

原 著

第IX因子複合体およびフィブリノゲンが 希釈血液の線溶亢進状態に及ぼす作用

山家 陽児^{1)*}, 川崎 潤¹⁾, 小山 薫¹⁾, 田中 健一²⁾

1) 埼玉医科大学 総合医療センター 麻酔科

2) 米国メリーランド州立大学 麻酔科

Effects of prothrombin complex concentrates and fibrinogen on the profibrinolytic state of diluted blood

Youji Yanbe^{1)*}, Jun Kawasaki¹⁾, Kaoru Koyama¹⁾, Kenichi A. Tanaka²⁾¹⁾ Department of Anesthesiology, Saitama Medical Center, Saitama Medical University²⁾ Department of Anesthesiology, University of Maryland, USA

[Background] Fluid replacement therapy using crystalloids and colloids without transfusion of blood or fresh-frozen plasma after massive haemorrhage may result in a profibrinolytic state. We tested the effects of prothrombin complex concentrates (PCC) and fibrinogen (Fib) on the profibrinolytic state in hemodilution, using thrombelastography (TEG[®]) and a plasmin-plasmin inhibitor complex (PIC) assay.

[Method] After approval from the ethical committee of the Saitama Medical Center and obtaining informed consent, a six-channel TEG[®] (n=15) was performed using blood samples from healthy individuals. The normal blood was diluted by 40% using normal saline (NS), then a six-channel TEG[®] was performed in 320 μ L of recalcified, Intem[®]-activated whole blood as follows; normal blood + NS, diluted blood + NS, diluted blood + PCC (final concentration 0.2 IU/ml), diluted blood + PCC (0.4 IU/ml), diluted blood + Fib (1.5 g/L), diluted blood + {Fib (1.5 g/L) + PCC(0.2 IU/ml)} (Experiment 1). Furthermore, a six-channel TEG[®] (n=15) was performed using blood samples collected from patients at the time of anesthetic induction and at the time when more than 2L of fluid was administered and the amount of bleeding was more than 400 mL. The TEG[®] was performed with recalcified, Intem[®]-activated whole blood spiked with tPA (final conc. 0.15 μ g/ml) and the same additives as each TEG[®] channel in Experiment 1. Apart from the TEG[®] testing, PCC, Fib and tPA, etc. were added to 0.9 ml of each blood sample in the same proportion as in the TEG[®]. Thirty minutes later, clotting reactions were stopped by 0.1 ml of 3.2% citric acid. The PIC was determined in plasma obtained by centrifugation (Experiment 2).

[Results] Fibrinolytic tendency was significantly enhanced after haemodilution with saline (Experiment 1) and with fluid replacement therapy after bleeding and fluid replacement (Experiment 2). The PCC and Fib could, in a concentration dependent manner, mitigate the profibrinolytic state enhanced by haemodilution, which was most effectively controlled with the simultaneous addition of PCC and Fib. Decreased maximum amplitude (MA) values after hemodilution were lowered further by PCC, while they were increased by adding Fib.

[Conclusion] The combination of PCC and Fib was most effective in mitigating a tPA-induced profibrinolytic state after hemodilution compared to adding PCC or Fib per se. PCC might increase thrombin generation whereas Fib increases the mass of the clot.

J Saitama Medical University 2015; 42(1): 1-6

(Received October 24, 2014 / Accepted March 26, 2015)

Key words: hemodilution, profibrinolytic state, prothrombin complex concentrates, fibrinogen, thrombelastography, plasmin-plasmin inhibitor complex

* 著者：埼玉医科大学 総合医療センター 麻酔科 〒350-8550 埼玉県川越市鴨田1981 Tel: 049-228-3654 Fax: 049-226-2237

E-mail: yyanbe@saitama-med.ac.jp [平成26年10月24日受付 / 平成27年3月26日受理]

