

特集

D I C と 血 小 板

池田 康夫*

DIC の病態は、何らかの原因により、血管内で血液凝固亢進状態がもたらされた結果、全身の、主として細小血管内に血栓が多発し、多臓器障害が起こり、同時に血栓形成過程で血小板、凝固因子が消費された結果、血小板減少、凝固因子低下に起因する出血傾向が発現するという複雑な病態である。更に血管内に生じた血栓に対して、線溶活性が起こり、プラスミンの作用により、フィブリンは速やかに溶解されて fibrin degradation product (FDP) を生ずる。これらの複雑な、しかも動的病態に於て、血小板がどのような役割を演じているかについて以下述べてみたい。DIC は血液凝固の活性化が主役をなすことに異論はないが、そこで重要な役割を演じているトロンビン、プラスミンは血小板機能に密接な関係を有して居り、DIC の病態への血小板の関与は少なくないと考えられる。

1. DIC に於ける血小板動態

DIC はいろいろな基礎疾患の上に発病する症候群であり、その病態は基礎疾患により大きく左右される。基礎疾患のうち、内科系疾患（白血病、悪性腫瘍など）では、疾患自体が血小板動態に大きな影響を及ぼしていることも多く、その場合、DIC との係わりを明らかにすることが容易でないことも多い。

DIC は急性と慢性に分けられるが、急性 DIC と慢性 DIC では検査所見も異なる。

急性 DIC では先ず fibrinogen, prothrombin complex, factor V, VII, VIII, X, XII, XIII が減少し、血小板減少がみられる。この時血小板減少

は、鋭敏に動くパラメーターである。これらの因子の減少は、凝固亢進による消費と、plasmin による proteolysis が原因である。凝固亢進と線溶亢進の程度は、症例によって異なることはしばしば経験される。

初期の血小板、凝固因子の減少の後、trigger となる因子がとりのぞかれると回復期に入り各因子が徐々に増加して行く、この時、ある因子の値が正常値をはるかに越え、所謂 rebound を呈することもある。回復期におけるピーク値やそれに至る迄の時間などは各因子の合成、崩壊のパターンにより左右される。その経過をシェーマで図1に示したが、血小板の回復は遅延し、VIII 因子、fibrinogen が先に正常化することが多い。即ち、ある時点で凝血的検査を行うと、血小板減少、fibrinogen の軽度低値、正常 VIII 因子値を示すこともあるのである。当然のことながら、凝固亢進状態が長く続けば、各因子の回復速度はゆっくりであり、それが短ければその回復速度は速い。

これに対して、慢性 DIC では、急性 DIC の基礎疾患に比べて、その臨床病態が多様多様であり、従って、凝血的の所見も一様ではない。凝固活性化の引き金となる刺激は急性 DIC のそれと比べ

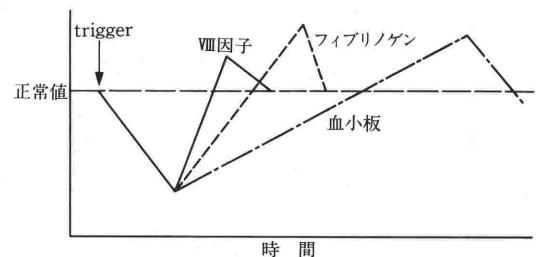


図1 急性 DIC の臨床経過

*慶応義塾大学医学部輸血センター

て、軽度であるが、慢性に繰返して起こる。その結果、図2に示す如く、凝固因子の消費による減少と回復期での因子の正常化又は増加が何回と繰返され得る。そしてその減少は急性のそれと比べさほど顕著ではない。一方、血小板だけは、減少したままである。その理由は、凝固因子と違って、回復に時間がかかることや、血中に生じたトロンビンが血小板を凝集させるからであろう。このような病態では FDP, fibrin monomer の存在を証明することは診断に非常に重要である。

DIC には既に述べたように、それを惹起する基礎疾患が必ず存在する。しかし、その基礎疾患は必ず DIC を発症させる訳ではない。

即ち、基礎疾患に加えて、何か trigger となる因子が存在して DIC は発症して来ると考えられる。白血球の役割、網内系の機能などが重要であるとの示唆がある。

それでは、典型的 DIC の病像を示す以前に DIC の発症を予知し得ないかとの考えをもとに DIC 準備状態という概念が最近話題となっている。現時点では確立された定義はまだないが、多くの専門家は、①何らかの trigger により DIC を発症し得る基礎疾患ないし病態を指す、②典型的 DIC に至る迄の初期段階であり、DIC であるのだが、臨床症状、検査所見から診断基準を満たさないもの、などを念頭に置いている¹⁾。この DIC 準備状態を的確に診断することは著しく困難であるが、 α_2 PI-plasmin complex, thrombin-AT III complex などの複合体は DIC の病態を反映する有力な指標である。この準備状態での血小板動態はどうであろうか？ DIC の発症と関係なく血小板減少がしばしばみられるような基礎疾患を有する症例では血小板動態から DIC 準備状態を推測することは必ずしも容易ではないが、術後

