

原 著

測定試薬変更時のプロトロンビン時間 (PT) のデータ乖離に関する検討
—先天性第 VII 因子欠乏症における乖離を経験して—東京女子医科大学東医療センター検査科 (指導: 加藤博之教授)
*東京女子医科大学東医療センター内科オオツカ ヒロコ サカグチ ユウコ サカモト テルヒコ
大塚 洋子・坂口 裕子・坂本 輝彦
ヤマダ リエコ カワウチキヨタカ カトウ ヒロユキ
山田理恵子・川内喜代隆*・加藤 博之

(受理 平成 25 年 3 月 21 日)

Verification of Data Deviation for Prothrombin Time due to Differences in Measurement Reagents:
After Experience of Congenital Factor VII DeficiencyHiroko OTSUKA, Yuko SAKAGUCHI, Teruhiko SAKAMOTO,
Rieko YAMADA, Kiyotaka KAWAUCHI* and Hiroyuki KATO

Department of Clinical Laboratory, Tokyo Women's Medical University, Medical Center East

*Department of Internal Medicine, Tokyo Women's Medical University, Medical Center East

We encountered a case of congenital factor VII deficiency in which the prothrombin time (PT-s) increased with decreased PT-INR when the measurement reagent was changed. We set out to determine the cause of this data deviation.

Materials and Methods: The plasma of the case and PT measurement data of 203 patients were used. We employed PT-Fibrinogen™ (PT-Fib) (ISI = 1.81) or RecombiPlasTin™ (RecombiP) (ISI = 0.82) as measurement reagents of PT, and reviewed the results of PT-s and PT-INR.

Results: With RecombiP, the PT-s of the case was about 3-fold longer in comparison to using PT-Fib. The correlation (a linear approximation) of PT-Fib and RecombiP in PT-INR was better than the correlation of both for PT-s. In addition, large differences were present in the gradient and y-axis section between the 2 regression lines. The PT-s of diluted specimens of plasma lacking coagulation factor VII elongated exponentially when the coagulation factor level decreased. Furthermore, a numerical formula of $y = 0.08x^{1.96}$ was obtained when we calculated the correlation of PT-s using a power approximation curve and the coordinate points of the congenital factor VII deficiency case almost coincided on the curve.

Conclusions: PT-s measured with lower ISI reagents was thought to be extremely high because PT-s between different reagents are related to power approximation. On the other hand, PT-INR was low because the gradient of the regression line was less than 1 in spite of linear approximation.

Key Words: congenital factor VII deficiency, prothrombin time, international normalised ratio, coagulation reagents

緒 言

東京女子医科大学東医療センター検査科の凝固系分析装置を Instrumentation Laboratory 社 (以下 IL 社) の ACL9000 から同社の ACLTOP に移行するとともに, プロトロンビン時間 (PT) 測定試薬をウサ

ギ脳由来のトロンボプラスチン (ヒーモス II PT フィブリノゲン™) (以下 PT-Fib) からヒト由来のリコンビナントトロンボプラスチン (ヒーモス II リコンビプラスチン™) (以下 RecombiP) に変更した。その後, 前試薬のデータに比べ PT-s (秒数) が大き

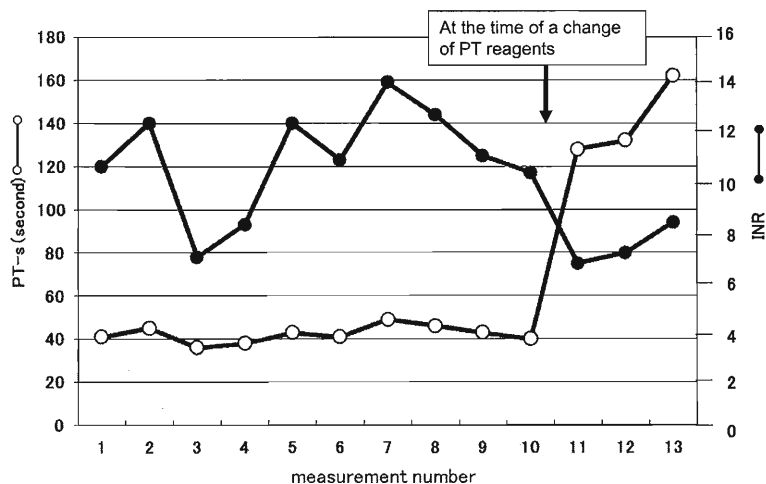


Fig. 1 Changes in PT data of the patient with congenital factor VII deficiency
Prothrombin time (PT-s) increased while PT-INR decreased, when we changed the measurement reagent for the PT test.