○著者全員は本論文の研究内容について他者との利害関係を有しません。

はじめに

大量出血に晶質液や代用血漿を輸液するが、約4 L～5 L(循環血液量相当)の出血に同量の輸液をすると凝固因子は正常レベルの30%に、その2倍相当(約8 L～10 L)の出血に同量の輸液をすると15%に低下すると考えられ、同時に線溶も亢進すると考えられている^{1,2)}。この出血の補充を新鮮凍結血漿(fresh-frozen plasma: FFP)で行えば、凝固因子は正常範囲内に保たれるが、晶質液や代用血漿で補充されると線溶も亢進する。その原因は血漿内plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), α 2-plasmin inhibitor, thrombin- activatable fibrinolysis inhibitor (以下TAFI) およびfactor XIII (FXIII) などの抗線溶因子が希釈されるからとのBolligerらの報告がある³⁾が、血液の大量希釈での線溶経路の制御については、データに乏しく、まだ十分には解明されていない。

我々は、トロンボエラストグラフ(以下TEG[®]: CTEG 5000T, ヘモネティクス社, マサチューセッツ, 米国)測定におけるパラメーターの解析および血液中のプラスミン・プラスミンインヒビター複合体(plasmin-plasmin inhibitor complex: 以下PIC)の定量測定を遂行した。結果として、第IX因子複合体(prothrombin complex concentrates: 以下PCC) およびフィブリノゲン(以下Fib)が、晶質液や代用血漿により希釈された血液の線溶亢進状態に及ぼす作用を追究した。

試薬と方法

1. 試薬

各試薬は以下の製薬会社の製品を使用した。凝固促進剤インテム[®](エラジン酸)(In-tem[®], テムイノベーションズ社, ミュンヘン, ドイツ), 組織プラスミノゲンアクチベータ(tPA: グルトバ[®]注600万, 田辺三菱製薬株式会社, 大阪), 第IX因子複合体(PCC: PPSB[®]-HT 静注用200単位「ニチヤク」, 日本製薬株式会社, 東京), フィブリノゲン(Fib: フィブリノゲンHT 静注用1g「ベネシス」, 一般社団法人日本血液製剤機構, 東京), チトラート(3.2%クエン酸三ナトリウム, 和光純薬工業株式会社, 大阪)

2. 対象と方法

実験Iと実験IIの2つの実験で構成されるこの研究は、埼玉医科大学総合医療センター倫理委員会の承認(実験I942(1), 実験II942(2))の下、手術患者からの文書によるインフォームドコンセントを得て実施された。

(1) 対象

対象は凝固系の検査値が正常範囲内にあるASA class I-II (American Society of Anesthesiologists' physical status class I-II)の患者総数30名(実験I, n=15; 実験II, n=15)を抽出した。これらは定時に非心臓手術を受ける予定で、他には医学的問題がない(healthy; no major medical

problem, class I)か、またはコントロール良好とされている糖尿病や高血圧のような軽度の全体的疾患を持つ(class II)患者である。なお採血前の2週間以内に、NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drugs), ヘパリン, 低分子ヘパリン, ワーファリン, Xa阻害薬およびトロンビン直接阻害薬などの抗凝固薬を服用している患者、またはアスピリンの慢性的服用者を対象から除外した。この30名の凝固系検査値ベースラインの術前検査値で、prothrombin time (PT: international normalized ratio) 1.1 ± 0.05 , activated partial thromboplastin time (aPTT) 31.3 ± 2.3 秒, および血小板数 $243 \pm 57 \times 10^3 / \mu\text{L}$ であった。なお、測定は、1症例につき2回測定し、その平均値を測定値とした。

(2) 方法

1) TEG[®]のパラメーター測定概要

Fig. 1に示すように、TEG[®]のパラメーターにはR (reaction time), Angle (α°), MA (maximum amplitude), Ly60 (whole blood clot lysis index at 60 minutes after MA)がある。Rは測定開始からTEG[®]の振幅が2 mmになるまでの時間で、凝固の開始点と考えられている。Angleはclot形成の速さを示し、フィブリノゲンと血小板の有効性を表す。MAは凝血の弾力度を示す。Ly60はMAになって60分後の線溶度であり、A60をMAになって60分後の振幅とすると、 $\text{Ly60} = \{ (MA - A60) / MA \} \times 100 (\%)$ で表される。本研究の主題は線溶を追求するものであるため、凝固の立ち上がりについてのパラメーター、R (reaction time)とAngle (α°)は検討から省き、MAとLy60の2つのパラメーターの変化を検討して、各群間の平均値の差を検定し論を進めた。さらに、Ly60 (MAになって60分後の線溶度)とLy30 (MAになって30分後の線溶度)が線溶を表すパラメーターとされている。しかしLiebenbergら

