

肺血栓塞栓症(Pulmonary Thromboembolism : PE)の
予知予測には D-dimer(DD)と Thrombin-antithrombin
complex(TAT)の併用が有用である
—血液サンプリングによる肺血栓塞栓症の予知—

小林洋一 古田康之 二瓶友美 徳田幸子 松井泰樹
越智明憲 猪口孝一郎 新家俊郎 内田英二

臨床研究

肺血栓塞栓症(Pulmonary Thromboembolism:PE) の予知予測にはD-dimer(DD)とThrombin- antithrombin complex(TAT)の併用が有用である —血液サンプリングによる肺血栓塞栓症の予知—

Measurement of Both DD and TAT is Useful for Pulmonary Arterial Thromboembolism (PE) Prediction
—An Attempt to Predict PE by Blood Sampling

小林洋一¹⁾ 古田康之¹⁾ 二瓶友美¹⁾ 徳田幸子¹⁾ 松井泰樹²⁾
越智明憲²⁾ 猪口孝一郎²⁾ 新家俊郎²⁾ 内田英二³⁾

1) 昭和大学病院 医療安全管理部門, 2) 昭和大学 循環器内科学部門, 3) 昭和大学

《Abstract》

背景:D ダイマー(DD)は肺血栓塞栓症(PE)の予測に用いるが、感度は高いが特異度は低い。他の凝固線溶マーカーの検討はほとんどない。

目的:PEに対して、DDに加えて、凝固マーカーであるThrombin-antithrombin complex(TAT)およびProthrombin fragment 1+2(F1+2)、線溶マーカーとしてAlpha2-plasmin inhibitor-plasmin complex(PIC)、内皮機能マーカーとして可溶性Thrombomodulin(sTM)およびPlasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)、血流うっ滞のマーカーとしてBNPを測定しPEとの関係を検討した。

対象と方法:対象はPEで入院した77人の患者(P群)、および循環器内科を受診し、上記のマーカーを測定できた724人の患者(C群)である。

結果:DD、TAT、F1+2、PIC、PAI-1は、C群よりP群で有意に高かった。ただし、sTMには有意差を認めなかった。単変量ロジスティック回帰分析でも、DD、TAT、F1+2、PIC、PAI-1が有意で、ROC曲線から得られたカットオフ値は、おのの2.07 μg/mL、3.7 ng/mL、301 pmol/L、1.2 μg/mLおよび26.0 ng/mLであった。多変量ロジスティック回帰分析では、DDとTATが有意であり、組み合わせのカットオフ値はDD 2.3 μg/mLとTAT 4.9 ng/mLであった。この時の感度は100%、特異度は97%であった。

結論:DDとTATの組み合わせはPE予測に役立つ。

Youichi Kobayashi¹⁾, Yasuyuki Furuta¹⁾,
Tomomi Nihei¹⁾, Sachiko Tokuda¹⁾,
Taiju Matsui²⁾, Akinori Ochi²⁾,
Koichiro Inokuchi²⁾, Toshiro Shinke²⁾,
Eiji Uchida³⁾

1) Division of Medical Safety of Showa University Hospital, 2) Division of Cardiology, Showa University School of Medicine,
3) Showa University School of Medicine

Key words

- 肺血栓塞栓症
- Thrombomodulin
- Prothrombin fragment 1+2
- Alpha2-plasmin inhibitor-plasmin complex
- Plasminogen activator inhibitor-1

(2020. 5. 26 原稿受領; 2020. 9. 24 採用)

責任著者

小林洋一：昭和大学医学部 医療安全管理部門/昭和大学病院 副院長(〒142-8666 東京都品川区旗の台1-5-8)



背景

肺血栓塞栓症(Pulmonary Thromboembolism: PE)は重要な疾患であるが予知は難しい。なぜなら、PEは突然発症し、臨床的な前兆候は乏しいことに加え、患者のリスク因子で臨床的リスク因子以外は、短期に変化するためである。血栓塞栓症の機序としては、「血液凝固能亢進」、「血管内膜障害」、「血流うっ滞」の3因子が関与する。この中でも血液凝固線溶マーカーは刻々と変化する凝固線溶の状態を把握するのに有用と考えられる。血液凝固の亢進を知る因子としてD-dimer(DD)が用いられるが、DDの陰性的中率は高いものの、特異度は低い¹⁾。また、DDのみでPEを完全には否定できない²⁾。さらに、高齢、心不全、高血圧、糖尿病などを有するとDD高値を恒常に認めるので³⁾、偽陽性と判定されることが多い。その他の純粋な凝固マーカーや線溶マーカー、内皮障害のマーカー、血液うっ滞のマーカーなどを組み合わせるとPE発症の予知・診断が可能かもしれない。感染症のように、血栓症の発症が考慮される場合にも、患者との接触を最小限にして血液データを中心にPE診断を行うことができれば、臨床的価値が高いと考える⁴⁾。

