全血を用いた血小板凝集能測定装置による抗血小板薬のモニタリングの有用性

三上　晴克[1]　　寺澤　史明[1]　　中西　啓介[2]
古屋　敦宏[2]　　大谷　則史[2]　　川上　敏晃[2]

要　旨：われわれは，全血血小板凝集能測定装置を用いてアスピリン服用群の血小板凝集能を測定し対照群の血小板凝集能と比較検討した。血小板凝集能の評価にはplatelet aggregatory threshold index(PATI)，グレーディングカーブによる6段階分類を使用した。PATI値は対照群では1.26±0.94μMであり，アスピリン服用群では3.90±0.30μMであり，2群間に有意差を認めた。アスピリン服用群でPATI値が3.15以下であったのは1例(3.3%)であった。アスピリン服用群でGタイプ-0を示す場合は3.15以上であった。血小板凝集能のPATI値による分類はアスピリン服用群で血小板凝集能の抑制作用が再現性をもって示されており，抗血小板剤の服用効果を評価するのに有用な分類法である。(J Jpn Coll Angiol, 2005, **45**: 1019–1025)

Key words: platelet aggregation, screen filtration pressure (SFP), platelet aggregatory threshold index (PATI), G-type

目　　的

血小板凝集能測定装置は現在，多血小板血漿platelet-rich plasma(PRP)を検体として用いる透過光法が広く用いられている。しかし，採血から測定までに時間を要しPRP作成や操作に煩雑等の問題があった。最近開発されたWBAアナライザーは，吸引圧力法による血小板凝集能測定装置で全血を用いた測定が可能である。利点として短時間で検査可能であり，セロトニンやプロスタグランディンの影響があるといわれる採血後短時間の血小板機能を評価でき，生体内に近いデータが測定される可能性がある。本装置の各種解析法が，抗血小板薬アスピリンの効果判定やモニタリングへ有用な指標となり得るかを検証した。

アスピリン

アスピリンはドイツ・バイエル社が1897年に開発して以来，世界で繁用されている解熱・鎮痛・消炎剤である。1967年，Weiss HJら[1)]によりアスピリンの血小板凝集抑制作用が見出されて以来，アスピリンの抗血小板剤としての有用性が立証されている。

体内では，シクロオキシゲナーゼ(COX)により，不飽和脂肪酸であるアラキドン酸からプロスタグランディンG_2(prostaglandin G_2: PGG_2)を経て，トロンボキサンA_2(thromboxane A_2: TXA_2)が生成され，その強力な血小板凝集作用で，血小板の二次凝集を来す。アスピリンは，COXの活性を阻害し，TXA_2の生成を抑制し，血小板の二次凝集を抑制する。血小板におけるCOX阻害作用は血小板が本酵素を再合成できないため不可逆的である(**Fig. 1**)。

測定方法および原理

クエン酸加全血200μlを37度で1分間インキュベート後に，血小板凝集惹起物質22μlを添加し，さらに5分間反応させた血液を，マイクロメッシュフィルターの付いたシリンジで反応容器から血液を吸引し測定した(**Fig. 2**)。

