

トロンベラストグラフ (TEG) による 凝血学的研究

(クエン酸血 TEG を中心として)

昭和40年9月30日 受付

信州大学医学部小田内科学教室
高山博臣

Studies on Blood Coagulation by Means of Thrombelastograph

Hiromi Takayama
Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. M. Oda)

緒言

1948年 Hartert により発表された Thrombelastograph^{①②③}は、血液の凝固過程を生体内で起る状態と同じく、しかも連続的に記録でき、更に線維素溶解現象をも動的に観察しうる方法として歓迎され、血液凝固学の進歩^{④⑤⑥⑦}にもなつての凝血生理の解明、線維素溶解現象の研究、出血性薬因疾患および血栓々塞性疾患の診断、抗凝血療法法のコントロール^⑧にと、その応用範囲は極めて広汎なものとなされてきた。また Thrombelastograph の測定値についても、その意味、正常値、変動を与える諸因子、各種疾患での変動についていくつかの詳細な報告^{④⑥⑦⑧⑨⑩⑪⑫}がなされている。最近血液凝固学においても種々の新しい検査法が導入され、従来からの検査法について検討または反省すべき時期に至つていると思われ^{⑬⑭⑮}、また Thrombelastograph に関しても、応用範囲、使用法などについて再認識すべき時期と思われる。即ち Thrombelastograph は凝血および線溶の全過程を動的に把握できるとはいえ、各凝固因子欠乏症を一つ一つ鑑別し診断することは不可能であり、しかも採血3分後に印画紙を発動させる関係上、患者自身が器具のある場所進行かねばならず、重症者または遠方から資料を送つてもらう場合など、往々にして検査が困難であり、外来患者などでも機械が使用中であれば数時間待たねばならぬといった欠点を有している。これに対して血漿を使用することにより、ある程度その欠点を除去できる。即ち欠乏していると思われる因子を含む血清又は血漿を添加して異常所見が消失すれば、その添加因子が欠乏していたと推定できるからで

ある。また血漿を用いるかぎり患者が機械のある場所へ行く必要もない。しかし血漿を用いること自体、本来の可及的に生体内で起るのと同じ条件下に、血液凝固過程を観察するという目的からは程遠いものとなつてしまう。また血漿を使用する場合には保存による凝固因子活性の低下も問題になり、血漿の分離方法により血小板数も一定せず、測定値に再現性を欠くことが多い。このようなことから、全血又は血漿を使用する方法のほか、クエン酸ソーダ加全血に Ca 再加を行つて測定する前2者の中間的方法^{⑯⑰}が着目されるに至つた。もとより個々の凝固因子活性を分析的に測定する方法^{⑱⑲}は夫々解明されており、Thrombelastograph はあくまでも血液凝固の全過程を動的に追求できること、および客観的な資料となるということに意味があるといえよう。著者もクエン酸血を使用したときの正常値を決め、全血を使用する場合と殆んど差がなく、しかも安定性に富み、その変動範囲も少ない点から臨床的に充分役立つことを認め、さらに、全血、クエン酸血の両者を同時に用いて各種疾患においての変動を観察したところ、病的状態においても両者の値がほぼ平行して変動することから、全血が使用できないときにはクエン酸血で代用できるとの結論に達した。しかし全血とクエン酸血使用でその測定値に若干の差があり、何故にそのような差が生じたかを、血液の稀釈による影響、接触因子の活性化、血小板の破壊といった面から考察し検討を加え、さらに測定値の一つである Ma と、血小板機能との関係を種々な実験的条件下に観察を行つて、凝血生理での1~2の知見を与えることができた。

以下クエン酸血使用時の測定法、その正常範囲、各

種疾患での変動を全血使用時の測定値と比較したものを1部とし、2部として、全血法とクエン酸血法とで測定値に差異を生じた原因について、稀釈、接触因子活性、血小板破壊などの面から検討を加えて、Maと血小板機能との関係について述べる。

I 部 クエン酸血 TEG の測定法なら びに測定値について

クエン酸血 Thrombelastograph

全血およびクエン酸ソーダ加全血（以下クエン酸血と呼ぶ）を用いて Thrombelastogram（以下 TEG と略記）。各値を正常人および各種疾患々々について測定し、その両者の値を比較した。以下全血を資料とする場合を全血法、クエン酸血を使用する場合をクエン酸血法と呼ぶ。

(I) 方法および材料

(1) 機 械

ドイツ Hellige 社の Thrombelastograph Model 2061 D を使用した。

(2) 測定方法

Hartert の原法^{①②③}に従いシリコン処理輸血針を肘静脈に刺入し、組織トロンボプラスチンの混入を避けるため、最初の数滴をすて、次いで滴下する血液を cuvette にうけ全血法の資料とし、続いて3.8%クエン酸ソーダ溶液をあらかじめ0.2ml 入れてあるシリコン処理注射器に接続して、全量を2ml すなわち血液と3.8%クエン酸ソーダ溶液とを9:1の割合となるように採血し、シリコン処理小試験管へ移した。クエン酸血法のみを施行する際には、シリコン処理注射器にて採血した。このようにしてえたクエン酸血0.3ml をシリコン処理ビベットにて cuvette にとり、更に1.29%塩化カルシウム溶液0.06ml を血糖用ビベットにて加え、cuvette の軸にて15~20回混和しカルシウム再加を行つた。全血法では最初の一滴が cuvette に滴下したとき秒時計を発動させて3分後に、またクエン酸血使用時にはCa再加時より1分後に印画紙を発動させた。そして印画紙の発動を待つ間に、cuvette に充たされた血液の表面にパラフィン水滴下して空気との接触を絶つた。なお使用する器具はとくに記載してない場合もシリコン処理を行つたものを使用し、接触因子の活性化ないしは血小板の破壊などが起らぬように留意した。

(3) 各凝固因子測定：

- (i) 1段法プロトロンビン活性：松岡1段法^{②⑨}
- (ii) Owren 法プロトロンビン活性：Owren 法^{②⑩}
- (iii) 第V因子活性：Wolf の荻原変法^{②⑪⑫}

- (iv) 第Ⅷ因子活性：Bentonite 法^⑩，
Koller 法^{②⑬⑭}

- (v) AHG 活性：松岡らの法^{⑩⑮}

- (vi) PTC, PTA 活性：古田・松岡の法^{⑩⑯⑰⑱}

- (vii) 血漿フィブリノーゲン量：Tyrosine 法^⑩

- (viii) 血液トロンボプラスチン活性、血小板第3因子作用：Biggs および Douglass の法^⑩

- (ix) 血小板数：Rees-Ecker^⑩

の直接法により算定した。

(4) 症 例

正常対照としては健康男女各20名、計40名を対象とし、疾患としてとりあつた症例は昭和36年から昭和39年に信州大学第2内科に入院した血液疾患々々62例、高血圧、循環器疾患、腎疾患々々58例、肝胆道系疾患々々44例、計164例であり、その内訳は表2に示した。

(II) 測定結果

(1) 正 常 値

年令19才~34才の健康な男女各20名、計40名について、全血法およびクエン酸血法を施行し、次のごとき基準により Thrombelastograph の各値を求めた。

(i) r : Reactionszeit ; 採血または Ca 再加より、TEG 両脚巾が1mm に達するまでの時間で単位は分で表現する。

(ii) k : Koagulationsgeschwindigkeit ; r の終りから両脚巾が20mm に達するまでの時間で r と同じく分単位で表現する。

(iii) Ma : Maximale amplitude ; 両脚巾が最大に達したときの巾の長さで単位はmm。

得られた正常値は表1に示す如く、全血法では r が17.8~5.2分、平均11.0分、kは8.7~1.9分、平均

表 1 正 常 値
(正常男女各20例の平均値と棄却限界値)

| 全 血 | | |
|---------|-------|---------------------------|
| | 平 均 値 | 棄却限界 (危険率 5%) |
| r (分) | 11.0 | $17.8 \geq x_0 \geq 5.2$ |
| k (分) | 5.3 | $8.7 \geq x_0 \geq 1.9$ |
| Ma (mm) | 49.3 | $62.2 \geq x_0 \geq 36.6$ |
| クエン酸血 | | |
| | 平 均 値 | 棄却限界 (危険率 5%) |
| r (分) | 7.7 | $11.3 \geq x_0 \geq 4.1$ |
| k (分) | 4.4 | $9.6 \geq x_0 \geq 2.2$ |
| Ma (mm) | 51.5 | $62.7 \geq x_0 \geq 38.3$ |

5.3分, Maは62.2~36.6mm, 平均49.4mmであり, クエン酸血法ではrは11.3~4.1分, 平均7.7分, kは6.6~2.2分, 平均4.4分, Maは62.7~38.3mm, 平均51.5mmと各値とも全血法の値に比して変動範囲が狭く安定した値を示し, r, kの短縮, Maの軽度増大が特徴的であつた。なお男女間の各値の差については統計的に有意の差も認めなかつた。また全血法およびクエン酸血法での TFG 各値の相関を求めると図2に示

図1 TEG 各値

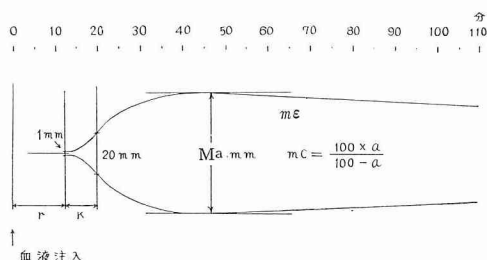
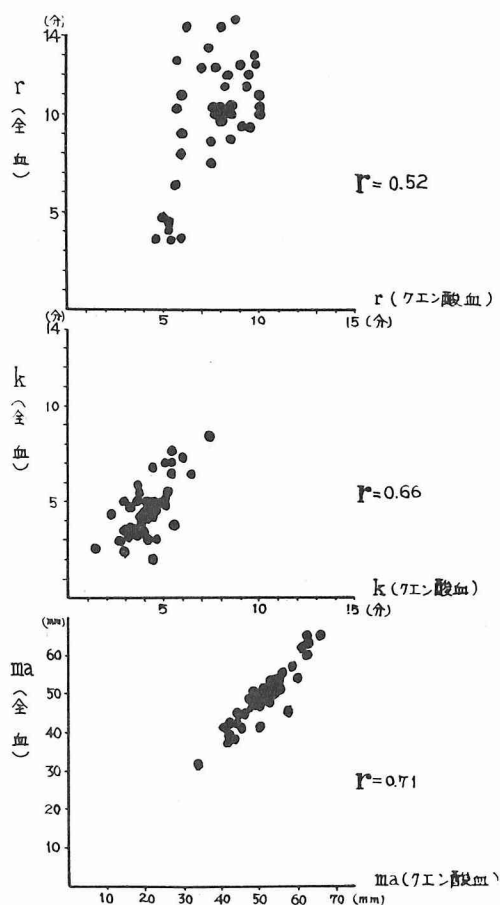
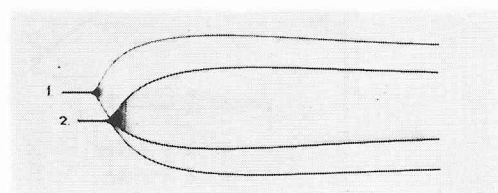


