

**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**

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 宮田敏行

国立循環器病センター研究所

平成20(2008)年3月

目 次
-----

**I. 総括研究報告書**

- 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 宮田 敏行 …… 1

**II. 分担研究報告書**

1. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 The Study on Profile  
and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study) …… 宮田 茂樹 …… 7
2. 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 …… 峰松 一夫 …… 14
3. 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 …… 北風 政史 …… 17
4. 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 …… 鎌倉 史郎 …… 20
5. Laboratory aspirin resistance の定義に関する研究 …… 長束 一行 …… 23
6. 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 …… 大塚 頼隆 …… 27
7. ProGEAR study 研究データマネージメントに関する研究 …… 嘉田 晃子 …… 30
8. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 内山 真一郎 …… 33
9. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 長尾 毅彦 …… 36
10. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 細見 直永 …… 39
11. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 山脇 健盛 …… 42
12. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 木村 和美 …… 45
13. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 斎藤 こずえ …… 49
14. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 中根 博 …… 52
15. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 中川原 譲二 …… 55
16. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 一色 高明 …… 59
17. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 北川 一夫 …… 62
18. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 古井 英介 …… 65
19. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 苅尾 七臣 …… 68
20. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究 …… 和田 英夫 …… 71

21. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究	海北 幸一	74
22. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究	田中 啓治	77
23. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究	服部 晃	80
24. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究	片山 泰朗	83
25. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究	鏡谷 武雄	86
26. アスピリンレジスタンスの実態に関する研究	滝内 伸	88
III. 研究成果の刊行に関する一覧表		91
IV. 研究成果の刊行物・別刷り		93

厚生労働科学研究費補助金

# I. 総括研究報告書

## 総括研究報告書

主任研究者 宮田 敏行 国立循環器病センター研究所病因部 部長

### 研究要旨

アスピリンは心血管イベントの二次予防として広く用いられている。最近、アスピリンの効果には個人差があり、血小板機能抑制が十分でない患者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、との報告が増加している。私達は、日本人におけるアスピリンレジスタンスの発症頻度、寄与因子を明らかにするとともに、臨床予後を予測する評価系の確立を目指し、多施設共同前向き観察研究「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)**」を行うこととした。参加施設は、日本全国の22施設である。対象患者は、心血管系疾患の二次予防としてアスピリンの投与を受けている患者である。登録後、追跡期間は2年間とした。サンプルサイズは、600例とした。主要評価項目は、脳梗塞、一過性脳虚血発作、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とした。登録時にコラーゲンとアラキドン酸による血小板凝集能、血清トロンボキサンB2量、尿11-デヒドロトロンボキサンB2量を測定した。国立循環器病センターでは、ずり応力下血小板血栓形成能を評価項目に含めた。アスピリンの服用を客観的に評価するため、血中サリチル酸を測定することとした。平成20年2月現在で、541例の登録が完了した。496例の登録が終了した時点での中止例は43例であり、このうち28例に血栓性イベントが、2例に出血性イベントが見られた。患者266名の血小板凝集能が終わった時点では、患者の2-5%にアラキドン酸惹起血小板凝集能の残存が見られた。血清トロンボキサンB2が高値の患者も確認した。コラーゲン惹起血小板凝集能および尿中11-デヒドロトロンボキサンB2量は広い分布を示した。ずり応力下血小板血栓形成能の評価4以上（血小板血栓が抑制されていないと判断される）を示す患者は270例中30例であった。平成20年3月末の登録終了までに、目標の600例を登録し、ベースライン時の検査結果相互の関連を解析する。追跡2年後に、心血管イベント再発と検査結果の関連を解析する。これらの解析により、日本人を対象としたアスピリンレジスタンスの定義、信頼できる測定法の確立、心血管系イベントのリスクの確立を行う。

