

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20001

研究課題名（和文）ビタミンK非依存性抗凝固薬が血小板に及ぼす影響に関する研究

研究課題名（英文）The effect of factor Xa inhibitor on human platelets

研究代表者

辻本 真範 (Tsuji moto, Masanori)

岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：70509554

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：健康者の多血小板血漿（PRP）に対しFXa阻害薬（rivaroxabanおよびedoxaban）にて前処置をした後にコラーゲンで刺激し、光透過法およびレーザー光散乱システムを用いて血小板凝集能を測定した。

rivaroxabanは血小板凝集能には何ら影響しなかった。rivaroxabanおよびedoxabanはコラーゲン刺激によるp44/p42 MAP kinaseのリン酸化およびHSP27のリン酸化を有意に抑制した。FXa阻害薬は選択的にコラーゲン刺激におけるp44/p42 MAP kinaseを介してリン酸化HSP27の遊離を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： Selective inhibitors of factor Xa (FXa) are widely recognized as useful therapeutic tools for stroke prevention in non-valvular atrial fibrillation or venous thrombosis. However, little is known whether FXa inhibitors directly affect the function of human platelets. In the present study, we investigated the direct effect of FXa inhibitor on the collagen-induced human platelet activation.

Rivaroxaban as well as edoxaban significantly reduced the collagen-induced phosphorylation of both HSP27 and p44/p42 MAP kinase without affecting the platelet aggregation. In patients administrated with rivaroxaban, the collagen-induced levels of phosphorylated HSP27 were markedly diminished after 2 days of administration. These results strongly suggest that FXa inhibitor reduces the collagen-stimulated release of phosphorylated HSP27 from human platelets due to the inhibition of HSP27 phosphorylation via p44/p42 MAP kinase.

研究分野：脳神経外科

キーワード：ビタミンK非依存性抗凝固薬（NOACs） 活性型血液凝固第X因子（FXa）阻害薬

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

1. 研究開始当初の背景

ビタミン K 非依存性抗凝固薬(NOACs)は、非弁膜症性心房細動による脳塞栓症予防に有用であり、従来のワーファリン治療と比較して同等以上の有効性・安全性が報告されている。作用機序の違いにより活性型血液凝固第 X 因子(FXa)阻害薬とトロンビン阻害薬に大別される。FXa、トロンピンはいずれも凝固カスケードにおいて重要な役割を担うのみでなく、プロテアーゼ活性化受容体(PAR)を介した多面的作用をもつことが示唆されており、FXa は PAR-1 および PAR-2 を活性化し、炎症促進性に働くことが報告されている。FXa 阻害薬の一つであるリバーロキサバンは長期投与により、炎症性メディエーターの発現がダウンレギュレートすることがアポリポ蛋白 E 欠損マウスを用いた実験から確認されている。

脳梗塞の二次予防において塞栓症の予防には抗凝固療法、血栓症の予防には抗血小板療法という概念はほぼ確立しているが、頭蓋内主幹部血管狭窄を伴う脳梗塞の二次予防について報告した WASID trial において、ワーファリンはアスピリンと同程度の二次予防効果があったものの出血性合併症のため有効性を示せず、アスピリンが有効との結果であった。つまり抗凝固療法は安全性が担保できればアテローム血栓性の脳梗塞の二次予防にも有効な可能性が示されており、NOACs においてはワーファリンと同等以上の安全性が報告されているため、かつての臨床試験を覆す可能性を秘めている。現在、塞栓源不明の脳梗塞二次予防において NOACs の効果について NAVIGATE-ESUS 試験や RE-SPECT ESUS 試験といった臨床試験が進行中であり、関心が寄せられている。

2. 研究の目的

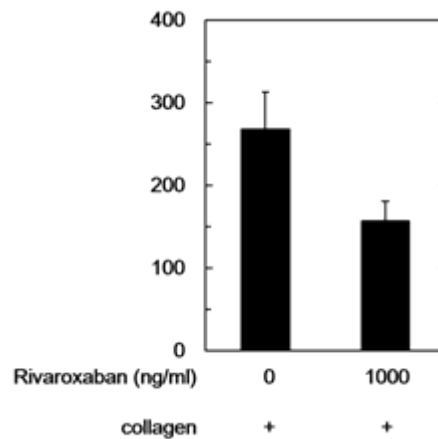
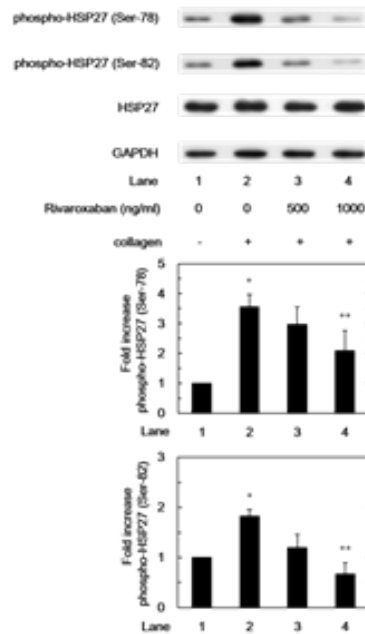
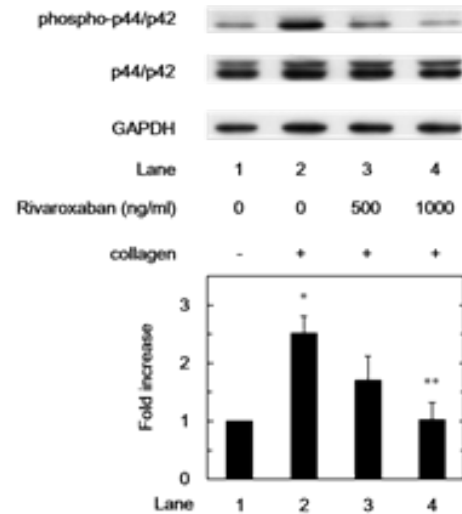
FXa 阻害薬は in vitro において一般的な血小板機能検査法である光透過法による血小板凝集能には影響を与えないことが報告されている。しかし細胞内情報伝達や生理活性化物質の放出能に対する影響はこれまで十分な解析がなされていない。当教室では血小板がコラーゲンによる刺激によって p44/p42 mitogen activated protein kinase (MAPK) および heat shock protein 27 (HSP27) を活性化し、生理活性化物質(phosphorylated HSP27, soluble CD40 ligand 等)の放出を刺激することを報告している。これらに対するリバーロキサバンの影響を検討した。

