

氏名(本籍)	石川 詔雄 (東京都)
学位の種類	医学博士
学位記番号	博乙第392号
学位授与年月日	昭和62年6月30日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Rapid Estimation of Soluble Fibrin Monomer Complexes by High Performance Liquid Chromatography for the Purpose of Early Detection of DIC (早期 DIC 診断のための高速液体クロマトグラフィーを用いた soluble fibrin monomer complexesの測定)
主査	筑波大学教授 医学博士 浜口 秀夫
副査	筑波大学教授 医学博士 阿部 帥
副査	筑波大学教授 医学博士 杉田 良樹
副査	筑波大学教授 医学博士 添田 周吾
副査	筑波大学教授 医学博士 山下 亀次郎

## 論 文 の 要 旨

### 〈目的〉

血管内凝固症候群（以下 DIC と略）は、何らかの原因により流血中で凝固が亢進して微小血栓を生ずる一方、血小板や凝固因子の消費と線溶の亢進を伴う病態である。DIC の進展による出血傾向や多臓器不全を発症すると予後が不良となる。

DIC の診断には fibrinogen 値、FDP 値、血小板数、およびユーグロブリン溶解時間などの検査が用いられてきた。しかしそれらの検査方法は DIC の進展に伴う線溶亢進状態の判定には役立つが、早期 DIC の診断には適さない。従って、凝固亢進状態や、線溶亢進がまだみられない時期の早期 DIC の診断法の開発が望まれている。

最近凝固亢進を表す指標として、thrombin の作用で流血中に出現する Soluble fibrin monomer complexes（以下 SFMC と略）の存在が、注目されている。この SFMC の測定には二つの方法がある。一方は、paracoagulation を用いた定性法であり、他方は、ゲル濾過による定量法である。前者は感度が低く、後者は測定に約10時間を要する。それゆえこれらの測定法による凝固亢進状態の診断や急激な経過をとる DIC の診断は困難である。

本研究は、臨床診断に応用可能な SFMC の測定法を開発し、その方法を用いて、SFMC の測定

値よりみた凝固亢進状態や DIC の診断について検討することを目的として行った。

#### 〈材料と方法〉

採血直後の全血0.9mlに対し抗プラスミン剤を添加した抗凝固剤0.1mlを加え、遠沈により血小板欠乏血漿を得た。次にそれを塩析し fibrinogen 体を分取した後、0.5mlの buffer に再溶解してその20  $\mu$  l を50  $\mu$  l を SFMC の測定に用いた。SFMC の分離と定量は、HPLC (high performance liquid chromatography) を用いて行った。SFMC の同定は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) によって行った。対照には thrombin で処理した fibrinogen を用いた。

#### 〈結果〉

DIC 症例より得た検体を HPLC で分離したところ、Void volume (VO と略) に続く shoulder の A 分画と peak の B 分画の二つの分画に分離された。各分画の SDS-PAGE による分析により、A 分画は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖と  $\gamma$  鎖及び  $\gamma$ - $\gamma$  dimer 鎖の存在から SFMC 分画であることが証明され、B 分画は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖と  $\gamma$  鎖の存在から fibrinogen 分画であることが証明された。A、B 分画には、fibrinogen 体以外の蛋白は検出されなかった。以上の結果から、A 分画が SFMC 分画、B 分画が fibrinogen 分画であり、全 fibrinogen 量に対する SFMC の百分率が  $(A \times 100 / A + B)$  の式により計算できることが明らかとなった。

次に臨床例について検討を行うために、まず20才から30才までの健常例12例について SFMC の百分率を測定したところ、 $2.2 \pm 0.8\%$  (1.0-3.5%) であった。一方、DIC の11症例の SFMC の百分率は  $10.7 \pm 2.7\%$  (6.8-16.7%) であり、FDP (fibrin degradation products) 値は20  $\mu$  g/ml 以上であった。これら DIC の症例においては凝固能と線溶能の双方の亢進がみられた。

FDP 値が80  $\mu$  g/ml を示した胃の悪性リンパ腫例における SFMC の百分率は16.7%と最も高値を示した。手術前後に凝血異常が認められない胃癌や結腸癌など10症例の術後3病日の SFMC 量は、 $4.2 \pm 1.6\%$  (2.1-6.1%) であり、FDP 値も10  $\mu$  g/ml 以下と正常域内であった。これら術後例においては、凝固能は亢進していたが線溶能の異常は認められなかった。

#### 〈考察〉

本研究の結果、HPLC 法を用いることにより SFMC 分画と fibrinogen 分画が完全に迅速に分離され、SFMC 量を全 fibrinogen 量に対する百分率で算出できることが判明した。この測定法では、少量の検体で定量が可能であり、採血から30分以内に結果を得ることが出来る。また変動係数 (CV) も10%以内で、測定値の信頼度も高い。

従来の検査法では DIC の発症に先立つ凝固亢進状態や早期の DIC の診断は困難であった。一方、HPLC を用いた測定法で SFMC が3-6%を示した症例においては、線溶能の亢進が認められないにもかかわらず、凝固能だけが亢進した状態にあった。凝固亢進状態のなかには、DIC を発症し易い DIC 準備状態も含まれており、SFMC の測定によりこれらの病態が判別出来るため、HPLC 法によって分析することにより DIC に対する予防的処置を行うことも可能であると考えられる。

#### 〈結論〉

HPLC による SFMC 分析法は、迅速、簡便で凝固亢進状態から DIC に至る病態の把握が可能で

あるために、DIC の早期診断や早期治療にとって有用であると考えられる。

## 審 査 の 要 旨

凝固亢進状態やDICでは、血漿中にSFMCが存在している。石川詔雄氏は、HPLCを用いた血漿SFMCの迅速定量法を開発し、さらにこの方法を用いて健常例と症例の検体の分析データをそろえ、凝固亢進状態からDICに至る病態の把握が可能であることを示した。この方法はまた簡便でかつ測定値の信頼度が高いことから、DICの早期診断と治療に貢献をなすものとして評価される。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。