

- Atrial Fibrillation-Embolism Secondary Prevention Study Group: Optimal intensity of warfarin therapy for secondary prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation: multicenter, prospective, randomized trial. *Stroke* 31: 817-821, 2000.
- 19) Gorelick P B, et al: Prevention of a first stroke. A review of guidelines and a multidisciplinary consensus statement from the National Stroke Association. *JAMA* 281: 1112-1120, 1999.
 - 20) Fuster V, et al: ACC/AHA/ESC guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: executive summary. *Circulation* 104: 2118-2150, 2001.
 - 21) Yasaka M, et al: Optimal intensity of international normalized ratio in warfarin therapy for secondary prevention of stroke in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Intern Med* 40: 1183-1188, 2001.
 - 22) 内山真一郎, 心疾患と脳血管障害. 内科疾患に伴う神経障害: 診断と治療の進歩. *日内会誌* 88: 93-83, 1999.
 - 23) Homma S, et al: Effect of medical treatment in stroke patients with patent foramen ovale: Patent Foramen Ovale in Cryptogenic Stroke Study. *Circulation* 105: 2625-1631, 2002.
 - 24) Mas J L, et al for the Patent Foramen Ovale and Atrial Septal Aneurysm Study Group: Recurrent cerebrovascular events associated with patent foramen ovale, atrial septal aneurysm, or both. *N Engl J Med* 345: 1740-1746, 2001.
 - 25) PROGRESS Collaborative Group: Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack. *Lancet* 358: 1033-1041, 2001.
 - 26) Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration: Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. *Lancet* 356: 1955-1964, 2000.
 - 27) Staessen J A, et al: Cardiovascular protection and blood pressure reduction: a meta-analysis. *Lancet* 358: 1305-1315, 2001.
 - 28) Irie K, et al: The J-curve phenomenon in stroke recurrence. *Stroke* 24: 1844-1849, 1993.
 - 29) Kannel W B, McGee D L: Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham Study. *JAMA* 241: 2035-2038, 1979.
 - 30) Abbott R D, et al: Diabetes and the risk of stroke. The Honolulu Heart Program. *JAMA* 257: 949-952, 1987.
 - 31) Singer D E, et al: Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study. *Diabetes* 41: 202-208, 1992.
 - 32) 大村隆夫, 他: 一般住民の 22 年間追跡調査における耐糖能異常と脳卒中発症の関連. 久山町研究. *糖尿病* 36: 17-24, 1993.
 - 33) UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonyl ureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UK PDS 33). *Lancet* 352: 837-853, 1998.
 - 34) UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *Br Med J* 317: 703-713, 1998.
 - 35) Boysen G, et al: Stroke incidence and risk factors for stroke in Copenhagen, Denmark. *Stroke* 19: 1345-1353, 1988.
 - 36) Iso H, et al: Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350, 997 men screened for the multiple risk factor intervention trial. *N Engl J Med* 320: 904-910, 1989.
 - 37) Murai A, et al: Lipoprotein abnormalities in the pathogenesis of cerebral infarction and transient ischemic attack. *Stroke* 12: 167-172, 1981.
 - 38) Tanne D, et al: High-density lipoprotein cho-

- lesterol and risk of ischemic stroke mortality. A 21-year follow-up of 8586 men from the Israeli Ischemic Heart Disease Study. *Stroke* 28: 83-87, 1997.
- 39) Scandinavian Simvastatin Survival Study Group: Baseline serum cholesterol and treatment effect in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 345: 1274-1275, 1995.
- 40) Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Study Group: Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 339: 1349-1357, 1998.
- 41) Plehn JF, et al: Reduction of stroke incidence after myocardial infarction with pravastatin. *Circulation* 99: 216-223, 1999.
- 42) Blauw GJ, et al: Stroke, statins, and cholesterol: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled, double-blind trials with HMG-CoA reductase inhibitors. *Stroke* 28: 946-950, 1997.
- 43) Crouse JR III et al: Reductase inhibitor monotherapy and stroke prevention. *Arch Intern Med* 157: 1305-1310, 1997.
- 44) Abott RD, et al: Risk of stroke in male cigarette smokers. *N Engl J Med* 315: 717-720, 1986.
- 45) Wolf P A, et al: Cigarette smoking as a risk for stroke. *JAMA* 259: 1025-1029, 1988.
- 46) Shinton R, et al: Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *Br Med J* 298: 789-794, 1989.
- 47) Nakayama T, et al: A 15.5 year follow-up study of stroke in a Japanese provincial city. The Shibata Study. *Stroke* 28: 45-52, 1997.
- 48) Wannamethee SG, et al: Smoking cessation and the risk of stroke in middle-aged men. *JAMA* 274: 155-160, 1995.

脳卒中二次予防における第一選択薬とは

—脳卒中高リスク患者における aspirin と ticlopidine の無作為化比較試験

AAASPS

(African American Antiplatelet Stroke Prevention Study)

— JAMA 2003; 289: 2947-57.

2003年2月の米国 Arizona 州 Phoenix で開催された第28回米国脳卒中学会での口頭発表を経て、同年6月に AAASPS (African American Antiplatelet Stroke Prevention Study) の最終結果が文献発表された。本試験は、脳卒中発症リスクが高いアフリカ系アメリカ人を対象として、抗血小板薬 aspirin と ticlopidine による脳卒中二次予防効果とその安全性を比較検討した大規模臨床試験である。ここでは、本試験で得られた結果から、実地診療での脳卒中二次予防に適した抗血小板療法の選択について報告する。(編集部)

■ 背景および目的

アフリカ系アメリカ人における脳卒中の発症率および死亡率は、白人に比べて約2倍であり、さらに高血圧や糖尿病、肥満、喫煙習慣といった脳および心血管疾患のリスク因子をより多く有することが示されている。また、本人種では一般に医療施設への通院率が他人種に比し低い。現在、各国のガイドラインで脳卒中二次予防に推奨されている抗血栓療法の根拠となる臨床試験では、対象患者に占めるアフリカ系アメリカ人の比率が非常に小さいため、本人種への推奨治療が至適であるのかといった疑問が残されている。

抗血小板薬 ticlopidine の脳卒中二次予防効果は、北米における2つの大規模臨床試験、TASS (Ticlopidine Aspirin Stroke Study)¹⁾ と CATS (Canadian American Ticlopidine Study)²⁾ によって既に明らかにされている。また、TASS のサブ解析では、ticlopidine の脳卒中二次予防効果は、白人よりも非白人においてリスク・ベネフィットに優れることが示唆されており、特にアフリカ系アメリカ人と同人種以外の有色人種で

は、ticlopidine 500 mg/日投与は aspirin 1,300 mg/日投与に比し、2年後の脳卒中と死亡の発生率が24.1%低く、かつ有害事象の発生率も同等であることが示された³⁾。

こうした背景を踏まえ、脳卒中発症リスクの高いアフリカ系アメリカ人を対象に、抗血小板薬 ticlopidine と aspirin による脳卒中二次予防効果および安全性を比較検討することを目的とした AAASPS (African American Antiplatelet Stroke Prevention Study) が実施された。

■ 方法およびデザイン

本試験では、1995年12月～2001年10月にかけて、米国における62の大学および地域病院で非心原性脳梗塞の既往を有するアフリカ系アメリカ人の男女1,809例を登録した。登録基準は、29～85歳のアフリカ系アメリカ人、非心原性脳梗塞発症から7～90日以内、CTまたはMRIにより脳梗塞と診断された患者、または本発症による評価可能な中枢神経障害を有する患者とした。一過性脳虚血発作(TIA)、くも膜下出血、心原性脳塞栓症は除外。

対象のうち、902例を ticlopidine 500mg/日投与群 [(ticlopidine 250mg錠+プラセボ錠) × 2/日]、907例を aspirin 650mg/日群 [(aspirin 325mg錠+プラセボ錠) × 2/日] に1:1の割合で無作為化(図1)。デザインは無作為、二重盲検、追跡期間は2年とし、intention-to-treat解析を実施した。

一次エンドポイントは、脳卒中再発+心筋梗塞(MI)+血管死の複合、二次エンドポイントは、1) 脳卒中再発または死亡、2) 非致死性または致死性脳卒中、3) 脳卒中再発、MIあるいは全死亡、4) 血管死、5) 全死亡、6) MI。いずれのエンドポイントにおいても、ticlopidine群において発症率が低いと仮定された。イベント発症率の累積曲線はKaplan-Meier法を用いて算出し、両群間の比較にはlog-rank検定を用いた。

