

文献

- 1) The transfusion requirements on critical care investigators for the Canadian Critical Trials Group (TRICC trials): A multicenter, randomized, controlled clinical trial of transfusion requirements in critical care. *N Engl J Med*, 340:409-417, 1999.
- 2) Hébert P.C., et al.: Is a low transfusion threshold safe in critically ill patients with cardiovascular diseases? *Crit Care Med*. 2001; 29: 227-233.
- 3) Hébert P.C., et al. : Do blood transfusions improve outcomes related to mechanical ventilation? *Chest*. 2001; 119: 1850-7.
- 4) Fang W.C., et al.: Impact of minimum hematocrit during cardiopulmonary bypass on mortality in patients undergoing coronary artery surgery. *Circulation*. 96[supple II]: 194-199, 1997.
- 5) DeFoe G.R., et al.: Lowest hematocrit on bypass and adverse outcomes associated with coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*. 71: 769-776, 2001.
- 6) Habib R.H., et al.: Role of hemodilutional anemia and transfusion during cardiopulmonary bypass in renal injury after coronary revascularization: implications on operative outcome. *Crit Care Med.*, 33: 1749-1756, 2005.
- 7) Spiess B.D., et al.: Hematocrit value on intensive care unit entry influences the frequency of Q-wave myocardial infarction after coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 116: 460-467, 1998.
- 8) Hardy JF, et al.: Influence of haemoglobin concentration after extracorporeal circulation on mortality and morbidity in patients undergoing cardiac surgery. *Br J Anaesth*, 81(Suppl 1); 38-45, 1998.
- 9) Forbess J.M., et al. Neurodevelopmental outcome after congenital heart surgery: results from an institutional registry. *Circulation*. 106(12 Suppl 1): I95-102, 2002.
- 10) Stavinoha P.L. et al. Cardiopulmonary bypass to repair an atrial septal defect does not affect cognitive function in children. *Circulation*. 107: 2722-5, 2003.
- 11) Visconti K.J. et al. Developmental outcome after surgical versus interventional closure of secundum atrial septal defect in children. *Circulation.*, 100 (19 Suppl): II145-50, 1999.
- 12) Jonas R.A., et al. The influence of hemodilution on outcome after hypothermic cardiopulmonary bypass: results of a randomized trial in infants. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 126; 1765-1774, 2003.
- 13) Imabayashi T, et al.: Impact of minimum hemoglobin level during cardiopulmonary bypass on adverse outcomes after repair of tetralogy of Fallot. *Transfusion*, 45: 6A (abstract S14-030D), 2005.

- 14) Engoren M.C., et al.: Effect of blood transfusion on long-term survival after cardiac operation. *Ann Thorac Surg*, 74: 1180-6, 2002.
- 15) 多田英生、筒井裕之、竹下彰、その他. 我が国における冠動脈バイパス術の遠隔成績. *日本臨床* 61 (suppl4) : 583-587, 2003.
- 16) Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers. Human albumin administration in critically ill patients: systematic review of randomized controlled trials. *BMJ*, 317: 235-240, 1998.
- 17) Wilkes M.M., and Navickis R.J.: Patient survival after albumin administration: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Ann Intern Med*, 135: 149-164, 2001.
- 18) Wilkes M.M., et al.: Albumin versus hydroxyethyl starch in cardiopulmonary bypass surgery: A meta-analysis of postoperative bleeding. *Ann Thorac Surg*, 72: 527-34, 2001.
- 19) Sedrakyan A., et al.: Volume expansion with albumin decreases mortality after coronary surgery. *Chest*, 123:1853-1857, 2003.
- 20) Vincent J.L., et al. Hypoalbuminemia in acute illness: is there a rationale for intervention? A meta-analysis of cohort studies and controlled trials. *Ann Surg*, 237: 319-334, 2003.
- 21) The SAFE Study Investigators. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med*, 350: 2247-56, 2004.
- 22) Vincent J.L., et al.: Is albumin administration in the acutely associated with increased mortality? Results of the SOAP study. *Critical Care* 9: R745-R754, 2005.
- 23) Segal J.B., et al. Paucity of studies to support that abnormal coagulation test results predict bleeding in the setting of invasive procedures: an evidence-based review. *Transfusion*, 45: 1413-1425, 2005.
- 24) Stanworth S.J., et al.: Is fresh frozen plasma clinically effective? A systematic review of randomized controlled trials. *Br J Haematol*, 126: 139-152, 2004.
- 25) Casbard A.C., et al.: The role of prophylactic fresh frozen plasma in decreasing blood loss and correcting coagulopathy in cardiac surgery. A systematic review. *Anaesthesia*, 59: 550-558, 2004.
- 26) Nuttall G.A., et al.: Efficacy of a simple intraoperative transfusion algorithm for nonerythrocyte component utilization after cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology* 94:773-781, 2001.
- 27) Despotis G.J. et al.: The effect of an intraoperative treatment algorithm on physicians' transfusion practice in cardiac surgery. *Transfusion*, 34: 290-296, 1994.
- 28) Hardy J-F.: Endpoints in clinical trials on transfusion requirements: the need for a structured approach. *Transfusion*, 45: 9S-13S, 2005.

Figure legends

図1 人工心肺離脱後に出血傾向を伴う患者における輸血アルゴリズム

人工心肺離脱後に出血傾向を伴う患者における、濃厚赤血球 (RBCs)、新鮮凍結血漿 (FFP)、濃厚血小板 (PLTs)、クリオプレチピテート投与による止血を行うための提案されている輸血アルゴリズムの1例。ACT: activated coagulation time, PT: prothrombin time, aPTT: activated partial thromboplastin time, TEG: thromboelastogram (文献28より一部改変の上引用)

人工弁・補助循環における 抗血小板療法

はじめに

人工物が血液に触れる状況である人工弁装着術後や補助循環施行時には、血栓形成を引き起こす危険性が高い。また、生体における病的血栓症は、抗血栓性を低下させるアテローム硬化などの血管壁の変化、血管狭窄部位での異常な高ずり応力や血流のうっ滞などの血流の変化、血漿抗血栓性因子や血小板凝集阻害因子の低下、組織因子の発現が異常に亢進した血球の増加、血漿抗線溶因子の亢進や血液粘稠度の上昇などの血液成分の変化、などが引き金となり発生するため、人工弁装着術後や補助循環施行時にも配慮が必要である。

抗血栓療法として、抗血小板薬と抗凝固薬が用いられる。動脈内での血栓形成には、アスピリンなどの抗血小板薬が使用される。これは、動脈内においては、凝固因子が段階的に活性化されてフィブリン形成に至る凝固系よりも、豊富で速い血流に抗して血管壁の損傷・変性部位に粘着・凝集する性質をもつ血小板の関与が大きいためである。これに対して、肺血栓塞栓症に結びつく深部静脈血栓症や、心原性脳塞栓症を惹起する左房内血栓などは、発症リスクとして血流のうっ滞が特徴的である。このような血流うっ滞下で形成される血栓に対しては、抗凝固薬がより効率的に抑制するとされている。生体で形成される血栓の多くは混合血栓であるが、動脈血栓は血小板系が、静脈血栓は凝固系が中心的役割を演じているといえる。

人工弁装着術や補助循環施行患者においては、基礎疾患として血栓塞栓症をもつ場合が少なくない。さらに機械弁、グラフトなど、異物が挿入されるために抗血小板療法や抗凝固療法が必要となる場合が多い。しかし、人工心肺を用いた手術では、血小板機能低下、凝固障害、線溶系亢進をきたすため、術後早期は出血傾向に傾く。したがって、術後の抗凝固、抗血小板療法は、出血のリスクと血栓塞栓症のリスクとのバランスを考慮することが重要となる。

ここでは、人工弁・補助循環における抗血小板療法の現況について概説する。

I. 人工弁装着術後における抗凝固・抗血小板療法

わが国において年間1万例以上の人工弁置換術が行われるようになり、その成績も安定してきている。人工弁術後にはワルファリンカリウム（ワルファリン）を用いた抗凝固療法が一般的¹⁾で、用いる人工弁、手術後の時期および部位によって以下のコントロールが示されている²⁾。

1) 人工弁置換術後3カ月以内：PT-INR(prothrombin time-international normalized ratio：プロトロンビン時間の国際標準化比) 2.0～3.0

2) 人工弁置換術後3カ月以降

機械弁●大動脈弁置換術

危険因子なし 二葉弁、Medtronic Hall[®]弁：PT-INR 2.0～2.5

他のディスク弁、Starr-Edward[®]弁：PT-INR 2.0～3.0

危険因子あり：PT-INR 2.0～3.0

●僧帽弁置換術：PT-INR 2.0～3.0

生体弁+危険因子あり：PT-INR 2.0～3.0

(危険因子：心房細動、血栓塞栓症の既往、左心機能の低下、凝固亢進状態)

また、上記の治療を行っているにもかかわらず血栓塞栓症を発症した患者に対しては、PT-INRを2.5～3.5にコントロールする、あるいは抗血小板薬としてアスピリンまたはジピリダモールを併用することを検討する³⁾。

日本人における人工弁に関するワルファリンコントロールについては、血栓や出血性のイベントの報告⁴⁾があり、今後さらに至適PT-INRについて検討が必要と考えられる。

また、脳梗塞発症予防に対しては抗血小板薬、特に低用量アスピリンの効果が期待されている⁵⁾。現在、虚血性脳血管障害のリスクをもつ機械弁置換術後の心房細動例に対する、ワルファリンによるPT-INR 2.0～3.0のコントロールと低用量アスピリンの併用効果について、無作為化比較対照試験が行われている。

II. 補助循環患者における抗凝固・抗血小板療法

現在用いられる補助循環としては、IABP (intra-aortic balloon pumping：大動脈内バルーンポンピング)、PCPS(ECMO)(percutaneous cardiopulmonary support：経皮的な心肺補助法 [extracorporeal membrane oxygenator：膜型人工肺による機械的呼吸循環補助])、VAS (ventricular assist system：補助人工心臓)がある。このなかで、前2者は急性期において簡

