

デイド イノビンの基礎的検討 および従来 PT 試薬との比較検討

平石 直己, 齋藤 菜穂子

秦野赤十字病院 検査部：神奈川県秦野市立野台 1-1 (〒 257-0017)

SUMMARY

我々は、シスメックス社の新規試薬であるデイド イノビンについての基礎的検討、および従来 PT 試薬との比較検討を行った。PT 試薬の標準化のためには、ヒト組織因子を用いた ISI が 1.0 に近い試薬を使用することが推奨されており、デイド イノビンは、この条件に適合した PT 試薬である。検討の結果、デイド イノビンは従来試薬に比べ安定性に優れ、ヘパリンの影響を受けにくかった。そのため、デイド イノビンは PT-INR の管理が難しいワルファリン導入初期のヘパリン投与患者においても、より正確なモニタリングができると考えられる。従来試薬との相関も良好で、日常検査に問題なく使用できる試薬であるといえる。

Key Words デイド イノビン, ISI, Local SI, 組織因子

序 文

プロトロンビン時間 (PT) は、血液凝固能、特に外因系凝固因子のスクリーニング検査として古くから実施されている。今日では、播種性血管内凝固症候群 (DIC) の診断基準をはじめ、劇症肝炎の診断基準や急性膵炎の予後因子スコアリングなどにも用いられており、血栓症に対する抗凝固療法のモニタリングにおいても欠かせない検査項目の一つである。

1983 年に、国際血液学標準化委員会と国際血栓止血学委員会は、経口抗凝固療法における共通の指標を得るために、試薬ロット毎の試薬係数である ISI (International Sensitivity Index) をキットに表示することを勧告し、PT 比を ISI 乗することで算出する INR (International Normalized Ratio) を用いて報告することを強く推奨した。その後、ISI の大きな試薬では、この“指数”による誤差が大きくなることが指摘され、近年では ISI の小さい (1.0 に近い) 試薬を使用することが推奨されている¹⁾。

今回我々は、リコンビナント組織因子を用いたデイド イノビン (ヒト遺伝子組み換え組織因子；シスメックス社) の基礎的検討を行った。また、組織因子の異なるトロンボレル S (ヒト胎盤由来；シスメックス社)、トロンボプラスチン・C プラス (ウサギ脳由来；シスメックス社) との比較検討を行ったので報告する。

対象および方法

測定はすべてシスメックス社の全自動血液凝固測定装置 CA-1500 を用いて行った。

1. 試薬

検討試薬にはデイド イノビン、対照試薬としては、従来試薬であるトロンボレル S およびトロンボプラスチン・C プラスを用いた。

2. デイド イノビンの基礎的検討

1) 同時再現性

コントロール血漿であるサイトロール レベル1 およびレベル2 (シスメックス社), 正常検体, 異常検体をそれぞれ10回連続測定した。

2) ロット間差の検討

2ロット (536982・536963) のデイド イノビンを用いて任意の検体 (n = 115) をそれぞれ測定し, 2ロットの相関性を検討した。

3) 参考基準範囲の検討

当院職員健診における357検体を測定し, MCP-STAT (シスメックス社) のパラメトリック法を用いて参考基準範囲を求めた。

4) 共存物質の影響

プール血漿に干渉チェック・Aプラス (シスメックス社) を6段階の濃度で添加し, ビリルビン・F, ビリルビン・C, 溶血ヘモグロビン, 乳びによる凝固時間への影響の有無を確認した。

3. 従来PT試薬との比較検討

1) 日差再現性

サイトロール レベル1 およびレベル2 を, デイド イノビンでは10日間, トロンボプラスチン・C プラス, トロンボレル Sでは5日間測定した。試薬はオンボードで開栓して8時間程度設置し, 夜間は閉栓して冷蔵庫に保存した。

