

血栓・出血性疾患における 血漿 11-dehydro-thromboxane B₂ 濃度の検討

—— 固定化抗体カラムによる抽出とラジオイムノアッセイ ——

新潟大学医学部内科学第一教室 (主任: 柴田 昭教授)

樋 口 渉

Plasma 11-dehydro-thromboxane B₂ Levels
in Thrombotic and Hemorrhagic Disorders:
A New Method by Radioimmunoassay Using Immunoaffinity Purification

Wataru HIGUCHI

*First Department of Internal Medicine,
Niigata University, Niigata.*

(Director: Professor Akira SHIBATA)

11-dehydro-thromboxane B₂ (11-dehydro-TXB₂) has been regarded as a reliable parameter of thromboxane A₂ formation *in vivo*. The radioimmunoassay of 11-dehydro-TXB₂ with newly developed immunoaffinity purification method was established, and the plasma concentrations in patients with various thrombotic and hemorrhagic disorders were also examined.

This new procedure allowed to eliminate unidentified plasma substances effectively. And the radioimmunoassay had a wide detection range (7 to 125 pg, IC₅₀=32.5 pg).

The plasma levels of 11-dehydro-TXB₂ in healthy subjects (N=30) were 3.15±1.11 (Mean±SD) pg/ml. The age- and sex-related differences were not observed. In patients with idiopathic thrombocytopenic purpura (N=12) and with essential thrombocythemia (N=9), the plasma levels of 11-dehydro-TXB₂ were significantly elevated (7.46±3.99 pg/ml and 10.21±9.49 pg/ml, respectively) compared with the normal control. Furthermore, in patients with disseminated intravascular coagulation, the values were very high before treatment, but gradually decreased during the treatment coincidentally with decrease in plasma levels of FDP and D-dimer. On the other hand, no statistical differences were found among the levels in the patients with platelet dysfunction (N=11), polycythemia vera (N=3)

Reprints requests to: Wataru HIGUCHI,
First Department of Medicine, Niigata
University, Asahimachi-dori 1,
Niigata City, 951, Japan.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町754
新潟大学医学部内科学第一教室 樋口 渉

or deep vein thrombosis (N=4).

The measurement of plasma concentration of 11-dehydro-TXB₂ seemed to be a useful tool to detect platelet destruction or platelet activation in patients with thrombotic and hemorrhagic disorders.

Key words: 11-dehydro-thromboxane B₂, immunoaffinity purification, essential thrombocythemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, disseminated intravascular coagulation. 11-デヒドロトロンボキサン B₂, 固定化抗体カラム, 原発性血小板血症, 播種性血管内凝固症候群, 特発性血小板減少性紫斑病

はじめに

血小板の活性化に伴って、血小板膜に含まれるリン脂質からアラキドン酸が切り出され、最終的には血小板凝集作用、血管収縮作用などを有するトロンボキサン A₂ (TXA₂) に転化する。TXA₂ は、臨床的にも脳循環障害、虚血性心疾患をはじめとする血栓性疾患の成因に深く関わっているとされているが、TXA₂ 自体は非常に不安定な化合物であり、生体内で速やかに分解されてトロンボキサン B₂ (TXB₂) となって失活する。これまで、TXA₂ 産生の指標としては、この TXB₂ の測定が広く用いられてきた。しかし、TXB₂ の測定値は採血手技など技術的要因による変動が大きく、さらに報告によってその測定値が大きく異なるなど、信頼性に疑問を持たれている。

近年、血中および尿中の TXB₂ の主たる代謝物である、11-デヒドロトロンボキサン B₂ (11-dehydro-TXB₂) が注目されるようになった¹⁾。11-dehydro-TXB₂ は、TXB₂ に比べて血中半減期が約45分と長く²⁾、採血手技による変動が少ないなど、内因性 TXA₂ の産生を反映する、より適当な分析指標と考えられる³⁾。しかし、試料中の 11-dehydro-TXB₂ 濃度はごく微量であり、さらに、類似の構造を持った脂肪酸が多種・多量に存在することから、11-dehydro-TXB₂ のみを試料から分離し、かつ測定可能な濃度に濃縮するには困難が伴う。

今回、11-dehydro-TXB₂ に対し親和性・特異性ともに高いモノクローナル抗体を用い、固定化抗体カラムによる 11-dehydro-TXB₂ の純化を併用したラジオイムノアッセイを試み、その基本的特性を検討した。また、血液学的疾患、特に血小板の量的・質的異常を伴う疾患においては、TXA₂ 産生の変動が予測されるが、現在