の感染症などで特に出血を合併していなくて血小板が減少して来た場合には DIC への移行を考慮して早めに対処することが望ましい。

即ち、凝固分子マーカー、enzyme-inhibitor complex を測定し、早期診断に努めることが望ましい。

2. 線溶亢進と血小板

線溶系の主役をなす幾くつかの蛋白が血小板の機能に大きな影響を及ぼすことが知られている。血小板の機能低下は DIC の病態（とくに出血症状）に少なからず影響し、無視し得ない。そこで本章では plasmin, tissue plasminogen activator, FDP などの血小板機能に及ぼす効果につき、まとめてみたい。

血管が破綻して出血が起こる際、止血機構の第一歩は、血小板の血管内皮下組織への粘着である。von Willebrand factor (vWf) がこの血小板粘着時に中心的な役割を演じていることが知られている。vWf は血小板膜糖蛋白 GPIb を介して血小板に結合し、一方 vWf にはコラーゲンに対する結合部位があり、vWf が介在して血小板の内皮下組織への粘着が起こる。

Adelman らは、PRP に streptokinase を、洗滌血小板に plasmin を加え、血小板機能、血小板糖蛋白の変化を検討した。streptokinase 添加により、リストセチン凝集の抑制がみられ (streptokinase の最低濃度 50 IU/ml), plasmin も 0.05~1.0 CU/ml の濃度で、vWf の存在下での洗滌血小板のリストセチン凝集を抑制する。¹²⁵I 表面標識血小板に同濃度の plasmin を作用させると膜糖蛋白 GPIb の水解が起こり、そのフラグメントである glycolalicin が遊離して来る。plasmin のリストセチン凝集抑制作用は GPIb の水解の結果と考えられる²⁾。plasmin は通常、局所で α_2 -PI により即ちに抑制され、流血中では高濃度になることはないが、 α_2 -PI が著しく減少している時には、plasmin が流血中で血小板機能に影響を与える可能性はある。

血小板凝集能に及ぼす plasmin の効果も諸家により報告されている³⁾⁴⁾⁵⁾。plasmin 0.1~0.5 CU/ml でトロンビン、コラーゲン、Ca⁺⁺ ionophore の凝集は濃度依存性に抑制される。しかしアラキドン酸凝集の抑制はみられない。plasmin

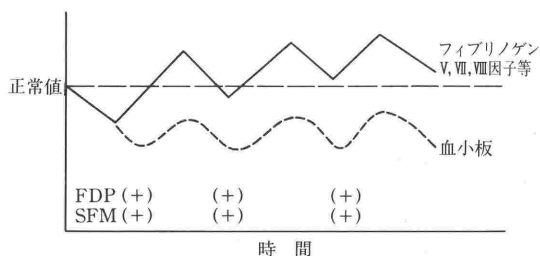


図2 慢性DICの臨床経過

は血小板膜リン脂質からのアラキドン酸遊離を抑制することにより血小板凝集を抑制すると考えられている³⁾。

更に、plasmin は PGI_2 と synergistic に血小板凝集を抑制する作用があることが報告されている⁶⁾。この現象は、血管損傷時の止血血栓の形成をその局所のみにとどめる機構の一つと解釈されているが、DIC という臨床病態でどのような役割を演じているのか明らかではないが、少なくとも出血症状を増強する因子として念頭におく必要がある。

tissue-type plasminogen activator (t-PA) は plasminogen を活性化し、plasmin の血小板機能抑制作用を惹起するが、そのみならず、ADP 凝集を解離させる作用を有することが最近報告されている。アスピリン処理した血小板では t-PA の凝集解離作用が著しく増強され、 α_2 -PI はこの解離を抑制するという⁷⁾。

t-PA は plasmin の血小板膜結合のフィブリノゲンの水解を介して、凝集解離作用を呈すると理解されている。

3. トロンビンと血小板

トロンビンは serine protease であり、trypsin などの他の serine protease と構造上の類似性を示すが、その基質となる蛋白に対し、著しい特異性を示す。主な基質はもちろん fibrinogen であり、その反応は血液凝固過程における最も重要な反応であることは述べるまでもない。

トロンビンは fibrinogen への作用より速く、しかも低濃度 (10^{-9} M 程度) で血小板を活性化することから、数多い血小板活性化物質の中でも特に生理的意義が重要である。

