



凝固検査の基礎 Dダイマーについて



2010年2月25日

シスメックス株式会社

東京支店学術情報課



目次



1. Dダイマーの産生と測定意義について

- Dダイマーの産生
- 一次線溶と二次線溶
- DICとFDP、Dダイマー

2. Dダイマーの測定原理について

- 装置と試薬の特性
- FDP/Dダイマー標準化

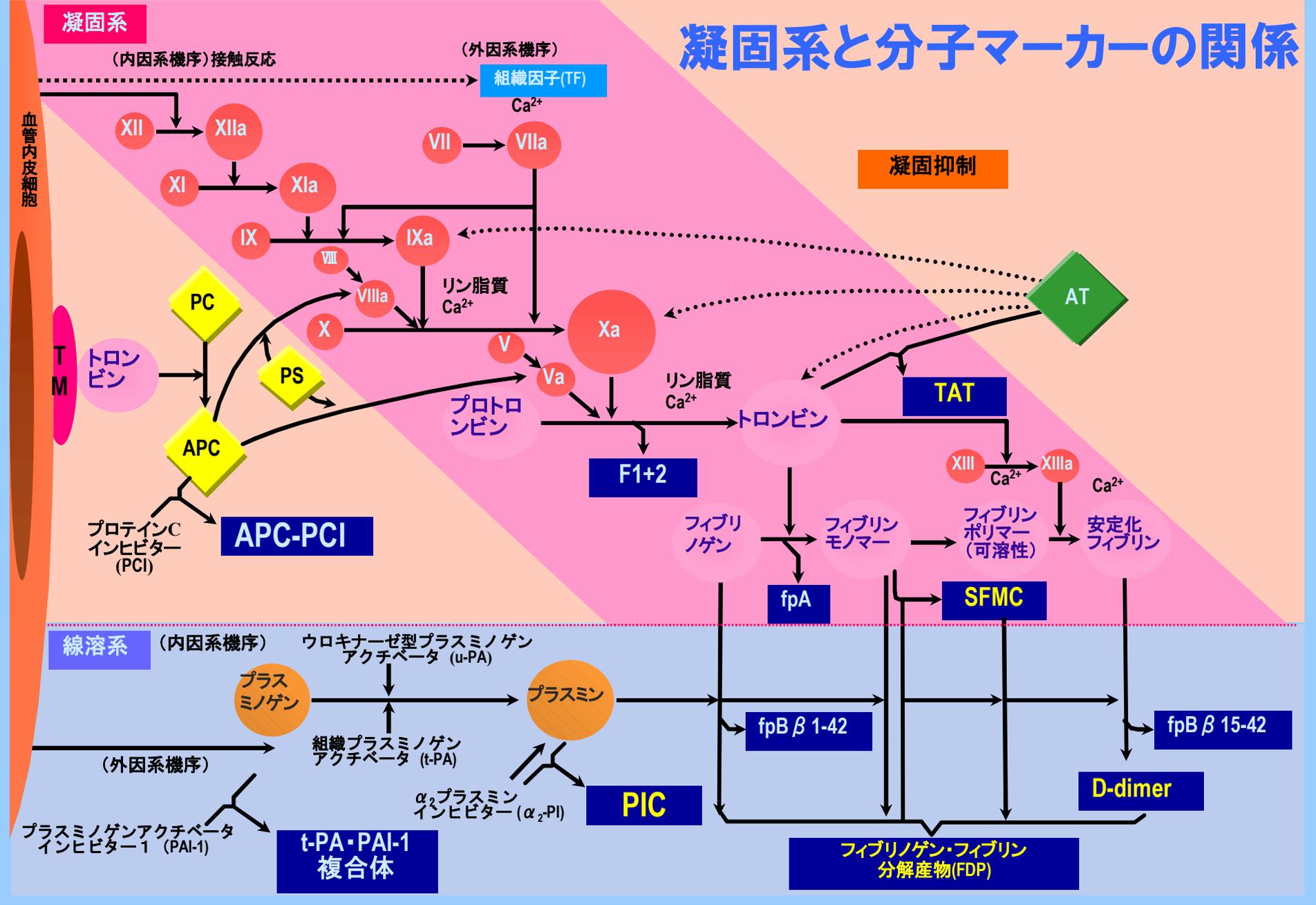
3. Dダイマーと深部静脈血栓症(DVT)について

- Dダイマーを用いたDVTの除外診断

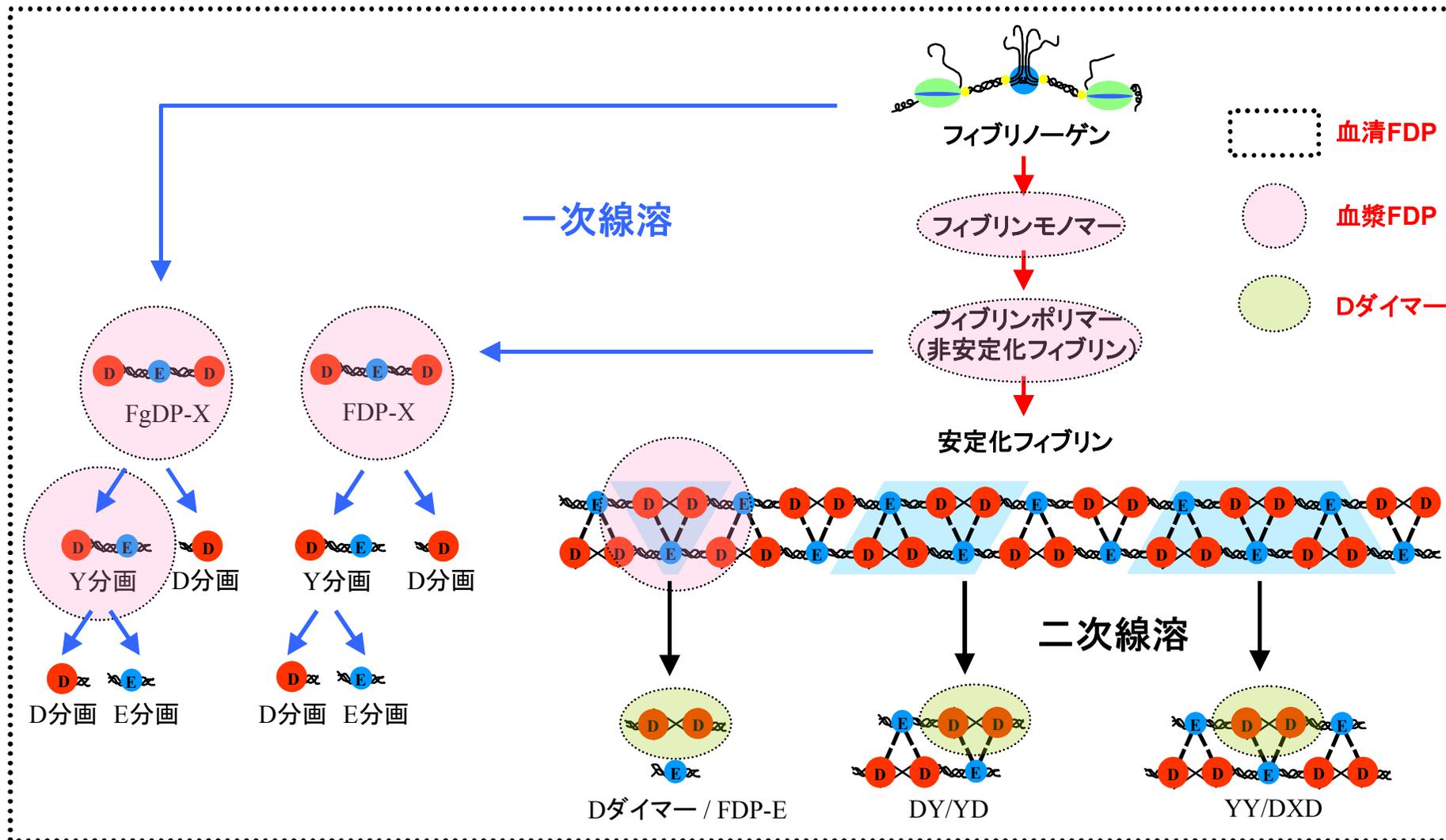




凝固系と分子マーカーの関係



FDPとDダイマー



フィブリノーゲン、フィブリンのプラスミンによる分解産物



Dダイマーの測定意義



- **線溶系の分子マーカー**
- **生体内の凝固・線溶状態の把握**
Dダイマー:二次線溶亢進 (FDP:一次線溶亢進)
- **DIC、出血傾向、血栓症の診断**
(深部静脈血栓症のモニター)
- **DICを起こしやすい基礎疾患の経過観察**
- **血栓溶解療法時の治療効果や経過観察**



