

Pathophysiological Analysis by Molecular Markers in Patients with Disseminated Intravascular Coagulation

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8380

分子マーカーによる播種性血管内凝固症候群の病態解析

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 松田 保教授)

朝 倉 英 策

(平成4年6月30日受付)

各種疾患に合併した播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation, DIC) 66例を対象に、凝固線溶分子マーカーによる病態解析を行った。血管内凝固活性化の鋭敏な指標である血中トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体 (thrombin-antithrombinⅢ complex, TAT) は全 DIC 症例で高値を示し、特に急性前骨髄球性白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) および敗血症に合併した症例では顕著であった。線溶活性化の指標である血中プラスミン- α_2 プラスミンインヒビター複合体 (Plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex, PIC) は、APL で最も高値であった。血中 PIC/TAT 比は、APL, APL 以外の急性白血病、固型癌で高値を、敗血症で低値を示し、前者は線溶優位の DIC、後者は凝固優位の DIC と考えられた。血中の組織プラスミノゲンアクチベーター (tissue-plasminogen activator, t-PA) とプラスミノゲンアクチベーターインヒビター (plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1) との複合体 (t-PA/PAI) は、多くの DIC で上昇したが、APL では上昇はみられなかった。t-PA との結合能を有し線溶活性化を制御している活性型 PAI は多くの DIC 症例で上昇 (敗血症に合併した DIC 症例で最も上昇) したが、APL では上昇がみられず t-PA との間で低レベルでバランスされていると考えられた。血管内皮障害の指標と考えられている血中トロンボモジュリン (thrombomodulin, TM) は、多くの DIC 症例で上昇 (敗血症に合併した DIC 症例で最も上昇) したが、APL では健常人と比較して有意差はみられなかった。DIC 66例において同時に測定した血中活性型 PAI と TM を比較すると両者の間には有意の正相関がみられた ($r=0.612$, $P<0.001$, $n=66$)。DIC を多臓器不全 (multiple organ failure, MOF) の有無で比較すると、血中活性型 PAI, TM とともに、MOF 合併例では非合併例に比較して有意に高値を示した (ともに $P<0.01$)。DIC より離脱しえた症例では、血中活性型 PAI, TM は経時的に低下または低値が持続したが、DIC より離脱しえず死亡した症例では両マーカーは更に上昇または高値が持続し、線溶活性化に対する抑制 (血中 PAI の上昇)、血管内皮の障害 (血中 TM の上昇) は、DIC における MOF の進展に重要な役割を果たしているものと考えられた。DIC の治療を行う上でも、各症例毎に病態の特徴を把握し、治療薬の選択を行うことが重要であろうと考察された。

Key words disseminated intravascular coagulation, plasminogen activator inhibitor type 1, thrombomodulin, multiple organ failure, acute promyelocytic leukemia

播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation, DIC) は、何らかの基礎疾患によって発症する重篤な症候群である。DIC の基礎疾患としては、白血病を含む悪性腫瘍、感染症、種々の産科的疾患、組織損傷、全身性の血管炎、血管内溶血など多くのものが知られている^{1,2)}が、その本態は血管内における極端な凝固活性化状態で、通常は血管内に微小血栓が多発するため、血小板や凝固因子が血栓の材料として消費され低下する。ただし、基礎疾患によりまた症例により DIC の病態も均一とは限らず、基礎疾患ごとに検討することは DIC の病態解析を進める上で重要と考えられる。このことは、DIC の治療法を画一的なものから、症例ごとに最も適切なものの選択へと進歩させる上でも重要になるかも知れない。

DIC の臨床症状としては、出血傾向、臓器障害を挙げることができる。出血傾向は血小板や凝固因子が、血管内に多発する微小血栓の材料として消費されるためであり、一方、臓器障害

は、微小血栓の多発により微小循環領域での循環不全を生ずるためと考えられている。臓器障害が複数の臓器で同時進行的に発症した場合は、いわゆる多臓器不全 (multiple organ failure, MOF) であり^{3,4)}、DIC の予後を規定する重大な合併症である。また、MOF は一旦発症すると不可逆的に進行する場合が少なくなく、その進行を助長する要素の検討は治療法の改善という意味からも重要と考えられる。

一方、1971年 Engvall ら⁵⁾により考案された酵素免疫測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) が、凝固線溶分子マーカーの測定にも広く応用されるようになり、これらの分子マーカーを用いて血管内における凝固線溶病態を詳細かつ鋭敏に評価することが可能になりつつある。

本論文では、各種基礎疾患に合併した DIC における凝固線溶病態を分子マーカーを用いて解析し、基礎疾患による病態の特徴を検討する。また、MOF の進展や予後との関連についてあ

Abbreviations: APL, acute promyelocytic leukemia; AL, acute leukemia; AL $\neq$ APL, acute leukemia except APL; active PAI, active form plasminogen activator inhibitor type 1; α_2 PI, α_2 plasmin inhibitor; CML, chronic myelogenous leukemia; CML-BC, blastic crisis of chronic myelogenous leukemia; DIC, disseminated intravascular coagulation; ELISA, enzymelinked immunosorbent assay; EDP, fibrin/fibrinogen

わせて検討する。

対象および方法

I. 対 象

対象は、当科に入院し DIC と診断された66例であり、その内訳は、急性前骨髄球性白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 21例, APL 以外の急性白血病 (acute leukemia except APL, AL s APL) 20例, 慢性骨髄性白血病の急性転化 (blastic crisis of chronic myelogenous leukemia, CML-BC) 4例, 非ホジキンリンパ腫 (non-Hodgkin lymphoma, NHL) 8例, 固型癌 7例, 敗血症 6例である。また、DIC の合併がないが DIC の基礎疾患を有する, APL 以外の急性白血病10例, NHL 7例, 固型癌 7例, 敗血症 9例の計33例および健康成人21例を対象とした。

II. DIC の診断

DIC の診断は、厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班による診断基準⁷⁾により行った。

III. 多臓器不全 (MOF) の診断

MOF の診断は、表 1 に示した診断基準により行った。DIC66 症例のうち30症例では MOF の合併がみられ、そのうち17例は腎不全の合併がみられ13例は腎不全の合併がみられなかった。

IV. 採血方法

採血は患者肘静脈より行い、フィブリン/フィブリノゲン分解産物 (fibrin/fibrinogen degradation products, FDP) 以外のパ

