

凝固検査の基礎知識

～もう1度確認！凝固検査ってどんな検査？～

千葉市立青葉病院

中村 仁美

今日の内容

- 1 : 凝固反応とは
- 2 : PT・APTT・Fib
- 3 : 凝固検査の検体について
- 4 : 凝固・線溶系分子マーカー
- 5 : 症例紹介

凝固反応の流れ

受傷



一次止血 (血小板血栓形成)

VWFを仲介して、血小板による血栓を作る。



二次止血 (凝固系の活性化)

凝固因子の働きで作られたフィブリンが、血小板血栓の全体を固める。

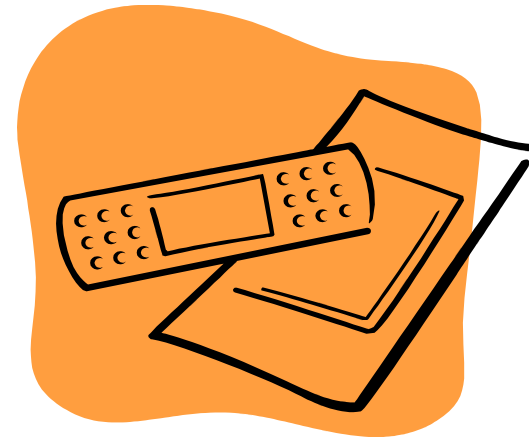


線溶 (一次・二次)

フィブリンが分解され、液体の状態に戻る。



治癒



凝固反応に必要なもの

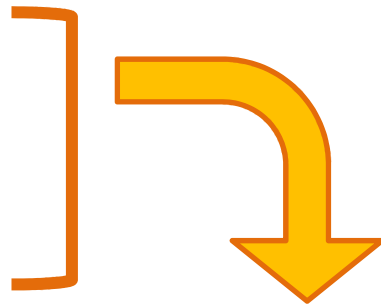
①凝固因子

(I ・ II ・ V ・ VII ・ VIII ・ IX ・ X ・ XI ・ XII ・ XIII)

ビタミンK依存性凝固因子→II ・ VII ・ IX ・ X

②カルシウム

③リン脂質



凝固カスケード中で...

- ・凝固因子の活性化
- ・複合体の形成：カルシウムを介してリン脂質と結合する。
(Ca結合部位の合成にビタミンKが必須)

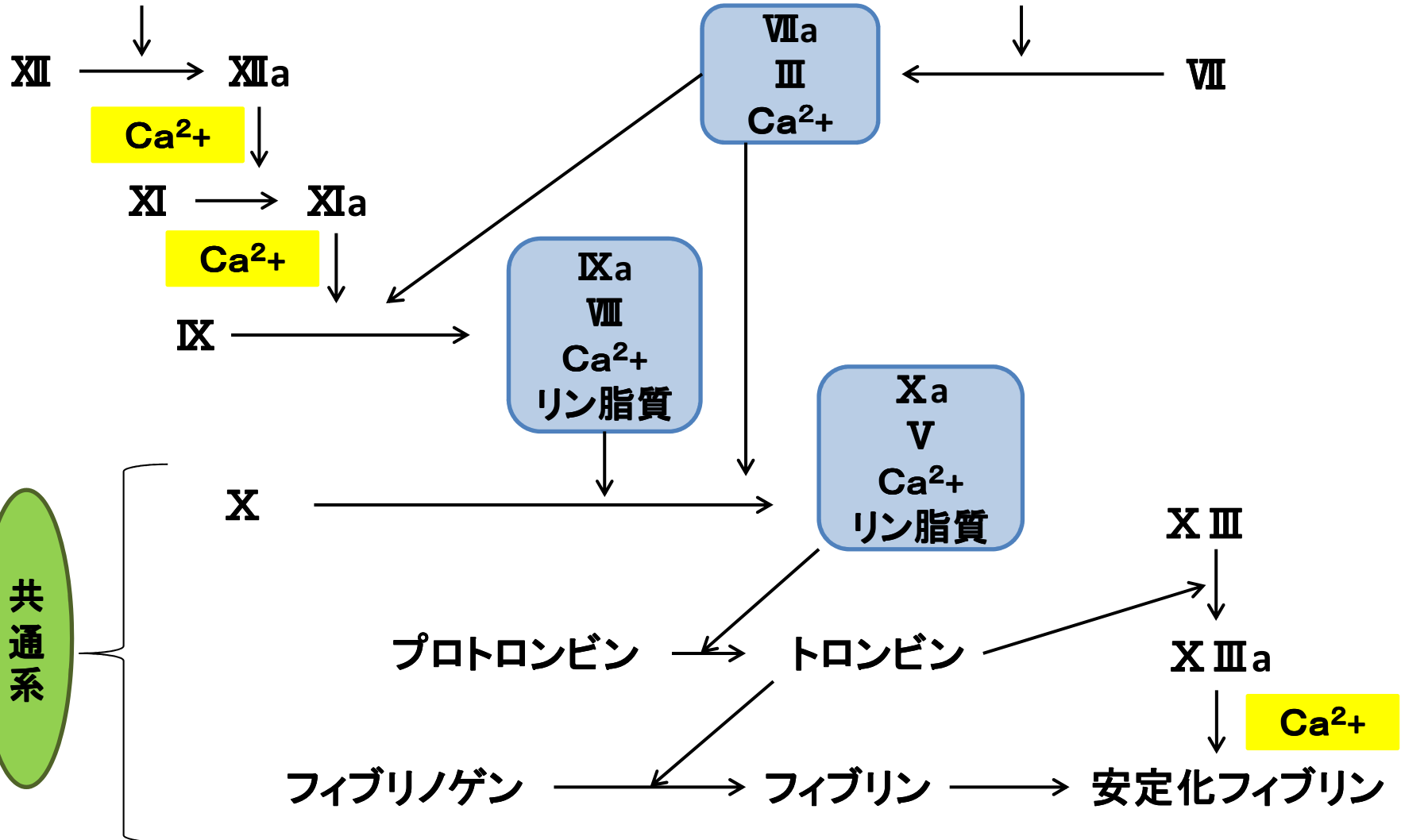
凝固カスケード

内因系

外因系

コラーゲンなど

III (組織トロンボプラスチン)



今日の内容

1 : 凝固検査とは

2 : PT・APTT・Fib

3 : 凝固検査の検体について

4 : 凝固・線溶系分子マーカー

5 : 症例紹介

プロトロンビン時間 (PT)

どういう時に検査するか？

- ①外因系・共通系凝固因子の欠乏症や異常症
- ②複合性凝固障害(肝障害・ビタミンK欠乏症・DICなど)
- ③薬物モニタリング(ワルファリンなど)

試薬

・組織トロンボプラスチン
(ウサギ脳・肺、ヒト胎盤、
リコンビナントTFなど)

→第Ⅶ因子活性化

・Ca



組織トロンボプラスチン (第Ⅲ因子) = 組織因子 (TF) + リン脂質

PTの結果表記方法

- ①**秒表示**：測定値を秒単位で正常対照とともに表記する。
- ②**PT比**：患者PT時間（秒）/基準対照PT時間（秒）
- ③**PT活性%**：基準血漿の活性を100%とした基準血漿希釈列から検量線を作成し、検体の秒数を%活性に換算する。

④ **PT - I N R (PT-international normalized ratio)**

組織トロンボプラスチンは、生物由来やリコンビナントを使用した製剤である為、ロットやメーカーによって結果が異なってくる。施設間差をなくし、経口抗凝固療法の管理を国際的に統一するために考案された。

$$I N R = (患者 P T / 正常 P T) I S I$$

I N R : international normalized ratio (国際標準比)

I S I : international sensitivity index (国際感度指数)

→その試薬が国際標準試薬とどれだけ感度が異なっているかを係数化したものである。(通常1.0から1.4の間)

ISIの考え方

例) 経口抗凝固療法患者検体をISIが異なる2種類のPT試薬で測定した。

正常血漿は両PT試薬とも10秒とする。

PT試薬① : (40秒/10秒) $^{1.0}$ = INR4.0
(ISI=1.0)

PT試薬② : (20秒/10秒) $^{2.0}$ = INR4.0
(ISI=2.0)

