

クロスミキシングテストの結果解釈で 押さえておくべきポイント

社会医療法人川島会 川島病院 検査室
徳永尚樹



Kawashima Hospital Group

一般社団法人日本医療検査科学会

COI (利益相反)開示

筆頭発表者名： 徳永 尚樹

発表責任者名： 徳永 尚樹

演題発表に関連し、開示すべきCOI関係
にある企業等はありません。

ミキシングテストしてみたけど・・・

典型的でないパターンやパターンが不明瞭な場合の判定に苦慮する

LAと凝固因子インヒビターの判断が難しい

下に凸だけど本当に因子欠乏？

波形パターン法の判定と数値判定法の判定が乖離したら？

数値判定法の使い方がわからない



クロスミキシングテストの結果判定法

● 波形パターン法

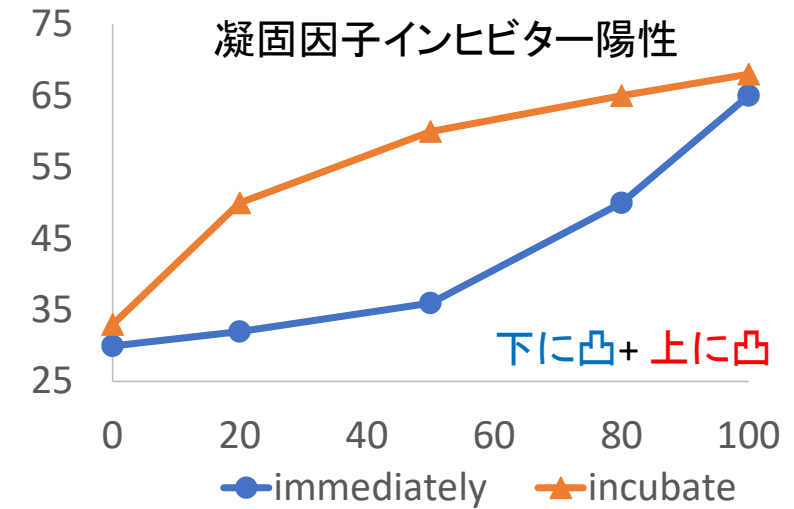
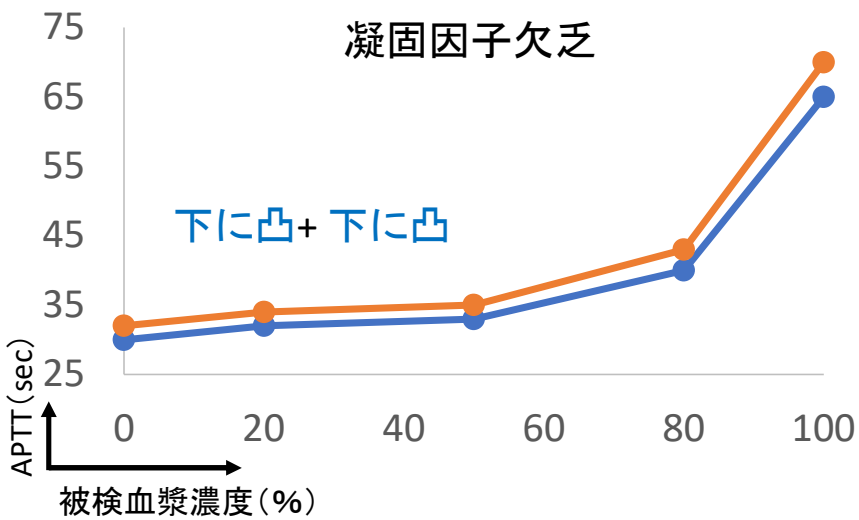
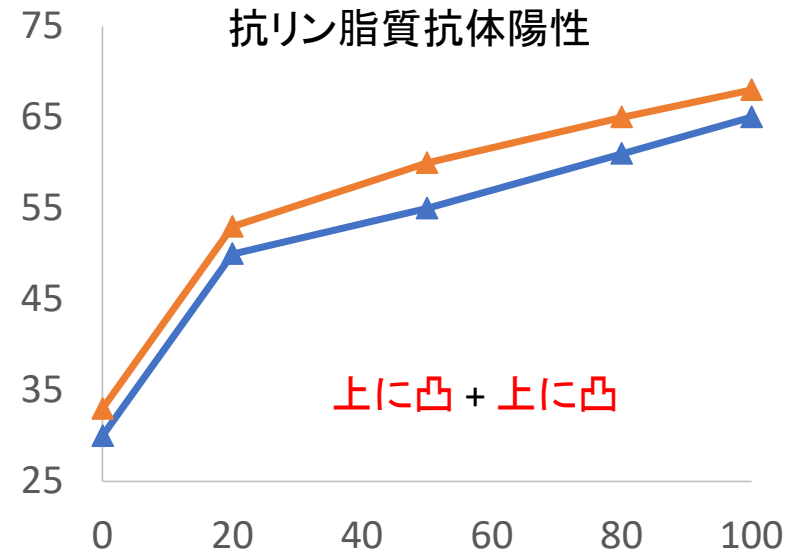
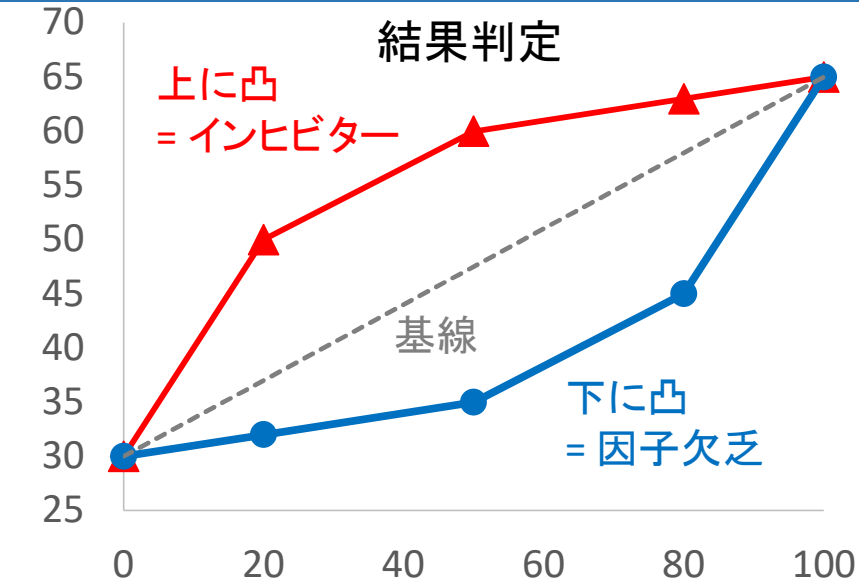
- 複数の混合ポイントのAPTT値をグラフ化し、被検血漿濃度0%と100%のAPTT値を結ぶ直線を基線（カットオフ）として、グラフが視覚的に上に凸か下に凸かで因子欠乏パターンかインヒビターパターンかを判定する
- 混和直後の測定と37°C/2時間加温後の測定の両方を実施し、結果を総合的に判定する

● 数値判定法

- Index of circulation anticoagulant: ICA(Rosner index)が国際血栓止血学会で推奨
- ICAの他にもICAの改良法、Percent collection、RC-S、CMT index、Was-ALD法などさまざまな数値判定法の報告がある
- 基本的に混和直後の測定結果から判定できるものが多い

波形パターン法

波形パターン法 (典型例)



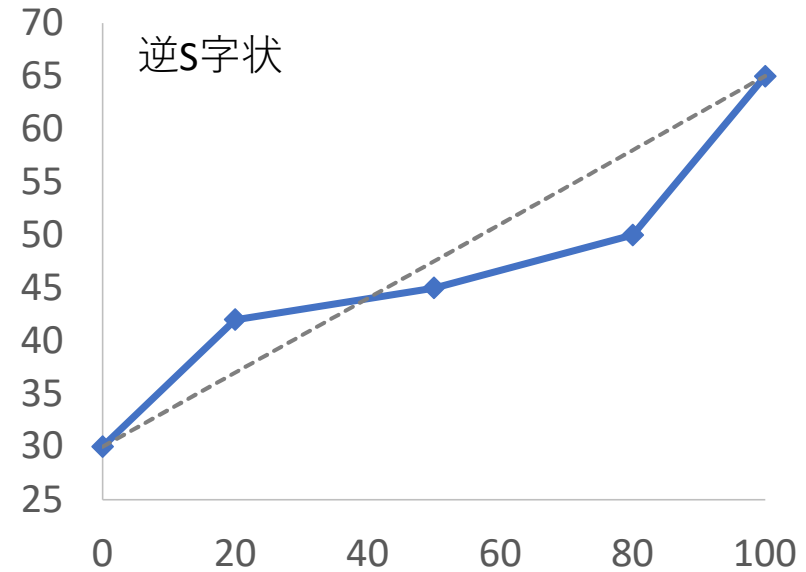
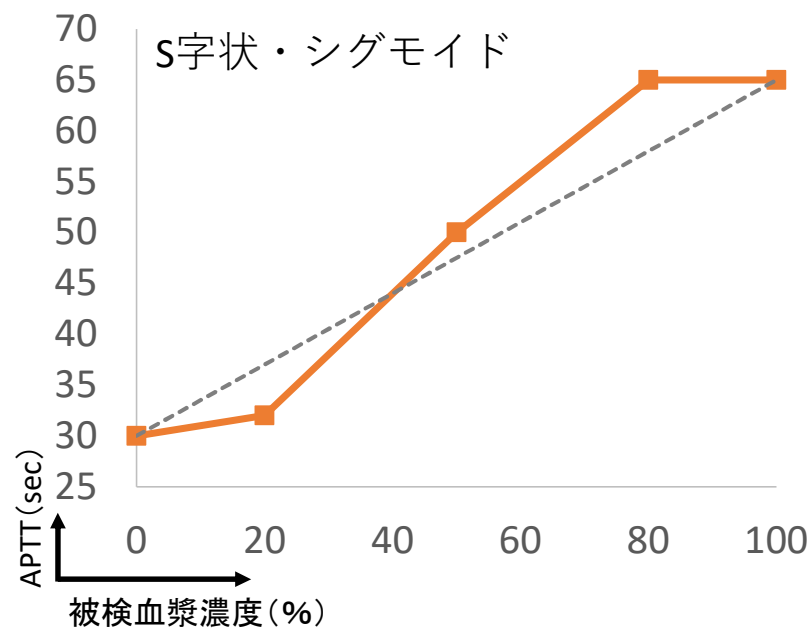
APTT (sec)

