 室賀一宏, 立花 健, 篠原紳介, 松井則明. 総腸骨動脈血栓症を契機に発見された微小変化型ネフローゼ症候群の 1 例. *腎と透析* 1994; 37: 817-20.
8. 小坂橋 靖. 症例から考える診療の進め方 21 右足背動脈の脈拍の消失. *小児科* 1997; 38: 1321-8.
9. Mehls O, Andrassy K, Koderisch J, Herzog U, Ritz E. Hemostasis and thromboembolism in children with nephrotic syndrome: Differences from adults. *J Pediatr* 1987; 110: 862-7.
10. 平 康二, 岡嶋千賀子, 山下隆司, 河原信吾, 松永健司, 中島 充, 上辻秀和. ネフローゼ症候群における血小板リステチン凝集能. *日腎会誌* 1990; 32: 659-66.
11. 海津嘉蔵. 腎疾患と血栓症. *内科* 1989; 63: 648-53.
12. 宮里 馨. 小児微小変化型ネフローゼ症候群における血液凝固・線溶動態 第 1 報 thrombin-antithrombin III complex (TAT), D-dimer および plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex (PIC) の動態. *奈医誌* 1996; 47: 365-71.
13. 上辻秀和. ネフローゼ症候群の合併症とその対策—微小変化型ネフローゼ症候群と血栓症—. *小児内科* 1997; 29: 1570-2.
14. Kendall AG, Lohmann RC, Dossetor JB. Nephrotic syndrome. A hypercoagulable state. *Arch Intern Med* 1971; 127: 1021-7.
15. 宮里 馨, 中島 充, 橋本和子, 吉岡 章, 高橋幸博, 上辻秀和. 小児微小変化型ネフローゼ症候群における血液凝固・線溶動態 第 2 報 各種抗血栓因子の動態. *奈医誌* 1996; 47: 372-6.
16. O'Brien JR. Shear-induced platelet aggregation *Lancet* 1990; 335: 711-3.
17. Kroll MH, Hellums JD, McIntire LV, Schafer AI, Moake JL. Platelets and Shear Stress. *Blood* 1996; 88: 1525-41.
18. 池田康夫. ずり応力惹起血小板凝集発現の分子機構. 大熊稔, 青木延雄, 蔵本 淳, 日高弘義, 山崎博男 編, 血小板受容体. 京都: 金芳堂, 1992: 147-58.
19. 小田 淳. ずり応力惹起血小板凝集の分子機構. 藤村吉博 編, 血小板血栓形成の分子機構. 東京: ライフサイエンス

- 出版, 1997: 15-20.
20. 上田 泰. 厚生省特定疾患「ネフローゼ症候群」調査研究班報告. 昭和 48 年度研究業績集. 東京: 厚生省, 1974: 7-10.
 21. Fukuyama M, Sakai K, Itagaki I, Kawano K, Murata M, Kawai Y, Watanabe K, Handa M, Ikeda Y. Continuous measurement of shear-induced platelet aggregation. *Thromb Res* 1989; 54: 253-60.
 22. 桑原光弘, 辻 志津子, 杉本充彦. ずり応力惹起血小板粘着-凝集測定装置(1)-コーンプレート型回転粘度計-. 藤村吉博 編, 血小板血栓形成の分子機構. 東京: ライフサイエンス出版, 1997: 9-14.
 23. Macfarlane DE, Stibbe J, Kirby EP, Zucker MB, Grant RA, McPherson J. A method for assaying von Willebrand factor (ristocetin cofactor). *Thromb Diath Haemorrh* 1975; 34: 306-8.
 24. Read MS, Potter JY, Brinkhous KM. Venom coagglutinin for detection of von Willebrand factor activity in animal plasmas. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 74-82.
 25. 藤巻道男. フィブリノゲン(第 I 因子). 藤巻道男, 寺田秀夫, 桑島 実 編, 実践止血凝固学-血小板・血液凝固・線溶検査法-. 東京: 医歯薬出版, 1980: 106-19.
 26. 松田 保. アンチトロンビンIII(AT-III). 藤巻道男, 寺田秀夫, 桑島 実 編, 実践止血凝固学-血小板・血液凝固・線溶検査法-. 東京: 医歯薬出版, 1980: 229-33.
 27. 杉本充彦, 桑原光弘, 辻 志津子, 宮田茂樹. ずり応力下での血小板血栓形成-ずり応力惹起血小板粘着-凝集測定装置を用いた研究の現況および将来展望-. 藤村吉博編, 血小板血栓形成の分子機構. 東京: ライフサイエンス出版, 1997: 9-14.
 28. Ikeda Y, Handa M, Kawano K, Kamata T, Murata M, Araki Y, Anbo H, Kawai Y, Watanabe K, Itagaki I, Sakai K, Ruggeri ZM. The role of von Willebrand factor and fibrinogen in platelet aggregation under varying shear stress. *J Clin Invest* 1991; 87: 1234-40.
 29. Stuart J. Rheological importance of acute-phase reactants. *Nouv Rev Fr Hematol* 1986; 28: 33-6.
 30. Dequeker J, Walravens M, Leys A, Pieter R. Arteritis associated with hyperviscosity-like syndrome in rheumatoid arthritis, treated by intermittent plasma-exchange for 2.5 years. *Rheumatol Rehabil* 1981; 20: 203-7.