

## 新しいパラメーターを用いた血小板機能検査

—血小板凝集能に及ぼす喫煙の影響—

杉山 壮 岩本俊彦 深谷修一  
高崎 優

東京医科大学老年病学教室

**【要旨】** 血小板機能の新しいパラメーターである GC タイプ, PATI を用いて, 喫煙の血小板凝集能に及ぼす影響を検討し, 本パラメーターの有用性を血小板の最大凝集率 (MPA) と比較した。喫煙者群は高齢者 (n=12 例) と若年者 (n=9 例) に細分し, 喫煙前および 10 分後に, また非喫煙者群では 15 分間隔で 2 度採血し, 血小板の ADP による凝集から GC タイプ, PATI, MPA を測定した。高齢喫煙者群の GC タイプは喫煙後, 有意な上昇を示したが, 若年喫煙者群, 非喫煙者群ではいずれのパラメーターにも変化はみられなかった。各パラメーターの変化率のうち, 高齢喫煙者群の GC タイプは若年喫煙者群, 非喫煙者群より有意に高かった。以上の結果より高齢者では喫煙によって血小板の ADP による凝集は亢進する可能性が示され, また血小板凝集能の評価には 3 つのパラメーターのうち GC タイプが鋭敏であることが示された。

### 緒 言

喫煙は動脈硬化性疾患および血栓性疾患の危険因子とされ, ちなみに喫煙者の脳卒中発症率は非喫煙者の 1.5 倍ないし 2 倍と報告されている<sup>1)~3)</sup>。その発症は喫煙量に相関し<sup>1)2)</sup>, 禁煙で脳卒中のリスクが低下すること<sup>4)</sup>, また頸動脈のアテローム硬化の増悪も遅延すること<sup>5)</sup> などから, 喫煙の脳卒中に及ぼす直接の影響が想定される。特に喫煙と脳梗塞との関係は, 血小板を中心として検討され, 喫煙が血小板の活性化を高めることで説明されている<sup>6)~10)</sup>。すなわち喫煙前後で ADP 凝集を検討した成績の多くは, 凝集能が喫煙後に亢進することを示した<sup>6)~10)</sup>。しかし不変<sup>11)~13)</sup> あるいは低下<sup>14)</sup> を示す報告もあり, また多くは血小板凝集能の指標として最大凝集率 (MPA) を用いたものであった。最近, 血小板凝集能の評価に Grading Curve (GC) タイプや血小板凝集能閾値指数 Platelet Aggregatory Threshold Index (PATI) が用いられ, それらは有用な血小板凝集能の指標になりうると考えられている<sup>15)</sup>。そこで本研究では MPA とともに血小板凝集能の新しいパラメーターである GC タイプ, PATI を用いて喫

煙の影響やこれらの有用性を検討した。

### 対象と方法

対象は喫煙を常習するボランティア 21 例 (年齢 28 歳-79 歳, 男 17 例) で, これを年齢によって高齢者 (12 例) と若年者 (9 例) に分類した (表 1)。

表 1 各群の背景因子

	喫煙者群		非喫煙者群
	高齢者	若年者	
例数	12例	9例	16例
男/女	10/2	7/2	11/5
年齢 (歳)	64-79	28-50	56-84
40歳未満	一例	5例	一例
40歳以上-60歳未満	一例	4例	2例
60歳以上	12例	一例	14例
血管性危険因子			
高血圧	5例	一例	8例
糖尿病	1例	一例	1例
高脂血症	2例	1例	4例
臨床診断			
健常	1例	9例	一例
脳血管障害	5例	一例	6例
その他	6例	1例	10例

1997 年 1 月 29 日受付, 1997 年 2 月 18 日受理

キーワード: 血小板凝集能, Grading curve, 喫煙負荷試験。

(別刷請求先: 新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学病院老年病学教室 杉山壮)

