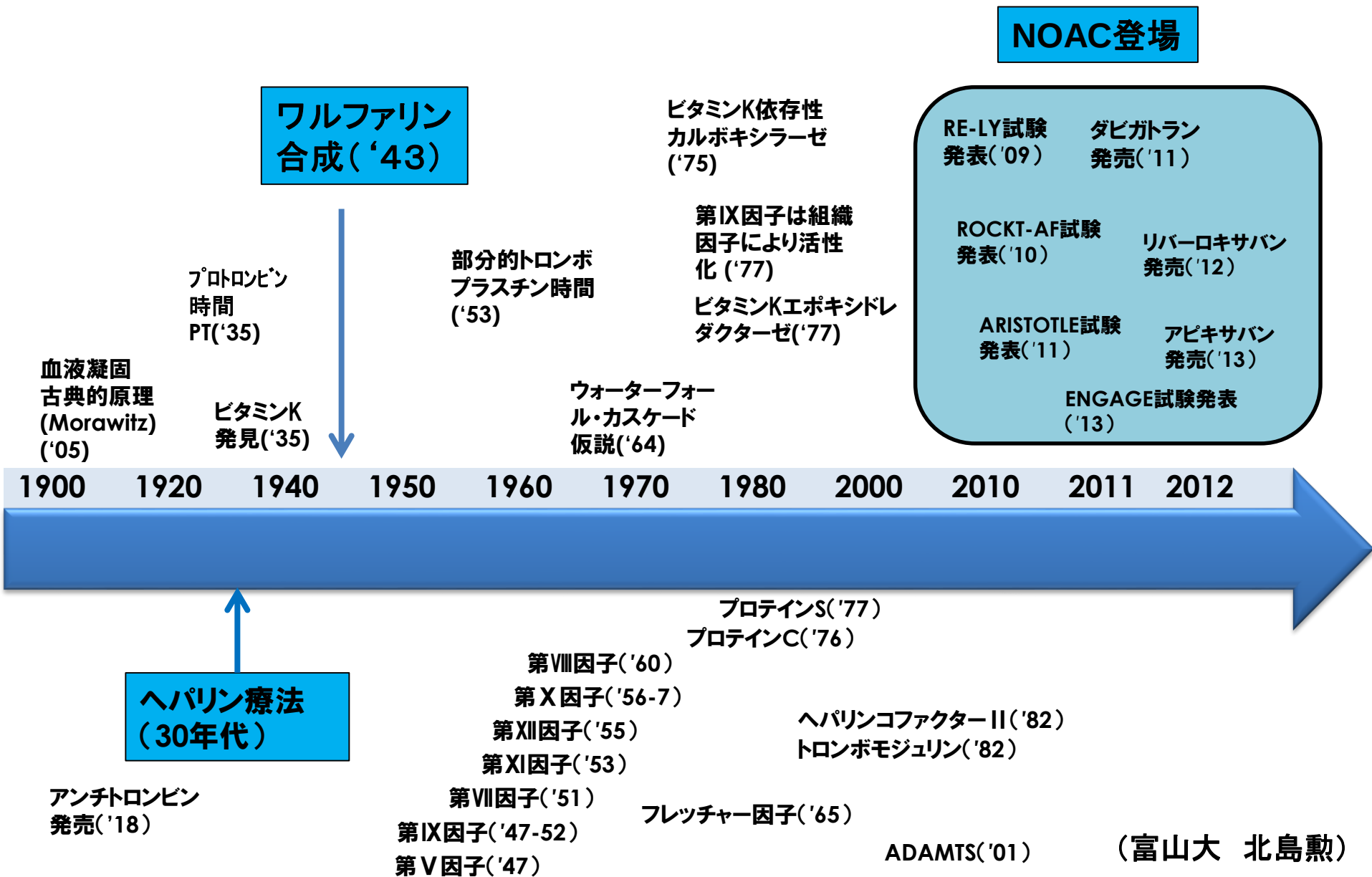


第6回 血液検査機器技術セミナー

「直接経口抗凝固薬(DOACs)の薬理作用と 凝固検査への影響」

富山大学臨床分子病態検査学講座・附属病院検査部
北島 勲

血液凝固学トピックスと血栓症治療の年表



呼称の変更

新規経口抗凝固薬：**NOACs**
(**N**ovel/**N**ew **o**ral **a**nti**c**oagulants)



非ビタミンK経口抗凝固薬：**NOAC**
(**N**on-vitamin K antagonist **o**ral **a**nti**c**oagulants)



直接経口抗凝固薬：**DOACs** (**D**irect **o**ral **a**nti**c**oagulants)

2015年6月 International Society on Thrombosis and Haemostasis
(ISTH) Congress

講演の論点

1) 血液凝固におけるトロンビンの作用点
⇒ 細胞性血液凝固反応における
トロンビンバーストと血栓症

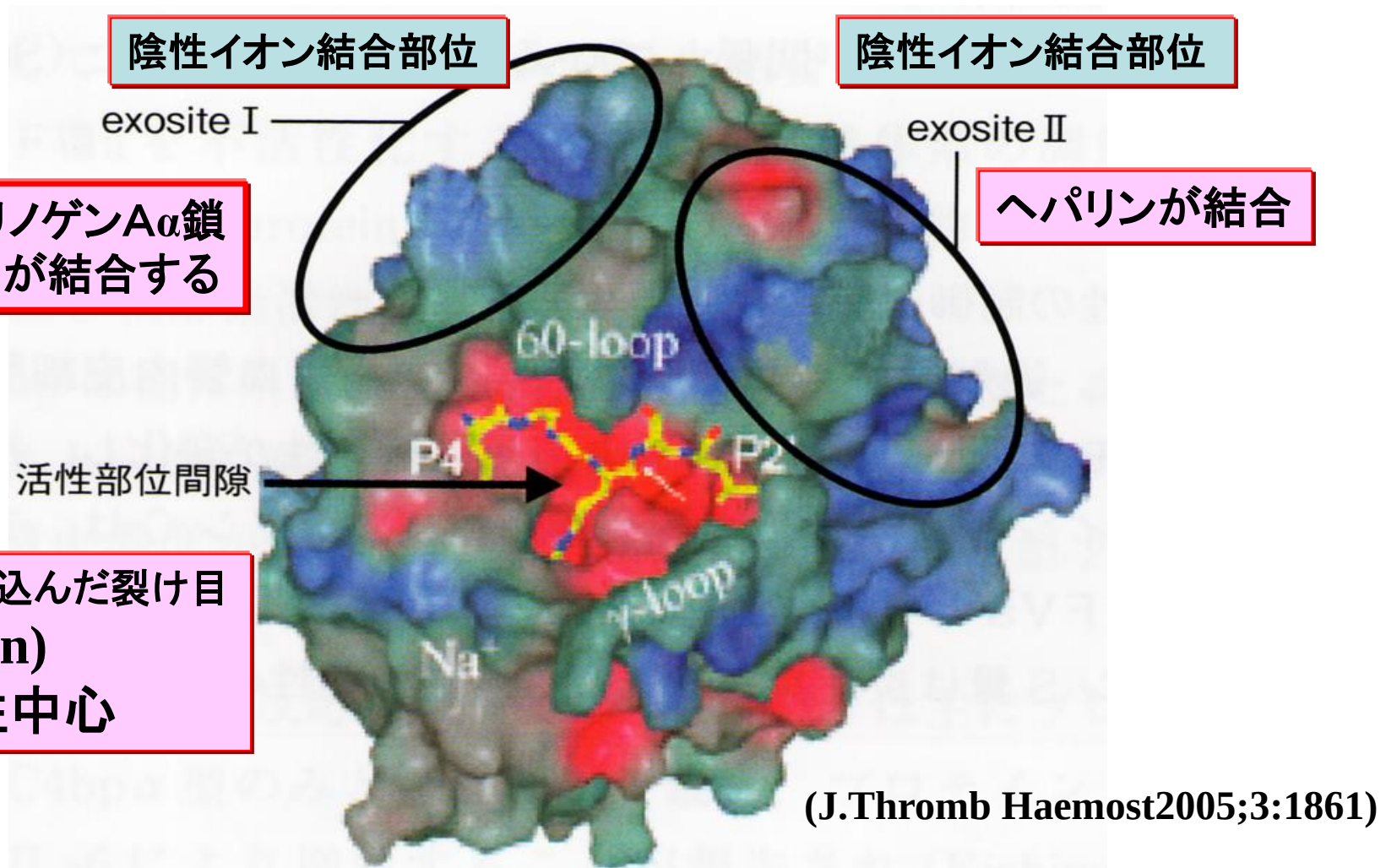
2) DOACの薬理作用とモニタリング

- ① DOACとワルファリン・ヘパリンとの相違
- ② トロンビン阻害薬とFXa阻害薬の相違
- ③ モニタリングの可能性

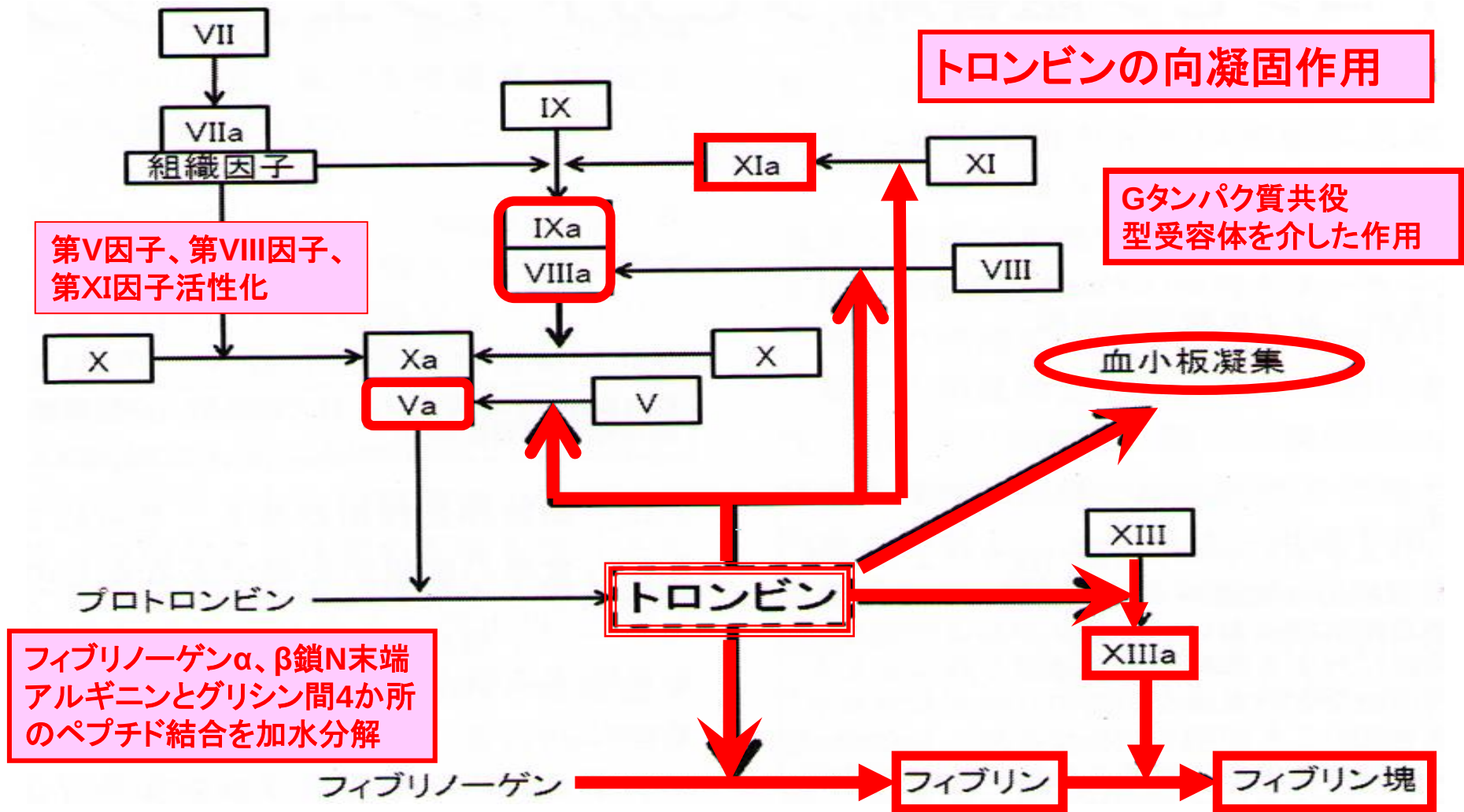
トロンビン

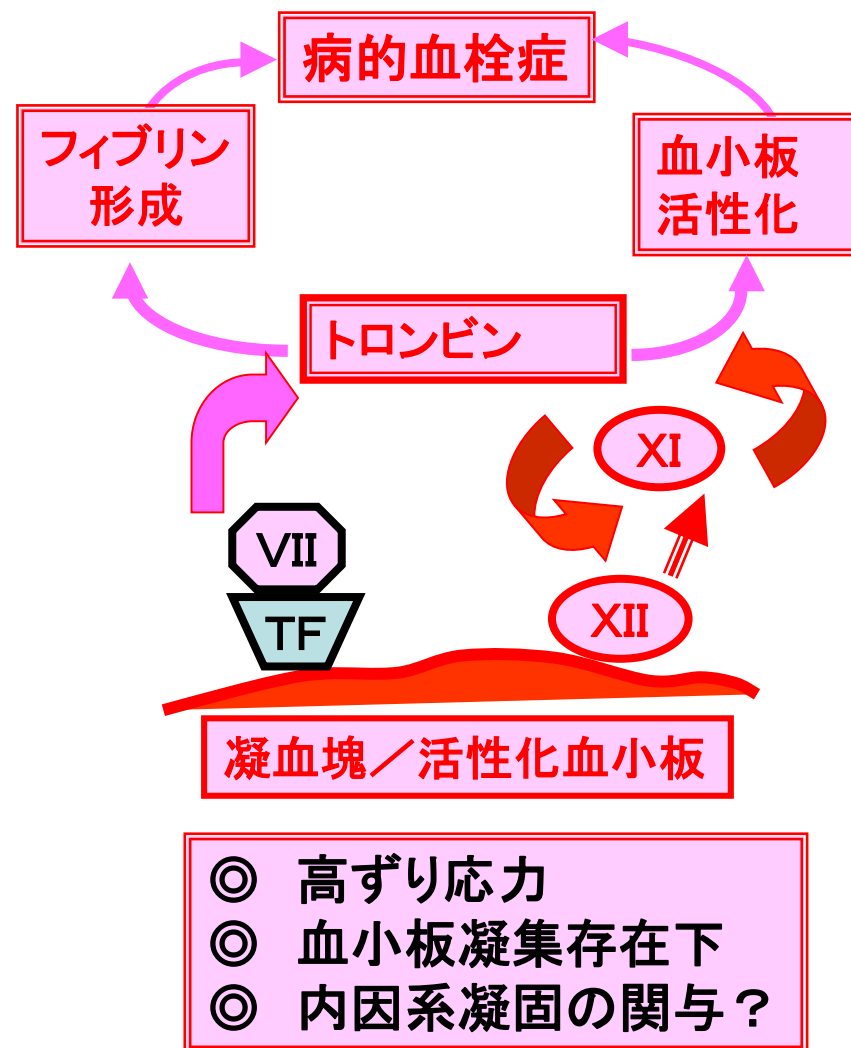
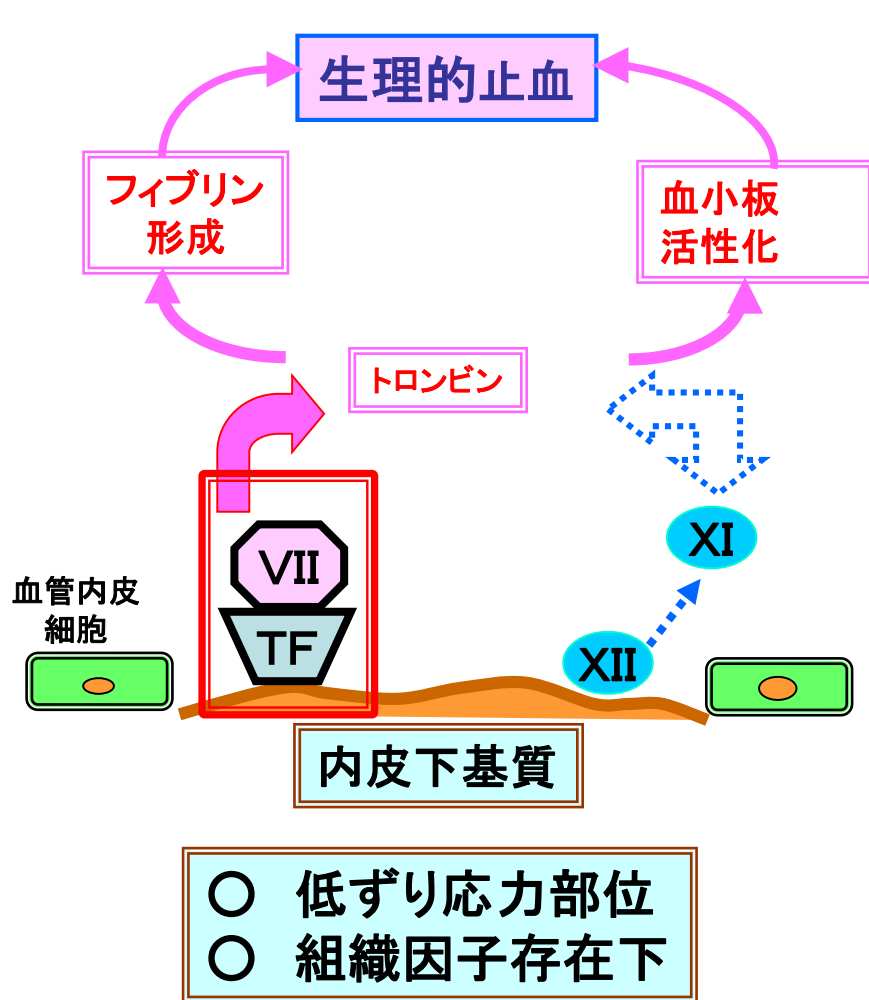
血液凝固関連セリンプロテアーゼ