2) 外因系凝固因子に対する感受性

各試薬で第II, V, VII, X因子の感受性を確認

した。標準ヒト血漿 (SHP; シスメックス社) と各因子欠乏血漿との混合比率を段階的に変えた系列を測定し, 凝固時間の延長により因子感受性を確認した。

3) ヘパリン感受性

低分子ヘパリンおよび未分画ヘパリンをプール血漿に添加し, 0.5 ~ 5 IU/mL に調製した試料を用いて, 各試薬の凝固時間を比較した。

なお, 無添加時の秒数に対して10%以上延長した場合を「ヘパリンの影響あり」とした。

4) 従来試薬との相関性

各試薬を用いて患者検体 (n = 116) を測定した。各試薬の添付ISIは, トロンボプラスチン・C プラス: 1.75, トロンボレル S: 1.02, デイド イノビン: 1.05であった。この添付ISIを用いてINRを算出し, 各試薬間での相関係数および回帰式を求めた。

結果

1. デイド イノビンの基礎的検討

1) 同時再現性

秒数, 活性%, INR, いずれもCV1.0%以内であった。

2) ロット間差の検討

2ロット間の相関性は, $r = 0.999$, $y = 1.02x - 0.03$ であり (図1), ロット間に差は見られなかった。

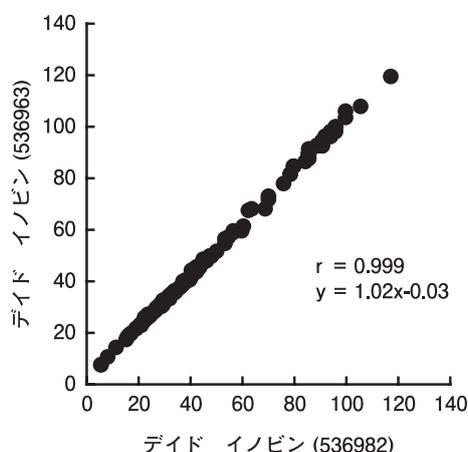


図1. ロット間差の相関性

3) 参考基準範囲の検討

当院職員健診の 357 検体を測定し、パラメトリック法を用いて、それぞれのヒストグラムから分布型を決定し、95%範囲を算出した結果、秒数：10.0～11.9 秒，活性%：77.7～112.1%，INR：0.93～1.16であった(図2)。

4) 共存物質の影響

ビリルビン・F 21.0mg/dL, ビリルビン・C 19.7mg/dL, 溶血ヘモグロビン 479mg/dL, 乳ビ 1410ホルマジン濁度まで影響を認めなかった(図3)。

