

[教育実践報告]

Rivaroxaban は学内実習における交差混合試験の 凝固因子インヒビターとして有用である

登 尾 一 平¹ 山 本 隆 敏¹ 上 妻 行 則^{1,*}

Rivaroxaban can be used as a coagulation inhibitor of cross mixing test during the practicum.

Ippei NOBORUO, Takatoshi YAMAMOTO, Yukinori KOZUMA

要旨

交差混合試験 (cross mixing test; CMT) は活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time; APTT) が延長した際に凝固因子欠損や凝固因子インヒビター, またはループスアンチコアグラントなどのインヒビターを鑑別するスクリーニングとして有用な検査である。しかしながら, 学内実習では凝固因子インヒビターの検体入手が困難であることから実習では行っておらず, 学生の理解が低いことが問題となっている。本研究では, dabigatran, apixaban, rivaroxaban が CMT における凝固因子インヒビター疑似検体として使用可能か否かを検討した。APTT は凝固因子インヒビター疑似検体と正常血漿を様々な比率で混合し, コアプレスタ®2000を使用し測定した。Dabigatran は高濃度においても APTT の延長は認められなかったが, 少量の rivaroxaban の添加 (10%) において APTT 延長が見られ, 凝固因子インヒビターパターンのグラフを示していた。APTT の延長は apixaban の添加でも認められた。一方, rivaroxaban は Rosner index (index of circulation anticoagulant; ICA) による評価においても典型的なインヒビターパターンを呈した。さらに rivaroxaban は凍結・融解の影響を受けなかった。以上のことから, rivaroxaban が学内実習における CMT の凝固因子インヒビター疑似検体として使用できる可能性が示唆された。

キーワード : cross mixing test, Rivaroxaban, DOAC, 凝固因子インヒビター, 学内実習

I はじめに

活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time; APTT) は, 内因系凝固機序を反映する。APTT が延長するケースとして, ①凝固因子インヒビターの存在, ②凝固因子欠損症, ③ループスアンチコアグラント (lupus anticoagulant; LA) の存在などがあるが, 凝固因子欠損やインヒビターと LA では治療方針が異なるため正確な検査が不可欠である。このような凝固時間の異常を鑑別するための手法として交差混合試験

(cross mixing test; CMT) がある¹⁻⁴⁾。CMT は, 横軸に被検血漿と正常血漿の混合比, 縦軸に凝固時間をプロットしグラフ化した後, 正常血漿から補充された凝固因子により補正された凝固時間の程度で評価する方法である。作成したグラフを視覚的に判定し, 上に凸のパターンをとった場合は何らかの凝固因子インヒビターの存在を疑い, 下に凸のパターンを呈した場合は凝固因子の欠損または低下を疑うなど凝固時間延長例を鑑別診断できる特徴をもつ。CMT は比較的古くから知られている検査方法だが, APTT の延長を認めた検体に対して, その原因を

所属

¹熊本保健科学大学 保健科学部 医学検査学科

*責任著者 : kozuma18@kumamoto-hsu.ac.jp

おおまかに振り分けるのに簡便かつ有用であるため、2008年に「凝固因子インヒビター定性」の名称で保険収載された。しかしながら、診療現場の医師にCMTの意義が十分に認知されていないこと、CMTにおける被検血漿と正常血漿の混合比率や測定ポイント数など実際の検査方法や判定方法などが標準化されていないことなどから、実際の診療現場ではCMTが十分に活用されているとは言い難い。従って、学生時にCMTに関する知識とその意義を十分に理解することは将来、臨床検査技師として働く際、医師にCMTの検査の重要性を提言することが可能となり、診療現場は勿論、患者にとっても極めて有益である。

本学の学内実習においては、凝固因子インヒビターを含有する検体は、患者より提供してもらう以外には入手方法がないため、バリウム吸着血漿を用いた凝固因子欠損検体を用いた実習のみとなっている。よって、学生にAPTT延長検体の原因が凝固因子インヒビターによるものであるか、凝固因子欠損によるものなのか、CMTの意義や重要性を理解させる機会を十分に与えられていない現状がある。事実、学内実習後のアンケートによるとCMTについて凝固因子インヒビター検体のイメージがつきにくい、理解できないという意見がみられた。

一方、異常検体、特に凝固因子インヒビターを含有する検体が入手困難であるという現実から、学内実習におけるCMTの実施に苦慮しているのは本学のみではない。また、患者検体を使用する上での同意や感染のリスクの問題などから併設病院を有する臨床検査技師養成施設においてもその実施が難しくなっている。そこで近年、様々な養成施設において凝固因子インヒビター疑似検体の作製が試みられている。2018年山口らは選択的抗トロンビン剤アルガトロバン水和物注射液（ノバスタンHI）やナファモスタットメシル酸塩注射用（フソー）、パルナパリンナトリウム注射液（ミニヘパ）などを使用した簡単かつ安価な疑似検体の作製に成功し、報告している⁵⁾。

そこで本研究では、いくつかの教育施設で導入が試みられているノバスタンHIを指標とし、直接トロンビン阻害剤（dabigatran）、第Xa因子阻害剤（apixaban, rivaroxaban）を用いて凝固因子インヒビター疑似検体を作成し、学内におけるCMTの実習において使用が可能であるか否かを検討した。

