原 著

Platelet cyclo-oxygenase (PCO) 欠損症における
DDAVP 及び血小板濃厚液の輸注効果

竹重 富雄* 布施 一郎* 高橋 芳右*
滝沢慎一郎* 花野 政晴* 長山 礼三*
品田 章二* 服部 晃* 柴田 昭*

Hemostatic control in platelet cyclo-oxygenase deficiency.
Effects of DDAVP and platelet concentrates

Tomio TAKESHIGE*, Ichiro FUSE*, Hoyu TAKAHASHI*,
Shinichiro TAKIZAWA*, Masaharu HANANO*, Reizo NAGAYAMA*,
Shoji SHINADA*, Akira HATTORI* and Akira SHIBATA*

Key words: platelet cyclo-oxygenase, DDAVP, hysterectomy,
platelet concentrate, mixed platelet function

Platelet cyclo-oxygenase (PCO) deficiency is known to be a disease with a moderate bleeding tendency due to impairment of platelet thromboxane A₂ production. However, the hemostatic control in a bleeding episode or during operation has been poorly documented. We studied the effect of DDAVP infusion (0.4 µg/kg) on bleeding time, platelet function and coagulation factors in a PCO deficiency patient. After DDAVP infusion, VIII: C, vWF: Ag and RCoF markedly elevated and bleeding time was normalized without improvement of "in vitro" platelet aggregation (Table 1, Fig. 1). It seemed that DDAVP could be used as a hemostatic agent in PCO deficiency.

This patient suffered from hypermenorrhea requiring a lot of blood transfusion and total hysterectomy for relieving severe hypermenorrhea was considered.

Before operation, we studied the function of the mixed platelet rich plasma (PRP) in vitro which was composed of the patient PRP and the normal control PRP. The existence of more than half of the normal PRP almost normalized the mixed platelet aggregation induced by various agonists and malondialdehyde production (Fig. 2). According to these results, we transfused platelet concentrates

---

* 新潟大学医学部第一内科〔〒951 新潟市旭町通り一番町〕, The First Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine, Niigata, Japan.

(PC) so that the platelet count of the patient would increase to 2 folds of that before.

After PC transfusion, "in vitro" platelet aggregation and bleeding time of the patient were normalized (Table 2). No abnormal bleeding was found during and after the operation. From this experience, it seemed that "in vitro" study on the function of the mixed platelets was available for the determination of the PC amount requiring for hemostatic control before operation in PCO deficiency.

緒 言

PCO 欠損症は血小板 prostaglandin endoperoxides, thromboxane A_2 (TXA₂) の生成障害に基く様々な出血傾向を主訴とする疾患で、1975年の Malmsten らの報告以来今日までに11例の報告がある¹⁻⁵⁾。本症における出血症状に対してはこれまでの報告をみると輸血²⁾³⁾⁵⁾、ε-アミノカプロン酸投与³⁾が行われており、また止血管理(術前)としては、1例でステロイドの投与³⁾が行われたが成功せず、1例では術前に多血小板血漿 (PRP) が輸注され⁷⁾止血管理には成功したもののその投与量に関しては不明である。

筆者らはこれまでに本邦第1例の PCO 欠損症例²⁾において血小板機能及び形態反応の異常や血管壁の PGI₂ 生成能について報告してきた⁹⁾。今回は同症例において 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) の止血効果を検討するとともに、子宮全摘出術に際し術前の in vitro での検討を基に血小板濃厚液 (PC) 必要量を決定した後 PC 輸注を行い止血管理に成功したので報告する。

I. 症 例

患者; 43歳, 女性。

主訴: 月経過多。

家族歴: 家系内には血族結婚や出血傾向を有する者はない。

既往歴: 4, 5歳頃より出血傾向出現。1957年, 虫垂切除術を受け止血困難を指摘された。1961年, 胃下垂全摘術 (B-II 法)。1963年, 閉鎖性イレウス。1981年, 真珠腫の手術を受け, いずれも止血困難を認め 600~1800 ml の全血輸血を

受けた。この他, 1961年, 急性肺炎, 1963年, 輸血後肝炎と診断された。

現病歴: 1982年3月, 出血性素因検査のため松山赤十字病院受診し PCO 欠損症と診断された。1984年9月頃より月経過多となり12月, 当科入院。1985年2月, ヘモグロビン 14 g/dl より 8 g/dl まで低下し多量の PC, 保存血輸血を受けた。婦人科的には特に異常を指摘されずホルモン療法にて月経管理を試みたが副作用のため継続投与できず5月, 子宮全摘術を施行した。

