

—— 特別講演 ——

血液凝固学的検査法の理論と実際

(株)ミドリ十字

医学博士 生 垣 賢

1. はじめに

血液は血管内では常に流動性を保っているが、一旦出血によつて血管外に流出すると、速かに血管の働きと血液の凝固に関与する因子の作用によつて止血が完成する。

このような血管内における血液の流動性を常に保つ機能と止血によつて生命の危険を防止する機能とは、(1) 血管系の機能、(2) 血小板の機能、(3) 血液凝固因子の作用、(4) 線維素溶解系の働きの4つの機能の生体内バランスの保持(homeo-stasis)に依存していると考えられる。血液凝固機能の異常亢進に起因すると考えられる血栓症や、止血機能の不全や低下によつて発現する出血傾向は上記4つの機能のいずれか、または組合わさつた異常の結果として発現する病的状態である。

血液凝固学的検査はこのような病的状態の原因と程度とを検して診断と治療方針を確立するために極めて重要な項目である。その検査には、その目的と要求される正確度から各種の検査法があるが、ここでは、日常の診療において主として出血傾向の有無と程度を知るために必要とする2、3の代表的検査法について、その理論的背景と手技の実際について概説する。

2. 血液凝固の機序とこれに関与する因子

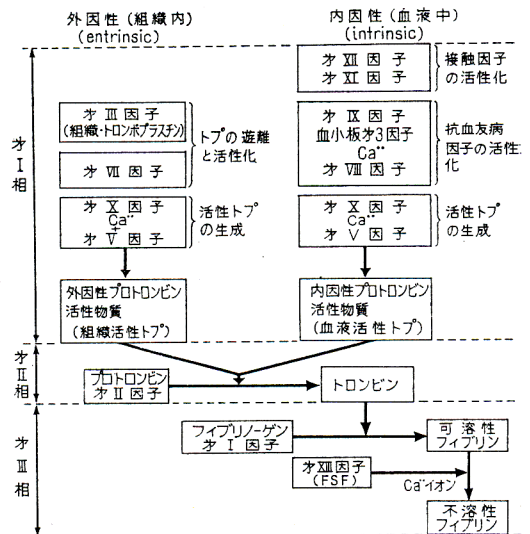
血管外に流出した血液は凝固の完成に必要な各種の因子の共同作用によつて、下記に示すような機構でおこることが知られるようになった。

a) 凝固に関与する因子

- 血小板因子 { 血小板第1因子
- // 第2因子
- // 第3因子

- 血液中の因子
- 第I因子…Fibrinogen
 - 第II因子…Prothrombin
 - 第III因子…Thromboplastin
 - 第IV因子…Ca⁺⁺ イオン
 - 第V因子…Labile Factor
 - 第VI因子…欠
 - 第VII因子…Stable Factor
 - 第VIII因子…AHG (Anti-Hemophilic Globlin)
 - 第IX因子…Christmas Factor
 - 第X因子…Stuart-Prower Factor
 - 第XI因子…Plasma Thromboplastin Antecedent (PTA)
 - 第XII因子…Hageman Factor
 - 第XIII因子…Fibrin Stabilizing Factor (FSF)

b) 血液凝固機序の模式



現在までに血液凝固に関与する因子として確認されているものは上記の通りであるが、これらの諸因子がどのように作用しあつて血液の凝固がおこるかについては凝固学説は次の図のように説明している。

血液凝固の本態は血漿中に存在する可溶性の血漿蛋白成分である Fibrinogen が Thrombin と第 X III 因子 (FSF) の作用によつて不溶性 Fibrin に転換析出する現象であると理解される。この場合、Thrombin は正常な流動血中には存在せず、組織及び血管の損傷や異常の結果生成される組織活性 Thromboplastin と血液活性 Thromboplastin、ならびに血液中の Ca イオンの共同作用によつて、血漿中の正常蛋白成分である非活性の Prothrombin より活性な Thrombin に転換生成される。この Thrombin は Fibrinogen を Fibrin に転換すると共に Fibrin 塊に吸着される性質をもっている。非活性の Prothrombin を活性型の Thrombin に転換するに必要な活性型 Thromboplastin の生成過程には、組織内 Thromboplastin に由来する外因系と血液内の各種因子に由来する内因系の2通りの生成過程が知られており、凝固の形成と止血機構に関与している。

