特集・肝・胆・膵の凝固異常

肝・胆道疾患における Hepaplastintest の意義*

三 好 秋 馬** 丸 橋 暉** 福 井 武**
相 光 汐 美** 川 上 広 育**

Key words: hepatobiliary disease, hepaplastintest, thrombotest, prothrombin time, inhibitor.

はじめに

肝疾患における出血傾向は古くから知られており、この原因としては血液凝固因子の生成障害、凝固因子の異常消費、線溶亢進および血小板減少などがあげられる。

肝臓は血漿蛋白の合成の場であり、10種の凝固因子のうち第Ⅷ因子を除いた全てがここで作られ、肝疾患時における出血傾向はこれら凝固因子の生成障害が主因をなしている¹⁾²⁾。

これらの凝固因子を総合的に測定する方法として従来より Quick 法および thrombotest (以下 TT) などの血液凝固検査が用いられ、肝機能検査の一指標としても臨床的に応用されている^{3)~5)}。しかし Quick 法はまだ標準化されておらず使用するトロンボプラスチンにより値が異なり、かつ手技が煩雑な点などの問題がある。一方、抗凝血薬治療時のコントロールを目的として Owren⁶⁾によって開発された TT は抗凝血薬服用時やビタミンK欠乏時などに出現する endogenous な coagulation inhibitor⁷⁾⁸⁾

(PIVKA, protein induced by vitamin K absence or antagonists) に感受性を有するため肝機能を観察する場合にはかえって不都合なことが生じた。このため Owren⁹⁾は家兎の脳組織トロンボプラスチンを用いて精製した場合、PIVKA に感受性がなく凝固因子の活性のみを

表現しうることをみ出し肝機能検査法として hepaplastintest (以下 HPT) (ノルウェー Neygard 社・商品名 Nomotest) を考案した。

つまり HPT は inhibitor の存在にかかわらずなくビタミンKの存在下で合成される凝固因子のうち第Ⅱ因子、第Ⅷ因子および第Ⅹ因子の活性を総合的に測定する検査法である。

今回は HPT が肝機能検査として肝・胆道疾患にいかなる診断的意義を有するか他の血液凝固検査と比較しながら述べてみたい。

I. Hepaplastintest の原理⁹⁾

HPT の試薬は標準化された内因性凝血阻害因子に非感受性の家兎の脳よりえたトロンボプラスチン、第Ⅴ因子、フィブリノーゲン、磷脂質、カルシウムおよびXIII因子の至適量が凍結乾燥した状態でアンプルに真空封入されている。

HPT の凝固反応は図1に示すごとく二重の枠で示された外因性凝固機序で進行する。試薬は一重の枠で囲まれた前述の物質を至適濃度含むため、凝固反応は検体血液より供給される第Ⅱ、第Ⅲおよび第Ⅹの3種の凝固因子の濃度によって決定される。すなわち凝固時間はこれらの凝固因子の濃度が濃ければ早く、薄ければ遅延する。

* Clinical significance of hepaplastintest in hepatobiliary disease.

** 広島大学第一内科, Akima MIYOSHI, Akira MARUHASHI, Takeshi FUKUI, Shiomi AIMITSU, Hiroiku KAWAKAMI: First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Hiroshima University, Hiroshima, Japan.

図1 血液凝固の機序.

Ⅱ. Hepaplastintest の測定法

1. 採血方法

HPT 法にはクエン酸加静脈血, 毛細管血の方法がある.

静脈法は原則として3.13%クエン酸ナトリウム液1溶に対し, 全血9溶の割合に採血し直ちに混和し, プラスチック試験管またはシリコン塗布試験管に保存する. 毛細管法は切開を作り直ちにピペットにて0.01mlの血液を採取する.

2. 試薬の調整

HPT 試薬は真空凍結乾燥粉末であるためまずアンプルの先端を折り, ついでアンプルカットで開放し, 2.2mlの蒸留水を加え溶解する. これを0.25ml づつ凝固時間測定用の小試験管に分注し, 37°C恒温槽中に3~5分間おく.

