

総説

伴侶動物医療における 血液凝固検査の現状と課題

鬼頭 克也

岐阜大学 応用生物科学部 獣医学講座 臨床獣医学系 獣医寄生虫病学教室：岐阜県岐阜市柳戸 1-1（〒501-1193）

Key Words 出血傾向，ネコ，イヌ，血液凝固検査

はじめに

イヌやネコなど，伴侶動物の医療水準が向上し，これまでは診断や治療が難しかった疾患に対しても適切な処置が行えるようになった。しかし，止血異常については，未だに正しい診断や治療が行われているとは言い難い。これは，血液凝固検査が臨床の現場に普及していないことが主たる原因であると考えられる。では，なぜ血液凝固検査は普及しないのであろうか。この答えとして，「検査の必要性を感じないから」，「検体の採取が煩雑で面倒だから」，「院内で検査を維持するにはコスト負担が大きいから」，「院外の検査では結果が迅速に得られずかつ信頼性がないから」などの臨床獣医師の言葉が思い浮かぶ。これらは血液凝固検査に対する理解不足－臨床獣医師の問題，に加えて動物検体を扱うのに適した検査システムが確立されていないこと－検査方法の問題，に起因している。

そこで本稿では，まず最初に，伴侶動物医療における血液凝固検査の特殊事情について整理し，この分野にはどのような検査システムが適するかを考察した。次いで，我々の臨床データの一部を紹介して，血液凝固検査が臨床の現場でいかに重要で必須の検査であるかを示した。また，血液凝固検査について正しい知識を持っていただけるよう止血異常の診断手順をできるだけわかりやすく解説した。そして最後に，血液凝固検査の今後の課題についてまとめた。本稿によって臨床獣医師が血液凝固検査についての理解を深める契機となれば幸いである。

伴侶動物医療における 血液凝固検査の特殊事情

1. 検体の採取－採取できる検体量が少ない

伴侶動物の多くは，室内で飼育できる体重 10kg 未満の小型のイヌや 5kg 未満のネコである。これらの動物は体格が小さく，採血に用いる橈側皮静脈，伏在静脈あるいは大腿静脈などの血管は細い。したがって，血液凝固検査を行うのに十分な検体量を確保するのが困難な状況にしばしば遭遇する。また，採血手技に慣れていないと，組織因子を血液中に混入させたり溶血を起こすなどして，検査データが使えない事態を招くことになる。

2. 院内の検査体制－検査に人手が掛けられない

動物病院の多くは比較的小規模の診療施設として運営されている。農林水産省による飼育動物診療施設の開設届出状況（2007 年）によれば，獣医師 1 名だけが診療に従事している施設が 69.2% ある。つまり平均的な動物病院の経営形態は，院長 1 名とこれをサポートする動物看護師 1，2 名からなっている。このような限られた人員の中で診察，検査，治療を行っているので，血液検査業務に費やすことのできる労力は限られたものとなる。したがって，試薬の調整や測定操作が煩雑で時間がかかったり，精度管理を必要とする血液凝固検査の導入は，なかなか受け入れられないのが実状である。

3. 外部機関による受託検査—測定値の信頼性が保たれない

現在、動物病院で血液凝固検査を行う必要が生じた場合、ヒトあるいは動物検体を対象にした院外の受託検査機関に検査を依頼することが多い。しかし、血液凝固検査用の検体は不安定であるため、検体搬送に時間を費やす方法では測定値の信頼性が保たれない。また、ヒト用の検査機関はより高感度で高精度の検査を追求しているため、動物検体の測定には適していない。そのうえ、動物はヒトに比べて血液凝固活性が高く、血液凝固時間が短い(表1)¹⁾という特性があるため、ヒトの検査方法をそのまま動物に外挿するのは適切でなく、ヒトの基準値では動物検体の異常を判定できない。このように外部機関による血液凝固検査は臨床上有効な方法ではない。

通常、緊急な対応が要求される止血異常を正確に診断し、適切な治療方針を早期に決定するためには、院内で迅速に検査を実施し、即座に病態を把握できる体制を確立することが重要である。上述した特殊事情を考慮すると、伴侶動物医療の分野に適した血液凝固検査システムは、操作が簡便で迅速に結果が得られること、測定時の検体量が微量であること、メンテナンスが容易であること、小型で安価であること、といった条件を備えている必要がある。検査機器メーカーには、このようなシステムの開発を是非、お願いしたい。

伴侶動物医療の現場で血液凝固検査が必要となる場合

血液凝固検査が普及しない理由の一つに、臨床医が「検査の必要性がない」と誤った認識を持っていることがある。血液凝固検査は、止血機構に関与する血液凝固因子などの異常を検出するための検査であり、臨床の現場では以下の①から④の場合に必要となる。これらの詳細については文献²⁾を参照していただくこととし、ここでは明らかな出血症状を示さない無症候性の出血傾向を呈する症例^{3~6)}を紹介し、血液凝固検査が特に重要であることを強調したい。

- ①出血傾向が認められる症例に遭遇した時に病態を解明し、診断ならびに治療方針を決定する
- ②出血傾向が疑われる時に異常を発見する
- ③外科手術や生検・細胞診などの前に止血機構をスクリーニングする
- ④血栓症の病態を明らかにし、その診断および治療方針を決定する

我々は出血症状のないビーグルを対象に血液凝固検査を行い、28頭のうち6頭(ただし、血縁関係のある個体を含む)にプロトロンビン時間(prothrombin time; PT)の延長を認めた。これら6頭の血漿では第Ⅶ因子活性だけが10%未満に低下しており、正常血漿を20%添加するとPTの延長が補正された。し

