



|              |                                                                                                                                                       |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 血栓症発症予防を目指した凝血学的検査法に関する研究                                                                                                                             |
| Author(s)    | 光黒, 真菜                                                                                                                                                |
| Citation     | 大阪大学, 2015, 博士論文                                                                                                                                      |
| Version Type |                                                                                                                                                       |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/51998">https://hdl.handle.net/11094/51998</a>                                                                   |
| rights       |                                                                                                                                                       |
| Note         | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

〔 題 名 〕

血栓症発症予防を目指した凝血学的検査法に関する研究

学位申請者 光 黒 真 菜

国立循環器病研究センター周産期婦人科では、妊娠中も抗凝固療法が欠かせない妊婦の妊娠管理を多く行っている。妊婦の抗凝固療法にはヘパリンを用いる。ヘパリンは抗凝固効果の個人差が大きいため、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) でヘパリンの抗凝固効果を確認しながら、患者の APTT が正常血漿秒数の 1.5-2.5 倍に延長するように投与量を調節する。しかし、APTT は被検血漿中の凝固因子濃度の影響を受けやすく、妊娠の経過と共に凝固因子濃度が増加する妊婦では、APTT を用いるとヘパリンの投与量調節が困難な場合がある。そこで我々は抗 Xa 活性というヘパリンの抗凝固活性を調べる検査に注目し、ヘパリンモニタリング法として APTT と抗 Xa 活性を評価する検討を行った。

APTT は凝固因子の 1 つである VIII の増加によって短縮するといわれているが、実際に VIII を添加して APTT が短縮したことを観察した報告は動物実験でしか報告されていない。また、凝固因子の増加がヘパリン存在下での APTT および抗 Xa 活性に及ぼす影響を詳細に検討した報告もない。妊娠中にフィブリノーゲン、VII、VIII、IX が増加すると報告されているため、今回我々はフィブリノーゲン、VII、VIII、IX が妊婦と同程度に増加した血漿を作製し、それらの凝固因子がヘパリン存在下の APTT および抗 Xa 活性に及ぼす影響を調べた。また、国立循環器病研究センターで使用している APTT 試薬のヘパリン感受性を知るために、4 種の APTT 試薬でヘパリン感受性を調べた。

プール血漿にフィブリノーゲン、VII、VIII、IX を添加して、フィブリノーゲン 2 倍濃度血漿、VII 2 倍濃度血漿、VIII 2 倍、4 倍および 6 倍濃度血漿、IX 2 倍濃度血漿を調製した。対照として生理食塩水を添加した血漿を正常血漿とした。ヘパリンの治療域濃度が 0.3-0.7 U/mL といわれているため、ヘパリンの最終濃度が 0.0, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 U/mL になるように、それぞれの血漿にヘパリンを添加した。全ての血漿について APTT と抗 Xa 活性を測定し、正常血漿と凝固因子高濃度血漿を比較した。

その結果、ヘパリン存在下でフィブリノーゲン、VII、VIII 濃度の増加によって APTT が短縮することがわかった。特に VIII 濃度増加の影響が顕著であり、VIII 6 倍濃度血漿では、ヘパリン濃度 0.5 U/mL で正常血漿の約 1/2、ヘパリン濃度 0.7 U/mL で正常血漿の約 1/3 まで APTT が短縮した。一方、抗 Xa 活性は IX 2 倍濃度血漿でやや高値となったが、その他の凝固因子濃度の影響をほとんど受けなかった。また、4 種の APTT 試薬のヘパリン感受性を調べた結果、試薬間で最大 1.65 倍ヘパリン感受性が異なることがわかった。

