

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2009

課題番号：18209021

研究課題名（和文） 抗血小板薬の薬効モニタリングの為に新しい指標の探索

研究課題名（英文） Detection of a Novel Biomarker to Monitor Antiplatelet Therapy

研究代表者

村田 満（MURATA MITSURU）

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：50174305

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：抗血小板薬、血小板機能、モニタリング、臨床検査、血栓症、

遺伝子ターゲティング、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析

1. 研究計画の概要

本研究は、(1) 抗血小板薬の薬効と関連することが過去の研究で示唆された既知の因子（血漿中物質、血小板や他の血球、造血前駆細胞中の因子）や (2) 未知の因子、の中から抗血小板薬のモニタリングに有効な物質を探索し実際の臨床検査に応用することを目的に開始された。具体的には患者の血球（造血前駆細胞、末梢血球、血漿蛋白）について、(1) では候補物質の量、mRNA 発現量などを解析し、(2) では同様のサンプルを用いて網羅的解析、すなわちトランスクリプトーム解析やプロテオーム解析を行い、抗血小板薬の効果によって変化する物質を探索する。最近では抗血小板薬服用中にもかかわらず血小板機能が抑制されていない患者では心血管イベントが明らかに多いと報告されている。抗血小板薬に巨額の医療費が投じられているにもかかわらず、抗血小板薬が無効である症例を選別出来ていないことは大きな問題である。現在のスタイルの血小板機能検査ではプロトコールの標準化が非常に難しいため抗血小板薬モニタリングの早急な確立は不可能と考えられる。したがって抗血小板薬の薬効を評価し、予後を十分に予測しうる新たな物質の同定が急務である。

2. 研究の進捗状況

本研究の目的は抗血小板薬の薬効予測やモニタリングに有用な物質を探索し、

実際の臨床検査に応用することにある。そのために抗血小板薬服用者あるいは服用予定者からの血液サンプルを用いて抗血小板薬の反応性を予測しうる因子を探索する。平成 20 年度は、1. 抗血小板薬服用の患者登録を約 350 名とした。血小板機能や既知候補物質の測定値、遺伝子解析結果のデータベース作成と解析用血液サンプルの調整・保存を行った。2. アスピリン服用 (n=2) 前後 [ASA(-/+)] の血漿サンプルを対象にプロテオーム定量解析を行い、ASA(-/+) で有意 ($p < 0.05$) な発現変化が 216 因子に認められた。2 名のサンプルいずれにおいてもその有意な変化が認められた 9 因子のなかで、ASA(-) に比し ASA(+) で発現増加を示した血小板膜受容体 GPIb は平成 19 年度に行った候補因子解析においても血小板の ASA 反応性の関連を認め（後述）、その遺伝子ターゲティング条件検討の結果とともに報告した。GPIb は細胞外ドメインが切断されると血小板機能抑制・血栓形成能の抑制が認められる。ASA がその切断を促進する事が報告されたため、平成 19 年度は、抗血小板薬として ASA 単剤服用の患者サンプルを対象に行った血小板機能解析の結果に基づき ASA 感受性群・抵抗性群に分け両群における血漿中の GPIb 切断フラグメント濃度を測定し、ASA 抵抗性群で有

意にその低値を認めた。平成 20 年度に施行した網羅的解析においても血漿中 GPIb 切断フラグメントレベルが ASA(-)に比し ASA(+)で有意な発現増加を示した。以上、研究計画 3 年目である平成 20 年度は抗血小板薬服用の患者サンプル収集、機能解析や遺伝子解析結果のデータベース作成、過去 2 年間の研究結果に基づいた候補因子研究、そしてプロテオーム定量解析に重点をおいた研究を遂行した。

3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している
本研究は、患者データベース作成とそのサンプルを対象とする候補因子解析と網羅的解析を遂行し、それらの詳細なデータ解析により抗血小板薬の薬効モニタリングの為に新しい指標を探索する計画である。本年度は研究計画 4 年の 3 年目である。本年度までの成果として、約 350 名の抗血小板薬服用患者登録、データ収集とサンプル収集、そして網羅的解析と候補因子アプローチにより標的因子(抗血小板薬の血小板反応性と関連する因子候補)の絞り込みデータが得られた。最終年度に行う患者サンプル測定に向けた条件検討の結果、研究を遂行する上での大きな問題点の検出は無かった。したがって本研究は計画に即し順調に進んでいると考えられる。

4. 今後の研究の推進方策

本研究は、抗血小板薬の薬効を予測しうる物質の同定を目的としている。研究計画 4 年の 3 年目(本年度)までに約 350 名の抗血小板薬服用患者登録、データ収集とサンプル収集、そして網羅的解析と候補因子アプローチにより標的因子(抗血小板薬の血小板反応性と関連する因子候補)の絞り込みを行った。最終年度は主に患者サンプルを用いて、それら標的因子に対する詳細な検査結果と患者データベース情報の解析を行い、抗血小板薬の薬効を予測しうる物質の同定を目指す。

5. 代表的な研究成果

(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 5 件)

Matsubara Y, Saito E, Suzuki H, Watanabe N, Murata M, Ikeda Y. Generation of Megakaryocyte and Platelet from Human Subcutaneous Adipose Tissues. *Biochemical and*

Biophysical Research

Communications. 378: 16-20, 2009
査読有

松原由美子, 村田満. 抗血小板薬のモニタリング. *医学のあゆみ*. 228: 957-961, 2009 査読無

Matsubara Y, Murata M, Watanabe G, Ikeda Y. Enhancing Effect of the 145Met-allele of GPIb alpha on Platelet Sensitivity to Aspirin under High-shear Conditions. *Thrombosis Research*. 15: 331-335, 2008 査読有

Yabe M, Matsubara Y, Takahashi S, Ishihara H, Shibano T, Watanabe G, Murata M, Ikeda Y. Alpha 2A Adrenergic Receptor Polymorphism Is Associated with Plasma von Willebrand Factor Levels in a General Population. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 19: 395-399, 2008 査読有

松原由美子, 村田満. 抗血栓療法の簡易モニター (point-of-care). *分子脳血管病*. 7: 761-766, 2008 査読無

[学会発表](計 2 件)

松原由美子, 村田満, 鈴木英紀, 横山健次, 石原宏朗, 森島義行, 芝野俊郎, 池田康夫. 巨核球分化・血小板産生における GSK-3 β の役割: in vitro 分化誘導法による検討. 第 70 回 日本血液学会. 2008 年 10 月 11 日 京都

Matsubara Y, Saito E, Suzuki H, Watanabe N, Murata M, Ikeda Y. Successful Platelet Production from Human Subcutaneous Adipose Tissues. 3rd UK-Japan Platelet Conference. 2008 年 9 月 17 日 シンガポール

[図書](計 1 件)

Matsubara Y, Murata M, Ikeda Y. Springer. *Recent Advances in Thrombosis and Hemostasis 2008*, 643 (277-289), 2008

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]