

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2008年5月29日 (29.05.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/062520 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/86 (2006.01)

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2006/323302

(22) 国際出願日: 2006年11月22日 (22.11.2006)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人および

(72) 発明者: 川崎潤 (KAWASAKI, Jun) [JP/JP]; 〒1580087
東京都世田谷区玉堤1丁目2番13号 Tokyo (JP).

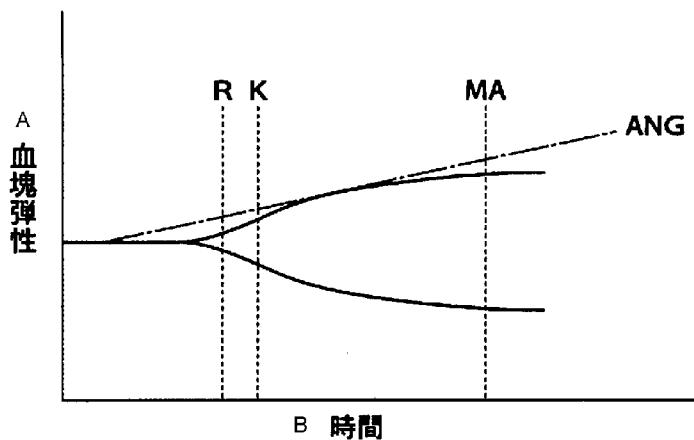
(74) 代理人: 生田哲郎, 外 (IKUTA, Tetsuo et al.); 〒1060032 東京都港区六本木1丁目9番9号 六本木ファーストビル7F 生田・名越法律特許事務所 Tokyo (JP).

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 國際調査報告書

(54) Title: DRUG EFFICACY TESTING METHOD FOR ANTITHROMBOTIC AGENT

(54) 発明の名称: 抗血栓薬効試験方法



A CLOT ELASTICITY

B TIME

(57) Abstract: It is intended to provide a testing method for conducting a drug efficacy test for an antithrombotic agent rapidly and simply. It is a drug efficacy testing method for an antithrombotic agent in which thromboelastograph is measured in a system in which an aqueous solution of calcium chloride, an anticoagulant solution and physiological saline are added to blood collected from a patient administered with the antithrombotic agent (X system blood) and a system in which an aqueous solution of calcium chloride, an anticoagulant solution and a platelet activator solution are added to the blood (Y system blood) and R values of the X system blood and the Y system blood are compared, characterized in that the same amount of calcium chloride and the same kind and the same amount of the anticoagulant are added to the X system blood and the Y system blood, respectively.

[続葉有]

WO 2008/062520 A1



(57) 要約: 【課題】 抗血栓薬葉効試験を迅速、かつ簡便に行うための試験方法を提供しようとするものである。
【解決手段】 抗血栓薬の投与を受けている患者から採取した血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水を加えた系（X系血液）、前記血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液を加えた系（Y系血液）につき、トロンボエラストグラフを測定し、X系血液及びY系血液のR値を比較する抗血栓薬葉効試験方法であって、系血液及びY系血液に添加する塩化カルシウムは同量、抗凝固剤は同種のものを同量それぞれに加えることを特徴とする抗血栓薬葉効試験方法である。

明細書

抗血栓薬薬効試験方法

技術分野

[0001] 本発明は、抗血栓薬薬効試験方法に関するものである。更に詳しくは、治療に投与中の抗血栓薬の薬効を迅速かつ簡易に判定するための抗血栓薬薬効試験方法に関する。

背景技術

[0002] 血栓塞栓は、心臓又は血管の中で血液が固まった状態のことをいう。血栓塞栓により血液が止まると、その血管で養われている部分に病変を生じ、致命傷になり得るので、血栓塞栓を防止するため抗血栓薬が必要なものとなっている。一方、抗血栓薬、抗血小板作用薬の薬効の判定に関しては、血液中にトロンビンという強大な血小板活性賦活剤が存在するので、元来、抗血小板作用剤の薬効を明確に判定することが困難で、有効な判定手段が無いのが実情であった。

[0003] 本発明者は、抗凝固剤の存在下にトロンボエラストグラフ上で、血餅形成の度合いを測定する方法が、血小板活性賦活剤が血液凝固促進の原因になっている場合、抗血小板作用剤がどのように血液凝固の促進を阻害するのかを検定、試験する方法として適しているのではないかと考えて、抗血栓薬薬効試験法を完成させ特許出願(特願2005-149183(特許文献1))した。その要旨は、抗血栓薬の投与を受けている患者から採取した血液の一部にヘパリン又はアルガトロバン等の抗凝固剤を加えた系(X系血液)、前記血液の一部に前記抗凝固剤及びアデノシン二リン酸又はコラーゲン等の血小板活性剤を加えた系(Y系血液)につき、同時にトロンボエラストグラフを測定し、X系血液及びY系血液のR値を比較して、Y系血液のR値がX系血液のR値に比し、有意に短縮した場合、抗血栓療法として薬効は有効でないと判定し、Y系血液のR値がX系血液のR値と有意差がなければ抗血栓療法としての薬効は有効であると判定するものである。

[0004] 特許文献1:特願2005-149183

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] 採取した血液の凝固時間は人により、また同一人でも摂取している医薬の種類や量によって異なるという性質をもっている。従来の方法では、このような多種多様な血液について抗血栓薬効試験を行うに際しては、事前に血液の凝固時間等を把握しておく必要があり、この事前試験のために相当の時間を要していた。本発明は、有効、確実且つ迅速に実施するための、抗血栓薬効試験方法を提供しようとするものである。即ち、本発明は、事前試験に要する時間を短縮して、多種多様な血液の抗血栓薬効試験を有効、確実且つ迅速に実施するための抗血栓薬効試験方法を提供しようとするものである。更に、専門的な知識を有しない者でも、容易、正確、迅速かつ簡便に測定可能な抗血栓薬効試験方法を提供しようとするものである。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明の要旨を箇条書きで示すと、以下のようになる。

[1]抗血栓薬の投与を受けている患者から採取した血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水を加えた系(X系血液)、前記血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液を加えた系(Y系血液)につき、トロンボエラストグラフを測定し、X系血液及びY系血液のR値を比較する抗血栓薬効試験方法であって、

血液に加える塩化カルシウムは、X系血液、Y系血液ともに、同量であり、同じく血液に加える抗凝固剤は、X系血液、Y系血液ともに、同種のもの同量であることを特徴とする抗血栓薬効試験方法。

[2]前記抗凝固剤液がヘパリン(未分化ヘパリン、低分子ヘパリン)水溶液又はアルガトロバンの水溶液であることを特徴とする[1]に記載の抗血栓薬効試験方法。

[3]前記ヘパリン水溶液を含有させる終濃度が0.01(U/mL)から0.1(U/mL)の範囲であり、アルガトロバン水溶液を含有させる終濃度が0.1(μg/mL)から5.0(μg/mL)の範囲であることを特徴とする[2]に記載の抗血栓薬効試験方法。

[4]前記ヘパリン水溶液、アルガトロバン水溶液を含有させる終濃度を、予め経験的に求めたACT値と加えるべきヘパリン水溶液、アルガトロバン水溶液の終濃度の関

係から決定し、該決定した終濃度でヘパリン水溶液、アルガトロバン水溶液を含有させることを特徴とする[3]に記載の抗血栓薬効試験方法。

[5]前記血小板活性剤液がアデノシン二リン酸(ADP)水溶液又はコラーゲン水溶液であることを特徴とする[1]から[4]のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

[6]前記アデノシン二リン酸水溶液を含有させる終濃度が $6.0 \mu M$ 以上、前記コラーゲン水溶液を含有させる終濃度が $1.0 \mu g/mL$ 以上であることを特徴とする[5]に記載の抗血栓薬効試験方法。

[7]X系血液において、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の添加量はZ=1の場合は $30 \mu L$ 、Z=2の場合は $40 \mu L$ とし、 $1 < Z < 2$ の場合は「 $30 + (40 - 30) \times (Z - 1)$ 」 μL であり、Y系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の各試薬の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の添加量はZ=1の場合は $30 \mu L$ 、Z=2の場合は $40 \mu L$ とし、 $1 < Z < 2$ の場合は「 $30 + (40 - 30) \times (Z - 1)$ 」 μL であることを特徴とする[1]から[7]のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

[8]前記X系血液及びY系血液に更に血液凝固促進剤としてアクチニン水溶液を終濃度 $0.5 ng/mL$ から $2.5 ng/mL$ の範囲で含有させることを特徴とする請求項1から[6]に記載の抗血栓薬効試験方法。

[9]X系血液において、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の添加量はZ=1の場合は $40 \mu L$ 、Z=2の場合は $50 \mu L$ とし、 $1 < Z < 2$ の場合は「 $40 + (40 - 30) \times (Z - 1)$ 」 μL であり、

Y系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の添加量はZ=1の場合は $40 \mu L$ 、Z=2の場合は $50 \mu L$ とし、 $1 < Z < 2$ の場合は「 $40 + (40 - 30) \times (Z - 1)$ 」 μL であることを特徴とする[8]に記載の抗血栓薬効試験方法。

[10]X系血液において、 $0.18M$ 塩化カルシウム水溶液を1容量～2容量、抗凝固

剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で含有させ、Y系血液において、0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量～2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液を1容量の割合で含有させることを特徴とする[1]から[9]のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

[11]X系血液において、0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で含有させ、Y系血液において、0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液を1容量の割合で含有させることを特徴とする[1]から[9]のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

[12]X系血液において、0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で含有させ、Y系血液において、0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液を1容量の割合で含有させることを特徴とする[1]から[9]のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

発明の効果

[0007] 本発明は、抗血栓薬の投与を受けている患者から採取した血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水を加えた系(X系血液)、前記血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液を加えた系(Y系血液)につき、トロンボエラストグラフを測定し、X系血液及びY系血液のR値を比較する抗血栓薬効試験方法であって、X系血液及びY系血液に添加されている塩化カルシウムは同量、同抗凝固剤は同種のもの同量であることを特徴としている。抗血栓薬効試験方法を上記のように構成することにより、事前試験に要する時間を短縮し、多種多様な血液の抗血栓薬効試験を有効、迅速且つ正確に実施できるという効果を奏する。特に、抗血栓薬効試験に要する時間を短くできるという効果を奏する。更に、予め経験的に得たACT値と加えるべき抗凝固剤液の終濃度の関係を用い、専門的知識を有しない者でも、容易、正確、迅速かつ簡便に抗血栓薬効試験を行うことができるという効果を奏する。

