

学術情報

第15回東京女子医科大学血栓止血研究会

日 時 平成7年3月9日(木) 6:00～8:00 pm

場 所 第一臨床講堂

当番世話人挨拶

(神経内科) 岩田 誠

一般演題

座長(神経内科) 内山真一郎

1. c-Mpl リガンドのヒト巨核球産生に対する作用

(血液内科) 寺村正尚・吉永健太郎・岩部弘治・溝口秀昭

2. 絨毛細胞の抗血栓機序に関する研究

(母子総合医療センター) 中谷明子・中林正雄

(産婦人科) 武田佳彦

3. Flowcytometry による ADP 刺激血小板表面膜結合フィブリノゲンの測定

(神経内科) 山崎昌子・内山真一郎・橋口孝子・岩田 誠

4. 肺血栓塞栓症の臨床的凝血学的検討

(循環器内科) 村崎かがり・岩出和徳・半田 淳・薄井秀美

佐藤加代子・早船直彦・一方井祐子・山下倫生・大木勝義・細田瑛一

(国立横浜病院循環器内科) 青崎正彦

特別講演

座長(神経内科) 岩田 誠

血小板活性化における蛋白質チロシンリン酸化反応

(山梨医科大学臨床検査医学 教授) 久米章司

1. c-Mpl リガンドのヒト巨核球産生に対する作用

(血液内科) 寺村正尚・吉永健太郎・
岩部弘治・溝口秀昭

【目的】c-Mpl リガンド(トロンボポエチン)のヒト巨核球造血に対する単独での作用、および他のサイトカインとの相互作用を明らかにすることを目的とした。

【方法】化学療法後のPBSC採取時(G-CSF併用)の細胞よりCD34陽性細胞をイムノビーズ法を用いて分離した。得られたCD34陽性細胞にc-Mpl リガンド(キリン社より供与)を単独あるいはIL-3, IL-6, IL-11, SCFとともに添加し、無血清コロニー培養法により巨核球コロニー形成について検討した。さらにCD34陽性細胞にc-Mpl リガンドを添加し無血清で液体培養を行い、巨核球のploidyの増加についてフローサイトメトリーを用いて検討した。

【結果】c-Mpl リガンドをCD34陽性細胞に単独で

添加し無血清コロニー培養を行うと、濃度依存性に巨核球コロニーが形成された。さらにc-Mpl リガンドにIL-3, IL-6, IL-11, SCFを各々加えると、巨核球コロニー数がc-Mpl 単独に比べ増加し、c-Mpl にIL-3およびSCFを同時添加するとさらに増加した。またCD34陽性細胞にc-Mpl リガンドを添加し、無血清液体培養をすると巨核球系細胞が増加し、ploidyの増加も認められた。

【考察】c-Mpl リガンドにはMeg-CSF活性およびMeg-POT活性の両方の活性があると考えられ、ヒト巨核球の増殖および成熟の広範な過程に作用する因子であると考えられる。

2. 絨毛細胞の抗血栓機序に関する研究

(母子総合医療センター・*産婦人科学)

中谷明子・中林正雄・武田佳彦*

【目的】胎盤循環の維持には絨毛細胞のヘパラン硫酸を介した抗血栓性作用およびPGI₂の関与が示唆さ

れ、また臨床的には子宮内胎児発育遅延の治療として、ATIII 補充療法による胎盤機能の改善が示されているが、その機序は不明である。本研究では絨毛細胞の抗血栓機序をヘパリン硫酸、ATIII、 PGI_2 の相互作用の面から検討した。

【方法】人工妊娠中絶例の妊娠初期絨毛より酵素処理、パーコール法で絨毛細胞を分離培養、48時間後、ATIII (0.5~2U/ml) を添加し3~48時間後培養し、上清中の6 keto- PGF_1 alpha をPIA法、ヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) をEIA法で測定した。また培養絨毛細胞にATIII およびヘパリンを添加し上清中6-keto- PGF_1 alpha, hCG を測定した。また培養絨毛細胞上でのトロンビン活性の経時的変化について、ATIII 存在下、ヘパリン処理後ATIII 存在下で検討した。

