

平成 31 年 4 月 24 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20111

研究課題名(和文)新規経口抗凝固薬を対象とした、全血検体による薬効評価法の確立

研究課題名(英文)Rapid monitoring using whole blood in patients taking novel oral anticoagulants.

研究代表者

小川 覚(OGAWA, SATORU)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・学内講師

研究者番号：50636131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：88名のワルファリン服用患者を対象にした評価では、全血プロトロンビン時間は中央検査室で測定された血漿プロトロンビン時間と高い相関をもっていた。また同測定法は、心臓手術患者における血漿第II因子および第X因子と中程度の相関性を持って凝固因子欠乏を予測可能であった。ダビガトラン添加血漿を用いた全血凝固時間法の評価では、全血活性化部分トロンボプラスチン時間は、他の測定法に比較して、ダビガトラン濃度とイダルシズマブの拮抗効果の判定に鋭敏な測定結果を示した。本研究において、新しい全血凝固時間測定は、高い精度を持って各種経口抗凝固薬の効果や拮抗治療時のモニタリングに使用可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、トロンビンや活性型第X因子を選択的に阻害する新規経口抗凝固薬が幅広く使用されつつある。これらは厳格なモニタリングが一般に不要であるが、出血性合併症の発生時や周術期の休薬期間設定といった臨床状況においては、その薬効の迅速評価が重要となる。その一方で、中央検査室で測定される血漿測定法では、標準化と測定所要時間の問題がある。本研究において、これら経口抗凝固薬の薬効評価を全血検体で高い精度を持って迅速に測定可能であることが示唆された。このことは、経口抗凝固薬服用患者が出血時した場合において全血測定系によるモニタリングを導入することで止血治療のプロセスを改善できることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：In 88 warfarin-treated samples, whole blood PT-INR showed acceptable correlation with the laboratory method. There was a moderate correlation between factor II and X levels and the PT-INR with PT in cardiac surgical patients. In dabigatran-treated whole blood, whole blood aPTT corresponded well with plasma thrombin changes. This research highlighted that those tests vary in the sensitivity to the oral anticoagulant activity but are clinically useful as monitoring testing for patients taking oral anticoagulants with high accuracy.

研究分野：麻酔科学

キーワード：大量出血 経口抗凝固薬 止血 血栓 血液凝固

1. 研究開始当初の背景

近年、トロンビンや活性型第 X (Xa) 因子を選択的に阻害する新規経口抗凝固薬 (Non-Vitamin K Oral Anticoagulants: NOACs) が幅広く使用されつつある。これらは厳格なモニタリングが一般に不要であるが、出血性合併症の発生時や周術期の休薬期間設定といった臨床状況においては、その薬効の迅速評価が重要となる。その一方で、中央検査室で測定される血漿測定法では、標準化と測定所要時間の問題がある。

2. 研究の目的

NOACs の薬効評価を全血検体で迅速に測定することを目的として、現在使用可能な臨床モニタ装置に応用拡大し、新しい測定法開発への基盤的研究をおこなう。

3. 研究の方法

ワルファリン服用患者から得られた全血検体を持ちいて、全血プロトロンビン時間 (PT) と中央検査室における血漿 PT の相関性を検討する。また心臓外科手術患者の希釈性凝固障害検体において同様の相関性を評価して、さらに各種凝固因子濃度との相関を評価する。次に、健常ボランティア 15 名から、適量の血液検体を採取する (3.12% クエン酸)。全血検体に各種抗凝固薬ダビガトランを 0, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000 ng/mL の濃度で添加調整し、これら検体を持ちいて各種全血測定測定をおこなう。また残血を血漿分離した後、トロンビン生成試験 (TGA: Thrombinoscope®) を測定し、ダビガトランの効果とイダルシズマブによる拮抗効果の評価を行う。全血凝固時間の測定には、ドライヘマトロジー (A&T 社、横浜) [PT, aPTT]、ヘモクロン (ITC 社、米国) [PT]、コアグチェック (Roche 社、スイス) [PT] を実施する。また同時にトロンボエラストメトリー (ROTEM、ドイツ) を持ちいて、NATEM assay (no activation)、EXTEM assay (tissue factor) の凝固時間 (clotting time) を測定する。

4. 研究成果

88 名のワルファリン服用患者を対象にした評価では、全血プロトロンビン時間 (DRI PT-S) は中央検査室で測定された血漿プロトロンビン時間と高い相関をもっていた ($r^2 = 0.85$)。また同測定法は、心臓手術患者における血漿第 II 因子および第 X 因子と中程度の相関性を持って凝固因子欠乏を予測可能であった ($r^2 = 0.63$ and 0.67)。

健常者 15 名から得られた乏血小板血漿を持ち、ダビガトラン添加血漿を作成した。また、これに推奨用量に相当するイダルシズマブ 1000 $\mu\text{g/mL}$ を加えた拮抗モデルを作成した。拮抗効果の判定には、蛍光発色基質法によるトロンビン生成試験を持ちいた。結果、ダビガトラン添加は TGA の Lag time を有意に延長させ、Peak thrombin generation を有意に減少させた。イダルシズマブの添加は、2000ng/mL までのダビガトラン濃度において TGA のパラメーターを完

全に改善させたが、それ以上のダビガトラン濃度では Lag time の有意な延長と Peak thrombin generation の低下が認められ、ダビガトランによるトロンビン生成の抑制効果が残存していた。また、並行して測定した全血活性化時間部分トロンボプラスチン時間は全血プロトロンビン時間に比較して、TGA の結果をより反映していた。また、トロンボエラストメトリーから得られた凝固時間はダビガトランの拮抗効果を過大評価した。本研究結果から、イダルシズマブ推奨用量における拮抗限界は 2000ng/mL のダビガトランと決定され、またこの効果判定に全血活性化時間部分トロンボプラスチン時間が有用である可能性が明らかとなった。