表2 喫煙者群の煙草の種類

煙草の銘柄	各成分含量		喫煙者群 (n=21)
	ニコチン量 (mg)	タール量 (mg)	
マイルドセブン系	0.6-1.1	3-12	7
キャスター系	0.6-0.8	3-8	5
ケントマイルド	0.9	10	2
キャビン	0.6-1.2	2-12	1
フロンティア系	0.1-0.3	1-3	1
ラク系	0.7-1.2	4-12	1
バンテージ	0.7	6-9	1
ピースライト	1.1	10-24	1
ホープ	1.6-1.7	9-20	1
セブンスター	1.0-1.4	11-15	1

検査当日は喫煙を控えさせ、最初のタバコ1本を吸う直前と喫煙10分後に肘静脈より採血し、血小板凝集能を測定した。喫煙条件は、各自随意的銘柄のタバコとし、随意的吸い方で1本喫煙した(表2)。コントロールは喫煙の既往のないボランティア16例(年齢56歳-84歳, 男11例)で、早朝に15分間隔で採血した。なお抗血小板薬を服用中のものは対象から除外した。

採血は早朝に行い、血液4.5mlを直ちに3.8%クエン酸ナトリウム(0.5ml)添加試験管容器に移して軽く混和後、室温に放置して2時間以内に血小板凝集能を測定した。測定は多血小板血漿に凝集惹起物質のADPを添加する吸光度法で、測定機器はAggregometer PAM-8T(メバニクス社製、東京)を用いた。すなわち卓上遠心器(Kokusan H-108N, 東京)にて1000rpm10分で得られた多血小板血漿にADPを添加し、3000rpm10分で得られた乏血小板血漿を対照として7分間、経時的に吸光度の変化を観察した。ADP(Sigma社, St.Louis, MO)は4濃度(終濃度0.5 $\mu$ mol/l, 1.0 $\mu$ mol/l, 2.0 $\mu$ mol/l, 4.0 $\mu$ mol/l)に調整され、GCは4つの凝集曲線より得られた各濃度5分値の凝集率を、あらかじめ設定されているADP各濃度の縦軸上にプロットして結んだカーブ(図2の症例を参照)で、カーブはそのタイプより便宜上6段階(+III, +II, +I, 0, -I, -II)に分類した。これらの分類で、+III, +IIは凝集能の異常亢進, +I, 0は普通, -I, -IIは抑制と判定される。さらにこのカーブ上より最大凝集率の50%に相当するADP濃度が求められ、これをPATIとした。したがって凝集能亢進例でGCタイプは高い数字を示し、一方PATIは低値を示すこと

になる。凝集能の指標としてMPA, GCタイプ, PATIを用い、前値, 後値および喫煙前後の各パラメーターの変化率(1-後値/前値)を喫煙群と非喫煙群とで比較した。

これらの分析にはウイルコクソン検定, 対応のあるt検定, 対応のないt検定, クラスカル-ワリス検定, 分散分析を用い、統計学的評価は $P < 0.05$ を以て有意とした。

## 成 績

### 1. 各群の背景因子

各群の背景因子を表1に示す。高齢喫煙者群の12例中1例のみが健常者と考えられ、他は何らかの疾患を有し、脳血管障害慢性期例が5例含まれていた。本群の2例は一日40本のヘビースモーカーで、他は一日10本-20本の喫煙者であった。いずれも20歳代からの喫煙歴を有していた。若年喫煙者の多くは健常で、1例は高脂血症・脂肪肝例であった。一方非喫煙者群でも脳血管障害が6例にみられた。

### 2. 各群におけるGCタイプ, PATI, MPAの変動

各パラメーターの値は表3に示してある。前値は喫煙者群高齢者例, 若年者例及び非喫煙者群の3群間で有意差を認めなかった(表3)。喫煙後の後値も3群間に差はみられなかったが、高齢喫煙者群ではGCタイプが前値に比して有意に上昇し、その変化率は若年喫煙者群, 非喫煙者群より高かった。一方、PATIも上昇の傾向を示したが、変化率に差はなく、MPAには喫煙前後の変化もみられなかった。

