

201/32.0/18

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための

輸血療法の確立

—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—

平成 21 年度～平成 23 年度 総合研究報告書

平成 24 年 3 月

研究代表者 荻野 均

(東京医科大学外科学第二講座)

『術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための

輸血療法の確立

—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—』

課題番号 : H21-医薬-一般-013

研究代表者

荻野 均 現・東京医科大学外科学第二講座主任教授
前・国立循環器病研究センター心臓血管外科部長
平成22年4月1日から平成23年3月31日

高松 純樹 愛知県赤十字血液センター所長
平成21年4月1日から平成22年3月31日

研究分担者

高松 純樹 愛知県赤十字血液センター所長

榑野 正人 名古屋大学医学部附属病院消化器外科教授

稲田 英一 順天堂大学医学部附属病院麻酔科教授

板倉 敦夫 埼玉医科大学産婦人科教授

上田 裕一 現・天理よろづ相談所病院 院長
前・名古屋大学医学部附属病院心臓血管外科教授
平成22年4月1日から平成23年12月31日

大北 裕 神戸大学医学部附属病院心臓血管外科教授
平成22年4月1日から平成24年3月31日

宮田 茂樹 国立循環器病研究センター輸血管理室医長

佐々木 啓明 国立循環器病研究センター心臓血管外科医長
平成23年4月1日から平成24年3月31日

目 次

I. 総括研究報告書.....1

荻野 均

II. 分担研究報告

大量出血時における凝固異常の病態とフィブリノゲン補充療法
—3年間の研究を踏まえて—.....7

高松 純樹

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—.....15

小林 真一郎、横山 幸浩、榑野 正人

産科出血と凝固系検査の変化.....17

稲田 英一、角倉 弘行、菊地 利浩

笠置 益弘、北嶋 由佳、鈴木 祥子、佐藤 正規

周産期大量出血における止血治療の試み.....23

板倉 敦夫

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—.....30

上田 裕一、荒木 善盛

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—……………33

藤田 靖之、大北 裕

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—……………42

佐々木 啓明、宮田 茂樹

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………49

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷 ……………55

I. 総括研究報告書

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—

総括研究報告書

研究代表者 荻野 均

東京医科大学外科学第二講座 主任教授

厚生労働科学研究補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
総括研究報告書(平成 21-23 年)

術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—

研究代表者 荻野 均 東京医科大学外科学第二講座主任教授

研究要旨

外科手術中や産科 DIC 含む緊急産科治療に合併する大量出血は、周術期死亡の最大原因であり、たとえ救命できたとしても、大量輸血や感染症や多臓器不全など長時間処置に伴う合併症の併発を伴い、患者の予後に大きく影響する。特に、外科的出血に止まらず、内因性(枯渇性)の凝固障害による大量出血をきたした場合、通常の外科的止血法はほぼ無効であり、血小板や凝固因子など止血に関わる諸因子を急速かつ有効に補充すること以外に止血を達成する方法はないといえる。しかしながら、そのための適正な血液製剤ならびにその使用指針は未だ確立されていない。したがって、本研究事業は、大量出血の際に惹起される凝固障害の病態解明と、それに対する適切な輸血療法の確立を目的とし、大量出血が予想される胸部大動脈手術を中心とする心臓血管外科手術、肝臓切除手術、産科 DIC を含む緊急産科手術の三領域において、①初年度:大量出血・輸血の現況と血液凝固系を中心とした病態の解明、②二年度: クリオプレシピテートや濃縮フィブリノゲン製剤の使用状況、③ 三年度:大量出血に伴う急性低フィブリノゲン血症の実態と、それに対する濃縮フィブリノゲン製剤の有効性、などについて検討した。その結果、大量出血時には、血小板減少に加え、重篤な急性低フィブリノゲン血漿が発生していた。この急性低フィブリノゲン血症に対する補充療法として、従来から新鮮凍結血漿投与に代わり、クリオプレシピテートや濃縮フィブリノゲン製剤が試みられ、輸血量の軽減や予後の改善が得られていることが判明した。今後もさらにデータを蓄積するとともに、これら製剤の薬事承認を目指した活動を並行して進め、術中大量出血時における止血のための輸血治療指針を提言することを目標とし、患者の予後の改善と手術における血液製剤の大幅な使用削減の実現をめざすことが重要と考える。

A. 研究目的

手術中の大量出血は周術期死亡の最大原因である。手術中に大量出血をきたす原因として、外科的出血(血管・臓器損傷など)と凝固障害による出血(出血量増加にともなう凝固因子ならびに血小板の減少もしくは枯渇)の二つがある。特に、後者の凝固障害による大量出血をきたした場合、縫合や圧迫などの外科的手法によ

る止血は効果が少なく、止血にかかわる諸因子を適切に補充すること以外に方法がない。しかし、そのための適正な血液製剤の使用指針はいまだ確立されておらず、種々の血液製剤が実効性なく漫然と投与されているのが現状である。本研究は、術中大量出血時に惹起される凝固障害の本態の解明、およびそれに対する有効な輸血療法もしくは凝固因子補充療法の確立を最大の目

標とする。

手術中の凝固障害による出血に対しては、濃厚血小板製剤および新鮮凍結血漿 (FFP) の投与が標準的な治療であるが、その効果は十分であるとはいえず、重篤な場合、高価な血液製剤の大量使用という結果に陥っている。そこで、日本麻酔科学会と日本輸血学会が中心となり、危機的出血への対応ガイドラインが作成されたが、その実践にあたっては施設間での差が大きく、かつ使用できる製剤にも制限があり、ガイドラインとしては十分とは言えない。本研究においては、欧米では手術中の大量出血に対してその有効性が既に確立されているが本邦では未使用の、濃縮フィブリノゲン製剤およびクリオプレシピテートの高い止血能改善効果に着目し、術中の血液凝固能をモニターしながらこれらを適切に投与することで止血が得られ、出血量を大幅に減少でき、最終的に患者の予後を改善させるかどうかを検証した。

