

간경변 환자에서 미성숙 혈소판 분획과 망상혈소판의 비교

김혜련¹ · 박금보래¹ · 이미경¹ · 박애자¹ · 안정열²

중앙대학교 의과대학 진단검사의학과교실¹, 가천의과대학 중앙길병원 진단검사의학과교실²

Comparison of an Immature Platelet Fraction and Reticulated Platelet in Liver Cirrhosis

Hye Ryou Kim, M.D.¹, Bo Rae G. Park, M.D.¹, Mi Kyung Lee, M.D.¹, Ae Ja Park, M.D.¹, and Jeong Yeal Ahn, M.D.²

Department of Laboratory Medicine, Chung-Ang University College of Medicine¹, Seoul and Gachon Medical School, Gil Medical Center², Incheon, Korea

Background : The main causes of thrombocytopenia in cirrhosis are thought to be platelet destruction and the reduction of thrombopoietin (TPO) expression in the liver. Immature platelet fraction (IPF) has been measured by a fully automated analyzer (Sysmex XE-2100, Japan) as reticulated platelet (RP), which is reflected with thrombopoiesis in bone marrow. In this study, we tried to compare the percentage of IPF (IPF) with that of RP (RP) in patients with liver cirrhosis (LC) and controls.

Methods : We compared IPF to RP in 72 liver cirrhosis patients and 30 healthy normal controls. RP was stained with acridine orange, followed by FC500 (Beckman Coulter, USA) analysis and the IPF was identified by flow cytometry with the use of a nucleic acid specific dye in the reticulocyte channel on the Sysmex XE-2100 (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Japan).

Results : IPF value in the healthy control was 2.2% (1.7-5.2). RP and IPF were significantly higher in the patients with liver cirrhosis ($P<0.05$). IPF appeared to be correlated with RP ($y=0.19x+3.35$, $r=0.34$, $P<0.05$). In ROC for diagnosis of LC, IPF was significantly more useful than RP.

Conclusions : This results show that a rapid, inexpensive automated method for measuring the IPF is feasible and should become a standard parameter in evaluating reticulated platelets. (*Korean J Lab Med 2007;27:7-12*)

Key Words : Reticulated platelet, Immature platelet fraction, Sysmex XE-2100, Liver cirrhosis

서 론

혈소판감소증은 문맥압항진증에 의한 비장비대가 있는 간경변 환자에서 가장 흔한 합병증 중 하나이다. 간경변 환자의 혈소판 감소증 원인은 골수 억제에 의한 생성능 감소, 혈소판 파괴 증가 또는 면역학적 기전에 의한 감소 등 다양하여 원인을 결정하기가 어렵다[1, 2]. 그 중 거핵구로부터 생성되어 말초혈에 순환하는

다량의 단백질과 RNA를 함유한 망상혈소판(reticulated platelet, RP)은 혈소판 생성능을 볼 수 있는 중요한 지표 중의 하나이다 [3, 4]. RP는 골수나 폐에서 생성되는 혈소판의 생성능을 반영하여 혈소판감소증의 원인을 알려주는 지표로 95% 이상의 민감도와 특이도가 있는 것으로 알려져 있다[5].

1986년에 thiazole orange (TO)가 RNA도 염색한다는 것이 밝혀지면서[6], 1990년에 처음으로 혈소판감소증 환자에서의 RP 측정에 유세포분석기(flow cytometry, FCM)를 사용하였고[5], 우리 나라에서도 여러 혈소판감소증에서 유세포분석기에 의한 RP를 평가하였다[7-9]. 그러나 이러한 RP 분석은 표준화하기 위한 대조물질이 없고 염색 종류도 다양하며 염색 시간, 항응고제의 종류, 온도 등에 대한 표준화가 되어 있지 않아 측정과 분석에 어려움이 따랐다[10].

