◆原 著◆

慢性末梢動脈閉塞症における抗血小板薬 satigrel (E5510) の血小板および血液凝固線溶系に及ぼす影響

川 田 忠 典, 保 尊 正 幸, 小 山 照 幸
西 村 晃 一, 菊 池 慶 太, 宮 本 成 基
山 手 昇

Effect of Satigrel (E5510), a Novel Antiplatelet Agent, on Platelet Function and the Coagulation-Fibrinolytic System in Peripheral Arterial Occlusive Disease

Tadanori KAWADA, Masayuki HOSON, Teruyuki KOYAMA,
Koichi NISHIMURA, Keita KIKUCHI, Shigeki MIYAMOTO
and Noboru YAMATE

Key words : Arteriosclerosis obliterans (ASO), Thromboangiitis obliterans (TAO),
Platelet, Coagulation, Satigrel (E5510)

A novel antiplatelet agent, satigrel (E5510), was administered to 9 patients with arteriosclerosis obliterans (ASO) and 6 patients with thromboangiitis obliterans (TAO) at a dosage of 4 mg/day for 2 weeks followed by 8 mg/day for another 2 weeks and its effect on platelet function and coagulation-fibrinolytic system as well as hemodynamics were evaluated. Satigrel significantly inhibited platelet aggregation induced by collagen ($p < 0.001$), lowered plasma thromboxane B_2 (TXB₂) ($p < 0.01$) and 11-dehydro TXB₂ ($p < 0.1$), and increased plasma antithrombin III (AT-III) ($p < 0.001$). However, there were no significant change in plasma levels of β -thromboglobulin (β -TG), platelet factor 4 (PF4), 6-keto prostaglandin $F_{1\alpha}$ (6-KF), thrombin-antithrombin III complex (TAT), fibrinopeptide A (FPA) and plasmin- α_2 plasmin inhibitor complex (PIC). Plasma D-Dimer and fibrinopeptide $B\beta_{15-42}$ (FPB β_{15-42}) levels were higher in ASO patients than in TAO patients before treatment and tended to increase in both groups following the administration of satigrel. Furthermore, satigrel improved tissue blood flow in the affected feet ($p < 0.05$) even though clinical improvement and increase in ankle pressure index were not significant. These results suggest that satigrel is beneficial to a failed circulation in these arterial occlusive diseases.

はじめに

慢性閉塞性動脈疾患における動脈閉塞の進展には、動脈硬化病変または炎症病変にともなった血管内皮細胞障害、内皮下組織露出面への血小板の粘着・凝集をひきがねとした血栓形成などが重要な役割を演じている¹⁾²⁾。satigrel (E5510) は血小板内の Ca^{2+} 濃度を低下させることにより低濃度から血小板の凝集・粘着・放出反応を抑制する^{3)~6)}。本剤は種々の動物血栓モデルでその抗血栓作用が確認され、血小板増多症患者に経口投与した際には血小板凝集抑制効果とともに血中 thromboxane A_2 (TXA_2) の産生をも減少させる効果がみられた⁷⁾⁸⁾。一過性脳虚血発作の再発作低減効果⁹⁾、ヘパリン非投与下血液透析の可能性についても報告されている¹⁰⁾。

血小板と凝固系との間には種々の相互作用が認められるが、今回 satigrel 投与の血小板凝集抑制効果と同時に凝固系へ及ぼす効果について慢性閉塞性動脈疾患患者を対象として検討した。

対象および方法

対象は治験参加に同意が得られた閉塞性動脈硬化症 (arteriosclerosis obliterans: ASO) 9 例、閉塞性血栓性血管炎 (thromboangiitis obliterans: TAO) 6 例の計 15 例で、男性 14 例、女性 1 例、年齢は 40 歳から 76 歳で平均 61.3 歳であった。臨床症状は Fontaine 分類 II 度 13 例、IV 度 2 例であった (Table 1)。

