

犬、猫の血小板機能に関する研究

亘 敏 広

①

犬、猫の血小板機能に関する研究

巨 敏 広

目次

	頁
緒言	1
第1章、犬における血小板凝集能に関する研究	5
序	6
第1節 犬糸状虫感染犬における血小板凝集能	7
材料および方法	7
供試犬	
血小板の調製	
血小板凝集能	
試薬の調製	
結果	10
健常犬における血小板凝集能	10
mf陽性犬における血小板凝集能	11
mf陽性犬におけるアセチルサリチル酸投与の影響	11
考察	12
第2節 僧帽弁閉鎖不全症の犬における血小板凝集能	15
材料および方法	15
被検動物	
血小板凝集能	
結果	16
考察	17
小括	20
第2章 犬の血小板減少性紫斑病(ITP)の病態生理	22
序	23
第1節 ITP症例の臨床病理学的検討	24
材料および方法	24

症例		
抗血小板抗体の測定		
結果	25
臨床検査所見		
抗血小板抗体		
考察	27
第2節 ITP症例による血小板凝集能	31
材料および方法	31
症例		
止血凝固スクリーニング検査		
血小板の調製		
血小板凝集能の測定		
ITP患犬血清添加による血小板凝集能への影響		
結果	33
臨床所見および止血凝固スクリーニング検査		
ADPに対する凝集能		
血清添加による凝集能への影響		
考察	35
小括	39
第3章 猫伝染性腹膜炎の病態における血小板の関与.....		40
序	41
症例	42
考察	45
総括	48
謝辞	51
参考文献	52
図表	64

緒 言

血小板の重要な機能の1つは止血における血小板血栓の形成である。血管壁が損傷を受け、内皮細胞が剥離し膠原線維が露出すると血小板がその部位に粘着・凝集して一過性の血小板血栓がつくられる。次いで、血小板血栓を中心として内因性および外因性凝固機序が加わり強固な凝固血栓が形成される[7,48]。このように血小板凝集は止血機序の開始に重要な役割を果たしており、凝集能が低下すれば出血傾向を示し[1,9,36,57]、反対に亢進すると血栓症などの病態を引き起こしやすくなる[3,5,29]。血管内膜の損傷や循環の異常に伴う血液の乱流などは血小板の凝集能を亢進し血栓形成傾向を示すことが知られている。これにより全身の血流の変化がさらにもたらされ病態を一層悪化させることになる。

このような作用を有する血小板は様々な機能を有し、それぞれについて検査法やその意義について検討がなされている[7,9,11,17,48]。この血小板機能は血小板が血管壁や傷害により露出したコラーゲンなどに粘着する粘着能、血小板同士が互いに凝集する凝集能、さらに凝集した血小板から細胞質内の内容物を放出する放出能に分けられる。これらの異常により、様々な止血異常症や血栓形成傾向など

の病態が引き起こされると考えられている。

血小板凝集は種々の凝集惹起物質により引き起こされる事が知られている。とくにアデノシン二リン酸(ADP)によって惹起される凝集は血小板の膜表面に存在する糖蛋白GPIIb/IIIaに血漿中のフィブリノーゲンなどが結合することにより互いに凝集することが明らかにされている。ヒトでは先天的なGPIIb/IIIaの欠損する血小板無力症が古くから報告されており[50,57]、犬でも同様な症例がいくつか報告されている[9,48]。この疾患ではADPに対する凝集能を欠如するのが特徴とされている。

またヒトでは尿毒症[56]や肝疾患、骨髄増殖性疾患[36,49,71]や多発性骨髄腫などの異常蛋白血症[41]などに付随した後天性の血小板機能異常症[1,52]が知られており、その発症メカニズムなどに関し詳しく検討がなされている。血小板凝集能の測定法は血小板が凝集する際の血漿の透過度を測定する透過度法[3,11,17,29]や、インピーダンス法[46,60,69]などが検討されている。インピーダンス法では血小板を分離せず全血のまま測定できるという利点はあるものの、その再現性に関しては問題があるとの意見もある。いっぽう透過度法は多血小板血漿を分離する操作があり時間的制約と遠心操作などによる血小板への影響を無視できないなどの問題点があるが、その再現性に関してはある程度満足でき広い範囲で実施されている。

また血小板はこれら止血凝固に関与するばかりではなく、炎症細胞としての側面も合わせ持つということが注目されている。血管内において血栓を形成し、血流を阻害するばかりではなく、活性化した血小板から種々のメディエーターを放出し[2,8]、血管内皮細胞に作用して血管壁の透過性を亢進させたり炎症細胞を遊走させることにより血管の傷害を引き起こすことも知られている。

いっぽう犬や猫ではフィラリア症[3,12]、肝疾患[69]や、肥大型心筋症[29]、猫伝染性腹膜炎[5]などで血小板凝集能が異常を示し、原疾患の病態をより重篤な状態へと進展させると考えられている。しかし病態を改善するために血小板機能を制御しようとする研究は数少ない[53,55,59]。そこで今回犬、猫の血小板凝集能に関し詳細に検討を加え原疾患の進展に及ぼす影響を評価するとともに、正常から逸脱した凝集能を正常化する事による意義について検討した。まず第1章では健康犬におけるADP、コラーゲン、エピネフリンに対する血小板凝集能を明らかにして測定系を確立するとともに、犬糸状虫感染犬および僧帽弁閉鎖不全症(Mitral regurgitation; MR)の犬における血小板凝集能を測定してその病態との関連を検討し、さらに正常から逸脱した凝集能を正常化する方法について考察した。

第2章においては、犬の特発性血小板減少性紫斑病(Idiopathic Thrombocytopenic Purpura; ITP)の臨床症状や年齢および性別、品

種による発症傾向、抗血小板抗体の意義、予後に影響を与える因子などについて明確にし、さらに治療により血小板数が正常値に回復したにも関わらず、止血異常が持続する症例について血小板凝集能の側面からその病態発生を検討した。

第3章では全身性の免疫介在性の血管炎を主徴とする猫伝染性腹膜炎(Feline Infectious Peritonitis; FIP)の猫に対し血小板凝集能を抑制するトロンボキサン合成酵素阻害剤を投与することにより予後に与える影響について検討し、FIPの血管炎の進展における血小板凝集の意義について考察した。

第 1 章

犬における血小板凝集能に関する研究

序

血小板の重要な機能の1つは止血における血小板血栓の形成である。血管壁が損傷を受け内皮細胞が剥離し膠原線維が露出すると、血小板がその部位に粘着・凝集して一過性の血小板血栓が作られる。次いで血小板血栓を中心として内因性および外因性凝固機序が加わり強固な凝固血栓が形成される。このように血小板凝集は止血機序の開始に重要な役割を果たしており、凝集能が低下すれば出血傾向を示し、反対に亢進すると血栓症などの病態を引き起こしやすくなる。このため血小板凝集能検査は臨床上極めて重要である。

人では先天的な血小板機能異常症[50,51,57]、ある種の薬剤投与[10]や他の原疾患にともなった血小板機能異常症[36,41,49,52,56,71]が知られており、多くの研究がなされている。いっぽう、犬についても健常犬[11,17]および犬糸状虫症[3,12]や肝疾患[69]の症例についての血小板凝集能の検討がなされている。しかしながら、我が国では若干の症例についての報告があるに過ぎない。

そこで第1章では健常犬における血小板凝集能を検討し、測定系を確立するとともに犬糸状虫症および僧帽弁閉鎖不全症の犬における血小板凝集能を検討し、その病態における意義について考察した。

第1節 犬糸状虫感染犬における血小板凝集能

犬糸状虫症は犬の大静脈から右心房、右心室および肺動脈にかけて寄生する犬糸状虫によって引き起こされる疾患で鬱血性心不全の病態を呈することが知られている。さらに虫体寄生の結果肺動脈に高率に血栓形成が認められることが報告されており[38,54,55,59]、血栓形成が本疾患の病態をさらに悪化させることが考えられている。またBoudreauxら[3]は犬糸状虫感染犬の血小板凝集能が健常犬に比較して亢進していることを報告し、本疾患では血栓が形成されやすい状態になっていることを示している。

そこで、一般臨床所見に異常の認められないマイクロフィラリア陽性犬の血小板凝集能を測定し健常犬のそれと比較検討し、また陽性犬にアセチルサリチル酸を投与し血小板凝集能の推移を観察した。

材料および方法

1. 供試犬

臨床的に健康で血液検査において犬糸状虫のマイクロフィラリア(mf)が陰性の雑種成犬4頭(雄2頭、雌2頭、体重10~20kg、推定年齢1~5歳齢)および末梢血mfが陽性の犬糸状虫寄生犬3頭(雄1頭、雌2頭、体重12~20kg、推定年齢3~5歳齢)を用いた。なおmf陽性

犬についても臨床的には特に症状はなく、一般血液検査において異常は認められなかった。供試犬はすべて同一犬舎内で1頭毎のケージ飼育とし、市販のドッグフードで飼育した。さらにアセチルサリチル酸(ASA)の血小板に対する凝集抑制効果を観察する目的で2頭のmf陽性犬に対して、ASA(アスピリン;保栄薬工)を0.5mg/kgで連日経口投与を行った。

2. 血小板の調製

供試犬の空腹時に安静状態下において頸静脈より採血した。あらかじめ、3.8%クエン酸ナトリウム0.5mlを吸引したプラスチック注射筒と21ゲージの注射針を用いて5mlの目盛りまで採血した。

採血した血液は直ちに室温で800rpm15分間遠沈し、多血小板血漿(Platelet rich plasma: PRP)を採取した後、さらに3,000rpmで5分間遠沈を行い乏血小板血漿(Platelet poor plasma: PPP)を得た。このPRPおよびPPPを用いて血小板凝集能を測定した。凝集能の測定は採血後3時間以内に行った。

3. 血小板凝集能

血小板の凝集は血小板凝集能測定装置(NBS Hematracer 601; 二光バイオサイエンス(株))を用いて比濁透過法で測定した。

PRP100 μ lの入ったキューベットに凝集惹起物質を11 μ l添加して攪拌し、血小板が凝集して透過度が増大する過程に見られる透過度の変化を光電光度計を用いて計時的に測定し、10分間記録した。さらに、この結果をデータアナライザー（NBSデータアナライザー；三光バイオサイエンス(株)）を用いて解析し最大凝集率を求めた。

4. 試薬の調製

凝集惹起物質としてアデノシン二リン酸(ADP; パーリンガー・マンハイムジャパン(株))、コラーゲン (Collagen Reagent HORM; 馬の臍コラーゲン; Hormon-Chemie)、エピネフリンを用いた。ADPは精製水で溶解し、200 μ M濃度のストック溶液とし、分注して-20 $^{\circ}$ Cに冷凍保存した。使用時にストック溶液をさらに精製水で希釈して終濃度20、10、5、2.5 μ Mになるよう調製した。コラーゲンはSKF Horm bufferで希釈し、使用時に生理食塩液でさらに希釈し、終濃度10、5、2.5、1 μ g/mlになるよう調製した。エピネフリンは蒸留水で希釈し、終濃度が100、50、25、12.5 μ g/mlおよび0.01、0.1、1 μ g/mlとなるよう調製した。

結 果

1. 健常犬における血小板凝集能 (図1)

ADP凝集：健常犬における血小板のADP凝集は、ADP $20\mu\text{M}$ で作用させた時には血小板は速やかに凝集し、不可逆的な2次凝集を示した。いっぽう 10 および $5\mu\text{M}$ で刺激したときには、1次凝集から2次凝集へと連続的に推移しその後一部の例では解離が認められた。また $2.5\mu\text{M}$ で刺激したときには刺激後一過性に凝集を認めたが、その後速やかに解離する一次凝集のみが観察された。

コラーゲン凝集：健常犬におけるコラーゲン凝集は、 $2.5\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度でコラーゲンを添加すると血小板は形態変化を起こし透過度が低下する。その後、数十秒から数分のラグタイムの後凝集が認められた。このラグタイムは濃度が上昇するに伴い短縮し、この濃度で起こる凝集には解離が認められなかった。しかしながら、 $1\mu\text{g/ml}$ の濃度では形態変化は起こるものの凝集は認められなかった。