【結果】妊娠初期培養絨毛細胞は、生理的濃度のATIII 添加により、用量依存性に PGI_2 の産生が亢進し、ATIII 1.0U/ml で1.4倍の増加を示したが、hCG 産生の亢進は認められなかった。ATIII をヘパリンと共に添加すると、 PGI_2 の産生亢進は認められなかった。培養細胞上清中にトロンビンを添加すると、経時的に活性が減少するが、ATIII の添加により短時間でのトロンビン活性の減少が促進され、ヘパリン処理前処理により、この短時間でのトロンビン活性減少は認めなくなった。

【結論】絨毛細胞はATIII の生理的濃度で PGI_2 産生亢進が認められ、その機序は、細胞膜のヘパリン硫酸を介する可能性が示唆された。

3. Flowcytometry による ADP 刺激血小板表面膜結合フィブリノゲンの測定

(神経内科) 山崎昌子・内山真一郎・
橋口孝子・岩田 誠

【目的】ADP 刺激による血小板活性化に伴う血小板膜糖蛋白へのフィブリノゲン (Fbg) の結合をflow-cytometry により測定した。

【方法】健康成人の1/10容 3.8%クエン酸加静脈血 (WB) または180g 10分間の遠心により作製した多血小板血漿 (PRP) を室温にて0~50 μM のADP と5分間反応させた後FITC 標識ヤギ抗ヒトFbg 抗体と30分間反応させ1%パラホルムアルデヒドを含むPBS を添加し固定した。Flowcytometer (Coulter Profile II)を用い、forward scatter とside scatter から血小板

を同定し、陽性率と平均蛍光強度を測定した。採血から120分まで30分毎に検体調整を行い時間の影響を検討した。また、ADP を添加する前にWB を凝集阻害剤と2分間反応させその影響を検討した。更に洗浄血小板浮遊液においてFbg 濃度の影響を検討した。

【結果】Fbg 陽性率はWB とPRP において同様の変化を示し、ADP 濃度依存性に陽性率、平均蛍光強度ともに上昇した。採血直後に検体を調整したものでは30分以上経過したものより陽性率、平均蛍光強度ともに低値であった。Fbg の血小板への結合は PGI_2 、Fbg 受容体阻害薬、FSBA で抑制されたがaspirin では抑制されなかった。洗浄血小板は30mg/dl のFbg 溶液中で陽性率、平均蛍光強度ともに最大となった。

【結論】Flowcytometer を用いた本法により全血でのADP 刺激血小板膜Fbg 結合能の測定が可能であると考えられた。

4. 肺血栓塞栓症の臨床的凝血学的検討

(東京女子医大循環器内科)

村崎かがり・岩出和徳・半田 淳・
薄井秀美・佐藤加代子・早船直彦・
一方井祐子・山下倫生・大木勝義・
細田 瑠一

(国立横浜病院循環器内科) 青崎正彦

【目的】肺血栓塞栓症について、その臨床的特徴の検討と一部の症例での凝血学的検討を行った。

【対象】肺血流シンチグラフィーあるいは剖検により肺血栓塞栓症と診断した64例 (男31例、女33例、平均年齢54歳) を対象とした。

【結果】発症の誘因は、心不全8例、安静臥床14例、肥満12例、スワン・ガンツカテーテル留置3例、心臓カテーテル検査後3例であった。基礎疾患として、心疾患が44例に認められた。7例について経時的に凝血学的検討を行った。D-dimer (ng/ml) は、治療開始前530~2485 平均1042と全例異常高値を認め、抗血栓療法により一時さらに上昇したが、2週間後には、43~755 平均364と全例低下した。TAT (ng/ml) 値は、9.4~41.8 平均24.6から2.1~8.3 平均4.8に低下した。その後外来でワーファリン投与を行い、D-dimer, TAT は正常化し再発はみられていない。

【結論】肺血栓塞栓症の診断および治療効果の判定に、画像診断に加え、凝血的検査も有用であると思われる。