被検血漿濃度 (%)

● immediately ▲ incubate

実際にはほとんどが非典型例

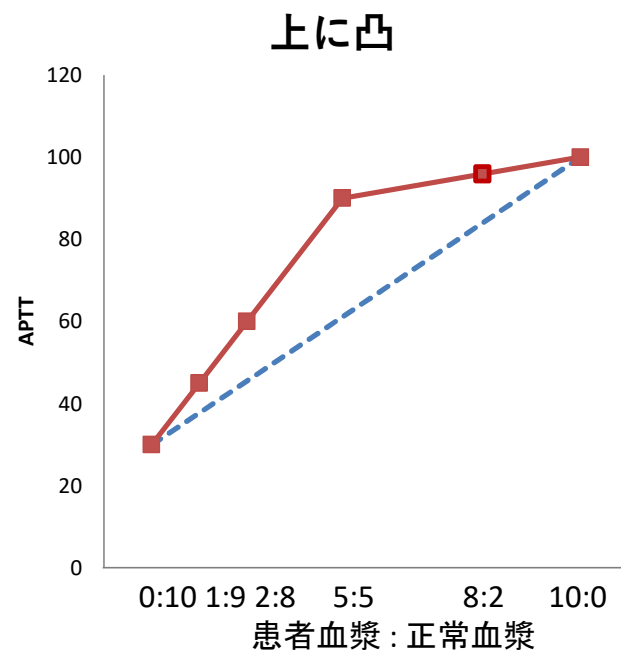
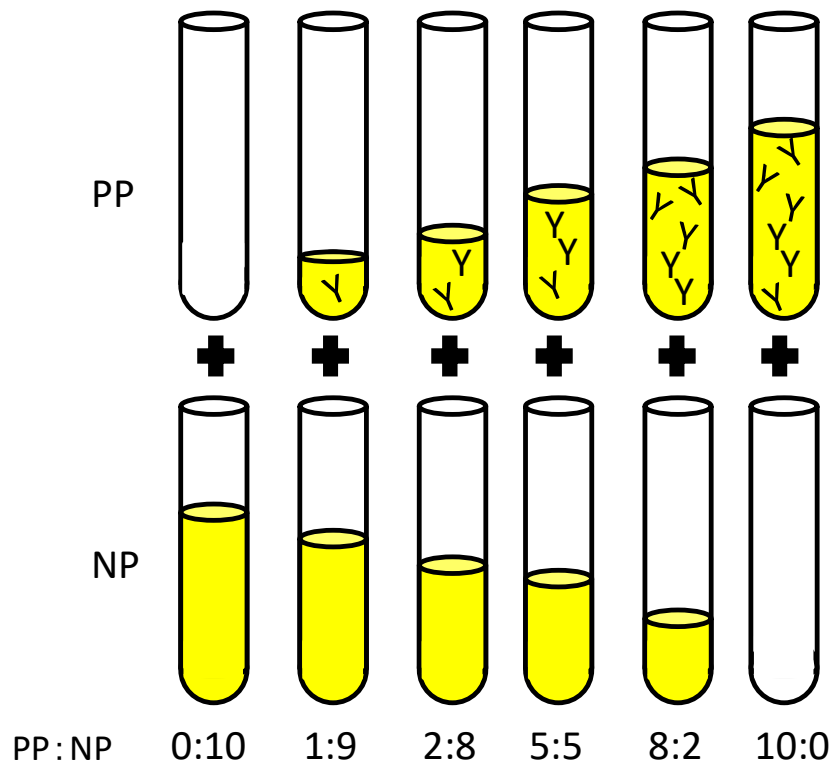
こんな時、判定はどうすれば・・・？



