

患者の状態に関わらず一定量(たとえば 100mg 一錠)で治療がなされることが多いが、適切な評価系を用いて効果判定し患者個人に適した抗血小板薬の投与を行うことで、さらに治療効果が増加する可能性がある。実際、アスピリン効果に個人差があり、血小板機能抑制が十分でない患者群をアスピリンレジスタンスと定義し、この患者群で血栓塞栓症の再発が高率に認められるとの報告が近年増加している(Am J Cardiol 2001; 88: 230-5, Circulation 2002; 105: 1650-55, J Am Coll Cardiol 2003; 41: 961-965, J Am Coll Cardiol 2004; 43 :1122-6, J Thromb Haemost 2006; 4: 1271-1278 など)。一方、未だその適切な評価方法、明確な診断基準、病態が明らかではないために、現時点で、臨床現場にアスピリンレジスタンスの概念を持ち込むことは時期尚早であるとされる(Arteriocler Thromb Vasc Biol 2004; 24: 1980-1987, Lancet 2006;367;606-617)。これは上記した研究報告で検討症例数が少ないことも一因であると思われる。したがって、大規模な多施設共同前向き研究によるアスピリンレジスタンスの実態の解明が急務とされ、どのように解明すべきかという点から検討した報告もなされている(Lancet 2006;367; 606-617, J Thromb Haemost 2005; 3: 1309-1311)。

そこで我々は、本邦におけるアスピリンレジスタンスの実態を明確にするために、多施設共同前向きコホート研究“アスピリン抵抗性の実態ならびにその遺伝子背景に関する研究”(The Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study))実施している。

一方、近年、血小板機能を評価する場合に、生体内で血小板が存在する環境である流動状況下での血小板機能を考慮する必要性が指摘され、ずり応力下血小板機能評価の新しい概念が確立されつつある。本研究では、アゴニストに依存しない生理的条件に近い系として、流動状況下を模倣する *ex vivo* ずり応力下血小板機能評価系を用いて、アスピリン服薬患者での血小板機能を評価した。

B. 研究方法

脳梗塞(心原性脳梗塞を除く)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリン服薬を受けている患者で、ProGEAR研究のプロトコールの選択基準に合致し、除外基準に抵触しない患者から同意を得たうえで、プロトコールに則り、同意取得後採血を行った。抗凝固剤として選択的抗トロンビン剤であるアルガトロバンを終濃度 125 $\mu\text{g/ml}$ となるよう添加した。その後、コラーゲン Type I を固相化したガラスプレートを組み込んだ平行板型フローチャンバー内に、全血のまま、血小板を蛍光色素(メパクリン)で標識した後、流し込み、高ずり速度(2000/s)のかかる部位でのコラーゲン固相表面上での血小板血栓形成過程を倒立型蛍光顕微鏡でリアルタイムに観察した。また、これらの画像を CCD カメラによりコンピュータに取り込みデジタル化し、画像解析を行った。

今後、これらの患者の 2 年間の心血管イベントならびに出血を追跡し、アスピリンを服用しているにも関わらず、フォローアップ 2 年間の間に主要評価項目(脳梗塞、TIA、心筋梗塞、不安定狭心症、血行再建術、その他血栓塞

栓症の発症、心血管疾患による死亡の複合エンドポイント)に達した患者と、*ex vivo* ずり応力下血小板機能評価系による血小板機能についての相関、リスク因子としての関与、リスク比について、検討を行う。また、出血イベントに対する関与についても同様の解析を行う。

C. 研究結果

対象患者は、脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服薬患者で、服薬開始後1ヶ月以上で、最終イベント後1ヶ月以上、2年以内の患者で、他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない登録時年齢20歳以上の患者とした。また、患者自身により文書による同意を得られた患者を対象とした。

平成18年12月6日時点で、195症例の登録がなされ、その中で、すでに8症例において心血管イベントが発生している。1月から登録が開始されているため、登録された患者の平均追跡期間を6ヶ月としても、年間心血管イベント再発率は約8%と推定される。我々が症例数の設定根拠の一つとしたアスピリンに対するメタ解析(BMJ 2002; 324: 71-86)の結果では、アスピリン投与群(29,652名)において、追跡2年間でのイベント(心筋梗塞、脳梗塞、致死血管障害)の発生割合は12.9%(1年で6.5%)であった。したがって、本研究ではそれと同等もしくは少し上回る割合で心血管イベントの再発が起きており、本邦においても、アスピリン服薬患者でも、かなりの割合で心血管イベントの再発が見られていることがわかる。

この195症例の中で、129症例につ

いて、*ex vivo* ずり応力下血小板機能評価系を用いて、アスピリン服薬患者でのずり応力下血小板血栓形成過程の検討を行った。アスピリンは、シクロオキシゲナーゼの阻害作用によりトロンボキサン A_2 の産生を阻害し、血小板の活性化を抑制することで、抗血栓作用を示す。その特徴を捉え、それぞれの患者でのアスピリン効果を定量化するために、以下のように評価を行った。

アスピリン服用患者の血小板血栓形成過程の観察では、多数の患者では、ごく初期(1分以内)の血小板粘着は健常人と比較しても大差なく、その後2.5分後には血小板の凝集が起こり、比較的小さな血小板血栓が認められる。しかしながら、アスピリン服用患者の血小板血栓は脆弱なため、その後5分、10分と経過しても、血小板血栓に成長は認められず、逆に血小板血栓が崩壊していく過程が観察され、最終的(10分後)には、ごく小さな血小板血栓が認められるのみとなる。これを評価3とした(図1)。初期から血小板粘着を認めるのみで、血小板凝集が認められない症例を評価1とした。また、初期に若干の凝集が認められるのみの症例を評価2とした。これらは、アスピリン効果が過剰である症例である可能性が高い。また、逆に、2.5分、5分、10分と、時間経過と共に血小板血栓が成長していく症例で、最終的には血小板血栓の弱い崩壊が認められる症例を評価4、血小板血栓の崩壊が認められない症例を評価5(アスピリンの効果が全く認められないと考えられる症例)とした(図1)。

上記判定の中で、評価4以上、すなわち、2.5分、5分、10分と、時間経過と共に血小板血栓が成長していく症例をアスピリンレジスタンスと定義した。

測定の結果、アスピリンのずり応力下血小板血栓形成過程に対する抑制効果は、患者によって、相当なばらつきが認められた。また、アスピリンレジスタンスのクライテリアに合致したものは、129症例中13症例で、アスピリン服薬患者の約10%であった(図2)。