理学所見: 四肢に数個の出血斑を認めた他は特に異常を認めなかった。

II. DDAVP の止血効果に関する検討

1. 方 法

DDAVP 0.4 µg/g を 20 ml の生理食塩水に溶かして 20分で静注し, 前, 30, 60, 120分後の出血時間 (Simplate I 法), 血小板停滞率 (Hellem II 法), 血小板凝集能 [4 channel aggregometer: agonists (終濃度), ADP 1.0, 10.0 µM; collagen (coll., Hormone Chemie, München, FRG) 2.0, 10.0 µg/ml; A23187 5.0, 20.0 µM], aPTT, PT, VIII:C (一段法), vWF: Ag (ELISA sandwich 法), RCoF (Macfarlane 変法¹⁰⁾) を測定した。

2. 結 果

出血時間は, DDAVP 投与前17.5分と延長していたが投与後30分にて7.5分と正常化し2時間後でも9.5分と正常であった。一方血小板停滞率は, 前値85.5%と正常であったが, 2時間後98.5%と上昇傾向を認めた。血小板凝集能は投与前後で特に変化を認めなかった (図1)。凝固系では aPTT の短縮と VIII:C, vWF:Ag, RCoF の著明な上昇を認めた (表1)。

Fig. 1 Platelet functions before and after DDAVP infusion.

(a): platelet retention rate (Hellem II method) and bleeding time (Ivy method).

(b): maximal aggregation rate stimulated by various agonists.

II. In vitro における PC 輸注効果の検討

子宮全摘術に際し PC 必要量を決定するため以下の検討をおこなった。

1. 方法

1) 混合血小板凝集能

患者および患者と血液型の同じ正常人よりクエン酸加 (1/10, vol.) にて採血し, 1000 rpm, 10分遠沈にて多血小板血漿 (PRP), 3000 rpm, 10分遠沈にて乏血小板血漿 (PPP) を得, auto-PPP を用いて各々 $30 \times 10^4 / \mu l$ に調整し各種割合の混合 PRP を作成した。これにアラキドン酸 (A.A) 1.0~2.0 mM (終濃度), coll. 1.0~5.0 μ g/ml (終濃度) を加え最大凝集率 (MAR)

Table 1 Coagulation factors before and after DDAVP infusion.

	Before infusion	After infusion (min.)		
		30	60	120
aPTT (sec.)	37.5	31.4	31.6	31.6
PT (sec.)	11.3	11.3	11.3	11.3
VIII : C (%)	60	170	150	150
vWF : Ag (%)	54	130	135	140
RCoF (%)	82	250	290	280

を測定した。

2) Malondialdehyde (MDA) 測定

上記方法にて作成した混合 PRP を A. A 1 mM (終濃度) にて刺激し TBA 法¹¹⁾にて MDA

を測定した。

3) ATP 放出能

混合 PRP (Control/Patient=10/0, 5/5, 5/0) を A.A 2 mM (終濃度) にて刺激した時の ATP 放出を, Chrono Log 社, Lumi-aggregometer にて検討した。

2. 結 果

混合血小板の A.A 凝集能は正常血小板が50%以上存在すればほぼ正常化した。しかし同時に測定した MDA 産生能は正常血小板が30%でもほぼ正常域であった(当科での正常値: 0.78 ± 0.21)。また coll. 凝集能も正常血小板が50%以上ではほぼ正常化した(図2)。

混合血小板(正常人/患者=5/5)の ATP 放出量は正常人のみ(正常人/患者=10/0)の場合よりも低下していたが, 同数の正常血小板のみ(正常人/患者=5/0)よりも増加し, またその放出パターンも正常血小板のみの場合と異なり lag time が存在していた。なお, 患者血小板のみの場合(正常人/患者=0/10)は凝集も ATP 放出もほとんど認められず図から省略した(図3)。

