

チマー)を切断する酵素(vWF cleaving protease)に対する抗体が産生されるため高分子量vWFマルチマーが増加し、ずり応力により惹起される血小板凝集が著明に亢進することが病因の本態であることが判明した<sup>8)</sup>。また、最近このvWF切断酵素の遺伝子多型が脳梗塞の危険因子として注目されている<sup>9)</sup>。

ヘパリン誘発性血小板減少症(heparin-induced thrombocytopenia : HIT)はヘパリンに対する自己抗体が血小板を活性化し、血小板減少をもたらす病態であり、ヘパリン治療例の0.5%に発現するといわれているが、我が国では過小診断の傾向があり、播種性血管内凝固症候群(disseminated intravascular coagulation : DIC)と誤診されることも少なくない<sup>10)-12)</sup>。HITはI型とII型に分類され、I型はヘパリン開始後1~5日後に生じ、予後良好であるが、II型はヘパリン開始後6~10日後に生じ、脳梗塞などの血栓症を併発することから、ヘパリン誘発性血小板減少症・血栓症症候群(heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis syndrome : HITTS)とも呼ばれる<sup>10)-12)</sup>。HITではヘパリン依存性抗血小板抗体が存在し、この抗体は患者の血漿、血清、IgGと正常の多血小板血漿(PRP)を混合し、ヘパリン添加で血小板凝集が惹起されることにより証明されるが、この方法は感度が低いためセロトニン標識血小板を用いてヘパリンが血小板放出反応を惹起することを証明する方法も行われてきた<sup>12)-14)</sup>。また、HITではヘパリンと血小板第4因子の複合体に対する抗体が形成されるのが特徴であり、この抗体を証明することが診断根拠となり、最近では簡便な測定用ELISAキットも開発された<sup>12)</sup>。

表1 抗リン脂質抗体症候群の診断基準

臨床診断基準

1. 血栓症

あらゆる組織や臓器における動脈、静脈、小血管の血栓症。血栓症は表在静脈血栓症を除き画像検査、超音波検査、組織病理検査のいずれかによって証明されなければならない。病理学的な確定診断には、血栓症が血管壁の炎症所見を伴わずに存在する必要がある。

2. 妊娠の異常

(a)超音波又は直接検査により記載された形態的に正常な胎児の妊娠10週以後における1回以上の説明不能の死亡。

(b)高度の前子癩、子癩、胎盤不全による、形態的に正常な胎児の妊娠34週以前における1回以上の早産。

(c)母親の解剖学的・ホルモンの異常や父親と母親の染色体異常が除外された妊娠10週以後における連続3回以上の説明不能な自然流産。

検査診断基準

1.  $\beta_2$ -glycoprotein依存性抗カルジオリピン抗体に対する標準的なELISA法により、IgG・IgM isotypeの一方又は両者の抗カルジオリピン抗体が6週間以上の間隔で2回以上、中等度ないし高度の抗体価を示す。

2. 国際血栓止血学会(ループス・アンチコアグラント/リン脂質依存性抗体学術委員会)のガイドラインに従って、次のステップにより6週間以上の間隔で2回以上血漿中にループス・アンチコアグラントが検出される。

(a)活性化部分トロンボプラスチン時間、カオリン凝固時間、希釈ラッセル蛇毒時間、希釈プロトロンビン時間、テキスタリン時間などのスクリーニングテストによりリン脂質依存性凝固時間の延長を認める。

(b)スクリーニングテストで延長した凝固時間が正常な多血小板血漿との混合により是正されない。

(c)スクリーニングテストで延長した凝固時間が過剰なリン脂質の添加により短縮又は是正される。

(d)第Ⅷ因子インヒビターやヘパリンなど他の凝固異常症が適切に除外される。

確実な抗リン脂質抗体症候群は臨床診断基準の少なくとも1つと検査診断基準の1つを満たした場合に診断される。

抗リン脂質抗体症候群

抗リン脂質抗体症候群(antiphospholipid syndrome : APS)は血液凝固異常症のなかで最も頻度の高い疾患であり、全脳梗塞患者の10%前後に認められる<sup>1)-5)15)16)</sup>。APSは全身性紅斑性狼瘡(systemic lupus erythematosus : SLE)などの膠原病や自己免疫疾患に伴う場合と、それらの疾患を合併しない原発性APSとがあり、臨床的には全身の動脈・静脈血栓症と流産などの妊娠異常を呈し、抗カルジオリピン抗体(anti-cardiolipin antibody : ACA)やループス・アンチコアグラント(lupus anticoagulant : LA)などの抗リン脂質抗体(antiphospholipid antibody : aPL)が認められる<sup>1)-5)15)16)</sup>。APSの亜型として多発性血栓症により多臓器不全に陥る激症型APS(catastrophic APS)<sup>17)</sup>があり、

脳梗塞に網状皮斑(rivedo reticularis)を伴うSneddon症候群<sup>18)</sup>や、脊髄症を伴うKohlmeier-Degos症候群<sup>19)</sup>でも高率にaPLを伴うことが注目されている。

表1に1998年に札幌で開催された第8回APS国際シンポジウムで提唱されたAPS診断基準の新しいコンセンサスを示す<sup>4)20)</sup>。この診断基準の特徴として、従来の診断基準に記載されていた血小板減少症が必須項目から削除されたこと、妊娠異常が具体的に定義されたこと、aPL測定法の標準化が国際血栓止血学会のガイドラインに従って強調されていることがあげられる。

活動性のAPSでは血小板・凝固・線溶活性化マーカーの上昇が脳梗塞合併の有無にかかわらず認められるが、我々の検討によれば、脳梗塞急性期患者でaPL陽性群と陰性群で比較すると、陽性群では陰性群よりトロンビン・ア

ンチトロンビン複合体(TAT)が有意に低値であったことから、抗リン脂質抗体によるTAT形成阻害が血栓形成に関与している可能性が示唆される<sup>21)</sup>。

#### 凝固阻止因子欠乏症

凝固阻止因子欠乏症は、血液凝固カスケードを生理的に抑制する蛋白が欠乏するために凝固活性化が亢進し、血栓症を生じてしまう疾患群である<sup>1)-5)22)</sup>。比較的頻度の高い疾患としてはアンチトロンビンⅢ(AT-Ⅲ)欠乏症、プロテインC(PC)欠乏症、プロテインS(PS)欠乏症があげられる。いずれもこれら蛋白の抗原量と活性の両者が50%以下に低下しているⅠ型(欠損型)と、抗原量は正常であるが活性のみが50%以下に低下しているⅡ型(分子異常型)がある<sup>1)-5)22)</sup>。

凝固活性化は動脈血栓症より静脈血栓症に重要な役割を果たしているの、凝固阻止因子欠乏症では脳梗塞よりも静脈血栓症を生じやすく、脳梗塞を生じた患者でも深部静脈血栓症(deep vein thrombosis : DVT)、肺塞栓症(pulmonary embolism : PE)、脳静脈血栓症(cerebral venous thrombosis : CVT)の既往を有する場合が多い<sup>1)-5)22)</sup>。また、凝固阻止因子欠乏症では妊娠、出産、外傷、手術、透析、感染により凝固阻止因子の急激な低下をきたしやすいので、これらを契機に発症した脳梗塞患者では凝固阻止因子欠乏症を疑う必要がある<sup>1)-5)22)</sup>。

AT-Ⅲ欠乏症は常染色体優性遺伝疾患であり、ホモ接合のAT-Ⅲ欠乏症は報告されておらず、ヘテロ接合のAT-Ⅲ欠乏症は保因者での発病の浸透が不完全であるが、若年者においては静脈血栓症のみならず動脈血栓症の危険因

子となる<sup>1)-5)22)23)</sup>。現在までに79の異なったAT-Ⅲ遺伝子の変異が報告されており<sup>24)</sup>、AT-Ⅲ欠乏症のヘテロ接合は血栓症のリスクが5倍高くなり、健康者の0.05~1.0%に発見され、初発DVTの1%に存在し、遺伝性血栓性素因家系の4%にみられると報告されている<sup>1)-5)22)23)</sup>。ネフローゼ症候群では、尿中への大量の蛋白が漏出することによって後天性のAT-Ⅲ欠乏症を生じることとも臨床的には知っておく必要がある<sup>1)-5)22)</sup>。

PC欠乏症はAT-Ⅲ欠乏症と同様に通常は常染色体優性遺伝であり、ヘテロ接合が危険因子となり、キャリアでの浸透は不完全である<sup>1)-5)22)</sup>。しかし、最近になってPC欠乏症は常染色体劣性遺伝であり、ホモ接合又は二重ヘテロ接合が血栓症を発症するという説が提唱され、ヘテロ接合の保因者は他の未知の遺伝子異常との相互作用により血栓症のリスクが高まると考えられるようになった。PC欠乏症は一般人口の0.5%以下の頻度で存在し、静脈血栓症患者では2~5%にPC欠乏症がみられる。Polymerase chain reaction (PCR)法の導入によりPC遺伝子欠損のスクリーニングが容易となり、多くの異なった変異が同定され、最近のデータベースには160例のPC遺伝子変異が登録されている<sup>22)</sup>。活性化PC抵抗性(APC resistance)は凝固第Ⅴ因子の遺伝子異常(factor V Leiden mutation, 506Arg/Gln)で生じ、白人では1~9%に存在し、静脈血栓症の20%に認められる最も頻度の高い凝固異常症であるが、日本人では全く発見されていない<sup>1)-5)22)23)25)</sup>。

PSには、総PSの40%を占め、APCコファクター活性がある血漿遊離型と総PSの60%を占め、APCコファクター

活性がないC4b結合蛋白(C4bBP)と複合体を形成するC4bBP結合型がある<sup>11)12)20)21)</sup>。最近、遊離PSの測定が総PSの測定よりもヘテロ接合のPS欠損症と正常者との識別に有用であることが示された<sup>21)</sup>。静脈血栓症患者の2~5%にPS欠乏症が存在するとされているが、日本人ではもっと多いという報告もある<sup>1)-5)22)23)</sup>。PSは経口避妊薬や妊娠によりエストロゲンが増加すると減少し、妊婦では正常の20%まで低下するといわれている。