DIC *(Disseminated intravascular coagulation)*

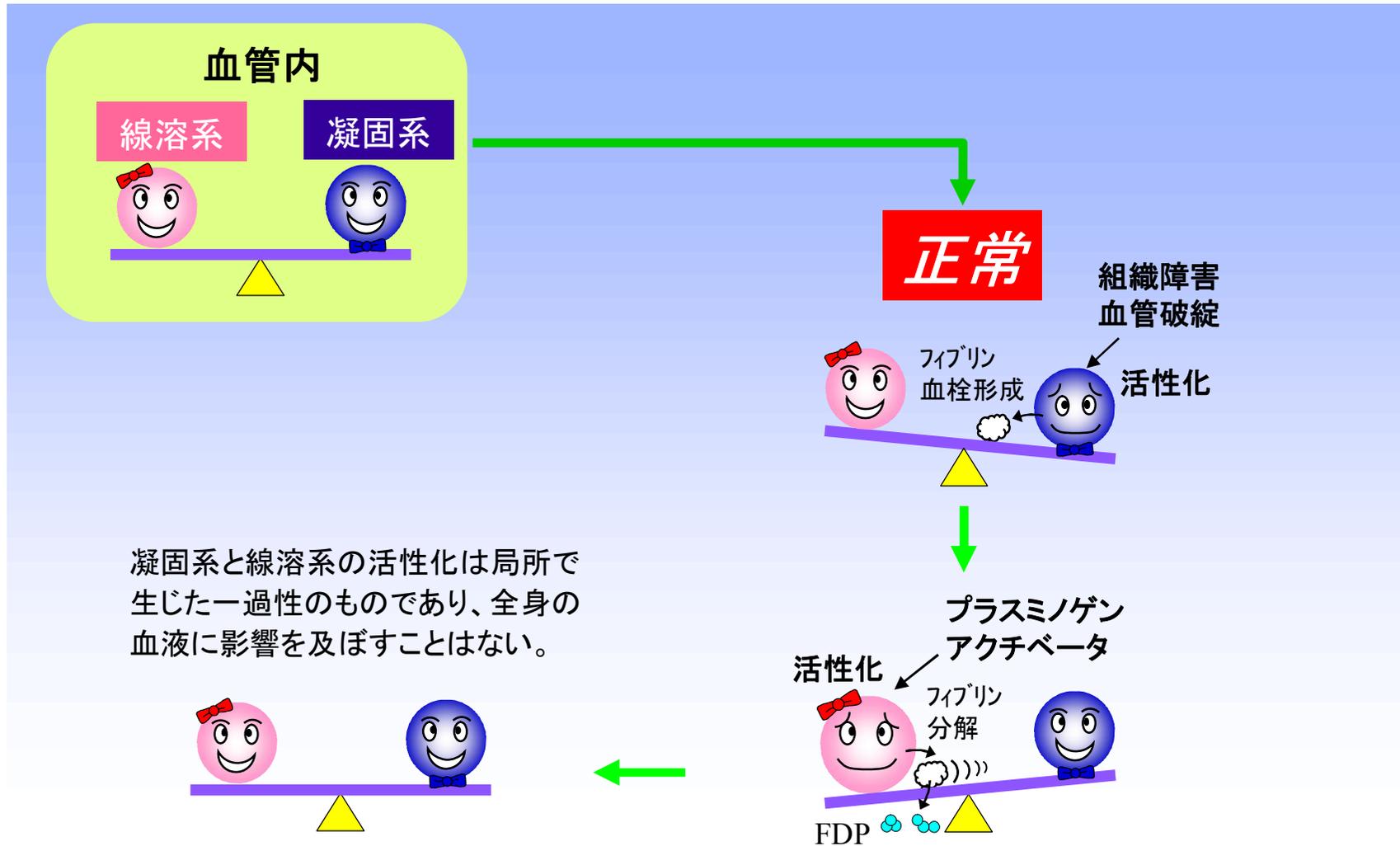


播種性血管内凝固症候群

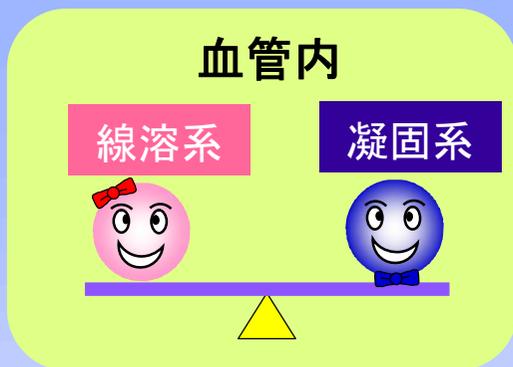
- 基礎疾患があり、何らかの機序で血管内凝固が起こり、血小板、凝固因子が消費され、あわせて線溶の亢進が重なり、重篤な出血傾向を呈したり、臓器障害を起こす。
- 基礎疾患とは、悪性腫瘍（癌、前骨髄球性白血病）、感染症（敗血症、劇症肝炎）などが多い