エピネフリン凝集：健常犬の血小板にエピネフリンを $100, 50, 25$ および $12.5\mu\text{g/ml}$ で作用させても単独では血小板の凝集は認められなかった。いっぽう $0.01, 0.1$ および $1\mu\text{g/ml}$ の濃度のエピネフリンで血小板をあらかじめ処理した後1次凝集のみを示す濃度のADP $2.5\mu\text{M}$ で刺激するとエピネフリンの濃度依存的に凝集能の亢進が認められた (図2)。この事より健常犬の血小板はエピネフリン単独では凝

集を示さないがADP凝集を亢進させる作用があるものと考えられた。

2. ミクロフィラリア陽性犬における血小板凝集

ADP凝集：mf陽性犬におけるADP凝集はADP濃度 $5\mu\text{M}$ 以上ではすべて不可逆的凝集を示した。いっぽう、 $2.5\mu\text{M}$ では1次凝集に続いて2次凝集が認められ、健常犬に比較して凝集能の亢進が認められた(図3)。また陽性犬、陰性犬の $2.5\mu\text{M}$ の血小板凝集を比較すると、すべての陽性犬は陰性犬に比較して凝集能の亢進が認められた(図4)。さらに、最大凝集率、3分後凝集率においても陰性犬ではそれぞれ15%~27%および0%であるのに対し、陽性犬では41%~71%および39%~67%であり、凝集能の明らかな亢進が認められた(表1)。しかしながらmf陽性犬のコラーゲン凝集は健常犬と比較して一定の傾向を示さなかった。

3. アセチルサリチル酸投与の影響

2頭のmf陽性犬に対しASAを 0.5mg/kg で連日経口投与を行い、その後の血小板凝集能を比較した。 $2.5\mu\text{M}$ のADPに対し投与前は明らかな凝集能の亢進を認めたが、投与開始より1頭は5週間後に他の1頭は8週間後に健常犬と同様な状態を示した(図5)。ASA投与後のコラーゲン凝集は投与前に比較して最大凝集率の低下およびラゲ

タイムの延長が認められた。

考 察

犬の血小板凝集能の検査には透過度法[3,11,12]やインピーダンス法[46,60,69]を用いたものが報告されている。健常犬の血小板はADPやコラーゲンに対してよく凝集を示すが、アラキドン酸や、エピネフリンに対しては凝集を示さない例が多いこと[7,9,11,48]が知られている。今回の結果でも従来の報告と同様に健常犬の血小板はADPおよびコラーゲンに対する凝集が認められた。また、ADP $20\mu\text{M}$ 以上の濃度では不可逆的凝集が認められたが、 $2.5\mu\text{M}$ では一過性の凝集のみが認められた。しかし、ADPに対する凝集反応の個体差も無視できないため、今後年齢、性別、犬種等についての基礎的データの集積が必要である。

また健常犬の血小板のエピネフリンに対する反応はエピネフリン単独では高濃度に添加しても凝集がみられなかったが、極めて微量なエピネフリンの処置によってADP凝集能の増強作用が認められた。このことは犬の血小板においてもエピネフリンに対するレセプターが存在し、凝集能の亢進に作用していることが明らかとなった。

いっぽう、Boudreauxら[3]の報告と同様mf陽性犬では血小板の凝集能が健常犬と比較して亢進していることが確認された。Schaubら

[59]は犬糸状虫感染犬にみられる肺動脈の血管内皮における広範な損傷に白血球および血小板の付着が認められることを示している。さらに、感染犬に対し血小板凝集抑制作用を有するASAを325mg/日で経口投与を行うと血管内皮の損傷および血小板の付着は未処置の犬に対して有意に少なく、血管内膜の増殖反応の抑制が認められたことを報告している。これらのことは犬糸状虫症で認められる肺動脈の血栓形成に血小板凝集能の亢進が関与していることを示唆している。今後、凝集能の亢進の程度と症状、寄生成虫数や感染後の経過時間、肺動脈病変の程度などとの関連を検討するとともに、凝集能亢進の機序を解明する必要があると思われる。

これら病変のコントロールを目的として、ASAの単独投与および他の薬剤との併用投与が試みられている[55,59]。ASAは血小板のシクロオキシゲナーゼを阻害し、トロンボキサン(Tx)A₂の合成を抑制することで血小板の凝集を抑制する。しかし、ASAの投与量が多いと血管内皮のシクロオキシゲナーゼも同時に阻害され、凝集抑制効果を有するプロスタグランジン(PG) I₂の産生をも著明に抑制するといわれている。したがって、ASAについては最も適当な投与量をはじめ投与方法および他の抗血小板剤との併用など十分に検討しなければならない。Rackearら[53]は健常犬に0.5mg/kg1日2回投与を7日間連日投与を行うと血小板の凝集抑制が認められるが、0.5mg/kg1

日1回投与では有意な凝集抑制は認められなかったと報告している。
今回、mf陽性犬に対してASAを0.5mg/kg日1回投与で5ないし8週
間連日投与したところ、亢進していた血小板凝集能をある程度抑制
することが可能であった。しかし、犬糸状虫感染犬において、血小
板の凝集能をどの程度に維持することが適当であるかは今後、頭数
を増やして検討する必要がある。

第2節 僧帽弁閉鎖不全症(MR)の犬における血小板凝集能

僧帽弁閉鎖不全症は成犬から老犬で見られる一般的な弁の変性に基づく循環器疾患である[16,64,65]。多くの罹患動物では変性した弁尖により血流に乱流が起こり、血栓形成が起きやすくなることが容易に想像できる。また本疾患の末期には腎前性高窒素血症が認められ、組織学的にも腎臓の微小血栓が観察されることより、血小板の機能異常が推測できるが、この疾患において血小板機能を評価した研究は見あたらない。そこで僧帽弁閉鎖不全症の犬において血小板凝集能を測定しその臨床的意義について検討した。

材料および方法

1. 被検動物

東京大学ペテリナリーメディカルセンターに来院しMRと診断した犬29例について血小板凝集能を測定した。ほとんどの症例は血管拡張薬などの循環器薬を長期間にわたり投与を受けている。またこれらの例を臨床症状からニューヨーク心臓病学会(NYHA)の心不全の機能分類[15,16]に基づきNYHA I度からIV度に分類したところ、NYHA I度は2例、II度は11例、III度は9例およびIV度は7例であった。また臨床症状等により血液検査も行い高窒素血症の有無を鑑別した。

2. 血小板凝集能

対象犬の頸静脈より空腹時に3.8%クエン酸ナトリウムで抗凝固処理して採血した。採血した血液を低速遠心によりPRPを分離しADPに対する凝集能を測定した[66]。ADPは10、5、2.5および1 μ Mの濃度を用いたが、10 μ Mおよび2.5 μ Mに対する凝集パターンより以下に示す亢進例、正常例、やや低下例および低下例に分類した(図6)。

- 1) 2.5 μ Mで1次凝集を示し、10 μ Mでは不可逆的凝集を示したものを正常例
- 2) 2.5 μ Mで1次凝集から2次凝集へ移行し不可逆的凝集を示したものを亢進例
- 3) 10 μ Mで一過性の可逆的凝集あるいは凝集後に解離の見られたものをやや低下例
- 4) 10 μ Mでもほとんど凝集の見られないものを低下例とした。

結 果

測定した29例のうちADP2.5 μ Mで不可逆的凝集を示す凝集能の亢進例は8例、ADP10 μ Mで一過性の可逆的凝集を示すやや低下例が6例、ADP10 μ Mでもほとんど凝集が認められない低下例が5例、正常例が10例であった(表2)。

またNYHAの分類ごとではI度およびII度の軽症例13例では亢進例が4例、やや低下例が3例、正常例が6例であった(表3)。いっぽうIII度およびIV度の重症例16例では4例が亢進、3例がやや低下および5例が低下を示し、ほとんどの例が凝集能の異常を示していた。重症例の中で低下およびやや低下を示した8例のうち5例でBUNが50mg/dl以上の高窒素血症を呈しており(表2)、このうちの1例では通常の輸液療法では高窒素血症の改善が認められなかったが、抗血栓療法により改善させることが可能であった。

以上のようにMRではNYHA I度およびII度の軽症例であっても凝集能の亢進している例が多く認められた。またIII度以上の例では16例中12例で異常が存在し、亢進よりも低下例が多く認められた。

考 察

MRにおける血小板凝集能の亢進は血液の逆流、乱流が刺激となって生じ、血小板凝集により末梢血管に微小血栓を形成しやすくなると考えられている。特に腎臓に形成された微小血栓は高窒素血症の原因となる。MRの末期では腎前性高窒素血症が認められ、組織学的にも微小血栓が観察されることはこの結果を支持しているものと考えられる。いっぽう凝集能の低下が認められた11例のうち5例は

高窒素血症を伴っており、さらにその中の4例は末期の病態であった。ヒトでは播種性血管内凝固症候群(DIC)の際に後天性のストレージプール病を引き起こし[52]、血小板凝集能が低下することが報告されている。いっぽう犬においても実験的に作成した肺炎ではDICが併発し、血小板凝集能が低下することが示されている[32]。これらは血栓形成の際に体内で血小板が活性化された後、凝集能の欠如した疲弊血小板が血中に多く存在するためであると考えられている。今回の低下例においても血栓形成あるいは血栓準備状態のための同様の可能性も考えられる。しかしいっぽうで、高窒素血症の際には血中の尿毒症物質により血小板凝集能が低下することが報告されている[9,48,56]。このため高窒素血症の結果として凝集能の低下が起きたものではないとは断定できない。しかしこれらの例の中で通常の輸液療法や血管拡張剤、強心利尿剤によっても高窒素血症が改善されない場合であっても、抗凝固剤の併用により高窒素血症が軽減し一般状態の改善が見られる例が存在することは微小血栓の存在を強く支持するものである。このことは微小血栓が高窒素血症の原因であり、凝集能の低下が高窒素血症の結果によるものでは説明できないものと考えられた。

以上のようにMRと診断し凝集能を測定した29例のほとんどにおいて循環器薬を長期間投与されているにも関わらず、約65%におい

て血小板凝集能に異常が認められたことおよびNYHAのI度およびII度の症状の軽い症例であっても異常の認められる症例が存在することより、循環器薬で負荷を軽減しても血小板凝集を刺激する血流の是正が出来ない症例があることを示唆するものと思われた。さらにNYHAのIII度およびIV度の重症例においては血管拡張薬などに加え抗血小板薬や、抗凝固薬などの応用も考慮すべきであると考えられた。さらにMRにおいても血小板凝集能が亢進し、腎臓における微小血栓を形成しやすくなることにより、腎前性高窒素血症を引き起こす可能性が示唆された。

小 括

以上のように犬における血小板凝集能の測定系を確立するとともに、肺動脈において高率に血栓が形成される犬糸状虫症では、血小板凝集能が亢進し、血栓が形成されやすい状態にあることを明らかにした。また、シクロオキシゲナーゼを阻害するアセチルサリチル酸の投与により、亢進した血小板凝集能を正常化することが可能なことを示した。このことは本症の病態の進展の予防にアセチルサリチル酸の投与が有効であることを裏付けるものであった。

さらに心臓の弁の変成に基づく僧帽弁閉鎖不全症の犬において血小板凝集能を測定し、その約65%の例で血小板凝集能が正常から逸脱していることが明かとなった。またNYHA分類によるIII度およびIV度の例ではほとんどのものが血小板凝集能に異常を認め、さらに凝集能の低下している例が多く認められた。このことは血小板凝集能が亢進し、血栓が形成されたことにより血中に疲弊した血小板が多く存在したためと考えられた。これらの結果MRの症例では循環器薬で負荷を軽減しても血小板凝集を刺激する血流の是正ができない症例があることを示唆しており、血管拡張薬などに加え抗血小板薬や抗凝固薬の応用も考慮すべきであると考えられた。

以上のように犬における循環器疾患で血小板凝集能の異常が病態

の進展に關与していることを明らかにし、逸脱した血小板凝集能を是正することにより症状の改善が見られることが示唆された。

第 2 章

犬の特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の病態生理

序

特発性血小板減少性紫斑病(Idiopathic Thrombocytopenic Purpura; ITP)は突然原因不明の血小板減少を招来し体表の点状出血などを示す疾患で[26,44,68]、その要因の一つとして自己の血小板に対する抗体による破壊が挙げられている[1,13,19,61]。イヌのITPにおける抗血小板抗体に関しては健康犬の血小板に患者の血清を加えて間接的に凝集を見る凝集法[27]、抗体により傷害された血小板から放出された血小板第3因子(PF3)を測定し間接的にこれを知る方法[33,35]や、健康犬の骨髓塗抹における巨核球に対する間接蛍光抗体法[35]、ELISAを用いた方法[42,47]およびフローサイトメトリーによる方法[40,43]などが用いられ、抗体の存在が証明されている。

