

# ワルファリン抗凝固療法の指標としての 2種のPIVKA-II測定値の妥当性

下平 秀夫    高橋 清恵    内田    寛  
伊藤 利一    田中 稔    中洞 昌佳  
下津浦 誠    首藤 裕    工藤 龍彦

月刊 臨 牀 と 研 究 別 冊

平成 7 年 9 月 発 行

第 72 卷 第 9 号

## ワルファリン抗凝固療法の指標としての 2種の PIVKA-II 測定値の妥当性

下平 秀夫\* 高橋 清恵\* 内田 寛\*  
伊藤 利一\*\* 田中 稔\*\* 中洞 昌佳\*\*\*  
下津浦 誠\*\* 首藤 裕\*\*\* 工藤 龍彦\*\*\*

### はじめに

ビタミンKの欠乏や利用障害,あるいはビタミンKに拮抗するワルファリンカリウム(以下 War)等により,正常なビタミンK依存性凝固因子の $\gamma$ -カルボキシレーションが阻害され,凝固因子前駆体にCO<sub>2</sub>が導入されなくなり,凝固活性を保持しない異常蛋白 PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist)が血中に放出される。これがプロトロンビン(血液凝固第II因子)の場合には,この異常蛋白は PIVKA-II と呼ばれる。

PIVKA-IIの値は,特発性乳児ビタミンK欠乏症,胆管閉塞,肝癌,War投与時,セフェム系抗生物質投与時等で高値を示すことから,これらの疾患の診断の指標として利用されている。

一方,PIVKA-IIの測定法として,我国では主に2つの方法が用いられており,ひとつは,ラテックス凝集反応法によるもの(以下 PIVKA-II<sup>LTX</sup>)<sup>1)</sup>,もう一つは Enzyme Immunoassay (EIA) 法によるもの(以下 PIVKA-II<sup>EIA</sup>)がある<sup>2)3)</sup>。一般に,血液凝

固系の検査には PIVKA-II<sup>LTX</sup> が用いられ, PIVKA-II<sup>EIA</sup> は,主に肝癌マーカーとして用いられている。

### I. 目的

我々は既に,抗凝血薬の War と抗尿酸血症治療薬のベンズプロマロン(以下 BzB)を併用することにより,Warの作用が増強されることを報告している<sup>4)</sup>。WarはビタミンKの拮抗薬であり,本剤投与により PIVKA-II は増加する。

この研究の第1の目的は War と BzB の相互作用を確認することであった。一方,もう一つの目的は2つの測定法により得られた PIVKA-II の値を比較し,ビタミンK依存性の凝固因子の変動の指標としてどちらが有用であるかを検討することであった。今回は後者の目的について報告する。

### II. 実 験

#### 1. 対 象

抗凝固療法として War が投与され,かつ,痛風治療のため BzB を併用している外来患者7例を対

Table 1 Patient profile

	Sex	Age	Status	War mg/day	BzB mg/day
H. M.	F	64	Mitral valve replacement (postoperative)	1.25	50
S. S.	M	60	Mitral valve replacement (postoperative)	1.50	50
N. O.	M	62	Mitral valve replacement (postoperative)	1.00	100
T. H.	M	61	C A B G (postoperative)	1.75	50
H. Y.	F	70	C A B G (postoperative)	1.50	50
T. N.	M	68	C A B G (postoperative)	2.50	50
M. T.	M	58	Recovery from myocardial infarction	3.00	50

CABG: Coronary Artery Bypass-Grafting

\*八王子薬剤センター薬局

東京医科大学八王子医療センター \*\*検査科 \*\*\*心臓血管外科

象とした。表1に対象患者の背景を示した。年齢は  $64.6 \pm 4.5$  歳 (平均  $\pm$  SD), 男性は5例, 女性は2例であった。主な病名は, 人工弁置換術後が3例, 冠動脈バイパス術後が3例, 心筋梗塞術後が1例で, 全例が痛風を合併していた。War の一日投与量は  $1.8 \pm 0.7$  mg, BzB は  $57.1 \pm 18.9$  mgであった。