く延長したにもかかわらず、PT-INR (International normalized ratio) が小さくなった1例を経験した。この症例はその後、先天性第VII因子欠乏症であることがわかった¹⁾。PT-INRは、ワルファリン服用患者のコントロールのための指標ではあるが、因子活性の低下および欠乏状態でのINRを含むPTの動向を知るために、通常検体、ワルファリン服用患者血漿および因子欠乏血漿の希釈検体を用いて、両試薬で測定したPTデータを解析し、データ乖離の原因検索を行ったので報告する。

材料と方法

材料として先天性第VII因子欠乏症例の血液検体と、PT測定依頼のあった203例の検体および第VII因子欠乏血漿による希釈検体を用いた。

PTの測定は、IL社の凝固系分析装置ACLTOPを使用し、凝固時間法で測定した。試薬は、PT-Fib (ISI値=1.81) または RecombiP (ISI値=0.82) を用いた。

①先天性第VII因子欠乏症例のPTを、試薬としてPT-FibあるいはRecombiPを用いて測定した。また、凝固第II、第V、第VII、第X因子の活性を測定し結果を比較した。

②PT測定依頼のあった検体203例を両試薬で測定し、結果の相関性を検討し、その中での先天性第VII因子欠乏症例の位置を確認した。相関性は、線形近似として回帰直線を引き、その数式を求めた。また、PT-sに関しては累乗近似曲線も求めた。

③試薬によって因子の減少や欠乏がPTにどのように影響するのかをみた。標準血漿を第VII因子欠

乏血漿で希釈し、第VII因子濃度を80%、60%、40%、20%、10%、5%、2.5%、1%、0%にそれぞれ調整したのち、両試薬でPTの測定を行った。因子欠乏血漿と標準血漿はIL社製のものを使用した。

④測定値の相関関係は、Microsoft社のExcel v14.0を用いて線形近似式および累乗近似式を算出した。また、 R^2 をもってその相関性を評価した。

⑤なお、検体の取扱いは、個人情報保護と倫理指針に従って行った。

結果

①先天性第VII因子欠乏症例のPT-sとPT-INRの経時的変化をFig.1に示した。測定試薬変更後、前試薬のデータに比べPT-sが大きく延長したにもかかわらず、PT-INRはやや減少した。

②先天性第VII因子欠乏症例のPT-FibでのPT-sの結果は、48.4秒、48.6秒、PT-INRは、10.7、10.8であるのに対し、RecombiPでは、132秒、162秒、PT-INRは7.1、8.4であった。PT-sは約3倍長くなり、PT-INRはむしろ減少した。凝固因子活性では、第II、V、X因子は80%以上で正常であるが、第VII因子は3%未満と著しく低下していた。

③PT-Fibを用いて測定したPT-sと、RecombiPで測定したPT-sにおける相関性を線形近似で求めると、 $y = 3.07x - 27.82$, $R^2 = 0.91$ ($n = 203$)であるのに対し、PT-INRの相関性は $y = 0.86x + 0.24$, $R^2 = 0.97$ ($n = 203$)と、PT-sでは、相関係数は低く、PT-INRの方が良好な結果が得られたが、二つの回帰直線の傾きとy軸切片には、大きな差がみられた。先天性第VII因子欠乏症例での測定値の座標をみる

