

体外循環時に使用する各抗凝固薬におけるトロンビン生成能の検討

岡海斗、戸登昭良、青砥良介

鈴鹿医療科学大学医用工学部臨床工学科4年

【要旨】

人工心肺装置、血液浄化装置といった体外循環を行う際には、抗凝固薬の使用が必須となる。体外循環では、血液が「空気と触れる」・「異物と接触する」・「圧力損傷を受ける」など血液にとって様々な特殊ストレスがかかる状況にある。体外循環時には、一般的に活性化凝固時間（ACT）を使用して凝固時間を測定しているが、ACTは簡易的に測定できる一方、具体的にどうして凝固が生じたかなど詳細については明らかにすることはできない。そこで本研究では、体外循環時に大量に産生されるトロンビンに着目し、基礎的研究として抗凝固薬がトロンビン生成に及ぼす影響についてトロンビン生成測定システムを用いて検討を行った。

【背景・目的】

臨床工学技士業務において、人工心肺・心臓カテーテル・手術室・血液浄化療法業務などの業務を行うにあたり血液と関わる業務が多々存在する。そのなかでも臨床工学技士が機器の操作にあたる人工心肺装置及び人工透析装置を使用した業務では、体外循環での治療を行うことから様々な問題及び危険性が伴ってくる。そのなかで血液凝固及び抗凝固については必ず考えなければならない。体外循環時には、抗凝固薬の使用による出血の助長、血管組織の損傷、異物との接触による外因系・内因系凝固関連因子の活性化、血小板凝集、凝固・線溶系の活性、血球破壊等血液凝固に関連する種々の反応が生じる^{1),2),3)}（図1）。そのような状況のもと、臨床工学技士は「なぜ凝固したのか」、「なぜ出血したのか」、「なぜ溶血したのか」など治療に携わっている者として、また機器を操作している者として知る必要があると考える。これまでの臨床工学分野に関する報告では、「出血が生じた」また「凝固が生じた」との報告は多々ある。しかし、その原因を特定する検討結果及び報告については多くはない。そこで、体外循環時に起こっている血液反応、凝固反応について明らかにする目的で、本研究では体外循環時に使用する抗凝固薬がトロンビン生成に及ぼす影響についてトロンビン生成測定システム^{4),5)}を用いて基礎的研究を行った。

【実験材料・機器】

血漿は、血液凝固試験用ヒト血漿（シーメンス社）、抗凝固薬は、ヘパリン（持田製薬（株））、低分子ヘパリン（沢井製薬（株））、メシル酸ナファモスタット（東京化成工業（株））、アルガトロバン（東京化成工業（株））を使用した。トロンビン生成測定については、トロンビン生成測定システムCAT（Thrombinoscope社製）を用いて測定を行った。

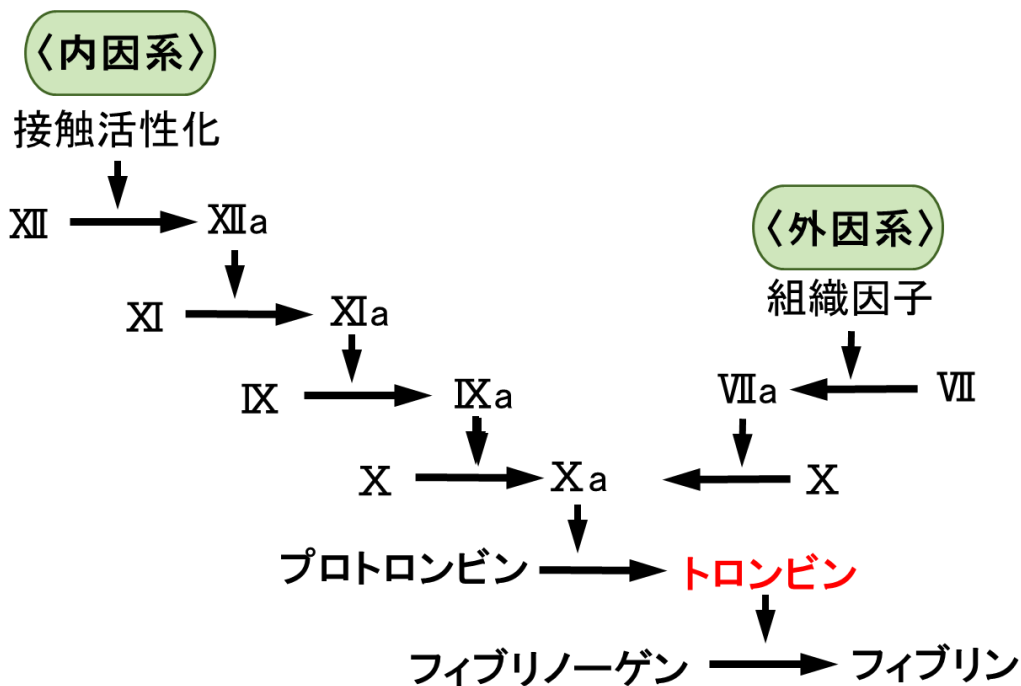


図1 血液凝固経路

【実験方法】

トロンビン生成に対する抗凝固薬の影響についての実験方法は、トロンビン生成測定システム CAT にて、血液凝固試験用ヒト血漿 $72 \mu\text{l}$ 、各抗凝固薬をそれぞれの濃度 $8 \mu\text{l}$ 添加、加えて組織因子、リン脂質、蛍光発光基質、塩化カルシウムを添加し反応を開始した。測定結果については、3 検体を測定し平均値を波形として表示される (図2)。

