糸球体腎炎における血小板凝集と血小板放出物質に関する臨床的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9103

金沢大学十全医学会雑誌　第92巻　第6号　910－924　(1983)

糸球体腎炎における血小板凝集と血小板放出物質に関する臨床的研究

金沢大学医学部内科学第二講座（主任：竹田亮祐教授）
喜多　徹

(昭和58年12月17日受付)

糸球体腎炎における，血小板の病因的役割を検索する目的で，正常対照者および腎炎患者について，血小板凝集能を検討するとともに，血漿β-thromboglobulin（β-TG），血小板第4因子（PF-4）ならびに尿β-TG濃度の測定を試みた．まずADP，collagen，ristocetinによる血小板凝集能は，凝集計を用いて標準的方法で行い，血漿β-TGおよびPF-4はradioimmunoassay（RIA）で測定した．また尿β-TGの測定については，特に低濃度β-TGの測定が可能なRIA系を確立した．患者対象は，血清クレアチニン値が3.0 mg/dl以上の腎不全群（10例）と3.0 mg/dl未満の腎炎群（67例）に分けて検討した．腎炎群のうち特にネフローゼ症候群を呈する例では，11例中7例(64%)においてADP凝集亢進を認めたが，collagenやristocetinによる凝集試験では，凝集亢進を認めなかった．血漿β-TGについては，腎炎群のうち，ネフローゼ症候群を呈する症例の一部，腎不全群で高値を示したが，血漿PF-4については，そのような違いは認められなかった．また血漿β-TGとADP凝集パターンとの間にも有意な相関は認められなかった．一方尿β-TGは，腎不全群のほとんどの症例で高値を示したが，腎障害に伴うクリアランスの低下による非特異的な変化と考えられた．しかし腎炎群においては，約30%の症例で血漿β-TGが正常域にあるに拘らず，尿β-TGは高値を示し，特に膜性増殖性腎炎，半月体形成腎炎のほとんどの症例で高値を認めたが，微少変化や膜性腎炎では，大多数尿β-TGは正常域にあった．尿β-TGと尿FDPや尿蛋白，尿β_2ミクログロブリン濃度との間には，有意の相関は認めなかった．最後に経過を追って検討した腎炎患者の症例で尿β-TGは臨床経過と治療効果をよく反映することが示された．以上の結果より血清クレアチニン値が上昇していない症例に限ると，尿β-TGの測定は腎炎の活動性と治療効果の判断に，有用な指標となり得ると考えられる．

Key words Platelet Aggregation, Urinary and plasma β-Thromboglobulin, Platelet Factor 4, Glomerulonephritis.

糸球体腎炎（以下腎炎と略）の発症・進展を修飾する要因の一つとして，凝血過程があるが，フィブリノーゲンなど血漿側因子のみならず，血小板の積極的な関与についても，最近注目されるようになってきている[1)~4)]．

腎炎と血小板との間に予想される関係は，大略次のように要約される：1）免疫学的機序，またはその他の機序によって糸球体毛細血管の内皮細胞が損傷を受けると，基底膜やコラーゲンが露出し，血小板の粘着，凝集が起こり易くなる．2）この状態では，更に内皮細胞のprostaglandin I_2 (PG I_2)産生能の低下，第Ⅷ因子関連抗原の産生亢進も起こりうるので，血小板凝集が一層促進され易い．3）また，内皮細胞の障害があると第Ⅻ因子の活性化，トロンビン形成など，内因性凝血が進み，血小板凝集亢進も起こりうる．4）一方，血小板が免疫複合体と接触すると，直接凝集を起こす．5）これらの過程で，血小板が凝集する際には，種々の生物活性を有する物質（トロンボキサンA_2，セ

A Study of Platelet Aggregation and Platelet Releasing Substances in Evaluating Pathophysiologic States of Glomerular Disease. **Toru Kita,** Department of Internal Medicine (II), (Director: Prof. R. Takeda), School of Medicine, Kanazawa University.

ロトニン，ヒスタミン，白血球遊走因子，増殖因子など）を放出し，炎症を促進ないし修飾する．

さらに臨床例については，次のような観察成績が得られている：1）ある種の腎炎においては血小板凝集能が亢進している[5)6)]．2）進行性腎炎では血小板 turn over が亢進し[7)]，また，3）血小板セロトニンの消費による低下が認められる[8)~11)]．4）流血中の凝集血小板が増加している[12)]．5）一部の腎炎では抗血小板薬が奏効する[13)]．6）血小板が凝集する際に放出される蛋白 β-thromboglobulin（以下 β-TG と略）や platelet factor 4（以下 PF-4 と略）の血漿濃度が高値を示すなどである[6)11)12)]．

しかし，臨床例において体内での血小板の動きを捕えるための有用で簡便な方法は，まだ完成されていないので，限られた症例や，一部の施設における研究的な観察にとどまり，未解決の問題が多い．

著者らは，尿 β-TG の測定が，腎炎における in vivo の血小板の病因論的役割を知る一つの指標として有用ではないかとの成績について，すでに報告してきた[14)]．本研究では，糸球体腎炎における尿 β-TG の測定成績に，血小板凝集能，血漿 β-TG，ならびに血漿 PF-4 などの観察成績を加えて検討したので報告する．

対象および方法

Ⅰ．対　象

健康成人 54 名（以下正常群と略．男性 28 名，女性 26 名，平均年齢 34.2 歳）および原発性糸球体腎炎患者 77 名（男性 40 名，女性 37 名，平均年齢 30.8 歳）について観察した．後者のうち血清クレアチニン値が 3.0 mg/dl 未満の 67 例を腎炎群（GN patients）とし，血清クレアチニン値が 3.0 mg/dl 以上の 10 例を腎不全群（CRF patients）とした．いずれの場合でも，アスピリン，デイピリダモール，チクロピジンなど血小板機能に影響する薬剤服用者では，1 週間以上服用中止の対象に限った．なお各観察項目により，対象数は必ずしも同一ではないので，夫々の項目において対象数を記載した．

Ⅱ．方　法

1．血小板凝集能

正常群（25 例），腎炎群（46 例）について，一夜絶食後の早朝空腹時に，あらかじめ 3.8% クエン酸 0.5 ml を加えたプラスチック製シリンジを用いて，肘静脈より，正確に合計 5.0 ml となるように採血した．採血後 1 時間以内に既報の条件にて[15)]，platelet rich plasma（以下 PRP と略），platelet poor plasma（以下 PPP と略）を作製し測定に供した．測定は Sienoco 社製 DP-247 型血小板凝集計にて PPP の透過度を 100% として，凝集誘発物質添加時の光化学変化の記録を行った．凝集誘発物質として，ADP（Sigma 社製），collagen（Collagen Reagent Horm, Hormon Chemie 製），ristocetin（Luten Beck 製）を，それぞれ最終濃度が，3 μM，5 μg/ml，1.5 mg/ml となるように調整して使用した．

ADP 凝集については，既報[15)]および安永の方法[16)]に準じて，図 1 の如く Ⅰ～Ⅴ型の 5 型に分類した．即ち，ⅠおよびⅡ型は，放出反応を伴わない解離型の凝集で，凝集能非亢進型と理解されるパターンである．Ⅲ型は 2 相性を呈する凝集で中間型である．Ⅳ型およびⅤ型はより強い非解離型の凝集を呈する凝集能亢進型と考えられるパターンである．

Collagen 凝集については，すべて放出反応を伴う非解離型の凝集であり，コラーゲン添加により 5 分後の

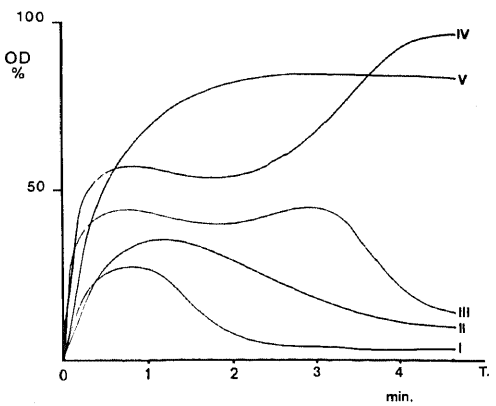


Fig. 1. The classification of ADP induced aggregation curves in the present study.

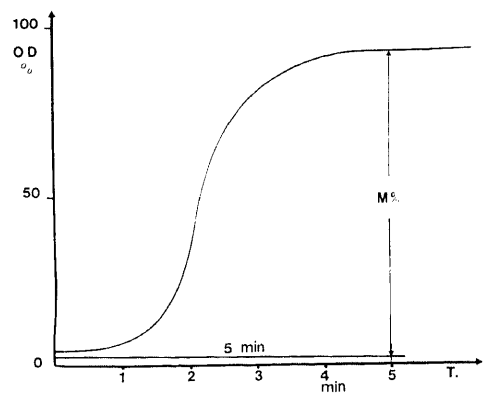


Fig. 2. The standard curve of platelet aggregation induced by collagen, where M% indicates the maximum value of aggregation.