Ⅱ 方法

1. 機器および検体

測定機器は、コアプレスタ[®]2000（積水メディカル、東京）、APTT試薬は、コアグピア[®]APTT-N（積水メディカル、東京）、塩化カルシウム液を使用した。正常検体は血液凝固試験用標準ヒト血漿：STANDARD PLASMAをSIEMENS社（Berlin, Germany）から購入した。

2. ノバスタンHIの調整および至適濃度の検討

ノバスタン[®]HI注10mg/2mL（アルガトロバン水和物注射液；田辺三菱製薬株式会社、東京、以後ノバスタンHI）に生理食塩液（normal saline; NS）を加えて100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200 μ g/mLのノバスタンHI溶液を調整した。正常血漿または調整したノバスタンHIを1,000倍希釈となるように添加し（最終濃度0, 100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200ng/mL）、コアプレスタ2000を用いてAPTTを測定した。また、ノバスタンHI添加後のAPTT秒数を無添加のAPTT秒数で除したものをAPTT延長比とした。

3. 直接トロンビン阻害剤；dabigatran, 第Xa因子阻害剤；rivaroxaban, apixabanの調整

Dabigatran etexilate, rivaroxaban, apixaban（Chemscene社、Monmouth Junction, NJ, USA）にdimethyl sulfoxide（DMSO）を添加し、50mg/mLのdabigatran, rivaroxaban, apixabanの各溶液を調整した。

4. 凝固因子インヒビター疑似検体の作製

1) ノバスタンHI

CMTで使用するために上記2.の予備検討により決定した至適濃度にノバスタンHIをNSで希釈し、ノバスタンHI溶液を調整した（低濃度：100, 中濃度：400, 高濃度：1,600 μ g/mL）。調整したノバスタンHI溶液を正常血漿で希釈し、最終濃度が100, 400, 1,600ng/mLとなる凝固因子インヒビター疑似検体を作製した。

2) Dabigatran, rivaroxaban, apixaban

Dabigatran, rivaroxaban, apixabanをDMSOで希釈し、低濃度：100, 中濃度：400, 高濃

度：1,600 μ g/mL の各溶液を調整した。調整した dabigatran, rivaroxaban, apixaban 溶液を正常血漿で希釈し、最終濃度が100, 400, 1,600ng/mL となる凝固因子インヒビター疑似検体を作製した。

5. クロスミキシングテスト

4. で作製した凝固因子インヒビター疑似検体と正常血漿を任意の比率 (100, 50, 20, 10, 0%) で混合し、混合直後の APTT を測定した。横軸を凝固因子インヒビター疑似検体比率 (%), 縦軸を凝固時間としてグラフを作成した。本研究では波形パターン法と Rosner index の2法を用いて判定した。

1) 波形パターン法

正常血漿 (模擬血漿比率 0%) と凝固因子インヒビター疑似検体 (模擬血漿比率100%) との凝固時間を結ぶ直線を基準に反応曲線が上に凸か、下に凸であるかを視覚的に判定した。

2) Rosner index

Rosner index (index of circulation anticoagulant; ICA) は APTT 延長の要因が凝固因子欠損か、インヒビターによるものかを鑑別するため、国際血栓止血学会が推奨する数値判定法である⁶⁻⁸⁾。基準値は15%以上でインヒビター、15%以下で凝固因子欠損と定義されている。被験血漿と正常血漿の1:1の混合血漿 (50%) の APTT(a) および正常血漿の APTT(b), 被験血漿 (100%) の APTT(c) より、ICA (%) = (a - b) / c \times 100を算出した。

6. 凍結融解の影響の検討

Rivaroxaban (1,600 μ g/mL) と DMSO を超低温槽 CFX シリーズ -80 $^{\circ}$ C 横型 (Thermo Fisher Scientific 社, 東京) を使用して凍結融解を0, 5, 10, 20回繰り返した後、正常血漿に添加し、APTT を測定した。

7. 統計処理

今回の検討で行った APTT 測定は、同時再現性を考慮し、全て3重測定した。2群の平均値の比較には、Microsoft Excel (Microsoft 社, Seattle, WA, USA) を用いて、Student *t* 検定を行った。p<0.05 を統計学的有意とした。

Ⅲ 結果

1. ノバスタン HI の至適濃度の検討

本学の学内実習における凝固系検査においてはコアプレスタ2000を使用している。そこで、まずコアプレスタ2000を使用してノバスタン HI の至適濃度の検討を行ったところ、APTT は正常血漿で46.2 \pm 0.4秒であったのに対して、ノバスタン HI 100ng/mL では61.2 \pm 0.7秒と有意に延長していた (図1)。またノバスタン HI 添加による APTT の延長は、ノバスタン HI 濃度依存性であった (200ng/mL : 74.3 \pm 0.8秒, 400ng/mL : 90.1 \pm 0.8秒, 800ng/mL : 109.2 \pm 0.3秒, 1,600ng/mL : 133.1 \pm 1.7秒, 3,200ng/mL : 148.9 \pm 0.2秒) (図1)。ノバスタン HI (アルガトロバン) の適正使用基準は APTT が100秒以内、APTT 延長比が1.5~3 倍未満である。一方、APTT 測定結果においては、基準となる正常血漿の濃度が異なることや使用する APTT 試薬によって誤差が出るなどが知られている。そこで本研究では、APTT 延長比が3 倍未満である100 (低濃度), 400 (中濃度), 1,600ng/mL (高濃度) を CMT で使用する濃度として採用した (図1)。

