

令和 3 年 4 月 17 日現在

機関番号：11101
研究種目：若手研究
研究期間：2019～2020
課題番号：19K18233
研究課題名（和文）希釈式自己血輸血採取血液の経時的凝固能の変化：トロンボエラストメトリーを用いて

研究課題名（英文）Time dependent changes in clotting function of autologous normovolemic hemodilution evaluated with thromboelastometry

研究代表者
齋藤 淳一（Saito, Junichi）

弘前大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90647413
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,600,000円

研究成果の概要（和文）：希釈式自己血輸血採血後24時間経過しても血中のフィブリノーゲンを反映する検査（FIBTEM）は有意に変化しなかった。凝固因子や血小板活性を反映する検査（EXTEM）は時間依存的に減少したが、いずれも正常範囲内であった。希釈式自己血輸血の血液は、室温で保存すれば採血後8時間以上止血目的に使用できる。今後、希釈式自己血輸血をした場合の患者の止血に関する臨床的影響を明らかにする必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義
希釈式自己血輸血は同種血輸血を回避する手段として実施される自己血輸血の一つである。本研究により8時間を超える長時間手術においても希釈式自己血輸血の凝固機能が維持されることがわかった。新型コロナウイルスの流行により同種血輸血の供給が不足する状況下において希釈式自己血輸血が手術中の凝固因子補充を目的として長時間使用できる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Tests reflecting fibrinogen in the blood (FIBTEM) did not change significantly 24 hours after acute normovolemic hemodilutional blood collection. Tests reflecting coagulation factors and platelet activity (EXTEM) decreased in a time-dependent manner, but were all within normal limits. Acute normovolemic hemodilutional blood can be used for hemostatic purposes more than 8 hours after collection if stored at room temperature. In the future, it is necessary to clarify the clinical impact of acute normovolemic hemodilution on hemostasis in patients.

研究分野：麻酔科学

キーワード：希釈式自己血輸血 自己血輸血 周術期輸血 凝固機能 トロンボエラストメトリー

1. 研究開始当初の背景

希釈式自己血輸血の現状

希釈式自己血輸血は全身麻酔導入後、当該患者から 400～1,200mL の血液を採血した後、代用血漿剤の輸液により循環血液量を保ち血液を希釈状態にして手術を行い、術中あるいは手術終了前後に採血した自己血を返血する方法である。貯血式自己血輸血や回収式自己血輸血と組み合わせることにより、周術期の同種血輸血の回避が期待される。

血液の凝固因子活性について

新鮮凍結血漿は溶解後、時間の経過とともに凝固因子の活性が低下することが知られている。特に第 8 因子やプロテイン C、プロテイン S は溶解後 8 時間後には凝固活性が有意に低下する。時間経過に伴う各凝固因子活性の低下については明らかにされているが、全血の血液の凝固機能が時間経過とともにどのように変化するかわからない。希釈式自己血輸血を施行し採血した血液の凝固機能が常温の環境下で何時間にわたり保持され続けるのか不明である。

2. 研究の目的

希釈式自己血輸血として採血された血液の凝固能が採血から 24 時間でどのように変化するのか、ROTEM™ (Tem International, Munich, Germany) を用いて評価する。採血後 ROTEM を繰り返し測定することで、採血後凝固能が低下する時間を見極め、常温保存した血液の凝固能が維持される時間を明らかにしたい。この検討により、術中の凝固因子補充を目的とした希釈式自己血輸血の適切な返血時間を示すことができる。

冷蔵保存することで凝固因子活性の低下を抑制することができる可能性があるが、低温 (4 程度) により血小板機能が低下してしまい、希釈式自己血輸血の有用性を損なう可能性があること、通常希釈式自己血輸血は常温保存で行っていることから、今回は常温のみで検討する。

3. 研究の方法

凝固能の評価

ROTEM™ (Tem International, Munich, Germany) を用いた。

INTEM、EXTEM、FIBTEM の clotting time (CT), clot formation time (CFT), alpha-angle, Amplitude 10 min after CT (A10), Maximum clot firmness (MCF), maximum lysis (ML) を測定した

採血について

- 1) 12 症例に ROTEM 測定を行った。
- 2) 通常、希釈式自己血輸血は循環血液量 (60 kg × 75 mL) の約 20%、800mL を採血しており、400 mL 用の CPD 入り採血バッグに採血した (図 1)。
- 3) 希釈式自己血輸血を採血した際に点滴ラインから輸血バックまでの部分 (シーリングして破棄してしまう部分) の血液を利用した (約 5mL × 2 本計 10mL 得ることができた)。
- 4) シーリングした血液をただちに CPD 入りシリンジ (10 mL シリンジに 1.5 mL の CPD 溶液)