凝集率（%）をもって，その最大凝集率（M）とした（図2）．

Ristocetin 凝集については，出口の方法[17]に従い，ristocetin 凝集の反応初速度（凝集曲線の最大急峻部での tangent/Δ%transmission/min で表現した（図3）．

2．血漿 β-TG の測定

正常群（25例），腎炎群（51例），腎不全群（10例）について，EDTA および theophylline 入りの専用試験管を，あらかじめ十分冷しておき，対象の肘静脈より駆血帯を用いないで，21ゲージ採血針付プラスチックシリンジにてすみやかに 2.5 ml 採血後，直ちに上記の試験管に移して数回混和した後氷冷し，採血後 30 分～2時間の間に，1500 G，30 分低温（2～4°C）で遠心し，その上清 300 μl をプラスチックピペットにて分離し，測定まで－20°Cにて凍結保存した．測定は，β-TG radioimmunoassay kit（Radiochemical Centre 製）を用いて，kit の使用法に準じて行った．

3．血漿 PF-4 の測定

正常群（18例），腎炎群（34例），腎不全群（10例）について，上記の血漿 β-TG 測定用として採取した検体の一部について，PF-4 radioimmunoassay kit（Abbot 社製）を用いて，kit の原法に沿って測定した．

4．尿 β-TG の測定

β-TG radioimmunoassay kit（Radiochemical Centre 製）の β-TG 測定感度は，約 10～200 ng/ml であり，このままでは一般に低濃度の尿 β-TG を測定することが困難なので，より低濃度の尿 β-TG を測定するため，次のように方法を改良した．1）まず 2%ウマ血清（GIBCO 社製）を含む，0.5 mol.リン酸緩衝液（pH 7.4）にて，キットの抗血清，および ^{125}I-β-TG を，それぞれ4倍および10倍に希釈した．また標準 β-TG を，16%ウマ血清を含む同緩衝液で希釈し，0～10 ng/ml を測定するための検量線用とした．2）次に，測定感度を上げる目的で，incubation を2ステップとし，incubation 時間なども次の様に変えた．第1ステップでは，尿または標準 β-TG の 50 μl とを混合し，37°C 2時間 incubate，第2ステップでは，希釈 ^{125}I-β-TG 200 μl を加え，更に 37°Cにて4時間 incubation した．3）以下の操作は，kit の原法に従った．即ち 3.27 mol.硫酸アンモニウム液 500 μl を加え，室温にて，1500 G，15分間遠心後，その上清を捨て，沈殿部分の放射活性をガンマカウンターにて測定した．

この方法にて回収率 99.08±7.99%，測定間誤差 6.8%の成績が得られ，尿 β-TG 濃度が 1～10 ng/ml の範囲では，図4に示すような直線性のある検量線をうる事ができた．被検尿は，新鮮な spot urine を採取し，測定まで－20°Cに凍結保存した．

尿 β-TG の測定は，正常群(54例)，腎炎群(67例)，腎不全群（10例）について行った．

5．尿 PF-4 の測定

尿 PF-4 の測定についても，前述の血漿 PF-4 測定 kit を用いて測定法を検討してみたが，測定値が低濃度に集中し，満足すべき成績が得られなかったので省いた．

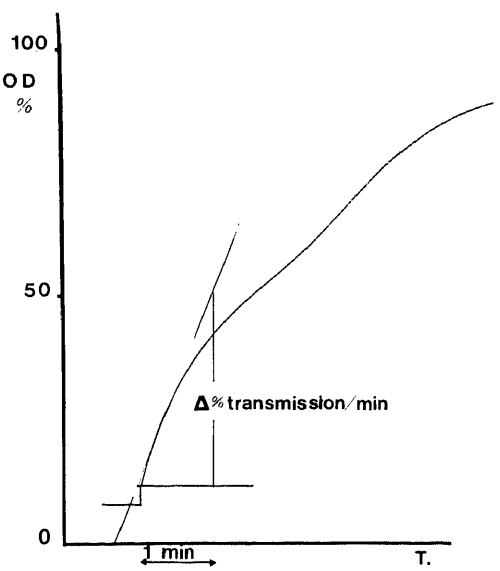


Fig. 3. The standard curve of platelet aggregation induced by ristocetin, where Δ% transmission/min indicates the initial velocity of platelet aggregation.

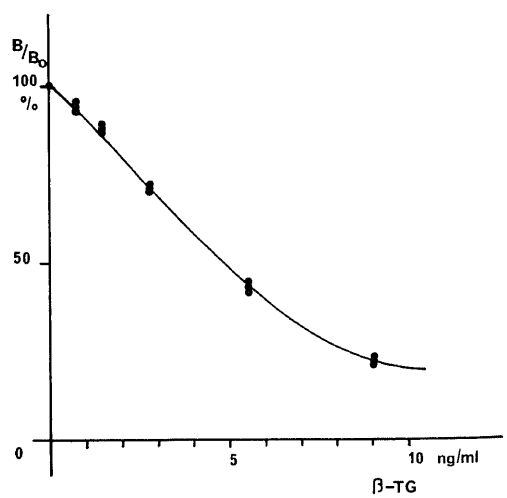


Fig. 4. The standard curve for urinary β-thromboglobulin (β-TG) by radioimmunoassay.

6．尿FDPの測定

腎炎群について，尿β-TG測定に用いた同一検体の一部(61例)をあらかじめ分離し，尿FDP用の試料とした．測定はラテックス凝集反応に基く，FDPLテスト-U(帝国臓器製)を用い，原尿とその2.5倍，5倍，10倍ならびに20倍に希釈した尿を用い，各検体とラテックス試薬を2分間混和し，凝集の有無により半定量した．

7．尿蛋白量の測定

腎炎群の中で，尿を測定した症例の一部（45例）について，24時間尿につきズルフォサルチル酸にて定量し，尿β-TGに近接した5日間の平均値をとった．

8．尿β_2ミクログロブリンの測定

腎炎群について，尿β-TG測定に用いた同一検体の一部（48例）を，あらかじめ分離し，1規定の水酸化ナトリウムにて尿pHを7.0以上に調製し，測定まで同様凍結保存した．測定はradioimmunoassayによるβ_2マイクロテスト(Pharmacia製)を用いて，kitの原法に従い行った．

Ⅲ．推計処理

Studentのunpaired"t"testまたは，X^2-testにより推計学的検定を行い，$p<0.05$を有意差として処理した．測定値は，平均値±標準偏差（SD）で，また正常範囲は，平均値±2SDで表わすことを原則とした．

成　　績

Ⅰ．血小板凝集能および末梢血血小板放出物質（β-TG，PF-4）についての検討

1．血小板凝集能について

腎炎群をネフローゼ症候群を呈するもの(NS群)35例，およびネフローゼ症候群を呈さないもの(non-NS群)11例に分け，正常群（25例）と対比しながら，血小板凝集能を検討した．

表1は，まずADP凝集曲線について，パターン分類した結果を示す．

正常群（25例）では，Ⅰ型が最も多く64%，以下Ⅳ型24%，Ⅴ型12%の順で，Ⅱ，Ⅲ型は0%であった．これに対して，non-NS群では，Ⅴ型が42.8%，Ⅱ型22.8%と増加し($p<0.05$)，一方Ⅰ型は34.2%と減少する傾向が見られた．NS群では，Ⅴ型が63%とその増加が一層著明となり（$p<0.05$），Ⅰ型は9%と著しく減少（$p<0.01$）していた．これらの結果により腎炎では，非解離型の血小板凝集を示すⅤ型が多くなり，殊にNS群では一層この傾向が著明となり，過半数においてⅤ型のパターンを示す結果となった．

次に，collagen凝集時の最大凝集率（M値）について，まとめた成績を図5に示す．正常群(25例)，non-NS群（35例），NS群（11例）のM値±SDは，それぞれ80.0±7.2%，79.2±10.7%，および78.3±19.3%となり，3群間に有意の差は認められなかった．

図6は，restocetin凝集について検討した成績である．正常群（21例），NS群（8例），non-NS群（32例）の反応速度の平均±SDは，それぞれ，83.3±25.7%/min，85.0±30.9%/min，および85.5±15.3%/minであり，3群間に有意の差はなかった．

2．血漿β-TGおよび血漿PF-4について

図7は，正常群（25例），腎炎群のうちnon-NS群（40例），NS群（11例）および腎不全群（10例）に

Table 1. Distribution of platelet aggregation curves induced by ADP in normal controls and glomerulonephritis (GN) patients.