### 3. 喫煙者群, 非喫煙者群におけるGCタイプの変化

喫煙によってGCタイプが上昇した例は図1で右肩上りの線としてあらわしてあるが、10例に見られた。逆に低下例は2例あり、変化のみられなかった被検者は9例であった(図1)。一方非喫煙者群でGCタイプ変動例は4例みられ、上昇2例, 低下2例で一定した傾向は見られなかった。GCタイプは順位尺度であるが、参考としてその平均値を前後で比較すると、喫煙によってGCは有意な上昇を示した。

### 4. 喫煙者群代表症例

症例は77歳, 男性で、40歳頃より高血圧にて治療中、70歳になって間歇性跛行を訴え、75歳の時、閉塞性動脈硬化症(両側大腿動脈閉塞)と診断された。喫煙は20歳より紙巻タバコを毎日約20本吸い、76

表 3 喫煙前後における各群のGrading Curve(GC) タイプ, Platelet Aggregatory Threshold Index (PATI)および最大凝集率の変動と変化率

	喫煙者群		非喫煙者群	Pvalue
	高齢者例	若年者例		
例数	12	9	16	
前値				
GCタイプ (median)	0	+1	+1	NS
PATI ( $\mu\text{mol/l}$ )	1.471 $\pm$ 0.222	1.203 $\pm$ 0.247	1.183 $\pm$ 0.821	NS
最大凝集率 (%)	72.8 $\pm$ 16.9	73.9 $\pm$ 10.1	76.1 $\pm$ 14.0	NS
後値				
GCタイプ (median)	+1	+1	+1	NS
PATI ( $\mu\text{mol/l}$ )	1.057 $\pm$ 0.668	1.142 $\pm$ 0.618	1.087 $\pm$ 0.760	NS
最大凝集率 (%)	73.1 $\pm$ 14.2	77.7 $\pm$ 11.0	76.4 $\pm$ 13.0	NS
変化率				
GCタイプ	0.27 $\pm$ 0.31	* 0.04 $\pm$ 0.17	0 $\pm$ 0.13 $\dagger$	*P<0.05, $\dagger$ P<0.01 vs 高齢者
PATI	-0.15 $\pm$ 0.55	0.02 $\pm$ 0.33	-0.05 $\pm$ 0.24	NS
最大凝集率	0.02 $\pm$ 0.12	0.06 $\pm$ 0.13	0.01 $\pm$ 0.12	NS

(Wilcoxon signed-ranks test, Paired t-test, Kruskal-Wallis test, ANOVA)

(m $\pm$ SD)