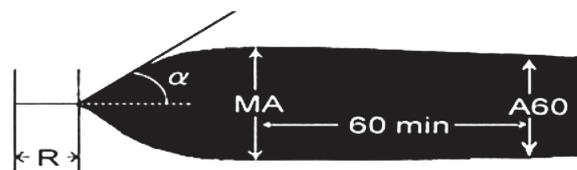


Fig. 1. TEG[®] parameters: R, Angle (α°), MA, and A60 are depicted. R, reaction time is the interval between the beginning of the recording and the time at which the amplitude of the TEG reaches 2 mm, and R point is recognized to be the onset of coagulation. Angle (α°) represents clot formation rate and is known to be a function of the quality of fibrinogen and platelet. MA, maximum amplitude is the largest amplitude reached and is a function of the elasticity of blood clot. A60 is the amplitude at 60 minutes after MA. Ly60 represents whole blood clot lysis index at 60 minutes after MA. The relation between MA, A60, and Ly60 is as follows. $\text{Ly60} = \{ (MA - A60) / MA \} \times 100 (\%)$.

の報告^{4,5)}ではLy60とLy30の両方が測定されているが、Ly60での検定値pがLy30のそれより小であり、Ly60での測定の方が、精度的に優れていると判断したため本研究ではLy60を用いた。

2) 試薬濃度の選択について

TEG[®]の試薬は10 μ Lで添加されるのが基本であるが、インテム[®]はテムイノベーションズ社推奨の20 μ L添加とした。PCCの添加濃度の決定は、PCCとリコンビナント活性第7因子製剤との適性を比較したTanakaらの報告⁶⁾を参考とした。血漿量を50 mL/kgとすると臨床量として適量の20 IU/kgの投与で、血漿中濃度は0.4 IU/mL、その半分の0.2 IU/mL、また0.4 IU/mLの倍量に近い0.72 IU/mLとで濃度依存性が追究されている。その結果濃度依存性に有意にINRを低下させ、トロンビン生成を上昇させたとされる。そこで今回はPCC 0.2 IU/mLと0.4 IU/mLを用いた。さらに、Fib 1.5 g/Lの決定については、Bolligerらの血液希釈の報告⁷⁾で、希釈した血液にフィブリノゲンを1.5 g/L以上加えると、TEG[®]のAngle (α°) など測定結果が正常になったと述べられているためFib 1.5 g/Lを採用した。

3) 実験プロトコール

(a) 実験I: 第IX因子複合体およびフィブリノゲンが40%希釈血液のTEG[®]に及ぼす作用 (in vitro study)

採血後、生食で40%希釈血液(以下希釈血)を作成し、TEG[®]のパラメーター(MAとLy60)を6チャンネル(以下ch)で同時に測定した。

測定は全chに0.4 M塩化カルシウム 10 μ Lとインテム[®] 20 μ Lを加え、さらに第1chに全血 0.32 mL(対照)と生食 10 μ L、第2chに希釈血 0.32 mLと生食 10 μ L、第3chに希釈血 0.32 mLとPCC(終濃度 0.2 IU/mL) 10 μ L、第4chに希釈血 0.32 mLとPCC(終濃度 0.4 IU/mL) 10 μ L、第5chに希釈血 0.32 mLとFib(終濃度 1.5 g/L) 10 μ L、第6chに希釈血 0.32 mLと{Fib(終濃度 1.5 g/L)とPCC(終濃度 0.2 IU/mL)} 10 μ Lをそれぞれ加え測定した。

