

ヒト第 X 因子の測定

II. 新生児期における第 X 因子活性 および第 X 因子抗原量について

奈良県立医科大学小児科学教室

金 廣 昭 美

DETERMINATION OF FACTOR X

II. FACTOR X ACTIVITY AND FACTOR X ANTIGEN IN THE NEWBORN PERIOD

TERUMI KANEHIRO

Department of Pediatrics, Nara Medical University

Received May 31, 1989

Summary: Factor X activity by solid-phase immunochromometric assay (F. X : C_{1cm}) and factor X antigen by ELISA (F. X : Ag) were measured in cord plasmas from newborn infants, and in plasmas of full-term newborn infants during the first month of life without hemorrhagic symptoms. In each group, 50 plasma samples (25 males and 25 females) were collected. In the newborn cord plasma, the levels of F. X : C_{1cm} (39.3±8.4 U/dl) and F. X : Ag (40.6±8.1 U/dl) were lower than normal plasma. F. X : C_{1cm} and F. X : Ag in the newborn plasma were lowest on the next day of life, i. e., 33.0±9.5 U/dl and 34.6±9.3 U/dl respectively, and increased gradually during the first month, reaching 66.0±13.5 U/dl and 65.7±12.4 U/dl respectively. There was no significant difference in F. X : C_{1cm} or F. X : Ag between males and females in each group. These results are discussed in connection with prothrombin, factor VII and factor IX values in the newborn period.

Index Terms

factor X activity, factor X antigen, newborn cord blood, newborn, solid-phase immunochromometric assay

緒 言

ヒト第 X 因子は血液凝固の内因および外因の両系に関与する分子量 59,000 dalton の血漿糖蛋白である。本因子はプロトロンビン、第 VII 因子および第 IX 因子と同様に肝でビタミン K の存在下に合成され、臨床的に新生児臍帯血¹⁾、新生児期^{2)~4)}、重篤肝疾患⁵⁾、抗凝血薬投与時⁶⁾などで低下することが凝血学的測定法で観察されてきた。近年、ヒト第 X 因子の純化物に対する抗ヒト第 X 因子異種動物抗血清を用いて、第 X 因子抗原量の測定が可能と

なった。教室では市販第 IX 因子濃縮製剤よりヒト第 X 因子蛋白を純化し、家兎に免疫することにより自家製抗ヒト第 X 因子抗血清を作成し、この抗体を用いた第 X 因子抗原の enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) を開発した⁷⁾。続いて、著者ら⁸⁾はヒト第 X 因子に対する 4 種のモノクローナル抗体を作成したが、このうち NMC-X/4 は heavy 鎖を認識し、かつ第 X 因子凝固活性を抑制しない特性を有するものであった。著者⁹⁾はこの NMC-X/4 を用いてポリスチレンプレートの固相上で血漿中の第 X 因子活性と第 X 因子抗原量を同時に測定す

る方法を開発した。

今回、著者はこの測定法を用いて、正常産児臍帯血および日令0より生後1カ月にいたる正期産成熟新生児の第X因子活性と抗原量の推移を検討した。

検索対象および方法

1. 検索対象：

i. 臍帯血 満期正常分娩における臍帯結紮直後の臍帯血を採取し、直ちに3.8%クエン酸ナトリウムを1/10容混合後、4℃、3,000 rpmで10分間遠沈し血漿を得た。尚、母体へのビタミンK投与はされていない症例50例を対象とした。

ii. 新生児 周産期にビタミンK投与を受けていない正期産正常新生児で出生当日を日令0とし、以後日令1、日令2、日令3、日令4、日令5、日令6～7および生後1カ月の時点で採血した。採血は手背部静脈より23 G注射針で施行した。一部の例では股静脈より採血した。これらを直ちに上記同様3.8%クエン酸ナトリウムと混合、遠沈し血漿を得た。各日令とも男25例、女25例、計50例より血漿サンプルを採取した。対象はすべて出血症状を呈していない新生児で日令0は通常未栄養、以後の大部分は混合栄養であった。

2. モノクローナル抗体を用いた固相上での第X因子活性 (F.X : C_{1cm}) と抗原量 (F.X : Ag) の同時測定法：詳細は第I報で述べたが、概略は下記のごとくである。

i. F.X : C_{1cm}の測定 抗第X因子モノクローナル抗体 (NMC-X/4) を0.05 M bicarbonate buffer (pH 9.6) にて500倍に希釈し microtiter plate に200 μl ずつ分注後4℃24時間で固相化した。ブロッキング後、洗浄し