ヒトトロンビン: 分子量: 35kDa



- 1) 凝固制御作用: 向凝固作用 ⇔ 抗凝固作用
- 2) G蛋白共役型受容体(PAR)を介した作用





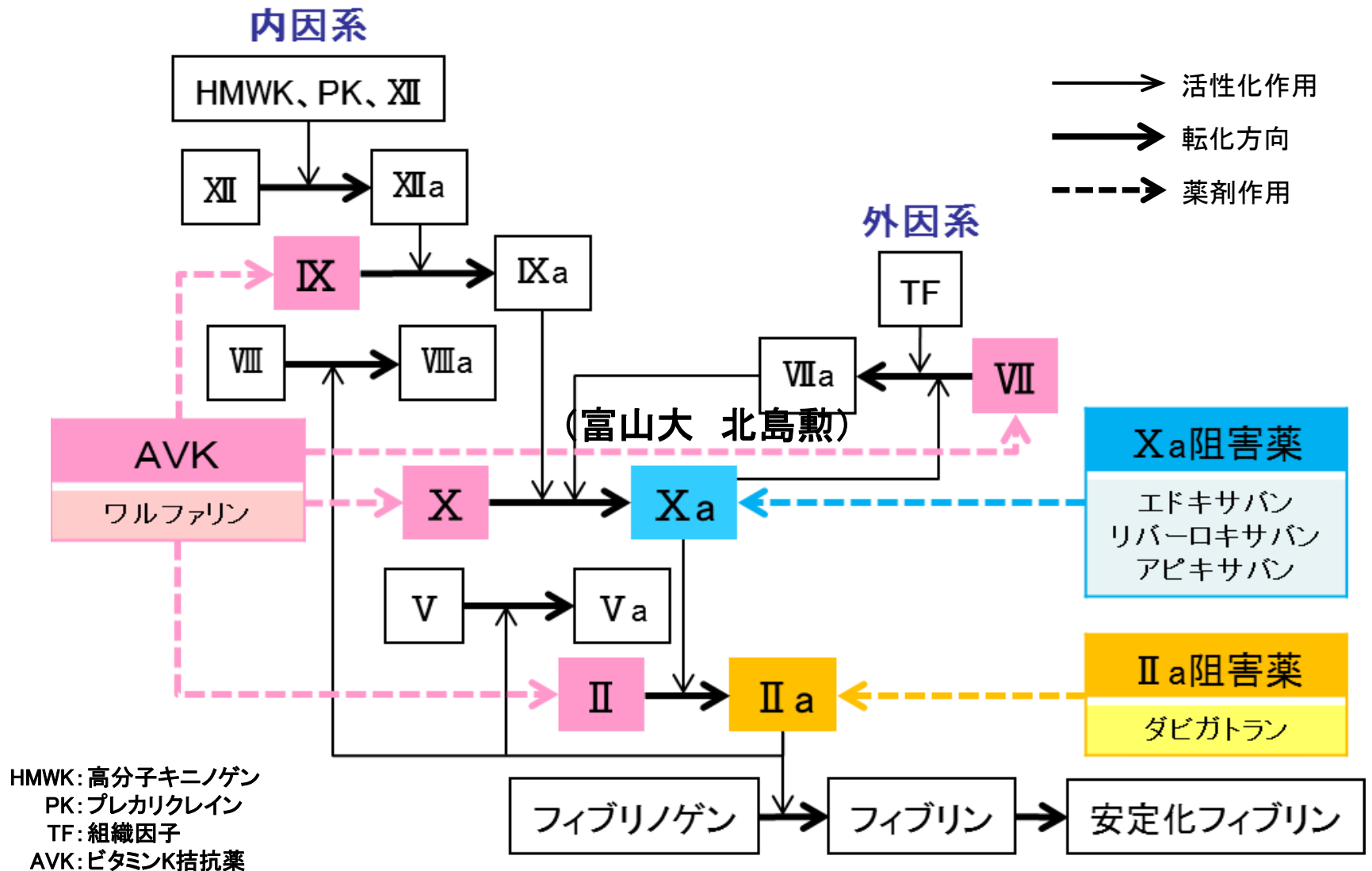
講演の論点

1) 血液凝固におけるトロンビンの作用点
⇒細胞性血液凝固反応における
トロンビンバーストと血栓症

2) DOACの薬理作用とモニタリング

- ① DOACとワルファリン・ヘパリンとの相違
- ② トロンビン阻害薬とFXa阻害薬の相違
- ③ モニタリングの可能性

血液凝固カスケードにおける主な経口抗凝固薬の作用点

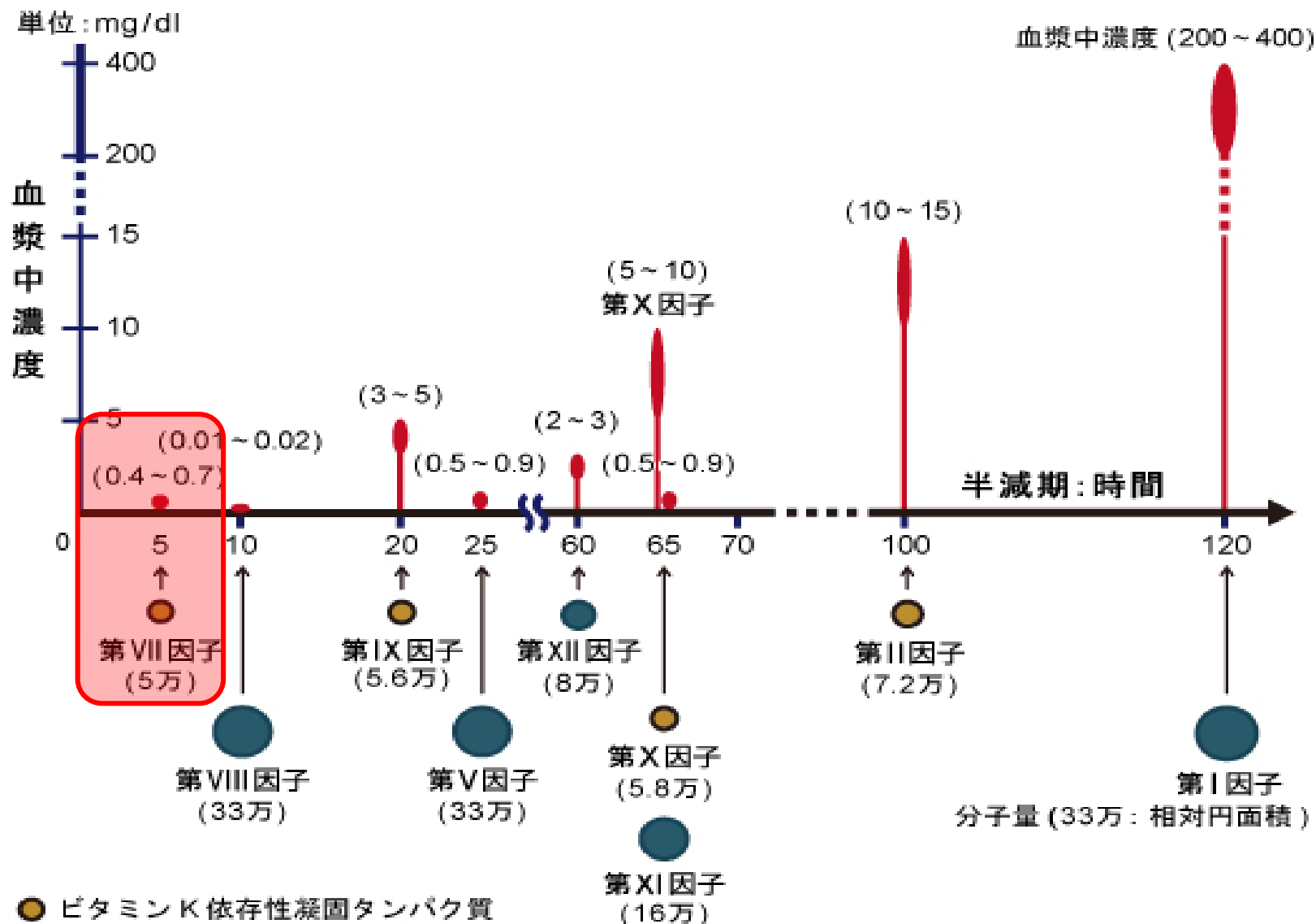


ワルファリンとNOACsの作用点の相違

- ・ **頭蓋内出血発症率の相違を血液凝固の視点から考える。**
- ・ **血中薬物濃度変化の相違を血液凝固の視点から考える。**

新規抗凝固薬の臨床試験における ワルファリンに対する有用性

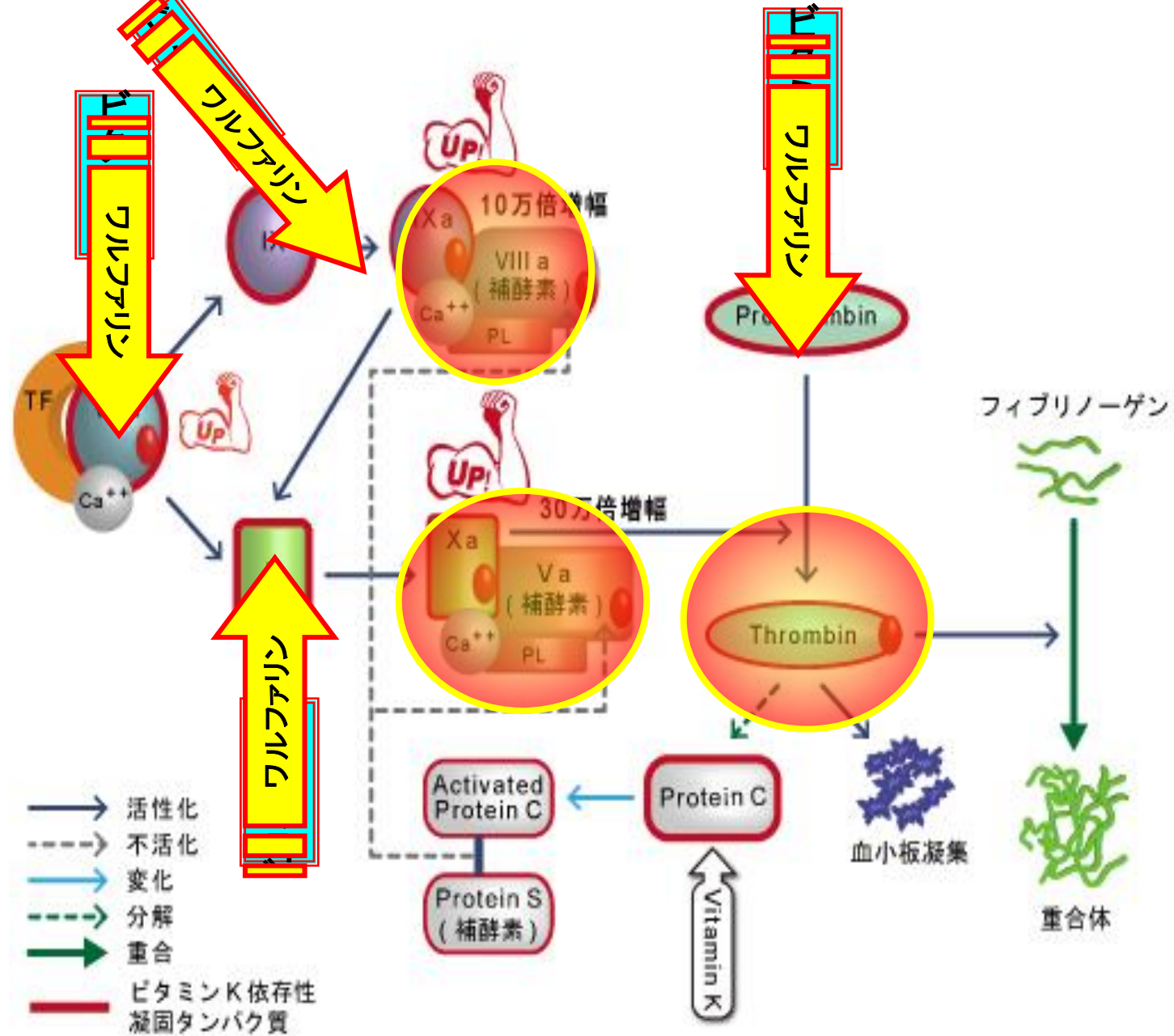
	ダビガトラン		リバーロキサバン 20mg×1回/日	アピキサバン 5mg×2回/日
	150mg×2回/日	110mg×2回/日		
脳卒中/全身性塞栓症	優越性	非劣性	非劣性	優越性
大出血	非劣性	優越性	非劣性	優越性
虚血性脳卒中	優越性			
全死亡				優越性
大出血/臨床的に関連のある出血	優越性	優越性		優越性
消化管出血	劣性		劣性	
出血性脳卒中	優越性	優越性	優越性	優越性
頭蓋内出血	優越性	優越性	優越性	優越性
治療中止	劣性	劣性		優越性