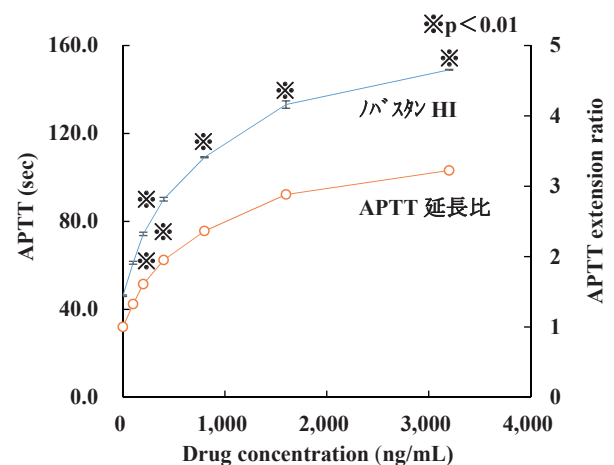


図1. ノバスタン HI の至適濃度検討

正常血漿にノバスタン HI を添加 (最終濃度: 0, 100, 200, 400, 800, 1,600, 3,200ng/mL) し、APTT を測定後、APTT 延長比を算出した。図に mean \pm SD (n=3) を示す。

2. CMT の検討

1) ノバスタン HI 疑似検体の CMT

低濃度ノバスタン HI 疑似検体 (100ng/mL) では、

疑似検体濃度100%での APTT は 60.7 ± 0.24 秒, 50% で 53.9 ± 0.80 秒, 20% で 48.2 ± 0.41 秒, 10% で 46.4 ± 0.52 秒, 0% (正常血漿) では 43.9 ± 0.29 秒となり, グラフパターンは上に凸の傾向となった (図2-A)。また疑似検体濃度0% (正常血漿) と各ノバスタン HI 含有疑似検体では APTT に有意な差が認められた。この傾向は, 中濃度ノバスタン HI (400ng/mL), 高濃度ノバスタン HI (1,600ng/mL) においても認められ, 上に凸のグラフパターンはより顕著となった (図2-B, C)。一方, CMT において ICA では15%以上でインヒビター, 15%以下で凝固因子欠損と定義されている。そこで ICA によって評価を行ったところ, 図2-Dのように, ICA は低濃度ノバスタン HI (100ng/mL) で16.5%, 中濃度ノバスタン HI (400ng/mL) で29.0%, 高濃度ノバスタン HI (1,600ng/mL) で47.8%といずれの濃度のノバスタン HI においても15%以上であった。

2) Dabigatran 疑似検体の CMT

低濃度 dabigatran 疑似検体 (100ng/mL) では, 疑似検体濃度100%では 32.9 ± 0.08 秒, 50% で 33.1 ± 0.31 秒, 20% で 33.1 ± 0.22 秒, 10% で 33.2 ± 0.28 秒, 0%では 33.1 ± 0.34 秒となり, APTT 延長は認められなかった (図3-A)。そこで, 中濃度 (400ng/mL), 高濃度 (1,600ng/mL) dabigatran 含有疑似検体を使用して検討を行ったが, いずれの濃度においても APTT は延長せず, ICA も15%未満であった (図3-B-D)。

3) Rivaroxaban 疑似検体の CMT

低濃度 rivaroxaban 疑似検体 (100ng/mL) では, 疑似検体濃度100%での APTT は 42.4 ± 0.52 秒, 50% で 39.3 ± 0.50 秒, 20% で 36.7 ± 0.60 秒, 10% で 35.4 ± 0.45 秒, 0% (正常血漿) では 33.7 ± 0.67 秒となり, グラフパターンは上に凸の傾向となった (図