ADP aggregation pattern		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
Controls						
No.	25	16	0	0	6	3
%	100	64	0	0	24	12
GN patients without nephrotic syndrome						
No.	35	12*	8*	0	0	15*
%	100	34.2	22.8	0	0	42.8
GN patients with nephrotic syndrome						
No.	11	1**	1	2	0	7**
%	100	9	9	18	0	63

** $p<0.01$; * $p<0.05$.

ついて行った，血漿 β-TG の測定結果を示す．正常群，non-NS 群，NS 群，腎不全群の血漿 β-TG の平均±SD は，それぞれ 26.9±12.7 ng/ml，30.5±19.9 ng/ml，38.9±2.1 ng/ml および 66.7±17.6 ng/ml であった．正常群と non-NS との間には，有意な差は認められなかったが，正常群対 NS 群では，$p<0.05$，正常群対腎不全群では，$p<0.01$，NS 群対腎不全群では，$p<0.01$ で，それぞれ後者で有意な高値が認められた．

図 8 は，正常群（18 例），腎炎群（34 例）および腎不全群（10 例）の血漿 PF-4 の測定結果である．腎炎群のうち non-NS は●印で，NS は○で表示した．正常群，腎炎群，腎不全群の PF-4 の平均値±SD は，それぞれ 5.89±2.02 ng/ml，7.74±7.21 ng/ml および 8.0±5.43 ng/ml であり，血漿 PF-4 に関しても，t 検定により 3 群間に有意の差は認められなかった．

3．ADP 凝集と血漿 β-TG について（図 9）

ADP 凝集の凝集パターンと血漿 β-TG との関係につき，同時に採血した試料につき両者を測定しえた腎炎群の NS 群（6 例，図 9 中○印で表示）および non-NS 群（10 例，図 9 中●印で表示）について検討した．

ADP 凝集亢進を示唆する IV，V 型の凝集曲線を呈する症例において，いずれかの群においても必ずしも血漿 β-TG の高値が認められるとは限らず，両者間には一定の傾向が認められなかった．

以上血小板凝集能，血漿中の血小板放出物質（β-TG，PF-4）についての成績をまとめると：1）ADP 凝集の凝集曲線のパーン分類より，腎炎群，特に NS

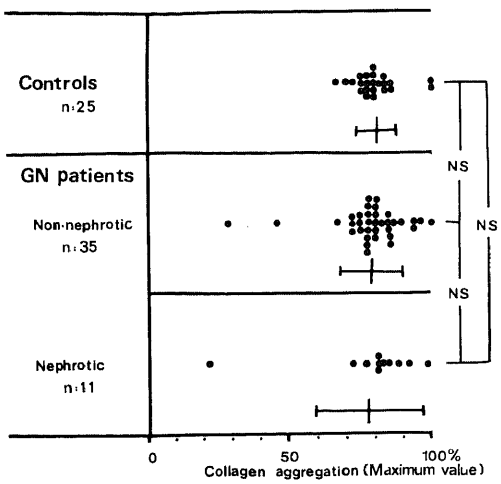


Fig. 5. The Maximum values of collagen platelet aggregation in controls and GN patients. The mean values±SD are shown. NS denotes not significant.

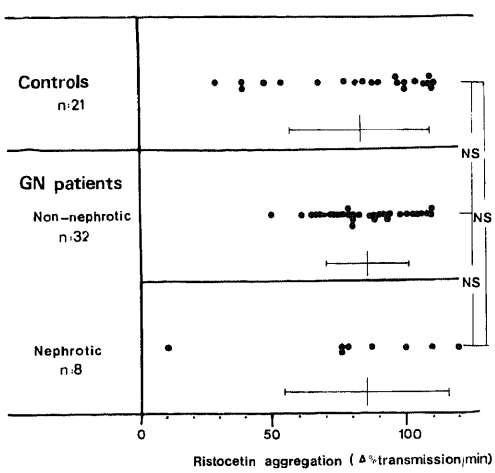


Fig. 6. The values of initial velocity of ristocetin platelet aggregation in controls and GN patients. The mean values±SD are also shown.

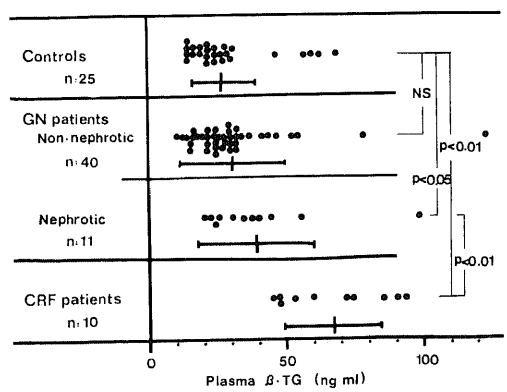


Fig. 7. The plasma β-TG levels in controls, GN patients and chronic renal failure (CRF) patients. The mean values±SD are also shown.

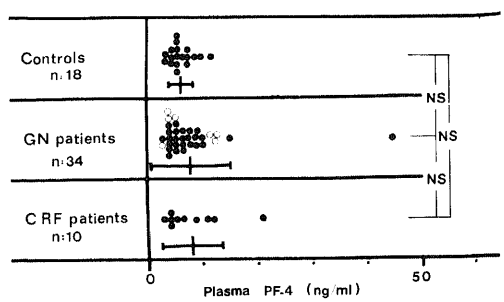


Fig. 8. The plasma platelet factor 4 (PF-4) levels in controls, GN patients and CRF patients. The mean values±SD are also shown. ○, GN patients without nephrotic syndrome.

群で凝集能亢進を示唆する傾向が見られたが，collagen 凝集，ristocetin 凝集では，この様な傾向は明らかではなかった．2) in vivo の血小板凝集の指標として，血漿 β-TG，PF-4 を検討した結果では，NS 群および腎不全群で β-TG の高値が認められたが，PF-4 では差が認められなかった．3) ADP 凝集の凝集曲線パターン分類と，血漿 β-TG との関連を検討したが，一定の相関は認められなかった．

以上の成績は，末梢血についての血小板凝集に関係するいくつかの指標の間には，必ずしも一致した傾向が認められるとは限らないこと，従って臨床的に有用な指標を，さらに検討する必要性を示唆するものと理解した．

II．尿 β-TG について

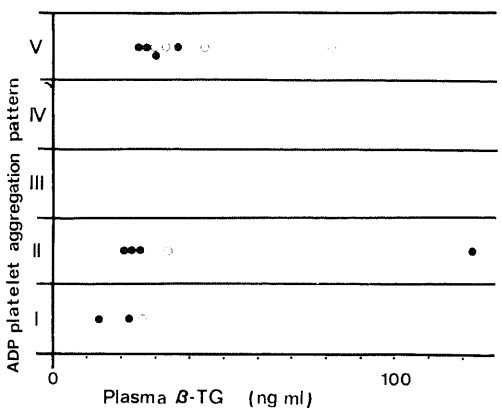


Fig. 9. Relationship between plasma β-TG levels and ADP platelet aggregation patterns. ○, GN patients with nephrotic syndrome; ●, GN patients without nephrotic syndrome.

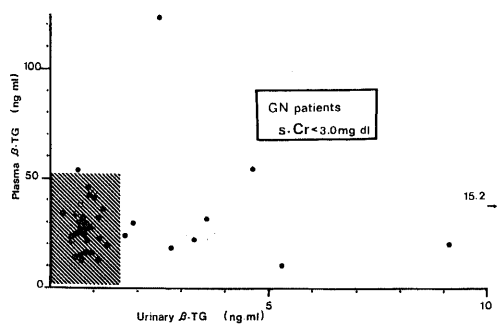


Fig. 10. Relationship between urinary β-TG and plasma β-TG in GN patients. The shaded area indicates the 95% confidence limits for the two titers in normal controls. ○, GN patientr with nephrotic syndrome; ●, GN patients without nephrotic syndrome.