3. 研究の方法

採血サンプルに in vitro に FXa 阻害薬を投与し以下の項目を測定、その差を検討する。

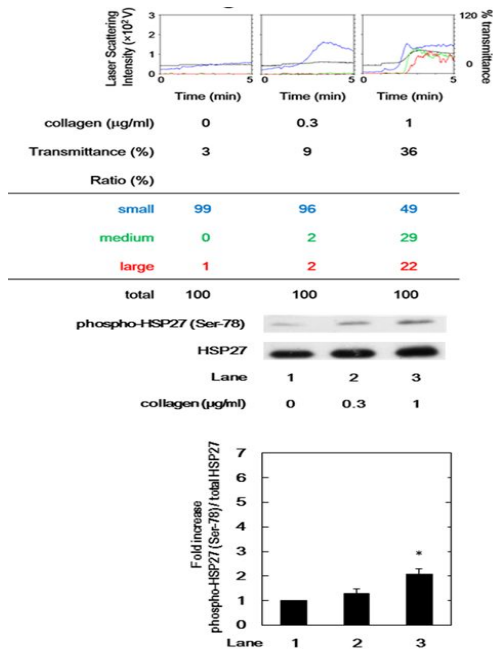
- 1) 各アゴニストにおける血小板凝集能
- 2) Westernblotting 法を用いた血小板細胞内シグナル伝達の変化
- 3) ELISA 法を用いた血小板由来生理活性化物質の測定

4. 研究成果



健常者血小板において、rivaroxaban は光透過法、レーザー光散乱法いずれにおいても血小板凝集能には何ら影響しなかった。rivaroxaban および edoxaban は用量依存性(0,500,1000 ng/ml)にコラーゲン刺激による p44/p42 MAP kinase のリン酸化および HSP27 のリン酸化を有意に抑制した。rivaroxaban および edoxaban はコラーゲン刺激による p38

MAP kinase のリン酸化に何ら影響しなかった。rivaroxaban はコラーゲン刺激による PDGF-AB の分泌には何ら影響しなかった。rivaroxaban はコラーゲン刺激によるリン酸化 HSP27 の遊離を有意に抑制した。さらに、心房細動もしくは深部静脈血栓症患者 5 名を対象に rivaroxaban 投与前後に於いてコラーゲン刺激による血小板凝集能を測定し、加えて血小板を可溶化後、ウェスタンブロット法にて HSP27 のリン酸化レベルを解析した。



患者血小板において、rivaroxaban 投与後のコラーゲン刺激による血小板凝集能は投与前と比し何ら変化がなかったが、HSP27 のリン酸化は抑制された。以上の結果から FXa 阻害薬は選択的にコラーゲン刺激における p44/p42 MAP kinase を介してリン酸化 HSP27 の遊離を抑制する可能性が示唆された。また、実際に rivaroxaban を内服している患者の投与前後に於いてコラーゲン刺激による血小板凝集能は変化がなかったが、HSP27 のリン酸化は抑制されていることを明らかとした。

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2件)

Tsujimoto M, Enomoto Y, Miyai M, Egashira Y, Iwama T: Optimal platelet function test for in-stent tissue protrusion following carotid artery stenting. J Int Med Res 46: 1866-1875, 2018

doi: 10.1177/0300060518762949. 査読あり

Tsujimoto M, Enomoto Y, Kokuzawa J,

Iwama T: Diabetes mellitus and carotid artery plaques exhibiting high-intensity signals on MR angiography are related to increased platelet reactivity after carotid artery stenting. J Neurointerv Surg 9: 106-110, 2017
doi: 10.1136/neurintsurg-2016-012419. 査読あり

[学会発表](計2件)

第46回日本脳卒中学会総会. 大阪, 2017.3.16-19

辻本真範, 榎本由貴子, 山内圭太, 江頭裕介, 秋達樹, 加藤貴之, 白紙伸一, 今井秀, 岩間亨: 光透過法を用いた血小板凝集能と頸動脈ステント血栓との関連について.

14th Congress of the World Federation of Interventional and Therapeutic Neuroradiology. Budapest Hungary 2017.10.16-19

Tsujimoto M, Enomoto Y, Egashira Y, Iwama T: The Role of Platelet Function Test on In-Stent Thrombus Formation after Carotid Artery Stenting.

[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

岐阜大学医学部脳神経外科

<http://www.med.gifu-u.ac.jp/neurosurgery/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻本 真範 (TSUJIMOTO, Masanori)

岐阜大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
研究者番号：70509554

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()