

授与番号	甲第 1838 号
------	-----------

## 論文内容の要旨

Inhibitory effects of P2Y<sub>12</sub> receptor antagonist on PAR1- and PAR4-AP-induced platelet aggregation in patients with stroke or TIA

(脳梗塞または一過性脳虚血発作患者における P2Y<sub>12</sub> 受容体阻害薬の PAR1, PAR4 凝集抑制効果)

(鎌田麻美, 清水美衣, 大浦一雅, 吉田まき子, 津田圭介, 大井清貴, 石角陽子, 名取達徳, 鳴海新介, 板橋亮, 前田哲也, 寺山靖夫)

(Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases 30 巻, 3 号, 2021 年 3 月掲載)

### I. 研究目的

非心原性脳梗塞の再発予防には抗血小板薬の投与が推奨されており, 本邦ではアスピリンやクロピドグレル, シロスタゾールなどが用いられている. クロピドグレルは血小板膜上にある ADP 受容体 (P2Y<sub>12</sub> 受容体) に結合し, ADP 凝集を抑制する. さらに, 最近の報告では, ヒト血小板にはトロンビン受容体である protease-activated receptor (PAR) 1, PAR4 が発現しており, そのうち PAR4 は P2Y<sub>12</sub> 受容体と二量体を形成することで血小板凝集能を増幅させるという報告がある. P2Y<sub>12</sub> 受容体阻害薬はこの二量体形成を阻害することで PAR4 凝集を抑制できる可能性が示唆されているが, 脳梗塞患者における P2Y<sub>12</sub> 受容体阻害薬であるクロピドグレルの PAR4 凝集への効果は立証されていない.

本研究では, クロピドグレルの内服前後の PAR4 凝集能を比較し, クロピドグレルの PAR4 凝集抑制作用について検討した.

### II. 研究対象ならび方法

本研究は岩手医科大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した (H29-36). 臨床的検討の前に基礎実験として, 健常人 10 名より採取した platelet rich plasma (PRP) に P2Y<sub>12</sub> 受容体阻害薬であるカングレロールを添加後, ADP, PAR4, PAR1 刺激による血小板凝集能を測定し, 添加前後での血小板凝集能を比較した. 基礎実験終了後に, 新規にクロピドグレルを導入する脳梗塞患者 20 症例を対象に, クロピドグレル導入前後での ADP, PAR4, PAR1 刺激による血小板凝集能を測定し, 内服前後での PAR4 および PAR1 凝集能を比較した. いずれも凝集能の測定は全自動血液凝固測定装置 CS-2400 (シスメックス社) を用いた. 基礎実験におけるカングレロール添加前後の血小板凝集能ならびに臨床的検討におけるクロピドグレル内服前後の血小板凝集能は maximum aggregation (MA %) で評価を行い, Wilcoxon signed-rank test で有意差検定を行い,  $p < 0.05$  を有意とした.

### Ⅲ. 研究結果

1. 基礎実験では、カングレロールの添加により、ADP, PAR4, PAR1 凝集すべての凝集抑制を認めた (カングレロール 0.04-40 nM vs 0 nM, 全て  $p < 0.01$ ).
2. 臨床的検討では、クロピドグレル内服後に ADP, PAR4, PAR1 凝集の抑制を認めた (ADP 0.25  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.05$ ; ADP 1-20  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.001$ ; PAR4-AP 50  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.05$ ; PAR1-AP 5  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.05$ ; PAR1-AP 10  $\mu\text{M}$ ,  $p < 0.01$ ).
3. 脳梗塞症例のうち、PAR4 凝集が亢進していた 5 例では、クロピドグレル内服後に PAR4 凝集の著明な低下を認めた.
4. 基礎実験, 臨床的検討ともに  $\text{P2Y}_{12}$  受容体阻害薬により ADP のみならず PAR4, PAR1 凝集の抑制を認めたが, PAR1 凝集の抑制効果は PAR4 に比べて低かった.

### Ⅳ. 結 語

クロピドグレルは PAR4 凝集が亢進している脳梗塞症例において ADP だけでなく, PAR4 凝集も抑制することが示唆された. PAR4 凝集能に注目した  $\text{P2Y}_{12}$  受容体阻害薬投与が, 新たな抗血小板療法戦略となる可能性がある.

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 諏訪部 章 (臨床検査医学講座)

副査 教授 小笠原 邦昭 (脳神経外科学講座)

副査 教授 板橋 亮 (内科学講座神経内科・老年科学分野)

非心原性脳梗塞の再発予防には抗血小板薬の投与が推奨されており、本邦ではアスピリンやクロピドグレル、シロスタゾールなどが用いられている。クロピドグレルは血小板膜上にあるP2Y<sub>12</sub>受容体に結合し、ADP凝集を抑制すると考えられてきた。最近の報告によると、P2Y<sub>12</sub>受容体阻害薬は、PAR4とP2Y<sub>12</sub>受容体との二量体形成を阻害することで、PAR4凝集を抑制する可能性が示唆されているが、脳梗塞患者におけるクロピドグレルのPAR4凝集への効果は証明されていなかった。本研究から、クロピドグレルはPAR4凝集が亢進している脳梗塞患者においてADP凝集だけでなく、PAR4凝集も抑制することが示された。これはPAR4とP2Y<sub>12</sub>受容体の二量体形成が阻害されたことに加えて、P2Y<sub>12</sub>受容体がADP刺激を受けた際に血小板の濃染顆粒よりADPが放出されるautocrineが抑制されたことが関与している可能性が考えられた。また、臨床的検討の結果より、血小板凝集能や抗血小板薬の反応性には個人差があることが示された。PAR4凝集能に注目したP2Y<sub>12</sub>受容体阻害薬投与が、新たな抗血小板療法戦略となる可能性が示され、学位に値する論文と考えられた。

### 試験・試問の結果の要旨

非心原性脳梗塞の病態、治療方法、血小板活性化に関する検査内容について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えた。また、学位論文の作成にあたって、倫理的配慮も適正であり、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

### 参考論文

- 1) An anatomical variation in the cervical carotid artery of a young stroke patient (名取達徳, 他9名と共著). Internal Medicine 58: 123-126, 2019.
- 2) Thrombin-induced platelet aggregation -effect of dabigatran using automated platelet aggregometry- (清水美衣, 他10名と共著). Platelets 4: 1-5, 2019.