表1. イヌ・ネコ・ウシの血液凝固因子活性(文献¹⁾より引用, 改変)

凝固因子	イヌ (%)	ネコ (%)	ウシ (%)
Ⅱ	100	100	40
V	900	500	550
X	100	60	25
Ⅶ	300	125	5
Ⅷ	800	1300	450
Ⅸ	200	100	200
XI	300	170	70
XII	200	140	200

正常ヒト血漿の血液凝固因子活性を100%とした場合、イヌやネコなど動物の凝固因子活性はヒトと大きく異なっている。特に第Ⅴ因子および第Ⅷ因子の活性が著しく高い。

たがって、この6頭を第Ⅶ因子欠乏症と診断した。また、出血症状のないネコを対象にした血液凝固検査では、39頭中8頭に活性化部分トロンボプラスチン時間（activated partial thromboplastin time；APTT）の延長を認めた。これらは第Ⅶ因子活性が50%未満に低下しており、補正試験では正常血漿を50%まで添加しても延長したAPTTは補正されなかった。このため第Ⅶ因子の阻害による活性低下と診断した。一方、イヌのフォン・ウィルブランド病（von Willebrand disease；vWD）Ⅰ型も無症候性のことが多い⁷⁾。

このような無症候性の出血傾向を有する個体が外傷や手術などの侵襲を受けると、止血不良により大出血を起こす危険性がある。したがって、ビーグルやvWDⅠ型の好発犬種（表2）⁷⁾では、出血症状がなくとも止血機能検査を実施して、これらの疾患に罹患していないか確認することが大切である。また、ネコでは血液凝固時間を測定することにより後天性の出血傾向の発症を早期に摘発することが重要である。

血液凝固検査は出血傾向の診断と治療方針の決定のためだけでなく、無症候性の出血傾向を検出するために、さらに出血傾向に陥りつつある状態を早期に検出するために重要な検査である。また、外科手術や生検・細胞診の前には止血機能を必ず検査して、結果によっては出血に対する予防措置を講じておかなければならない。著者は、血液凝固検査はルーチンに行うべきものと考えている。

止血異常の診断手順

止血異常を診断するには、まず初めに問診と身体検査によって病歴と症状を正確に把握することで、止血機構のどこに異常があるかを推察することが重要である。ついで止血機能スクリーニング検査を行い、必要に応じて精密検査を実施して病態を確定する。止血機構については既報^{8,9)}を参照されたい。

1. 病歴の聴取（問診）

①出血が病的な程度かあるいは生理的な範囲のものか、②出血傾向を引き起こす可能性のある薬剤（表3）^{10~12)}を投与していないか、③出血症状の初発の時期はいつか（幼齢か、成齢か）、④出血以外に症状はあるか（嘔吐、下痢など）、⑤親、兄弟など家族にも出血傾向が認められるか、などをポイントに聴取する。③から⑤の内容は、出血傾向が先天性のものか後天性のものを確定するのに有用な情報となる。

2. 身体検査

出血症状は多彩であるが、その特徴の把握は出血傾向の原因特定や鑑別診断に極めて有用なことが多い。紫斑（purpura；図1）は皮膚あるいは皮下組織における出血であり、出血斑の小さいものを点状出血（petechiae；図2）、大きいものを斑状出血（ecchymosis；図3）あるいは紫斑という。これらの病変は、紅斑（erythema）や毛細血管拡張（telangiectasis）とは容易に区別される。紫斑は時間の経過とともに

表2. フォン・ウィルブランド病Ⅰ型の好発犬種

エアデル・テリア、秋田、ダックスフンド
ドーベルマン・ピンシェル、ジャーマン・シェパード
ゴールデン・レトリバー、グレーハウンド
アイリッシュ・ウルフハウンド、マンチェスター・テリア
シュナウザー、ウエルシュ・コーギー
プードル、シェットランド・シープドッグ

表 3. 止血機構に影響のある薬剤

血小板数に影響する薬剤	骨髓機能の抑制	抗生物質	ストレプトマイシン，クロラムフェニコールなど
		化学療法剤	5-フルオロウラシル，アクチノマイシン D，シスプラチン，シクロフォスファミド，ドキソルビシン，シトシンアラビノシド，メルファラン，メトトレキサート，ビンブラスチン，ビンクリスチン，アザチオプリン，クロラムブシル，L-アスパラギナーゼなど
		ホルモン剤	エストロジェン，プレドニゾロン
		抗炎症薬	コルヒチン，フェニルブタゾン，インドメタシンなど
	血小板の破壊亢進	抗生物質	セファロsporin，スルホンアミド，トリメトプリム，ペニシリン，オキシテトラサイクリン，ストレプトマイシン，エリスロマイシン，メシチリンなど
		抗蠕虫薬	フェンベンダゾール
		抗炎症薬	アセトアミノフェン，アスピリン，フェニルブタゾンなど
		心・血管系薬	ジギトキシソ，ジゴキシソ，ニトログリセリンなど
		利尿薬	フロセミド
		ホルモン	エストロジェン
その他	ヘパリン，ジアゼパム，フェノバルビタールなど		
血小板機能に影響する薬剤	非ステロイド抗炎症薬 (NSAIDs)	アスピリン (アセチルサリチル酸)，イブプロフェン，インドメサシン，フェニルブタゾン	
	アデニル酸シクラーゼ あるいは グアニル酸シクラーゼ刺激剤	プロスタグランディン E1, I2, D2, ニトログリセリン，ニトロプラシッド，一酸化窒素 (NO)	
	フォスフォ・ジエステラーゼ 阻害剤	シロスタゾール，ジピリダモール，トラピジル	
	カルシウム拮抗薬	ジルチアゼム，ニフェジピン，ベラパミ	
	抗血栓薬	チクロピジン，リドグレール，クロピドグレールなど	
	その他	アンピシリン，ペニシリン G，ゲンタマイシン，抗ヒスタミン剤，エストロジェン，ハロタン，リドカインなど	
血液凝固系に影響する薬剤		ヘパリン，ワルファリン	

