Amniotic fluid as a potent activator of blood coagulation and platelet aggregation: Study with rotational thromboelastometry

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2020-04-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小田, 智昭 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003706

博士（医学）　小田　智昭
論文題目
Amniotic fluid as a potent activator of blood coagulation and platelet aggregation: Study with rotational thromboelastometry
(血液凝固と血小板凝集の強力な活性化因子としての羊水: Rotational thromboelastometry を用いた研究)

論文の内容の要旨
［はじめに］
妊娠は静脈血栓塞栓症(Venous thromboembolism, VTE)の主要な原因と広く認識されている。VTE には肺血栓塞栓症(Pulmonary thromboembolism, PTE)が含まれる。本邦では 2010 年から 2014 年の間に PTE による 13 例の妊産婦死亡が報告されている。発症時期について、PTE は産褥 1 日目に最も頻度が高い。分娩方法との関連について、PTE 発症のリスクは経腟分娩より帝王切開分娩の産褥期に著しく上昇すると報告されている。様々な手段による予防法を用いても、帝王切開分娩後の致死的な PTE の発症をすべて防ぐことはできていない。現状では、特に帝王切開分娩後早期に PTE が最も頻繁に発症する理由については不明である。そこで、本研究では母体血液への羊水の曝露が VTE のリスクを上昇させている可能性について焦点をあてた。この理由として、1)羊水は一般的には分娩時に初めて母体の組織と接触すること、2)羊水成分は分娩時に子宮筋層や母体肺循環の動静脈に観察されること、3)帝王切開分娩時の子宮筋層切開により経腟分娩時よりも多くの母体側組織が羊水に晒されうること、4)thromboelastography を用いた 2 つの先行研究において羊水が母体血液凝固を促進し初期相と増大相の時間を短縮し、さらに血小板機能に影響を与えたと報告されていること、5)羊水には組織因子を発現した microvesicle が含まれること、が挙げられる。本研究の目的は、母体全血に羊水を添加しその血液凝固線溶系への影響を rotational thromboelastometry (ROTEM)を用いて検討することである。
［患者ならびに方法］
予定帝王切開、無痛分娩および前期破水のため浜松医科医学部附属病院産婦人科病棟に入院した血液凝固学的、産科的合併症のない 21 例の妊婦を対象とした。末梢静脈ルート確保時または輸血検査時に 5 mL の全血を 3.2%クエン酸ナトリウム含有採血管に採取した。血液検体は 5 時間以内に実験に使用した。試薬としての羊水検体は別の計 19 例から採取した。3 例の経腟分娩例では子宮口開大 8-9 cm 時点、16 例(2 例の二絨毛膜二羊膜双胎を含む)の帝王切開分娩例では子宮下部横切開後、ガーゼで血液をぬぐった後の胎胞膨隆部に 18G 針を穿刺し 15 mL の羊水を採取した。各症例の未処理羊水を 1 mL ずつ混和、分注し、実験に用いるまで-80℃で保存した。実験に使用する際は ROTEM アッセイを行う

直前に室温で溶解した。ROTEM アッセイは Ca^{2+}のみ供給し血液凝固線溶系を観察する non-activated thromboelastometry (NATEM)、活性化組織因子経路を評価する extrinsic thromboelastometry (EXTEM)、接触活性経路を評価する intrinsic thromboelastometry (INTEM)、EXTEM に血小板凝集阻害薬を添加することでフィブリン重合を評価する FIBTEM、EXTEM にトラネキサム酸を加えることで線溶亢進を評価する APTEM を行った。各アッセイで測定するパラメータは、1)酵素的凝固反応によるトロンビン産生と血餅形成過程を反映する指標として、clotting time (CT)、clot formation time (CFT)、alpha angle (Alpha)、2)血餅の硬さを反映する指標として、CT から 10 分後の振幅(A10)、maximum clot firmness (MCF)、3)線溶反応を反映する指標として、CT から 30 分後および 60 分後の MCF に対する振幅の比(各々LI30、LI60)とした。添加する羊水量は既報を参考にして 1 カップ全血 300 μL に対して 5、15、30 μL とし、羊水を添加しないサンプルをコントロールとした。本研究は浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認を受けている(承認番号 16-165)。

［結果］

NATEM、EXTEM、INTEM、FIBTEM すべてのアッセイで羊水添加により妊婦全血の CT 短縮が認められた。この短縮は FIBTEM 以外の 3 アッセイで羊水添加量依存的な変化がみられた。加えて NATEM では CFT 短縮、Alpha 増大、A10 および MCF の増加がみられた。一方で EXTEM では羊水添加により A10 と MCF の減少および LI30 と LI60 の低下が認められた。FIBTEM では A10 と MCF および LI30 と LI60 に変化は見られなかった。EXTEM で認められた羊水添加による LI30 と LI60 低下は APTEM アッセイでは改善されなかった。

［考察］

羊水は血液凝固反応を促進した。血餅の硬さについて、NATEM では増大する一方で FIBTEM では不変であったことから、羊水が血小板凝集を促進していることが示唆された。羊水に含まれる様々な血液凝固因子や血小板凝集促進因子がこの変化に影響していると考えられる。EXTEM と FIBTEM の血餅の硬さを比較したとき、羊水を添加すると EXTEM のみ血餅硬度が低下していること、また、線溶反応について検討したとき EXTEM で観察された LI30 と LI60 低下が APTEM で改善されなかった、すなわちプラスミンによる線溶亢進はみられないことの 2 点から、活性化組織因子経路において、羊水は線溶反応を亢進させるのではなく、血小板に作用して脆弱な血餅を形成していることが考えられる。帝王切開による手術侵襲、分娩後早期という組織因子経路活性下で母体血液が羊水に曝露すると、血管壁から剥離しやすい脆弱な血餅が形成され、これが帝王切開分娩後早期の PTE の発症に一部関与している可能性がある。

［結論］

羊水は血液凝固反応を促進し、血小板凝集を活性化したが、線溶亢進を惹起

しなかった。組織因子経路活性化状態下では羊水の添加で軟らかく、脆弱な血餅が形成された。この羊水の作用は特に帝王切開分娩後早期の PTE 発症に関与している可能性がある。