[1]新日鐵室蘭総合病院臨床検査科
[2]新日鐵室蘭総合病院心臓血管外科

2005年1月31日受付　　2005年7月23日受理

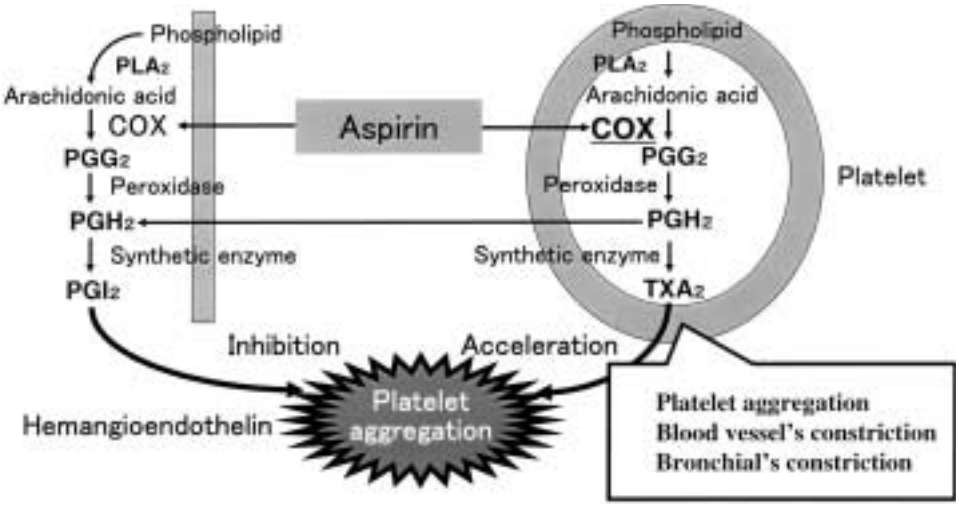

Figure 1 Mechanism of action.
Aspirin checks COX of a blood platelet in irreversible.
PLA_2: phospholipase A_2, COX: cyclooxygenase, PGG_2: prostaglandin G_2, PGH_2: prostaglandin H_2, PGI_2: prostaglandin I_2, TXA_2: thromboxane A_2

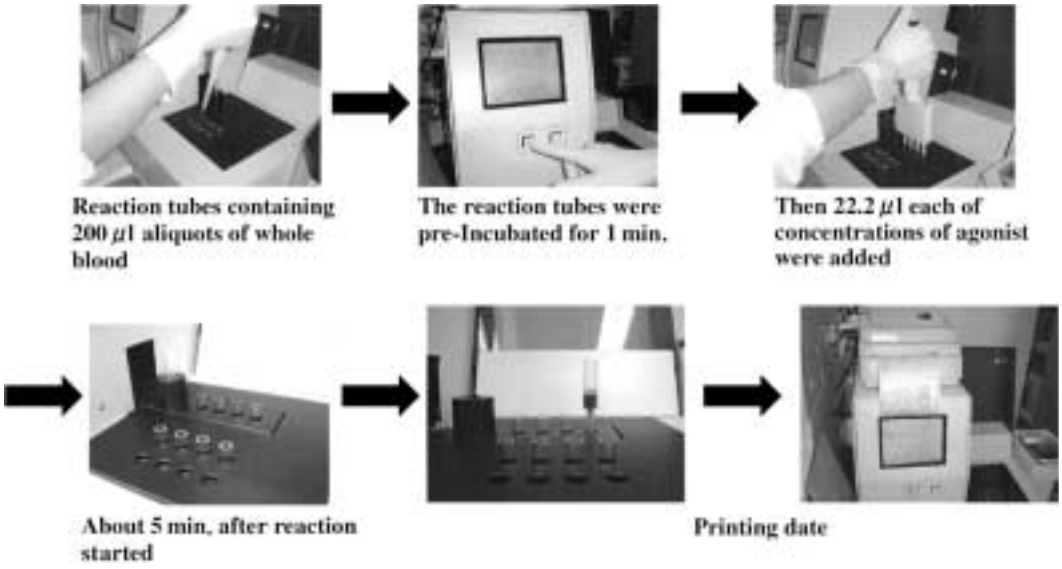

Figure 2 Measurement of whole blood aggregation.
ADP is 22μl added to 200μl of blood 1, and is made to react to it for 5 minutes. Then, blood is attracted.

測定原理[1~3]はscreen filtration pressure(SFP)法を原理とし，直径30μmのフィルターで1 mm^2あたり300個の角形穴が開口しているマイクロメッシュフィルターを通して血液を吸引する際に生じる陰圧を測定し，血小板凝集能の測定を行い分析した(**Fig. 3**)。

分析結果は，グレーディングカーブ，凝集閾値濃度(platelet aggregatory threshold index: PATI)およびG-タイプで表示される。グレーディングカーブは，4濃度の凝集惹起物質で測定した凝集曲線の5分値を結んで得られた曲線である。PATIは，二次凝集が得られる最低

