慢性腎炎, ネフローゼにおける血小板 ATP, ADP 放出能の検討

戸村 成男* 桜井俊一朗* 栗山廉二郎*
千田 佳子* 井田 隆* 武内重五郎*
本宮 武司** 田上憲次郎** 山崎 博男**

Decrease in release of adenine nucleotides from platelets in patients with chronic glomerulonephritis and the nephrotic syndrome

Shigeo TOMURA*, Shunichiro SAKURAI*, Renjiro KURIYAMA*,
Yoshiko CHIDA*, Takashi IDA*, Jugoro TAKEUCHI*,
Takeshi MOTOMIYA**, Kenjiro TANOUE** and Hiroh YAMAZAKI**

Key words: chronic glomerulonephritis (CGN), release of ATP and ADP,
platelet hyperaggregability, plasma β -TG, storage pool content

Releases of ATP and ADP from platelets were examined in 20 patients with chronic glomerulonephritis (CGN) and the nephrotic syndrome (NS). Five minutes after an addition of $3\mu\text{g/ml}$ of collagen to PRP at 37°C in aggregation meter (Sienco), ATP and ADP contents in the supernatant were measured by Holmsen's firefly luciferase method.

The mean values of platelet aggregation and plasma β -thromboglobulin (β -TG) in the patients were significantly higher compared with those of healthy controls. The mean release of ATP from platelets in the patients was 1.09 ± 0.41 (SD) $\mu\text{moles}/10^{11}$ platelets, significantly lower than that of healthy controls ($1.46 \pm 0.36 \mu\text{moles}/10^{11}$ platelets). The mean platelet ADP release was $1.24 \pm 0.40 \mu\text{moles}/10^{11}$ platelets in the patients. This value was lower than that of healthy controls ($1.52 \pm 0.42 \mu\text{moles}/10^{11}$ platelets), although this did not reach significance. There was a significant correlation between platelet ATP and ADP release and platelet ATP and ADP content.

* 東京医科歯科大学医学部第二内科 [〒113 文京区湯島1-5-45], Department of Internal Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.

** 東京都臨床医学総合研究所循環器部, Division of Cardiovascular Research, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo, Japan.

The results suggest that the contents of storage adenine nucleotides in platelets collected from patients with CGN and NS are decreased in vivo. The increase in platelet aggregability and plasma β -TG and the decrease in storage pool adenine nucleotide content may reflect the activation of platelets in the circulating blood of the patients.

はじめに

慢性腎炎では、血小板凝集能の亢進、血漿 β -thromboglobulin (β -TG) および血小板第4因子 (PF-4) の増加、血小板内 ATP, ADP 量の減少がみられることから、生体内で血小板の活性化が生じていることが示唆されている^{1,2)}。今回、慢性腎炎における血小板アデニンヌクレオチドの動態を、血小板の ATP, ADP 放出能を中心に検討した。

I. 対象および方法

慢性腎炎20例、健常者10例を対象とした。慢性腎炎例の BUN は11~36 mg/dl, 血清クレアチニンは0.7~1.7 mg/dl, クレアチニン・クリアランスは 44~180 l/24時間の範囲にあった。高窒素血症そのものが血小板機能に影響を及ぼすので、高度の腎機能障害例は対象から除外した。腎生検所見は、微小変化腎炎3例、巣状腎炎2例、メサングウム増殖性腎炎6例、膜性腎症3例、膜性増殖性腎炎3例、微小変化ネフローゼ3例であった。

血小板凝集能は Sienco 凝集計を用い、血漿 β -TG は RIA 法で測定した。血小板の ATP, ADP 放出能は次の方法で検討した。PRP に終濃度 3 μ g/ml のコラーゲンを加え、37°C, 5 分間 Sienco 凝集計の中で攪拌し凝集反応の起ったことを確認した後、13.4 mM の EDTA を加え 0°C にて凝集反応を止め遠心、上清を得た。この上清にエタノールを加え、遠心後の上清を ATP, ADP の測定に用いた。ATP, ADP の測定は、Holmsen らによる firefly luciferase 法³⁾で測定した。また、血小板内 ATP, ADP 量は既報の方法²⁾に準じて測定した。有意差の検定は t 検定を用いた。

Fig. 1 Release of ATP induced by 3 μ g/ml of collagen

II. 結 果

血小板凝集能 (5 分後凝集値) は、慢性腎炎で ADP 3 μ M 64.2 ± 5.3 (SE)%, アドレナリン 1 μ g/ml 73.8 ± 2.8 % といずれも健常者と比較して有意 (それぞれ $p < 0.01$, $p < 0.001$) の亢進を示した。血漿 β -TG は慢性腎炎、健常者でそれぞれ、 72.4 ± 13.0 , 22.2 ± 1.6 (SE) ng/ml と慢性腎炎で有意 ($p < 0.001$) の増加が認められた。

血小板からの ATP 放出量は、慢性腎炎では 1.09 ± 0.41 (SD) μ moles/ 10^{11} platelets であり、健常者の 1.46 ± 0.36 μ moles/ 10^{11} platelets と比較して有意の減少 ($p < 0.05$) が認められた (図 1)。ADP 放出量は健常者、慢性腎炎でそれぞれ、 1.52 ± 0.42 , 1.24 ± 0.40 μ moles/ 10^{11} platelets であり、慢性腎炎で低下傾向 ($p < 0.1$) がみられた。

既報²⁾のように、コラーゲン凝集前の血小板

Fig. 2 Correlation between platelet ATP content and platelet ATP release

内 ATP 量は健常者と比較して慢性腎炎で有意の減少 ($p < 0.05$) を示し、また血小板内 ADP 量も慢性腎炎で低下傾向 ($p < 0.1$) がみられた。

