

急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群 (MCLS) における プロテインCおよびプロテインSの推移について

奈良県立医科大学小児科学教室

今 中 康 文

PROTEIN C AND PROTEIN S IN CHILDREN WITH MUCOCUTANEOUS LYMPHNODE SYNDROME

YASUFUMI IMANAKA

Department of Pediatrics, Nara Medical University

Received September 28, 1990

Summary: Plasma levels of protein C (PC) and protein S (PS) were investigated in 34 children with mucocutaneous lymphnode syndrome (MCLS). These patients were categorized into two groups: Group A, aged from 3 months to less than 1 year, and Group B, from 1 year to 14 years.

In the first week of the acute stage of the clinical course, both levels of PC activity (PC: Act) assayed by A-PTT using PC-immunodepleted plasma, and Protac[®], and PC antigen (PC: Ag) assayed by ELISA, were markedly decreased; Group A, 42.0 ± 13.8 U/dl and 51.9 ± 20.5 U/dl, and Group B, 51.4 ± 19.5 U/dl and 68.2 ± 18.6 U/dl, respectively. The values gradually returned to normal range after 3-5 weeks of the clinical course. Similarly, levels of PS activity (PS: Act) assayed by A-PTT using PS-immunodepleted plasma and Protac[®], total PS antigen (T-PS: Ag) and PS antigen complexed with C4b-binding protein (C4bp-S: Ag) assayed by ELISA were significantly decreased in the first week of the clinical course; Group A, 52.2 ± 11.7 U/dl, 62.0 ± 12.0 U/dl and 53.0 ± 15.4 U/dl, and Group B, 73.6 ± 14.7 U/dl, 82.4 ± 16.5 U/dl and 78.8 ± 21.3 U/dl. They were restored to normal range within the following one to 4 weeks. Free-PS antigen (F-PS: Ag) levels in both groups were almost normal or slightly decreased during the first week of the clinical course; Group A, 71.7 ± 15.6 U/dl and Group B, 75.8 ± 22.4 U/dl. No precursor forms of PC: Ag and PS: Ag (PIVKAs-PC and -PS) were detected by crossed immunoelectrophoresis.

Neither PC levels nor PS levels showed a significant difference between the patients with and without coronary aneurysm, whereas the former patients required 1-2 weeks longer to restore the lowered plasma levels than the latter. These results indicate that the duration of the decreased levels of plasma PC and PS is important to assess the development of anticipated thromboembolic complications in MCLS.

Index Terms

mucocutaneous lymphnode syndrome (MCLS), protein C (PC), protein S (PS)

緒 言

プロテインC (Protein C; PC) およびプロテインS

(Protein S: PS) はともに Vitamin K 依存性の凝固阻止作用を有する血漿蛋白である。PC はヒトでは第2染色体上の 2q 13-q21 の遺伝子の支配下に、肝で分子量

62,000 の 1 本鎖の蛋白として合成され、血中では 21,000 の L 鎖と 41,000 の H 鎖の 2 本鎖分子として循環していることが明らかにされている¹⁾⁻³⁾。本因子の機能についてはトロンビンと血管内皮細胞表層に存在するトロンボモジュリンの複合体により限定分解をうけて活性化 PC (Activated PC; APC) となり、第 V 因子および第 VIII 因子の活性型 (V_a, VIII_a) を特異的に失活せしめるとされている⁴⁾⁵⁾。一方、PS は第 3 染色体上の 3p11.1-q11.2 の遺伝子により肝で合成される分子量 80,000 の血漿蛋白である。PS は血小板および血管内皮細胞上で APC のレセプターとして機能し、APC による V_a および VIII_a の分解失活化反応を促進する cofactor 蛋白質であるが、血中では 50~60% は補体系制御因子である C4b 結合蛋白質 (C4bp) と結合し、残りの 40~50% は遊離型 PS として存在し、APC に対する cofactor 活性は遊離型にのみ認められることが知られている⁶⁾⁷⁾⁻⁹⁾。臨床的には両因子の先天性欠乏症が存在し、いずれも静脈血栓、肺梗塞などを反復することより見出されている⁹⁾⁻¹¹⁾。後天的には PC では DIC¹²⁾で、PS では妊娠、経口避妊薬摂取¹³⁾など血栓傾向のリスクの高い状態で低下し、また両因子は肝で合成されることより肝機能の未熟な新生児期¹⁴⁾¹⁵⁾や重篤肝炎¹²⁾¹⁶⁾で低下することが報告されている。

急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群 (Mucocutaneous lymphnode syndrome, MCLS) は 1967 年川崎¹⁷⁾によって報告された発熱、眼球結膜充血、口唇の紅潮、莓舌、軀幹・四肢の不定型発疹、四肢末端の浮腫性硬化および非化膿性頸部リンパ節腫脹などを主徴とした乳幼児に好発する疾患である。本症候群の病因はいまだ明らかではないが、急性期には上記の症候とともにしばしば冠動脈管腔の拡大、瘤形成を伴うことから MCLS の病態は全身の中小動脈の血管炎として把握されている。一般に血管病変の進展および修復には血小板、凝固および線溶因子が関与すると推察されるが、MCLS においては血管炎にひきつづく現象として急性期には血小板数、フィブリノゲン、第 VIII 因子、von Willebrand 因子が増加し、回復期にはこれら因子は正常に復するも第 XIII 因子は増加することが観察されている¹⁸⁾⁻²⁴⁾。さらに教室の安居²⁵⁾⁻²⁷⁾はこれらの所見とともに凝固阻止物質の AT-III は初期低下し、線溶能も抑制的であることを報告している。これらの所見は本症候群が血管炎にひきつづいて血栓形成へと進展する傾向を有していることを強く示唆するものである。

前述したごとく PC および PS は血栓形成に関与する因子であるが、MCLS における両因子の動態についてはいまだ報告がない。今回、著者は本症候群患児における

PC および PS の推移について検索をおこなった。

対 象

昭和 62 年 11 月より平成元年 4 月までの間に MCLS 患児 34 例 (男児 22 例, 女児 12 例) について検索した。発症年齢は 3 か月から 7 歳 5 か月で、1 歳未満 11 例 (男児 9 例, 女児 2 例), 1 歳以上 23 例 (男児 13 例, 女児 10 例) であった。経過中に冠動脈瘤を認めたものは 10 例 (1 歳未満 4 例 (うち巨大動脈瘤 1 例), 1 歳以上 6 例 (うち巨大動脈瘤 3 例)) であったが、心筋梗塞例および死亡例はなかった。一方、経過中に GPT 50IU/l 以上の肝機能障害をおこしたものは第 1 病週で 10 例 (1 歳未満 3 例, 1 歳以上 7 例) あったが、第 2 病週以後では 1 歳未満で第 2 病週に 2 例, 第 3 病週に 1 例, 1 歳以上で第 3 病週に 1 例認めたのみであった。また、アスピリンは 31 例 (1 歳未満 9 例, 1 歳以上 22 例), ディピリダモールは 25 例 (1 歳未満 8 例, 1 歳以上 17 例), ガンマグロブリン製剤は 17 例 (1 歳未満 5 例, 1 歳以上 12 例) に使用した。

検索は各症例、発症第 1 病週から第 5 病週まで 1 週間毎におこなった。なお、PC, PS ともに 1 歳未満と 1 歳以上で差があるため、1 歳未満の対照として正常乳児 (3~11 か月) 20 例を、1 歳以上については正常小児 (1~14 歳) 37 例を対照とした。

資料および方法

1. 血漿: 3.8% クエン酸ナトリウム 1 容に被検全血 9 容を加え混和後、4℃, 3000 回転, 10 分間遠沈して上清を分離し、-80℃ で凍結保存した。

2. 人工的 PC 欠乏血漿および PS 欠乏血漿: 自家製抗 PC 家兎血清および自家製抗 PS 家兎血清よりそれぞれ IgG 分画を作製後、ゲルに吸着、不溶化せしめて抗 PC または抗 PS—セファロース 4 B カラム (Pharmacia Fine Chem., Sweden) に正常プール血漿を通過させ、PC 欠乏血漿および PS 欠乏血漿を得た²⁸⁾²⁹⁾。