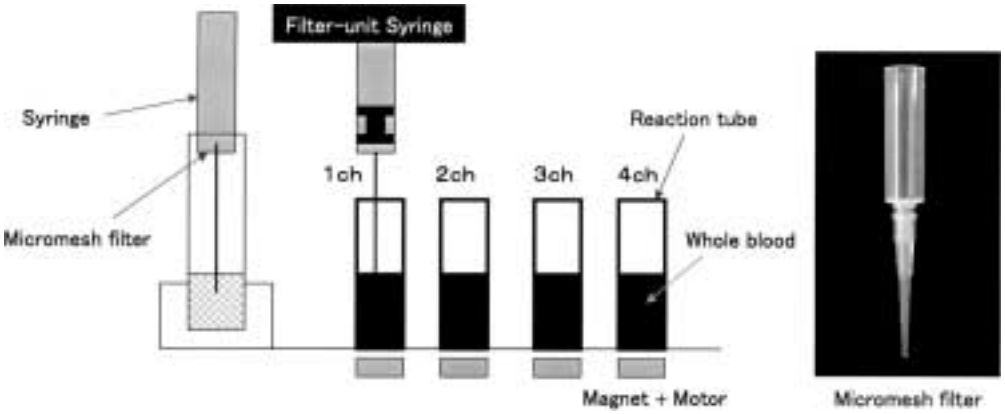

Figure 3　Measurement principle of the whole blood aggregation.
The screen filtration pressure method is made into the principle. Blood is drawn using the injector with the micro mesh filter incorporated. The pressure is measured.

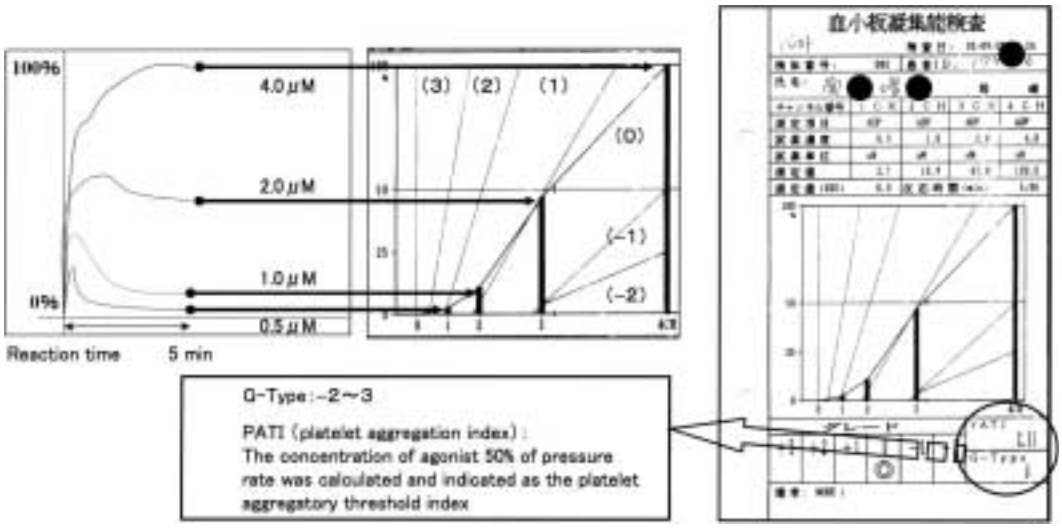

Figure 4　Analysis.
PATI (platelet aggregatory threshold index) and G-type are automatically printed from a grating curve.

凝集惹起濃度を表す。すなわち，二次凝集の最大凝集率を100%とし，50%の凝集率とグレーディングカーブの交差した点からPATI値を算出する。G-タイプは，縦軸に凝集率 5 分値を横軸に凝集惹起物質濃度をプロットし，グレーディングカーブを著明亢進から著明低下までの順に，タイプ+3，+2，+1，0，−1，−2の 6 段階に分類した。グレーディングカーブが複数のタイプにまたがる場合は50%の凝集率のラインを横切る地点のタイプとした(**Fig. 4**)。

透過光法との相関性

透過光法の凝集率をPATI値に換算し，WBAアナライザーとの相関性を見ると，相関係数0.7399，回帰直線y＝0.9533x＋0.1504と良好な相関性を示した(**Fig. 5**)。