ラメータについては、3.8%クエン酸ナトリウム 0.5ml 入り真空採血管に 4.5ml の血液を採取し (クエン酸ナトリウムの終濃度は0.38%となる)、速やかに 4℃, 3000rpm, 10分間遠心分離して血漿を得た。FDP については、トロンビン10単位と抗プラスミン剤を含んだ専用採血管にて採血後、3000rpm, 10分間遠心分離して血清を得た。各パラメータのうちプロトロンビン時間 (prothrombin time, PT), フィブリノゲン濃度 (fibrinogen, Fbg), FDP は採血後ただちに測定し、その他のパラメータの測定は、得られた血漿を-80℃にて凍結保存し、測定時に融解して使用した。

V. 測定方法

1. プロトロンビン時間

シンブラスチン (Organon Teknika, ターンハウト, ベルギー) を試薬とする Quick 一段法により、自動測定装置 (Auto-Fi, デイド社, マイアミ, アメリカ) にて測定した。

2. フィブリノゲン

フィブリノゲンはトロンビン時間法⁸⁾による測定キットであるデータファイ・フィブリノゲン (バクスター, マイアミ, アメリカ) を用いて、自動測定装置 (Auto-Fi) にて測定した。

3. フィブリン/フィブリノゲン分解産物 (FDP)

FDP は抗フィブリノゲン抗体で被覆されたラテックスを用いた、ラテックス凝集法により測定した。

4. ELISA による分子マーカーの測定

以下の凝固線溶分子マーカーはサンドイッチ ELISA により測定した。すなわち、測定する抗原を認識するポリクローナル

Table 1. Diagnosis of multiple organ failure

If the patient had two or more of the following disorders, the existence of multiple organ failure is highly possible.

Heart^a

1. Acute myocardial infarction
2. Arrhythmia (bradycardia, heart rate <50/min; ventricular tachycardia; ventricular fibrillation; atrioventricular block; cardiac arrest)

Lung^a

1. PaO₂ <50 mmHg
2. Requirement of artificial respiration

Kidney^a

1. Serum creatinine ≥3 mg/dl (N: 0.5-1.2 mg/dl)
2. Serum BUN ≥50 mg/dl (N: 3-21 mg/dl)

Liver^a

1. Serum total bilirubin ≥3 mg/dl (N: 0.36-1.30 mg/dl)
2. Serum GOT (N: 10-40 IU/L) and GPT (N: 3-47 IU/L) ≥100 IU/L
3. LDH ≥800 IU/L (N: 205-415 IU/L)

Gastrointestinal tract^a

1. Hematemesis and the origin of bleeding confirmed by endoscopy
2. Melena and the origin of bleeding confirmed by endoscopy

Brain^a

1. Only response to painful stimuli

^aPresence of one or more of the listed disorders.

^bPresence of two or more of the listed disorders.

^cPresence of the following.

*N, normal values.

degradation products; MOF, multiple organ failure; NHL, non-Hodgkin lymphoma; PIC, plasmin-α₂ plasmin inhibitor complex; TAT, thrombin-antithrombin III complex; t-PA, tissue-type plasminogen activator; PAI, plasminogen activator inhibitor type 1; t-PA/PAI, tissue plasminogen activator/inhibitor complex

抗体またはモノクローナル抗体を一次抗体として固相（ビーズ）に固定した後、検体を添加し37℃下でインキュベーションすることにより血漿中の抗原を結合させた。非結合物質を緩衝液にて3回洗浄し除去後、測定する抗原の他の部位を認識するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体に酵素認識したものを二次抗体として抗原と37℃下でインキュベーションさせて、検体中の抗原をはさんだサンドイッチ複合体を形成させた。緩衝液にて3回洗浄し抗原と結合していない二次抗体を除去した。次いで発色剤を添加、37℃、30分間反応させた後反応停止液を添加、吸光度を測定した。抗原量は固相に結合した酵素量に比例するためこの酵素活性を発色系で測定することにより検体中の抗原量を測定した。

1) トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体 (thrombin-antithrombin Ⅲ complex, TAT)

血管内でトロンビンが形成されると、その多くは血中のアンチトロンビンⅢ (antithrombin Ⅲ, ATⅢ) と結合し代謝される。そのため血中 TAT は血管内でのトロンビン産生量、言い換えれば凝固活性化の程度を反映する¹⁰⁾。

TAT はウサギ抗ヒトトロンビンポリクローナル抗体を一次抗体とし、ペルオキシダーゼ (peroxidase) 標識ウサギ抗ヒト ATⅢ ポリクローナル抗体を二次抗体とする TAT 測定キット TDC-86 (帝人, 東京) を使用して測定した。

2) プラスミン- α_2 プラスミンインヒビター複合体 (plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex, PIC)

組織プラスミノゲンアクチベーター (tissue-type plasminogen activator, t-PA) によりプラスミノゲンがプラスミンに転換すると、線溶作用が出現するが、この際生じたプラスミンは α_2 プラスミンインヒビター (α_2 plasmin inhibitor, α_2 PI) と結合し複合体 (PIC) が形成され中和される。そのため、血中 PIC は血管内でのプラスミン産生量、言い換えれば線溶活性化の程度を反映する¹¹⁾¹²⁾。

PIC はウサギ抗ヒトプラスミノゲン抗体を一次抗体、ペルオキシダーゼ標識マウス抗ヒト α_2 PI モノクローナル抗体を二次抗体とする α_2 PI コンプレックス「テイジン」(帝人) を使用して測定した。

3) 活性型プラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1 (active form plasminogen activator inhibitor type 1, active PAI), 組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA)・PAI 複合体 (tissue-plasminogen activator/inhibitor complex, t-PA/PAI)

t-PA は血管内皮細胞で形成される分子量72,000のセリン蛋白酶であり、プラスミノゲンをプラスミンに活性化作用を有する。PAI-1 はこの t-PA の阻止因子であり、主に血管内皮細胞で生成される分子量約50,000の蛋白である。PAI-1 は t-PA を中和する能力のない不活性型として産生され、何らかの機序で活性型に変換されると言われている。通常は t-PA に比べて活性型 PAI が過剰に存在し、産生された t-PA はその90%程度が活性型 PAI と複合体を形成する。従って t-PA/PAI を測定することは血管内皮細胞の t-PA 産生能を反映するものと考えられる¹³⁾¹⁴⁾。

t-PA/PAI は抗ヒト PAI モノクローナル抗体を一次抗体、抗ヒト t-PA ポリクローナル抗体を二次抗体として測定した。検体に充分量の t-PA を添加すると、検体中の活性型 PAI は、t-PA と反応して t-PA/PAI を生成する。この原理を応用し、その測定結果の差より活性型 PAI を算出した。t-PA/PAI およ

び活性型 PAI は TD-88 (帝人) を使用して測定した。

4) トロンボモジュリン (thrombomodulin, TM)