3. PC 活性 (PC: Act): PC 欠乏血漿に対する被検血漿の活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 延長効果をみる方法 (Martinoli ら³⁰⁾の変法) により測定した。Veronal 緩衝液 (PH7.35) で 10 倍に希釈した被検血漿の希釈液 100μl と Protac® (Boehringer Mannheim GmbH, West Germany) (0.5u/ml) 50μl を混和、37℃ で 5 分間反応させることにより PC を APC へと活性化させ免疫吸着 PC 欠乏血漿 100μl, Actin® (Dade, USA) 100μl を添加した。37℃ で 3 分間, 25mM CaCl₂ 100μl 再加し、凝固時間を測定した。得られた凝固時間は正常人 20 例のプール血漿を 5~160 倍にまで希釈して、

それぞれについて測定した検量線より U/dl に換算した。プール血漿 1 ml 中の PC 活性を 1 U/ml とした。

4. PC 抗原量 (PC:Ag): 前述の抗ヒト PC 家兎血清および自家製抗ヒト PC モルモット血清を用いた酵素免疫測定法 (Enzymelinked immunosorbent assay; ELISA¹⁰⁾) による。抗 PC 家兎血清を 0.05 M 炭酸塩緩衝液 (PH9.6) にて 2000 倍希釈し, ELISA 用 microtitre-plate (NUNK, Denmark) に 200 μ l ずつ分注後, 4 $^{\circ}$ C にて over night 放置した。吸引除去後, 4% bovine serum albumin (BSA) を含む 0.05 M 炭酸塩緩衝液 200 μ l をおのおの添加し, 37 $^{\circ}$ C, 2 時間反応させブロッキングをおこなった。ブロッキング液を 0.05% Tween20 を含む 0.02 M リン酸緩衝化生食水 (PH7.2) (A 液) にて十分洗浄後, 被検血漿を 4% BSA を含む 0.02 M リン酸緩衝化生食水 (B 液) にて希釈し, おのおの 100 μ l ずつ添加し, 37 $^{\circ}$ C, 2 時間反応させた。この反応液を A 液で十分洗浄し, B 液にて 200 倍に希釈した抗 PC モルモット血清 100 μ l を添加し, 37 $^{\circ}$ C, 2 時間反応させた。A 液にて洗浄後, B 液にて 3000 倍に希釈したペルオキシダーゼ標識抗モルモット IgG 家兎血清 (Miles Yeda, USA) 100 μ l を添加し 37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた。A 液で十分洗浄後, O-phenyldiamine を基質として添加, 発色させ 10 分後に 2.5 M 硫酸で反応を停止させ 492nm での吸光度を測定した。

5. PS 活性 (PS:Act): PC:Act の場合と同様, Protac[®] を用いる凝固法³¹⁾ による。被検血漿または正常プール血漿の希釈液 20 μ l, 自家製免疫吸着 PS 欠乏血漿 100 μ l および Protac[®] (0.5 u/ml) 100 μ l を混和, 37 $^{\circ}$ C で 1 分間反応させ Actin[®] 100 μ l を添加した。37 $^{\circ}$ C で 1 分後, 25mM CaCl₂ を再加し, 凝固時間を測定した。

6. 全 PS 抗原量 (Total-PS; T-PS:Ag): 自家製の抗ヒト PS マウス血清および抗ヒト PS 家兎血清とペルオキシダーゼ標識家兎 IgG ヤギ血清 (Miles Lab, USA) を用い, 酵素免疫測定法 (ELISA²⁹⁾) をおこなった。

7. C4bp 結合型 PS 抗原量 (PS complexed with C4b-binding protein; C4bp-S:Ag): 抗 PS マウス血清によるコーティング, 4% BSA を炭酸塩緩衝液によるブロッキングおよび被検血漿の添加の過程までは T-PS:Ag 測定と全く同様におこない, 次いで抗 PS 家兎血清に変わって抗 C4bp 家兎血清を 3000 倍に希釈したものを用いた。

6, 7 の ELISA 法で純化 PS, 純化 C4bp-PS complex を対象として用い標準曲線を作成し, ELISA によって得られた値を蛋白質に換算した。C4bp-PS com-

plex はモル比 1:1 の非共有結合とされているので, 得られた C4bp-PS complex の蛋白量のうち, おのおのの分子量より PS 結合の蛋白量を算定した。

8. 遊離型 PS 抗原量 (Free-PS; F-PS:Ag): 6 で得た T-PS:Ag 蛋白量から 8 で算定した C4bp-S:Ag 蛋白量を引いて F-PS:Ag 蛋白量を算定した。

9. PC 抗原の二次元交差免疫電気泳動法 (PC: Crossed immunoelectrophoresis; CIE): 1mM 乳酸カルシウム加, 0.075 M ペロナール緩衝液 (PH8.6) で溶解した 1% アガロース平板を作製し, 被検血漿 20 μ l を添加後, Bromophenol blue をマーカーとしたアルブミンピークが 3.7 cm 移動するまで 2 mA/cm で一次元泳動をおこなった。泳動後, 孔より 2 mm 上方で泳動方向に平行にゲルを切り取り, その上部に 2% 自家製抗ヒト PC 家兎血清加 1% アガロースゲルを作製し, 一次元泳動と直角方向に 0.7 mA/cm, 16 時間泳動した。泳動後, ゲルを脱タンパク, 乾燥させ Coomassie brilliant blue-R250 で染色した。

10. PS 抗原の二次元交差免疫電気泳動法 (PS: CIE): 一次元は 1mMEDTA 加, 0.075 M ペロナール緩衝液を用い, 被検血漿は 20 μ l 添加した。二次元では 1.5% 自家製抗ヒト PS 家兎血清加 1% アガロースゲルを作製した。その他の過程は 10 の PC: CIE と全く同様の方法でおこなった。

成 績

1. MCLS 患児血漿中の PC 活性 (PC:Act), PC 抗原量 (PC:Ag), PS 活性 (PC:Act) および各 PS 抗原量 (PC:Ag) の推移

MCLS について, それぞれ発病 1 週間毎に採血し, 下記の項目について推移を検索した。

1) PC:Act および PC:Ag: 正常乳児 (3~11 か月) 20 例および正常小児 (1~14 歳) 37 例の PC:Act はそれぞれ 74.6 \pm 12.2 U/dl, 99.6 \pm 26.2 U/dl, PC:Ag はそれぞれ 75.0 \pm 11.7 U/dl, 104.3 \pm 38.1 U/dl であった。1 歳未満の MCLS 患児では第 1 病週 (n=10) PC:Act は 42.0 \pm 13.8 U/dl, PC:Ag は 51.9 \pm 20.5 U/dl と低下していたが, それぞれ第 2 病週 (n=9) 51.1 \pm 12.6 U/dl, 66.2 \pm 12.2 U/dl, 第 3 病週 (n=8) 59.6 \pm 20.0 U/dl, 70.0 \pm 25.5 U/dl, 第 4 病週 (n=8) 66.5 \pm 18.4 U/dl, 76.8 \pm 21.6 U/dl, 第 5 病週 (n=6) 66.7 \pm 18.2 U/dl, 76.0 \pm 18.2 U/dl と漸増し, いずれも第 4 病週には正常範囲内に復した。

1 歳以上の MCLS 患児では第 1 病週 (n=20) PC:Act は 51.4 \pm 19.5 U/dl, PC:Ag は 68.2 \pm 18.6 U/dl

と低下していたが、それぞれ第2病週 (n=21)74.9±30.2 U/dl, 85.0±23.8 U/dl, 第3病週 (n=20)84.0±23.2 U/dl, 94.7±25.2 U/dl, 第4病週 (n=18) 82.7±19.4 U/dl, 88.2±21.0 U/dl, 第5病週 (n=16) 89.8±23.5 U/dl, 92.1±24.2 U/dlと漸増し、ともに第5病週には正常範囲内に復した (Fig. 1および Table 1).

2) PS: Act, T-PS: Ag, C4bp-S: AgおよびF-PS: Ag: 正常乳児 (3~11か月) 20例および正常小児 (1~14歳) 37例のPS: Actはそれぞれ68.5±10.9 U/dl, 93.6±19.9 U/dl, T-PS: Agは71.7±9.1 U/dl, 96.2±26.1 U/dl C4bp-S:Agは70.0±7.5 U/dl, 98.4±15.8 U/dl, F-PS: Agはそれぞれ74.0±11.7 U/dl, 97.0±56.1 U/dlであった.

