血液透析患者の血小板凝集能について

北本 康則 牧 野 哲 長 井 克 敏 阿 部 善 治 扇 谷 博
 残 間 保 雄 太 田 美 喜 子 二 木 源 田 熊 淑 男 上 田 仁
 門 間 弘 道 石 崎 允 高 橋 寿 関 野 宏*

仙台社会保険病院腎センター 宏人会中央病院*

(昭和 59 年 10 月 2 日受付)

key words : chronic renal failure, hemodialysis, platelet aggregation, collagen, platelet adhesiveness

〈要旨〉

血液透析患者における出血傾向の大きな原因として血小板機能の障害が考えられている。今回我々は、血液透析患者のコラーゲンによる血小板凝集能およびガラスビーズへの血小板粘着能を測定し、健常人との比較、透析前後での比較を行った。健常人 7 例 (男子 2 例, 女子 5 例) と維持透析患者 11 例 (男子 2 例, 女子 9 例) を対象とした。

PRP の血小板数を $5 \times 10^4/\text{mm}^3 \sim 35 \times 10^4/\text{mm}^3$, コラーゲン濃度を $1 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ まで変え、血小板凝集能を測定した。健常人、透析患者ともに最大凝集率がプラトーに達する測定条件は、PRP の血小板数 $25 \times 10^4/\text{mm}^3$, コラーゲン濃度 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、これを至適測定条件と考えた。至適条件で測定した結果、透析前では健常人との間に有意の差は認められなかったが、透析後では最大凝集率と最大凝集角度が健常人および透析前に比べ有意に低下した。血小板粘着能は透析前が 5.3% と著しい低値を示したが、透析後は 15.3% と正常下限まで改善した。粘着能測定時のヘマトクリット (Ht) は透析前が 27%, 透析後が 31% と 4% 増加しており、透析後の粘着能の増加はこのためかもしれない。血小板数は透析前が $15 \times 10^4/\text{mm}^3$, 透析後が $17 \times 10^4/\text{mm}^3$ と有意の変化を示さなかったが、Ht より計算した血液濃縮度を考慮すると、血小板は透析中に約 16% 減少したことになる。

以上の結果より、透析患者のコラーゲンによる血小板凝集能は健常人に比べ、透析前では低下していないが、透析後に低下する事が明らかになった。その原因として透析回路による血小板の破壊、吸着が考えられた。

Collagen induced platelet aggregation in chronic hemodialysis patients

Yasunori Kitamoto, M. D., Tetsu Makino, Katsutoshi Nagai, Zenji Abe, Hiroshi Ohgiya, Yasuo Zamma, Mikiko Ohta, Gen Futaki, M. D., Yoshio Taguma, M. D., Hitoshi Ueda, M. D., Hiromichi Momma, M. D., Makoto Ishizaki, M. D., Hisashi Takahashi, M. D., Hiroshi Sekino, M. D.*

Kidney Center Sendai Shakai Hoken Hospital ; Kojin-Kai Central Hospital*

Impaired platelet function in hemodialysis patients is considered to be a major cause of their bleeding tendency. To evaluate their platelet function, we examined collagen-induced platelet aggregation and platelet adhesiveness to glass beads.

Studies were performed in 7 healthy controls (2 males, 5 females) and 11 hemodialysis patients (2 males, 9 females). None of them were suffering from diabetes mellitus. The optimal concentration of platelets in the PRP and the optimal concentration of collagen needed to evaluate platelet aggregation were determined. The optimal concentration of platelets and collagen were $25 \times 10^4/\text{mm}^3$ and $5 \mu\text{g}/\text{ml}$, respectively.

There was no significant difference in collagen-induced platelet aggregation between healthy controls and hemodialysis patients just before dialysis. After hemodialysis, platelet aggregation was found to be impaired. Platelet adhesiveness was increased from $5.3 \pm 4.5\%$ to $15.3 \pm 10.9\%$ with dialysis. This rise in platelet adhesiveness might be partially due to the increased RBC concentration during hemodialysis. Pre and post dialysis platelet counts were $15.1 \pm 4.2 \times 10^4/\text{mm}^3$ and $17.1 \pm 4.6 \times 10^4/\text{mm}^3$, respectively, and this change was not statistically

北本 康則 仙台社会保険病院腎センター

〒980 仙台市堤町 3-16-1 (0222-75-3111 内 346)

significant. Since hemoconcentration occurs during hemodialysis, the platelets seem to be destroyed or adsorbed during hemodialysis.

In conclusion, platelet aggregation induced with collagen was impaired after dialysis, probably as a result of deterioration caused by passage of the platelets through the pump, filters and dialysis membrane.