ISIが大きいと、測定誤差が生じた際にINRの誤差も大きくなる。

よって、ISIは1.0に近いものがよいとされている。

活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

第1試薬

- ・ 活性化剤：接触因子…カオリン、セライト、エラグ酸

→第Ⅻ因子の活性化

- ・ リン脂質分画（部分トロンボプラスチン）

→血小板第3因子作用をもつ。

Ⅷ因子、Ⅴ因子とリン脂質複合体を作り、Ⅹ因子とトロンビンの活性を助ける。

活性化で
安定した測定値！

+

第2試薬
Ca

+

被検血漿



凝固時間測定

どういう時に検査するか？

①内因系・共通系凝固因子の欠乏症や異常症

：先天性血友病A・B

②複合性凝固障害

：肝障害・DIC・ビタミンK欠乏症など

③薬物モニタリング

：ヘパリンなど

④循環抗凝血素

⑤von Willebrand病

：第Ⅷ因子活性低下

APTT延長：特徴的な疾患

先天性血友病A

第VIII因子の欠損症

先天性血友病B

第IX因子の欠損症

循環抗凝血素

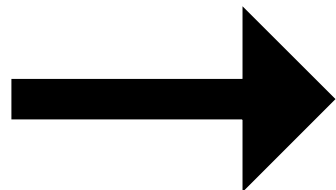
①抗凝固因子抗体（インヒビター）

同種抗体：血友病での補充療法で生じる（Ⅷ・Ⅸ因子抗体）

自己抗体：多くがⅧ因子抗体（後天性血友病）

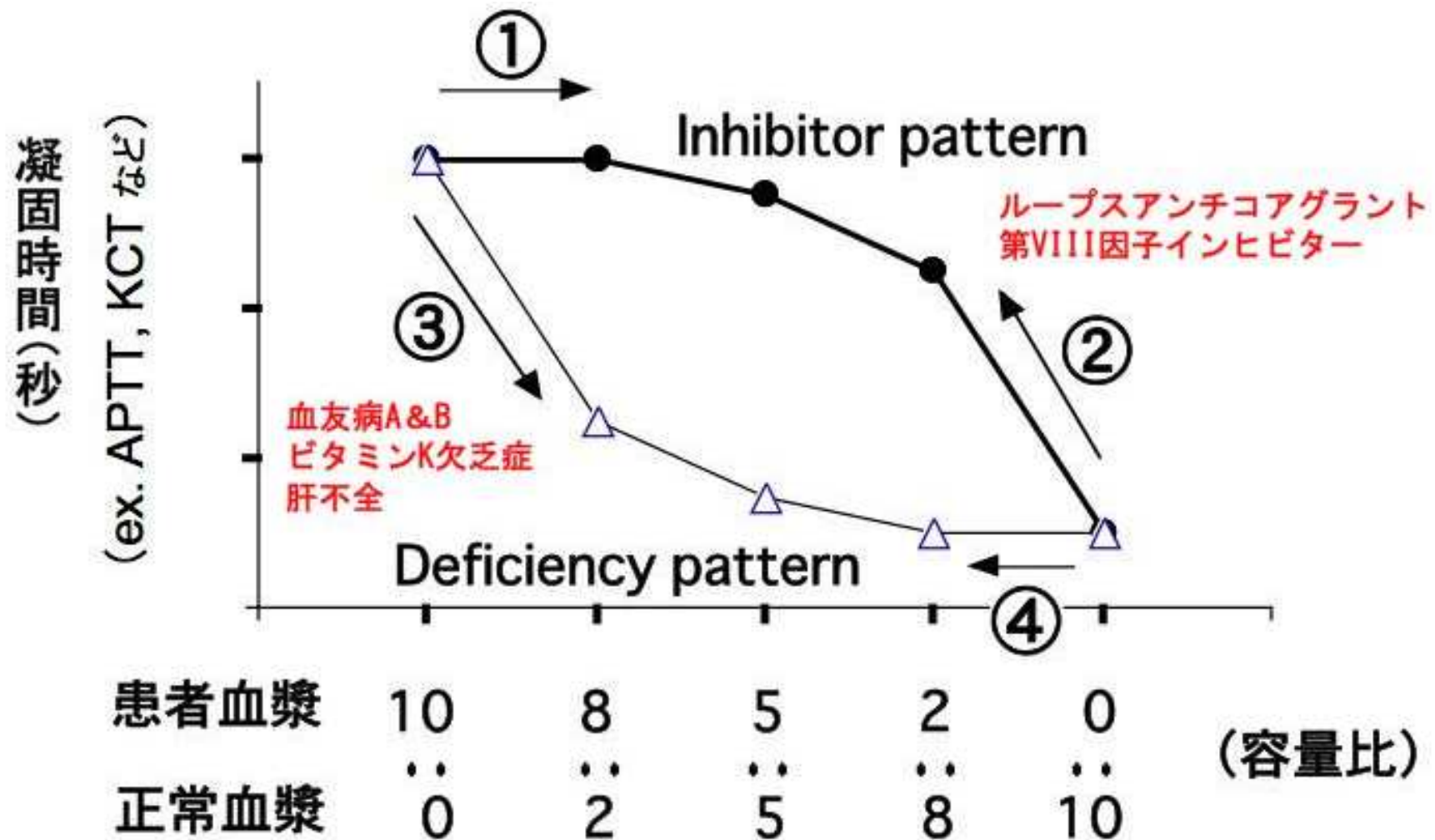
②抗リン脂質抗体

ループスアンチコアグラント
抗カルジオリピン抗体



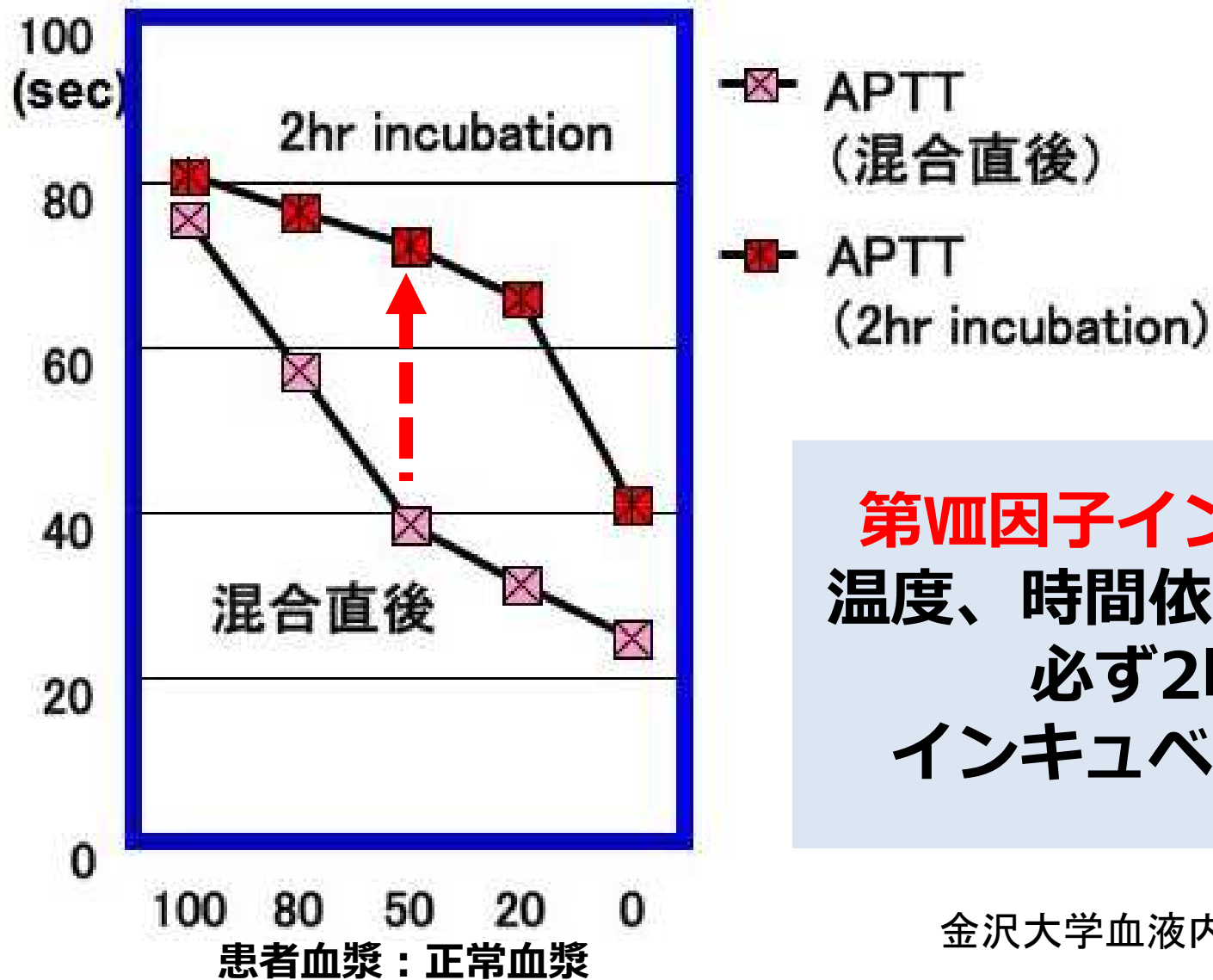
クロスミキシング試験

クロスミキシング試験



金沢大学血液内科HPより引用

クロスミキシング試験 (後天性血友病)



第Ⅷ因子インヒビター
温度、時間依存性あり。
必ず2時間
インキュベート！！

フィブリノゲン (Fib)

どういう時に検査するか？

- ①出血傾向または血栓傾向があるとき(DICなど)
- ②止血機能スクリーニング(異常フィブリノゲン血症など)
- ③その他(赤沈亢進・感染症・悪性腫瘍など)