までこの分野でのまとまった報告はない。そこで、各種血液学的疾患における血漿中の 11-dehydro-TXB₂ 濃度を測定し、その意義についても考察を加えた。

対象症例

対象は、当科および関連病院で診断した特発性血小板減少性紫斑病12例、原発性血小板血症9例、血小板機能異常症11例（血小板無力症2例、血小板放出機能異常症1例、A 23187 凝集異常症1例、その他7例）、真正多血症3例、深部静脈血栓症4例、脳梗塞後遺症6例、播種性血管内凝固症候群3例（原疾患は、急性前骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病各1例）とした。また、30人の健常ボランティアを正常対照とした。

表1に症例数、男女比および疾患群別の平均年齢を示す。

全ての症例で、測定の主旨を説明し同意を得た後、午前8時から10時に肘静脈より採血を行った。この他、心臓弁置換術施行中の1例で、人工心肺回路中から経時的

表1 症例

疾患	例数(男:女)	平均年齢±SD
特発性血小板減少性紫斑病	12 (1:11)	43.6±14.1
血小板機能異常症	11 (2:9)	24.9±17.0
原発性血小板血症	9 (6:3)	63.1±17.6
真正多血症	3 (1:2)	61.3±7.4
深部静脈血栓	4 (1:3)	58.0±11.4
脳梗塞後遺症	6 (4:2)	55.5±20.2
播種性血管内凝固症候群	3 (2:1)	45.7±11.6
正常対照	30 (16:14)	42.3±15.9
(40歳以上)	17 (8:9)	55.0±8.4
(40歳未満)	13 (8:5)	25.6±2.4

に採血を行った。

方 法

抗 11-dehydro-TXB₂ 抗体は、徳島大学医学部生化学教室（山本尚三教授、林 陽子博士）より供与を受けた⁴⁾⁵⁾。セファロース 4B は、Pharmacia Fine Chemicals (Uppdala, Sweden) 製、抗体カラム (Sepacol-Mini-PP) は生化学工業（東京）製を使用した。試料の溶解には、リン酸緩衝液 (pH 7.3, 0.1 M リン酸ナトリウム, 0.1 % アジ化ナトリウムを含む) を用い、抗体の希釈には、0.1 % の ovalbumin を含む同様のリン酸緩衝液を用いた。メタノール、アセトン、ポリエチレングリコール 6000 は和光準薬（大阪）の試薬を用いた。

採血量は、1 測定あたり 10 ml ないし 30 ml とした。抗凝固剤としてはインドメタシン (0.1 mM)・EDTA-2 Na (10 mM)・トラジロール (20 unit/ml) の混合液を用いた (いずれも終濃度)。注射筒・保存用スピッツなどは、11-dehydro-TXB₂ の壁付着による測定誤差を抑えるため、全てポリプロピレン製を用いた。検体は、採血後ただちに遠心 (1700 G, 20 分) により血漿を分離し、測定時まで -20℃ で保存した。溶解した血漿は、2 倍容量のアセトンにより除蛋白を行った。

11-dehydro-TXB₂ は、開環型 (dicarboxylic 型) と閉環型 (δ -lactone 型) の 2 つの型が平行状態にあることが知られている⁶⁾。今回用いた抗体は、このうち開環型を認識することが確認されているので⁵⁾、除蛋白後の血漿を pH 10.3 で 2 時間インキュベーションすることにより加水分解し、全てを開環型とした。

抗 11-Dehydro-TXB₂ モノクローナル抗体 (100 mg) と活性化セファロース 4B (20 ml) を 0.1 M NaHCO₃ (pH 9.0, 30 ml) のなかで 4℃, 16 時間反応させた後、0.1 M トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) にてセファロース 4B 上の未反応基をブロックした。得られたゲルは等張リン酸緩衝液 (pH 7.3) でよく洗浄後、セファロース 4B にて 100 μ g IgG/ml まで希釈し、ベットボリューム 1.0 ml として、ポリプロピレンカラムに充填した。このカラムに、0.1 M リン酸緩衝液中で中和した試料を添加した。95% メタノール (5 ml) でカラムから 11-dehydro-TXB₂ を抽出した後、300 μ l まで蒸発させ、これを試料として 1 検体につき 100 μ l ずつの duplicate とした。