1歳未満のMCLS患児では第1病週 (n=10) PS: Actは52.2±11.7 U/dl, T-PS: Agは62.0±12.0 U/dl, C4bp-S: Agは53.0±15.4 U/dlと軽度低下していたが、F-PS: Agは71.1±15.6 U/dlと正常範囲内であった. PS: Act, T-PS: Ag, C4bp-S: Agはそれぞれ第2病週 (n=9) 58.6±25.8 U/dl, 65.3±22.3 U/

dl, 49.8±24.7 U/dl, 第3病週 (n=8) 66.0±27.1 U/dl, 68.6±10.9 U/dl, 48.9±12.6 U/dl, 第4病週 (n=8) 68.3±20.5 U/dl, 71.8±12.8 U/dl, 56.5±12.0 U/dl, 第5病週 (n=6) 71.0±19.6 U/dl, 71.7±10.5 U/dl, 73.7±21.2 U/dlと漸増し, PS: Act, T-PS: Agは第2病週C4bp-S: Agは第5病週には正常範囲内に復した. F-PS: Agは第2, 3, 4, 5病週それぞれ79.3±32.9 U/dl, 84.4±29.1 U/dl, 85.3±28.7 U/dl, 70.0±14.0 U/dlと正常範囲内を漸増するように推移したが, 第5病週にはやや低下した.

1歳以上のMCLS患児では第1病週 (n=20) PS: Actは73.6±14.7 U/dl, T-PS: Agは82.4±16.5 U/dl, C4bp-S: Agは78.8±21.3 U/dl, F-PS: Agは75.8±22.4 U/dlと軽度低下していたが、それぞれ第2病週 (n=21)79.5±17.5 U/dl, 83.9±15.8 U/dl, 78.0±22.1 U/dl, 88.7±26.0 U/dl, 第3病週 (n=20) 83.7±16.5 U/dl, 92.7±21.0 U/dl, 85.7±29.7 U/dl, 100.7±19.6 U/dl, 第4病週 (n=18) 88.3±17.8 U/dl, 96.2±20.5 U/dl, 91.9±27.8 U/dl, 101.1±22.5

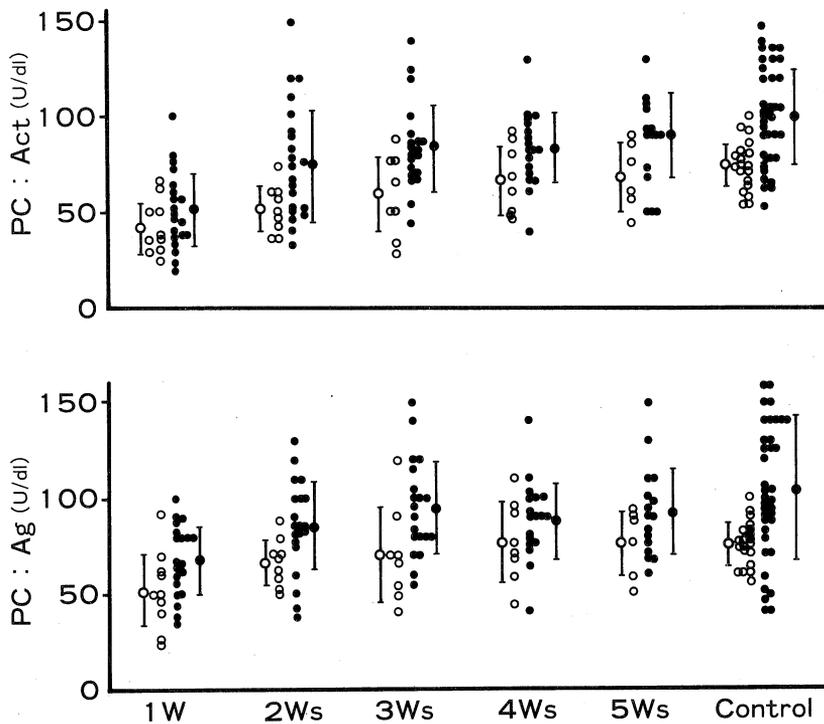


Fig. 1. Changes of protein C activity and protein C antigen during the time course in children with mucocutaneous lymphnode syndrome.
 ○ : infants from 3 months to less than 1 year
 ● : children older than 1 year

U/dl, 第5週 (n=16) 91.9±17.8 U/dl, 99.3±19.3 U/dl, 104.1±24.5 U/dlと漸増し, PS: Actは第4病週, T-PS: Ag, C4bp-S: Agは第3病週, F-PS: Agは第2病週に正常範囲内に復した (Fig. 2およびTable 1).

2. MCLS 患児の PC 抗原および PS 抗原の二次元交

差免疫電気泳動法 (CIE) の推移.

正常乳児, 正常小児, 1歳未満および1歳以上の MCLS 患児の第1, 2, 3病週における PC 抗原および PS 抗原の泳動像を二次元交差免疫泳動法により観察した.

Table 1. Levels of protein C activity, protein C antigen, protein S activity, total-protein S antigen, protein S antigen complexed with C4b-binding protein and free-protein S antigen in mucocutaneous lymphnode syndrome (M±SD (U/dl))

	1W n=10 n=20	2Ws n=9 n=21	3Ws n=8 n=21	4Ws n=8 n=18	5Ws n=6 n=16	Control n=20 n=37
less than 1 year group	42.0±13.8 ⁺⁺	51.1±12.6 ⁺⁺	59.6±20.0 ^{**}	66.5±18.4 ^{NS}	68.7±18.2 ^{NS}	74.6±12.2
older than 1 year group	51.4±19.5 ⁺⁺	74.9±30.2 ⁺⁺	84.0±23.2 ^{NS}	82.7±19.4 ^{**}	89.8±23.5 ^{NS}	99.6±26.2
PC : Act						
less than 1 year group	51.9±20.5 ⁺	66.2±12.2 [*]	70.0±25.5 ^{NS}	76.8±21.6 ^{NS}	76.0±18.2 ^{NS}	75.0±11.7
older than 1 year group	68.2±18.6 ⁺⁺	85.0±23.8 ^{**}	94.7±25.2 ^{NS}	88.2±21.0 [*]	92.1±24.2 ^{NS}	104.3±38.1
PC : Ag						
less than 1 year group	52.2±11.7 ⁺	58.6±25.8 ^{NS}	66.0±27.1 ^{NS}	68.3±20.5 ^{NS}	71.0±19.6 ^{NS}	68.5±10.9
older than 1 year group	73.6±14.7 ⁺	79.5±17.5 ^{***}	83.7±16.5 [*]	88.3±17.8 ^{NS}	91.9±17.8 ^{NS}	93.6±19.9
PS : Act						
less than 1 year group	62.0±12.0 ^{**}	65.3±22.3 ^{NS}	68.6±10.9 ^{NS}	71.8±12.8 ^{NS}	71.7±10.5 ^{NS}	71.7±9.1
older than 1 year group	82.4±16.5 ^{**}	83.9±15.8 ^{**}	92.7±21.0 ^{NS}	96.2±20.5 ^{NS}	99.3±19.3 ^{NS}	96.2±26.1
T-PS : Ag						
less than 1 year group	53.0±15.4 ⁺	49.8±24.7 ^{**}	48.9±12.6 ⁺	56.5±12.0 ⁺	73.7±21.2 ^{NS}	70.0±7.5
older than 1 year group	78.8±21.3 ⁺	78.0±22.1 ⁺	85.7±29.7 ^{NS}	91.9±27.8 ^{NS}	95.4±20.3 ^{NS}	98.4±15.8
C4bp-S : Ag						
less than 1 year group	71.7±15.6 ^{NS}	79.3±32.9 ^{NS}	84.4±29.1 ^{NS}	85.3±28.7 ^{NS}	70.0±14.0 ^{NS}	74.0±11.7
older than 1 year group	75.8±22.4 ⁺	88.7±26.0 ^{NS}	100.7±19.6 ^{NS}	101.1±22.5 ^{NS}	104.1±24.5 ^{NS}	97.0±56.1
F-PS : Ag						

* P<0.1 ** P<0.05 *** P<0.02 + P<0.01 ++ P<0.001 NS : Not Significant

SD : Standard Deviation

PC-CIEの観察にあたってVitamin K欠乏ないし拮抗剤投与時に出現するPC前駆物質のPIVKA (Protein induced by Vitamin K absence or antagonist) -PCはカルシウムを添加した場合、正常血漿より陽極側への易動度の高いarcが出現することが知られているので、PIVKA-PCの存在確認のため一次元にて1mM乳酸カルシウムを添加した。