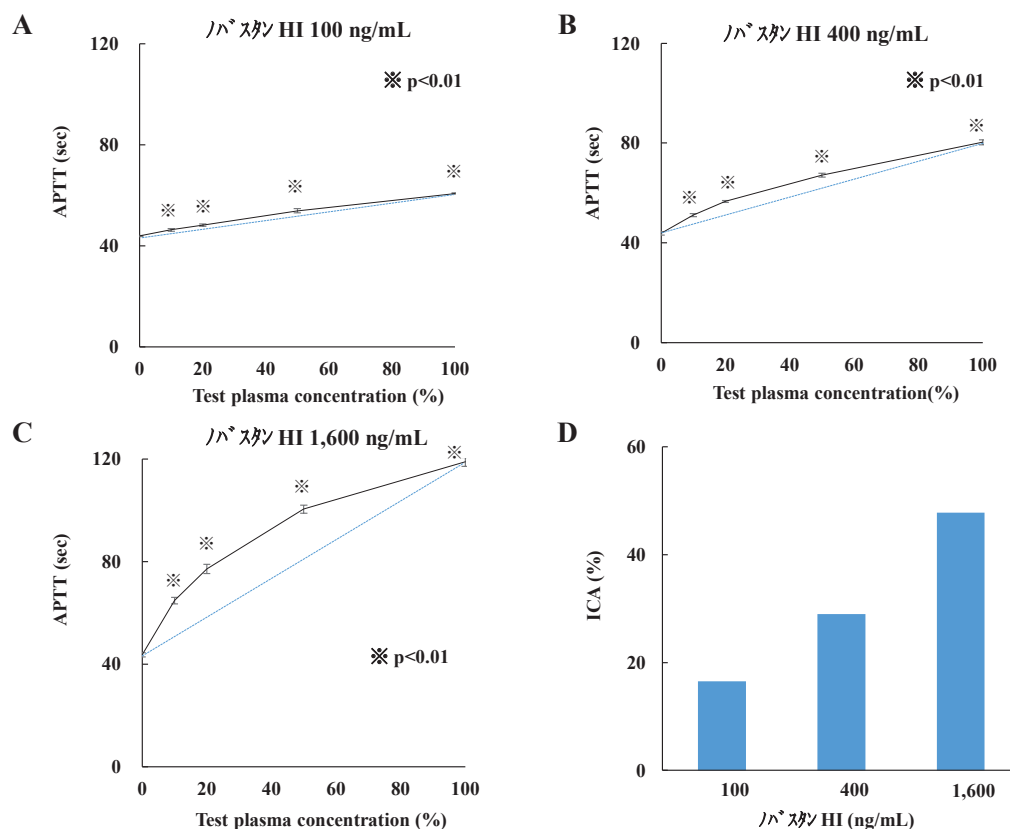


図2. ノバスタン HI 疑似検体の CMT

A-C: ノバスタン HI を用いた凝固因子インヒビター疑似検体 (100, 400, 1,600ng/mL) と正常血漿を任意の比率 (100, 50, 20, 10, 0%) で混合し, 混合直後の APTT を測定した。横軸を凝固因子インヒビター疑似検体比率 (%), 縦軸を凝固時間としてグラフを作成した。図に mean \pm SD (n=3) を示す。
D: ノバスタン HI を用いた疑似検体の APTT の測定結果より Rosner index (ICA) を算出した。

4-A)。また疑似検体濃度 0 % と疑似検体濃度 10 % では APTT に有意な差は認められなかったが、他の各 rivaroxaban 含有疑似検体濃度では有意な差が認められた。そこで、より高濃度の rivaroxaban で検討を行ったところ、中濃度 (400ng/mL)、高濃度 (1,600ng/mL) いずれにおいても APTT の顕著な延長が認められた (図 4-B, C)。またグラフパターンも上に凸となった。一方、ICA も低濃度 rivaroxaban では 13.2 % と 15 % 未満であったが、中濃度 (400ng/mL) では 25 %, 高濃度 (1,600ng/mL) では 37.6 % であった (図 4-D)。

4) Apixaban 疑似検体の CMT

低濃度 apixaban 疑似検体 (100ng/mL) では、疑似検体濃度 100 % での APTT は 37.4 ± 0.05 秒、50 % で 36.3 ± 0.05 秒、20 % で 35.2 ± 0.05 秒、10 % で 35.0 ± 0.05 秒、0 % (正常血漿) では 34.2 ± 0.33 秒と

なり、上に凸のグラフの傾向を示した (図 5-A)。一方、疑似検体濃度 0 % と疑似検体濃度 50, 100 % では APTT に有意な差は認められたが、低濃度 apixaban (10, 20 %) では有意な差は認められなかった。そこで他の疑似検体と同様により高濃度の apixaban で検討を行ったところ、いずれにおいても APTT の顕著な延長が認められ、上に凸のグラフパターンはより顕著となった (図 5-B, C)。しかしながら、ICA は低濃度 (100ng/mL)、中濃度 (400ng/mL) で 5.4 % と 10.5 % と 15 % 未満であり、高濃度 apixaban (1,600ng/mL) でのみ 15 % 以上となった (図 5-D)。