접 수 : 2006년 7월 14일 접수번호 : KJLM1969
수정본접수 : 2006년 11월 20일
게재승인일 : 2006년 11월 29일
교 신 저 자 : 이 미 경
우 140-757 서울시 용산구 한강로 3가 65-207
중앙대학교 용산병원 진단검사의학과
전화 : 02-748-9837, Fax : 02-797-3471
E-mail : cpworld@cau.ac.kr

최근 RP 측정에 자동화된 새로운 방법을 도입하고자 미성숙 혈소판 분획(immature platelet fraction, IPF)을 임상적으로 사용하게 되었고, 자동혈구분석기 중 하나인 Sysmex XE-2100 (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japan)의 망상적 혈구 통로에서 망상혈소판의 핵산에 특이적 염색을 시켜 분석할 수 있는 프로그램이 개발되어 사용되고 있다[11-13].

이에 본 연구에서는 정상 대조군과 간경변 환자에서 유세포분석기를 이용하여 측정한 RP에 자동혈구분석기 Sysmex XE-2100을 이용하여 측정한 IPF를 비교하고 간경변 환자에서 혈소판 생성능과 간경변을 진단하는 데 있어 어떤 방법이 더 진단적 유용성이 있는지 알아보려고 한다.

대상 및 방법

1. 대상

2006년 2월부터 6월까지 중앙대학교병원에 입원한 간경변증 환자 72예(남자 48예, 여자 24예)와 정상 성인 30예(남자 20예, 여자 10예)를 대상으로 하였다.

간경변 환자군과 대조군의 평균 연령과 표준 편차는 각각 56.8 ± 8.49 년과 53.9 ± 2.12 년이었고, 통계학적 차이는 없었다($P > 0.05$). 간경변 환자군의 혈소판 수치는 98.8 ± 105.36 로 정상 대조군 220.3 ± 17.68 에 비하여 감소되어 있었다($P < 0.05$). 간경변 환자는 임상 증상, 검사 소견, 간생검을 종합하여 Child's classification에 따라 세분화였고 class A군에 22명, B군에 24명 그리고 C군에 26명이 속하였다[14]. 대조군은 중앙대학교병원 건강검진센터에 방문한 사람 중 간기능 검사가 정상이고 HbsAg, anti-HCV, anti-HIV

결과 음성, C-reactive protein이 정상이면서, 간경변 환자군과 성별, 연령별 분포가 일치하는 30명을 대상으로 하였다.

2. 방법

1) 망상혈소판의 측정

Robinson 등이 제시한 방법을 변형하여 사용하였다[10]. EDTA 전혈을 200 g, 10분간 원심분리하여 혈소판풍부혈장을 만든 후, 두 개의 시험관에 혈소판풍부혈장 10 μ L씩 넣고 acridine orange (AO) 염색과 대조를 준비하였다. AO 염색은 Retic ON-E™ (Beckman Coulter, CA, USA) 1 mL를, 대조는 phosphate buffered saline (PBS)을 넣어 가볍게 진탕시키고 실온 암소에서 20분간 반응시켰다. 망상혈소판을 위한 유세포분석은 FC500 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)을 사용하였고 매 측정시마다 정상인의 검체를 동시에 시행하여 CXP 프로그램을 이용하여 수집 후 분석하였다. 검사 전 Flow-check, Flow-set (Beckman Coulter)와 CXP 프로그램으로 장비를 조정하였다. 전방 및 측방 광산란 gate에 속하는 최소한 20,000개 이상의 혈소판을 수집하였고 염색하지 않은 혈소판에서의 gate 값이 1% 미만이고, 정상인의 망상혈소판 값이 10% 미만인 FL4 형광채널 값을 기준으로 하여 환자의 AO 양성세포를 구하였고 환자 혈소판의 AO 양성세포 백분율로부터 염색하지 않은 환자 혈소판의 양성세포 백분율을 뺀 값으로 하여 간섭을 최소화하였다(Fig. 1)[8, 10].