紫色から紫緑色, 黄褐色に変化して消退する。紫斑や結膜出血 (conjunctival hemorrhage; 図 4) は血管や血小板の異常, すなわち一次止血の異常に特徴的な症状であるが, 血液凝固や線溶反応の異常, すなわち二次止血の異常による出血傾向では, 紫斑は深部組織に達する大きい皮下血腫 (subcutaneous hematoma) となる。また, 二次止血の異常では, 血胸 (hemothorax) や腹腔内出血 (hematoabdomen) などの体腔内出血 (cavity hemorrhage) がみられる。

一次止血の異常による出血傾向では, わずかな創

傷からも容易に出血し, 持続時間は比較的短く, 圧迫などの局所的措置で止血することが特徴である。これに対し, 二次止血の異常による出血傾向では, 遷延性の出血で止血困難なことが多く, 再出血が多い傾向がみられる。また, 関節腔内出血 (hemarthrosis, intraarticular hemorrhage) は重症の遺伝性血液凝固異常症でみられることが多い。なお, 鼻出血 (epistaxis, nasal hemorrhage; 図 5) や吐血 (hematemesis; 図 6), 下血 (melena), 血尿 (hematuria), 月経過多 (menorrhagia) からは出血傾向の病態を鑑別することは困難である。



图 1. 紫斑



图 2. 点状出血



图 3. 斑状出血



图 4. 結膜出血



图 5. 鼻出血



图 6. 吐血

3. 止血機能スクリーニング検査

止血機能スクリーニング検査は、血管・血小板系、血液凝固内因系・外因系および線溶系を把握できる検査を組み合わせで行う。主な止血機能スクリーニング検査を表4に示した。止血機能検査では検体の採取とその取り扱いが、正しい結果を得るために最も重要な要素である。

4. 検体採取の注意

血小板や血液凝固因子はわずかな刺激によっても活性化されるため、採血には細心の注意が必要である。組織液の混入や溶血した検体は検査に適さない。採血は頸静脈などできるだけ太い血管から、19～23G程度の注射針を使用して行う^{注)}。採血に使用するシリンジやスピッツ管などは乾燥したプラスチック

製のものを用いる。

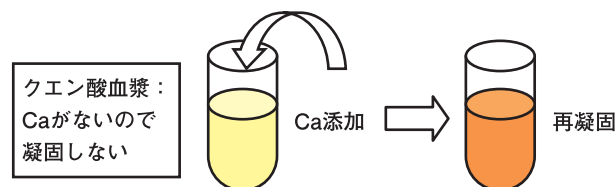
抗血液凝固剤は、血小板数の算定用にはエチレンジアミン4酢酸(EDTA)(1 mg/血液1 mL)を用いる。ヒトやウマはEDTAによって血小板が凝集することがあるが、イヌやネコでは報告されていない。血液凝固・線溶系の検査には3.2%(または3.8%)クエン酸ナトリウム溶液を用いる(図7)。血液9容に対してクエン酸ナトリウム溶液1容を正確に混和し、遠心(3,000 rpm × 15分、できれば4℃)して血漿を分離する。測定はできるだけ速やかに行うのが原則であるが、採血後数時間以内に測定する場合には冷蔵保存、後日測定する場合には冷凍保存(できれば-70℃以下)する。

注) 頸静脈を用いて採血した場合には皮下血腫を作りやすいので、血管を十分に圧迫するなどの注意が必要である。

表4. 止血機能スクリーニング検査

一次止血 — 血管・血小板系の検査	二次止血 — 血液凝固・線溶系の検査
血小板数	プロトロンビン時間
出血時間	活性化部分トロンボプラスチン時間
	血漿フィブリノゲン濃度
	トロンボテスト
	ヘパプラスチンテスト
	フィブリン/フィブリノゲン分解産物

止血機能をスクリーニングする検査には、一次止血—血管・血小板機能を評価するものと、二次止血—血液凝固・線溶機能を評価するものがある。検査を実施する場合には、血管・血小板系と血液凝固・線溶系を把握できるようにこれらを組み合わせる。



カルシウム (Ca) のキレート作用が強くない

- ・適度のCaキレート作用→Caを加えると再び凝固する
- ・キレート作用の強いEDTAやシュウ酸、抗トロンビン作用のヘパリンは、使えない。

図7. なぜクエン酸溶液が適するのか？

血液凝固・線溶系検査の抗血液凝固剤にクエン酸溶液が用いられるのは、そのCaキレート作用が「適度な」ためである。キレート作用の強いEDTAなどは使用できない。クエン酸加抗凝固全血にCaを添加すると血液は再凝固するが、これが検査の根本にある。