III. 術前止血管理

術前の止血管理は PC 輸注 にて行った。in vitro での検討ではほぼ正常な血小板凝集能を得るためには, 患者の循環血小板総量とほぼ同数の正常血小板が必要かつ十分と判断し, 日赤血 PC 10 U と正常人2人より Hemonetics V 50 にて作成した約 30 U の計約 40 U の PC を輸注した。PC 輸注前の患者血小板数は $24.7 \times 10^4/\mu l$ で輸注後は $46.8 \times 10^4/\mu l$ となり, 患者の体重より循環血漿量を想定し算出した理論値($43.4 \times 10^4/\mu l$)とほぼ一致した。また PC 輸注前後の出血時間は15.5分より5.5分に短縮し, coll., A.A による血小板凝集能も正常化した。ADP による血小板凝集能は不変であった(表2)。術中総出血量は 128 g と全く正常で術後の異常出血も認められなかった。摘出した子宮内には 3×1 cm 大の内膜ポリプ一個が認められ出血の原因と考えられた。

IV. 考 察

Fig. 2 Maximal platelet aggregation rate (MAR) in mixed PRP with various ratios of control (c) PRP to patient (p) PRP as indicated. Aggregation was induced by 1.0 mM (☆), 1.5 mM (○) and 2.0 mM (●) arachidonic acid (A.A.)—(a), or 1 μg/ml (☆), 2 μg/ml (★) and 5 μg/ml (*) collagen.—(b). MDA values (nM/10⁸ plt.) of mixed PRP induced by 1.0 mM A.A. are shown below each arrow (a).

1974年, Cash ら¹²⁾ の, DDAVP が血管壁より von Willebrand 因子と組織プラスミノゲンアクチベーターを放出させるとの報告以来, DDAVP は尿崩症をはじめ, von Willebrand 病や血友病の治療薬として臨床応用されつつある¹³⁾。一方 1984 年, Kobrinsky ら¹⁴⁾ は, von Willebrand 病をはじめ血小板無力症, 放出機構異常症, storage pool 病などの血小板異常症やアスピリン服用正常人に DDAVP を投与し血小板無力症を除き出血時間の有意な短縮, 血小板停滞率の増加, VIII:C, vWF:Ag, RCoF の増加を認めたと報告しており, DDAVP は各種血小板異常症の止血管理にも有効である可能性

Fig. 3 Platelet aggregation and ATP release induced by 2.0 mM A.A. in various PRP. A: control PRP alone ($30 \times 10^4/\mu\text{L}$), B: mixture of control and patient's PRP (1 : 1, vol/vol; $30 \times 10^4/\mu\text{L}$), C: diluted control PRP ($15 \times 10^4/\mu\text{L}$).

が示唆されている。今回、筆者らの検討ではDDAVP投与後30分にて著明な出血時間の短縮, VIII:C, vWF:Ag, RCoFの上昇が認められ、また2時間後でも十分な効果の持続が得られていることからDDAVPは本症の止血管理にも有効である可能性がある。

DDAVPの血小板に対する直接作用は, in vivo, in vitro いずれにおいても認められないとされ¹⁵⁾ 今回の筆者らの検討でもDDAVP投与前後の血小板凝集能は不変であった。本症におけるDDAVPの出血時間短縮作用は、投与30分後から認められるvWF:Ag, RCoFの上昇とこれに伴う血小板停滞率の増加傾向が関連していると考えられるが正確な機序は不明である。各種血小板異常症(無力症を除く)において、さきのKobriniskyらはε-アミノカプロン酸とDDAVPの投与により抜歯、扁桃摘出術が可能であったと報告しているが、より侵襲の大きな手術での止血効果については未だ不明で今後の検討を待たねばならない。

Table 2 Platelet count (a) and function (b) before and after PC transfusion.

(a) Total platelets transfused: 8.5×10^{11} (=40U)

	Platelet count
Before transfusion	$24.7 \times 10^4/\mu\text{L}$
After transfusion	$43.4 \times 10^4/\mu\text{L}$
After transfusion calculated by patient's blood volume	$46.8 \times 10^4/\mu\text{L}$

(b) Bleeding time and platelet function.