2) Sysmex XE-2100을 이용한 미성숙 혈소판 분획의 측정

Sysmex XE-2100 자동혈구분석기에서 IPF는 망상적혈구 통로의 산포도(scattergram)를 분석하여 측정할 수 있다. Polyme-

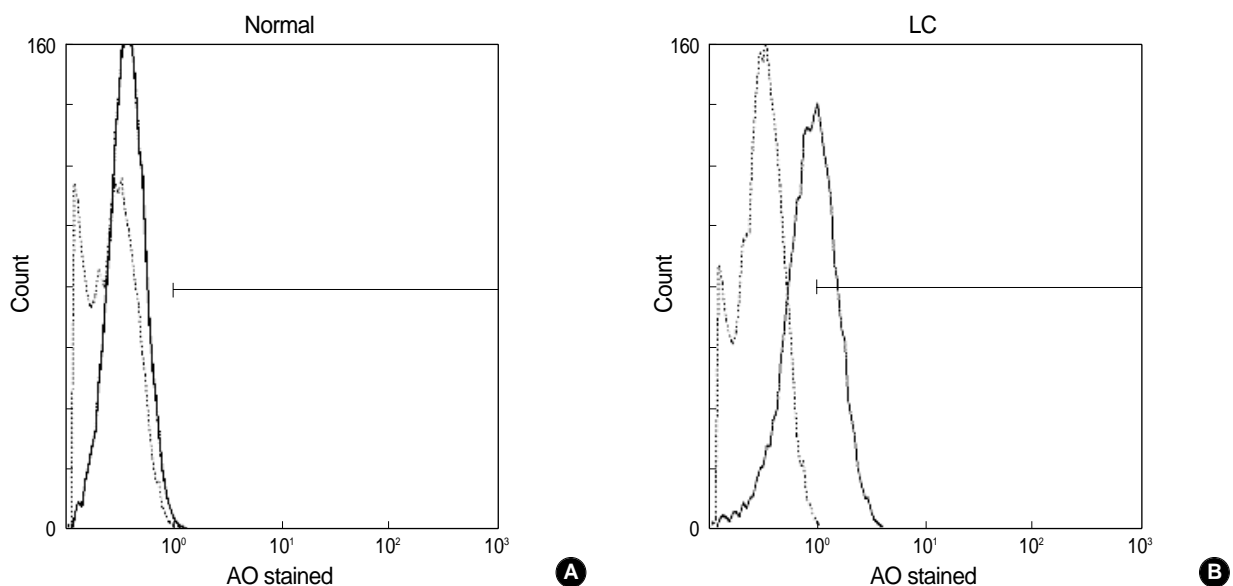


Fig. 1. Fluorescence histogram of reticulated platelet (RP) from a normal control (A, RP 1.02%) and a patient with LC (B, RP 18.38%). Abbreviations: AO, acridine orange; LC, liver cirrhosis.