B. 研究方法

国内の主要な 6 施設において、術中大量出血をきたすことの多い手術として、① 胸部大動脈手術を中心とした心臓血管外科手術 (3施設: 国立循環器病研究センター、名古屋大学、神戸大学)、② 肝臓摘出術 (1施設: 名古屋大学)、③ 産科 DIC を含む緊急産科手術 (2施設: 順天堂大学、埼玉医科大学)、などを抽出し以下の検討を行った。

1. 手術中の凝固障害の実態を明らかにするとともに、その進行と出血量との相関関係について検討した。
2. 濃厚血小板製剤に加え、FFP 投与に代わる濃縮フィブリノゲン製剤もしくはクリオプレシピテート投与の有効性および出血量の増減について検討した。

※ 濃縮フィブリノゲン製剤: 国内献血由来の血漿を原料としてフィブリノゲン分画を 90% 以上の純度で精製したもので、ウイルス不活化処理がなされた感染性の極めて低い血漿分画製剤である。現在、先天性低フィブリノゲン血症に対してのみ認可されているが、後天性フィブリノゲン血症への投与に関する認可はない。

※ クリオプレシピテート: FFP を 4°C にて溶解させた後に得られる沈殿部分で、フィブリノゲン、第 VIII 因子、フォン・ヴィルブランド因子、フィブロネクチン等の接着性凝固蛋白を豊富に含有しており、希釈性凝固障害を改善させるために有効と考える。

フィブリノゲン補充効果の高いこれらの製剤を投与することにより、希釈性もしくは枯渇性凝固障害を原因とする大量出血を軽減できるかどうか、止血凝固検査値の改善度の評価も含め検討した (国立循環器病研究センター、神戸大学、名古屋大学)。また、広範囲肝切除術あるいは臍頭十二指腸切除術において、術中の凝固関連因子および血小板数の推移を詳細に解析し、凝固障害の進行と出血量増減との相関関係について検討した (名古屋大学)。さらに、産科領域では、帝王切開術時出血量 $\geq 2,000$ ml の症例において、その危険因子、輸血療法、周術期の血算や凝固系検査などに関し後ろ向きに検討した (順天堂大学)。また、産科出血例の凝固系検査データを解析し、産科出血の中に潜在的な DIC 基礎疾患の有無について検討した。さらに、産科 DIC に対する濃縮フィブリノゲン製剤投与症例において、止血効果と安全性についての検討した (埼玉医科大学)。

C. 研究結果

1. 初年度: 心臓血管外科手術の中の胸部大動脈手術、肝硬変合併肝臓癌および肝門部胆管癌の摘出術や肝臓移植術、産科領域の緊急手術 (常位胎盤早期剥離や産科 DIC) などにおいて大量出血の頻度が高かった。また、そのような希釈性もしくは枯渇性凝固障害による大量出血症例においては、フィブリノゲン濃度の低下 (急性低フィブリノゲン血症) を認めることが多かった。
2. 二年目: 胸部大動脈手術を対象とした血小板輸血トリガー値の探索ならびにクリオプレシピテートと FFP の有効性に関するランダム化比較試験のデータを検討した (国立循環器病研究センター、名古屋大学)。フィブリノゲンの補充をクリオプレシピテートで行わない血小板輸血のトリガー値を 10 万 / μ L と高く設定した群では、人工心肺離脱後、血小板数は 10 万 / μ L 以上で維持され、フィブリノゲ

ン値の速やかな上昇、APTT の改善がみとめられる症例が多数存在した。また、術後 24 時間以内の出血量が減少する傾向にあった。よって、大量出血症例においてクリオプレシピテート投与による速やかな凝固能改善が期待できると考えられた。産科領域では、前置胎盤、双胎、既往帝王切開、緊急帝王切開が2,000 ml 以上の出血の危険因子であった。前置胎盤における自己血貯血は同種血回避の重要な要因であった。5,000 ml 以上の出血例では、MAPとFFPの比を1.0以上とすることは、フィブリノゲン濃度 100 mg/dl 以上の維持及び凝固系検査正常化に有用であった(順天堂大学)。また、産科出血は発症後搬送が多く、血液型未確定のまま多量の緊急輸血を必要とする例も多いため、血液型に関係なく、適合試験の不要なフィブリノゲン製剤は、輸血事故防止の観点からも有用であると考えられた(埼玉医科大学)。

3. 三年目：濃縮フィブリノゲン製剤投与が出血量に与える影響についての後ろ向き研究を行った(名古屋大学、神戸大学)。実際に、大量出血に対して濃縮フィブリノゲン濃縮製剤投与が行われ、速やかな凝固機能の回復、それに伴う出血量の減少、および輸血量の軽減に寄与された。肝切除例の検討では、膝島十二指腸切除例と比較し、VWF 抗原/ADAMTS13 活性上昇を認め、特に肝切除後の血栓性合併症例ではより高い傾向にあった[名古屋大学]。産科領域では、帝王切開において出血<3000 ml 未満では同種血輸血の必要度は低く、自己血貯血により輸血が回避できる。出血 \geq 3000 ml では、フィブリノゲン値は 100 mg/dl であり、ほぼ1:1のMAPとFFPが必要であった(順天堂大学)。濃縮フィブリノゲン製剤を優先した管理方法により、輸血使用量を少なくすることができた。また、妊婦血液から採取した自己血にはフィブリノゲンが多く含まれ、貯血期間中も軽度の濃度低下のみで、産科 DIC に対する有効性が示唆された(埼玉医科大学)。

