血小板検査法とその意義*

福 武 勝 博** 北 原 武**

Key words: adhesion, aggregation, release reaction,
platelet factor 3, platelet size

はじめに

血小板は流血中において、円盤状の形をして循環しているが、種々の刺激により、血小板は互に凝集を起したり、変形したりする。血管内面にコラーゲンなどの異物面が露出すると、血小板は最初に異物面に粘着し、粘着血小板に流血中の血小板が接触し凝集する。正常の血管内皮には血小板は粘着を起さないが、露出した Collagen 線維を含む内皮下結合組織には粘着を起す¹⁾。その他あらゆる人工的表面に粘着を起すことが知られている。しかし、異物面への血小板の粘着は血小板の大きさ、血小板と血漿との量的関係によっても変化するし、血漿蛋白質は露出した結合組織に吸着され、血小板粘着能を修飾する²⁾。

血小板とコラーゲンとの反応には Wilner ら³⁾によるとコラーゲンのε-アミノ基が必要であると報告され、Jamieson ら⁴⁾は血小板膜のグルコシルトランスフェラーゼとコラーゲンの不完全な糖鎖との間に形成される酵素-基質複合体の形成によると提唱した。δ-ヒドロキシリジンのε-アミノ基はコラーゲン-グルコシルトランスフェラーゼ反応に必要であり、SH 阻害剤でこの反応が阻止されると共に血小板のコラーゲンへの粘着が阻止されることが知られている⁵⁾。

また、Puett ら⁶⁾は血小板コラーゲン反応で、血小板膜上には少なくとも2つの結合部位があり、その1つはコラーゲンの三重らせん構造のポリペプチド分子あるいはその特殊なアミノ酸配

図1 血小板とコラーゲンの反応 (Puett, 1973)⁶⁾

列にきわめて高い特異性と親和性を持ち、血小板凝集を惹起させる部位であり、他はこれと近接して存在し、たぶん血小板グルコシルトランスフェラーゼであると思われる糖結合部位であると述べている。

血小板と反応するコラーゲンの構造については Jeffe & Deykin⁷⁾が monomeric collagen, これの23°Cでの重合物の microfibrillar collagen, monomeric collagen の37°Cで重合した particulate native macrofibrillar collagen およびカルシウムの存在しない monomeric collagen の塩析により作られた線維構成の不整な particulate collagen の血小板凝集能を比較し、microfibrillar collagen や macrofibrillar collagen が約60秒の潜伏期で血小板凝集を起こすのに対し

* Clinical significance of assay method for platelet function.

** 東京医科大学臨床病理学〔〒160 東京都新宿区西新宿6-7-1〕, Katsuhiko FUKUTAKE, Takeshi KITAHARA :
Department of Clinical Pathology, Tokyo Medical College, Tokyo, Japan.

表1 血小板放出反応に対する阻止剤の影響

Inhibitors	ADP Release (%) [*]	β -Glucuronidase Release (u/dl)	Platelet Factor 3	
			Availability Δt (sec.)	Release Δt (sec.)
ATP	37.5	27.5	8.4	7.4
AMP	60.7	20.0	7.0	6.4
Adenosine	8.2	10.0	0	5.2
cAMP	40.4	30.0	9.0	6.6
PGE ₁	13.6	0	0	5.4
Ouabain	45.0	25.0	0.2	3.0
NaCl	60.0 $\pm$ 14.6	24.6 $\pm$ 7.0	11.0 $\pm$ 4.6	8.6 $\pm$ 2.2

* Maximum Aggregation Rate

図2 血小板の代謝と放出反応 (Holmsen 1971)

て, monomeric collagen は約180秒の潜伏期を示し, particulate collagen は凝集能を示さなかった. また monomeric collagen は microfibrillar collagen に比べ, 粘着させる血小板数が少く, それ自体の凝集効果は小さいことから, 血小板を凝集させるには monomeric collagen が microfibrillar collagen に重合することが必要で, monomeric collagen での凝集で潜伏期が長いのはそれを示すと報告している.

血小板がコラーゲンなどに粘着すると, 粘着血小板より種々の物質が放出される. この放出される物質は血小板中の dense body と α 顆粒に含まれる物質であることが知られている. そして, 放出第1反応で放出された ADP により, 血小板が不可逆的に凝集すると考えられてい

る. このような血小板の凝集反応に赤血球からの ADP が関係していると考えられており, 血小板の ADP と共に血小板粘着から血小板凝集へと反応を展開すると考えられている. さらに, ADP ばかりでなく多くの物質が血小板放出反応, 血小板凝集を惹起しうることが知られている.

しかし, 最近の研究において, 試験管内での ADP による血小板放出反応は非生理的な低カルシウム濃度による人工的な反応であるとする考え方がある⁸⁾.