凝固阻止因子欠乏症では血液凝固カスケードに歯止めが効かなくなるため、凝固活性化マーカーが上昇し、凝固活性化が著しく、二次線溶の亢進を伴うと線溶活性化マーカーも上昇する。凝固阻止因子欠乏症の診断には凝固阻止因子の抗原量や活性値を測定する必要があるが、ワルファリン内服患者ではPCやPSの産生が低下するので、ワルファリンの内服を中止するか、中止できない場合にはヘパリンの静注に切り替え、ワルファリンの効果が消失したと考えられる時点(例えば7日後)で測定する。また、先天性凝固阻止因子欠乏症は遺伝性疾患なので、たとえ血栓症の家族歴が明らかでなくても、保因者を発見するためにも可能な限り家族からの採血が望まれる<sup>1)-5)22)</sup>。

#### 播種性血管内凝固症候群と Trousseau症候群

DICは進行した悪性腫瘍や重症感染症に伴って生じる重篤な病態であり、高齢者に多いが若年者でも脳梗塞の原因として念頭に置く必要がある<sup>1)-5)22)26)</sup>。また、潜在性の悪性腫瘍により慢性DIC(代償性DIC)や前DIC(DIC準備状態)を呈し、脳梗塞が初発症状として

生じるTrousseau症候群は傍悪性腫瘍神経症候群(paraneoplastic neurologic syndrome)として重要である<sup>1)-5)22)26)27)</sup>。これらの病態では非細菌性血栓性心内膜炎(NBTE)による脳塞栓症が脳梗塞の発症機序として重要な位置を占める。しかしながら、最近ではNBTEによる脳塞栓症と考えられていた症例のなかにはDVTを塞栓源とする卵円孔開存による奇異性脳塞栓症が混在している可能性も指摘されるようになった。

#### ホモシステイン血症

ホモシステイン(Hcy)尿症はシスタチオニン合成酵素の欠損や異常により発症する常染色体劣性の遺伝性疾患である。Hcy尿症が動脈血栓症を生じやすいことは古くから知られていたが、最近Hcy血症が脳梗塞や心筋梗塞の危険因子であることが注目されている<sup>1)-5)22)27)28)</sup>。ホモシステイン血症は日本人でもかなり多く、一般住民の10%前後に存在する<sup>27)28)</sup>。血中Hcy値は加齢、腎障害、ビタミンB<sub>6</sub>・B<sub>12</sub>欠乏、葉酸欠乏、エストロゲン含有経口避妊薬で増加する<sup>1)-5)22)27)28)</sup>。最近、葉酸経路のメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR)の多型(C677T)のアラニンからバリンへの点変異がMTHFRの活性低下を介してHcyの増加をもたらし、心血管疾患の危険因子となることが報告されている<sup>1)-5)22)27)-29)</sup>。

#### リポ蛋白(a)血症

リポ蛋白(a) [Lp(a)]血症は脳梗塞、特に若年性脳梗塞の危険因子として注目されている<sup>1)-5)22)31)32)</sup>。Lp(a)の分子構造はプラスミンの前駆物質であるプラスミノゲンと著しい相同性を有して

おり、内皮細胞やフィブリンへのプラスミノゲンの結合を競合的に阻害するのみならず、生理的な線溶抑制蛋白であるPAI-1の内皮からの遊離を促進して線溶を抑制する<sup>33)34)</sup>。Lp(a)の血中濃度は遺伝的要因に規定されており、アポリポ蛋白(a)の遺伝子多型のクリングル反復数や5'非翻訳領域の遺伝子多型と関係する<sup>35)36)</sup>。我々の検討では、脳卒中が疑われた外来患者の連続症例においてLp(a)高値は頸動脈病変の独立した危険因子になっていた<sup>37)</sup>。

#### 血液凝固異常症の遺伝子多型

近年、分子遺伝学の進歩により一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)の研究が盛んになり、疾患感受性遺伝子としての多型(ポリモルフィズム)が新たな危険因子として注目されるようになり、血液凝固異常症に関連した多型も数多く報告されるようになった。表2にこれまでに脳梗塞と関連があると報告された遺伝子多型を列挙した<sup>4)5)38)-41)</sup>。これらの多型は単独で脳梗塞を発症させるほど強力な危険因子とはなりにくい、複数の疾

患感受性遺伝子が関与したり、環境因子の影響が加わることにより脳梗塞が発症すると考えられる。また、これらの遺伝子多型が脳梗塞の危険因子になり得るか否かは人種や民族によって大きく異なる。

例えばプロテインC抵抗性の原因となる凝固第V因子のLeiden変異は、前述したようにコーカシアンでは静脈血栓症の原因となる頻度が最も高い遺伝子多型であるが、純粋な日本人では1例も報告されていない。これに対して、血小板活性化因子(platelet-activating factor: PAF)のアセチル水酸化酵素(PAF acetyl hydrolase)の多型(279番目のValからPheへのミスセンス変異)<sup>42)</sup>は日本人に多く、plasminogen activator inhibitor (PAI)-1プロモーターの多型(4G/5Gの挿入/欠失)<sup>43)</sup>も東洋人で多いことが指摘されている。なお、フランスのINSERMは心血管疾患の候補遺伝子多型のデータベース登録を行っており、現在までに登録された遺伝子多型はインターネットで閲覧可能である(GeneCanvas: <http://canvas.idf.inserm.fr/>)。

表2 脳梗塞の危険因子として報告された血液凝固異常症の遺伝子多型

遺伝子	多型
第V因子	Q506 Leiden
プロトロンビン	G20210A
フィブリンゲン	G455A, $\beta$ 148(C/T), $\beta$ 448(1/2)
GP IIb/IIIa	PIA2
GP I b/IX	HPA2/VNTR
GP I b $\alpha$	T145M
GP I a/IIa	C807T
PAFアセチル水酸化酵素	Val279
PAI-1	4G/5G
eNOS	intron 4a/b, Glu298Asp
t-PA	5'-7351C/T

GP: glycoprotein (血小板膜糖蛋白), PAF: platelet-activating factor (血小板活性化因子), PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, eNOS: endothelial-derived nitric oxide synthase (内皮由来一酸化窒素), t-PA: tissue plasminogen activator

血液レオロジー

ヘマトクリットの上昇は血液粘度の上昇や脳血流の低下をもたらし、脳梗塞の危険因子となることが知られており、赤血球増多症や真性多血症は赤血球の増加によりヘマトクリットが上昇するので、脳梗塞の原因となる<sup>9)-12)44)45)</sup>。これらの血液疾患がなくても動脈硬化を有する高齢者では発熱、下痢、嘔吐や炎天下での水分摂取不足などによる脱水が生じると、若年者では問題とならない程度のヘマトクリットや血液粘度の上昇でも容易に脳梗塞が誘発され得る。

骨髄増殖性疾患や白血病などの血液疾患や各種感染症による白血球の増加は脳内の毛細血管の閉塞をもたらし、脳微小循環を障害し、脳梗塞の原因となり得る<sup>9)-12)44)45)</sup>。また、異常蛋白血症(paraproteinemia)、マクログロブリン血症、クリオグロブリン血症、骨髄腫などによる過粘稠症候群は大分子量の蛋白分子の増加により血漿粘度が上昇し、脳梗塞の原因となる<sup>9)-12)44)45)</sup>。

文 献

- 1) 内山真一郎：血液凝固異常と脳血管障害。荒木淑郎，金澤一郎，柴崎 浩，他編，脳血管障害，最新内科学体系66。東京，中山書店，54-64，1996
- 2) 内山真一郎：血液凝固異常と脳梗塞の臨床。特集：脳梗塞の発症メカニズム。脳と循環 1：311-317，1996
- 3) Coull BM, DeLoughery TG, Feinberg WM : Coagulation abnormalities in stroke. in Stroke ; Pathophysiology, Diagnosis and Treatment (2nd ed.) , ed by Barnett HJM, Mohr JP, Stein BM et al. New York, Churchill Livingstone, 963-978, 1998
- 4) 内山真一郎：血液凝固異常症による脳梗塞の診断と治療の手引き。矢坂正弘編，若年者脳卒中診療の手引き，循環器病研究委託費12指-2若年世代の脳卒中の診断，治療，予防戦略に関する全国多施設

