

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、血小板粘着が起こ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こると、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¹¹⁾。

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 Ujii, 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 (nembutal 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 (nembutal 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 (1×10^6) 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'-CTCTGTGGATGCGGAAGAT-3' (antisense) and mouse AdipoR2 5'-TGCGCACACATTTTCAGTCTCCT-3' (sense) and 5'-TTCTATGATCCCCAAAAGTGTC-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'-GGACCGAGCAAAGACTCAG-3' (sense) and 5'-CACCCAGAGGCTGCTACTTC-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

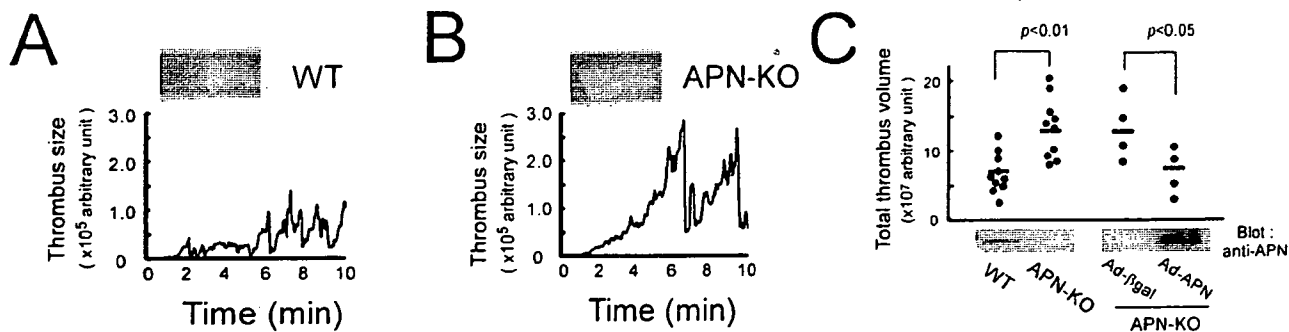


Figure 1. He-Ne laser-induced thrombus formation and adenovirus-mediated supplementation of adiponectin. Anesthetized mice were injected with Evans blue dye followed by irradiation with the He-Ne laser at the exposed left carotid artery. The representative time course of thrombus formation in (A) WT 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 ($48.7 \pm 6.8 \mu\text{g/mL}$; $n=4$), 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

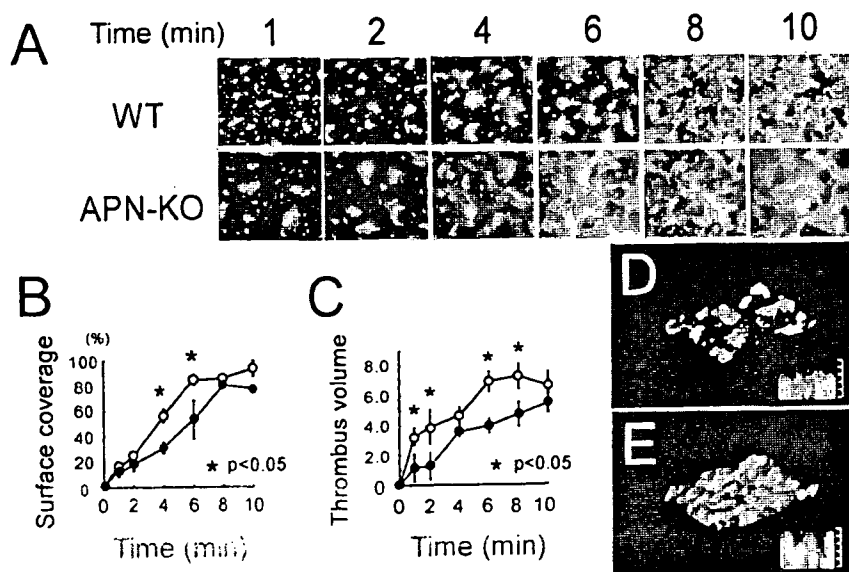


Figure 2. Thrombogenesis on a type I collagen-coated surface under flow conditions. (A) Mepacrine-labeled whole blood obtained from WT (top) or APN-KO mice (bottom) was perfused on a type I collagen-coated surface at a shear rate of 250 s^{-1} . (B) Platelet surface coverage (%) and (C) thrombus volume 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 ($40\text{ }\mu\text{g/mL}$) 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 $2.5\text{ }\mu\text{mol/L}$, collagen $2.5\text{ }\mu\text{g/mL}$, and protease-activated receptor 4-activating peptide [PAR4-TRAP] $75\text{ }\mu\text{mol/L}$), 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 ($40\text{ }\mu\text{g/mL}$) 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