I. 血小板放出反応のメカニズム

血小板放出反応の機序については Holmsen⁹⁾ は放出刺激により, 血小板膜のリン脂質, リポ

図3 放出阻止剤添加による血小板 cyclic AMP の変化。

蛋白などに結合している bound Ca が遊離されて Ca^{++} となり、この遊離された Ca^{++} により ATPase が活性化され、ATP の分解が起ると共に Thrombosthenine の収縮が起り、その結果、凝集, release I, release II と反応する。そして、遊離された Ca^{++} が少量の場合には release II は起らないし、 Ca^{++} が多量の場合には release II まで反応が進むと述べている。

ATP の代謝経路として、ATP が adenyl cyclase により cyclic AMP となり、cyclic AMP が phosphodiesterase により 5-AMP となる経路がある。Salzman ら¹⁰⁾は PGE_1 により adenyl cyclase を活性化すると血小板中の cyclic AMP が増加し、血小板凝集が阻害されることを報告した。また、phosphodiesterase の阻害剤であるパパペリン、テオフィリン、カフェイン、dipyridamole などは血小板中の cyclic AMP の蓄積を増加して血小板凝集を阻害することが報告されている。われわれは PGE_1 のみでなく adenosine も血小板中 cyclic AMP を増加させ、release I, release II, 血小板第3因子 availability, 血小板第3因子 release を低下させることを報告した¹¹⁾。

Booyse ら¹²⁾は cyclic AMP の変動による血小板凝集のメカニズムについて、血小板の膜には cyclic AMP の受容体である cyclic AMP dependent protein kinase と cyclic AMP dependent protein kinase receptor protein が存在している。血小板に刺激が加えられると、

cyclic AMP の変動が起り、cyclic AMP が変動すると cyclic AMP dependent protein kinase が活性化されて、ATP と cyclic AMP dependent protein kinase receptor protein との間に無機リンの移動が行われ、cyclic AMP dependent protein kinase receptor protein に結合している binding Ca が Ca^{++} となり、細胞内に流入して血小板凝集が起ると報告した。

血小板中の cyclic AMP の変動によって血小板の反応が亢進あるいは抑制されるとする説が確立されつつあるが、コラゲンで血小板凝集が起るとき血小板中 cyclic GMP が増加するとの報告¹³⁾があり、また、phosphodiesterase には3種類あって、cyclic AMP に特異的な酵素と cyclic GMP に特異的な酵素と両者を分解する酵素があることが報告されている¹⁴⁾。そして、cyclic AMP は cyclic GMP phosphodiesterase の阻害作用を持ち、cyclic GMP は cyclic AMP phosphodiesterase の阻害作用を持つことが知られており、このように cyclic AMP と cyclic GMP を対比して考えた場合、血小板での cyclic GMP の役割も重要なものであると思われる。

以上のように PGE_1 が血小板に対して cyclic AMP を増加させ、血小板の反応を抑制する作用を持つが、それに対して、トロンビンにより血小板に PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$ が産出され、放出されることを Smith & Willis¹⁵⁾ が報告して以来、アラキドン酸の血小板での代謝が血小板機能との関連において検討されている。血小板膜のリン脂質が phospholipase により水解され、アラキドン酸となり、このアラキドン酸はサイクロオキシゲナーゼにより、cyclic endoperoxide の構造を有する labile aggregation stimulating substance (LASS)¹⁷⁾, PGG_2 ¹⁸⁾, PGH_2 ¹⁸⁾ と呼ばれる物質となり、この物質が血小板凝集や放出反応を惹起することが明らかにされた¹⁶⁾。アスピリンの血小板への作用は cyclic endoperoxide の産生に関係するサイクロオキシゲナーゼを失活させるためであると考えられている¹⁸⁾。トロンビン、コラゲン、エピネフリン、ADP などによる血小板凝集において PGG_2 やその他の代謝物の生成が認められており血小板凝集はこれらの物質を介して惹起されるという

注1) PGE_2 は直接に血小板凝集を引き起こさないが、 LASS による放出反応、凝集を増強する。
アスピリンにより LASS の生成は阻止される。

2) : $\leftarrow$ 阻止作用を示す。

図4 血小板放出反応および凝集におけるプロスタグランジン E_2 の役割 (Weiss, 1975)¹⁶⁾。

考えが有力となってきた。また、血小板のサイクロオキシゲナーゼ欠損によると考えられる出血性素因の患者が報告されている¹⁹⁾。最近、血小板内で PGG_2 より生ずる不安定な thromboxane A_2 が PGG_2 より強力な血小板凝集作用を持つことが報告されている²⁰⁾。

II. 血小板凝集のメカニズム

次に血小板凝集のメカニズムについてなお不明の点が多いが、ADP が血小板膜に結合し、 Ca^{++} を介して血小板が互いに結合するとの説、血小板が unsticky の状態を保つために必要な ecto ATP ase が ADP によって抑制され、sticky となり、凝集を起すとする説などがあった。Booyse ら²¹⁾ は ADP が membrane ATP ase を抑制するため、membrane ATP が増加し、membrane-bound actomyosin が ATP の利用低下により、actin と myosin に解離し、actin と myosin が他の血小板の actin と myosin に結合して、血小板相互にアクチン橋ができて凝集するという説を報告した。また、トロンピンは収縮蛋白の ATP ase 担体である myosin を解離し²²⁾、epinephrine は thrombosthenin と結合して収縮蛋白を弛緩させて凝集を起すと考えられている²³⁾。Nachman ら²⁴⁾ は血小板膜には ADP の receptor protein (actin F) が存在し、actin F の thrombosthenin ATP ase が ADP により抑制され、Booyse らの説と同様に actomyosin が actin と myosin に解離し、血小板凝集が起るとの説を発表した。その他、フィブリノゲン、第Ⅻ因子、第Ⅴ

