原

著

メシル酸ジヒドロエルゴトキシンの抗血小板作用

水野 昭* 浜野 修一** 磯部 淳一***

Inhibitory effect of dihydroergotoxine mesilate
on platelet aggregation

Akira MIZUNO*, Shuichi HAMANO**, Jun-ichi ISOBE***

Key words: dihydroergotoxine mesilate, epinephrine-induced aggregation
epinephrine-potentiated ADP-induced aggregation, [^3H]-
dihydroergocryptine, platelet α_2 -receptor

We tried to clarify the inhibitory effect of dihydroergotoxine mesilate (DHE) on epinephrine-induced platelet aggregation (EA) using 8 normal subjects, 40 patients with thrombotic diseases (33 cases of cerebrovascular attack, 3 cases of myocardial infarction, 2 cases of angina pectoris and 2 cases of arteriosclerosis obliterans) and rabbits.

The results were as follows:

- 1) DHE inhibited EA especially more than ADP-, collagen-, or arachidonate-induced aggregation, and its IC_{50} was 7.5×10^{-8} M in human platelets.
- 2) In rabbit platelets, DHE ranging from 10^{-8} M to 10^{-4} M inhibited epinephrine-potentiated ADP-induced aggregation (EPAA) in a dose dependent manner.
- 3) The maximal inhibitions of EPAA in rabbits were reached 10 minutes after oral administration of DHE 0.5 mg/kg, or 3 minutes after one shot intravenous injection of DHE 0.1 mg/kg.
- 4) Infusing the adequate of DHE (0.05 mg/kg/min for 3 minutes), decreased EPAA was remained through several follow up infusion of epinephrine (0.01 mg/kg/min) in rabbits.
- 5) DHE ranging from 10^{-8} M- 10^{-4} M inhibited [^3H]-dihydroergocryptine-platelet reaction in a dose dependent manner. Yohimbin blocked the reaction in the same way as DHE.

* 徳島大学医学部附属病院検査部〔〒770 徳島市蔵本町 2〕, Department of Laboratory Medicine, Tokushima University Hospital, Tokushima, Japan.

** 徳島大学歯学部附属病院検査部, Department of Laboratory Medicine, Tokushima University School of Dentistry, Tokushima, Japan.

*** 徳島大学医学部臨床検査医学, Department of Laboratory Medicine, Tokushima University School of Medicine, Tokushima, Japan.

- 6) Significant relationship between EA and platelet aggregates ratio was found in patients with thrombotic diseases.
- 7) High values of EA in 7 patients with thrombotic diseases treated by aspirin or ticlopidine were reduced significantly by the addition of DHE (3-6mg/day) for 4 weeks.

These results suggest that DHE inhibits EA especially through blocking platelet α_2 -receptor and shows the effect on high aggregability induced by epinephrine in a combined administration with other antiplatelet drugs.

はじめに

麦角アルカロイドの一種に血小板凝集阻止作用のあること¹⁾, およびその作用は血小板 α_2 -レセプター阻害によること^{2,3)}が知られている。

他方, 近年の抗血小板療法の普及にともない aspirin, dipyridamole, ticlopidine 等の薬物が用いられているが, 日常診療に際して ADP および collagen 凝集能の抑制はみられるものの, epinephrine 凝集能の依然高い例が少なくない。そこで, 麦角アルカロイドであるメシル酸ジヒドロエイトキシン (以下 DHE) の臨床応用を目指して, epinephrine 凝集に対する in vitro ならびに in vivo での検討を行った。

I. 方 法

測定対象は正常者 8 名, 血栓性疾患 40 例 (慢性期の虚血性脳血管障害 33 例, 心筋梗塞 3 例, 狭心症および末梢動脈閉塞症各 2 例), ならびに家兎 12 匹である。in vitro 凝集能測定は比濁法にて行った。凝集剤は ADP (2 μ M), collagen (2.5 μ g/ml), epinephrine (2 μ g/ml), ara-

chidonate (2 mM) であり, ヒト, 家兎ともに同一濃度とした。血小板浮遊血漿 (PRP) 中の血小板数はヒトで 20~30 万/ μ l, 家兎では 30~40 万/ μ l に調整, 凝集能は最大凝集率 (3 分値) で表現した。In vivo 凝集能は Wu & Hoak 法⁴⁾ に準じて測定した。被検薬物の DHE はメシル酸ジヒドロエルゴコリン ($C_{13}H_{41}N_5O_5 \cdot CH_4O_3S$, MW 659.80), メシル酸ジヒドロエルゴクリスチン ($C_{35}H_{41}N_5O_5 \cdot CH_4O_4S$, MW 707.84), メシル酸ジヒドロ α -および β -エルゴクリプチン ($C_{32}H_{43}N_5O_5 \cdot CH_4O_3S$, MW 673.82) の 3 種等量の水素体であり (図 1), 蒸留水に溶解して使用した。家兎による ex vivo 実験では DHE 0.5 mg/kg, 1 回経口投与, あるいは 0.1 mg/kg, 1 回静注投与し, おおの 60 分後まで epinephrine (1 μ g/ml) 添加 ADP 凝集能 (epinephrine-potentiated ADP-induced aggregation, 以下 EPAA) をみた。 [3 H] 標識ジヒドロエルゴクリプチン (以下 [3 H] DHE) の血小板レセプターへの結合に対する DHE の阻止実験は McMillan 法⁵⁾ に準じて行った。

