

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790532

研究課題名（和文） コラーゲンビーズカラムを用いた抗血小板剤モニター・臨床応用における有用性の検討

研究課題名（英文） Assessment of the efficacy of collagen-coated-bead columns for antiplatelet therapy in clinical settings

研究代表者

金子 誠（KANEKO MAKOTO）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00377491

研究成果の概要（和文）：

血栓性疾患患者検体に対する薬効判定や薬剤不応症症例の検出、消化管内視鏡症例など抗血小板剤を投与されている症例における休薬時の薬効の変化に対して、血小板機能と抗血小板剤の薬効評価、出血性副作用が示唆できるか2種類のカラムを用い、検査法の有用性を検討した。コラーゲンビーズカラムを測定し、血小板機能を測定するだけでは、個人によって測定結果が大きく異なり、基準値を設定した上での測定値が正常範囲内もしくは異常値であると判定を単純に行うことは困難であることは確認できた。薬効に関しては、服薬による測定値の変化は認められる傾向はあるが、測定時の誤差や薬物動態などの個人差などによるばらつきは認められた。全血をフィルターに通して測定する吸引法（screen filtration pressure法）では、2種類の抗血小板薬を使用しても、その効果判定が明らかとなりその有用性が示された。これら抗血小板薬の薬効モニタリングに関しては、測定結果に個人差が認められること、また検査方法の差により抗血小板薬効判定に与える影響が大きいことから、投与前後での測定を行うことがその効果判定に重要であることが示唆された。本研究により、抗血小板薬のモニタリングには適した検査を用いることが重要であること、また血小板機能の評価は複雑であることが示され、今後も引き続き検討が行われる必要があると思われた。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we evaluated the utility of 2 types of collagen-coated-bead columns in the assessment of platelet function associated with the efficacy of antiplatelet drug therapy and prediction of bleeding. In particular, platelet activity was measured to diagnose whether patients with thrombotic disease were drug resistant and to assess patients who were or were not administered antiplatelet agents before endoscopic biopsy.

Large variation in the platelet retention rate among healthy individuals was observed using the collagen-coated-bead column; this may reflect individual differences but not methodological variability. Overlapping of the retention rates of patients who were and were not administered the antiplatelet reagents may limit the establishment of reference intervals for platelet function in the present assay system. However, the platelet retention rate may reflect individual variability in response to the antiplatelet drugs and may be useful for monitoring the efficacy of antiplatelet therapy in the same individual. Thus, it is important to evaluate platelet function before and after medication for monitoring the effects of antiplatelet drugs. We also evaluated platelet function by using light-transmission platelet aggregometer and whole-blood aggregometer with a screen filtration pressure method. Platelet function assays are not interchangeable and may vary on the basis of the assay used. These findings suggest that the platelet function assay needs to be used in suitable methods and to be evaluated for additional verification of its clinical utility.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・病態検査学

キーワード：血小板機能検査・抗血小板薬・コラーゲンビーズカラム・薬効モニタリング

1. 研究開始当初の背景

生活スタイルの急速な欧米化により、生活習慣病による動脈硬化、特にアテローム血栓を起因とした虚血性疾患が増加しつつある。わが国でも、欧米と同じく虚血性心疾患をはじめとする心臓病、また脳梗塞、脳卒中などの脳血管疾患が主要死因となっており（総務省統計局）、2008年度からは我が国でも深刻化している生活習慣病を標的とした特定健診（いわゆるメタボ健診）が開始された。これら血栓性疾患の病態は近年の研究で明らかとなり、血小板による病的血栓形成が重要なキーポイントであることが明らかとなってきている（Ann Intern Med 134(3), 224-238, 2001）。実際に、抗血小板薬であるアスピリン、チエノピリジンは血栓性疾患発症予防効果を有することが複数の大規模試験により明確に証明されている（Brit Med J 324(7329), 71-86, 2002）。また、血栓症発症後においても、薬剤溶出ステントによる加療後には、遅発性ステント血栓症が発症することが知られており、抗血小板療法が必須となっている（N Engl J Med 356, 1020-9, 2007）。このように Evidence Based Medicine の蓄積による抗血小板療法がわが国でも周知されているが、欧米での基準をそのままわが国に適応すべきかどうかは定かではない。さらに、このような血栓性疾患において、病態把握のための生体内での血小板活性化の検出、またワーファリンにおける PT-INR のような治療効果判定を正確に評価するための簡便で低コストである臨床検査法は未だ存在しないため、これを確立することは急務である。