我々は血液凝固学的検査を実施する場合、このような凝固形成の理論的背景を理解しその検査の持つ意味を知らなければならない。

3. 第 I 因子 (Fibrinogen) の簡易検査法

第 I 因子は凝固の完成に最も重要な因子である。Fibrinogen 濃度の出血危険域は 150mg% 以下であり、先天性の欠乏症の他、特に臨床的に重要なものは強度の手術侵襲や産婦人科領域の異常分娩に伴つておこる線溶現象の亢進の結果発現する急性 Fibrinogen 欠乏症であり、しばしば生命の危険を伴う大出血の原因となる。第 I 因子の異常を知るための検査法として種々の方法があるが、ここでは簡易測定法の1つである Schneider 法を紹介する。

Schneider 法による簡易検査法術式

この方法の原理は単純な全血の凝固稀釈系列法である。肉眼でみえる Fibrin 凝固がおこる最高の稀釈度が Fibrin 価として測定される。8本の試験管を次のように用意する。

最初の試験管は空のまま、第2番目には 3ml、第3番目には 4ml 残りの5本の試験管には 1ml 宛の Ringer 氏液を入れる。患者から静脈血を採り、1ml の全血を第1番目の試験管に入れる。

0.5ml の全血を第2番目の試験管に混じ、この混合液の 1ml を次の試験管にうつす。次いでこの混合液の 1ml を第4番目の試験管に移す。残りの試験管の稀釈は 1ml 宛の倍数稀釈で行う。血漿成分の稀釈は、(ヘマクリット値=0.35と仮定して) 1, 10, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 となる。

局所用トロンビン(臨床使用製品)を 1ml 中100単位が含まれるよう溶解し、その 0.1ml 宛を各試験管に加え、充分混合するため試験管を前後に傾ける。凝固は数分内に始まる。正常な Fibrinogen 値を持つ場合は Fibrin 価は 400以上であり、異常な場合はその程度に応じて Fibrin 価は低値を示す。

この試験には、平行して、患者血液と一緒に健康者血液をコントロールとして検査確認することが大切である。

4. プロトロンビン時間の測定(Quick 1 段法)

Prothrombin は活性型 Thromboplastin と Ca イオンの作用によつて活性な Thrombin に転換して凝固機構の第2相に関与する重要な血漿因子である。Prothrombin 時間の測定は Quick (1905年)によつて Prothrombin の定量的検査法として創始されたもので、血液凝固異常の有無を知るための検査法のうちでも最も基本的且つ重要な検査法の1つである。

この Prothrombin は Vitamin K を補酵素として肝細胞のミトコンドリアで生合成される。

そのため Vit. K の不足や、肝、胆道疾患の際に生合成の阻害を受け、減少を示すことが知られている。また、成人病としての血栓症の予防や治療の際に用いるクマリン系、インダチオン系の薬剤の投与でも著しく生合成が阻害を受けるし、また、Heparin の血管内注入では Prothrombin から Thrombin への転換が阻害を受ける。このため、出血傾向を示す患者では、この Prothrombin を測定することはその患者の異常出血が Prothrombin に関係があるかどうかを知る上に大切である。

また、抗凝固剤療法ではこの Prothrombin 値

を測定してコントロールすることが絶対に必要な条件となる。また一面 Prothrombin 時間の測定は肝の機能を判定する上でも一つの指標となるものである。Prothrombin 時間の測定は前述の如き意義を有する。

