臨 床 低分子IgMによると思われる偽性血小板減少症を

呈した慢性関節リウマチの1例

金沢リハビリテーション病院リウマチ膠原病センター 村山隆司◇ 中崎 聡

概要 EDTAの存在下で血小板が集塊形成をおこし、自動血球計数装置による血小板数がみかけ上減少する偽性血小板減少症の1例を経験した。症例は72才、女性。昭和43年発症の慢性関節リウマチである。経過中突然、血小板数が著減し、血液像にて血小板の集塊形成を認めた。患者血清中の7S分画に血小板の集塊形成をおこす因子が存在し、抗ヒトIgMウサギ血清で患者血清7S分画を吸収することにより本現象が阻止された。同様に患者血清中のリウマトイド因子を吸収することによっても本現象を阻止することができた。以上より本症例における偽性血小板減少症をおこす因子として、患者血清中に存在する低分子IgMリウマトイド因子が考えられた。

[日内会誌 76:1105~1108, 1987]

はじめに

血小板算定に関して旧来のFonio法やBreck-Cronkite法などの視算法にかわりCoulter counterなどの自動血球計数装置による測定が広く行なわれるようになってきている。このような自動検査機器が導入されて以来、採血に用いるEDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid) などの抗凝固薬が原因と考えられる偽性血小板減少症(Pseudothrombocytopenia)が発見され問題となってきている。当院でもBaker社製の全血血小板計数装置Baker-810を使用して血小板数を測定しているがEDTAにより惹起されたと考えられる偽性血小板減少症の1例を経験したので報告し、その成因についても検討した。

症 例

患者： MK 72才、女性。

主訴： 多発性関節痛、腰痛。

既往歴： 67才時、左股関節全置換術施行。

家族歴： 特記すべきことなし。

現病歴： 昭和43年、四肢の多関節性腫脹と疼痛が出現。慢性関節リウマチと診断された。関節破壊の進行のため昭和55年、左股関節全置換術を

受けた。昭和58年1月当科初診。その際の血小板数は29.0万/mm³。末梢血血液像では血小板の集塊形成は認めなかった。インドメサシンやジクロフェナックに加え、プレドニゾロン2.5mg/日の投与を行なってきたが昭和60年4月、血小板数が2.1万/mm³と著減。末梢血血液像にて血小板の集塊形成を認めた。その際にも特に出血傾向は認めなかった。

身体所見： 身長145cm、体重43.0kg、体温36.1℃、血圧130/80mmHg、脈拍72/分整。眼瞼結膜黄疸なし。胸腹部に異常を認めない。両肘・両手・両手指・左股関節に可動域制限と変形あり。関節X線所見とあわせてstage IVのclassical RAと考えられた。神経学的所見では異常を認めない。皮膚には紫斑・点状出血などは認めなかった。

検査成績(表1、表2)： 白血球増加と末梢血血液像にて血小板の集塊形成があり、その大きさは多核白血球に相当するものもあった。EDTA-K₂採血による血小板数は2.1万/mm³と著明に減少していたがHeparin採血による血小板数は31.6万/mm³と正常域にあり両者に解離が認められた。CRPは強陽性。血沈1時間値72mmと高度亢進

[昭和61年7月27日受稿]

Pseudothrombocytopenia caused by low molecular weight IgM in rheumatoid arthritis: a case report.

Takashi MURAYAMA and Satoshi NAKASAKI, Rheumatic and Connective Tissue Disease Center, Kanazawa Rehabilitation Hospital, Kanazawa

表1. 検査所見 (一般検査)