登録から3ヵ月間は2週間ごとに血球数および血小板数を測定し、血小板減少症、好中球減少症などの有害事象の発生をモニター。その後は6、10、12、16、20および24ヵ月後に評価を実施した。また、本試験はNational Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)の支援を受けた(プロトコルの一部は*J Stroke Cerebrovasc Dis* 1998; 7: 426-34を参照)。

■ aspirinの脳卒中再発予防効果を実証

試験開始から約6.5年を経過した時点の解析から、一次エンドポイントでticlopidineがaspirinに有意に優る可能性が1%未満であることが明白にされたため、2002年7月15日にNational Institutes of Health (NIH)の安全データモニター委員会の勧告により、盲検比較が中止された。

24ヵ月後の評価完了率は、ticlopidine群41.0%(370例)、aspirin群44.4%(403例)と両群間で同等であったが、有害事象による脱落率はticlopidine群15.1%、aspirin群11.5%とticlopidine群で有意に高かった($p=0.02$)。試験全体の平均追跡期間は1.54年(各群の追跡期間中央値: ticlopidine群710日、aspirin群716日)。全体のコンプライアンス(中央値)は91%(各群: 90%, 92%)と良好であった。また、両群間の患者背景(平均年齢: ticlopidine群60.9 ± 10.7歳、aspirin群61.6 ± 10.4歳)、高血圧症・糖尿病・心血管疾患などのリスク因子保有率、ベースライン時の脳卒中のタイプに差は認められなかった。

一次エンドポイント発症率は、ticlopidine群14.7%(133例)、aspirin群12.3%(112例)とticlopidine群で高かった(ハザード比1.22, 95%信頼区間0.94-1.57, 表)。致死性脳卒中(ticlopidine群4例 vs aspirin群2例, $p=0.45$)または非致死性脳卒中(102例 vs 84例, ハザード比1.25, 95%信頼区間0.94-1.67, $p=0.15$)の再発率はいずれもticlopidine群で高かったが、有意差は認められなかった(表)。Kaplan-Meier法による一次エンドポイント発症率の累積曲線は両群間で差はみられなかったもの($p=0.12$, log-rank検定)、二次エンドポイントである致死性または非致死性脳卒中はaspirin群で低い傾向があった($p=0.08$, 同検定, 図2)。その他の二次エンドポイント発症率および再発した脳卒中のサブタイプと重症度は、両群間に差は認められなかった。

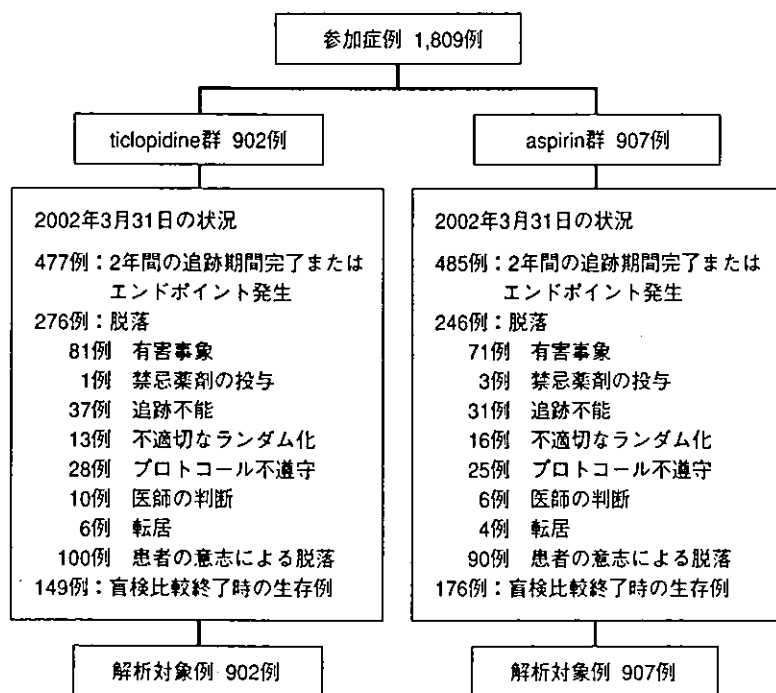


図1 本試験のフローチャート

(*JAMA* 2003; 289: 2950, Figure 1)

■ aspirinの安全性

全有害事象(1つ以上の重篤な有害イベント)の発生率は, ticlopidine群29.9%(270例), aspirin群28.9%(262例)であり, ticlopidine群の相対リスクは0.95(95%信頼区間0.78-1.16, $p = 0.63$)と

両群間で同等であった。下痢(ticlopidine群0.3% vs aspirin群0.2%, $p = 0.69$), 重篤な好中球減少症(3.4% vs 2.2%, $p = 0.12$), 血小板減少症(0.3% vs 0.2%, $p = 0.69$)の発生率はticlopidine群で高かったが統計的有意性には達しなかった。

表 主な臨床成績—エンドポイント発生の比較

	ticlopidine群 (n=902)	aspirin群 (n=907)	ハザード比 (95%信頼区間)	p値†
一次エンドポイント‡ 症例数(%)				
脳卒中再発:致死性	4 (0.4)	2 (0.2)	NA	0.45§
:非致死性	102 (11.3)	84 (9.3)	1.25 (0.94-1.67)	0.15
心筋梗塞:致死性	1 (0.1)	0 (0.0)	NA	0.50§
:非致死性	8 (0.9)	8 (0.9)	1.02 (0.38-2.71)	0.99
血管死‡:重篤な血管死	7 (0.8)	4 (0.4)	NA	0.36
:その他	11 (1.2)	14 (1.5)	0.80 (0.36-1.76)	0.56
二次エンドポイント 症例数(%)				
全脳卒中再発	107 (11.9)	86 (9.5)	1.28 (0.96-1.72)	0.10
全死亡	45 (5.0)	40 (4.4)	1.15 (0.74-1.77)	0.56
血管死	23 (2.5)	19 (2.1)	1.23 (0.66-2.29)	0.52
脳卒中再発または全死亡	138 (15.3)	117 (12.9)	1.22 (0.95-1.57)	0.14
脳卒中再発, 心筋梗塞, または全死亡	145 (16.1)	125 (13.8)	1.21 (0.95-1.55)	0.17

NA: データが不十分なため適切な評価が不可能である。

†: 指定のない場合は, χ^2 testに基づいた。

‡: 複合ハザード比: 1.22 (95%信頼区間0.94-1.57)

§: Fisher exact test

||: 重篤な血管死(致死性の脳梗塞または出血性脳卒中, 致死性心筋梗塞, あるいは突然死), その他の血管死(肺塞栓症, 心不全による死亡, 内臓または四肢の梗塞, 血行再建術または手術施行による死亡)。

(JAMA 2003; 289: 2952, Table 2)

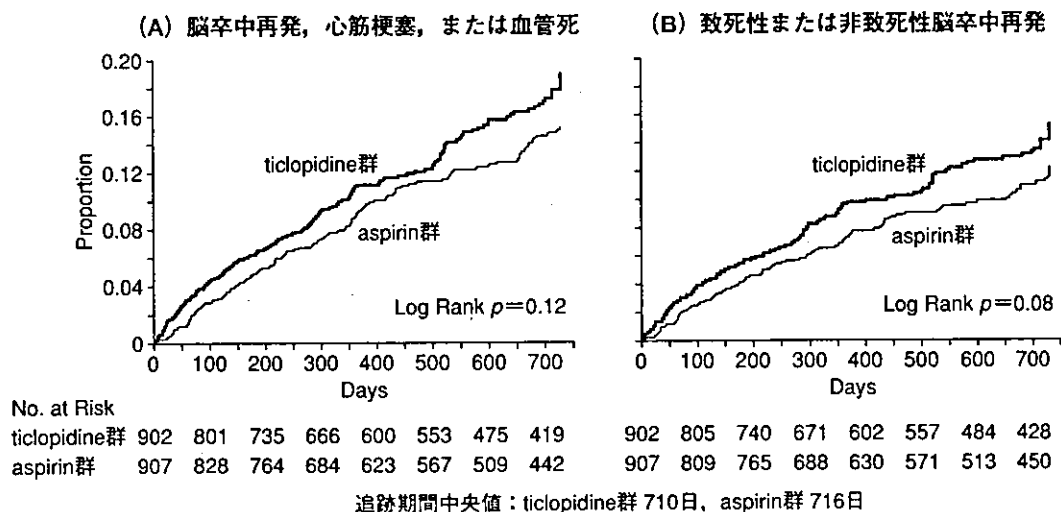


図2 脳卒中再発, 心筋梗塞, または血管死発症までの時間累積曲線(A), 致死性または非致死性脳卒中発症までの時間累積曲線(B)