図2 全血およびクエン酸血TEG各値の関係



したごとくなり, 相関係数はrで0.52, kで0.66, Maで0.71といずれもかなりの相関々係のあることが認められ, とくにMaにおいての相関が強かつた。図3はその一例のTEGである。

図3 全血法TEG, クエン酸血TEG (正常例)



| TEG | r | k | r+k | Ma |
|-------------------|------|------|-------|------|
| 1. nativ blood | 9.25 | 3.75 | 13.0 | 50.0 |
| 2. citrated blood | 7.50 | 4.25 | 11.75 | 49.0 |

(2) クエン酸血を保存した場合の各値の変動

クエン酸血をどの程度まで保存使用できるか, すなわちどの程度まで保存しても採血直後と大差ない値をえることができるかを調べた。

正常男女各5例についてクエン酸血を4°Cおよび室温に, できるだけ無菌的にシリコン処理試験管内に保存し採血後6時間, 12時間……144時間と経時的に測定してr, k, Maの変動を観察した。図4は正常人10例の各値の平均値の変動を示したものであるが, r, kは採血12時間後までいづれの条件でも殆んど変動を示さず, 以後24時間, 48時間……144時間と時間の経過とともに室温保存ではむしろ短縮の傾向を示し4°C保存では逆に軽度ながら延長の傾向を示した。またMaの変動は極めて軽度で4°Cおよび室温放置による差も殆んど認められなかつた。いずれにせよ, r, k, Maとも採血後12時間以内であれば採血直後と殆んど差のない値をえることができることを知つた。

(3) 各種疾患におけるTEG各値の変動

前述のごとくクエン酸血法は操作も比較的容易であり, 正常値は全血法に比して大差なく, しかもその変動範囲は少く安定で, 採血後12時間を経過しても臨床に充分に役立つ値をえることを知り, 全血法に比して応用範囲が広いと思われるが, 各種疾患において, 全血法で捉えられるような変化がクエン酸血法でも把握できるか否かを検討するため, この両方法を対比させて, 各種疾患での変動を追求した。対象とした症例は信州大学第2内科に昭和36年から昭和39年の間に入院した164例である。その内訳は表2に示したごとくで

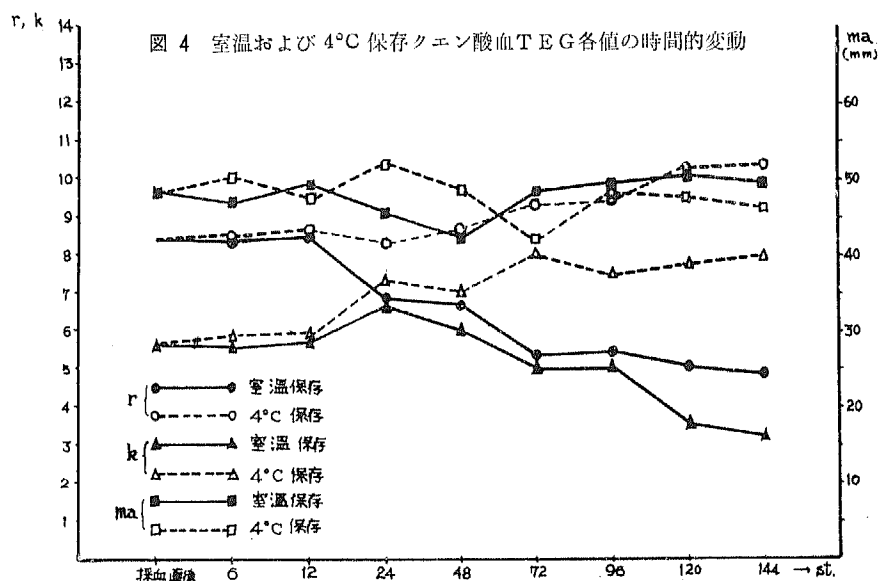


表 2 対象とした症例

| | |
|--------------------------------------|-------------------|
| 1. 血液疾患 | 62 |
| (1) 血友病 { A B | 4 4 |
| (2) 白血病 { 骨髄性 リンパ性 | 11 2 |
| (3) 貧血 { 再性不良性 鉄欠乏性 脾 | 10 15 3 |
| (4) 血小板疾患 { 本態性血小板減少性紫斑病 血小板無力症 | 3 1 |
| (5) 単純性紫斑病 | 9 |
| 2. 肝胆道系疾患 | 44 |
| (1) 肝炎 { 急性 慢性 | 16 4 |
| (2) 肝硬変 | 7 |
| (3) 肝癌 (原発性, 転移性) | 8 |
| (4) 胆石症・その他 | 9 |
| 3. 血栓栓塞性疾患・その他 | 58 |
| (1) 血栓栓塞性疾患 { 脳 心 四肢 網膜中心静脈 | 15 6 3 4 |
| (2) 高血圧症 | 15 |
| (3) 心弁膜症 | 7 |
| (4) 腎疾患 { 急性 慢性 ネフローゼ | 3 3 2 |

ある。

測定値はその病期により変動のあるのは当然であるし、病状又は疾患の推移による変動またはその原因、

各種凝固因子活性の変動との関係などについてはすでに詳細な報告^{⑤⑩⑫⑬⑭⑮}があり、この論文では全血法、クエン酸血法での各値の対比ということに重点をおいて観察した。その測定結果は次のごとくである。

(i) 血友病^{⑩⑪⑫}：内因性の凝固因子欠損による先天性の凝固障害を来す血友病の症例は表3に示すごとく、血友病A 4例(血漿中 AHG 量は6~12%)、血友病B 4例(内2例は所謂軽症血友病であり、血清中 PTC 量は5~22%)計8例である。性別はいずれも男性、年齢は2~31才であつた。rは全血で19.5~192.0分、クエン酸血で15.0~69.0分、kは全血で7.0~87.0分、クエン酸血で5.25~29.0分、Maは全血40.5~68.5mm、クエン酸血で43.5~71.5mmであつた。このようにクエン酸血法は血友病のごとき著明な凝固障害を来す疾患でも、全血使用時に比してr, kの短縮、Maの増大という特徴はそのまま保たれていた。しかし軽症血友病において、クエン酸血法ではr, kの短縮が著明でないとはい

え、測定値が正常範囲に入つてしまい TEG のみではみのがす危険性がある。この論文では2例の軽症血友病は、いずれもr, kとも正常値より延長し病的な所

見を示していた。また血友病におけるクエン酸血法の r , k の短縮程度は、全血法で r , k の延長が著明なものほど著しく、例えば表3の第1例の如く、 r が全血法で192分を示すときクエン酸血法で約 $1/3$ に短縮し69分となり、全血法で r , k が30~100分の延長を認めた第2~6例ではクエン酸血法では約 $1/2 \sim 1/3$ に短縮し、さらに全血法で r , k が30分以下の第7~8例ではクエン酸血使用時には約 $3/4 \sim 4/5$ に短縮している。このように r , k の延長が著しいもの程全血とクエン酸血使用時の差が大きく、正常に近づくにつれ、その差は少なくなるから、全血で r , k に異常延長を認める場合、クエン酸血を使用しても延長していることが多いといえる。しかし前述の如く、クエン酸血法のみでは正常か否か決定し難い症例の存在することは当然念頭におくべきであり、血友病の確定診断はTEGによつてのみ行われるものでなく、凝縮同時

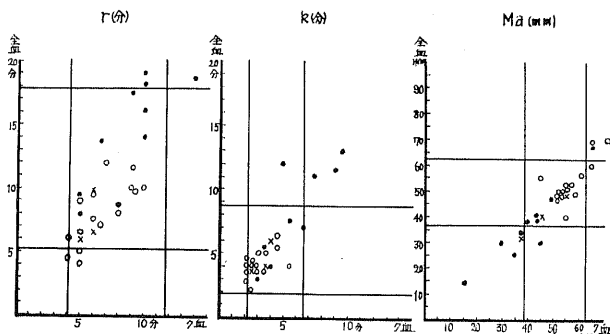
間、Ca再加時間、TGT、AHG、PTC その他の凝固因子活性の測定を行つてなすべきである。このようなところにTHGの限界があるが、記録の保存、その客観性という点に大きな意味を有するといえよう。なおMaについては前述のごとく全血法に比してクエン酸血使用時にやゝ増大するほか、とくに大きな変化はなかつた。

(ii) その他の血液疾患：図5に示すごとく、再生不良性貧血10例中 r の延長を認めたものは、全血法で3例、クエン酸血法で1例、 k の延長は全血法で4例、クエン酸血法で3例、Maの減少は全血法で5例、クエン酸血法で4例であつた。なおこれら症例は1段法プロトロンビン時間は延長し、第V、第VIII因子活性、TGTでの血漿因子、血清因子ともに減少し、血小板数は35000~81000の間にあつた。

鉄欠乏性貧血では、不良性貧血とは逆に15例中全血

表 3 血 友 病 症 例

| 症 例 | 氏 名 | 年 令 | 性 | 診 断 名 | r (分) | | k (分) | | Ma (mm) | | 備 考 |
|--------|------|--------|---|-------|---------|------|---------|------|---------|------|---------|
| | | | | | 全 血 | ク 血 | 全 血 | ク 血 | 全 血 | ク 血 | |
| 1 | M. N | 22 | ♂ | 血友病 B | 192.0 | 69.0 | 87.0 | 29.0 | 51.5 | 53.0 | PTC=5% |
| 2 | S. K | 19 | ♂ | 血友病 B | 65.0 | 36.0 | 26.5 | 18.0 | 43.0 | 45.0 | PTC=9% |
| 3 | T. H | 31 | ♂ | 血友病 A | 33.5 | 27.5 | 11.0 | 7.5 | 40.5 | 43.5 | AHG=10% |
| 4 | S. M | 31 | ♂ | 血友病 A | 31.0 | 19.5 | 9.0 | 7.25 | 68.5 | 71.5 | AHG=12% |
| 5 | S. N | 12 | ♂ | 血友病 A | 69.0 | 32.5 | 23.0 | 13.5 | 49.0 | 50.5 | AHG=6% |
| 6 | M. N | 2 | ♂ | 血友病 A | 48.5 | 29.5 | 9.5 | 6.0 | 49.5 | 48.0 | AHG=13% |
| 7 | Y. O | 17 | ♂ | 血友病 B | 21.0 | 17.5 | 6.75 | 5.25 | 54.5 | 57.5 | PTC=20% |
| 8 | K. K | 23 | ♂ | 血友病 B | 19.5 | 15.0 | 7.0 | 5.5 | 48.5 | 51.5 | PTC=23% |

図 5 血液疾患におけるTEG各値
(その1)

● 再生不良性貧血 ○ 鉄欠乏性貧血 × 脾性貧血

法で3例, クエン酸血法で2例に r が短縮し, k は全血, クエン酸血法ともにすべて正常範囲にあつた。Ma は全血, クエン酸血法ともに2例に増大を認めた。これら症例の血色素は45~69%, 赤血球数は298~406 $\times 10^4$, 血清鉄は32~68 $\mu g/dl$ であり, ヘマトクリットは30~35.5%であつた。 r , k の短縮, Ma の増大にはこのヘマトクリットの減少によつて示される血液の稀釈が関係⁽⁴⁶⁾すると推定される。脾性貧血では3例とも両方法を用いて, r , k , Ma とともにほぼ正常範囲にあつた。なおこの3症例での肝機能検査では BSP が10~17%と異常を呈するほかとくに変化なく, 凝血学的には第Ⅷ因子活性の軽度低下のみを2例において認めた。