血小板機能、凝固機能に関与すると考えられる薬剤がすでに投与されていた患者には、1 週

間の wash-out 期間を設けた後、satigrel を最初の 2 週間は 1 日朝・夕 2 回 2 mg ずつ計 4 mg を経口投与し、引き続き次の 2 週間は 1 回 4 mg、1 日投与量 8 mg に増量した。血小板凝集能および凝血学的分子マーカーの測定は投与前、投与 2 週後、4 週後に行った。

血小板凝集能は NKK Platelet Aggregation Tracer Model PAT-4M (二光バイオサイエンス社製) を使用し、O'Brien らの考案した光透過度法にて測定した。凝集惹起物質としては最終濃度 1 および 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるようにコラーゲン (Hormon-Chemie 社製) を付属の緩衝液で希釈して使用した。投与前の血小板最大凝集率に対して投与 2 週後 (4 mg/日投与時) および投与 4 週後 (8 mg/日投与時) に凝集率を測定して抑制率を算出した。

凝血学的分子マーカーとしては、血小板特異蛋白である β -thromboglobulin (β -TG), platelet factor 4 (PF4), プロスタグランジン関連物質である 6-ketoPGF $_{1\alpha}$ (6-KF), thromboxane B_2 (TXB_2), 11-dehydrothromboxane B_2 (11-dehydro TXB_2), 凝固系因子である antithrombin III (AT-III), thrombin・antithrombin III complex (TAT), fibrinopeptide A (FPA), 線溶系因子である D-Dimer, fibrinopeptide $\text{B}\beta_{15-4}$ ($\text{FPB}\beta_{15-42}$), plasmin・ α_2 plasmin inhibitor complex (PIC) を測定した。

末梢循環指標には、超音波ドップラー血流計 ES-1000 SP (林電気社製) による ankle pressure index (API) およびレーザードップラー血流計 ALF21 (アドバンス社製) による組織血流量を用いた。API は超音波ドップラー血流計によって測定した足背あるいは後脛骨動脈収縮

Table 1 Patients background factors

Diagnosis	ASO: 9 (male 8, femal 1), age 69.1 ± 1.5 years TAO: 6 (male 6), age 49.5 ± 3.9 years
Inpatient/Outpatient Status	1: 14
Concomitant Disease	Hypertension 3, Hyperlipidemia 1, Myocardial Infarction 1
Occluded Arteries	Iliac Artery 5, Femoral Artery 7, Popliteal Artery 2 Tibial/Peroneal Artery 5
Fontaine Classification	II 13, IV 2
Pain-free Walking Distance	<100 m 2, <500 m, 5, <1,000 m 2, $\geq 1,000$ m 4, Unknown 2
Current Smoking Status	Nonsmoker 14, Smoker 1

ASO: arteriosclerosis obliterans, TAO: thromboangiitis obliterans

Fig. 1 Inhibition rate of maximum platelet aggregation induced by 1 $\mu\text{g/ml}$ collagen in 10 patients. Satigrel was administered at a dosage of 4 mg/day for 2 weeks followed by 8 mg/day for another 2 weeks. *** $p < 0.001$.

期圧を同時測定した上肢収縮期圧で除した値とした。末梢組織血流量は患肢の第2趾足底側にレーザードップラー血流計プローブを装着し、安静時血流量を測定し、次いで患肢下腿に巻いた血圧測定用マンシェットにより ankle pressure の1.5倍圧で3分間駆血したのち、急速に駆血解除を行い反応性充血時最大血流量を記録した。

15例のうち本剤投与前より肝障害を有していた1例、服薬状況不適な1例、投薬開始7日後に感冒による動悸、頻脈が発現し投与中止とした1例、10日後に心窩部痛の副作用が発現した1例および「心臓が重い」との訴えにより途中休薬していた1例の計5例は除外した。数値はすべて平均値±標準誤差で表示し、統計解析にはt検定を用いて $p < 0.05$ を有意差ありとした。

試験成績

1. 血小板凝集能

投与開始前のコラーゲン $1 \mu\text{g/ml}$ に対する血小板凝集能の平均値は $61.0 \pm 7.6\%$ であったが、投与2週後および4週後の抑制率はおのの $80.0 \pm 8.0\%$, $87.2 \pm 2.9\%$ であり、開始前値と比較して有意に抑制された ($p < 0.001$) (Fig.