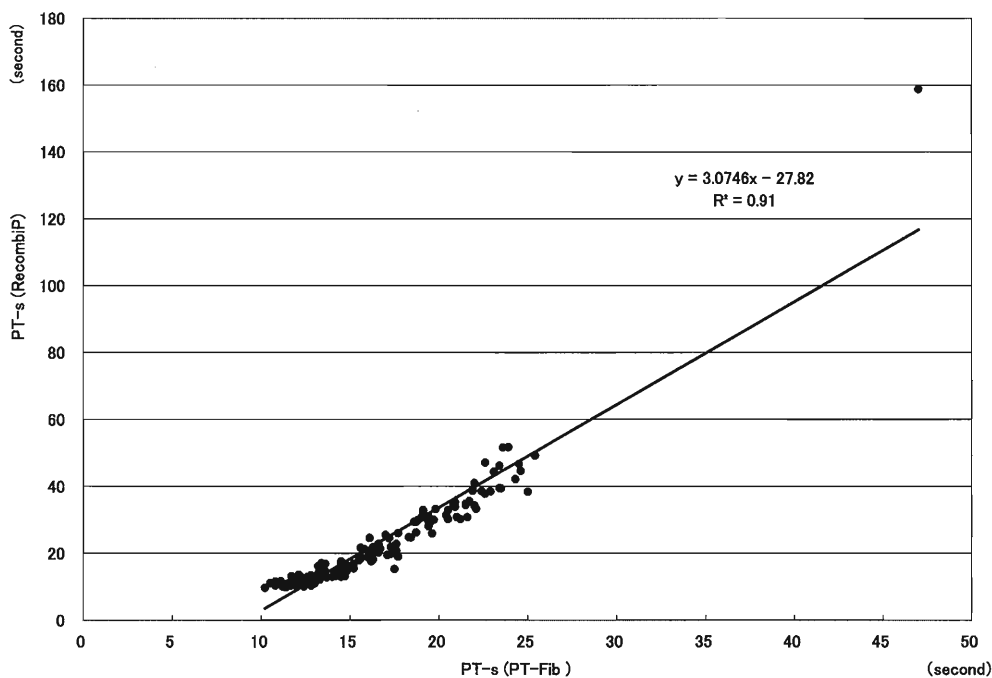


Fig. 2 The correlation of PT-s measured using RecombiP and PT-Fib
 In the 203 patients who underwent the PT test, the correlation between PT-s values by PT-Fib and RecombiP, respectively, was not so good, and the slope of the regression line was about 3, and the y axis intercept was distant from 0.