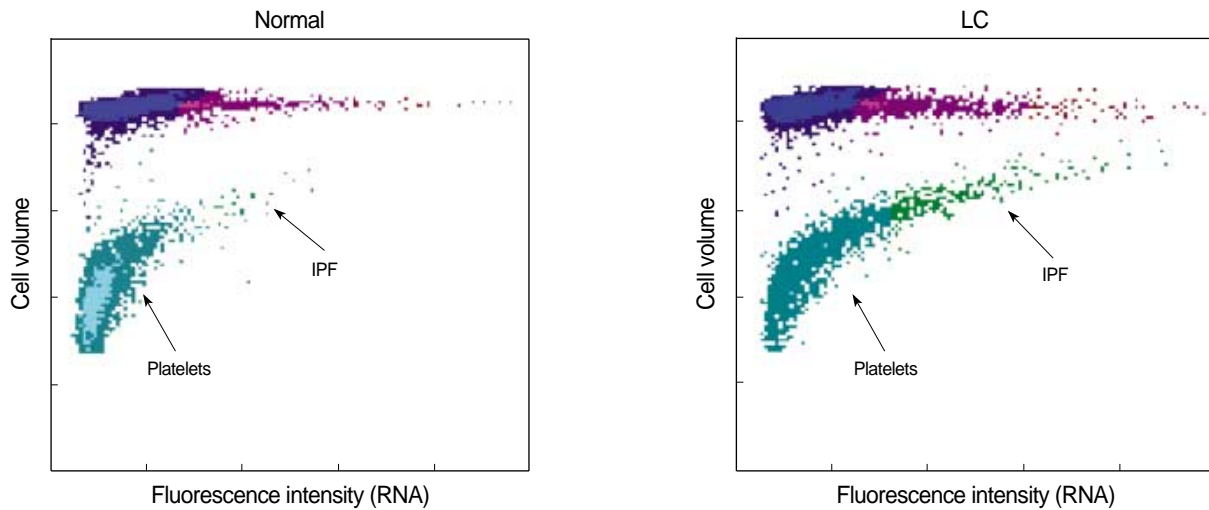


Fig. 2. Optical platelet scattergrams from healthy individual with a normal IPF and a patient with a high IPF. Mature platelets appear as blue dots, green dots represent the IPF with increased cell volume and higher fluorescence intensity compared to mature platelets. Abbreviations: IPF, immature platelet fraction; LC, liver cirrhosis.

Table 1. RP and IPF between the controls and total LC patients, LC patients with thrombocytopenia ($plt \leq 100 \times 10^9/L$), LC patients without thrombocytopenia ($plt > 100 \times 10^9/L$)

Group	Control, N=30	Liver cirrhosis		
		Platelet count		Total, N=72
		≤100×10 ⁹ /L, N=52	>100×10 ⁹ /L, N=20	
RP (%)	4.98±2.97	11.35±6.95*	6.61±7.16	10.03±7.28*
IPF (%)	2.2±1.69	7.06±4.14*	3.75±1.99	6.14±3.95*

* $P < 0.05$.

Abbreviations: RP, reticulated platelet; IPF, immature platelet fraction.

thine과 oxazine을 포함한 형광 염색 시약을 사용한 유세포 분석이며, 이 염색 시약의 기전은 세포막을 침투하여 망상적혈구나 망상혈소판의 RNA를 염색시킨다. 염색된 세포들을 반도체 이극진 공관 레이저(semiconductor diode laser)에 통과시키면서 형광의 강도(RNA의 양)와 전방 빛 산란(forward light scatter, FSC) (세포의 부피)를 측정하게 된다. Sysmex XE-2100에는 두 혈소판 집단을 구별할 수 있는 소프트웨어(Xe-Pro series, Sysmex, Kobe, Japan)가 내장되어 있어 이를 이용해 성숙 혈소판과 미성숙 혈소판의 두 집단으로 나누고 분획을 구하게 된다(Fig. 2).

3) 통계학적 분석

정상 대조군과 간경변 환자군 사이의 RP와 IPF의 비교는 Student t-test를 하였으며, 통계 프로그램은 Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA)을 사용하였다. 자료는 평균값 ± 표준편차로 나타내었고, $P < 0.05$ 이면 유의한 것으로 판정하였다. RP와 IPF의 검사방법간 일치정도를 보기 위해 사용한 Passing-Bablok 회귀분석과 ROC 곡선 분석에는 MedCalc software (version 4.2, MedCalc software, Mariakerke, Belgium)를 이용하였다.

결 과

1. 정상 대조군과 간경변 환자에서의 RP와 IPF

간경변 환자와 대조군에서 RP는 평균값이 10.03 ± 7.28 (%)과 4.98 ± 2.97 (%)이고, IPF는 6.14 ± 3.95 (%)과 2.2 ± 1.69 (%)로 모두 간경변 환자에서 의미있는 증가를 보였다($P < 0.05$). 간경변 환자를 혈소판 수에 따라 $100 \times 10^9/L$ 이하인 혈소판 감소군과 그 초과인 군으로 나누어 분석하면 혈소판 감소군에서 RP는 11.35 ± 6.95 (%), IPF는 7.06 ± 4.14 (%)로 정상 대조군에 비하여 의미 있는 증가를 보였고($P < 0.05$) 혈소판이 $100 \times 10^9/L$ 초과인 군에서는 각각 6.61 ± 7.16 (%)과 3.75 ± 1.99 (%)로 나타나 정상 대조군과 두 군 간의 차이는 보이지 않았다($P > 0.05$) (Table 1) (Fig. 3, 4).

2. RP에 대한 IPF의 일치도

검사방법 간 일치도를 보기위해 기존의 유세포분석기를 이용한 RP 결과와 IPF 결과는 Fig. 5와 같다. RP (x)와 IPF (y)에 대한 회귀 분석 결과 기울기 0.19 (95% 신뢰구간: 0.08-0.30), y절편 3.35 (95% 신뢰구간: 2.19-4.50)이고 상관계수 값은 0.34로 나타나 일치도가 양호한 것으로 나타났다($P < 0.05$).