今回、ITPと診断した犬について年齢、性別、品種、臨床症状および血液検査所見、予後などについて評価するとともに、間接凝集法により血小板に対する自己抗体を測定しその抗体の意義について検討した。また治療により血小板数が正常値にまで回復したにも関わらず紫斑や採血後の止血遅延などの症状が見られる例について血小板凝集能を測定し、止血異常の発現機序について検討した。

第1節 ITP症例の臨床病理学的検討

犬におけるITPは通常、成犬において突然発症し、雄よりも雌のほうが約2倍多いといわれている[26,44,68]。また品種による偏りも多く米国ではブードルやオールドイングリッシュシープドッグに多いという報告もある[68]。しかし我が国における本症の報告を見るとマルチーズ種が圧倒的に多く認められる。そこで東京大学ベテリナリーメデイカルセンターにてITPと診断した症例について年齢、性別、品種、臨床症状および血液検査所見、予後などについて検討し、今までの諸外国の報告と比較した。また、間接凝集法による抗血小板抗体および抗グロブリン抗体を測定し、その意義についても検討した。

材料および方法

1. 症 例

東京大学ベテリナリーメデイカルセンターに来院しITPと診断した犬の症例19例について検討した。これらの症例の診療記録から年齢、性別、品種、臨床症状、血液検査所見、治療法、予後について評価した。ITPの診断は以下の診断基準の1および2を満たしており、3あるいは4のどちらかのみられたものとした[44]。

- 1). 他に血小板の減少する原因を認めないこと。
- 2). 血小板数が75,000/ μ l以下に著しく減少しているもの。
- 3). 免疫抑制量のグルココルチコイド療法あるいは免疫抑制療法にて血小板数の増加を認めるもの。
- 4). 抗血小板抗体が検出可能であったもの。

2. 抗血小板抗体の測定

抗血小板抗体は以下に示す間接凝集法にて測定した[27]。

健常犬から3.8%クエン酸Naで抗凝固処理した血液を採取し、800rpm15分間で遠沈しPRPを分離した。このPRPを生理食塩水で3回洗浄し、血小板浮遊液を作成し $100 \times 10^3 / \mu$ lに調整した。患者の血清を1:1から1:128まで段階希釈し、96穴マイクロプレートにて50 μ lずつ分注し、さらに50 μ lの血小板浮遊液を各ウェルに添加し、37℃で30分間孵置した。反応後各ウェル内の液を位相差顕微鏡下にて観察し、血小板が4個以上凝集しているものを陽性と判定し、陽性を示す最大希釈倍率を求めた。血清希釈倍率が8倍以上のものを陽性、4倍、2倍のものを擬陽性それ以下を陰性と判定した。

結 果

1. 臨床検査所見

年齢は1歳未満から13歳までで平均 6.3 ± 3.2 歳を示した(図7)。性別では雄が3例および雌が16例で、明らかに雌に多く認められた。また犬種ではマルチーズが14例を占め、アメリカでの好発犬種[44,68]にあげられているブードルは3例認められた(表5)。

臨床症状は紫斑および点状出血が最も多く(図8)、16例で認められたほか、歯肉からの出血が2例、強膜、前眼房の出血および吐血が各1例、下血が4例に認められた(表4)。また元気消失は10例、食欲不振12例、貧血が同時に認められたものが8例であった。しかしWilliamsら[68]が約30%と報告している鼻出血を示す症例は認められなかった。

血液学的検査では発症時もしくは初診時の血小板数は $16.4 \pm 14.5 \times 10^3/\mu\text{l}$ と著しい低下が認められ $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ 以下の著しい低下を示したものは7例存在した(表5)。またHtは $28 \pm 13.4\%$ であり、25%以下の貧血例は8例であった。

ITP症例の予後は適切な治療に反応するものでは比較的良好であるが、初期の免疫抑制療法に反応の低い例では不良なものも多く認められた。発症時の血小板数が $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ 以下の著しい低下例では1カ月生存率は4/7例と $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ 以上の例の7/12例と大差は見られなかったが、3カ月および1年生存率では2/7例と低下し長期生存率の低い傾向が認められた(表6)。いっぽう血小板減少のみの場合

には1カ月以上生存したものが9/11例であったのに対し、血小板減少と貧血が同時に存在する場合には予後は著しく悪く1カ月以上生存したものは2/8例のみであった。

2. 抗血小板抗体

19例のうち13例について凝集法により抗血小板抗体の検出を行ったところ陽性が4例、擬陽性が5例、陰性が4例であった(表7)。またこのうち12例について同時に直接クームス試験も行ったところ4例で陽性、8例で陰性を示した。抗血小板抗体および直接クームスがどちらも陽性を示したものは2例、抗血小板抗体が擬陽性で直接クームスが陽性を示したものが1例認められた。また抗血小板抗体および抗グロブリン抗体は必ずしも臨床症状と一致せず抗体価が高くても血小板減少や貧血がそれほど見られない例があるいっぽうで、抗体が検出できない例で著しい血小板減少や貧血の認められる例も存在した。

考 察

ITPは突然の血小板減少をきたし、皮膚の点状出血や紫斑を主徴とする疾患である[44]。その要因には抗血小板抗体による細胞傷害性やオプソニン効果などの免疫学的機序による血小板破壊の亢進が考えられている[61]。犬のITPにおいても同様な機序が考えられてお

り、様々な方法[27,33,35,40,42,43,47]による抗血小板抗体の検出が試みられている。

今回19例のITPの症例について臨床病理学的検討をしたところ、発症年齢は他の報告[26,68]とほぼ同様に 6.3 ± 3.2 歳齢であり、おもに成犬で認められるが1歳齢未満の若齢犬においても発症が認められた。いっぽう性別は他の報告では雌が全体の約2/3を占め、雄が1/3であるのに対し[26,68]、今回の例では雌が16/19例と約84%を占め、雄は3/19例のみであった。また品種ではマルチーズが14/19例と73%を占め、他の報告[44,68]と圧倒的に異なる結果であった。我が国においてマルチーズ種が単純に多頭数飼育されているのみではなく、ITPの発症因子を保有した個体が繁殖に供されてしまった結果、このような品種や性別による偏りができてしまったものと考えられた。

ITPの臨床症状は血小板減少に特徴的な皮膚の紫斑および点状出血がほとんどの例で認められ、黒色便や歯肉からの出血、前眼房の出血などを有するものも認められた。また約半数では元気低下あるいは消失が認められた。また8/19例では貧血も伴っており、ITPとIHAの両所見を合わせ持ついわゆるEvans症候群の例は4例で認められた。Lewisら[44]はEvans症候群はITPのおよそ20%で認められると報告しており、今回の例とほぼ一致していた。

ITPの予後は約70%で初期治療に反応して止血異常の危険性の少ない血小板数が $50\sim 100\times 10^3/\mu\text{l}$ 以上にまで回復するが、残りの30%では斃死あるいは安楽死となることが報告されている[34,44]。さらに回復した例でも約40%は再発するという難治性の疾患である。またITP単独よりもEvans症候群の方が予後は悪いとされている[18]。今回初期治療に反応し1カ月生存した症例は11/19例で約60%であった。発症時あるいは初診時の血小板数が $10\times 10^3/\mu\text{l}$ 以上と以下では差は認められなかった。しかし3カ月および1年の生存率を比較すると血小板数が $10\times 10^3/\mu\text{l}$ 以下の例では2/7例と低下し、 $10\times 10^3/\mu\text{l}$ 以上の7/12例に比較し長期生存率の低下する傾向が認められた。いっぽう貧血の有無を比較すると、貧血を伴う例では2/8例と著しく予後が悪いのに対し、伴わない例では9/11例と初期治療に反応する例が多く認められた。またEvans症候群と診断した4例のうち3例は1カ月以内に斃死した。

ITPの症例における抗血小板抗体の検出に関しては凝集法[27]、PF3放出試験[33,35]や骨髓巨核球に対する蛍光抗体法[35]、ELISAを用いた方法[42,47]およびフローサイトメトリーによる方法[40,43]などが用いられ、抗体の存在が証明されている。Lewisら[42]はELISAを用いた抗血小板抗体の測定においてITPの犬では血小板表面に結合した抗体の検出（直接試験）では94%が陽性を示したが血清中の

血小板結合抗体の検出（間接試験）では34%のみが陽性を示したに過ぎないと報告している。今回の間接凝集法による抗血小板抗体の測定では4例で陽性、5例で擬陽性および4例で陰性の結果を示し、陽性の割合は約30%とLewisらの間接試験の結果とほぼ同様であった。ITPの診断には除外診断が多く、抗血小板抗体が証明された場合には診断的価値があるが陰性であった場合でも除外することが出来ない。このため抗血小板抗体の検出にはより高感度の新たな検査法の応用が必要となると考えられた。

以上のようにITPは血小板減少により紫斑や点状出血を示す疾患で、成犬の雌に多く、マルチーズ種での発症が多いことが明らかとなった。さらに血小板減少単独の場合には予後は比較的良いものの貧血を伴う例では著しく悪いことが示唆された。今後さらに症例数を加え治療法に対する反応性の比較などを検討する必要があるものと考えられた。

第2節 ITP症例における血小板凝集能

ITPは突然原因不明の血小板減少を招来し体表の点状出血などを示す疾患で、その要因の一つとして自己の血小板に対する抗体による破壊が挙げられている。本疾患の多くの例ではステロイド剤や免疫抑制剤などで治療され血小板数が増加するとともに止血異常の症状は見られなくなる[27,34]。しかし中には治療により血小板数が増加したにも関わらず皮膚の紫斑や採血後の止血異常などが持続する場合がある。

今回ITPと診断し治療により血小板数が正常値に回復した症例について血小板凝集能を測定し、止血異常の発現機序について検討した。

材料および方法

1. 症 例

東京大学ベテリナリーメデイカルセンターにおいてITPと診断しステロイド治療などにより血小板数が $200 \times 10^3/\mu\text{l}$ 以上で維持している症例5例(表8)を用いた。症例は1歳齢から10歳齢で雄3例と雌2例、体重3.2から9.7kgである。犬種はマルチーズ4例とミニチュア・ブードルが1例であった。いずれの例も血小板凝集能測定時の血小

板数は $207\sim 371\times 10^4/\mu$ であり、検査時まで血小板凝集能に影響を与えるとされる薬剤は7日間以上休薬してから測定を行った。またこのうちの2例について同時に血清を分離し、検査時まで 70°C にて保存した。

2. 止血凝固スクリーニング検査

止血凝固スクリーニング検査として血小板数に加えプロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を必要に応じて測定した。測定は市販の測定キットおよび自動血液凝固測定装置を用いて指示書通りに実施した。PTとAPTTはそれぞれ一検体につき3回ずつ計測しその平均値を秒数であらわした。

3. 血小板の調整

あらかじめ、3.8%クエン酸ナトリウム1容に対し血液9容になるよう準備したプラスチック注射筒を用いて被検動物の頸静脈より空腹時に採血した。採取した血液は直ちに室温で800rpm15分間遠沈し、多血小板血漿(Platelet rich plasma : PRP)を採取した後、さらに3000rpm5分間遠沈をおこない乏血小板血漿(Platelet poor plasma : PPP)を得た。このPRPおよびPPPを用いて血小板凝集能を測定した。

4. 血小板凝集能の測定

血小板凝集能は血小板凝集能測定装置を用いて比濁透過法で測定した[66]。PRP135 μ lの入ったキュベットに凝集惹起物質を15 μ l添加して攪拌し、血小板が凝集してPRPの透過度が増大する過程にみられる変化を経時的に測定し記録した。さらにこの結果をデータアナライザーを用いて解析し、最大凝集率を求めた。

凝集惹起物質にはアデノシン二リン酸(ADP)を用いた。ADPは精製水で溶解し終濃度が10、5、2.5、1 μ Mになるよう調整した。

5. ITP患犬血清添加による血小板凝集能への影響

ITPの症例の血清を用いて健常犬の血小板凝集に及ぼす影響を測定した。健常犬から採取したPRPに対して患犬の血清を1:10、1:50および1:250に希釈して添加し37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させた。反応後ADP10 μ Mに対する血小板凝集能を血清未添加の対照と同時に測定し、その凝集パターンおよび最大凝集率を比較した。また対照に対する凝集比率を求め%で表した。