目的

凝固マーカーとして、DD、Thrombin-antithrombin complex(TAT)と Prothrombin fragment 1+2(F1+2)、線溶マーカーとして、Alpha2-plasmin inhibitor-plasmin complex(PIC)に加え、血管内皮マーカーとして、Soluble thrombomodulin(sTM)、Plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)を測定する。また、血液うっ滞を示すマーカーとしてはBrain natriuretic peptide(BNP)を用いた。PE group(P群)のこれらのマーカーと control group(C群、C群)のマーカーを比較して、PEの予知・診断が可能かを検討する。

対象と方法

この試験のデザインは単施設、横断的研究である。

対象は2012年3月から、2015年7月まで発症1週間以内にPEを造影CTで診断し、DD、TAT、F1+2、PIC、sTM、PAI-1、BNPを測定し得た連続77例(P群)である(平均年齢64.8±16.8、男/女32/45)。血液検査は、入院直後に、抗凝固療法や血栓溶解療法前に施行された。合併疾患として、心不全3例、高血圧35例、糖尿病6例、脳卒中10例、虚血性心血管疾患8例、おのおの有していた(表1)。

対照としては、同時期に循環器外来に通院し、上記マーカーを測定し得た患者724例(C群)を対象とした(平均年齢69.1±10.9、男/女361/363)。これらの患者のうち心房細動や静脈血栓塞栓症は除き、重度の肝腎障害や救急例も除いた。リアルワールドの循環器内科の患者であるので抗血小板薬内服例は含めた。合併疾患として、心不全11例、高血圧13例、糖尿病7例、脳卒中2例、虚血性心血管疾患203例、おのおの有していた。観察研究におけるデータの利用は、昭和大学倫理委員会の許可を得た。

臨床的な過凝固状態を評価するために、心房細動症例の脳卒中予測に用いられるCHA₂DS₂-VAScスコアを用いて両群間の比較を行った。

統計解析

すべてのデータ値は中央値(四分位範囲25–75%)で示した。相関関係の解析は、Spearmanの順位相関係数を用いて、ノンパラメトリックな相関係数を求めた。連続変数の比較はノンパラメトリックな比較であるWilcoxon検定を用いた。カテゴリー間のデータ比較はχ²二乗検定を用いた。すべての分析は、JMP Pro ver. 15でなされ、その分析結果は、p値<0.05を有意とした。

結果

1. 臨床的特徴

表1にC群とP群の臨床的特徴を示す。性別に

表1 臨床的特徴

	C群	P群	p値
N症例数	724	77	
年齢	69.1±10.9	64.8±16.8	NS
年齢による分類			p=0.0018
Y群(<64 yrs)	245	38	
M群(65-74 yrs)	240	12	
E群(75 yrs<)	239	27	
男(N, %)	361, 49.9%	32, 41.6%	NS
CHF(N, %)	11, 1.5%	3, 3.9%	NS
Age 75 yrs<(N, %)	239, 33.0%	27, 35.1%	
Hypertension(N, %)	13, 1.8%	35, 45.5%	p<0.0001
DM(N, %)	7, 1.0%	6, 7.8%	p=0.0006
Stroke/TIA(N, %)	2, 0.3%	10, 13.00%	p<0.0001
Vascular disease(N, %)	203, 28.0%	8, 10.4%	p=0.0003
Age 65-74 yrs(N, %)	240, 33.1%	12, 15.6%	
Gender category female(N, %)	363, 50.1%	45, 58.4%	NS
CHA ₂ DS ₂ -VAScスコア	1.8±1.2	2.8±2.1	p=0.0008

は、両群で有意差を認めなかった。両群の平均年齢は有意差を認めなかつたが、Y群(64歳以下), M群(65-74歳), E群(75歳以上)に分類すると、P群はC群に比較して、E群とY群が多く、P群とC群間での3群比較は χ^2 二乗検定で有意差を認めた($p=0.0018$)。心不全は両群で有意差を認めなかつた。高血圧は有意にP群が多く($p<0.0001$)、糖尿病の合併も有意に多かつた($p=0.0006$)。脳卒中の合併もP群で有意に多かつたが($p<0.0001$)、血管疾患は逆にC群に多かつた($p=0.0003$)。CHA₂DS₂-VAScスコアの比較ではP群は中央値3(四分位25-75%, 1-4.5), C群は2(1-3)と有意にP群でスコアが高かつた($p=0.0008$)。

2. DDの臨床的意義について

C群の検討では、DDはTATとF1+2両者と有意な正相関を示した。また、DDはPICとも有意な正相関を示し、凝固亢進と同時に線溶亢進にも関与することが示された(図1A・B・C)。P群においても、DDはTATとF1+2両者とも有意な正相関を示し、DDはPICとも傾きは緩いものの有意な正相