4% BSA 加 PBS/Tween で適宜希釈した検体を100 μl ずつ添加し4℃24時間反応させた。洗浄後 Russell's Viper Venom, CaCl₂, S-2222の混合液を100 μl ずつ添加し37℃60分間反応後 OD 405 nm で測定し、F.X : C_{1cm}を得た。

ii. F.X : Ag の測定 F.X : C_{1cm}測定後のプレートを十分洗浄し、1000倍に希釈した抗第X因子家兎血清 IgG 分画100 μl を添加し37℃2時間反応させた。洗浄後2000倍に希釈したペロキシンダーゼ標識抗家兎 IgG ヤギ抗体100 μl を添加し37℃で60分間反応させた後、十分に洗浄、O-phenylendiamine を基質として添加、発色させ OD 492 nm で比色定量し F.X : Ag を得た。

3. 第X因子抗原の二次元交叉免疫電気泳動法：Laur-ellら¹⁰⁾の方法に準じて行った。

i. アガロースを1 mM 乳酸カルシウムを含む0.075 M ベロナール緩衝液 (pH 8.6) で1%に煮沸溶解しガラス板上に散布してゲル平板 (7.5×7.5 cm) を作成した。このアガロース平板の下端より2 cm、左端より2 cmの部位に縦1 cm 横3 mm の長方形の孔をあけ、被検血漿35 μl を添加後2 mA/cm で Bromophenol Blue をマーカーとしたアルブミンビークが3.5 cm 移動するまで一次元泳動を行った。泳動後は1 mM 乳酸カルシウムを含む0.075 M ベロナール緩衝液を用いた。

ii. 孔より2 mm 上で泳動方向に平行にゲルを切りとり、その上部に1 mM EDTA-Na₂を含むベロナール緩衝液で溶解した1%アガロースに自家製抗ヒト第X因子家兎血清を1.5%加え、6.6 ml 注いでゲル化してから、一次元泳動と直角方向に0.6 mA/cm で16時間泳動した。泳動液は乳酸カルシウムを含まないベロナール緩衝

Table 1. Mean±SD (U/dl) of factor X activity (F.X : C_{1cm}) and factor X antigen (F.X : Ag) in each age group

Age group	F.X : C _{1cm}			F.X : Ag		
	male n=25	female n=25	total n=50	male n=25	female n=25	total n=50
Cord			39.3± 8.4			40.6± 8.1
0 D.	34.6± 9.0	33.6±11.0	34.1± 9.9	37.0± 7.7	37.4± 8.9	37.2± 8.3
1 D.	32.6± 9.1	33.4±10.1	33.0± 9.5	33.9± 8.8	35.4± 9.9	34.6± 9.3
2 D.	37.5±11.0	36.2±11.1	36.9±10.9	40.9± 9.5	40.0±10.1	40.4± 9.7
3 D.	41.0±10.2	39.9±11.2	40.5±10.7	44.4± 9.5	44.1±10.8	44.3±10.1
4 D.	48.0±10.7	46.6±11.5	47.3±11.0	50.9± 9.9	49.0±10.3	50.0±10.1
5 D.	54.0±11.3	55.6±12.8	54.8±12.0	56.6±10.8	56.6±11.3	56.6±11.1
6-7 D.	59.0±14.0	60.0±14.0	59.5±14.0	57.0±12.8	59.4±14.3	58.2±13.5
1 M.	65.8±13.9	66.1±13.1	66.0±13.5	64.3±13.2	67.2±11.7	65.7±12.4
Adult			99.0±10.0			100.0±12.0

液を用いた。

結 果

X: C_{1cm}) および第X因子抗原量 (F. X: Ag)

満期産児の臍帯血 50 サンプルの F. X: C_{1cm} は 22~60 U/dl (39.3±8.4 U/dl) であったが、日令0では19~54 U/dl(34.1±9.9 U/dl, 男児 34.6±9.0 U/dl, 女児 33.6

1. 臍帯血ならびに新生児血漿中の第X因子活性 (F.

