

正確なループスアンチコアグラント (LA) 判定へのアプローチ方法

◎野島 順三¹⁾

山口大学大学院医学系研究科 生体情報検査学¹⁾

抗リン脂質抗体症候群 (APS) とは、血液中に抗カルジオリピン抗体 (aCL)・抗 $\beta 2$ グリコプロテイン I 抗体 (a $\beta 2$ GPI)・ループスアンチコアグラント (LA) に代表される抗リン脂質抗体が産生されることにより動脈血栓症や習慣流死産などの病態を呈する自己免疫疾患である。APS の検査診断には抗リン脂質抗体の検出が必須であり臨床検査の役割は大きい。実際の臨床現場では、リン脂質依存性凝固時間 (特に APTT) の延長の原因精査により、しばしば抗リン脂質抗体の存在が疑われる。LA 活性は、リン脂質あるいはリン脂質と血漿蛋白の複合体に対する抗リン脂質抗体が、リン脂質濃度の限られた試験管内において、リン脂質を介する血液凝固反応 (特に Tenase 複合体や Prothrombinase 複合体の形成) を阻害することにより凝固時間を延長させる現象であり、抗リン脂質抗体の存在を間接的に証明する定性法である。

国際血栓止血学会の LA 診断ガイドラインでは、LA 活性の判定には、スクリーニング検査→クロスミキシングテスト→確認試験と 3 段階のステップを要求している。スクリーニング検査では希釈ラッセル蛇毒試験 (dRVVT) と APTT の 2 法が推奨されている。dRVVT 試薬として、①LA テスト「グラディポア」、②ヒーモスアイエル dRVVT、③コアグピア®LA、④LA1 SR/LA2 CR が市販されており、これらの判定用試薬では、リン脂質低濃度試薬 (screen 試薬) とリン脂質高濃度試薬 (confirm 試薬) を用い、スクリーニング検査と確認試験が実施できるのが利点である。APTT も測定試薬により LA に対する感受性が異なるため、LA 検出に高感度で特異性の高い検査試薬を選択することが重要となる。LA 検出に適した試薬として①PTT-LA、②トロンボチェック APTT-SLA、③ヒーモス IL APTT-SP、④コアグジェネシス APTT などが推奨される。LA 検出にあたり dRVVT と APTT は、それぞれ一長一短がある為、一方が陰性の場合には必ず他方も実施しなければならない。つまり LA 陰性の判定には、APTT が正常、且つ dRVVT の normalized S/C ratio が 1.2 未満であることを確認しなければならない。スクリーニング検査で凝固時間の延長が確認された場合、その延長が、①凝固因子欠損症、②凝固因子インヒビター、③LA を鑑別するためにクロスミキシングテストを実施する。

クロスミキシングテストとは、被検血漿と正常血漿を種々の割合で混和し、即時反応 (混和血漿を作成後速やかに APTT 測定) と遅延反応 (混和血漿を 37°C・2 時間インキュベーション後に APTT 測定) 両方の凝固時間をグラフ上にプロットして、そのパターンから上記 3 病態を鑑別する検査法である。パターン判定が困難の場合は、Index of circulation anticoagulant (ICA) 等の数値判定法を併用する。クロスミキシングテストで LA を含むインヒビターの存在が疑われたサンプルに関しては、被検血漿に過剰なリン脂質を添加する確認試験 (リン脂質中和法) を実施し、延長していた凝固時間がある一定レベル短縮した場合に LA 陽性と判定する。

LA の多くは APS における動・静脈血栓症発症の強力なリスク因子であり、その病因抗体として aCL、a $\beta 2$ GPI、さらに aPS/PT があげられる。実際に高力価の抗リン脂質抗体が複数種混在する患者、特に LA 活性、aCL、a $\beta 2$ GPI が全て陽性、あるいは LA 活性、a $\beta 2$ GPI、aPS/PT が全て陽性の症例では、血栓症の発症 (再発) 率が際立って高いことが分かっている。従って APS 検査診断では、LA 活性検査に加えて免疫測定法による aCL、a $\beta 2$ GPI、aPS/PT の定量が患者のリスク管理に重要である。一方、APS 以外でも LA-hypoprothrombinemia syndrome (LAHPS) のように出血傾向を呈する LA 陽性症例も少なからず存在している。プロトロンビン (PT) に対する自己抗体が検出されるケースが多く、血漿 PT 活性の顕著な低下を伴う。PT 活性低下の機序としては、PT-自己抗体複合体が細網内系によりクリアランスされる場合と、抗 PT 抗体による直接的な PT 活性阻害などが考えられている。このように LA 活性の検出は APS あるいは LAHPS を疑うきっかけとなる重要な検査である。

本講演では、APS の検査診断における正確な LA 判定へのアプローチ方法について各種症例データを交えながら解説すると共に、患者の血栓性合併症リスク管理に重要な抗リン脂質抗体検査の進め方について概説する。