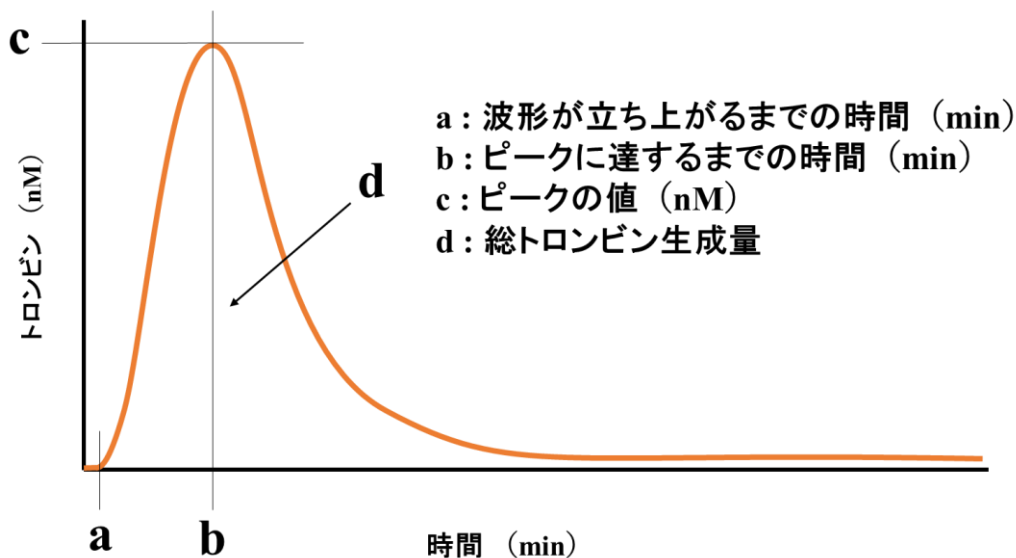


図2 トロンビン生成試験で測定される波形の概要

【結果】

各抗凝固薬がトロンビン生成に及ぼす影響について検討した結果、ヘパリンでは0.1U/ml、低分子ヘパリンでは1U/mlでトロンビン生成の抑制が認められた（図3）。メシル酸ナファモスタットでは1 μ g/ml、アルガトロバンでは0.01 μ g/mlでトロンビンの生成が著しく増加する結果が得られた（図3）。各抗凝固薬の一般的な臨床使用量について、本実験での使用量に換算した結果、ヘパリン3.54~7.08U/ml、低分子ヘパリン0.35~0.47U/ml、メシル酸ナファモスタット1.42~4.72 μ g/ml、アルガトロバン0.24~0.59mg/mlに相当する。