1．尿 β-TG と血漿 β-TG

腎炎群（50 例），および腎不全群（10 例）について，先ず，同時期に測定した尿 β-TG と血漿 β-TG との関係を検討した．

図 10 に，腎炎群における尿 β-TG と血漿 β-TG との関係を示す．図 10 中斜線で囲まれた部分は，尿 β-TG および血漿 β-TG の正常域（正常群の平均値±2 SD）を示し，また○印は NS 群，●印は non-NS 群を示す．50 例中 36 例（72%）では，β-TG の血漿および尿中濃度が，いずれも正常域内にあったが，3 例（6%）では血漿および尿 β-TG の高値，1 例（2%）のみ血漿 β-TG が高値で尿 β-TG は正常域であった．一方血漿 β-TG が正常域内にあるにも拘らず尿 β-TG の高値が 11 例（22%）に認められた点興味深い．

次に，腎不全群において同様尿 β-TG と血漿 β-TG の関係をみた成績を図 11 に示す．腎不全では殆んどの症例で，血漿 β-TG が高く，また尿 β-TG も高値を示す傾向が認められた．

この結果は，血清クレアチニンが 3.0 mg/dl 以上を示すような症例では，非特異的な β-TG の血中への貯留，その結果として尿中への漏出が起こる可能性を否定しえないものと理解される．従って，以上の尿 β-TG に関する検討では，このような症例を除外し，血清クレアチニン 3.0 mg/dl 以下の腎炎に限って検討を進めることにする．

2．尿 β-TG と腎炎の病型（図 12）

糸球体腎炎患者は腎生検組織像より，微少変化，増殖性変化（slight～mild，moderate～advanced），膜性変化，膜性増殖性変化，急性糸球体腎炎，急速進行性腎炎に分類した．平常群（54 例）における尿 β-TG の平均値±SD は，0.86±0.39 ng/ml であったので，正

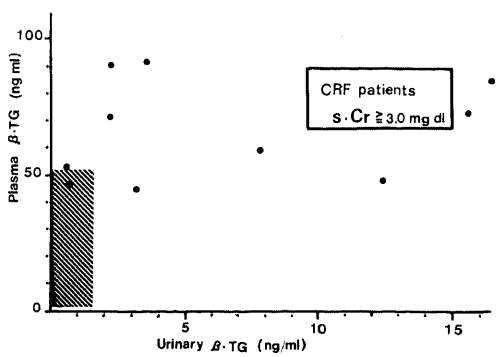


Fig. 11. Relationship between urinary β-TG and plasma β-TG in CRF patients. The shaded area indicates the 95% confidence limits for the two titers in normal controls.

常群の平均±2 SD（1.6 ng/ml）を正常上限値として，図12では，この正常域を斜線で示し，また各病型における○印はNS群，●印はnon-NS群を示す．

微少変化群の尿β-TGは，11例中1例のみが正常上限以上であった．増殖性腎炎では，約1/3の症例が正常上限以上であったが，腎生検時の組織病変の高度なもの程，尿β-TGも高いという傾向は明らかではなく，比較的軽度の病変を呈する症例の中にも，かなりの高値を呈する症例がみられた．膜性腎炎では1例を除き7例が，正常域内にあった．一方膜性増殖性腎炎では，4例はすべてが高値を呈した．急性腎炎においては，1例高値を呈したが，他の6例は正常域内にある結果となった．しかし対象例の多くが急性期を過ぎていたので，急性腎炎では，stageとの関係を検討する必要があり，この成績の意味付けは，今回は保留した．

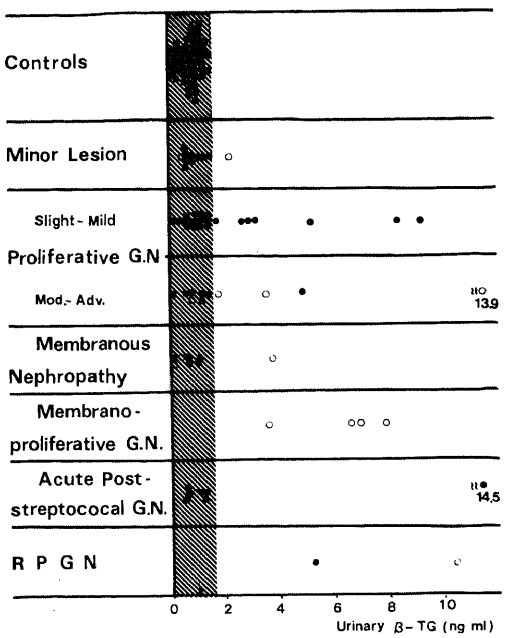


Fig. 12. Urinary β-TG concentrations in patients with various forms of glomerulonephritis. The shaded area indicates normal range. ○, GN patients with nephrotic syndrome; ●, GN patients without nephrotic syndrome.

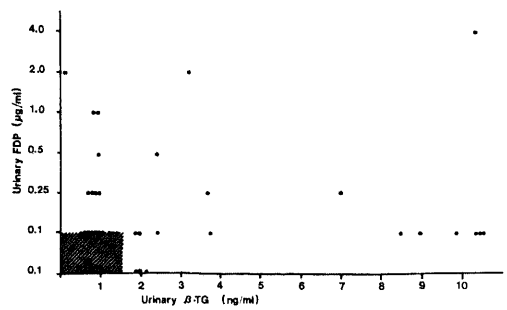


Fig. 13. Relationship between urinary β-TG concentrations and urinary FDP levels. The shaded area indicates normal range for the two titers.

3．尿β-TGと尿FDP（図13）

図13は，尿β-TGの測定用と同時に採取した尿試料につき，尿FDPを測定し，両者の関係を検討した成績である．尿FDPの正常値は，0.1 μg/ml以下であったので，尿β-TGとともに，その正常範囲を斜線により示す．

尿β-TG，尿FDP双方の異常高値は，64例中5例であったが，尿FDPが正常範囲以下で，尿β-TGが正常範囲を越える症例は，64例中13例，逆に尿β-TGが正常範囲にあるが，尿FDPが正常範囲を越える症例は，64例中8例に認めた．

4．尿β-TGと尿蛋白量（図14）

増殖性腎炎の中で尿β-TGが高値を呈する症例の一部，膜性増殖性腎炎の一部などで，ネフローゼ症候群を呈するものがあり，上記の成績が，尿蛋白排泄増加に伴う非特異的なものかどうかを検討する目的で，尿蛋白量との間の相関係数は，r＝0.1093であり有意な相関ではなかった．

5．尿β-TGと尿β_2ミクログロブリン（図15）

β_2ミクログロブリンは，小分子蛋白で尿細管性蛋白の指標の一つとされているので，尿β-TGとの関係を

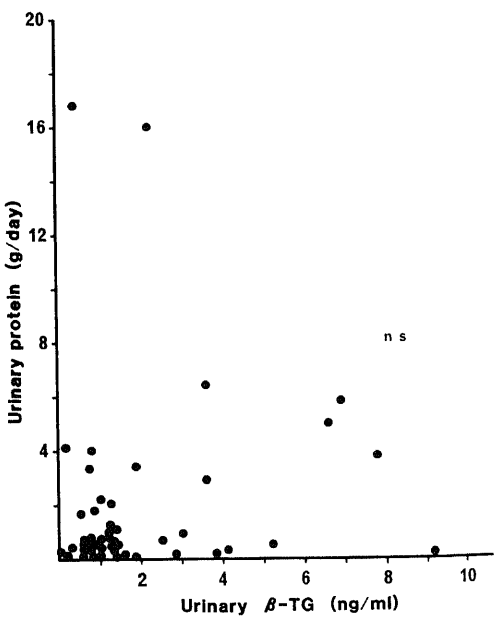


Fig. 14. Relationship between β-TG and protein in urine.

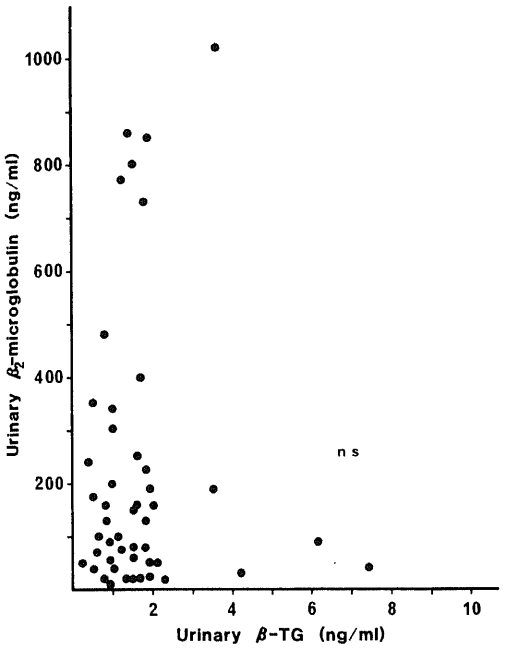


Fig. 15. Relationship between β-TG and β_2-microglobin in urine.

