特集・血小板機能検査

血餅収縮能*

寺田 秀夫**

Key words: clot retraction, platelet, coagulation test.

はじめに

血塵退縮能の検査はむずかしい器具を要せず、また操作が簡単で古くからルーチン検査として行われ、血小板の減少または機能異常の際に低下し、血小板無力症 (Thrombasthenia, Glanzmann's disease) の診断には欠くことのできないものである。

さて、血餅収縮に影響する因子としては、容器の形、温度、ヘマトクリット、フィブリノーゲン量、トロンビン、血小板数、容器のシリコン処理の有無、反応温度などがあげられている。

今回、著者らは、次の諸点につき検討を加えたのでその結果を報告する。

- 1) 採血スピッツ管のシリコン処理の有無.
- 2) トロンボエラストグラム (ma) との関係.
- 3) フィブリノーゲン量との関係.
- 4) 血小板数との関係.
- 5) 血小板機能との関係.
- 6) 赤血球増多症における収縮率、液量比、補正収縮率の検討.
- 7) 諸種疾患の血餅収縮度.

I. 検査方法および正常値

1. 血餅退縮能

〔使用器具〕 シリコン処理遠心管は内径 13

mm、高さ 108 mm の目盛り付き遠心管をピスタにて洗浄し、十分水洗乾燥した後シリコン (信越化学 KC 88) を塗布し一昼夜放置乾燥して用いた。シリコン未処理の場合もまったく同大の遠心管を用い、ともに鉤状に曲った針金のついたコルク栓をはめて用いた。

〔実施法〕 Macfarlane 法¹⁾²⁾により行った。静脈血 10 ml 採取し、シリコン処理ならびに未処理の遠心管におのおの 5 ml ずつ分注し、コルク栓をして 37°C 恒温槽に 1 時間静置後、栓を静かにはずし血餅を鉤状の針金に付着したまま引き上げ、残った血清量を遠心管の目盛りで読み、3,000 回転 10 分遠心して血清中に残った血球量を引いた値から、再度血餅収縮度 (遠心後の値) を計算した。

$$\text{収縮度}\% = \frac{S}{5} \times 100 \quad (\text{正常値 } 44 \sim 66.5)$$

$$\text{液量比}\% = \frac{5-S}{5} \times 100 - \text{Ht} \quad (\text{正常値 } 7.9 \pm 6.0)$$

$$\text{補正収縮度} = \frac{\frac{S}{5}}{100 - \text{Ht}} \times 100 \quad (\text{正常値 } 58 \sim 97)$$

S = 析出血量

2. トロンボエラストグラム (TEG)³⁾

全血法で $r = 13.4 \pm 15$ 分, $\kappa = 5.0 \pm 1.0$ 分
 $ma = 49.4 \pm 3.8$ mm, $FLR = 16.6 \pm 6.7\%$

3. フィブリノーゲン量⁴⁾

* Studies on clot retraction.

** 昭和大学藤が丘病院内科 [〒 227 横浜市緑区藤が丘1-30], Hideo TERADA: Department of Internal Medicine, Fujigaoka Hospital, Showa University School of Medicine, Yokohama, Japan.

図 1 血小板減少症における血小板数と血餅収縮度の相関。

図 2 TEG (ma) と血餅収縮。

チロジン法を用い、正常値は 181.9 ~ 280.3 mg/dl.

4. 血小板数⁵⁾

Brecher-Cronkite 法 (以下 B-C 法) および Fonio 法を用いた。正常値は前者で 156,000 ~ 356,000/mm³ 後者で 147,000 ~ 352,000/mm³。

5. 血小板機能⁵⁾

〔粘着能〕 ガラスフィルター法 (田中) で正常値は男女平均 42.1 ± 11.5%。

〔凝集能〕 Aggregometer (Model AG-2) を用い、ADP 最終濃度を 5r とし、ADP 添加後の最大凝集 (極値 Max) で比較検討し (図 1)、正常値は男女それぞれ 60%, 69%, であった。

〔血小板第 3 因子能〕 TGT 標準法を用い、正常値は 9.4 ~ 15.0 (12.1) 秒, 66 ~ 82% であ

表 1

血餅収縮度		シリコン処理		シリコン未処理	
		Min. Max.	Ave. (%)	Min. Max.	Ave. (%)
健康人	遠心前	44 ~ 65	51.4	41 ~ 59	50.1
	遠心後	33 ~ 52	38.8	37 ~ 55	45.3
血減少 小板症	遠心前	28 ~ 55	43.0	26 ~ 54	35.4
	遠心後	23 ~ 46	33.8	21 ~ 54	32.2

った。

II. 検討成績

1. シリコン処理の有無

健康成人女子 10 例と血小板減少症 10 例 (特発性血小板減少症 3 例, 再生不良性貧血 4 例, SLE, 急性骨髄性白血病, 慢性腎炎それぞれ 1 例) について検討した。