DICとは？ ①

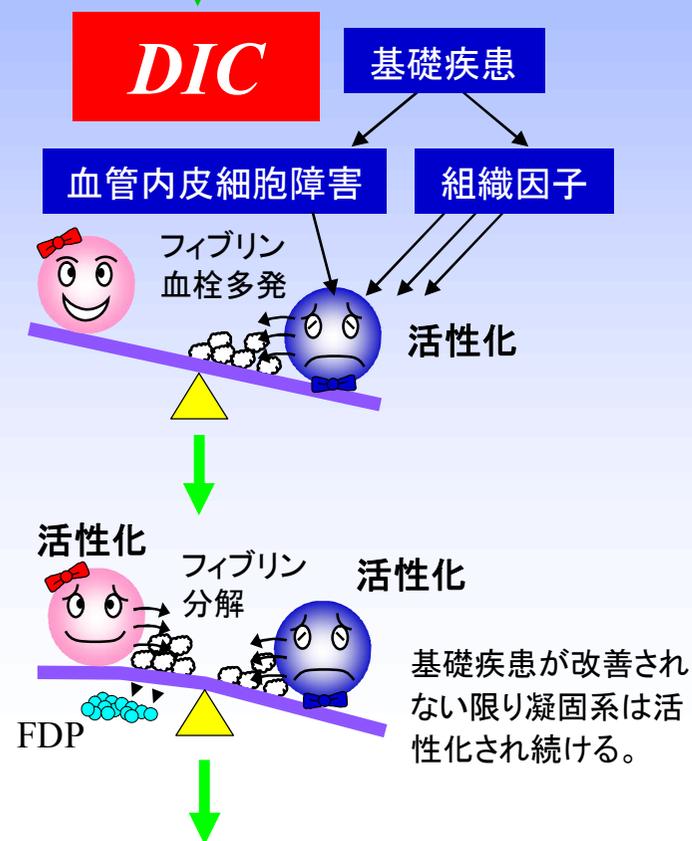


DICとは？ ②

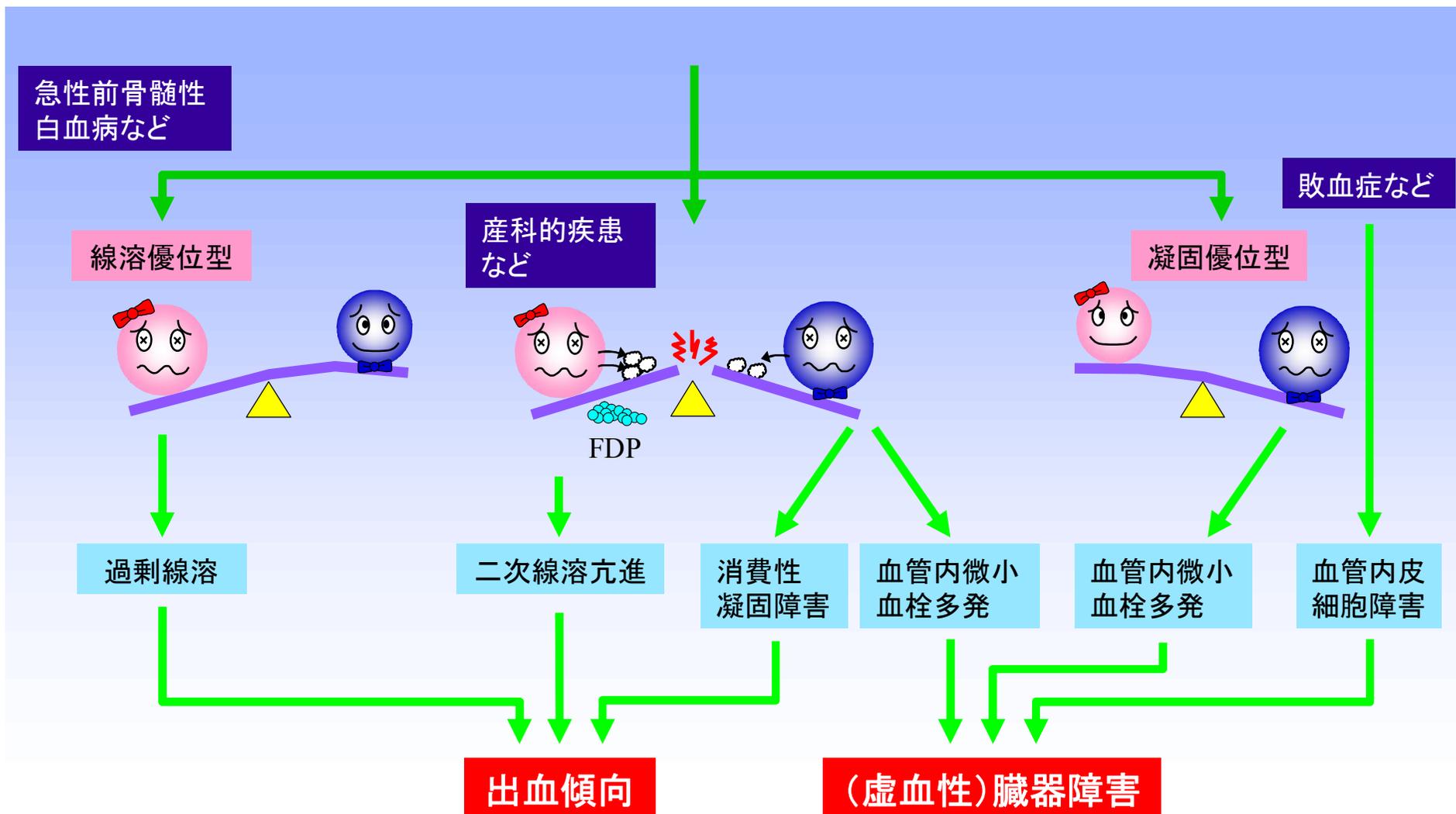


●どんな病気か

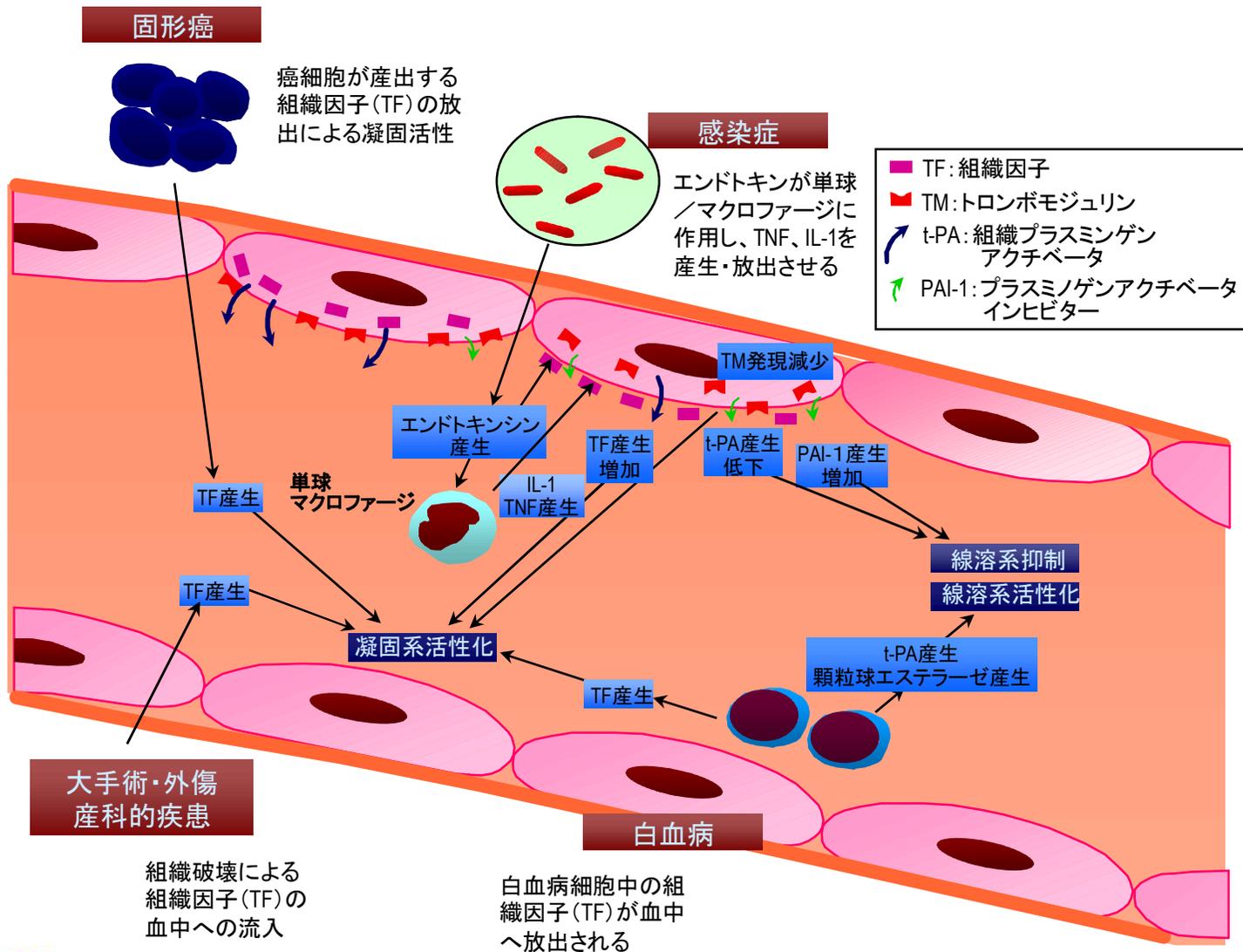
DICとは、何らかの原因によって、血管内で微小血栓が全身性に形成され、臓器障害を起こす一方、出血傾向を示す病態である。
DICには、必ず基礎疾患が存在する。



DICとは？ ③



疫病概念



血中への
組織因子
の流入
▼
凝固系を
活性化



DICを発現しやすい疾患



内科・外科・小児科・産婦人科全体でDICの発現しやすい疾患

1) 急性前骨髄球性白血病	65.0% (93/143)
2) 劇症肝炎	34.8% (16/46)
3) 常位胎盤早期剥離	31.3% (20/64)
4) Wilms腫瘍	30.0% (3/10)
5) 急性呼吸促迫症候群 (ARDS)	25.0% (17/68)
6) 慢性骨髄性白血病の急性転化	22.8% (26/114)
7) 敗血症	20.0% (131/654)
8) 急性リンパ性白血病	17.9% (74/413)
9) 成人T細胞性白血病	16.9% (10/59)
10) 急性骨髄単球性白血病	16.9% (14/83)

(厚生省 特定疾患 血液凝固異常症調査研究班 平成4年度研究報告より)



DICでのFDP/Dダイマー測定の意味



DICにおいて、基礎疾患により2つのタイプがある

➤ FDPは増加するが、Dダイマーはあまり増加しない

- ✓ 一次線溶タイプ
- ✓ 線溶亢進が有意で出血傾向の強いタイプ
- ✓ 代表的疾患は、急性前骨髄球性白血病

➤ Dダイマー中心のFDPが増加

- ✓ 二次線溶タイプ
- ✓ 凝固亢進し血栓形成が有意となり多臓器不全を引き起こす
- ✓ 代表的疾患は、敗血症のDIC

上記DIC以外でも深部静脈血栓症 (Deep vein thrombosis:DVT) や肺血栓塞栓症 (Plumonary thromboembolism:PTE) でもFDP/Dダイマーは高値を示す。



一次線溶が亢進する疾患は？



(一次線溶の発生は稀とされていますが…)

- APLなどの白血病
- ショック
- 大手術後
- 肝硬変
- 妊娠中毒症
- APLからのDIC
- 胎盤早期剥離
- 体外循環使用時
- 火傷

また、Urokinase投与、tissue Plasminogen Activatorなどの抗血栓療法を実施している患者においても上昇

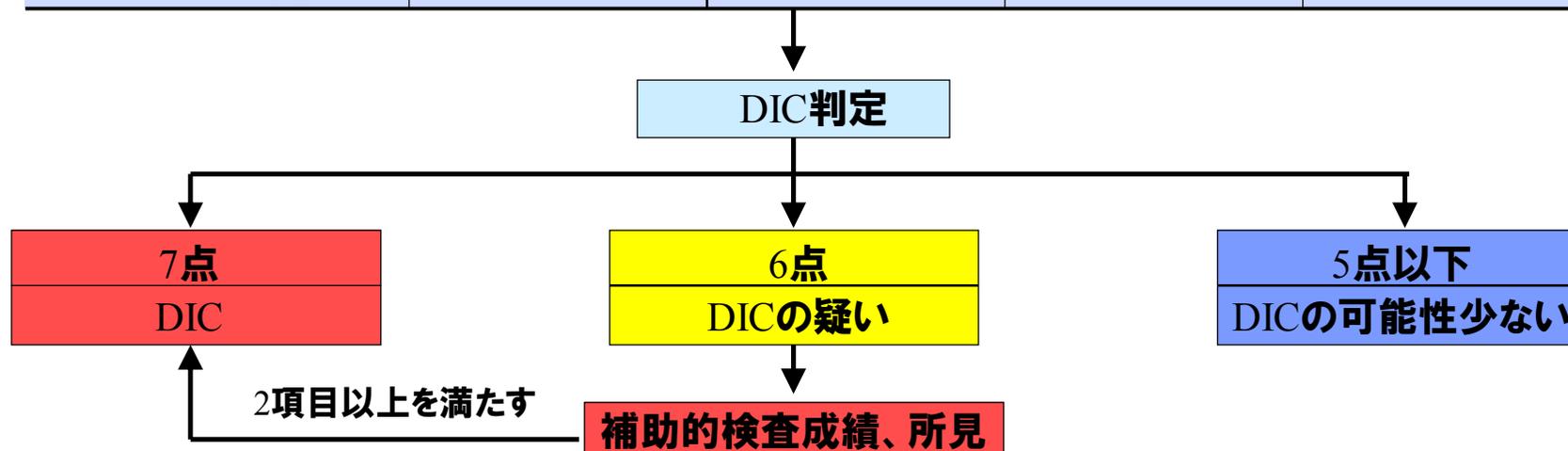
一過性の一次線溶亢進か、継続的な亢進か確認の必要がある。
⇒時系列で確認。



DIC診断基準 厚生省(1988年) ①



1項目あたりの得点	0点	1点	2点	3点
基礎疾患	無	有		
出血症状	無	有		
臓器症状	無	有		
血清FDP(μ g/ml)	<10	$10 \leq \sim < 20$	$20 \leq \sim < 40$	$40 \leq$
血小板($\times 10^4/\text{mm}^3$)	>12	$12 \leq \sim > 8$	$8 \leq \sim > 5$	$5 \leq$
フィブリノーゲン(mg/dl)	>150	$150 \geq \sim > 100$	$100 \geq$	
PT PT比	<1.25	$1.25 \leq \sim < 1.67$	$1.67 \leq$	



