原 著

本態性高血圧の血小板凝集能におよぼす Bunazosin の影響

八木 高秀* 小橋 紀之* 香取 瞭*

Effect of bunazosin on platelet aggregation in essential hypertension

Takahide YAGI*, Noriyuki KOBASHI* and
Ryo KATORI*

Key words: bunazosin, platelet aggregation, whole blood
aggregation, A 23187, essential hypertension

The purpose of the present study is to clarify the effect of bunazosin on platelet aggregation in the patients with essential hypertension.

In vitro, the effects of 10^{-3} – 10^{-5} M bunazosin on platelet aggregations induced by ADP, epinephrine and A23187 were studied in untreated patients with essential hypertension. The concentration of 10^{-3} – 10^{-4} M bunazosin inhibited the platelet aggregations.

Before this oral administration of bunazosin study, the patients were treated with other antihypertensive drugs for 10 ± 7 ($M \pm SD$) weeks. Platelet aggregation (Born's method) induced by $4.6 \mu\text{M}$ ADP and $5.0 \mu\text{M}$ epinephrine and whole blood aggregation (Impedance method) induced by $10 \mu\text{M}$ ADP and $5.0 \mu\text{g/ml}$ collagen were measured in 14 patients with essential hypertension before and after administration of 1.5 mg/day or 3.0 mg/day for 6 ± 4 ($M \pm SD$) weeks. Blood pressure and heart rate were measured before and after administration of bunazosin. Platelet aggregation induced by both $4.6 \mu\text{M}$ ADP and $5.0 \mu\text{M}$ epinephrine had a tendency to decrease and whole blood aggregation induced by both $10 \mu\text{M}$ ADP and $5.0 \mu\text{g/ml}$ collagen was significantly decreased ($p < 0.05$) after administration of bunazosin. Heart rate and systolic blood pressure were not significantly changed after administration of bunazosin in the patients treated

* 近畿大学医学部第一内科〔〒589 大阪府大阪狭山市大野東377番地の2〕, The First Department of Internal Medicine, Kinki University School of Medicine, Osaka, Japan. 受付: 1987.3.16. 受理: 1987.8.18.

with other drugs. On the other hand, diastolic blood pressure was significantly decreased ($p < 0.05$) after administration of bunazosin in the same patients.

The present results suggest that the inhibitory effect of bunazosin on platelet aggregation may be not due to the block of α_2 receptor but the inhibition of cytoplasmic calcium increase relating to the platelet activation in essential hypertension.

緒 言

本態性高血圧症において血小板機能亢進が報告されている^{1,2)}。一方、カルシウム拮抗剤³⁾, β -blocker⁴⁾, α -blocker⁵⁾, 利尿剤^{6,7)}などの降圧剤が血小板凝集能を抑制するとの報告もある。これらの機序として血小板細胞内のカルシウムイオン上昇の抑制³⁾, phosphodiesterase 阻害による c-AMP 増加^{5,7)}, α_2 -adrenergic receptor の阻害^{5,8)}, プロスタグランジン代謝を介して^{3,6,9)}などの個々の薬理作用に加えて、本態性高血圧症患者においては降圧による血圧の正常化にともない血小板凝集能が正常化するといわれている⁴⁾。

我々は α_1 -adrenergic blocker である降圧剤 bunazosin が in vitro でウサギ、ヒトの ADP, epinephrine による血小板凝集能を抑制することを認めた。しかし血小板には α_1 -receptor の存在は確認されておらず、bunazosin は α_1 選択性の高い薬剤であるが¹⁰⁾, これは相対的なものであり bunazosin の血小板への作用が α_2 -receptor を介する可能性も否定できない。

本研究では、まず in vitro で epinephrine にくわえ ADP, カルシウムイオノファ A 23187 などの異なる惹起物質による血小板凝集に対する bunazosin の影響を検討し bunazosin の血小板凝集能抑制機序を明らかにすることを試みた。さらに bunazosin 経口投与による本態性高血圧症の血小板凝集能の変動を検討した。

I. 対象ならびに方法

対象は本態性高血圧症 (WHO 1-2 期, 治療期間 10 ± 7 週 $M \pm SD$) 14 例である。血小板凝集能は前腕正中静脈より 3.8 % クエン酸採血 (全血 9 : クエン酸 1) し、東亜社製 AA-100 を用