共同研究(主任研究者：峰松一夫)。大阪，国立循環器病センター内科脳血管部門，31-37，2003

- 5) 内山真一郎：血液凝固機能。橋本信夫 編，閉塞性脳血管障害。脳神経外科学体系 9。東京，中山書店，32-44，2004
- 6) Uchiyama S, Takeuchi M, Osawa M, et al : Platelet function tests in thrombotic cerebrovascular disorders. Stroke 14 : 511-517, 1983
- 7) 内山真一郎，山崎昌子，中村智実：抗血小板療法。薬剤モニターと検査。特集：血栓症に関する臨床検査。血栓と循環 8：155-161，2000
- 8) Tsai HM, Lian EC : Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med 339 : 1578-1594, 1998
- 9) Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, et al : Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. Proc Natl Acad Sci USA 99 : 11903-11907, 2002
- 10) 辻 肇，中川雅夫：ヘパリン・低分子量ヘパリン。櫻川信男，他編，抗凝固薬の適正な使い方。東京，医歯薬出版，211-132，2000
- 11) Shulman NR, Reid DM : Platelet immunology. in Hemostasis and Thrombosis : Basic Principles and Clinical Practice (3rd ed.) , ed by Colman RW, et al. Philadelphia, Lippincott JB, 414-468, 1994
- 12) 松尾美也子，和中敬子：HITの診断。岡本彰祐，池田康夫 監，HIT診療の手引き。神戸，HIT情報センター，8-11，2004
- 13) Greinacher A, Admiral J, Dummel V, et al : Laboratory diagnosis of heparin-associated thrombocytopenia and comparison of platelet aggregation test, heparin-induced platelet activation test, and platelet factor 4/heparin enzyme-linked immunosorbent assay. Transfusion 34 : 381-385, 1994
- 14) Schmitz G, Rothe G, Ruf A, et al : European Working Group on clinical cell analysis : consensus protocol for the flow cytometric characterization of platelet function. Thromb Haemost 79 : 885-896, 1998
- 15) Feldmann E, Levine SR : Cerebrovascular disease with antiphospholipid antibodies : Immune mechanisms, significance, and therapeutic options. Ann Neurol 37 (Suppl. 1) : S114-S130, 1995
- 16) 北川泰久：抗リン脂質抗体症候群。山口武典，内山真一郎，松本昌泰，他編，脳卒中学。東京，医学書院，215-228，1998
- 17) Asherson RA : The catastrophic antiphospholipid syndrome. J Rheumatol 19 : 508-512, 1992
- 18) Levine SR, Langer SL, Albers JW, et al : Sneddon's syndrome : an antiphospholipid antibody syndrome? Neurology 38 : 798-800, 1988
- 19) Engelt H, Hawkes CH, Boey ML, et al : Degos' disease : association with anticardiolipin antibodies and the lupus anticoagulant. Br Med J 289 : 576, 1984
- 20) Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al : International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum 42 : 1309-1311, 1999
- 21) 赫 洋美，橋本しをり，堤 由紀子，他：抗リン脂質抗体陽性脳梗塞患者の臨床的検討。臨床神経(抄) 43 : 1059, 2003
- 22) 宮田敏行，内山真一郎：血栓性素因。山口武典，内山真一郎，松本昌泰，他編，脳卒中学。東京，医学書院，199-214，1998
- 23) Bertina RM : Molecular risk factors for thrombosis. Thromb Haemost 82 : 601-609, 1999
- 24) Lane DA, Olds RJ, Boisclair M, et al : Antithrombin mutation database : first update. Thromb Haemost 70 : 361-369, 1993
- 25) Reirisma PH, Bernardi F, Doig RG, et al : Protein C deficiency a database of mutations. 1995 Update. Thromb Haemost 73 : 876-889, 1995
- 26) 内山真一郎：DIC。脳血管障害を起こす各種疾患と病態。Clin Pharmacother 5 : 121-128, 1995
- 27) 内山真一郎，清水優子：悪性腫瘍患者にみられる脳梗塞(Trousseau症候群)。特集：悪性腫瘍と大脳病変。神経内科 58 : 463-467, 2003
- 28) Coull BM, Malinow MR, Beamer N, et al : Elevated plasma homocyst (e) ine concentration as a possible independent risk factor for stroke. Stroke 21 : 572-576, 1990
- 29) 浜野 均：ホモシステイン血症と脳血管障害。臨成人病 30 : 201-204, 2000
- 30) 滝沢俊也，浜野 均：メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素欠損症。別冊日本臨床・領域別症候群19(先天代謝異常症候群・下巻)。大阪，日本臨床社，207-210，1998
- 31) Ridker PM, Stampfer MJ, Hennekens CH : Plasma concentration of lipoprotein (a) and the risk of future stroke. JAMA 273 : 1269-1273, 1995
- 32) 奥村太郎，一ノ瀬白帝：Lipoprotein (a) と脳血管障害。臨成人病 30 : 189-93,

2000

- 33) McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ, et al : cDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. *Nature* **330** : 13213-13217, 1987
- 34) 一ノ瀬白帝 : アポリポプロテイン(a). 動脈硬化と血栓症. 血栓止血誌 **4** : 363-371, 1993
- 35) Ichinose A, Kuriyama M : Detection of polymorphisms in the 5'-flanking region of the gene for apolipoprotein (a). *Biochem Biophys Res Commun* **209** : 372-378, 1995
- 36) Suzuki K, Kuriyama M, Ichinose A, et al : Plasma lipoprotein (a) levels and expression of the apolipoprotein (a) gene are dependent on the nucleotides polymorphism in its 5'-flanking region. *J Clin Invest* **99** : 1361-1366, 1997
- 37) Uchiyama S, Yamazaki M, Iwata M : Remnant lipoprotein and lipoprotein (a) as risk factors for stroke and carotid disease. *in* Atherosclerosis XIII, International Congress Series 1262, ed by Matsuzawa Y, Kita T, Nagai R, et al. Amsterdam, Elsevier Science B.V., 478-481, 2004
- 38) Hassan A, Markus HS : Genetics and ischemic stroke. *Brain* **123** : 1784-1812, 2000
- 39) Read SJ, Parson AA, Hoarison DC, et al : Stroke genomics : Approaches to identify, validate, and understand ischemic stroke gene expression. *J Cereb Blood Flow Metab* **21** : 755-778, 2001
- 40) Bertina RM : Genetic approach to thrombophilia. *Thromb Haemost* **86** : 92-103, 2001
- 41) 松原由美子, 村田 満 : 脳血管疾患と遺伝子多型. 特集 : 脳血管障害の診断と治療. *Angiology Frontier* **3** : 290-296, 2004
- 42) Hirano M, Yoshida H, Imaizumi T, et al : A mutation in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (Val279→Phe) is a genetic risk factor for stroke. *Stroke* **28** : 2417-2420, 1997
- 43) Bang CO, Park HK, Ahn MY, et al : 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene and insertion/deletion polymorphism of the tissue-type plasminogen activator gene in atherothrombotic stroke. *Cerebrovasc Dis* **11** : 294-299, 2001
- 44) Tool JF : Microcirculatory and hematological disorders affecting the nervous system. *in* Cerebrovascular Disorders, ed by Tool JE. New York, Raven Press, 420-437, 1990
- 45) 内山真一郎 : 血液検査. 脳血管障害の検査法. 脳血管障害の臨床. 生涯教育シリーズ-56. 日医師会誌(特別号) **125** : S129-131, 2001

## 抗血小板薬の選択

教授

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

### はじめに

脳梗塞、心筋梗塞、末梢動脈疾患(閉塞性動脈硬化症)は粥腫破綻を契機に形成される血小板血栓による動脈閉塞という病態生理学的プロセスを共有しており、アテローム血栓症と総称されるようになった。アテローム血栓症による血管イベントの再発予防には抗血小板療法の適応があり、アスピリンをはじめとする抗血小板療法は血管イベントの極めて有意な予防効果のあることが証明されているが、その減少効果は25~30%であり、決して十分ではない。そこで、更に予防効果を高めるため併用療法が試みられるようになったが、出血性合併症のリスクが増大する危険性もある。また、各抗血小板薬はそれぞれ薬理作用、薬価、副作用が異なる。

本稿では、これらの背景や問題点を踏まえ、脳梗塞再発予防を目的とした抗血小板薬の日常診療における著者の選択基準をガイドラインと対応させながら述べてみたい。

### アスピリン

アスピリンは活性化した血小板で発生したアラキドン酸カスケードのなかのシクロオキシゲナーゼ活性を阻害し、血小板凝集を惹起するトロンボキサン A<sub>2</sub>の合成を阻害することにより血小板凝集を抑制する(図1)<sup>1)</sup>。

Antithrombotic Trialists' Collaboration (ATT)

のメタアナリシスによれば、閉塞性血管障害の高リスク患者では抗血小板療法により血管イベント(脳卒中、心筋梗塞、血管死)が極めて有意に減少し、アスピリンは23%の有意な血管イベント低減効果を認めた<sup>2)</sup>。アスピリンの用量別解析では、アスピリンの血管イベント低減効果にはJカーブ効果がみられ、75~150mgが最も効果が大きく、75mg未満の効果は有意ではなかった(図2)<sup>2)</sup>。したがって、脳梗塞を含む血管イベントの長期の再発予防を目的としたアスピリンの推奨用量は75~150mgの低用量であるというのが筆者を含むATTの共同研究者間の統一見解であり、昨年我が国で発表された「脳卒中治療ガイドライン2004」を含む各国のガイドラインでも、このような低用量のアスピリンが推奨されている(表1)<sup>3)</sup>。

アスピリンと他の抗血小板薬を直接比較したRCTをメタアナリシスにより解析したATTの成績によれば、血管イベント低減効果はいかなる他の抗血小板薬もアスピリンを有意には上回っていない<sup>2)</sup>。また、アスピリンは100年以上も使用されてきた薬剤であり、今後新たな副作用が判明する可能性は極めて低い<sup>4)</sup>。更にアスピリンは極めて安価な抗血小板薬であり、1件の血管イベントを予防するのに要するコストの低さは他の抗血小板薬の追従を許さない<sup>4)5)</sup>。このような根拠に基づいて、欧米のガイドラインでは脳梗塞の再発予防には抗血小板薬としてアスピリンが第一選択薬となることが明記されている。筆者も脳梗塞の再発予防にはアスピリンを第一選択薬として使用している。

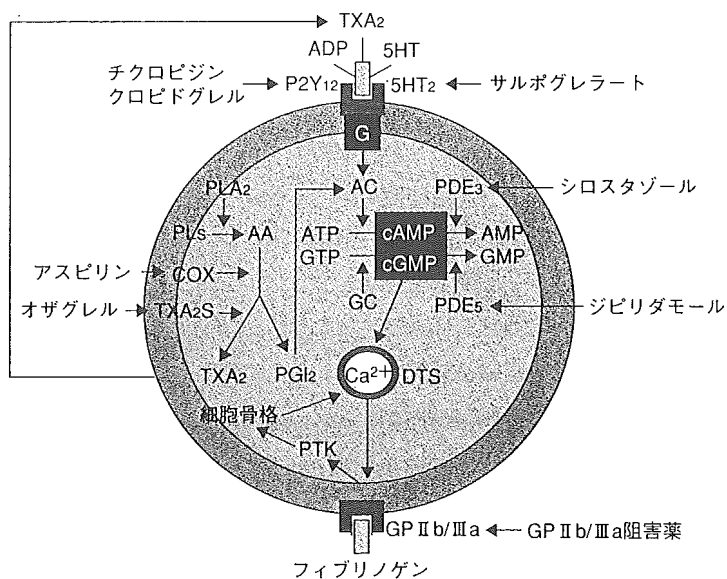


図1 抗血小板薬の作用機序<sup>1)</sup>

アスピリンの用量	件数	血管イベント		オッズ比 (CI)		オッズ減少率 (SE)
		抗血小板薬	対照	抗血小板薬対対照		
高用量 (500~1,500mg)	34	1,621/11,215	1,930/11,236	0.8		19% (3)
中等量 (160~325mg)	19	1,526/13,240	1,963/13,273	0.8		26% (3)
低用量 (75~150mg)	12	366/3,370	517/3,406	0.7		32% (6)
超低用量 (<75mg)	3	316/1,827	354/1,828	0.7		13% (8)
Total	65	3,829/29,652	4,764/29,743	0.8		23% (2)