(JAMA 2003; 289: 2952, Figure 2)

ticlopidine群で血栓性血小板減少性紫斑病が1例みられたが、プラスマフェレーシス療法により回復した。消化管出血はaspirin群で多くみられたものの(0.4% vs 0.9%, $p = 0.39$), 有意ではなかった。

盲検比較での投与中止を要する有害事象は、血小板減少症(ticlopidine群0.2% vs aspirin群0.0%), 好中球減少症(1.8% vs 1.2%), 発疹(1.7% vs 0.6%)がticlopidine群で多くみられ、発疹でのみ有意差が認められた($p = 0.02$)。また、投与中止を要する消化管出血の発生率はaspirin群で高かったが有意ではなかった(0.2% vs 0.6%, $p = 0.45$)。

■ リスク・ベネフィットを考慮した予防薬の選択 —高リスク患者への aspirin 投与の妥当性

2年にわたる追跡期間において、本試験ではticlopidineと aspirin 投与による脳卒中再発、心筋梗塞または血管死の抑制効果に有意差はみられなかった。一方、aspirin群において、有意ではないものの非致死性または致死性脳卒中の再発率が低い傾向が認められた。

本試験における脱落および追跡不完了率は、他の臨床試験に比べて高率であったが、患者自身の自発的な脱落が多く、対象とされたアフリカ系アメリカ人の社会経済的地位の低さによるものと考察された。また、統計学的に算出したサンプルサイズをもとにしていること、解析はintention-to-treatおよびon-treatmentを実施したこと(両解析結果に有意差なし)から、脱落率が解析結果を制限する可能性は低いとしている。

aspirinは他の抗血小板薬に比較して、経済的で利便性が高く、投与方法も簡便であること、また安全性においてaspirinはticlopidineに比し優れているといった本試験の結果を鑑み、本論文では、aspirinに耐性である非心原性脳梗塞の既往を有するアフリカ系アメリカ人において、脳卒中二次予防にaspirinを第一選択とすることが妥当であると結論づけられている。

文献

- 1) Hass WK, et al. *N Engl J Med* 1989; 321: 501-7.
- 2) Gent M, et al. *Lancet* 1989; 1(8649): 1215-20.
- 3) Gorelick PB, et al. *Neurology* 1993; 43: 27-31.

COMMENT

TASSのサブ解析ではaspirinと比較したticlopidineの脳梗塞予防効果は白人よりも非白人で顕著であることが示唆されていたが、事後解析であり、統計学的にはレベルの高いエビデンスとはいえない。これに対しAAASPSはアフリカ系アメリカ人の脳梗塞を対象としたticlopidineと aspirin の比較試験であり、統計学的にはより信頼度の高い成績と考えられる。結果は予想に反してticlopidine投与群と aspirin 投与群の脳梗塞発症率は有意

差がなかったというものであった。

アメリカを含めて海外では、thienopyridine系薬剤としてはticlopidineよりも重篤な副作用が少ないclopidogrelの時代になっているが、日本ではまだclopidogrelを使用することができないのでticlopidineが用いられており、AAASPSの結果はアメリカよりも日本に対するインパクトのほうが大きいかもしれない。また、日本人の脳卒中リスクは白人よりもアフリカ系アメリカ人に近いと考えられるので、本試験成績は本邦における日常診療にも影響を与えることであろう。(内山)

心原性脳塞栓症の抗血栓療法

内山真一郎

UCHIYAMA Shinichiro/東京女子医科大学附属脳神経センター神経内科

心房細動, 左室血栓, 急性心筋梗塞, 人工弁を伴った脳梗塞の再発予防にはワルファリン療法の適応がある。75歳以上か高血圧, 心不全, 糖尿病, 冠動脈疾患を合併した心房細動患者の一次予防にもワルファリンの適応があるが, これらの危険因子を有さない心房細動患者はアスピリンが適応となる。卵円孔開存のみを合併した脳梗塞患者の再発予防はアスピリンでよいと考えられるが, 深部静脈血栓や心房中隔瘤も合併した患者はワルファリンの適応がある。

はじめに

心原性脳塞栓症は, かつては脳梗塞全体の15%または6分の1を占めるといわれていたが, 最近では高齢者の増加や診断技術の進歩により脳梗塞の20~30%を占めると報告されるようになった¹⁾。心原性脳塞栓症は, 大きなフィブリン栓子が脳の主幹動脈を閉塞させるため大梗塞になりやすく, 他の脳梗塞よりも予後不良の傾向が強い²⁾ため, 再発予防のみならず一次予防もきわめて重要である³⁾。

最近, 海外では心原性脳塞栓症の抗血栓療法に関する多くの大規模臨床試験やメタアナリシスが行われ, それらのエビデンスに基づいて次々とガイドラインが発表された。本邦でも脳卒中合同ガイドライン委員会や日本神経学会治療ガイドライン Ad Hoc 委員会脳血管障害小委員会が脳卒中治療のガイドラインを作成中であり, 日本循環

器学会も「抗血小板, 抗凝固療法に関するガイドライン」を作成しつつあり, 筆者も委員の一人としてこれらのガイドライン作成に関与している。

本稿では, これらの背景を踏まえ, 心原性脳塞栓症の抗血栓療法に関する最新のエビデンスとコンセンサスを私見も交えて概説する。

心房細動

心房細動は高齢者ほど発症率が高くなるので, 急激に高齢化社会が進行している日本では心房細動患者が激増しており, 心房細動による脳塞栓症も激増していることから, 心房細動患者の脳卒中予防対策は緊急課題となっている³⁾。これまでに行われた非弁膜症性心房細動(NVAF)患者における抗血栓療法ランダム化比較試験(RCT)をメタアナリシスにより解析した成績によると, 脳卒中の発症はワルファリ

Key words

■脳梗塞
■心房細動
■卵円孔開存
■ワルファリン
■アスピリン

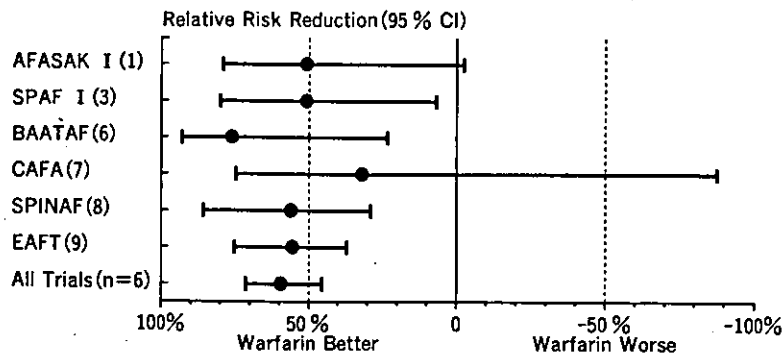


図1 非弁膜症性心房細動患者における脳卒中(虚血性および出血性)予防のための抗血栓療法:調節した用量のワルファリンとプラセボとの比較 (文献4より引用)

図2 非弁膜症性心房細動患者における脳卒中(虚血性および出血性)予防のための抗血栓療法:アスピリンとプラセボとの比較 (文献4より引用)

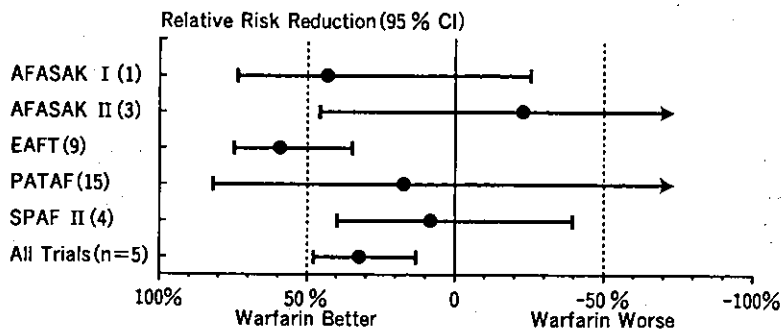
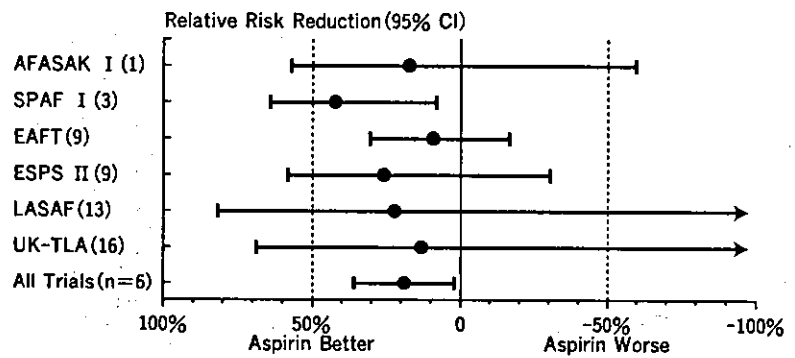