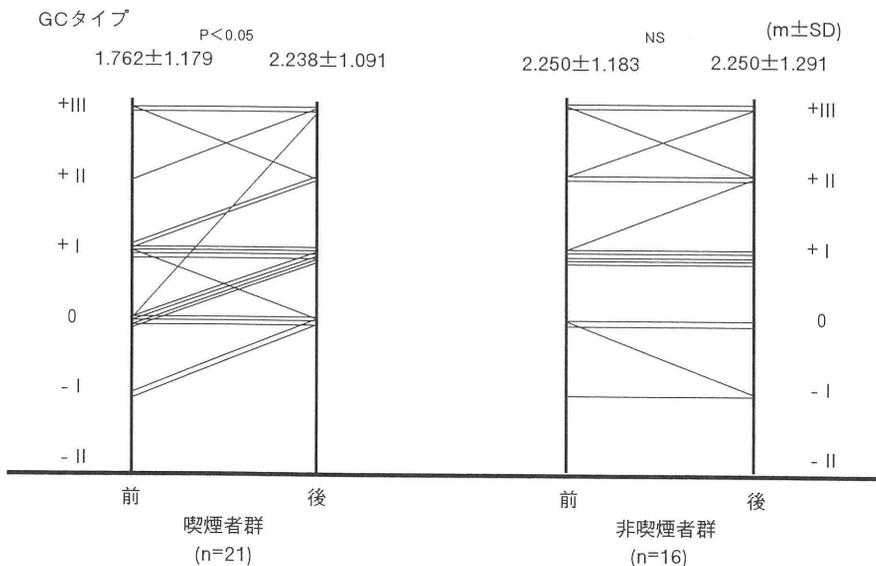


図 1 喫煙前後における各群の Grading Curve (GC) タイプの変化

歳時、一過性脳虚血発作（右内頸動脈閉塞による一過性右片麻痺）があっても禁煙できずにいた。抗血小板薬は未だ服用していなかった。本人より承諾を得てキャストスーパーマイルド 1 本の喫煙前後で血小板凝集能を測定したところ（図 2）、GC タイプは 0 から +III に変化した。

考 案

まず初めに本研究では喫煙者群のなかに血栓性疾

患を有する例も含まれていたが、呈示した症例のごとく罹病後も禁煙できず、本検査に賛同した者であった。本研究ではこのように有病者、高齢者も対象に含まれていたため、今までの報告が健常若年者を対象とし、喫煙負荷量は 1 本–3 本、中には 5 本であった<sup>6)–10)</sup> のに対して随意的銘柄で 1 本とした。また喫煙 15 分には血小板凝集能も前値に復するという報告<sup>6)</sup> もみられたため、喫煙の急性効果をみるために採血は喫煙後 10 分とした。一方コントロールは、

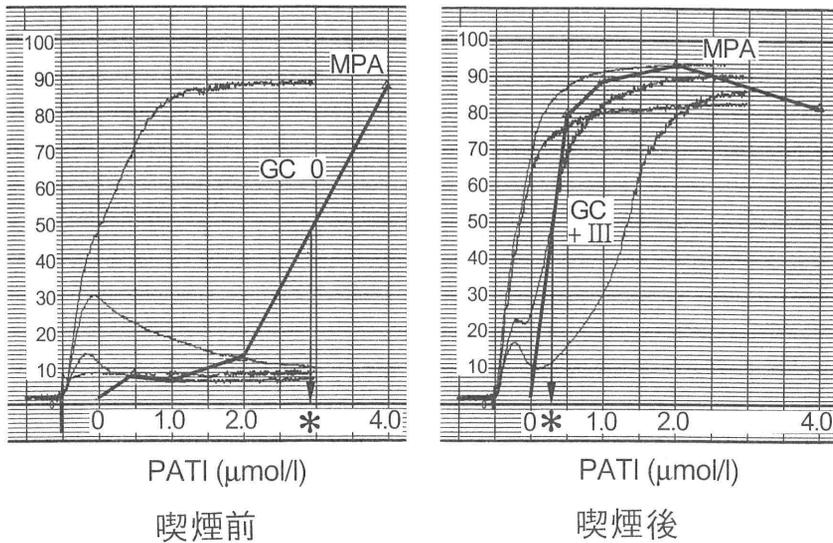


図2 示された症例における喫煙前後の血小板凝集能成績

GC (Grading Curve) は太線で示され、\*印の ADP 濃度が Platelet Aggregatory Threshold Index (PATI) に相当する。

2回採血の影響をみるために喫煙者群の採血間隔とほぼ同様に15分として喫煙者群と比較した。

まず各パラメーターの前値には3群間で差を認めなかった。血小板凝集能は非喫煙者で亢進しているという報告<sup>16)</sup>や喫煙者で亢進を示唆する所見が得られたとする報告<sup>17)</sup>、高トリグリセリド血症の喫煙者でのみ亢進した報告<sup>18)</sup>とまちまちである。また凝集能が加齢とともに亢進<sup>15)16)</sup>するともいわれているが、本研究では若年喫煙者群と高齢喫煙者群・非喫煙者群との間に有意差はみられず、baselineは同等と考えられた。