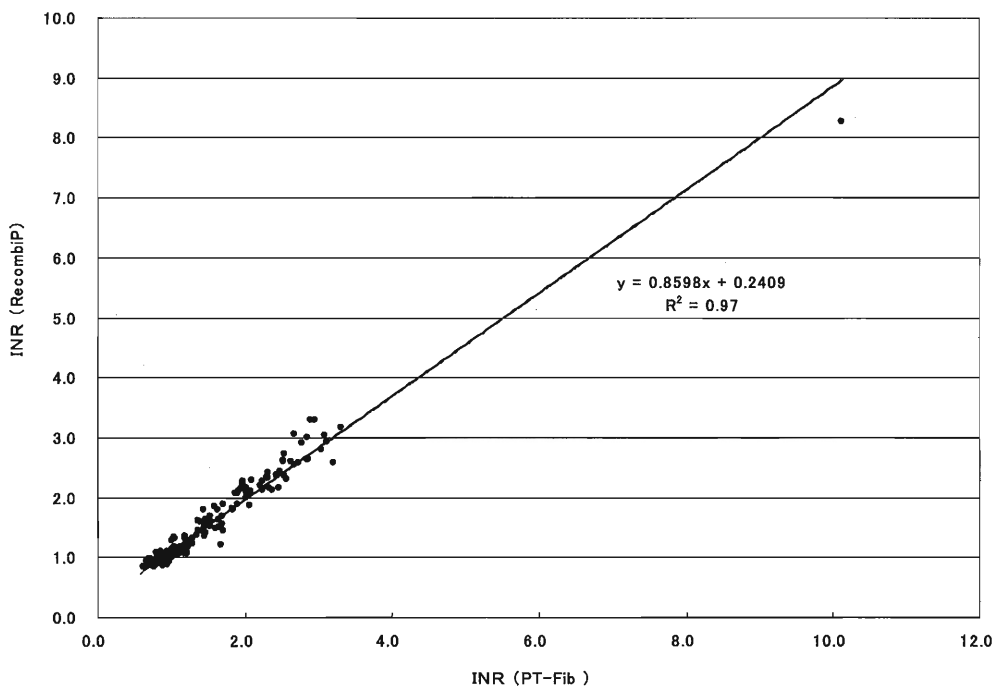


Fig. 3 The correlation of PT-INR measured using RecombiP and PT-Fib
 In the 203 patients who underwent the PT test, the correlation of PT-INR values by PT-Fib and RecombiP, respectively, was good, and the slope of the regression line was close to 1, and the y axis intercept was almost 0.

と、PT-s では RecombiP で極端な延長を示していたが、PT-INR では、回帰直線よりやや下方に位置するだけで 10% 誤差範囲に入っていた (Fig. 2, 3)。

④標準血漿を第 VII 因子欠乏血漿で希釈した検体の PT-s は、第 VII 因子濃度が 20% 以下で、PT-Fib に比べ RecombiP で秒数の延長がみられ、さらに因

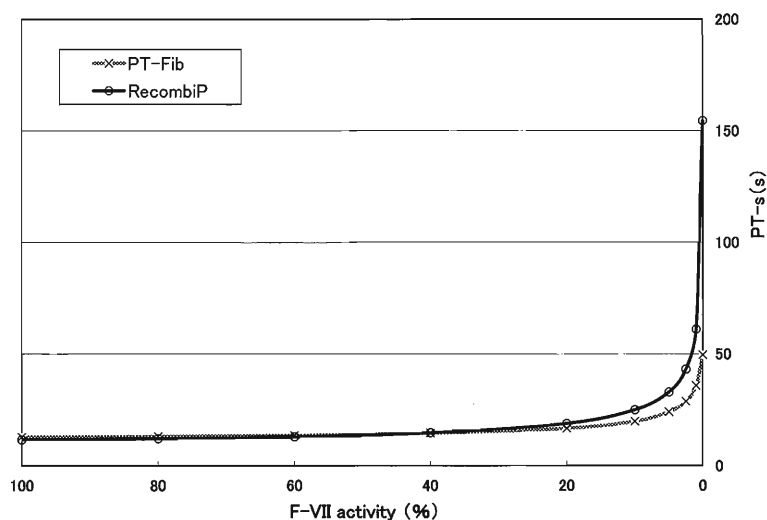


Fig. 4 PT-s of the specimen which was diluted in plasma lacking coagulation factor VII
In the PT-s of diluted specimens of plasma lacking coagulation factor VII, data deviation was present between the 2 reagents when the coagulation factor level was less than 20%.