D. 考察

胸部大動脈手術、肝切除手術、産科領域の緊急手術(常位胎盤早期剥離や産科 DIC)においては、大量出血をきたしやすく、患者予後に直結する重大な合併症と言える。大量出血に伴う凝固障害時には、特にフィブリノゲン血中濃度が、危険とされる 100 mg/dl まで低下していることが各領域で明らかとなった。産科 DIC においては、さらに低下しており、極めて止血困難な状況になりうることが認識された。しかしながら、このような重篤な急性低フィブリノゲン血症に対しては、現状では急速かつ大量の FFP の投与が必要であり、循環負荷増大の問題も含め極めて困難といえる。その結果、大量の血液製剤が使用され、長時間の止血操作を必要とし、患者の予後に何らかの影響を及ぼしていた。一方、クリオプレシピテートや濃縮フィブリノゲン製剤は、溶解も短時間で行え、かつ容量が少ないため、循環動態に影響を与えず、急速に投与でき効率的に止血できる。血液型の判定が不要で迅速に対応できる点も長所である。実際、今回の心臓血管外科および産科の二領域での検討において、急性低フィブリノゲン血症を呈した症例における濃縮フィブリノゲン製剤(クリオプレシピテートを含む)の有効性が確認された。今後さらに、対照群をおいた比較検討などを進めるとともに、大量出血時の急性低フィブリノゲン血症に対する濃縮フィブリノゲン製剤の薬事承認(保険適応)を視野に入れ、血漿分画製剤製造企業に対し濃縮フィブリノゲン製剤の薬事承認を目指した活動を求めている。最終的には術中大量出血時における止血のための輸血治療指針を提言することを目標とし、手術患者の死亡率低下および予後改善と、手術における血液製剤の大幅な使用削減を実現したい。

E. 結論

胸部大動脈手術、肝切除術、産科領域の緊急手術(常位胎盤早期剥離や産科 DIC)などの分野での大量出血による凝固障害、特に急性低フィブリノゲン血症に対する、濃縮フィブリノゲン製剤やクリオプレシピテートの有効性が確認された。今後さらに、データを蓄積するとともに、これら製剤の薬事承認を目指した活動を並行して進めていく。

F. 研究発表

1) 論文発表

1. Miyawaki Y, Suzuki A, Fujimori Y, Takagi A, Murate T, Suzuki N, Katsumi A, Naoe T, Yamamoto K, Matsushita T, Takamatsu J, Kojima T. Severe hemophilia A in a Japanese female caused by an F8-intron 22 inversion associated with skewed X chromosome inactivation. *Int J Hematol.* 92(2): 405-8, 2010
2. Okada H, Kunishima S, Hamaguchi M, Takagi A, Yamamoto K, Takamatsu J, Matsushita T, Saito H, Kojima T, Yamazaki T.
A novel splice site mutation in intron C of PROS1 leads to markedly reduced mutant mRNA level, absence of thrombin-sensitive region, and impaired secretion and cofactor activity of mutant protein S. *Thromb Res.* 125(5): e246-50, 2010
3. 高松純樹: 大量出血時の病態と輸血療法ーフィブリノゲン濃縮製剤投与の有用性ー医学のあゆみ 輸血医療・細胞療法ー現状と課題 235:66-74, 2010
4. 山本晃士、西脇公俊、加藤千秋、花井慶子、菊池良介、柴山修司、榎野正人、木内哲也、上田裕一、高松純樹: 術中大量出血を防ぐための新たな輸血治療ークリオプレシピテートおよびフィブリノゲン濃縮製剤投与効果の検討ー. *日本輸血細胞治療学会誌.* 56(1): 36-42, 2010
5. 稲田英一: 危機的出血に対する輸血療法最前線. *麻酔.* 60(1):2-4, 2011
6. 入田和男、稲田英一: ”危機的出血への対応ガイドライン”と危機的出血の現状. *麻酔.* 60(1): 5-13, 2011
7. 紀野修一、稲田英一、入田和男、稲葉頌一: 産科危機的出血への対応ガイドライン. *麻酔.* 60(1): 14-22, 2011
8. 菅澤佑介、山口敬介、洪景都、榎本達也、熊倉誠一郎、釘宮豊城、稲田英一: 羊水塞栓症により大量出血を来した帝王切開の麻酔経験. *麻酔.* 2011;60(1):91-95, 2011
9. 板倉敦夫: 産科領域の輸血療法. *産科と婦人科.* 81:703-708, 2010
10. 板倉敦夫: 産科 DIC 止血のための輸血法. *臨床輸血ガイド.* 105-117, 2011
11. 上田裕一: 胸部大動脈手術の再手術. *日本心臓血管外科雑誌.* 39(1): 5-8, 2010
12. 大島英揮、上田裕一: 胸部大動脈瘤. *循環器疾患最新の治療.* 2010-2011. 380-386, 2010
13. 宮田茂樹. 心臓血管外科手術における輸血療法. *医学のあゆみ.* 235(1): 59-65, 2010
14. 宮田茂樹. 心臓血管外科手術における輸血療法. 高松純樹 監修、山本晃士 編集. *図説臨床輸血ガイド.* 80-91, 2011
15. 板倉敦夫: 子宮筋腫核出術後の安全な妊娠・分娩管理は 産科と婦人科 79:307-311, 2012
16. 稲田英一: 危機的出血への対応ガイドライン. *手術医学* 32:20-25, 2011
17. 稲田英一: 緊急手術患者に対する輸血の実際. *外科治療* 104:264-272, 2011
18. 稲田英一: 危機的出血への対応ガイドライン. *麻酔科医・集中治療医に必要な血液凝固・線溶系が分かる本、武田純三、田中健一編集、真興交易医書出版部、東京、99-106, 2011*
19. 稲田英一: 危機的出血への対応ガイドライン. *看護師のための臨床輸血: 学会認定・輸血看護師テキスト、学会認定・輸血看護師制度カリキュラム委員会編、中外医学社、東京、p11-2, 2011*
20. 稲田英一: 緊急輸血と大量輸血. *スタンダード輸血検査テキスト、認定輸血検査技師制度協議会カリキュラム委員会編、医歯薬出版株式会社、p211-218, 2011*