一方でクエン酸溶液のCaキレート作用は緩やかなので、採血時に組織液の混入や溶血を起こさないような細心の注意が必要となる。

5. プロトロンビン時間 (PT)

PT は、止血異常の原因が血液凝固外因系の第Ⅶ因子や共通経路の第Ⅹ, Ⅴ, Ⅱ (プロトロンビン) 因子およびフィブリノゲンに存在するか否かをスクリーニングする検査である (図8)。

PT が延長する病態としては、先天性では第Ⅶ因子欠乏症、後天性では播種性血管内凝固症候群 (disseminated intravascular coagulation ; DIC), 肝障害あるいはビタミン K 欠乏症, ワルファリン中毒などがある。

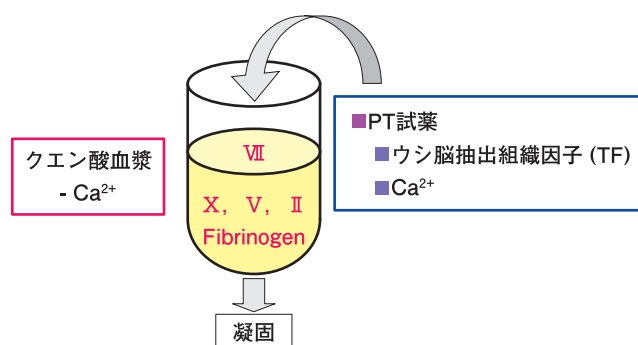


図8. PT の測定原理

クエン酸ナトリウムにより脱 Ca^{2+} することで凝固阻止した血漿に、組織因子 (TF) と CaCl_2 溶液 (Ca^{2+}) を加えて凝固時間を測定し、検体 (血漿) 中の第Ⅶ, Ⅹ, Ⅴ, Ⅱ 因子およびフィブリノゲンの凝固活性を総合的に評価する。

6. 活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

APTT は、止血異常の原因が血液凝固内因系の接触因子 (第Ⅻ, Ⅺ因子, プレカリクレイン, 高分子量キニノゲン) と第Ⅷ, Ⅸ因子および共通経路の第Ⅹ, Ⅴ, Ⅱ 因子およびフィブリノゲンに存在するか否かをスクリーニングする検査である (図9)。

APTT が延長する病態としては、先天性では第Ⅷ因子欠乏症 (血友病A), 第Ⅸ因子欠乏症 (血友病B), 第Ⅻ因子欠乏症など、後天性では DIC, 肝障害あるいはビタミン K 欠乏症, ワルファリン中毒などがある。

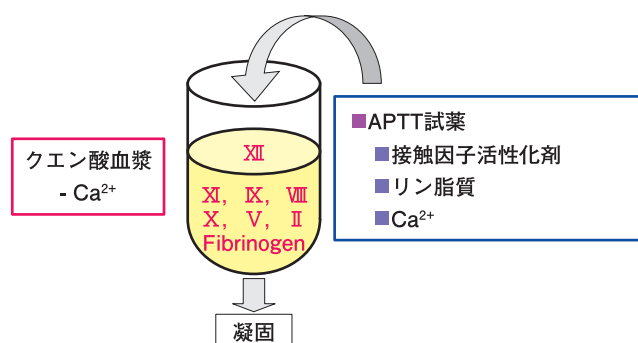


図9. APTT の測定原理

クエン酸ナトリウムにより脱 Ca^{2+} することで凝固阻止した血漿に、接触因子活性化物質 (カオリンなど) とリン脂質, CaCl_2 溶液 (Ca^{2+}) を加えて凝固時間を測定し、検体 (血漿) 中の第Ⅻ, Ⅺ, Ⅸ, Ⅷ, Ⅹ, Ⅴ, Ⅱ 因子, プレカリクレイン, 高分子量キニノゲンおよびフィブリノゲンの凝固活性を総合的に評価する。

7. 血漿フィブリノゲン濃度 (plasma fibrinogen concentration ; Fib)

Fib は、血液凝固の最終産物であるフィブリノゲンの質的あるいは量的な異常をスクリーニングする検査である (図 10)。

Fib の測定法にはフェノール試薬による比色法、塩析による沈殿法、トロンビンによるトロンビン時間法などがある。このうちトロンビン時間法が、フィブリノゲンの凝固活性をよく反映した方法として知られている。

Fib が増加する病態には炎症性疾患や脱水があり、減少する病態には先天性減少症と後天性凝固障害がある。また、Fib の質的な異常としては、先天性異常フィブリノゲン血症と後天性の肝障害による異常フィブリノゲンの産生などがある。

8. ビタミンK 依存性因子 (vitamin K-dependent protein)

ビタミン K 依存性因子とは、血液凝固因子の第Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ 因子と凝固阻止因子のプロテイン C (protein C ; PC)、プロテイン S (protein S ; PS) などを用いる。これらの因子は、遺伝情報に基づき前駆体蛋白 (protein induced by vitamin K absence or antagonist ; PIVKA) が作られた後、合成の最終段階で、その N 末端近傍にあるグルタミン酸 (Glu) 残基がビタミン K 依存性のカルボキシル化反応によって γ -カルボキシグルタミン酸 (Gla) 残基となり完成する (図 11)。