TM は分子量約105,000の血管内皮特異性膜蛋白であり、脳を除く全身の血管内皮細胞膜上に存在し、トロンビンと高い親和性を示す。TM と結合したトロンビンは、フィブリン形成能、第Ⅷ、Ⅴ因子活性化能、血小板活性化能等の凝固促進作用を失い、逆にプロテインCを活性化することにより抗凝固作用を呈する (活性化プロテインCは、活性型第Ⅴ、Ⅷ因子を不活性化することにより抗凝固的に作用する)¹⁷⁾²¹⁾。TM は、血中、尿中にも活性のない形で存在するが、血管内皮細胞が損傷を受けると血中への出現量が増加する。従って、血中 TM 濃度の免疫学的測定は、正確にはその分解産物を測定していることになり、血管内皮細胞の障害の程度を反映する可能性がある²²⁾²⁴⁾。

TM は抗ヒト TM ポリクローナル抗体を一次抗体とし、TM のトロンビン結合部位近傍を認識するモノクローナル抗体を二次抗体とする ELISA キット TD90 (帝人) を使用して測定した。

VI. 統計学的処理

測定結果は特別に記されているもの以外は全て平均値±標準差で表示した。統計学的検定は Wilcoxon 検定を用い、P値0.05未満を有意とした。

成 績

各種疾患に合併した DIC における、プロトロンビン時間、フィブリンゲン、FDP、TAT、PIC、t-PA/PAI、活性型 PAI の成績を表2に示す。プロトロンビン時間は各種疾患に合併した DIC で延長がみられ、特に APL、敗血症に合併した DIC では顕著であった。血中フィブリンゲンは、APL に合併した DIC で最も低値を示した。血中 FDP は、全 DIC 症例で異常高値を示し、特に、APL、固型癌に合併した DIC では顕著であった。

血管内凝固活性化の鋭敏な指標である TAT は、全 DIC 症例で異常高値を示し、特に、APL、敗血症に合併した DIC では顕著であった。一方、血管内線溶活性化の指標である PIC は、APL、固型癌に合併した DIC で著明な上昇がみられたが、CML・BC、NHL、敗血症に合併した DIC ではその上昇は軽微であった。また、凝固活性化に対する線溶活性化の程度を評価するために血中 PIC/TAT 比を各群間で比較すると、APL、AL^s APL、固型癌に合併した DIC で高値 (それぞれ、PIC/TAT 比は、295, 265, 301) を示し、敗血症に合併した DIC で最低値 (PIC/TAT 比は、65) を示し、CML・BC、NHL に合併した DIC ではその中間 (それぞれ、PIC/TAT 比は170, 115) を示した。

血中 t-PA/PAI は、健康成人における成績 (10.8 ± 5.3 ng/ml, mean $\pm$ 2S.D. n=21) に比較して、AL^s APL、CML・BC、固型癌、敗血症、NHL に合併した DIC で有意な上昇 (前4者で $P < 0.01$, 後1者で $P < 0.05$) がみられた。APL に合併した DIC では、健康成人と比較して有意な変動はみられなかった。DIC の合併がみられないが基礎疾患を有する症例では、健康成人と比較して有意差はみられなかった (13.5 ± 11.1 , $3.8 - 56.6$ ng/ml, n=33, N.S.).

血中活性型 PAI は、健康成人における成績 (11.1 ± 7.9 ng/ml, mean $\pm$ 2S.D., n=21) に比較して、AL^s APL、CML・BC、敗血症に合併した DIC で有意な上昇 (前2者で $P < 0.05$, 後1者で $P < 0.01$) がみられた。APL に合併した DIC では、健康

成人と比較して有意な変動はみられなかった。基礎疾患を有するが DIC の合併がみられない症例では、健康成人と比較して有意差はみられなかった (18.5 ± 28.0 , $1.4-167.2 \text{ ng/ml}$, $n=33$, N.S.).

血中 TM は、健康成人における成績 ($8.2 \pm 4.8 \text{ ng/ml}$, $\text{mean} \pm 2 \text{ S.D.}$, $n=21$) に比較して、ALs APL, NHL, 固型癌, 敗血症, CML・BC に合併した DIC で有意な上昇 (前 4 者 $P < 0.01$, 後 1 者で $P < 0.05$) がみられたが、APL に合併した DIC では、健康成人と比較して有意な変動がみられなかった (図 1)。DIC の合併がみられないが基礎疾患を有する症例では、健康成人と比較して有意差はみられなかった (11.7 ± 3.9 , $5.4-23.4 \text{ ng/ml}$, $n=33$, N.S.).

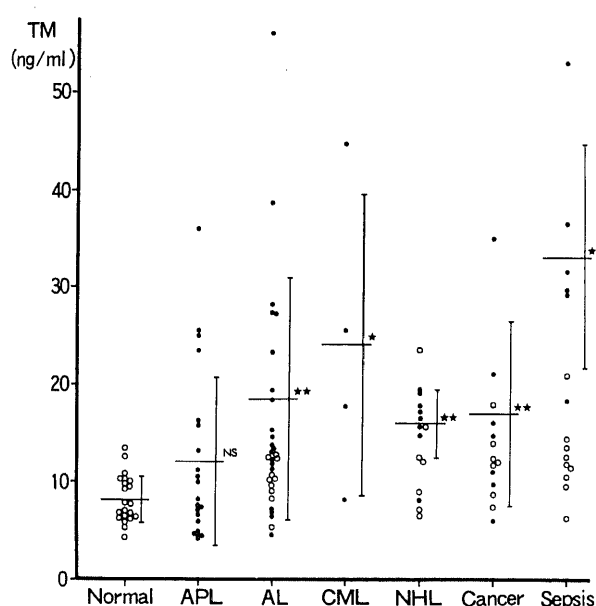


Fig. 1. Plasma levels of soluble thrombomodulin in cases of DIC. Horizontal bars for each group indicate the mean $\pm$ SD values in the patients with DIC and in healthy subjects. ●, patients with DIC; ○, patients without DIC. ★★, $P < 0.01$ significance of difference in patients with DIC in each group vs. healthy subjects. ★, $P < 0.05$ significance of difference in patients with DIC in CML・BC group vs. healthy subjects. NS, no significance of difference in patients with DIC in APL group vs. healthy subjects.

