

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K07473

研究課題名（和文）直接経口抗凝固薬療法時における出血および血栓リスクの指標作成に関する研究

研究課題名（英文）Research on the development of an index for bleeding and thrombosis risk during direct oral anticoagulant treatment

研究代表者

大村 一将（Ohmura, Kazumasa）

北海道医療大学・予防医療科学センター・准教授

研究者番号：10803637

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：直接経口抗凝固薬の治療を行っている非弁膜症性心房細動患者血栓症患者において、患者背景および採取した血液検体を用いて凝固能および抗凝固能を測定し、出血および血栓リスクの指標である Ratio of Inhibited Thrombin Generation (RITG) との関連を検討したところ、RITG 高値では出血リスクマーカーの有意な上昇を、RITG 低値では血栓リスクマーカーの有意な上昇がそれぞれ認められた。本研究は直接経口抗凝固薬治療中の血栓あるいは出血リスクを評価する指標として RITG が有用であることを示唆するもので、適切な抗凝固療法実施の新たな確認試験の確立に寄与する結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

直接経口抗凝固薬 (DOAC) による治療は非弁膜症心房細動を含め静脈性血栓性疾患で広く行われている治療であり、従来のワルファリン療法と比較し、治療中の確認試験を必要としない点、頭蓋内出血などの重大な出血リスクが少ない点で優れているとされる。確認試験を必要としない点から定容量で使用されるが、一方で患者個々の凝固能および抗凝固能の多様性を考慮すると DOAC の抗凝固効果が均一であるとは考えにくい。本研究は、DOAC 療法中の抗凝固能を評価する指標を作成することに研究成果が寄与することで、血栓リスクあるいは出血リスクが高いと推測される状況で実施できる確認試験の開発を前進させる意義がある。

研究成果の概要（英文）：In patients with non-valvular atrial fibrillation treated with direct oral anticoagulant treatment, parameters of coagulation and anticoagulation functions were measured using blood samples collected, and then the correlation with the Ratio of Inhibited Thrombin Generation (RITG), an indicator of bleeding and thrombosis risk, was examined. High RITG levels were associated with a significant increase in bleeding risk markers, while low RITG levels were associated with a significant increase in thrombosis risk markers. This study suggests that RITG is useful as an indicator for evaluating thrombosis or bleeding risk during direct oral anticoagulant treatment, and the results will contribute to the establishment of a new confirmation test for the implementation of appropriate anticoagulant therapy.

研究分野：血栓止血学

キーワード：直接経口抗凝固薬 確認試験 血栓リスク 出血リスク 残存抗凝固能

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

経口抗凝固薬は、ワルファリンとともに直接経口抗凝固薬 (DOAC) が広く使われるようになったが、これら DOAC は治療中のモニタリング検査が不要であり、定用量が投与されることが最大の利点とされる。しかし非弁膜症性心原性脳塞栓症における DOAC の大規模臨床試験のメタ解析結果では、血栓症の発症ならびに大出血イベントは PT-INR でコントロールされたワルファリンと同程度に認められた。これは患者個々のもつ凝固能、抗凝固能は様々であり一定量の抗凝固薬では対処できない症例が存在することが原因と考えられ、抗凝固薬の選択や投与量を確認する何らかの指標が必要であると考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究は、DOAC 療法のうち直接 Xa 阻害薬 (DXaI) 治療時の効果不足・過剰を確認する臨床検査と、血栓および出血を示唆する様々な血液分子マーカーとを組み合わせることで、血栓症および出血リスクを最適に評価できる方法を確立することを目的とした。直接 Xa 阻害薬 (DXaI) 療法を行っている患者について、残存抗凝固能の指標は、希釈プロトロンビン時間 (dPT) 測定に基づく Ratio of Inhibited Thrombin Generation (RITG) を用いた。

### 3. 研究の方法

本研究は本学倫理委員会の承認のもとで行った (承認番号 137 号、189 号)。

#### 1) RITG 基準範囲の検討

RITG は、PT 試薬 (RecombiPlasTin、HemosIL) を 500 倍希釈し希釈 PT 時間 (dPT) を測定した。STA-R を測定機器として用い、患者血漿の測定値 [dPT(patient)] とコントロール血漿での測定値 [dPT(control)] を用いて、RITG は下記の計算式によって求めた。

$$\text{RITG} = \frac{\text{dPT}(\text{patient}) - \text{dPT}(\text{control})}{\text{dPT}(\text{control})} \times 100$$

RITG の基準範囲は、健常者 117 名の血漿を用いて RITG を測定し、平均 ± 5SD を基準範囲とした。

#### 2) 患者の臨床データの収集

臨床データとして、年齢、性別、体重、DOAC の種類、容量および血液採取時における DOAC 最終内服時からの経過時間、DOAC 療法中の血栓症あるいは出血イベントの有無を収集し、下記の項目について血漿あるいは血清を用いて測定を行った。