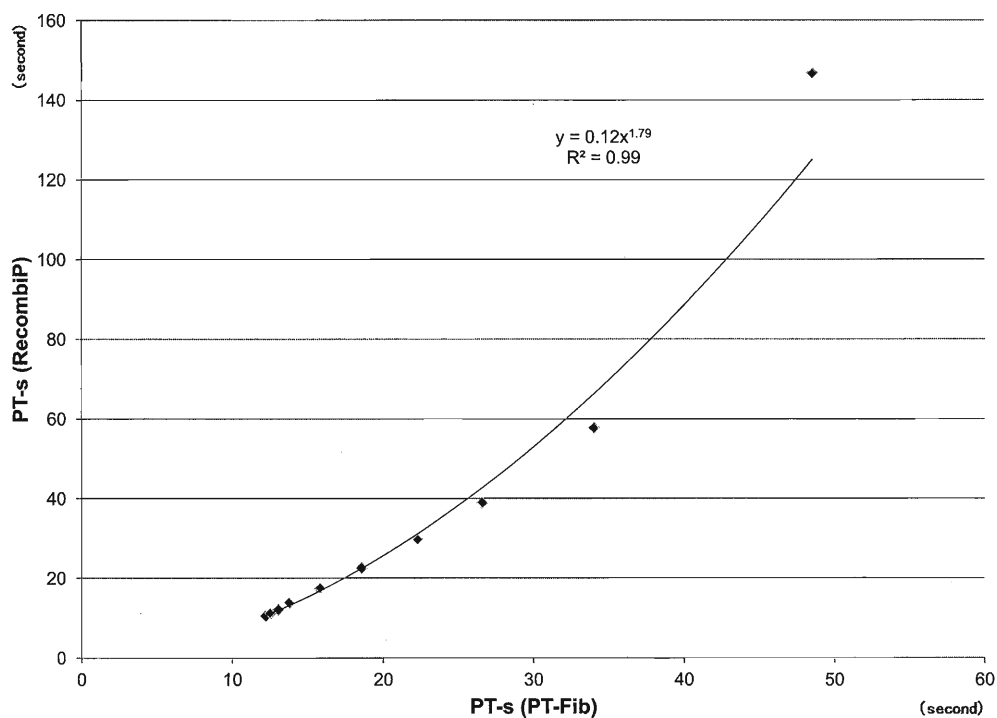


Fig. 5 The correlation of PT-s measured using RecombiP and PT-Fib on diluted specimens of plasma lacking coagulation factor VII (a power approximation curve)

子濃度が低下すると、秒数の乖離が広がった。因子濃度0%では両試薬間で100秒以上の差がみられた (Fig. 4)。

PT-Fibで測定したPT-sの結果とRecombiPで測定したPT-sの結果の相関をみると、 $y = 0.12x^{1.8}$ 、 $R^2 = 0.99$ となり、累乗近似の回帰曲線を引くことができ、非常によく相関していた (Fig. 5)。また、PT-INR

では、 $y = 0.66x + 0.34$ 、 $R^2 = 0.99$ の線形近似式が得られた (Fig. 6)。つまり、第VII因子活性が少ない状態での測定では、RecombiPでの結果は、PT-Fibの結果に比較して、PT-INRは直線的に大きくなるのに対して、PT-sは指数関数的に急上昇した。

