◆原 著◆

経口抗凝血薬療法による血管内トロンビン生成の 制御に関する研究

— トロンビン・アンチトロンビン III 複合体 (TAT) による検討 —

内 山 俊 正^{*1}, 金 沢 紀 雄^{*1}, 佐 々 木 豊 志^{*1}
佐 藤 貞 夫^{*1}, 阿 部 利 生^{*2}, 竹 内 季 雄^{*2}
定 方 宏 人^{*3}, 小 林 紀 夫^{*3}

Inhibition of Intravascular Thrombin Generation by Warfarin Administration, with Special Reference to Plasma Thrombin-Antithrombin III Complex (TAT) Levels

Toshimasa UCHIYAMA^{*1}, Norio KANAZAWA^{*1}, Toyoshi SASAKI^{*1}
Sadao SATOH^{*1}, Toshio ABE^{*2}, Tokio TAKEUCHI^{*2}
Hiroto SADAKATA^{*3} and Norio KOBAYASHI^{*3}

Key words: warfarin, prothrombin time, thrombin-antithrombin III complex, hypercoagulable state.

Thrombin-antithrombin III complex (TAT) is a good marker of intravascular thrombin generation. Oral anticoagulant therapy can be expected to be effective when intravascular thrombin generation is suppressed to an adequate range. TAT levels in the blood plasma from 61 patients receiving warfarin therapy and 12 patients prior to the initiation of warfarin therapy were determined. The degree of anticoagulation was monitored by the one-stage prothrombin time method (PT). Although PT levels were higher than the control range (more than 35%) in 14 of the patients receiving warfarin therapy, there was no significant difference in mean plasma TAT levels between these 14 patients and the 46 patients whose PT levels were within the control range. The mean TAT level in all patients receiving warfarin therapy (1.76 ± 0.46 ng/ml) was significantly lower than that in the patients before anticoagulation (5.19 ± 1.97 ng/ml) and was nearly the same as the normal control (2.00 ± 0.58 ng/ml). No significant relationship was observed between the levels of TAT and PT (% INR). In several patients receiving warfarin therapy, serial changes in plasma levels of TAT and PT were followed. It was noted that plasma TAT levels always

^{*1} 国立高崎病院内科 [〒 370 高崎市高松町 36]: Department of Internal Medicine, Takasaki National Hospital, Takasaki, Gunma 370, Japan.

^{*2} 国立高崎病院研究検査科 Department of Laboratory Medicine, Takasaki National Hospital.

^{*3} 群馬大学医学部第三内科 The Third Department of Internal Medicine, Gunma University School of Medicine, Maebashi, Gunma, Japan. 受付: 1992. 3. 2, 受理: 1992. 7. 2.

remained within the normal range even if PT (%) deviated from control range, while both PT (%) and TAT levels shifted in a similar direction. These results suggest that conventional PT may not always be an appropriate index to monitor oral anticoagulant therapy, and that the optimal range of anticoagulation for hypercoagulable states should be set according to the plasma levels of TAT.

I. はじめに

ワーファリンによる経口抗凝血薬療法は、血栓塞栓症を予防する手段として広く適用されている。しかし、その治療域の設定や治療効果の判定についての検討は必ずしも十分ではなく、従来は経験的に出血を生じない範囲でできるだけ凝固能を低下させることを目標として、プロトロンビン時間 (PT) などを一定の治療域に保つ方法が採用されてきた¹⁾。近年、血管内における血液凝固活性化を反映するさまざまな凝血的分子マーカーの測定法が開発され、血栓症およびその準備状態における凝固亢進状態の把握に有用であることが報告されている²⁾³⁾。したがって、これら分子マーカーによるモニターが抗凝血薬療法の治療効果判定に、より合理的な指標を与える可能性がある。