3. Rivaroxaban 溶液の凍結・融解による APTT への影響

ここまでの結果から、ノバスタン HI, rivaroxaban が CMT のグラフパターン及び ICA

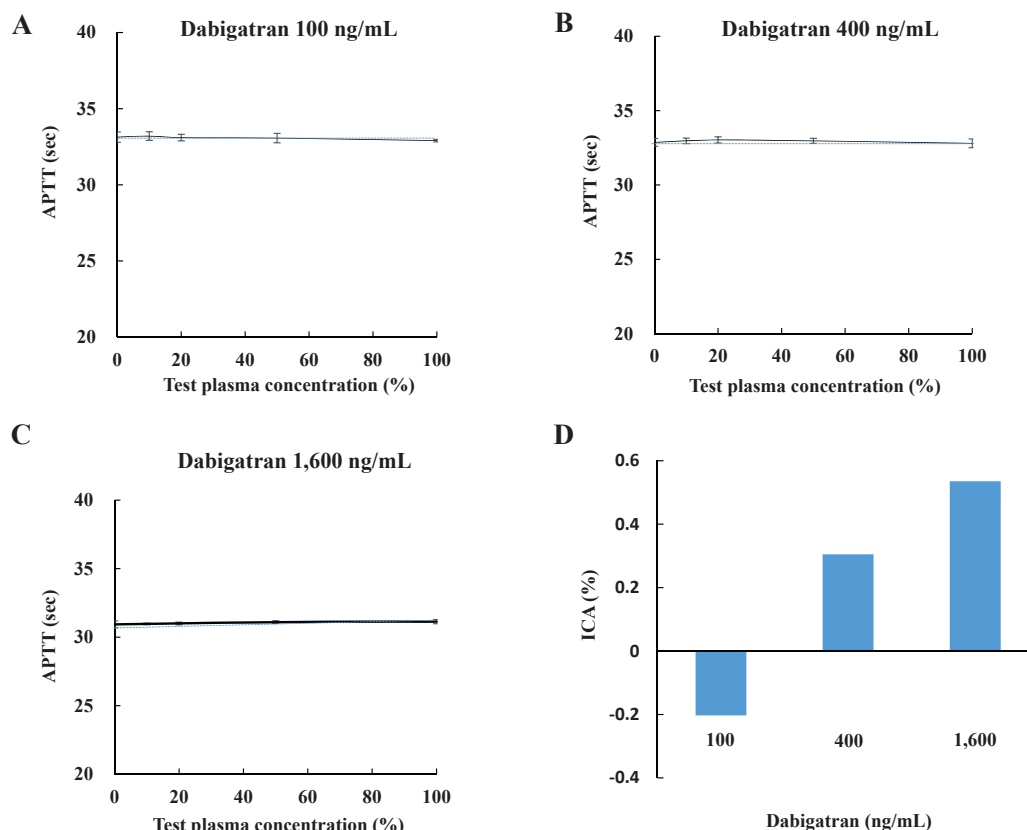


図 3. Dabigatran 疑似検体の CMT

A-C : Dabigatran を用いた凝固因子インヒビター疑似検体 (100, 400, 1,600ng/mL) と正常血漿を任意の比率 (100, 50, 20, 10, 0 %) で混合し、混合直後の APTT を測定した。図に mean \pm SD (n=3) を示す。
D : Dabigatran を用いた疑似検体の APTT の測定結果より Rosner index (ICA) を算出した。

より学内実習における凝固因子インヒビター疑似検体の候補として有用であると考えられた。特に, rivaroxaban は DMSO に溶解しているため, 速やかに凍結・融解を行うことができる。そこで最後に, 凍結・解凍を繰り返し, rivaroxaban の安定性を検証した。凍結・融解前 (0 回) の APTT は, 90.2 ± 0.26 秒であったのに対して, 20 回凍結・融解後の APTT は 98.8 ± 0.06 秒であった (図 6)。

Ⅳ 考察

APTT が延長する①凝固因子インヒビターの存在, ②凝固因子欠損症, ③ LA の存在など凝固因子欠損やインヒビターと LA では治療方針が異なるため, 現在 CMT は不可欠な検査となっている。従って, CMT に関する知識や意義を十分に理解することは将来臨床検査技師として働く学生にとっては極

めて重要と考えられる。しかしながら, 凝固因子インヒビターを含有する検体は, 患者より提供してもらう以外には入手方法がないため, 学内実習ではバリウム吸着血漿を用いた凝固因子欠損検体を用いた実習のみとなっている。

そこで本研究では, 学内実習における CMT の実施のために dabigatran, apixaban, rivaroxaban を使用して凝固因子インヒビター疑似検体を作成し, 学内実習で使用が可能であるか否かを検討した。これらは直接経口抗凝固剤 (direct oral anti-coagulant; DOAC) と呼ばれるビタミン K 非依存性の抗凝固薬である。DOAC は, 経口抗凝固薬であるワルファリンとは異なり, ①半減期が短く, ビタミン K の代謝に関係しないため食物や他薬剤の影響が少ないこと, ②用量調節が容易なこと, ③出血のリスクが少ないことなどから, 近年注目を集めている^{9,10)}。