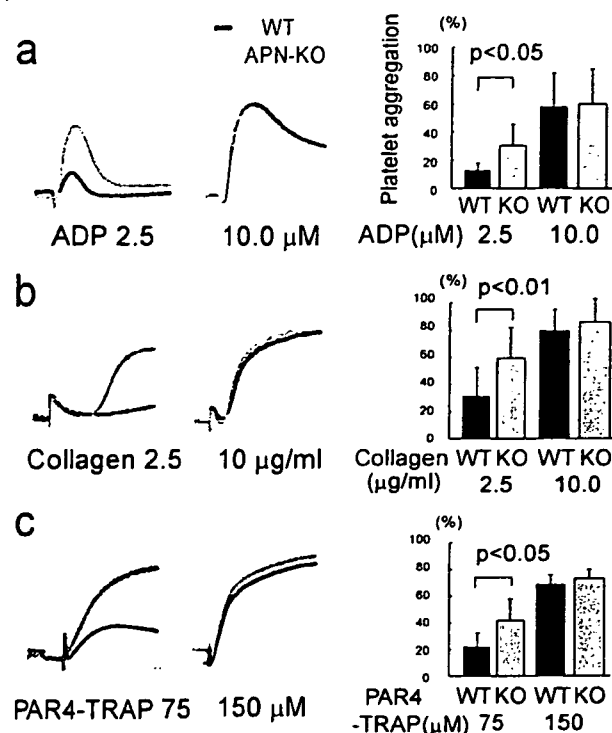


Figure 3. Enhanced platelet aggregation in APN-KO mice. Platelet aggregation in PRP obtained from WT or APN-KO mice. PRP ($300\times 10^3/\mu\text{L}$) obtained from WT (black line) or APN-KO mice (gray line) was stimulated with ADP (a; $n=4$), collagen (b; $n=4$), or PAR4-TRAP (c; $n=3$). As compared 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 ($8.5\pm 0.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ for Ad- βgal and $37.0\pm 14.8\text{ }\mu\text{g/mL}$ 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 ($40\text{ }\mu\text{g/mL}$) to human PRP attenuated the platelet aggregation response to $2.5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 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).

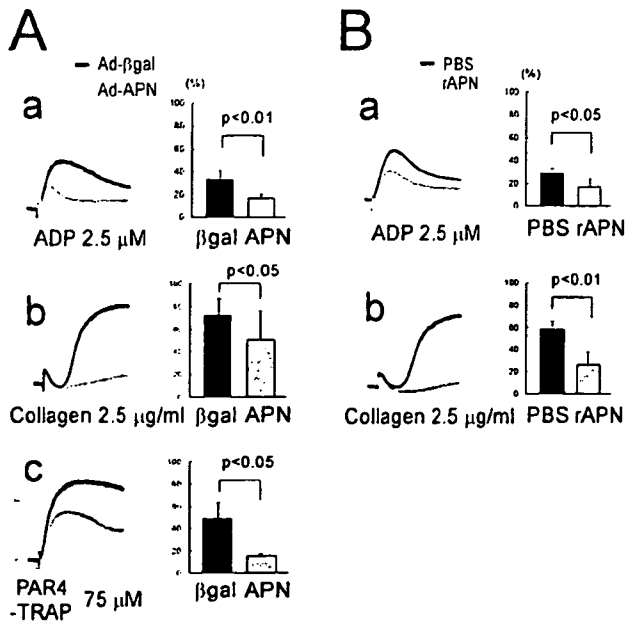


Figure 4. Effects of in vitro supplementation of adiponectin or recombinant adiponectin on the enhanced platelet aggregation in APN-KO mice. (A) One volume of PRP from APN-KO mice was mixed with ~4 volumes of PPP from APN-KO mice injected with Ad-βgal (black line) or Ad-APN (gray line) to obtain a platelet 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.⁸ 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

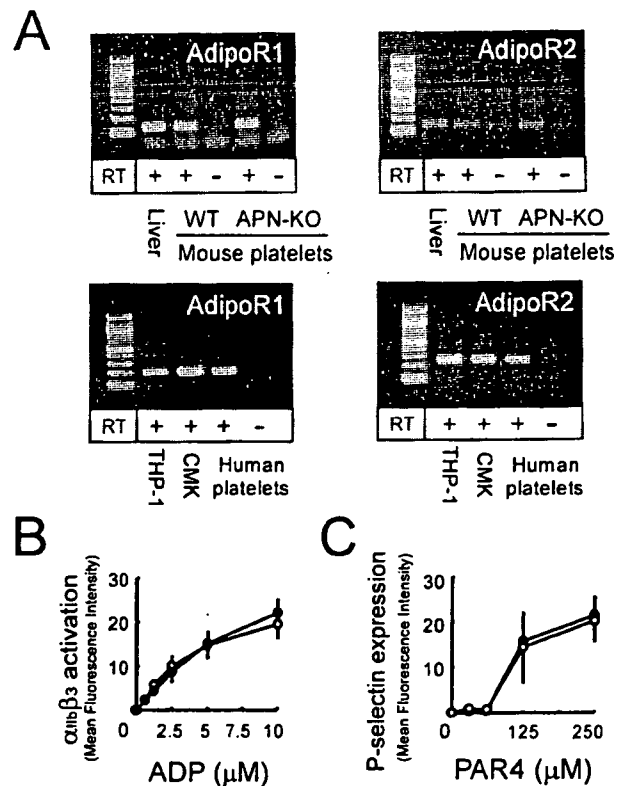


Figure 5. Expression of adiponectin receptors and effects of adiponectin deficiency on platelet function. (A, top) Expressions of transcripts for adiponectin receptors, AdipoR1 (133-bp fragments) and AdipoR2 (156-bp fragments), in platelets from WT or APN-KO mice were examined by RT-PCR. The liver was 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).²¹ In this context, our present data strongly suggest that adiponectin deficiency (or hypoadiponectinemia) 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