■ 99% or < 95% CI

0 0.5 1.0 1.5 2.0  
 抗血小板薬が優れる ← → 抗血小板薬が劣る

図2 閉塞性血管障害の高リスク患者における血管イベントに及ぼすアスピリンの用量別効果<sup>2)</sup>

表1 非心原性脳梗塞(アテローム血栓性脳梗塞, ラクナ梗塞など)の再発予防のための抗血小板療法

1. 非心原性脳梗塞の再発予防には, 抗血小板薬の投与が推奨される(グレードA).
2. 現段階で非心原性脳梗塞の再発予防上, 最も有効な抗血小板療法(我が国で使用可能なもの)はアスピリン75~150mg/日, チクロピジン200mg/日(以上グレードA)及びシロスタゾール200mg/日, 2分服(グレードB)である.
3. 非心原性脳梗塞のうち, ラクナ梗塞の二次予防にも抗血小板薬の使用が勧められる(グレードB). ただし十分な血圧のコントロールを行う必要がある.

グレードA: 行うよう強く勧められる(少なくとも1つのレベルIの結果)

レベルI: RCTのメタアナリシス又は少なくとも1つのRCT  
 グレードB: 行うよう勧められる(少なくともレベルIIの結果)  
 レベルII: よくデザインされた比較研究(非ランダム化)又はよくデザインされた準実験的研究

(文献3より引用)

アスピリンによって唯一発現しやすい副作用は胃腸障害であり, 活動性の胃・十二指腸潰瘍には禁忌であり, これらの既往がある症例では慎重に投与する必要がある, 抗潰瘍薬との併用も必要となる<sup>4)</sup>. また, 最近のアスピリンの効果の限界に関連してアスピリン抵抗性が注目されているが, このような症例にはアスピリンと作用機序の異なる抗血小板薬の代用や, アスピリンと他の抗血小板薬との併用療法が必要となる<sup>5)</sup>.

### チエノピリジン

我が国で使用されているチクロピジンや海外で

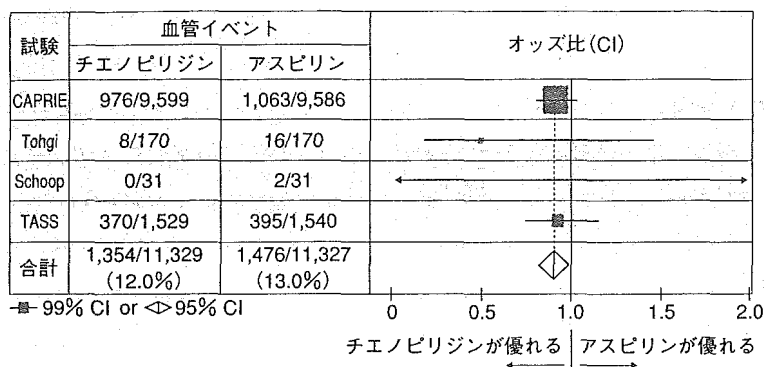


図3 高リスク患者の血管イベントに及ぼすチエノピリジンとアスピリンの効果の比較<sup>7)</sup>  
 オッズ比=0.91 (95% CI 0.84 to 0.98 ;  
 2p=0.01)

使用されているクロピドグレルはチエノピリジン骨格を有する誘導体であり、生体内で活性代謝物が血小板膜のADP受容体(P2Y<sub>12</sub>)へのADPの結合を阻害することによりADP依存性の血小板凝集を特異的に阻害する(図1)<sup>9)</sup>。

ATTのメタアナリシスによれば、チクロピジンのプラセボと比較した血管イベント低減効果は32%であり、アスピリンとの直接比較では有意ではないものの12%上回っており、クロピドグレルも有意ではないが、アスピリンを10%上回っている<sup>7)</sup>。また、チクロピジンとクロピドグレルを同じチエノピリジンとして一括して解析するとアスピリンとの差は有意になるとの成績も発表されている(図3)<sup>7)</sup>。著者らは、このようなチエノピリジンとアスピリンの効果の差は、生体内での血栓形成機序として重要な、ずり応力惹起血小板凝集をチエノピリジンは抑制し、アスピリンは抑制しないことが一因として関与しているのではないかと考えている<sup>8)</sup>。

クロピドグレルは脳梗塞、心筋梗塞、末梢動脈閉塞症においてアスピリンを上回る血管イベント(脳梗塞、心筋梗塞、血管死)低減効果を示し、チクロピジンより好中球減少や血栓性血小板減少性紫斑病などの重篤な副作用が少ないことから海外では高い評価を得ているが、残念ながらまだ我が国では承認されていない<sup>9)</sup>。しかし、最近日本でも脳梗塞患者を対象としてクロピドグレルとチクロピジンの安全性を比較する第3相臨床試験が行われ、クロピドグレルはチクロピジンより肝障害や好中球減少などの副作用が有意に少ないことが

確認され、現在適応承認を申請中である。

筆者もチクロピジンを脳梗塞の再発予防に日常的に使用してきたが、アスピリンに比べて効果発現に数日間を要するため急性期からの使用には適しておらず、新規に投与する場合には2週間ごとに白血球分画を含めた血算と肝機能検査を2ヵ月まで行うことが義務づけられているのが難点である。特に、白血球数や血小板数が少ない症例や、肝機能に問題がある症例には使用しにくい。チクロピジンより安全性が高いクロピドグレルが早く日本でも承認されることが望まれる。

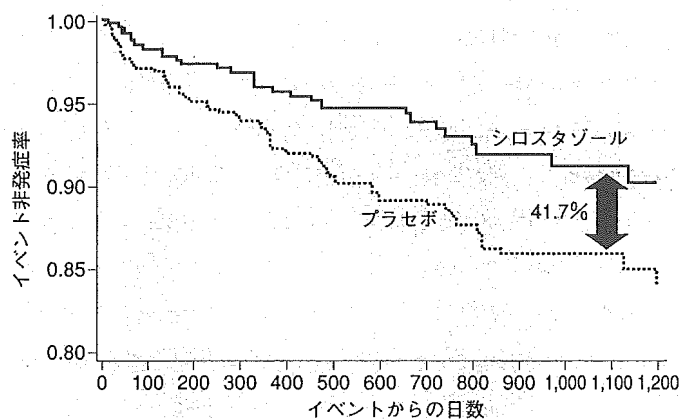
### シロスタゾール

シロスタゾールはサイクリックAMP(cAMP)に特異的なフォスホジエステラーゼのタイプV阻害薬であり、cAMPの分解を阻害して、その血小板内濃度を高めることにより血小板凝集を抑制する(図1)<sup>11)</sup>。

シロスタゾールは、これまで末梢動脈疾患(閉塞性動脈硬化症)の治療薬として使用されてきたが、我が国で行われた脳梗塞患者を対象としたCilostazol Stroke Prevention Study(CSPS)により脳梗塞再発予防効果が示された(図4)<sup>10)</sup>ことから脳梗塞にも適応が承認され、脳卒中治療ガイドラインでも推奨された(表1)<sup>9)</sup>。

シロスタゾールは抗血小板作用以外に、抗動脈硬化作用<sup>11)</sup>、内皮保護作用<sup>12)</sup>、抗炎症作用<sup>13)</sup>などの多彩な効果が報告されており、筆者らもメタリックシンドロームのバイオマーカーとして注目





患者数													
シロスタゾール	526	421	366	364	327	284	248	219	174	151	129	103	78
プラセボ	526	466	429	403	364	297	264	232	201	177	156	116	96

図4 CSPSの成績<sup>10)</sup>

されているレムナトリポ蛋白コレステロールによる血小板活性化がアスピリンでは抑制されにくく、シロスタゾールは明らかに抑制されることを報告している<sup>10)</sup>。

シロスタゾールはCSPSの病型別解析で、従来抗血小板薬の効果が期待しにくいと考えられていたラクナ梗塞に再発予防効果のあることが示された抗血小板薬であることから、筆者はラクナ梗塞患者には優先的にシロスタゾールを使用している<sup>10)</sup>。シロスタゾールのもう1つの利点はCSPSでも示されたように、脳出血を含む重篤な出血合併症が少ないことであり、抗血小板薬による脳出血のリスクが危惧されるラクナ梗塞には使用しやすいと言える。シロスタゾールの副作用としてはPDE阻害薬の薬理作用に起因する頭痛、動悸、頻脈が多い。動悸や頻脈は心筋刺激作用に関連しており、心房細動患者には使用しにくく、虚血性心疾患患者にも慎重に投与する必要がある。

#### アスピリンとジピリダモールの併用

ジピリダモールはシロスタゾールと同じPDE阻害薬であるが、サイクリックGMP (cGMP) に特異的なPDEタイプⅢ阻害薬であることが異なる(図1)<sup>11)</sup>。

European Stroke Prevention Study 2 (ESPS-2)<sup>15)</sup>

ではアスピリンとジピリダモールの併用療法は相加的に脳梗塞再発予防効果を高めるという結果が示されている(図5)。ただし、ESPS-1を含めたATTのメタアナリシスでは、アスピリン単独療法との血管イベント低減効果の差は証明されなかった<sup>2)</sup>。このメタアナリシスの結果に基づき、脳卒中治療ガイドライン(表1)<sup>3)</sup>では抗血小板薬の選択肢としてアスピリンとジピリダモールの併用療法は記載されなかったが、日本循環器学会のガイドライン(図6)<sup>10)</sup>では欧米のガイドラインと同様に、この併用療法が選択肢として加えられた。

