冠動脈疾患における新規血栓形成能モニタリングシステムの可能性

海北 幸一, 辻田 賢一

Koichi Kaikita and Kenichi Tsujita: Possibility of novel monitoring system for thrombus formation in patients with coronary artery disease. J Jpn Coron Assoc 2018; 24: 156-160

I. はじめに

各循環器疾患において、抗血小板および抗凝固を含めた抗血栓療法は重要な薬物治療である。冠動脈疾患における侵襲的治療である経皮的冠動脈インターベンション (PCI) 後の薬物治療に際して、アスピリン、クロピドグレル、プラスグレル等を中心とした抗血小板併用療法は、PCI 後の血栓性イベント抑制に重要な後療法である¹⁻⁴⁾。一方、非弁膜症性心房細動や静脈血栓塞栓症に対する抗血栓療法として、従来のワルファリンに加え、直接経口抗凝固薬 (direct oral anticoagulants; DOACs) の有用性が示され⁵⁻⁸⁾、それらの使用が増加している。最近では、高齢化により冠動脈疾患に心房細動が併存した症例が増加しており、これらの症例に対しては、抗血小板と抗凝固併用療法が求められる。しかしながら、これら抗血栓薬の総合的な有効性、安全性のモニタリングに関しては、共通した測定ツールや凝固関連マーカーがないのが現状である。

T-TAS (Total Thrombus-formation Analysis System) は、最近確立された新規の血栓形成能評価システムであり、全血で比較的短時間に血栓形成能の定量化、可視化が可能である。本稿では、T-TAS を用い、冠動脈疾患における抗血小板療法中の T-TAS 測定値の変動や PCI 周術期の出血性合併症との関連性について概説する。

II. 従来の抗血小板療法のモニタリングと比較した T-TAS の有用性

抗血小板療法におけるモニタリングツールに関しては、従来の光透過法 (ADP 5, 20 μ M 惹起) に加え、全血で測定可能な簡易型測定システム (VerifyNow system) 等が用いられている。両測定法とも、以前より当施設にて安定した血小板凝集能測定値を示すことが確認されており、有用な測定法と考えられる^{9,10)}。ただ、凝集惹起物質が抗血小板剤の種類によって異なるため、数種類の抗血小板剤が併用されていた場

合、総合的な血小板抑制効果を検討することは困難である。

T-TAS は、近年確立された新規の血栓形成過程の評価システムである¹¹⁾。全血で測定可能で測定時間も最大 30 分以内であり、比較的短時間に血栓形成能の定量化、可視化ができる (Fig. 1)¹²⁾。AR-Chip (アテロームチップ: チップ内壁にコラーゲン+組織因子がコーティングされている)、PL-Chip (血小板チップ: コラーゲンのみがコーティングされている) の 2 種類のマイクロチップ内に被験者の全血を shear stress 下に流すことにより、白色血栓、もしくは血小板粘着、凝集をリアルタイムに観察することができる。すなわち、AR-Chip では経過時間とともにフィブリン、血小板からなる混合白色血栓が形成され、流路を閉塞するにつれ回路内圧が上昇する。また、PL-Chip では、血小板が粘着、凝集する結果、回路内圧が上昇する。よって、血栓形成に伴って上昇する回路内圧を測定し、経過時間 (X 軸) - 回路内圧 (Y 軸) 曲線の曲線下面積を算出し数値化することにより、抗血小板剤、抗凝固剤の種類にかかわらず、血栓形成能を定量評価することが可能である。

III. 冠動脈疾患における T-TAS パラメータの変動

まず、当施設に入院した冠動脈疾患が疑われた 274 例の血栓形成能を T-TAS を用いて検討した¹³⁾。T-TAS 測定値のうち、血小板血栓形成を反映する PL_{24} -AUC₁₀ 値を用いて検討した結果、抗血小板薬非服用群 (56 例) に比べて、アスピリン単剤使用群 (69 例) とアスピリン+クロピドグレル二剤併用群 (149 例) では PL_{24} -AUC₁₀ 値が有意に低下していた (Fig. 2)。さらに、抗血小板薬の単剤使用群より二剤併用群において PL_{24} -AUC₁₀ 値がさらに低下することも明らかとなり、抗血小板薬の相加的な効果が明らかとなった。以上の結果は異なる種類の抗血小板薬の効果を単一の測定機器で評価できることを示した有用な知見となった。