インヒビターパターン

波形パターンのイメージ①

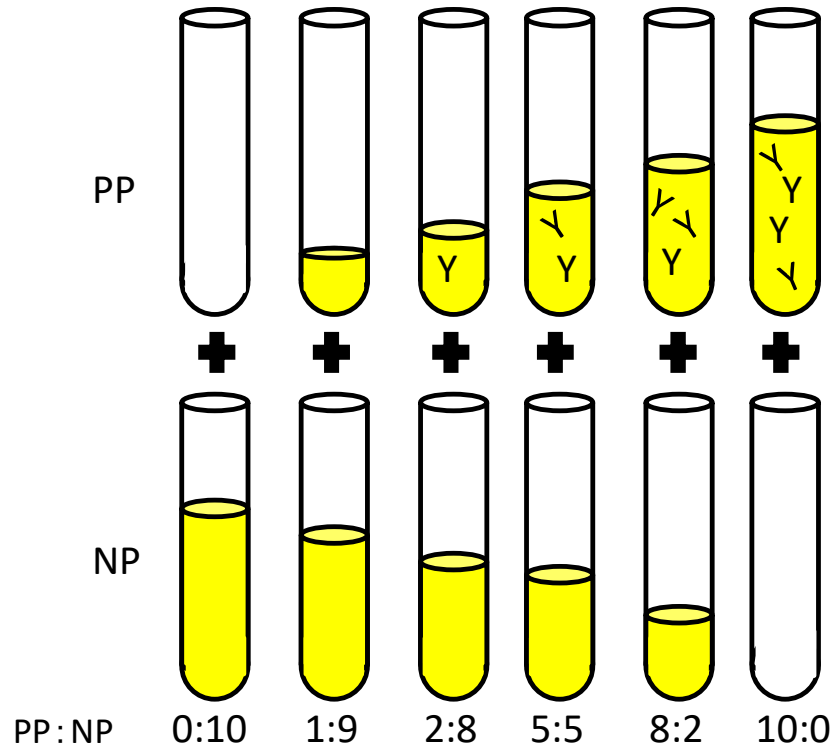
・抗リン脂質抗体が高力価の場合



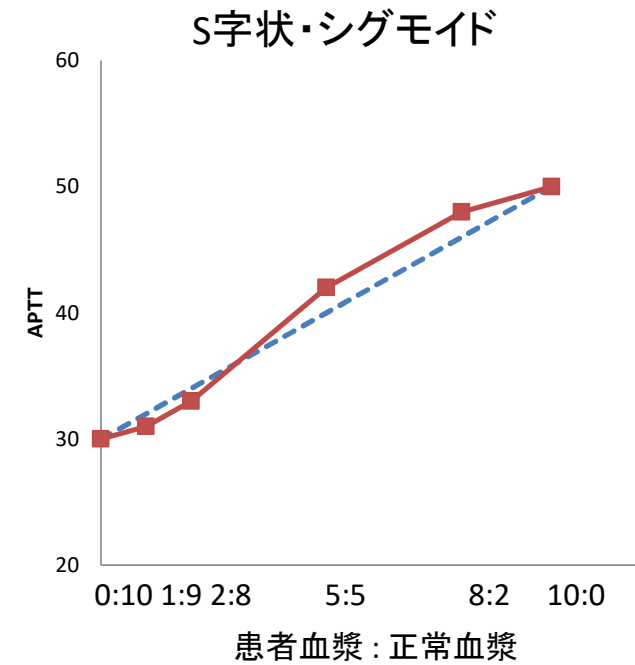
Y :抗リン脂質抗体
PP:患者血漿
NP:正常血漿

波形パターンのイメージ②

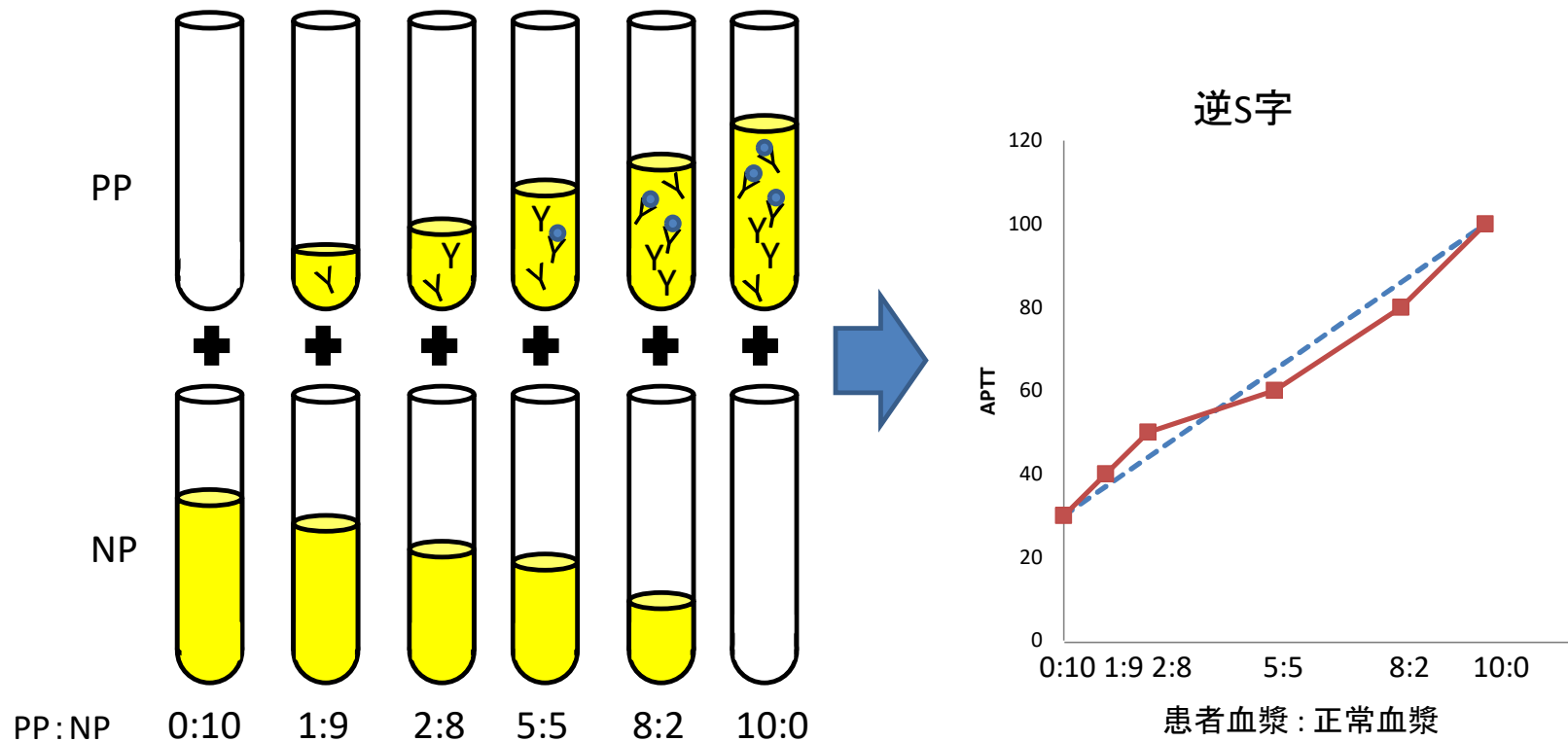
・抗リン脂質抗体が低力価の場合



Y :抗リン脂質抗体
PP:患者血漿
NP:正常血漿



LA陽性検体に血小板が残存していた場合

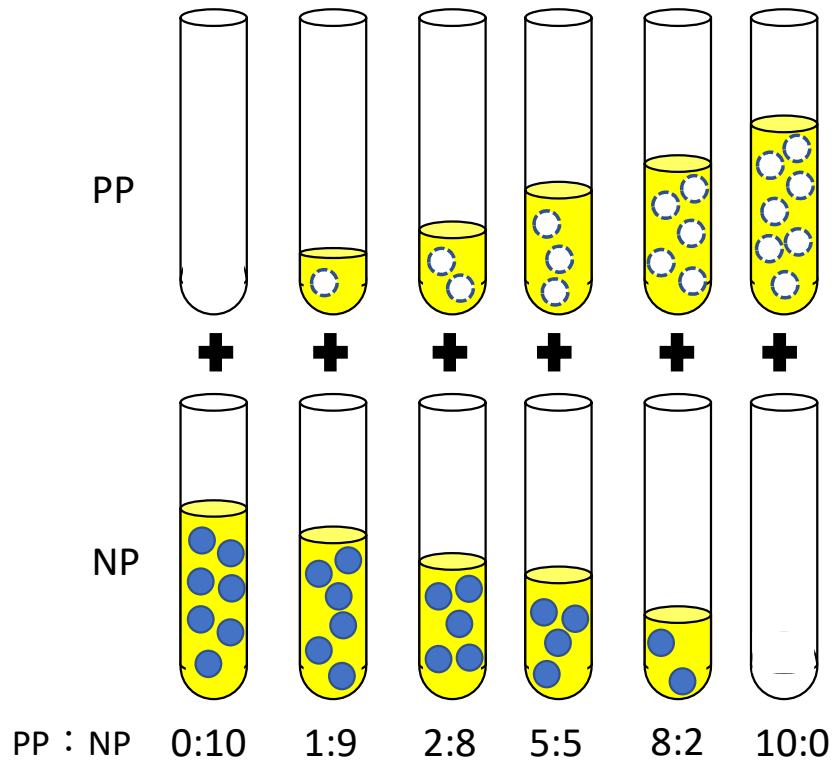


- :残存血小板
- Y :抗リン脂質抗体
- PP:患者血漿
- NP:正常血漿

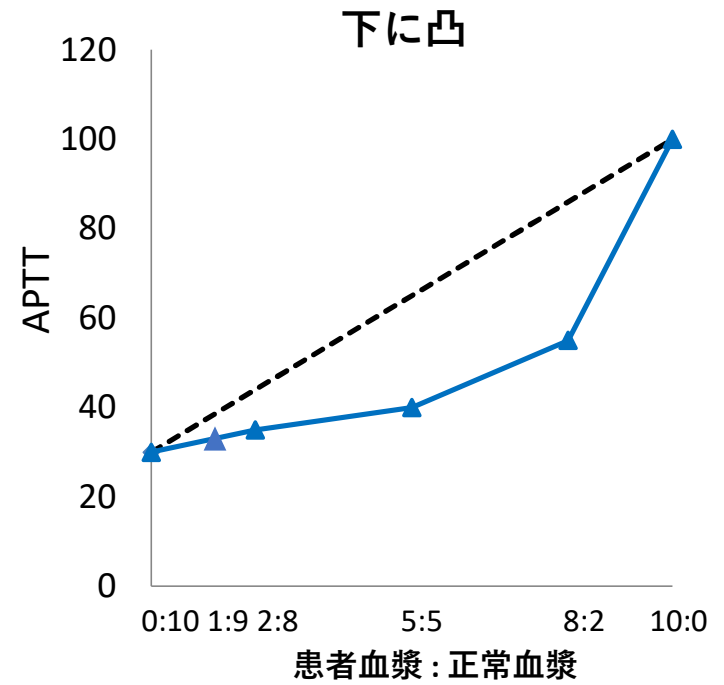
* 正常血漿に血小板が残存していた場合は逆向きになる

波形パターンのイメージ③

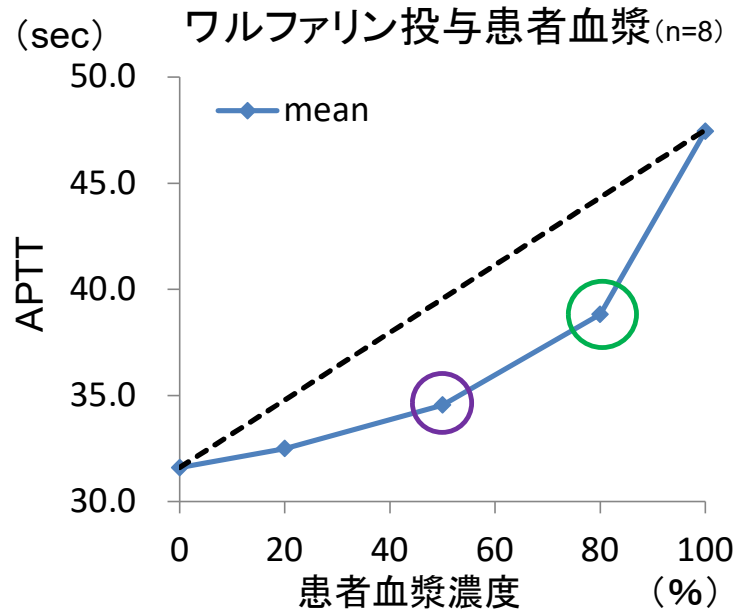
・凝固因子欠乏の場合



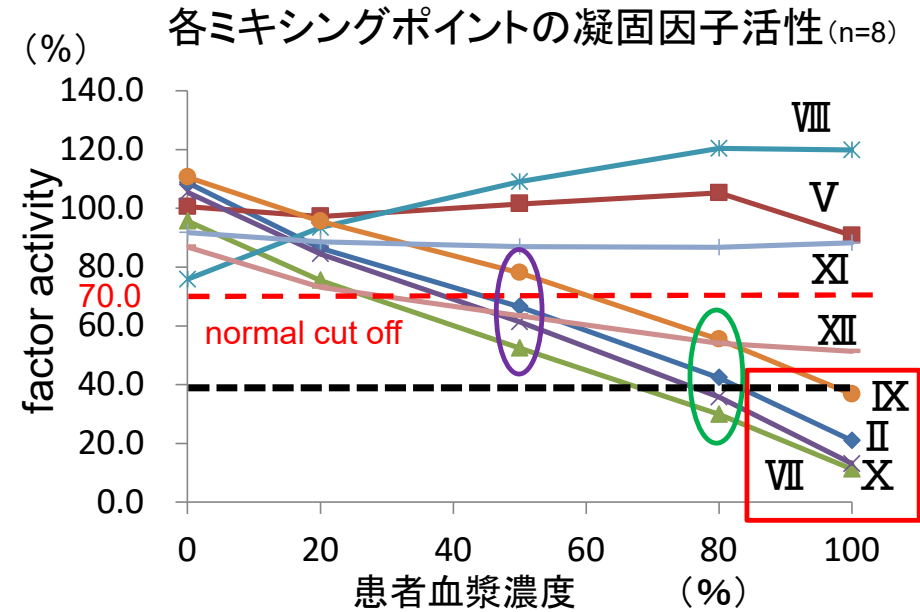
- :凝固因子
- :欠乏している凝固因子
- PP:患者血漿
- NP:正常血漿