欧米ではESPS-2の成績に基づき、アスピリンとの合剤(アスピリン25mgとジピリダモール徐放剤200mgを含有)が発売されており、1日2錠投与が推奨されているが、我が国では承認されていない。筆者はアスピリン単独では不十分と考えられる症例には、アスピリン100mgに併用してジピリダモール徐放錠(150mg)を1日2回投与している。ジピリダモールもこのような用量になると頭痛の発現頻度がかかなり多くなる。

#### アスピリンとチエノピリジンの併用

アスピリンとチクロピジンの併用療法をアスピリン単独療法と直接比較したRCTをメタアナリシスにより解析したATTの成績では、血管イベン

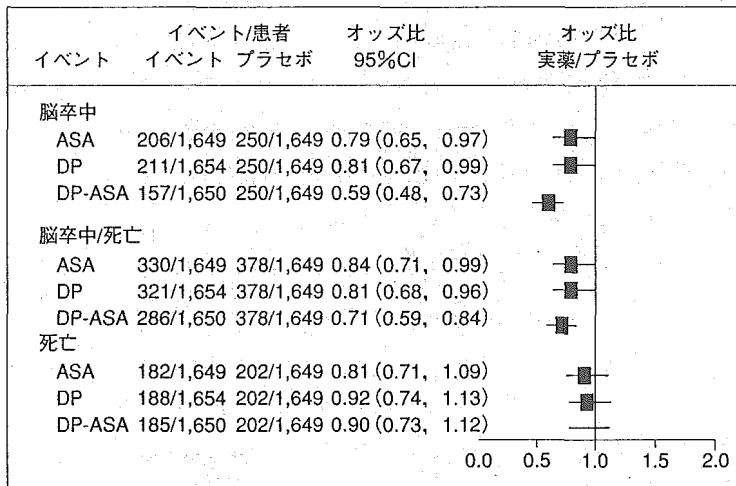


図5 European Stroke Prevention Study 2(ESPS-2)の成績<sup>15)</sup>  
ASA: アスピリン, DP: ジピリダモール

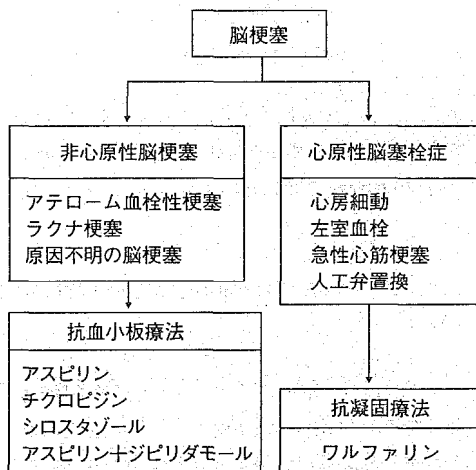


図6 脳梗塞慢性期における抗血栓療法の適応<sup>16)</sup>

ト低減効果の差は証明されていない<sup>2)</sup>。しかし、その後行われた急性冠症候群のステント留置例を対象とした1件のRCTでは併用療法で単独療法より血管イベントが有意に少なかったことから、このような症例ではアスピリンとチクロピジンの併用療法が世界的なコンセンサスとなっている<sup>17)</sup>。

海外ではチクロピジンよりもクロピドグレルが用いられているが、何らかの危険因子を有する軽症脳梗塞又は一過性脳虚血発作(TIA)を対象に、クロピドグレル単独療法とクロピドグレルとアスピリンの併用療法の血管イベント低減効果を比較

する Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in High-Risk Patients (MATCH) が行われた。18ヵ月間の虚血性イベントはクロピドグレル単独投与群とクロピドグレル・アスピリン併用投与群の間に有意差はなかったが、出血性イベントはクロピドグレル単独投与群)に比べてクロピドグレル・アスピリン併用投与群で2倍多く、両群間には有意差があった(図7)<sup>18)</sup>。

筆者らは以前よりアスピリンとチクロピジンの併用療法が各々の単独療法より強力な抗血小板作用があり、より有効な再発予防効果が期待できることを強調してきた<sup>19)</sup>。しかし、両剤の併用療法は、MATCHの結果で示されたように、出血合併症のリスクも大きくなるので、各々の用量を減量することも推奨してきた<sup>19)</sup>。アスピリンとチクロピジンの併用療法は出血性イベントのリスクより虚血性イベントのリスクが大きく上回る高リスク症例に限定すべきであり、例えば筆者は、エビデンスがまだあるわけではないが、頸動脈内膜剝離術後の症例や頸動脈ステント留置例にアスピリンとチクロピジンの併用療法を行っている。

#### アスピリンとシロスタゾールの併用

米国食品医薬品局に提出された末梢動脈疾患におけるデータによると、出血時間はアスピリンとクロピドグレルの併用療法により各々の単独療法

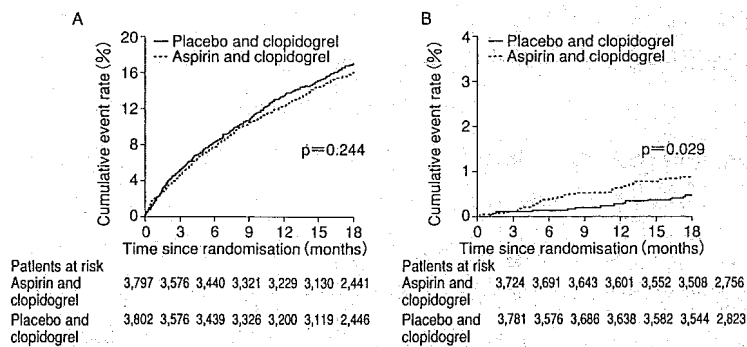


図7 MATCH研究の成績<sup>16)</sup>  
 A：一次エンドポイント(脳卒中, 心筋梗塞, 血管死, 急性虚血性イベントによる再入院)  
 B：一次エンドポイント(症候性頭蓋内出血)

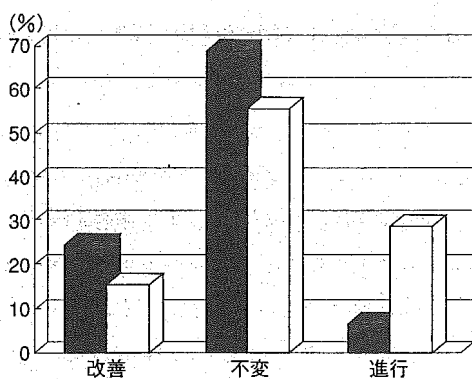


図8 症候性頭蓋内狭窄に及ぼすシロスタゾールのアスピリンとの併用効果<sup>20)</sup>  
 ■：シロスタゾール, □：プラセボ, P=0.018.

より有意に延長するが、アスピリンとシロスタゾールの併用療法によってはアスピリン単独療法と変わらないと報告されており、このような観点からもシロスタゾールは併用療法を行いやすい薬剤であると言える。

韓国で行われた急性期症候性頭蓋内動脈狭窄患者に対するシロスタゾールの効果を検討するRCT (Treatment on Symptomatic Intracranial Stenosis: TOSS)では、6ヵ月後の狭窄性病変の進展はアスピリンとシロスタゾールの併用投与群でアスピリン単独投与群より有意に少なかった(図8)<sup>20)</sup>。

筆者らも我が国において頭蓋内の有意な動脈狭窄(>50%)を合併した脳梗塞患者を対象に狭窄性病変の進展を一次エンドポイントとし、脳卒中を含む血管イベントと重篤な出血イベントを二次エンドポイントとして2年間追跡調査するオープン

ラベルのRCT(Cilostazol Aspirin Therapy Against Recurrent Stroke with Intracranial Artery Stenosis: CATHARSIS)を多施設共同研究により予定している。

#### ■文献

- 1) 内山真一郎：血栓形成からみた脳と心臓. 第1回先進医薬フォーラム. 血栓止血誌 15: 592-604, 2004
- 2) Antithrombotic Trialists' Collaboration: Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. Br Med J 324: 71-86, 2002
- 3) 脳卒中合同ガイドライン委員会：脳卒中治療ガイドライン2004. 日本脳卒中学会/日本脳神経外科学会(脳卒中の外科学会)/日本神経学会/日本神経治療学会/日本リハビリテーション医学会, 篠原幸人, 吉本高志, 福内靖男, 他 編. 東京, 協和企画, 2004
- 4) 内山真一郎：抗血小板薬としてのアスピリン. 東京病薬誌 50: 126-132. 2001
- 5) Hankey GJ, Warlow CP: Treatment and secondary prevention of stroke: evidence, costs, and effects. Lancet 354: 1457-1463, 1999
- 6) Hankey GJ, Eikelboom JW: Aspirin resistance. May be a cause of recurrent ischaemic vascular events in patients taking aspirin. Br Med J 328: 477-479, 2004
- 7) Hankey GJ, Sudlow CLM, Danbabin DW: Thienopyridines or aspirin to prevent stroke and other serious vascular events in patients at risk of vascular disease? A systematic review of the evidence from randomized trials. Stroke 31: 1779-1784, 2000
- 8) Uchiyama S, Yamazaki M, Maruyama S, et al: Shear-induced platelet aggregation in cerebral ischemia. Stroke 25: 1547-1551, 1994