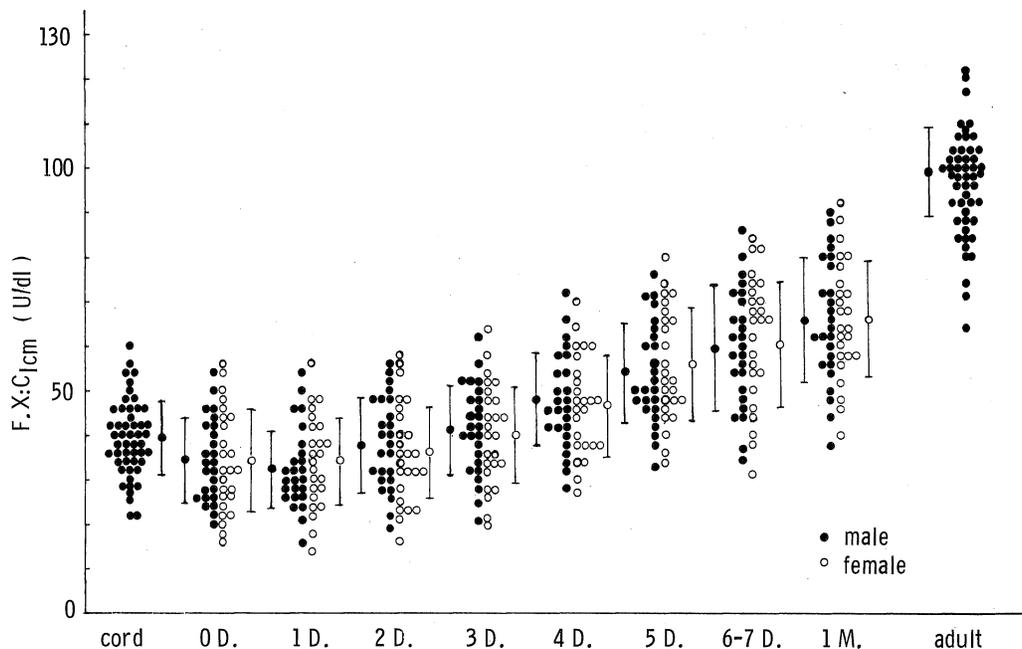


Fig. 1. Chronological changes of factor X activity.

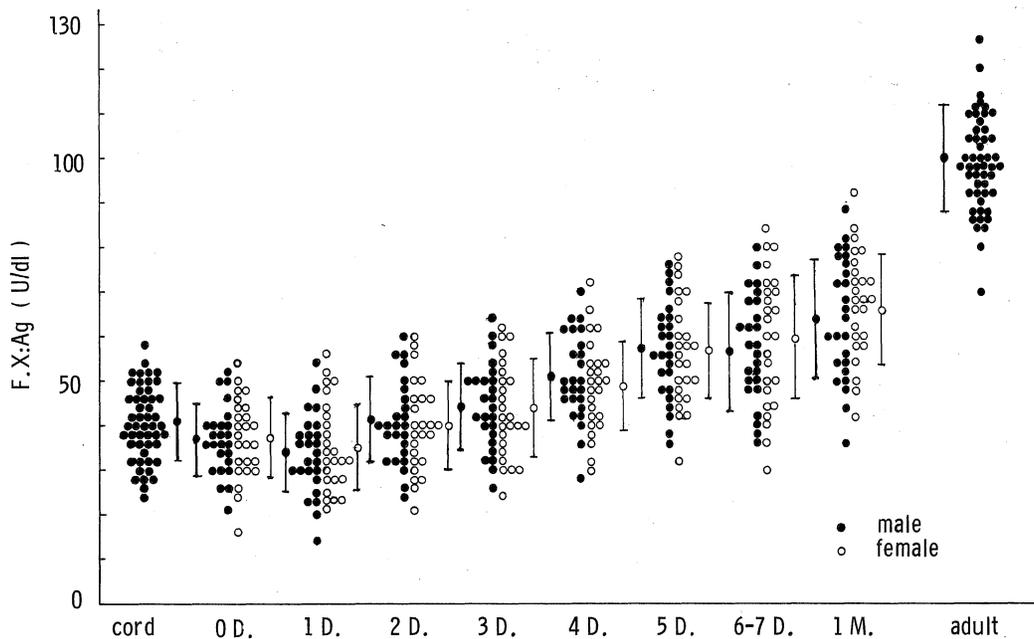


Fig. 2. Chronological changes of factor X antigen.

±11.0 U/dl) と低下し更に日令 1 では 16~56 U/dl (33.0±9.5 U/dl, 男児 32.6±9.1 U/dl, 女児 33.4±10.1 U/dl) と経過中最低値を示した。日令 2 では 16~58 U/dl (36.9±10.9 U/dl, 男児 37.5±11.0 U/dl, 女児 36.2±11.1 U/dl), 日令 3 では 20~65 U/dl(40.5±10.7 U/dl, 男児 41.0±10.2 U/dl, 女児 39.9±11.2 U/dl), 日令 4 では 28~72 U/dl(47.3±11.0 U/dl, 男児 48.0±10.7 U/dl, 女児 46.6±11.5 U/dl), 日令 5 では 36~80 U/dl(54.8±11.2 U/dl, 男児 54.0±11.3 U/dl, 女児 55.6±11.2 U/dl), 日令 6~7 では 34~86 U/dl (59.5±