また、チエノピリジン系抗血小板剤であるクロピドグレルは、CYP2C19 を中心とした薬物代謝酵素により活性代謝物になり、ADP 受容体拮抗薬としての役割を果たすが、CYP2C19 の遺伝子多型がクロピドグレルの低反応性に関与していることが指摘されている^{9,10)}。二剤併用群において CYP2C19 の低反応群 (poor metabolizer: PM) では非 PM 群

Fig. 1 T-TAS の概要.

(a) T-TAS の外観. (b) T-TAS に接続するマイクロチップの外観 (a の赤線で囲んである部分の拡大写真). マイクロチップには AR-chip と PL-chip の 2 つがある. (c, d) AR チップに血液を流した際の顕微鏡像 [(c) エドキサバン投与前, (d) エドキサバン投与後]. 測定開始を 0 分とする. (e) AR チップに血液を流した際の経過時間 - 回路内圧曲線. 青線がエドキサバン治療前, 赤線がエドキサバン治療後. この図での曲線下面積を算出すると, エドキサバン前 1769.8, エドキサバン後 1548.1 であり, エドキサバン投与による抗凝固効果が得られている. (文献 12 より引用)

に比し, $PL_{24}\text{-AUC}_{10}$ 値が有意に上昇することを確認した.

IV. PCI 後周術期における T-TAS による出血性合併症の評価

T-TAS 値の 1 つである $PL_{24}\text{-AUC}_{10}$ 値と PCI 後の周術期出血性合併症の関連について検討を行った¹⁴⁾. 2013 年 8 月から 2015 年 12 月までに熊本大学病院にて待機 PCI を行った入院患者連続 280 例のうち, 除外症例を除いた 267 例を解析した. 抗血小板薬 2 剤 (アスピリン + クロピドグレルまたはプラスグレル) 内服下において, カテーテル手技時に採血

を行い $PL_{24}\text{-AUC}_{10}$ 値を測定し, 入院中の PCI 手技における周術期出血性合併症を評価したところ, 267 例中 29 例に周術期出血性合併症を認めた (後腹膜血腫 4 例, $Hb2g/dL$ 以上の低下を伴った血腫 4 例, 動静脈瘻 1 例, 仮性動脈瘤 1 例, 再出血 + 小血腫 19 例). 周術期血管合併症を発症した群では有意に $PL_{24}\text{-AUC}_{10}$ 値が低値を示した. 多変量解析では, $BMI < 18 \text{ kg/m}^2$, 末梢動脈疾患の合併, 血小板数低値, $PL_{24}\text{-AUC}_{10}$ 低値群が周術期出血性合併症に影響する因子であった. また, 鼠径穿刺を行った 150 例の解析では, 21 例に周

術期出血性合併症を認めた（後腹膜血腫 4 例、Hb2g/dL 以上の低下を伴った血腫 4 例、再出血＋小血腫 13 例）。全体解析と同様に周術期出血性合併症を発症した群では有意に $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$ 値が低値を示した。多変量解析では、 $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$ 低値群（ $PL_{24}\text{-}AUC_{10} < 96.9$ [中央値]）のみが周術期出血性合併症に影響する因子であった。以上より、T-TAS により測定された $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$ 値は、抗血小板薬 2 剤併用下での待機 PCI 後の周術期出血性合併症の予測に有用な可能性が示された。

V. 高周波カテーテルアブレーションを施行する心房細動例に対する T-TAS 値の変動

CREDO-Kyoto Registry Cohort-2 によると、冠動脈疾患に心房細動を合併する率は約 8.3% 程度である¹⁵⁾。心房細動に対する抗凝固療法として、DOACs は血栓塞栓症予防目的で確立された治療法となった。しかし、DOAC の安全性と有効性