⑤ PT測定依頼症例に戻って、PT-FibとRecombiPにおけるPT-sの相関性を累乗近似曲線で描く

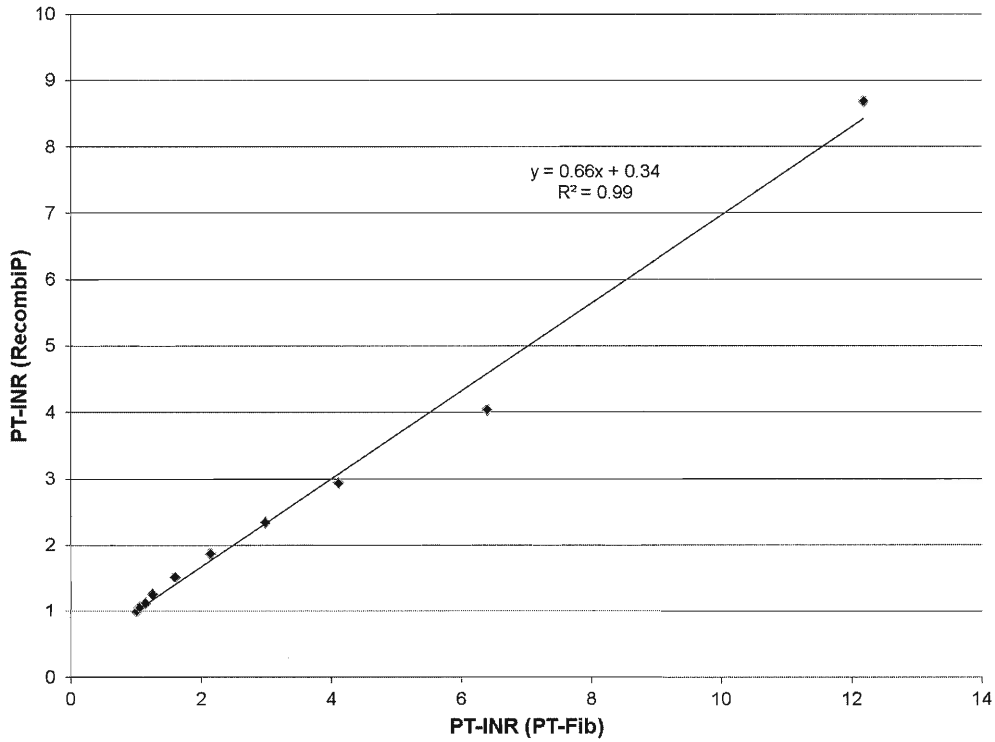


Fig. 6 The correlation of PT-INR measured using RecombiP and PT-Fib on diluted specimens of plasma lacking coagulation factor VII (a linear approximation)

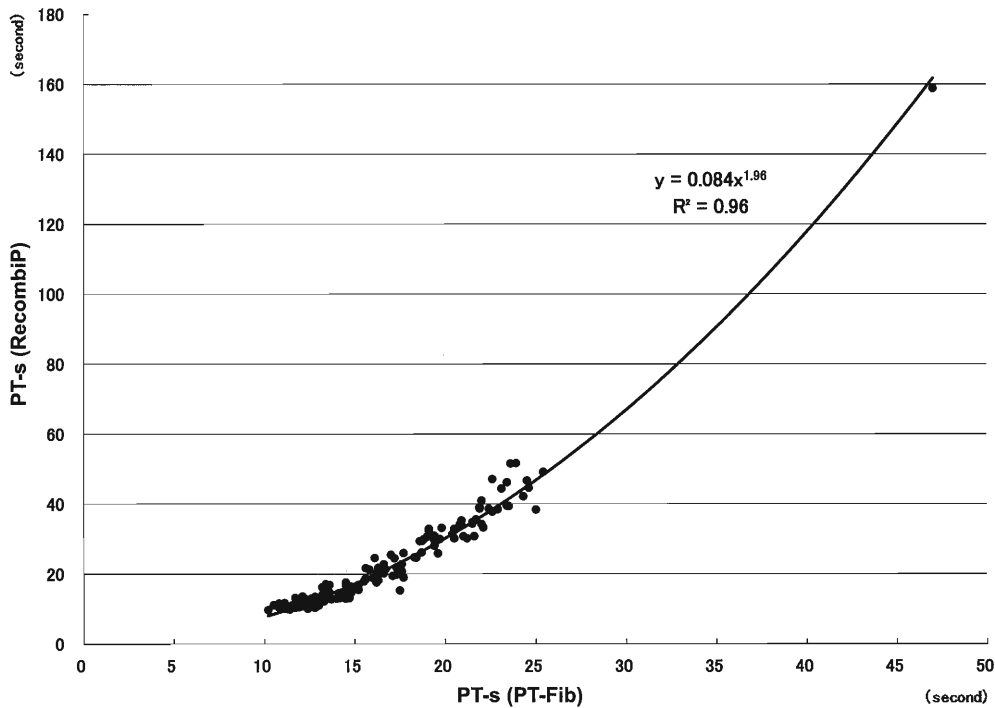


Fig. 7 The correlation of PT-s measured using RecombiP and PT-Fib (a power approximation curve)

The correlation coefficient ($R^2=0.96$) was very good, and a coordinate point of the congenital factor VII deficiency case almost coincided on the curve.

