血小板内小器官の量的解析

—先天性血小板機能異常症と白血病の血小板について—

貝沼 悟* 出口 克巳* 留奥 誠* 長野 正*
村嶋 正幸* 小林 透* 白川 茂*

Morphometric analysis of platelet organelles in congenital qualitative platelet diseases and hematopoietic disorders

Satoru KAINUMA*, Katsumi DEGUCHI*, Makoto TOMEOKU*, Tadashi NAGANO*,
Seiko MURASHIMA*, Tooru KOBAYASHI* and Shigeru SHIRAKAWA*

Key words: electron microscopy, morphometric analysis, platelet organelles, congenital qualitative platelet diseases, hematopoietic disorders.

The characteristics of platelet organelles in various diseases were morphometrically studied with a manual optical picture analyzing system (MOP/AM 03 from Kontron). We have measured the platelet profile area and the number and area of each platelet organelle [α -granule (α -G), dense granule (DG), morphologically atypical α -G and DG (α' -G, D'G), mitochondria, unidentified granule, open canalicular system (OCS), membrane complex, myelin figure]. Parameters of each organelles were expressed as "F" (total number/platelet area 100 cm²), "A" (total area/total number) and "O" (total area/platelet area 100 cm²).

"F", "A" and "O" of mitochondria in almost all patients with hematopoietic disorders (7 cases) and with congenital qualitative platelet diseases (4 cases) were within normal range. "A" and "O" of OCS increased in many patients and myelin figures were often observed in OCS of platelet from 2 patients of them, with thrombasthenic syndrome. "A" of membrane complex increased in hematopoietic disorders, especially increased in an AMMoL patient. The platelet from an AMMoL showed low "F" and "O" of α -G. The sum total "F" of DG

* 三重大学医学部第二内科〔〒514 津市江戸橋 2-174〕, The Second Department of Internal Medicine, Mie University, Tsu, Japan.

and D/G was reduced in 2 patients with storage pool deficiency, while increased in the others except for an AMMoL.

緒 言

1979年, Weiss ら¹⁾は初めて画像解析装置を導入し, Storage pool deficiency (SPD) における血小板内小器官の量的解析を施行した. われわれも, 本装置を導入し, 先天性血小板機能異常症, 造血器腫瘍性疾患における血小板の微細構造的特徴の解明を試みた.

I. 対 象

SPD 2例 [うち 1例は Hermansky-Pudlak syndrome (HPS)], Thrombasthenic syndrome (TS) 2例(姉弟例), AML 2例(完全寛解時), AMMoL 1例(輸血のみ), CML 3例(脾摘前), Polycythemia vera (PV) 1例, 健常人 6名である.

II. 方 法

10% EDTA 処理 PRP を Weiss ら¹⁾の方法に準じ電顕標本に作製した. JEM100B にて視野を連続撮影, 最終倍率30,000倍拡大の電顕写真を用い, 血小板の総面積, 各小器官の個数, 面積を画像解析装置 (MOP/AM03 Kontron社製) により計測した. 各小器官について, 出現頻度 (F: Number/Platelet area 100cm²), 平均面積 (A: mm²), 占拠面積 (F×A) (O: mm²/Platelet area 100 cm²) を算出し, これらを解析のための parameter とした.

III. 成績ならびに考案

計測した血小板内小器官は下記の通りである. α -granule (α -G), α' -G (α -G と考えられる顆粒内の一部に電子密度の高い nucleoidあるいは結晶様構造を有するもの), dense granule (DG), D/G (一見, DG と思われる顆粒内に粒状や小顆粒状で電子密度の高い不規則な構造物を有するもの), mitochondria (M), unidentified granule (U; α -, α' -, D, D/G, M に区分できないもの), open canalicular system (OCS),

membrane comple (MC; 数個以上の空胞が集合し, それらの間隙が膜様のもの), myelin figure (MF) である. 表 1 には, 健常人 6 名の小器官の ($\bar{X} \pm SD$) を示し, 以上 ($\uparrow$) あるいは以下 ($\downarrow$) を異常値とし各種疾患で共通して異常値を呈するものを表記した. 諸種疾患の M の出現頻度, 平均面積, 占拠面積は全例ほぼ正常範囲内であった.

まず膜系小器官のうち, OCS では平均面積, 占拠面積ともに高値を示す症例が多く認められた. TS 2 症例における OCS 内には MF がしばしば観察され, その出現頻度は健常人のみならず, 他の諸種疾患におけるそれに比し有意に高値であった. この OCS 内に MF の多数出現することは, 本疾患における微細構造上の特徴的所見とも考えられ, また血小板膜 glycoprotein (IIb, III) の異常を反映している可能性を示唆し, 興味深い所見と考えられる.