まず健康人の収縮度は, 遠心前値は処理遠心管 51.4%, 未処理では 50.1% と大差はないが, 遠心後の値は前者 38.8%, 未処理 45.3% で, 未処理遠心管が明らかに高値を示した。したがって, 遠心前後の値の差は, 処理 12.6%, 未処理 4.8% であった (図 1)。この理由はシリコン処理した場合, できた血餅がもろく, また管壁に付着しやすく, したがって血餅を引き上げた後に多量の血球が残存するためである。

事実シリコン処理では, 10 例中 8 例 (80%) において, コルク栓を引き上げただけでは, 血餅は剥離せず, これに反し未処理遠心管ではこのような現象は 2 例 (20%) に認められたにすぎなかった。

次に血小板減少症では, 遠心前値は処理遠心管では 40.3%, 未処理 35.4% と前者が高く, 遠心後の値はそれぞれ 33.8%, 32.2% とほぼ同様であった。この理由は血小板減少症では血小板の壊れ方がシリコン処理遠心管のほうが少ないため, 遠心前値は未処理の場合より高く, その差が健康人の場合より大きく現れ, また遠心後の値に差がないのは, 健康人の場合と同様に, できた血餅がもろく, 管壁付着傾向が強いためと考えられる。事実, 管壁付着傾向は処理では 10 例中 6 例 (60%), 未処理 1 例 (10

図3 フィブリノーゲンと血餅収縮.

%)であった。

以上の諸成績より血餅収縮能の検査は、複雑な手数を要せず、かつ遠心前後の値に差の少ないシリコン未処理遠心管を用い、遠心前値から求めるべきものと考えられる。

また、血小板減少症では、血小板数と収縮度の相関係数を求めると、シリコン処理遠心管では $r=0.65$ 、未処理では $r=0.78$ と後者がより高値を示した(図2)事実も、上述の結論を支持するものと思われる。

したがって以下の検討成績は、すべてシリコン未処理遠心管を用いた遠心前値について、検討を進めた。

2. トロンボエラストグラム(TEG)との関係

TEGの最大値(ma)と収縮度を同時に検査した64例についてみると、両者の相関係数 $r=0.34$ で、maの低下11例中8例(72%)に収縮度の低下がみられた(図3)。すなわち、TEGのmaと血餅収縮度の間には、相関関係がうかがわれた。

3. フィブリノーゲン量との関係

26例について両者の相関をみると、 $r=0.18$ と低値を示したが、フィブリノーゲン低下8例中5例(63%)が収縮度の低下を示した。しか

図4 血小板数と血餅収縮.

図5 Aggregometer Model AG-2
による凝集率の求め方.

しフィブリノーゲンが増加しても、収縮度は正常値を示した(図4)。

4. 血小板数との関係

血小板数と血餅収縮度を同時に検索した71例では両者の相関係数は0.22で(図5)あったが、これとは別に検査したFonio法93例、B-C法54例の収縮度をみると、血小板が5万以下の例では過半数(Fonio法67.3%、B-C法61.9%)に収縮度の低下がみられた(表2)。

すなわち、血小板数が5万以下に減少する

表 2 血餅収縮度低下例 (40%以下) の血小板数

血小板数 (1 mm ³)	Fonio 法 (%)	Brecher & Cronkite 法 (%)
5 万未満	67.3	61.9
5 ~10	13.5	19.1
10~15	9.6	14.3
15~20	5.8	4.7
20~25	1.9	0
25~30	1.9	0
30万以上	0	0

%は総例数(Fonio 法 93 例, Brecher & Cronkite 法 54 例) 中の例数を示す。

表 3 疾患と血餅収縮

糖 尿 病	14/28 (3)	赤血球增多症	10/12
慢性腎不全	3/25	骨髓線維症	1/1 (1)
脳血管障害	3/5	AML	1/5 (1)
高 血 圧 症	2/4	CML	0/2
心 筋 硬 塞	4/6	I T P	4/5 (4)
肝 硬 変 症	4/8 (3)	von Willebrand	1/1

低下例/総例, () 内は血小板減少例。

と、収縮度は低下するものとする。

5. 血小板機能との関係

① 粘着能と収縮度の間に相関はみられず, ($r=-0.03$), ② 凝集能については凝集曲線の最大値 (Max) は、血餅収縮度と相関を示し ($r=0.4$), 検討総例 130 例中 Max の低下 43 例中 29 例 (67%) に収縮度の低下がみられた (図 6)。すなわち血小板凝集能と収縮度は相関関係を有するごとく思われた。③ 血小板第 3 因子能と血餅収縮度の間に相関はまったくみられず ($r=0.11$), また、血小板を凍結融解後の検討でも同様であった ($r=0.003$)。