作成した試料は、11-[³H]-dehydro-TXB₂ methyl ester (7000 CPM, 137 fmol, 100 μ l) 及び抗 11-dehydro-TXB₂ 抗体 (3.6 ng IgG, 100 μ l) とともに 4℃ で 8 時間イン

キュベーションした。この免疫複合体をポリエチレングリコールを用いて沈澱させ、放射活性の測定した。

なお、測定値群間の平均値の差の検定には、t-test (有意水準 5 %) を用いた。

結 果

I. 11-dehydro-TXB₂ のラジオイムノアッセイ

上記測定系の回収率を、11-[³H]-dehydro-TXB₂ をトレーサーとして加えた正常血漿の放射活性で検討したところ、測定系全体の回収率は平均 82% (N=10) となっ

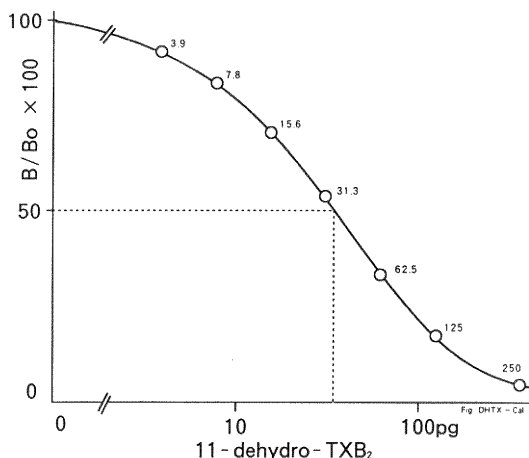


図 1 ラジオイムアッセイの検量線

既知量の 11-dehydro-TXB₂ の測定を行ない、その平均 (各濃度 4 回測定) をプロットした。

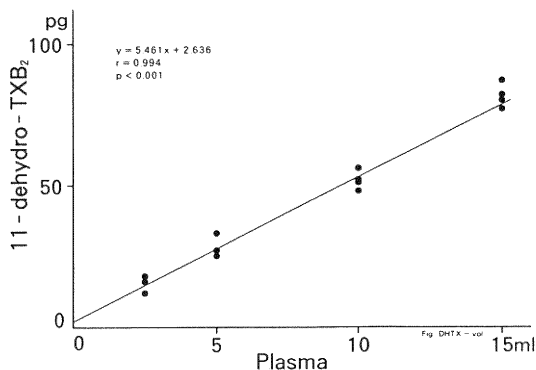


図 2 増量実験

2.5 ml~15 ml の血漿から、抗体カラムを用いて 11-dehydro-TXB₂ を純化した後、それぞれを 100 μ l の試料として調整し、血漿量と測定値の相関を示した。

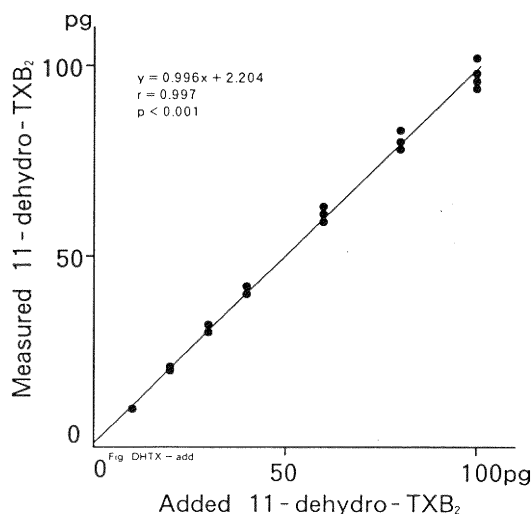


図 3 添加実験

抗体カラムを用いて純化した血漿抽出物に、既知量の 11-dehydro-TXB₂ を加えて試料を調整し、添加量と測定値の相関を示した。

た。既知量の標準 11-dehydro-TXB₂ を用いて作成した検量線の一例を図 1 に示した。標準 11-dehydro-TXB₂ 量と測定値の相関は、7 pg から 125 pg までほぼ良好な直線性を保っていた。また、IC₅₀ は、32.5 pg となった。抗体カラムによって血漿から抽出した試料をラジオイムノアッセイに適応したところ、血漿の量と測定値との相関（増量実験）は、図 2 に示すように、2.5 ml～15 ml の範囲で良好な直線性を示した。また、血漿抽出物に添加した既知量の 11-dehydro-TXB₂ と測定値との間（添加実験）では、添加量 10 pg から 100 pg まで図 3 のように良好な相関が示された。