Prothrombin 時間の測定 (Quick 1 段) 法の原理は、クエン酸ナトリウムまたは酢酸ナトリウムを抗凝固剤として採血した血液を遠心して得た新鮮な血漿を検査材料とする。この血漿に充分量の Ca イオンと出来るだけ純粋な組織 Thromboplastin (Quick の原法は兎の脳より抽出したもの) を加えて、血漿中の Fibrin が析出するまでの時間で測定する。この時間の長短は血漿中の有効 Prothrombin の量と相関する。

Prothrombin 時間の測定は、先に示した凝固機序の模式から明らかなように、内因系の血液活性 Thromboplastin の形成過程とは一切関係がないので、この面の異常は結果に影響を示さない。即ち、外因系の活性 Thromboplastin 形成の過程と Prothrombin のみの異常の有無を表現するものであることに注意しなければならない。また、この検査では、Prothrombin のみではなく、VII, X, V の各因子が組織 Thromboplastin の活性化に影響するので、今日までは Prothrombin 時間の測定は、Prothrombin のみならず、第VII, X, V の各因子の総合的な活性度を知るための検査法であると解釈されるようになった。

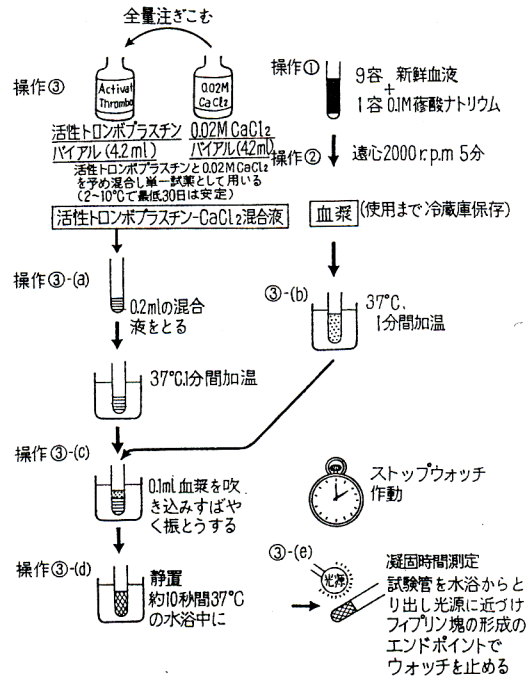
Prothrombin 時間測定の術式

Prothrombin 時間の測定法の 1 例を図解によって示す。

この検査で大切なことは、一定の安定した力価を有する Thromboplastin を選ぶことである。また、Thromboplastin 製剤中に第 V, VII, X 因子の全く含まれていないものが要求される。(兎脳より抽出したものがこの目的に合致する。)

また、この検査では、特に健康人血漿または、この検査のために特別に用意された標準血漿 [Standardized Normal Plasma (S.N.P)] を対照として、これの示す測定値との比較において患者血漿の成績を示さなければならない。この目的のた

プロトロンビン時間測定操作法図解



め、欧米の検査室では S.N.P の示す測定値を 100%として、その時の患者血漿の示す測定時間 (秒) から直ちに Prothrombin 活性度を算出することのできる計算尺 (プロトロンビカルキュレーター) が用いられるようになった。

Prothrombin 時間の測定で異常値を示す場合、その原因が Prothrombin にあるのか、或いは第 V, 第 VII, 第 X 因子にあるかという鑑別も必要な場合があるので簡単にその方法を記載する。

この鑑別には、Prothrombin Free 兎吸着血漿 (第 V 因子補給元) と健康人血清 (第 VII, X 因子補給元) とが用いられる。

患者血漿の 0.09ml に Prothrombin Free 兎吸着血漿、または、健康人血清の 0.01ml を加えて、Quick 1 段法で Prothrombin 時間を測定し次のように判断する。

健康人血清を加えて補正される場合、第 VII 因子欠乏か第 X 因子欠乏かの判別はこの結果のみからでは判定できないが、次に述べる P.T.T 試験で、第 VII 因子欠乏は異常を示さないが、第 X 因子欠乏

	第V 因子欠乏	第VII 因子欠乏	第IX 因子欠乏	第II因子 プロトロ ビン欠乏
血漿プロ トロンビ ン時間	延長	延長	延長	延長
補正試験 プロトロン ビンフリー 兔血漿	補正 (+)	(-)	(-)	(-)
健康人血清	補正 (-)	(+)	(+)	(-)

は異常を示すので、簡単に判別することが可能となる。

5. パーシャルトロンボプラスチンテスト (P.T.T.)

