

平成 27 年度病院医学教育研究助成成果報告書

報告年月日：平成 28 年 4 月 11 日

研究・研修課題名	全自動総合血球分析装置CELL-DYN SAPHIRE PLUSによる血小板自然凝集塊測定の血栓症における有用性の評価
研究・研修組織名（所属）	検査部
研究・研修責任者名（所属）	定方 智美
共同研究・研修者名（所属）	

目的及び方法、成果の内容

①目 的

高齢化社会や生活習慣の欧米化により、我が国でも静脈血栓塞栓症（Venous thromboembolism: VTE）の患者数は年々増加している。VTE は深部静脈血栓症（Deep vein thrombosis: DVT）や肺血栓塞栓症（Pulmonary embolism: PE）など、静脈内の血栓によっておこる疾患の総称であり、特に PE は呼吸困難などを引き起こし、急性期の死亡率が高い危険な病態である。PE の背景には無症状であることの多い DVT が存在すると言われており、DVT の早期発見・早期治療は重要である。DVT の診断には、従来 D ダイマーの測定や下肢静脈エコー等が行われているが、偽陽性や手技が煩雑であるといった問題が存在する。DVT の発生機序としては、凝固因子の活性化が主な原因であると言われてきたが、最近の研究で、静脈血栓の進展にも血小板が関与しているとの報告がある。そこで今回血小板自然凝集塊の測定を行い、D ダイマーや下肢静脈エコー、血小板活性化マーカーなどの結果と比較し、臨床的有用性を検討する。本研究で用いる血小板自然凝集塊測定は血球計数を測定する全自動総合血球分析装置により全血で測定可能であり、手技も簡便であるため、その有用性が証明されれば DVT 診断の効率化につながる。

また、心筋梗塞や脳梗塞等の動脈血栓症では再発予防で抗血小板療法を行う際、抗血小板薬のモニタリングが必要である。既存の方法として、透過光法、散乱光法による血小板凝集能測定があるが、測定には遠心分離で platelet rich plasma を作製し、惹起物質を加えるなどの操作の必要がある。フローサイトメーターによる活性化血小板、白血球・血小板複合体の測定も報告されているが、いずれも煩雑であり結果の分析には時間が必要となる。比較的簡便に測定することが可能である血小板自然凝集塊測定を行い、抗血小板薬モニタリングとしての有用性の評価を行う。