1歳未満のMCLS患児(6か月)のPC-CIE像は各病週を通じて正常乳児(7か月)と易動度に変化は認めなかったが、arc高は第1病週では正常乳児の1/2を呈した。以後増高して第3病週では正常乳児と同じ高さを示した。

1歳以上のMCLS患児(2歳)の場合も各病週を通じて正常小児(5歳)と易動度に変化は認めなかったが、第1病週では正常小児の2/3のpeak高を示すarcが観察され、以後増高して第3病週ではほぼ正常高を呈した(Fig. 3)。PS抗原のCIE像は正常血漿ではカルシウム非存在下で陰極側にslow movingなarcを示すC4bp-S: Agと陽極側にfast movingなarcを示すF-PS: Agの二峰性のarcが出現し、カルシウム存在下には陽極側のF-PS: Agが出現せず陰極側のarcのみの一峰性となることが知られているが、著者はC4bp-S: Ag, F-PS: Agをそれぞれ観察することを目的としたので一次元にはカルシウムを添加しなかった。

1歳未満のMCLS患児(6か月)では各病週を通じて

正常乳児(7か月)と同様に二峰性arcの易動度に変化は認めなかった。第1病週ではslow moving arcおよびfast moving arcともに正常乳児の1/2peak高であったが、以後第3病週ではほぼ同じ高さであった。なお、正常乳児はslow moving arc, fast movig arcともに後述の正常小児の2/3peak高を示した。

1歳以上のMCLS患児(2歳)でも各病週を通じて正常小児(5歳)と同様に二峰性arcの易動度に変化は認めなかった。第1病週ではslow moving arcおよびfast moving arcともに正常小児の2/3peak高であったが、以後量arcともに増高して第3病週にはほぼ同じ高さとなった(Fig. 4)。

3. PCおよびPSの変動と冠動脈瘤との関連性

冠動脈瘤は、心エコーにて臨床上有意とされる³²⁾³³⁾最大径が4mm以上のものとした。また、冠動脈最大径が6mm以上のものを巨大動脈瘤とした。経過中に心エコーで冠動脈瘤を認めなかった群は24例(1歳未満7例, 1歳以上17例), 認めた群は10例(1歳未満4例, 1歳以上6例)であり、うち4例(1歳未満1例, 1歳以上3例)は巨大動脈瘤を認めた。両群を比較したところ、PCおよびPSは活性、抗原ともに各病週において明らかな差異は認めなかった。また、巨大動脈瘤についても一定の傾向は見られなかった(Fig. 5および6)。

次にMCLS患児においてPCおよびPSの低値(1歳未満は活性または抗原が60 U/dl未満, 1歳以上は活性

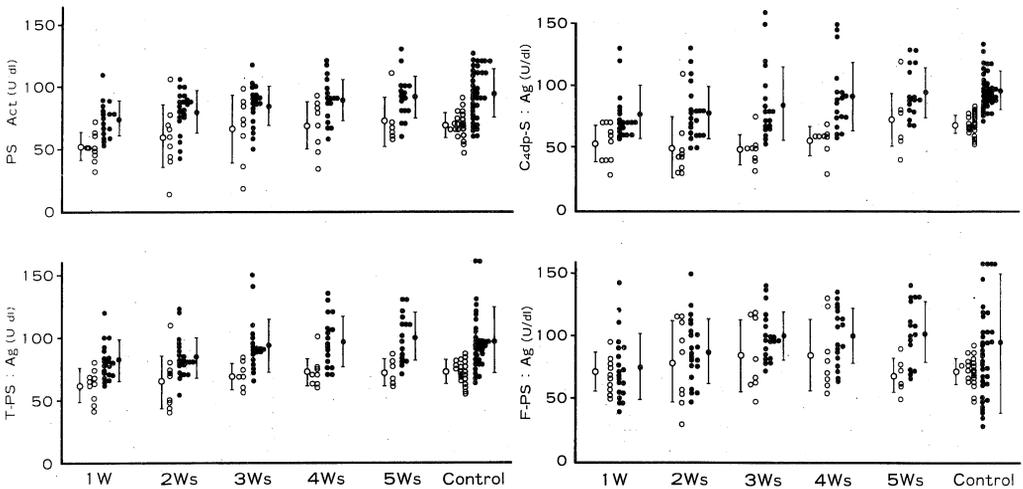


Fig. 2. Changes of protein S activity, total-protein S antigen, protein S antigen complexed with C4b-binding protein and free-protein S antigen during the time course in children with mucocutaneous lymphnode syndrome.

- : infants from 3 months to less than 1 year
- : children older than 1 year

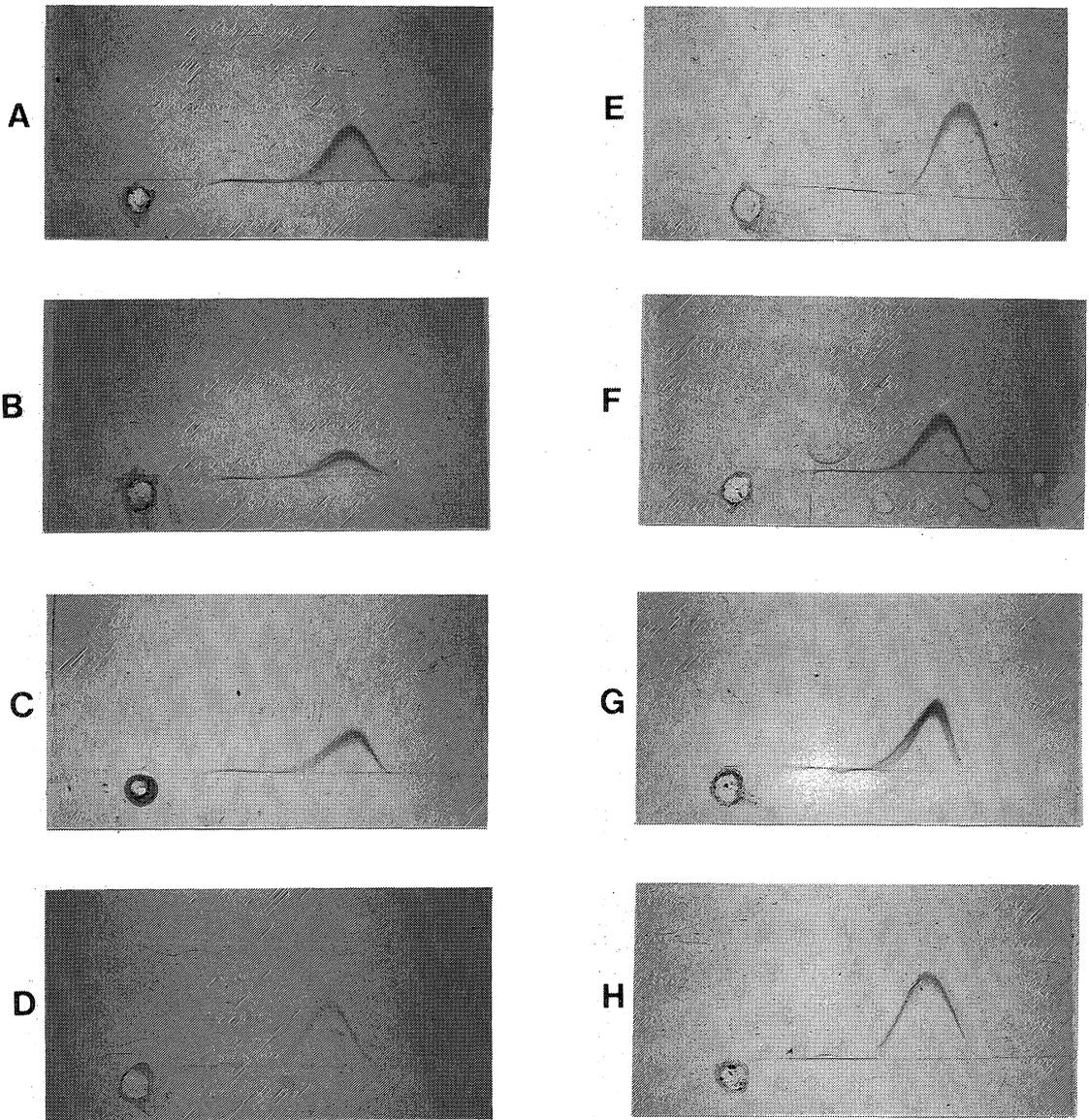


Fig. 3. Crossed immunoelectrophoresis of PC: Ag during the time course in mucocutaneous lymphnode syndrome.