3. 凝血時間測定

先に採血したクエン酸加血液または毛細管血液0.01mlをHPT 試薬溶解液0.25mlを入れた小

試験管に加え, 同時にストップウォッチを作動させ, 恒温槽中に20秒間放置した後凝固開始までの時間を測定する.

4. 凝固活性値の算出

試薬に添附されている各 lot 毎の標準曲線より凝固時間に対応する活性値(%)を求める.

そのほか手技上の詳細な点に関しては他書¹⁰⁾¹¹⁾を参考にされたい.

Ⅲ. 正常値

正常成人63名のHPTの測定値の範囲は74~132%に分布し, 平均値(M)は108.9±14.5(SD)%である. 正常値をM±2SDと定めると79~138%となる(表1).

Tryding ら¹²⁾は20~84才(平均51才)の男女計214例の平均値は98±15%であった. 性別では男性94.5±14%, 女性102±15%で女性が高値を示したがヘマトクリットの補正を行うと男

表1 各種肝・胆道疾患における Hepaplastintest, Thrombotest および Quick test

疾 患 名	例数	Hepaplastintest		Thrombotest		Quick test	
		実測値	平均値±SD (%)	実測値	平均値±SD (%)	実測値	平均値±SD (%)
正 常 人	63	74—132	108.9±14.5	66—100	91.9±11.0	—	—
急性肝炎	25	57—125	95.6±15.5	34—100	81.4±19.9	49—100	91.3±12.5
急性期	5	57— 98	82.2±15.0	34—100	66.8±27.8	49—100	89.4±20.2
回復期	20	73—125	99.0±13.7	52—100	85.0±15.3	70—100	91.8± 9.6
慢性肝炎 非活動型	12	71—105	84.3± 9.7	52—100	72.6±19.1	74—100	91.3±10.0
活動型	25	45— 98	72.6±15.2	35— 96	58.4±15.0	69—100	88.7±10.6
肝硬変症 代償期	18	49—97	65.8±12.8	26—100	56.2±24.4	53—100	79.3±16.0
非代償期	17	29—66	46.7±10.5	23— 62	38.2±11.4	36— 85	57.7±13.8
胆汁性肝硬変症 原発性	1	350	—	100	—	100	—
二次性	1	110	—	100	—	100	—
肝 癌 肝硬変症(—)	5	80—108	90.4± 9.9	33—100	77.0±24.2	90—100	97.0± 4.0
" (+)	7	34— 78	55.4±13.5	18— 88	45.8±19.6	33—100	66.4±18.9
閉塞性黄疸 ビタミンK(—)	5	16— 60	34.6±16.6	5— 44	18.8±14.3	12— 72	49.8±23.1
" (+)	5	76—185	108.2±39.1	44— 94	59.4±18.3	54—100	77.3±18.8
脂 肪 肝	9	78—160	114.0±31.8	60—100	86.2±15.6	69—100	93.7±10.3
胆 石 症	15	68—140	105.3±22.1	45—100	85.1±18.4	62—100	92.8±11.8

性101%, 女性99%となり有意の差を認めない。年令的因子については8~18才の小児では有意に低く, 25才以上で成人の域に達するという。

Öckerman¹³⁾ らは男性44名について97.2±14.1%, 女性21名について98.4±16.2%, Mannucci ら²⁰⁾は49例について93.8±16.0%でその範囲は59~135%に分布した。そのほか Hillenbrand ら¹⁴⁾は25~63才の正常男女30例について平均96.2%であった。これらの成績はわれわれのそれに比してやや低い, Veltkamp ら¹⁵⁾は42例について109±25%, Schmidt ら¹⁶⁾は20例の男女について105±18.6%とわれわれの成績とほぼ同じである。