今回、経口抗凝血薬療法中の患者の血管内凝固活性化の指標としてトロンビン・アンチトロンビン III 複合体 (以下 TAT) を測定し、そ

の変動と従来のパラメーターとの関連について検討すると共に、上記の可能性についても考察したので、その結果を報告する。

II. 対象及び方法

1. 対象

対象は当院の内科・循環器科外来で6カ月～6年間継続してワーファリン治療中の61例、経口抗凝血薬療法の適応があると判定し、ワーファリン投与開始予定の12例及び対照としてほぼ同年代の健康者50例である。表1に対象の背景因子を示した。ワーファリン服用者のうち35例、服用予定者のうち10例に心房細動の合併を認め、ワーファリン服用者の9例は本療法開始以前に脳・四肢などの血栓塞栓症の既往があった。しかし、最近6カ月の観察期間中に血栓塞栓症や重大な出血症状を認めた症例はなかった。これら対象より3.2%のクエン酸採血し、分離した血漿を検体とし、測定まで-80℃で凍結保存した。

Table 1 Various background factors of subjects.

Subjects	Patients with indications for anticoagulation		Normal control
	Untreated cases	Cases receiving waefarin	
Number of cases (M:F)	12(7:5)	61(31:30)	50(28:22)
Mean age±SD	67.1±11.9	56.8±9.8	64.7±10.6
(diagnosis)			
Valvular heart disease	2	20	
Prosthetic heart valve		13	
Ischemic heart disease	3	4	
After PTCA*		4	
Cardiomyopathy	3	9	
Non-valvular atrial fibrillation	4	8	
Peripheral vascular disease, etc.		3	

* PTCA: percutaneous transluminal coronary angioplasty

Table 2 Results (mean±SD) of various coagulation tests in patients with indications for anticoagulant therapy and normal control.

	Normal control	Untreated patients
PT(%)	91.1± 8.4	91.2± 12.1
APTT(sec.)	42.9± 5.0	43.3± 6.7
Fbg.(mg/dl)	225.5±38.3	353.9±102.0***
PCAg(μg/ml)	3.52±0.82	2.93± 0.46**
PSAg(μg/ml)	10.97±2.73	10.91± 1.97
TAT(ng/ml)	2.00±0.58	5.19± 1.97***

p<0.01 *p<0.001

Table 3 Comparison of blood coagulation parameters in patients before warfarin therapy and in those receiving warfarin therapy.

	Patients before warfarin therapy	Patients receiving warfarin therapy
PT(%)	91.2± 12.1	30.9± 9.3***
PT(INR)	1.05± 0.07	1.98± 0.48***
APTT(sec.)	43.3± 6.7	59.7±13.2***
Fbg.(mg/dl)	353.9±102.0	309.9±83.6
Factor II (%)	92.4± 18.7	31.1±10.5***
Factor VII (%)	111.3± 32.6	28.7±10.0***
Factor IX (%)	103.6± 18.8	50.9±14.9***
Factor X (%)	93.4± 14.3	16.2± 5.8***
PCAc (%)	87.3± 14.4	25.2±10.5***
PCAg(μg/ml)	2.93± 0.46	1.12± 0.50***
PSAg(μg/ml)	10.91± 1.97	4.55± 1.06***
TAT(ng/ml)	5.19± 1.97	1.74± 0.46***

*** p<0.001

2. 方法

PT, 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT), 血中フィブリノーゲン濃度 (Fbg.) はそれぞれ Simplastin-A (General-Diagnostics, ISI=1.98), Platerin Plus Activator (General - Diagnostics), Fibrinogen Test (Sankyo) を用いて測定し, 凝固第 II, VII, IX および X 因子活性はそれぞれの欠乏血漿 (Dade) を用いた凝固時間法で測定した. プロテイン C 活性 (PCAc) は Staclot protein C (Stago) による凝固時間法で, PIVKA-II, プロテイン C 抗原 (PCAg), フリープロテイン S 抗原 (PSAg), TAT はそれぞれ Eitest Mono-P II (Eisai), Protein C Test (Teijin), Protein S Test (Teijin), Enzygnost TAT (Behringwerke) を用い, EIA 法により測定した.