- A : a healthy 7 month-old infant
- B : one week after the onset of an infant (6 month) with MCLS
- C : two weeks after the onset of an infant (6 month) with MCLS
- D : three weeks after the onset of an infant (6 month) with MCLS
- E : a healthy 5 year-old child
- F : one week after the onset of a child (2 year) with MCLS
- G : two weeks after the onset of a child (2 year) with MCLS
- H : three weeks after the onset of a child (2 year) with MCLS

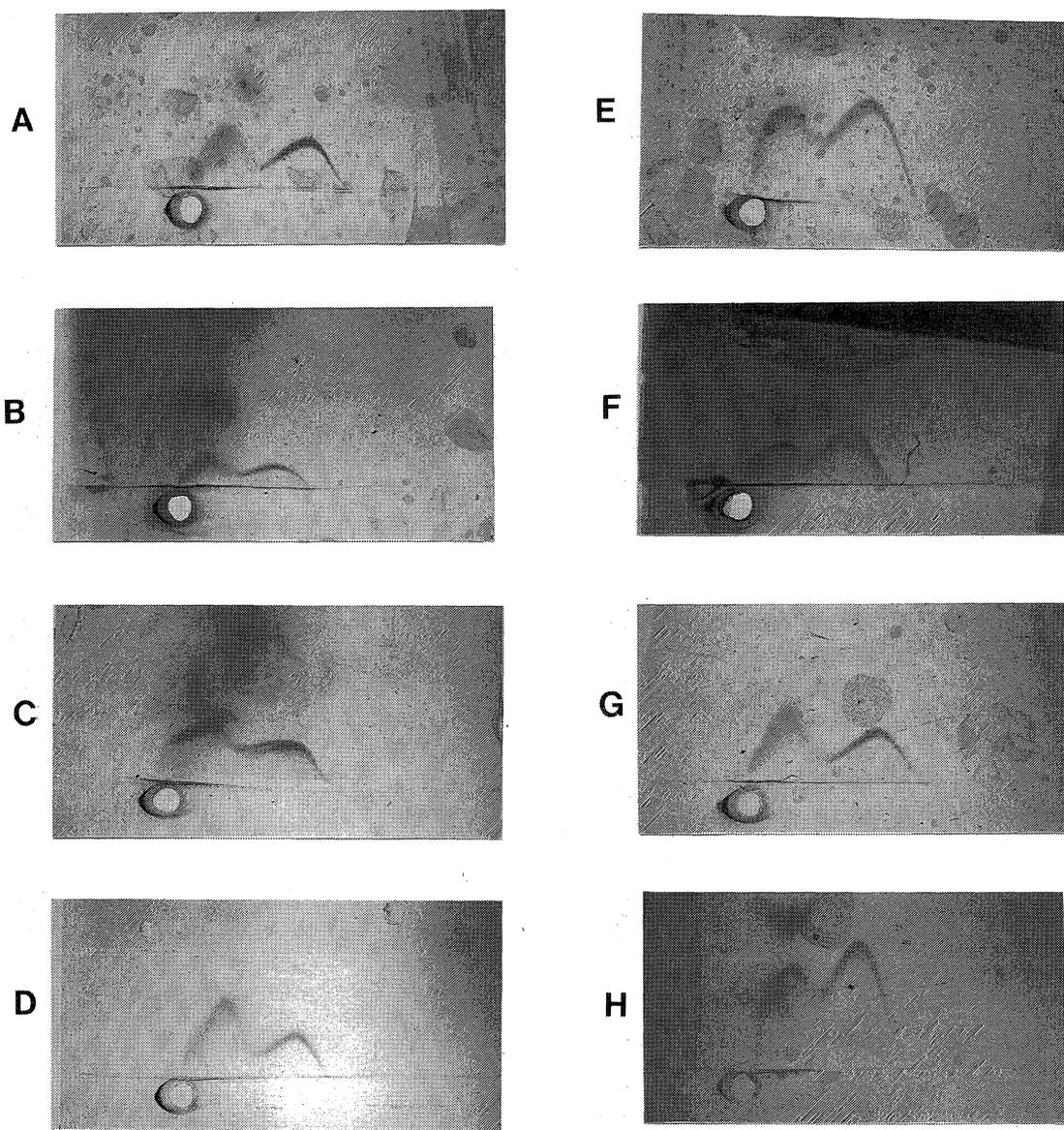


Fig. 4. Crossed immunoelectrophoresis of PS: Ag during the time course in mucocutaneous lymphnode syndrome.

- A : a healthy 7 month-old infant
- B : one week after the onset of an infant (6 month) with MCLS
- C : two weeks after the onset of an infant (6 month) with MCLS
- D : three weeks after the onset of an infant (6 month) with MCLS
- E : a healthy 5 year-old child
- F : one week after the onset of a child (2 year) with MCLS
- G : two weeks after the onset of a child (2 year) with MCLS
- H : three weeks after the onset of a child (2 year) with MCLS

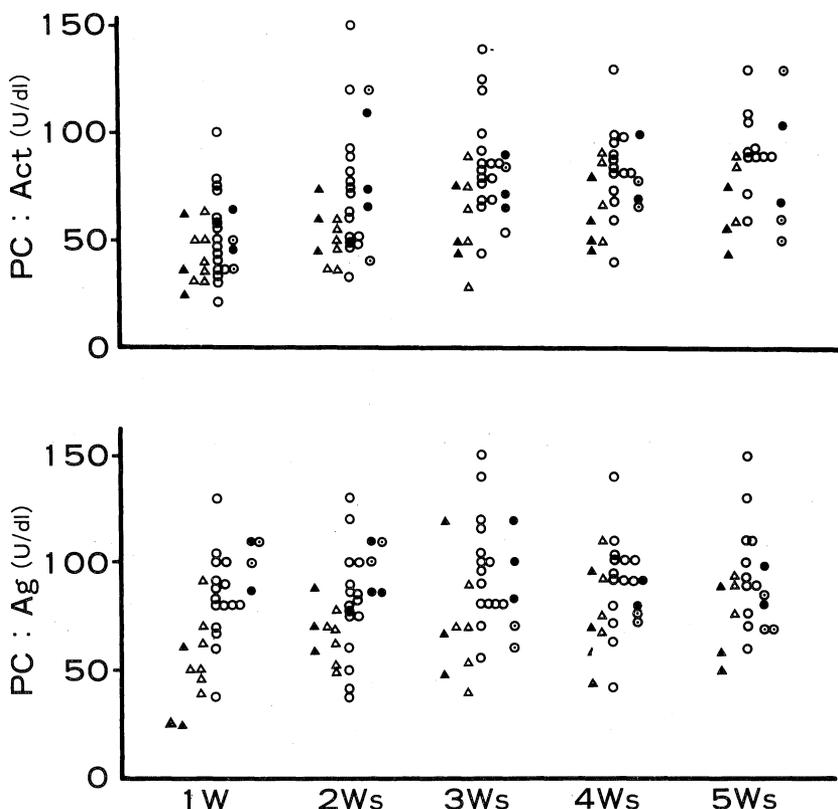


Fig. 5. Comparison of protein C activity and protein C antigen between with and without coronary aneurysm in mucocutaneous lymphnode syndrome.

less than 1 year { \triangle : without coronary aneurysm
 \blacktriangle : $4.0\text{mm} \leq \text{coronary dilatation} < 6.0\text{mm}$
 \triangle : $6.0\text{mm} \leq \text{coronary dilatation}$

older than 1 year { \circ : without coronary aneurysm
 \bullet : $4.0\text{mm} \leq \text{coronary dilatation} < 6.0\text{mm}$
 \odot : $6.0\text{mm} \leq \text{coronary dilatation}$

または抗原が 80 U/dl未滿) の持続期間を、経過中に冠動脈瘤を認めなかった群と認めた群とで比較検討した。

PC: Act および PC: Ag の低値の持続期間はそれぞれ冠動脈瘤を認めなかった群 1.9 ± 1.3 週, 1.0 ± 1.0 週, 認めた群 3.0 ± 1.8 週, 3.0 ± 2.0 週と認めた群が有意 ($P < 0.05$, $P < 0.02$) に延長していた。