試薬

- ・トロンビン溶液
- ・緩衝液



被検血漿



凝固時間測定

濃度換算：

標準液を所定の倍率で希釈し、凝固時間を測定して得た検量線から求める。

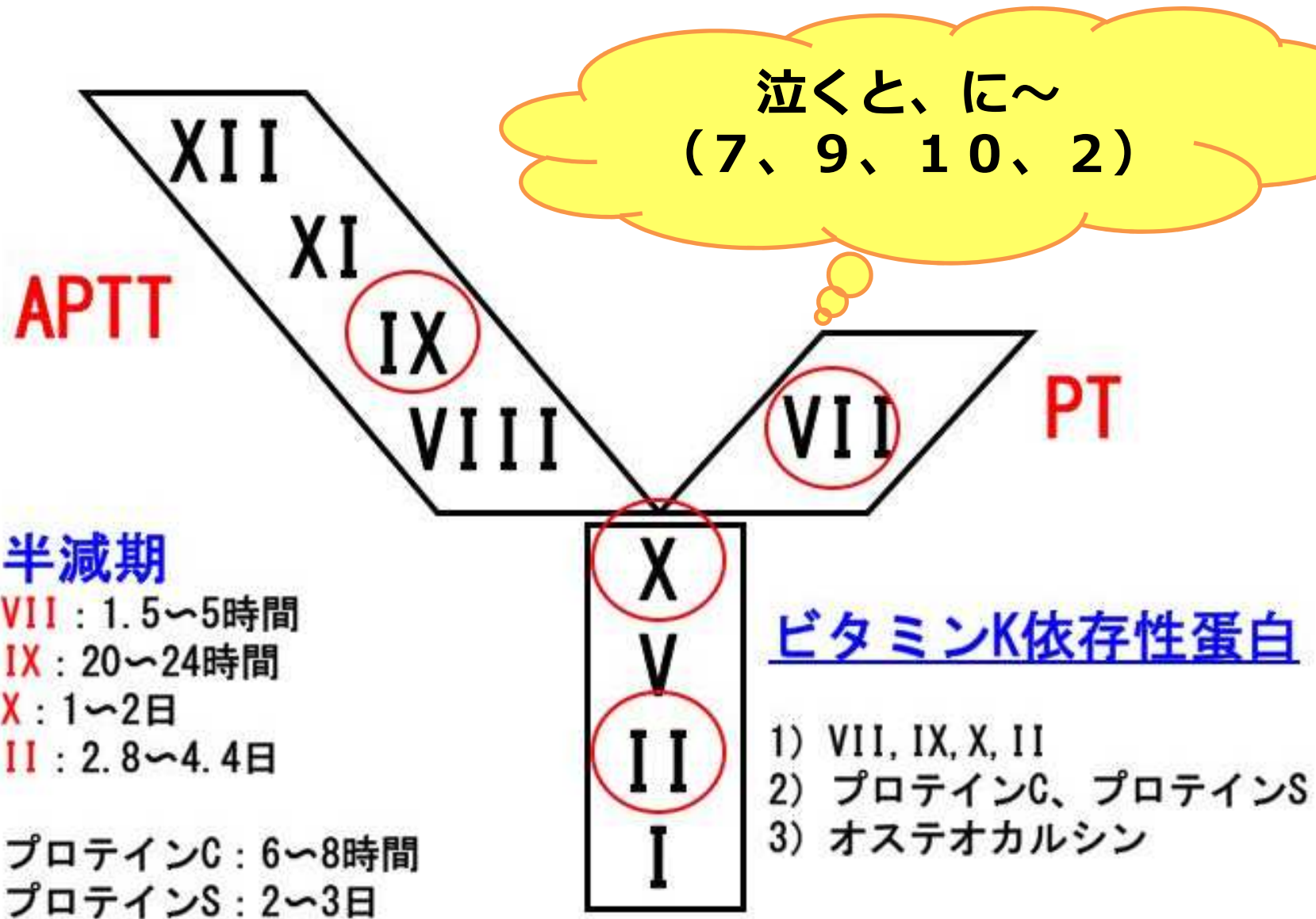
薬剤モニタリング

代表的な抗凝固薬の特徴

	未分画ヘパリン	ワルファリン
薬効分類	ATⅢ依存性凝固因子阻害	ビタミンK拮抗薬
性質	水溶性	油溶性
投与方法	非経口（静注、筋注、皮下）	経口
効果発現	投与時	約7時間後
作用機序	トロンビンとATⅢの結合反応を加速	肝で ビタミンK依存性凝固因子の合成を阻害
中和剤	硫酸プロタミン投与	ビタミンK投与
モニタリング	A P T T	P T - I N R
備考	XIIa・XIa・Xa・IXaも阻害	

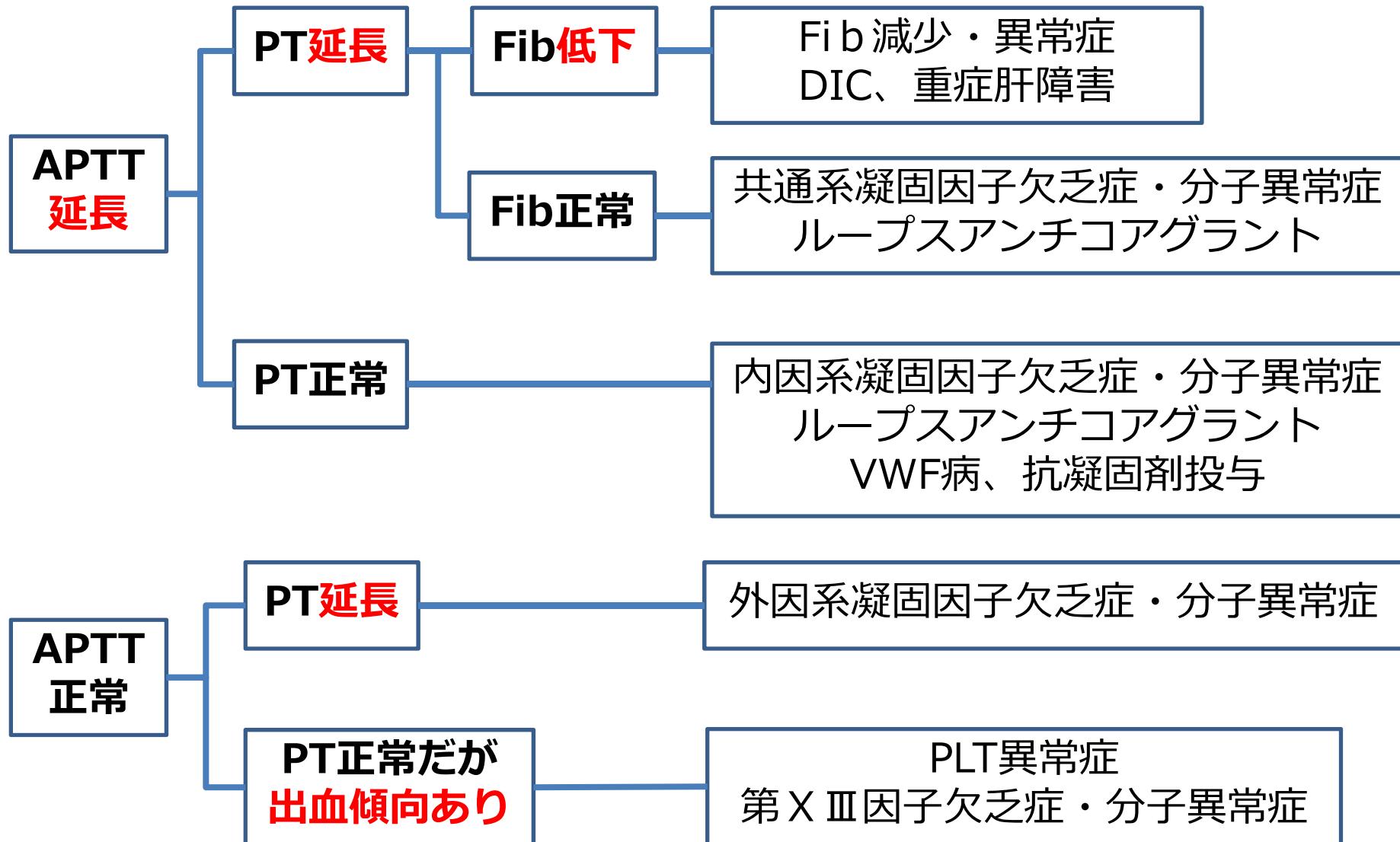
**ワルファリン：ビタミンK生成を阻害→
VK依存性凝固因子前駆体（PIVKA）として分泌される。**

ビタミンK依存性凝固因子



金沢大学血液内科HPより引用

出血傾向の鑑別診断



今日の内容

1 : 凝固検査とは

2 : PT・APTT・Fib

3 : 凝固検査の検体について

4 : 凝固・線溶系分子マーカー

5 : 症例紹介

採血条件

- ・ **抗凝固剤：クエン酸Na (pH5.5)**

カルシウムキレート剤

検査時に血液検体が生理的なpHに保たれる。
(pH7.1~7.35)