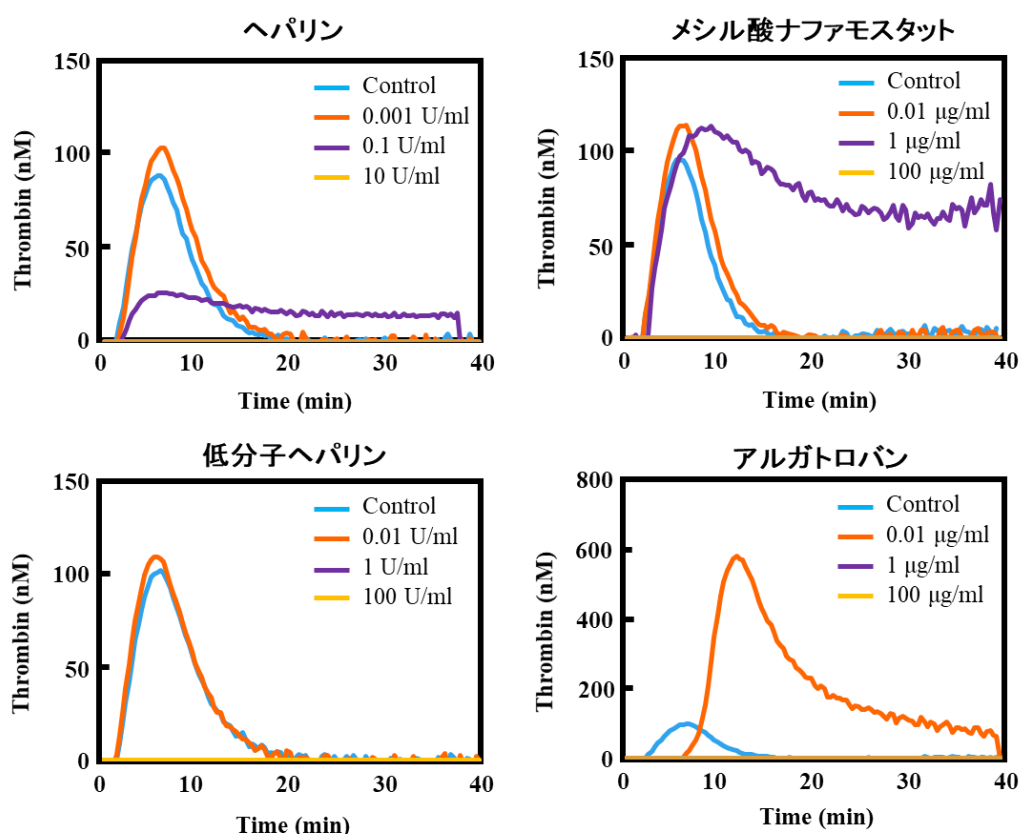


図3 各抗凝固薬がトロンビン生成に及ぼす影響

【考察】

トロンビン生成能に関する測定の試みは以前から行われていたが、手技が煩雑で再現性が乏しい点などから困難とされてきた。近年、容易に定量的且つ経時的にトロンビン生成能を測定することを可能としたシステムが構築され診断及び治療においてその応用性が広がりつつある状況である。しかし、臨床工学技士が関係する業務である人工心肺装置、血液浄化装置を用いた治療においてトロンビン生成能に関する報告は少ない。近年では臨床現場において、体外循環分野を中心にACT、PT、APTTの測定結果に加えて血液凝固・線溶系について更に詳細な値が必要とされるケースがあるという報告が増加している。そのなかで血液凝固線溶動態をグラフ化し評価を行うトロンボエラストグラフィ（TEG）などの測定が広

まりつつある。そこで血液凝固・線溶系について更に詳細な検討ができないかと考え本研究を行った。

本研究で検討した結果、各抗凝固薬の濃度変化に対してトロンビン生成試験で測定される波形(図2)のパラメータに着目すると、波形が立ち上がるまでの時間、ピークに達するまでの時間、ピークの値、総トロンビン生成量などACT及びPT、APTTの測定では得ることができないトロンビンの経時的生成量を波形として示すことができた。測定波形(図3)より、ヘパリン0.1U/mlではトロンビンの生成は抑制されるが長期にわたりトロンビンが生成されていること、低分子ヘパリン1U/mlではトロンビンの生成が抑制されること、またメシル酸ナファモスタット1 μ g/ml、アルガトロバン0.01 μ g/mlではトロンビンの生成量が著しく増加し波形パターンがコントロールと比較して異なる結果が得られたことから、それぞれの抗凝固薬がトロンビン生成に与える影響が異なっていること、ACT及びPT、APTTにおいて同凝固時間であってもトロンビンの生成量等が異なっている可能性が示唆された。しかし、メシル酸ナファモスタットの作用として、トロンビン、FXIIa、FXa、FVIIa、カリクレイン、プラスミン、補体、トリプシンのプロテアーゼ活性を阻害、アルガトロバンの作用としては、トロンビンを選択的かつ直接的に阻害し、トロンビンによるフィブリン生成を抑制することから両抗凝固薬で、ある濃度でのみトロンビンの生成が亢進した理由として、抗凝固薬の特性及び手技・機器等によることも考えられ現時点では亢進した機序については不明である。今後、改めて検討する必要があると考えている。今後、本研究で得られた波形について詳細に検討を進めるとともに、体外循環の血液は、本研究で行った抗凝固薬に対する影響のほか、血液希釈、異物接触、ローラーポンプ等による圧力損傷等、様々な影響を受けることからトロンビン生成測定を用いて更に検討を進めていきたいと考えている。

【参考文献】

- 1) 木倉睦人, 石黒芳紀: 心臓血管麻酔と体外循環における血栓・止血の制御, 日本臨床麻酔学会誌, 29(7): 809-814, 2009
- 2) 池崎弘之, 米谷聡: 心臓血管外科領域における凝固モニタリング-心臓手術中の止血困難に対してどう対処するかについての実践的アプローチ-, 日本臨床麻酔学会誌, 33(2): 279-285, 2013
- 3) 坂爪公, 齋木佳克: 人工循環中の出血凝固因子, 人工臓器学会誌, 45(3): 221-224, 2016
- 4) 松本智子, 野上恵嗣: 凝固機能評価法の創出と病態の解明, 臨床病理, 65(2): 153-159, 2017
- 5) 松本智子, 野上恵嗣: トロンビン生成試験(thrombin generation test), Thrombosis Medicine, vol. 6(1): 55-61, 2016

【指導教員】

鈴鹿医療科学大学医用工学部臨床工学科
秋田展幸