白血病は骨髄性11例, リンパ性2例, 計13例で急性5例, 慢性8例を対象とした。

r は全血, クエン酸血とも各1例に延長を認めたほかすべて正常。 k は全血で2例, クエン酸血法で1例

に延長を認めた。Ma は両方法ともに3例で増大していた(図6)。この増大を示した3例は慢性骨髄性白血病で, 白血球数はそれぞれ21000, 33000, 56000であり, 血小板数は239000, 281000, 313000と軽度ながら増加を認めている。

なお従来から慢性骨髄性白血病に特異的といわれている所謂 Stufen Phenomenon は, 全血使用時には2例で認められたが, クエン酸血使用時には両脚巾は階段状に減少せず1段だけで終っている。図7はその実例である。

本態性血小板減少症・血小板無力症(図6)前者3例, 後者1例を対象としたが, r は両方法とも全例で正常域内にあり, k は全例とも著明に延長して全血法では12.5~19.0分, クエン酸血法では9.0~14.0分, また Ma は全血法で1例が19.5mm, クエン酸血法で18.0mmで20mmに達せず, 従つて k は計測不可能であつた。Ma は前述の1例を含めて全例ともすべて減少し

図 6 血液疾患における TEG 各値
(その 2)

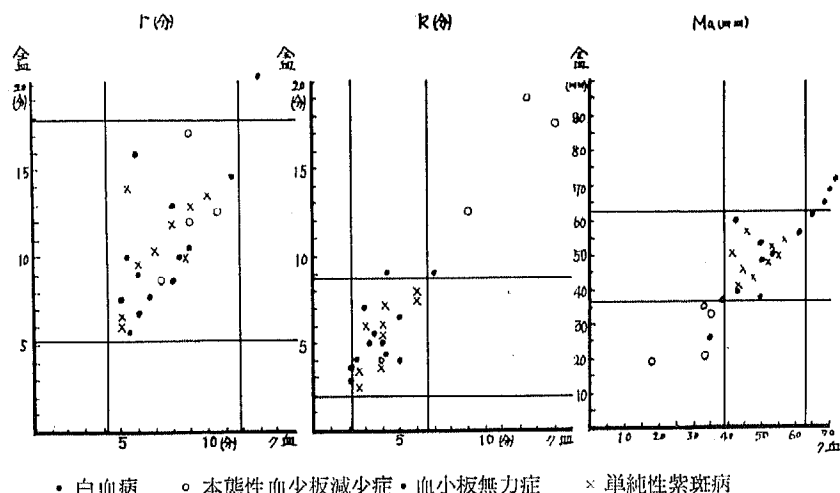


図 7 階段現象
(慢性骨髄性白血病症例)



1. 血 全
2. クエン酸血
3. Rotation TEG

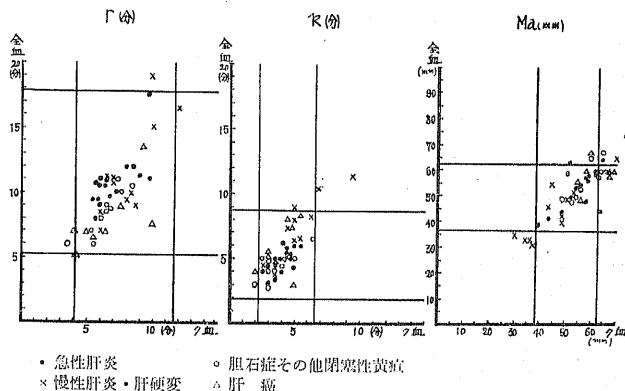
45mm以下であつた。

以上, 血液疾患では r , k とともに全血法, クエン酸血法によりほぼ同じように変動するが, ときにクエン酸血法では正常域にありながら全血法で異常を示す症例も認められた。

Ma に関しては両方法で殆んどその変動態度に差を認めなかつた。

(iii) 肝胆道系疾患: 図8に示すごとく, 急性肝炎の16例すべて, 全血, クエン酸血法で r , k は正常域内にあり, Ma は両方法ともに2例に軽度ながら増大

図 8 肝胆道系疾患での TEG 各値



を認めた。胆石症その他閉塞性黄疸を示す症例9例で、r、kともクエン酸血法で1例に短縮を認めたほか、残りの8例では両法ともに正常値を示し、Maは全血法で2例、クエン酸血法で8例に軽度ながら増大を認めた。慢性肝炎および肝硬変の11例ではrで1例、kで2例に延長を認め、Maは両方法ともに4例に減少を認め1例で逆に増大していた。又、原発性又は転移性肝癌の8例で全血法、クエン酸血法ともr、kは正常域内に、Maは全血で2例、クエン酸血法で1例に増大を認めた。肝胆道系疾患での凝固因子の変動はよく知られている^{④⑤⑥}が、ここで対象とした症例の凝固因子活性は、1段法およびOwren法プロトロンビン活性が急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変症で110~53%の範囲内にあり、やや低値を示すものが多く、肝硬変症においてその傾向がもっとも著しかった。肝癌、閉塞性黄疸では114~63%を示し増加を示す症例が多かった。

第Ⅴ因子、第Ⅷ因子も、ほぼプロトロンビン活性と同じような変動を示していた。またMaの変動の原因の1つとなる血小板数はMaの減少を示した慢性肝炎および肝硬変で、それぞれ65000、93000と減少傾向を示していた。Fibrinogen量は急性肝炎2例、慢性肝炎1例、肝癌3例、閉塞性黄疸4例で増加を示し、最高512mg/dlとなつている。逆に急性肝炎1例、慢性肝炎1例、肝硬変4例で減少していた。

以上、肝胆道系疾患においてはr、k、Maとも全血法、クエン酸血法にて同じような変動傾向を示していた。

(iv) 血栓・塞性疾患：図9の如く脳血栓症の15例

でrは全血法、クエン酸血法ともに2例に短縮し、他の正常範囲内にある症例も全例とも短縮傾向を示し、全血法でとくにその傾向が強く、全例とも12分以内であつた。kはクエン酸血法で2例に短縮を認めたのみであるが、この場合も全血、クエン酸血法ともに正常域内での短縮傾向を示していた。Maは全血法で2例、クエン酸血法で3例に増大を認めた。心筋梗塞の6例でもrは両法とも1例に短縮を示し、kは両法ともに正常域内にあり、Maは全血法においてのみ1例に増加を認めた。網膜中心静脈血栓症、四肢静脈血栓症5例においてもr、kは両法ともに正常範囲内であるが短縮傾向を示し、Maは全血法で1例に増大を認めている。このように血栓塞性疾患においても全血使用時とクエン酸血使用時とで大差ない結果を得た。これら血栓塞性疾患は凝固能亢進状態又は凝固能準常状態にあるとされているが、全血法、クエン酸血法とも著明なr、kの短縮はなく、むしろ正常範囲内での短縮傾向を示したことが特徴であつた。凝固因子活性はプロトロンビン活性で8例、第Ⅴ因子活性で6例、第Ⅷ因子活性で10例が100%以上となり凝固能の亢進が推定された。

(v) 高血圧症、心弁膜症、急性および慢性肺炎(図10)：高血圧症15例中rは両法とも全例で正常、kは全血法で全例正常、クエン酸血法で3例に軽度ながら短縮を認めている。又Maは全血法で2例、クエン酸血法で1例の増大を認めた。これら症例の血圧は最高血圧164~226mmHg、最低98~122mmHg、総コレステロール値は150~310mg/dlであつた。心弁膜症7例は原因的にリウマチ性4例、梅毒性2例、血腫硬

図 9 血栓性疾患の TEG 各値

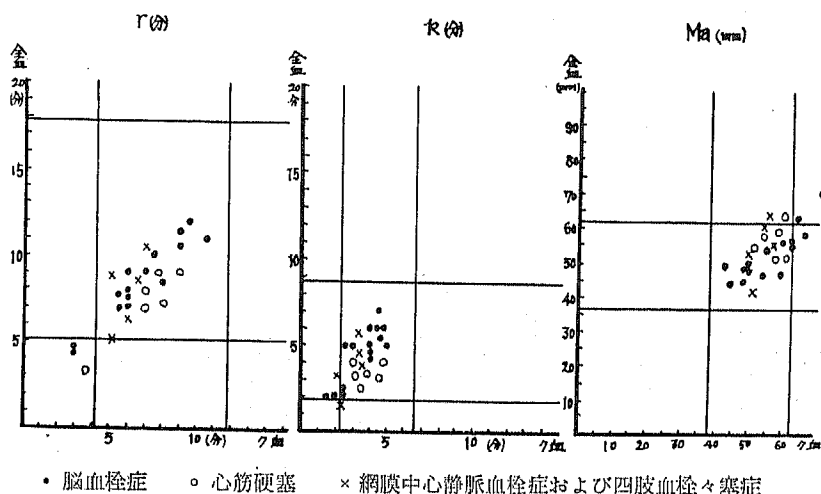
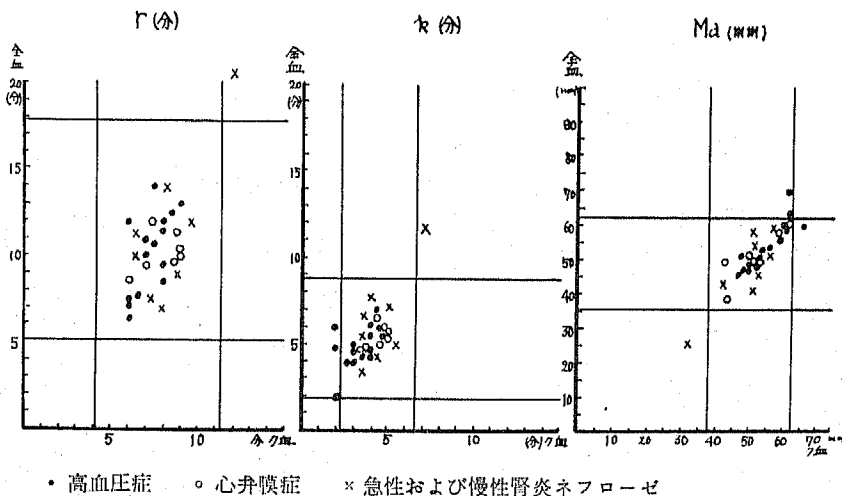