抗血液凝固性殺鼠剤中毒や胆汁排泄障害による脂溶性ビタミンの吸収不良などによりビタミン K が欠

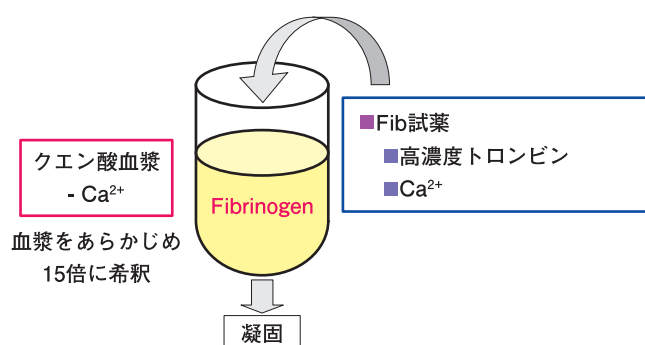


図 10. Fib の測定原理

クエン酸ナトリウムにより脱 Ca²⁺ することで凝固阻止した血漿を緩衝液で希釈し、これに高濃度のトロンビンと CaCl₂ 溶液 (Ca²⁺) を加えて、フィブリノゲンがフィブリンに転化して凝固するまでの時間を測定する。フィブリノゲン濃度が既知の溶液から作成した時間-濃度標準曲線を基に、凝固時間からフィブリノゲン濃度を算出する。

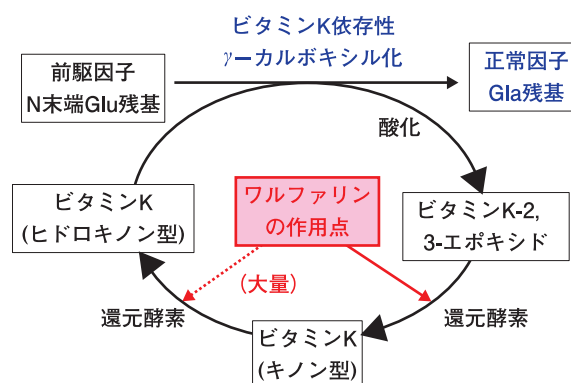


図 11. ビタミン K 依存性因子とは？

経口摂取あるいは腸内細菌叢から供給されたビタミン K (キノン型) は還元酵素によりヒドロキノン型となった後、ビタミン K 依存性因子の γ -カルボキシル化反応に関わり、酸化されてビタミン K-2, 3-エポキシドとなる。ビタミン K-2, 3-エポキシドは還元されてキノン型に戻り、再利用される。

ワルファリンはビタミン K 還元酵素を阻害してビタミン K の酸化還元サイクルを止め、ビタミン K 欠乏状態を作ることによって抗凝固作用を発揮する。

乏すると、または肝細胞障害によってビタミン K の利用が低下すると、 Ca^{2+} と結合できない PIVKA のまま合成を終えることになる。PIVKA は正常な凝固活性をもたないばかりか凝固反応を阻害することもあるため出血傾向を引き起こす。

9. トロンボテスト (thrombo test ; TT)

TT は、複合因子 T、すなわちビタミン K 依存性凝固因子のうち第Ⅱ、Ⅶ、Ⅹ因子の組合わせと PIVKA による阻害を含めた凝固活性を総合的に測定する (図 12)。

TT が低下する病態には第Ⅶ、Ⅹ、Ⅱ因子の異常があり、また、TT は抗血栓療法のワルファリン投与量のモニターとして用いる。

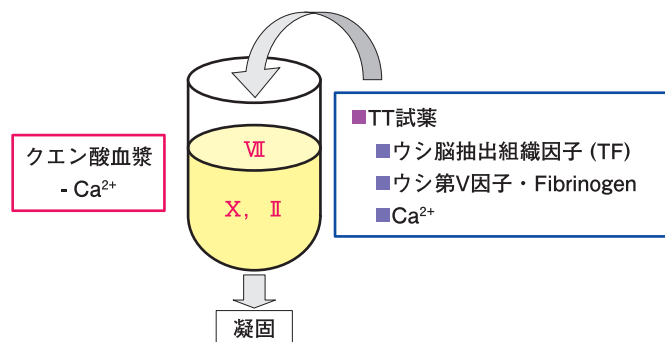


図 12. TT の測定原理

クエン酸ナトリウムにより脱 Ca^{2+} することで凝固阻止した血漿に、組織因子 (TF) と第Ⅴ因子とフィブリノゲンを十分に補充する目的でウシ血漿、さらに CaCl_2 溶液 (Ca^{2+}) を加えて凝固時間を測定し、検体 (血漿) 中の第Ⅶ、Ⅹ、Ⅱ因子の凝固活性を総合的に評価する。

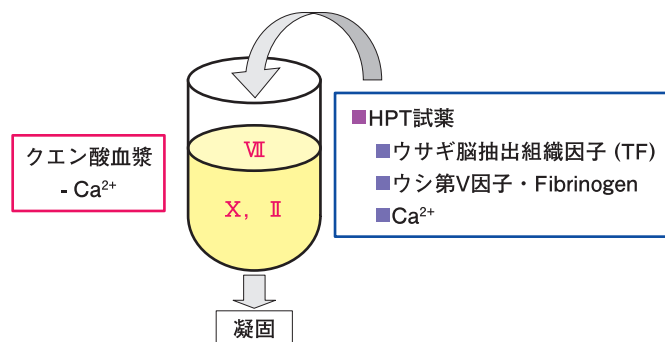


図 13. HPT の測定原理

クエン酸ナトリウムにより脱 Ca^{2+} することで凝固阻止した血漿に、ウサギ脳由来の組織因子 (TF)、第Ⅴ因子とフィブリノゲンを補充する目的のウシ血漿、さらに CaCl_2 溶液 (Ca^{2+}) を加えて凝固時間を測定し、検体 (血漿) 中の第Ⅶ、Ⅹ、Ⅱ因子の凝固活性を総合的に評価する。