因子欠乏におけるミキシングテストと凝固因子活性



➤ 下に凸 ➡ 因子欠乏パターン

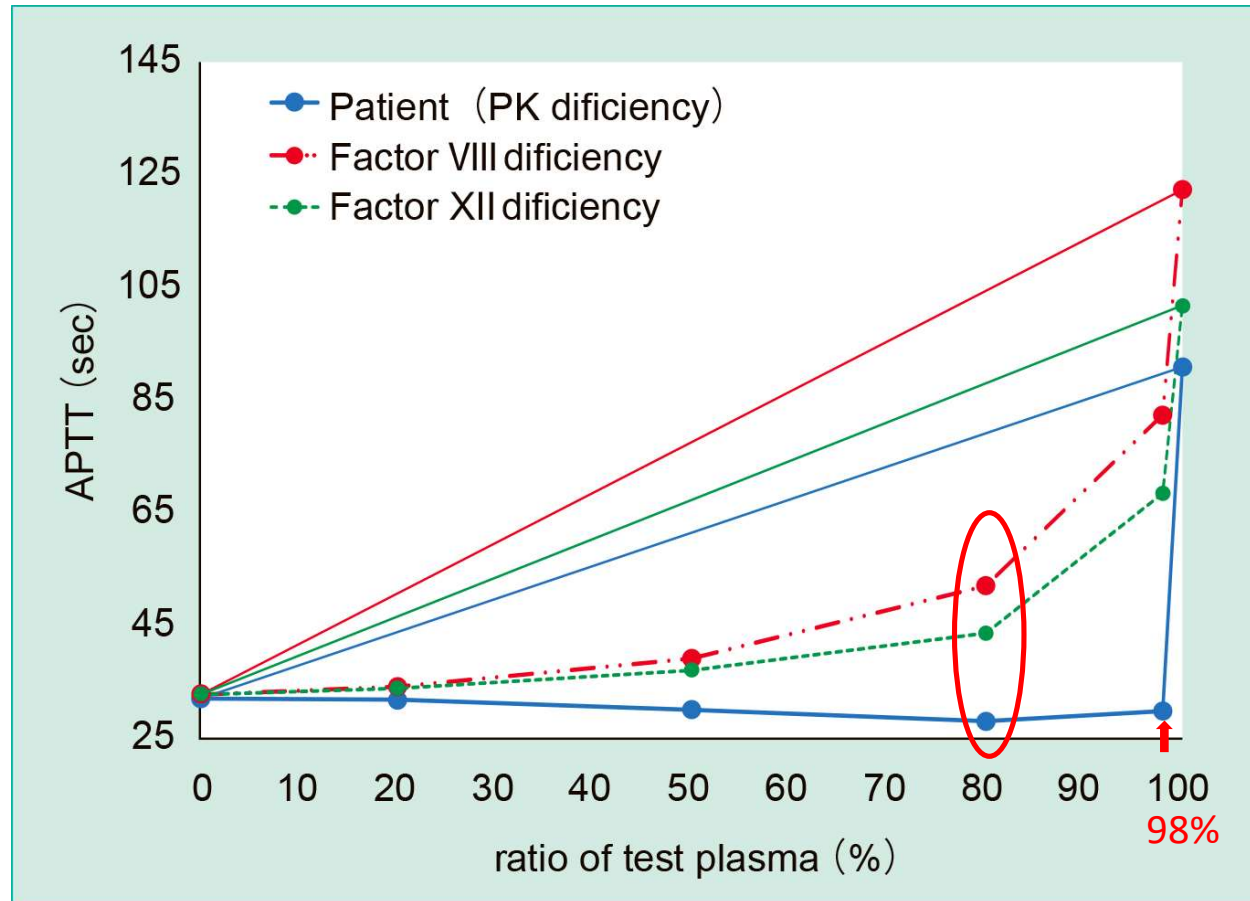


➤ II、VII、IX、X 因子 (VK依存性因子) が低下

凝固因子活性が40%以上あればAPTTは正常化する

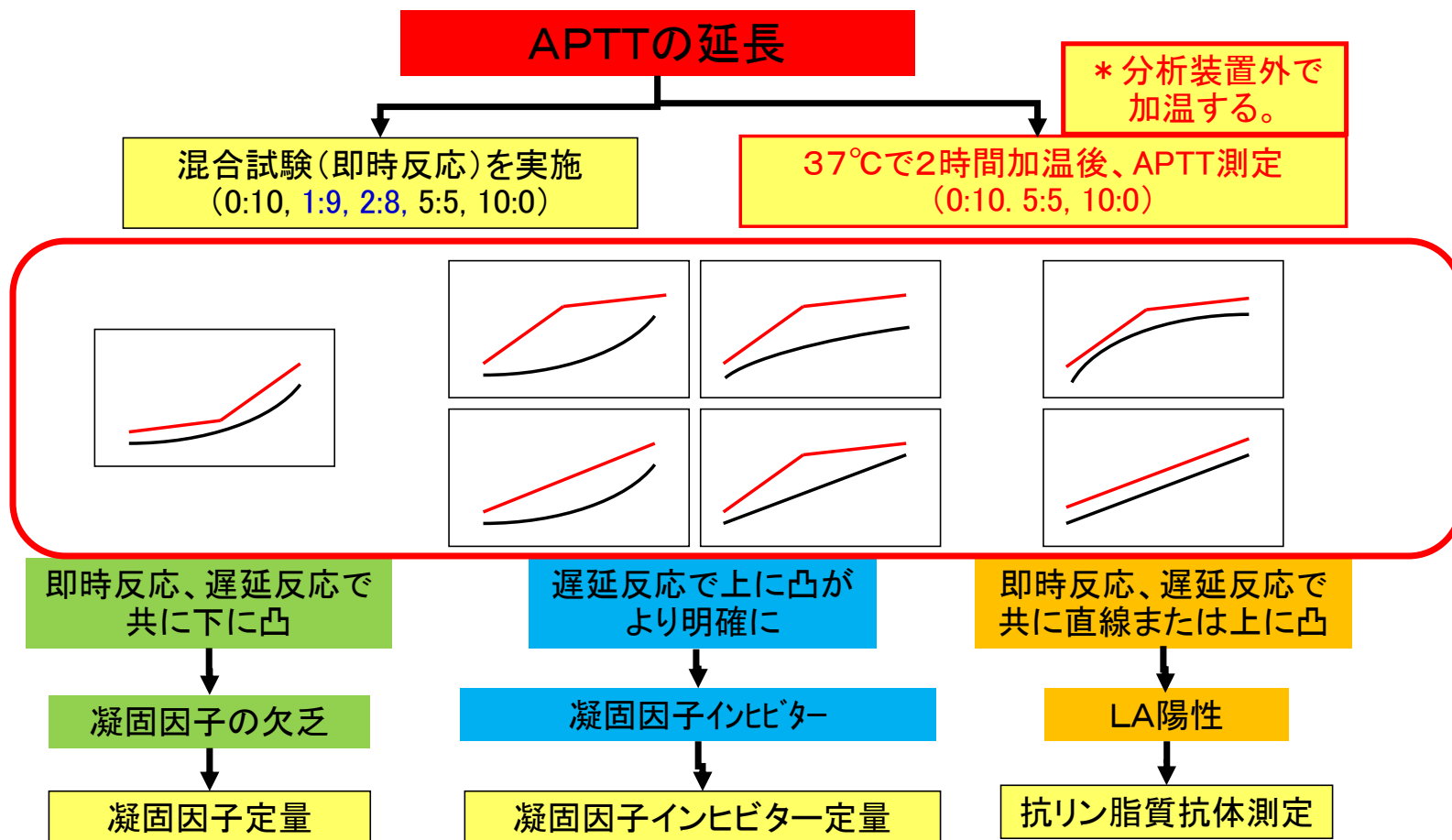
被検血漿濃度80%のポイントの必要性

プレカリクレイン欠乏症におけるAPTTクロスミキシングテスト

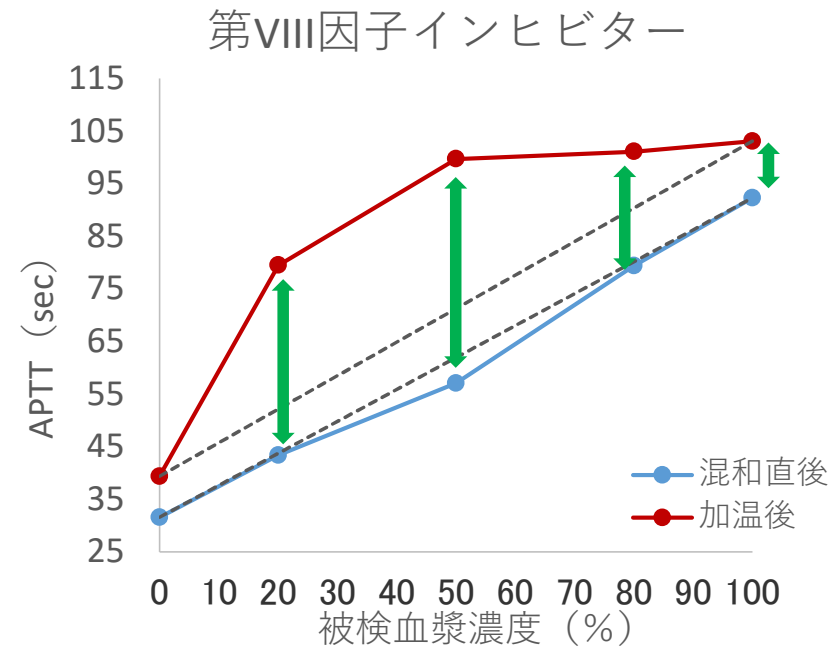