今後患者登録終了までに、検討症例数をさらに増やすと共に、ずり応力下血小板血栓形成能のばらつきが心血管イベント再発や出血に関与しているかどうか、そのリスク因子としての可能性、リスク比の検討を、実施していく予定である。

D. 考察

不安定粥腫の破綻を契機に形成される血小板血栓による動脈閉塞が病因となる脳梗塞、心筋梗塞、末梢動脈疾患などをアテローム血栓症とし、その治療方法の確立、予防が世界的な問題となっている。これは、高齢者の急増と、危険因子である糖尿病、高脂血症、肥満などの生活習慣病の蔓延により著しく増加していることによる。実際WHOの報告では、世界の死因の3割近くを占める人類最大の疾患となっている。このアテローム血栓症に対する最も基本的な薬物療法は抗血小板療法である。その中でアスピリンは本邦を含め最も多用されている抗血小板薬であり、その効果、安全性で、特に費用対効果の面でこの薬剤を凌駕する抗血小板薬は未だ存在しない。一方、アスピリンは、数多くのランダム化比較試験を集めたメタ解析により血栓塞栓症予防に対する有効性が明確となっているものの、アスピリンの効果は、コントロール群と比較して、血栓塞栓症の発症を23%減少させているに過ぎない。した

がって、アスピリンを服薬しているにもかかわらず、血栓塞栓症のハイリスクを持つ患者の5分の4の患者では、イベント発生をおさえることができていないことが示唆される。この抗血小板療法の有効性をさらに増加させるために現在検討されているのがアスピリンレジスタンスという概念である。アスピリン効果に個人差があるため血小板機能抑制が十分でない患者群をアスピリンレジスタンスと定義し、この患者群で血栓塞栓症の再発が高率に認められるとの報告が近年数多くなされている。一方、未だその適切な評価方法、明確な診断基準、病態が明らかではない。

本研究では、生体内で血小板が存在する環境である流動状況下での血小板機能を考慮し、流動状況下を模倣する *ex vivo* ずり応力下血小板機能評価系を用いて、アスピリン服薬患者での血小板機能を評価した。アゴニストに依存しない生理的条件に近い系として、アスピリン服薬患者での血小板機能を評価する本法が最も臨床的アウトカムと相関するのではないかと仮説をたて、測定を行っている。その結果、まだ、129名という症例数における検討ではあるが、アスピリンのずり応力下血小板血栓形成過程に対する抑制効果は、患者によって、相当なばらつきが認められた。また、アスピリンレジスタンスのクライテリアに合致したものは、129症例中13症例で、アスピリン服薬患者の約10%であった(図2)。したがって、本法を用いて評価した場合、約1割の患者でアスピリンの血栓形成抑制効果が減弱していると思われる結果となった。今後患者登録終了までに、検討症例数をさらに増やすと共に、ずり応力下血小板血栓形成能のばらつきが心血

管イベント再発や出血に関与していかどうか、そのリスク因子としての可能性、リスク比の検討を実施していく予定である。

本研究において、アスピリンレジスタンスとされる患者群の割合、そのリスク因子、診断方法を確立することは、より有効で安全な抗血小板療法の確立を目指した流れのかなで、重要な位置を占める。本研究により、アスピリン治療を受けている患者における、その効果の適切な評価方法を確立できれば、画一された治療ではなく、患者個人に最適な抗血小板療法を行うことで、より安全で効果的な抗血小板療法の確立に貢献できると考えている。このことは、アテローム血栓症患者予後改善につながると共に、極端に安価なアスピリンの有効性、安全性を増加させることで、医療費の削減にも貢献できるものと考えている。

E. 結論

多施設共同前向きコホート研究“アスピリン抵抗性の実態ならびにその遺伝子背景に関する研究”(The **Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study)**)を開始し、患者登録を行っている。登録されたアスピリン単独治療を受けている症例の中で、129名に対して、アゴニストに依存しない生理的条件に近い系として、流動状況下を模倣する *ex vivo* ずり応力下血小板機能評価系を用いて、アスピリンの血小板血栓形成抑制効果を評価した。その結果、患者によって、相当なばらつきが認められた。また、アスピリンレジスタンスのクライテリアに合致したものは、129症例中13症例で、アスピリン服薬患者の約10%であ

った。本法を用いて評価した場合、約1割の患者でアスピリンの血栓形成抑制効果が減弱していると思われる結果となった。今後患者登録終了までに、検討症例数をさらに増やすと共に、ずり応力下血小板血栓形成能のばらつきが心血管イベント再発や出血に関与していかどうか、そのリスク因子としての可能性、リスク比の検討を実施していく予定である。

(研究協力者)国立循環器病センター
研究所 病因部 石川淳子

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 宮田茂樹、長束一行、嘉田晃子、宮田敏行：アスピリン抵抗性とそのメカニズム。 *治療学*. 2006, 40: 294-298.
2. Banno F, Kokame K, Okuda T, Honda S, Miyata S, Kato H, Tomiyama Y, and Miyata T: Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2006, 107: 3161-3166.
3. Kawano H, Toyoda K, Kuwashiro T, Takada T, Yamamoto H, Miyata S, Okamoto A, Nakajima H, and Minematsu K: Thrombus formation during cerebrovascular catheterization in heparin-induced thrombocytopenia. *Neurology*. 2006, 67: 361- 362.