3. RP와 IPF의 진단적 유용성

ROC 곡선에 의한 분석에서 RP는 민감도 50%와 특이도 100% 일 때 경계치가 9.89%였고 IPF는 민감도, 특이도가 83.1%와 76.7%인 경계치가 2.9%로 나타났으며 IPF가 간경변 환자에서 RP보다 더 유용한 검사로 나타났다(Fig. 6).

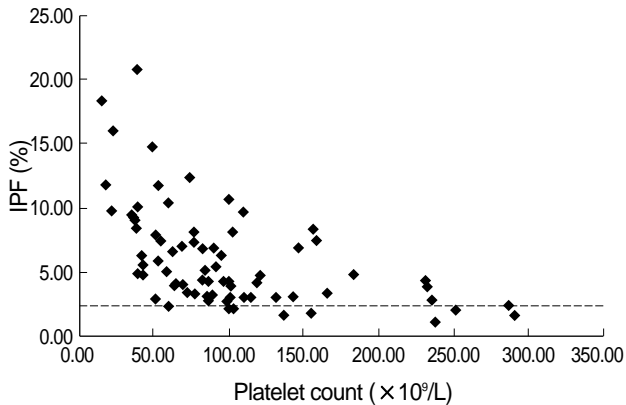


Fig. 3. Immature platelet fraction (IPF) and platelet counts of patients with LC. The dotted line represents the cut-off value of IPF (2.4%).

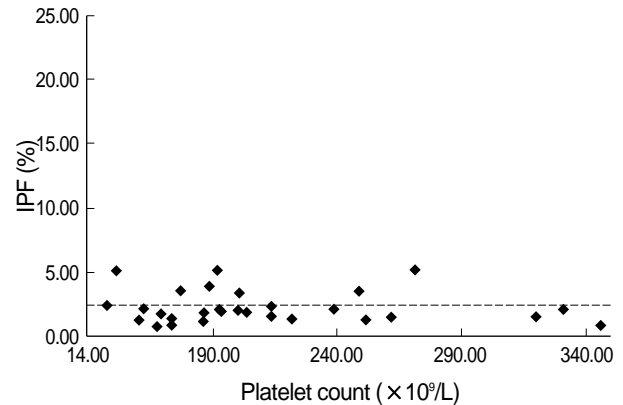


Fig. 4. Immature platelet fraction (IPF) and platelet counts of controls. The dotted line represents the cut-off value of IPF (2.4%).

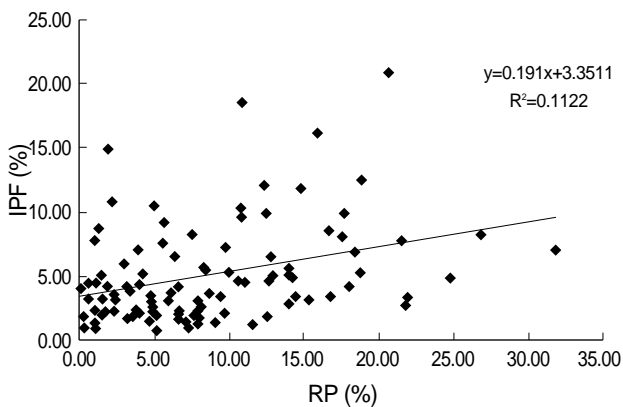


Fig. 5. Method comparison in 102 samples between RP and IPF. Abbreviations: See Table 1.

고 찰

망상혈소판의 분석은 골수의 혈소판 생성능의 유용한 지표로 사용되어 왔으나 유세포분석기로 측정하는 경우 가격이 비싸며 시간이 많이 소요되고 숙련도가 검사결과에 미치는 영향이 많아 참고치 설정이 용이하지 않았으며 표준화가 어려웠다. 이에 Wang 등[15]은 RP만으로는 혈소판 회복을 예측하는 지표로 유용하지 않아 RP와 TO 평균형광강도(mean fluorescence intensity, MFI)를 측정하였고 이를 reticulated platelet maturation index (RP-MI)라 명명하여 평가하였다. 국내에서는 원 등이 혈소판 형성 증가군에서 RP 외에 FSC도 증가함에 착안하여 중등도 혈소판감소증에서 두 지수를 함께 고려하면 진단 효율을 높일 수 있다고 하였으나 수기가 복잡하였다[8].