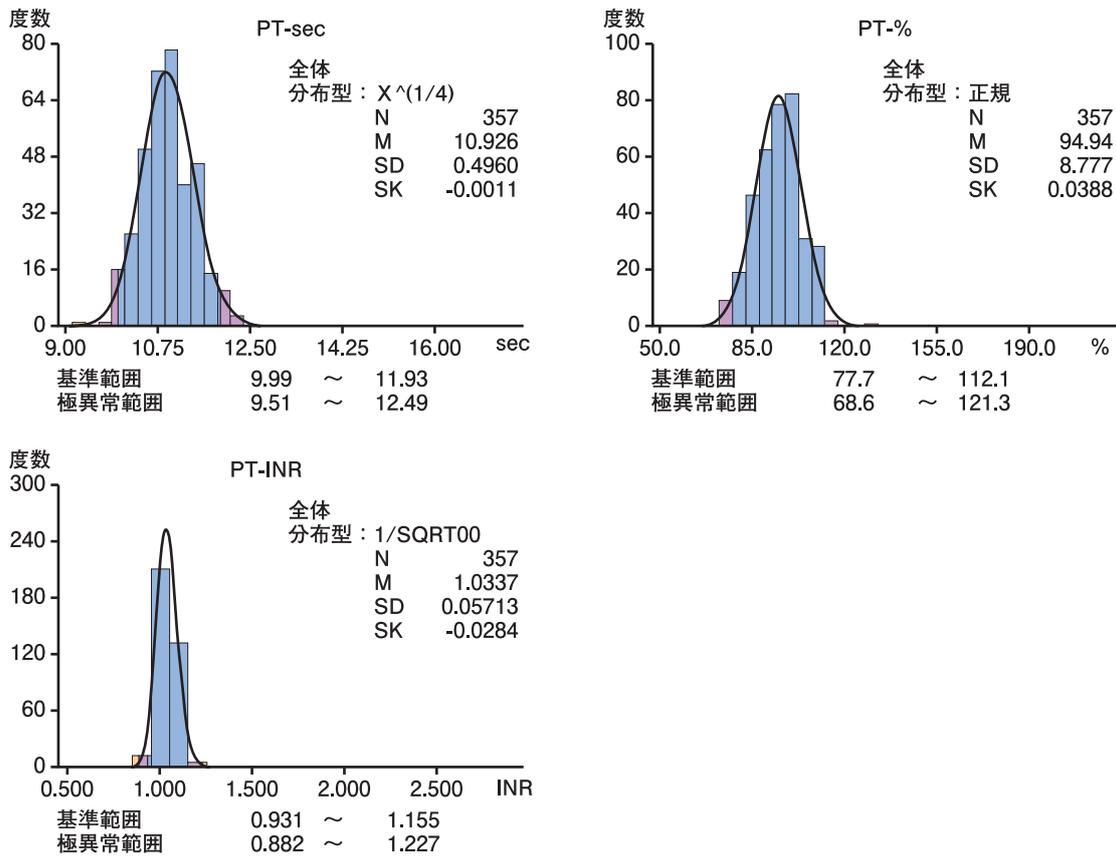


図2. 参考基準範囲

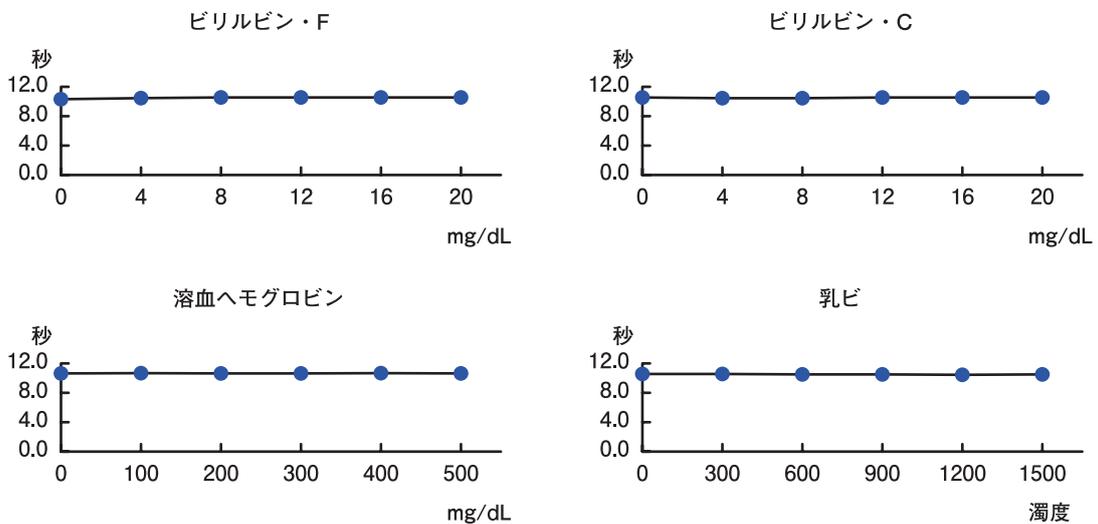


図3. 共存物質の影響

2. 従来PT 試薬との比較検討

1) 日差再現性

デイド イノビンの秒数, 活性%, INR は, いずれも CV1.7%以下であった。トロンボプラスチン・C プラス, トロンボレル S は添付文書では溶解後 5 日間が使用期限であり, 両試薬共 5 日目までの再現性は CV2.7%以内であった (表 1)。