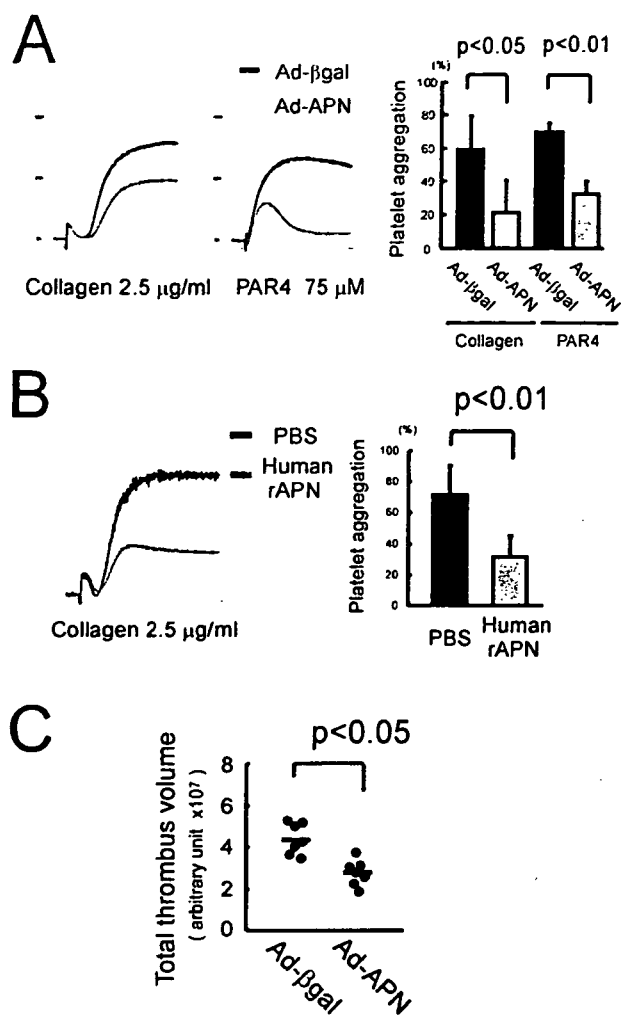


Figure 6. Overexpression of adiponectin additionally attenuates thrombus formation in WT mice. (A) Platelet aggregation in PRP obtained from WT mice injected with either Ad-βgal or Ad-APN. PRP ($300 \times 10^9/\mu\text{L}$) obtained from WT mice injected with either Ad-βgal (black line) or Ad-APN (gray 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 ($40 \mu\text{g/mL}$, 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 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ 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 $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ -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, Sumitsuji 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, Gimran CJ, Hotamisligil GS, Rifai N, Hu FB, Rhimm 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 R, 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, Ohzeki 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, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423:762-769.
20. Blüher M, Fasshauer M, Kralisch S, Schön 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. Meehan 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こり、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いまだ多々存在する。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パ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% と高めた群 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、健康人の 2 SD 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術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かったと報告された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1g/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3g/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検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の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ペレートが 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 やクリオプレシペレ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、その結果としての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。

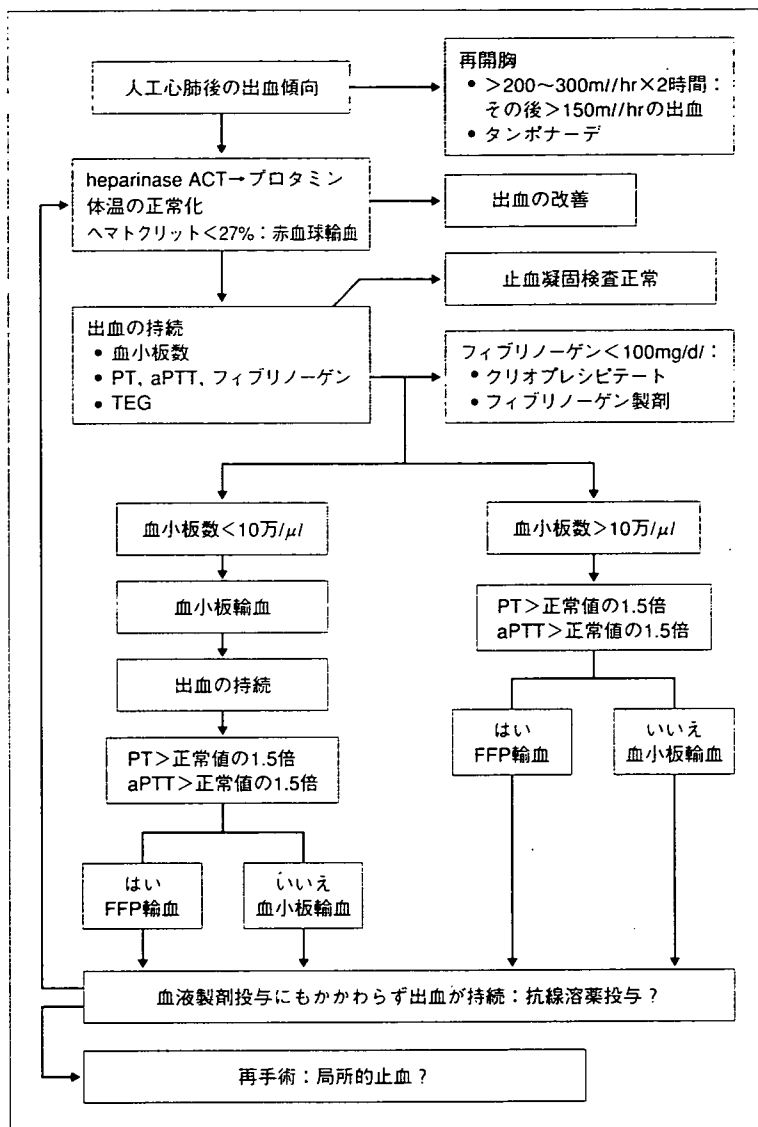


図 1 人工心肺離脱後に出血傾向を伴う患者における輸血アルゴリズム(文献³²⁾より一部改変)