各凝固因子の血漿中濃度と半減期、分子量の関連

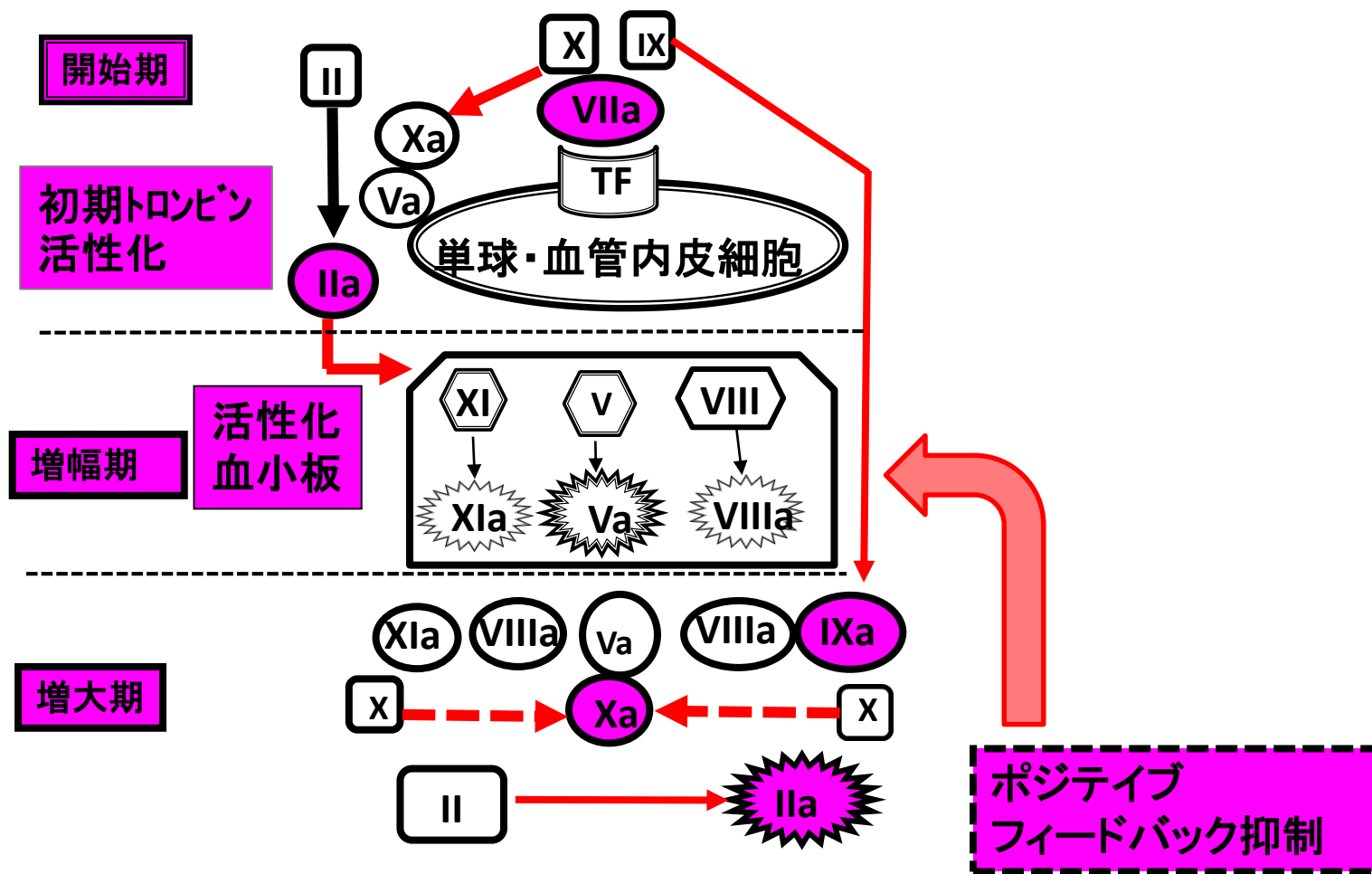
第VII因子は、最も短い半減期かつ血中濃度が低い。
⇒血液凝固反応は、上位から調節されている。

(富山大 北島勲)



血液凝固増幅反応から見たワルファリンの作用点

(富山大 北島勲)



細胞性血液凝固反応におけるワルファリンの作用点

(富山大 北島勲)

ワルファリンはなぜ頭蓋内出血発現率が高く、重症化しやすいのか？

脳におけるワルファリン作用点と効果発現時間がポイント

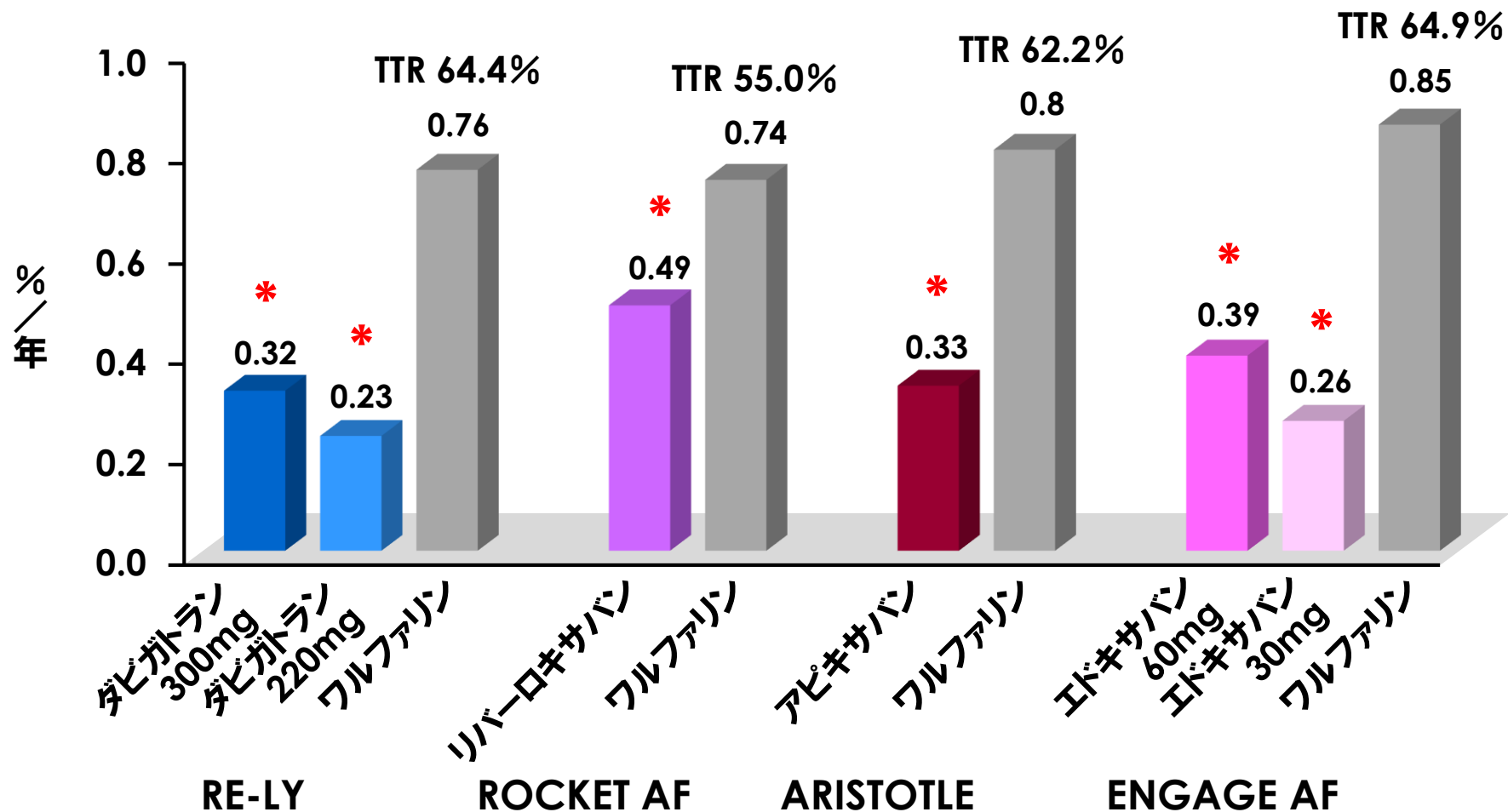
- ・ワルファリンは、ビタミンK依存性凝固因子の生合成と活性化を抑制する。
- ・投与開始時は既に血中に存在している凝固因子が代謝されるまでには、凝固因子の分解速度に依存しており、各凝固因子の抑制には差が生じる。

凝固因子	II	VII	IX	X
半減期	2.8～4.4日	1.5～5時間	20～24時間	1～2日

第VII因子は半減期が非常に短く、外因系凝固反応の律速段階にあり、ワルファリン服薬による影響を最も受けやすい。

- ・脳は、組織因子の発現が高く、第VII因子との複合体形成による外因系止血機構が発達している臓器であるため、ワルファリンによる第III・第VII因子形成障害は、多臓器に比して止血機構破綻の危険性が高いと推察される。

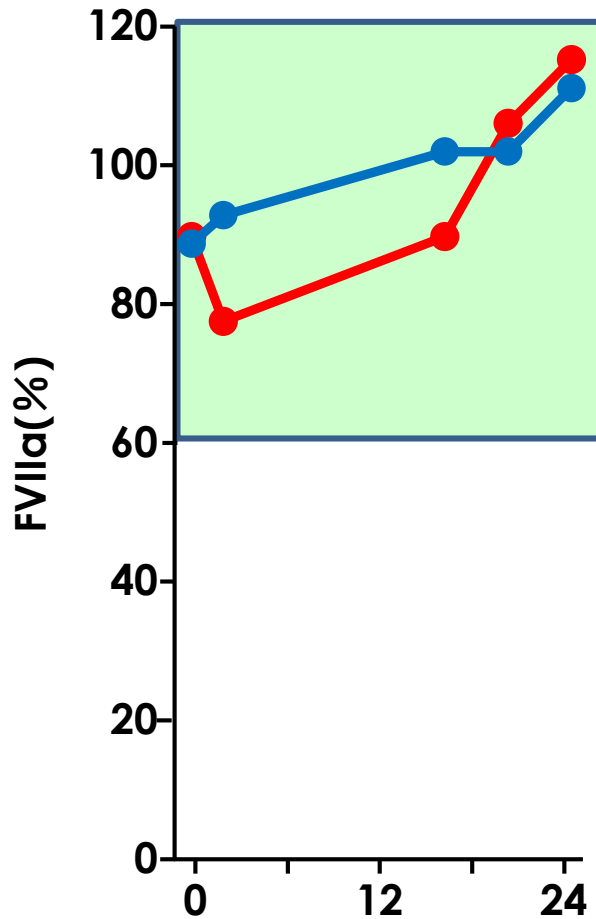
新規抗凝固薬に関する大規模臨床試験の主要結果 頭蓋内出血



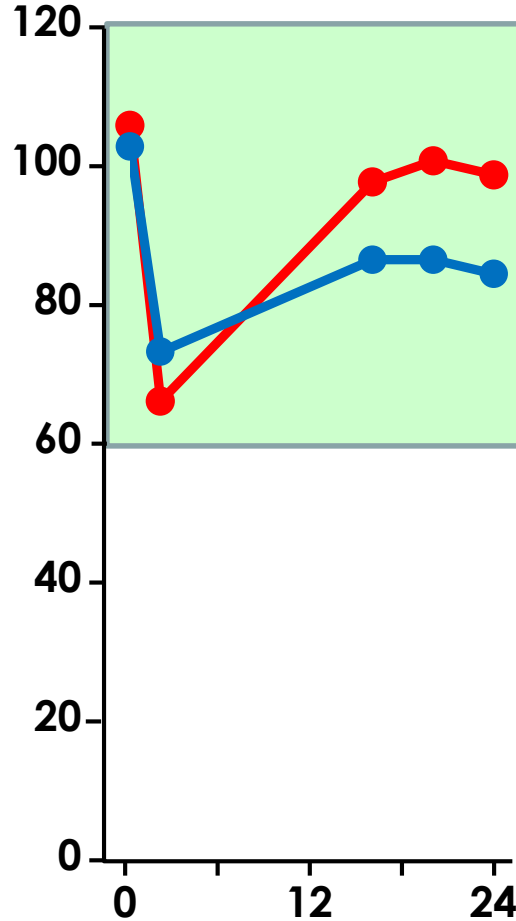
TTR: time in therapeutic range. *:当該試験のワルファリン群に比べ有意差あり。

FVIIaの経時的変化(自験例)

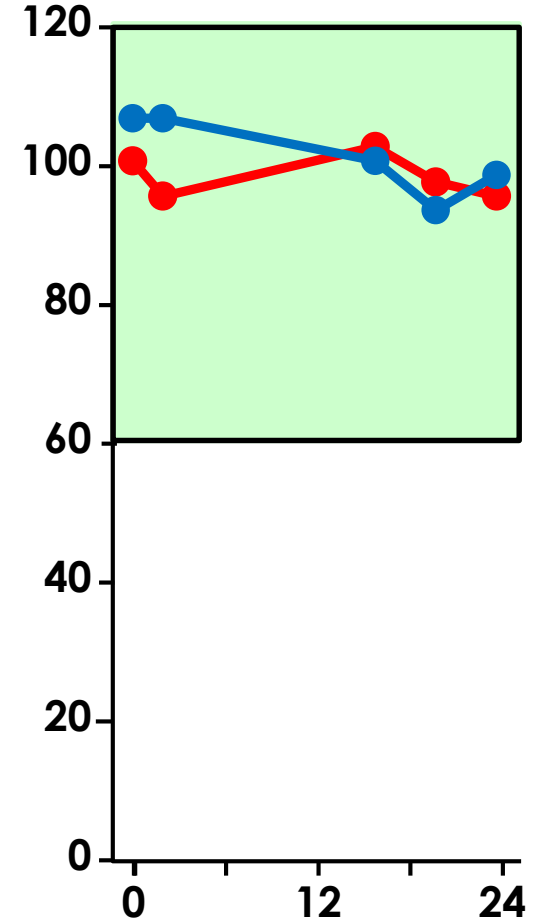
ダビガトラン150mg



リバーロキサバン



アピキサバン



Case 1

Case 2

服用後時間(時間)

(富山大 北島勲)

講演の論点

- 1) 血液凝固におけるトロンビンの作用点
⇒ 細胞性血液凝固反応における
トロンビンバーストと血栓症
- 2) 血液凝固分子マーカー(SF・FMC)測定の意義
⇒ SF・FMCの相違と臨床的有用性
- 3) DOACの薬理作用とモニタリング
 - ① DOACとワルファリン・ヘパリンとの相違
 - ② トロンビン阻害薬とFXa阻害薬の相違
 - ③ モニタリングの可能性

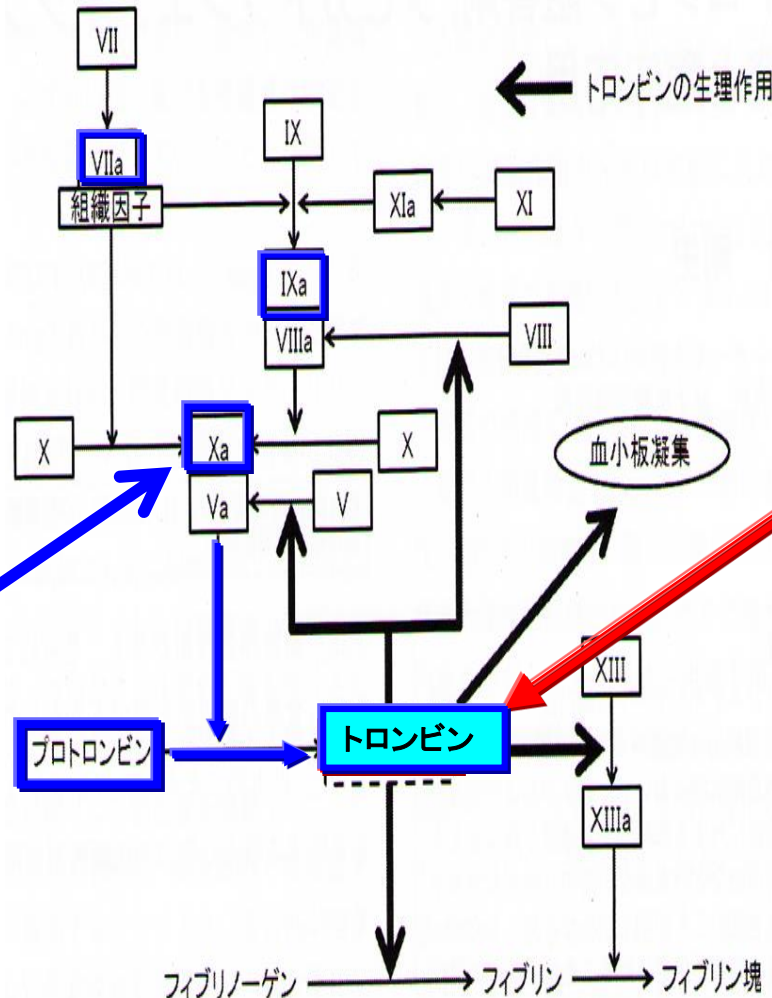
抗凝固薬の作用点からみた分類

There are two mechanisms by which anticoagulants exert their action.