최근 형광 RNA 염색 시약을 사용해 망상혈소판을 측정하는 Sysmex XE-2100 자동혈구분석기는 IPF를 사용해 손쉽게 망상혈소판을 측정할 수 있게 되었고 이러한 IPF는 48시간 동안 재현성과 안정성이 좋은 것으로 알려져 있다[11]. 정상인의 평균치도 각 보고에 따라 3.3%, 3.4%, 3.9%로 비슷한 결과를 나타내고 있으며 본 연구에서도 2.2%로 약간 낮으나 큰 차이를 보이지는 않았

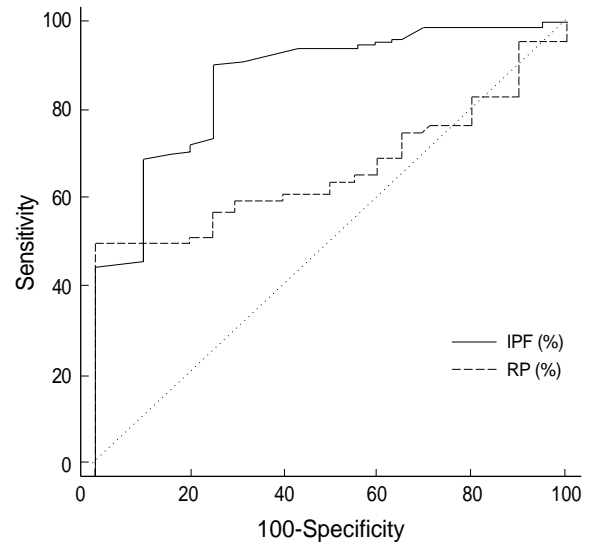


Fig. 6. Receiver operating characteristic curve of the RP and IPF on liver cirrhosis.

Abbreviations: See Table 1.

다[11-13]. 혈소판감소증을 동반한 여러 질환에서 IPF는 환자의 진단에 도움을 줄 수 있으며, 경계치를 7.7%로 정하였을 때, 본태성 혈소판감소증과 화학요법 후 회복기 등 망상혈소판이 증가하는 질환에서 높은 민감도와 특이도를 보인다고 한다[11, 13, 16]. 또한 말초혈액줄기세포이식 등에서 이식 후 IPF가 증가하기 시작하면 더 이상의 혈소판 수혈이 불필요하다는 보고는 IPF가 혈소판 수혈의 지표로도 사용될 수 있다는 보고이다[13, 17].

본 연구에서는 기존의 유세포분석기에 의해 측정되는 RP와 IPF의 일치도를 평가하기 위해 RP를 참고방법으로 간주하여 Passing-Bablok 회귀분석을 시행하였다. 상관계수는 0.34로 상관 강도가 크지 않으나 통계학적으로 의미있게 양호한 일치도를 보였다. 상관 강도가 낮은 것은 참고방법으로 선정한 유세포분석기를 이용한 망상혈소판 값인 RP가 표준화된 방법이 없으며, 또한 본 연구에서 혈소판 풍부 혈장으로 검사를 시행하였으나 정확한 혈소판 수를 맞추지 못해 이에 의한 영향도 있었을 것이라 생각된다.