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、新鮮凍結血漿 (FFP)、濃厚血小板、クリオプレシピテート投与による止血を行うため提案された輸血アルゴリズムの 1 例。ACT: activated clotting time, PT: prothrombin time, aPTT: activated partial thromboplastin time, TEG: thromboelastogram

わが国における周術期止血管理に関するランダム化比較試験

著者らは、わが国における心臓血管外科手術における止血管理の適正化、標準化のための試みとして術後止血困難に陥りやすい胸部、胸腹部大動脈置換術(再手術を含む)施行患者を対象とした多施設共同ランダム化比較試験(ASTRACS Study:

The Study on Appropriate Strategy of Transfusion in Cardiovascular Surgery)を実施している(図 2)。

これは患者を無作為に 2 群に割付け、血小板輸血のトリガー値を血小板数 10 万/μl に設定し、かつフィブリノーゲン値 150 mg/dl をトリガー値としてクリオプレシピテートで補正する群(Arm A)と、血小板輸血のトリガー値を 5 万/μl に設定し、か

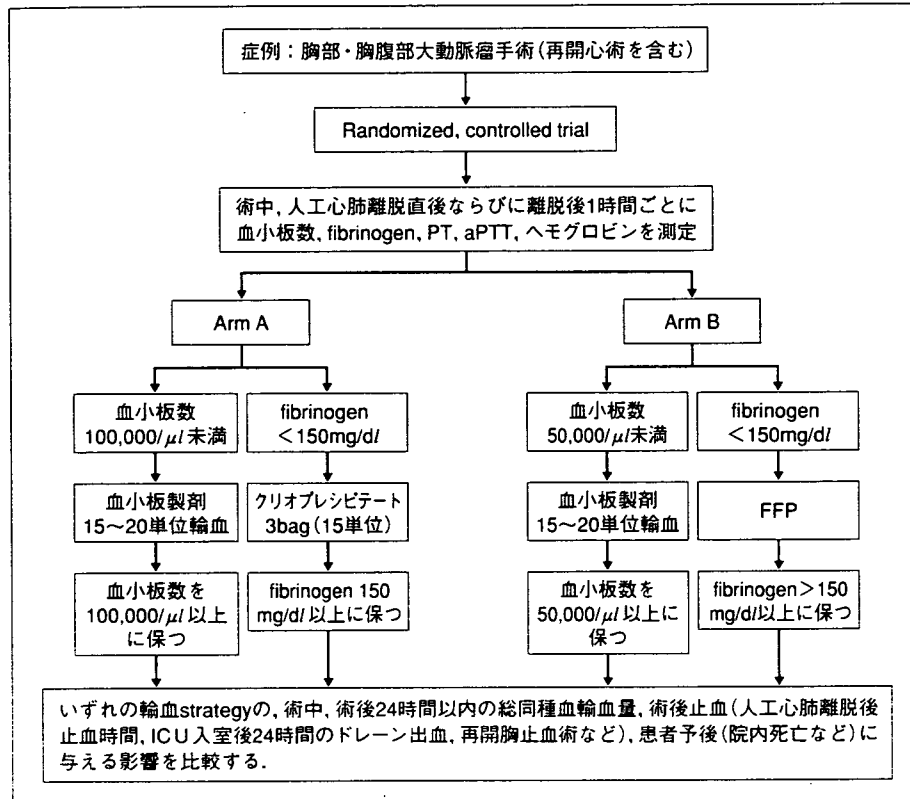


図 2 胸部、胸腹部大動脈置換術(再手術を含む)施行患者を対象とした多施設共同ランダム化比較試験(ASTRACS研究)

患者を無作為に2群に割付け、血小板輸血のトリガー値を血小板数10万 μl に設定し、かつフィブリノゲン値150 $\text{mg}\cdot\text{dl}$ をトリガー値としてクリオプレシテートで補正する群(Arm A)と、血小板輸血のトリガー値を5万 μl に設定し、かつフィブリノゲン値150 $\text{mg}\cdot\text{dl}$ をトリガー値としてFFPで補正する群(Arm B)とでの、術中、術後24時間以内の総同種赤血球輸血量、術後止血(人工心肺離脱後止血時間、ICU入室後24時間のドレーン出血、再開胸止血術など)、患者予後(院内死亡など)に与える影響を比較検討している。

つフィブリノゲン値150 $\text{mg}\cdot\text{dl}$ をトリガー値としてFFPで補正する群(Arm B)とでの、術中、術後24時間以内の総同種赤血球輸血量、術後止血、患者予後に与える影響を比較検討する研究である。本研究を適切に遂行し、トリガー輸血を実施するためには24時間体制で迅速に検査結果を反映できる検査値システムの構築や、トリガー値に到達した場合、ただちに濃厚血小板製剤やクリオプレシテート、FFPを供給できる体制が不可欠であることを実感している。しかし、わが国でこのようなシステムを構築すること、すなわちトリガー輸血を行うことの困難さも同時に実感している。

わが国における科学的根拠に基づいた心臓血管外科周術期の血液製剤の使用指針の確立のため

に、重要なデータを提供できるものと期待している。

おわりに

近年、上述したように心臓血管外科領域においても輸血トリガー値に関してのさまざまな臨床試験の報告がなされるようになった。今後は、わが国においても科学的根拠に基づいた周術期輸血管理、止血管理指針の策定が望まれる。そのためには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ての検討がますます重要となる。