結 果

1. 臨床所見および止血凝固スクリーニング検査

No1、3および4は血小板数が正常であるにも関わらず採血後の止

血遅延および皮下出血（図9）、突然現れる一過性の紫斑などの症状が認められた。PTおよびAPTTは測定した3例についてはほぼ健常範囲（PT:5.5～8.0sec、APTT:15～25sec）の値を示した。また間接凝集法による抗血小板抗体は測定した4例のうちNo4.のみが強陽性を示した以外は陰性であった（表8）。

2. ADPに対する凝集能

凝集能を測定した5例のうち4例で健常犬では二次凝集を認める濃度であるADP10 μ Mを添加したときにも一過性の一次凝集しか認めない明らかな血小板凝集能の低下を認めた（図10）。またこのときの最大凝集率は10～23%と対照の67～89%に比較して明らかに低下していた（表9）。同様にこの4例ではADP5および2.5 μ Mを添加したときの最大凝集率はそれぞれ2～9%、0～9%であった。

3. ITP症例犬血清による血小板凝集能へ及ぼす影響

次に健常犬の血小板にITP症例の血清を反応させたものでは症例1の血清では希釈倍率1:50および1:250で、症例2では1:10および1:50で最大凝集率の低下が認められた（図11）。

いっぽう対照と比較した凝集比率では症例1の1:50および1:250がそれぞれ93.4および85.7%であり、症例2の1:10、1:50および1:250

ではそれぞれ83.5、86.8および100%を示し血清添加によって血小板凝集能が抑制されることが示された(表10)。

考 察

ITPは血小板が突然減少し体表に紫斑および点状出血を示す原因不明の疾患で、その要因の一つとして自己の血小板に対する抗体の関与が考えられている。本疾患ではステロイド剤や免疫抑制剤などで治療すると血小板数が増加するとともに止血異常の症状は見られなくなるのが普通である[27,34,44]。しかしながら血小板数が回復したにも関わらず採血後の止血遅延などが見られる症例がある。ヒトの慢性ITPの患者においても同様な止血異常が認められ[1,13,19,37]、その原因の一つに血小板の機能異常が示されている。これらの患者では血小板機能に重要と考えられている膜糖蛋白のGPIIb/IIIa[1,70]、GPIb[70]、GPVおよびGPIaなど[19]に対する抗体が認められるものもある。しかしいっぽうでは、抗血小板抗体により血小板が活性化し凝集やATPの放出を引き起こすという報告[58]もある。

犬のITPにおける血小板機能に関する研究は少なくKristensenら[39]はITP患犬の血清およびIgG分画を健常犬のPRPと反応させた後に凝集能を測定し最大凝集率の低下および凝集速度の低下を示しているが、出血の程度とは関連が見られなかったことを報告している。

しかし、治療により血小板数が増加しているにもかかわらず止血異常を示した患犬について凝集能を検討した報告は見あたらない。いっぽう抗血小板抗体に関しては凝集法、PF3放出試験や骨髓巨核球に対する蛍光抗体法、ELISAを用いた方法およびフローサイトメトリーによる方法などが用いられ抗体の存在が証明されている。しかし抗体の認識する抗原に関する研究は、Lewisら[45]のITPの犬の症例のうち何例かは血清中にGPIIbあるいはGPIIIaに反応する抗体を有するという報告のみである。しかし、その例について止血異常の症状の有無については検討されていない。

今回我々は治療により血小板数が正常値に回復したが採血後の止血異常が認められる症例に遭遇し、その病態を明らかにする目的で血小板機能について検討した。凝固スクリーニング検査では異常は認められなかったが5例のうち4例において血小板の凝集能の低下を示した。しかし止血異常の認められたNo.3において凝集能の低下は認められず、止血異常の要因を確認することはできなかった。さらにNo.1と2の血清を用いて健常犬の血小板に反応させることにより、凝集能が抑制したことから、抗体などの液性因子により凝集が阻害されていることが示唆された。血清中に含まれる血小板凝集を阻害する因子は抗体の他にフィブリノーゲン・フィブリン分解産物(FDP)が挙げられる[62,63]。FDPはフィブリノーゲンと競合するこ

とにより血小板の凝集を阻害することが知られている。また血小板凝集を抑制するためのFDPの量は終濃度で10mg/dl以上は必要であり[62]、今回のように添加血清を1:10、1:50および1:250で反応させた場合には終濃度で10mg/dl以上になることは現実的にはあり得ないものと考えられた。Kristensenら[39]は血清の割合が1:5になるように添加して測定しているが、健常犬の血清添加では血小板凝集能に変化は見られなかったことを報告している。このことより、血清中に含まれる凝集を抑制する液性因子はFDP以外のものが推測される。

しかし、間接凝集法による血清中の抗血小板抗体は凝集能の低下が見られた4例のうち1例のみで陽性を示したが2例では陰性であった。Lewisら[42]はELISAを用いた抗血小板抗体の測定においてITPの犬では血小板表面に結合した抗体の検出（直接試験）では94%が陽性を示したが血清中の血小板結合抗体の検出（間接試験）では34%のみが陽性を示したに過ぎないと報告している。間接凝集法では表面に結合した抗体がさらに凝集させなければならないため、より高力価の抗体が必要となる。そのため抗体の検出感度はさらに低いことが考えられる。このため間接凝集法で陰性を示した結果は抗体を保持していないとは確定できないものと思われる。したがって抗血小板抗体の検出にはさらに高感度の検査法を応用する必要がある。

と思われた。

以上のようにITPの犬の血清中には血小板凝集能を抑制する液性因子が存在し、それにより二次性の血小板機能低下症が引き起こされるものと考えられた。このことはヒトと同様、犬のITPにおいても血小板を破壊する抗体だけでなく血小板の機能を抑制する抗体の存在を示唆するものであり、今後免疫沈降法などにより抗体が認識する抗原を特定し、血小板凝集能の低下と病態との関連を明確にする必要があると考えられた。またこのような止血異常の症例では、血小板数が増加しても抗体産生を抑制するような対策が必要であるものと考えられた。

小 括

以上のように血小板減少により紫斑や点状出血などの止血異常が認められる特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の臨床病理学的検討をおこなない、成犬のマルチーズの雌に多発する疾患であり、約30%の例で抗血小板抗体が陽性を示しこの疾患の発症への関与が示唆された。また治療に対する反応性は血小板減少単独では比較的良いものの、貧血を伴う例では予後が著しく悪いことが明らかになった。いっぽう治療によって血小板数が正常値にまで回復したにも関わらず止血異常の持続する例があることを明示し、その原因の一つに血小板凝集能の低下が存在することを明らかにした。さらに血清中に血小板凝集能を抑制する液性因子が存在することが示唆された。

第 3 章

猫伝染性腹膜炎(FIP)の病態における血小板の関与

序

猫伝染性腹膜炎(Feline Infectious Peritonitis; FIP)はコロナウイルスの感染により引き起こされ、全身性の血管炎を主徴とする慢性・進行性の伝染性疾患である。本疾患に対してこれまでのところ有効な治療法は確立しておらず、副腎皮質ステロイドや免疫抑制剤などの投与により一時的な寛解が得られる場合があるにすぎず、多くの症例は1週間から数週間以内に死の転帰をとることとなる[14,31]。したがってFIPに対する有効な治療法の確立は世界中の臨床医に待ちまれている。

FIPの発症機序は複雑であるが、発症猫の腹腔浸出細胞からIL-1が放出されることにより腹水中のIL-1活性が増加すること[20]。血清および腹水中にIL-6活性の増加が見られること[22]などが報告され、これらの異常がFIPの病態に関与していることが明らかにされている[21,23,28]。一方FIPでは播種性血管内凝固症候群(DIC)が高率に併発すること[4,67]が示されている。さらに実験的にFIPウイルスを接種した猫において血小板凝集能が亢進すること[5,6]が明らかにされ、血小板凝集能の亢進が血管炎の病態の進行に関与していることが考えられている。そこで血小板凝集能を抑制することによりFIPの病

態を改善することの可能性について検討を行った。

トロンボキサン(Thromboxane; Tx)合成酵素阻害剤は血小板の強力な凝集惹起物質であるTxA₂の合成を抑制する薬剤で[30]、糸球体腎炎の犬に対し尿中蛋白量の低下および血清蛋白濃度の増加などの効果が認められている[24,25]。今回FIP罹患猫2例に対し、このTx合成酵素阻害剤である塩酸オザグレルを投与し経過観察を行いその効果を評価した。

症 例

症例1は10カ月齢、雌のベルシャ猫で腹部膨満と食欲不振を主訴に来院した。身体検査では腹水の貯留と貧血が認められ、血液検査では著しい好中球増多症(23380/ μ l)を伴う白血球増多症(34900/ μ l)が見られ、血小板数の減少(80×10^3 / μ l)と高蛋白血症(7.8g/dl)が認められた(図12)。またALT,AST,ビリルビン値の増加も見られた。血清蛋白の電気泳動では、ポリクローナルな高ガンマグロブリン血症が認められ、A/G比は0.36と低下していた。

血清学的検査ではFIPの抗体価は1:1600と陽性を示した。またFeLV抗原、抗FIV抗体はともに陰性であった。腹部X線検査では、腹水の著しい貯留が認められた(図13)。腹水の検査では色調は黄色で好中球およびマクロファージが多数認められた。以上のことよ

り、FIPと診断した。

本例に対しブレドニゾロン1mg/kgとTx合成酵素阻害剤（塩酸オザゲレル）を5mg/kgで1日2回併用投与した。投与2週間後には腹水の貯留は認められず（図14）、元気食欲も改善し体重も増加した。2カ月後の腹部X線像でも同様に腹水は完全に消失していた（図15）。また血清蛋白は治療前に7.8g/dl、A/G比0.36だったものが、2週間後にはTP7.0g/dl、A/G比は0.81となり、ポリクローナルな高 γ グロブリン血症は認められなくなった（図16）。また5週間後ではTPは7.4g/dl、A/G比0.9と2週間とほぼ同様であった。さらに白血球数は減少して正常化し、貧血の改善も見られた（表11）。FIPの抗体価は5週間後には1:400、4カ月後には1:100まで低下していた。この症例は1年間投薬を続けたのち、休薬しその後6カ月間は再発もなく元気に生存した。

症例2は7歳齢、去勢雄の日本猫で2、3日前からの腹部膨満を主訴に来院した。身体検査で腹水の貯留が認められ、血液検査では白血球数の増加(23100/ μ l)と高蛋白質血症(8.8g/dl)を示した（図17）。血清蛋白分画ではポリクローナルな高 γ グロブリン血症が認められ、A/G比は0.43と低値を示した。FIPの抗体価は1:800と陽性を示し、FeLV抗原および抗FIV抗体はどちらも陰性であった。腹部のX線検

査所見では著しい腹水の貯留が認められ（図18）、腹水の性状は黄色で粘稠性があり、TPは6.4g/dlであった。また腹水の蛋白分画は血清とほとんど同一のパターンを示した（図19）。以上の結果FIPと確定診断し、プレドニゾン2mg/kgで1日1回および塩酸オザゲレル10mg/kgで1日2回の投与を行った。投与12日目には腹水の貯留は認められなくなり、投与3週間後の腹部X線検査では腹水は完全に消失していた（図20）。

血清蛋白分画の推移では治療前はTPが9.4g/dl、A/G比が0.43とポリクローナルな高 γ グロブリン血症を示していたものが、7週間後にはTPが8.4g/dl、A/G比が0.76と改善が見られ、約6カ月後もこれと同様な所見で、いずれも高 γ グロブリン血症は認められなかった（図21）。

また体重は腹水の消失に伴って、7.2kgから6kg程度にまで減少し、この間元気食欲等の異常は認められなかった。TPは治療後2週間で正常値まで減少し、いっぽうA/G比は治療6週目で0.76まで改善した。白血球数の変動は治療前後では顕著ではないが4週後から徐々に減少を示した。

その後8か月間は腹水の再貯留は認められず、FIPの抗体価は1:400から1:6400で変動した。しかし、9か月目に上部気道炎に伴う鼻汁中に出血を認めるようになったため、塩酸オザゲレルの投与を

