

授与番号	甲第 1840 号
------	-----------

論文内容の要旨

Determination of the reference range of platelet aggregation using a new automatic coagulation analyzer and visualization of platelet function data

(自動血小板凝集測定装置を用いた血小板凝集能の基準範囲の設定と血小板機能の可視化)
(吉田まき子, 大浦一雅, 清水みえ, 名取達徳, 鳴海伸介, 津田圭介, 鎌田麻美, 大井清貴,
石角陽子, 前田哲也, 寺山靖夫)

(Thrombosis Research 194 巻, 10 号, 令和 2 年 6 月掲載)

I. 研究目的

透過光法は血小板機能を評価する検査のゴールドスタンダードとされているが, この方法は手技が煩雑であり, 必要とする検体量が多いことが問題であった. また正常者の基準範囲の設定がなく測定結果の解釈が難しいことも問題であった. 全自動血小板凝固測定装置(CS-2400)を用いることで, 検査手技が簡略化され, また必要検体量が少なくなったことで, 低濃度から高濃度の多くの惹起物質で測定することが可能になり, 血小板の機能亢進と機能低下(薬効効果)を一度に判定することが可能になると考えた.

本研究は全自動血小板凝固測定装置(CS-2400)を用いて, 健常者の血小板凝集能の基準範囲を設定し, また基準範囲をもとに個人の血小板凝集能のデータを基準範囲に重ね合わせて視覚的にわかりやすく評価することを目的とした.

II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学附属病院に勤務する職員 100 名を対象とした. 適格基準としては 20 歳以上で現在加療中の疾患がないもの, 書面にて同意が得られたものとした. 血液は ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)-2K を含んだ採血管とクエン酸採血管に採取し, クエン酸血を透過光法の測定に使用した. 血液を遠心分離にかけて platelet rich plasma (PRP) と platelet poor plasma (PPP) を採取し, これを全自動血小板凝固測定装置 (CS-2400; Sysmex, Kobe, Japan) にセットして血小板凝集能の測定を行った. 惹起物質は adenosine diphosphate (ADP) (0.25, 1, 2, 5, 10, 20 μ M), collagen (0.05, 0.5, 1, 2, 5 μ g/mL), arachidonic acid (AA) (0.1, 1, 1.2mM), thrombin receptor activator peptide (TRAP) (0.1, 0.5, 1, 5, 10 μ M), protease-activated receptor 4 agonist peptide (PAR4-AP) (25, 50, 100, 200 μ M) を用いた. ADP と collagen は Sysmex Corporation (Kobe, Japan) 製, TRAP は Bachem (Bubendorf, Switzerland) 製, PAR4-AP は GenScript (Piscataway, NJ, USA) 製を使用した. また最大凝集率の基準範囲は中央値と四分位 (25%, 75%) で表した. さらに EZR (Easy R) 統計ソフトを用いて, 基準範囲に個人データを重ね合わせ, 一目で血小板機能がわかるようにした.

III. 研究結果

1. 100名の健常者（平均年齢38歳，22歳～65歳，男女比1：1）から採血を行った。血小板数はEDTA-2K採血管とクエン酸採血管で乖離を認めなかった。
2. ADP0.25 μ M, Collagen0.05 μ g/mL, AA0.1mM, TRAP0.1 μ M, 0.5 μ M, PAR4-AP25 μ Mではほとんどの人で凝集が起こらなかった。ADP 1, 2 μ M, collagen 0.5 μ g/mL, TRAP 1 μ M, and PAR4-AP 50 μ Mでは凝集に個人差があった。ADP \geq 5 μ M, collagen \geq 1 μ g/mL, AA \geq 1mM, TRAP \geq 5 μ M, PAR4-AP \geq 100 μ Mではほとんどの人で凝集が起きていた。得られた結果をもとに、血小板機能の基準範囲を設定した。
3. 血小板機能を一目で視覚的に評価できるよう，EZR統計ソフトを使っての健常者（36歳男性）の血小板機能データを基準範囲に重ね合わせた。

IV. 結 語

全自動血小板凝固測定装置(CS-2400)を用いて，日本人健常者の血小板凝集能の基準範囲を設定した。さらに基準範囲に個人のデータを重ね合わせることで，血小板機能亢進や低下(薬効評価)を一目で把握することが可能となった。今後，基準範囲をもとに血小板機能亢進や薬効の評価を行って脳卒中予防に役立てたいと考える。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 諏訪部 章 (臨床検査医学講座)

副査 講師 古和田周吾 (内科学講座血液腫瘍内科分野)

副査 講師 工藤 雅子 (内科学講座神経内科・老年科分野)

透過光法は血小板機能を評価する検査のゴールドスタンダードとされているが、この方法は手技が煩雑であり、必要とする検体量が多いことが問題であった。また正常者の基準範囲の設定がなく測定結果の解釈が難しいことも問題であった。これに対し、全自動血小板凝固測定装置 CS-2400 を用いることで、これまで煩雑な作業を必要としていた血小板機能測定を信頼性高く、迅速に測定することが可能になった。

本研究では、低濃度での凝集反応をみることで血小板機能亢進を、高濃度での凝集反応をみることで血小板機能低下 (薬効評価) をそれぞれ評価できないかが検討された。その結果、健康者血小板における種々の血小板凝集刺激物質の濃度ごとの基準範囲が設定された。これにより、これまで血小板機能を視覚的に評価する方法はなかったが、今回 EZR 統計ソフトを用いて、個人の血小板凝集の結果を基準範囲に重ね合わせるとことで、その血小板機能を視覚的に評価できる可能性が示された。

今後、脳卒中患者の血小板を用い、基準範囲をもとに血小板機能亢進や薬効の評価を行うことで脳卒中予防に役立つことが期待され、学位に値する論文と考えられた。

試験・試問の結果の要旨

血小板活性化に関する臨床的意義、検査内容、結果の解釈について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えた。また、学位論文の作成にあたって、倫理的配慮も適正であり、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) Thrombin-induced platelet aggregation—effect of dabigatran using automated platelet aggregometry— (清水みえ, 他 10 名と共著). Platelets 2020;31:360–364.
- 2) An anatomical variation in the cervical carotid artery of a young stroke patient (若い脳卒中患者の頸動脈の解剖学的変化) (名取達徳, 他 9 名と共著). Internal Medicine 2019;58:123–126.