検討方法

バイアスピリン100mgを服用している30名(43〜89歳，平均年齢72.4歳)を服用群，抗凝固薬および抗血小

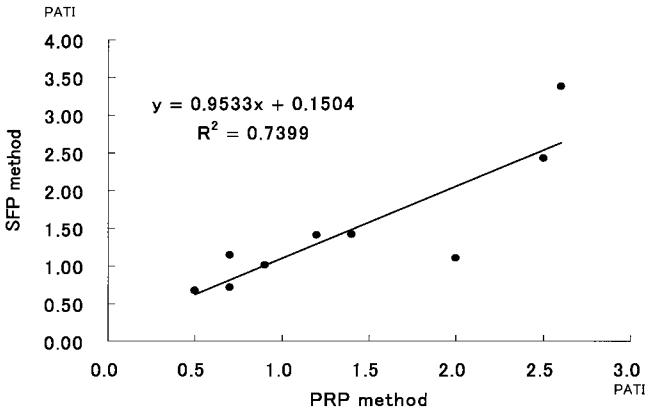

Figure 5 Correlation between PRP and whole blood methods (the SFP method).
SFP: screen filtration pressure, PRP: platelet-rich plasma

Table 1 The various parameters of aspirin group and control group

	Aspirin group	Control group	Unit
Average age	72.2	72.4	years
WBC	6949.2	7451.7	$\times\mu$l
RBC	399.2	424.0	$\times 10^4\mu$l
HGB	12.4	13.0	g/dl
HCT	37.3	38.1	%
PLT	27.1	24.4	$\times 10^4\mu$l

There is no statistically significant difference.

板薬を服用していない31名(51〜81歳，平均年齢72.2歳)を対照群とした。測定装置はエム・シー・メディカル社製の全血血小板凝集能測定装置WBAアナライザーを使用し，ADP0.5，1.0，2.0，4.0μMの4濃度の惹起物質で血小板凝集能を測定し，PATI値および+3〜–2の6段階に分類したG-タイプで評価した。服用群と対照群の各種パラメーターは，**Table 1** に示すように統計学的に有意差は認めていない。

結　果

(1)PATI値

対照群のPATI値は平均1.26 ± 0.94μMであるのに対し，服用群のPATI値は平均3.90 ± 0.30μM と$p < 0.0001$の明らかな有意差を認めた。服用群のPATI＋2SDを基準値とすると1.26〜3.15が基準値となる。すなわち，3.15以上でアスピリンによる抑制効果ありと判断できる。服用群のPATI値の中で，基準値3.15以内に留まった症例は1例3.3%であり，29症例は抑制効果ありと判断された(**Fig. 6**)。

(2)G-タイプ

G-タイプ分類では対照群で0から+3までほぼ均等に分布しているのに対し，服用群では0が6例20%，–1が11例36.7%，–2が13例43.3%の分布であり，対照群との重なりであるG-タイプ0のPATI値は，対照群2.65に対し服用群3.24と有意に服用群で高い値を示していた(**Fig. 7**)。

考　察

アスピリンには抗血小板作用があり心血管イベントの抑制効果が判明し，広く利用されている。アスピリンの作用メカニズムは血小板のCOX活性を不可逆的に

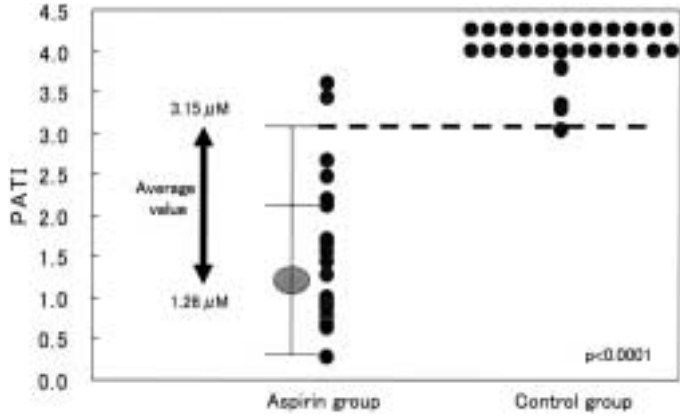

Figure 6　PATI comparison of aspirin group and control group.
The PATI value of control group showed the significant difference with the PATI value of 1.26 ± 0.94μM versus aspirin group of 3.90 ± 0.30μM.