結果は平均値±標準偏差 (SD) で示した. 統

計学的有意差の検定は Student's t-test を用い, 危険率 5% 以下を有意とした. 回帰分析は最小二乗法にて行い, 相関係数 (r) を算出した.

III. 結 果

1. 抗凝血薬療法による凝血学的変動

対象としたワーファリン服用患者のワーファリンの一日服用量は 0.75 mg から 6.75 mg に分布し, 3.32 ± 1.53 mg であり, PT% は 59% から 11.8% の $30.9 \pm 9.32\%$, INR は 1.41 から 7.63 の 1.98 ± 0.84 であった.

表 2 に経口抗凝血薬療法の適応ありと判定した治療予定患者と, ほぼ同年代の健康者の測定結果を示した. 患者群において Fbg. と TAT の有意な上昇, および PCAg の有意な低下を認めた. 特に TAT については患者全員が健康者の平均値+2 SD である 3.16 ng/ml を越え, 血

Table 4 Correlation coefficients(r) of results of various coagulation tests to either PT(%) or PT(INR) in patients receiving warfarin therapy.

	PT(%)	PT(INR)
Fbg.(mg/dl)	-0.021	0.123
APTT(sec.)	-0.513***	0.899***
Factor II (%)	0.883***	-0.647***
Factor VII (%)	0.722***	-0.538***
Factor IX (%)	0.581***	-0.530***
Factor X (%)	0.771***	-0.472***
PCAc (%)	0.557***	-0.354**
PCAg(μ g/ml)	0.624***	-0.364**
PSAg(μ g/ml)	0.386**	-0.293*
PIVKA II (AU/ml)	-0.503***	0.613***
TAT(ng/ml)	0.002	-0.045

* p<0.05

** p<0.01

*** p<0.001

管内凝固の活性化が示唆された。

ワーファリン治療中の患者と治療予定患者との凝血的検査の測定値を比較すると、表3に示すように、治療群においてPCAc, PCAg, PSAg およびビタミン K 依存性凝固因子活性の著明な低下と、PT および APTT の延長を認めた。また TAT も 1.74 ± 0.46 ng/ml と有意に低下し、 3.16 ng/ml を越えるものは PT 30% の1例のみであった。血中 Fbg. には有意な変化を認めなかった。

3. 凝血的検査測定値間の相関関係

表4にワーファリン治療中の患者におけるPTと他の凝血的検査測定値との相関関係を示した。PTは活性%表示(PT%)でもINR表示(PT-INR)でもPCAc, PCAg, PSAg, ビタミン K 依存性凝固因子活性およびAPTT, PIVKA-IIとは有意な相関関係を認めたが、TATとは相関関係を認めなかった。図1はPT%およびPT-INRとTATとの相関図である。さらにTATは他のいずれの凝血的検査測定値とも有意な相関関係を示さなかった。

4. 抗凝固療法のコントロールとTAT

ワーファリンによるコントロール域をPTで15~35%とした場合、十分コントロールされていた46例とコントロール不十分でPTが35%を越えていた14例との凝血的検査の測定値を表5に示した。PT, APTT, PCAc,

Fig 1. Correlation diagrams between PT and plasma levels of TAT in patients receiving warfarin therapy.

PCAg, PSAg, ビタミン K 依存性凝固因子活性は両側間に有意な差を認めるもののワーファリンの1日服用量, PIVKA-IIおよびTATの血中濃度では有意差を認めなかった。

症例個々の背景疾患や凝血的特性を考慮に入れるため、経過観察期間中PTが動揺した症例のうち、変動幅が治療域内に留まった10例と、変動が治療域から非治療域に移行した10例について凝血的検査測定値につき対応ある平均値の差の検定を試みた。表6に治療域内での変動例での結果を示した。PT(%)の上昇に伴い、APTT, 第II, IX, Xの各因子活性は有意に変化した。第VII因子活性, PCAg, PSAgおよびTATのレベルには変動が認められなかった。地方、変動が治療域から非治療域に移行した10例では、表7に示すようにPT(%)の上昇による治療域からの逸脱に伴い、第II, IX, Xの各因子活性に加え、第VII因子活性, PCAg, PSAgは有意に増加した。さらにTATも有意に増加したが、これは正常範囲内にとどまった。これら20例のいずれにおいても、観察

Table 5 Results (mean±SD) of various coagulation tests in patients receiving warfarin therapy within or out of the control range monitored by PT (%).