図3 非弁膜症性心房細動患者における脳卒中(虚血性および出血性)予防のための抗血栓療法:調節した用量のワルファリンとアスピリンとの比較 (文献4より引用)

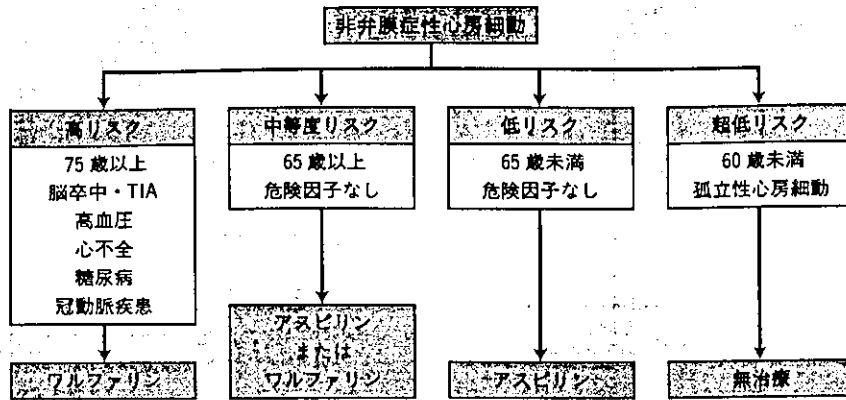


図4 非弁膜症性心房細動患者における抗血栓療法による虚血性脳卒中予防のガイドライン

ンにより62%も減少し、きわめて有効である(図1)⁴⁾。また、アスピリンも22%ながら有意な減少効果がある(図2)⁴⁾。しかし、アスピリンはワルファリンと直接比較すると、有意に36%劣っていた(図3)⁴⁾。

NVAF患者における虚血性脳卒中のリスクは一律ではなく、脳卒中・一過性脳虚血発作(TIA)の既往、加齢(>75歳)、高血圧、心不全、糖尿病、冠動脈疾患の合併が危険因子となる⁵⁾。欧米のガイドラインによれば、これらの危険因子のいずれかを有するNVAF患者ではアスピリンによる脳卒中予防効果は期待できないのでワルファリンが適応となり、いずれの危険因子もない65~75歳のNVAF患者にはアスピリンでもワルファリンでもよく、60~65歳の患者にはアスピリンが第一選択となり、60歳未満の孤立性心房細動(lone AF)は通常無治療でよいとされている(図4)^{6)~8)}。

NVAF患者では高齢になるほど脳卒中リスクは高まるのでワルファリンの適応となるが、同時にワルファリンによる頭蓋内出血のリスクも高まるというジレンマがある⁹⁾。厚生労働省循環器病研究委託事業による共同研究班が、脳塞栓症を生じたNVAF 115例にINR 2.2~3.5(目標値2.5)(55症例)のワルファリン療法とINR 1.5~2.1(目標値1.9)(60症例)のワルファリン療法を比較するRCTを行ったところ、脳塞栓の発症は前者で1例、後者で2例であり有意差がなかったが、重篤な出血合併症は前者で6例にみられたのに対して後者では1例にもみられず、両群間には有意差があった¹⁰⁾。また、大出血を生じた6例中5例は70歳以上だった。NVAF患者における従来のワルファリンの治療域は虚血性脳卒中と出血性脳卒中の両者がINR 2.0~3.0の範囲で最も少なくなるため、この範囲が標準的な治療域と

して推奨されていた(図5)⁸⁾。しかし、本研究結果は、高齢のNVAF患者における脳塞栓症の再発予防には重篤な出血合併症を避けるためINR 1.5~2.1まで下方修正したほうがよいことを示唆している。また、本研究結果と国立循環器病センターで以前に行われた後ろ向き調査の結果を統合して解析した成績によれば、軽症脳梗塞やTIAの発症はINRの強度によって明らかな差がなかったが、大梗塞はINR 1.6未満で多く、大出血はINR 2.6以上で多かった(図6)¹¹⁾。また、米国心臓学会(ACC)・米国心臓協会(AHA)・欧州心臓学会(ESC)による合同ガイドラインでは高齢者の治療オプションとしてINR 1.6~2.5を推奨している⁸⁾。これらを勘案すると、高齢のNVAF患者にはINR 1.5(または1.6)~2.5(または2.6)(目標値2.0)が推奨される。

日本循環器学会の研究班は、

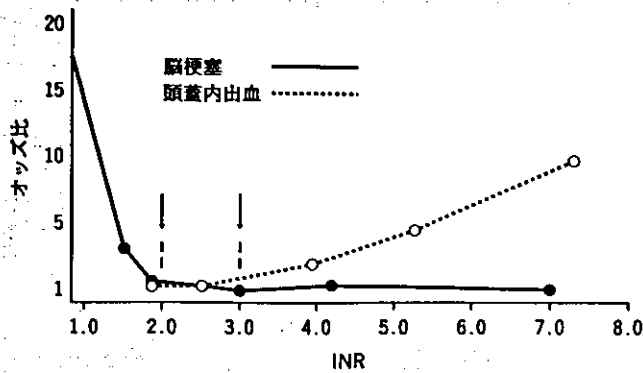


図5 INRの強度と脳梗塞・脳出血の発症頻度との関係
(文献4より引用)

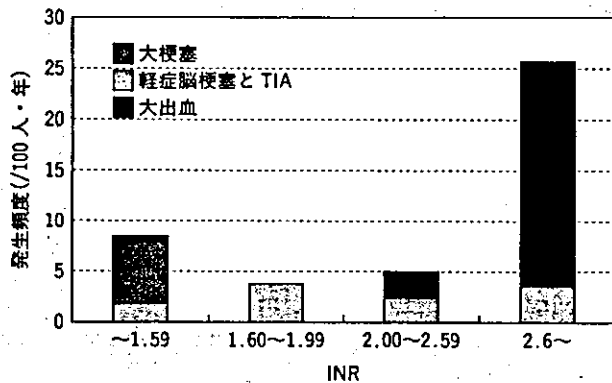


図6 INRと脳卒中・大出血の関係
(文献11より引用)

NVAF 1,000例を登録目標としてアスピリン(150~200mg)の脳塞栓症一次予防効果を3年間にわたり追跡調査するJapanese Atrial Fibrillation Stroke Study(JAST)を行った¹²⁾。最終結果は未発表であるが、アスピリン

による脳塞栓症の一次予防効果は認められず、アスピリン投与群では非投与群に比べて出血合併症が有意に増加した。一方、脳卒中の危険因子を有するNVAF 3,000例を対象として経口ロビン阻害薬メラガトロン¹³⁾の血

栓塞予防効果をワルファリンと比較する、きわめて大規模な国際共同研究(Stroke Prophylaxis Using an Oral Thrombin Inhibitors in Atrial Fibrillation III; SPORTIF-III)が行われ、日本も2001年から参加し、200例以上の患者が参加して2002年9月末日までにすべての患者の追跡調査が終了した。また、アメリカでは同様なNVAF患者3,000例を対象として、ダミーのINRを用いたワルファリンとアスピリンの二重盲検比較試験(SPORTIF-V)が並行して行われた。SPORTIF-IIIとVに参加した海外の患者の追跡調査も2002年12月までにすべて終了しており、2003年には解析結果が主要な国際学会で次々と発表される予定である。本剤がワルファリンに替わる初の薬剤になり得ることが証明されれば、40年以上続いたワルファリンの時代に終止符を打ち、ワルファリンに伴う血液凝固検査、ビタミンK摂取制限、多剤との相互作用の煩雑さのすべてから解放される画期的な治療法になると期待されている。



卵円孔開存(PFO)は成人の奇異性脳塞栓症の原因として重要であり、原因不明の脳梗塞の最大の要因と考えられているが、一般人口における頻度も非常に高く、脳梗塞患者にPFOが発見されたからといって必ずしも脳梗塞の原因とは限らない¹⁴⁾。Patent Foramen Ovale in Cryptogenic Stroke