12.8 U/dl, 男児 59.0±14.0 U/dl, 女児 60.0±14.0 U/dl) と徐々に増加し, 生後 1 カ月では 40~92 U/dl (66.0±13.5 U/dl, 男児 65.8±13.9 U/dl, 女児 66.1±13.1 U/dl) に達した (Table 1 および Fig. 1)。

F. X : Ag は, 臍帯血で 24~58 U/dl(40.6±8.1 U/dl) であったが, 日令 0 では 16~54 U/dl (37.2±8.3 U/dl, 男児 37.0±7.7 U/dl, 女児 37.4±8.9 U/dl) と低下し, 日令 1 では F. X : C_{1cm} の場合と同様に 16~56 U/dl (34.6±9.3 U/dl, 男児 33.9±8.8 U/dl, 女児 35.4±9.9 U/dl) と経過中最低値を示した。日令 2 では 21~60 U/

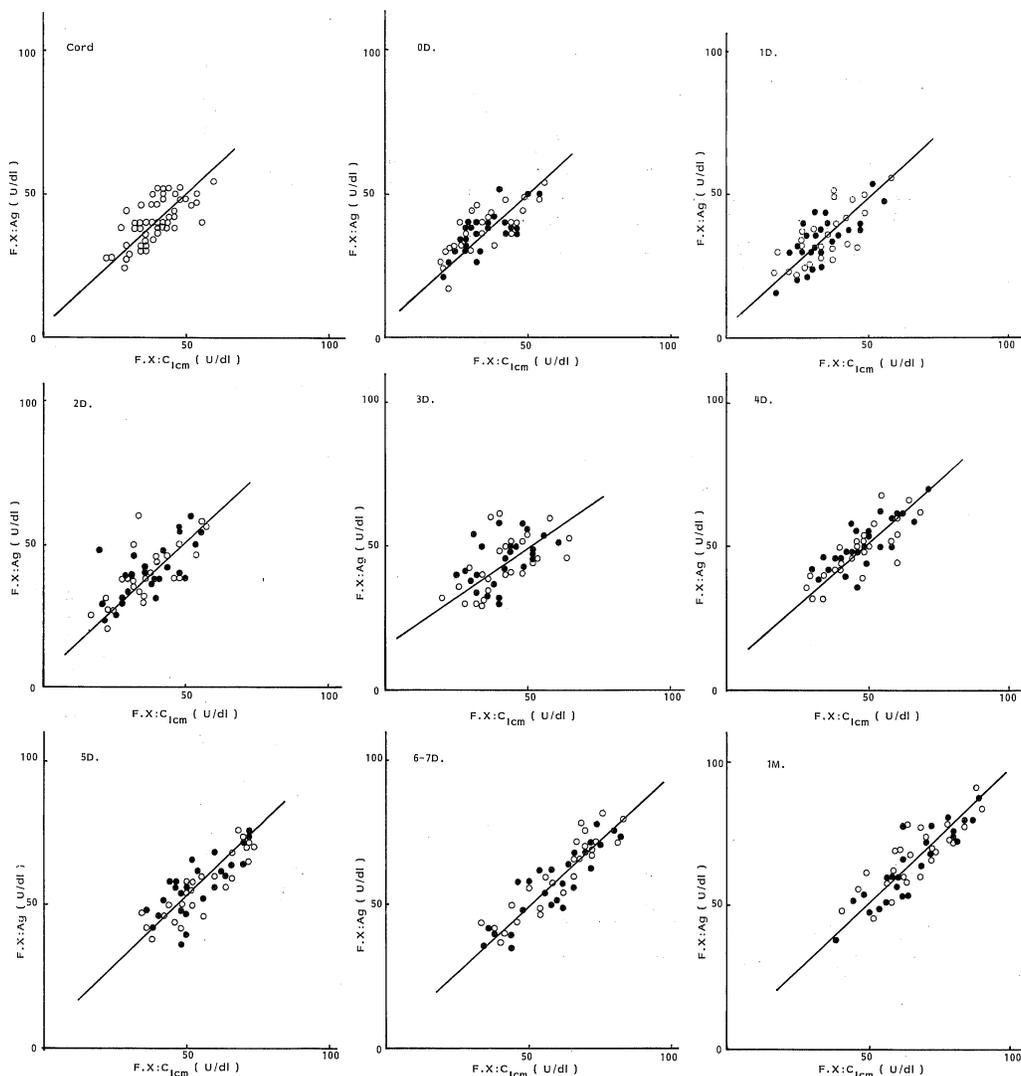


Fig. 3. Correlation between factor X activity (F. X : C_{1cm}) and factor X antigen (F. X : Ag) in each age group.