## 2. 方 法

全例, 痛風発作の無い時期を選んで, War は維持したまま BzB の投与を7日間中止し, その後再投与した。併用時, BzB 中止1週間後について血液凝固系の検査を行った。検査項目は, トロンボテスト, プロトロンビン, PIVKA-II<sup>LTX</sup>, PIVKA-II<sup>EIA</sup>, および血液凝固第Ⅷ因子である。尚, 試験期間中に両剤の用量変更あるいは他の薬剤の処方変更はなかった。

## 3. 測 定

### 1) 採血・保存条件

3.8%クエン酸ナトリウム入り採血管0.2mlに血液1.8mlの割合で採血し, 転倒混和を5~6回繰り返した後, すみやかに血漿分離を行った。血漿は測定まで凍結保存した。

### 2) PIVKA-II<sup>LTX</sup>

測定機器は, ラテックスシェイカー (篠崎製作所), ダイレクトミキサー TS-100 (サーマル化学工業), および遠心器 KL-7000 (トミーセイコー) を用いた。

測定試薬は, ピブカルテスト (PIVKAL Test) キット (帝国臓器製薬株) を用いた。

### 3) PIVKA-II<sup>EIA</sup>(2)(3)

測定機器は, プレートリーダー ER-8000 (三光純薬), プレートミキサー MPM-2 (カヤガキ), およびプレート自動洗浄器 SERA-WASHER-96 (バイオテック) を用いた。

測定試薬は, エイテストモノP-II84テスト (エーザイ株) を用いた。

### 4) その他の測定項目の検査方法

トロンボテスト値は Owren 法, プロトロンビン活性は発色性 PT 法, 血液凝固第Ⅷ因子は発色性 APTT 法を用いた。

## 4. 統 計

各測定項目における併用時, 中止1週間後, および再投与後の間の有意差検定には, 対応のある wilcoxon 試験を用いた。危険率0.05未満を有意な差とみなした。第Ⅱ因子と PIVKA-II<sup>EIA</sup> の回帰の有意性は回帰直線の傾きが有意に0から偏っていることを検定した。

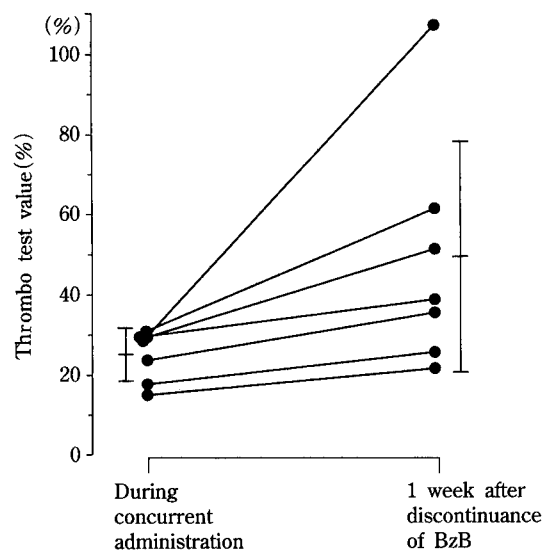
## Ⅲ. 結 果

### 1. トロンボテスト値

図1に7例の患者における, BzB の中止に伴うトロンボテスト値の変動を示した。併用時  $24.7 \pm 6.4\%$  (平均  $\pm$  SD) であったが, BzB を中止1週間後には, 全例が上昇し,  $47.3 \pm 28.9\%$  (+91.5%) と有意な差が認められた ( $P < 0.05$ )。