厚生省のDIC診断基準(1988年改訂)



補助的検査成績所見

1. 可溶性フィブリンモノマー陽性
2. Dダイマー高値
3. トロンビンアンチトロンビンIII複合体(TAT)高値
4. プラスミン- α 2プラスミン・インヒビター複合体(PIC)高値
5. 病体の進展に伴う得点増加傾向の出現。
特に、数日以内で血小板数あるいはフィブリノゲンの急激な減少傾向ないしFDPの急激な増加傾向の出現。
6. 抗凝固療法による改善



厚生省DIC診断基準の特徴と問題点



厚生省DIC診断基準の特長

- ①典型的DIC症例における臨床症状、検査所見を示している。
- ②スコアリングによる客観性。
- ③重症度判定としてもある程度流用可能。

厚生省DIC診断基準の問題点

- ①基礎疾患が存在するのは当然であり、スコアリングには意味が無い。
- ②臨床症状のスコアリングは、症状が出ないとDICと診断されにくいいため、早期診断に有用ではない。
- ③PTやFbgは肝不全に関連して変動しやすく、肝不全例をDICと誤診したり、肝不全が無い例を見逃したりしやすい。
- ④臨床所見が検査所見に対してスコアが低い。



DIC診断基準 ISTH/SCC (2001年)



基礎疾患の有無 有：診断アルゴリズムの続行 無：診断アルゴリズムを使用しない

1項目あたりの得点	0点	1点	2点	3点
血小板(×10 ⁹ /l)	>100	<100	<50	
可溶性フィブリンモノマ (フィブリン関連マーカー)	増加なし		中等度の増加	高度の増加
PT延長	< 3 sec.	> 3 ~ < 6 sec.	< 6 sec.	
フィブリノーゲン (gram/l)	>1.0	< 1.0		

DIC判定

> 5点

DIC

スコアリングを繰り返す

5点<

DICの可能性少ない

1~2日後 再実施する



DIC診断基準 救急領域（2005年）



スコア	SIRS	血小板	FDP or Dダイマー	PT比
1	診断基準3項目以上	12万/uL未満 or24時間以内に30%減少	10ug/mL以上 (Dダイマーは換算表を利用)	1.2以上
2	スコア2はつけない			
3	なし	8万/uL未満 or24時間以内に50%減少	25ug/mL以上 (Dダイマーは換算表を利用)	なし