(Hassouna HS: 第34回日本血栓止血学会ランチョンセミナー抄録より改変)

Slow the velocity of thrombin release from prothrombin

- Vitamin K agonists
- Low molecular weight heparins (LMWH)
- Specific FXa inhibitors



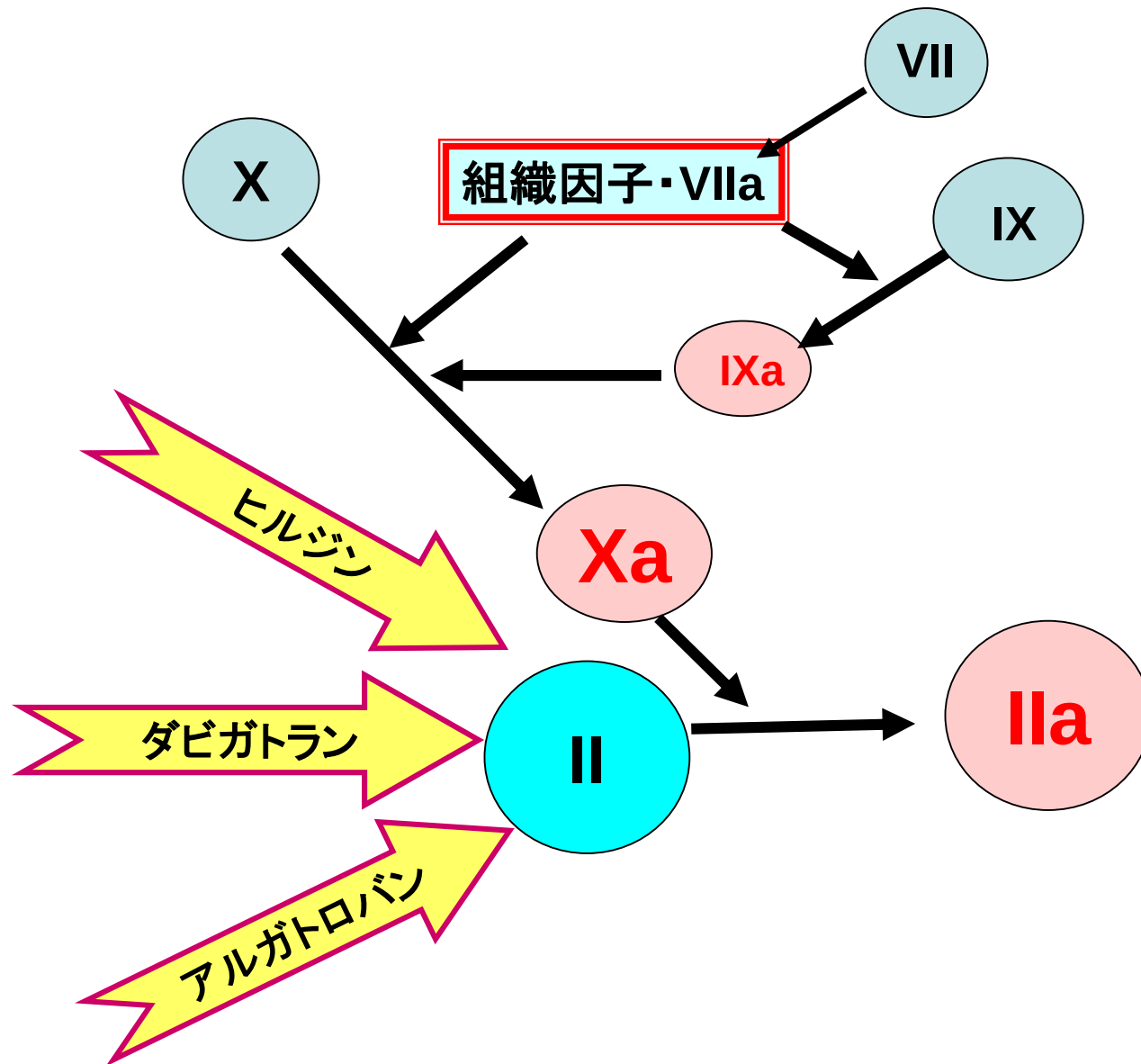
Direct inactivation of thrombin proteolytic activity

- Antithrombin
- Unfractionated Heparin
- Synthetic direct thrombin inhibitors
 - Argatroban
 - **Dabigatran**

(富山大 北島勲)

新規抗凝固薬の特徴

	ダビガトラン	リバロキサバン	アピキサバン	エドキサバン
標的因子	トロンビン	第Xa因子	第Xa因子	第Xa因子
$t_{1/2}$ (時間)	12-14	9-13	8-15	6-11
t_{max} (時間)	0.5-2	2-4	1-4	1-1.5
生物学的利用率	6.5% (ヒト)	67-86% (動物)	49% (ヒト)	60% (動物)
蛋白結合率	35%	92-95%	87%	40-59%
代謝	グルクロン酸抱合	CYP3A4/2J2	CYP3A4	CYP3A
腎排泄	80%	33%	25%	35-39%
プロドラッグ	○	×	×	×
開発会社	ベーリンガー インゲルハイム	バイエル/ジョン ソン& ジョンソ ン	ブリストルマイ ヤーズスクイブ/ ファイザー	第一三共



直接トロンビン阻害薬の作用点

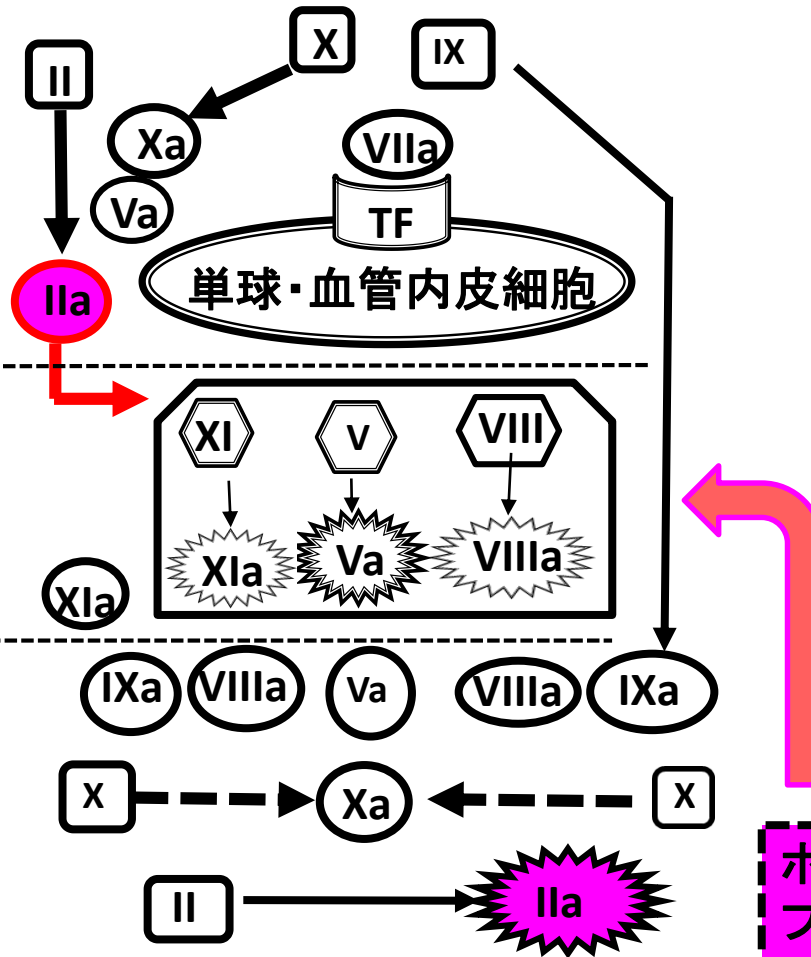
開始期

初期トロンビン活性化

増幅期

活性化血小板

増大期

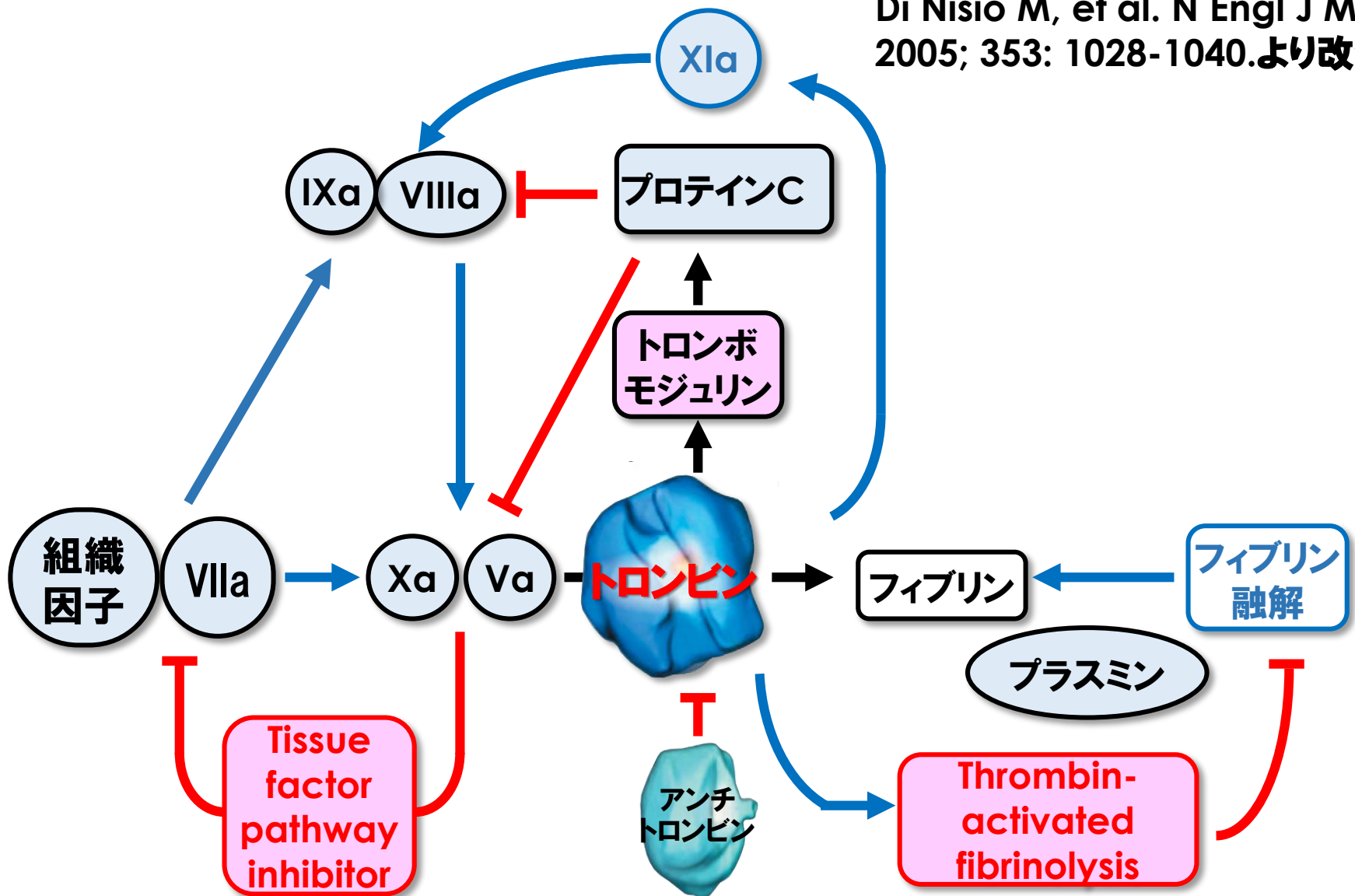


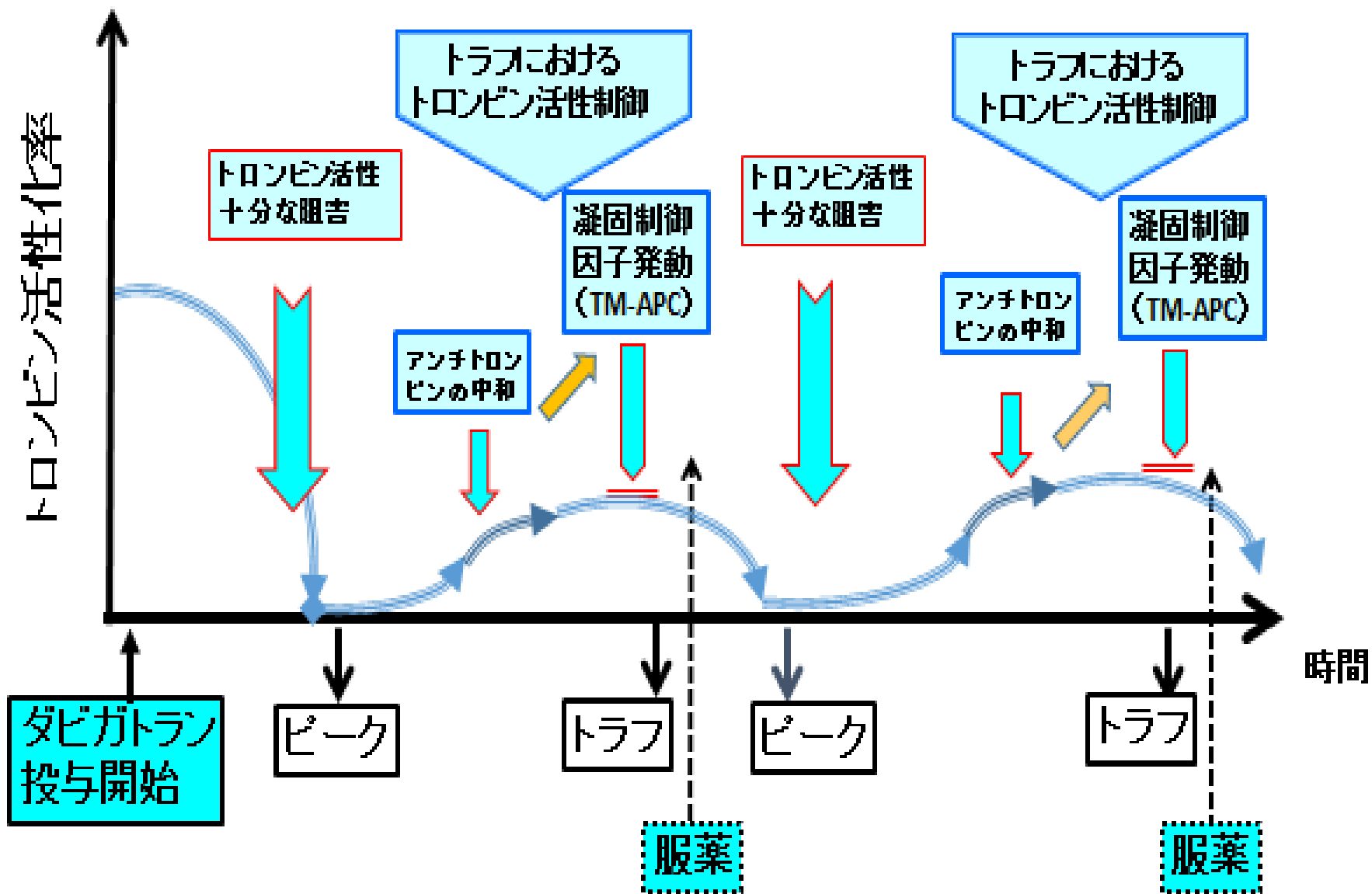
細胞性血液凝固反応におけるダビガトランの作用点

(富山大 北島勲)