2. 学会発表

1. 宮田茂樹: 循環器疾患に対する抗凝固療法、抗血小板療法に関するトピックス 第 101 回日本循環器学会近畿地方会、神戸、2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

図1. ずり応力下血小板血栓形成能の評価

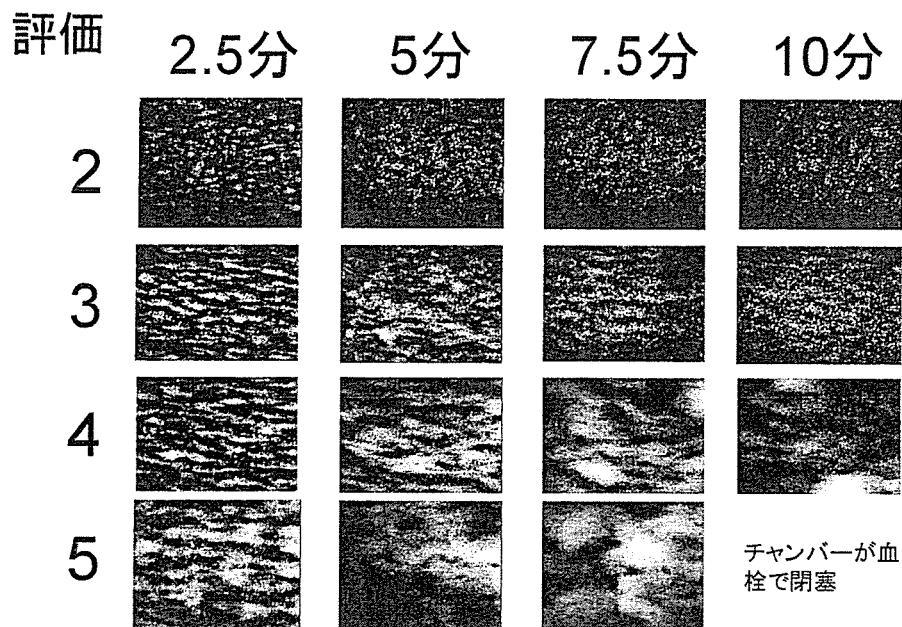
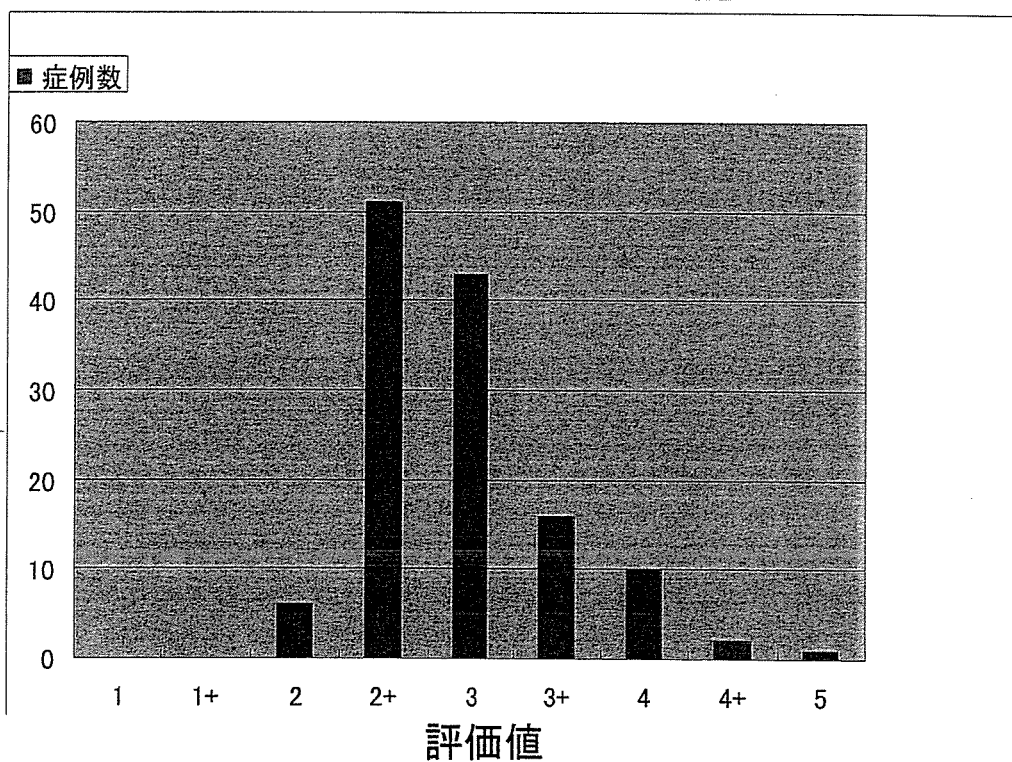


図2. アスピリン服薬患者におけるずり応力下血小板血栓形成能



厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業)
抗凝固薬・抗血小板薬の標的およびこれら薬剤を修飾するタンパク質・
遺伝子の解析を通じた最適投与量の評価方法の標準化に関する研究

分担研究報告書

虚血性脳血管障害患者における ProGEAR 研究登録対象者に関する研究

分担研究者 峰松 一夫 国立循環器病センター内科脳血管部門 部長
研究協力者 大坪 亮一 国立循環器病センター内科脳血管部門 医師

研究要旨

国立循環器病センター内科脳血管部門に平成 18 年の 1 年間に入院した 1626 名を対象に、アスピリンレジスタンスの実態解明を目的とする ProGEAR 研究への登録を行った。虚血性脳血管障害にて入院したのは 730 例であり、患者選択基準を満たした者は 85 例であった。このうち 22 例は担当医が不適と判断し、6 例は同意が得られず、最終的に 57 例が登録された。57 例の内訳は、アテローム血栓性脳梗塞 15 例、ラクナ梗塞 20 例、その他の脳梗塞 14 例、一過性脳虚血発作 8 例であった。登録患者には、コラーゲン、アラキドン酸惹起血小板凝集、血清トロンボキササン B2、尿中 11-デヒドロトロンボキササン B2 の測定を行い、血小板機能ならびに COX-1 機能を評価した。登録後 2 年間の患者追跡を行い、イベント発症、アスピリンの服薬状況、併用薬などの臨床情報を収集するため、現在経過観察中である。

A. 研究目的

アスピリン投与にもかかわらず血小板機能が効果的に抑制されない患者群が、数%から 20%以上存在するとの報告がある。これをアスピリンレジスタンス (aspirin resistance) と呼ぶ。アスピリンレジスタンスの患者はアスピリンに感受性を示す患者群と比較して、血栓塞栓症を発症するリスクが高いと報告されている。しかし、アスピリンレジスタンスの統一された定義、ならびにその原因について、未

だ明確にされていない。

本研究では、脳梗塞ならびに急性冠症候群に対する 2 次予防としてアスピリン投与を受けている患者群を対象に、アスピリンレジスタンスの発症頻度、予後ならびに遺伝子背景を明らかにするために、多施設共同プロスペクティブコホート研究を計画した。我々は、この「アスピリンレジスタンスの実態ならびにその遺伝子背景に関する研究 (The Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance

[ProGEAR study])に、内科脳血管部門への入院患者の登録を行った。

B. 研究方法

対象は、国立循環器病センター内科脳血管部門に、平成18年1月1日から平成18年12月31日までの1年間に入院した患者である。

ProGEAR study の症例の選択基準を、下記に示す。

以下の基準の全てを満たす症例。

- 1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)／TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者

☆服薬開始後28日以上

☆最終イベント後28日以上で、最終イベントから2年以内

(可能な限り最終イベントから6ヶ月以内にエントリーする。)

☆他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない。

- 2) 登録時年齢20歳以上
- 3) 患者自身により文書により同意を得られた患者
注) 患者自身により同意を得たが、神経症状等で署名が出来ない場合は、代筆者による署名可とする。

以下の除外基準に1つでも該当する症例は除外とする。

- 1) 悪性腫瘍のある患者、あるいはその疑いのある患者
- 2) 3ヶ月以内の血小板数が10万/ μ l以下もしくは45万/ μ l以上の患者

- 3) 先天性出血性素因のある患者
- 4) 心房細動のある患者
- 5) 登録2週間前から登録までに手術やカテーテルインターベンションなどの処置を受けた患者
- 6) 登録2週間前から登録までにヘパリン(低分子ヘパリン)、ダナパロイド等の抗凝固薬の投与を受けた患者
- 7) Modified Rankin scale 4以上(中等度から重度の障害:援助なしでは歩行できず、身の回りのこともできない)の患者

(倫理面での配慮) ProGEAR 研究計画は、国立循環器病センター倫理委員会で審議され承認を受けた。ProGEAR 研究参加者は、研究目的などを説明したうえで、書面にて同意をいただく。

C. 研究結果

平成18年の1年間に国立循環器病センター内科脳血管部門に入院した患者1626名のうち、虚血性脳血管障害のため入院したものは730名であった。患者選択基準を満たした者は85例であった。このうち22例は担当医が不適と判断し、6例は同意が得られず、最終的に57例で書面による同意を得て、研究への登録を行った。57例の内訳は、アテローム血栓性脳梗塞15例、ラクナ梗塞20例、その他の脳梗塞14例、一過性脳虚血発作8例であった。

担当医が不適と判断した22例の理由は、以下の通りであった。すなわち、コンプライアンスの不良が9例、他院への転院予定が7例、他の臨床試験に参加中が4例、併用禁止薬追加予定が2例であ

った。

登録患者には、コラーゲン、アラキドン酸惹起血小板凝集、血清トロンボキサンB2、尿中11-デヒドロトロンボキサンB2の測定を行い、血小板機能ならびにCOX-1機能を評価した。登録後2年間の患者追跡を行い、イベント(脳梗塞、TIA、心筋梗塞、不安定狭心症、血行再建術、その他血栓塞栓症の発症、心血管疾患による死亡)発症、アスピリンの服薬状況、併用薬などの臨床情報を収集するため、現在経過観察中である。

D. 考察

脳梗塞や心筋梗塞の2次予防としてアスピリンが投薬されるが、服薬にもかかわらずイベントを発症する場合が見られる。このようなアスピリンレジスタンスの実態を解明する目的で、多施設共同前向き研究であるProGEAR研究を開始した。

アスピリンの効果を明確にするため、他の抗血小板薬やワルファリンを服用していない患者だけを本研究の対象者とした。また、対象者は、最終イベント後28日以上で、最終イベントから2年以内の患者とした。可能な限り最終イベントから6ヶ月以内に登録し、追跡期間中のイベントの有無を調べるものである。このように、ProGEAR研究の症例選択基準はかなり厳密であるため、十分な登録数が見込まれるかどうかの懸念があった。平成18年の1年間で57名の患者が登録できたが、当科ではProGEAR研究の目標登録数を200としているため、さらに患者登録の推進が必要である。

E. 結論

国立循環器病センター内科脳血管部門に1年間入院した患者を対象に、ProGEAR研究の登録を行ったところ、57名の患者の登録が可能であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

【学会報告】

1. 尾原知行、豊田一則、大坪亮一、粕谷潤二、久保田義則、長束一行、成富博章、峰松一夫:内頸動脈における求心性狭窄と偏心性狭窄との臨床像の差異. 第5回日本頸部脳血管治療学会. 神戸. 2006年4月14日-15日
2. 桑城貴弘、豊田一則、吉村壮平、李眞英、大坪亮一、大江洋史、橋本修治、矢坂正弘、成富博章、峰松一夫:左鎖骨下動脈起始部の粥腫病変:経食道心エコーを用いた検討. 第25回日本脳神経超音波学会, 盛岡 2006年4月20日-21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業)
抗凝固薬・抗血小板薬の標的およびこれら薬剤を修飾するタンパク質・
遺伝子の解析を通じた最適投与量の評価方法の標準化に関する研究

分担研究報告書

急性冠症候群患者における ProGEAR 研究登録対象者に関する研究

分担研究者 北風 政史 国立循環器病センター 心臓内科 部長
研究協力者 金 智隆 国立循環器病センター 心臓内科 医師

研究要旨

国立循環器病センターで平成 18 年 4 月から 12 月までの急性冠症候群を示す 93 名の患者から、ProGEAR 研究の登録基準として、1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく) / TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者(服薬開始後 28 日以上)、2) 最終イベント後 28 日以上で、最終イベントから 2 年以内、3) 他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない患者、4) 登録時年齢 20 歳以上、でスクリーニングしたところ、0 名が登録対象者であった。

A. 研究目的

アスピリン投与にもかかわらず血小板機能が効果的に抑制されない患者群(アスピリンレジスタンス)が、数%から 20%以上存在するとの報告がある。これらの患者はアスピリンに感受性を示す患者群と比較して、血栓塞栓症を発症するリスクが高いと報告されている。しかし、アスピリンレジスタンスの統一された定義ならびに、その原因について、未だ明確にされていない。本研究では、脳梗塞ならびに急性冠症候群に対する 2 次予防としてアスピリン投与を受けている患者群を対象に、アスピリンレジスタンスの発症頻度および予後を明らかにするために、多施設共同前向きコホート研究を計画した。ここでは、「The Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study)、

アスピリンレジスタンスの実態ならびにその遺伝子背景に関する研究」のプロトコールで定義した、「症例の選択基準」および「症例の除外基準」を満たす患者を平成 18 年 4 月から 12 月までの期間で検索し、どれくらいの患者数の同意が取得可能かを検討した。