連絡先：0836-22-2824

APTT 凝固波形解析を活用した病態へのアプローチ方法

◎徳永 尚樹¹⁾社会医療法人 川島会 川島病院¹⁾

活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) は、出血傾向の評価や未分画ヘパリンを代表とする抗凝固薬のモニタリングなど、様々な病態評価に用いられる検査である。APTT の測定原理は、患者血漿に接触因子相を活性化するシリカやエラジン酸などの活性化剤と、凝固反応に必要なリン脂質を添加し、十分に凝固第 XII 因子を活性化させたのち、カルシウムを添加して凝固反応を進め、カルシウム添加から最終的に検体中のフィブリノゲンがフィブリンになるまでの時間を凝固時間として測定する。このように APTT は内因系凝固反応を包括的に反映する検査であるが、日常臨床で報告している凝固時間はあくまでもフィブリンクロットの凝固開始点のみを捉えているにすぎない。

自動分析機にて測定される APTT では、このカルシウム添加後からの凝固反応を、血漿の濁度変化として光学的に吸光度あるいは透過光、散乱光などにより捉えることで、フィブリン形成反応を示す凝固反応曲線 (凝固反応波形) が得られる。さらに、凝固波形解析 (clot waveform analysis: CWA) 機能が搭載された機種であれば凝固反応波形を数学的に逐次微分して得られる、フィブリンの形成速度変化を示す一次微分波形と、加速度変化を示す二次微分波形を同時に算出することができる。CWA とは、このように凝固時間検査の測定過程で得られたこれらの波形を解析して包括的に凝固能を評価する方法である。CWA では、時間軸のみならず凝固能の程度を評価することで、病態を詳細に把握することができる。

APTT が延長を来す要因は、血友病をはじめとする先天性・後天性凝固因子欠乏症やループスアンチコアグラント (LA) などの抗リン脂質抗体の存在、抗凝固薬投与、播種性血管内凝固 (DIC) による消費性凝固障害、肝蛋白合成能低下など多岐に渡るが、APTT 値のみではこれらの病態を鑑別することは難しい。しかしながら凝固因子欠乏症や LA 陽性例では APTT 凝固波形に特徴的な波形異常が高頻度に見られるため、波形異常の有無を検出するだけでも血液凝固異常症のスクリーニングに有用である。さらに、近年では凝固波形から複数のオリジナル CWA パラメータを算出して APTT の延長原因を鑑別する方法や、機械学習や AI による解析で凝固波形情報から APTT の延長原因を推測

する技術が開発されるなど、CWA の分野はますますの進化を遂げている。

また、CWA パラメータは病態把握の指標としても用いられ、がん関連血栓症や敗血症、妊娠周産期の凝固因子活性増加などの凝固亢進状態においては最大速度値や最大加速度値の増加、抗凝固薬投与例では両者が低下することが報告されている。

CWA 機能が実装されていない機種においては、凝固反応波形の形状や、吸光度などの変化量を指標として解析することで、フィブリノゲン量や凝固異常の原因などを推測する方法もある。乳びや溶血がある検体や、過剰な抗凝固薬の投与や混入、高力価のインヒビターの存在による反応阻害、また、分析機側の検体・試薬のサンプリング不良や測定範囲の逸脱などが原因で、凝固時間の測定結果が得られない場合、凝固反応波形のパターンを解析することで測定不能となった原因や凝固点を推察することが可能である。このように CWA は病態の評価のみならず、原因分析においても活用できる。

CWA の最大の利点は、PT や APTT を測定した際に付随して情報が得られるため、新たに採血や検査が必要なく、コストをかけずに実施できることである。

本講演では、原因不明の APTT 延長例を中心に CWA を活用した病態鑑別アプローチの方法について、症例を交えながら解説する。本講演が、CWA 機能がある施設もない施設も凝固波形を確認することの重要性を知る機会になれば幸いである。

連絡先 088-677-7781

症例から学ぶ

原因不明の APTT 延長症例を読み解く

◎中里 萌¹⁾、有重 沙織里²⁾

地方独立行政法人 山口県立病院機構 山口県立総合医療センター¹⁾、独立行政法人地域医療機能推進機構 徳山中央病院²⁾

血栓止血検査は体内で起こる凝固・線溶の状態を把握するために重要な検査である。そのため、病態の解明だけでなく術前のスクリーニング検査や抗凝固薬のモニタリング等でも行われる。特にプロトロンビン時間 (PT) や活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) は、施設規模に関わらず多くの検査室で行われており、それ故に異常値に遭遇した際の考え方や対応に苦慮する場合がある。検査の段階に応じたピットフォールや対応策などはあるものの、原因不明の APTT 延長の解釈については、使用している試薬の感受性も関わるためより複雑である。異常値に対する速やかな判断やアドバイスサービス、適切な追加検査などに繋げることは臨床への貢献度が非常に高い。

本企画では APTT 延長の 3 症例を提示し、参加者にはクロスミキシングテストのグラフを判定し、挙手で回答してもらうなど、会場参加型の企画を予定している。適宜会場からの質問にも積極的に答えていきたい。

以下に提示症例の PT と APTT のデータを示す。

症例 1 : 1 歳女児 小児科 術前検査

PT 10.3 秒、PT 活性 113.8%、PT INR 0.93、APTT 82.1 秒

症例 2 : 80 歳代女性 循環器内科 定期受診

PT 15.0 秒、PT 活性 76%、PT INR 1.17、APTT 151.5 秒

症例 3 : 70 歳代女性 救急外来 体動困難にて救急搬送

PT 17.1 秒、PT 活性 66%、PT-INR 1.26、APTT 68.9 秒

連絡先 :

1) 山口県立総合医療センター : 0835-22-4411

2) 徳山中央病院 : 0834-28-4411