

原 著

血小板の一検査法—血小板凝集試験について—

牧 一正* 塚原 敏弘* 大橋 勲* 梅田 正法*
 風間 一* 山口 了三* 金子 晴生* 平畑 徹幸*
 石川 至* 木我 豊* 高槻 義夫* 間崎 民夫*
 山内 幹雄* 山名 正紀* 白井 達男*

Studies on Platelet Aggregation Test

Kazumasa MAKI*, Toshihiro TSUKAHARA*, Isao OHASHI*,
 Masanori UMEDA*, Hajime KAZAMA*, Ryozo YAMAGUCHI*,
 Haruo KANEKO*, Tetsuyuki HIRAHATA*, Itaru ISHIKAWA*,
 Yutaka KIGA*, Yoshio TAKATSUKI*, Tamio MASAKI*,
 Mikio YAMAUCHI*, Masanori YAMANA* and Tatsuo SHIRAI*

Key words: platelet aggregation test, platelet spreadability, ADP induced aggregation, platelet funktion, platelet

Platelet aggregation test was originated from Breddin which determined degree of platelet aggregation in vitro by mechanical stimuli such as contact of platelets on siliconized glass surface. We have carried out the PAT test using 45 subjects including 6 patients with ITP, 5 with uremia, 7 with hepatitis, 6 with carcinoma, 13 with other miscellaneous diseases and 9 healthy volunteers. In the result of PAT test, degrees of platelet aggregation were graded to I—V scales. At the same time, platelet spreadability (PSA) test following Breddin and ADP-induced platelet aggregation test were performed. We have modified PSA test to use a pair of clean plastic slide arranging parallel with one cm in distance in which the specimen was filled. Using this modified method, a reasonably high reproducibility was obtained. The degree of PSA was recorded as mean diameters of spreading platelets on plastic surface. In ADP-induced aggregation, 10 μ M ADP was added into platelet rich plasma using Evans aggregometer. In 8 out of 9 healthy subjects, grade III PAT was observed, whereas in 5 ITP patients, markedly lowered ability of platelets to aggregate grade I was observed. The PAT was found enhanced in the cases of uremia. Most patient with carcinoma displayed an enhanced PAT while it was depressed in the few remainders. Statistical analysis of the data revealed no significant interrelation between PAT and PSA. However, the combination with both the test, characteristic changes were noted in each of diseases. There was a statistical evidence of

* 東邦大学医学部第一内科 (〒143 東京都大田区大森西6-11-1), The 1st Department of Internal Medicine, Toho University School of Medicine, Tokyo, Japan.

significant correlation between PAT and ADP-induced platelet aggregation, with the equation of regression :

$$Y=1.72+0.28X, \quad r=0.492, \quad P=0.02$$

The above results would suggest that PAT and PSA test may be useful to determine some clinical conditions, when both the methods are used in a combination.

はじめに

血小板凝集試験 (Plättchen aggregations test, 以下 PAT と略す) は血小板拡張能試験と同様に Braddin ら¹⁾により開発された血小板機能検査法の一つである。本邦においても山中²⁾により手技的な解説がなされたが、未だ臨床的な測定報告はみられない。今回著者らは健常成人および各種疾患46例の PAT を測定し、同時に検索した拡張能および ADP 凝集能と比較検討したので報告する。

I. 対 象

健常成人 9 例, ITP 6 例, 尿毒症 5 例 (非人工透析例), 肝炎 7 例, 諸種癌 6 例, その他の疾患 13 例 (SLE, CML, 糖尿病など) を対象とした。

II. 方 法

1. 検査法

(1) PAT 測定法: Breddin 法に準じて行なった。3.8% クエン酸ソーダ, 1/10 容を加え静脈より採血, 静置により PRP を分離する。この PRP 3ml をシリコン処理した内径 3 cm のガラスメスフラスコに入れ 37°C 温水中にて 20 回/分で 10 分間の回転を与える, 回転後この PRP に次項に記した拡張能試験と同様な操作を加えて標本を作製した。