B. 研究方法

対象者は、国立循環器病センターで急性冠症候群を示す 93 名の患者である。ProGEAR study の症例の選択基準は、以下の基準の全てを満たすものとする。

- 1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく) / TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者
☆服薬開始後 28 日以上

☆最終イベント後 28 日以上で、最終イベントから 2 年以内
(可能な限り最終イベントから 6 ヶ月以内にエントリーする。)

☆他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない。

- 2) 登録時年齢 20 歳以上
- 3) 患者自身により文書により同意を得られた患者
注) 患者自身により同意を得たが、神経症状等で署名が出来ない場合は、代筆者による署名可とする。

症例の除外基準は、以下の基準に 1 つでも該当する症例は除外とする。

- 1) 悪性腫瘍のある患者、あるいはその疑いのある患者
- 2) 3 ヶ月以内の血小板数が 10 万/ μ l 以下もしくは 45 万/ μ l 以上の患者
- 3) 先天性出血性素因のある患者
- 4) 心房細動のある患者
- 5) 登録 2 週間前から登録までに手術やカテーテルインターベンションなどの処置を受けた患者
- 6) 登録 2 週間前から登録までにヘパリン(低分子ヘパリン)、ダナパロイド等の抗凝固薬の投与を受けた患者
- 7) Modified Rankin scale 4 以上(中等度から重度の障害: 援助なしでは歩行できず、身の回りのこともできない)の患者

(倫理面での配慮) ProGEAR 研究計画は、国立循環器病センター倫理委員会で審議され承認を受けた。ProGEAR 研究参加者は、研究目的などを説明したうえで、書面にて同意をいただく。

C. 研究結果

国立循環器病センターで急性冠症候群を示す 93 名の患者から、ProGEAR 研究の登録基準として、1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者(服薬開始後 28 日以上)、2) 最終イベント後 28 日以上で、最終イベントから 2 年以内、3) 他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない患者、4) 登録時年齢 20 歳以上、でスクリーニングしたところ、0 名が登録対象者であった。

D. 考察

心筋梗塞や脳梗塞の 2 次予防としてアスピリンが投薬されるが、服薬にもかかわらず、イベントを発症する場合が見られる。このようなアスピリンレジスタンスの実態を解明する目的で、多施設共同前向き研究である ProGEAR 研究を開始した。

アスピリンの効果を明確にするため、他の抗血小板薬やワルファリンを服用していない患者だけを本研究の対象者とした。また、対象者は、最終イベント後 28 日以上で、最終イベントから 2 年以内の患者とした。可能な限り最終イベントから 6 ヶ月以内に登録し、追跡期間中のイベントの有無を調べるものである。このように、本 ProGEAR 研究の症例選択基準はかなり厳密であるため、十分な登録数が見込まれるかどうかの懸念があった。そこで、国立循環器病センターの急性冠症候群患者、93 名を対象に、登録対象者をスクリーニングしたところ、0 名が登録対象者であった。

E. 結論

国立循環器病センターの ProGEAR
研究の登録対象者をスクリーニングし
た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業)
抗凝固薬・抗血小板薬の標的およびこれら薬剤を修飾するタンパク質・
遺伝子の解析を通じた最適投与量の評価方法の標準化に関する研究

分担研究報告書

急性冠症候群患者における ProGEAR 研究登録対象者に関する研究

分担研究者 鎌倉 史郎 国立循環器病センター 心臓血管内科 部長

研究要旨

国立循環器病センター不整脈部門で平成 18 年 4 月から平成 19 年 2 月までの急性冠症候群を示す患者から、ProGEAR 研究の登録基準として、1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者(服薬開始後 28 日以上)、2) 最終イベント後 28 日以上で、最終イベントから 2 年以内、3) 他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない患者、4) 登録時年齢 20 歳以上、でスクリーニングしたところ、登録対象者は 1 名であった。

A. 研究目的

アスピリン投与にもかかわらず血小板機能が効果的に抑制されない患者群(アスピリンレジスタンス)が、数%から 20%以上存在するとの報告がある。これらの患者はアスピリンに感受性を示す患者群と比較して、血栓塞栓症を発症するリスクが高いと報告されている。しかし、アスピリンレジスタンスの統一された定義ならびに、その原因について、未だ明確にされていない。本研究では、脳梗塞ならびに急性冠症候群に対する 2 次予防としてアスピリン投与を受けている患者群を対象に、アスピリンレジスタンスの発症頻度および予後を明らかにするために、多施設共同前向きコホート研究を計画した。ここでは、「The Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study)、アスピリンレジスタンスの実態ならびに

その遺伝子背景に関する研究」のプロトコールで定義した、「症例の選択基準」および「症例の除外基準」を満たす患者を平成 18 年 4 月から平成 19 年 2 月までの期間で検索し、どれくらいの患者数の同意が取得可能かを検討した。

B. 研究方法

対象者は、国立循環器病センターで急性冠症候群を示す患者である。ProGEAR study の症例の選択基準は、以下の基準の全てを満たすものとする。

- 1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者
☆服薬開始後 28 日以上
☆最終イベント後 28 日以上で、最

終イベントから2年以内

(可能な限り最終イベントから6ヶ月以内にエントリーする。)

☆他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない。

- 2) 登録時年齢20歳以上
- 3) 患者自身により文書により同意を得られた患者

注) 患者自身により同意を得たが、神経症状等で署名が出来ない場合は、代筆者による署名可とする。

症例の除外基準は、以下の基準に1つでも該当する症例は除外とする。

- 1) 悪性腫瘍のある患者、あるいはその疑いのある患者
- 2) 3ヶ月以内の血小板数が10万/ μ l以下もしくは45万/ μ l以上の患者
- 3) 先天性出血性素因のある患者
- 4) 心房細動のある患者
- 5) 登録2週間前から登録までに手術やカテーテルインターベンションなどの処置を受けた患者
- 6) 登録2週間前から登録までにヘパリン(低分子ヘパリン)、ダナパロイド等の抗凝固薬の投与を受けた患者
- 7) Modified Rankin scale 4以上(中等度から重度の障害: 援助なしでは歩行できず、身の回りのこともできない)の患者

(倫理面での配慮) ProGEAR 研究計画は、国立循環器病センター倫理委員会で審議され承認を受けた。ProGEAR 研究参加者は、研究目的などを説明したうえで、書面にて同意をいただく。