Table 2. Laboratory findings in patients with DIC

Parameters	Normal values	APL (n=21)	ALs APL (n=20)	CML・BC (n=4)	NHL (n=8)	Cancer (n=7)	Sepsis (n=6)
PT (sec)	11.9-13.9	17.1 ± 3.9	14.4 ± 2.1	14.5 ± 2.1	13.9 ± 2.1	14.1 ± 3.2	16.2 ± 4.5
Fbg (mg/dl)	170-410	104.4 ± 51.6	234.4 ± 98.9	178.0 ± 96.2	240.3 ± 25.7	284.8 ± 90.4	244.4 ± 168.1
FDP ($\mu\text{g/ml}$)	< 5.0	75.9 ± 54.3	60.1 ± 81.8	53.0 ± 38.2	59.1 ± 41.7	102.3 ± 67.7	39.0 ± 26.2
TAT (ng/ml)	< 3.0	31.5 ± 19.7	16.2 ± 12.7	10.6 ± 0.8	17.4 ± 13.7	21.6 ± 14.3	29.3 ± 26.7
PIC ($\mu\text{g/ml}$)	< 0.8	9.3 ± 6.0	4.3 ± 2.0	1.8 ± 1.4	2.0 ± 1.0	6.5 ± 4.2	1.9 ± 1.0
tPA/PAI (ng/ml)	$5.5-16.1$	14.0 ± 6.7	26.2 ± 17.8	54.5 ± 48.4	29.8 ± 21.2	21.5 ± 4.7	48.8 ± 22.4
Active PAI (ng/ml)	$3.2-19.0$	18.2 ± 42.0	40.6 ± 36.0	68.0 ± 38.5	30.9 ± 45.7	30.0 ± 34.7	115.0 ± 42.8

Abbreviations: PT, prothrombin time; Fbg, fibrinogen; FDP, fibrin/fibrinogen degradation products; TAT, thrombin-antithrombin III complex; PIC, plasmin- $\alpha 2$ -plasmin inhibitor complex; tPA/PAI, tissue plasminogen activator-plasminogen activator inhibitor complex; active PAI, active plasminogen activator inhibitor; APL, acute promyelocytic leukemia; ALs APL, acute leukemia except APLs; CML・BC, blastic crisis of chronic myelogenous leukemia; NHL, non-Hodgkin lymphoma.

DIC66 例において同時に測定した血中活性型 PAI と TM (共に血管内皮に由来するマーカー) を比較すると、両者の間には有意の正相関がみられた ($r=0.612$, $P < 0.001$, $n=66$: 図 2)。

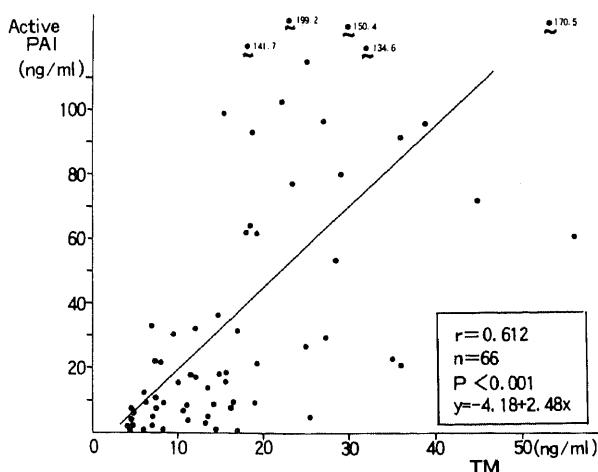


Fig. 2. Correlation between plasma levels of soluble thrombomodulin and active plasminogen activator inhibitor in cases of DIC.

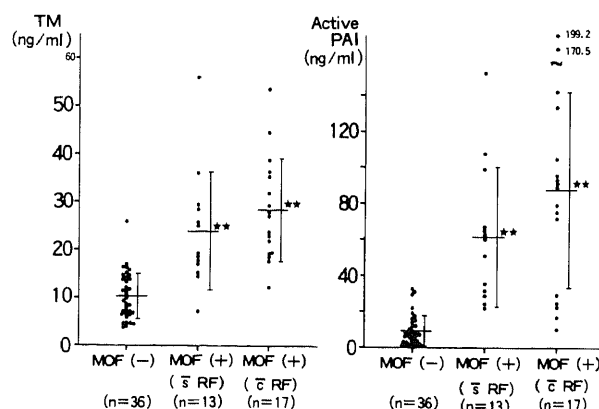


Fig. 3. Plasma levels of soluble thrombomodulin in cases of DIC with or without multiple organ failure. MOF (+), with multiple failure; MOF (-), without multiple organ failure; s RF, without renal failure; c RF, with renal failure. Horizontal bars for each group indicate the mean $\pm$ SD values. ★★, $P < 0.01$ significance of difference in patients with MOF vs. patients without MOF.

次に、DIC を多臓器不全 (MOF) 合併の有無別に腎不全の有無別に分類して比較検討した (図 3)。血中 TM は、MOF 非合併例 ($10.4 \pm 4.8 \text{ ng/ml}$, $n=36$) に比較して、MOF 合併例 ($n=30$) では有意に高値を示した ($P<0.01$)。さらに、腎不全を有する MOF 合併例 ($28.2 \pm 10.7 \text{ ng/ml}$, $n=17$) と、腎不全のない MOF 合併例 ($23.9 \pm 12.3 \text{ ng/ml}$, $n=13$) を比較すると、両群間に有意差はみられなかった。一方、活性型 PAI は、MOF 非合併例 ($9.9 \pm 9.2 \text{ ng/ml}$, $n=36$) に比較して、MOF 合併例 ($n=30$) では有意に高値を示した ($P<0.01$)。さらに、腎不全を有する MOF 合併例 ($85.7 \pm 54.8 \text{ ng/ml}$, $n=17$) と、腎不全のない MOF 合併例 ($61.9 \pm 38.9 \text{ ng/ml}$, $n=13$) を比較すると、両群間に有意差はみられなかった。

経時的に追跡した DIC 症例について、血中 TM ($n=42$)、活性型 PAI ($n=25$) の DIC 診断時および DIC 診断後 6~8 日の時点における血中濃度の変化を検討した (図 4)。治療により DIC より離脱した症例では、両マーカーは経時的に低下または低値が持続したが、DIC より離脱しえず死亡した症例では、両マーカーは更に上昇または高値が持続した。ただし、1 例で血中 TM、活性型 PAI とともに低値で推移しているにもかかわらず死亡した症例がみられているが、本症例は APL に合併した DIC 症例であり、MOF の合併はないものの脳出血のため死亡している。

考 察

DIC は、血管内での極端な凝固活性化とそれに伴う線溶活性化が本態であり、この点は各 DIC 症例に共通した現象である。ただし、DIC の基礎疾患としては種々の疾患が知られており、病態も均一ではないことが予想される。各 DIC 症例における凝固線溶病態の特徴を明らかにすることを本研究の目的としており、それにより DIC の治療を選択する上でも有用な情報を提供できる可能性があると思われる。また、DIC の重大な合併症の一つである MOF の進展と DIC 病態の関連についても考察する。

血管内凝固活性化の結果生成される最終的な蛋白分解酵素はトロンビンであり、血中のトロンビンの量を知ることが可能であれば血管内凝固活性化の程度を把握しうる。ただし、トロン