中止したところ、再度腹水は貯留し、11か月目に斃死した。

考 察

今回、自然発症した2例のFIP猫にトロンボキサン合成酵素阻害薬である塩酸オザゲレルを投与したところ食欲ならびに元気の改善がみられ、腹水の減少が認められた。また白血球数は減少し正常値に復し、さらに高 γ グロブリン血症の改善が認められた。このことは血小板凝集能を阻害したことにより、FIPの血管炎の進展を制御することが出来たためと考えられた。

FIPは免疫介在性の血管炎を主徴とする疾患として考えられ、今まではその治療法として免疫抑制量のステロイド剤や免疫抑制剤が考慮されてきた[14,31]。しかしわずかの例で一時的に症状を寛解させる場合があるに過ぎず、致死的な疾患であるとの認識は広く受け入れられてきた。

FIPにおいてはFIP virusがマクロファージ等に感染し[21,23,28]、感染した腹腔浸出細胞からIL-1が産生され[20]、腹水中に高い活性を認めるとともに、血清および腹水中のIL-6活性も高値を示すこと[22]が知られている。これらがFIPに見られる特徴的な血管炎や高 γ グロブリン血症に関連することが示されている。いっぽう、ヒトではマクロファージより産生されたIL-1によって血管内皮細胞から血

小板活性化因子(Platelet activating factor; PAF)が誘導されること[8]が知られている。PAFにより活性化した血小板からはセロトニン、ADP、ヒスタミンなどの生理活性物質が放出され、血管内皮の損傷や血管の透過性を亢進させることにより血管傷害を進展させると考えられている[2,8]。

今回、トロンボキサン合成酵素阻害剤の投与によりFIPの血管炎の進展が制御され症状を改善させたことはFIPの血管炎におけるIL-1および血小板の活性化のサイクルが阻害され炎症反応が抑制された結果と考えられた。またこのことはFIPが単なるウイルス感染症や免疫介在性の血管炎のみでなく、サイトカイン関連性の血管炎の側面も合わせ持つ疾患であり、このサイクルを制御することが本疾患の病態をコントロールするには重要なことを再認識する必要があるものと考えられた。また治療も抗ウイルス薬や免疫抑制剤などのみではなく、血管炎の進展に関与する因子に対する療法が考えられるべきものと思われた。

またトロンボキサン合成酵素阻害剤は血小板の凝集能を抑制するばかりではなく、微小血管の攣縮も阻害する[30]ため血管炎によって引き起こされた血流の阻害が改善したことも今回の症状の改善した理由の一つと考えられた。

以上のことから今後多くのFIPの症例に対して本剤を応用し、投与

量、投与方法および対象となるFIPの病態のステージなどについて更なる検討を加えることにより、より有効な治療法になりうる可能性があるものと考えられた。

総 括

以上のように本研究では第1章において犬の血小板凝集能の測定系の確立を試み各種濃度のADP、コラーゲンに対する血小板凝集パターンを明示し、血小板凝集能を評価する基準を明確にした。さらに犬糸状虫症や僧帽弁閉鎖不全症では血小板凝集能が亢進し、血栓が形成されやすい状態になっていることを明らかにした。そのため腎臓における微小血栓が腎障害の原因となり、高窒素血症が引き起こされる可能性が示された。またこれら疾患における血小板凝集能の亢進は抗血小板薬の投与によりコントロール可能なことが示唆された。

次に、第2章では血小板減少により止血異常が認められるITPの臨床病理学的検討を行い、成犬の雌のマルチーズ種に多く発症し、血小板減少に貧血が伴う例では予後が著しく悪いことを明らかにした。またITPの症例の中には治療によって血小板数が正常域まで回復したにも関わらず止血異常が持続する症例があることを明らかにし、その原因の一つとして血小板凝集能の低下が存在することを明示した。さらにこれら症例の血清中に血小板凝集能を抑制する液性因子が存在することが示唆された。

第3章では全身性の血管炎を主徴とするFIPにおいて血小板凝集能を抑制するトロンボキサン合成酵素阻害剤である塩酸オザグレルの投与によって、血管炎の症状を改善することができた。このことは血小板の凝集能を抑制し炎症の進展に関与するメディエーターの放

出を妨げることによって血管炎が改善されたことを示しているものと考えられた。

このように、犬において血小板凝集能の測定系を確立するとともに、犬、猫の循環器疾患、血液疾患および感染症において血小板機能が正常から逸脱していることを明確にした。またこれら疾患の病態の進展に血小板凝集能が関与することを示し、異常な血小板機能を是正することにより病態の改善する可能性を確認した。

謝 辞

稿を終えるに当たり本研究を遂行する上で甚大なるご指導、ご教授をいただいた東京大学大学院農学生命科学研究科、獣医内科学教室 長谷川篤彦教授、辻本 元助教授ならびに東京理科大学生命科学研究科 後飯塚 僚助教授、および多大なるご協力をいただいた東京大学獣医内科学教室の室員の皆様、東京大学ベテリナリーメデイカルセンター内科系診療科の皆様 に深謝致します。

参考文献

1. Balduino, C.L., Bertolino, G., Noris, P., Piovella, F., Sinigaglia, F., Bellotti, V., Samaden, A., Torti, M. and Mazzini, G. 1992. Defect of Platelet Aggregation and Adhesion Induced by Autoantibodies Against Platelet Glycoprotein IIIa. *Thromb Haemostas* 68, 208-213
2. Benveniste, J. and Chignard, M. 1985. A role for PAF-acether (platelet-activating factor) in platelet-dependent vascular disease? *Circulation* 72: 713-717
3. Bourdreaux, M.K., Dillon, A.R. and Spano, J.S. 1989. Enhanced platelet reactivity in heartworm-infected dogs. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1544-1547
4. Bourdreaux, M.K., Weiss, R.C., Cox, N. and Spano, J.S. 1989. Evaluation of antithrombin-III activity as a coindicator of disseminated intravascular coagulation in cats with induced feline infectious peritonitis virus infection. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1910-1913
5. Bourdreaux, M.K., Weiss, R.C., Toivio-Kinnucan, M., Cox, N. and Spano, J.S. 1990. Enhanced Platelet Reactivity in Cats Experimentally Infected with Feline Infectious Peritonitis Virus. *Vet. Pathol.* 27: 269-273
6. Bourdreaux, M.K., Weiss, R.C., Toivio-Kinnucan, M. and Spano, J.S. 1990. Potentiation of Platelet Responses In Vitro by Feline Infectious Peritonitis Virus. *Vet. Pathol.* 27: 261-268

7. Bourdreaux, M.K. 1996. Platelet and Coagulation, An Update. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 26: 1065-1087
8. Braquet, P., Hosford, D., Braquet, M., Bourgain, R. and Bussolino, F. 1989. Role of Cytokines and Platelet-Activating Factor in Microvascular Immune Injury. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 88: 88-100
9. Catalfamo, J.L. and Dodds, W.J. 1988. Hereditary and Acquired Thrombopathias. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 18: 185-193
10. Cattaneo, M., Akkawat, B., Lecchi, A., Cimminiello, C., Capitano, A.M. and Mannucci, P.M. 1991. Ticlopidine Selectively Inhibits Human Platelet Responses to Adenosine Diphosphate. *Thromb. Haemostas.* 66: 694-699
11. Clemmons, R.M. and Meyers, K.M. 1984. Acquisition and aggregation of canine blood platelets: Basic mechanisms of function and differences because of breed origin. *Am. J. Vet. Res.* 45: 137-144
12. Clemmons, R.M., Yamaguchi, R.A., Schaub, R.G., Fleming, J., Dorsey-Lee, M.R. and McDonald, T.L. 1986. Interaction between canine platelets and adult heartworms: Platelet recognition of heartworm surfaces. *Am. J. Vet. Res.* 47: 322-325

13. Cortelazzo, S., Viero, P., Casarotto, C., D'Emilio, A., Dini, E. and Barbui, T. 1984. Bleeding on patients with autoimmune thrombocytopenic purpura and normal platelet count. *Scand J Haematol.* 32, 403-410
14. Evermann, J.F., Henry, C.J. and Marks, S.L. 1995. Feline Infectious peritonitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206: 1130-1134
15. Ettinger, S.J. and Suiter, P.F. 1970. in *Canine Cardiology*. p215 W.B.Saunders Co., Philadelphia
16. Ettinger, S.J. 1989. Valvular Heart Disease. in *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 3rd. ed. pp1031-1050, W.B.Saunders Co., Philadelphia
17. Feingold, H.M., Pivacek, L.E., Melaragno, A.J. and Valeri, C.R. 1986. Coagulation assays and platelet aggregation patterns in human, baboon, and canine blood. *Am. J. Vet. Res.* 47: 2197-2199
18. Feldman, B.F., Handagama, P. and Lubberink, A.A.M.E. 1985. Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 187, 617-619
19. George, J.M. and Shattil, S.J. 1991. The Clinical Importance of Acquired Abnormalities of Platelet Function. *N. Engl. J. Med.* 324, 27-39

20. Goitsuka, R., Hirota, Y., Hasegawa A. and Tomoda I. 1987.
Release of Interleukin 1 from peritoneal Exudate Cells of Cats
with Feline Infectious Peritonitis. *Jpn. J. Vet. Sci.* 49: 811-818.
21. Goitsuka, R., Onda, C., Hirota, Y., Hasegawa A. and Tomoda, I.
1988. Feline Interleukin 1 Production Induced by Feline
Infectious Peritonitis Virus. *Jpn. J. Vet. Sci.* 50: 209-214
22. Goitsuka, R., Ohashi, T., Ono, K., Yasukawa, K., Koishibara, Y.,
Fukui, H., Ohsugi, Y. and Hasegawa, A. 1990. IL-6 Activity in
Feline Infectious Peritonitis. *J. Immunol.* 144: 2599-2603.
23. Goitsuka, R., Furusawa, S., Mizoguchi, M. and Hasegawa, A.
1991. Detection of Interleukin 1 in Ascites from Cats with Feline
Infectious Peritonitis. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 487-489.
24. Grauer, G.F., Frisbie, D.D., Longhofer, S.L. and Cooley, A.J. 1992.
Effect of a thromboxane synthetase inhibitor on established
immune complex glomerulonephritis in dogs. *Am.J.Vet.Res.* 53:
808-813.
25. Grauer, G.F., Frisbie, D.D., Snyder P.S., Dubielzig R.R. and
Panciera, D.L. 1992. Treatment of Membranoproliferative
Glomerulonephritis and Nephrotic Syndrome in Dog with a
Thromboxane Synthetase Inhibitor. *J. Vet. Int. Med.* 6: 77-81
26. Grindem, C.B., Breitschwerdt, E.B., Corbett, W.T. and Jans, H.E.
1991. Epidemiologic Survey of Thrombocytopenia in Dogs:
A Report on 987 Cases. *Vet. Clin. Pathol.* 20: 38-43

27. 長谷川篤彦, 井上順, 小川博之. 1978. 犬に見られた血小板減少性紫斑病. *実験動物* 27, 437-40
28. Hasegawa, T. and Hasegawa A. 1991. Interleukin 1 Alpha mRNA-Expressing Cells on the Local Inflammatory Response in Feline Infectious Peritonitis. *J. Vet. Med. Sci.* 53: 995-999.
29. Helenski, C.A. and Ross, J.N. 1987. Platelet Aggregation in Feline Cardiomyopathy. *J. Vet. Int. Med.* 1: 24-28
30. Hiraku, S., Taniguchi, K., Wakitani, K., Omawari, N., Kira, H., Miyamoto, T., Okegawa, T., Kawasaki, A., and Ujiiie, A. 1986. Pharmacological Studies on the TXA2 Synthetase Inhibitor (E)-3[p-(1H-Imidazol-1-Ylmethyl) phenyl]-2-Propenoic Acid (OKY-046). *Jpn. J. Pharmacol.* 41: 393-401
31. Hoskins, J.D. 1993. Coronavirus Infection in Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 23: 1-16
32. Jacobs, R.M., Murtaugh, R.J. and Fertel, R.H. 1986. Platelet Function in Experimentally Induced Pancreatitis in the Dog. *Thromb. Haemostas.* 55: 197-200
33. Jain, N.C. and Kono, C.S. 1980. The Platelet Factor-3 Test for Detection of Canine Antiplatelet Antibody. *Vet. Clin. Pathol.* 9: 10-14
34. Jans, H.E., Armstrong, P.J. and Price, G.S. 1990. Therapy of Immune Mediated Thrombocytopenia -A retrospective study of 15 dogs. *J. Vet. Int. Med.* 4: 4-7