本研究において、新しい全血凝固時間測定は、高い精度を持って各種経口抗凝固薬の効果や拮抗治療時のモニタリングに使用可能であることが示された。また、ダビガトラン中毒域にある緊急手術症例ではイダルシズマブによる拮抗治療が不十分に終わる可能性が指摘されることから、イダルシズマブの追加投与を検討する必要があることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

1. Shusuke Takeshita, **Satoru Ogawa**, Yoshinobu Nakayama, Nobuhiro Mukai, Yasufumi Nakajima, Toshiki Mizobe, Teiji Sawa, Kenichi A. Tanaka. Prohemostatic Activity of Factor X in combination with Activated Factor VII in Dilutional Coagulopathy Anesthesia & Analgesia. 2018. *In Press. (Corresponding)*
2. Nobuhiro Mukai, Yoshinobu Nakayama, Sachiyo Ishii, **Satoru Ogawa**, Sachiko Maeda, Natsuki Anada, Satoshi Murakami, Toshiki Mizobe, Teiji Sawa, Yasufumi Nakajima. Changes in microRNA expression level of circulating platelets contribute to platelet defect after cardiopulmonary bypass. Critical Care Medicine. 2018. 46: e761-e767.
3. Shihoko Okabayashi, **Satoru Ogawa**, Kenichi A. Tanaka, Takashi Nishiyama, Shusuke Takeshita, Yoshinobu Nakayama, Yasufumi Nakajima, Teiji Sawa, Toshiki Mizobe. A Comparative Study of Point-of-care Prothrombin Time in Cardiopulmonary Bypass Surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2018. 32: 1609-1614. *(Corresponding)*
4. Nobuhiro Mukai, Yoshinobu Nakayama, Satoshi, Murakami, Toshihito Tanahashi, Daniel Sessler, Sachiyo Ishii, **Satoru Ogawa**, Natsuko Tokuhira, Toshiki Mizobe, , Teiji Sawa, , Yasufumi Nakajima. Potential contribution of erythrocyte microRNA to secondary erythrocytosis and thrombocytopenia in congenital heart disease. Pediatric Research. 2018; 83 :866-873.
5. Momoko Murase, Yoshinobu Nakayama, Daniel. I. Sessler, Nobuaki Mukai, **Satoru Ogawa**, Yasufumi Nakajima. Changes in platelet Bax levels contribute to impaired platelet response to thrombin after cardiopulmonary bypass: prospective observational clinical and laboratory investigations. British Journal of Anaesthesia 2017. 119: 1118-26.

6. 小川 覚, 竹下秀祐. 外科周術期管理に関連した血小板・血液凝固領域における最新の知見. 日本臨床麻酔誌 2018; 38 (4): 519-530.
7. 小川 覚, 佐和貞治. 区域麻酔・神経ブロックにおける抗血小板薬と抗凝固薬の取扱い. 臨床麻酔 2018; 42 (増): 393-400.
8. 小川 覚. 抗血栓薬投薬患者の周術期対応と、その現状. 麻酔 2016; 65増: S45-55.
9. 小川 覚, 宮田茂樹. フィブリノゲンが止血に果たす役割 - 希釈性凝固障害における補充療法 -. 日本血栓止血学会誌 2016; 27: 328-338.
10. 小川 覚, 中山力恒, 岡林志帆子. 心臓外科手術における凝固因子補充療法. 臨床麻酔 2016; 40: 609-619.

〔学会発表〕(計10件)

1. 小川 覚. 第23回日本心臓血管麻酔学会学術総会、横浜、2018年9月16日、「血液凝固管理」(専門医コースレクチャー)
2. 小川 覚. 第9回麻酔周術期医学講演会、京都、2018年11月9日、「血栓止血領域の基礎・臨床研究」(教育講演)
3. 小川 覚. 京都クリティカルケアセミナー、京都市、2018年8月24日、「経口抗凝固薬の拮抗治療を適正に行うには？」(特別講演)
4. 小川 覚. 第66回日本輸血細胞治療学会総会、栃木、2018年5月24日、大量出血への対応. massive transfusion protocolとフィブリノゲン製剤 「心臓外科手術における凝固因子補充療法」 (シンポジウム)
5. 小川 覚. 第65回日本麻酔学会学術大会、横浜、2018年5月17日. 抗血小板薬・抗凝固薬服用患者の麻酔管理. 「待機手術患者における抗血栓薬の取扱い」(シンポジウム)
6. 小川 覚. 32th Transfusion Medicine Conference, Hayama, 2018年1月27日、「The roll of fibrinogen replacement therapy in cardiovascular surgery」(指定講演)
7. 小川 覚. West Japan Conference for Procedures in CVS (WEP) 2017、大阪、2017年7月22日. 「心臓外科手術における、抗凝固薬拮抗治療の新機軸」(指定講演)
8. 小川 覚. 第64回日本麻酔科学会学術集会、神戸、2017年6月8日. 「区域麻酔における抗血栓薬の取扱い」(リフレッシャーコース・ベーシック)
9. 小川 覚. 第44回日本集中治療医学会学術集会、札幌、2017年3月10日. 「心臓外科手術における凝固因子補充療法」(教育講演)
10. 小川 覚. 第44回日本集中治療医学会学術集会、札幌、2017年3月10日. 大量出血の病態生理と輸血戦略「大量出血における血小板・凝固モニタリング」(企画セミナー)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：岡林志帆子

ローマ字氏名：Shihoko Okabayashi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。