比較検討した．結果は図15の如く，r=0.0978で有意な相関関係は認められなかった．

以上尿β-TGについて検討した結果をまとめると：1）正常者群（54例）での，尿β-TGは0.86±0.39 ng/ml(平均±SD)であったので，正常上限を1.6 ng/ml（平均±2 SD）とした．2）腎不全群（S-Cr≧3.0 mg/dl 10例）では，尿β-TGの高値が認められたが，血漿β-TGも高値を示した．このことは，腎機能低下に伴う非特異的な血中へのβ-TG貯留に基く，尿中漏出と考えられた．3）腎炎群（S-Cr<3.0 mg/dl, 50例）では，21.5%の症例において，血漿β-TGは正常域内にあったが，尿β-TGの高値が認められた．4）腎生検組織像との関係では，び慢性増殖性腎炎，殊に膜性増殖性腎炎などで，尿β-TGの高値が観察された．5）臨床病型との関係では，ネフローゼ症候群を呈する症例で，尿β-TG高値の傾向が認められたが，尿蛋白量との有意な相関関係は認められなかった．6）なおβ_2ミクログロブリン濃度，尿β-TGとの間にも有意な相関は認められなかった．

Ⅲ．尿β-TGと臨床経過

経過を追って尿β-TGの変化を観察した症例の中から4つの症例を呈示し，これまで言及しえなかった

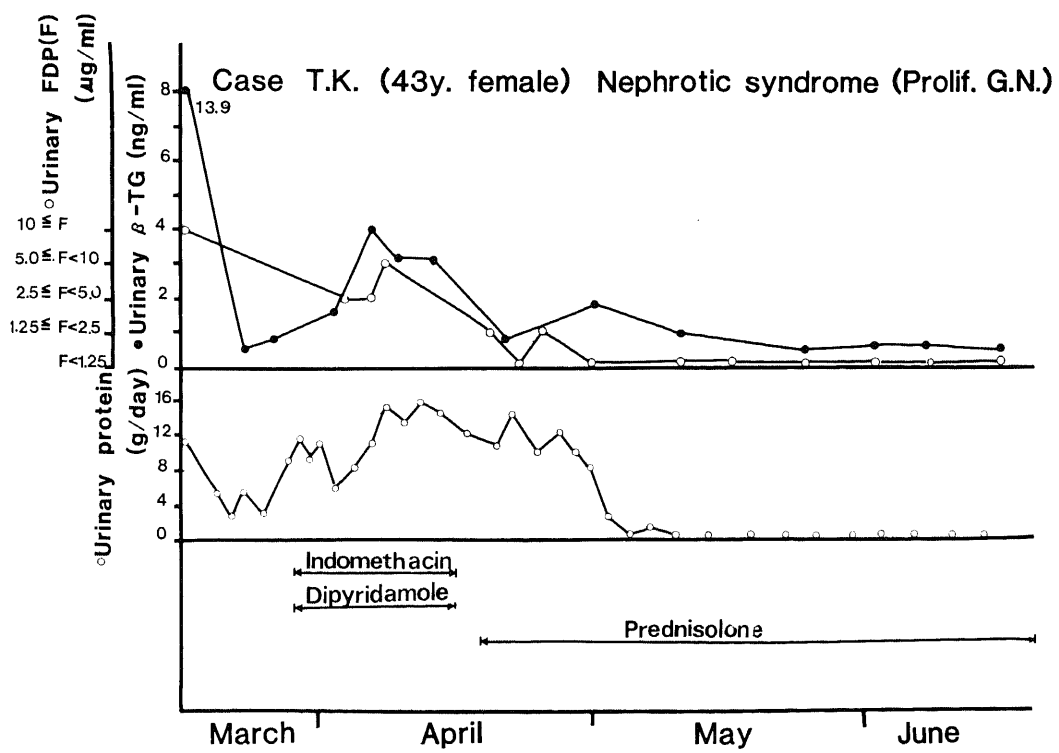


Fig. 16. The clinical course and serial changes of urinary β-TG and FDP titers in case T. K., a 43-year-old female patients with nephrotic syndrome (proliferative glomerulonephritis, mild).

尿 β-TG に関する若干の問題を検討する．

〔症例 1〕(図 16)

43 歳女性．腎生検では中等度のび慢性増殖性腎炎像を呈した症例である．1 日尿蛋白量が 10 g 以上持続し，ネフローゼ症候群を呈した．本例に対して，先ずインドメサシン，デイピリダモールなど抗血小板剤にて治療を始めたが効果なく，次いでステロイド剤を投与したところ，尿蛋白は陰性化した．本例においては尿 β-TG，尿 FDP および尿蛋白には類似した動きが見られた．ステロイド剤治療により尿蛋白が陰性化すると，尿 β-TG，尿 FDP とも正常化した．

〔症例 2〕(図 17)

44 歳女性．腎生検でえられた糸球体の 50%以上に半月体形成が認められ，いわゆる急速進行性腎炎（RPGN）の症例である．先ず，ディピリダモール，アスピリンなどの抗血小板療法，ウロキナーゼの投与など試みたが，尿蛋白減少などの治療効果は認められなかった．本症例の尿 FDP は，初期に軽度の高値を呈しただけであったが，尿 β-TG は高値が認められた．抗血小板剤の継続により尿 β-TG は，低下傾向を示したが，アスピリンの中止により再び上昇傾向が認められた．

〔症例 3〕(図 18)

74 歳男性．同様 RPGN の症例で，ネフローゼ症候群を呈し，入院時は腎不全の状態であった．本症において，まずステロイド剤単独にて治療を開始したが効果なく，血漿交換つづいてステロイド剤，免疫抑制剤，フルフェナム酸，ディピリダモールなど抗血小板凝集抑制効果のある薬剤の併用を行った結果，尿蛋白量減少，クレアチニンクリアランスの改善などが認められた．本症例では初め尿 β-TG，血漿 β-TG 共高値を呈したが，症状の改善に平行して尿 β-TG の低下を認めた．なお本例において，当初は腎不全状態であり，尿 β-TG，血漿 β-TG の高値は，非特異的なものと解釈されるが，その後の症状改善と，尿 β-TG が平行しているので，糸球体での血小板凝集低下と関係するのではないかと考えられる．

〔症例 4〕(図 19)

29 歳男性．膜性腎症によるネフローゼ症候群の症例である．本例ではステロイド剤の治療により，著明な尿蛋白減少を認めたが，尿 β-TG は経過中終始正常域内にあり，尿 FDP も入院時のみ高値であり，その後は正常域内にあった．

以上の尿 β-TG の経時的な観察を行った 4 症例についての結果をまとめると：1）治療などにより，尿 β-TG に変化がみられ，2）尿 β-TG が高値を呈するネフローゼ症候群で，尿蛋白の減少と共に，尿 β-TG が低下する傾向がみられた．しかし，尿蛋白量と尿 β

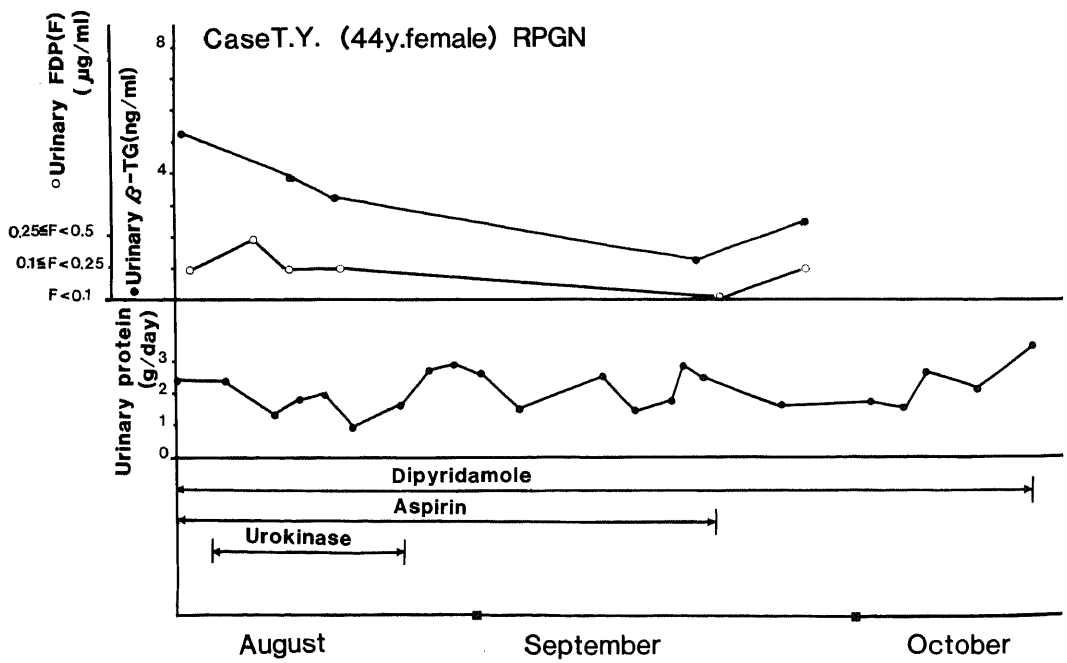


Fig. 17. The clinical course and serial changes of urinary β-TG and FDP titers in case T. Y., a 44-year-old female patients with rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN).