便に用いられる循環補助手段であり、通常ヘパリンによる抗凝固療法が行われる。これに対し、VASは強力な長期にわたる循環補助が必要な場合に適応されており、安定状態で継続するため、ワルファリンや抗血小板薬による治療が必要となる。現在行われている治療を次に示す。

1. IABP

IABP挿入後、ヘパリン(未分画)(1万単位/日)を投与する。なお、活性化凝固時間(ACT: activated clotting time)を200秒前後に維持するのが望ましい。

2. PCPS (ECMO)

PCPS挿入時に全身ヘパリン化(100単位/kg)を行う。

駆動開始後、ヘパリンコーティング回路を用いる場合には、ACTを180～200秒前後に維持するようヘパリンを投与する。通常回路を用いる場合には、ACTを250～300秒に維持する。

なお、離脱を図るために流量を2L/min以下にする場合には、目標ACTを増加する。

3. VAS (補助人工心臓)

現在わが国で用いられる主なVASとしては、体外設置方式の東洋紡型と、体内植込み型のNovacor[®]およびHeartMate-VE[®]がある。VASにおける血栓形成に関与する主な因子として、血液接触面の性状と用いられる人工弁がある。血液接触面に関しては、通常smooth surface(平滑面)が用いられ、HeartMate-VE[®]ではrough surface(粗面)が用いられている。また、最近ではsmooth surfaceにおいても各種のコーティング(ヘパリンなど)を施し、抗血栓性の向上が図られている。また、人工弁に関しては、体外設置型では機械弁が用いられ、体内植込み型では生体弁が用いられている。

抗血栓療法として、血液接触面をsmooth surfaceにしているものでは、従来ワルファリンおよびヘパリンによる抗凝固療法が主として行われてきた。筆者らも、東洋紡型VASにおいて、当初ワルファリン(PT-INRの目標値:2～3)あるいはヘパリンによる抗凝固療法による管理を行った。しかし、早期に血液ポンプ内に血栓形成を認めることが多く、頻回の血液ポンプ交換が必要であった。装着術後早期の血栓を検討すると、白色血栓が多く、白血球数1万/mm³以上および血小板数10万/mm³以上になった場合に発生しやすかった。そこで、PT-INRの目標値を3～4とするとともに抗血小板療法を併用するようにしたところ、血栓形成の危険性が減少した¹⁾。これに対し、rough surfaceを持つHeartMate-VE[®]では血栓形成の危険性が少ないとされ、通常抗血小板療法のみが行われる。

VAS症例の増加に伴い、安定した抗血栓療法がより望まれるようになっている。ワルファリンに関しては、PT-INRによるコントロールが可能であるが、抗血小板薬のコントロールが今

14. 人工弁・補助循環における抗血小板療法

後の課題であり、各種血小板機能検査によるコントロールが検討されている。筆者らは、すり応力下血小板血栓形成能(後述)を用いている。

以下に筆者らの抗凝固および抗血小板療法について述べる。

(1) 東洋紡型 LVAS (left ventricular assist system : 左心補助人工心臓) (機械弁, 血液接触面 : smooth surface)

術中はヘパリンを用い、その後硫酸プロタミン(プロタミン)で中和を行う。再手術時などではアプロチニンを併用する。装着早期には、外科的出血がコントロールされるまで原則的に抗凝固療法を行わない。早期抜管が可能な場合には、初期からワルファリンによる抗凝固療法と抗血小板薬による抗血小板療法を行う。

経口が開始された段階でワルファリンを開始、当初の目標 PT-INR は 2 とし、その後 3 ~ 4 を目標値とする。経口摂取ができない場合には、経鼻胃管からの投与を試みる。早期に経口や経鼻胃管から投与できない場合には、外科的出血が落ち着いた段階で低分子ヘパリンを投与する。なお、PT-INR が目標値以下の場合、表 1 に示すようにワルファリン増量による調整と、低分子ヘパリン(フラグミン[®])を併用する。また、PT-INR が目標値以上の場合、ワルファリンの減量/休薬と凍結血漿の投与を表 1 のプロトコールに従って行う。

表 1 LVAS 装着患者の抗凝固療法

PT-INR	ワルファリン	フラグミン [®] (単位/kg/時間)	凍結血漿
< 2	増量	10	(-)
2 ~ 2.5	増量	7.5	(-)
2.5 ~ 3	増量	5	(-)
3 ~ 4	【目標域】	(-)	(-)
4 ~ 5	減量/休薬	(-)	(-)
5 ~ 5.5	休薬	(-)	(考慮)
5.5 <	休薬	(-)	投与

また、経口摂取不良となった場合、発熱、疼痛などにより鎮痛解熱薬を投与した場合、および感染症を伴った場合には、PT-INR の上昇に注意する必要がある。PT-INR を補正する場合、通常ビタミン K 投与は行わない。これは、ビタミン K でリバースした場合、リバウンドがあり、さらに再度の PT-INR コントロールに難渋するためである。出血を伴った場合には、ワルファリン投与を中止し凍結血漿を投与することに加え、乾燥ヒト血液凝固第Ⅷ因子複合体制剤の使用を考慮する。

併用する抗血小板療法としては、経口摂取が開始された段階で、外科的出血を考慮した上、

アスピリン 81 mg/日あるいはバイアスピリン 100 mg/日で開始する。また、血小板数が 10 万/mm³ を越えた場合には可及的早期に投与を開始する。投与開始 4 日から 1 週後に血小板機能検査（ずり応力下血小板血栓形成能）を行い、必要に応じ投与量の追加あるいは減量を行う。その後適宜、血小板機能検査を行い、アスピリンの投与量を調整する。

(2) Novacor[®] LVAS (生体弁, 血液接触面: smooth surface)

術中はヘパリンを用い、体外循環離脱後プロタミンで中和を行う。術後早期は、外科的出血がコントロールされてから抗凝固療法を開始する。経口摂取開始後は、ワルファリン:PT-INR を 2.5 ~ 3.5 に維持する。抗血小板薬として欧米では、アスピリンを 100 ~ 200 mg (状況により ~ 600 mg) / 日投与し、必要に応じて、ジピリダモール (150 mg × 2 ~ 4 回/日) や塩酸チクロピジン (チクロピジン) (200 ~ 400 mg/日) を併用することが勧められている。筆者らは、前項の東洋紡 VAS と同様の対応を行っている。

(3) HeartMate-VE[®] (生体弁, 血液接触面: rough surface)

術中はヘパリンを用い、体外循環離脱後プロタミンで中和を行う。術後外科的出血がコントロール (ドレーンからの出血量 < 60 mL/h) されてから抗血小板療法を開始する。通常アスピリン (81 ~ 100 mg/日) で開始し、血小板機能測定の結果を参考に調整する。また、必要に応じてジピリダモール (75mg × 3/日) を併用する。

流量低下や経口摂取不良時など臨床所見に応じて、ヘパリンあるいはワルファリンによる抗凝固療法を併用する。

Ⅲ. ずり応力下血小板血栓形成能

血小板機能の検討において、測定環境の重要性が指摘されている。すなわち、血小板は生体内では血管内皮近傍を流れ、血流の特性による速度勾配によって生じるずり応力に絶えずさらされながら循環している。血管内皮細胞は nitric oxide (一酸化窒素)、prostaglandin (プロスタグランジン) などを産生し、血小板粘着が起らないように血管のダイナミクスを支えている。しかし、いったん血管内皮に外傷などで損傷が起ると、血管内皮下組織 (主にコラーゲンからなる) と反応する形で血小板粘着が生じ、それに引き続いて血小板凝集、血栓形成が引き起こされる。この際、ずり応力依存性に血小板粘着、凝集が引き起こされることが明らかとなっている¹⁰⁾。

したがって、生体内での血小板機能の評価においては、血流存在下 (ずり応力下) における血小板の機能を常に考慮する必要がある¹⁾。これらの点を踏まえ、筆者らは、抗血小板薬の効果

14. 人工弁・補助循環における抗血小板療法

を、できる限り生理的状況下に近い形で検討するために、全血を用い流動状況下で検討する方法をとっている。すなわち、平行板型フローチャンバーを用い、患者全血を対象として、コラーゲン固相表面上でのずり応力下血小板血栓形成能を測定することで、血小板機能を評価している。

現在、この新しい評価系の有効性を確認するための臨床試験を実施している。

おわりに

人工物を血液に接触させる人工弁装着あるいは補助循環においては、血栓形成のコントロールが重要であり、人工弁や人工物の血液接触面の生体適合性の向上を目指して、材料や血液接触面の性状(rough surface, ヘパリンコーティングなど)の検討が行われているが、血液の血栓形成能の制御も必要である。従来ワルファリンが中心であったが、血栓形成における血小板の役割の重要性が認識されるにつれ、抗血小板薬の併用が検討されている。人工心臓においては、抗血小板薬の併用は必須となっているが、人工弁においては今後の検討が待たれる状況である。

(中谷 武嗣・宮田 茂樹)

● 文 献

- 1) Bonow RO, Carabello B, de Leon AC Jr, et al : ACC/AHA Guidelines for the management of patients with valvular heart disease : Executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Patients with Valvular Heart Disease). *Circulation* 98 : 1949-1984, 1998
- 2) Stein P, Alpert JS, Bussey HI, et al : Antithrombotic therapy in patients with mechanical and biological prosthetic heart valves. *Chest* 119 : 220S-227S, 2001
- 3) Hirsh J, Fuster V, Ansell J, et al : American Heart Association/American College of Cardiology foundation guide to warfarin therapy. *Circulation* 107 : 1692-1711, 2003
- 4) 循環器疾患における抗凝固・抗血小板療法に関するガイドライン. *Circulation J* 68 (Supplement IV) : 1167-1169, 1196-1197, 2004
- 5) Bando K, Kobayashi J, Kosakai Y, et al : Impact of Cox maze procedure on outcome in patients with atrial fibrillation and mitral valve disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 124 : 575-583, 2002
- 6) Patrono C : Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med* 330 : 1287-1294, 1994
- 7) Awtry EH, Loscalzo J : Aspirin. *Circulation* 101 : 1206-1218, 2000
- 8) 中谷武嗣, 花谷彰久 : 補助人工心臓、心臓移植時の Brain attack. *Cardiovascular Med-Surg* 6 : 499-502, 2004
- 9) 川合明彦 : 補助人工心臓駆動時の脳梗塞発生の実際. *Cardiovascular Med-Surg* 6 : 493-497, 2004
- 10) Ruggeri ZM : Platelets in atherothrombosis. *Nature Medicine* 8 : 1227-1234, 2002
- 11) Tsuji S, Sugimoto M, Miyata S, et al : Real-time analysis of mural thrombus formation in various platelet aggregation disorders : distinct shear-dependent roles of platelet receptors and adhesive proteins under flow. *Blood* 94 : 968-975, 1999
- 12) www.clinicaltrials.gov (ClinicalTrials.gov Identifier : NCT00250380)