と, Fig.7のように $y = 0.08x^{1.96}$ の数式が得られ, 先天性第 VII 因子欠乏症例の座標点も曲線上にほぼ一致

し, $R^2=0.96$ と線形近似と比べて良好な相関関係が得られた。

考 察

PT は、外因系および共通経路の血液凝固機能をみるための基本的な臨床検査であり、凝固第 II、第 V、第 VII、第 X 因子の活性に関する異常を検出することができる。播種性血管内凝固症候群 (DIC) の評価、肝機能やビタミン K 欠乏、さらにワルファリンなどの抗凝固療法を行う上での指標として臨床に広く用いられている^{2)~5)}。PT は、イオン化 Ca 除去血漿に組織トロンボプラスチンと Ca イオンを加えフィブリン形成が速やかに進むかを調べる検査である。この検査に用いられる組織トロンボプラスチンは、生物由来の製剤であるために、製造ロットや製業者によって結果が異なってくる。検査値を秒数と活性%で表現しただけでは、PT 測定値のバラツキおよび施設間差が起こるため、この差異を標準化するために考案されたものが INR であり、1983 年に国際血液学標準化委員会と国際血栓止血学会より INR に関する勧告が発表された⁶⁾。これは、試薬の力価をヒト脳由来組織トロンボプラスチンを基準にして感度表示 (International Sensitivity Index : ISI) を行い、さらに PT 時間比 (患者血漿の PT 時間/正常対照血漿の PT 時間) の ISI 累乗を INR として表示する。検査試薬が様々であっても INR 値での比較が可能となった。循環器病の診断と治療に関するガイドライン (2004) として「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」⁷⁾および「肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症の診断・治療・予防に関するガイドライン」⁸⁾のなかでもそれぞれの病態における経口抗凝固療法時に PT-INR の利用が提案されている。

今回、検査結果が乖離した症例は、測定試薬の違いにより、PT-s は 3 倍長くなっていたが、PT-INR は減少していた。RecombiP を用いた PT-s の測定レンジは、8~320 秒とされているので、PT-s 値は測定レンジに含まれているが、この症例の PT は、他の症例と大きくかけ離れており、測定結果を単純に評価することはできない。また、PT-INR の評価は、WHO のガイドラインによると、ISI で補正する場合、INR が 1.5 から 4.5 を越えたサンプルは除外されるべきであるとされている³⁾。また、INR は、経口抗凝固療法のためのモニタリングとしての PT の表示についての推奨法であり、凝固因子欠損の症例を対象に作られたものではない。

しかし、第 VII 因子が極端に少ない症例での動向が、どのようになっているかを知ることは意義ある

ことと考えた。まず、PT 測定依頼症例で前試薬 (PT-Fib) と RecombiP の相関をみると、PT-s での傾きは 3.07、y 軸切片が -27.82 であり、秒数を単純に比較はできないことがわかる。また、 $R^2=0.91$ と相関性はやや不良であった。これに対し INR では、傾きが 0.86 であり、PT-s に比べれば 1 に近く、y 軸切片も +0.24 と 0 に近いので、相関は、 $y=x$ に比較的近いグラフとなっている。しかし、傾きが 1 以下のため、特に PT-INR が大きな症例では、RecombiP での測定結果は PT-Fib に比べて PT-INR が低くなることになる。よって先天性第 VII 因子欠乏症例の PT-INR は、7~10 程度と高値であることから、RecombiP での測定では、PT-Fib での測定より低値になったと考えられた。

丹羽らは ISI の異なる試薬を使用しての結果は、PT-INR で比較しても施設間で異なるため、心原性脳塞栓症の地域連携パスに携わり PT-INR 値を測定する医療機関は ISI 値が約 1.0 の PT 試薬を使用すべきであると報告している⁹⁾。ISI が 1.0 の重要性はいうまでもないが、少なくとも、PT-INR を凝固因子欠損の症例に応用する場合、その動態を理解しておくことが重要である。

第 VII 因子希釈検体で凝固因子の濃度と PT-s の関係を見ると、因子濃度が低くなると PT-s は指数関数的に延長していた。このため凝固因子が極端な低濃度の状況下では、PT-s は非常に大きな数値になるので、両測定試薬から得られる PT-s の差の実数値も非常に大きくなる。そして ISI が小さい RecombiP による測定での PT-s は、PT-Fib に比較して極端に延長していた。つまり凝固因子が低濃度領域では、試薬の ISI の差が PT-s の大きなデータ乖離につながったと考えられた。