2) 学会発表

1. 佐々木啓明、荻野 均、宮田茂樹. 心臓血管外科手術周術期における輸血療法の効率化、適正化に関する研究ー多施設共同ランダム化比較試験 (ASTRACS). *日本胸部外科学会.* 2010 年 10 月
2. 板倉敦夫. 産科出血と凝固障害ーフィブリノゲン

- 補充一. 第 20 回 日本産婦人科・新生児血液学会. 2010 年
3. 上田裕一. 胸部大動脈手術における出血対策. 第 23 回胸部心臓血管外科セミナー. 2010 年 4 月
4. 岡田正穂、碓氷章彦、櫻井寛久、寺澤幸枝、恒川智宏、江田匡仁、荒木善盛、水谷真一、成田裕司、大島英揮、上田裕一. GRF glue による大動脈基部破壊により吻合部狭窄をきたした一症例. 第 53 回関西胸部外科学会学術集会. 2010 年 6 月
5. 碓氷章彦、大島英揮、水谷真一、荒木善盛、田中啓介、成田裕司、角三和子、上田裕一. Entire shaggy aorta の治療方針. 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会. 2010 年 10 月
6. 恒川智宏、碓氷章彦、大島英揮、水谷真一、荒木善盛、上田裕一. A 型急性大動脈解離手術における上行大動脈送血の有用性の検証. 第 63 回日本胸部外科学会定期学術集会. 2010 年 10 月
7. 岡田正穂、碓氷章彦、吉住 朋、桑原史明、田中啓介、荒木善盛、水谷真一、角三和子、成田裕司、大島英揮、上田裕一. 心臓大血管手術術後吻合部瘤に対する再手術症例の検討. 第 41 回日本心臓血管外科学会学術総会. 2011 年 2 月
8. Miyata S, JaSWAT-III HIT research group. Risk factors for thromboembolic events in patients undergoing cardiovascular surgery: The analyses of a multicenter prospective cohort study. XXXIst International Congress of the International Society of Blood Transfusion, Berlin, Germany, 2010
9. 宮田茂樹、角谷勇実、瀬口周、坂田敏幸、川口和子、佐野隆宏、佐野道孝. 術中大量出血症例に対する輸血部門の対応策. 第 57 回日本臨床検査医学会学術集会. 2010
10. 稲田英一: 危機的出血への対応、第 35 回日本血液事業学会総会、浦和市、2011 年 10 月
11. 稲田英一: 産科麻酔における危機管理: 日本麻酔科学会の取り組み 日本臨床麻酔学会第 31 回大会、那覇市、2011 年 11 月
12. 寺澤幸枝、碓氷章彦、大島英揮、吉住朋、桑原史明、岡田正穂、田中啓介、荒木善盛、成田裕司、上田裕一: 心臓大血管手術における術中自己血回収装置の有効使用に関する検討 第 54 回関西胸部外科学会学術集会 2011 年 6 月
- G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
総合研究報告書

「大量出血時における凝固異常の病態とフィブリノゲン補充療法
——3年間の研究を踏まえて——」

研究分担者

愛知県赤十字血液センター 高松 純樹

研究要旨

本研究は大量出血の病態と止血に関する輸血療法の確立を目指す。特に病態解明、検査法、具体的な輸血療法について広く国内外の文献を検討し、現在までに得られた知見を吟味し特に、フィブリノゲンの補充に関して、クリオプレチピテート、フィブリノゲン製剤の有用性について考察した。FFPによるフィブリノゲン補充には限界があることとクリオプレチピテート、フィブリノゲン製剤の有用性が明らかになったが、なかでも感染、免疫学副作用並びに量的な安定性からフィブリノゲン製剤の有用性が明らかになった。

A.研究目的

大量出血を惹起する外傷患者においても、周術期患者においても死亡の第一の原因は出血そのものであり、これは外傷専門病院においてもまた十分な施設・装備に医療機関でも同様である。その原因は出血による凝固因子、血小板の大量喪失による枯渇性の凝固障害が第一義であり、その結果さらに出血を助長され悪循環となる。このような大量出血時の凝固異常の病態、中でもフィブリノゲンの意義、および治療としてのフィブリノゲン補充療法について既に報告されている国内外の文献を検討し現時点での、大量出血時における凝固異常の病態とフィブリノゲン補充療法の意義を明らかにする。

B.研究方法

1995年以降国内外で報告された大量出血に対する輸血療法に関する論文、総説、研究報告書等を収集して、その内容を吟味し、大量出血時の凝固異常の病態、フィブリノゲン補充療法について考察した。

C.研究結果

以下に得られた研究結果を総説的に示す。

1. 大量出血とは

外傷や大手術ではしばしば大出血に至ることがある。循環血液量を確保する意味で、晶質液あるいは膠質液が直ちに投与されるが、出血量が循環血液量の50パーセント程度を超えた場合には、赤血球製剤の投与が必要になってくる。このように24時間以内