간경변 환자에서 망상혈소판에 대한 국내 보고를 살펴보면 정상군의 RP는 22.0 ± 7.3 (%)이고 간경변 환자군의 RP는 8.1 ± 5.7 (%)로 의미있는 감소를 보였다는 보고와[9], 간경변 환자 6예와 본태성 혈소판감소증 환자 16예를 포함해 혈소판 파괴 증가군을 평가한 결과 RP 값이 의미있게 증가된 소견을 보였고 경계치가 2%일 때 혈소판 감소의 원인을 감별하는 데 높은 민감도와 특이도를 보인다는 보고도 있었다[18]. 본 연구에서는 RP나 IPF가 모두 간경변 환자에서 의미있게 증가되어 있었으며 이는 그 전 보고들에 비해 환자군을 간경변 환자만을 선택하였고 검체수도 72예로 확대하여 더 의미가 있다고 생각된다. 혈소판 수가 $100 \times 10^9/L$ 이하로 감소된 간경변 환자군에서는 RP나 IPF가 모두 같은 경계치에서 증가된 민감도를 보여주고 있어 혈소판 수와 함께 간경변을 진단하는 것이 민감도를 증가시킬 수 있을 것이다. 간경변 환자에서의 혈소판 감소 기전은 혈소판의 파괴 증가, 알코올 자체의 골수 억제뿐 아니라 주로 간에서 생성되는 혈소판생성소(thrombopoietin, TPO)의 감소로 인한 생성능의 저하 등에 의한 것으로 다양하게 생각되어져 왔는데[19], 본 연구에서 간경변 환자에서 망상혈소판 백분율이 모두 증가한 것은 간에서 생성되는 TPO 치는 증가하지 않으나 골수 증식에 의해 골수의 혈소판 형성이 증가하므로 혈소판감소 정도가 심할수록 골수 혈소판생성능은 증가되는 것으로 생각할 수 있으며 혈소판 파괴가 간경변 환자에서 혈소판감소증의 중요한 원인이라 생각되어진다.

유세포분석기에서 RP를 측정하는 것과 자동혈구분석기에서 IPF를 측정하여 혈소판의 생성능 평가에 대한 ROC 분석 결과는 IPF 방법이 민감도나 특이도가 더 좋은 검사로 나타났다. 이와 같이 Sysmes XE-2100 자동혈구분석기를 이용한 IPF의 측정이 간경변에서 혈소판의 생성능을 판단하는 데 더욱 좋은 지표로 이용될 수 있으며 저렴한 가격, 간편한 수기와 자동화 가능성 등을 고려하여 망상혈소판을 일상검사에 적용하기 위해서는 IPF 방법이 좀 더 유용할 것으로 생각된다. 그러나 아직 자동혈구분석기에 의한 IPF가 혈소판 수나 빌리루빈 농도에 따라서 간섭을 받는지 여부에 대한 연구는 되어있지 않아 이에 대한 연구가 꼭 필요할 것으로 생각된다.

요 약

배경 : 간경변 환자의 혈소판감소증의 가장 중요한 원인은 혈소판의 파괴와 혈소판생성소(thrombopoietin)의 감소로 생각한다. 골수의 혈소판 생성능을 반영하는 망상혈소판(RP)을 미성숙혈소판분획(IPF)를 이용해 자동혈구분석기 중 하나인 Sysmex XE-2100으로 측정할 수 있게 되었다. 본 연구에서는 정상 대조군과 간경변 환자에서 측정되는 RP와 IPF의 결과를 비교하고자 한다.

방법 : 간경변 환자 72명과 정상 대조군 30명을 대상으로 하였다. RP는 FC500 (Beckman Coulter, USA)을 이용해 acridine orange 염색을 하여 분석하였고 IPF는 Sysmex XE-2100 (TOA

Medical Electronics Co., Ltd., Japan)의 망상적혈구 통로에서 핵산 특이 염색을 하여 유세포분석하였다.

결과 : 정상 대조군의 IPF 평균은 2.2% (1.7-5.2)이었고 RP와 IPF 모두 간경변 환자에서 의미있게 증가하였다($P < 0.05$). IPF와 RP의 결과 간 일치도는 양호한 것으로 나타났다($y = 0.19x + 3.35$, $r = 0.34$, $P < 0.05$). ROC 곡선에서 IPF가 RP보다 간경변 환자와 정상 대조군을 나누어 주는 데 유용한 검사임을 알 수 있었다.