次に, OCS と dense tubular system (DTS) が複雑に入り組んで構成される MC²⁾では, とくに造血器腫瘍性疾患の大部分の症例における出現頻度は低値, 平均面積は高値であった. 特に Linman らのいう AMMoL では出現頻度は正常にもかかわらず, 平均面積が著しく高値であり, 同時に検討した Collagen, Adrenalin 凝集は低値, ADP 凝集曲線は解離型を示した. これら凝集異常は骨髓増殖性疾患症例におけるアラキドン酸代謝異常を示した血小板機能検査成績³⁾に類似している. DTS はアラキドン酸代謝の場であるといわれており, MC を DTS と OCS との複合小器官と考えるならばこの AMMoL 症例に観察される MC の形態異常は同時にアラキドン酸代謝異常をも反映している可能性も推察されるが, この点さらに症例を重ね検討したい.

血小板内顆粒についてみると, α -G の出現頻度は小器官中最も高く, 健常人 6 名の ($\bar{X} \pm SD$) は Weiss らの成績 16.6 ± 1.9 Number/pl. area 100 cm² よりも高値であった. また, DG では

Table 1 Platelet organelles

		α -G			DG			MC			OCS		MF
		F	A	O	F	A	O	F	A	O	F	A	
SPD (HPS) 1	n=1	↑	↓	↑	0	↓	↓		↓				↑
SPD 2	n=1		↓	↓		↓			↑				
Thrombasthenic Syndrome (No Treatment)	n=2					↑	↑				↑	↑	↑
AML (Complete Remission)	n=2				↑	↑	↑	↓	↑				
AMMOL (Linman) (Blood Transfusion)	n=1	↓	↓	↓	↑				↑	↑		↑	
CML (Before Splenectomy)	n=3					↑	↑		↑			↑	
Polycythemia Vera (No Treatment)	n=1				↑	↑	↑	↓	↑			↑	

↑ : over (Mean+2SD). ↓ : under (Mean-2SD)

Values ($\bar{X} \pm SD$) of frequency (F : number/Platelet area 100 cm²), mean area (A : mm²) and F×A (O : mm²/Platelet area 100 cm²) from 6 healthy subjects are following α -G : F=36±3, A=24±1, O=840±100; DG : F=0.16±0.02; DG+D'G : F=0.67±0.13, O=13.9±3.6; MC : F=0.88±0.28, A=200±20, O=170±56; OCS : F=30±4, A=17±3; ME : F=0.37±0.13.

彼らの成績とはほぼ同一であるが (DG+D'G) ではむしろ高値を示した。これらは、画像解析に用いた電顕写真の最終倍率の相異にもとづくものであり、著者ら⁴⁾のものでは、より小さなものも分類しえたためと考えられる。

諸種疾患におけるこれら顆粒の出現頻度についてみると、 α -G の低値は AMMoL で、(DG+D'G) の低値は血小板粘着低値、Collagen 凝集低値、ADP 凝集曲線解離型を示した SPD 2 例で認められた。SPD ではともに血小板内 ADP の含量は正常以下であり、ADP を含有する DG の低出現頻度を示す形態的成績と一致するかに思われる。しかし、この 2 症例のうち 1 例では D'G 欠如、D'G と α' -G とともに正常、 α -G 高値、他の 1 例では DG、D'G とともに低値、 α' -G 正常、 α -G 正常下限とこれら顆粒の出現頻度は両症例において異なり、SPD には形態的に heterogeneity の存在することが示唆された。一方、(DG+D'G) の出現頻度で高値を示すものは、AMMoL をのぞく他の疾患群であった。

結 語

以上、先天性血小板機能異常症、造血器腫瘍の血小板微細構造上の特徴、つまり血小板内小器官の定量的特徴の解明に画像解析装置は有用と考えられ、今後さらに症例を重ね検討したい。

文 献

- 1) Weiss, H.J., et al.: Heterogeneity in storage pool deficiency: Studies on granule-bound substances in 18 patients including variants deficient in α -granules, platelet factor 4, β -thromboglobulin, and platelet-derived growth factor. Blood, **54**; 1296~1319, 1979.
- 2) White, J.G.: Interaction of membrane systems in blood platelets. Am. J. Pathol., **66**; 295~312, 1972.
- 3) Okuma, M., et al.: Altered arachidonate metabolism by platelets in patients with myeloproliferative disorders. Blood, **54**; 1258~1271, 1979.
- 4) Kainuma, S.: 血小板内小器官の量的解析に関する研究. 三重医学, **25**; 531~548, 1982.