はじめに

血液透析患者においては、脳出血、消化管出血などの出血性合併症が多い。この原因としてヘパリンの影響、血管の脆弱化、血小板機能の低下などが考えられている。

血液透析患者の血小板機能については、Castaldi¹⁾により 1966 年に報告されて以来多くの報告がある²⁻⁷⁾。しかしながら透析患者における血小板凝集能の測定条件、とくに PRP 濃度と凝集惹起剤濃度の検討が不十分であり、結果にも普遍性が乏しいと考えられる。我々は今回、至適測定条件を用い、血液透析患者のコラーゲンによる血小板凝集能を調べ、若干の知見を得たので報告する。

対象・方法

当センターにて維持透析中の慢性腎不全患者 11 例(男子 2 例, 女子 9 例)を対象とした(表 1)。年齢は 32~75 歳で平均 49.9 ± 13.6 歳, 透析歴は 3 年 6 カ月~12 年で平均 7 年 3 カ月であった。どの患者も回路内凝血および出血傾向を示さなかった。原疾患は慢性糸球体腎炎 10 例, 腎結核 1 例であり, 糖尿病患者は含まれなかった。患者の血小板数は $20.6 \pm 6.4 \times 10^4/\text{mm}^3$ であった。1 回透析あたりのヘパリン使用量は $4,327 \pm 1,208$ U であった。

症例 5, 7, 8 では血圧コントロールのためニフェジピン, クロニジン, 酒石酸メトプロロール等の薬を使用中であった。健常人 7 例(男子 2 例, 女子 5 例)をコントロールとした。健常人の血小板数は $42.4 \pm 7.1 \times 10^4/\text{mm}^3$ であった。血小板数は Brecher 法により計数した。

血小板凝集能の測定は以下に行った。血液透析開始時および終了時に動脈側回路より全血 16 ml を採取し, 血液 9 容に対し 1 容の 3.8% クエン酸ナトリウム溶液を加え 170 G で 10 分間遠心し, 上清を PRP とする。PRP を分取後, 残りの血液を 1,500 G で 10 分間遠心し, 上清を PPP とした。PRP を PPP で希釈し, 血小板濃度を $35 \times 10^4/\text{mm}^3$ から $5 \times 10^4/\text{mm}^3$ まで調整した。PRP 200 μl をマイクロキュベットに入れ, これに凝集惹起剤であるコラーゲン溶液を 20 μl 加え, ヘマトレーサー® (二光バイオサイエンス) により血小板凝集能を測定した。測定は採血後 4 時間以内に終了した。コラーゲン溶液は Hormon Chemie 社製を用い, 濃度は 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ までの 6 段階とした。血小板凝集能は最大凝集率, 最大凝集角度, lag time について評価した(図 1)。血小板粘着能の測定は Salzman 改良法に

症例	性別	年齢	原疾患	透析歴	血小板数 $\times 10^4/\text{mm}^3$	ダイアライ ザーの材質	透析時間/週	1 回透析あ たりの使用 ヘパリン量	使用薬剤*
1	M	52	CGN	14 Y	21.5	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	4,000 U	
2	M	47	Renal tuberculosis	5 Y	13.5	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	4,000 U	
3	F	69	CGN	3 Y 6 M	13.5	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	4,000 U	ジソピラミド
4	F	75	CGN	5 Y 10 M	30.4	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	5,000 U	ジギトキシン
5	F	36	CGN	6 Y	15.5	EVAL	3 H $\times$ 2 回	1,600 U	ジゴキシン ニフェジピン クロニジン
6	F	32	CGN	5 Y 6 M	19.7	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	4,000 U	
7	F	52	CGN	5 Y 8 M	28.8	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	4,000 U	ニフェジピン 酒石酸メト プロロール
8	F	35	CGN	6 Y 5 M	13.7	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	4,000 U	ニフェジピン クロニジン
9	F	42	CGN	12 Y	20.3	PMMA	5 H $\times$ 3 回	5,000 U	メキタジン
10	F	56	CGN	9 Y	29.3	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	6,000 U	
11	F	53	CGN	7 Y	20.7	cuprophan	5 H $\times$ 3 回	6,000 U	

CGN：慢性腎炎 * アルミニウム剤, ビタミン剤を除く

表 1 対象症例

図 1 血小板凝集能の各種パラメーター

図 2 PRP の血小板数と血小板凝集能

より血液透析開始前および終了時に行った。測定には血小板粘着能測定器（医学書院器械）を用いた。統計学的有意差検定には Student の t 検定を用いた。

結果

図 2 に各種 PRP 濃度における血小板凝集能を示した。最大凝集率は健康人と血液透析 (HD) 後では、PRP 濃度が増すにつれ上昇し、 $25 \times 10^4 / \text{mm}^3$ でプラトーに達した (図 2 A)。HD 前では、PRP 濃度が $15 \times 10^4 / \text{mm}^3$ まで最大凝集率は緩やかに上昇し、ついでプラトーに達