## 分担研究者

宮田 茂樹	国立循環器病センター	医長
峰松 一夫	国立循環器病センター	部長
北風 政史	国立循環器病センター	部長
鎌倉 史郎	国立循環器病センター	部長
長束 一行	国立循環器病センター	医長
川村 淳	国立循環器病センター	医長
大塚 頼隆	国立循環器病センター	医長
嘉田 晃子	国立循環器病センター研究所	室員
内山 真一郎	東京女子医科大学	教授
長尾 毅彦	財団法人東京都保健医療公社荏原病院	医長
細見 直永	香川大学医学部	助教
山脇 健盛	名古屋市立大学大学院医学研究科	准教授
木村 和美	川崎医科大学	教授
斉藤 こずえ	奈良県立医科大学	助教
中根 博	国立病院機構福岡東医療センター	センター長
中川原 譲二	中村記念病院	部長
後藤 信哉	東海大学医学部	教授
一色 高明	帝京大学医学部	教授
北川 一夫	大阪大学医学部附属病院	准教授
古井 英介	財団法人広南会広南病院	医長
苅尾 七臣	自治医科大学COE	教授
和田 英夫	三重大学大学院医学系研究科	准教授
長田 乾	秋田県立脳血管研究センター	部長
海北 幸一	熊本大学大学院	講師
田中 啓治	日本医科大学付属病院	教授
服部 晃	佐渡総合病院	病院長
斎藤 能彦	奈良県立医科大学	教授
片山 泰朗	日本医科大学付属病院	教授
鏡谷 武雄	北海道脳神経外科記念病院	医長
滝内 伸	東宝塚さとう病院	部長

## 研究協力者

大西 英之	大西脳神経外科病院	院長
埴本 勝司	大西脳神経外科病院	副院長

## A. 研究目的

血栓性疾患患者に対して、抗血小板療法が広く行われている。抗血小板療法は、動脈内血栓の一次および二次予防として用いられ、比較的長期間にわたる場合が多い。これらの抗血小板薬は、いずれもその標的となる蛋白質の性質が明らかにされており、薬剤の作用メカニズムもよく研究されている。それにもかかわらず、血栓の再発を防ぐことができない場合が観察されており、テーラーメイド医療が待ち望まれている。

本研究の目的は、安価で臨床で広く使用される抗血小板薬・アスピリンを対象に、個々の患者に適した投与量を求めるための評価方法の標準化を目指し、有効性を担保しつつ副作用の軽減につながるテーラーメイド医療の実現化を追求するものである。

具体的には、アスピリンを服薬しているにもかかわらず血小板凝集能の抑制が不十分なため、心血管疾患のイベントの再発リスクが高いといわれるアスピリンレジスタンスの実態を解明し、いかなる検査法がアスピリンレジスタンスとして最適であるかを検討する。また、二次予防におけるアスピリンレジスタンスのリスクを評価する。

## B. 研究方法

アスピリンレジスタンスの実態解明、検査法の確立、リスク評価を行うため、多施設共同前向きコホート研究「アスピリンレジスタンスの実態に関する研究、**The Study on Profile and Genetic**

**factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study)**」を行う。研究遂行のため、多施設共通の研究プロトコルを作成し、各施設の倫理委員会で計画の承認を得た後、患者の登録を進めた。研究の進捗管理やデータ管理に関しては、分担研究報告書「ProGEAR study 研究データマネジメントおよび解析に関する研究(嘉田晃子)」の項に述べた。

(倫理面への配慮) 全対象者より書面にてインフォームドコンセントを取得し症例登録を行う。本研究のプロトコルは、参加施設の倫理委員会にて承認をいただく。

## C. 研究結果

日本人におけるアスピリンレジスタンスの実態を解明し、有効な検査法の確立とリスク評価を目指して、22施設からなる多施設共同前向きコホート研究を立ち上げた。

3年目にあたる平成19年度の進捗を下記に述べる。

### 1. 参加施設の追加などの変更

ProGEAR研究は21施設で行う多施設共同観察研究として進めていたが、更に患者登録を進めるため、新たに兵庫県宝塚市の東宝塚さとう病院と兵庫県明石市の大西脳神経外科病院の参加をいただいた。また、年度途中で人事異動により参加できなくなった施設もあり、ProGEAR研究は全国22施設の共同研究として進めることとなった。

### 2.2 施設

東京女子医科大学、東京都保健医療公社荏原病院、香川大学医学部、名古屋市立大学大学院、川崎医科大学、奈良県立医科大学、国立病院機構福岡東医療センター、中村記念病院、東海大学医学部、帝京大学医学部、大阪大学医学部、財団法人広南会広南病院、自治医科大学、三重大学医学部、秋田県立脳血管研究センター、熊本大学大学院、日本医科大学、佐渡総合病院、北海道脳外科記念病院、東宝塚さとう病院、大西脳神経外科病院、国立循環器病センター

## 2. 登録目標患者数の変更と登録数

本研究の対象患者は、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患者で、服用開始後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歳以上の患者である。