- ・ **抗凝固剤の濃度： 3.2%クエン酸Na2水塩**

血液とほぼ等張。CLSIガイドラインで推奨。

- ・ **採血比 抗凝固剤：全血 = 1：9**

採血量は厳守！！

採血量が違くと…

採血量過多：短縮傾向

クエン酸Na不足

通常は、顕著な影響は認めにくい。

* 極度の貧血も同様

採血量不足：延長傾向

クエン酸Na過剰

影響を受けやすい（特にAPTT）

* 極度の多血症も同様



高ヘマトクリット

米国臨床検査標準協議会（CLSI）補正式

Htが**55%**を超える検体では、クエン酸Na量を調整する必要がある。

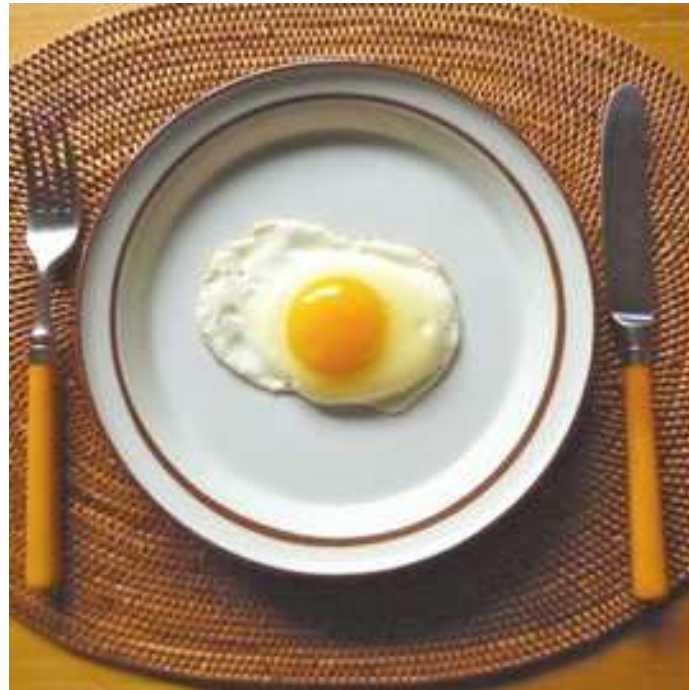
$$C = (1.85 \times 10^{-3})(100 - Ht)(V_{\text{blood}})$$

C：クエン酸溶液量 Ht：患者ヘマトクリット値 V_{blood} ：採血量

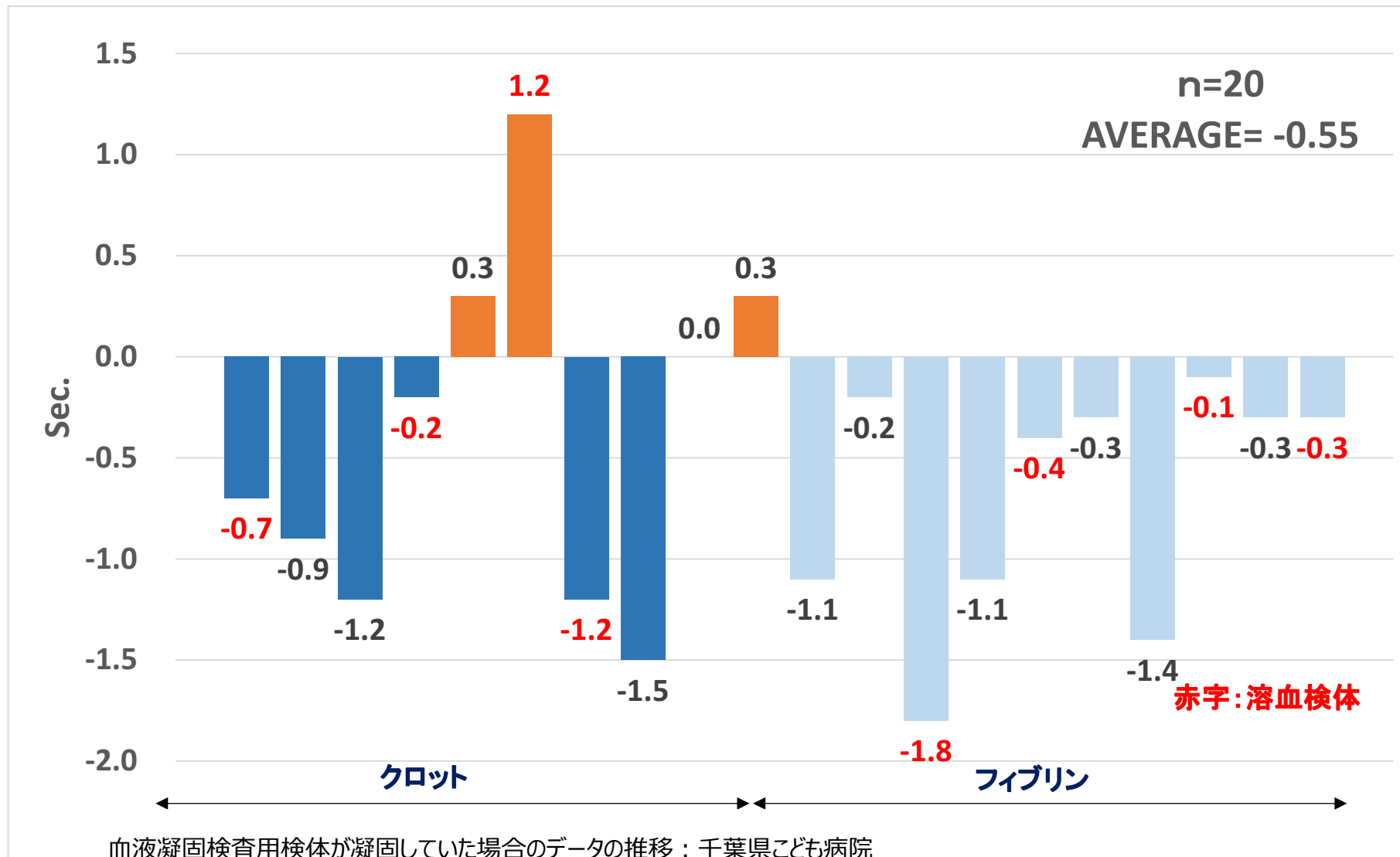
補足：クエン酸過剰で凝固時間延長の理由として…

- ・ 検査時のイオン化Caが強くキレートされ不足する。
- ・ 血漿がクエン酸によって希釈される。→凝固因子活性低下
- ・ 混合比が変わり適正なpHにならない 等

検体が凝固していたら...



凝固検体のデータ推移 (PT)



