

# 学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 臨床医学系講座 血液・腫瘍内科学分野	氏 名	たなか ゆみ 田中 由美
主論文の題名			
Overestimation of fibrinogen concentration in cryoprecipitate by repeated freeze-thawing with long thawing period as used in the Clauss method			
主論文の要旨			
【はじめに】			
<p>クリオプレシピテート (CRY) は新鮮凍結血漿 (FFP) からフィブリノゲンを高濃度に濃縮した製剤であり、大量出血に伴う希釈性凝固障害の治療として広く使用されている。しかし、より濃縮度の高いフィブリノゲンを含有する CRY の作製方法については十分に検討されていない。我々は、最適な CRY の調整方法を検討する過程で、FFP の凍結・融解を繰り返して作製された CRY のフィブリノゲン値を Clauss 法で測定すると、実際の値よりも高くなる傾向があることに気づいた。そこで、最適な作製方法について検討しつつ、CRY 中のフィブリノゲン値が過大に評価されやすい条件やそのメカニズムについて検討した。</p>			
【方法】			
<p>FFP-LR480 を用いた CRY の調製と評価については、日本赤十字社、三重大学医学部附属病院倫理委員会により承認されている (承認番号: 344、2998)。</p>			
1. CRY の作製条件による比較:			
<p>FFP から下記の条件下で CRY を作製し、FFP、CRY、クリオ上清 (CS) 中のフィブリノゲン濃度を Clauss 法にて測定した。</p>			
A 融解 (30 時間)・凍結 2 サイクル			
B 融解 (24 時間)・凍結 2 サイクル			
C 融解 (30 時間)・凍結 1 サイクル			
D 融解 (24 時間)・凍結 1 サイクル			
<p>CRY 中のフィブリノゲン含有量の精製率は、CRY および CS 中の含有量に基づき <math>(CRY / (CRY + CS))</math> より計算した。また、CRY 中のフィブリノゲン含有量の回収率は、<math>(CRY / FFP)</math> より計算した。</p>			

## 2.物理的ストレスと凍結・融解によるフィブリノゲン値の変化の比較：

物理的ストレスの影響については、FFP を入れたコニカルチューブを室温で 5 分間激しく攪拌し、10 分後、20 分後にフィブリノゲン量を Clauss 法で測定した。凍結・融解の影響については、コニカルチューブ中の FFP の凍結・融解を 4 回繰り返し、フィブリノゲン値を測定した。

## 3.他のマーカーによる解析：

一部の実験においては、CRY 中の可溶性フィブリンモノマー複合体 (SFMC)、トロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT)、D-ダイマーを解析した。

### 【結果】

2 サイクル (A または B) で調製した CRY の精製率および回収率は、1 サイクル (C または D) で調製したものより高値である傾向がみられた。特に A で調製された CRY では、回収率がしばしば 100% を超えた。CRY 中のフィブリノゲンを直接測定した値と、FFP と CS 中のフィブリノゲン量から間接的に CRY 中のフィブリノゲンを推定した値を比較すると、特に A で調整した CRY において、前者が後者より著しく高値である検体がみられた。これらのデータは、長い融解時間で凍結融解プロセスを繰り返して CRY を作製し、Clauss 法で CRY 中のフィブリノゲン値を直接測定すると、実際の値よりも高くなる傾向があることを示している。Clauss 法は、フィブリン生成までの時間 (凝固活性) によりフィブリノゲン値を測定している。そこで、A で作製した CRY と D で作製した CRY について、フィブリノゲンの分解産物であり凝固亢進状態の鋭敏なマーカーである SFMC 濃度を比較したところ、前者は後者より SFMC が高い傾向がみられた。他の凝固活性化マーカーである TAT でも同様の傾向がみられた D ダイマーは有意な変化はみられなかった。これらの結果から、長い溶解時間で凍結・融解を繰り返して作製された CRY において、凝固活性が高まっていることが示唆された。これらのフィブリノゲン値の見かけ上の増加は、5 分間の激しい攪拌という物理的刺激ではみられず、凍結・融解によって観察された。

### 【考察・結論】

FFP をより長い融解時間 (30 時間>24 時間) で、凍結・融解を繰り返すと、フィブリノゲンの回収率と濃縮率が高まりフィブリノゲンの含有量の高い CRY が作製されることを示唆している。しかし、そのような条件で CRY を作製し、Clauss 法でフィブリノゲン値を測定すると、フィブリノゲン値が実際より高くなるリスクがあることも示している。したがって、品質管理のために、CRY 中のフィブリノゲン量を正確に求めるには、FFP と CS 中のフィブリノゲン量から CRY 中のフィブリノゲン量を間接的に求めることが推奨される。