妊娠中¹⁷⁾および経口避妊薬投与中¹⁸⁾の者ではHPTは上昇する傾向がある。

Ⅳ. 各種肝・胆道疾患における hepaplastin 値 (表1, 図2)

1. 急性肝炎

急性肝炎25例における HPT の平均値は95.6±15.5% でそのうちトランスアミナーゼ値500

図2 各種肝・胆道疾患におけるHepaplastin値
単位以上の急性期5例は82.2±15.0%で57~98%に分布した。

急性肝炎におけるトランスアミナーゼ値とHPTの変動については preicteric または黄疸初期においてトランスアミナーゼの上昇がHPTの低下に先行するという。このことは肝炎においてトランスアミナーゼなどの肝細胞内の酵素の逸脱が凝固因子などの蛋白合成能の障害に先行することを示している¹⁹⁾。

経過については、経過の良好な肝炎においてはHPTが異常を示す期間は短く、トランスアミナーゼの改善に先行する。したがって肝炎の初期に一度低下したHPTが上昇する徴候がみられる場合は急性肝炎が間もなく回復に向うindicatorであるとしている¹³⁾。したがってこの回復期においてはトランスアミナーゼとHPTは相関を示す¹⁹⁾。

このように急性肝炎の初期においてHPTが一過性に低下し、急速に改善に向うものは予後の良好な所見とされるが、このHPTの急激な減少の理由としては凝固因子の合成障害にもとづくもので、特に第Ⅶ因子の低下が著明である。実際かかる場合に各凝固因子を測定すると、第Ⅶ因子が30%、第Ⅹ因子が70%で、第Ⅱ因子は85%と左程障害されていない¹⁹⁾。これらの差は各因子の半減期の差によるもので第Ⅶ因子は約5時間と最も短く、第Ⅹ因子は約48時間、第Ⅱ因子は60~70時間である²¹⁾¹⁹⁾。したがってこれらの凝固因子の合成障害が改善されるとHPTは早急に改善に向う。

一方、HPTが低値を示したまま遷延する例は回復が遅れる。Schmidtら¹⁶⁾は急性肝炎より慢性肝炎に移行した症例について観察し、これらにおいては血清トランスアミナーゼ値の改善にかかわらずHPTが遷延して異常値を示したことを指摘し、急性肝炎におけるHPTは診断的意義よりむしろ予後の判定に意味があるとしている。

また発病2~3週後においてなおHPTが40~50%以下の低い値を示すものは重篤な肝実質の障害の存在を示し、予後に関しても予断ができないとしている¹⁹⁾。Hillenbrandら¹⁴⁾は急性肝不全を来した患者についてHPTが25%以上のものでは5例中1例のみの死亡であったが25

%以下を示したものでは12例中7例が死亡したとしている。

Owrenは¹⁹⁾さらに急性肝炎の治癒の判定についても血清トランスアミナーゼ値がたとえ改善されても、HPTが正常になるまでは安静を保つべきだとしている。この場合HPTの正常範囲は広く正常下限あるいはその近くの値を示す症例においては、それが正常か否かの判定が困難な場合がある。この場合正常例ではほぼ一定のレベルを保っているから肝炎の治癒期においてたとえ正常範囲に入っても引き続き上昇の傾向を示すものは完全に炎症が治っているとみるべきでない。

2. 慢性肝炎

慢性肝炎非活動型12例のHPTの平均値は $84.3 \pm 9.7\%$ で71~105%の範囲に分布した。慢性肝炎活動型25例における平均値は $72.6 \pm 15.2\%$ で45~98%の範囲に分布し、そのうち70%以下は12例で48%を占める。

Mannucciら²⁰⁾はchronic persistent hepatitisにおけるHPTの異常率は20例中7例35%で、平均値は $67.8 \pm 13.2\%$ で47~100%に分布し、一方、chronic aggressive hepatitisは21例中12例57%に異常を認め、平均値は $58.1 \pm 14.2\%$ とさらに低く38~90%の範囲に分布した。

