

令和元年6月17日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20089

研究課題名（和文）周術期における血小板機能に関する研究－抗血小板薬休薬と禁煙の影響の検討

研究課題名（英文）Smoking cessation affects human platelet activation

研究代表者

鬼頭 祐子 (Kito, Yuko)

岐阜大学・大学院医学系研究科・特任助教

研究者番号：30770755

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：禁煙開始から12週まで4週ごとに血液検査を実施し、禁煙実施患者におけるcollagen、ADPによって引き起こされる血小板の凝集について評価した。また、凝集能の変化、凝集反応が起こる際に分泌されるPDGF-ABやsCD40Lの変化を計測した。禁煙することは血小板の凝集に対して一時的に過凝固を引き起こす可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

禁煙開始から12週まで4週ごとに血液検査を実施し、禁煙実施患者におけるcollagen、ADPによって引き起こされる血小板の凝集について評価した。また、凝集能の変化、凝集反応が起こる際に分泌されるPDGF-ABやsCD40Lの変化を計測した。禁煙することは血小板の凝集に対して一時的に過凝固を引き起こす可能性がある。周術期において禁煙の時期を考えることは禁煙によって惹起される様々な合併症を減らすことができる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Our results strongly suggest that smoking cessation causes temporary hyper-activation of human platelets in the short term. We may be able to reduce the incidence of complications due to hyper-reactivity of human platelets by considering the smoking abstinence period.

研究分野：麻酔科

キーワード：血小板 collagen ADP 禁煙

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢者人口の増加に伴い、心・脳血管疾患の一次および二次予防のために抗血小板薬を服用している手術患者が増加している。また、周術期において、喫煙が全身管理に影響を与え、予後に影響することは広く知られている。

日本人の6割の死亡原因として生活習慣病があげられる。がん、脳卒中、糖尿病、脂質異常症、高血圧、心臓病などは生活習慣病と呼ばれるが、その多くに喫煙が関わっている。周術期においても喫煙をしたまま手術を迎える患者、直前で禁煙してくる患者など様々であるが喫煙の手術に与える影響は少ない。

喫煙の呼吸器への影響としては、手術患者の多い死因は呼吸器合併症であり、喫煙と慢性閉塞性肺疾患は術後の肺合併症リスクを増やす大きな要因として知られている。術後の呼吸器合併症の発症率は、非喫煙者では1.6%であるが、喫煙者では4.7%と増加することが知られている。喫煙に対する心血管系リスクとしては心臓病の大きなリスク因子である。ニコチンによる心負荷・心筋酸素必要量増加作用や一酸化炭素による酸素運搬能低下作用によって喫煙者の心機能の負担は大きくなる。

また、今回注目している血小板凝集に関しては、喫煙は手術を受けた患者の凝固メカニズムに大きな影響を与えることが知られている。それは、血小板活性化システムが変調を来したり、内皮下水腫により血管内皮細胞が傷害されることによって血小板凝集能が亢進したり、コラーゲンと平滑筋細胞の増殖と肥大によって冠状動脈、腎細動脈壁が肥厚したり、コラーゲンの増加に伴い血小板機能が亢進しているといわれている。ただ、喫煙による影響に関してはある程度分かっているが喫煙者が禁煙することに関してどれくらいの期間でその影響がなくなるのか、またその影響がなくなっていく過程は直線的に改善していくかなどいまだにはっきりしていない部分も多い。

今回の研究において抗血小板薬内服中の患者や喫煙患者の血小板機能の経時的な変化を追うことは安全な周術期管理を目指すうえで重要な役割を示す可能性がある。

2. 研究の目的

術前には出血を減少させる観点から抗血小板薬を中止することが多いが、中止による血小板機能の変化やその機序に関する報告は少ない。また、周術期において、喫煙が全身管理に影響を与え、予後に影響することは広く知られている。呼吸器合併症の減少効果から考えると、より長期の術前からの禁煙が望ましいことが知られているため周術期禁煙は重要である。

喫煙で血管内皮細胞が傷害されることで血小板凝集能が亢進され、血栓形成を引き起こすことが知られている。しかし、血小板機能に対する喫煙の影響またその機序の詳細は明らかではない。今回、術前に抗血小板薬を服用した患者が禁煙した場合、禁煙した患者が抗血小板薬を中止する場合を想定し、血小板機能の経時的変化を解析し、安全な周術期管理の指標を示すことを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