PS: Act および F-PS: Ag の低値の持続期間はそれぞれ冠動脈瘤を認めなかった群 1.2 ± 1.5 週, 0.7 ± 0.8 週, 認めた群 2.6 ± 1.7 週, 2.1 ± 2.0 週と認めた群が有意 ($P < 0.05$, $P < 0.1$) に延長していた。C4bp-S: Ag および T-PS: Ag については有意差はなかった (Fig. 7 および 8)。

考 察

PC および PS が新生児期に低下することはいくつかの報告が見られるが、その後の乳児期および小児の推移についてはほとんど知られていない。Andrewら³⁴⁾は生下時 PC および PS 抗原量はともに成人値の 35% を示し、1 か月後 50%, 3 か月後に PC は約 60%, PS は 87% と増加することを報告している。高宮³⁵⁾は PC 活性および PC 抗原量の推移を 1 か月乳児より 15 歳までの健康児について検索し、6 か月で成人下限、1 年で成人値に到達し、以後 15 歳まで同様であることを観察した。橋本¹⁵⁾は新生児期より 1 歳までの正常乳児について PS 活性および抗原量の推移を検索し、PS 活性は 1 か月後 40

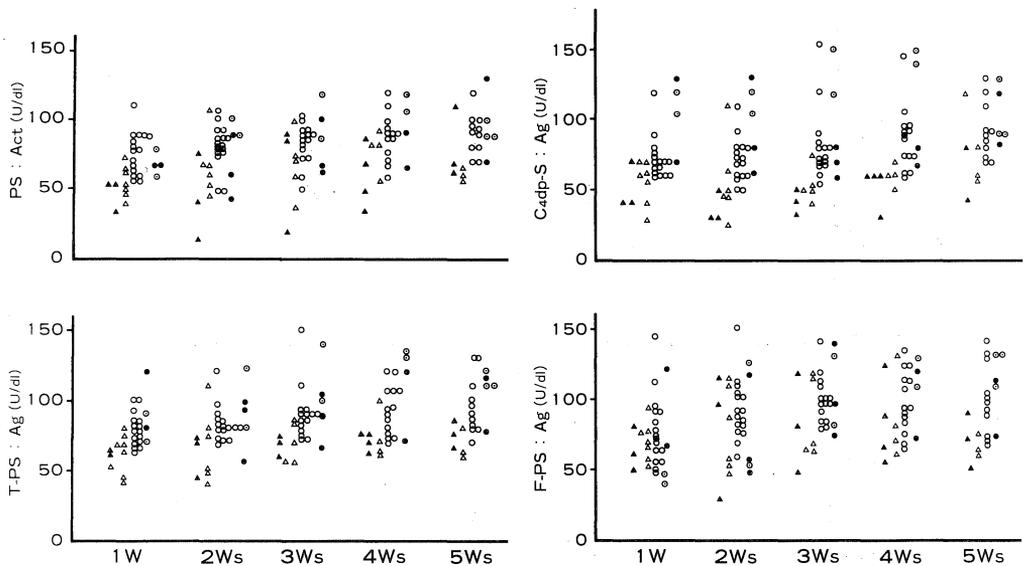


Fig. 6. Comparison of protein S activity, total-protein S antigen, protein S antigen complexed with C4b-binding protein and free-protein S antigen between with and without coronary aneurysm in mucocutaneous lymphnode syndrome.

- △ : without coronary aneurysm
- ▲ : 4.0mm ≤ coronary dilatation < 6.0mm
- ◐ : 6.0mm ≤ coronary dilatation
- : without coronary disorder
- : 4.0mm ≤ coronary dilatation < 6.0mm
- ◑ : 6.0mm ≤ coronary dilatation

%, 6か月後60%, 1年で75%と成人下限になり、また、PS抗原量は生後より1か月に至るまで遊離型が高く、C4b-binding protein (C4bp)の増加に並行して3か月後は遊離型およびC4bp結合型の存在比率が成人と同様一定比率をあることを観察している。

MCLSは通常5歳以下の乳幼児に好発する血管炎で、今回の検索でも3~11か月の乳児は11例で、1~7歳5か月の小児は23例であった。したがって、これら患児のPCおよびPSについて1歳未満の群と1歳以上の群に大別して経時的推移を観察した。

PCについては、第1病週、PC: Actは1歳未満群42.0 ± 13.8 U/dl (n=10)、1歳以上群51.4 ± 13.8 U/dl (n=20)と中等度低下していたが、以後漸増し、それぞれ第4病週および第5病週には正常範囲内に復した。同様にPC: Agは第1病週には1歳未満群51.9 ± 20.5 U/dl (n=10)、1歳以上群68.2 ± 18.6 U/dl (n=20)と減少していたが、以後漸増し、それぞれ第3病週および第5病週には正常範囲内に復した。したがって、PC: Act, PC: Agともに急性期には明らかに低下していたが、以後漸増し、第3~5病週には正常範囲内に復した。

一方、PSについては、第1病週、PS: Actは1歳未満群52.2 ± 11.7 U/dl (n=10)、1歳以上群73.6 ± 14.7 U/dl (n=20)と軽度減少していたが、以後漸増し、それぞれ第2病週および第4病週には正常範囲内に復した。同様にT-PS: Agは第1病週には、1歳未満群62.0 ± 12.0 U/dl (n=10)、1歳以上群82.4 ± 16.5 U/dl (n=20)と軽度低下していたが、以後漸増し、それぞれ第2病週および第3病週には正常範囲内に復した。C4bp-S: Agについても第1病週には、1歳未満群53.0 ± 15.4 U/dl (n=10)、1歳以上群78.8 ± 21.3 U/dl (n=20)と軽度低下していたが、以後漸増し、それぞれ第5病週および第3病週には正常範囲内に復した。また、F-PS: Agについては1歳未満群(n=10)は正常範囲下限より漸増するように推移したが、第5病週にはやや低下した。1歳以上群では第1病週75.8 ± 22.4 U/dl (n=20)と軽度低下していたが、以後漸増し、第2病週には正常範囲内に復した。以上のごとくPS: Act, PS: Agともに急性期に軽度低下し、回復までの時間に多少の差異はあるものの漸増して正常範囲内に復するという動態を示した。

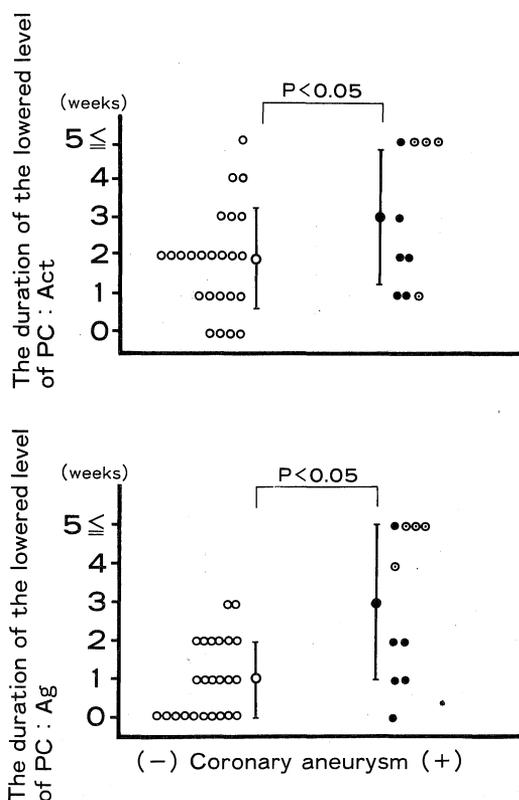


Fig. 7. Comparison of the duration of the lowered levels of protein C activity and protein C antigen between with ((●) aneurysm, (⊙) giant aneurysm) and without (○) coronary aneurysm in mucocutaneous lymphnode syndrome.

lowered levels of protein C activity and protein C antigen $\left\{ \begin{array}{l} \text{less than} \\ \text{1 year : } < 60\text{u/dl} \\ \text{older than} \\ \text{1 year : } < 80\text{u/dl} \end{array} \right.$

さらに、二次元交差免疫電気泳動法により PC 抗原および PS 抗原を観察したが、PC 抗原は 1 歳未満、以上両群で第 1 病週には正常乳児、小児の 1/2~2/3 peak 高を示したが、以後増高し、第 3 病週には正常の peak 高となった。経過中 arc の易動度に変化はなく PIVKA-PC などの異常タンパクの存在も認められなかった。この所見は、PC: Act/PC: Ag が各病週平均で、1 歳未満群 0.79~0.93、1 歳以上群 0.78~1.01 と活性・抗原の明らかな解離を認めなかったことから推察されうるものであった。同様に PS 抗原は 1 歳未満、以上両群で第 1 病週には、slow moving arc, fast moving arc とともに正常乳児、小児の 1/2~2/3 peak 高であったが、以後増高し、第 3 病週には正常の peak 高となった。いずれの時期も arc