10. ヘパプラスチンテスト (hepaplantin test ; HPT)

HPT は、肝臓で合成される複合因子 H、すなわち第Ⅱ、Ⅶ、Ⅹ因子の組合わせ活性を、PIVKA の影響を受けることなく測定する (図 13)。したがって、HPT は肝臓での蛋白合成能とビタミン K 不足を鋭敏に反映し、肝臓実質障害の指標となる。

TT と HPT は、PIVKA の影響を受けるか否かで異なる。したがって、TT と HPT の差から、PIVKA-Ⅱの関与度 (PIVKA 指数) を次式によって算出することができる。

PIVKA 指数 (inhibitor index)

$$= \{ \text{HPT}(\%) - \text{TT}(\%) \} / \text{HPT}(\%)$$

参考基準値：- 0.20 ~ 0.20 (0.20 以上であれば PIVKA の出現を推定)

11. フィブリン/フィブリノゲン分解産物 (fibrin/fibrinogen degradation products ; FDP)

FDP は、プラスミンにより分解されるフィブリノゲン、可溶性フィブリンモノマーおよび安定化フィブリンの分解産物の総称である。また、安定化フィブリンが分解されると D-ダイマーが産生される。FDP は、血管内でのフィブリン形成を反映するとともに線溶亢進の病態で高値を示すと考えられるが、それらはフィブリン形成を伴わない一次線溶によっても産生される場合があるので、結果の解釈には注意が必要である。一方、D-ダイマーは活発なフィブリン形成により二次的に起こる線溶を示すので、血栓症の病態評価には FDP よりも有効である。

FDP の測定には抗ヒトフィブリノゲン抗体を使用したラテックス凝集法が応用できる。検体には、凝固促進剤のトロンビンやバトロキソビンおよび線溶抑制剤のアプロチニンが添加された試験管で採取した血清を用いる。FDP の基準範囲は、イヌ、ネコとも $5 \mu\text{g/mL}$ 以上は警戒域、 $10 \mu\text{g/mL}$ で異常値と判定する。なお、最近、イヌの D-ダイマーがコマーシャルベースで測定できることが報告されている¹³⁾。

12. 活性化凝固時間 (activated coagulation time ; ACT)

ACT は、凝固内因系と共通経路の異常を専用の試験管を用いてスクリーニングするもので、試薬を必要とせず、どこでも実施できる利点がある。しかし、凝固因子活性が 90% まで低下してやっと延長するほど、測定感度が鈍いこと、再現性に劣ること、さらに外因系の異常を検出できないことが欠点である。基準範囲は、イヌで 60 ~ 110 sec、ネコで 50 ~ 75 sec である。また、全血を検体としており、APTT と異なって PL を補充しないので、重度の血小板減少でも延長する。

13. 血液凝固検査の評価

血液凝固検査 (PT, APTT, Fib, TT, HPT) の基準値・基準範囲は、測定に用いる試薬や測定法によってデータが異なるため、検査室ごとに定めるのが原則である。岐阜大学動物病院では、平均値 ± 2 標準偏差を基準範囲に設定しており、ドライ式血液凝固検査 COAG 1 (エイアンドティー社) 法によるイヌの基準範囲は、PT 5.3 ~ 7.3 sec, APTT 17.3 ~ 28.9 sec, Fib 123 ~ 447 mg/dL である¹⁴⁾。また、エイアンドティー社との共同研究で設定したドライ式血液凝固検査 CG02V 法による基準範囲は、イヌでは PT 7.4 ~ 8.8 sec, APTT 12.0 ~ 28.0 sec, Fib 150 ~ 350 mg/dL, TT 10.3 ~ 14.6 sec, HPT 9.0 ~ 18.7 sec で、ネコでは PT 9.3 ~ 11.3 sec, APTT 20.0 ~ 42.0 sec, Fib 120 ~ 240 mg/dL, TT 18.8 ~ 30.2 sec, HPT 15.0 ~ 30.7 sec である。この他、試薬を調整して行うウェット式血液凝固検査法では、イヌの基準範囲を、PT 6.4 ~ 7.6 sec, APTT 13.5 ~ 17.9 sec, Fib 193 ~ 393 mg/dL としている。

測定値の評価は、①基準値を設定し、PT では 2 秒以上、APTT では 10 秒以上の延長を異常値とする、②基準値を設定し、その 30% 以上の延長を異常値とする、③基準範囲を設定し、その $\pm 10\%$ 以上を境界域、 $\pm 20\%$ 以上を異常値とする、などの方法がある。

PT や APTT などの検査では、単一の凝固因子に異常がある場合には、その凝固因子活性が正常の 20% 以下に低下しないと凝固時間は延長しない。一方、臨床的には、複数の凝固因子活性が低下する DIC や抗血液凝固性殺鼠剤中毒などの症例に遭遇する機会が多く、この場合には中等度の凝固因子活性の低下でも凝固時間が延長する。

ヒト検体を対象とした検査機関に検査を依頼する場合には、成績を正しく評価するために、数頭の健康なイヌまたはネコから採取した血漿を混和したもの (プール血漿という) を同時に測定することが望ましい。また、検査項目によっては検査結果が比活性 (%) で提示されるが、できれば秒数 (sec) も回答してもらえるとよい。