Adiponectin Acts as an Endogenous Antithrombotic Factor

Hisashi Kato, Hirokazu Kashiwagi, Masamichi Shiraga, Seiji Tadokoro, Tsuyoshi Kamae, Hidetoshi Ujiie, Shigenori Honda, Shigeki Miyata, Yoshinobu Ijiri, Junichiro Yamamoto, Norikazu Maeda, Tohru Funahashi, Yoshiyuki Kurata, Ichiro Shimomura, Yoshiaki Tomiyama, Yuzuru Kanakura

Objective—Obesity is a common risk factor in insulin resistance and cardiovascular diseases. Although hypoadiponectinemia is associated with obesity-related metabolic and vascular diseases, the role of adiponectin in thrombosis remains elusive.

Methods and Results—We investigated platelet thrombus formation in adiponectin knockout (APN-KO) male mice (8 to 12 weeks old) fed on a normal diet. There was no significant difference in platelet counts or coagulation parameters between wild-type (WT) and APN-KO mice. However, APN-KO mice showed an accelerated thrombus formation on carotid arterial injury with a He-Ne laser (total thrombus volume: $13.36 \pm 4.25 \times 10^7$ arbitrary units for APN-KO and $6.74 \pm 2.87 \times 10^7$ arbitrary units for WT; $n=10$; $P<0.01$). Adenovirus-mediated supplementation of adiponectin attenuated the enhanced thrombus formation. In vitro thrombus formation on a type I collagen at a shear rate of 250 s^{-1} , as well as platelet aggregation induced by low concentrations of agonists, was enhanced in APN-KO mice, and recombinant adiponectin inhibited the enhanced platelet aggregation. In WT mice, adenovirus-mediated overexpression of adiponectin additionally attenuated thrombus formation.

Conclusion—Adiponectin deficiency leads to enhanced thrombus formation and platelet aggregation. The present study reveals a new role of adiponectin as an endogenous antithrombotic factor. (*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:224-230.)

Key Words: acute coronary syndromes ■ obesity ■ platelets ■ thrombosis

Obesity is associated with insulin resistance, accelerated atherothrombosis, and cardiovascular diseases.^{1,2} Recent studies have revealed that adipose tissue is not only a passive reservoir for energy storage but also produces and secretes a variety of bioactive molecules, known as adipocytokines, including tumor necrosis factor (TNF) α , leptin, resistin, and plasminogen activator inhibitor type-1.²⁻⁴ Dysregulated production of adipocytokines participates in the development of obesity-related metabolic and vascular diseases.²⁻⁴

Adiponectin is an adipocytokine identified in the human adipose tissue cDNA library, and Acrp30/AdipoQ is the mouse counterpart of adiponectin (reviewed in reference⁵). Adiponectin, of which mRNA is exclusively expressed in adipose tissue, is a protein of 244 amino acids consisting of 2 structurally distinct domains, an N-terminal collagen-like domain and a C-terminal complement C1q-like globular domain. Adiponectin is abundantly present in plasma (5 to 30 $\mu\text{g/mL}$), and its plasma concentration is inversely related to the body mass index.⁵ Plasma adiponectin levels decrease in

obesity, type 2 diabetes, and patients with coronary artery disease (CAD).⁵⁻⁹ Indeed, adiponectin (APN) knockout (KO) mice showed severe diet-induced insulin resistance.¹⁰ In cultured cells, we have demonstrated that human recombinant adiponectin inhibited the expression of adhesion molecules on endothelial cells, the transformation of macrophages to foam cells, and TNF- α production from macrophages.^{5,11} Furthermore, APN-KO mice showed severe neointimal thickening in mechanically injured arteries.¹² Adenovirus-mediated supplementation of adiponectin attenuated the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice as well as postinjury neointimal thickening in APN-KO mice.^{12,13} These data suggest the antiatherogenic properties of adiponectin, and, hence, hypoadiponectinemia may be associated with a higher incidence of vascular diseases in obese subjects. Although it is also possible that an altered hemostatic balance may contribute to the pathogenesis of acute cardiovascular events in such patients, the roles of adiponectin in hemostasis and thrombosis remains elusive.

Original received August 4, 2005; final version accepted October 24, 2005.

From the Departments of Hematology and Oncology (H. Kato, H. Kashiwagi, M.S., S.T., T.K., H.U., Y.T., Y.Ka.) and Internal Medicine and Molecular Science (N.M., T.F., I.S.), Graduate School of Medicine, Osaka University, Suita; National Cardiovascular Center Research Institute (S.H.), Suita, Osaka; Division of Transfusion Medicine (S.M.), National Cardiovascular Center, Suita, Osaka; Department of Nutrition Management (Y.I.), Faculty of Health Science, Hyogo University, Kakogawa, Hyogo; Laboratory of Physiology, Faculty of Nutrition (J.Y.) and High Technology Research Centre (J.Y.), Kobe Gakuin University, Kobe; and Department of Blood Transfusion (Y.Ku.), Osaka University Hospital, Suita, Japan.

Correspondence to Yoshiaki Tomiyama, Osaka University, Department of Hematology and Oncology, 2-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan. E-mail yoshi@hp-blood.med.osaka-u.ac.jp

© 2005 American Heart Association, Inc.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. is available at <http://www.atvbaha.org>

DOI: 10.1161/01.ATV.0000194076.84568.81

Here we have provided the first evidence that adiponectin affects thrombus formation, and, hence, hypoadiponectinemia may directly contribute to acute coronary syndrome. Our data indicate a new role of adiponectin as an antithrombotic factor.

Methods

Mice

APN-KO male mice (8 to 12 weeks old) were generated as described previously.^{10,12} We analyzed mice backcrossed to C57BL/6 for 5 generations.^{10,12}

Preparation of Mouse Platelets and Measurement of Coagulation Parameters

Mouse platelet-rich plasma (PRP) was obtained as described previously.¹⁴ Coagulation parameters were measured by SRL Inc.

Platelet Aggregation Study, Adhesion Study, and Flow Cytometry

Platelet aggregation and platelet adhesion study was performed as described previously.¹⁴ Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ activation and α -granule secretion of wild-type (WT) and APN-KO platelets were detected by phycoerythrin-conjugated JON/A monoclonal antibody (mAb), which binds specifically to mouse-activated $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Emfret Analytics) and FITC-conjugated anti-P-selectin mAb (Becton Dickinson), respectively.¹⁴

Assessment of Atherosclerosis and Bleeding Time Measurement

Assessment of atherosclerosis was performed as described previously.¹⁵ The tail of anesthetized mice (nembuto 65 mg/kg; 8 to 12 weeks old) was transected 5 mm from the tip and then immersed in 0.9% isotonic saline at 37°C. The point until complete cessation of bleeding was defined as the bleeding time.

He-Ne Laser-Induced Thrombosis

The observation of real-time thrombus formation in the mouse carotid artery was performed as described previously.¹⁵ Anesthetized mice (nembuto 65 mg/kg) were placed onto a microscope stage, and the left carotid artery (450 to 500 μ m in diameter) was gently exposed. Evans blue dye (20 mg/kg) was injected into the left femoral artery via an indwelled tube, and then the center of the exposed carotid artery was irradiated with a laser beam (200 μ m in diameter at the focal plane) from a He-Ne laser (Model NEO-50MS; Nihon Kagaku Engineering Co. Ltd). Thrombus formation was recorded on a videotape through a microscope with an attached CCD camera for 10 minutes. The images were transferred to a computer every 4 s, and the thrombus size was analyzed using Image-J software (National Institutes of Health). We calculated thrombus size by multiplying each area value and its grayscale value together. We then regarded the total size values for an individual thrombus obtained every 4 s during a 10-minute observation period as the total thrombus volume and expressed them in arbitrary units.

Flow Chamber and Perfusion Studies

The real-time observation of mural thrombogenesis on a type I collagen-coated surface under a shear rate of 250 s^{-1} was performed as described previously.¹⁶ Briefly, whole blood obtained from anesthetized mice was anticoagulated with argatroban, and then platelets in the whole blood were labeled by mepacrine. Type I collagen-coated glass cover slips were placed in a parallel plate flow chamber (rectangular type; flow path of 1.9-mm width, 31-mm length, and 0.1-mm height). The chamber was assembled and mounted on an epifluorescence microscope (Axiovert S100 inverted microscope, Carl Zeiss Inc) with the computer-controlled z-motor (Ludl Electronic Products Ltd). Whole blood was aspirated through the chamber, and the entire platelet thrombus formation process was observed in real time and recorded with a video recorder.