	Before	After
Bleeding time (Ivy method)	15.5 min.	5.5 min.
Plt. aggregation (MAR, %)		
ADP 1.0 μM	30	16
ADP 10.0 μM	80	77
coll. 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20	68
A.A 2.0 mM	10	68

PCO欠損症における手術時止血管理に関しては、Lagardeら³⁾が子宮摘出術(fibroma)に際しプレドニゾロン(40 mg/day)の前投与を行ったが、術後頻回に輸血が必要となり成功し

ていない。また Horellon ら⁷⁾ の症例では虫垂切除術に際し PRP の投与を行い術後異常出血を認めなかったとしているものの、手術侵襲としては小さくまたその投与量も不明である。

現時点に於ける本症の手術時止血管理には血小板輸血が最も確実であると考えられるが、その投与量に関しては不明である。Pareti ら⁵⁾ は血小板の TXA_2 以外に、血管壁の PGI_2 生成障害のある症例を報告し、このなかで出血時間を規定するものは TXA_2 と PGI_2 のバランスであろうと考察している。O'Grady¹⁶⁾ や Rajah¹⁷⁾ らはアスピリン服用量と出血時間について検討し、少量のアスピリンでは出血時間は延長するが大量では延長しないと報告している。もし出血時間が主に TXA_2 と PGI_2 のバランスによって規定されるものであるとすれば、血小板の TXA_2 生成障害のみの症例では血管壁の PGI_2 生成障害を伴う症例に比しより強い出血傾向が存在する可能性がある。PCO 欠損症はその遺伝形式や血小板以外の細胞における cyclo-oxygenase の有無等まだ必ずしも明らかでなく個々の症例における出血傾向の質と強さが異なる可能性があり、本症の術前止血管理に関しては *in vivo* 或いは *in vitro* にて検討が必要であると考えられる。

本例における術前輸注量は、*in vitro* での混合血小板凝集能の正常化を目安として行い、輸注後の患者の血小板凝集能と出血時間の正常化を確認して手術を行い成功を治めた。しかし混合血小板の MDA 産生能は正常血小板が30%しか存在しない時でもほぼ正常であったことから、今回の PC 輸注量以下でも止血管理ができた可能性もあると考えられる。また A.A. 2 mM 刺激時の混合 PRP (正常人/患者=5/5) の ATP 放出量が正常人/患者=5/0 の場合に比して増加し、またその放出パターンも正常血小板のみの場合と異なり lag time が存在することから正常血小板の産生及び放出する物質が患者血小板の放出反応を促した可能性もあるが今回の検討では明らかではない。

本症患者生体内における止血血栓形成に正常血小板の存在がどのような役割を持つのか。患者血小板の凝集、放出反応を促すのか、あるいは

は正常血小板が主に止血血栓を形成し患者血小板がその反応に付加的に関与するだけなのか、これらの点に関しては今後更に詳細な検討を加えてゆきたい。

文 献

- 1) Malmsten, C., Hamberg, M., Svensson, J. and Samuelsson, B.: Physiological role of an endoperoxide in human platelet; Hemostatic defect due to platelet cyclo-oxygenase deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**; 1446~1450, 1975.
- 2) Nakanishi, K., Ikeda, K., Hato, T., Imai, A., Kaneko, H., Murakami, A., Kuwashima, K., Kaido, H., Kondo, M., Hattori, A., Fujita, S. and Kobayashi, Y.: Platelet cyclo-oxygenase deficiency in a Japanese. *Scand. J. Haematol.*, **32**; 167~174, 1984.
- 3) Lagarde, M., Byron, P.A., Vargaftig, B.B. and Dechavanne, M.: Impairment of platelet thromboxane A_2 generation and of the platelet release reaction in two patients with congenital deficiency of platelet cyclo-oxygenase. *Br. J. Haematol.*, **38**; 251~266, 1978.
- 4) Nyman, D., Etiksson, A.W., Lehman, W. and Blombach, M.: Inherited defective platelet aggregation with arachidonate as the main expression of a defective metabolism of arachidonic acid. *Tromb. Res.*, **14**; 739~746, 1979.
- 5) Pareti, F.I., Mannucci, P.M., D'Angelo, A., Smith, J.B., Santebini, L. and Galli, G.: Congenital deficiency of thromboxane and prostacyclin. *Lancet*, **I**; 898~901, 1980.
- 6) Boda, Z., Thomas, E., Altorjay, I., Pfflegler, G. and Rak, K.: Congenital deficiency of cyclo-oxygenase in a woman with generalized atherosclerosis. *Scand. J. Haematol.*, **27**; 65~69, 1981.
- 7) Horellou, M.H., Lecompte, T., Lecrubier, C., Fouque, F., Chignard, M., Conard, J., Vargaftig, B.B., Dray, F. and Samama, M.: Familial and congenital bleeding disorder due to platelet cyclo-oxygenase deficiency. *Am. J. Hematol.*, **14**; 1~9, 1983.