^{125}I 標識トロンビンを用いて、洗滌血小板への結合をみると、15秒で最大に達して平衡状態になる非常に速いものである。我々の検討では血小板膜上には2種上の結合部位が存在し、high affinity binding site が約500、low affinity binding site が約5,000であった⁸⁾。high affinity binding site へのトロンビンの結合は血小板放出反応と密接な関係を有する。

結合実験の結果とトロンビンで惹起される放出反応を対比してみると図3の如く、洗滌血小板液に加えたトロンビンの濃度と共に血小板へのトロン

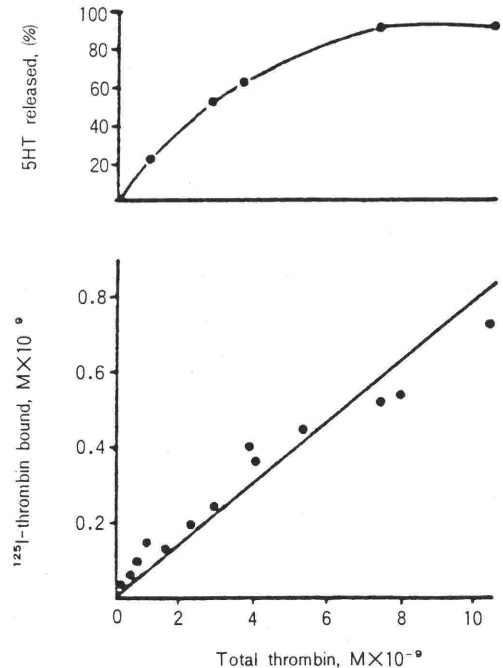


図3 血小板へのトロンビンの結合とセロトニン放出の関係

ンビン結合は増加し、結合数と放出率が密接に関連しているのがわかる。例えば 2 nM のトロンビンを洗滌血小板に加えた場合、血小板への結合量は 0.1~0.2 nM であり、その時の放出率は30~40%で最大放出に達していない。この時、結合していないトロンビンは、溶液中に加えたトロンビンの90%以上も存在し、なおかつ血小板活性化作用を有して居り、トロンビンの“equilibrium binding”が放出反応と密接に関係している。

それでは、トロンビンの血小板への結合は、DIC の病態でどのような意味をもつのであろうか？ それについて考えてみたい。Watanabe らは血小板に抗トロンビン作用があることを報告した。即ち、トロンビンは生成されるとすばやく血小板と結合するが、血小板に結合したトロンビンは fibrinogen を水解する作用を失う。血小板のもつ抗トロンビン作用は、一つの生体の防禦機構と考えられない訳ではない。

一方、前述したようにトロンビンは低濃度で血小板を活性化し、セロトニン、ADP、 β -thromboglobulin (β TG)、platelet factor 4 (PF4)などを血小板外へ放出する。DIC でもこれらの放出反応

は当然起って居る訳だが、明らかでないことは、これらの放出物が DIC の病態にどのような係りをもっているかである。この点を少し明らかにする為に我々は以下の実験を試みた。

即ち、モルモット回腸平滑筋の収縮に及ぼすトロンビン刺激血小板上清の影響の検討である。方法は図4に示す如くで、約 3 cm の長さのモルモット回腸平滑筋をとり出し、95% O₂, 5% CO₂ を注入しつつ、Krebs-bicarbonate 液に入れ、1 g の張力をかけて、懸垂させる。平滑筋の収縮を 0.5 μM atropine, 1 μM pyrilamine の存在下で日本光電の force-displacement transducer を用い、isometrically に測定した。5 ng ヒスタミンによる収縮と同等の収縮を 1 単位と定義した。図5に

MEASUREMENT OF CONTRACTILE RESPONSE OF LONGITUDINAL MUSCLE STRIP FROM GUINEA PIG ILEUM

1. APPROXIMATELY 3 CM OF LONGITUDINAL MUSCLE STRIP FROM GUINEA PIG ILEUM SET UP IN A 18 ML ORGAN BATH CONTAINING KREBS-BICARBONATE SOLUTION BUBBLED WITH 95% O₂ AND 5% CO₂
2. RESTING TENSION ADJUSTED TO 1 G
3. MEASUREMENT OF CONTRACTION FORCE ISOMETRICALLY IN THE PRESENCE OF 0.5 μM ATROPINE AND 1.0 μM PYRILAMINE BY MEANS OF FORCE-DISPLACEMENT TRANSDUCERS (NIHON KOHDEN)
4. 1 UNIT WAS DEFINED AS EQUIVALENT TO THE MUSCLE CONTRACTION DUE TO 5 NG HISTAMINE