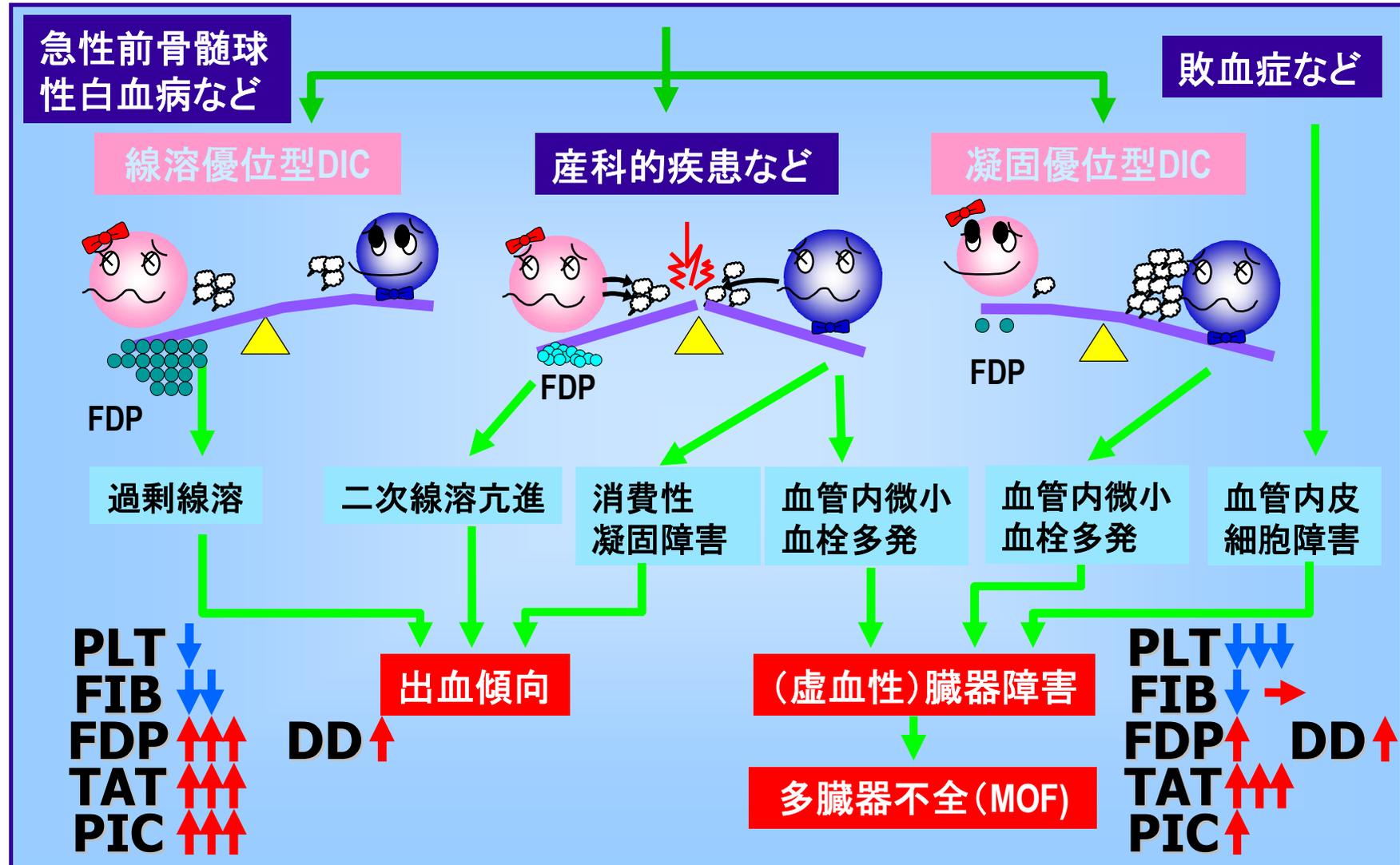
合計4点以上をDICと診断する

2005年日本救急医学会

※SIRS(sepsis severe sepsis septic shock): 全身性炎症反応症候群



基礎疾患からみたDICの分類



目次



1. Dダイマーの産生と測定意義について

- Dダイマーの産生
- 一次線溶と二次線溶
- DICとFDP、Dダイマー

2. Dダイマーの測定原理について

- 装置と試薬の特性
- FDP/Dダイマー標準化

3. Dダイマーと深部静脈血栓症(DVT)について

- Dダイマーを用いたDVTの除外診断



凝固検査の測定方法

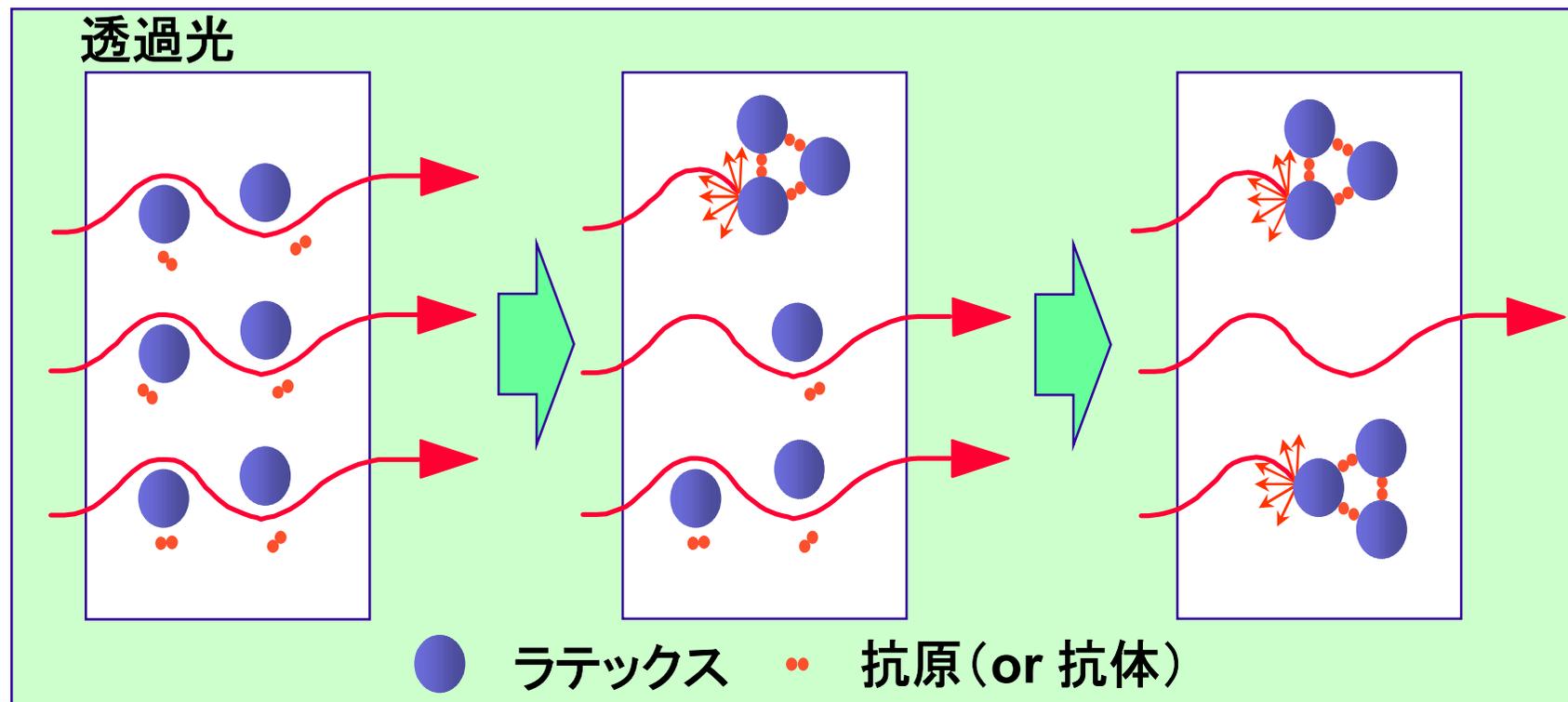


凝固時間法

合成基質法

免疫比濁法

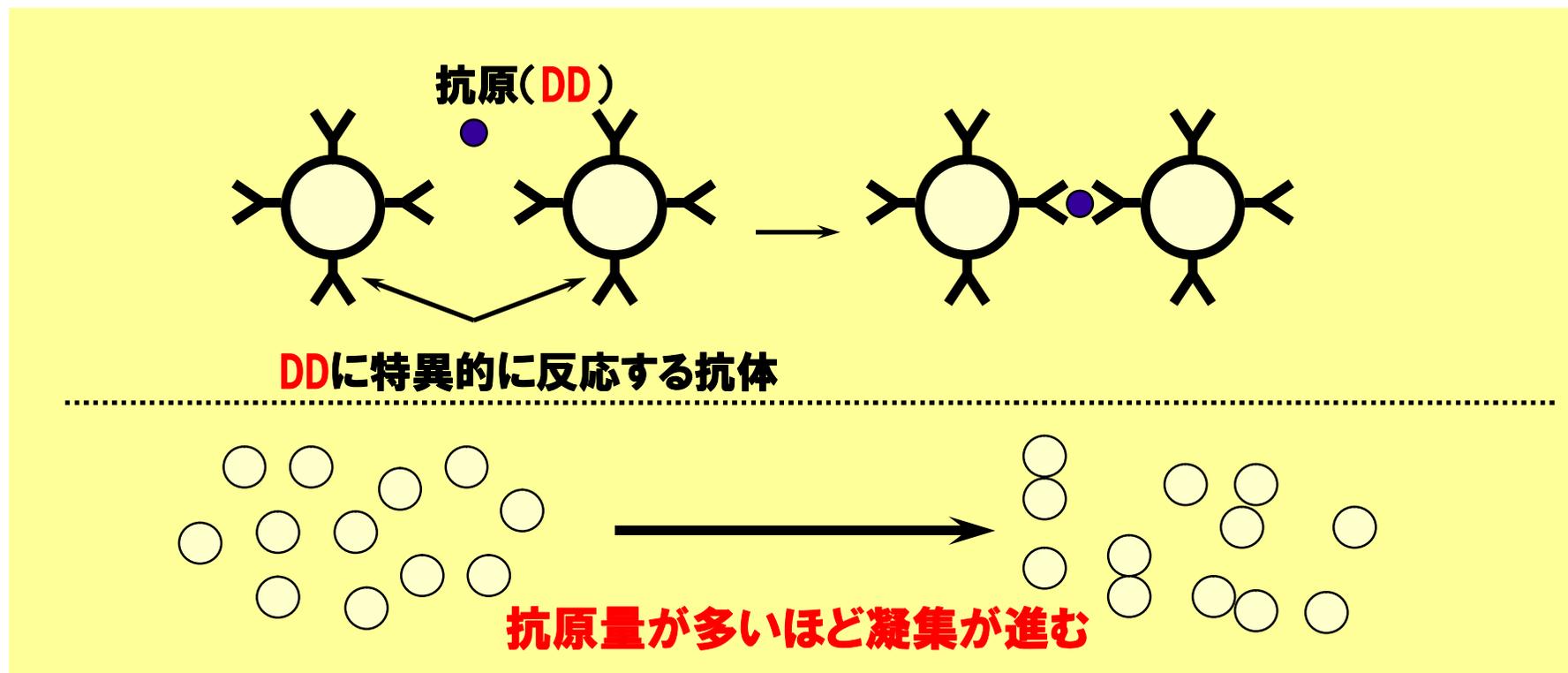
ラテックス凝集法試料を透過した光を捉え、単位時間当たりの吸光度の変化量より目的物質の濃度を算出します。



免疫学的測定法の原理①



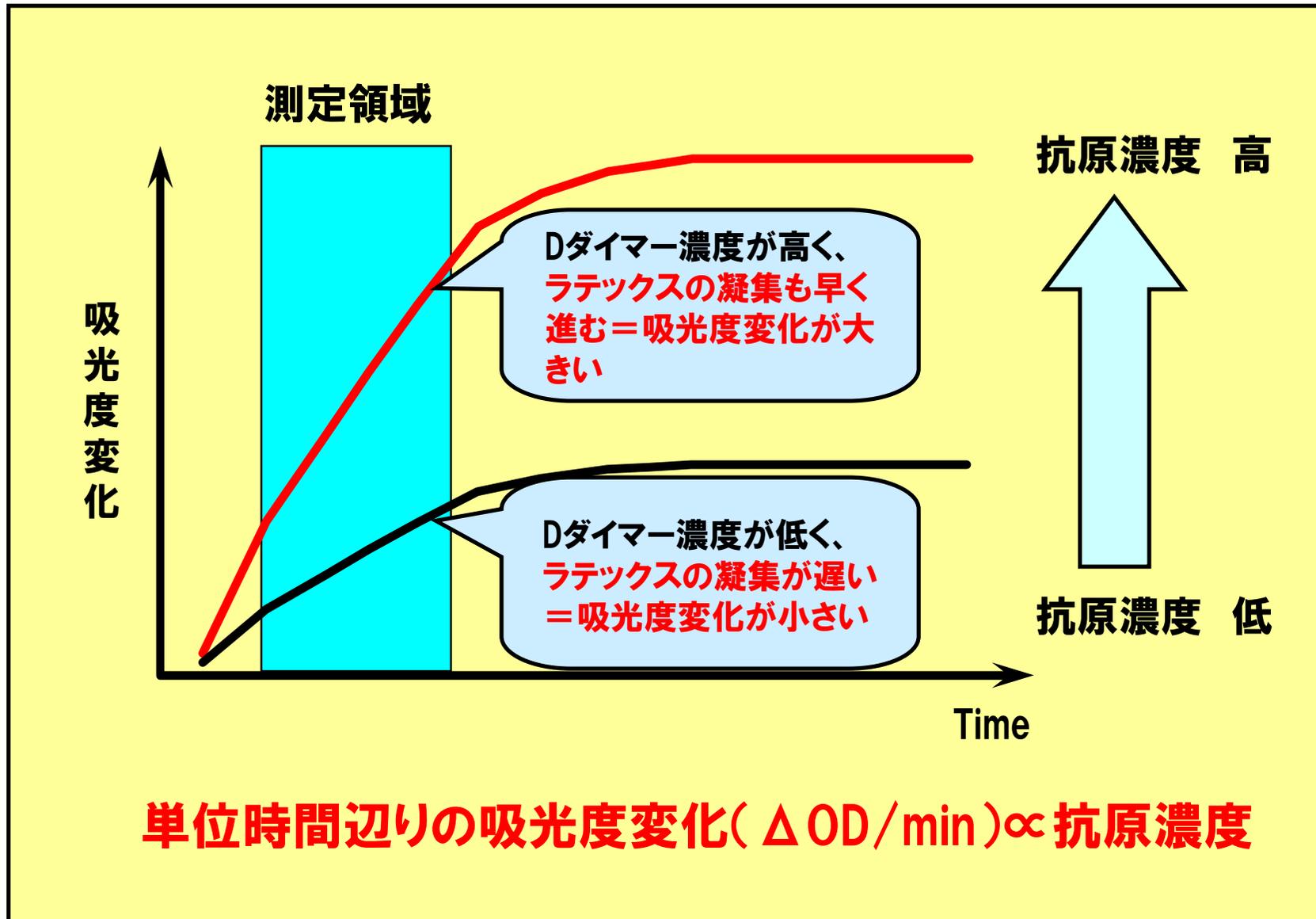
抗体結合ラテックス粒子と試料にふくまれるFDPが反応すると、その量に応じてラテックス粒子が凝集する。