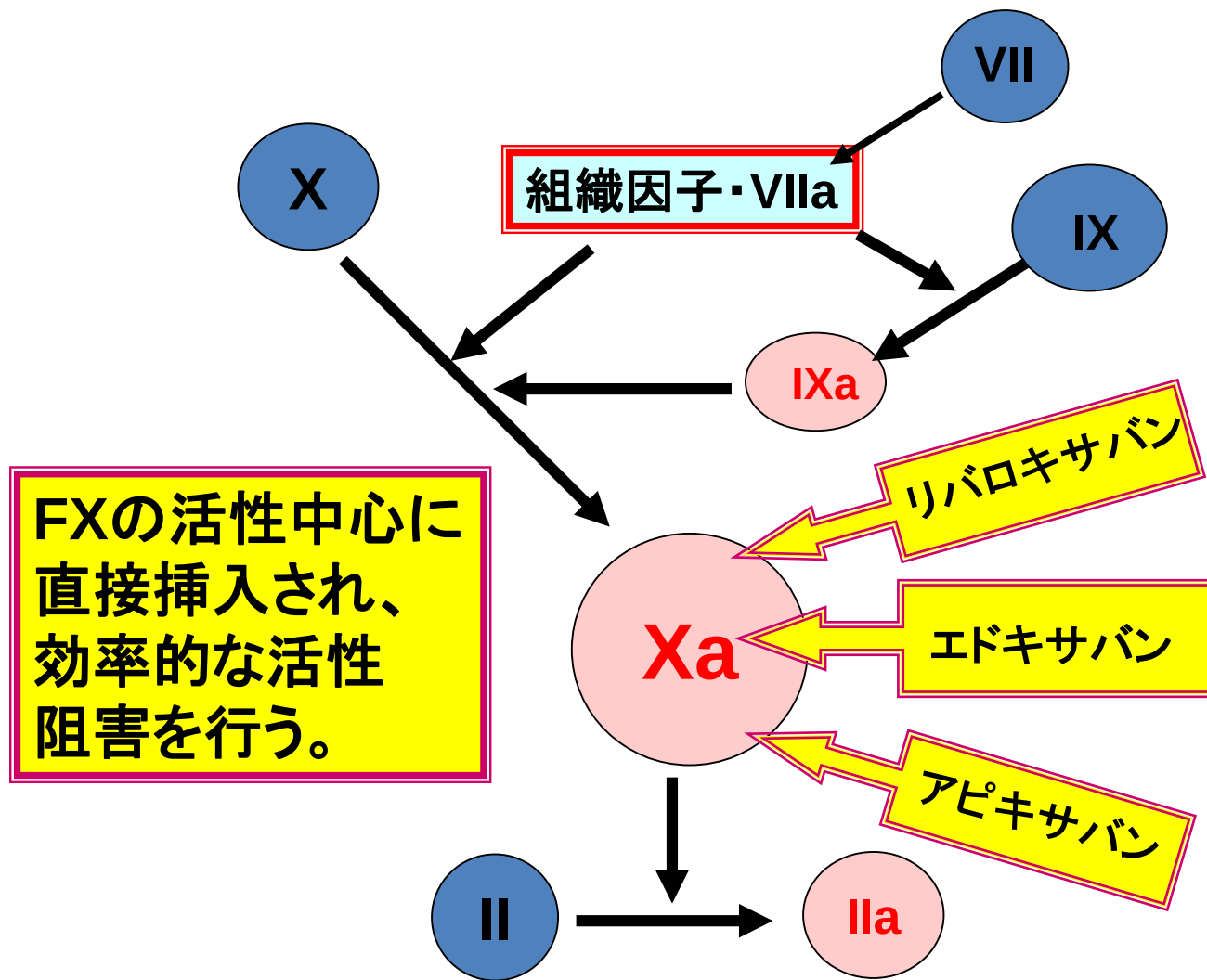
トロンビン産生と凝固・線溶制御機構

Di Nisio M, et al. N Engl J Med
2005; 353: 1028-1040.より改変



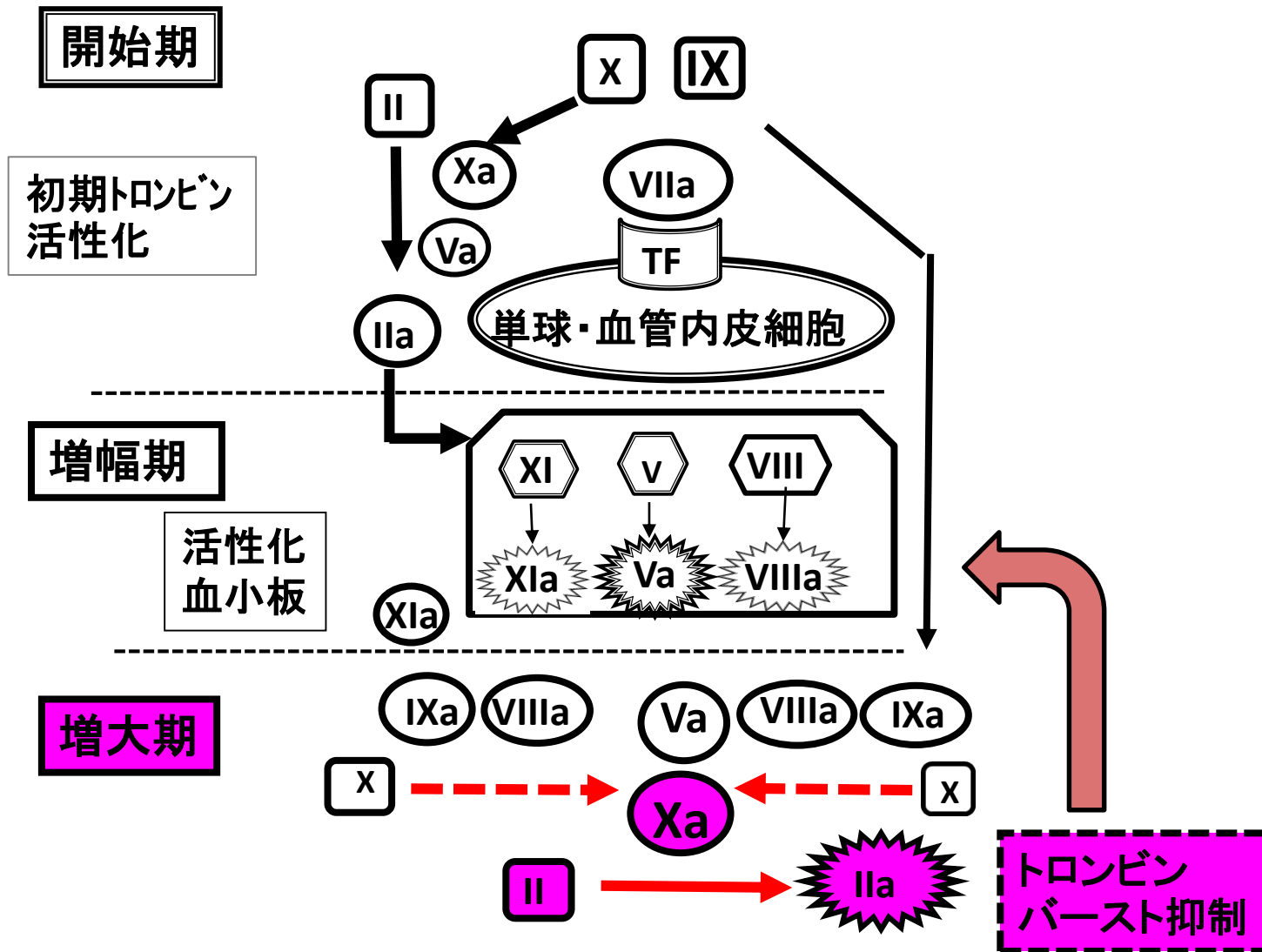


ピークとトラフにおけるダビガトランの薬理作用 (富山大 北島勲)



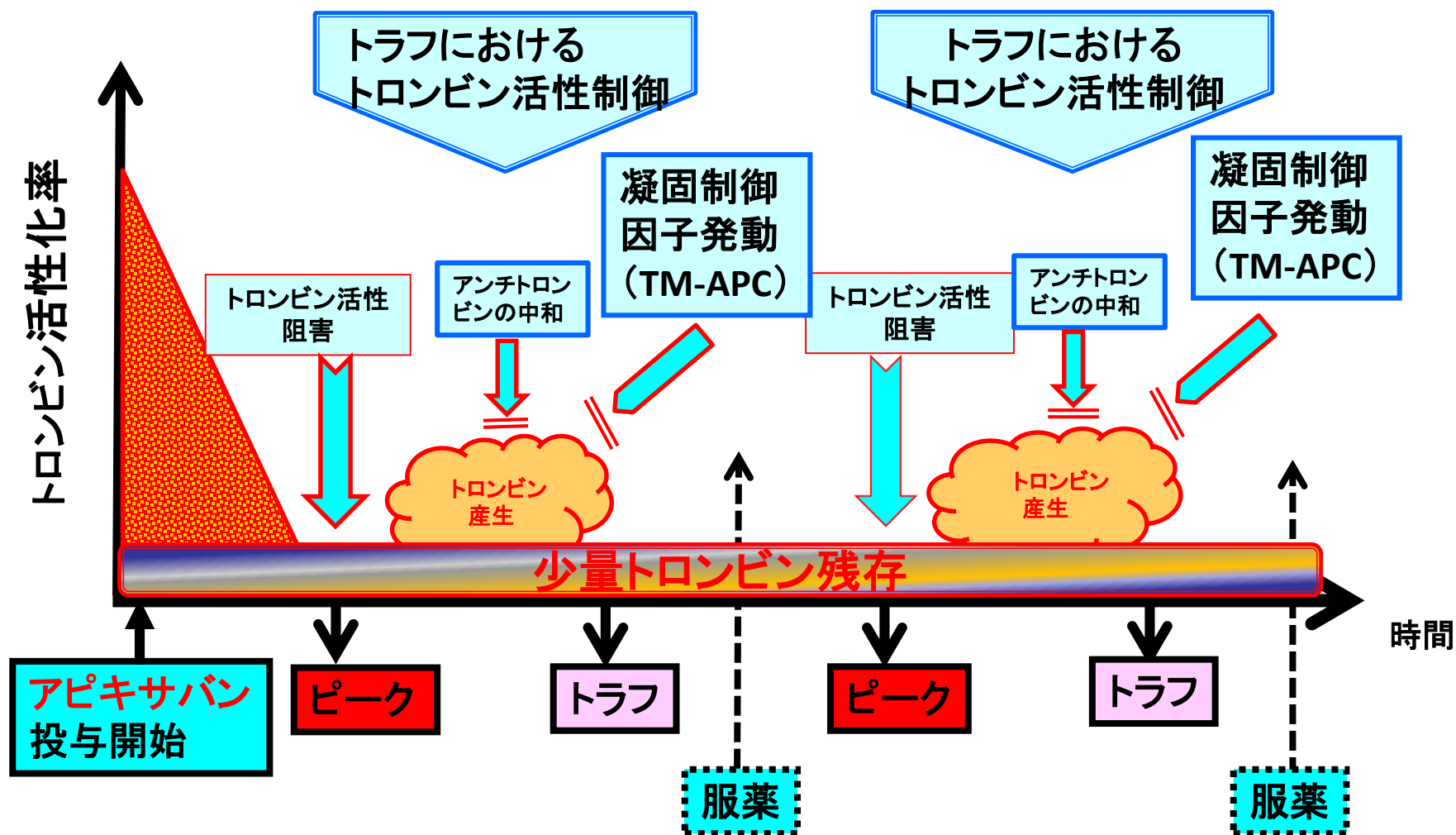
直接経口FXa阻害薬の作用点

(富山大 北島勲)



細胞性血液凝固反応におけるアピキサバンの作用点

(富山大 北島勲)



講演の論点

- 1) 血液凝固におけるトロンビンの作用点
⇒ 細胞性血液凝固反応における
トロンビンバーストと血栓症
- 2) 血液凝固分子マーカー(SF・FMC)測定の意義
⇒ SF・FMCの相違と臨床的有用性
- 3) DOACの薬理作用とモニタリング
 - ① DOACとワルファリン・ヘパリンとの相違
 - ② トロンビン阻害薬とFXa阻害薬の相違
 - ③ モニタリングの可能性

直接トロンビン阻害剤

処方せん医薬品^{注)}

プラザキサ[®]カプセル75mg
プラザキサ[®]カプセル110mg
Prazaxa[®]Capsules 75mg・110mg

(ダビガトランエテキシラートメタンスルホン酸塩製剤)
®=登録商標

	カプセル75mg	カプセル110mg
承認番号	22300AMX00433000	22300AMX00434000
薬価収載	2011年3月	2011年3月
販売開始	2011年3月	2011年3月
国際誕生	2008年3月	2008年3月



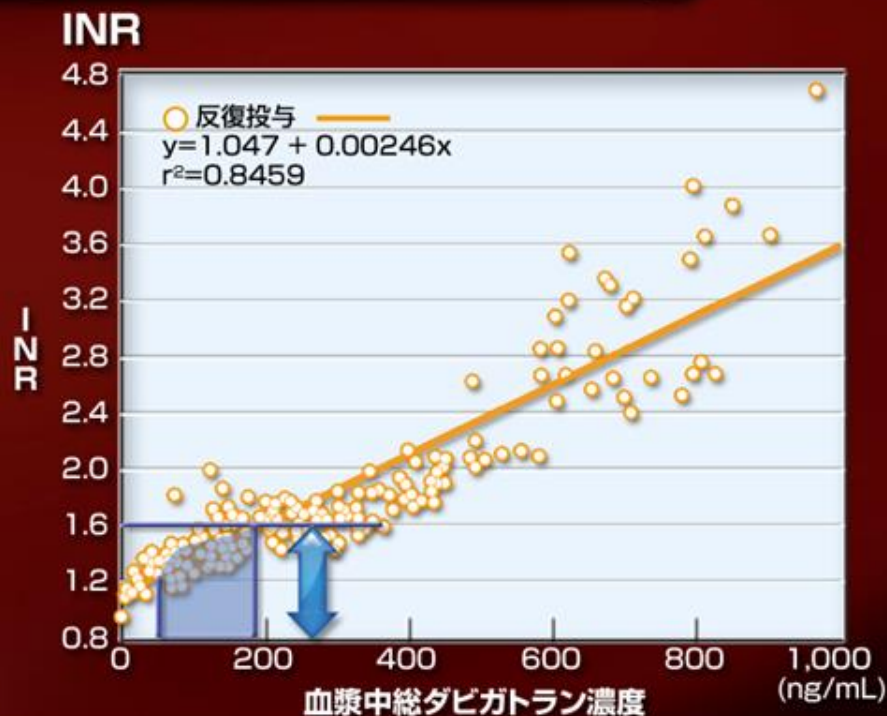
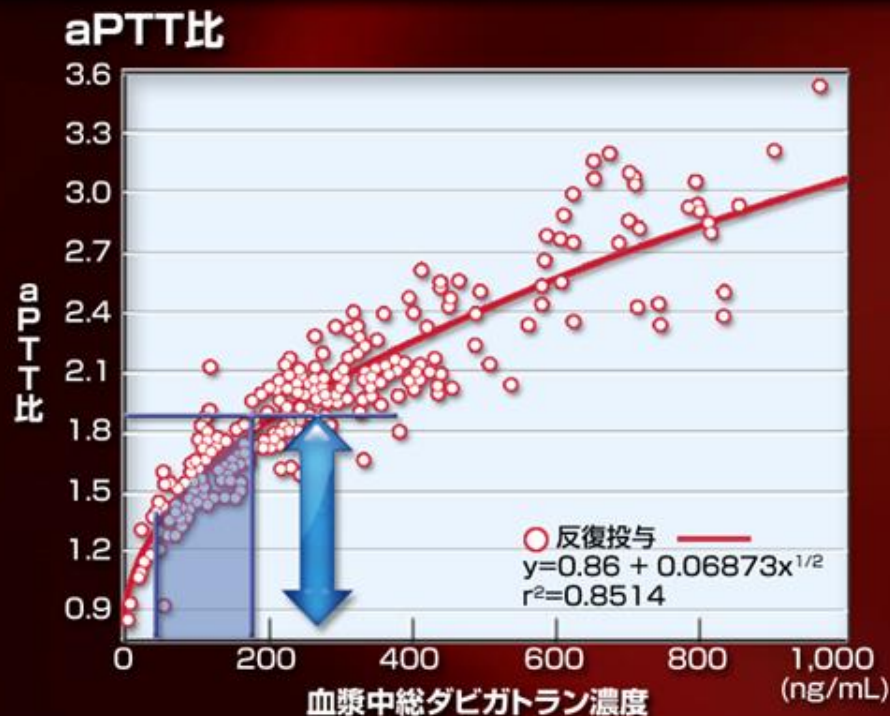
2. 重要な基本的注意

(3) **本剤による出血リスクを正確に評価できる指標は確立されていないため、本剤投与中は、血液凝固に関する検査値のみならず、出血や貧血等の徴候を十分に観察すること。これらの徴候が認められた場合には、直ちに投与の中止や止血など適切な処置を行うこと。特に「慎重投与」の項に掲げられた患者には注意すること。**

(12) **αPTT(活性化部分トロンボプラスチン時間)は、出血している患者では過度の抗凝固作用を判断する目安となる可能性がある。日本人を含む第Ⅲ相国際共同試験においては、トラフ時αPTTが80秒を超える場合は大出血が多かった。**