発明を実施するための最良の形態

[0008] 以下、本発明を実施形態に基づいて説明する。まず、抗血栓薬効試験法の手順について説明する。1) 抗血栓薬と共に抗血小板薬を服用している患者の血液をクエン酸サンプルとして採取する。その際、如何ほどの凝固時間有する血液かを、判別するために米国ITC社製Hemochron(ヘモクロン)によりActivated Coagulation Time (ACT)を測定するか、他の血液凝固計により凝固時間を測定する。その血液の凝固時間(トロンボエラストグラフ上のR値とほぼ同義)を30~40分にひきのばす(トロンビンを一部抑制するか、生成を遅らせる意味を有する)ために、抗凝固剤として使用するアルガトロバン又はヘパリンの量をヘモクロンからのACTの数値(正常成人では105~150)又は他の血液凝固計による凝固時間から推察し、決定する。2) トロンボエラストグラフ上にて、クエン酸血液サンプルの凝固をスタートさせるために、試薬を添加する。即ち、第1チャンネル(X系血液を測定チャンネル)においては、該血液に、塩化カルシウム(以下、塩カルと省略することがある)水溶液、ACT値から決定した量の抗凝固剤液、生理食塩水(以下、生食とも称する)を加え、第2チャンネル(Y系血液を測定するチャンネル)においては、該血液に、塩化カルシウム水溶液、ACT値から決定した量の抗凝固剤液、血小板凝集賦活剤液を加えて、それぞれ同時にトロンボエラストグラフを測定する。ここで特にR値に注目する。尚、第1チャンネルをX系血液の測定チャンネルとし、第2チャンネルをY系血液を測定するチャンネルとしたが、第2チャンネルをX系血液の測定チャンネルとし、第1チャンネルをY系血液の測定するチャンネルとすることもできることは言うまでもない。3) 第1チャンネル及び第2チャンネルのR値を比較して、有意差があれば、第2チャンネルでの血小板刺激が第2チャンネルでの凝血塊形成を促進したことになり、この血液の血小板活性は大きく、抑制されていないと判定する。有意差が無ければ、第2チャンネルでの血小板刺激が第2チャンネルでの凝血塊形成を促進できず、この血液の血小板活性は小さく、十分に抑制されていると判定する。尚、1)で決定する抗凝固剤液として使用するアルガトロバン水溶液又はヘパリン水溶液の量は、予め経験的に求めたACT値と添加すべきアルガトロバン水溶液又はヘパリン水溶液の至適量の関係を参照して決定する。ACT値と添加すべきアルガトロバン又はヘパリンの至適量(終濃度)を経験的に求めたものを、表11及び表12に示した。また、試薬類は一般的に称する場

合は、抗凝固剤のように剤なる文言としたが、抗血栓薬効試験用試薬として使用する場合は、抗凝固剤液のように剤液と液なる文言を付した。

[0009] [表11]

ACT値	ヘパリン終濃度 (U/mL)
110～140	0.06
135～160	0.05
155～175	0.04
170～200	0.03
195～215	0.02
210以上	0.01

[0010] [表12]

ACT値	アルガトロバン終濃度 (μg/mL)
110～130	3.0
120～140	2.5
135～160	2.0
155～175	1.5
165～185	1.0
180～195	0.75
195～210	0.50
200～215	0.30
210以上	0.10

[0011] トロンボエラストグラフについて簡単に説明する。トロンボエラストグラフは、血液の凝固過程を全血での血塊弾性でみる装置である。血塊弾性値を縦軸にとりその時間変化を横軸にとってグラフを描いたものを図1に示した。図1のような測定図に基づいて、血塊弾性値の巾が2mmになった時点を反応時間R値、血塊弾性値の巾が20mmになった時点を凝固時間K値、血塊弾性値の巾の最大振幅MA値及び血塊弾性の変化のグラフで接線を引いたときの角度ANG値等が数値として得られる。測定の操作自体は、血液をキュベットに入れて、測定を開始するという簡単なものとなつてい

る。尚、トロンボエラストグラフは米国ヘモスコープ社製トロンボエラストグラフC-TE G3000T型機及びペンタファーム社製ローテム-GAMMA-を使用した。

- [0012] トロンボエラストグラフを使用する試験法について説明する。1)測定にはトロンボエラストグラフを用いる。使用するトロンボエラストグラフは、少なくとも測定部が2チャンネル以上を有するもので、測定液量は0.36mL前後である。2)抗血栓薬を投与されている患者の血液を、凝固検査用採血管に採取する。通常、凝固検査用採血管には、凝血が始まらないようにクエン酸が混入されている。3)トロンボエラストグラフの第1チャンネルに、塩化カルシウム水溶液、血液、抗凝固剤液及び生理食塩水を加える。この際、塩化カルシウムは、採血管内に混入していたクエン酸によって不活性化されたカルシウムを再活性化させ、凝血を開始するためのものである。4)トロンボエラストグラフの第2チャンネルに、塩化カルシウム水溶液、血液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液を加える。5)第1チャンネルと第2チャンネルを同時にトロンボエラストグラフで測定し、トロンボエラストグラフ上のR値を比較する。6)第2チャンネルのR値が第1チャンネルのR値に比し、有意に短縮した場合、投与中の抗血栓薬による薬効は有效でないと判断される。7)第2チャンネルのR値が第1チャンネルのR値と有意差がない場合、投与中の抗血栓薬による薬効は有効と判断される。
- [0013] 抗血栓薬薬効試験に使用する血液及び試薬の液量について、説明する。血液に加える試薬の量は、X系血液、Y系血液ともに、規定の容量比である。血液に加える塩化カルシウムは、X系血液、Y系血液ともに、その濃度と量は同一である。抗凝固剤液も、X系血液、Y系血液ともに、同じ種類のもの同濃度で同量である。試験に使用するX系血液の量とY系血液の量は同じである。血液に加える塩化カルシウムは、X系血液、Y系血液ともに、抗凝固剤液1容量、生理食塩水1容量に対して、0.18M塩化カルシウム水溶液(静注用として市販されている20mL内に塩化カルシウム0.4g含むもの;大塚製薬、扶桑薬品、三晃など)の場合容量1以上2以下の割合で加え(この場合、0.18M塩化カルシウム水溶液の容量は1.0、1.5、2.0など何れでもよい)、0.2M塩化カルシウム水溶液の場合は容量2の割合で加え、0.4M塩化カルシウム水溶液の場合は容量1の割合で加える。
- [0014] 抗凝固剤は、ヘパリン(未分化ヘパリン、低分子ヘパリン)又はアルガトロバンを用

いる(いずれも凝固因子IIa抑制作用を有すもの)。ヘパリン又はアルガトロバンの終濃度が、ヘパリンは0. 01(U/mL)から0. 1(U/mL)(容量の単位であるリットルは通常Lの筆記体の小文字が使用されるが、Lの小文字lは数字の1と間違いやさしいので、ここでは容量の単位リットルはLで示した)になるように、アルガトロバンの終濃度が0. 1(μg/mL)から5. 0(μg/mL)になるように加える。そして、実際に添加する量は、測定対象者血液の凝固時間の長さにより調節する必要があり、抗血栓薬服用者の特殊な血液に対処するため、濃度の異なる多種類の抗凝固剤液を作成しておくのが好ましい。前もって用意しておく濃度としては、ヘパリンでは、0. 01、0. 02、0. 03、0. 04、0. 05、0. 06、0. 07、0. 08、0. 09、0. 1の10種類の各濃度(単位はいずれもU/mL)の試薬を作成し用意しておくのがよい。アルガトロバンでは、0. 1、0. 3、0. 5、0. 75、1. 0、1. 5、2. 0、2. 5、3. 0、3. 5、4. 0、4. 5、5. 0の13種類の濃度(単位はいずれもμg/mL)の試薬を作成し用意しておくのがよい。

[0015] 血小板活性剤は、アデノシン二リン酸(ADP)又はコラーゲンを用いる。ADPは、その終濃度が6 μM以上になるように加える。また、コラーゲン(COL)は、その終濃度が1. 0 μg/mL以上になるように加える。ADPは、少なくとも、終濃度6 μM以上加えれば、トロンボエラストグラフの測定は問題なく行うことができる。同様に、コラーゲンも、少なくとも、終濃度1. 0 μg/mL以上加えれば、トロンボエラストグラフの測定は問題なく行うことができる。それぞれ使用量の上限値は特に無いが、実際上は、使用量として、ADPでは終濃度10 μM程度、コラーゲンでは終濃度10 μg/mL程度が最大添加量となる。

[0016] トロンボエラストグラフのカップ内への試薬添加量は、X系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液、生理食塩水の各試薬の容量比が1:1:1の場合は30 μL、1. 5:1:1の場合35 μL、2:1:1の場合40 μLである。この添加量のちがいは試薬に占める塩化カルシウムの容量によって決定するものであり、例えば、試薬の混合比が仮に1. 3:1:1の場合添加する試薬量は33 μLとなる。これを一般化すると、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液、生理食塩水の各試薬の容量比がZ:1:1の場合、試薬添加量はZ=1の場合は30 μL、Z=2の場合は40 μLとし、1<Z<2の場合は「30+(40-30)×(Z-1)」μLになる。Y系血液においては、塩化カルシウム

水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の各試薬の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の添加量はZ=1の場合は $30 \mu\text{L}$ 、Z=2の場合は $40 \mu\text{L}$ とし、 $1 < Z < 2$ の場合は「 $30 + (40 - 30) \times (Z - 1)$ 」 μL になる。

- [0017] トロンボエラストグラフの測定を安定に行うために、血液凝固促進剤としてアクチンを加えることができる。抗凝固剤の添加量が多くなった場合、トロンボエラストグラフの測定時間が長くなることがある。このような場合、アクチンを添加しておくと、適当な時間内でトロンボエラストグラフの測定を行うことができる。アクチンは終濃度で $0.5\text{ng}/\text{mL} \sim 2.5\text{ng}/\text{mL}$ 含有させるのが好ましい。また、アクチンを加える場合は、血液に加える塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液、生理食塩水等の試薬の添加量は、アクチンを加えない場合よりも $10 \mu\text{L}$ 多くなる。
- [0018] トロンボエラストグラフの測定器には、Haemoscope 社(Niles, IL, USA)のトロンボエラストグラフとPentapharm 社(ミュンヘン、ドイツ)のローテムの2社の測定器があり、それぞれで使用する血液量が異なる。ヘモスコープ社のトロンボエラストグラフは、全体量を 0.36mL と規定し、薬剤を添加する場合、1薬剤につき $10 \mu\text{L}$ として、その中に終濃度を定めて添加する。そして加える血液量はその分、減らして添加する。例えば、抗凝固剤液と血小板賦活剤液を添加する場合、それぞれ $10 \mu\text{L}$ 、合計 $20 \mu\text{L}$ が薬剤として加えられ、さらに、ヘモスコープ社が推奨する 0.2M 塩化カルシウム水溶液 $20 \mu\text{L}$ が加わるために、血液量は 0.36mL から $40 \mu\text{L}$ を減じた 0.32mL となる。ペンタファーム社のローテムにおいては、添加する血液量は 0.30mL と常に一定であり、塩化カルシウムとしてはトロンボエラストグラフと同様に 0.2M 塩化カルシウム水溶液 $20 \mu\text{L}$ を推奨しており、さらに今回の場合アルガトロバンとコラーゲンが、それぞれ $10 \mu\text{L}$ 加わり、全体として 0.34mL となる。
- [0019] ペンタファーム社のローテムの血液添加法に従う場合、本試薬の最大添加量は塩化カルシウムを含めて $40 \mu\text{L}$ であり、これに常に 0.3mL の血液を加えると最大 0.34mL 、最低 0.33mL となり全く問題はない。次に、ヘモスコープ社のトロンボエラストグラフの血液添加法に従う場合、血液 0.33mL に試薬最大量 $40 \mu\text{L}$ を添加すると 0.37mL となり、トロンボエラストグラフの最大容量 0.36mL を $10 \mu\text{L}$ 超えてしまうが、