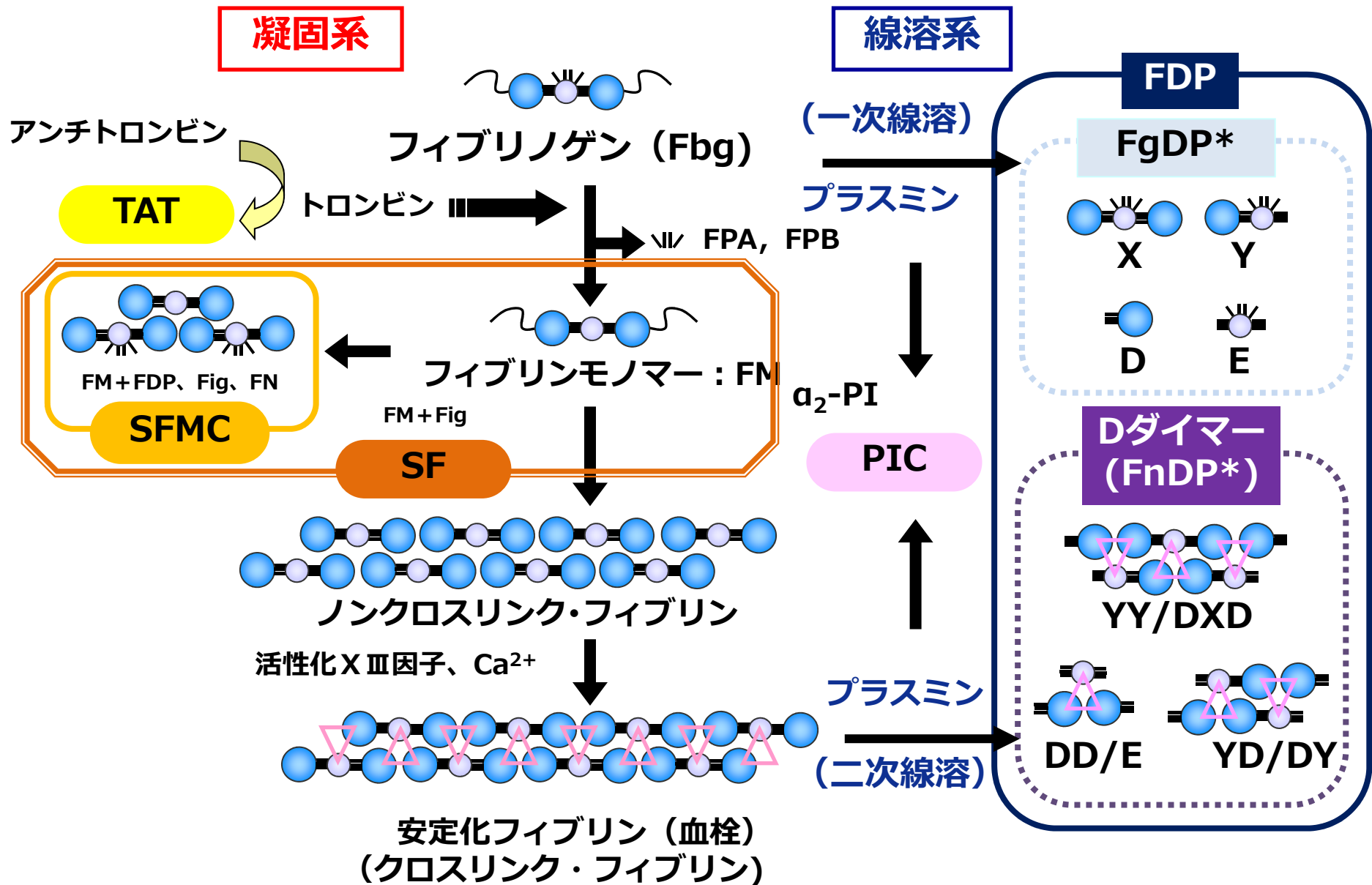
凝固時間の影響因子

凝固時間	確認すること
短縮	検体凝固（組織液の混入）
	クエン酸との混和不足
	採血管内容物のコンタミ（凝固促進物質などの混入）
	貧血（血漿あたりのクエン酸量が少量）
延長	クエン酸と全血混合比の異常（採血量不足）
	ヘパリン混入などライン採血
	採血管内容物のコンタミ（EDTAなどの混入）
	多血症（血漿あたりのクエン酸量が過量）
	抗凝固薬使用の確認

今日の内容

- 1 : 凝固検査とは
- 2 : PT・APTT・Fib
- 3 : 凝固検査の検体について
- 4 : **凝固・線溶系分子マーカー**
- 5 : 症例紹介

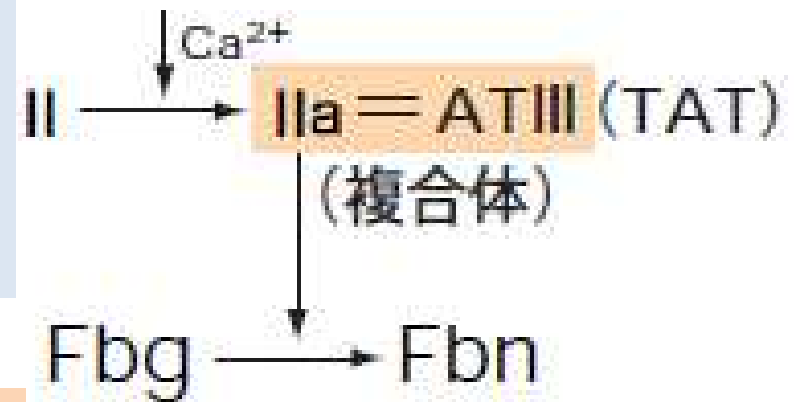
代表的な凝固・線溶系分子マーカー



凝固系マーカー

TAT（トロンビン-アンチトロンビン複合体）

トロンビンとその阻止因子であるアンチトロンビンが1：1結合した複合体。



TATが高い = **凝固活性化状態**

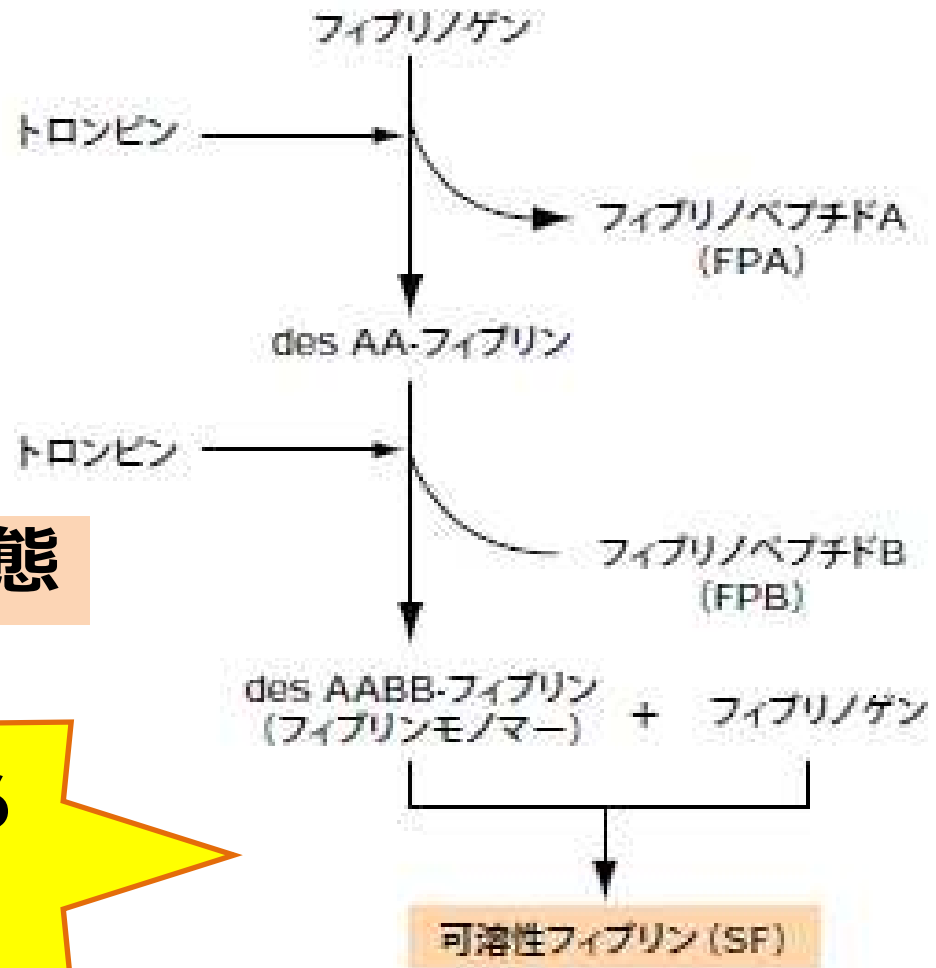
採血時に時間を要した場合などでは、組織液混入により採血管内でトロンビンが産生され偽高値となることがある。