	分 子 式	分子量
メシル酸ジヒドロエルゴコリン R=C ₃ H ₇	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₅ ·CH ₄ O ₃ S	659.80
メシル酸ジヒドロエルゴクリスチン R=C ₇ H ₇	C ₃₅ H ₄₁ N ₅ O ₅ ·CH ₄ O ₃ S	707.84
メシル酸ジヒドロ- α -及び- β -エルゴクリプチン R=C ₄ H ₉	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₅ ·CH ₄ O ₃ S	673.82

Fig. 1 メシル酸ジヒドロエルゴトキシン

Fig. 2 Inhibitory effects of DHE on human platelet aggregation in vitro (n=4)

II. 結 果

1. In vitro の検討

正常者および患者のPRPへの各濃度DHE添加(f.c.)による凝集抑制率(M ± SD)は10⁻⁴ MでなおADP 35 ± 3%, Collagen 22 ± 3%, arachidonate 44 ± 6%にとどまったが, epinephrineでは10⁻⁸ Mで35 ± 19%, 10⁻⁷ Mで52 ± 21%, 10⁻⁴ Mでは92 ± 7%, IC₅₀は7.5 × 10⁻⁸ Mであった(図2)。また, 家兎PRPに対しDHE 10⁻⁸ M ~ 10⁻⁴ M添加では, DHEの濃度依存性にEPAAの抑制が認められた(図3)。

2. Ex vivo の検討

経口投与では, EPAAは前値に比し10分後で最大阻止(80 ± 3%, n=4)を示し, 60分後でもなお有意の抑制を認めた(図4-a)。静注投与では3分後で最大阻止(56 ± 21%, n=4)を, 20分後でもなお作用は持続した(図4-b), さらに, DHE (0.05 mg/kg/分) および epinephrine (0.01 mg/kg/分) を, salineをはさんで各3分間ずつ交互にinfusionすると, EPAAは図5のごとく変動した。すなわち, EPAAは最初に十分量のDHEによって阻止されると, 短時間では以後の薬物注入に対しても変動は軽微であった。

Fig. 3 Dose-response curve for the inhibition of epinephrine-potentiated, ADP-induced platelet aggregation by DHE in rabbit PRP

a) Time course of epinephrine-potentiated, ADP-induced platelet aggregation ex vivo after ingestion of 0.5 mg DHE/kg rabbit

b) Time course of epinephrine-potentiated, ADP-induced platelet aggregation ex vivo after intravenous injection of 0.05 mg DHE/kg rabbit

Fig. 4

Fig. 5 Changes of epinephrine-potentiated, ADP-induced platelet aggregation in the course of DHE, saline or epinephrine infusion in rabbits

Fig. 6 Inhibition of $[^3\text{H}]$ DHE binding to platelets by dihydroergotoxine

3. 血小板 α_2 -レセプターへの作用

$[^3\text{H}]$ DHE・血小板結合に対し, DHE は $10^{-8}\text{M} \sim 10^{-4}\text{M}$ の間で濃度依存性に阻止した(図6には DHE $10^{-6}\text{M} \sim 10^{-4}\text{M}$ での成績を示す). また, yohimbin も DHE とほぼ同等の阻止作用を示した.

4. 臨床症例での検討

1) 血栓症における epinephrine 凝集能と血小板凝集指数 (PAR) の間には $r = -0.607$ ($n = 15$) の負相関が得られた(図7).

2) 血栓性疾患のうち, aspirin (0.5 g/日) あるいは ticlopidine (300 mg/日) 投与でなお, epinephrine 凝集能の高い7例 (aspirin 投与で collagen 凝集能の, ticlopidine 投与で ADP 凝集能の高値例を各1例ずつ含む) に対し,

Fig. 7 Correlation between epinephrine-induced aggregation (MAR) and platelet aggregate ratio (PAR) in patients with thrombotic diseases

Fig. 8 Inhibitory effects of DHE on platelet aggregations in 7 patients with CVA

DHE 製剤 3～6 mg/日、4 週間連日経口投与の前後における各凝集能の変化は、平均値が ADP 凝集 (31.0 → 22.6 %), collagen 凝集 (80.8 → 66.1 %) に比し、epinephrine 凝集では (76.8 → 48.4 %) と前二者より有意 ($p < 0.05$) に下降した (図 8)。