-TGが終始平行関係を有するとは限らなかった．3）ディピリダモール，アスピリンの投与により，尿β-TGの低下を示す症例もあったが，ステロイド剤による尿β-TG低下がより明らかな症例もあった．

考　　察

近年糸球体腎炎の発症・進展に血小板が重要なかかわりを有しているのではないかと考えられているが[1)~4)]，血栓性血小板減少性紫斑病，溶血性尿毒症症候群など特殊な病態[18)]を除き，臨床的に血小板と糸球体障害との関係を示唆する報告は必ずしも多くない．この理由として，Cameronが[2)]，"hit and run" に類似した血小板の作用と呼んでいる，血小板の動きを考慮する必要がある．つまり凝固・炎症などの過程は，血小板の粘着・凝集が起こることにより進行するが，血小板自身はこの過程の終了とともに流れ去ったり，血栓中に取りこまれて反応系外に消失するので，従来の方法ではその動きを捕える事は容易でなかった．最近Millerら[19)]は，血小板抗原が時に障害糸球体に認められることを報告しているが，単純に末梢血の血小板数や，腎組織を形態学的に検索する通常の方法では，血小板の関与の異常を見出せないことが多い．

臨床例においては，前述のGeorgeら[7)]が，RI標識を行った血小板を用いて，血小板のturn overを観察し，種々の腎疾患で血小板代謝の亢進が見られることを報告しており，戸村は[20)]，糸球体腎炎患者の腎静脈血と下大静脈血の血小板凝集能を比較し，前者の凝集能が後者に比し有意に高いと報告しているが，これらは一般的な方法として用いるには制約が大きい．簡便かつ鋭敏に体内における血小板の動きを把握しうる方法の開発が望まれる．

1．血小板凝集能について：上述のような目的から，著者はまず血小板機能検査として最も一般的な血小板凝集能を検討した．

文献上，慢性腎炎特に進行性腎炎において，ADP凝集やアドレナリン凝集，アラキドン酸凝集が亢進しているとの報告もあるが，ネフローゼ症候群の際に血小板の自然凝集やアラキドン酸凝集の亢進は，ネフローゼ症候群伴う低アルブミン血症の結果とみるものが多い[21)22)]．

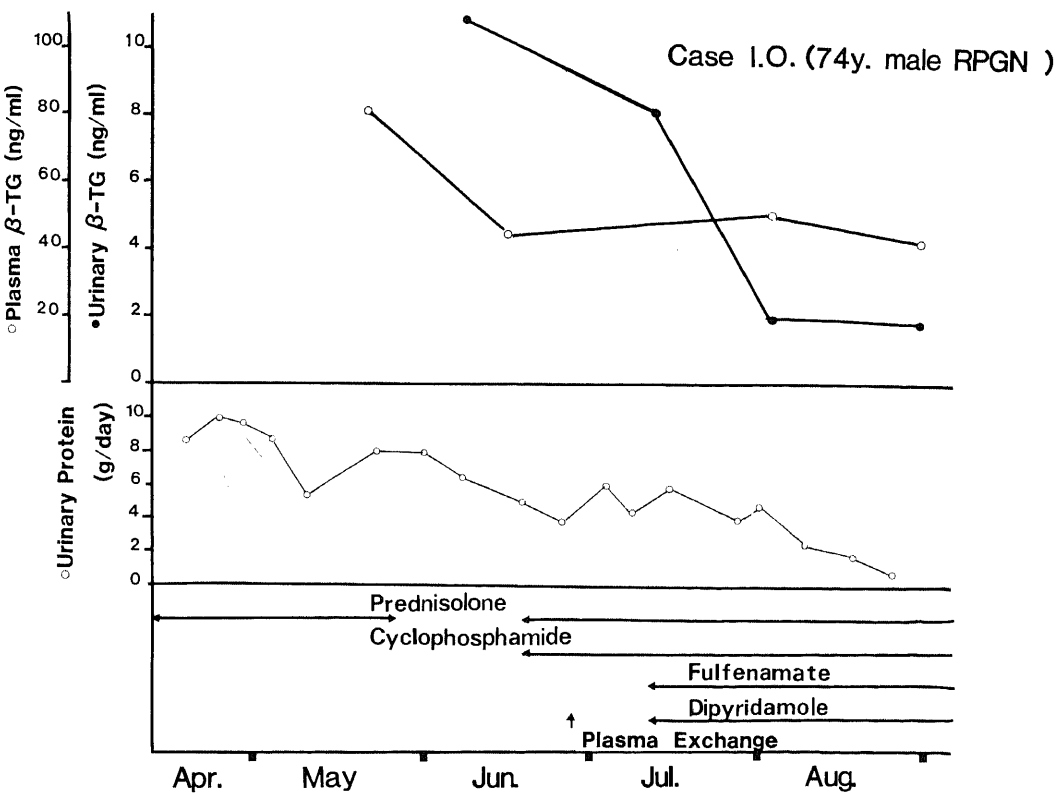


Fig. 18. The clinical course and serial changes of urinary β-TG and plasma β-TG in case I. O., a 74-year-old male patient with RPGN.

ADPによる凝集曲線のパターン分類よりみた今回の成績では，正常群に比し腎炎では，非解離型（凝集能亢進型）が多く，ネフローゼ症候群では，この傾向が一層著明であった．しかしcollagen凝集やristocetin凝集では，正常群と非ネフローゼ群，ネフローゼ群の3者間に有意の差は認められず，ADP凝集の成績のみで，腎炎における糸球体局所の血小板凝集亢進を結論するには，無理があると考えた．

2．血漿β-TGについて：最近血小板凝集の際，放出される物質（セロトニン，β-TG，PF-4など）の測定が可能となり，これらの物質の変動が腎炎におけるin vivoの血小板活性化の指標にならないかについて検討が進められている[6)8)~12)14)]．

Parbtaniら[8)~11)]は，血漿および血小板内のセロトニンを測定し，急速進行性腎炎（膜性増殖性腎炎，巣状糸球体硬化症，ループス腎炎など）で，血小板セロトニン含有量の低下，血漿セロトニンの増加が見られることを認め，さらにループス腎炎における臨床的・免疫学的活動性を評価する手段としてセロトニンの測定が有用であることを報告している．

β-TGは，血小板凝集に際して血小板α顆粒より，PF-4などと共に放出される分子量36,000の蛋白であり，糖尿病[23)]，血栓性静脈炎[24)]，子癇[25)]，急性心筋梗塞など[26)]の血栓性疾患で血漿β-TGが有意の上昇を示すことが報告されている．腎疾患では，Parbtaniら[11)]，Wooら[12)]，戸村ら[6)]が，糸球体腎炎において有意な高値を認めたと報告しているが，Walterら[22)]は否定的な成績を出している．いずれの場合においても，腎機能障害時には，血漿β-TGは非特異的な上昇を示すので，β-TG測定の有用性には一定の限界があると考えられている．

Dawesら[27)]は，β-TGは腎でβ_2ミクログロブリン（分子量12,000）などいわゆる小分子蛋白と同じような代謝を受け，腎機能低下があると，血中での貯留が生じることを示している．

著者らは，対象を血清クレアチニン3.0 mg/dl未満の腎炎群と，明らかに腎機能低下を示す血清クレアチニン3.0 mg/dl以上の腎不全群の2群に分け，さらに腎炎群については，ネフローゼ症候群を呈する群と，非ネフローゼ群に分け，その血漿β-TGを正常群の成績と比較検討した．その結果，正常群と腎不全群，正常群とネフローゼ群，ネフローゼ群と腎不全群との間には，それぞれ前者に比し後者が有意に高い成績が得られたが，一方正常群と非ネフローゼ群との間には有意の差を認めなかった．この成績を前述の腎炎群におけるADP凝集能の亢進，特にネフローゼ症候群を呈

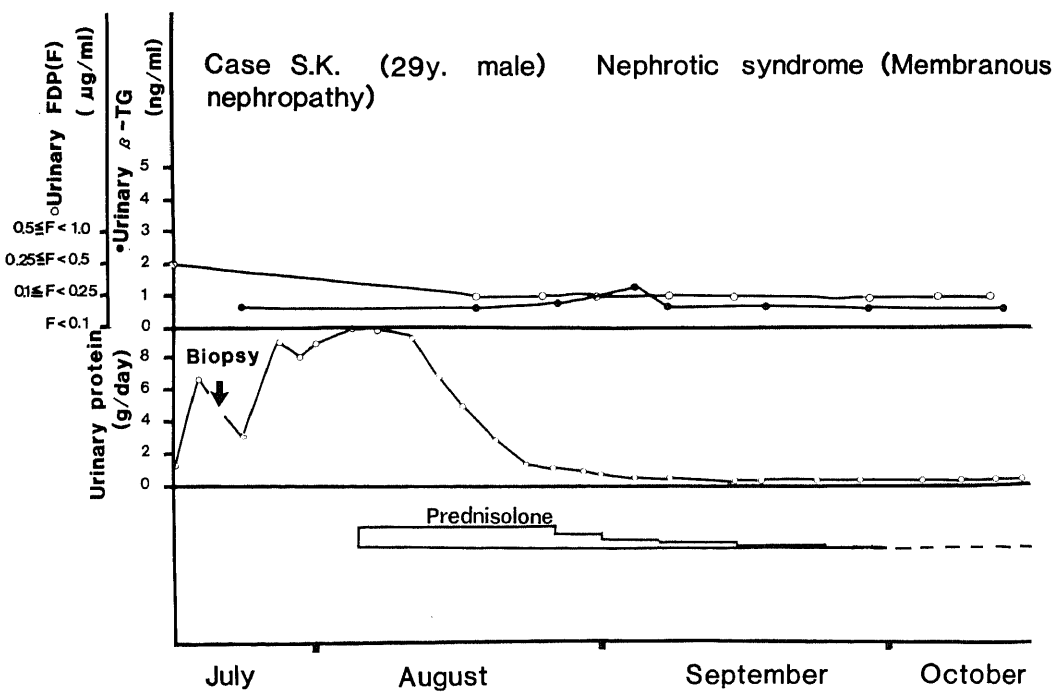


Fig. 19. Thd clinical course and serial changes of urinary β-TG and FDP titers in case S. K., a 29-year-old male patient with nephrotic syndrome (membranous nephropathy).