図 10 高血圧症その他の TEG 各値



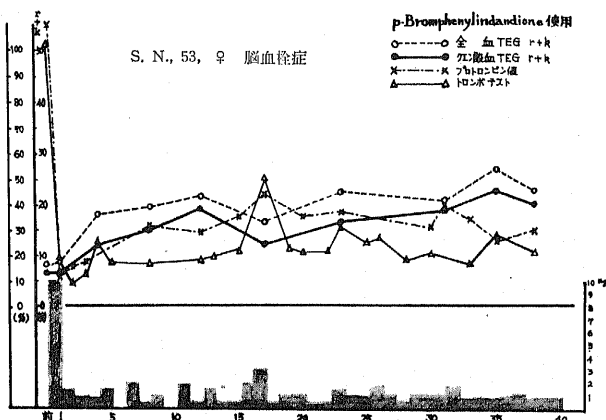
化性と思われるもの1例であるが、全例とも全血法、クエン酸血法で差を認めず、 r 、 k 、 Ma すべて正常域内にあつた。また腎疾患8例中慢性腎炎の1例で r 、 k 延長、 Ma 縮少を認めたが、その症例以外、全血法、クエン酸血法とも異常を認めなかつた。TEGで異常をみた慢性腎炎の1例は残余窒素 350mg/dl と著しく上昇し、所謂尿毒症の症状を呈し、不幸な転帰をとつたものであるが、出血時間48分、プロトロンビン活性55%、第Ⅴ因子69%、第Ⅶ因子53%、患者血清トプ形成活性73%、血小板数31000と何れの凝血因子も低下していた。

このように高血圧症、腎疾患などにおいても全血、クエン酸血法による差は著明でなかつた。

(iv) 抗凝血薬療法のコントロール：coumarin系(Warfarin)投与例とindandione系(Indion)投与例2例、計3例について、一般に抗凝血薬のコントロールに使用されるThrombotest (Owren)^{23,24}、プロトロンビン1段法と、全血およびクエン酸血 TEGの4者を用いて、抗凝血薬投与時の凝固能の変動を追求した。しかし全血法、クエン酸血法とも r 又は k 単独では抗凝血薬療法時の凝固能の変動をとらえられず、これによりコントロールすることは難しい。しかし図11に示したように $r+k$ としての変動を見ると、Thrombotest またはプロトロンビン時間に近い変動を示す症例も認められた。このように抗凝血薬投与時の r 、 k の変動は敏感でなく、高価な装置が必要

図 11

抗凝血薬療法のコントロール例



であり、操作も複雑でしかも時間を要することから、このような面への TEG の応用は否定的であるが^②、著者の成績もクエン酸血法全血法ともに同様であった。

小 括

全血およびクエン酸血を使用して同時に TEG 各値を測定し次の如き結果をえた。

1) クエン酸血使用時の正常値は r 7.7分, k 4.4分, Ma 51.5mmで全血法の値に比して, r , k の短縮, Ma の増大が特徴であった。しかし両方法による r , k , Ma とも相関関係はかなり強かった。又クエン酸血法での r , k , Ma の変動範囲は全血法のそれに比して狭く安定していた。しかも採血12時間後まで、採血直後と大差ない値をえ、臨床的応用が広いといえる。

2) 各種疾患における凝固能の測定も、クエン酸血法、全血法に大差を認めなかった。しかし軽症血友病の如き疾患では r , k の微細な変動をえられ難かった。また全血法でみる慢性腎臓性白血球の階段現象を中途で終了せしめるといつた欠点も認められた。これはクエン酸血法での諸操作が線溶現象などに影響する可能性を示すものと考えられる。

又、抗凝血薬療法のコントロールに TEG を使用することは複雑なだけでなく、 r 、又は k にて凝固能の変動をとらえ難く、正しい応用法とは思われなかった。

II 部 クエン酸血 TEG におよぼす諸因子の検討

I 部で述べた如く、クエン酸血使用時には全血使用時に比して r , k は短縮し Ma は増大していた。このような測定値の差を生ずる原因として下記の如き事項を想定し、どの事項が原因となるかを検討した。

即ち、(1) Ca 再加による影響

(2) 希釈の影響

(3) 接触因子^③の活性化の影響

(4) 血小板破壊による影響

である。そしてさらに Ma の変動と血小板機能との関係を2~3の実験的条件の下に観察した。

(1) 実験方法

(i) Ma : Hellige 社の Thrombelastograph Model 2601D を使用して測定した。また Rotation TEG にも r , k , Ma を同器械を使用して測定。

(ii) 血小板数: Nygard の法^④, 粘着血小板: Hellen の法^⑤。

(iii) 血餅収縮力: クエン酸血漿 0.2ml にトロンビン溶液 0.1ml を加え、さらに蒸留水を加えて全量を 2ml として2時間、37°C の恒温槽内に放置し、血餅を除去し残りの液体部分の全量 (2.0ml) に対する割合を%で表現した。

(iv) 血小板第3因子作用: Biggs らのトロンボプラスチン形成試験^⑥により測定した。

(v) 採血: ヒト肘静脈または家兎耳静脈よりシリコン処理器具にて、クエン酸ソーダ溶液を用いて採

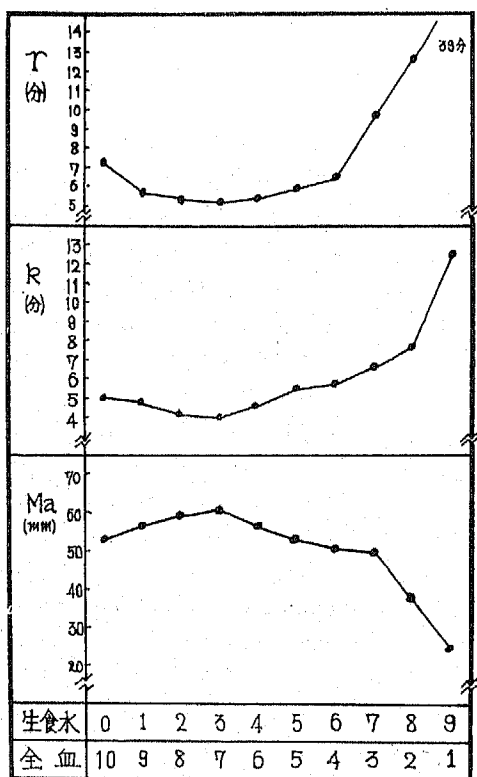
血した。全血が必要なときはクエン酸ソーダ溶液を使用しなかつた。

(II) 実験結果

(1) 稀釈の問題⁴⁶⁾

図12に示すように全血と生理的食塩水との比率を、10:0~1:9のごとき系列をつくり各々のTEG各値を測定した。その結果は図12のごとくである。すなわちr, k, Maが最も短縮または増大するのは血液7に対して生理的食塩水3の割合のときである。前述のクエン酸血法では血液:クエン酸ソーダ溶液は9:1であり、その0.3mlに塩化カルシウム溶液0.06mlを加えることから、血液と添加物との比率は0.27:0.09即ち3:1となり稀釈の影響は否定できない。

図12 血液の稀釈の影響



(2) 接触因子⁴⁷⁾の関与

採血, cuvette へのクエン酸血の分注, CaCl_2 溶液との混和など、クエン酸血法では、全血法に比して操作が繁雑となるため、接触因子の活性化の起りうる可能性がおおい。前述の如くクエン酸血をシリコン処理試験管に入れて室温又は 4°C に放置しても、採血後12時間以内では採血直後と殆んど変化のない値をえる

ことから、消極的にはあるが接触因子の活性化が関与していないと想定できる。この論文では逆に接触因子を十分に活性化させたら TFG 各値がどう変化するかを調べるため、Jürgens⁴⁷⁾のいう Rotation-TEG を施行した。方法はほぼ Jürgens の原法に従い、非シリコン処理の太型小試験管に前述のクエン酸血を1.0ml とり、 37°C の恒温槽内で毎分60回、8分間手にて回転させ、クエン酸血を充分ガラス壁に接触させた後、その0.3mlを cuvette にとり Ca 再加を行つて、r, k, Ma を測定した。

このとき対照として未処置のクエン酸血を使用して、同時に TEG 各値を測定して両者の値を比較した。このようにしてえた正常男女20例の平均値は表4に示すごとくであり、rは Rotation 前平均7.1分、Rotation 後5.8分、kは操作前4.9分、操作後3.8分、Ma は49.9mmから57.5mmと r, kの短縮、Maの増大を認めた。すなわち全血法より、クエン酸血法、さらに Rotation という操作を加えることにより、r, kは短縮、Ma は増大の度合いを増加させることになる。

表4 Rotation Thrombelastograph による各値の変動

| | Rotation 前 | Rotation 後 | 変化率 |
|----|------------|------------|--------|
| r | 7.1 分 | 5.8 分 | 19.9 % |
| k | 4.9 分 | 3.8 分 | 22.6 % |
| Ma | 49.9 mm | 57.5 mm | 15.2 % |

$$r \text{ の減少率} = -\frac{r_2 - r_1}{r_1} \times 100$$

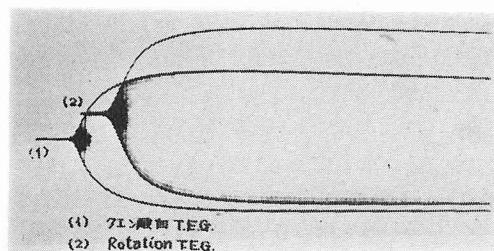
$$k \text{ の減少率} = -\frac{k_2 - k_1}{k_1} \times 100$$

$$\text{Ma の増加率} = \frac{\text{Ma}_2 - \text{Ma}_1}{\text{Ma}_1} \times 100$$

$$\begin{cases} r_1, k_1, \text{Ma}_1 : \text{Rotation 前の値} \\ r_2, k_2, \text{Ma}_2 : \text{Rotation 後の値} \end{cases}$$

その変化を求めるため Rotation 前の値を r_1, k_1, Ma_1 とし、Rotation 後の値を夫々 r_2, k_2, Ma_2 とし表4の如く、r, kでは減少率、Maでは増加率を求めると、rで19.9%、kで22.6%の減少率を、Maでは15.2%の増加率を得た。図13に示したのはその正常例の1つである。また表5に示したごとく臨床的に Rotation により Ma が著明に減少を示した肝硬変、肝硬変より発生したと思われる肝癌の3例を経験し、その1例を図14に示した。Ma は Rotation 前39.0~46.0mm、Rotation 後25.0mm~33.0mmと著明に減少

図13 正 常 例

表 5 Rotation-Thrombelastograph で
著変のあつた症例

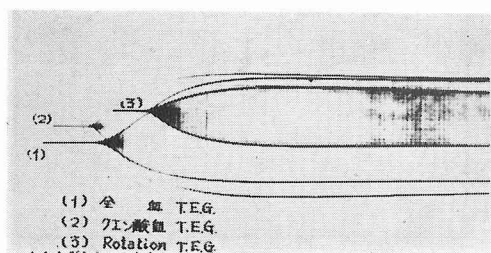
| 症例 | 疾患各 | | A | B | C | D |
|---------------|----------------------|---------|------|--------|------|-------|
| 1 57才 ♂ | 肝硬変 接触因子 29.6% | r (分) | 7.25 | 8.5 | 7.0 | 5.0 |
| | | 減少率(%) | — | -17.24 | — | 28.57 |
| | | k (分) | 4.5 | 7.0 | 3.75 | 2.25 |
| | | 減少率(%) | — | -55.5 | — | 4.0 |
| | | Ma (mm) | 40.0 | 28.0 | 41.5 | 49.0 |
| 2 22才 ♂ | 肝硬変 接触因子 17.0% | Ma (mm) | 40.0 | 28.0 | 41.5 | 49.0 |
| | | 増加率(%) | — | -30.0 | — | 18.1 |
| | | r (分) | 8.0 | 7.0 | 5.5 | 2.5 |
| | | 減少率(%) | — | -12.5 | — | 54.5 |
| | | k (分) | 5.5 | 10.5 | 3.75 | 2.0 |
| 3 61才 ♂ | 肝癌 接触因子 30.2% | 減少率(%) | — | -90.9 | — | 46.7 |
| | | Ma (mm) | 39.0 | 25.0 | 40.5 | 48.5 |
| | | 増加率(%) | — | -35.9 | — | 19.6 |
| | | r (分) | 6.25 | 6.75 | 6.0 | 5.75 |
| | | 減少率(%) | — | 8.0 | — | 3.2 |
| | | k (分) | 3.5 | 5.0 | 3.5 | 3.25 |
| | | 減少率(%) | — | -42.9 | — | 7.1 |
| | | Ma (mm) | 46.0 | 33.0 | 46.5 | 48.5 |
| | | 増加率(%) | — | -28.2 | — | 4.3 |