健常者および慢性腎炎におけるコラーゲン凝集前の血小板内 ATP 量と ATP 放出量との関連をみると、両者の間には有意の正の相関 ($r = 0.60$, $p < 0.001$) が認められた (図 2)。また、血小板内 ADP 量と ADP 放出量との間には、弱い正の相関 ($r = 0.39$, $p < 0.05$) がみられた。

III. 考 察

慢性腎炎では、血小板凝集能の亢進がみられること、血漿 β -TG, PF-4 の増加があり、ticlopidine, Aspirin などの抗血小板薬の投与で血漿 β -TG が低下すること、血小板内 ATP, ADP 量が減少していることから、生体内で放出反応を伴う血小板の活性化が起っていることが示唆されることをすでに報告してきた^{1,2)}。

今回の検討で、慢性腎炎では健常者と比較して、血小板からの ATP, ADP 放出能が軽度低下していること、血小板 ATP, ADP 放出能は血小板 ATP, ADP 含有量とそれぞれ正の相関を示すことが認められた。また、ADP, アドレナリン凝集の亢進、血漿 β -TG の増加がみられた。

これは慢性腎炎においては、血管内皮障害あ

るいは免疫複合体などを介して血小板が活性化され^{4,5)}、流血中ですでに血小板の ATP, ADP 含有量が低下している結果、in vitro での放出量も減少していることを示唆する。すなわち、血栓症の急性期や手術後⁶⁾と同様に、生体内で血小板機能が亢進し、これに伴い放出反応が生じているため、このような病態がみられるものと考えられる。放出反応を伴う血小板の活性化は、糸球体毛細血管で血栓形成、血管透過性因子や細胞増殖因子の放出を引き起し、糸球体障害の病因に関与する可能性がある。

ま と め

1) 慢性腎炎の流血中血小板の ATP, ADP 放出能を検討するために、in vitro でコラーゲン凝集を起させ血小板から放出される ATP, ADP 量を測定した。2) 慢性腎炎では、血小板凝集能の亢進、血漿 β -TG の増加、血小板からの ATP, ADP 放出能の低下、血小板内 ATP, ADP 量の減少が認められた。3) 慢性腎炎の流血中血小板が、血管内皮障害、免疫複合体などの刺激で機能亢進を示し、これに伴う放出反応の結果、血小板 ATP, ADP の含有量および放出能の低下が生じたものと考えられる。

本研究の一部は厚生省特定疾患「腎糸球体障害」研究費および科学研究費 (56480156) による。

文 献

- 1) Tomura, S., Ida, T., Kuriyama, R., et al.: Activation of platelets in patients with chronic proliferative glomerulonephritis and the nephrotic syndrome. Clin. Nephrol., **17**; 24 ~30, 1982.
- 2) 戸村成男, 桜井俊一朗, 栗山廉二郎, 他: 慢性腎炎における血小板 アデニンスクレオチドの動態異常について. 血液と脈管, **13**; 133 ~ 137, 1982.
- 3) Holmsen, H., Storm, E. and Day, H.J.: Determination of ATP and ADP in blood platelets: A modification of the firefly luciferase assay for plasma. Anal. Biochem.,

- 46; 489~501, 1972.
- 4) Tsao, C.H.: In vitro platelet reaction with isolated glomerular basement membrane. Ultrastructural comparison with platelet—collagen reaction. Thromb. Diath. Haemorrh., **25**; 507~516, 1971.
- 5) Israels, E.D., Nisli, G., Paraskevas, F., et al.: Platelet Fc receptor as a mechanism for Ag—Ab complex—induced platelet injury. Thromb. Diath. Haemorrh., **29**; 434~444, 1973.
- 6) Yamazaki, H., Motomiya, T., Watanabe, C., et al.: Consumption of larger platelets with decrease in adenine nucleotide content in thrombosis, disseminated intravascular coagulation, and postoperative state. Thromb. Res., **18**; 77~88, 1980.

● 周産(生)期感染症の臨床指針書!

妊婦・胎児・新生児の感染症

編集 日本周産(生)期医学研究会 専門医91氏分担執筆

B 5 判 289頁 図102 表175 定価9,800円(〒240円)

本書は周産(生)期医学の立場に立って問題の多い妊婦、胎児、新生児の感染症を再検討し、ウイルス、マイコプラズマ、原虫、細菌を含めて、新しく見出された疾患、従来より知られた感染症を現代の進歩したウイルス学、細菌学および免疫学より洗い直し、産婦人科医、小児科医の実地診療上必要な感染症の臨床指針書である。

● 内容: 【妊婦の感染症】 1. 妊婦感染症, 2. 化学療法, 3. 産褥感染症, 4. 妊婦慢性腎盂腎炎, 【胎児の感染症】 1. 胎児感染症の化学療法, 2. 先天性トキソプラズマ症, 3. サイトメガロウイルス感染症, 4. HBs抗原と垂直感染, 5. B型肝炎ウイルスの垂直感染, 6. B型肝炎ウイルスの母児間伝播, 7. 前期破水, 分娩遷延と未熟児感染症, 8. 感染の母児相関, 9. 新生児肺炎と産科的異常, 10. 妊婦予防接種の胎児への影響, 【新生児の感染症】 1. 新生児感染症, 2. 新生児と抗生物質, 3. 新生児感染症の診断と治療, 4. 先天性免疫不全症と新生児敗血症, 5. 予後不良であった新生児細菌感染症, 6. 未熟児室における感染症の集団発生, 7. 新生児室内感染, 8. 細菌培養と感受性検査, 【周産期感染症と免疫】 1. 妊婦の感染と免疫, 2. 胎児感染と免疫, 3. 新生児感染症と免疫, 4. 初乳の免疫に関する役割。