謝辞：この論文の成果の一部は厚生労働省循環器病
研究委託費 17 公-7 による。

文献

- 1) Fang, W. C. et al. : *Circulation*, **96**(9 Suppl): II - 194-9, 1997.
- 2) DeFoe GR. et al. : *Ann. Thorac. Surg.*, **71**(3): 769-776, 2001.
- 3) Habib, R. H. et al. : *Crit. Care Med.*, **33**(8): 1749-1756, 2005.
- 4) Spiess, B. D. et al. : *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **116**(3): 460-467, 1998.
- 5) Hardy, J. F. et al. : *Br. J. Anaesth.*, **81**(Suppl. 1): 38-45, 1998.
- 6) Visconti, K. J. et al. : *Circulation*, **100**(19 Suppl): II 145-150, 1999.
- 7) Jonas, R. A. et al. : *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **126**(6): 1765-1774, 2003.
- 8) Engoren, M. C. et al. : *Ann. Thorac. Surg.*, **74**(4): 1180-1186, 2002.
- 9) Suttner, S. et al. : *Anesth Analg.*, **99**(1): 2-11, 2004.
- 10) Hill, S. R. et al. : *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2007 (Issue 3): CD002042, 2007.
- 11) Reynolds, J. D. et al. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**(43): 17058-17062, 2007.
- 12) Human albumin administration in critically ill patients : *Br. Med. J.*, **317**(7153): 235-240, 1998.
- 13) Wilkes, M. M. and Navickis, R. J. : *Ann. Intern. Med.*, **135**(3): 149-164, 2001.
- 14) Wilkes, M. M. et al. : *Ann. Thorac. Surg.*, **72**(2): 527-533 : discussion 534, 2001.
- 15) Sedrakyan, A. et al. : *Chest*, **123**(6): 1853-1857, 2003.
- 16) Vincent, J. L. et al. : *Ann. Surg.*, **237**(3): 319-334, 2003.
- 17) Finfer, S. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **350**(22): 2247-3356, 2004.
- 18) Segal, J. B. and Dzik, W. H. : *Transfusion*, **45**(9): 1413-1425, 2005.
- 19) Stanworth, S. J. et al. : *Br. J. Haematol.*, **126**(1): 139-152, 2004.
- 20) Casbard, A. C. et al. : *Anaesthesia*, **59**(6): 550-558, 2004.
- 21) Heckman, K. D. et al. : *J. Clin. Oncol.*, **15**(3): 1143-1149, 1997.
- 22) Rebull, P. et al. : *N. Engl. J. Med.*, **337**(26): 1870-1875, 1997.
- 23) Wandt, H. et al. : *Blood*, **91**(10): 3601-3606, 1998.
- 24) Strauss, R. G. : *Curr. Opin. Haematol.*, **12**(6): 499-502, 2005.
- 25) Guidelines for the use of platelet transfusions. *Br. J. Haematol.*, **122**(1): 10-23, 2003.
- 26) Harding, S. A. et al. : *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **70**(2): 350-353, 1975.
- 27) Simon, T. L. et al. : *Ann. Thorac. Surg.*, **37**(5): 359-364, 1984.
- 28) Woodman, R. C. and Harker, L. A. : *Blood*, **76**(9): 1680-1697, 1990.
- 29) Practice Guidelines for blood transfusion. American Red Cross, 2007 : available at www.redcross.org/services/biomed/profess/pgbtscreen.pdf
- 30) Despotis, G. J. et al. : *Transfusion*, **34**(4): 290-296, 1994.
- 31) Nuttall, G. A. et al. : *Anesthesiology*, **94**(5): 773-781 : discussion 5 A-6 A, 2001.
- 32) Hardy, J. F. : *Transfusion*, **45**(1 Suppl): 9S-13S, 2005.

* * *

ABO 型不適合輸血の発生原因による解析

藤井 康彦¹⁾ 松崎 道男²⁾ 宮田 茂樹³⁾ 東谷 孝徳⁴⁾ 稲葉 頌一⁵⁾
 浅井 隆善⁶⁾ 星 順隆⁷⁾ 稲田 英一⁸⁾ 河原 和夫⁹⁾ 高松 純樹¹⁰⁾
 高橋 孝喜¹¹⁾ 佐川 公矯⁴⁾

輸血過誤による ABO 型不適合輸血は、最も重要な輸血副作用である。輸血学会は、300 床以下の施設を含む 1,355 病院を対象とし、匿名で、調査を行った。全血、赤血球製剤、凍結血漿、血小板製剤を対象とし、2000 年 1 月から 2004 年 12 月の 5 年間に、発生した ABO 型不適合輸血の解析を行った。1,355 病院中 829 病院 (61.2%) から回答があり、ABO 型不適合輸血 60 件が報告された。原因となった製剤は、赤血球製剤 (Major Mismatch 22 件、Minor Mismatch 9 件)、凍結血漿 19 件、血小板製剤 8 件、不明 2 件であった。原因別では、輸血実施時の患者・製剤の照合間違いが 27 件 (45%)、血液型検体採血間違いが 2 件 (3%)、主治医の輸血依頼伝票の記入間違いが 8 件 (13%)、医師による輸血検査の間違いが 10 件 (17%)、検査技師による輸血業務の間違いが 10 件 (17%)、その他 3 件 (5%) が報告された。赤血球製剤 (Major Mismatch) の不適合輸血により 8 例の死亡例の報告があった。4 例では死亡の原因は原疾患による可能性があるとのコメントがあった。依然として「輸血実施時の患者・製剤の照合間違い」が ABO 型不適合輸血の最大の原因であった。