Öckermanら¹³⁾は慢性肝炎におけるHPTの異常率は58%であったとしている。

経過についてみると、慢性肝炎あるいは肝硬変症が一時期おさまリ、血清トランスアミナーゼ値が異常を呈さない場合でも、肝細胞障害が残存している場合はHPTが低値を示し、これらが再燃する場合は血清トランスアミナーゼ値は上昇し、HPTはさらに減少するものがみられる¹⁹⁾。Schmidtら¹⁶⁾も慢性肝炎において急性再燃例では急性肝炎にみられたと同様な変化を認め急性炎症が治まるとHPTは正常に回復したとしている。

3. 肝硬変症

肝硬変症代償期18例のHPTの平均値は $65.8 \pm 12.8\%$ で49~97%の範囲に分布した。このうち70%以下のものは12例で67%をしめる。一方、肝硬変症非代償期17例の平均値は $46.7 \pm 10.5\%$ で

29%~66%に分布し全例が70%以下の値を示した。

このように肝硬変症の初期あるいは代償期においては異常を示さないことがあるが、腹水、出血傾向、意識障害などの臨床症状を伴う非代償期に進行するとその重症度に応じて低下を示す。

Öckerman ら¹³⁾は肝硬変症53例中66%, Mannucci ら²⁰⁾は55例中53例の98%に異常を認め、その平均値は $40.6 \pm 12.2\%$ で10~70%の範囲に分布した。Henning ら²²⁾はHPT が70%以下を示したものは chronic aggressive hepatitis の27.5%に対して肝硬変症では62.1%であった。胆汁性肝硬変症では原発性3例の平均値は $172 \pm 25.7\%$ 、二次性3例は $142 \pm 32.7\%$ とHPTは高値を示した。彼らはHPTと血清脂質に有意の相関を認めている。

教室の原発性胆汁性肝硬変症1例のHPTは350%と著明に高く、二次性の1例は110%と正常であった。松岡ら¹¹⁾も二次性胆汁性肝硬変症3例の平均値は $84.0 \pm 3.5\%$ と正常範囲内にあり、このように胆汁性肝硬変症においてHPTは正常ないし凝固能の亢進状態を示すのが注目される。

Hillenbrand ら¹⁴⁾は肝硬変症におけるHPTの異常率を他の肝機能検査と比較した結果、アルブミン83%, γ グロブリン82%について、HPTおよびTTが80%の異常率を示し、以下トランスアミナーゼ、血清ビリルビンなどの順であった。

4. 肝 癌

肝硬変症を合併しない原発性肝癌5例のHPTの平均値は $90.4 \pm 9.9\%$ でいずれも正常範囲にあった。肝硬変症を合併した肝癌7例の平均値は $55.4 \pm 13.5\%$ と低値を示し、肝癌におけるHPTは肝硬変症合併の有無により左右される。

5. 脂肪肝

脂肪肝9例のHPTの平均値は $114.0 \pm 31.8\%$ で正常平均よりやや高い傾向にある。うち2例は160%および170%と高く、この点他の肝機能検査ではしばしば問題となる慢性肝炎との鑑別に参考となる。

6. 胆石症

図 3 閉塞性黄疸(胆管癌). 56才, 女性.

15例の胆石症のHPTの平均値は $105.3 \pm 22.1\%$ で68~140%の範囲に分布した。

以上の各種肝・胆道疾患のHPTとTTを比較すると表1のごとくいずれの疾患においてもTTがより低い値を示す。

V. 閉塞性黄疸における Hepaplastin 値

閉塞性黄疸が長期間持続するとビタミンKの吸収障害を引き起こし、Vitamin K-dependent clotting factor (第Ⅱ, 第Ⅲ, 第Ⅴおよび第Ⅹ因子)の肝における生成阻害により血液凝固時間の異常を引き起こす。