- 9) CAPRIE Steering Committee : A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* **348** : 1329-1339, 1996
- 10) Gotoh F, Tohgi H, Hirai S, et al : Cilostazol Stroke Prevention Study. A placebo-controlled double-blind trial for secondary prevention of cerebral infarction. *J Stroke Cerebrovasc Dis* **9** : 147-157, 2000
- 11) Mizutani M, Okuda Y, Yamashita K : Effect of cilostazol on the production of platelet-derived growth factor in cultured human vascular endothelial cells. *Biochem Molecular Med* **57** : 156-158, 1996
- 12) Kim KY, Shin HK, Choi JM, et al : Inhibition of lipopolysaccharide-induced apoptosis by cilostazol in human umbilical vein endothelial cells. *J Pharmacol Exp Therap* **300** : 709-715, 2002
- 13) Otsuki M, Saito H, Xu X, et al : Cilostazol repress vascular cell adhesion molecule-1 gene transcription via inhibiting NF- $\kappa$ B binding to its recognition sequence. *Atherosclerosis* **158** : 121-128, 2001
- 14) Yamazaki M, Uchiyama S, Iwata M, et al : Measurement of platelet fibrinogen binding and P-selectin expression in patients with ischemic cerebrovascular disease. *Thromb Res* **104** : 197-205, 2001
- 15) Diener HC, Cunha L, Forbes C, et al : European Stroke Prevention Study 2. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke. *J Neurol Sci* **143** : 1-13, 1996
- 16) 循環器疾患の診断と治療に関するガイドライン (2002-2003年度合同研究班報告) : 循環器疾患における抗凝固・抗血小板療法に関するガイドライン. *Circulation J* **68**(Suppl. IV) : 1153-230, 2004
- 17) Leon MB, Baim DS, Popma JJ, et al : A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. *N Engl J Med* **339** : 1665-1671, 1998
- 18) Diener H-C, Bogouslavsky J, Brass LM, et al on behalf of the MATCH investigators : Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH) : randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* **364** : 331-337, 2004
- 19) Uchiyama S, Nagayama T, Sone R, et al : Combination therapy with low-dose aspirin and ticlopidine in cerebral ischemia. *Stroke* **20** : 1643-1647, 1989
- 20) Kwon SU, Cho Y-J, Koo JS et al : Cilostazol prevents the progression of the symptomatic intracranial arterial stenosis. The multicenter double-blind placebo-controlled trial of cilostazol in symptomatic intracranial arterial stenosis. *Stroke* **36** : 782-786, 2005

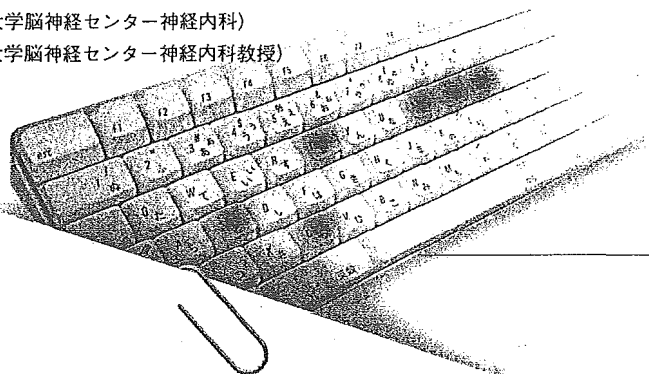
# 3

Part 5 心血管イベントへの挑戦—最近のトピックス—

## 虚血とアデノシン①

### —アデノシンの抗血小板作用—

中村 智実 (東京女子医科大学脳神経センター神経内科)  
内山真一郎 (東京女子医科大学脳神経センター神経内科教授)



#### Point

- アデノシンは血小板膜上のアデノシン A<sub>2a</sub> 受容体を介してアデニル酸シクラーゼ活性を高めることによって血小板内 cyclic AMP 濃度を上昇させ、血小板凝集抑制作用を発揮する。
- アデノシンは病的血栓の形成に関与するずり応力惹起血小板凝集を抑制する。
- シロスタゾールおよびジピリダモールは生体内では血漿中のアデノシンとの相互作用により、より効果的に抗血小板作用を発揮していると考えられる。
- シロスタゾールの特徴は、PDE3 阻害作用とアデノシン再取り込み抑制作用を併せもつことである。
- シロスタゾールとジピリダモールとの併用により、より強力な抗血小板作用に基づく血管イベント予防効果を期待できる可能性がある。

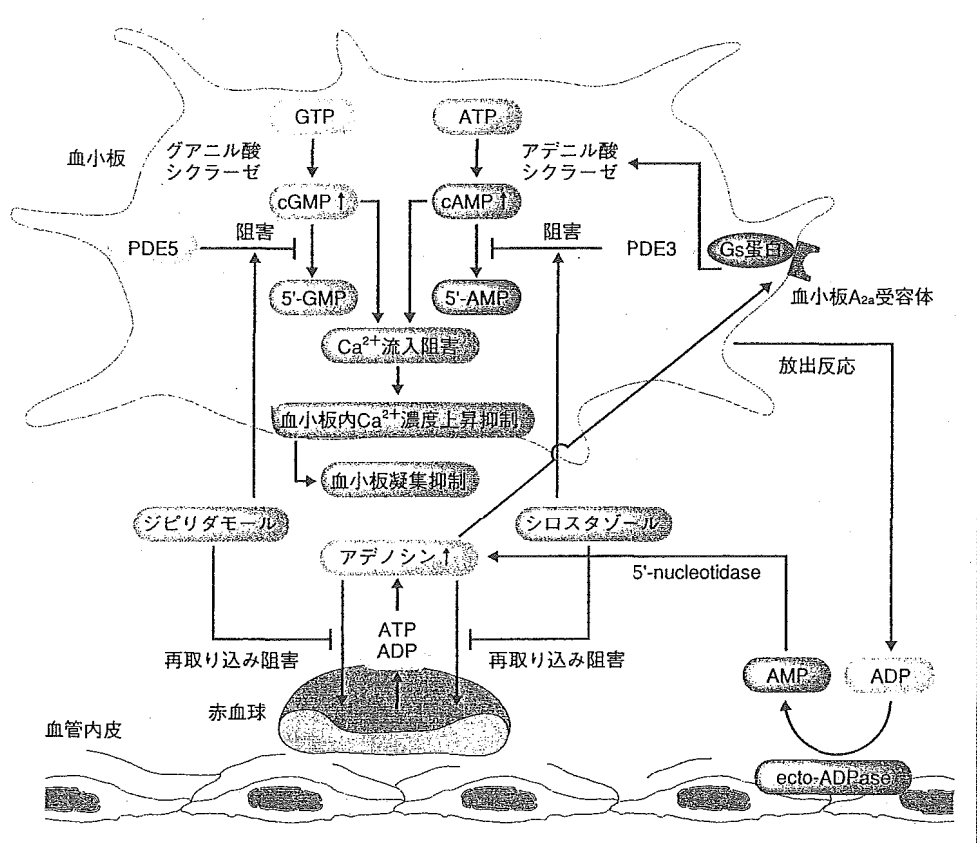


図1 アデノシンの血小板凝集抑制作用のメカニズムとジピリダモールおよびシロスタゾールの関与  
PDE: phosphodiesterase

アデノシンは生体内に広く分布しており、心筋や冠動脈、平滑筋細胞、白血球などさまざまな組織に対して、心筋代謝改善・冠血流増加や白血球活性化抑制など多様な生理活性作用を及ぼす。アデノシンは虚血再灌流時の心筋保護作用が注目されていたが、アデノシン受容体や、細胞内シグナル伝達系の解明が進むにつれ、血小板凝集抑制作用も有するこ

とが明らかになり、血小板膜上のアデノシン A<sub>2a</sub> 受容体を介することが知られるようになった。特に生体内では、心不全や心筋虚血時に心筋細胞や血管内皮細胞から、アデノシンが放出され、血小板凝集抑制作用を増強し、冠循環を保護すると考えられている。本稿では、アデノシンの抗血小板作用について自実験結果を含めて解説する。

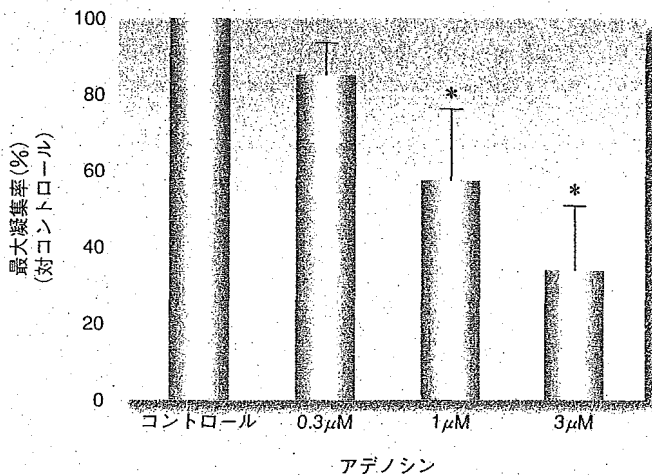


## アデノシンの抗血小板作用のメカニズム

アデノシンは、血小板膜上のアデノシンA<sub>2a</sub>受容体を介して、血小板凝集抑制作用を発揮する<sup>1)</sup>。アデノシンの受容体は大きく分けて3種のサブタイプ(A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>、A<sub>3</sub>)に分けられる。A<sub>2a</sub>受容体は主に刺激性GTP結合蛋白(Gs蛋白)と結合し、アデニル酸シクラーゼ活性を高める。その結果、血小板内cyclic AMP濃度が上昇し、血小板内へのCa<sup>2+</sup>の流入を阻害することにより、血小板凝集抑制作用を発揮する(図1)。しかし、A<sub>2a</sub>受容体を介する系統であっても、アデニル酸シクラーゼ非依存性のシグナル伝達系の存在も示唆されており、A<sub>2a</sub>受容体を介する細胞内シグナル伝達系の詳細は、不明な点もある。また、アデノシンは一酸化窒素(NO)合成を介して、血小板内cyclic GMP濃度を上昇させ、血小板凝集抑制作用を発揮することも報告されている<sup>2)</sup>。

血小板が活性化すると血小板からはADPが放出され、損傷部位における止血に効果的に作用するが、過度の血小板凝集は不要な血栓形成をもたらす。正常な血管内皮細胞上では、外膜にADP分解酵素(ecto-ADPase)があり、ADPを分解してAMPとし、AMPはさらに5'-nucleotidaseによりアデノシンに分解される(図1)<sup>3,4)</sup>。5'-nucleotidaseは虚血などのストレス状態で著しく活性が高まることから、虚血状態では血中のアデノシン濃度が著しく高まり、血小板凝集に抑制的に働き、不要な血栓形成を阻止していると考えられる<sup>5)</sup>。