を適切にモニタリングする手法は確立されていない。以上のような観点から、心房細動患者におけるカテーテルアブレーション（CA）周術期の DOACs 投与時の T-TAS 値の変動、および出血性イベント発症の予測因子としての T-TAS の有用性について検討した¹⁶⁾。当院で心房細動に対する CA が施行された 128 症例からワルファリン服用群（30 例）と DOAC 服用群（98 例）の 2 群に分けて検討した。周術期の服薬パターンは、ワルファリン群が CA 4 日前より休薬し CA 6 時間前までヘパリンブリッジを施行、CA 翌日に服用再開とし、DOAC 群は CA 前日より休薬、CA 翌日から服薬再開とした。サンプリングポイントは CA 当日（drug-free point）、服薬再開 3 日目と 30 日目とし、これらの血栓形成能を T-TAS を用いて評価した。CA 当日において、混合白色血栓形成能を評価する $AR_{10}\text{-}AUC_{30}$ 値と血小板血栓形成能を評価する $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$ 値は、ワルファリン群、DOAC 群ともに同等であった。また、 $AR_{10}\text{-}AUC_{30}$ 値は両群とも CA 時より 3 日目、30 日目で同程度に低下した（Fig. 3）。一方、 $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$ は両群ともにどのポイントでも有意差は認めなかった。周術期出血性合併症を発症した群では有意にアブレーション当日、術後 3 日目の $AR_{10}\text{-}AUC_{30}$ 値、 $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$ 値が低値を示した。多変量解析では、CA 当日の $AR_{10}\text{-}AUC_{30}$ 値が周術期出血性イベントの有意な予測因子となった。以上より、T-TAS によって測定された $AR_{10}\text{-}AUC_{30}$ 値は、心房細動患者におけるカテーテルアブレーション周術期の出血イベントを予測するのに有用な因子であり、当測定値を活用することで、モニタリング手段が確立できていなかった DOACs 投与例においても、安全性と有効性の新しい指標となり得る可能性が示唆された。

VI. T-TAS による各抗凝固薬投与時の血栓形成過程の評価

心房細動に対する抗凝固療法において、直接経口抗凝固薬はワルファリン製剤にくらべて脳出血の発症率や血腫量が少ないことが明らかとなっている¹⁷⁾。

Fig. 2 冠動脈疾患が疑われた症例における (a) 血小板凝集能 (P2Y12 reaction unit: PRU) と (b) T-TAS パラメータ ($PL_{24}\text{-}AUC_{10}$) の変動。（文献 13 より引用）

Fig. 3 高周波カテーテルアブレーション当日（CA）、3 日、1 ヶ月における T-TAS パラメータの変動 [(a) (c) $AR_{10}\text{-}AUC_{30}$, (b) (d) $PL_{24}\text{-}AUC_{10}$].（文献 16 より引用）

以上のような背景より、ワルファリン製剤や直接経口抗凝固薬を内服している心房細動例でカテーテルアブレーションを施行した120症例に対し、T-TASに内蔵されているチップ内観察用の顕微鏡にて血栓形成過程を定量評価した¹⁸⁾。抗凝固薬の内訳は、ワルファリン29例、ダビガトラン19例、リバーロキサバン47例、アピキサバン25例であった。T-TASでの測定の結果、内服前と比較し、内服1ヵ月後のAR₁₀-AUC₃₀値はすべての群で同程度に低下しており、同等の抗凝固作用を発揮していることが明らかとなった。しかし、血栓形成の過程をマイクロスコプで観察するとワルファリンにくらべてリバーロキサバンおよびアピキサバン投与群では、測定早期のT-TASのAR-チップ内壁に付着する血栓厚が有意に増大していることが判明した。以上より、各抗凝固薬の最終的な抗凝固作用は同程度であっても、各薬剤によって血栓形成過程が異なり、それがあつた種の直接経口抗凝固薬の脳出血の抑制機序に関与している可能性が示唆された。