キーワード：輸血、ABO 型不適合輸血、輸血過誤、患者・血液製剤の照合、輸血検査

はじめに

現在、輸血によるウイルス感染症や、輸血関連急性肺障害などの免疫性輸血副作用が注目されているが、ABO 型不適合輸血は、最も重要な輸血副作用である¹⁾。輸血学会による組織的な取り組みとして 2000 年 1 月には柴田らが過去 5 年間の発生状況について全国調査²⁾を実施し、この調査結果に基づき、ABO 型不適合輸血防止対策マニュアル「輸血実施手順マニュアル」³⁾を作成した。柴田らの調査から 5 年間の経過した 2005 年に、再度、ABO 型不適合輸血の発生状況の全国調査が輸血学会により、計画された。

対象・方法

2005 年 1 月に輸血学会、輸血関連厚生労働省研究班により「2004 年輸血関連総括アンケート調査」⁴⁾が実施されたため、本調査はこの一部として行った。対象は 300 床以下の施設を含む 1,355 病院であり、300 床以上で血液製剤使用量が 3,000 単位以上である 777 病院はすべて対象とされた。対象施設の輸血検査管理体制などは 2004 年の現状について回答を求め、ABO 型不適合輸血の発生状況については、調査期間を 2000 年 1 月 1 日より 2004 年 12 月 31 日とした。本調査では、アクシデント報告だけでなく、副作用の発生しなかったインシデント報告も対象とし、対象製剤は赤血球、凍結血

- 1) 山口大学医学部附属病院輸血部
 - 2) 虎の門病院輸血部
 - 3) 国立循環器病センター輸血管理室
 - 4) 久留米大学医学部附属病院臨床検査部
 - 5) 神奈川県赤十字血液センター
 - 6) 静岡県赤十字血液センター
 - 7) 東京慈恵大学附属病院輸血部
 - 8) 順天堂大学医学部麻酔科学・ペインクリニック講座
 - 9) 東京医科歯科大学大学院政策科学分野
 - 10) 名古屋大学医学部附属病院輸血部
 - 11) 東京大学医学部附属病院輸血部
- [受付日：2006 年 9 月 22 日、受理日：2006 年 12 月 8 日]

表1 アンケート調査集計結果

	本調査	柴田らの調査
調査期間	2000. 1. 1 ~ 2004. 12. 31	1995. 1. 1 ~ 1999. 12. 31
アンケート依頼施設数	1,355	777
アンケート回答施設		
300床以上	502	578
300床未満	322	(調査なし)
不明	5	0
総施設数	829	578
回答率 (%)	61.2%	74.4%
ABO型不適合輸血報告		
300床以上	35	166
300床未満	5	(調査なし)
総件数	60	166
調査期間中の総輸血袋 (本)		
回答施設数	540	(調査なし)
平均	14,855	

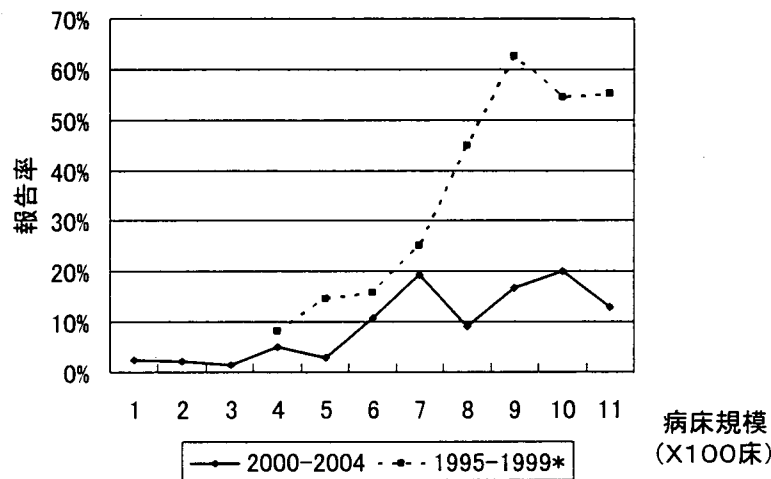


図1 病床規模別 ABO型不適合輸血報告率
* : 柴田らの調査

漿、血小板製剤とした。なお、ABO型違いHLA適合血小板の使用、緊急時のO型赤血球MAP使用は対象外とした。ABO型不適合輸血の発生状況に関する質問項目の作成およびアンケート結果の解析は輸血学会輸血安全・適正化委員会を中心として行った。

結 果

1. アンケート調査集計

アンケート回答数、回収率、ABO型不適合輸血報告件数などを柴田らの調査³⁾と比較して表1に示した。総回答数は829施設で回答率は61.2%であった。300床未満の施設の回答数は、柴田らの調査³⁾では調査対象外であったため、300床以上の施設の回答数で比較すると柴田らの調査³⁾の86% (502/578)であった。ABO型不適合輸血報告は60件であり、300床未満の施設の報告数は全体の8% (5/60)のみであった。調査期間中の総輸血