する腎炎でのADP凝集能の亢進傾向と対比検討するため，凝集曲線のパターン分類と血漿β-TGとの関係を検討した．しかし非ネフローゼ，ネフローゼを問わずADP凝集能亢進型を呈する症例が必ずしも血漿β-TG高値を示すとは限らない成績であった．

3．血漿PF-4について：PF-4は腎機能障害による非特異的代謝を受けることが少ないので，比較的適確に体内の血小板の動きを反映しうることが報告されているが[11]，著者の成績においては，正常群，腎炎群，腎不全群の3群間に有意の差が認められなかった．

以上末梢血中の血小板凝集能の測定においては，一部ネフローゼ症候群で低アルブミン血症など血漿側因子の影響によるものと考えられる異常がみられたが，必ずしも血小板由来の活性物質の変動と一致した成績は得られなかった．すなわち，血漿β-TGは，腎機能低下などによる非特異的影響が大きく，一方PF-4は，疾患による差が少ない結果であった．恐らく糸球体局所の血小板凝集が問題となる，腎炎のような病態では，全身の血流の生化学的指標のみから血小板の動態を把握することは，困難ではないかと思われる．

4．尿β-TGについて：次に尿中の血小板放出物質について検討した．尿中PF-4については，満足すべき結果は得られなかったが，尿β-TGについては，測定方法を工夫し，腎病変の程度，経過などによりかなり特異的と思われる観察成績をうることができた．

尿β-TGを測定した報告は少なく，本態性高血症についてのAndertonらの成績[28]，術後の深部静脈血栓症の"marker"になり得ることを示したBolton[29]らの成績のほか，腎疾患についてはWalterらの報告[22]をみるにすぎない．

著者は，腎不全群と腎炎群とに分けて，まず尿β-TGと血漿β-TGとの関係を検討してみた．その結果腎不全群では，尿β-TGが一般に高値を呈する傾向があり，同時に測定した血漿β-TGも高値を示す傾向が観察された．この成績は残存腎における血小板凝集亢進の可能性，もしくは腎機能低下によるβ-TGの体内貯留，すなわち血漿β-TGレベルが，尿細管の再吸収閾値以上に上昇した結果，尿中へ漏出した可能性が考えられる．

一方腎機能障害が比較的軽微な腎炎群に限って観察してみると，ほとんどの症例で血漿β-TGは正常域にあったが，尿β-TGが異常高値を呈する症例が少なからず認められた．この点を腎生検組織別に考察してみると，膜性増殖性腎炎，急速進行性腎炎の全例，び慢性増殖性腎炎の約1/3に尿β-TG高値が認められるのに対して，微少変化群や膜性腎炎などではほとんどの症例が正常域にとどまり，しかもこれらの尿β-TG高値の症例は，臨床的に活動性の腎病変が考えられる症例であった．

尿β-TGが非特異的に高値を呈する機序としては，尿蛋白排泄増加に伴い，β-TG排泄が増加する場合と，腎機能低下により小分子蛋白としてのβ-TGの腎での代謝が低下し，その結果として血中貯留が起こる場合が考えられる．そこで尿β-TGと尿蛋白量，および尿β-TGと尿β_2ミクログロブリン濃度との関係を検討した．しかし尿β-TG濃度は尿蛋白量，尿β_2ミクログロブリンいずれも有意の相関を示さず，腎炎群におけるβ-TGは，これらの尿蛋白とはかなり異った動きをしていることが示唆された．

次に，糸球体血液凝固の状態を観察する指標として，広く用いられている尿FDPとの関係を検討した．尿β-TGと尿FDPが一致して高値を示す例も一部にみられたが，両測定値の解離，または両者とも正常域にある例も多数認められた．かような結果については血小板が関係するのは，凝血機構の初期であり，FDPが関係するのは凝血線溶過程の最終相であるという点も関連すると思われる．従ってある時点の観察においては，両者が解離して変動することも十分ありうると考えられる．また尿β-TGは，血中からの漏出如何により影響されることがあり，必ずしも糸球体内凝固の指標にならないとの意見もある[30]．

一部の腎炎で，血漿β-TGは正常で，尿β-TGのみ上昇を示す成績が得られたが，この機序については，糸球体を循環する血流中で血小板放出反応が起こり，β-TG濃度が局所的にネフロンの尿細管再吸収閾値以上となる結果，尿中に多く出現するが，全身の流血中では，希釈されるため，末梢血中のβ-TGレベルの異常高値を呈するに致らないと考えられる．

最後に，経過を追ってβ-TGの動きを観察し得た若干の症例について，臨床症状，治療との関係を検討した．

症例1，2，3のような例では，治療前の尿β-TGは高値を示したが，ステロイド剤や抗血小板療法などにより臨床症状の改善がみとめられと共に，尿β-TGも低下傾向を示すことが観察された．一方症例4のような例では，当初ネフローゼ症候群を呈し，ステロイド剤により尿蛋白の改善が得られたが，尿β-TGは終始正常域にあった．

以上の成績をまとめると，尿β-TGの測定は腎機能障害例では，非特異的上昇を考慮しなければならないが，腎障害が高度に進展しない腎炎に限って観察すれば，活動性，治療効果の評価，および腎炎における血小板の病因的関与を知る上で，有用な情報を与えると考えられる．さらに血漿β-TGやPF-4のように採血

時の厳格な条件付けも必要ではなく，また測定方法が比較的簡単であることも，利点の1つであることを強調したい．

結 論

糸球体腎炎における血小板の病因的意義を知る目的で，正常対照群および各種の原発性糸球体腎炎を対象に，血小板凝集能，血漿β-TG，血漿PF-4および尿β-TGを測定し，次のような結論を得た．

1．血小板凝集能をADP凝集についてみると，正常群に比し腎炎群，特にネフローゼ症候群を呈する症例では，凝集亢進を示す凝集曲線のパターンを認める傾向にあった．しかし，collagen凝集，ristocetin凝集では，ADP凝集と平行した異常は認められなかった．

2．血漿β-TGは，ネフローゼ症候群，および腎不全群で正常群に比し高値を呈する傾向にあった．しかし腎炎群で血漿β-TGとADP血小板凝集能と相関を示す成績は得られなかった．血漿PF-4は，正常群，腎炎群，腎不全群の3者間で有意差を示さなかった．

3．血漿β-TGと尿β-TGは，腎不全群で高値を示した．一方，腎炎群の一部において，血漿β-TGが正常域にあるが，尿β-TGが異常高値を呈する症例が認められた．

4．腎不全群を除いた腎炎群のうち，微少変化群，膜性腎炎では，ほとんどの症例が，正常範囲の尿β-TGを示し，び慢性増殖性腎炎では約1/3が尿β-TGの高値を呈し，膜性増殖性腎炎，急速進行性腎炎では全例が高値を呈した．

5．腎炎群の尿β-TGは，尿蛋白量および尿β_2ミクログロブリン濃度とは有意の相関を示さなかった．また，尿β-TGは尿FDPとは，必ずしも関連した動きを示すとは限らなかった．

6．経過を追って尿β-TGの変動を測定しえた症例の観察から，尿β-TGは腎炎の活動性，治療効果を反映することが示唆された．

以上の結果より，腎機能の低下が著しくない腎炎に限って評価すると，尿β-TGは，血小板凝集，血漿β-TGないしPF-4に比べ腎糸球体局所における血小板の関与を反映する臨床的指標として有用であると考えられる．

謝 辞

稿を終えるにあたり，御指導と御校閲を賜った恩師竹田亮祐教授ならびに，直接御指導して頂いた黒田満彦前助教授（現福井医科大学教授）に深謝します．さらに御協力いただいた，東福要平講師はじめ，第2内科第3研究室の諸先生に感謝いたします．

本論文の要旨は，第22回，23回，24回日本腎臓学会総会および，第8回国際腎臓学会（アテネ）で報告した．

文 献

1) **Clark, W. F., Fresen, M., Linton, A. L. & Linsay, R. M.**: The platelet as a mediator of tissue damage in immune complex glomerulonephritis. Clin. Nephrol., **6**, 287-291 (1967).