(2) 血小板拡張能試験: Breddin 変法⁴⁾をさらに一部改良して標本を作製した。すなわち 2 枚のプラスチック板にて約 1 mm の間隔を作

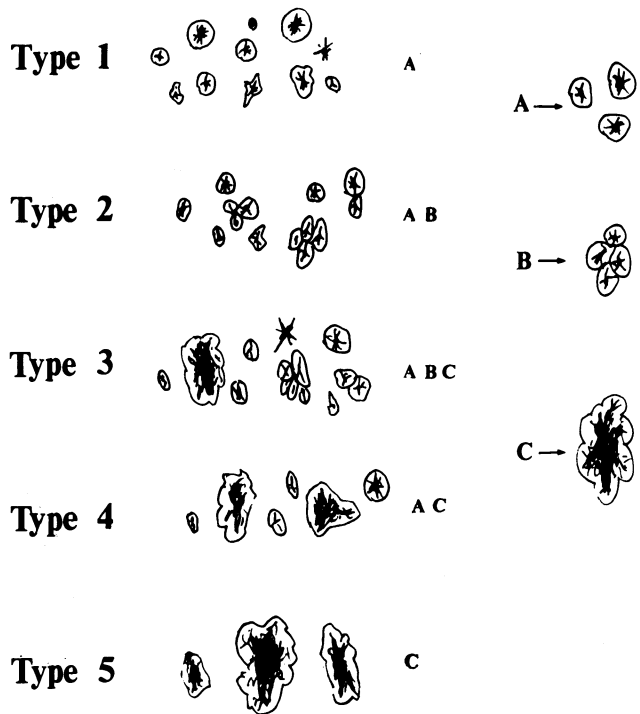


Fig. 1 Classification of platelet aggregation test

り, この間に検体を注入して検体の厚さが一定になるように改良して拡張操作を行った。

(3) ADP 凝集能: 上記の PRP を用い, Evans 凝集計にて ADP 10⁻⁵M による血小板の最大凝集能を測定した。

2. 判定法

(1) PAT の判定規準: Breddin 法に準じて 5 型に分類する下記の基準を用いた(図 1)。回転によって得られる血小板の凝集形態は大別して 3 種のものがみられる。A; 凝集あるいは集合しない孤立した血小板。B; 数個の血小板が個々の形態を保ち集合したもの。C; 数十の血小板が癒合して一塊となり個々の血小板の形態が認められぬもの。この 3 種の血小板凝集形

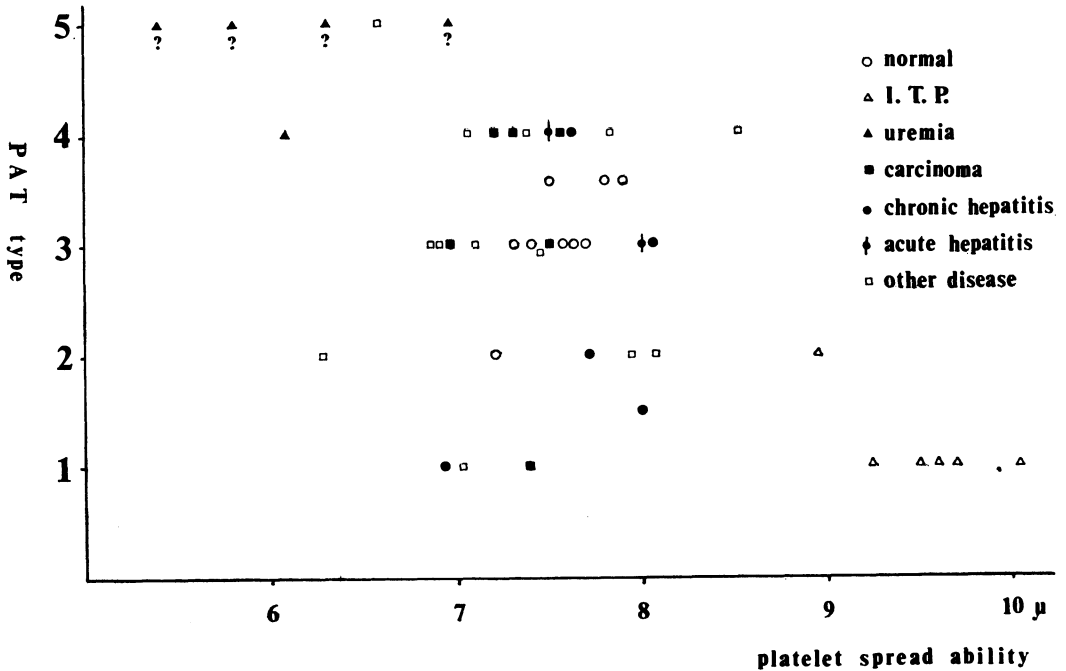


Fig. 2 Relationship between platelet aggregation test and platelet spreadability test.