に循環血液量に相当、もしくはそれを超えるような出血あるいはそれに相当する赤血球輸血、血小板、血漿製剤が必要な場合を大量出血と定義される。

大量出血を惹起する病態は骨盤骨折、大腿骨骨折、肝臓、腎臓、脾臓などの実質臓器破裂などの多発性外傷を除けば、大部分が周術期もしくは産科的疾患に見られる。中でも、胸部大動脈瘤に対する人工血管置換術、肝臓移植術、肝門部ガン切除術、心臓弁膜症手術や、産科疾患では子宮外妊娠、子宮破裂等の外科的処置が必要な疾患に加えて、羊水塞栓症、前置胎盤早期剥離などの産科 DIC、さらに消化性潰瘍、食道静脈瘤破裂などの上部消化管出血、大動脈瘤破裂などである、適切な処置がなされなければ大量出血からひいては死に陥る可能性が高い。

2. 大量出血と凝固異常

1) 病態生理

原因は何にせよ、大量出血時においては血小板数の減少、機能異常や凝固異常がしばしば認められ、その発症については以下に述べるいくつかの要因が考えられている。

その第一は大量出血時には多くの凝固因子が喪失、消費されその結果として止血に必要な凝固因子、時には血小板までが枯渇する状態となる。それに対して、晶質液、膠質液などの補液に加えて、血小板や凝固因子が十分含有されていない全血製剤あるいは、赤血球濃厚液の輸血では、赤血球の補充のみで結果的に血小板、凝固因子あるいはその両方が欠乏し希釈性の凝固障害が引き起こされることとなる。

血小板について言えば、24時間以上冷蔵保存された全血製剤、濃厚赤血球製剤中に

は機能を有した血小板は存在していない。全血製剤では多くの凝固因子は比較的良好に保たれているが、第 VIII、第 V 因子は 4℃ で 21 日保存されるとすると、活性はそれぞれ 5%、35% となり著しい低下が見られる。また赤血球濃厚液においては血漿成分の含有はほとんどない。

第二は DIC による凝固因子の消費による凝固異常が考えられる。広範な組織障害が起こり、循環血液量の減少や酸素運搬能が適切に補正されなければ組織は虚血あるいは壊死状態となり、その結果大量の凝固因子の放出により DIC が惹起されることとなる。凝固異常の程度と血圧の低下時間の間には密接な関係があるという報告からもこの病態が大量輸血時の凝固異常の原因として重要な役割を担っていることは明らかである。

第三は大量に投与される晶質液、あるいは膠質液による希釈の影響や、低体温による血小板機能低下あるいは凝固反応の低下も考えられる。晶質液では主として希釈効果によって凝固障害をもたらすが、フィブリノゲンの代謝に悪影響をきたすことはない。一方、膠質液はフィブリノゲンがフィブリンへ転換する過程である fibrin monomer の重合反応に阻害的に作用し、結果としてフィブリノゲン値を低下させ、止血血栓の堅固さも脆弱化させることになる。さらに線溶亢進状態、acidosis、貧血はフィブリノゲンの重合反応、代謝に阻害的に作用する。Acidosis ではフィブリノゲンの分解が亢進するにもかかわらず、合成には影響なく結果としてフィブリノゲン値は減少することとなる。たとえフィブリノゲン産生が亢進したとしても代償することがで

きない。低体温では酵素反応である凝固反応に影響し、実際活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、プロトロンビン時間 (PT) は延長し、acidosis 程ではないが、フィブリノゲンの分解が亢進し、合成には影響なく結果としてフィブリノゲン値は減少することとなる

2) 止血因子の異常

(1) 血小板減少

大量輸血時（通常は循環血液量を超える輸血量）に対して全血製剤の投与のみでは血小板数は 5-10 万程度に低下することも希ではない。しかしながら、輸血量と血小板減少は一定ではないことは、大量輸血患者に対して一定の割合での血小板予防投与は必ずしも有効とは限らない。すなわち血小板減少即細血管性出血を意味するわけではないし、また減少程度が出血の程度の予測になるとも限らないからである。

止血血栓の堅固さは血小板数とともに、フィブリノゲン濃度によっても規定されているが、血小板減少を伴う炎症性疾患ではフィブリノゲン濃度は高値となるために、たとえ血小板数が減少していても止血血栓は十分な堅固さを保っていることが多い。また動物実験ではあるが、フィブリノゲンの補充のほうが、血小板の補充に比してより堅固な止血血栓を形成する。また、コントロール不能な出血モデルにおいて血小板の補充療法よりも、フィブリノゲンの補充療法のほうが出血量は少なく、生存期間も長かったと報告されている。このように、血小板減少の意味もフィブリノゲンとの関係で考察する必要がある。

(2) 凝固因子欠乏

前述したように全血輸血では第 VIII、第

V 因子以外は比較的保たれているために大量輸血時には全血輸血が適応となることもあるが、赤血球濃厚液のみの補充では凝固異常は必発である。しかしながら凝固に関する検査異常が即出血を示すわけでないことは血小板数と出血の関係と同様である。プロトロンビン時間、あるいは活性化部分トロンボプラスチン時間がコントロールに比して 1.5 倍以上延長あるいはフィブリノゲン値が 100mg/dl 以下では出血の可能性がある。なかでもフィブリノゲンは減少する凝固因子に中でももっと早く止血レベル以下になることが報告されている。