図 3 コラーゲン濃度と血小板凝集能

した。PRP 濃度 $25 \times 10^4 / \text{mm}^3$ での最大凝集率は健康人 $87.0 \pm 2.0\% > \text{HD 前 } 81.0 \pm 9.5\% > \text{HD 後 } 78.0 \pm 11.0\%$ であった。最大凝集角度は PRP 濃度を増すにつれ増加する傾向にあった。HD 前と HD 後では、PRP 濃度 $25 \times 10^4 / \text{mm}^3$ でプラトーに達した後、 $30 \times 10^4 / \text{mm}^3$ で再び上昇傾向を示した。PRP 濃度 $25 \times 10^4 / \text{mm}^3$ における最大凝集角度は HD 前 $79.5 \pm 1.0^\circ > \text{健康人 } 81.0 \pm 6.5^\circ > \text{HD 後 } 80 \pm 1.5^\circ$ 、PRP 濃度 $30 \times 10^4 / \text{mm}^3$ では健康人 $83.3 \pm 0.47^\circ > \text{HD 前 } 79 \pm 1.0^\circ > \text{HD 後 } 80 \pm 1.5^\circ$ であった。lag time は、健康人では PRP 濃度が増加するにつれ短縮した (図 2 B)。HD 前と HD 後では、lag time は PRP 濃度の増加に伴い一度短縮後再び延長する傾向にあった。PRP 濃度 $25 \times 10^4 / \text{mm}^3$ では健康人 $39 \pm 10 \text{ sec} > \text{HD 前 } 36 \pm 9 \text{ sec} > \text{HD 後 } 35 \pm 15 \text{ sec}$ であった。

図 3 に各種コラーゲン濃度における血小板凝集能を示した。PRP 濃度は健康人 $47.5 \pm 9.1 \times 10^4 / \text{mm}^3$ 、HD 前 $36.7 \pm 1.8 \times 10^4 / \text{mm}^3$ 、HD 後 $39.4 \pm 12.5 \times 10^4 / \text{mm}^3$ とし、コラーゲン濃度を $1 \mu\text{g/ml}$ から $10 \mu\text{g/ml}$ まで変化させた。

最大凝集率 (図 3 A) については、健康人、HD 前ともにコラーゲン濃度 $2 \mu\text{g/ml}$ でプラトーに達した。HD 後ではコラーゲン濃度 $5 \mu\text{g/ml}$ でプラトーに達した。健康人と HD 群に差は認められず両者とも HD 後より高

図4 血液透析前後における血小板凝集能の変化

図5 血液透析前後における血小板粘着能、血小板数・ヘマトクリット値の変化

い凝集率を示した。コラーゲン濃度 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ での最大凝集率は、HD 前 $82.0 \pm 5.1\%$ > 健常人 $80.5 \pm 7.5\%$ > HD 後 $75.0 \pm 6.1\%$ であった。最大凝集角度を図3 Bに示した。健常人と HD 前でコラーゲン濃度 $1 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ では $82.2^\circ \sim 83.2^\circ$ とほぼ一定であったが、HD 後では最大凝集角度は $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ から $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ まで漸増し、以後プラトーに達した。コラーゲン濃度 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ での最大凝集角度は、健常人 $84.5 \pm 1.7^\circ$ > HD 前 $84.0 \pm 0^\circ$ > HD 後 $80.8 \pm 0.8^\circ$ であった。lag time は3群ともコラーゲン濃度が増加するにつれ減少する傾向にあった(図3 C)。コラーゲン濃度 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ で lag time は $47.1 \pm 15.5 \text{ sec}$ > HD 前 $37.7 \pm 10.5 \text{ sec}$ > HD 後 $31.6 \pm 10.0 \text{ sec}$ であった。

図4に HD 前後での血小板凝集能の変化を示した。PRP 濃度は $25 \times 10^4/\text{mm}^3$ とし、コラーゲン濃度は $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ とした。最大凝集率は HD 前が $79.1 \pm 5.8\%$ 、HD

後が $69.4 \pm 5.5\%$ であり、HD 後が HD 前に比べ有意に低下した ($P < 0.001$)。最大凝集角度は、HD 前が $82.7 \pm 0.9^\circ$ 、HD 後が $78.5 \pm 4.8^\circ$ で、これも HD 後が前より有意に低値を示した ($P < 0.05$)。lag time については、HD 前が $37.5 \pm 8.9 \text{ sec}$ 、HD 後が $37.5 \pm 10.7 \text{ sec}$ で、有意な変化は認められなかった。