A: クエン酸血 (Bの対照)

B: クエン酸血を Rotation

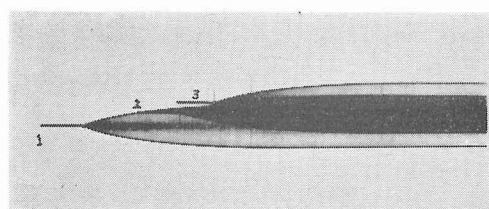
C: クエン酸血+0.85% NaCl 0.05cc (Dの対照)

D: クエン酸血+接触因子の Eluate 0.05cc

図14 肝硬変症
M. O., 57才, ♂

し、その増加率は-35.9~-28.2%であつた。これにともない r, k もまた延長していた。これらの症例では接触因子活性が17.0~30.2%と著しく減少していた。これら症例のクエン酸血0.25mlに接触因子の抽出液0.05mlを加え、対照としてクエン酸血0.25mlに生理的食塩水0.05mlを加えたものを使用して各値を測定すると、Ma は40.5~46.5mmが48.5~49.0mmへと増加し、その増加率は4.3~19.6%であつた。このことから接触因子は単に血液凝固の引き金の作用のほかに、おそらくは血小板、FSF (第 XIII 因子) を介して Ma すなわち血栓の "強固さ" にも関与するであろうと推定される興味ある知見をえた。さらにこのようなクエン酸血法と Rotation TEG との間にみられる測定値の差は、クエン酸血法での r, k の短縮, Ma の増大は接触因子活性の影響でないかと推定しうる。尚この Rotation TEG を2~3の疾患に応用したところ、血小板無力症の1例において、クエン酸血法と Rotation TEG の間に殆んど差を認めえず、Rotation TEG の Ma の変化は、接触因子活性が血小板のある種の機能を発現させるとの推論を支持する1つの成績といえよう。(図15)

図15 血小板無力症の症例

1. 全血
2. クエン酸血
3. Rotation

(3) 破壊血小板の Ma におよぼす影響

前述の Rotation TEG においては、接触因子の活性を介して血小板機能が発現されと考えられたが、ここでは凍結融解又は超音波を使用して、血小板を破壊した際の Ma の変動と、血小板第3因子小作用および血餅収縮力などとの関係を観察した。

(i) 氷室保存の場合: platelets rich plasma として凍結し、24時間後に融解して Ca 再加を行い Ma を求めると、図16に示したように凍結、融解前51.3mmの平均値を有していた Ma は20.9mmと著しく減少していた。同じように血餅収縮力の変動を調べると、これも65.5%から43.5%と同様の減少傾向を示している。図17はその実例である。上が凍結前の platelets rich

図16

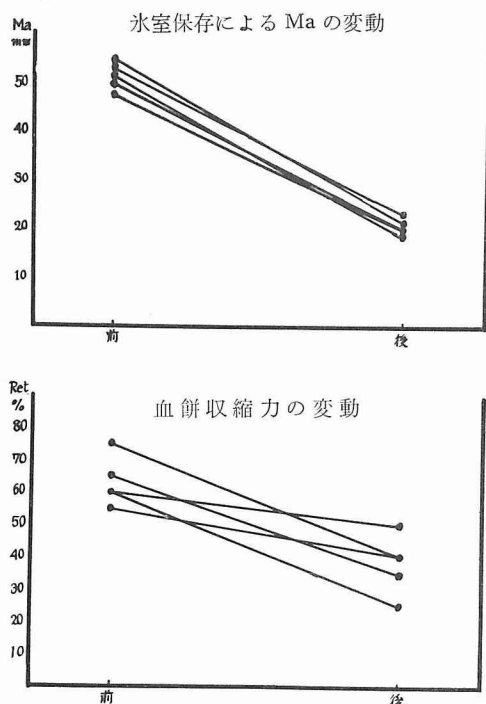
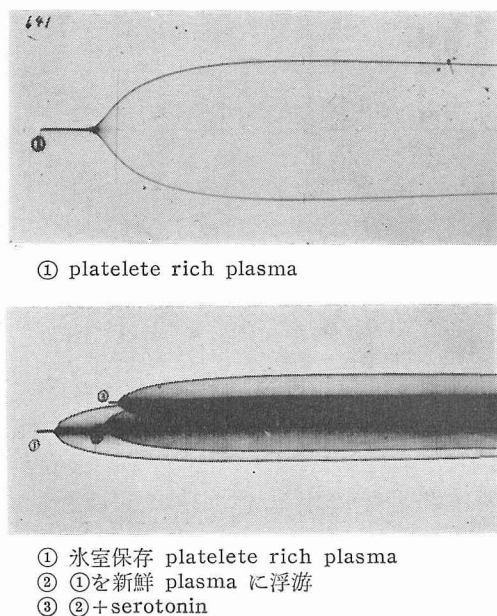


図17 氷室保存血小板の TEG



plasma を用いた TEG である。尚下方に示すように氷室保存後に Serotonin, APT などに加えても、又遠心上澄をすて新鮮な platelets poor plasma を加えても、Ma の値には殆んど差を認めなかつた。

(ii) 超音波による破壊血小板の Ma におよぼす影響：新鮮な platelets rich plasma に超音波を作用させると図18の如く Ma は50.7mmから42.2mmと減少し、血餅収縮力もほぼこれに平行して変動し67.5%から58.5%となつてゐる。又図19はその実例を示したものである。これら破壊血小板の第3因子作用はむしろ増強し、破壊前平均96.3%が破壊後109.3%となつてゐる。このことから破壊血小板は第3因子作用は充分に期待できるが、血餅収縮力、Ma の増加は望み難く、クエン酸血法での各値の変動、すくなくとも Ma の増大の原因となりえないといえる。以上のことからクエン酸血法での各値の変動は Ca 再加による影響、稀釈の影響によるところが大であり、接触因子活性、血小板破壊などの影響は考え難いといえよう。

一方、血小板無力症の症例のごとく、接触因子の活性化を行つても Ma の増大を認めない事実から、血小板の Ma に与える影響にも差のあることが推定できる。この点を解明するため、家兎に Serotonin 投与、脾除去を行つて実験的な血小板増加を計り、その Ma におよぼす影響を検討し、併せて血小板数およびその粘着能、第3因子作用、血餅収縮力の変動を観察した。

図18

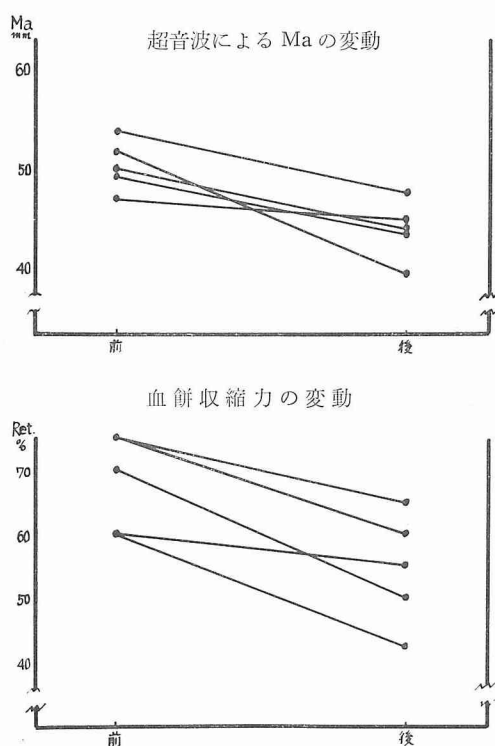
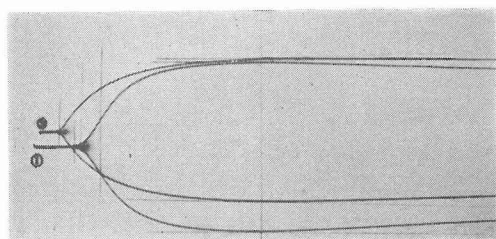
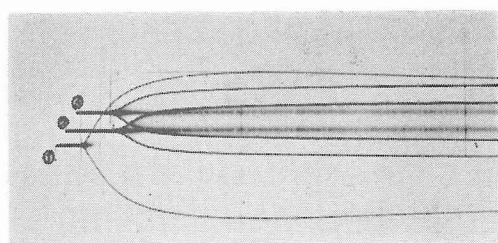


図19 超音波による破壊血小板のTEG



- ① platelete rich plasma
② 超音波通過



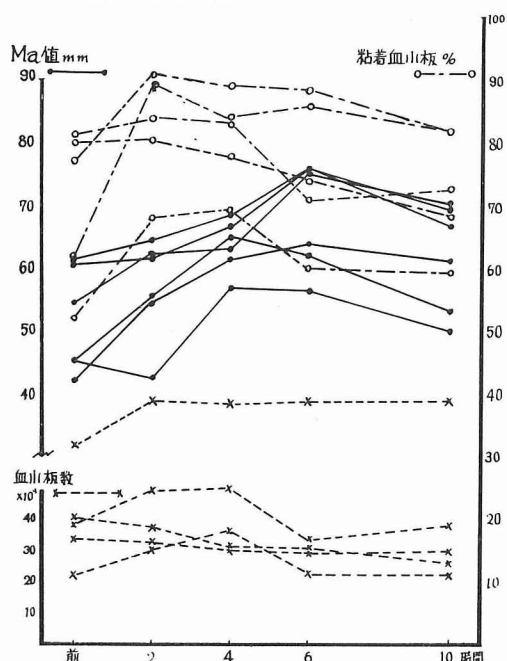
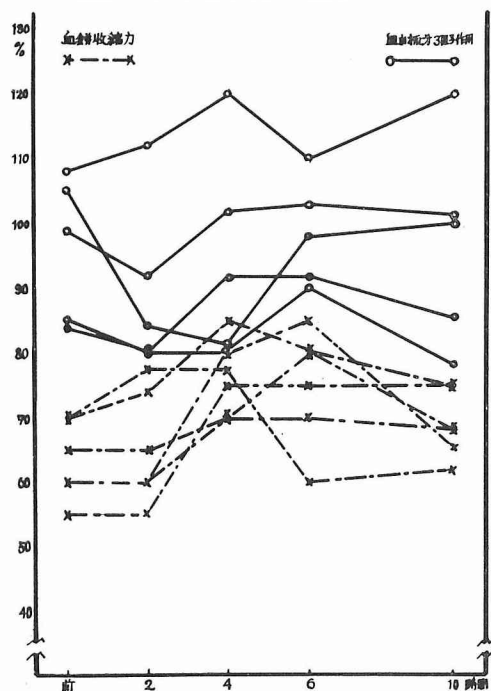
- ① 超音波通過
② ①の遠心上澄
③ ①の遠心沈渣