の易動度は変化はなく、PS: Act/F-PS: Ag が各病週平均で、1 歳未満群 0.75~0.97、1 歳以上群 0.85~0.92 と活性・抗原の明らかな解離を認めなかったことより、MCLS の各病週で PIVKA-PS の出現はないものと考えられた。

ビタミン K 依存因子である第 II, VII, IX, X 因子および PC, PS の MCLS における変動について、安居の報告²⁷⁾と著者の成績より、急性期には第 IX, X 因子活性 (F. IX: Act, F. X: Act) は不変であったが、第 VII 因子活性 (F. VII: Act) および PC: Act, PC: Ag は明らかに低下しており、一方、第 II 因子活性 (F. II: Act) および PS: Act, PS: Ag は軽度低下していた、

急性期の PC と PS の間で低下の程度にやや差を認めるが、F. VII, PC の半減期がそれぞれ 1.5~5 時間、6~8 時間と他のビタミン K 依存因子に比べると短く、一方、PS の半減期は 2~3 日と F. VII や PC に比べて長い³⁸⁾ことがこれら因子の消費と肝での産生バランスに影響を与え、PS の低下度は PC の低下度に比し軽度であったと推察される。

MCLS におけるこのような PC, PS の低下の成因は不明であるが、急性期においては AT-III²¹⁾⁻²⁴⁾²⁶⁾²⁷⁾、プロトロンビン活性 (F. II: Act) の軽度低下²⁷⁾、血漿フィブネクチンの低下、可溶性フィブリンモノマー複合体の増加³⁹⁾およびトロンボエラストグラムでの凝固亢進所見³⁷⁾などが報告されており、このことより凝固亢進状態にあることが考えられ、PC, PS についても消費が亢進しているのではないかと思われる。ただし、pre-DIC を思わせるような血小板減少を示す症例³⁹⁾は認めなかった。また、今回の検索で、肝機能障害と PC および PS との間に明らかな関連性はなかったものの、肝機能障害を有している状態での PC および PS の産生亢進は考え難く、消費優位状態にあるのではないかと思われる。

MCLS の病態は全身の小・中動脈に生ずる血管炎であるが、経過中特に留意すべき症候および所見としては血小板増多、黄疸、血清トランスアミナーゼ値上昇、冠動脈病変の出現などである。ここでは著者は MCLS 患児における PC および PS の推移について、冠動脈瘤との関連性より検討した。PC および PS とともに有意な関係を持たなかったが、冠動脈瘤を認める群は、PC: Act, PC: Ag, PS: Act および F-PS: Ag については低値の持続期間が有意に延長しているとの結果を得た。つまり、MCLS 患児では冠動脈瘤は PC および PS の値とは有意な関係を持たなかったものの、PC および PS 低値の持続期間に關係するように考えられ、PC, PS の低値が持続する際には冠動脈瘤の出現に留意する必要があると思われる。

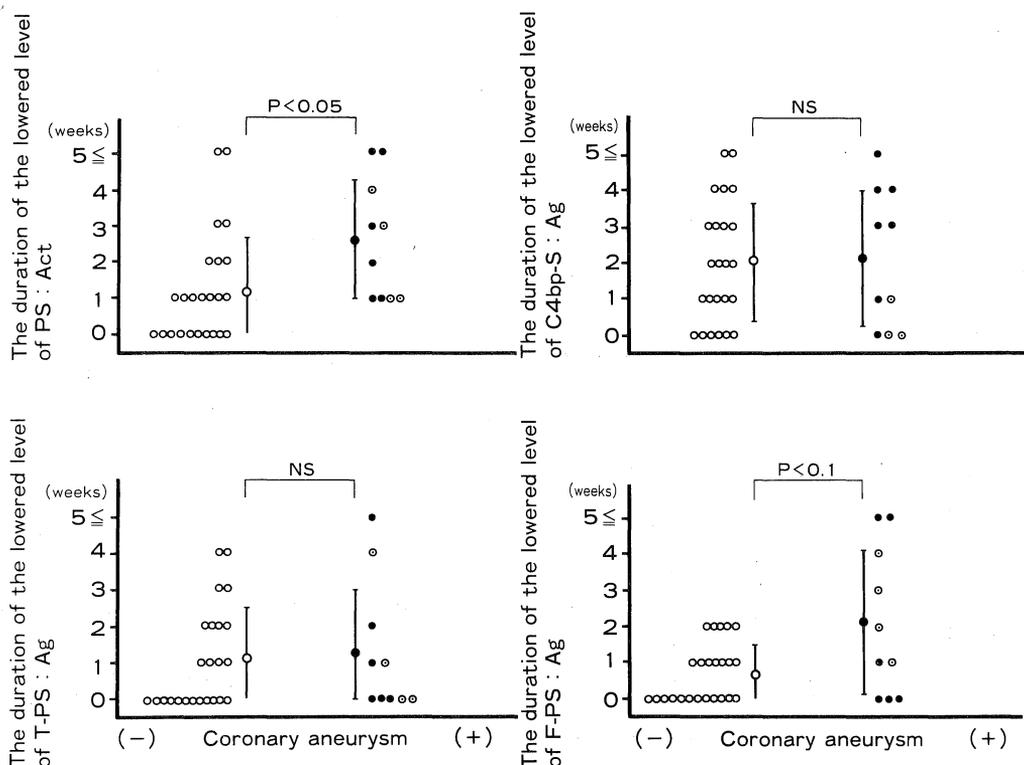


Fig. 8. Comparison of the duration of the lowered levels of protein S activity, total -protein S antigen, protein S antigen complexed with C4b-binding protein and free-protein S antigen between with ((●) aneurysm, (○) giant aneurysm) and without (○) coronary aneurysm in mucocutaneous lymphnode syndrome.

lowered levels of protein C activity, total-protein S antigen, protein S antigen complexed with C4b-binding protein and free-protein S antigen { less than 1 year : <60u/dl
older than 1 year : 80u/dl

た。

以上のように本稿ではMCLSの急性期においてPCの中等度低下とPSの軽度低下という結果を得たが、PC: Act, PS: Actは30~50%程度でも血栓をおこしうるものであり⁴⁰⁾⁴¹⁾、したがって、これは冠動脈塞栓の出現にとって大きなRiskの一つと考えられ、今後、予防・治療に対しても検討を加えていく必要があると思われた。

結 語

急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群(MCLS)患児34例(3か月~7歳5か月)について第1病週から第5病週まで1週毎にプロテインC(PC)およびプロテインS(PS)の推移を検索した。

1. PCの活性、抗原量は、ともに第1病週中等度低下していたが、以後、漸増して第3~5病週には正常範囲内に復した。

2. PS活性、全PS抗原量およびC4bp結合PS抗原量は、第1病週軽度低下していたが、以後、漸増して第2~5病週には正常範囲内に復した。

3. 遊離PS抗原量は第1病週正常~軽度低下しており、以後、正常範囲内を漸増していった。

4. PCおよびPS抗原を二次元交差免疫電気泳動法により観察したが、PIVKA-PCあるいはPIVKA-PSの出現は認めなかった。

5. 冠動脈瘤を認めない群と認める群で経過中のPCおよびPSは、有意な関係を持たなかったが、冠動脈瘤を認める群では、PCおよびPSの低値の持続期間には有意に延長していた。