われわれは、ずり応力惹起血小板凝集(shear-induced platelet aggregation; SIPA)<sup>\*1</sup>測定装置を用いて、高ずり応力(108 dyn/cm<sup>2</sup>)を生じさせ、多血小板血漿(PRP)中におけるアデノシンのずり応力惹起血小板凝集(SIPA)に対する影響を、*in vitro*試験により検討した。その結果、アデノシンはヒトにおける生理的濃度(0.1~0.3 μM)に近い濃度から、用量依存性にSIPAを抑制した(図2)。したがって、生体内のアデノシンは、ずり応力が関与する病的血栓形成に対しても、抑制的に作用していると考えられる。

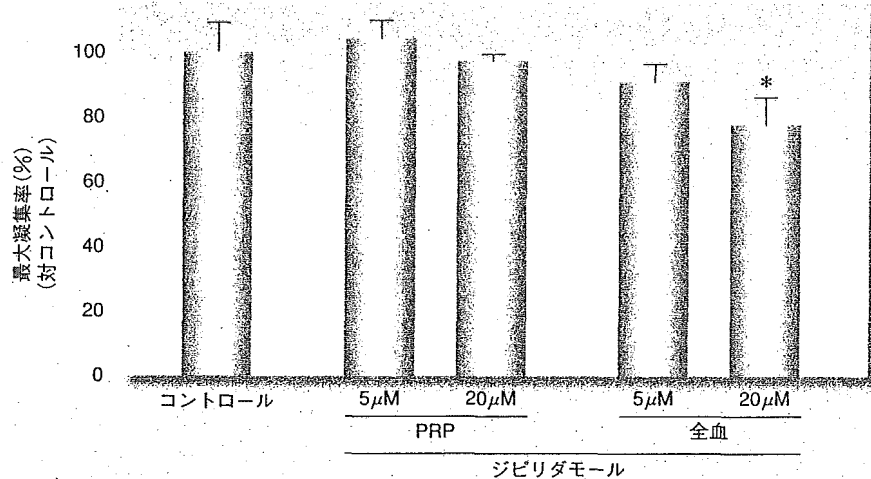


\* : p < 0.05  
(One-way ANOVA followed by Bonferroni/Dunn tests)

図2 アデノシンのPRP中におけるずり応力惹起血小板凝集(SIPA)抑制作用  
アデノシンは用量依存性(1 μMおよび3 μMで有意)にSIPAを抑制した(n=8)。

## 抗血小板薬とアデノシン

ジピリダモール<sup>\*2</sup>は、ホスホジエステラーゼ(PDE)5の阻害作用を有し、血小板内におけるPDE5阻害作用により、血小板内cGMP濃度を上昇させ、抗血小板作用を発揮する<sup>6)</sup>。しかし、PRPを用いた*in vitro*試験では、ジピリダモールの抗血小板作用は弱いことが知られている。一方、全血を用いた*in vitro*試験で



\* :  $p < 0.05$   
(One-way ANOVA followed by Bonferroni/Dunn tests)

図3 ジビリダモールのPRP中、もしくは全血中におけるすり応力惹起血小板凝集 (SIPA) 抑制作用  
ジビリダモールはPRP中ではSIPAを抑制しなかったが、全血中では用量依存性 (20 μMで有意) にSIPAを抑制した (n=8)。

は、ジビリダモールの抗血小板作用は比較的強く発揮される<sup>7)</sup>。これはジビリダモールには、PDE5の阻害作用以外に細胞膜のヌクレオチド輸送系をブロックする作用があり、主に赤血球から産生されたアデノシンの再取り込みを抑制することによって血漿のアデノシン濃度を上昇させるので、全血中ではアデノシン濃度が高く保たれ、アデノシンの血小板凝集抑制作用が増強されるためと考えられる (図1)。われわれの*in vitro*における実験でも、PRP中のジビリダモールは20 μMで、SIPAを抑制しなかったが、全血中では用量依存性にSIPAを抑制した (図3)。このことから、ジビリダモールは生体内ではアデノシンを介してある程度の抗血小板作用が期待でき、実際、大規模臨床試験のメタアナリシス<sup>8)</sup>では、ジビリダモール

単独で16%、さらにアスピリンとの併用で30%の血管イベント発症リスクを低減することが示されている。

シロスタゾール<sup>\*3)</sup>は、主にPDE3の阻害作用により、血小板内cAMP濃度を上昇させることによって、血小板凝集抑制作用を発揮す

\* 1…すり応力惹起血小板凝集 (shear-induced platelet aggregation ; SIPA)

動脈硬化による血管狭窄部や血管分岐部では、血小板と血管壁の間に、すり応力が働く。特に、高すり応力は、血小板凝集を惹起し、血栓形成に重要な役割を果たす。アスピリンはSIPAを抑制せず、チクロピジン<sup>®</sup>はSIPAを抑制することが知られている。

\* 2…ジビリダモール

ESPS (European Stroke Prevention Study)-2では、低用量アスピリン (25mg、1日2回) とジビリダモール (ベルサンチ<sup>®</sup>徐放剤 ; 200mg、1日2回) の単独または併用療法の脳梗塞に対する二次予防効果が検討され、脳卒中ではジビリダモール単独投与で、16% ( $p=0.039$ )、併用投与で37% ( $p<0.001$ ) 減少した。欧米ではこれらの合剤が承認されている。

\* 3…シロスタゾール

CSPS (Cilostazol Stroke Prevention Study) では、シロスタゾール (プレタール<sup>®</sup> ; 100mg、1日2回) がプラセボ群に比して、41.7%の脳卒中の再発低減効果を有することが示され、層別解析ではラクナ梗塞の再発予防に有効であった。わが国では、CSPSのエビデンスに基づき、シロスタゾールは慢性動脈閉塞症に加えて、非心原性脳梗塞の再発予防にも承認されている。



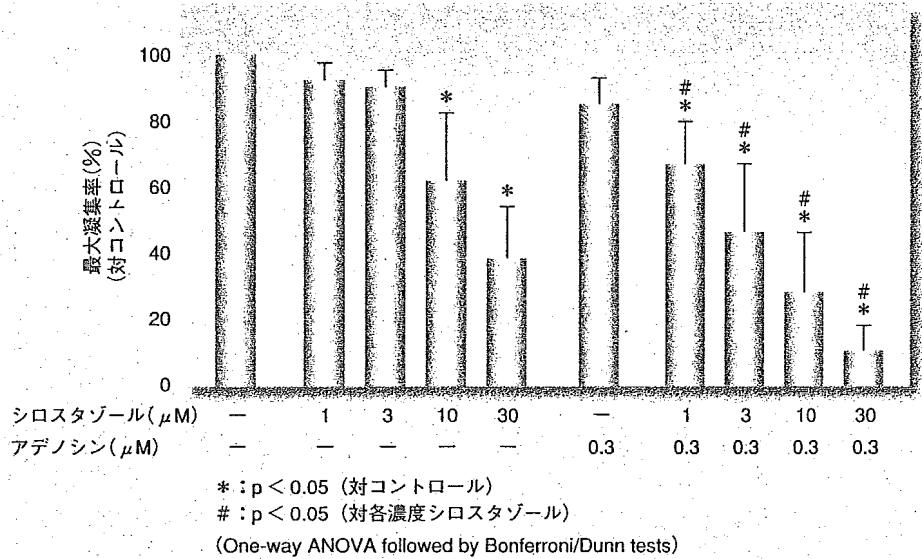


図4 シロスタゾール単独もしくは低濃度アデノシンとの併用によるPRP中でのすり応力惹起血小板凝集 (SIPA) 抑制作用  
シロスタゾールは単独で用量依存性 (10 μM、30 μM で有意) 加により各濃度のシロスタゾールのSIPA抑制効果は相乗的に  
にSIPAを抑制した。また、低濃度 (0.3 μM) のアデノシンの添 増強された (n=8)。

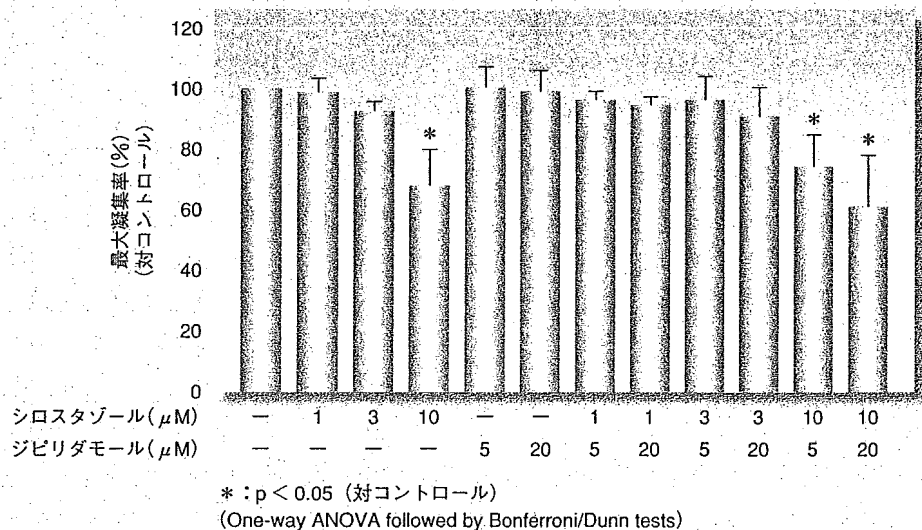


図5 シロスタゾール単独もしくはジビリダモールとの併用によるPRP中でのすり応力惹起血小板凝集 (SIPA) 抑制作用  
PRP中ではジビリダモールのSIPA抑制効果は弱く、シロスタゾールのSIPA抑制効果も増強しなかった (n=8)。