C. 研究結果

国立循環器病センター不整脈部門

で急性冠症候群を示す患者から、ProGEAR 研究の登録基準として、1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者(服薬開始後28日以上)、2) 最終イベント後28日以上で、最終イベントから2年以内、3) 他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない患者、4) 登録時年齢20歳以上、でスクリーニングしたところ、1名が登録対象者であった。平成19年2月28日現在、この1名の方から同意を頂き研究へ登録を行った。同意取得率は100.0%であった。

D. 考察

心筋梗塞や脳梗塞の2次予防としてアスピリンが投薬されるが、服薬にもかかわらず、イベントを発症する場合が見られる。このようなアスピリンレジスタンスの実態を解明する目的で、多施設共同前向き研究であるProGEAR研究を開始した。

アスピリンの効果を明確にするため、他の抗血小板薬やワルファリンを服用していない患者だけを本研究の対象者とした。また、対象者は、最終イベント後28日以上で、最終イベントから2年以内の患者とした。可能な限り最終イベントから6ヶ月以内に登録し、追跡期間中のイベントの有無を調べるものである。このように、本ProGEAR研究の症例選択基準はかなり厳密であるため、十分な登録数が見込まれるかどうかの懸念があった。そこで、国立循環器病センターの急性冠症候群患者を対象に、登録対象者をスクリーニングしたところ、1名が登録対象者であった。

E. 結論

国立循環器病センターの ProGEAR 研究の登録対象者を選択基準のうちの 3 項目を用いてスクリーニングを行ったところ、1 名の患者が基準に合致した。

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 鎌倉史郎:Brugada 症候群の予後と治療. *心臓* 39:16-20, 2007
2. Otomo K, Okamura H, Noda T, Satomi K, Shimizu W, Suyama K, Kurita T, Aihara N, Kamakura S: Unique electrophysiologic characteristics of atrioventricular nodal reentrant tachycardia with different ventriculoatrial block patterns: effects of slow pathway ablation and insights into the location of the reentrant circuit. *Heart Rhythm*. 2006, 3(5): 544-554.
3. Satomi K, Kurita T, Suyama K, Noda T, Okamura H, Otomo K, Shimizu W, Aihara N, Kamakura S: Catheter ablation of stable and unstable ventricular tachycardias in patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia. Catheter ablation of stable and unstable ventricular tachycardias in patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006, 17(5): 469-476.

厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業)
抗凝固薬・抗血小板薬の標的およびこれら薬剤を修飾するタンパク質・
遺伝子の解析を通じた最適投与量の評価方法の標準化に関する研究

分担研究報告書

Laboratory aspirin resistance の定義に関する研究

分担研究者 長東 一行 国立循環器病センター脳血管内科 医長

研究要旨

ProGEAR study の臨床検査データについて中間解析を行った。

A. 研究目的

アスピリン投与にもかかわらず血小板機能が効果的に抑制されない患者群が、数%から 20%以上存在するとの報告がある。これらの患者はアスピリンに感受性を示す患者群と比較して、血栓塞栓症を発症するリスクが高いと報告されている。しかし、アスピリンレジスタンスの統一された定義ならびに、その原因について、未だ明確にされていない。本研究では、脳梗塞ならびに急性冠症候群に対する 2 次予防としてアスピリン投与を受けている患者群を対象に、アスピリンレジスタンスの発症頻度、予後を明らかにするために、多施設共同プロスペクティブコホート研究を計画した。

B. 研究方法

ProGEAR study に国立循環器病センターで登録され、血小板凝集能、血清トロンボキサン B2 (TXB2) 量、尿中 11-デヒドロトロンボキサン B2 (11DTXB2) 濃度の測定が終了した 120 例のデータを中間解析した。血小板凝集能の凝集惹起物質はプロトコールに基づき、アラキドン酸 0.3 mg/ml および 0.5 mg/ml、コラーゲン 1.0 ug/ml および 4.0 ug/ml とした。また尿中 11DTXB2 濃度

は尿中クレアチニン値で補正を行った。

C. 研究結果

図1に血小板凝集能の結果を示す。一見して分かるように、0.3 mg/ml のアラキドン酸凝集では 120 例中 3 例、0.5 mg/ml のアラキドン酸凝集では 6 例において凝集が全く抑制されていなかった。またコラーゲン凝集は 1.0 ug/ml, 4.0 ug/ml とともに大きくばらついていることが分かる。海外の報告によるアスピリン抵抗性の定義である、健常者の血小板凝集能の平均値の 20%以上という数値を用いると、アラキドン酸凝集 0.3 mg/ml では 3.3%、0.5 mg/ml では 5.0%がアスピリン抵抗性となり、コラーゲン凝集 1.0 ug/ml では 11.7%、4.0 ug/ml では 80.0%にアスピリン抵抗性があるという結果になる。しかし昨年度の健常者に対するアスピリンの影響を調べた結果からも、コラーゲン凝集 4.0 ug/ml はあまり抑制されなかったので、この濃度はアスピリン抵抗性を見るためには高濃度過ぎると考えられる。

図2に血清中 TXB2 濃度および尿中 11DTXB2 の結果を示す。海外の報告に準じて測定した患者の上位 20%をカットオフ値とすると、血清 TXB2 濃度は 2,200 pg/ml、

尿中 11-DTXB2 濃度は 464 pg/ml となった。ただしこの値は中間解析であるので、仮の値である。

D. 考察

アラキドン酸凝集は血小板凝集における COX1 へのアスピリンの作用を見る、最もシンプルな検査である。このアラキドン酸凝集においてほとんど凝集抑制がみられない症例が存在することは驚くべきことである。またコラーゲン凝集は我が国でアスピリンの効果を見るための指標として一般的に用いられている。コラーゲン凝集には COX1 以外の凝集経路も関与しているために、COX1 が抑制された状態での血小板活性を見ることができる。コラーゲン凝集の結果は非常にばらつきの多いことから、COX1 の血小板凝集への関与の程度に個人差が大きいことを示唆している。血清 TXB2 濃度は主に血小板からの TXB2 産生を見ているが、アラキドン酸凝集と同様に血小板の COX1 抑制の程度を反映している。このデータでも明らかに抑制の弱い群があり、アラキドン酸凝集の結果に一致している。一方尿中 11DTXB2 濃度は COX1 のみならず COX2 への影響も合わせて反映するため、よりばらつきの大きい結果となっていると考えられる。