凝固系マーカー SF（可溶性フィブリン）

フィブリンモノマーが
フィブリノゲンと結合し、
FM-Fbg複合体を形成した
もの。

SFが高い = **凝固活性化状態**

凝固亢進の初期から
陽性！！！！



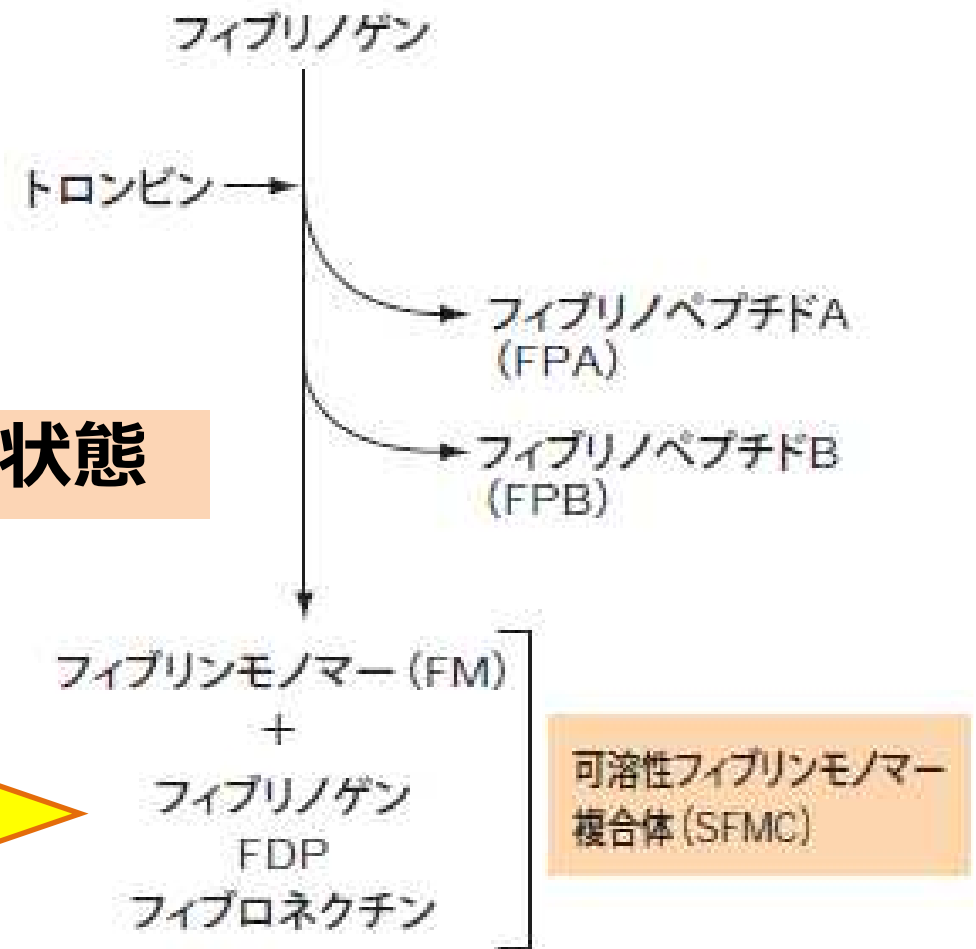
図：凝固・線溶検査ポケットブック 著：松野一彦

凝固系マーカー SFMC（可溶性フィブリンモノマー複合体）

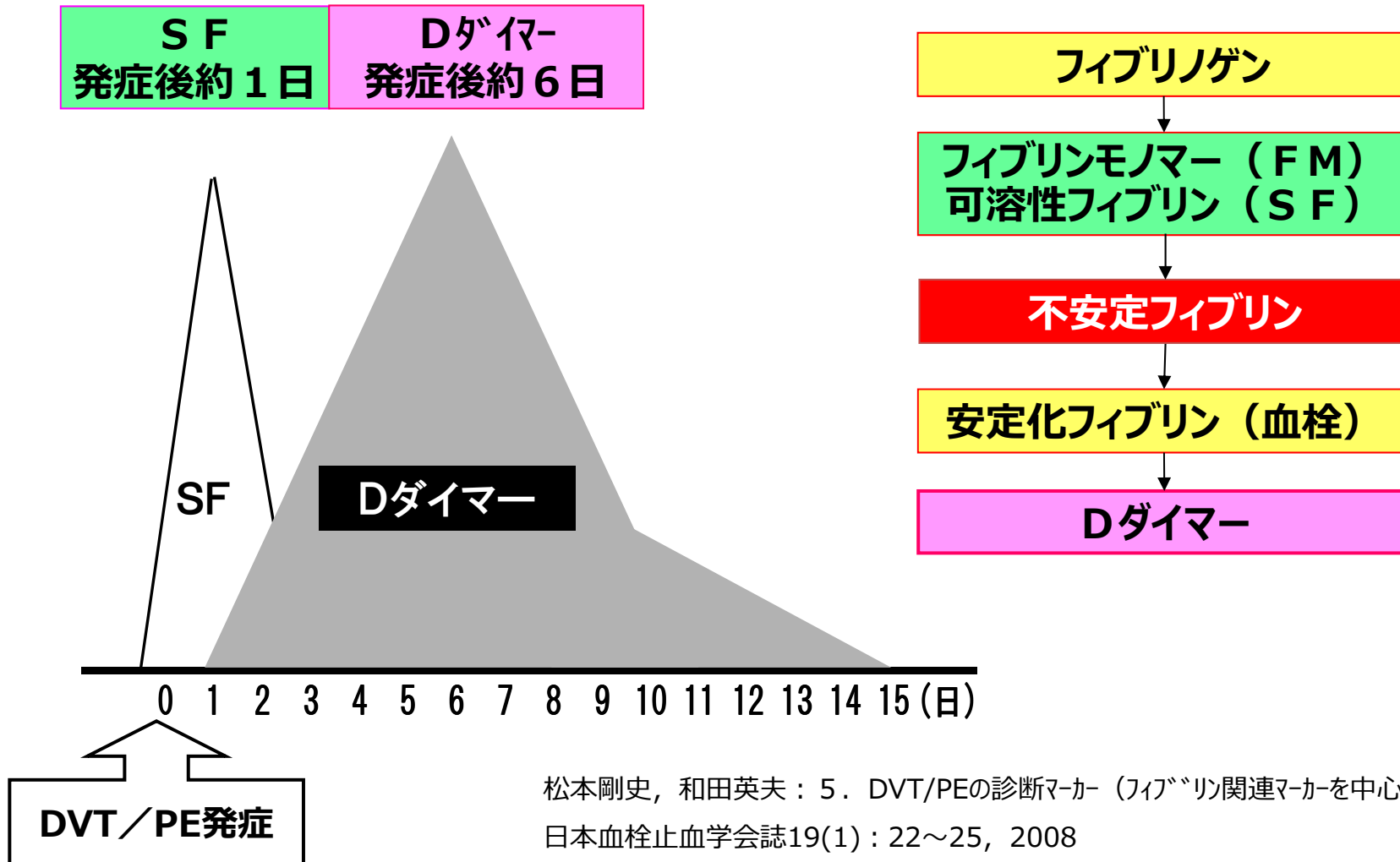
フィブリンモノマーが
フィブリノゲン、FDP、フィ
ブロンネクチン等と結合した
可溶性の複合体。