1)。コラーゲン $2 \mu\text{g/ml}$ に対する場合にも2週後および4週後抑制率はおのの $61.2 \pm 10.2\%$, $71.6 \pm 4.5\%$ で有意に抑制された ($p < 0.001$)。

2. 凝血学的分子マーカー

D-Dimer, FFPB β_{15-42} および PIC については、ASO と TAO 患者群の間に差が認められたことから疾患別に表示した。その他の分子マーカーについては、一括して評価した。

TXB $_2$ は開始前値 $30.3 \pm 4.7 \text{ pg/ml}$ に対して2週後 $9.2 \pm 2.2 \text{ pg/ml}$ ($p < 0.01$), 4週後 $14.6 \pm 2.3 \text{ pg/ml}$ ($p < 0.05$) と有意に低下した。6-KF は投与前後で変動はなかった。6-KF/TXB $_2$ 値は開始前値 0.43 ± 0.08 , 2週後 1.57 ± 0.26 ($p < 0.01$), 4週後 0.95 ± 0.17 ($p < 0.05$) と有意に増加した。11-dehydro TXB $_2$ は開始前 $14.6 \pm 1.8 \text{ pg/ml}$, 2週後 $10.0 \pm 1.1 \text{ pg/ml}$, 4週後 $11.7 \pm 1.2 \text{ pg/ml}$ と低下したが有意差は認められなかった ($p < 0.1$) (Fig. 2)。 β -TG, PF4は投与前より正常範囲にあり4週後わずかに低下したものの有意な変動は認められなかった (Fig. 3)。AT-III は開始前には 82.9% と正常域下限を示したが、4週後には 91.7% と有意に増加した ($p < 0.001$)。TAT, FPA は開始前に異常高値を示したが、投与開始後には低下傾

Fig. 2 Changes in plasma TXB₂ (●), 6-keto PGF₁α (■), 11-dehydro TXB₂ (▲) levels and 6-keto PGF₁α/TXB₂ ratio (×) in 10 patients. **p<0.01, *p<0.05, +p<0.1.

Fig. 3 Changes in plasma β-TG (●) and PF 4 (■) levels in 10 patients.

Fig. 4 Changes in plasma AT-III (●), TAT (■) and FPA (▲) levels in 10 patients. *** $p < 0.001$.

向を認めた (Fig. 4). D-Dimer 値については開始前すでに ASO と TAO 患者の間に差を認め、ASO 患者で有意に高値であった。satigrel 投与 4 週後に ASO 患者でさらに増加した。同様に開始前値に差のあった $FPB\beta_{15-42}$ は投与 4 週後に ASO, TAO とともに増加傾向を示した ($p=0.06$)。PIC については、特に変動は認められなかった (Fig. 5)。

3. API

satigrel 投与後に漸次増加したが、有意差はなかった ($p=0.09$) (Fig. 6)。

4. レーザードップラー法による末梢組織血流量

開始前 8.8 ± 1.2 ml/min/100 g から 4 週後 12.5 ± 1.4 ml/min/100 g へと有意に増加した ($p < 0.05$) (Fig. 6)。

考 察

satigrel は血小板内シクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase: CO) およびホスホジエステラーゼを阻害し、*in vitro*, *in vivo* において血小板の粘着・凝集能および血小板放出反応を従来の薬剤に比しより強力に抑制することが知られている⁶⁾。一過性脳虚血発作患者を対象にした二重盲検比較試験では、4 mg/日投与によりアスピリンを有意に上回る再発抑制効果が認められ⁹⁾、新しい抗血小板剤の一つとして、その