関を示したことから、P群においても凝固亢進と同時に線溶亢進も生じていることが示された(図2A・B・C)。DDはP群において、C群に比し有意な高値を示した(P群 vs C群: DD $\mu\text{g}/\text{mL}$ 11.71(3.61-20.12) vs 0.66(0.51-0.92), $p<0.0001$)(図3A)。しかし、両群の数値の重なりから、DDは2以下ならば、PEではない可能性が高いとはいえるが、2を超えてPEと診断はできない。単変量ロジスティック解析では、ROC曲線から求めたAUCは0.9956と良好で、カットオフ値は $2.07 \mu\text{g}/\text{mL}$ で、感度100%, 特異度は95.71%と良好であった(図3B)。

3. 他の凝固線溶系因子とBNP

DDに加えて、TAT, F1+2, PIC, PAI-1, BNPはP群でC群に比較し有意に高値を示した[P群 vs C群: TAT ng/mL 14.2(8.1-26) vs 2.2(1.6-2.8), $p<0.0001$; F1+2 pmol/L 669(337-1030) vs 182(134-265), $p<0.0001$; PIC $\mu\text{g}/\text{mL}$ 2.3(1.6-7.45) vs 0.7(0.5-0.9), $p<0.0001$; PAI-1 ng/mL 31(20-56) vs 16(10-25.25), $p<0.0001$; BNP pg/mL 68.8(25.5-210.5), vs 26.9(11.15-45.8), $p<0.0001$](図

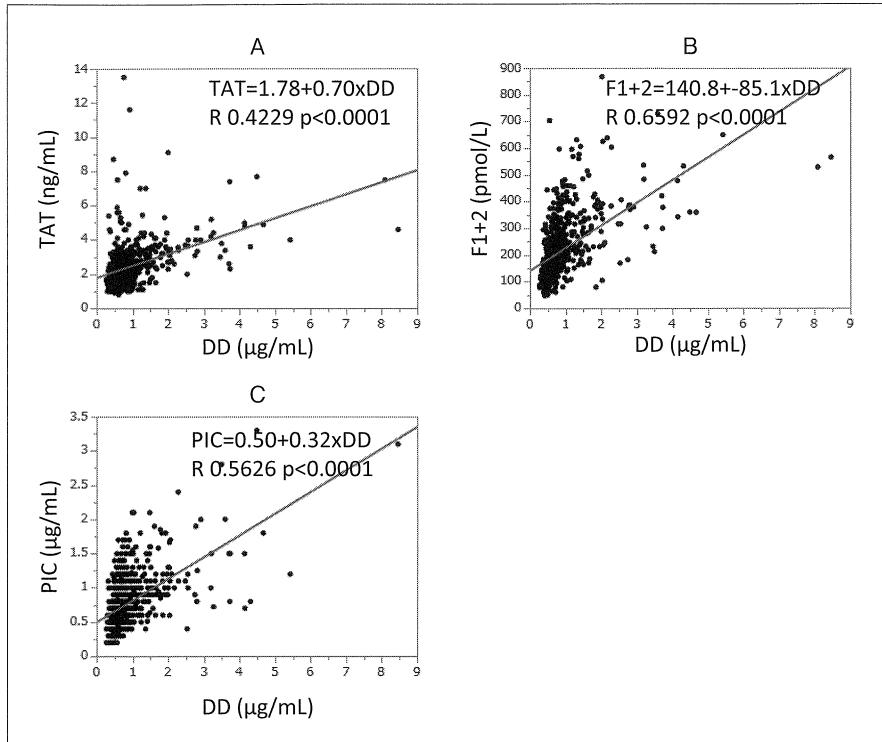


図1 C群におけるDDとTAT, F1+2, PICの相関関係

C群の検討では、DDはTATとF1+2両者とも有意な正相関を示した。また、DDはPICとも有意な正相関を示し、凝固亢進と同時に線溶亢進にも関与することが示された。