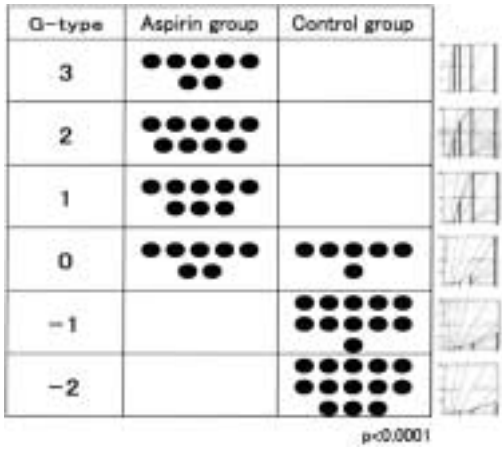

Figure 7　G-type comparison of aspirin group and control group.
G-type of aspirin group is equally distributed to 0〜3. The control group is deviation to the distribution to 0〜−2. A overlap of G-type of aspirin group and control group is the G-type 0.

阻害することにあり，TXA_2の生成が抑制され血小板凝集が阻害される。抗血小板薬の効果判定には，現在，多血小板血漿PRPを作成しADP2濃度法などで行っている[4]。しかし，試料作成や操作の煩雑なことなど大きな障害となっていた。今回，われわれは操作が簡便であり緊急検査としても対応できる全血を試験材料とし，SFP法を原理とする全血血小板凝集能測定装置WBAアナライザーを用いてアスピリン服用における効果判定を試みた。本装置は，採血直後より測定可能なことから，セロトニンやプロスタグランディンの活性をも評価でき，生体内に近い状態で測定することができる。市川ら[5]はPRP法と全血法のPATI値を比較し有意な正相関があること，および全血採取直後の血小板凝集能は，より生体内に近い値が得られることを示唆している。

効果判定には，4 濃度のADPを用い二次凝集の認められる最低凝集惹起濃度を表すPATIおよびグレーディングカーブから求めるG-タイプで評価した。アスピリン服用のない対照群のPATI + 2SDを基準値とすると1.26〜3.15が基準値となる。アスピリン服用群でこの基

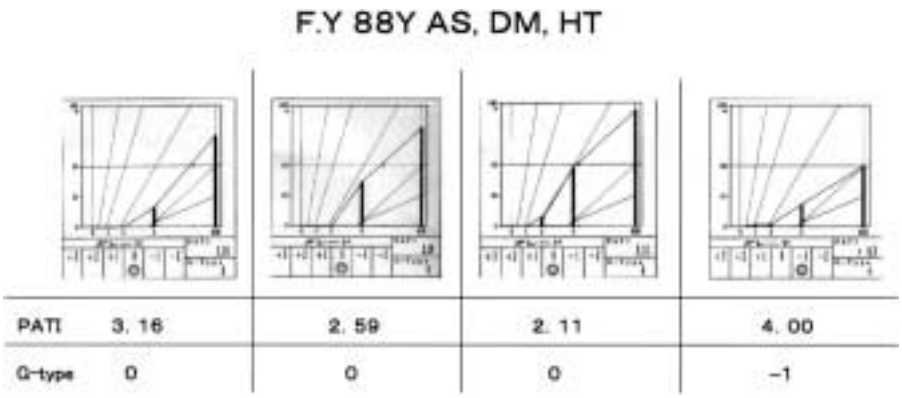

Figure 8 Clinical case.
Result of every month analysis. The symptoms of cerebral infarction are shown in 3.15 or less PATI value by the G-type 0.