ローテムにおいてローテム用に市販しているある1種類の試薬と塩化カルシウムを加えると0.375mLになるものがあること、およびトロンボエラストグラフの全体量を0.38mLにして測定したデータを発表している研究を散見できることなどから、この全体量でも正確なデータを得ることが可能と考えられることから、抗血栓薬薬効試験において添加する血液量を規定するにあたり、以上の2社の血液添加法の違いに鑑み、この2社の方法を合わせて採用して、この試験についての血液添加量は0.30mLから0.33mLまでの量を添加する。

[0020] カオリン塗布カップ、ピンを含むカオリン製剤またはセライト(Celite)バイアルまたはセライト製剤の使用は、カオリンおよびセライトの同量、同濃度など同じ条件下で可能であるにとどまらず、むしろ推奨される。更に、血液凝固促進剤(アクチン)を含有する試薬の使用及びカオリン塗布カップ、ピンなど血液凝固促進剤の使用は、安定した測定を可能にするという特徴がある。

実施例 1

[0021] 塩化カルシウム水溶液の添加量について、先ず、ペンタファーム社のローテムの血液添加法に従った場合の実施例に基づいて説明する。

[0.18M塩化カルシウム水溶液]

ペンタファーム社のローテムの血液添加法に従って、血液量0.3mLに、本試薬の代用量として生食20 μ Lを加え、更に0.18M塩化カルシウムを所定量加えた場合のR値を測定した。R値は、(mean \pm SD)で示した。R値の測定結果は、表1に示した。即ち、クエン酸血液をrecalcified(クエン酸によってカルシウムが抑制され、フィブリンがブロックされて、凝固が始まらなくなっているところに、再びカルシウムを与えて、凝固をスタートさせる)するために0.18M塩化カルシウムの至適量を調べた実施例である。方法は0.18M塩化カルシウム5 μ L、10 μ L、20 μ L、30 μ Lのそれぞれに、全血液0.3mLと今回加える試薬の1部であるアルガトロバン又はヘパリン及びコラーゲン又はADPに模した用量を各生理食塩水10 μ L、計20 μ Lの生理食塩水を加えて血液凝固が進行する具合を測定した。測定を始めてからトロンボエラストグラフ上のR点(凝固の始まりを示すポイント)が現れる時間(分)を測定した。R値は、(mean \pm SD:平均値 \pm 標準偏差)で示した。以下の、実施例にても、R値は(mean

\pm SD)で示した。表1に示したトロンボエラストグラフの測定結果から、0. 18M塩化カルシウムを使用する場合、添加量は10 μ Lと20 μ Lが至適量であることがわかる。0. 18M塩化カルシウム5 μ Lでは少なすぎ、0. 18M塩化カルシウム30 μ Lでは多すぎて、いずれも凝固が始まるポイントであるR点は遅くなっている。

[0022] [表1]

0. 18 M 塩化カルシウム溶液添加量 (μ L)	R (min)
0. 18 M 塩化カルシウム 5 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	23. 5 \pm 6. 6 * †
0. 18 M 塩化カルシウム 10 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	8. 0 \pm 5. 0
0. 18 M 塩化カルシウム 20 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	8. 5 \pm 5. 8
0. 18 M 塩化カルシウム 30 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	16. 9 \pm 10. 2 * †

* : 10 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$), † : 20 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0023] [0. 20M塩化カルシウム水溶液]

この実施例は、クエン酸血液をrecalcifiedするために0. 2M塩化カルシウムの至適量を調べた実施例である。方法は0. 2M塩化カルシウム5 μ L、10 μ L、20 μ L、30 μ Lのそれぞれに、全血0. 3mLと今回加える試薬の1部であるアルガトロバン又はヘパリン及びコラーゲン又はADPに模した用量を各生理食塩水10 μ L、計20 μ Lの生理食塩水を加えて、血液凝固が進行する具合を測定した。測定を始めてからトロンボエラストグラフ上のR点(凝固の始まりを示すポイント)が現れる時間(分)を測定した。測定結果は表2に示した。R値は、(mean \pm SD:平均値 \pm 標準偏差)で示した。表2から、0. 2M塩化カルシウム20 μ Lが至適量であることがわかる。0. 2M塩化カルシウム5 μ L、10 μ Lでは少なすぎ、0. 2M塩化カルシウム30 μ Lでは多すぎて、いずれも凝固が始まるポイントであるR点が遅くなった。

[0024] [表2]

0. 2 M 塩化カルシウム溶液添加量 (μ L)	R (min)
0. 2 M 塩化カルシウム 5 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	26. 5 \pm 6. 6 *
0. 2 M 塩化カルシウム 10 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	8. 5 \pm 5. 9 *
0. 2 M 塩化カルシウム 20 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	5. 4 \pm 3. 7
0. 2 M 塩化カルシウム 30 μ L +全血 0. 3 mL +生食 20 μ L	8. 8 \pm 2. 8 *

* : 20 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0025] [0. 40M塩化カルシウム水溶液]

この実施例は、クエン酸血液をrecalcifiedするために0. 4M塩化カルシウムの至

適量を調べた実施例である。方法は0. 4M塩化カルシウム5 μL、10 μL、15 μL、20 μLのそれぞれに、全血0. 3mLと今回加える試薬の1部であるアルガトロバン水溶液又はヘパリン水溶液及びコラーゲン水溶液又はADP水溶液に模した用量を各生理食塩水10 μL、計20 μLの生理食塩水を加えて、血液凝固が進行する具合を測定した。測定を始めてからトロンボエラストグラフ上のR点(凝固の始まりを示すポイント)が現れる時間(分)を測定した。測定結果は表3に示した。0. 4M塩化カルシウム10 μLが至適量であることが示されている。0. 4M塩化カルシウム5 μLでは少なすぎ、0. 4M塩化カルシウム15 μL、20 μLでは多すぎて、いずれも凝固が始まるポイントであるR点が遅くなつた。

[0026] [表3]

0. 4 M 塩化カルシウム溶液添加量 (μL)	R (min)
0. 4 M 塩化カルシウム 5 μL + 全血 0. 3 mL + 生食 20 μL	13. 5 ± 2. 2
0. 4 M 塩化カルシウム 10 μL + 全血 0. 3 mL + 生食 20 μL	7. 9 ± 3. 4
0. 4 M 塩化カルシウム 15 μL + 全血 0. 3 mL + 生食 20 μL	13. 9 ± 8. 0
0. 4 M 塩化カルシウム 20 μL + 全血 0. 3 mL + 生食 20 μL	20. 8 ± 7. 2 *

* : 20 μLと有意差 ($p < 0. 05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

実施例 2

[0027] 塩化カルシウム水溶液の添加量について、次に、ヘモスコープ社トロンボエラストグラフの血液添加法に従った場合の実施例に基づいて説明する。本実施例では、試薬の代用量として生食(生理食塩水)20 μLと表に表示した塩化カルシウムの濃度と量を加え、血液は全体で0. 36mLになるように添加した。

[0. 18M 塩化カルシウム水溶液]

表4は、ヘモスコープ社トロンボエラストグラフの血液添加法(全用量が360 μLになるように全血を添加する方法)に従って、クエン酸血液をrecalcifiedするために0. 18M塩化カルシウムの至適量を調べた実施例の結果を示している。方法は0. 18M 塩化カルシウム5 μL、10 μL、20 μL、30 μLのそれぞれに、今回加える試薬の1部であるアルガトロバン又はヘパリン及びコラーゲン又はADPに模した用量を各生食(生理食塩水)10 μL、計20 μLの生食を加えて、さらに合計して360 μLになるように血液量を調整して、血液凝固が進行する具合を測定した。測定を始めてからト

ンボエラストグラフ上のR点が現れる時間(分)を測定した。0. 18M塩化カルシウム10 μ Lと20 μ Lが至適量であることが示されている。0. 18M塩化カルシウム5 μ Lでは少なすぎ、0. 18M塩化カルシウム30 μ Lでは濃すぎて、いずれも凝固が始まるポイントであるR点が遅くなっている。

[0028] [表4]

0. 18 M 塩化カルシウム溶液添加量 (μ L)	R (min)
0. 18 M 塩化カルシウム 5 μ L + 全血 0. 335 mL + 生食 20 μ L	33. 8 ± 1. 5 * †
0. 18 M 塩化カルシウム 10 μ L + 全血 0. 330 mL + 生食 20 μ L	12. 4 ± 2. 1
0. 18 M 塩化カルシウム 20 μ L + 全血 0. 320 mL + 生食 20 μ L	11. 1 ± 2. 8
0. 18 M 塩化カルシウム 30 μ L + 全血 0. 310 mL + 生食 20 μ L	20. 9 ± 9. 2 * †

* 10 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$), † : 20 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0029] [0. 2M塩化カルシウム水溶液]

クエン酸血液をrecalcifiedするために0. 2M塩化カルシウムの至適量を調べた実施例である。方法は0. 2M塩化カルシウム5 μ L、10 μ L、20 μ L、30 μ Lのそれぞれに、今回加える試薬の1部であるアルガトロバンまたはヘパリン、及びコラーゲン又はADPに模した用量を各生食(生理食塩水)10 μ L計20 μ Lの生食を加えて、さらに合計して360 μ Lになるように血液量を調整して、血液凝固が進行する具合を測定した。測定を始めてからトロンボエラストグラフ上のR点が現れる時間(分)を測定した。結果は表5に示した。0. 2M塩化カルシウム20 μ Lが至適量であることが示されている。0. 2M塩化カルシウム5 μ L、10 μ Lでは少なすぎ、0. 2M塩化カルシウム30 μ Lでは濃すぎて、いずれも凝固が始まるポイントであるR点が遅くなっている。

[0030] [表5]