	15% ≤ PT ≤ 35% (n=46)	35% < PT (n=14)
Warfarin(mg/day)	3.41 ± 1.46	3.09 ± 1.80
PT (%)	27.3 ± 5.1	44.2 ± 6.6**
PT(INR)	2.01 ± 0.38	1.48 ± 0.09***
APTT(sec.)	59.9 ± 6.9	52.7 ± 5.1***
Factor II (%)	28.0 ± 7.9	43.1 ± 7.5***
Factor VII (%)	25.8 ± 7.2	39.8 ± 9.3***
Factor IX (%)	47.9 ± 10.0	63.5 ± 18.9**
Factor X (%)	14.6 ± 4.3	22.2 ± 6.1***
PCAc (%)	23.2 ± 9.1	32.5 ± 12.0**
PCAg (μg/ml)	1.01 ± 0.43	1.49 ± 0.54***
PSAg (μg/ml)	4.37 ± 0.96	5.22 ± 1.15*
PIVKA II (AU/ml)	12.93 ± 3.78	10.32 ± 3.46
TAT (ng/ml)	1.74 ± 0.50	1.78 ± 0.31

* p<0.05

** p<0.01

*** p<0.001

Table 6 Results (mean±SD) of various coagulation tests at two points (both PT% values were within the control range) during warfarin therapy in 10 patients.

PT (%)	23.0 ± 4.2	29.0 ± 2.5**
APTT(sec.)	59.4 ± 7.3	53.8 ± 6.2**
Fbg.(mg/dl)	312.5 ± 85.8	321.9 ± 74.1
Factor II (%)	19.8 ± 5.3	29.4 ± 6.3***
Factor VII (%)	24.0 ± 6.3	25.3 ± 5.4
Factor IX (%)	42.5 ± 6.6	55.3 ± 7.3**
Factor X (%)	12.6 ± 3.8	16.8 ± 3.1**
PCAg (μg/ml)	0.89 ± 0.35	1.06 ± 0.17
PSAg (μg/ml)	4.70 ± 0.78	5.34 ± 1.20
TAT (ng/ml)	1.62 ± 0.55	2.01 ± 0.80

* p<0.05

** p<0.01

*** p<0.001

Table 7 Results (mean±SD) of various coagulation tests at two points (PT% within and out of the control range) during warfarin therapy in 10 other patients.

PT (%)	27.1 ± 6.5	47.0 ± 6.3***
APTT(sec.)	63.3 ± 13.4	53.1 ± 5.1*
Fbg.(mg/dl)	356.1 ± 83.7	350.5 ± 87.6
Factor II (%)	29.1 ± 12.7	45.9 ± 7.2***
Factor VII (%)	23.6 ± 9.2	39.6 ± 9.5**
Factor IX (%)	45.8 ± 16.6	66.6 ± 14.0**
Factor X (%)	14.9 ± 5.2	28.0 ± 7.7***
PCAg (μg/ml)	0.99 ± 0.43	1.71 ± 0.56***
PSAg (μg/ml)	4.28 ± 0.86	6.02 ± 1.11***
TAT (ng/ml)	1.80 ± 0.55	2.20 ± 0.33*