トロンビン産生は希釈障害により低下する可能性はあるが、同時にインヒビターであるアンチトロンビンも希釈の影響で減少することから阻害作用から逃れるために、プロトロンビンの減少とトロンビン産生の減少は一致しない。またフィブリノゲンの減少により、重合フィブリン量は低下するため、重合フィブリンに吸着される量が減ることも、血中トロンビン量がさほど低下しないものと考えられる。しかしながら、acidosis では著明に低下し、一方、低体温では産生量はあまり影響を受けないが産生はゆっくりとなり、総体としてのトロンビン産生は障害されることとなるが、以下に述べるフィブリノゲンの欠乏ほど問題になることはない。

(3) フィブリノゲン欠乏

フィブリノゲンは分子量 34 万 kDa の糖タンパク質で、肝臓で合成される。フィブリノゲンは凝固反応の最終基質であり、トロンビンによりフィブリンへと変換され止血血栓を形成する。凝固のみならず、炎症反応、細胞・細胞間質反応、がん転移、創傷

治癒にも重要な役割を果たしている。正常ヒト血中濃度は 200-400mg/dL である。先天性、あるいは後天性に欠乏する状態がみられるが、血中濃度が 50/mg 以下では凝固しないが、100mg/dL 前後では脆弱ながら止血血栓は生成する。

フィブリノゲンは大量出血時においてもっとも早期に止血レベルを下回る因子であり、大量出血時の鍵となる止血に関する中心的なカギとなる凝固因子である。すなわち、血小板、そのほかの凝固因子は循環血液量の約 2 倍以上の出血において止血レベル以下の状態に陥るにもかかわらず、フィブリノゲンは約 1.4 倍の出血で止血レベル以下になる。さらに、すでに述べたように、凝固反応の最終基質であることから代償となるものはなく、ただちに出血へとつながってしまう。フィブリノゲンの減少は前述したようなトロンビン産生の低下、さらにトロンビン産生の低下により活性化される第 XIII 因子の減少が、疎な架橋フィブリンしか産生されず、またフィブリンへの $\alpha 2$ プラスミンインヒビターの架橋も低下し、脆弱なフィブリンしかできなくなってしまうことも量的減少とともに出血の原因となる。

実際の臨床においては、特に産科的出血時においては、フィブリノゲン値は大出血を予知する唯一因子であり、患者のフィブリノゲン値が 200mg/dL 以下であれば(妊婦であるから本来ならば、400-500mg/dL 程度であり、この値は明らかに低い) 100%の予知率であることによく知られている。

3) 大量出血に対す輸血療法

輸液、赤血球輸血等についても重要であるが、ここでは止血に関する輸血につ

いて述べることにする。大量輸血時における凝固異常に際してはまず止血検査を行い、以後止血が完了するまで適宜行うことが必要である。プロトロンビン時間あるいは INR、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノゲン値、血小板数は必須の検査項目であり、中でもフィブリノゲン値と血小板数の変動はきわめて重要であることに留意すべきである。

(1) フィブリノゲンの補充療法

大量出血に際してフィブリノゲンを十分補充する必要性・有効性は臨床例のみならず、ブタを用いた検討によっても確認されている。フィブリノゲンを補うには新鮮凍結血漿 (FFP)、クリオプレチピテート (クリオ)、フィブリノゲン濃縮製剤が選択肢としてある。

① FFP

FFP はすべての凝固因子を含んでおり、我が国においては各種凝固因子の補充に加えてフィブリノゲンの補充に唯一保険適応となっている。また、大出血の恐れのある場合、可能な限り早期より投与しなければならない。しかしながら、フィブリノゲン濃度を FFP にて止血の最低値から止血レベルに上昇させることは、FFP に含まれるフィブリノゲン値は正常血漿と同値もしくは抗凝固剤の影響で正常血漿以下であることから、原理的に不可能であり、実際 10—20ml/kg と大量投与が必要となり、時には循環血液量の増加に陥る。さらに、輸血後感染症、輸血関連肺障害 (TRALI)、アナフィラキシー反応、場合によっては溶血反応も起こりうる。

② クリオ

クリオはかつて我が国において、主として血友病 A 患者の出血時の治療薬すなわち、凝固第 VIII 因子の補充用に使用されてきたが、高濃度濃縮製剤の開発普及とともに、製剤そのものも使用されなくなった。FFP に比して容量は 10 分の 1 程度でフィブリノゲン値を一気に上昇させる意味では後述するフィブリノゲン濃縮製剤と同様極めて重要である。しかし、病原体の不活化がなされておらず、輸血後感染症の可能性は否定できない。現在ではもっぱらフィブリノゲンの補充療法用に米国を中心に用いられ、ヨーロッパでは安全なフィブリノゲン製剤が入手されるようになり使用は激減している。

作成には数日かかるので、緊急用にはあらかじめ ABO 型別あるいは万人用に AB 型のクリオを作成しておかねばならないこと、ドナーのフィブリノゲン濃度に依存するので、濃度が一定しないことと、ウイルスの不活化がされていない点は濃縮製剤に比して大きなマイナス点である。

③ フィブリノゲン濃縮製剤

フィブリノゲン濃縮製剤は我が国では先天性無もしくは低フィブリノゲン血漿患者の補充療法のみが保険適応で後天性低フィブリノゲン血症には保険適応となっていない。欧米特にヨーロッパでは先天性のみならず、後天性低フィブリノゲン血症にも使用されており、多くの報告例がある。プールした血漿からコーン分画を得て、濃縮し、ウイルスの不活化を経て凍結乾燥される。使用時には蒸留水にて溶解し用いられるが、容量が少ないこと、含有量が一定であることなどから最も有用な製剤といえる。止血に必要な最低値は状態にもよるが 150mg/dL