い Born 法¹¹⁾および CHRONO-LOG 社製 C-550 を用いた全血インピーダンス法¹²⁾の2方法で測定した。凝集惹起物質として Born 法では $4.6 \mu\text{M}$ ADP, $5.0 \mu\text{M}$ epinephrine, 全血インピーダンス法では $10 \mu\text{M}$ ADP, $5.0 \mu\text{g/ml}$ collagen を用いた。in vitro の実験では、未治療高血圧症患者より採血し全血および血小板多血漿に 10^{-6} – 10^{-3} M の bunazosin を前処理した後、凝集惹起物質を加え bunazosin の影響を検討した。bunazosin 経口投与による血小板凝集能の変動の検討は本態性高血圧症患者をあらかじめ他剤にて降圧した後 bunazosin 1.5 mg/day ないし 3.0 mg/day を追加併用投与し、その前後で血小板凝集能、血中 bunazosin 濃度を測定した (bunazosin 併用期 6 ± 4 週, $M \pm SD$)。血中 bunazosin 濃度は高速液体クロマトグラフ (Schoettel Instrument Model FS 970, カラム : Nucleosil Phenyl ϕ 4.6 $\times$ 250 mm) により測定した。なお併用薬剤の内訳はカルシウム拮抗剤 5 例, カリクレイン製剤 5 例, 血管拡張剤 3 例, 利尿剤 2 例, β -blocker 2 例, ACE 阻害剤 2 例である。また、bunazosin 追加投与により、起立性低血圧やめまいなどの血圧の降下によると思われる自覚症状の出現した症例は中止除外した。

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で表し有意差検定は paired t-test を用い $p < 0.05$ をもって有意とした。

II. 成 績

1. in vitro での bunazosin の血小板凝集能、全血凝集能におよぼす影響

未治療本態性高血圧症においてもウサギ、正常ヒトと同様に bunazosin は in vitro において $5.0 \mu\text{M}$ epinephrine, $4.6 \mu\text{M}$ ADP, $10 \mu\text{M}$

Fig. 1 Effect of bunazosin on platelet aggregation induced by 5.0 μ M epinephrine and 4.6 μ M ADP in an essential hypertensive

A 23187 による血小板凝集を抑制した (図 1, 図 2). また 10 μ M ADP による全血凝集に対しても同様に bunazosin は抑制を示した (図 3).

2. bunazosin 経口投与による血圧, 心拍数の変動

bunazosin 投薬前他剤による降圧治療により収縮期血圧は 166 ± 13 mmHg より 149 ± 11 mmHg へ有意に低下したが ($p < 0.01$), 拡張期血圧は 94 ± 11 mmHg より 89 ± 7 mmHg へと有意の低下を認めなかった. bunazosin 併用投与により収縮期血圧は 147 ± 16 mmHg へと有意の変動を示さなかったが, 拡張期血圧は 83 ± 6 mmHg へと有意に低下した ($p < 0.05$). 心拍数は観察期 75 ± 18 beats/min, bunazosin 併用前 72 ± 14 beats/min, bunazosin 併用後 71 ± 16 beats/min と全期間をとおして有意の変動を認めなかった (図 4).

3. bunazosin 経口投与前後の血小板凝集能, 全血凝集能の変動

Born 法による血小板凝集能は惹起物質として 4.6 μ M ADP を用いた時, bunazosin 投薬前 63.7 ± 16.4 %より投薬後 56.4 ± 19.6 %へ, 5.0

Fig. 2 Effect of bunazosin on platelet aggregation induced by 10 μ M A23187 in an essential hypertensive

Fig. 3 Effect of bunazosin on whole blood aggregation induced by 10 μ M ADP in an essential hypertensive

μ M epinephrine では投薬前 54.2 ± 27.3 %より投薬後 40.9 ± 31.5 %へと平均値では減少傾向を示した (図 5). 一方, 全血インピーダンス法による検討では, 図 6 に示すように 10 μ M ADP 凝集能は bunazosin 投薬前 $10.7 \pm 5.1 \Omega$ より投薬後 $7.5 \pm 4.6 \Omega$ へと有意の減少を認め ($p < 0.05$), 5.0 μ g/ml collagen においても投薬前 $25.8 \pm 10.2 \Omega$ より投薬後 $19.7 \pm 6.3 \Omega$ へと有意の低下を認めた ($p < 0.05$). また, これら血小板凝集能, 全血凝集能の bunazosin 投薬前後の変動率と血中 bunazosin 濃度の間の相関関係をみると, Born 法では明らかな相関関係を認めないが, 全血インピーダンス法では負の相関傾向を認めた ($n=14$, $r = -0.466$).