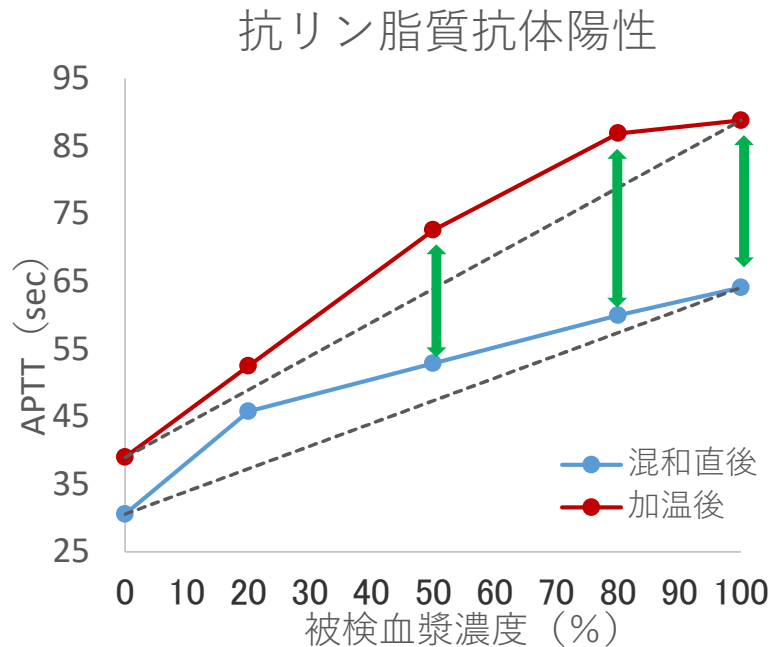


被検血漿濃度80%は因子欠乏のスクリーニングに重要！

波形パターンの判定は混和直後と加温後の変化度合をみる

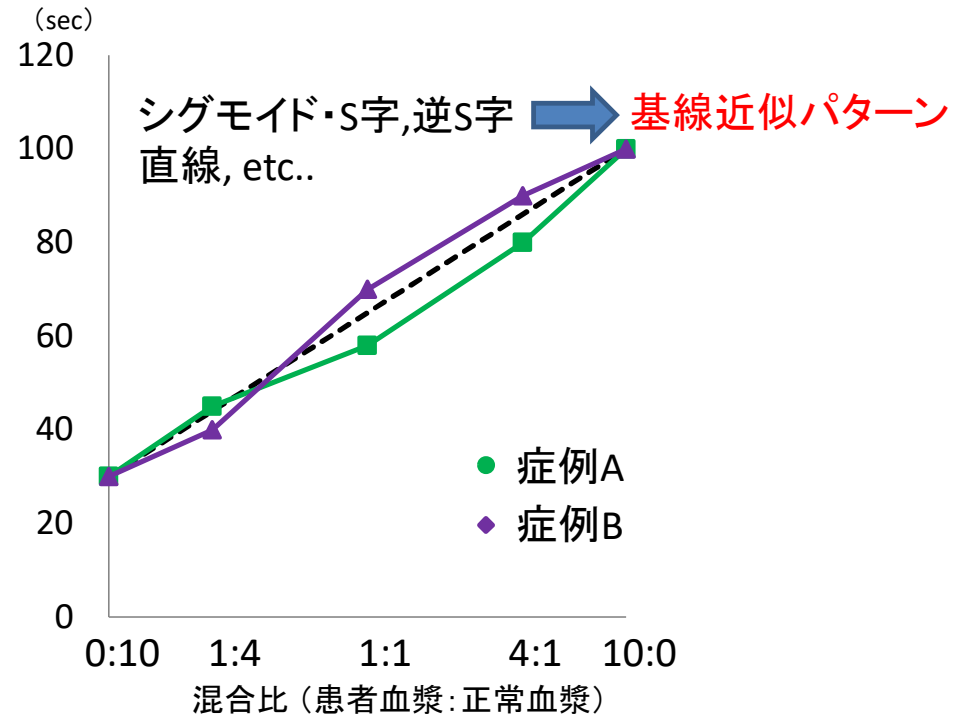
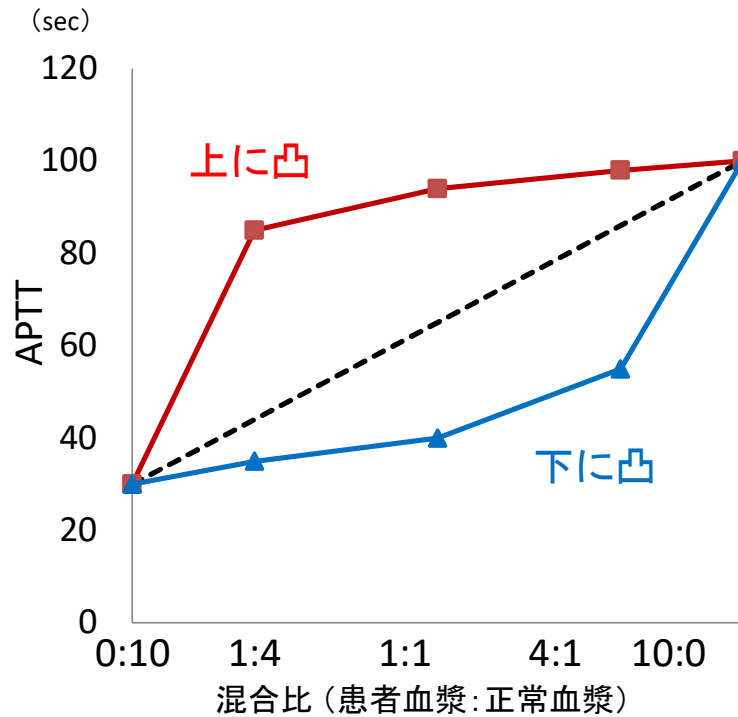


加温による波形パターンの変化



基線はどちらも加温後に延長しているが、それぞれの基線から見ると抗リン脂質抗体陽性例では、加温前後のパターンの変化は乏しく、第VIII因子インヒビター例では、加温前後でパターンがより上に凸となっている