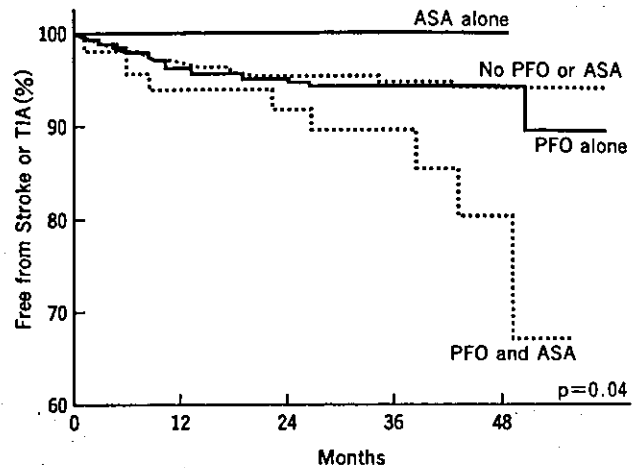
表1 ワルファリン投与群とアスピリン投与群の卵円孔開存(PFO)合併患者と非合併患者における脳梗塞の再発と死亡の2年間の発生率

	ワルファリン	アスピリン	Hazard Ratio (95% CI)	
Entire PICSS cohort	With PFO (n=203)	13.2% (n=106)	1.29 (0.63~2.64)	0.49
	No PFO (n=398)	13.4% (n=195)	0.80 (0.49~1.33)	0.40
Cryptogenic cohort	With PFO (n=98)	17.9% (n=56)	0.52 (0.16~1.67)	0.28
	No PFO (n=152)	16.3% (n=80)	0.50 (0.19~1.31)	0.16

(文献15より引用)

Study (PICSS)¹⁵⁾によれば、PFOを合併した脳梗塞患者においてワルファリンとアスピリンの脳梗塞再発予防効果は有意差がなかった(表1)。再発した脳梗塞を原因不明の脳梗塞に限定すると、再発率はワルファリン投与群でアスピリン投与群よりかなり低くなるが、このようなサブ解析は症例数とイベント数が少なくなるので、やはり両群間の有意差は証明されなかった(表1)。PFO患者の塞栓源は深部静脈血栓(DVT)なので、超音波検査やMRIによるDVTの検索が重要である。DVTの再発予防にはワルファリン療法の適応があるので、DVTを合併したPFO患者は必然的にワルファリン療法の適応と考えるべきであろう。

一方、Patent Foramen Ovale and Atrial Septal Aneurysm Study¹⁶⁾によれば、アスピリンが投与された脳梗塞患者において、PFOのみ、または心房中隔瘤(ASA)のみが合併していても、PFOもASAもない場合と脳梗塞再発率は有意差がないが、PFOとASAの両者が合併していると、どちらも合併していない場合より有意に脳梗塞再発率が高かったことから、アス



No. AT RISK	0	12	24	36	48
No PFO or ASA	304	291	267	158	48
PFO alone	216	207	198	122	43
ASA alone	10	10	9	4	1
PFO and ASA	51	46	44	25	10

図7 PFO/ASA Study (文献16より引用)

ピリン以外の再発予防対策が必要と考えられ、ワルファリンの適応があると考えられる(図7)。

その他の心内塞栓源

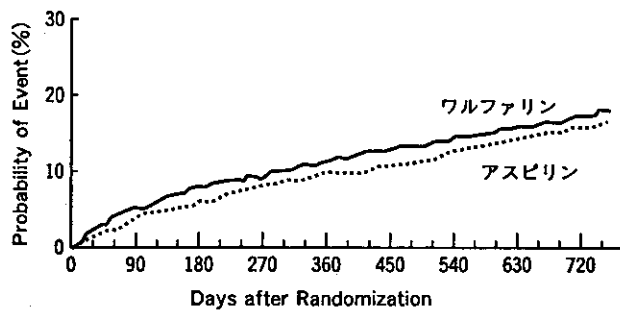
AHAの脳卒中評議会によるガイドラインでは、確実な心内塞栓源として

NVAF のほかに左室血栓、急性心筋梗塞、人工弁置換を合併した脳梗塞患者にはワルファリンが適応となるが、その他の塞栓源となり得る心疾患の合

併例には抗血小板薬の適応があり、抗凝血薬については検討中であるとされていた(表 2)¹⁷⁾。

抗凝血薬について検討していた研究

が Warfarin - Aspirin Recurrent Stroke Study (WARSS) であり、最近その最終成績が発表された(図 8)¹⁸⁾。確実な心内塞栓源である NVAF、左室血栓、急性心筋梗塞、人工弁置換合併例を除くすべての脳梗塞 2,000 例において、ワルファリン (INR 1.4~2.8, 平均 2.0) 投与群ではアスピリン (325 mg/日) 投与群より再発率が有意ではないものの 11% 高く、大出血も多い傾向があったことから、これらの脳梗塞患者にワルファリンを適応とする根拠はないと考えられる。



No. AT RISK									
ワルファリン	1103	1047	1013	998	972	956	939	924	885
アスピリン	1103	1057	1032	1004	984	974	951	932	900

図 8 ワルファリン投与群とアスピリン投与群における虚血性脳卒中または死亡の Kaplan-Meier 解析 (Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study) (文献 18 より引用)

表 2 米心臓協会脳卒中評議会による脳梗塞・TIA 患者における再発予防のガイドライン

虚血性脳卒中中の病型	治療方針
粥状硬化性頸動脈疾患	
≥70%狭窄	合併症が 6% 未満なら頸動脈内膜摘除術, 抗血小板薬*
50~69%狭窄	危険因子によっては頸動脈内膜摘除術, 抗血小板薬*
<50%狭窄	頸動脈内膜摘除術の適応なし, 抗血小板薬*
脳塞栓症	
明らかな塞栓源	抗凝固薬
NVAF	INR 2~3 (目標 2.5)
左室血栓, AMI	INR 2~3 (目標 2.5)
人工弁置換	INR 3~4 (目標 3.5)
可能性のある塞栓源	抗血小板薬* (抗凝血薬は検討中)
他の病型	
ラクナ梗塞と原因	抗血小板薬* (抗凝血薬は検討中)
不明の脳梗塞を含む	

*: アスピリン, クロピドグレル, ジピリダモール徐放剤とアスピリンの併用, テクロピジン. (文献 17 より引用改変)

急性期の再発予防

心原性脳塞栓症では発症直後の再発が多いので、早期抗凝固療法が推奨されてきた¹⁴⁾¹⁹⁾。しかしながら、最近の報告によれば、心原性脳塞栓症の過半数を占める心房細動患者における脳梗塞発症後 2 週間の再発率は平均 5% と必ずしも高くなく、非心原性脳梗塞と区別して考える必要はないとの意見が優勢になってきた²⁰⁾。

NVAF 患者における早期の脳梗塞の再発は、アスピリンにより International Stroke Trial (IST)²¹⁾ では約 25% 減少したが、Chinese Acute Stroke Trial²²⁾ では 5% しか減少せず、両者を併せて相対リスク減少率は 21% (95% 信頼区間 -5 ~ 41) であった(表 3)²⁰⁾。このアスピリンによる減少率は非心原性脳梗塞における減少率と大差なく、アスピリンは NVAF による心原性脳塞栓症の再発を抑制したのではなく、

表3 心房細動に伴う脳梗塞急性期におけるヘパリンとアスピリンのランダム化試験成績

試験(観察期間)	症例数	脳梗塞の再発	脳出血	全脳卒中(推計)	3~6ヵ月後の転帰良好
心房細動					
HAEST(14日)					
低分子ヘパリン	224	19(8%)	6	(25)	34%
アスピリン	225	17(8%)	4	(21)	35%
IST(14日)					
ヘパリン 12,500 BID	784	18(2%)	22	39	22%
ヘパリン 5,000 BID	773	26(3%)	10	36	21%
ヘパリン無投与	1,612	79(5%)	7	86	21%
アスピリン	1,622	53(3%)	22	75	22%
アスピリン無投与	1,547	70(5%)	17	87	20%
CAST(28日)					
アスピリン	696	35(5%)	17	(52)	---
プラセボ	715	38(5%)	20	(58)	---
混在した心内塞栓源					
TOAST(7日)					
低分子ヘパリン	143	0(0%)	報告なし	報告なし	48%
プラセボ	123	2(2%)	報告なし	報告なし	47%
FISS-bis					
低分子ヘパリン	86	報告なし	報告なし	報告なし	22%
プラセボ	62	報告なし	報告なし	報告なし	26%
CESG(14日)					
ヘパリン静注	24	0(0%)	0	0	報告なし
ヘパリン無投与	21	2(10%)	0	2	報告なし

HAEST: Heparin in Acute Embolic Stroke Trial,
 IST: International Stroke Trial,
 BID: 2回/日,
 CAST: Chinese Acute Stroke Trial,
 TOAST: Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment,
 FISS-bis: Fraxiparine in Ischemic Stroke Study,
 CESG: Cerebral Embolism Study Group.
 (文献20より引用)