II. 血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度

今回得られた血漿中 11-dehydro-TXB₂ の疾患別濃度を表 2 に示した。正常対照群 30 例の測定値は 3.15 ± 1.11（平均 ± 標準偏差）pg/ml であった。このうち 40 歳以上の 17 例では 2.99 ± 1.36 pg/ml、40 歳未満の 13 例では 3.36 ± 0.65 pg/ml となり、両群に有意差はなかった。また、男女差（それぞれ、3.23 ± 1.15 pg/ml、3.14 ± 1.02 pg/ml）も見られなかった。

各疾患における測定値の分散を図 4 に示す。正常対照群との比較では、特発性血小板減少性紫斑病群（7.46 ± 3.99 pg/ml）及び原発性血小板血症群（10.21 ± 9.49 pg/ml）で、有意に増加していた。また、正常対照群の平均 + 2 SD を越える高値を示したのは、特発性血小板

表 2 血漿中 11-dehydro-TXB₂ の疾患別平均濃度

疾 患	例数	平均濃度 ± SD (pg/ml)
特発性血小板減少性紫斑病	12	7.46 ± 3.99
血小板機能異常症	11	3.49 ± 1.96
原発性血小板血症	9	10.21 ± 9.49
真正多血症	3	4.57 ± 3.14
深部静脈血栓	4	4.10 ± 1.70
脳梗塞後遺症	6	7.85 ± 7.09
正常対照	30	3.15 ± 1.11
（40歳以上）	17	2.99 ± 1.36
（40歳未満）	13	3.36 ± 0.65
（男性）	16	3.23 ± 1.15
（女性）	14	3.14 ± 1.02

減少性紫斑病 12 例中 8 例（67%）、血小板機能異常症 11 例中 3 例（27%）、原発性血小板血症 9 例中 7 例（78%）、真正多血症 3 例中 1 例、深部静脈血栓症 4 例中 1 例、脳梗塞後遺症群 6 例中 2 例であった。また、正常対照群の平均 - 2 SD 未満の低値を示したのは、血小板機能異常症 11 例中の 1 例のみであった。特発性血小板減少性紫斑病群で最大濃度を示したのは、上下肢の紫斑で発見された 42 歳・女性例における治療前の値（18.1 pg/ml）であり、原発性血小板血症群で最大濃度を示したのは、一過性脳虚血発作の既往を持つ診断後 3 年の 63 歳・男性例で、ハイドロキシウレア 1500 mg/週の治療を受けている症例の値（34.8 pg/ml）であった。

血症中 11-dehydro-TXB₂ の主な供給源は血小板であると考えられることから、11-dehydro-TXB₂ 濃度を血小板数で除した値で、単位血小板数あたりの血漿中 11-dehydro-TXB₂ 量を評価した（表 3）。正常対照（15.9 ± 5.9 pg/10⁹ platelets）との比較では、特発性血小板減少性紫斑病で有意に高値（337.1 ± 353.0 pg/10⁹ platelets）を示した。また、播種性血管内凝固症候群では、次項のように上昇していた。原発性血小板血症では 15.0 ± 13.5 pg/10⁹ platelets で正常と差がなかった。なお、原発性血小板血症ではアセチルサリチル酸による抗血小板療法を受けていた 2 例を除いた値も 18.4 ± 13.5 pg/10⁹ platelets とやや高値ながら、有意差はなかった。この他の疾患では、いずれも正常群と差がなかった。