因子、第Ⅷ因子、ガンマグロブリンなども血小板凝集に関係があると考えられており、フィブリノゲンの neuraminidase 処理によって血小板凝集促進作用が失われること、von Willebrand 因子の欠損により ristocetin 凝集が低下することなどが知られている。

以上血小板の機能について概説したが、これらの機能を検索するための血小板機能検査が多数考案されている。血小板検査の検査方法については「血液と脈管」の血液検査法シリーズ(血小板検査法)にゆずり、本文では血小板検査法のなかからいくつかの検査について、その臨床的意義に解説を加えることにしたい。

III. 血小板機能検査の臨床的意義

a. 血小板粘着能

血小板粘着能の低下ないし欠如は出血傾向の原因となるが、一方その亢進は血栓の形成に重要な意義をもつものと考えられる。したがって、出血傾向を有する患者、とくに血小板数が正常であって出血時間が延長するような場合には、血小板粘着能の低下は血小板機能異常症を知る有力な手段となることが多いし、また、血小板粘着能の増加は血栓形成が懸念されるような疾患においては、血小板機能亢進を推定する上で、重要な検査法であると考えられる。

1) 血小板粘着能の低下する疾患

先天性血小板機能異常症の多くは血小板粘着能の低下が認められるが、これらは表2に示した。グリコゲン蓄積症²⁵⁾、先天性心疾患²⁶⁾などの先天性疾患に低下が認められたとの報告もあ

表2 先天性血小板機能異常症

疾患名	内 因 性					性		外 因 性		
	Thromb- asthenia (Glanz- mann)	Essential athrombia (Inceman)	Ports- mouth syndrome (O'Brien)	Bernard- Soulier syndrome (Bernard & Soulier)	Wiskott- Aldrich syndrome (Wiskott & Aldrich)	Storage pool disease (Holmsen & Weiss)	Primary thrombo- pathy (Ulltin)		Congen- ital deficit thrombo- pathy (Owen & Bowie)	Collagen- abhesion abnorma- lity (Hirsh)
遺伝型式	常染色体性劣性種々	明	一般に軽症	常染色体性劣性著	性染色体性劣性著	常染色体性優性一般に軽症	正	正	常染色体性優性	常染色体性優性種々
出血の程度	正常または減少	正	正	正常または減少	減少	正常	常	常	正	正
血小板数	延長	延長	延長	延長	延長	延長	延長	延長	延長	延長
血小板機能検査	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常
出血時間	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常
血餅退縮	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常	異常
血小板粘着 (ガラス)	欠	欠	正	欠	欠	正	正	正	正	異
血小板凝集	欠	欠	正	欠	欠	正	正	正	正	正
ADP(一次)	欠	欠	正	欠	欠	正	正	正	正	正
ADP(二次)	欠	欠	正	欠	欠	正	正	正	正	正
ADP放出	欠	欠	正	欠	欠	正	正	正	正	正
adenine nucleotide の storage pool	欠	欠	正	欠	欠	正	正	正	正	正
血小板第3因子	正	正	正	正	正	正	正	正	正	正
カオリン	正	正	正	正	正	正	正	正	正	正
TGT	正	正	正	正	正	正	正	正	正	正
消費	正	正	正	正	正	正	正	正	正	正
プロトロンビン消費	正	正	正	正	正	正	正	正	正	正
血小板形態	正	正	正	正	正	正	正	正	正	正
その他	血小板フィブリン低下	血小板swelling欠如	dense bodyや減少血小板寿命短縮, 血小板代謝異常免疫不全 (IgM低下) コラーゲン粘着不良	血小板swelling欠如	dense bodyや減少血小板寿命短縮, 血小板代謝異常免疫不全 (IgM低下) コラーゲン粘着不良	dense body減少	コラーゲン粘着不良	第Ⅷ因子減少		