2. 研究の目的

血小板機能検査法は従来からいくつも存在しているが、特別な装置、高額な専用機器が必要であり、大多数の病院や診療所、個人医院での施行は困難であった。

このような現状を踏まえ、我々は、血小板

粘着能（停滞率）検査に用いられてきたガラスビーズカラムの改良型であるコラーゲンビーズカラムに着目した。基礎的な予備実験において、この検査法は、他血球との相互作用、血漿蛋白や内皮下組織であるコラーゲンとの反応、また血流によるズリ応力の変化など生理的な条件下で、個人差を反映した血小板活性化状態を測定できることが明らかとなった（Eur J Pharm Sci. 30(1), 21-5, 2007., J Lab Clin Med. 146(2), 64-75, 2005., J Lab Clin Med. 142(4), 258-67, 2003.）。しかし、臨床検体においての検討はなされていない。これを用いて、従来からの血小板機能検査法との比較、抗血小板剤の薬効評価等を行い、新しい血小板機能検査法としての標準化を試み、また抗血小板剤の至適容量の検討、病状との関連、モニタリング効果の是非を明らかにしていくことを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

1) 血栓性疾患患者検体の測定により、血小板機能亢進例のスクリーニングや病態評価だけでなく、その病態に対する薬効判定、薬剤不応症例の検出法としての可能性を検討する。

血栓性疾患（心筋梗塞・脳梗塞）により抗血小板薬を内服中の患者を対象として、2種類のコラーゲンビーズカラム法、従来法である血小板凝集能により血小板機能測定をする。内服薬ごと（アスピリン・チクロピジン・クロピドグレル・シロスタゾールなど）の比較、血小板機能検査法の比較により患者を層別化して評価を行う。

2) 外科的処置例における抗血小板剤休薬時の薬効の変化の把握について

上部消化管または下部消化管の内視鏡検査・治療目的に当院に紹介された患者のうち、抗血小板薬を内服中の患者を対象とする。抗血小板薬の休薬の前後に採血を行い、両検体を2種類のコラーゲンビーズカラム法、従来

法である血小板凝集能により血小板機能測定をする。

4. 研究成果

コラーゲンビーズカラム法では、凝集能の測定結果に関しては、個人によって大きく異なることが明らかとなり、基準値を設定した上での測定値が正常範囲内もしくは異常値であると判定を行うことは困難であった。薬効の変化に関する血小板凝集能の変化では、薬物動態などの個人差があるが服薬による測定値の変化は認められる傾向があった。これら検討に関しては測定値のばらつきなどがあり、はっきりと測定結果が有用であるか判断するには症例数を重ねる必要があると思われた。ただし、同様な検討 (Thromb Res. 2009 123(6):856-61.) が症例数を重ねてすでに行われているが、この検討と同じくコラーゲンビーズカラムのみでは明確に判別することは難しいと思われた。

コラーゲンビーズカラムに加え、全血をフィルターに通して測定する吸引法 (screen filtration pressure ; SFP 法) を比較検討方法として加えた。まずこの全血を用いて血小板機能測定法を *in vitro* で測定した。特に、血小板以外の血球成分が抗血小板の薬効に与える影響が大きいと考えられ、従来の血小板機能検査法では観察し得なかった薬剤のモニタリングに役立つことが明らかとなった。また、2 種類の抗血小板薬を使用しているにもかかわらず、その効果判定が明らかとなりその有用性が示された。この検査の実施に関して、全血を用いて操作が簡便となる点においては有用性が認められるものの、今後、臨床応用に向けて、今後も引き続き検討が行われる必要があると思われた。

抗血小板薬の薬効モニタリングに関しては、測定結果に個人差が認められること、また検査方法の差により抗血小板薬効判定に与える影響が大きいことから、投与前後の測定を行うことがその効果判定に重要であることが示唆された。本研究により、抗血小板薬のモニタリングには適した検査を用いることが重要であること、またその評価には複雑であることが示され、今後も引き続き検討が行われる必要があると思われた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) Ono S, Fujishiro M, Kodashima S, Takahashi Y, Minatsuki C, Mikami-Matsuda R, Asada-Hirayama I, Konno-Shimizu M, Tsuji Y, Mochizuki S, Niimi K, Yamamichi N, Kaneko M, Yatomi Y, Koike K. Evaluation of safety of

endoscopic biopsy without cessation of antithrombotic agents in Japan. J Gastroenterol. 査読有, [Epub ahead of print], 2012

(2) 金子誠. 抗血小板薬に対する反応多様性. 日本検査血液学会雑誌, 査読無, 12 巻, 2011, 153-160

(3) 金子誠, 佐藤金夫, 尾崎由基男. 血液領域におけるピットフォール 血小板凝集能検査法の標準化 現状と問題点. 日本臨床検査自動化学会誌, 査読無, 34 巻, 2009, 207-210

[学会発表] (計 1 件)

金子 誠. 血小板・凝固検査. 第 9 回 日本検査血液学会 冬季セミナー. 2011 年 2 月 20 日. 山梨県笛吹市石和町.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等
<http://lab-tky.umin.jp/achievements/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 誠 (KANeko MAKOTO)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 : 00377491