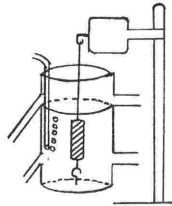


図4

CONTRACTILE RESPONSE OF ILEUM LONGITUDINAL MUSCLE TO HISTAMINE

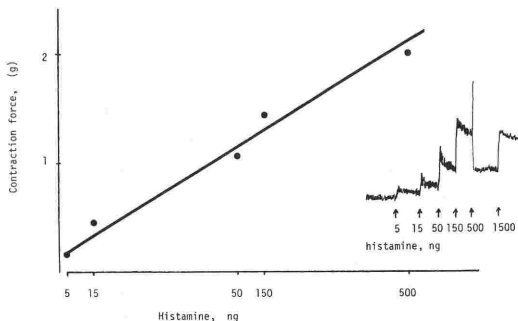


図5

ヒスタミン刺激による収縮の標準曲線を示す。血小板を種々の agonist で刺激した時の上清の収縮惹起活性は表1の如くである。

このトロンビン刺激上清の収縮惹起活性は, indomethacin, NDGA, BW755C で抑制されず, また正常血小板の代りに血小板無力症患者血小板を用いても, 同様に認められた。

収縮惹起活性が何に由来するのかを検討する目的で平滑筋の収縮パターンを比較してみた。血小板上清による収縮パターンは, bradykinin, LTC₄, histamine とは異なり, serotonin によるそれと類似していた。そこで, 血小板をトロンビンで刺激後, 経時的に上清を採取し上清中のセロトニン放出と平滑筋収縮惹起活性を測定した所, 両者の time course は図6の如く, 類似していた。更に上清の活性は抗セロトニン剤 methysergide で抑制された。これらの実験結果は, 血小板が刺激された際に放出させるセロトニンは平滑筋の収縮を

表1 刺激血小板上清の平滑筋収縮惹起活性

Control		(-)
ADP	4 μM	(-)
コラゲン	4 μg/ml	(-)
	40 μg/ml	5 u/5×10 ⁸ plts
A23187	0.5 μM	18 u/5×10 ⁸ plts
トロンビン	1 u/ml	19 u/5×10 ⁸ plts

5×10⁸/ml の洗滌血小板液(modified Tyrode 液)に; それぞれの agonist を加え, 3分後にその上清をとり, 平滑筋収縮惹起活性を測定した。

TIME COURSE OF RELEASE OF CONTRACTION-INDUCING ACTIVITIES FROM PLATELETS

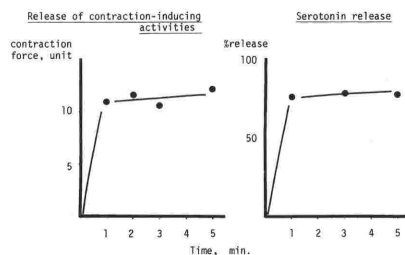


図6

惹起するに十分な量であることを示して居り、この vasoactive amine は DIC の病態、とくに臓器障害の発現に影響を与える因子となり得ると推察される。同様の刺激血小板上清には白血球凝集を惹起させる作用があることも観察して居り、その生理的意義は少なくない。

以上、DIC の病態に於ける血小板の動態、血小板の役割について考察した。DIC では凝固亢進が主体をなすことに異論はないが、血小板も少なからずその病態に関係していることが推察される。

参考文献

- 1) 長谷川 淳 : DIC および準備状態. *Progress in medicine* 7(11):7, 1987.
- 2) Adelman, B. et al: Plasmin effect on platelet glycoprotein IB-Von Willebrand factor interaction. *Blood* 65(1):32, 1985.
- 3) Schafer, A. I. et al: Plasmin inhibition of platelet function and of arachidonic acid metabolism. *J. Clin. Invest.* 75:456, 1985.
- 4) Niewiarowski, S. et al: Plasmin-induced platelet aggregation and platelet release reaction. *J. Clin. Invest.* 52:1647, 1973.
- 5) Miller J.L. et al: Plasmin inhibition of thrombin-induced platelet aggregation. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 33:286, 1975.
- 6) Schafer, A.I. et al: Synergistic inhibition of platelet activation by plasmin and prostaglandin I₂. *Blood* 69:1504, 1987.
- 7) Loscalzo, J. et al: Tissue plasminogen activator promotes platelet disaggregation in plasma. *J. Clin. Invest* 79:1749, 1987.
- 8) Ikeda, Y. et al: Effect of serratia metalloprotease on platelet thrombin receptors. *Acta. Haematol. JPN.* 45:1355, 1982.