2) 外因系凝固因子に対する感受性

各試薬共に第 II 因子は 30% 以下, 第 V・VII・X 因子は 50% 以下で有意な延長傾向が認められた (図 4)。

表 1. 日差再現性

		サイトロール 1			サイトロール 2		
		秒	活性%	INR	秒	活性%	INR
デイド イノビン (10 日間)	MEAN	10.9	94.6	1.03	28.6	18.5	2.84
	SD	0.09	1.64	0.01	0.26	0.25	0.03
	CV	0.84	1.73	0.89	0.90	1.35	1.04
トロンボプラスチン・C プラス (5 日間)	MEAN	10.7	93.7	1.05	21.3	21.5	3.5
	SD	0.11	2.46	0.02	0.31	0.57	0.09
	CV	1.03	2.63	2.09	1.45	2.65	2.50
トロンボレル S (5 日間)	MEAN	11.8	85.3	1.1	37.1	16.2	3.55
	SD	0.08	1.05	0	0.53	0.31	0.05
	CV	0.70	1.23	0.43	1.42	1.89	1.37

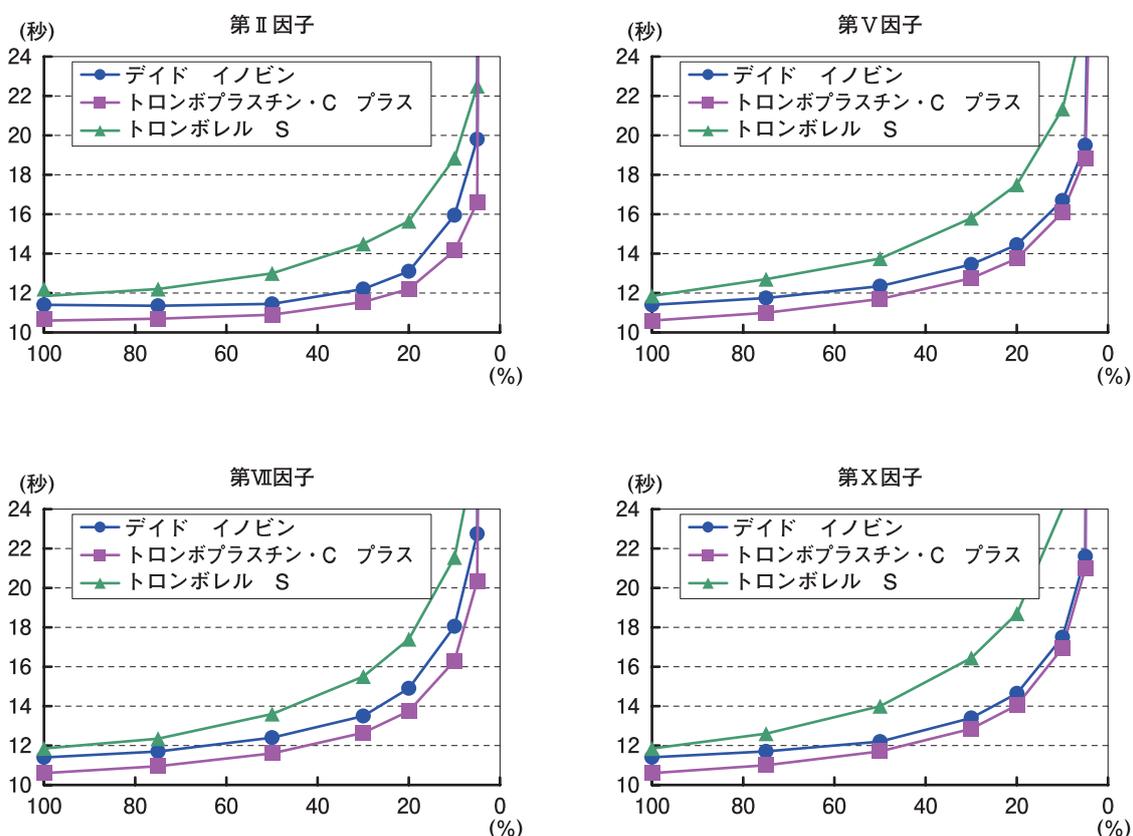


図 4. 因子感受性

3) ヘパリン感受性

トロンボプラスチン・C プラスでは、低分子ヘパリン 1.5mg/dL、未分画ヘパリン 0.5mg/dL、トロンボレル Sでは低分子ヘパリン 2.0mg/dL、未

分画ヘパリン 0.5mg/dL までは影響を認めなかった。それに比べ、デイド イノビンは、低分子ヘパリン 3.5mg/dL、未分画ヘパリン 2.0mg/dL まで影響を認めなかった(図5)。