かかる際にビタミンKの非経口的投与による血液凝固時間の改善の有無により閉塞性黄疸と肝細胞性黄疸の鑑別が可能である²³⁾。

HPTはこれらの凝固因子の中等度の減少さえも敏感に反映する長所を有し、比較的早期においてもその鑑別診断に有効である。教室の5例の閉塞性黄疸におけるビタミンK投与前後の各血液凝固検査の平均値はHPTは34.6%と108.2%, TTは18.8%と59.4%, Quick法は49.8%と77.2%で、HPTにおいて最も改善率が著しい(表1)。Hadchonel ら²⁴⁾もビタミンKによる改善率はQuick法に比してHPTが著明であるとしている。TTにおいても後述す

図4 t-D plot

る inhibitor の影響を受けるためにビタミンKによる改善はゆるやかでその程度も低い。

図3は閉塞性黄疸例(胆管癌)におけるビタミンK投与前後のHPTとTTの動きをみたものである。

症例は56才女性, 昭和49年8月10日発黄, 10月2日に来院した患者である。HPTおよびTTはいずれも著明に低値を認めた。ビタミンK静注により24時間後にはHPTは16%より104%と急速に回復し以後さらに上昇を続け185%と凝固能亢進の所見を示した。一方, TTは5%より44%と回復が遅く, 3日目に70%に達した。

このようにHPTの閉塞性黄疸時のビタミンKに対する反応は早急かつ著明で, この点黄疸の鑑別により有効である。

Ⅵ. 肝疾患における inhibition の意義

クマリン系抗凝血薬服用時や閉塞性黄疸時などのビタミンK欠乏には内因性の coagulation inhibitor が出現する⁷⁾。これは第Ⅹ因子に類似するもので prothrombin の precursor と考えられ prothrombin 転化に競合的阻害を示す。当初は preprothrombin と呼ばれたが⁸⁾、現在では PIVKA (protein induced by vitamin K absence or antagonists) と呼ばれる²⁵⁾。

この inhibitor は抗凝血薬服用時に際して抗

凝固作用を来たす重要な役割の一端を演じておりこれらの抗凝血薬療法時における凝固時間の測定や出血傾向を観察する際にはこの inhibitor に感受性を有する TT がより診断的価値を有する。一方, 肝臓におけるこれら凝固因子の合成能, つまり肝の機能を観察する際にはこの inhibitor に感受性を有さず, 凝固因子のうち第Ⅱ, 第Ⅶおよび第Ⅹ因子の合成能のみを反映する HPT がより診断的価値を有すと考えられる。

この inhibitor の検出は次の二つの方法により可能である。

1. HPT と TT の差による方法

Owren²⁶⁾ は TT が PIVKA に感受性を有し, 一方, HPT が感受性を有さない点に着目して inhibitor index として $\frac{NT(\%) - TT(\%)}{NT(\%)}$ により求めた。

彼は抗凝固療法の安定した症例においてはこの inhibitor index は 0.5~0.6 としている。

松岡ら¹¹⁾ はこの方法により inhibitor index を求め, 正常人(平均) 0.18 に対して閉塞性黄疸 0.50, 経口抗凝血薬服用者 0.51 と高く, 急性肝炎および肝硬変症ではほぼ正常に近い。慢性肝炎では 0.31, 慢性活動性肝炎では 0.41 と高い値を示している。

Godal ら²⁷⁾ は TT と HPT の discrepancy が血管内凝固症候群(DIC)の指標になりうる

表2 Correlation of Hepaplastintest & Thrombotest with Liver function test & Haemostatic test

		"	
		Hepaplastintest	Thrombotest
Total Protein	84	+0.315**	+0.242*
Albumin	77	+0.264*	+0.251*
Cholinesterase	81	+0.540**	+0.429*
A/G	73	+0.365**	+0.315**
γ -globulin	77	-0.520**	-0.442**
TTT	71	-0.392**	-0.398**
ZnTT	82	-0.508**	-0.473**
S-GOT	88	-0.025	+0.077
ICG (R:15)	39	-0.613**	-0.481**
Thrombotest	89	+0.640**	
Prothrombin time	81	+0.515**	+0.469**
TEG	r	55	-0.053
	k	55	-0.227
	ma	55	+0.546**
	me	55	+0.505**
Thrombocyte	55	+0.457**	+0.219