(b) 実験II: 第IX因子複合体およびフィブリノゲンが出血400 mL以上を伴う輸液2 L以上の症例血液のTEG[®]とプラスミン-プラスミンインヒビター複合体(PIC)に及ぼす作用 (ex vivo study)

①TEG[®]の6chでの測定

第1chは麻酔導入時に採血して測定、第2ch～第6chは出血400 mL以上および輸液2 L以上になった時点で採血して測定した。それぞれTEG[®]のパラメーター(MAとLy60)を本文に表示した。

全chに0.4 M塩化カルシウム 10 μ L、インテム[®] 20 μ L、組織プラスミノゲンアクチベータ(以下tPA、終濃度 0.15 μ g/mL) 10 μ Lと全血 0.31 mLを、実験Iの各チャンネルへの同じ添加物 10 μ Lと共に加えた。

②PIC量の測定

TEG[®]測定とは別に、0.9 mLの血液にTEG[®]の各chと同比率で塩化カルシウム、インテム[®]、FibおよびtPAを加えて凝固を開始した。30分後3.2%チトラート 0.1 mLを添加して反応を停止させた。各々のサンプルを1500 x gで10分間(15 $^\circ$ C)遠心分離(冷却遠心機H-500R、株式会社コクサン、東京)した後、platelet poor plasmaを採取し、PIC量を測定した。

統計解析

すべてのデータは平均値 \pm 標準偏差値で表し、実験IのMAとLy60、実験IIのMAとLy60およびPICの、各群間の平均値の差の検定は、the Kruskal-Wallis H-test followed by the Mann-Whitney U-test with Tukey-Kramer's correctionで行った。危険率5%以下を有意とした。

結果

1. 実験Iの成績: 第IX因子複合体およびフィブリノゲンが40%希釈血液のTEG[®]に及ぼす作用 (in vitro study) をTable 1に示した。

MA値については、対照では61.3 mm、希釈により50.9 mmと有意に減少した。PCC 0.2群及びPCC 0.4群も、各々47.2 mm、46.7 mmと有意に減少した。希釈群、PCC 0.2群及びPCC 0.4群の各群間に差は認められなかった。Fib1.5群及びFib1.5+PCC 0.2群では、各々55.7 mm、57.8 mmで希釈群、PCC 0.2群及びPCC 0.4群に比べ有意に増加した。Fib1.5群とFib1.5+PCC 0.2群は群間に差は認められなかったが、Fib 1.5群は対照と比べ有意に低値を示し、Fib 1.5+PCC 0.2群は対照と有意差は認められなかった。この2つのFib添加群はMAを有意に増大するが、PCCと同時投与により、さらにその傾向が増すことが示唆された。

Ly60値については、対照では2.6%、希釈により4.2%と有意に増加した。PCC 0.2群、PCC 0.4群、Fib1.5群及びFib1.5+PCC 0.2群は各々2.7%、3.0%、2.1%及び1.2%と希釈群と比べ有意に減少した。PCC 0.2群、PCC 0.4群及びFib1.5群はそれぞれ対照と比べ、有意差は認められなかったが、Fib1.5+PCC 0.2群は対照より、さらに有意な減少が認められた。また、Fib1.5+PCC 0.2群と、PCC 0.2群、PCC 0.4群及びFib1.5群との各々の群間比較ではFib1.5+PCC 0.2群の有意な減少が認められた。PCC 0.2群とPCC 0.4群との群間に有意差は無かったが、線溶抑制作用に関してはPCC0.2群ではばらつきが大きく、PCC 0.4群では安定した線溶抑制作用が認められた。こうした点からPCC群Fib群いずれも上昇したLy60値を濃度依存性に減少して線溶を抑えようと考えられる。さらに、PCCとFibとの同時投与でより強力に線溶を抑制することが示唆された。

2. 実験IIの成績: 第IX因子複合体およびフィブリノゲンが出血400 mL以上を伴う輸液2 L以上の症例血液のTEG[®]