0. 2 M 塩化カルシウム溶液添加量 (μ L)	R (min)
0. 2 M 塩化カルシウム 5 μ L + 全血 0. 335 mL + 生食 20 μ L	36. 1 ± 8. 0 * †
0. 2 M 塩化カルシウム 10 μ L + 全血 0. 330 mL + 生食 20 μ L	25. 8 ± 6. 5 * †
0. 2 M 塩化カルシウム 20 μ L + 全血 0. 320 mL + 生食 20 μ L	10. 8 ± 2. 0
0. 2 M 塩化カルシウム 30 μ L + 全血 0. 310 mL + 生食 20 μ L	14. 1 ± 3. 5

* : 20 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$), † : 30 μ Lと有意差 ($p < 0. 05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0031] [0. 4M塩化カルシウム水溶液]

クエン酸血液をrecalcifiedするために0. 4M塩化カルシウムの至適量を調べた実施例である。方法は0. 4M塩化カルシウム5 μ L、10 μ L、15 μ L、20 μ Lのそれぞ

れに、今回加える試薬の1部であるアルガトロバン又はヘパリン、及びコラーゲン又はADPに模した用量を各生食 $10\mu\text{L}$ 、計 $20\mu\text{L}$ の生食を加えて、更に合計して $360\mu\text{L}$ になるように血液量を調整して、血液凝固が進行する具合を測定した。測定を始めてからトロンボエラストグラフ上のR点が現れる時間(分)を測定した。結果は、表6に示した。0.4M塩化カルシウム $10\mu\text{L}$ が至適量であることが示されている。0.4M塩化カルシウム $5\mu\text{L}$ では少なすぎ、0.2M塩化カルシウム $15\mu\text{L}$ 、 $20\mu\text{L}$ では濃すぎて、いずれも凝固が始まるポイントであるR点が遅くなっている。

[0032] [表6]

0.4M塩化カルシウム溶液添加量 (μL)	R (min)
0.4M塩化カルシウム $5\mu\text{L}$ +全血 $0.335\text{mL}+\text{生食}20\mu\text{L}$	15.4±6.5*
0.4M塩化カルシウム $10\mu\text{L}$ +全血 $0.330\text{mL}+\text{生食}20\mu\text{L}$	12.9±4.4*
0.4M塩化カルシウム $15\mu\text{L}$ +全血 $0.325\text{mL}+\text{生食}20\mu\text{L}$	16.1±5.1*
0.4M塩化カルシウム $20\mu\text{L}$ +全血 $0.320\text{mL}+\text{生食}20\mu\text{L}$	23.5±6.5

* : $20\mu\text{L}$ と有意差 ($p < 0.05$)

統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0033] 以上、実施例1はペンタファーム社のローテムの血液添加法に従ってR値を測定したものであり、実施例2はヘモスコープ社トロンボエラストグラフの血液添加法に従つてR値を測定したものである。いずれの測定においても、0.18M塩化カルシウム水溶液の添加量は、 $10\mu\text{L}$ 及び $20\mu\text{L}$ が至適量であり、0.2M塩化カルシウム水溶液の添加量は、 $20\mu\text{L}$ が至適量であり、0.4M塩化カルシウム水溶液の添加量は、 $10\mu\text{L}$ が至適量であることが示されている。この結果から、X系血液、Y系血液に添加する塩化カルシウム水溶液の量が、抗凝固剤液を1容量、生理食塩水を1容量及び塩化カルシウム水溶液を混合させる場合、0.18M塩化カルシウム水溶液では1容量以上2容量以下、0.2M塩化カルシウム水溶液では2容量、0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量添加するのが至適量であることがわかる。即ち、X系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液、生理食塩水の混合比が、0.18M塩化カルシウム水溶液の場合、0.18M塩化カルシウム水溶液1容量以上2容量以下、抗凝固剤液1容量、生理食塩水1容量(1~2:1:1)となること、0.2M塩化カルシウム水溶液の場合、0.2M塩化カルシウム水溶液2容量、抗凝固剤液1容量、生理食塩水1容量(2:1:1)となること、0.4M塩化カルシウム水溶液の場合は、0.4M塩化カル

ルシウム水溶液1容量、抗凝固剤液1容量、生理食塩水1容量(1:1:1)となること、Y系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液、血小板活性賦活剤液の混合比が、0.18M塩化カルシウム水溶液の場合、0.18M塩化カルシウム水溶液1容量以上2容量以下、抗凝固剤液1容量、血小板活性賦活剤液1容量(1~2:1:1)となること、0.2M塩化カルシウム水溶液の場合は、0.2M塩化カルシウム水溶液2容量、抗凝固剤液1容量、血小板活性賦活剤液1容量(2:1:1)となること、0.4M塩化カルシウム水溶液の場合は、0.4M塩化カルシウム水溶液1容量、抗凝固剤液1容量、血小板活性賦活剤液1容量(1:1:1)となることがわかる。

実施例 3

[0034] [血小板賦活剤]

一般的常識として、ADP(アデノシン二リン酸)とコラーゲンが血小板賦活剤液として使用されるのは、それぞれ $4\mu M$ と $4\mu g/mL$ である。しかし、アルガトロバンやヘパリンでトロンビンの生成を抑えたり、トロンビンを抑制しておいて、血小板凝集をADPやコラーゲンで刺激して、血液凝固を促進させるためには、それぞれ如何ほどの濃度が必要なのかを調べた。0.2M塩化カルシウム $20\mu L$ の存在下、この測定前に決定したアルガトロバンの終濃度を持つ $10\mu L$ (0.01mL)とADP(終濃度として、 $4\mu M$, $6\mu M$, $8\mu M$)及びコラーゲン(Col;終濃度として、 $0.5\mu g/mL$, $1.0\mu g/mL$, $2.0\mu g/mL$)を各 $10\mu L$ (0.01mL)にそれぞれの終濃度を定め、さらに血液量は $0.32mL$ とし、全体量を $0.36mL$ としてトロンボエラストグラフを測定した。コントロールは全血 $0.32mL$ 、生食 $20\mu L$ 、Argはこの測定前に得たヘモクロトンのACT値から決定した終濃度をもつアルガトロバン $10\mu L$ 、生食 $10\mu L$ に全血 $0.31mL$ が添加されている。測定値は、それぞれ表7及び表8に示した。測定値は、平均値±標準偏差で示している。測定値は、健康な成人10人について得られたものである。

[0035] [表7]

ADP終濃度 (μM)	R (min)
コントロール 生食 $20\mu L$ +全血 $0.32mL$ + $0.2M$ 塩カル $20\mu L$	11.5 ± 3.4
Arg $10\mu L$ +生食 $10\mu L$ +全血 $0.32mL$ + $0.2M$ 塩カル $20\mu L$ (アルガトロバン)	$36.8 \pm 14.2^*$
Arg $10\mu L$ +ADP $4\mu M$ (終濃度) $10\mu L$ +全血 $0.32mL$ + $0.2M$ 塩カル $20\mu L$	$28.3 \pm 10.4^*$
Arg $10\mu L$ +ADP $6\mu M$ (終濃度) $10\mu L$ +全血 $0.32mL$ + $0.2M$ 塩カル $20\mu L$	$26.0 \pm 7.1^*\dagger$
Arg $10\mu L$ +ADP $8\mu M$ (終濃度) $10\mu L$ +全血 $0.32mL$ + $0.2M$ 塩カル $20\mu L$	$24.1 \pm 6.4^*\dagger$

* : コントロールと差 ($p < 0.05$) † : アルガトロバンと差 ($p < 0.05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0036] 表7から、2列目のアルガトロバンのみで平均が36. 8分に延長したR値が、3列目のADP $4\ \mu\text{M}$ の終濃度が加わっても、平均28. 3分と、R点は有意に短縮せず、血液凝固が促進されることはない。しかし4列目に見られるように、ADP $6\ \mu\text{M}$ の終濃度が加わることにより、平均26. 0分に、また5列目で見られるように、ADP $8\ \mu\text{M}$ の終濃度が加わると、平均24. 1分にそれぞれ有意に短縮している。アルガトロバンでトロンビンを抑えた場合、ADPは終濃度 $6\ \mu\text{M}$ 以上の濃度で、血液凝固の促進させ得ることを示してある。

[0037] [表8]

コラーゲン(CoI) 終濃度(μg)	R(min)
コントロール 生食 $2.0\ \mu\text{L}$ +全血 $0.32\text{mL}+0.2\text{M}\text{塩カル}2.0\ \mu\text{L}$	11. 9±2. 8
Arg1 $0\ \mu\text{L}$ +生食 $1.0\ \mu\text{L}$ +全血 $0.32\text{mL}+0.2\text{M}\text{塩カル}2.0\ \mu\text{L}$ (アルガトロバン)	36. 9±9. 9*
Arg1 $0\ \mu\text{L}+\text{Col}1.5\ \mu\text{g}$ (終濃度) $1.0\ \mu\text{L}+\text{全血}0.32\text{mL}+0.2\text{M}\text{塩カル}2.0\ \mu\text{L}$	31. 4±6. 6*
Arg1 $0\ \mu\text{L}+\text{Col}1.0\ \mu\text{g}$ (終濃度) $1.0\ \mu\text{L}+\text{全血}0.32\text{mL}+0.2\text{M}\text{塩カル}2.0\ \mu\text{L}$	27. 2±5. 1*↑
Arg1 $0\ \mu\text{L}+\text{Col}2.0\ \mu\text{g}$ (終濃度) $1.0\ \mu\text{L}+\text{全血}0.32\text{mL}+0.2\text{M}\text{塩カル}2.0\ \mu\text{L}$	23. 2±4. 0*†

* : コントロールと差 ($p < 0.05$) † : アルガトロバンと差 ($p < 0.05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

[0038] 表8から、2列目のアルガトロバンのみで平均が36. 9分に延長したR値が、3列目のコラーゲン $0.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ の終濃度が加わっても、平均31. 4分と、R点は有意に短縮せず、血液凝固が促進されることはない。しかし4列目に見られるように、コラーゲン $1.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ の終濃度が加わることにより、平均27. 2分に、また5列目で見られるように、コラーゲン $2.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ の終濃度が加わると、平均23. 2分にそれぞれ有意に短縮している。アルガトロバンでトロンビンを抑えた場合、コラーゲンは終濃度 $1.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で、血液凝固を促進させ得ることを示している。この測定で、全体量を 0.36mL としてヘモスコープ社のトロンボエラストグラフに沿った方法で測定したが、ペンタファーム社のローテムに沿った方法では添加する血液は 0.3mL であり、この例より使用する血液量は少ない。一方試薬量は同量である。したがって、ペンタファーム社ローテムの測定法に沿った測定結果は、この実施例より、試薬の影響が強く出る可能性が高いと考えることが出来る。たとえばペンタファーム社のローテムに沿った血液量で、ヘモスコープ社トロンボエラストグラフで有意差が出ないコラーゲン $0.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ で、R値を有意に短縮する結果が出る可能性が高い。しかし、上記の表に提示している結果は、“いずれの方法においても、R値を有意に短縮する結果を引き起こす血小板凝集賦活剤液の濃度”を見出したものであると考えることが出来