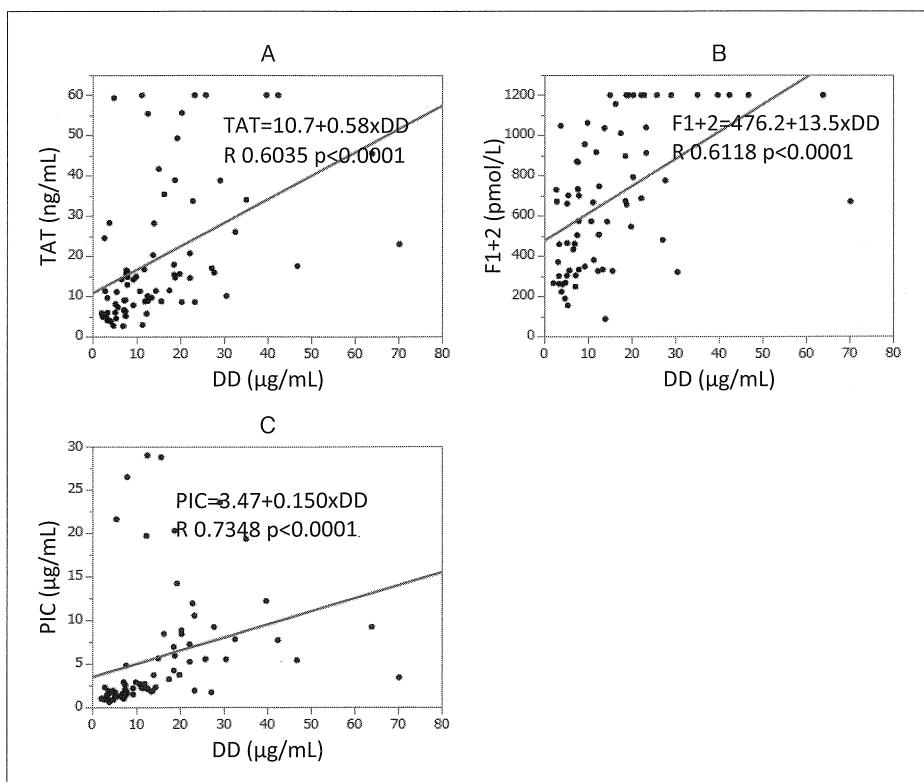


図2 P群におけるDDとTAT, F1+2, PICの相関関係

P群においても、DDはTATとF1+2両者とも有意な正相関を示し、DDはPICとも有意な傾きの緩い正相関を示したことから、P群においても凝固亢進と同時に線溶亢進も生じていることが示された。

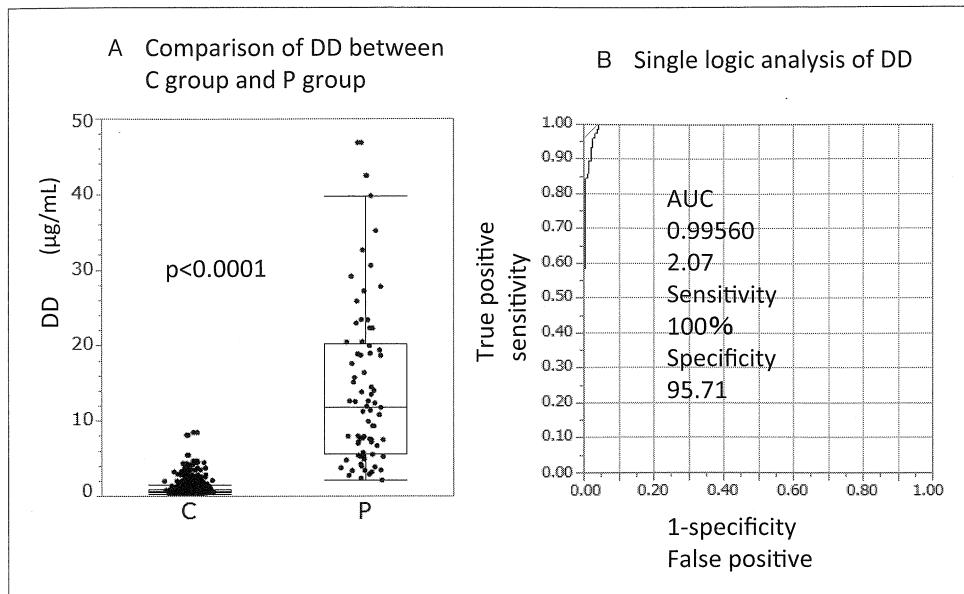


図3 C群とP群間のDDの比較、単変量ロジスティック解析

A : DDはP群において、C群に比し有意な高値を示した(P群 vs C群 : DD $\mu\text{g}/\text{mL}$ 15.1 ± 13.2 vs 0.87 ± 0.75 , $p < 0.0001$)。しかし、両群の数値の重なりから、DDは2以下ならば、PEではない可能性が高いといえるが、2を超えてもPEと診断はできない。
B : 単変量ロジスティック解析では、ROC曲線から求めたAUCは0.9956と良好で、カットオフ値は2.07 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、感度100%，特異度は95.71%と良好であった。