35. Joshi, B.C. and Jain, N.C. 1976. Detection of Antiplatelet Antibody in Serum and on Megakaryocytes of Dogs with Autoimmune Thrombocytopenia. *Am. J. Vet. Res.* 37: 681-685
36. Jubelirer, S.J., Russell, F., Vaillancourt, R. and Deykin, D. 1980. Platelet Arachidonic Acid Metabolism and Platelet Function in Ten Patients With Chronic Myelogenous Leukemia. *Blood* 56: 728-731
37. Karpatkin, S. and Lackner, H.L. 1975. Association of Antiplatelet Antibody with Functional Platelet Disorders - Autoimmune Thrombocytopenic Purpura, Systemic Lupus Erythematosus and Thrombopathia. *Am. J. Med.* 59: 599-604
38. Keith, J.C., Rawlings, C.A. and Schaub, R.G. 1983. Treatment of Canine Dirofilaria immitis: Pulmonary Thromboembolism caused by Thiacetarsamide - Microscopic changes. *Am. J. Vet. Res.* 44: 1272-1277
39. Kristensen, A.T., Weiss, D.J. and Klausner J.S. 1994. Platelet Dysfunction Associated With Immune-Mediated Thrombocytopenia in dogs. *J. Vet. Int. Med.* 8: 323-327
40. Kristensen, A.T., Weiss, D.J. and Klausner J.S., Laber., J. and Christie, D.J. 1994. Comparison of microscopic and flow cytometric detection of platelet antibody in dogs suspected of having immune-mediated thrombocytopenia. *Am. J. Vet. Res.* 55: 1111-1114

41. Lackner, H. 1973. Haemostatic abnormalities associated with dysproteinuria. *Semin. Haematol.* 10: 125-133
42. Lewis D.C., Meyers, K.M., Callan, M.B., Bucheler, J. and Giger, U. 1995. Detection of platelet-bound and serum platelet-bindable antibodies for diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206: 47-52
43. Lewis, D.C., McVey, S., Shuman, W. and Muller, W.B. 1995. Development and characterization of a flow cytometric assay for detection of platelet-bound immunoglobulin G in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 56: 1555-1558
44. Lewis D.C. and Meyers, K.M. 1996. Canine Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *J. Vet. Int. Med.* 10: 207-218
45. Lewis D.C., Meyers, K.M. 1996. Studies of platelet-bound and serum platelet-bindable immunoglobulins in dogs with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Exp. Hematol.* 24: 696-701
46. McNeil, E.A., Oglivie, G.K., Fettman, M.J. and Salman, M.D. 1997. Platelet hyperfunction in dogs with Malignancies. *J. Vet. Int. Med.* 11: 178-182
47. McVey, D.S. and Shuman, W.S. 1989. Detection of Antiplatelet Immunoglobulin in Thrombocytopenic Dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 55: 101-111
48. Meyers, K. and Wardrop, K.J. 1991. Platelet and Coagulation. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 36: 87-150

49. Nishimura, J. et al. 1979. Abnormalities of Platelet Adenine Nucleotides in Patients with Myeloproliferative Disorder. *Thromb. Haemostas.* 41: 787-795
50. Nurden, A.T. and Caen, J.P. 1974. An Abnormal Platelet Glycoprotein Pattern in Three Cases of Glanzmann's Thromboasthenia. *Brit. J. Haematol.* 28: 253-260
51. Nurden, A.T. and Caen, J.P. 1975. Specific Roles for Platelet Surface Glycoproteins in Platelet Function. *Nature* 255: 720-722
52. Paletti, F.I., Capitanio, A. and Mannucci, P.M. 1976. Acquired Strage Pool Disease in Platelets During Disseminated Intravascular Coagulation. *Blood* 48: 511-515
53. Rackear, D., Feldman, B., Farver, T. and Lelong, L. 1988. The Effect of Three Different Dosages of Acetylsalicylic Acid on Canine Platelet Aggregation. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 24: 23-26
54. Rawlings, C.A., Losonsky, J.M., Schaub, R.G., Green, C.E. and Keith, J.C. 1983. Postadulicide Changes in *Dilofilaria immitis* - Infected Beagles. *Am. J. Vet. Res.* 44: 8-15
55. Rawlings, C.A., Keith, J.C., Losonsky, J.M. and McCall, J.M. 1984. An Aspirin-prednisolone combination to modify postadulicide lung disease in heartworm-infected dogs. *Am. J. Vet. Res.* 45: 2371-2375

56. Remuzzi, G. et.al. 1978. Altered platelets and Vascular Prostaglandin Generation in Platelets with Renal Failure and Prolonged Bleeding Time. *Thrombos. Res.* 13: 1007-1015
57. Ryo, R. and Yasunaga, K. 1976. Studies on Platelet Functions of Patients with Thrombasthenia. -With Special Reference to the Effects of Prostaglandin E2 on Platelet Aggregation and Serotonin Release-. *Jpn. J. Med.* 15: 229-234
58. Ryu, T., Davis, J.M. and Schwartz, K.A. 1990. Dose-dependent platelet stimulation and inhibition induced by anti-PIA1 IgG. *J. Lab. Clin. Med.* 116: 91-99
59. Schaub, R.G., Keith, J.C. and Rawlings, C.A. 1983. Effect of Acetylsalicylic acid on vascular damage and myointimal proliferation in canine pulmonary arteries subjected to chronic injury by *Dirofilaria immitis*. *Am. J. Vet. Res.* 44: 449-454
60. Schermerhorn, T., Barr, S.C., Stoffregen, D.A., Koren-Roth, Y. and Erb, H.N. 1994. Whole-blood platelet aggregation, buccal mucosa bleeding time, and serum cephalotin concentration in dogs receiving a presurgical antibiotic protocol. *Am. J. Vet. Res.* 55: 1602-1607
61. Shebani, O.I. and Jain, N.C. 1989. Mechanisms of platelet destruction in immune-mediated thrombocytopenia: in vitro studies with canine platelets exposed to heterologous and isologous antiplatelet antibodies. *Research in Veterinary Science*, 47: 288-293

62. Stachurska, J., Lopaciuk, S., Gerdin, B., Saldeen, T., Koroscik, A. and Kopec, M. 1979. Effects of proteolytic degradation products of human fibrinogen and of human factor VIII on platelet aggregation and vascular permeability. *Thromb. Res.* 15: 663-672
63. Thorsen, L.I., Brosstad, F., Gogstad, G., Sletten, K. and Solum, N.O. 1986. Competition between fibrinogen with its degradation products for interaction with platelet-fibrinogen receptor. *Thromb. Res.* 44: 611-623
64. Ware, W.A. 1992. Management of Congestive Heart Failure. *in* Essentials of Small Animal Internal Medicine, edited by Nelson, R.W. and Couto, C.G. pp42-58, Mosby-Year Book, Inc., St. Louis
65. Ware, W.A. 1992. Acquired Valvular and Endocardial Disease. *in* Essentials of Small Animal Internal Medicine, edited by Nelson, R.W. and Couto, C.G. pp107-113, Mosby-Year Book, Inc., St. Louis
66. 亘敏広, 竹田浩一, 後飯塚僚, 長谷川篤彦. 1993. 犬糸状虫感染犬における血小板凝集能. *日獣会誌* 46, 42-45
67. Weiss, R.C., Dodds, W.J. and Scott, F.W. 1980. Disseminated Intravascular Coagulation in Experimentally Induced Feline Infectious Peritonitis. *Am. J. Vet. Res.* 41: 663-671.
68. Williams, D.A. and Maggio-Price, L. 1984. Canine idiopathic thrombocytopenia: Clinical observations and long-term follow-up in 54 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185: 660-663

69. Willis, S.E., Jackson, M.L., Meric, S.M. and Rousseaux, C.G. 1989. Whole blood platelet aggregation in dogs with liver disease. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1893-1897
70. Yanabu, M., Suzuki, M., Soga, T., Sone, N., Nagata, H., Nomura, S., Kokawa, T. and Yasunaga, K. 1991. Influences of antiplatelet autoantibodies on platelet function in immune thrombocytopenic purpura. *Eur. J. Haematol.* 46: 101-106
71. Zucker, S. and Mielke, C.H. 1972. Classification of Thrombocytosis Based on Platelet Function Test-Correlation with Hemorrhagic and Thrombotic Complications. *J. Lab. Clin. Med.* 80: 385-394

表 1 1990 年中国主要城市人均 GDP 与人均 GDP 增长率

城市	人均 GDP (元)	人均 GDP 增长率 (%)
北京	1000	15.0
上海	1200	12.0
天津	800	18.0
广州	900	14.0
深圳	1500	25.0
珠海	1100	20.0
香港	2000	8.0
台北	1800	6.0

图 表

表1 健常犬およびミクロフィラリア陽性犬における
2.5 μ M ADPに対する血小板凝集能

No.	最大凝集率	3分後凝集率
mf陰性犬		
1	15%	0%
2	15%	0%
3	22%	0%
4	27%	0%
mf陽性犬		
5	41%	39%
6	67%	64%
7	71%	67%

表2 僧帽弁閉鎖不全症 (MR) の症例における血小板凝集能

No.	NYHA 機能分類	ADP2.5 μ M 最大凝集率(%)	ADP2.5 μ M 凝集パターン	ADP10 μ M 最大凝集率(%)	ADP10 μ M 凝集パターン	評価*	BUN (mg/dl)
1	I	25	一次凝集	46	一部解離	+	10
2	I	81	二次凝集	82	二次凝集	+	14
3	II	26	一次凝集	54	一部解離	N	
4	II	82	二次凝集	80	二次凝集	+	25
5	II	48	一次~二次	81	二次凝集	+	29
6	II	19	一次凝集	34	一部解離	+	8
7	II	26	一次凝集	75	二次凝集	+	64
8	II	83	二次凝集	74	二次凝集	N	13
9	II	22	一次凝集	49	一部解離	+	
10	II	24	一次凝集	40	二次凝集	N	38
11	II	21	解離せず	71	二次凝集	N	27
12	II	21	一次凝集	73	二次凝集	N	46
13	II	14	一次凝集	37	一部解離	+	47
14	III	36	一次凝集	64	二次凝集	N	18
15	III	9	一次凝集	16	一次凝集	+	20
16	III	20	一次凝集	40	一部解離	+	47
17	III	8	なし	27	一次凝集	+	52
18	III	33	一次凝集	83	二次凝集	N	54
19	III	30	一次凝集	60	二次凝集	N	
20	III	16	一次凝集	32	一部解離	+	90
21	III	15	なし	19	一次凝集	+	25
22	III	29	一次凝集	61	一部解離	+	60
23	IV	52	一次~二次	64	二次凝集	+	50
24	IV	12	一次凝集	16	一次凝集	+	160
25	IV	77	一次~二次	81	二次凝集	+	90
26	IV	70	一次~二次	84	二次凝集	+	56
27	IV	44	解離せず	46	二次凝集	+	62
28	IV	15	なし	12	なし	+	105
29	IV	16	一次凝集	38	一部解離	+	86

*: +; 亢進, N; 正常, -; やや低下, ++; 低下

表3 MR症例における血小板凝集能

NYHA分類	血小板凝集能			
	正常	亢進	やや低下	低下
I or II (n=13)	6 (1)	4	3	0
III or IV (n=16)	4 (2)	4 (4)	3 (2)	5 (3)
合 計	10 (3)	8 (4)	6 (2)	5 (3)

()は高窒素血症を伴うもの

表4 ITP症例の臨床症状

臨床症状	頭数 (%)	Williams et.al.
紫斑・点状出血	16 (84)	44 (81)
下血	4 (21)	41 (76)
歯肉出血	2 (11)	—
前眼房出血	1 (5)	4 (7)
採血後の止血遅延	3 (16)	—
吐血	1 (5)	17 (31)
鼻出血	—	15 (28)
貧血	8 (42)	—
食欲不振	12 (63)	—
元氣消失	10 (53)	19 (35)