III. 治療経過に伴う血漿中 11-dehydro-TXB₂ の変動

1) 播種性血管内凝固症候群

播種性血管内凝固症候群 3 例における、治療経過に伴

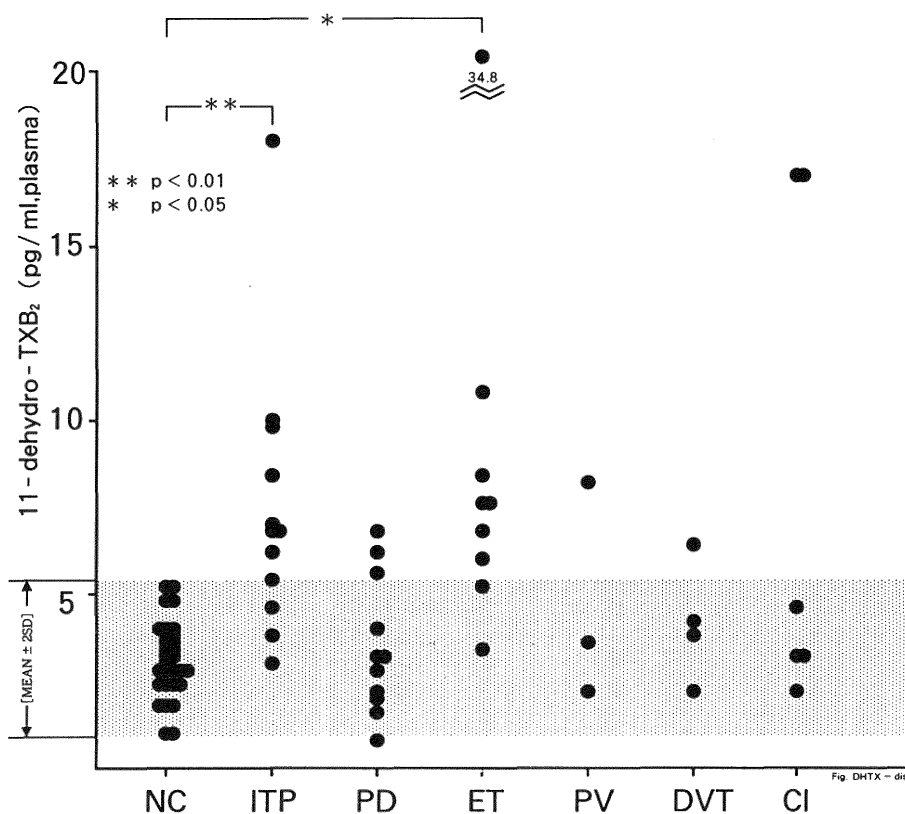


図4 疾患別に分類した、血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度の分散

1点は1症例に対応する。点線内は正常対照群の平均 11-dehydro-TXB₂ 濃度±2SDを表している。

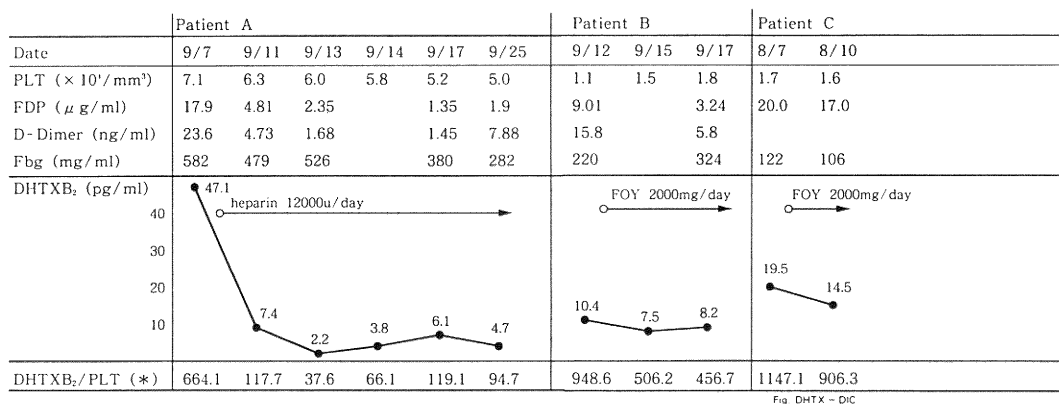
(NC: 正常対照, ITP: 特発性血小板減少性紫斑病, PD: 血小板機能異常症, ET: 原発性血小板血症, PV: 真正多血症, DVT: 深部静脈血栓症, CI: 脳梗塞後遺症)

表3 単位血小板数あたりの 11-dehydro-TXB₂ 量

疾患	例数	DHTXB ₂ ±1SD(*)
特発性血小板減少性紫斑病	12	337.1±353.0
血小板機能異常症	11	14.6±11.8
原発性血小板血症	9	15.0±13.5
真正多血症	3	22.2±18.1
深部静脈血栓	4	55.2±83.3
脳梗塞後	6	33.9±36.6
正常対照	30	15.9±5.6

注 (*) : [血漿 1 ml 中の 11-dehydro-TXB₂ 量 / 血液 1 ml 中の血小板数] × 100
 単位 : [pg/10⁹ platelets]
 DHTXB₂ : 11-dehydro-TXB₂