当初の登録予定症例数は文献等の調査をもとに1,000例としたが、心血管系イベントの再発率（15%）は、症例設定根拠とした率（10%）より高いことが前年度（平成18年度）の追跡で判明した。また、平成18年度と19年度に発表された2つのメタアナリシスの結果では、アスピリン抵抗性の頻度と再発のハザード比はそれぞれ24%、3.8倍であり、症例設定根拠に使用した頻度とハザード比（それぞれ20%、2.0倍）より高かった。そこで、登録予定症例数を見直すことし、目標数を600に変更し、外部共同研究者を含めた班

会議にて承認を得た。600例の症例数でも、アスピリン抵抗性の頻度やハザード比をそれぞれ20%、3倍というように低めに見積もっても、95%の検出力を持つ。

平成20年2月現在で、541例の登録が完了した。496例の登録が終了した時点での中止例は43例であり、このうち28例に血栓性イベントが、2例に出血性イベントが見られた。

## 3. ProGEAR研究での測定項目

登録時と登録6ヶ月後にコラーゲン（2濃度）とアラキドン酸（2濃度）による血小板凝集能を各施設にて測定した。国立循環器病センター近郊の施設に関しては、血小板凝集測定用血液を国立循環器病センターに搬送して、血小板凝集能を測定した。これにより、自施設にて血小板凝集を測定できない施設も、患者の登録施設として協力をいただけるようになった。登録時に血清トロンボキサンB2量と尿中11-デヒドロトロンボキサンB2量を検査会社にて測定した。

患者266名の血小板凝集能が終わった時点では、患者の2-5%にアラキドン酸惹起血小板凝集能の残存が見られた。また、血清トロンボキサンB2が高値の患者も確認した。アスピリンは、アラキドン酸をトロンボキサンに変換する過程のシクロオキシゲナーゼを阻害する。したがって、アラキドン酸惹起血小板凝集能が残っている患者や血清トロンボキサンが高値を示す患者は、アスピリンにより血小板シクロオキシゲナーゼ1活性が残存していることが考えられ、その理由として



アスピリンを正しく服薬していないと考えられた。本研究では、アスピリンの服薬状況は問診での確認に加え、より客観的な評価法として血中サリチル酸の測定を取り入れている。今後、血中サリチル酸量との関連を調べることにより、服薬状況が明らかになると考える。

一方、コラーゲン惹起血小板凝集能および尿中11-デヒドロトロンボキサンB2量は広い分布を示した。血小板は多くの刺激物質により凝集反応が起こるが、アスピリンはその中の一つであるトロンボキサン産生を抑制するだけである。したがって、アスピリン服薬にもかかわらずコラーゲン凝集能が十分に抑制されないのは理にかなっている。尿中11-デヒドロトロンボキサンB2は、シクロオキシゲナーゼ1および2の両活性の残存を反映するといわれる。低用量アスピリンはシクロオキシゲナーゼ1活性を阻害するが、シクロオキシゲナーゼ2の活性は阻害できないといわれているので、尿中11-デヒドロトロンボキサンB2量が高値を示す患者は、シクロオキシゲナーゼ2が誘導されているかも知れない。

これらの測定結果に関しては、分担研究報告書「Laboratory aspirin resistanceの定義に関する研究(長束一行)」の項で述べた。

国立循環器病センターでは、ずり応力下血小板血栓形成能を評価項目に含めた。本法は、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*ずり応力下で血小板機能を評価する系であり、アスピリンの血小板

血栓形成抑制効果を観察できる。その結果、患者によってアスピリン抑制効果に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と判定された症例は、270症例中30症例であり、アスピリン服薬患者の約11%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。

この結果に関しては、分担研究報告書「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(宮田茂樹)」の項で述べた。

#### D. 考察

心血管疾患の二次予防としてアスピリンを服薬している患者を対象に、アスピリンレジスタンスの発症頻度や寄与因子、遺伝子背景を明らかにするため、日本全国の22施設から構成される多施設共同前向き観察研究、「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、ProGEAR研究」を立ち上げ、患者の登録を進め、541例を登録した。平成20年3月末の登録終了までに、目標の600例を登録し、その後ベースライン時の検査結果相互の関連を解析する。また、追跡2年後に、心血管イベント再発と検査結果の関連を解析する。これらの解析により、日本人を対象としたアスピリンレジスタンスの定義、信頼できる測定法の確立、心血管系イベントのリスクの確立を行う。アスピリンが正しく服薬されていないことが、アスピリンレジスタンスの一因であるとの報告があるので、アス