る。ペンタファーム社ローテムで有意差が出たモノでも、ヘモスコープ社トロンボエラストグラフで有意差が出ない場合は、有意差を引き起こす血小板賦活剤として採用することは出来ず、結論として上記のデータを採用するのが妥当と考えられる。

- [0039] 以上、表7及び表8から、X系血液、Y系血液に添加する血小板活性剤液の濃度が、ADP(アデノシン二リン酸)6.0 μM以上又はコラーゲン1.0 μg/mL以上が至適量であることがわかる。

実施例 4

- [0040] [血液凝固促進剤としてアクチン]

次に、実施例3において、血液凝固促進剤としてアクチン(Actin from bovine muscle、A-3653、Sigma-Aldrich、St. Louis MO USA)の添加至適量を調べた。先ず、血液凝固を促進するアクチンのおおまかな至適濃度を、終濃度を1ng/mLから1pg/mLに変化させて求めた。実施例1、2に準じて、トロンボエラストグラフによりR値を求めた。その結果を表9に示した。

- [0041] [表9]

アクチン終濃度 (ng/p g)				R (min)
コントロール	生食	10 μL +全血0.	33 mL +0.	2M塩カル20 μL
アクチン (終濃度 1.0 ng/mL)		10 μL +全血0.	33 mL +0.	2M塩カル20 μL
アクチン (終濃度 1 ng/mL)		10 μL +全血0.	33 mL +0.	2M塩カル20 μL
アクチン (終濃度 1.00 pg/mL)		10 μL +全血0.	33 mL +0.	2M塩カル20 μL
アクチン (終濃度 1.0 pg/mL)		10 μL +全血0.	33 mL +0.	2M塩カル20 μL
アクチン (終濃度 1 pg/mL)		10 μL +全血0.	33 mL +0.	2M塩カル20 μL

* : コントロールと差 ($p < 0.05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

- [0042] 表9から、添加する血液凝固促進剤としてのアクチンの終濃度が1ng/mLのとき(二段目)、血液凝固の開始点(R点)が最も早く現れていて、アクチンを添加しないコントロールの12.2分より1.8分早い10.4分となっていることがわかる。次に、アクチンの血液凝固促進の至適濃度を1ng/mL近辺で、0.5ng/mL単位ずつ変化させて更に細かく、アクチンの血液凝固促進作用における至適濃度の解明を行った。その結果を表10に示した。表10から、アクチンの終濃度が0.5 ng/mL(最下段)から2.5 ng/mL(三段目)でControl(アクチンを全く添加しないもの)に比べ、有意にR値が短くなっていることがわかる。以上の、表9、表10の結果から、血液凝固促進の為に使用するアクチンの終濃度は0.5ng/mL(500pg/mL)から2.5ng/mL

が血液凝固促進剤として使用する終濃度として至適濃度であることがわかる。

[0043] [表10]

	アクチン終濃度 (n g)	R (m i n)
コントロール	生食 1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.6. 2 ± 3. 9
アクチン (終濃度 3. 0 ng/mL)	1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.3. 8 ± 3. 1
アクチン (終濃度 2. 5 ng/mL)	1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.1. 6 ± 2. 8 *
アクチン (終濃度 2. 0 ng/mL)	1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.2. 0 ± 3. 1 *
アクチン (終濃度 1. 5 ng/mL)	1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.1. 1 ± 2. 3 *
アクチン (終濃度 1. 0 ng/mL)	1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.1. 2 ± 1. 9 *
アクチン (終濃度 0. 5 ng/mL)	1.0 μL + 全血 0. 33 mL + 0. 2M 塩カル 2.0 μL	1.1. 9 ± 2. 4 *

* : コントロールと差 ($p < 0.05$)
統計はOne-way ANOVAとFisherの多重比較法を用いた。

実施例 5

[0044] 以下に、実際に本発明の試薬でR値を測定した結果を示す。

治験例1は、71才、男性、動脈硬化性閉塞症および腎不全のケースで、プレタール1錠(100mg/日)内服している事例である。X系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ヘパリンは終濃度で0.1U/mL、アルガトロバンは終濃度で0.3μg/mLまたADPは終濃度で8.3μM加えた。全液量は0.36mLである。この場合は、ADPによって血小板凝集を起こすことで、R値がほぼ28%短縮し、現在行われているプレタール100mg/日の抗血小板治療は不十分と判定できる。現在150mg/日への增量を検討中である。

治験例2は、69才、男性、動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール2錠(200mg/日)内服している事例である。X系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ヘパリンは終濃度で0.1U/mL、アルガトロバンは終濃度で0.3μg/mLまたADPは終濃度で8.3μM加えた。全液量は0.36mLである。この場合は、10~15%の短縮であり、有意差なしと判定し、有効な治療が行われると判定できる。

治験例3は、63才、男性、動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール2錠(200mg/日)内服している事例である。X系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、

抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ヘパリンは終濃度で0. 1U／mL、アルガトロバンは終濃度で1. 2 μ g／mLまたADPは終濃度で8. 3 μ M加えた。全液量は0. 36mLであった。この場合は、10%以下の短縮であり、有意差なしと判定し、有効な治療が行われると考えられる。

治験例4は、54才、男性、脳梗塞のケースで、パナルジン2錠(200mg／日)内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合でくわえている。ヘパリンは終濃度で0. 1U／mL、アルガトロバンは終濃度で1. 2 μ g／mLまたコラーゲンは終濃度で10 μ g／mL加えた。全液量は0. 36mLである。この場合は、20%以下の短縮であり、有意差なしと判定し、有効な治療が行われると考えられる。

治験例5は、62才、男性、動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg／日内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ヘパリンは終濃度で0. 1U／mL、アルガトロバンは終濃度で1. 2 μ g／mLまたADPは終濃度で8. 3 μ M加えた。全液量は0. 36mLである。この場合は、20%以下の短縮および、よく血小板活性が抑制されている証拠の血小板凝集刺激による凝固の遅れがあり、治療は十分と判定できる。

[0045] [表13]

治験例 1:

プレタール 1錠(100mg/日)

	R(min)
ControL (0.2M 塩カル 20 μL+全血 0.32mL+生食 20 μL)	7.3
0.2M塩化カルシウム(塩カル)20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+生食 10 μL +全血 0.32mL	21.8
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	15.8 (73%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.3 μg/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	17.5
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.3 μg/mL + ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	12.6 (72%)

治験例 2:

プレタール 2錠(200mg/日)

	R(min)
ControL(0.2M 塩カル 20 μL+全血 0.32mL+生食 20 μL)	10.8
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	37.2
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +ADP 終濃度 8.3 μM+全血 0.32mL	31.6 (85%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.3 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	26.7
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.3 μg/mL + ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	24.2(90.6%)

治験例 3:

プレタール 2錠(200mg/日)

	R (min)
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1 U/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	21.8
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	20.3 (93%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	34.5
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL+ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	33.8 (98%)

[0046] [表14]

治験例4:

パナルジン 2錠(200mg/日)

	R (min)
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	25.9
0.2M塩カル 20 μL+Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL+全血 0.32mL	20.7 (80.0%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	22.6
0.2M塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.2 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	26.1 (115%)

治験例5:

プレタール 200mg/日

	R(min)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	34.5
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL +ADP 終濃度 8.3 μM+全血 0.32mL	33.8 (98%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	21.8
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 μg/mL +ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	20.3(93.1%)
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	37.7
0.2M塩カル 20 μL+Hep 終濃度 0.1U/mL +ADP 終濃度 8.3 μM+全血 0.32mL	50.1(132.9%)
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	55.8
0.2M塩カル 20 μL+Hep 終濃度 0.1U/mL +ADP 終濃度 8.3 μ M +全血 0.32mL	45.7(81.9)

治験例6は、66才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg/日内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ヘパリンは終濃度で0. 2U／mL及び0. 1U／mL、アルガトロバンは終濃度で0. 3 μg／mL及び0. 2 μg／mLまたADPは終濃度で8. 3 μ M加えた。全液量は0. 36mLである。すべての測定で、血小板凝集刺激側の凝固時間が長い。治療効果は十分との結果がみられる。

[0047] [表15]

治験例 6.

プレタール 200mg/日

	R(min)
Control (0.2M 塩カル 20 μL+全血 0.32mL+生食 20 μL)	3.8
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.2 μg/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	8.5
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.2 μg/mL +ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	12.3(145%)
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.3 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	11.8
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.3 μg/mL +ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.32mL	18.2(154%)
0.4M 塩カル 10 μL +Hep 終濃度 0.2U/mL+生食 10 μL+全血 0.33mL	106.7
0.4M 塩カル 10 μL +Hep 終濃度 0.2 U/mL+ADP 終濃度 8.3 μM+全血 0.33mL	196.7(184%)
0.4M 塩カル 10 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+生食 10 μL+全血 0.33mL	24.8
0.4M 塩カル 10 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL+ADP 終濃度 8.3 μM +全血 0.33mL	24.8(100%)

実施例 6

[0048] トロンボエラストグラフ測定前にヘモクリンによるACT(正常成人105~150)を測定し、加える抗凝固薬のアルガトロバンまたはヘパリンの量を決定する事例について説明する。

治験例7は、65才、男性、脳梗塞のケースで、(1)バイアスピリン100mg／日内服して10日目のトロンボエラストグラフ測定したR値を示している。X系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値201秒に対して、アルガトロバンは終濃度で4. 0 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0. 36mLである。この場合、20%以下の短縮であり、有意差なしと判定し、治療は十分と判定できる。(2)次に、バイアスピリン100mg／日内服をワーファリン3mg／日に変更した後1日目に測定したトロンボエラストグラフのR値を示す。ACT値20

2秒に対して、アルガトロバンは終濃度で $2.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は 0.36mL である。この場合は、20%以下の短縮であり、有意差なしと判定し、血小板抑制作用のないワーファリンに変更したが、まだバイアスピリンの血小板抑制作用が残っている。と考えられる。(3)更に、ワーファリン $3\text{mg}/\text{日}$ 内服を一週間続けた後 $5\text{mg}/\text{日}$ に変更(增量)して7日目に測定したトロンボエラストグラフのR値を示す。ACT値213秒に対して、ヘパリンは終濃度で $0.07 \mu\text{M}$ 、アルガトロバンは終濃度で $1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は 0.36mL である。何れも50%以上の短縮を認め、血小板の抑制は見られない。以前処方していたバイアスピリンの影響は全く見えず、血小板抑制作用のないワーファリンの影響で凝固時間が213秒と延長している。

[0049] [表16]

治験例 7

(1)バイアスピリン 100mg/日内服して 10 日目

ACT	201 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 10 μ L+Arg 終濃度 4.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	44.1
0.18M 塩カル 10 μ L+Arg 終濃度 4.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	36.9 (84%)
0.18M 塩カル 10 μ L+Arg 終濃度 3.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	35.0
0.18M 塩カル 10 μ L+Arg 終濃度 3.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL+全血 0.33mL	28.1 (80.3%)

(2) バイアスピリン 100mg/日内服をワーファリン 3mg/日に変更 1 日目

ACT	202 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 2.5 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	30.3
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 2.5 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL)+全血 0.33mL	25.5 (85%)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 3.5 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	33.1
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 3.5 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	28.0 (85%)

(3) 一週間続けたワーファリン 3mg/日を 5mg/日に変更(增量)して 7 日目

ACT	213 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	71.3
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	30.3 (42%)
0.18M 塩カル 10 μ L +Hep 終濃度 0.07U/mL+生食 10 μ L+全血 0.33mL	37.8
0.18M 塩カル 10 μ L +Hep 終濃度 0.07U/mL+コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	16.7 (44%)

[0050] 治験例8は、58才、男性、脳梗塞のケースで、バイアスピリン100mg／日内服している事例である。X系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値190秒に対して、ヘパリンは終濃度で0. 02U／mL、アルガトロバンは終濃度で0. 75 μ g／mLまたコラーゲンは終濃度で10 μ g／mL加えた。全液量は0.