波形パターンの判定基準



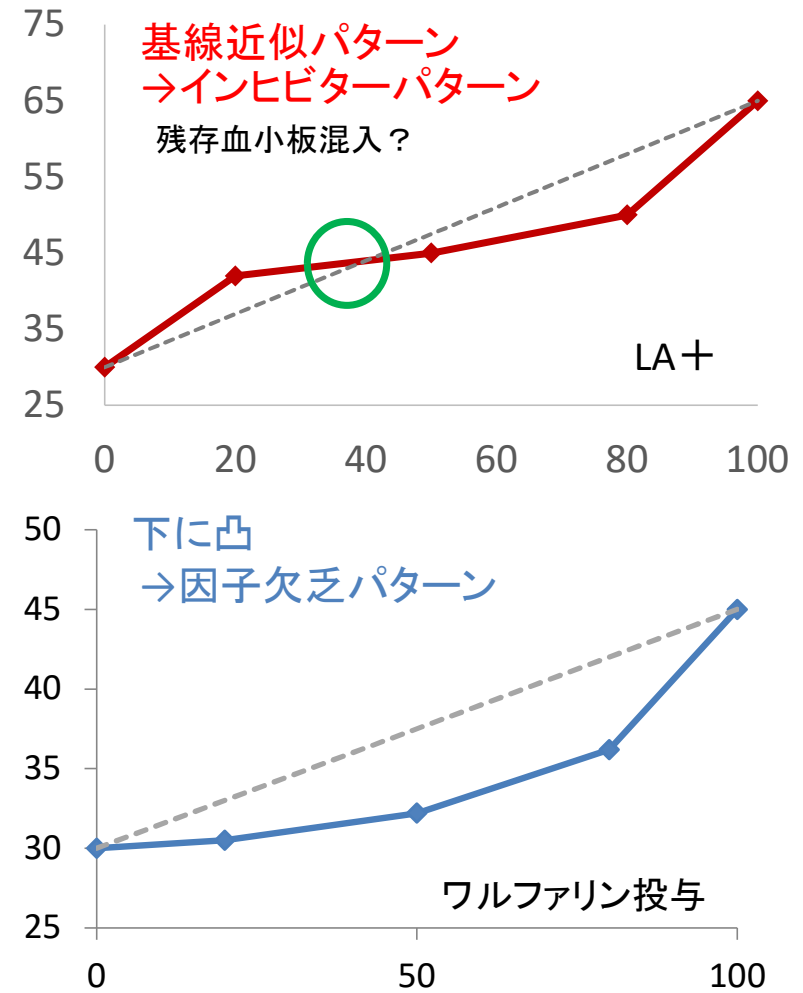
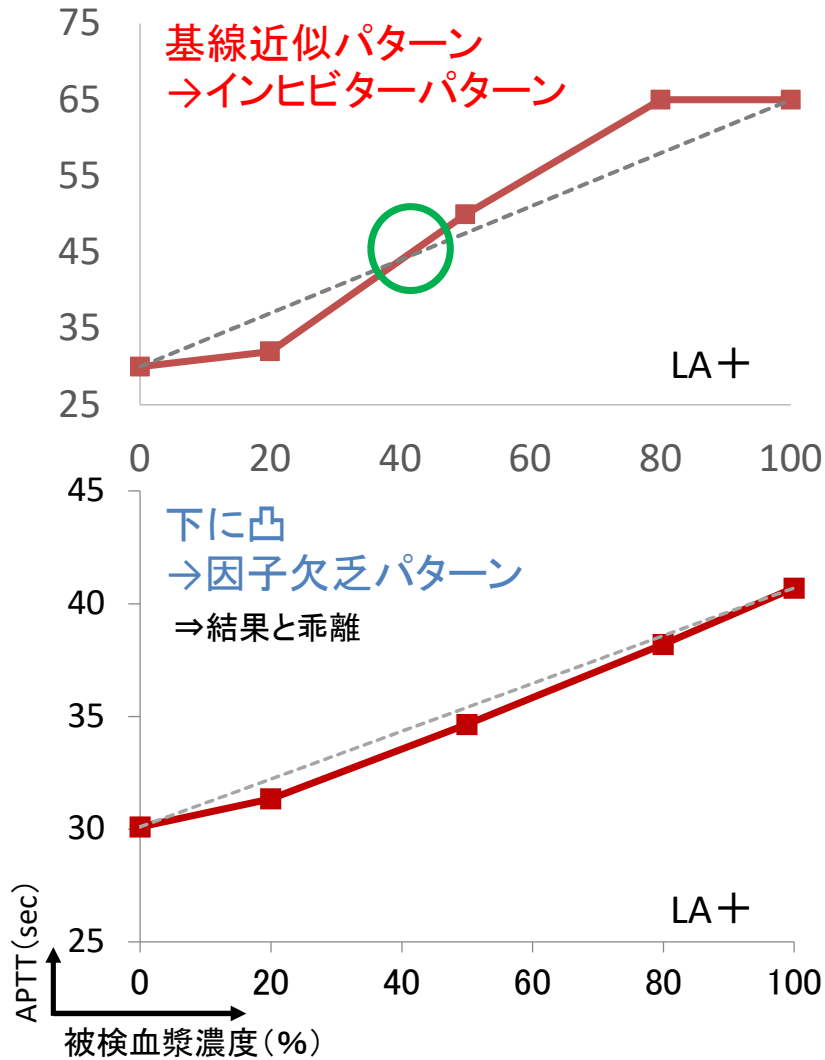
- 基線を全てのポイントが上回る ⇒ 上に凸 → インヒビターパターン
- 基線を全てのポイントが下回る ⇒ 下に凸 → 因子欠乏パターン
- パターンが基線と交わる場合 ⇒ 基線近似パターン → インヒビターパターン

波形パターン法の判定に必要なポイント



- ✓ 凸の度合に関わらず、基線より上か下かで判定する
- ✓ パターンが基線と交わる場合はインヒビターパターンとする
- ✓ 混和直後と加温後のパターン変化はそれぞれの基線をベースに波形パターンが変化したかを評価する

結果判定例



数值判定法

クロスミキシングテスト 数値判定法

- Rosner index (ICA:index of circulation anticoagulant)

Rosner E, et al. Thromb Haemostas 57(2):144-147,1987.

- Percent Correction

Chang S, et al. Am J Clin Pathol 117:62-73,2002.

- MT スコア

荒井 健, 他. 日本検査血液学会 11(1):133-139,2010.

- RC-S : Response Curve Score

内藤 澄悦, 他. 臨床病理, 60, 2012.

- CMT index : cross mixing test index

徳永 尚樹 他. 日本検査血液学会 15(1):45-55,2014.

- Mixing test specific cut-off

GW Moore, et al. Thromb Res 139:98-101,2016.

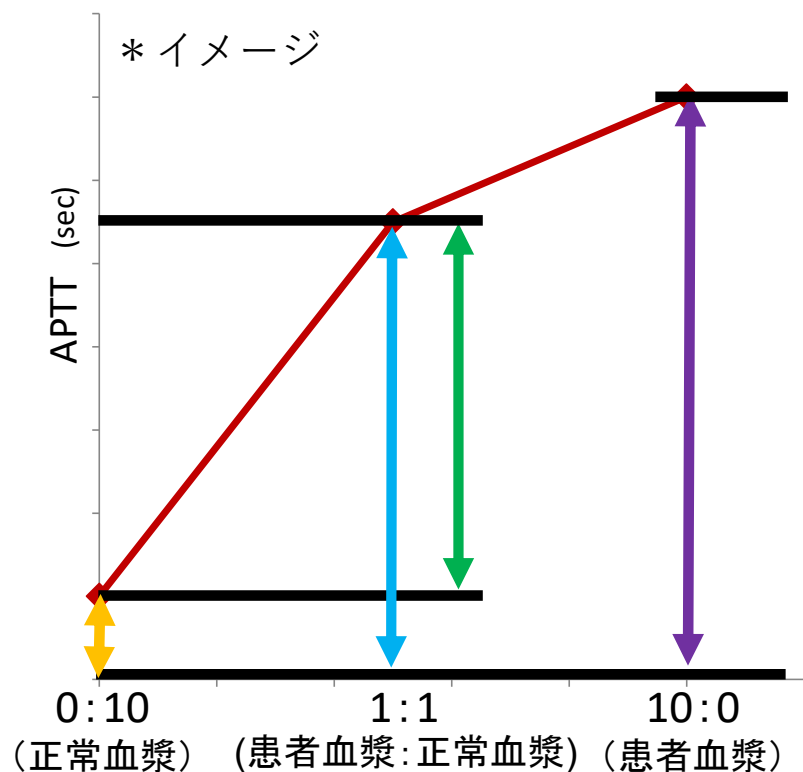
- WaS-ALD50法

下村 大樹, 他. 医学検査, 70(4):613-621, 2021.

etc...

海外におけるミキシングテストの判定法

● ICA : Index of Circulation Anticoagulant (ISTH推奨法)



$$\text{Index} = \frac{1:1 \text{ APTT値} - \text{正常血漿APTT値}}{\text{患者血漿APTT値}} \times 100$$

Cut off value

15 < 凝固因子欠乏

15 ≥ インヒビター陽性(凝固因子インヒビター or LA)

Rosner E, et al. Thromb Haemost 57(2):144-147,1987.

*但し、カットオフ値は自施設で設定する

APTT試薬	APTT-SLA	アクチンFSL	APTT-SP	PTT-LA
ICA cut-off値	12.4	10.4	13.6	13.0

* 上記以外の試薬を用いる場合は12~15のカットオフ値が妥当 *Kumano O, et al. Clin Lab 60:2115-2118,2014.*

海外におけるミキシングテストの判定法

- Mixing test specific cut-off : MTC (ISTH2020 LA検出のためのガイドラインより)

Devreese KMJ, et al. J Thromb Haemost 18:2828-2839,2020.

$$\text{Mix ratio} = \frac{\text{患者血漿と正常プール血漿1:1のAPTT}}{\text{健常人と正常プール血漿1:1のAPTTの平均値}}$$