準値内に留まった症例は1例のみであり，29症例は効果が確認された。G-タイプ分類では対照群で0から+3までほぼ均等に分布しているのに対し，服用群では0が6例以外は–1または–2であった。対照群との重なりであるG-タイプ0のPATI値を見ると，対照群2.65に対し服用群3.24と，有意に服用群で高い値を示していた。以上から，スクリーニングで全血血小板凝集能測定では，G-タイプで–1～–3であること，G-タイプ0である場合にはPATI値3.15以上であることの確認が必要なことがわかった。

実際の症例では，**Fig. 8** に示したようにG-タイプが0の場合にPATIが3.15以下の場合に，脳梗塞を起こした症例もあり，十分な血小板凝集機能の抑制が必要である(**Fig. 8**)。

血小板凝集能には個体差があり，抗血小板薬服用者の凝集抑制作用をモニタリングする手段として，現在ADP2濃度法が繁用されているが，今回の検討から短時間で検査結果を提供でき，血小板凝集能測定結果のPATIおよびG-タイプを評価基準とし客観的に評価可能であることがわかった。寺倉ら[6,7]，紺野ら[8]も全血血小板凝集能測定が抗血小板薬のモニタリングに有用であることを報告している。また，格ら[9]はジピリダモールなどの赤血球由来アデノシンが作用機序の場合従来のPRP法では効果判定ができず，凝集能測定装置選定が重要と報告している。

以上，本全血血小板凝集能測定装置WBAアナライザーはアスピリン服用者のモニタリングに極めて有用である。

文　献

1) Weiss HJ, Aledort LM: Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin ingestion. Lancet, 1967, **2**: 495–497.
2) 山蔭道明，並木昭義：全血血小板凝集能測定装置WBAアナライザー．臨床麻酔，2002，**26**：75–78.
3) Ozeki Y, Sudo T, Toga K et al: Characterization of whole blood aggregation with a new type of aggregometer by a screen filtration pressure method. Thromb Res, 2001, **101**: 65–72.
4) 水戸将郎：面積値を用いた二濃度法血小板凝集能検査による抗血小板剤効果判定システム(N.S.R II)．エム・シー・メディカル，1–5.
5) 市川喜代子，岩出和徳，青木邦之 他：血小板凝集能における全血法とPRP法の比較．日本血栓止血学会誌，2001，**12**：426.
6) 寺倉守之，一色高明，横山直之 他：抗血小板薬の血小板凝集抑制作用のモニタリングとしての新しい全血血小板凝集測定装置の有用性について虚血性心疾患患者における検討．Journal of Cardiology，2001，**38**：343.
7) 寺倉守之，一色高明，島崎とも江 他：全血を用いた新しい血小板凝集測定装置の有用性に関する検討：採血直後及び1時間後の凝集能の変化とそれに及ぼす抗血小板薬の作用．Japanese Circulation Journal，2000，**64** (Suppl 1)：611.
8) 紺野　衆，近藤竜史，小泉大造 他：全血血小板凝集計によるチクロピジンの抗血小板作用．日本脳卒中学会

誌，2001，**26**：191.
9）格　日楽，矢冨　裕，佐藤金夫 他：ジピリダモールの血小板凝集に対する効果 PRP散乱光法と全血スクリーンフィルター圧法の比較．日本血栓止血学会誌，2001，**12**：423.

Utility of Monitoring Antiplatelet Drug with a Whole Blood Aggregation Meter

Harukatsu Mikami,[1] Fumiaki Terasawa,[1] Keisuke Nakanishi,[2] Atsuhiro Koya,[2]
Norifumi Ohtani,[2] and Toshiaki Kawakami[2]

Department of [1]Clinical Laboratory, [2]Cardiovascular Surgery,
Shinnittetsu Muroran General Hospital, Hokkaido, Japan

Key words: platelet aggregation, screen filtration pressure (SFP), platelet aggregatory threshold index (PATI), G-type

We measured platelet aggregation ability of an aspirin group with a whole blood aggregation meter, and comparison reviewed platelet aggregation ability of a control group. We used platelet aggregatory threshold index (PATI) that provides six classifications to determine platelet aggregation ability. PATI value was 1.26 ± 0.94 μM with the control group and 3.90 ± 0.30 μM with the aspirin group. A significant difference between the two groups was noted. It was one example (3.3%) that PATI marked less than 3.15 in the aspirin taking group whereas more than 3.15 when showing G-0 in the aspirin group. The classification by PATI showed that the inhibitory effect in platelet aggregation ability has reproducibility in the aspirin taking group. Moreover, our study showed that it is a useful method although we evaluated the indication of antiplatelet drug. (J Jpn Coll Angiol, 2005, **45**: 1019–1025)