III. 考 察

in vitro でラット, 正常ヒトと同様に本態性

Fig. 4 Systolic and diastolic blood pressure and heart rate before and after oral administration of bunazosin in essential hypertensives

Fig. 5 Platelet aggregation induced by 4.6 μM ADP and 5.0 μM epinephrine before and after oral administration of bunazosin in essential hypertensives

高血圧症において epinephrine にくわえ ADP, A23187 による血小板凝集能を bunazosin は濃度依存性に抑制した. epinephrine は α_2 -adren-
ergic receptor を介して血小板凝集を惹起する
が, ADP, A23187 は, これとは独立した機序
で血小板を凝集させる¹³⁾. Phentlamine や Yo-
hinbine が in vitro で 10^{-5} - 10^{-6} M という低濃
度で特異的に epinephrine 血小板凝集を抑制す
るのに対して⁸⁾ bunazosin が 10^{-3} - 10^{-4} M とい
った比較的高濃度を要することや, epinephr-
ine, ADP, A23187 という機序の異なる凝集惹
起物質による血小板凝集を抑制することなどよ
り, bunazosin の血小板凝集抑制の作用機序は
Phentlamine や Yohimbine とは異なり α_2 -adren-
ergic receptor を介したものではないと思われ
た. epinephrine や ADP による刺激は second
messenger を介して, また A23187 は直接的に
血小板細胞内カルシウムイオン上昇をきたし,
これが変形, 凝集, 放出といった一連の血小板
反応を惹起すると考えられている¹³⁾. それゆ
え, bunazosin の血小板への作用は環状ヌクレ
オチドやプロスタグランジンといった second

Fig. 6 Whole blood aggregation induced by 10 μM ADP and 5 μg/ml collagen before and after oral administration of bunazosin in essential hypertensives

Fig. 7 Relationship between % change of platelet aggregation induced by 5.0 μM epinephrine and plasma bunazosin concentration (left panel) and between % change of whole blood aggregation induced by 5.0 μg/ml collagen and plasma bunazosin concentration (right panel) after oral administration of bunazosin in essential hypertensives

messenger に対してか、もしくは最終的な細胞内カルシウムイオンの上昇を bunazosin が抑制している可能性が推測された。われわれは平均血小板容積や血小板数の検討より脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) と本態性高血圧症が病期進展に基づく血小板動態が類似していることを報告したが¹⁴⁾、酒井は bunazosin による phosphodiesterase (PDE) 阻害作用を SHR と WKY の心肺肝で検討しており、それによると SHR では bunazosin は c-AMP PDE 活性阻害作用にくわえ WKY より強く c-GMP PDE 活性を阻害することを認めている (酒井庸禎, E-64 の phosphodiesterase 阻害作用, 未発表)。血小板における bunazosin の PDE への作用は明らかではないが、血小板では、これら環状ヌクレオチドが細胞内カルシウム代謝と関連して活性化を抑制することより¹⁵⁾、bunazosin の血小板凝集能抑制作用の機序に bunazosin の PDE 活性阻害作用が関与している可能性がある。一方、bunazosin の経口投与による検討では本態性高血圧症へ bunazosin を追加併用することにより血小板凝集能は抑制傾向を示し全血凝集能は有意の抑制を認めた。全血インピーダンス法による凝集能測定は主に全血中の血小板凝集を反映するとされているが¹²⁾、赤血球

などでは A23187 による形態変化がカルシウム拮抗剤で抑制されるとの報告や¹⁶⁾、aspirin による血小板凝集能の抑制が白血球や赤血球により増強されるとの報告があり¹⁷⁾、これら二法で成績が解離した原因として白血球や赤血球などの他の血球成分の関与も否定できない。また、bunazosin 併用投与により収縮期血圧、心拍数は有意の変動をしなかったが、拡張期血圧は有意に低下し bunazosin の血小板凝集能抑制作用における降圧効果の影響を完全には除くことができなかった。さらに、bunazosin と併用した降圧利尿剤の PDE 阻害作用の報告や⁷⁾、ラット腎で Verapamil が α_2 -adrenergic receptor と α_1 遮断剤 (Prazosin) との結合を阻害するとの報告などもあり¹⁸⁾、bunazosin 投与後の血小板凝集能抑制が他剤との相互作用の可能性もある。