便潜血反応	陰性	Al-P	242 BLIU
尿一般検査	異常なし	GOT	14 IU
RBC	$383 \times 10^4 / \text{mm}^3$	GPT	15 IU
Ht	32.0 %	LDH	383 IU
MCV	$74 \mu^3$	コリンエステラーゼ	
Hb	9.4 g/dl		7540 IU
WBC	$13500 / \text{mm}^3$	CPK	19 IU
(st. 8 seg. 72 Eo. 1		γ -GTP	15 IU
Mo. 2 Lym. 17)		Na	142 mEq/l
血小板凝集あり		K	3.8 mEq/l
血小板		Cl	107 mEq/l
EDTA-K ₂	$2.1 \times 10^4 / \text{mm}^3$	Ca	7.9 mg/dl
Heparin	$31.6 \times 10^4 / \text{mm}^3$	P	3.7 mg/dl
網状赤血球	20 %	HCO ₃ ⁻	26.5 mEq/l
出血時間	3 分	BUN	8 mg/dl
凝固時間	6 分	Cr	1.1 mg/dl
TSP	7.7 g/dl	尿酸	2.7 mg/dl
(Alb. 49.1 α_1 -gl. 4.2		FBS	89 mg/dl
α_2 -gl. 11.7 β -gl. 9.9		HB-Ag	(-)
γ -glob. 25.0)		Wa-R	(-)
MG	5 U	CRP	(++)
ZTT	14.3 U	ESP	72 mm/h
TTT	7.7 U	骨髓穿刺所見	
T-chol	254 mg/dl		特に異常なし

していた。骨髓所見では巨核球・血小板産生能に異常はなかった。免疫学的検査ではRAテスト陽性、IgGとIgAの増加以外異常は認めなかった。

本症にみられた偽性血小板減少症の

成因に関する検討

1. EDTA-K₂およびHeparin採血後の血小板

数の経時的変化 (図1): O型健常人を対照として、患者EDTA-K₂採血血液とHeparin採血血液を同時に採取して血小板数の経時的変化について検討した。患者のEDTA-K₂採血血小板数は室温にて約30分後に著減したがHeparin採血血小板数は軽度の減少をみたのみで両者には著しい解離がみられた。一方、対照健常人では両抗凝固薬において血小板数の解離はみられなかった。

2. 温度の影響: EDTA-K₂採血患者血液を4℃, 25℃, 37℃, 56℃の各温度に30分間振盪混和後、血小板集塊形成の有無をみた。結果はいずれの温度下においても血液像にて血小板の集塊形成をみ、温度の影響は受けなかった。

3. 患者血清の検討 (表3): 2人のEDTA-K₂採血O型健常人血液に患者血清および健常人血清を等量混和し30分間振盪混和したのち、血小板数の測定と集塊形成の有無をみた。結果はいずれの健常人血液においても患者血清を加えた時のみ血小板数は著減し、血小板の集塊形成がみられた。

表2. 検査所見 (免疫学的検査)

RA	(+)
RAHA	40倍以下
ANA	(-)
抗ENA抗体	(-)
抗RNP抗体	(-)
抗Sm抗体	(-)
抗DNA抗体	(-)
IgG	2120 mg/dl
IgM	165 mg/dl
IgA	571 mg/dl
C ₃	98 mg/dl
C ₄	37 mg/dl
CH ₅₀	50.5 U/ml
Immune-Complex	
C _{1q} binding assay	1.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 以下
Raji-cell assay	177 $\mu\text{g}/\text{ml}$
クリオグロブリン	(-)
寒冷凝集反応	4 倍以下
TB subset	
OKT 3	76.0 %
OKT 4	59.4 %
OKT 8	21.0 %
OKT 4/OKT 8	2.83
B	18.4 %

図1. 血小板数の経時的変化

表3. 患者血清と健常人血液の等量混和

O型健常人血液 血小板数 ($/mm^3$)	混和血清	等量混和後 血小板数 ($/mm^3$)	集塊形成
$1, 23.5 \times 10^4$	健常人血清 1	11.2×10^4	—
	健常人血清 2	11.1×10^4	—
	患者血清	4.7×10^4	+
$2, 20.1 \times 10^4$	健常人血清 1	10.8×10^4	—
	健常人血清 2	10.8×10^4	—
	患者血清	1.9×10^4	+