36mLである。この場合、判定不能、おそらくアルガトロバンによる抗凝固によって出た結果を選ぶ方が正しい確率が高い。1ヶ月後にトロンボエラストグラフのR値を測定した。いずれも20%以上の短縮でバイアスピリンの効果は不十分である。

[0051] [表17]

治験例 8.

バイアスピリン 100mg/日

ACT	190 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 0.75 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	27.4
0.18M 塩カル 10 μ L + Arg 終濃度 0.75 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	24.5(89%)
0.18M 塩カル 10 μ L +Hep 終濃度 0.02U/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	33.3
0.18M 塩カル 10 μ L +Hep 終濃度 0.02U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	22.3(67%)

その 1ヶ月後、

ACT	200 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	62.7
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	18.2(30%)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 1.5 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	50.5
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 1.5 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	22.2(44%)
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 2.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	47.6
0.18M 塩カル 10 μ L +Arg 終濃度 2.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	38.1(80%)
0.18M 塩カル 10 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +生食 10 μ L+全血 0.33mL	23.7
0.18M 塩カル 10 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.33mL	14.3(60%)

[0052] 治験例9は、69才、男性、動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール2錠(200mg /日)内服している事例である。X系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割

合で加えている。ACT値170秒に対して、ヘパリンは終濃度で0.03U/mL及び0.02U/mL、アルガトロバンは終濃度で0.3及び0.5 μ g/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μ g/mL加えた。全液量は0.36mLである。何れも20%以上の短縮がみられ、プレタールの抗血小板作用は不十分と考えられる。プレタール2錠(200mg/日)内服を3ヶ月間継続した後のトロンボエラストグラフのR値から、やはり20%以上の短縮がみられ、プレタールの抗血小板作用は不十分と考えられる。

[0053] [表18]

治験例9

プレタール2錠(200mg/日)

ACT	170秒
	R(min)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.5 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	25.8
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.5 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	12.4(48%)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.3 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	22.1
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.3 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	14.8(67%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	20.7
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	14.6(71%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.02U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	21.0
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.02U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	10.5(50%)

3ヶ月後、この期間プレタール2錠(200mg/日)内服を継続

ACT	192秒
	R(min)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 4.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	39.8
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 4.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	21.7(54.5%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	51.8
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	25.9(50%)

[0054] 治験例10は、58才、男性、脳梗塞のケースで、パナルジン200mg/日内服して

いる事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ヘパリンは終濃度で0. 1U／mL、アルガトロバンは終濃度で $1.2\mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $8.3\mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は0. 36mLである。この場合は、アルガトロバンの量が少なすぎてアルガトロバンでは判定不能であり、ヘパリンで20%以上の短縮の故に、パナルジン治療は不十分と考えられる。これ以後、バイアスピリン100mg／日に変更し7ヶ月後のトロンボエラストグラフのR値を示した。何れも、20%以上の短縮で、バイアスピリンの治療効果は不十分と考えられる。

[0055] [表19]

治験例 10

パナルシン 200mg/日

	R(min)
0.2M塩カル $20 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $1.2 \mu\text{g/mL}$ +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.32mL	15.0
0.2M塩カル $20 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $1.2 \mu\text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.32mL	13.4
0.2M塩カル $20 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.32mL	24.4
0.2M塩カル $20 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.32mL	10.7
0.2M塩カル $20 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.32mL	61.6
0.2M塩カル $20 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.32mL	31.2

これ以後バイアスピリン 100mg/day に治療を変更し、7ヶ月後

ACT	147 秒
	R(min)
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $1.0 \mu\text{g/mL}$ +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.33mL	45.3
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $1.0 \mu\text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.33mL	33.0(73%)
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $0.8 \mu\text{g/mL}$ +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.33mL	83.3
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $0.8 \mu\text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.33mL	32.2(39%)
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.05U/mL +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.33mL	30.0
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.05U/mL +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.33mL	22.0(73%)
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.08U/mL +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.33mL	71.1
0.4M塩カル $10 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 0.08U/mL +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ +全血 0.33mL	25.8(36.3%)

[0056] 治験例11は、75才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg/日とエパデール900mg/日を内服している事例である。X系血液に0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値181秒に対して、ヘパリンは終濃度で0.07U/mL、アルガトロバンは終濃度で3.0 $\mu\text{g/mL}$ またコラーゲンは終濃度

で $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は 0.36mL である。プレタール $200\text{mg}/\text{日}$ とエパデール $900\text{mg}/\text{日}$ の治療は不十分である。

[0057] [表20]

治験例 11

プレタール $200\text{mg}/\text{日}$ +エパデール $900\text{mg}/\text{日}$

ACT	181 秒 R(min)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $3.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.33mL	78.8
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ +Arg 終濃度 $3.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ +全血 0.33mL	24.3(31%)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 $0.07\text{U}/\text{mL}$ +生食 $10 \mu\text{L}$ +全血 0.33mL	51.3
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ +Hep 終濃度 $0.07\text{U}/\text{mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ +全血 0.33mL	17.7(34.5%)

[0058] 治験例12は、77才男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール $200\text{mg}/\text{日}$ とドルナー $60\text{mg}/\text{日}$ 内服している事例である。X系血液に 0.4M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に 0.4M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値111秒に対して、ヘパリンは終濃度で 0.03 及び $0.06\text{U}/\text{mL}$ 、アルガトロバンは終濃度で $3.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は 0.36mL である。プレタール $200\text{mg}/\text{日}$ とドルナー $60\text{mg}/\text{日}$ の治療は不十分である。2ヶ月後のトロンボエラストグラフのR値を示した。Arg3.0のデータのみが不十分となっているが、他の3つのデータは、3つともすべてこの治療で十分との結果が出ている。

[0059] [表21]

治験例 12

プレタール 200mg／日+ドルナー 60mg／日

ACT	111 秒
	R(min)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $3.0 \mu\text{g/mL}$ + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	71.8
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $3.0 \mu\text{g/mL}$ + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	40.7(56.7%)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Hep 終濃度 0.06U/mL + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	32.2
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Hep 終濃度 0.06U/mL + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	15.9(49.4%)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Hep 終濃度 0.03U/mL + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	33.9
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Hep 終濃度 0.03U/mL + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	12.9(38.1%)

2ヶ月後

ACT	196 秒
	R(min)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $2.5 \mu\text{g/mL}$ + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	64.3
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $2.5 \mu\text{g/mL}$ + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	56.2(87.4%)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $3.0 \mu\text{g/mL}$ + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	60.8
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $3.0 \mu\text{g/mL}$ + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	25.7(42.3%)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $3.5 \mu\text{g/mL}$ + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	44.6
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Arg 終濃度 $3.5 \mu\text{g/mL}$ + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	58.6(131%)
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Hep 終濃度 0.06U/mL + 生食 $10 \mu\text{L}$ + 全血 0.33mL	28.4
0.4M 塩カル $10 \mu\text{L}$ + Hep 終濃度 0.06U/mL + コラーゲン 終濃度 $10 \mu\text{g/mL}$ + 全血 0.33mL	28.6(101%)

[0060] 治験例13は、59才 女性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg／日内服している事例である。X系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値193秒に対して、ヘパリンは終濃度で0.03U／mL、アルガトロ

バンは終濃度で $1.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は 0.36mL である。何れも20%以上の短縮を示しており、プレタール $200\text{mg}/\text{day}$ の治療は不十分である。

治験例14は、66才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール $200\text{mg}/\text{日}$ とワーファリン $2\text{mg}/\text{日}$ 内服している事例である。X系血液に 0.2M 塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に 0.2M 塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値 209秒 に対して、ヘパリンは終濃度で $0.03\text{U}/\text{mL}$ 、アルガトロバンは終濃度で $0.25 \mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は 0.36mL である。抗血小板療法は不十分と考えられる。

[0061] [表22]

治験例 13

プレタール 200mg/日

ACT	193 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.03U/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	40.3
0.18M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.03U/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	25.3(62.8%)
0.18M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	83.0
0.18M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	31.4(37.8%)
0.18M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	60.3
0.18M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	33.8(56.1%)

治験例 14

プレタール 200mg/日+ワーフアリン 2mg/日

ACT	209 秒
	R(min)
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.25 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	20.8
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 0.25 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	14.4(69.3%)
0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.03U/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	60.9
0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.03U/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	16.0(27%)

- [0062] 治験例15は、62才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg/日内服している事例である。X系血液に0. 2M 塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M 塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値179秒に対して、ヘパリンは終濃度で0. 06U/mL、アルガトロバンは終濃度で1. 5 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0. 36mLである。ヘパリン0. 06で伸ばしたモノだけが治療は十分との結果が出ているが、他のアルガトロバンの全ての3つの測定が不十分との結果が出ており、プレタール200mg/日の治療は不十分と考えられる。

[0063] [表23]

治験例 15

プレタール 200mg/日

ACT	179 秒 R(min)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	59.9
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	24.6(41.1%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	72.0
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	38.2(53.1%)
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	75.8
0.2M塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL+全血 0.32mL	20.7(27.3%)
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.06U/mL+生食 10 μL+全血 0.32mL	38.8
0.2M塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.06U/mL+コラーゲン終濃度 10 μg/mL+全血 0.32mL	34.5(88.9%)

[0064] 治験例16は、62才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg/日内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値190秒に対して、ヘパリンは終濃度で0. 03及び0. 04U/mL、アルガトロバンは終濃度で0. 75及び1. 0 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0. 36mLである。Hep0. 04で伸ばしたモノだけが治療は十分との結果が出ているが、他のヘパリンおよびアルガトロバンの全ての3つの測定が不十分との結果が出ており、プレタール200mg/dayの治療は不十分と考えられる。

治験例17は、68才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg/日内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加え