以上より bunazosin は in vitro において血小板凝集能、全血凝集能を抑制し、これは α_2 -adrenergic receptor を介したものではないと考えられた。また bunazosin 経口投与による全血凝集能抑制作用には bunazosin の降圧作用や他剤との相互作用の関与の可能性もあり、生体内での bunazosin の血小板への作用機序は明確ではないが、臨床上新態性高血圧症への bunazo-

sin の投与は降圧作用にくわえ、これら疾患の亢進した血小板機能の治療面よりみても有用であると思われた。

文 献

- 1) Cocchei, S. and Fiorentini, P.: Platelet adhesiveness and aggregation in hypertensive patients. *Acta Med Scand, Suppl.*, **525**; 273~275, 1971.
- 2) 小橋紀之, 岡林孝直, 浜 純吉, 八木高秀, 香取 瞭, 森嶋祥之, 大場康寛: 本態性高血圧における Taurine と血小板凝集能の関係について. 含硫アミノ酸, **6**; 89~95, 1983.
- 3) Jawahar, L.M.: Influence of calcium-channel blockers on platelet and arachidonic acid metabolism. *Am. J. Cardiol*, **55**; 158B~164B, 1985.
- 4) Vlachakis, N.D. and Aledort, L.: Hypertension and propranolol therapy: Effect on blood pressure, plasma catecholamines and platelet aggregation. *Am. J. Cardiol*, **45**; 321~325, 1980.
- 5) Ikeda, T., Nonaka, Y., Goto, A. and Ishii, M.: Effects of prazosin on platelet aggregation and plasma beta-thromboglobulin in essential hypertension. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **37**; 601~605, 1985.
- 6) Srivastava, K.C. and Awasthi, K.K.: Effect of furosemide on the in vitro prostaglandin biosynthesis in human platelets. *Prostaglandins Leukotriens Med*, **9**; 211~221, 1982.
- 7) Gadd, R.E.A., Clayman, S. and H'ebert, D.: Inhibition of cyclic 3', 5'-nucleotide Phosphodiesterase activity by diuretics and other agents. *Experientia*, **29**; 1217~1219, 1973.
- 8) Chung, Y.H., Daniel, B.K. and Perry, V.H.: The effect of alpha adrenergic agents on human platelet aggregation. *J. Pharmacol Ther*, **208**; 366~370, 1979.
- 9) Fleishman, A.I., Comberg, H.U. and Hames, C.G.: Platelet function and hypertension in humans. *J. Med. Soc. New Jersey*, **76**; 17~20, 1979.
- 10) Hata, F., Kondo, E., Kagawa. and Ishida, H.: Characteristics of [³H] E-643-binding to alpha adrenoceptors. *Japan J. Pharmacol*, **32**; 181~187, 1982.
- 11) Born, G.V.R.: Quantitative investigations into the aggregation of blood platelet. *J. Physiol.*, **162**; 67~69, 1962.
- 12) Cardinal, D.C. and Flower, R.J.: The electronic aggregometer. *J. Pharm. Meth.*, **3**; 135~158, 1980.
- 13) White, J.G., Rao, G.H.R. and Gerrad, J.M.: Effect of the ionophore A23187 on blood platelets. I. influence on aggregation and secretion. *Am. J. Pathol.*, **77**; 135~150, 1974.
- 14) 八木高秀, 小橋紀之, 浜 純吉, 岡林孝直, 香取 瞭, 太田善夫, 伊藤浩行: 本態性高血圧症および SHRSP における病期進展と平均血小板容積, 血小板数の変動. 近畿大学医誌, **10**; 17~24, 1985.
- 15) Michel, H., Caen, J.P., Born, G.V.R., Miller, R., d'Auriac, G.A. and Meyer, P.: Relation between the inhibition of aggregation and the concentration of c-AMP in human and rat platelets. *Br. J. Haematol*, **33**; 27~28, 1976.
- 16) Borgers, M., Clerck, F.D., Reempts, J. V., Xhonneux, R. and Nueten, J.V.: Selective blockade of cellular Ca²⁺-overload by flunarizine. *Inter Angio* **3**; 25~31, 1984.
- 17) De La Cruz, J.P., Camara, S., Bellido, I., Carrasco, T., Sanchez De La Cuesta, F.: Platelet aggregation in human whole blood after chronic administration of aspirin. *Throm Res*, **46**; 133~140, 1987.
- 18) Harvey, J.M., Marshall, D.S., Richard, J.H. and Paul, A.I.: Interaction of Verapamil and other calcium channel blockers α_1 - and α_2 -adrenergic receptors. *Cir. Res*, **52**; 226~231, 1983.