程度である。実際の周術期にはもう少し高い値が望ましいとの報告もあり、さらに最近では術前に積極的なフィブリノゲン補充療法を行って、血中濃度を 350-400mg/dL 前後に維持し、周術期の出血、輸血量を減少させたという報告もなされている。国際的なガイドラインにおいても、最低フィブリノゲン値は 2006 年に出された American Society of Anesthesiologists (ASA) では 80-100mg/dL、2004 年の British Guideline、2007 年の American Red Cross の American Guideline、および European Guideline はいずれも 100mg/dL であったが、2009 年の German Guideline では 150mg/dL に、さらに 2010 年の Austrian recommendation、European Guideline では 150-200mg/dL と最近では最低値を高く設定されてきている。

4) 大量出血時の輸血療法にあたっての考慮すべき点

① フィブリノゲンの定量

大量出血時には止血に関する因子の内、フィブリノゲン値がもっとも早期に止血レベルを割り込み、大量出血の悪循環に陥ることはすでに述べ、フィブリノゲン値の測定は重要であると思われる。であるが故に、フィブリノゲン値の測定は大出血に陥ってから慌てて行うのではなく、可能性があれば早め早めに行うことが肝心である。

現在、フィブリノゲンの定量はほとんどの医療機関では凝固機器を用いて PT、APTT と同時に測定していると思われる。その原理は一定のトロンビン濃度（かなりの高濃度）を用いた血漿トロンビン時間はフィブリノゲン値の関数であることに基づいている。すなわち、フィブリノゲン値が高値であれば、トロンビン時間は短く、濃度が低

ければ延長するというものである。しかし、大量出血時に投与される代用血漿（特に膠質液）が以上の測定系に影響し、見かけ上高値となると報告されており、これは出血があるにもかかわらず、検査上フィブリノゲン値は高い値が得られるとされ、代用血漿が大量に使用される大量出血時には注意すべき点である。

② 凝固検査

前項においても述べたが、大量出血時には凝固能のモニターが重要であるが、検査それ自体の問題についても十分配慮する必要がある。大量出血時には血圧の低下等により、末梢血から直接採血することは困難であっても、カテーテルからの採血は検査に影響することが多く、極力さけるべきである。

PT、APTT は FFP の投与にあたって目安になっているが、本来この検査は単独の因子欠損ではそれなりの意義を見いだすことができるが、大量出血時のような複雑な凝固異常では必ずしも、適切な指標とはなり得ないことに十分留意すべきである。また、迅速な対応ができるようになったとはいえ、凝固検査には一定の時間がかかることは避けられず、得られた結果も 30—40 分前のものである。従って、医療者は臨床的に出血の状況、バイタルサインなども十分考慮して、早め早めの検査、フィブリノゲン製剤を含む輸血の判断が必要となる。

③ rVIIa (リコンビナント活性化第 VII 因子)

凝固因子に対するインヒビターを生じた血友病患者にみられる急性期の出血に対する治療製剤として開発された rVIIa が重症外傷患者や産科出血を含む大量出血に対す

る治療に有用であるという報告がある。rVIIa は生理的濃度で、活性化された血小板に結合し、トロンビン産生を爆発的に起こすことにより安定化フィブリンを形成する。rVIIa が有効に作用するためには、フィブリノゲン値が少なくとも 100mg/dl 以上、血小板数は 5 万以上が必要である。言い換えれば、rVIIa はトロンビン生成を亢進させるのであって、すべての出血を止めるわけではなく、フィブリノゲン、血小板なくしてはその機能を発揮することはできない。前述したように、大量出血時には必ずしもトロンビン産生は明らかな低下はしていないことが知られており、不用意な本製剤の投与は血栓症の危険性を秘めていることに十分留意すべきで安易な、投与は避けるべきである。

現時点ではどのような出血患者にどのような量をどのような間隔で投与すべきかという成績はきわめて少なく、今後の課題である。

D. 考察

全体としての大量出血の定義には国内外で大きな差異は見られなかったが、輸血に関する単位は国によって異なることから、輸血量を基にした定義は異なっていた。

止血異常の病態については 1. 大量出血により、凝固に関する諸因子（血小板、あるいは凝固インヒビターを含む）が大量に漏出し十分な輸血が行われないうために、その結果、枯渇性かつ輸液による希釈性の凝固障害がおこること、2. 低体温、acidosis などの病態がさらに凝固障害を悪化させること、3. 早期診断のために欧米ではトロンボエラストグラムを推奨されている。

フィブリノゲンの補充に関しては我が国では基本となるのは、FFP 製剤であるが、自家製のクリオや、臨床研究としてフィブリノゲン製剤を用いて輸血量の軽減、出血による死亡数の減少がみられた。米国ではフィブリノゲン補充としてクリオが用いられ、欧米ではドイツ、フランス、オーストリア、デンマークなど主要先進国ではフィブリノゲン製剤が主で、英国のみクリオが用いられている。なかでもオーストリアからの過去 15 年にわたる文献報告を検討し、外傷を含む大量出血でのフィブリノゲン製剤と FFP の出血量、輸血量、在院日数、生存率並びにフィブリノゲン値の比較を行った報告では、後方視的検討である限界はあるものの、フィブリノゲン製剤は FFP に比してすべての項目で有用であった。

また、諸外国ガイドラインでは目標とするフィブリノゲン値は年々高く設定されてきている。

リコンビナント活性化第 VII 因子 (rVIIa) については外傷、あるいは産科出血において有用であるとの報告が散見されたが、いずれもフィブリノゲン値、血小板数を止血レベルまでに上昇させた後にのみ用いるようにとされている。