SFMCが高い = **凝固活性化状態**

凝固亢進の初期から
陽性！！！！

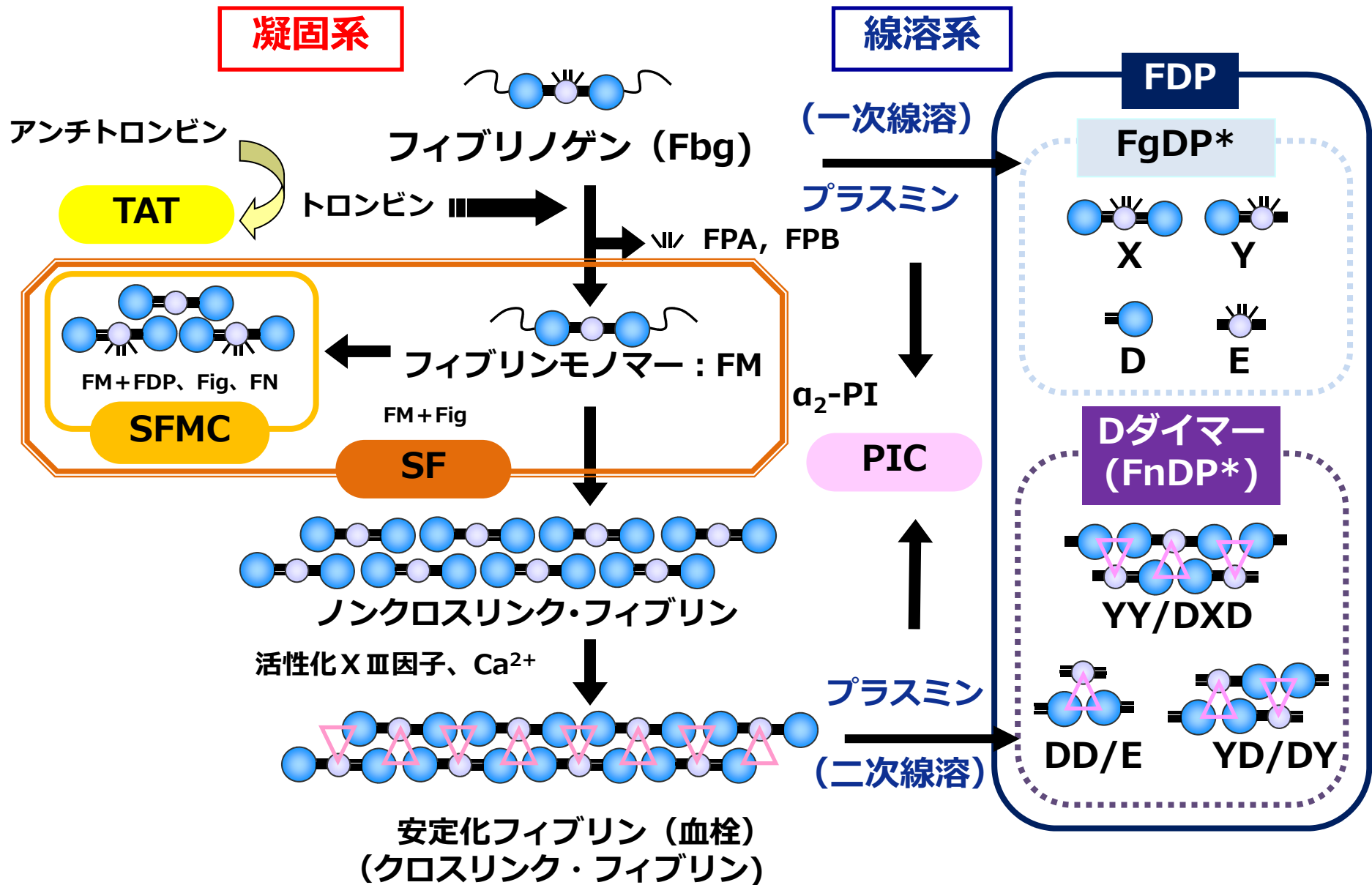


血栓症（DVT／PTE）の発症とSFとDダイマーが反映する時間軸の違い



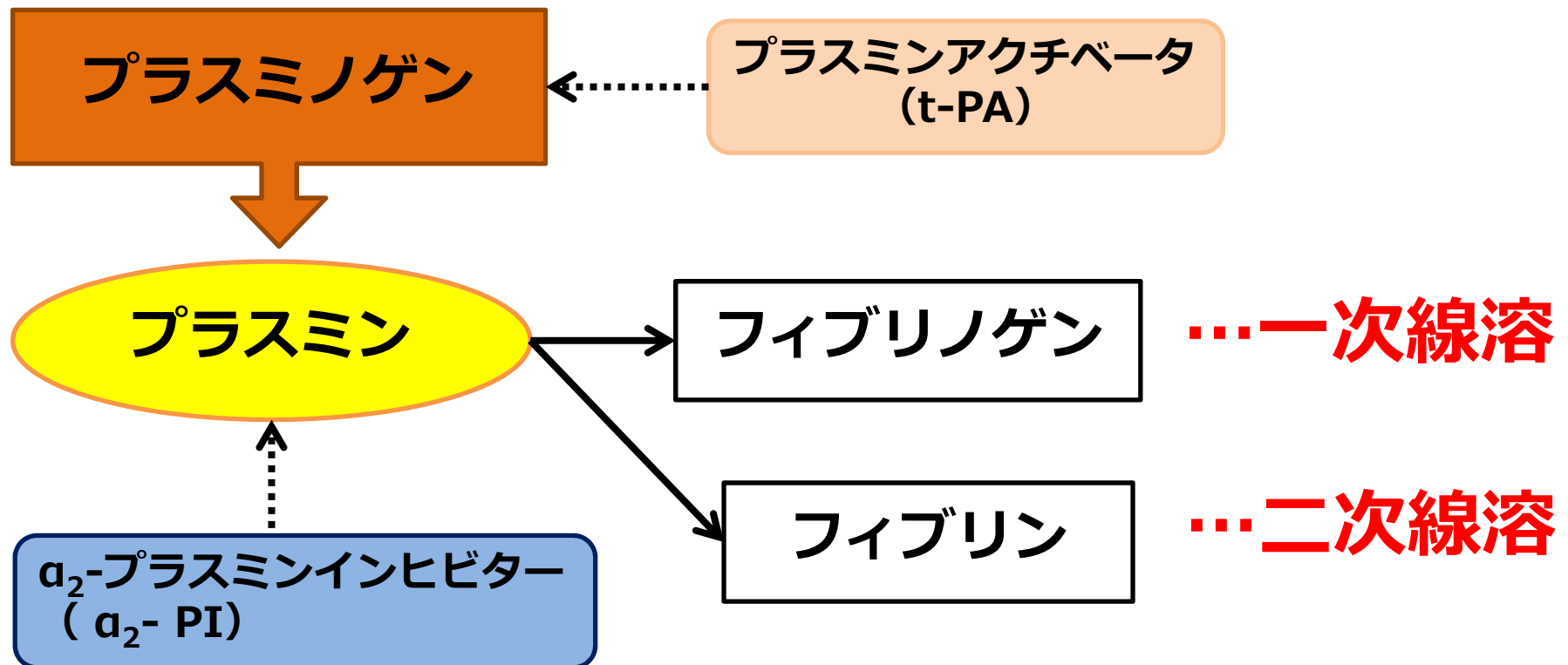
松本剛史, 和田英夫: 5. DVT/PEの診断マーカー (フィブリン関連マーカーを中心に).
日本血栓止血学会誌19(1): 22~25, 2008

代表的な凝固・線溶系分子マーカー



線溶 (fibrinolysis) とは

血栓 (フィブリン) を分解する働きのこと

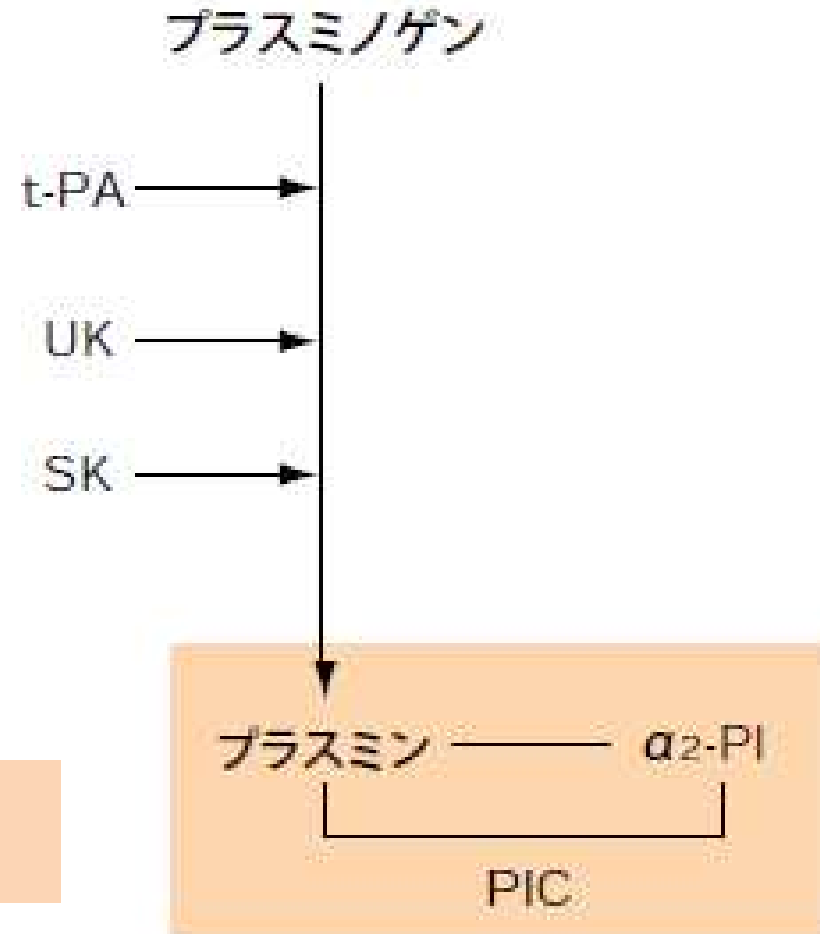


線溶系マーカー

PIC (プラスミン- α 2プラスミンインヒビター複合体)

線溶系の活性化に伴い生じたプラスミンとインヒビターである α 2-プラスミンインヒビター(α 2-PI)が1:1で結合した複合体。

PICが高い = 線溶系亢進状態



線溶系マーカー FDP・Dダイマー

FDP (fibrinogen/fibrin degradation products)