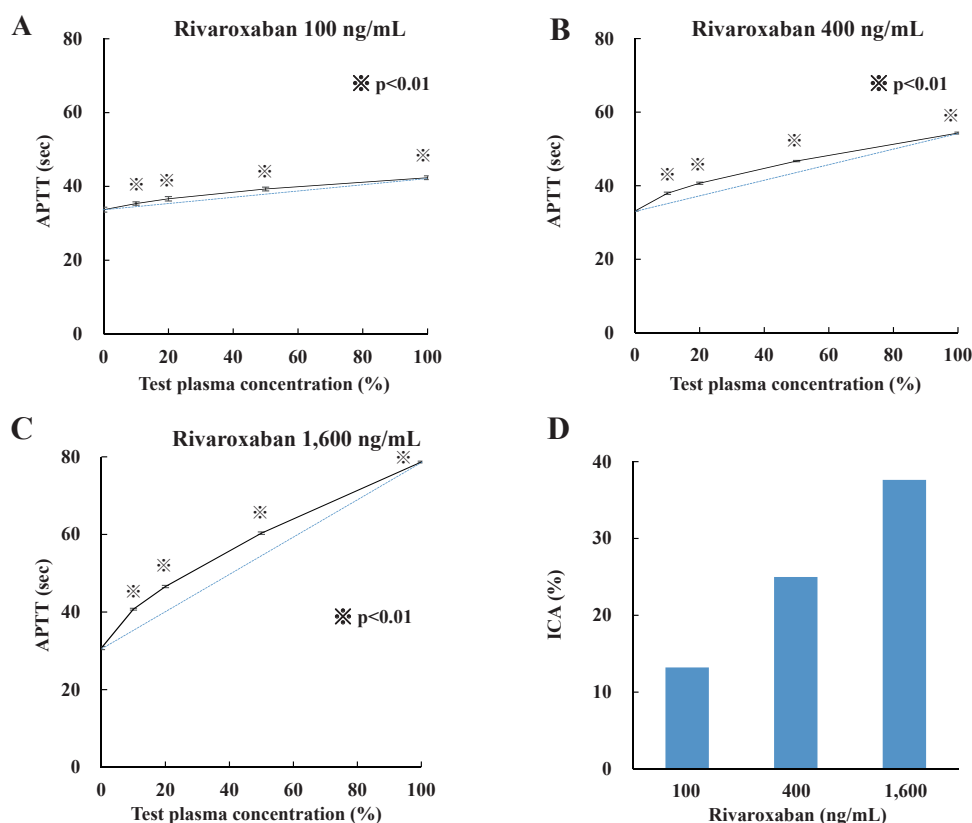


図 4. Rivaroxaban 疑似検体の CMT

A-C: Rivaroxaban を用いた凝固因子インヒビター疑似検体 (100, 400, 1,600 ng/mL) と正常血漿を任意の比率 (100, 50, 20, 10, 0 %) で混合し, 混合直後の APTT を測定した。図に mean \pm SD (n=3) を示す。

D: Rivaroxaban を用いた疑似検体の APTT の測定結果より Rosner index (ICA) を算出した。

今回 DOAC 含有疑似検体の CMT において, dabigatran では高濃度においても APTT の延長は認められなかった。Wienen らは dabigatran をラット (0.3, 1.0, 3, 0mg/kg), アカゲザル (0.15, 0.3, 0.6mg/kg) に静脈投与すると dabigatran 濃度依存性に APTT が延長すること, さらにはヒト乏血小板血漿 (platelet poor plasma; PPP) に dabigatran を添加しても APTT やプロトロンビン時間 (prothrombin time; PT) などを測定した結果, 抗凝固効果を示すことを報告している¹¹⁾ さらに彼らは, dabigatran の prodrug である dabigatran etexilate をラットまたはアカゲザルに経口投与したところ, dabigatran etexilate においても抗凝固作用を有することも示した。Dabigatran は直接的トロンビン阻害剤で, フィブリノゲンからフィブリンを生成する活性化凝固因子のトロンビンを直接阻害し, 液相のトロンビンに加えフィブリンに結合したトロンビ

ンをも不活化する。一方, dabigatran etexilate は経口投与すると消化管から吸収され, 活性代謝物の dabigatran に変換され, トロンビン機能を阻害する。今回我々は dabigatran 疑似検体として dabigatran etexilate を直接正常血漿に添加して評価を行ったが, この実験系では dabigatran etexilate が dabigatran に変換されず, トロンビン機能を阻害できなかったため, APTT の延長が認められなかったと考えられる。

一方, 今回 APTT 延長が顕著に認められ, かつ典型的な上に凸のグラフパターンとなったものは rivaroxaban と apixaban であった。また, ICA は apixaban が高濃度 (1,600ng/mL) のみで15%以上を示したのに対して, 低濃度 rivaroxaban では13.2%と15%未満であったものの, 中濃度 (400 ng/mL) では25%, 高濃度 (1,600ng/mL) では37.6%と ICA においても典型的なインヒビターパ