* P<0.05 ** P<0.01

とし、同様に Slaastad ら²⁸⁾も inhibitor index が DIC の診断に役立つとしている。

2. t-D Plot による方法

Hemker ら²⁹⁾³⁰⁾TT のみによる inhibitor の検出法を考えた。つまり第Ⅱ因子および第Ⅶ因子が第Ⅹ因子に比して著しく低くない場合は TT は第Ⅹ因子のレベルにより決定される。したがって横軸に血漿濃度の逆数を、縦軸に TT の凝固時間をとりこれを結ぶと直線となり、これが縦軸と交叉する点が第Ⅹ因子の無限大での最小凝固時間であるとした。もし inhibitor あるいは accelerator が存在するとその交叉は延長または短縮する。この直線の延長と正常血漿の最小凝固時間から横軸に平行に引いた交点と縦軸の幅をもって inhibitor とした。

図4に t-D plot の例を示す。抗凝血薬服用者1.4, 閉塞性黄疸1.2, 慢性肝炎活動型0.4とそれぞれ inhibitor を認める。肝硬変症では認めない。HPTにて同様の方法を用いても inhibitor は検出されない。

以上述べたごとく inhibitor は抗凝血薬服用

図5 Correlation of Hepaplastintest with Thrombotest.

時、閉塞性黄疸時に認められるほか、慢性肝炎、ルポイド肝炎などの自己免疫疾患、アミロイドーシスなどに認められることがある³¹⁾。急性肝炎では一般に出現しないが著明な黄疸が長期間持続時にまれに認められる¹⁹⁾。

Ⅶ. HPT と肝機能検査および血液凝固学的検査との相関

HPT と各種肝機能検査との相関は表2に示すごとく、ICG (R) ($r=-0.613$), コリンエステラーゼ ($r=+0.540$), γ -グロブリン ($r=-0.520$), クンケル ($r=-0.508$) などの蛋白合成、肝細胞の機能と関係の深いものにより高い相関を示す。

TT とこれら肝機能検査との相関を比較すると ICG (R) $r=-0.481$, コリンエステラーゼ $r=+0.429$, γ -グロブリン $r=-0.442$, クンケル $r=-0.433$ といずれもHPT がより高い相関を示す。

報告例では Mannucci ら²⁰⁾は慢性肝疾患における HPT と肝機能検査との相関について、アルブミン $r=+0.61$, コリンエステラーゼ $r=+0.66$, BSP 試験 $r=-0.50$, γ -グロブリン $r=-0.23$ とアルブミンとの相関が高い。一方, Ritland ら²¹⁾は慢性肝疾患におけるアルブミンと HPT の相関は0.27と低い。Henning ら²²⁾

は肝硬変症において HPT との相関はコリンエステラーゼ0.46, アルブミン0.32としている。

GOT との相関は $r = -0.025$ で有意の相関を認めなかった。Owren¹⁹⁾ は急性肝炎において HPT とトランスアミナーゼとはよく相関するとしている。確かに急性肝炎の経過を個々の症例について観察すると極期から治癒に向う時期において両者はある程度相関を示すものがみられる。しかしトランスアミナーゼが極端に高値を示す場合でも HPT が正常範囲内のことも多い。このことは障害された肝細胞より血中に逸脱するトランスアミナーゼと異なり、肝実質における蛋白の合成能を反映する HPT はかなり著明に実質が障害されてはじめて異常を示すと考えられる。一般に急性肝炎において HPT が異常を示す期間は短い。このように HPT とトランスアミナーゼは根本的に相異なる機能を反映しており、両者は相補って診断に役立つものと考えられる。