表4. 患者血清Sephadex G-200分画と健常人血液の等量混和

O型健常人血液 血小板数 ($/mm^3$)	患者血清分画	等量混和後 血小板数 ($/mm^3$)	集塊形成
22.3×10^4	A 19S fraction	11.2×10^4	—
	B 19~7S fraction	11.7×10^4	—
	C 7S fraction	3.7×10^4	+
	D 4S fraction	10.9×10^4	—

以上より本症は患者血小板ではなく患者血清に原因があると考えられた。

4. Sephadex G-200ゲル濾過による患者血清分画についての検討(表4): 患者血清をSephadex G-200ゲル濾過し、各分画毎にEDTA-K₂採血O型健常人血液を等量混和し、血小板数の測定と集塊形成の有無を検討した。結果は7S分画に相当するピーク(図Cに相当する)との混和の時のみ血小板数が減少し集塊形成がみられた。

5. 吸収試験による検討(表5): 10倍希釈した患者血清に抗ヒトIgG, IgA, IgMウサギ血清をそれぞれ等量混和し、37℃で60分間患者血清の免疫グロブリンを吸収した。その後、EDTA-K₂採血O型健常人血液と等量混和後血小板数を測定した。対照は患者血清を加えない抗ヒトIgG, IgA,

表5. 吸収試験後の血小板数

O型健常人血液血小板数	$21.2 \times 10^4 / mm^3$	集塊形成
抗ヒトIgG + 患者血清	$1.4 \times 10^4 / mm^3$	—
抗ヒトIgA + 患者血清	$1.7 \times 10^4 / mm^3$	—
抗ヒトIgM + 患者血清	$8.5 \times 10^4 / mm^3$	+
抗ヒトIgGウサギ血清	$8.9 \times 10^4 / mm^3$	—
抗ヒトIgAウサギ血清	$9.2 \times 10^4 / mm^3$	—
抗ヒトIgMウサギ血清	$9.2 \times 10^4 / mm^3$	—

表6. 患者7S分画とリウマチ因子吸収後の血小板数

O型健常人血液血小板数	$19.5 \times 10^4 / mm^3$	集塊形成
抗ヒトIgG + 患者血清7S分画	$10.7 \times 10^4 / mm^3$	+
抗ヒトIgA + 患者血清7S分画	$8.4 \times 10^4 / mm^3$	+
抗ヒトIgM + 患者血清7S分画	$14.4 \times 10^4 / mm^3$	—
ヒトIgG吸着Latex粒子 + 患者血清	$12.2 \times 10^4 / mm^3$	—

IgMウサギ血清である。結果は抗IgMウサギ血清で吸収した患者血清を加えた時のみ血小板数の減少を阻止することができた。

6. Sephadex G-200ゲル濾過によって得られた7S分画の吸収試験による検討(表6): ゲル濾過による検討結果から当初、抗IgGウサギ血清による吸収操作で本現象が阻止されると予測していた。しかし予想に反して抗IgMウサギ血清にて本現象が阻止されたため確認のため、患者血清をゲル濾過して得られた7S分画を先と同様に吸収試験を行なった。結果は抗IgMウサギ血清を加えた時のみ血小板数の減少と集塊形成が阻止され、抗IgG, IgAウサギ血清では本現象を阻止することはできなかった。

7. リウマトイド因子の吸収試験(表6): RAテスト試薬であるヒトIgGを附着させたLatex粒子(栄研科学)を用いて患者血清を吸収し、リウマトイド因子陰性血清を作製した。これとEDTA-K₂採血O型健常人血液を等量混和しても本現象が阻止された。

考 案

1963年、Fieldら¹⁾がEDTA加血の血液像で多核白血球のまわりに血小板がとり囲む“衛星現象

(“Satellitism” around polymorphs)”を発見し、EDTAが関与した“試験管内現象”であると報告したのが本症の最初の報告である。1969年、Gowlandら²⁾は細網肉腫の患者のEDTA加血血液像で血小板の集塊形成がみられコールカウンターによる血小板算定でみかけ上減少していることを報告した。その後、この現象は偽性血小板減少症と名づけられ一般に知られている³⁾。1974年、Kjeldsbergら⁴⁾は血小板衛星現象をみる症例に血小板減少症を認め、両者が同一の機序にて生じることが明らかにされた。