● male ○ female

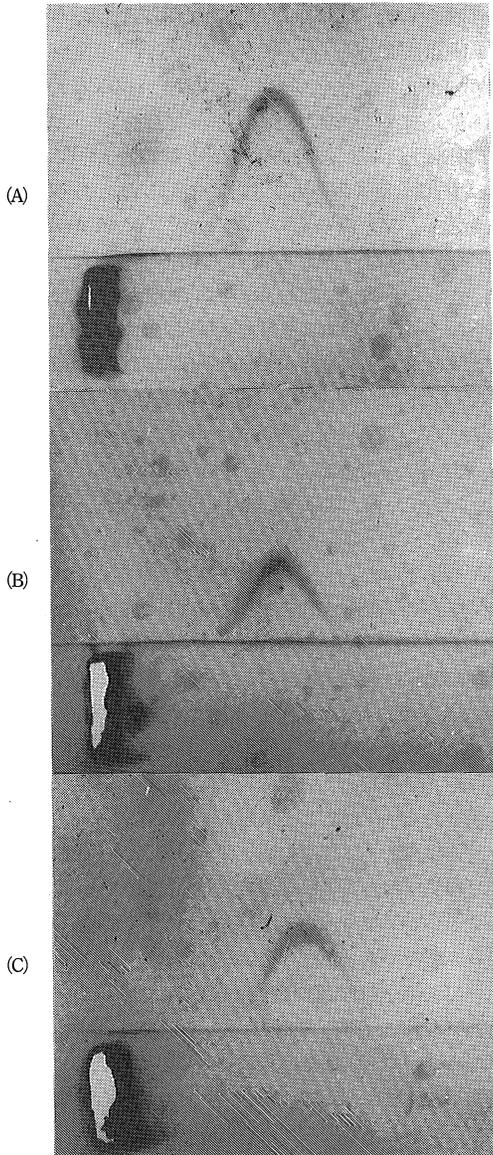


Fig. 4. Crossed immunoelectrophoretic patterns of factor X antigen in the presence of Ca^{++} ions.

- (A) healthy adult plasma
 (B) a sample of newborn plasma with $0.5 \leq \text{F.X:C}_{1\text{cm}}/\text{F.X:Ag} < 0.65$
 (C) a sample of newborn plasma with $\text{F.X:C}_{1\text{cm}}/\text{F.X:Ag} < 0.5$

dl(40.4 ± 9.7 U/dl, 男児 40.9 ± 9.5 U/dl, 女児 40.0 ± 10.1 U/dl), 日令 3 では $28 \sim 64$ U/dl (44.3 ± 10.1 U/dl, 男児 44.4 ± 9.5 U/dl, 女児 44.1 ± 10.8 U/dl), 日令

4 では $28 \sim 70$ U/dl(50.0 ± 10.1 U/dl, 男児 50.9 ± 9.9 U/dl, 女児 49.0 ± 10.3 U/dl), 日令 5 では $36 \sim 76$ U/dl (56.6 ± 11.0 U/dl, 男児 56.6 ± 10.8 U/dl, 女児 56.6 ± 11.3 U/dl), 日令 6 ~ 7 では $34 \sim 80$ U/dl(58.2 ± 13.3 U/dl, 男児 57.0 ± 12.8 U/dl, 女児 59.4 ± 14.3 U/dl)と徐々に増加し, 生後 1 カ月では $38 \sim 92$ U/dl(65.7 ± 12.4 U/dl, 男児 64.3 ± 13.2 U/dl, 女児 67.2 ± 11.7 U/dl)に達した (Table 1 および Fig. 2).

2. 各検索対象群の F.X:C_{1cm}と F.X:Ag の相関
 臍帯血における F.X:C_{1cm}と F.X:Ag の相関係数は $\gamma = 0.72$ と良好であった。日令 0 では $\gamma = 0.78$, 日令 1 では $\gamma = 0.76$, 日令 2 では $\gamma = 0.66$, 日令 3 では $\gamma = 0.63$, 日令 4 では $\gamma = 0.79$, 日令 5 では $\gamma = 0.80$, 日令 6 ~ 7 では $\gamma = 0.88$, 生後 1 カ月では $\gamma = 0.81$ であった (Fig. 3).

F.X:C_{1cm}/F.X:Ag の低下しているもの (< 0.65) が日令 1 に 2 例, 日令 2 に 3 例, 日令 3 に 3 例, 日令 4 に 1 例認められたが, そのうち日令 2 の 1 例は 0.5 よりも低下していた。これらのサンプルについて第 X 因子抗原の二次元交叉免疫電気泳動を行ったところ, F.X:C_{1cm}/F.X:Ag が 0.5 より低下していた日令 2 の例では, 正常血漿の arc 内であったがそのピークはやや陽極側に位置した低い一峰性の arc が認められ, その他の例では正常血漿と同一のピークを持つ低い一峰性の arc が見られた (Fig. 4).