表5 ITP症例のプロフィール、臨床検査所見および予後

No.	品 種	年齢 (歳)	性別	体重 (kg)	紫斑	貧血	血小板数 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	抗血小板抗体 (間接凝集法)	他の止血異常	Ht (%)	直接クーームス	予後 生存日数
1	マルチーズ	6	♂	3.3	+	-	45	ND	採血後紫斑	30	陰性	3年
2	マルチーズ	3	♂	4.0	+	-	18	陰性	なし	51	陰性	1年+
3	マルチーズ	3	♂	3.2	+	-	0	陰性	歯肉出血	54	陰性	1年+
4	ミニチュアプードル	9	♀	9.7	+	-	13	陽性	採血後紫斑	39	陰性	2年+
5	マルチーズ	9M*	♀	4.8	+	-	50	陰性	下血	34	陽性	4年+
6	マルチーズ	8	♀	2.3	-	-	22	ND	下血	29	ND	6日
7	マルチーズ	5	♀	4.8	+	+	5	陽性	下血	15	陰性	17日
8	シェットランド シープドッグ	13	♀	15.5	+	-	16	擬陽性	なし	33	陰性	4日
9	ミニチュアプードル	10	♀	4.5	+	-	0	擬陽性	なし	39	陽性	84日
10	マルチーズ	5	♀	4.2	+	+	24	擬陽性	なし	14	陰性	25日
11	マルチーズ	7	♀	2.8	+	+	35	ND	前眼房出血	8	ND	2日
12	キャバリアキング チャールズスパンニエル	6	♀	11.5	-	-	19	擬陽性	なし	44	陰性	2年+
13	マルチーズ	9	♀	3.6	+	-	10	擬陽性	なし	30	ND	1年+
14	マルチーズ	7	♀	3.2	+	+	4	陽性	なし	15	陽性	3日
15	マルチーズ	>10	♀	4.2	-	+	12	ND	歯肉出血	21	ND	15日
16	マルチーズ	11M	♀	2.6	+	+	20	陽性	なし	10	陽性	9年+
17	ミニチュアプードル	6	♀	3.7	+	-	16	ND	なし	34	ND	2年+
18	マルチーズ	9	♀	1.5	+	+	0	ND	吐血	17	ND	3日
19	マルチーズ	5	♀	2.4	+	+	2	陰性	下血	23	陰性	55日

*M: 月齢 **+: 生存中

表6 ITP症例の予後

	1カ月生存率	3カ月生存率	1年生存率
血小板減少のみ (n=11)	9/11	8/11	8/11
貧血を伴うもの (n=8)	2/8	1/8	1/8

血小板数			
>10 x 10 ³ /μl (n=12)	7/12	7/12	7/12
≤10 x 10 ³ /μl (n=7)	4/7	2/7	2/7
合 計	11/19	9/19	9/19

表7 ITP症例における自己抗体の検出

	陽性	擬陽性	陰性	実施せず
抗血小板抗体 (間接凝集法)	4	5	4	6
紫斑 +	4	3	4	4
紫斑 -	0	1	0	2
直接クームス試験	4		9	6
貧血 +	2		3	3
貧血 -	2		6	3

		抗血小板抗体			
		陽性	擬陽性	陰性	実施せず
直接クームス	陽性	2	1	1	
	陰性	2	3	3	1
	実施せず		1		5

表8. 症例のプロファイル、臨床症状および止血凝固スクリーニング検査

No.	品 種	年 齢	性 別	体 重(kg)	止 血 異 常 所 見	血 小 板 数 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	PT (sec)	APTT (sec)	抗 血 小 板 抗 体 (間 接 凝 集 法)
1	マルチーズ	6	♂	3.3	採血後の皮下出血	340	ND*	ND	ND
2	マルチーズ	3	♂	4.0	なし	207	6.9	21.1	—
3	マルチーズ	3	♂	3.2	採血後の紫斑	375	8.1	18.7	—
4	ミニチュア プードル	10	♀	9.7	突然の紫斑 (自然消失する)	404	ND	ND	++
5	マルチーズ	1	♀	4.8	なし	230	5.9	25.5	—

*ND:実施せず

表9 ITP症例における血小板凝集能

症例No.	血小板数 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	凝集パターン (ADP 10 μM)	最大凝集率(%)		
			10 μM	5 μM	2.5 μM
1	340	一次凝集のみ	23	7	6
2	207	一次凝集のみ	12	4	3
3	340	二次凝集	66	47	35
4	371	一次凝集のみ	16	9	9
5	275	一次凝集のみ	10	2	0

対照1	ND*	二次凝集	80	54	21
対照2	ND	二次凝集	89	37	15
対照3	ND	二次凝集	67	40	15

*: 未測定

表10 ITP症例犬血清の血小板凝集能
に及ぼす影響

No.	対照犬	ADP10 μ M添加時の最大凝集率(%)		
		添加血清の希釈倍率		
		1:10	1:50	1:250
1	91	ND	85 (93.4)	78 (85.7)
2	91	76 (83.5)	79 (86.8)	91 (100)

()は対照に対する凝集比率(%)

表11 FIP症例における塩酸オザゲレル治療後の血液学的推移

	Case 1			Case 2		
	Before	2 weeks*	5 weeks	Before	2 weeks	7 weeks
RBC (x10 ⁶ /μl)	4.20	6.70	9.21	10.24	7.07	9.03
PCV (%)	19	29	34	41	31	39
Hb (g/dl)	6.6	9.9	11.8	13.3	9.8	12.5
WBC (/μl)	34900	17800	16800	23100	23100	16700
Neutrophil (/μl)	23380	9080	8740			
Platelet (x10 ³ /μl)	80	120	534			
TP (g/dl)	7.8	7.0	7.4	8.8	8.1	8.4
A/G	0.36	0.81	0.9	0.48		0.76
ALT (IU)	410	363	62	30		
AST (IU)	130	87	17	44		
BUN (mg/dl)	21.2			21.4	18.1	14.4
Creatinine (mg/dl)	0.9			1.8	0.9	1.2

* weeks after initiation of the treatment with ozagrel hydrochloride



図1 健康犬における血小板凝集能

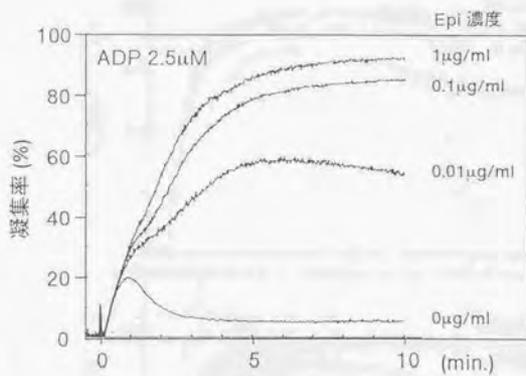


図2 エピネフリン添加によるADP凝集に及ぼす影響

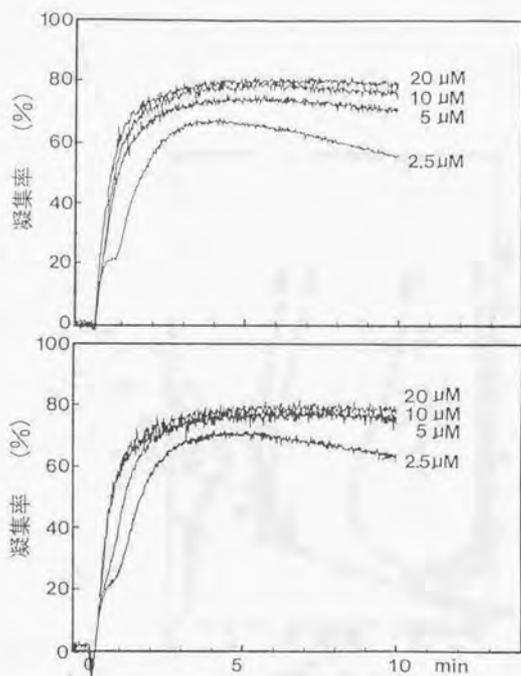


図3 ミクロフィラリア陽性犬における
血小板のADP凝集

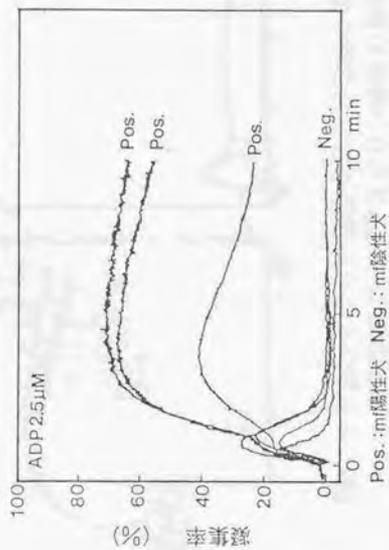


図4 健常犬およびマイクロフィラリア陽性犬における2.5 μ M ADPに対する血小板凝集

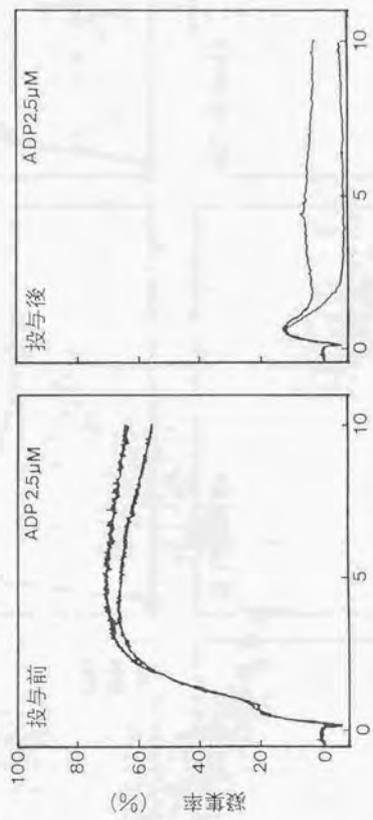


図5 ミクロフィラリア陽性犬における血小板のADP凝集に及ぼすアスピリン投与の影響

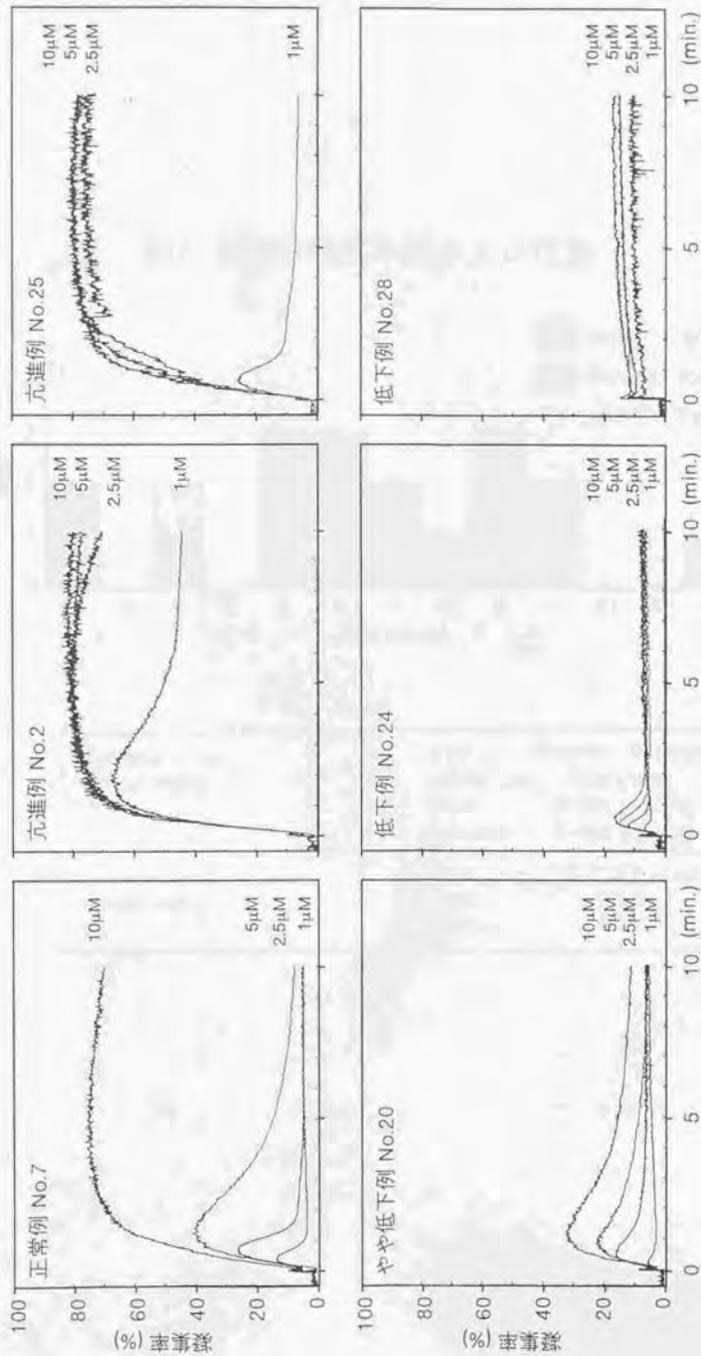
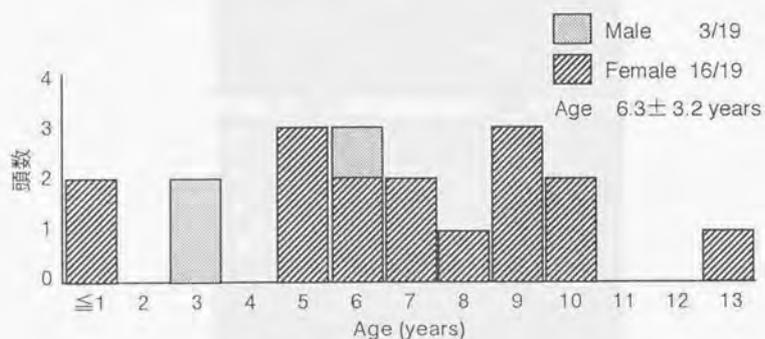