へ入れた。

5) シリンジは採血バッグと同じように室温で振盪 (80 rpm) を続けた。輸血返血終了後もシリンジは採血から 24 時間後まで継続して振盪した。

ROTEM 測定ポイント

希釈式自己血輸血 800 mL 採血した時点から 1 時間以内に ROTEM を測定しコントロールとした。

コントロール 4 時間 8 時間 12 時間 24 時間 の 5 ポイントで ROTEM を測定した。

統計学的検討は EZR (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japan) と GraphPad Prism V6 (GraphPad Software Inc, CA, USA) を用いて行った。Repeated measures one way ANOVA を用いてコントロールと各測定時間での ROTEM のデータを比較検討した。

4 . 研究成果

患者背景は表 1 に示す。ROTEM の各変数のベースライン値は正常範囲内だった。EXTEM (表 2)、INTEM、FIBTEM (表 3) の CT は、試験期間中に有意な変化はなかった。EXTEM と INTEM の CFT は時間依存的に増加したが、EXTEM は血液採取後 24 時間、INTEM は血液採取後 12 時間で有意に増加した。FIBTEM の MCF は有意に変化しなかったが、EXTEM と INTEM の MCF は時間依存的に減少した。EXTEM の MCF は血液採取 8 時間後から有意に減少したが、すべての MCF は正常な正常範囲内であった。INTEM は血液採取 4 時間後から有意に減少し、1 つの測定値 (INTEM の MCF 49mm) だけが正常限界 (INTEM の MCF 52-72mm) を下回った。EXTEM と INTEM の MCF の最大変化率は、それぞれ 12.4% (95%信頼区間 (CI): 9.0~15.8%) と 11.6% (95%CI: 6.8~16.4%) であった (図 1A)。EXTEM と INTEM の MCE は時間依存的に有意に減少したが、FIBTEM の MCE は変化しなかった。MCE_{EXTEM}-MCE_{FIBTEM} は、採血後 8 時間以降に有意に減少した。MCE_{EXTEM}-MCE_{FIBTEM} の最大変化率は、採血後 24 時間で 30.2% [95% CI: 17.6%-42.9%] であった (図 1B)。

以上の結果から、血小板成分パラメータ (MCE_{EXTEM}-MCE_{FIBTEM}) は、採血後 8 時間から時間依存的に有意に低下したが、FIBTEM の MCF は変化せず、EXTEM の MCF は採血後 24 時間後には基準範囲内に収まった。この結果から、ANH の血液は、室温で保存すれば、採血後 8 時間以上止血の目的に使用できることが示唆された。今後、ANH 血液を輸血した場合の止血に関する患者への臨床的影響を明らかにするための前向きな研究が必要である。

表 1. 12 名の患者背景と周術期データ

患者背景			
男性, n (%)	6 (50)		
年齢, yrs	64 (56, 70)		
身長, cm	157 (155, 160)		
体重, kg	57 ± 16		
手術データ			
出血量, g	604 ± 748		
尿量, mL	1326 ± 1454		
晶質液輸液, mL	2735 ± 1655		
膠質液輸液, mL	816 ± 489		
赤血球輸血, n (%)	2 (17)		
新鮮凍結血漿, n (%)	2 (17)		
血小板, n (%)	1 (8)		
血液検査	希釈式自己血輸血前	採血後	返血後
Hb, g/dL	13.9 ± 1.4	9.5 ± 1.6	9.5 ± 1.8
Ht. %	40.9 ± 3.6	27.6 ± 4.2	27.6 ± 5.1
Plt, × 10 ⁴ /μL	22.9 ± 5.1	15.8 ± 5.2	14.7 ± 4.4
PT, sec	11.5 ± 0.8		
PT-INR	0.99 ± 0.08		
APTT, sec	28.5 (27.9, 31.9)		
Fibrinogen, mg/dL	274 (252, 294)		

表 2. EXTEM の経時的変化

EXTEM	Reference range	0	4h	8h	12h	24h
CT, sec	42-74	67 ± 6	55 ± 5	61 ± 7	60 ± 3	64 ± 6
CFT, sec	46-148	111 ± 5	121 ± 11	133 ± 9	120 ± 9	141 ± 7**
MCF, mm	49-71	62 ± 1	61 ± 1	58 ± 1***	56 ± 2*	55 ± 1***
MCE, (G dynes/cm ²)/50	105-235	167 ± 6	155 ± 4	139 ± 6***	131 ± 10*	121 ± 5***

Mean ± SEM;

CT: clotting time; CFT: clot formation time; MCF: maximum clot firmness; MCE: maximal clot elasticity;

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001vs. 0

表 3. FIBTEM の経時的変化

FIBTEM	Reference range [11]	0	4h	8h	12h	24h
CT, sec	43-69	59 ± 3	56 ± 5	61 ± 4	47 ± 4	52 ± 3
MCF, mm	9-25	15 ± 2	15 ± 2	13 ± 1	14 ± 1	14 ± 1
MCE, (G dynes/cm ²)/50	13-27	18 ± 2	19 ± 4	15 ± 2	17 ± 2	16 ± 1