14. 精密検査

上記のスクリーニング検査結果を評価した後、必要な精密検査を実施して最終的な診断を下す(図14)。一次止血-血管・血小板機能の精密検査としては、血小板凝集能試験、血小板粘着能試験、網状血小板の測定、および血小板活性化マーカーの検出(CD62PやPAC-1など)、vWF抗原量の測定とvWFのマルチマー解析などがある。また、二次止血-血液凝固・線溶機能を評価する精密検査としては、各凝固因子活性の定量、循環抗凝血素の検出、アンチトロンビン(antithrombin;AT)活性やトロンビン・アンチトロンビン複合体(thrombin・antithrombin complex;TAT)活性およびPC活性の測定などがある。しかし、これらの検査はごく一部の大学でしか実施できないものばかりであり、著者の知る限りでは、vWF抗原量、vWFマルチマー解析、AT活性、TAT活性およびPC活性の5項目だけが、ヒト用のコマーシャル検査機関で測定できる^{15, 16)}。

血液凝固検査の今後の課題

1. 診断を確定するための検査体制の確立

PT, APTT, Fibなどはスクリーニング検査であり、異常を検出しても、これらの結果だけでは通常は診断に結びつかない。PTやAPTTがなぜ延長しているのか、その原因がどこにあるのかを決めるためには、血液凝固因子活性の測定、因子抗原量の測定あるいは循環抗凝血素の検出などの精密検査が要求される。血液凝固検査を行ったのに、得られたデータが診断や治療に結びつかなければ、検査の意義が失われてしまう。したがって、診断を確定するための精密検査体制の確立が急務である。

2. 新たな検査法の確立

伴侶動物の医療水準が向上したことで、従来あまり問題にされてこなかった血栓傾向・血栓症がイヌやネコにも存在することが明らかになった。臨床的

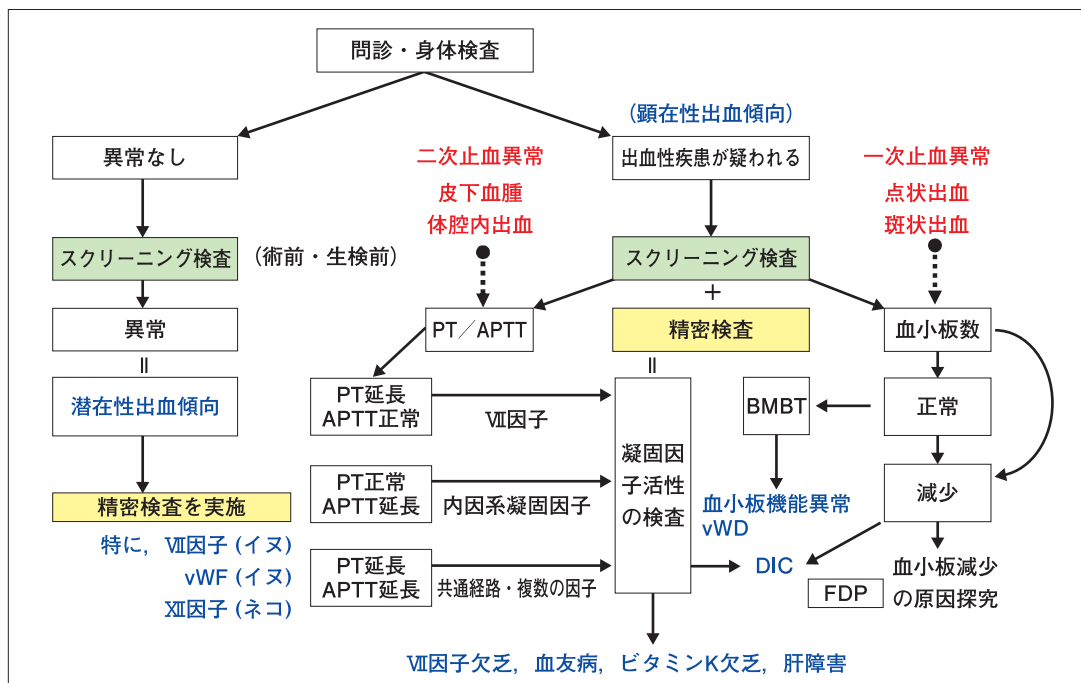


図14. 止血異常を診断するためのフローチャート

問診と身体検査によって出血症状を伴う顕在性出血傾向が疑われる場合、その症状が点状出血や斑状出血である時には、まず血小板数を測定し、これが正常な場合にはBMBTを測定する。また、皮下血腫や体腔内出血などがみられる場合には、PT, APTT, Fibなどの血液凝固検査を行い、必要に応じてFDPを測定する。一方、身体検査では異常がないにも関わらずスクリーニング検査で異常を示す潜在性出血傾向があるので注意が必要である。

スクリーニング検査の結果によって、さらに血小板機能検査、vWF抗原量の測定あるいは凝固因子活性の測定などの精密検査を行い、診断を確定し治療方針をたてる。

に普通にみられる様々な疾患，例えば肝疾患，腎疾患，敗血症，クッシング症候群，糖尿病，脾炎，心疾患，悪性腫瘍，免疫介在性溶血性貧血などで，AT 活性や PC 活性の低下あるいは TAT 活性の上昇が認められ¹⁵⁾，血栓塞栓症や DIC が併発する^{17～24)}。しかし，PT や APTT は凝固時間の延長，つまり出血傾向を診断することはできるが血栓傾向の診断には役立たない。したがって，pre 血栓症の診断に有用な動物特異的なマーカーの開発など，血液凝固亢進状態を評価する方法が確立されなければならない。