う血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度の変化を、他のパラメータと合わせて検討した (図5)。患者Aの原疾患は急性前骨髄性白血病で、治療前の濃度は 47.1 pg/ml と高値であったが、ヘパリンによる治療開始6日目には 2.2 pg/ml まで急速に低下した。同時に測定した FDP 値および D-Dimer 値も低下したものの、11-dehydro-TXB₂ 値の変動が最も大きかった。患者B・Cの原疾患はそれぞれ慢性骨髄性白血病の急性転化・急性骨髄性白血病の骨髄移植後であり、治療前値はやはり高値 (それぞれ 10.4 pg/ml, 19.5 pg/ml) であった。両者ともメシル酸ガベキサートで治療したが、治療に伴う低下は患者Aに比べて小さかった。単位血小板数あたりの血漿中 11-dehydro-TXB₂ 量も、全ての症例で高値であり、特に治療前が顕著 (患者A : 664.1 pg/10⁹ platelets,

図5 播種性血管内凝固症候群3例の経過に伴う血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度の変化注 (*)：単位血小板数あたりの 11-dehydro-TXB₂ 量[血漿 1 ml 中の 11-dehydro-TXB₂ 量/血液 1 ml 中の血小板数] $\times 100$ 単位：[pg/ 10^9 platelets]PLT：血小板数，Fbg：フィブリノーゲン，DHTXB₂：11-dehydro-TXB₂

FOY：メシル酸ガベキサート

患者B：948.6 pg/ 10^9 platelets，患者C：1147.1 pg/ 10^9 platelets)であった。

2) 人工心肺回路からの採血

心臓弁弛緩術施行中に，人工心肺回路中から経時的に採血を行った症例での 11-dehydro-TXB₂ 濃度は，回路始動前の 4.8 pg/ml から始動5分後に 9.5 pg/ml となり，始動60分後には 88.3 pg/ml まで上昇した。

考 察

血漿中には，11-dehydro-TXB₂ と類似の構造を持った脂肪酸が，非常に多量・高濃度に存在する。このため，目的とする 11-dehydro-TXB₂ だけを他の類似脂肪酸から分離・精製するためには，溶媒による抽出に続いて，クロマトグラフィーの手法を用いた何段階かの過程が通常必要とされる⁷⁾⁻¹⁰⁾。今回用いた方法は，測定が比較的短時間でいえるため，多数の検体数をこなすことが可能となり，臨床応用の面でも有利と考えられた。

これまで，11-dehydro-TXB₂ 濃度を検討した報告では，血漿中濃度より尿中濃度を対象としたものが多い。その理由としては，尿中には 11-dehydro-TXB₂ 含有量が大きく妨害物質が少ないうえ，液量も多量に得られるため，測定が容易な点が挙げられる¹¹⁾⁻¹³⁾。逆に欠点としては，尿中 11-dehydro-TXB₂ は，その産生源が不明確で測定値の意味付けが難しいこと，尿量によって濃度変動すること，などが考えられる。疾患別の報告で

は，心筋梗塞¹⁴⁾¹⁵⁾，脳梗塞¹⁶⁾，重症気管支喘息¹⁷⁾¹⁸⁾の発症に伴い，尿中または血症中の 11-dehydro-TXB₂ 濃度が上昇している。また，Type II糖尿病では健常コントロールより有意に高値¹⁹⁾であり，さらに，高血圧を合併した妊婦では，正常妊婦に比べて尿中 11-dehydro-TXB₂ 値が上昇²⁰⁾する。さらに，心筋梗塞後ストレプトキナーゼによって治療を受けた患者は，受けなかった患者に比べ有意に尿中 11-dehydro-TXB₂ の上昇を認め，血栓の融解を反映しているとした報告²¹⁾もあり，薬効判定への応用も示唆されている。

今回測定した血栓・出血性疾患における血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度は，原発性血小板血症，特発性血小板減少性紫斑病，播種性血管内凝固症候群において，有意な高値を示した。特発性血小板減少性紫斑病では，骨髓における巨核球の産生は正常もしくは増加しているものの，末梢循環中で自己抗体により速やかに脾臓その他の臓器や組織のマクロファージによって捕捉貪食されるため血小板寿命が短縮し，血小板減少が起きると考えられている²²⁾。血小板第4因子， β -トロノグロブリンの解析結果は，この両者が血小板数減少とともに低下するとの報告が多いが²³⁾，一定した結論は得られていない。しかし，血小板形態の検討では，血小板の活性化が起きていることが証明されている²⁴⁾。今回の測定結果は，本症における血小板活性化の存在を強く支持すると考えられる。今後は 11-dehydro-TXB₂ の血小板以