しかし喫煙後に高齢喫煙者群ではGCタイプが有意に上昇し、PATIも有意ではないが、低下傾向を示した。これを変化率として各群間で比較すると、GCタイプの変化率のみが高齢喫煙者群で若年喫煙者群、非喫煙者群より有意に高かった。この成績は高齢者では喫煙1本でADP凝集能が亢進することを示すと同時に、血小板凝集能の指標としてGCタイプがPATIやMPAより鋭敏である可能性を示唆していた。

このように高齢者の血小板凝集能が喫煙によって亢進する成績は他の報告<sup>9)~10)</sup>を裏づけるものであったが、その機序は十分解明されていない。特に喫煙中のニコチン<sup>10)</sup>、タール、一酸化炭素(CO)がその候補に挙げられてはいるが、Bierenbaumら<sup>9)</sup>

は凝集能と喫煙中のニコチンとの相関を認めず、一酸化窒素合成酵素阻害の疑いやCOHb(カルボキシヘモグロビン)の関与を示唆している。本研究でも喫煙者の多くはニコチン、タール量の少ない銘柄のタバコ(表2)を愛飲していた。したがって、ニコチン、タール量との関係は検索していないが、タバコ中のニコチン、タールよりは喫煙中に発生するCOが血小板機能に影響しているものと考えられた。

また高齢者でのみみられた凝集能の亢進は、喫煙が血小板に直接作用するのではなく、血管内皮に作用していることを示唆している。すなわち抗血小板作用を有する血管内皮が、喫煙中に吸収されたCOによって障害された結果、血小板-血管内皮バランスの不均衡が生じ、血小板凝集能が亢進した可能性が考えられた。

一方、本研究成績より血小板凝集能の評価にはGCタイプが鋭敏で、有用なパラメーターであると思われた。すなわちGCタイプは半定量的に6段階に分類されるが、凝集域値濃度を反映するPATIとは同等以上に血小板凝集能を評価しうることが本喫煙負荷試験によって明らかにされた。