E. 結論

大量出血に合併する凝固障害には、終結初期からの早期の検査、止血に関する輸血療法（特にフィブリノゲン製剤）を積極的に行うことが必要である。

参考

現時点では、フィブリノゲン製剤は入手困難であることから、やむを得ぬ代替えとしてクリオが考えられるが、その製造法を以

下に示す。

新鮮凍結血漿 (FFP) を 4°C の冷蔵庫内にて 1—2 日間かけてゆっくりと解凍して、遠心操作すると、クリオプレシピテートと称される沈殿物とクリオスーパーネータントと称される上清が得られる。この沈殿物には第 VIII 因子や第 XIII 因子など分子量の大きな凝固タンパクやフィブリノゲン、フォンビレブランド因子、フィブロンectin などの接着性タンパクが含まれている。上製分画を除去後、沈殿物であるクリオ分画を再度 37°C に加温すれば速やかに溶解するので、これを再凍結しておけば 1 年間は有効であるクリオ製剤となる。

5 単位の FFP からは容量として約 10 倍以上濃縮され、1 グラム前後/袋のフィブリノゲンが得られる。

F. 研究発表

1) Shirahata A, Fukutake K, Mimaya J, Takamatsu J, Shima M, Hanabusa H, Takedani H, Takashima Y, Matsushita T, Tawa A, Higasa S, Takata N, Sakai M, Kawakami K, Ohashi Y, Saito H. Clinical pharmacological study of a plasma-derived factor VIIa and factor X mixture (MC710) in haemophilia patients with inhibitors—phase I trial. Haemophilia. 2012 18:94-101

2) Shirahata A, Fukutake K, Higasa S, Mimaya J, Oka T, Shima M, Takamatsu J, Taki M, Taneichi M, Yoshioka A; STUDY GROUP ON FACTORS INVOLVED IN FORMATION OF INHIBITORS TO FACTOR VIII AND IX PREPARATIONS. An analysis of factors

affecting the incidence of inhibitor formation in patients with congenital haemophilia in Japan. *Haemophilia*. 2011 17:771-776.

3) Iwaki T, Tanaka A, Miyawaki Y, Suzuki A, Kobayashi T, Takamatsu J, Matsushita T, Umemura K, Urano T, Kojima T, Terao T, Kanayama N. Life-threatening hemorrhage and prolonged wound healing are remarkable phenotypes manifested by complete plasminogen activator inhibitor-1 deficiency in humans. *J Thromb Haemost*. 2011. 9:1200-1206.

4) Ichinose A, Souri M; Japanese collaborative research group on "Acquired haemorrhaphilia due to factor XIII deficiency" As many as 12 cases with haemorrhagic acquired factor XIII deficiency due to its inhibitors were recently found in Japan. *Thromb Haemost*. 2011. 105:925-927.

5) Miyawaki Y, Suzuki A, Fujimori Y, Takagi A, Murate T, Suzuki N, Katsumi A, Naoe T, Yamamoto K, Matsushita T, Takamatsu J, Kojima T. Severe hemophilia A in a Japanese female caused by an F8-intron 22 inversion associated with skewed X chromosome inactivation.

6) Okada H, Kunishima S, Hamaguchi M, Takagi A, Yamamoto K, Takamatsu J, Matsushita T, Saito H, Kojima T, Yamazaki T. A novel splice site mutation in intron C of PROS1 leads to markedly reduced mutant mRNA level, absence of

thrombin-sensitive region, and impaired secretion and cofactor activity of mutant protein S. *Thrombosis Research*. 2010. 125(5): e246-250.

7) Yamamoto K, Shibayama S, Takeshita K, Kojima T, Takamatsu J. A novel cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, decreases adipose - derived and vascular PAI-1 expression *in vivo*. *Thrombosis Research*. 2009 124(5): 644-645

8) Fujii Y, Shibata Y, Miyata S, Inaba S, Asai T, Hoshi Y, Takamatsu J, Takahashi K, Ohto H, Juji T, Sagawa K. Consecutive national surveys of ABO-incompatible blood transfusion in Japan. *Vox Sang*. 2009 97(3): 240-246

9) Yotsuyanagi H, Kikuchi Y, Tsukada K, Nishida K, Kato M, Sasaki H, Takamatsu J, Hige S, Chayama K, Moriya K, Koike K. Chronic hepatitis C in patients co-infected with human immunodeficiency virus in Japan: a retrospective multicenter analysis. *Hepatol Res*. 2009 39(7): 657-663.

10) Yamamoto K, Takeshita K, Kojima T, Takamatsu J. Stress-induced PAI-1 expression is suppressed by pitavastatin *in vivo*. *Int J. Hematol*. 2009 89(4):553-554.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得；なし
2. 実用新案登録；なし
3. そのほか；なし

厚生労働科学研究補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
総合研究報告書

「術中大量出血時の凝固障害機序の解明と止血のための輸血療法の確立
—手術中の大量出血をいかにして防ぐか—」

研究分担者
名古屋大学腫瘍外科
小林真一郎 横山幸浩 榑野正人

研究要旨

目的

大量肝切除術で、A disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13) をはじめとする凝固線溶関連因子がどのように変動するかを検討した。

方法

葉切除以上の肝切除 52 例とコントロール群の膵頭十二指腸切除術 (PD) 24 例で、開腹前、標本摘出時、手術終了時、術後 1,2,4,7,14 日目の 8 ポイントで凝固線溶関連因子を採血した。

結果

肝切除例は、PD に比較し VWF 抗原/ADAMTS13 活性上昇を認め、特に肝切除後の血栓性合併症例ではより高い傾向にあった。また VWF 抗原/ADAMTS13 活性上昇には術中出血量より ($P=0.258$) より残肝容積 ($P<0.001$) が有意に相関した。

結論

大量肝切除後の VWF 抗原/ADAMTS13 活性上昇は、血栓性合併症発症に関与する可能性が示唆される。