フィブリンまたはフィブリノゲンの分解産物

Dダイマー

安定化フィブリンの分解産物

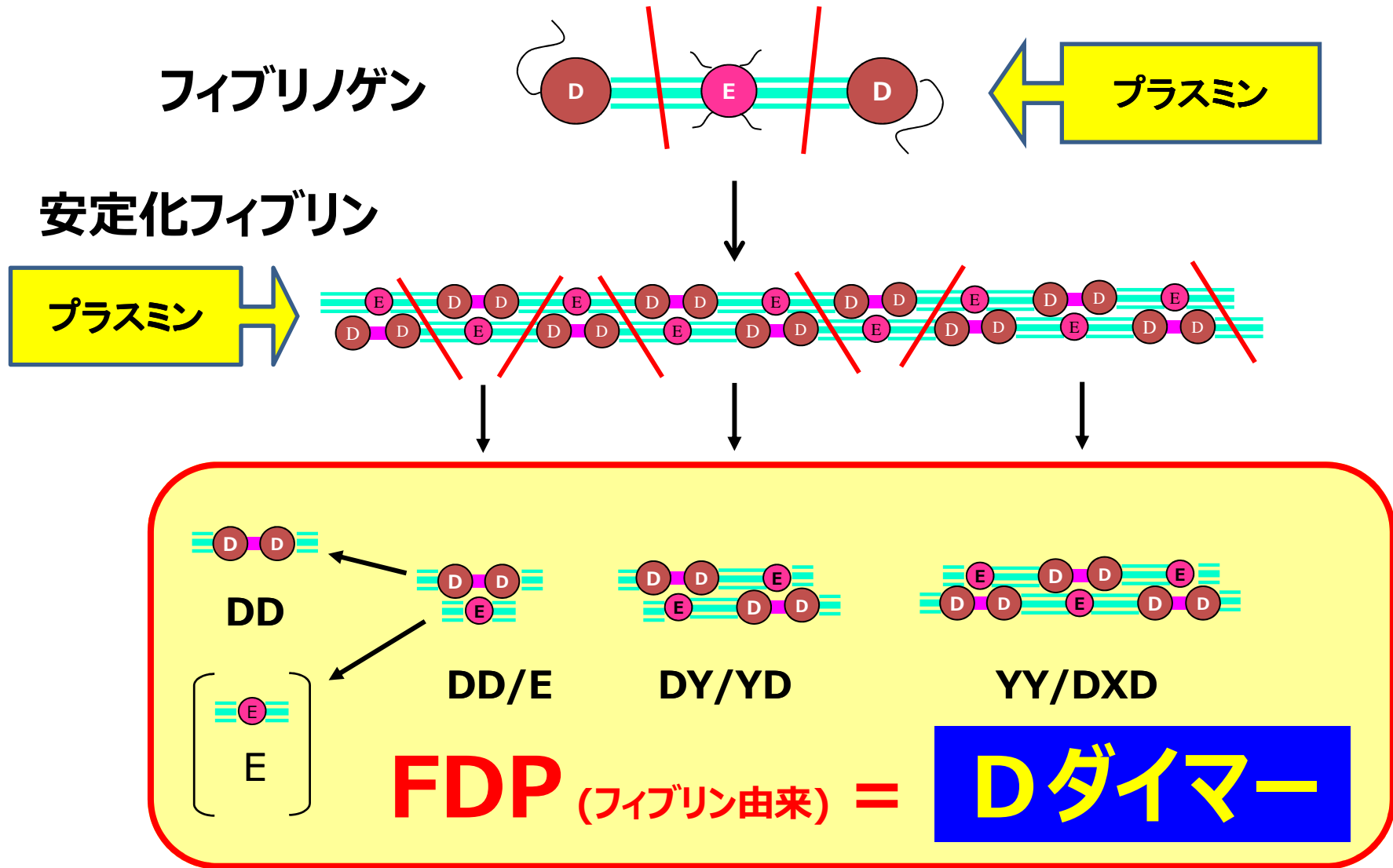
FDP&Dダイマー値の上昇：凝固活性による血栓形成

⇒血栓溶解（線溶）

播種性血管内凝固症候群（DIC）や

深部静脈血栓症（DVT）診断に極めて重要な検査項目

FDPとDダイマーの関係



凝固・線溶系マーカーが上昇する疾患

- 1) DIC（播種性血管内凝固）
- 2) 血栓症（深部静脈血栓症：DVT 肺塞栓：PE等）
- 3) 血栓性疾患
- 4) 感染症 敗血症
- 5) 悪性腫瘍，白血病
- 6) 産科的疾患 胎盤早期剥離
- 7) 肝疾患
- 8) 手術後，広範囲の外傷
- 9) 血管病変，心臓病，大動脈瘤
- 10) 線溶療法施行中

DIC：播種性血管内凝固症候群

(Disseminated Intravascular Coagulation)

何らかの原因により血管内で凝固が活性化され、
全身の血管（特に細小血管内）にフィブリン血
栓が多発する病態

線溶抑制型DIC（凝固優位型）
線溶亢進型DIC（線溶優位型）

DICの病型分類 (2008年改訂版)

病 型	凝固 (TAT)	線溶 (PIC)	症 状	D-ダイマー	PAI	代表的 疾患
線溶抑制型 (凝固優位型)			臓器 症状	微増	著増	敗血症
線溶均衡型			↑ ↓	↑ ↓	固形癌	
線溶亢進型 (線溶優位型)			出血 症状	上昇	微増	腹部 大動脈瘤 APL

Dダイマー：フィブリン（血栓）分解産物を反映

PAI：プラスミノゲンアクチベーター（重要な線溶阻止因子）

APL：急性前骨髄球性白血病

DIC診断基準の比較

	厚労省	ISTH	急性期
基礎疾患 臨床症状	有 : 1点 出血症状: 1点 臓器症状: 1点	必須項目 — —	必須項目、要除外診断 SIRS (3項目以上): 1点
血小板数 ($\times 10^4 / \mu\text{L}$)	8-12 : 1点 5-8 : 2点 <5 : 3点	5-10 : 1点 <5 : 2点	8-12 or 30%以上減少 /24h: 1点 <8 or 50%以上減少 /24h: 3点
FDP ($\mu\text{g/ml}$)	10-20: 1点 20-40: 2点 >40 : 3点	FDP、DD、SF 中等度増加: 2点 著明増加: 3点	10-25: 1点 >25 : 3点
フィブリノゲン (mg/dl)	100-150: 1点 <100: 2点	<100: 1点	—
PT	PT比 1.25-1.67: 1点 >1.67: 2点	PT秒 3-6秒延長: 1点、 6秒以上延長: 2点	PT比 >1.2: 1点
DIC診断	7点以上	5点以上	4点以上

今日の内容

- 1 : 凝固検査とは
- 2 : PT・APTT・Fib
- 3 : 凝固検査の検体について
- 4 : 凝固・線溶系分子マーカー
- 5 : 症例紹介**

症例1

患者：83歳 男性

現病歴：下血により当院救急搬送。

PT・APTT延長の理由は…？

PT	18.3	秒
PT%	41	秒
APTT	34.5	秒
Fib	131	mg/dl
FDP	3.4	μg/ml

WBC	11.47	×10 ³ /μl
Hb	7.5	g/dl
PLT	12.1	×10 ⁴ /μl

Fibが低いけどFDPは
高くない…??

肝疾患（肝硬変）

Alb	1.8	g/dl
AST	34	IU/l
ALT	13	IU/l
LD	223	IU/l

T-Bil	4.0	mg/dl
chE	64	IU/l
総コレステロール	81	mg/dl
アンモニア	283	μg/dl

血液凝固因子（Ⅲ、Ⅳ以外）は肝細胞で作られる。

症例 2

患者：43歳 男性

現病歴：腹部紫斑が出現し、前医受診。

汎血球減少を認め、当院へ紹介された。

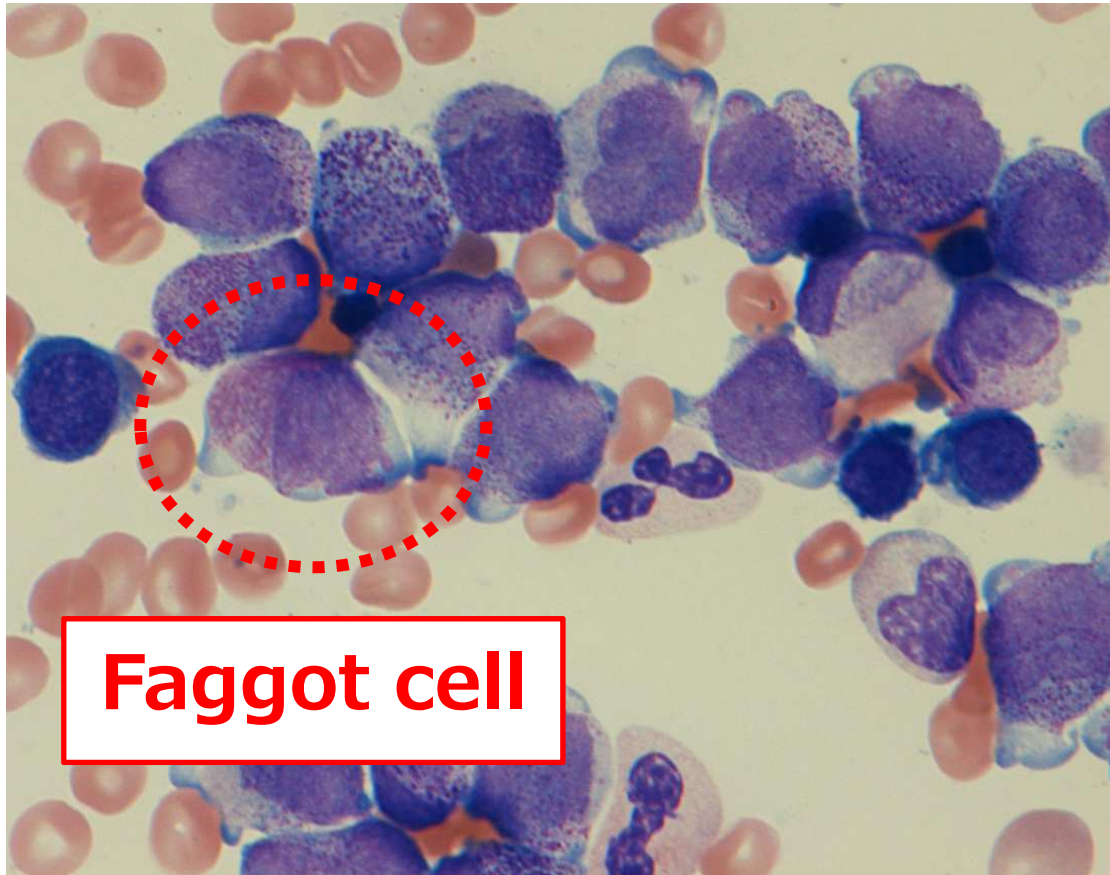
WBC	0.31	$\times 10^3/\mu\text{l}$
Hb	6.1	g/dl
PLT	2.6	$\times 10^4/\mu\text{l}$

PT	12.8	秒
APTT	26.5	秒
Fib	116	mg/dl
FDP	106.1	$\mu\text{g/ml}$

* 生化学は特記する異常値なし

線溶活性化??

APL:急性前骨髄球性白血病



MG×1000

Dダイマー	74.48	μg/ml
TAT	7.2	ng/ml
PIC	9.7	μg/ml
PAI	47	ng/ml

**線溶亢進型
DIC**

ご清聴ありがとうございました