ダビガトランの血中濃度とaPTTとINRの相関

プラザキサの血中濃度はINRよりaPTTとの相関が高い

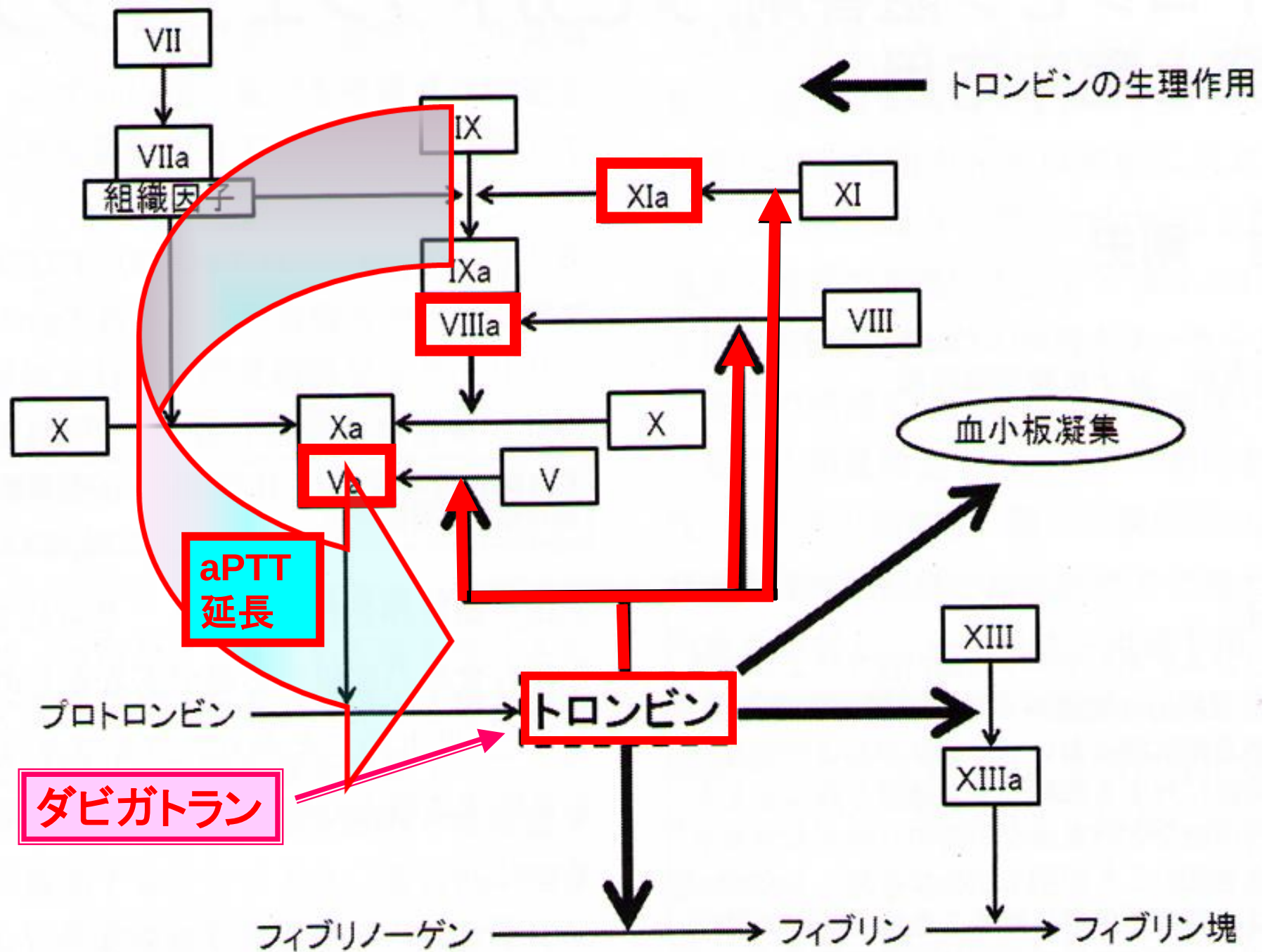


対象：健康成人男性40例
方法：プラザキサ(10、30、100、200、400mg)もしくはプラセボを単回経口投与、及びプラザキサ(50、100、200、400mg)もしくはプラセボを1日3回6日間反復経口投与後、7日目に1回経口投与した。各時点で採血し、血漿中ダビガトラン濃度と凝固パラメータ(aPTT、INR)を測定した。

van Ryn J et al: Thromb Haemost 103: 1116-1127, 2010
Stangier J et al: Br J Clin Pharmacol 64: 292-303, 2007
Hori M, et al: Circ J 75: 800-805, 2011 より作成

<参考> 青色部分はRE-LY試験で得られた血中濃度を示す

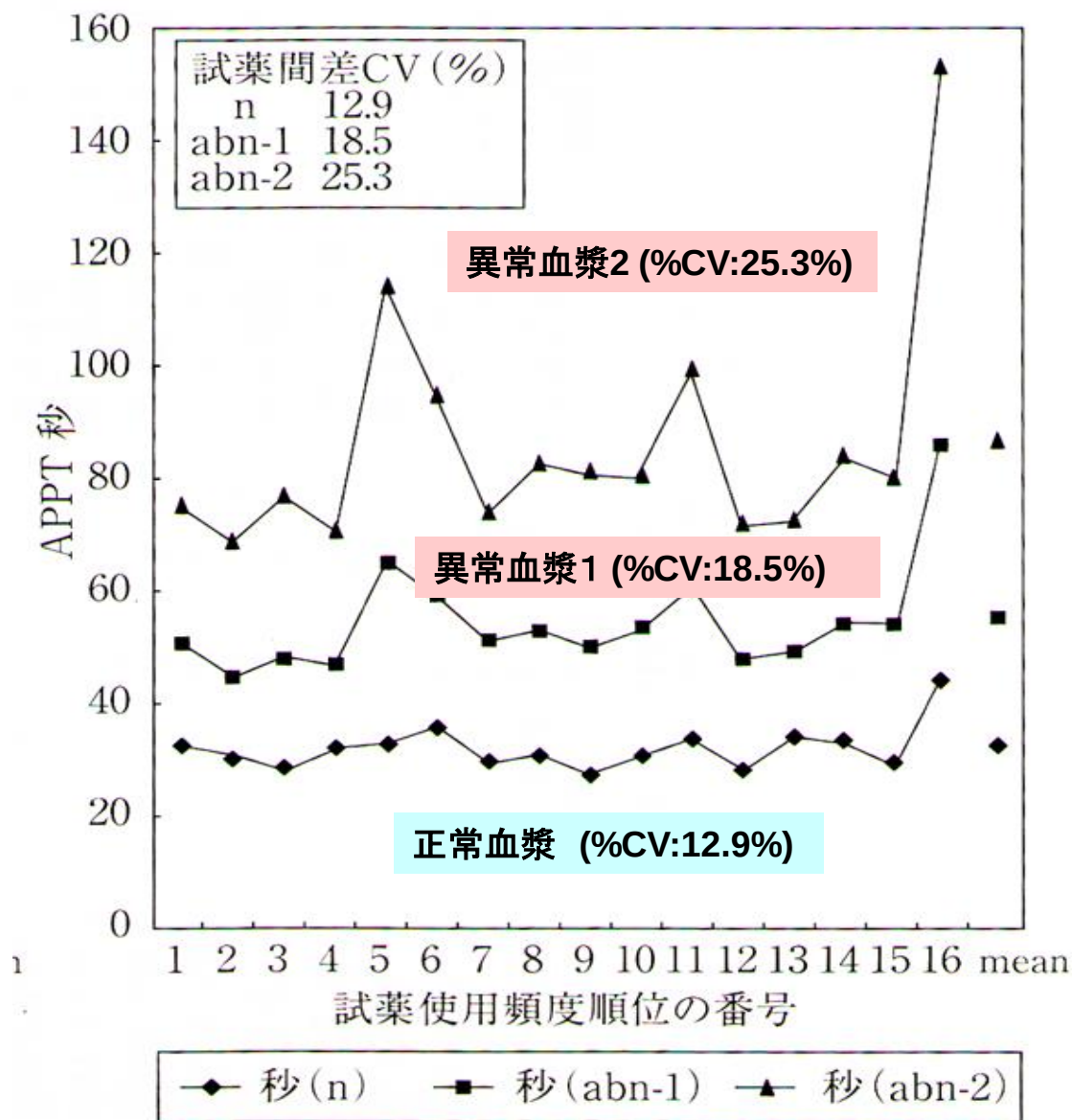
(富山大 北島勲)



ダビガトランによるAPTT延長機序

(富山大 北島勲)

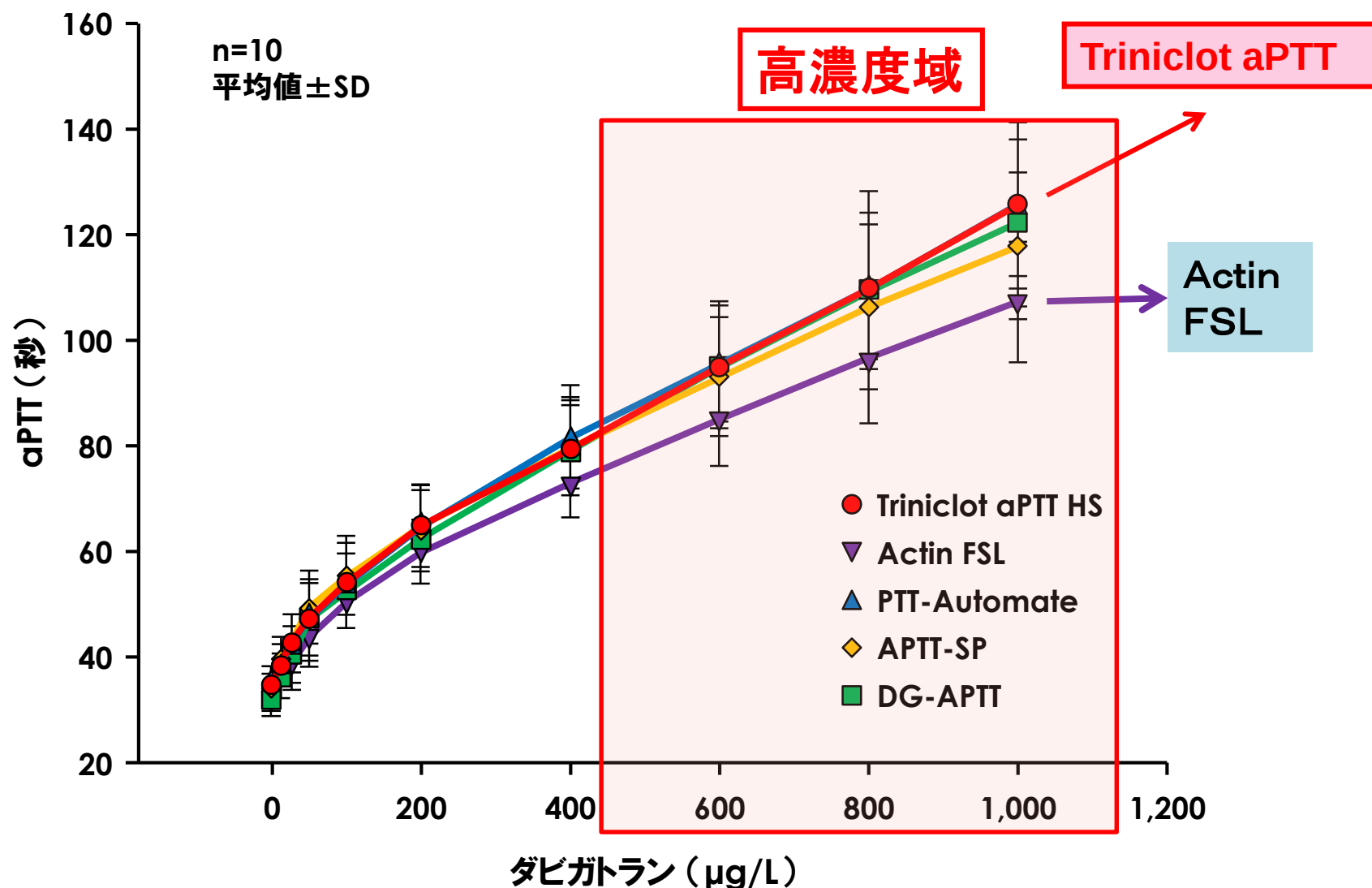
APTTの施設間差（2000年広域精度管理調査団体、CG1-C CAP調査）



試薬使用頻度順に1から16まで並べた。median値をプロット

APTTの延長した検体ほど%CVが大きくなる傾向

検査試薬別のaPTTとダビガトラン血漿中濃度の関係



方法: プール血漿に0~1,000 μg/L濃度のダビガトランを添加し計測した。

Lindahl TL, et al: Thromb Haemost 105: 371-378, 2011

(富山大 北島勲)

APTTの問題点に対する現状での対策

- 1) 施設間での正確な比較が困難である実情を理解する。
- 2) 異常血漿でAPTT値が小さい試薬群と大きい試薬群、グループ化し、それぞれの検量線を検討し、
検査目的別試薬の使い分けが必要になってくる。
- 3) 各施設で現在利用している試薬におけるAPTTの評価方法を決めておく。（例; APTTが正常血漿の2倍を超えれば、出血事象発現の危険性をアナウンスする）
- 4) 採血時間を考慮する。
 - 服薬後4週間以内では血中濃度ピーク時での評価
 - 長期服薬中は、トラフ時での評価（朝の服薬を中止し、午前に早い時間に採血）

* 2012年10月改訂(第2版)
2012年1月作成

貯 法：室温保存
使用期限：外箱に表示

処方せん医薬品^注

選択的直接作用型第Xa因子阻害剤

イクザレルト[®]錠 10mg

イクザレルト[®]錠 15mg

(リバーロキサバン錠)



Xarelto[®] Tablets 10mg / Xarelto[®] Tablets 15mg

日本標準商品分類番号 873339

承認番号	10mg	22400AMX00042
	15mg	22400AMX00041
薬価収載	10mg	2012年4月
	15mg	2012年4月
販売開始	10mg	2012年4月
	15mg	2012年4月
国際誕生	2008年9月	

D4

2. 重要な基本的注意

- (1) **プロトロンビン時間国際標準比(PT-INR)は本剤の抗凝固作用について標準化された指標でなく、活性化部分トロンボプラスチン時間(αPTT)等の凝固能検査は、本剤の抗凝固作用をモニタリングする指標として推奨されない。投与にあたっては、臨床症状を注意深く観察し、出血等が認められた場合には投与を中止するなど適切な処置を行うこと。**

貯 法：室温保存
使用期限：3年(使用期限の年月は外箱に記載されています。)

処方せん医薬品
注意－医師等の処方せんにより
使用すること

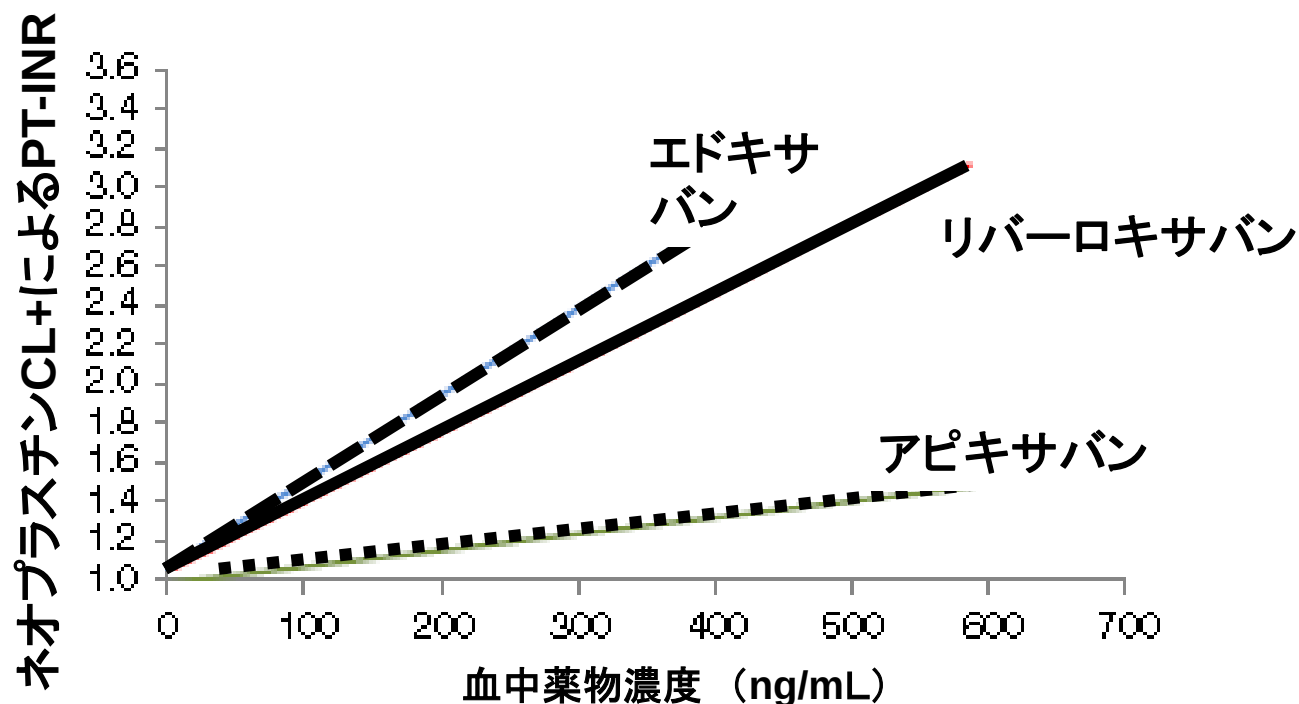
経口FXa阻害剤
エリキュース[®]錠 2.5mg
エリキュース[®]錠 5mg
Eliquis[®] tablets
アピキサバン錠

	2.5mg	5 mg
承認番号	22400AMX01496000	22400AMX01497000
薬価収載	薬価基準未収載	
販売開始		
国際誕生	2011年 5 月	

2. 重要な基本的注意

- (1) **凝固能検査(プロトロンビン時間(PT)、国際標準比(INR)、活性化部分トロンボプラスチン時間(aPTT)等)は、本剤の抗凝固能をモニタリングする指標とはならないため、本剤投与中は出血や貧血等の徴候を十分に観察すること。また、必要に応じて、血算値(ヘモグロビン値)、便潜血等の検査を実施し、急激なヘモグロビン値や血圧の低下等の出血徴候を確認すること。臨床的に問題となる出血や貧血の徴候が認められた場合には、本剤の投与を中止し、出血の原因を確認すること。また、症状に応じて、適切な処置を行うこと。**

直接Xa阻害薬間におけるPTの相違



Difference sensitivity of a single PT reagent (Neoplastin CL+, Diagnostisca Stago, Parisppany, NJ) to anti-Xa DOAC enriched pooled normal plasma.