HD 前後における血小板粘着能、血小板数、Ht 変化を図5に示した。血小板粘着能は HD 前が $5.3 \pm 4.5\%$ 、HD 後が $15.3 \pm 10.9\%$ であり、HD 後に有意な上昇を認めた ($P < 0.001$)。しかし両者とも正常値 ($30 \sim 60\%$) に比べると半分以下であった。Ht は HD 前が $27.1 \pm 4.5\%$ 、HD 後が $30.9 \pm 5.8\%$ と増加したが、血小板数は HD 前が $15.1 \pm 4.2 \times 10^4/\text{mm}^3$ 、HD 後が $17.1 \pm 4.6 \times 10^4/\text{mm}^3$ と有意な変化を示さなかった。Ht より計算した血液濃縮度から考えて、血小板数は 16% 減少したと考えられた。

考察

血液透析患者の血小板機能についてはすでに多くの報告がある¹⁻⁷⁾。透析中に β -thromboglobulin や platelet factor 4 の血中濃度が増加すること⁸⁻¹⁰⁾、血小板がダイアライザー膜面に付着することなどが指摘されており、透析による血小板の量的および質的变化は大きいと考えられる。

一般に血小板凝集能の検査における PRP の血小板数は $20\sim40\times10^4/\text{mm}^3$ 、凝集惹起剤としてのコラーゲン濃度は $1\sim4\text{ }\mu\text{g/dl}$ とされている。血液透析患者では血小板数は減少傾向にあり¹²⁾、 $20\times10^4/\text{mm}^3$ 未満の場合も多い。PRP 調整による血小板数の上昇も透析患者では健常人より少ない⁴⁾。コラーゲンによる血小板凝集能(最大凝集率)は PRP の血小板数が $25\times10^4/\text{mm}^3$ 以上、コラーゲン濃度が $5\text{ }\mu\text{g/dl}$ 以上の時、3群(健常人、透析前、透析後)ともプラトーに達しており、この条件で測定すれば安定した結果が得られると考えた(図2、図3)。

最大凝集率と最大凝集角度については健常人と透析前の間には有意の差を認めないが、透析後は健常人および透析前に比べ有意に低下した。lag time については3群間に有意の差を認めなかった。コラーゲン以外の種々の凝集惹起剤による血小板凝集については、すでに報告がある。Nenci⁹⁾らは $\text{ADP } 2.6\text{ }\mu\text{M}$ 、血小板 $25\times10^4/\text{mm}^3$ で血小板凝集能を調べた。その結果、血液透析患者では健常人よりも有意に凝集能が低下しており、透析によりさらに凝集能は低下した。アラキドン酸による血小板凝集能については、透析患者(透析前値)では健常人より最大凝集率は低いが、凝集閾値は低下していた⁷⁾。血液透析による GSA¹³⁾、中分子量物質等¹⁴⁾の除去は凝集能を亢進し、透析回路による血小板の吸着や破壊¹¹⁾は凝集能を低下させると考えられる。今回、大部分の症例で使用したクプロファン膜は合成膜に比べ血小板の吸着、 β -thromboglobulin の放出等が多いと考えられているが、PMMA を使用した1例でも凝集能は同様に变化した。ヘパリンの血小板機能に及ぼす影響については種々の報告があるが⁶⁾、血小板凝集能に対する影響は少ないと判断した(データ未発表)。一部の症例においては、Ca拮抗剤(ニフェジピン)、 β -ブロッカー(酒石酸メトプロロール)、クロニジン等を服用していたが他の症例と同様な血小板機能の変化を示した。

血小板粘着能は血液透析患者で低下⁴⁾しており我々も同様の結果を得た(図5)。ほぼ同数の血小板数で粘着能は透析により約2倍に増加し正常下限まで増加した。この原因として阻害物質の除去と透析回路の影響が考えられた。血小板凝集能と粘着能に対する透析の影響が一見矛盾するように見えるが、両者とも *in vitro* での血小板

機能の検査であり、生理的な血小板機能の一部を見ているにすぎず、むしろ両者とも透析により变化した事に注目したい。今回の結果にもとづき血小板機能をより正確に評価することにより、血液透析回路の影響、適正透析などについても検討したい。