表3 凝集率算法と正常値

東京医大	原	前川	立川	塚田	安永	山崎	山中
凝集剤添加直後のOD=OD ₁ 凝集剤添加後のOD=OD ₂ 1, 3, 5, 10, 最大凝集のOD=OD ₂			As=PRP測定開始時透過率 Am=3~5分後透過率 Ac=PPP+生食水透過率				
$\frac{OD_1 - OD_2}{OD_1} \times 100$	$\frac{ADP添加PRP_{OD} - 5分後OD}{PRP_{OD}} \times 100$	$R = \frac{M - D}{M} \times 100$	$\frac{Am - As}{Ac - As} \times 100$	$\frac{PRP_{OD} - ADP添加最低OD}{PRP_{OD}} \times 100$	$\frac{B}{A} \times 100(\%)$	$\frac{T_m - T_1}{T_c - T_1} \times 100$	
20~39歳 (17) 40~59歳 (25) 60~ (46) 男女 (88)	33±7% 36±9% 40±9% 38±9%	男 <35歳 8.5 30 71 4.4 (19) ± ± ± ± 3.1 11 21 1.2 35~ 10.1 30 59 4.4 (5) ± ± ± ± 4.2 13 28 1.3 女 9.6 21 90 2.8 (8) ± ± ± ± 2.7 38 21 1.0 % % % 分	男 34.7±6.7% (20) 女 37.0±5.7% (20) 男女 35.88±5.8% (40)	Aggregation time 3分 Disaggregation time 5分 男 46.10±5.78% (38) 女 45.85±6.28% (20) 男女 46.02±5.92% (58)	40~60%	(男30, 女17) Slope 80.7±0.9 IR(°) 62.9±4.6 RT(°) 68.6±4.6 b 2 T(°) 15.4±9.6 bp (%) 53.6±2.2 bm (%) 67.4±3.6 bs (%) 52.0±2.9	男 <35歳 49.8±9.1% (11) 35歳~ 61.3±14.7% (9) 女 52.3±13.4% (20) 男女 54.3±14.0% (40) 一次凝集 (12) 36.7±9.6% 二次凝集 (23) 67.4±11.8% (1975)

る。

後天性の疾患においては血小板血症²⁷⁾ではしばしば血小板粘着の低下がみられる。尿毒症²⁸⁾では血小板粘着能の低下を認めたとする報告と、低下を認めないとする報告²⁹⁾がある。その他、肝硬変³⁰⁾、dextran 輸注後³¹⁾、ITP³²⁾、polycythemia vera³³⁾、急性白血病³⁴⁾、アスピリン投与後³⁵⁾に血小板粘着能の低下が認められている。

2) 血小板粘着能の亢進する疾患

糖尿病では血小板粘着能が亢進することが知られている³⁶⁾。また、合併症として虚血性心疾患をとまうものでは亢進が著明である³⁶⁾。動脈硬化症では血小板粘着能は亢進するものと低下するものが認められる³⁷⁾。虚血性心疾患においては亢進が認められるとする報告³⁸⁾と低下が認められるとする報告³⁹⁾がある。その他、高脂血症、手術後、妊娠、癌などで血小板粘着能の亢進が認められることがあることが報告されている。

b. 血小板凝集能

血小板は異物面に粘着すると、引き続き血小板が相互に付着して凝集し、凝集塊を形成する。血小板の粘着と凝集はきわめて類似した反応であって、多くの場合、両者は平行して低下あるいは亢進を示すが、解離を示すこともある。血小板凝集能の測定法には顕微鏡下で血小

図5 ADP および Collagen による血小板凝集。

板凝集塊の形成を観察する方法と血小板凝集塊の形成により、多血小板血漿の濁度が凝集前の多血小板血漿 (PRP) に比べ低下することを利用し、光電光度計によりその変化をとらえる方法とがあるが、日常の血小板機能検査としての測定法としては後者が適している。

血小板凝集計を用いて各種血小板凝集誘発物質を添加し、血小板凝集による吸光度の変化を観察すると、図5に示した如くの曲線が示される。低濃度の凝集誘発物質を用いた場合、誘発

物質添加直後に血小板の円盤状から球形などに变形することによると考えられる吸光度の一過性の増加 (shape change) が起り、その後一次凝集のみが誘発される。しかし、epinephrine を誘発物質とした場合には shape change が認められない。高濃度の凝集誘発物質を用いた場合、shape change、一次凝集に続き、血小板より放出された ADP による二次凝集が誘発される。血小板機能の異常が軽度の場合には低濃度の誘発物質を用いた時に障害を示し、血小板機能異常が高度の場合には高濃度の誘発物質を用いても凝集を起し得ない。したがって血小板凝集能の測定には 2 種類以上の濃度の凝集誘発物質を用いるのがよい。

一般に血小板凝集能は血小板凝集率を用いて表わされる。表 3 にわが国で報告されている血小板凝集率の算出法を示したが、研究者により表現法も測定値もやや異なっている。そのため、表現法を統一することが問題とされている。

1) 血小板凝集能の低下する疾患

先天性血小板機能異常症では表 2 に示した如く低下するが、凝集誘発物質の種類によりその程度は異なる。その他血小板血症²⁷⁾、polycythemia vera³³⁾、急性白血病³⁴⁾、肝硬変⁴⁰⁾で血小板凝集能の低下が認められる。また、尿毒症でも低下が認められるが、人工透析により urea N、クレアチニンの改善とともに正常化されるといわれている⁴¹⁾。また、アスピリンの投与により ADP 誘発による二次凝集の低下が認められる⁴²⁾。その他、慢性白血病、悪性リンパ腫、ヴィールス感染症、骨髄硬化症、甲状腺機能亢進症、悪性貧血などでも凝集の低下があるとの報告がある。