Preparation of Adenovirus and Recombinant Adiponectin

Adenovirus producing the full-length mouse adiponectin was prepared as described previously.¹⁰ Plaque-forming units (1×10^8) of adenovirus-adiponectin (Ad-APN) or adenovirus- β -galactosidase (Ad- β gal) were injected into the tail vein. Experiments were performed on the fifth day after viral injection. The plasma concentrations of adiponectin were measured by a sandwich ELISA. Mouse and human recombinant proteins of adiponectin were prepared as described previously.^{11,17}

RT-PCR

Total cellular RNA of platelets from WT or APN-KO mice was obtained, and contaminated genomic DNA was removed using a QuantiTect Reverse-Transcription kit (QIAGEN). One microgram of total RNA was used as a template for RT-PCR as described previously.¹⁸ For the amplification of transcripts of mouse adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2, the following primers were used: mouse AdipoR1 5'-ACGTTGGAGAGTCATCCCGTAT-3' (sense) and 5'-CTCTGTGTGGATGCCGAAGAT-3' (antisense) and mouse AdipoR2 5'-TGCCGACACATTTTCAGTCTCCT-3' (sense) and 5'-TTCTATGATCCCAAAAAGTGTGC-3' (antisense).^{19,20} For human platelet isolation, PRP obtained from 50 mL of whole blood was passed through a leukocyte removal filter as described previously.²¹ This procedure removed >99.9% of the contaminated leukocytes.²¹ For human AdipoR1 and AdipoR2, the following primers were used: human AdipoR1 5'-CTTCTACTGCTCCCCACAGC-3' (sense) and 5'-GACAAAGCCCTCAGCGATAG-3' (antisense) human AdipoR2 5'-GGACCAGCAAAAGACTCAG-3' (sense) and 5'-CACCCAGAGGCTGTACTTTC-3' (antisense). In addition, total cellular RNA obtained from a megakaryocytic cell line, CMK, and that from a human monocytic cell line, THP-1 (positive control)²² was examined in parallel. RT-PCR samples omitting reverse transcriptase were used as negative controls.

Statistical Analysis

Results were expressed as mean \pm SD. Differences between groups were examined for statistical significance using Student *t* test.

Results

Characteristics of Adiponectin-Deficient Mice and Assessment of Atherosclerotic Lesions

The basal profiles of APN-KO male mice have been previously described.^{10,12} To exclude the effects of diet on APN-KO mice, we used APN-KO male mice (8 to 12 weeks old) fed on a normal diet in this study. There were no differences in platelet counts, PT, APTT, and plasma fibrinogen concentrations (Table 1, available online at <http://atvb.ahajournals.org>). Histological analyses revealed that neither Oil Red O staining of the inner surface of whole aorta nor elastin-van Gieson staining of transverse sections of carotid arteries showed any apparent atherosclerotic lesions in WT or APN-KO mice (data not shown).

Bleeding Time in APN-KO Mice

To examine the effects of adiponectin deficiency on thrombosis and hemostasis, we studied bleeding time in APN-KO mice. The bleeding time in APN-KO mice was slightly but significantly shorter (96.9 ± 34.9 s; $n=30$; $P<0.05$) than that in WT mice (130.9 ± 52.1 s; $n=30$).

Enhanced Thrombus Formation in APN-KO Mice and Adiponectin Adenovirus Ameliorates the Thrombogenic Tendency

We next examined the effect of adiponectin deficiency on thrombus formation using the He-Ne laser-induced carotid

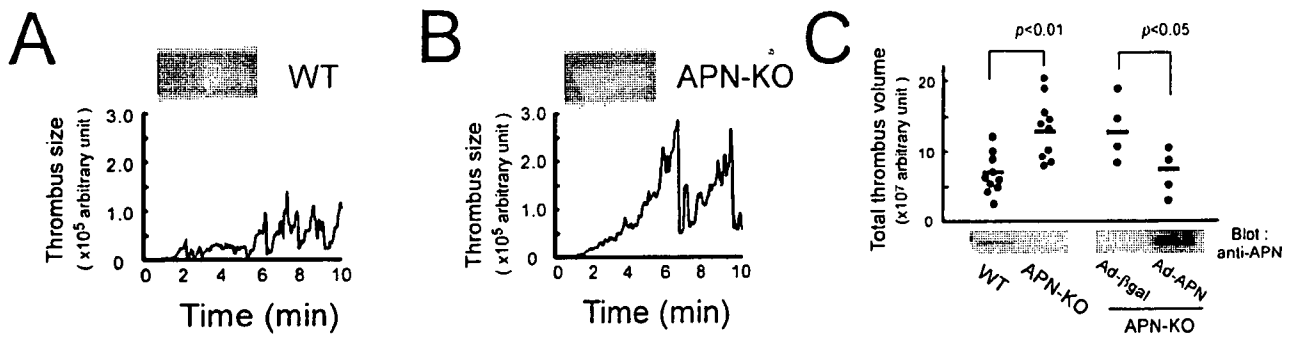


Figure 1. He-Ne laser-induced thrombus formation and adenovirus-mediated supplementation of adiponectin. Anesthetized mice were injected with Evans blue dye followed by irradiation with the He-Ne laser at the exposed left carotid artery. The representative time course of thrombus formation in (A) WT or (B) APN-KO mice is shown. (C) The total thrombus volume was significantly larger in APN-KO mice ($n=10$; $P<0.01$). In another set of experiments, administration of adenovirus-producing mouse adiponectin (Ad-APN) significantly attenuated the total thrombus volume, as compared with control adenovirus (Ad- β gal)-infected APN-KO mice ($n=4$; $P<0.05$). Plasma adiponectin levels detected in immunoblots are shown in the lower panel.

artery thrombus model. Endothelial injury of the carotid artery was induced by the interaction of Evans blue dye with irradiation from the He-Ne laser. In WT mice, thrombus formation started 61.0 ± 25.0 s after the initiation of He-Ne laser irradiation ($n=10$). When the thrombi reached a certain size, they frequently ruptured and detached themselves from the wall because of increased shear stress. Thus, thrombus formation in this *in vivo* model showed a cyclic fluctuation, and complete occlusion was not observed (Figure 1). During a 10-minute observation period, the cycles of thrombus formation were 8.5 ± 2.3 in WT mice. In APN-KO mice, there was no significant difference in the initiation time for thrombus formation (54.8 ± 8.9 s; $n=10$; $P=0.46$). However, the cycles of thrombus formation during the 10-minute observation period were significantly fewer (5.4 ± 2.0 ; $n=10$; $P<0.01$) in APN-KO mice. The thrombi in APN-KO mice grew larger and appeared to be stable and more resistant to the increased shear stress. Accordingly, the total thrombus volume was significantly larger in APN-KO mice ($6.74 \pm 2.87 \times 10^7$ arbitrary units in WT mice and $13.36 \pm 4.25 \times 10^7$ arbitrary units in APN-KO mice; $n=10$; $P<0.01$).

To confirm that adiponectin deficiency is responsible for the enhanced thrombus formation in APN-KO mice, we injected Ad- β gal or Ad-APN into APN-KO mice. On the fifth day after adenoviral injection, we confirmed the elevated plasma adiponectin level in Ad-APN-infected APN-KO mice in an ELISA assay (48.7 ± 6.8 μ g/mL; $n=4$), as well as in an immunoblot assay. In the carotid artery thrombus model, the total thrombus volume in Ad- β gal-infected APN-KO was $12.94 \pm 4.67 \times 10^7$ arbitrary units, which was compatible with that of APN-KO mice shown in Figure 1. In contrast, Ad-APN infection significantly decreased the total thrombus volume in APN-KO mice ($6.23 \pm 3.09 \times 10^7$ arbitrary units; $n=4$; $P<0.05$). These results indicate that adiponectin deficiency is responsible for the thrombogenic tendency *in vivo*.

Platelet-Thrombus Formation on Immobilized Collagen Under Flow Conditions

Because endothelial function may affect *in vivo* thrombus formation, we next performed *in vitro* mural thrombus formation on a type I collagen-coated surface under flow conditions. Figure 2 shows thrombus formation during a

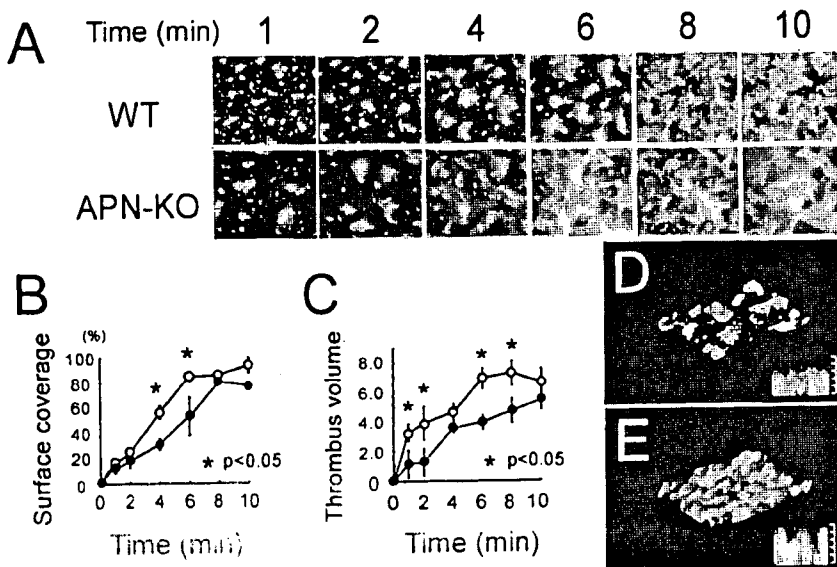


Figure 2. Thrombogenesis on a type I collagen-coated surface under flow conditions. (A) Mepacrine-labeled blood obtained from WT (top) or APN-KO mice (bottom) was perfused on a type I collagen-coated surface at a shear rate of 250 s^{-1} . (B) Platelet surface coverage (%) and (C) thrombus volume are shown at indicated time points. (●, WT; ○, APN-KO; * $P<0.05$). Shown are representative 3D images of thrombus formation at 6-minute perfusion in whole blood obtained from (D) WT and (E) APN-KO mice. Each inserted figure shows thrombus height.

10-minute perfusion of mouse whole blood anticoagulated with thrombin inhibitor at a low shear rate (250 s^{-1}). In whole blood obtained from WT mice, the thrombus fully covered the collagen-coated surface after 8 to 10 minutes of perfusion. In contrast, the thrombus grew more rapidly and fully covered the surface at 6 minutes in APN-KO mice. At 1 and 2 minutes of perfusion, there was no apparent difference in the initial platelet adhesion to the collagen surface between WT and APN-KO mice, whereas the platelet aggregate formation was significantly enhanced in APN-KO, even at 1 minute. We additionally examined the possibility that adiponectin might inhibit platelet adhesion onto collagen, because adiponectin binds to collagen types I, III, and V.²³ However, mouse recombinant adiponectin ($40 \mu\text{g/mL}$) did not inhibit the adhesion of platelets onto collagen, indicating that the inhibitory effect of adiponectin is not mediated by the inhibition of platelet binding to collagen (data not shown). At a high shear rate (1000 s^{-1}), the thrombus grew rapidly and fully covered the surface within 3 to 4 minutes. Under such strong stimuli, we did not detect any difference in thrombus formation between WT and APN-KO mice, probably because of the full activation of platelets.