凝集の度合い→目視や、比濁法などで確認



免疫学的測定法の原理②



FDP・Dダイマー測定の問題点



- 単一な分子ではなく、様々な分解過程の生成物で多様性に富んでいる。
- FDPは一次線溶と二次線溶を反映し、Dダイマーは二次線溶を反映するものと分けて考える事が多いが、実際の生体内では両者が共存しており病体によってバランスが変化する。
- モノクローナル抗体を用いた測定系は特性が様々であり、測定値は個々のキットによって異なる。
- Dダイマーでは2種類(Dダイマー換算値、フィブリノゲン換算値)の単位がありデータが異なる。



当社FDP,Dダイマー試薬の反応性



■血清FDP 試薬反応性

試薬	抗体	Fbg	X	Y	D	E	高分子	低分子
FDPラテックス試薬2		++	++	+++	+++	-	+	+++

■血漿FDP 抗体の反応性

試薬	抗体	Fbg	X	Y	D	E	高分子	低分子
ラテックステストBL-2P-FDP		-	++	++	+	+	+++	++

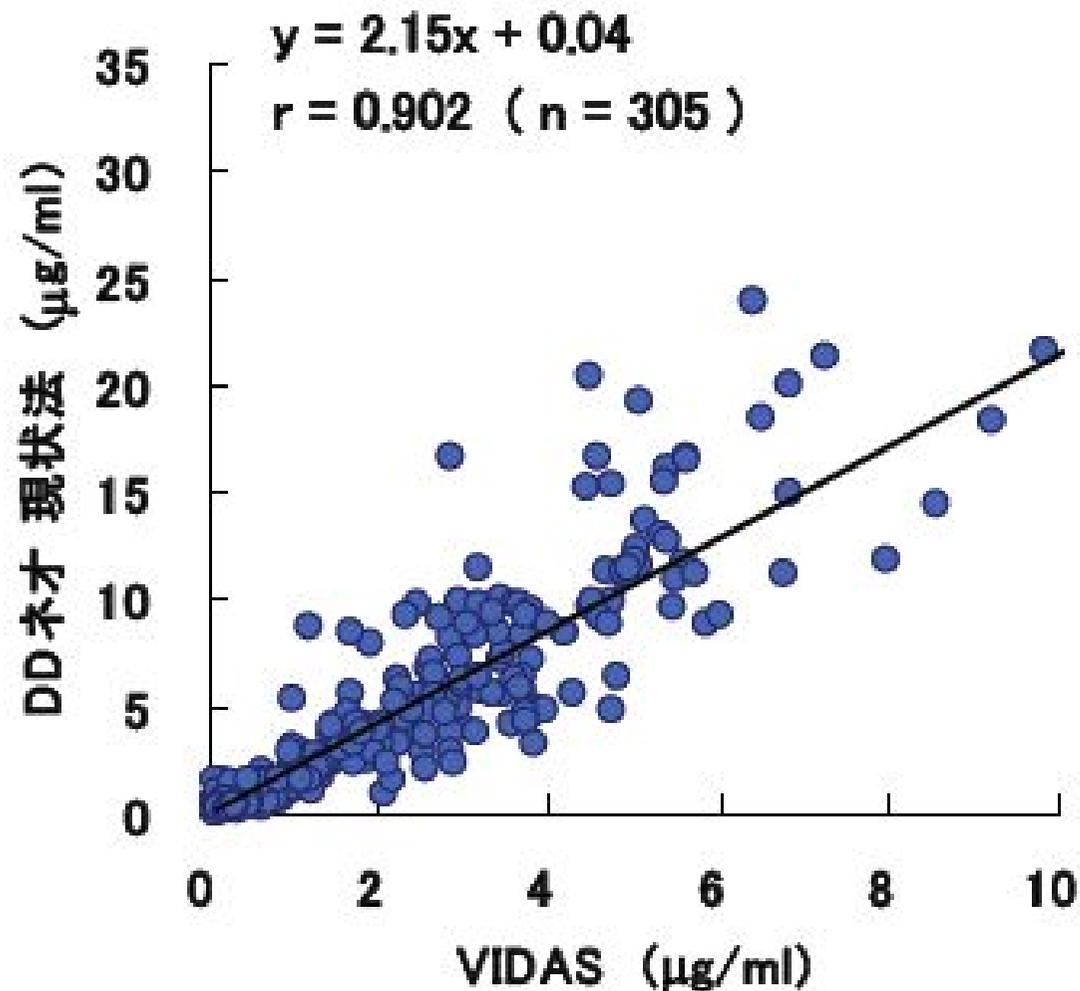
■Dダイマー 抗体の反応性

試薬	抗体	Fbg	X	Y	D	E	高分子	低分子
リアスオート・Dダイマーネオ	M1653	-	(+)	(+)	(+/-)	-	++	+
AGEN Dダイマー	DD3B6	-	(+/-)	(+/-)	(+/-)	-	+	+

反応の強弱はELISA法による ()はWesternBlotting方による反応性を示している



弊社Dダイマー試薬の比較



X: バイダスアッセイキットDダイマー(フィブリノゲン換算量STD)

Y: リアスオートDダイマーネオ (Dダイマー換算量STD)



FDP・Dダイマーの標準化



FDP・Dダイマーの標準化は困難な理由

- FDPとDダイマーは単一の物質ではなく、多様性のある分解産物の混合物であり真の標準物質が存在しない。
- 抗原性・分子量の違うものが混在する。
- 各分解産物の構成は疾患(個体)差がある。
- 試薬に使用されている抗体によって反応性がちがう。



Dダイマー(FDP)には国際標準物質は無い

FDP・Dダイマー標準化の現状



- 日本検査血液学会標準化委員会を中心に、日本血栓止血学会学術標準化委員会、日本臨床検査医学会標準化委員会との共同で進められている。
- 実際の患者検体のプール血漿を標準物質としたハーモナイゼーションとして位置づけることにより臨床的な不都合を解消する活動を進めている。
- 現在Project3まで実施されている。

ハーモナイゼーションとは・・・

全ての検査機関で概ね検査結果が一致する事を目標とする

<条件>

基準物質が得られない場合(多様性物質)は代用品を用いる事もある。

測定系の統一が困難な場合

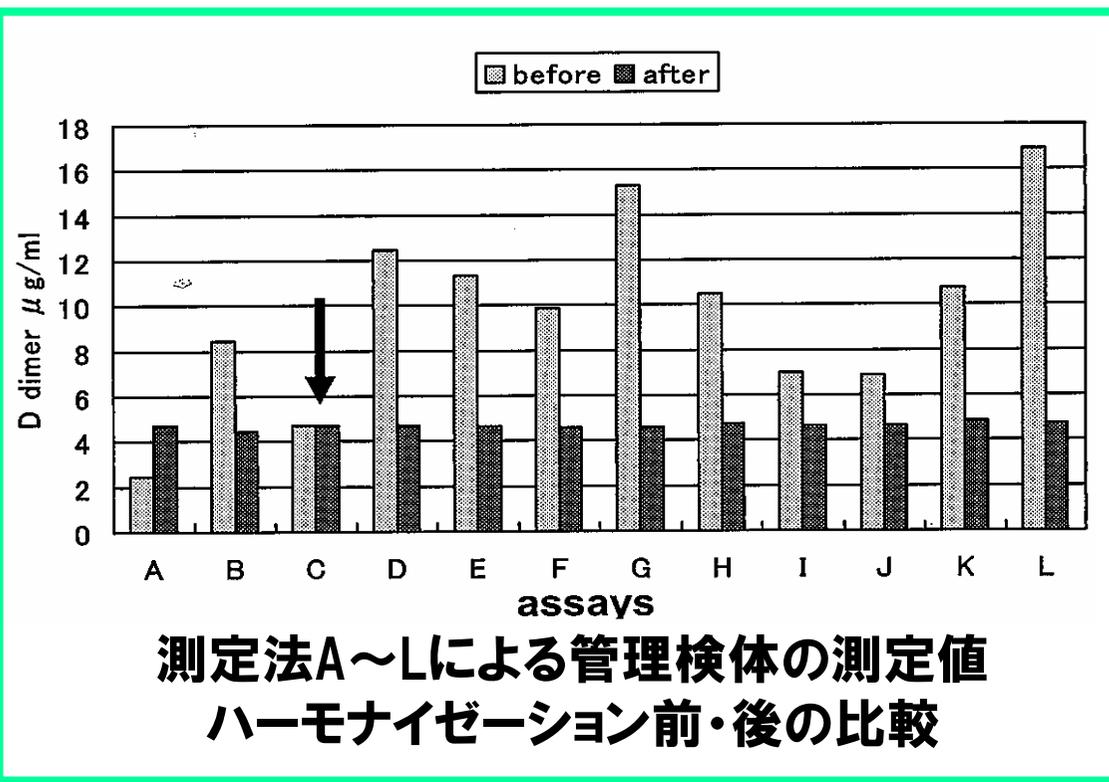
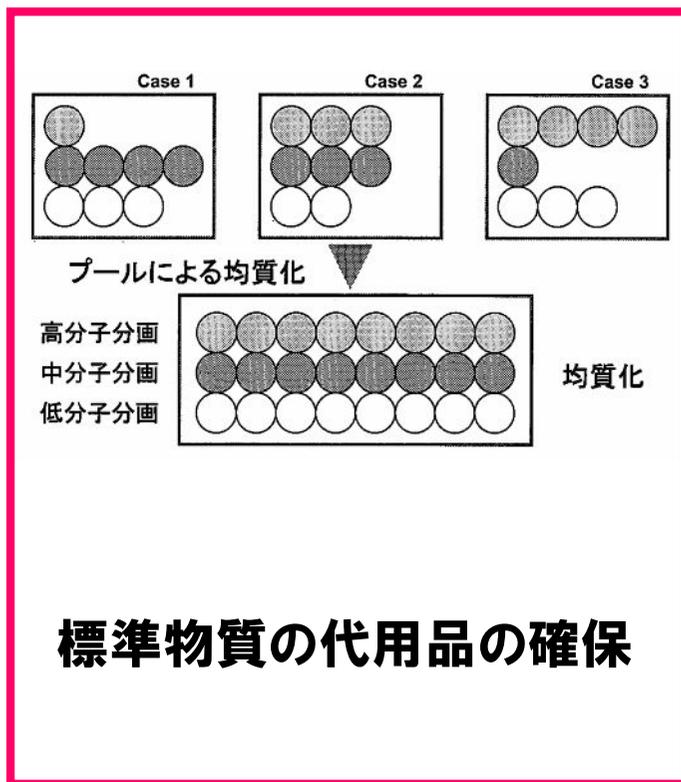
※海外ではThe Fibrin Assay Comparison Trial(FACT)として活動の報告がなされている。フィブリン塊をプラスミン分解して得られた純化Dダイマーを1次標準試料として標準化(standardization)する試みは成功していない。