とプラスミン-プラスミンインヒビター複合体 (PIC) に及ぼす作用 (ex vivo study) を Table 2 に示した。

MA 値については、対照では 63.7 mm, 希釈により 62.3 mm, PCC 0.2 群, PCC 0.4 群では、それぞれ 59.9 mm, 58.8 mm と MA 値を増大せず、むしろ減少する傾向が認められた。Fib1.5 群と Fib1.5 + PCC 0.2 群では、それぞれ 67.7 mm, 69.2 mm と対照及び希釈群と有意差は認められなかった。しかし、Fib1.5 群が PCC 0.4 群と比べ、また Fib1.5 + PCC 0.2 群が PCC 0.2 群と比べ、それぞれ有意に増大した。

Ly60 値については、対照は 45.4%, 希釈により 66.5% と有意に増大し線溶が亢進した。PCC 0.2 群及び PCC 0.4 群では各々 58.8%, 50.6% と Ly60 を減少する傾向が認められたが、各々希釈群との有意差は無く、また、この両群間にも有意差は認められなかった。Fib1.5 群及び Fib1.5 + PCC 0.2 群は各々 40.8%, 29.3% と希釈群に比べ有意な減少が認められた。また、この 2 群間に有意差は認められなかったが、Fib1.5 群は PCC 0.2 群と PCC 0.4 群との各々の

群に比べ有意差は無く、Fib1.5 + PCC 0.2 群は PCC 0.2 群と PCC 0.4 群との各々の群に比べ有意な減少が認められた。凝固因子の濃度依存性に線溶を抑制する傾向が認められたと同時に、PCC 単独では Ly60 を減少出来ないが、Fib と同時投与で強力に線溶を抑制することが示唆された。

PIC 量については、対照では 18.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 希釈により 38.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と有意に増大し線溶が亢進した。PCC 0.2 群は 30.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で、減少する傾向が認められたが、希釈群と有意差は無かった。PCC 0.4 群では 24.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と希釈群と比べ有意に減少した。従って、PCC 0.2 群と PCC 0.4 群の両群間に差は認められなかったが、PCC は濃度依存性に抗線溶作用を有する傾向が認められた。Fib1.5 群及び Fib1.5 + PCC 0.2 群では、各々 23.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 17.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と希釈群と比べ有意に減少した。また、この 2 つの Fib 群間には有意差は認められなかった。また Fib1.5 群は PCC 0.2 群と PCC 0.4 群との各々と有意差は無く、Fib1.5 + PCC 0.2 群は PCC 0.2 群に比べ有意に PIC 量を減少させたが、PCC 0.4 群に比べ差は無かった。Fib 群も凝固因子濃度依存性に線溶を抑制する傾向が示唆された。

Table 1.

Effects of PCC and Fib on TEG [®] (MA and Ly60) of 40 % diluted blood.		
	MA (mm)	Ly60 (%)
Control	61.3 \pm 4.1	2.6 \pm 1.2
Diluted blood (dilution group)	50.9 \pm 3.1†	4.2 \pm 0.6†
Diluted blood + PCC 0.2 IU/mL (PCC 0.2 group)	47.2 \pm 1.2†	2.7 \pm 1.2*
Diluted blood + PCC 0.4 IU/mL (PCC 0.4 group)	46.7 \pm 1.2†	3.0 \pm 0.6*
Diluted blood + Fib 1.5 g/L (Fib 1.5 group)	55.7 \pm 1.9†*‡§	2.1 \pm 0.5*
Diluted blood + Fib 1.5 g/L + PCC 0.2 IU/mL (Fib 1.5 + PCC 0.2 group)	57.8 \pm 5.0*‡§	1.2 \pm 0.6†*‡§#

All values are expressed as mean \pm SD.
 †p < 0.05 vs. Control
 *p < 0.05 vs. Diluted blood
 ‡p < 0.05 vs. Diluted blood + PCC 0.2 IU/mL
 §p < 0.05 vs. Diluted blood + PCC 0.4 IU/mL
 #p < 0.05 vs. Diluted blood + Fib 1.5 g/L

Table 2.