外の細胞による産生を含めた、詳細な解析が必要である。原発性血小板血症においても血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度は上昇していた。しかし、血小板数当りの量で調べると、正常対照と同程度の値となり、アセチルサリチル酸服用中の2例を除いてもなお正常と有意差がなかったことは、特発性血小板減少性紫斑病と異なる所見であった。原発性血小板血症では、臨床的に血栓症の頻度が高いことや血小板の自然凝集をみることから、*in vivo* における活性化を指摘する報告もある。しかし、今回の所見からはアラキドン酸代謝を伴う血小板活性化の亢進は証明されなかった。播種性血管内凝固症候群や人工心肺作動中では、広範な血小板活性化が起きていることが明らかにされており、11-dehydro-TXB₂ 濃度は、これを鋭敏に反映する指標と考えられた。しかし、血小板機能異常症・真正多血症・深部静脈血栓症・脳梗塞症例など、慢性的に出血・血栓性の異常を伴う疾患群では有意な変動がなく、他の検査所見・臨床所見との間にも特徴的な関連がみられなかった。また、血小板 cyclooxygenase 異常症を含む血小板機能異常症で、11-dehydro-TXB₂ 濃度が正常範囲に止まった原因としては、①血小板活性化の存在、②血小板以外の細胞からの 11-dehydro-TXB₂ の産生などが考えられるが、詳細は今後の課題である。また、深部静脈血栓症・脳梗塞症例においては、なんらかの抗血栓療法を行われている症例がほとんどであったため、測定値に影響を与えていることも十分予想された。このため、症例を重ねて、治療・臨床症状との関連を含めた検討が必要である。

血漿中 11-dehydro-TXB₂ 濃度は、血液学的疾患において、血小板の破壊や血栓性機序の活性化を反映する鋭敏な指標として有用であり、こうした機序の関連する疾患における新たな指標の一つになりうると考えられた。また、血漿中濃度の測定は、測定上の困難が伴うものの、尿中濃度の測定に比べて病態をより早期に正確に反映することが期待できる。今後、血漿中・尿中両面からの検討することによって、さらに有意義な情報が得られると考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、抗 11-dehydro-TXB₂ 抗体を供与頂き、また測定法に関する指導を賜った、徳島大学医学部生化学教室の山本尚三教授、林 陽子博士に深謝致します。また、全般的なご指導をいただいた、新潟大学医学部第一内科の柴田 昭教授、ならびに服部 晃助教授、布施一郎博士に深く御礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Westlund, P., Granstrom, E., Kumlin, M. and Nordenstrom, A.: Identification of 11-dehydro-TXB₂ as a suitable parameter for monitoring thromboxane production in the human. Prostaglandins, 31: 929~960, 1986.
- 2) Cattella, F., Healy, D., Lawson, J.A. and Fitzgerald, G.A.: 11-Dehydrothromboxane B₂: a quantitative index of thromboxane A₂ formation in the human circulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 83: 5861~5, 1986.
- 3) Westlund, P., Kumlin, M., Nordenstrom, A. and Granstrom, E.: Circulating and urinary thromboxane B₂ metabolites in the rabbit: 11-dehydro-thromboxane B₂ as parameter of thromboxane production. Prostaglandins. 31: 413~43, 1986.
- 4) Hayashi, Y., Shono, F., Yamamoto, S., Yamashita, K., Watanabe, K. and Miyazaki, H.: Radioimmunoassay of 11-dehydro-thromboxane B₂ using monoclonal antibody. Adv. Prostaglandin. Thromboxane. Leukotriene. Res., 19: 688~91, 1989.
- 5) Hayashi, Y., Shono, F., Yamamoto, S., Takasaki, W., Nakagawa, A., Watanabe, K., Yamashita, K. and Miyazaki, H.: Immunoaffinity purification of 11-dehydro-thromboxane B₂ from human urine and plasma for quantitative analysis by radioimmunoassay. Anal. Biochem., 187: 151~9, 1990.
- 6) Kumlin, M. and Granstrom, E.: Radioimmunoassay for 11-dehydro-TXB₂: a method for monitoring thromboxane production in vivo. Prostaglandins, 32: 741~67, 1986.
- 7) Ishibashi, M., Ohya, Y., Watanabe, K., Hayashi, Y., Takasaki, W., Nakagawa, A. and Mizugaki, M.: Feasibility of using 11-dehydro-thromboxane B₂ as an internal standard of immunoaffinity purification followed by gas chromatography/selected ion monitoring. Chem. Pharm. Bull. Tokyo., 37: 3171~3, 1989.
- 8) Uedelhoven, W.M., Meese, C.O. and Weber, P.C.: Analysis of the major urinary thromboxane