VII. 今後の展望

心房細動を合併している冠動脈疾患患者にPCIを施行する場合、植え込み直後からDAPTと抗凝固療法の3剤併用療法が必要になる。欧州心臓病学会(ESC)から、急性冠症候群やPCI施行を伴う心房細動例における抗血栓療法の指針が公表されている¹⁹⁾。この指針では、上記患者を、①Stroke risk (CHA₂DS₂-VAScスコア)、②Bleeding risk (HAS-BLEDスコア)、③Clinical setting (急性冠症候群か、安定冠動脈疾患か)、④Antithrombotic therapy (抗血栓療法の種類と期間)の4項目で層別化して治療指針が示されており、多少複雑な内容となっているが、抗血栓療法の方針としては、3剤の抗血栓療法は、可能な限り抗血小板剤単剤+抗凝固療法に減量し、12ヵ月以降は、抗凝固薬単剤に減量することが推奨されている。

上記ステートメントを支持する試験がWOEST試験²⁰⁾である。当試験では、心房細動や機械弁を留置されている患者に冠動脈ステント留置後、アスピリン+クロピドグレル+抗凝固療法(ワルファリン)3剤群、クロピドグレル+抗凝固療法(ワルファリン)2剤群に割り振り、安全性と有効性を比較検討している。1年後の出血性イベントは、3剤群44.4%、2剤群19.4%、心血管イベントは3剤群17.6%、2剤群11.1%と、いずれの評価項目も2剤群のほうが良好であった。WOEST試験は、抗凝固療法としてワルファリンが使用されていたが、最近、心房細動合併PCI施行例に対し、抗凝固療法としてリバーロキサバンを用いたPIONEER AF-PCI研究²¹⁾、ダビガトランを用いたRE-DUAL PCI研究²²⁾が報告されている。いずれもDOACを用いた抗血栓療法の有効性、安全性が示唆される結果となっているが、抗血小板+抗凝固療法施行例の抗血栓効果をモニタリングするツールはなく、今後検討すべき課題と考えられる。

VIII. おわりに

以上、各循環器疾患における抗血栓療法における有効性、

安全性に対して、新規の血栓形成能評価システムであるT-TASの有用性を検討した。今後更なる基礎および臨床研究を遂行し、当研究領域におけるT-TAS測定のエビデンスの構築を目指したい。

Conflicts of interest

Dr. Kaikita has received grants from Bayer Yakuhin, Ltd., Daiichi-Sankyo Co., Ltd., Novartis Pharma AG., and SBI Pharma K.K.; and honoraria from Bayer Yakuhin, Ltd., and Daiichi-Sankyo Co., Ltd.

Dr. Tsujita has received honoraria from Amgen, Astellas BioPharma K.K., Bayer Yakuhin, Ltd., Daiichi-Sankyo Co., Ltd., MSD K.K., and Sanofi K.K.; and has received grants from AstraZeneca K.K., Astellas Pharma Inc., Bayer Yakuhin, Ltd., Boehringer Ingelheim Japan, Boston Scientific Japan K.K., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Daiichi-Sankyo Co., Ltd., Eisai Co., Ltd., Kowa Pharmaceutical Co. Ltd., Mitsubishi Tanabe Pharma, MSD K.K., Pfizer Japan Inc., Sanofi K.K., Shionogi & Co., Ltd., and Takeda Pharmaceutical Co., Ltd.