(4) Serotonin 投与時の Ma の変動

体重 2.7~3.2kg の成熟家兎に Serotonin 40mg/kg を筋注射し、注射前、注射後 2, 4, 6, 10 時間と経過を追って Ma, 血小板数, 粘着能, 血餅収縮力, 第 3 因子作用を調べた。その結果は図 20 に示すごとくで、血小板数は投与前平均 362000 が投与 2 時間後には 431000 と増加しているが、Nicola⁵⁰らのいうごとく著明でなく、これに反して粘着血小板は Serotonin 投与前平均 71% が 2 時間後には 82.2% と増加し、投与 10 時間後には再び減少する傾向を示した。一方 Ma は Serotonin 投与前平均 53.2mm, 6 時間後には 65.2mm と最高に達し、10 時間後には粘着血小板と同様に減少している。又血餅収縮力については図 21 の如く、投与前 65% が投与後 4 時間で 76% と最高に達し、10 時間後にはこれも減少している。なお血小板第 3 因子作用については殆んど変動を認めていない。この実験から Ma は血小板の総数より粘着血小板の増減に平行して変動しているように思われる。

(5) 脾臓の影響

ついで家兎において脾臓摘出を行い同様に Ma, 粘着血小板などを調べた。図 22 に示すように、血小板数は術前平均 37.6×10^4 であり、術後 4 日目には 67.9×10^4 に達しているが、粘着血小板の占める割合は殆んど変動を認めていない。一方、Ma は術前平均 54.7mm が 2 日目には急激に増加し 64.5mm に、4 日目には更に

図20 Serotonin 投与による Ma, 血小板数
粘着血小板の変動図21 Serotonin 投与による血小板第3因子
作用および血餅収縮力の変動

増加して 72.0mm に達している。一方血餅収縮力、血小板第 3 因子作用は図 23 に示すように殆んど変動を認め

図22 脾剔除による Ma, 血小板数
粘着血小板の変動

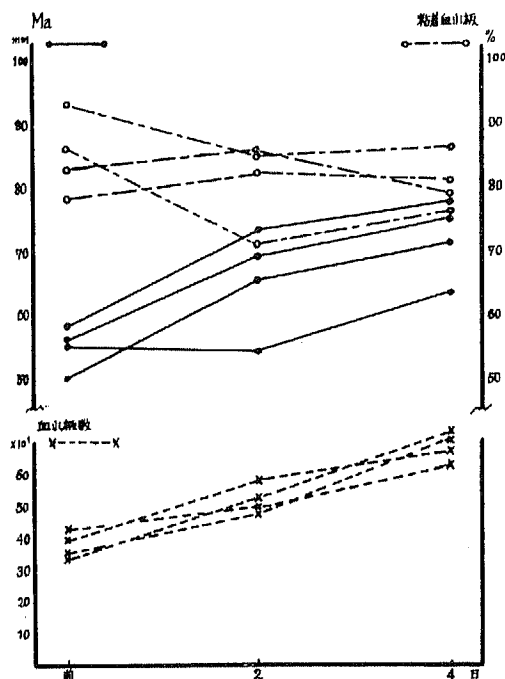
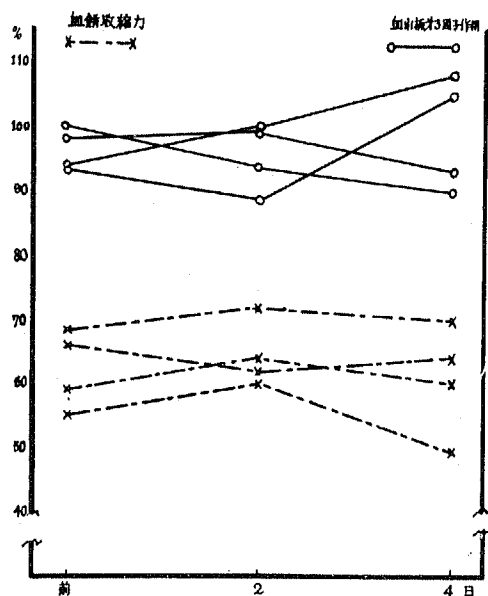


図23 脾剔除による血小板第3因子作用および
血餅収縮力の変動



ていない。この実験から粘着血小板の占める割合は増加していないが、血小板の総数の増加から粘着血小板の総数も増加し、Ma の増大はそれを反映するものと

理解できる。以上より Ma の変動は単なる血小板数の増減によるものでなく、粘着血小板の増減に影響されるものではないと思われる。

(6) ガラス玉柱通過の影響

上の推論を確かめるため Hellen の法⁽⁴⁾にならい、クエン酸血を glass beads column 内を通過させて、粘着血小板を除去し、血小板数を通過前の値に調整した platelets rich plasma について Ma, 血餅収縮力などを求めた。その結果は図24に示すように、Ma は通過前平均49.1mmが通過後平均35.2mmと著明に減少している。これと平行して血餅収縮力も82%から52%へと著しく低下している。しかし、その低下は前述の破壊血小板使用時程著しくなく、glass beads column 通過によつて粘着性血小板が完全に除去できるなら非粘着血小板にも Ma 増大作用が、わずかながら存在すると考えられる。しかし Ma 増大に関する主役は粘着血小板であろう。図25はその1例。

Ma 測定に使用したと同じ glass beads 柱通過前後の資料に、CaCl₂ 溶液、トロンビン溶液を添加して、それを位相差顕微鏡にて観察すると、通過前のものは写真1のごとく血小板の集簇があり、それを中心としてフィブリンが放射状に排列している。これに反して通過後のものは血小板の集まりが悪く、かつフィブリンの折出も少く、Robert⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾らの述べる正常

図24

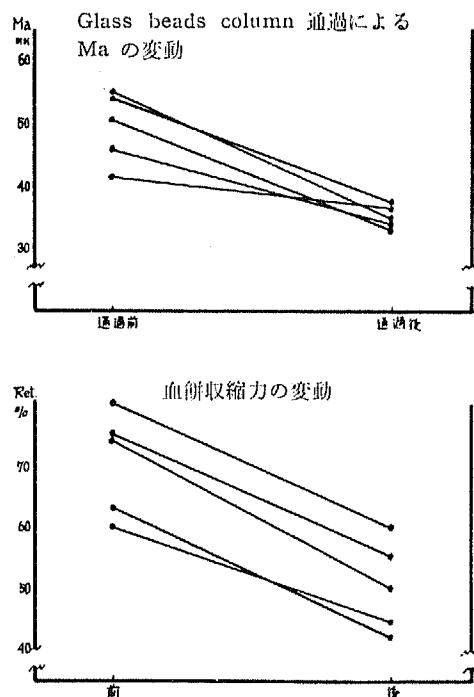


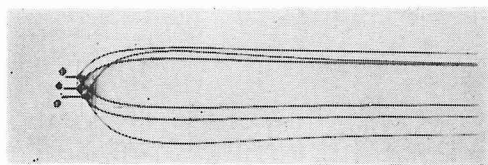
写真1 ガラスビーズ通過前



写真2 ガラスビーズ通過後



図25 Glass beads column 通過時の TEG



| TEG 各 値 | r | k | Ma |
|--------------------------|------|------|------|
| ① glass beads column 通過前 | 6.5 | 3.75 | 50.5 |
| ② glass beads column 通過後 | 4.75 | 4.25 | 33.5 |
| ③ ②の血小板数を調整①と同数とする | 4.25 | 4.25 | 33.0 |

のフィブリン折出とは程違いものとなつている。(写真2)

小 括

- 1) クエン酸血法, 全血法の測定値の相違は主として Ca 再加と血液の稀釈の影響による。
- 2) Rotation TEG により接触因子を活性化させると r, k は短縮し Ma は増大する。
- 3) 血小板破壊物には Ma の増大作用, 血餅収縮力はないが, 血小板第3因子作用を有している。
- 4) Ma の変動は単なる血小板数の増減でなく粘着血小板の増減に関係があると思われる。

総括および考按

(1) 測定法および正常値

TEG の測定性については創始者 Hartert 自身全血法, 血漿法のほかに抗凝血剤加全血を使用する方法に言及している。全血法は最も正確な値, 換言すれば生体内で凝血が起る場合にもつとも近い状態がえられる反面, 前述のごとく機械のある所で採血しなくてはならぬこと, 実験的な操作が難かしいといった難点を明している。Hartert 自身血漿を用いることが多かった理由も, そこにあるのではないと思われる。しかし血漿は採血遠心, 保存の方法により測定値に再現性を欠く惧みのあることはいかんともしがたい。

さらにまた抗凝血剤加全血を使用する場合も, その抗凝血薬が, クエン酸ソーダ, 蔞酸ソーダ, EDTA, ヘパリンなど種類が異なれば測定値に差のあることは当然であろうし, 抗凝血剤と血液の割合によつても測定値は変つてくる。

実事 Schneider^⑩は血液4, 抗凝血薬1の割合で採血することを提案しているが, 大方の研究者は9:1の採血法によつている^{①②③⑤⑫}。また加える抗凝血剤として蔞酸ソーダは, Ca 再加に際して不溶性の蔞酸 Ca を形成し, 為に cuvette 内面が nonwetable

でなくなり、接触因子活性の問題が加つてくると、Schneider^⑩は述べているが、著者は再現性に関してクエン酸血におとることを認めている。

その他ヘパリン血は、クエン酸血に比して r, k は延長傾向を示し、Ma もやや減少、EDTA 血はクエン酸血とほぼ同じような値を示すが、再現性の面でおとると思われる。これに反してクエン酸ソーダ溶液は、血沈用として使用されているので何処でも入手し易く、且廉価でしかも測定値に再現性のある点から、本研究ではクエン酸ソーダ溶液を用いることにした。次いで Ca 再加の問題であるが、これも Schneider^⑩らのごとく cuvette 内で行うよりシリコン処理試験管内で行つた方がよいとする研究者もいるが、その方がよいという理由はなく、慣れれば、cuvette 内で Ca 再加を行うことは決して不便でなく、しかもシリコン処理とはいうものの新しい試験管壁へ血液が接触することが避けられる点で、直接 cuvette 内での Ca 再加の方がよいと思われる。しかし、このようにして測定された値は、全血、血漿、クエン酸血と資料の異なる場合は勿論のこと、同じように全血又は血漿などを用いてもその値は研究者によりかなり差がある。表 6 はそうした研究者による正常値に差のあることも示したものである。Hartert^{①②③}が Thrombelastograph を発表した当時、機械を使用するから他の凝血学的な検査法に比して熟練を必要とせず、再現性の高いことを強調していた。しかし実際上は、このように正常値においてすら研究者によつて異なつた値を示している。もとよりその価の差異は些少で臨床問題とはならぬものと思われるが、差の存在することは否めない事実である。これらの差はおそらく、操作の