②方 法

1) 対象

急性期脳梗塞患者6名と下肢静脈エコーの検査で血栓を有する患者、有しない患者各10名を対象とした。

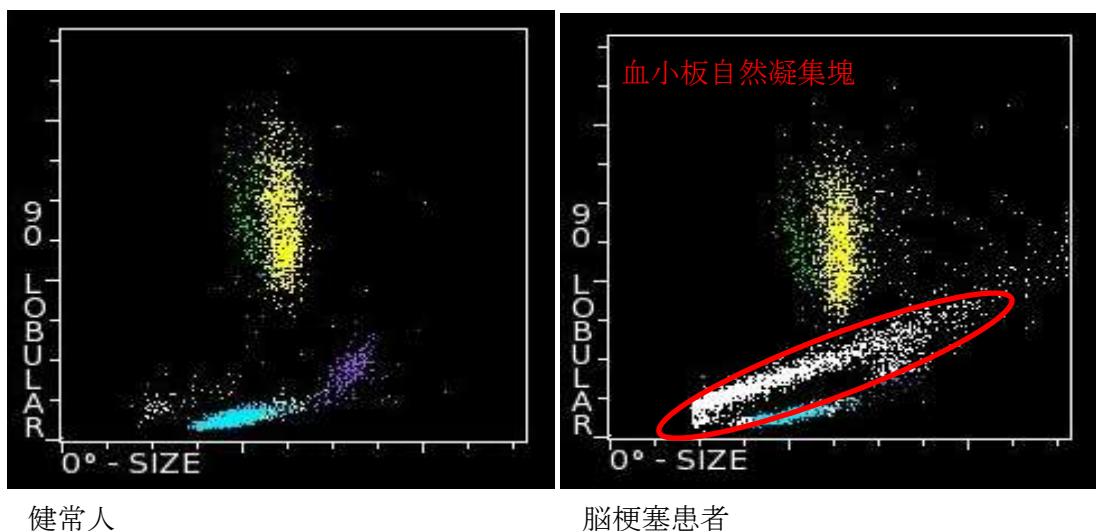
2) 研究方法

➤ 臨床情報の取得

年齢、性別、身長、体重、現病歴、診断歴、家族歴、既往歴、治療歴、手術歴、生活習慣などの臨床情報を取得する。

➤ 血液による測定項目

- ① 対象患者からクエン酸血（3.13%クエン酸ナトリウム 1 容に全血 9 容の割合で採血）と EDTA 血の採血を行う。
- ② 血球計数の測定：EDTA 全血を全自動総合血球分析装置 CELL-DYN SAPPHIRE[®] PLUS（Abbott 社：以下 CELL-DYN）にて測定し、血球計数値を求める。
- ③ 血小板自然凝集塊
 - ◇ 採血 15 分後にクエン酸全血を CELL-DYN にて測定する。
 - ◇ スキャッタグラムより血小板自然凝集塊を確認する。



- ④ 血小板凝集能：ADP およびコラーゲンを凝集惹起物質としてクエン酸全血法にて測定する。
- ⑤ 血小板活性化マーカー：フローサイトメーターを用いて CD62P（P-selectin）、PAC-1 の測定をクエン酸全血を用いた直接法にて行う。CD62P と PAC-1 のいずれかまたは両方が陽性となった血小板の割合を求める。
- ⑥ 凝固・線溶検査：クエン酸血漿を用いて D-dimer、可溶性フィブリン（SF）、プロトロンビン時間（PT）、活性化トロンボプラスチン時間（APTT）を測定する。

3) 評価方法

各検査結果と臨床情報を比較し、血小板自然凝集塊測定 of 血栓症発見および治療モニタリングとしての有用性を検討した。

③ 成 果

血小板自然凝集塊は、脳梗塞患者の 6 例中 2 例(33%)に顕著な増加を認めた。1 例は多発脳梗塞発症直後の患者で抗血小板薬などの投薬前の症例、もう 1 例は脳梗塞発症で抗血小板薬を投与されていたが、経過が良好なため投薬中止となった症例で、投薬中止後 4 日目の検体であった。両者とも血小板活性化マーカー（FCM）が陽性、血小板凝集能は亢進していたが、SF と D-dimer の増加は認めなかった。

脳梗塞患者は D ダイマーや FDP、SF、FCM 陽性率共に平均値が高かったが、検体ごとのばらつきが大きく、梗塞の程度や時期によってかなり差があると考えられる。脳梗塞の患者すべてにおいて血小板自然凝集塊が陽性になるわけではないが、陽性になったときにはその意義が高い。血小板自然

凝集塊測定は全血ですぐに測定可能なため、スクリーニングとしての価値があると示唆される。

一方、静脈血栓症患者では、血小板自然凝集塊の増加は認めず、血小板凝集能亢進やFCM陽性の増加もみられなかった。一方でD-dimerは全症例で高値、SFも大部分の症例で上昇していた(表1、2)。

静脈血栓の有無と自然凝集塊の有無が関連するのではないかと予想していたが、関連は認められなかった。血栓が新鮮血栓であっても陳旧性血栓であっても血小板自然凝集塊の増加は認めなかった。また、D-dimerが陰性であった症例は全症例で血栓が形成されていないことから、D-dimerの陰性的中率の高さが再確認できた。

表 1. 各項目の数値 (平均±SD)

	n	血小板自然凝集塊	DD	FDP	SF	FCM陽性
		陽性件数	[μ g/mL]	[μ g/mL]	[μ g/mL]	[%]
脳梗塞	6	2/6	15.6±23.4	30.2±52.0	33.37±57.87	28.8±29.4
下肢静脈エコー	血栓(+)	0/10	9.6±9.5	17.4±18.0	26.50±37.97	14.1±16.5
	血栓(-)	0/8	5.2±10.2	8.0±13.0	4.49±4.09	5.7±5.7

表 2. 血小板凝集能陽性件数

		ADP				Collagen				O:正常 I:軽度亢進 II:中等度亢進 III:高度亢進
		0	I	II	III	0	I	II	III	
脳梗塞		2/6	0/6	0/6	1/6	1/6	0/6	1/6	0/6	
下肢静脈エコー	血栓(+)	3/10	1/10	1/10	0/10	3/10	1/10	0/10	0/10	
	血栓(-)	3/8	0/8	0/8	1/8	1/8	0/8	0/8	0/8	

今回脳梗塞の患者において、血小板自然凝集塊の増加を認めたことから、血小板自然凝集塊の測定は急性期の動脈血栓症における血小板亢進状態を血球計数測定と同時に簡便に把握できるという点で有用な検査であると考えられた。また、投薬前および休薬中の症例で増加していたことから抗血小板薬の治療効果モニタリングにも利用できる可能性が示唆された。