考 察

新生児期において第 X 因子活性が低下していることは Aballi ら²⁾(1959) の報告以来, 諸家により数多く観察されてきた³⁾。しかし抗原量の推移については報告がない。第 X 因子抗原の測定には抗ヒト第 X 因子異種血清が必要であり, 最近市販されているが高価である。又, 新生児期に経時的に検索することは採取血液量にも一定の制約があり, 第 X 因子の活性および抗原量の測定が routine work としては行い難いことによると思われる。緒言で述べたごとく教室では市販第 IX 因子濃縮製剤よりヒト第 X 因子蛋白を純化し, 家兎に免疫して自家製抗ヒト第 X 因子家兎抗血清を作成した。澤井¹⁾はこの抗血清を用いて, 生後 1 カ月より 12 カ月に至る健康乳児と 1 才より 15 才までの正常小児の第 X 因子抗原量を測定し, 第 X 因子活性と対比して検討したが, 新生児期の推移については検討しえなかった。著者⁹⁾は抗第 X 因子モノクローナル抗体を用いた固相上での第 X 因子活性と抗原量の同時測定法を開発した。方法の詳細は第 I 報で述べたので概略にとどめるが, 教室で作成した第 X 因子活性を阻

止しない抗第X因子モノクローナル抗体であるNMC-X/4よりIgG分画を作成しELISA用ポリスチレン96穴マイクロプレートの各ウェルに固定し、これに希釈被検血漿を添加して抗原・抗体反応を行わせ固相上の反応物にRussell's 蛇毒および塩化カルシウムを添加して遊離するp-ニトロアニリンを405 nmで測定することにより第X因子活性を算定する。この第X因子活性測定後、プレート上の反応物を十分洗浄し自家製抗第X因子家兎血清を添加して、抗原と反応させ次いでペルオキシダーゼ標識抗家兎IgGヤギ抗体と反応させるELISAの系で被検血漿中の第X因子抗原量を測定するものである。本測定法の利点は①数 μ lの血漿サンプルを用いて活性と抗原量が同一のプレート上で測定しうる。②欠乏血漿の必要がないため、B型肝炎やAIDS感染の危険性が少ない。③高価な合成発色基質が従来の液相でのchromometric assayと比べ数分の一で済み経済的である、などである。今回、この測定法を用いて正常産児の生後1カ月までの第X因子活性と抗原量の推移を検討した。

臍帯血サンプルでは第X因子活性は 39.3 ± 8.4 U/dl, 第X因子抗原量は 40.6 ± 8.1 U/dlで、正常成人 99.0 ± 10.0 U/dl, 100.0 ± 12.0 U/dlの各々40%前後の値を示した。日令0の50サンプルでは、活性 34.1 ± 9.9 U/dl, 抗原量 37.2 ± 8.3 U/dlと低下し、日令1では各々 33.0 ± 9.5 U/dl, 34.6 ± 9.3 U/dlと最低値を示した。以後漸次増加し日令6~7では 59.5 ± 14.0 U/dl, 58.2 ± 13.5 U/dl, 生後1カ月で 66.0 ± 13.5 U/dl, 65.7 ± 12.4 U/dlと成人値の約2/3に到達した。これら生後1カ月の値は澤井¹¹⁾のS-2222による液相amidolytic法の 61.7 ± 10.1 U/dl, Laurell法による抗原量 64.3 ± 12.6 U/dlといずれもほぼ同様の値を示した。

各対象群において第X因子と抗原量のいずれも男女差は認められなかった。第X因子活性と抗原量の相関は臍帯血では $\gamma=0.72$, 日令0で $\gamma=0.78$, 日令1で $\gamma=0.76$ と良好であったが日令2では $\gamma=0.66$, 日令3では $\gamma=0.63$ とやや低下した。日令4, 日令5, 日令6~7および生後1カ月での相関は各々0.79, 0.80, 0.88, および0.81と良好であった。

今回の新生児期第X因子の動態を教室の三村¹²⁾¹³⁾および松山¹⁴⁾のプロトロンビン, 阪井¹⁵⁾¹⁶⁾, 三上¹⁷⁾の第IX因子, 吉川¹⁸⁾の第VII因子のそれと比較すると、臍帯血ではプロトロンビン活性 45.0 ± 8.0 U/dl, 第IX因子活性 31.0 ± 18.0 U/dl, 第VII因子活性 51.1 ± 11.5 U/dl, 第X因子活性 39.3 ± 8.4 U/dlであり又、プロトロンビン抗原量 42.0 ± 7.0 U/dl, 第IX因子抗原量 32.0 ± 18.0 U/dl, 第VII