相異、対象とした正常人の差、その例数の差、機械自身または cuvette の差によるものと解される。神前^⑪もこの問題に対しては同じ見解をとっている。とくに問題となるのは cuvette であるが、管理の仕方、洗滌の方法が悪いと本来 non-wettable となつてゐる内面が wettable となり、血液との接触面が不均等となり接触因子の活性化なども問題とならう。これに対して Loeliger^④の如く、plastic 製の cuvette を用いて使用後は破棄するとの提案もある。彼によると plastic cuvette は測定値の再現性もよく、しかも金属 cuvette と比しても有意の差のないことを認めている。一回測定する毎に cuvette を破棄できるなら測定は大部楽になるであらう。

(2) 各種疾患でのクエン酸血 TEG

前述の如く各種疾患においての全血法、クエン酸血法の測定値はほぼ平行して変動していた。このようにクエン酸血法が全血法にかわつて臨床に充分応用できることはすでに Schneider^⑩、神前^⑪も認めることである。しかし主として正常値についてのみの検討であり、各種疾患一つ一つについてその変動を全血、クエン酸血両者を用いて同時に観察を行つてはいない。もとより正常人において両者の値が平行すれば、各種の疾患でもほぼ平行して変動することが推定されるが、本論文ではその点をさらに明確にしたものである。又血友病の症例では r, k の延長の著しいもののほどクエン酸血使用時にその短縮が著しいこと、しかし軽症血友病にあつてはクエン酸血法のみにてはその病的所見が捉え難いことのあること、慢性骨髄性白血病での階段現象も起り難い点を指摘した。

(3) 抗凝血薬療法のコントロール法としてのクエン酸血 TEG

すでに Hartert が TEG を抗凝血薬療法のコントロールに使用できるとのべ、Schneider^⑩はクエン酸血 TEG が抗凝血薬療法のコントロールに全血法とともに有用であり、同時に測定したプロトロンビン時間、トロンボテストの変動ともほぼ一致し、とくにトロンボテスト^{⑤⑥}の変動に近いとの研究結果を発表している。勿論、抗凝血薬投与による凝固因子の低下はプロトロンビン活性、第Ⅶ、第Ⅸ、第Ⅹ因子などであり、プロトロンビン時間の測定では、その一部を測定して全体の凝固能低下を推定するのみであり、各凝固因子活性が十分に低下していれば、トロンボテストの測定結果と TEG の r, k の延長とが平行する事は理論的に想定できることである。しかし実際問題として r, k が著明に延長を示すような抗凝血薬投与は危険が伴うし、著者の観察した症例でもトロンボテスト、

表 6 TEG 正 常 値 ^{⑤⑩}

| 研究者 | 資 料 | r (分) | k (分) | Ma (mm) |
|-------------|-------|----------|----------|------------|
| Hartert | 全 血 | 12.0 | 6.0 | 50.0 |
| Hartert | 血 漿 | 8.40/ | 3.20/ | 55.0 |
| Della Sante | 血 漿 | 8.45/ | 3.40/ | 54.9 |
| Walther | 全 血 | 12.3 | 6.1 | 51.0 |
| Bereddin | 全 血 | 14.5 | 4~6 | 47~67 |
| Beller | 全 血 | 9~14 | 5~8 | 44~64 |
| De Nicola | 血 漿 | 5~10 | 5~8 | 50~60 |
| v. Kanla | 血 漿 | 5~10 | 3~6 | 50~65 |
| 大 羽 | 血 漿 | 9.5 | 6.0 | 53.0 |
| 神前・田中 | 全 血 | 11.8 | 5.4 | 50.9 |
| 神前・田中 | クエン酸血 | 6.5 | 3.2 | 54.1 |
| 松岡・深沢 | 全 血 | 14.3 | 8.7 | 49.1 |
| 松岡・深沢 | 血 漿 | 11.8 | 4.4 | 62.3 |

プロトロンビン活性が、充分治療範囲にまで低下していても r または k の単独の延長は認め難く、強いて TEG によりコントロールを行うなら、 $r+k$ としての値を採用すれば、微細な変動もとえられ可能性が大きくなると思われる。いづれにせよ高価な機械を必要とし、かつ操作も複雑な TEG による抗凝血薬法のコントロールはあまり意味がないと思われる。この点について安部^⑦、深沢^⑧、神前^⑨らも同様の見解である。同様に Spendder^⑩はクマリン系薬物を投与した76例で TEG、トロンプテスト、プロトロンビン時間の3者でコントロールを行い、TEGにて理想的にコントロールされると判定されたものは34.2%であると述べ、TEGでのコントロールの困難なことを示している。なお Spendder も TEG はプロトロンビン時間よりトロンプテストに相関の強い事を指摘している。

(4) 全血法、クエン酸血法での測定値に差異のある理由

(i) Ca 再加の影響：クエン酸ソーダ溶液を加えて血液凝固を阻止しているとはいえ Ca^{++} を必要としない凝固過程が進行していることは当然推定できることであり、最近中間産物^⑪なるものの存在が支持されるに至つて、当然クエン酸加血ではすでに中間産物が産生されており、Ca 再加がおこなわれると Ca^{++} を必要とする凝固過程が直ちに進行すると考えられる。このような観点からすればクエン酸血法で r 、 k が全血法のそれに比して短縮を見るのは、むしろ当然の事実といえる。

(ii) 稀釈の影響：Tocantins^⑫は血液を稀釈することにより、凝固時間が短縮するとの実験結果を発表しているが、この論文においても生理的食塩水にて稀釈して r 、 k 、 Ma での変動を観察したところ、血液：生理的食塩水が 7:3 の割合のとき r 、 k の短縮、 Ma の増大が最も著明である事を認めた。神前^⑨らも同じような傾向を認めている。そして稀釈によるこのような影響は、Tocantins^⑫のいうごとく凝固阻止因子の稀釈による活性低下に基づくものであろう。

(iii) 接触因子の活性化の影響：クエン酸血法に使用する器具はすべてシリコン処理を行つてあり、かつ採血後12時以内では採血直後とほぼ同様の測定値を得ることから、シリコン処理が完全であれば接触因子の活性化による測定値への影響は否定できる。逆に接触因子を完全に活性化させるため、Jürgens の方法に従つて Rotation TEG^⑬を行つた時は、前述の如くクエン酸血法に比して r 、 k は短縮し、 Ma に増大するという結果を得た。

この Rotation TEG は非シリコン処理試験管壁へクエン酸血を充分に接触させて、接触因子の活性化を計るものであるが、同時に血小板機能を知りうる方法である。Jürgens はこの方法は、(i) 血小板粘着能、(ii) 血小板抵抗、(iii) 血小板内の Thromboglobulin なる酵素の含有量を知る目安になるとしている。さらに彼の原法によると10ml用の丸コルペンを用いて、資料としてはクエン酸血を採用し、 Ma で40~50%の増加を示すとしている。本論文での Ma の増加率は約15%であり、その相違の原因としては Jürgens の指摘するようにガラス面の性状、回転速度と時間血小板の変化の程度によるものと思われる。しかし一定の器具を使用して、一定の操作を行えば、その測定値も一定範囲に入ってくる。正常人の場合はクエン酸血法に比して r 、 k は一層短縮し Ma は一層増大するが、接触因子の低下 (30%以下) を認めた肝硬変患者では、 Ma は減少し r 、 k も延長を示すが、これに接触因子の抽出液を附加すると、正常人において Rotation を行つたと同様に r 、 k は短縮し、 Ma は増大する。このことから接触因子は単に凝固の引き金の作用だけでなく、血小板を介して血栓を凝固ならしめる作用も有していると考えられる。このことは血小板無力症の例で Rotation によつても、接触因子抽出液附加によつても殆んど変動を認めなかつたことから推定されることである。

(iv) 血小板破壊産物の Ma に与える影響：Rotation の際正常人クエン酸血を使用しても、試験管の回転を激しくすると Ma は減少してしまう。

それは血小板が破壊されるためと考えられる。この点から Jürgens は Rotation TEG により血小板抵抗が測定できるとしたのと考えられる。もとより血小板表面の状態の変化は、逆に接触因子をその表面において活性化させる可能性のあることは、松岡ら^{⑭⑮}の述べた通りであらう。凍結融解または超音波によつて血小板を破壊すると、 Ma は同じように著明に減少する。この際血餅収縮力もかなり低下するが、血小板第3因子作用はむしろ増大する。これはトロンププラスチン形成試験に因する血小板第3因子作用は血小板の磷脂質^⑯によるとの説から充分納得できる成績である。なお血小板の破壊が不完全であると血餅収縮力は起りうるが、破壊を完全にすると Ma は極度に狭く血餅収縮力も極めて微弱なものとなる。これは Ponio の報告に対する森田^⑰の説明とよく一致するものである。

(v) 粘着血小板の Ma におよぼす影響：glass beads 柱を通過させ粘着血小板を除去してしまうと通

過前と血小板数を同数に調整しても、なお Ma は減少し血餅収縮力も低下している。このことから Ma の増減は粘着血小板の増減と強く関係すると思われる。しかし glass beads 柱を通過するとき、血小板の破壊または損傷も皆無とはいえず、そのために機能が低下しているかも知れない。その疑念に対しては Serotonin 投与または別脾を家兎にて行い、Ma の増減は矢張り粘着血小板の増減と関係深いことを確かめた。

Serotonin は元来血漿中には殆んど証明されず、糜血機転中血小板より放出されるものであり、血小板自身によつては合成されないが、血漿中に生じた Serotonin は血小板に吸収されるという⁶⁶⁾。また、Schmidt⁶⁷⁾は老化血小板には ATP, Phosphat のほか Serotonin も減少しており、副腎皮質ホルモンはその減少を阻止するとの研究結果を発表している。著者は glass beads 柱通過後の platelet rich plasma に ATP 10mg/dl 又は prednisolone 10mg/dl を加えても Ma 血餅収縮力の改善を認めず、また氷室保存血小板についても同様の所見をえた Deutsch⁶⁸⁾らもクエン酸血に Serotonin を 10~100mg% の割合に加えても、血餅収縮力、Ma には影響を与えないとの結果を出している。血小板、とくに粘着血小板の ATP, Serotonin などとの関係、代謝機構については今後さらに検討される必要があると思われる。

結 語

3.8% クエン酸ソーダ溶液加全血を使用して TEG 各値を測定し、全血使用時のそれと比較し次のとき結論をえた。

1) クエン酸血使用時の正常値は、r は平均 7.7 分、k は 4.4 分、Ma は 51.5mm であり、全血法に比較して r, k は短縮し Ma は増大し、その変動範囲は狭く安定した値を得た。また全血法との相関係数は r で 0.52, k で 0.66, Ma で 0.71 であつた。

2) クエン酸血は保存に対しても安定で、採血 12 時間以内であれば採血直後と大差ない値を得た。また室温に保存しても 4°C に保存しても大差なかつた。

3) 臨床的にクエン酸血を使用しても全血使用時とほぼ同様の変動を示した。ただ軽症血友病において病的所見を見逃す危険のあること、白血病にみる階段象像が表現され難いといった欠点が認められた。