ビンの生体内半減期は極めて短く、これを直接測定することは不可能である。TAT は、トロンビンとその主たる阻止因子である ATⅢ との複合体であり、生体内半減期は 2~3 分と測定可能であり²⁸⁾、生体内凝固活性化の程度を評価することができる¹⁰⁾。各種疾患に合併した DIC のうち、APL では血中 TAT は最高値を示し、血管内凝固活性化が最も顕著であると考えられた。APL では、線溶の阻止因子である α_2 プラスミンインヒビター ($\alpha_2\text{PI}$) が消費により著減するのに対し、凝固の阻止因子である ATⅢ、プロテイン C、プロテイン S の低下がみられないため^{28)~30)}、APL の凝固線溶異常は DIC ではなく一次線溶 (凝固活性化を伴わず線溶活性化のみが生じフィブリノゲンの分解がみられる病態) ではないかとの考えもあった。しかし、血中 TAT の成績より APL において著しい血管内凝固活性化が生じているのは明らかであり、APL での凝固線溶異常は一次線溶ではなく DIC がその本態と考えられる。このことは、APL において血中 D ダイマー (架橋化フィブリン分解産物の一部であり、一次線溶では形成されないが、DIC でその血中濃度が上昇する) の上昇がみられる²⁹⁾ ことと一致した結果と考えられる。従来、DIC の診断を行う上で、血中 ATⅢ の消費による低下を重要視した報告もみられるが³¹⁾³²⁾、APL に代表されるように血中 TAT が著増した DIC 症例でも血中 ATⅢ 濃度が正常域にとどまる症例が相当数あり、DIC における血中 ATⅢ 低下の診断的意義は乏しいのではないかと考えられる。むしろ、DIC に肝障害を合併した症例で高頻度に血中 ATⅢ の低下がみられており、DIC においても血中 ATⅢ 低下がみられた場合の主因は消費ではなく産生低下と考えるのが妥当かもしれない²⁶⁾³³⁾。

トロンビンが凝固活性化の結果生成される最終的な蛋白分解酵素とすると、プラスミンは線溶活性化の結果生成される最終的な蛋白分解酵素であり、血中プラスミンの生成量が分かれば線溶活性化の程度を評価しうる。ただし、プラスミンの生体内半減期は極めて短く測定不能で、その阻止因子である $\alpha_2\text{PI}$ との複合体いわゆる PIC によりプラスミン産生量を間接的に知ることができる。DIC の基礎疾患の中で、APL に合併した症例で PIC は最高値を示しており、凝固活性化のみならず線溶活性化も最も高度であるものと考えられた。ただし、基礎疾患ごとに血中 PIC/TAT 比が大きく異なる点は注目され、DIC では凝固活性化と線溶活性化が同時に進行しているものの症例ごとにその比率に差があるものと考えられた。APL、ALL、AML、固型癌の三疾患群に比較して、敗血症例では血中 PIC/TAT 比が低く、前者を線溶優位の DIC、後者を凝固優位の DIC と呼び分けることが可能かも知れない。特に APL と敗血症を比較すると、血中 TAT は同程度でありながら、血中 PIC には約 5 倍の開きがあり、前者が出血傾向を、後者が臓器不全を主たる臨床症状としていることと関連があるものと思われる。

t-PA は血管内皮より流血中に産生放出されると、一部はプラスミノゲンをプラスミンに転換し線溶活性化に寄与するが、その多くは PAI-1 と結合し中和されるため、血中 t-PA/PAI 濃度は血管内皮の t-PA 産生能を反映しているものと考えられる¹⁰⁾。多くの DIC 症例で血中 t-PA/PAI の上昇がみられたことは、DIC においては血管内皮から t-PA の放出が亢進していることを反映しており、DIC 症例では血中 t-PA 抗原量が増加しているとする報告³⁴⁾³⁵⁾と一致した結果である。ただし、最も線溶活性化が顕著である APL において、t-PA/PAI の血中濃度が健常人と比較して有意差がない点は大変興味深い。この点、

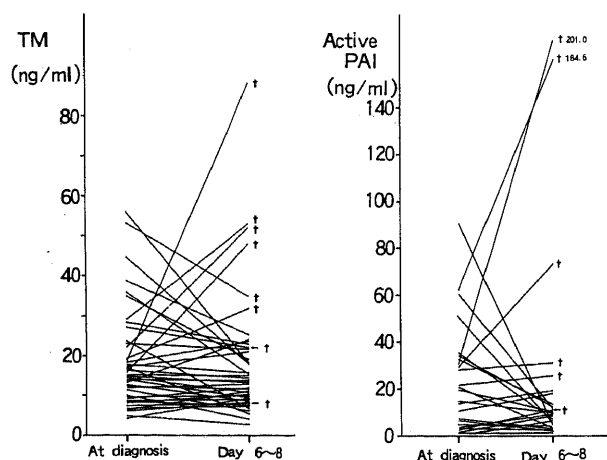


Fig. 4. Plasma levels of soluble thrombomodulin and active plasminogen activator inhibitor in cases of DIC, at diagnosis, and 6-8 days after diagnosis of DIC. +, patients with DIC who could not be restored from DIC and died.

APL における線溶活性化には t-PA 以外の物質が関与している可能性を示唆していると思われる。その候補としては、ウロキナーゼ (urokinase type plasminogen activator)³⁶⁾、白血球エラスターゼ^{37)~39)}などが考えられるが、なお検討の余地がある。

活性型 PAI は、全血中 PAI のうち t-PA との結合能を有したものであり、線溶能を調節している重要な因子である。APL 以外の基礎疾患に合併した DIC では、血中活性型 PAI の有意な上昇がみられており (敗血症で最も高値)、t-PA/PAI との間には有意の正相関がみられたことより⁴⁰⁾、線溶活性とそれに対する抑制が平衡状態にあるものと考えられた。APL 症例では、活性型 PAI は健常人と比較して有意差はなく、t-PA との間に低いレベルで平衡状態にあるものと考えられた。t-PA、PAI ともに血管内皮より産生放出される線溶関連因子であるが、血中トロンビン産生量が最も多い DIC と考えられる APL において両者の血中濃度の上昇がみられなかったことより、DIC においてトロンビンは両因子を血管内皮より放出させる主たる刺激因子とはならないと考えられた。