ピリンの服用を客観的に評価するために測定した血中サリチル酸量を、服薬遵守のモニターとして使用することにより、アスピリンを服薬していない患者を明確化する。

アスピリンレジスタンスの実態を解明する臨床研究は世界中で行われているが、その多くはアスピリン以外の抗血小板薬の併用患者も登録しており、アスピリン服薬を客観的に評価できる血中サリチル酸の測定を行っている研究はない。私達のProGEAR研究は、アスピリン単独の抗血小板薬服用患者を対象とし、その服薬を客観的に判定できるサリチル酸を測定している点で、優れていると考える。また、ProGEAR研究は、1) 大規模で行い、2) 公的な資金で進め、3) 複数の評価系を用いている。私達のProGEAR研究は、これらの観点から、その成果の社会的波及効果は大きいと考える。

#### E. 結論

心血管疾患の二次予防としてのアスピリン服薬における「アスピリンレジスタンス」の実態解明、検査法の確立、リスク評価を目的に、多施設共同前向きコホート研究を進め、541例の登録を終了し、登録患者の血小板凝集能などの項目を測定し情報を収集した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 宮田敏行、宮下光太郎、宮田茂樹、嘉田晃子、長束一行. 抗血小板並びに抗凝固薬の標準化に関する遺伝子解析研究. *脳卒中*. 2007; 29(6): 721-725.
2. 宮田敏行、宮田茂樹、嘉田晃子、長束一行: わが国におけるアテローム血栓症の登録研究と介入試験からリスク評価と対策を探る: *ProGEAR, Vascular Medicine*. 2008、印刷中

##### 2. 学会発表

1. 宮田茂樹、宮田敏行 (ProGEAR研究班): 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: 多施設共同前向き観察研究. 第30回日本血栓止血学会学術集会、三重、2007.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

厚生労働科学研究費補助金

## Ⅱ. 分担研究報告書

## アスピリンレジスタンスの実態に関する研究

### The Study on Profile and Genetic factors of Aspirin Resistance (ProGEAR study)

分担研究者 宮田 茂樹 国立循環器病センター 輸血管理室 医長  
研究協力者 岡田 浩美 国立循環器病センター研究所 特任研究員

#### 研究要旨

抗血小板薬に対してもワルファリンのPT-INRに相当するようなパラメーターを明らかにし、患者個人に適した抗血小板療法を選択することで、さらに抗血小板治療効果が増加する可能性を検討する試みがなされつつある。その中で生まれてきた概念が“アスピリンレジスタンス”である。アスピリン服薬にも関わらず、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増加している。本邦におけるアスピリンレジスタンス(抵抗性)に関する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))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、270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*ズリ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、アスピリン抑制効果に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、270症例中30症例で、アスピリン服薬患者の約11%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、ズリ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。

#### A. 研究目的

アスピリンは、多数のランダム化比較試験を集めたメタアナリシス(BMJ 2002; 324: 71-86)により血栓塞栓症予防に対する有効性が明確な、本邦だけでなく海外でも最も多く使用されて

いる抗血小板薬である。代表的な経口抗凝固薬であるワルファリンは、効果をPT-INRで判定し、投与量を調節して用いられる。一方、アスピリンは体重や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)。また、これらの報告を集めて検討したメタアナリシスの報告もなされている (Arch Intern Med 2007;167:593-1599, BMJ 2008;336:195-198)。これらの報告では、血小板の機能が効果的に抑制されていない患者では、効果的に抑制されている患者に比べ、心血管系疾患の再発率が高いことを示唆していた [オッズ比 3.8 (95%信頼区域:2.3-6.1) ならびにオッズ比 3.74 (95%信頼区域:2.99-4.67) 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 (Arterioscler 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。また、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

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。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、プロトコールにのっとり、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かかわらず、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予定である。

### C. 研究結果

平成 19 年 12 月 22 日時点で、507 症例の登録がなされ、その中で、すでに 28 症例において心血管イベントが発生している。平成 19 年 11 月 30 日現在で、総観察人年は 433 であり、平均観察年は 0.89 となる。これらの結果から、年間心血管イベント再発率は約 6.3% 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の心血管イベントの再発が発生していることが推測され、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。