袋数は平均14,855袋(回答施設数540)であった。ABO型不適合輸血の発生は約1:200,000(輸血製剤袋数)と推定された。ABO型不適合輸血の病床規模別報告率を前回調査と比較し、図1に示した。病床規模が大きくなると報告数も増加したが、柴田らの調査³⁾との比較では、病床数が800床以上の大規模病院で報告率の減少を認めた。「患者家族への説明の有無」は88% (53/60)で回答があり、不明の4件を除き92% (49/53)で説明が行なわれた。

製剤別報告件数は、赤血球Major Mismatch 22件、赤血球Minor Mismatch 9件、凍結血漿19件、血小板製剤8件、不明2件であり、柴田らの調査³⁾と比較して、図2に示した。本調査では、血小板製剤を対象としたが、柴田らの調査³⁾では、対象外であった。すべての製剤で報告数が減少しているが、赤血球Major Mismatchに比較して、赤血球Minor Mismatchと凍結血漿の減少

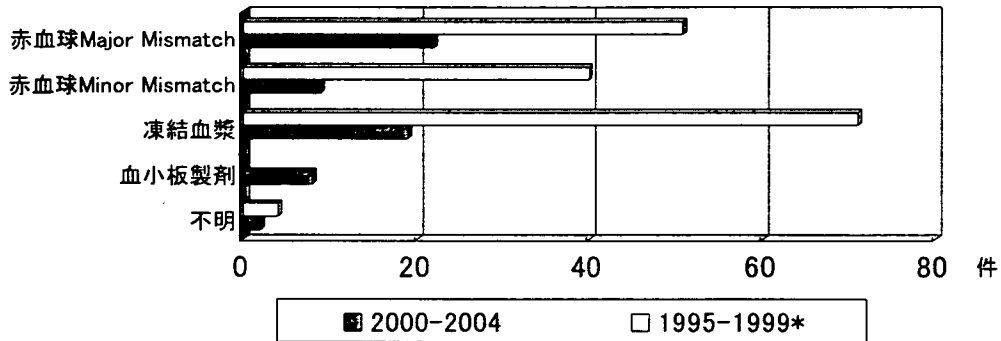


図2 製剤別 ABO 型不適合輸血報告件数

註: Major Mismatch または Minor Mismatch とは赤血球の輸血で輸血用血液と患者の血液型が以下の組み合わせの場合を言う。

Major Mismatch (交差適合試験の主試験で陽性反応になる組み合わせ: 輸血用血液中の赤血球と患者の抗体との反応)

- 輸血用血液 A 型で患者 O 型または B 型
- 輸血用血液 B 型で患者 O 型または A 型
- 輸血用血液 AB 型で患者 O 型または A 型または B 型

Minor Mismatch (交差適合試験の副試験で陽性反応になる組み合わせ: 輸血用血液中の抗体と患者の赤血球との反応)

- 輸血用血液 O 型で患者 A 型または B 型または AB 型
- 輸血用血液 A 型で患者 AB 型
- 輸血用血液 B 型で患者 AB 型

*: 柴田らの調査: 血小板製剤の調査なし

表2 ABO 型不適合輸血の発生原因による分類

NO	分類	件数	時間外	緊急輸血	間違えた製剤					病床数 × 100 床				
					RBC Major	RBC Minor	FFP	PC	不明	1~3	4~5	6~7	7~	不明
1	患者・製剤の照合間違い	27	7	5	14	4	7	1	1	3	7	12	3	2
2	血液型検体採血時の間違い	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
3	輸血依頼伝票への血液型記入間違い	8	5	2	0	0	4	4	0	2	2	2	2	0
4	時間外の医師による検査間違い	10	10	7	5	1	1	2	1	0	0	4	6	0
5	時間外の輸血業務の間違い	6	6	2	0	3	2	1	0	0	0	3	3	0
6	日勤時間帯の輸血業務の間違い	4	0	3	0	0	4	0	0	0	2	1	1	0
7	ABO 不適合骨髄移植患者の輸血間違い	2	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
8	輸血製剤管理の不備*	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	合計	60	32	20	22	9	19	8	2	5	12	23	16	4

*: 手術室に凍結血漿を備蓄

が顕著であった。柴田らの調査⁵⁾と同一条件となる 300 床以上の施設から報告された血小板製剤を除く報告件数は 49 件であり、同調査の 29.5% (49/166) であった。

2. 発生原因による分類

ABO 型不適合輸血は複数の原因の組み合わせにより発生しているが¹⁾, 原因の組み合わせと発生場所により分類し, 各分類項目での件数, 間違えた製剤, 病床規模等の詳細を表 2 に示した。柴田らの調査⁵⁾との発生原因による比較を図 3 に示したが, 「輸血実施時の患者・製剤の照合間違い」の報告件数の減少を認めた。また, ABO 型不適合輸血発生後に取られた対策を表 3 に示した。

1) 輸血実施時の患者・製剤の照合間違い

病棟・手術室での輸血実施時の患者・製剤の照合間違いは 45% (27/60) をしめ, 原因としては, 最も多い。小規模から大規模病院まで同じように報告されている。間違えた当事者は医師, 看護師または両者であった。時間外の発生は 26% (7/27), 緊急輸血は 19% (5/27) であった。Personal Digital Assistants (PDA) 等の携帯端末による照合⁸⁾⁹⁾を利用している例はなく, 輸血の実施手順⁶⁾を策定した施設で, 51% (14/27) が発生した。赤血球製剤の間違いは 67% (18/27) であり, 14 例は Major Mismatch 輸血であった。