有用性が注目されている。

そこで今回、慢性動脈閉塞症患者の血小板機能と凝固線溶系を中心に、satigrel の投与効果について検討した。

コラーゲンにより惹起される血小板凝集能は 4 mg/日投与で 80%、8 mg/日投与で 87% の有意な抑制率を示し、確実な血小板凝集抑制効果を得るには 4 mg/日の投与量で充分と考えられた。血管内皮細胞の脱落によって露出した内皮下組織とくにコラーゲンは強力な血小板の活性化因子であり、活性化された血小板は動脈閉塞症の進展に対し重大な役割を演じている。このコラーゲンに対し強力な凝集抑制効果を有する satigrel は、他の刺激物質に対する凝集能を抑制する薬剤と比較し、临床上、理に適った抗血栓効果が期待され、二次血栓形成による動脈閉塞の急性増悪、動脈硬化病変の進展の防止に有効性が高いと考えている。

血中 TXB_2 量は satigrel 投与により有意に低下したが、6-KF 量には変動が認められなかった。本剤は動物実験で CO 阻害作用を有することが判明しているが、 PGI_2 産生能には影響しないと報告されており⁹⁾、今回の臨床例においてもその再現性が認められた。したがって、6-KF/ TXB_2 比も有意に増加した。

β -TG, PF4 は、すでに報告したとおり¹¹⁾ 病像が安定した患者では正常範囲にあることが多

Fig. 5 Changes in plasma D-Dimer (upper panel), FPB β_{15-42} (middle panel) and PIC (lower panel) levels. **p<0.01, +p<0.1. ●: Total (n=10), ■: ASO (n=5), ▲: TAO (n=5)

く、今回の対象例も同様であった。したがって、satigrel 投与前より血小板放出因子は低値であり、投与後の明らかな変動は認められず、血小板放出反応に対する satigrel の抑制効果については判定困難であった。

凝固系分子マーカーの変動については、sati-

grel 投与により異常高値を示していた TAT および FPA 量の有意な減少に伴って AT-III が増加する現象を認めた。慢性動脈閉塞症では、血管内での血栓形成傾向に伴いトロンビン産生が亢進すると、トロンビンと AT-III との複合体 (TAT) が増加し、また、フィブリン産生時

Fig. 6 Changes in API (●) and tissue blood flow (■). API was measured by ultrasonic Doppler flowmetry in 9 patients. Tissue blood flow at skin post-ischaemic reactive hyperaemia was measured by Laser Doppler flowmetry in 8 patients. * $p < 0.05$, + $p < 0.1$.

に出現する FPA の上昇を認める。satigrel 投与によりトロンビンの産生、AT-III の消費の亢進は抑制されたことを示唆している。satigrel の凝固系に対する直接効果については未知である。しかし、その強力な血小板活性化抑制作用は血小板膜表面での血液凝固系の活性化に影響を及ぼしている可能性がある。血小板は活性化に伴って膜リン脂質の一つである PF3 が血小板表面に露出して凝固系カスケードを促進することが知られている。また、本剤はトロンビンによる血小板凝集能を抑制する作用を有することも報告されている⁹⁾。トロンビンは血小板に高い親和性を有しており、強力な血小板凝集惹起物質の一つである。流血中に産生されたトロンビンが血小板に吸着しても satigrel 投与下では活性化されず、凝固系—血小板系の相互作用が抑制される結果となる。

ASO では、satigrel 投与前より線溶系分子マーカーである $\text{FPB}\beta_{15-42}$ 、D-Dimer は TAO より有意に高値を示した。ASO では線溶系活性が亢進状態にあり、常に易血栓性であることを示唆している。また、TAO の D-Dimer が有意に低値を示したのは、TAO の血栓が早期から器質化されることを裏付けるものであろう。したがって、これらの指標の評価に際しては、ASO と TAO を分けて分析する必要があった。両疾患群とも、 $\text{FPB}\beta_{15-42}$ 、D-Dimer とともに satigrel 4 mg 投与では変動が少なかったが、8 mg 投与

では増加傾向を示した。凝固線溶系の亢進バランス指標となる $\text{FPA}/\text{FPB}\beta_{15-42}$ 値は satigrel 投与後、その投与量の増量に伴い減少し線溶系の亢進を示した (Fig. 7)。satigrel には血中のプラスミノゲンアクチベーター1を減少させる作用があることが認められており¹²⁾、これらの指標の増加は相対的な血中の組織プラスミノゲン活性化因子の亢進による結果であることを示唆している。