Adiponectin Inhibits the Enhanced Platelet Aggregation in APN-KO Mice

In platelet aggregation studies, PRP obtained from APN-KO mice showed significantly enhanced platelet aggregation in response to low doses of agonists (ADP $2.5 \mu\text{mol/L}$, collagen $2.5 \mu\text{g/mL}$, and protease-activated receptor 4-activating peptide [PAR4-TRAP] $75 \mu\text{mol/L}$), as compared with WT mice (Figure 3). The maximal platelet aggregation was achieved at higher concentrations of agonists, and the enhanced platelet aggregation in APN-KO mice was not apparent at these high doses of agonists, probably because of the full activation of platelets.

To confirm the inhibitory effect of adiponectin on platelet aggregation *in vitro*, we mixed 1 volume of PRP obtained from APN-KO mice with 4 volumes of platelet-poor plasma (PPP) obtained from APN-KO mice injected with either Ad- βgal or Ad-APN to adjust platelet counts to $300 \times 10^3/\mu\text{L}$. As shown in Figure 4A, the *in vitro* supplementation of PPP containing adiponectin attenuated the enhanced platelet aggregation. Similarly, *in vitro* administration of mouse recombinant adiponectin ($40 \mu\text{g/mL}$) to PRP from APN-KO mice attenuated the enhanced platelet aggregation (Figure 4B).

Expression of Adiponectin Receptors in Platelets and Effects of Adiponectin Deficiency on $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ Activation and P-Selectin Expression

To reveal the effect of adiponectin on platelets, we examined whether platelets possess transcripts for adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 by using RT-PCR. As shown in Figure 5A, platelets from APN-KO, as well as WT mice, contained mRNAs for AdipoR1 and AdipoR2. We also confirmed that the human megakaryocytic cell line CMK, as well as carefully isolated human platelets, possessed mRNAs for AdipoR1 and AdipoR2. We next examined the effects of adiponectin deficiency on $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ activation and α -granule secretion at various concentrations of agonists by flow

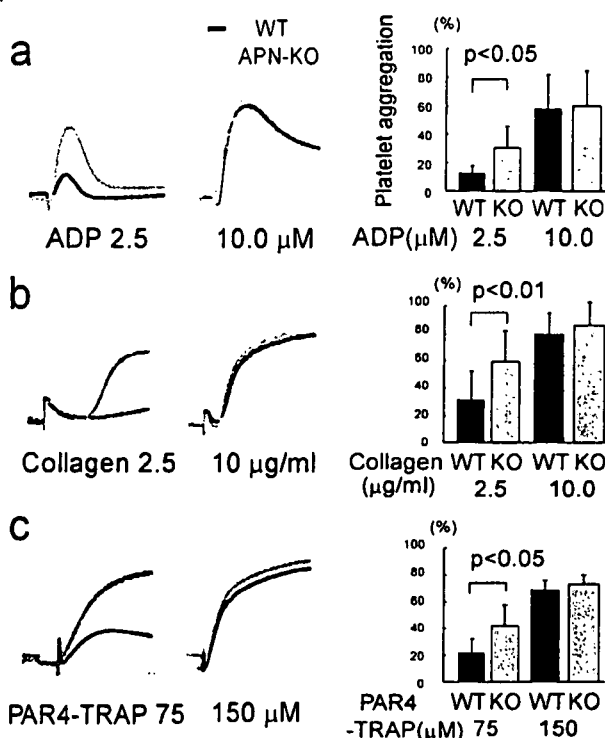


Figure 3. Enhanced platelet aggregation in APN-KO mice. Platelet aggregation in PRP obtained from WT or APN-KO mice. PRP ($300 \times 10^3/\mu\text{L}$) obtained from WT (black line) or APN-KO mice (gray line) was stimulated with ADP (a; $n=4$), collagen (b; $n=4$), or PAR4-TRAP (c; $n=3$). As compared with WT mice, platelet aggregation was enhanced in APN-KO mice at low concentrations of agonists.

cytometry. However, neither the platelet $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ activation induced by ADP nor P-selectin expression induced by PAR4-TRAP showed significant difference between WT and APN-KO mice ($n=4$; Figure 5B and 5C).

Adiponectin Adenovirus Attenuates Thrombus Formation in WT Mice

Because WT mice have large amounts of adiponectin in their plasma, we, therefore, examined whether adiponectin overexpression could additionally inhibit thrombus formation, as well as platelet function, in WT mice. After the administration of Ad-APN or Ad- βgal into WT mice, the plasma adiponectin levels in Ad-APN-infected mice reached ≈ 4 times higher than those in Ad- βgal -infected WT mice ($8.5 \pm 0.6 \mu\text{g/mL}$ for Ad- βgal and $37.0 \pm 14.8 \mu\text{g/mL}$ for Ad-APN; $n=5$). As shown in Figure 6A, platelet aggregation in PRP induced by collagen or PAR4-TRAP was significantly attenuated by the overexpression of adiponectin. Similarly, *in vitro* administration of human recombinant adiponectin ($40 \mu\text{g/mL}$) to human PRP attenuated the platelet aggregation response to $2.5 \mu\text{g/mL}$ collagen (Figure 6B). Moreover, in the He-Ne laser-induced carotid artery thrombus model, the overexpression of adiponectin significantly inhibited thrombus formation in WT mice ($4.38 \pm 0.75 \times 10^7$ arbitrary units for Ad- βgal and $2.75 \pm 0.61 \times 10^7$ arbitrary units for Ad-APN; $n=7$; $P < 0.05$; Figure 6C).

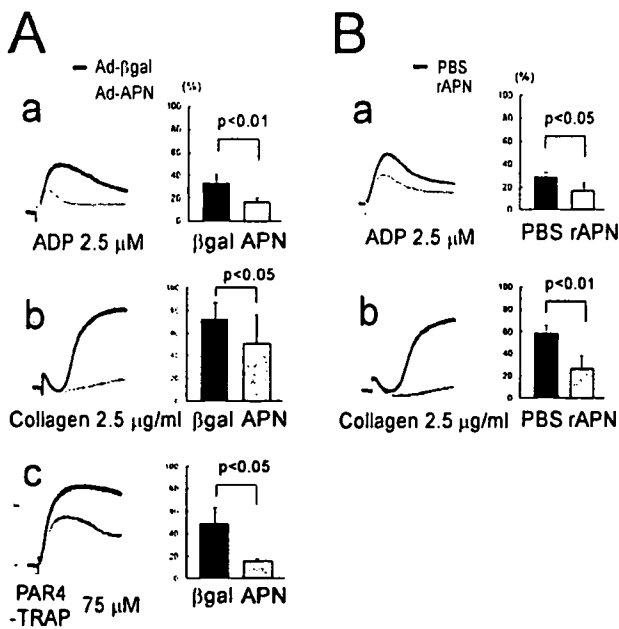


Figure 4. Effects of in vitro supplementation of adiponectin or recombinant adiponectin on the enhanced platelet aggregation in APN-KO mice. (A) One volume of PRP from APN-KO mice was mixed with ~4 volumes of PPP from APN-KO mice injected with Ad-βgal (black line) or Ad-APN (gray line) to obtain a platelet concentration of $300 \times 10^3/\mu\text{L}$. Platelets were stimulated with indicated agonists (n=4). (B) Mouse recombinant adiponectin (40 μg/mL, gray line) or PBS (black line) was added to PRP from APN-KO mice. Platelets were adjusted to 300×10^3 platelets/ μL and stimulated with indicated agonists (n=4).

Discussion

In the present study, we have newly revealed an antithrombotic effect of adiponectin. APN-KO male mice (8 to 12 weeks old) fed on a normal diet showed no significant differences in platelet counts and coagulation parameters compared with WT mice. In the He-Ne laser-induced carotid artery thrombus model, APN-KO mice showed an accelerated thrombus formation, and adenovirus-mediated supplementation of adiponectin attenuated this enhanced thrombus formation. Platelet aggregometry and the real-time observation of in vitro thrombus formation on a type I collagen-coated surface under flow conditions showed the enhanced platelet function in APN-KO mice. Moreover, adenovirus-mediated overexpression of adiponectin attenuated in vivo thrombus formation, as well as the in vitro platelet aggregation response, even in WT mice. Thus, the present data strongly suggest that adiponectin possesses an antithrombotic potency.