結論

血液透析患者のコラーゲンによる血小板凝集能測定の条件を検討した。コラーゲン濃度 $5\text{ }\mu\text{g}$ 、PRP の血小板濃度 $25\times10^4/\text{mm}^3$ が適当であると考えられた。この条件で11例の透析患者の凝集能を調べた結果、透析前は健常人と有意の差を示さないが、透析後は有意に低下することがわかった。原因として透析回路での血小板吸着、破壊が考えられた。血小板粘着能は透析前に低値を示し、透析により約2倍に増加したが、健常人よりは低値であった。

本研究の要旨は第29回人工透析研究会総会において発表した。

文献

- 1) Castaldi, P. A., Eosenberg, M. C. and Stewart, J. H.: The bleeding disorder of uraemia. *Lancet*, 2: 66-69, 1966.
- 2) Lindsay, R. M., Moorthy, A. V., Koens, F. and Linton, A. L.: Platelet function in dialyzed and non-dialyzed patients with chronic renal failure. *Clin. Nephrol.*, 4: 52-57, 1975.
- 3) Wathen, R., Smith, M., Keshaviah, P., Comty, C. and Shapiro, F.: Depressed *in vitro* aggregation of platelets of chronic hemodialysis patients (CHDP): A role for cyclic AMP. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 21: 320-328, 1975.
- 4) Lindsay, R. M., Friesen, M., Koens, F., Linton, A. L., Oreopoulos, D. and De Veber, G.: Platelet function in patients on long term peritoneal dialysis. *Clin. Nephrol.*, 6: 335-339, 1976.
- 5) Bemis, J., Rigney, J. Sosin, A. and Deane, N.: Enhanced platelet aggregation in chronic renal failure patients receiving hemodialysis treatment. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 23: 48-53, 1977.
- 6) Nenci, G. G., Berrettini, M., Agnelli, G., Parise, P., Buoncristiani, U. and Ballatori, E.: Effect of peritoneal dialysis, haemodialysis and kidney transplantation on blood platelet function. *Nephron*, 23: 287-292, 1979.

- 7) Remuzzi, G., Benigni, A., Dodesini, P., Schieppati, A., Gotti, E., Livio, M., Mecca, G., Donati, M. B. and De Gaetano, G. : Platelet function in patients on maintenance hemodialysis : depressed or enhanced? Clin. Nephrol., 17 : 60-63, 1982.
- 8) Endo, Y., Mamiya, S., Satoh, M., Takahashi, K. and Harada, T. : Plasma β -thromboglobulin and platelet factor 4 in patients with chronic renal failure and effect of hemodialysis. Tohoku J. Exp. Med., 135 : 349-358, 1981.
- 9) Akizawa, T., Nishiyama, H. and Koshikawa, S. : Plasma β -thromboglobulin levels in chronic renal failure patients. Artif. Organs, 5 : 54-58, 1981.
- 10) Buccianti, G., Pogliani, E., Miradoli, R., Colombi, M. A., Valenti, G., Lorenz, M. and Polli, E. E. : Reduction of plasma levels of β -thromboglobulin and platelet factor 4 during hemodialysis : a possible role for a short acting inhibitor of platelet aggregation. Clin. Nephrol., 18 : 204-208, 1982.
- 11) Green, D., Saxthanam, S., Krumlovsky, F. A. and del Greco, F. Lab. Clin. Med., 95 : 679-685, 1980.
- 12) Cheney, K. and Bonnin, J. A. : Haemorrhage, platelet dysfunction and other coagulation defects in uremia. Br. J. Haemat. 8 : 215-222, 1962.
- 13) Horowitz, H. I., Stein, I. M., Cohen, B. D., and White, J. G. : Further studies on the platelet inhibitory effect of guanidinosuccinic acid and its role in uraemic bleeding. Am. J. Med., 49 : 336-345, 1970.
- 14) Galilce, P., Fournier, N., Crevat, A., Saingra, S., Frayssinet, R., Murisasco, A. and Sicardi, F. : In vitro inhibition of platelet aggregation by uraemic middle molecules. Biomedicine, 33 : 185-188, 1980.

世界初の合成カルシトニン誘導体製剤

高カルシウム血症・
骨ページェット病に!!

薬価基準収載

劇指 エルカトニン® 注

(一般名：エルカトニン)

■効能・効果

- 高カルシウム血症
- 骨ページェット病

■用法・用量

1. 高カルシウム血症の場合
エルカトニンとして、通常成人には1回量40エルカトニン単位を1日2回朝晩に筋肉内注射する。なお、年齢および血中カルシウムの変動により適宜増減する。
2. 骨ページェット病の場合
エルカトニンとして、通常成人には1回量40エルカトニン単位を原則として1日1回筋肉内注射する。

■使用上の注意は、添付文書を御参照下さい。

東洋醸造株式会社