2) 血液型検体採血間違い

血液型検査検体の採血時に患者の取り違えが発生した例が 3% (2/60) あった。いずれも間違えた当事者は,

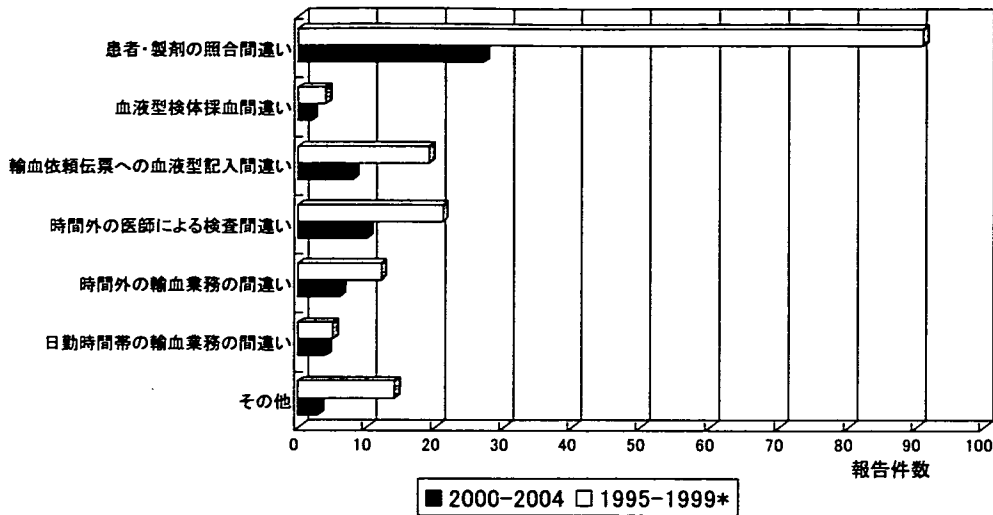


図3 原因別 ABO 型不適合輸血報告件数
*：柴田らの調査

看護師であり、時間外に発生した。輸血された製剤はいずれも赤血球製剤で Major Mismatch 輸血であった。

3) 輸血依頼伝票への血液型記入間違い

主治医の輸血依頼伝票の血液型記入間違い例は 13% (8/60) であった。7 例では同時に検査技師のミスが指摘されている。小規模から大規模病院まで報告されている。時間外の報告は 63% (5/8)、緊急輸血は 25% (2/8) であった。間違えた製剤は凍結血漿、血小板製剤のみで、赤血球製剤は含まれていない。

4) 時間外の医師による検査間違い

休日・夜間などの時間外の医師による輸血検査の間違い例は 15% (10/60) であり、すべて、大規模病院で時間外に発生していた。1 例では、看護師による採血ミスも同時に指摘されていた。緊急輸血は 70% (7/10) であった。赤血球製剤の間違いは 75% (6/8) であり、5 例は Major Mismatch であった。回答施設全体の時間外輸血検査体制を図 4 に示したが、5 年前の柴田らの調査²⁾に比較して医師による時間外検査は減少した。

5) 時間外の輸血業務の間違い

時間外の検査技師による輸血業務の間違い例は 10% (6/60) であり、すべて、大規模病院で発生していた。4 例で血液型の判定ミスがあり、1 例は検査検体の取り違い、1 例は HLA 適合血小板製剤の取り違いであった。緊急輸血は 33% (2/6) であった。赤血球製剤の間違いは 50% (3/6) であり、すべて Minor Mismatch 輸血であった。

6) 日勤時間帯の輸血業務の間違い

日勤時間帯での輸血部門での輸血業務の間違いは 6.7% (4/60) であり、血液型判定間違い 1 例、検体の取り違い (検査室内) 3 例、添付ラベルの取り違い 1 例が原因として報告された。中規模病院を中心として発生が報

告された。緊急輸血は 75% (3/4) であった。間違えた製剤はすべて凍結血漿であった。

7) ABO 不適合骨髄移植患者の輸血間違い

2 例が報告され、いずれも、主治医の輸血依頼伝票の記入間違いが指摘された。1 例では、検査技師の血液型確認ミスも指摘されている。中規模病院および大規模病院で発生した。時間外の発生は 50% (1/2) であった。1 例は赤血球製剤の Major Mismatch 輸血であった。

8) 輸血製剤管理の不備

手術室に凍結血漿が備蓄されていたために、不適合輸血が発生した 1 例が報告された。間違えた当事者は担当医であった。

3. 症状・治療・転帰

輸血量と輸血開始から ABO 型不適合輸血に気づくまでの時間を表 4 に示した。不適合輸血に気づくまでの時間は、赤血球製剤 Major Mismatch では中央値 45 分であったが、赤血球製剤 Minor Mismatch、凍結血漿、血小板製剤では 2 時間を越えていた。赤血球製剤 Major Mismatch 輸血 22 例の症状・治療・転帰の一覧を表 5 に示した。症状・治療については詳細な記載はほとんどなされていない。転帰が死亡と記載された 8 例中、4 例では死亡の原因は原疾患による可能性があるとのコメントがあった。赤血球製剤 Major Mismatch 輸血が死亡に関与している可能性の高い症例の発生頻度は、1 : 3,000,000 (輸血製剤袋数) と推定された。その他の製剤で転帰が死亡と報告された 6 例の一覧を表 6 に示した。

考 察

本調査での ABO 型不適合輸血の発生件数は、同様な条件で 5 年前に実施された柴田らの調査²⁾の 36% しかない。しかし、調査結果を評価する上で注意すべき点