測定項目: PT、APTT、フィブリノゲン、可溶性フィブリンモノマー複合体 (FMC)、FDP、D-dimer、Cr、anti-Xa アッセイによる DOAC 血中濃度、高感度トロポニン T (hs-TnT)、NT-proBNP、GDF-15

血栓リスクマーカーは、D-dimer、FMC とし、出血リスクマーカーは、PT、APTT、GDF-15、hs-TnT とした。このうち、GDF-15、hs-TnT、NT-proBNP の測定はロシュ・ダイアグノスティックス社と共同研究を締結し受託研究として実施した。

患者から採取した血液は、日本検査血液学会「凝固用サンプル取り扱いに関するコンセンサス」に従って患者血漿を作成し、測定日まで -80 °C で凍結保存した。

### 4. 研究成果

#### 1) RITG 基準範囲

健常者 117 名の dPT 値は、-18.2 から 13.7 であった (平均 ± 5SD)。

#### 2) 臨床データ

##### (1) 患者背景

DXaI の種類毎に Rivaroxaban 882 検体、Apixaban 1214 検体、Edoxaban 820 検体について検査項目を測定した。患者背景を表 1 に示す。患者背景は、高齢かつ腎機能障害を有する患者群であった。

表 1. 各 DXaI 毎の臨床データ

	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
	N = 882	N = 1214	N = 820
年齢	77 [70, 83]	79 [75, 84]	75 [70, 83]
男性/女性	456/426	623/591	393/427
体重(kg)	59.7 (12.2)	58.6 (13.5)	60 (13.5)
sCr (mg/dL)	0.92 (0.29)	1.01 (0.42)	1.02 (2.17)

eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	57 (15)	54 (20)	57 (16)
PT (s)	14.5 (2.8)	13.2 (9.3)	15.0 (3.7)
APTT (s)	41.6 (9.6)	35.2 (10.9)	38.0 (13.4)
フィブリノゲン (mg/mL)	291 (66)	294 (77)	295 (66)
D-dimer (μg/mL)	1.5 (2.87)	0.95 (2.17)	1.0 (1.32)
FMC (μg/mL)	3.5 (8.3)	3.7 (7.0)	6.0 (18.5)
RITG	27.7 [3.3, 58.4]	10.2 [-0.9, 25.8]	32.6 [13.5, 55.2]
DOAC 血中濃度(ng/mL)	136 [50, 222]	232 [144, 272]	116 [3.0, 265]

平均 (SD) あるいは中央値 [25%tile, 75%tile] で表記した。

(2) RITG および DOAC 血中濃度の経時的変化

3つの DXaI の最終内服からの経過時間による RITG 値は、Rivaroxaban および Edoxaban は経時的な変化が明瞭であった一方で、Apixaban で RITG のはっきりとした上昇は認められなかった (図1)。

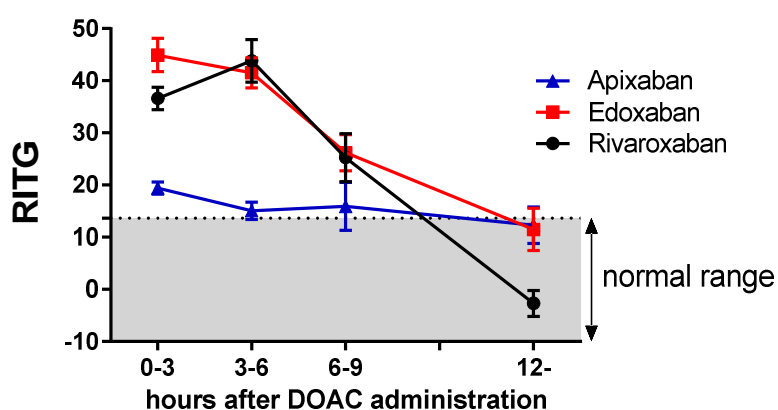


図1. DXaI 毎の RITG の平均値の経時的推移

RITG と DOAC 血中濃度との関係については、いずれの DXaI でも正の相関関係を認めた (表2)。RITG は DOAC 血中濃度を反映する指標である可能性が示唆された。

表2. DXaI 毎の RITG と DOAC 血中濃度との相関

		RITG と DOAC 血中濃度との相関
Rivaroxaban	Spearman ' s coefficient	0.689
	P value	<0.001
Apixaban	Spearman ' s coefficient	0.357
	P value	<0.001
Edoxaban	Spearman ' s coefficient	0.590
	P value	<0.001