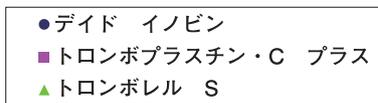
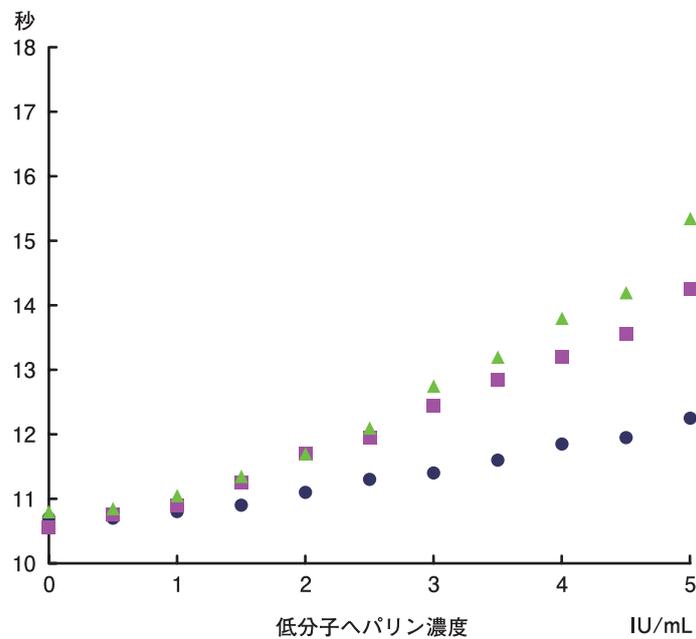
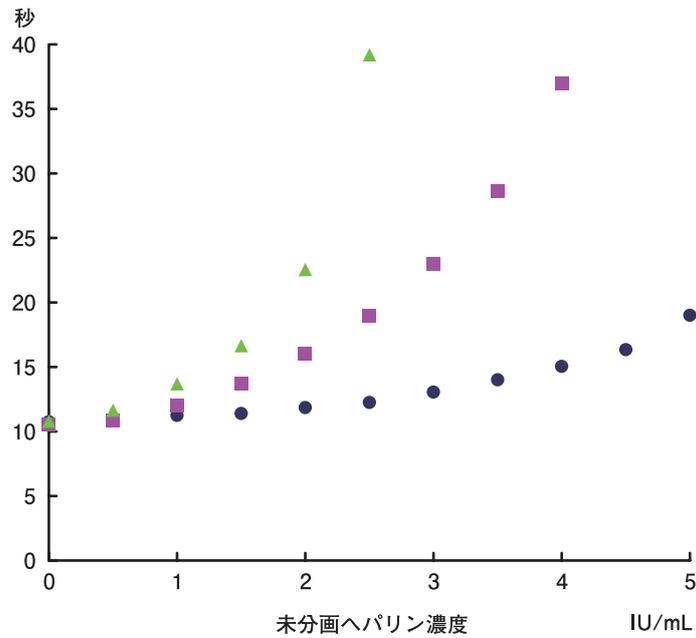


図5. ヘパリン感受性

4) 従来試薬との相関性

各試薬の添付 ISI を用いた PT-INR の相関性は、回帰式の傾きが 1 とかけ離れた結果となった。特にトロンボレル S とトロンボプラスチン・C プラスとの相関において、INR 差が大きい結果となった。

PT マルチキャリブレーターを使用して local SI を求め相関をとった場合、試薬差が改善され良好な相関性が得られた(図6)。

解後 37℃で 30 分間の加温や使用直前の攪拌が必要であるが、デイド イノビンは加温や攪拌の必要はなく、手間が少ないため、使い勝手も申し分ない。因子感受性においても従来試薬と同等の結果が得られた。

各従来試薬との相関についても良好な結果が得られた。INR でトロンボプラスチン・C プラスと他試薬を比較した場合、回帰式の傾きが 1 よりも小さい値となっているが、これはトロンボプラスチン・C プラスがウサギ脳由来の ISI が大きい試薬であることに起因していると考えられる。このことは過去の WHO 技術レポートにおいても報告されている¹⁾。