Prothrombin 時間の測定法が前述の如く Prothrombin の定量を中心とした外因系凝固因子異常の検査法であるのに対して、内因系の血液活性 Thromboplastin の生成異常を知る目的のための検査法として従来よりよく行われている検査法に次のものがある。

- (1) 全血凝固時間の測定
- (2) カルシウム再加時間の測定
- (3) プロトロンビン消費試験

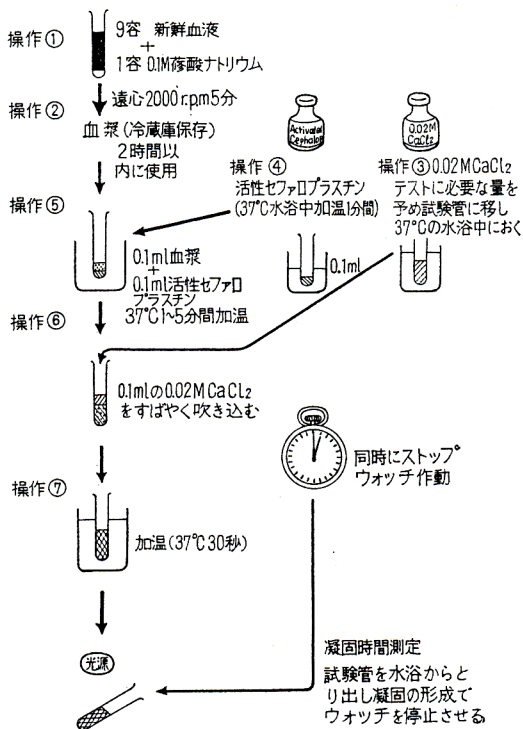
この中、全血凝固時間が最も広く一般検査室で行われている。しかし、これらの検査法はいずれも、その鋭敏度或いはその操作手技に時間がかかる等の点で欠点を有している。

一方、P.T.T. は、現在まだ広く行われているとはいえないが、これらの欠点を補ってしかも簡便かつ極めて鋭敏な検査法であることが確認されているので、内因系凝固因子異常に伴う出血傾向の有無を調べる最も適当な検査法であるということが出来る。

P.T.T. の検査術式

Prothrombin 測定に際して用意した被検血漿の一部を利用することが出来る。ただし、被検血漿は採血後2時間以内のものを使用しなければならない。その手技の1例を示すと下図の通りである。Prothrombin 時間の測定と異なる点は、組織 Thromboplastin と Ca イオンのかわりにセファロプラスチン (血小板の代用因子) と Ca イオンを用いるだけの違いであり、その操作そのもの

パーシャル・トロンボプラスチン・タイム試験 (マクロ法) 図解



は全く同一の操作手技で実施する。

この検査法においても、用いる試薬 (セファロプラスチン) によって異なった数値を示すので、安定な活性度の高い試薬を選ぶことが必要である。日本では、この検査の安定性と鋭敏度を高める目的で被検血漿にカオリンを加えて検査する方法がよく行われるが、欧米ではむしろ活性型セファロプラスチンを直接用いる方法が行われており、この方法によるときの正常値は45秒以内で内因系凝固異常の程度に従って凝固形成時間 (秒) が延長する。