- metabolites, 2, 3-dinor-thromboxane B₂ and 11-dehydrothromboxane B₂ by gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **497**: 1~16, 1989.
- 9) Lorenz, R., Helmer, P., Uedelhoven, W., Zimmer, B. and Weber, P.C.: A new method using the rapid gas-chromatographic mass-spectrometric determination of 11-dehydrothromboxane B₂ in urine. *Prostaglandins*, **38**: 157~70, 1989.
- 10) Watanabe, K., Yamashita, K., Ishibashi, M., Hayashi, Y., Yamamoto, S. and Miyazaki, H.: Microdetermination of 11-dehydrothromboxane B₂ in human urine by gas chromatography-selected-ion monitoring. *J. Chromatogr.*, **468**: 383~94, 1989.
- 11) Ciabattoni, G., Pugliese, F., Devi, G., Pierucci, A., Simonetti, B.M. and Atrono, C.: Fractional conversion of thromboxane B₂ to urinary 11-dehydrothromboxane B₂ in man. *Biochim. Biophys. Acta.*, **992**: 66~70, 1989.
- 12) Catella, F. and FitzGerald, G.A.: Paired analysis of urinary thromboxane B₂ metabolites in humans. *Thromb. Res.*, **47**: 647~56, 1987.
- 13) 森田育男: トロンボキサン B₂. 検査と技術, **19** (増刊号): 164~168, 1991.
- 14) Satoh, K., Imaizumi, T., Yoshida, H., Hiromoto, M., Konta, A. and Takamatsu, S.: Plasma 11-dehydrothromboxane B₂: a reliable indicator of platelet hyperfunction in patients with ischemic stroke. *Acta. Neurol. Scand.*, **83**: 99~102, 1991.
- 15) Vejar, M., Fragasso, G., Hackett, D., Lipkin, D.P., Maseri, A., Born, G.V., Ciabattoni, G. and Patrono, C.: Dissociation of platelet activation and spontaneous myocardial ischemia in unstable angina. *Thromb. Haemost.*, **63**: 163~8, 1990.
- 16) 森田育男, 室田誠逸: アラキドン酸代謝マーカー 11-dehydro TXB₂. 臨床検査 **33**: 1597~1602, 1989.
- 17) Taylor, I.K., Ward, P.S., O'Shaughnessy, K.M., Dollery, C.T., Black, P., Barrow, S.E., Taylor, G.W. and Fuller, R.W.: Thromboxane A₂ biosynthesis in acute asthma and after antigen challenge. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **143**: 119~25, 1991.
- 18) Lupinetti, M.D., Sheller, J.R., Catella, F. and Fitzgerald, G.A.: Thromboxane biosynthesis in allergen-induced bronchospasm. Evidence for platelet activation. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **140**: 932~5, 1989.
- 19) Davi, G., Catalano, I., Averna, M., Notarbartolo, A., Strano, A., Ciabattoni, G. and Patrono, C.: Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, **322**: 1769~74, 1990.
- 20) Fitzgerald, D.J., Rocki, W., Murray, R., Mayo, G. and FitzGerald, G.A.: Thromboxane A₂ synthesis in pregnancy-induced hypertension. *Lancet*. **335**: 751~4, 1990.
- 21) Fitzgerald, D.J., Catella, F., Roy, L. and FitzGerald, G.A.: Marked platelet activation in vivo after intravenous streptokinase in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, **77**: 142~50, 1988.
- 22) Aster, H.A. and George, J.N.: Thrombocytopenia due to enhanced platelet destruction by immunologic mechanisms. *Hematology* (Ed. Williams, W.J.), 1370~98, 1990.
- 23) Kutti, J., Zaroulis, C.G., Kulpa, J., Reich, L., Clarkson, B.D. and Good, R.A.: Plasma beta-thromboglobulin values in thrombocytopenic patients with acute leukemia. *Am. J. Hematol.*, **8**: 339~45, 1985.
- 24) 服部 晃, 小島知子, 花野政晴, 真田雅好, 品田章二, 長山礼三, 布施一郎, 滝沢慎一郎, 高橋芳右, 竹重富雄, 柴田 昭: 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) における血小板形態と血小板変形因子 (PSCF), 血液と脈管, **15**: 420~3, 1984.

(平成4年2月25日受付)