결론 : 본 연구 결과 자동화가 가능한 IPF 측정이 빠르고 경제적이어서 망상 혈소판을 평가하는데 표준 지표로 사용하는 것이 유용할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Aoki Y, Hirai K, Tanikawa K. Mechanism of thrombocytopenia in liver cirrhosis: kinetics of indium-111 tropolone labelled platelets. Eur J Nucl Med 1993;20:123-9.
2. Panasiuk A and Prokopowicz D. Platelet autoantibodies in liver cirrhosis and thrombocytopenia. Roczn Akad Med Białymst 2000;45: 54-62.
3. Harrison P, Robinson MSC, Mackie IJ, Machin SJ. Reticulated platelets. Platelets 1997;8:379-84.
4. Ingram M and Coopersmith A. Reticulated platelets following acute blood loss. Br J Haematol 1969;17:225-9.
5. Kienast J and Schmitz G. Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders. Blood 1990;75:116-21.
6. Lee LG, Chen CH, Chiu LA. Thiazole orange: a new dye for reticulocyte analysis. Cytometry 1986;7:508-17.
7. Do JH, Park JS, Park TH, Lee EY, Son HC, Kim SH, et al. Clinical usefulness of measurement of reticulated platelets by thiazole orange in idiopathic thrombocytopenic purpura. Korean J Clin Pathol 1999; 19:158-62. (도정화, 박정선, 박태희, 이은엽, 손한철, 김순호 등. 특발성 혈소판감소성 자반증에서 Thiazole Orange 염색에 의한 망상혈소판 측정의 임상적 유용성. 대한임상병리학회지 1999;19:158-62.)
8. Won DI, Suh JS, Lee WK. Estimate of thrombopoiesis by flow cytometric analysis of reticulated platelets in moderate thrombocytopenia. Korean J Lab Med 2003;23:157-63. (원동일, 서장수, 이원길. 중등도 혈소판감소증에서 망상혈소판 유세포분석을 통한 혈소판형성 평가. 대한진단검사의학회지 2003;23:157-63.)
9. Heo WB, Kim YK, Lee NY, Won DI, Suh JS. Estimate of thrombopoiesis by flow cytometric analysis of reticulated platelets in patients with severe thrombocytopenia. Korean J Lab Med 2005;25:7-13. (허운보, 김유경, 이난영, 원동일, 서장수. 중증 혈소판감소증에서 망상혈소판 유세포분석을 통한 혈소판형성 평가. 대한진단검사의학회지 2005;25: 7-13.)

10. Robinson MS, MacKie IJ, Machin SJ, Harrison P. Two colour analysis of reticulated platelets. *Clin Lab Haematol* 2000;22:211-3.
11. Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2004;126:93-9.
12. Abe Y, Wada H, Tomatsu H, Sakaguchi A, Nishioka J, Yabu Y, et al. A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thrombo Res* 2006;118:463-9.
13. Briggs C, Hart D, Kunka S, Oguni S, Machin SJ. Immature platelet fraction measurement: a future guide to platelet transfusion requirement after haematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Med* 2006;16:101-9.
14. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973;60:646-9.
15. Wang C, Smith BR, Ault KA, Rinder HM. Reticulated platelets predict platelet count recovery following chemotherapy. *Transfusion* 2002;42:368-74.
16. Matic GB, Chapman ES, Zaiss M, Rothe G, Schmitz G. Whole blood analysis of reticulated platelets: improvements of detection and assay stability. *Cytometry* 1998;34:229-34.
17. Chaoui D, Chakroun T, Robert F, Rio B, Belhocine R, Legrand R, et al. Reticulated platelets: a reliable measure to reduce prophylactic platelet transfusions after intensive chemotherapy. *Transfusion* 2005;45:766-72.
18. Cho YG, Kim JH, Kim DS, Choi SJ, Lee HS. Quantitation of the percentage of reticulated platelets to diagnose the cause of thrombocytopenia. *Korean J Lab Med* 2005;25:365-72. (조용곤, 김정현, 김달식, 최삼임, 이혜수. 혈소판 감소증의 감별진단에 유용한 망상혈소판 백분율의 측정법. 대한진단검사의학회지 2005;25:365-72.)
19. Ishikawa T, Ichida T, Matsuda Y, Sugitani S, Sugiyama M, Kato T, et al. Reduced expression of thrombopoietin is involved in thrombocytopenia in human and rat liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13:907-13.