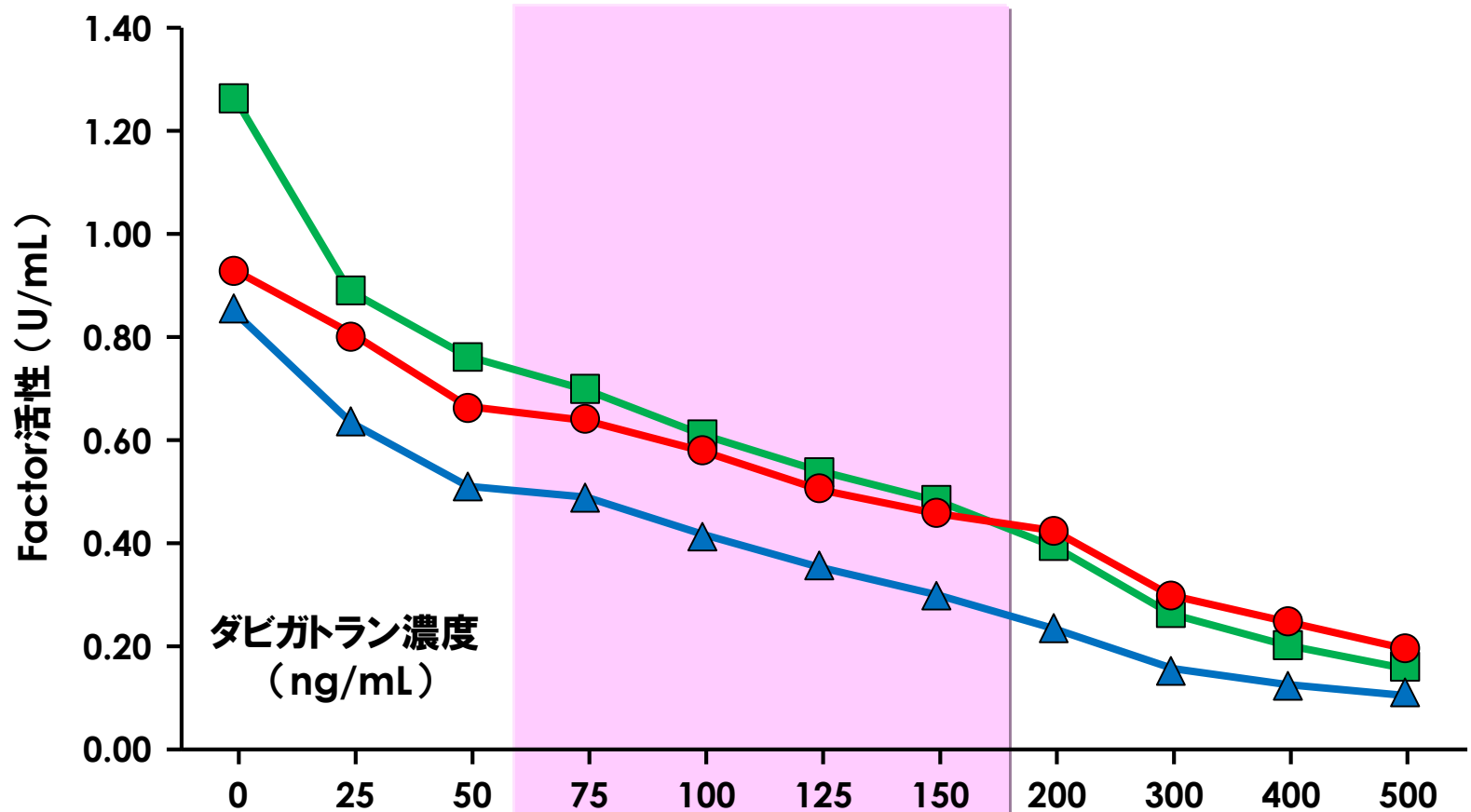
(富山大 北島 勲)

注意点

DOACs登場による血液凝固ルーチン検査 に与える影響

(富山大 北島 勲)

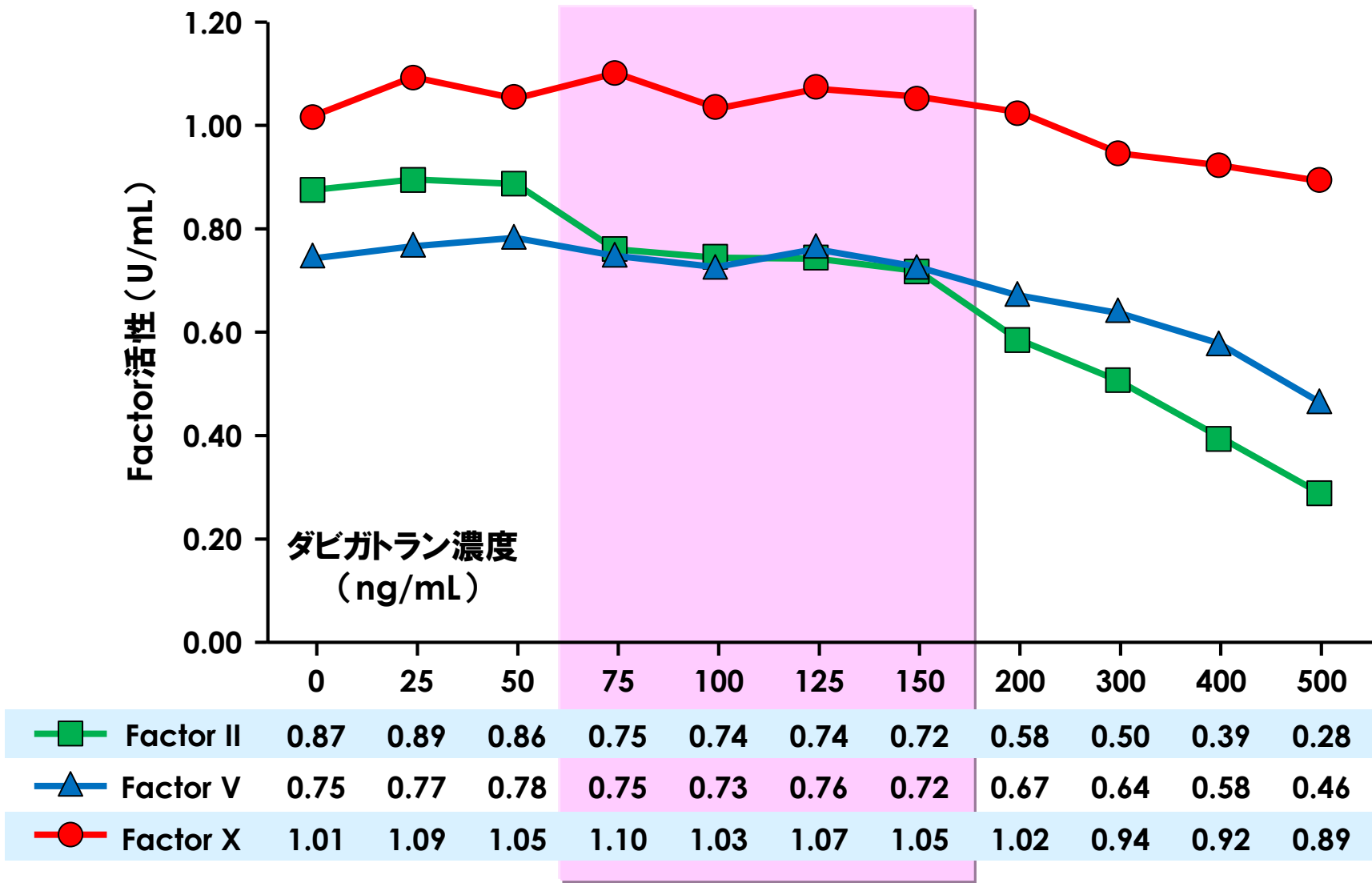
aPTT-based factor 活性測定法に及ぼす ダビガトランの影響



■	Factor VIII	0.87	0.65	0.52	0.50	0.42	0.36	0.31	0.24	0.16	0.13	0.11
▲	Factor IX	1.27	0.89	0.77	0.70	0.61	0.54	0.49	0.40	0.27	0.20	0.16
●	Factor XI	0.93	0.80	0.66	0.64	0.58	0.51	0.46	0.41	0.30	0.24	0.20

(富山大 北島勲)

PT-based factor活性測定法に及ぼすダビガトランの影響



(富山大 北島勲)

通常の特異凝固測定法に及ぼすダビガトランの影響

測定法	ダビガトランの影響
APC resistance with factor V-deficient plasma	比の偽性的な上昇
Antithrombin activity Factor Xa based Factor IIa based	影響なし 偽性的な過大評価
D-dimer	効果なし
Factor assays aPTT based, 1 stage PT based, 1 stage Chromogenic factor VIII activity	偽性的な低下: factors VIII, IX, XI 偽性的な低下: factors II, V, VII, X※ 影響なし
Heparin (anti-Xa) assay (chromogenic method)	影響なし
Inhibitor assay – aPTT-based Bethesda titer	薬剤高濃度で偽性的な上昇
Inhibition screen (mixing studies) aPTT mixing study PT mixing study	不完全な補正 不完全な補正
Plasminogen activity (chromogenic method)	効果なし
Protein C activity aPTT clot based Chromogenic	偽性的な上昇 影響なし
Protein S activity aPTT clot based Free protein S antigen – LIA method	偽性的な上昇 影響なし
Reptilase time	影響なし
von Willebrand factor Ristocetin cofactor (activity) Antigen – LIA method	影響なし 影響なし

※: 薬剤高濃度でのみ影響あり

(富山大 北島勲)

Hemoclot[®] Thrombin Inhibitor assayとは？

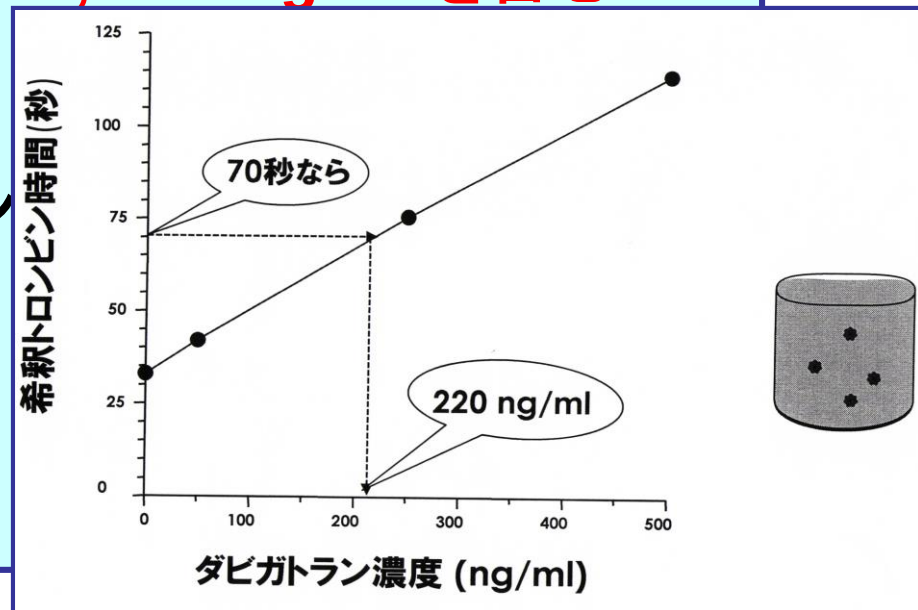


- HYPHEN BioMed社から発売されている血漿中の直接トロンビン阻害剤(DTI)濃度を測定する試薬である
- 希釈トロンビン時間を測定することで、血漿中DTI濃度を推定できる
- DABIGATRAN PLASMA CALIBRATORを用いて、ダビガトラン血漿中濃度を推定することが可能である

Hemoclot Thrombin Inhibitor assay とは

測定原理と手順

- * プール血漿に希釈した血漿を添加後、トロンビンを加え、血漿が凝固するまでの時間を測定 (**希釈トロンビン時間法**)
- * 検体血漿中にトロンビン阻害薬が存在するとトロンビン活性が阻害され、凝固時間が延長する。
- * **ダビガトラン50ng/mL, 250ng/mL, 500ng/mLを含む血漿をキャリブレーター**に使用
- * 希釈トロンビン時間とダビガトラン血漿中濃度の検量線を作成
- * 検体中ダビガトラン血漿濃度を算出

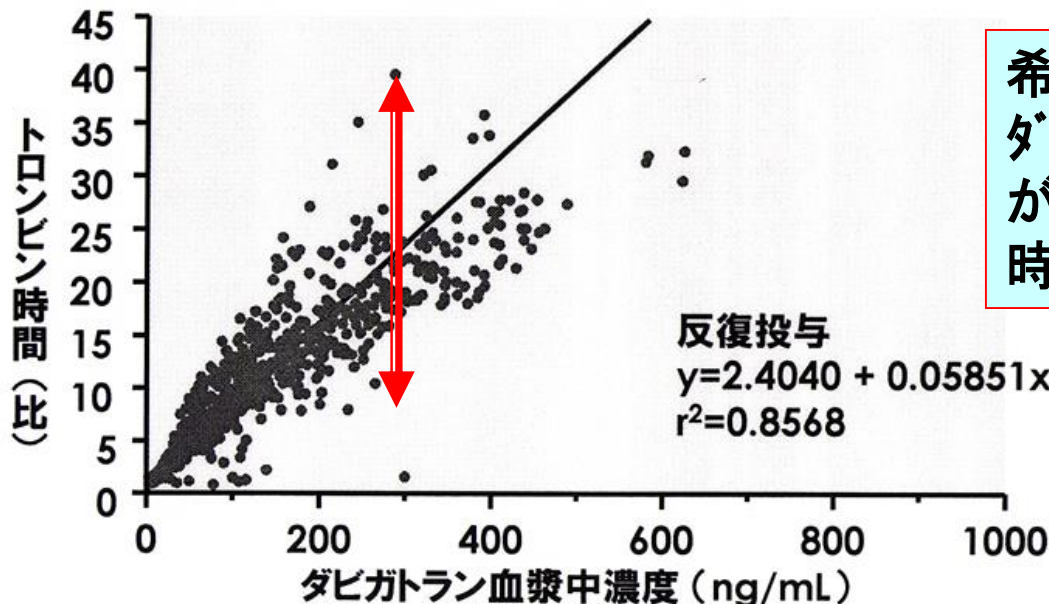


ヘモクロット法の原理 ⇒ 血漿を希釈する理由

- * 血漿中のトロンビン阻害薬濃度が高くなると、測定間のばらつきが大きくなる。
- * 血漿を希釈していないトロンビン時間と比較して希釈トロンビン時間のほうがばらつきが少ない。