トロンボモジュリンは、血管内皮上に存在する重要な抗凝固性蛋白であるが、血管内皮障害に伴い流血中に遊離することが報告され²²⁾²³⁾、その血中濃度の測定により簡便に血管内皮障害の程度を推測できるという有用性がある。DIC の多くの症例で血中 TM の上昇がみられ (敗血症例では最も高値) (図 1)、血管内皮障害の存在が示唆されたが、凝固線溶活性化が最も高値である APL 症例では有意な上昇がみられなかった点は注目される。この点、凝固線溶の活性化の程度と、血管内皮障害は関連しないものと考えられた。血管内皮障害をきたす因子としては、エンドキシン、白血球エラスターゼ⁴¹⁾などの白血球から放出されるプロテアーゼ、低酸素血症⁴²⁾、活性酸素⁴³⁾、リポキシングナーゼ系代謝物⁴⁴⁾、などが知られている。このうち、白血球エラスターゼは急性白血病とくに APL で線溶病態に深く関与していると考えられるが³⁷⁾、APL では血中 TM の上昇はなく、少なくとも DIC における血管内皮障害には関与していないものと思われる。

血中 TM、活性型 PAI を、MOF の合併の有無で比較した場合、両マーカーともに MOF 合併症例で有意に高値を示している。MOF 合併症例では、血管内皮障害および線溶活性化に対する抑制状態がより高度であることを示す成績である。なお、血中の TM の多くは腎より代謝されるため、腎不全を合併した症例では血管内皮障害がなくても血中 TM 濃度が上昇しうることを考慮すべきであるが²⁴⁾⁴⁵⁾、MOF 合併症例を腎不全の有無で比較しても両群間に差はみられず、腎代謝のみで DIC における血中 TM の変動を説明することはできない。

DIC では、血中 TM と活性型 PAI は平行して変動し (図 2)、予後不良例では経時的にさらに両マーカーの上昇がみられることより (図 4)、両マーカーは DIC の予後を占う上でも有用であるが、DIC における MOF の進展機序を考察する上でも重要な情報を提供していると思われる。DIC における MOF の発症機序としては、重要臓器において微小血栓による微小循環不全が生ずるためと考えられている。DIC において線溶活性化がみられることは、生じた微小血栓を溶解し MOF の進展を阻止しようとする生体の防禦反応ととらえることも可能である。その点、活性型 PAI が高値の症例では線溶活性化が抑制されることになり、MOF は更に進展するものと考えられる。一方、血中 TM が高値の症例では、本来血管内皮が有している抗血栓

能が著しく低下し、易血栓状態が助長され、結果として MOF が更に進展するものと考えられる。

DIC の治療を行う上で、基礎疾患の治療を行うことは最も重要であるが、多くの場合血管内凝固を阻止するための抗凝固療法が必要である。最も歴史があり効果の確認された薬物は標準ヘパリンであるが、抗 Xa/トロンビン比を高くし出血の副作用の軽減を図った低分子ヘパリン⁴⁶⁾やヘパラン硫酸、抗 Va と VIIIa 作用および PAI 抑制作用を有する活性化プロテイン C⁴⁷⁾、合成抗トロンビン薬で抗線溶作用をあわせもつメシル酸ガベキサート (gabexate mesilate)、メシル酸ナファモスタット (nafamostat mesilate)、など多くのものが知られている。このような薬物の使い分けについては、今後も症例を蓄積して検討する必要があるが、活性型 PAI が高度に上昇し線溶抑制状態にある症例には活性化プロテイン C、血中 PIC/TAT 比が高く線溶優位の症例にはメシル酸ガベキサートやメシル酸ナファモスタット、血中 TM が高く内皮障害が高度と思われる症例には精製 TM や血管内皮の TM を上昇させるペントキシフィリン⁴⁸⁾、出血の副作用が危惧される症例には低分子ヘパリンやヘパラン硫酸といった使用法が、分子マーカーによる成績から提案できるかも知れない。

結 論

各種疾患に合併した DIC を対象に、凝固線溶分子マーカーによる病態解析を行ない、以下の結論を得た。

1. 全 DIC 症例で、血中トロンビン-アンチトロンビンⅢ複合体 (TAT) の上昇がみられ凝固亢進状態にあるものと考えられる。急性前骨髄球性白血病 (APL)、敗血症症例では最も高値である。

2. 血中プラスミン-α₂プラスミンヒンビター複合体 (PIC) は、APL で最も高値であり線溶活性化が特に著しいと考えられる。

3. 凝固活性化と線溶活性化の比率を、血中 PIC/TAT 比で評価すると、APL、APL 以外の急性白血病 (ALLs APL)、固型癌に合併した症例で高値を示し、敗血症に合併した症例で低値を示し、前者は線溶優位、後者は凝固優位の DIC と考えられる。

4. 血中組織プラスミノゲンアクチベーター・プラスミノゲンアクチベーターインヒビター複合体 (t-PA/PAI) は多くの DIC 症例で高値を示したが APL では有意な上昇がなく、組織プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) 以外の物質が線溶に関与している可能性が示唆される。

5. 血中活性型プラスミノゲンアクチベーターインヒビター (PAI)、トロンボモジュリン (TM) は APL を除く多くの DIC 症例で上昇がみられる。また多臓器不全 (MOF) 合併例では非合併例に比較して、両マーカーは有意に高値を示し、予後不良例では経時的に更に上昇または高値が持続したことより、線溶活性化に対する抑制、血管内皮の障害は MOF を進展させる重要な因子と考えられる。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始研究の御指導と御校閲を賜りました恩師松田保教授に深甚なる感謝の意を表します。