第 VII 因子希釈検体での PT 測定において試薬間での相関をみると、PT-s では、累乗近似をしており、非常に良い相関関係が得られた。これに対し、PT-INR では、線形近似をしており、これも非常に良い相関が得られた。PT-INR は先に述べたように、ISI 乗で補正されているためと考えられる。しかし、症例での検討と同様に、直線の傾きは 0.66 であり、因子濃度が低くなると、RecombiP で測定した PT-INR は、PT-Fib での結果より低下することが理解できた。

PT-s の変化は累乗近似になっていると考えられるため、PT 測定依頼症例に戻って PT-Fib と RecombiP による PT-s の相関を累乗近似でみると、先

天性第 VII 因子欠乏症例の点も曲線上にほぼ一致し、 $R^2=0.96$ と線形近似と比べて良好な相関関係が得られた。このことから、試薬変更により PT-s が極端に高くなったことが理解できた。

PT 測定において、ISI の異なる試薬を用いた結果の評価は、慎重に行うべきであり、特に病院間や異なる検査機関での測定結果の比較は注意が必要である。また、PT-INR はワルファリン使用例で用いるように考案されているが、凝固因子欠乏症例での PT の評価も、PT-s で行うより PT-INR で行った方が誤差は小さいと考えられた。しかし、ISI が小さい試薬を用いると、凝固因子が極端に少ない例では PT-INR は小さくなることを理解しておくことが必要である。福武は、INR/ISI システムを他の疾患に用いることは問題点もあるが、ISI が 1.0 に近くヒト型の組織因子を試薬として用いることで凝固検査の標準化の可能性を説いている¹⁰⁾。今後、検査の標準化に伴い INR/ISI システムを他疾患に応用する際には、症例の蓄積が大切と考えられた。

結 語

第 VII 因子欠乏症で PT のデータが乖離した原因を調べた。ISI 値の異なる試薬で測定した PT-s は、累乗近似で相関するため、ISI 値が低い試薬で測定した PT-s は、極端に高い値を示す。一方、PT-INR は、線形近似を示すが、傾きが 1 より小さくなるため ISI 値が低い試薬で測定した PT-INR は小さくなることが理解された。

開示すべき COI 関係にある企業等はありません。

文 献

- 1) 高宮 脩, 沖本由理: 先天性第 VII 因子欠乏症. 日血栓止血会誌 12: 320-327, 2001
- 2) Johnston M, Harrison L, Moffat K et al: Reliability of the international normalized ratio for monitoring the induction phase of warfarin: Comparison with the prothrombin time ratio. J Lab Clin Med 128: 214-217, 1996
- 3) 谷合誠一, 星田京子, 柚須 悟ほか: PT-INR 測定の新手法 CoaguChek XS の日本人における測定と信頼度. 呼吸と循環 58 (4): 429-433, 2010
- 4) 山本和弘, 橋本和弘, 坂本吉正ほか: 新しい簡易プロトロンビン時間測定装置による warfarin コントロール 従来法との比較. 胸部外科 61: 530-532, 2008
- 5) 北島 勲: 凝固・線溶と臨床検査. 日血栓止血会誌 19: 462-466, 2008
- 6) International Committee for Standardization in Haematology, International Committee on Thrombosis and Haemostasis: ICSH/ICTH recommendations for reporting prothrombin time in oral anticoagulant control. Thromb Haemost 53: 155-156, 1985
- 7) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン (2002—2003 年度合同研究班報告). 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. Jpn Circ J 68 (suppl IV): 1153-1230, 2004
- 8) 循環器病の診断と治療に関するガイドライン (2002—2003 年度合同研究班報告). 肺血栓塞栓症および深部静脈血栓症の診断・治療・予防に関するガイドライン. Jpn Circ J 68 (suppl IV): 1079-1134, 2004
- 9) 丹羽義和, 山田人志, 若倉 学ほか: 心原性脳塞栓症の地域連携パスを運営する際の pitfall 抗凝固療法のモニタリングにおける PT-INR 値の施設間較差. 医事新報 4492: 78-80, 2010
- 10) 福武勝幸: 凝固検査の標準化の現状: プロトロンビン時間 (PT). 生物試料分析 32: 357-364, 2009