因子抗原量 51.5 ± 10.9 U/dl, 第X因子抗原量は 40.6 ± 8.1 U/dlであった。従って生直後の各因子の産生状態は第VII因子>プロトロンビン>第X因子>第IX因子の順であった。日令1ではプロトロンビン活性 37.5 ± 9.7 U/dl, 第IX因子活性 30.6 ± 11.8 U/dl, 第VII因子活性 44.3 ± 11.1 U/dl, 第X因子活性 33.0 ± 9.5 U/dlと各々更に低値を示し、又、抗原量もプロトロンビン 40.6 ± 8.9 U/dl, 第IX因子 34.4 ± 13.2 U/dl, 第VII因子 45.3 ± 11.1 U/dl, 第X因子 34.6 ± 9.3 U/dlとより低値を示した。その後各因子の活性および抗原量は漸次増加し、日令6~7ではプロトロンビン活性 53.0 U/dl, 第IX因子活性 52.6 ± 5.8 U/dl, 第VII因子活性 73.9 ± 11.5 U/dl, 第X因子活性 59.5 ± 14.0 U/dlとなり、抗原量もプロトロンビン 51.0 U/dl, 第IX因子 53.9 ± 7.4 U/dl, 第VII因子 75.6 ± 112.7 U/dl, 第X因子 58.2 ± 13.5 U/dlであった。生後1カ月ではプロトロンビン活性 54.7 ± 11.0 U/dl, 第IX因子活性 40.6 ± 7.3 U/dl, 第VII因子活性 77.7 ± 12.2 U/dl, 第X因子活性 66.0 ± 13.5 U/dlとなり、抗原量もプロトロンビン 52.6 ± 8.5 U/dl, 第IX因子 41.0 ± 7.7 U/dl, 第VII因子 80.3 ± 13.6 U/dl, 第X因子 65.7 ± 12.4 U/dlに達した。従って生後1カ月での各因子の産生状態は、第VII因子>第X因子>プロトロンビン>第IX因子の順であり同じビタミンK依存性凝固因子でも各々生合成速度の異なっていることが観察された。

前述のごとく、新生児期における第X因子活性と抗原量の相関は臍帯血では0.78と比較的良好であったが、日令2および3で0.63~0.66とやや低下し以後1カ月まで0.8前後であった。日令2~3においては第X因子活性/第X因子抗原量の比が0.42~1.20で0.5以下が1例観察された。活性/抗原比が0.65よりも低下している9例について、抗第X因子家兎血清を用いた二元交叉免疫電動泳法で1mM Ca^{++} 存在下に第X因子抗原の泳動像を観察したところ、正常血漿の泳動arcに比べてarcのピークが陽極側へずれるものが1例観察され、これは第X因子活性/抗原比が0.42で明らかに低下している例であった。

第X因子はプロトロンビン, 第VII因子, 第IX因子などと同様にビタミンK依存性因子である。ビタミンK欠乏状態ないしはビタミンK拮抗剤投与時にこれら因子の γ -carboxyl glutamin酸(Gla)を欠く異常蛋白(protein induced by vitamin K absence or antagonist, PIVKA)が産生される。このPIVKAは Ca^{++} 存在下での電気泳動では正常分子のarcよりも陽極側に泳動される。新生児期のビタミンK依存性因子のPIVKAの動態については、三村¹³⁾が二次元交叉免疫電気泳動法で日令2~3

の血漿サンプルの約1/3にPIVKA-IIのarcの出現を観察し、阪井¹⁰⁾は日令2~3で1/3~1/4の頻度にPIVKA-IXのarcが出現すると報告している。今回、著者が行った第X因子の二次元交叉免疫電気泳動法で泳動arcのピークが正常血漿に比べ陽極側であったのは日令2のサンプル50例中1例のみであった。この1例の泳動arcは上述のPIVKA-II、PIVKA-IXと同様にPIVKA-Xによるものと推察されるが、現在のところPIVKA-Xに対するモノクローナル抗体あるいはポリクローナル抗体は作成されておらず、PIVKA-Xの定量法が開発されていないので確定はしえなかった。

結 語

著者の開発した抗第X因子モノクローナル抗体による第X因子活性と抗原量の同時測定法を用いて、正常産正常児臍帯血および正常新生児における第X因子活性と抗原量の推移を検索した。