2) 血小板凝集能の亢進する疾患

動脈硬化症⁴³⁾、糖尿病⁴⁴⁾、心筋梗塞⁴⁵⁾、血栓症⁴⁶⁾などで血小板凝集能の亢進が認められると報告されている。その他、手術後、高血圧、妊娠などによっても凝集能の亢進が認められるとする報告がある。

c. 血小板放出反応

Holmsen ら⁴⁷⁾は血小板放出反応により放出される物質は血小板内の dense body と α 顆粒

*Inducers that give energy-dependent primary A

SC : shape change
A : aggregation
RI : release I
RII : release II
Extra : extracellular
Intra : intracellular
Coll : collagen, Epi : epinephrine, Norepi : norepinephrine, 5HT : 5-hydroxytryptamine, Thromb : thrombin, Vasopr : vasopressin
IND : inducers

図 6 血小板放出反応のメカニズム (Holmsen, 1973)⁹⁾。

に存在する物質に局限されており、それぞれの放出反応を release I と release II に分類している。release I により、dense body に含まれる ATP, ADP, セロトニン、カルシウム、血小板第 4 因子などが放出され、release II により、 α 顆粒に含まれる酸ホスファターゼ、 β -グルクロニダーゼなどのライソゾーム酵素が放出されると報告している。また、Holmsen⁹⁾は血小板凝集と release I と release II との関係を図 6 に示したように、血小板に刺激が加わったとき、血小板内のエネルギーが高まるにしたがって shape change、凝集、release I、release II と引き続く反応であると述べている。一般に血小板の二次凝集は主として血小板の一次凝集につづいて血小板から放出される ADP によると考えられている。しかし、Weiss ら¹⁶⁾は血小板膜のリン脂質が誘発物質の刺激により活性化された phospholipase によりアラキドン酸となり、これが cyclo-oxygenase により、cyclic endoperoxide となり、この cyclic endoperoxide (LASS) が血小板凝集、release I を起さしめる物質であるとして図 4 に示したような報告をしている。

いずれにしても、血小板の一次凝集, release I, 二次凝集と続く反応は密接な関係を持っていると考えられ、臨床的にも多くの場合、血小板凝集能と release I は平衡するものと思われるが、Caen ら⁴⁸⁾は Glanzman 型血小板無力症において各種誘発剤による血小板凝集は欠如しているが、血小板よりの ADP の放出は認められると報告している。また、われわれの経験においても、Glanzman 型血小板無力症, essential athrombia において、血小板凝集は欠如しているにもかかわらず、ADP 放出を認める所見を得ており、血小板凝集能と release I の間に解離がみられることがある。これは各種誘発剤による血小板表面の粘着性の亢進が得られないためと考えられる。このため、血小板機能検査において、血小板凝集能の異常が認められた場合、血小板放出反応の異常の有無を検索する必要がある。

次に release II については血小板の α 顆粒がライソゾームであり、release II により放出される酵素には acid phosphatase, β -N-acetylglucosaminidase, β -glucuronidase, β -galactosidase など種々のものがある。しかし、これらの酵素の放出のメカニズム、作用機序についてはほとんど解明されていない。Kowalski ら⁴⁹⁾は α 顆粒中のリン脂質蛋白結合物が誘発刺激を受けて活性化されたライソゾーム酵素により生成され、ミセル化を起し membrane lipid complex となり、血小板膜下に移動し血小板第3因子としての活性を示すと報告している。また、われわれは β -グルクロニダーゼを用いたライソゾーム酵素の放出と血小板第3因子 availability が同じ誘発物質により、ほとんど同時に誘発され、同じ誘発阻止物質により阻害されることを報告した⁵⁰⁾。

d. 血小板第3因子能

血小板第3因子能は血小板の活性表面としての血小板第3因子能 platelet factor 3 availability と血漿中へ放出された血小板第3因子能 platelet factor 3 release とに分類されている。しかし、臨床的見地からはこれらが明確に区別はされていない。血小板凝集の障害を主因とする thrombastenia に対して血小板第3因子活

性の低下する疾患を thrombocytopathy (thrombopathy) といふことが多い。また、さらに血小板第3因子減少による deficit thrombocytopathy と血小板第3因子活性障害による functional thrombocytopathy とに分けられることもある。また、血小板第3因子能の低下する疾患には先天性のものと後天性のものとがある。

先天的に血小板第3因子能が低下する血小板機能異常については表2に示した。しかし、これらの疾患のうちには同一疾患として報告されているもののうちでも、正常値を示すものと異常を示す症例とが報告されており、議論が多い。

後天的に血小板第3因子能が低下する疾患としては、Bowie ら⁵¹⁾は deficit thrombocytopathy に属するものとして、肝疾患、腎不全、壊血病、急性白血病などがあり、functional thrombocytopathy に属するものとしてマクログロリン血症, systemic lupus erythematosus, dextran 輸注などがあると報告している。