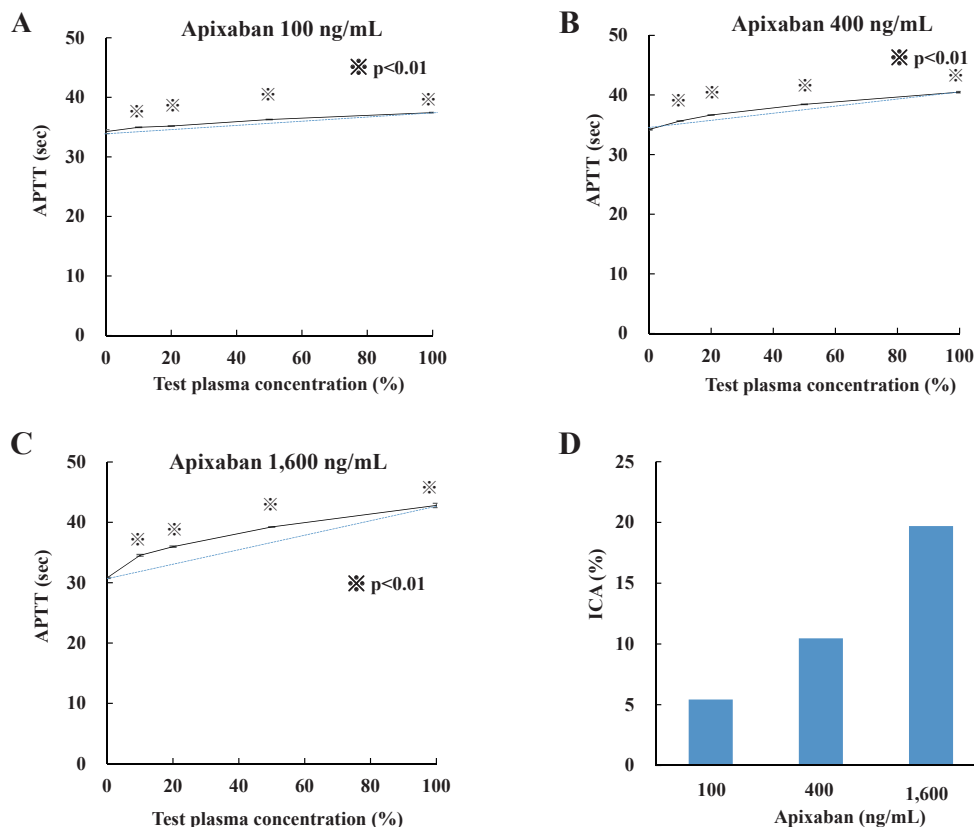


図5. Apixaban 疑似検体の CMT

A-C: Apixaban を用いた凝固因子インヒビター疑似検体 (100, 400, 1,600ng/mL) と正常血漿を任意の比率 (100, 50, 20, 10, 0%) で混合し, 混合直後の APTT を測定した。図に mean \pm SD (n=3) を示す。
D: Apixaban を用いた疑似検体の APTT の測定結果より Rosner index (ICA) を算出した。

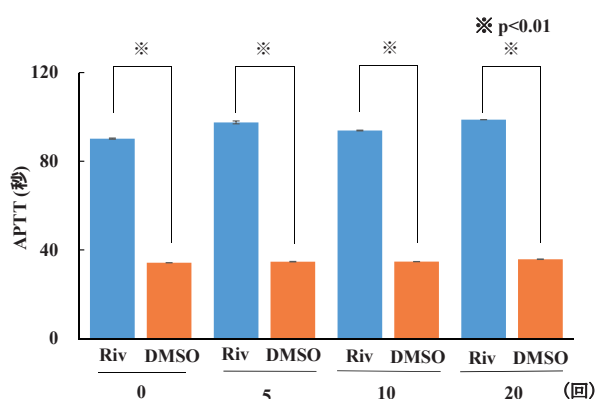


図6. Rivaroxaban を用いた凍結・融解の影響

Rivaroxaban 1,600 μ g/mL または DMSO を0, 5, 10, 20回凍結, 融解を繰り返し, APTT を測定した。図に mean \pm SD (n=3) を示す。

ターンであった。Rivaroxaban と apixaban は, FXa の S1ポケットに結合し, 直接的, 拮抗的に活性を阻害する Xa 阻害剤である。またプロトロンビナーゼ複合体の Xa 因子も阻害することでより効果的にトロンビンの生成を阻害するが, トロンビンによる血小板活性化や細胞増殖作用を阻害しないため, 止血に影響を与えないと考えられている¹²⁾。しかしながら, 同じ Xa 阻害剤だが, rivaroxaban の bioavailability は80%であるのに対して, apixaban は50%であり, この bioavailability の差が APTT の差になったのかもしれない¹³⁾。また, dabigatran においては, その bioavailability は約65%とさらに低く, その1日の薬剤投与量は他の DOAC と比較して高容量となっている。

また CMT における凝固因子インヒビター疑似検体としてその有用性がすでに報告されているノバスタン HI を今回 CMT の指標として使用した。ノバスタン HI は入手時よりアルガトロパンの水和物注射液となっており, 多くのサンプル調整を行う教員にとっては扱いやすい利点がある。一方, 今回検討を行った dabigatran, rivaroxaban, apixaban は入手時粉末となっており, 個々の DOAC を溶媒である DMSO で溶解した後, 使用するそれぞれの濃度に調整するため, ノバスタン HI よりも作業時間がかかることが難点である。しかしながら, それぞれの DOAC は DMSO で高濃度に溶解しているため, 必要量を分注して長期間凍結保管できるメリットがある。そこで最後に, 凍結・融解を繰り返した

rivaroxaban の安定性を評価したところ, 20回の凍結・融解においても APTT の延長は安定して維持されており, 凍結・融解による影響はないと考えられた。よって DOAC は予め高濃度に DMSO で溶解した後に分注し, -80°C にて凍結保管し, 実習前に融解して必要量のみ使用することで長期間使用が可能であると考ええる。また, 本研究では rivaroxaban は 5 mg の製品を購入したが, rivaroxaban の最終濃度1,600ng/mL で使用すると仮定すると, 1 回の実習 (各班0.5mL, 30班分) で用いる薬剤量は1,600ng/mL \times 0.5mL \times 30班 = 2.4 μ g であり, 約208回分の実習で使用できる。ノバスタン HI は1バイアルあたり薬価は2,228円であるが, バイアルを開封後は保管が難しく, 再利用ができない可能性が考えられる。しかし, Chemscone 社製の rivaroxaban は 5 mg で12,000円, 1 回の実習当たり58円と非常に安価であり, 学内実習において rivaroxaban を使用することは, 対費用効果の側面からも効果的であると考えられる。