Effects of PCC and Fib on TEG [®] (MA and Ly60) and PIC in case of more than 400 mL of the amount of bleeding and more than 2 L of fluid administration.			
	MA (mm)	Ly60 (%)	PIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Control	63.7 \pm 3.3	45.4 \pm 11.7	18.2 \pm 5.9
Diluted blood (dilution group)	62.3 \pm 6.6	66.5 \pm 13.8†	38.1 \pm 16.5†
Diluted blood + PCC 0.2 IU/mL (PCC 0.2 group)	59.9 \pm 8.1	58.8 \pm 13.8	30.9 \pm 14.3†
Diluted blood + PCC 0.4 IU/mL (PCC 0.4 group)	58.8 \pm 8.9	50.6 \pm 16.6	24.8 \pm 13.2*
Diluted blood + Fib 1.5 g/L (Fib 1.5 group)	67.7 \pm 4.9§	40.8 \pm 25.1*	23.4 \pm 13.2*
Diluted blood + Fib 1.5 g/L + PCC 0.2 IU/mL (Fib 1.5 + PCC 0.2 group)	69.2 \pm 6.8*‡§	29.3 \pm 23.5*‡§	17.5 \pm 9.1*‡

All values are expressed as mean \pm SD.
 †p < 0.05 vs. Control
 *p < 0.05 vs. Diluted blood
 ‡p < 0.05 vs. Diluted blood + PCC 0.2 IU/mL
 §p < 0.05 vs. Diluted blood + PCC 0.4 IU/mL

考 察

大量の出血とそれを補正するための輸液での血液希釈により線溶亢進状態が引き起こされることが実験Iのin vitroモデルと、実験IIのex vivoモデルで示された。

実験Iでは、PCCはMAを増大出来なかったが、亢進した線溶を抑制することは出来た。実験IIでも、PCCは実験Iと同様にMAを増大出来ず、希釈時にはPCCのみではclotの量を増加させないことが示された。実験IIの抗線溶作用について、PCC 0.2 IU/mLは線溶を抑えられなかったが、Fibの入った2群とPCC 0.4 IU/mL群は線溶を抑えることが出来、PCCは濃度依存性に抗線溶作用を示した。また、PCC 0.2 IU/mLは単独での抗線溶作用は必ずしも大きくないが、Fib 1.5 g/Lと同時投与で、線溶を強く抑制する傾向が示された。

PCCのトロンビン生成については多くの報告^{8,9)}がある。ワーファリンの抗プロトロンビン効果の拮抗に関して、PCC投与による拮抗とFFPによる20%希釈血液による拮抗との比較において、PCC 0.3 IU/mL投与の方がプロトロンビンの供給のみならず、トロンビン生成についても勝っていたとの報告がある⁹⁾。PCCはトロンビンを産生して、産生されたトロンビンはトロンボモジュリンと結合し、このトロンボモジュリン結合トロンビンがTAFIを活性化する。活性化したTAFIaがFibのC末端リジン(carboxy-terminal lysine residues)を選択的に切除して、Fibとプラスミノゲンの結合を阻害し、線溶が抑制されたと推察される¹⁰⁾。

FibによるMAの増大と抗線溶効果につき、血小板とFib及び第13因子、それぞれの量および活性度が高いほど、MAを増大させるとの報告がある¹¹⁾。今回Fibの添加がフィブリンの重合を促して、プラスミンが作用して溶かす対象であるフィブリンが増え、MAが増大し、同時に、抗線溶効果が示されたと考察される。

希釈血液の増大した線溶度よりもPCCおよびFibの線溶耐性が遙かに勝った場合、Ly60およびPICの値がゼロを示す可能性があり、PCCおよびFibの線溶耐性を正確に把握できない。従って実験IIにおいては、対照の測定時から全ての測定において、凝固反応を壊さない程度の一定量のtPAを使用して、コントロールされた線溶増大状態を作成した^{12,13)}。これによりPCCおよびFibの線溶耐性を正しく捉えることが可能となった。結果は、Ly60およびPICで測定値が対照群の値以下が示されたものの、ゼロが示されたものは無く、tPAの使用は有意義であったと推察される。