非心原性脳梗塞の発症を予防しただけかもしれない。これに対して、出血性梗塞を含む脳出血の頻度はアスピリン投与群と非投与群またはプラセボ群でほとんど同じであった(表3)²⁰⁾。また、6ヵ月後の死亡または要介助はわずかではあるが、アスピリンにより減少する傾向がみられた(表3)²⁰⁾。

一方、ヘパリンやヘパリノイドに関しては、Heparin in Acute Embolic Stroke Trial(HAEST)²³⁾では早期の脳梗塞の再発は低分子ヘパリン投与群とアスピリン投与群のいずれも8%であり、差はなかった(表3)²⁰⁾。また、

IST²¹⁾ではヘパリンにより虚血性脳卒中中は用量依存性に減少し、この減少率はNVAF非合併群より高かったため、本当に心原性脳塞栓症の再発を予防したと考えられたが、出血性梗塞を含む脳出血も用量依存性に増加してしまったため、両者を合計した全脳卒中はヘパリン非投与群と同じになってしまい、6ヵ月後の転帰不良例も全く減らなかった(表3)²⁰⁾。

このように、心原性脳塞栓症の早期再発予防に明らかに有効な抗血栓療法のエビデンスは現在までのところ存在しない。現時点では、急性心筋梗塞や

心内血栓を合併しているような再発のリスクが非常に高い場合には、ヘパリンの静脈投与から開始してワルファリンの経口投与へとスイッチする方法が考えられるが、NVAF単独例では発症の数日後からいきなりワルファリンを開始する方法が、ヘパリンからワルファリンへスイッチする方法より安全なように思われ、再発のリスクが高まるおそれも少ないと考えられる²⁴⁾。

●文献

- 1) 山口武典: 脳梗塞急性期医療の実態に関する研究. 平成12年度厚生科

学研究費補助金厚生科学研究事業研究報告書, 2001

- 2) Whisnant JP, Basford JR, Bernstein BF et al : Stroke 21 : 637-676, 1990
- 3) 内山真一郎, 山崎昌子, 岩田 誠 : 日内会誌 91 : 77-83, 2002
- 4) Hart RG, Benavente O, McBride R, Pearce LA : Ann Intern Med 131 : 492-501, 1999
- 5) Atrial Fibrillation Investigators : Arch Intern Med 154 : 1949-1957, 1994
- 6) Hart RG, Sherman DG, Easton JD, Cairns JA : Neurology 51 : 674-681, 1998
- 7) Gorelick PB, Sacco RL, Smith DB et al : JAMA 281 : 1112-1120, 1999
- 8) Fuster V, Ryden LE, Asinger RW et al : Circulation 104 : 2118-2150, 2001
- 9) Uchiyama S : Intern Med 40 : 1166-1167, 2001
- 10) Yamaguchi T for Japanese Non-valvular Atrial Fibrillation-Embolism Secondary Prevention Cooperative Study Group : Stroke 31 : 817-821, 2000
- 11) Yasaka M, Minematsu K, Yamaguchi T : Intern Med 40 : 1183-1188, 2001
- 12) 堀 正二, 石川欽司, 内山真一郎ほか : Jpn Circ J 64(Suppl III) : 993-1005, 2000
- 13) Gustafsson D, Antonsson T, Bylund R et al : Thromb Haemost 79 : 110-118, 1998
- 14) 内山真一郎 : 日内会誌 88 : 93-99, 1999
- 15) Homma S, Sacco RL, Di Tullio MR et al : Circulation 105 : 2625-2631, 2002
- 16) Mas J-L, Arquizan C, Lamy C et al for the Patent Foramen Ovale and Atrial Septal Aneurysm Study Group : N Engl J Med 345 : 1740-1746, 2001
- 17) Wolf PA, Clagett P, Easton JD et al : Stroke 30 : 1991-1994, 1999
- 18) Mohr JP, Thompson JLP, Lazar RM et al for the Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study Group : N Engl J Med 345 : 1444-1451, 2001
- 19) Cerebral Embolism Task Force : Arch Neurol 32 : 71-86, 1986
- 20) Hart RG, Palacio S, Pearce LA : Stroke 33 : 2722-2727, 2002
- 21) International Stroke Trial Collaborative Group : Lancet 349 : 1569-1581, 1997
- 22) CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group : Lancet 349 : 1641-1649, 1997
- 23) Berge E, Abdelnoor M, Nakstad PH et al for the HAEST Study Group (Heparin in Acute Embolic Stroke Trial) : Lancet 355 : 1205-1210, 2000
- 24) Moonis M, Fisher M : Stroke 33 : 1927-1933, 2002

神経内科学

脳梗塞の EBM

EBM in ischemic stroke

脳卒中合同ガイドライン委員会は“脳卒中治療ガイドライン 2003”を発表し、日本循環器学会も“抗血小板・抗凝固療法に関するガイドライン”を作成中であるが、両ガイドライン作成に関与している委員のひとりとして脳梗塞再発予防のための抗血栓療法を推奨する根拠となったエビデンスを紹介する。

著者も共同研究者として関与している Antithrombotic Trialists' Collaboration (ATT) は閉塞性血管障害患者に行われた 287 件のランダム化比較試験 (RCT) で無作為化された約 20 万症例を対象としたメタアナリシスの結果を発表した¹⁾。疾患別の解析では脳梗塞・TIA 患者における抗血小板療法による血管イベントのきわめて有意な予防効果が証明されたが、抗血小板薬別の解析ではアスピリンが 23%、チクロピジンが 32%、アスピリンとジピリダモールの併用が 30% の有意な血管イベント低減効果を認めた。アスピリンの用量別解析ではアスピリンの効果には J カープ現象がみられ、75~150 mg がもっとも効果が大きく、75 mg 未満の効果は有意ではなかった。わが国では 1,000 例以上の脳梗塞患者を対象とした Cilostazol Stroke Prevention Study (CSPS) によりシロスタゾールの再発予防効果が示された²⁾。海外ではチクロピジンより副作用の少ないクロピドグレルが用いられているが、アスピリンとクロピドグレルの併用療法に関する多くの大規模臨床試験 (MATCH, ACTIVE, CHARISMA など) が行われている。

非弁膜症性心房細動 (NVAF) 患者における抗血栓療法の RCT をメタアナリシスにより解析した成績によると、虚血性脳卒中はワーファリンにより 62% も減少し、アスピリンも 22% ながら有意な減少効果があったが、ワーファリンと比較すると有意に 36% 劣っていた³⁾。NVAF 患者では脳卒中・TIA の既往、加齢 (75 歳以上)、高血圧、心不全、糖尿病、冠動脈疾患が脳卒中中の危険因子となる⁴⁾。これらのいずれかを有する NVAF 患者ではワーファリンが適応となり、いずれの危険因子もない場合にはアスピリンでもよく、60 歳未満の孤立性心房細動は無治療でよいとされている⁵⁾。ワーファリンの治療域は通常 INR2~3 が推奨されるが、高齢の NVAF 患者ではワーファリンによる出血リスクが高いため、INR1.6~2.6 (目標値 2.0) が推奨される^{5,6)}。

日本循環器学会の研究班は NVAF896 例を対象としてアスピリン (150~200 mg) の脳塞栓症一次予防効果を検討する RCT (JAST) を行ったが、脳梗塞と TIA はアスピリン群と対照群で有意差がなく、大出血はアスピリン群で対照群より有意に多く、虚血性と出血性の全イベントもアスピリン群 (3.10%/年) で対照群 (2.29%/年) より多かった。最近、脳卒中中の危険因子を有する NVAF を対象として経口ロロンピン阻害薬 (ximelagatran) とワーファリン (INR2~3) を比較する RCT (SPORTIF) が行われた。日本も参加した SPORTIF-III の結果が発表され、脳卒中と全身塞栓は ximelagatran 群 (1.6%) でワーファリン群 (2.3%) より少ない傾向があり ($p=0.10$)、大出血も ximelagatran 群 (1.3%) でワーファリン群 (1.8%) と同等以下であった。

アメリカ心臓協会脳卒中評議会によるガイドライン⁷⁾によれば、アテローム血栓性脳梗塞では頸動脈狭窄の有無や程度の如何にかかわらず、全例に抗血小板療法の適応があり、心原性脳塞栓症では NVAF、左室血栓、急性心筋梗塞、人工弁置換の合併例にはワーファリンが適応となるが、その他の塞栓源となりうる心疾患の合併例には抗血小板薬の適応があり、ラクナ梗塞と原因不明の脳梗塞を含む他の脳梗塞にも抗血小板療法の適応があるとされていたが、最近行われた Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study (WARSS)⁸⁾ はガイドラインを支持する結果となった。