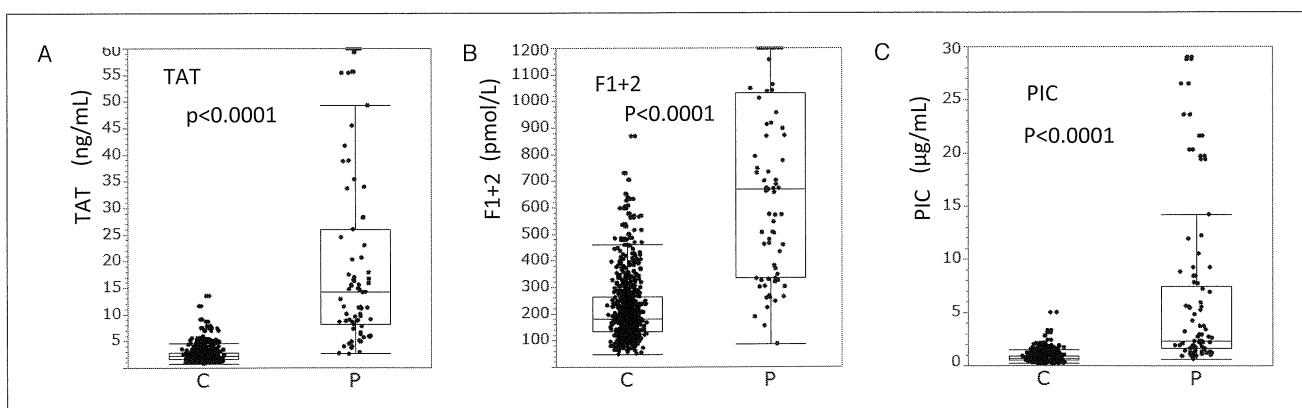


図4 C群とP群におけるTAT, F1+2, PIC

A・B・C : TAT, F1+2, PICはP群でC群に比較し有意に高値を示した[P群 vs C群 : TAT ng/mL $14.2(8.1-26)$ vs $2.2(1.6-2.8)$, $p < 0.0001$; F1+2 pmol/L $669(337-1030)$ vs $182(134-265)$, $p < 0.0001$; PIC $\mu\text{g}/\text{mL}$ $2.3(1.6-7.45)$ vs $0.7(0.5-0.9)$, $p < 0.0001$].

4A・B・C, 図5A・C). sTMについては、両者で有意差を認めなかった(sTM FU/mL P群 vs C群 : $2.6(2.2-3.25)$ vs $2.7(2.2-3.2)$, NS)(図5B).

PICとPAI-1の関係は、C群では、自然対数的な負の相関関係を認めた($R = -0.5424$, $p < 0.0001$)(図6)。しかし、P群において、PICはPAI-1とは相関

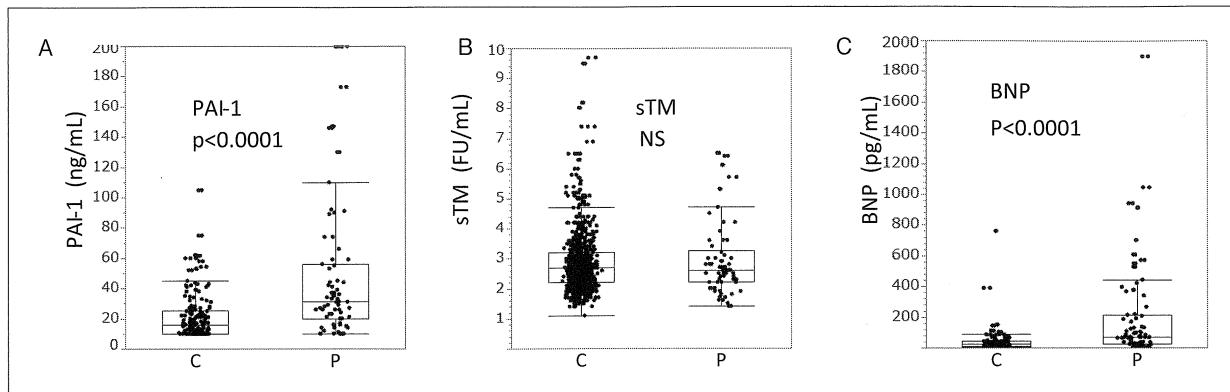


図5 C群とP群におけるPAI-1, sTM, BNP

A・C : PAI-1, BNPはP群でC群に比較し有意に高値を示した[P群 vs C群 : PAI-1 ng/mL 31(20-56) vs 16(10-25.25), $p < 0.0001$; BNP pg/mL 68.8(25.5-210.5), vs 26.9(11.15-45.8), $p < 0.0001$]

B : sTMについては、両者で有意差を認めなかった[sTM FU/mL P群 vs C群 : 2.6(2.2-3.25) vs 2.7(2.2-3.2), NS]