*in vitro* の実験で VIII の増加によって APTT が短縮することが明らかとなったため、我々は実際に治療量のヘパリンを投与されている妊婦の APTT を調べることにした。国立循環器病研究センター周産期婦人科患者で血栓症の治療や予防のためにヘパリンを投与されている妊婦の血漿と、ヘパリンを添加した非妊婦の血漿でヘパリン存在下の APTT と抗 Xa 活性の関係を調べた。また、APTT 短縮の原因と考えられる VIII の抗原量、および VIII のキャリアタンパク質であるフォンビルブランド因子 (VWF) の抗原量を測定した。その結果、妊婦では妊娠の経過と共に VIII および VWF は増加し、VIII は最大約 900% まで増加している症例もみられた。一方、非妊婦の VIII と VWF は基準範囲内であった。また、妊婦群と非妊婦群で APTT と抗 Xa 活性の回帰直線に乖離が見られ、妊婦群は非妊婦群に比べ、抗 Xa 活性が高くなる（ヘパリン量が増加する）につれ、APTT が延長しにくくなることが明らかとなった。また、妊娠中に深部静脈血栓症を発症した 1 症例の APTT と抗 Xa 活性を調べると、APTT は治療域内 (正常血漿秒数の 1.5-2.5 倍) であっても、抗 Xa 活性は治療域 (0.3-0.7 U/mL) を超えることがあり、ヘパリンの抗凝固効果の反映に乖離がみられた。

妊婦では、抗Xa活性が治療域を超えてヘパリンの過剰投与を示しても、APTTはVIIIの増加によって短縮するため治療域内を示し、適正なヘパリン投与量であると判断される。したがって、非妊婦のデータに基づいたAPTT 1.5-2.5倍というAPTTの治療域をそのまま妊婦に適用することは危険である。また、APTT試薬によってヘパリン感受性が異なるため、自施設で使用するAPTT試薬のヘパリン感受性を知ることも重要である。

妊婦のヘパリン管理を行う際は、妊婦はVIIIの増加によってAPTTが短縮することを念頭に置かなければならない。妊婦の安全なヘパリン管理を行うために、抗Xa活性で正確なヘパリンの抗凝固活性を評価する、などの措置が必要である。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

| 氏 名 ( 光 黒 真 菜 )                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 論文審査担当者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | (職) 氏 名           |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 主 査 招へい教授 宮 田 敏 行 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 副 査 教 授 岩 谷 良 則   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 副 査 教 授 神 出 計     |
| 論文審査の結果の要旨                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                   |
| <p>ヘパリンのモニタリング検査法として活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) が用いられる。通常、患者のAPTTが正常血漿秒数の1.5-2.5倍に延長するようにヘパリン投与量を調節するが、妊婦では凝固因子濃度の増加によってAPTTが短縮するため、APTTを用いたヘパリン投与量の調節に苦慮する。そこで、血漿中の凝固因子濃度の影響を受けずにヘパリンの抗凝固効果を評価できる検査法として、抗Xa活性を用いた血漿ヘパリン濃度の測定に着目した。本研究では、妊婦のヘパリンモニタリングにおけるAPTTの妥当性を抗Xa活性により検討した。</p> <p>妊婦で増加すると報告されているフィブリノーゲン、VII、VIII、IX濃度の増加がヘパリン存在下のAPTTと抗Xa活性に及ぼす影響を調べた。その結果、妊婦で増加する凝固因子の中でVIIIの増加が最もAPTTを短縮させ、抗Xa活性は凝固因子濃度増加の影響をほとんど受けないことを明らかにした。また、実際にヘパリンを投与されている妊婦の血漿を用いた検討では、妊婦は非妊婦と比べてヘパリン投与時のAPTTが延長しにくいことがわかった。また、APTTが正常血漿の1.5-2.5倍の範囲になるようにヘパリンの投与量を調節すると、抗Xa活性はヘパリンの治療域 (0.3-0.7 U/mL) の上限を超えることがあり、ヘパリンの過剰投与につながる可能性があることを示した。</p> <p>本研究により、APTTを用いた妊婦のヘパリンモニタリングの問題が明らかとなった。また、抗Xa活性が妊婦のヘパリンモニタリングとして有用である可能性を示した。したがって、本研究は妊婦の安全な抗凝固療法に貢献でき、博士 (保健学) の学位授与に値すると思われる。</p> |                   |