本現象を惹起せしめる患者血清中にある誘発物質としては第一に、Watkinsら⁵⁾の寒冷血小板凝集素で10万以上の分子量をもつ免疫グロブリン型の蛋白がある。第二は、温度の影響を受けない免疫グロブリンでその抗体活性により本現象が惹起されるものである³⁾⁶⁾⁷⁾。第三は、血小板膜受容体(IgG Fc-receptor)と循環免疫複合体の相互作用によるものが報告⁸⁾されている。

今回われわれが報告した症例にみられた血小板減少はEDTAの存在下で血小板が集塊形成をおこし、そのため自動血球計数装置による血小板測定法ではその集塊の大きさに応じて赤血球や白血球として数え込まれ、その分だけ血小板数が少なく数えられる試験管内現象であることがわかる。さらに、本現象を惹起させた誘発物質としては患者血清中の7S分画にあるもので抗IgMウサギ血清にて本現象が阻止されたことより、7S分画にあるIgM、つまり低分子IgMがEDTAの存在下で血小板を集塊させたと考えられる。また、ヒトIgGを吸着させたLatex粒子で吸収したリウマトイド陰性患者血清でも本現象を阻止することができた。この際使用した患者血清はRAテストで陰性のものを使用した。したがって、19S IgM以外のリウマトイド因子が本現象に関与していることが考えられる。また抗IgGウサギ血清では本現象を阻止することができなかったことよりIgGリウマトイド因子の関与は否定的である。以上よりわれわれは患者血清中にある低分子(7S) IgMにリウマト

イド因子活性があり、これがEDTAの存在下で活性化され、血小板集塊がおこるのではないかと現在考えている。従来の報告で本現象を惹起せしめる血清中の免疫グロブリンとしてはIgG, IgA, IgMが知られているが³⁾⁶⁾⁷⁾本症例のように低分子IgMでしかもリウマトイド因子活性をもつものは今まで報告されていない。

結 語

1対のH鎖と1対のL鎖から成るIgM subunitである低分子IgMはIgGリウマトイド因子とともに悪性関節リウマチ患者の血清中によく出現し、血管炎の発生に関与する可能性がいられている⁹⁾。本症例は現在までのところ、血管炎を疑わせる臨床症状はみられていないが本症例が慢性関節リウマチであり、偽性血小板減少症と低分子IgMの出現を考えると興味ある症例であると考え報告した。

文 献

- 1) Field EJ, MacLeod L: Platelet adherence to polymorphs. *Brit Med J* 2: 388, 1963.
- 2) Gowland E, et al: Agglutination of platelets by a serum factor in the presence of EDTA. *J Clin Pathol* 22: 460, 1969.
- 3) Shreiner DP, Bell WR: Pseudothrombocytopenia: Manifestation of a new type of platelet agglutinin. *Blood* 42: 541, 1973.
- 4) Kjeldsberg CR, Hershgold EJ: Spurious thrombocytopenia. *JAMA* 227: 628, 1974.
- 5) Watkins SP Jr, Shulman NR: Platelet cold agglutinins. *Blood* 36: 153, 1970.
- 6) Onder O, et al: Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 56: 177, 1980.
- 7) Imai H, et al: Pseudothrombocytopenia and IgA-related platelet agglutinin in a patient with IgA nephritis. *Nephron* 34: 154, 1983.
- 8) Manthorpe R, et al: Pseudothrombocytopenia: In vitro studies on the underlying mechanism. *Scand J Haematol* 26: 385, 1981.
- 9) Theofilopoulos AN, et al: IgM rheumatoid factor and low molecular weight IgM: An association with vasculitis. *Arth Rheum* 17: 272, 1974.