血小板第3因子能の低下は出血傾向をきたすが、血小板第3因子活性の亢進は血管内凝血を生じさせるとも考えられる(Kanfer & Josso⁵²⁾)。また、脂肪酸、リン脂質は試験管内で、血小板凝集を惹起しうることが知られており、体内局所での血小板よりの血小板リン脂質の放出は局所での血小板凝集を促進するし、血小板粘着、血小板凝集を経て止血血栓の形成を促進すると共に、血管壁の病変によって血小板の粘着、凝集を発症機序と考えられる血栓症の発症における基本的な役割をなしているものと思われる。

e. 血小板容積

血小板機能の検査法として、血小板凝集能、血小板粘着能、血小板第3因子能の測定法が普及してきたため、血小板機能異常症の検索が急速に進歩している。そして、血小板機能の障害の程度と障害されている部位がしだいに明らかにされつつある。しかし、血小板形態の観察、とくに血小板容積に関しては血小板が粘着性、凝集性を持つため、形態変化を起しやすく、また、血小板の成熟度によって容積が異なるし、測定法もまちまちで、報告者によってかなり異

図7

なった成績を報告している。最近、コールター・カウンター・モデル ZBI 型とチャナライザー C-1000型を用い、迅速に、また、血小板を非固定のまま、容積を観察することができるように、血小板容積測定のための臨床的な意義が高くなったと思われる。測定の原理は電解質液中に散在している粒子を一定の電流が流れている細孔を通過させるとき、細孔を粒子が通過することによって、粒子の体積だけ電解質液が置換され、電気抵抗が増加し、粒子の体積に比例した電圧パルスが生じる。したがってこの電圧パルスの大きさと数を電気的に測定することにより、粒子数と個々の粒子の体積が粒度分布図として測定できるものである。

これを用いた健康成人の血小板容積分布図を図7に示した。先天性血小板機能異常症では血

小板容積は正常域にあるものが多いとされているが、thrombastenia, essential athrombia では大型血小板の増加傾向が認められ⁵³⁾、われわれは最近、極めて大型(約12~13 μ^3)の血小板の出現した essential athrombia の症例を1例経験した。Bernard-Soulier syndrom では60 μ^3 程度の極めて大きな病的血小板の出現が特徴である⁵⁴⁾。portsmouth syndrom では血小板数は正常で、そのピークは小型の方に移動し⁵³⁾、Wiskott-Aldrich syndrom でも血小板数は減少し、血小板の小型化もみられる⁵⁵⁾。aplasia, DIC, ITP の血小板数は減少するが、大型血小板の増加と共に小型血小板あるいは血小板断片の増加が認められる⁵³⁾。慢性骨髄性白血病の血小板はほぼ正常と類似した容積分布図を示し、急性骨髄性白血病、糖尿病、悪性細網症、特発性夜間

血色素尿症などでは血小板容積の粒度分布は鋭いピークとなり、かつ血小板の小型化が注目される⁵³⁾。また、血友病患者の血小板容積分布図はほぼ正常域にある患者と小型血小板が増加している患者とがあり、血友病の出血頻度との関係において、血小板容積が注目される。

一般的な血小板容積の病態の基礎として、(1) DICなどにみられる血小板消費は正常容積をもつ血小板すなわち最も活性の強い血小板から起るので、小型血小板は残存しやすいこと、(2) 血小板生成が回復した時期には大型の幼若血小板が出現することなどに注目すると、血小板異常の関与する疾患の病態とくにその経過の解析に血小板容積の測定は重要な情報を提供してくれる。