態の組合せによって次の5型に分類した。

I型; Aのみのもの, II型; AとB, III型; AとBとC, IV型; CとA, V型; Cのみのもの。

(2) 血小板拡張能の判定規準: 塚原, 白井ら³⁾による判定法にしたがい, 拡張血小板の平均直径にて表示した。

III. 成績

1. PAT

健常成人; 9例中8例がIII型(3例はIV型に近いIII型)。I.T.P.; 1型5例, II型1例と低下。尿毒症; IV型が1例, V型が4例と亢進を示した。しかし?印例は標本上は1型とPATが低下していたかみえたが, 同時に測定した拡張能に比しては着血小板が極めて少なく, これは回転により肉眼的にも解る程に血小板集塊が形成されたためと考えられ総合的にV型と判定した。なお, この凝集塊は検鏡により巨大血小板集塊であることが確認された。慢性肝炎; 5例中, I型2例, II型2例と低下傾向にあるが一部に亢進する例もあった。癌; 概して亢進を

示した。

2. PAT と血小板拡張能

両者を併せてみると, 図2に示したごとく, 拡張能の亢進したI.T.P.のPATは低下し図の右下に集まり, 尿毒症は反対に左上に集中している。健常例は中心部に集まり, 癌は健常者の左上に, 慢性肝炎は右下に集まる傾向を示した。何れもかなり特異的パターンを示した。

3. PAT とADP凝集能

両者ともに測定し得た24例について, 縦軸にPAT, 横軸にADP凝集能をとると(図3)両者間に統計的に回帰直線 $y=1.72+0.028x$ が得られ $r=0.492$, $p=0.02$ と有意な相関が認められた。

VI. 考案

先に著者らが発表した血小板拡張能は個々の血小板機能を評価する際に重要な検査法と考えるが, PATはWright(1941)の血小板回転法をもとにしてBreddinにより開発されたものである。BreddinはPATの成績から健常者と血管性疾患とは血小板の粘着, 凝集機能に著し

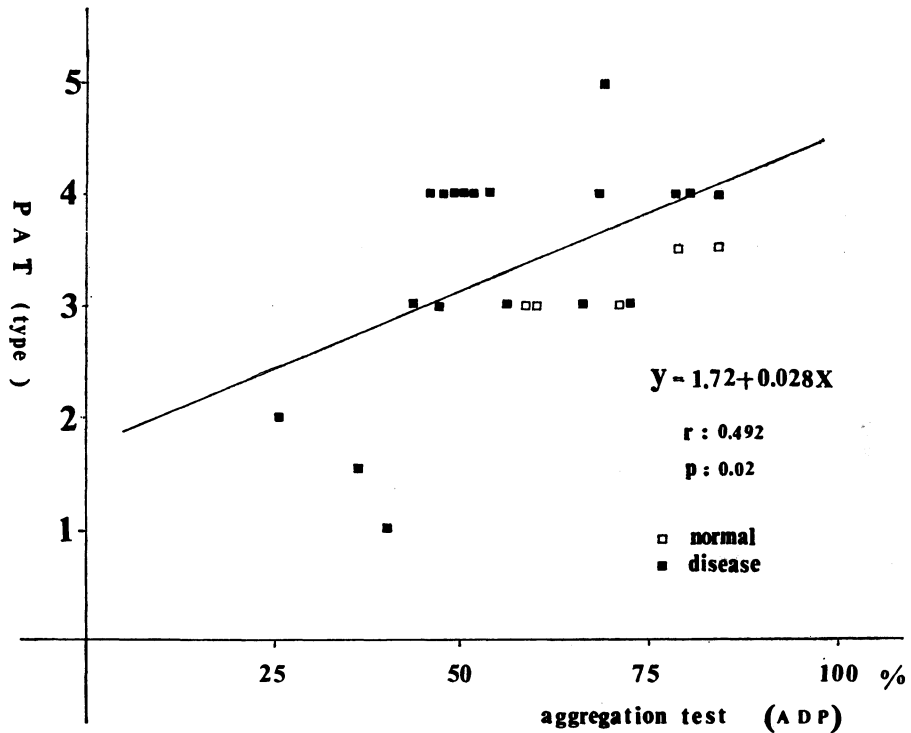


Fig. 3 Relationship between platelet aggregation test and ADP-induced aggregation.