* p<0.05

** p<0.01

*** p<0.001

期間中に血栓塞栓症や出血症状の併発をみなかった。

IV. 考 察

従来、ワーファリン治療は PT やトロンボテストを指標としてビタミン K 依存性凝固因子活性のレベルを低下させ、出血を生じない範囲で可能な限り低凝固状態に維持することを目標にコントロールがおこなわれてきた¹⁾。その治療域の設定も経験的な要素が強く関係しており、病態によってはより少量の投与で有効であったなどの報告もある⁴⁾⁵⁾⁶⁾。しかし、経口抗凝血薬療法の目的が過剰な血管内凝固活性化の制御にあるとすれば、血管内トロンビン生成を表現

するパラメータを用いてコントロールを行う方がより合理的であるとおもわれる。既にプロトロンビン・フラグメント F₁₊₂ やフィブリノペプチド A については検討が行われているが⁷⁾⁸⁾⁹⁾ それらの治療域に関しては未だ一定の見解が得られていない。今回、われわれは血管内凝固活性化を反映する凝血学的分子マーカーとして TAT を用い、ワーファリン治療の評価を試みた。経口抗凝血薬投与を予定されていたワーファリン非投与患者群では明らかな TAT の上昇が認められた。ワーファリン投与群では、非投与群に比し TAT は有意な低下を示したが、PT が 12%~60% の範囲内では PT (%、INR) と TAT との間に明らかな相関関係を認めなかつ

た。すなわち、従来の基準による PT (%) コントロールの良否は TAT のレベルに有意差をもたらすものではなかった。しかし TAT は PT が治療域にあった一例で正常以上の値を示した以外、全例が正常範囲内の値にまで減少していたことが注目される。なお、PT (%) が治療域を逸脱した症例を含め、観察期間中には血栓塞栓症や出血症状の併発は認められなかった。このため全例で PT (%) を治療域に維持することには失敗したものの経口抗凝血薬療法の臨床的目標は観察期間に限れば達成できたと判断できる。これらのことより経口抗凝血薬療法の目的が血管内凝固の活性化すなわち凝固亢進状態の是正であるとすれば、PT (%) によるコントロールは必ずしも適切でないことを示唆している。さらに個々の症例における PT の変動に注目すると PT (%) が治療域を逸脱しても TAT は正常値を越える増加を示さなかった。これは個々の症例でワーファリンにより血管内の過剰なトロンビン生成を抑制するのと、PT (%) のレベルを低下させる作用が全く同一のものではないためと考えられる。上記した如く PT (%) では従来の治療域にありながら TAT が正常化していなかったのは 1 例のみで、PT が治療域を上回っても他では TAT はすべて正常範囲に減少しており、経口抗凝血薬療法におけるワーファリン投与量のコントロールには TAT を正常化しかつそれを維持するのがより適切であることが示唆される。そのような状況下では、PT (%) レベルを治療域に低下させ、かつその維持をめざしたこれまでの経口抗凝血薬療法より少量のワーファリン投与で臨床効果が期待できる症例もありうると考えられる。

近年 PT によるコントロールの INR 表示を用いた標準化に伴い、疾患により治療域を変えることが提唱されている¹⁰⁾。また心血管障害のリスクとしての第 VII 因子活性の上昇を抑えるために少量のワーファリンで効果を期待する動きもあり¹¹⁾¹²⁾、ワーファリンの治療域の設定には血管内凝固活性化のマーカーや凝血的リスク・ファクターを指標とした新たな検討が必要と思われる。今回は比較的少数例のレトロスペクティブな検討であるし、観察期間も十分に

は言えず、弁置換例のようにワーファリンのコントロールレベルが PT-INR を用いた疾患別治療域に照らすと不十分なものを含んでいた。しかるに本邦の人工弁置換患者に対する抗凝血薬療法の成績で欧米よりゆるやかな治療域でも十分といった報告がないわけではない¹³⁾。さらに、これまで PT を主とするコントロールによって実施されてきた経口抗凝血薬療法に関する多数の臨床的評価を、この小論文で否定することは不可能であるし、そのつもりもない。しかし、これらのすべてを踏まえ、PT によるコントロールを抗凝固の一応の指標と出血の副作用防止のモニターとして用いつつ、TAT による血栓予防効果判定のプロスペクティブな臨床研究を多数の症例を対象に基礎疾患別を実施する必要性のあることをここに提起したい。