III. 考 察

以上の成績より、DHE は in vitro, in vivo ともに epinephrine 凝集能を特異的に抑制することが認められた。その作用機序は諸家^{2,3)}の指摘どおり、血小板 α_2 -レセプターの阻止によることが確認された。われわれはさきに、血栓性疾患で epinephrine 凝集能の有意の上昇を認めている^{6,7)}が、これと、PAR⁸⁾、 β -TG⁹⁾あるいは prostaglandin I_2 感受性⁷⁾との間の高い相関性を勘案すれば、抗血小板療法に際して epinephrine 凝集能を抑制することも有意義と考えられる。凝集阻止効果のほぼ確実な aspirin あるいは ticlopidine 投与でなお、epinephrine 凝集能の高い例に対して CHE 製剤を併用することは、その本来の薬理作用 (脳代謝および末梢循環の改善作用) とも合わせて、血栓の発症

ないし再発防止への有効性が示唆される。しかし、この臨床的効果についてはなお、例数を重ねて検討する必要があると思われる。

おわりに

DHE 製剤の血小板 epinephrine 凝集への特異的阻止作用を確認した。本剤と他剤との併用により、抗血小板療法の有用性を高める可能性が示唆されたが、なお臨床的検討を要するものと考えられる。

文 献

- 1) Bygdeman, S. and Johnson, O.: Studies on the effect of adrenergic blocking drugs on catecholamine-induced platelet aggregation and uptake by noradrenaline and 5-hydroxytryptamine. *Acta Physiol. Scand.*, **75**; 129~138, 1969.
- 2) Hoffman, B.B., Lean, A.D., Wood, C.L., Schocken, D.D. and Lefkowitz, R.J.: Alpha-adrenergic receptor subtypes: quantitative assessment by ligand binding. *Life Science*, **24**; 1739~1746, 1979.
- 3) Motulsky, H.J., Shattil, S.J. and Insel, P.A.:

- Characterization of α_2 -adrenergic receptors on human platelets using [3 H] yohimbine. Biol. Biophys. Res. Comm., **96**; 1562~1570, 1980.
- 4) Wu, K.K. and Hoak, J.C.: A new method for quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency, Lancet, **ii**; 924~926, 1974.
 - 5) McMillan, R., Bakich, M. J. and Yelenosky, R.J.: The adrenalin binding site on human platelets. Br. J. Haematol., **41**; 597~604, 1979.
 - 6) 磯部淳一, 中西まみ子, 浜井洋子, 丸伝信江, 楠本昌子, 田原口経貞: 血小板凝集能測定の臨床的意義, 臨床病理, **28**; 799~803, 1980.
 - 7) Isobe, J. and Mizuno, A.: A prospective method for thrombotic diseases using prostaglandin I_2 . Tokushima J. Exp. Med., **29**; 95~101, 1982.
 - 8) 水野 昭, 磯部淳一: 血栓予知法としての Wu and Hoak 法の再評価. 血液と脈管, **15**; 473~478, 1984,

●白血病治療の理論と実際！

白血病の化学療法—基礎と臨床—

編集 滋賀医科大学学長 脇坂行一 専門医28名分担執筆

A 5 判 292頁 図60 表42 定価5,800円(〒300円)

白血病, とくに急性白血病といえば, 輸血以外になすすべもなく手をこまねいて見ているのが実情であった。しかし近年, 白血病の化学療法が進歩し, 白血病の治療についても一縷の光明が顕われてきた。本書は白血病の化学療法の理論と実際に焦点をしばり, 第一線の研究者による熱心な討議をまとめたものである。我国の白血病の治療指針書である。

●内容: [白血病細胞の増殖異常と核酸代謝] 1. Leukemogenesisと白血病細胞のRNA dependent DNA polymerase 活性, 2. 白血病細胞のDNA合成系酵素活性と代謝調節, 3. ヒトリンパ球におけるpyrimidine合成の調節, 4. 急性白血病経過中の芽球動態とDNA合成能, 5. ヒトリンパ性白血病細胞のgenetic transcription, 6. 白血病細胞におけるRNA合成, 7. Radioautographyによる白血病細胞増殖異常の解析, 8. Non-dividing compartmentに属する白血病細胞の意義, [抗白血病剤の作用機序と臨床効果] 1. 抗白血病剤の投与経路による効果の差異とその機序, 2. 白血病細胞におけるcytosine arabinosideとcyclocytidineの作用機序, 3. 抗白血病剤の殺細胞作用に及ぼす濃度因子と作用時間, 4. 急性白血病の寛解導入, 維持ならびに寛解強化療法について, 5. 骨髓内白血病細胞の動態の解析による白血病化学療法, 6. 慢性骨髄性白血病の治療と予後, 7. 白血病治療中の白血病細胞減少曲線について。