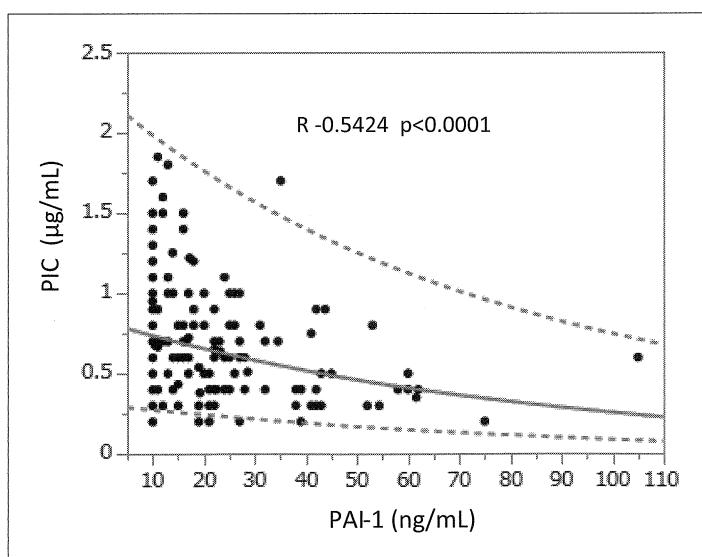


図6 C群におけるPICとPAI-1の相関関係

PICとPAI-1の関係は、C群では、自然対数的な負の相関関係を認めた。

しなかった。

単変量ロジスティック回帰分析でも、TAT, F1+2, PIC, PAI-1, BNPは有意な因子として抽出された。ROC曲線から求めたカットオフ値は、おのおのTAT 3.7 ng/mL(AUC 0.98123, 感度 96.00%, 特異度 91.55%), F1+2 301 pmol/L(AUC 0.91720, 感度 87.50%, 特異度 80.99%), PIC 1.2 $\mu\text{g/mL}$ (AUC 0.94987, 感度 88.31%, 特異度 86.72%), PAI-1 26.0 ng/mL(AUC 0.74271, 感度 66.20%,

特異度 75.29%), BNP 56.6 pg/mL(AUC 0.72309, 感度 61.04%, 特異度 90.46%)であった(図7A・B・C, 図8A・B)。

多変量ロジスティック回帰分析では、DDとTATが有意として残り、両者を含めたカットオフ値はDD 2.3 $\mu\text{g/mL}$, TAT 4.9 ng/mLであった。この時、AUCは0.99854, 感度100%, 特異度97%であった(図9)。

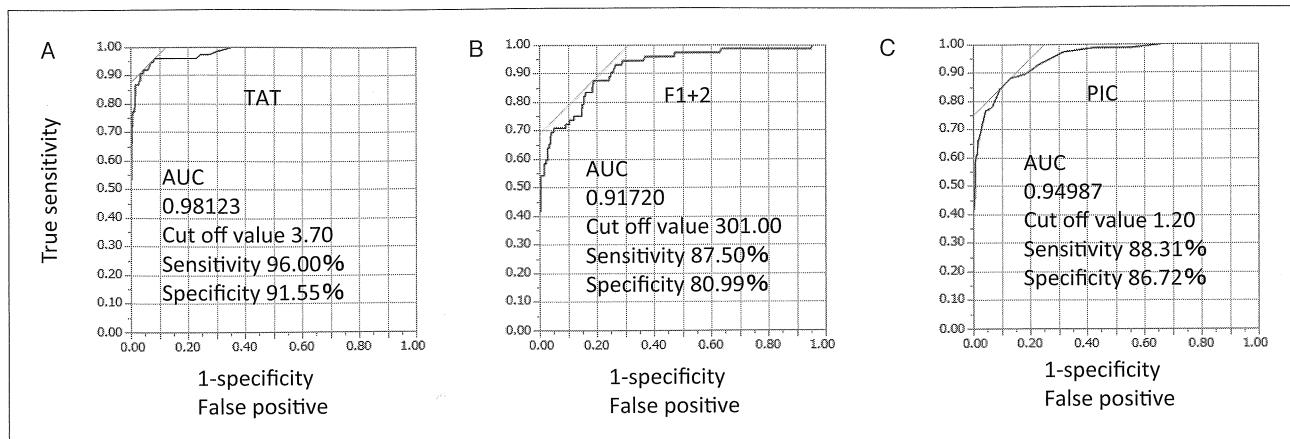


図7 TAT, F1+2, PIC の ROC 曲線

A・B・C：単変量ロジスティック回帰分析でも、TAT, F1+2, PIC は有意な因子として抽出された。ROC 曲線から求めたカットオフ値は、おののの、TAT 3.7 ng/mL(AUC 0.98123, 感度 96.00%, 特異度 91.55%), F1+2 301 pmol/L(AUC 0.91720, 感度 87.50%, 特異度 80.99%), PIC 1.2 μg/mL(AUC 0.94987, 感度 88.31%, 特異度 86.72%)であった。