Dダイマーのハーモナイゼーション効果



FDP Project-1



福武勝幸 FDP/Dダイマー検査の注意点 日本検査血液学会誌 第9巻第1号 2008年 より

目次



1. Dダイマーの産生と測定意義について

- Dダイマーの産生
- 一次線溶と二次線溶
- DICとFDP、Dダイマー

2. Dダイマーの測定原理について

- 装置と試薬の特性
- FDP/Dダイマー標準化

3. Dダイマーと深部静脈血栓症(DVT)について

- Dダイマーを用いたDVTの除外診断



深部静脈血栓症とは・・・

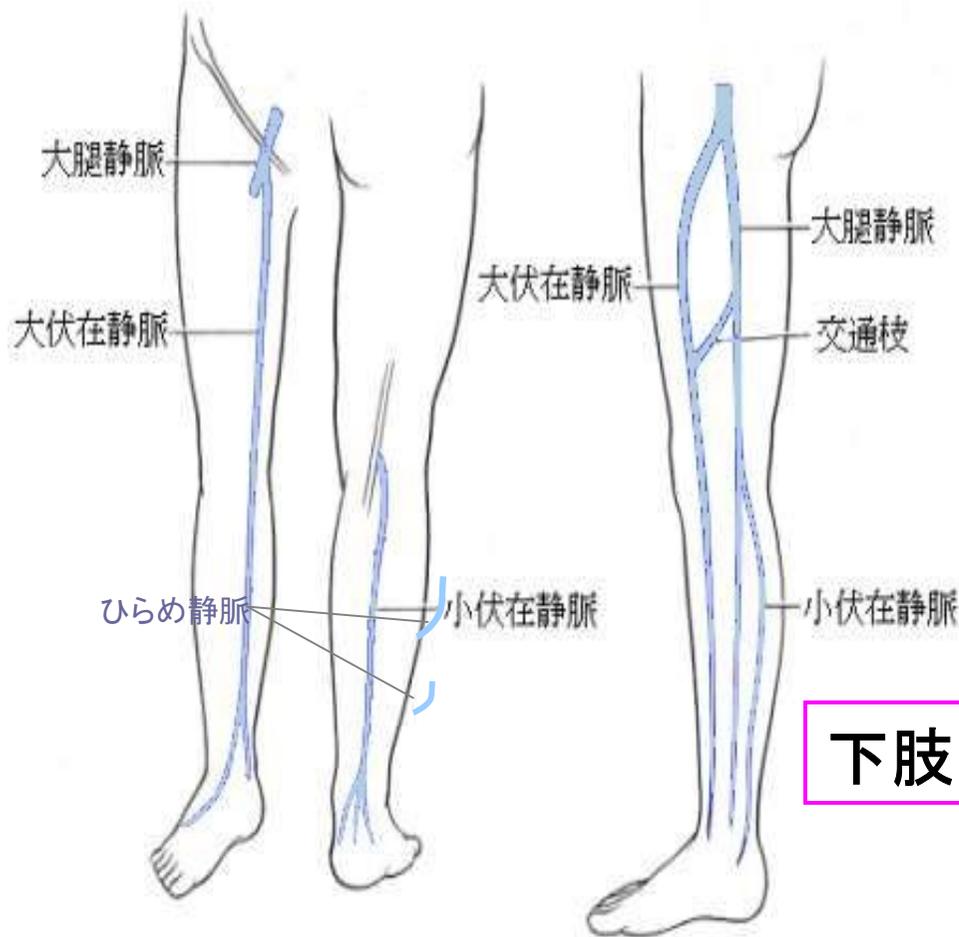


深部静脈血栓症(DVT: deep vein thrombus)とは
深大腿静脈や**総腸骨静脈**など深在性の**静脈内**で血液
凝固による血栓が生じる病態をいう。

静脈血栓は深部静脈のみならず表在静脈でも発症するが、圧倒的に下肢のDVTの頻度が高く、**肺血栓塞栓症**を併発し、浮腫、静脈瘤、疼痛などの静脈血栓後症候群に至ることが多いため、静脈血栓症のなかでも特に重要な疾患となっている。



深部静脈血栓症から肺塞栓へ



肺動脈に飛遊(肺塞栓)



(右心房、右心室)



(下大静脈)



下肢、骨盤内の深部静脈に血栓生成

↑ は血流の方向



深部静脈血栓症と肺血栓塞栓症



- 深部静脈血栓症 (deep vein thrombosis : DVT)
- 急性肺血栓塞栓症
(pulmonarythromboembolism : PTE)

上記疾患を総称して

静脈血栓塞栓症

(venous thromboembolism : VTE)



静脈血栓が発生しやすい要因



静脈壁(血管内皮)の損傷
血流の停滞
血液凝固能の亢進

Virchowの三原則



静脈血栓形成の誘発因子



I. 静脈壁の損傷

1. 手術、外傷、骨折
2. 血栓性静脈炎、血管炎
3. 血管カテーテル検査および留置、血管造影
4. 糖尿病

II. 血流の停滞

1. 長期臥床
2. 鬱血性心不全、心房細動
3. 妊娠、肥満
4. エコノミークラス症候群

III. 血液凝固能の亢進

1. 先天性凝固異常(PC、PS欠乏症、ATIII欠乏症、低プラスミノゲン血症)
2. 悪性腫瘍、ネフローゼ症候群、高脂血症、糖尿病、多血症
3. 妊娠、肥満、脱水
4. 経口避妊薬、女性ホルモン薬
5. 抗リン脂質抗体症候群(抗カルジオリピン抗体陽性、ループスアンチコアグulant陽性)



静脈血栓塞栓症の予防



肺血栓塞栓症/深部静脈血栓症(静脈血栓塞栓症) 予防ガイドライン

2004年2月(本編は6月)に制定され、同年4月「肺血栓塞栓症予防管理料」305点が新設された。

対象は入院患者とし、疾患や手術のリスクレベルは付加的な危険因子(年齢、既往歴、血栓性素因など)を加味して総合的に評価する。

一般外科手術、泌尿器科手術、婦人科手術、産科領域、整形外科手術、脳神経外科手術、重度外傷、脊椎損傷、および内科領域に関する予防方法。

リスクレベル	推奨される予防方法
低リスク	①
中リスク	②or③
高リスク	③or④
最高リスク	④+③or② 又は⑤or⑥(単独)でも可

<予防方法>

- ①早期歩行ならびに積極的な運動
- ②弾性ストッキング
- ③間欠的空気圧迫法
- ④低用量未分画ヘパリン
- ⑤用量調整未分画ヘパリン
- ⑥用量調整ワルファリン



静脈血栓塞栓症治療の進歩



「肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症の 診断・治療・予防に関するガイドライン」

2004年末に日本循環器学会をはじめとする7学会により刊行

術前スクリーニングおよび早期診断が重要

診断

- ・臨床症状の観察
- ・酸素飽和度の測定
- ・超音波検査
- ・造影CT

治療

呼吸および循環管理(抗血栓療法)