文 献

- 1) Spaet, T.H. and Stemerman, N.S.: Platelet adhesion. *Ann. New York Acad. Sci.*, **201** (suppl); 13, 1972.
- 2) Evans, G. and Mustard, J.F.: Platelet surface reaction and thrombosis. *Surgery*, **64**; 273, 1968.
- 3) Wilner, G.D., Nossel, H.L. and LeRoy, E. C.: Aggregation of platelets by collagen. *J. Clin. Invest.*, **47**; 2616, 1968.
- 4) Barber, A. J. and Jamieson, G. A.: Platelet collagen adhesion; characterization of collagen glucosyltransferase of plasma membranes of human blood platelets. *Biochim. Biophys. Acta*, **252**; 533, 1971.
- 5) Spiro, R. G. and Spiro, M. J.: Studies on the biosynthesis of the hydroxylysine-linked disaccharide unit of basement membranes and collagens. 3. Tissue and subcellular distribution of glycosyltransferase and the effect of various conditions on the enzyme levels. *J. Biol. Chem.*, **246**; 4899, 1971.
- 6) Puett, D., Wasserman, B. K., Ford, J. D. and Cunningham, L.W.: Collagen-mediated platelet aggregation. Effects of collagen modification involving the protein and carbohydrate moieties. *J. Clin. Invest.*, **52**; 2495, 1973.
- 7) Jaffe, R. and Deykin, D.: Evidence for a structural requirement for the aggregation of platelets by collagen. *J. Clin. Invest.*, **53**; 875, 1974.
- 8) Mustard, J.F., Perry, D.W. Kinlough-Rathbone, R.L. and Packham, M.A.: Factors responsible for ADP-induced release reaction of human platelets. *Amer. J. Physiol.*, **228**; 1757, 1975.
- 9) Holmsen, H.: Are platelet shape change, aggregation, and release reaction tangible manifestations of one basic platelet function? in *Platelets: Production, Function, Transfusion, and Storage*. ed. by Baldini, M.G. & Ebbe, S., Grune & Stratton, New York, pp. 207, 1973.
- 10) Salzman, E.W. and Levine, L.: Cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate in human blood platelets. II. Effect of N⁶-2'-O-dibutyryl cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate on platelet function. *J. Clin. Invest.*, **50**; 131, 1971.
- 11) Kitahara, T., Fujimaki, M. and Fukutake, K.: Studies on platelet release reaction and its inhibition. The 16th International Congress of Hematology, Kyoto, Sept., 1976.
- 12) Booyse, F.M., Marr, J., Yang, D.-C., Guilian, D. and Rafelson, Jr. M.E.: Mechanism of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate regulation of platelet membrane phosphorylation-dephosphorylation, Ca binding and aggregation., in platelets. ed. by Ultin, O.N., pp. 84, *Excerpta Medica, Amsterdam/American Elsevier*, New York, 1975.
- 13) Halsam, R. J. and McClenaghagh, M. D.: Effects of collagen and of aspirin on the concentration of guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate in human blood platelets; Measurement by a prelabelling technique. *Biochem. J.*, **138**; 317, 1974.
- 14) Hidaka, H. and Asano, T.: Human blood platelet 3', 5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. Isolation of low-Km and high-Km phosphodiesterase. *Biochim. Biophys. Acta*, **429**; 485, 1976.

- 15) Smith, J.B. and Willis, A.L.: Formation and release of prostaglandins by platelets in response to thrombin. *Brit. J. Pharmacol.*, **40**; 545, 1970.
- 16) Weiss, H.J.: Platelet physiology and abnormalities of platelet functions (first of two parts). *New Engl. J. Med.*, **293**; 531, 1975.
- 17) Willis, A.L. and Kuhn, D.C.: A new potential mediator of arterial thrombosis whose biosynthesis is inhibited by aspirin. *Prostaglandins*, **4**; 127, 1973.
- 18) Hamberg, M., Svensson, J., Wakabayashi, T. and Samuelsson, B.: Isolation and structure of two prostaglandin endoperoxides that cause platelet aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**; 345, 1974.
- 19) Malmsten, C., Hamberg, M., Svensson, J. and Samuelsson, B.: Physiological role of an endoperoxide in human platelets: hemostatic defect due to platelet cyclo-oxygenase deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**; 1446, 1975.
- 20) Hamberg, M., Svensson, J. and Samuelsson, B.: Prostaglandin endoperoxides. A new concept concerning the mode of action and release of prostaglandins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**; 2994, 1975.
- 21) Booyse, F. M. and Rafelson, M. E. Jr.: Studies on human platelets. III. A contractile protein model for platelet aggregation. *Blood*, **33**; 100, 1969.
- 22) Baenziger, N.L., Brodie, G.N. and Majerus, P.W.: A thrombin-sensitive protein of human platelet membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **68**; 240, 1970.
- 23) Levy-Tóledano, S.: Receptor for adrenaline on thrombostenin. in *Platelet Aggregation*. ed. by Caen, J., pp. 155, Masson et Cie, Paris, France, 1971.
- 24) Nachaman, R. L. and Ferris, B.: Binding of adenosine diphosphate by isolated membranes from human platelets. *J. Biol. Chem.*, **249**; 704, 1974.
- 25) Nilsson, I. M. and Öckerman, P.A.: The bleeding disorder in hepatomegalic forms of glycogen storage disease. *Acta Paediat. Scand.*, **59**; 127, 1970.
- 26) O'Neill, B.J. and Hutton, R.A.: Prolonged bleeding time in congenital heart disease, the association of clinical pathologists; 75th general meeting. *J. Clin. Path.*, **19**; 99, 1966.
- 27) McClure, P. D., Ingram, G. I., Stacey, R. S., et al.: Platelet function tests in thrombocythaemia and thrombocytosis. *Brit. J. Haemat.*, **12**; 478, 1966.
- 28) Pitney, W. R., Hinterberger, H. and Potter, M.: Adenine nucleotides in platelets from normal and uraemic subjects. The effect of passage through glass bead filters. *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, **19**; 36, 1968.
- 29) 遠藤安行: 血小板粘着能に関する研究. 測定条件の基礎的吟味と疾患別変動並びに影響因子に関する検討. *日血会誌*, **37**; 796, 1974.
- 30) Salzman, E. W.: Blood platelets and extracorporeal circulation. *Transfusion*, **3**; 274, 1963.
- 31) Bennett, P.N., Dhall, D.P., McKenzie, F. N., et al.: Effects of dextran infusion on the adhesiveness of human blood-platelets. *Lancet*, **2**; 1001, 1966.
- 32) Clancy, R., Jenkins, E. and Firkin, B.: Qualitative platelet abnormalities in idiopathic thrombocytopenic purpura. *New Engl. J. Med.*, **286**; 622, 1972.
- 33) Inceman, S. and Tangün, Y.: Platelet defects in the myeloproliferative disorders. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **201**; 251, 1972.
- 34) Inceman, S. and Tangün, Y.: Impaired platelet-connective tissue reaction. *New Engl. J. Med.*, **281**; 108, 1969.
- 25) Endresen, G. K. M. and Gruner, O. P. N.: Platelet surface interaction (Stickiness) following aspirin administration in rats. II Congress Int. Soc. Thrombosis and Haemostasis, Oslo, 1971, Abstract 196.
- 36) Mayne, E. E., Bridges, J. M. and Weaver, J.A.: Platelet adhesiveness, plasma fibrinogen and factor VIII levels in diabetes mellitus. *Diabetologia*, **6**; 436, 1970.