本論文の要旨は第31回日本小児血液学会(平成元年9月 長崎)において発表した。

文 献

- 1) **Stenflo, J.** : A new vitamin K-dependent protein. Purification from bovine plasma and preliminary characterization. *J. Biol. Chem.* **251** : 355-363, 1976.
- 2) **Kisiel, W.** : Human plasma protein C. Isolation, characterization, and mechanism of activation by α -thrombin. *J. Clin. Invest.* **64** : 761-769, 1979.
- 3) 清水信義 : ヒト染色体の遺伝子マッピング. *日本臨牀* **47** 増刊 DNA 診断 : 20-58, 1989.
- 4) **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** : 859-864, 1982.
- 5) **Marlar, R. A., Kleiss, J. A. and Griffin, J. H.** : Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. *Blood* **59** : 1067-1092, 1982.
- 6) **DiScipio, R. G., Hermodson, M. A., Yates, S. G. and Davie, E. W.** : A comparison of human prothrombin, factor IX (Christmas factor), factor X (Stuart factor), and protein S. *Biochemistry* **16** : 698-706, 1977.
- 7) **Walker, F. J.** : Reguration of activated protein C by a new protein. *J. Biol. Chem.* **255** : 5521-5524, 1980.
- 8) **Dahlbäck, B. and Stenflo, J.** : High molecular weight complex in human plasma between vitamin K-dependent protein S and complement component C4b-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **78** : 2512-2516, 1981.
- 9) **Griffin, J. H., Evatt, B., Zimmerman, T. S., Kleiss, A. J. and Winderman, C.** : Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J. Clin. Invest.* **68** : 1370-1373, 1981.
- 10) **Comp, P. C., Nixon, R. R., Cooper, M. R. and Esmon, C. T.** : Familial protein S deficiency in associated with recurrent thrombosis. *J. Clin. Invest.* **74** : 2082-2088, 1984.
- 11) 杉本充彦, 今井俊介, 螺良義彦, 橋本憲治, 今中康文, 奥 香世, 松岡宏明, 新家 興, 三上貞昭, 福井 弘, 星田 徹, 塚本政志, 岡崎孜雄 : 脳梗塞症を呈した先天性プロテインS欠乏症の1家系3症例. *臨床血液* **29** : 855-861, 1988.
- 12) **D'Angelo, S. V., Comp, P. C., Esmon, C. T. and D'Angelo, A.** : Relationship between protein C antigen and anticoagulant activity during oral anticoagulation and in selected disease states. *J. Clin. Invest.* **77** : 416-425, 1986.
- 13) **Malm, J., Laurell, M. and Dahlbäck, B.** : Change in plasma level of vitamin K-dependent protein C and S and C4b-binding protein during pregnancy and oral contraceptation. *Br. J. Haematol.* **68** : 437-443, 1988.
- 14) **Takamiya, O., Kinoshita, S., Niinomi, K. and Yoshioka, K.** : Protein C in the neonatal period. *Haemastasis* **19** : 45-50, 1989.
- 15) 橋本憲治 : 新生児期, 乳児期におけるプロテインSの推移. *奈医誌.* **40** : 421-434, 1989.
- 16) 小林 勲, 雨宮憲彦, 遠藤 武, 茂木純子, 田村康二, 久米章司, 赤羽賢浩 : 肝硬変における Protein C 活性値による肝機能の評価. *Blood & Vessel* **20** : 165-170, 1989.
- 17) 川崎富作 : 指趾の特異的落屑を伴う小児の急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群—自験例 50 例の臨牀的観察. *アレルギー* **16** : 178-222, 1967.
- 18) **Yamada, K., Fukumoto, T., Shinkai, A., Shirahata, A. and Meguro, T.** : The platelet functions in acute febrile mucocutaneous lymphnode syndrome and a trial of prevention for thrombosis by antiplatelet agent. *Acta Haem. Jpn.* **41** : 791-802, 1978.
- 19) 中村外士雄 : 川崎病における活性化血小板の検討. *日児誌.* **89** : 1845-1860, 1985.
- 20) 篠崎正樹, 大久保岩男, 石川信義, 松本脩三, 今野直樹, 富樫 要, 田坂芳郎 : MCLS における血中第VIII因子の動態についての研究—特に血栓形成との関わりについて. *日児誌.* **83** : 170-178, 1979.
- 21) 篠崎正樹, 渡辺博子, 杉本和夫, 永井蓉子, 岸本圭司, 大久保岩男, 鳥羽 剛 : 川崎病 (MCLS) における凝固, 線溶阻害因子の動態に関する検討. *日児誌.* **84** : 1405-1410, 1980.
- 22) **Shirahata, A., Nakamura, T. and Asakawa, A.** : Studies on blood coagulation and antithrombotic therapy in Kawasaki disease. *Acta Paediatr. Jpn.* **25** : 180-191, 1983.
- 23) 金田吉男, 井上成彰, 重城一仁, 前田正人, 古川 漸 : 川崎病における凝固・線溶について. *小児科臨床* **37** : 483-488, 1984.

- 24) Burns, J. C., Glode, M. P., Clarke, S. H., Wiggins, Jr. J. and Hathaway, W. E. : Coagulopathy and platelet activation in Kawasaki syndrome. Identification of patients at high risk for development of coronary artery aneurysms. *J. Pediatr.* **105**: 206-211, 1984.
- 25) 安居資司, 金 哲秀, 谷口 明, 神吉博子, 谷 一正, 武内吉彦, 上辻秀和, 岩垣克己: 急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群の血小板数, フィブリノゲン, 第VIII因子複合体及びXIII因子について. *奈医誌.* **30**: 235-241, 1979.
- 26) 安居資司, 神吉博子, 谷口 明, 澤井 遵, 塚田周平, 平 康二, 上辻秀和, 福井 弘: 急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群における線溶因子及び線溶抑制物質について. *奈医誌.* **32**: 197-207, 1981.
- 27) 安居資司: 小児の血管炎とくに急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群 (MCLS) と Schönlein-Henoch 紫斑病 (SHP) の凝固・線溶動態に関する研究 第1報: MCLS と SHP の血中凝固・線溶能. *奈医誌.* **32**: 197-207, 1981.
- 28) 高宮 脩: 指定発言: 免疫吸着法による各種ビタミンK依存性凝固因子 (第II, 第VII, 第IX, 第X因子およびプロテインC) 欠乏血漿の作製と臨床応用. *臨床病理* **61**: 119-123, 1985.
- 29) Sugimoto, M., Mikami, S., Hashimoto, K., Kanehiro, T., Oku, K., Imanaka, Y., Imai, S., Tsubura, Y. and Fukui, H. : Enzyme-linked immunosorbent assay for total protein S antigen and for protein S antigen complexed with C4b-binding protein-Determination of free protein S antigen in plasma. *J. Nara Med. Ass.* **38**: 593-599, 1987.
- 30) Martinoli, J. L. and Stocker, K. : Fast functional protein C assay using PROTAC, A novel protein C activator. *Thromb. Res.* **43**: 253-264, 1986.
- 31) Suzuki, K. and Nishioka, J. : Plasma protein S activity measured using protac, a snake venom derived activator of protein C. *Thromb. Res.* **49**: 241-251, 1988.
- 32) 尾内善四郎: 川崎冠動脈病変の心エコー図診断. 川崎病 (川崎富作, 重松逸造, 濱島義博, 柳川 洋, 加藤裕久編). 南洋堂, 東京, p178-185, 1988.
- 33) 中野博行: 冠動脈病変予知因子. *小児科* **28**: 1021-1030, 1987.
- 34) Andrew, M., Paes, B., Milner, R., Johnston, M., Mitchell, L., Tollefsen, D. M. and Powers, P. : Development of the human coagulation system in the fullterm infant. *Blood* **70**: 165-172, 1987.
- 35) Takamiya, O. : Studies on protein C in infancy and childhood. *J. Nara Med. Ass.* **38**: 179-185, 1987.
- 36) 多胡博雄, 風間浩美, 細野稔彦, 鈴木慎一郎, 水谷正興, 小屋二六, 青木繼稔: 川崎病における plasma fibronectin (PFC) と soluble fibrin monomer complex (SFMC) の経日的変化と凝固線溶系に関する研究. *日児誌.* **93**: 87-91, 1989.
- 37) 播磨良一, 池田輝生, 児嶋茂男, 里村憲一, 原 達幸, 黒瀬裕夫, 藪内百治, 大原竜彦, 松尾裕英, 本射滋巳: TEG 所見からみた川崎病の凝固亢進について. *日児誌.* **83**: 1339, 1979.
- 38) 岡本則彦, 石井裕子, 梅沢哲郎, 左地 勉, 沢 文博, 月本一郎: 血小板減少症を合併した MCLS の6例. *小児科臨床* **41**: 147-150, 1988.
- 39) 鈴木宏治: プロトロンビンファミリーの構造. ビタミンK (岩永貞昭, 齊藤英彦, 松田道生編). *メディカルジャーナル社*, 東京, p102, 1988.
- 40) 丸山征郎: Protein C-Thrombomodulin system. *Blood & Vessel* **18**: 289-298, 1989.
- 41) 神谷 忠: プロテインS と血栓症. *Blood & Vessel* **17**: 89-98, 1986.