WARSS のサブスタディとして行われた Patent foramen Ovale in Cryptogenic Stroke Study (PICSS)⁹⁾によれば、WARSS に登録され、経食道心エコーを施行した症例の 1/3 以上に卵円孔開存 (PFO) が発見されたが、PFO 合併例においてもワーファリン群とアスピリン群の脳梗塞再発率は、有意差がなかったことから、脳梗塞患者に PFO が発見されたからといってワーファリンの適応があるとはいえないが、原因不明の脳梗塞の最大の危険因子は PFO による奇異性脳塞栓症であると考えられることから、原因不明の脳梗塞患者には経食道心エコーや経頭蓋ドップラーを施行すべきであり、これらの検査で PFO が発見された症例では下肢静脈エコーや MR 静脈撮影を施行して真の塞栓源である深部静脈血栓の検索に努め、深部静脈血栓が発見された症例にはワーファリンが適応となり、発見されなかった症例は抗血小板薬でよいと考えられる。

- 1) Antithrombotic Trialists' Collaboration: *Br. Med. J.*, 324: 71-86, 2002.
- 2) Gotoh, F. et al.: *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 9: 147-157, 2000.
- 3) Hart, R. G. et al.: *Ann. Intern. Med.*, 131: 492-501, 1999.

- 4) Atrial Fibrillation Investigators : *Arch. Intern. Med.*,
154 : 1949-1957, 1994.
- 5) Fuster, V. et al. : *Circulation*, 104 : 2118-2150, 2001.
- 6) Yamaguchi, T. for Japanese Non Valvular Atrial Fibrilla-
tion-Embolism Secondary Prevention Study Group :
Stroke, 31 : 817-821, 2000.
- 7) Wolf, P. A. et al. : *Stroke*, 30 : 1991-1994, 1999.
- 8) Mohr, J. P. et al. : *N. Engl. J. Med.*, 345 : 1444-1451,
2001.
- 9) Homma, S. et al. : *Circulation*, 105 : 2625-1631, 2002.

内山真一郎 / Shinichiro UCHIYAMA

東京女子医科大学医学部附属脳神経センター神経内科

第18回 血小板シリーズ No.1

Flow cytometer を用いた血小板機能測定

山崎 昌子 東京女子医科大学附属脳神経センター神経内科 Yamazaki, Masako
 内山真一郎 同附属脳神経センター神経内科教授 Uchiyama, Shinichiro

はじめに

血小板は生理的な止血血栓の形成だけでなく、病的な血管閉塞性の血栓の形成や、その基盤となる動脈硬化の発生進展にも重要な役割を果たしている。近年、そのメカニズムが分子レベルで解明されつつあり、これを基礎として、生体内における血小板機能をより簡単に、感度良く、高い精度で測定できる検査法が確立され、血栓形成の診断や抗血小板薬の薬効評価法として普及することが期待されている。Flow cytometer を用いた血小板機能測定¹⁾²⁾は、新しい血小板機能検査法の中でも、その有用性が最も注目されている方法の1つである。

フローサイトメトリー(FC)を用いた
血小板機能測定

FCは、蛍光色素で染色した細胞を1個1個遊離した形で細い管を通過させ、これにレーザー光を照射し、細胞から放出される蛍光のある波長帯での強度や散乱角により、細胞の大きさ・相対的

DNA量・細胞表面抗原などの生物学的特性を解析する検査法である。血小板研究においても、血小板膜糖蛋白の異常による血小板無力症やBernard-Soulier病の診断、特発性血小板減少症における血小板表面IgGの測定、ヘパリン惹起血小板減少症などにおける抗血小板抗体の検出、血小板特有抗原の解析などに用いられ、種々の抗体を用いることによりほとんど全ての血小板機能をFCにより解析できる³⁾。

血栓症においても、血小板膜糖蛋白(GP)の形態変化⁴⁾⁵⁾、血小板へのフィブリノゲンの結合⁷⁾⁸⁾や、顆粒放出反応⁹⁾¹⁰⁾、血小板由来マイクロパーティクル(PMP)生成¹¹⁾¹²⁾、細胞内Ca²⁺濃度¹³⁾、網状血小板¹⁴⁾など、血小板の活性化に伴う様々な反応の測定が可能なることから、生体内における血小板活性化の評価に有用である。

FCを用いた血小板機能測定の特徴

従来、生体内における血小板の活性化や血小板機能を評価する検査としては、放出因子であるβ-トロンボグロブリンや血小板第4因子、血中および尿中のアラキドン酸代謝産物、血小板寿命

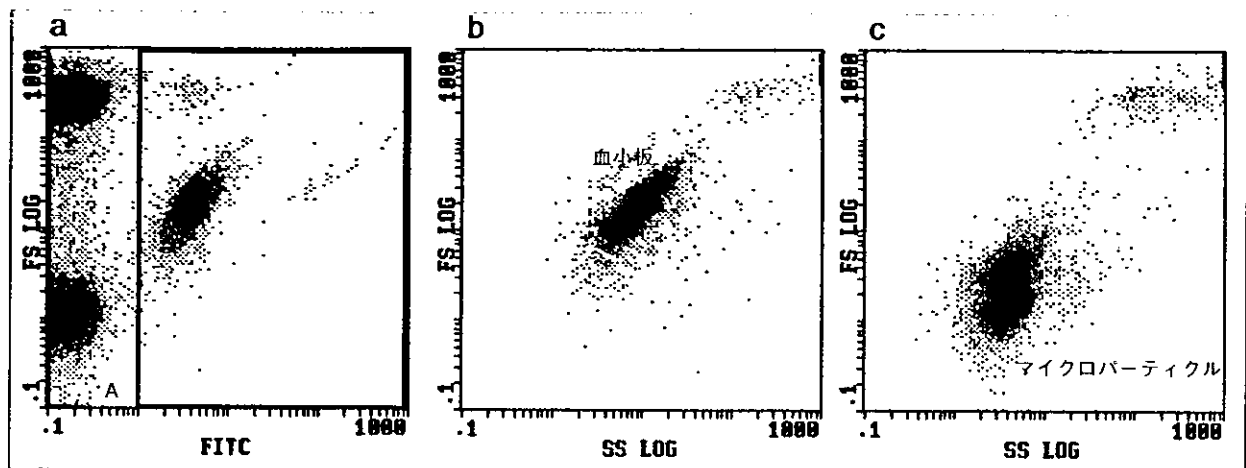


図 1

血小板特異抗原陽性細胞(図 a の A で囲まれた部分)について、前方散乱光(FS)と側方散乱光(SS)のヒストグラムに描き、FS から血小板(図 b)とマイクロパーティクル(図 c)を同定する。

時間、出血時間、血小板凝集能などの測定が行われてきた。しかし、これらの方法は、*in vitro*での血小板活性化の影響を受けやすい、手技が煩雑である、感度が低いなどの問題を有している。FCでは、①血小板活性化に伴う血小板膜の構造の変化や膜受容体の発現から様々な段階の血小板活性化状態を検出することが可能である、②1個1個の血小板について解析を行うため感度が非常に高く、数%というわずかな活性化血小板の検出も可能である、③全血検体を用いると*in vitro*における血小板活性化が最小限に抑えられ、赤血球や白血球も存在する生理的な条件で評価できる、④測定に必要とする検体が非常に微量である、⑤血小板減少検体においても測定可能であるなど、従来の血小板機能検査の方法上の問題の多くを解決する有用な検査法である。特に、他の手法とは異なり細胞間の多様性を簡便に検索できることが大きな利点である。

しかし、フローサイトメーターやモノクローナル抗体が高価で、サンプル処理や測定には技術的な熟練が要求されるため、まだ一般化されておらず、研究目的に限定されている。

活性化血小板の検出法

活性化血小板は、抗凝固剤を用いて採取した血液に、蛍光色素を標識した種々の抗体を反応させた後、希釈・固定して測定する。血小板特異抗原(GPIIb/IX, GPIIb/IIIa)陽性粒子について、前方および側方散乱光から血小板を同定し(図1)、活性化血小板にのみ結合するモノクローナル抗体の血小板への結合を、陰性対照から設定した陽性率や蛍光強度を指標として測定する(図2)。活性化血小板の測定には、以下の指標が用いられている。