6. 赤血球增多症における収縮度、液量比、補正収縮度と血小板機能

赤血球增多症では収縮度は低下し、Ht による補正をすべきであるといわれているが、赤血球增多症 17 例 (真性 12 例, 二次性 5 例) 中 16 例 (88%) に収縮率の低下がみられ、補正収縮度では 8 例 (47%) が低下を示した。これらの値と血小板機能との関係を見ると、粘着能とは明らかな相関はみられず (収縮度 $r=0.27$, 補

図 6 血小板凝集能と血餅収縮。

正収縮度 $r=0.16$), 第 3 因子とも同様であった (収縮度 $r=0.11$, 補正収縮度 $r=0.074$)。凝集能とも相関はみられなかったが、凝集能低下 4 例全例が収縮度の低下を、3 例が補正収縮率の低下を示した。

次に液量比と血小板機能との関係を見ると、液量比と粘着能および凝集能との間には相関がうかがわれた (それぞれ $r=0.44$, $r=0.56$) が、第 3 因子とは無関係であった。

以上の成績から赤血球增多症の血餅収縮度を求める際は、補正収縮度も参考とすべきであり、また、液量比と血小板粘着能及び凝集能との間には相関がみられるようであった。

7. 諸種疾患の血餅収縮度

糖尿病 28 例中 14 例 (50%), 赤血球增多症 12 例中 10 例 (83%) に血餅収縮度の低下がみられ、また例数は少ないが、脳血管障害、心筋硬塞で低下傾向がみられた。また、ITP、肝硬変症、骨髓線維症では血小板減少によると思われる血餅収縮の低下がみられた (表 3)。

III. 考 案

血餅収縮の発現機構の詳細はなお不明であるが、血小板あるいはその集塊から偽足様突起

(pseudo podial protrusions) が出て、フィブリン糸に一定の秩序を保ちながら互いに付着し^{7,8)}、その後この突起が互いに引っ張り合って、フィブリン糸が短縮⁹⁾するために血餅収縮が起こると考えられている。そして、この収縮に血小板中の adenosine triphosphate (ATP)^{10,11)} が利用されることがわかっている。事実、血小板中のエネルギー代謝、特に糖の分解を阻害すると、血餅収縮がみられず、血餅収縮が ATP と収縮蛋白である thrombasthenin¹¹⁾ の反応によるものといわれる。また、ヒト血漿では血小板の ATP が約 1/2 に減少すると収縮能は低下し、また無機リンの増加と収縮能も関連を有し¹²⁾、これらの事実から血餅収縮は筋肉の収縮と類似しているとも考えられている。また血小板が機能的に正常な場合は、収縮度と血小板は密接な関係を有し¹³⁾、ことに血小板が 10 万以下では血小板数と血餅収縮度は明らかな相関¹⁴⁾を示すといわれる。また、超音波やガラス棒¹⁵⁾で機械的に処理した富血小板血漿の血餅収縮度は血小板の破壊の程度と平行するといわれる。著者の検討では、血餅収縮度と血小板数は明らかに関係を有し、血小板が 5 万以下に減少すると、過半数の例が収縮度の低下を示した。また血小板機能のなかでは、凝集能と相関がみられ、Aggregometer による凝集曲線の極値の低下例の 67% に収縮度の低下がみられた。

また血餅収縮に影響する因子としては、容器の形、温度、赤血球容積、フィブリノーゲン量、トロンビン、容器のシリコン処理の有無、ニクロム線の螺旋数、ビリルビンなどがあげられている。Quick ら¹⁶⁾はフィブリノーゲンの濃度が大になれば血餅収縮は起こらなくなり、またトロンビンの量も血餅収縮の速さと強さに影響すると報告している。著者の成績ではフィブリノーゲンが減少すると、収縮度も低下する傾向があるが、フィブリノーゲン増加例の収縮度は正常域内にあり、増加傾向も低下傾向もみられなかった。また、TEG の最大振幅 ma と血餅収縮率は相関を示した。

徳永¹⁷⁾は試験管の内径が小さくなるにつれて収縮度がよく、またニクロム線の螺旋巻数が少

ないほうが血餅収縮が良好であると述べている。一方、Arthus & Chapiro (1916)¹⁸⁾ は容器内面に wax を塗ると血餅収縮が不良化することを認めているが、著者らの検討でもシリコン処理遠心管を用いた場合の血餅はもろく、崩れやすく、また管壁に付着しやすい傾向を認めた。したがって、血餅を引き上げた後に多量の血球が残存し、遠心後の収縮度に大きな差を認めた。また安部¹⁹⁾らも処理遠心管では血餅の剥離が起こりにくいことを報告している。次に血餅収縮能検査法として Hartmann および Conley (1953)²⁰⁾らの方法を簡単に紹介する。