相関をとるにあたり、PT マルチキャリブレーター の local SI から算出した INR を用いた場合、添付 ISI から算出した INR に比べて、試薬間で良好な相関が見られた(図6)。local SI は、INR での報告において有用といえる。平成 20 年度の日臨技臨床検査精度管

考 察

今回基礎的検討を行ったデイド イノビンは、同時再現性・ロット間差・共存物質の影響において、それぞれ良好な結果が得られた。また、試薬の日差再現性において 10 日間まで正常域・異常域共に良好な結果が得られたため、少数検体を扱う検査室の場合でも無駄なく使用できる。トロンボレル S は溶

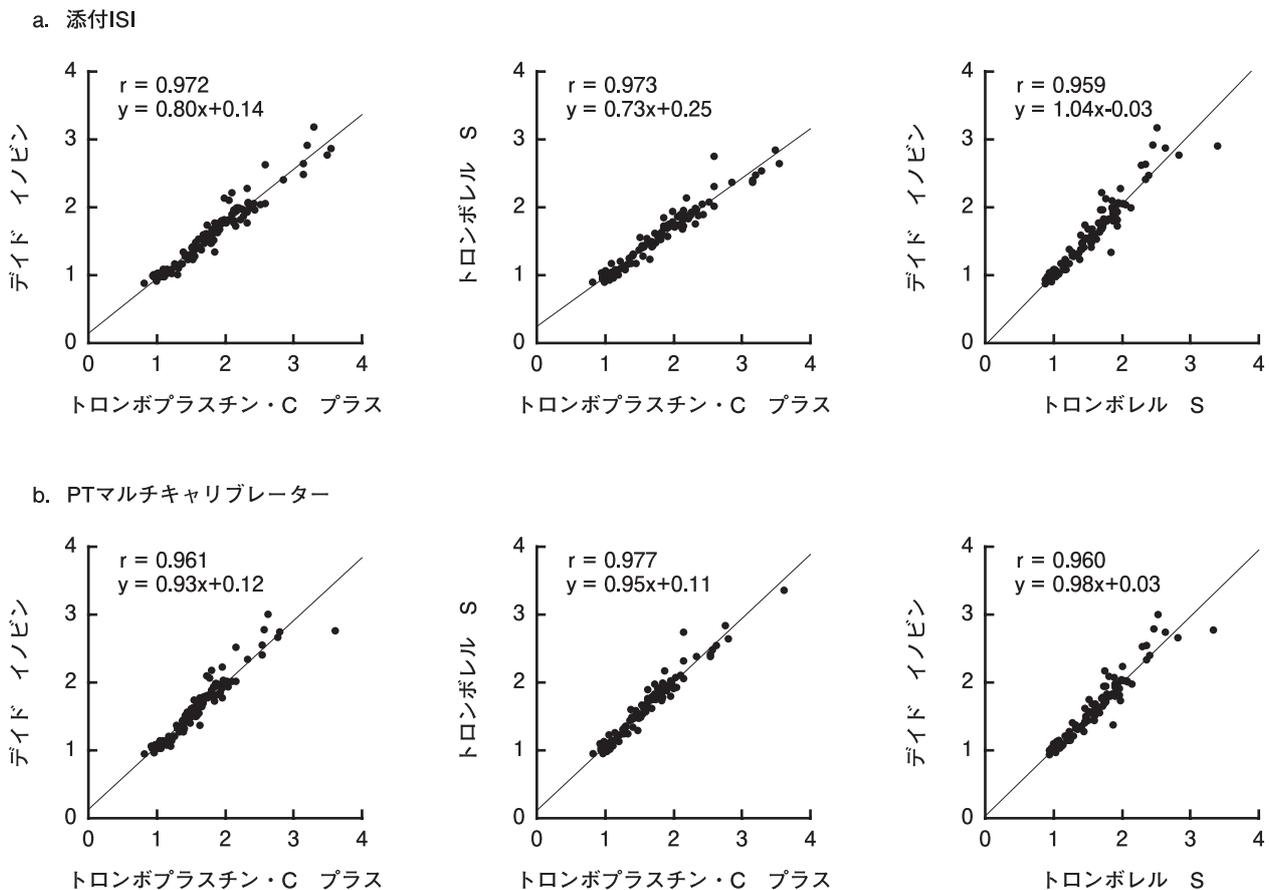


図6. PT-INR の各試薬間の相関

理調査報告書によれば、local SI を使用している施設は全体の約 10% 程度であり、あまり普及していないのが現状である²⁾。標準化を進めるには INR キャリブレーターを用いた local SI の普及が必要と考える。

また、デイド イノビンが INR 低値を示した 2 件の乖離検体については、いずれも相当量のヘパリン (未分画) が含まれる検体であった。このため、試薬固有のヘパリン感受性の違いによる差と考えられた (表 2)。

ヘパリン感受性においてデイド イノビンは、ヘパリン中和剤を含有しているため従来試薬よりも飛躍的に影響を受けにくかった。このことより、PT-INR での管理が難しいワルファリン導入初期のヘパリン投与患者においても、より正確に経口抗凝固療法のモニタリングができる試薬であると考えられる。

結 語

デイド イノビンは従来の試薬と良好な相関を示し、日常の PT 測定に問題なく使用できる。試薬安定性にも優れ、ヘパリンの影響を受けにくいなど試薬の質も飛躍的に向上しており、日常検査に有用な試薬である。

参考文献

- 1) WHO Expert Committee On Biological Standardization, 48th Report. Geneva : World Health Organization ; 1999. 64-85.
- 2) 平成 20 年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書 . 血液検査部門 . 2009. 32p.
- 3) 高宮 脩 他 . ヒト胎盤由来 PT 試薬 Thromborel S の検討 . 臨床検査機器・試薬 . 1986 ; 9 (2) : 357-363.
- 4) 鈴木節子 他 . PT, APTT の標準化の現状と将来 . 日本検査血液学会雑誌 . 2002 ; 3 (1) : 13-21.
- 5) 清水 隆 , 小池健一 . ワルファリン . 小児内科 Vol. 30 増刊号 : 561-565, 1998.