1. PAC-1 結合 血小板膜結合フィブリノゲン

血小板は種々の刺激により活性化されるとGPIIb/IIIaの立体構造が変化し、フィブリノゲンの結合部位が発現し、そこへ血漿中のフィブリノゲンが結合して血小板間に架橋が形成され、凝集に至る。PAC-1³¹⁻³³⁾は、構造変化を受けたGPIIb/IIIa上のフィブリノゲン結合部位を認識するモノクローナル抗体で、静止状態のGPIIb/IIIaにはほとんど結合せず、活性化されたGPIIb/IIIaのみに結合する。また、GPIIb/IIIaの構造変化により発現するligand-induced binding sites (LIBS)

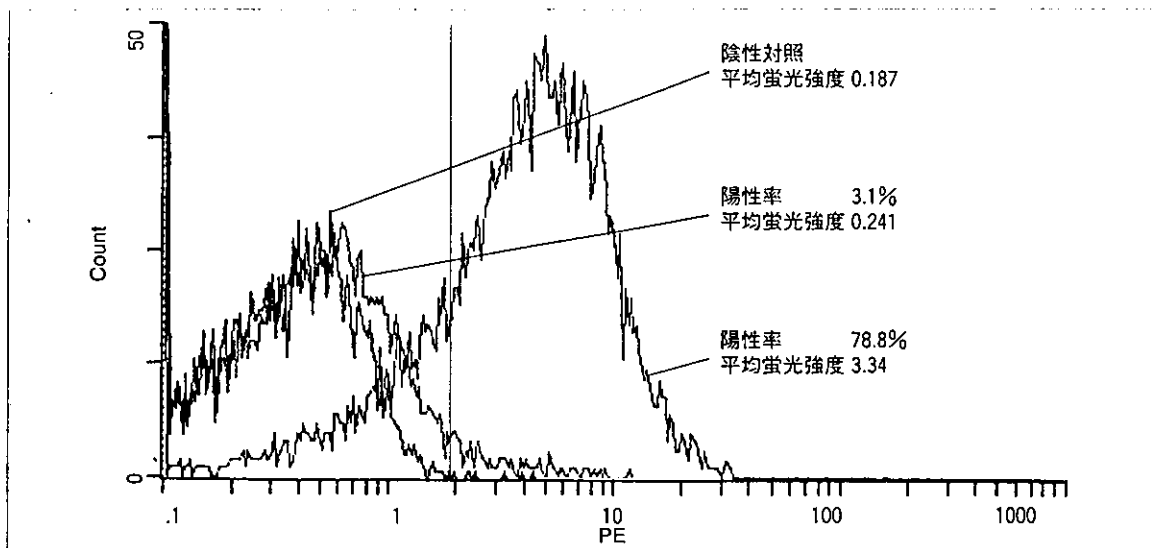


図 2

図 1 で同定された血小板について、陰性対照で陽性部分を設定し、陽性率や蛍光強度を指標に p-セレクチンの発現を測定する。

に対するモノクローナル抗体⁹⁾でも GPIIb/IIIa の活性化を検出できる。さらに、血小板表面に結合しているフィブリノゲンは、抗フィブリノゲン抗体を用いて測定することが可能である⁷⁸⁾。これらの測定は血小板凝集を反映すると考えられるが、血小板凝集能に比べ鋭敏で定量性に優れている。

2. p-セレクチン (CD 62 p)

p-セレクチンは、血小板の α 顆粒膜の構成成分であり、非活性化状態の血小板膜には存在しない。血小板が活性化すると α 顆粒膜が血小板表面膜に癒合し、顆粒内容物が放出され、p-セレクチンが表面に発現し、細胞接着に関与する⁹⁾。p-セレクチンの膜表面への発現は顆粒放出反応を反映する血小板活性化のマーカーとして測定されており、 β -TG の測定よりも手技的な影響を受けにくいとされている。

3. CD 63

CD 63 はライソゾーム顆粒の膜成分であり、血小板の活性化に伴って血小板表面での発現増加が認められる¹⁰⁾。ライソゾーム顆粒の放出は α 顆粒よりも強い刺激で起こるため、CD 63 は p-セレ

クチンに比べ高度な血小板活性化を反映するとされている。

4. 血小板由来マイクロパーティクル (platelet-derived microparticle : PMP) および血小板プロコアグラント活性

血小板が活性化されたり物理的刺激を受けたりすると、血小板から直径 $0.5\mu\text{m}$ 以下の微小な膜小胞体が形成されて遊離するが、これを PMP と呼び、止血血栓形成に重要な役割を演じている¹¹⁾。すなわち、血小板が活性化すると、血液凝固因子が強く結合する phosphatidyl serine (PS) が細胞膜内層から外層へと移動するため、血小板膜表面に凝固因子が濃縮された状態となり血液凝固が促進される。特に、PMP は表面に多数の活性化第 V 因子の結合部位を有し、血小板に関連するプロコアグラント活性の主体と考えられており、凝固系に関連した血小板活性化マーカーとして注目されている。

FC による PMP の測定では、蛍光標識抗 GP モノクローナル抗体で染色し、血小板特異抗原陽性粒子の粒度分布を表示して粒子の大きさから血小板と識別する。また、プロコアグラント活性は

膜表面への活性化第 V 因子の結合や、PS に特異的に結合するアネキシン V の結合として測定することが可能である¹²⁾。

5. 網状血小板

血小板にも赤血球の網赤血球に相当する網状血小板の存在が認められており、幼若な血小板中に残存する RNA をチアゾールオレンジで染色することにより、FC を用いて測定することが可能である¹⁴⁾。採血時の血小板活性化の影響を受けないという利点を有し、血栓性疾患では、高度な血小板活性化により血栓が形成され血小板が消費されている場合に、血小板代謝回転が亢進し網状血小板が増加する¹⁵⁾。

FC を用いた血小板機能測定 of 臨床的意義

FC による血小板活性化マーカーは、心筋梗塞、脳梗塞、抗リン脂質抗体症候群、体外循環(人工心肺、人工透析)などで上昇し、抗血小板療法により低下することが数多く報告されており、きわめて鋭敏な血小板活性化の指標として臨床的に有用である¹²⁾。さらに、狭心症よりも不安定狭心症で高値を示し、血栓性疾患のみならず糖尿病などの血栓症の危険因子を有する症例でも上昇し、糖尿病の中でも合併症を有する症例で高値を示すなど、従来の検査法よりも、基礎にある血管病変や血栓形成を反映し得ることが報告されている。われわれの検討においても、脳梗塞患者では特にアテローム血栓性脳梗塞で p-セレクトインが高値を示し、アスピリン投与では有意差がないもののチクロピジン投与で低値を示し、両者の併用ではさらに低値を示した¹⁶⁾。

種々の血小板活性化マーカーの変動は必ずしも一致せず、われわれの検討において、ラクナ梗塞ではフィブリノゲン結合血小板は高率であったが、p-セレクトイン発現率は上昇が認められず、心原性脳塞栓症ではこれとは反対に p-セレクトイン発現が高率で、血小板フィブリノゲン結合率は軽度高値であった¹⁶⁾。また、急性期から慢性期の脳梗塞

患者における測定では、p-セレクトインは急性期にのみ高率であったが、CD 63 は慢性期まで持続的に高率を示したと報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。血栓症患者においてどのような時間経過で活性化マーカーが認められるか、どのような病態をどのマーカーが鋭敏に反映するかなどは明らかではなく¹⁹⁾、現時点では複数のマーカーを測定することが、血栓性疾患の病態把握のために有用であると考えられる。

おわりに

FC による活性化血小板の測定はまだ臨床的な検討が始まったばかりであるが、軽微な血小板の活性化の検出や定量的な評価が可能であり、今後、血栓症の診断、抗血小板療法 of 適応の決定や抗血小板薬のモニターに有用であることが期待されている。また、FC では白血球の活性化や、白血球と血小板の相互作用に関する解析も可能であり、近年注目されている動脈硬化と炎症の検討にも有用である。動脈硬化や血栓症 of 分子レベルでの解明がさらに進み、より多くの指標の測定が可能となれば、さらに有用性が高まる検査法と考えられる。

References

- 1) Michelson AD : Flow cytometry : A clinical test of platelet function. *Blood* 87 : 4925-4936, 1996
- 2) Schmitz G, Rothe G, Ruf A, et al : European working group on clinical cell analysis : Consensus protocol for the flow cytometric characterisation of platelet function. *Thromb Haemost* 79 : 885-896, 1998
- 3) Shattil SJ, Hoxie JA, Cunningham M, et al : Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex during platelet activation. *J Biol Chem* 260 : 11107-11114, 1985
- 4) Shattil SJ, Cunningham M, Hoxie JA : Detection of activated platelets in whole blood using activation-dependent monoclonal antibodies and flow cytometry. *Blood* 70 : 307-315, 1987