抗血小板薬を服用していない禁煙外来受診患者において、文書と口頭による説明を行い、同意書に署名を得られた対象者から、静脈血採血を行う。

禁煙外来初回受診日、1ヶ月後(4週)、2ヶ月後(8週)、3ヶ月後(12週)に追跡調査を実施する。得られた静脈血より多血小板血漿 (PRP) を調製し、ADP、collagenなどの刺激による血小板凝集能の変化をレーザー粒子径計測法にて解析する。解析後、得られたサンプルは10000回転2分間の遠心分離にかけ、ELISA用のサンプルと血小板に分離する。ELISA用のサンプルは-80°Cの冷凍庫にて保管し、血小板はDTTを加えたsampling buffer 200μLを加えたものを95°C、5分加熱したのち同様に-80°Cの冷凍庫にて保存する。さらに、得られたサンプルより、血小板から遊離される生理活性物質 (platelet-derived growth factor, 5HT, CD40L等) をELISA法にて測定する。また、Western blot法を行い、様々な抗体 (p38 MAP kinase, p44/42 MAP kinase, HSP27など) と反応させ、血小板中の細胞内情報伝達機構を明らかにする。また、診療により得られた患者基本情報 (年齢、性別、身長、体重、血圧、使用中の薬剤名、血小板数等) を収集する。

得られたデータはSPSSソフトを使い、Friedman testを行った。

4. 研究成果

禁煙開始から12週まで4週ごとに血液検査を実施し、禁煙実施患者におけるcollagen、ADPによって引き起こされる血小板の凝集について評価した。禁煙した患者の血小板をCollagenによって刺激すると、4週から8週の間でAUC transmittanceの上昇やED50値の低下がみられる。これは、この間で血小板の凝集が更新していることを意味する。また、凝集能の変化、凝集反応が起こる際に分泌されるPDGF-ABやsCD40Lの変化を計測した。

その結果、PDGF-ABの分泌は4週~8週後に増加する傾向があった。また、以前我々が

示したように PDGF-AB の分泌は collagen 刺激に伴い p-38 MAP kinase のリン酸化を介して行われることがわかっているが、今回 Western blot 法を用いて測定した結果、p38MAP kinase も 4 週後にリン酸化が亢進している可能性があった。禁煙することは血小板の凝集に対して一時的に過凝固を引き起こす可能性がある。

この結果は周術期に禁煙を試みる際、その術前禁煙期間を考慮することで過凝固に伴う様々な合併症を減らせる可能性がある。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Onuma Takashi, Tanabe Kumiko, Kito Yuko, Tsujimoto Masanori, Uematsu Kodai, Enomoto Yukiko, Matsushima-Nishiwaki Rie, Doi Tomoaki, Nagase Kiyoshi, Akamatsu Shigeru, Tokuda Haruhiko, Ogura Shinji, Iwama Toru, Kozawa Osamu, Iida Hiroki, Sphingosine 1-phosphate (S1P) suppresses the collagen-induced activation of human platelets via S1P4 receptor, Thrombosis Research; 2017

査読：有

Tsujimoto M, Tokuda H, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Kainuma S, Matsushima-Nishiwaki R, Onuma T, Iida Y, Kojima A, Sawada S, Doi T, Enomoto Y, Tanabe K, Akamatsu S, Iida H, Ogura S, Otsuka T, Kozawa O, Iwama T, AICAR reduces collagen-stimulated secretion of PDGF-AB and release of soluble CD40 ligand from human platelets: suppression of HSP27 phosphorylation via p44/p42 MAP kinase, . Exp Ther Med; 2016

査読：有

Tsujimoto M, Kuroyanagi G, Matsushima-Nishiwaki R, Kito Y, Enomoto Y, Iida H, Ogura S, Otsuka T, Tokuda H, Kozawa O, Iwama T, Factor Xa inhibitor suppresses the release of phosphorylated HSP27 from collagenstimulated human platelets: inhibition of HSP27 phosphorylation via p44/p42 MAP kinase, PLoS One 2016; 11

査読：有

また、禁煙に関する論文も現在投稿中である。

〔学会発表〕(計 1 件)

Onuma T, Kito Y, Iida M, Tanabe K, Kozawa O, Iida H
Smoking cessation causes temporary hyper-activation of human platelets induced by collagen Euroanesthesia2018. (Copenhagen) June2-4

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等
なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：小澤 修
ローマ字氏名：Kozawa Osamu
研究協力者氏名：飯田 宏樹
ローマ字氏名：Iida Hiroki
研究協力者氏名：飯田 真美
ローマ字氏名：Iida Mami
研究協力者氏名：大沼 隆史
ローマ字氏名：Onuma Takashi
研究協力者氏名：辻本 真範
ローマ字氏名：Tsujimoto Masanori

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。