We have demonstrated that low concentrations of adiponectin are associated with the prevalence of CAD in men, which is independent of well-known CAD risk factors.⁵ Pischon et al⁹ have recently shown that high concentrations of adiponectin are associated with a lower risk of myocardial infarction in men, which is also independent of inflammation and glycemic status and can be only partly explained by differences in blood lipids. These clinical studies suggest that the protective effect of adiponectin on the development of CAD may be primary rather than secondary through the protection of metabolic abnormalities, such as insulin resistance. Indeed, APN-KO mice fed on a normal diet did not

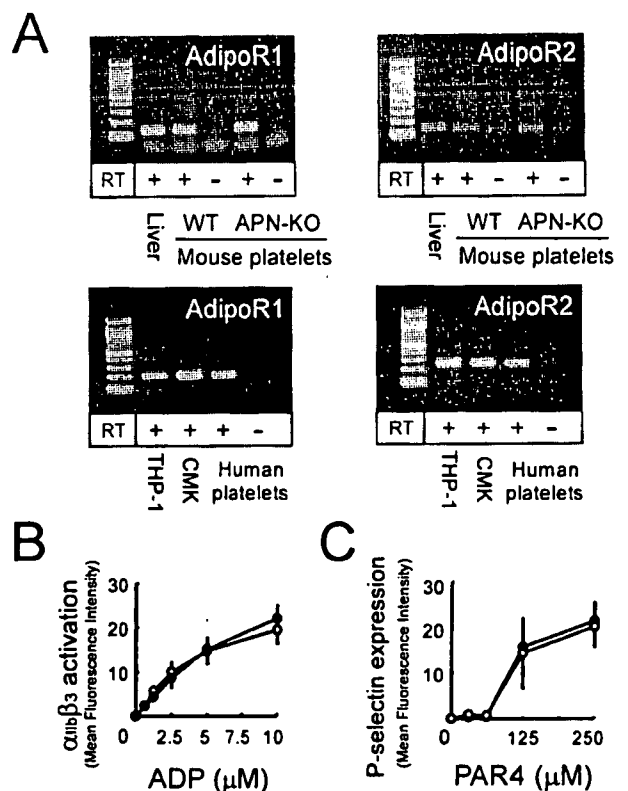


Figure 5. Expression of adiponectin receptors and effects of adiponectin deficiency on platelet function. (A, top) Expressions of transcripts for adiponectin receptors, AdipoR1 (133-bp fragments) and AdipoR2 (156-bp fragments), in platelets from WT or APN-KO mice were examined by RT-PCR. The liver was used as a positive control. (Bottom) Expressions of transcripts for adiponectin receptors, AdipoR1 (196-bp fragments) and AdipoR2 (243-bp fragments), in CMK cells, as well as human platelets, were examined by RT-PCR; 100-bp DNA Ladder (New England Biolabs) was used as a marker. Effects of adiponectin deficiency on (B) $\alpha_{IIb}\beta_3$ activation and (C) α -granule secretion. PRP obtained from WT (●) or APN-KO (○) mice in the presence of phycoerythrin-JON/A mAb or FITC-anti-P-selectin mAb was stimulated with the indicated agonist and then analyzed by flow cytometry without any washing. There were no significant differences in platelet $\alpha_{IIb}\beta_3$ activation or P-selectin expression between WT and APN-KO mice (n=4).

show any abnormalities in plasma glucose, insulin, or lipid profiles.^{10,12} Although the atherosclerotic and thrombotic processes are distinct from each other, these processes appear to be interdependent, as shown by the term *atherothrombosis*. The interaction between the vulnerable atherosclerotic plaque, which is prone to disruption, and thrombus formation is the cornerstone of acute coronary syndrome (ACS).²⁴ In this context, our present data strongly suggest that adiponectin deficiency (or hypo adiponectinemia) may directly contribute to the development of ACS by enhanced platelet thrombus formation.

Although APN-KO fed on a normal diet showed no significant differences in major metabolic parameters, they showed delayed clearance of FFA in plasma, elevated plasma TNF-α concentrations (≈40 pg/mL in APN-KO; ≈20 pg/mL in WT), and elevated CRP mRNA levels in white adipose tissue.^{12,25} In addition, recombinant adiponectin increased NO production in vascular endothelial cells.²⁶ To rule out any

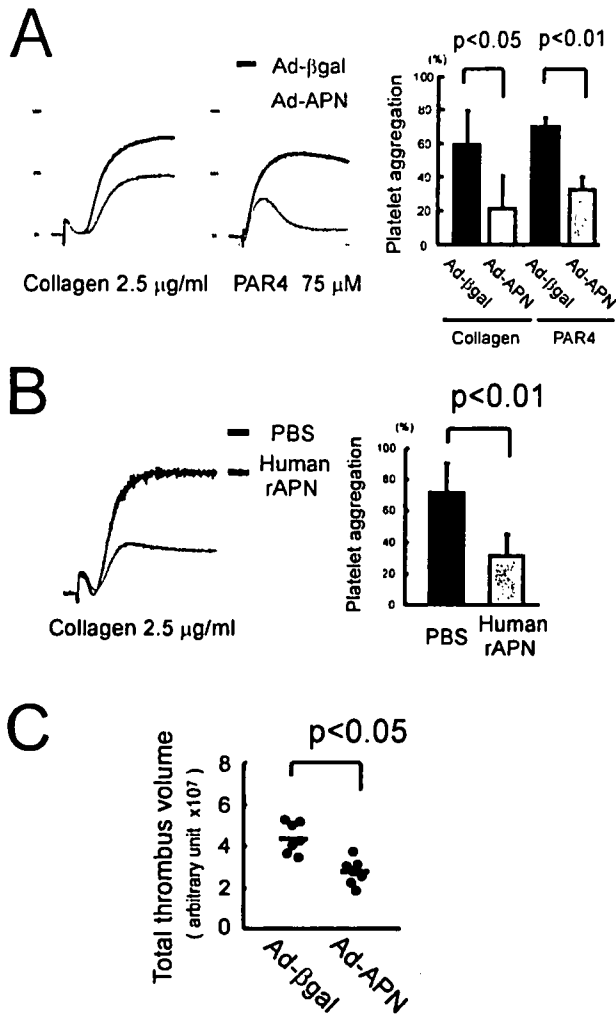


Figure 6. Overexpression of adiponectin additionally attenuates thrombus formation in WT mice. (A) Platelet aggregation in PRP obtained from WT mice injected with either Ad-βgal or Ad-APN. PRP ($300 \times 10^9/\mu\text{L}$) obtained from WT mice injected with either Ad-βgal (black line) or Ad-APN (gray line) was stimulated with collagen or PAR4-TRAP ($n=4$). Administration of Ad-APN significantly attenuated platelet aggregation in WT mice. (B) Human recombinant adiponectin ($40 \mu\text{g}/\text{mL}$, gray line) or PBS (black line) was added to PRP ($300 \times 10^9/\mu\text{L}$) from control subjects. Platelets were stimulated with collagen ($n=7$). (C) He-Ne laser-induced thrombus formation in WT mice injected with either Ad-βgal or Ad-APN. Administration of Ad-APN in WT mice additionally reduced the total thrombus volume in the carotid artery thrombus model ($n=7$, $P<0.05$).

effect of adiponectin on vascular cells, we examined in vitro thrombus formation on a type I collagen-coated surface under flow conditions, as well as platelet aggregation in APN-KO mice. Thus, the enhanced platelet function in APN-KO mice was still evident even in the absence of vascular cells. Moreover, human and mouse recombinant adiponectin attenuated the aggregation response obtained from control human subjects and from APN-KO mice, respectively. Thus, adiponectin inhibits platelet function. However, the mechanism by which adiponectin attenuates platelet aggregation and arterial thrombus formation in vivo remains unclear. During thrombogenesis, platelets adhere to altered vascular surfaces or exposed subendothelial matrices, such as collagen, and

then become activated and aggregate to each other.¹⁶ The thrombus formed in APN-KO mice appeared to be stable and more resistant to the increased shear stress, without affecting the initiation time for thrombus formation in carotid artery injury experiments, as well as in flow chamber perfusion experiments. In addition, preincubation of collagen with recombinant adiponectin did not inhibit platelet adhesion on collagen under static conditions. Thus, it is unlikely that the inhibitory effect of adiponectin is mediated by the inhibition of platelet binding to collagen. These characteristics are quite distinct from C1q-TNF-related protein-1, which belongs to the same family as adiponectin and inhibits thrombus formation by interfering with platelet-collagen interaction.²⁷ We confirmed that transcripts for AdipoR1 and AdipoR2 were present in mouse and human platelets and CMK cells. Although the platelet-platelet interaction appeared to be enhanced in APN-KO mice, we did not detect any difference in agonist-induced $\alpha_{IIb}\beta_3$ activation or P-selectin expression between APN-KO and WT mice by flow cytometry. Based on these results, it is possible that adiponectin may inhibit $\alpha_{IIb}\beta_3$ -mediated intracellular postligand binding events. Alternatively, previous studies have shown that adiponectin is physically associated with many proteins, including α_2 -macroglobulin, thrombospondin-1 (TSP-1), and several growth factors.^{5,23,28} Interestingly, TSP-1, after secretion from platelet α granules, may participate in platelet aggregation by reinforcing interplatelet interactions through direct fibrinogen-TSP-fibrinogen and TSP-TSP crossbridges.^{29,30} In this context, it is also possible that it may interfere with interplatelet interactions in platelet aggregation. Additional studies to clarify the mechanism of adiponectin are currently under way.

In conclusion, our present study revealed that adiponectin acts as an endogenous antithrombotic factor. Although it is possible that the in vivo antithrombotic effect of adiponectin may be partly mediated by its action on vascular cells, our present data clearly indicate that adiponectin affects platelet function in the absence of vascular cells. In addition, the overexpression of adiponectin in WT mice attenuates in vivo thrombus formation, as well as the in vitro platelet aggregation response. Our data provide a new insight into the pathophysiology of ACS in nonobese, as well as obese, subjects, and adiponectin (and its derivatives) may be a new candidate for an antithrombotic drug.

Acknowledgments

This study was supported in part by Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology in Japan; from the Ministry of Health, Labor, and Welfare in Japan; Astellas Foundation for Research on Metabolic Disorder, Tokyo, Japan; and Mitsubishi Pharma Research Foundation, Osaka, Japan.

References

1. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell*. 2001;104:531-543.
2. Friedman JM. Obesity in the new millennium. *Nature*. 2000;404:632-634.
3. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1993;259:87-91.

4. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409:307-312.
5. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:29-33.
6. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1595-1599.
7. Zoecali C, Mallamaci F, Tripepi G. Novel cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:134-141.
8. Kumada M, Kihara S, Sumitani S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Association of hypo-adiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:85-89.
9. Pischon T, Girman CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rimm EB. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA*. 2004;291:1730-1737.
10. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro K, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med*. 2002;8:731-737.
11. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Tenner AJ, Tomiyama Y, Matsuzawa Y. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000;96:1723-1732.
12. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, Arita Y, Nishida M, Maeda N, Kumada M, Okamoto Y, Nagaretani H, Nishizawa H, Kishida K, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Nagai R, Funahashi T. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. *J Biol Chem*. 2002;277:37487-37491.
13. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, Nishida M, Arita Y, Kumada M, Ohashi K, Sakai N, Shimomura I, Kobayashi H, Terasaka N, Inaba T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2002;106:2767-2770.
14. Kato H, Honda S, Yoshida H, Kashiwagi H, Shiraga M, Honma N, Kurata Y, Tomiyama Y. SHPS-1 negatively regulates integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ function through CD47 without disturbing FAK phosphorylation. *J Thromb Haemost*. 2005;3:763-774.
15. Sano T, Oda E, Yamashita T, Shiramasa H, Ijiri Y, Yamashita T, Yamamoto J. Antithrombotic and anti-atherogenic effects of partially defatted flaxseed meal using a laser-induced thrombosis test in apolipoprotein E and low-density lipoprotein receptor deficient mice. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2003;14:707-712.
16. Tsuji S, Sugimoto M, Miyata S, Kuwahara M, Kinoshita S, Yoshioka A. Real-time analysis of mural thrombus formation in various platelet aggregation disorders: distinct shear-dependent roles of platelet receptors and adhesive proteins under flow. *Blood*. 1999;94:968-975.
17. Ouchi N, Kobayashi H, Kihara S, Kumada M, Sato K, Inoue T, Funahashi T, Walsh K. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells. *J Biol Chem*. 2004;279:1304-1309.
18. Tomiyama Y, Kashiwagi H, Kosugi S, Shiraga M, Kanayama Y, Kurata Y, Matsuzawa Y. Abnormal processing of the glycoprotein IIb transcript due to a nonsense mutation in exon 17 associated with Glanzmann's thrombasthenia. *Thromb Haemost*. 1995;73:756-762.
19. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadawaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423:762-769.
20. Bhuhr M, Fasshauer M, Kralisch S, Schon MR, Krohn K, Paschke R. Regulation of adiponectin receptor R1 and R2 gene expression in adipocytes of C57BL/6 mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;329:1127-1132.
21. Kashiwagi H, Honda S, Tomiyama Y, Mizutani H, Take H, Honda Y, Kosugi S, Kanayama Y, Kurata Y, Matsuzawa Y. A novel polymorphism in glycoprotein IV (replacement of proline-90 by serine) predominates in subjects with platelet GPIV deficiency. *Thromb Haemost*. 1993;69:481-484.
22. Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPAR α , PPAR γ , and LXR. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;314:151-158.
23. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Miyagawa J, Funahashi T, Matsuzawa Y. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res*. 2000;32:47-50.
24. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 1992;326:242-250.
25. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Nakamura T, Nishida M, Kumada M, Okamoto Y, Ohashi K, Nagaretani H, Kishida K, Nishizawa H, Maeda N, Kobayashi H, Hiraoka H, Matsuzawa Y. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation*. 2003;107:671-674.
26. Chen H, Montagnant M, Funahashi T, Shimomura I, Quon MJ. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells. *J Biol Chem*. 2003;278:45021-45026.
27. Mechan WP, Knitter GH, Lasser GW, Lewis K, Ulla MM, Bishop PD, Hanson SR, Fruebis J. C1q-TNF related protein-1 (CTRP1) prevents thrombus formation in non-human primates and atherosclerotic rabbits without causing bleeding. *Blood*. 2002;100:23a.
28. Wang Y, Lam KS, Xu JY, Lu G, Xu LY, Cooper GJ, Xu A. Adiponectin inhibits cell proliferation by interacting with several growth factors in an oligomerization-dependent manner. *J Biol Chem*. 2005;280:18341-18347.
29. Leung LL. Role of thrombospondin in platelet aggregation. *J Clin Invest*. 1984;74:1764-1772.
30. Bonnefoy A, Hantgan R, Legrand C, Frojmovic MM. A model of platelet aggregation involving multiple interactions of thrombospondin-1, fibrinogen, and GPIIb/IIIa receptor. *J Biol Chem*. 2001;276:5605-5612.

心臓血管外科領域の輸血・止血管理

Perioperative transfusion therapy in cardiovascular surgery



宮田茂樹(写真) 佐々木啓明 荻野 均

Shigeki MIYATA¹, Hiroaki SASAKI² and Hitoshi OGINO²

国立循環器病センター輸血管理室¹, 同心臓血管外科²

◎心臓血管外科手術は患者背景や術式に多様性があり、その標準化は非常に困難である。したがって、その輸血適応や、止血管理についても標準化はたいへん困難な作業となる。しかし、周術期輸血トリガー値を探索するランダム化比較試験も含めた臨床試験の報告が増加し、標準化に向けてのさまざまなデータが提示されつつある。本稿では製剤ごとにこれら報告について詳細に検討を試みた。各施設で主観ではなく客観的な根拠に基づき、血液製剤の適正使用を検討する参考となれば幸いである。今後、輸血トリガー値に関して、よく組織された、十分なパワーをもったランダム化比較試験などによる、患者予後改善をエンドポイントとした検討がますます重要となり、科学的根拠に基づいた血液製剤の使用指針の確立が望まれる。



Key word : 心臓血管外科, 周術期輸血療法, 周術期止血管理, evidence-based medicine

心臓血管外科手術は、患者基礎疾患、患者背景、術式などに大きく左右され、標準化が非常に難しい領域である。さらに、人工心肺を必要とする術式ではそれに伴う希釈性や消費性凝固障害、血小板機能障害が起り、止血困難となりやすい。しかし、後述するようにこれら障害を的確に判定できるマーカーは存在しないため、臨床的判断に基づく部分がまだまだ多々存在する。そのような中で、心臓血管外科手術周術期における輸血療法の標準化に向けた臨床研究の報告が近年増加してきている。最近報告されたエビデンスをもとにして心臓血管外科周術期における血液製剤の使用基準について検討してみたい。

赤血球製剤の使用基準

1. 成人心臓手術患者のヘモグロビン許容限界値

① 人工心肺中ヘモグロビン(Hb)許容限界値

人工心肺中の貧血許容限界について冠動脈バイパス術患者を対象とした報告がある¹⁾。冠動脈バイパス術患者の人工心肺中の最低ヘマトクリット

(Ht)は院内死亡に対する独立危険因子であり、最低 Ht が 14%以下になると死亡率が増加する。さらに、高リスク患者(ショック、腎不全、心室性不整脈、心臓手術の既往、ニトログリセリン持続静注、うっ血性心不全、腸骨動脈の狭窄性疾患、高齢者)では最低 Ht が 17%以下になると死亡率が増加すると報告されており、人工心肺中であっても、とくに高リスク群ではある程度 Hb を維持する必要があることが示唆されている。また、冠動脈バイパス術人工心肺中の最低 Ht は、院内死亡率、術中術後の大動脈内バルーンパンピング(IABP)使用および再ポンプに有意に関係していたとも報告されている²⁾。Ht23%から危険性は高まり Ht19%未満では Ht25%以上と比較して約 2.4 倍危険性が高くなると報告されている。人工心肺中の Hb について、さらに、1,760 症例の人工心肺使用患者での後ろ向き観察研究³⁾が行われ、人工心肺中の 24%未満の Ht 最低値は腎障害リスクの増加と関連しており、とくに人工心肺の使用時間が長期的になり(90 分以上)、輸血が行われるとリス

クが増加すると報告されている。

② 術後ヘモグロビン許容限界値……集中治療室入室時の Ht が死亡率や合併症発症率に与える影響を検討したコホート研究⁴⁾によると、集中治療室入室時の Ht は、死亡率、中枢神経障害、透析を要する腎不全、再開胸止血術には関係なかった。しかし、従来考えられていたのとは逆に、Q 波心筋梗塞および大動脈内バルーンポンピングを要する重症左心機能不全は Ht が高いほど増加することがわかった。不安定狭心症、緊急手術あるいは心臓手術の既往をもつ高リスク患者に限ると、Ht34%以上の場合に死亡率がもっとも高く、Ht が 25~33%の場合がもっとも低かった。また、術後 24 時間以内の最低 Hb が死亡率や合併症発症率に与える影響を検討したコホート研究⁵⁾によると Hb は死亡率や心筋梗塞を含めた循環動態に関する合併症および中枢神経系合併症には影響しなかった。しかし、最低 Hb が低いほど腹部臓器合併症、腎合併症および入院日数が増加していた(腎合併症は 65 歳以上の高齢者では影響はなかった)。

③ ヘモグロビン許容限界値に対する現時点での考え方……これらおもに冠動脈バイパス術を対象になされた報告を考慮すると、Hb10g/dl を超える過剰な輸血や、無輸血にこだわるあまり極端に Hb を低下させることは、患者予後を悪くする可能性が示唆される。

2. 小児心臓手術患者のヘモグロビン許容限界値

後ろ向き観察研究⁶⁾で、心房中隔欠損症に対しての治療として手術群 26 名とカテーテル治療群 19 名での精神運動発達テストに関する比較検討が行われた。年齢および両親の IQ を調整すると、Full-Scale IQ をはじめとする複数のテストで手術群のほうが悪い結果となった。人工心肺中最低 Ht が Full-Scale IQ ともっとも強い相関を示し、Ht が高いほど IQ が高くなる傾向にあったと報告されている。さらに、最近、驚嘆すべきランダム化比較試験が行われた⁷⁾。9 カ月未満の乳児で、出生時体重 2.3 kg 以上の先天性心疾患患者 147 名が対象となっている。人工心肺中最低 Ht を 21.1%±2.4%と低く抑えた群 74 名と 27.7%±3.2%と高かった群 73 名でのランダム化比較試験

である。術後 1 歳時点での神経学的発達を調べたスコアは Ht を低く抑えた群で有意に低く、健常人の 2SD 以下の低いスコアの患者が明らかに多かったと報告されている。

したがって、先天性心疾患患者において術中赤血球輸血のトリガー値をあまり低くしすぎると合併症の増加、とくに精神発達という長期予後に影響を与える可能性がある。

3. 輸血の長期予後に与える影響

輸血が長期予後に与える影響についての報告もなされている。1 施設における後ろ向き観察研究で、初回冠動脈バイパス術単独患者 1,915 名を対象として解析した結果、術中、術後に輸血を受けた患者は術後 5 年での死亡率が 2 倍高かったと報告されている⁸⁾。現在、心臓血管外科手術の手技などが飛躍的に向上し、冠動脈バイパス術の術後 1 年生存率は 90%を超える時代となっている。今後、長期予後も見据えた輸血療法の適応を検討する必要があると思われる。