Mean ± SEM;

CT: clotting time; CFT: clot formation time; MCF: maximum clot firmness; MCE: maximal clot elasticity;

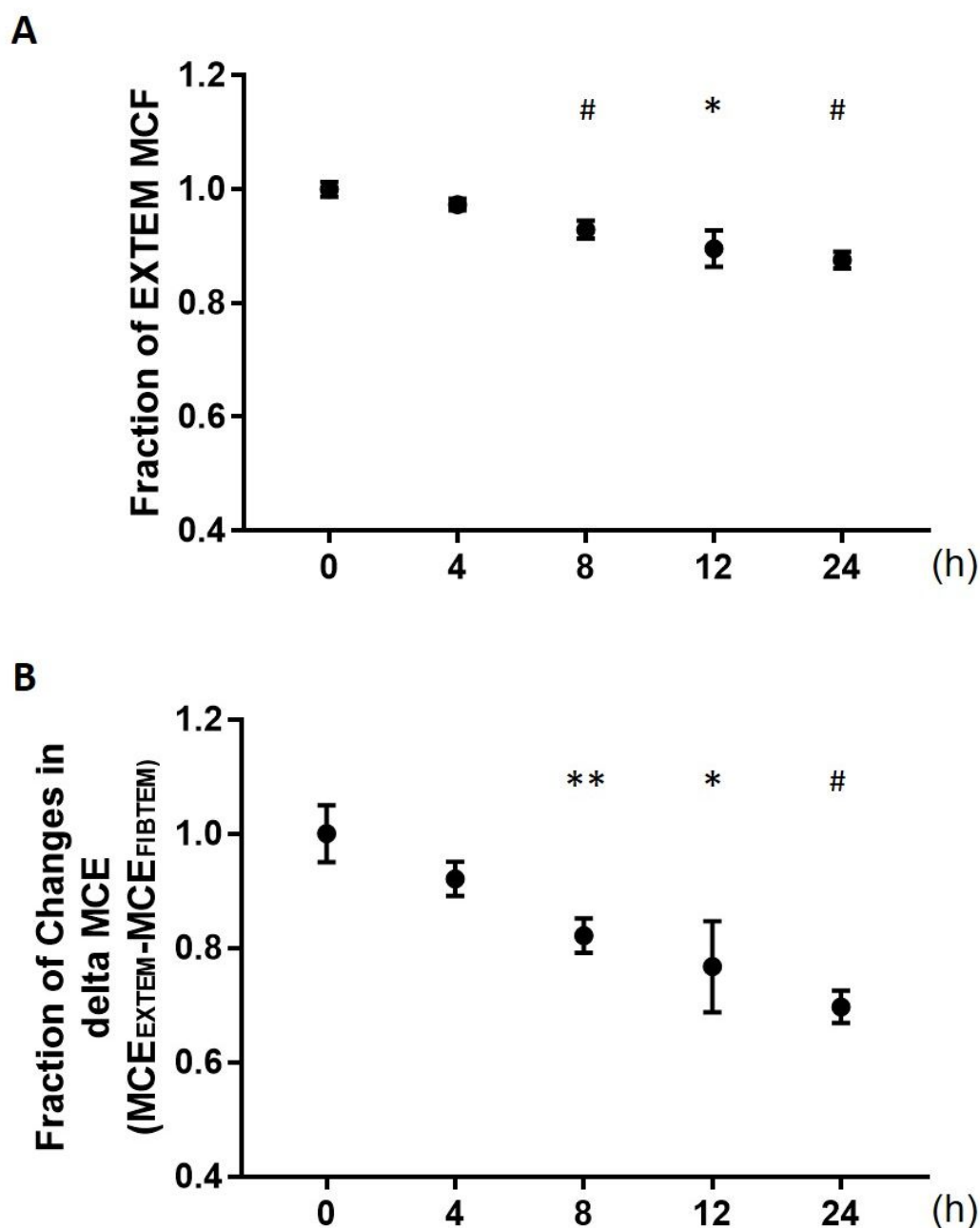


図 1 A EXTEM の MCF の経時的変化

図 1 B $MCE_{EXTEM} - MCE_{FIBTEM}$ の経時的変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Kinoshita Hirotaka, Saito Junichi, Nakai Kishiko, Noguchi Satoko, Takekawa Daiki, Tamai Yoshiko, Kitayama Masato, Hirota Kazuyoshi	4. 巻 35
2. 論文標題 Clotting functional stability of withdrawing blood in storage for acute normovolemic hemodilution: a pilot study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Anesthesia	6. 最初と最後の頁 35 ~ 42
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00540-020-02856-x	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木下裕貴 斎藤淳一 中井希紫子 野口智子 竹川大貴 廣田和美
2. 発表標題 希釈式自己血輸血の凝固能の安定性
3. 学会等名 第66回日本麻酔科学会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------