血液凝固学的検査と HPT の相関については TT $r = +0.640$ と最も高い相関を示し (図6), ついで Quick 法 $r = +0.515$, TEG のmaファクター $r = +0.546$, me ファクター $r = +0.505$ などと高い相関を示す。

HPT と TT の相関については Ritland²¹⁾ は0.70, Veltkamp¹⁵⁾ は0.9と高い相関を認めている。このことは HPT が TT を母体として作られたもので両者はやはりもっとも近い検査法であることを示している。

Quick 法との相関は Schmidt¹⁶⁾ は全体では0.314と低い相関であるが、病的状態の部分のみを比較するとさらに高い相関を示すとしている。Fisher³²⁾ は各種疾患について Quick 法と HPT は0.755と高い相関を示している。

HPT, TT および Quick 法の測定上の差については、50~100%の間の凝固時間の差は TT 8秒, Quick 法2.5秒に対して HPT は17秒の差があり、正常からやや正常を下まわる変動をキャッチしやすい利点を有している。そのほか TT および Quick 法が5~100%に対して HPT は10~200%まで測定可能であり、hypercoagulable state を知り得る利点を有する。

結 語

Hepaplastintest が肝機能検査として、肝・胆道疾患の診断、経過および予後の判定にいかなる意義を有するか自験例を中心に述べ、あわせて文献的考察を行った。

Hepaplastintest は内因性凝固阻害因子の影響を受けず、真の凝固因子の活性、つまり肝における凝固因子の合成能を反映し、従来の血液凝固学的検査法とは異なる新しい診断的意義を有する検査法であると考えられる。

(Hepaplastintest を提供されたエーザイ株式会社に感謝の意を表する)

文 献

- 1) Walls, W. D. and Losowsky, M. S. : The hemostatic defect of liver disease. *Gastroenterology*, 60; 108, 1971.
- 2) Roberts, H. R. and Cederbaum, A. I. : The liver and blood coagulation: physiology and pathology. *Gastroenterology*, 63; 297, 1972.
- 3) 佐竹清人 : 肝疾患と出血性素因. *日本臨床*, 17; 2143, 1959.
- 4) 梅垣健三 : 肝機能からみた血液凝固. *臨床病理*, 11; 492, 1963.
- 5) 西岡新吾 : 肝疾患における凝固因子. *診断と治療*, 59; 1782, 1971.
- 6) Owren, P. A. : Thrombotest: A new method for controlling anticoagulant therapy. *Lancet*, II; 754, 1959.
- 7) Hemker, H. C., Veltkamp, J. J., Hensen, A. and Loeliger, E. A. : Nature of prothrombin biosynthesis: preprothrombinemia in vitamin K-deficiency. *Nature*, 200; 589, 1963.
- 8) Hemker, H. C. : Preprothrombin (Complex?), a circulating anticoagulant in coumarin treated and vitamin K deficient patients. *Thromb. Diathes. Haemorrh., Suppl.*, 13; 380, 1964.
- 9) Owren, P. A. and Strandli, O. K. : Normotest. *Farmakoterapi*, 25; 14, 1969.
- 10) 山中学, 磯部淳一 : Hepaplastintest に関する研究. *血液と脈管*, 4; 557, 1973.
- 11) 松岡松三, 伊藤正一, 渡部 透, 他 : Hepaplastintest (HPT) に関する基礎的ならびに臨床的研究.