- 6) 池田可奈子 他 . 経口抗凝固療法モニタリング指標としての PT-INR 表記への取り組み . 医学検査 . 2003 ; 52 (12) : 1461-1465.
- 7) 青崎正彦 , 岩出和徳 監修 . Warfarin の適正使用情報 . 第 2 版 . 東京 : エーザイ株式会社 ; 1996. 246p.
- 8) 新井信夫 他 . PT 測定試薬「デイド イノビン」と APTT 測定試薬「アクチン FSL」の概要 . Sysmex J. 2007 ; 30 : 162-167.

表 2. 乖離例 (2 例)

	患者 A			患者 B		
	秒	活性%	INR	秒	活性%	INR
デイド イノビン	14.0	55.8	1.33	17.5	37.3	1.68
トロンボプラスチン・C プラス	18.0	30.3	2.60	33.0	10.4	7.59
トロンボレル S	31.9	22.6	2.75	126.6	3.9	10.75

Evaluation for the Basic Performance of Dade® Innovin®

Naoki HIRAISHI and Naoko SAITO

Department of Clinical Laboratory, Hadano Red Cross Hospital, 1-1 Tatenodai Hadano-shi, Kanagawa 257-0017

SUMMARY

We evaluated the basic performance of Dade® Innovin®, which is new PT reagent of Sysmex and uses recombinant human tissue factor, and the correlation between Dade® Innovin® and the existing PT reagents.

Dade® Innovin® was superior to the existing reagents, and had small influence of the Heparin. Dade® Innovin® can measure PT more precisely in Heparin dosage patients introducing anticoagulation therapy with Warfarin, the patients who are said to be difficult to manage with the PT-INR. Correlation with the existing PT reagents were good, and it was good for inspection routine work. As the result, Dade® Innovin® is a useful PT reagent.

Key Words Dade® Innovin®, ISI, Local SI, Tissue Factor