1. 臍帯血の第X因子活性は 39.3 ± 8.4 U/dl, 第X因子抗原量は 40.6 ± 8.1 U/dlであった。日令1では活性 33.0 ± 9.5 U/dl, 抗原量 34.6 ± 9.3 U/dlと経過中最低値となり、以後順次増加し日令6~7で活性 59.5 ± 14.0 U/dl, 抗原量 58.2 ± 13.5 U/dl, 生後1カ月では活性 66.0 ± 13.5 U/dl, 抗原量 65.7 ± 12.4 U/dlに達した。

2. 各対象群とも第X因子活性と第X因子抗原量はよく相関していたが、日令2, 3ではやや低下していた。男女間の有意差は認められなかった。

3. 新生児期における第X因子活性と抗原量の動態をプロトロンビン, 第VII因子, 第IX因子のそれと比較し検討した。

本論文の要旨は第24回日本新生児学会で発表した。

文 献

- 1) 吉田邦男, 吉岡慶一郎, 田川徳治, 神末光隆: 新生児臍帯血の第VII因子複合体並びに第X因子 (tuart因子). 奈医誌. **13**: 15-19, 1962.
- 2) Aballi, A. J., Banus, V. L., Lamernens, S. and Rozengvaig, S.: Coagulation studies in the newborn period. IV. Deficiency of Stuart-Prower factor as a part of the clotting defect of the newborn. Am. J. Dis. Child. **97**: 549-554, 1959.
- 3) van Creveld, S.: Coagulation disorders in the newborn period. J. Pediatr. **54**: 633-643, 1959.
- 4) Yoshida, K., Yorshioka, K., Morii, N., Tagawa, N., Takita, N. and Kamisue, M.: Prothrombin, factor V, factor VII-complex, factor IX, factor X and Tatsumi factor in mature and premature infants. Pediatr. Japonica **4**: 28, 1962.
- 5) 森 和夫, 平塚 徹, 北村竜夫, 涌井和夫, 三浦清美: 肝疾患と出血性素因. 肝臓 **112**: 114-117, 1971.
- 6) 藤巻道男, 加藤正俊: 第V, VII, X因子. 総合臨牀 **27**: 2241-2245, 1978.
- 7) 大久保芳明, 高瀬俊夫, 嶋 裕子, 松山郁子, 杉本充彦, 藤村吉博: 固相サンドイッチ法を用いた酵素免疫測定法 (ELISA) によるプロトロンビンおよび第X因子の測定. Immunohaematology **5**: 365-371, 1983.
- 8) Okubo, Y., Shima, M., Sugimoto, M., Kanehiro, T., Oku, K., Tanaka, I., Yoshioka, A. and Fukui, H.: The production and characterization of four monoclonal antibodies to human factor X. J. Nara Med. Ass. **38**: 20-28, 1987.
- 9) 金廣昭美: ヒト第X因子の測定. I. 抗第X因子モノクローナル抗体を用いた固相上での第X因子活性と抗原量の同時測定法. 奈医誌. **38**: 744-752, 1987.
- 10) Laurell, C. B.: Antigen-antibody crossed immunoelectrophoresis. Analyt. Biochem. **10**: 358-361, 1965.
- 11) 澤井 遵: 第X因子の凝血学的測定法に関する研究. II. 正常小児各年令群における第X因子活性及び抗原量の推移. 奈医誌. **36**: 90-100, 1985.
- 12) 三村良明: 新生児期のプロトロンビンに関する研究. I. 新生児臍帯血のプロトロンビン活性及びプロトロンビン抗原について. 奈医誌. **31**: 343-353, 1980.
- 13) 三村良明: 新生児期のプロトロンビンに関する研究. II. 新生児期におけるプロトロンビン活性及びプロトロンビン抗原について. 奈医誌. **32**: 219-231, 1981.
- 14) 松山郁子: 乳児期におけるプロトロンビンの凝血・免疫学的研究. I. 正常乳児のプロトロンビン活性及び抗原について. 奈医誌. **34**: 356-362, 1983.
- 15) 阪井利幸: 新生児期の第IX因子に関する研究. I. 新生児臍帯血の第IX因子活性及び第IX因子抗原について. 奈医誌. **32**: 340-348, 1981.
- 16) 阪井利幸: 新生児期の第IX因子に関する研究. II. 新生児期における第IX因子凝固活性及び第IX因子抗原について. 奈医誌. **33**: 99-107, 1982.
- 17) 三上貞昭, 松山郁子, 神吉博子, 澤井 遵, 高瀬俊

(442)

金 廣 昭 美

夫, 松岡宏明: 乳児期における第IX因子活性及び抗原の推移. 奈医誌. **36**: 287-290.

18) 吉川 昇: 小児期の凝固第VII因子に関する研究. 奈医誌. **38**: 1007-1018, 1987.