E. 結論

凝集能、血清 TXB2 濃度、尿中 11DTXB2 濃度の解析から、アスピリン抵抗性の存在を示唆する結果が得られた。最終的に臨床的アスピリン抵抗性の結果と照合することにより、検査上のアスピリン抵抗性に意義があるのかどうか判明することが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kimura R, Kokubo Y, Miyashita K, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Sakata T, Nagura J, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Honda S, Sato K, Tomoike H, Miyata T: Polymorphisms in vitamin K-dependent gamma-carboxylation-related genes influence interindividual variability in plasma protein C and protein S activities in the general population. *Int J Hematol.* 2006, 84(5): 387-397.
2. Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Honda S, Tomoike H, Miyata T: Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients. *Thromb Res.* 2006, Epub.
3. Nagakane Y, Miyashita K, Nagatsuka K, Yamawaki T, Naritomi H: Primary intracerebral hemorrhage during asleep period. *Am J Hypertens.* 2006, 19(4): 403-406.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 血小板凝集

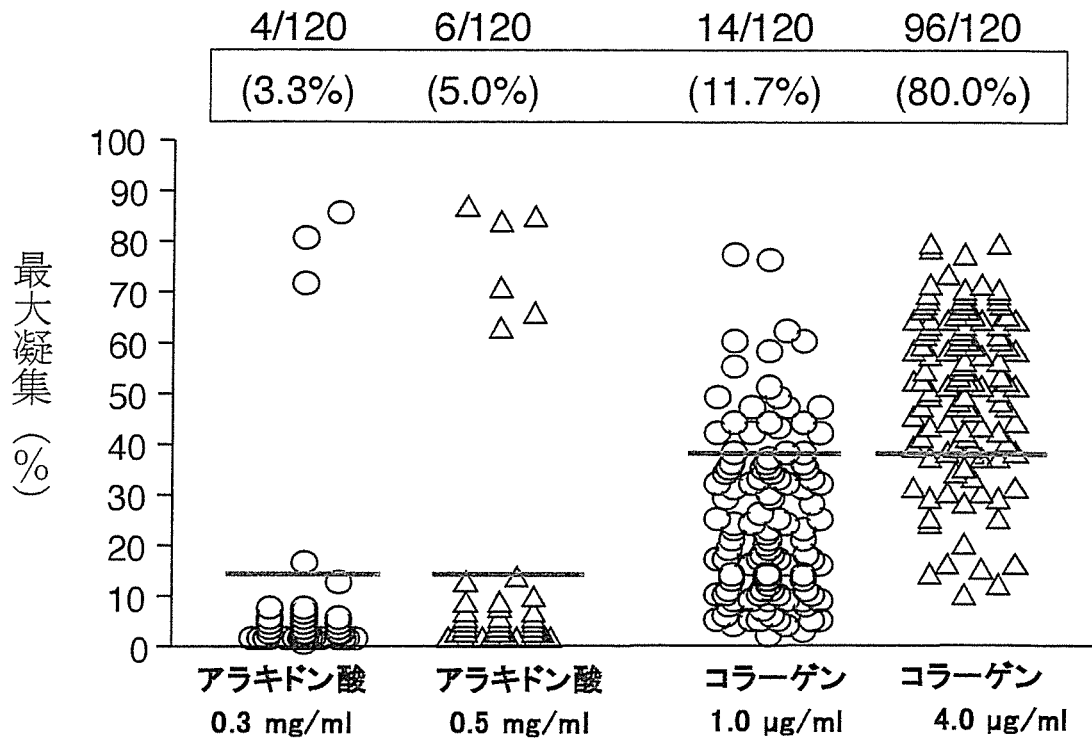
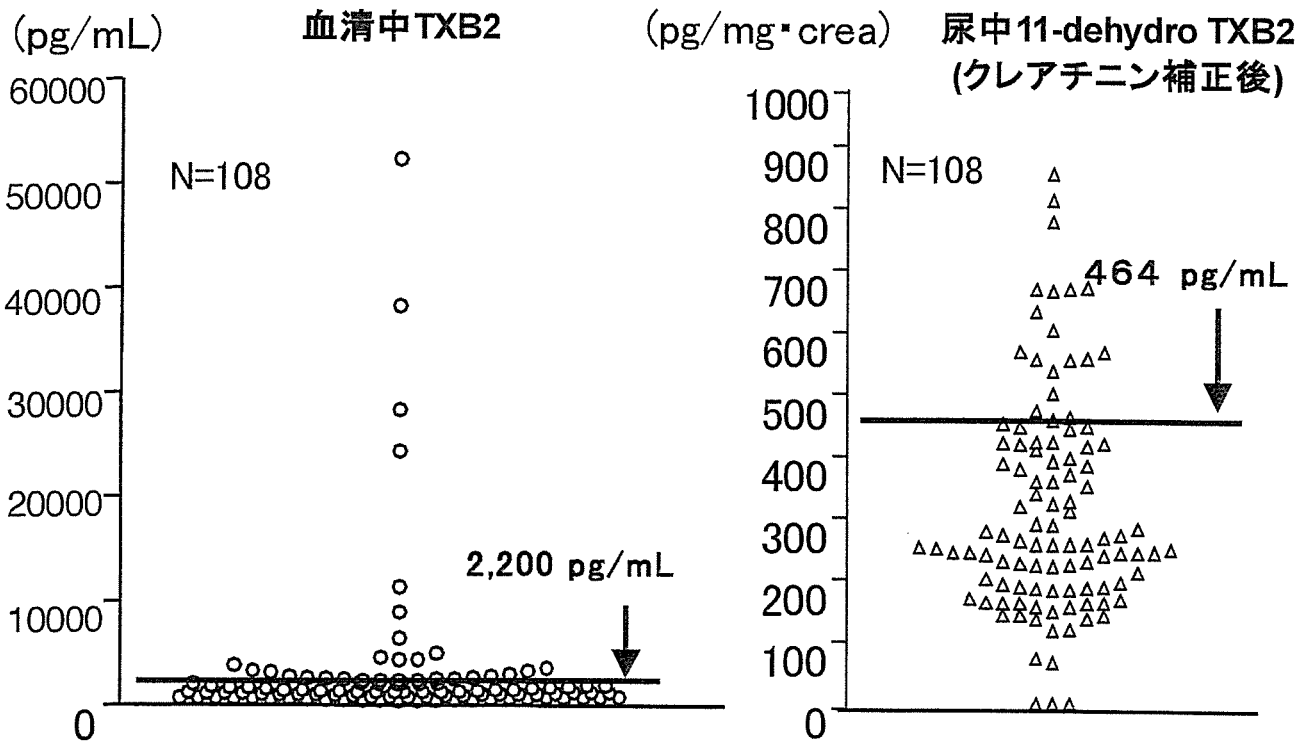