研究に御協力頂きました金沢大学医学部第三内科凝固グループをはじめ教室員の各位に深謝いたします。

なお、本論文の一部は、第52回日本血液学会(1990年)、第89回日本内科学会(1992年)において発表した。

文 献

- 1) 松田 保, 朝倉英策, 斎藤正典, 定梶裕司, 魚谷知佳, 熊走一郎, 森下英理子, 山崎雅英: 過去1年間のDIC発症件数に関するアンケート調査(全国大学病院内科を対象とする). 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班平成2年度研究報告書, 22-27頁, 1991.
- 2) 広沢信作, 青木延雄: DICに関するアンケート調査結果. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班昭和62年度研究報告書, 17-32頁, 1988.
- 3) Baue, E. W.: Multiple progressive or sequential system failure. *Arch. Surg.*, **110**, 779-781 (1975).
- 4) Fry, D. E.: Multiple system organ failure. *Arch. Surg.*, **115**, 136-140 (1980).
- 5) 朝倉英策, 名倉博史: DIC, MOF とレオロジー. 日本バイオレオロジー学会誌, **2**, 10-14 (1988).
- 6) Engvall, E. & Perlman, P.: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Immunochemistry*, **8**, 871-874 (1971).
- 7) Kobayasi, N., Maekawa, T. & Takada, M.: Criteria for diagnosis of DIC based on the analysis of clinical and laboratory findings in 345 DIC patients collected by the Research Committee on DIC in Japan. *Bibl. Haematol.*, **49**, 265-275 (1983).
- 8) 青木延雄, 長谷川淳: DIC 診断基準の『診断のための補助的検査成績, 所見』の項の改訂について. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班昭和62年度研究報告書, 37-41頁, 1988.
- 9) Clauss, A.: Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol.*, **17**, 237-246 (1957).
- 10) Pelzer, H., Schwarz, A. & Heimbürgen, N.: Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Thromb. Haemostasis*, **59**, 101-106 (1988).
- 11) Mimuro, J., Koike, Y., Sumi, Y. & Aoki, N.: Monoclonal antibodies to discrete regions in alpha-2-plasmin inhibitor. *Blood*, **69**, 446-453 (1987).
- 12) 青木延雄: EIA 法による α_2 PI (TD-80) および α_2 PI プラスミン複合体 (TD-80c) 測定キットの基礎的検討. 臨床病理, **35**, 1275-1281 (1987).
- 13) Chmielewska, J., Ranby, M. & Wiman, B.: Evidence for a rapid inhibitor to tissue plasminogen activator in plasma. *Thromb. Res.*, **31**, 427-432 (1983).
- 14) Kruithof E. K. O., Tran, T. C., Ransijn, A. & Bachmann, F.: Demonstration of a fast-acting inhibitor of plasminogen activators in human plasma. *Blood*, **64**, 907-915 (1984).
- 15) Johan, V. I., Moreman, B., DeCock, F., Ailland, M. F. & Collen, D.: Plasma levels of a specific inhibitor of tissue-type plasminogen activator (and urokinase) in normal and pathological conditions. *Thromb. Res.*, **33**, 523-529 (1984).
- 16) Sakata, Y., Murakami, T., Noro, A., Mori, K. & Matsuda, M.: The specific activity of plasminogen activator inhibitor-1 in disseminated intravascular coagulation with acute promyelocytic leukemia. *Blood*, **77**, 1949-1957 (1991).
- 17) Esmon, C. T. & Owen, W. G.: Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 2249-2252 (1981).
- 18) Esmon, N. L., Owen, W. G. & Esmon, C. T.: Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. *J. Biol. Chem.*, **257**, 859-864 (1982).
- 19) Salem, H. H., Maruyama, I., Ishii, H. & Majerus, P. W.: Isolation and characterization of thrombomodulin from human placenta. *J. Biol. Chem.*, **259**, 12224-12251 (1984).
- 20) Suzuki, K., Stenflo, J., Dahlback, B. & Teodorsson, G.: Inactivation of human coagulation factor V by activated protein C. *J. Biol. Chem.*, **258**, 1914-1920 (1983).
- 21) Marlar, R. A., Kleiss, A. J. & Griffin, J. H.: Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. *Blood*, **59**, 1067-1072 (1982).
- 22) Ishii, H. & Majerus, P. W.: Thrombomodulin is present in human plasma and urine. *J. Clin. Invest.*, **76**, 2178-2181 (1985).
- 23) Takano, S., Kimura, S., Ohdama, S. & Aoki, N.: Plasma thrombomodulin in health and diseases. *Blood*, **76**, 2024-2029 (1990).
- 24) Iwashima, Y., Sato, T., Watanabe, K., Ooshima, E., Hiraishi, S., Ishii, H., Kazama, M. & Makino, I.: Elevation of plasma thrombomodulin level in diabetic patients with early diabetic nephropathy. *Diabetes*, **39**, 983-988 (1990).
- 25) Fuchs, H. E. & Pizzo, S. V.: Catabolism of antithrombin III-protease complex. *Thromb. Res.*, **32**, 253-254 (1983).
- 26) Rodeghiero, F., Mannucci, P. M., Vigano, S., Barbui, T., Gugliotta, L., Cortellavo, M. & Dini, E.: Liver dysfunction rather than intravascular coagulation as the main cause of low protein C and antithrombin III in acute leukemia. *Blood*, **63**, 965-969 (1984).
- 27) Bratt, G., Blomback, M., Paul, C., Schulman, S., Tornebohn, E. & Lockner, D.: Factors and inhibitors of blood coagulation and fibrinolysis in acute nonlymphoblastic leukaemia. *Scand. J. Haematol.*, **34**, 332-339 (1985).
- 28) Mimuro, J., Sakata, Y., Wakabayashi, K. & Matsuda, M.: Level of protein C determined by combined assays during disseminated intravascular coagulation and oral anticoagulation. *Blood*, **69**, 1704-1711 (1987).
- 29) Matsuda, T., Ito, K., Asakura, H., Saito, M., Uotani, C. & Jokaji, H.: Role of fibrinolysis in coagulopathy in cases of acute promyelocytic leukemia. In P. J. Gaffney, F. J. Castellino, E. F. Plow & A. Takada (eds.), *Fibrinolysis: current prospects*, P257-263, John Libbey & Co. Ltd., London, 1988.