- 37) Horlick, L.: Platelet adhesiveness in normal persons and subjects with atherosclerosis. Effect of high fat meals and anti-coagulants on the adhesive index. *Amer. J. Cardiol.*, **8**; 459, 1961.
- 38) Nestel, P.J.: A note on platelet adhesiveness in ischaemic heart disease. *J. Clin. Pathol.*, **14**; 150, 1961.
- 39) Enticknap, J.B., Gooding, P.G., Lansley, T.S., et al.: Platelet size and function in ischemic heart disease. *J. Atheroscler. Res.*, **10**; 41, 1969.
- 40) Parreira, F. and Ducla-Soases, A.: Ätiologische Aspekt der Thrombozytopathie. *Münch. Med. Wschr.*, **111**; 2640, 1969.
- 41) Rabiner, S. F.: Bleeding in uremia, Symposium on Hemorrhagic Disorders. ed. by Rossi, E.C., *Med. Clin. North. Amer.*, **56**; 221, 1972.
- 42) Zucker, M.B. and Peterson, J.: Inhibition of adenosine diphosphate-induced secondary aggregation and other platelet function by acetylsalicylic acid ingestion. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **127**; 547, 1968.
- 43) Cotton, C.: The effect of pyridinol carbamate on the platelet response to ADP in patients with intermittent claudication. in Tokyo Conference on Atherogenesis, Thrombogenesis and Pyridino-carbamate Treatment. Tokyo, 18, 1972.
- 44) Salzman, E.W. and Neri, L.L.: Adhesiveness of blood platelets in uremia. *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, **15**; 84, 1966.
- 45) O'Brien, J.R., Herwood, J. B. and Heady, J.A.: The quantitation of platelet aggregation induced by four compounds: A study in relation to myocardial infarction. *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, **16**; 752, 1966.
- 46) Yamazaki, H.: Platelet functions in thromboembolic disorders. in *Platelets*. ed. by Ultin, O. N., pp. 275, *Excerpta Medica*, Amsterdam/American Elsevier, New York, 1975.
- 47) Holmsen, H., Day, H. J. and Stormorken, H.: The blood platelet release reaction. *Scand. J. Haemat.*, suppl., **8**; 3, 1969.
- 48) Caen, J. P., Castaldi, P. A., Leelerc, J. C., Inceman, S., Larrieu, M. J., Probst, M. and Bernard, J.: Congenital bleeding disorders with long bleeding time and normal platelet count. 1. Glanzman's thrombasthenia (report of fifteen patients). *Amer. J. Med.*, **41**; 4, 1966.
- 49) Kowalski, E., Kopeć, M., Węgrynowicz, Z., Hurwic, M. and Budzyński, A. Z.: A lysosomal concept of the platelet release reaction and viscous metamorphosis. *Thrombos. Diathes. Haemorrh.*, **16**; 134, 1966.
- 50) 北原 武: 血小板放出反応とその阻止について. *東医大誌*, **34**; 717, 1976.
- 51) Bowie, E.J.W. and Owen, C. A.: Thrombopathy. *Seminars in Hematol.*, **5**; 73, 1968.
- 52) Kanfer, A. and Josso, F.: Hyperactivité plaquettaire au cours de la coagulation intravasculaire. Etude expérimentale chez le lapin. *Rev. Europ. Etud. Clin. Biol.*, **16**; 814, 1971.
- 53) 細川 孝, 他: 血小板容積の正常値と保存による変化. *臨床病理*, **22** (補冊); 92, 1974.
- 54) 山田兼雄: Bernard-Soulier syndrome (macrothrombocytic thrombopathia) の血小板機能に関する検討. *臨床血液*, **15**; 915, 1974.
- 55) Grøttum, K. A., Hovig, T., Holmsen, H., Abrahamsen, A.F., Jeremic, M. and Seip, M.: Wiskott-Aldrich syndrome: Qualitative platelet defects and short platelet survival. *Brit. J. Haemat.*, **17**; 373, 1969.