クエン酸加血液を 185 g で 10 分遠心して platelet rich plasma (PRP) を、また 2,000 g 20 分遠心して血漿を除去後、4°C で 16,000 g 20 分再遠心して platelet poor plasma (PPP) を作製し、PRP を PPP で希釈して、次のごとき血小板浮遊液をつくる。200,000/mm³, 100,000/mm³ 及び 50,000/mm³ の血小板浮遊液それぞれ 0.9 ml に 0.1 ml のトロンビン (20 NIH unit/ml) を加え、ただちに 2 回転倒混和し、37°C 1 時間放置後、血餅を除いた血清量を測定し、全容積の%に換算して血餅収縮率とする。PPP は対照として用いる。

正常値：血小板数 10 万/mm³ の場合、85%
 “ 5 万/mm³ “ 65~75%
 “ 2.5 万/mm³ “ 35~55%

結 論

1) 血餅収縮能検査には、シリコン未処理遠心管を用いることが望ましい。

2) TEG の ma と収縮率は相関関係を示す。

3) フィブリノーゲン低下例では、血餅収縮も低下を示す傾向があり、反対にフィブリノーゲンが増加しても、収縮率は増加しない。

4) 血小板が 5 万以下に減少すると、収縮率も過半数に低下する。

5) 血小板機能のなかでは、凝集能と相関がみられ、凝集曲線の極値の低下例の 67% に収縮率の低下がみられた。これに反し粘着能、第 3 因子活性と血餅収縮とは明らかな相関はみられない。

6) 赤血球増多症では、ヘマトクリットによる補正収縮率も参考とすべきで、また液量比と粘着能、凝集能との間に相関がみられた。

7) 赤血球増多症、糖尿病、脳血管障害、心筋硬塞などで血餅収縮の低下傾向はみられた。

終わりに本論文の検討成績は昭和大学臨床病理学教室（主任石井暢教授）在職中佐野玖枝技師の協力と、聖路加国際病院臨床病理科血液検査室技師一同の協力によるもので、石井教授初め諸姉に対し深謝いたします。

文 献

- 1) 三輪史郎：血餅収縮試験。臨床検査技術全書 3。血液検査。医学書院，1972，p. 482.
- 2) Macfarlane, R. G. : A simple method for measuring clot retraction. *Lancet*, **1**; 1199, 1939.
- 3) 文献 1) トロンボエラストグラフ。p. 494, 1972.
- 4) 山田外春，他：フィブリノーゲン。日本臨床，通巻364号，p. 1705, 1973.
- 5) 寺田秀夫：血液検査の基礎知識。東京，医歯薬出版，1969.
- 6) 寺田秀夫：血小板，*Medical Technology*, **1**; 456, 1973.
- 7) 森田久男：血小板の機能。日本血液学全書，1巻623頁，東京，丸善，1963.
- 8) 加々美光安：血小板の異常に基づく出血性素因。臨床科学，**5**; 202, 1969.
- 9) Tocantins, L. M. : Platelets and the structure and physical properties of blood clots. *Am. J. Physiol.*, **114**; 709, 1936.
- 10) 森田久男，浅田敏雄：血小板の形態と化学。日血会誌，**19**; 100, 1956.
- 11) Bettex-Galland, M. and Lüscher, E. F. : Thrombosthenin contractile protein from thrombocytes, its extraction from human blood platelets and some of its properties. *Biochimica et Biophysica Acta*, **49**; 536, 1961.
- 12) Born, G. V. R. : *Biochemical Journal*, **68**; 695, 1958.
- 13) Fonio, A. : Neure Untersuchungen über Blutgerinnung. *Schweiz. Med. Wschr.*, **4**; 36, 1923.
- 14) Opitz, H. and Schober, W. : Klinische und experimentelle Studien über die Bedeutung der Blutplättchen für die Retraktivität des Blutkuchens. *Jahrb. f. Kindh.*, **53**; 189, 1923.
- 15) 福武勝博，他：血小板と止血機構。臨床科学，**5**; 242, 1962.
- 16) Quick, A. J. and Hussey, C. V. : The mechanism of clot retraction. *Science*, **112**; 558, 1950.
- 17) 徳永達文：血小板と血餅退縮能について。衛生検査，**22**; 42~43, 1973.
- 18) 長谷川弥人・日野志郎：臨床血液学，東京・大阪，医学書院，1966，p. 189.
- 19) 安部 英，他：血餅退縮測定法の吟味。臨床病理，16（補冊），p. 176, 1968.
- 20) Hartmann, R. C. and Conley, C. L. : Clot retraction as a measure of platelet function. I. Effects of certain experimental conditions on platelets in vitro. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **93**; 355, 1953.