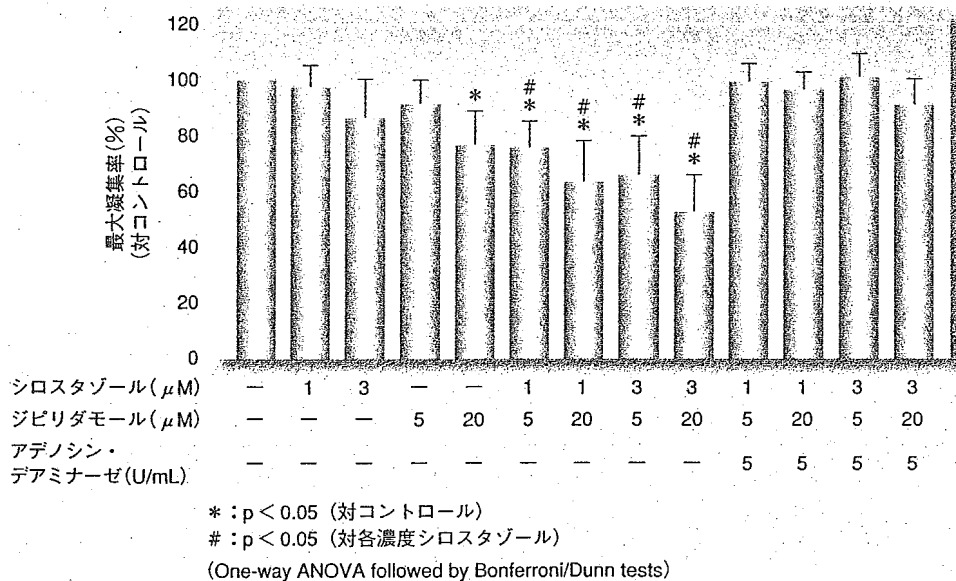


図6 シロスタゾール単独もしくはジピリダモールとの併用による全血中でのすり応力惹起血小板凝集 (SIPA) 抑制作用。全血中ではジピリダモールは単独でSIPAを抑制し(20 μMで有意)、さらに各濃度のシロスタゾールのSIPA抑制効果を相乗的に増強した。これらのジピリダモールとシロスタゾールの相乗的なSIPA抑制効果はアデノシン分解酵素であるアデノシン・デアミナーゼの添加によってほぼ完全に消失した(n=8)。

る<sup>9)</sup>。さらに最近、PDE3阻害作用以外にも、赤血球などによるアデノシンの再取り込み抑制作用があることが報告された<sup>10)</sup>。同じPDE3の阻害薬のミルリノンには、アデノシンの再取り込み抑制効果はほとんどないことから、PDE3阻害作用とアデノシン再取り込み抑制作用を併せもつのは、シロスタゾールの特徴といえる。さらに、*in vitro*ではシロスタゾールとアデノシンは、相乗的にアゴニスト惹起血小板凝集を抑制することが報告されている<sup>11)</sup>。われわれのSIPA測定装置を用いた*in vitro*の検討でも、PRPにおいて、シロスタゾールは単独で用量依存性にSIPAを抑制したが、生理的濃度に近い低濃度(0.3 μM)のア

デノシンの添加により、各濃度シロスタゾールのSIPA抑制効果は相乗的に増強された(図4)。さらにジピリダモールは、アデノシンの再取り込みを抑制し、血漿中アデノシン濃度を増加させる作用を有するので、われわれはシロスタゾールとジピリダモールの併用を試みた。その結果、PRP中では、ジピリダモールのSIPA抑制効果は弱く、シロスタゾールのSIPA抑制効果も増強しなかった(図5)。これに対して、全血中では、ジピリダモールは単独でもSIPAを抑制し、さらに各濃度のシロスタゾールのSIPA抑制効果を相乗的に増強した(図6)。これらのジピリダモールとシロスタゾールの相乗的なSIPA抑制効果は、アデノシ



ン分解酵素であるアデノシン・デアミナーゼの添加によってほぼ完全に消失した(図6)。したがって、ジピリダモールとシロスタゾールの相乗的なSIPA抑制効果は、主にアデノシンを介した効果であると考えられる。これらの結果から、シロスタゾールは生体内では、血漿中のアデノシンとの相互作用により、より効果的に抗血小板作用を発揮していると考えられる。また、臨床的にも、シロスタゾールとジピリダモールとの併用により、より強力な抗血小板作用に基づく血管イベント予防効果が期待できる可能性もある。

## おわりに

アデノシンは、その半減期の短さ(15秒以

下)から、心筋保護や血管拡張に関する研究に比して、血小板に関する研究が遅れがちであった。しかし近年、アデノシン受容体の各サブタイプの機能解析や、アデノシン誘導体の開発に伴い、その抗血小板作用が注目されつつある。さらに、動脈硬化の進展や血栓形成に密接に関与する炎症性サイトカインや、血管内皮細胞上の接着因子の発現を阻害する作用、組織因子の発現を抑制する作用も、アデノシンが有していることが明らかとなり、抗血小板作用にとどまらず、抗動脈硬化作用、抗炎症作用も含めた多面的作用を併せもつ抗血栓薬として期待されるようになった。したがって、アデノシンは今後の抗血栓薬の開発のキーワードの一つになるであろう。

### ◆◆ 文献 ◆◆

- 1) Kitakaze M, Hori M, Sato H, et al. Endogenous adenosine inhibits platelet aggregation during ischemia in dogs. *Circ Res* 1991; 69: 1402-8.
- 2) Anfossi G, Russo I, Massucco P, et al. Adenosine increases human platelet levels of cGMP through nitric oxide. Possible role in its antiaggregating effect. *Thromb Res* 2002; 105: 71-8.
- 3) Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, et al. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. *J Clin Invest* 1997; 99: 1351-60.
- 4) Hori M, Kitakaze M. Adenosine, the heart, and coronary circulation. *Hypertension* 1991; 18: 565-74.
- 5) 鈴木宏治, 出口 洋. アデノシンレセプターと血小板. 高久史磨, ほか編. *Annual Review血液* 1998. 東京: 中外医学社; 1997. p196-202.
- 6) Vane JR, Meade TW. Second European Stroke Prevention Study (ESPS 2): Clinical and pharmacological implications. *J Neurol Sci* 1997; 145: 123-5.
- 7) Gresle P, Zoja C, Deckmyn H, et al. Dipyridamole inhibits platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost* 1983; 50: 852-6.
- 8) Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71-86.
- 9) Ikeda Y. Antiplatelet therapy using cilostazol, a specific PDE3 inhibitor. *Thromb Haemost* 1999; 82: 435-8.
- 10) Liu Y, Shakur Y, Yoshitake M, et al. Cilostazol (Pletal): a dual inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase type 3 and adenosine uptake. *Cardiovasc Drug Revs* 2001; 19: 369-86.
- 11) Sun B, Le SN, Lin S, et al. New mechanism of action for cilostazol: Interplay between adenosine and cilostazol in inhibiting platelet activation. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 40: 577-85.



## Research report

# Aggravation of hemorrhagic transformation by early intraarterial infusion of low-dose vascular endothelial growth factor after transient focal cerebral ischemia in rats

Takeo Abumiya<sup>a,\*</sup>, Chiaki Yokota<sup>a</sup>, Yuji Kuge<sup>a</sup>, Kazuo Minematsu<sup>b</sup><sup>a</sup>Research Institute, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan<sup>b</sup>Cerebrovascular Division, Department of Medicine, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan

Accepted 1 May 2005

Available online 2 June 2005

## Abstract

Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a unique growth factor associated with angiogenesis, vascular permeability, and neuroprotection. The aim of this study was to observe the effects of early intraarterial infusion of low-dose VEGF on ischemia/reperfusion injury after transient focal cerebral ischemia in rats. Male Sprague–Dawley rats were subjected to 2 h of focal ischemia by middle cerebral artery occlusion. After the 2 h ischemia, the rats were infused with 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of VEGF ( $n = 15$ ), or the vehicle as a control ( $n = 15$ ), via the reperfused internal carotid artery. The brains were collected after a 1 h, 6 h, or 72 h reperfusion period. Severity of ischemic cellular injury, serum extravasation, hemorrhagic transformation, and matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 expressions were compared between the VEGF-treated and control groups. No significant difference in the extent of ischemic cellular injury and serum extravasation was observed between the two groups. However, vessel numbers with hemorrhagic transformation were significantly greater in the VEGF-treated group than in the control group after the 72 h reperfusion ( $9.4 \pm 1.6$  versus  $2.6 \pm 1.5$ ;  $P = 0.028$ ). The severity of hemorrhagic transformation was not correlated with the extent of ischemic cellular injury or serum extravasation. MMP-2 and -9 expressions were not enhanced in the VEGF-treated group compared with the control group. These results suggest that exogenous VEGF administered intravascularly at a very early point in reperfusion aggravates hemorrhagic transformation. The aggravated hemorrhagic transformation does not seem to depend on the enlargement of ischemic cellular injury, serum extravasation, or overexpressions of MMP-2 and -9.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Theme: Disorder of the nervous system

Topic: Ischemia

Keywords: Vascular endothelial growth factor; Ischemia; Reperfusion; Hemorrhagic transformation; Rat

## 1. Introduction

Ischemia/reperfusion injury is one of the issues in stroke treatment [10]. Even if reopening of the occluded artery is successfully done by the use of a thrombolytic agent, it does not always lead to a favorable prognosis [14]. When the

preceding ischemia is severe and long enough to cause irreversible cellular damage, reperfusion contributes to the occurrence of severe brain injury. Reoxygenation after ischemia mediates the destruction of microvascular integrity followed by capillary occlusion, serum extravasation, and hemorrhagic transformation [2]. It was proposed that the destruction of microvascular integrity is a result of the degradation of the basal lamina and extracellular matrix [6]. Matrix metalloproteinases (MMPs) are thought to be key molecules in this process. It was demonstrated that MMPs were related to hemorrhagic transformation after cardioem-

\* Corresponding author. Department of Neurosurgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine, North 15 West 7, Kita, Sapporo 060-8638, Japan. Fax: +81 11 708 7737.

E-mail address: [tabumiya@med.hokudai.ac.jp](mailto:tabumiya@med.hokudai.ac.jp) (T. Abumiya).