- 8) Gundu, H.R. and James, G.W.: Epinephrine potentiation of arachidonate induced aggregation of cyclo-oxygenase deficient platelets. *Am. J. Hematol.*, **11**; 355~366, 1981.
- 9) 布施一郎, 服部 晃, 高橋芳右, 長山礼三, 滝沢慎一郎, 花野政晴, 小池 正, 柴田 昭: 血小板 cyclo-oxygenase 欠損症に関する研究. *日血会誌*, **47**; 102~110, 1984.
- 10) 高橋芳右: von willebrand 因子の検査法. *臨床検査*, **30**; 219~227, 1986.
- 11) Okuma, M., Takayama, H. and Uchino, H.A.: simple method for estimation of lipoxigenase and cyclo-oxygenase pathways in human platelets. The use of thiobarbituric acid reaction. *Thomb. Haemost.*, **42**; 245, 1979.
- 12) Cash, J.D., Gader, A.M.A. and de Costa, J.: Release of plasminogen and factor VIII in response to LVP, AVP, dDAVP, angiotensin II and oxytocin in man. *Br. J. Haematol.*, **27**; 363~364, 1974.
- 13) 高橋芳右: von Willebrand 病の病態と DDA-VP の止血効果. 協和企画通信, 1985.
- 14) Kobrinsky, N.L., Israels, E.E., Gerrard, J.M., Cheang, M.S., Watson, C.M., Bishop, A.J. and Schroeder, M.L.: Shortening of bleeding time by 1-deamino-8-D-arginine vasopressin in various bleeding disorders. *Lancet*, **1**; 1145~1148, 1984.
- 15) Thomas, M.E., Osmani, A.H. and Scrutton, M.C.: Some properties of the human platelet vasopressin receptor. *Thromb. Res.*, **32**; 557~566, 1983.
- 16) O'Grady, J. and Moncada, S.: Aspirin: a paradoxical effect on bleeding time. *Lancet*, **II**; 780, 1978.
- 17) Rajah, S.M., Penny, A., Kester, R.: Aspirin and bleeding time. *Lancet*, **II**; 1140, 1978.

●現在のB₁₂研究の進歩と問題点!

ビタミンB₁₂の体内動態と活性

編集 京都大学内科教授 内野治人 専門医50氏分担執筆
A 4 判 216頁 図76 表38 定価6,800円 (千300円)

近年ビタミンB₁₂に関する研究は、笑気ガスによるモデル実験の開発や先天代謝異常症の発見、B₁₂結合蛋白に関する知見の集積など、著しい進歩をみた。本書はB₁₂の世界的権威Cooper教授を中心にB₁₂の生体内動態および生体内活性の研究成果をまとめたものである。現在のB₁₂研究の最先端の進歩と問題点が浮きぼりにされている。

●内容: 【生体内動態】第1章 最近生体内に認められたビタミンB₁₂類縁体について, 第2章 各種ビタミンB₁₂同族体の生体内動態—大量経口投与時の血清, 各種臓器および尿中各種ビタミンB₁₂の分布—, 第3章 肝cobalamin代謝に及ぼす加齢の影響, 第4章 胃手術とビタミンB₁₂吸収, 第5章 Blind loop症候群におけるビタミンB₁₂吸収障害, 第6章 ビタミンB₁₂吸収に及ぼす酵素の影響。【生体内活性】第1章 ビタミンB₁₂依存症, 第2章 巨赤芽性貧血におけるメクレオチド代謝異常とN₂Oを用いた培養系代謝モデルの作製, 第3章 笑気ヒト骨髓細胞のmethionine-synthetase活性とビタミンB₁₂, 葉酸代謝に及ぼす影響, 第4章 メチルB₁₂のヒト調節T細胞機能に対する増強効果, 第5章 メチルB₁₂の造血調節作用, 第6章 脂質代謝とビタミンB₁₂, 第7章 磷脂質代謝とビタミンB₁₂, 第8章 糖尿病性末梢神経障害とメチルコバラミンの治療効果。
【特別講演】The utilization and metabolism of vitamin B₁₂.