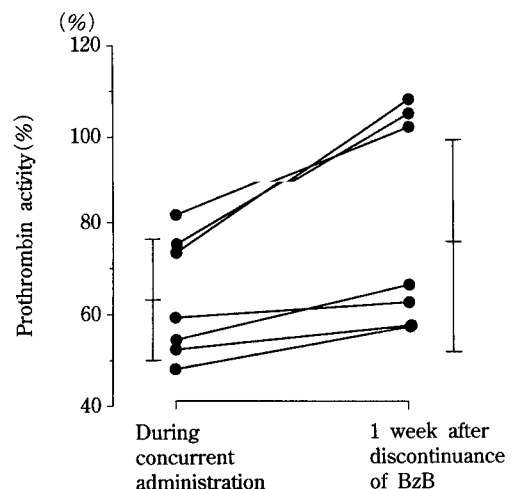
### 2. プロトロンビン活性

プロトロンビンはビタミンK依存性因子であり, War の作用によりこの値は低下する。図2に BzB



∓: mean  $\pm$  SD,  $P < 0.05$  by Wilcoxon test

Fig. 1 Changes in the thrombo test value after discontinuance of BzB in patients concurrently treated with War and BzB.

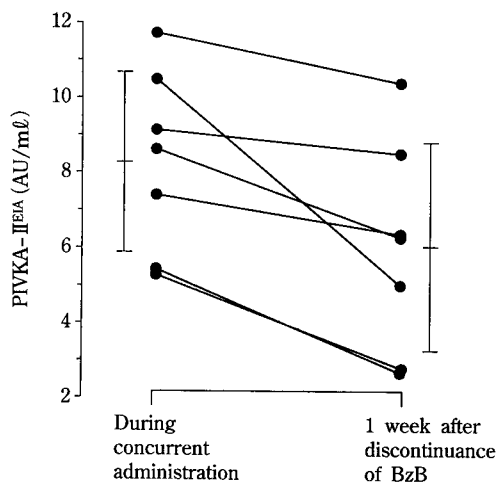


∓: mean  $\pm$  SD,  $P < 0.05$  by Wilcoxon test

Fig. 2 Changes in the activity of prothrombin after discontinuance of BzB in patients concurrently treated with War and BzB.

**Table 2** Changes in the PIVKA-II<sup>LTX</sup> after discontinuance of BzB in patients concurrently treated with War and BzB.

Patient	H.M.	S.S.	N.O.	T.H.	H.Y.	T.N.	M.T.
During concurrent administration	<0.5	1.0	0.5	<0.5	0.5	0.5	<0.5
1 week after discontinuance of BzB	<0.5	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5



□: mean ± SD,  $P < 0.05$  by Wilcoxon test

**Fig. 3** Changes in the PIVKA-II<sup>EIA</sup> after discontinuance of BzB in patients concurrently treated with War and BzB.

の中止に伴うプロトロンビン活性の変動を示した。併用時 $63.1 \pm 13.0\%$  (平均±SD)であったが、BzBを中止1週間後には、全例が上昇し $79.7 \pm 23.9\%$  (+26.3%)と有意な差が認められた ( $P < 0.05$ )。

### 3. PIVKA-II 濃度

先に述べたように、War 投与により PIVKA-II 濃度は上昇する。

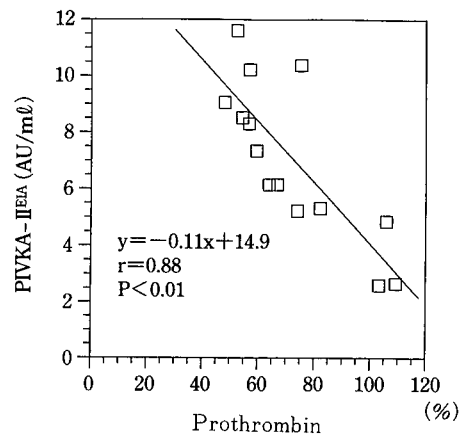
#### 1) ラテックス凝集反応による測定値

表2にBzBの中止に伴うPIVKA-II<sup>LTX</sup>濃度の変動を示した。測定限界値(0.5AU/ml)未満の症例が、併用時は4例、BzBを1週間中止後は0例であったため両群の比較は不可能であった。

#### 2) EIA法による測定値

図3にBzBの中止に伴うPIVKA-II<sup>EIA</sup>濃度の変動を示した。併用時 $8.2 \pm 2.4$ AU/ml (平均±SD)であったが、BzBを1週間中止後には全例が下降し、 $5.8 \pm 2.8$ AU/ml (-29.7%)と有意差が認められた ( $P < 0.05$ )。