トロンボモジュリンは主に血管内皮細胞で作られるが、血小板にも存在してトロンビンによる血小板凝集を阻止し、正常時の血管内での血流維持に関与していると考えられている¹⁴⁾。血管内皮細胞を有しない系であるTEGを用いた測定でも、全血を使用した本研究へのトロンボモジュリンの関与は十分に考えられる。

結 語

1. 大量出血を補う輸液療法による血液希釈は線溶亢進状態を引き起こしたが、PCCとFibの同時投与は、それら各々の単独投与に比べて、血液希釈およびtPAにより増大した線溶亢進状態を最も効果的に抑制した。
2. PCCはトロンビン生成を増加させる可能性があるのに対し、Fibは凝血塊の量を増加させる。

引用文献

- 1) Hiippala ST, Myllyla GJ, Vahtera EM. Hemostatic factors and replacement of major blood loss with plasma-poor red cell concentrates. *Anesth Analg* 1995;81:360-5.
- 2) Stainsby D, MacLennan S, Hamilton PJ. Management of massive blood loss: a template guideline. *Br J Anaesth* 2000;85:487-91.
- 3) Bolliger D, Szlam F, Levy JH, Morinano RJ and Tanaka KA. Haemodilution-induced profibrinolytic state is mitigated by fresh-frozen plasma: implications for early haemostatic intervention in massive haemorrhage. *Br J Anaesth* 2010;104:1-8.
- 4) Liebenberg C, Goddard A, Wiinberg B, Kjelgaard-Hansen M, van der Merwe LL, Thompson PN, et al. Hemostatic abnormalities in uncomplicated babesiosis (*Babesia rossi*) in dogs. *J Vet Intern Med* 2013 Jan-Feb;27(1):150-6.
- 5) Epstein KL, Brainard BM, Gomez-Ibanez SE, Lopes MA, Barton MH, Moore JN. Thrombelastography in horses with acute gastrointestinal disease. *J Vet Intern Med* 2011 Mar-Apr;25(2):307-14.
- 6) Tanaka KA, Szlam F, Dickneite G, & Levy JH. Effects of prothrombin complex concentrate and recombinant activated factor VII on vitamin K antagonist induced anticoagulation. *Thromb Res* 2008;122(1):117-23.
- 7) Bolliger D, Szlam F, Molinaro RJ, Rahe-Meyer N, Levy JH, & Tanaka KA. Finding the optimal concentration range for fibrinogen replacement after severe haemodilution: an in vitro model. *British Journal of Anaesth* 2009;102(6):793-9.
- 8) Sadeghi N, Kahn D, Sayed D, Hoppenstadt D, Jeske W, Harenberg J, et al. Compositional differences in commercially available prothrombin complex concentrates. *Clin Appl Thromb Hemost* 2014 Apr;20(3): 256-69.
- 9) Ogawa S, Szlam F, Ohnishi T, Molinaro RJ, Hosokawa K, Tanaka KA. A comparative study of prothrombin complex concentrates and fresh-frozen plasma for warfarin reversal under static and flow conditions. *Thromb Haemost* 2011 Dec;106(6):1215-23.
- 10) Bajzar L, Morser J, Nesheim M. TAFI, or plasma

procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. *J Biol Chem* 1996; 271:16603-8.

- 11) Yoo Goo Kang. Monitoring and treatment of coagulation. In: Winter PM, Kang YG, editors. *Hepatic transplantation, anesthetic and perioperative management*. New York: Praeger Publishers; 1986. p.151-73.
- 12) Tanaka KA, Taketomi T, Szlam F, Calatzis A, Levy JH.

Improved clot formation by combined administration of activated factor VII (NovoSeven) and fibrinogen (Haemocomplettan P). *Anesth Analg* 2008;106:732-8.

- 13) 小川 覚, 川崎 潤, 田中 健一. トロンボエラストメトリーを用いた周術期止血管理. *血栓止血誌* 2010;21(6):553-61.
- 14) 鈴木 宏治. トロンボモジュリンとプロテインC. *Thrombosis Medicine* 2012;2:10-7.