4. ヘモグロビン値が組織、臓器の酸素化を本当に反映するのか

赤血球輸血はおもにヘモグロビンレベルを参考として決定されるが、血中のヘモグロビンレベルがかならずしも各臓器ならびに各組織の酸素濃度を正確に反映するわけではない。マイクロプローブを用いて心臓外科術後の三角筋の組織酸素化を測定する試みがなされた。この研究では術後 ICU 帰室直後に、ヘモグロビン 7.5 g~8.5 g/dl の患者に赤血球輸血を行った場合、全身の酸素運搬能は上昇したが、組織における酸素化はほとんど改善されなかったと報告⁹⁾されている。また、赤血球輸血に関し、低いトリガー値(輸血制限群)と高いトリガー値(輸血自由群)を比較した systematic review(重篤な心疾患患者は除外)がある。輸血制限群で、輸血自由群と比較して、死亡割合が 20% 減少 [relative risk 0.80; 95% 信頼区間(CI)0.63-1.02] する可能性、心筋梗塞発生が 56% 減少 (relative risk 0.44; 95% CI 0.17-1.15) する可能性がいずれも有意差はないものの指摘されている¹⁰⁾。この理由として最近、赤血球製剤の保存により S-nitrosohemoglobin の濃度が低下する、すなわち保存後 21 日で検出感度以下となり、保存後 43 日で

はその障害が不可逆的となると報告され、S-nitrosohemoglobin の低下により動脈(冠動脈など)の血管拡張作用が障害され、血流が低下するため、組織の酸素欠乏をきたす可能性あることが指摘されている¹¹⁾。ヘモグロビンに代わり得る新たなマーカーが必要なのかもしれない。

これらの事実は、やはりヘモグロビン値を輸血によって過剰に補正することは逆にリスクとなる可能性を指摘しているものと思われる。

アルブミン製剤の使用基準

1998年 Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers¹²⁾によって循環血液量低下、熱傷、低アルブミン血症についてすでに公表された30のランダム化試験についてのメタメタ解析がなされた。その結果、どの病態においてもアルブミン投与により生存率を高めることはなく、むしろ全体ではアルブミン投与群で死亡率が高いと報告され、アルブミンの有効性、安全性に疑問を投げかけた衝撃的な報告がなされた。

一方、2001年にはさらにアルブミンの適応例(手術、腹水など)を増やし、55のランダム化試験をメタアナリシスで検討した結果では Cochrane Injuries Group Albumin Reviewers の結果と異なり、アルブミンが死亡率を増加させるという結果は認められないと報告された¹³⁾。

人工心肺使用心臓手術における術後出血量についてヒドロキシエチルスターチ(HES)投与とアルブミン投与が与える影響について、16試験($n=653$)を対象としたメタ解析によって比較検討した報告¹⁴⁾がある。患者の術後出血量はHESを投与された群よりアルブミン投与群で有意に少なかったことが示された。術後24時間の1,000 ml以上の出血は、アルブミン群で19%、HES群で33%に認められたと報告されている。

冠動脈バイパス術を実施した患者19,578例の退院データを分析した報告がある¹⁵⁾。このうち8,084例(41.3%)がアルブミン投与を受けていた。アルブミン投与を受けた患者の死亡率は2.47%であり、非蛋白コロイドを受けた患者の死亡率は3.03%であった($p=0.02$)。多変量ロジスティック回帰分析によって、死亡率のオッズはアルブミン

群のほうが25%低いと報告された(オッズ比0.80; 95%CI 0.67-0.96)。

低アルブミン血症が急性疾患の予後に関する独立した危険因子であるかどうかを検討した報告もある¹⁶⁾。291,433例の患者(心臓手術、非心臓手術、腎障害などの急性重症患者)を対象に、予後予測因子として低アルブミン血症を評価している90のコホート研究のメタ解析が行われた。別に、535例を対象に低アルブミン血症の治療に関する9つの比較対象試験に対するメタ解析が行われた。低アルブミン血症は不良転帰に関する用量依存性の独立危険因子であり、アルブミンが1 g/dl低下するごとに、死亡率が137%、罹病率89%、ICU滞在期間28%、入院期間71%と有意なオッズ比の上昇が認められた。比較対象試験における用量依存性の分析からアルブミン投与により血清アルブミンが3 g/dlを超えると合併症発生率が低下することが示唆された。

2004年には、画期的なアルブミンに対するエビデンスが報告された。集中治療室管理患者を対象(ただし心臓手術後、肝移植後、熱傷患者は除外)とした生食群とアルブミン使用群を比較する多施設共同二重盲験ランダム化比較試験が実施された¹⁷⁾。6,997患者がエントリー(生食群3,500、アルブミン3,497)され、28日死亡率、単臓器、多臓器不全の発生率、ICU滞在、病院滞在日数、人工呼吸を必要とした日数のいずれにも両群間で有意差はなかった。また、患者を、外傷の有無、重症敗血症の有無、ARDSの有無に分けた解析においても両群の死亡率には有意差が認められなかったと報告された。ただし、この研究では心臓手術術後患者は除外されている。

したがって、アルブミンは有害であるとの1998年のCochrane Injuries Group Albumin Reviewersの衝撃的な報告がなされて以来、アルブミンの有効性についてさまざまな検討がなされているが、いまだ、アルブミンの有効性、安全性に関しては明確ではない。しかし、Cochrane Injuries Groupの報告ほどアルブミンは有害ではなく、症例によっては、とくに心臓血管外科周術期では、アルブミン製剤の投与は患者予後を改善させる可能性があるとして現時点では考えられる。

新鮮凍結血漿(FFP)の使用基準

aPTT, PT(PT-INR)に関して, 出血を予測できる cut off 値がどのレベルであるかについていまだ明確なエビデンスはない¹⁸⁾.

FFP に関するランダム化比較試験を集めたシステマティックレビューの報告が最近なされている。肝疾患, 心臓血管外科, ワーファリン治療, DIC, 大量出血患者などを対象とした FFP の効果に対する 57 のランダム化比較試験について検討したものである¹⁹⁾。人工心肺離脱後の FFP の投与に関する 10 試験を検討した結果では, FFP 投与が術後出血ならびに輸血量を明らかに減じたという結果は得られなかったと報告されている。しかし, 投与された FFP は 6 ml/kg から 15 ml/kg で予防的になされたものであり, 登録された患者数は FFP 群で 12~60 と少ないため, この解析が意味をもつかどうか不明であるとされている。また, 心臓手術周術期での凝固異常や出血を抑制するための FFP の予防的投与に関するランダム化比較試験を集めたメタ解析²⁰⁾でも上記と同様の結果が報告されている。

FFP には正常レベルの凝固因子しか含まれておらず(しかも抗凝固剤ですこし希釈されている), FFP を用いて凝固系を改善させるためにはかなりの量の FFP を輸血する必要がある。しかし, 大量の FFP を輸血するとその循環動態に与える影響は無視できなくなる。したがって, 心臓血管外科手術における大量出血, 凝固異常の補正には欧米で使用されているクリオプレシピテートが FFP より有効である可能性がある。今後, 研究デザインが困難ではあるものの, 予防目的ではなく治療目的とした FFP やクリオプレシピテートの有効性に関する, よく組織された, 十分なパワーをもったランダム化比較試験などによって, FFP の使用指針の妥当性が検討される必要がある。

濃厚血小板製剤の使用基準

血液疾患(造血器腫瘍治療)では血小板輸血のトリガー値に対する臨床試験が積み重ねられ, エビデンスに基づいたガイドラインの策定が進んでいる。伝統的に血小板数 2 万/ μ l をトリガー値として血小板輸血がなされてきたが, 近年のランダム

化比較試験を含めた臨床研究²¹⁻²³⁾によって状態が安定した低リスクの患者(発熱, 敗血症, 急激な血小板数低下, 出血傾向があるなどの患者を除く)では 1 万/ μ l をトリガー値として設定することの妥当性が確認され, 臨床的にも受け入れられつつある^{24,25)}。

しかし, 心臓血管外科における血小板輸血に関して人工心肺を用いた手術に対してルーチンとして予防的に血小板輸血を行うことは必要ないとのランダム化比較試験の報告が少数症例数(60 例と 28 例)ではあるが, 報告されている^{26,27)}が, 心臓血管外科周術期の血小板輸血のトリガー値に関する明確なエビデンスはいまだ存在しない。このため, イギリスの輸血ガイドライン²⁵⁾においても人工心肺中には血液希釈や血小板機能異常が起こる²⁸⁾ために, 人工心肺後の血小板数がかならずし血小板機能を的確に反映できるわけではない。また, 人工心肺による血小板機能異常を的確に判断できる測定系は存在しないために, oozing など外科的出血ではない微小血管系からの出血傾向が認められた際には, 臨床的に判断するしかないと記述されている。また, アメリカ赤十字社のガイドライン²⁹⁾では凝固系検査に明らかな異常が認められない場合で, 微小血管からの予期せぬ出血傾向を認めた場合, 血小板数が 10 万/ μ l 以下の場合には, 血小板輸血を考慮すべきと記述されている。

心臓血管外科周術後の止血管理標準化の試みとして, 人工心肺離脱後に出血傾向を伴う患者においてさまざまな検査所見に基づいた輸血アルゴリズムを用いて血小板輸血などの適応を決定する試みがなされ, 経験的な方法に比べ輸血量や出血量の減少に対して効果があったという報告がなされている^{30,31)}。

現在提唱されている人工心肺離脱後の出血傾向に対する輸血アルゴリズムの一例を示す³²⁾(図 1)が, 今後このようなアルゴリズムの妥当性についてランダム化比較試験などによって患者予後改善をエンドポイントとして検討され, その結果としてエビデンスに基づいたガイドラインの作成が待ち望まれる。