- 血液と脈管, 4; 1181, 1973.
- 12) Tryding, N., Berg, R., Nilsson, J. E., Nilsson, S. E., Strandli, O. K. and Tufvesson, G. : Determination of coagulation activity in the normal and near normal area. *Farmakoterapi*, 25; 27, 1969.
 - 13) Öckerman, P. A., J. Braconier, H. and Eriksson, Ö. : Normotest in acute hepatitis and chronic liver disease. *Scand. J. Gastroent.*, 8; (Suppl. 19) 83, 1973.
 - 14) Hillenbrand, P. and Scherlock, S. : Use of Normotest and Thrombotest, coagulation test in hepatocellular disease. *Scand. J. Gastroent.*, 8; (Suppl. 19) 126., 1973.
 - 15) Veltkamp, J. J. and Kreuning, J. : The diagnostic value of coagulation studies in chronic liver disease. *Scand. J. Gastroent.*, 8; (Suppl. 19.) 93, 1973.
 - 16) Schmidt, W. and Gros, H. : Normotest in acute viral hepatitis. *Scand. J. Gastroent.* 8; (Suppl. 19.) 143, 1973.
 - 17) Nyberg, W. and Rosengård, S. : Normotest and Thrombotest in late pregnancy and puerperium. *Farmakoterapi*, 25; 36, 1969.
 - 18) Rosengård, S. and Nyberg, W. : Normotest during Oral Contraception. *Farmakoterapi*, 25; 40, 1969.
 - 19) Owren, P. A. : Normotest in liver disease. *Farmakoterapi*, 25; 46, 1969.
 - 20) Mannucci L., Dioguardi, N. Pizzolato, M. and Mannucci, P. M. : Value of Normotest and Antithrombin III in the assesment of liver function. *Scand. J. Gastroent.*, 8; (Suppl. 19.) 103, 1973.
 - 21) Ritland, S., Skrede, S. Blomhoff, J. P. and Gjone, E. : Coagulation factors as indicators of protein synthesis in Chronic liver disease. *Scand. J. Gastroent.*, 8; (Suppl. 19.) 113, 1973.
 - 22) Henning, H. and Yano, M. : Significance and Practicability of Normotest in diagnosis of chronic liver disease. *Scand. J. Gastroent.* 8; (Suppl. 19.) 120, 1973.
 - 23) Koller, F. : Weitere Erfahrungen mit Vitamin K: Synthetische Vitamin K Präparate. Der Vitamin K-Test, eine Leberfunktionsprüfung. *Nelv. Med. Acta*, 7; 651, 1941.
 - 24) Hadchonel P., Touboul, J. P. and Caroli, J. : Study on the correlation between Normotest, Quicks' method, and specific coagulation factors in liver disease. *Scand. J. Gastroent.* 8; (Suppl. 19.) 151, 1973.
 - 25) Hemker, H. C. and Muller, A. D. : Kinetic aspects of the interaction of blood clotting enzymes. VI. Localization of the site of blood-coagulation inhibitor by the protein induced by vitamin K absence. (PIVKA). *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, 20; 78, 1968.
 - 26) Owren, P. A. : The interrelationship between Normotest and Thrombotest. *Farmakoterapi*, 25; 1, 1969.
 - 27) Godal H. C. and Kierulf, P. : Thrombotest and diagnosis of disseminated intravascular coagulation (DIC). *Scand. J. Haemat.*, 8; 446, 1971.
 - 28) Slaastad, R. A. and Godal, H. C. : Discrepancy between Thrombotest and Normotest- an indicator of disseminated intravascular Coagulation (DIC) ? *Scand. J. Haemat.*, 9; 411, 1972.
 - 29) Hemker, H. C., Siepel, T. Altman, R. and Loeliger, E. A. : Kinetic aspects of the interaction of blood clotting enzymes. II The relation between clotting time and plasma concentration in prothrombin-time estimations. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 17; 349, 1967.
 - 30) Hemker, H. C., Veltkamp, J. J. and Loeliger, E. A. : Demonst. aspects of interaction of blood Clotting enzymes. III Demonstration of an inhibitor prothrombin conversion in Vitamin K deficiency. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 19; 346, 1968.
 - 31) Owren, P. A. : Normotest in the evaluation of liver function. *Human Blood Coagulation*, Leiden University Press, Leiden, 369, 1969.
 - 32) Fischer, M. and Pilgerstorfer, H. W. : Clinical experience with Normotest. *Human Blood Coagulation*, Leiden University Press, Leiden, 379, 1969.