- ・抗凝固療法
未分画ヘパリン、ワルファリン
- ・血栓溶解療法
ウロキナーゼ、tPA



Dダイマー測定の有用性



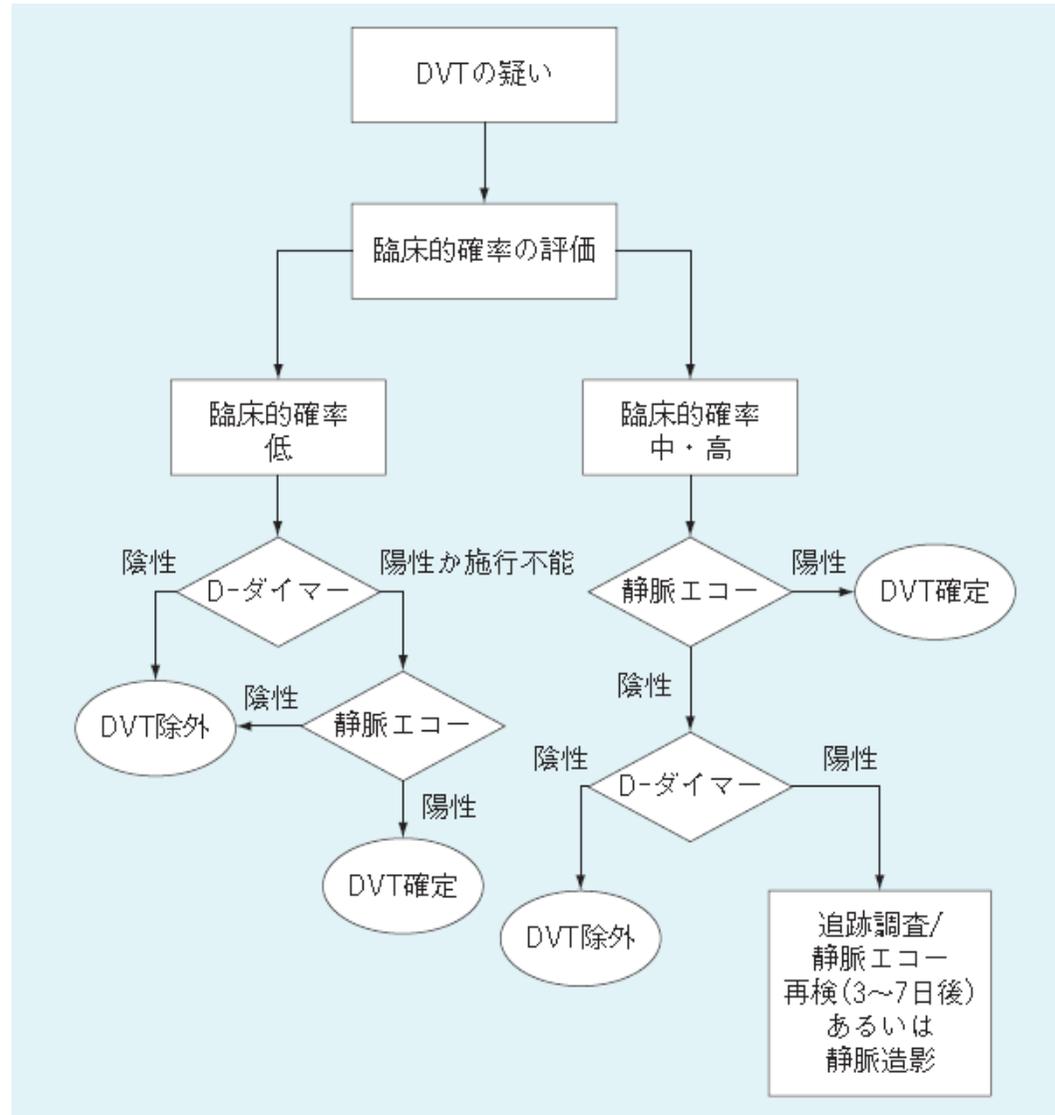
FDPは一次線溶でも二次線溶でも増加するため両者を比較できないがDダイマーは二次線溶のみで増加するため、Dダイマーの増加は血栓の存在を示す指標となる。

ただし、DVT以外の血栓性患者でもDダイマーは増加するため、DVTに特異的とはいえない。

そのため、DVTが疑われる症例に対してDダイマーを測定し上昇がなければ**DVTを否定**できる。



深部静脈血栓症の診断アルゴリズム



下記文献より引用

ICSI Health Care Guideline :
Venous Thromboembolism. www.icsi.org. 2004.



Dダイマー カットオフ値



H.BOUNAMEAUX et al : Biomed.& Pharmacother.,43(1989)385-38
 Characteristics of DD and TAT for diagnosis of pulmonary embolism.

(%)

Test	Positivity limit	Sv	Sp	PPV	NPV
D-dimer(ELISA)	500ng/mL	100	81	59	100
TAT(ELISA)	4.1ng/mL	70	42	25	83

Sv=sensitivity ; Sp=specificity ; PPV=positive predictive value ; NPV=negative predictive value

丸藤 哲 ;他 日救急医学会誌 1994;5:271-277

**Sensitivities, specificities and predictive values
 for different cut off points of both molecular markers.**

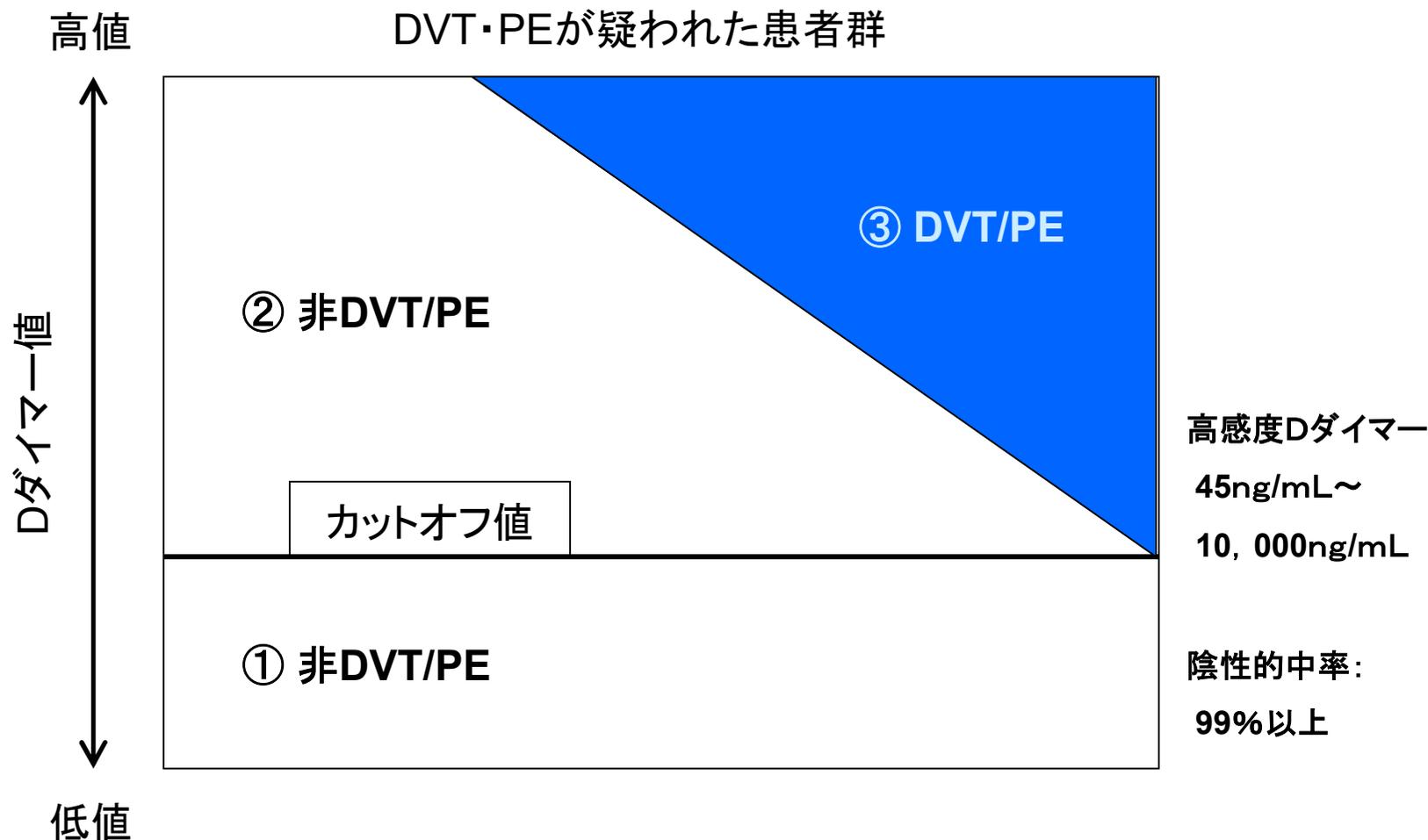
	Sensitivities	Specificities	PPV	NPV
PAC(1.0 μ g/mL)	100.0	75.0	77.8	100.0
PAC(2.0 μ g/mL)	85.7	75.0	75.0	85.7
PAC(3.0 μ g/mL)	57.1	75.0	66.6	66.6
PAC(4.0 μ g/mL)	57.1	87.5	80.0	70.0
D-dimer(300ng/mL)	100.0	12.5	50.0	100.0
D-dimer(500ng/mL)	100.0	25.0	53.8	100.0
D-dimer(1,000ng/mL)	71.4	62.5	62.5	71.4

PPV=positive predictive value ; NPV=negative predictive value ;

PAC=plasmin antiplasmin complex D-dimer=cross-linked fibrin degradation pro



DVT除外診断における陰性的中率 (バイダスDダイマー2)



まとめ



1. Dダイマーの産生と測定意義について

Dダイマーは安定化フィブリンの分解産物です。

DICの診断に主にもちいられており、FDPは一次線溶、二次線溶を、Dダイマーは二次線溶のみを反映する検査項目です。

近年、深部静脈血栓症(DVT)の除外診断において注目されています。

2. Dダイマーの測定原理について

日本ではラテックス免疫比濁法での測定が主流です。

Dダイマー(FDP)は様々な分子量の分画で構成されており、用いる抗体によって反応性が変わります。

Dダイマーの単位にはDダイマー換算量とフィブリノゲン換算量の2種類あります。

標準化の試みは日本国内、海外でも行われています。

3. Dダイマーと深部静脈血栓症(DVT)について

Dダイマーを用いたDVTの除外診断に有用です。

海外では高感度Dダイマーの測定が主流です。