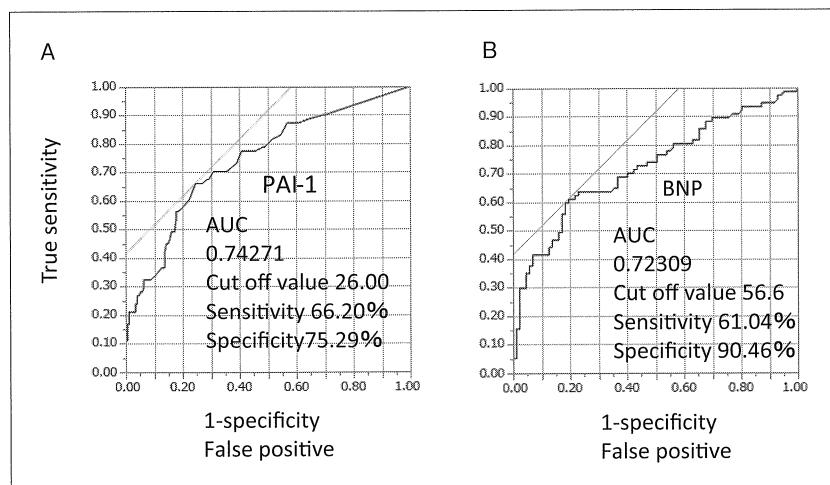


図8 PAI-1 と BNP の ROC 曲線

A・B：単変量ロジスティック回帰分析でも、PAI-1, BNP は有意な因子として抽出された。ROC 曲線から求めたカットオフ値は PAI-1 26.0 ng/mL(AUC 0.74271, 感度 66.20%, 特異度 75.29%), BNP 56.6 pg/mL(AUC 0.72309, 感度 61.04%, 特異度 90.46%)であった。

● 考察

肺血栓塞栓症(PE)はいまだ致死的な疾患であり、その予知は、臨床リスク評価が最も重要である⁵⁾。P

群において、心不全は有意差を認めなかったものの、高血圧、糖尿病、脳卒中の頻度は有意に多かった。血管疾患においては、循環器患者であったので C 群で有意に多く合併していた。以前の我々の検討³⁾で

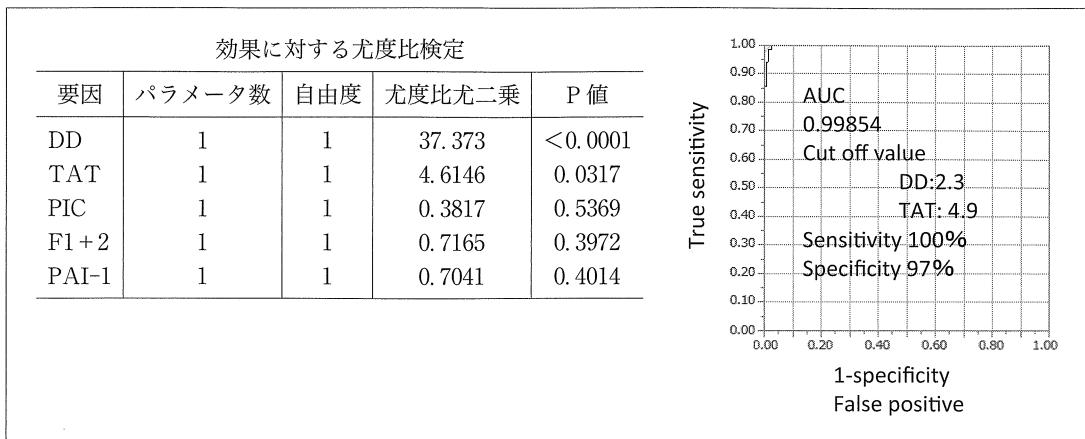


図9 多変量ロジスティック解析とROC曲線

多変量ロジスティック回帰分析では、DDとTATが有意として残り、両者を含めたカットオフ値はDD 2.3 μg/mL, TAT 4.9 ng/mLであった。この時、AUCは0.99854、感度100%、特異度97%であった。

は、年齢は最も凝固亢進に関係が深いと報告したが、この研究では両群で平均年齢では有意差を認めなかつた。しかし、P群においては、Y群>E群>M群であり、C群との間で有意差を認めた。P群では凝固能が亢進しているE群に集中するのは容易に理解できるが、Y群が最も多かったことから、若年PEの発症の機序としては、臨床的特徴よりも、過凝固状態などの可変リスク因子の存在が大きいことが推測される。女性が過凝固に関与することについては、議論の多いところであるが、高齢女性は凝固能が亢進しているとの報告もある⁶⁾。今回の検討では、P群とC群間に性差は認めなかつた。結局、CHA₂DS₂-VASCスコアがP群で有意に大きかつたことは、臨床的リスク因子が重要であることが示された。心房細動症例の心原性脳梗塞のリスク判定に用いられるCHA₂DS₂-VASCスコアはPEのリスク評価にも用いることは妥当と思われる。しかし、PE発症には、短期間に変化しない(固定化)臨床リスク因子に加え、その時点での変化するリスク因子(可変リスク因子)も関与する。通常の固定化リスク評価に加えて、刻々と変化する可変リスク因子の状況をおののの時点で評価することも重要である。血栓塞栓症の発現機序としては、「血管内膜障害」、「血液