い差異があることを報告し⁵⁾, PATはPRPにおける血小板の粘着機能をうかがい知る検査法であると述べている¹⁾.

近年, 血小板の粘着後の形態変化について電顕的観察がなされ, 服部ら⁷⁾⁸⁾は血小板が粘着後, 偽足を伸し拡張しはりつき型を呈すると述べ, 清水ら⁸⁾はプラスチック板に粘着した血小板は偽足から clear zone が形成され次第に拡張 dendritic form を経て類円型となるが, CMLでは dendritic form で止まる等疾患時には異常型を呈することがあると報告している. このような血小板の機能を光顕的に測定したものが拡張能検査であり, 血小板の粘着機能と密接な関連性を有する検査法と考えられる.

ADP凝集能が凝固物質を添加した際の凝集を測定するのに対し, PATは回転の刺激による凝集を観察するものであり, この両者の成績はよく一致する場合も多い. しかし疾患例, 特に動脈硬化性疾患等ではADP凝集に比しPATが高いことがある⁹⁾. この点に関してはなお症例を重ね検討中であるが, PATは血小板のもつ凝集機能ばかりでなく, 測定前に凝集機能の

賦活化があると, その影響をも受けるためとも考えられる.

今回のPATの測定は内径3cmのシリコン処理ガラスフラスコを使用し, 毎分20回の回転を加えて行った. この条件下では回転開始後3分頃より血小板の凝集が目立ち始め, 7~8分まで増加, 以後ゆるやかな増加となり10分でほぼ安定する. しかし条件が変わるとPATの値は著しく変動する. 血小板数は10万以下になるとPATパターンが変わる場合が多い. しかし同じ血小板数に調製したPRPの対照を用いることでPATを対比することができる. このように対照をつけると血小板減少のある症例でも測定可能で, ITPは明らかに対照に比べPATの低下が認められた.

分類は血小板の凝集形態によって行ったが各型の凝集血小板比率をみると, I型は0~5%程度の凝集度を示し, 以後ほぼ比例して増加, V型で100%に近い凝集率となることから, PATは凝集度の指標ともなる. またアスピリンで2次凝集を阻害したPRPでPATを測定すると, C型の癒合した凝集塊の形成が強く障

害されるが、B型の癒合しない凝集塊への影響はほとんどなく、PATは凝集阻害様式の形態的検索にも役立つと思われる。

おわりに

今回、種々疾患のPATを測定し、拡張能とともに観察すると疾患別にかなり特異的な変化が認められた。また、なお十分な検討を要するがPATとADP凝集能との間に推計的な有意な相関が見出され、PATは血小板の凝集面での機能をうかがい知るのに有用な検査法と考える。

文 献

- 1) Breddin, K. und Hoff, F.: Die Thrombozyten-funktion bei hämorrhagischen Diathesen, Thrombosen und Gefäßkrankheiten. p. 63~156, Schttauer, Stuttgart 1968.
- 2) 山中 学: 血小板凝集能. 臨床病理, 27; 17~19, 1976.
- 3) 塚原敏弘: 血小板拡張能に関する研究. 東邦医会誌, 23; 110~121, 1976.
- 4) 塚原敏弘, 白井達男, 牧 一正, 他: 血小板拡張能に関する研究. 血液と脈管, 8; 183~187, 1977.
- 5) Breddin, K.: Über die gesteigerte Thrombozyten-agglutination bei Gefäßkrankheiten. Schweiz. Med. Wochenschr., 95; 655~660, 1965.
- 6) Hattori, A.: Scanning electron microscopy of human peripheral blood cell. Acta Haematol. Jap., 35; 457~482, 1972.
- 7) 服部 晃, 神保長三: 血小板の粘着, 凝集, 放出反応と微細構造. 日血会誌, 39; 633~652, 1976.
- 8) 清水一輝, 塚原敏弘, 白井達男, 他: 血小板拡張能に関する研究—走査電顕像による拡張様式について—. 血液と脈管, 9; 424~428, 1978.
- 9) Coccheri, S., Alessandrini, L., Fregni, F. and Fiorentini, F.: Significance and comparison of two methods for platelet aggregation. A review of methods, New York-London: Plenum Press, 1972, p. 97~121.

● 日常診療の落とし穴と安全性を示す!

小児の医療事故と救急処置

編集 日本大学小児科教授 馬場一雄 専門医50氏分担執筆
B5判 337頁 図52 表120 定価9,800円(〒240円)