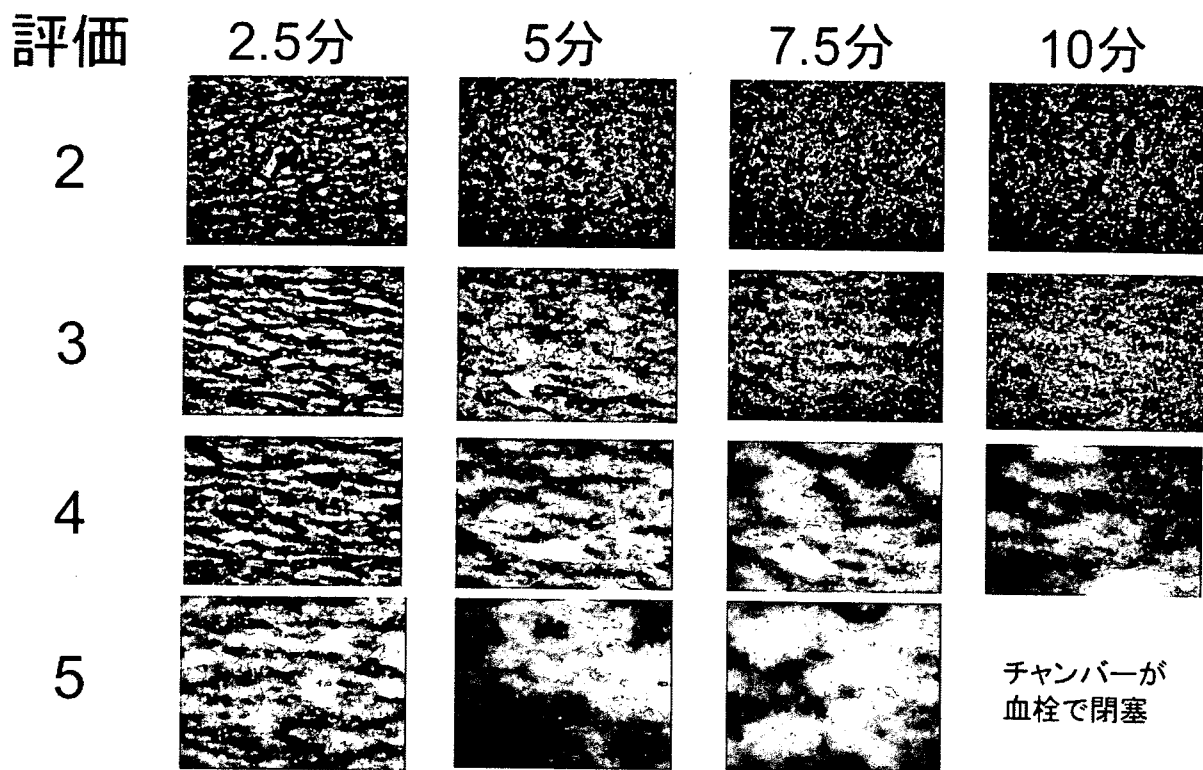
国立循環器病センターにて登録された中の 270 症例について、*ex vivo* ずり応力下血小板機能評価系を用いて、アスピリン服薬患者でのずり応力下血小板血栓形成過程の検討を行った。アスピリンは、シクロオキシゲナーゼの阻害作用によりトロンボキサン<sub>A<sub>2</sub></sub>の産生を阻害し、血小板の活性化を抑制することで、抗血栓作用を示す。その特徴を捉え、それぞれの患者でのアスピリン効果を定量化するために、以下のように評価を行った。

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)の血小板粘着は健康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では、血小板の活性化が抑制されるため血小板血栓は脆弱となり、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)。