(3) RITG と PT, APTT, D-dimer との関連

各 DXaI において、RITG 値と PT、APTT とは正の相関が、D-dimer とは負の相関が認められた (表3)。RITG は血栓リスクおよび出血リスクのどちらも反映しうる可能性が見いだされた。

表3. 各 DXaI と出血リスクマーカーとの相関

		PT (s)	APTT (s)	D-dimer
Rivaroxaban	Spearman ' s coefficient	0.723	0.593	-0.1
	P value	<0.001	<0.001	0.003

Apixaban	Spearman ' s coefficient	0.592	0.204	-0.131
	P value	<0.001	<0.001	<0.001
Edoxaban	Spearman ' s coefficient	0.692	0.552	-0.137
	P value	<0.001	<0.001	<0.001

次に、RITG の基準値範囲毎に検討した結果、RITG が基準値より低値の群で有意に D-dimer 陰性 (<1 μg/mL) 率が低い結果であった (表 4)。この結果から、RITG 低値は凝固亢進状態を示唆することから、Dxal 療法で RITG が低値となると血栓リスクが高い状態を反映することが示唆された。

表 4 . RITG 基準値に基づく RITG 毎の出血および血栓リスクマーカーのちがい

	RITG >13.7	RITG Normal range	RITG <-18.2
Number	1662	1114	130
PT (s), mean (SD)	15.3 (2.9)	12.5 (1.3)	11.4 (1.8)
APTT (s), mean (SD)	40.5 (11.7)	34.3 (5.3)	32.2 (4.9)
D-dimer < 1 μg/mL, n (%)	1183 (71)	758 (68)	56 (43)*

\*p < 0.0001, Pearson Chi-square test

最後に、GDF-15、hs-TnT および Nt-proBNP は、Rivaroxaban501 検体、Apixaban505 検体、Edoxaban500 検体で測定した (表 5)。

	全体 (n=1506)	Riv (n=501)	Api (n=505)	Edo (n=500)
GDF-15(pg/mL)	2200 ± 2848	2204 ± 4411	2199 ± 1181	2200 ± 1887
hs-TnT(pg/mL)	18.4 ± 11.6	16.3 ± 9.26	19.4 ± 12.2	19.3 ± 12.8
NT-proBNP(pg/mL)	704.4 ± 802.4	575.7 ± 675.8	849.0 ± 1018.7	687.2 ± 629.4

RITG と GDF-15 (p<0.001) および hs-TnT (p<0.001) とは、正の相関関係が認められ、出血リスクマーカーとも関連することが示唆された。

以上の結果から、RITG は DOAC 血中濃度を反映し、血栓リスクマーカーおよび出血リスクマーカーのいずれとも関連がみられることから、DOAC 療法中の確認試験として患者の凝固能および抗凝固能を反映する指標となりうるが見いだされた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ieko Masahiro, Ohmura Kazumasa, Naito Sumiyoshi, Yoshida Mika, Sakuma Ichiro, Ikeda Kozue, Ono Shouko, Suzuki Takeshi, Takahashi Nobuhiko	4. 巻 195
2. 論文標題 Novel assay based on diluted prothrombin time reflects anticoagulant effects of direct oral factor Xa inhibitors: Results of multicenter study in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Thrombosis Research	6. 最初と最後の頁 158 ~ 164
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.thromres.2020.07.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kazumasa Ohmura, Masahiro Ieko, Sumiyoshi Naito, Mika Yoshida, Takeshi Suzuki, Nobuhiko Takahashi, Shoko Ono, Kozue Ikeda, Ichiro Sakuma
2. 発表標題 Measuring the Anticoagulant Effect of Direct Oral Anticoagulants Targeted to Factor Xa Using the Ratio of Inhibited Thrombin Generation based on Dilute Prothrombin Time: Results from Multicenter Study
3. 学会等名 The XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazumasa Ohmura, Masahiro Ieko, Sumiyoshi Naito, Mika Yoshida, Takeshi Suzuki, Nobuhiko Takahashi, Shoko Ono, Kozue Ikeda, Ichiro Sakuma
2. 発表標題 Dilute prothrombin time is associated with the plasma drug concentrations, contributing to be comparable with anticoagulant effects as a measuring test for Direct oral anticoagulants targeted to factor Xa therapy: Results from multicenter study
3. 学会等名 XXXII International Symposium on Technical Innovations in Laboratory Hematology (国際学会)
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 大村一将
2. 発表標題 DOAC療法下での出血リスクの評価と確認試験
3. 学会等名 日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	家子 正裕  (Ieko Masahiro)  (50250436)	北海道医療大学・歯学部・教授   (30110)	
研究 分担者	高橋 伸彦  (Takahashi Nobuhiko)  (20372279)	北海道医療大学・歯学部・教授   (30110)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------