2) **Cameron, J. S.**: Platelet and glomerulonephritis. Nephron, **18**, 253-258 (1977).

3) **Ross, R., Golmet, J., Kariya, B. & Harker, L.**: A platelet dependent serum factor that stimulate the proliferation of arterial smooth muscle cell in vitro. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **71**, 1207-1210 (1974).

4) **Linsay, R. M. & Clark, W. F.**: Platelet destractjon in renal disease. Semiars in thrombosis and hemostasis, 8, 138-155 (1982).

5) **Bang, U. N., Trygstad, C. W., Schroeder, J. E., Heidenreich, R. O. & Csiscko, B. M.**: Enhanced platelet function in glomerular renal disease. J. Lab. Clin. Med., **81**, 651-660 (1973).

6) **Tomura, S., Ida, T., Kuriyama, R., Chida, Y., Takeuchi, J. & Motomura, T.**: Activation of platelets in patients with chronic proliferative glomerlonephritis and the nephrotic syndrome. Clin. Nephrol., **17**, 24-30 (1982).

7) **Geoqge, C. R. P., Slichter, S. J., Quadracci, L. J., Striker, G. E. & Harker, L. A.**: A kinetic evaluation of haemostasis in renal disease. N. Engl. J. Med., **291**, 1111-1115 (1974).

8) **Parbtani, A. & Cameron, J. S.**: Platelet and plasma serotonin concentration in glomerulonephritis I. Thromb. Res., **15**, 109-125 (1979).

9) **Parbtani, A., Frampton, G. & Cameron, J. S.**: Platelet and plasma serotonin concentrations in glomerulonephritis II. Clin. Ndphrol., **14**, 112-123 (1980).

10) **Parbtani, A., Frampton, G., Yewdall, V., Kasai, N. & Cameron, J. S.**: Platelet and plasma serotonin in glomerulonephritis III.: The nephritis of systemic lupus erythematosus. Clin. Nephrol., **14**, 164-172 (1980).

11) **Parbtani, A., Frampton, G. & Cameron, J. S.**: Measurement of platelet release substances in glomerulonephritis.: A comparison of beta-thromboglobulin (β-TG), platelet factor 4 (PF-4) and serotonin assays. Thromb. Res., **19**, 177-189

12) **Woo, K. T., Junor, B. J. R., Salem, H., d' Apice, A. J. F., Whitworth, J. A. & Kincaid-Smith, P.**: Beta-thromboglobulin and platelet aggregates in glomerulonephritis. Clin. Nephrol., **14**, 92-95 (1980).

13) **Kincaid-Smith, P., Laver, M. C. & Fairley, K. F.**: Dipyridamole and anticoagulants in renal disease due to glomerular and vascular lesions.: A new approach to therapy Med. J. Aust., **24**, 145-151 (1970).

14) 喜多徹・黒田満彦・宮崎良一・秋山敬・上原元・東福要平・竹田亮祐：糸球体腎炎における尿 β-thromboglobulin の検討．腎と透析，**11**，445-451 (1980).

15) 喜多徹・東福要平・黒田満彦・竹田亮祐：腎不全時の血小板凝集異常．腎と透析．9, 221-228 (1979).

16) 安永幸二郎：血小板凝集曲線における各凝集値の評価．血液と脈管，7, 981-984 (1976).

17) 出口克己：Ristocetin 血小板凝集能．日本臨床．夏季増刊号，**37**, 2112-2113 (1979).

18) **Remuzzi, G., Misiani, R., Marchesi, D., Livio, M., Mecca, G., Donati, M. G. & de Gaetano, G.**: Treatment of the hemolytic uremic syndrome with plasma. Clin. Nephrol., **12**, 279-284 (1979).

19) **Miller, K., Dresner, I. G. & Michael, A. F.**: Localization of platelet antigens in human kidney disease. Kidney Int., **18**, 472-479 (1980).

20) 戸村成男：腎炎と血管内凝固．臨床成人病，9, 1341-1349 (1979).

21) **Remuzzi, G., Mecca, G., Marchesi, Livio., de Gaeteno, G., Donati, M. B. & Silver, M. J.**: Platelet hypersensitivity and the nephrotic syndrome. Thromb. Res., **16**, 345-354 (1979).

22) **Walter, E., Deppermann, D., Andrassay, K. & Koderisch, J.**: Platelet hyperaggregability as a consequence of the nephrotic syndrome. Thromb. Res., **23**, 473-479 (1981).

23) **Burrow, A. W., Chavin, S. I. & Hockaday, T. D. R.**: Plasma thromboglobulin concentration in diabetes mellites. Lancet, **1**, 235-237 (1978).

24) **Smith, R. C., Duncanson, J., Ruckley, C. V., Webber, R. G., Allan, N. C., Dawes, J., Bolton, A. E., Hunter, W. E., Pepper, D. S. & Cash, J. D.**: β-thromboglobulin and deep vein thrombosis. Thromb. Haemostas., **39**, 338-345 (1978).

25) **Redman, C. W. G., Allington, M. J., Bolton, F. G. & Stirrat, G. M.**: Plasma β-thromboglobulin in pre-eclampsia. Lancet, **2**, 248-249 (1977).

26) **O'Brien, J. R., Etherington, M. D. & Schuttleworth, R.**: β-thromboglobulin and heparin-neutralising activity test in clinical conditions Lancet, **1**, 1153-1154 (1977).

27) **Dawes, J., Smith, R. C. & Pepper, D. S.**: The release, distribution and clearance of human β-thromboglobulin and platelet factor 4. Thromb. Res., **12**, 851-861 (1978).

28) **Anderton, J. L., Fananpazir, L. & Dawes, J.**: Urinary β-thromboglobulin in essential hypertension. Brit. J. Haemat., **44**, 307-311 (1980).

29) **Bolton, A. E., Cooke, E. D., Lekhwni, C. P. & Bowcock, S. A.**: Urinary β-thomboglobulin levels as a diagnostic marker for post-operative deep vein thrombosis. Thromb. Res., **19**, 249-255 (1980).

30) **Loschiavo, C., Previato, G., Valvo, E., Lupo, A., Tessitore, N., Chiaramonte, S. & Maschio, G.**: Clinical significance of urinary fibrinogen degeneration products in renal disease. Nephron, **28**, 200-203 (1981).

A Study of Platelet Aggregation and Platelet Releasing Substances in Evaluating Pathophysiologic States of Glomerular Disease

Toru Kita, Department of Internal Medicine (II), (Director: Prof. Ryoyu Takeda), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 – J. Juzen Med. Soc., **92**, 910–924 (1983)

Key word: Platelet Aggregation, Urinary and Plasma β-Thromboglobulin, Platelet Factor 4, Glomerulonephritis.

Abstract

To examine the role of platelet in glomerulonephritis (GN), the author tested platelet aggregation, plasma levels of β-thromboglobulin (β-TG) and platelet factor 4 (PF-4) and urinary

β-TG concentrations in patients with various GN and normal controls. Platelet aggregation induced by ADP, collagen or ristocetin was tested by a standard method using an aggregometer. Plasma levels of β-TG and PF-4 were assayed by RIA. Urinary β-TG concentration was assayed by RIA with a special modification to detect the low concentration in urine. Patients were divided into two groups; 67 patients with various forms of GN (GN patients) whose serum creatinine levels were under 3 mg/dl, and 10 patients with chronic renal failure (CRF patients) whose serum creatinine levels were over 3 mg/dl. ADP-aggregation was increased in 7 (64%) of 11 patients with nephrotic syndrome. However, such increased aggregation was not observed when the aggregation test was performed using collagen or ristocetin. Plasma levels of β-TG were high in some patients with nephrotic syndrome and CRF, while no difference was found in PF-4 plasma levels. No significant correlation was shown between plasma β-TG levels and ADP-aggregation patterns. The urinary β-TG level was high in almost all CRF patients, in whom plasma β-TG level was high probably owing to non-specific renal retension. A high concentration of urinaty β-TG was observed in approximately 30% of GN patients, although their plasma β-TG levels were almost normal. These findings were shown in almost all cases of membranoproliferative and crecentic GN, but only in a few cases of minor-lesion and membranous GN. No significant correlation was found between urinary β-TG concentrations and urinary levels of FDP, protein or β_2-microglobulin. A longitudinal study in GN patients indicated that changes in urinary β-TG levels might reflect the pathophysiologic states of GN and effect of therapy. In conclusion, urinary β-TG may be a more useful marker than previously used parameters related to platelet function in evaluating the activity of GN and effect of therapy, provided patients have not elevated levels of the serum creatinine.