図6 MR症例におけるADPに対する血小板凝集能の評価

図7 ITPの発症年齢および性別



Williams et. al. (n=54, 1984)	Age	7month - 14 years
	mean	6.25 years
	Male	17/54 (31.5%)
	Female	37/54 (68.5%)
Grindem et.al. (n=48, 1991)	Age	7.0 ± 3.7 years
	Male	33 %
	Female	67 %



図8 ITPに認められた止血異常所見

a: 腹部に認められた点状出血

b: 内股部の紫斑

c: 前眼房の出血



図9 採血後に認められた腹部の出血斑 (No.1)

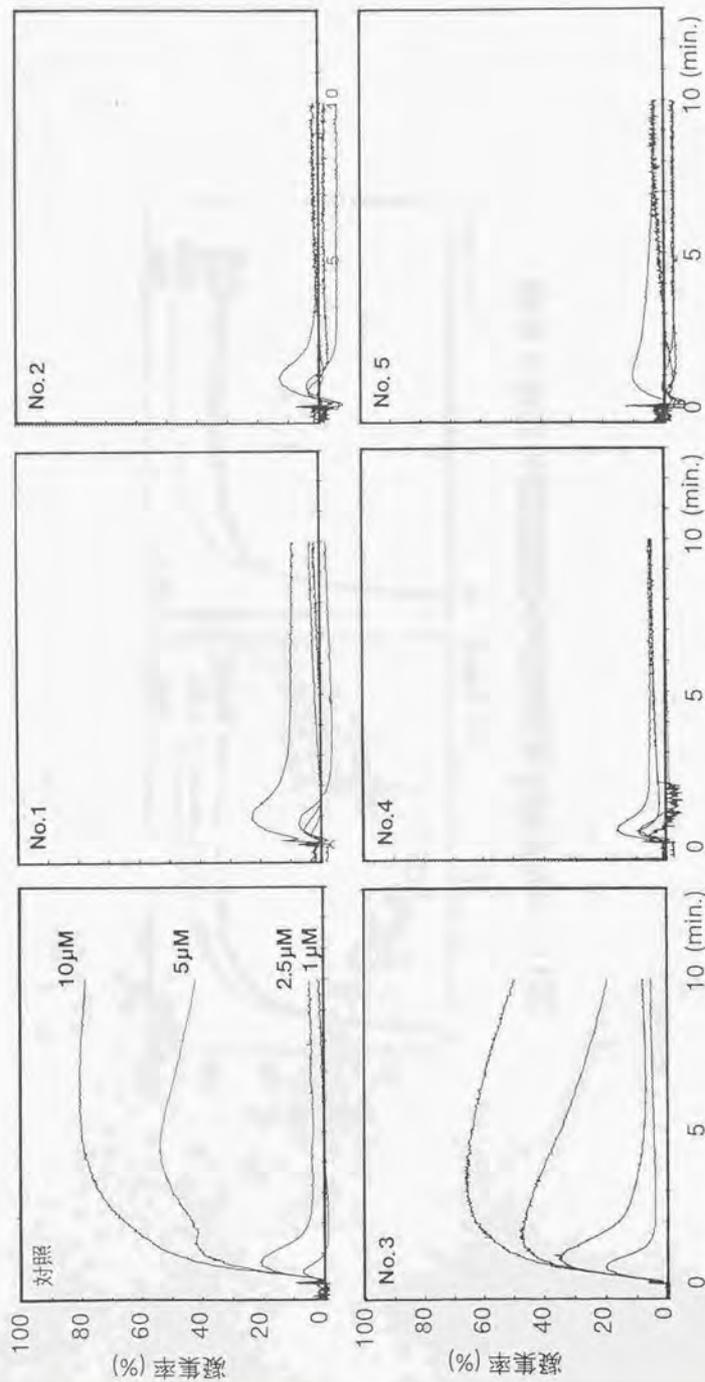


図10 ITP症例におけるADPに対する血小板凝集能

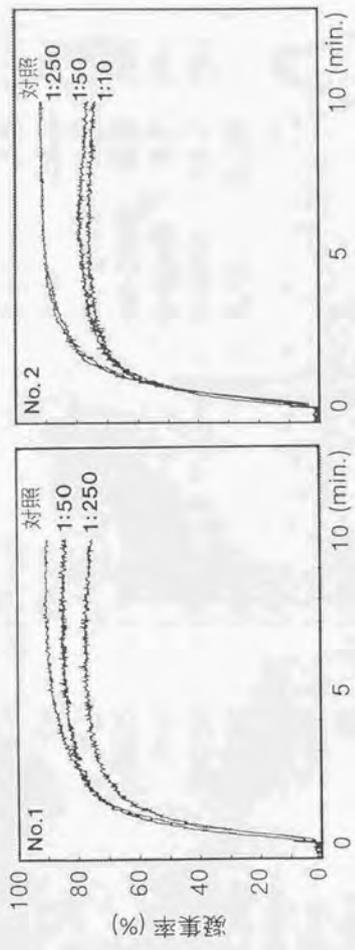
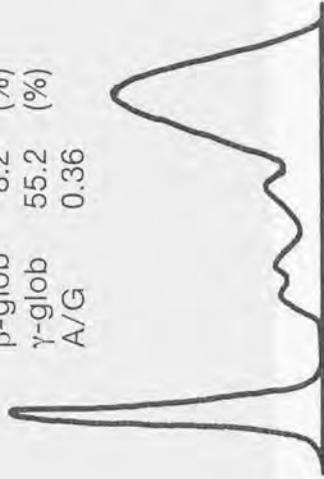


図11 ITP症例犬血清の血小板凝集能に及ぼす影響

RBC	4.2	(x10 ⁶ /μl)	TP	7.8	(g/dl)
Ht	19	(%)	Alb	26.3	(%)
Hb	6.6	(g/dl)	α1-glob	4.5	(%)
WBC	34900	(/μl)	α2-glob	5.9	(%)
Band	350	(/μl)	β-glob	8.2	(%)
Seg	23030	(/μl)	γ-glob	55.2	(%)
Lym	9420	(/μl)	A/G	0.36	
Mon	1050	(/μl)			
Eos	1050	(/μl)			
Platelet	80	(x10 ³ /μl)			
ALT	410	(IU)			
AST	130	(IU)			
T.Bili	2.4	(mg/dl)			



anti-FIPV Ab titer 1:1600

図 12 症例 1 における初診時の血液検査所見

Case 1 Before treatment

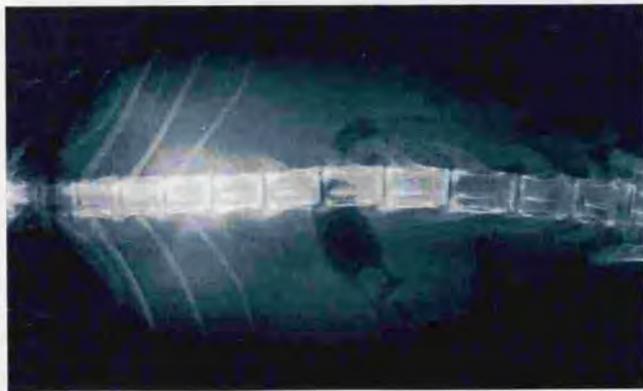


図 13 初診時腹部 X 線所見 (症例 1)
著明な腹水貯留が認められる

Case 1 After 2weeks



図 14 症例 1 における塩酸オザゲレル投与 2 週間後の腹部 X 線像
腹水は減少し、腹腔内臓器の陰影が明瞭となる

Case 1 After 2months

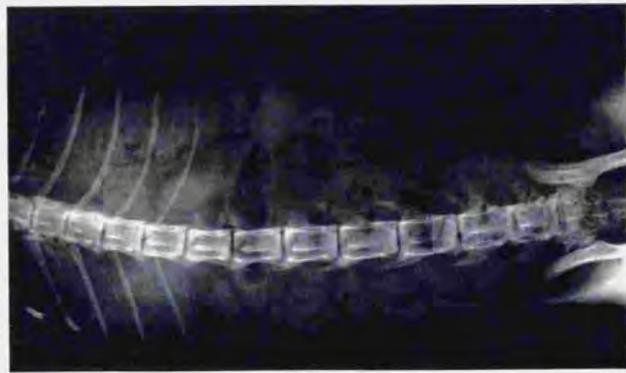


図15 症例1における塩酸オザゲレル投与2カ月後の腹部X線像
腹水は完全に消失している



図 16 症例 1 における塩酸オザゲレル投与後の血清蛋白分画の推移

治療前に著明に認められたポリクローナルな高ガンマグロブリン血症は 2 週間以後では認められなくなり、A/G 比も正常化した



図 17 症例 2 における初診時の血液検査所見

Case2 Before Treatment

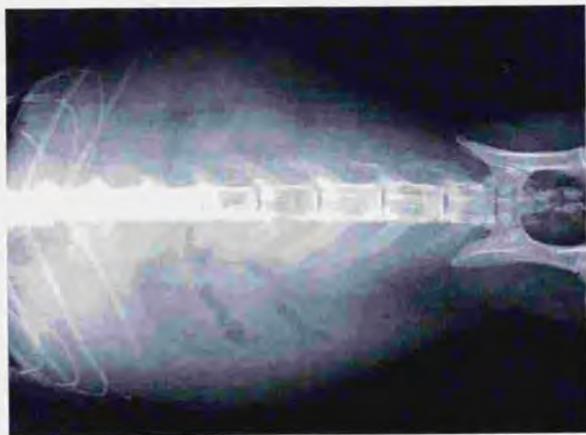


図 18 症例 2 における初診時腹部 X 線像
著しい腹水の貯留が認められる

General:

Yellow in color, Sticky

Protein concentration: 6.4 g/dl



Alb.	29.6%
α-glob.	18.9%
β-glob.	6.8%
γ-glob.	44.7%
A/G:	0.42

図 19 症例 2 における腹水の性状

Case 2 After 3weeks

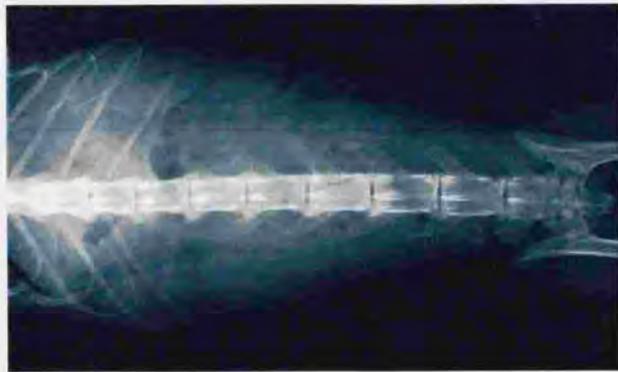


図 20 症例 2 における塩酸オザゲレル投与 3 週間後の腹部 X 線像
腹水は消失し、腹腔内臓器の陰影が明瞭に観察される



図 21 症例 2 における塩酸オザグレレル投与後の血清蛋白分画の推移
 治療前に認められた高ガンマグロブリン血症を伴う高蛋白血症は治療後に正常化した