おわりに

我が国では，欧米と比較して先天性出血傾向の発生報告が少ない。これは，伴侶動物の出血傾向に関心が向けられていなかったことに原因があると考えられる。昨今のペットブームで多品種のイヌやネコが多数，海外から導入されており，特に人気のある種類では，近親関係での無理な繁殖が行われることもある。伴侶動物臨床分野に止血機能検査が普及することで，これまではみられなかった出血傾向が摘発される可能性がある。

動物医療に関する社会的監視が高まるなか，検査によって初めて止血異常が検出できる潜在性（無症候性の）出血傾向が存在することを理解しなければならない。外観上健康に見える個体に，止血機能検査を行うことなく避妊や去勢手術を施して出血事故が起きた場合には，獣医師の過失責任が問われることになる。備えあれば憂いなしの精神で，適切な検査を実施することが医療倫理上重要である。検査をせずに何となく治療するような行為はもう許されない。「血液凝固検査の意義がない」とか，「検査をやらなくてもいい」などの誤解が払拭され，血液凝固検査が臨床の現場に浸透し，止血異常の診断や治療が正しく行われることを期待する。

参考文献

- 1) Mischke R, Nolte IJA, Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Hemostasis : Introduction, overview, laboratory techniques. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 519-525.
- 2) 鬼頭克也．特集：止血・凝固線溶系検査：止血機能検査が必要な時．SA Medicine. 2008 ; 通巻 56, 10 (4) : 3-8.
- 3) Smith JW, Day TK, Mackin A. Diagnosing bleeding disorders. Compend Contin Educ Pract Vet. 2005 ; 27 (11) : 828-843. (鬼頭克也．出血性疾患の診断 (監訳). J-VET. 2006 ; 19 (6) : 6-18.
- 4) Giger U, Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Hereditary blood diseases. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 955-959.
- 5) Dodds WJ. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Other hereditary coagulopathies. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 1030-1036.
- 6) Gentry PA. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Factor XI deficiency. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 1037-1041.
- 7) Brooks M. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. von Willebrand disease. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 509-515.
- 8) 鬼頭克也．止血のメカニズムと止血機能検査．獣医畜産新報．2008 ; 61 (2) : 102-106.
- 9) 鬼頭克也，北川 均．止血機構と血液凝固線溶系検査．SA Medicine. 2003 ; 通巻 23, 5 (1) : 3-12.
- 10) Weiss DJ. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Platelet production defects. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 469-471.
- 11) Zimmerman KL. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Drug-induced thrombocytopenias. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 472-477.

- 12) Boudreaux MK, Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC eds. Acquired platelet dysfunction. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore, USA : Lippincott Williams & Wilkins ; 2000. 496-500.
- 13) 古川 誠 他. DIC の診断 - D-dimer と P-FDP の臨床応用. J-VET. 2009 ; 22 (1) : 70-72.
- 14) 鬼頭克也, 北川 均, 佐々木榮英. ドライ方式の血液凝固分析装置による犬の血液凝固異常の検出. 日本獣医師会雑誌. 2002 ; 55 (8) : 509-512.
- 15) 中島 亘. 特集 : 止血・凝固線溶系検査 : 凝固阻止因子の検査. SA Medicine. 2008 ; 通巻 56, 10 (4) : 34-40.
- 16) 酒井秀夫. 特集 : 止血・凝固線溶系検査 : 遺伝性止血異常の検査. SA Medicine. 2008 ; 通巻 56, 10 (4) : 42-51.
- 17) Carr AP, Panciera DL, Kidd L. Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia : a retrospective study of 72 dogs. J Vet Intern Med. 2002 ; 16 (5) : 504-509.
- 18) Estrin MA et al. Disseminated intravascular coagulation in cats. J Vet Intern Med. 2006 ; 20 (6) : 1334-1339.
- 19) Maruyama H et al. The incidence of disseminated intravascular coagulation in dogs with malignant tumor. J Vet Med Sci. 2004 ; 66 (5) : 573-575.
- 20) 鬼頭克也, 北川 均, 佐々木榮英. 犬の血管肉腫に合併した播種性血管内凝固症候群の 1 例. 日本獣医師会雑誌, 2000 ; 53 (2) : 80-82.
- 21) Bruchim Y et al. Heat stroke in dogs : A retrospective study of 54 cases (1999-2004) and analysis of risk factors for death. J Vet Intern Med. 2006 ; 20 (1) : 38-46.
- 22) Ruiz de Gopegui R et al. Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis in Spain. Vet J. 2007 ; 174 (1) : 129-132.
- 23) Good LI, Manning AM. Thromboembolic disease : Physiology of hemostasis and pathophysiology of thrombosis. Compend Contin Educ Pract Vet. 2003 ; 25 (9) : 650-659.
- 24) Good LI, Manning AM. Thromboembolic disease : Predispositions and clinical management. Compend Contin Educ Pract Vet. 2003 ; 25 (9) : 660-675.

The Clinical Utility and Problems of Hemostatic Tests in Small Animal Medicine

Katsuya KITO, DVM, Ph. D.

Laboratory of Veterinary Parasitology, Department of Veterinary Medicine,
Faculty of Applied Bioscience, Gifu University
1-1 Yanagido, Gifu 501-1193

Key Words Bleeding Tendency, Cats, Dogs, Hemostatic Tests