図2 血清TxB2および尿中11-dehydro TxB2濃度



厚生労働科学研究費補助金(循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業)
抗凝固薬・抗血小板薬の標的およびこれら薬剤を修飾するタンパク質・
遺伝子の解析を通じた最適投与量の評価方法の標準化に関する研究

分担研究報告書

急性心筋梗塞患者における ProGEAR 研究登録対象者に関する研究

分担研究者 川村 淳 国立循環器病センター心臓内科 医長

研究要旨

国立循環器病センターCCU に平成 17 年 1 月 5 日から平成 18 年 11 月 15 日までの期間(約 22 ヶ月間)に入院した急性心筋梗塞患者 244 名、および不安定狭心症の患者 316 名を対象に、アスピリンレジスタンスの実態解明を目的とする ProGEAR 研究の登録基準のうち、以下の 3 項目を満たす患者数を調べた。スクリーニングに用いた基準は、1)最終イベントから 2 年以内、2)アスピリン投与をうけ他の抗血小板薬は投薬をうけていない、3)血小板数が 10 万-45 万/ μ l の範囲、である。登録基準を満たす患者は、それぞれ 105 名と 82 名であった。このうち、研究計画を説明し研究への参加を自主的に表明いただいた方を対象に登録を行った。

A. 研究目的

アスピリン投与にもかかわらず血小板機能が効果的に抑制されない患者群が、数%から 20%以上存在するとの報告がある。これらの患者はアスピリンに感受性を示す患者群と比較して、血栓塞栓症を発症するリスクが高いと報告されている。しかし、アスピリンレジスタンスの統一された定義ならびに、その原因について、未だ明確にされていない。本研究では、脳梗塞ならびに急性冠症候群に対する 2 次予防としてアスピリン投与を受けている患者群を対象に、アスピリンレジスタンスの発症頻度と予後を明らかにするために、多施設共同プロスペクティブコホート研究を計画した。我々は、The Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study)、「アスピリンレジスタンスの実態ならびにその遺伝子背景に関する研究」の「症例の選択基

準」および「症例の除外基準」のなかの 3 項目に、CCU の患者がどれくらい該当するかを検討した。

B. 研究方法

対象者は、国立循環器病センターCCU に、平成 17 年 1 月 5 日から平成 18 年 11 月 15 日までの期間に入院した急性心筋梗塞患者 244 名、および不安定狭心症の患者 316 名とした。ProGEAR study の症例の選択基準は、下記に示す。

以下の基準の全てを満たす症例

- 1) 脳梗塞(心原性脳塞栓症をのぞく)/TIA および急性冠症候群の二次予防としてアスピリンの投与を受けている長期服用患者
☆服薬開始後 28 日以上
☆最終イベント後 28 日以上で、最終イ

イベントから2年以内

(可能な限り最終イベントから6ヶ月以内にエントリーする。)

☆他の抗血小板薬やワルファリンは服用していない。

- 2) 登録時年齢 20 歳以上
- 3) 患者自身により文書により同意を得られた患者
注) 患者自身により同意を得たが、神経症状等で署名が出来ない場合は、代筆者による署名可とする。

症例の除外基準は、以下の基準に 1 つでも該当する症例は除外とする

- 1) 悪性腫瘍のある患者、あるいはその疑いのある患者
- 2) 3ヶ月以内の血小板数が 10 万/ μ l 以下もしくは 45 万/ μ l 以上の患者
- 3) 先天性出血性素因のある患者
- 4) 心房細動のある患者
- 5) 登録 2 週間前から登録までに手術やカテーテルインターベンションなどの処置を受けた患者
- 6) 登録 2 週間前から登録までにヘパリン(低分子ヘパリン)、ダナパロイド等の抗凝固薬の投与を受けた患者
- 7) Modified Rankin scale 4 以上(中等度から重度の障害: 援助なしでは歩行できず、身の回りのこともできない)の患者

(倫理面での配慮) ProGEAR 研究計画は、国立循環器病センター倫理委員会で審議され承認を受けた。ProGEAR 研究参加者は、研究目的などを説明したうえで、書面にて同意をいただく。

C. 研究結果

平成 17 年 1 月 5 日から平成 18 年 11 月

15 日の間に国立循環器病センターCCUに入院した患者のうち、急性心筋梗塞の患者は 244 名であった。このうち「選択基準」および「除外基準」のなかから次の 3 項目、1) 最終イベントから 2 年以内、2) 外来でアスピリン単独投与を受けている者、3) 末梢血液検査で血小板数が 10 万/ μ l 以上、45 万/ μ l 以下である者、を選ぶと、105 名の患者が該当することが判明した。このうち、他院への通院希望、他研究に参加中、コンプライアンスの問題等で最終的に同意説明を行なったのは 50 名であった。

対象とする期間の不安定狭心症の患者数は 316 名であった。このうち、上記の 3 つの選択基準に合致する患者は、82 名であった。このうち、他院への通院希望、他研究に参加中、コンプライアンスの問題等で最終的に同意説明を行なったのは 60 名であった。

これら患者に、研究計画を説明し参加に同意を書面で頂いた上で ProGEAR study に登録を行った。平成 18 年 11 月 15 日現在で、98 名の方から同意を頂き研究へ登録を行った。同意取得率は 89.1%であった。同意の拒絶理由は、1) 他院への通院希望、2) 採血がいや 等が挙げられた。

同意取得時と 6 ヶ月後に、アスピリン抵抗性のマーカーと考えられる血小板凝集能検査(コラーゲンとアラキドン酸)を行った。また、同意取得時に血清中と尿中のトロンボキサン代謝産物の測定、および予力下血小板血栓形成能検査も行った。その上で、2 年間のイベント(脳梗塞、TIA、心筋梗塞、不安定狭心症、血行再建術、その他血栓塞栓症の発症、心血管疾患による死亡)を追跡する。

D. 考察

心筋梗塞や脳梗塞の 2 次予防としてアスピリンが投薬されるが、服薬にもかかわらず