患者血漿とダビガトランを含むキャリブレーターを希釈する。

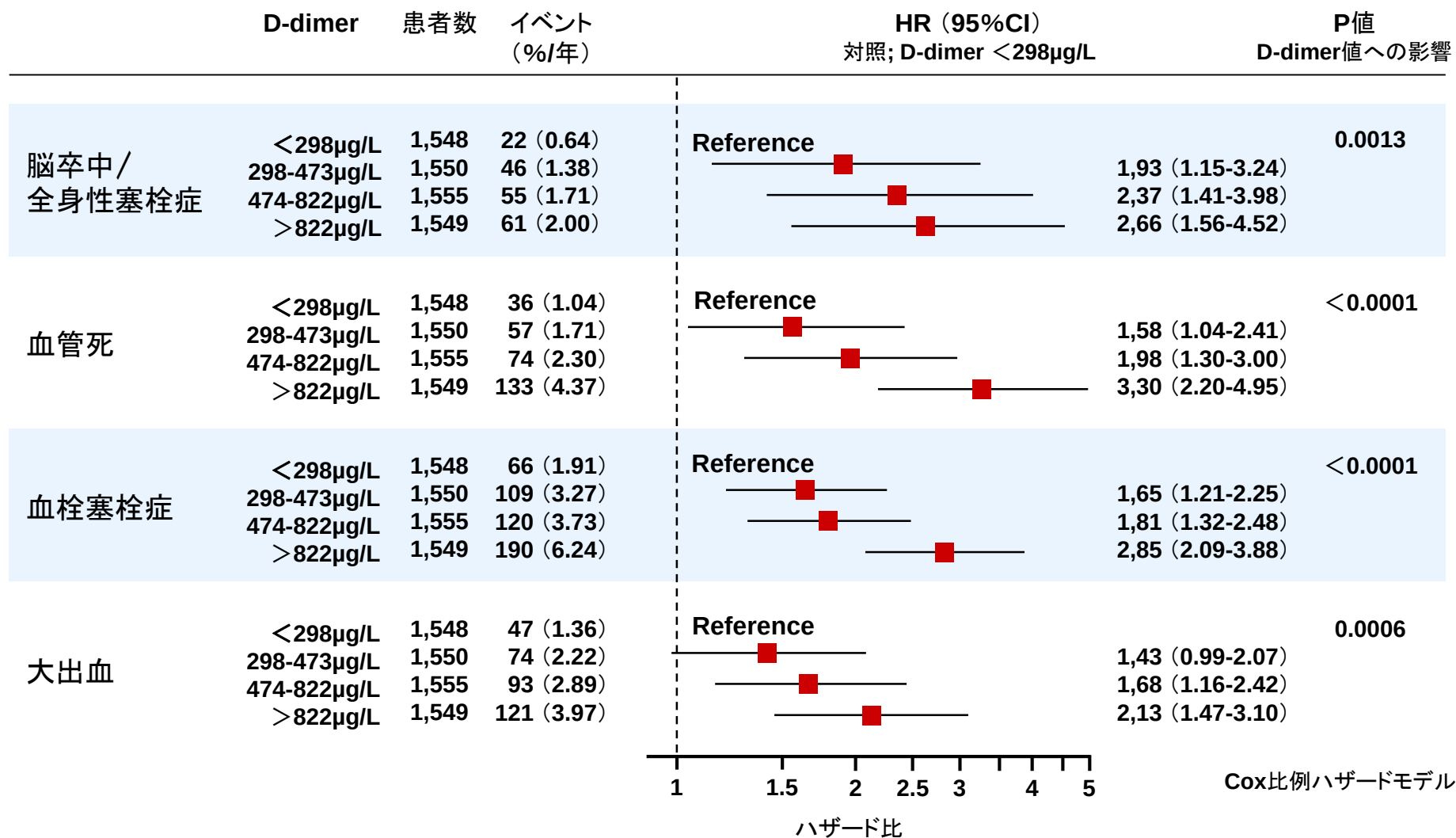


希釈しない血漿では
ダビガトラン血漿濃度
が高くなるとトロンビン
時間がばらつく。

van Ryn J et al:
Thromb Haemost 103:1116, 2010

(富山大 北島勲)

イベント発生率（D-dimer別）



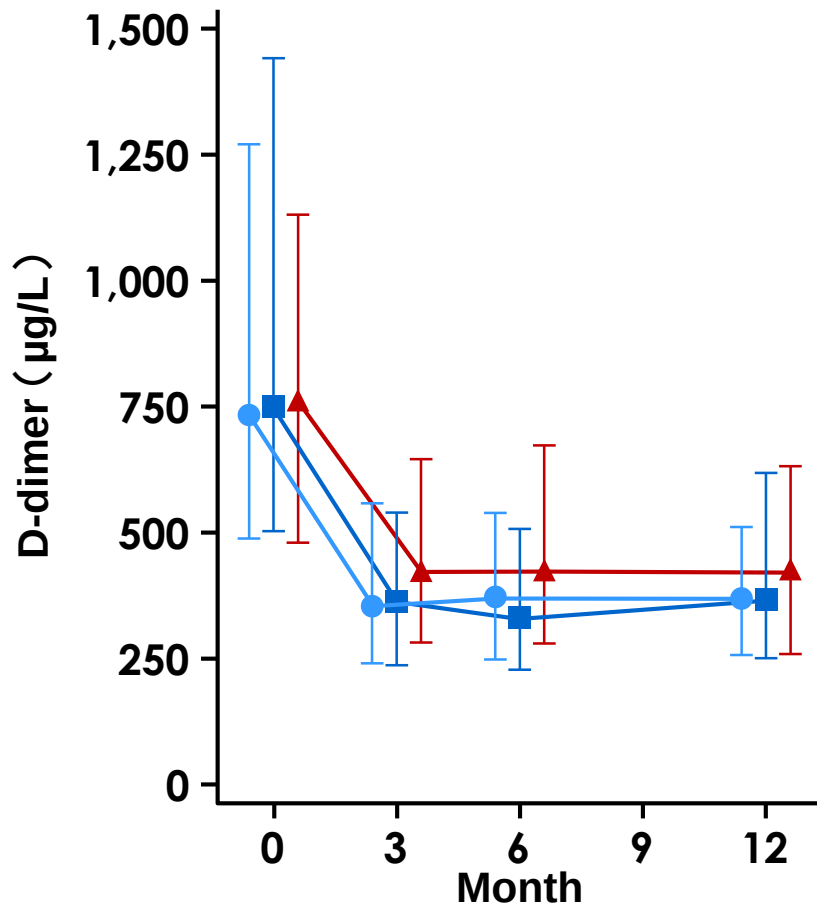
対象: RE-LY試験に参加した患者(18,113例)のうち、ベースライン時にD-dimerが測定された6,202例ならびに、D-dimer、活性化第VII因子を登録12か月後まで随時測定された2,567例

方法: 1. ベースライン時のD-dimerレベルとイベント発生率*の関連(6,202例) 2. 治療薬別にみたD-dimerレベル、活性化第VII因子の推移(2,567例) 血液サンプルの採取は試験割付前、登録3、6、12か月後にそれぞれ実施した

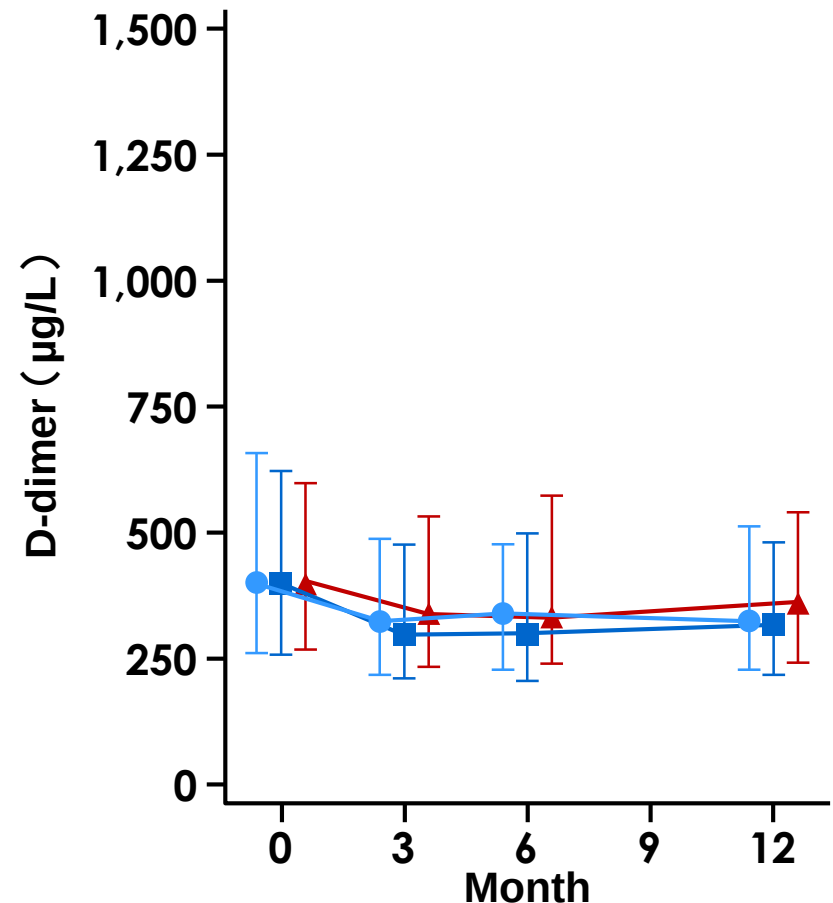
ベースライン時抗凝固薬の服用有無別に見た D-dimerの経時的推移

● ダビガトラン110mg ■ ダビガトラン150mg ▲ ワルファリン

ベースライン時の抗凝固薬服用なし



ベースライン時の抗凝固薬服用あり



対象: RE-LY試験に参加した患者(18,113例)のうち、ベースライン時にD-dimerが測定された6,202例ならびに、D-dimer、活性化第VII因子を登録12か月後まで随時測定された2,567例

方法: 1. ベースライン時のD-dimerレベルとイベント発症率*の関連(6,202例) 2. 治療薬別にみたD-dimerレベル、活性化第VII因子の推移(2,567例) 血液サンプルの採取は試験割付前、登録3、6、12か月後にそれぞれ実施した

All data are presented as median levels (Q1,Q3)

Q1: D-dimer <298μg/L, Q3: D-dimer 474-822μg/L

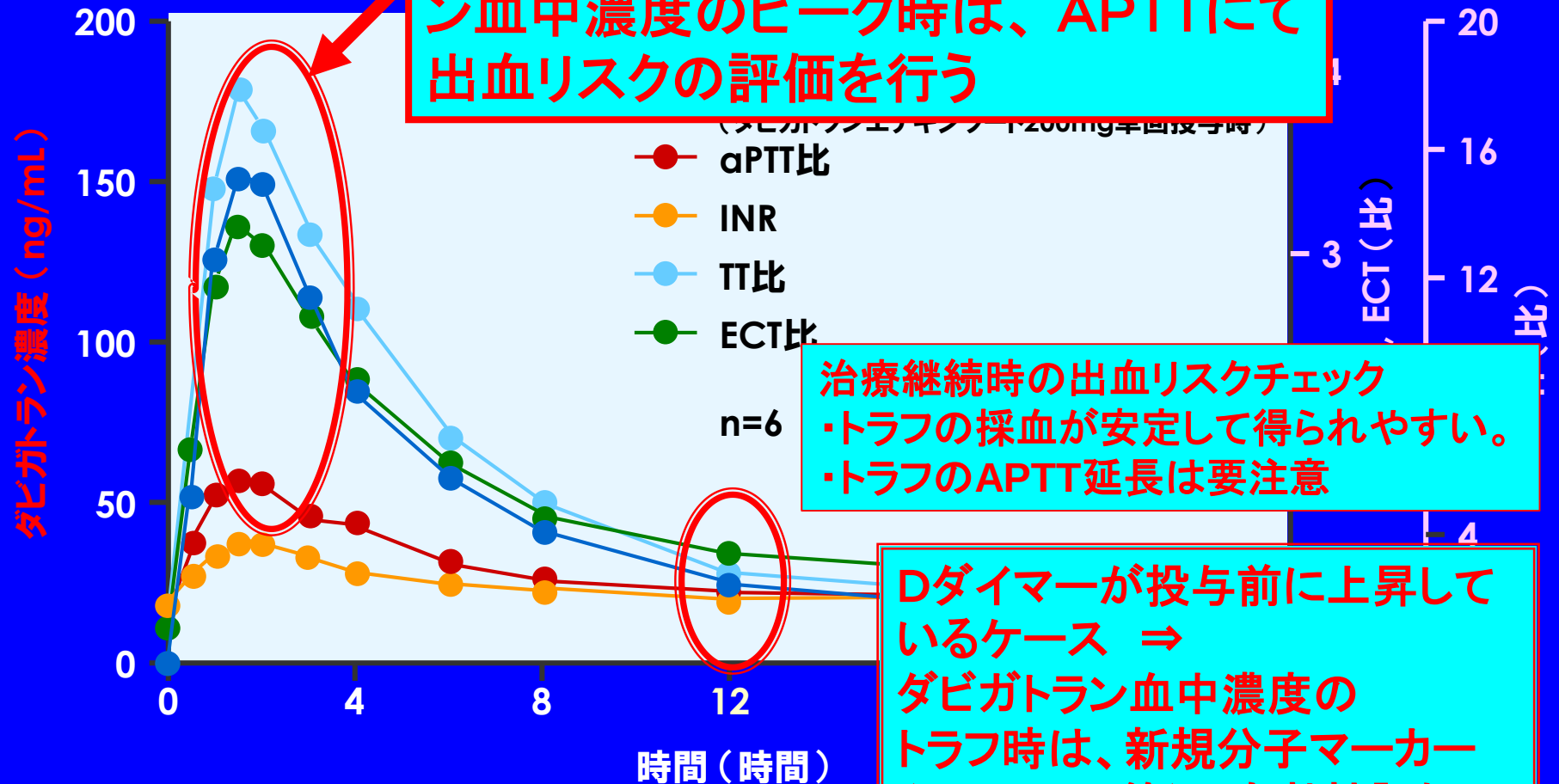
Siegbahn A, et al: Thromb Haemost 2016; Epub.

(富山大 北島勲)

ダビガトランの血中濃度と凝固パラメータ推移

Van Ryn J, et al: Thromb Haemost 103: 1116-1127, 2010

治療開始早期(1か月以内)ダビガトラン血中濃度のピーク時は、APTTにて出血リスクの評価を行う



対象: 健康成人男性6例
方法: ダビガトランエテキシラート200mgを単回経口投与した時のダビガトラン血漿中濃度と凝固パラメータ(aPPT, INR, TT比, ECT比)の経時的推移を測定

(富山大 北島勲)

新規経口抗凝固薬(ダビガトラン、リバーロキサバン、アピキサバン)モニタリング検査
(J. Thromb. Haemost 2013;11)

	ダビガトラン	リバーロキサバン	アピキサバン
凝固法			
プロトロンビン時間(PT) 希釈PT法 変更 PT 法	有用性なし データ不十分 データ不十分	有用(定性評価) データ不十分 データ不十分	有用性なし データ不十分 有用(定性評価)
トロンビン時間(TT) 希釈TT(ヘモクロット法)	有用(定性評価) 有用(定量評価)	有用性なし 有用性なし	有用性なし 有用性なし
APTT	有用(定量評価)	有用性なし	有用性なし
クロモジェニック法			
抗第Ⅱ因子活性アッセイ エカリン抗第Ⅱ因子活性アッセイ	有用(定性評価) 有用(定性評価)	有用性なし 有効性なし	有用性なし 有効性なし
抗第X因子活性アッセイ	有効性なし	有用(定性評価)	有用(定性評価)

《総括》 経口直接FXa阻害薬の安全性チェック検査

- 1) 現時点では、明確な凝固検査マーカーが決まっていない。
- 2) リバーロキサバンでは、ピーク値におけるPTの延長率がaPTTに比して高かったが、アピキサバンは、PT, aPTTともに低反応を示した。
- 3) 血中濃度増加に伴うPT反応性に試薬間差が大きく、ISIとは無関係であった。試薬感度は、リバーロキサバンとアピキサバン間に相違がある。
- 4) 抗Xa活性検査による新規経口FXa薬血中濃度測定法が開発されている。
⇒ 服薬コンプライアンスチェックが可能
- 5) 有効性モニタリング検査の可能性
プロロンビンフラグメントF1+2 (Dダイマーとの併用)