凝固能亢進」、「血流うつ滞」の3因子が関与する。血液凝固能亢進はその変化は鋭敏であり血液凝固線溶マーカーを用いれば容易に評価ができる。また、もう一つの利点としては、超音波やCTの画像評価はすでに形成された明らかな血栓を描出することは可能であるが、静脈血栓塞栓症(VTE)予知には無力であるといつても過言ではない。また、感染症例のように、患者との接触が制限される場合は、血液データで予知が可能となれば大きな利点となる。血液凝固の亢進を知る凝固線溶マーカーとしてDDが知られている。DDの陰性的中率は高いものの、特異度は低いと報告されている¹⁾。その原因としては、DD値は凝固亢進による凝血を示すと同時に、凝血の溶解も示していることが一因と推測できる。このことは、我々の検討でDDが凝固を示すTAT, F1+2と相関するばかりではなく、線溶を示すPICと相関することからも明らかである。血栓の増大は、凝固の亢進に線溶系の亢進が追い付かないときに生じると考えられる。このことは、P群のDDとTATの相関直線の傾きはC群と変わらず、P群のDDとPICはC群と比較して、傾きは約半分と浅く、DDが高値にもかかわらず、PICの増加が不十分であり、線溶系の亢進が不十分であることが推測される。

血清 sTM も内皮機能の低下を意味するが、今回の検討では、sTM は C 群、P 群で差がなかった。このことは、急性期の血栓形成には関与は少なく、長期的なリスク因子であることを意味していると思われる。また、C 群は心血管疾患が多かったことから、健常人とは異なり内皮障害が存在していたため sTM 高値を示し P 群との差が認められなかつた理由の一つと推測できる。我々の PE 群の別の研究⁷⁾では、sTM は酸素必要日数や入院日数と相關したことから、血栓溶解の日数には関与していると思われる。これらを総合して考えると、血管内皮機能の低下は、短期に変化するリスク因子というよりも長期的なリスク因子といえるかもしれない。C 群において、PIC は PAI-1 と自然対数的な負の相関を示したことから、PAI-1 に関しては、強力に線溶系を調節していると考えられる。しかし、一般的に凝固系は線溶系よりも優位であり、血栓形成がなされると、凝固能が著しく亢進し、もともと線溶系を抑える PAI-1 の機能が働くなくなるのかもしれない。

「血流うつ滞」は、一定の運動制限、脱水、心不全などで変化し、これも予知することは可能で、BNP がサロゲートマーカーとして用いられる。我々の検討でも、P 群で BNP が有意に高かったことは、PE の結果で右心系負荷が増加したことと、血液のうつ滞が関与したと思われた。

次に、DD と他の凝固因子を組み合わせることで PE の診断精度を上げる試みでは、凝固系マーカーの TAT と F1+2、線溶系マーカーの PIC、血管内皮系マーカーの sTM と PAI-1 を加えて单变量ロジスティック解析を行ったところ、DD、TAT、F1+2、PIC で有意差を認めた。このことは、我々の仮説と合致した。多変量ロジスティック解析では、DD と TAT の両者が有意なリスクマーカーとして残った。これらのカットオフ値は DD 2.3 μg/mL と TAT 4.9 ng/mL であり、この値を満足するときに感度、特異度が最も高かった。臨床症状に加えて、これらを測定すれば、PE 予知が可能と考えられた。F1+2 はトロンビン量を正確に反映していると考え

られ、单变量ロジスティック解析では有意なリスクファクターであったが、C 群で高値例が多く、両群を効率よく分離することはできなかつた。PIC も同様であった。

本研究の限界：本研究では、心房細動や深部静脈血栓症といった凝固線溶系に異常が出現する疾患を除外している。予測因子の検討には、これらの凝固線溶系異常を有する疾患も含まれた状態での解析が望ましかつたが、心房細動や深部静脈血栓症はすでに抗凝固療法を施行している例が多かつたため比較検討ができなかつた。

結論

臨床リスク因子に加え、凝固因子と内皮機能、血液うつ滞のサロゲートマーカーを解析すれば PE のリスク評価が可能である。

文 献

- Harringa JB, Bracken RL, Nagle SK, et al : Negative D-dimer testing excludes pulmonary embolism in non-high risk patients in the emergency department. *Emerg Radiol* 2017 ; 24 : 273-280
- van Es N, van der Hulle T, Buller HR, et al : Is stand-alone D-dimer testing safe to rule out acute pulmonary embolism? *J Thromb Haemost* 2017 ; 15 : 323-328
- Ochi A, Adachi T, Inokuchi K, et al : Effects of Aging on the Coagulation Fibrinolytic System in Outpatients of the Cardiovascular Department. *Circ J* 2016 ; 80 : 2133-2140
- Obi AT, Barnes GD, Wakefield TW, et al : Practical diagnosis and treatment of suspected venous thromboembolism during COVID-19 pandemic. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord* 2020 ; 8 : 526-534
- JCS Joint Working Group : Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of pulmonary thromboembolism and deep vein thrombosis (JCS 2009). *Circ J* 2011 ; 75 : 1258-1281
- Inokuchi K, Asano T, Ochi A, et al : Gender Is a Significant Factor Affecting Blood Coagulation Systems. *Showa Univ J Med Sci* 2017 ; 29 : 151-162
- Matsui T, Shoji S, Ota M, et al : Serum Soluble Thrombomodulin Level on Admission Is a Useful Predictor of Treatment Response in Patients with Acute Pulmonary Thromboembolism. *Showa Univ J Med Sci* 2017 ; 29 : 79-86