API は有意差はなかったが、satigrel 投与後上昇傾向を示した。レーザードップラー法による組織血流量測定は皮膚の表層の血流量を反映するため、皮膚温、室温、精神状態などによって影響を受けやすいことから反応性充血時組織血流量について検討した。反応性充血時の血流量は周囲環境による影響が少なく、末梢微小循環の予備能の評価に優れている。四肢の高度虚血では虚血後反応性充血がないか、きわめて乏しい。虚血後反応性充血時の血流量と虚血前血流量の比が高値を示すほど、末梢循環の代償機能が温存されていることを示す¹³⁾。satigrel 4 mg 投与では血流量増加効果は認められなかったが、8 mg 投与では血流量の有意な増加を認め、虚血肢の血行代償機能の改善効果を示唆した。

結 論

以上により、satigrel は慢性動脈閉塞症患者に投与した場合、4 mg/日でコラーゲンに対す

Fig. 7 Changes in FPA/FPB β_{15-42} ratio in 10 patients.

る血小板凝集能を十分に抑制するが, 凝固系亢進の抑制および線溶活性を高め微小循環血流量を有意に改善させるためには, 8 mg/日投与が妥当と判定された。

本剤の強力な血小板活性化抑制作用と今回見いだされた凝固系抑制, および線溶系亢進作用との関連については今後の検討を要する。

文 献

- 1) Ross, R.: The pathogenesis of arteriosclerosis: An update. *N. Eng. J. Med.* **314**: 488~500, 1986.
- 2) Zheng, P., Chen, S.J. and Shao, H.Z.: Studies on hypercoagulation in thromboangiitis obliterans. *Chin. Med. J.* **102**(1): 67~71, 1989.
- 3) Fujimori, T., Harada, K., Saeki, T., et al.: Pharmacological properties of the novel anti-platelet aggregating agent 4-cyano-5, 5-bis(4-methoxyphenyl)-4-pentenoic acid. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **37**(II): 1143~1148, 1987.
- 4) Kogushi, M., Harada, K., Saeki, T. et al.: Effect of E5510 on thromboxane A_2 /prostaglandin endoperoxide receptor mediated platelet activation *in vitro*. *Eur. J. Pharmacol.* **183**: 337~338, 1990.
- 5) Fujimori, T., Harada, K., Saeki, T., et al.: A new anti-platelet drug, E5510, has multiple suppressive sites during receptor-mediated signal transduction in human platelets. *Jpn. J. Pharmacol.* **55**: 81~91, 1991.
- 6) Fujimori, T., Harada, K., Saeki, T., et al.: E5510, a novel antiplatelet drug with multiple modes of action. *Cardiovasc. Drug Reviews* **9**: 264~284, 1991.
- 7) Fujimori, T., Harada, K., Yoshimura, T., et al.: Good correlation between anti-platelet effect and intraplatelet content of orally administered E-5510 in human healthy volunteers. *Thromb. Haemost.* **62**: 408, 1989.
- 8) 池田康夫: 新規抗血小板剤 E5510 の薬理作用. *日本臨床* **50**: 366~371, 1992.
- 9) Uchiyama, S., Maruyama, S., Tohgi, H., et al.: Multicenter double-blinded study of E5510, a newly developed antiplatelet agent, in the treatment of transient ischemic attack. *Circulation* **86**: I-67, 1992.
- 10) Teraoka, S., Naganuma, S. and Takahashi, K.: Heparin-free hemodialysis with an oral anti-platelet agent. *ASAIO J.* **38**: M560~563, 1992.
- 11) 保尊正幸: 心血管疾患における血小板特異蛋白 β -thromboglobulin および platelet factor 4 の臨床的意義. *聖マリアンナ医大誌* **17**: 78~92, 1989.
- 12) 対馬信子, ほか: 投稿準備中.
- 13) Kvernebo, K., Slagsvold, C.E. and Strandén, E.: Laser Doppler flowmetry in evaluation of skin post-ischaemic reactive hyperaemia. *J. Cardiovasc. Surg.* **30**: 70~75, 1989.