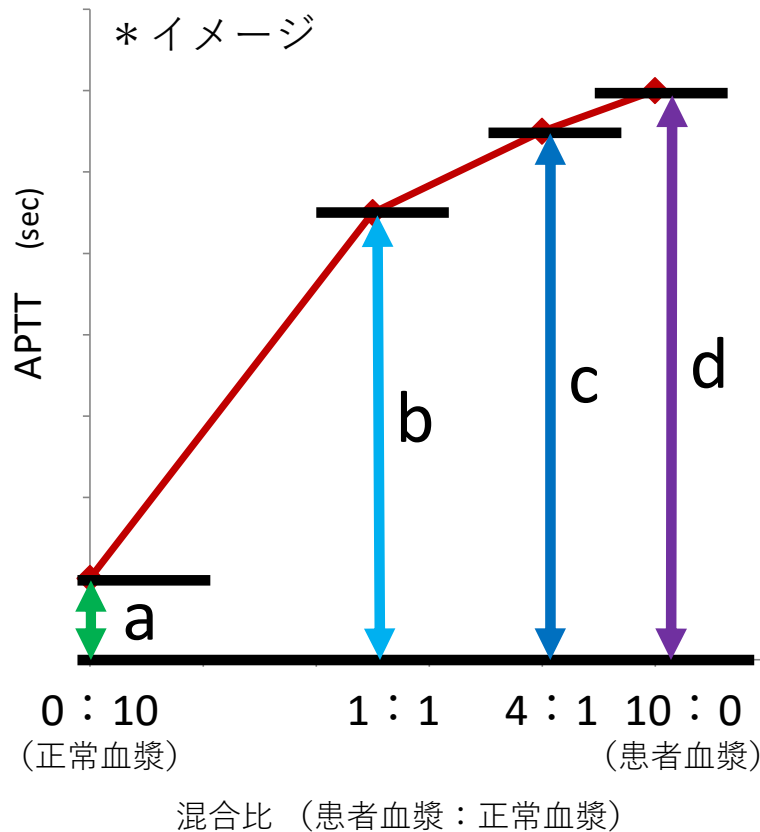
ISTH 2020 guideline 推奨のLAスクリーニング手順

LA低感度のAPTT試薬で因子欠乏や抗凝固薬をスクリーニング

→LAが疑われる場合はさらにLA高感度の試薬でAPTTやdRVVTを検査し、Mixing testの判定にはMTCを用いる

LA高感度のAPTT試薬を用いて実施し、数値判定法はICAを適切なカットオフ値で用いる

CMT index



$$\text{Index} = \frac{\text{患者血漿 APTT}}{4 : 1 \text{ APTT}} \times \frac{\text{患者血漿 APTT}}{1 : 1 \text{ APTT}} \times 10$$

$$\frac{\text{患者血漿 APTT} / \text{正常血漿 APTT}}{\text{患者血漿 APTT} / \text{正常血漿 APTT}} \times 10$$

○ : 各ポイントにおける患者血漿APTT補正比

Cut off value

9.7未満 → インヒビター陽性

9.7以上 → 因子欠乏

a: 正常血漿のAPTT値

b: 混合比1:1におけるAPTT値

c: 混合比4:1におけるAPTT値

d: 患者血漿のAPTT値

各判定法のインヒビターに対する感度・特異度

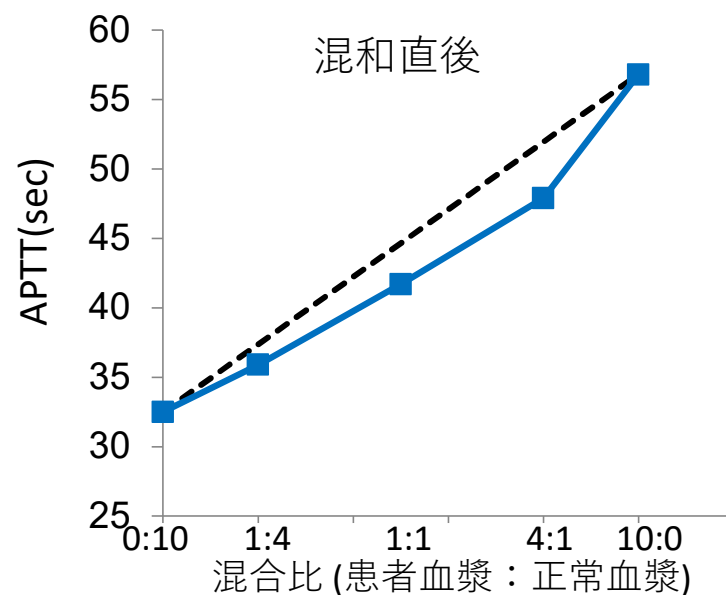
感度、特異度(%)		波形パターン	ICA	CMT index
混和直後	感度	78.4	87.8	94.6
	特異度	100	96.3	100
加温後	感度	80.0	100	100
	特異度	100	100	100

判定法別のLA判定一致率の比較

対象：2007年5月から2018年10月までのクロスミキシングテストを実施した
LA陽性またはLA疑いと診断された89例

混和直後におけるLA判定一致率

パターン判定	波形パターン法	ICA	CMT index
因子欠乏	8例	4例	なし
インヒビター	81例	85例	89例
判定一致率	91%	95.5%	100%



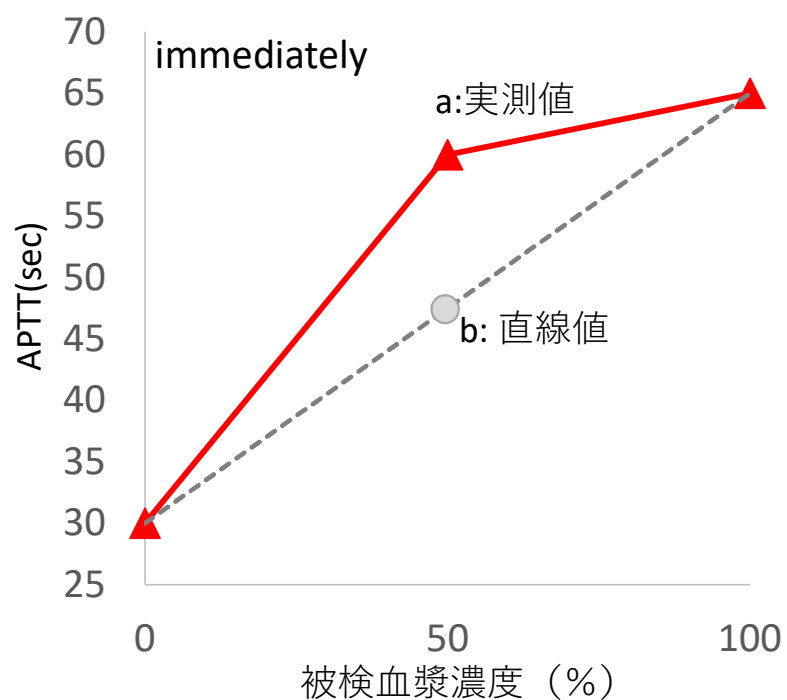
各判定方法の一致率（混和直後）

疾患群別 一致率(%)	波形パターン	ICA	CMT index
全体	84.2	90.1	96.0
APA陽性	85.7	94.6	100
APS疑い	80.0	60.0	100
因子インヒビター 陽性	25.0	75.0	50.0
因子欠乏	100	96.3	100

WaS-ALD50法

ALD50

(mixing plasma **a**ctual value50/**l**iner value50 **d**ivision%)



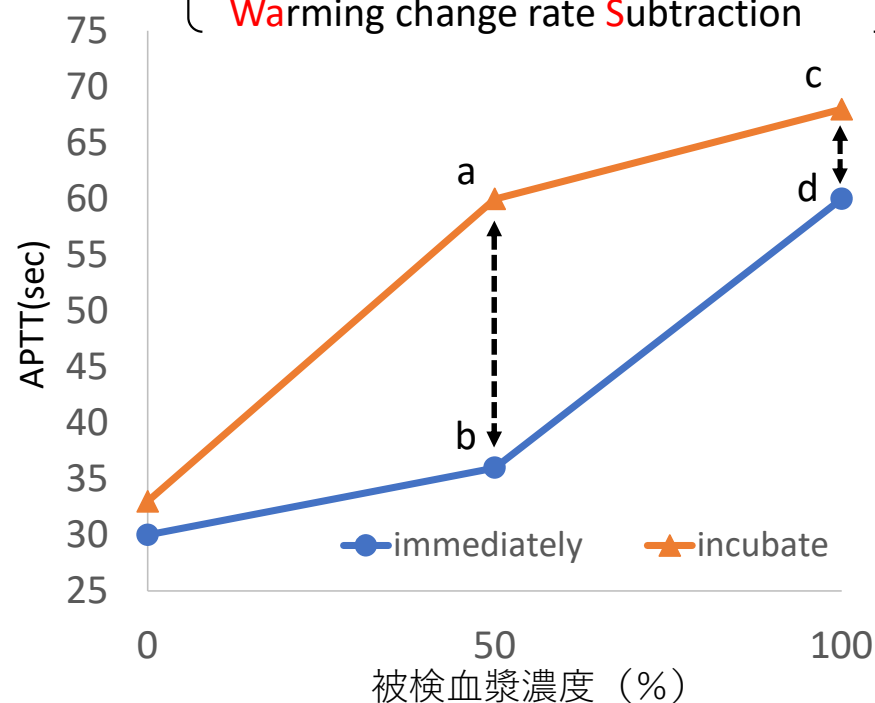
$$ALD50 = \frac{a}{b} \times 100 (\%)$$

カットオフ値：87.8%

感度：94.7%, 特異度：92.9%

WaS

(Mixture plasma-patient plasma after
Warming change rate **S**ubtraction)



$$WaS = \left[\frac{a-b}{b} \times 100 \right] - \left[\frac{c-d}{d} \times 100 \right] \times 100(\%)$$