ている。ACT値190秒に対して、ヘパリンは終濃度で0.1U/mL、アルガトロバンは終濃度で0.4 μ g/mLまたADPは終濃度で8.3 μ M加えた。全液量は0.36mLである。何れも20%以上の短縮を示し、プレタール200mg/日の治療は不十分と判定される。

[0065] [表24]

治験例 16

プレタール 200mg/日

ACT	190 秒
	R(min)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	29.1
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	19.7(67.7%)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.75 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	30.1
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.75 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL+全血 0.32mL	18.8(62.5%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.04U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	25.1
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.04U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	22.5(89.6%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	25.7
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	12.6(49.0%)

治験例 17

プレタール 200mg/日

ACT	190 秒
	R(min)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.4 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	20.5
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 0.4 μ g/mL +ADP 終濃度 8.3 μ M +全血 0.32mL	12.6(61.5%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	26.1
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.1U/mL + ADP 終濃度 8.3 μ M +全血 0.32mL	12.3(47.1%)

[0066] 治験例18は、70才 男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg／日内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値199秒に対して、ヘパリンは終濃度で0. 03及び0. 05U／mL、アルガトロバンは終濃度で1. 0及び2. 0 μ g／mLまたコラーゲンは終濃度で10 μ g／mL加えた。全液量は0. 36mLである。ヘパリン0. 05で伸ばしたモノだけが治療は不十分との結果が出ているが、他のヘパリン及びアルガトロバンの全ての3つの測定が十分との結果が出ており、プレタール200mg／日の治療は十分と考えられる。

[0067] [表25]

治験例 18

プレタール 200mg/日

ACT	199 秒
	R(min)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 2.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	20.0
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 2.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	20.9(104.5%)
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	23.0
0.2M塩カル 20 μ L +Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	22.3(91.0%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.05U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	24.5
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.05U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	15.4(62.4%)
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	13.4
0.2M塩カル 20 μ L +Hep 終濃度 0.03U/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	13.3(99.3%)

[0068] 治験例19は、65才 女性 脳梗塞のケースで、パナルジン200mg／日内服している事例である。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値199秒に対して、ヘパリンは終濃度で0. 1U／mL、アルガトロバンは終濃

度で1. 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は0. 36 mLである。(1)でのヘパリン0. 1で伸ばしたモノだけが治療は十分との結果が出ているが、他の2つのヘパリンおよびアルガトロバンの3つの測定が不十分との結果が出ており、パナルジン200mg/日の治療は不十分と考えられる。

[0069] [表26]

治験例 19

パナルジン 200mg/日

ACT	199 秒 R(min)
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ +生食 10 μL +全血 0.32mL	20.7
0.2M 塩カル 20 μL +Arg 終濃度 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ +コラーゲン終濃度 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ +全血 0.32mL	16.3(78.7%)
(1) 0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 10 μL +全血 0.32mL	25.8
0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ +全血 0.32mL	21.7(84.1%)
(2) 0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 10 μL +全血 0.32mL	37.7
0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ +全血 0.32mL	19.3(51.2%)
(3) 0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +生食 10 μL +全血 0.32mL	40.4
0.2M 塩カル 20 μL +Hep 終濃度 0.1U/mL +コラーゲン終濃度 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ +全血 0.32mL	20.9(51.7%)

実施例 7

[0070] 以後は、カオリン塗布カップ、ピン使用による治験例である。

治験例20は、68才 女性 抗血小板薬(?)、血小板機能は正常のケースである。X系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値178秒に対して、アルガトロバンは終濃度で1. 0、3. 0及び4. 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は0. 36mLである。この結果から、カオリン治験例においては、ACTから得られた添加すべきアルガトロバン量は、カオリン(-)治験例の場合にACTから得られるアルガトロバン量またはヘパリン量の、2~3倍量を

与えることにより、R値を30～40分にすることの可能性を示唆している。また、抑制されていない血小板機能がカオリン添加によっても充分この結果から判定できる。

[0071] [表27]

治験例 20

血小板機能は正常

ACT	178 秒
	R(min)
カオリン(→)のカップ&ピン	
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	26.1
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.33mL	16.9(66.0%)
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	25.6
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	18.2(71.1%)
カオリン(+)のカップ&ピン	
0.4M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 3.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	41.8
0.4M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 3.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.33mL	17.3(41.4%)
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 4.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	54.2
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 4.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.33mL	23.8(43.9%)
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 3.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	35.3
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 3.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	21.3(60.3%)

[0072] 治験例21は、78才女性 抗血小板薬(?)、血小板機能は正常のケースである。X系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値213秒に対して、アルガトロバンは終濃度で0.25、0.5、1.0及び1.5 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0.36mLである。カオリン(−)治験例におけるACTから得られる添加すべきアルガトロバン量の2～3倍をカオリン(+)治験例に与えれば、R値を30～40分に出来ることがほぼ確実である。また、このカ

ツプ&ピンは2度目の使用で、測定にムラが認められる。

[0073] [表28]

治験例 21

血小板機能は正常

ACT	213 秒
	R(min)
カオリン(-)	
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $0.25 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.33mL	21.3
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $0.25 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.33mL	9.3(43.7%)
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $0.5 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.33mL	18.6
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $0.5 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.33mL	10.4(55.9%)
カオリン(+)	
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $1.0 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.33mL	27.3
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $1.0 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.33mL	22.5(82.4%)
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $1.5 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.33mL	29.8
0.18M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $1.5 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.33mL	15.3(51.3%)

[0074] 治験例22は、78才 女性 抗血小板薬(?)、血小板機能は正常のケースである。X系血液に0. 18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値176秒に対して、アルガトロバンは終濃度で1. 0、2. 0及び2. 5 $\mu \text{g}/\text{mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu \text{g}/\text{mL}$ 加えた。全液量は0. 36mLである。やはり、カオリン治験例では、ACTによる表から決定されるアルガトロバン量の2~3倍の量で、ほぼ確実に30~40分にR値にすることが出来る。また抑制されていない血小板を判定することも、おおむね可能である。

[0075] [表29]

治験例 22

血小板機能は正常

ACT	176 秒 R(min)
カオリン(-)	
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	27.2
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.33mL	19.9(73.2%)
カオリン(+)	
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	27.5
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.33mL	22.0(80%)
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	29.2
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL+全血 0.33mL	19.0(65.1%)
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.33mL	34.7
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.33mL	26.1(75.2%)

[0076] 治験例23は、77才男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg／日とドルナー60mg／日内服している事例である。X系血液に0. 18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値203秒に対して、アルガトロバンは終濃度で0. 5、1. 5及び2. 0 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0. 36mLである。カオリン使用において、ときどき測定が不安定になる典型である。この治験例の抗血小板治療は不十分である。

[0077] [表30]

治験例 23

プレタール 200mg／日+ドルナー 60mg／日

ACT	203 秒 R(min)
カオリン(−)	
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 0.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	21.8
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 0.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	12.1(55.5%)
カオリン(+)	
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	35.0
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	34.3(98%)
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	46.5
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL+全血 0.32mL	27.4(58.9%)
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	30.8
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	26.2(85.1%)

[0078] 治験例24は、69才、男性、動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール2錠(200mg／日)内服している事例である。X系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。ACT値176秒に対して、アルガトロバンは終濃度で1.5及び4.0 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0.36mLである。カオリン(?)もカオリン(+)もいずれも血小板機能は抑えられていないことをしめしている。抗血小板治療は不十分である。

[0079] [表31]

治験例 24

プレタール 2錠(200mg/日)

ACT	176 秒
	R(min)
カオリン(-)	
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	48.7
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	29.5(60.6%)
カオリン(+)	
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 4.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	57.6
0.18M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 4.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	34.0(59%)

実施例 8

[0080] これ以後4例はアクチン終濃度1ng/mL含有の試薬を使用して測定された治験例であり、アクチンを含有しない試薬及びカオリン塗布カップ＆ピンでの測定も同時に行っている。

治験例25は、44才男性 抗血小板薬(?)凝固機能は正常のケースである。X系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。アクチン以外に、ACT値185秒に対して、アルガトロバンは終濃度で1.0、及び2.5 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0.36mLである。血小板機能は低下していると考えられる。

[0081] [表32]

治験例 25

凝固機能は正常

ACT	185 秒 R(min)
0.18M 塩カル 20 μ L+Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL	30.6
0.18M 塩カル 20 μ L+Arg 終濃度 1.0 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.32mL	26.2(85.6%)
アクチン+	
0.18M 塩カル 20 μ L+Arg 終濃度 2.5 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.31mL+アクチン(終濃度 1ng/mL)10 μ L	42.1
0.18M 塩カル 20 μ L+Arg 終濃度 2.5 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL +全血 0.31mL+アクチン(終濃度 1ng/mL)10 μ L	33.0(78.4)
カオリン+	
0.18M 塩カル 20 μ L+Arg 終濃度 2.5 μ g/mL +生食 10 μ L+全血 0.32mL(カオリン+)	28.9
0.18M 塩カル 20 μ L+Arg 終濃度 2.5 μ g/mL +コラーゲン終濃度 10 μ g/mL+全血 0.32mL(カオリン+)	26.2(90.7%)

[0082] 治験例26は、46才男性 抗血小板薬(?)凝固能は正常(aPTT, PTは正常)のケースである。X系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。アクチソ以外に、ACT値167秒に対して、アルガトロバンは終濃度で1. 5、及び2. 5 μ g/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μ g/mL加えた。全液量は0. 36mLである。凝固能は正常でも血小板機能は低下していると考えられる。

[0083] [表33]

治験例 26

凝固能は正常(aPTT,PTは正常)

ACT	167 秒
	R(min)
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	24.0
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 1.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	19.0(79.2%)
アクチン+	
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.31mL+アクチン(1ng/mL) 10 μL	23.0
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.31mL+アクチン(終濃度 1ng/mL) 10 μL	19.3(83.9%)
カオリン+	
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL(カオリン+)	21.3
0.2M 塩カル 20 μL+Arg 終濃度 2.5 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL(カオリン+)	19.5(91.5%)

[0084] 治験例27は、48才男性 抗血小板薬(?) 血液凝固能は正常のケースである。X系血液に0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。アクチン以外に、ACT値158秒に対して、アルガトロバンは終濃度で2.0、及び3.5 μg/mLまたコラーゲンは終濃度で10 μg/mL加えた。全液量は0.36mLである。この場合は、血小板機能は正常と考えられる。アクチン(+)の測定が不安定である。

[0085] [表34]