以上の結果から, rivaroxaban を用いた凝固因子インヒビターの疑似検体は, ノバスタン HI を用いた疑似検体と同等の APTT 延長を認め, さらに, rivaroxaban を長期間凍結保管できることから計画的に実習前準備ができること, コストの面から学生実習用の凝固因子インヒビター疑似検体として有用である可能性が示唆された。

V 結語

将来臨床検査技師として働く学生にとっては CMT の学内実習は極めて重要であるが, 凝固因子インヒビターを含有する検体は, 患者より提供してもらう以外には入手方法がないため, バリウム吸着血漿を用いた凝固因子欠損検体を用いた実習のみとなっている養成施設は多い。しかし, rivaroxaban やノバスタン HI などを用いて凝固因子インヒビター含有疑似検体を各養成施設で準備・調整できれば, 学生の知識・理解が深まるのは勿論, CMT が実際の診療現場でより活用されるものと思われる。

文献

- 1) Pengo V: ISTH guidelines on Lupus Anticoagulant testing, Thromb Res. 2012 ; 130

- : S76-S77.
- 2) 小宮山豊, 正木浩哉, 高橋伯夫. クロスミキシング試験の標準化と利用 原因不明の出血や血栓を解明するために, 日本臨床検査自動化学学会誌. 2010 ; 35 : 201-204.
 - 3) 西岡淳二. 第8章 血小板, 凝固・線溶検査IV 凝固・線溶阻止因子の検査, 血液検査学. 東京: 医歯薬出版株式会社. 2016 ; 183-199.
 - 4) 大森 司. 出血性疾患のアプローチ, 臨床血液. 2013 ; 54 : 1888-1896.
 - 5) 山口 航, 瀬川美桜. 学内実習のための交差混合試験 (クロスミキシング試験) 疑似検体の作製, 臨床検査学教育. 2018 ; 10 : 1-18.
 - 6) Pengo V, Tripodi A, Reber G et al. : Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection, J Thromb Haemost. 2009 ; 7 : 1737-1740.
 - 7) Rosner E, Pauzner R, Lusky A et al. : Detection and quantitative evaluation of lupus circulating anticoagulant activity, Thromb Haemost. 1987 ; 57 : 144-147.
 - 8) Umer Usman MH, Raza S, Ezekowits M et al. : Advancement in antithrombotics for stroke prevention in atrial fibrillation, J Interv Card Electrophysiol. 2008 ; 22 : 129-137.
 - 9) 山崎 哲, 他 : APTT の現状と標準化に向けた課題, 生物試料分析. 2009 ; 32 : 365-370.
 - 10) 小嶋哲人. 抗凝固薬の歴史と Xa 阻害薬の開発目的を語る, Xa 阻害薬のすべて (池田康夫, 坂田洋一, 丸山征郎編). 先端医学社, 東京. 2010 ; 68-75.
 - 11) Wienen W, Stassen JM, Priepke H, et al. : In-vitro profile and ex-vivo anticoagulant activity of the direct thrombin inhibitor dabigatran and its orally active prodrug, dabigatran etexilate, Thromb Haemost. 2007 ; 98 : 155-162.
 - 12) De Caterina R, Husted S, Wallentin L, et al. : New oral anticoagulants in atrial fibrillation and acute coronary syndromes : ESC Working Group on Thrombosis-Task Force on Anticoagulants in Heart Disease position paper. J Am Coll Cardiol. 2012 ; 59 : 1413- 1425.
 - 13) DeWald TA, Becker RC. : The pharmacology of novel oral anticoagulants. J Thrombolysis. 2014 ; 37 : 217-233.

(平成30年12月2日受理)

Rivaroxaban can be used as a coagulation inhibitor of cross mixing test during the practicum.

Ippei NOBORUO, Takatoshi YAMAMOTO, Yukinori KOZUMA

Abstract

The cross mixing test is a useful laboratory examination as a screening for deficiencies, inhibitors to coagulation factors or lupus anticoagulant (LA) when activated partial thromboplastin time (APTT) is prolonged. However, critical knowledge and skills required for undergraduates studying to understand cross mixing test (CMT) have been poorly conducted during the practicum. In this study, we examined effects of dabigatran, apixaban and rivaroxaban as coagulation inhibitors on APTT. APTT was assayed by using coapresta 2000 after the preparation of a mixture of normal plasma and drugs at various ratios. APTT was prolonged by the addition of a small amount (10%) of rivaroxaban although the addition of dabigatran was not affected APTT. A prolonged APTT in the presence of apixaban was also observed. On the other hand, a representative pattern of the inhibitor was indicated only in the presence of rivaroxaban when these drugs were assessed by using Rosner index (index of circulation anticoagulant; ICA). Furthermore, stability of rivaroxaban was not affected by freeze and thaw. These results suggested that rivaroxaban can be used as a coagulation inhibitor of cross mixing test during the practicum.