P.T.T. を Prothrombin 時間と共に測定することによって、臨床的に警戒を要する出血傾向の有無を知る上において極めて大きな役割を果すものである。

P.T.T. 値の異常を示す最も頻度の高い原因は、第VIII因子欠乏 (血友病A)、次で第IX因子欠乏 (血友病B) も稀に見出される原因である。その他、

極めて稀な症例として第Ⅻ, 第Ⅺ因子の第Ⅴ因子等の異常も発見されている。

これらのうち, どの因子に異常があるかの鑑別にはより複雑な Thromboplastin 形成試験 (T.G.T.) によらなければならない。

また抗凝固剤療法時には, これらの因子の生合成が阻害されたり, その作用が阻止されたりすることがあるために Prothrombin 時間の測定と共に重要な検査項目の1つとなるものである。

6. トロンボテスト (Owren) について

トロンボテスト (Owren) は抗凝固剤療法, 即ち, クマリン系或いはインダネオン系薬剤の投与に際して, 著しく生合成の阻害を受ける凝固因子, 第Ⅱ, 第Ⅶ, 第Ⅸ, 第Ⅹの各因子の作用の総合的阻害度を測定して, 薬剤投与のコントロール指標を得る目的で開発された, スクリーニング的検査法である。

この検査法も, 今日臨床的に広く普及しているが, 主として上記の目的で利用されるものであつて, この検査法のみでは最も重要な内因系凝固因子である第Ⅷ因子の欠乏や, まれに認められる第Ⅻ, 第Ⅺ, 第Ⅹ第Ⅴの各因子の活性異常は表現してくれないことに注意しなければならない。従つて, 血液凝固因子の異常を総合的に判断するために, ルチンを行う検査法としては Prothrombin 時間の測存と P.T.T. を同時に行うことがぜひ必要であると考えられる。

7. 止血時間の測定について

止血時間の測定も広く行われる検査法である。この検査は理論的には生体の止血現象を総合的に表現するただ1つの検査法であるといえよう。従つて止血現象に関与するすべての因子が影響することになるが, 実際的には小さな刺傷を作つてそれからの出血時間を測定するためにこの成績に最も大きな影響を与える因子は毛細管と血小板である。この検査の意義は主としてこの両因子の異常を判断する基礎を与えるものと考えてよからう。但しこの両因子は正常であつても, 血液中の凝固因子 (第Ⅰ, Ⅱ因子その他) に高度の異常を伴う

場合は, 延長する場合もあることも考えておかなければならない。

8. 血小板の機能について

血液の凝固機能に大きな関係を有するものの1つに血小板の機能がある。血小板の異常では必ず出血傾向を伴つてくる。この異常については, その数の異常と, 血小板自身のもつ生物学的活性, 即ち質の異常の2方面が考慮の対象となる。血液凝固機能と関係した血小板の生物学的活性を一覧表にして示すと次のようである。

因子	作用
血小板第1因子	Prothrombin→Thrombin への転換を促進する
// 第2因子	Fibrinogen→Fibrin への転換を促進する
// 第3因子	血液活性 Thromboplastin の形成に関与する
// 第4因子	抗ヘパリン作用を有する
凝血収縮因子	凝血の収縮を促進する
血管収縮因子	Serotonin を有し血管の収縮に関与する。

このように血小板は血液の凝固の形成, 止血機構に重大な影響をもっていることがわかる。血小板の異常は通常では数の変動が主たるものであるが, 極めて稀に質の異常も認められている。

9. むすび

血液凝固検査法について, 最近の知見にもとづく理論的背景と, 日常検査室で行うべき検査法の2, 3について, その意義と術式を概説した。多少とも参考にして戴ければ幸いである。

文 献

- 1) 二宮影光: 外科と血液凝固検査, 臨床検査, vol. 11, No. 3, p. 159, (1967年).
- 2) Coagulation procedures: Dade Reagents, Inc., Miami, (1966年).
- 3) 血液凝固検査: 松岡松三, 金原出版社, (1965年).
- 4) 血液凝固: 河合忠, 医学書院, (1965年).