治験例 27

血液凝固能は正常

ACT	158 秒
	R(min)
0.4M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $2.0 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.33mL	34.4
0.4M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $2.0 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.33mL	16.7 (48.5%)
アクチニ+	
0.4M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $3.5 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.32mL+アクチニ(終濃度 1ng/mL) $10 \mu \text{L}$	48.1
0.4M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $3.5 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.32mL+アクチニ(終濃度 1ng/mL) $10 \mu \text{L}$	40.3 (83.8%)
カオリン+	
0.4M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $3.5 \mu \text{g/mL}$ +生食 $10 \mu \text{L}$ +全血 0.33mL(カオリン+)	37.4
0.4M 塩カル $10 \mu \text{L} + \text{Arg}$ 終濃度 $3.5 \mu \text{g/mL}$ +コラーゲン終濃度 $10 \mu \text{g/mL}$ +全血 0.33mL(カオリン+)	24.7 (66%)

[0086] 治験例28は、67才男性 動脈硬化性閉塞症のケースで、プレタール200mg／日内服している事例である。X系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で加え、Y系血液に0. 18M 塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液1容量の割合で加えている。アクチニ以外に、ACT値181秒に対して、アルガトロバンは終濃度で1. 0、及び $2.0 \mu \text{g/mL}$ またコラーゲンは終濃度で $10 \mu \text{g/mL}$ 加えた。全液量は0. 36mLである。カオリン(+)の測定値よりアクチニ添加の方が凝固促進剤非使用の測定値(最初の測定値)に近い値を示している。アクチニ添加での測定が、カオリン使用での値より優れていると考えられる。プレタールの治療は不十分であることが、アクチニ添加では判明するが、カオリン処理ではプレタールの治療効果は十分との結果が出ている。

[0087] [表35]

治験例 28

プレタール 200mg/日

ACT	181 秒
	R(min)
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL	36.1
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 1.0 μg/mL +コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL	24.2(67%)
アクチン+	
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.31mL+アクチン(終濃度 1ng/mL) 10 μL	34.4
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +コラーゲン(10 μg/mL) +全血 0.31mL+アクチン(終濃度 1ng/mL) 10 μL	24.9(72.4%)
カオリン+	
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL +生食 10 μL+全血 0.32mL(カオリン+)	30.7
0.18M 塩カル 10 μL+Arg 終濃度 2.0 μg/mL+コラーゲン終濃度 10 μg/mL +全血 0.32mL(カオリン+)	27.3(89%)

産業上の利用可能性

[0088] 本発明は、抗血栓薬効試験を適正、迅速かつ簡便に行うための試験方法である。本発明の抗血栓薬効試験法を通して、医学、医療業界、薬品業界に大きく貢献するものである。

図面の簡単な説明

[0089] [図1]トロンボエラストグラフ測定を説明する図である

符号の説明

[0090] R	血塊弾性値の巾が2mmになった時点
K	血塊弾性値の巾が20mmになった時点
MA	血塊弾性値の巾の最大振幅MA値
ANG	血塊弾性の変化のグラフで接線を引いたときの角度

請求の範囲

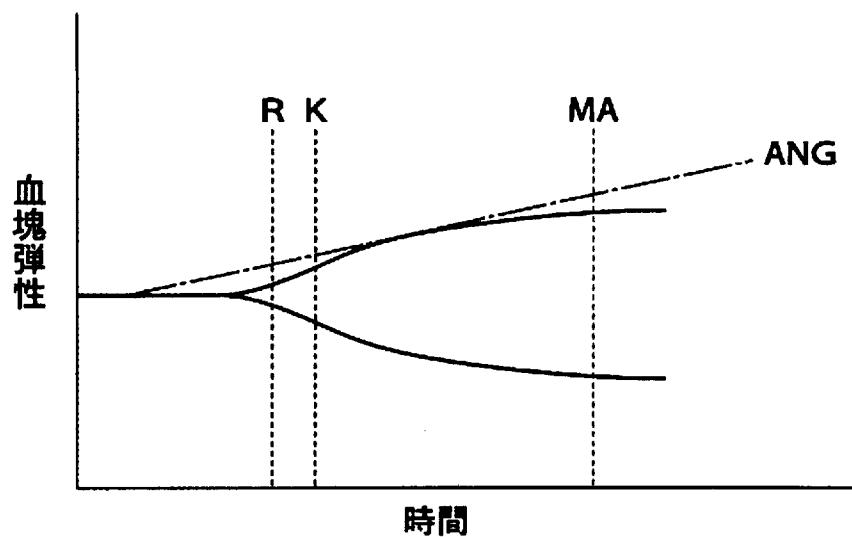
- [1] 抗血栓薬の投与を受けている患者から採取した血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水を加えた系(X系血液)、前記血液に塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液を加えた系(Y系血液)につき、トロンボエラストグラフを測定し、X系血液及びY系血液のR値を比較する抗血栓薬効試験方法であって、
血液に加える塩化カルシウムは、X系血液、Y系血液ともに、同量であり、同じく血液に加える抗凝固剤は、X系血液、Y系血液ともに、同種のもの同量であることを特徴とする抗血栓薬効試験方法。
- [2] 前記抗凝固剤液がヘパリン(未分化ヘパリン、低分子ヘパリン)水溶液又はアルガトロバンの水溶液であることを特徴とする請求項1に記載の抗血栓薬効試験方法。
- [3] 前記ヘパリン水溶液を含有させる終濃度が0.01(U/mL)から0.1(U/mL)の範囲であり、アルガトロバン水溶液を含有させる終濃度が0.1(μg/mL)から5.0(μg/mL)の範囲であることを特徴とする請求項2に記載の抗血栓薬効試験方法。
- [4] 前記ヘパリン水溶液、アルガトロバン水溶液を含有させる終濃度を、予め経験的に求めたACT値と加えるべきヘパリン水溶液、アルガトロバン水溶液の終濃度の関係から決定し、該決定した終濃度でヘパリン水溶液、アルガトロバン水溶液を含有させることを特徴とする請求項3に記載の抗血栓薬効試験方法。
- [5] 前記血小板活性剤液がアデノシン二リン酸(ADP)水溶液又はコラーゲン水溶液であることを特徴とする請求項1から請求項4のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。
- [6] 前記アデノシン二リン酸水溶液を含有させる終濃度が6.0 μM以上、前記コラーゲン水溶液を含有させる終濃度が1.0 μg/mL以上であることを特徴とする請求項5に記載の抗血栓薬効試験方法。
- [7] X系血液において、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の添加量はZ=1の場合は30 μL、Z=2の場合は40 μLとし、1<Z<2の場合は「30+(40

$-30) \times (Z-1)$ 」 μ Lであり、Y系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の各試薬の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の添加量はZ=1の場合は30 μ L、Z=2の場合は40 μ Lとし、1<Z<2の場合は「 $30 + (40 - 30) \times (Z-1)$ 」 μ Lであることを特徴とする請求項1から請求項7のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

- [8] 前記X系血液及びY系血液に更に血液凝固促進剤としてアクチン水溶液を終濃度0.5ng/mLから2.5ng/mLの範囲で含有させることを特徴とする請求項1から請求項6に記載の抗血栓薬効試験方法。
- [9] X系血液において、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び生理食塩水の添加量はZ=1の場合は40 μ L、Z=2の場合は50 μ Lとし、1<Z<2の場合は「 $40 + (40 - 30) \times (Z-1)$ 」 μ Lであり、
Y系血液においては、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の容量比をZ:1:1とするとき、塩化カルシウム水溶液、抗凝固剤液及び血小板活性剤液の添加量はZ=1の場合は40 μ L、Z=2の場合は50 μ Lとし、1<Z<2の場合は「 $40 + (40 - 30) \times (Z-1)$ 」 μ Lであることを特徴とする請求項8に記載の抗血栓薬効試験方法。
- [10] X系血液において、0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量～2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で含有させ、Y系血液において、0.18M塩化カルシウム水溶液を1容量～2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液を1容量の割合で含有させることを特徴とする請求項1から請求項9のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。
- [11] X系血液において、0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び生理食塩水を1容量の割合で含有させ、Y系血液において、0.2M塩化カルシウム水溶液を2容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液を1容量の割合で含有させることを特徴とする請求項1から請求項9のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。
- [12] X系血液において、0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及

び生理食塩水を1容量の割合で含有させ、Y系血液において、0.4M塩化カルシウム水溶液を1容量、抗凝固剤液を1容量及び血小板活性剤液を1容量の割合で含有させることを特徴とする請求項1から請求項9のいずれかに記載の抗血栓薬効試験方法。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/323302

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N33/86 (2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N33/86

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

<i>Jitsuyo Shinan Koho</i>	1922-1996	<i>Jitsuyo Shinan Toroku Koho</i>	1996-2006
<i>Kokai Jitsuyo Shinan Koho</i>	1971-2006	<i>Toroku Jitsuyo Shinan Koho</i>	1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), JMEDPLUS (JDream2), JSTPLUS (JDream2)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	OKADA et al., "Aspirin to Heparin no Sonzaika de Kesshoban wa Clot Keisei o Sokushin Shinai", Journal of Anesthesia Vol.19, Supplement P1-38.05 (2005)	1-7, 9-12/8
Y	KAWASAKI, "Effects of Platelet Agonists on Thrombolastogram in the Presence of Heparin or Argatroban" American Society of Anesthesiologists Annual Meeting Abstracts, 2003, A-162	1-7, 9-12
A	JP 2004-503781 A (Haemoscope Corp.), 05 February, 2004 (05.02.04), & US 6613573 B1 & WO 2001/096879 A2 & EP 1287349 A2	1-12

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 December, 2006 (15.12.06)

Date of mailing of the international search report
16 January, 2007 (16.01.07)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Faxsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/323302

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2000/040963 A1 (BAUGH R F), 13 July, 2000 (13.07.00), & US 2001/012634 A1 & EP 1147412 A1	1-12
E, X	WO 2006/126290 A (Jun KAWASAKI), 30 November, 2006 (30.11.06), & JP 2006-329643 A	1-12

A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int.Cl. G01N33/86 (2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int.Cl. G01N33/86

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2006年
日本国実用新案登録公報	1996-2006年
日本国登録実用新案公報	1994-2006年

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus(STN), JMEDPlus(JDream2), JSTPlus(JDream2)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X/A	岡田他「アスピリンとヘパリンの存在下で血小板はクロット形成を促進しない」 Journal of Anesthesia Vol. 19, Supplement P1-38. 05 (2005)	1-7, 9-12/8
Y	KAWASAKI, "Effects of Platelet Agonists on Thrombolastogram in the Presence of Heparin or Argatroban" American Society of Anesthesiologists Annual Meeting Abstracts, 2003, A-162	1-7, 9-12

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15. 12. 2006

国際調査報告の発送日

16. 01. 2007

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

2J 9217

山村 祥子

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2004-503781 A (ヘモスコープ コーポレイション) 2004.02.05, & US 6613573 B1 & WO 2001/096879 A2 & EP 1287349 A2	1-12
A	WO 2000/040963 A1 (BAUGH R F) 2000.07.13, & US 2001/012634 A1 & EP 1147412 A1	1-12
EX	WO 2006/126290 A (川崎潤) 2006.11.30 & JP 2006-329643 A	1-12