- 30) Asakura, H., Saito, M., Ito, K., Jokaji, Y., Uotani, C., Kumabashiri, I. & Matsuda, T.: Levels of thrombin-antithrombin III complex in plasma in cases of acute promyelocytic leukemia. *Thromb. Res.*, **50**, 895-899 (1988).
- 31) Spero, J. A., Lewis, J. H. & Hasida, U.: Disseminated intravascular coagulation; findings in 346 patients. *Thromb. Haemostasis*, **43**, 28-33 (1980).
- 32) Danus, P. S. & Wallace, G. P.: Immunologic measurement of antithrombin III-heparin cofactor and β_2 -microglobulin in disseminated intravascular coagulation and hepatic failure coagulopathy. *Thromb. Res.*, **6**, 27-38 (1975).
- 33) 朝倉英策, 定梶裕司, 斎藤正典, 魚谷知佳, 熊走一郎, 森下英理子, 山崎雅英, 松田 保: DIC における血中 ATIII 濃度とトロンビン-ATIII 複合体および肝予備能との関連. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班平成元年度研究報告書, 27-31 頁, 1990.
- 34) Francis, R. B. & Seyfert, U.: Tissue plasminogen activator antigen and activity in disseminated intravascular coagulation: clinicopathologic correlations. *J. Lab. Clin. Med.*, **5**, 541-548 (1987).
- 35) Matsuda, T., Asakura, H., Ito, K., Saito, M., Jokaji, Y., Uotani, C. & Kumabashiri, I.: Changes in levels of t-PA and α_2 PI-plasmin complex in plasma in patients with DIC. *Thromb. Res.*, (Suppl. 8), 143-151 (1988).
- 36) Bennett, B., Booth, N. A., Groll, A. & Dawson, A. A.: The bleeding disorder in acute promyelocytic leukaemia: fibrinolysis due to u-PA rather than defibrination. *Br. J. Haematol.*, **71**, 511-517 (1989).
- 37) Saito, M., Asakura, H., Uotani, C., Jokaji, H., Kumabashiri, I. & Matsuda, T.: Quantitative estimation of elastase- α_1 -proteinase inhibitor ($E-\alpha_1$ PI) complex in leukemia: Marked elevation in cases of acute promyelocytic leukemia. *Thromb. Res.*, **53**, 163-171 (1989).
- 38) Sterrenberg, L., Haak, H. L., Brommer, E. J. F. & Nieuwenhuizen, W.: Evidence of fibrinogen breakdown by leukocyte enzyme in a patient with acute promyelocytic leukemia. *Haemostasis*, **15**, 126-133 (1985).
- 39) Egbring, R., Schmidt, W., Fuchs, G. & Havemann, K.: Demonstration of granulocytic proteases in plasma of patients with acute leukemia and septicemia with coagulation defects. *Blood*, **49**, 219-231 (1977).
- 40) Asakura, H., Jokaji, H., Saito, M., Uotani, C., Kumabashiri, I., Morishita, E., Yamazaki, M. & Matsuda, T.: Changes in plasma levels of tissue-plasminogen activator/inhibitor complex and active plasminogen activator inhibitor in patients with disseminated intravascular coagulation. *Am. J. Haematol.*, **36**, 176-183 (1991).
- 41) Morishita, E., Saito, M., Asakura, H., Jokaji, H., Uotani, C., Kumabashiri, I., Yamazaki, M. & Matsuda, T.: Increased levels of plasma thrombomodulin in chronic myelogenous leukemia. *Am. J. Haematol.*, **39**, 183-187 (1992).
- 42) Ogawa, S., Shreenwas, R., Brett, J., Clauss, M., Furie, M. & Stern, D. M.: The effect of hypoxia on capillary endothelial cell function; modulation of barrier and coagulant function. *Br. J. Haematol.*, **75**, 517-524 (1990).
- 43) Lawson, D. L., Mehta, J., Nichols, W. W., Mehta, P. & Donnelly, W. H.: Superoxide radical-mediated endothelial injury and vasoconstriction of rat thoracic aortic rings. *J. Lab. Clin. Med.*, **115**, 541-548 (1990).
- 44) Setty, B. M. Y., Graeber, J. E. & Stuart, M. J.: The mitogenic effect of 15- and 12-hydroeicosatetraenoic acid on endothelial cells may be mediated via diacylglycerol kinase inhibition. *J. Biol. Chem.*, **262**, 17613-17622 (1987).
- 45) Yamazaki, M., Asakura, H., Sato, T., Tsugawa, Y., Matsumura, M., Kawamura, Y., Ohka, T. & Matsuda, T.: Changes in plasma levels of thrombomodulin during haemodialysis. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, **3**, 113-117 (1992).
- 46) 桜川信男, 長谷川淳, 真木正博, 中川雅夫, 中島光好: 汎発性血管内血液凝固症 (DIC) に対する低分子ヘパリン (FR-860) の臨床評価—ヘパリンを対照とした多施設共同二重盲検比較試験—. *臨床医薬*, **8**, 423-452 (1992).
- 47) Okajima, K., Koga, S., Inoue, M., Nakagaki, T., Funatsu, A., Okabe, H., Takatsuki, K. & Aoki, N.: Effect of protein C and activated protein C on coagulation and fibrinolysis in normal human subjects. *Thromb. Haemostasis*, **63**, 48-53 (1990).
- 48) 丸山征郎, 岡留 格, 吉田浩己: 実験的 DIC ラットにおける thrombomodulin の分布と recombinant thrombomodulin 投与効果. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班平成元年度研究報告書, 83-86 頁, 1990.
- 49) 青木延雄, 大玉信一, 田澤立之, 高野省吾, 三宅修司: 血管内皮細胞トロンボモジュリンに及ぼすペントキシフィリンの影響. 厚生省特定疾患血液凝固異常症調査研究班平成2年度研究報告書, 77-80 頁, 1991.

Pathophysiological Analysis by Molecular Markers in Patients with Disseminated Intravascular Coagulation
Hidesaku Asakura, Department of Internal Medicine (III), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-J.
Juzen Med Soc., 101, 676-684 (1992)

Key words disseminated intravascular coagulation, plasminogen activator inhibitor type 1, thrombomodulin, multiple organ failure, acute promyelocytic leukemia

Abstract

We examined the changes in plasma levels of some haemostatic molecular markers in 66 patients with disseminated intravascular coagulation (DIC) to estimate the pathophysiology of DIC caused by various underlying diseases. Plasma levels of thrombin-antithrombin III complex (TAT), which reflects the amount of thrombin generated in circulating blood, were increased in each case of DIC, especially in patients with acute promyelocytic leukemia (APL) and sepsis. Plasma levels of plasmin- α_2 plasmin inhibitor (PIC), which reflects the amount of plasmin generated in circulating blood, were markedly increased in patients with APL. Since the ratio of plasma PIC/TAT was high in patients with APL, acute leukemia (except APL) and solid cancer, and low in patients with sepsis, the former was estimated as DIC with prominent fibrinolysis and the latter as DIC with prominent coagulation. Plasma levels of tissue plasminogen activator/inhibitor complex (t-PA/PAI) were increased in most cases of DIC except APL. Active plasminogen activator inhibitor (active PAI), which has the capacity to bind to free tissue plasminogen activator (t-PA), was increased in most cases of DIC, especially in the patients with sepsis. However, no such significant elevation of active PAI was observed in cases of APL, which means the balance of activation and inhibition of fibrinolytic system was kept at low levels in APL. Plasma levels of soluble thrombomodulin (TM), which reflects the degree of damage in vascular endothelial cells, were increased in most cases of DIC, especially in patients with sepsis. However, no such significant elevation was observed in patients with APL. Plasma levels of soluble TM were directly proportional to plasma levels of active PAI in 66 cases of DIC ($r=0.612$, $P<0.001$). Plasma levels of both soluble TM and active PAI were significantly higher in the cases of DIC with multiple organ failure than in those without multiple organ failure ($P<0.01$). Although the levels of both markers were decreased or remained at low levels with the clinical improvement in DIC, those were further increased or remained at high levels in patients who showed no improvement of DIC. It was suggested that both the inhibition of fibrinolytic activation (shown as the elevated plasma levels of active PAI) and the damage in endothelial cells (shown as the elevated plasma levels of soluble TM) played an important role in further progression of MOF. It was indicated that appropriate treatment of DIC had to be chosen for each patient depending on the pathophysiological state, which was estimated by these molecular markers.