謝辞:血小板凝集能測定に携わった鈴木登代子技師に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Wolf PA, D'Agostino RB, Kannel WB, Bonita R, Belanger AJ: Cigarette smoking as a risk for stroke. The Framingham study. *JAMA* **259**: 1025~1029, 1988
- 2) Shinton R, Beevers G: Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *BMJ* **298**: 789~794, 1989
- 3) Whisnant JP, Homer D, Ingall TJ, Baker HL, O'Fallon WM, Wiebers DO: Duration of cigarette smoking is the strongest predictor of severe extracranial carotid artery atherosclerosis. *Stroke* **21**: 707~714, 1990
- 4) Wannamethee SG: Smoking cessation and the risk of stroke in middle-aged men. *JAMA* **274**: 155~160, 1995
- 5) Tell GS, Howard G, McKinney WM, Toole JF: Cigarette smoking cessation and extracranial carotid atherosclerosis. *JAMA* **261**: 1178~1180, 1989
- 6) Hawkins RI: Smoking, platelets and thrombosis. *Nature* **236**: 450~452, 1972
- 7) Levine PH: An acute effect of cigarette smoking on platelet function. *Circulation* **48**: 619~623, 1973
- 8) Belch JJJ, McArdle BM, Burns P, Lowe GDO, Forbes CD: The effects of acute smoking on platelet behaviour, fibrinolysis and haemorrhology in habitual smokers. *Thromb Haemostas (Stuttgart)* **51**: 6~8, 1984
- 9) Bierenbaum ML, Fleischman AI, Stier A, Somel SH, Watson PB: Effect of cigarette smoking upon in vivo platelet function in man. *Thromb. Res.* **12**: 1051~1057, 1978
- 10) Renaud S, Blache D, Dumont E, Thevenon C, Wissendanger T: Platelet function after cigarette smoking in relation to nicotine and carbon monoxide. *Clin Pharmacol Ther.* **36**: 389~395, 1984
- 11) Siess W, Lorenz R, Roth P, Weber PC: Plasma catecholamines, platelet aggregation and associated thromboxane formation after physical exercise, smoking or norepinephrine infusion. *Circulation* **66**: 44~48, 1982
- 12) Laszlo E, Kaldi N, Kovacs L: Alterations in plasma proteins and platelet functions with aging and cigarette smoking in healthy men. *Thromb Haemostas (Stuttgart)* **49**: 150, 1983
- 13) Vicari AM, Margonato A, Macagni A, Luoni R, Seveso MP, Vicedomini G, Pozza G: Effects of acute smoking on the hemostatic system in humans. *Clin Cardiol* **11**: 538~540, 1988
- 14) Davis JW, Davis RF: Acute effect of tobacco cigarette smoking on the platelet aggregate ratio. *Am J Med Sci* **278**: 139~143, 1979
- 15) 岩本俊彦, 深谷修一, 杉山 壮, 高崎 優: 新しいパラメータを用いた血小板機能検査: 凝集能の加齢による影響と脳血栓症慢性期の変化. *東京医大誌 (印刷中)* 1996
- 16) Meade TW, Vickers MV, Thompson SG, Stirling Y, Haines AP, Miller GJ: Epidemiological characteristics of platelet aggregability. *Br Med J* **290**: 428~432, 1985
- 17) Roald HE, Orvim U, Bakken IJ, Barstad RM, Kierulf P, Sakariassen KS: Modulation of thrombotic responses in moderately stenosed arteries by cigarette smoking and aspirin ingestion. *Arterioscler Thromb* **14**: 617~621, 1994
- 18) Mansur AP, Ramires JA, Solimene MC, Chamone D: Effect of smoking on platelet aggregation of patients with coronary heart disease and different lipoprotein abnormality. *Eur. Heart J* **16**(suppl): 82, 1995

Acute Effects of Cigarette Smoking on Platelet Aggregation as  
Evaluated by Newly-developed Parameters

Takeshi SUGIYAMA, M.D., Toshihiko IWAMOTO, M.D., Shuuichi FUKAYA, M.D.  
and Masaru TAKASAKI, M.D.

Department of Geriatric Medicine, Tokyo Medical College

To evaluate the acute effects of cigarette smoking on platelet aggregation, 21 smokers and 16 nonsmokers were studied based on evaluation of the platelet aggregation grading-curve (GC) type, platelet aggregatory threshold index (PATI) and maximal platelet aggregatory rates (MPA). The smokers were divided into two subgroups according to age : elderly smokers aged 60 or more (n=12) and young smokers aged 59 or less (n=9) groups. Paired blood samples were drawn before and 10 minutes after smoking one cigarette in the smoker groups, while the second samples were obtained 15 minutes after the first venupuncture in the nonsmoker group. The GC type, PATI and MPA were evaluated using the aggregometer (PAM-8T) and 4 different concentrations of adenosine-5'-diphosphate (ADP) as an agonist. The GC type, consisting of 6 grades from +3 to -2, was estimated by connecting four plotted points of the aggregation rate at 5 minutes after addition of ADP. PATI was also calculated as the point of ADP concentration ( $\mu\text{M}/\text{I}$ ) at half of the MPA on the grading curve. The rates of these parameters before and after smoking were also analyzed. At baseline before smoking there was no difference in these parameters among the three groups. After smoking, the GC type of the elderly smoker group was significantly increased and the rate of GC in this group was higher than in the young smoker and nonsmoker groups. However, no significant difference of PATI and MPA was seen either between groups or between paired samples. These findings suggested that cigarette smoking could immediately enhance platelet aggregation in the elderly. Moreover, the GC type can be a sensitive parameter to evaluate platelet aggregability.

---

<Key words> platelet function test, grading-curve, cigarette smoking.

---