カットオフ値：10.2%

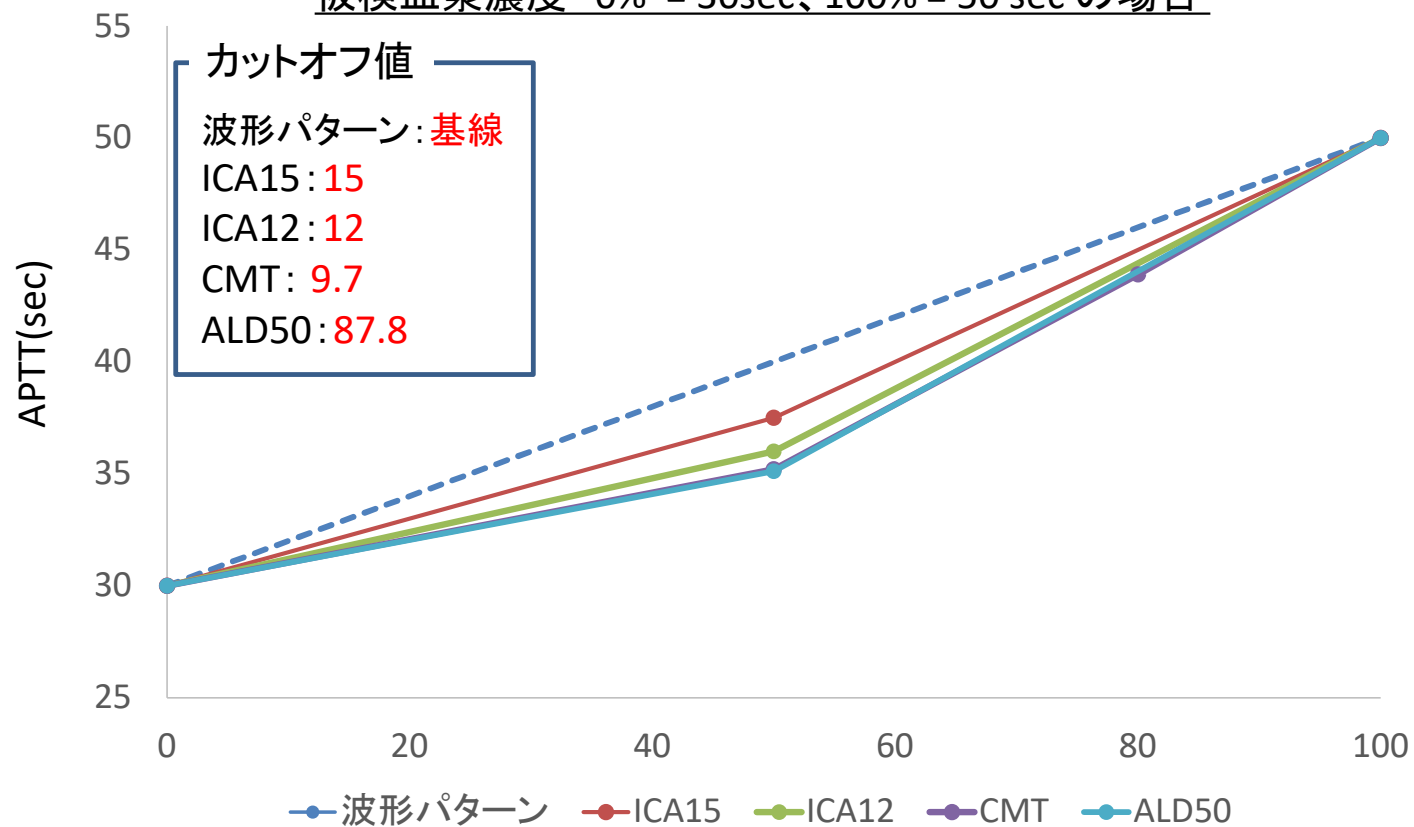
感度：95.8%, 特異度：96.2%

下村 大樹, 他. 医学検査, 70(4):613-621, 2021.

波形パターン法と数値判定法のカットオフ値の比較

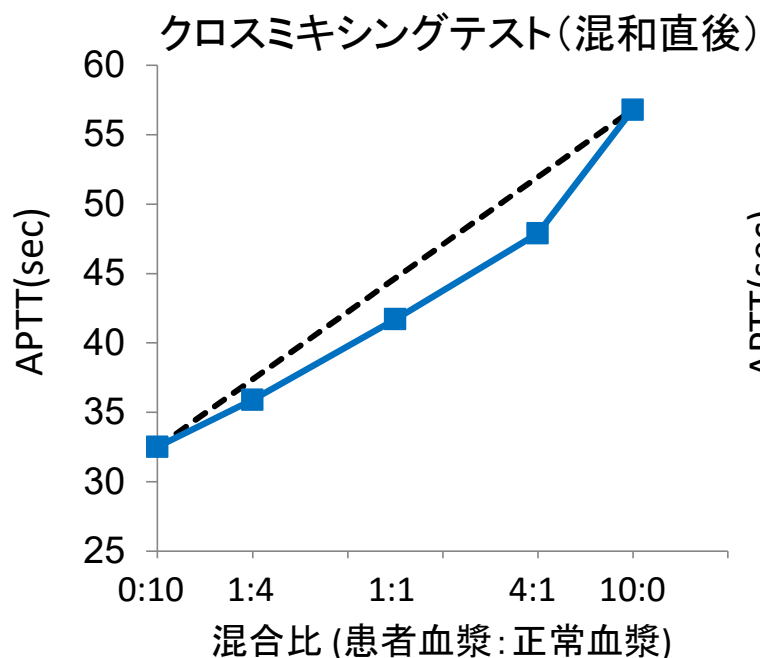
各判定法のカットオフ値の比較

被検血漿濃度 0% = 30sec、100% = 50 sec の場合



波形パターン法と数値判定法に乖離があった場合

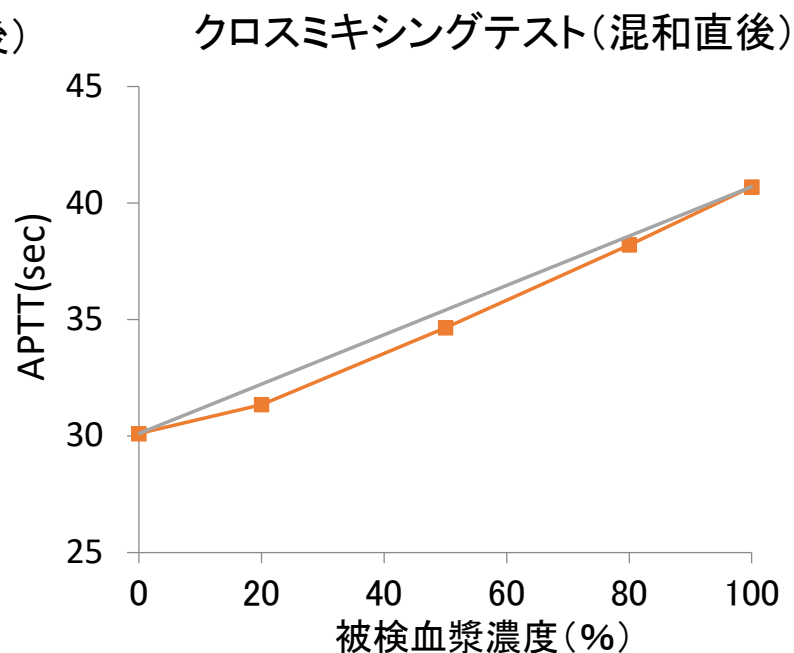
dRVVT:1.39 = LA(+)



ミキシングテスト結果

波形パターン法 下に凸 ➡ 因子欠乏
 CMT index : 7.8 ➡ インヒビター陽性
 ICA : 16.2 ➡ インヒビター陽性
 ALD50 : 93.4 ➡ インヒビター陽性

SCT: 1.24 = LA(+)



ミキシングテスト結果

波形パターン法 下に凸 ➡ 因子欠乏
 CMT index : 9.3 ➡ インヒビター陽性
 ICA : 11.3 ➡ 因子欠乏
 ALD50 : 98.0 ➡ インヒビター陽性

より感度の高い数値判定法を参考にする

数値判定法に必要な判定のポイント



- ✓ 数値判定法を用いる場合は自施設の使用機器・試薬に応じて適切なカットオフ値を定める（検討や論文参照）
- ✓ 複数の数値判定法を併用するとより信頼性が高い
- ✓ 波形パターン法と数値判定法の判定に乖離が見られた場合は定量的指標である数値判定法の判定を優先する
（但し混和直後のみの数値判定法を用いる場合は加温後の波形パターン変化の結果を考慮し総合的に判定する）

クロスミキシングテストの参考書（結果解釈編）

● 波形パターン法

- 凸の度合いによらず、全てのポイントが基線より上にあれば上に凸
- 凸の度合いによらず全てのポイントが基線より下にあれば下に凸
- パターンが基線と交わる場合はインヒビターパターンとする
- 混和直後と加温後のパターンの変化の有無を確認する（基線の変化ではなく、それぞれの基線をベースにパターンが変化したかを評価する）
- 波形パターンが下に凸でもインヒビター陽性があることを認識しておく

● 数値判定法

- 数値判定法を用いる場合はカットオフ値に注意し、使用する機器・試薬に応じた、既報の論文や自施設の検討で適切なカットオフ値を設定することが望ましい
- 複数の数値判定法を併用するとより信頼性が高くなる
- 波形パターン法と数値判定法が乖離した場合は、定量的指標である数値判定法の判定を優先するが、混和直後のみの数値判定法を用いる場合は加温後の波形パターン変化の結果を考慮し総合的に判定する

判定に迷う場合は、年齢、性別、出血傾向や血栓傾向などの臨床症状も参考に！