〈抄録〉第21回 日本臨床薬理学会年会 2000年9月28~29日 札幌

アスピリンの血小板凝集に及ぼす影響

中 村 和 男*¹ 仮屋 蘭 博 子*¹ 新 川 輝 俊*¹
山 口 辰 哉*¹ 増 田 宏*² 坂 田 隆 三*²
山 田 勝 士*¹

目 的

活性化された血小板は、血小板由来成長因子(PDGF)やトロンボキサンA₂(TXA₂)などの血小板内物質を放出し、血栓形成やアテロームの促進に関与する。PDGFは、平滑筋細胞表面にあるPDGFレセプターを介して、細胞増殖、遊走・集積、収縮およびマトリックス蛋白合成などの幾つかの作用を導く複雑なネットワークを構築する。血小板では、PDGFは α 顆粒内に貯留されており、活性化に伴い α 顆粒から放出される。TXA₂は、血小板内でアラキドン酸から産生され、血管収縮作用および血小板刺激作用を有し、心筋梗塞や脳梗塞などの発症に関与する。接着分子のP-セレクトインは、血小板 α 顆粒膜および内皮細胞のWeibel-Palade小体に存在する糖蛋白で、血小板では活性化に伴い細胞膜上に表出し、炎症の発生および進展に関与する。また、可溶性P-セレクトイン(sP-セレクトイン)は不安定狭心症、動脈硬化症、高血圧症などで高値を示す。我々は以前、血小板凝集に伴うsP-セレクトインの放出を認め、この反応を5HT₂受容体拮抗剤の塩酸サルボグレラートが抑制することを報告した¹⁾²⁾。

最近、心血管や末梢血管の疾患において、抗血小板療法は血栓形成の予防および治療に有用な手段であると考えられている³⁾。アスピリンは、シク

ロオキシゲナーゼを阻害してTXA₂産生を低下させ、抗血小板作用を発揮する。

我々は今回、アスピリンの血小板機能抑制効果とsP-セレクトイン、PDGFおよびTXB₂との関連性を、健常人から得た多血小板血漿(PRP)を用いて検討した。なお、TXA₂は直ちにトロンボキサンB₂(TXB₂)に変化することから、TXA₂の動態を反映していると判断し、TXB₂を測定した。

方 法

健常人6名から3.8%クエン酸ナトリウム含有真空採血管を用いて採血後、115×g、10分間遠心分離しPRPを得た。終濃度が1および5 μ MのADP、5 μ g/mlのコラーゲンおよび0.6 mMのアラキドン酸を調製し、血小板凝集惹起物質として用いた。終濃度が10、100および1000 μ Mのアスピリンで処理したPRPを上記凝集惹起物質で刺激したときの血小板凝集能を比濁法により測定し、最大凝集率(MA)で評価した。溶媒で処置したPRPをコントロールとした。抑制率は、コントロール値からサンプル値を減じた値をコントロール値で除して算出した。凝集能測定後のPRPを2200×g、20分間遠心分離し、得られた上清中のsP-セレクトイン(Bender MedSystems)、PDGF(R&D Systems, Inc)およびTXB₂(PerSeptive Biosystems)を測定した。統計解析は、one-way ANOVAで分散分析を行った後、Fisher's PLSD法で検定した。相関関係はPearsonの相関で求めた。

*¹ 鹿児島大学医学部附属病院薬剤部
〒890-8520 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1

*² 鹿児島大学医学部第二外科

Fig. 1 Percentage changes in MA (□) and levels of sP-selectin (□), PDGF (▨) and TXB2 (■) in aspirin-treated PRP. Platelet aggregation was induced by ADP, collagen or arachidonic acid. sP-selectin, PDGF and TXB2 levels in response to each agonist were determined by ELISA, respectively. Data represent means $\pm$ SD (n=6). MA; percentage maximum aggregation, PDGF; platelet-derived growth factor, sP-selectin; soluble P-selectin, ASA; aspirin.

結果

コントロール PRP を 1 μ M ADP で刺激して一次凝集を惹起させたとき、sP-セレクトイン、PDGF および TXB2 濃度は、刺激しなかったときに比して有意に高値を示した。また、5 μ M ADP で二次凝集を惹起させたときおよび 5 μ g/ml コラーゲンで凝集を惹起させたときのいずれも、sP-セレクトイン、PDGF および TXB2 濃度は、1 μ M ADP で刺激したときに比して有意に高値を示した。

10, 100 および 1000 μ M のアスピリンで各々処理した PRP を ADP、コラーゲンおよびアラキドン酸で刺激したときの MA および sP-セレクトイン、PDGF、TXB2 の各濃度の抑制率を Fig. 1 に示した。ADP および コラーゲン凝集では、MA および sP-セレクトイン、PDGF の各濃度の抑制率は、アスピリン濃度依存的であった。一方、アラキドン酸凝集では、MA および sP-セレクトイン、PDGF、TXB2 の各濃度の抑制率は 10 μ M のアスピリンで著しく変化した。また、1 μ M ADP で惹起した凝集では、TXB2 濃度の抑制率はアスピリン濃度依存的であったが、5 μ M ADP および 5 μ g/ml コラーゲンで惹起した凝集においては 100 μ M のアスピリンで著しく変化した。また、MA と sP-セレクトイン、PDGF、TXB2 濃度間およびこれら物質相互間で高い相関関係が得られた。

考察

アスピリンは、ADP および コラーゲン凝集を濃度依存的に抑制し、sP-セレクトインおよび PDGF の

血小板からの放出抑制も濃度依存的であった。その抑制は、ADP 凝集よりもコラーゲン凝集に強く現れた。一方、アスピリンはアラキドン酸凝集を 10 μ M の低濃度で著明に抑制し、TXB2 の放出も著しく抑制した。今回の成績は、アスピリンの TXA₂ を介するシグナル伝達機構の抑制を裏付けるものである。心筋梗塞などの治療では、血栓形成の回避を確実なものにするために、アスピリンの他に ADP および コラーゲン凝集の関与するシグナル伝達機構を特異的に抑制する抗血小板剤の併用が必要と思われる。今回測定した sP-セレクトイン、PDGF および TXB2 は、アスピリンを含む抗血小板剤の効果を評価する際の有用なマーカーと判断される。

文献

- 1) Nakamura K et al. Inhibitory effects of H₂ receptor antagonists on platelet function in vitro. *Hum Exp Toxicol* 1999; **18**: 487-492.
- 2) Nakamura K et al. Effects of sarpogrelate hydrochloride on platelet aggregation, and its relation to the release of serotonin and P-selectin. *Blood Coag Fibrinol* 1999; **10**: 513-519.
- 3) Antiplatelet trialists collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy. 1. Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *Br Med J* 1994; **308**: 81-106.