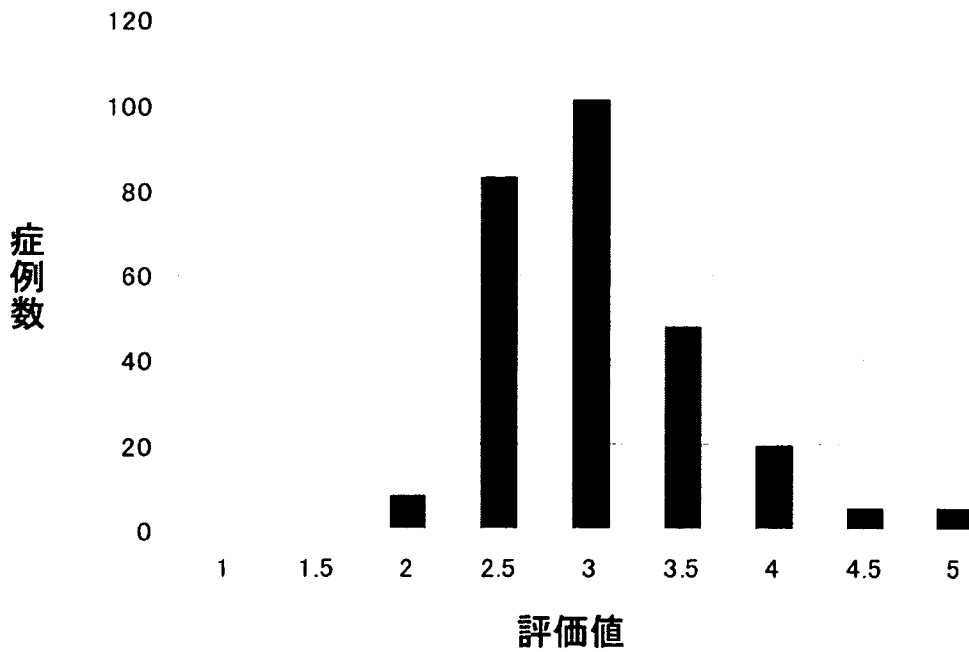
図1 ずり応力下血小板血栓形成能を用いた評価



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、270 症例中 30 症例で、アスピリン服薬患者の約 11%であった(図 2)。

図2 ずり応力下血小板血栓形成能  
(n=270)



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アナリシス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、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の、すなわちアスピリン服薬にもかかわらず、血小板血栓が経時的に増大していく症例は、270 症例中 30 症例で、アスピリン服薬患者の約 11%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。

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なかで、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、画一化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、270 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、270 症例中

30 症例で、アスピリン服薬患者の約 11%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、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。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 宮田敏行、宮下光太郎、宮田茂樹、嘉田晃子、長束一行：抗血小板並びに抗凝固薬の標準化に関する遺伝子解析研究。 **脳卒中** 2007； 29(6)： 721-725.
2. 宮田敏行、宮田茂樹、嘉田晃子、長束一行： わが国におけるアテローム血栓症の登録研究と介入試験からリスク評価と対策を探る： ProGEAR. **Vascular Medicine** 2008 (in press).

##### 2. 学会発表

1. 宮田茂樹、宮田敏行 (ProGEAR 研究班)： 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：多施設共同前向き観察研究。 第 30 回日本血栓止血学会学術集会、三重、2007.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 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 豊田 一則 国立循環器病センター 内科脳血管部門 医長

### 研究要旨

国立循環器病センター内科脳血管部門に平成19年の1年間に虚血性脳血管障害にて入院した患者を対象に、アスピリンレジスタンスの実体解明を目的とするProGEAR研究への登録を行った。対象患者をスクリーニングしたところ、選択基準に合致し、除外基準に抵触しない症例は79例であった。このうち、コンプライアンス不良などの理由で主治医が不適と判断6例、他の臨床研究に参加中1例、他院へ通院予定9例、併用禁止薬追加予定1例を除いた62例に同意説明を行った。3名の方から同意が得られず、59名の方から同意を頂き研究への登録を行った。59例の内訳は、アテローム血栓性脳梗塞16例、ラクナ梗塞17例、その他の脳梗塞15例、一過性脳虚血発作11例であった。登録患者には、血小板凝集能検査（アラキドン酸とコラーゲンを惹起物質とする）、血清および尿中のトロンボキサン代謝産物量の測定、ずり応力下血小板血栓形成能検査を行った。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二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19年1月1日から平成19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）／一過性脳虚血発作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/ $\mu$ l 以下もしくは 45 万/ $\mu$ 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19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虚血性脳血管障害の患者を対象とした。このうち、患者選択基準を満たした者は、79例であった。このうち、コンプライアンス不良などの理由で主治医が不適と判断6例、他の臨床研究に参加中1例、他院へ通院予定9例、併用禁止薬追加予定1例を除いた62例に同意説明を行った。3名の方から同意が得られず、59名の方から同意を頂き研究への登録を行った。59例の内訳は、アテローム血栓性脳梗塞16例、ラクナ梗塞17例、その他の脳梗塞15例、一過性脳虚血発作11例であった。

登録患者には血小板凝集能検査（コラーゲンとアラキドン酸）、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、ずり応力下血小板血栓形成能検査を行い、COX-1の機能を評価した。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