一方、今回得られた第II因子の値に対して、同一患者の同一日のPIVKA-II<sup>EIA</sup>の値をプロットしてみると、両者の間には $P < 0.01$ で有意な負の相関が認められた(図4)。



**Fig. 4** Coagulation between The activity of prothrombin and the PIVKA-II<sup>EIA</sup> concentration.

## 4. 血液凝固第Ⅷ因子活性

第Ⅷ因子はビタミンK非依存性因子であるため、Warの作用とは直接には関係がない。併用時は $114.9 \pm 38.2\%$  (平均±SD)、BzBを1週間中止後は $112.3 \pm 34.7\%$ と殆ど変動しなかった。

## IV. 考 察

### 1. 相互作用

WarとBzBが併用されると、Warの抗凝固作用が増強されることが確認された。それは、併用患者のBzBの服用を中断すると、トロボテスト値(図1)、および、ビタミンK依存性のプロトロンビン(図2)は有意な上昇を示したが、ビタミンKに依存しない第Ⅷ因子は変化が認められなかったことから説明できる。

### 2. PIVKA-II 測定法の比較

WarはビタミンK代謝サイクルにおける、還元型ビタミンKの産生を阻害する。これが結果的にPIVKAを増加させることとなり、抗凝固作用を示す。

上記に述べたように、BzBの中止により、明らかにWarの抗凝固効果が影響を受けた。例えば、Warの効果が増強されるとプロトロンビン活性は低下するが、逆にPIVKA-IIは増加するはずであ

る。PIVKA-II<sup>EIA</sup> はこのような凝固系の変動によく応答していた (図4)。

一方、PIVKA-II<sup>LTX</sup> は今回のような War 投与症例に関しては、半数以上が測定限界を下回り、全く指標としての意味を有しなかった。

1980年以前、PIVKA-II の測定法としては、Ca 塩との結合性の有無を利用した二次元交叉免疫電気泳動法が主に用いられていた。しかし、この方法は測定が難しく、長時間を要していた。次に登場したのはラテックス凝集反応法で、Ca または Ba 塩でプロトロンビンを吸着した後の PIVKA-II をプロトロンビンの抗原性で測定する方法である。しかし、この方法はプロトロンビンよりも PIVKA-II が Ca や Ba 塩に対する吸着性が相対的に低いことを利用した方法であり、感度に問題があるといわれている。一方、EIA 法は PIVKA-II を特異的に認識するモノクロナール抗体を使用することで、PIVKA-II を高感度で特異的に測定する方法である。

今回の検討においてもラテックス凝集法と EIA 法の差は歴然であり、War による抗凝固療法施行中の患者の血漿中 PIVKA-II 測定法としてラテッ

クス凝集反応法よりも EIA 法が優れていると考えられる。

現在 War による抗凝固療法中の PIVKA-II に関しては、ラテックス凝集反応法による測定値が保険の適用となっているが、今後の再考が強く望まれる。

## ま と め

今回、War による血液凝固療法施行中の患者の血液凝固系の変動の指標について検討した。PIVKA-II の測定については、EIA 法による測定値は有用な指標となり得るが、ラテックス凝集反応による測定値は指標にはなり得ないと考えられる。

## REFERENCES

- 1) 目黒嵩ほか：血液と脈管, 13: 211-214, 1982.
- 2) 檜木徹：モノクロナール抗体とポリクロナール抗体とを用いたサンドイッチ EIA (Enzyme Immunoassay) 法による PIVKA-II 測定試薬キットの開発と測定条件の検討. 臨床免疫, 18: 479-492, 1986.
- 3) 服部信：肝細胞における異常プロトロンビンの臨床評価. 臨牀と研究, 66: 249-258, 1988.
- 4) 高橋清恵ほか：ワルファリンカリウムとベンズプロマロンの相互作用. THPA., 43: 245-247, 1994.