文 献

- 1) Yasue H, Ogawa H, Tanaka H, et al: Effects of aspirin and ticagrelor on cardiovascular events after acute myocardial infarction. Japanese Antiplatelets Myocardial Infarction Study (JAMIS) Investigators. *Am J Cardiol* 1999; **83**: 1308-1313
- 2) Gershutz GP, Bhatt DL: Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events study: The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events (CURE) study: to what extent should the results be generalizable? *Am Heart J* 2003; **145**: 595-601
- 3) Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al; TRITON-TIMI 38 Investigators: Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007; **357**: 2001-2015
- 4) Saito S, Isshiki T, Kimura T, et al: Efficacy and safety of adjusted-dose prasugrel compared with clopidogrel in Japanese patients with acute coronary syndrome: the PRASFIT-ACS study. *Circ J* 2014; **78**: 1684-1692
- 5) Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al: Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009; **361**: 1139-1151
- 6) Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, et al; ARISTOTLE Committees and Investigators: Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011; **365**: 981-992
- 7) Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al: Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011; **365**: 883-891
- 8) Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E, et al; ENGAGE AF-TIMI 48 Investigators: Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2013; **369**: 2093-2104
- 9) Ono T, Kaikita K, Hokimoto S, et al: Determination of cut-off levels for on-clopidogrel platelet aggregation based on functional CYP2C19 gene variants in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Thromb Res* 2011; **128**: e130-e136
- 10) Kaikita K, Ono T, Iwashita S, et al: Impact of CYP2C19 polymorphism on platelet function tests and coagulation and inflammatory biomarkers in patients undergoing percutaneous coronary interven-

- tion. *J Atheroscler Thromb* 2014; **21**: 64–76
- 11) Hosokawa K, Ohnishi T, Kondo T, et al: A novel automated microchip flow-chamber system to quantitatively evaluate thrombus formation and antithrombotic agents under blood flow conditions. *J Thromb Haemost* 2011; **9**: 2029–2037
- 12) Sueta D, Kaikita K, Okamoto N, et al: A novel quantitative assessment of whole blood thrombogenicity in patients treated with a non-vitamin K oral anticoagulant. *Int J Cardiol* 2015; **197**: 98–100
- 13) Arima Y, Kaikita K, Ishii M, et al: Assessment of platelet-derived thrombogenicity with the total thrombus-formation analysis system in coronary artery disease patients receiving antiplatelet therapy. *J Thromb Haemost* 2016; **14**: 850–859
- 14) Oimatsu Y, Kaikita K, Ishii M, et al: Total thrombus-formation analysis system predicts periprocedural bleeding events in patients with coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention. *J Am Heart Assoc* 2017; **6**: e005263
- 15) Goto K, Nakai K, Shizuta S, et al; CREDO-Kyoto Registry Cohort-2 Investigators: Anticoagulant and antiplatelet therapy in patients with atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2014; **114**: 70–78
- 16) Ito M, Kaikita K, Sueta D, et al: Total thrombus-formation analysis system (T-TAS) can predict periprocedural bleeding events in patients undergoing catheter ablation for atrial fibrillation. *J Am Heart Assoc* 2016; **5**: e002744
- 17) Hagii J, Tomita H, Metoki N, et al: Characteristics of intracerebral hemorrhage during rivaroxaban treatment: comparison with those during warfarin. *Stroke* 2014; **45**: 2805–2807
- 18) Ishii M, Kaikita K, Ito M, et al: Direct oral anticoagulants form thrombus different from warfarin in a microchip flow chamber system. *Sci Rep* 2017; **7**: 7399
- 19) Lip GY, Windecker S, Huber K, et al: Management of antithrombotic therapy in atrial fibrillation patients presenting with acute coronary syndrome and/or undergoing percutaneous coronary or valve interventions: a joint consensus document of the European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis, European Heart Rhythm Association (EHRA), European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) and European Association of Acute Cardiac Care (ACCA) endorsed by the Heart Rhythm Society (HRS) and Asia-Pacific Heart Rhythm Society (APHRS). *Eur Heart J* 2014; **35**: 3155–3579
- 20) Dewilde WJ, Oirbans T, Verheugt FW, et al; WOEST study investigators: Use of clopidogrel with or without aspirin in patients taking oral anticoagulant therapy and undergoing percutaneous coronary intervention: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet* 2013; **381**: 1107–1115
- 21) Gibson CM, Mehran R, Bode C, et al: Prevention of bleeding in patients with atrial fibrillation undergoing PCI. *N Engl J Med* 2016; **375**: 2423–2434
- 22) Cannon CP, Bhatt DL, Oldgren J, et al; RE-DUAL PCI Steering Committee and Investigators: Dual antithrombotic therapy with dabigatran after PCI in atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2017; **377**: 1513–1524