4) TEG による抗凝薬療法のコントロールは全血法、クエン酸血法を問わず不適當である。

5) 全血法、クエン酸血法の測定値の差異は Ca 再加、稀釈の影響が主であると考えられる。

6) Jürgens の Rotation TEG を施行し、クエ

ン酸血法に比し r は 19.9%, k は 22.0% の減少、Ma で 15.2% の増大を認めた。接触因子の低下している肝硬変患者で Rotation により Ma の減少を認めたが、これに接触因子の抽出液を加えると正常例と同程度の Ma 増大を見た。血小板無力症の 1 例では Rotation により変化がなかつた。

7) 凍結融解、超音波により血小板を破壊すると Ma は減少し、血餅収縮力も減少したが、血小板第 3 因子作用は増大した。

8) 家兎に Serotonin 投与、別脾を行つて血小板増多を計つたところ、Ma は粘着血小板の増減に関係があるように思われた。血餅収縮中もほぼ Ma と同じように変動した。さらに glass beads 柱を通過させて粘着血小板を除去すると、Ma、血餅収縮力の著しい低下を認め上の推論を確かめた。このとき副腎皮質ホルモン、ATP を in vitro にて投与しても Ma の増大は起らなかつた。

本論文の要旨は第 25 回、第 26 回日本血液学会総会において発表した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師松岡松三教授、小田正幸教授に謹んで感謝いたします。又萩原助教授、小野講師、古田講師、深沢博士をはじめ、熱心な助力と温い助言をいただいた教員各位に深謝いたします。

文 献

- ①Hartert, H.: Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Untersuchungsverfahren. Klin. Wschr. 26: 37, 1948
- ②Hartert, H.: Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie II. Die Thrombocytopathien. Dtsch. Arch. Klin. Med., 199: 293, 1952
- ③Hartert, H.: Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie. IV. Vasculäre haemorrhagische Diathesen; Blutung ohne haemorrhagischen Diathesen; Differentialdiagnose der haemorrhagischen Diathesen. Dtsch. Arch. Klin. Med. 199: 414, 1952
- ④松岡松三・佐竹清人: 血液凝固と Thrombelastograph. 医事新報, 1743
- ⑤深沢 英: Thrombelastograph による血液凝固の研究. 日血会誌, 25: 44, 1962
- ⑥深沢 英・佐竹清人: Thrombelastogramm よりみた出血性素因. 日本臨牀, 17: 13, 昭 34
- ⑦田坂定孝・大屋匡人・山中 学・安部英・他: Thrombelastograph について. 総合医学, 15: 119, 昭 33
- ⑧山崎健吾: 血液凝固に関する研

- 究. Thrombelastograph による分析を中心として. 東京医会誌, 68: 203, 昭35 ⑤大羽悠香: Thrombelastograph による血液凝固の研究. 大阪大学医学誌, 11: 4957, 昭34 ⑥Schneider, H., O. E. Rodermund & H. Egli: Das normale Thrombelastogramm. Thromb. Diath. haem. 7: 35, 1962 ⑦神前五郎・田中健一・他: ケン酸血 TEG について. 日血会誌, 5: 642, 1962 ⑧神前五郎・田中健一: トロンベラストグラム. 綜合臨牀, 12: 1063, 昭38 ⑨de Nicola, P. & G. M. Mazzetti: Experimenteller und klinischer Beitrag zur Charakterisierung der thrombophilen Zustände. Dtsch. Arch. Klin. Med., 203: 300, 1956 ⑩de Nicola: Thrombelastography Thomas. ⑪de Nicola, P.: The diagnostic value of thrombelastography. Triangle. 4: 136, 1960 ⑫松岡松三: 血液凝固理論. 日本臨牀, 17: 23, 昭34 ⑬松岡松三: 血液凝固に関する最近の知見. 臨牀と研究, 442: 1479, 昭36 ⑭松岡松三: 血液凝固の機序. 日本医学雑誌, 49: 1032, 昭38 ⑮松岡松三: 血液凝固検査法. 金原, 1965 ⑯Quick, A. J.: The clinical application of the hippuric acid and the prothrombin test. Amer. J. Clin. Path. 10: 222, 1940 ⑰Quick, A. J.: Hemorrhagic disease. Lea and Febiger. Philadelphia U.S.A. 1957 ⑱Owren, P. A.: Parahemophilia: Haemorrhagic diathesis due to absence of previously unknown clotting factor. Lancet. 1: 446, 1947 ⑲Owren, P. A.: Thrombotest. A new method for controlling anticoagulant therapy. Lancet. 11: 754, 1959 ⑳Owren, P. A. and K. Aas: Control of dicumarol therapy and quantitative determination of, prothrombin and proconvertin. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 3: 201, 1951 ㉑児島俊也: 第Ⅴおよび第Ⅷ因子に関する研究. 第1篇. 信州医誌, 11: 91, 昭37 ㉒児島俊也: 第Ⅴおよび第Ⅷ因子に関する研究. 第2篇. 信州医誌, 11: 104, 昭37 ㉓Wolf, R., J. Clin. Pathol. 6: 34, 1953 ㉔萩原洋三: 信州医誌, 6: 232, 昭32 ㉕F. Koller, A. Lcellinger, and P. Duckert: Acta. haemat. 1: 81, 1949 ㉖古田精市・松岡恒美・高見沢洌・高山博臣: Benteite 吸着血漿を用いる第Ⅷ因子複合体および第Ⅹ因子の測定法について. 日本臨牀, 21: 1697, 1963 ㉗Biggs, R. and A. S. Douglas: The thromboplastin generation test. J. Clin. Path. 6: 23, 1953 ㉘Biggs, R. and R. G. Mac Farlane: Human blood coagulation and its disorders. 3rd Ed. Black Well, Oxford, 1962 ㉙Jürgens, J., and Beller, F. K.: Klinische Methoden der Blutungsanalyse Georg Thieme 1959 ㉚松岡松三・深沢英: 内科. 7: 155, 昭36 ㉛大森品彦: 凝固過程における第Ⅷ因子の消費に关する研究. 日内誌, 52: 904, 1963 ㉜松岡松三・佐竹清人・深沢英: 内科. 4: 304, 昭34 ㉝Matsuzo Matsuoka, Yozo Ogiwara, Seichi Furuta, Hiroomi Takayama et al.: Studies on contact factor. Med. J. Shinshu, Univ. 6: 115, 1961, 7: 71, 1962, 9: 147, 1964 ㉞松岡松三・佐竹清人・深沢英: Tyrosine 法による血漿フィブリノーゲンの定量法. 臨床検査, 2: 61, 1958 ㉟松岡松三・深沢英・松岡恒美・高山博臣・他: Thrombotest に関する研究. 日本臨牀, 21: 2121, 昭38 ㊱Hellen, A. J.: The adhesiveness of human blood platelets in vitro. Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 12. Suppl. 51 ㊲Nygard, K. K.: A direct method of counting platelets in oxalated plasma. Proc. Mayo. Clin. 8: 365, 1933 ㊳Robert, L.: Rosenthal. Morphological studies on the mechanism of viscus metamorphosis of platelets. Blood platelets Boston 1960, (89p.) ㊴菊池 晃: 数種の肝疾患時における安定因子および不安定因子変動. 東京医学雑誌, 66: 534, 1958 ㊵佐竹清人: 肝疾患と出血性素因. 日本臨牀, 17: 73, 昭34 ㊶Tocantins, L. M. R. T., Carrol, R. A., Holburn: Clot accelerating effect of dilution on blood and plasma. Relation to mechanism of coagulation of normal and hemophilic blood. Blood. 6: 720, 1951 ㊷松岡松三: 血友病の凝固障害. 日内誌, 51: 3, 1962 ㊸松岡松三: 血友病様出血. 治療, 44: 293, 昭37 ㊹小田正幸・萩原洋三・古田精市・高山博臣・他: 血友病ならびに血友病類似疾患. 内科, 15: 959, 昭40 ㊺von H. Broicher und H. Egli: Das Thrombelastogramm bei Erkrankungen der Leber und des Gallensystems. Dtsch. Med. Woch. 86: 2540 ㊻de Nicola, P.: Platelet count and thrombelastographic maximal amplitude in experimental thrombocythemias. Thromb. Diath. haem. 3: 615, 1959 ㊼E. Deutsch, and Martiny.: The influence of serotonin on clot retraction and the thrombelastogram. Thromb. Diath. haem. 1: 111, 1963 ㊽森田久男: 血小板に関する研究.

臨床血液, 1:3, 1960 ③E. Schmid, S. Witte.: Über den Einfluss von Predonisolon. Nucleosiden und Amininoxydase hemmern auf die Serotonin-bildung alternder Blutplättchen. *Thromb. Diath. haem.* 15:215, 1962 ④E. A. Loelinger et al.: Disposable plastic cuvettes for thrombelastography. *Thromb. Diath. haem.* 9:570, 1963 ⑤P. G. Iatridis.: Surface factor mechanism in relation to blood platelets: Evidence that activated Hageman factor is present on the surface of platelets. *Thromb. Diath. haem.* 11:355, 1964 ⑥松岡松三: 第62回日本内科学会シンポジウム発表. 昭40 ⑦Jurgens: Globale Plättchenfunktionsprüfung mit der Rotationsthrombelastographie. *Klinische Methoden Blutgerinnungsanalyse* P. 134, 1959 ⑧A. J. Hellem: Investigations on adenosine diphosphate (ADP) induced platelet adhesiveness in vitro. Part II. Studies on the mechanism. *Thromb. Diath. haem.* 11:305, 1964 ⑨A. J. Hellem et al.: Investigation on ADP induced platelet adhesiveness. *Thromb. Diath. haem.* 11:317, 1964 ⑩Silver et al.: Coagulant and Anticoagulant Activity of Phospholipids

Extracted from Human Platelets. *Thromb. Diath. haem.* 4, 127; 1960 ⑪Hallen A, and I. M. Nilsson.: Coagulation studies in liver disease. *Thromb. Diath. haem.* 11:51, 1964 ⑫Spendder S.: Thrombelastographic study of 76 patients on long term anticoagulant therapy with coumarin type drugs *Amer. Heart J.* 64:739, 1962 ⑬Soonu S, Setna and Robert L.: Rosenthal. Intermediate stages in platelet alterations during coagulation *Acta. Haemat.* 19:209, 1958 ⑭Soonu S, Setna and Robert L.: Rosenthal. Effect of physical and chemical agents on platelet morphology in relation to coagulation. *Acta. Haemat.* 19:222, 1958 ⑮Progress in Coagulation.: I, S. Wright., F. Koller., E. Bech. 1961 Stuttgart. Weissbach H, and B. G. Redfield. Studies on the uptake of serotonin by platelets. *Blood Platelets* P. 393, London. 1961 ⑯松岡恒美: 第Ⅸ因子活性に関する研究. 第1報. *日血会誌*, 26:231, 1963 ⑰松岡恒美: 第Ⅸ因子活性に関する研究. 第2報, *日血会誌*, 26:681, 1963 ⑱松岡松三・佐竹清人・深沢英: 内科. 4:304, 昭34 ⑲吉田邦男: 血小板数算定法. *日本血液学全書*, 6-II:820, 丸善, 1965