謝辞: 本研究の一部は厚生省循環器病研究委託費の助成を受けた。

文 献

- 1) Loeliger, E.A.: Optimal therapeutic range in oral anticoagulation. History and proposal. *Thromb Haemost*, **42**: 1141~1152, 1979.
- 2) Pelzer, H., Schwarz, A. and Heimbürger N.: Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Thromb. Haemost.*, **59**: 101~106, 1988.
- 3) Uchiyama, T., Matsumoto, M. and Kobayashi, N.: Studies on the pathogenesis of coagulopathy in patients with arterial thromboembolism and malignancy. *Thromb. Res.*, **59**: 955~965, 1990.
- 4) The Boston area anticoagulation trial for atrial fibrillation investigators: Effect of low-dose warfarin on the risk of stroke in patients with nonrheumatic atrial fibrillation. *N. Eng. J. Med.*, **323**: 1505~1511, 1990.
- 5) Poller, L., McKernan, A., Elstein, M., Hirsch, P.J. and Jones, J.B.: Fixed minidose warfarin: a new approach to prophylaxis against venous thrombosis after major surgery. *Br. Med. J.*, **295**: 1309~1312, 1987.
- 6) Hull, R., Hirsch, J., Jay, R., Carter, C., England,

- C., Gent, M., Turpie, A.G.G., McLoughlin, D., Dodd, P., Thomas, M., Raskob, G. and Ockelford, P.: Different intensities of oral anticoagulant therapy in the treatment of proximal vein thrombosis. *N. Engl. J. Med.* **307**: 1676~1681, 1982.
- 7) Conway, E.M., Bauer, K.A., Barzegar, S. and Rosenberg, R.D.: Suppression of hemostatic system activation by oral anticoagulants in the blood of patients with thrombotic diatheses. *J. Clin. Invest.*, **80**: 1535~1544, 1987.
- 8) Marongiu, F., Sorano, G.G., Mameli, G., Mamusa, A.M., Cambuli, A.B., Conti, M., Sanna, M.P., Farci, P. and Balestrieri, A.: Thrombin activity and oral anticoagulant therapy: A preliminary study. *Haemostasis*, **19**: 142~146, 1989.
- 9) Pengo, V., Peruzzi, P., Baca, M., Marzari, A., Zanon, F., Schivapappa, L. and Volta, S.D.: The optimal therapeutic range for oral anticoagulant treatment as suggested by fibrinopeptide A (FpA) levels in patients with heart valve prostheses. *Eur. J. Clin. Invest.* **19**: 181~184, 1989.
- 10) Loeliger, E.A.: Laboratory control, optimal therapeutic ranges and therapeutic quality control in oral anticoagulation. *Acta. Haemat.* **74**: 125~131, 1985.
- 11) Meade, T.W., Wilkes, C., Stirling, Y., Brennan, P. J., Kelleher, C. and Browne, W. Randomized controlled trial of low dose warfarin in the primary prevention of ischemic heart disease in men at high risk: design and pilot study. *Eur. Heart J.* **9**: 836~843, 1988.
- 12) Poller, L., MacCallum, P.K., Thomson, J.M. and Kerns, W.: Reduction of factor VII coagulant activity (VII c), a risk factor for ischemic heart disease, by fixed dose warfarin: a double blind crossover study. *Br. Heart. J.* **63**: 231~233, 1990.
- 13) 上塚芳郎, 細田瑳一, 青崎正彦, 岩出和徳, 小柳 仁, 大木勝義, 甫仮妙子, 井上美幸, 秋山悦子, 北田増和: 経口抗凝血薬療法におけるトロンボテスト (%) とプロトロンビン時間 (INR) の臨床的意義について. *血栓止血誌*, **3**: 123~130, 1992.